

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ РЕКОМБІНАНТНОГО АНТИГЕНУ ДЛЯ ІМУНОФЕРМЕНТНОЇ ДІАГНОСТИКИ ВІРУСУ ГЕРПЕСУ І ТИПУ

Гоголь І. М.

*Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
gogol.igor@lil.kpi.ua*

Вірус простого герпесу І типу (HSV-1) є одним із найпоширеніших патогенів людини, що викликає латентні та рецидивні інфекції. Для ранньої діагностики та визначення імунного статусу пацієнтів широкого застосування набули імуноферментні тести (ІФА), однак традиційні антигени, отримані з вірусних культур, мають обмеження через складність стандартизації та ризик контамінації. Перспективним напрямом є використання рекомбінантних антигенів, що забезпечують високу специфічність і відтворюваність результатів [1-2].

Ген *gB-1* було модифіковано шляхом видалення ділянки, що кодує трансмембранний фрагмент, і клоновано у реплікативний вектор під контролем промотора вірусу саркоми Рауса. Отриману конструкцію трансфектовано у клітини людини НЕК-293, які стабільно експресували та секретували глікопротеїн *gB-1s* у культуральне середовище. Після ультрафільтрації культуральної рідини білок очищували методом імуноафінної хроматографії з використанням моноклональних антитіл до *gB*. Концентрацію рекомбінантного білка визначали спектрофотометрично, після ультрафільтрації та афінної очистки антиген використовувався як тверда фаза в ІФА [1]. Розроблений ІФА передбачав інкубацію тест-сироваток із твердою фазою, сенсibilізованою *gB-1s*, подальше зв'язування антиген-антитіло детектувалося за допомогою пероксидазного кон'югату анти-IgG та хромогенного субстрату ортофенілендіаміну. Оптимальні параметри визначено експериментально: концентрація антигену – 10-50 нг/лунку, розведення сироваток – 1:50, температура інкубації – 37°C [1].

Отримана тест-система продемонструвала високу діагностичну ефективність: збіг результатів із традиційним ІФА на нативних антигенах перевищував 98%. Перехресних реакцій із сироватками пацієнтів, інфікованих іншими герпесвірусами людини (VZV, CMV, EBV, HHV-6), не виявлено. Завдяки відсутності необхідності працювати з інфекційним матеріалом, метод є безпечним і придатним для масової діагностики. Крім того, стабільність та стандартизованість рекомбінантного антигену дають можливість створювати уніфіковані ІФА-набори для серодіагностики як первинної, так і латентної герпесвірусної інфекції, а також для контролю ефективності вакцинації [1-2].

Таким чином, запропонована інтегрована технологія рекомбінантних *gB-1s* створює високоаналітичну, безпечну ELISA-систему для HSV-1 діагностики, мінімізуючи ризики контамінації та крос-реакцій, з високою стабільністю та точністю. Це сприяє інноваційному біотехнологічному виробництву тест-систем, орієнтованих на екологічну безпеку та ресурсозбереження в медичній діагностиці. Методика може бути стандартизована для діагностики як гострих, так і латентних форм герпесвірусної інфекції, а також для серомоніторингу після вакцинації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Revello M.G. et al. Development and evaluation of an ELISA using secreted recombinant glycoprotein B for determination of IgG antibody to herpes simplex virus. *Journal of Virological Methods*. 1991. Vol. 34. P. 57–70.
2. Zheng Z. et al. Serum Reactivity Against Herpes Simplex Virus Type 1 UL48 Protein in Behçet's Disease Patients and a Behçet's Disease-like Mouse Model. *Acta Dermato-Venereologica*. 2015. Vol. 95. P. 952–958.