

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-199

**ПОРА ОБНОВЛЕНИЯ: ПРЕИМУЩЕСТВА АКТУАЛИЗАЦИИ NP КОМПОНЕНТА
В СОСТАВЕ ЦЕЛЬНОВИРИОННЫХ ГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН*****TIME FOR AN UPDATE: THE BENEFITS OF UPDATING
THE NP COMPONENT IN WHOLE-VIRION INFLUENZA VACCINES**

А. Я. Рак, П. И. Прокопенко, В. В. Музурова, Л. Г. Руденко, И. Н. Исакова-Сивак

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

A. Ya. Rak, P. I. Prokopenko, V. V. Muzurova, L. G. Rudenko, I. N. Isakova-Sivak

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg

✉ alexandrak.bio@gmail.com

Аннотация

Слабая консервация ($\leq 41\%$) иммуногенных CD8⁺ Т-клеточных (иЦТЛ) эпитопов NP традиционных вакцинных доноров у современных NP и низкое содержание ($\leq 24\%$) в их составе иЦТЛ-эпитопов NP современных вирусов гриппа А, а также ограниченная кросс-специфичность анти-NP антител, выработанных к рекомбинантным белкам и при инфекции различными штаммами, свидетельствуют о важности актуализации NP в составе вакцин.

Abstract

The poor conservation ($\leq 41\%$) of immunogenic CD8⁺ T-cell (iCTL) NP epitopes of traditional vaccine donors in modern NPs and the low content ($\leq 24\%$) of iCTL NP epitopes of modern influenza A viruses, as well as the limited cross-specificity of anti-NP antibodies developed to recombinant proteins and during infection with different strains, suggest the importance of NP actualization in vaccine formulations.

Вакцинопрофилактика — одно из наиболее эффективных средств борьбы с распространением потенциально летальной гриппозной инфекции, до 5 млн случаев которой ежегодно регистрируется во всем мире [1]. Традиционно геном штаммов, составляющих основу цельновиральных (инактивированных, ИГВ и живых, ЖГВ) гриппозных вакцин, включает генетические сегменты, кодирующие поверхностные антигены (гемагглютинин и нейраминидазу) циркулирующих вирусных вариантов, а также неструктурные и внутренние белки стандартных вирусов-доноров 1933–1960 гг. выделения: А/WSN/1933 (H1N1), А/PR/8/34 (H1N1), А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) и А/Ann Arbor/6/60 (H2N2). Несмотря на значительную консервативность NP, за более чем 60 лет аминокислотный состав этого компонента мог претерпеть изменения, затрагивающие иЦТЛ-эпитопы, служащие активаторами для CD8⁺ Т-клеток в комплексе с МНС-I, и В-клеточные эпитопы, стимулирующие выработку анти-NP антител.

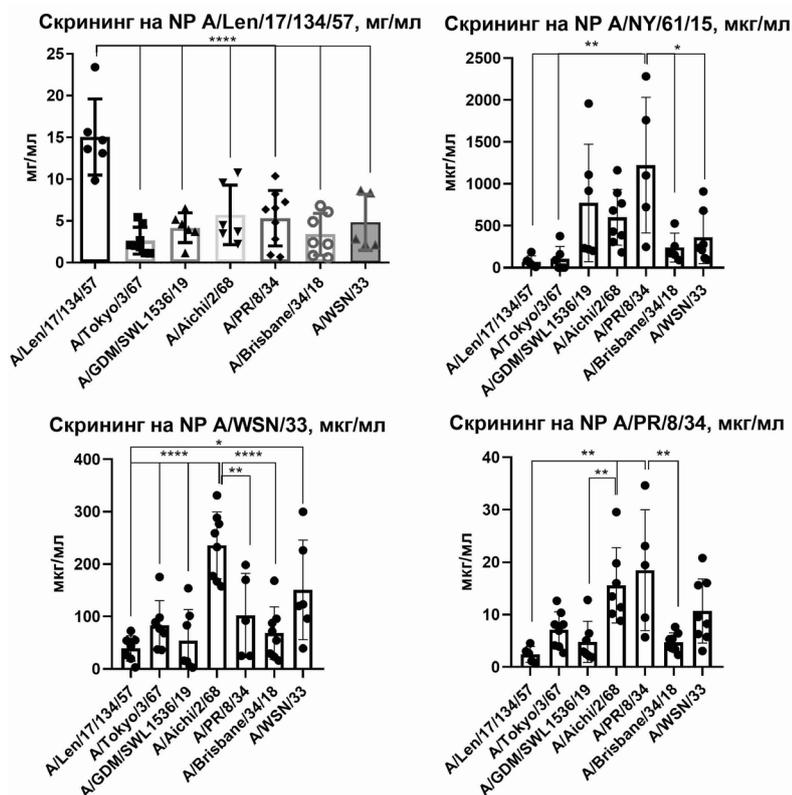
Целью работы стал анализ целесообразности актуализации NP в составе гриппозных вакцин методом оценки соответствия набора иЦТЛ-эпитопов NP традиционных вакцинных доноров и современных штаммов, а также анализ кросс-специфичности анти-NP антител.

Анализ эпитопной консервативности *in silico* был выполнен для 1614 и 1767 штаммов вируса гриппа А подтипов H1N1 и H3N2, соответственно, циркулировавших в 2009–2023 гг. (по данным из NCBI Influenza Virus Sequence Database). Для этого использовалась база данных IEDB (www.iedb.org), встроенные алгоритмы предсказания ЦТЛ-эпитопов NetCTL и сайтов протеолиза белка NetChop. Обнаруженные эпитопы с ≤ 1 сайтом протеолиза картировали на аминокислотные последовательности NP с помощью алгоритма выравнивания ClustalO в программе JalView 2.8.1, а их иммуногенность и консервативность оценивали с помощью инструментов IEDB T-cell Immunogenicity Predictor Tool и Epitope Conservancy Assay соответственно.

Для оценки кросс-реактивности анти-NP антител полноразмерные рекомбинантные 6xHis-содержащие NP эволюционно отдаленных штаммов гриппа А экспрессировали в клетках *E. Coli* BL21(DE3) и выделяли методом иммобилизованной металл-аффинной хроматографии, а затем использовали для трехкратной иммунизации мышей линии BALB/c (по 20 мкг каждые 14 дней) и в качестве подложки в ИФА в концентрации 2 мкг/мл. Интактных мышей BALB/c также заражали восемью различными штаммами гриппа А дикого типа для получения антисывороток через 2 недели после инокуляции.

* Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект №FGWG-2022-0001).
© А. Я. Рак, П. И. Прокопенко, В. В. Музурова, Л. Г. Руденко, И. Н. Исакова-Сивак, 2024

Антиген	Средняя концентрация анти-NP антител, выработанных при различных челленджах, мкг/мл						
	A/Len/17/134/57	A/Tokyo/3/67	A/GDM/SWL1536/19	A/Aichi/2/68	A/PR/8/34	A/Brisbane/34/18	A/WSN/33
NP A/Len/17/134/57	15047,3	2635,6	4183,1	5716,1	5326,2	3404,8	4829,6
NP A/NY/61/15	72,3	104,9	773,3	601,0	1222,8	240,3	474,9
NP A/WSN/33	39,2	83,1	54,0	236,2	102,0	68,4	150,8
NP A/PR/8/34	2,4	7,1	4,8	15,6	18,5	4,7	10,7



Иммуногенность NP различных штаммов вирусов гриппа А и кросс-реактивность анти-NP антител

Ожидается наибольшая доля иЦТЛ-эпитопов NP донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) сохраняться у современных вирусов подтипов H1N1 и H3N2 (5 из 12, 41,7 %), поскольку этот вирус был выделен на два десятилетия позже, чем доноры А/WSN/1933 и А/PR/8/34, только 16,7 и 23,1 % иЦТЛ-эпитопов NP которых представлены в циркулирующих в настоящее время вирусах гриппа А. Большинство NP-специфических иЦТЛ-эпитопов вакцинных прототипов, разработанных на основе антигенно устаревших вирусов гриппа А, не присутствуют в современных штаммах, и, напротив, представленность иммуногенных ЦТЛ-эпитопов NP антигена современных вирусов гриппа А у четырех наиболее популярных вакцинных доноров не превышает 24 %.

Несмотря на наличие перекрестной специфичности анти-NP антител, выработанных в ответ на иммунизацию рекомбинантными белками или при продуктивной инфекции, их способность к распознаванию гетерологичных антигенов оказалась снижена. Кроме того, варьировала иммуногенность различных NP (см. рисунок).

Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что NP-специфические антитела и CD8⁺ Т-клетки, генерируемые в ответ на вакцинацию штаммами, содержащими NP классических доноров, способны распознавать лишь небольшую часть иммуногенных эпитопов современных NP. При этом NP может быть актуализирован либо введением в состав вакцинных штаммов гена NP циркулирующих вирусных вариантов, либо направленным мутагенезом последовательностей NP вакцинных доноров.

Литература

1. Influenza. World Health Organization (3 October 2023). — World Health Organization fact sheet. URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (accessed: 19.07.2024)