

**Разработка рекомбинантного онколитического вируса осповакцины с увеличенной продукцией внеклеточных оболочечных вирионов**

**Научный руководитель – Максютов Ринат Амирович**

***Бауэр Татьяна Валерьевна***

*Студент (магистр)*

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,  
Новосибирск, Россия

*E-mail: bauehr-tatjana@rambler.ru*

Виротерапия злокачественных новообразований с использованием генетически не модифицированных вирусов показала свою эффективность и доказала способность уменьшать объем опухоли. После чего развитие приобрела иммунотерапия, поскольку вирус является естественным вектором для доставки чужеродных нуклеиновых кислот в клетки хозяина. Множество работ посвящены встройке генов в состав вирусного генома, кодирующих различные иммуностимулирующие и терапевтические белки (GM-CSF, interferon  $\beta$ , ряд интерлейкинов, белки апоптотического каскад и т.д. . . ) [1]. Но многократное введение вируса в организм пациента вызывает иммунный ответ, и такой препарат становится неэффективным.

Мы обратили внимание на наиболее изученного представителя семейства *Poxviridae* - вирус осповакцины (ВОВ). Дело в том, что разные штаммы ВОВ различаются по эффективности формирования внеклеточных оболочечных вирионов (EEV), покрытых липопротеидной оболочкой, обеспечивающей эффективное распространение вируса по кровеносному руслу, а также позволяющей обходить иммунную систему хозяина. На примере штаммов WR и IND-J выявлено, что эффективность формирования EEV зависит от аминокислотной последовательности мембранного гликопротеина A34 (K151E и D110N). Вирусы с повышенной продукцией EEV характеризуются способностью образовывать нетипичные кометообразные бляшки на монослое эукариотических клеток, что позволяет визуально оценивать продукцию EEV [2].

Ранее был получен рекомбинантный вирус осповакцины на основе штамма Л-ИВП с делециями генов, кодирующих тимидинкиназу и вирусный фактор роста, и встройкой гена, кодирующего гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF).

Целью данной работы являлось создание методами генетической инженерии рекомбинантного вируса осповакцины VAC\_TK(-)\_GM-CSF(+)\_VGF(-), с введенными точечными нуклеотидными заменами в гене A34R, приводящими к аминокислотным заменам K151E и D110N в соответствующем белке.

Методами генетической инженерии был получен рекомбинантный ВОВ, для которого показано, что способность образовывать кометообразные бляшки возросла по сравнению с исходными вариантами вирусов в 1,9 раз, что свидетельствует о повышении эффективности формирования EEV рекомбинантным ВОВ. Также выявлено, что в 2 раза повысилась эффективность формирования внеклеточных оболочечных вирионов в первые часы после заражения клеток линии CV-1 вирусом, содержащим введенные нами нуклеотидные замены.

Таким образом, полученный вирус, может стать более перспективной основой для создания онколитических иммуностимулирующих вирусных препаратов. В дальнейшем в полученный вирус будут произведены встройки полиэпитопных конструкций наиболее

часто встречающихся опухоль-ассоциированных антигенов, а также будет изучен онколитический потенциал полученных вирусов в системах *in vitro* и *in vivo*.

Работа поддержана грантом РФФ (грант № 16-15-10101).

#### Источники и литература

- 1) Кочнева Г. В., Сиволобова Г. Ф., Юдина К. В., Бабкин И. В., Чумаков П. М., Нетесов С. В. Онколитические поксвирусы // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2012. № 1. С. 8-16.
- 2) Geoffrey L. Smith, Vanderplasschen A., Law M. The formation and function of extracellular enveloped vaccinia virus. // General Virology. -2002. No. 12. P. 2915–2931.