

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ДНК-ВАКЦИННЫХ КОНСТРУКЦИЙ, КОДИРУЮЩИХ ИСКУССТВЕННЫЕ АНТИГЕНЫ ВИРУСА ГРИППА

© 2019 г. **Е. В. Старостина***, **О. Н. Каплина**, **Л. И. Карпенко**,
С. Г. Дудко, **С. И. Бажан**

*E-mail: starostina_ev@vector.nsc.ru

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, НСО, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

Создание универсальной вакцины против гриппа является актуальной задачей. Одним из подходов к созданию универсальной вакцины против гриппа является конструирование искусственных иммуногенов, содержащих консервативные фрагменты (эпитопы) белков различных субтипов вируса гриппа. Ранее в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» были сконструированы ДНК-вакцинные конструкции – кандидаты универсальной вакцины против вируса гриппа А, кодирующие искусственные антигены, сконструированные на основе консервативных фрагментов стебля гемагглютинина вируса гриппа А двух подтипов H1N1 и H3N2, а также консервативного белка М2. В данной статье представлены результаты по исследованию Т-клеточного иммунного ответа у мышей, иммунизированных ДНК-вакцинными конструкциями, кодирующими спроектированные антигены вируса гриппа.

Ключевые слова: вирус гриппа, универсальная вакцина, ДНК-вакцина, искусственный белок-иммуноген

DOI: 10.31857/S102872210006484-7

Адрес: 630559, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия, Старостина Екатерина Владимировна.

Тел.: 8 (383) 363-47-10, 8 913 937 5205 (моб.).

E-mail: starostina_ev@vector.nsc.ru

Авторы:

Старостина Е. В., н.с. отдела биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, НСО, Россия;

Каплина О. Н., с.н.с. отдела биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, НСО, Россия;

Карпенко Л. И., д.б.н., заведующий лабораторией рекомбинантных вакцин отдела биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, НСО, Россия;

Дудко С. Г., стажер-исследователь отдела биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, НСО, Россия;

Бажан С. И., д.б.н., заведующий теоретического отдела ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, НСО, Россия.

АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Грипп является сезонным инфекционным заболеванием, широко распространенным по всему земному шару. Вакцинация считается одним

из самых эффективных средств профилактики гриппа. Однако постоянная изменчивость вируса гриппа позволяет ему уходить от специфического иммунитета, сформировавшегося у человека в результате ранее перенесенной инфекции или предшествующей вакцинации предыдущими вариантами вируса. Это приводит к тому, что состав гриппозной вакцины необходимо менять каждые 2–3 года. Поэтому актуальной задачей является создание вакцин, способных индуцировать иммунный ответ против широкого спектра различных штаммов вируса гриппа человека и штаммов вируса гриппа птиц, также способных вызывать заболевания у людей.

Работы по созданию универсальной гриппозной вакцины ведутся по нескольким основным направлениям, в том числе на основе консервативных белков или консервативных участков переменных поверхностных гликопротеинов методами обратной генетики [1], а также на основе вирусоподобных частиц [2] и рекомбинантных вирусных векторов [3, 4]. Многие из

экспериментальных вакцин показали положительные результаты на животных, некоторые из них проходят доклинические или клинические испытания. Однако остается много нерешенных проблем, связанных с иммуногенностью вакцины и её способностью обеспечивать защиту от широкого спектра субтипов вируса гриппа. Один из перспективных подходов к созданию универсальных вакцин против инфекционных заболеваний, таких как грипп, основан на конструировании искусственных полиэпитопных иммуногенов, спроектированных с использованием консервативных Т- и В-клеточных эпитопов различных вирусных белков.

Во ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» в рамках проекта РНФ № 15-15-00047 проведен дизайн и конструирование трех вариантов ДНК-вакцинных конструкций – кандидатов универсальной вакцины против вируса гриппа А, кодирующих один нативный и два искусственных белка-иммуногена. Искусственные иммуногены AgН1 и AgН3 спроектированы на основе консервативных фрагментов стебля гемагглютинина двух разных субтипов вируса гриппа (Н1N1 и Н3N2, соответственно), тогда как нативный иммуноген AgМ2 – на основе консервативного вирусного белка М2.

Целью данной работы явилась оценка Т-клеточного иммунного ответа у животных, иммунизированных ДНК-вакцинными конструкциями, кодирующими спроектированные антигены вируса гриппа.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Для иммунизации использовались мыши BALB/с, самки весом 16–18 г. Иммунизация проводилась внутримышечно трёхкратно с интервалом две недели (доза 100 мкг ДНК на мышь). Через две недели после третьей иммунизации у иммунизированных мышей забирали селезёнки, из которых выделяли спленоциты и стимулировали их синтетическими пептидами, соответствующими эпитопам, входящих в состав спроектированных иммуногенов. Для оценки Т-клеточного иммунного ответа использовали два метода: метод внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) с использо-

ванием цитофлуориметра FACSCalibur и метод IFN- γ ELISpot с использованием набора Becton Dickinson (США).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные полученные с помощью метода IFN- γ ELISpot показали, что в группе животных, иммунизированных комбинацией ДНК-вакцинных конструкций наблюдался статистически значимый ответ CD8⁺ Т-лимфоцитов. При этом данные, полученные с помощью метода ICS, показали, что спроектированные вакцинные конструкции индуцируют статистически значимые ответы CD8⁺ Т-лимфоцитов, продуцирующих как IFN- γ , так и IL-2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты показали, что ДНК-вакцинные конструкции, кодирующие искусственные антигены вируса гриппа, обладают способностью индуцировать Т-клеточный иммунный ответ, специфичный в отношении вируса гриппа.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант 15-15-00047.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Wacheck V., Egorov A., Groiss F., Pfeiffer A., Fuederer T., Hoeflmayer D., Kundi M., Popow-Kraupp T., Redlberger-Fritz M., Mueller C.A., Cinatl J., Michaelis M., Geiler J., Bergmann M., Romanova J., Roethl E., Morokutti A., Wolschek M., Ferko B., Seipelt J., Dick-Gudenus R., Muster T. A novel type of influenza vaccine: safety and immunogenicity of replication-deficient influenza virus created by deletion of the interferon antagonist NS1. *J Infect Dis.* 2010, 1; 201(3), 354–62.
2. López-Macías C. Virus-like particle (VLP)-based vaccines for pandemic influenza: performance of a VLP vaccine during the 2009 influenza pandemic. *Hum Vaccin Immunother.* 2012, 8(3), 411–4.
3. Draper S. J., Cottingham M. G., Gilbert S. C. Utilizing poxviral vectored vaccines for antibody induction: progress and prospects. *Vaccine* 2013, 31, 4223–30.
4. Vemula S. V., Ahi Y. S., Swaim A. M., Katz J. M., Donis R., Sambhara S., Mittal S. K. Broadly protective adenovirus-based multivalent vaccines against highly pathogenic avian influenza viruses for pandemic preparedness. *PLoS One* 2013, 8, 624–96.

IMMUNOGENICITY OF DNA VACCINE CONSTRUCTS ENCODING INFLUENZA VIRUS ARTIFICIAL ANTIGENS

© 2019 E. V. Starostina*, O. N. Kaplina, L. I. Karpenko,
S. G. Dudko, S. I. Bazhan

*E-mail: starostina_ev@vector.nsc.ru

State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» Rospotrebnadzor,
Koltsovo, Novosibirsk region, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 28.03.2019

Development of a universal influenza vaccine is an important task. One of approaches for develop a universal influenza vaccine is design of artificial immunogens, which consist of fragments from proteins of different subtypes of influenza virus. Candidate universal DNA-vaccine were design in the FBSI SRC VB «Vector» earlier. The vaccine encode artificial antigens designed on the basis of conservative fragments of the hemagglutinin stem from influenza A virus of two subtypes H1N1 and H3N2, and on the basis of conservative protein M2. The article presents results of a study of the T-cell immune response in mice that were immunized with DNA-vaccine constructs encoding the designed influenza virus antigens.

Key words: influenza virus, «universal vaccine», DNA vaccine, artificial protein-immunogen

Authors:

Starostina E. V., ✉ researcher of Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» Rospotrebnadzor, Koltsovo, Russia. **E-mail:** starostina_ev@vector.nsc.ru;

Kaplina O. N., researcher of Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» Rospotrebnadzor, Koltsovo, Russia;

Karpenko L. I., PhD, Dr. Sci., head of Recombinant vaccines Laboratory of Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» Rospotrebnadzor, Koltsovo, Russia;

Dudko S. G., researcher of Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» Rospotrebnadzor, Koltsovo, Russia;

Bazhan S. I., PhD, Dr. Sci., head of Theoretical Department, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» Rospotrebnadzor, Koltsovo, Russia.