Секция «Вирусология»

Получение антигенов поверхностного гликопротеина Е вируса клещевого энцефалита для дифференциальной диагностики флавивирусных инфекций

Научный руководитель – Климентов Александр Сергеевич

Барышникова В.С.[1], *Турченко Ю.В.*[2]

1 - Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, *E-mail: app.viktoria@gmail.com*; 2 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: turchenko.yu@mail.ru*

Особенностью рода Flavivirus являются антигенные перекресты между вирусами, что значительно затрудняет дифференциальную диагностику на основе серологических реакций [1]. Большая часть диагностических тест-систем нацелена на обнаружение поверхностного гликопротеина Е флавивирусов. Наличие смешанных очагов и развитие туризма обуславливает необходимость дифференциальной диагностики. Целью данной работы являлось получение рекомбинантных доменов белка Е обладающих способностью дифференцировать антиген вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) к различным флавивирусам. Домен III содержит вирусные детерминанты, а домены I и II содержит кросс-реактивные эпитопы. Также во втором домене находится сайт гликозилирования по N-типу [2]. В связи с этим, получали рекомбинантные домены белка Е для их использования в качестве антигенов, как в тест-системах широкого спектра действия, так и в дифференцирующих. В данной работе были собраны генно-инженерные конструкции на основании плазмид pQE-30 и pQE-60, содержащие гены, кодирующие рекомбинантные домены III, I+II и трех доменов совместно белка Е штамма Сухар, сибирского подтипа, выделенного из мозговой суспензии пациента умершего от вируса клещевого энцефалита. Наличие целевых белков в клеточных лизатах E.coli было подтверждено при помощи электрофореза в ПААГ и методом вестерн-блота. Рекомбинантные белки были солюбилизированы из телец включения, выделены на никелевых колонках и обессолены. Также, методом вестерн-блота, полученные рекомбинантные белки были окрашены мышиными и кроличьей поликлональными сыворотками к вирусу клещевого энцефалита. Специфичность полученных рекомбинантных белков оценевали методом ИФА. Использовали сыворотки мышей, обезьян и человека к различным вирусам рода Flavivirus: вирус Западного Нила, Повассан, Лангат, Денге, вирус омской геморрагической лихорадки, Зика, ВКЭ, а также вакцинированных от клещевого энцефалита. В иммунноферментом анализе и иммуннобломе домен III показал дифференцирующую способность и высокую чувствительность, домен I+II+III также показал высокую чувствительность. Однако, домен I+II обладал низкой чувствительностью, что может быть связано с низким количеством антител к нему в сыворотках, либо это может быть связано с отсутствием гликозилирования белка. Использование эукориотической системы для доменов I+II позволит получить белок близкий к нативному по антигенной структуре. Это позволит изучить его антигенную структуру и откроет возможность для его модификации - удаление или изменение эпитопов, повышающих специфичность белка.

Источники и литература

1) 1. Ackermann-Gäumann, R., Tritten, M.-L., Hassan, M., Lienhard, R. Comparison of three commercial IgG and IgM ELISA kits for the detection of tick-borne encephalitis virus antibodies. // Ticks Tick Borne Diseases. 2018. Volume 9. 956–962
2) 2. Crill, W.D., Chang, G.J. Localization and characterization of flavivirus envelope glycoprotein cross-reactive epitopes. // Journal of Virology. 2004. Volume 78. 13975–13986.