

ВАКЦИНАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ МОДИФИЦИРОВАННЫМ МИОСТАТИНОМ ИНДУЦИРУЕТ АУТОИММУННЫЙ ОТВЕТ К МИОСТАТИНУ У ТЕЛЯТ

Е.М. Колоскова*, В.А. Езерский, К.С. Остренко, Н.В. Белова

Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»

249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт

Поиск способов повышения мясной продуктивности с/х животных — одно из направлений иммунобиотехнологии. Иммунизация овец рекомбинантным миостатином (рМСТ) приводила к выработке антительного ответа, коррелирующего с привесами животных. Рассматривается возможность усиления иммуногенности рекомбинантного аналога эндогенного зрелого миостатина с целью вакцинации молодняка крупного рогатого скота. Была создана генетическая конструкция для экспрессии рекомбинантного модифицированного миостатина (рмМСТ), в котором цистеин был заменен на серин, получен штамм-продуцент *E. coli BL21(DE3)/pET-mMSTN*, с высокой эффективностью экспрессирующий рекомбинантный белок. Телят иммунизировали рМСТ и рмМСТ дважды с интервалом 30 сут. С использованием ИФА тест-системы была показана более высокая иммуногенность рмМСТ.

Ключевые слова: рекомбинантный белок, модифицированный миостатин, иммунизация, антитела, телята

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

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

Для цитирования: Колоскова Е.М., Езерский В.А., Остренко К.С., Белова Н.В. Вакцинация рекомбинантным модифицированным миостатином индуцирует аутоиммунный ответ к миостатину у телят. *Биомедицина*. 2025;21(4):54–58. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-4-54-58>

Поступила 01.04.2025

Принята после доработки 10.09.2025

Опубликована 10.12.2025

VACCINATION WITH RECOMBINANT MODIFIED MYOSTATIN INDUCES AN AUTOIMMUNE RESPONSE TO MYOSTATIN IN CALVES

Elena M. Koloskova*, Vadim A. Ezerskiy, Konstantin S. Ostrenko, Nadezhda V. Belova

*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 Acad. L.K. Ernst*

249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institute Village

The search for ways to increase the meat productivity of agricultural animals is an important direction in the field of immunobiotechnology. Immunization of sheep with recombinant myostatin (rMST) led to the development of an antibody response correlating with animal weight gain. The possibility of enhancing the immunogenicity of a recombinant analogue of endogenous mature myostatin for the purpose of vaccination of young cattle was considered. A genetic construct was created for the expression of recombinant modified myostatin (rmMST),

in which cysteine was replaced by serine, and the producer strain *E. coli* BL21(DE3)/pET-mMSTN was obtained, expressing the recombinant protein with high efficiency. Calves were immunized with rMST and rmMST twice with an interval of 30 days. Using the ELISA test system, a higher immunogenicity of rmMST was shown.

Keywords: recombinant protein, modified myostatin, immunization, antibodies, calves

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: Koloskova E.M., Ezerskiy V.A., Ostrenko K.S., Belova N.V. Vaccination with Recombinant Modified Myostatin Induces an Autoimmune Response to Myostatin in Calves. *Journal Biomed.* 2025;21(4):54–58. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-4-54-58>

Submitted 01.04.2025

Revised 10.09.2025

Published 10.12.2025

Введение

Белок миостатин (МСТ) относится к семейству трансформирующих факторов роста, участвует в поддержании равновесия процессов, обеспечивающих белковый обмен и связанные с ним процессы формообразования скелетных мышц. МСТ негативно влияет на рост скелетных мышц, его блокирование приводит к увеличению сухой мышечной массы с почти полным отсутствием жировой ткани, повышению плотности костей [4, 5]. Аминокислотные (АК) последовательности, структура МСТ млекопитающих, птицы и рыбы почти идентичны. Блокирование пути от гена к белку, клеткам-мишеням может осуществляться разными путями [6], одним из которых является использование рекомбинантного МСТ (pMCT) в качестве антигена в составе вакцины с целью индукции аутоантител к эндогенному белку [8]. Однако полная идентичность АК последовательности рекомбинантного белка (РБ) нативному, по видимому, не способна обеспечить высокий титр антител. Мы столкнулись с этой проблемой: у вакцинированных pMCT кроликов и баранчиков (адъювант — гель гидроксида алюминия) титр антител был невысоким [1, 2].

Зрелый МСТ — димер. Мономер из 109 аминокислот содержит четыре S-S связи, а CYS73 участвует в образовании

димера. Рекомбинантный МСТ образует иные дисульфидные связи, вторичную и третичную структуры (ди- и тримеры, что мы наблюдали при проведении ПААГ-электрофореза). Итоговый белок, возможно, образует новые эпитопы, не узнаваемые на эндогенном белке.

Есть основание предполагать, что замена цистеина на серин предотвратит полимеризацию РБ. Условием антигенности является чужеродность антигена, замена аминокислот способна повысить иммуногенность белка. Наше предположение подтверждается работой других исследователей, показавших, что биологическая активность рекомбинантного IL-18, склонного к образованию мультимеров, приводящих к образованию неактивных агрегатов, была восстановлена и даже увеличилась после замены цистеина на серин [7].

Цель работы заключалась в повышении иммуногенности рекомбинантного миостатина модификацией его аминокислотного состава.

Материалы и методы

Вакцина. С использованием штамма-продуцента *E. coli* BL21/pET28-mMSTN был наработан и очищен pMCT [3]. Вакцину готовили смешиванием одной части стерильного геля гидроксида алюминия (ГА)

(«Щелковский биокOMBинат», Россия) и трех частей р-ра рММСТН, фильтрованного через фильтр с размером пор 0,22 мкм. Доза препарата составляла 1 мг/мл/гол.

Животные. Из 4-мес. бычков были сформированы контрольная и две опытные группы (рМСТ и рММСТ). Иммунизировали на 1-е и 31-е сут подкожно, 4–5 точек.

Кровь для оценки титра антител брали из яремной вены с соблюдением правил асептики и антисептики в начале опыта, на 30, 45 и 70-е сут. Кровь собирали в вакуумные пробирки РМТН с активатором свёртывания (SiO_2). Сыворотку отделяли от коагулированного сгустка и хранили при -20°C до определения титра антител.

Титр сывороток измеряли непрямым методом ИФА. Сыворотки брали в двукратных разведениях от 400 до 51200 раз, у контрольных бычков — от 400 до 6400, каждый образец делали в двух параллелях. Сыворотки вносили в лунки планшета

с иммобилизованным рМСТ. Вторые антитела — аффинно очищенные антитела кролика, иммунизированного IgG КРС, меченные пероксидазой хрена. Пероксидазную активность определяли хромогенной реакцией тетраметилбензидина с перекисью водорода. Реакцию останавливали «стоп-раствором», оптическую плотность (ОП) измеряли при 450 нм.

Результаты и их обсуждение

Для детекции антител в крови КРС, иммунизированных рМСТ и рММСТН, нами была разработана ИФА тест-система, аналогичная таковой для овец [1].

Результаты измерений представлены в таблице.

Средний титр сывороток рММСТ-бычков, представляющий разведения, при которых сохраняется достоверная разница с фоновыми значениями, составлял до 6400 (табл.). Поскольку ОП ИФА коррелирует с содер-

Таблица. Динамика изменения значений ОП при разных разведениях сывороток ($M \pm m$)
Table. Dynamics of changes in the values of OD at different serum dilutions ($M \pm m$)

Сутки / Разведение	1	30	45	70
рММСТ (n=5)				
400	0,332±0,030	1,340±0,425*	1,638±0,238*	1,492±0,318*
800	0,219±0,021	1,031±0,365*	1,297±0,262*	1,174±0,273*
1600	0,156±0,013	0,747±0,288*	1,045±0,253*	0,806±0,202*
3200	0,125±0,012	0,498±0,198*	0,727±0,229*	0,547±0,150*
6400	0,104±0,006	0,320±0,129*	0,471±0,180*	0,348±0,104*
рМСТ (n=5)				
400	0,277±0,047	0,687 ± 0,295*	1,434±0,394*	0,854±0,277*
800	0,197 ± 0,037	0,513 ± 0,282*	1,157±0,444*	0,646±0,251*
1600	0,150 ± 0,026	0,392 ± 0,254	0,896±0,449*	0,466±0,194*
3200	0,123 ± 0,018	0,284 ± 0,192	0,655±0,371*	0,332±0,153*
Контроль (n=3)				
400	0,292±0,030	0,308±0,014	0,300±0,009	0,303±0,035
800	0,215±0,029	0,229±0,010	0,221±0,015	0,232±0,049
1600	0,145±0,005	0,149±0,004	0,147±0,001	0,148±0,006

Примечание:* — $p < 0,05$ относительно начала эксперимента и значений у телят контрольной группы (для образцов в одинаковом разведении).

Note:* — $p < 0,05$ relative to the values before the experiment and those in calves in the control group (for samples in the same dilution).

жанием специфических антител в анализируемом образце сыворотки, из результатов следует, что оба РБ обладают антигенными свойствами: вызывают специфический иммунный ответ, выраженный в образовании анти-МСТ антител. Иммуногенные свойства рмМСТ были заметно, но недостоверно выше по сравнению с рМСТ. Титр антител к миостатину у телят контрольной группы эксперимента не менялся. У животных опытных групп титр спустя 15 сут после второй иммунизации был выше, чем через 1 мес. после первой, медленно возвращаясь к этому уровню спустя 70 сут после начала эксперимента. У рмМСТ-телят при разведении 1:800 ОП была в 5 раз выше значений для контрольных животных при этом же разведении, тогда как у рМСТ-телят — всего в 3 раза. В опытах на кроликах и овцах для рМСТ лучшие результаты нами были получены при использовании полного и неполного адъюванта Фрейнда, а ОП сывороток животных, вакцинированных с ГА в качестве адъюванта, была в 1,5–2 раза ниже [1, 2]. Однако для практики выгоднее вакцины на основе гидроксида алюминия.

Технологии конструирования вакцин, нацеленных на включение аутоиммунной

реакции, включают РБ со слабой иммуногенностью по причине их полного сходства с эндогенными белками. Замена Cys/Ser усилила антительный ответ, но титр был сопоставим с реакцией на рМСТ. Возникает задача поиска дополнительных способов усиления антигенной активности вакцин, предназначенных для аутоиммунной нейтрализации регуляторов (ингибиторов, активаторов) метаболических процессов, связанных, в частности, с мясной продуктивностью сельскохозяйственных животных.

Заключение

Штамм-продуцент *E. coli* BL21(DE3)/*pET-28a(+)-mMSTN* предназначен для экспрессии рмМСТ. Штамм характеризуется высокой эффективностью биосинтеза РБ, нарабатываемого в виде телец включения. РмМСТ не полимеризуется, более иммуногенен, чем рМСТ. Несмотря на положительные результаты, необходимы дополнительные исследования возможности усиления антигенных свойств гомологичных эндогенным РБ и пептидов, потенциально способных влиять на продуктивность сельскохозяйственных животных и птиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Езерский В.А., Колоскова Е.М. Зависимость антительного ответа молодняка овец от способа иммунизации рекомбинантным миостатином. *Биомедицина*. 2024;20(3E):42–48. [Ezerskij V.A., Koloskova E.M. Zavisimost' antitel'nogo otveta molodnyaka ovce ot sposoba immunizacii rekombinantnym miostatynom [Dependence of the antibody response of young sheep on the method of immunization with recombinant myostatin]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2024;20(3E):42–48. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2713-0428-20-3E-42-48.
2. 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., Ezerskij 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.
3. Колоскова Е.М., Езерский В.А., Жукова О.Б. Получение рекомбинантного модифицированного миостатина с повышенной иммуногенностью. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2024;4:19–28. [Koloskova E.M., Ezerskij V.A., Zhukova O.B. Poluchenie rekombinantnogo modifitsirovannogo miostatina s povyshennoj immunogenost'yu [Production of recombinant modified myostatin with increased immunogenicity]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh [Biology Problems of Productive Animal]*. 2024;4:19–28. (In Russian)].
4. Chen M.M., Zhao Y.P., Zhao Y., Deng S.L., Yu K. Regulation of myostatin on the growth and development of skeletal muscle. *Front. Cell Dev. Biol.* 2021;9:785712. DOI: 10.3389/fcell.2021.785712.
5. Jackson M.F., Luong D., Vang D.D., Garikipati D.K., Stanton J.B., Nelson O.L., Rodgers B.D. The aging

- myostatin null phenotype: reduced adiposity, cardiac hypertrophy, enhanced cardiac stress response, and sexual dimorphism. *The Journal of Endocrinology*. 2012;213(3):263–275.
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. Saetang J., Roongsawang N., Sangkhathat S., Voravuthikunchai S.P., Sangkaew N., Prompat N., Srichana T., Tipmanee V. Surface cysteine to serine substitutions in IL-18 reduce aggregation and enhance activity. *PeerJ*. 2022;10:e13626. DOI: 10.7717/peerj.13626.
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.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Колоскова Елена Михайловна*, к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. 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 Acad. L.K. Ernst;
e-mail: heleko3@yandex.ru

Езерский Вадим Аркадьевич, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;
e-mail: ez.vadim@yandex.ru

Vadim A. Ezerskiy, 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 Acad. L.K. Ernst;
e-mail: ez.vadim@yandex.ru

Остренко Константин Сергеевич, д.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;
e-mail: Ostrenkoks@gmail.com

Konstantin S. Ostrenko, Dr. 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 Acad. L.K. Ernst;
e-mail: Ostrenkoks@gmail.com

Белова Надежда Викторовна, к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;
e-mail: navikbel@mail.ru

Nadezhda V. Belova, 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 Acad. L.K. Ernst;
e-mail: navikbel@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author