

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА ГРИППА, ЭКСПРЕССИРУЮЩИЙ БЕЛОК RBD ВИРУСА SARS-COV-2

М.Р. Абаева, Н.Н. Мухами, А.У. Исабек, А.Қ. Бопи, Г.О. Шыныбекова, Н.С. Кожабергенов, О.В. Червякова, К.Т. Султанкулова

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности (НИИПББ), пгт. Гвардейский, Казахстан

m.rahmetullaevna@biosafety.kz

Пандемия, связанная с новым бетакоронавирусом (β -CoV), коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2), который вызвал вспышку коронавирусной болезни 2019 года (COVID-19), стала серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире. Основным механизмом адаптации зоонозных бетакоронавирусов к человеку является изменение структуры рецептор-связывающего домена поверхностного белка S, в результате чего он приобретает способность связывать клеточные рецепторы эпителиальных клеток респираторного и пищеварительного трактов человека.

Целью данной работы является оценка стабильности рекомбинантного вируса гриппа, экспрессирующего белок RBD вируса SARS-COV-2 методом ОТ-ПЦР и секвенирования модифицированного химерного NS-RBD гена.

Генетически устойчивый размер рекомбинантного гена NS1 вируса гриппа был определен методом ОТ-ПЦР. Вирусы гриппа, содержащие конструкции NS-RBD были отобраны в качестве самых устойчивых конструкций и были пассированы в культуре клеток Vero. Вирусы показали инфекционную активность, $5,5 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл, 1:64 в анализе гемагглютинирующей активности и были генетически устойчивы согласно размеру фрагмента NS. Анализ нуклеотидной последовательности подтвердила

их идентичность к начальным конструкциям. После пяти пассажей в культуре клеток Vero, выделены вирусные РНК и с помощью специфических праймеров на NS ген выполнена постановка ОТ-ПЦР с целью выявления химерной вирусной конструкций NS-RBD в составе вируса FLU- Δ NS-RBD-SARS-COV-2. В качестве контроля был представлен NS ген вируса гриппа без модификации (890 п.о.) и RBD ген вируса SARS-CoV-2 (620 п.о.). Для подтверждения стабильности модифицированной последовательности гена NS (RBD) было проведено 5 пассажей рекомбинантного штамма FLU- Δ NS-RBD-SARS-COV-2 вируса гриппа на культуре клеток Vero. Модифицированный ген NS-RBD размером 1510 п.о. наработан рекомбинантным вирусом гриппа FLU- Δ NS-RBD-SARS-COV-2. Целевой ген RBD размером 620 п.о. в составе вируса гриппа FLU- Δ NS-RBD-SARS-COV-2 в различных пассажных уровнях подтвержден методом ПЦР. Секвенирование последовательности гена NS (RBD) подтвердили наличие модификации в гене NS и присутствие RBD.

Проведенные исследования показали, что рекомбинантный штамм FLU- Δ NS-RBD-SARS-COV-2 вируса гриппа в процессе пассирования (5 пассажей) на культуре Vero проявляет стабильные свойства.