



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА КЛІНІЧНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ  
КАФЕДРА ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ

# СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ КЛІНІЧНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ МЕДИЦИНИ У ДІАГНОСТИЦІ ХВОРОБ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

## МАТЕРІАЛИ

*науково-практичної міжнародної дистанційної конференції*

*17 березня 2021 року*

*Реєстраційне посвідчення УкрНТЕІ № 427 від 24 вересня 2020 року*

*ТОМ 1*

*Харків*

*НФаУ*

*2021*

## ПЕРСПЕКТИВИ В РОЗРОБЦІ СУБОДИНИЧНИХ ВАКЦИН ПРОТИ ВІРУСУ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ 2 ТИПУ

Бондарчук В.І., Скроцька О.І.

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

**Актуальність.** Мільйони людей по всьому світу заражені вірусом простого герпесу 2-го типу (ВПГ-2), який в структурі смертності від вірусних захворювань знаходиться на другому місці. Вакцинація є найбільш ефективною стратегією зниження високих показників захворюваності та смертності, а також зменшення величезного соціального і економічного впливу. Створювати вакцини, використовуючи старі випробувані технології, вдається не завжди. У багатьох випадках вакцини на основі інактивованих мікроорганізмів виявляються неефективними, а живі вакцини — надто небезпечними. В свою ж чергу розробка субодиночної вакцини на основі рекомбінантних білків набуває величезного значення в наші дні завдяки її широкому застосуванню, у поєднанні із ад'ювантами, як високоімунотенного біофармацевтичного продукту та підтвердженій безпеці, ніж традиційні вакцини.

**Мета.** Представлення сучасних закордонних досліджень, щодо синтезу та ефективності рекомбінантного глікопротеїну gD вірусу простого герпесу 2-го типу, як основи в розробці субодиночних вакцин. Доведення безпечності та імунотенної дії новоствореної субодиночної вакцини.

**Матеріали і методи.** На основі літературних даних, за останні 10 років, проведено ґрунтовний аналіз наукових публікацій з метою порівняння ефективності синтезу рекомбінантного білку вірусу простого герпесу 2-го типу за використання як бактеріальних так і еукаріотичних систем експресії. Дослідження ефективності глікопротеїну gD на моделі *in vitro* та *in vivo*.

**Результати і висновки.** Глікопротеїн gD вірусу простого герпесу II типу використовується як антиген у різних протигерпетичних субодиночних вакцинах завдяки своїй участі у зв'язуванні рецепторів чутливих клітин. Використовують gD як ключовий імунотен у більшості субодиночних вакцин, як окрему молекулу, або ж один із компонентів комбінованих рецептур інших глікопротеїнів, що беруть участь у проникненні вірусу герпесу у клітину. Виробництво рекомбінантного gD було досягнуто в декількох експресійних системах, включаючи прокаріотичні та еукаріотичні клітини. Прокаріотичні системи мають ряд переваг щодо маніпуляцій: низьку вартість і можливість отримувати за відносно короткий проміжок часу велику кількість білка. Найпоширенішою прокаріотичною системою можуть слугувати рекомбінантні клітини *Escherichia coli*, в яких усічений gD успішно експресується за рахунок індуктора IPTG, а рекомбінантний білок викликає стійку відповідь антитіл IgG у мишей. Vikas зі співавтор. (2020) вдалося досягти високої експресії рекомбінантного глікопротеїну gD при створенні та оптимізації ними вектора експресії pET28-gD-315, який трансформували в *E. coli* BL21 (DE3) методом теплового шоку. Культуру вирощували на середовищі LB із селективним антибіотиком канаміцином 50 мкг/мл при за температури 37°C. Експресія рекомбінантного глікопротеїну gD відбувалась у вигляді тілець включень за індукції 1 мМ IPTG упродовж 6 годин при досягненні OD<sub>600</sub> = 0,6. Концентрація білку в культуральній рідині становила 355 мг/л, а в результаті виділення і очищенні отримали 24 мг рекомбінантного gD. Поряд з цим у практиці широке застосування знайшли і еукаріотичні системи, прикладом використання

яких можуть бути метилотрофні дріжджі *Pichia pastoris*, які використовують в якості експресійної системи для секретованої форми gD за використання метанолу як індуктора. Дріжджі *P. pastoris* поєднують переваги низької вартості, простоти використання та високої продуктивності з еукаріотичними системами котрансляції та посттрансляції. Мап зі співавтор. (2017) створили рекомбінантний вектор експресії pPIC9K-gD 1-340, який вводили в *P. pastoris* GS115 електропорацією. Культуру вирощували на середовищі ВММУ упродовж 72 годин при 28°C. З метою отримання максимальної експресії рекомбінантного білка gD його індукцію проводили в різних умовах (концентрація метанолу та час внесення індуктора). Накопичення gD досягло піку через 24 години після індукції 1% метанолом і його концентрація у культуральній рідині становила 425 мг/л. Рекомбінантний gD, також продукується в системі експресії бакуловірусу. Тао зі співавтор. (2012) вдалось розробити двоступеневу культуру для експресії рекомбінантного білка gD2 за допомогою іммобілізованих клітин *Spodoptera frugiperda* Sf9, що включало в себе культивування клітин Sf9, на середовищі з 10% бичачою сироваткою, та подальшого їх іммобілізування за допомогою гідрогелю шовкового фіброїну і культивування в біореакторі після їх зараження рекомбінантним бакуловірусом, що експресує повнорозмірний ген gD2. Культивування проводились при 120-150 об/хв за температури 27°C у середовищі Grace's Insect Medium із антибіотиками 100 од/мл пеніциліну, 0,1 мг/мл стрептоміцину та 0,25 г/мл амфотерицину. Максимальна концентрація рекомбінантного білка gD2 у культуральній рідині становила 135 мг/л після 120 годин культивування. Результати дослідження показують, що іммобілізовані клітини та двоступенева культура можуть продовжити період експресії та значно підвищити синтез рекомбінантного білка.

Варто зазначити, що всі отримані рекомбінантні білки взаємодіють з антитілами *in vitro*, а також спостерігається посилена гуморальна та клітинна імунні відповіді з високим титром антитіл проти gD у мишей під час досліджень *in vivo*.

Отже, в результаті огляду літературних джерел здійснено різноплановий аналіз рекомбінантних продуцентів глікопротеїну gD для перспективи розробки сучасної імуногенної субодиночної вакцини проти вірусу простого герпесу II типу за використання мікроорганізмів. Результати свідчать про те, що конструювання субодиночних вакцин на основі рекомбінантних білків все більше доводить свою ефективність та безпечність у боротьбі зі смертельними інфекційними захворюваннями.

## УРОВЕНЬ ЭНДОТЕЛИНА И ЕГО РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО НЕГНОЙНОГО УРЕТРОПРОСТАТИТА

Бухмин А.В.\*, Россихин В.В.\*, Яковенко М.Г. \*\*, Яковенко Н.В.\*\*

\*Харьковский Слобожанский медицинский университет, г. Харьков, Украина

\*\*Харьковский национальный университет им В.Н. Каразина, г. Харьков, Украина

**Актуальность.** Известно, что состояние микроциркуляции в значительной степени определяет эффективность местной резистентности слизистых организма, в том числе уретры и простаты. Блок микроциркуляции, возникающий по различным причинам: агрегаты тромбоцитов, а так же фибрин