

Получение и характеристика тримера вируса Эбола

Научный руководитель – Щербаков Дмитрий Николаевич

Ахраменко Екатерина Андреевна

Студент (бакалавр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: e.akhramenko@g.nsu.ru

Вирус Эбола (*Zaire ebolavirus*), относящийся к семейству филовирусов (*Filoviridae*), входит в группу особо опасных вирусов человека, вызывая геморрагическую лихорадку с коэффициентом смертности до 90%. В эндемичных регионах Африки продолжаются вспышки обусловленные этим вирусом, при этом эффективных терапевтических средств против этого патогена до сих пор не разработано [1]. Ключевую роль в патогенезе играет поверхностный гликопротеин GP – единственный вирусный белок на поверхности вириона, обеспечивающий прикрепление к клеткам хозяина и слияние мембран [2]. Белок GP являются одной из основных мишеней для разработки противовирусных препаратов и основной для создания вакцин.

Целью данной работы является получение и характеристика полноразмерного гликопротеина вируса Эбола.

Для получения продуцента обеспечивающего синтез и секрецию рекомбинантного гликопротеина GP была сконструирована плазида pVEAL3-GP, содержащая нуклеотидную последовательность GP вируса Эбола с удаленным муциноподобным доменом. На С-конце белка добавлены тримеризующий домен T4 для стабилизации структуры тримера и гексагистициновая метка (6×His) для аффинной очистки. Далее, полученной плазмидой проводили трансфекцию культуры клеток CHO-K1-S плазмидами pVEAL3-GP и pCMV-SB100, кодирующую транспозазу SB100. Через несколько дней после трансфекции в культуральную среду добавили селективный антибиотик пурамицин, ген устойчивости к которому содержится в плазмиде pVEAL3-GP. Селекцию проводили в течение трёх недель с постепенным увеличением концентрации пурамицина для отбора клеток, содержащих в геноме вставку экспрессионной кассеты. Методом предельного разведения были получены моноклоны, которые проанализированы на способность продуцировать тримеры GP. Экспрессию рекомбинантного гликопротеина GP анализировали с помощью электрофореза и иммуноблоттинга с использованием двух типов антител: коммерческих моноклональных антител к His-метке (положительный контроль экспрессии) и рекомбинантного полноразмерного антитела 15742. Показано, что синтезируемые в клетках CHO-K1-S тримеры специфически распознаются обоими антителами. Полученный рекомбинантный белок использовали для внутримышечной иммунизации мышей линии Balb/c с целью изучения его иммуногенных свойств.

Таким образом, полученные тримеры могут быть использованы для изучения структурно-функциональных свойств GP и его взаимодействия с иммунной системой.

Источники и литература

- 1) 1. Messaoudi, I., Amarasinghe, G. K., & Basler, C. F. (2015). Filovirus pathogenesis and immune evasion: insights from Ebola virus and Marburg virus. *Nature Reviews Microbiology*, *13*(11), 663–676. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3524>
- 2) 2. Lee, J. E., & Saphire, E. O. (2009). Ebolavirus Glycoprotein Structure and Mechanism of Entry. *Future Virology*, *4*(6), 621–635. <https://doi.org/10.2217/fv1.09.56>