

Белковые антигены для оценки подлинности вакцины чумной трехкомпонентной/Protein antigens for assessing the authenticity of the three-component plague vaccine

Мазурина Е.М. /Mazurina E.M.

Копылов П.Х., Вагайская А.С., Трунякова А.С., Иванов С.А., Дентовская С.В./
Kopylov P.Kh., Vagaiskaya A.S., Trunyakova A.S., Ivanov S.A., Dentovskaya S.V.

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация /State Research Center for Applied Microbiology and
Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Введение

Реальность пандемических угроз бросает вызов человечеству, поэтому использование вакцинных препаратов остается одной из наиболее эффективных мер по охране общественного здоровья. Чума по-прежнему является эндемичной во многих регионах мира. Разработка противочумных вакцин продолжается, часть из них находятся на фазе доклинических и клинических испытаний, однако общепризнанный вакцинный препарат до сих пор не лицензирован.

Цель

Оценка подлинности антигенного состава прототипа вакцины чумной трехкомпонентной (ВЧТК), включающей бактериальные тени бесплазмидного аттенуированного штамма *Yersinia pestis* KM260(12) Δ lpxM/pEYR'-E-Y-K и иммунодоминантные антигены чумного микроба – капсульный антиген F1 (Caf1) и V антиген (LcrV).

Материалы и методы

Количество общего белка в препаратах ВЧТК определяли по общепринятым методам. Подлинность трех антигенных компонентов препарата оценили методом вертикального электрофореза в ДСН-ПААГ [2] с подтверждением молекулярных масс и доминантных белков клеточной оболочки, в иммуноблоте [3] с сывороткой переболевших чумой морских свинок, с МКАТ к V антигену, а также с помощью коммерческой «ИХ тест-системы *Y. pestis*» (ФБУН ГНЦПМБ, Оболенск).

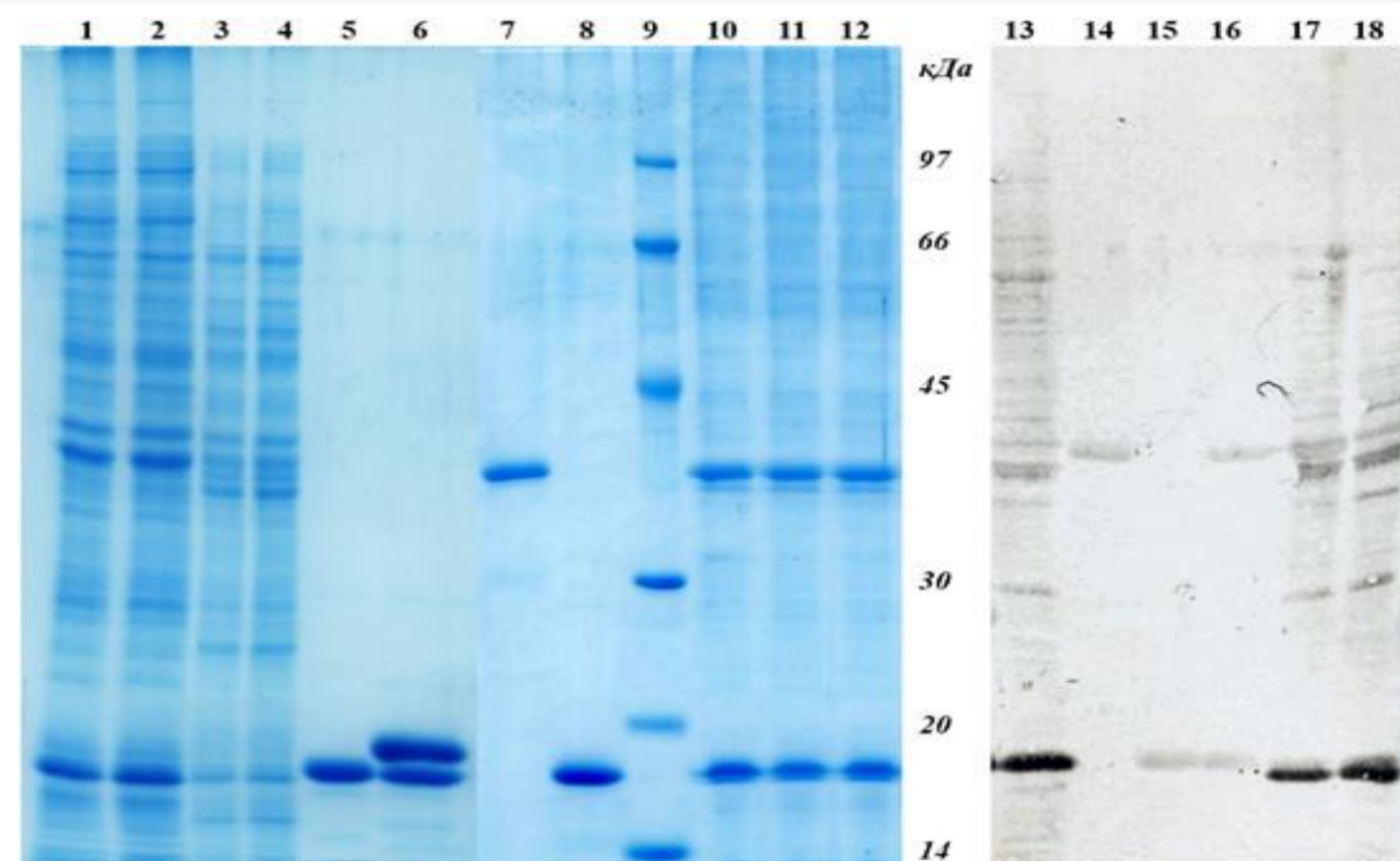
Результаты

Количество общего белка, определенное методом Лоури, соответствовало содержанию белковых компонентов ВЧТК.

Таблица 1. Содержание антигенов и общего белка в препаратах ВЧТК (серии 1-3)

Вакцина	V (LcrV), мкг/флакон	F1+AilC, мкг/флакон	Общий белок, мкг/ флакон
Серия 1	107,4	256,3	1570
Серия 2	106,3	258,9	1510
Серия 3	105,8	247,4	1490

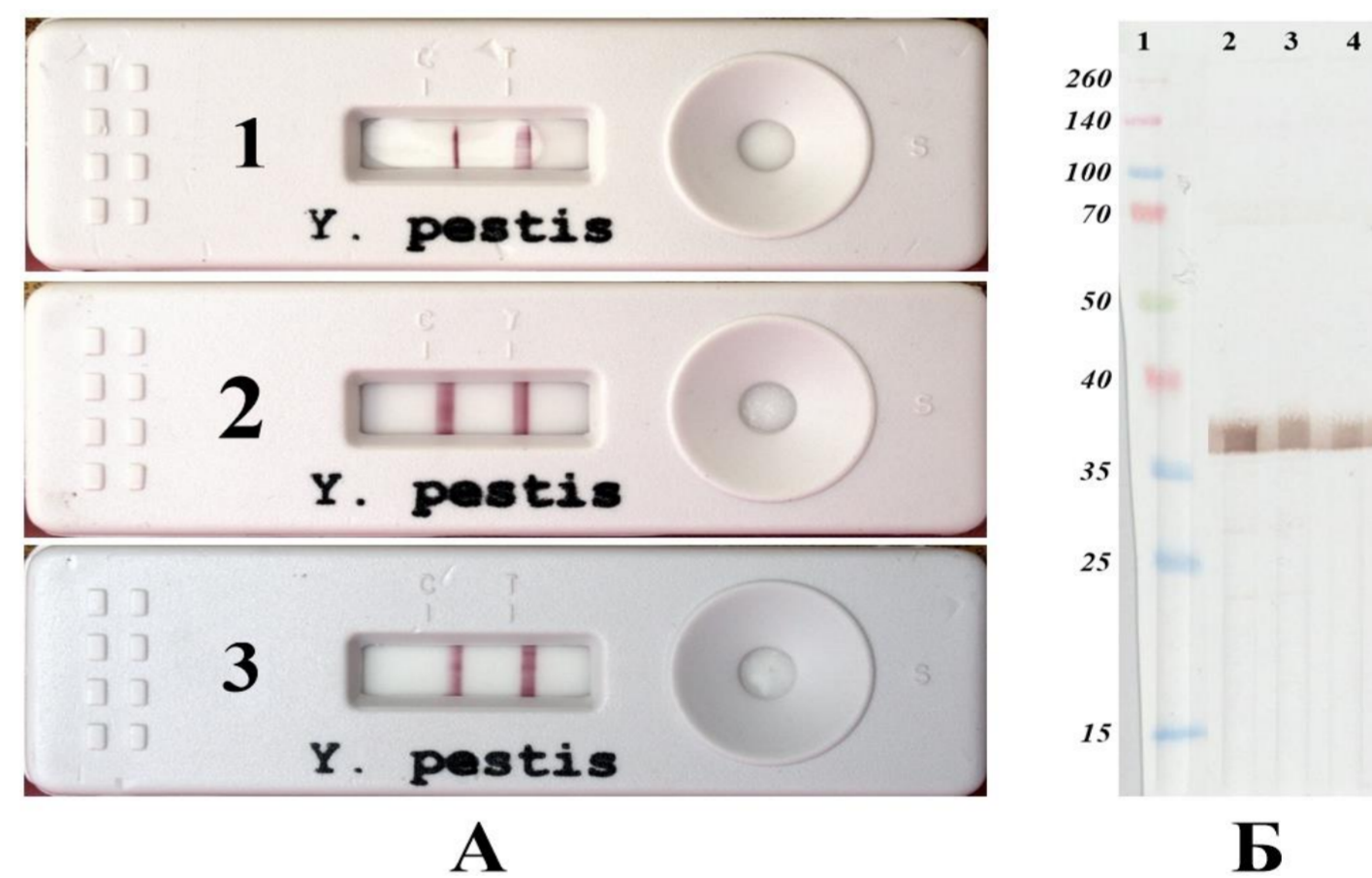
Бактериальные тени на электрофореграммах были представлены широким набором окрашенных полос различной интенсивности, некоторые из которых преобладали. Критерием подлинности характеризуемого при помощи ДСН-ПААГ электрофореза препарата БТ является фактическое наличие и совпадение совокупности выбранных белковых полос. Установлено соответствие профилей белков штамма *Y. pestis* KM260(12) Δ lpxM/pEYR'-E-Y-K, используемого для наработки бактериальных теней, и полученных препаратов бактериальных теней. По данным ДСН-ПААГ электрофореза молекулярная масса добавленных иммунодоминантных белков чумного микроба соответствовала расчетным показателям и составляла около 37 кДа для V антигена и около 17,7 кДа для F1 антигена.



1, 2, 13 — бактериальные тени; 3, 4 — лизаты клеток штамма KM260(12) Δ lpxM/pEYR'-E-Y-K; 5 — белок AilC; 6 — смесь белков AilC и F1; 7, 14 — белок LcrV, 8, 15 — белок F1, 9 — маркеры молекулярных масс LMW (Cytiva); 16, 17 - смесь белков LcrV и F1, 10, 11, 12, 17, 18 — прототип ВЧТК

Рисунок 1 - Электрофорез (А) и иммуноблот (Б) препаратов прототипа ВЧТК, бактериальных теней и рекомбинантных антигенов

Дополнительно для качественной и количественной оценки капсульного антигена в составе препарата ВЧТК использовали коммерческую «ИХ тест-систему *Y. pestis*», позволяющую выявлять F1 антиген в водных растворах в концентрации 0,01 мкг/мл и выше, а также для качественной и количественной оценки V антигена провели иммуноблот препарата ВЧТК с моноклональными антителами против данного белка.



А — определение F1 антигена при помощи тест-полосок; Б — определение V антигена при помощи иммуноблота; 1 — маркеры молекулярных масс, 2 — препарат 1 серии, 3 — препарат 2 серии, 3 — препарат 3 серии.

Рисунок 1 - Иммунохимический метод контроля рекомбинантных F1 (А) и V (Б) антигенов в составе препарата ВЧТК с МКАТ

Выводы

Предложены подходы к установлению подлинности антигенных компонентов вакцины чумной трехкомпонентной.

Библиография

- Копылов, П.Х., Современные требования к чумным вакцинам / П.Х. Копылов, А.П. Анисимов // Бактериология. – 2019. – Т. 4. – №. 4. – С. 42-46.
- Остерман, Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот / Л.А. Остерман // М.: Наука, 1981. – 288 с.
- Towbin, H. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications / H. Towbin, T. Staehelin, J. Gordon // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1979. – Vol. 76. – No. 9. – P. 4350-4354.

