

**Генетическая и химическая модификация частиц вируса табачной мозаики
для одновременного экспонирования консервативных антигенов вируса
гриппа**

Научный руководитель – Гасанова Татьяна Владимировна

Королева Анастасия Андреевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический
факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия

E-mail: nastya_23_96@mail.ru

Сегодня, от одного из самых опасных респираторных заболеваний - гриппа - надежным и эффективным способом защиты является вакцинация. Большинство коммерческих вакцин содержит гемагглютинин (HA) и нейраминидазу (NA) в качестве защитных антигенов, которые, несмотря на высокую иммуногенность, высоко вариабельны из-за антигенного дрейфа между штаммами. Поэтому актуальной задачей остается разработка «универсальной» вакцины, содержащей консервативные вирусные антигены M2, HA2, M1 и NP. В последнее время особое внимание уделяется эктодомену белка M2 вируса гриппа А (M2e) и пептиду слияния (fusion peptide, fp), расположенному в N-терминальной части домена HA2 гемагглютинина. Основной целью данной работы было совершенствование кандидатной «универсальной» вакцины против вируса гриппа А. Предполагалось, что консервативные антигены M2e и fp будут одновременно экспонированы на поверхности частиц вируса табачной мозаики (VTM), используя смешанные инфекции растений *Nicotiana benthamiana*. Другой подход предусматривал биоконъюгацию иммуногенных белков с реакционноспособными остатками лизина, расположенными на поверхности генетически модифицированных вирионов VTM.

Для смешанных инфекций применяли агроинфильтрацию растений *N. benthamiana* полученными ранее векторами VTM-M2e и VTM-fp [1] с последующим выделением частиц методом осаждения ПЭГом. Анализ SDS-PAGE и вестерн-блоттинга показали наличие обоих антигенов в растительных препаратах в случае VTM-M2e-ala и VTM-fp, в соотношении VTM-M2e-ala к VTM-fp и БО VTM как 40:20:40 соответственно.

Нами в лаборатории была получена конструкция на основе генома VTM-U1 с внесением нескольких аминокислот (ADFK), включая реакционноспособный лизин на N-конец БО, и подтверждена стабильность этого генома. С помощью метода агроинфильтрации заражали растения *N. benthamiana*. После появления симптомов модифицированные частицы были выделены по стандартной методике. По данным электронной микроскопии они сходны по структуре с диким типом VTM, но слегка изогнутые. Частицы конъюгировали с белками DHFR-M2e или DHFR-fp. Связывание осуществлялось посредством химических реагентов 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide (EDC) и N-hydroxysuccinimide (NHS) по оптимизированной методике. В ходе исследования выяснилось, что связывание происходит лучше при pH=7 (в PBS буфере), чем при pH = 5 (в MES-буфере). Наличие комплексов частиц с вирусными белками подтверждалось с помощью метода динамического рассеивания света (DLS) и вестерн-блоттинга.

Источники и литература

- 1) Petukhova N.V., Gasanova T.V., Stepanova L.A., Rusova O.A., Potapchuk M.V., Korotkov A.V., Skurat E.V., Tsybalova L.M., Kiselev O.I., Ivanov P.A., Atabekov J.G. Immunogenicity and protective efficacy of candidate universal influenza a nanovaccines produced in plants by tobacco mosaic virus-based vectors // Current Pharmaceutical Design. 2013. Vol. 19, No. 31. P. 5587–5600.