

# AP08856376 «Совершенствование вакцинного вектора на основе каприпоксвируса» (ГФ 2020-2022)

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



## Аннотация

В результате реализации предлагаемого проекта будут выбраны потенциальные иммуномодулирующие гены каприпоксвируса, получены рекомбинантные вирусы с делецией выбранных генов и изучена их иммуногенная активность. Оптимизация вакцинных векторов путем усиления иммуногенности позволит оптимизировать протоколы вакцинации.

## Цель и задачи

Цель проекта - конструирование оптимизированного каприпоксвирусного вектора, индуцирующего длительный протективный иммунный ответ

Задачи:

- 1) Сравнительный анализ геномов каприпоксвируса и вируса осповакцины. Выбор генов, делеции которых приводят к усилению иммунного ответа.
- 2) Получение рекомбинантных каприпоксвирусов с нокаутом иммуномодулирующих генов.
- 3) Оценка экспрессии чужеродных генов рекомбинантными каприпоксвирусами с нокаутом иммуномодулирующих генов.
- 4) Изучение протективности оптимизированного каприпоксвирусного вектора, экспрессирующего ключевой белок выбранного патогена.

Таблица 1. Гены вируса осповакцины, удаление которых усиливает иммунный ответ

Ген	Функция
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

## Методы и материалы

Вирусы нодулярного дерматита размножали на клетках ТЯ с использованием среды ПСП, содержащей 2% ЭБС, в течение 7-10 дней при 37°C в 5% CO<sub>2</sub>. Активность вируса определяли методом микротитрования в 96-луночных планшетах. Титр рассчитывали по методу Рида и Менча и выражали в Ig ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

Рекомбинантные вирусы получали путем гомологичной рекомбинации в условиях временной доминантной селекции. Отбор рекомбинантов проводили клонированием методами предельного разведения и бляшек.

Рекомбинантные вирусы идентифицировали методом люминесцентной микроскопии и/или ПЦР.

## Результаты и обсуждение

Проведен анализ геномов поксвирусов и идентифицированы семь генов, которые потенциально могут влиять на иммунный ответ каприпоксвирусного вектора. Получены рекомбинантные вирусы нодулярного дерматита с нокаутом генов LSDV005 или LSDV008, экспрессирующие чужеродные антигены, изучены их свойства. Установлено, что нокаут иммуномодулирующих генов в испытанных комбинациях не влиял на репродукцию вирусов *in vitro*. Исключением стал одновременный нокаут генов LSDV008 и LSDV066, который приводил снижению активности в процессе пассирования. Рекомбинантные вирусы нодулярного дерматита эффективно экспрессируют встроенные антигены *in vitro* в культуре клеток. Уровень экспрессии трансгена не зависит от наличия/отсутствия иммуномодулирующих генов в геноме вируса. В организме мышей рекомбинантные вирусы нодулярного дерматита с нокаутом иммуномодулирующих генов LSDV005 или LSDV008, экспрессирующие интерлейкин-18 или гликопротеин вируса бешенства, вызывают формирование клеточного иммунного ответа. Выработку антител индуцировали только вирусы с делецией гена LSDV005. Рекомбинантные вирусы нодулярного дерматита с нокаутом иммуномодулирующих генов LSDV005 или LSDV008, экспрессирующие гликопротеин вируса бешенства, обеспечивали полную или частичную защиту от заражения бешенством, соответственно.

## Контакты

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

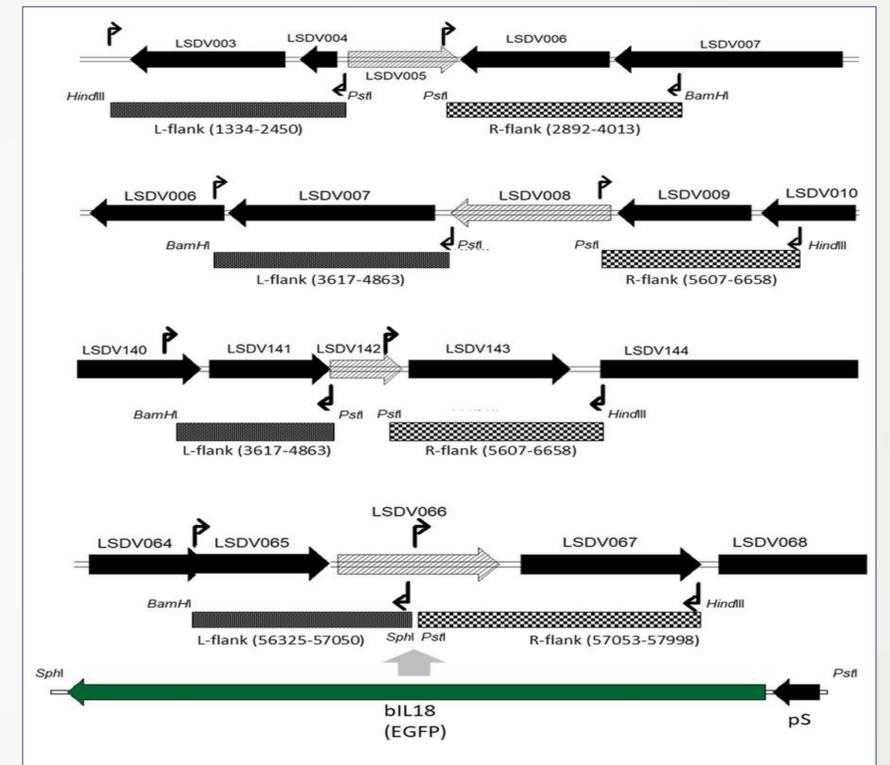


Рисунок 1. Схема получения ПЦР-фрагментов ДНК, фланкирующих делетируемые гены LSDV для конструирования плазмид интеграции

## Список опубликованных работ

1. Chervyakova, O.; Tailakova, E.; Kozhabergenov, N.; Sadikaliyeva, S.; Sultankulova, K.; Zakarya, K.; Maksyutov, R.A.; Strochko, 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