

СУБЪЕДИНИЧНАЯ ВАКЦИНА «ДЕЛЬТА-ВАК» ИНДУЦИРУЕТ СИЛЬНЫЙ ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРОТИВ SARS-CoV-2

Несмеянова В.С., Меркульева Ю.А., Исаева А.А., Волкова Н.В.,
Беленькая С.В., Боргоякова М.Б., Волосникова Е.А., Есина Т.И.,
Даниленко Е.Д., Зайковская А.В., Олькин С.Е., Пьянков О.В.,
Ильичев А.А., Щербаков Д.Н.

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора,
р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Резюме. Пандемия COVID-19 сконцентрировала внимание исследователей всего мира на борьбе с этой инфекцией. Важнейшим подходом противодействия COVID-19 стала разработка профилактических вакцин на основе ряда платформ, включая ДНК- и РНК-вакцины, векторные и субъединичные вакцины. Одной из таких платформ стали субъединичные вакцины, которые привлекательны в первую очередь из-за непревзойденного профиля их безопасности. Однако безопасность данных вакцин часто сопряжена с невысокой эффективностью, поэтому зачастую необходимо применять адъюванты, а также использовать более сложные схемы иммунизации. В то же время важным достоинством субъединичных вакцин является масштабируемость и относительная простота производства, так как в процессе производства нет необходимости работать с живым вирусом или вирусными векторами. Целью работы была разработка кандидатной вакцины на основе рекомбинантного рецептор-связывающего домена (RBD) спайкового S-белка SARS-CoV-2 варианта Delta (B.1.617.2). В исследовании применялись иммунологические методы, методы генной инженерии и биотехнологии. В ходе работы на основе клеток млекопитающих CHO-K1 разработан продуцент рекомбинантного RBD. Для получения белка, отвечающего требованиям инъекционных препаратов, была разработана схема хроматографической очистки, включающая аффинную и ионообменную хроматографии. Предложен вариант субъединичной вакцины «Дельта-Вак» на основе полученного рекомбинантного белка. Иммуногенность кандидатной вакцины «Дельта-Вак» оценивали на модели лабораторных мышей BALB/c. Проводили двукратную иммунизацию животных дозой 50 мкг RBD в комплексе с $Al(OH)_3$ с двухнедельным интервалом. Показана способность кандидатной вакцины индуцировать

Адрес для переписки:

Несмеянова Валентина Сергеевна
ФБУН «Государственный научный центр вирусологии
и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора
630559, Россия, Новосибирская обл., р. п. Кольцово.
Тел.: 8 (383) 363-47-10 (доб. 23-32), 363-47-14.
E-mail: nesmeyanova_vs@vector.nsc.ru

Address for correspondence:

Valentina S. Nesmeyanova
State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”
Koltsovo, Novosibirsk Region
630559 Russian Federation
Phone: +7 (383) 363-47-10 (acc. 23-32), 363-47-14.
E-mail: nesmeyanova_vs@vector.nsc.ru

Образец цитирования:

В.С. Несмеянова, Ю.А. Меркульева, А.А. Исаева,
Н.В. Волкова, С.В. Беленькая, М.Б. Боргоякова,
Е.А. Волосникова, Т.И. Есина, Е.Д. Даниленко,
А.В. Зайковская, С.Е. Олькин, О.В. Пьянков,
А.А. Ильичев, Д.Н. Щербаков «Субъединичная вакцина
“Дельта-Вак” индуцирует сильный гуморальный
иммунный ответ против SARS-CoV-2» // Медицинская
иммунология, 2025. Т. 27, № 5. С. 1077-1086.
doi: 10.15789/1563-0625-DVS-2901

© Несмеянова В.С. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

V.S. Nesmeyanova, Yu.A. Merkulyeva, A.A. Isaeva,
N.V. Volkova, S.V. Belenkaya, M.B. Borgoyakova,
E.A. Volosnikova, T.I. Esina, E.D. Danilenko,
A.V. Zaikovskaya, S.E. Olkin, O.V. Pyankov, A.A. Ilichev,
D.N. Shcherbakov “Delta-Vac” subunit vaccine induces strong
humoral immune response against SARS-CoV-2”, *Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2025,
Vol. 27, no. 5, pp. 1077-1086.
doi: 10.15789/1563-0625-DVS-2901

© Nesmeyanova V.S. et al., 2025

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-DVS-2901

выработку специфических IgG и нейтрализующих антител у мышей линии BALB/c. Специфические титры антител иммунизированных животных лежали в диапазоне от $1/10^5$ до $1/10^6$. При этом сыворотки крови обладали нейтрализующей активностью в отношении SARS-CoV-2 (вариант B.1.617.2 (Delta)) с титром до 1/2000. Разработанная вакцина «Дельта-Вак» обладает высокой иммуногенностью и индуцирует выработку нейтрализующих антител против гомологичного варианта Delta и гетерологичных вариантов Wuhan и Omicron SARS-CoV-2. Таким образом, «Дельта-Вак» может выступать в качестве кандидатной вакцины и служить прототипом для разработки субъединичных вакцин против COVID-19.

Ключевые слова: субъединичные вакцины, SARS-CoV-2, RBD, S-белок, иммуногенность, нейтрализующие антитела

“DELTA-VAC” SUBUNIT VACCINE INDUCES STRONG HUMORAL IMMUNE RESPONSE AGAINST SARS-CoV-2

Nesmeyanova V.S., Merkul'yeva Yu.A., Isaeva A.A., Volkova N.V., Belenkaya S.V., Borgoyakova M.B., Volosnikova E.A., Esina T.I., Danilenko E.D., Zaikovskaya A.V., Olkin S.E., Pyankov O.V., Ilichev A.A., Shcherbakov D.N.

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Abstract. The COVID-19 pandemic has focused the worldwide attention on the fight against this infection. Development of preventive vaccines based on different platforms, including DNA and RNA vaccines, genetic vectors and subunit vaccines has been the key approach to combating COVID-19. The subunit vaccines were among these platforms, primarily, due to their unique safety profile. However, the safety of these vaccines is often associated with low efficiency. Hence, their application often requires usage of immune adjuvants, along with more complex immunization regimens. Meanwhile, an important advantage of subunit vaccines is their scalability and relative ease of production, since there is no need to work with live virus or viral vectors during the production process. The purpose of our work was to develop a candidate vaccine based on the recombinant receptor-binding domain (RBD) of the SARS-CoV-2 spike S-protein from the Delta variant (B.1.617.2). The study used immunological techniques employing methods of genetic engineering and biotechnology. In the course of this work, we have developed a producer of recombinant RBD based on the CHO-K1 mammalian cells. To obtain a protein meeting the requirements of injectable drugs, a chromatographic purification scheme was developed, including affinity and ion exchange chromatography. We have proposed a variant of the subunit vaccine “Delta-Vac” developed on this recombinant protein. Immunogenicity of “Delta-Vac” vaccine was tested in the BALB/c mice. The animals were immunized twice at a dose of 50 µg of RBD combined with Al(OH)₃, at a two-week interval. The ability of the candidate vaccine was assessed by induced production of specific IgG and neutralizing antibodies in BALB/c mice. Specific antibody titers of immunized animals ranged from $1/10^5$ to $1/10^6$. Moreover, the blood sera showed neutralizing activity against SARS-CoV-2 (variant Delta, B.1.617.2) at a titer of up to 1/2000. The developed vaccine “Delta-Vac” is highly immunogenic and induces production of neutralizing antibodies against homologous Delta variant as well as heterologous Wuhan and Omicron SARS-CoV-2 variants. Hence, “Delta-Vac” may act as a vaccine candidate and serve as a prototype for the development of subunit vaccines against COVID-19.

Keywords: subunit vaccines, SARS-CoV-2, RBD, S-protein, immunogenicity, neutralizing antibodies

Введение

Пандемия COVID-19 сконцентрировала внимание исследователей всего мира на борьбе с этой инфекцией. Важнейшим подходом в предотвращении распространения COVID-19 стала разработка профилактических вакцин на основе ряда платформ, включая ДНК- и РНК-вакцины,

векторные и субъединичные вакцины. Одной из таких платформ стали субъединичные вакцины, которые привлекательны в первую очередь тем, что субъединичные вакцины характеризуются высоким профилем безопасности, который подтверждается результатами исследований [6, 7, 18]. Однако безопасность данных вакцин часто сопряжена с невысокой эффективностью, поэто-

му зачастую необходимо применять адъюванты, а также использовать более сложные схемы иммунизации. В то же время важным достоинством субъединичных вакцин является масштабируемость и относительная простота производства, так как в процессе производства нет необходимости работать с живым вирусом или вирусными векторами. Важным достоинством субъединичных вакцин также является простота в производстве [5, 22, 25].

Коронавирусный спайковый белок (S-белок) является основной мишенью для нейтрализующих антител и обладает высокой иммуногенностью. Следуя этой логике, S-белок SARS-CoV-2 использовался в качестве основного антигена для большинства разработанных вакцин против COVID-19 [10, 14, 28]. Однако полноразмерный S-белок содержит области эпитопов ненейтрализующих антител, которые могут вызывать антителозависимое усиление инфекции (ADE). Существующий риск ADE дал толчок дальнейшим исследованиям по разработке более безопасного и эффективного иммуногена [5, 8, 20]. Недавно проведенные исследования показали, что рецептор-связывающий домен (RBD) S-белка как компонент вакцин обладает высоким профилем безопасности [12, 21]. На сегодняшний день, вакцинные платформы, использующие в качестве иммуногена область RBD, обладают значительным преимуществом, так как фокусируют иммунитет на ключевых защитных антигенных детерминантах [3, 9]. Сравнительные исследования тримера S-белка, субъединицы S1 и только последовательности RBD показали, что использование только последовательности RBD в качестве вакцины позволяет добиться появления высоких титров нейтрализующих антител, этот факт тем более примечателен что использование тримера S или фрагмента S1 дает сходные или худшие результаты [15, 20, 24, 26].

В настоящее время накопилось достаточно свидетельств того, что вакцины на основе RBD показывают высокий уровень иммуногенности, при низкой реактогенности и хорошей переносимости поэтому выбор RBD в качестве единственного вакцинного иммуногена вполне оправдан [13, 22, 27]. В связи с этим целью работы было получение штамма-продуцента рекомбинантного рецептор-связывающего домена (RBD) варианта Delta (B.1.617.2) и исследование его иммуногенности.

Материалы и методы

Получение штамма-продуцента CHO-K1-RBDdelta

Продуцент рекомбинантного RBD варианта Delta (B.1.617.2) SARS-CoV-2 получали как

описано ранее [19]. В состав нуклеотидной последовательности, кодирующей RBD Wuhan-1 (GenBank: MN908947), вводили нуклеотидные замены для получения аминокислотных замен (L452R и T479K). Район RBDdelta амплифицировали и клонировали в составе плазмиды pVL3 в рамке считывания с N-концевой сигнальной последовательностью спайкового белка (MFVFLVLLPLVSSQC) и C-концевой 10 × His-меткой.

Клетки CHO-K1 трансфицировали pVL3-RBDdelta и хелперной плазмидой pCMV (CAT) T7-SB100, кодирующей транспозазу SB100, с использованием липофектамина 3000 (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния, США). Селекцию трансформантов проводили на среде с пуромицином (10 мкг/мл) в течение 3 дней. Затем получали высокопродуктивные клоны из единичных клеток методом предельных разведений. Выбранный клон-продуцент RBDdelta адаптировали к суспензионным условиям культивирования.

Суспензионное культивирование штамма-продуцента RBDdelta

Клон-продуцент RBDdelta рассеивали в 5 мл свежей среды HyCell CHO (Cytiva, США) + 4 mM GlutaMAX (Thermo Fisher Scientific, США) с концентрацией 1×10^6 живых кл/мл в 50 мл центрифужные пробирки. Культивировали на шейкере 200 об/мин, орбита 19 мм, при +37 °C во влажной атмосфере 5% CO₂ 6-7 дней до достижения концентрации 8×10^6 живых кл/мл. Суспензию клеток 5 мл с концентрацией 8×10^6 живых кл/мл инокулировали в стеклянной колбе с 35 мл свежей среды HyCell CHO (Cytiva, США) + 4 mM GlutaMAX (Thermo Fisher Scientific, США). Культивировали на шейкере при тех же условиях 6-7 дней до достижения концентрации 8×10^6 живых кл/мл. Суспензию клеток 5 мл с концентрацией 8×10^6 живых кл/мл переносили в новую стеклянную колбу с 35 мл свежей среды HyCell CHO (Cytiva, США) + 4 mM GlutaMAX (Thermo Fisher Scientific, США). Оставшийся объем переносили на шейкере (200 об/мин, орбита 19 мм) при +31 °C инкубировали 10 дней.

Выделение и очистка RBDdelta

Для получения препарата рекомбинантного RBDdelta была разработана схема двух-стадийной хроматографической очистки, включающая аффинную и ионообменную хроматографии. Аффинную хроматографию проводили с использованием сорбента Ni-IMAC сефарозы (GE Healthcare, США). Культуральную среду, содержащую рекомбинантный белок RBD, центрифугировали 10 мин при 12000 g и 4 °C и фильтровали через фильтровальные системы с размером пор 0,22 мкм для удаления клеток клеточного дебри-

са. Доочистку белка проводили с помощью ионообменной хроматографии в два этапа: фракцию целевого белка после аффинной хроматографии наносили на колонку с катионообменным сорбентом Nuvia HR-S (50 мл), затем проводили каскадную хроматографию на анионообменных сорбентах ДЭАЭ-сефароза и Q-сефароза. Оценку чистоты (посторонние примеси) препарата рекомбинантного RBDdelta проводили методом ВЭЖХ на хроматографе LC-20 Prominence. Посторонние примеси определяли методом ОФ-ВЭЖХ при следующих условиях: колонка Summetry300-C4, 5 мкм, $4,6 \times 150$ мм, температура колонки – 60 °С, ПФ А – 5% CH_3CN в воде с 0,1% ТФУ, ПФ В – 90% CH_3CN в воде с 0,1% ТФУ, градиент: 0,0 мин – 10% В; 15 мин – 70% В; 15,1 мин 100% В; 19,0 мин – 100% В; скорость ПФ – 1 мл/мин; регистрация хроматограммы – 214 нм, концентрация белка в пробе – 0,4 мг/мл, объем пробы – 50 мкл.

Иммунизация животных

Все экспериментальные протоколы и процедуры были проведены в соответствии с рекомендациями Хельсинкской декларации и одобрено Комитетом по биоэтике НИЦ ВБ «Вектор» (протокол Комитета по биоэтике № 5 от 1 октября 2020 г.).

В эксперименте использовали самок мышей BALB/c весом 16-18 г, которых случайным образом разделили на 2 группы по 10 животных. Группы животных содержали в отдельных клетках в стандартных условиях с постоянным свободным доступом к воде и корму. Первую группу животных дважды иммунизировали 50 мкг RBD с $\text{Al}(\text{OH})_3$ с двухнедельным интервалом. Второй контрольной группе также с интервалом в две недели дважды вводили физраствор.

Иммуноферментный анализ

В 96-луночные планшеты (Corning, США) сорбировали 100 мкл антигена (1 мкг/мл) в 2 М мочеvine в PBS в течение ночи при 4 °С. В качестве антигенов использовали рекомбинантные белки: RBD Delta и RBD Wuhan, а также тримеры S-белка вариантов Delta, Wuhan и Omicron SARS-CoV-2. Затем планшеты промывали PBST (PBS, содержащим 0,05% Tween-20) и блокировали блокирующим буфером (PBST, содержащим 1% казеина) 1,5 ч при комнатной температуре. Сыворотки иммунизированных животных серийно разбавляли и добавляли в заблокированные планшеты. После инкубации при комнатной температуре в течение 1 ч планшеты трижды промывали PBST и инкубировали с козым антимышиным IgG-HRP (Sigma-Aldrich, США) вторичными антителами при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшеты трижды промывали PBST и

добавляли субстрат HRP TMB (Amresco, США). Реакции останавливали с помощью 1 Н HCl. Поглощение измеряли при 450 нм с использованием многорежимного считывателя микропланшетов Varioskan Lux (Thermo Fisher Scientific, США).

Анализ вируснейтрализации

Штаммы вируса Wuhan – hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (EPI_ISL_406844), Delta – hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021 (EPI_ISL_7338814) и Omicron 1 – hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 (EPI_ISL_8920444) SARS-CoV-2 были получены из государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Вирусосодержащий материал хранился при температуре -70 °С. Концентрация вируса в наработанном препарате составляла 5×10^6 ТЦД₅₀/мл (тканевая цитопатическая доза на миллилитр).

Образцы крови получали от всех животных через две недели после 2-й иммунизации. Из крови животных были получены сыворотки путем осаждения форменных элементов с помощью центрифугирования при $1000 \times g$ в течение 7-10 мин. Полученные сыворотки термически инактивировали при 56 °С в течение 30 мин.

Определение нейтрализующих титров сывороток проводили путем учета неповрежденного монослоя культуры клеток Vero E6 в лунках 96-луночного планшета (Corning, США). Культуру клеток выращивали в 96-луночных культуральных планшетах в ростовой питательной среде с добавлением 10% бычьей фетальной сыворотки и антибиотиков. Заражение клеток проводили вариантами Delta (B.1.617.2), Wuhan и Omicron (B.1.1.529) вируса SARS-CoV-2 в дозе 100 ТЦД₅₀/лунку. Исследуемые образцы сыворотки крови разводили последовательно в среде DMEM (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Россия) с глутамином и антибиотиками с 2-кратным шагом, начиная с разведения 1:10 до 1:2560. К разведениям сыворотки добавляли вирус в равной пропорции 1:1 и инкубировали в течение 1 ч при 37 °С, затем смесь вируса и сыворотки наносили в дублях на монослой культуры клеток в объеме 100 мкл/лунку. Планшеты инкубировали в течение 4 сут. при 37 °С во влажной атмосфере 5% CO_2 . Для окрашивания в каждую лунку планшета вносили 100 мкл 0,2%-ного раствора генцианвиолета. Через 4 сут. жидкость из лунок удаляли и промывали лунки водой. Учет результатов проводили визуально. Любое специфическое поражение культуры клеток в лунке учитывали как цитопатическое действие (ЦПД). Титром считали последнее разведение, при котором регистрировали защиту монослоя культуры клеток в лунках от ЦПД вируса. В качестве поло-

жительного контроля использовали 20-кратное разведение образца сыворотки крови реконвалесцента COVID-19 с ранее установленным титром 1:80. В качестве отрицательного контроля использовали питательную среду.

Результаты

Разработка вакцины «Дельта-Вак»

Первым этапом разработки вакцины «Дельта-Вак» стало создание штамма-продуцента, стабильно экспрессирующего RBD варианта Delta. В итоге был получен и охарактеризован стабильный клон CHO-K1-RBDdelta, экспрессирующий рекомбинантный RBD варианта Delta (B.1.617.2) SARS-CoV-2. По результатам ИФА выбран перспективный клон суперпродуцент, продуктивность которого достигла 50 мг/л. Полученный клон был адаптирован к суспензионному культивированию и охарактеризован по стабильности экспрессии. Для этого его культивировали в течение 25 пассажей и оценивали продуктивность и жизнеспособность клеток на каждом пассаже. Итоговая продуктивность полученной суспензионной культуры CHO-K1-RBDdelta составила 150 мг/л.

Одним из важных этапов разработки безопасной вакцины является стадия хроматографической очистки. Разработанная схема двухстадийной хроматографической очистки RBDdelta включала аффинную и ионообменную хроматографии. Чистота итогового препарата RBDdelta, определенная при помощи ВЭЖХ, по посторонним примесям составила 98,3% в основном пике.

Оценка иммуногенности вакцины «Дельта-Вак»

Иммуногенность вакцины «Дельта-Вак» оценивали на модели мышей BALB/c. Проводили двукратную иммунизацию животных дозой 50 мкг RBD в комплексе с $Al(OH)_3$ с двухнедельным интервалом. Через две недели после второй иммунизации получали сыворотки крови и анализировали титры специфических IgG в ИФА с использованием в качестве антигенов RBD Delta и RBD Wuhan, а также тримеров S-белка вариантов Delta, Wuhan и Omicron SARS-CoV-2. Результаты ИФА подтверждают, что вакцина «Дельта-Вак» вызывает индукцию специфических IgG у мышей линии BALB/c, как показано на рисунке 1.

Обратные титры специфических антител, выявленных в ИФА с использованием рекомбинантных антигенов, находились в диапазоне от 1×10^3 до 1×10^6 . Статистической разницы в титрах IgG иммунизированных мышей для антигенов RBD Delta и RBD Wuhan не было выявлено. При этом статистическая разница в титрах IgG иммунизированных мышей наблюдалась, ког-

да в качестве антигенов использовали S-белки вариантов Delta (B.1.617.2), Wuhan и Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2. При исследовании взаимодействия мышиных сывороток с S-белком вариантов Wuhan, Delta (B.1.617.2) и Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2 средние геометрические титры IgG составили $2,6 \times 10^4$, 1×10^5 , $1,3 \times 10^3$ соответственно.

Далее сыворотки крови иммунизированных мышей оценивали на наличие перекрестной нейтрализующей реактивности в отношении вариантов Delta (B.1.617.2), Wuhan и Omicron (B.1.1.529) вируса SARS-CoV-2 *in vitro* на клетках Vero E6. Результаты подтвердили, что сыворотки вакцинированных мышей обладают высокой нейтрализующей активностью в отношении варианта Delta (B.1.617.2) и Wuhan SARS-CoV-2 (рис. 2), средний геометрический титр составил $1576 \pm 1,9$ и $905,1 \pm 2,0$ соответственно.

Титр нейтрализующих антител против варианта Omicron (B.1.1.529) был ниже и составил $452,5 \pm 2,4$.

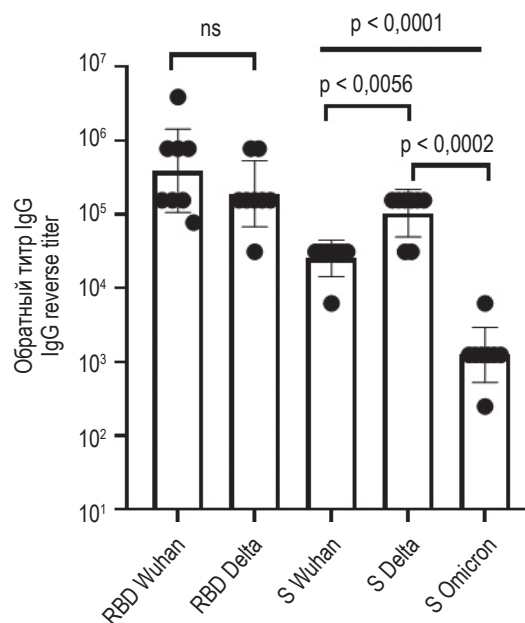


Рисунок 1. Анализ сывороточных IgG у мышей, иммунизированных дозой 50 мкг RBD Delta SARS-CoV-2 в ИФА

Примечание. Представлены средние геометрические значения $\pm$ SD. Статистический анализ выполнен с использованием U-критерия Манна-Уитни и критерия Краскела-Уоллиса.

Figure 1. Analysis of serum IgG in mice immunized with a dose of 50 µg of RBD Delta SARS-CoV-2 by ELISA

Note. Geometric means $\pm$ SD are presented. Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U test and the Kruskal-Wallis test.

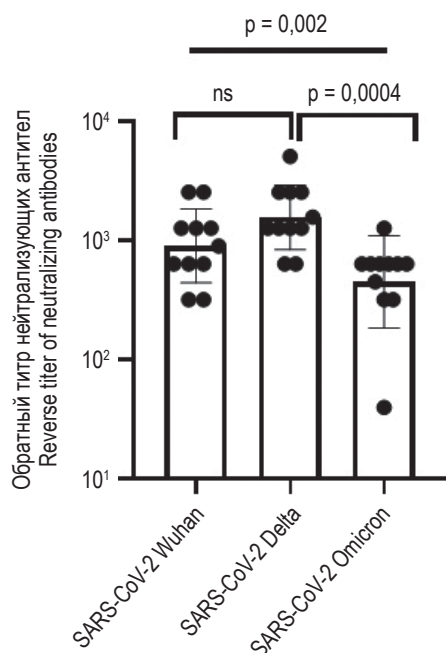


Рисунок 2. Анализ сывороточных IgG у мышей, иммунизированных дозой 50 мкг RBD Delta SARS-CoV-2 с гидроокисью алюминия, в тесте на ингибирование цитопатического действия вариантов Delta (B.1.617.2), Wuhan и Omicron (B.1.1.529) вируса SARS-CoV-2 (100 ТЦД₅₀) на культуре клеток Vero E6

Примечание. Представлены средние геометрические значения $\pm$ SD. Статистический анализ выполнен с использованием U критерия Манна–Уитни и критерия Краскела–Уоллиса, при этом $p < 0,05$ считалось показателем статистической значимости.

Figure 2. Analysis of serum IgG in mice immunized with a dose of 50 μ g of RBD Delta SARS-CoV-2 with aluminum hydroxide in a test for inhibition of the cytopathic effect of variants Delta (B.1.617.2), Wuhan and Omicron (B.1.1.529) of the SARS-CoV-2 virus

Note. Geometric means $\pm$ SD are presented. Statistical analysis was performed using the Mann–Whitney U test and the Kruskal–Wallis test, in this case, $p < 0.05$ was considered an indicator of statistical significance.

Статистических различий в титрах нейтрализующих антител в отношении варианта Delta (B.1.617.2) и Wuhan SARS-CoV-2 выявлено не было ($p < 0,0784$) на рисунке обозначается как ns. В то время как статистический анализ данных с использованием теста Манна–Уитни выявил значимые различия между титр нейтрализующих антител в отношении вариантов Omicron (B.1.1.529) и Delta (B.1.617.2) ($p < 0,0004$).

Обсуждение

Как было показано, иммунизация рекомбинантным белком RBD SARS-CoV-2 обеспечивает эффективную индукцию нейтрализующих антител, способных обеспечивать защиту иммунизированных, и поэтому считается многообещающим кандидатом для создания вакцин [4,

19]. Настоящее исследование было направлено на разработку кандидатной субъединичной вакцины против SARS-CoV-2 на основе рекомбинантного рецептор-связывающего домена RBD SARS-CoV-2 варианта Delta (B.1.617.2).

Важную роль при разработке субъединичных вакцин играет выбор системы экспрессии. Необходимо обеспечить синтез целевого белка с сохранением его иммуногенных свойств. В ряде недавних исследованиях было показано, что рекомбинантные белковые вакцины на основе RBD SARS-CoV-2, полученного в клетках млекопитающих, способны индуцировать высокие титры нейтрализующих антител [12, 13, 21, 27]. Наши данные по сравнительному исследованию иммуногенности рекомбинантного RBD SARS-CoV-2, полученного в системах экспрессии клеток-прокариот и млекопитающих, согласуются с вышеуказанными результатами [17]. В качестве кандидата для вакцины выбрали RBD одного из наиболее патогенных вариантов SARS-CoV-2 — варианта Delta (B.1.617.2). Был разработан продуцент рекомбинантного RBD на основе клеток CHO-K1 и проведена адаптация клеток продуцента к суспензионному культивированию, при этом продуктивность штамма составила 150 мг с литра культуральной среды. На данный момент, достигнутый уровень продуктивности достаточен для выполнения экспериментов *in vivo* и проведения доклинических испытаний, однако, этот показатель может быть улучшен путем оптимизации состава питательных сред и режима культивирования. По литературным данным, уровень продукции коммерчески привлекательного продуцента может достигать 1 г с литра культуры [23].

Для получения белка, отвечающего требованиям инъекционных препаратов, была разработана схема хроматографической очистки, включающая аффинную и ионообменную хроматографии. Потери белка при очистке не превышали 10%, при этом чистота, определенная при помощи ВЭЖХ, составила 98,3%. На основании предварительных экспериментов по иммуногенности [16] была выбрана доза RBD 50 мкг и адъювант — гидроокись алюминия ($Al(OH)_3$).

Анализ иммуногенности полученного вакцинного препарата «Дельта-Вак» было решено проводить по двум основным показателям: уровню индукции специфических и нейтрализующих антител. Для анализа уровня специфических антител использовали ИФА, а для анализа уровня нейтрализующих антител — реакцию вируснейтрализации.

Несмотря на то, что ИФА является стандартным методом анализа в исследованиях гуморального иммунного ответа, большое значение имеет выбор антигена. В нашем исследовании для ИФА

были использованы два варианта антигенов: RBD и тримерный S-белок. Оказалось, что при использовании в качестве антигена RBD уровни специфических антител для вариантов Wuhan и Delta статистически не отличались, в то время как при использовании антигена на основе тримерного S-белка отличия были. При этом результаты ИФА с тримерным S-белком коррелируют с результатами вируснейтрализации. Так как для целей работы важно оценить не просто титр специфических антител, а титр функциональных антител, потенциально способных блокировать вирус, то использование тримерного S-белка в ИФА позволяет получать более корректные результаты.

Результаты анализа сывороток крови животных, иммунизированных вакцинным препаратом «Дельта-Вак» в реакции вируснейтрализации, показывают, что они содержат антитела, нейтрализующие не только гомологичный вариант SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2), но и гетерологичные Wuhan, Omicron (B.1.1.529), при этом против последнего иммунный ответ был снижен. По всей видимости, это связано с тем, что S-белок Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2 содержит большое количество аминокислотных замен, 15 из которых расположены в регионе RBD [11]. Наши результаты согласуются с исследованиями, в которых показано, что аминокислотные замены в S-белке у штамма Omicron (B.1.1.529) приводят к его ускользанию от терапевтических моноклональных антител [2, 11]. Интересно отметить, что разница между специфическими и нейтра-

лизующими антителами в отношении Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2, несмотря на общее снижение, была наименьшей.

Заключение

На основании приведенных результатов можно заключить, что разработанный прототип субъединичной вакцины на основе RBD варианта Delta (B.1.617.2) SARS-CoV-2 индуцирует выраженный гуморальный иммунный ответ, характеризующийся высокими титрами нейтрализующих антител против гомологичного варианта вируса. Анализ перекрестной защиты показал наличие нейтрализующей активности против варианта Wuhan, однако уровень этой активности значительно варьировал между отдельными образцами. В отношении варианта Omicron наблюдалось значительное снижение уровня антительного ответа и высокая гетерогенность среди иммунных сывороток, что, возможно, свидетельствует о частичной утрате перекрестной защиты. Полученные данные подчеркивают необходимость дальнейших исследований по расширению спектра защитной активности за счет модификации антигенного состава вакцины или стратегий бустерной иммунизации.

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» за помощь в проведении ряда экспериментов.

Список литературы / References

1. Матвеев А.Л., Хлусевич Я.А., Байков И.К., Бабкин И.В., Гончарова Е.П., Морозова В.В., Тикунова Н.В. Создание стабильного штамма-продуцента полноразмерного антитела человека на примере антитела против вируса экстремелии // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2018, Т. 21, № 8, С. 993-1000. [Matveev A.L., Khlusevich Ya.A., Baykov I.K., Babkin I.V., Goncharova E.P., Morozova V.V., Tikunova N.V. Development of a stable eukaryotic strain producing fully human monoclonal antibody on the basis of the human antibody against ectromelia virus. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2017, Vol. 21, no. 8, pp. 993-1000. (In Russ.)]
2. Arora P., Zhang L., Rocha C., Graichen L., Nehlmeier I., Kempf A., Cossmann A., Gema Morillas Ramos G.M., Baier E., Tampe B., Moerer O., Dickel S., Winkler M.S., Behrens G.M.N., Pöhlmann S., Hoffmann M. The SARS-CoV-2 Delta-Omicron Recombinant Lineage (XD) Exhibits Immune-Escape Properties Similar to the Omicron (BA. 1) Variant. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 22, 14057. doi: 10.3390/ijms232214057.
3. Coria L.M., Saposnik L.M., Pueblas Castro C., Castro E.F., Bruno L.A., Stone W.B., Pérez P.S., Darriba M.L., Chemes L.B., Alcain J., Mazzitelli I., Varese A., Salvatori M., Auguste A.J., Álvarez D.E., Pasquevich K.A., Cassataro J. A novel bacterial protease inhibitor adjuvant in RBD-Based COVID-19 vaccine formulations containing alum increases neutralizing antibodies, specific germinal center B cells and confers protection against SARS-CoV-2 Infection in Mice. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 844837. doi: 10.3389/fimmu.2022.844837.
4. Dai L., Gao G.F. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nat. Rev. Immunol.*, 2021, Vol. 21, no. 2, pp. 73-82.
5. Ghaemi A., Roshani P. Asl., Zargaran H., Ahmadi D., Hashimi A.A., Abdolalipour E., Bathaeian S., Miri S.M. Recombinant COVID-19 vaccine based on recombinant RBD/Nucleoprotein and saponin adjuvant induces long-lasting neutralizing antibodies and cellular immunity. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 974364. doi: 10.3389/fimmu.2022.974364.

6. Han X., Cai Z., Dai Y., Huang H., Cao X., Wang Y., Fang Y., Liu G., Zhang M., Zhang Y., Yang B., Xue W., Zhao G., Tai W., Li M., Re-burying Artificially Exposed Surface of Viral Subunit Vaccines Through Oligomerization Enhances Vaccine Efficacy. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2022, Vol. 12, 927674. doi: 10.3389/fcimb.2022.927674.
7. Heidary M., Kaviar V.H., Shirani M., Ghanavati R., Motahar M., Sholeh M., Khoshnood S.A Comprehensive Review of the Protein Subunit Vaccines Against COVID-19. *Front. Microbiol.*, 2022, Vol. 13, 927306. doi: 10.3389/fmicb.2022.927306.
8. Karthik K., Senthilkumar T.M.A., Udhayavel S., Raj G.D. Role of antibody-dependent enhancement (ADE) in the virulence of SARS-CoV-2 and its mitigation strategies for the development of vaccines and immunotherapies to counter COVID-19. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2020, Vol. 16, no. 12, pp. 3055-3060.
9. Kleanthous H., Silverman J.M., Makar K.W., Yoon I.K., Jackson N., Vaughn D.W. Scientific rationale for developing potent RBD-based vaccines targeting COVID-19. *Vaccines*, 2021, Vol. 6, no. 1, 128. doi: 10.1038/s41541-021-00393-6.
10. Kuo T.Y., Lin M.Y., Coffman R.L., Campbell J.D., Traquina P., Lin Y.J., Liu L. T.-Ch., Cheng J., Wu Y.-Ch., Wu Ch.-Ch., Tang W.-H., Huang Ch.-G., Tsao K.-Ch., Chen C. Development of CpG-adjuvanted stable prefusion SARS-CoV-2 spike antigen as a subunit vaccine against COVID-19. *Sci. Rep.*, 2020, Vol. 10, no. 1, 20085. doi: 10.1038/s41598-020-77077-z.
11. Lee I.J., Sun C.P., Wu P.Y., Lan Y.H., Wang I.H., Liu W.C., Yuan J.P.-Y., Chang Y.-W., Tseng Sh.-Ch., Tsung S. I., Chou Y.-Ch., Kumari M., Lin Y.-Sh., Chen H.-F., Chen T.-Y., Lin Ch.-Ch., Chiu Ch.-W., Hsieh Ch.-H., Chuang Ch.-Y., Cheng Ch.-M., Lin H.-T., Chen W.-Y., Hsu F.-F., Hong M.-H., Liao Ch.-Ch., Chang Ch.-Sh., Liang J.J., Ma H.-H., Chiang M.-T., Liao H.-N., Ko H.-Y., Chen L.-Y., Ko Y.-A., Yu P.-Y., Yang T.-J., Chiang P.-Ch., Hsu Sh.-T., Lin Y.-L., Lee Ch.-Ch., Wu H.-Ch., Tao M.H. A booster dose of Delta × Omicron hybrid mRNA vaccine produced broadly neutralizing antibody against Omicron and other SARS-CoV-2 variants. *J. Biomed. Sci.*, 2022, Vol. 29, no. 1, 49. doi: 10.1186/s12929-022-00830-1.
12. Liao Y., Li Y., Pei R., Fang X., Zeng P., Fan R., Ou Zh., Deng J., Zhou J., Guan W., Min Y., Deng F., Peng H., Zhang Zh., Feng Ch., Xin B., He J., Hu Zh., Zhang J. Safety and immunogenicity of a recombinant interferon-armed RBD dimer vaccine (V-01) for COVID-19 in healthy adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled, Phase I trial. *Emerg. Microbes Infect.*, 2021, Vol. 10, no. 1, pp. 1589-1597.
13. Lin T.W., Huang P.H., Liao B.H., Chao T.L., Tsai Y.M., Chang S.C., Chang S.-Y., Chen H.W. Tag-Free SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain (RBD), but Not C-Terminal Tagged SARS-CoV-2 RBD, Induces a Rapid and Potent Neutralizing Antibody Response. *Vaccines*, 2022, Vol. 10, no. 11, 1839. doi: 10.3390/vaccines10111839.
14. Liu Ch., Ginn H.M., Dejnirattisai W., Supasa P., Wang B., Tuekprakhon A., Nutalai R., Zhou D., Mentzer A.J., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., López-Camacho C., Slon-Campos J., Walter Th.S., Skelly D., Johnson S.A., Ritter Th.G., Mason Ch., Clemens S.A.C., Naveca F.G., Nascimento V., Nascimento F., Fernandes da Costa C., Resende P.C., Pauvolid-Correa A., Siqueira M.M., Dold Ch., Temperton N., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S.C., Malik T., Carroll M.W., Klenerman P., Barnes E., Dunachie S.J., Baillie V., Serafin N., Ditse Z., Silva K.D., Paterson N.G., Williams M.A., Hall D.R., Madhi Sh., Nunes M.C., Goulder Ph., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Sreaton G.R. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B. 1.617 by vaccine and convalescent serum. *Cell*, 2021, Vol. 184, no. 16, pp. 4220-4236.e13.
15. Malladi S.K., Singh R., Pandey S., Gayathri S., Kanjo K., Ahmed S., Khan M.S., Kalita P., Girish N., Upadhyaya A., Reddy P., Pramanick I., Bhasin M., Mani Sh., Bhattacharyya S., Joseph J., Thankamani K., Raj V.S., Dutta S., Singh R., Nadig G., Varadarajan R. Design of a highly thermotolerant, immunogenic SARS-CoV-2 spike fragment. *J. Biol. Chem.*, 2021, Vol. 296, 100025. doi: 10.1074/jbc.RA120.016284.
16. Merkuleva I.A., Shcherbakov D.N., Borgoyakova M.B., Isaeva A.A., Nesmeyanova V.S., Volkova N.V., Aripov V.S., Shanshin D.V., Karpenko L.I., Belenkaya S.V., Kazachinskaia E.I., Volosnikova E.A., Esina T.I., Sergeev A.A., Titova K.A., Konyakhina Y.V., Zaykovskaya A.V., Pyankov O.V., Kolosova E.A., Viktorina O.E., Shelemba A.A., Rudometov A.P., Ilyichev A.A. Are Hamsters a Suitable Model for Evaluating the Immunogenicity of RBD-Based Anti-COVID-19 Subunit Vaccines? *Viruses*, 2022, Vol. 14, no. 5, 1060. doi: 10.3390/v14051060.
17. Merkuleva I.A., Shcherbakov D.N., Borgoyakova M.B., Shanshin D.V., Rudometov A.P., Karpenko L.I., Belenkaya S.V., Isaeva A.A., Nesmeyanova V.S., Kazachinskaia E.I., Volosnikova E.A., Esina T.I., Zaykovskaya A.V., Pyankov O.V., Borisevich S.S., Shelemba A.A., Chikhaev A.N., Ilyichev A.A. Comparative Immunogenicity of the Recombinant Receptor-Binding Domain of Protein S SARS-CoV-2 Obtained in Prokaryotic and Mammalian Expression Systems. *Vaccines*, 2022, Vol. 10, no. 1, 96. doi: 10.3390/vaccines10010096.
18. Pang Y., Lu H., Cao D., Zhu X., Long Q., Tian F., Long X., Li Y. Efficacy, immunogenicity and safety of respiratory syncytial virus prefusion F vaccine: systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*, 2024, Vol. 24, no. 1, 1244. doi: 10.1186/s12889-024-18748-8.
19. Premkumar L., Segovia-Chumbez B., Jadi R., Martinez D.R., Raut R., Markmann A.J., Cornaby C., Bartelt L., Weiss S., Park Y., Edwards C.E., Weimer E., Scherer E.M., Rouphael N., Edupugantih S., Weiskopf D., Tse L.V., Hou Y.J., Margolis D., Sette A., Collins M.H., Schmitz J., Baric R.S., de Silva A.M. The receptor-binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Science immunology*, 2020, Vol. 5, no. 48, eabc8413. doi: 10.1126/sciimmunol.abc8413.
20. Shimizu J., Sasaki T., Koketsu R., Morita R., Yoshimura Y., Murakami A., Saito Y., Kusunoki T., Samune Y., Nakayama E.E., Miyazaki K., Shioda T. Reevaluation of antibody-dependent enhancement of infection in anti-

SARS-CoV-2 therapeutic antibodies and mRNA-vaccine antisera using FcR- and ACE2-positive cells. *Sci. Rep.*, 2022, Vol. 12, no. 1, 15612. doi: 10.1038/s41598-022-19993-w.

21. Starr T.N., Czudnochowski N., Liu Z., Zatta F., Park Y.J., Addetia A., Pinto D., Beltramello M., Hernandez P., Greaney A.J., Marzi R., Glass W.G., Zhang I., Diggins A.S., Bowen J.E., Tortorici M.A., Walls A.C., Wojcechowskyj J.A., de Marco A., Rosen L.E., Zhou J., Montiel-Ruiz M., Kaiser H., Dillen J.R., Tucker H., Bassi J., Silacci-Fregni Ch., Housley M.P., Di Iulio J., Lombardo G., Agostini M., Sprugasci N., Culap K., Jaconi S., Meury M., Jr E.D., Abdelnabi R., Foo Sh.-Y.C., Cameroni E., Stumpf S., Croll T.I., Nix J.C., Havenar-Daughton C., Piccoli L., Benigni F., Neyts J., Telenti A., Lempp F.A., Pizzuto M.S., Chodera J.D., Hebner Ch.M., Virgin H.W., Whelan S.P.J., Veesler D., Corti D., Bloom J.D., Snell G. SARS-CoV-2 RBD antibodies that maximize breadth and resistance to escape. *Nature*, 2021, Vol. 597, no. 7874, pp. 97-102.

22. Wang J., Wen Y., Zhou S.H., Zhang H.W., Peng X.Q., Zhang R.Y., Yin X.-G., Qiu H., Gong R., Yang G.F., Guo J. Self-Adjuvanting Lipoprotein Conjugate agalCer-RBD Induces Potent Immunity against SARS-CoV-2 and its Variants of Concern. *J. Med. Chem.*, 2022, Vol. 65 no. 3, pp. 2558-2570.

23. Yang D.K., Kweon C.H., Kim B.H., Lim S.I., Kwon J.H., Kim S.H., Jae-Young S., Han H.R. Immunogenicity of baculovirus expressed recombinant proteins of Japanese encephalitis virus in mice. *J. Vet. Sci.*, 2005, Vol. 6, no. 2, pp. 125-133.

24. Yang J., Wang W., Chen Z., Lu S., Yang F., Bi Z., Bao L., Mo F., Li X., Huang Y., Hong W., Yang Y., Zhao Y., Ye F., Lin Sh., Deng W., Chen H., Lei H., Zhang Z., Luo M., Gao H., Zheng Y., Gong Y., Jiang X., Xu Y., Lv Q., Li D., Wang M., Li F., Wang Sh., Wang G., Yu P., Qu Y., Yang L., Deng H., Tong A., Li J., Wang Zh., Yang J., Shen G., Zhao Zh., Li Y., Luo J., Liu H., Yu W., Yang M., Xu J., Wang J., Li H., Wang H., Kuang D., Lin P., Hu Zh., Guo W., Cheng W., He Y., Song X., Chen Ch., Xue Zh., Yao Sh., Chen L., Ma X., Chen S., Gou M., Huang W., Wang Y., Fan Ch., Tian Zh., Shi M., Wang F.-Sh., Dai L., Wu M., Li G., Wang G., Peng Y., Qian Zh., Huang C., Lau J. Y.-N., Yang Zh., Wei Y., Cen X., Peng X., Qin Ch., Zhang K., Lu G., Wei X. A vaccine targeting the RBD of the S protein of SARS-CoV-2 induces protective immunity. *Nature*, 2020, Vol. 586, no. 7830, pp. 572-577.

25. Ye J., Meng S., Zhu X. Recent advances in the development of bispecific antibodies. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 2020, Vol. 36, no. 1, pp. 33-43.

26. Zang J., Gu C., Zhou B., Zhang C., Yang Y., Xu S., Bai L., Zhang R., Deng Q., Yuan Zh., Tang H., Qu D., Lavillette D., Xie Y., Huang Z. Immunization with the receptor-binding domain of SARS-CoV-2 elicits antibodies cross-neutralizing SARS-CoV-2 and SARS-CoV without antibody-dependent enhancement. *Cell Discov.*, 2020, Vol. 6, 61. doi: 10.1038/s41421-020-00199-1.

27. Zhang J., Han Z.B., Liang Y., Zhang X.F., Jin Y.Q., Du L.F., Shao Sh., Wang H., Hou J.W., Xu K., Lei W., Lei Z.H., Liu Zh.M., Zhang J., Hou Y.N., Liu N., Shen F.J., Wu J.J., Zheng X., Li X.Y., Li X., Huang W.J., Wu G.Zh., Su J.G., Li Q.M. A mosaic-type trimeric RBD-based COVID-19 vaccine candidate induces potent neutralization against Omicron and other SARS-CoV-2 variants. *Elife*, 2022, Vol. 11, e78633. doi: 10.7554/eLife.78633.

28. Zhang J., Zeng H., Gu J., Li H., Zheng L., Zou Q. Progress and prospects on vaccine development against SARS-CoV-2. *Vaccines*, 2020, Vol. 8, no. 2, 153. doi: 10.3390/vaccines8020153.

Авторы:

Несмеянова В.С. — младший научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Меркульева Ю.А. — к.б.н., младший научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Исаева А.А. — к.х.н., младший научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Волкова Н.В. — к.б.н., научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Authors:

Nesmeyanova V.S., Junior Researcher, Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Merkulyeva Yu.A., PhD (Biology), Junior Researcher, Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Isaeva A.A., PhD (Chemistry), Junior Researcher, Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Volkova N.V., PhD (Biology), Researcher, Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Беленькая С.В. — к.б.н., научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Боргоякова М.Б. — младший научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Волосникова Е.А. — к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов, заведующая лабораторией получения и анализа биосубстанций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Есина Т.И. — младший научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Даниленко Е.Д. — к.б.н., врио директора Института медицинской биотехнологии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Зайковская А.В. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Олкин С.Е. — ведущий научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Пьянков О.В. — к.б.н., заведующий отделом «Коллекция микроорганизмов» ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Ильичев А.А. — д.б.н., профессор, заведующий отделом биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Щербakov Д.Н. — к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии, заведующий лабораторией иммунохимии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Belenkaya S.V., PhD (Biology), Researcher, Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Borgoyakova M.B., Junior Researcher, Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Volosnikova E.A., PhD (Biology), Leading Researcher of the Department of Technology Development and Pilot Production of Biologicals, Head of the Laboratory of Obtaining and Analyzing Biosubstances, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Esina T.I., Junior Researcher, Department of Technology Development and Pilot Production of Biologicals, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Danilenko E.D., PhD (Biology), Acting Director, Institute of Medical Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Zaikovskaya A.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Department “Collection of Microorganisms”, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Olkin S.E., Leading Researcher, Department of Biophysics and Ecological Research, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Pyanov O.V., PhD (Biology), Head, Department “Collection of Microorganisms”, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Ilichev A.A., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Bioengineering Department, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Shcherbakov D.N., PhD (Biology), Leading Researcher of the Bioengineering Department, Head of the Laboratory of Immunochemistry, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Поступила 17.08.2023
Отправлена на доработку 13.09.2023
Принята к печати 13.05.2025

Received 17.08.2023
Revision received 13.09.2023
Accepted 13.05.2025