

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-22

## Обзор

# Дизайн искусственных полиэпитопных Т-клеточных иммуногенов для создания профилактических и терапевтических вакцин

Л.И. Карпенко  , А.А. Ильичев 

**Аннотация:** Сергей Иванович Бажан начал работать в «Векторе» в 1975 г. по личному приглашению академика Л.С. Сандакчиева и стал одним из основоположников новых научных направлений организации. Все без исключения, кому посчастливилось учиться у него, работать с ним и даже просто встречаться на научных форумах, признавали, каким неординарным и разносторонним человеком был Сергей Иванович. Талантливый ученый, автор более 300 статей, 20 патентов и ряда научных монографий, изданных в России и за рубежом. Его научные интересы простирались от разработки математических моделей для систем «вирус – хозяин» до исследования механизмов действия интерферона и противовирусного иммунитета. С.И. Бажан был одним из первых ученых в мире, начавшим работы по дизайну искусственных поли-CTL-эпитопных Т-клеточных иммуногенов для создания профилактических вакцин против вирусных инфекций и терапевтических – против онкологических заболеваний. В данной статье мы хотим рассказать об этих исследованиях Сергея Ивановича, над которыми нам посчастливилось трудиться вместе с ним.

**Ключевые слова:** Сергей Иванович Бажан; вакцины против вирусных инфекций; ВИЧ-вакцина; вирус Эбола; вирус Марбург; грипп; меланома; рак молочной железы; COVID-19.

**Для цитирования:** Карпенко Л.И., Ильичев А.А. Дизайн искусственных полиэпитопных Т-клеточных иммуногенов для создания профилактических и терапевтических вакцин. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;9(4):192-200. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-22

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

## Review


# Design of artificial polyepitope T-cell immunogens for the creation of prophylactic and therapeutic vaccines


L.I. Karpenko  , A.A. Ilyichev 

**Abstract:** Sergey I. Bazhan started to work at “Vector” in 1975 at the personal invitation of Academician L.S. Sandakhchiev and became one of the founders of new scientific directions of the organization. Without exception, everyone, who was lucky enough to study with him, work with him, and even just meet him at scientific forums, said that Sergey Ivanovich was an extraordinary and versatile person. He was a talented scientist, author of more than 300 articles, 20 patents and a number of scientific monographs published in Russia and abroad. His scientific interests ranged from the development of mathematical models for “virus-host” systems to the study of the mechanisms of action of interferon and the mechanisms of antiviral immunity. S.I. Bazhan was one of the first scientists in the world who realized the design a series of artificial poly-CTL-epitope T-cell immunogens to create preventive vaccines against viral infections and therapeutic vaccines for the treatment of cancer. We would like to describe in this article these studies of Sergey Ivanovich, in which we were lucky enough to work with him. He was one of the first scientists in the world who realized the design a series of artificial poly-CTL-epitope T-cell immunogens to create preventive vaccines against viral infections and therapeutic vaccines for the treatment of cancer. This article is about the studies in which we were lucky enough to work together with Sergey Ivanovich.

**Key words:** Sergey Bazhan; vaccines against viral infections; HIV vaccine; Ebola virus; Marburg virus; flu; melanoma; mammary cancer; COVID-19.

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия  
State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia

 lkarpenko1@ya.ru

 Карпенко Л.И., Ильичев А.А., 2023

**For citation:** Karpenko L.I., Ilyichev A.A. Design of artificial polyepitope T-cell immunogens for the creation of prophylactic and therapeutic vaccines. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;9(4):192-200. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-22 (in Russian)

**Acknowledgements:** The work was carried out as a part of the state assignment of the State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Rospotrebnadzor.

*Памяти Сергея Ивановича Бажана,  
заведующего теоретическим отделом  
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»*

## Введение

Сергей Иванович Бажан – известный молекулярный биолог, доктор биологических наук, заведующий теоретическим отделом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» – ушел из жизни 16 апреля 2022 г. Сергей Иванович был талантливым ученым и замечательным человеком, его человеческое тепло, обаяние, умение радоваться чужим успехам притягивали людей, и, конечно, он оставил глубокий след в сердцах тех, с кем общался. Нас восхищали его широкая эрудиция, интеллигентность, способность увлекать своими идеями, умение решать сложные задачи и работать в команде единомышленников. Сфера научных интересов Сергея Ивановича была весьма обширна. Он занимался разработкой математических моделей для систем «вирус – хозяин», исследованием механизмов действия интерферона и противовирусного иммунитета (Chuikov et al., 1991; Bazhan et al., 1995; Belova et al., 1995; Бажан и др., 2009; и др.).

Данная статья посвящена исследованиям Сергея Ивановича, над которыми нам посчастливилось трудиться вместе с ним. Эти работы связаны с дизайном искусственных поли-CTL-эпитопных иммуногенов, необходимых для создания профилактических вакцин против вирусов и терапевтических – против онкологических заболеваний. Он был одним из первых ученых в мире, начавшим исследования в данном направлении.

Многие современные вакцины направлены на индукцию в основном В-клеточного ответа, т. е. антител. Сергей Иванович, не отрицая важности гуморального ответа, считал, что для полноценной защиты от вирусной инфекции необходим Т-клеточный ответ и совершенно иной, отличный от В-клеточного принцип конструирования вакцины. Сложность конструирования Т-клеточных вакцин состоит в том, что в человеческой популяции существует большой полиморфизм молекул МНС, которые презентуют Т-клеточные эпитопы. Ни одна другая генетическая система организма не имеет такого количества аллельных форм, как гены МНС. И этот факт приходится учитывать при дизайне Т-клеточного иммуногена.

### Дизайн полиэпитопных Т-клеточных иммуногенов

Сергей Иванович Бажан начинал работы по дизайну и получению искусственных Т-клеточных иммуногенов еще в конце 1990-х гг. Он спроектировал искусственный белок, который назвали TCI (T-cell immunogen). TCI включает в себя Т-клеточные эпитопы из основных белков ВИЧ-1, а также учитывает основные HLA, или МНС человека (Bazhan et al.,

2004). При его конструировании были выбраны Т-клеточные эпитопы, высоко консервативные среди трех основных субтипов ВИЧ-1 (А, В и С). Белок TCI включает в себя более 80 Т-клеточных эпитопов (как CD8<sup>+</sup> CTL, так и CD4<sup>+</sup> Th) из белков Env, Gag, Pol и Nef (Bazhan et al., 2004). Учитывались CTL-эпитопы, которые в совокупности рестриктируются десятком различными оптимально подобранными аллелями МНС I класса. Как известно, этого достаточно, чтобы покрыть генетическое разнообразие антигенов МНС I класса в человеческой популяции практически любого географического региона. Поскольку процессинг и презентация антигена молекулами МНС I класса наиболее эффективно осуществляются для белков, синтезируемых внутри клетки, целевая вакцинная конструкция была сконструирована в форме ДНК-вакцины путем клонирования гена, кодирующего белок TCI в составе векторной плазмиды pCDNA3.1 (Bazhan et al., 2004).

В конце 1990-х гг. синтез протяженных генов еще не был развит в достаточной мере, и для воплощения своей идеи Сергей Иванович собрал команду высококлассных генных инженеров (С.В. Серегин, П.А. Белавин и Н.К. Данилюк). Полученную ДНК-вакцину pCDNA-TCI использовали для генетической иммунизации животных. Было показано, что она способна индуцировать как специфические Т-клеточные ответы, так и специфические антитела у иммунизированных мышей линии BALB/c (Bazhan et al., 2004; Karpenko et al., 2004; Karpenko et al., 2012).

### «КомбиВИЧвак» – комбинированная вакцина, объединяющая два иммуногена в одной конструкции: ДНК-вакцину и рекомбинантный белок

Задача разработки вакцины против ВИЧ-1 в России была поставлена в рамках распоряжения Правительства РФ в 2008 г.

Сергей Иванович, ключевой идеолог комбинированной вакцины, которую назвали «КомбиВИЧвак», считал, что эффективная профилактическая вакцина против ВИЧ-инфекции должна индуцировать специфический гуморальный и Т-клеточный иммунный ответы, поэтому в состав «КомбиВИЧвак» вошли два иммуногена – белок ТВ1 и ДНК-вакцина pCDNA-TCI. Искусственный рекомбинантный белок ТВ1 спроектирован для индукции В-клеточного ответа А.М. Ерошкиным в теоретическом отделе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», руководителем которого был С.И. Бажан (Eroshkin et al., 1995). Работа над вакциной «КомбиВИЧвак» примечательна тем, что это была первая в России ДНК-вакцина, которая получила разрешение Минздрава и прошла испытания на лю-

дах-добровольцах. Конечно, этому предшествовала долгая работа по доклиническим испытаниям ДНК-вакцины и доказательству ее безвредности.

Вакцина «КомбиВИЧвак» создана в виде мицеллоподобных наночастиц на основе оригинальной технологии, предложенной Л.Р. Лебедевым (2003). Оболочка вакцины состоит из конъюгата декстран-спермидин-ТВИ. Входящий в состав вакцины спермидин предоставляет конъюгату положительный заряд и, связываясь с ДНК-вакциной, обеспечивает самосборку наночастиц, размер которых (40–100 нм) близок к размерам вириона ВИЧ-1 (Karpenko et al., 2017). Преимущество данной технологии состоит в том, что в составе одной частицы осуществляется доставка одновременно двух компонентов вакцины, один из которых белок, а другой – ДНК, так же как это происходит в случае аттенуированных вирусных вакцин. При этом белок ТВИ представлен во множестве копий на поверхности частицы, что позволяет значительно повысить его иммуногенность. Кроме того, оболочка из полимера глюкозы защищает ДНК-вакцину рсDNA-ТЦИ от действия нуклеаз, что также способствует повышению ее иммуногенности за счет увеличения времени жизни ДНК-компонента.

#### Доклинические и клинические исследования

Для проведения доклинических и клинических исследований «КомбиВИЧвак» были разработаны экспериментальные серии вакцины стандартного качества согласно рекомендациям ВОЗ. В рамках доклинического исследования изучена острая и хроническая токсичность на мышах и морских свинках, которые показали отсутствие отклонений в состоянии жизненно важных органов животных, отсутствие изменений гематологических и морфологических показателей, отсутствие иммунотоксичности и аллергизирующей активности как при однократном, так и десятикратном введении вакцины. Оценку специфической активности проводили по показателям гуморального и клеточного иммунитета у мышей линии BALB/c при двукратной иммунизации. Показано, что вакцина «КомбиВИЧвак» индуцирует формирование ВИЧ-специфических антител и клеточный ответ (Karpenko et al., 2004; Karpenko et al., 2007a, b).

Первая фаза клинических испытаний для исследования реактогенности, безопасности и иммунологической активности вакцины «КомбиВИЧвак» проведена на здоровых добровольцах. Результаты клинических испытаний (Karpenko et al., 2016) указывали на то, что вакцина хорошо переносима и безопасна (не вызывает существенных изменений биохимических и физиологических показателей в сравнении с фоновыми значениями), обладает низкой реактогенностью (местные реакции на введение вакцины отсутствовали) и, главное, вызывает развитие специфического гуморального и клеточного иммунитета. Результаты исследования Т-клеточного ответа методом IFN- $\gamma$  ELISpot у двукратно вакцинированных добровольцев показали, что ВИЧ-специфический ответ Т-лимфоцитов регистрируется у всех участников испытания (100 %) с 14-го дня после первой вакцинации и остается достаточно высоким в течение шести месяцев после второй вакцинации. С использованием МНС-пентамеров в комплексе с пептидом ВИЧ-1 Env

(KLTPLCVTL aa 120–128) у всех добровольцев (100 %) отмечено наличие KLTPLCVTL+CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов до шести месяцев после второй вакцинации (Karpenko et al., 2016).

#### Рациональный дизайн полиэпиптопных Т-клеточных антигенов

Прогресс в идентификации Т-клеточных эпитопов, а также понимание механизмов процессинга и презентации антигенов по пути МНС I и II класса дали возможность перейти к рациональному дизайну искусственных полиэпиптопных вакцин, вызывающих широко специфичные ответы антител и CTL (Bazhan et al., 2010; Karpenko et al., 2014).

Известно, что CTL распознают раковые или вирусные белки-антигены, синтезируемые внутри клетки, не как полноразмерные молекулы, а как короткие пептиды (8–12 а.о.), ассоциированные с молекулами МНС I класса. Эти короткие антигенные эпитопы появляются из эндогенно синтезируемых белков в результате протеасом-опосредуемого процессинга, после чего переносятся в просвет эндоплазматического ретикулума (ER) с помощью транспортных белков TAP (transporter associated with antigen processing), где связываются с образующимися молекулами МНС I класса (Yewdell, 2011).

В отличие от стимуляции CTL, для стимуляции ответа CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов-хелперов антиген должен быть представлен этим клеткам в комплексе с молекулами МНС II класса. Зачастую процессинг и презентация антигена происходят для внеклеточных антигенов, которые доставляются в клетки с помощью эндо- и фагоцитоза. В этом случае процессинг антигена происходит в лизосоме.

Таким образом, при проектировании полиэпиптопных Т-клеточных иммуногенов, способных индуцировать высокие уровни ответов CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов на все включенные в их состав эпитопы, было необходимо обеспечить эффективный протеасом- и/или лизосом-опосредованный процессинг продукта экспрессии целевого гена по пути МНС I и II класса. Для достижения этой цели Сергей Иванович предложил несколько стратегий (Karpenko et al., 2018):

1. Для конструирования поли-CTL-эпиптопной конструкции использовать спейсерные последовательности, разделяющие эпитопы, которые содержат сайты протеасомного расщепления и/или мотивы для связывания с TAP, чтобы обеспечить процессинг полиэпиптопа и транспорт освобожденных пептидов (эпитопов) в эндоплазматический ретикулум.

2. Для индукции ответа Т-лимфоцитов-хелперов фрагменты, содержащие Т-хелперные эпитопы, объединять с использованием мотива [KR][KR], являющегося сайтом расщепления для ряда лизосомных катепсинов, участвующих в процессинге антигенов.

3. Для нацеливания полиэпиптопного иммуногена в протеасому и презентации CTL-эпитопов CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитам по пути МНС I класса использовать генетическое присоединение к его N- или C-концу последовательности убиквитина.

4. Для деградации полиэпиптопного иммуногена и презентации освобожденных Th-эпитопов CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитам по пути МНС II класса применять генетическое присоединение к его C-концу последовательности тирозинового моти-

ва белка LAMP-1 (lysosomal-associated membrane protein 1), чтобы направить полиэпитопный иммуноген из секреторного пути в лизосому.

Чтобы оценить, какие из этих стратегий обеспечивают рациональный подход к конструированию Т-клеточных антигенов, был спроектирован набор полиэпитопных конструкций, покрывающих разнообразие возможных структурных вариантов белка иммуногена. Для оценки влияния убиквитина и спейсерных последовательностей, фланкирующих эпитопы, на иммуногенность полиэпитопной конструкции Сергей Иванович спроектировал набор полиэпитопных иммуногенов, учитывающих различные стратегии процессинга и презентации целевых антигенов. Все конструкции содержали одинаковый набор из десяти HLA-A2-рестриктированных CTL-эпитопов из основных антигенов ВИЧ-1 – Env, Gag, Pol, Nef и Vpr, но отличались по ряду структурных характеристик. Гены, кодирующие спроектированные антигены, были клонированы в составе плазмидного вектора и в геном вируса осповакцины.

Иммуногенность спроектированных конструкций оценивали после трехкратной иммунизации в режиме «прайм-буст» трансгенных мышей HLA-A2 полученными рекомбинантными плазмидами и вирусом осповакцины. Показано, что вакцинная конструкция, которая индуцировала наибольшее количество комплексов [пептид/МНС I класса] *in vitro*, была также наиболее иммуногенной при введении животным. Эта конструкция содержала N-концевой убиквитин для нацеливания полиэпитопа на протеасому. Составляющие ее эпитопы были разделены спейсерными последовательностями, содержащими сайты протеасомного расщепления полиэпитопа и мотивы для TAP-зависимого транспорта освободившихся пептидов в эндоплазматический ретикулум, где происходит их связывание с молекулами МНС I класса (Bazhan et al., 2010). Полученные результаты стали основой для разработки оригинального программного обеспечения Tpredict и PolyCTLDesigner для предсказания Т-клеточных эпитопов и конструирования полиэпитопных иммуногенов. Эти программы разработаны Д.В. Антонцом, у которого Сергей Иванович был научным руководителем (Антонец, Максютков, 2010; Antonets, Bazhan, 2013).

PolyCTLDesigner позволяет выбрать минимальный набор эпитопов с известной или предсказанной специфичностью к разным аллельным вариантам молекул МНС I класса, охватывающий выбранный репертуар аллелей HLA с заданным уровнем избыточности. Затем для выбранного набора известных или предсказанных эпитопов PolyCTLDesigner проводит предсказание аффинности связывания с TAP с помощью модели, разработанной В. Peters и коллегами (2003). На следующем шаге PolyCTLDesigner проводит анализ всех возможных паросочетаний выбранных пептидов и для каждой пары определяет оптимальную спейсерную последовательность, обеспечивающую адекватное расщепление эпитопов с высвобождением С-конца проксимального пептида. Для предсказания протеасомного и/или иммунопротеасомного расщепления PolyCTLDesigner использует модели, разработанные R.E. Toes и коллегами (2001). Кроме того, PolyCTLDesigner позволяет конструи-

ровать последовательность полиэпитопного фрагмента, содержащего Т-хелперные эпитопы, которые затем объединяются с использованием мотива [KR][KR], являющегося сайтом расщепления для ряда лизосомных катепсинов, участвующих в процессинге антигенов. Более детально информация о программе PolyCTLDesigner представлена на сайте <http://tepredict.sourceforge.net/PolyCTLDesigner.html>.

Разработанное программное обеспечение использовано для проектирования новых полиэпитопных конструкций – кандидатов ДНК-вакцин против ВИЧ-1. В частности, чтобы оценить влияние протеасом- и лизосом-зависимой деградации полиэпитопов на иммуногенность целевой полиэпитопной конструкции, разработан дизайн трех полиэпитопных ВИЧ-1-иммуногенов – TCI-N1, TCI-N2 и TCI-N3 – с использованием цитотоксических и хелперных Т-клеточных эпитопов ВИЧ-1. Работа проведена и опубликована А. Регузовой (Reguzova et al., 2015). Полученные результаты подтвердили концепцию рационального дизайна вакцин, основанную на имеющихся знаниях о механизмах презентации Т-клеточных антигенов по пути МНС I и II класса.

#### ДНК-вакцины против филловирюсов

Заболевания, вызванные вирусами Эбола и Марбург (семейство Filoviridae), относят к особо опасным инфекциям. Геморрагические лихорадки Эбола и Марбург являются редкими, но крайне опасными заболеваниями вследствие высокой контагиозности, тяжести протекания болезни и высокой вероятности летального исхода без экстренной терапии (до 90 %).

Основные проблемы, с которыми столкнулись врачи при борьбе с лихорадкой Эбола и Марбург, заключались в отсутствии вакцины и профилактических препаратов против этих заболеваний. Дорогостоящая разработка вакцин и лечебных препаратов против редкого, хотя и смертельно опасного заболевания в каждом конкретном случае представлялась нерентабельной и вызывала интерес только в связи с потенциальной угрозой биотерроризма. Вспышка лихорадки Эбола в 2014–2015 гг. унесла более 11 тыс. жизней, что заставило проводить исследования по противодействию этой инфекции и включиться в разработку вакцин ученых многих стран.

Сергей Иванович осуществил дизайн полиэпитопных иммуногенов против вирусов Марбург (Антонец, Бажан, 2017) и Эбола (Bazhan et al., 2019), на последнем остановимся подробнее.

Для получения ДНК-вакцин против вируса Эбола Сергей Иванович провел дизайн двух полиэпитопных Т-клеточных иммуногенов – EV.CTL и EV.Th (Bazhan et al., 2019). Оба иммуногена были спроектированы с применением консервативных эпитопов белков вируса Эбола GP, VP24, VP30, VP35, VP40, NP, L. Для конструирования целевых иммуногенов из базы данных Immune Epitope Database (<http://iedb.org>) (Vita et al., 2015) были выбраны эпитопы, для которых доказана способность связываться с различными алломорфами МНС I и II класса. При этом для проектирования антигена EV.CTL использованы CD8<sup>+</sup> CTL-эпитопы, а для проектирования антигена EV.Th – фрагменты, содержащие CD4<sup>+</sup> Th-эпитопы. Показано, что разработанные конструкции ДНК-вакцин обе-

спечивают синтез соответствующих мРНК и белков в культуре эукариотических клеток, а также вызывают статистически значимый ответ как CD4<sup>+</sup>, так и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у иммунизированных животных и, следовательно, являются перспективными кандидатами для дальнейшего исследования их способности вызывать цитотоксические и защитные реакции. Более подробно результаты описаны в статьях (Bazhan et al., 2019; Karpenko et al., 2020).

### Вакцины против вируса гриппа

Изменчивость вируса гриппа представляет собой серьезную проблему, позволяя ему уклоняться от специфического иммунитета человека, сформированного в результате предшествующей инфекции или вакцинации. Следовательно, необходимо менять состав вакцины против гриппа каждые два-три года. Многочисленные исследовательские группы пытаются разработать универсальные вакцины против гриппа для решения этой проблемы (Pica, Palese, 2013; de Vries et al., 2015; Krammer, Palese, 2015).

При защите от инфекций, вызванных высоко вариабельными вирусами, включая вирус гриппа, Т-клеточный иммунный ответ чрезвычайно важен, поскольку он может значительно подавлять репродукцию вируса гриппа, снижать тяжесть заболевания и смертность (Bodewes et al., 2011; Koutsakos et al., 2019).

В работе, проведенной под руководством Сергея Иванова, использован уже упомянутый оригинальный компьютерный подход для конструирования полиэпиптопных Т-клеточных антигенов вируса гриппа (Antonets, Bazhan, 2013). С целью получения универсальной вакцинной конструкции были спроектированы искусственные молекулы-антигены, в состав которых входили наиболее консервативные Т-клеточные эпитопы антигенов вирусов гриппа, которые, как ожидалось, будут вызывать иммунный ответ против различных штаммов и подтипов вируса гриппа – как против эпидемических сезонных, так и потенциально пандемических. Эти антигены включают консервативные Т-клеточные эпитопы различных белков вируса гриппа А. Для дизайна антигенов использовали информацию об известных (экспериментально подтвержденных) Т-клеточных эпитопах вируса гриппа из базы данных (<http://www.iedb.org>). Иммуногенные и протективные свойства ДНК-конструкций, кодирующих целевые Т-клеточные иммуногены, изучали на мышах BALB/c. Показано, что в группах, иммунизированных комбинацией сгенерированных на компьютере «мышиных» ДНК-иммуногенов, 37,5 % мышей выжили после последующего летального контакта с вирусом A/California/4/2009 (H1N1) или A/Aichi/2/68 (H3N2), тогда как иммунизация живыми вакцинными штаммами гриппа H1N1 и H3N2 обеспечила защиту от гомологичных вирусов и не защитила от гетерологичных вирусов. Данное исследование демонстрирует, что алгоритм, предложенный Сергеем Ивановичем, подходит для рационального конструирования искусственных полиэпиптопных антигенов, способных вызывать вирусоспецифические ответы Т-лимфоцитов и обеспечивать частичную защиту от двух различных подтипов вируса гриппа (Bazhan et al., 2022).

### Вакцины против онкологических заболеваний

Большой блок работ Сергея Ивановича связан с разработкой вакцин против онкологических заболеваний. Он осуществил дизайн полиэпиптопных Т-клеточных иммуногенов, на основе которых были созданы кандидатные ДНК-вакцины против меланомы и рака молочной железы. Результаты этих работ опубликованы в статьях, и получены патенты (Антонец и др., 2014, 2018; Назаркина и др., 2015; Старостина и др., 2017; Vorobova et al., 2018; Боробова и др., 2019).

Предложение Сергея Ивановича по разработке вакцин против меланомы было поддержано грантом Минобрнауки РФ, поэтому удалось не только получить конструкции, но и провести их доклинические испытания. Про эту работу хотелось бы рассказать немного подробнее.

Меланома – одна из наиболее опасных злокачественных опухолей, часто рецидивирующая и метастазирующая лимфогенным и гематогенным путем почти во все органы. Возможность создания эффективной терапевтической вакцины против меланомы обусловлена тем, что клетки меланомы, презентующие на своей поверхности специфический набор антигенов, являются высоко иммуногенными. Кроме того, о такой возможности свидетельствует и то, что в некоторых случаях наблюдается полная ремиссия злокачественной меланомы, ассоциированная со спонтанной индукцией как гуморального, так и Т-клеточного иммунного ответа (Halama et al., 2010).

Разрабатывая теоретический дизайн вакцины против меланомы, Сергей Иванович взял шесть основных опухоль-ассоциированных антигенов (MART1, MAGE-A, MAGE-A, MAGE-A11, MAGE-C1), из которых были выбраны Т-клеточные эпитопы, обладающие наибольшей аффинностью связывания с молекулами HLA I и II класса. На их основе он спроектировал два искусственных полиэпиптопных иммуногена MEL-TCI и MEL-A0201, содержащих множественные цитотоксические и хелперные эпитопы опухолевых антигенов меланомы. Первый «универсальный» иммуноген назван MEL-TCI, он содержит эпитопы, рестриктированные множественными аллельными вариантами молекул HLA I класса. Второй иммуноген назван MEL-A0201 («аллель-специфический»), он содержит эпитопы, рестриктированные только одним алломорфом HLA-A\*02:01. Гены, кодирующие спроектированные белки, были синтезированы, клонированы в составе плазмидного эукариотического вектора, и получены ДНК-вакцины pMEL-A0201 и pMEL-TCI (Vorobova et al., 2018).

На модели лабораторных животных проверить работоспособность конструкций было невозможно, поскольку спроектированы они для человека. Появилась необходимость в разработке модели иммунной системы человека *ex vivo* (в пробирке). Для этого была выбрана система на основе дендритных клеток человека. Выделяли мононуклеары условно здоровых доноров, которые предварительно были генотипированы на наличие аллеля HLA\*A02:01. Получали моноцитарную фракцию клеток путем временной адгезии на пластике, культивировали в среде с содержанием ростовых факторов. На стадии незрелых дендритных клеток осуществляли процедуру магнитной трансфекции исследу-

емыми конструкциями. Трансфицированные дендритные клетки культивировали в присутствии коктейля цитокинов до конечной стадии созревания.

В системе *ex vivo* с использованием мононуклеаров периферической крови условно здоровых доноров показано, что генно-инженерные конструкции pMEL-A0201, pMEL-TCI и pcDNA-MART-1 обладают способностью индуцировать формирование цитотоксических CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, продуцирующих гранзим В. Кроме того, вакцинные конструкции pMEL-A0201, pMEL-TCI и pcDNA-MART-1 обладают способностью индуцировать цитотоксическую активность аутологических мононуклеарных клеток периферической крови против клеток меланомы человека линии Mel Is. Статистический анализ полученных данных свидетельствует о том, что плазмиды pMEL-A0201 и pMEL-TCI, кодирующие спроектированные искусственные антигены, более эффективно индуцируют противоопухолевый иммунный ответ по сравнению с плазмидой pcDNA-MART-1, кодирующей последовательность полноразмерного ракового антигена MART-1 (Vorobova et al., 2018).

Доклинические испытания ДНК-вакцин pMEL-A0201, pMEL-TCI были проведены на нескольких видах животных, продемонстрирована их безопасность. Отчет о доклинических испытаниях одобрен экспертами, а разработанные ДНК-вакцины получили рекомендацию для дальнейшего продвижения в клинику.

В свою очередь Сергей Иванович уже генерировал новые идеи и предлагал сосредоточиться на разработке персонализированных противораковых вакцин, которые открывают новый этап в борьбе с онкологическими заболеваниями. Известно, что конкретная опухоль имеет индивидуальный генетический портрет (мутаном), который выражен в многочисленных мутациях в экспонируемых на поверхности раковых клеток опухоль-ассоциированных антигенов (т. е. неоантигенов) (Jiang et al., 2019). В отличие от вакцин, разработанных им ранее для лечения всех пациентов с конкретной опухолью, персонализированная вакцина включает в себя мутантные эпитопы из опухоль-ассоциированных белков, присущих только данному больному. Сергей Иванович считал, что потенциал противораковых вакцин мог бы быть в значительной степени повышен за счет конструирования иммуногенов на основе неоантигенов. В 2018 г. он подготовил на конкурс РНФ проект «Разработка и валидация алгоритма конструирования персонализированных полиэпитопных антигенов, индуцирующих иммунный ответ против опухоли конкретного пациента». К сожалению, работа не была поддержана. Однако ученики не забыли труд Сергея Ивановича и в 2023 г. приступили к осуществлению его идей, заложенных в проекте РНФ. Мы желаем им успеха и надеемся на яркие результаты в области персонализированной терапии рака в ближайшем будущем.

### Вакцина против коронавируса

Пандемия COVID-19 стала причиной взрывного развития различных платформ для создания вакцин. В борьбу с пандемией включились лучшие научные школы всего мира.

Сергей Иванович в этот период уже тяжело болел, но он не мог оставаться в стороне и старался внести свой вклад

в разработку вакцины против новой коронавирусной инфекции. С появлением COVID-19 создатели вакцин и диагностических систем наконец-то активно начали обсуждать важность клеточного ответа в патогенезе вируса. Изучение иммунопатогенеза SARS-CoV-2 и его предшественников (SARS-CoV и MERS-CoV) показало, что синтез специфических иммуноглобулинов еще не свидетельствует о наличии эффективного протективного иммунного ответа. Не менее важна активация клеточного звена иммунитета. Высокая степень гомологии антигенных Т-клеточных эпитопов у SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 обуславливает возможность формирования перекрестного иммунитета к коронавирусам (Иванова и др., 2021).

SARS-CoV-2 быстро накапливает мутации, в результате чего меняется и его антигенный портрет. Это привело к тому, что вакцины первого поколения, разработанные на основе штамма из Ухани, уже обладают низкой эффективностью против циркулирующего в 2023 г. штамма омикрон. В связи с этим разработка универсальной вакцины против коронавируса приобретает особую актуальность.

Известно, что Т-клеточные ответы являются более пролонгированными и более консервативными в отношении различных субтипов вируса, поскольку направлены в том числе на белки, не являющиеся мишенями нейтрализующих антител, и, следовательно, в отсутствие давления отбора менее изменчивы (Sun et al., 2022). Сергей Иванович успел осуществить теоретический дизайн искусственного Т-клеточного иммуногена, состоящего из консервативных фрагментов белков различных штаммов вируса SARS-CoV-2. При конструировании была использована стратегия, основанная на объединении эпитопов в виде перекрывающихся пептидов согласно их расположению в нативных вирусных белках. Перекрывающиеся эпитопы представлены кластерами эпитопов из отдельных вирусных белков SARS-CoV-2 (из белков S, N, M и E), которые рестриктируются человеческими и мышинными МНС.

Эта задача его поддерживала и вдохновляла. Он даже смог приехать, чтобы рассказать про смоделированную им новую вакцину против коронавируса и передать расчеты для того, чтобы запустить ее в работу. Это был его последний день в «Векторе». Мы пообещали, что работу с иммуногеном доведем до проверки на экспериментальных животных, и сдержали слово. Исследование Т-клеточного иммуногена сейчас продолжает в рамках своей диссертационной работы молодой ученый Мария Боргоякова. Получены ДНК-вакцины, кодирующие спроектированный Сергеем Ивановичем полиэпитопный иммуноген; предварительные эксперименты показали, что они индуцируют вирус-специфический клеточный иммунитет у мышей и обеспечивают защиту мышей от заражения вирусом SARS-CoV-2 (Borgoyakova et al., 2022; Боргоякова и др., 2023; Borgoyakova et al., 2023).

### Заключение

Сергей Иванович проработал в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» 47 лет – до последнего дня он занимался дизайном иммуногенов, курировал аспирантов, писал статьи. Все без исключения, кому посчастливилось учиться у него, работать с ним

и даже просто встречаться на научных форумах, признавали, каким неординарным и разносторонним человеком был Сергей Иванович. Он автор более 300 статей, 20 патентов и ряда научных монографий, изданных в России и за рубежом. Научный руководитель, воспитавший ряд кандидатов наук, самый востребованный рецензент и оппонент, член двух диссертационных советов, выполнявший обязанности заместителя председателя диссертационного совета ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». С.И. Бажан пользовался заслуженным авторитетом как в нашей стране, так и за ее пределами, получал приглашения на международные конференции выступать с докладами, был руководителем международных проектов.

Исключительная интеллигентность, деликатность и доброжелательность к окружающим притягивали к Сергею Ивановичу таких же вдохновленных и целеустремленных исследователей. Понимающий и чуткий человек, всегда готовый поддержать, помочь, вдохновить, душа любой компании, прекрасный собеседник, рассказчик. Он был увлечен работой, своим делом, заниматься им было для него счастьем и радостью. И хотя жизненный путь человека конечен, жизнь в науке, в памяти и душе людей продолжается – выходят инициированные им работы, ученики и коллеги продолжают его дело.

## Список литературы / References

- Антонец Д.В., Бажан С.И. Разработка полиэпитопных антигенов вируса Марбург для изучения протективности Т-клеточного ответа при экспериментальной летальной инфекции морских свинок. В: Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения. Материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Москва, 16–17 ноября 2017 г. Санкт-Петербург, 2017; 116-117
- [Antonets D.V., Bazhan S.I. Development of Marburg virus polyepitope antigens to study the protectiveness of the T-cell response in experimental lethal infection of guinea pigs. In: Ensuring epidemiological well-being: challenges and solutions. Materials of the XI Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists, Moscow, November 16–17, 2017. St. Petersburg, 2017; 116-117 (in Russian)]
- Антонец Д.В., Максютов А.З. TEpredict: программное обеспечение для предсказания Т-клеточных эпитопов. *Молекулярная биология*. 2010;44(1):130-139
- [Antonets D.V., Maksjutov A.Z. TEpredict: software for T-cell epitope prediction. *Molecular Biology*. 2010;44(1):119-127. DOI 10.1134/S0026893310010152]
- Антонец Д.В., Бажан С.И., Ильичев А.А., Карпенко Л.И., Боробова Е.А., Старостина Е.В., Смирнова О.Ю., Орешкова С.Ф. Искусственный ген MEL-TCI-A0201, кодирующий полиэпитопный белок-иммуноген MEL-TCI-A0201, рекомбинантная плазмидная ДНК pMEL-TCI-A0201, обеспечивающая экспрессию искусственного гена MEL-TCI-A0201 и искусственный белок-иммуноген MEL-TCI-A0201, содержащий множественные CTL- и Th-эпитопы антигенов меланомы. Патент РФ № 2522830, 21.05.2014
- [Antonets D.V., Bazhan S.I., Ilyichev A.A., Karpenko L.I., Borobova E.A., Starostina E.V., Smirnova O.Yu., Oreshkova S.F. The artificial gene MEL-TCI-A0201 encoding the polyepitope immunogen protein MEL-TCI-A0201, the recombinant plasmid DNA pMEL-TCI-A0201, which provides the expression of the artificial gene MEL-TCI-A0201 and the artificial protein immunogen MEL-TCI-A0201 containing multiple CTL and Th melanoma antigen epitopes. Patent of the Russian Federation No. 2522830, May 21, 2014 (in Russian)]
- Антонец Д.В., Боробова Е.А., Ильичев А.А., Карпенко Л.И., Орешкова С.Ф., Смирнова О.Ю., Старостина Е.В., Бажан С.И. Искусственный ген MEL-TCI, кодирующий полиэпитопный белок-иммуноген MEL-TCI, рекомбинантная плазмидная ДНК pMEL-TCI, обеспечивающая экспрессию искусственного гена MEL-TCI и искусственный белок-иммуноген MEL-TCI, содержащий CTL- и Th-эпитопы антигенов меланомы, рестриктированные множественными аллелями HLA I и II класса. Патент РФ № 2650872, 17.04.2018
- [Antonets D.V., Borobova E.A., Ilyichev A.A., Karpenko L.I., Oreshkova S.F., Smirnova O.Yu., Starostina E.V., Bazhan S.I. The artificial MEL-TCI gene encoding the polyepitope protein-immunogen MEL-TCI, the recombinant plasmid DNA pMEL-TCI, which provides the expression of the artificial gene MEL-TCI and the artificial protein-immunogen MEL-TCI containing CTL- and Th-epitopes of melanoma antigens, restricted by multiple alleles of HLA class I and II. Patent of the Russian Federation No. 2650872, 04.17.2018 (in Russian)]
- Бажан С.И., Кашеварова Н.А., Хлебодарова Т.М., Лихошвай В.А., Колчанов Н.А. Математическая модель внутриклеточного размножения вируса гриппа. *Биофизика*. 2009;54(6):1066-1080
- [Bazhan S.I., Kashevarova N.A., Khlebodarova T.M., Likhoshvai V.A., Kolchanov N.A. A mathematical model of the intracellular reproduction of the influenza virus. *Biofizika*. 2009;54(6):1066-1080 (in Russian)]
- Боробова Е.А., Антонец Д.В., Старостина Е.В., Карпенко Л.И., Жеравин А.А., Ильичев А.А., Бажан С.И. Способность искусственных антигенных конструкций, содержащих эпитопы белков, ассоциированных с меланомой, стимулировать цитотоксическую активность мононуклеарных клеток периферической крови в отношении клеток меланомы. *Сибирский онкологический журнал*. 2019;8(1):43-49. DOI 10.21294/1814-4861-2019-18-1-43-49
- [Borobova E.A., Antonets D.V., Starostina E.V., Karpenko L.I., Zhervin A.A., Ilyichev A.A., Bazhan S.I. Ability of protein epitope-containing constructs associated with melanoma to stimulate the cytotoxic activity of peripheral blood mononuclear cells against melanoma cells. *Siberian Journal of Oncology*. 2019;18(1):43-49. DOI 10.21294/1814-4861-2019-18-1-43-49 (in Russian)]
- Боргоякова М.Б., Карпенко Л.И., Рудометов А.П., Старостина Е.В., Задорожный А.М., Кисакова Л.А., Кисаков Д.Н., Шарабрин С.В., Ильичев А.А., Бажан С.И. Искусственный Т-клеточный иммуноген против COVID-19. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023;175(6):767-772. DOI 10.47056/0365-9615-2023-175-6-767-772
- [Borgoyakova M.B., Karpenko L.I., Rudometov A.P., Starostina E.V., Zadorozhny A.M., Kisakova L.A., Kisakov D.N., Sharabrin S.V., Ilyichev A.A., Bazhan S.I. Artificial COVID-19 T-cell immunogen. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023;175(6):767-772. DOI 10.47056/0365-9615-2023-175-6-767-772 (in Russian)]
- Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Филиппенко А.В., Труфанова А.А., Носков А.К. Роль клеточного звена иммунитета в формировании иммунного ответа при коронавирусных инфекциях. *Медицинская иммунология*. 2021;23(6):1229-1238. DOI 10.15789/1563-0625-ROT-2302
- [Ivanova I.A., Omelchenko N.D., Filippenko A.V., Trufanova A.A., Noskov A.K. Role of the cellular immunity in the formation of the immune response in coronavirus infections. *Medical Immunology (Russia)*. 2021;23(6):1229-1238. DOI 10.15789/1563-0625-ROT-2302 (in Russian)]
- Лебедев Л.Р., Гончарова Е.П., Сизов А.А., Булычев Л.Е., Одегов А.М., Рыжиков А.Б. Экспериментальное моделирование молекулярных конструкций комбинированных вакцин. *Молекулярная биология*. 2003;37(3):544-549
- [Lebedev L.R., Goncharova E.P., Sizov A.A., Bulychev L.E., Odegov A.M., Ryzhikov A.B. Experimental molecular design of combined vaccines. *Molecular Biology*. 2003;37(3):464-467. DOI 10.1023/A:1024255814811]
- Назаркина Ж.К., Харьковова М.В., Антонец Д.В., Морозкин Е.С., Бажан С.И., Карпенко Л.И., Власов В.В., Ильичев А.А., Лактионов П.П. Конструирование полиэпитопной ДНК-вакцины против клеток опухолей молочной железы и исследование ее экспрессии в дендритных клетках. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015;160(10):492-496.
- [Nazarkina Zh.K., Khar'kova M.V., Antonets D.V., Morozkin E.S., Bazhan S.I., Karpenko L.I., Vlasov V.V., Ilyichev A.A., Laktionov P.P. Design of polyepitope DNA vaccine against breast carcinoma cells and

- analysis of its expression in dendritic cells. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016;160(4):486-490. DOI 10.1007/s10517-016-3203-y]
- Старостина Е.В., Боробова Е.А., Карпенко Л.И., Ильичев А.А., Бажан С.И. Терапевтические вакцины против меланомы. *Биотехнология*. 2017;33(6):4-11. DOI 10.21519/0234-2758-2017-33-6-04-11 [Starostina E.V., Borobova E.A., Karpenko L.I., Ilichev A.A., Bazhan S.I. Therapeutic vaccines against melanoma. *Biotechnologiya*. 2017;33(6):4-11. DOI 10.21519/0234-2758-2017-33-6-04-11 (in Russian)]
- Antonets D.V., Bazhan S.I. PolyCTLDesigner: a computational tool for constructing polyepitope T-cell antigens. *BMC Res. Notes*. 2013;6:407. DOI 10.1186/1756-0500-6-407
- Bazhan S.I., Likhoshvai V.A., Belova O.E. Theoretical analysis of the regulation of interferon expression during priming and blocking. *J. Theor. Biol.* 1995;175(2):149-160. DOI 10.1006/jtbi.1995.0127
- Bazhan S.I., Belavin P.A., Seregin S.V., Danilyuk N.K., Babkina I.N., Karpenko L.I., Nekrasova N.A., Lebedev L.R., Ignatyev G.M., Agafonov A.P., Poryaeva V.A., Aborneva I.V., Ilyichev A.A. Designing and engineering of DNA-vaccine construction encoding multiple CTL-epitopes of major HIV-1 antigens. *Vaccine*. 2004;22(13-14):1672-1682. DOI 10.1016/j.vaccine.2003.09.048
- Bazhan S.I., Karpenko L.I., Ilyicheva T.N., Belavin P.A., Seregin S.V., Danilyuk N.K., Antonets D.V., Ilyichev A.A. Rational design based synthetic polyepitope DNA vaccine for eliciting HIV-specific CD8<sup>+</sup> T cell responses. *Mol. Immunol.* 2010;47(7-8):1507-1515. DOI 10.1016/j.molimm.2010.01.020
- Bazhan S.I., Antonets D.V., Karpenko L.I., Oreshkova S.F., Kaplina O.N., Starostina E.V., Dudko S.G., Fedotova S.A., Ilyichev A.A. *In silico* designed Ebola virus T-cell multi-epitope DNA vaccine constructions are immunogenic in mice. *Vaccines*. 2019;7(2):34. DOI 10.3390/vaccines7020034
- Bazhan S.I., Antonets D.V., Starostina E.V., Ilyicheva T.N., Kaplina O.N., Marchenko V.Y., Volkova O.Y., Bakulina A.Y., Karpenko L.I. *In silico* design of influenza A virus artificial epitope-based T-cell antigens and the evaluation of their immunogenicity in mice. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2022;40(7):3196-3212. DOI 10.1080/07391102.2020.1845978
- Belova O.E., Likhoshvai V.A., Bazhan S.I., Kulichkov V.A. A computer system for analysis and integrated description of regulation of the molecular-genetic system of interferon induction and action. *Comput. Appl. Biosci.* 1995;11(2):213-218. DOI 10.1093/bioinformatics/11.2.213
- Bodewes R., Kreijtz J.H., Geelhoed-Mieras M.M., van Amerongen G., Verburgh R.J., van Trierum S.E., Kuiken T., Fouchier R.A., Osterhaus A.D., Rimmelzwaan G.F. Vaccination against seasonal influenza A/H3N2 virus reduces the induction of heterosubtypic immunity against influenza A/H5N1 virus infection in ferrets. *J. Virol.* 2011;85(6):2695-2702. DOI 10.1128/JVI.02371-10
- Borgoyakova M.B., Karpenko L.I., Rudometov A.P., Volosnikova E.A., Merkuleva I.A., Starostina E.V., Zadorozhny A.M., Isaeva A.A., Nesmeyanova V.S., Shanshin D.V., Baranov K.O., Volkova N.V., Zaitsev B.N., Orlova L.A., Zaykovskaya A.V., Pyankov O.V., Danilenko E.D., Bazhan S.I., Shcherbakov D.N., Taranin A.V., Ilyichev A.A. Self-assembled particles combining SARS-CoV-2 RBD protein and RBD DNA vaccine induce synergistic enhancement of the humoral response in mice. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(4):2188. DOI 10.3390/ijms23042188
- Borgoyakova M.B., Karpenko L.I., Rudometov A.P., Starostina E.V., Shanshin D.V., Zadorozhny A.M., Kisakova L.A., Kisakov D.N., Sharabrin S.V., Ilyichev A.A., Bazhan S.I. Artificial COVID-19 T-cell immunogen. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2023;175(6):767-772. DOI 10.47056/0365-9615-2023-175-6-767-772
- Borobova E.A., Antonets D.V., Starostina E.V., Karpenko L.I., Ilyichev A.A., Bazhan S.I. Design of artificial immunogens containing melanoma-associated T-cell epitopes. *Curr. Gene Ther.* 2018;18(6):375-385. DOI 10.2174/1566523218666181113112829
- Chuykov V.V., Bazhan S.I., Kulichov V.A. Mathematical model of antiviral immune response regulation. I. Conceptual description of the modelled processes. *Folia Biol. (Praha)*. 1991;37(1):1-9
- Eroshkin A.M., Karginova E.A., Gileva I.P., Lomakin A.S., Lebedev L.R., Kamyinina T.P., Pereboev A.V., Ignat'ev G.M. Design of four-helix bundle protein as a candidate for HIV vaccine. *Protein Eng.* 1995;8(2):167-73. DOI 10.1093/protein/8.2.167
- de Vries R.D., Altenburg A.F., Rimmelzwaan G.F. Universal influenza vaccines, science fiction or soon reality? *Expert Rev. Vaccines*. 2015;14(10):1299-1301. DOI 10.1586/14760584.2015.1060860
- Halama N., Zoernig I., Jaeger D. Advanced malignant melanoma: immunologic and multimodal therapeutic strategies. *J. Oncol.* 2010;2010:689893. DOI 10.1155/2010/689893
- Jiang T., Shi T., Zhang H., Hu J., Song Y., Wei J., Ren S., Zhou C. Tumor neoantigens: from basic research to clinical applications. *J. Hematol. Oncol.* 2019;12(1):93. DOI 10.1186/s13045-019-0787-5
- Karpenko L.I., Nekrasova N.A., Ilyichev A.A., Lebedev L.R., Ignatyev G.M., Agafonov A.P., Zaitsev B.N., Belavin P.A., Seregin S.V., Danilyuk N.K., Babkina I.N., Bazhan S.I. Comparative analysis using a mouse model of the immunogenicity of artificial VLP and attenuated Salmonella strain carrying a DNA-vaccine encoding HIV-1 polyepitope CTL-immunogen. *Vaccine*. 2004;22(13-14):1692-1699. DOI 10.1016/j.vaccine.2003.09.050
- Karpenko L.I., Ilyichev A.A., Eroshkin A.M., Lebedev L.R., Uzhachenko R.V., Nekrasova N.A., Plyasunova O.A., Belavin P.A., Seregin S.V., Danilyuk N.K., Zaitsev B.N., Danilenko E.D., Masycheva V.I., Bazhan S.I. Combined virus-like particle-based polyepitope DNA/protein HIV-1 vaccine design, immunogenicity and toxicity studies. *Vaccine*. 2007a;25(21):4312-4323. DOI 10.1016/j.vaccine.2007.02.058
- Karpenko L.I., Bazhan S.I., Eroshkin A.M., Lebedev L.R., Uzhachenko R.V., Nekrasova N.A., Plyasunova O.A., Belavin P.A., Seregin S.V., Danilyuk N.K., Danilenko E.D., Zaitsev B.N., Masicheva V.I., Ilyichev A.A., Sandakhchiev L.S. CombiHIVvac vaccine which contains polyepitope B and T-cell immunogens of HIV-1. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2007b;413:65-67. DOI 10.1134/s160767290702007x
- Karpenko L.I., Scherbakova N.S., Chikaev A.N., Tumanova O.Y., Lebedev L.R., Shalamova L.A., Pyankova O.G., Ryzhikov A.B., Ilyichev A.A. Polyepitope protein incorporated the HIV-1 mimotope recognized by monoclonal antibody 2G12. *Mol. Immunol.* 2012;50(4):193-199. DOI 10.1016/j.molimm.2012.01.003
- Karpenko L.I., Bazhan S.I., Antonets D.V., Belyakov I.M. Novel approaches in polyepitope T-cell vaccine development against HIV-1. *Expert Rev. of Vaccines*. 2014;13(1):155-173. DOI 10.1586/14760584.2014.861748
- Karpenko L.I., Bazhan S.I., Bogryantseva M.P., Ryndyuk N.N., Ginko Z.I., Kuzubov V.I., Lebedev L.R., Kaplina O.N., Reguzova A.Y., Ryzhikov A.B., Usova S.V., Oreshkova S.F., Nechaeva E.A., Danilenko E.D., Ilyichev A.A. Results of phase I clinical trials of a combined vaccine against HIV-1 based on synthetic polyepitope immunogens. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2016;42(2):170-182. DOI 10.1134/S1068162016020060
- Karpenko L.I., Lebedev L.R., Bazhan S.I., Korneev D.V., Zaitsev B.B., Ilyichev A.A. Visualization of CombiHIVvac vaccine particles using electron microscopy. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2017;33(4):323-324. DOI 10.1089/aid.2016.0140
- Karpenko L.I., Bazhan S.I., Eroshkin A.M., Antonets D.V., Chikaev A.N., Ilyichev A.A. Artificial epitope-based immunogens in HIV-vaccine design. In: *Advances in HIV and AIDS Control*. IntechOpen, 2018;205-225. DOI 10.5772/intechopen.77031
- Karpenko L.I., Apartsin E.K., Dudko S.G., Starostina E.V., Kaplina O.N., Antonets D.V., Volosnikova E.A., Zaitsev B.N., Bakulina A.Y., Venyaminova A.G., Ilyichev A.A., Bazhan S.I. Cationic polymers for the delivery of the ebola DNA vaccine encoding artificial T-cell immunogen. *Vaccines*. 2020;8(4):718. DOI 10.3390/vaccines8040718
- Koutsakos M., Illing P.T., Nguyen T.H.O., Mifsud N.A., Crawford J.C., Rizzetto S., Eltahla A.A., Clemens E.B., Sant S., Chua B.Y., Wong C.Y., Allen E.K., Teng D., Dash P., Boyd D.F., Grzelak L., Zeng W., Hurt A.C., Barr I., Rockman S., Jackson D.C., Kotsimbos T.C., Cheng A.C., Richards M., Westall G.P., Loudovaris T., Mannering S.I., Elliott M., Tangye S.G., Wakim L.M., Rossjohn J., Vijaykrishna D., Luciani F., Thomas P.G., Gras S., Purcell A.W., Kedzierska K. Human CD8<sup>+</sup> T cell cross-reactivity across influenza A, B and C viruses. *Nat. Immunol.* 2019;20(5):613-625. DOI 10.1038/s41590-019-0320-6
- Krammer F., Palese P. Advances in the development of influenza virus vaccines. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2015;14(3):167-182. DOI 10.1038/nrd4529
- Peters B., Tong W., Sidney J., Sette A., Weng Z. Examining the independent binding assumption for binding of peptide epitopes to MHC-I molecules. *Bioinformatics*. 2003;19(14):1765-1772. DOI 10.1093/bioinformatics/btg247



- Pica N., Palese P. Toward a universal influenza virus vaccine: prospects and challenges. *Annu. Rev. Med.* 2013;64:189-202. DOI 10.1146/annurev-med-120611-145115
- Reguzova A., Antonets D., Karpenko L., Ilyichev A., Maksyutov R., Bazhan S. Design and evaluation of optimized artificial HIV-1 poly-T cell-epitope immunogens. *PLoS One.* 2015;10(3):e0116412. DOI 10.1371/journal.pone.0116412
- Sun Z., Wu T., Xie H., Li Y., Zhang J., Su X., Qi H. The role of cellular immunity in the protective efficacy of the SARS-CoV-2 vaccines. *Vaccines.* 2022;10(7):1103. DOI 10.3390/vaccines10071103
- Toes R.E., Nussbaum A.K., Degermann S., Schirle M., Emmerich N.P., Kraft M., Laplace C., Zwinderman A., Dick T.P., Müllner J., Schön-fisch B., Schmid C., Fehling H.J., Stevanovic S., Rammensee H.G., Schild H. Discrete cleavage motifs of constitutive and immunoproteasomes revealed by quantitative analysis of cleavage products. *J. Exp. Med.* 2001;194(1):1-12. DOI 10.1084/jem.194.1.1
- Vita R., Overton J.A., Greenbaum J.A., Ponomarenko J., Clark J.D., Cantrell J.R., Wheeler D.K., Gabbard J.L., Hix D., Sette A., Peters B. The immune epitope database (IEDB) 3.0. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(D1):D405-D412. DOI 10.1093/nar/gku938
- Yewdell J.W. DRiPs solidify: progress in understanding endogenous MHC class I antigen processing. *Trends Immunol.* 2011;32(11):548-558. DOI 10.1016/j.it.2011.08.001

---

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 17.07.2023. После доработки 08.10.2023. Принята к публикации 09.10.2023.