

ide nanoparticles in the growing rabbit diets to mitigate hot environmental conditions for sustainable production and improved meat quality. *BMC Veterinary Research*, 18 (1), 354. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03451-w>.

11. Garkushin E.V., Shubina T.P. Vliianie vitaminov i mineralov na sostoianie zdorovia i produktivnost' krupnogo rogatogo skota // *Vestnik Donskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – 2021. – No. 1-1. – S. 38-41.

12. Simonová, M. P., Chrastinová, L., Chrenková, M., Formelová, Z., Kandričáková, A., Bino, E., Lauková, A. (2020). Benefits of Enterocin M and Sage Combination on the Physico-chemical Traits, Fatty Acid, Amino Acid, and Mineral Content of Rabbit Meat. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12 (3), 1235–1245. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09627-5>.

13. Kicheeva A.G., Tereshchenko V.A. Perspektivy ispolzovaniia prirodnykh glinistykh mineralov v zhivotnovodstve (obzor) // *Agrarnyi nauchnyi zhurnal*. – 2021. – No. 12. – S. 88-93

14. Kireeva V.V. i dr. Ekologicheskie aspekty polucheniia kormov iz otkhodov polevodstva // *Trudy Rostovskogo gosudarstvennogo universiteta putei soobshcheniia*. – 2019. – No. 1. – S. 43-45.

15. Ismatova Sh.N., Iuldasheva Sh.Zh. Izmenenie khimicheskogo sostava kombikormov pri khraneniі // *Universum: tekhnicheskie nauki*. – 2019. – No. 5 (62). – S. 8-8.

16. Kvartnikova E.G., Kosovskii G.Iu., Kvartnikov M.P. Miasnaia produktivnost' krolikov pri sukhom tipe kormleniia bez vitaminno-mineralnogo premiksa // *Krolikovodstvo i zverovodstvo*. – 2020. – No. 4. – S. 34-39.

17. Neverov E.N., Korotkikh P.S., Griniuk A.N., Mokrushin M.Iu. Issledovanie protsessa okhlazhdeniia dioksidom ugleroda tushek krolika v protsesse transportirovki // *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – 2022. – No. 5 (211). – S. 111-121.

18. Neverov E.N., Griniuk A.N., Tretiakova N.G. Primenenie dioksida ugleroda dlia okhlazhdeniia tushek krolika // *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniia*. – 2015. – No. 2-2. – S. 102.

*Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации по государственной поддержке молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-4035.2022.4).*



УДК 619:578.74;578.831.1БН

DOI: 10.53083/1996-4277-2023-227-9-73-80

Ю.Н. Козлова, В.С. Черепушкина, А.С. Кильп,  
В.Н. Афонюшкин, К.В. Ан, Н.А. Донченко  
Yu.N. Kozlova, V.S. Cherepushkina, A.S. Kilp,  
V.N. Afonyushkin, K.V. An, N.A. Donchenko

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИОФАГА M13 В КАЧЕСТВЕ ВЕКТОРНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА

### PROSPECTS OF USING BACTERIOPHAGE M13 AS A VECTOR VACCINE AGAINST NEWCASTLE DISEASE

**Ключевые слова:** векторная вакцина, болезнь Ньюкасла, бактериофаг M13, клонирование, плазмида pET32b, рекомбинантный антиген, пероральная вакцинация.

**Keywords:** vector vaccine, Newcastle disease, M13 bacteriophage, cloning, plasmid pET32b, recombinant antigen, oral vaccination.

Ньюкаслская болезнь птиц остается большой проблемой ветеринарной медицины и птицеводства в целом. Появление новых штаммов вируса болезни Ньюкасла (NDV) создает новые потребности в разработке вакцин, содержащих антигены более гомологичные новым штаммам. Так как вакцинация методом выпаивания или спрей-вакцинация более технологичны, в сравнении с инъекционными методами доставки антигена, мы предложили использовать в качестве средства доставки антигена бактериофаги. Для этого осуществили поиск бактериофагов пригодных для доставки рекомбинантного антигена (в составе белка слияния с капсидным белком бактериофага), через слизистые барьеры. Проведенные эксперименты на лабораторных животных позволили установить наиболее длительную циркуляцию в кровеносной системе бактериофагов M13 и PA136. Для разработки технологии создания рекомбинантных вакцин против болезни Ньюкасла на основе бактериофага M13 мы изучили доменную структуру белка F NDV, провели поиск B зависимых эпитопов и разработали системы праймеров для клонирования фрагмента белка F NDV в составе доменов H1-1a белка F (33-55 aa) в позиции 4649 по 4715 п.н. и гена VIII бактериофага M13. Клонирование данной конструкции осуществлялось в экспрессирующий вектор pET32b. Нарботка рекомбинантного белка одновременно с репликацией бактериофага M13 и упаковкой данного белка в капсид бактериофага возможна в системе кишечной палочки F+, что потенциально позволяет клонировать вариабельные, штаммоспецифичные участки белка F NDV напрямую из патологического материала и использовать такую рекомбинантную вак-

цину с целью праймирования классических, высокоиммуногенных вакцин.

Newcastle disease of birds remains a major problem in veterinary medicine and the poultry industry in general. The emergence of new strains of Newcastle disease virus (NDV) also creates new needs for the development of vaccines containing more homologous antigens to new strains. Since vaccination through a watering system or by spray vaccination is more technologically advanced than injection vaccination, we proposed to use bacteriophages as a means of antigen delivery. To do this, we have carried out search for bacteriophages suitable for delivering a recombinant antigen (as part of a fusion protein with a bacteriophage capsid protein) through mucous barriers. Experiments on laboratory animals made it possible to determine the longest circulation in the circulatory system of bacteriophages M13 and PA136. To develop a technology for creating recombinant vaccines against Newcastle disease based on bacteriophage M13, we were studied the domain structure of the NDV F protein, searched for B dependent epitopes, and developed primer systems for cloning a fragment of the NDV F protein in the H1 domains - 1a of the F protein (33-55 aa) in position 4649 to 4715 b.p. and gene VIII of bacteriophage M13. This construct was cloned into the pET32b expression vector. The production of recombinant protein simultaneously with the replication of bacteriophage M13 and the packaging of this protein into the bacteriophage capsid is possible in the E. coli F+ system which potentially allows cloning variable, strain-specific regions of the NDV F protein directly from pathological material and using such a recombinant vaccine to priming of classical, highly immunogenic vaccines.

**Козлова Юлия Николаевна**, к.б.н., науч. сотр., Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: ulona79@mail.ru.

**Черепушкина Виктория Сергеевна**, мл. науч. сотр., ИЭВСиДВ, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, п. Краснообск, Новосибирская обл., Российская Федерация, e-mail: vicky88@bk.ru.

**Кильп Анна Сергеевна**, мл. науч. сотр., ИЭВСиДВ, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, п. Краснообск, Новосибирская обл., Российская Федерация, e-mail: bobikova.anna97@gmail.com.

**Афонюшкин Василий Николаевич**, к.б.н., зав. сектором молекулярной биологии, ИЭВСиДВ, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, п. Краснообск, Новосибирская обл., Российская Федерация, e-mail: lisocim@mail.ru.

**Ан Ксения Владимировна**, лаборант, ИЭВСиДВ, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, п. Краснообск, Новосибирская обл., Российская Федерация, e-mail: anks22@mail.ru.

**Донченко Николай Александрович**, д.в.н., чл.-корр. РАН, руководитель института, ИЭВСиДВ, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, п. Краснообск, Новосибирская обл., Российская Федерация, e-mail: tbc2009@yandex.ru.

**Kozlova Yuliya Nikolaevna**, Cand. Bio. Sci., Researcher, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: ulona79@mail.ru.

**Cherepushkina Viktoriya Sergeevna**, Junior Researcher, Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies of Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: vicky88@bk.ru.

**Kilp Anna Sergeevna**, Junior Researcher, Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies of Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: bobikova.anna97@gmail.com.

**Afonyushkin Vasilii Nikolaevich**, Cand. Bio. Sci., Head of Molecular Biology Sector, Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies of Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: lisocim@mail.ru.

**An Kseniya Vladimirovna**, Lab. Asst., Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies of Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: anks22@mail.ru.

**Donchenko Nikolay Aleksandrovich**, Dr. Vet. Sci., Corr. Member of RAS, Head, Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and Far East, Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies of Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: tbc2009@yandex.ru.

### Введение

Иммунопрофилактика давно используется в борьбе с инфекционными болезнями, и её эффективность доказана многолетним мировым опытом. Своевременная вакцинопрофилактика оказывает влияние на благополучие многочисленных популяций сельскохозяйственных животных. В последние десятилетия внимание в технологиях производства вакцин сместилось от обработки целых патогенов на создание рекомбинантных субъединичных вакцин на основе отдельно взятого определенного антигена [1, 2].

Интерес к рекомбинантным вакцинам обусловлен появлением новых инфекционных заболеваний, как правило, зоонозного характера. Это вспышки заболеваний человека, вызванные вирусами Эбола, Зика, Марбург, коронавирусами ближневосточного и тяжелого респираторного синдромов и др. [3]. Кроме того, существует постоянная угроза появления новых высоковирулентных штаммов распространенных вирусов из-за непрерывного процесса мутаций вирусного генома [2, 4].

Болезнь Ньюкасла (БН) – вирусное заболевание многих видов птиц, в частности отряда Galliformes, вызываемое односпиральным РНК (-) вирусом [5].

Болезнь Ньюкасла проявляется симптомами поражения органов пищеварения, дыхания и нервной системы, а также снижением яичной продуктивности. Сочетание и тяжесть перечисленных клинических проявлений болезни Ньюкасла весьма вариабельны, поскольку зависят от многих факторов, из которых наибольшее значение имеют патогенность штамма возбудителя и резистентность к нему птицы. Вследствие огромного экономического ущерба, наносимого болезнью Ньюкасла, ВОЗ относит её к группе наиболее опасных для продуктивных животных (список А) [6].

Несмотря на многочисленные программы профилактики и борьбы с болезнью, БН остается одной из самых значимых инфекций в мире среди домашней птицы. В настоящее время в России заболевание относится к контролируемым инфекциям в промышленных птицеводческих хозяйствах. В частных хозяйствах чаще всего не проводят вакцинацию против БН, поэтому всегда остается потенциальная угроза. Высокая эпизоотологическая опасность заболевания связана с возможным распространением возбудителя болезни дикими птицами и с птице-

водческой продукцией не только между странами, но и между континентами [7].

Все изоляты относят к одному серотипу АОМV1, что должно способствовать легкости в контроле заболевания посредством вакцинации, ввиду общих нейтрализующих антител для всех штаммов. Но в то же время штаммы вируса имеют разные генетические вариации, из них генотип VII особенно важен, учитывая, что он был связан со многими из самых последних вспышек в Азии, Африке и на Ближнем Востоке [8-12].

**Цель** – разработать технологию создания рекомбинантных вакцин против болезни Ньюкасла на основе бактериофага M13.

### Материалы и методы

Работа выполнялась на базе лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН и в секторе молекулярной биологии Сибирского федерального центра агроботехнологий РАН. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности капсидного белка бактериофага M13p08" (минорная оболочка) и белка F вируса болезни Ньюкасла (NDV) были получены в базе данных GenBank после предварительного анализа литературных данных.

В качестве экспрессирующего плазмидного вектора использовали плазмиду pET32a.

В рамках поиска носителя вакцинного антигена провели поиск бактериофагов, способных к длительной циркуляции в крови и кишечнике, преодолению слизистых барьеров. Для решения этой задачи осуществили внутрибрюшинное введение бактериофагов M13, PM16, PM135, PA136, RP179, мышам – линии C57Black. Через 6, 12 и 24 ч животных выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации и изучали наличие бактериофагов в кишечнике, печени, селезенке, головном мозге.

Работа с лабораторными животными была осуществлена согласно руководству по содержанию и уходу за лабораторными животными Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и в других научных целях. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО Новосибирским государственным аграрным университетом.

В качестве носителя вакцинного антигена использовали бактериофаг M13.

Анализ нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программного обеспечения Unipro UGENE v. 43.0.

Далее проводили дизайн праймеров для клонирования и моделирование процесса клонирования.

Плазмидную ДНК и ДНК бактериофага М13 выделяли с использованием набора «для выделения плазмидной ДНК из бактериальных клеток» (ООО «Биолабмикс», Новосибирск).

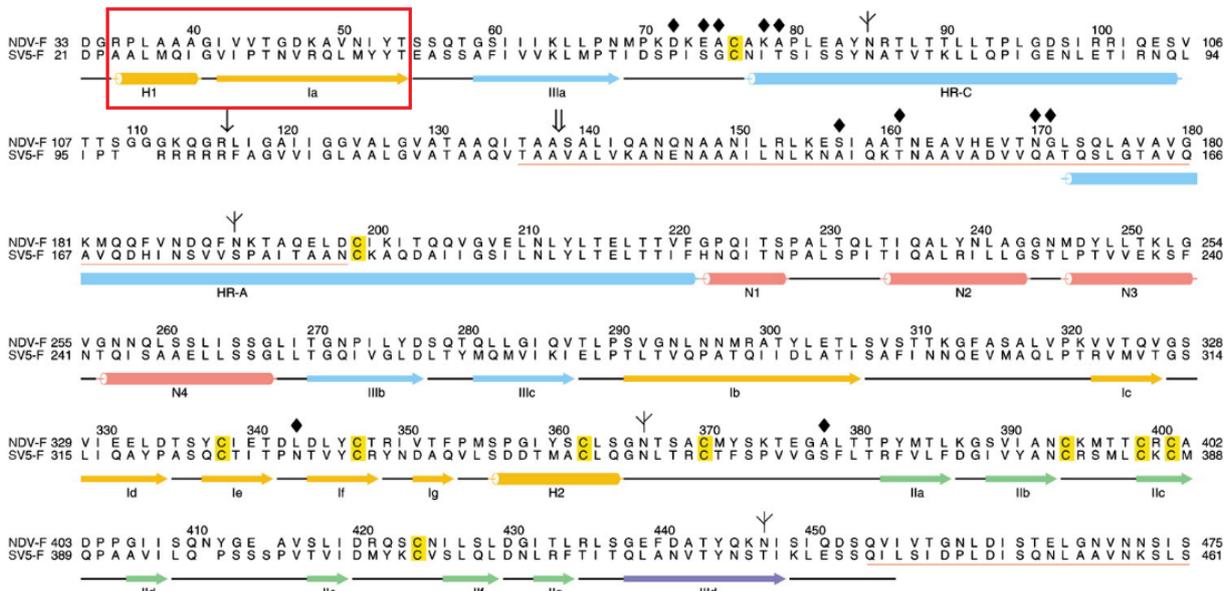
Для получения РНК полевых штаммов вируса НБ отбирали пробы патологического материала на птицефабриках, неблагополучных по Ньюкаслской болезни (Новосибирская область, Республика Мордовия и др.), РНК вируса Ньюкаслской болезни выделяли с использованием реагента «Лира» (ООО «Биолабмикс», Россия), в соответствии с инструкцией производителя. кДНК синтезировали с использованием рандом праймеров N6 и набором для синтеза кДНК (ООО «Биолабмикс»).

ПЦР проводили с использованием общепринятых методик на амплификаторе «Терцик» (ООО «ДНК Технология», Россия).

Электрофорез плазмидной ДНК и ДНК бактериофага осуществляли в 1%-ном геле агарозы, электрофорез продуктов ПЦР – в 6%-ном полиакриламидном геле методом вертикального электрофореза.

**Результаты исследований и их обсуждение**  
**Изучение В-зависимых эпитопов белка F NDV и разработка праймеров для клонирования.** После анализа литературных данных и биоинформационного поиска В-зависимых эпитопов была выбрана аминокислотная последовательность гена F домена Н1-1а 5 (рис. 1). Откуда следует, что В-зависимый эпитоп обнаружен в составе участка аминокислотной последовательности белка F и перекрывает участок альфа-спирали и бета-листа.

Для клонирования фрагмента в составе доменов Н1-1а белка F (33-55 aa) в позиции 4649 по 4715 необходимо провести клонирование 66 п.н. генома, которая кодирует данную аминокислотную последовательность вышеупомянутых доменов (табл. 1).



\*<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969212601005810>

**Рис 1. Доменная структура белка F и В-зависимый эпитоп (в составе структурных доменов Н1-1а 5): цилиндрами отмечены альфа-спирали, стрелками – бета-листы, красная рамка – участки доменов Н1-1а**

Таблица 1

**Первичная структура клонируемых доменов Н1-1а белка F**

Нуклеотидная последовательность	GGCAGGCCCTCTTGCAGCTGCAGGAATTGTAGTAACAGGAGATAAGGCAGT CAATGTATACACTTCGT
Аминокислотная последовательность В зависимого домена	GRPLAAAGIVVTGDKAVNVYTS

Для сохранения рамки считывания специфическая область первого праймера должна начинаться с позиции 4649. Праймер к белку F верхняя цепь начала домена Н1. Последовательность праймера F1 – 5' GGCAGGCCTCTTGCAGCTGCA 3', участок отжига соответствует позиции 4649-4669 п.н. вируса БН.

Второй праймер на обратную цепь должен заканчиваться на позиции 4715 п.н., что соответствует концу домена 1а. Нуклеотидная последовательность праймера F2 – 5' ACGAAGTGATACATTGACTG, позиция 4695-4715 п.н.

**Поиск бактериофагов перспективных в качестве носителя вакцинных антигенов.** В крови мышей через 6 ч после внутрибрюшинного введения бактериофагов присутствовали бактериофаги M13, PM16, PM135, PA136, RP179, однако только два фага M13 и PA136 циркулируют в крови не менее 24 ч. Некоторые бактериальные вирусы (M13, PM135, PA136, RP179) обнаруживаются в головном мозге мышей при внутрибрюшинном введении. Наибольшее коли-

чество бактериофагов при внутрибрюшинном введении обнаруживалось в селезенке и печени мышей. Через 6 ч при внутрибрюшинном введении бактериофаги M13, PM16, PM135, PA136, RP179 обнаруживаются в толстом отделе кишечника, а через 24 ч остаются два вируса M13 и PA136. Концентрация данных бактериофагов, введенных внутрибрюшинно, в почках через 24 ч после заражения увеличивается в сравнении с 6 ч, что, возможно, связано с накоплением вирусных частиц в почках, ввиду малой эффективности выведения через клубочки почек. Наиболее перспективными носителями вакцинных антигенов можно считать бактериофаги M13 и PA136 ввиду их способности к длительной циркуляции в крови, поддержанию численности в кишечнике и способностью преодолевать слизистые барьеры кишечника.

**Разработка прототипа рекомбинантной вакцины против NDV основе бактериофага M13.** Далее была проведена разработка клонирующих праймеров для капсидного белка бактериофага M13 (рис. 2).

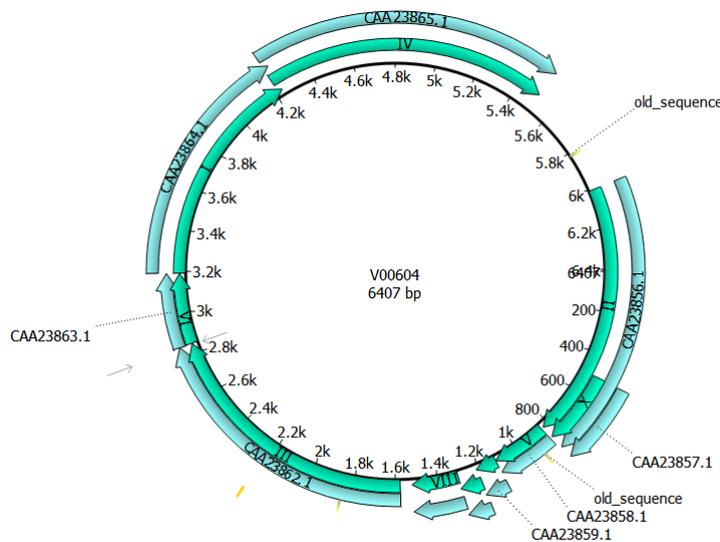


Рис. 2. Карта гена VIII бактериофага M13

```

MKKSLVLKASVAVATLVPMLSFAAEGDDPAKAAFNSLQASATEYIGYAWAMVVVIVGATIGIKLFFKFTSKASATGAAA
AAGTCTTTAGTCCTCAAAGCCTCTGTAGCCGTTGCTACCCTCGTTCGATGCTGTCTTTCGCTGCTGAGGGTGAC
GATCCCGCAAAGCGGCCTTTAACTCCCTGCAAGCCTCAGCGACCGAATATATCGGTTATGCGTGGGCGATGGT
TGTTGTCATTGTCGGCGCAACTATCGGTATCAAGCTGTTTAAAGAAATTCACCTCGAAAGCAAGCTGA
    
```

Рис. 3. Аминокислотная последовательность гена VIII

Был предложен праймер со следующими структурами:

Праймер VIII 3 – 5'ATGAAAAAGTCTTTAGTCCTC 3', позиция 1301-1321.

Праймер VIII 4 – 5'TCAGCTTGCTTTCGAGGTGAA 3', позиция 1502-1522.

Концепция предложенной нами рекомбинантной вакцины подразумевает экспрессию рекомбинантного белка слияния на основе капсидного белка бактериофага M13 и В-зависимого эпитопа белка F NDV.

Для получения синтетического гена белка слияния методом лигирующей ПЦР была проведена модификация праймера F2 для лигирования ПЦР фрагмента гена F NDV и гена VIII фага M13 по следующей схеме:

Праймер VIII3 (зеленый)+F2 (желтый).

5' **TCAGCTTGCTTTTCGAGGTGAAACGAAGTGTATACATTGACTG**

Праймер F2 на своем 5' хвосте имеет последовательность гена VIII при синтезе первой цепи фрагмента гена F, в ее структуре появляется фрагмент гена VIII в ориентации, пригодной для отжига по месту сайта отжига праймера VIII 3, что позволит провести элонгацию по матрице ампликона P3-P4 и получить гибридную молекулу F(H1-1a)-VIII.

Ожидаемая аминокислотная последовательность белка слияния:

F(H1-1a)

**GRPLAAAGIVVTGDKAVNVVYTS**MKKSLVLKASVAVATLVPMLSFAAEGDDPAKAAFNSLQASATEYIGYAWAMVVIVGATIGIKLFFKFTSKAS-VIII

Также мы добавили сайты рестрикции Bam H1 G↑GATCC / CCTAG↓G в 5' концы праймеров P1 и P4:

Праймер F1 5' ATTAG↑GATCCGGCAGGCCTCTTGCAGCTGCA 3'

Праймер VIII4 5' ATATG↑GATCCTCAGCTTGCTTTTCGAGGTGAA 3'

Предложен следующий протокол получения рекомбинантного антигена:

При разработке рекомбинантной вакцины против эпизоотически- значимого штамма NDV, на первом этапе, мы должны амплифицировать фрагмент гена F NDV с cDNA с использованием праймеров F1 и F2 (в том числе и напрямую из образцов патологического материала):

Праймер F1 5' ATTAG↑GATCCGGCAGGCCTCTTGCAGCTGCA 3'

Праймер F2 5' **TCAGCTTGCTTTTCGAGGTGAAACGAAGTGTATACATTGACTG** 3'

и амплифицировать ген VIII с использованием праймеров:

Праймер VIII 3 5' ATGAAAAAGTCTTTAGTCCTC 3'

Праймер VIII 4 5' ATATG↑GATCCTCAGCTTGCTTTTCGAGGTGAA 3'

Затем необходимо смешать ампликоны, добавить праймеры F1 и VIII4 в концентрации 0,2 мкм и праймер F2 в концентрации 0,05 мкм для синтеза гибридного ампликона.

Следующий этап включает клонирование F (H1-1a) NDV/VIII M13 в pET 32b.

Гибридная молекула анализируется методом электрофореза, размер фрагмента должен составлять 309 п.н., фрагмент геля с этим ампликоном необходимо вырезать, элюировать и осуществить рестрикцию Bam H1 вместе с ДНК pET. Нуклеотидная последовательность рекомбинантного антигена указана на рисунке 4.

```

ATATG↑GATCCGGCAGGCCTCTTGCAGCTGCAGGAATTGTAGTAACAGGAGATAAGGCAGTCAATGTA
TACACTTCGTATGAAAAAGTCTTTAGTCCTCAAAGCCTCTGTAGCCGTTGCTACCCTCGTTCCGATGCT
GTCTTTTCGCTGCTGAGGGTGACGATCCCGCAAAGCGGCCTTAACTCCCTGCAAGCCTCAGCGACCG
AATATATCGGTTATGCGTGGGCGATGGTTGTTGTCATTGTCGGCGCAACTATCGGTATCAAGCTGTTTA
AGAAATTCACCTCGAAAGCAAGCTGAGGATCCATAT
    
```

**Рис. 4. Синтетическая ДНК, подготовленная для клонирования:**  
 желтым выделен участок генома NDV, зеленым – ген VIII M13, синим – сайты рестрикции

Лигирование вставки в плазмиду проводится общепринятыми методами. Трансформацию кишечной палочки F+ (с F пилем) также проводят любым общепринятым методом, но наличие F пилля обязательно, для последующего зараже-

ния бактериофагом. Трансформированные бактерии культивируют на чашках Петри с ампициллином и тестируют на отсутствие роста на чашках с тетрациклином.

В дальнейшем проводят заражение культуры бактериофагом М13 для получения фаговых частиц, несущих на своем капсиде аминокислотные последовательности Н1-1а эпитопов белка F NDV.

Предложенная концепция рекомбинантной вакцины обладает следующими особенностями: бактериофаг М13 способен размножаться в культуре кишечной палочки и проникать через слизистую кишечника в паренхиматозные органы. Эта особенность создает перспективы перорального применения такой векторной вакцины. Чтобы избежать попадания в окружающую среду генномодифицированного бактериофага, рекомбинантный антиген F белка NDV нарабатывается в культуре кишечной палочки, содержащей плазмиду с этим геном, и одновременно происходит независимая репликация бактериофага. В итоге мы должны получить гибридные фаговые частицы, содержащие белок слияния в составе капсида, без изменения генетической структуры

### Заключение

Бактериофаги М13 и РА136 обладают характеристиками, обеспечивающими доставку рекомбинантных антигенов в кровеносную систему из кишечника и их сохранение в течение минимум 24 ч, что позволяет их рассматривать в качестве средства доставки рекомбинантного антигена при пероральной вакцинации, соответственно, плазида рЕТ со вставкой F (Н1-1а) NDV/VIII М13 может служить перспективной основой для создания новой рекомбинантной вакцины на основе бактериофага М13 против болезни Ньюкасла, пригодной для перорального применения.

### Библиографический список

1. Lu, Y., Chan, W., Ko, B.Y., VanLang, C.C., Swartz, J.R. (2015). Assessing sequence plasticity of a virus-like nanoparticle by evolution toward a versatile scaffold for vaccines and drug delivery. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112 (40), 12360–12365. <https://doi.org/10.1073/pnas.1510533112>.
2. Сёмин, Б. В. Вирусоподобные частицы как инструмент для производства вакцин / Б. В. Сёмин, Ю. В. Ильин. – Текст: непосредственный //

Молекулярная биология. – 2019. – Т. 53, № 3. – С. 367-379.

3. Mandl, J.N., Schneider, C., Schneider, D.S., Baker, M.L. (2018). Going to Bat(s) for Studies of Disease Tolerance. *Frontiers in Immunology*, 9, 2112. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02112>.

4. Domingo, E., Perales, C. (2018). Quasispecies and virus. *European Biophysics Journal: EBJ*, 47 (4), 443–457. <https://doi.org/10.1007/s00249-018-1282-6>.

5. Стасенкова, Ю. В. Программа вакцинации в борьбе с различными вариантами генотипов вируса болезни Ньюкасла / Ю. В. Стасенкова, А. В. Плешаков. – Текст: непосредственный // Материалы II Всероссийской (национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – 2021. – Т. 2. – С. 266-270.

6. Нуралиев, Е. Р. Необходимость обязательной вакцинации птиц против болезни Ньюкасла в приусадебных хозяйствах как природного резервуара инфекции для промышленного птицеводства / Е. Р. Нуралиев, И. И. Кочиш. – Текст: непосредственный // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2017. – № 2 (64). – С. 119-123.

7. О роли диких птиц в сохранении и распространении птичьего парамиксовируса серотипа 1 (вирус болезни Ньюкасла) на территории Сибири и Дальнего Востока, Россия / А. В. Глущенко [и др.]. – Текст: непосредственный // Юг России: экология, развитие. – 2016. – № 2. – С. 50-58.

8. Khan, T.A., Rue, C.A., Rehmani, S.F., Ahmed, A., Wasilenko, J.L., Miller, P.J., Afonso, C.L. (2010). Phylogenetic and biological characterization of Newcastle disease virus isolates from Pakistan. *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (5), 1892–1894. <https://doi.org/10.1128/JCM.00148-10>.

9. Kim, L.M., King, D.J., Suarez, D.L., Wong, C.W., Afonso, C.L. (2007). Characterization of class I Newcastle disease virus isolates from Hong Kong live bird markets and detection using real-time reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 45 (4), 1310–1314. <https://doi.org/10.1128/JCM.02594-06>.

10. Liu, X.F., Wan, H.Q., Ni, X.X., Wu, Y.T., Liu, W. B. (2003). Pathotypical and genotypical characterization of strains of Newcastle disease virus isolated from outbreaks in chicken and goose flocks in some regions of China during 1985-2001.

*Archives of Virology*, 148 (7), 1387–1403. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0014-z>.

11. Wang, Z., Liu, H., Xu, J., et al. (2006). Genotyping of Newcastle disease viruses isolated from 2002 to 2004 in China. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081, 228–239. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.027>.

12. Yu, L., Wang, Z., Jiang, Y., Chang, L., Kwang, J. (2001). Characterization of newly emerging Newcastle disease virus isolates from the People's Republic of China and Taiwan. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (10), 3512–3519. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.10.3512-3519.2001>.

### References

1. Lu, Y., Chan, W., Ko, B.Y., VanLang, C.C., Swartz, J.R. (2015). Assessing sequence plasticity of a virus-like nanoparticle by evolution toward a versatile scaffold for vaccines and drug delivery. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112 (40), 12360–12365. <https://doi.org/10.1073/pnas.1510533112>.

2. Semin B.V., Ilin Iu.V. Virusopodobnye chastitsy kak instrument dlia proizvodstva vaktsin // *Molekuliarnai biologiya*. – 2019. – T. 53. – No. 3. – S. 367-379.

3. Mandl, J.N., Schneider, C., Schneider, D.S., Baker, M.L. (2018). Going to Bat(s) for Studies of Disease Tolerance. *Frontiers in Immunology*, 9, 2112. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02112>.

4. Domingo, E., Perales, C. (2018). Quasispecies and virus. *European Biophysics Journal: EBJ*, 47 (4), 443–457. <https://doi.org/10.1007/s00249-018-1282-6>.

5. Stasenkova Iu.V., Pleshakov A.V. Programma vaktsinatsii v borbe s razlichnymi variantami genotipov virusa bolezni Niukasla // *Materialy II Vserossiiskoi (natsionalnoi) nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov, aspirantov i molodykh uchenykh*. – T. 2. – 2021.

6. Nuraliev E.R., Kochish I.I. Neobkhodimost obiazatelnoi vaktsinatsii ptits protiv bolezni Niukasla v priusadebnykh khoziaistvakh kak prirodnogo rezervuara infektsii dlia promyshlennogo ptitsevodstva // *Izvestiia Orenburgskogo gosudar-*

*stvennogo agrarnogo universiteta*. – 2017. – No. 2 (64). – S. 119-123.

7. Glushchenko A.V. i dr. O roli dikikh ptits v sokhranении i rasprostranении ptichego paramiksovirusa serotipa 1 (virus bolezni Niukasla) na territorii Sibiri i Dalnego Vostoka, Rossiia // *Iug Rossii: ekologiya, razvitie*. – 2016. – No. 2. – S. 50-58.

8. Khan, T.A., Rue, C.A., Rehmani, S.F., Ahmed, A., Wasilenko, J.L., Miller, P.J., Afonso, C.L. (2010). Phylogenetic and biological characterization of Newcastle disease virus isolates from Pakistan. *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (5), 1892–1894. <https://doi.org/10.1128/JCM.00148-10>.

9. Kim, L.M., King, D.J., Suarez, D.L., Wong, C.W., Afonso, C.L. (2007). Characterization of class I Newcastle disease virus isolates from Hong Kong live bird markets and detection using real-time reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 45 (4), 1310–1314. <https://doi.org/10.1128/JCM.02594-06>.

10. Liu, X.F., Wan, H.Q., Ni, X.X., Wu, Y.T., Liu, W. B. (2003). Pathotypical and genotypical characterization of strains of Newcastle disease virus isolated from outbreaks in chicken and goose flocks in some regions of China during 1985-2001. *Archives of Virology*, 148 (7), 1387–1403. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0014-z>.

11. Wang, Z., Liu, H., Xu, J., et al. (2006). Genotyping of Newcastle disease viruses isolated from 2002 to 2004 in China. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081, 228–239. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.027>.

12. Yu, L., Wang, Z., Jiang, Y., Chang, L., Kwang, J. (2001). Characterization of newly emerging Newcastle disease virus isolates from the People's Republic of China and Taiwan. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (10), 3512–3519. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.10.3512-3519.2001>.

**Работа выполнена при поддержке гранта РФФ и НСО № 22-26-20118 «Изучение возможных механизмов формирования протективного иммунного ответа в отношении некоторых инфекционных агентов свиней и кур при пероральном введении штамма-продуцента антигенов на основе микроорганизмов рода *Bacillus*».**

