

Получение рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 в различных системах экспрессии

Е.А.Панферцев, Т.В.Решетняк, А.А.Горбатов, П.В.Соловьев, Т.В.Федоров,
Т.Э.Светоч, Е.В.Баранова, С.Ф.Бикетов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Целью настоящей работы являлось конструирование рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 с использованием различных систем экспрессии для дальнейшего их применения в создании серологических тестов. В качестве исходного антигена был выбран N-белок вируса SARS-CoV-2. Для этого синтезирован *de novo* ген, кодирующий синтез нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 (N-белок) в клетках *Escherichia coli*. На основе этого ген-эквивалента созданы новые рекомбинантные белки, содержащие различные домены N-белка. Для клонирования фрагментов ДНК, кодирующих биологически-активные домены N-белка, и исследования их иммунобиологических свойств использовали различные системы экспрессии «вектор–хозяин». В результате работы создан набор рекомбинантных антигенов и штаммов *E. coli*, способных их продуцировать.

Ключевые слова: COVID-19, N-белок, *Escherichia coli*, аффинная хроматография, SARS-CoV-2, плазмиды

Для цитирования: Панферцев Е.А., Решетняк Т.В., Горбатов А.А., Соловьев П.В., Федоров Т.В., Светоч Т.Э., Баранова Е.В., Бикетов С.Ф. Получение рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 в различных системах экспрессии. Бактериология. 2022; 7(4): 34–39. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-4-34-39

Obtaining recombinant antigens of the SARS-CoV-2 virus in various expression systems

E.A.Panfertsev, T.V.Reshetnyak, A.A.Gorbatov, P.V.Soloviev, T.V.Fedorov,
T.E.Svetoch, E.V.Baranova, S.F.Biketov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region,
Russian Federation

The aim of this work was to construct recombinant antigens of the SARS-CoV-2 virus using various expression systems for their further application in the creation of serological tests. The N-protein of the SARS-CoV-2 virus was selected as the initial antigen. For this purpose, a *de novo* gene encoding the synthesis of the nucleocapsid protein SARS-CoV-2 (N-protein) in *Escherichia coli* cells was synthesized. Based on this gene equivalent, new recombinant proteins containing various N-protein domains have been created. Various «host vector» expression systems were used to clone DNA fragments encoding biologically active N-protein domains and study their immunobiological properties.

As a result of the work, a set of recombinant antigens and *E. coli* strains capable of producing them was created.

Key words: COVID-19, N-protein, *Escherichia coli*, affinity chromatography, SARS-CoV-2, plasmids

For citation: Panfertsev E.A., Reshetnyak T.V., Gorbatov A.A., Soloviev P.V., Fedorov T.V., Svetoch T.E., Baranova E.V., Biketov S.F. Obtaining recombinant antigens of the SARS-CoV-2 virus in various expression systems. Bacteriology. 2022; 7(4): 34–39. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2022-4-34-39

Для корреспонденции:

Панферцев Евгений Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279 Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск,
Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 360-147
E-mail: panfera62@mail.ru

Статья поступила 28.11.2022 г., принята к печати 28.12.2022 г.

For correspondence:

Evgeny A. Panfertsev, MD, PhD, Senior Researcher of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 «Quarter A» Territory, Obolensk, City District Serpukhov,
Moscow Region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 360-147
E-mail: panfera62@mail.ru

The article was received 28.11.2022, accepted for publication 28.12.2022

Пандемия тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 является важным социально значимым событием последних лет. Одним из приоритетных направлений исследований сегодня является изучение возможностей разработки технологий использования различных макромолекул вируса для создания диагностических средств и вакцин. Совершенствование методов серологической диагностики COVID-19 и наличие для этих целей доступных средств чрезвычайно важно не только для установления этиологии инфекции, но и для корректной оценки формирования популяционного и индивидуального иммунитета, а также изучения длительности его сохранения [1].

Возбудитель заболевания COVID-19, вирус SARS-CoV-2, принадлежит к семейству сферических коронавирусов с положительной цепью РНК – *Coronaviridae*. Геном вируса кодирует четыре основных структурных белка: спайковый белок (S-белок), белок оболочки (E), мембранный белок (M) и нуклеокапсидный белок (N-белок). N-белок представляет собой щелочной белок pI (10,07) с короткой, богатой лизинной областью, состоящий из 419 аминокислотных остатков и связывающийся с РНК вирусного генома с образованием нуклеокапсида [2]. Исследования показали, что N-белок представляет собой компактный переплетенный димер, подобный аналогичным белкам коронавирусов SARS и других родственных коронавирусов [3]. N-белок достаточно консервативен, обладает сильной иммуногенностью [4], может индуцировать выработку большого количества антител в сыворотке инфицированных людей [5] и, следовательно, удобен для применения в серологических тестах. Существуют данные, что антитела к N-белку SARS-CoV-2 более чувствительны, чем антитела к спайковому белку, для обнаружения раннего заражения [6]. Экспрессия рекомбинантного N-белка, пригодного для диагностических целей, в прокариотических системах, таких как *Escherichia coli*, является экономически и практически более эффективной, в отличие от экспрессии S-белка, требующей преимущественно эукариотических систем [7–10].

Целью настоящей работы являлось конструирование рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 с использованием различных систем экспрессии для дальнейшего их применения в создании серологических тестов.

Материалы и методы

Анализ нуклеотидной последовательности и трансляцию последовательности гена *n* в аминокислотную последовательность N-белка проводили с использованием пакета программ DNASTAR LASERGENE. Для синтеза ген-эквивалента, кодирующего N-белок, с целью последующего переклонирования в экспрессирующую векторную ДНК была использована нуклеотидная последовательность вируса SARS-CoV-2, выделенного в г. Ухань (КНР) и представленная в ресурсе NCBI (Acc.NAY572034). Синтез нуклеотидной последовательности гена *n*, кодирующего синтез полного N-белка SARS-CoV-2 размером 1287 пар оснований (п.о.), был произведен в лаборатории GENE CUST (Франция).

Для удобства последующего субклонирования синтезированный фрагмент ДНК был клонирован в составе векторной плазмидной ДНК pUC57Km.

В структуру синтезированного гена *n*, размером 1287 п.о., были включены сайты рестрикции NcoI и BamHI для переклонирования фрагмента ДНК в составе экспрессирующего вектора *pSE380* (Invitrogen, США) под контроль сильного индуцибельного Trc-промотора и полигистидиновый C-концевой домен, необходимый для иммунодетекции и аффинной хроматографической очистки белка. Данный методический подход позволил использовать синтезированный ген-эквивалент *n* размером 1287 п.о. для клонирования в нескольких экспрессирующих системах и получать гибридные белки с программируемыми иммунобиохимическими свойствами.

Для этого рекомбинантную плазмидную ДНК *pSE380* рестрицировали эндонуклеазами рестрикции NcoI+ BamHI при температуре 37°C в течение 2 ч. Рекомбинантную плазмидную ДНК *pUC57KmNC* также рестрицировали эндонуклеазами рестрикции NcoI+ BamHI при температуре 37°C в течение 2 ч. Продукты гидролиза анализировали методом электрофореза в 0,9%-м агарозном геле в присутствии EtBr. Фрагмент ДНК размером 1287 п.о. выделяли из геля при помощи набора GeneJet Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific Inc, США). Далее ДНК-фрагмент лигировали с вектором *pSE380*, рестрицированным эндонуклеазами рестрикции NcoI+ BamHI, в течение 16 ч при температуре 4°C с использованием ДНК-лигазы T4 (Thermo Fisher Scientific Inc, США). Полученной лигазной смесью трансформировали компетентные клетки *E. coli* DH5 α . Отбор трансформантов проводили на плотной питательной среде LA, содержащей 100 мкг/мл ампициллина. Скрининг рекомбинантных плазмид, содержащих фрагменты ДНК 1287 п.о., осуществляли с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР). В качестве олигонуклеотидов использовали прямой и обратный праймеры, комплементарные областям векторной плазмиды *pSE380*.

Условия реакции: режим ПЦР – 95°C / 30 с, 50°C / 30 с, 72°C / 90 с / 30 циклов. Длительность последней стадии элонгации – 4 мин. Реакция протекала в 50мМ KCl-буфере в присутствии 1,5 мМ MgCl₂, 0,2мМ dNTP и 10 pM каждого праймера. В качестве матрицы использовали лизаты тестируемых клонов. Применяли Taq-полимеразу фирмы Thermo Fisher Scientific Inc (США). Продукты ПЦР анализировали электрофорезом в 1,0%-м агарозном геле в присутствии EtBr. Электрофорез в агарозном геле проводили в Трис-Борат-EDTA-буфере (89 мМ Трис, 89 мМ борной кислоты, 2 мМ EDTA, pH 10).

Из ПЦР-позитивных клонов выделяли плазмидную ДНК с помощью набора GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Fisher Scientific Inc, США), которую подвергали рестрикционному картированию с последующим секвенированием клонированного гена *n* размером 1287 п.о.

В результате работы были отобраны клоны *E. coli*, содержащие рекомбинантную плазмидную ДНК *pSENC*.

Для конструирования плазмид *pETNC42* и *pETGNC55* фрагмент ДНК размером 597 п.о., кодирующий C-концевой фрагмент нуклеокапсидного белка вируса SARS-CoV-2, амплифицировали при помощи ПЦР. В качестве матричной ДНК использовали плазмиду ДНК *pSENC* и праймеры: Forward primer N 597; 5'-aac cat ggc aac tcc agg cag cag tag ggg -3'; Reverse primer N1287; 5'-aag gat ccc tag tgg tgg tgg tg -3'.

Условия реакции. Режим ПЦР: 95°C / 30 с, 55°C / 30 с, 72°C / 40 с / 30 циклов. Последняя стадия элонгации – 4 мин. Реакция протекала в 50 mM KCl-буфере в присутствии 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP и 10 pM каждого праймера. Использовали Taq-полимеразу фирмы Thermo Fisher Scientific Inc (США). Продукты ПЦР анализировали электрофорезом в 1,0%-м агарозном геле в присутствии EtBr. Электрофорез в агарозном геле проводили в Трис-Борат-ЕДТА-буфере (89 mM Трис, 89 mM борной кислоты, 2 mM ЕДТА, pH 10).

После очистки ДНК при помощи набора GeneJet Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific Inc, США) фрагмент был клонирован в NcoI+ BamHI сайты рестрикции плазмидных векторов pET32b и pET41b стандартным рестриктазно-лигазным методом.

Созданными плазмидами *pETNC42* и *pETGNC55* трансформировали компетентные клетки *E. coli* BL21RP.

Для конструирования плазмиды *pETNC16* фрагмент ДНК размером 548 п.о., кодирующий N-концевой фрагмент нуклеокапсидного белка вируса SARS-CoV-2, был амплифицирован при помощи ПЦР. В качестве матричной ДНК использовали плазмиду ДНК *pSENC* и праймеры: Forward primer NC 548, 5'-aac cat gcc atc tga taa tgg ac-3', Reverse primer NC548, 5'-aag gat ccc tag ccg cct ctg ctc cct tct g-3'.

Условия реакции. Режим ПЦР: 95°C / 30 с, 55°C / 30 с, 72°C / 40 с / 30 циклов. Последняя стадия элонгации – 4 мин. Реакция протекала в 50mM KCl-буфере в присутствии 1,5 mM MgCl₂, 0,2mM dNTP и 10 pM каждого праймера. Использовали Taq-полимеразу фирмы Thermo Fisher Scientific Inc (США). Продукты ПЦР анализировали электрофорезом в 1,0%-м агарозном геле в присутствии EtBr. Электрофорез в агарозном геле проводили в Трис-Борат-ЕДТА-буфере (89 mM Трис, 89 mM борной кислоты, 2 mM ЕДТА, pH 10).

После очистки фрагмента ДНК 548 п.о. при помощи набора GeneJet Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific Inc, США) он был клонирован в NcoI+ BamHI сайты рестрикции плазмидного вектора pET32b стандартным рестриктазно-лигазным методом.

Рекомбинантными плазмидными ДНК *pSENC*, *pETNC42*, *pETNC16*, *pETGNC55* трансформировали компетентные клетки *E. coli* BL21RP.

Штаммы-продуценты белков NC46, NC42, GNC55, NC16 выращивали при температуре 37°C в жидкой аэрируемой среде LB с добавлением ампициллина (100 мкг/мл) или канамицина (50 мкг/мл) в качалочных колбах до оптической плотности A600-0,6-0,8. Затем добавляли IPTG до 1 mM и растили еще 4 ч. Клеточную суспензию центрифугировали при 7000 g в течение 10 мин и температуре 4°C.

Выделение и очистку рекомбинантных белков, полученных в различных системах экспрессии и содержащих в своем составе полигистидиновый C-концевой домен, проводили при помощи аффинной хроматографии на Ni-хелатном сорбенте (NiSepfast BioToolomics, Великобритания) согласно протоколу фирмы-производителя.

Степень очистки полученных белков анализировали методом белкового электрофореза в денатурирующих условиях по методу Лэммли с окраской Кумасси.

Иммунологическую активность рекомбинантных белков, полученных в различных системах экспрессии, определяли в

иммуноблоте с сыворотками крови людей, переболевших COVID-19, и сыворотками крови условно-здоровых доноров.

Препараты рекомбинантных белков после белкового электрофореза в денатурирующих условиях по методу Лэммли в 12%-м полиакриламидном геле переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Millipore, США) в течение 1 ч в 0,025 M трис-HCl буферном растворе, содержащем 0,192 M глицина (pH 8,3) и 20% этанола. Места неспецифического связывания насыщали 5%-м раствором сухого обезжиренного молока при 37°C в течение 1 ч в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) pH 7,4 («ЭКО-СЕРВИС», Россия). Затем мембрану, содержащую рекомбинантные белки, инкубировали с сыворотками крови от людей, переболевших COVID-19, и сыворотками крови условно-здоровых доноров 1 ч при 37°C в ФСБ (ФСБ-Т) с добавлением 0,05% Твин-20. После отмывки в ФСБ-Т мембраны обрабатывали антивидовыми антителами, меченными пероксидазой хрена (AntiHumanIgG-HRP Sigma, США), в течение 1 ч при 37°C. Затем мембраны промывали в ФСБ-Т и проявляли в растворе хромагена (1 мг/мл 3,3-диаминобензидин-тетрагидрохлорида в 50 mM трис-HCl буферном растворе (pH 7,4)). Реакцию останавливали отмыванием мембран в дистиллированной воде.

Результаты и обсуждение

В результате проведенной работы на основе синтетического гена *n* были созданы штаммы *E. coli* – продуценты различных вариантов рекомбинантного N-белка вируса SARS-CoV-2.

Всего было получено четыре варианта рекомбинантного N-белка вируса SARS-CoV-2 с условными наименованиями: NC46, NC42, GNC55, NC16.

Белок NC46 с молекулярной массой 46 кДа представляет собой полный нуклеокапсидный белок, содержащий полный набор антигенных доменов N-белка вируса SARS-CoV-2. Физическая карта плазмиды *pSENC* представлена на рис. 1а.

Белок NC42 с молекулярной массой 42 кДа представляет собой C-концевой фрагмент нуклеокапсидного белка, в котором N-концевой РНК-связывающий домен, присутствующий в структуре нативного N-белка и родственных ему коронавирусов, заменен на ген *trx*, кодирующий синтез белка тиреодоксина, увеличивающего выход целевого белка. Физическая карта плазмиды *pETNC42* представлена на рис. 1б.

Белок GNC55 с молекулярной массой 55 кДа представляет собой C-концевой фрагмент нуклеокапсидного белка, в котором N-концевой РНК-связывающий домен, присутствующий в структуре нативного N-белка и родственных ему коронавирусов, заменен на ген *gst*, кодирующий синтез белка глутатион-трансферазы, увеличивающего выход целевого белка. Физическая карта плазмиды *pETNC16* представлена на рис. 1г.

Белок NC16 с молекулярной массой 40 кДа представляет собой N-концевой РНК-связывающий домен, слитый с белком тиреодоксином. Физическая карта плазмиды *pETNC16* представлена на рис. 1в.

Использованные при конструировании новых плазмидных ДНК векторные системы с сильными промоторами T7 и Trc

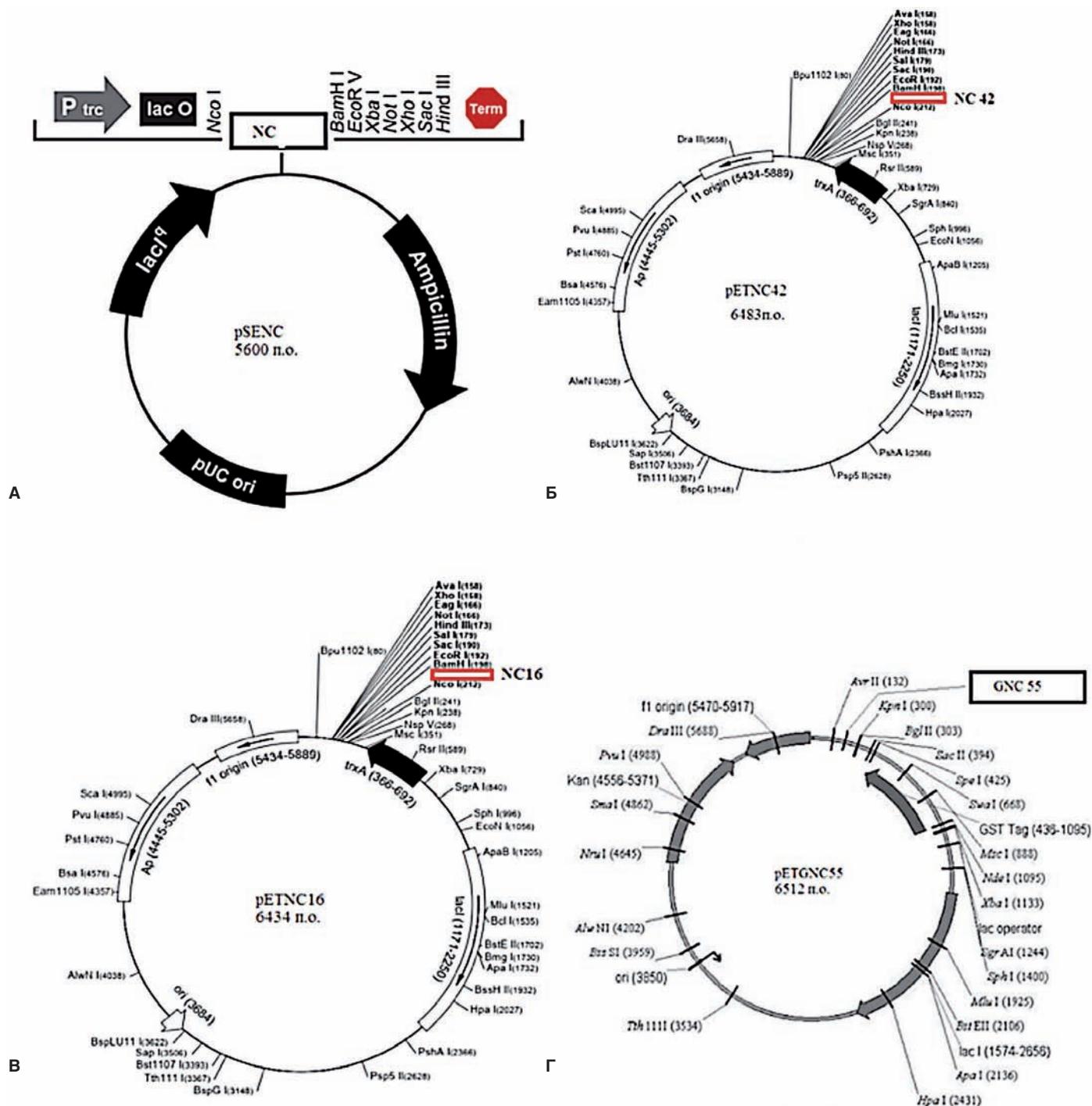


Рис. 1. Физическая карта плазмид: а – pSENC, б – pETNC42, в – pETNC16, г – pETGNC55.

позволили осуществить высокоэффективную контролируруемую экспрессию целевых белков, достаточную для наработки необходимого количества антигенных препаратов с заданными свойствами.

Рекомбинантные белки NC46, NC42, GNC55, NC16 после культивирования, выделения и очистки имели в своем составе домены для иммунодетекции и аффинной хроматографической очистки.

Степень чистоты полученных препаратов после составила не менее 98% для каждого (рис. 2А).

При применении различных высокоэффективных систем «вектор–хозяин» при наработке рекомбинантных N-белков установлен различный выход целевого продукта из биомас-

сы. Так, при использовании гена *trxA*, кодирующего синтез белка тиреодоксина, при получении NC42 выход в зависимости от эксперимента выше в 2–2,5 раза, чем при наработке NC46, GNC55, NC16 (таблица).

Антигенные свойства полученных рекомбинантных белков NC46, NC42, GNC55, NC16, подтвержденные в иммуноблоттинге с сыворотками крови от людей, переболевших COVID-19, и сыворотками крови условно-здоровых доноров (рис. 2Б), позволили судить о высокой специфической активности полученных препаратов. Молекулярная масса выявленных в иммуноблоттинге антигенов совпадает с теоретической молекулярной массой и данными электрофореза (рис. 2А).

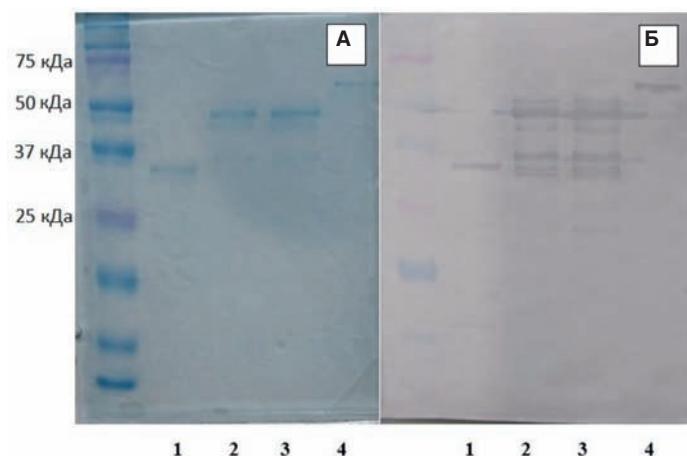


Рис. 2. А – электрофорез препаратов рекомбинантных белков (1 – NC16; 2 – NC42; 3 – NC46; 4 – GNC55); Б – иммуноблоттинг препаратов рекомбинантных белков (1 – NC16; 2 – NC42; 3 – NC46; 4 – GNC55) с сыворотками крови от людей, переболевших COVID-19.

Наименование белка	Выход белка из 1 г биомассы, мг
NC46	3–6
NC42	12–15
GNC55	5–7
NC16	3–5

Заключение

Разработаны прокариотические векторные системы экспрессии рекомбинантных антигенов SARS-CoV-2 в клетках *E. coli*, к достоинствам которых можно отнести высокий выход целевого продукта и простоту его выделения.

Экспериментально обоснована возможность применения полученных рекомбинантных антигенов SARS-CoV-2 для детекции антител к вирусу SARS-CoV-2 и использование их при конструировании диагностических серологических тестов (в форматах иммуноферментного анализа и иммунохроматографии), а также при отборе и анализе различных биоматериалов (гипериммунных сывороток, моноклональных антител) с целью решения исследовательских и прикладных задач.

Информация о финансировании

Работа выполнена по НИОКР 1.1.17 в рамках государственного задания.

Financial support

The work was carried out within the framework of R&D 1.1.17 within the framework of the state assignment.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Abduljalil JM. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2: available approaches and limitations. *New Microbes New Infect.* 2020 Jun 14;36:100713. DOI: 10.1016/j.nmni.2020.100713
2. Marra MA, Jones SJ, Astell CR, Holt RA, Brooks-Wilson A, Butterfield YS, et al. The Genome Sequence of the SARS-associated coronavirus. *Science.* 2003 May 30;300(5624):1377-8. DOI: 10.1126/science.1086418.
3. Харченко ЕП. Коронавирус SARS-CoV-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2020;19(2):13-30. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30
4. Timani KA, Ye L, Ye L, Zhu Y, Wu Z, Gong Z. Cloning, sequencing, expression, and purification of SARS-associated coronavirus nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS. *J Clin Virol.* 2004 Aug;30(4):309-12. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.01.001
5. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, et al. Detection of Nucleocapsid Antibody to SARS-CoV-2 is More Sensitive than Antibody to Spike Protein in COVID-19 Patients. *medRxiv [Preprint].* 2020 Apr 24:2020.04.20.20071423. DOI: 10.1101/2020.04.20.20071423
6. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, et al. Sensitivity in Detection of Antibodies to Nucleocapsid and Spike Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Patients With Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis.* 2020 Jun 29;222(2):206-213. DOI: 10.1093/infdis/jiaa273
7. Maache M, Komurian-Pradel F, Rajoharison A, Perret M, Berland JL, Pouzol S, et al. Falsepositive results in a recombinant severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid-based western blot assay were rectified by the use of two subunits (S1 and S2) of spike for detection of antibody to SARS-CoV. *Clin Vaccine Immunol.* 2006 Mar;13(3):409-14. DOI: 10.1128/CVI.13.3.409-414.2006
8. Pei H, Liu J, Cheng Y, Sun C, Wang C, Lu Y, et al. Expression of SARS-coronavirus nucleocapsid protein in *Escherichia coli* and *Lactococcus lactis* for serodiagnosis and mucosal vaccination. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2005 Aug;68(2):220-7. DOI: 10.1007/s00253-004-1869-y
9. Wu XD, Shang B, Yang RF, Yu H, Ma ZH, Shen X, et al. The spike protein of severe acute respiratory syndrome (SARS) is cleaved in virus infected Vero-E6 cells. *Cell Res.* 2004 Oct;14(5):400-6. DOI: 10.1038/sj.cr.7290240
10. Zeng W, Liu G, Ma H, Zhao D, Yang Y, Liu M, et al. Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Jun 30;527(3):618-623. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.04.136

References

1. Abduljalil JM. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2: available approaches and limitations. *New Microbes New Infect.* 2020 Jun 14;36:100713. DOI: 10.1016/j.nmni.2020.100713
2. Marra MA, Jones SJ, Astell CR, Holt RA, Brooks-Wilson A, Butterfield YS, et al. The Genome Sequence of the SARS-associated coronavirus. *Science.* 2003 May 30;300(5624):1377-8. DOI: 10.1126/science.1086418.
3. Kharchenko EP. The coronavirus SARS-CoV-2: the characteristics of structural proteins, contagiousness, and possible immune collisions. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2020;19(2):13-30. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30 (In Russian).
4. Timani KA, Ye L, Ye L, Zhu Y, Wu Z, Gong Z. Cloning, sequencing, expression, and purification of SARS-associated coronavirus nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS. *J Clin Virol.* 2004 Aug;30(4):309-12. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.01.001
5. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, et al. Detection of Nucleocapsid Antibody to SARS-CoV-2 is More Sensitive than Antibody to

- Spike Protein in COVID-19 Patients. medRxiv [Preprint]. 2020 Apr 24:2020.04.20.20071423. DOI: 10.1101/2020.04.20.20071423
6. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, et al. Sensitivity in Detection of Antibodies to Nucleocapsid and Spike Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Patients With Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis.* 2020 Jun 29;222(2):206-213. DOI: 10.1093/infdis/jiaa273
 7. Maache M, Komurian-Pradel F, Rajoharison A, Perret M, Berland JL, Pouzol S, et al. Falsepositive results in a recombinant severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid-based western blot assay were rectified by the use of two subunits (S1 and S2) of spike for detection of antibody to SARS-CoV. *Clin Vaccine Immunol.* 2006 Mar;13(3):409-14. DOI: 10.1128/CVI.13.3.409-414.2006
 8. Pei H, Liu J, Cheng Y, Sun C, Wang C, Lu Y, et al. Expression of SARS-coronavirus nucleocapsid protein in *Escherichia coli* and *Lactococcus lactis* for serodiagnosis and mucosal vaccination. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2005 Aug;68(2):220-7. DOI: 10.1007/s00253-004-1869-y
 9. Wu XD, Shang B, Yang RF, Yu H, Ma ZH, Shen X, et al. The spike protein of severe acute respiratory syndrome (SARS) is cleaved in virus infected Vero-E6 cells. *Cell Res.* 2004 Oct;14(5):400-6. DOI: 10.1038/sj.cr.7290240
 10. Zeng W, Liu G, Ma H, Zhao D, Yang Y, Liu M, et al. Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Jun 30;527(3):618-623. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.04.136

Информация о соавторах:

Решетняк Татьяна Викторовна, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Горбатов Алексей Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Соловьев Павел Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Федоров Тарас Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Светоч Татьяна Эдуардовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Баранова Евгения Владимировна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Бикетов Сергей Фёдорович, кандидат биологических наук, главный научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Tatyana V. Reshetnyak, Researcher of Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Aleksey A. Gorbatov, MD, PhD, Senior Researcher of Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Pavel V. Soloviev, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher, of Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Taras V. Fedorov, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher, of Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Tatyana E. Svetoch, PhD (Biological Sciences), Researcher, Laboratory for Plague, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Evgenia V. Baranova, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher of Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Sergey F. Biketov, PhD (Biological Science), Leading Researcher of Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Контаминация яйцами гельминтов сточных вод и их осадков на изучаемых территориях ХМАО–Югры

Важными и эколого-эпидемиологически значимыми объектами являются очистные сооружения, которые оценивают по результатам исследований на паразитологические показатели сточных вод и их осадков.

Цель. Провести санитарно-паразитологические исследования сточных вод и их осадков на трех территориях округа. Установить закономерность распространения и распределения возбудителей паразитозов в окружающей среде. Материалы и методы. Исследования проводили в паразитологической лаборатории ФФБУЗ «ЦГиЭ в ХМАО–Югре» в г. Нижневартовске и Нижневартовском районе, г. Мегионе и г. Радужном, а также в лабораториях центров гигиены и эпидемиологии на территориях Белоярского и Кондинского районов. Санитарно-паразитологическими методами исследованы 1084 пробы сточных вод и их осадков с канализационных очистных сооружений в соответствии с МУК 4.2.2661-10 «Методы санитарно-паразитологических исследований». Жизнеспособность выявленных яиц гельминтов определяли методом термостатирования.

Результаты. Санитарно-паразитологическое обследование сточных вод до очистки показало, что среди выявленных яиц геогельминтов преобладает *Ascaris* spp., что свидетельствует о передвижении яиц с ливневыми поверхностными стоками.

Москина О.В., Малышева Н.С., Касаткина М.В., Шафранова Л.Н.,
Козлова И.И., Максимова М.С., Степанова Е.В., Морозов Е.Н.
Инфекционные болезни. 2022; 20(2): 63–67. DOI: 10.20953/1729-9225-2022-2-63-67
Источник: <https://www.phdynasty.ru>