

УДК 614.9: 615.371

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАРКЕРНОГО БЕЛКА GFP ПРИ РАЗРАБОТКЕ ВИРУС-ВЕКТОРНЫХ ВАКЦИН НА ОСНОВЕ ВИРУСА ORF

*Семенова В.О., студентка 4 курса ФВМиБ
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

*Научный руководитель – Мима К.А., кандидат биологических
наук, научный сотрудник, ФГБНУ ФИЦВиМ*

Ключевые слова: вирус-векторные вакцины, парапоксвирус ORF, зеленый флуоресцентный белок GFP.

Работа посвящена анализу роли вирус-векторных вакцин в ветеринарии и использовании зеленого флуоресцентного белка GFP в качестве маркерного гена для селекции и детекции рекомбинантного вируса.

Большое количество инфекционных заболеваний, поражающих сельскохозяйственных и домашних животных, вызывается патогенами вирусной этиологии. Для обеспечения высоких стандартов качества животной продукции необходимо развивать эффективные средства для предотвращения и удержания распространения инфекций, поражающих животных в хозяйствах. На сегодняшний день наилучшей стратегией является внедрение мероприятий по вакцинации во всех хозяйствах, где это возможно [1].

Одним из последних достижений в разработке вакцин является использование вирусных векторов. Этот метод использует вирусы как векторы для переноса генов протективных антигенов других вирусов. В геном авирулентного вируса вставляют ген интересующего вируса, кодирующий антиген, вызывающий протективный ответ в привитом организме. Модифицированный таким образом авирулентный вирус используют как живую вирусную вакцину. Клетки, в которых векторный вирус реплицируется *in vivo*, экспрессируют чужеродный белок, вызывающий гуморальный и опосредованный клетками иммунный ответ на данный белок [2].

Примером таких вирусов может служить парапоксвирус ORF (ORFV), который вызывает кожное заболевание овец, коз и диких жвачных животных, также известное как контагиозная эктима или заразный пустулезный дерматит [3].

Этот вирус широко используется в качестве новой вирусной векторной системы для экспрессии различных чужеродных антигенов. Его основными преимуществами являются очень ограниченный диапазон хозяев (овцы и козы), тропизм к эпителиальным клеткам и отсутствие распространения системного вируса даже у лиц с ослабленным иммунитетом или после внутривенной инъекции с высокой дозы вируса. Уникальные иммуномодулирующие свойства ORFV сильно стимулируют врожденный иммунитет и быстро генерируют чужеродные антиген-специфические иммунные ответы [4].

Ранее сообщалось, что рекомбинантный вирус ORF опосредуют защитный иммунитет против ряда различных вирусных инфекций, таких как ВГБК, КЧС, ЧМЖ, СПИД, болезни Борна, гриппа А и других [5].

Возможность использования вируса ORF в качестве вирусного вектора для создания вакцин против особо опасных болезней сельскохозяйственных представляется перспективной задачей.

Однако селекция рекомбинантного вируса ORF от вируса дико-го типа после гомологичной рекомбинации несет в себе определенные сложности. В связи с этим для генерации рекомбинантных вирусов и для изучения вирусного тропизма и анализа противовирусного ответа, а также облегчения селекции в геном рекомбинантного вируса помимо гена интересующего вируса, встраивается маркерный ген GFP, кодирующий зеленый флуоресцентный белок, который светится под ультрафиолетом [6, 7].

Данный подход так же возможен при разработке рекомбинантного вируса ORF, несущего в себе гены, кодирующие иммунодоминантные белки вируса африканской чумы свиней. Обнаружение в сыворотке крови от иммунизированных рекомбинантным вирусом ORF животных, специфических антител к белку GFP, позволит оценить способность вируса вызывать специфический иммунный ответ к встроенным генам вируса АЧС.

Библиографический список

1. Сергеев В.А. Вирусы и вирусные вакцины. / В.А. Сергеев // М.: Библионика, 2007. 524 с.
2. Panicali D. Construction of poxviruses as cloning vectors: Insertion of the thymidine kinase gene from herpes simplex virus into the DNA of infectious vaccinia virus. / D. Panicali, E. Paoletti // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 79:4927–4931, 1982. doi: 10.1073/pnas.79.16.4927
3. Fleming S. Molecular Genetic Analysis of Orf Virus: A Poxvirus That Has Adapted to Skin Viruses. / S. Fleming, L. Wise, A. Mercer // Viruses. 7(3): 1505–1539, 2015. doi: 10.3390/v7031505

4. Amann R. A New Rabies Vaccine Based on a Recombinant Orf Virus (Parapoxvirus) Expressing the Rabies Virus Glycoprotein. / R. Amann, J. Rohde, U. Wulle [et al.] // *J Virol.* 87(3): 1618–1630, 2013. doi: 10.1128/JVI.02470-12
5. Rohde J. A new recombinant Orf virus (ORFV, parapoxvirus) protects rabbits against lethal infection with rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV). / J. Rohde, H. Schirrmeier, H. Granzow [et al.] // *Vaccine* 29:9256–9264, 2011. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.09.121
6. Prendergast F. Chemical and physical properties of aequorin and the green fluorescent protein isolated from *Aequorea forskålea*. / F. Prendergast, K. Mann // *Biochemistry* 17(17):3448–3453, 1978. doi: 10.1021/bi00610a004
7. Ning Z. Generation of recombinant Orf virus using an enhanced green fluorescent protein reporter gene as a selectable marker. / Z. Ning, Y. Peng, W. Hao [et al.] // *BMC Vet Res.* 7:80, 2011. doi: 10.1186/1746-6148-7-80

USAGE OF MARKER PROTEIN GFP IN VIRAL VECTOR-BASED VACCINE DESIGN ON THE BASIS OF ORF VIRUS

Semenova V., Mima K.

Key words: *viral vector-based vaccines, parapoxvirus ORF, GFP.*

The study investigates the role of viral vector-based vaccines in veterinary medicine and the usage of green fluorescent protein GFP as a marker gene for selection and detection of recombinant virus.