



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 рJET)
- Определение спектра эндемичных изоформ (секвенирование по методу Сэнгера)
- Переклонирование специфического фрагмента гена, кодирующего наиболее распространённую изоформу, в экспрессирующий вектор рJC40
- 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

Результаты

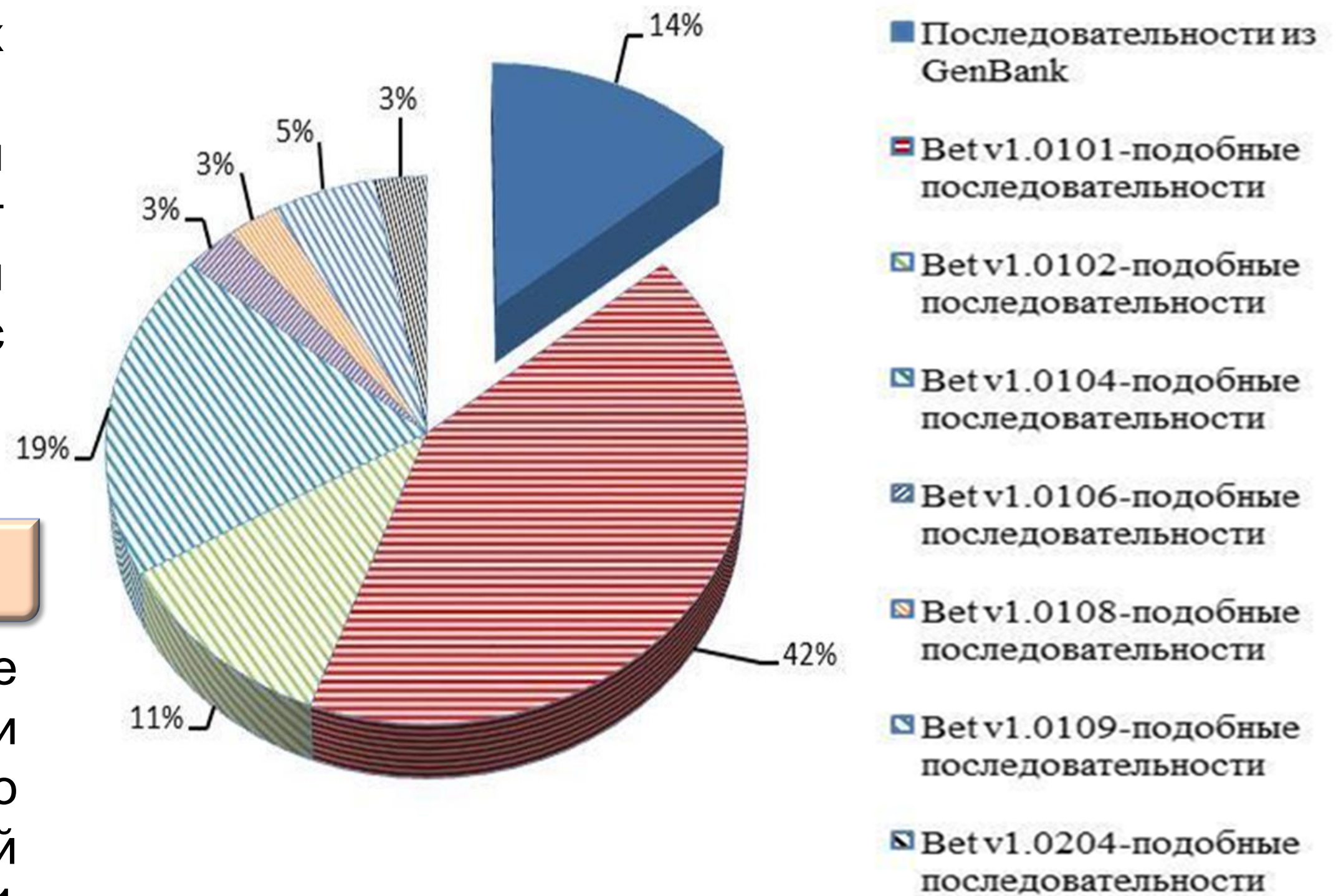


Рис. 2. Структура спектра изоформ Bet v 1

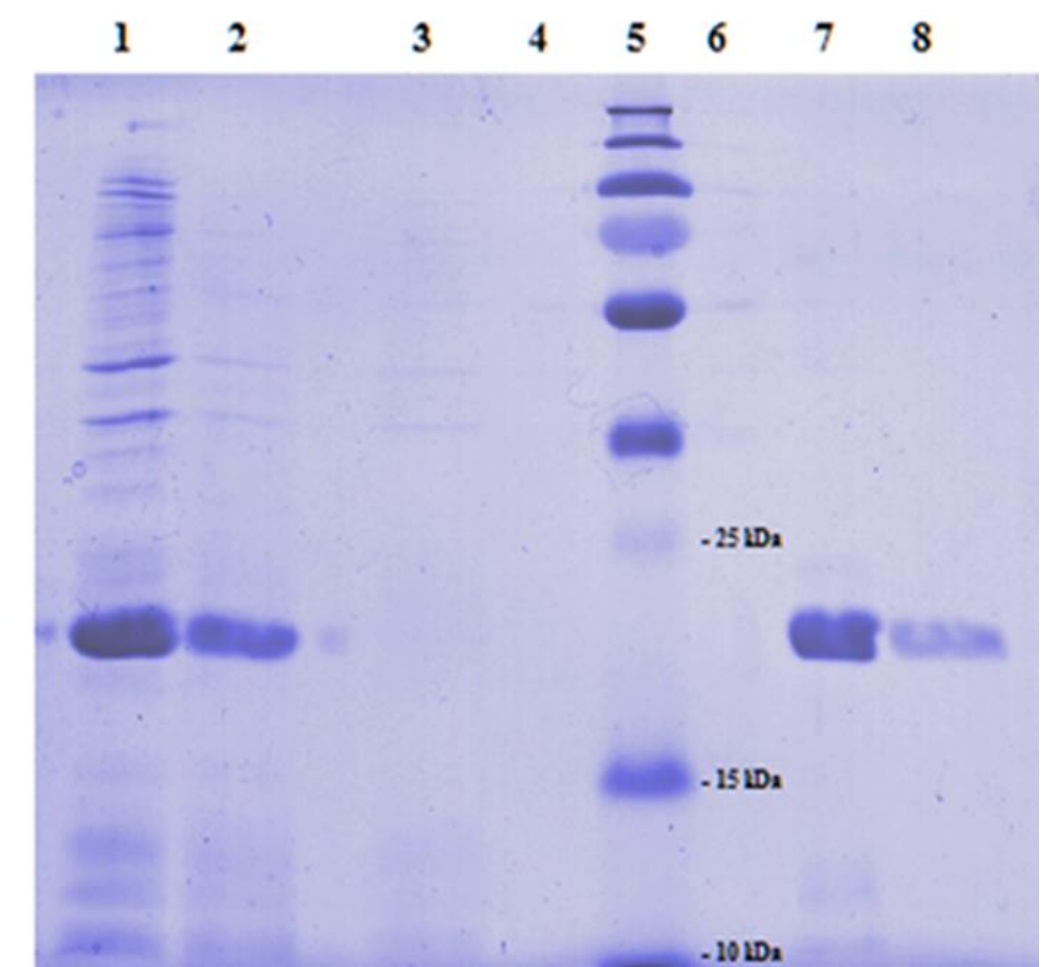


Рис. 3. Электрофоретический анализ фракций металл-хелатной хроматографии рекомбинантного полипептида Bet v 1.0101

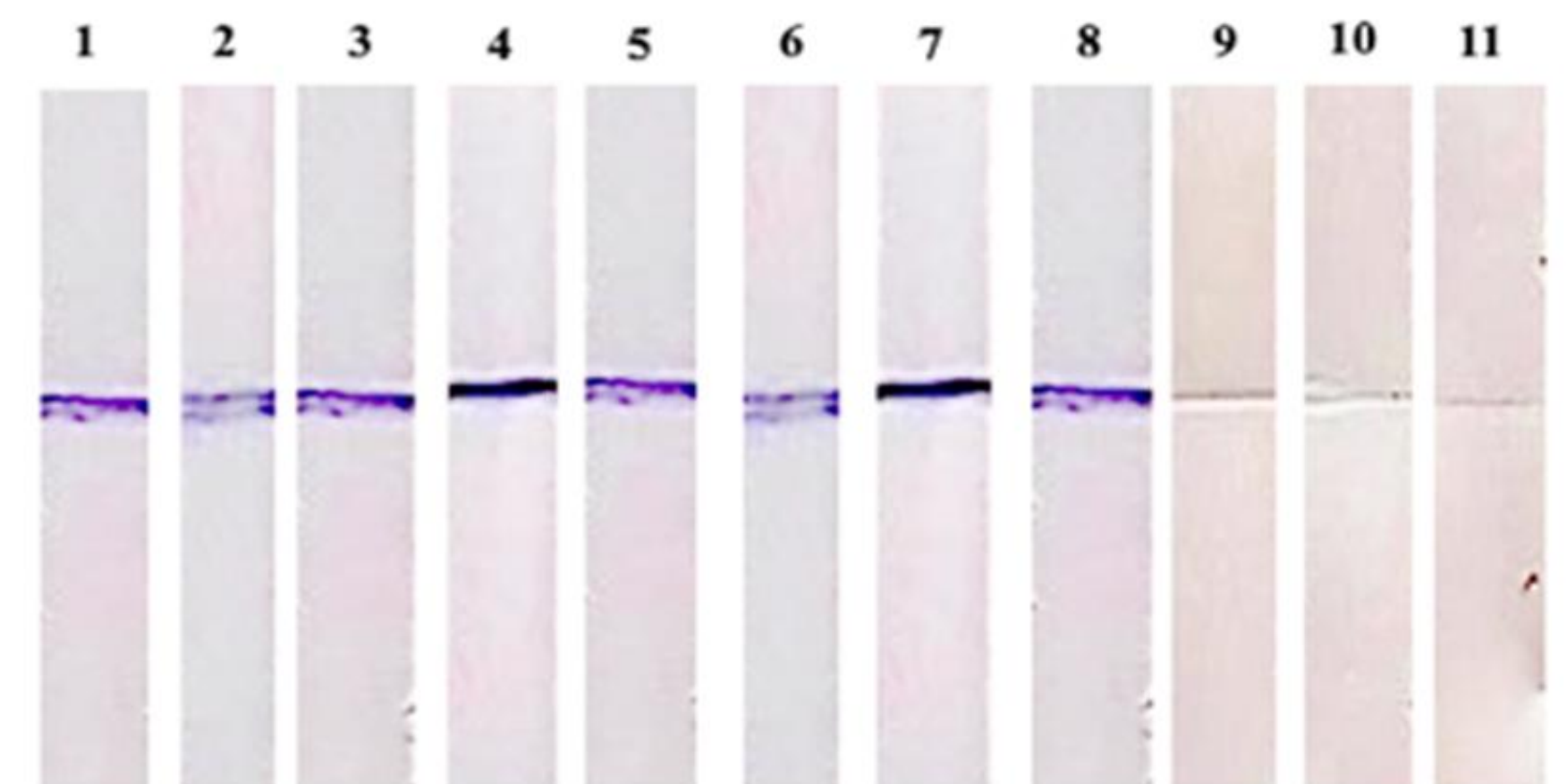


Рис. 4. Оценка антигенной специфичности рекомбинантного полипептида Bet v 1.0101

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.

Betula pendula pollen antigen isoform Betv1bel.2 gene, complete cds	Betula pendula pollen antigen isoform Betv1bel.12 gene, complete cds	Betula pendula pollen antigen isoform Betv1bel.2 gene, complete cds
GenBank: PP663111.1 FASTA: Grabioba	GenBank: PP663111.1 FASTA: Grabioba	GenBank: PP663111.1 FASTA: Grabioba
LOCUS PP663111 483 bp. 1 linear. P10 24-APR-2004	LOCUS PP663111 483 bp. 1 linear. P10 24-APR-2004	LOCUS PP663111 483 bp. 1 linear. P10 24-APR-2004
DEFINITION Betula pendula pollen antigen isoform Betv1bel.12 gene, complete cds.	DEFINITION Betula pendula pollen antigen isoform Betv1bel.12 gene, complete cds.	DEFINITION Betula pendula pollen antigen isoform Betv1bel.12 gene, complete cds.
ACCESSION PP663111	ACCESSION PP663111	ACCESSION PP663111
VERSION PP663111.1	VERSION PP663111.1	VERSION PP663111.1
KEYWORDS	KEYWORDS	KEYWORDS
SOURCE Betula pendula (European white birch)	SOURCE Betula pendula (European white birch)	SOURCE Betula pendula (European white birch)
ORGANISM Betula pendula (Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Euembryophyta; Magnoliopsida; rosids; Fagales; Fagaceae; Betulaceae; Betula; Betula; Betula)	ORGANISM Betula pendula (Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Euembryophyta; Magnoliopsida; rosids; Fagales; Fagaceae; Betulaceae; Betula; Betula; Betula)	ORGANISM Betula pendula (Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Euembryophyta; Magnoliopsida; rosids; Fagales; Fagaceae; Betulaceae; Betula; Betula; Betula)
REFERENCE Parhamova, O.Y., Fomina, E.G. and Grigorieva, E.E. Genetic variability of the major birch pollen allergen Bet v 1 and characterization of the B. and F-cell epitopes. International Journal of Allergy and Asthma Research 2020; 17(1): 1-10.	REFERENCE Parhamova, O.Y., Fomina, E.G. and Grigorieva, E.E. Genetic variability of the major birch pollen allergen Bet v 1 and characterization of the B. and F-cell epitopes. International Journal of Allergy and Asthma Research 2020; 17(1): 1-10.	REFERENCE Parhamova, O.Y., Fomina, E.G. and Grigorieva, E.E. Genetic variability of the major birch pollen allergen Bet v 1 and characterization of the B. and F-cell epitopes. International Journal of Allergy and Asthma Research 2020; 17(1): 1-10.
COMMENT	COMMENT	COMMENT
FEATURES	FEATURES	FEATURES
ORIGIN	ORIGIN	ORIGIN
ORIGIN 1..483	ORIGIN 1..483	ORIGIN 1..483

Переписка: olgaparhom4uk@mail.ru