

**Исследование 5' и 3' концевых нетранслируемых областей (НТО) вируса
Алонгшан**

Научный руководитель – Карганова Галина Григорьевна

Охезин Егор Валерьевич

Аспирант

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

E-mail: oe-74@mail.ru

Вирус Алонгшан - флавиподобный РНК-вирус с сегментированным геномом позитивной полярности. Впервые был обнаружен на территории северо-восточной части Китая в результате скрининга образцов крови пациентов с клиническими симптомами, схожими с таковыми при инфицировании вирусом клещевого энцефалита. Позже циркуляция вируса Алонгшан была установлена на территории Российской Федерации и Республики Финляндии.

Наличие 4 сегментов кодирующих как структурные, так и неструктурные вирусные белки является особенностью организации генома вируса Алонгшан. В частности, сегмент 1 и 3 кодируют ферменты, подобные полимеразе NS5 и хеликазе NS3 флавивирусов, соответственно, и 2 и 4 уникальны для этого вируса. Для флавивирусов характерны консервативные вторичные структуры на 5'- и 3' концах, наличие кэпа и отсутствие поли(А)-хвоста. О структуре 5'- и 3' - нетранслируемых областях (НТО) вируса Алонгшан, пока ничего не известно.

Целью нашего исследования стало изучение структурной организации 5' и 3' НТО всех 4 сегментов вируса Алонгшан, в частности проверка наличия кэпа. Для этого использовали методику, которая позволяет лигировать 5' концы с олигонуклеотидным адаптером только при наличии кэпа.

Ранее, в лаборатории Биологии арбовирусов был выделен штамм Миасс 527 вируса Алонгшан из организма клеща *Ixodes persulcatus*. Изолят был получен из гомогенизированной клещевой суспензии. Далее суспензией, была инфицирована культура клеток клещей *Ixodes ricinus* IRE/CTVM19, где вирус персистировал без цитопатического эффекта. Из культуральной жидкости был выделен тотальный препарат РНК TRI-реагентом, согласно протоколу производителя. После экстракции препарат обрабатывали щелочной фосфатазой с дальнейшим переосаждением образца. Далее, РНК была обработана кислой пирофосфатазой табака с последующим лигированием адаптерного олигонуклеотида на 5' и 3' конце. С полученного продукта синтезировали комплементарную ДНК (кДНК), согласно стандартной методике. Синтезированную ДНК использовали в качестве матрицы в ПЦР, с добавлением специфических праймеров к адаптерной и известной концевой последовательности. После чего таргетный ПЦР продукт выделяли из препаративного агарозного геля и секвенировали методом Сэнгера. Для сравнения: лигирование адаптера осуществляли с кДНК вируса клещевого энцефалита и вируса Алонгшан.

Полученные результаты указывают на отсутствие кэпа на 5' конце вируса Алонгшан. Эти данные могут быть подтверждены альтернативной методикой.

Изучение концевых структур вносит свою лепту в дальнейшее понимание фундаментальных механизмов репликации, транскрипции и биосинтеза белка РНК-содержащих сегментированных флавиподобных арбовирусов.