

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ ORF2 И ORF3 В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА E

<sup>1,3</sup>И. С. Задора, <sup>1</sup>С. В. Жаворонок, <sup>1,2</sup>Л. А. Анисько, <sup>1,2</sup>Т. А. Рогачева, <sup>3</sup>В. В. Сими́рский, <sup>3</sup>А. И. Щербань, <sup>3</sup>Н. В. Шука, <sup>4</sup>Г. И. Алаторцева, <sup>4</sup>Л. Н. Притворова, <sup>4</sup>Л. Н. Нестеренко, <sup>4,5</sup>В. В. Зверев



<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Городская клиническая инфекционная больница, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Унитарное предприятие «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

<sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Российская Федерация

<sup>5</sup>Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

**Введение.** Вирус гепатита E (ВГЕ), вызывающий инфекционное заболевание у человека, классифицируется как вид *Paslahepevirus balayani*. В состав генома вируса входят 3 открытые рамки считывания (ORF). ORF2 кодирует основной капсидный белок вириона ВГЕ, участвующий в формировании вирусной частицы. Белок ORF3 критически необходим для выхода вирионов из клетки и формирования инфекционных частиц.

**Цель исследования** – изучить иммунологическую эффективность использования рекомбинантных антигенов – аналогов белка ORF2 и ORF3 3-го генотипа ВГЕ.

**Материал и методы.** Использованы 96-луночные разборные планшеты, рекомбинантные полипептиды ORF2 и ORF3 3-го генотипа ВГЕ, 26 образцов сывороток крови людей, содержащих антитела класса M (IgM), 29 образцов сывороток крови людей, содержащих антитела класса G (IgG).

**Результаты.** Установлены статистически достоверные различия между рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 ВГЕ 3-го генотипа для детекции IgM ( $U=384,500$ ;  $p<0,001$ ). Оптическая плотность (ОП) образцов при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF2 превышает ОП проб при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF3 в 4,4 (2,657–7,076) раза. Установлены статистически достоверные различия для детекции IgG между рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 ( $U=317,500$ ;  $p<0,001$ ). ОП образцов при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF2 превышает ОП проб при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF3 в 76,0 (26,22–140,89) раза.

**Заключение.** Капсидный белок ORF2 ВГЕ является главным антигеном, ответственным за формирование антител класса IgM и IgG при ВГЕ-инфекции. Это подтверждается наличием иммунодоминантных эпитопов в структуре ORF2, доминирующей реактивностью сывороток пациентов, использованием ORF2 в серологической диагностике. Антитела класса IgG против ORF2 являются основой для оценки постинфекционного иммунного ответа. Регуляторный белок ORF3 не играет ведущей роли в индукции IgM- и IgG-ответа и обладает ограниченной антигенной значимостью.

**Ключевые слова:** вирус гепатита E, ВГЕ, ORF2, ORF3, иммуноферментный анализ, ИФА

## USING RECOMBINANT ORF2 AND ORF3 POLYPEPTIDES IN LABORATORY DIAGNOSIS OF VIRAL HEPATITIS E

<sup>1,3</sup>I. S. Zadora, <sup>1</sup>S. V. Zhavoronok, <sup>1,2</sup>L. A. Anisko, <sup>1,2</sup>T. A. Rogacheva, <sup>3</sup>V. V. Simirsky, <sup>3</sup>A. I. Shcherban, <sup>3</sup>N. V. Shchuka, <sup>4</sup>G. I. Alatortseva, <sup>4</sup>L. N. Pritvorova, <sup>4</sup>L. N. Nesterenko, <sup>4,5</sup>V. V. Zverev

<sup>1</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>City Clinical Infectious Diseases Hospital, Minsk, Belarus

<sup>3</sup>Unitary Enterprise «Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Belarus

<sup>4</sup>Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera», Moscow, Russian Federation

<sup>5</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

**Background.** Hepatitis E virus, which causes an infectious disease in humans, is classified as the species *Paslahepevirus balayani*. The viral genome contains three open reading frames (ORFs). ORF2 encodes the major capsid protein of the HEV virion, which is involved in the assembly of viral particles. The ORF3 protein is critically required for virion egress from the cell and for the formation of infectious particles.

**Objective.** To study the immunological effectiveness of using recombinant antigens that are analogs of the ORF2 and ORF3 proteins of hepatitis E virus genotype 3.

**Material and methods.** 96-well breakable plates, recombinant polypeptides ORF2 and ORF3 of HEV genotype 3, 26 human serum samples containing IgM antibodies, and 29 human serum samples containing IgG antibodies were used.

**Results.** Statistically significant differences were established between the recombinant ORF2 and ORF3 polypeptides of hepatitis E virus genotype 3 for the detection of IgM-class antibodies ( $U = 384.500$ ;  $p < 0.001$ ). The optical density (OD) values of samples obtained using sensitized recombinant ORF2 polypeptide exceeded those obtained using sensitized recombinant ORF3 polypeptide by 4.4-fold (2.657–7.076). Statistically significant differences were also observed between the recombinant ORF2 and ORF3 polypeptides for the detection of IgG-class immunoglobulins ( $U = 317.500$ ;  $p < 0.001$ ). The OD values of samples with sensitized recombinant ORF2 polypeptide exceeded those obtained with sensitized recombinant ORF3 polypeptide by 76.0-fold (26.22–140.89).

**Conclusion.** The ORF2 capsid protein of hepatitis E virus is the principal antigen responsible for the induction of IgM- and IgG-class antibodies during HEV infection. This is supported by the presence of immunodominant epitopes within the ORF2 structure, the dominant reactivity of patient sera, and the widespread use of ORF2 in serological diagnostics. IgG antibodies directed against ORF2 constitute the basis for the assessment of post-infectious immune responses. In contrast, the regulatory ORF3 protein does not play a leading role in the induction of IgM and IgG responses and has limited antigenic significance.

**Keywords:** hepatitis E virus, HEV, ORF2, ORF3, ELISA.

**Автор, ответственный за переписку**

Задора Илона Сергеевна, УО «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: zadora-ilona@mail.ru, ORCID: 0000-0003-2231-1785

**Corresponding author:**

Zadora Ilona S., Belarusian State Medical University, e-mail: zadora-ilona@mail.ru

**Для цитирования:** Использование рекомбинантных полипептидов ORF2 и ORF3 в лабораторной диагностике вирусного гепатита E / И. С. Задора, С. В. Жаворонок, Л. А. Анисько, Т. А. Рогачева, В. В. Смирский, А. И. Щербань, Н. В. Щука, Г. И. Алаторцева, Л. Н. Притворова, Л. Н. Нестеренко, В. В. Зверев // Гепатология и гастроэнтерология. 2026. Т. 10, № 1. С. 38–43. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2026-10-1-38-43>

**For citation:** Zadora IS, Zhavoronok SV, Anisko LA, Rogacheva TA, Simirsky VV, Shcherban AI, Shchuka NV, Alatorseva GI, Pritvorova LN, Nesterenko LN, Zverev VV. Use of recombinant polypeptides ORF2 and ORF3 in laboratory diagnostics of viral hepatitis E. *Hepatology and Gastroenterology*. 2026;10(1):38-43. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2026-10-1-38-43>.

### Введение

ВГЕ, вызывающий инфекционное заболевание у человека, относится к роду *Paslahevirus* и классифицируется как вид *Paslahevirus balayani* [1]. В состав генома вируса входит 3 открытые рамки считывания (ORF). ORF2 кодирует основной капсидный белок вириона ВГЕ, участвующий в формировании вирусной частицы [2]. Белок обладает самым иммуногенным эпитопом, преимущественно к которому образуются вируснейтрализующие антитела. Существуют различные формы белка ORF2, включая инфекционную, гликозилированную и расщепленную. Инфекционная форма белка ORF2 является структурным компонентом инфекционных частиц и остается в цитозольном компартменте. Гликозилированная и расщепленные формы секретируются в больших количествах в культуральном супернатанте и сыворотке инфицированных пациентов, но не входят в состав инфекционных частиц [3]. Считается, что секретируемые формы белка ORF2 являются факторами защиты ВГЕ, так как действуют как мишени для антител, уводя иммунный ответ организма от инфекционных вирионов, что способствует ускользанию ВГЕ от иммунного надзора [4].

ORF2 защищает целостность вирусного генома, участвует в процессах связывания РНК для репликации вируса, моделирует клеточные сигналы, подавляя клеточный противовирусный ответ и регулирует иммунный ответ у хозяина [5]. В качестве капсидного белка ORF2 играет ве-

дущую роль в выживании инфицированных клеток-хозяев, регулирует репликацию и амплификацию вируса [6].

На основании капсидного белка ORF2 была разработана рекомбинантная вакцина против ВГЕ [7], испытанная в Непале с эффективностью 95,5% при использовании трех доз [8] и Китае, где эффективность трехдозовой вакцины составила 100% [9]. В 10-летнем длительном наблюдении эффективность вакцины оставалась высокой — около 83–87% при анализе за весь период, а антитела сохранялись до 8,5 лет и дольше у большинства вакцинированных [10].

ORF3 регуляторный неструктурный белок длиной около 113 аминокислот имеет несколько иммунореактивных эпитопов и кодируется третьей рамкой считывания. ORF3 локализуется субклеточно в ранних и рециклирующих эндосомах, способствует выживанию клеток-хозяев и пролиферации ВГЕ. Данный белок критически необходим для выхода вирионов из клетки и формирования инфекционных частиц [11]. HEV в крови часто циркулирует как квазиоболочечная частица, окруженная мембраной хозяина. ORF3 участвует в образовании таких вирионов через взаимодействие с клеточными ESCRT-комплексами (например, Tsg101), что облегчает выпячивание мембраны и формирование мембраносвязанных вирионов [12].

Антитела к белку ORF3 могут захватывать вирионы ВГЕ из сыворотки пациентов, но не из фе-

калий, хотя плотность вируса в сыворотке ниже, чем в кале [13].

Ранее нами опубликованы работы по ориентировочному изучению целесообразности использования разных комбинаций концентраций рекомбинантных полипептидов ORF2 и ORF3 3-го генотипа ВГЕ при создании иммуносорбента для детекции иммуноглобулинов классов М и G (IgM, IgG) в ходе непрямого варианта иммуноферментного анализа (ИФА) [14]. Однако научно обоснованная оценка эффективности их применения и статистический анализ на большой группе исследуемых проб ранее представлен не был.

**Цель исследования** – изучить иммунологическую эффективность использования рекомбинантных антигенов – аналогов белка ORF2 и ORF3 3-го генотипа ВГЕ.

### Материал и методы

Объектом исследования являлись рекомбинантные полипептиды ORF2 (последовательность аминокислот NGEPTVKLYTSVGNAAQDDKGIAPH DIDLGDSRVVIQDYDNQHEQDRPTSPAPSRPFS VLRANDVLWLSLTAAYDQTTYGSSTNPMYVSDT VTFVNVATGAQAVARSLDWSKVTLDGRPLTTIQQ YSKTFYVPLRGLKLSFWEAGTTKAGYPYNYNTTA SDQILIEAAGHRVAISTYTTVGS LGAGPVSVSAVL APHSALAVLEDTIDYPARAHTFDDFCPECRNLGLQ GCAFQSTVAELQRLKMKVGTKRES) и ORF3 (последовательность аминокислот MGSPCALGLFCC CSSCFCLCCPRHRPASRLAAVVGAAAVPAVVSG VTGLILSPSPSPIFIQPTPLPPTS FHNPGLELALDSR PAPSAPLGLTSPSAPPLPPVV) ВГЕ 3-го генотипа (ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия) [15]. Данные полипептиды наносились отдельно на 96-луночные разборные полистирольные планшеты («Хема», РФ) в одинаковой концентрации – по 2,5 мг/л в лунку.

Для определения эффективности использования рекомбинантных полипептидов ORF2 и ORF3 3-го генотипа ВГЕ и их вклад в определение IgM исследовались 26 образцов сывороток крови людей, верифицированных на наличие анти-ВГЕ IgM с помощью коммерческого зарубежного диагностического набора «ИФА-АНТИ – HEV-IgM» (НПО «Диагностические системы», РФ). Аликвотированные положительные сыворотки наносились в лунки отдельно для белков ORF2 и ORF3 в ходе одной постановки анализа. ИФА проводился в разные дни 4 раза, общее количество показателей оптической плотности анализируемых проб – 104 для полипептида ORF2 и 104 для ORF3.

Для определения эффективности использования рекомбинантных полипептидов ORF2 и ORF3 3-го генотипа ВГЕ и их вклад в определение IgG исследовались 29 образцов сывороток

крови людей, верифицированных по наличию анти-ВГЕ IgG коммерческим диагностическим набором «ИФА-АНТИ – HEV-IgG» (НПО «Диагностические системы», РФ). Аликвотированные положительные сыворотки наносились в лунки отдельно для белков ORF2 и ORF3 в ходе одной постановки анализа. ИФА проводился в разные дни 4 раза, общее количество показателей ОП анализируемых проб – 116 для полипептида ORF2 и 116 для ORF3.

Образцы сывороток крови людей в ходе постановки анализа разводили 1:10, из них положительные контрольные образцы содержали необходимые IgM и IgG к ВГЕ в высоком, среднем и низком титре.

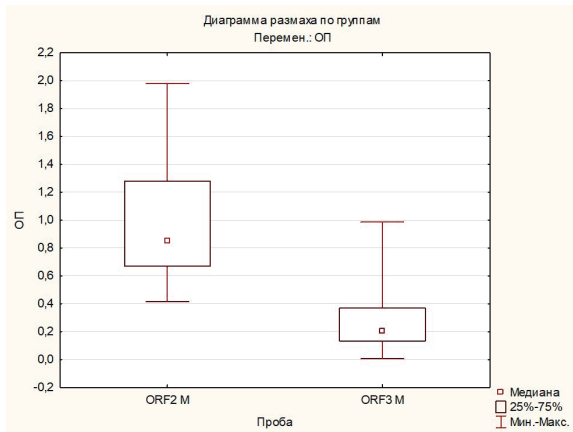
Обработка полученных данных проводилась на персональной ЭВМ с использованием статистических пакетов Excel for Windows 10.0 и пакета статистического анализа данных Statistica for Windows 10.0 (StatSoft Inc., Талса, США). Для обработки данных использовали методы непараметрической статистики – U-критерий Манна-Уитни для двух независимых групп, данные в этом случае представлялись через медианный показатель с расчетом верхнего и нижнего квартилей (25–75%). Результаты исследования считали достоверными, различия между показателями значимыми при вероятности безошибочного прогноза не менее 95% ( $p < 0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

При определении диагностически значимого вклада рекомбинантного полипептида – аналога белка ORF2 3-го генотипа ВГЕ проводился статистический анализ 104 показателей оптических плотностей 26 сывороток, положительных по наличию IgM к ВГЕ. Медианный показатель ОП образцов составил 0,849 (0,670–1,278), при этом ОП всех сывороток превышала величину cut-off для каждой постановки ИФА. Для аналога неструктурного белка ORF3 также были рассчитаны показатели описательной статистики: медиана ОП растворов составила 0,202 (0,134–0,369), при этом 13 из 26 сывороток было ниже порогового значения. При сравнении медиан оптических плотностей, исследуемых анти-ВГЕ IgM положительных сывороток установлено, что ОП образцов при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF2 превышает ОП проб при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF3 в 4,4 (2,657–7,076) раза.

Так как рекомбинантные полипептиды были сенсibilизированы в одинаковой концентрации в разных лунках, оптические плотности образцов были проанализированы между собой с помощью U-критерия Манна-Уитни. Установлены статистически достоверные различия между рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 ( $U=384,500$ ;  $p < 0,001$ ). Диаграмма размаха

между анализируемыми группами представлена на рисунке 1.



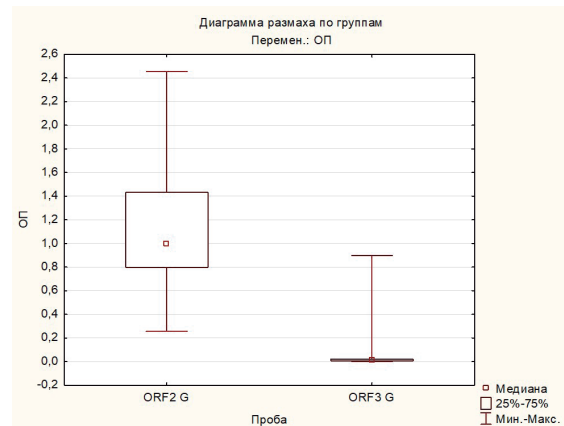
**Рисунок 1** – Медианные показатели оптических плотностей анти-ВГЕ IgM позитивных сывороток при нанесении на иммуносорбенты с отдельными рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 ВГЕ 3-го генотипа  
**Figure 1** – Median optical density values of anti-HEV IgM sera when applied to immunosorbents with separate recombinant polypeptides ORF2 and ORF3 of HEV 3rd genotype

Полученные результаты коррелируют с данными литературы о вкладе белков ВГЕ в образование антител в организме в ответ на инфекционное воздействие. Еще в ранних публикациях о диагностической значимости полипептидов было установлено, что в белке ORF2 существуют как IgG, так и IgM-эпитопы, которые реактивны с сыворотками пациентов в острой фазе вирусного гепатита E [16]. Антигенная характеристика ORF2 указывает на наличие обширных иммуногенных областей, многие из которых эффективно связываются с IgM ВГЕ-положительных сывороток [17]. Также существуют данные о том, что рекомбинантный полипептид – аналог неструктурного белка ORF3 обладает менее выраженными антигенными свойствами, но может вызывать IgM-ответ в экспериментальных условиях. В ветеринарных моделях на ВГЕ у птиц показано, что ORF3 способен вызывать высокий титр антител IgM после иммунизации, что свидетельствует о его иммуногенности [18]. Другие работы по рекомбинантному ORF3 подтверждают его способность быть распознанным антителами при постановке ИФА с сыворотками пациентов [19]. Тем не менее доказано, что ORF2 является иммунодоминантным антигеном, к которому образуются антитела, включая IgM, тогда как ORF3 имеет второстепенное значение, в связи с чем в коммерческих тест-системах для выявления анти-ВГЕ IgM в основе используется рекомбинантный ORF2 [20].

Для определения значимости влияния белков ORF2 и ORF3 ВГЕ для детекции IgG были изучены показатели оптических плотностей 29 анти-ВГЕ IgG позитивных сывороток. Медианный показатель ОП образцов, которые вносились в лунки с полипептидом ORF2 3-го генотипа

ВГЕ, составил 1,001 (0,799–1,432), при этом ОП всех сывороток превышала пороговую величину положительного результата для каждой постановки ИФА. Для полипептида ORF3 ВГЕ 3-го генотипа также была рассчитана медиана ОП растворов составила 0,012 (0,007–0,023), при этом значения только 5 из 29 сывороток были выше положительного порога. При сравнении медиан оптических плотностей, исследуемых анти-ВГЕ IgG положительных сывороток, установлено, что ОП образцов при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF2 превышает ОП проб при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF3 в 76,0 (26,22–140,89) раз.

Так как рекомбинантные полипептиды были сенсibilизированы в одинаковой концентрации в разных лунках, оптические плотности образцов были проанализированы между собой с помощью U-критерия Манна-Уитни. Установлены статистически достоверные различия для детекции IgG между рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 ( $U=317,500$ ;  $p<0,001$ ). Диаграмма размаха между анализируемыми группами представлена на рисунке 2.



**Рисунок 2** – Медианные показатели оптических плотностей анти-ВГЕ IgG-сывороток при нанесении на иммуносорбенты с отдельными рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 вируса гепатита E 3-го генотипа  
**Figure 2** – Median optical density values of anti-HEV IgG sera when applied to immunosorbents with separate recombinant polypeptides ORF2 and ORF3 of hepatitis E virus 3rd genotype

Таким образом, установлено, что главным антигеном, стимулирующим выработку анамнестических IgG, как и в случае с анти-ВГЕ IgM, является структурный белок ORF2 ВГЕ. Антитела класса IgG против ORF2 являются основой серодиагностики и оценки постинфекционного иммунного ответа, что может быть определено с помощью ИФА [21, 22].

ORF3-белок ВГЕ обладает гораздо менее выраженной антигенностью, чем структурный ORF2 [23]. Большинство исследований описывает ORF3 как белок с регуляторной функцией в жизненном цикле вируса, а не как доминирующий антиген: ORF3 участвует в выходе вирионов из клетки, взаимодействует с клеточными белками и может модулировать сигнальные пути

[24]. Он способен влиять на внутриклеточные сигнальные каскады и антигенные процессы, но нет убедительных доказательств того, что он сам становится основным стимулятором IgG-ответа [25]. Эти функции важны для патогенеза и репликации вируса, но не делают белок ORF3 главным источником IgG-иммуногенности.

### Выводы

Капсидный белок ORF2 ВГЕ является главным антигеном, ответственным за формирование антител класса IgM при острой ВГЕ-инфекции. Это подтверждается наличием IgM-эпитопов в структуре ORF2, доминирующей реактивностью сывороток пациентов, использованием ORF2 в серологической диагностике. Белок ORF3 не играет ведущей роли в индукции IgM-ответа и обладает ограниченной антигенной значимостью. Установлены статистически достоверные различия

между рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 ВГЕ 3-го генотипа для детекции антител класса IgM ( $U=384,500$ ;  $p<0,001$ ). ОП образцов при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF2 превышает ОП проб при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF3 в 4,4 (2,657–7,076) раза.

Главным антигеном, стимулирующим выработку анамнестических IgG, также является структурный белок ORF2 ВГЕ. Антитела класса IgG против ORF2 являются основой серодиагностики и оценки постинфекционного иммунного ответа. Установлены статистически достоверные различия для детекции IgG между рекомбинантными полипептидами ORF2 и ORF3 ( $U=317,500$ ;  $p<0,001$ ). ОП образцов при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF2 превышает ОП проб при сенсibilизации рекомбинантного полипептида ORF3 в 76,0 (26,22–140,89) раза.

### References

- Liu Y, Dyal-Smith M, Oksanen HM. ICTV Virus Taxonomy Profile: Pleolipoviridae 2022. *J Gen Virol*. 2022;103(11):001793. doi: 10.1099/jgv.0.001793.
- Lin S, Zhang YJ. Advances in Hepatitis E Virus Biology and Pathogenesis. *Viruses*. 2021;13(2):267. doi: 10.3390/v13020267.
- Montpellier C, Wychowski C, Sayed IM, Meunier JC, Saliou JM, Ankavay M, Bull A, Pillez A, Abravanel F, Helle F, Brochot E, Drobecq H, Farhat R, Aliouat-Denis CM, Haddad JG, Izopet J, Meuleman P, Goffard A, Dubuisson J, Cocquerel L. Hepatitis E Virus Lifecycle and Identification of 3 Forms of the ORF2 Capsid Protein. *Gastroenterology*. 2018;154(1):211-223.e8. doi: 10.1053/j.gastro.2017.09.020.
- Ju X, Ding Q. Hepatitis E Virus Assembly and Release. *Viruses*. 2019;11(6):539. doi: 10.3390/v11060539.
- Mehnert AK, Stegmaier S, Ramirez Alvarez C, Toprak E, Magalhães VG, Siebenkotten C, Hu J, Costa AL, Kirrmaier D, Knop M, Wu X, Tubiana T, Herrmann C, Binder M, Dao Thi VL. The hepatitis E virus capsid protein ORF2 counteracts cell-intrinsic antiviral responses to enable persistent replication in cell culture. *PLoS Pathog*. 2025;21(9):e1013516. doi: 10.1371/journal.ppat.1013516.
- Surjit M, Varshney B, Lal SK. The ORF2 glycoprotein of hepatitis E virus inhibits cellular NF- $\kappa$ B activity by blocking ubiquitination mediated proteasomal degradation of I $\kappa$ B $\alpha$  in human hepatoma cells. *BMC Biochem*. 2012;13:7. doi: 10.1186/1471-2091-13-7.
- Tsarev SA, Tsareva TS, Emerson SU, Govindarajan S, Shapiro M, Gerin JL, Purcell RH. Recombinant vaccine against hepatitis E: dose response and protection against heterologous challenge. *Vaccine*. 1997;15(17-18):1834-8. doi: 10.1016/s0264-410x(97)00145-x.
- Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, Mammen MP Jr, Thapa GB, Thapa N, Myint KS, Fourneau M, Kuschner RA, Shrestha SK, David MP, Seriwatana J, Vaughn DW, Safary A, Endy TP, Innis BL. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *N Engl J Med*. 2007;356(9):895-903. doi: 10.1056/NEJMoa061847.
- Zhu FC, Zhang J, Zhang XF, Zhou C, Wang ZZ, Huang SJ, Wang H, Yang CL, Jiang HM, Cai JP, Wang YJ, Ai X, Hu YM, Tang Q, Yao X, Yan Q, Xian YL, Wu T, Li YM, Miao J, Ng MH, Shih JW, Xia NS. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2010;376(9744):895-902. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61030-6.
- Huang S, Zhang X, Su Y, Zhuang C, Tang Z, Huang X, Chen Q, Zhu K, Hu X, Ying D, Liu X, Jiang H, Zang X, Wang Z, Yang C, Liu D, Wang Y, Tang Q, Shen W, Cao H, Pan H, Ge S, Huang Y, Wu T, Zheng Z, et al. Long-term efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine in adults: 10-year results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2024;403(10429):813-823. doi: 10.1016/S0140-6736(23)02234-1.
- Moin SM, Panteva M, Jameel S. The hepatitis E virus Orf3 protein protects cells from mitochondrial depolarization and death. *J Biol Chem*. 2007;282(29):21124-33. doi: 10.1074/jbc.M701696200.
- Zhou Z, Xie Y, Wu C, Nan Y. The Hepatitis E Virus Open Reading Frame 2 Protein: Beyond Viral Capsid. *Front Microbiol*. 2021;12:739124. doi: 10.3389/fmicb.2021.739124.
- Takahashi M, Yamada K, Hoshino Y, Takahashi H, Ichiyama K, Tanaka T, Okamoto H. Monoclonal antibodies raised against the ORF3 protein of hepatitis E virus (HEV) can capture HEV particles in culture supernatant and serum but not those in feces. *Arch Virol*. 2008;153(9):1703-13. doi: 10.1007/s00705-008-0179-6.
- Zhavoronok SV, Zadora IS, Davydov VV, Rogacheva TA, Anisko LA, Alatortseva GI, Simirsky VV, Shcherban AI, Schuka NV, Bayur NG, Shebeko YuK, Mitko JA. Ispolzovanie belkov ORF2 i ORF3 dlja sozdaniya test-sistemy dlja immunofermentnogo analiza pri virusnom gepatite E [The use of ORF2 and ORF3 proteins for creating an enzyme-linked immunosorbent assay for viral hepatitis E]. *Immunopatologija, allergologija, infektologija* [Immunopathology, allergology, infectology]. 2022(2):28-30. doi: 10.14427/jipai.2022.2.28. edn: LCRPMX. (Russian).
- Alatortseva GI, Sidorov AV, Nesterenko LN, Lukhverchik LN, Amiantova II, Dotsenko VV, Vorobev DS, Ammur Yul, Zhukina MV, Bajyzbekova DA, Mikhajlov MI, Potemkin IA, Kyuregyan KK, Nurmatov ZSh, Nurmatov AZ, Kasymov OT, Zhavoronok SV, Krasochko PA, Zverev VV, inventors. FGBNU NIIVS im. I. I. Mechnikova, assignee. Rekombinantnyj belok, sodержashchij antigenno-znachimyje fragmenty belkov virusa gepatita E, ispolzujemyj v test-sistemah dlja serodiagnostiki gepatita E (varianty) [Recombinant protein containing antigen-significant fragments of hepatitis e virus proteins, used in test systems for hepatitis E serodiagnosis (embodiments)]. RU patent 2711907. 2020 Jan 23. edn: NBFICC. (Russian).
- Khudyakov YE, Lopareva EN, Jue DL, Crews TK, Thyagarajan SP, Fields HA. Antigenic domains of the open reading frame 2-encoded protein of hepatitis E virus. *J Clin Microbiol*. 1999;37(9):2863-71. doi: 10.1128/JCM.37.9.2863-2871.1999.
- Pezzone G, Stercoli L, Pegoiani E, Brocchi E. Antigenic Characterization of ORF2 and ORF3 Proteins of Hepatitis

- E Virus (HEV). *Viruses*. 2021;13(7):1385. doi: 10.3390/v13071385.
18. Yan H, Chi Z, Zhao H, Zhang Y, Zhang Y, Wang Y, Chang S, Zhao P. Application of ORF3 Subunit Vaccine for Avian Hepatitis E Virus. *Vet Sci*. 2022;9(12):676. doi: 10.3390/vetsci9120676.
  19. Alatortseva GI, Sidorov AV, Nesterenko LN, Luhverchik LN, Milovanova AV, Ammur YI, Mikhailov MI, Kyuregyan KK, Zhavoronok SV, Zverev VV. Poluchenie rekombinantnogo belka ORF3 virusa gepatita E 3 genotipa i ocenka ego antigennykh svoystv [Obtaining the recombinant ORF3 protein of hepatitis E genotype 3 and evaluation of its antigenic properties]. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology]. 2018;95(5):46-53. doi: 10.36233/0372-9311-2018-5-46-53. (Russian).
  20. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *J Hepatol*. 2018;68(6):1256-1271. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.005.
  21. Subramaniam S, Fares-Gusmao R, McGivern DR. Quantification of Hepatitis E Virus ORF2 Protein by a Novel Sandwich ELISA. *Viruses*. 2024;16(3):393. doi: 10.3390/v16030393.
  22. Sayed IM, Karam-Allah Ramadan H, Hafez MHR, Elkhawaga AA, El-Mokhtar MA. Hepatitis E virus (HEV) open reading frame 2: Role in pathogenesis and diagnosis in HEV infections. *Rev Med Virol*. 2022;32(6):e2401. doi: 10.1002/rmv.2401.
  23. Xiu BS, Feng XY, He J, Chen K, Liu J, Dai ZH, Yang XQ, Wang GH, Wang YC, Zhang HQ, Song XG, Zhu CX. Use of immuno-dominant epitope derived from genotype 4 as a diagnostic reagent for detecting the antibodies against Hepatitis E Virus. *Virol J*. 2013;10:131. doi: 10.1186/1743-422X-10-131.
  24. Yamada K, Takahashi M, Hoshino Y, Takahashi H, Ichiyama K, Nagashima S, Tanaka T, Okamoto H. ORF3 protein of hepatitis E virus is essential for virion release from infected cells. *J Gen Virol*. 2009;90(Pt 8):1880-1891. doi: 10.1099/vir.0.010561-0.
  25. He M, Wang M, Huang Y, Peng W, Zheng Z, Xia N, Xu J, Tian D. The ORF3 Protein of Genotype 1 Hepatitis E Virus Suppresses TLR3-induced NF- $\kappa$ B Signaling via TRADD and RIP1. *Sci Rep*. 2016;6:27597. doi: 10.1038/srep27597.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Данная научно-исследовательская работа выполнена в рамках финансируемого проекта «Разработать медико-технические требования к иммуноферментным тест-системам для определения антител классов IgG и IgM к вирусу гепатита E у человека. Создать контрольные панели сывороток крови человека, содержащих антитела к вирусу гепатита E», выполняемой в рамках мероприятия 13 «Разработать технологию промышленного изготовления тест-систем для выявления антител IgG и IgM-классов к вирусу гепатита E у человека и животных с использованием иммуноферментного метода анализа и организовать их производство» подпрограммы 5 «Химические продукты и молекулярные технологии» ГП «Наукоемкие технологии и техника» на 2021–2025 годы.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

**Сведения об авторах:**

Задора Илона Сергеевна, УО «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: zadora-ilona@mail.ru, ORCID: 0000-0003-2231-1785

Жаворонок Сергей Владимирович, д-р мед. наук, профессор, УО «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: zhavoronok.s@mail.ru, ORCID: 0000-0001-9727-1103

Анисья Людмила Александровна, канд. мед. наук, доцент, УО «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: luidok@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5466-2590

Рогачева Тамара Альбертовна, канд. мед. наук, доцент, УЗ «Городская клиническая инфекционная больница», e-mail: kdlinfec@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3729-5730

Симирский Владимир Викторович, канд. хим. наук, УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии НАН Беларуси», e-mail: hopiboh.bel@gmail.com, ORCID: 0009-0006-8653-5437

Щербань Александр Иванович, канд. биол. наук, УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии НАН Беларуси», e-mail: a.scherban53@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1929-0901

Щука Наталья Владимировна, УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии НАН Беларуси», e-mail: hopiboh.bel@gmail.com, ORCID: 0009-0003-1179-3958

Алаторцева Галина Ивановна, канд. биол. наук, ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, e-mail: alatortseva@gmail.com, ORCID: 0000-0001-9887-4061

Притворова Людмила Николаевна, канд. мед. наук, ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, e-mail: mech.inst@mail.ru, ORCID: 0000-0002-2997-8892

Нестеренко Любовь Николаевна, канд. хим. наук, ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, e-mail: mech.inst@mail.ru, ORCID: 0000-0002-3825-3906

Зверев Виталий Васильевич, д-р биол. наук, профессор, академик РАН, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава России; ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, ORCID: 0000-0002-0017-1892

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Financing.** This research work was carried out within the framework of the funded project "To develop medical and technical requirements for enzyme immunoassay test systems for the detection of IgG and IgM antibodies to the hepatitis E virus in humans. To create control panels of human blood sera containing antibodies to the hepatitis E virus", implemented as part of activity 13 "To develop technology for the industrial manufacturing of test systems for the detection of IgG and IgM antibodies to the hepatitis E virus in humans and animals using enzyme immunoassay and to organize their production" of subprogram 5 "Chemical products and molecular technologies" of the State Program "High-tech and Engineering" for 2021–2025.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local ethics committee.

**Information about authors:**

Zadora Ilona S., Belarusian State Medical University, e-mail: zadora-ilona@mail.ru, ORCID: 0000-0003-2231-1785

Zhavoronok Sergey V., MD (Medicine), Professor, Belarusian State Medical University, e-mail: zhavoronok.s@mail.ru, ORCID: 0000-0001-9727-1103

Anisko Lyudmila A., PhD (Medicine), Associate Professor, Belarusian State Medical University, e-mail: luidok@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5466-2590

Rogacheva Tamara A., PhD (Medicine), Associate Professor, City Clinical Infectious Diseases Hospital, e-mail: kdlinfec@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3729-5730

Simirsky Vladimir V., PhD (Chemistry), Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: hopiboh.bel@gmail.com, ORCID: 0009-0006-8653-5437

Shcherban Aleksandr I., PhD (Biology), Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: a.scherban53@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1929-0901

Shchuka Natalia V., Pilot Production of the Institute of Bioorganic Chemistry National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: hopiboh.bel@gmail.com, ORCID: 0009-0003-1179-3958

Alatortseva Galina I., PhD (Biology), I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, e-mail: alatortseva@gmail.com, ORCID: 0000-0001-9887-4061

Pritvorova Lyudmila N., PhD (Medicine), I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, e-mail: mech.inst@mail.ru, ORCID: 0000-0002-2997-8892

Nesterenko Lyubov N., PhD (Chemistry), I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, e-mail: mech.inst@mail.ru, ORCID: 0000-0002-3825-3906

Zverev Vitaly V., MD (Biology), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, ORCID: 0000-0002-0017-1892

Поступила: 27.03.2026

Принята к печати: 30.04.2026

Received: 27.03.2026

Accepted: 30.04.2026