



AR08856376 «Каприпоксвирус негізінде вакцина векторын жетілдіру»(ГҚ 2020-2022)

Жоба жетекшісі б.ғ.д., профессор Червякова О.В.



Аннотация

Ұсынылып отырған жобаны іске асыру нәтижесінде каприпоксвирустардың потенциалды иммуномодуляторлық гендері іріктелетін болады, іріктелген гендерді жоя отырып рекомбинантты вирустар алынады, олардың иммуногендік белсенділігі зерттелетін болады. Иммуногенділікті арттыру арқылы вакцина векторларын оңтайландыру вакцинациялау хаттамаларын оңтайландыруға мүмкіндік береді.

Мақсаты мен міндеттері

Жобаның мақсаты ұзақ уақыт қорғаныш иммундық жауапты индукциялайтын оңтайландырылған каприпоксвирус векторын жобалау болып табылады
Тапсырмалар:

- 1) Каприпоксвирус пен шешеквакцинасы вирусының геномдарын салыстырмалы талдау. Жойылуы күшейтілген иммундық жауапқа әкелетін гендерді іріктеу.
- 2) Иммуномодуляторлық гендерді қағып рекомбинантты каприпоксвирустар өндіру.
- 3) Иммуномодуляторлық гендерді қағып, рекомбинантты каприпоксвирустар арқылы бөгде ген өрнегін бағалау.
- 4) Таңдап алынған қоздырғыштың негізгі ақуызын білдіретін оңтайландырылған каприпоксвирус векторының қорғалуын зерттеу.

Әдістер мен материалдар

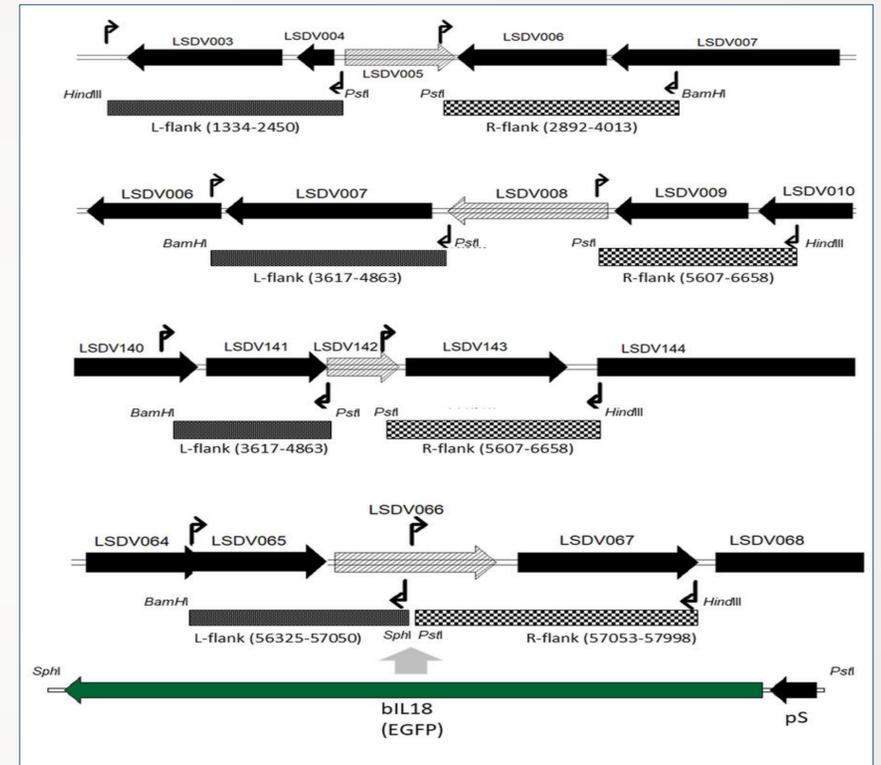
Нодулярлы дерматит вирусы ҚТ жасушаларында 2% ЭБС бар ПСП ортасын қолдана отырып, 7-10 күн ішінде 37°C температурада 5% CO₂-де көбейтілді. Вирустың белсенділігі 96 шұңқырлы планшеттерде микротитрлеу әдісімен анықталды. Титр Рид пен Менч әдісімен есептелді және Ig ТЦД50/см³ түрінде көрсетілді. Рекомбинантты вирустар уақытша доминантты селекция жағдайында гомологиялық рекомбинация арқылы алынды. Рекомбинанттарды іріктеу шекті сұйылту және бляшка әдістерімен клондау арқылы жүргізілді. Рекомбинантты вирустар флуоресцентті микроскопия және/немесе ПТР арқылы анықталды.

Нәтижелер және талқылау

Поксвирус геномына талдау жасалды және каприпоксвирус векторының иммундық реакциясына әсер етуі мүмкін жеті ген анықталды. Шет антигендерді білдіретін LSDV005 немесе LSDV008 гендерінің нокауты бар рекомбинантты нодулярлы дерматит вирустары алынды, олардың қасиеттері зерттелді. Сыналған комбинациялардағы иммуномодуляциялық гендердің нокауты вирустардың *in vitro* көбеюіне әсер етпейтіні анықталды. Ерекшелік LSDV008 және LSDV066 гендерінің бір мезгілде нокауты болды, бұл пассивті процесте белсенділіктің төмендеуіне әкелді. Рекомбинантты нодулярлы дерматит вирустары жасуша культурасында кірістірілген *in vitro* антигендерді тиімді түрде көрсетеді. Трансгеннің экспрессия деңгейі вирус геномында иммуномодуляциялық гендердің болуына/болмауына байланысты емес. Тышқандардың денесінде интерлейкин-18 немесе құтыру вирусының гликопротеинін білдіретін ИММУНОМОДУЛЯРЛЫ lsdv005 немесе LSDV008 гендерінің нокауты бар рекомбинантты нодулярлы дерматит вирустары жасушалық иммундық жауаптың пайда болуына себеп болады. Антиденелер өндірісін тек LSDV005 генін жоятын вирустар тудырды. Құтыру вирусының гликопротеинін білдіретін ИММУНОМОДУЛЯРЛЫ lsdv005 немесе LSDV008 гендерінің нокауты бар рекомбинантты нодулярлы дерматит вирустары сәйкесінше құтыру инфекциясынан толық немесе ішінара қорғауды қамтамасыз етті.

Байланыстар

Червякова О.В., email: o.chervyakova@biosafety.kz



1-сурет. Интеграциялық плазмидаларды жобалау үшін бөлінетін LSDV гендерін қапталдайтын ДНҚ ПТР-фрагменттерін алу схемасы

1-кесте. Алынып тасталуы иммундық жауапты күшейтетін шешеквакцина вирусының гендері

Ген	Функциясы
A41L	Chemokine binding protein
A46R	IL-1/TLR signaling inhibitor
B8R	Soluble IFN-g receptor-like protein
B16R	IL-1 beta receptor
B19R	IFN-alpha/beta receptor glycoprotein
C6L	Bcl-2-like protein, IFN-beta inhibitor
C12L	Serpin 1,2,3, IL-18-связывающий белок
F1L	Caspase-9 (apoptosis) inhibitor (mitochondrial-associated)
K7R	Host immune response repressor
N1L	Anti-apoptotic Bcl-2-like protein
N2L	Alpha amanatin target protein, Ингибитор IRF-3

Жарияланған еңбектер тізімі

1. Chervyakova, O.; Tailakova, E.; Kozhabergenov, N.; Sadikaliyeva, S.; Sultankulova, K.; Zakarya, K.; Maksyutov, R.A.; Strochkov, V.; Sandybayev, N. Engineering of Recombinant Sheep Pox Viruses Expressing Foreign Antigens. *Microorganisms* 2021, 9, 1005. Web of Science: Impact Factor (2021) – 4,926; Квартиль Q2; JCI 2021 – 0,7. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051005>
2. Chervyakova, O.; Issabek, A.; Sultankulova, K.; Bopi, A.; Kozhabergenov, N.; Omarova, Z.; Tulendibayev, A.; Aubakir, N.; Orynbayev, M. Lumpy Skin Disease Virus with Four Knocked Out Genes Was Attenuated In Vivo and Protects Cattle from Infection. *Vaccines* 2022, 10, 1705. Web of Science: Impact Factor (2021) – 4,961; Квартиль Q2; JCI 2021 – 0,76 <https://doi.org/10.3390/vaccines10101705>
3. Issabek, A.U.; Orynbayev, M.B.; Sultankulova, K.T.; Amirgazin, A.; Zakarya, K.D.; Omarova, Z.; Chervyakova, O.V. Genome Sequence of Atyrau-5BJN(IL18), a Recombinant Lumpy Skin Disease Virus with Knockout of Virulence Genes. *Microbiol Resour Announc.* 2022, 11(7):e0038022. Scopus: CiteScore 2021 – 1,6; SJR 2021 – 0,303; SNIP 2021 – 0,296; наивысший процентиль – 40. Web of Science: JCI 2021 – 0,19, Квартиль Q <https://doi.org/10.1128/mra.00380-22>
4. Подана заявка на изобретение в Национальный институт интеллектуальной собственности РК «Аттенуированный вирус нодулярного дерматита, штамм Atyrau5BJN(IL18) для приготовления средств специфической профилактики» № 2022/0568.1 от 21 сентября 2022 года. Получен положительный результат формальной экспертизы от 30.09.2022
5. Chervyakova O., Issabek A., Tulendibayev A., Omarova Z., Sultankulova K., Orynbayev M. Development of safe vaccine against Lumpy skin disease: XXIII International Poxvirus, Asfarvirus and Iridovirus Conference (virtual), July 5-9, 2021, Philadelphia, Pennsylvania