

РОСЛИННІ ВАКЦИНИ – НОВИЙ НАПРЯМ У ВАКЦИНОЛОГІЇ

Вітохіна К.Д., здобувач вищої освіти ОП «Ветеринарна медицина»

Науковий керівник – **Северин Р.В.**, к. вет. н., доцент

Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

Актуальність. Рослини – це не лише корми для тварин та їжа для людини. Рослини є цінними лікарськими травами та сировиною для промисловості. За останні 30 років рослини почали використовувати як «зелені біофабрики», що виробляють різноманітні біологічні продукти, в тому числі антигени вакцин для людини та тварин.

Метою нашого дослідження був пошук, вивчення та аналіз літературних даних щодо розроблених ветеринарних рослинних вакцин та перспектив їх використання. Робота виконувалась в лабораторії кафедри епізоотології та мікробіології Державного біотехнологічного університету м. Харків. Об'єкт досліджень – літературні дані про створення рослинних вакцин, які призначені для використання у ветеринарній медицині.

Дослідження проводили з жовтня 2023 по лютий 2024 року. Ми проаналізували понад 50 статей зарубіжних авторів. Вітчизняних публікацій на обрану тему нам не вдалося знайти.

Використання рослинних виробничих платформ для отримання вакцинних антигенів досліджується для кількох десятків видів вірусів ссавців, птиці та риб [1-10]. Серед рослинних вакцин-кандидатів є вакцини проти хвороб, спільних для кількох видів тварин (сказ, ящур, грип, японський енцефаліт); хвороб великої рогатої худоби (чума, герпесвірусна і ротавірусна інфекція), африканської чуми коней; хвороб свиней (класична чума, респіраторний і репродуктивний синдром свиней, цирковірусна і коронавірусні інфекції); парвовірусної інфекції собак; вірусної геморагічної хвороби кролів; хвороб птиці (ньюкаслська хвороба, інфекційний бронхіт, інфекційна бурсальна хвороба); хвороб риби (вірусний некроз нервової тканини, вірусний міокардит риб атлантичного лосося, вібріоз). Роботи по створенню цих вакцин знаходяться на різних етапах: визначення способу інкапсуляції вакцинних антигенів, вибору виду рослин, які можуть стати платформою для синтезу антигену, методики очищення та використання отриманої вакцини, а для окремих вакцин вчені вже проводять клінічні дослідження. Ми наведемо приклади тих препаратів, які показали високу імуногенність та мають перспективи для використання на практиці.

В профілактиці ящуру наразі використовують хімічно інактивовані вакцини, виробництво яких є надзвичайно біологічно небезпечним, що підвищує їх вартість. Найбільш привабливими є рекомбінантні вакцини на основі вірусоподібних часточок (VLP), бо такі часточки не містять геному вірусу, але зберігають повний репертуар конформаційних епітопів вірусу. Рослини, такі як *Nicotiana benthamiana*, потенційно забезпечують більш економічно ефективну та дуже масштабовану платформу для виробництва рекомбінантного білка та VLP. Частково очищені VLP були попередньо перевірені на імуногенність на мишах і показали, що вони стимулюють вироблення протиящурних специфічних антитіл. Це дослідження має важливе значення для спрощення виробництва та експресії потенційних кандидатів на вакцину проти ящуру в рослинах [10].

Цирковірус свиней типу 2 (PCV-2) є збудником, що завдає значної шкоди світовому свинарству. До того ж, виробництво комерційних вакцин проти цирковірозу є дорогим. Ми знайшли перше повідомлення про успішне виробництво та очищення капсидного білка цирковірусу свиней з рослин. У цьому дослідженні капсидний білок PCV-2 тимчасово експресувався в рослинах *Nicotiana benthamiana* за допомогою агроінфільтрації, а потім був успішно очищений і самоорганізовувався у вірусоподібні частинки (VLP), схожі на рідні віріони. Миші, імунізовані виробленими рослинами VLP PCV-2, викликали специфічні відповіді антитіл на цирковірус свиней типу 2. Це дослідження на моделі ссавців

підтверджує можливість використання вірусоподібних частинок для індукції сильної імунної відповіді [4].

Африканська чума коней спричинюється кількома серотипами вірусу і є головним летальним захворюванням домашніх непарнокопитних в Африці. Використання живих ослаблених вакцин має важливі ризики рекомбінації із польовими штамми та утворення нових варіантів вірусу. Цей факт стимулює розробку нових і безпечніших рекомбінантних вакцин. Група вчених повідомила про імуногенність рослинної вакцини у формі вірусоподібних частинок (VLP) серотипу 5 вірусу африканської чуми коней. Вакцина-кандидат стимулювала високі титри нейтралізуючих антитіл у морських свинок, а також подібну імунну відповідь у коней. Це перша доповідь, яка демонструє безпеку та імуногенність VLP вірусу африканської чуми коней рослинного походження [2].

Пташиний грип, який ще називають класичною чумою птиці, є однією з найнебезпечніших хвороб. Серед варіантів вірусів високопатогенного пташиного грипу важливими є варіанти H5N1, H5N8 і H9N2. Для ефективної вакцинації необхідна близька антигенна відповідність між вакцинними та польовими вірусами. Крім того, потрібні підходи до розробки економічно ефективних вакцин, які можна швидко адаптувати до місцевих штамів вірусу [3, 6]. Група вчених використали білки гемаглютиніну вірусів H5 і H9, які експресувалися шляхом тимчасової трансфекції рослин (*Nicotiana benthamiana*). Утворення вірусоподібних частинок (VLP) було підтверджено трансмісійною електронною мікроскопією. Мишей і курчат імунізували чотирма дозами VLP H5 або H9 з ад'ювантом. Антитіла та клітинну імунну відповідь вимірювали по відношенню до відповідного рекомбінантного білка за допомогою ELISA. Встановлено високий потенціал отриманих рослинних VLP-часточок як ефективної вакцини-кандидата, протягом короткого часу за відносно низькою ціною [3]. Антигени вірусу пташиного грипу експресували у різних видах рослин, таких як *N. benthamiana*, люцерна, соя, салат, *Arabidopsis thaliana*, *N. tabacum* і ряска. Було підраховано, що 1 кг рослинного матеріалу достатньо, щоб забезпечити вакциною до 30000 курей, що свідчить про високу економічну ефективність рослинного антигену та придатність вакцини також для використання в районах з бідними ресурсами [6].

Хвороба Ньюкасла – небезпечне захворювання птиці, в боротьбі проти якого вакцинація є найефективнішим заходом профілактики. Протективними білками вірусу ньюкаслської хвороби є білок злиття (F) та глікопротеїн гемаглютинін-нейрамінідаза (HN). Саме ці вірусні білки були експресовані в різних рослинах, таких як *N. benthamiana*, *N. tabacum*, *Zea mays*, *Solanum tuberosum* і *Oryza sativa*. Трансгенна кукурудза, що експресує білки F і HN, індукувала виробництво локально секретованого IgY (еквівалента пташиного IgG) у перорально імунізованих курчат [8].

Ми звернули увагу на появу нових сучасних вакцин в аквакультурі, в тому числі розроблених на основі генетично модифікованих рослин та водоростей [1, 5, 7, 9].

Понад 40 видів морських риб, що промислово вирощуються, сприйнятливі до вірусного некрозу нервової тканини (вірусної енцефалопатії, ретинопатії). Вакцини, виготовлені з генетично модифікованих рослин, є потенційно економічно ефективними, що особливо важливо в аквакультурі. Білок оболонки вірусу, який формував вірусоподібні часточки, забезпечив частковий захист від вірусної енцефалопатії при внутрішньоочеревинному або внутрішньом'язовому введенні морському окуню (*Dicentrarchus labrax*) [7].

Досі не створено вакцини проти вірусного міокардиту риб атлантичного лосося (синдром кардіоміопатії). Повідомлялося про розробку субодиночної вакцини, виробленої в рослинах, як економічний підхід до боротьби з цією інфекцією [1]. Вчені вважають, що капсидний білок вірусу має потенціал для розробки ефективної вакцини. Білок тимчасово експресувався в *N. benthamiana*, і було показано, що він утворює вірусоподібні часточки, які викликали імунну відповідь. Ця відповідь реєструвалася як інгібування вірусного навантаження в кількох тканинах і зменшення уражень у серці [9].

Риби і молоски, яких вирощують у солоних водах, потерпають від бактеріального захворювання – вібріозу, що викликається кількома видами із роду *Vibrio*. Один із протеїнів

зовнішньої мембрани цих бактерій є ідентичним для усіх видів *Vibrio* і був ідентифікований як ефективний кандидат на вакцину проти вібріозу. Ряска безкоренева (*Wolffia*) — це крихітна їстівна водна рослина, яка має характеристики, придатні для використання в якості біореактора. Вчені експресували захисний їстівний вакцинний антиген проти вібріозу риб у ядерно-трансформованій *Wolffia*, яку використали для пероральної імунізації рибок данію. Високий відносний відсоток виживання вакцинованих риб підтвердив, що трансгенна *Wolffia* може служити їстівною рослинною моделлю вакцини-кандидата для профілактики вібріозу риб [5].

Антигени рослинного походження заслуговують на подальше вивчення для забезпечення захисту від захворювань тварин у майбутньому. Порівняно з клітинами тварин, які потребують дорогих ферментерів і стерильних умов для забезпечення відповідності фармацевтичній належній виробничій практиці, рослини, що культивуються в теплицях або на відкритому повітрі, є менш дорогими та легко масштабованими. Використання переваг рослинних вірусних вакцин і подолання їх обмежень зробить молекулярне землеробство рослин важливим джерелом вакцин проти вірусних захворювань.

Бібліографічний список:

1. Clarke J.L., Waheed M.T., Loüssl A.G., (2013) How can plant genetic engineering contribute to cost-effective fish vaccine development for promoting sustainable aquaculture? *Plant Mol. Biol.* 83, 33-40. doi: 10.1007/s11103-013-0081-9.
2. Dennis, S.J.; O’Kennedy, M.M.; Rutkowska, D.; Tsekoa, T.; Lourens, C.W.; Hitzeroth, I.I.; Meyers, A.E.; Rybicki, E.P. (2018) Safety and immunogenicity of plant-produced African horse sickness virus-like particles in horses. *Vet. Res.* 2018, 49, 1–6. doi: 10.1186/s13567-018-0600-4.
3. Elbohy OA, Iqbal M, Daly JM, Dunham SP. (2024) [Development of Virus-like Particle Plant-Based Vaccines against Avian H5 and H9 Influenza A Viruses](#). *Vet Sci.* 2024 Feb 18;11(2):93. doi: 10.3390/vetsci11020093.PMID: 38393111.
4. Gunter, C.J.; Regnard, G.L.; Rybicki, E.P.; Hitzeroth, I.I. (2019) Immunogenicity of plant-produced porcine circovirus-like particles in mice. *Plant Biotechnol. J.* 2019, 17, 1751–1759. doi: 10.1111/pbi.13097. Epub 2019 Mar 10.
5. Heenatigala PPM, Sun Z, Yang J, Zhao X, Hou H. (2020) [Expression of LamB Vaccine Antigen in *Wolffia globosa* \(Duck Weed\) Against Fish Vibriosis](#). *Front Immunol.* 2020 Aug 20;11:1857. doi: 10.3389/fimmu.2020.01857. eCollection 2020.
6. Major D., Chicgeste J.A., Pathirana R.D., Guilfoyle K., Shoji Y., Guzman C.A., et al. (2015) Intranasal vaccination with a plant-derived H5 HA vaccine protects mice and ferrets against highly pathogenic avian influenza virus challenge. *Hum. Vaccines Immunother.* 11, 1235-1243. doi: 10.4161/21645515.2014.988554.
7. Marsian J., Hurdiss D.L., Ranson N.A., Ritala A., Paley R., Cano I., et al. (2019) Plant-made virus necrosis virus-like particles protect fish against disease. *Front. Plant Sci.* 10. doi: 10.3389/fpls.2019.00880.
8. Shahid N., Samiullah T.R., Shakoore S., Latif A., Yasmeen A., Azam S., et al. (2020) Early stage development of a Newcastle disease vaccine candidate in corn. *Front. Vet. Sci.* 7. doi: 10.3389/fvets.2020.00499.
9. Su H., van Eerde A., Steen H.S., Heldal I., Haugslie S., Ørpetveit I., et al. (2021) Establishment of piscine myocarditis virus (PMCV) challenge model and testing of a plant-produced subunit vaccine candidate against cardiomyopathy syndrome (CMS) in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture* 541, 736806. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.736806.
10. Veerapen, V.P.; van Zyl, A.R.; Wigdorovitz, A.; Rybicki, E.P.; Meyers, A.E. (2018) Novel expression of immunogenic foot-and-mouth disease virus-like particles in *Nicotiana benthamiana*. *Virus Res.* 2018, 244, 213–217. doi: 10.1016/j.virusres.2017.11.027. Epub 2017 Dec 1.