

НЕОБЫЧНЫЕ ВИРУСЫ С НЕОБЫЧНЫМ ПРОЦЕССИНГОМ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СИСТЕМА, ПОЗВОЛЯЮЩАЯ ДЕЛАТЬ ВСТРОЙКИ ЧУЖЕРОДНЫХ ГЕНОВ В ОБЛАСТЬ СТЫКА NS1-NS2A В ГЕНОМЕ ФЛАВИВИРУСОВ С СОХРАНЕНИЕМ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ РЕПЛИКОНОВ

Е.С. Седова^{1*}

¹Национальный центр биотехнологии

Республика Казахстан, 000010, г. Астана, Кургальжинское шоссе 13/5

e-mail: sedova@biocenter.kz

Флавивирусы (представители рода Flavivirus) - это широко известные и важные для здравоохранения патогены человека, включая вирусы клещевого энцефалита, желтой лихорадки, лихорадки Зика, Западного Нила, денге и др. Для Казахстана эпидемиологическое значение имеют клещевой энцефалит и лихорадка Западного Нила. Перечень одобренных флавивирусных вакцин мал. Против флавивирусов нет этиотропных лекарств (подавляющих репликацию вируса). Поиск препаратов, ингибирующих репликацию, с использованием молекулярного докинга, пока не дал практических результатов, из-за того, что нет моделей пространственной организации белков в репликативном комплексе (RC) с атомарным разрешением, и работа RC известна только в общих чертах. Флавивирусы уникальны в своём семействе тем, что, несмотря на практическую важность и большие усилия, затраченные исследователями, всё ещё существуют вопросы биологии флавивирусов, на которые нет ответа, хотя для других родов в семействе эти аспекты изучены в деталях. Один из таких вопросов относится к процессингу вирусного полипротеина, а именно, неизвестно каким образом и при участии каких протеаз расщепляется стык между белками флавивирусов NS1 и NS2A. Данный вопрос важен не только из академического интереса, но и потому что ингибирование процессинга вирусных белков – известный эффективный способ работы противовирусных препаратов. Для примера можно указать на ингибиторы протеаз вирусов ВИЧ-1 и гепатита С, - применяемые в клинике эффективные лекарства.

В рамках работ по исследованию процессинга NS1-NS2A в НЦБ создана эксперимен-

тальная система, базирующаяся на репликационных модельного флавивируса, и испытанная для встройки гетерологических генов в область стыка NS1-NS2A. Репликоны по отдельности не способны вызывать продуктивную инфекцию и не являются инфекционными живыми организмами. Чтобы изучать процессинг NS1-NS2A с помощью репликонов неспособных к внутриклеточной репликации, была создана экспериментальная система, в которой возможно накопление адаптивных замен без генерации способного к самоподдерживающейся инфекции флавивируса. Данная экспериментальная система состоит из репликона флавивируса и клеточной культуры, в которой производятся белки вириона С-prM-E с транскрипционного модуля независимого от репликона. Таким образом, белки С-prM-E производятся *in trans*, и транс-комплементируют дефект по упаковке, Репликоны со встройками типа NS1-GOI-NS2A (где GOI – ген интереса), если сохраняют изначально минимальную способность к репликации РНК, способны к спонтанным мутациям, и если мутации обладают адаптивным эффектом, то такие репликоны получают в описанной экспериментальной системе эволюционное преимущество. С применением созданной в НЦБ экспериментальной системы получены жизнеспособные репликоны, несущие встройки чужеродных генов в указанный стык (NS1-GOI-NS2A), при этом гетерологический белок (POI, продукт GOI) остаётся в форме белка слияния POI-NS2A, стабильного в клетке. Полученные вирусы (репликоны) уникальны положением вставки и модификацией NS2A, и не были до сих пор описаны в мировой литературе. Подана заявка на патент.