

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-101

ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛИЗИРОВАННОГО ENV-ТРИМЕРА ВИЧ-1 ПОДТИПА А6, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ^{*}

OBTAIING A STABILIZED ENV TRIMER OF HIV-1 SUBTYPE A6 CIRCULATING IN THE RUSSIAN FEDERATION

К. П. Макарова, Н. Б. Рудометова, Л. И. Карпенко, А. П. Рудометов

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

K. P. Makarova, N. B. Rudometova, L. I. Karpenko, A. P. Rudometov

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo

✉ makarova@yandex.ru

Аннотация

В настоящей работе был получен стабилизированный тример Env ВИЧ-1 gp140(A6).SOSIP.664, сконструированный на основе консенсусной последовательности подтипа А6, циркулирующего в Российской Федерации.

Abstract

In this work, a stabilized HIV-1 Env trimer gp140(A6).SOSIP.664 was obtained, constructed based on the consensus sequence of the A6 subtype circulating in the Russian Federation.

Одним из перспективных направлений в разработке вакцины против вируса иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) является получение стабилизированных тримеров Env, воспроизводящих нативную конформацию вирусного белка. Тримеры Env способны вызывать выработку широко нейтрализующих антител, которые могут распознавать и нейтрализовать различные варианты ВИЧ-1.

На первом этапе работы осуществляли расчет гена, кодирующего стабилизированный тример Env ВИЧ-1 подтипа А6. В качестве основы при расчете был использован консенсусный вариант аминокислотной последовательности Env ВИЧ-1 подтипа А6, полученный комплексным выравниванием последовательностей, представленных в базе данных Лос-Аламосской национальной лаборатории на 28 октября 2024 года.

Полученная консенсусная аминокислотная последовательность была дополнительно оптимизирована: природный сигнальный пептид Env был заменен на N-концевую сигнальную последовательность люциферазы *Gaussia* (Gluc); были введены мутации SOSIP; также были удалены MPER-область, трансмембранный и цитоплазматический домены для лучшей экспрессии проектируемого белка; после аминокислотного остатка 664 на С-конце добавляли 6×His для последующей очистки. Полученный вариант тримера Env подтипа А6 обозначили как gp140(A6).SOSIP.664. Пространственное моделирование полученной последовательности проводили с использованием нейросети AlphaFold 3 colab (см. рисунок).

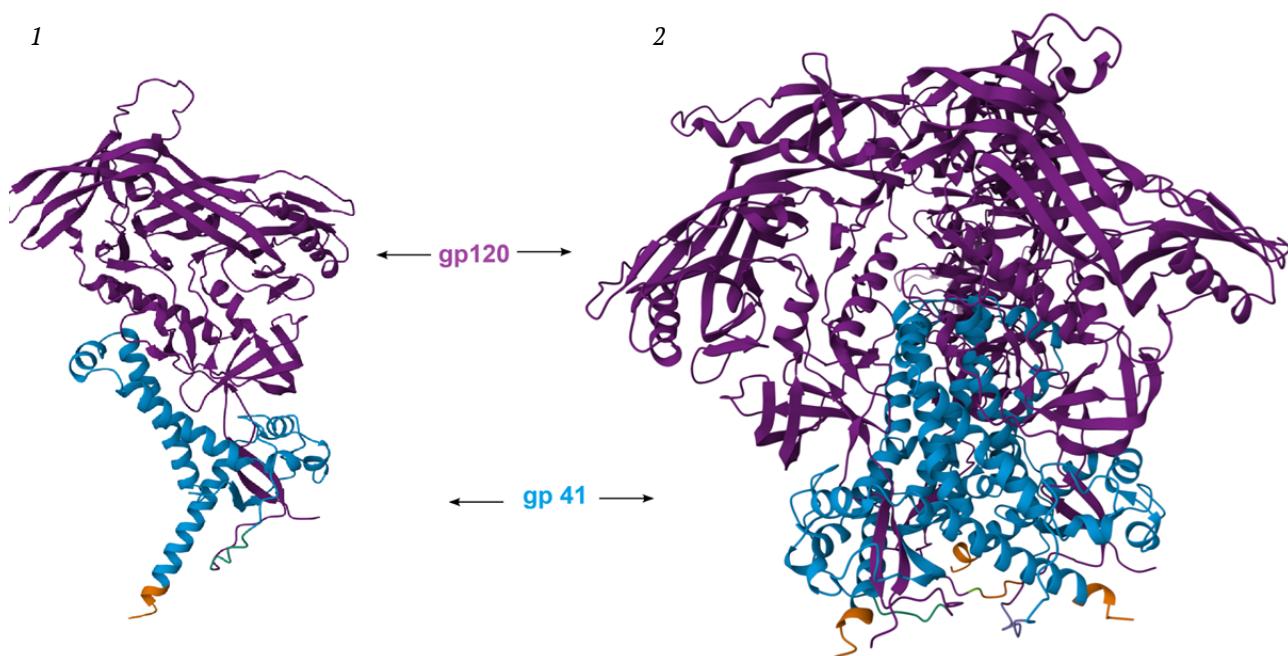
После дизайна аминокислотной последовательности стабилизированного Env-тримера ВИЧ-1 подтипа А6 была осуществлена обратная трансляция аминокислотной последовательности белка в нуклеотидную и оптимизация кодонного состава гена для экспрессии в клетках млекопитающих с использованием онлайн-инструмента Codon Adaptation Tool. После этого был проведен синтез гена коммерческой фирмой. Далее синтезированный ген клонировали в составе интегриционного плазмидного вектора для получения штамма-продуцента.

Стабильный продуцент тримера Env получали на основе клеточной линии СНО-К1. После получения поликлональной клеточной культуры СНО-К1-gp140(A6).SOSIP.664, ее использовали для наработки белка.

Очистку целевого белка осуществляли с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии. Степень очистки оценивали с помощью электрофореза в поликарбамидном геле в денатурирующих условиях. Фракции, содержащие целевой белок, дилизировали и концентрировали с использованием центрифужного концентратора на 100 кДа. Антигенные свойства тримера оценивали с помощью иммуноферментного анализа с использованием моноклональных широконейтрализующих антител к ВИЧ-1.

^{*} Исследование выполнено в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

© К. П. Макарова, Н. Б. Рудометова, Л. И. Карпенко, А. П. Рудометов, 2025



Модель стабилизированного Env-тримера ВИЧ-1 подтипа A6, полученная при помощи нейросети AlphaFold 3 colab и модуля визуализации PDB: 1 — модель мономера; 2 — модель тримера

В результате работы спроектирован и получен стабилизированный тример Env ВИЧ-1 gp140(A6).SOSIP.664 на основе консенсусной последовательности подтипа A6, циркулирующего в Российской Федерации. Дальнейшие работы будут направлены на исследовании иммуногенных свойств полученного тримера в составе белкового иммуногена, ДНК- и мРНК-вакцин. Полученная конструкция в дальнейшем может быть использована в качестве иммуногена при разработке вакцины против ВИЧ/СПИД.