



Получение рекомбинантного белка VP1 норовируса и его антигенные и иммуногенные свойства

Лапин В.А., Новиков Д.В., Моханова Е.В., Мелентьев Д.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е., Новиков В.В.[✉]

Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия

Аннотация

Введение. Значимость норовирусов в инфекционной патологии человека и опасность возникновения крупных эпидемических вспышек в организованных коллективах обосновывают необходимость разработки средств специфической профилактики инфекции.

Цель работы — получение рекомбинантного белка VP1 норовируса и анализ его иммуногенных и антигенных свойств.

Материалы и методы. Проведены компьютерный анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, молекулярное клонирование, полимеразная цепная реакция, электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле и белков в полиакриламидном геле, аффинная хроматография, иммуноферментный анализ.

Результаты. Создана генетическая конструкция, кодирующая рекомбинантный VP1 норовируса генотипа GII с кодонами, оптимизированными для высокоэффективной экспрессии в *Escherichia coli*. Генетической конструкцией трансформирован штамм *E. coli* Rosetta 2 (DE3). Осуществлена экспрессия VP1 в клетках *E. coli*, оптимизированы условия для его продукции, очистки и ренатурации. Получен очищенный растворимый рекомбинантный белок VP1, формирующий вирусоподобные частицы диаметром 30–50 нм. Иммунизация белком мышей BALB/c вызвала образование антител с титром более 1 : 1000. При оценке антигенных свойств показано, что в крови волонтеров присутствуют антитела классов IgG, IgM, IgA, взаимодействующие с рекомбинантным VP1. Суммарная частота обнаружения антител составила 47,4%.

Заключение. Результаты обосновывают возможность использования рекомбинантного VP1 для создания отечественной вакцины для профилактики норовирусной инфекции.

Ключевые слова: норовирус, VP1, вирусоподобные частицы, вакцина

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен решением Локального этического комитета ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной (№ 4 от 25.11.2021).

Благодарность. Авторы выражают благодарность Н.А. Новиковой за предоставление штамма норовируса и А.Ю. Кашникову за помощь в проведении электронной микроскопии.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Лапин В.А., Новиков Д.В., Моханова Е.В., Мелентьев Д.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е., Новиков В.В. Получение рекомбинантного белка VP1 норовируса и его антигенные и иммуногенные свойства. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(5):661–667.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-552>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ubmktf>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-552>

Production of recombinant norovirus VP1 protein and its antigenic and immunogenic properties

Vladislav A. Lapin, Dmitry V. Novikov, Ekaterina V. Mokhonova, Dmitry A. Melentyev, Maria I. Tsiganova, Dmitry E. Zaitsev, Viktor V. Novikov[✉]

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia

Abstract

Introduction. The importance of noroviruses in human infectious pathology and the danger of large epidemic outbreaks in organized groups determine the need to develop means of specific prevention of infection.

The aim of the study was to obtain recombinant norovirus VP1 protein and analyze its immunogenic and antigenic properties.

Materials and methods. Computer analysis of nucleotide and amino acid sequences, molecular cloning, polymerase chain reaction, electrophoresis of nucleic acids in agarose gel and proteins in polyacrylamide gel, affinity chromatography, enzyme immunoassay.

Results and discussion. A genetic construct encoding recombinant VP1 of the GII genotype norovirus with codons optimized for highly effective expression in *Escherichia coli* has been created. The strain of *E. coli* Rosetta 2 (DE3) has been transformed by genetic construct. VP1 expression was carried out in *E. coli* cells, conditions for its production, purification and renaturation were optimized. A purified soluble recombinant VP1 protein forms virus-like particles with a diameter of 30–50 nm. Immunization of BALB/c mice by protein lead to antibodies production with a titer greater than 1 : 1000. When evaluating antigenic properties, it was shown that human IgG, IgM, and IgA antibodies interact with recombinant VP1. The total antibody detection rate was 47,4%. The results indicate the possibility of using recombinant VP1 for development of domestic vaccine for the prevention of norovirus infection.

Keywords: norovirus, VP1, virus-like particles, vaccine

Ethics approval. The authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with the "Consensus Author Guidelines for Animal Use" (IAVES, 07/23/2010). The research protocol was approved by the decision of the Local Ethics Committee of the Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology (protocol No. 4, November 25, 2021).

Acknowledgement. The authors would like to thank N.A. Novikova for providing the norovirus strain and A.Yu. Kashnikov for assistance in electron microscopy.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Lapin V.A., Novikov D.V., Mokhonova E.V., Melentyev D.A., Tsiganova M.I., Zaitsev D.E., Novikov V.V. Production of recombinant norovirus VP1 protein and its antigenic and immunogenic properties. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(5):661–667.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-552>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ubmktf>

Введение

В этиологической структуре вирусных острых кишечных инфекций норовирусы (НВ; сем. *Caliciviridae*, род *Norovirus*) находятся на 2-м месте после ротавирусов. В странах, проводящих вакцинацию против ротавирусов, НВ вышли на 1-е место [1, 2]. В группы риска заражения НВ входят дети, молодые и пожилые люди. Вспышки инфекции НВ регистрируются в течение всего года с подъёмом заболеваемости в весенние и летние месяцы.

НВ человека представляет собой икосаэдрический вирус без оболочки, имеет геном в виде одноцепочечной позитивно-смысловой РНК длиной примерно 7,5–7,7 кб, кодирующей 3 открытые рамки считывания. Капсид вируса построен из наружного (VP1) и внутреннего (VP2) белков. ORF1 кодирует большой полипротеин, предшественник 6 неструктурных белков (NS1/2–NS7), ORF2 — основной структурный белок VP1 капсида, ORF3 — минорный структурный белок VP2 капсида, который расположен внутри вирусной частицы. VP1 способен самособирается в вирусоподобные частицы, которые практически неотличимы от нативных вирионов и обладают выраженными иммуногенными свойствами.

Для НВ известны 10 геногрупп, на основе анализа аминокислотной последовательности наружного капсидного белка VP1 выделены 48 генотипов. Наиболее распространённой геногруппой НВ является GII, на долю которой в России приходится большинство случаев НВ-гастроэнтерита детей первых лет жизни. Так, в Свердловской области в 2022 г. наибольший удельный вес в генотипической структуре циркулирующих НВ занимали НВ, относящиеся к геногруппе GII (58%) Сходные данные были получены в ходе молекулярно-эпидемиологического анализа генетических вариантов НВ в ряде других европейских стран, Японии и Китае. В отдельные годы на долю геногруппы GII приходилось до 80–90% случаев НВ-гастроэнтерита детей. К доминирующим вариантам вируса этой геногруппы относят НВ GII.4 [3, 4]. Значимость НВ в инфекционной патологии человека и опасность возникновения крупных эпидемических вспышек в организованных коллективах определяют необходимость разработки средств специфической профилактики инфекции. На примере успешного внедрения ротавирусной вакцины показано, что программы вакцинации могут значительно снизить количество случаев гастроэнтерита [5]. На основе белков НВ

в мире также разрабатывается несколько кандидатных вакцин против НВ, две из которых в настоящее время находятся на II/III стадии клинических испытаний и предназначены для профилактики инфекции НВ у детей и взрослых [6, 7].

Целью работы явилось получение и анализ иммуногенных и антигенных свойств рекомбинантного белка НВ VP1.

Материалы и методы

Анализ нуклеотидных последовательностей, дизайн олигонуклеотидов, конструирование гена, расчёт молекулярной массы белка, изоэлектрической точки и коэффициента экстинкции осуществляли с помощью пакета программного обеспечения «Lasergene 7.1.0» («Dnastar, Inc.»). Оптимизацию кодонов проводили на основе базы данных Codonusage database¹. В работу была взята нуклеотидная последовательность VP1 эпидемического варианта НВ с генотипом GII.4, доминирующего на территории Нижегородской области. Нуклеотидные последовательности секвенировали с использованием генетического анализатора «ABI Prism 310» («Thermo Fisher Scientific»).

Клетки *Escherichia coli*, штамм Rosetta 2 (DE3), трансформированные полученной генетической конструкцией на основе плазмиды pET22b и кодирующей VP1 НВ, выращивали в среде LB-Miller pH 7,0. Индукцию синтеза белка проводили путём добавления изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид до конечной концентрации 0,5 мМ к каждой культуре. Биомассы клеток получали центрифугированием, лизировали в растворе, содержащем 25 мМ HEPES (pH 7,5), 1 М NaCl, 10% глицерина, 1% Triton X-100, ДНКазы I (10 мкг/мл), РНКазы А (10 мкг/мл), лизоцима (50 мкг/мл), 0,2 мМ фенол-метилсульфонилфторида, дезинтегрировали ультразвуком с помощью «QSonica Q55» («QSonica sonicators»), центрифугировали и добавляли промытый буфер, содержащий 25 мМ HEPES pH 7,5, 1 М NaCl, 10% глицерина, 1 М мочевины с последующим центрифугированием.

Выделение VP1 НВ проводили методом металлохелатной хроматографии в денатурирующих условиях с помощью сорбента Ni-NTA Superflow («GEHealthcare»). Ренатурацию VP1 осуществляли с помощью диализа. Электрофорез белков в 12% полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия проводили общепринятым методом, иммуноблоттинг — с использованием сывороточных антител (АТ) человека против VP1 НВ и конъюгированных с пероксидазой хрена моноклональных АТ к IgG человека «Hytest». После переноса белки на мембране окрашивали в растворе субстрата Super Signal West Dura Extended

Duration Substrate («Thermo Scientific») и измеряли хемиллюминесценцию с помощью сканера «C-DiGit Blot Scanner» («Li-Cor»). Микрофотографии вирусоподобных частиц, образуемых VP1 НВ, получали с помощью электронного микроскопа «HT7700» («Hitachi»). Для иммунизации использовали самок мышей линии BALB/c возрастом 8 нед и массой 16–18 г. Животных содержали в условиях вивария в соответствии с межгосударственными стандартами ГОСТ 33216-2014 и ГОСТ 33215-2014. Биоматериал для исследования брали у мышей с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах европейского сообщества (86/609/ЕС).

Исследования проводили согласно биоэтическим и этическим принципам, установленным Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. и пересмотренной в октябре 2013 г.). Для оценки антигенных свойств рекомбинантных белков использовали 637 образцов плазмы крови, полученных из диагностического центра «Гемохелп» (ООО «ТИАС ЛОТУС») от лиц в возрасте 19–44 лет, обратившихся для проведения диагностических исследований и давших письменное согласие на использование их биоматериала в исследовании.

АТ к VP1 НВ определяли с помощью твёрдофазного иммуноферментного анализа. VP1 сорбировали в лунки планшетов в концентрации 1 мкг/мл в течение 18 ч при 20°C. Тестируемую сыворотку крови мышей разводили с шагом 2, плазму крови волонтеров разводили перед тестированием с шагом 10. В качестве отрицательного контроля использовали сыворотку неиммунизированных мышей. При определении АТ в крови лабораторных животных использовали конъюгированные с пероксидазой корня хрена кроличьи АТ против иммуноглобулинов мыши. При определении АТ человека использовали конъюгированные с пероксидазой хрена кроличьи АТ против иммуноглобулинов классов G, M и A (IgG, IgM, IgA). За положительную реакцию принимали значение оптической плотности больше среднего значения отрицательного контроля, умноженного на 3.

Анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения «Microsoft Excel» («Microsoft»). Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «Graph Pad Prism 8» («Graph Pad Software»). Различия в данных считали статистически достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты

В начало нуклеотидной последовательности, кодирующей белок VP1 эпидемически значимого штамма НВ генотипа GII.4, был внесён сайт для эндонуклеазы рестрикции NdeI. К последовательности, кодирующей С-терминальную часть белка, была добавлена нуклеотидная последовательность, коди-

¹ URL: <http://www.kazusa.or.jp/codon/>

рующая 6 гистидинов, стоп-кодон (TAA) и сайт для рестриктазы XhoI, использованные для последующего молекулярного клонирования. Схематичное строение гена представлено на **рис. 1**. Полученную последовательность синтезировали в фирме «Евроген». Последовательность, кодирующая VP1, была перенесена в плазмиду pET22b («Thermo Fisher Scientific»), позволяющую с высокой эффективностью экспрессировать рекомбинантные белки в штаммах *E. coli*, содержащих в геноме DE3 лизоген [8].

Полученной генетической конструкцией, кодирующей VP1 НВ, трансформировали клетки *E. coli*, штамм Rosetta 2 (DE3). Была оценена эффективность продукции белка, составившая 20–40 мг белка на 1 л клеточной культуры. Белок формировал «тельца включения». Определён оптимальный состав среды и условия культивирования трансформированных клеток *E. coli*. Максимальная плотность культуры клеток ($OD_{600} = 2,8$) соответствовала 5 г биомассы на 1 л культуры в среде LB, содержащей 0,5% глицерина и 25 мМ фосфатного буфера pH 7,4. Оптимальная концентрация изопропил- β -D-1-тио-галактопиранозиды составила 0,5 мМ, оптимальная температура для экспрессии белков — 30°C, время индукции — 4–8 ч.

В результате последующей очистки с помощью металл-хелатной хроматографии в присутствии 8 М мочевины и рефолдинга путём диализа против раствора, содержащего 25 мМ HEPES pH 7,5, 150 мМ NaCl и 5% глюкозы, получен растворимый белок, состоящий из 560 аминокислот, имеющий расчётную молекулярную массу 60,6 кДа, изоэлектрическую точку, равную 6,15, и коэффициент экстинкции 1,04 (**рис. 2, а**).

Белок наработан в препаративных количествах и использован для оценки способности формировать вирусоподобные частицы и для иммунизации лабораторных мышей. На **рис. 2, б** представлена электронно-микроскопическая фотография, свидетельствующая о способности рекомбинантного белка VP1 образовывать вирусоподобные частицы диаметром 30–50 нм, что соответствует данным других авторов [9]. При этом вестерн-блот (**рис. 2, в**) показал способность рекомбинантного VP1 взаимодействовать с сывороточными АТ серопозитивных лиц.

Двукратная внутрибрюшинная иммунизация 10 лабораторных мышей с интервалом в 2 нед и последующим получением сыворотки крови через 3 нед после 2-й иммунизации в дозе 10 мкг (0,5 мл) приводила к образованию в крови животных АТ против VP1 НВ. АТ в крови животных обнаруживались в титрах от 1 : 1024 до 1 : 4096, средний титр составил величину, равную 1 : 1536. Иммунизация животных той же дозой белка по той же схеме, но в смеси с 100 мг гидроксида алюминия вызвала появление АТ к VP1 НВ в титрах до 1 : 32 768. В среднем

титр АТ был равен 1 : 13 720, что почти на порядок превышало титры АТ у животных, иммунизированных без гидроксида алюминия (**рис. 3**). Таким образом, показано, что полученный рекомбинантный белок способен вызвать выраженный антителный ответ, значительно повышающийся в присутствии использованного адьюванта.

Поскольку НВ широко циркулирует среди населения, закономерно ожидать наличие АТ к его

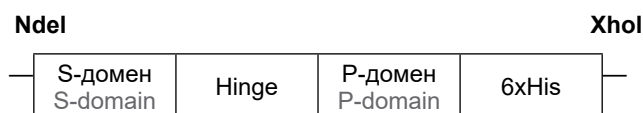


Рис. 1. Схематичное строение генетической конструкции, кодирующей VP1 НВ в составе pET22b.

Fig. 1. Schematic representation of the genetic construct encoding VP1 of norovirus in pET22b.

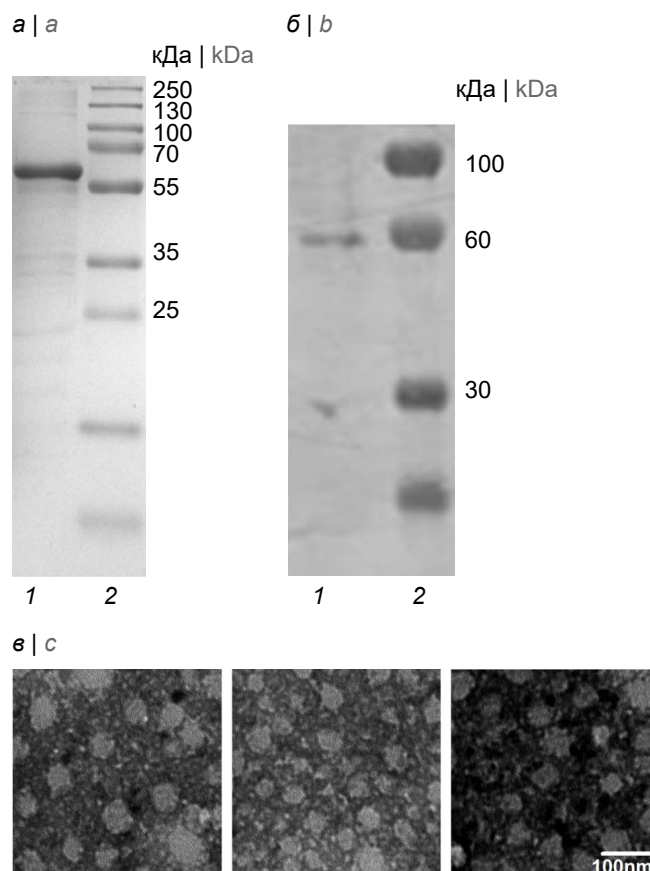


Рис. 2. Характеристика рекомбинантного белка VP1.

а — электрофореграмма очищенного VP1 белка НВ; **б** — вестерн-блот рекомбинантного VP1 НВ; 1 — VP1; 2 — маркеры молекулярной массы; **в** — электронно-микроскопические фотографии вирусоподобных частиц, образуемых рекомбинантным VP1 НВ. Контрастирование 3% уранилацетатом pH 4,6.

Fig. 2. Characteristics of the recombinant VP1 protein.

а — electrophoretogram of purified norovirus VP1 protein; **б** — Western-blot of purified norovirus VP1 protein; 1 — VP1; 2 — molecular weight marker; **в** — electron microscopic photographs of virus-like particles formed by recombinant norovirus VP1. Contrast with 3% uranyl acetate, pH 4.6.

белкам в крови людей. Проведена оценка наличия АТ разных классов к полученному рекомбинантному белку в крови лиц, проживающих в средней полосе России. Определяли частоту обнаружения АТ к VP1 в образцах плазмы крови 637 волонтеров. Как следует из **рис. 4**, АТ класса IgG обнаруживались у 14,8% волонтеров, АТ класса IgM — у 7,1%, АТ класса IgA — у 38,5%. Суммарная встречаемость АТ составила 47,4%.

Результаты свидетельствуют о том, что эпитопы полученного нами рекомбинантного VP1 НВ GII.4 распознаются АТ, присутствующими в крови человека. Однако титры АТ класса IgG в большинстве своем были невелики и превышали у серопозитивных волонтеров величину, равную 1 : 1000 и более, только в 4,3% случаев (4 из 94), что свидетельствует о давнем инфицировании этих лиц НВ. У волонтеров, имевших АТ к VP1 НВ класса IgA, высокие титры (равные 1 : 1000 и более) обнаруживались со сходной частотой (4,9% случаев). В то же время из 25 волонтеров, имевших АТ к VP1 НВ класса IgM, титры, равные 1 : 1000 и более, обнаружены в 16% случаев. Вероятно, эти лица имели недавний контакт с вирусом.

Обсуждение

Полученные данные о частоте встречаемости АТ против VP1 НВ GII.4 и их титрах соответствуют результатам других авторов. Сообщается о широком разбросе в частоте обнаружения АТ и их титрах у лиц разного возраста, проживающих в разных странах. Суммарная частота обнаружения колеблется от 25 до 95%. При этом наблюдается перекрестная реактивность с НВ других геногрупп [10, 11].

Белок VP1 НВ состоит из 2 доменов, принимающих участие в самосборке вирусоподобных частиц [12]. Способность VP1 НВ к самосборке может быть использована для получения образующих вирусоподобные частицы химерных белков, состоящих из S-домена VP1 НВ и фрагментов других белков, выступающих в качестве антигена. То есть, существует возможность декорирования разными антигенами вирусоподобных частиц НВ, что продемонстрировано в работах ряда авторов [13–15]. Генетическая конструкция, кодирующая полученный нами рекомбинантный белок, может быть применена в качестве молекулярной платформы для создания химерных вирусоподобных частиц на основе VP1 НВ.

Заключение

Полученный нами рекомбинантный VP1 НВ, экспрессированный в *E. coli*, способен формировать вирусоподобные частицы, проявляет иммуногенность у мышей в отсутствие и в присутствии адъюванта и распознается АТ человека классов IgG, IgM, IgA. Результаты работы свидетельствуют о

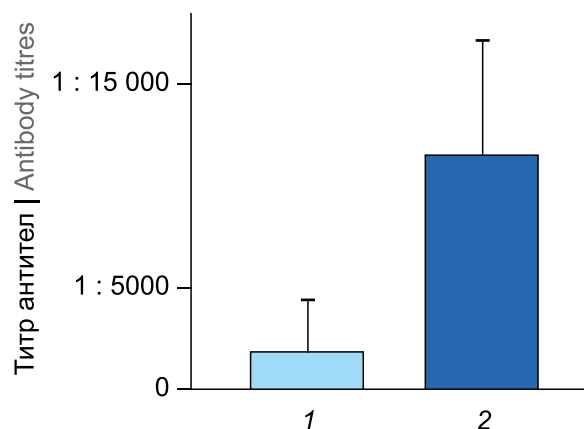


Рис. 3. Титры АТ у мышей, иммунизированных рекомбинантным VP1 НВ.

1 — без гидроокиси алюминия; 2 — с гидроокисью алюминия.

Fig. 3. Antibody titers in mice immunized with recombinant norovirus VP1.

1 — without aluminum hydroxide; 2 — with aluminum hydroxide.

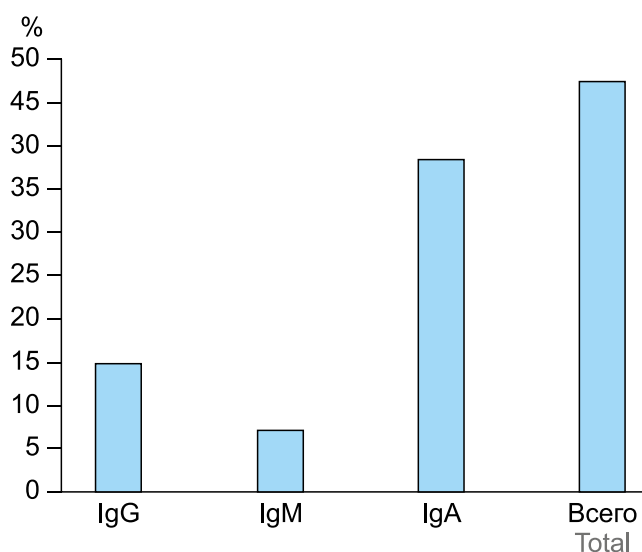


Рис. 4. Частота детекции АТ разных классов к рекомбинантному VP1 НВ в крови здоровых волонтеров.

Fig. 4. Detection rate of antibodies of different classes to recombinant norovirus VP1 in the blood of healthy volunteers.

возможности использования рекомбинантного VP1 в качестве антигена при конструировании вакцины для профилактики инфекции НВ, основанной на вирусоподобных частицах.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Black R.E., Perin J., Yeung D., et al. Estimated global and regional causes of deaths from diarrhoea in children younger than 5 years during 2000-21: a systematic review and Bayesian multinomial analysis. *Lancet Glob. Health.* 2024;12(6):e919–28. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(24\)00078-0](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(24)00078-0)
2. Jeon K., Lee S.K., Jeong S., et al. Trends in the detection of viruses causing gastroenteritis over a 10-year period and impact of non-

- pharmaceutical interventions. *J. Clin. Virol.* 2024;172:105676. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2024.105676>
3. van Beek J., de Graaf M., Al-Hello H., et al. Molecular surveillance of norovirus, 2005–16: an epidemiological analysis of data collected from the NoroNet network. *Lancet Infect. Dis.* 2018;18(5):545–53. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30059-8](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30059-8)
 4. Быков Р.О., Скрыбина С.В., Килячина А.С. и др. Молекулярно-генетическая характеристика и филогенетический анализ возбудителей норовирусной инфекции человека отдельных муниципалитетов в Свердловской области за 2022 год. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2023;100(4):306–313. Bykov R.O., Scriabina S.V., Kilyachina A.S., et al. Genetic characterization and phylogenetic analysis of human norovirus infection in individual municipalities of the Sverdlovsk region in 2022. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2023; 100(4):306–13. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-402> EDN: <https://elibrary.ru/qiehre>
 5. Burnett E., Parashar U., Tate J. Rotavirus vaccines: effectiveness, safety, and future directions. *Paediatric Drugs.* 2018;20:223–33. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40272-018-0283-3>
 6. Treanor J., Sherwood J., Cramer J.P., et al. A phase 2 study of the bivalent VLP norovirus vaccine candidate in older adults; impact of MPL adjuvant or a second dose. *Vaccine.* 2020;38(36):5842–50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.06.011>
 7. López P., López-Medina E., Sáez-Llorens X., et al. Immunogenicity and tolerability of a bivalent virus-like particle norovirus vaccine candidate in children from 6 months up to 4 years of age: a phase 2 randomized, double-blind trial. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2023;19(1):2204787. DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2204787>
 8. Mokhonov V.V., Vasilenko E.A., Gorshkova E.N., et al. SlyD-deficient *Escherichia coli* strains: a highway to contaminant-free protein extraction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018;499(4):967–72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.04.029>
 9. Lampinen V., Gröhn S., Soppela S., et al. SpyTag/SpyCatcher display of influenza M2e peptide on norovirus-like particle provides stronger immunization than direct genetic fusion. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2023;13:1216364. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1216364>
 10. Kobayashi S., Fujiwara N., Rockx B., et al. Characterization of the homo- and heterotypic immune responses after natural norovirus infection. *J. Med. Virol.* 2005;77:439–46. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.20473>
 11. Takeda N., Minagawa H. Seroepidemiological study of norovirus infection in Aichi Prefecture, Japan. *Microbiol. Immunol.* 2009;53:356–9. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2009.00132.x>
 12. Tan M., Fang P., Chachiyo T., et al. Noroviral particle: structure, function and applications in virus-host interaction. *Virology.* 2008;382:115–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.08.047>
 13. Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., Мохонов В.В., и др. Получение вирусоподобных частиц норовируса, содержащих VP1 эховируса 30. *Вопросы вирусологии.* 2021;66(5):383–9. Novikov D.V., Melentev D.A., Mokhonov V.V., et al. Construction of norovirus (Caliciviridae: Norovirus) virus-like particles containing VP1 of the Echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus B). *Problems of Virology.* 2021;66(5):383–9. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-79> EDN: <https://elibrary.ru/mkbbqt>
 14. Tamminen K., Heinimäki S., Vesikari T., Blazevic V. Rotavirus VP6 adjuvant effect on norovirus GII.4 virus-like particle uptake and presentation by bone marrow-derived dendritic cells in vitro and in vivo. *J. Immunol. Res.* 2020;2020:3194704. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/3194704>
 15. Boonyakida J., Khoris I.M., Nasrin F., Park E.Y. Improvement of modular protein display efficiency in SpyTag-implemented norovirus-like particles. *Biomacromolecules.* 2023;24(1):308–18. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.2c01150>

Информация об авторах

Лапин Владислав Александрович — м. н. с. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5905-5722>

Новиков Дмитрий Викторович — к. б. н., в. н. с. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Мохонова Екатерина Валерьевна — н. с. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9742-7646>

Мелентьев Дмитрий Александрович — м. н. с. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2441-6874>

Цыганова Мария Игоревна — к. б. н., в. н. с. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2811-6844>

Зайцев Дмитрий Евгеньевич — старший лаборант лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7663-6924>

Новиков Виктор Владимирович — д. б. н., проф., зав. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, mbre@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Участие авторов: *Лапин В.А.* — проведение экспериментов, написание и оформление рукописи; *Новиков Д.В.* — дизайн исследования, анализ литературы и экспериментальных данных; *Мохонова Е.В., Мелентьев Д.А., Зайцев Д.Е.* — проведение экспериментов; *Цыганова М.И.* — редактирование рукописи; *Нови-*

Information about the authors

Vladislav A. Lapin — junior researcher, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5905-5722>

Dmitry V. Novikov — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Ekaterina V. Mokhonova — researcher, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9742-7646>

Dmitry A. Melentyev — junior researcher, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2441-6874>

Maria I. Tsyganova — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2811-6844>

Dmitry E. Zaitsev — senior laboratory assistant, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7663-6924>

Viktor V. Novikov — D. Sci. (Biol.), Professor, Head, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Sci-

ков В.В. — концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи, руководство. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 14.06.2024;
принята к публикации 06.09.2024;
опубликована 29.10.2024

entific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, mbre@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Author contribution: *Lapin V.A.* — conducting experiments, writing and formatting the manuscript; *Novikov D.V.* — research design, analysis of literature and experimental data; *Mokhonova E.V.*, *Melentyev D.A.*, *Zaitsev D.E.* — conducting experiments, *Tsyganova M.I.* — editing the manuscript; *Novikov V.V.* — concept and design of the study, editing the manuscript, manual. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 14.06.2024;
accepted for publication 06.09.2024;
published 29.10.2024