

Активация модифицированной прокаспазы-3 свиньи протеазой S273R вируса АЧС в клетках млекопитающих

Научный руководитель – Холод Наталья Степановна

Пересадина Арина Валерьевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биотехнологический факультет, Москва, Россия

E-mail: peresadina.arina@gmail.com

Африканская чума свиней (АЧС) является опасным инфекционным заболеванием домашних и диких свиней. АЧС приводит к высокой смертности животных, достигающей 100%, а также к серьезным экономическим последствиям. На сегодняшний день отсутствуют эффективные методы профилактики и лечения АЧС. Возбудитель болезни - ДНК содержащий вирус семейства *Asfarviridae*, в первую очередь поражающий макрофаги животных[3,4]. Вирион состоит более чем из 30 белков, включая цистеиновую протеазу S273R. Известно, что протеаза вируса ответственна за процессинг важных структурных полипротеинов, соответственно, она играет важную роль в жизненном цикле вируса АЧС[1]. Главная цель данной работы - вовлечение протеазы S273R в процесс индукции апоптоза на ранней стадии инфекции путем активации каспазы-3, ключевого фермента программируемой клеточной гибели. Изначально в клетке каспаза-3 синтезируется в качестве предшественника-прокаспазы, активация которой происходит путем ограниченного протеолиза в линкере между большой и малой субъединицами, а также отщепления N-концевого пептида[2]. Следовательно, введение сайта протеазы вируса АЧС между большой и малой субъединицей может привести к процессингу и активации прокаспазы-3.

На первой стадии данного исследования были получены несколько вариантов модифицированной прокаспазы-3 с сайтами протеазы вируса АЧС, а также получены очищенные образцы прокаспазы-3 и изучены их процессинг и активация протеазой S273R *in vitro*. В результате были отобраны варианты прокаспазы-3, эффективно активирующиеся протеазой вируса. Следующим этапом было создание конструкторов, содержащих кДНК отобранных прокаспаз, для их экспрессии в клетках млекопитающих. В данной работе мы проанализировали процессинг и активацию модифицированных форм прокаспазы-3 рекомбинантной протеазой S273R в лизатах клеток млекопитающих. Было выяснено, что протеаза вируса АЧС способна расщеплять модифицированную прокаспазу -3 по сайту в междоменном линкере, что приводит к ее активации в клеточных лизатах более чем в десять раз.

Данное исследование - основа для дальнейшего изучения способности протеазы S273R активировать модифицированную прокаспазу-3 во время вирусной инфекции и инициировать апоптоз в клетках млекопитающих.

Источники и литература

- 1) Andre´s G., Alejo A., Simon-Mateo C., and Salas M. African Swine Fever Virus Protease, a New Viral Member of the SUMO-1-specific Protease Family// The journal of biological chemistry 2000, p. 780–787
- 2) Boatright K. and Salvesen G. Mechanisms of caspase activation// Current Opinion in Cell Biology 2003,15,725–731

- 3) Galindo I. and Alonso C. African Swine Fever Virus: A Review// *Viruses* 2017, 9, 103;
Dixon L. and Graham S.
- 4) Munoz-Moreno R., Galindo I., Cuesta-Geijo M., Barrado-Gil L., Alonso C. Host cell targets
for African swine fever virus // *Virus Research* 2015 p.118–127