

**Подавление репродукции вируса гриппа (штамм А/WSN/1933) посредством малых интерферирующих РНК направленных к генам ядерно-порового комплекса.**

**Научный руководитель – Свитич Оксана Анатольевна**

*Пашков Е.А.<sup>1</sup>, Пашков Г.А.<sup>2</sup>*

1 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: pashkov.j@yandex.ru*; 2 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: georgp2004@mail.ru*

**Введение.** По данным ВОЗ, грипп - одна из наиболее актуальных проблем мирового здравоохранения. Каждый год около 500 тыс. человек умирают вследствие не только самой инфекции, но и от вызванных ей осложнений [1]. Из-за высокой изменчивости у вирусов гриппа быстро появляется резистентность ко многим традиционным противовирусным терапевтическим средствам [2]. Разработка лекарственных средств, основанных на механизме сайленсинга генов с помощью миРНК является перспективным направлением.

**Цель исследования:** Оценка снижения вирусной репродукции в клетках со сниженной экспрессией генов ядерно-порового комплекса Nup98 и Nup205.

**Материалы и методы.** *Вирусы.* В работе использовали штамма вируса гриппа А А/WSN/1933 (St. Jude's Children's Research Hospital, USA). *Клеточные линии.* Культура клеток А549 - аденокарцинома человеческого лёгкого (ATCC® CCL-185, USA). *миРНК.* Последовательности (Nup98.1(миРНК1), Nup98.2(миРНК2), Nup205) к мРНК целевых генов (Синтол, РФ). Так же была синтезирована неспецифическая миРНК L2 для оценки функциональности рабочих миРНК. *Трансфекционный агент.* Lipofectamin2000 (Invitrogen, USA). Клетки А549 высевались в 12-луночные планшеты, далее обрабатывались комплексами миРНК и Lipofectamin2000. Через 4 часа трансфицированные клетки заражались вирусом гриппа при MOI=0.01. Супернатант отбирался в течение трёх дней с момента трансфекции, затем проводилась оценка изменения вирусной активности с использованием методов титрования по ЦПД и реакции гемагглютинации. Экспрессия целевых генов после обработки миРНК и количество вРНК определялось с помощью ОТ-ПЦР-РВ. Для вычисления статистически значимых различий между группами авторы использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

**Результаты исследования.** По результатам исследования, в клетках, обработанных миРНК к гену Nup205, вирусная репродукция снизилась в 10 раз на 1е сутки и в 100 раз в последующие сутки относительно контроля. В клетках, обработанных миРНК1 и миРНК2 к гену N98, значимое снижение репродукции для миРНК1 в 100 отмечалось на 2ые сутки, а для миРНК2 в 100 раз на 3и сутки соответственно по отношению к контролю. По результатам гемагглютинации количество вируса на третьи сутки снизилось в 16 раз для гена Nup205, и 8 раз - для гена Nup98.

**Выводы.** Проведённые исследования показывают, что обработка клеток миРНК, направленными к генам ядерно-порового комплекса Nup98 и Nup205 дают достоверное снижение вирусной репродукции.

**Источники и литература**

- 1) Peteranderl C., Herold S., Schmoldt C. Human influenza virus infections. Semin. Respir. Crit. Care Med. 2016; 37(4): 487-500. doi:10.1055/s-0036-1 584801

- 2) Li TC, Chan MC, Lee N. Clinical Implications of Antiviral Resistance in Influenza. *Viruses*. 2015 Sep 14;7(9):4929-44. doi:10.3390/v7092850.