

**Разработка ИФА-тест системы на основе рекомбинантного антигена DBD-grG для выявления антител к вирусу бешенства в сыворотках животных.**

**Научный руководитель – Карягина Анна Станиславовна**

*Грунина Татьяна Михайловна*

*Выпускник (специалист)*

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет химико-фармацевтических технологий и биомедицинских препаратов (ХФТ), Москва, Россия

*E-mail: tatiana.grunina@yandex.ru*

Для разработки иммуноферментной тест-системы в качестве антигена использован рекомбинантный белок DBD-grG, включающий аминокислотную последовательность декстран-связывающего домена DBD из *Leuconostoc mesenteroides* и нуклеотидную последовательность гена белка гликопротеина из *Rabies lyssavirus*. Оптимизированы условия культивирования и экспрессии рекомбинантного белка в клетках *Escherichia coli*. Продукция DBD-grG составила 30% от тотального белка клетки. Используя способность декстран-связывающего домена аффинно взаимодействовать с Сефадексом (химически модифицированным декстраном), выделение и очистка белка проведена в одну стадию. Получен препарат с чистотой целевого белка более 90%.

Очищенный белок DBD-grG адсорбировали на поверхности 96-ти луночного планшета. Оптимальная концентрация белка на лунку составила 1,8 мкг. После инкубации в лунки вносили препарат белка А, конъюгированного с пероксидазой хрена. Ферментативную активность пероксидазы проявляли раствором хромогенного субстрата, реакцию останавливали 1 М раствором серной кислоты.

Для постановки ИФА использовались антирабические сыворотки 37 коров и 18 баранов, содержащие вируснейтрализующие антитела, полученные иммунизацией коммерческим препаратом. В качестве сравнения с результатами иммуноферментного анализа использовался метод флуоресцирующих антител (МФА) и реакции вируснейтрализации на мышах. Титры выражали в МЕ путём сравнения их с нейтрализующим разведением стандартной сыворотки в тех же экспериментальных условиях.

Результаты, полученные в ИФА, имели высокую (96%) корреляцию с результатами реакции вируснейтрализации с флуоресцирующими антителами и 92%-ную корреляцию с реакцией вируснейтрализации на мышах.

Таким образом, впервые синтезом в *E. coli* получен фрагмент рекомбинантного антигена вируса бешенства, обладающий способностью специфически взаимодействовать с иммунными сыворотками животных. На основе полученного антигена разработана эффективная ИФА тест-система для определения уровня антител у вакцинированных против бешенства животных. Разработанную систему можно использовать как быстрый скрининговый тест для оценки эффективности вакцинации (длительность анализа - около 4<sup>х</sup> часов), для проведения которого не требуется живой вирус бешенства.