Международная научно-практическая конференция «Здоровье и окружающая среда», приуроченная к 100-летию санитарно-эпидемиологической службы Республики Беларусь, 19-20.11.2026

Конференция «Здоровье и окружающая среда»

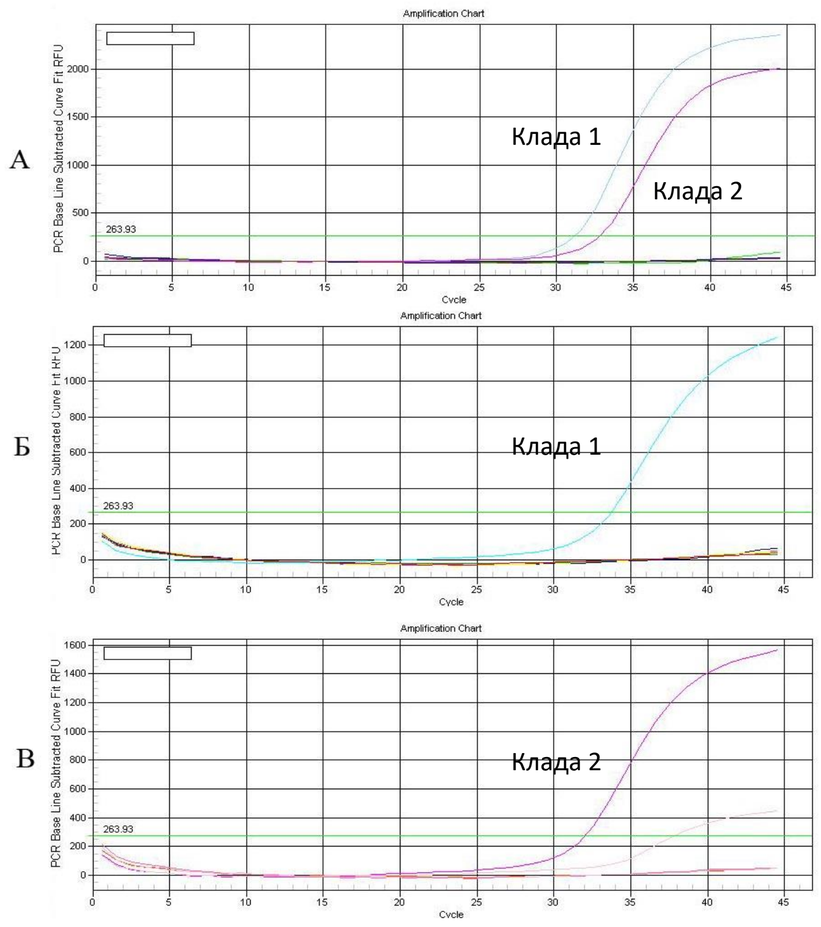
Создание генно-инженерных конструкций, содержащих специфические фрагменты ДНК вируса оспы обезьян

Дубков Н.А., Счеслёнок Е.П., Сухоцкая Е.А., Малиновская Ю.В., Семижон П.А.

Цель: получить положительные контрольные образцы для ПЦР для разрабатываемой тест-системы «Набор реагентов для выявления и дифференциации возбудителей оспы обезьян методом ПЦР в режиме реального времени», представляющие собой рекомбинантные плазмиды, содержащие специфические участки генома вируса оспы обезьян.

Вирус оспы обезьян (MPXV) – двухцепочечный ДНК-вирус, принадлежащий к семейству *Poxviridae* (поксвирусы). Является возбудителем одноименного заболевания, в настоящее время в англоязычной литературе именуемого Mpox. MPXV разделяется на две главные генетические клады: клада I, распространенная в Центральной Африке и клада II, специфичная для Западной Африки.

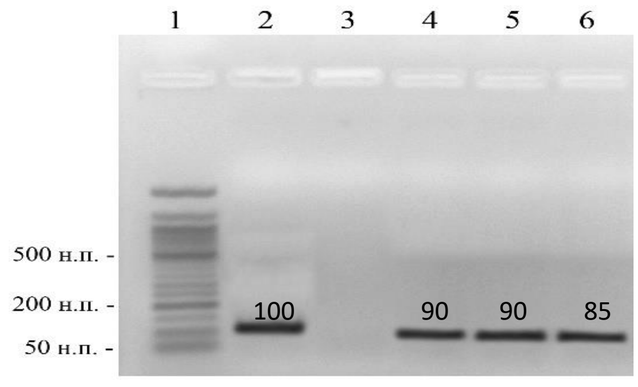
Материал для клонирования: ДНК, выделенная из инактивированного вируса оспы обезьян клады I и клады II. Получение фрагментов для клонирования проводили с использованием 3 ПЦР-смесей, включающих праймеры и гибридизационные зонды, позволяющие амплифицировать видоспецифичный фрагмент вируса оспы обезьян, общий для обеих филиогенетических линий; а также генотипспецифичные фрагменты, специфичные для клады I и клады II. Кривые накопления флуоресцентного сигнала регистрировались по каналу FAM.



А – амплификация с использованием видоспцефичных праймеров и зон
Б – амплификация с использованием генотипспцефичных праймеров зонда к геновариванту клады I; В – амплификация с использованием генотипспцефичных праймеров и зонда к геновариванту клады II

Рисунок 1 – Результат ПЦР-анализа MPXV клады I и клады II.

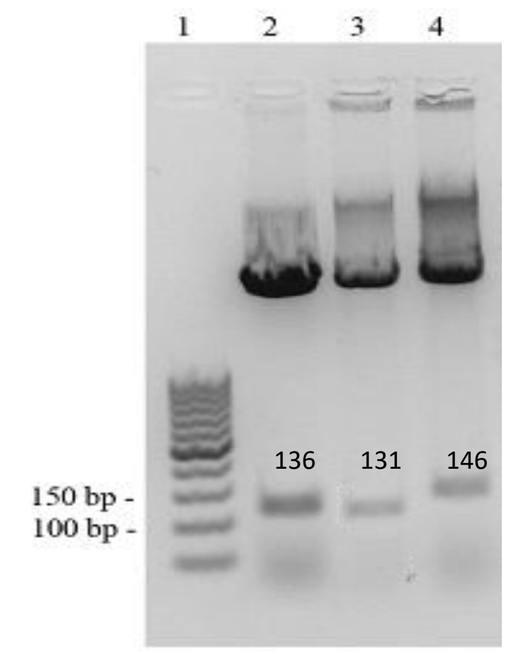
Амплифицированные фрагменты анализировали электрофорезом в агарозном геле. Результаты электрофореза подтверждают расчеты молекулярной массы полученных фрагментов ДНК (90 п.о. для амплификата с видоспецифичными праймерами вируса оспы обезьян, 100 п.о. для амплификата с генотипспецифичными праймерами клады I, и 85 п.о. для амплификата с генотипспецифическими праймерами клады II.



1 – маркер молекулярных масс; амплификаты: 2 – MPXV клады I с генотипспецифичными праймерами; 3 – MPXV с видоспецифичными праймерами MPXV; 4 – MPXV клады I с видоспецифичными праймерами; 5 – MPXV клады II с видоспецифичными праймерами; 6 – MPXV клады II с генотипспецифичными праймерами

Рисунок 2 – Результат электрофореза амплификатов MPXV

Амплифицированные фрагменты были выделены и очищены из агарозного геля, и клонированы по «тупым» концам в полилинкер плазмидного вектора pJET1.2/*blunt*. Была осуществлена наработка рекомбинантных плазмид в прокариотической системе *E.coli DH5α*. Выделенные рекомбинантные плазмиды анализировали рестрикцией ферментом BglII с электрофорезом в агарозном геле, что подтвердило наличие специфических фрагментов в составе гибридных плазмид. Размеры образовавшихся ДНК-фрагментов включают специфическую последовательность и остаток плазмидной ДНК (46 н.п.): 136 п.о – видоспецифический фрагмент, 146 п.о. – клада I, 131 п.о. – клада II.



1 – маркер молекулярных масс; 2,3,4 – гибридные плазмидные ДНК, содержащие: видоспецифический фрагмент MPXV, генотипспецифический фрагмент клады II, генотипспецифический фрагмент клады I, соответственно, обработанные эндонуклеазой BglII.

Рисунок 3 – Результат электрофореза фрагментов ДНК, образующихся в результате рестрикции гибридных плазмид

В результате в виде рекомбинантных плазмид **pJET1.2/MPXV-GEN** (видоспецифическая), **pJET/MPXV-Congo** (генотипспецифическая клады I) и **pJET/MPXV-WA** (генотипспецифическая клады II) было получено 3 положительных контрольных образца, позволяющих оценивать специфичность прохождения стадии ПЦР для выявления генетического материала вируса оспы обезьян.

lab_biooi@belriem.by