

УДК 577.21

РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МУЛЬТИВАЛЕНТНОЙ ДНК ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА

© 2025 г. Ю. М. Ходарович^{1, *}, М. А. Ельшазли², С. Н. Марзанова³,
С. А. Магомедова³, В. С. Шелл², С. А. Нассиф²,
член-корреспондент РАН Д. А. Девришов³, академик РАН С. М. Деев¹

Поступило 25.09.2024 г.

После доработки 30.10.2024 г.

Принято к публикации 30.10.2024 г.

Вакцинация против бруцеллеза в настоящее время проводится с использованием ослабленных штаммов живых бруцелл, что вызывает серьезные побочные эффекты у животных и малоприменимо для вакцинации людей. С целью разработки более безопасной вакцины против бруцеллеза мы создали плазмидную ДНК, способную экспрессировать шесть белков бруцеллы в клетках млекопитающих. Для повышения эффективности доставки ДНК в клетки использовали линейный полиэтиленимин. Приведены данные по оптимизации условий образования комплексов ДНК-полиэтиленимин. Показано, что однократная внутримышечная или подкожная инъекция комплексов плазмидной ДНК с полиэтиленимином в низкой дозе (20 мкг/мышь) оказывает достоверный защитный эффект от последующего заражения мышей тестовым штаммом бруцеллы.

Ключевые слова: бруцеллез, ДНК вакцина, полиэтиленимин, полицистронная РНК, трансфекция *in vivo*
DOI: 10.31857/S2686738925010062, **EDN:** tcxfpl

ВВЕДЕНИЕ

Бруцеллез – инфекционное заболевание, вызываемое разными видами бруцелл, которые инфицируют в основном крупный рогатый скот, свиней, коз, овец и собак. Бруцеллез вызывает значительные экономические потери в секторе животноводства и оказывает серьезные последствия для международной торговли животными и продуктами животного происхождения. Опасен бруцеллез и для людей. Инфицирование людей обычно происходит в результате непосредственного

контакта с инфицированными животными, употребления зараженных продуктов животного происхождения или вдыхания присутствующих в воздухе возбудителей болезни. Случаи заболевания людей бруцеллезом регистрируются во всем мире каждый год и составляют примерно 500 000 в год [1], хотя количество зарегистрированных случаев считается в значительной степени заниженным [2]. Хотя бруцеллез у людей редко заканчивается смертельным исходом, он может серьезно ослабить здоровье и привести к инвалидности.

Живые аттенуированные вакцины являются единственными, получившими международное признание, и рекомендованы для контроля и искоренения заболевания. У используемых живых вакцин против бруцеллеза есть существенные недостатки, которые несколько отличаются в зависимости от используемого штамма [3, 4]. Например, вакцина на основе штамма S19 вызывает аборт у некоторых вакцинированных и беременных животных, приводит к снижению выработки молока и полностью вирулентна для человека [4]. Вакцинацию этим штаммом проводят только у молодых телят, так как у взрослых он вызывает орхит и длительный инфекционный процесс. Из-за существенных побочных эффектов живых вакцин

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

²Центральная лаборатория по оценке ветеринарных биопрепаратов, Сельскохозяйственный научный центр, Каир, Египет

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия

*e-mail: khodarovich@mail.ru

в настоящее время не существует одобренных на международном уровне вакцин против бруцеллеза для вакцинации людей.

Приведенные данные свидетельствуют о высокой потребности в эффективной и безопасной вакцине против бруцеллеза. Ранее мы показали возможность эффективной вакцинации мышей против бруцеллеза путем внутримышечной инъекции плазмидной ДНК, кодирующей антигена бруцеллы [5]. Было показано, что совместная инъекция нескольких плазмид, кодирующих разные антигены бруцеллы, более эффективна, чем использование данных плазмид по отдельности. В описываемой работе [5] использовалась двукратная инъекция высоких доз ДНК, что несколько ограничивает возможность использования такой вакцины в ветеринарии по экономическим причинам. В данной работе мы создали плазмиду, предназначенную для экспрессии шести белков бруцеллы и изучили эффективность однократной вакцинации мышей низкой дозой ДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Для приготовления трансфекционных комплексов использовался линейный полиэтиленимин фирмы Polysciences молекулярной массой 25 кДа (Кат № 23966). Плазмидную ДНК для вакцинации нарабатывали с использованием набора GenElute HP Endotoxin-Free Plasmid Megaprep Kit (Sigma). Концентрацию ДНК определяли с помощью спектрофотометра.

Приготовление комплексов ДНК-полиэтиленимин с высокой концентрацией ДНК. Раствор полиэтиленимина разводили в буфере, содержащем 5% глюкозы, до конечной концентрации 1,6 мкг/мкл. Раствор плазмидной ДНК разводили в 5% глюкозном буфере до конечной концентрации 0,4 мкг/мкл. Комплексы для вакцинации животных готовили следующим образом: к раствору ДНК добавляли равный объем раствора полиэтиленимина и перемешивали пипетированием. Полученный раствор инкубировали при комнатной температуре не менее 20 минут, после чего использовали в течение 1 часа. Приготовление комплексов с другими соотношениями ДНК:полиэтиленимин проводили аналогичным образом, меняя концентрацию полиэтиленимина в глюкозном буфере.

Трансфекции клеток НЕК293. Клетки НЕК293 растили до достижения видимой плотности клеток 70–90% в 96-луночном планшете. Для получения трансфекционных комплексов раствор плазмидной ДНК разводили в 5% глюкозном буфере до конечной концентрации 20 нг/мкл. Раствор полиэтиленимина разводили в буфере, содержащем 5% глюкозы, до требуемой конечной концентрации (34–366 нг/мкл). К раствору плазмидной ДНК

добавляли равный объем раствора полиэтиленимина, перемешивали и инкубировали при комнатной температуре не менее 15 минут. Получившиеся комплексы ДНК-полиэтиленимин добавляли к клеткам НЕК293 по 10 мкл комплексов на 1 лунку. Для уменьшения возможной цитотоксичности комплексов через 4 часа проводили замену культуральной среды.

Измерение эффективности трансфекции. Клетки НЕК293 трансфецировали комплексами ДНК-полиэтиленимин при различных соотношениях ДНК:полиэтиленимин. Через 24 часа после трансфекции клетки лизировали, полученный лизат использовали для определения люминесценции с помощью прибора Tecan Infinite M1000 PRO. Люминесценцию измеряли с использованием инъекторов, что обеспечивало одинаковое время между добавлением субстрата и измерением люминесценции.

Измерение протективного действия вакцины. Комплексы ДНК-полиэтиленимин вводили аутбредным мышам SHK внутримышечно или подкожно в дозе 20 мкг ДНК на 1 мышь. Через 14 дней после вакцинации проводили контрольное заражение мышей вакциной Брувак Rev-1 в дозе 500 млн м.к. внутривентриально. Перед использованием вакцину Брувак Rev-1 проверяли на чистоту и ростовые свойства: вакцину разводили стерильным физиологическим раствором и высевали на бруцеллагар. Использовались только те партии вакцины, которые на четвертые сутки роста на питательной среде давали типичный чистый рост бруцелл. Через 18 дней после инъекции штамма Rev-1 мышей умерщвляли, кровь отсевали на МПА и бруцеллагар, вытяжку из сердца и селезенки в жидкую среду МПБ. Посевы инкубировали при 37°C в течение 4 суток. Рост бруцелл на твердой среде оценивали по количеству выросших колоний, рост в жидкой среде оценивали по степени мутности среды. Работа с животными была одобрена комиссией по контролю за содержанием и использованием животных ИБХ РАН, протокол 386/2024 от 09.02.2024.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дизайн и создание плазмиды для экспрессии белков бруцеллы. Ранее нами и другими исследователями было показано, что вакцинация против бруцеллеза более эффективна, если использовать для вакцинации смесь плазмид, кодирующих несколько разных белков бруцеллы [5, 6]. Поэтому при разработке ДНК-вакцины мы решили создать плазмиду, содержащую полицистронную экспрессионную кассету для синтеза шести белков бруцеллы в клетках млекопитающих. Были выбраны белки omp31, p39, sp41, с которыми мы работали ранее, а также белки omp16, L7/L12, p22.9, которые,

по литературным данным, эффективны при вакцинации против бруцеллеза. Синтез РНК, кодирующей требуемые белки, инициируется с помощью хорошо известного сильного промотора цитомегаловируса человека. Далее в экспрессионной каскаде находятся последовательности, кодирующие первые три белка бруцеллы, разделенные саморасщепляющимися пептидами (рис. 1). Известно, что

эффективность синтеза каждого следующего за саморасщепляющимся пептидом белка несколько ниже, чем предыдущего, и дальнейшее добавление последовательностей, кодирующих белки бруцеллы с помощью саморасщепляющихся пептидов, могло привести к сильному уменьшению уровня их синтеза. Поэтому далее в каскаде находятся последовательности участка внутренней посадки

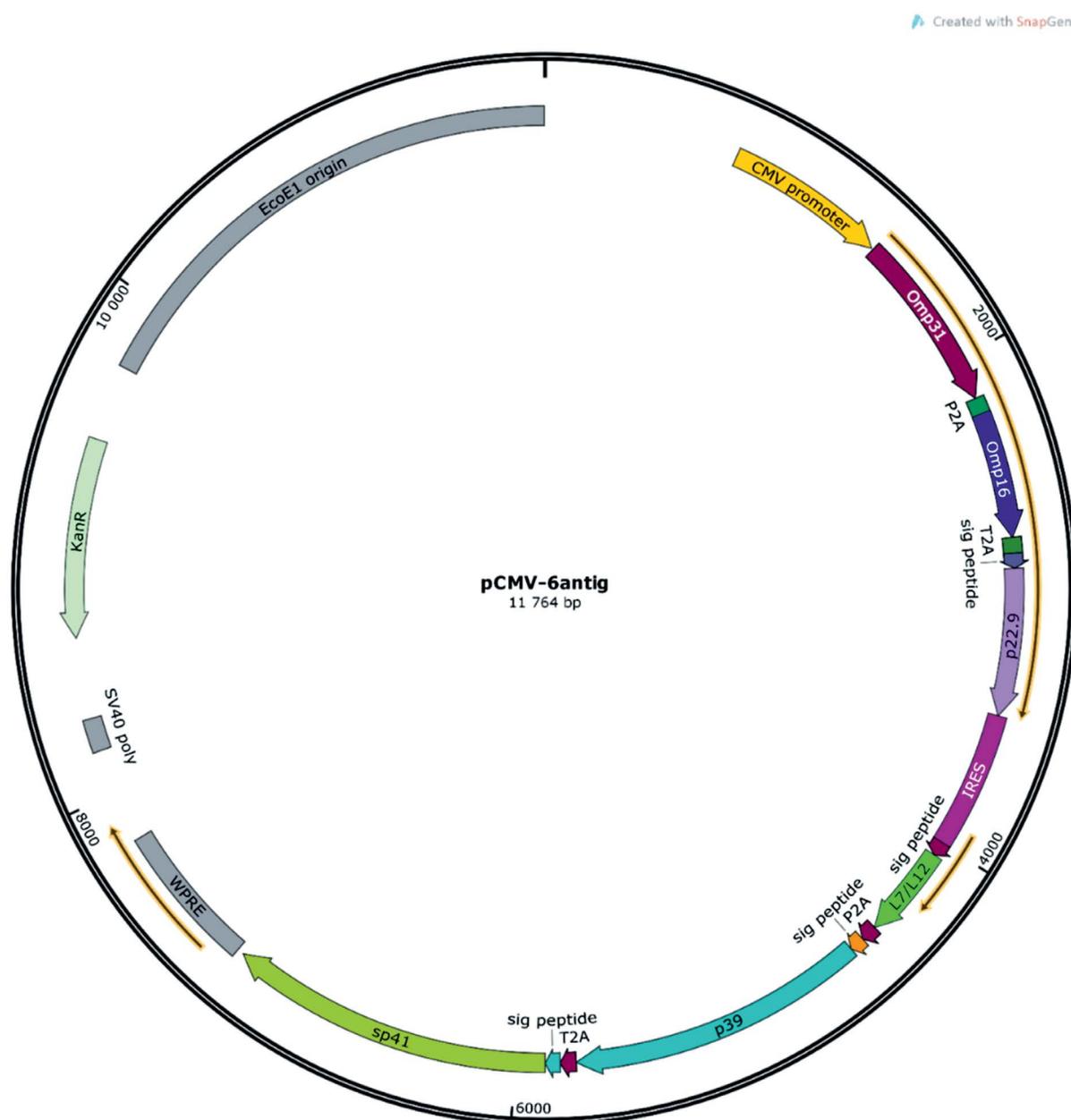


Рис. 1. Карта-схема плазмиды для экспрессии белков бруцеллы. Условные обозначения: **Omp31**, **Omp16**, **p22.9**, **L7/L12**, **p39**, **sp41** – последовательности, кодирующие соответствующие белки бруцеллы; **CMV promoter** – ранний промотор цитомегаловируса человека; **P2A** и **T2A** – последовательности, кодирующие саморасщепляющиеся пептиды; **IRES** – участок внутренней посадки рибосомы из полиовируса; **sig peptide** – последовательности, кодирующие сигнальный пептид иммуноглобулина IgG человека; **WPRE** – посттрансляционный элемент вируса гепатита сурков; **SV40 poly** – сигнал полиаденилирования вируса SV40.

рибосомы из полиовируса (IRES полиовируса), позволяющие инициировать синтез белка с внутренних участков РНК. Далее идут последовательности, кодирующие еще три белка бруцеллы, также разделенные саморасщепляющимися пептидами. Описанную выше экспрессионную кассету получали методом синтеза генов, при этом нуклеотидная последовательность, кодирующая требуемые белки, была оптимизирована для наиболее эффективной экспрессии в клетках млекопитающих. Экспрессионная кассета была перенесена в вектор рМС.EF1 α -MCS-SV40polyA, что в будущем позволит получить вариант экспрессионного вектора в виде миникольца. Правильность сборки конечной плазмиды была подтверждена частичным секвенированием.

Физические свойства комплексов ДНК-полиэтиленимин. Известно, что эффективность трансфекции у животных сильно зависит от размера комплексов ДНК-полиэтиленимин. Крупные комплексы (более 200 нм) плохо проходят через капилляры кровеносной системы и остаются преимущественно в месте инъекции. Мы измерили основные характеристики комплексов ДНК-полиэтиленимин при изменении ряда параметров. Данные приведены в табл. 1. Как и ожидалось, формирование комплексов в буфере с физиологическим значением ионной силы (фосфатный буфер – PBS) приводит к образованию очень крупных комплексов. Поэтому необходимо использовать бессолевыe буферы, например, глюкозный буфер. Другой важный параметр – концентрация комплексов. Видно, что при уменьшении концентрации ДНК (и полиэтиленимина) уменьшается размер комплексов. К сожалению, объем раствора, который можно инъецировать животным внутримышечно, ограничен. Поэтому для ДНК-вакцинации необходимо использовать высокие концентрации ДНК. Как видно из табл. 1, комплексы, полученные при высоких концентрациях ДНК, обладают размером около 150 нм, который практически не меняется при изменении соотношения ДНК:полиэтиленимин. Положительными моментами получения комплексов с высокой концентрацией ДНК можно считать высокую однородность

комплексов (низкий индекс полидисперсности) и высокий дзета потенциал, что говорит о хорошей стабильности таких комплексов в растворе.

Подбор условий трансфекции *in vitro*. Известно, что эффективность доставки ДНК в клетки млекопитающих зависит от соотношения ДНК:полиэтиленимин, которое используется для приготовления трансфекционных комплексов. Для определения оптимального соотношения ДНК:полиэтиленимин мы провели трансфекцию клеток НЕК293. Для трансфекции использовали плазмиду рCDH-EF1 α -eFFluc-eGFP, кодирующую люциферазу светлячка, формирование комплексов проводили в глюкозном буфере (5% глюкозы). При приготовлении трансфекционных комплексов с различным соотношением ДНК:полиэтиленимин мы использовали фиксированную концентрацию ДНК, варьируя только концентрацию добавляемого раствора полиэтиленимина. Результаты представлены на рис. 2. Видно, что наибольшая эффективность трансфекции наблюдается при соотношениях ДНК:полиэтиленимин 1:3.3 и 1:5 (масса к массе), при этом статистически достоверной разницы по эффективности трансфекции между этими соотношениями нет. Соотношение 1:4 было решено использовать для экспериментов по вакцинации мышей.

Изучение защитного эффекта ДНК-вакцины. Для вакцинации мышам делали однократную инъекцию комплексов ДНК-полиэтиленимин (20 мкг ДНК). Первой группе животных комплексы ДНК-полиэтиленимин вводили внутримышечно, второй группе – подкожно, третьей группе иммунизацию не проводили. Животные хорошо переносят вакцинацию: после инъекции наблюдался отек в месте инъекции, который рассасывался в течение часа, также наблюдалась незначительная хромота на тазовую конечность в течение 30 минут после инъекции. Прием корма и жажда были сохранены, признаков аллергической реакции не наблюдалось. Через 14 дней после вакцинации мышам вводили тестовый штамм бруцеллы REV-1, а еще через 18 дней проводили высев крови и вытяжки из селезенки и сердца на питательные среды для определения наличия бруцелл. Результаты представлены

Таблица 1. Параметры комплексов ДНК-полиэтиленимин. Высокая концентрация комплексов – комплексы формировались, как описано в материалах и методах. Низкая концентрация комплексов – концентрация ДНК и, соответственно, полиэтиленимина снижена в 10 раз

Соотношение ДНК:полиэтиленимин (масса/масса)	Высокая концентрация комплексов			Низкая концентрация комплексов	
	1:1	1:2	1:4	2:1	2:1
Буфер	5% глюкоза	5% глюкоза	5% глюкоза	5% глюкоза	PBS
Размер, нм	146.2 \pm 1.8	144.7 \pm 1.2	151.3 \pm 1.2	92.1 \pm 8.8	1199 \pm 209
Дзета потенциал, мВ	43.9 \pm 1.6	46.9 \pm 1.2	50.3 \pm 0.6	13.0 \pm 0.8	7.0 \pm 1.4
Индекс полидисперсности	0.21 \pm 0.01	0.20 \pm 0.01	0.22 \pm 0.01	0.32 \pm 0.04	0.72 \pm 0.01

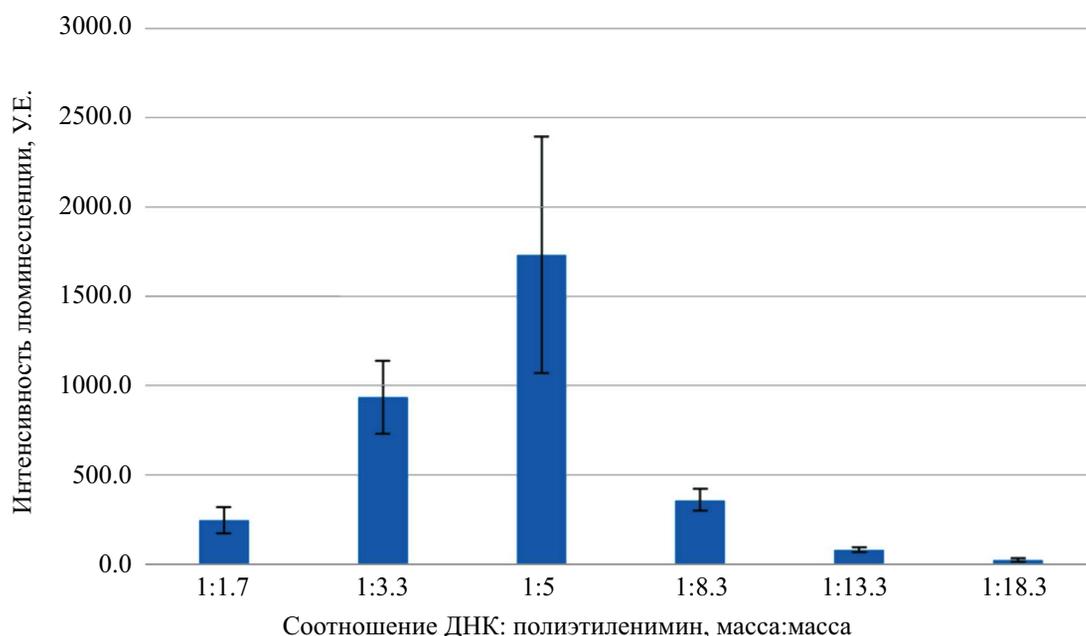


Рис. 2. Эффективность трансфекции клеток HEK293 репортерной плазмидой pCDH-EF1a-eFFluc-eGFP при различных соотношениях ДНК:полиэтиленмин. По вертикальной оси отложена интенсивность люминесценции клеточных лизатов, полученных через 24 часа после трансфекции.

в таблице 2. Видно, что однократная вакцинация комплексами ДНК-полиэтиленмин способна в существенной степени защищать мышей от заражения бруцеллой.

Внутримышечная инъекция оказалась несколько более эффективна, чем подкожная, что особенно заметно при анализе роста колоний бруцеллы при высеве крови на бруцеллагар. В целом, полученные

Таблица 2. Тестирование защитного действия ДНК-вакцины на мышах

Номер группы/ номер животного	Высеваемый материал/питательная среда/метод детекции результата			
	Кровь/Бруцеллагар/ количество колоний, шт	Кровь/МПА/ количество колоний, шт	Сердце/МПБ/ степень помутнения среды*	Селезенка/ МПБ/ степень помутнения среды*
I группа, опытная				
1/1	4	1	+	+
1/2	0	0	-	-
1/3	0	0	+	+
1/4	5	0	-	-
II группа, опытная				
2/1	1	0	-	-
2/2	>100	1	+	+
2/3	8	0	-	-
2/4	11	5	+	+
III группа, контрольная				
3/1	0	0	+	++
3/2	5	0	++	+++
3/3	>100	8	++	+++
3/4	>100	15	++	+++

*Оценка степени помутнения среды: – среда прозрачная, + появляется небольшое помутнение среды, ++ умеренная мутность среды, +++ сильная мутность среды.

данные позволяют сделать вывод о наличии достоверного защитного эффекта от применения мультвалентной ДНК-вакцины.

В данной работе изучался защитный эффект мультвалентной ДНК-вакцины. Для доставки плазмидной ДНК в клетки было решено использовать линейный полиэтиленимин. Этот хорошо известный реагент часто используется для трансфекции ДНК *in vivo*, в том числе есть примеры его использования в клинических испытаниях на людях [7]. Кроме того, этот реагент относительно дешевый, что крайне важно, так как в ветеринарии дорогие вакцины использоваться не будут.

Для приготовления комплексов ДНК-полиэтиленимин мы использовали соотношение ДНК:полиэтиленимин 1:4, которое близко к оптимальному при трансфекции культуры клеток НЕК293. Надо отметить, что подобранное на культурах клеток соотношение может быть не оптимальным для трансфекции животных и человека используются, как правило, соотношения ДНК-полиэтиленимин от 1:0.5 до 1:2 (масса:масса) [7]. Частично это связано с желанием уменьшить количество инъецируемого полиэтиленимина, который может быть токсичен. Мы использовали повышенное количество полиэтиленимина, так как мы предполагали работать с животными (в этом случае требования безопасности не такие строгие), и ранее мы не наблюдали токсичности полиэтиленимина при внутримышечном введении.

Особенностью приготовления комплексов для иммунизации животных является необходимость в их высокой концентрации. Максимальный объем, который можно инъецировать мышце в бедренную мышцу, составляет 50 мкл. Желательно, чтобы в этом объеме содержалось хотя бы 20 мкг ДНК, что является довольно малым количеством для иммунизации. Таким образом, концентрация ДНК должна быть не менее 0.4 мкг/мкл, что примерно в 40 раз превышает привычные концентрации ДНК, которые используются при приготовлении комплексов ДНК-полиэтиленимин при трансфекции клеток *in vitro*. Как видно из наших данных (таблица 1), приготовление комплексов при высоких концентрациях ДНК приводит к увеличению размеров комплексов, что нежелательно при трансфекции животных. Одним из вариантов решения данной проблемы может являться подход, предложенный [8], который заключается в приготовлении комплексов с низкой концентрацией реагентов в присутствии гиалуроновой кислоты. Приготовленные комплексы высушиваются и растворяются в небольшом количестве воды, что приводит к увеличению итоговой концентрации комплексов. Необходима проверка, сработает ли такой подход в нашем случае, также неясно,

насколько такие манипуляции повысят стоимость вакцины. Стоит отметить еще одну проблему, связанную с приготовлением комплексов ДНК-полиэтиленимин при высокой концентрации ДНК: при приготовлении больших объемов комплексов ДНК-полиэтиленимин для вакцинации животных мы наблюдали образование небольшого преципитата. Вероятно, часть комплексов в данных условиях агрегирует. Причины данного явления и способы избежать его до конца не ясны. Возможно, перемешивание в больших объемах способствует возникновению локальных неоднородностей в соотношении ДНК-полиэтиленимин. Предположительно, при зарядовом соотношении ДНК-полиэтиленимин 1:1 образуются незаряженные частицы, которые слипаются. Также возможно влияние не до конца учтенных факторов, таких как способ очистки ДНК, ее молекулярная масса, партия полиэтиленимина. При приготовлении комплексов с низкой концентрацией ДНК образование преципитата мы никогда не наблюдали. Литературные данные по этому вопросу неоднозначны. Во многих статьях описывается приготовление комплексов ДНК-полиэтиленимин с высокой концентрацией ДНК, при этом образование преципитата не упоминается. Однако есть работы, в которых авторы сталкивались с аналогичным эффектом и предлагают методы борьбы с ним [9]. Таким образом, требуются дальнейшие исследования для оптимизации методики формирования комплексов ДНК-полиэтиленимин при высоких концентрациях ДНК.

Однократная вакцинация низкой дозой комплексов ДНК-полиэтиленимин привела к выработке у мышей иммунитета к последующему заражению тестовым штаммом бруцеллы. Тем не менее выработанный иммунитет не обеспечивал высокий уровень защиты: у некоторых иммунизированных мышей обнаруживался небольшой уровень бруцелл в исследуемых образцах через 18 дней после введения тестового штамма. Дальнейшая оптимизация данной вакцины, включающая в себя оптимизацию способа доставки, вектора и кратности введения, может привести к созданию эффективной и безопасной вакцины против бруцеллеза.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, соглашение № 075-15-2023-589

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

У авторов отсутствуют потенциальные и явные конфликты интересов, связанные с рукописью.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ
И СТАНДАРТОВ

Работа с животными была одобрена комиссией по контролю за содержанием и использованием животных ИБХ РАН, протокол 386/2024 от 09.02.2024.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., et al., The new global map of human brucellosis, *Lancet Infect. Dis.* 2006. Vol. 6, № 2, P. 91–99.
2. Pappas, G., Akritidis, N., Bosilkovski, M., and Tsianos, E., *Brucellosis*, *N. Engl. J. Med.* 2005. Vol. 352. № 22, P. 2325–2336.
3. Xie, J., Wang, J., Li, Z., et al., Ontology-Based Meta-Analysis of Animal and Human Adverse Events Associated With Licensed Brucellosis Vaccines, *Front. Pharmacol. Med.* 2005. Vol. 352. № 22. P. 503.
4. Ivanov, A.V., Salmakov, K.M., Olsen, S.C., Plumb, G.E., A live vaccine from *Brucella abortus* strain 82 for control of cattle brucellosis in the Russian Federation, *Anim. Health. Res. Rev.* 2011. Vol. 12, № 1. P. 113–121.
5. Девришов, Д.А., Эльшазли, М.А., Антигенная активность рекомбинантных ДНК *B. melitensis* Rev-1, *Ветеринария, зоотехния и биотехнология.* 2019. № 10. С. 7–14.
6. Yu, D.H., Hu, X.D., and Cai, H., A combined DNA vaccine encoding BCSP31, SOD, and L7/L12 confers high protection against *Brucella abortus* 2308 by inducing specific CTL responses, *DNA Cell Biol.* 2007. Vol. 26, № 6. P. 435–443.
7. Casper, J., Schenk, S.H., Parhizkar, E., et al., Polyethylenimine (PEI) in gene therapy: Current status and clinical applications, *J. Control. Release.* 2023. Vol. 362. P.667–691.
8. Ito, T., Yoshihara, C., Hamada, K., and Koyama, Y., DNA/polyethyleneimine/hyaluronic acid small complex particles and tumor suppression in mice, *Biomaterials.* 2010. Vol. 31. № 10. P. 2912–2918.
9. Sharma, V.K., Thomas, M., Klibanov, A.M., Mechanistic studies on aggregation of polyethyleneimine-DNA complexes and its prevention, *Biotechnol. Bioeng.* 2005. Vol. 90. № 5. P. 614–620.

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS
OF A MULTIVALENT DNA VACCINE AGAINST BRUCELLOSIS

Y. M. Khodarovich¹*, M. A. Elshazly², S. N. Marzanova³,
S. Magomedova³, W. S. Shell², S. A. Nassif²,
Corresponding Member of the RAS D. A. Devrishov³,
Academician of the RAS S. M. Deyev¹

¹Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

²Central Laboratory for Evaluation of Veterinary Biologics (CLEVB)-Agriculture Research Center (ARC), Cairo, Egypt

³Federal State Educational Institution of Higher Professional Education Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation

*e-mail: khodarovich@mail.ru

Vaccination against brucellosis is currently carried out using attenuated strains of live brucellae, which causes serious side effects in animals and is of little use for human vaccination. In order to develop a safer vaccine against brucellosis, we created plasmid DNA capable of expressing six brucellae proteins in mammalian cells. Linear polyethyleneimine was used to increase the efficiency of DNA delivery to cells. Data on optimization of the conditions for the formation of DNA-polyethyleneimine complexes are presented. It is shown that a single intramuscular or subcutaneous injection of plasmid DNA complexes with polyethyleneimine at a low dose (20 µg/mouse) has a reliable protective effect against subsequent infection of mice with a test strain of brucellae.

Keywords: brucellosis, DNA vaccine, polyethyleneimine, polycistronic RNA, in vivo transfection