

Регуляция процесса аутофагии вирусом краснухи

Научный руководитель – Аммур Юлия Игоревна

Гулимов М.К.¹, Романцова Л.Р.¹, Астапенко А.В.¹

1 - Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Отдел вирусологии им. О.Г. Анджaparидзе, Лаборатория экспериментальной иммунологии, Москва, Россия

Аутофагия является эволюционно сложившимся клеточным катаболическим и защитным механизмом, посредством которого клетки способны утилизировать собственные органеллы, макромолекулы и патогены. Многие РНК-вирусы могут регулировать процесс аутофагии с целью изменения клеточной физиологии и метаболизма в инфицированных клетках, способствующего вирусной репликации, препятствуя активации дсРНК-зависимых защитных механизмов.

Данное исследование направлено на изучение роли аутофагии во внутриклеточном цикле вируса краснухи. Так, для того, чтобы оценить взаимосвязь процесса аутофагии и репликации вируса краснухи, эпителиальные клетки А549 заражали диким и аттенуированным штаммами вируса краснухи - С-77w и С-77a, соответственно, со множественностью заражения 1 инф.ед./кл, параллельно измеряли уровень экспрессии генов, участвующих в инициации и элонгации аутофагосомы и ее слиянии с лизосомой - Beclin1 (инициация аутофагии), Atg5 (элонгация), Rab7 (слияние с лизосомой с образованием аутофаголизосомы) и SQSTM1 (кодирующий белок p62, связывающий убиквитинированные белки и доставляющий их в аутофагосомы для расщепления). Для мРНК генов Beclin1 и Atg5, была характерна их повышенная экспрессия на 24-48 (для дикого штамма) и 24-72 (для аттенуированного штамма) часов после заражения. Однако, индукции экспрессии мРНК генов белков Rab7 и SQSTM1 не наблюдали. Данный эффект коррелировал с более отсроченной ИФНб-опосредованной индукцией мРНК генов белков TRAIL и XAF1, приводящих к апоптотической гибели клеток, - через 96 часов после заражения. Таким образом, процесс аутофагии был abortивным и не приводил к элиминации вируса, т.е. не выполнял своей защитной противовирусной функции.

Для подтверждения влияния аутофагии на репликацию вируса краснухи, мы измерили концентрацию вирусных частиц, а также РНК в супернатантах и внутриклеточно в присутствии ингибитора (BFLA) и индуктора (Rapamycin) аутофагии при заражении культуры клеток А549 вирусом краснухи через 24 часа после заражения. Аутофагия вносила существенный вклад в продукцию вирусных частиц клетками А549 во внутриклеточное пространство, что следует из увеличения их выхода в присутствии индуктора аутофагии и снижения - в присутствии ингибитора, при этом значимого эффекта на изменение концентрации вирусной РНК как в супернатантах, так и внутриклеточно не наблюдали.

Таким образом, вирус краснухи может использовать антивирусный механизм для предотвращения деградации и обеспечения своей репликации, дифференцированно регулируя процесс аутофагии, путем стимулирования инициации и подавления более поздних стадий.