

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-249

БЕЛОК NS1 ВИРУСА ОМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ: РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ***OMSK HEMORRHAGIC FEVER VIRUS NS1 PROTEIN: ROLE IN PATHOGENESIS**Б. И. Кравчук¹, Я. А. Хлусевич¹, Г. С. Чичерина², Н. В. Тикунова¹, А. А. Кечин¹, А. Л. Матвеев¹¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск²Институт систематики и экологии животных СО РАН, НовосибирскB. I. Kravchuk¹, Ya. A. Khlusevich¹, G. S. Chicherina², N. V. Tikunova¹, A. A. Kechin¹, A. L. Matveev¹¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk²Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, Novosibirsk

✉ bogdakravchuk@gmail.com

Аннотация

Роль белка NS1 флавивирусов, переносимых клещами, в патогенезе заболеваний мало изучена. Кроме того, отсутствуют данные о кросс-реактивности антител против белков NS1 различных вирусов из группы вируса клещевого энцефалита. Эти данные имеют особый интерес для мониторинга вирусных энцефалитов с неизвестной этиологией и изучения патогенеза пренебрегаемых флавивирусных инфекций, переносимых клещами.

Abstract

The role of the NS1 protein of tick-borne flaviviruses in disease pathogenesis is poorly investigated. In addition, there are no data on cross-reactivity of antibodies against NS1 proteins of different viruses from the tick-borne encephalitis virus group. These data are of particular interest for the monitoring of viral encephalitis with unknown etiology and studying the pathogenesis of the of neglected flavivirus infections carried by ticks.

Омская геморрагическая лихорадка (ОГЛ) — зоонозное инфекционное заболевание, которое вызывается вирусом омской геморрагической лихорадки (ВОГЛ, *Orthoflavivirus omskense*), содержащим одноцепочечный (+) РНК-геном. В течение инкубационного периода у инфицированных людей развиваются неспецифические гриппоподобные симптомы, за которыми следует появление первичных специфических симптомов. Диагностика этой инфекции является симптоматической, и в случае отсутствия геморрагических проявлений данная патология остается не диагностируемой.

Для диагностики ВОГЛ, как и для других флавивирусов, использование молекулярно-генетических методов ограничено из-за особенностей жизненного цикла этих вирусов в организме человека. В связи с этим диагностика ОГЛ основана на клинических признаках, а наличие кросс-реактивности между антителами против белка Е вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и ВОГЛ исключает использование существующих серологических наборов для дифференциальной диагностики этих заболеваний. В настоящее время показано, что наиболее подходящим агентом для дифференциальной серологической диагностики флавивирусов является неструктурный белок NS1 — высококонсервативный белок, присутствующий в организме во время инфекции в разных формах. Он является одним из ключевых элементов патогенеза флавивирусов, переносимых комарами, вызывающих лихорадку денге и лихорадку Западного Нила. Однако роль этого белка в патогенезе флавивирусов, переносимых клещами, не до конца изучена.

В связи с этим целью данного исследования было получение рекомбинантного белка NS1 ВОГЛ, изучение его антигенных свойств и его влияния на проницаемость клеток эндотелия человека.

В результате работы были получены плазмиды, обеспечивающие экспрессию белка NS1 ВОГЛ, и препараты очищенного белка NS1 ВОГЛ. Методами вестерн-блот-анализа и ИФА с использованием полученного белка NS1 ВОГЛ было показано, что моноклональные антитела против NS1 ВКЭ выявляли белок NS1 ВКЭ, но не выявляли белок NS1 ВОГЛ. Иммуная сыворотка, полученная от инфицированных ВОГЛ мышей, выявляла полученный белок. Поскольку моноклональные антитела не выявили NS1 ВОГЛ, нами были исследованы сыворотки, полученные от больных КЭ, на наличие антител к NS1 ВОГЛ. Специфичность ИФА с использованием рекомбинантного белка NS1 ВОГЛ для дифференциальной диагностики КЭ и ОГЛ составила не менее 90 %.

* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 22-74-10103).

© Б. И. Кравчук, Я. А. Хлусевич, Г. С. Чичерина, Н. В. Тикунова, А. А. Кечин, А. Л. Матвеев, 2024

Для изучения влияния на проницаемость эндотелия капилляров легкого (HLMVEC) и клеток капилляров пуповины (HUVEC) использовали анализ трансэндотелиального электрического сопротивления (TEER), в результате которого было показано уменьшение сопротивления клеточного монослоя, обработанного белком NS1 ВОГЛ. Полученные результаты были подтверждены с использованием Transwell permeability теста.

Для поиска вероятных механизмов влияния белка NS1 ВОГЛ на проницаемость эндотелия и определения роли этого белка в патогенезе было проведено секвенирование транскриптома клеток HLMVEC после инкубации с этим белком. Полученные данные РНК-секвенирования были обработаны стандартными биоинформатическими инструментами. Данные указывают на активацию путей, ответственных за клеточную адгезию и кальций-зависимое соединение клеток в тканях организма.

Таким образом, в данной работе впервые был получен рекомбинантный белок NS1 ВОГЛ, который сохраняет антигенные свойства, сходные с нативным белком NS1 ВОГЛ. Впервые показано, отсутствие кросс-реактивности у моноклональных антител против NS1 ВКЭ к белку NS1 ВОГЛ. Показано, что в сыворотках пациентов с КЭ, содержащих антитела к белку NS1 ВКЭ, не были обнаружены кросс-реактивные антитела к белку NS1 ВОГЛ. Также было показано, что белок NS1 ВОГЛ увеличивает проницаемость двух разных линий клеток эндотелия человека. С помощью RNA-seq был предсказан вероятный механизм участия белка NS1 ВОГЛ в патогенезе.