

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-243

ДИЗАЙН ГЕННЫХ КОНСТРУКЦИЙ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ЭКСПОНИРОВАНИЕ АНТИГЕНА НА ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТКИ^{*}

DESIGN OF GENE CONSTRUCTS PROVIDING EXPOSE OF THE ANTIGEN ON THE CELL SURFACE

Е. Е. Буркова, И. М. Переверзев, И. А. Бахно,
К. И. Яковлева, И. С. Довыденко

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

E. E. Burkova, I. M. Pereverzev, I. A. Bakhno,
K. I. Yakovleva, I. S. Dovydenko

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

✉ burkova199102@gmail.com

Аннотация

Цитоплазматический хвост S-белка SARS-CoV-2 играет важную роль во внутриклеточном транспорте и перемещении гликопротеина к плазматической мембране. Понимание внутриклеточного транспорта S-белка и его транслокации на плазмалемму имеет важное значение для разработки мРНК вакцин, кодирующих полноразмерный S-белок. Рациональное распределение антигена в клетке может снизить дозу вводимой вакцины, что, возможно, приведет к минимизации побочных эффектов вакцин.

Abstract

The cytoplasmic tail of the S protein plays an important role in intracellular transport and translocation of the glycoprotein to the plasma membrane. Understanding the intracellular trafficking of the S protein and its translocation to the plasma membrane is essential for the development of mRNA or adenovirus vector vaccines encoding the full-length S protein. Rational distribution of the antigen in the cell is likely to reduce the vaccine dosage, thereby minimizing vaccine side effects.

В случае использования мРНК-вакцин для создания стойкого иммунитета недостаточно соблюдения таких условий, как стабильность доставляемой мРНК и высокая эффективность трансляции антигена. Также необходима высокая представленность антигена на поверхности клеток. Для некоторых вирусов не требуется дополнительной модификации мРНК антигена для экспонирования белка на поверхность, а для других белок может оказаться запертым внутри клетки. S-белок SARS-CoV-2 не исключение. В ходе созревания вирионы SARS-CoV-2 проходят через секреторный путь в ERGIC, затем через комплекс Гольджи и антероградную систему, после чего высвобождаются из клеток-хозяев. S-белок содержит сигнальную последовательность в цитоплазматическом хвосте, направляющую его в ЭПР, которая необходима для прохождения через ERGIC [1]. Поэтому основная часть S-белка задерживается во внутриклеточном пространстве. Во время COPI-ретроградного и COPII-антеградного транспорта лишь небольшая часть молекул S-белка транспортируется на поверхность клетки. Однако даже при экспрессии S-белка в отсутствии других структурных белков SARS-CoV-2 основная часть S-гликопротеина задерживается внутри клетки [2].

Принимая во внимание вышеизложенное, считаем, что важным является рациональное распределение антигена в клетке, в этом случае S-белка коронавируса SARS-CoV-2. С большой вероятностью это может позволить снизить дозу вводимой вакцины, что, возможно, приведет к минимизации побочных эффектов вакцины.

Основной целью настоящей работы являлся дизайн плазмидных конструкций, обеспечивающих заданную локализацию экспрессируемого S-белка. Дизайн включал модификации цитоплазматического домена S-белка, а также поиск последовательностей 3'-нетранслируемых областей (3'-НТО) мРНК белков, содержащих информацию о транспорте синтезируемого белка на поверхность клетки. В работе выбрана плазмидная конструкция, кодирующая слитый белок turboGFP и трансмембранный/цитоплазматический домены S-белка SARS-CoV-2 с различными модификациями цитоплазматического домена, а также различные 3'-НТО. В качестве 3'-НТО выбраны 3'-НТО мРНК различных белков (секретируемые, цитоплазматические, мембранные),

^{*} Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-24-20074 в рамках поддержанного Правительством Новосибирской области проекта № р-74).

а также вирусная 3'-НТО SARS-CoV-2. Проведена сборка генных конструкций, кодирующих слитый белок turboGFP и трансмембранный/цитоплазматический домены S-белка SARS-CoV-2, а также различные варианты 3'-НТО. На данный момент проведены первичные исследования полученных плазмидных конструкций на культуре клеток HEK293.

Литература

1. Li Q, Liu Y, Zhang L. Cytoplasmic tail determines the membrane trafficking and localization of SARS-CoV-2 spike protein // *Front Mol. Biosci.* 2022. Vol. 9. P. 1004036.
2. Cattin-Ortolá J., Welch L. G., Maslen S. L. et al. Sequences in the cytoplasmic tail of SARS-CoV-2 Spike facilitate expression at the cell surface and syncytia formation // *Nat Commun.* 2021. Vol. 12. P. 5333.