



# АР08856376 «Роль вирусных иммуномодулирующих генов в формировании иммунного ответа на каприпоксвирусные векторные вакцины» (ГФ 2023-2025)

Руководитель проекта к.б.н., профессор Червякова О.В.

## Цель и задачи

Цель проекта - изучение функций иммуномодулирующих генов каприпоксвирусов путем создания вирусов с нокаутом этих генов и оценки качественных изменений иммунного ответа к вектору и экспрессируемому им чужеродному антигену

Задачи:

- 1) Конструирование плазмид интеграции для нокаута иммуномодулирующих генов каприпоксвирусов.
- 2) Получение рекомбинантных каприпоксвирусов с нокаутом иммуномодулирующих генов.
- 3) Оценка иммунобиологических свойств рекомбинантных вирусов с нокаутом иммуномодулирующих генов.

## Методы и материалы

Рекомбинантные штаммы каприпоксвирусов с делециями потенциальных иммуномодулирующих генов будут получены методом гомологичной рекомбинации в условиях временной доминантной селекции. Для реализации этого подхода плазмиды интеграции будут включать кроме последовательностей вирусной ДНК, доминантный селективный маркер (ген *gpt* ксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы *E.coli* под контролем 7,5K-промотора вируса оспы верблюдов).

Для каждого делеционного мутанта каприпоксвируса будет проведена оценка эффективности экспрессии встроенных чужеродных генов *in vitro* и *in vivo*; изучение репродуктивных свойств и иммуногенности. Для оценки уровня экспрессии чужеродных генов рекомбинантными каприпоксвирусами в культуре клеток будут использованы методы количественной ПЦР с обратной транскрипцией (синтез мРНК целевых генов в ходе развития инфекционного процесса); вестерн блота (специфичность экспрессируемого белка). Экспрессия чужеродных генов *in vivo* будет оценена по уровню гуморального и клеточного иммунного ответа. Титры антител будут определены в ИФА, клеточный иммунитет будет оценен по уровню IFN- $\gamma$  и интерлейкина-2

## Ожидаемые результаты

В результате реализации проекта будут получены рекомбинантные каприпоксвирусы, экспрессирующие чужеродные антигены с нокаутом иммуномодулирующих генов. Будет дана иммунобиологическая характеристика каждого рекомбинанта с оценкой влияния нокаута иммуномодулирующего гена на качество иммунного ответа. Функциональная характеристика иммуномодулирующих вирусных генов является важным инструментом для понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе репликации и патогенеза каприпоксвируса. Более того, полученные знания послужат основой для разработки новых вакцин и противовирусных препаратов и расширят возможности применения каприпоксвирусов.

По результатам исследований будут подготовлены публикации согласно п.7 конкурсной документации: не менее 2 (двух) статей и (или) обзоров в рецензируемых научных изданиях, входящих в 1 (первый) либо 2 (второй) квартили в базе Web of Science и (или) имеющих процентиль по CiteScore в базе Scopus не менее 65 (шестидесяти пяти). В случае получения в ходе реализации проекта патентоспособных результатов будут поданы заявки на изобретения в Национальный институт интеллектуальной собственности РК.

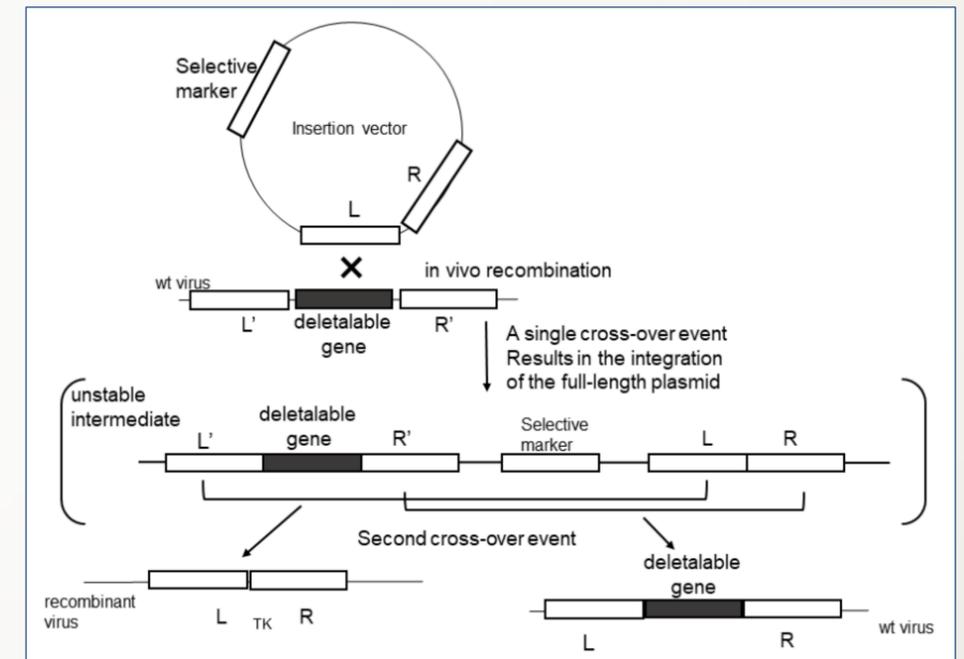


Рисунок 1. Схема нокаута гена в вирусном геноме путем удаления последовательности целевого гена

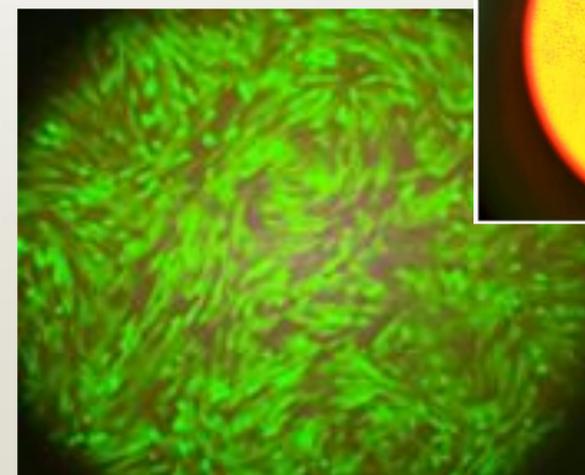


Рисунок 2. Клетки тестикул ягненка, инфицированные рекомбинантным каприпоксвирусом, экспрессирующим EGFP

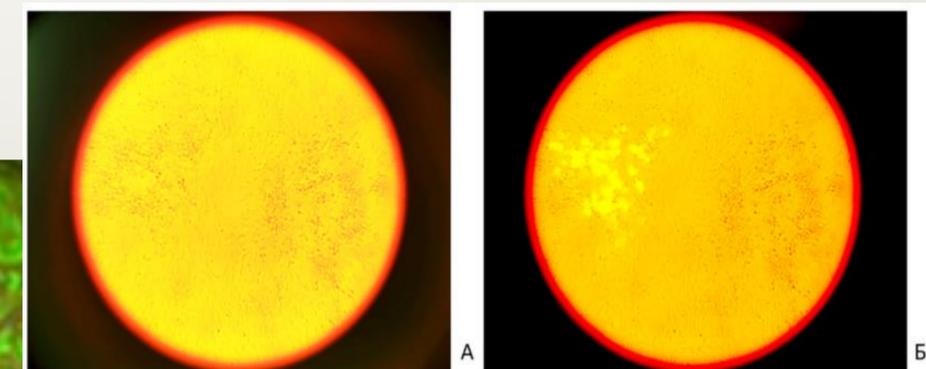


Рисунок 3. Селекция рекомбинантных вирусов методом бляшек

## Контакты

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