



УДК 547.963.320.57; 577.214.622

**РЕКОМБИНАНТНЫЕ ПЛАЗМИДЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ГЕНЫ ГИБРИДНЫХ БЕЛКОВ С АНТИГЕННОЙ ДЕТЕРМИНАНТОЙ ВИРУСА ЯЩУРА***Черенькая Е. А., Гуревич А. И., Горобко В. Г.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

Сконструированы рекомбинантные ДНК, содержащие гены гибридов  $\beta$ -галактозидазы *E. coli* и лейкоцитарного  $\alpha 2$  человека с мономерной и пентамерной последовательностью антигенной детерминанты вируса ящура (серотип О1К). Изучены экспрессия в *E. coli* гибридных генов и свойства кодируемых ими белков.

Одним из подходов к получению искусственных вакцин против вирусных инфекций является получение гибридных белков, несущих антигенные детерминанты вирусов. Особенно актуальна эта задача в случае вируса ящура, отличающегося высокой вариабельностью поверхностных антигенов (известно 7 серотипов и более 60 подтипов вируса). Ранее было установлено, что иммунологически важным у вируса ящура (FMDV) является белок оболочки VP1 [1]; в серотипах О1 и А12 вируса иммуногенный эпитоп локализован в последовательности аминокислот 141–160 этого белка [2–5]. Синтетические пептиды, содержащие эту последовательность, индуцировали образование антител, специфически реагирующих с белком VP1 и с FMDV, однако они обладали слабой иммуногенностью, и титр получающихся антител был низким при использовании в качестве антигенов как самих пептидов, так и их конъюгатов с различными белками-носителями [3, 6]. Недавно было показано, что присоединение к пептиду антигенной детерминанты с С- или N-конца аминокислотной последовательности 200–213 белка VP1 в значительной степени усиливает его иммуногенные свойства [7]. В настоящей работе мы описываем конструирование плазмид, кодирующих гибридные белки с антигенной детерминантой вируса ящура в качестве возможных искусственных антигенов. Для этой цели были использованы синтетические гены ADO: мономерная и пентамерная последовательности, клонированные в плаزمидах pFVD5 pFMD50 [8, 9]. Нуклеотидная последовательность соответствующих участков этих плазмид приведена на рис. 1.

В качестве одного из белков-носителей для ADO мы выбрали  $\beta$ -галактозидазу *E. coli* (GAL). Полипептидная цепь этого фермента, содержащая 1023 аминокислотных остатка, может быть условно разделена на три части:  $\alpha$ -область (N-концевой участок, менее 75 аминокислот),  $\beta$ -область, в которую входит центральная часть молекулы (между 76-м и 775-м аминокислотными остатками), и  $\omega$ -область (C-концевой участок, менее 250 аминокислотных остатков). Мутации в  $\alpha$ - и  $\omega$ -областях, приводящие к потере ферментативной активности, могут быть компенсированы за счет  $\alpha$ - и  $\omega$ -комплементации с соответствующими пептидными фрагментами [10]. Активный фермент имеет тетрамерную структуру; мономер легко ассоциирует в тетрамер и другие высшие агрегаты, обладающие ферментативной

Сокращения: GAL –  $\beta$ -галактозидаза, LIF – лейкоцитарный интерферон  $\alpha 2$  человека, FMDV – вирус ящура, ADO – антигенная детерминанта вируса ящура (аминокислотная последовательность 141–160 белка VP1 серотипа О1К вируса ящура), X-Gal – 5-бром-4-хлор-3-индолил- $\beta$ -D-галактопиранозид, IPTG – изопропилтио- $\beta$ -D-галактопиранозид, NH<sub>2</sub>PhSGal-сефароза – *n*-аминофенил- $\beta$ -D-галактозил – сукцинил-многоексилсефароза 4В, SDS – додецилсульфат натрия.

...GluPheGlnLeuSerAlaGlyArgTyrHisTyrGlnLeuValTrpCysArgGlySerGluAspPro-  
 GAATTCAGCTGAGCGCCGGTCTGATACCATTACCAGTTGGTGTGGTGTCTGGGGATCCGAAGACCCG-  
 EcoRI MspI BamHI BbvII

141 ————— ADO ————— 160  
 Pro ValProAsnLeuArgGlyAspLeuGlnValLeuAlaGlnLysValAlaArgThrLeuPro Gly-  
 CCT GTGCCCAACTTGAGAGGTGACSTTCAGGTGTTGGCTCAAAGGTGGCACGGACGCTGCTT GGG-  
 n

SerSerAsnSerLysLeuIleAspAspLysLeuSerAsnMetArgIleLeuGluAspGluArgAlaSerTER  
 TCTTCGAATCCAAGCTTATCGATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATCTTGAAGACGAALGGGCTCTGTA  
 BbvII EcoRI HindIII EcoRI

Рис. 1. Фрагмент структуры плазмид pFMD5 (n=1) и pFMD50 (n=5), содержащий синтетические гены, кодирующие ADO. Приведена кодируемая аминокислотная последовательность GAL-ADO. Указаны сайты рестриктаз, подчеркнута последовательность зонда 1. TER — терминирующий кодон

94 ————— LIF ————— 164  
 ...AspLeuGluAla... ...LeuGlnGluSerLeuArgSerLysAspArgSerGluAspPro-  
 ...GACCTCGAGGCT... ...CTGCAAGAATCTCTGCGTTCTAAGGATCGATCCGAAGACCCG-  
 BbvII

141 ————— ADO ————— 160  
 Pro ValProAsnLeuArgGlyAspLeuGlnValLeuAlaGlnLysValAlaArgThrLeuPro Gly-  
 CCT GTGCCCAACTTGAGAGGTGACSTTCAGGTGTTGGCTCAAAGGTGGCACGGACGCTGCTT GGG-  
 5

SerSerAsnSerLysLeuGlyGluIlePheArgSerTER  
 TCTTCGAATCCAAGCTTGGCGAGATTTTCAGGAGCTAA  
 BbvII EcoRI HindIII

Рис. 2. Фрагмент структуры плазмиды pFMD65. Сверху приведена кодируемая аминокислотная последовательность. Указаны сайты рестриктаз. Двойной чертой подчеркнута место «тупоконечной» сшивки при клонировании

активностью. Неактивные мутанты, способные к  $\alpha$ - и  $\omega$ -комплементации, существуют в виде димеров; комплементация приводит к конформационным изменениям и в результате к тетрамерным структурам [11–13]. Центр связывания субстрата лежит в  $\beta$ -области, и, вероятно, к нему относятся два участка: приблизительно между аминокислотными остатками 200–400 и 600–700 [10]. В этой же области расположены антигенные детерминанты GAL. При связывании с антителами конформация белка стабилизируется и увеличивается способность к комплементации мутантов [10, 14, 15]. Антитела к  $\omega$ -комплементирующему фрагменту реагируют и с целым белком [15] в отличие от антител к  $\alpha$ -комплементирующему пептиду 1–75. Отсюда с большой вероятностью следует, что N-концевой фрагмент не находится на поверхности белка. Таким образом, можно предположить, что в С-концевом гибриде пептидный фрагмент, спаянный с GAL, будет экспонированным не только в мономерной, но и в тетрамерной структуре. С другой стороны, было найдено, что как С-концевые, так и N-концевые гибриды с GAL, сохраняющие ферментативную активность, дают положительную реакцию с антителами к спаянному с ферментом антигену [16].

На основании вышеизложенного нам казалось предпочтительным применение в качестве искусственных вакцин С-концевых гибридов GAL-ADO. Для получения гена химерного белка мы использовали в качестве вектора

плазмиду pUR291 [17]. В этой плазмиде вслед за геном *lacZ*, кодирующим GAL, имеется полилинкерная последовательность, включающая сайт узнавания рестриктазы *Bam*HI, расположенный в той же рамке считывания, что и в плазмидах pFMD5 и pFMD50 перед генами, кодирующими ADO (см. рис. 1). Однако второй уникальный сайт рестриктазы (*Eco*RI), расположенный в плазмидах pFMD за целевыми участками, нельзя было использовать непосредственно для клонирования, поскольку в векторе pUR291 имеется два сайта этой рестриктазы: один из полилинкеров, а второй в конце гена *lacZ* (аминокислоты 1006–1007, рис. 1). Поэтому мы сначала встроили в *Eco*RI-сайты плазмид pFMD5 и pFMD50 самокомплементарный тетрадекануклеотидный адаптер d(AATCCAAGCTTGG), содержащий сайт *Hind*III, затем вырезали из получившихся плазмид *Bam*HI/*Hind*III-фрагменты величиной 93 и 333 п. о. соответственно, которые направленно встроили в ДНК вектора между сайтами тех же рестриктаз *Bam*HI и *Hind*III. Рекомбинантные плазмиды отбирали после трансформации клеток *E. coli* TG1 на LB-агаре, содержащем ампициллин (100 мкг/мл) X-Gal и IPTG, путем гибридизации с <sup>32</sup>P-меченым зондом I. Строение полученных таким образом плазмид pFMD51 и pFMD55 подтверждали рестриктным анализом и определением нуклеотидной последовательности *Eco*RI-фрагмента.

Представляло интерес также получение рекомбинантной плазмиды, кодирующей гибрид ADO с лейкоцитарным интерфероном  $\alpha 2$  человека (LIF). Известно, что в этом белке, состоящем из 165 аминокислотных остатков, более 50% структуры занимают  $\alpha$ -спирализованные участки и 16% участки  $\beta$ -складок [18], а две дисульфидные связи организуют молекулу таким образом, что образуется глобула с центральным гидрофобным кором, включающая почти всю полипептидную цепь, кроме C-концевого участка (25 аминокислотных остатков) [19]. Следовательно, можно ожидать, что в C-концевом гибриде LIF с ADO последняя окажется экспонированной, а сам гибридный белок перспективным для использования в качестве вакцины.

С целью получения такого гибрида мы использовали в качестве вектора плазмиду pIFT2/1, содержащую искусственный ген, кодирующий LIF, в дистальной части которого имеется нуклеотидная последовательность с сайтом *Bam*HI (см. рис. 2) и через 600 нуклеотидов от него сайт рестриктазы *Hind*III. Для слияния генов, кодирующих LIF и ADO, плазмиду pFMD55 расщепили рестриктазой *Bam*HI, затем достроили выступающие концы с помощью ДНК полимеразы I *E. coli* (фрагмент Кленова) и снова гидролизовали рестриктазой *Hind*III. Малый фрагмент, очищенный электрофорезом в 6% ПААГ, лигировали с вектором, полученным при помощи той же последовательности операций из плазмиды pIFT2/1. После трансформации компетентных клеток *E. coli* скрининг колоний, содержащих рекомбинантную плазмиду, проводили гибридизацией с <sup>32</sup>P-меченым олигонуклеотидом I. Таким образом, была получена плаزمида pFMD65 (рис. 2), которая кодирует гибрид лейкоцитарного интерферона  $\alpha 2$  и пентамера ADO. Строение полученной плазмиды подтверждали рестриктным анализом, а также определением нуклеотидной последовательности *Xho*I/*Hind*III-фрагмента.

Мы изучили свойства некоторых гибридных белков, содержащих в своем составе ADO. Биосинтез гибридов GAL-ADO в клетках *E. coli* TG1, содержащих плазмиды pFMD51 или pFMD55, проходил при индукции с помощью IPTG; в результате выход гибридных белков составлял (по данным электрофореза в ПААГ) 30–35% суммы клеточных белков и после очистки удавалось выделить до 100 мг белка из 1 л культуры. Для очистки использовали аффинную хроматографию на NH<sub>2</sub>PhSGal-сефарозе. Однако, если выделение гибрида с мономерной ADO не представило особых трудностей, в случае гибрида с пентамерной ADO оказалось, что белок обладает низкой растворимостью и при препаративном выделении удавалось получить в очищенном состоянии лишь 10–20% от исходного количества. Следует отметить, что практически во всех клеточных культурах гибридам GAL-ADO, судя по данным SDS-электрофореза в ПААГ, сопутствова-

ли продукты деградации, по размеру практически не отличавшиеся от GAL (см. рис. 3) и сохранившие ферментативную активность. Удельная активность полученных препаратов GAL-ADO составляла  $(170-180) \cdot 10^3$  уд. акт/мг (мономер ADO) и  $(210-220) \cdot 10^3$  уд. акт/мг (пентамер ADO), т. е. незначительно отличалась от активности самого фермента. Это позволяет предположить, что полученные гибридные белки имеют структуру тетрамеров.

Мы исследовали также иммунные свойства гибридов GAL с мономером и пентамером ADO. Оказалось, что осветленные лизаты клеток *E. coli*, содержащих плазмиды rFMD51 и rFMD55, при двойной радиальной диффузии в агарозе [20] дают четкие полосы преципитации с кроличьей антисывороткой против  $\beta$ -галактозидазы, а также с антисывороткой кролика против пептида 136-148 белка VP1 вируса ящура. В то же время в случае кроличьей антисыворотки против целого вируса ящура полос преципитации не было. Отсутствие полос преципитации можно, по-видимому, объяснить либо недостаточной чувствительностью метода, либо тем, что гибридные белки неспособны связываться с антителами против вируса ящура.

Чтобы проверить правильность наших предположений, мы использовали более чувствительный метод твердофазного иммуноферментного анализа. При этом мы проводили анализ в двух вариантах сэндвичей. В первом случае мы иммобилизовали на пластике свиные антитела против серотипа O1K FMDV, которые связывали из лизата белки, содержащие ADO. В качестве вторых антител использовали кроличьи антитела против  $\beta$ -галактозидазы. Для контроля специфичности взаимодействия брали в качестве первых антител сыворотку неинфицированной FMDV свиньи. Во втором варианте первым слоем сэндвича были антитела перепелки против  $\beta$ -галактозидазы, а в качестве вторых антител использовали кроличью антисыворотку против FMDV O1K. В обоих вариантах последним слоем сэндвича был конъюгат пероксидазы хрена с антисывороткой лошади против иммуноглобулинов кролика. Окрашивание проводили с помощью о-фенилендиамина. Во втором случае в качестве контроля использовали лизаты клеток, содержащих  $\beta$ -галактозидазу *E. coli* и не содержащих ADO. При этом окрашивание наблюдалось только в случае лизатов клеток, несущих плазмиды rFMD51 и rFMD55, причем, как и ожидалось, окрашивание было значительно более интенсивным в случае гибрида с пентамерной ADO.

Наконец, чтобы убедиться, что при иммуноферментном анализе проявляется взаимодействие именно с гибридами GAL-ADO, мы дополнительно провели анализ методом иммуноблоттинга (см. рис. 3). Для этого суммарные клеточные белки разделяли в 7,5% SDS-ПААГ, затем переносили на нитроцеллюлозу и проводили анализ как описано в работе [21]. В качестве первых антител использовали антисыворотку

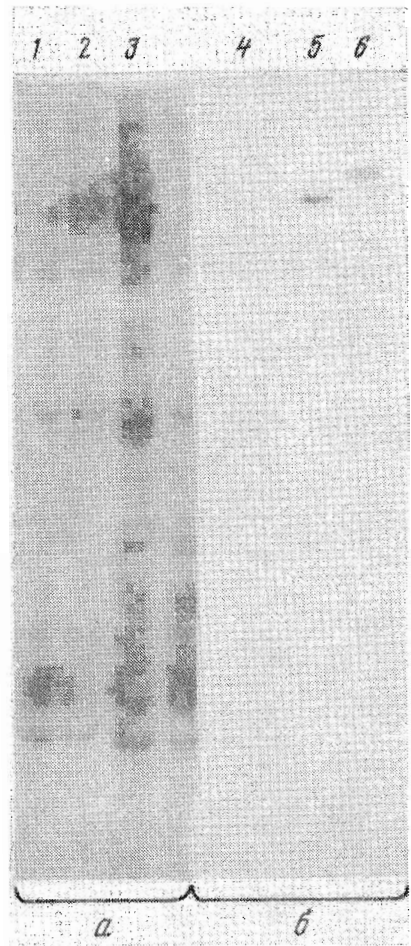


Рис. 3. Электрофорез (а) и иммуноблот (б) с антивирусной антисывороткой кролика лизатов клеток *E. coli* TG1, несущих плазмиду pUR291 (1 и 4) и плазмиды rFMD51 и rFMD55 (2 и 5, 3 и 6 соответственно)

воротку кролика против целого FMDV O1K. При этом диаминобензидином окрашивались только белки, соответствующие по размеру гибридам GAL-ADO.

Таким образом, сконструированы рекомбинантные плазмиды, содержащие гены гибридов  $\beta$ -галактозидазы и лейкоцитарного интерферона  $\alpha 2$  человека с мономером и пентамером главной антигенной детерминанты серотипа O1K вируса ящура. Показано, что гибриды с  $\beta$ -галактозидазой специфически взаимодействуют с антителами к целому вирусу ящура и к фрагменту 136—148 основного поверхностного антигена вируса — белка VP1. Дополнительные исследования покажут, возможно ли использование изученных гибридных белков для моделирования иммунного ответа животных на вирусную инфекцию.

Авторы выражают благодарность В. Н. Добрынину за химический синтез *Hind*III-адаптера и за  $\text{NH}_2\text{PhSGal}$ -сефарозу, В. Н. Иванюченкову (ВНИИЯИ Госагропрома СССР, Владимир) за кроличью антисыворотку против FMDV O1K, А. Ю. Суровому за антитела к пептиду 136—148 белка VP1 FMDV O1K, а также д-ру Х. Марквардту (Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Тюбинген, ФРГ) за свиную антисыворотку против FMDV O1K и контрольную свиную сыворотку. Авторы благодарны М. Д. Коростылевой (Московская ветеринарная академия) за помощь при проведении двойной радиальной иммунодиффузии, О. Г. Шамборант и Н. П. Берковой за помощь в экспериментах по иммуноферментному анализу и по иммуноблоттингу.

#### Экспериментальная часть

Общие сведения об эксперименте см. [21]. Реактивы: трис, акриламид, N,N'-метиленабисакриламид, персульфат аммония (Merck, ФРГ); N,N,N',N'-тетраметиленамин (Reanal, Венгрия); агароза, АТФ, dNTP's, бромистый этидий, кумасси R250, X-Gal, IPTG (Sigma, США), мочевины, ос. ч., цезий хлористый, ос. ч. (Союзреактив); [ $\alpha$ - $^{31}\text{P}$ ] АТФ, [ $\alpha$ - $^{32}\text{P}$ ] dNTP's >3000 Ки/ммоль (Amersham, Англия); SDS (Serva, ФРГ), концентрат красителя для определения белка (Bio-Rad, США).

Ферменты: T4-ДНК-лигаза, T4-полинуклеотидкиназа, ДНК-полимераза *E. coli* (фрагмент Кленова) и рестрикционные эндонуклеазы *Eco*RI и *Bam*HI выделены как описано в работе [22], рестриктазы *Hind*III, *Msp*I (НПО «Фермент», Вильнюс), *Xho*I (PL Biochemical), *Bsp*RI (Reanal), конъюгат антител лошади против иммуноглобулинов кролика с пероксидазой хрена (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, Москва).

Клонирование и анализ клонов проводили как описано в работе [9]. Нуклеотидную последовательность определяли твердофазным методом частичных химических модификаций [23]. Белковый электрофорез и иммуноблоттинг проводили как описано в работах [24] и [21]. Активность  $\beta$ -галактозидазы определяли по методу [25]. Концентрацию белка определяли при помощи белкового теста фирмы Bio-Rad (США), используя бычий сывороточный альбумин для построения калибровочных кривых.

Твердофазный иммуноферментный анализ. Для анализа использовали 96-луночные платы фирмы Costar (США). В промытые этанолом сухие лунки приливали 50 мкл соответствующим образом разбавленных антител в PBS-буфере (50 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (рН 7,5), 0,5 М NaCl), содержащем 0,05% тви-20 (PBST). Через 16 ч при 4°С плату промывали 5—6 раз 150 мкл буфера PBST, после чего прибавляли 100 мкл 1% альбумина в PBST и инкубировали 1 ч при 37°С. После нескольких промывок PBST-буфером в лунки приливали 50 мкл антигена в буфере PBST и платы инкубировали 3—4 ч при 37°С. Затем раствор сливали и лунки вновь промывали 5—6 раз буфером PBST, приливали раствор вторых антител в PBST и инкубировали 3 ч при 37°С. После этого в лунки приливали раствор конъюгата антител против иммуноглобулинов кролика с пероксидазой хрена в буфере PBST, содержащем 2% бычьего сывороточного альбумина, и пластины выдерживали 16 ч при 4°С. Затем лунки тщательно промывали буфером PBS, после чего проводили окрашивание 0,04% *o*-фенилендиамином в присутствии 0,05% перекиси водорода, как описано в работе [26].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bachrach H. L., Moore D. M., McKercher P. D., Polatnick J.* // *J. Immunol.* 1975. V. 115. № 6. P. 1636–1641.
2. *Bittle J. L., Houghten R. A., Alexander H., Shinnick T. M., Sutcliffe J. G., Lerner R. A., Rowlands D. J., Brown F.* // *Nature.* 1982. V. 298. № 5869. P. 30–33.
3. *Pfaff E., Mussgay M., Boehm H. O., Schulz G. E., Schaller H.* // *EMBO J.* 1982. V. 1. № 7. P. 869–874.
4. *Geysen H. M., Melonen R. H., Barteling S. J.* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1984. V. 81. № 13. P. 3998–4002.
5. *Rowlands D. J., Clarke B. E., Carroll A. R., Brown F., Nicholson B. H., Bittle J. L., Houghten R. A., Lerner R. A.* // *Nature.* 1983. V. 306. № 5944. P. 694–697.
6. *Beck E., Feil G., Strohmaier K.* // *EMBO J.* 1983. V. 2. № 4. P. 555–559.
7. *DiMarchi R., Brooke G., Gale C., Cracknell V., Doel T., Mowat N.* // *Science.* 1986. V. 232. № 4750. P. 639–641.
8. *Коробко В. Г., Добрынин В. Н., Болдырева Е. Ф., Северцова И. В., Колосов М. Н.* // *Докл. АН СССР.* 1984. Т. 278. № 5. С. 1250–1253.
9. *Коробко В. Г., Добрынин В. Н., Северцова И. В., Болдырева Е. Ф., Шингарова Л. Н., Чувило С. А., Филиппова Л. Ю., Звонок Н. М., Васильева Т. Е., Колосов М. Н.* // *Биоорган. химия.* 1987. Т. 13. № 1. С. 69–81.
10. *Zabin I., Fowler A. V.* // *The Operon*, Eds Miller J. H., Reznikoff W. S. Cold Spring Harbor Lab., 1980. P. 89–121.
11. *Goldberg A. L.* // *The Lactose Operon*, Eds Beckwith J. R., Zipser D. Cold Spring Harbor Lab., 1970. P. 273–290.
12. *Langley K. E., Zabin I.* // *Biochemistry.* 1976. V. 15. № 22. P. 4866–4875.
13. *Marincovic D. V., Tang J.* // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1971. V. 45. № 5. P. 1288–1293.
14. *Berg A. P., Fowler A. V., Zabin I.* // *J. Bacteriol.* 1970. V. 101. № 2. P. 438–443.
15. *Celada F., Ullmann A., Monod J.* // *Biochemistry.* 1974. V. 13. № 27. P. 5543–5547.
16. *Koenen M., Griesser H.-W., Muller-Hill B.* // *DNA Cloning*/Ed. Glover D. M. IRL Press, 1985. V. 1. P. 89–100.
17. *Ruther U., Muller-Hill B.* // *EMBO J.* 1983. V. 2. № 10. P. 1791–1794.
18. *Hayes T. G.* // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1980. V. 95. № 2. P. 872–879.
19. *Pestka S.* // *Arch. Biochem. and Biophys.* 1983. V. 221. № 1. P. 1–37.
20. *Остерман Л. А.* // Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами./Ред. Георгиев Г. П. М.: Наука, 1983. С. 124–127.
21. *Добрынин В. Н., Беркова Н. П., Болдырева Е. Ф., Быстров Н. С., Кравченко В. В., Филиппов С. А., Чувило С. А., Шамборант О. Г., Коробко В. Г.* // *Биоорган. химия.* 1988. Т. 14. № 11. С. 1530–1537.
22. *Гуревич А. И., Бабий Н. И., Некрасова О. В., Черненко Е. А., Колосов М. Н.* // *Биоорган. химия.* 1985. Т. 11. № 10. С. 1356–1360.
23. *Чувило С. А., Кравченко В. В.* // *Биоорган. химия.* 1983. Т. 9. № 12. С. 1634–1637.
24. *Laemmli U. K.* // *Nature.* 1970. V. 227. № 5229. P. 680–685.
25. *Миллер Д.* // Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир, 1976. С. 324–327.
26. *Tsang V. C. W., Peralta J. M., Simons A. R.* // *Meth. Enzymol.* 1983. V. 92. P. 377–390.

Поступила в редакцию  
15.IX.1988

PLASMIDS CONTAINING GENES FOR CHIMERIC PROTEINS  
WITH ANTIGENIC DETERMINANTS OF THE FOOT-AND-MOUTH  
DISEASE VIRUS

CHERNENKAYA E. A., GUREVICH A. I., KOROBKO V. G.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,  
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Plasmids have been constructed which contain genes coding for fused proteins including  $\beta$ -galactosidase or human leukocyte interferon  $\alpha 2$  and monomeric or pentameric form of the main antigenic determinant of the foot-and-mouth disease virus (FMDV) serotype O1K. Expression of the hybrid genes has been studied. It is shown that fused proteins, containing  $\beta$ -galactosidase and the antigenic determinant (monomer or pentamer), interact specifically with anti-FMDV anti-sera and with antibodies against peptide 141–160 of FMDV VP1 coat protein.