

Показатели эффективности всех изучаемых АСС практически одинаковы. То есть все исследуемые АСС применены для обработки рук.

Все исследуемые АСС имеют нейтральную рН. А это значит, что исследуемые антисептики помогут помочь сохранить кожу здоровой, скорректировать проблемы и достаточно хорошо обеззаразить.

Изготовленное АСС в условиях лаборатории ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО не требует специального оборудования и имеет не сложный технологический процесс. А это значит, что АСС для рук по приведенной рецептуре, можно изготовить в домашних условиях.

В результате проведенного мониторинга цен, АСС мы сделали вывод, что антисептик собственного производства экономически более выгоден.

Список литературы:

1. Гудакова Е.И. Контроль за микробной кантаминацией антисептиков и дезинфектантов / Е.И., Гудакова, А.П. Красильникова // Лабор. Дело. - 1991. - №1 – С. 59-61.

2. Красильников А.П. Методика определения чувствительности - устойчивости бактерий к антисептикам. / А.П. Красильников, А.А. Адарченко // Мн.: МГМИ, 1989 – С. 15-25.

3. Любашенко С.Я. Санитарная микробиология / С.Я. Любашенко - М.: Медицина, 1980 - С 48-57.

УДК 578.233.3: 578.835.16

**Усольцева П.С., Новоселов А.В., Резайкин А.В.
НЕОНАТАЛЬНЫЙ РЕЦЕПТОР ДЛЯ Fc ФРАГМЕНТА
ИММУНОГЛОБУЛИНА G ЧЕЛОВЕКА (FcRn) – ОБЩИЙ
ДЕПРОТЕИНИЗИРУЮЩИЙ РЕЦЕПТОР ДЛЯ ВИРУСОВ ЕСНО**

Лаборатория энтеральных вирусных инфекций
ФБУН «Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций» Роспотребнадзора
Екатеринбург, Российская Федерация

**Usoltseva P.S., Novoselov A.V, Rezaykin A.V.
HUMAN NEONATAL RECEPTOR FOR Fc FRAGMENT OF
IMMUNOGLOBULIN G (FcRn) IS A COMMON UNCOATING RECEPTOR
FOR ECHOVIRUSES**

Laboratory of enteric viral infections
FBIS “Yekaterinburg Scientific Research Institute of Viral Infections” of the Federal
Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: savina_polina@mail.ru

Аннотация. В статье рассмотрены экспериментальные доказательства ключевой роли человеческого неонатального рецептора Fc фрагментов IgG

(FcRn) в репродукции эховирусов. В экспериментах на культуре клеток RD были использованы вирусы ЕСНО 3, 9, 11 типа; вирус Коксаки В5; альбумин, очищенный от глобулинов, и поликлональные антитела к FcRn. Наблюдавшийся протективный эффект альбумина был обусловлен конкуренцией эховирусов и альбумина за один и тот же клеточный рецептор. Обнаружено защитное действие антител к FcRn аналогичное таковому у альбумина. В совокупности с ранее опубликованными данными, это позволило идентифицировать FcRn в качестве общего депротеинизирующего рецептора для эховирусов.

Annotation. The article deals with experimental evidence of the key role that human neonatal receptor for Fc fragment of IgG (FcRn) plays in reproduction of echoviruses. The experiments were carried out in RD cell line using echoviruses of types 3, 9, 11; coxsackievirus B5; essentially globulin free albumin and polyclonal antibodies to FcRn. The observed protective effect of the albumin was caused by competition of echoviruses and the albumin for the same cellular receptor. Antibodies to FcRn exerted protective effect similar to that of the albumin. These findings, combined with earlier published data, allowed identifying FcRn as a common uncoating receptor for echoviruses.

Ключевые слова: вирус ЕСНО, эховирус, неонатальный Fc рецептор, FcRn

Keywords: echovirus, neonatal Fc receptor, FcRn

Введение

Согласно современной классификации, все (серио)типы вирусов ЕСНО (эховирусов) относят к виду *Enterovirus B* рода *Enterovirus* семейства *Picornaviridae*. К настоящему времени для многих представителей семейства пикорнавирусов описаны как первичные клеточные рецепторы, обеспечивающие связывание вирионов с плазматической мембраной клетки, так и основные – депротеинизирующие рецепторы, взаимодействие с которыми приводит к трансформации вирионов в А-частицы с последующим освобождением вирусной геномной РНК [1]. Если депротеинизирующий рецептор присутствует на плазматической мембране клеток, то он может выполнять роль первичного. Все известные депротеинизирующие рецепторы пикорнавирусов относятся к суперсемейству иммуноглобулинов: 1) PVR (CD155) – рецептор для всех типов полиовирусов; 2) CAR – коксакивирусный-аденовирусный рецептор для всех типов вирусов Коксаки В; 3) ICAM-1 – рецептор для всех типов мажорной группы риновирусов и трех типов вирусов Коксаки А (A13, A18, A21).

В 1992 году Mbida et al. [2] сообщалось о гликопротеине с молекулярной массой 44 кД (gp44), моноклональные антитела к которому, полученные авторами работы, защищали культуру клеток P2002 от инфицирования практически всеми типами эховирусов. Однако, сведения о дальнейших исследованиях клеточного рецептора gp44 в общедоступных поисковых системах отсутствуют. Ward et al. [4] был продемонстрирован защитный

эффект моноклональных антител к бета-2-микроглобулину при заражении культуры клеток RD широким спектром типов эховирусов, но эффект наблюдался лишь в культуре клеток RD. Также Ward et al. [5] было установлено, что добавление альбумина в среду поддержания культуры клеток RD ингибировало инфекцию эховирусом 7 типа, подавляя образование А-частиц, но не препятствовало связыванию вируса с клетками.

Нами было сформулировано предположение об идентичности описанного ранее клеточного рецептора gp44 и человеческого неонатального рецептора для Fc фрагмента IgG человека (FcRn). FcRn является трансмембранным гетеродимером, состоящим из тяжелой альфа-цепи, обозначаемой FCGRT, и нековалентно связанного с ней бета-2-микроглобулина. Молекула FCGRT представлена гликопротеином с молекулярной массой 45 кД и имеет характерную для суперсемейства иммуноглобулинов структуру внеклеточных доменов. На поверхности клеток FcRn выполняет функцию рецептора альбумина, а внутри клеток – функцию рецептора IgG и транспортного белка, обеспечивающего защиту IgG и альбумина от протеолитической деградации в лизосомах за счет рециркуляции или трансцитоза связанного лиганда.

Цель исследования – проверить гипотезу о роли FcRn в качестве общего депротеинизирующего клеточного рецептора для эховирусов.

Материалы и методы исследования

В работе использовали перевиваемую культуру клеток RD (клетки рабдомиосаркомы человека), полученную из банка-музея клеточных культур ФБУН "ЕНИИВИ" Роспотребнадзора. Клетки выращивали в питательной среде Игла MEM (НПП "ПанЭко", Москва) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Biosera, Франция), при 37°C в культуральных пластиковых 96-луночных планшетах (Corning-Costar, США) в течение 24 – 48 часов до формирования плотного монослоя. В качестве среды поддержания использовали питательную среду 199 (НПП "ПанЭко", Москва) без добавления сыворотки.

Для проверки гипотезы были выбраны эховирусы с заведомо разными первичными клеточными рецепторами. Гемагглютинирующий (Daf+) клон 431-1 эховируса 11 типа (E11), использующий DAF (Decay-Accelerating Factor) в качестве первичного клеточного рецептора, и негемагглютинирующий (Daf-) клон 431-6, использующий другой, не идентифицированный клеточный рецептор, были получены и охарактеризованы ранее [3]. Daf+ клинический изолят эховируса 3 типа (E3) и Daf- клинический изолят эховируса 9 типа (E9) были выделены из ликвора больных энтеровирусным менингитом, генотипированы и охарактеризованы в лаборатории энтеральных вирусных инфекций ФБУН "ЕНИИВИ" Роспотребнадзора. В качестве отрицательного контроля использовали Daf- клинический изолят вируса Коксаки типа B5 (CVB5).

Для ингибирования репродукции вирусов в работе использовали очищенный от глобулинов человеческий сывороточный альбумин (A8763, Sigma, США) в концентрации от 0,25% до 4%, и очищенные кроличьи

поликлональные антитела к человеческому FcRn (CT009-T08, Sino Biological, КНР) в концентрации от 0,15 до 10 мкг/мл.

Инфекционную активность вирусосодержащих жидкостей оценивали методом конечных разведений, определяя величину 50% тканевой цитопатогенной дозы на культуре клеток RD, выращенной в 96-луночных планшетах. Цитопатическое действие (ЦПД) вирусов на клетки оценивали визуально один раз в сутки. Окончательный учет результатов проводили по состоянию монослоя на 5-е сутки после его фиксации 96% раствором этилового спирта и последующей окраски 0,5% раствором основного карболового кристалвиолета. Для определения инфекционного титра вирусов использовали формулу Spearman-Kärber с расчетом суммарной аналитической погрешности. Для статистической обработки результатов использовали стандартные методы вариационной статистики. Различия между величинами считали статистически достоверными при условии, что вероятность ошибки первого рода не превышала 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

В начальной серии экспериментов изучалась протективная активность различных концентраций альбумина при заражении клеток RD различными типами эховирусов и вирусом CVB5. Было показано зависимое от концентрации альбумина удлинение сроков появления ЦПД при использовании одинаковой заражающей дозы следующих вирусов: E3, имевшего Daf⁺ фенотип; E9, имевшего Daf⁻ фенотип; и близкородственных клонов E11, имевших *daf*⁺ и *daf*⁻ генотип. Протективный эффект альбумина в отношении вируса CVB5, использующего другой депротеинизирующий рецептор (CAR), отсутствовал.

Для исключения вируснейтрализующего действия альбумина в растворе, были выполнены эксперименты с предварительной инкубацией заражающей дозы вирусов E11 в среде 199 с конечной концентрацией альбумина 4% (максимальная исследованная доза). Отсутствие вируснейтрализующего действия альбумина в растворе позволило исключить фактор взаимодействия вирусов с альбумином в качестве причины защитного эффекта альбумина при заражении культуры клеток.

Выраженное защитное действие альбумина проявлялось в отношении эховирусов разных типов и не зависело от их способности к взаимодействию с первичным клеточным рецептором DAF. Ранее нами было показано [3], что *daf*⁺ клон E11 в культуре клеток RD использовал рецептор DAF в качестве первичного рецептора и были получены косвенные доказательства того, что *daf*⁺ и *daf*⁻ клоны E11 используют общий клеточный рецептор, взаимодействующий с вирионом E11 в области каньона. Клеточный рецептор, заблокированный альбумином, являлся общим для обоих клонов, что подкрепляло предположение о его каньон-связывающих свойствах и, следовательно, депротеинизирующей функции.

Использование специфичных к человеческому FcRn поликлональных антител при заражении клеток RD эховирусами позволило впервые обнаружить

их защитный эффект: в концентрации 5 мкг/мл и выше антитела полностью подавляли развитие ЦПД от заражающей дозы вируса ЕЗ в течение 5 суток; в концентрации 2,5 мкг/мл и выше антитела полностью подавляли развитие ЦПД от заражающей дозы *daf+* и *daf-* клонов Е11 в течение 5 суток. В положительном контроле 100% ЦПД соответствующих вирусов наблюдалось на 2-е сутки. Инфицирующая доза вируса CVB5, использовавшегося в качестве отрицательного контроля, вызвала 100% ЦПД на 2-сутки как без антител к FcRn, так и при добавлении антител в возрастающих концентрациях вплоть до 10 мкг/мл.

Выводы:

1. Механизм защитного эффекта альбумина при заражении культуры клеток RD эховирусами обусловлен конкуренцией эховирусов и альбумина за один и тот же клеточный рецептор.

2. Независимость проявления защитного эффекта альбумина и защитного эффекта антител к FcRn от типа эховирусов и от различий в их способности к взаимодействию с первичным клеточным рецептором DAF, подтверждает роль FcRn в качестве общего клеточного рецептора для эховирусов.

Список литературы:

1. Bergelson J.M. Picornavirus entry. / Bergelson J.M., Coyne C.B. // Adv. Exp. Med. Biol. – 2013. – V.790. – P.24-41.

2. Mbida A.D. Monoclonal antibody specific for the cellular receptor of echoviruses. / Mbida A.D., Gaudin O.G., Sabido O., Pozzetto B., Le Bihan J.C. // Intervirology. – 1992. – V.33. – № 1. – P.17-22.

3. Novoselov A.V. A single amino acid substitution controls DAF-dependent phenotype of echovirus 11 in rhabdomyosarcoma cells. / Novoselov A.V., Rezaikin A.V., Sergeev A.G., Fadeyev F.A., Grigoryeva J.V., Sokolova Z.I. // Virus Res. – 2012. – V.166. – № 1-2. – P.87–96.

4. Ward T. Role for beta2-microglobulin in echovirus infection of rhabdomyosarcoma cells. / Ward T., Powell R.M., Pipkin P.A., Evans D.J., Minor P.D., Almond J.W. // J. Virol. – 1998. – V.72. – № 7. – P.5360–5365.

5. Ward T. Serum albumin inhibits echovirus 7 uncoating. / Ward T., Powell R.M., Evans D.J., Almond J.W. // J. Gen. Virol. – 1999. – V.80. – № 2. – P.283–290.

УДК 57.083.13

Устинова Д.В., Вечтомова Е.В., Зорников Д.Л.

Отработка методики культивирования бактериальных биопленок

Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

Ustinova D.V., Vechtomova E.V., Zornikov D.L.