

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Chemijos ir geomokslų fakultetas



Biochemijos studijų programos IV kurso studentė

Arūnė Verbickaitė

Bakalaurinis darbas

**Žiurkių hepatito E viruso kapsidės baltymų sintezė mielėse ir
jų pritaikymas imunofermentinėje analizėje**

Darbo vadovas:

j.m.d. Paulius Lukas Tamošiūnas

Vilnius, 2017

Žiurkių hepatito E viruso kapsidės baltymų sintezė mielėse ir jų pritaikymas imunofermentinėje analizėje

SANTRAUKA

Žiurkių hepatito E virusas pirmą kartą identifikuotas 2010 metais Vokietijoje. Virusas priklauso *Hepeviridae* šeimai, *Orthohepevirus* genčiai. HEV neturi apvalkalo, jo genomą sudaro (+) RNR molekulė. Imunogenišką viruso kapsidės baltymą koduoja ASR2. HEV sukelia ūmų hepatitą, kuris gali varijuoti nuo sublinikinės iki žaibinės formos. Virusas gali būti diagnozuojamas tiesiogiai, ieškant jo RNR, arba netiesiogiai, atliekant imunofermentinius testus.

Darbo metu buvo sukurta rekombinantinių žiurkių HEV trumpintų kapsidės baltymų sintezės sistema mielėse *S. cerevisiae*. Susintetinti ir išgryninti baltymai nuo 112 iki 645, 112-608 ir 1-608 aminorūgštis. Į virusus panašias daleles formuoja tik baltymas nuo 112 iki 608 aminorūgštis.

IFA testu nustatius susintetintų baltymų antigenines savybes pastebėta, kad stipriausiai su žiurkių mėginiais, paimtais iš krūtinės ertmės skysčio, reaguoja baltymas nuo 112 iki 608 aminorūgštis. Iš 72 žiurkių mėginių 8 buvo pripažinti teigiamais. Atliekant IFA su žmogaus HEV GT3 rekombinantiniu baltymu teigiamais nustatyti tie patys mėginiai kaip ir tiriant su žiurkių baltymais. Nustatyta, kad antigenuose vyrauja konformaciniai epitopai.

Synthesis of Rat Hepatitis E Virus Capsid Protein in Yeast and Application in Immunoanalysis

SUMMARY

Rat Hepatitis E virus first time identified in 2010 in Germany. It belongs to the genus *Orthohepevirus* in the family *Hepeviridae*. HEV is non-enveloped virus that contain positive sense RNA. ORF2 encodes the immunogenic virus capsid protein. Hepatitis E has variable clinical presentations and ranges from asymptomatic carriers to fulminant hepatitis. Diagnostic methods are broadly classified into two types: direct and indirect. The direct methods detect the nucleic acids, the indirect methods detect the anti-HEV IgM and IgG antibodies.

During this work recombinant rat HEV truncated capsid protein synthesis system in *S. cerevisiae* was created. The synthesized proteins variants comprising amino acids 112-645, 112-608 and 1-608 were purified. It was found that protein comprising amino acids 112-608 form virus-like particles.

All purified proteins were tested for antigenicity by an EIA assay. Protein comprising amino acids 112-608 was shown to have highest reactivity with rats' antibodies extracted from chest cavity fluid. It was found that 8 from 72 rats samples are positive. During EIA with human HEV GT3 recombinant protein were found the same 8 positive samples. It was shown that proteins contain conformational epitopes.