

УДК 578.2

РЕПЛИКАТИВНЫЕ СВОЙСТВА АДАПТАЦИОННЫХ МУТАНТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА ВЕЗИКУЛЯРНОГО СТОМАТИТА, НЕСУЩЕГО ГЛИКОПРОТЕИН ВИРУСА ЭБОЛА**И.А. Климкина, П.П. Голдовская, О. Попова, Д.Е. Зрелкин, О.В. Зубкова.***НИЦЭМ имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

В декабре 2013 года в Западной Африке началась вспышка болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), которая унесла более 11000 жизней. БВВЭ характеризуется тяжелой лихорадкой, сопровождающейся системным воспалением и повреждением эндотелиального клеточного барьера, что приводит к полиорганной недостаточности с высоким уровнем летальности (50 – 90 %).

РНК-содержащие вирусы, в частности вирус Эбола, имеют высокую частоту мутаций. Исследования различных мутаций в белках вируса Эбола показали, что наиболее эффективными из них, с точки зрения репликации вируса являются те, которые затрагивают его гликопротеин (GP). Возникновение мутаций в гене, кодирующем GP, изменяют рост в клеточной культуре. Изучение репликативных свойств адаптационных мутантов необходимо для прогнозирования трансмиссивности и патогенности вируса Эбола.

Рекомбинантный вирус везикулярного стоматита (rVSV), можно использовать как модельный вирус для изучения фенотипических характеристик и репликативной способности. Целью данного исследования являлось изучение корреляции между мутационной изменчивостью и репликативными свойствами рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, несущего гликопротеин вируса Эболы (VSV-GP) при культивировании на клетках линии Vero E6. Для исследования были взяты рекомбинантные вирусы rVSVs, несущие следующие мутации белка GP: G524R, T544I, H549R, D552N, G557R и R574I. Репликативные свойства оценивали по морфологии бляшек, а также скорости их роста на клетках Vero E6.

В результате проведенного исследования была выявлена корреляция между мутацией и репликативными свойствами rVSV-GP. Для всех мутантов бляшки в основном начинали формироваться через 24–48 часов после заражения и росли до 6–7 суток. По морфологическим характеристикам бляшек адаптационные мутанты можно разделить на три категории: 1) мутации, вызывающие крупные бляшки, 2) средние бляшки и 3) мелкие бляшки. Вирусы, несущие мутации G524R и H549R обладали мелкобляшечным фенотипом. Сформированные бляшки были в диаметре 1,65 и 1,59 мм соответственно. При этом у вируса с мутацией H549R они были значительно меньше, более неоднородные с нечеткими краями. rVSV несущий ген GP дикого типа давал круглые однородные бляшки среднего размера (2,05 мм) с ровными краями. Также бляшки среднего размера наблюдали у вируса, несущего мутацию R574I. Однако они были неоднородными, с четкими краями и зоной лизиса в центральной части. К адаптационным мутантам, имеющим большой размер бляшек, относятся rVSV-GP с T544I, D552N и G557R. По сравнению с диким типом фенотип бляшек заметно отличался. Они формировали достаточно крупные однородные бляшки с ровными краями и центральной зоной лизиса. Так мутант T544I формировал бляшки 2,8 мм, D552N 3,45 мм, G557R 3,1 мм.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют, что по маркерному признаку размера, а также формы бляшек есть отличия среди адаптационных мутантов.

Литература

- Dietzel E., Schudt G., Kräling V., Matrosovich M., Becker S. 2017. Functional Characterization of Adaptive Mutations during the West African Ebola Virus Outbreak. *Journal of Virology* 91:e01913–16.
- Ruedas JB, Arnold CE, Palacios G, Connor JH. 2018. Growth-adaptive mutations in the Ebola virus Makona glycoprotein alter different steps in the virus entry pathway. *J Virol* 92:e00820–18.