

Создание плазмиды EMCV-G-Rab для получение рекомбинантного вируса энцефаломиокардита, экспрессирующего G-белок вируса бешенства

Научный руководитель – Гладнева Екатерина Евгеньевна

Чумакова К.Р.¹, Гладнева Е.Е.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, E-mail: ksushka707@mail.ru; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, E-mail: gladneva_ee@chumakovs.su

Вирус энцефаломиокардита (EMCV, *Cardiovirus rueckerti*) относится к роду *Cardiovirus* семейства *Picornaviridae* и представляет собой безоболочечный вирус с геномом в виде одноцепочечной РНК положительной полярности. Вирус способен инфицировать широкий круг млекопитающих, вызывая миокардиты, энцефалиты, неврологические заболевания и диабет, и потенциально является зоонозным.

Вирус бешенства (RABV, *Rabies lyssavirus*) является зоонозным нейротропным патогеном с практически 100% летальностью, вызывающим до 60 000 смертей ежегодно. Вирус принадлежит к семейству *Rhabdoviridae*. Гликопротеин G вируса бешенства (RABV-G) является единственным поверхностным белком вириона и определяет ключевые этапы нейротропности. Низкая эффективность естественного иммунного ответа при инфекции RABV обусловлена стратегией иммунной эвазии, реализуемой через аксональный транспорт. За счет изоляции вирусных частиц внутри нейрональных отростков патоген минимизирует контакт с антигенпрезентирующими клетками и гуморальными факторами защиты, что препятствует своевременному формированию адаптивного иммунитета.

В научных трудах неоднократно были описаны аттенуированные штаммы вируса EMCV, способные экспрессировать чужеродные гены, к примеру, фрагменты белков ВИЧ-1 и SIV, а также EGFP. Несмотря на то, что иммуногенность таких штаммов низкая, тем не менее в первом исследовании индуцировался слабый CTL-ответ у мышей, в то время как во втором была показана стабильность и иммуногенность вируса.

Таким образом, получение аттенуированного штамма вируса энцефаломиокардита, экспрессирующего G-белок бешенства, открывает новые перспективы для изучения механизмов вирусной инфекции и полиспецифического иммунного ответа, что и является целью исследования.

Плазмидную ДНК EMCV-G-Rab, которая кодирует полногеномную копию EMCV-1 (штамм Mengo) и полноразмерный RABV-G, получали методом клонирования по сайту рестрикции SacI. Последовательность вставки была получена путем выделения РНК из аттенуированного вируса бешенства (штамм Внуково-32) и проведения реакции обратной транскрипции, после чего с помощью метода ПЦР был амплифицирован фрагмент RABV-G с необходимым сайтом рестрикции SacI по обоим концам для последующего клонирования. Корректность вставки подтверждали секвенированием по Сенгеру.

В дальнейшем планируется провести первый пассаж вируса EMCV-G и изучить различные молекулярно-биологические характеристики рекомбинантного вируса.

Государственное задание: тема № ФНЗГ-2024-0001 «РНК-содержащие вирусы: фундаментальные аспекты взаимодействия с клеткой, репликации, эволюции и молекулярной эпидемиологии».