

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-245

ПОЛУЧЕНИЕ МРНК-КОНСТРУКЦИЙ, КОДИРУЮЩИХ АНТИТЕЛА К ВИРУСУ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА *

PRODUCTION OF mRNA CONSTRUCTS ENCODING ANTIBODIES AGAINST TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS

Д. И. Вахитов, Д. Н. Кисаков, Л. И. Карпенко

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

D. I. Vahitov, D. N. Kisakov, L. I. Karpenko

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo

✉ danilvahitov2001@mail.ru

Аннотация

Проблема распространения вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и ограниченная эффективность серопрофилактики требуют новых подходов. В работе представлены результаты по получению мРНК-конструкций, кодирующих вируснейтрализующие антитела к ВКЭ. Конструкции спроектированы *in silico* с использованием комплекса биоинформационных методов, синтезированы *in vitro* и верифицированы.

Abstract

The problem of the spread of the tick-borne encephalitis virus (TBEV) and the limited effectiveness of seroprophylaxis require new approaches. This paper presents the results of obtaining mRNA constructs encoding virus neutralizing antibodies to TBEV. The structures were designed *in silico* using a set of bioinformatic methods, synthesized *in vitro* and verified.

На протяжении последних двадцати лет климатические и антропогенные факторы привели к значительным изменениям ареала вируса клещевого энцефалита. Это способствует распространению переносчиков в новые регионы, включая ранее незатронутые территории. Особую угрозу представляет экспансия дальневосточного и сибирского субтипов ВКЭ в европейскую часть России, традиционно эндемичную для менее патогенного европейского субтипа, что приводит к более тяжелому течению заболевания с серьезными осложнениями. Единственным методом экстренной профилактики остается введение донорской сыворотки, содержащей специфические иммуноглобулины против вируса клещевого энцефалита. Ввиду ограниченной эффективности такой профилактики и недостаточностью донорской крови для получения препарата интерес к терапевтическим антителам значительно возрос. Успех мРНК-вакцин против COVID-19 стимулировал применение этой технологии для терапии различных заболеваний, открывая новые перспективы для разработки и доставки антител.

Целью работы являлась разработка *in silico* и создание генетических конструкций мРНК, кодирующих вируснейтрализующие терапевтические антитела против вируса ВКЭ.

Для достижения цели использовали комплекс биоинформационных методов: моделирование трехмерной структуры антител (RosettaAntibody v3, ABodyBuilder v2, AlphaFold v3) для анализа структурных особенностей; молекулярный докинг (AutoDock Vina v1.1.2) и расчет свободной энергии связывания (MM/GBSA) для оценки аффинности и стабильности комплекса антитело-антigen; проверку молекулярной динамики с помощью GROMACS v2025.0; проверку на Т-клеточные эпитопы (NetMHCIIpan v4.0); анализ гомологии с человеческими белками (BLAST/UniProt); оценку физико-химических свойств (Aggrescan v2.0, TANGO, CamSol, ProtParam). Генетические конструкции разработали в SnapGene (v8.0.0), а их кодоновый состав оптимизировали с помощью JCAT.

Разработаны три варианта конструкций: (I) коктейль, состоящий из 4 мРНК, кодирующих тяжелую и легкую цепь двух МКА T025 и T028; (II) биспецифические одноцепочечные антитела, кодирующие вариабельные участки через линкер; (III) CrossMab^{CH1-CL}, кодирующие модифицированные IgG, содержащие сразу два вариабельных участка разных антител (T025 и T028). Этот подход позволяет одновременно нацелить антитело на два эпитопа вируса клещевого энцефалита, что потенциально повышает эффективность нейтрализации и снижает сложности при дизайне мРНК-конструкций.

* Исследование выполнено в рамках государственного задания Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора.

Был произведен синтез вариабельных участков антител и получены ДНК-матрицы для синтеза мРНК. Подтверждение последовательности матрицы осуществляли с помощью рестрикционного анализа и секвенирования по методу Сенгера. Линеаризованные ДНК-матрицы транскрибировали *in vitro*, полученные мРНК анализировали электрофорезом в агарозном геле. В результате работы были смоделированы и сконструированы мРНК-конструкции, биологическая специфичность которых будет исследована на мышах, зараженных ВКЭ.