НИИ гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии РЦГЭиОЗ

Международная научно-практическая конференция «Здоровье и окружающая среда», 5-6.12.2024

Секция «ХНИЗ: эпидемиология, факторы риска, стратегии профилактики»

Генетическая вариабельность главного аллергена пыльцы березы Bet v 1

Пархомчук О.Ю., Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е.
ГУ РЦГЭиОЗ, г. Минск, Республика Беларусь

Актуальность

Пыльца березы является одной из основных причин сезонных аллергических реакций I типа. Bet v 1, главный аллерген пыльцы березы, провоцирует IgE-опосредованный иммунный ответ у более чем 90% людей с данным видом аллергии.

Цель исследования

Изучение репертуара изоформ аллергена Bet v 1 в пыльце берез (Betula pendula), произрастающих на территории Республики Беларусь; получение рекомбинантного полипептида Bet v 1 (наиболее распространённой изоформы) в прокариотических клетках E. coli, штамм BL21 (DE3); подтверждение антигенной специфичности полученного белка.

Материалы и методы исследования

- Сбор пыльцы берёзы повислой на территории Республики Беларусь
- Выделение РНК из растительной клетки
- Получение амплифицированной копии гена (ОТ-ПЦР)
- Выделение отдельной копии гена (клонирование в плазмиду pJET)
- Определение спектра эндемичных изоформ (секвенирование по методу Сэнгера)
- Переклонирование специфического фрагмента гена, кодирующего наиболее распространённую изоформу, в экспрессирующий вектор pJC40
- Отбор гибридной плазмиды (рестрикционный анализ)
- Трансформация бактериальных клеток E. coli штамм BL21(DE3)
- Индукция биосинтеза целевого белка
- Очистка рекомбинантного полипептида методом металл-хелатной хроматографии
- Анализ полученного рекомбинантного белка в полиакриламидном геле
- Определение антигенной специфичности полученного полипептида с использованием иммуноферментного лиа-теста

Рис. 1. Общая схема экспериментов

Выводы

31 уникальная последовательность с установленными аминокислотными заменами представлена в GenBank (коды доступа PP639721, PP663111 – PP6663140). Получен рекомбинантный полипептид Bet v 1.0101, антигенная специфичность которого подтверждена в разработанном иммуноферментном лиа-тесте.

Результаты

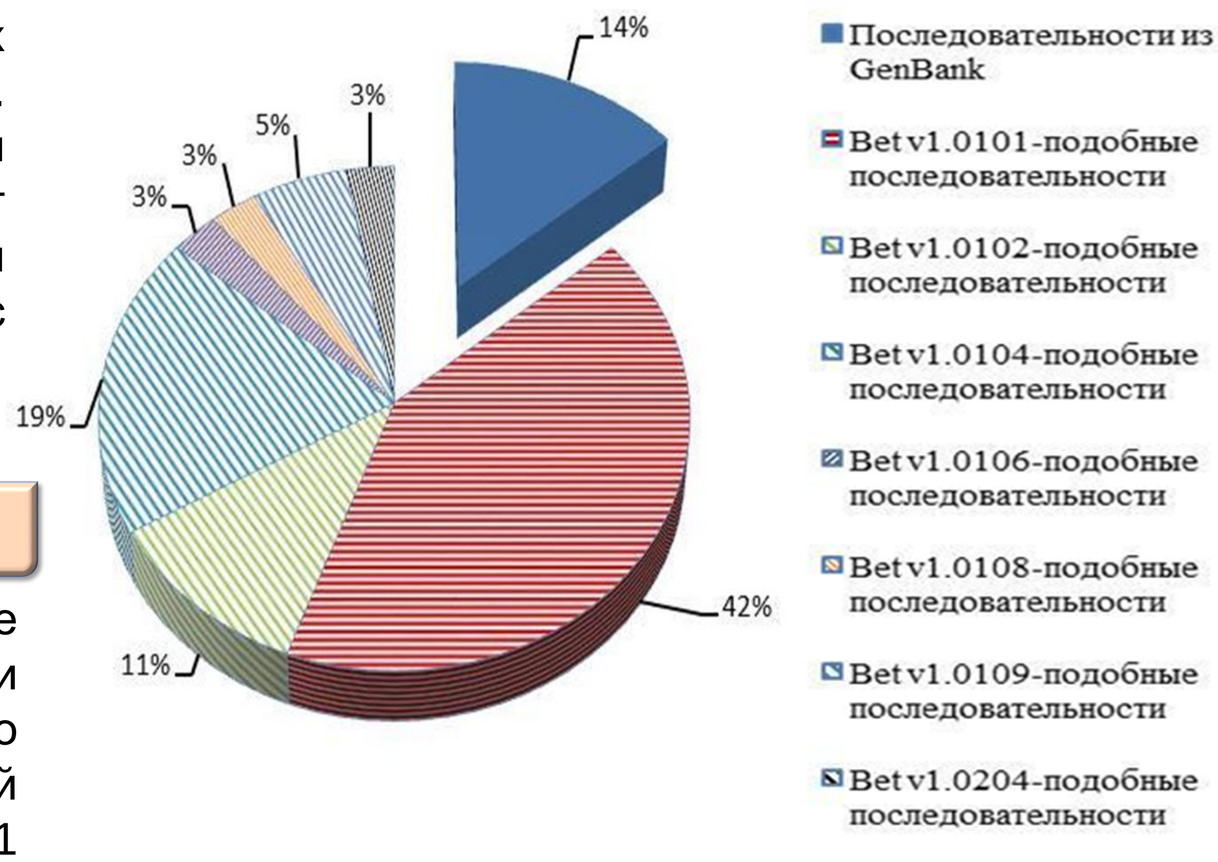


Рис. 2. Структура спектра изоформ Bet v 1

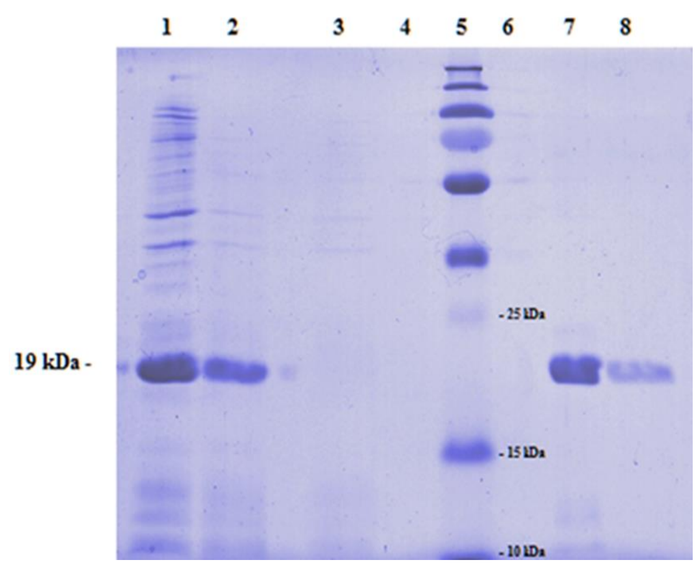


Рис. 3. Электрофоретический анализ фракций металл-хелатной хроматографии рекомбинантного полипептида Bet v 1.0101

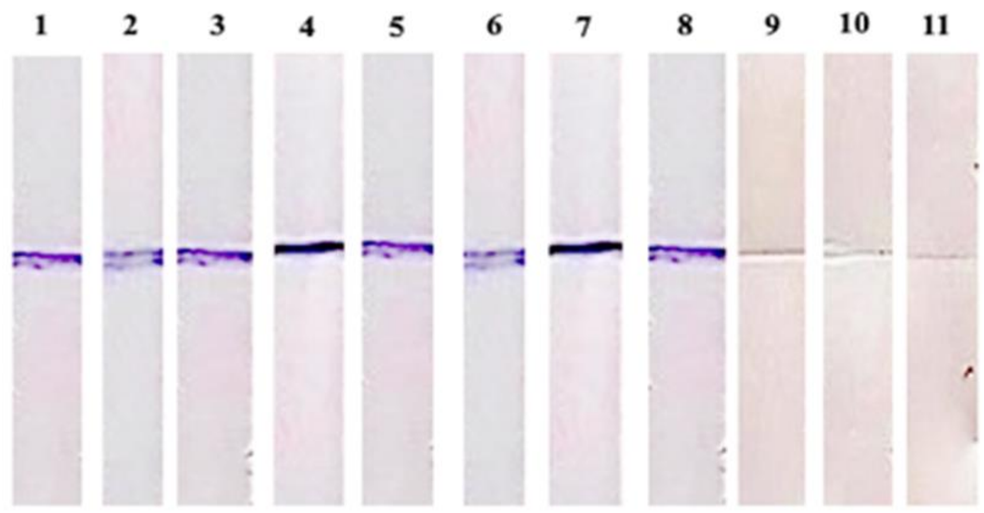
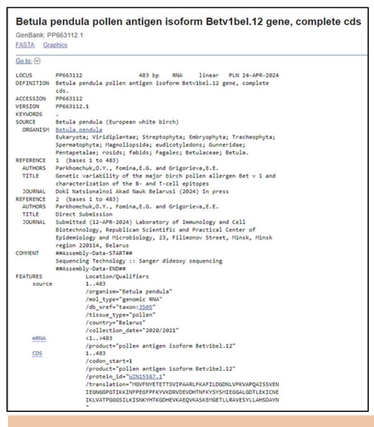
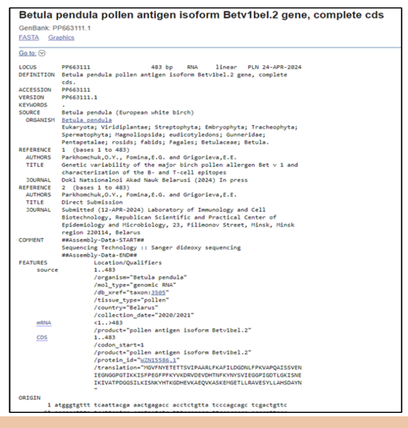


Рис. 4. Оценка антигенной специфичности рекомбинантного полипептида Bet v 1.0101





Переписка: olgaparhom4uk@mail.ru