

Пархомчук О.Ю., Григорьева Е.Е.

ГЛАВНЫЙ АЛЛЕРГЕН ПЫЛЬЦЫ БЕРЁЗЫ ВЕТ V 1: ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЭПИТОПОВ

Научный руководитель: д-р биол. наук Фомина Е.Г.

ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»

Актуальность. Bet v 1 является основным аллергеном пыльцы берёзы, который вызывает выработку специфических IgE у большинства пациентов с повышенной чувствительностью к белкам, которые содержатся в пыльце этого дерева. Всё чаще для диагностики и лечения аллергических заболеваний, в том числе и поллиноза, применяются искусственно синтезированные белки. При разработке таких аллергенов важно учитывать наличие и значимость аминокислотных замен в антигенных детерминантах – эпитопах. Причём, необходимо принимать во внимание состав как линейных, так и конформационных частей макромолекулы, отвечающих за связывание с антителами.

Цель: исследование разнообразия изоформ аллергена Bet v 1, присутствующих в пыльце берёз (*Betula pendula*), с последующим анализом В- и Т-эпитопов.

Материалы и методы. Амплификаты генов, кодирующих различные изоформы Bet v 1, получали на матрице суммарной РНК, выделенной из образцов пыльцы, собранной на территории Республики Беларусь в весенний период. Для получения рекомбинантных плазмидных ДНК с клонированными генами, кодирующими единичные копии вариантов белка Bet v 1 был использован вектор рJET. Определение спектра изоформ осуществлялось с применением секвенирования по Сэнгеру. Для анализа последовательностей использовалась программа Bioedit Sequence Alignment Editor version 7.2.5.

Результаты и их обсуждение. Изучено генетическое разнообразие аллергена Bet v 1. Большинство (свыше 40 %) идентифицированных вариантов соответствуют или близки изоформе Bet v 1.0101, что согласуется с данными исследований, проведённых в странах Европы. Проведён анализ аминокислотной последовательности наиболее значимых в функциональном плане фрагментов белка, влияющих на аллергенность и клеточный иммунный ответ – В- и Т-эпитопов. В соответствии с данными литературы В-эпитопы являются конформационными и содержат ряд аминокислот, которые влияют на аллергенность Bet v 1. Это Thr – в 11 положении, Asn – в 29, Phe – в 31, Lis – в 33, Ser – в 58 и 113, Pro, Ile и Asp – в 109, 114 и 126 положениях, соответственно. В исследованных нами последовательностях в группах, объединённых вариантами Bet v 1.0101 и Bet v 1.0104 наблюдались замены аминокислот с высокой IgE-связывающей активностью на аминокислоты с низкой активностью в 4 значимых местах: Phe31Val, Ser58Asn, Ser113Cys, Ile114Val. В то же время в группе Bet v 1.0108-подобных последовательностей в трёх положениях произошли замены аминокислот, ассоциированных с изоформами с низкой IgE-связывающей способностью на аминокислоты с соответствующей высокой активностью (Cys113Ser, Val114Ile и Asn126Asp). Таким образом, обнаруженные альтернативные варианты аминокислот, проявляющие разноплановую способность связываться с соответствующими антителами, могут значимо влиять на степень взаимодействия аллергена с IgE. Иммунодоминантные, по данным литературы, Т-эпитопы представлены двумя линейными фрагментами, расположенными в центральной и С-концевой областях последовательности. Центральный фрагмент содержал аминокислотные замены в отличие от С-концевого участка последовательности, который оказался высоконсервативным среди различных изоформ аллергена. Замены выявлены в шести положениях (78, 83, 85, 86, 91, 92). Интересно отметить, что Asn в 83 положении у примерно 50 % последовательностей был замещён на Ser. Похожая ситуация наблюдалась в 92 положении, где более чем в половине случаев Ile замещался на Val и в примерно 15 % – на Leu. Установленная особенность исследуемого участка, по литературным данным, может сказаться на клеточной перекрёстной реактивности и активации Т-клеток.

Выводы. Полученные в ходе исследования результаты в дальнейшем могут быть использованы для изучения предикторного влияния аминокислотных замен на аллергенность пыльцы.