

УДК 619:616-07

РОЛЬ RAB5 ГТФАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ NLRP3 СИГНАЛЬНОГО ПУТИ ПРИ ХАНТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

*Ворона К.А., студент 3 курса кафедры генетики,
voronachristina@yandex.ru*

*Научный руководитель – Гаранина Е.Е., кандидат
биологических наук, старший преподаватель
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань*

Ключевые слова: хантавирусная инфекция, Rab-белки, эндосомы, NLRP3 инфламмасома, SNV.

Данная работа посвящена исследованию роли эндосомальных белков в активации NLRP3 инфламмасомы при хантавирусной инфекции. В результате исследований было обнаружено, что ингибирование активности белков ранних эндосом приводит к снижению активации белка NLRP3, а также секреции IL-18 in vitro. Полученные результаты указывают на непосредственную роль эндосом в регуляции NLRP3-сигналинга при хантавирусной инфекции.

Введение. Хантавирусная инфекция представляет собой острую респираторную зоонозную инфекцию, распространенную во всем мире. Возбудителями этой инфекции являются представители порядка *Bunyavirales* - хантавирусы. Данные вирусы вызывают тяжелые клинические синдромы: геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС) и хантавирусный легочный синдром (ХЛС) [1]. ГЛПС имеет самый высокий уровень заболеваемости среди всех зарегистрированных зоонозных вирусных заболеваний в России. В 2000-2017 годах в 68 из 85 административных регионов России было зарегистрировано 131 590 случаев ГЛПС [2]. Это свидетельствует о значительном росте заболеваемости хантавирусной инфекцией при отсутствии эффективных методов лечения.

В недавних исследованиях, было показано, что транспортировка хантавирусов внутрь клетки и передвижение вирусных частиц внутри компартментов клеток осуществляется с помощью белков эндосом - Rab ГТФаз [3]. В данном исследовании мы сосредоточили внимание на роли Rab ГТФаз в активации NLRP3 инфламмасом.

Инфламмасома NLRP3 – это мультипротеиновый комплекс, компонент врожденной иммунной системы, который регулирует иммунные реакции в организме в ответ на инфекцию и повреждение клеток посредством активации каспазы-1 и секреции про-воспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18 [4]. Существуют многие доказательства того, что инфламмасома участвует в возникновении иммунного ответа при хантавирусной инфекции. Однако достоверно неизвестны молекулярные механизмы ее активации в ответ на проникновение хантавирусов в клетку. Поэтому изучение сигнальных путей активации NLRP3 является актуальной проблемой в настоящее время.

Целью работы стало установление влияния Rab5 ГТФазы на активацию NLRP3 сигнального пути при хантавирусной инфекции.

Материалы и методы. В работе использовали клеточную линию A549, которая является модельным объектом для изучения патогенеза хантавирусной инфекции *in vitro*. Клетки были трансфецированы плазмидами DsRed-Rab5 WT и DsRed-Rab 5DN и трансдуцированы рекомбинантным лентивирусом LV-SNV-S. Для оценки экспрессии нуклеокапсидного белка хантавируса и NLRP3 белка инфламмасом проводился вестерн-блот через 24 и 48 часов после трансдукции вирусом. Для оценки активности IL-18 при активации NLRP3 инфламмасом, вызванной хантавирусной инфекцией, проводили иммуноферментный анализ супернатантов клеток.

Результаты и их обсуждение. При анализе результатов вестерн-блота было установлено, что при подавлении эндосомального транспорта в результате экспрессии доминантно-негативной мутантной формы белка Rab5, происходит снижение экспрессии нуклеокапсидного белка хантавируса и NLRP3 белка инфламмасом (рис. 1).

В ходе иммуноферментного анализа супернатантов клеток было обнаружено, что хантавирусная инфекция активирует инфламмасому через 24 часа после трансдукции клеток лентивирусом LV-SNV-S. Через 48 часов после трансдукции вирусом LV-HTV-S наблюдалось увеличение уровня секреции IL-18, в клетках, трансфицированных нативной формой белка Rab5. В то время как в клетках, трансфицированных доминантно-негативной формой белка Rab5 уровень секреции IL-18 был сравнительно ниже (рис. 2).

Вывод. При ингибировании активности белков ранних эндосом наблюдается снижение активации белка NLRP3, а также секреции IL-18 *in vitro*. Полученные результаты указывают на непосредственную

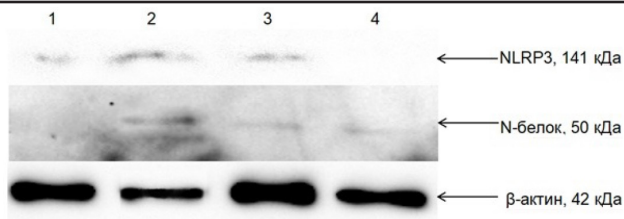


Рисунок 1 – Иммуноблоттинг клеток A549, трансфицированных плазмидами DsRed-Rab5 WT и DsRed-Rab 5DN и трансдуцированных вирусом LV-SNV-S. 1 - контроль, 2 - LV-SNV-S, 3 – LV-SNV-S+Rab5 WT, 4 - LV-SNV-S+Rab5 DN.

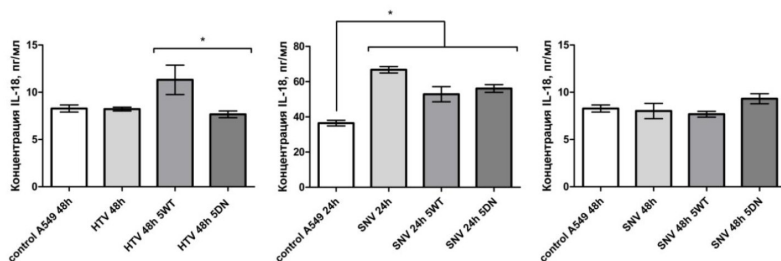


Рисунок 2 – Иммуноферментный анализ концентрации IL-18 в супернатантах клеток A549, трансфицированных плазмидами DsRed-Rab5 WT и DsRed-Rab 5DN и трансдуцированных вирусом LV-SNV-S и LV-PHV-S. * отмечены статистически значимые данные.

роль эндосом в регуляции NLRP3-сигналинга при хантавирусной инфекции.

Библиографический список:

1. V., Dalrymple, N. The Role of the Endothelium in HPS [Text] / N. Dalrymple & E. Mackow // Pathogenesis and Potential Therapeutic Approaches. Advances in Virology. - 2012. - Vol. 2012 - P. 1–12.
2. Tkachenko, E. A. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, Russia [Text] / E. A. Tkachenko, A. A. Ishmukhametov, T. K. Dzagurova, A. D. Bernshtein, V. G. Morozov, A. A. Siniugina, B. Klempa // Emerging Infectious Diseases. - 2019. - Vol. 25, №12 - P. 2325–2328.

3. Somsel Rodman, J. Rab GTPases coordinate endocytosis [Text] / J. Somsel Rodman, A. Wandinger-Ness // Journal of Cell Science. - 2000. - Vol. 113 - P. 183-192.
4. Kelley, N. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation [Text] / N. Kelley, D. Jeltema, Y. Duan & Y. He // International Journal of Molecular Sciences. - 2019. - Vol. 20, №13 - P. 3328.

THE ROLE OF RAB5 GTPASE IN REGULATION OF THE NLRP3 INFLAMMASOME SIGNALING PATHWAY IN HANTAVIRUS INFECTION

Vorona K.A.

Key words: *hantavirus infection, Rab proteins, endosomes, NLRP3 inflammasome, SNV.*

This work was devoted to investigation the role of endosomal proteins in the activation of NLRP3 inflammasome in hantavirus infection. As a result of studies, it was found that inhibition of the activity of proteins of early endosomes leads to a decrease in the activation of the NLRP3 protein and the secretion of IL-18 in vitro. The results obtained indicate an important role of endosomes in the regulation of NLRP3 signaling in hantavirus infection.