

- subunit of hemagglutinin of influenza A/H2N2 viruses provides cross immunity. *Acta Naturae*. 2016; 8(2): 116-26.
21. Blokhina E.A., Kuprianov V.V., Tsybalova L.M., Kiselev O.I., Ravin N.V., Skryabin K.G. A molecular assembly system for presentation of antigens on the surface of HBc-virus-like particles. *Virology*. 2013; 435(2): 293-300.
  22. De Filette M., Min Jou W., Birkett A., Lyons K., Schultz B., Tonkyro A., et al. Uni-versal influenza A vaccine: optimization of M2-based constructs. *Virology*. 2005; 337(1): 149-61.
  23. Riedl P., Stober D., Oehninger C., Melber K., Reimann J., Schirmbeck R. Priming Th1 immunity to viral core particles is facilitated by trace-amounts of RNA bound to its arginine-rich domain. *J. Immunol.* 2002; 168(10): 4951-9.
  24. Kotlyarov R.Y., Kuprianov V.V., Migunov A.I., Stepanova L.A., Tsybalova L.M., Kiselev O.I., et al. Development of Recombinant Vaccine Against A(H1N1) 2009 Influenza Based on Virus-like Nanoparticles Carrying the Extracellular Domain of M2 Protein. *Acta Naturae*. 2010; 2(2): 71-7.
  25. De Filette M., Fiers W., Martens W., Birkett A., Ramne A., Löwenadler B., et al. Improved design and intranasal delivery of an M2e-based human influenza A vaccine. *Vaccine*. 2006; 24(44-46): 6597-601.

Поступила 20.11.17

Принята в печать 12.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 578.891.083.2

*Трефилов Б.Б., Никитина Н.В., Леонов И.К.*

## КИНЕТИКА ИНАКТИВАЦИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА УТЯТ ТИПА I (AVIHEPATOVIRU, PICORNAVIRIDAE)

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства – филиал ФГБНУ Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН, 198412, г. Санкт-Петербург – Ломоносов

**Представлены экспериментальные данные кинетики инактивации вакцинного штамма вируса гепатита утят типа I повышенной температурой и аминоэтилэтиленимином (АЭЭИ). Показано, что вакцинный штамм 3М-УНИИП вируса гепатита утят типа I оказался сравнительно термостабильным при 56°C и чувствительным к действию АЭЭИ, время полной инактивации вируса составляет 24 ч в конечной концентрации 0,1% при 37 °С. Полученные результаты позволяют утверждать, что АЭЭИ можно использовать в качестве инактиватора при изготовлении инактивированной вакцины против вирусного гепатита утят типа I.**

**Ключевые слова:** кинетика инактивации; вирус гепатита утят; температура; формальдегид.

**Для цитирования:** Трефилов Б.Б., Никитина Н.В., Леонов И.К. Кинетика инактивации вируса гепатита утят типа I (Avihepatovirus, Picornaviridae). *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(3): 135-138. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-135-138>

*Trefilov B.B., Nikitina N.V., Leonov I.K.*

## THE KINETICS OF THE INACTIVATION OF THE HEPATITIS VIRUS TYPE I (AVIHEPATOVIRUS, PICORNAVIRIDAE)

All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science, Branch of the Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Poultry Institute", St. Petersburg - Lomonosov, 198412, Russian Federation

**Experimental data on the kinetics of the inactivation of the vaccine strain of the duckling hepatitis virus of the type I with increased temperature and aminoethyl ethylenimine are presented. It was shown that the vaccine strain 3M-UNIP of the hepatitis virus of ducklings of type I was comparatively thermostable at 56°C and sensitive to the action of aminoethyl ethylenimine; the time of complete inactivation of the virus at a final concentration of 0.1% at 37°C was 24 h. The obtained results suggest that aminoethyl ethylenimine can be used as an inactivator in manufacturing inactivated vaccine against viral hepatitis of ducklings of type I.**

**Key words:** kinetics of inactivation; hepatitis virus of ducklings; temperature; formaldehyde.

**For citation:** Trefilov B.B., Nikitina N.V., Leonov I.K. The kinetics of the inactivation of the hepatitis virus type I (Avihepatovirus, Picornaviridae). *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(3):135-138. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-135-138>

**For correspondence:** Boris B. Trefilov, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher of the Department of Virology and Tumor Bird Diseases named after R.N. Korovin, All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science, Branch of the Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Poultry Institute", St. Petersburg - Lomonosov, 198412, Russian Federation. E-mail: [boris.trefilov@yandex.ru](mailto:boris.trefilov@yandex.ru)

### **Information about authors:**

Trefilov B.B., <http://orcid.org/0000-0002-4721-6955>

Nikitina N.V., <http://orcid.org/0000-0002-7500-3172>

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 24 October 2017

Accepted 12 December 2017

**Для корреспонденции:** Борис Борисович Трефилов, д-р вет. наук, профессор, главный научный сотрудник отдела вирусологии и опухолевых болезней птиц им. Р.Н. Коровина ВНИВИП, 198412, г. Санкт-Петербург – Ломоносов. E-mail: [boris.trefilov@yandex.ru](mailto:boris.trefilov@yandex.ru)

**Введение**

В утководческих хозяйствах промышленного типа возникает опасность развития эпизоотии вирусного гепатита утят типа I, особенно среди вновь завозимого поголовья. Широкое распространение болезни обусловлено высокой устойчивостью вируса к физико-химическим факторам, его длительным персистенцированием в организме переболевшей птицы, генетической вариабельностью и стационарной неблагополучностью хозяйств [1]. Вирус гепатита утят типа I классифицирован как Avihepatovirus семейства Picornaviridae главным образом на основании морфологии и физико-химических свойств вириона, идентификации последовательностей, организации и видов генома [2]. Авторы различают 3 генотипа: DHAV-1, DHAV-2, DHAV-3 [3 – 6]. Вирус сравнительно стабилен при температуре, не превышающей 40–45°C, но инактивируется при более высоких температурах [7, 8]. Он устойчив к тепловой инаktivации при 50°C в молярных растворах NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub> и MgSO<sub>4</sub> и стабилен при pH 3,0 в течение 9 ч [9]. Вирус теряет инфекционную активность после воздействия на него формальдегида в конечной концентрации 0,2% при 37°C в течение 8–9 ч [10].

Определение чувствительности вируса гепатита к физико-химическим факторам имеет практическое значение в производстве и контроле инаktivированных вакцинных препаратов. В связи с этим целью данной работы было изучение кинетики инаktivации штамма вируса гепатита утят при воздействии на него физико-химических факторов.

**Материал и методы**

В исследованиях использовали вакцинный штамм 3М-УНИИП вируса гепатита утят типа I 10-го пассажа, культивируемый в культуре утиных фибробластов. Клеточную культуру готовили из кожно-мышечной ткани 14–15-суточных утиных эмбрионов по общепринятой методике [11]. В качестве ростовой питательной среды использовали среду Игла MEM и 199 в соотношении 2:1 с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиков: бензилпенициллина 100 ЕД/см<sup>3</sup> и стрептомицина сульфата 100 мкг/см<sup>3</sup>.

При определении устойчивости вируса к действию повышенной температуры применяли вирусосодержащую культуральную жидкость, а к действию аминоэтилэтиленимина (АЭЭИ) – хорионаллантоисную жидкость заражённых утиных эмбрионов после однократного замораживания и центрифугирования при 1000 г в течение 20 мин.

Для изучения терморезистентности вирусосодержащую жидкость разливали в пробирки по 1,0 см<sup>3</sup>, затем помещали в водяную баню при 56°C и выдерживали в течение 15, 30, 40 и 60 мин. По истечении времени пробирки немедленно охлаждали в тающем льду.

Действие АЭЭИ испытывали в его конечных концентрациях 0,02, 0,05 и 0,1 при 37,0 ± 0,5°C в течение 24 ч при постоянном перемешивании. Через каждые 6 ч отбирали пробы материала одновременно с контролем для определения инфекционного титра вируса. По окончании инаktivации проводили нейтрализацию остаточного количества АЭЭИ путем добавления 2 М раствора тиосульфата натрия до конечной концентрации 0,03 М/дм<sup>3</sup> и охлаждали суспензию до 4–8°C. Титр вируса определяли по Риду и Менчу по общепринятой методике [11]. Снижение титра вируса в процессе инаktivации выражали отношением lg V<sub>t</sub>/V<sub>0</sub>, где V<sub>0</sub> – титр вируса до обработки, V<sub>t</sub> – титр вируса после обработки в течение определенного времени. Константу скорости инаktivации вычисляли по формуле:

$$K = 2,3 \cdot P_1 / P_0 \cdot t,$$

где 2,3 – основание натуральных логарифмов; P<sub>0</sub> – исходный титр вируса; P<sub>1</sub> – титр обработанного вируса ко времени; t – время обработки вируса.

Полученные данные подвергали статистическому анализу с использованием критерия Стьюдента, считая их достоверными при p < 0,05 [12].

**Результаты**

**Тепловая инаktivация.** Результаты исследований термодинамической инаktivации, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что вирус гепатита утят теряет инфекционную активность при нагревании до 56°C в течение 60 мин. Снижение титра через 30 мин экспозиции составило 0,37 lg/мин, а константа скорости инаktivации равнялась 2,8 · 10<sup>-2</sup> lg.

Полученные данные указывают на то, что кривая инаktivации (рис. 1) оказалась двухкомпонентной: в течение 30 мин экспозиции снижение титра равнялось 63,2% исходной величины инфекционности, а в последующие 30 мин скорость инаktivации существенно замедлилась и составила 36,8%.

Следовательно, в результате проведенных исследований установлено, что вакцинный штамм 3М-УНИИП вируса гепатита утят типа I оказался сравнительно термостабильным при 56°C.

**Инаktivация АЭЭИ.** Полученные данные показали, что АЭЭИ в концентрациях 0,02 и 0,05% инаktivировал инфекционную активность вируса в течение 24 ч на 53,1 и 75% соответственно с кинетической скоростью 6,5 · 10<sup>-2</sup> и 3,4 · 10<sup>-2</sup> lg/ч. Под действием инаktivанта в концентрации 0,1% вирус гепатита полностью потерял инфекционную активность в течение 24 ч (табл. 2).

Таблица 1

**Термодинамические параметры вируса гепатита при 56°C**

Штамм вируса	Температура инаktivации, °C	Титр вируса, lg ТЦД <sub>50</sub> /0,2 см <sup>3</sup> , при:				Константа скорости инаktivации через 30 мин, lg K <sub>30</sub>	p
		времени обработки, мин					
		15	30	45	60		
3М-УНИИП	56	3,23 ± 0,15	1,75 ± 0,3	1,75 ± 0,3	0	2,8 · 10 <sup>-2</sup>	< 0,05

Примечание. Исходный титр вируса (V<sub>0</sub>) равен 4,75 lg ТЦД<sub>50</sub>/0,2 см<sup>3</sup>.

Таблица 2

**Чувствительность вакцинного штамма вируса к действию АЭЭИ**

Штамм вируса	Концентрация АЭЭИ, %	Инфекционный титр вируса, lg ЭЛД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> , при:				Константа скорости инаktivации через 24 ч, lg K <sub>24</sub>	p
		экспозиции инаktivации, ч					
		6	12	18	24		
3М-УНИИП	0,02	7,5 ± 0,1	6,75 ± 0,1	5,75 ± 0,2	3,75 ± 0,1	6,5 · 10 <sup>-2</sup>	< 0,05
	0,05	6,9 ± 0,2	6,3 ± 0,3	5,2 ± 0,3	2,0 ± 0,3	3,4 · 10 <sup>-2</sup>	< 0,05
	0,1	5,75 ± 0,3	4,5 ± 0,25	2,0 ± 0,1	0		< 0,05
Исходный титр вируса (V <sub>0</sub> ) 8,0 lg		7,5	6,75	5,85	5,5		

Данные кинетики инаktivации (рис. 2) свидетельствуют о том, что вирус гепатита утят чувствителен к действию АЭЭИ, снижение титра вируса следовало простой экспоненциальной кривой.

Установлено, что скорость инаktivации вируса была пропорциональна концентрации препарата в вирусосодержащей жидкости и времени его воздействия. При обработке вируса АЭЭИ в концентрации 0,1% константа его скорости инаktivации через 24 ч равнялась нулю

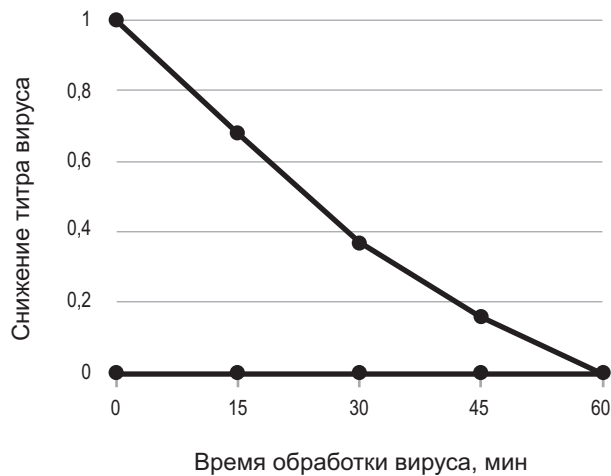


Рис. 1. Кинетика инактивации вируса гепатита утят при 56°C.

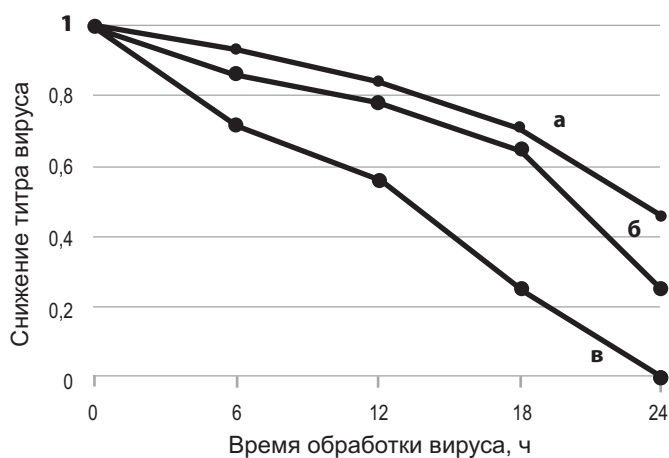


Рис. 2. Кинетика инактивации вируса гепатита в конечной концентрации АЭЭИ 0,02% (а), 0,05% (б) и 0,1% (в).

( $\lg K_{\text{ин}} = 0$ ), что подтверждало полную потерю инфекционной активности вируса. Антигенные свойства вируса, инактивированного температурой и АЭЭИ, и исходного вируса определяли на 2-суточных утятах при подкожной инокуляции. Полученные данные показали, что исходный и инактивированный АЭЭИ антиген индуцировал выработку специфических антител в титре  $8,0-9,0 \log_2$ , в то время как термоинактивированный антиген –  $4,0-5,0 \log_2$  в иммуноферментном анализе.

### Обсуждение

Полученные результаты исследования направлены на разработку инактивированной вакцины против вирусного гепатита утят типа I. Ключевым этапом в изготовлении инактивированных вакцин является выбор метода инактивации вируса, т. е. способа устранения его инфекционной активности, что в полной мере определяет иммуногенные свойства вакцины. Главными критериями эффективности избранного метода являются полнота инактивации и необратимость вирулентных свойств вируса с максимальным сохранением антигенных структур вирионов, обеспечивающих специфический иммунный ответ у привитого организма [13].

Эксперименты по изучению скорости инактивации вируса гепатита под влиянием нагревания и производного азиридинового ряда (АЭЭИ) показали, что высокая температура вызывала денатурирующее действие поверхностных белков вириона, снижая тем самым антигенную специфичность вируса,

в то время как данные оценки остаточной инфекционности вируса под действием АЭЭИ, установленные через определенные интервалы времени после воздействия, демонстрировали распределения, близкие логарифмически линейным, что позволяло достаточно надежно контролировать процесс инактивации вируса. При обработке вируса АЭЭИ в конечной концентрации 0,1% константа его скорости инактивации через 24 ч равнялась нулю ( $\lg K_{\text{ин}} = 0$ ), что подтверждает потерю инфекционной активности вируса с сохранением его антигенных свойств. Установленная прямая зависимость процесса инактивации вируса гепатита от концентрации АЭЭИ в вирусосодержащем материале совпадает с ранее полученными данными относительно чувствительности вирусов к химическим агентам, применяемым в качестве инактиваторов [14–16].

### Заключение

На основании результатов проведенных исследований можно заключить, что повышенная температура и АЭЭИ способны инактивировать инфекционную активность вакцинного штамма 3М-УНИИП вируса гепатита утят типа I, при этом штамм вируса оказался сравнительно термостабильным при 56°C и чувствительным к действию АЭЭИ, время полной инактивации вируса – 24 ч в конечной концентрации 0,1% при 37°C. Этот факт соответствует характеристике таксономического положения вируса в семействе Picornaviridae.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2-6, 9 см. REFERENCES)

1. Паникар И.И. *Вирусный гепатит утят и его профилактика*. М.: Россельхозиздат; 1987.
7. Виноходов О.В., Виноходов В.О., Виноходов Д.О. Энтеровирусный гепатит уток типа I. В кн.: Соринсон С.Н., ред. *Вирусные гепатиты птиц*. СПб.: Теза; 1998: 68-91.
8. Бубашко О.А. Маркерные свойства штамма вирусного гепатита утят КМИЭВ-16. *Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария*. 2005; (1): 46-9.
10. Князев В.П. Вирусный гепатит утят (уток). В кн.: Князев В.П. *Болезни водоплавающих птиц*. Владимир; 2010: 70-87.
11. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. *Ветеринарная вирусология*. М.: Агропромиздат; 1991.
12. Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А. *Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов*. Ленинград; 1975.
13. Лезова Т.А., Михалишин В.В. Вирулицидная активность координационных соединений этиленмина в отношении вирусов. В кн.: *Материалы Международной научной конференции, посвященной 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ»*. Владимир; 2003: 483-7.
14. Улупов Н.А., Михалишин В.В., Гусев А.А., Лезова Т.А. Аминоэтиленмин - средство инактивации инфекционности вируса ящура. В кн.: *Материалы научной конференции, посвященной 40-летию ФГУ «ВНИИЗЖ»*. Владимир; 1998: 53-62.
15. Борисова И.А. Антигенная активность экспериментальной инактивированной эмульсионной вакцины против ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции птиц. *Ветеринарная патология*. 2006; (4): 144-6.
16. Глейзер Д.А., Фролов С.В., Борисов А.В., Кулаков В.Ю. Получение инактивированного вируса инфекционного бронхита кур (штамм «Калужский»). *Ветеринарная патология*. 2008; (4): 75-9.

### REFERENCES

1. Panikar I.I. *Viral Hepatitis Ducklings and its Prevention [Virusnyy gepatit utyat i ego profilaktika]*. Moscow: Rosselkhozizdat; 1987. (in Russian)
2. Stanway G., Brown F., Christian P. Family Picornaviridae. In: Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A., eds. *Virus Taxonomy Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier Academic Press; 2005: 757-78.
3. Kim M.C., Kwon J.K., Joh S.J., Lindberg A.M., Kwon J.H., et al. Molecular analysis of duck hepatitis virus type 1 reveals a novel lineage close to genus Parechovirus in the family Picornaviridae. *J. General Virology*. 2006; 87(Pt. 11): 3307-16.

4. Kim M.C., Kwon J.K., Joh S.J., Kwon J.H., Kim J.H., Kim S.J. Development of one-step reverse transcriptase-polymerase chain reaction to detect duck hepatitis virus type 1. *Avian Disease*. 2007; 51(2): 540-5.
5. Tseng C.H., Knowles N.J., Tsai H.J. Molecular analysis of duck hepatitis virus type 1 indicates that it should be assigned to a new genus. *Virus Res*. 2007; 123(2): 190-203.
6. Wang L., Pan M., Fu Y., Zhang D. Classification duck hepatitis virus in to three genotypes bases on molecular evolutionary analysis. *Virus Genes*. 2008; 37(1): 52-9.
7. Vinokhodov O.V., Vinokhodov V.O., Vinokhodov D.O. Enterovirus hepatitis of ducks of I type. In: Sorinson S.N., ed. *Viral Hepatitis of Birds [Virusnye gepatity ptits]*. St. Petersburg; 1998; 68-91. (in Russian)
8. Bubashko O.A. Marker properties of the strain of viral hepatitis of ducklings KMIEV-16. *Epizootologiya, immunologiya, farmakologiya i sanitariya*. 2005; (1): 46-9. (in Russian)
9. Davis D. Temperature and pH stability of duck hepatitis virus. *Avian Pathol*. 1987; 16(1): 21-30.
10. Knyazev V.P. Viral hepatitis of ducks (ducks). In: Knyazev V.P. *Diseases of Waterfowl [Bolezni vodoplavayushchikh ptits]*. Vladimir; 2010; 70-87. (in Russian)
11. Syurin V.N., Belousova R.V., Fomina N.V. *Veterinary Virology [Veterinarnaya virusologiya]*. Moscow: Agropromizdat; 1991. (in Russian)
12. Ashmarin I.P., Vasil'ev N.N., Ambrosova V.A. *Fast Methods of Statistical Processing and Experiment Planning [Bystrye metody statisticheskoy obrabotki i planirovaniya eksperimentov]*. Leningrad; 1975. (in Russian)
13. Lezova T.A., Mikhailishin V.V. Virulicidal activity of ethylenimine coordination compounds against viruses. In: *Materials of the International Scientific Conference, Dedicated to the 45th Anniversary of the FGI «VNIIZH» [Materialy Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 45-letiyu FGU «VNIIZH»]*. Vladimir; 2003; 483-7. (in Russian)
14. Ulupov N.A., Mikhailishin V.V., Gusev A.A., Lezova T.A. Aminoethyl-ethylenimine is a means of inactivating the infectivity of the foot and mouth disease virus. In: *Materials of the International Scientific Conference, Dedicated to the 45th Anniversary of the FGI «VNIIZH» [Materialy Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 45-letiyu FGU «VNIIZH»]*. Vladimir; 1998; 53-62. (in Russian)
15. Borisova I.A. Antigenic activity of experimental inactivated emulsion vaccine against Newcastle disease and pneumovirus infection of birds. *Veterinarnaya patologiya*. 2006; (4): 144-6. (in Russian)
16. Gleyzer D.A., Frolov S.V., Borisov A.V., Kulakov V.Yu. Obtaining an inactivated virus of chicken infectious bronchitis (strain "Kaluzhsky"). *Veterinarnaya patologiya*. 2008; (4): 75-9. (in Russian)

Поступила 24.10.17  
Принята в печать 12.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 578.891:578.51.083.33

Куприянов В.В.<sup>1</sup>, Николаева Л.И.<sup>2</sup>, Зыкова А.А.<sup>1</sup>, Махновский П.И.<sup>2</sup>, Котляров Р.Ю.<sup>1</sup>, Васильев А.В.<sup>2</sup>, Равин Н.В.<sup>1</sup>

## ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ МОЗАИЧНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ АНТИГЕНОВ NS4A И NS4B ВИРУСА ГЕПАТИТА С

<sup>1</sup>ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, 119071, г. Москва;

<sup>2</sup>Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Цель исследования – изучить иммуногенные свойства мозаичных рекомбинантных белков, сконструированных на основе антигенов NS4A и NS4B вируса гепатита С (ВГС). Методами генной инженерии в системе *E. coli* были получены 4 мозаичных рекомбинантных белка, содержащих Т- и В-эпитопы антигенов NS4A и NS4B. Для усиления иммунного ответа они были соединены в различных вариантах с нуклеотидной последовательностью мышинного интерлейкина-2 (IL-2), липопептида *Neisseria meningitidis* и Т-хелперного эпитопа нуклеокапсидного белка ВГС. Иммуногенные свойства этих рекомбинантных белков были изучены методами иммуноблоттинга, иммуноферментного анализа и ELISpot с использованием сывороток иммунизированных мышей и инфицированных ВГС людей. Рекомбинантные белки специфически реагировали в иммуноблоттинге с сыворотками иммунизированных мышей и инфицированных пациентов. По данным иммуноферментного анализа, наблюдалось преимущественное образование антител к NS4B при иммунизации мышей рекомбинантным белком, содержащим оба антигена. Анализ продукции гамма-интерферона Т-лимфоцитами при контакте с активированными дендритными клетками в ELISpot показал, что максимальная продукция этого цитокина отмечалась при расположении адъювантных компонентов на N- и C-концах рекомбинантного белка. Наивысший уровень продукции гамма-интерферона при стимуляции этим препаратом был выявлен в лимфоцитах из костного мозга и лимфатических узлов. Среди проанализированных четырех препаратов наибольшее иммуностимулирующее действие оказывал рекомбинантный мозаичный белок, содержащий Т- и В-эпитопы NS4A и NS4B, мышиный IL-2 и липопептид *Neisseria meningitidis*. Этот рекомбинантный белок образовывал наночастицы размером 100–120 нм.

Ключевые слова: антигены вируса гепатита С; рекомбинантные мозаичные белки; адъювантные компоненты.

Для цитирования: Куприянов В.В., Николаева Л.И., Зыкова А.А., Махновский П.И., Котляров Р.Ю., Васильев А.В., Равин Н.В. Иммуногенные свойства рекомбинантных мозаичных белков на основе антигенов NS4A и NS4B вируса гепатита С. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(3): 138-143

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-138-143>

### Koupriyanov V.V.<sup>1</sup>, Nikolaeva L.I.<sup>2</sup>, Zyikova A.A.<sup>1</sup>, Makhnovskiy P.I.<sup>2</sup>, Kotlyarov R.Y.<sup>1</sup>, Vasilyev A.V.<sup>2</sup>, Ravin N.V.<sup>1</sup> IMMUNOGENIC PROPERTIES OF RECOMBINANT MOZAIC PROTEINS BASED ON ANTIGENS NS4A AND NS4B OF HEPATITIS C VIRUS

<sup>1</sup>Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology», Moscow, 119071, Russian Federation;

<sup>2</sup>D.I. Ivanovsky Institute of Virology, «National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation

Для корреспонденции: Куприянов Виктор Васильевич, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории систем молекулярного клонирования Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии», 119071, г. Москва.  
E-mail: vkoop@biengi.ac.ru