

## Определение фенотипических свойств генно-инженерного реассортанта на основе штамма живой гриппозной вакцины типа А и вируса гриппа типа В

Крутикова Е.В., Степанова Е.А., Вон П.-Ф., Руденко Л.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»

### Введение

Живая гриппозная вакцина является одним из приоритетных препаратов, обеспечивающих защиту от вирусов гриппа, вызывая при этом долговременный иммунный ответ широкого спектра действия. Основными показателями аттенуации живой гриппозной вакцины являются свойства температурочувствительности (*ts* фенотип) и холодоадаптированности (*ca* фенотип). Показатель холодоадаптированности обеспечивает возможность репликации вируса в верхних дыхательных путях, входных воротах инфекции, и обеспечивает местный иммунный ответ, а показатель температурочувствительности обеспечивает невозможность репликации вируса в нижних отделах респираторного тракта.

В данной работе были изучены биологические свойства химерного реассортанта, унаследовавшего гемагглютинин и нейраминидазу от эпидемического штамма вируса гриппа В и внутренние гены от донора аттенуации живой гриппозной вакцины типа А.

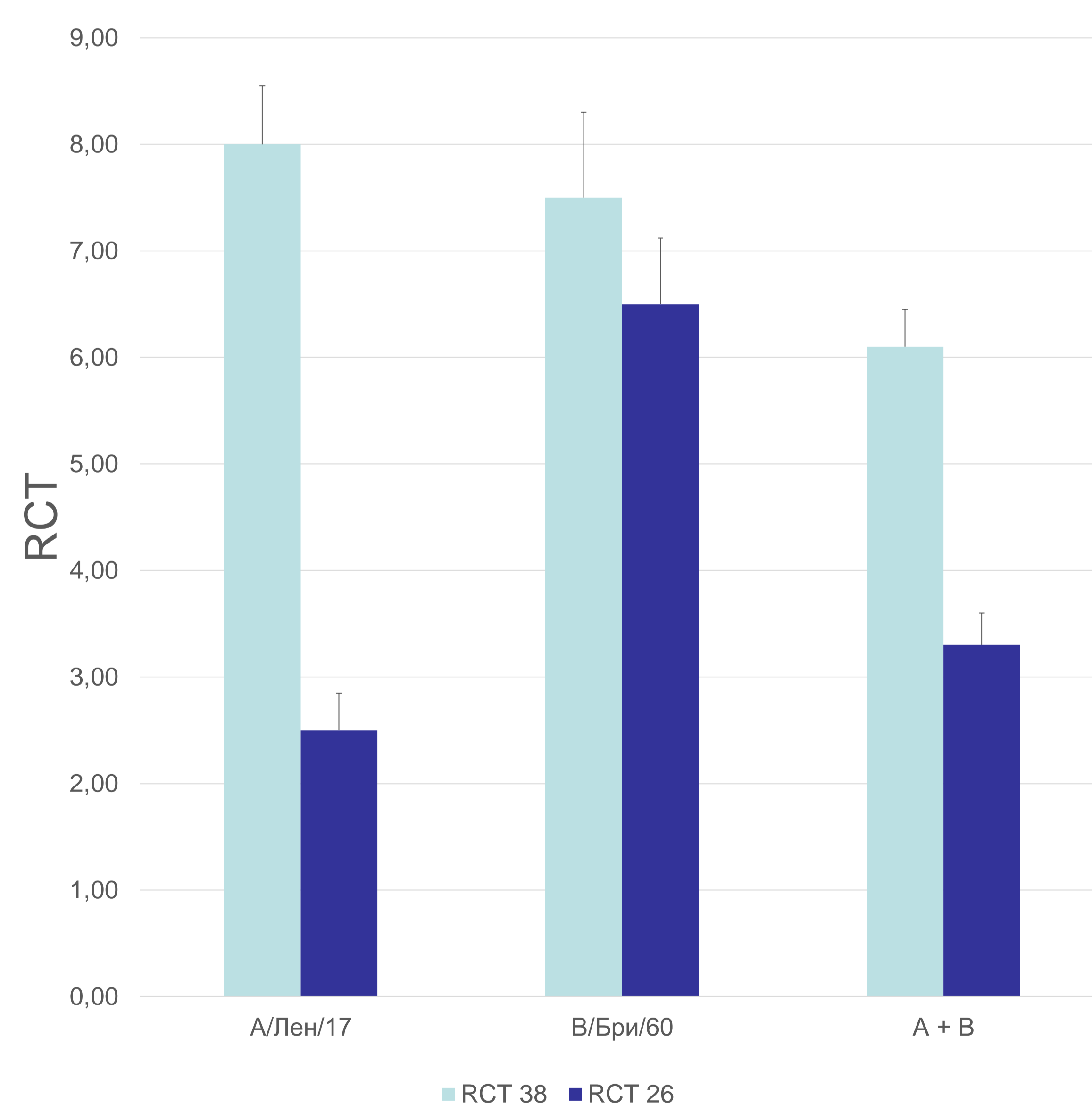
### Материалы и методы

В работе использовали вирус гриппа В/Брисбан/60/2008, полученный из Центра по контролю за заболеваемостью (CDC, США), и вирус гриппа А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) - донор аттенуации ЖГВ, полученный в музее отдела вирусологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Генно-инженерный реассортант на их основе был получен с использованием методики обратной генетики.

Культивирование вирусов проводили на 10-11 дневных РКЭ полученных из ООО «Племрепродуктор Назия». Инфекционную активность вирусов оценивали по методу Рида и Менча. *Ts* и *ca* фенотип вируса гриппа оценивали по разнице инфекционной активности вируса при оптимальной (32°C); повышенной (38°C) и пониженной (26°C) температуре.

### Результаты исследования

При изучении фенотипических свойств, штамма вируса гриппа В/Брисбан/60/2008, от которого химерный реассортант унаследовал модифицированные поверхностные сегменты (НА и NA) был выявлен ограниченный рост при повышенной (38°) и пониженной (26°) температуре инкубации ( $\leq 1,2$  IgЭИД<sub>50</sub>/мл и  $2,2$  IgЭИД<sub>50</sub>/мл соответственно). А при определении фенотипа вируса гриппа А, донора внутренних генов полученного реассортанта, оказалось, что титр при повышенной неоптимальной температуре составлял  $1,7$  IgЭИД<sub>50</sub>/мл, а при пониженной -  $6,7$  IgЭИД<sub>50</sub>/мл. Интересно, что у химерного реассортанта изученные показатели оказались средними по сравнению с родительскими штаммами. У реассортанта, содержащего поверхностные гликопротеиды от вируса гриппа В и гены, кодирующие внутренние белки донора аттенуации типа А разница вирусного титра при оптимальной и пониженной температуре (RCT) составила  $3,3$  IgЭИД<sub>50</sub>/мл, а при оптимальной и повышенной температуре составила  $6,1$  IgЭИД<sub>50</sub>/мл при 38°C и  $7,5$  IgЭИД<sub>50</sub>/мл при 39°C.



### Выводы

Таким образом, полученный химерный реассортант унаследовал от донора аттенуации живой гриппозной вакцины важнейшие показатели аттенуированности, что делает его перспективным кандидатом для использования в качестве вакцины для создания комбинированной защиты против вирусов гриппа А и В.

Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ № МК-3336.2019.4.