

**Разработка и получение рекомбинантных конструкций для обратной генетики
рабдовирусов, кодирующих рецептор CD4 и корецептор CCR5 или CXCR4**

Научный руководитель – Иматдинов Ильназ Рамисович

Бочкарева Мария Дмитриевна

Студент (специалист)

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,

Новосибирск, Россия

E-mail: mary27111997@mail.ru

Современные методы терапии ВИЧ-инфекции подавляют циркулирующий вирус, блокируя один или несколько этапов цикла развития ВИЧ, но они не затрагивают неактивный резервуар в клетках. Внедрение антиретровирусной терапии привело к снижению заболеваемости и смертности, но за последние годы в некоторых странах был достигнут показатель распространенности резистентности ВИЧ-1 к лекарственным препаратам более 10% [2].

Использование вирусных платформ, селективно связывающихся с клетками, экспонирующими на своей поверхности гликопротеин ВИЧ, может стать альтернативным подходом таргетного лизиса инфицированных клеток. Ранее было показано, что растворимые формы CD4 могут полностью блокировать инфекционность ВИЧ и образование синцитиев *in vitro*, что защищает Т-клеточный иммунитет [3].

Для проникновения в клетку, гликопротеин оболочки ВИЧ gp120 связывается с первичным клеточным рецептором CD4, а затем с одним из клеточных корецепторов - CCR5 или CXCR4. Это последовательное связывание запускает слияние мембран вируса и клетки-хозяина, иницируя инфекцию. Хотя оба варианта R5 и X4 ВИЧ-1 присутствуют в жидкостях организма, R5 ВИЧ-1, по-видимому, доминирует на ранних стадиях заболевания, тогда как варианты X4 характерны для поздних стадий [1].

Целью данной работы являлась разработка и получение генетических конструкций, кодирующих гены рецептора и корецепторов, способных связываться с поверхностным гликопротеином ВИЧ-1. Рекомбинантный вирус, не имеющий других поверхностных структур кроме CD4 и одного из корецепторов, вероятно, за счет поверхностного gp120 будет способен проникнуть только в инфицированные клетки.

В связи с этим был проведен анализ штаммов и изолятов ВИЧ-1, актуальных для РФ. Проведен дизайн олигонуклеотидных праймеров и генетических конструкций, необходимых для получения рекомбинантного рабдовируса, способного реплицироваться только за счет ВИЧ-инфицированных клеток.

Было проведено выделение тотальной РНК из лейкоцитарной фракции здорового донора, после оптимизации условий ОТ и ПЦР проведена амплификация открытых рамок считывания требуемых изоформ рецепторов и корецепторов. Полученные ампликоны генов CD4, CCR5, CXCR4 направлены клонированы в акцепторные векторы для обратной генетики рабдовируса.

В результате проделанной работы получены две конструкции, кодирующие химерный ген рецептора CD4, слитого через Р2А пептид с флуоресцентным белком mNeonGreen, и одного из корецепторов CCR5 или CXCR4. Корректность нуклеотидных последовательностей подтверждена секвенированием по Сэнгеру.

Источники и литература

- 1) Alkhatib G. The biology of CCR5 and CXCR4 //Current Opinion in HIV and AIDS. – 2009. – Т. 4. – №. 2. – С. 96.
- 2) Günthard H. F. et al. Human immunodeficiency virus drug resistance: 2018 recommendations of the International Antiviral Society–USA panel //Clinical Infectious Diseases. – 2019. – Т. 68. – №. 2. – С. 177-187.
- 3) Lifson J. D., Engleman E. G. Role of CD4 in normal immunity and HIV infection //Immunological reviews. – 1989. – Т. 109. – №. 1. – С. 93-117