

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-202

**РАЗРАБОТКА РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИГЕНА ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА
ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ СПЕКТРА АКТУАЛЬНЫХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ШТАММОВ****DEVELOPMENT OF RECOMBINANT NEWCASTLE DISEASE VIRUS ANTIGEN
TO CREATE VACCINE AGAINST A RANGE OF CURRENT CIRCULATING STRAINS**

С. Е. Торопов, Е. М. Рябчевская, Е. А. Евтушенко, Н. А. Никитин, О. В. Карпова

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

S. E. Toropov, E. M. Ryabchevskaya, E. A. Evtushenko, N. A. Nikitin, O. V. Karpova

Lomonosov Moscow State University✉ stepan.toropov@mail.ru**Аннотация**

Вирус болезни Ньюкасла (NDV) — возбудитель высококонтагиозного заболевания птиц. Серьезной проблемой создания вакцин против NDV является его высокая антигенная вариабельность. В рамках исследования спроектирован и получен полиэпитопный рекомбинантный антиген NDV. Иммунизация полученным антигеном приводила к выработке антител, способных взаимодействовать с NDV разных штаммов и генотипов.

Abstract

Newcastle disease virus (NDV) is the causative agent of a highly contagious disease in birds. An important issue in creating NDV vaccines is its high antigenic variability. In this study, a polyepitope recombinant antigen was designed and obtained. Immunization with the developed antigen led to the production of antibodies, which were able to interact with NDV of different strains and genotypes.

Вирус болезни Ньюкасла (Newcastle disease virus, NDV) — представитель рода *Orthoavulavirus* семейства *Paramyxoviridae*, возбудитель высококонтагиозного заболевания сельскохозяйственных и диких птиц. NDV распространен повсеместно и эндемичен во многих развивающихся странах. Инфицирование домашней птицы высоковирулентными штаммами NDV может привести к 100%-й смертности среди зараженных особей.

Для NDV характерна высокая антигенная вариабельность, в настоящее время выделяется более 20 различных генотипов, среди которых наибольшее значение в контексте распространения и патогенности имеют V, VI и VII генотипы. Единственный эффективный метод борьбы с NDV — вакцинация птиц в раннем возрасте. На рынке ветеринарных препаратов для профилактики NDV представлены живые аттенуированные и инактивированные вакцины. Большинство существующих вакцин разрабатывались на основе штаммов, относящихся к I и II генотипам. Использование таких (коммерчески доступных) вакцин не может обеспечить полную защиту от NDV из-за генетического расхождения между вакцинными и актуальными штаммами. В связи с этим поиск эффективных способов борьбы с болезнью Ньюкасла остается важной проблемой современной науки и ветеринарии. Одним из перспективных направлений в данной области является разработка рекомбинантных вакцин.

В рамках данного исследования разработан полиэпитопный рекомбинантный антиген, в состав которого входят протективные эпитопы белка HN, последовательности которых соответствуют наиболее распространенным циркулирующим штаммам NDV. В качестве основного эпитопа был выбран участок гемагглютинин-нейраминидазы (HN) с 341 по 368 а.о., где, согласно литературным данным, находятся два линейных эпитопа с вариабельностью по положениям 347 и 362. В исследовании были рассмотрены варианты замен (E-G, K-A и Q-K) для эпитопов 1–3, наиболее часто встречающихся у штаммов VII генотипа, обнаруженных после 2010 г. Кроме того, был использован высоко консервативный для разных штаммов NDV участок HN с 242 по 256 а.о. На основе вектора pQE-30 была создана генетическая конструкция, позволяющая экспрессировать в клетках *E. coli* целевой рекомбинантный антиген, включающий последовательности каждого из четырех эпитопов, повторенные дважды. Полученный антиген был назван Castle1. Было продемонстрировано, что сыворотки к NDV способны узнавать белок Castle1. Более того, показано, что иммунизация мышей белком Castle1 индуцирует выработку антител, способных эффективно связывать NDV различных генотипов. Были проведены предварительные

эксперименты, доказывающие наличие у этих сывороток способности вызывать торможение агглютинации эритроцитов при постановке РТГА. Отдельная серия экспериментов была проведена на животной модели цыплят, которые представляют собой основную группу риска при инфицировании NDV. Продемонстрировано, что иммунизация белком Castle1 способна индуцировать выработку антител, которые специфически взаимодействуют с препаратами NDV двух разных полевых изолятов, в том числе с высоковирулентным вирусом, относящимся к наиболее распространенному генотипу VII. Полученные результаты позволяют предположить, что разработанный белок Castle1 способствует эффективной выработке вирус-специфических антител к различным штаммам NDV.

Таким образом, полученный в рамках проведенной работы рекомбинантный белок Castle1, содержащий эпитопы белка HN актуальных штаммов NDV, может стать основой для последующих этапов создания эффективной рекомбинантной вакцины против NDV. Основными преимуществами такой вакцины могут стать универсальность для широкого спектра циркулирующих штаммов и высокий профиль безопасности, характерный для рекомбинантных субъединичных вакцин. Более того, предложенный подход к созданию антигена позволит в будущем легко модифицировать панель эпитопов в его составе и тем самым оперативно реагировать на появление новых штаммов NDV, что позволит значительно снизить уровень заболеваемости болезнью Ньюкасла на птицеводческих хозяйствах в России и во всем мире.