

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-367

**БУСТЕРНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ МЫШЕЙ КАНДИДАТНОЙ ПОЛИЭПИТОПНОЙ ДНК-ВАКЦИНОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СТРУЙНОЙ ИНЖЕКЦИИ ПРИВОДИТ К ЗНАЧИТЕЛЬНОМУ УСИЛЕНИЮ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА\*****BOOSTER IMMUNIZATION OF MICE WITH A CANDIDATE POLYEPITOPE DNA VACCINE USING JET INJECTION LEADS TO A SIGNIFICANT INCREASE IN THE T-CELL IMMUNE RESPONSE**

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

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

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

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

✉ yva20009@mail.ru

**Аннотация**

Т-клеточный иммунный ответ является важной частью иммунитета против SARS-CoV-2. В данной работе показано, что разработанная кандидатная ДНК-вакцина pBSI-COV-Ub обладает способностью индуцировать Т-клеточный иммунитет у мышей линии Balb/c. Наиболее эффективно иммунный ответ стимулировался при двукратном в/м введении вакцины с последующей бустерной иммунизацией с использованием струйной инъекции.

**Abstract**

The T-cell immune response is an important part of immunity against SARS-CoV-2. In this work, it was shown that the developed candidate DNA vaccine pBSI-COV-Ub has the ability to induce T-cell immunity in Balb/c mice. The immune response was most effectively stimulated by double intramuscular administration of the vaccine, followed by booster immunization using jet injection.

Пандемия COVID-19 стала серьезным испытанием для всего мира. В 2023 году ВОЗ отменила статус пандемии, отмечая при этом, что вирус SARS-CoV-2 по-прежнему остается серьезной угрозой для здоровья населения. Ряд последних исследований показывает, что Т-клеточный ответ играет важную роль в защите организма от вируса, так как после перенесенной инфекции он более устойчив во времени и показывает высокую консервативность в отношении различных субтипов вируса. Этот факт свидетельствует о важности и актуальности разработки вакцин, способных эффективно стимулировать Т-клеточный иммунный ответ. Наиболее перспективным подходом в этом направлении являются ДНК-вакцины, кодирующие искусственные антигены, содержащие множество Т-клеточных эпитопов.

Ранее в ГНЦ ВБ «Вектор» был спроектирован Т-клеточный полиэпитопный иммуноген — BSI-COV-Ub [1], включающий консервативные фрагменты из различных белков SARS-CoV-2, содержащие наибольшее количество Т-клеточных эпитопов, рестриктируемых МНС I и II типа человека и мыши. К N-концу данного иммуногена был присоединен убиквитин, обеспечивающий его эффективный процессинг на протеасоме.

Одним из основных минусов ДНК-вакцин является их низкая иммуногенность [2]. Преодолеть ограничения иммуногенности конструкции было решено с помощью использования такого метода доставки, как струйная инъекция. Данный метод основан на введении препарата внутривожно под высоким давлением, благодаря чему на клеточной мембране возникает напряжение сдвига, приводящее к ее дестабилизации и образованию временных пор, способствующих поглощению ДНК из межклеточного пространства [3]. Совместно с этим иммуногенность конструкции также повышается из-за наличия в коже большого количества антигенпрезентирующих клеток, способных активно процессировать и представлять антиген.

Цель данного исследования — изучить различные режимы иммунизации мышей линии BALB/c кандидатной ДНК-вакциной pBSI-COV-Ub, сочетающие в себе классическое внутримышечное введение и внутривожное введение с использованием струйной инъекции.

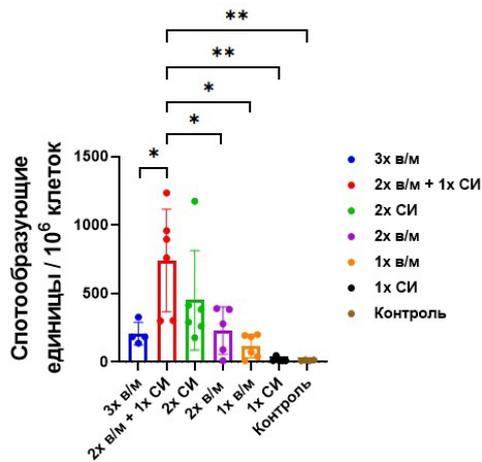
Для экспериментов по оценке иммуногенности были взяты мыши линии BALB/c весом 20–23 г. Мышей иммунизировали с использованием различных режимов иммунизации, представленных в таблице. Кандидатная вакцина вводилась в дозе 100 мкг/50 мкл в случае струйной инъекции или в дозе 100 мкг/100 мкл в случае вну-

\* Исследование выполнено в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.  
© В. А. Яковлев, М. Б. Боргоякова, Е. В. Тигеева, Д. Н. Кисаков, Л. А. Кисакова, Л. И. Карпенко, 2024

тримышечного введения шприцем. Через 2 недели после последней иммунизации осуществляли забор селезенок для анализа Т-клеточного ответа методом ELISpot.

### Режимы иммунизации мышей

Номер группы	1	2	3	4	5	6
1 иммунизация	в/м	в/м	в/м	СИ	в/м	СИ
2 иммунизация	в/м	в/м	в/м	СИ	-	-
3 иммунизация	в/м	СИ	-	-	-	-



Количество спленцитов, экспрессирующих IFN $\gamma$  в ответ на стимуляцию пулом специфических пептидов, определенное методом ELISpot. Каждый столбик представляет собой среднее число клеток, образующих пятна, на миллион стимулированных спленцитов (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ )

В результате было показано, что кандидатная ДНК вакцина обеспечивает формирование наиболее высокого уровня Т-клеточного ответа в группе, двукратно иммунизированной внутримышечно (в/м), с бустерной иммунизацией с использованием струйной инъекции (СИ) (среднее количество составило 830 SFUs (spot-forming units) на  $10^6$  спленцитов), что было статистически выше, чем показатели группы с трехкратной в/м иммунизацией (338 SFUs) (см. рисунок). Также отмечалось, что различия между группами с двукратной в/м иммунизацией (254 SFUs) и двукратной иммунизацией СИ (451 SFUs) не были статистически значимы.

Таким образом, показано, что кандидатная ДНК-вакцина рBSI-COV-Ub обладает способностью индуцировать Т-клеточный иммунитет. Отмечалась тенденция к повышению количества SFU в группах, иммунизированных с применением струйной инъекции. При этом сочетание классического внутримышечного введения с бустерной иммунизацией с использованием СИ позволяет наиболее значительно увеличить иммунологические показатели.

### Литература

1. Borgoyakova M. B., Volosnikova E. A., Ilyichev A. A., Karpenko L. I. Approaches to Improve the Immunogenicity of Plasmid DNA-Based Vaccines against COVID-19 // *Genetics. Intech. Open*. 2023.
2. Kisakov D. N., Antonets D. V., Shaburova E. V. et al. DNA Vaccine Encoding the Artificial T-Cell Polyepitope Immunogen of Tick-Borne Encephalitis Virus // *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2023. Vol. 176. P. 72–76.
3. Sonoda J., Mizoguchi I., Inoue S. et al. A Promising Needle-Free Pyro-Drive Jet Injector for Augmentation of Immunity by Intradermal Injection as a Physical Adjuvant // *International journal of molecular sciences*. 2023. Vol. 24. 9094.