

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-224

**ИММУНОГЕННЫЕ И ПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ДВУХКОМПОНЕНТНЫХ ДНК-ВАКЦИН,
КОДИРУЮЩИХ Т-КЛЕТОЧНЫЙ ПОЛИЭПИТОПНЫЙ ИММУНОГЕН
И ПОЛИПРОТЕИН PRM-E ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ***

**IMMUNOGENIC AND PROTECTIVE PROPERTIES OF BICOMPONENT DNA VACCINES
ENCODING T-CELL POLYEPITOPE IMMUNOGEN AND PRM-E POLYPROTEIN
OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS**

Е. В. Тигеева, В. А. Яковлев, Е. В. Старостина, М. Б. Боргоякова, Е. В. Протопопова,
В. А. Святченко, В. Б. Локтев, Л. А. Кисакова, Д. Н. Кисаков, Л. И. Карпенко

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

E. V. Tigeeva, V.A. Yakovlev, E. V. Starostina, M. B. Borgoyakova, E. V. Protopopova,
V.A. Svyatchenko, V. B. Loktev, L.A. Kisakova, D.N. Kisakov, L.I. Karpenko

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo

✉ lena.tigeeva@gmail.com

Аннотация

В ходе работы были созданы две двухкомпонентные ДНК-вакцины, кодирующие Т-клеточный полиэпипитопный иммуноген и полипротеин prM-E вируса клещевого энцефалита. Было показано, что двухкомпонентные ДНК-вакцины — pVAX-prM-E+pVAX-AG1-ub, а также pVAX-prM-E+pVAX-AG4-ub — эффективно индуцируют формирование высокого уровня защитного иммунитета у иммунизированных животных.

Abstract

In the study, bicomponent DNA-vaccines encoding T-cell polyepitope immunogen and prM-E polyprotein of tick-borne encephalitis virus were developed. It was shown that two-component DNA vaccines — pVAX-prM-E+pVAX-AG1-ub, as well as pVAX-prM-E+pVAX-AG4-ub, effectively induce a high level of protective immunity in immunised animals.

Вирус клещевого энцефалита (КЭ) — опасный нейротропный патоген, поражающий центральную нервную систему. Эффективным способом борьбы с КЭ является вакцинация. Лицензированные вакцины, полученные на основе инактивированного вируса КЭ, продемонстрировали эпидемиологическую эффективность, однако они обладают рядом недостатков, среди которых следует отметить отдельные случаи прорывных инфекций у вакцинированных. Одной из причин этого явления может быть недостаточно эффективное формирование Т-клеточного иммунного ответа на инактивированный вирус.

Одним из перспективных подходов к разработке средств профилактики КЭ могут стать ДНК-вакцины, которые обеспечивают синтез антигена в нативной форме, способны индуцировать как гуморальный, так и клеточный ответ. Производство ДНК-вакцин является более простым и дешевым по сравнению с традиционными вакцинами.

Повышение эффективности ДНК-вакцины может быть достигнуто за счет применения комплексной стратегии, заключающейся в одновременном использовании двух иммуногенов: один из которых предназначен для стимуляции Т-клеточного ответа, а другой — для индукции вируснейтрализующих антител.

Целью работы являлся анализ иммуногенных и протективных свойств двухкомпонентных ДНК-вакцин, кодирующих полипротеиновый Т-клеточный иммуноген и полипротеин prM-E вируса КЭ.

Ранее в ФБУН ГНИЦ ВБ «Вектор» были получены ДНК-вакцины pVAX-AG1-ub и pVAX-AG4-ub, кодирующие Т-клеточные полипротеиновые иммуногены AG1 и AG4, в состав которых входят цитотоксические и Т-хелперные эпипитопы из белков NS1, NS3, NS5 и E ВКЭ. Для индукции гуморального ответа была разработана ДНК-вакцина pVAX-prM-E, кодирующая полипротеин вируса КЭ — структурные белки prM и E. Совместная экспрессия белков E и prM ведет к формированию вирусоподобных частиц, обладающих морфологией нативных вирионов, что позволяет сохранить природную конформацию эпипитопов, узнаваемых вируснейтрализующими антителами.

* Исследование выполнено в рамках государственного задания Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (№ 27/21).

© Е. В. Тигеева, В. А. Яковлев, Е. В. Старостина, М. Б. Боргоякова, Е. В. Протопопова, В. А. Святченко, В. Б. Локтев, Л. А. Кисакова, Д. Н. Кисаков, Л. И. Карпенко, 2025

Иммуногенность и протективность полученных двухкомпонентных ДНК-вакцин оценивали на модели мышей линии Balb/c (протокол № 3, утвержденный Биоэтическим комитетом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» от 29.02.2024). Для этого была проведена иммунизация животных по схеме, представленной на рис. 1.

Оценку уровня гуморального ответа проводили с помощью ИФА на 14-й день после второй иммунизации. В результате было показано, что в сыворотках мышей, иммунизированных pVAX-prM-E, титр специфических антител составил 1 : 85,000, иммунизированных двухкомпонентными ДНК-вакцинами pVAX-prM-E+pVAX-AG1-ub — 1 : 94,000 и pVAX-prM-E+pVAX-AG4-ub — 1 : 164,000 (рис. 2, а).

Анализ Т-клеточного иммунного ответа с помощью метода ELISpot показал, что в группах мышей, иммунизированных двухкомпонентными ДНК-вакцинами — pVAX-prM-E+pVAX-AG1-ub, а также pVAX-prM-E+pVAX-AG4-ub, наблюдался высокий уровень спленоцитов, продуцирующих IFN- γ в ответ на стимуляцию пулом специфических пептидов из белка Е вируса (см. рис. 2, б). В контрольных группах животных клеточный ответ был на уровне фона.

Для оценки способности вакцинальных конструкций обеспечивать защиту животных от заражения вирусом, иммунизированных мышей, опытных и контрольных животных инфицировали дозой 1000 ЛД₅₀ ВКЭ (штамм 205 из коллекции ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»). Выживаемость в группах, иммунизированных экспериментальной ДНК-вакциной pVAX-prM-E, а также комбинированными ДНК-вакцинами и коммерческой вакциной «Клещ-Э-Вак», на 14-й день наблюдений составила 100 % (рис. 3).

Таким образом, показано, что иммунизация мышей линии Balb/c двухкомпонентными ДНК-вакцинами, кодирующими полигипоптидный Т-клеточный иммуноген и структурные белки вируса КЭ, индуцирует формирование высокого уровня как гуморального, так и Т-клеточного иммунного ответа. Включение в состав вакцины Т-клеточного иммуногена способствует повышению специфического Т-клеточного ответа у животных, иммунизированных двухкомпонентными вакцинами — pVAX-prM-E+pVAX-AG1-ub, а также pVAX-prM-E+pVAX-AG4-ub. Кроме того, было показано, что обе двухкомпонентные ДНК-вакцины способны эффективно индуцировать защитный иммунитет против ВКЭ (штамм 205).

Группа	ГРУППЫ ЖИВОТНЫХ	
	Доза	
pVAX-prM-E	100 мкг ДНК / 50 мкл	
pVAX-AG1-ub	100 мкг ДНК / 50 мкл	
pVAX-AG4-ub	100 мкг ДНК / 50 мкл	
pVAX-prM-E+pVAX-AG1-ub	100+100 мкг ДНК / 50 мкл	
pVAX-prM-E+pVAX-AG4-ub	100+100 мкг ДНК / 50 мкл	
Коммерческая вакцина	500 мкл, внутрибрюшинно	
Неиммунизированные		



Рис. 1. Схема эксперимента

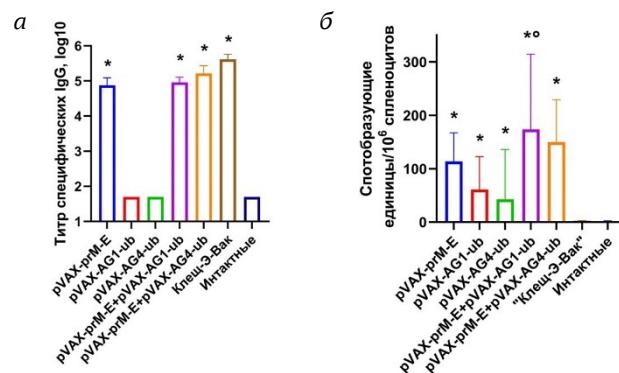


Рис. 2. Результаты оценки иммунного ответа у иммунизированных мышей линии Balb/c: а — титры специфических антител к вирусу КЭ (по данным ИФА); б — число клеток, продуцирующих IFN γ в ответ на специфическую стимуляцию (по данным ELISpot). Данные представлены как среднее с. о. ($p < 0,05$ по сравнению:

* — с pVAX-prM-E; ** — с интактными мышами)

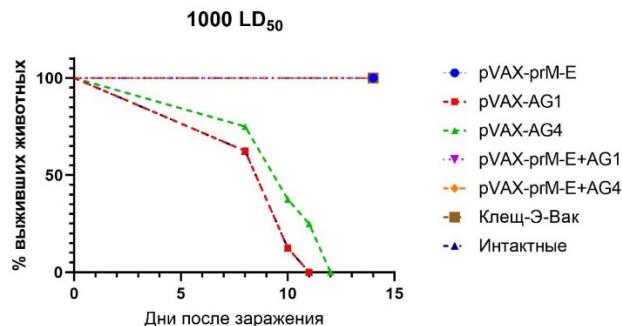


Рис. 3. Кривые выживаемости, полученные в группах иммунизированных животных после летального заражения вирусом КЭ