

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-360>

© АКИМОВ Н.О., ДОЛГОВА А.С., 2026



# Применение псевдотипированных частиц на основе вируса везикулярного стоматита (*Rhabdoviridae*, *Vesiculovirus*) с целью изучения взаимодействия вирусов с клетками

Акимов Н.О.✉, Долгова А.С.

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 197101, г. Санкт-Петербург, Россия

## Резюме

Изучение механизмов прикрепления и проникновения вирусов в клетки является критически важным для понимания их патогенеза и разработки терапевтических стратегий.

**Цель** обзора – на основании литературных данных (PubMed, Scopus, Web of Science) охарактеризовать псевдотипированные частицы на основе ВВС как удобный и действенный инструмент для исследования вирусного входа в клетку, а также определить перспективы сочетания этого метода с генетическими и белковыми подходами.

ВВС, относящийся к семейству *Rhabdoviridae*, обладает важной способностью к псевдотипированию – замене собственного гликопротеина (G) на поверхностные белки других вирусов. Эта особенность позволяет моделировать процесс инфицирования клеток без использования вирусов дикого типа. Геном ВВС модифицируется путем удаления гена G и введения репортерных генов (например, GFP или люциферазы), что упрощает количественную оценку инфекционности. Методология создания псевдовирусов включает двухэтапную систему котрансфекции клеточных линий (например, HEK293T) плазмидами, кодирующими структурные белки ВВС и целевые белки оболочки изучаемых вирусов. Преимущества системы ВВС включают высокий титр частиц, быстрое проявление репортерных сигналов и возможность работы в условиях биобезопасности уровня II. Однако ограничения связаны с различиями в распределении вирусных белков на поверхности псевдовирусов и нативных вирионов, что требует дополнительной валидации данных.

**Заключение.** Изучены методы анализа взаимодействий «вирус–клетка», такие как VOPBA, РНК-интерференция, CRISPR/Cas9-нокаут и сверхэкспрессия генов. Эти подходы позволяют идентифицировать клеточные рецепторы, изучать роль конкретных белков и оценивать влияние мутаций. Перспективы применения псевдовирусов ВВС включают скрининг ингибиторов проникновения вирусов в клетки, анализ нейтрализации антител и разработку вакцин. Несмотря на технические ограничения, псевдотипированные частицы остаются незаменимым инструментом для изучения высокопатогенных и труднокультивируемых вирусов.

**Ключевые слова:** псевдотипированные вирусные частицы; вирус везикулярного стоматита; клеточные рецепторы; вирусный тропизм; механизмы проникновения вирусов; HEK293T; обзор

**Для цитирования:** Акимов Н.О., Долгова А.С. Применение псевдотипированных частиц на основе вируса везикулярного стоматита (*Rhabdoviridae*, *Vesiculovirus*) с целью изучения взаимодействия вирусов с клетками. *Вопросы вирусологии*. 2026; 71(1): 13–20. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-360> EDN: <https://elibrary.ru/bnqvme>

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-360>

# The application of pseudotyped viruses based on vesicular stomatitis virus (*Rhabdoviridae*, *Vesiculovirus*) in order to study the interaction of viruses with cells

Nikita O. Akimov✉, Anna S. Dolgova

Saint-Petersburg Pasteur Institute, 197101, St. Petersburg, Russia

**Abstract**

Investigating the mechanisms of viral attachment and entry into cells is crucial for understanding viral pathogenesis and developing therapeutic strategies. The aim of this review is to characterize pseudo-typed particles based on the vesicular stomatitis virus (VSV) as a convenient and effective tool for studying viral entry into cells, based on literature data (PubMed, Scopus, and Web of Science), and to determine the prospects for combining this method with genetic and protein-based approaches.

VSV, a member of the *Rhabdoviridae* family, has a remarkable capacity for pseudotyping, which involves the replacement of its native glycoprotein (G) with envelope proteins from other viruses. This feature enables the modeling of the cell entry process without the need for wild-type viruses. The VSV genome is modified by deleting the G gene and incorporating reporter genes (e.g., GFP or luciferase), thereby facilitating the quantitative assessment of infectivity.

The methodology for generating pseudoviruses involves a two-plasmid cotransfection system in cell lines (e.g., HEK293T), with plasmids encoding the VSV structural proteins and the target viral envelope proteins. The advantages of the VSV system include high particle titers, rapid reporter signal manifestation, and the feasibility of work under Biosafety Level 2 conditions. However, limitations are associated with differences in the distribution of viral proteins on the surface of pseudoviruses compared to native virions, necessitating additional data validation.

**Conclusion.** Methods for analyzing virus-cell interactions were studied, such as Virus Overlay Protein Binding Assay (VOPBA), RNA interference, CRISPR/Cas9 knockout, and gene overexpression. These approaches allow for the identification of cellular receptors, investigation of specific protein functions, and assessment of the impact of mutations. Future prospects for the application of VSV pseudoviruses include screening viral entry inhibitors, analyzing antibody neutralization, and vaccine development. Despite technical limitations, pseudotyped particles remain an indispensable tool for studying highly pathogenic and fastidious viruses. For the present review, a literature search was conducted in the PubMed, Scopus, and Web of Science databases.

**Keywords:** *Pseudotyped viral particles; vesicular stomatitis virus; cellular receptors; viral tropism; viral entry mechanisms; HEK293T; review*

**For citation:** Akimov N.O., Dolgova A.S. The application of pseudotyped viruses based on vesicular stomatitis virus (*Rhabdoviridae*, *Vesiculovirus*) in order to study the interaction of viruses with cells. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2026; 71(1): 13–20. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-360>  
EDN: <https://elibrary.ru/bnqvme>

**Funding.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

## Введение

Вирусы являются одними из главных патогенов человека, вызывающих заболевания разной степени тяжести. Первым этапом взаимодействия вирусных частиц с клеткой является их прикрепление и проникновение, что обеспечивается специфическими факторами клетки-хозяина. Часто в процессе прикрепления и проникновения вирусов задействованы несколько факторов: рецепторы и корепторы. Понимание механизмов прикрепления и проникновения отдельных вирусов необходимо для установления тропизма вирусов, понимания их патогенеза, может помочь в поиске противовирусных препаратов и в разработке нейтрализующих антител.

Для исследования взаимодействия «вирус–клетка» в качестве моделей высокопатогенных вирусов, редких вирусов, а также вирусов, которые трудно культивировать, можно использовать псевдотипирован-

ные вирусные частицы (псевдовирусные частицы/псевдовирусы). С помощью псевдовирусов можно моделировать процесс заражения клеток, не прибегая к использованию вирусов дикого типа. Псевдотипированные вирусные частицы представляют собой непатогенный для человека или генетически модифицированный оболочечный вирус с несущими на поверхности белками оболочки другого вируса. В качестве примера можно назвать вирус везикулярного стоматита (ВВС) или вирус мышинной лейкемии в первом случае и инактивированный вирус иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1) во втором. Гены белков оболочки исходных вирусов обычно заменяются репортерными генами (например, генами зеленого флуоресцентного белка GFP, красного флуоресцентного белка mCherry, люциферазы), что позволяет проводить оценку эффективности заражения клеток. Псевдовирусы получают с помощью котрансфекции плазмидных век-

торов, кодирующих структурные и неструктурные белки упаковочного вируса, а также белки оболочки патогенных вирусов. Псевдовirusы заражают восприимчивые клетки, но при этом способны размножаться только в течение одного цикла репликации [1].

ВВС переносится членистоногими и поражает крупный рогатый скот, грызунов, лошадей и свиней. Инфицирование человека ВВС происходит редко, в основном инфекции подвергаются лица, контактирующие с домашним скотом, и работники лабораторий, контактирующие с ВВС напрямую. Инфекция ВВС у человека протекает бессимптомно или с легкими гриппоподобными симптомами.

**Цель** обзора – на основании литературных данных (PubMed, Scopus, Web of Science) охарактеризовать псевдотипированные частицы на основе ВВС как удобный и действенный инструмент для исследования вирусного входа в клетку, а также определить перспективы сочетания этого метода с генетическими и белковыми подходами [2].

### Строение и жизненный цикл вируса везикулярного стоматита

ВВС относится к семейству *Rhabdoviridae*, имеет пулевидный вирион с негативной одноцепочечной РНК размером около 11 т.н., кодирующей 5 структурных белков (рис. 1) [3–5]. Белок N образует нуклеопротеиновый комплекс с РНК и защищает РНК вируса от воздействия нуклеаз клетки-хозяина [6, 7]. Белок L является РНК-зависимой РНК-полимеразой, обеспечивает транскрипцию и репликацию генома

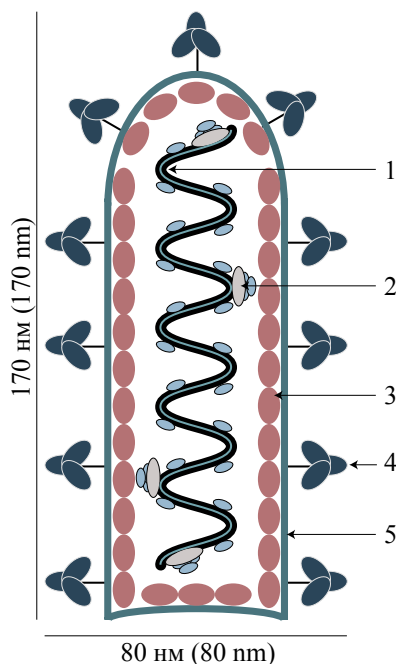


Рис. 1. Строение вируса везикулярного стоматита.

1 – нуклеопротеиновый комплекс N-белка и РНК ВВС; 2 – комплекс белков L и P; 3 – белок M; 4 – гликопротеин G; 5 – липидная мембрана.

Fig. 1. Structure of vesicular stomatitis virus.

1 – nucleoprotein complex of N-protein and VSV RNA; 2 – complex of proteins L and P; 3 – protein M; 4 – glycoprotein G; 5 – lipid membrane.

ВВС [8, 9]. Белок P является вспомогательным кофактором белка L [10]. Белок M подавляет транскрипцию клеточных генов и способствует образованию пулевидной формы вириона [11, 12]. Поверхностный гликопротеин G опосредует вход в клетку посредством клатрин-зависимого эндоцитоза. Рецептором для прикрепления служит рецептор липопротеинов высокой плотности (LDLR). Широкое распространение рецептора LDLR опосредует широкий тропизм ВВС [13–15]. После проникновения генетического материала ВВС в цитоплазму происходят дальнейшие процессы репликации, транскрипции, сборки и выхода новых вирионов (рис. 2).

### Принцип создания псевдотипированных вирусных частиц на основе вируса везикулярного стоматита

Псевдовirusы на основе ВВС представляют собой рекомбинантные вирионы, не способные к репликации. Из их генома удален ген белка G и заменен на репортерный ген (например, GFP или люциферазу) для детекции инфицирования клеток [15, 16].

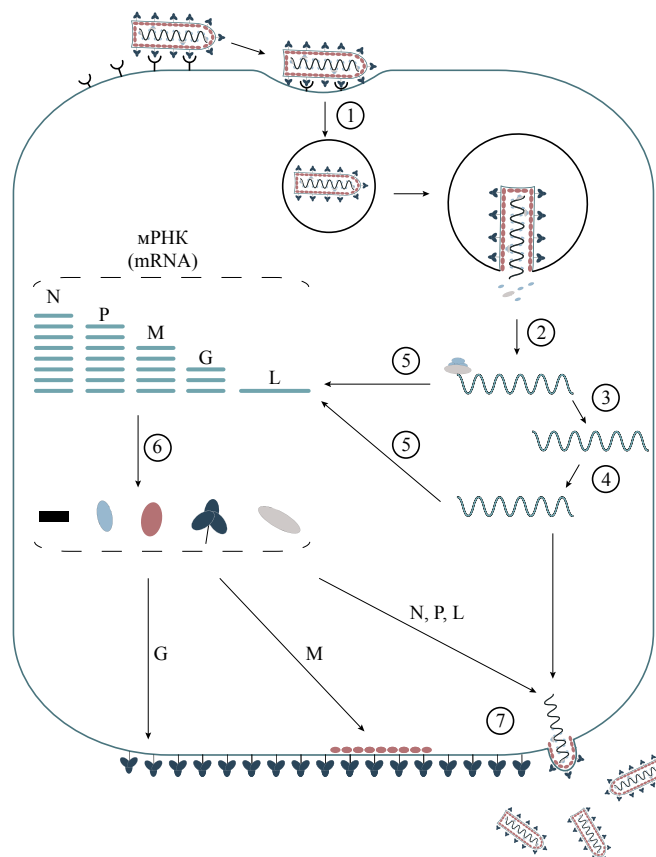
Для продукции псевдовirusов ВВС обычно используется двухэтапная система генерации.

**Получение репортерных частиц ВВС ΔG/G.** Клетки, экспрессирующие полимеразу бактериофага T7 (обычно используют клетки HEK293T), котрансфицируются четырьмя плазмидами, несущими гены структурных белков ВВС, и одной плазмидой, несущей дефектный геном ВВС, где ген белка G замещен на репортерный ген: pVSV-G, pVSV-N, pVSV-P, VSV-L, VSV-dG-репортерный ген. Все плазмиды имеют в составе T7 промотор. Экспрессии полимеразы T7 достигают с помощью коинфицирования клеток вирусом осповакцины или используют клеточную линию, стабильно экспрессирующую полимеразу T7. В результате собираются частицы ВВС ΔG/G, несущие в оболочке белок G, но не содержащие его гена в геноме (рис. 3) [1, 17–19].

**Псевдотипирование.** Другую клеточную линию (обычно HEK293T) трансфицируют плазмидой, экспрессирующей оболочечный белок другого вируса (X), и инфицируют полученными частицами ВВС ΔG/G. При сборке и отпочковывании от клетки новые вирионы включают белок X в свою оболочку, образуя при этом псевдовirusы ВВС ΔG/X, содержащие интересующий вирусный белок [18–20]. Для получения псевдовirusов ВВС, содержащих белок X, в одну стадию проводят котрансфекцию шестью плазмидами: pVSV-X (ген оболочечного белка вируса интереса), pVSV-N, pVSV-P, VSV-L, VSV-ΔG-репортер, плазмиды, экспрессирующая T7-полимеразу (например, pCAG-T7pol). В результате получаются частицы ВВС ΔG/X, но их выход обычно меньше, чем при двухэтапной системе генерации (рис. 4) [17, 21].

### Преимущества и недостатки использования псевдотипированных частиц для изучения взаимодействия с клетками

**Преимущества.** Использование псевдовirusов позволяет изучать высокопатогенные вирусы (напри-



**Рис. 2.** Жизненный цикл вируса везикулярного стоматита.

1 – прикрепление и проникновение ВВС. Основным рецептором входа ВВС является LDLR; 2 – выход генома ВВС в цитоплазму; 3, 4 – репликация генома ВВС; 5 – первичная и вторичная транскрипция генома с образованием мРНК каждого белка ВВС; 6 – трансляция белков N, P, M, L происходит в цитоплазме, трансляция G-белка происходит на рибосомах эндоплазматического ретикулума, затем гликопротеин G процессируется, встраивается и переносится на клеточную мембрану, белок M транспортируется под клеточную мембрану, белок N образует нуклеопротеиновый комплекс с РНК ВВС, белки L и P также образуют между собой комплексы; 7 – сборка и выход зрелых вирионов ВВС.

**Fig. 2.** Life cycle of vesicular stomatitis virus.

1 – attachment and penetration of VSV. The main receptor for VSV entry is LDLR; 2 – release of the VSV genome into the cytoplasm; 3, 4 – replication of the VSV genome; 5 – primary and secondary transcription of the genome producing mRNA for each VSV protein; 6 – translation of proteins N, P, M, L occurs in the cytoplasm; translation of G protein occurs on ER ribosomes, then glycoprotein G is processed and transported to the cell membrane; protein M is transported beneath the cell membrane; protein N forms the nucleoprotein complex with VSV RNA; proteins L and P also form complexes with each other; 7 – assembly and release of mature VSV virions.

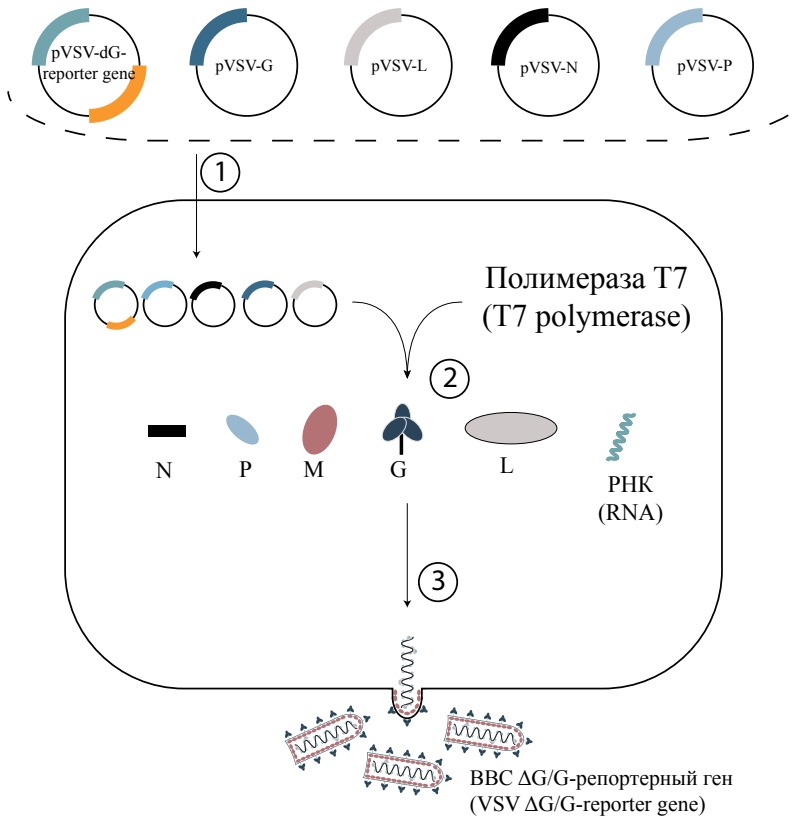
мер, вирус Конго-Крымской геморрагической лихорадки, ККГЛ) в лабораториях с уровнем биобезопасности II, а исследование дикого вируса ККГЛ требует уровня биобезопасности IV [22]. Многие вирусы дикого типа трудно или невозможно культивировать в стандартных клеточных линиях [23], при этом псевдовирусы легко нарабатываются в широко распространенных клеточных линиях, например НЕК293Т [24–26]. Псевдовирусы удобны для изучения мутаций в белках оболочки вирусов с высокой генетической вариабельностью, например, для изучения вируса гепатита С [27]. Наличие в генетическом материале псевдовирусов репортерных генов обеспечивает простую качественную и количественную оценку инфицирования клеток [28–30]. Главным преимуществом системы упаковки ВВС по сравнению с системами упаковки на основе вируса мышиной лейкемии и ВИЧ-1 является более высокий титр получаемых псевдовирусов, также ВВС обладает более быстрой репликацией генома, что способствует более быстро-

му обнаружению заражения благодаря быстрой экспрессии репортерного гена [31].

**Недостатки.** Псевдовирусы подходят только для изучения оболочечных вирусов и только для первых этапов инфекции: прикрепления и проникновения. Различие морфологий вируса интереса и вируса, используемого для псевдотипирования (ВВС, ВИЧ-1 и др.), приводит к различию в распределении одного и того же оболочечного белка на разных вирусных частицах, что может приводить к ложным результатам в экспериментах, поэтому результаты экспериментов с псевдовирусами желательно подтверждать с аутентичными вирусами [31, 32].

#### **Методы исследования взаимодействия вирусов с клетками с использованием псевдотипированных вирусных частиц**

Взаимодействия между белками играют ключевую роль в понимании механизмов инфекций, вызванных вирусами. Белковые методы позволяют обнаружить

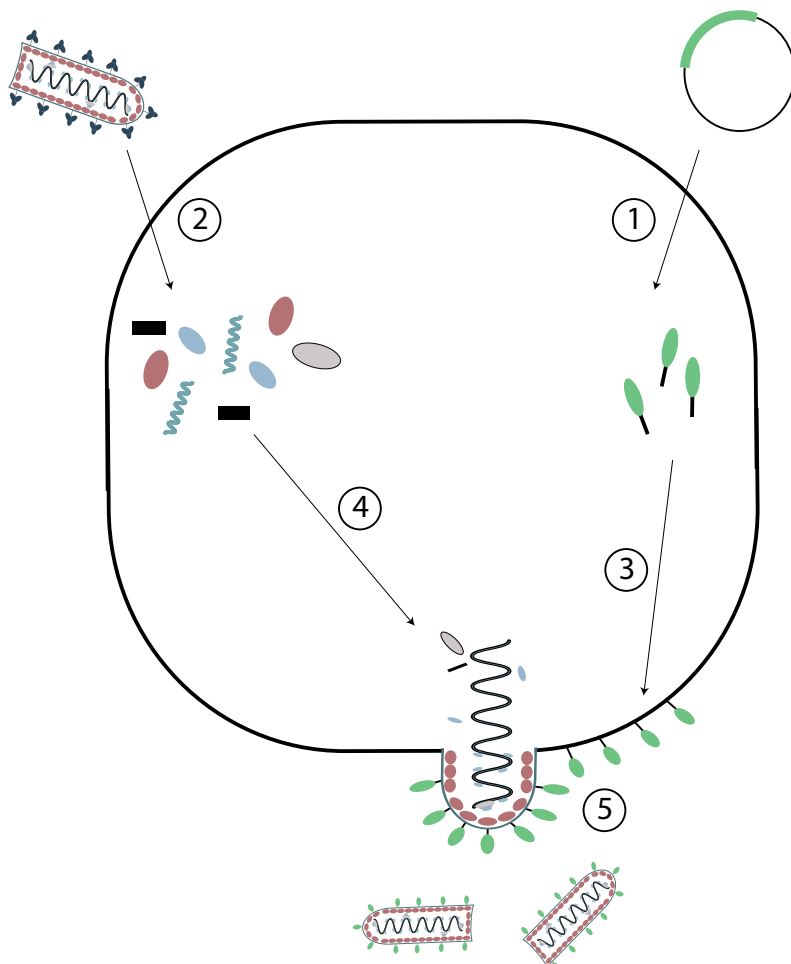


**Рис. 3.** Получение частиц BBC ΔG/G.

1 – котрансфекция плазмидами: pVSV-G, pVSV-N, pVSV-P, VSV-L, VSV-dG-репортерный ген; 2 – образование белков BBC; 3 – сборка вирионов BBC ΔG/G.

**Fig. 3.** Production of VSV-ΔG/G particles.

1 – cotransfection with plasmids: pVSV-G, pVSV-N, pVSV-P, VSV-L, VSV-dG-reporter gene; 2 – formation of VSV proteins; 3 – assembly of VSV ΔG/G virions.



**Рис. 4.** Получение псевдовирусов BBC с белком оболочки X вируса интереса (BBC ΔG/X-репортерный ген).

1 – трансфекция плазмидой, экспрессирующей оболочечный белок вируса интереса X; 2 – инфекция BBC ΔG/G; 3 – встраивание белка X в мембрану клетки; 4 – сборка псевдовирусов BBC ΔG/X.

**Fig. 4.** Production of VSV pseudoviruses with envelope protein X of the virus of interest (VSV ΔG/X-reporter gene).

1 – transfection with plasmid expressing the envelope protein of virus of interest X; 2 – infection of VSV ΔG/G; 3 – incorporation of protein X into the cell membrane; 4 – assembly of VSV ΔG/X pseudoviruses.

белок-белковые взаимодействия гликопротеинов оболочки вируса интереса, встроенного в мембрану упаковочного вируса, и белков клетки-хозяина. Для этого вместе с использованием псевдотипированных вирусов применяют и другие методики. Одним из таких подходов, используемых вместе с псевдовirusами, является анализ связывания белков с наложением вируса (англ. VOPBA – virus overlay protein binding assays). Данный метод предполагает разделение клеточного экстракта (может быть использован экстракт мембранных белков, чтобы исключить взаимодействие вирусного рецептора с внутриклеточными белками) с помощью электрофореза с дальнейшим переносом на мембрану с использованием вестерн-блоттинга и обработку мембраны вирусом дикого типа [33], инактивированным вирусом [34] или псевдовirusными частицами [35]. Затем белки, с которыми связывается вирус, визуализируются с помощью антител, специфичных к вирусу. Сам белок далее идентифицируется с помощью масс-спектрометрии. С.-М. Chan и соавт. применяли этот метод при идентификации CEACAM5 в качестве дополнительной мишени коронавируса ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV). Авторы использовали псевдовirusные частицы на основе ВИЧ-1, псевдотипированные S-белком вируса MERS-CoV [35].

Генетические подходы позволяют либо ослабить какую-либо функцию клетки (вплоть до ее утраты), либо усилить ее (вплоть до введения новой функции, которой клетка не обладала). Генетическим модификациям могут подвергаться как клеточные линии, так и животные [36–38]. РНК-интерференция представляет собой временное удаление мРНК, кодирующей определенный белок. В клетках млекопитающих этого эффекта добиваются с помощью использования малых интерферирующих РНК (siRNA) [39], которые вводятся прямой трансфекцией, или коротких шпилечных РНК (shRNA), которые вводятся с помощью трансдукции лентивирусом [40, 41]. Преимущество РНК-интерференции заключается в простоте выполнения, также этот подход позволяет изучать важные гены, так как в отличие от генетического нокаута ген выключается не полностью и клетки могут выживать при выключении гена. Для выявления роли белка ZMPSTE24 в процессе инфицирования клеток ВИЧ-1 псевдотипированным S-белком SARS-CoV-2, клеток HEK293T К. Shilagardi и соавт. использовали нокаун гена, кодирующего этот белок, с использованием малой интерферирующей РНК [42]. В исследовании Y.-Q. Zhou и соавт. был использован нокаун белка Argb для оценки его участия в инфекции, вызванной псевдовirusом VSV-SARS-CoV-2 [43]. В исследовании М.-М. Zhao и соавт. также использовался нокаун катепсина L для определения его роли в инфекции псевдовirusом SARS-CoV-2 [44].

Генетический нокаун представляет собой полное выключение гена. Одним из способов нокаута генов является применение технологии CRISPR/Cas9 [45, 46]. Эта система представляет собой адаптивную иммунную систему архей и бактерий [47]. Для отключения определенного гена используют sgРНК, которая представляет собой комплекс crРНК и tracrРНК. crРНК представляет

собой участок РНК, состоящий из 20 нуклеотидов, комплементарный участку гена, который необходимо выключить, а tracrРНК связывается с crРНК и обеспечивает узнавание и связывание белком Cas9, вносящим двухцепочечный разрыв в гене, на который нацелена crРНК. Полученный разрыв восстанавливается с помощью негомологичного соединения концов, при котором происходят случайные вставки или делеции, что приводит к нарушению функции гена [48]. В исследовании Z.-S. Xu и соавт. осуществляли нокаун гена LDLR для изучения его роли в проникновении вируса ККГЛ [36]. Н. Tani и соавт. использовали эмбриональные стволовые клетки с нокаутом рецептора альфа-дистрогликана и инфицировали их BBC, псевдотипированными белками оболочки различных аренавирусов [49]. К. Shilagardi и соавт. использовали клеточные линии HeLa и HEK293T, в которых был нокаутирован ген белка ZMPSTE24 для выявления его роли в механизме вирусной инфекции, опосредованной ВИЧ-1, псевдотипированным S-белком SARS-CoV-2 [42].

Чтобы установить роль какого-либо белка в процессе вирусной инфекции, можно использовать сверхэкспрессию гена этого белка. Временная сверхэкспрессия белка может быть обеспечена за счет трансфекции клеточной линии плазмидными векторами, кодирующими эти белки. К. Shilagardi и соавт. трансфицировали клетки HEK293T плазидами, сверхэкспрессирующими белки ZMPSTE24 и IFITM, для выявления их роли в процессе инфицирования клеток лентивирусным вектором на основе ВИЧ-1, псевдотипированным S-белком SARS-CoV-2 [42], и выявили, что сверхэкспрессия этих белков снижает инфицирование клеток. Для постоянной сверхэкспрессии белка используют трансдукцию клеток ретровирусом, несущим ген этого белка. Z.-S. Xu и соавт. трансдуцировали клетки SW13 с дефицитом рецептора LDLR ретровирусом, несущим ген *LDLR* для восстановления его экспрессии [36].

#### Репортерные системы для визуализации псевдотипированных вирусных частиц на основе вируса везикулярного стоматита

*Fluc* является одним из наиболее распространенных репортерных генов. Этот ген кодирует фермент люциферазу светлячка, который катализирует реакцию D-люциферина с аденозинтрифосфатом (АТФ). В результате протекания последовательных реакций образуется оксилуциферин, который находится в неустойчивом состоянии, и при его переходе в основное состояние испускается квант света (люминесценция) [50]. Данная репортерная система была использована для изучения механизмов проникновения вирусов, принадлежащих к семействам *Arenaviridae*, *Bunyaviridae* [22, 51], вирусов Пуумала и Хантаан [52], а также других вирусов. Недостатком этой репортерной системы является относительно высокая стоимость субстрата люциферазы – люциферина, а также необходимость в наличии люминометра.

В качестве альтернативных репортерных генов используют флуоресцентные белки, самым распространенным из которых является GFP. GFP применяют для

установления клеточного тропизма вируса Эбола с использованием ВВС псевдовиральной системы [13, 26], для изучения функций гликопротеинов оболочки Е1 и Е2 вируса гепатита С, Е1 и Е2 вируса Чикунгунья [53, 54] и гликопротеинов других вирусов. Преимуществом GFP и других флуоресцирующих белков по отношению к люциферазной репортерной системе является отсутствие дорогого субстрата, но для визуализации флуоресценции необходимо наличие флуоресцентного микроскопа. Также используются другие репортерные гены, кодирующие флуоресцирующие белки, например mCherry, RFP, YFP и др. [29, 55, 56].

### Заключение

Применение псевдотипированных вирусных частиц на основе ВВС является удобным и действенным инструментом в изучении механизмов проникновения вирусов в клетки. С их помощью можно моделировать процессы прикрепления и проникновения вируса. Благодаря замене гликопротеина G ВВС на белки оболочки вирусов интереса можно изучать их тропизм и роль поверхностных белков в условиях лабораторий с уровнем биобезопасности II.

Главными преимуществами системы упаковки на основе ВВС является эффективность упаковки и легкость оценки инфекционности благодаря быстрой экспрессии репортерных генов (GFP, люцифераза и др.). Однако применение псевдовиральных систем может искажать результаты вследствие различия распределения вирусных белков на поверхности вирионов псевдовиральных и вирусов дикого типа. Таким образом, для получения надежных результатов желательна последующая с использованием аутентичных вирусов.

Сочетание псевдовиральных с генетическими подходами (нокаут, нокдаун, сверхэкспрессия) и белковыми подходами (VOPBA) позволяет изучать роль клеточных факторов в процессах прикрепления и проникновения вирусов, выявляя терапевтические мишени.


Перспектива метода включает в себя создание платформ для скрининга ингибиторов проникновения вирусов, изучение влияния мутаций поверхностных вирусных белков на патогенность вируса, создание вакцин на основе псевдовиральных систем.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Whitt M.A. Generation of VSV pseudotypes using recombinant ΔG-VSV for studies on virus entry, identification of entry inhibitors, and immune responses to vaccines. *J. Virol. Methods*. 2010; 169(2): 365–74. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.08.006>
- Fukushi S., Watanabe R., Taguchi F. Pseudotyped vesicular stomatitis virus for analysis of virus entry mediated by SARS coronavirus spike proteins. *Methods Mol. Biol.* 2008; 454: 331–8. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-181-9\\_23](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-181-9_23)
- Walker P.J., Firth C., Widen S.G., Blasdel K.R., Guzman H., Wood T.G., et al. Evolution of genome size and complexity in the rhabdoviridae. *PLoS Pathog.* 2015; 11(2): e1004664. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004664>
- Rodriguez L.L., Pauszek S.J., Bunch T.A., Schumann K.R. Full-length genome analysis of natural isolates of vesicular stomatitis virus (Indiana 1 serotype) from North, Central and South America. *J. Gen. Virol.* 2002; 83(Pt. 10): 2475–83. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-10-2475>
- Ge P., Tsao J., Schein S., Green T.J., Luo M., Zhou Z.H. Cryo-EM model of the bullet-shaped vesicular stomatitis virus. *Science*. 2010; 327(5966): 689–93. <https://doi.org/10.1126/science.1181766>
- Green T.J., Zhang X., Wertz G.W., Luo M. Structure of the vesicular stomatitis virus nucleoprotein-RNA complex. *Science*. 2006; 313(5785): 357–60. <https://doi.org/10.1126/science.1126953>
- Iseñi F., Baudin F., Blondel D., Ruigrok R.W. Structure of the RNA inside the vesicular stomatitis virus nucleocapsid. *RNA*. 2000; 6(2): 270–81. <https://doi.org/10.1017/S135583820099109X>
- Ogino T., Green T.J. RNA synthesis and capping by non-segmented negative strand RNA viral polymerases: lessons from a prototypic virus. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 1490. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01490>
- Emerson S.U., Wagner R.R. Dissociation and reconstitution of the transcriptase and template activities of vesicular stomatitis B and T virions. *J. Virol.* 1972; 10(2): 297–309. <https://doi.org/10.1128/jvi.10.2.297-309.1972>
- Liang B., Li Z., Jenni S., Rahmeh A.A., Morin B.M., Grant T., et al. Structure of the L protein of vesicular stomatitis virus from electron cryomicroscopy. *Cell*. 2015; 162(2): 314–27. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.06.018>
- Redondo N., Madan V., Alvarez E., Carrasco L. Impact of vesicular stomatitis virus M proteins on different cellular functions. *PLoS One*. 2015; 10(6): e0131137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131137>
- Carroll A.R., Wagner R.R. Role of the membrane (M) protein in endogenous inhibition of in vitro transcription by vesicular stomatitis virus. *J. Virol.* 1979; 29(1): 134–42. <https://doi.org/10.1128/jvi.29.1.134-142.1979>
- Kim I.S., Jenni S., Stanifer M.L., Roth E., Whelan S.P., van Oijen A.M., et al. Mechanism of membrane fusion induced by vesicular stomatitis virus G protein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2017; 114(1): E28–36. <https://doi.org/10.1073/pnas.1618883114>
- Finkelshtein D., Werman A., Novick D., Barak S., Rubinstein M. LDL receptor and its family members serve as the cellular receptors for vesicular stomatitis virus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(18): 7306–11. <https://doi.org/10.1073/pnas.1214441110>
- Liu G., Cao W., Salawudeen A., Zhu W., Emeterio K., Safronetz D., et al. Vesicular stomatitis virus: from agricultural pathogen to vaccine vector. *Pathogens*. 2021; 10(9): 1092. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091092>
- Huang A.S., Palma E.L., Hewlett N., Roizman B. Pseudotype formation between enveloped RNA and DNA viruses. *Nature*. 1974; 252(5485): 743–5. <https://doi.org/10.1038/252743a0>
- Salazar-García M., Acosta-Contreras S., Rodríguez-Martínez G., Cruz-Rangel A., Flores-Alanis A., Patiño-López G., et al. Pseudotyped vesicular stomatitis virus-severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 spike for the study of variants, vaccines, and therapeutics against coronavirus disease 2019. *Front. Microbiol.* 2022; 12: 817200. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.817200>
- Hanika A., Larisch B., Steinmann E., Schwegmann-Wefels C., Herrler G., Zimmer G. Use of influenza C virus glycoprotein HEF for generation of vesicular stomatitis virus pseudotypes. *J. Gen. Virol.* 2005; 86(Pt. 5): 1455–65. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80788-0>
- Takada A., Robison C., Goto H., Sanchez A., Murti K.G., Whitt M.A., et al. A system for functional analysis of Ebola virus glycoprotein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1997; 94(26): 14764–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.26.14764>
- Steeds K., Hall Y., Slack G.S., Longet S., Strecker T., Fehling S.K., et al. Pseudotyping of VSV with Ebola virus glycoprotein is superior to HIV-1 for the assessment of neutralising antibodies. *Sci. Rep.* 2020; 10(1): 14289. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71225-1>
- Thamamongkoon T., Jengarn J., Muangsantit P., Petpiroon N., Srisutthisamphan K., Attasombat K., et al. Pseudotyped zoonotic thogotoviruses exhibit broad entry range in mammalian cells. *Virology*. 2024; 589: 109914. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2023.109914>
- Suda Y., Fukushi S., Tani H., Murakami S., Saijo M., Horimoto T., et al. Analysis of the entry mechanism of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, using a vesicular stomatitis virus pseudotyping system. *Arch. Virol.* 2016; 161(6): 1447–54. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2803-1>
- Santos-Ferreira N., Van Dycke J., Neyts J., Rocha-Pereira J. Current and future antiviral strategies to tackle gastrointestinal viral infections. *Microorganisms*. 2021; 9(8): 1599. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081599>
- Ayoub P.G., Purkayastha A., Quintos J., Tam C., Lathrop L., Tam K., et al. Improved SARS-CoV-2 spike glycoproteins for pseudotyping lentiviral vectors. *Front. Virol.* 2021; 1: 793320. <https://doi.org/10.3389/fviro.2021.793320>
- Powell A.E., Xu D., Roth G.A., Zhang K., Chiu W., Appel E.A., et al. Multimerization of Ebola GPΔmucin on protein nanoparticle vaccines has minimal effect on elicitation of neutralizing antibodies. *Front. Immunol.* 2022; 13: 942897. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.942897>
- Douam F., Bobay L.M., Maurin G., Fresquet J., Calland N., Maise C., et al. Specialization of hepatitis C virus envelope glycoproteins for B lymphocytes in chronically infected patients. *J. Virol.* 2015; 90(2): 992–1008. <https://doi.org/10.1128/JVI.02516-15>
- Urbanowicz R.A., McClure C.P., King B., Mason C.P., Ball J.K., Tarr A.W. Novel functional hepatitis C virus glycoprotein isolates identified using an optimized viral pseudotype entry assay. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(9): 2265–79. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000537>

28. Liu Q., Nie J., Huang W., Meng S., Yuan B., Gao D., et al. Comparison of two high-throughput assays for quantification of adenovirus type 5 neutralizing antibodies in a population of donors in China. *PLoS One*. 2012; 7(5): e37532. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037532>
29. Fujioka Y., Kashiwagi S., Yoshida A., Satoh A.O., Fujioka M., Amano M., et al. A method for the generation of pseudovirus particles bearing SARS coronavirus spike protein in high yields. *Cell Struct. Funct.* 2022; 47(1): 43–53. <https://doi.org/10.1247/csf.21047>
30. Moroz V.D., Gasanov N.B., Egorov A.D., Malogolovkin A.S., Nagornykh M.O., Subcheva E.N., et al. A Method for the production of recombinant VSVs with confirmation of biological activity. *Acta Naturae*. 2024; 16(1): 59–66. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.27314>
31. Li Q., Liu Q., Huang W., Li X., Wang Y. Current status on the development of pseudoviruses for enveloped viruses. *Rev. Med. Virol.* 2018; 28(1): e1963. <https://doi.org/10.1002/rmv.1963>
32. Xiang Q., Li L., Wu J., Tian M., Fu Y. Application of pseudovirus system in the development of vaccine, antiviral-drugs, and neutralizing antibodies. *Microbiol. Res.* 2022; 258: 126993. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.126993>
33. Holguera J., Villar E., Muñoz-Barroso I. Identification of cellular proteins that interact with Newcastle Disease Virus and human Respiratory Syncytial Virus by a two-dimensional virus overlay protein binding assay (VOPBA). *Virus Res.* 2014; 191: 138–42. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.07.031>
34. Rojek J.M., Spiropoulou C.F., Campbell K.P., Kunz S. Old World and clade C New World arenaviruses mimic the molecular mechanism of receptor recognition used by  $\alpha$ -dystroglycan's host-derived ligands. *J. Virol.* 2007; 81(11): 5685–95. <https://doi.org/10.1128/JVI.02574-06>
35. Chan C.M., Chu H., Wang Y., Wong B.H., Zhao X., Zhou J., et al. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 5 is an important surface attachment factor that facilitates entry of middle east respiratory syndrome coronavirus. *J. Virol.* 2016; 90(20): 9114–27. <https://doi.org/10.1128/JVI.01133-16>
36. Xu Z.S., Du W.T., Wang S.Y., Wang M.Y., Yang Y.N., Li Y.H., et al. LD-LR is an entry receptor for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Cell Res.* 2024; 34(2): 140–50. <https://doi.org/10.1038/s41422-023-00917-w>
37. Heuschkel M.J., Baumert T.F., Verrier E.R. Cell culture models for the study of hepatitis D virus entry and infection. *Viruses*. 2021; 13(8): 1532. <https://doi.org/10.3390/v13081532>
38. Horie H., Koike S., Kurata T., Sato-Yoshida Y., Ise I., Ota Y., et al. Transgenic mice carrying the human poliovirus receptor: new animal models for study of poliovirus neurovirulence. *J. Virol.* 1994; 68(2): 681–8. <https://doi.org/10.1128/jvi.68.2.681-688.1994>
39. Lu C.Y., Huang H.Y., Yang T.H., Chang L.Y., Lee C.Y., Huang L.M. siRNA silencing of angiotensin-converting enzyme 2 reduced severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus replications in Vero E6 cells. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 27(8): 709–15. <https://doi.org/10.1007/s10096-008-0495-5>
40. Régeard M., Trotard M., Lepère C., Gripon P., Le Seyec J. Entry of pseudotyped hepatitis C virus into primary human hepatocytes depends on the scavenger class B type I receptor. *J. Viral. Hepat.* 2008; 15(12): 865–70. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2008.01048.x>
41. Zhang H., Li Y., Wang H.B., Zhang A., Chen M.L., Fang Z.X., et al. Ephrin receptor A2 is an epithelial cell receptor for Epstein-Barr virus entry. *Nat. Microbiol.* 2018; 3(2): 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0080-8>
42. Shilagardi K., Spear E.D., Abraham R., Griffin D.E., Michaelis S. The integral membrane protein ZMPSTE24 protects cells from SARS-CoV-2 spike-mediated pseudovirus infection and syncytia formation. *mBio*. 2022; 13(5): e0254322. <https://doi.org/10.1128/mbio.02543-22>
43. Zhou Y.Q., Wang K., Wang X.Y., Cui H.Y., Zhao Y., Zhu P., et al. SARS-CoV-2 pseudovirus enters the host cells through spike protein-CD147 in an Arf6-dependent manner. *Emerg. Microbes Infect.* 2022; 11(1): 1135–44. <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2059403>
44. Zhao M.M., Yang W.L., Yang F.Y., Zhang L., Huang W.J., Hou W., et al. Cathepsin L plays a key role in SARS-CoV-2 infection in humans and humanized mice and is a promising target for new drug development. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2021; 6(1): 134. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00558-8>
45. Tharkeshwar A.K., Trekker J., Vermeire W., Pauwels J., Sannerud R., Priestman D.A., et al. A novel approach to analyze lysosomal dysfunctions through subcellular proteomics and lipidomics: the case of NPC1 deficiency. *Sci. Rep.* 2017; 7: 41408. <https://doi.org/10.1038/srep41408>
46. Xiao J.H., Rijal P., Schimanski L., Tharkeshwar A.K., Wright E., Annaert W., et al. Characterization of influenza virus pseudotyped with Ebola virus glycoprotein. *J. Virol.* 2018; 92(4): e00941–17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00941-17>
47. Haft D.H., Selengut J., Mongodin E.F., Nelson K.E. A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/Cas subtypes exist in prokaryotic genomes. *PLoS Comput. Biol.* 2005; 1(6): e60. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0010060>
48. Jiang F., Doudna J.A. CRISPR–Cas9 structures and mechanisms. *Annu. Rev. Biophys.* 2017; 46(1): 505–29. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-062215-010822>
49. Tani H., Iha K., Shimojima M., Fukushi S., Taniguchi S., Yoshikawa T., et al. Analysis of Lujo virus cell entry using pseudotype vesicular stomatitis virus. *J. Virol.* 2014; 88(13): 7317–30. <https://doi.org/10.1128/JVI.00512-14>
50. Li S., Ruan Z., Zhang H., Xu H. Recent achievements of bioluminescence imaging based on firefly luciferin-luciferase system. *Eur. J. Med. Chem.* 2021; 211: 113111. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.113111>
51. Tani H. Analyses of entry mechanisms of novel emerging viruses using pseudotype VSV system. *Trop. Med. Health.* 2014; 42(2 Suppl.): 71–82. <https://doi.org/10.2149/tmh.2014-S10>
52. Higa M.M., Petersen J., Hooper J., Doms R.W. Efficient production of Hantaan and Puumala pseudovirions for viral tropism and neutralization studies. *Virology*. 2012; 423(2): 134–42. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2011.08.012>
53. Matsuura Y., Tani H., Suzuki K., Kimura-Someya T., Suzuki R., Aizaki H., et al. Characterization of pseudotype VSV possessing HCV envelope proteins. *Virology*. 2001; 286(2): 263–75. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.0971>
54. Tong W., Yin X.X., Lee B.J., Li Y.G. Preparation of vesicular stomatitis virus pseudotype with Chikungunya virus envelope protein. *Acta Virol.* 2015; 59(2): 189–93. <https://doi.org/10.4149/av.2015.02.189>
55. Sevilla N., Kunz S., Holz A., Lewicki H., Homann D., Yamada H., et al. Immunosuppression and resultant viral persistence by specific viral targeting of dendritic cells. *J. Exp. Med.* 2000; 192(9): 1249–60. <https://doi.org/10.1084/jem.192.9.1249>
56. Millet J.K., Tang T., Nathan L., Jaimes J.A., Hsu H.L., Daniel S., et al. Production of pseudotyped particles to study highly pathogenic coronaviruses in a biosafety level 2 setting. *J. Vis. Exp.* 2019; (145): 10.3791/59010. <https://doi.org/10.3791/59010>

### Информация об авторах:

**Акимов Никита Олегович**  – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: [akimovchn@gmail.com](mailto:akimovchn@gmail.com); <https://orcid.org/0009-0005-1988-2853>

**Долгова Анна Сергеевна** – канд. биол. наук, заведующая лабораторией молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: [annadolgova@inbox.ru](mailto:annadolgova@inbox.ru); <https://orcid.org/0000-0001-8730-4872>


**Участие авторов:** Акимов Н.О. – концепция работы, написание текста; Долгова А.С. – научное редактирование.

Поступила 14.11.2025

Принята в печать 09.01.2026

Опубликована 28.02.2026

### Information about the authors:

**Nikita O. Akimov**  – Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Genetics of Pathogens, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Federal Service on Consumers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, St. Petersburg, Russia. E-mail: [akimovchn@gmail.com](mailto:akimovchn@gmail.com); <https://orcid.org/0009-0005-1988-2853>

**Anna S. Dolgova** – Ph.D. (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Genetics of Pathogens, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Federal Service on Consumers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, St. Petersburg, Russia. E-mail: [annadolgova@inbox.ru](mailto:annadolgova@inbox.ru); <https://orcid.org/0000-0001-8730-4872>

**Contribution:** Akimov N.O. – concept of the work, writing the text; Dolgova A.S. – editing.

Received 14 November 2025

Accepted 09 January 2026

Published 28 February 2026