

ANTIVIRUS VACCINES

S. N. SHCHELKUNOV

200 years history of the development of antiviral immunoprophylaxis from the first intuitive steps till the newest modern variants of vaccines created by genetic engineering methods is reviewed.

Кратко изложена 200-летняя история развития противовирусной иммунопрофилактики от первых интуитивных подходов до новейших современных вариантов генноинженерных вакцин.

ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ВАКЦИНЫ: ОТ ДЖЕННЕРА ДО НАШИХ ДНЕЙ

С. Н. ЩЕЛКУНОВ

Новосибирский государственный университет

ВВЕДЕНИЕ

14 мая 1796 года произошло знаменательное для медицины да и всей биологической науки событие: английский медик Эдуард Дженнер в присутствии врачебной комиссии внес восьмилетнему мальчику в надрезы кожи на руке (привил) жидкость, взятую им из пузырьков, имевшихся на кистях рук женщины, заразившейся при дойке больной коровы так называемой оспой коров. Через несколько дней на месте надрезов на руке образовались язвочки, у мальчика повысилась температура, появился озноб. Спустя некоторое время язвочки подсохли и покрылись сухими корочками, которые затем отпали, обнажив небольшие рубцы на коже. Ребенок полностью выздоровел.

Через месяц Дженнер сделал весьма рискованный шаг — он заразил этого мальчика тем же способом, но уже гноем из накожных пузырьков от больного страшным заболеванием — натуральной оспой. Человек в таком случае должен был непременно тяжело заболеть, кожа его покрыться множеством пузырьков, и он мог в итоге с вероятностью 20–30% (один человек из 3–5 заболевших) умереть. Однако гениальность открытия Дженнера как раз в том и состояла, что он был уверен: его пациент от натуральной оспы не умрет и даже не заболеет в той форме, какая обычно встречается. Так и случилось: мальчик не заболел. Впервые было доказано, что человека можно заразить легкой формой схожего заболевания (оспой коров) и после выздоровления он приобретает надежную защиту от такого грозного заболевания, как натуральная оспа. Возникающее состояние невосприимчивости к инфекционному заболеванию получило название “иммунитет” (от англ. immunity — невосприимчивость).

И хотя о природе возбудителей как оспы коров, так и натуральной оспы в то время ничего не было известно, тем не менее метод прививок против оспы, предложенный Дженнером и названный вакцинацией (от лат. vaccus — корова), быстро получил широкое распространение. Так, в 1800 году в Лондоне было вакцинировано 16 тыс. человек, а в 1801 году — уже 60 тыс. Постепенно этот метод защиты от оспы завоевал всеобщее признание и стал широко распространяться по странам и континентам.

Однако наука, изучающая механизмы формирования иммунитета, — иммунология возникла лишь

в конце XIX века после открытия бактерий – возбудителей инфекционных заболеваний животных и человека. Большой импульс зарождению и развитию иммунологии дали работы великого французского микробиолога Луи Пастера, который первым доказал, что микроб убивающий может стать микробом защищающим от инфекции, если в лаборатории ослабить его патогенные свойства. В 1880 году он доказал возможность профилактической иммунизации против куриной холеры ослабленным возбудителем, в 1881 году провел свой сенсационный опыт по иммунизации коров против сибирской язвы. Но поистине знаменитым Пастер стал после того, как 6 июля 1885 года привил ослабленный возбудитель смертельного заболевания – бешенства мальчику, покусанному бешеной собакой. Вместо неминуемой гибели этот мальчик остался жив.

Причем в отличие от бактерий сибирской язвы и куриной холеры возбудителя бешенства Пастер увидеть не смог (так как это вирус намного меньше бактериальной клетки), но он со своими сотрудниками научился размножить этого возбудителя в мозгу кроликов, затем мозг умерших кроликов сушили, выдерживали определенное время, в результате чего и добивались ослабления возбудителя. Как выражение признания заслуги Дженнера в разработке метода иммунизации против оспы свой метод защиты от бешенства Пастер также назвал вакцинацией. С тех пор все способы профилактического прививания против инфекционных заболеваний называют вакцинацией, а препараты, которые при этом используют, – вакцинами.

Важное открытие в 1890 году сделали Беринг и Китасато. Они обнаружили, что после иммунизации дифтерийным или столбнячным токсином в крови животных появляется некий фактор, способный нейтрализовать или разрушить соответствующий токсин и тем самым предотвратить заболевание. Вещество, которое вызывало обезвреживание

токсина, получило название антитоксина, затем был введен более общий термин – “антитело”, а то, что вызывает образование этих антител, назвали антигеном.

В настоящее время известно, что все позвоночные от примитивных рыб до человека обладают высокоорганизованной иммунной системой, которая до конца еще не изучена. Антигены – это вещества, несущие признаки генетически чужеродной информации. Антигенность присуща прежде всего белкам, а также и некоторым сложным полисахаридам, липополисахаридам и иногда препаратам нуклеиновых кислот. Антитела – это особые защитные белки организма, называемые иммуноглобулинами (рис. 1). Антитела способны связываться с антигеном, вызвавшим их образование, и инактивировать его. Агрегаты антиген–антитело в организме обычно удаляются специальными клетками–мусорщиками (фагоцитами), открытыми знаменитым русским ученым Ильей Мечниковым в 1901 году, либо разрушаются системой комплемента. Последняя состоит из двух десятков различных белков, которые находятся в крови и взаимодействуют друг с другом по строго определенной схеме.

В то время как большинство бактериальных инфекций удается лечить с помощью антибиотиков, удовлетворительных методов лечения вирусных заболеваний практически не существует. Самым простым и надежным методом борьбы с вирусными инфекциями является иммунопрофилактика (вакцинация). Поэтому мы коснемся лишь подходов, которые реализуют для формирования иммунитета организма к вирусным инфекциям.

ЦЕЛЬНОВИРИОННЫЕ ВАКЦИНЫ

Вирусы столь малы и просто устроены, что могут размножаться только используя многочисленные макромолекулы клетки, необходимые для биосинтеза белков и нуклеиновых кислот. Поэтому вирусы

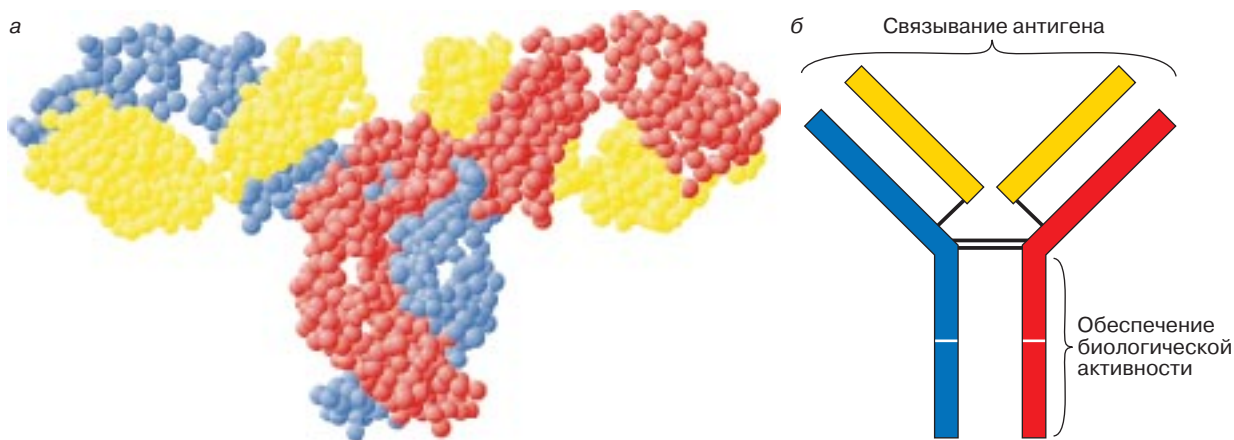


Рис. 1. Строение молекулы иммуноглобулина (а) и ее схематическое изображение (б)

осуществляют жизнедеятельность исключительно внутри живых клеток. Хозяевами могут быть отдельные клетки (например, бактерии) или организмы (например, животные или растения). Вирусные частицы (вирионы) многообразны по своей морфологии (рис. 2), но все они обязательно содержат нуклеиновую кислоту (ДНК или РНК), окруженную чехлом из большого числа белковых молекул. У некоторых видов вирусов частицы покрыты дополнительными оболочками, содержащими не только белки, но и липиды. Поверхностные белки вирусов обычно обладают выраженными иммуногенными свойствами, то есть вызывают формирование иммунного ответа в зараженном организме.

При попадании вируса в организм и развитии инфекционного заболевания в иммунной системе индуцируются процессы, направленные на инактивацию свободного вируса и уничтожение зараженных клеток, способных выделять инфекционный вирус. Свободный вирус инактивируется прежде всего в результате взаимодействия с антителами, специфично связывающимися с поверхностными антигенами вирусных частиц. За выработку антител (иммуноглобулинов) отвечают В-клетки иммунной системы организма (В-лимфоциты). Следует отме-

тить, что в ответ на каждый антиген активируется размножение строго специфичных В-лимфоцитов, которые синтезируют антитела, осуществляющие связывание этого антигена и выведение его из организма. Такой иммунитет часто называют гуморальным. Важнейшим механизмом в уничтожении зараженных вирусом клеток (на поверхности которых представлены некоторые антигены вируса) является активация размножения специфичных Т-лимфоцитов, лизирующих (разрушающих) эти клетки. Данный тип ответа иммунной системы называют клеточным иммунитетом. В результате прошедшей инфекции в организме переболевшего животного сохраняется небольшое количество специфичных (сенсбилизированных) В- и Т-лимфоцитов, которые при повторной инфекции таким же вирусом могут быстро размножиться и обеспечивать устойчивость организма к данному патогену. Такое состояние организма также называют иммунологической памятью.

Первоначальная устойчивость к повторной инфекции обусловлена главным образом воздействием специфичных антител на свободный вирус. С момента начала развития инфекции (заражения клеток и размножения в них вируса) важную роль начинают играть иммунные механизмы, направленные на лизис зараженных клеток и тем самым ограничивающие размножение вируса. Окончанию инфекционного процесса содействуют опять же антитела, действующие на свободный вирус. Приведенное описание очень схематично. До сих пор ни для одного патогенного агента нет четкой ясности относительно вклада разных механизмов иммунитета в устойчивость организма к инфекции. Поэтому эффективность развития иммунного ответа при использовании того или иного подхода определяется только экспериментально, сначала на лабораторных животных и лишь затем на людях. В настоящее время ясно, что для эффективной иммунопрофилактики необходима стимуляция возможно большего числа иммунных механизмов в правильном соотношении.

Иммунный организм или совершенно устойчив к инфицирующему микроорганизму, или обуславливает протекание заболевания в легкой форме. Поэтому большое внимание медицина и ветеринария уделяют разработке методов эффективной и безопасной иммунизации (вакцинации) людей и домашних животных. Существуют разные типы вакцин, каждый из которых имеет определенные достоинства и недостатки. Коротко охарактеризуем эти типы вакцин.

В качестве живых вирусных вакцин обычно используют так называемые аттенуированные (ослабленные) варианты вирусов, которые являются утратами большинства свойств патогенности мутантами исходно патогенных штаммов. В редких случаях удается найти близкородственный слабопатогенный вирус, вакцинация которым обеспечивает

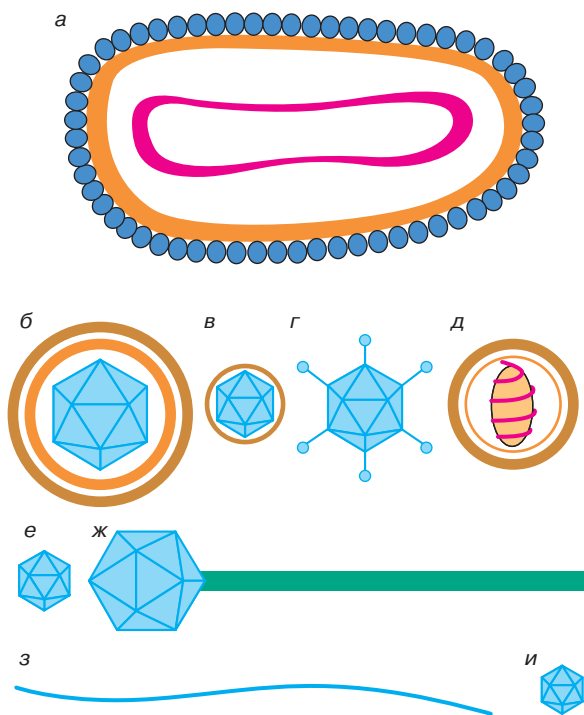


Рис. 2. Вирионы разных вирусов: а – вирус осповакцины, б – вирус простого герпеса человека, в – вирус гепатита В, г – аденовирус человека, д – вирус гриппа, е – вирус гепатита А, ж – бактериальный вирус (фаг) лямбда, з – нитевидный фаг M13, и – фаг MS2

иммунную защиту от другого опасного вируса (наиболее яркий пример: предложенная Дженнером вакцинация вирусом оспы коров против натуральной оспы). Главным преимуществом живых вакцин является то, что они активируют все компоненты иммунной системы, вызывая сбалансированный иммунный ответ. Кроме того, такие вакцины относительно дешевы, так как для иммунизации требуется небольшая доза вируса, поскольку он размножается в зараженном организме.

Недостаток живых вакцин заключается в том, что они обычно сохраняют некоторый уровень остаточной патогенности, хотя он может быть и очень низким. Тем не менее у детей и лиц с дефектной иммунной системой они могут в некоторых случаях вызывать тяжелые формы заболевания. Одной из проблем при массовом производстве аттенуированных вакцин является их возможная генетическая нестабильность, приводящая к возвращению свойств патогенности. Поэтому партии вакцин необходимо тщательно проверять на лабораторных животных. Кроме того, для живых вакцин серьезной проблемой может быть их биологическая нестабильность при хранении и использовании в практической медицине (или ветеринарии). Более того, как показывает опыт, иногда живые вакцины в процессе наработки на культурах клеток могут загрязняться другими вирусами, поэтому требуется строгий контроль за качеством получаемых препаратов вакцин.

Трудности, возникающие при получении и использовании живых вакцин, удается преодолевать в случае инактивированных вакцин, которые представляют собой препарат патогенного вируса, инактивированного (убитого) формальдегидом, бета-пропиолактоном или каким-либо другим химическим соединением. Инактивация направлена на вирусный геном и по возможности не должна затрагивать белковый каркас вирусной частицы. В данном варианте риск заражения при вакцинации практически отсутствует, не требуется проводить сложную, длительную и не всегда удачно завершающуюся работу по получению аттенуированных штаммов. Инактивированные вакцины, как правило, проще сохранять.

Основным недостатком инактивированных вакцин является то, что они уступают аттенуированным живым вирусам в отношении индукции Т-клеточного иммунитета. Кроме того, для эффективной индукции В-клеточного (гуморального) иммунитета необходимо вводить относительно большие дозы инактивированной вакцины с определенной периодичностью, что может приводить с течением времени к аллергизации организма. При инактивации вируса часть антигенов может полностью или частично разрушаться, что также снижает качество вакцины. Следует отметить, что при препаративной наработке патогенных вирусов, предназначенных

для получения инактивированных вакцин, предъявляются повышенные требования по обеспечению безопасности как самого персонала, так и окружающей среды, то есть требуются дорогостоящие, специально оборудованные помещения.

ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ВИРУСНЫХ АНТИГЕНОВ

Как отмечено выше, живые и инактивированные вакцины могут иметь определенные недостатки, в частности патогенное или аллергенное воздействие на некоторых вакцинируемых. Поэтому ученые пытаются разрабатывать более безопасные варианты противовирусных вакцин. Наиболее продуктивным при этом является направление исследований по использованию очищенных вирусных белков. Такие вакцины называют субъединичными. Субъединичные вирусные вакцины обычно являются набором протективных вирионных белков или отдельным поверхностным протективным белком, выделенным из препарата вирионов (вирусных частиц). Под протективной активностью антигена понимается его способность обеспечить развитие устойчивости иммунизируемого организма к последующему инфицированию данным вирусом. Иммуногенность, или способность вызывать в организме образование антител, зависит от наличия на поверхности молекулы белка так называемых эпитопов (антигенных детерминант), образуемых обычно шестью—восемью аминокислотными остатками и обладающих наибольшим сродством к связывающей области специфического иммуноглобулина (антитела) (см. рис. 1). Обычно отдельный белок имеет несколько разных эпитопов. При этом каждый эпитоп в составе молекулы белка узнается определенными лимфоцитами, вырабатываемыми антитела только против данного эпитопа. Таким образом, против чужеродного белка иммунная система обычно вырабатывает несколько разных типов иммуноглобулинов.

Антигенные детерминанты вирусных частиц могут быть трех типов: 1) эпитопы, представленные непрерывными участками полипептидной цепи; 2) конформационные эпитопы, представляющие собой пространственно сближенные отдельные участки полипептидной цепи; 3) конформационные эпитопы, составленные аминокислотными остатками двух или более различных белков, объединенных в макроструктуру в составе вирусной частицы (рис. 3). Наличие указанных конформационных детерминант в некоторых случаях приводит к тому, что иммуногенные свойства вирусных белков определяются их третичной и четвертичной структурой.

В том случае, когда главная (наиболее иммуногенная) антигенная детерминанта протективного вирусного белка представлена непрерывной аминокислотной последовательностью (см. рис. 3, а), можно осуществить ее химический синтез и полученным

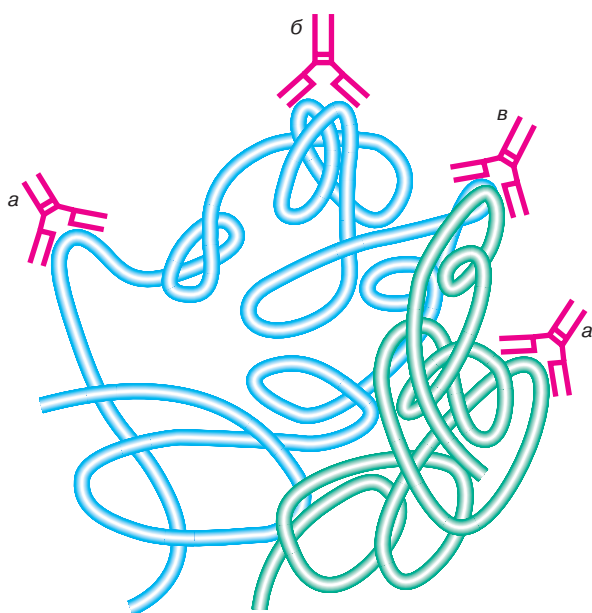


Рис. 3. Схема взаимодействия иммуноглобулинов с антигенными детерминантами (эпитопами) двухсубъединичного белка: *а* – эпитопы, представленные непрерывными участками полипептидной цепи, *б* – конформационный эпитоп, представляющий собой пространственно сближенные участки одной полипептидной цепи, *в* – конформационный эпитоп, составленный аминокислотными остатками двух разных полипептидов

синтетическим пептидом провести иммунизацию. Выполненные многочисленные эксперименты в данном направлении показали, что в некоторых случаях пептидные вакцины обеспечивают специфическую защиту организма от соответствующего вируса.

Хотя подход с использованием синтетических пептидов обладает значительными потенциальными возможностями, имеются и существенные сложности, обусловленные прежде всего слабой антигенной активностью большинства индивидуальных пептидов вследствие их малого размера.

Усиления иммуногенности таких пептидов часто удается добиться после связывания их с высокомолекулярными носителями (например, с белком, называемым бычьим сывороточным альбумином). Однако получение таких вакцин трудоемко и дорого, что малоприемлемо при массовой вакцинации.

Для некоторых вирусов не удается подобрать условий их размножения на культурах клеток или в организме лабораторных животных и как следствие этого – невозможно получать даже инактивированную вакцину. Ярким примером такого случая является вирус гепатита В человека, для которого не найдено культур клеток млекопитающих, обеспе-

чивающих его наработку. Кроме человека к данному вирусу чувствительны только обезьяны шимпанзе, которые очень дороги и редки. Поэтому данный вирус одним из первых привлек внимание исследователей, работающих в области генетической инженерии. Встал вопрос, можно ли методами генетической инженерии создать молекулярную вакцину против заболевания гепатитом В. Многие лаборатории взялись за решение этой проблемы, что позволило добиться положительного результата.

В 60-е годы было обнаружено, что в крови больных гепатитом В кроме вирусных частиц (вирионов) диаметром 42 нм находятся небольшие сферические частицы со средним размером 22 нм в диаметре (рис. 4). Оказалось, что частицы 22 нм состоят из молекул белка оболочки вириона, который назван поверхностным антигеном вируса гепатита В (НВsAg), и обладают высокими антигенными и протективными свойствами. В 1982 году было обнаружено, что при эффективной экспрессии искусственного гена поверхностного антигена вируса гепатита В в клетках дрожжей происходит самосборка изометрических частиц диаметром 22 нм из вирусного белка. Частицы 22 нм НВsAg, полученные методом генетической инженерии, по структуре и иммуногенным свойствам практически не отличаются от природных. Мономерная же форма НВsAg обладает значительно меньшей иммуногенной активностью.

В 1984 году в эксперименте на добровольцах было продемонстрировано, что получаемая генноинженерная молекулярная вакцина (22 нм-частицы) против гепатита В вызывает в организме человека эффективное образование вируснейтрализующих антител. Данная “дрожжевая” молекулярная вакцина явилась первой генноинженерной вакциной, которая была разрешена для использования в медицине. До сих пор она обеспечивает единственный надежный способ массовой защиты от гепатита В.

В связи с низкой иммуногенностью индивидуальных вирусных белков возникла идея создания надмолекулярных вирусоподобных белковых структур, в которых многократно представлены те или иные антигенные детерминанты. При этом необходимо наличие белка-носителя, который при определенных условиях способен осуществлять самосборку вирусоподобных частиц. При встройке кодирующей последовательности антигенной детерминанты изучаемого вируса в заранее выбранный район гена белка-носителя можно надеяться на то, что детерминируемый таким гибридным геном химерный белок будет способен по-прежнему формировать надмолекулярные структуры и экспонировать на их поверхности чужеродные антигенные детерминанты. Первый успех в данном направлении исследований, имеющий практическое значение, достигнут Кларком с соавторами в 1987 году при использовании в качестве белка-носителя корового (сердцевиного) белка вируса гепатита В человека. Данный

белок называют кор-антигеном (НВсAg). При нормальном развитии вируса гепатита В около 200 молекул НВсAg формируют изометрическую частицу диаметром 28 нм, содержащую вирусный геном и называемую сердцевинной вириона (см. рис. 4).

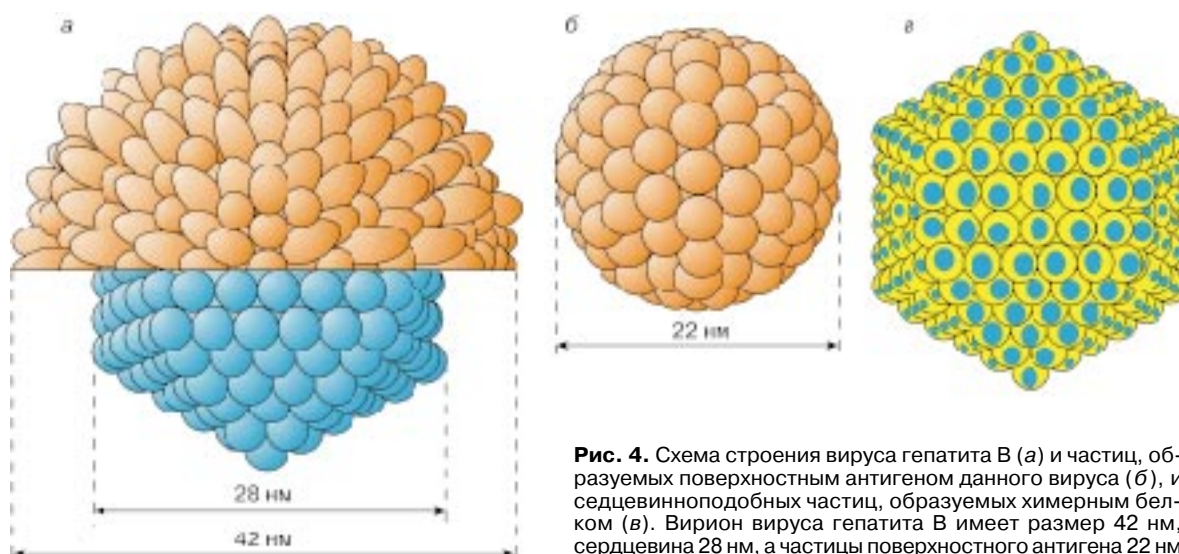
При введении гена, кодирующего НВсAg в бактериальные клетки кишечной палочки (*Escherichia coli*), оказалось, что в процессе синтеза данный белок способен осуществлять самосборку и формировать без каких-либо дополнительных компонентов вируса сердцевинноподобные частицы, неотличимые по своим иммунологическим и морфологическим признакам от синтезируемых вирусом. Затем был сконструирован гибридный ген, в котором перед началом кодирующей последовательности НВсAg подстроили ген-эквивалент протективной антигенной детерминанты (АД) белка VP1 вируса ящура (19 аминокислотных остатков) так, чтобы синтезировался единый химерный белок с последовательностями НВсAg и белка VP1 вируса ящура (НВсAg/АД). Оказалось, что детерминируемый созданным гибридным геном химерный белок токсичен для бактерии. Поэтому он был синтезирован в культуре клеток почки африканской зеленой марьши. Химерный белок (НВсAg/АД) формировал сердцевинноподобные частицы НВВ, которые очищали от других белков и проверяли на иммуногенность. Выяснилось, что иммуногенность полученных надмолекулярных структур, в которых многократно представлены встроенные эпитопы (рис. 4), приближается к иммуногенности инактивированной вакцины против ящура.

Рассмотренная работа наряду с исследованиями, выполненными позднее, указывает на перспективность создания вирусоподобных комплексов, способных экспонировать на своей поверхности чужеродные антигенные детерминанты, для получе-

ния безопасных молекулярных противовирусных вакцин. Тем не менее важнейшим направлением научных изысканий остаются разработка и совершенствование новых типов живых вакцин, являющихся самыми эффективными, поскольку они индуцируют сбалансированный гуморальный и клеточный иммунный ответ.

ГЕНОИНЖЕНЕРНЫЕ ПОЛИВАЛЕНТНЫЕ ЖИВЫЕ ВАКЦИНЫ

С появлением в середине 70-х годов текущего столетия методов генетической инженерии стала реальной возможность встройки в геномы вирусов чужеродных генов, направляющих синтез желаемых белков. В 1980 году проведены первые генноинженерные эксперименты на вирусе простого герпеса человека, в 1981 году – на аденовирусе человека, а в 1982 году – на вирусе осповакцины. Возникла идея конструирования гибридных вирусов, способных при заражении человека или животных синтезировать не только свои белки, но и протективные белки других патогенных вирусов, для которых нет эффективных вакцин. Такие гибридные вирусы получили название живых поливалентных вакцин (поливалентные, так как защищают одновременно от двух или более инфекций). Живые вакцины индуцируют не только антительный (гуморальный) иммунный ответ в инфицируемом организме, но и имеющий наиболее важное значение для защиты от вирусной инфекции Т-клеточный иммунный ответ. Цитотоксические (разрушающие клетки-мишени, в нашем случае клетки, инфицированные вирусом) Т-лимфоциты продуцируются только в ответ на антиген, синтезируемый эндогенно в клетках организма, и не продуцируются при введении этого же антигена экзогенно, то есть в составе убитой вакцины или в виде индивидуального белка. Поэтому



разработка живых поливалентных противовирусных вакцин открывает новые, ранее недоступные возможности иммунопрофилактики различных инфекционных заболеваний. Вирусы, в геном которых встраивают чужеродные гены, называют векторными вирусами или векторами. Несомненно, что при создании живых поливалентных вакцин в качестве векторных наиболее целесообразно использовать вирусы, уже применяемые в качестве живых вакцин.

Внимание многих исследователей последние годы было приковано к вирусу осповакцины, принадлежащему к семейству поксвирусов. Данный вирус возник, по-видимому, в конце прошлого — начале настоящего столетия в процессе проведения массовых вакцинаций против оспы и отбора вариантов вируса (исходно вируса оспы коров), обладающих сниженной реактогенностью (дающих меньший процент осложнений), но обеспечивающих надежную защиту против оспы. Вирус осповакцины отличается от оспы коров, в природе он не обнаружен, и механизм его появления пока неясен. Различные штаммы вируса осповакцины (ВОВ) были использованы для массовых вакцинаций при выполнении международной программы ликвидации оспы на Земле (1953—1980 годы). Для ВОВ накоплен огромный опыт использования в медицинской практике в разных климатических зонах. Этим данный вирус очень привлекателен в качестве вектора для создания живых поливалентных вакцин. Однако накопленные данные демонстрируют, что ВОВ реактогенен и в небольшом количестве случаев (0,1—0,2%) может вызывать осложнения, особенно у детей и лиц с нарушениями иммунной системы. Поэтому после объявления в 1980 году об искоренении оспы Всемирная организация здравоохранения призвала страны не проводить в дальнейшем противоспенную вакцинацию. В настоящее время такая вакцинация прекращена практически во всем мире.

Тем не менее именно ВОВ рассматривается многими учеными как наиболее удобный вектор для создания вирусных живых поливалентных вакцин. Обнаружено, что нарушение определенных генов ВОВ приводит к снижению его реактогенности (вирулентности). В многочисленных работах на лабораторных животных продемонстрировано успешное использование ВОВ в качестве вектора для получения эффективных живых вакцин против различных вирусных инфекций.

Важным направлением исследований является создание живых вакцин для домашних и диких животных. В этом плане ВОВ имеет большие перспективы для использования в качестве вектора, так как он способен размножаться в организме не только человека, но и многих млекопитающих. Важным достоинством ВОВ и других поксвирусов также является их высокая устойчивость (по сравнению с

вирусами других семейств) к воздействиям внешних физических факторов.

Впечатляющие результаты получены при использовании гибридного ВОВ, экспрессирующего поверхностный гликопротеин G вируса бешенства. Во многих европейских странах и Канаде основным природным источником вируса бешенства являются лисы, от которых заражаются домашние животные и человек. В США главными природными носителями вируса бешенства являются еноты и скунсы. Лабораторные эксперименты показали, что при введении лисам вместе с кормом гибридного ВОВ происходит вакцинирование животных и выработка надежного иммунного ответа против бешенства (а также против ортопоксвирусов). Исходя из этих результатов в Швейцарии и некоторых других странах провели масштабные эксперименты, которые состояли в том, что в местах обитания лис разбрасывали пищевые приманки, содержащие живой гибридный вирус осповакцины. В результате значительно сократилось число лис, зараженных вирусом бешенства, что привело к радикальному снижению в этих районах заболеваемости бешенством домашних животных и человека.

В последние годы большое внимание уделяется разработке ветеринарных живых вакцин на основе таких поксвирусов, как вирус оспы птиц для птицеводства и вирус болезни Орф для овцеводства. Полученные результаты указывают на большую перспективность развития данного направления исследований и позволят существенно повысить продуктивность животноводства и птицеводства.

ДНК-ВАКЦИНЫ

При создании живых поливалентных вирусных вакцин одной из основных проблем является преодоление возможных побочных эффектов вакцинации. Во-первых, необходимо свести к минимуму реактогенность получаемого гибридного вируса. Во-вторых, при вакцинации гибридным вирусом формируется полноценный иммунный ответ не только на целевой синтезируемый антиген, но и на все антигены векторного вируса. Поэтому повторное использование того же вектора, но для вакцинации против другого заболевания может быть затруднено.

Преодолеть эти препятствия, возможно, удастся при использовании новейшего подхода к иммунопрофилактике вирусных инфекций, предложенного Танг с соавторами в 1992 году. Одновременно несколько групп ученых опубликовали в 1993 году результаты своих работ, подтвердивших перспективность этого нового направления исследований, получившего название ДНК-вакцины. Оказалось, что в организм животного можно просто вводить препарат гибридной плазмиды, содержащей ген протективного вирусного антигена. Происходящий при этом синтез вирусного белка (антигена) приводит к формированию полноценного (гуморального

и клеточного) иммунного ответа. Плазмида является небольшой кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК, размножающейся в бактериальной клетке. С помощью методов генетической инженерии в плазмиду можно встроить необходимый ген (или несколько генов), который затем сможет экспрессироваться в клетках млекопитающих (в том числе и человека). Показано, что при разных способах введения (внутрикожно, внутримышечно, внутривенно) гибридная плазмида может проникать в клетки и достаточно долго сохраняться в организме. Целевой белок, кодируемый гибридной плазмидой, продуцируется в клетках, имитируя процесс биосинтеза соответствующего белка при вирусной инфекции. Это приводит к формированию сбалансированного иммунного ответа против изучаемого вируса. На лабораторных животных (мыши, цыплята) доказано, что вакцинация препаратами гибридных плазмид обеспечивала иммунную защиту от вирусов гриппа, гепатита В, гепатита С и др. Потребуется еще некоторое время, прежде чем мы сможем определенно сказать, применима ли ДНК-вакцинация для человека. Во всяком случае уже сейчас ясно, что в последние десять лет генетическая инженерия внесла огромный вклад в развитие новых подходов к иммунопрофилактике инфекционных заболеваний. Можно с оптимизмом заключить, что последующие исследования позволят получать все более надежные и безопасные варианты противовирусных вакцин.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Иммунология: В 3 т.: Пер. с англ. / Под ред. У. Пола. М.: Мир, 1987–1988.
2. Крюи П. де. Охотники за микробами: Борьба за жизнь. М.: Наука, 1987.
3. Уотсон Дж., Туз Дж., Куриц Д. Рекомбинантные ДНК: Крат. курс. М.: Мир, 1986.
4. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия: Учеб. пособие: В 2 ч. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1994–1997.

* * *

Сергей Николаевич Щелкунов, доктор биологических наук, профессор Новосибирского государственного университета, зав. отделом молекулярной биологии геномов Научно-исследовательского института молекулярной биологии Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии "Вектор". Область научных интересов: структурно-функциональная организация и эволюция вирусных геномов, противовирусные вакцины, генетическая инженерия. Автор двух монографий и учебного пособия по генетической инженерии, а также более 180 научных публикаций.