

Иммунохимический анализ рекомбинантного антигена вируса болезни Ньюкасла

Торопов Степан Евгеньевич

Студент (магистр)

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

E-mail: stepan.toropov@mail.ru

Болезнь Ньюкасла это высоко контагиозное вирусное заболевание диких и домашних птиц, которое передается воздушно-капельным путем. Возбудитель болезни Ньюкасла - Avian orthoavulavirus 1 (AOAV1, род *Orthoavulavirus*). Болезнь Ньюкасла распространена повсеместно, в 2018 году согласно данным всемирной организации по охране здоровья животных вспышки были зарегистрированы в 33 странах. Наиболее восприимчивыми к болезни Ньюкасла среди домашней птицы являются куры, выращиваемые в условиях птицефабрик. При заражении кур высоковирулентными штаммами возможны тяжелые клинические симптомы, которые часто приводят к летальному исходу.

AOAV1 - это сложный вирус, на поверхности вирусной частицы экспонированы два мембранных белка - гемагглютинин-нейраминидаза (HN) и белок-слияния (F). Современная классификация основана на различиях в полной последовательности гена F белка. На данный момент выделяется более 20 генотипов. Наиболее актуальными штаммами являются представители V, VI и VII генотипов, из которых наибольшую обеспокоенность вызывают штаммы VII генотипа.

Единственным способом предотвращения вспышек среди популяции домашних кур является вакцинация в раннем возрасте. В настоящее время применяются живые аттенуированные и инактивированные вакцины, произведенные преимущественно на основе штаммов II генотипа, с чем связана их недостаточная эффективность в отношении актуальных штаммов.

Целью настоящей работы является разработка и характеристика рекомбинантного антигена вируса болезни Ньюкасла. Для получения антигена нами был выбран участок HN с 341 по 368 а.о., который согласно литературным данным, содержит два линейных эпитопа [1,2,3]. За основу аминокислотной последовательности антигена был взят консенсус для изолятов, относящихся к VII генотипу, и выделенных после 2010 года. При этом известно, что мутации в положении 347 приводят к критическому изменению антигенных свойств, кроме того существует ковариантность мутаций в 347 и 362 положениях. Исходя из этого были определены наиболее часто встречающиеся пары этих а.о., и спроектировано три варианта последовательностей 341-368 а.о., кодирующих эпитопы 1, 2 и 3, включающих следующие пары 347-362 а.о.: E-G, K-A, и Q-K соответственно. Кроме того, был использован консервативный для разных штаммов NDV эпитоп HN (242 по 256 а.о.), обладающий нейтрализующей активностью [1] (эпитоп 4). Аминокислотная последовательность эпитопа 4 также была спроектирована на основании консенсуса для актуальных изолятов VII генотипа. Создана конструкция на основе вектора pQE30, кодирующая белок Castle 1, состоящий из дважды повторенных последовательностей четырех выбранных эпитопов (1234*2). Castle1 был экспрессирован в системе *E. coli*, а его антигенные свойства были изучены с использованием поликлональной сыворотки к AOAV1. Для этого была получена сыворотка к инактивированному вирусу AOAV1 II генотипа. Castle1 эффективно взаимодействовал с полученной сывороткой как в денатурирующих условиях (иммуноблот анализ), так и в нативных условиях (непрямой твёрдофазный ИФА). Титр сыворотки

к АОАV1, определённый в ИФА с использованием Castle 1 в качестве антигена (концентрация 10 мкг/мл) составил 1 464 344. Таким образом, разработанный антиген Castle1 эффективно взаимодействует с сывороткой к цельному вирусу, и, следовательно, может считаться перспективной основой для создания ветеринарной вакцины.

Источники и литература

- 1) Jin, Z., Wei, Q., Bi, Y., Li, Y., Huo, N., Mou, S., Xiao, S. Identification of a potential neutralizing linear epitope of hemagglutinin-neuraminidase in Newcastle disease virus // *Virology Journal*, 2021. 18(1).
- 2) Mayahi, V.; Esmaelizad, M. Identification of novel E347Q and G362K amino acid substitutions in HN neutralization epitope and major antigenic difference in novel subgenotype VIIj isolates // *Acta virologica*, 2017. 61(4), 438–444.
- 3) Seyed-Elias Tabatabaeizadeh. Immunoinformatics analysis and antibody epitope comparison of Newcastle disease virus classical vaccines with a virus involved in the fifth NDV panzootic // *Research Square*. April 2021.