

# Nghiên cứu khoa học

## NGHIÊN CỨU TẠO CHỦNG VIRUS TÁI TỔ HỢP LÀM GIỐNG GỐC CHO SẢN XUẤT VACCIN CÚM GIA CẦM A/H5N1 BẰNG KỸ THUẬT DI TRUYỀN NGƯỢC

*Nguyễn Thị Thu Hằng<sup>1</sup>, Nguyễn Hùng Chí<sup>1,2</sup>, Chu Hoàng Hà<sup>3,1</sup>, Nguyễn Trung Nam<sup>2,3,4</sup>*

### TÓM TẮT

Kỹ thuật di truyền ngược được ứng dụng trong tạo virus cúm A/H5N1 clade 1.1 tái tổ hợp (rg-A/H5N1 clade 1.1) làm ứng viên cho sản xuất vaccin cúm gia cầm. Hiệu quả tái tạo virus đạt cao nhất khi chuyển nhiễm hệ thống 6 + 2 plasmid đơn gen mang 6 phân đoạn gen khung nguồn gốc từ virus A/PuertoRico/8/34(H1N1) và 2 phân đoạn gen kháng nguyên H5 HA (đã được loại bỏ vùng độc) và N1 NA từ virus A/duck/Vietnam/ST0970/2009(H5N1) (clade 1.1) vào tế bào 293T trong sự có mặt của Lipofectamine-2000 trong thời gian 30 phút. Chủng virus ứng viên vaccin đã được kiểm tra là chủng độc lực thấp, có tính ổn định di truyền gen kháng nguyên H5 và N1, có khả năng thích ứng nhân lên trong trứng gà có phôi với hiệu giá HA cao. Vaccin vô hoạt nhũ dầu được sản xuất từ chủng virus rg-A/H5N1 clade 1.1 đảm bảo tính an toàn và có khả năng kích thích sinh đáp ứng miễn dịch tạo kháng thể đặc hiệu ở gà sạch 3 ngày tuổi: 20/20 gà tiêm phòng vaccin (1024 HAU) có hiệu giá kháng thể HI  $\geq 4 \log_2$  sau 2 tuần và 4 tuần tiêm phòng.

*Từ khóa:* 293T, di truyền ngược, tái tổ hợp, vaccin, virus cúm A/H5N1.

### Generating recombinant virus as a seed strain for producing A/H5N1 Avian influenza vaccine by reverse genetics

*Nguyen Thi Thu Hang, Nguyen Hung Chi, Chu Hoang Ha, Nguyen Trung Nam*

### SUMMARY

Reverse genetics was applied to generate recombinant A/H5N1, clade 1.1 avian influenza virus (rg-A/H5N1 clade 1.1) as a candidate virus for producing vaccine against avian influenza viruses. Recombinant viruses were recovered at the highest titer using 8-plasmid DNA transfection system (6:2 plasmids) containing six backborn gene segments from A/PuertoRico/8/34(H1N1) virus and two H5 (the multi-basic site was removed) and N1 antigen gene segments of A/duck/Vietnam/ST0970/2009(H5N1) (clade 1.1) virus into 293T cells under stimulation of lipofectamine-2000 reagents for 30 minutes. The vaccine candidate strain was confirmed as a low pathogenicity avian influenza virus (LPAIV), presented genetic stability of the H5 and N1 antigen genes and grew at high yields in embryonated chicken eggs. Inactivated oil-emulsion vaccine producing from rg-A/H5N1, clade 1.1 virus presented ability in inducing immunogenicity to produce specific antibodies in 3-days-old pathogen-free chickens. 100% of vaccinated chickens (1024 HAU) presented HI ( $\log_2$ ) antibody titers  $\geq 4.0$  after 2 and 4 weeks of vaccination.

*Keywords:* 293T, reverse genetics, recombinant, vaccine, A/H5N1 Avian influenza virus.

<sup>1</sup> Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>2</sup> Phòng Công nghệ ADN ứng dụng, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

<sup>3</sup> Phòng Thí nghiệm trọng điểm công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

<sup>4</sup> Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam