

Петров А.А., Плеханова Т.М., Сидорова О.Н., Борисевич С.В., Махлай А.А.

Вакцины на основе РНК-репликона вируса венесуэльского энцефаломиелиита лошадей против вирусных геморрагических лихорадок

ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад

В данном обзоре рассмотрены различные рекомбинантные ДНК- и РНК-кандидаты в вакцины против арена- и филовирусных геморрагических лихорадок, в том числе и на основе РНК-репликона вируса венесуэльского энцефаломиелиита лошадей (ВЭЛ). Репликационно-дефектные репликоны вируса ВЭЛ обладают такими важными качествами, как безопасность, высокий уровень экспрессии гетерологичных генов, тропизм к дендритным клеткам, сбалансированный иммунный ответ, защитная эффективность, резистентность к антивекторному иммунитету и возможность конструирования мультивалентных вакцин. Эти свойства обуславливают перспективность разработки на основе репликоновой системы вируса ВЭЛ вакцин нового поколения против арена- и филовирусных геморрагических лихорадок.

Ключевые слова: *аренавирусы; вирус венесуэльского энцефаломиелиита лошадей; вирусные геморрагические лихорадки; рекомбинантные вакцины; РНК-репликоны; филовирусы.*

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60(3): 14–18.

Petrov A. A., Plekhanova T. M., Sidorova O. N., Borisevich S. V., Makhlay A. A.

The vaccines based on the replicon of the venezuelan equine encephalomyelitis virus against viral hemorrhagic fevers

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, 141306, Sergiev Posad – 6, Russia

The status of the various recombinant DNA and RNA-derived candidate vaccines, as well as the Venezuelan equine encephalomyelitis virus (VEEV) replicon vaccine system against extremely hazardous viral hemorrhagic fevers, were reviewed. The VEEV-based replication-incompetent vectors offer attractive features in terms of safety, high expression levels of the heterologous viral antigen, tropism to dendritic cells, robust immune responses, protection efficacy, low potential for pre-existing anti-vector immunity and possibility of engineering multivalent vaccines were tested. These features of the VEEV replicon system hold much promise for the development of new generation vaccine candidates against viral hemorrhagic fevers.

Key words: *arenaviruses, venezuelan equine encephalitis virus; hemorrhagic fevers; recombinant vaccines; RNA- replicons; filoviruses.*

Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(3): 14–18. (In Russ.)

For correspondence: Aleksandr Petrov, MD, PhD; e-mail: petrov_a_a@rambler.ru

Received 11.09.13

Филовирусы Марбург и Эбола, а также аренавирусы Ласса, Хунин и Мачупо являются возбудителями тяжелых и, как правило, смертельных геморрагических лихорадок [1–6].

Отсутствие в настоящее время безопасных и эффективных средств профилактики и лечения геморрагических лихорадок I группы патогенности свидетельствует об актуальности разработки эффективных вакцин нового поколения.

Традиционные подходы при создании вакцин против геморрагических лихорадок на основе живых аттенуированных вирусов или инактивированных препаратов возбудителя не оправдали себя, так как живые вакцины реактогенны, и есть вероятность реверсии к вирулентному варианту [7]. Инактивированные вакцины более безопасны, но слабо индуцируют клеточный иммунитет, необходимый для защиты от вирусной инфекции, и должны, как правило, использоваться совместно с адьювантами для повышения иммуногенности [8, 9].

Современные подходы к разработке вакцин нового поколения против вирусных геморрагических лихорадок I группы патогенности обещают решить неко-

торые из этих серьезных вопросов и найти оптимальный баланс между эффективностью, безопасностью и стоимостью защитных препаратов. В целом такие вакцины должны обеспечивать протективный эффект при 1–2-кратном введении, в том числе и против нескольких патогенов, быть устойчивыми к предшествующему иммунитету организма, вызванному неспецифическими компонентами вакцины.

Одним из направлений развития вакцин нового поколения является система обратной генетики арена- и филовирусов [2, 9]. Эта система дает возможность получать информацию о вирусной репликации, функции белков и патогенезе, что со временем может дать инструмент для создания специфических генов, требуемых для аттенуации, и, возможно, позволит разработать рациональную конструкцию безопасной живой вакцины против вирусных геморрагических лихорадок.

В последние годы активно развиваются альтернативные направления разработки вакцин. К их числу относится множество рекомбинантных векторов, ко-

Для корреспонденции: Петров Александр Анатольевич, канд. мед. наук; e-mail: petrov_a_a@rambler.ru

торые уже были исследованы на этапе доклинических испытаний. Как следует из данных, представленных в табл. 1, для целого ряда векторов была доказана профилактическая эффективность в отношении экспериментальных арена- и филовиральных инфекций, в том числе и на нечеловекообразных приматах (рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, ДНК-рекомбинантный аденовирус типа 5, вирусоподобные частицы, рекомбинантный вирус вакцины, репликоны вируса ВЭЛ) [4, 10–14]. Но только тривалентная ДНК-вакцина, включающая векторы, кодирующие гены нуклеопротеина (NP) и гликопротеина (GP) двух вирулентных штаммов вируса Эбола, продолжила проверку в I фазе клинических испытаний [15]. Однако иммуногенность этой вакцины оказалась ниже требуемого уровня и для создания протективного иммунитета была необходима многократная иммунизация в течение длительного времени [15].

Другая рекомбинантная вакцина, на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, вызывала полную защиту против всех потенциально опасных штаммов вируса Марбург [10, 16]. Система рекомбинантного вируса везикулярного стоматита

продемонстрировала удивительную эффективность в преclinical испытаниях на моделях животных не только как превентивная вакцина, но и как постинфекционное средство профилактики [9].

С помощью комплексной аденовирусной технологии на основе репликационно дефектного вируса (CAdVax) была разработана панфиловиральная векторная вакцина (CAdVax-Panfilo) против пяти различных филовирусов [14]. Вакцинация низших приматов вызывала 100% защиту при последующем инфицировании двумя вирулентными штаммами вируса Эбола и тремя вирулентными штаммами вируса Марбург. Эта работа доказала возможность создания вакцины против всех известных особо опасных филовирусов. И, хотя в результате разработки CAdVax-Panfilo был решен вопрос предшествующего иммунитета, связанный с тем, что свыше 60% населения имеют антитела к человеческому серотипу 5 аденовируса, а в Африке эта величина составляет 85% [11], для выработки долговременного протективного иммунитета необходимо праймирование ДНК-вакциной с последующей иммунизацией аденовирусным вектором [17].

Одним из самых современных и перспективных на-

Таблица 1

Рекомбинантные вакцины против геморрагических лихорадок I группы патогенности, протестированные на животных или человеке

Вирус(ы)	Ген	Вектор(ы)	Экспериментальные животные	Литературный источник
Ласса	gpc, np	Репликационно-компетентный вектор вируса вакцины	Морские свинки, макаки-резус	[4]
	gpc	Репликационно-компетентный вектор ВВС	Зеленые мартышки	[8, 28]
	gpc, gp1, gp2	Репликационно-компетентный химерный вектор ВЖЛ	Мыши, морские свинки	[29, 30]
	gpc, np	Репликационно-дефектный вектор РНК-репликона вируса ВЭЛ	Морские свинки	[21]
	gpc, np, z np/gpc	Вирусоподобные частицы Плазмидная ДНК	Мыши Мыши/морские свинки, мартышки	[31] [10, 32]
Хуниин	gpc	Репликационно-дефектный вектор РНК-репликона вируса ВЭЛ	Морские свинки	[33]
Ласса, Эбола	gpc, gp	Репликационно-дефектный вектор РНК-репликона вируса ВЭЛ	Морские свинки	[21]
Эбола	gp, np	Плазмидная ДНК	Мыши, морские свинки, зеленые мартышки, *человек	[11, 13, 15, 34, 35]
	gp, np, vp40	Вирусоподобные частицы	Мыши, морские свинки, мартышки	[36–38]
Эбола	gp, np	Плазмидная ДНК (праймирование)/РДА	Мыши, морские свинки, мартышки	[35]
	gp, np	Репликационно-дефектный вектор РНК-репликона вируса ВЭЛ	Мыши, морские свинки, мартышки	[21, 39, 40]
	gp	Репликационно-компетентный вектор вируса вакцины	Морские свинки, зеленые мартышки	[39]
	gp, np	Репликационно-дефектный аденовирусный вектор	Мыши, морские свинки, мартышки	[34, 35, 41, 42]
	gp	Репликационно-компетентный вектор ВВС	Мыши, морские свинки, мартышки	[16, 28]
	gp	Комплексная аденовирусная вакцина (CAdVax)	*Зеленые мартышки	[14]
	Марбург	gp, vp40	Вирусоподобные частицы	Морские свинки
Марбург, Эбола	gp	Репликационно-компетентный вектор ВВС	Зеленые мартышки	[10, 16]
	gp, np	Плазмидная ДНК	Морские свинки, **зеленые мартышки	[12, 13]
	gp, np, vp35	Репликационно-дефектный вектор РНК-репликона вируса ВЭЛ	Морские свинки, зеленые мартышки	[19, 25, 26]
	gp	Комплексная аденовирусная вакцина (CAdVax)	**Зеленые мартышки	[11, 14]
gp	Репликационно-дефектный вектор РНК-репликона вируса ВЭЛ	Морские свинки, макаки-резус	[26, 27]	

Примечание. ВВС – вирус везикулярного стоматита; ВЖЛ – вирус желтой лихорадки; РДА – репликационно-дефектный аденовирус; * – защищала против вируса Эбола, штамм Судан; ** – защищала против вируса Марбург, штамм Рави.

Сравнительная оценка свойств вакцин на основе репликона вируса ВЭЛ с рекомбинантными вакцинами против геморрагической лихорадки Ласса

Параметр	ДНК-вакцины	Репликационно-компетентные вирусекторные ДНК-вакцины на основе			Репликационно-дефектные вирусекторные вакцины на основе	
		вируса вакцины	вируса везикулярного стоматита	вируса желтой лихорадки	РНК-репликонов вируса ВЭЛ	вирусоподобных частиц
Реактогенность	Низкая	Средняя	Низкая	Низкая	Низкая	Низкая
Индукция гуморального иммунитета	+/-	+	+	+/-	+	+
Индукция клеточного иммунитета	+	+	+/-	+/-	+	+/-
Иммунная память	Долговременная	Долговременная	Долговременная	Кратковременная	Долговременная	Кратковременная
Вирусемия	+	+	+	+	+/-	+/-
Безопасность	Риск интеграции в геном клетки-хозяина	Риск реверсии или интеграции в геном клетки-хозяина	Риск реверсии или интеграции в геном клетки-хозяина	Риск реверсии или интеграции в геном клетки-хозяина	Высокая	Риск интеграции в белки или геном клетки-хозяина
Уровень защиты от аденовирусной инфекции, %:						
мышей и морских свинок	100	100	100	100	100	100
НП	100	Менее 100	100	Н. д.	100	100
Предшествующий иммунитет	-	+	+	-	-	-

Примечание. Здесь и в табл. 3: НП – низшие приматы (зеленые мартышки, макаки-резус); Н. д. – нет данных.

правлений разработки вакцин следующего поколения являются РНК-репликоны. Об этом косвенно свидетельствует контракт на 12 млн долларов в 2012 г. между Министерством обороны США и фирмой Paragon Bioservices о разработке и производстве тривалентной филловирусной вакцины на основе репликоновых частиц ВЭЛ [18].

РНК-репликоны – это производные плюс- и минус-нитевых РНК-вирусов (РНК⁺ и РНК⁻ соответственно), у которых самое меньшее один ген, кодирующий структурный белок, делетирован. Несмотря на такие делеции, вирусная РНК реплицируется и транскрибируется с помощью РНК-полимеразы. При совместной трансфекции эукариотических клеток полнценной репликоном и двумя хелперными РНК, кодирующими структурные белки альфавируса (гликопротеины и нуклеокапсид), происходит упаковка репликона РНК в вирусоподобные частицы [19, 20].

В хелперных РНК отсутствуют «пакующие сигналы», необходимые для дальнейшей репродукции репликона, поэтому инфекционный период ограничен одним циклом репликации. Следовательно, РНК-репликоновые частицы, в том числе и на основе вируса ВЭЛ, структурно идентичны вирусу, но в отличие от реплицирующихся вирусных векторов являются одноцикловыми векторами и не реплицируются в соседних клетках. Высокий уровень экспрессии генов РНК⁺-репликонов обусловлен двумя раундами геновой амплификации: первый – за счет репликации РНК-вектора, второй – за счет геновой транскрипции с 26S-промотора [9].

Гетерологичные гены РНК-репликонов экспрессируются в цитоплазме клетки, что исключает вероят-

ность их сплайсинга или интеграции в геном клетки-хозяина в отличие от ДНК-вакцин [21, 22].

Кроме того, установлено, что клетками-мишенями репликонов вируса ВЭЛ *in vivo* являются антиген презентующие дендритные клетки [23], что способствует индукции иммунного ответа широкого спектра и во многом определяет эффективность репликонов. Это свойство РНК-репликонов наряду с высоким уровнем экспрессии гетерологичных генов, обусловленным двумя раундами геновой амплификации, сближает их с живыми аттенуированными вакцинами, но в отличие от них репликоны безопасны.

К преимуществам вакцин на основе РНК-репликонов по сравнению со многими другими рекомбинантными векторами относится то, что при их применении не требуется использования адьювантов, так как с целью повышения их иммуногенности возможна коэкспрессия генов интереса и цитокинов, в частности интерферона I типа и интерлейкина-4 [24]. Более того, сами репликоны вируса ВЭЛ могут быть использованы в качестве адьювантов, так как способны индуцировать сбалансированный и усиленный ответ IgG-антител, а также мукозальный антигенспецифический CD8⁺ T-клеточный ответ [24].

Одним из достоинств этой векторной системы является возможность индукции иммунитета к двум патогенам и более при иммунизации комбинацией репликонов или двухэкспрессирующим репликоном вируса ВЭЛ (табл. 2, 3). К тому же репликоны не токсичны, что определено на грызунах, включая интрацеребральное введение новорожденным мышам [25].

В исследованиях, проведенных на морских свинках и нечеловекообразных приматах, доказана 100% про-

Сравнительная оценка свойств вакцины на основе репликона вируса ВЭЛ с рекомбинантными вакцинами против геморрагических лихорадок Марбург и Эбола

Параметр	ДНК-вакцины	ДНК + РДАВ	Репликационно-компетентные вирусекторные ДНК-вакцины на основе			Репликационно-дефектные вирусекторные вакцины на основе			
			аденоассоциированного вируса	вируса вакцины	вируса вензюлярного стоматита	аденовируса		РНК-репликонов вируса ВЭЛ	вирусоподобных частиц
						РДАВ	CAAdVax		
Реактогенность	Низкая	Низкая	Низкая	Средняя	Низкая	Низкая	Средняя	Низкая	Низкая
Индукция ГИ	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+
Индукция КИ	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+	+/-
Иммунная память	Долговременная	Долговременная	Долговременная	Долговременная	Долговременная	Кратковременная	Долговременная	Долговременная	Кратковременная
Необходимость в адьювантах	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Вирусемия	+	+	+	+	+	+/-	+	-	+/-
Уровень защиты от филовиральной инфекции, %:									
мышей, морских свинок	100	100	100	100	100	Н.д.	Н.д.	100	100
НП	100	100	100	Менее 100	100	100	100	100	100
человек	Менее 100	Менее 100	Н. д.	Н. д.	Н. д.	Н. д.	Н. д.	Н. д.	Н. д.
Безопасность	Риск интеграции в ГКХ	Риск интеграции в ГКХ	Высокая	Риск реверсии или интеграции в ГКХ	Риск реверсии или интеграции в ГКХ	Риск интеграции в ГКХ	Риск реверсии или интеграции в ГКХ	Высокая	Риск интеграции в белки или ГКХ

Примечание. РДАВ – репликационно-дефектный аденовирусный вектор; CAAdVax – комплексная аденовирусная вакцина; ГИ – гуморальный иммунитет; КИ – клеточный иммунитет; ГКХ – геном клетки-хозяина.

тективная эффективность репликоновых частиц ВЭЛ, экспрессирующих гликопротеин вируса Марбург, в отношении экспериментальной инфекции при отсутствии вирусемии у инфицированных животных [26].

При изучении защитных свойств репликона вируса ВЭЛ, экспрессирующего белки GP возбудителей лихорадки Эбола и Марбург, также выявлена 100% защитная эффективность и безопасность вакцины при парентеральном и аэрозольном инфицировании нечеловекообразных приматов этими вирусами [27].

Полученные результаты согласуются с оценкой РНК-репликонов как кандидатов в вакцины против лихорадки Ласса и Эбола, а также предполагают развитие мультивалентной вакцины и против других лихорадок, в частности боливийской геморрагической лихорадки [21]. Необходимость создания бивалентной вакцины против лихорадок Ласса и Эбола обусловлена тем, что, хотя вирусы, их вызывающие, принадлежат к различным семействам, эти заболевания имеют перекрывающиеся ареалы в странах экваториальной Африки [1, 2].

В работе Р. Pushko и соавт. были изучены защитные свойства бивалентной вакцины на основе репликона вируса ВЭЛ против лихорадок Ласса и Эбола, вакцин против каждой из этих инфекций, а также смеси из этих двух вакцин, экспрессирующих гликопротеины вирусов, которая вызвала 100% протективный иммунитет у морских свинок, инфицированных летальными дозами обоих патогенов [21]. Результаты исследований показали, во-первых, наличие экспрессии и процессинг гликопротеинов обоих вирусов. Во-вторых,

на продукты экспрессии двойного репликона вырабатывались антитела, связывающиеся с полноценными гликопротеинами вирусов. В-третьих, несмотря на то, что у морских свинок, иммунизированных вакциной на основе репликона ВЭЛ, отсутствовали нейтрализующие антитела к данному вирусу, животные были невосприимчивы к экспериментальной инфекции ВЭЛ. При этом доказано, что с этих репликонов никогда, даже после слепых пассажей в культуре клеток, не регенерируется живой вирус ВЭЛ [21]. Это свойство, а также отсутствие у большинства людей предшествующего иммунитета к ВЭЛ свидетельствуют об отсутствии ограничений для первичной также повторной иммунизации вакциной на основе РНК-репликона вируса ВЭЛ [21, 24].

Таким образом, основными преимуществами альфа-вирусных репликонов в целом и РНК-репликонов вируса ВЭЛ в частности как вакцинной векторной системы являются: 1) длительная высокоэффективная экспрессия гетерологических белков; 2) индукция длительного протективного иммунного ответа широкого спектра, обусловленная тропизмом репликонов *in vivo* к клеткам лимфондной ткани, включая антигенпрезентирующие дендритные клетки; 3) отсутствие полного набора вирусных генов, необходимых для образования вирусных частиц, которые способны вызвать генерализованную инфекцию в других тканях; т. е. они могут удовлетворять строгом требованиям безопасности; 4) из-за небольшого размера РНК-репликонов и отсутствия экспрессии структурных белков практически отсутствует ответ иммунной системы на вектор; благо-

даря этому продолжительная экспрессия чужеродных белков не вызывает цитолитиз клеток; 5) в результате утраты РНК-вирусами ДНК-фазы они не могут интегрировать чужеродные гены в хромосомную ДНК; это делает невозможной трансформацию клеток векторами на основе РНК-вирусов, что также свидетельствует о высоком уровне их безопасности.

Следовательно, несмотря на то, что потенциал вакцин на основе репликационно-дефектных РНК-репликонов альфа-вирусов до конца не раскрыт, репликоны вируса ВЭЛ можно рассматривать в качестве одной из самых безопасных и перспективных векторных систем при создании нового поколения вакцин против вирусных геморрагических лихорадок I группы патогенности.

ЛИТЕРАТУРА (П. 2–42 СМ. REFERENCES)

1. Борисевич И.В., Маркин В.А., Фирсова И.В., Хамитов Р.А., Максимов В.А., Евсеев А.А. Эпидемиология, профилактика и лечение геморрагических лихорадок. *Вопросы вирусологии*. 2006; 5: 8–17.

REFERENCES

1. Borisevich I.V., Markin V.A., Firsova I.V., Khamitov R.A., Maksimov V.A., Evseev A.A. Hemorrhagic (Marburg, Ebola, Lassa, and Bolivian) fevers: epidemiology, clinical pictures, and treatment. *Voprosy virusologii*. 2006; 5: 8–17. (in Russian)
2. Bausch, D.G. Ebola, Marburg, Lassa, and other hemorrhagic fevers. In: Lashley F.R., Durham J.D., eds. *Emerging infectious diseases*. New York: Springer Publishing Co.; New York; 2007: 133–57.
3. Burnett J.C., Henchal E.A., Schmaljohn A.L., Bavari S. The evolving field of biodefence: therapeutic developments and diagnostics. *Nat. Rev. Drug Disc.* 2005; 4: 281–97.
4. Fisher-Hoch S.P., Hutwagner L., Brown B., McCormick J.B. Effective vaccine for Lassa fever. *J. Virol.* 2000; 74: 6777–83.
5. Lassa fever imported case United Kingdom. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2000; 75 (11): 85.
6. Outbreak of Marburg hemorrhagic fever – Angola. October 1, 2004–March 29, 2005. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2005; 54 (12): 308–9.
7. Maiztegui J.I., McKee K.T.Jr., Oto B.J.G., Harrison L.H., Gibbs P.H., Feuillade M.R. et al. Protective efficacy of a live attenuated vaccine against Argentine hemorrhagic fever. AHF Study Group. *J. Infect. Dis.* 1998; 177 (2): 277–83.
8. Geisbert T.W., Jones S., Fritz E.A., Shurtleff A.C., Geisbert J.B., Liebscher R. et al. Development of a new vaccine for the prevention of Lassa fever. *PLoS Med.* 2005; 2 (6): 537–45.
9. Grant-Klein R.J., Altamura L.A., Schmaljohn C.S. Progress in recombinant DNA-derived vaccines for Lassa virus and filoviruses. *Virus Res.* 2001; 162: 148–61.
10. Bausch D.G., Geisbert T.W. Development of vaccines for Marburg hemorrhagic fever. *Expert Rev. Vaccines.* 2007; 6 (1): 57–74.
11. Geisbert T.W., Bailey M., Hensley L., Asiedu C., Geisbert J., Stanley D., et al. Recombinant adenovirus serotype 26 (Ad26) and Ad35 vaccine vectors bypass immunity to Ad5 and protect nonhuman primates against ebolavirus challenge. *J. Virol.* 2011; 85 (9): 4222–33.
12. Hevey M., Negley D., VanderZanden L., Tammariello R.F., Geisbert J., Schmaljohn C. et al. Marburg virus vaccines: comparing classical and new approaches. *Vaccine.* 2001; 20 (3–4): 586–93.
13. Riemenschneider J., Garrison A., Geisbert J., Jahrling P., Hevey M., Negley D. et al. Comparison of individual and combination DNA vaccines for B. anthracis, Ebola virus Marburg virus and Venezuelan equine encephalitis virus. *Vaccine.* 2003; 21 (25–26): 4071–80.
14. Swenson D.L., Wang D., Luo M., Warfield K.L., Woratanadham J., Holman D.H. et al. Vaccine to confer to nonhuman primates complete protection against multistrain Ebola and Marburg virus infections. *Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15 (3): 460–7.
15. Martin J.E., Sullivan N.J., Enama M.E., Gordon I.J., Roederer M., Koup R.A. et al. A DNA vaccine for Ebola virus is safe and immunogenic in a phase I clinical trial. *Clin. Vaccine Immunol.* 2006; 13 (11): 1267–77.
16. Jones S.M., Feldmann H., Stroher U., Geisbert J.B., Fernando L., Grolla A. et al. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nat. Med.* 2005; 11 (7): 786–90.
17. Santra S., Seaman M.S., Xu L., Barouch D.H., Lord C.I., Lifton M.A. et al. Replication-defective adenovirus serotype 5 vectors elicit durable cellular and humoral immune responses in nonhuman primates. *J. Virol.* 2005; 79 (10): 6516–22.
18. DoD selects Paragon Bioservices for Filovirus vaccine contract – See more at: <http://www.centerwatch.com/news-online/article/2775/> (Wednesday, January 18, 2012 12:15 PM).
19. Davis N.L., West A., Reap E., MacDonald G., Collier M., Dryga S. et al. Alphavirus Replicon Particles As Candidate HIV vaccines. *IUBMB Life.* 2002; 53 (4–5): 209–11.
20. Zimmer G. RNA Replicons – a new approach for influenza virus immunoprophylaxis. *Viruses.* 2010; 2: 413–34.
21. Pushko P., Geisbert J., Parker M., Jahrling P., Smith J. Individual and bivalent vaccines based on alphavirus replicons protect guinea pigs against infection with Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.* 2001; 75 (23): 11677–85.
22. Vander Veen R.L., Harris D.L.H., Kamrud K.I. Alphavirus replicon vaccines. *Animal Health Res. Rev.* 2012; 13 (1): 1–9.
23. MacDonald G.H., Johnston R.E. Role of dendritic cell targeting in Venezuelan equine encephalitis virus pathogenesis. *J. Virol.* 2000; 74 (2): 914–22.
24. Lundstrom K. Alphavirus vectors in vaccine development. *J. Vaccines Vaccination.* 2012; 3 (3): 139–47.
25. Lee J.S., Groebner J.L., Hadjipanayis A.G., Negley D.L., Schmaljohn A.L., Welkos S.L. et al. Multiagent vaccines vectored by Venezuelan equine encephalitis virus replicon elicits immune responses to Marburg virus and protection against anthrax and botulinum neurotoxin in mice. *Vaccine.* 2006; 24 (47–48): 6886–92.
26. Hevey M., Negley D., Pushko P., Smith J., Schmaljohn A. Marburg virus vaccines based upon alphavirus replicons protect guinea pigs and nonhuman primates. *Virology.* 1998; 251 (1): 28–37.
27. Friedrich B.M., Trefry J.C., Biggins J.E. Potential vaccines and post-exposure treatments for filovirus infections. *Viruses.* 2012; 4: 1619–50.
28. Garbutt M.R., Liebscher R., Wahl-Jensen V., Jones S., Möller P., Wagner R. et al. Properties of replication-competent vesicular stomatitis virus vectors expressing glycoproteins of filoviruses and arenaviruses. *J. Virol.* 2004; 78 (10): 5458–65.
29. Bredenbeek P.J., Molenkamp R., Spaan W.J., Daubel V., Marianneau P., Salvato M.S. et al. A recombinant Yellow Fever 17D vaccine expressing Lassa virus glycoproteins. *Virology.* 2006; 345 (2): 299–304.
30. Jiang X., Dalebout T.J., Bredenbeek P.J., Carrion R.Jr., Brasky K., Patterson J. et al. Yellow fever 17D-vectored vaccines expressing Lassa virus GP1 and GP2 glycoproteins provide protection against fatal disease in guinea pigs. *Vaccine.* 2011; 29 (6): 1248–57.
31. Branco L.M., Grove J.N., Geske F.J., Boisen M.L., Muncy I.J., Magliato S.A. et al. Lassa virus-like particles displaying all major immunological determinants as a vaccine candidate for Lassa hemorrhagic fever. *J. Virol.* 2010; 7: 279–83.
32. Rodriguez-Carreno M.P., Nelson M.S., Botten J., Smith-Nixon K., Buchmeier M.J., Whitton J.L. Evaluating the immunogenicity and protective efficacy of a DNA vaccine encoding Lassa virus nucleoprotein. *Virology.* 2005; 335 (1): 87–98.
33. Seregin A.V., Yun N.E., Poussard A.L., Peng B.H., Smith J.K., Smith J.N. et al. TC83 replicon vectored vaccine provides protection against Junin virus in guinea pigs. *Vaccine.* 2010; 28 (30): 4713–8.
34. Sullivan N.J., Geisbert T.W., Geisbert J.B., Xu L., Yang Z.Y., Roederer M. et al. Accelerated vaccination for Ebola virus haemorrhagic fever in non-human primates. *Nature.* 2003; 424 (6949): 681–4.
35. Sullivan N.J., Sanchez A. Development of preventive vaccine for Ebola virus infection in primates. *Nature.* 2000; 408 (6812): 605–9.
36. Swenson D.L., Warfield K.L., Negley D.L. Virus-like particles exhibit potential as a panfilovirus vaccine for both Ebola and Marburg viral infections. *Vaccine.* 2005; 23 (23): 3033–42.
37. Warfield K.L., Aman M.J. Advances in virus-like particle vaccines for filoviruses. *J. Infect. Dis.* 2011; 204: 1053–9.
38. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Kalina W.V., Javad A.M., Bavari S. Ebola virus-like particle-based vaccine protects nonhuman primates against lethal Ebola virus challenge. *J. Infect. Dis.* 2007; 196 (2): 430–7.
39. Geisbert T.W., Pushko P., Anderson K., Smith J., Davis K.J., Jahrling P.B. Evaluation in nonhuman primates of vaccines against Ebola virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8 (5): 503–7.
40. Pushko P., Bray M., Ludwig G.V., Parker M., Schmaljohn A., Sanchez A. et al. Recombinant RNA replicons derived from attenuated Venezuelan equine encephalitis virus protect guinea pigs and mice from Ebola hemorrhagic fever virus. *Vaccine.* 2000; 19 (1): 142–53.
41. Kobinger G.P., Feldmann H., Zhi Y., Schumer G., Gao G., Feldmann F. et al. Chimpanzee adenovirus vaccine protects against Zaire Ebola virus. *Virology.* 2006; 346 (2): 394–401.
42. Richardson J.S., Yao M.K., Tran K.N., Croyle M.A., Strong J.E., Feldman H. et al. Enhanced protection against Ebola virus mediated by an improved adenovirus-based vaccine. *PLoS One.* 2009; 4 (4): 5308–10.