

Антигенные свойства нуклеопротеина вируса Sars-Cov-2 и его свободного N-концевого домена изменяются при удалении рибонуклеиновой примеси

Научный руководитель – Орлова Надежда Александровна

Колесов Денис Эдуардович

Студент (бакалавр)

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

E-mail: 52ru111@mail.ru

Определение наличия антител к антигенам вируса SARS-CoV-2 является оптимальным способом выявления людей, прошедших инфицирование вирусом вне зависимости от развития симптомов COVID-19[1]. Нуклеопротеин (NP, N-антиген) вируса SARS-CoV-2 обильно синтезируется в цитоплазме зараженных клеток; обычно антитела к NP выявляются у лиц, ранее инфицированных вирусом, с наиболее высокими титрами. Значительная часть используемых в настоящий момент в мире тест-систем на антитела к вирусу SARS-CoV-2 содержит в качестве антигена NP или его фрагменты. Нуклеопротеин состоит из двух плотно свернутых доменов NTD и CTD, отвечающих за связывание РНК и димеризацию NP, соответственно. Вследствие того, что NP - высокоосновный белок, склонный к мультимеризации и неспецифическому связыванию нуклеиновых кислот[2], мы предположили, что его антигенные свойства могут существенно изменяться в зависимости от методов очистки рекомбинантного NP от примесей.

Полноразмерный нуклеопротеин (NP), а также его фрагменты NTD и CTD были получены в бактериальной системе экспрессии с использованием ранее разработанного плазмидного вектора рНУР, содержащего токсин-антитоксинный локус Hok-Sok. Вследствие того, что C-концевой домен NP не выявлялся во фракции растворимых белков, последующие опыты проводили для полноразмерного NP и NTD.

Было установлено, что как полноразмерный NP, так и NTD образуют плотные комплексы с РНК *E.coli* и могут быть очищены от примеси РНК при помощи обработки лизата *E.Coli* рибонуклеазой А и последующей промывки адсорбированного на хроматографическом сорбенте белка раствором, содержащим 1,5 М NaCl. Для очищенных таким образом белков на небольшом числе образцов сывороток крови было продемонстрировано одновременное сильное увеличение сигнала в ИФА с антителами для лиц с подтвержденной по ПЦР инфекцией SARS-CoV-2 и падение неспецифического сигнала для заведомо COVID-19 отрицательной нормализованной донорской плазмы крови. Также было установлено, что рекомбинантный NP при дополнительной двухстадийной обработке раствором детергента Triton X-114 может быть использован для специфической стимуляции Т-клеток *in vitro* и обеспечивает сравнимый с пептидными реагентами выброс гамма-ИФН активированными клетками. Выражаем благодарность сотрудникам компании "Экзактэ Лабс" Казею В.И., Лобову А.В., Ивановой П.И. за проведение экспериментов по стимуляции Т-клеток.

Источники и литература

- 1) Tugba Kilic, Ralph Weissleder, Hakho Lee, Molecular and Immunological Diagnostic Tests of COVID-19: Current Status and Challenges, *iScience*, Volume 23, Issue 8, 2020, 101406, ISSN 2589-0042
- 2) Ye, Q, West, AMV, Silletti, S, Corbett, KD. Architecture and self-assembly of the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Protein Science*. 2020; 29: 1890– 1901