

Наночастицы на основе искусственного самособирающегося пептида, содержащие M2e пептид и консервативный участок гемагглютинаина вируса гриппа А, как основа новой противогриппозной вакцины

Зыкова Анна Андреевна

Сотрудник

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»

РАН», Москва, Россия

E-mail: Nuta2109@gmail.com

Создание вакцинных препаратов на основе консервативных гриппозных антигенов, которые бы имели широкий спектр действия, является актуальной задачей и требует новых подходов для увеличения иммуногенности целевых пептидов. Одним из таких способов является присоединение пептидов к наноразмерным частицам, образуемым искусственными самоагрегирующими пептидами. Самособирающиеся пептиды при определенных условиях могут формировать корпускулярные частицы, подобные по структуре вирусам. Различные искусственные самособирающиеся пептиды уже успешно используются для презентации эпитопов, что придает им высокую иммуногенность даже в отсутствие дополнительных адъювантов.

Целью работы было получение наночастиц на основе искусственного самособирающегося пептида, содержащих M2e пептид и консервативный участок гемагглютинаина вируса гриппа и изучение их иммуногенности и протективного действия на животных.

Были получены нуклеотидные последовательности, кодирующие самособирающийся в наночастицы пептид (SAP), M2e пептид и консервативный участок гемагглютинаина вируса гриппа. Данные гены были клонированы в экспрессионный вектор pQE30. Рекомбинантные белки были получены в клетках *E. coli* и выявлялись в нерастворимой фракции белков после лизиса клеток. Рекомбинантные белки очищали методом никелево-аффинной хроматографии в денатурирующих условиях, а затем подвергали диализу против фосфатно-солевого буфера (PBS) со ступенчатым снижением концентрации мочевины. Заключительный этап диализа проводили против PBS. После диализа белков изучали структурные особенности полученных частиц с помощью атомно-силовой и электронной микроскопии, а также методом динамического светорассеяния (анализатор Zetasizer NanoS90, Malvern). Для изучения характеристики иммуногенности препаратов рекомбинантных белков Balb/c мышей трехкратно иммунизировали интраназально очищенными белками без дополнительных адъювантов. Помимо изучения системного и местного гуморального ответа, определяли способность препаратов индуцировать образование специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов памяти, продуцирующих цитокины. Для оценки защитной эффективности рекомбинантных белков иммунизированных мышей заражали штаммами вируса гриппа А А/PR/8/34 (H1N1) и А/Aichi/2/68 (H3N2).

Включение SAP пептидов в гибридные белки обеспечило их сборку *in vitro* в сферические частицы размером 30-50 нм, которые индуцируют сильный гуморальный иммунный ответ против M2e и целого вируса. Частицы, несущие одновременно M2e и HA2, индуцировали образование антиген-специфических многофункциональных CD4⁺ эффекторных Т-клеток памяти. Иммунизация обеспечивала защиту мышей от заражения летальной дозой вируса гриппа А различных субтипов.

Полученные самособирающиеся наночастицы могут быть использованы для разработки универсальной противогриппозной вакцины.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Москвы в рамках научного проекта № 21-34-70038 при участии НИИ Гриппа им. А.А. Смородинцева.