

К. В. Острикова, С. Г. Голенченко, М. И. Потапович, В. А. Прокулевич

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

СОЗДАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА ВИДОСПЕЦИФИЧНОГО ИНТЕРФЕРОНА-АЛЬФА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ АНТИВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ОВЕЦ

Серьезную проблему для овцеводства представляют инфекционные заболевания, приводящие к значительным экономическим потерям. Цель данной работы – рассмотреть возможность применения имеющихся на рынке рекомбинантных интерферонов- α (ИФН- α) для создания на их основе противовирусных препаратов для овец.

В результате сравнительного анализа аминокислотных последовательностей ИФН предполагается, что ни один из существующих на рынке ветеринарных препаратов ИФН не подходит для терапии вирусных заболеваний овец. В ходе работы также синтезирована и клонирована кодирующая последовательность гена овечьего ИФН- $\alpha 1$ в клетках *E. coli*. Показано, что белок, накапливающийся в бактериальных клетках в ходе индуцируемой экспрессии клонированной последовательности, по размеру соответствует овечьему ИФН- $\alpha 1$.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, интерферон, рецептор, ветеринарные препараты, рекомбинантный белок, множественное выравнивание.

K. V. Vostrykava, S. G. Golenchenko, M. I. Patapovich, U. A. Prakulevich

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

CREATION OF STRAIN PRODUCING SPECIES-SPECIFIC INTERFERON-ALPHA FOR DEVELOPMENT OF ANTIVIRAL PREPARATIONS FOR SHEEPS

Infectious diseases became a serious problem for sheep breeding, leading to significant economic losses. The aim of this study: to examine the feasibility of using recombinant interferons as a basis for development of antiviral preparations for sheeps.

With reference to comparative analysis of IFN amino acid sequences we can suppose, that neither of the existing IFN-based veterinary preparations is suitable for therapy of ovine viral diseases. Also during this work, synthesized sequence of ovine interferon- $\alpha 1$ gene was cloned in *Escherichia coli* cells.

Keywords: *Escherichia coli*, interferon, receptor, veterinary preparations, recombinant protein, multiple alignment.

Введение. Инфекционные заболевания, приводящие к значительным экономическим потерям, представляют собой серьезную проблему животноводческой отрасли в целом и овцеводства в частности [1]. Для лечения заболеваний бактериальной этиологии используют большое количество антибиотиков, в то время как против многочисленных вирусных заболеваний овец лечебные ветеринарные препараты практически отсутствуют. По состоянию на май 2016 г. Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и медицинских препаратов (FDA – Food and Drug Administration, США) и Европейским агентством по контролю за медицинскими препаратами (European Medicines Agency, ЕС) не зарегистрировано ни одного подобного препарата [2, 3].

Интерфероны (ИФН) представляют собой группу цитокинов, продуцируемых и секретируемых ядерными клетками позвоночных в ответ на присутствие патогенов или их компонентов. ИФН выполняют роль сигнальных молекул в организме животных, а также обладают антивирусной, иммунорегуляторной и противоопухолевой активностью [4, 5].

Семейство ИФН включает в себя три типа белковых молекул. К I типу относят большую группу белков, куда входят ИФН- α , ИФН- β , ИФН- ω , ИФН- ϵ , ИФН- τ , ИФН- δ и ИФН- κ . Ко II типу относят ИФН- γ . III тип ИФН включает ИФН- $\lambda 1$, ИФН- $\lambda 2$ и ИФН- $\lambda 3$ или ИЛ-29, ИЛ-28А и ИЛ-28В соответственно [4].

Интерфероны I типа являются главными регуляторами противовирусного клеточного ответа у позвоночных. В настоящее время принято считать, что большинство ядерных клеток способны продуцировать данные ИФН, однако существуют и специализированные ИФН-продуцирующие клетки, такие как плазматоидные дендритные клетки, синтезирующие в тысячи раз большее количество ИФН, чем остальные клетки. Синтез и секреция данных цитокинов индуцируется

в результате активации внутриклеточных Toll-подобных рецепторов (TLR3 или TLR9) вирусными нуклеиновыми кислотами либо в результате активации поверхностных интерфероновых рецепторов (аутоиндукция) внеклеточными ИНФ. Последнее приводит к индукции противовирусного ответа в еще не зараженных клетках, что позволяет им хорошо подготовиться к внедрению вируса. Способность ИНФ I типа активировать противовирусный ответ обусловила их использование в качестве неспецифических противовирусных агентов [4–6].

Все ИНФ I типа взаимодействуют с одними и теми же рецепторами, которые отличаются от рецепторов ИНФ II и III типов. Рецептор ИНФ I типа состоит из двух субъединиц: α и β , которые обозначаются как IFNR1 и IFNR2 соответственно. IFNR1 и IFNR2 состоят из трех доменов: поверхностного, трансмембранного и внутриклеточного. При связывании ИНФ с поверхностным доменом рецептора формируется активационный мембранный сигнал путем димеризации рецептора и фосфорилирования тирозиновых остатков рецепторных белков. Передача сигнала с поверхности клетки в ядро происходит через каскад JAK-STAT, в который вовлечены янус-киназы (JAK), сигнальный белок-трансдуктор и активатор транскрипции (STAT). Передача сигнала ИНФ может происходить также через активацию MAP-киназного (серин/треонин-специфические протеинкиназы) и фосфатидил-инозитол3-киназного путей [7, 8].

Несмотря на то что все ИНФ I типа взаимодействуют с одними и теми же рецепторами, их эффекты могут существенно различаться. Например, ИНФ- α индуцируют в большей мере противовирусный ответ, ИНФ- β – противовирусный и противоопухолевый [4], а ИНФ- τ участвует в регуляции репродуктивной функции [9]. Поскольку аналогичные ИНФ различных животных, как правило, не являются эквивалентными (хотя в ряде случаев могут проявлять межвидовую активность), в качестве лечебных и профилактических средств предпочтительным является использование аутологичных ИНФ. В ветеринарии до недавнего времени применяли антивирусные препараты на основе рекомбинантного человеческого ИНФ- α («Миксоферон», «Кинорон», «Мультиферон», «Виферон»), проявляющие относительно низкую эффективность у животных, что обуславливает введение высоких терапевтических концентраций, которые, как известно, приводят к развитию ряда нежелательных побочных реакций, включая иммунный ответ на чужеродный белок в организме животных [10].

Цель данной работы – рассмотреть возможность применения имеющихся на рынке рекомбинантных ИНФ- α для создания на их основе противовирусных препаратов для овец.

Материалы и методы исследования. *Бактериальные штаммы и плазмиды.* Бактерии штамма *E. coli* XL-1 Blue ($F':: Tn 10 proA^+B^+ lacI^{\Delta}(lacZ)M15/recA1 endA1 gyrA96 (Nal^r) thi hsdR17(r_k^- m_k^+) glnV44 relA1 lac$) использовали для клонирования рекомбинантных плазмид.

В клетках бактерий *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL ($F' ompT hsdS (r_B m_B) dcm+Tet^r gal \lambda$ (DE3) $endA Hte [argU proL Cam^r] [argU ileY leuW Strep/Spec^r]$) осуществляли индуцибельную экспрессию клонированного гена.

Генно-инженерные методики и ферменты. Ca^{2+} -зависимую трансформацию, электрофорез ДНК, электрофорез белков в полиакриламидном геле (ПААГ), подготовку проб, фиксацию и окрашивание ПААГ осуществляли в соответствии с общепринятыми экспериментальными протоколами [11].

Индукция и детекция экспрессии рекомбинантного белка. Ночную культуру бактерий *E. coli* BL21(DE3) разводили в 20 раз и культивировали в колбах с 10 мл LB-бульона, 30 мкг/мл канамицина при 37 °С с перемешиванием и аэрацией при 180 об/мин до оптической плотности 1,0 ($\lambda = 600$ нм). Затем в среду добавляли синтетический аналог лактозы – изопропил- β -D-тиогалактопиранозид (ИПТГ) до конечной концентрации 0,5 ммоль/л.

Анализ синтезированных в клетках белков осуществляли с помощью электрофореза в 16 %-ном ПААГ в денатурирующих условиях с 0,1 % додецилсульфатом натрия по методу Laemmli [12]. Гель окрашивали в растворе Кумасси синего R-250.

Методы обработки последовательностей. Аминокислотные последовательности ИНФ- α взяты из базы данных GenBank, коды доступа для *Equus caballus* (лошадь) – NP_001108009.1; *Bos taurus* (корова) – NP_001017411.1; *Sus scrofa* (свинья) – AAA31053.1; *Homo sapiens* (человек) – CAA72532.1; *Canis lupus familiaris* (собака) – AAA30851.1; *Ovis aries* (овца) ИНФ- α 1 – AAV50052.1; *O. aries* ИНФ- α 2 – AAV50053.1; *O. aries* ИНФ- α 3 – AAV50054.1; *O. aries* ИНФ- α 4 – AAV50055.1.

Кодирующая последовательность гена овечьего ИФН-α взята из базы данных GenBank, код доступа AY802984.1.

Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей ИФН-α выполнено по алгоритму CLUSTAL W, реализованному в программе MEGA6.

Результаты и их обсуждение. Необходимым условием успешного применения препаратов на основе гетерологичных белков является высокая эволюционная консервативность их аминокислотных последовательностей. На сегодняшний день в Республике Беларусь выпускаются препараты на основе видоспецифических рекомбинантных свиных, бычьих, лошадиных и собачьих ИФН-α.

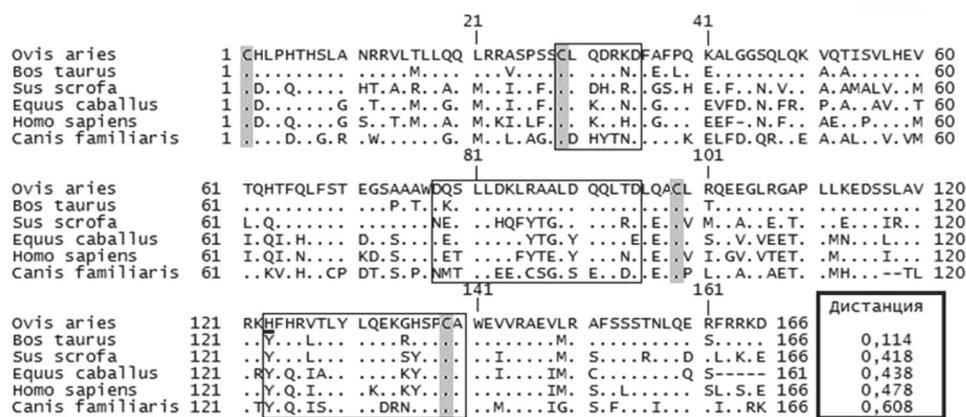
С целью выяснения возможности использования уже имеющихся препаратов для лечения заболеваний вирусной этиологии у овец проведено сравнение аминокислотной последовательности овечьего ИФН-α с последовательностями аминокислот рекомбинантных ИФН-α других животных (бычьего, свиного, лошадиного, собачьего) и человеческого (рис. 1).

Из 6 проанализированных белков 5 включают 166 аминокислот и только лошадиный ИФН-α состоит из 161 аминокислоты, потеряв кластер из 5 аминокислот на С-конце белка. У всех 6 белков абсолютно идентично расположение четырех остатков цистеина в положениях 1, 29, 99 и 139. Это важный элемент, во многом определяющий и стабилизирующий третичную структуру белка, закрепляемую ковалентными внутримолекулярными Cys-Cys связями (дисульфидными мостиками) [6, 13]. Следует, однако, отметить, что на этих двух параметрах заканчивается структурное сходство между анализируемыми белками ИФН-α разных животных.

При исследовании человеческого ИФН-α2 [14] выявлены консервативные области 29–35, 78–95 и 123–140, отвечающие за узнавание и связывание ИФН с рецептором (на рис. 1 данные области выделены рамкой).

Известно, что в структуре белка ИФН-α существует 5 α-спиралей (А, В, С, D и E). Остатки 29–35 локализируются между спиральями А и В, остатки 123–140 находятся в петле DE и в спирали D, остатки 78–95, расположенные в пределах петли АВ и спирали E, вносят наибольший вклад в энергию связи ИФН с клеточным рецептором [6, 14].

Согласно модели взаимодействия ИФН I типа с соответствующими рецепторами, клеточный ответ, вызываемый конкретным ИФН, детерминируется главным образом его энергией взаимодействия. Даже относительно небольшое различие в энергии связывания может приводить



к совершенно разным эффектам [7, 8]. Все представленные на рынке ветеринарных препаратов ИФН- α , за исключением бычьего, существенно отличаются по аминокислотной последовательности от овечьего ИФН- α как в целом, так и в участках, которые отвечают за связывание с рецепторами (рис. 1), поэтому только препараты бычьего ИФН могут рассматриваться как потенциальные противовирусные агенты для овец. Однако, несмотря на эволюционную близость к овечьему ИФН- α , бычий ИФН имеет по крайней мере 5 замен в функционально-значимых для связывания с рецептором областях. Уникальной отличительной особенностью овечьего ИФН- α является наличие в положении 123 гистидина (H) (подчеркнут на рис. 1) или аргинина (R) вместо имеющегося у млекопитающих высококонсервативного тирозина (Y), что может свидетельствовать об иной по сравнению с ИФН других животных механике взаимодействия данного белка с соответствующим рецептором. Более того, сходство бычьего ИФН- α с последовательностью овечьего ИФН- α не превышает 90 %, а значит, высока вероятность иммуногенности бычьего ИФН- α . Это может приводить к нежелательным побочным эффектам и к потере активности при повторных применениях, что, в конечном счете, сильно ограничивает возможности использования препаратов на основе бычьего белка, предназначенных для терапии и профилактики инфекционных заболеваний у овец.

Таким образом, совокупность фактов, полученных в результате биоинформатического анализа, дает основание предположить, что ни один из пяти существующих на рынке ветеринарных препаратов ИФН не годится для использования в лечебно-профилактических и противовирусных целях для овец. Для них, как и для других эволюционно отдаленных животных, требуются собственные видоспецифические рекомбинантные ИФН.

На основании результатов биоинформатического анализа принято решение клонировать кодирующую последовательность гена овечьего ИФН- α для последующего создания штамма-продуцента рекомбинантного белка.

Кластер генов овечьего ИФН- α находится на 2-й хромосоме и состоит по меньшей мере из 4 генов ИФН- α . Для того чтобы выбрать последовательность для клонирования, проведено сравнение аминокислотных последовательностей всех овечьих ИФН- α между собой (рис. 2).

Поскольку сравнение не выявило значимых различий между изученными последовательностями, а имеющиеся немногочисленные замены представлены аминокислотными остатками со схожими свойствами, для клонирования использовали нуклеотидную последовательность гена овечьего ИФН- $\alpha 1$.

Структурную часть гена овечьего ИФН- $\alpha 1$ синтезировали и клонировали в составе вектора рЕТ24b(+) по сайтам рестриктаз *Nde* I и *Eco* RI. Результаты рестрикционного анализа и секвенирования (данные не приводятся) подтвердили наличие структурной части гена овечьего ИФН- $\alpha 1$ в составе рекомбинантной плазмиды. Бактерии штамма *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-R1PL трансформировали полученной рекомбинантной плазмидой рЕТ24b-ovineIFN- $\alpha 1$. Клетки клонов, унаследовавших рекомбинантную плазмиду, выращивали в присутствии ИПТГ для индукции экспрессии гена овечьего ИФН- $\alpha 1$ (рис. 3).

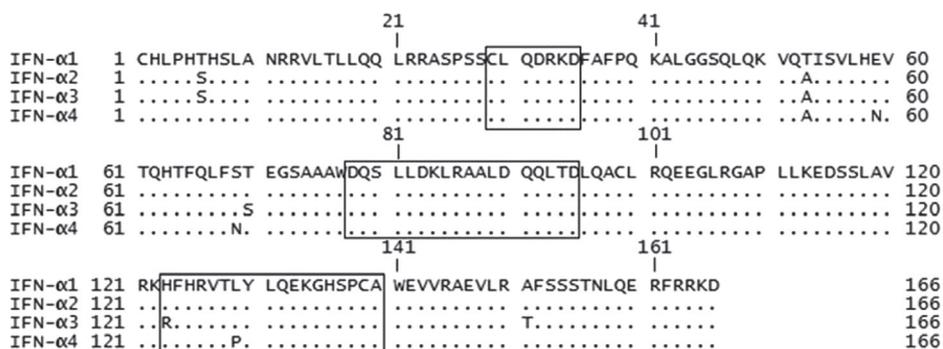


Рис. 2. Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей ИФН- α овцы (аминокислотные остатки, которые совпадают у разных ИФН- α , обозначены точками, показаны только полиморфные остатки). Регионы, отвечающие за связывание с рецептором (29–35, 78–95, 123–140), выделены рамкой

Fig. 2. Multiple amino acid sequence alignment of ovine IFN- α (identical amino acid residues are indicated by dots, showing only polymorphic residues). Regions, responsible for receptor binding (29–35, 78–95, 123–140) are in frames

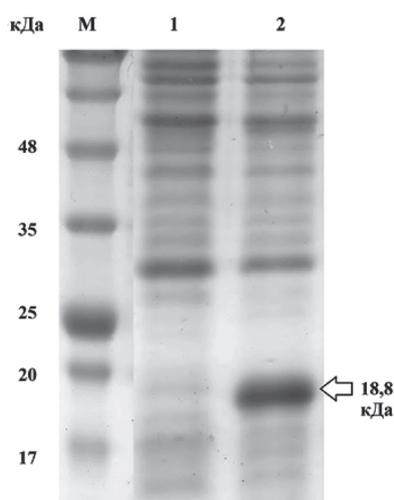


Рис. 3. ПААГ-электрофореграмма клеточных белков *E. coli* BL21-Codon Plus(DE3)-RIPL-pET24b-ovineIFN- α 1 (стрелкой указана молекулярная масса, соответствующая овечьему ИФН- α). М – маркер молекулярной массы Blue Wide Range Prestained Protein Ladder, Cleaver Scientific Ltd. (Cat. No. CSL-BBL); 1 – образец без индукции ИПТГ; 2 – образец спустя 4 ч после индукции ИПТГ (0,5 ммоль/л)

Fig. 3. SDS-PAGE of *E. coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL-pET24b-ovineIFN- α 1 cellular proteins (molecular weight of ovine IFN- α is indicated by arrow). М – molecular weight marker Blue Wide Range Prestained Protein Ladder, Cleaver Scientific Ltd. (Cat. No. CSL-BBL); 1 – sample without IPTG; 2 – sample after 4 h induction with IPTG (0.5 mmol/L)

Как видно из рис. 3, в индуцированной культуре клеток *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL-pET24b-ovineIFN- α 1 наблюдается накопление белка, соответствующего по молекулярной массе овечьему ИФН- α (около 18,8 кДа). В то же время в неиндуцированной культуре накопления такого продукта не отмечается.

Заключение. Различия в аминокислотных последовательностях ИФН- α , локализованные как в сайтах связывания с клеточными поверхностными рецепторами, так и вне их, не позволяют гарантировать достаточного терапевтического эффекта при использовании гетерологичных белков ИФН- α (человеческого, бычьего, свиного, лошадиного, собачьего) для лечения овец. В связи с этим была синтезирована и клонирована под контролем регуляторных элементов плазмиды pET24b(+) кодирующая последовательность гена овечьего ИФН- α 1, обеспечивающая после индукции накопление в бактериальных клетках белка, молекулярная масса которого соответствовала овечьему ИФН- α 1. Таким образом, впервые получен штамм *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL-pET24b-ovineIFN- α 1 – продуцент овечьего ИФН- α 1.

Список использованных источников

1. Острикова, К. В. Клонирование и экспрессия генов овечьего α_2 - и γ -интерферонов в клетках *E. coli* / К. В. Острикова, М. И. Потапович, В. А. Прокулевич // Биология – наука XXI века: сб. тез. 18-й Междунар. Пушин. шк. конф. молодых ученых, Пушино, 21–26 апр. 2014 г. / Пушин. науч. центр РАН, Пушин. гос. ун-т; редкол.: А. И. Мирошников [и др.]. – Пушино, 2014. – С. 72–73.
2. FDA [Electronic resource]: U. S. Food and Drug Administration / U. S. Department of Health and human Services. – Mode of access: <http://www.fda.gov>. – Date of access: 24.05.2016.
3. Science medicines health [Electronic resource] / European medicines agency. – Mode of access: <http://www.ema.europa.eu>. – Date of access: 24.05.2016.
4. Kallioliass, G. Overview of the biology of type I interferons / G. Kallioliass, L. Ivashkiv // Arthritis Research & Therapy. – 2010. – Vol. 12, suppl. 1. – S. 1–9.
5. Schultz, U. The interferon system of non-mammalian vertebrates / U. Schultz, B. Kaspers, P. Staeheli // Dev. Comp. Immunol. – 2004. – Vol. 28 (5). – P. 499–508.
6. Meager, A. The Interferons: Characterization and Application / A. Meager; A. Meager (ed.). – [S. l.]: WILEY-VCH Verlag, 2006. – 410 p.
7. Structural linkage between ligand discrimination and receptor activation by type I interferons / C. Thomas [et al.] // Cell. – 2011. – Vol. 146. – P. 621–632.
8. The type I interferon receptor: structure, function, and evolution of a family business / K. E. Mogensen [et al.] // J. Interferon Cytokine Res. – 1999. – Vol. 19. – P. 1069–1098.
9. Roberts, R. M. Interferon-tau and pregnancy / R. M. Roberts // J. Interferon Cytokine Res. – 1996. – Vol. 16 (4). – P. 271–273.
10. Herzyk, D. J. The immunogenicity of therapeutic cytokines / D. J. Herzyk // Curr. Opin. in Mol. Ther. – 2003. – Vol. 5. – P. 167–171.
11. Current protocols in molecular biology / F. M. Ausubel [et al.]. – [S. l.]: John Wiley & Sons Inc., 2003. – 4648 p.
12. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly the head of bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // Nature (Lond.). – 1970. – Vol. 227. – P. 680–685.
13. Sen, C. Viruses and Interferons / C. Sen // Annu. Rev. Microbiol. – 2001. – Vol. 55. – P. 255–282.
14. Fish, E. N. Definition of Receptor Binding Domains in Interferon- α / E. N. Fish // J. of Interferon Res. – 1992. – Vol. 12. – P. 257–266.

References

- Ostrikova, K. V., Potapovich, M. I. and Prakulevich, V. A. (2014), “Cloning and expression of genes sheep α_2 - and γ -interferon in the cells of *E. coli*.”, *Biologiya – nauka XXI vek: sbornik tezisev 18-i Mezhdunarodnoi Pushchinskoi shkoly-konferentsii molodykh uchenykh, Pushchino, 21–26 aprel’ 2014 g.* [Biology – the science of the XXI century: Sat. mes. 18th Intern. Pushchino School Conf. young scientists, Pushchino, 21–26 April 2014], *Biologiya – nauka XXI vek* [Biology – the science of the XXI century], Pushchino, RU, 21–26 April 2014, pp. 72–73.
- U. S. Department of Health and human Services (2016) *FDA: U. S. Food and Drug Administration*, Available at: <http://www.fda.gov> (Accessed 24.05.2016).
- European medicines agency (2016) *Science medicines health*, Available at: <http://www.ema.europa.eu> (Accessed 24.05.2016).
- Kallioliass, G. and Ivashkiv, L. (2010), “Overview of the biology of type I interferons”, *Arthritis Research & Therapy*, vol. 12 (Suppl. 1), pp. 1–9.
- Schultz, U., Kaspers, B. and Staeheli, P. (2004), “The interferon system of non-mammalian vertebrates”, *Developmental and Comparative Immunology*, vol. 28 (5), pp. 499–508.
- Meager, A. (2006) *The Interferons: Characterization and Application*, in Meager, A. (ed.), WILEY-VCH Verlag.
- Thomas, C., Moraga, I., Levin, D., Krutzik, P. O., Podoplelova, Y., Trejo, A., Lee, C., Yarden, G., Vleck, S. E., Glenn, J. S., Nolan, G. P., Piehler, J., Schreiber, G. and Garcia, K. C. (2011), “Structural linkage between ligand discrimination and receptor activation by type I interferons”, *Cell*, vol. 146, pp. 621–632.
- Mogensen, K. E., Lewerenz, M., Reboul, J., Lutfalla, G. and Uzé, G. (1999), “The type I interferon receptor: structure, function, and evolution of a family”, *Journal Interferon Cytokine Research*, vol. 19, pp. 1069–1098.
- Roberts, R. M. (1996), “Interferon-tau and pregnancy”, *Journal Interferon Cytokine Research*, vol. 16 (4), pp. 271–273.
- Herzyk, D. J. (2003), “The immunogenicity of therapeutic cytokines”, *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, vol. 5, pp. 167–171.
- Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A. and Struhl, K. (2003), *Current protocols in molecular biology*, John Wiley & Sons Inc.
- Laemmli, U. K. (1970), “Cleavage of structural proteins during the assembly the head of bacteriophage T4”, *Nature* (Lond.), vol. 227, pp. 680–685.
- Sen, C. (2001), “Viruses and Interferons”, *Annual Review of Microbiology*, vol. 55, pp. 255–282.
- Fish, E. N. (1992), “Definition of Receptor Binding Domains in Interferon- α ”, *Journal of Interferon Research*, vol. 12, pp. 257–266.

Информация об авторах

Острикова Кристина Владимировна – аспирант. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kristiost@mail.ru

Голенченко Сергей Георгиевич – науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: golenchenko@inbox.ru

Потапович Максим Иосифович – заведующий лабораторией. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mipatapovich@gmail.com

Прокулевич Владимир Антонович – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: prokulevich@mail.ru

Для цитирования

Создание штамма-продуцента видоспецифичного интерферона-альфа для разработки противовирусных препаратов для овец / К. В. Острикова [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. біял. навук. – 2017. – № 1. – С. 48–53.

Information about the authors

Vostrykava Kristina – Postgraduate student. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kristiost@mail.ru

Golenchenko Sergey – Researcher. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: golenchenko@inbox.ru

Patapovich Maksim – Head of Laboratory. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mipatapovich@gmail.com

Prakulevich Uladzimir – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of Department. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: prokulevich@mail.ru

For citation

Vostrykava, K. V., Golenchenko, S. G., Patapovich, M. I. and Prakulevich, U. A. (2017), “Creation of strain producing species-specific interferon-alpha for development of antiviral preparations for sheeps”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, biological series*, no. 1, pp. 48–53.