

Анализ Т-клеточного иммунного ответа после введения кандидатной ДНК-вакцины против вируса клещевого энцефалита с использованием электропорации

Научный руководитель – Карпенко Лариса Ивановна

Тигеева Е.В.¹, Кисаков Д.Н.², Боргоякова М.Б.³, Кисакова Л.А.⁴

1 - Тюменский государственный университет, Институт биологии, Тюмень, Россия, *E-mail: lena.tigeeva@gmail.com*; 2 - Тюменский государственный университет, Институт биологии, Тюмень, Россия, *E-mail: def_2003@mail.ru*; 3 - Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия, *E-mail: dukerman@mail.ru*; 4 - Тюменский государственный университет, Институт биологии, Тюмень, Россия, *E-mail: orlova.lyub1996@yandex.ru*

В настоящее время наблюдается стабильная тенденция к появлению очагов вируса клещевого энцефалита в новых неэндемичных регионах и к увеличению числа заболевших. Существующие вакцины против вируса клещевого энцефалита, главным образом, направлены на активацию гуморального иммунного ответа. Вместе с тем, исследователи все чаще отмечают важность Т-клеточного ответа, в том числе индукцию перекрестного иммунного ответа широкого спектра специфичности. 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 AG1, включающий консервативные фрагменты белков вируса клещевого энцефалита, обогащенные Т-клеточными эпитопами. Ген, кодирующий AG1, был клонирован в составе плазмидного вектора pVAX1. Полученная в результате плазида (ДНК-вакцина) была названа pVAX-AG1-ub.

Цель исследования – анализ Т-клеточного иммунного ответа на ДНК-вакцинную конструкцию pVAX-AG1-ub, введенную с использованием метода электропорации (ЭП).

Для экспериментов по оценке иммуногенности были взяты 3 группы мышей, состоящие из 6 животных. Для снижения болевого синдрома применялся ингаляционный наркоз животных с применением 2,5 % изофлурана. Мышей иммунизировали двукратно, с интервалом 3 недели по следующей схеме: первая группа - pVAX-AG1-ub в/м по 100 мкг/50 мкл с последующей ЭП; вторая группа (отрицательный контроль) - pVAX1 в/м по 100 мкг/50 мкл с последующей ЭП; третья группа (положительный контроль) – внутрибрюшинная инъекция 500 мкл вакцины «Клещ-Э-Вак». Электропорацию проводили с использованием электропоратора CUY21 EDIT II (BEX CO, LTD., Япония). Протокол электропорации: постоянный ток прямоугольной формы прямой и обратной полярности с 3 импульсами с напряжением 12 В в течение 30 мс и интервалом 950 мс с ограничением по силе тока в 45 мА.

Анализ эффективности pVAX-AG1-ub, введенной с применением электропорации, в отношении формирования Т-клеточного иммунного ответа проводили через две недели после второй иммунизации с помощью метода ELISpot. В группе, иммунизированной pVAX-AG1-ub+ЭП, среднее количество Т-лимфоцитов, секретирующих IFN- γ , в ответ на стимуляцию вирус-специфическими пептидами, в расчёте на 10^6 спленоцитов, составляло 90; в группе pVAX1+ЭП – 4.

В ходе проведенного исследования было показано, что разработанная ДНК-вакцинная конструкция pVAX-AG1-ub в совокупности с применением электропорации, вызывает достаточно высокий Т-клеточный иммунный ответ у лабораторных животных по сравнению

с контрольной группой. Это позволяет нам утверждать, что спрогнозированная полиэпитопная ДНК-вакцинная конструкция pVAX-AG1-ub способна индуцировать Т-клеточный иммунный ответ.

Исследование было выполнено в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.