

ВПЛИВ ФЛАВОНОЇДОВМІСНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ ПОЛІМЕРАЗИ, ГЛІКОПРОТЕЇНУ М ТА ТИМІДІНКІНАЗИ ВІРУСУ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ 1 ТИПУ

¹ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України», м. Київ, Україна

²Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ, Україна

³Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут ім. Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна

⁴ТОВ «НВК «Екофарм», м. Київ, Україна

E-mail: aniramovna@gmail.com

Вірус простого герпесу першого типу (HSV-1) належить до нейротропних альфагерпесвірусів, широко поширений в світі серед людей і розподіляється на 3 географічні філогрупи. Його генетична структура включає 84 унікальних гени, які відіграють ключову роль у реплікації та інфекційності вірусу. Порушення в функціонуванні деяких із цих генів може супроводжуватись повною або частковою інгібіцією реплікації вірусу, що відіграє головну роль при розробці антивірусної терапії. Флавоноїди, природні сполуки, які зустрічаються у рослинах, відомі своєю потужною біологічною активністю, зокрема й антивірусною, але механізми їх впливу на процеси реплікації вірусів залишаються малодослідженими.

Мета нашої роботи полягала у визначенні можливих таргетних генів HSV-1 для виявлення флавоноїдів з антивірусною активністю, що дозволить розробити нові ефективні методи лікування герпетичних інфекцій.

Матеріали і методи. Для пошуку таргетних генів вірусу була використана база даних GenBank (США). Підбір праймерів виконали в програмах "Vector NTI" v.10.0.1 та "BLAST" NCBI. Синтез праймерів виконаний фірмою "Generi-biotech" (Чехія). Для виділення ДНК і РНК використали набори "High Pure PCR Template Preparation Kit" та "GeneJet RNA Purification Kit", а для реакції зворотної транскрипції "Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit". Для полімеразної ланцюгової реакції використали реагенти виробництва "Thermo Fisher Scientific" та "New England BioLabs Inc". Реакцію проводили на термоциклері "T1 Personal Comby". Продукти ПЛП аналізували методом електрофорезу в 1,5% гелі агарози з етидієм броміду і переглядали в системі гель-документування "GelDoc XR Plus".

Антивірусну активність флавоноїдів перевіряли на перещеплювальній культурі клітин ВНК-21, інфікованій HSV-1.

Результати. Як таргетні були обрані гени: UL10 (gM) – кодує один з двох гідрофобних глікопротеїнів (інший – gL), які занурені в подвійний ліпідний шар зовнішньої оболонки вірусу і необхідні для реплікації вірусу в культурі клітин; UL23 (тимідинкіназа) – кодує фермент метаболізму нуклеїнових кислот та UL30, що кодує ДНК-полімеразу – центральний фермент вірусного реплікаційного комплексу, який складається з 6 доменів, утворює комплекс з ДНК-зв'язуючим білком UL42 і належить до В-сімейства полімераз.

Характеристиці підпадали флавоноїдовмісні препарати «Протефлазід» і «Тазалок» та зразки флавоноїдів – апігенину і лютеоліну. Препарати були перевірені в концентраціях, які були ефективними на інших вірусних моделях.

На першому етапі була проведена верифікація наявності ДНК HSV-1 в усіх зразках. На другому етапі був проведений якісний аналіз експресії генів UL10, UL23 та UL30 HSV-1 методом ЗТ-ПЛР. Ревертазна реакція була виконана тільки з відповідними специфічними зворотними праймерами. Для гена UL10, з високим вмістом гуаніна і цитозина, ревертазну реакцію виконали з попередньою деструкцією вторинної структури РНК.

Проведений аналіз виявив, що препарати «Протефлазід» і «Тазалок» викликали, прямо або опосередковано, інгібіцію експресії гена gM (UL10) і не впливали на експресію генів тимідинкінази (UL23) та ДНК-полімерази (UL30). На відміну від них, індивідуальні зразки флавоноїдів – апігенин та лютеолін, не виявляли інгібуючої дії на експресію 3 таргетних генів.

Висновки

1. У результаті проведених досліджень підтверджена наявність антивірусної активності флавоноїдовмісних препаратів «Протефлазід», «Тазалок» на вірус герпесу 1 типу.

2. Виявлено можливі механізми інактивації реплікації вірусу в культурі клітин.