

**Капсидный белок бактериофага Beihai32 как основа для получения
вирусоподобных частиц - носителей чужеродных белков**

Научный руководитель – Равин Николай Викторович

Зыкова Анна Андреевна

Сотрудник

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»

РАН», Москва, Россия

E-mail: Nuta2109@gmail.com

Для борьбы с гриппом перспективным является создание универсальных вакцин на основе консервативных антигенов, которые требуют усиления иммуногенности с помощью носителей. Вирусоподобные частицы (VLP), формирующиеся из вирусных капсидных белков, являются одними из наиболее эффективных носителей. Структурные характеристики VLP делают их привлекательными платформами для создания рекомбинантных вакцин, поскольку они имитируют вирусы по структуре и способны индуцировать иммунный ответ. В качестве носителя антигенов гриппа нами был выбран капсидный белок оц-РНК бактериофага Beihai32. Целью работы было получение вирусоподобных наночастиц на основе капсидного белка фага Beihai32, несущих консервативный пептид М2е вируса гриппа, изучение их иммуногенности и протективного действия на животных.

Сконструирован экспрессионный вектор, кодирующий капсидный белок Beihai32, а также экспрессионный вектор, кодирующий капсидный белок Beihai32 с четырьмя копиями М2е, присоединенными к его С концу (Beihai32-4М2е). Рекомбинантные белки экспрессированы в клетках *E. coli* и находились в растворимой фракции. Очистку рекомбинантных VLP Beihai32 проводили с помощью ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахароза-цезий хлористый. Рекомбинантные частицы Beihai32-4М2е очищали в несколько этапов. Первой стадией было осаждение VLP из клеточного лизата 25% сульфатом аммония. Потом препарат VLP очищали с помощью металл-аффинной хроматографии. По данным электронной микроскопии препараты рекомбинантных белков образовывали VLP диаметром около 30 нм. С помощью просвечивающей иммунной электронной микроскопии с использованием анти-М2е антител, меченных золотом, показано, что пептид М2е расположен на поверхности частиц Beihai32-4М2е. Для изучения иммуногенности вирусоподобных наночастиц мышей линии Balb/c иммунизировали препаратами подкожно без дополнительных адъювантов. Иммунизация частицами Beihai32-4М2е индуцировала высокие уровни М2е-специфических IgG-антител в сыворотках крови и защищала животных от летального заражения вирусом гриппа А.

Чтобы оценить способность капсидного белка бактериофага Beihai32 включать крупные пептиды без нарушения сборки VLP, был получен гибридный белок Beihai32-GFP с зеленым флуоресцентным белком (238 а.о.) на С-конце капсидного белка. Рекомбинантный белок, полученный в *E. coli*, образовывал VLP диаметром 30 нм, что демонстрирует возможность включения длинных пептидов на С-конец капсидного белка Beihai32. Таким образом, капсидный белок фага Beihai32 является многообещающим носителем для представления пептидных антигенов при разработке вакцин.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования России.