

Получение вирусоподобных частиц SARS-CoV-2 различного белкового состава в бакуловирусной системе экспрессии

Научный руководитель – Ивин Юрий Юрьевич

Якупова Регина Димьяновна

Аспирант

Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия

E-mail: yakupova_rd@chumakovs.ru

Вспышка заболевания COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, до сих пор вызывает опасения наряду с другими респираторными заболеваниями. По данным Всемирной организации здравоохранения с ноября 2019 года число зараженных составило более 688 миллионов лабораторно подтвержденных случаев COVID-19 во всем мире и более 6 миллионов летальных случаев [5]. Было доказано, что вакцинация – один из наиболее значимых способов борьбы с пандемией [1]. Одними из перспективных кандидатов в вакцины являются вакцины на основе вирусоподобных частиц, лишенные недостатков других вакцинных платформ. Среди таких недостатков можно выделить риск реверсии патогенности и генетической изменчивости у живых аттенуированных вакцин, низкая иммуногенность и низкий выход инактивированных вакцин, низкая эффективность и стабильность субъединичных вакцин, возможные осложнения, как тромбоцитопения и миокардит, связанные с некоторыми аденовирусными векторными вакцинами и РНК-вакцинами [2].

Известно, что структурными белками вируса SARS-CoV-2 являются шиповидный (S), мембранный (M), оболочечный (E) и нуклеокапсидный (N) [3, 4]. В связи с этим было необходимо получить два типа вирусоподобных частиц. Первый тип содержит все структурные белки коронавируса S, M, N и E и является целевым продуктом. Второй тип содержит белки M, N, и E, его планируется использовать в качестве контроля при проведении исследований иммуногенности. В рамках данной работы использовали бакуловирусную систему экспрессии в силу ее преимуществ, а именно: высокий выход продукта, правильные пути посттрансляционных модификаций, а также возможностью культивирования культуры клеток насекомых в суспензионной форме в бессывороточной среде.

Для получения вирусоподобных частиц культуру клеток Sf9 коинфицировали бакуловирусами, несущими целевые гены с последующим сбором продукта. Клеточный осадок отделяли от культуральной жидкости центрифугированием и подвергали криодеструкции. Супернатант отделяли от клеточного дебриса и очищали методом ультрацентрифугирования через сахарозную подушку и ступенчатый сахарозный градиент. Фракции анализировали методом вестерн-блот гибридизации, очищали от сахарозы и анализировали методом электронной микроскопии. Образцы содержали округлые объекты, которые по размерам и форме могли бы быть интерпретированы как частицы коронавируса с шиповидным белком и без шиповидного белка.

Источники и литература

- 1) Greenwood B. The contribution of vaccination to global health: past, present and future. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2014 May 12;369(1645):20130433. doi: 10.1098/rstb.2013.0433. PMID: 24821919; PMCID: PMC4024226.
- 2) Sharifzadeh M, Mottaghi-Dastjerdi N, Soltany Rezae Raad M. A Review of Virus-Like Particle-Based SARS-CoV-2 Vaccines in Clinical Trial Phases. *Iran J Pharm Res.* 2022 May 9;21(1):e127042.

- 3) 3. Yan W, Zheng Y, Zeng X, He B, Cheng W. Structural biology of SARS-CoV-2: open the door for novel therapies. *Signal Transduct Target Ther.* 2022 Jan 27;7(1):26. doi: 10.1038/s41392-022-00884-5. PMID: 35087058; PMCID: PMC8793099.
- 4) 4. Yang, H., Rao, Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nat Rev Microbiol* 19, 685–700 (2021).
- 5) 5. URL: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/> (дата обращения: 12.02.2024)

Иллюстрации

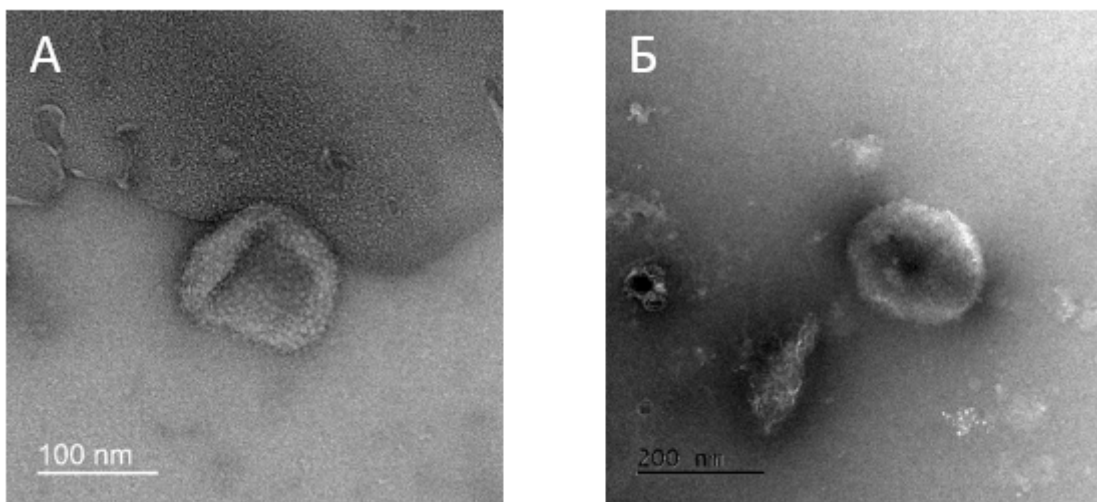


Рис. : Электронная микроскопия образцов, содержащих вирусоподобные частицы коронавируса с шиповидным белком (А) и без шиповидного белка (Б).