

Разработка систем экспрессии и очистки структурных белков вируса Alongshan

Научный руководитель – Бондаренко Екатерина Владимировна

Ермолаева Елена Александровна

Студент (магистр)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: le.ermolaeva@mail.ru

Сравнительно недавно была охарактеризована новая группа вирусов - Jingmenvirus. Ее представители уникальны - это первые вирусы с сегментированным положительным РНК геномом, способные заражать млекопитающих. Сегменты 1 и 3 кодируют белки подобные NS3 и NS5 белкам репликативного комплекса флавивирусов, в связи с этим группу Jingmenvirus отнесли к семейству *Flaviviridae*. Остальные сегменты генома кодируют белки, характерные только для этой группы. Сегмент 4 кодирует предположительно капсидный белок VP2 и белок VP3. Сегмент 2 кодирует белки VP1a и VP1b, которые предположительно являются белками оболочки, а также NuORF, функция которой не изучена.

Представители группы Jingmenvirus распространены по всему миру и были детектированы в различных насекомых, клещах, а также в млекопитающих, в том числе в человеке. Описаны заболевания людей, вызванные Alongshan virus и Jingmen tick virus в Китае [2,3]. В России Jingmen tick virus был детектирован в сыворотках пациентов в Ростове-на-Дону в 2020 г.[1]

Для оценки эпидемиологических свойств вирусов группы Jingmenvirus, иммунной прослойки населения и животных, необходимо создание тест-систем для выявления антител к ним. Для этого необходимо получение структурных рекомбинантных белков вируса Alongshan.

Были выбраны структурные белки VP1b, VP2 и VP3, а также гипотетический белок, кодируемый NuORF, штамма Миасс527 вируса Alongshan. Последовательности, кодирующие белки VP1b, NuORF, VP2, были клонированы в клетках *E.coli* в плазмиды pQE-30, pQE-60, pQE-32, соответственно. Наличие вставок с целевыми последовательностями, тэга 6-ти гистидинов, старт и стоп кодонов, а также нуклеотидных замен проверены методом секвенирования. В результате проверки были выявлены несинонимические замены, которые исправлены мутагенезом.

Белок VP3 имеет большое число предсказанных трансмембранных доменов. Поэтому нами были взяты в работу гидрофильные участки белка: с 1 по 89 ак, с 244 по 389 ак, с 244 по 443 ак. Генно-инженерные конструкции получены с использованием плазмиды pQE-32. Далее были подобраны оптимальные условия экспрессии для рекомбинантных участков белка VP3: температура (37°C), время (3 часа), концентрация индуктора (0,5 mM ИПТГ). При попытках выделения фрагментов белка, они были обнаружены в нерастворимой фазе (в тельцах включения).

В дальнейшей работе планируется получение иммунных сывороток животных и проверка нативности рекомбинантных белков.

Источники и литература

- 1) В. А. Терновой и др. Обнаружение РНК нового многокомпонентного вируса у больных Крымской-Конго геморрагической лихорадкой на юге России // Вестник РАМН. 2020. Т.75. №2. С. 129–134.

- 2) Ivan S. Kholodilov et al. First isolation and characterisation of Alongshan virus in Russia // BioRxiv. 2019.
- 3) Ze-Dong Wang et al. A New Segmented Virus Associated with Human Febrile Illness in China // The new England journal of medicine. 2019. №380. p. 2116-2125