

ИММУНИЗАЦИЯ ЯГНЯТ РЕКОМБИНАНТНЫМ МИОСТАТИНОМ ВЛИЯЕТ НА ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА

О.Б. Жукова, Е.М. Колоскова*

*Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии,
биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ
«Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста»
249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт*

Иммунобиотехнологические методы повышения мясной продуктивности сельскохозяйственных животных могут оказаться востребованными для эффективного животноводства. В настоящее время для иммунизации в качестве антигенов всё чаще используют рекомбинантные белки и пептиды. Ранее нами был получен штамм-продуцент рекомбинантного миостатина (pMST). Белок был наработан, очищен в денатурирующих условиях и в композиции с гелем гидроксида алюминия pMST использован в качестве вакцины для иммунизации 4-месячных ягнят. Исследовали влияние способа введения вакцины на прирост живой массы ягнят. Было показано, что однократная подкожная многоточечная иммунизация 4-месячных ягнят pMST в дозировке 1 мг/гол. с гелем гидроксида алюминия в качестве адьюванта эффективнее внутримышечной вакцинации стимулировала прирост живой массы.

Ключевые слова: рекомбинантный миостатин, иммунизация, ягнята, прирост живой массы

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания № 0445-2021-0002.

Для цитирования: Жукова О.Б., Колоскова Е.М. Иммунизация ягнят рекомбинантным миостатином влияет на показатели роста. *Биомедицина*. 2024;20(3E):54–58. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-54-58>

Поступила 10.04.2024

Принята после доработки 03.06.2024

Опубликована 01.11.2024

IMMUNIZATION OF LAMBS WITH RECOMBINANT MYOSTATIN AFFECTS GROWTH RATES

Olga B. Zhukova, Elena M. Koloskova*

*All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition —
Branch of the Federal Scientific Centre of Animal Husbandry — All-Russian Institute
of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst
249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institut Village*

Immuno-biotechnological methods for increasing the meat productivity of farm animals may be in demand for effective animal husbandry. Currently, recombinant proteins and peptides are increasingly used as antigens for immunization purposes. Previously, we obtained a strain-producer of recombinant myostatin. The protein was developed, purified under denaturing conditions and, in a composition with aluminum hydroxide gel, rMST was used as a vaccine for immunization of four-month-old lambs. The effect of the vaccine administration method on the live weight gain of lambs was investigated. It was shown that one-time subcutaneous multipoint immunization of four-month-old lambs with rMST at a dosage of 1 mg/head

in aluminum hydroxide gel as an adjuvant was more effective than intramuscular vaccination in stimulating body weight gain.

Keywords: recombinant myostatin, immunization, lambs, live weight gain

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the work was performed in the framework of State Project No. 0445-2021-0002.

For citation: Zhukova O.B., Koloskova E.M. Immunization of Lambs with Recombinant Myostatin Affects Growth Rates. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):54–58. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-54-58>

Submitted 10.04.2024

Revised 03.06.2024

Published 01.11.2024

Введение

Белок миостатин (МСТ), продукт экспрессии гена *MSTN*, является одним из отрицательных регуляторов роста скелетных мышц: ингибирует синтез белков в мышцах, дифференцировку и пролиферацию миоцитов [3]. В настоящее время активно разрабатываются способы блокирования активности МСТ на разных уровнях [6], один из которых — системное введение антител против него. С другой стороны, оценивается возможность использования рекомбинантного МСТ (рМСТ) для индуцирования синтеза специфических антител (аутоантител) против эндогенного белка [8].

Аминокислотная последовательность МСТ идентична у многих видов животных. Рекомбинантный МСТ как иммуноген в составе вакцин может быть использован для повышения мясной продуктивности сельскохозяйственных животных (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, лошади, кролики), птицы.

Эффективные, безопасные и недорогие блокаторы действия МСТ могли бы быть востребованы в мясном животноводстве. В научно-исследовательских экспериментах свою эффективность показали рекомбинантный рецептор ACVR2B, являющийся рецептором к МСТ [4], рекомбинантные нанотела к МСТ [7]. Более дешёвый и привлекательный вариант — рМСТ в качестве вакцины для образования антител к нему самим организмом [9].

Ранее нами был создан штамм-продуцент *E. coli* / *pET-MSTN* с высоким уровнем экспрессии рМСТ, показана иммуногенность белка при иммунизации им кроликов и овец [1, 2].

Целью исследования была оценка влияния способа вакцинации рМСТ на привесы молодняка овец.

Материалы и методы

Вакцина. рМСТ в буфере с 8 М мочевиной (5 мг/мл) разводили стерильным физ. р-ром до концентрации 2 мг/мл и смешивали с адьювантом — гелем гидроокиси алюминия (Щёлковский биокомбинат, Россия) — в объёмном соотношении 1:1. Доза вводимого препарата составляла 1 мг рМСТ/гол.

Опытные животные. В эксперименте использовали ягнят (баранчики) мериносовой породы в возрасте 4 мес. Были сформированы три группы: контрольная (К — не иммунизировали) и две опытных группы по 8 гол. в каждой, по принципу парных аналогов. Всех животных перед началом эксперимента маркировали с помощью ушных бирок с нанесённым соответствующим номером. Эксперимент проводили в зимний период. Животные содержались в производственном помещении (загон-ферма) частного овцеводческого комплекса (Московская обл.). Кормление осуществлялось по технологической схеме хозяйства,

на основном рационе для овец. Вода была в свободном доступе.

Способ иммунизации. Вакцину вводили внутримышечно животным первой опытной группы (ВМ — внутримышечное введение, одноточечно в область холки), подкожно животным второй опытной группы (ПК, 3–4 точки в подмышечную область, лишённую плотного шёрстного покрова).

Взвешивание ягнят проводили перед введением вакцины, и далее через 14 и 28 сут после вакцинации.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета статистического анализа данных программы Microsoft Office Excel 2010. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В предыдущих наших исследованиях в экспериментах на кроликах и овцах было показано, что рМСТ обладает достаточной иммуногенностью и индуцирует синтез специфических аутоантител к миостатину. При иммунизации кроликов калифорнийской породы рМСТ мы наблюдали прирост массы тела и среднесуточный прирост выше, чем у животных контрольной группы [1, 2]. Кроме того, по использованной в настоящей работе схеме нами были иммунизированы баранчики 6-месячного возраста. В результате однократная внутримышечная одноточечная вакцинация оказалась неэффективной, но при подкожной вакцинации

средний привес за 28 сут эксперимента у баранчиков опытной группы был достоверно выше по сравнению с животными контрольной группы (неопубликованные данные).

В другом эксперименте, при иммунизации мышей в возрасте 2 и 4 недели этой же вакциной, была показана зависимость прироста живой массы от возраста: более молодые мышата росли быстрее (неопубликованные данные). Это наблюдение легло в основу проведения эксперимента на 4-месячных ягнятах. Результаты взвешивания баранчиков представлены в таблице.

Из полученных результатов следует, что при внутримышечном введении вакцины у баранчиков средний привес за 28 сут после иммунизации был выше, чем у неиммунизированных ягнят. Подкожная вакцинация привела к достоверно более высокому приросту живой массы уже на 14-е сут после вакцинации.

Заключение

Однократная иммунизация 4-месячных ягнят рМСТ в дозировке 1 мг/гол. с гелем гидроксида алюминия в качестве адьюванта оказалась достаточно эффективной при подкожной многоточечной иммунизации: привесы ягнят уже через две недели после иммунизации были достоверно выше, чем у контрольных животных, что совпало с классическим профилем образования антительного ответа на введение антигена. Даже при внутримышечном способе вакцинации

Таблица. Динамика массы тела ягнят опытных групп при разных вариантах иммунизации ($M \pm m$, $n=8$)
Table. Dynamics of lamb body weight in experimental groups with different immunization options ($M \pm m$, $n=8$)

Масса животных, кг	Группы		
	К	ВМ	ПК
Начало опыта, кг	34,7±1,06	33,4±1,56	34,8± 1,22
Через 14 сут, кг	36,8±1,06	35,7±1,60	37,7±1,21
Через 28 сут, кг	38,5±1,32	37,7±1,77	40,0±1,34
Средний привес за 14 сут, кг	2,1±0,33	2,3±0,19	3,0±0,38*
Средний привес за 28 сут, кг	3,8±0,54	4,3±0,47	5,3±0,30*

Примечание: * — $p < 0,05$ относительно контрольной группы.

Note: * — $p < 0,05$ relative to the control group.

у 4-месячных ягнят наблюдали тенденцию к повышению скорости привесов по сравнению с неиммунизированными животными.

Несмотря на полученные результаты, остаётся ряд вопросов и предположений, которые необходимо решить в дальнейшей работе в разрабатываемом направлении иммунобиотехнологического способа повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. Самые очевидные из них:

– В каком возрасте нужно делать первую иммунизацию животных для достижения максимального эффекта?

– Как часто необходимо иммунизировать животных рМСТ для достижения максимального эффекта?

– Не приведёт ли блокировка эндогенного миостатина аутоантителами к повышению уровня экспрессии с целью компенсации естественного уровня этого миокина?

Ответы на эти вопросы позволят нам разрабатывать приемлемые в широком практическом диапазоне иммунобиотехнологические методы повышения мясной продуктивности сельскохозяйственных животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Колоскова Е.М., Езерский В.А., Жукова О.Б. Получение бактериального рекомбинантного миостатина для индуцирования синтеза специфических к миостатину аутоантител. *Биомедицина*. 2022;18(3):22–26. [Koloskova E.M., Ezerskiy V.A., Zhukova O.B. Poluchenie bakterial'nogo rekombinantnogo miostatina dlya indutsirovaniya sinteza spetsificheskikh k miostatinu autoantitel [Preparation of bacterial recombinant myostatin to induce the synthesis of myostatin-specific autoantibodies]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2022;18(3):22–26. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-18-3-22-26
2. Колоскова Е.М., Езерский В.А. Рекомбинантный миостатин: выделение и использование в вакцинах. *Биомедицина*. 2023;19(3):17–22. [Koloskova E.M., Ezerskiy V.A. Rekombinantnyy miostatin: vydelenie i ispol'zovanie v vaktsinakh [Recombinant myostatin: Isolation and use in vaccines]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2023;19(3):17–22. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-19-3-17-22
3. Chen J., Wang M., Kong Y., Ma H., Zou S. Comparison of the novel compounds creatine and pyruvate on lipid and protein metabolism in broiler chickens. *Animal*. 2011;5(7):1082–1089. DOI: 10.1017/S1751731111000085
4. Lee S.J., Reed L.A., Davies M.V., Girgenrath S., Goad M.E., Tomkinson K.N., Wright J.F., Barker C., Ehrmantraut G., Holmstrom J., Trowell B., Gertz B., Jiang M.S., Sebold S.M., Matzuk M., Li E., Liang L.F., Quattlebaum E., Stotish R.L., Wolfman N.M. Regulation of muscle growth by multiple ligands signaling through activin type II receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005;102(50):18117–18122. DOI: 10.1073/pnas.0505996102
5. Matsiela M.S., Naicker L., Khoza T., Mokoena N. Safety and immunogenicity of inactivated Rift Valley Fever Smithburn viral vaccine in sheep. *Viol. J*. 2023;20(1):221. DOI: 10.1186/s12985-023-02180-2
6. Nielsen T.L., Vissing J., Krag T.O. Antimyostatin treatment in health and disease: The story of great expectations and limited success. *Cells*. 2021;10(3):533. DOI: 10.3390/cells10030533
7. Ou K., Li Y., Wu P., Guo J., Hao X., Sheng J., Chen C.A. Novel nanobody directed against ovine myostatin to enhance muscle growth in mouse. *Animals (Basel)*. 2020;10(8):1398. DOI: 10.3390/ani10081398
8. Xu Y., Mao L., Zheng Y. Prokaryotic expression and immunogenicity analysis of yak recombinant myostatin. *Anim. Biotechnol*. 2012;23(4):253–260. DOI: 10.1080/10495398.2012.722157
9. Zhang T., Yang H., Wang R., Xu K., Xin Y., Ren G., Zhou G., Zhang C., Wang L., Zhang Z. Oral administration of myostatin-specific whole recombinant yeast *Saccharomyces cerevisiae* vaccine increases body weight and muscle composition in mice. *Vaccine*. 2011;29(46):8412–8416. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.08.007

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Жукова Ольга Борисовна, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста»;
e-mail: olgazhukova19801031@gmail.ru

Olga B. Zhukova, All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition — Branch of the Federal Scientific Centre of Animal Husbandry — All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst;
e-mail: olgazhukova19801031@gmail.com

Колоскова Елена Михайловна*, к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста»;
e-mail: heleko3@yandex.ru

Elena M. Koloskova*, Cand. Sci. (Biol.), All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition — Branch of the Federal Scientific Centre of Animal Husbandry — All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst;
e-mail: heleko3@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author