

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-121

**КОНЬЮГАТЫ БЕЛКА А С АНТИГЕНОМ УСИЛИВАЮТ  
ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНTRANАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ\***

**PROTEIN A-ANTIGEN CONJUGATES ENHANCE IMMUNE RESPONSE  
WHEN ADMINISTERED INTRANASALLY**

А. А. Pap, Е. А. Волосникова, Т. И. Есина, Н. В. Волкова, Д. Н. Щербаков

*Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово*

А. А. Rar, Е. А. Volosnikova, Т. И. Esina, N. V. Volkova, D. N. Shcherbakov

*State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltovo*

 raranas@yandex.ru

**Аннотация**

Исследование демонстрирует эффективность коньюгатов рекомбинантного белка А *Staphylococcus aureus* с RBD-доменом SARS-CoV-2 (вариант Delta) для интраназальной вакцинации. Применение сшивающих агентов Sulfo-SMCC и EDC позволило получить стабильные комплексы, индуцирующие высокие титры специфических IgG (до  $10^5$ ) у мышей, что подтверждает перспективность разработки мукозальных вакцин на основе коньюгатов белка А с антигенами респираторных патогенов.

**Abstract**

The study demonstrates the efficacy of recombinant *Staphylococcus aureus* protein A conjugated with the SARS-CoV-2 RBD domain (Delta variant) for intranasal vaccination. Cross-linking agents Sulfo-SMCC and EDC enabled stable complexes inducing high titers of specific IgG (up to  $10^5$ ) in mice, which confirms the prospects for the development of mucosal vaccines based on conjugates of protein A with antigens of respiratory pathogens.

Современная вакцинология сталкивается с ключевой проблемой — необходимостью создания эффективных мукозальных вакцин против респираторных инфекций. Слизистые оболочки дыхательных путей служат первичным барьером для патогенов, включая SARS-CoV-2 и вирусы гриппа. Однако разработка интраназальных вакцин осложняется рядом факторов: быстрым клиренсом антигенов со слизистой, относительно слабым иммунным ответом на слизистых, необходимостью преодоления эпителиального барьера [1, 2].

В данном контексте белок А *Staphylococcus aureus* (SpA) представляет особый интерес как потенциальный адъювант благодаря способности специфически связывать Fc-фрагменты иммуноглобулинов, возможности усиливать презентацию антигена и стабильности при коньюгации с различными антигенами [3, 4].

Для получения коньюгатов использовали рекомбинантные белки: RBD (рецептор-связывающий домен поверхностного S-белка коронавируса SARS-CoV-2, вариант B.1.617.2 (Delta)) и Z-домен белка А — и применяли два сшивающих агента: Sulfo-SMCC (1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодииimid) и EDC (N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодииimid). Использовали стехиометрическое соотношение 1 : 1 (RBD : SpA), амидные группы восстанавливали добавлением боргидрида натрия в соотношении 1 : 10 (белок RBD : боргидрид натрия). От несвязавшихся компонентов освобождались гель-фильтрацией на сепакриле S-200.

Исследование иммуногенных свойств проводили на мышах линии Balb/c ( $n = 80$ ). Схема иммунизации включала двукратное интраназальное введение с интервалом 14 дней. В качестве контрольных групп использовали RBD (в/м и интраназально) и физиологический раствор. Для определения титров специфических антител использовался ИФА. Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism 8.0 (критерий Манна — Уитни).

Эксперименты показали, что коньюгаты белка А с RBD SARS-CoV-2, полученные с использованием Sulfo-SMCC или EDC, индуцировали высокие титры специфических IgG (до  $10^5$ ) при интраназальном введении мышам, что статистически значимо ( $p \leq 0,05$ ) превышало показатели группы, получавшей RBD без адъюванта. Оба коньюгата продемонстрировали иммуногенность, сопоставимую с наблюдавшейся при внутримышечном введении антигена, обеспечивали структурную целостность компонентов и стабильность при хранении (2–8 °C, 30 дней). Однако наблюдалась гетерогенность иммунного ответа, связанная, по-видимому, с вариабельностью всасывания на слизистой.

\* Исследование выполнено в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (ГЗ-1/22).  
© А. А. Pap, Е. А. Волосникова, Т. И. Есина, Н. В. Волкова, Д. Н. Щербаков, 2025

Проведенное исследование демонстрирует, что конъюгаты рекомбинантного белка A *Staphylococcus aureus* с RBD-доменом SARS-CoV-2, полученные с использованием сшивающих агентов Sulfo-SMCC и EDC, являются примером перспективного подхода создания интраназальных вакцин, обеспечивая значительное усиление гуморального иммунного ответа (титры IgG до  $10^5$ ). Несмотря на наблюдаемую гетерогенность всасывания на слизистой, сопоставимая с наблюдавшейся при внутримышечным введении иммуногенность, стабильность препаратов и сохранение структурной целостности компонентов в составе конъюгатов подтверждают перспективность дальнейшей разработки мукозальных вакцин на основе белка A против широкого спектра респираторных патогенов, включая SARS-CoV-2. В то же время требуются дополнительные исследования по оптимизации состава, изучению местного IgA-ответа и расширению спектра целевых антигенов.

### Литература

1. Borges O., Borchard G. Mucosal vaccination: opportunities and challenges // Novel immune potentiators and delivery technologies for next generation vaccines. Springer US, 2013. P. 65–80.
2. Li M., Wang Y., Sun Y. et al. Mucosal vaccines: Strategies and challenges // Immunol. Lett. 2020. Vol. 217. P. 116–125.
3. Silverman G. J., Goodyear C. S., Siegel D. L. On the mechanism of staphylococcal protein A immunomodulation // Transfusion. 2005. Vol. 45 (2). P. 274–280.
4. Xing M., Hu G., Wang X. et al. An intranasal combination vaccine induces systemic and mucosal immunity against COVID-19 and influenza // NPJ Vaccine. 2024. Vol. 9 (1). Art. 64.