

Аннотация

научной-квалификационной работы аспиранта Шарабрина Сергея Валерьевича

Тема научно-квалификационной работы (диссертации) Разработка экспериментальной мРНК вакцины против вируса гриппа

Направление подготовки: 06.06.01 – Биологические науки

Профиль подготовки: молекулярная биология

Научный руководитель: ученая степень, ученое звание Доктор биол.наук, доцент

Карпенко Л.И

Цель научной работы заключалась в разработке протокола синтеза мРНК *in vitro* с использованием отечественных реактивов и получение экспериментальной мРНК вакцины против вируса гриппа H1N1.

Методы проведенных исследований: для достижения результатов использовались молекулярно-биологические методы (клонирование ДНК в бактериальных клетках, ПЦР, электрофорез в агарозном геле, синтез мРНК *in vitro*, дот-блот анализ, капиллярный электрофорез, трансфекция клеточных культур), иммунологические методы (ИФА, ELISPOT).

Основные результаты научного исследования (научные, практические):

1) Разработан протокол для лабораторного получения мРНК на основе отечественной реагентной базы с использованием котранскрипционного способа кэпирования и полиаденилирования с использованием AG-сар аналога и встроенного в матрицу поли(А)-хвоста. Показано, что мРНК-GFP, полученная по данному протоколу, обеспечивает такой же уровень синтеза белка, как и мРНК, полученная ферментативным методом, с использованием коммерческих наборов.

2) Получены ДНК-матрицы – кассеты, содержащие нетранслируемые области α - и β -глобина человека и позволяющие клонировать в их составе разные целевые гены. С использованием сконструированных матриц получены мРНК-GFP, которые обеспечивали высокий уровень синтеза белка GFP в трансфицированных клетках HEK293.

3) Показано, что метод очистки на целлюлозе позволяет получить препарат мРНК свободный от примесей дцРНК. Очищенный препарат мРНК не содержит примесей, выявляемых антителами к дцРНК, не индуцирует повышенный выброс IFN- α при введении

лабораторным животным, не вызывает активацию воспалительного маркера лимфоцитов CD69+ мышей.

4) Получена экспериментальная мРНК вакцина, кодирующая белок гемагглютинаина гриппа H1N1, и содержащая последовательности β -глобина в качестве 5'- и 3'-нетранслируемых областей. Показано, что иммунизация мышей линии BALB/C вызывает индукцию специфических антител, обладающих вируснейтрализующей активностью, и обеспечивает 60% защиту животных от летального заражения вирусом гриппа H1N1.

Наличие документа об использовании научных результатов (при наличии): патент РФ № 2754230 Карпенко Л.И., Рудометов А.П., Шарабрин С.В., Волосникова Е.А., Щербаков Д.Н., Ильичев А.А. и др. Плазмидная ДНК-матрица pVAX-RBD, молекул мРНК-RBD, полученная с использованием ДНК-матрицы pVAX-RBD, обеспечивающая синтез и секрецию белка RBD SARS-CoV 2 в клетках организма млекопитающих и комплекс в виде наночастиц, содержащих молекулы мРНК-RBD, индуцирующих SARS-CoV-специфические антитела, обладающие вируснейтрализующей активностью.