

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-250

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НУКЛЕОТИДОВ
НА ИММУНОГЕННОСТЬ мРНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГРИППА****EFFECT OF VARIOUS MODIFIED NUCLEOTIDES ON IMMUNOGENICITY
OF INFLUENZA MRNA VACCINE**

С. И. Красникова, С. В. Шарабрин, Л. А. Кисакова, Л. И. Карпенко

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

S. I. Krasnikova, S. V. Sharabrin, L. A. Kisakova, L. I. Karpenko

State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo

✉ sveta.krasnikova2000@yandex.ru

Аннотация

мРНК-вакцины показали большие перспективы для создания потенциальных вакцин против вирусных инфекций. В данной работе определили влияние модифицированных нуклеотидов на иммуногенность мРНК, кодирующей антиген вируса гриппа H1N1. Изучение модифицированных нуклеотидов в мРНК позволило успешно освоить технологию мРНК-вакцин, так как они влияют на стабильность молекулы, трансляцию, активацию иммунной системы, что способствует созданию эффективных вакцин.

Abstract

mRNA vaccines have shown great promise for the development of potential vaccines against viral infections. In this work, we determined the effect of modified nucleotides on the immunogenicity of mRNA encoding the H1N1 influenza virus antigen. The study of modified nucleotides in mRNA has made it possible to successfully master the technology of mRNA vaccines, as they affect the stability of the molecule, translation, and activation of the immune system, which contributes to the creation of effective vaccines.

Способность модифицированных оснований изменять свойства мРНК нашла свое применение для создания вакцин на их основе, в первую очередь за счет того, что модифицированные мРНК нарушают взаимодействие с клеточными рецепторами, которые отвечают за активацию врожденного иммунного ответа, что, в свою очередь, повышает стабильность и период полураспада мРНК *in vivo*. Вместе с этим усиливается эффективность внутриклеточной трансляции с мРНК. Вакцины на основе мРНК получают из линейаризованной ДНК-матрицы в результате транскрипции *in vitro*. Для нормального функционирования мРНК должна быть идентичной клеточной мРНК, для этого ей необходимы следующие структурные элементы: кэп на 5' конце, нетранслируемые области, поли (А)-хвост на 3' конце. В качестве модифицированных оснований были использованы наиболее распространенные модификации: мΨ (N1-метил-псевдоуридин), Ψ (псевдоуридин), м5С (5-метилцитозин) и м6А (N6-метиладенозин). Эти модификации демонстрируют способность улучшать трансляционную активность мРНК, что делает их привлекательными кандидатами для использования в синтезе мРНК с высокой эффективностью. Но вопрос о влиянии модифицированных нуклеотидов на функцию синтетической РНК до сих пор остается открытым, поэтому для дальнейшего развития мРНК-вакцин необходимо всестороннее понимание того, как модификации влияют на РНК.

Цель исследования — оценить влияние модифицированных нуклеотидов, на иммуногенные свойства экспериментальных мРНК-вакцин против вируса гриппа A/California/4/2009/ (H1N1 pdm09).

Синтез мРНК, кодирующей белок гемагглютинаина вируса гриппа H1N1, проводился с соответствующей матрицы — плазмидной ДНК, несущей ген Н1 под контролем промотора фага Т7, со встроенным поли(А)-хвостом длиной 100А. Для получения мРНК использовался набор для синтеза мРНК (БиолабМикс, Новосибирск) согласно протоколу производителя. Проводилось контранскрипционное кэпирование с использованием AG-сар аналога.

Таким образом, было получено 7 вариантов мРНК со следующим нуклеотидным составом: 1) А, G, С, U; 2) А, G, U, мС; 3) А, G, С, мΨ; 4) А, G, С, Ψ, м5С; 5) U, G, С, м6А; 6) G, Ψ, mA, мС; 7) А, G, С, Ψ.

Чтобы оценить эффективность экспериментальных вакцин мРНК против вируса гриппа, проводили двукратную иммунизацию мышей линии BALB/c с интервалом в 2 недели с последующим анализом гуморального и клеточного ответа.

В результате работы было показано, что иммунизация мРНК-вакцинами мышей линии BALB/c индуцирует синтез специфических антител, обладающих вируснейтрализующей активностью против вируса гриппа A/California/7/2009(H1N1)pdm09. Наилучший результат установлен с псевдоуридином и N1-метил-псевдоуридином, где средний титр антител составил 1 : 291600 и 1 : 133650.

Наилучший результат Т-клеточного ответа зарегистрировали с N1-метил-псевдоуридином, что составило 1030 на 1 млн клеток, секретирующих IFN- γ , а также с псевдоуридином, где среднее значение уже составило 938 на 1 млн клеток.

Наличие модифицированных нуклеотидов в мРНК, таких как m6A, могло привести к ускоренной деградации молекулы, а использование одновременно Ψ /m5C могло привести к подавлению процесса трансляции, поэтому в данных группах наблюдается отсутствие какого-либо специфического действия.

Полученные данные свидетельствуют о том, что включение N1-метил-псевдоуридина и псевдоуридина в составе мРНК-вакцин может способствовать созданию более эффективных вакцин против вируса гриппа. Улучшение обоих типов иммунного ответа предполагает, что эти модификации могут помочь создать более сбалансированный и устойчивый иммунитет, что является критически важным для защиты от вируса гриппа.