

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.

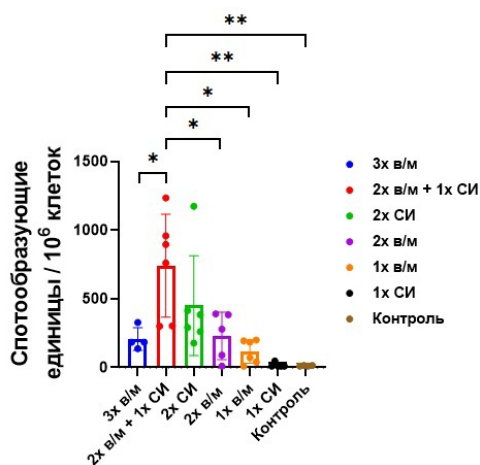
Для экспериментов по оценке иммуногенности были взяты мыши линии BALB/c весом 20–23 г. Мышей иммунизировали с использованием различных режимов иммунизации, представленных в таблице. Кандидатная вакцина вводилась в дозе 100 мкг/50 мкл в случае струйной инъекции или в дозе 100 мкг/100 мкл в случае вну-

* 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 γ 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.