Секция «Вирусология»

Новый комплексный подход к стабилизации рекомбинантного протективного антигена сибирской язвы с целью его использования в вакцинных препаратах

Научный руководитель – Рябчевская Екатерина Михайловна

Грановский Д.Л.[1], *Евтушенко Е.А.*[2]

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия, *E-mail: dgran98@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия, *E-mail: katecat88@mail.ru*

Сибирская язва - инфекционное заболевание человека и животных, вызываемое бактерией *Bacillus anthracis*. Создание вакцины против сибирской язвы до сих пор представляется актуальной задачей, поскольку лицензированные препараты характеризуются рядом существенных недостатков. Современные тенденции разработки вакцины против сибирской язвы связаны с использованием протективного антигена сибирской язвы - PA. PA - один из трёх белков, составляющих сибиреязвенный токсин. PA безопасен для человека, и его достаточно для формирования эффективного иммунного ответа. Использование рекомбинантного PA (rPA) позволяет избежать трудоёмких процессов очистки белка и гарантирует отсутствие в препарате других компонентов *B.anthracis*, которые могут обуславливать высокую реактогенность. Важно отметить, что основной проблемой при использовании rPA является его низкая стабильность.

Ранее в нашей лаборатории было продемонстрировано, что адсорбция rPA на поверхности сферических частиц, полученных в результате термической обработки вируса табачной мозаики (СЧ), позволяет существенно снизить скорость деградации rPA. Однако даже в составе композиций с СЧ rPA не обладает достаточной для длительного хранения стабильностью. В настоящей работе был исследован дополнительный подход к стабилизации rPA, а именно - внесение стабилизирующих модификаций в аминокислотную последовательность. В рамках данного подхода были рассмотрены два вида замен: изменения в сайтах протеолитической деградации rPA и замена подверженных спонтанному дезаминированию остатков аспарагина на глутамин.

Для изучения эффективности обоих вариантов модификаций rPA были получены две конструкции. Одна содержит первый и второй домены PA (rPA1,2), другая - третий и четвертый (rPA3,4). В последовательности rPA1,2 были произведена делеция двух аминокислотных остатков в сайте разрезания химотрипсином, а также были внесены замены в сайт расщепления фурином. В последовательности rPA3,4 два подверженных дезаминированию остатка аспарагина (Asn^{713} и Asn^{719}) были заменены на остатки глутамина. Было продемонстрировано, что как rPA1,2, так и rPA3,4 характеризуются более высоким по сравнению с немодифицированным rPA уровнем стабильности.

В работе получены композиции обоих модифицированных рекомбинантных белков с СЧ как по отдельности, так и одновременно. Показано, что при взаимодействии с СЧ rPA1,2 и rPA3,4 сохраняют свои антигенные свойства. Высокий уровень стабильности rPA1,2 и rPA3,4, а также продемонстрированные ранее в нашей лаборатории адъювантные свойства СЧ позволяют надеяться, что полученные комплексы будут стимулировать эффективный иммунный ответ и могут стать основой для современной вакцины против сибирской язвы. Также на дальнейших этапах работы планируется создание полноразмерного rPA, модифицированного по аналогии с рекомбинантными белками, исследованными в настоящей работе.

Работа поддержана грантом РНФ 18-14-00044.