

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-антероградного транспорта лишь небольшая часть молекул S-белка транспортируется на поверхность клетки. Однако даже при экспрессии S-белка в отсутствие 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).

© Е. Е. Буркова, И. М. Переверзев, И. А. Бахно, К. И. Яковлева, И. С. Довыденко, 2025

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.