Российский иммунологический журнал
2025, Т. 28, № 3, стр. 567-572

Краткие сообщения
Short communications

Russian Journal of Immunology / Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal
2025, Vol. 28, № 3, pp. 567-572

# КОНЪЮГАТЫ БЕЛКА А С АНТИГЕНОМ СПОСОБНЫ УСИЛИВАТЬ ВЫРАБОТКУ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

**Волосникова Е.А., Волкова Н.В., Гайворонский С.И., Симакова О.В., Есина Т.И., Рар А.А., Щербаков Д.Н.**

*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

**Резюме.** Цель – изучение иммуногенных свойств конъюгатов белка А с рецептор-связывающим доменом (RBD) спайкового белка SARS-CoV-2 (вариант B.1.617.2, Delta) и их способности индуцировать специфический гуморальный иммунный ответ при интраназальном введении. Конъюгаты рекомбинантного RBD (SARS-CoV-2, вариант Delta) с белком А *Staphylococcus aureus* получали с использованием EDC или Sulfo-SMCC (1:1 моль) с последующей очисткой гель-фильтрацией. Иммунизацию проводили на 80 мышах Balb/c (6 недель), разделенных на группы по 10 особей. Животным опытных групп двукратно с интервалом 14 дней вводили интраназально 20 мкл конъюгата (50 мкг RBD), контрольным группам – RBD внутримышечно или физраствор. Кровь забирали на 10-й день после бустинга. Титр специфических IgG определяли ИФА с использованием RBD в качестве антигена. Статистическую значимость оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни (GraphPad Prism 8.0, $p < 0,05$). Интраназальное введение конъюгатов RBD с белком А (Con-S и Con-E) индуцировало высокие титры специфических IgG (до $10^5$), сопоставимые с внутримышечным введением RBD. Оба конъюгата показали статистически значимое усиление иммунного ответа по сравнению с интраназальным введением свободного RBD ($p \leq 0,05$). При этом наблюдалась гетерогенность ответа среди животных: часть мышей демонстрировала слабый иммунный ответ, что может быть связано с особенностями интраназального введения. Конъюгаты RBD с белком А *Staphylococcus aureus* при интраназальном введении вызывают выраженный IgG-ответ, сравнимый с внутримышечной иммунизацией, демонстрируя адъювантные свойства белка А. Оба метода конъюгирования (Sulfo-SMCC и EDC) одинаково эффективны. Несмотря на вариабельность ответа, связанную с особенностями мукозального введения, результаты подтверждают перспективность использования белка А в разработке интраназальных вакцин против SARS-CoV-2.

*Ключевые слова: мукозальные вакцины, белок А Staphylococcus aureus, SARS-CoV-2, интраназальная иммунизация, адъюванты, гуморальный иммунный ответ*

**Адрес для переписки:**
*Волосникова Екатерина Александровна*
*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора*
*630559, Россия, Новосибирская обл., р. п. Кольцово.*
*Тел.: 8 (383) 363-80-14.*
*Факс: 8 (383) 363-80-16.*
*E-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru, kulenok84@mail.ru*

**Address for correspondence:**
*Ekaterina A. Volosnikova*
*State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”*
*Koltsovo, Novosibirsk Region*
*630559 Russian Federation*
*Phone: +7 (383) 363-80-14.*
*Fax: +7 (383) 363-80-16.*
*E-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru, kulenok84@mail.ru*

**Образец цитирования:**
*Е.А. Волосникова, Н.В. Волкова, С.И. Гайворонский, О.В. Симакова, Т.И. Есина, А.А. Рар, Д.Н. Щербаков «Конъюгаты белка А с антигеном способны усиливать выработку специфических антител при интраназальном введении» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 3. С. 567-572. doi: 10.46235/1028-7221-17148-PAA*

*© Волосникова Е.А. и соавт., 2025*
*Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0*

**For citation:**
*E.A. Volosnikova, N.V. Volkova, S.I. Gayvoronskiy, O.V. Simakova, T.I. Esina, A.A. Rar, D.N. Shcherbakov “Protein A-antigen conjugates enhance production of specific antibodies following intranasal administration”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 3, pp. 567-572. doi: 10.46235/1028-7221-17148-PAA*

*© Volosnikova E.A. et al., 2025*
*The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License*

**DOI:** 10.46235/1028-7221-17148-PAA

# PROTEIN A-ANTIGEN CONJUGATES ENHANCE PRODUCTION OF SPECIFIC ANTIBODIES FOLLOWING INTRANASAL ADMINISTRATION

**Volosnikova E.A., Volkova N.V., Gayvoronskiy S.I., Simakova O.V., Esina T.I., Rar A.A., Shcherbakov D.N.**

*State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

**Abstract.** The objective of our work was to study immunogenic properties of protein A conjugates with the receptor-binding domain (RBD) of the SARS-CoV-2 spike protein (B.1.617.2, Delta variant) and their ability to induce a specific humoral immune response following intranasal administration. Recombinant RBD (SARS-CoV-2, Delta variant) conjugates with *Staphylococcus aureus* protein A were prepared using EDC or Sulfo-SMCC (1:1 molar ratio) followed by gel filtration purification. Immunization procedure was performed in 80 six-week-old Balb/c mice, divided into groups of 10 animals. Experimental groups received intranasal administration of 20 μL conjugate (50 μg RBD) twice at a 14-day interval, while control groups received intramuscular RBD or saline. Blood was collected 10 days after boosting. Specific IgG titers were determined by ELISA using RBD as the antigen. Statistical significance was assessed using the Mann–Whitney U test (GraphPad Prism 8.0, $p < 0.05$). Intranasal administration of RBD-protein A conjugates (Con-S and Con-E) induced high specific IgG titers (up to $10^5$), comparable to intramuscular RBD immunization. Both conjugates showed statistically significant enhancement of the immune response compared to intranasal administration of free RBD ($p \leq 0.05$). However, the response proved to be heterogenous among animals, with some mice exhibiting a weak immune response, likely due to intranasal delivery variability. RBD-protein A conjugates elicit a robust IgG response upon intranasal administration, comparable to intramuscular immunization, confirming the adjuvant properties of protein A. Both conjugation methods (Sulfo-SMCC and EDC) were equally effective. Despite response variability due to different to mucosal delivery, these findings support the potential of protein A in developing intranasal vaccines against SARS-CoV-2.

*Keywords: mucosal vaccines, Staphylococcus aureus protein A, SARS-CoV-2, intranasal immunization, adjuvants, humoral immunity*

Работа выполнена в рамках государственного задания, тема ГЗ-1/22 «Поиск и фармако-токсикологическое исследование новых вакцинных адьювантов».

## Введение

Современная вакцинология активно развивается в направлении поиска новых способов доставки антигенов и усиления иммунного ответа, особенно на слизистых оболочках, которые являются первым барьером на пути многих патогенов [7]. Интраназальное и пероральное введение вакцин представляет особый интерес, поскольку оно позволяет стимулировать как местный мукозальный, так и системный иммунный ответ, что критически важно для защиты от респираторных и других инфекций, передающихся через слизистые оболочки [5].

Одним из ключевых факторов успеха мукозальных вакцин является использование эффективных адъювантов – веществ, которые усиливают иммунный ответ на вводимый антиген [7]. Можно выделить несколько групп подобных адъювантов. Бактериальные токсины и их производные, агонисты паттерн-распознающих рецепторов, наночастицы и липидные системы доставки, цитокины и мукоадгезивные системы [3, 4, 7]. Особый интерес представляют белковые мукозальные адъюванты, наиболее изученным из которых является холерный токсин [5, 12]. Субъединица B холерного токсина взаимодействует с рецептором GM1, который экспрессируется на макрофагах, дендритных и B-клетках, вызывая индукцию иммунного ответа. Показано, что рекомбинантный аналог B субъединицы холерного токсина стимулирует T-хелперные клетки Th1 и Th2-типа.

Холерный токсин, являясь одним из самых мощных мукозальных адъювантов [1], может также выступать в роли системы доставки антигена и способен формировать эффективный иммунный ответ в месте внедрения большинства известных патогенов. Описаны конструкции, содержащие последовательность B-субъединицы холерного токсина в единой рамке считывания с

Fc-фрагментом IgG [6]. Описан и ряд других адъювантов на основе бактериальных токсинов [7].

В данном исследовании мы сосредоточились на изучении способности конъюгатов рекомбинантного токсина *Staphylococcus aureus* с белком антигеном стимулировать выработку специфических антител при интраназальном введении. Актуальность этой работы обусловлена необходимостью разработки новых адъювантов, которые могли бы обеспечить длительный и устойчивый иммунный ответ на слизистых оболочках, что особенно важно для профилактики инфекционных заболеваний, таких как грипп, COVID-19 и других респираторных инфекций [11].

**Целью настоящего исследования** стало изучение иммуногенных свойств конъюгатов белка А с рецептор-связывающим доменом (RBD) спайкового белка SARS-CoV-2 (вариант B.1.617.2, Delta) и их способности индуцировать специфический гуморальный иммунный ответ при интраназальном введении.

## Материалы и методы

**Метод получения конъюгатов**

Получение конъюгатов рекомбинантного белка А и рекомбинантного RBD (вариант B.1.617.2 (Delta)) проводили с использованием 1-этил-3-[3-диметиламинопропил]карбодиимид гидрохлорида (EDC) и сульфосукцинмидил-4-[N-малеимидометил]-циклогексан-1-карбоксилата (Sulfo-SCMM). При проведении реакции конъюгирования к субстанции белка RBD добавляли сшивающий агент EDC либо Sulfo-SCMM в соотношении 1:1 моль, инкубировали смесь в течение 2 часов при 2-8 °С и добавляли субстанцию белка А, инкубировали смесь в течение 2 часов при 2-8 °С. В случае конъюгирования с помощью Sulfo-SCMM амидные группы восстанавливали добавлением боргидрида натрия в соотношении 1:10 белок RBD:боргидрид натрия. Непрореагировавшие компоненты удаляли с помощью гель-фильтрации на сефакриле S-200.

**Определение концентрации белка в конъюгатах**

Определение проводили методом Лоури без предварительного осаждения белка по ГФ XIV, том 1, ОФС.1.2.3.0012.15 «Определение белка» (метод 2, колориметрический).

**Иммунизация животных**

Исследование проведено на 80 самках мышей линии Balb/c возрастом 6 недель, с массой тела 18-22 г, полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (р. п. Кольцово Новосибирской обл.). Животные были распределены случайным образом на группы по 10 особей в каждой.

Для индукции иммунного ответа мышам опытных групп вводили интраназально двукратно с интервалом 14 суток 1 дозу (20 мкл) конъюгата белка RBD с белком А, в которой содержится отработанная ранее доза белка RBD (50 мкг) в суммарном объеме 20 мкл/мышь. Мыши группы сравнения получали инъекции RBD внутримышечно в тех же дозах в объеме 200 мкл/мышь по аналогичной схеме. Мышам контрольной группы вводили физиологический раствор интраназально в объеме 20 мкл.

Забор крови у мышей проводили на 10-й день после второй иммунизации пастеровской пипеткой из ретроорбитального синуса в объеме 0,5 мл. Процедура выполнялась на анестезированных с помощью углекислого газа животных [2].

Для формирования сгустка и отделения сыворотки кровь оставляли при комнатной температуре на 15 минут, затем края сгустка крови аккуратно, не разрушая клетки, обводили чистой иглой для открепления от стенок пробирки и центрифугировали в течение 15 мин при 3 тыс. об/мин и температуре 4-6 °С 1 час, затем выдерживали в холодильнике при (4±2) °С в течение двух часов. Центрифугирование проводили на центрифуге 5810R при температуре (6±2) °С со скоростью 1800 об/мин в течение 15 минут. Полученную сыворотку аккуратно, не захватывая форменные элементы, отбирали пипеткой и переливали в промаркированные микроцентрифужные пробирки. Сыворотки крови хранили при температуре (6±2) °С не более 7 дней. Для более длительного хранения сыворотки замораживали при температуре минус 20 °С. После забора крови мышей подвергали эвтаназии путем цервикальной дислокации.

**Анализ титров специфических антител**

Титры специфичных антител в сыворотках крови определяли методом иммуноферментного анализа. В качестве антигена использовали рекомбинантный рецептор-связывающий домен (RBD) спайкового белка SARS-CoV-2 (вариант B.1.617.2 (Delta)). Сорбцию антигенов (200 нг/лунку) проводили в буфере 0,1 М $NaHCO_3$. Для выявления антител использовали конъюгат антимышиных антител с пероксидазой хрена в рабочем разведении 1:2000 (Sigma-Aldrich, США). Для регистрации уровня оптической плотности после добавления субстрата и остановки реакции использовали мультимодальный ридер Thermo Scientific Varioskan LUX при длине волны 450 нм. Титр определяли по значению максимального разведения, при котором сигнал оптической плотности превышал значение оптической плотности лунок с отрицательным контролем более чем в три раза.

**Статистический анализ**

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.0, при этом $p < 0,05$ считали показателем статистической значимости. Статистическую значимость различий среди разных групп животных определяли с помощью двустороннего непараметрического U-критерия Манна–Уитни с 95% доверительным интервалом или критерия Краскела–Уоллиса (для более чем двух групп).

## Результаты и обсуждение

Мукозальные вакцины являются привлекательным способом формирования специфического иммунитета, потому что способны обеспечить защиту на уровне входных ворот инфекции. Особенно это актуально для инфекций, передающихся воздушно-капельным путем, поэтому проверку возможности использования рекомбинантного белка A *Staphylococcus aureus* в качестве мукозального адъюванта было решено провести на модели SARS-CoV-2. В качестве антигена был выбран RBD спайкового белка, т. к. он является основной мишенью вирус-нейтрализующих антител, и формирование иммунитета против него способно обеспечить защиту организма от заражения [9, 13].

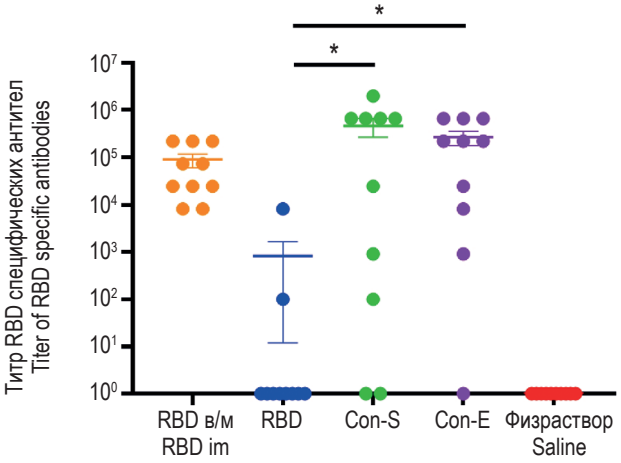


**Рисунок 1. Реципрокные титры специфических антител у мышей Balb/c иммунизированных конъюгатами RBD**

**Примечание. RBD в/м – внутримышечное введение антигена; RBD – интраназальное введение антигена; Con-S – интраназальное введение конъюгата, полученного при помощи Sulfo-SMCC; Con-E – интраназальное введение конъюгата, полученного при помощи EDC; физр-р – интраназальное введение физиологического раствора. Для оценки значимости межгрупповых различий применяли непараметрический U-критерий Манна–Уитни с критическим уровнем статистической значимости (p), равным 0,05. * – статистически значимые отличия по отношению к группе (без адъюванта), $p \leq 0,05$.**

Figure 1. Reciprocal titers of specific antibodies in Balb/c mice immunized with experimental RBD-based conjugates

Note. RBD im, intramuscular administration of the antigen; RBD, intranasal administration of the antigen; Con-S, intranasal administration of the conjugate obtained using Sulfo-SMCC; Con-E, intranasal administration of the conjugate obtained using EDC; saline, intranasal administration of physiological solution. To assess the significance of intergroup differences, the nonparametric Mann–Whitney U test was used with a critical level of statistical significance (p) equal to 0.05. *, statistically significant differences in relation to the group (without adjuvant), $p \leq 0.05$.

Рекомбинантные белки RBD (вариант B.1.617.2 (Delta)) и Z домен белка A *Staphylococcus aureus*, использованные в работе для синтеза конъюгатов, были получены в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. С использованием двух сшивающих агентов Sulfo-SMCC и EDC было получено два препарата Con-S и Con-E соответственно. Конъюгат был рассчитан таким образом, чтобы на одну молекулу RBD приходилась одна молекула рекомбинантного белка A. При помощи гель-фильтрации были отобраны стабильные комплексы, которые выходили отдельным пиком и составляли до 90% от всех пиков. Это свидетельствует о том, что выбранный метод конъюгации эффективен и позволяет получать высокий выход конъюгата в реакции синтеза.

Изучение адъювантных свойств проводили на модели мышей Balb/c. Животным опытных групп интраназально вводили препараты в дозе 50 мкг (RBD), двукратно с интервалом 14 суток. Мыши группы сравнения получали инъекции RBD внутримышечно в тех же дозах с аналогичным интервалом. Мышам контрольной группы вводили физиологический раствор интраназально.

Интраназальная иммунизация мышей конъюгатами рекомбинантного белка A и RBD привела к индукции высоких титров специфических IgG. Значение среднего реципрокного титра антител групп Con-S и Con-E достоверно не отличалось и достигло $10^5$ (рис. 1). Сходные значения были получены для сывороток мышей, иммунизированных RBD внутримышечно. В то же время они достоверно отличались от значений группы мышей, иммунизированных RBD интраназально, без использования адъюванта по сравнению с группой, получавшей свободный RBD (рис. 1). Полученные данные позволяют предположить, что белок A, связываясь с Fc-фрагментами иммуноглобулинов, может усиливать презентацию антигена иммунным клеткам, что способствует более эффективной активации гуморального иммунного ответа. Это согласуется с современными представлениями о роли Fc-зависимых механизмов в модуляции иммунного ответа, особенно в контексте использования адъювантов для усиления иммуногенности антигенов [10].

Необходимо обратить внимание, что иммунный ответ для групп Con-S и Con-E был в значительной степени гетерогенным, часть животных отвечала слабо или не ответила совсем, в то время как в группе внутримышечного введения у всех животных наблюдали индукцию специфических антител, а реципрокный титр антител в сыворотках лежал в диапазоне $10^4$-$10^5$. Этот результат, по всей видимости, связан с тем, что интраназальное введение и использование мышей как модели сопряжено со сложностью контроля полноты введения препарата. В то же время полученный результат указывает на достоверную способность конъюгатов белка А стимулировать выработку специфического иммунитета.

Наше исследование показало принципиальную возможность использования белка А *Staphylococcus aureus* для получения вакцинных конструкций. На следующем этапе планируется изучение местного иммунитета, в первую очередь уровня IgA на слизистых оболочках и клеточного иммунного ответа.

## Выводы

Интраназальное введение конъюгатов рекомбинантного белка А *Staphylococcus aureus* с RBD-доменом спайкового белка SARS-CoV-2 (вариант Delta) индуцировало высокие титры специфических IgG в сыворотке крови мышей, сопоставимые с внутримышечным введением свободного RBD. Оба метода конъюгирования (с использованием Sulfo-SMCC и EDC) показали схожую эффективность, что подтверждает стабильность и функциональность полученных комплексов. Конъюгаты достоверно усиливали гуморальный иммунный ответ по сравнению с интраназальным введением RBD без адъюванта, что свидетельствует о способности белка А выступать в роли мукозального адъюванта. Наблюдалась значительная вариабельность уровня антител среди животных в группах интраназального введения, что может быть связано с техническими сложностями контроля дозировки при мукозальной иммунизации или индивидуальными особенностями проникновения антигена через слизистый барьер.

## Список литературы / References

1. Андреев Ю.Ю., Топтыгина А.П. Адъюванты и иммуномодуляторы в составе вакцин // Иммунология, 2021. Т. 42, № 6. С. 720-729. [Andreev Y.Y., Toptygina A.P. Adjuvants and immunomodulators in vaccines. *Immunologiya = Immunologiya, 2021, Vol. 42, no. 6, pp. 720-729.* (In Russ.)]

2. Дьякон А.В., Хрыкина И.С., Хегай А.А., Дьяченко И.А., Мурашев А.Н., Ивашев М.Н. Метод забора крови у животных // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2013. Т. 11, № 1. С. 84-85. [Dyakon A.V., Khrykina I.S., Khegay A.A., Dyachenko I.A., Murashev A.N., Ivashev M.N. Method of blood sampling in animals. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research, 2013, Vol. 11, no. 2, pp. 84-85.* (In Russ.)]

3. Borges O., Borchard G. Mucosal vaccination: opportunities and challenges. In: Singh M. (ed.). Novel immune potentiators and delivery technologies for next generation vaccines. Springer US, 2013, pp. 65-80.

4. Eriksson K., Holmgren J. Recent advances in mucosal vaccines and adjuvants. *Curr. Opin. Immunol., 2002, Vol. 14, no. 5, pp. 666-672.*

5. Holmgren J., Czerkinsky C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat. Med., 2005, Vol. 11, no. 4 Suppl., pp. S45-S53.* doi: 10.1038/nm1213.

6. Kim M.Y., Vergara E., Tran A., Paul M.J., Kwon T.H., Ma J.K.C., Jang Y.S., Reljic R. Marked enhancement of the immunogenicity of plant-expressed IgG-Fc fusion proteins by inclusion of cholera toxin non-toxic B subunit within the single polypeptide. *Plant Biotechnol. J., 2024, Vol. 22, no. 5, pp. 1402-1416.* doi: 10.1111/pbi.14275.

7. Li M., Wang Y., Sun Y., Cui H., Zhu S.J., Qiu H.J. Mucosal vaccines: Strategies and challenges. *Immunol. Lett., 2020, Vol. 217, pp. 116-125.*

8. Lycke N. Recent progress in mucosal vaccine development: Potential and limitations. *Nat. Rev. Immunol., 2012, Vol. 12, pp. 592-605.*

9. Puga-Gómez R., Ricardo-Delgado Y., Rojas-Iriarte C., Céspedes-Henriquez L., Piedra-Bello M., Vega-Mendoza D., Pérez N.P., Paredes-Moreno B., Rodríguez-González M., Valenzuela-Silva C., Sánchez-Ramírez B., Rodríguez-Noda L, Pérez-Nicado R., González-Mugica R., Hernández-García T., Fundora-Barrios T., Echevarría M.D., Enriquez-Puertas J.M., Infante-Hernández Y., Palenzuela-Díaz A., Gato-Orozco E., Chappi-Estévez Y., Francisco-Pérez J.C., Suarez-Martinez M., Castillo-Quintana I.C., Fernandez-Castillo S., Climent-Ruiz Y., Santana-Mederos D., García-Vega Y., Toledo-Romani M.E., Doroud D., Biglari A., Valdés-Balbín Y., García-Rivera D., Vérez-Bencomo V.; SOBERANA Research Group. Open-label phase I/II clinical trial of SARS-CoV-2 receptor binding domain-tetanus toxoid conjugate vaccine (FINLAY-FR-2) in combination with receptor binding domain-protein vaccine (FINLAY-FR-1A) in children. *Int. J. Infect. Dis., 2023, Vol. 126, pp. 164-173.*

10. Silverman G.J., Goodyear C.S., Siegel D.L. On the mechanism of staphylococcal protein A immunomodulation. *Transfusion, 2005, Vol. 45, no. 2, pp. 274-280.*

11. Xing M., Hu G., Wang X., Wang Y., He F., Dai W., Wang X., Niu Y., Liu J., Liu H., Zhang X., Xu J., Cai Q., Zhou D. An intranasal combination vaccine induces systemic and mucosal immunity against COVID-19 and influenza. *NPJ Vaccines, 2024, Vol. 9, no. 1, 64.* doi: 10.1038/s41541-024-00857-5.

12. Yuki Y., Kiyono H. Mucosal vaccines: novel advances in technology and delivery. *Expert Rev. Vaccines, 2009, Vol. 8, no. 8, pp. 1083-1097.*

13. Zhao T., Liu S., Wang P., Zhang Y., Kang X., Pan X., Li L., Li D., Gao P., An Y., Song H., Liu K., Qi J., Zhao X., Dai L., Liu P., Wang P., Wu G., Zhu T., Xu K., Li Y., Gao G.F. Protective RBD-dimer vaccines against SARS-CoV-2 and its variants produced in glycoengineered Pichia pastoris. *PLoS Pathog., 2024, Vol. 20, no. 8, e1012487.* doi: 10.1371/journal.ppat.1012487.

**Авторы:**

***Волосникова Е.А.*** *— к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующая отделом разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

***Волкова Н.В.*** *— к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной и синтетической биологии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

***Гайворонский С.И.*** *— стажер-исследователь лаборатории молекулярной и синтетической биологии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

***Симакова О.В.*** *— младший научный сотрудник отдела биологических исследований ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

***Есина Т.И.*** *— научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

***Рар А.А.*** *— инженер-микробиолог отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

***Щербаков Д.Н.*** *— ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной и синтетической биологии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

**Authors:**

***Volosnikova E.A.,*** *PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Technology Development and Pilot Production of Biopreparations, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

***Volkova N.V.,*** *PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular and Synthetic Biology, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

***Gayvoronskiy S.I.,*** *Intern Researcher, Laboratory of Molecular and Synthetic Biology, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

***Simakova O.V.,*** *Junior Researcher, Department of Biological Studies, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

***Esina T.I.,*** *Researcher, Department of Technology Development and Pilot Production of Biopreparations, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

***Rar A.A.,*** *Engineer Microbiologist, Department of Technology Development and Pilot Production of Biopreparations, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

***Shcherbakov D.N.,*** *Leading Researcher, Head, Laboratory of Molecular and Synthetic Biology, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

*Поступила 28.03.2025*
*Отправлена на доработку 03.04.2025*
*Принята к печати 25.05.2025*

*Received 28.03.2025*
*Revision received 03.04.2025*
*Accepted 25.05.2025*