

# ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ, ПОВТОРЯЮЩИХ V3-ПЕТЛЮ ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА gp120 ВИЧ-1, ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВВЕДЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИММУНОАДЬЮВАНТА POLY(I:C)

Коробова С.В.<sup>1</sup>, Топорова В.А.<sup>2</sup>, Алхазова Б.И.<sup>1</sup>, Головина М.Э.<sup>1</sup>,  
Апарин П.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Государственный научный центр “Институт иммунологии” Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

**Резюме.** Синтетические пептиды являются хорошей основой для создания вакцины против ВИЧ/СПИД. Иммунизация ими фокусирует иммунный ответ только на определенный эпипотоп, они способны активировать обе ветви иммунного ответа и безопасны при введении в организм человека. Имея низкий молекулярный вес синтетические пептиды обладают низкой иммуногенностью, поэтому необходимо использовать различные иммуноадьюванты в составе иммуногенной композиции. V3-петля оболочечного белка gp120 ВИЧ-1 является одним из основных протективных эпипотопов, на него получено ряд моноклональных антител с широкой нейтрализующей активностью. Нами было проведено исследование иммуногенности пептидов, копирующих V3-петлю консенсусной последовательности вирусов группы M ВИЧ-1 и российского изолята RUA022a2, в зависимости от способа введения (подкожно и внутрибрюшинно) и использования иммуноадьюванта. В качестве адьюванта применялся синтетический аналог двуцепочечной РНК – poly(I:C), являющийся лигандом рецепторов врожденного иммунитета TLR3. Исследования проводились на мышах линии balb/c. Показано, что способ введения не влияет на формирование иммунного ответа на пептиды. Однако в группах, где использовался иммуноадьювант, наблюдалась более ранняя продукция специфических IgG-антител. При этом титр антител после третьего, последнего, введения был незначительно выше в группах, где пептиды вводились с адьювантом. Также не было выявлено отличий в изотипе индуцированных антител. Во всех группах преимущественно образовывались IgG1-антитела. Специфические антитела

#### Адрес для переписки:

Коробова Светлана Вячеславовна  
ФГБУ «Государственный научный центр “Институт иммунологии” Федерального медико-биологического агентства»  
115522, Россия, Москва, Каширское шоссе, 24, корп. 2.  
Тел.: 8 (906) 706-47-67.  
Факс: 8 (499) 618-71-56.  
E-mail: korbovas@gmail.com

#### Address for correspondence:

Svetlana V. Korobova  
National Research Center – Institute of Immunology,  
Federal Medical-Biological Agency  
24 Kashirskoe Highway  
Moscow  
115522 Russian Federation  
Phone: +7 (906) 706-47-67.  
Fax: +7 (499) 618-71-56.  
E-mail: korbovas@gmail.com

#### Образец цитирования:

С.В. Коробова, В.А. Топорова, Б.И. Алхазова, М.Э. Головина, П.Г. Апарин «Иммуногенные свойства синтетических пептидов, повторяющих V3-петлю оболочечного белка gp120 ВИЧ-1, при различных способах введения и использовании иммуноадьюванта poly(I:C)» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 6. С. 1271-1284.

doi: 10.15789/1563-0625-IPO-3081

© Коробова С.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

#### For citation:

S.V. Korobova, V.A. Toporova, B.I. Alkhazova, M.E. Golovina, P.G. Aparin “Immunogenic properties of synthetic peptides copying the V3 loop of HIV-1 gp120 envelope protein: effects of various administration routes and poly(I:C) immunoadjuvant use”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 6, pp. 1271-1284.

doi: 10.15789/1563-0625-IPO-3081

© Korobova S.V. et al., 2025

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

DOI: 10.15789/1563-0625-IPO-3081

класса IgM выявлялись только после третьего введения антигена. На их титр не влиял способ введения, а уровень антител был также незначительно выше в группе с poly(I:C). Полученные антитела не обладали нейтрализующей активностью по отношению изолята QF495.23.M.EnvA1. При исследовании антиген-специфической клеточной активации показано, что только в группах, где применялся poly(I:C), выявляется продукция IFN $\gamma$  – маркера Th1-ответа. Кроме того, в группах, где в составе иммуногенной композиции присутствовал poly(I:C), определялся низкий уровень противоспалительного цитокина IL-10, больше всего его выявлялось в группах с внутрибрюшинном введении. Проведенные исследования показали, что использование адьюванта poly(I:C) способствует формированию иммунного ответа на синтетические пептиды, вызывая более раннюю индукцию специфических антител, а также переключению на Th1-путь. Полученные данные могут применяться при дизайне вакцин против ВИЧ/СПИД и других вирусных инфекций, для повышения их иммуногенности и возможности индукции протективного иммунного ответа.

*Ключевые слова:* ВИЧ, пептиды, вакцина, нейтрализующие антитела, иммуноадьюванты, poly(I:C), мыши

## IMMUNOGENIC PROPERTIES OF SYNTHETIC PEPTIDES COPYING THE V3 LOOP OF HIV-1 gp120 ENVELOPE PROTEIN: EFFECTS OF VARIOUS ADMINISTRATION ROUTES AND POLY(I:C) IMMUNOADJUVANT USE

Korobova S.V.<sup>a</sup>, Toporova V.A.<sup>b</sup>, Alkhazova B.I.<sup>a</sup>, Golovina M.E.<sup>a</sup>,  
Aparin P.G.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Synthetic peptides provide a promising basis for HIV vaccine development. Following their administration, the immune response is focused only on a specific epitope. Moreover, they are able to activate both humoral and cellular pathways of immune response, being safe and well tolerated. Due to low molecular weight, the synthetic peptides exhibit low immunogenicity, therefore requiring usage of various immunoadjuvants in immunogenic compositions. The V3 loops of gp120 envelope protein are among the main protective epitopes, with a number of monoclonal antibodies with broad neutralizing activity having been obtained to this antigen. We have studied the immunogenicity of peptides copying the V3 loop of the group M HIV-1 virus consensus sequence, and the Russian viral isolate RUA022a2. We have also assessed the possible impact of its administration route (subcutaneously *versus* intraperitoneally) and usage of an immunoadjuvant. poly(I:C), a synthetic analogue of double-stranded RNA, being a ligand of TLR3 innate immunity receptors, was used as an adjuvant. The studies were conducted on Balb/c mice. It has been shown that the route of administration did not affect an immune response development to the tested peptides. However, earlier production of specific IgG antibodies was observed in the groups treated with immunoadjuvant. At the same time, the antibody titer was slightly higher in the groups where peptides were administered with the adjuvant after the 3<sup>rd</sup> (last) administration. No differences have been revealed in the isotypes of induced antibodies. IgG1 antibodies were predominantly induced in all groups. Specific IgM antibodies were detected only after 3<sup>rd</sup> injection of the antigens. The antibody titer did not depend on the administration route, being slightly higher in the groups where peptides were administered with the poly(I:C) adjuvant. The induced antibodies did not exhibit neutralizing activity against the QF495.23.M.EnvA1 isolate. When studying antigen-specific cellular immune activation, the production of IFN $\gamma$ , the Th1 response marker was detected only in poly(I:C)-treated groups. In addition, a low level of anti-inflammatory cytokine IL-10 was determined in groups where poly(I:C) was included in the immunogenic composition. Moreover, the highest IL-10 level was detected in groups with intraperitoneal administration. Our studies have shown that the use of poly(I:C) adjuvant promotes immune response to the synthetic peptides, thus contributing to earlier induction of specific antibodies as well as switching to the Th1 pathway. The data obtained may be used for development of vaccines against HIV and other viral infections, in order to increase their immunogenicity and ability of inducing a protective immune response.

*Keywords:* HIV, peptides, vaccine, neutralizing antibodies, immunoadjuvants, poly(I:C), mice

## Введение

Получение вакцины против ВИЧ/СПИД остается приоритетной задачей здравоохранения. Хотя в последние годы достигнуты значительные успехи в терапии заболевания, позволяющей продлить и улучшить качество жизни инфицированного, полностью удалить ВИЧ из организма нельзя. Кроме того, возникают штаммы вируса, устойчивые к лекарственным препаратам.

Вакцина против ВИЧ/СПИД должна индуцировать обе ветви иммунного ответа: клеточную и гуморальную. Антитела играют важную роль в защите против инфекции, включая ВИЧ. Связываясь с вирусом, они препятствуют его проникновению в клетку. Проведенное недавно исследование по опосредованной профилактике моноклональными антителами показало, что пассивное введение широко нейтрализующих антител с достаточной специфичностью может защитить от ВИЧ-инфекции за счет нейтрализации чувствительных штаммов, если уровень сывороточных антител достаточно высок [3]. Проникновение вируса в клетку – сложный многоступенчатый процесс, ключевую роль в котором играет связывание оболочечного белка вируса gp120, а именно его V3-петли, с корецепторами CCR5 или CXCR4. Мутации, приводящие к удалению этого участка, делают вирус не-инфекционным [5]. Хотя этот участок относится к вариабильной части белка, около 60% аминокислот являются консервативными [13]. Антитела к V3-петле обнаруживаются почти у всех ВИЧ-инфицированных. К этому участку получен ряд моноклональных антител (447-52D, 2219, F425-B4e8, 2557, и 3074), обладающих широкой нейтрализующей активностью [6]. Роль цитотоксических лимфоцитов была показана при исследовании ВИЧ-инфицированных, не получающих вирус-специфическую терапию. Пациенты, у которых была низкая вирусная нагрузка, имели высокий уровень специфических CD8<sup>+</sup> клеток. Связь специфического ответа CD8<sup>+</sup> Т-клеток с низкой вирецией не зависела от типа HLA и не была связана с сохранением последовательности эпитопа [7]. Кроме того, цитотоксические лимфоциты разрушают уже зараженные вирусом клетки.

При дизайне вакцин, выборе последовательности для вакцинальных антигенов, необходимо учитывать, что для каждого географического региона характерен определенный субтип ВИЧ. В Российской Федерации преобладает субтип А, но также выявляется субтип В и рекомбинантные формы [12]. Для расширения специфичности иммунного ответа разработана консенсусная последовательность группы М, куда входят большинство субтипов ВИЧ. В ее основе лежит вклю-

чение наиболее распространенных аминокислот в каждой позиции из всех доступных вирусных последовательностей [8].

Синтетические пептиды являются хорошей основой для создания вакцины против ВИЧ. Они копируют строго определенные эпипотопы. Это позволяет вызывать иммунный ответ нужной специфичности. Кроме того, пептиды способны индуцировать как антитела, так и ЦТЛ.

Ранее нами были получены и исследованы синтетические пептиды, копирующие V1-, V2-, V3-петлю оболочечного белка gp120 консенсусной последовательности вирусов группы М ВИЧ-1 и последовательности V3-петли российского изолята RUA022a2. Было показано, что они распознаются сыворотками ВИЧ-инфицированных людей и способны вызывать образование антител. Пептиды, в силу своего небольшого молекулярного веса, обладают низкой иммуногенностью. Поэтому необходимо использовать различные иммуноадьюванты. В настоящее время большое внимание уделяется адьювантам, активирующими клетки врожденного иммунитета, в частности poly(I:C). poly(I:C) – синтетический аналог двуцепочечной РНК, является лигандом для TLR3. Связывание poly(I:C) с TLR3 приводит к выработке интерферон I типа, воспалительных цитокинов/хемокинов и созреванию дендритных клеток [9]. Использование этого адьюванта в пептидных вакцинах способствовало развитию специфического клеточного ответа на антигены [1].

Целью этой работы было исследование иммуногенности пептидов, копирующих V3-петлю консенсусной последовательности вирусов группы М ВИЧ-1 и российского изолята RUA022a2, в зависимости от способа введения (подкожно и внутрибрюшинно) и использования иммуноадьюванта.

## Материалы и методы

### Синтетические пептиды

Синтетические пептиды, повторяющие консенсусную последовательность V3-петли группы М и V3-петли российского изолята RUA022a2 оболочечного белка gp120 ВИЧ-1, синтезированные в ООО «НПФ Верта». Аминокислотная последовательность V3-петли российского изолята RUA022a2 (MIM 14-3) CIRPGNNRTSIRIGPG QAFYATGEIIGDTRKAHCTVN и V3-петли консенсусной последовательности группы М (EINC TRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGDIIGDIRQA HCNIS (MIM 11)).

### Иммунизация животных

Для работы были использованы мыши, самки линии balb/c весом 16-18 г из питомника «Столбовая» РАМН. Животные содержались на стандартном рационе в условиях вивария РОНЦ

им. Н.Н. Блохина РАМН. В опытах использовали мышей, прошедших карантинный режим вивария. Вся работа с лабораторными животными проводилась в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации, утвержденными приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики». Животных иммунизировали смесью пептидов (100 мкг каждого пептида на животное) подкожно или внутрибрюшинно, в ФСБ или с синтетическим аналогом двуцепочечной РНК poly(I:C), 3 раза с интервалом в 2 недели. Образцы сывороток крови отбирали после каждой иммунизации на 14-й день после первого и второго введения и на 7-й день после третьего. Селезенки отбирали и выделяли спленоциты после третьего введения антигена на 7-й день.

#### Постановка ИФА

Синтетические пептиды (MIM 11 и MIM 14-3) сорбировали на полистироловых планшетах (Greiner) в концентрации 10 мкг/мл при комнатной температуре 18 ч. Готовили ряд последовательных двойчных разведений сывороток иммунизированных животных на 0,01 М фосфатно-солевом буфере, содержащем 0,05% Твин-20 (ФСБ-Т) и 0,02% бычьего сывороточного альбумина (ФСБ-АТ). Образцы выдерживали 60 мин при 37 °C. По окончании инкубации лунки пятикратно отмывали ФСБ-Т. Добавляли антитела кролика к IgG мыши, меченные пероксидазой хрена (Sigma, США), или антителами к IgM мыши (Sigma, США), меченные пероксидазой хрена, или антителами к IgA мыши, меченные пероксидазой хрена (ФСБ-АТ), и выдерживали 60 мин при 37 °C. По окончании инкубации лунки отмывали ФСБ-Т 3 раза, вносили субстратный буферный раствор – ТМБ, выдерживали 15 мин. Реакцию останавливали 10%-ным раствором серной кислоты. Учет реакции проводили при длине волны 450 нм.

#### Определение изотипа антител

Синтетические пептиды (MIM 11 и MIM 14-3) сорбировали на полистироловых планшетах (Greiner) в концентрации 10 мкг/мл при комнатной температуре 18 ч. Вносили сыворотки в разведении 1:50 в ФСБ-АТ и инкубировали 1 ч при 37 °C. По окончании инкубации планшеты отмывали 3 раза ФСБ-Т, вносили антитела козы против изотипов антител мыши (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgA, IgM) (Sigma, США) в разведении 1:1000 в ФСБ-АТ. Инкубировали 1 ч при 37 °C. Отмывали планшеты 3 раза ФСБ-Т и вносили конъюгат кроличьих антител против IgG козы, меченные пероксидазой хрена в рабочем разведении (Sigma, США) и выдерживали 60 мин при 37 °C. По окончании инкубации лунки отмывали ФСБ-Т 3 раза, вносили субстратный буферный

раствор – ТМБ, выдерживали 15 мин. Реакцию останавливали 10%-ным раствором серной кислоты. Учет реакции проводили при длине волны 450 нм.

#### Выделение CD4<sup>+</sup> клеток

Проводили из спленоцитов мышей, методом магнитной сепарации, используя коммерческий набор Dynabeads® Mouse CD4 (Thermo Fisher Scientific).

#### Определение антиген-специфической продукции IL-4, IFN $\gamma$ , IL-10

Спленоциты или выделенные CD4<sup>+</sup> клетки мышей вносили в лунки 24-луночного планшета (2,5 млн клеток/лунку) и инкубировали совместно с синтетическими пептидами, используемыми для иммунизации, повторяющими консенсусную последовательность V3-петли группы M и V3-петлю российского изолята RUA022a2, в полной питательной среде. Стимулирующая концентрация была 5 мкг/мл каждого антигена. Контролем функциональной активности лимфоцитов служила стимуляция клеток конконавалином А (10 мкг/мл). Через 72 ч отбирали супернатант, центрифугировали его 10 мин при 1000 об/мин, отбирали надосадочную жидкость и хранили на -20 °C до проведения ИФА. Цитокины определяли в коммерческих наборах (Mabtech) согласно приложенной инструкции.

#### Реакция нейтрализации

Реакцию ставили в полной питательной среде (DMEM, 10% FCS), содержащей 15 мкг/мл DEAE-dextran. Исследуемые сыворотки инактивировали прогреванием до 56 °C в течение 1 ч. Готовили ряд разведений сывороток (1:10 – 1:160) в полной питательной среде с DEAE-dextran, далее добавляли сток псевдовирусных частиц вирусного изолята QF495.23.M.EnvA1, в разведении, соответствующем 50TCID<sub>50</sub>. Плазмида, необходимые для получения псевдовирусных частиц, были любезно предоставлены The National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Инкубировали 1 ч в 5%-ной атмосфере CO<sub>2</sub> при 37 °C, по окончании инкубации вносили клетки линии TZM-bl (10<sup>4</sup> клеток/лунку). Оставляли на 48 ч. Далее удаляли супернатант и отмывали лунки фосфатно-солевым буферным раствором. Затем добавляли лизирующий раствор (0,5% NP40 в ФСБ), оставляли на 15 мин при 37 °C. Полученный лизат переносили в другой планшет и вносили раствор 2x CPRG (Roch), инкубировали 30 мин в темноте при комнатной температуре. Учитывали результаты при 540 нм.

## Результаты

#### Иммуногенные свойства синтетических пептидов

Для оценки влияния способа введения и использования иммуноадьюванта на развитие иммунного ответа животных, мышей линии balb/c,

иммунизировали смесью пептидов, подкожно или внутрибрюшнно, в смеси с poly(I:C) и без него. Иммунизацию проводили три раза. Иммунный ответ, образование IgG- и IgM-антител определялись после каждого введения антигена.

После первого и второго введения смотрели суммарный ответ на оба антигена, после третьего — на каждый антиген отдельно (табл. 1, 2, 3, 4).

Как видно из таблиц 1, 2, 3, на формирование иммунного ответа IgG-антител влияло исполь-

**ТАБЛИЦА 1. ТИТР IgG-АНТИТЕЛ ПОСЛЕ ПЕРВОЙ ИММУНИЗАЦИИ (ПОДКОЖНО ИЛИ ВНУТРИБРЮШННО) СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПЕПТИДАМИ, ПОВТОРЯЮЩИМИ КОНСЕНСУСНУЮ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ V3-ПЕТЛИ ГРУППЫ М И V3-ПЕТЛЮ РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2 ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА gp120 ВИЧ-1, С АДЬЮВАНТОМ POLY(I:C) И БЕЗ\***

TABLE 1. IgG ANTIBODY TITER AFTER THE FIRST IMMUNIZATION (SUBCUTANEOUSLY OR INTRAPERITONEALLY) WITH SYNTHETIC PEPTIDES THAT COPY THE V3 LOOP OF ENVELOPE PROTEIN gp120 HIV-1 OF GROUP M CONSENSUS SEQUENCE AND RUSSIAN ISOLATE RUA022a2, WITH ADJUVANT POLY(I:C) AND WITHOUT IT\*

Животное Mouse	Подкожное введение в ФСБ Subcutaneous injection in PBS	Подкожное введение с poly(I:C) Subcutaneous injection with poly(I:C)	Внутрибрюшинное введение в ФСБ Intraperitoneal injection in PBS	Внутрибрюшинное введение с poly(I:C) Intraperitoneal injection with poly(I:C)
1	0	160	0	0
2	0	0	0	40
3	40	40	0	0
4	0	0	0	0
5	0	40	0	0
6	0	20	0	40
7	0	0	0	0
8	0	0	0	40

Примечание. \* — результаты представлены в виде разведения сывороток, дающих положительный ответ. Антиген на твердой фазе — смесь пептидов, входящих в состав иммуногенной смеси.

Note. \*, the results are presented as serum dilutions that give a positive response. A solid-phase antigen is a mixture of peptides that are part of an immunogenic mixture.

**ТАБЛИЦА 2. ТИТР IgG-АНТИТЕЛ ПОСЛЕ ВТОРОЙ ИММУНИЗАЦИИ (ПОДКОЖНО ИЛИ ВНУТРИБРЮШННО) СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПЕПТИДАМИ, ПОВТОРЯЮЩИМИ КОНСЕНСУСНУЮ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ V3-ПЕТЛИ ГРУППЫ М И V3-ПЕТЛЮ РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2 ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА gp120 ВИЧ-1, С АДЬЮВАНТОМ POLY(I:C) И БЕЗ\***

TABLE 2. IgG ANTIBODY TITER AFTER THE SECOND IMMUNIZATION (SUBCUTANEOUSLY OR INTRAPERITONEALLY) WITH SYNTHETIC PEPTIDES THAT COPY THE V3 LOOP OF ENVELOPE PROTEIN gp120 HIV-1 OF GROUP M CONSENSUS SEQUENCE AND RUSSIAN ISOLATE RUA022a2, WITH ADJUVANT POLY(I:C) AND WITHOUT IT\*

Животное Mouse	Подкожное введение в ФСБ Subcutaneous injection in PBS	Подкожное введение с poly(I:C) Subcutaneous injection with poly(I:C)	Внутрибрюшинное введение в ФСБ Intraperitoneal injection in PBS	Внутрибрюшинное введение с poly(I:C) Intraperitoneal injection with poly(I:C)
1	0	160	0	0
2	0	40	0	40
3	40	20	0	0
4	0	20	40	40
5	0	40	160	20
6	0	20	20	80
7	0	40	0	20
8	0	20		0

Примечание. \* — см. примечание к таблице 1.

Note. \*, as for Table 1.

**ТАБЛИЦА 3. ТИТР IgG АНТИТЕП ПОСЛЕ ТРЕТЬЕЙ ИММУНИЗАЦИИ (ПОДКОЖНО ИЛИ ВНУТРИБРЮШИННО) СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПЕПТИДАМИ ПОВТОРЯЮЩИЕ КОНСЕНСУСНУЮ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ V3-ПЕТЛЮ РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2 ОБОЛОЧЧЕНОГО БЕЛКА gp120 ВИЧ-1, С АДЬЮВАНТОМ POLY(I:C) И BE3\***

**TABLE 3. IgG ANTIBODY TITER AFTER THE THIRD IMMUNIZATION (SUBCUTANEOUSLY OR INTRAPERITONEALLY) WITH SYNTHETIC PEPTIDES THAT COPY THE V3 LOOP OF ENVELOPE PROTEIN gp120 HIV-1 OF GROUP M CONSENSUS SEQUENCE AND RUSSIAN ISOLATE RUA022a2, WITH ADJUVANT POLY(I:C) AND WITHOUT IT\***

Антиген на твердой фазе Solid-phase antigen	V3-петля консенсусной последовательности группы M V3 loop of the group M consensus sequence		V3-петля российского изолята RUA022a2 V3 loop of the Russian isolate RUA022a2			
	Подкожное введение в ФСБ Subcutaneous injection in PBS	Подкожное введение с poly(I:C) Subcutaneous injection with poly(I:C)	Внутрибрюшинное введение с poly(I:C) Intraperitoneal injection with poly(I:C)	Подкожное введение в ФСБ Subcutaneous injection in PBS	Подкожное введение с poly(I:C) Subcutaneous injection with poly(I:C)	Внутрибрюшинное введение в ФСБ Intraperitoneal injection in PBS
1	40	160	40	40	20	20
2	40	80	160	80	20	40
3	160	320	40	80	160	20
4	80	160	80	160	20	160
5	160	160	80	40	40	20
6	320	640	80	40	320	320
7	160	160	160	80	20	160
8	20		160		20	20
<b>Средний геом. титр Geometric mean titer</b>	<b>87,2</b>	<b>195,0</b>	<b>87,2</b>	<b>65,6</b>	<b>40,0</b>	<b>97,5</b>
						<b>23,8</b>
						<b>262,5</b>

**Примечание.** \* – результаты представлены в виде разведения сывороток, дающих положительный ответ.

Note. \*, the results are presented as serum dilutions that give a positive response.

**ТАБЛИЦА 4. ТИР IgM АНТИТЕЛ ПОСЛЕ ТРЕТЬЕЙ ИММУНИЗАЦИИ (ПОДКОЖНО ИЛИ ВНУТРИБРЮШИННО) СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПЕПТИДАМИ, ПОВТОРЯЮЩИМИ КОНСЕНСУСНУЮ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ V3-ПЕПТИДА ГРУППЫ M И V3-ПЕПТИДОМ РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2 ОБОЛОЧЧЕНОГО БЕЛКА gp120 ВИЧ-1, С АДЬЮВАНТОМ POLY(I:C) И BE3\***

TABLE 4. IgM ANTIBODY TITER AFTER THE THIRD IMMUNIZATION (SUBCUTANEOUSLY OR INTRAPERITONEALLY) WITH SYNTHETIC PEPTIDES THAT COPY THE V3 LOOP OF ENVELOPE PROTEIN gp120 HIV-1 OF GROUP M CONSENSUS SEQUENCE AND RUSSIAN ISOLATE RUA022a2, WITH ADJUVANT POLY(I:C) AND WITHOUT IT\*

Антиген на твердой фазе Solid-phase antigen	V3-пептид консенсусной последовательности группы M V3 loop of the group M consensus sequence				V3-пептид российского изолята RUA022a2 V3 loop of the Russian isolate RUA022a2			
	Подкожное введение в ФСБ Subcutaneous injection in PBS	Подкожное введение с poly(I:C) Subcutaneous injection with poly(I:C)	Внутрибрюшинное введение в ФСБ Intrapitoneal injection in PBS	Внутрибрюшинное введение с poly(I:C) Intrapitoneal injection with poly(I:C)	Подкожное введение в ФСБ Subcutaneous injection in PBS	Подкожное введение с poly(I:C) Subcutaneous injection with poly(I:C)	Внутрибрюшинное введение в ФСБ Intrapitoneal injection in PBS	Внутрибрюшинное введение с poly(I:C) Intrapitoneal injection with poly(I:C)
1	20	40	20	40	20	40	20	40
2	40	40	20	20	40	40	20	20
3	20	20	20	40	40	20	20	160
4	20	20	20	20	20	20	20	40
5	20	20	20	20	20	20	20	80
6	20	160	20	20	40	160	20	80
7	20	40	20	20	20	40	20	80
8	20		20		20		40	
<b>Средний геом. титр Geometric mean titer</b>	<b>21,8</b>	<b>36,2</b>	<b>20,0</b>	<b>24,4</b>	<b>25,9</b>	<b>36,2</b>	<b>21,8</b>	<b>65,6</b>

Примечание. \* – см. примечание к таблице 3.

Note. \*, as for Table 3.

зование иммуноадьювата, poly(I:C), а не способ введения. Так, после первого введения в группах без адьюванта, где антиген вводился п/к, лишь у 1 животного выявляются антитела и отсутствуют в группе с в/б введением. В группах с иммуноадьювантом антитела обнаруживаются у 4 из 8 при п/к введении и у 3 из 8 при в/б. После второго введения, антитела обнаруживаются в группе без иммуноадьюванта у 1 из 8 животных при п/к введении и у 3 из 7 при в/б. В группе с poly(I:C) антитела выявляются при п/к у 8 из 8 животных, при в/б у 5 из 8. После третьей иммунизации антитела определяются во всех группах на оба антигена, входящих в состав смеси. Уровень антител был незначительно выше в группах, где использовался poly(I:C).

Специфические антитела класса IgM выявлялись только после третьего введения антигена (табл. 4). На их титр не влиял способ введения, уровень антител был также незначительно выше в группах, где использовался poly(I:C).

#### Определение изотипа антител

Для определения того, какой изотип антител образуется преимущественно при иммунизации, на твердую фазу сорбировали смесь пептидов. Далее вносили пулированные сыворотки после третьего введения в разведении 1:50 для каждой группы и коньюгаты против каждого изотипа антител. В качестве контроля использовали сыворотки интактных животных. Результаты учи-

тывали, определяя отношение оптической плотности (ОП) иммунных групп к ОП негативных животных.

Как видно из рисунка 1, наибольшая величина отношения ОП исследуемой сыворотки/ОП интактной была в лунках с анти-IgG1-коньюгатом во всех иммунных группах, преимущественно там, где использовался иммуноадьюvant poly(I:C). Таким образом, способ введения антигенов (пептидов) не влиял на развитие изотипа антител.

#### Нейтрализующая активность антител, полученных на синтетические пептиды

Полученные в результате иммунизации сыворотки были исследованы на способность нейтрализовать ВИЧ. Исследование проводили на модели псевдовирусной инфекции, изолят — QF495.23.M.EnvA1, относящийся к африканскому субтипу А, выделенному от женщины, заразившейся ВИЧ половым путем. Данный изолят был выбран, т. к. на территории Российской Федерации циркулируют преимущественно вирусы, относящиеся к субтипу А. Инфекционная доза составила 50TCID<sub>50</sub>, использовались пулированный сыворотки после третьего введения.

Как видно из таблицы 5, полученные в результате нейтрализации антитела не были способны нейтрализовать вирусные изоляты.

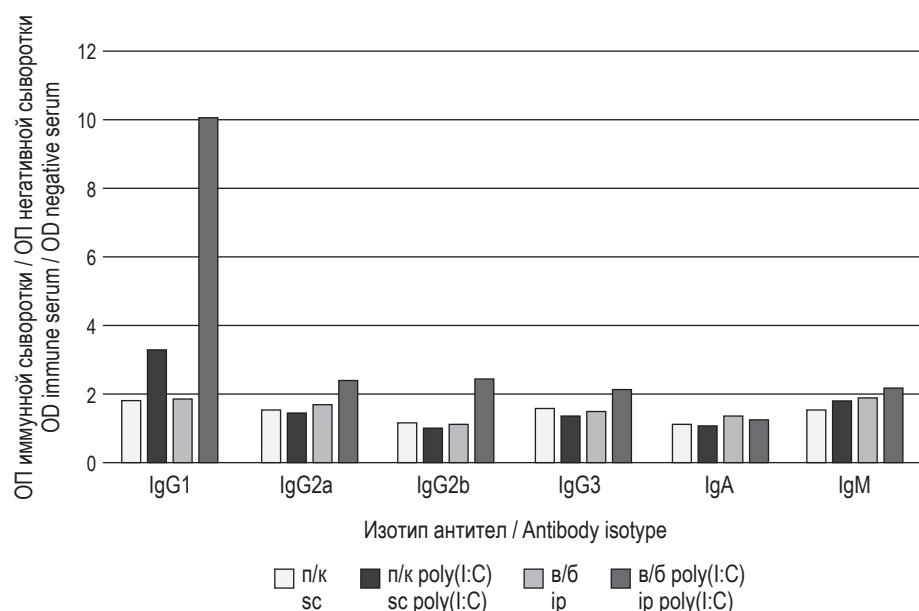


Рисунок 1. Изотип антител, индуцированных синтетическими пептидами, повторяющими консенсусную последовательность V3-петли группы М и V3-петлю российского изолята RUA022a2 оболочечного белка gp120 ВИЧ-1, с адьювантом poly(I:C) и без, после третьего введения подкожно или внутрибрюшно

Figure 1. Isotype of induced by synthetic peptides antibodies that copy the V3 loop of envelope protein gp120 HIV1 of group M consensus sequence and Russian isolate RUA022a2, with adjuvant poly(I:C) and without it, after the third injection subcutaneously or intraperitoneally

ТАБЛИЦА 5. НЕЙТРАЛИЗУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОК ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ СМЕСЬЮ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ

TABLE 5. THE SERUM NEUTRALIZING ACTIVITY OF THE MICE THAT WERE IMMUNIZED WITH SYNTHETIC PEPTIDE MIXTURE

Группа Group	Подкожное введение в ФСБ Subcutaneous injection in PBS	Подкожное введение с poly(I:C) Subcutaneous injection with poly(I:C)	Внутрибрюшинное введение в ФСБ Intraperitoneal injection in PBS	Внутрибрюшинное введение с poly(I:C) Intraperitoneal injection with poly(I:C)
IC50	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
IC75	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
IC90	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1

ТАБЛИЦА 6. ПРОДУКЦИЯ КЛЕТКАМИ (СПЛЕНОЦИТАМИ) IL-4 ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ СМЕСЬЮ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ, КОПИРУЮЩИХ V3-ПЕТЛЮ КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГРУППЫ М И РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2, В ФСБ И ИММУНОАДЬЮВАНТОМ POLY(I:C)\*

TABLE 6. IL-4 PRODUCTION BY CELLS (SPLENOCYTES) OF ANIMALS IMMUNIZED WITH SYNTHETIC PEPTIDES THAT COPY THE V3 LOOP OF ENVELOPE PROTEIN gp120 HIV-1 OF GROUP M CONSENSUS SEQUENCE AND RUSSIAN ISOLATE RUA022a2, IN PBS AND ADJUVANT POLY(I:C)\*

Группа Group	Стимулирующий антиген Stimulating antigen	CD4 <sup>+</sup> клетки CD4 <sup>+</sup> cells	Спленоциты Splenocytes
Подкожное введение в ФСБ Subcutaneous injection in PBS	MIM 11	0,19	0,08
	MIM 14-3	0,12	0,11
	Спонтанная Spontaneous	0,13	0,10
	Конканавалин А Concanavalin A	1,32	1,17
Подкожное введение в poly(I:C) Subcutaneous injection with poly(I:C)	MIM 11	0,09	0,24
	MIM 14-3	0,10	0,15
	Спонтанная Spontaneous	0,10	0,17
	Конканавалин А Concanavalin A	1,20	0,97
Внутрибрюшинное введение в ФСБ Intraperitoneal injection in PBS	MIM 11	0,19	0,08
	MIM 14-3	0,11	0,11
	Спонтанная Spontaneous	0,13	0,10
	Конканавалин А Concanavalin A	0,93	1,02
Внутрибрюшинное введение в poly(I:C) Intraperitoneal injection with poly(I:C)	MIM 11	0,09	0,25
	MIM 14-3	0,09	0,16
	Спонтанная Spontaneous	0,07	0,18
	Конканавалин А Concanavalin A	1,25	1,14
Интактные мыши Native mice	MIM 11	0,24	0,10
	MIM 14-3	0,15	0,13
	Спонтанная Spontaneous	0,17	0,11
	Конканавалин А Concanavalin A	1,22	0,98

Примечание. \* – результаты представлены в виде содержания цитокина в супернатанте (пкг/мл).

Note. \*, results are presented as cytokine content in the supernatant (pg/mL).

**ТАБЛИЦА 7. ПРОДУКЦИЯ КЛЕТКАМИ (СПЛЕНОЦИТАМИ) IFN $\gamma$  ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ СМЕСЬЮ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ, КОПИРУЮЩИХ V3-ПЕТЛЮ КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГРУППЫ М И РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2, В ФСБ И ИММУНОАДЪЮВАНТОМ POLY(I:C)\***

TABLE 7. IFN $\gamma$  PRODUCTION BY CELLS (SPLENOCYTES) OF ANIMALS IMMUNIZED WITH SYNTHETIC PEPTIDES THAT COPY THE V3 LOOP OF ENVELOPE PROTEIN gp120 HIV-1 OF GROUP M CONSENSUS SEQUENCE AND RUSSIAN ISOLATE RUA022a2, WITH ADJUVANT POLY(I:C)\*

Группа Group	Стимулирующий антиген Stimulating antigen	CD4 $^{+}$ клетки CD4 $^{+}$ cells	Спленоциты Splenocytes
<b>Подкожное введение в ФСБ</b> Subcutaneous injection in PBS	MIM 11	1,19	0,51
	MIM 14-3	0,79	0,60
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0,88	0,49
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	12,74	14,49
<b>Подкожное введение в poly(I:C)</b> Subcutaneous injection with poly(I:C)	MIM 11	0,45	11,84
	MIM 14-3	0,58	12,14
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0,50	11,24
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	14,02	15,20
<b>Внутрибрюшинное введение в ФСБ</b> Intraperitoneal injection in PBS	MIM 11	1,15	0,46
	MIM 14-3	0,74	0,54
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0,81	0,51
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	10,43	14,43
<b>Внутрибрюшинное введение в poly(I:C)</b> Intraperitoneal injection with poly(I:C)	MIM 11	0,45	8,61
	MIM 14-3	0,56	6,67
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0,47	3,02
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	14,60	15,02
<b>Интактные мыши</b> Native mice	MIM 11	1,10	0,80
	MIM 14-3	0,74	1,02
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0,79	2,00
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	11,37	15,06

Примечание. \* – см. примечание к таблице 6.

Note. \*, as for Table 6.

#### Активация клеточного звена иммунного синтетическими пептидами

Проведена оценка направленности иммунного ответа. Маркерами активации Th1-клеток является IFN $\gamma$ , Th2 – IL-4. Исследование проводилось как на общем пуле спленоцитов, так и на выделенных из них CD4 $^{+}$  лимфоцитах. Клетки иммунных животных стимулировали каждым пептидом, входящим в состав иммуногенной композиции, в течение 72 ч и определяли про-

дукцию ими цитокинов в культуральной среде методом ИФА. Стимуляция клеток (спленоцитов и CD4 $^{+}$ ) антигенами не вызывала продукции IL-4. Уровень IL-4 не отличается между группами иммунизированных и интактных животных (табл. 6). Напротив, в группах, где использовался иммуноадьювант, стимуляция клеток (спленоцитов) антигенами, входящими в состав иммуногенной смеси приводила к синтезу ими IFN $\gamma$  (табл. 7). Количество выявленного IFN $\gamma$  в этих

**ТАБЛИЦА 8. ПРОДУКЦИЯ КЛЕТКАМИ (СПЛЕНОЦИТАМИ) IL-10 ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ СМЕСЬЮ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ, КОПИРУЮЩИХ V3-ПЕТЛЮ КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГРУППЫ М И РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2, В ФСБ И ИММУНОАДЬЮВАНТОМ POLY(I:C)\***

TABLE 8. IL-10 PRODUCTION BY CELLS (SPLENOCYTES) OF ANIMALS IMMUNIZED WITH SYNTHETIC PEPTIDES THAT COPY THE V3 LOOP OF ENVELOPE PROTEIN gp120 HIV-1 OF GROUP M CONSENSUS SEQUENCE AND RUSSIAN ISOLATE RUA022a2 IN PBS AND ADJUVANT POLY(I:C)\*

Группа Group	Стимулирующий антиген Stimulating antigen	Спленоциты Splenocytes
<b>Подкожное введение в ФСБ</b> Subcutaneous injection in PBS	MIM 11	0
	MIM 14-3	0
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	1,46
<b>Подкожное введение в poly(I:C)</b> Subcutaneous injection with poly(I:C)	MIM 11	1,71
	MIM 14-3	0,05
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0,19
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	2,84
<b>Внутрибрюшинное введение в ФСБ</b> Intraperitoneal injection in PBS	MIM 11	0
	MIM 14-3	0
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	1,19
<b>Внутрибрюшинное введение в poly(I:C)</b> Intraperitoneal injection with poly(I:C)	MIM 11	2,48
	MIM 14-3	1,37
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0,39
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	2,37
<b>Интактные мыши</b> Native mice	MIM 11	0
	MIM 14-3	0,048
	<b>Спонтанная</b> Spontaneous	0
	<b>Конканавалин А</b> Concanavalin A	2,5

Примечание. \* – см. примечание к таблице 6.

Note. \*, as for Table 6.

группах 8-10 раз выше, по сравнению с группой интактных животных и иммунизированных без иммуноадьюванта. Однако совместное инкубирование антигенов с CD4<sup>+</sup> клетками не приводило к продукции IFN $\gamma$  последними.

Также в группах, где в составе иммуногенной композиции присутствовала poly(I:C), определялся низкий уровень противоспалительного цитокина IL-10, больше всего его выявлялось при внутрибрюшинном введении (табл. 8).

## Обсуждение

В данной работе нами проводилось изучение иммуногенных свойств синтетических пептидов, копирующих V3-петлю оболочечного белка gp120 российского изолята RUA022a2 и консенсусной последовательности группы М ВИЧ, при различных способах введения (подкожно и внутрибрюшинно). Способ введения антигена в организм влияет на пути активации иммунной системы.

Для того чтобы вакцина вызывала иммунный ответ, необходима эффективная доставка антигена от места введения до вторичной лимфоидной ткани, где находятся антиген-представляющие клетки (АПК), В- и Т-клетки. Антигены могут непосредственно проникать в лимфоидные органы (селезенка и лимфоузлы) через интерстициальную жидкость и лимфатические сосуды. Также некоторые антигены могут быть доставлены АПК от места введения к лимфоузлам, для представления их Т- и В-клеткам [2, 14]. Различия в развитии иммунного ответа, в зависимости от способа введения, были продемонстрированы в ряде исследований. Так, например, при оценке иммуногенности вектора на основе бакуловируса, продуцирующего белок p24 ВИЧ-1, было показано, что внутрибрюшинное введение вызывает как антиген-специфическую пролиферацию Т-клеток, так и продукцию специфических антител. Кроме того, лимфопролиферативный ответ ограничивался пролиферацией спленоцитов, а не лимфоцитов из лимфоузлов. При подкожном и внутривенном введении активировалось только образование специфических антител. Отмечены различия и в динамике развития антител. После подкожного и внутрибрюшинного трехкратного введения наблюдался рост титров антител, однако при внутрибрюшинном введении уровень вышел на плато [4, 11].

В наших экспериментах было показано, что способ введения не влияет значительно на уровень развития специфических антител и не переключает синтез изотипа антител, однако в группах, где использовался иммуноадьювант (poly(I:C)), антитела детектировались раньше. К сожалению, полученные антитела не обладали нейтрализующей активностью по отношению к вирусному изоляту QF495.23.M.EnvA1 в модели псевдовирусной инфекции. Возможно, синтетические пептиды полноценно не воспроизводят нейтрализующие эпитопы. Следует отметить, что и при естественной инфекции редко формирует-

ся полноценный нейтрализующий ответ, что еще раз подчеркивает сложность конструирования вакцинных эпитопов, способных повторять нейтрализующие эпитопы вируса.

При изучении способности пептидов вызывать активацию клеточного иммунного ответа было выявлено, что они сами по себе ее не вызывают. Но в группах, где использовался иммуноадьювант poly(I:C), выявлена антиген-специфическая продукция IFN $\gamma$  спленоцитами. Способ введения антигена также не влиял на развитие клеточного иммунного ответа. Стимуляция антигенами изолированных CD4 $^{+}$  клеток не приводила к продукции ими цитокинов, что, вероятно, связано с отсутствием ко-стимулирующих сигналов со стороны других клеток иммунной системы.

Небольшое отличие было выявлено в продукции противоспалительного цитокина IL-10. В группе, где антигены вводились внутрибрюшинно совместно с poly(I:C), этого цитокина определялось больше всего. Хотя считается, что IL-10 продуцируется Th2-клетками, в последнее время показано, что IL-10 Th1-эффекторные клетки также способны продуцировать его, тем самым ограничивая побочный эффект, вызванный воспалением [10].

## Заключение

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что использование иммуноадьюванта poly(I:C) позволяет сократить срок между введением антигена и образованием антител, а также вызвать антиген-специфическую активацию Th1-клеток. Эти данные могут быть использованы при дизайне вакцинных препаратов против ВИЧ-инфекции. Кроме того, синтетические пептиды, копирующие V3-петлю оболочечного белка gp120 ВИЧ-1, могут применяться как один из компонентов анти-ВИЧ-вакцин, например, в схеме иммунизации прайм-буст.

## Список литературы / References

1. Барышникова М.А., Пономарев А.В., Рудакова А.А., Соколова З.А., Голубцова Н.В., Царапаев П.В., Левагина Г.М., Даниленко Е.Д., Косоруков В.С. Сравнение Ридостина Про и Poly(I:C) в качестве адьюванта для противоопухолевой неоантigenной пептидной вакцины. Российский биотерапевтический журнал, 2022. Т. 21, № 3. С. 82-89. [Baryshnikova M.A., Ponomarev A.V., Rudakova A.A., Sokolova Z.A., Golubtsova N.V., Tsarapaev P.V., Levagina G.M., Danilenko E.D., Kosorukov V.S. Comparison of Ridostin Pro and Poly(I:C) as adjuvant for a cancer neoantigen peptide vaccine. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy, 2022, Vol. 21, no. 3, pp. 82-89. (In Russ.)]
2. Banchereau J., Steinman R.M. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 1998, Vol. 392, no. 6673, pp. 245-252.
3. Corey L., Gilbert P.B., Juraska M., Montefiori D.C., Morris L., Karuna S.T., Edupuganti S., Mgodi N.M., de Camp A.C., Rudnicki E., Huang Y., Gonzales P., Cabello R., Orrell C., Lama J.R., Laher F., Lazarus E.M., Sanchez J., Frank I., Hinojosa J., Sobieszczyk M.E., Marshall K.E., Mukwekwerere P.G., Makhema J., Baden L.R.,

- Mullins J.I., Williamson C., Hural J., McElrath M.J., Bentley C., Takuva S., Gomez Lorenzo M.M., Burns D.N., Espy N., Randhawa A.K., Kochar N., Piwowar-Manning E., Donnell D.J., Sista N., Andrew P., Kublin J.G., Gray G., Ledgerwood J.E., Mascola J.R., Cohen M.S. Two randomized trials of neutralizing antibodies to prevent HIV-1 acquisition. *N. Engl. J. Med.*, 2021, Vol. 384, no. 11, pp. 1003-1014.
4. Fyfe L., Maingay J., Robinson A.C., Howie S.E. Murine immune response to HIV-1 p24 core protein following subcutaneous, intraperitoneal and intravenous immunization. *Immunology*, 1991, Vol. 74, no. 3, pp. 467-472.
5. Ivanoff LA., Dubay J.W., Morris J.F., Roberts S.J., Gutshall L., Sternberg E.J., Hunter E., Matthews T.J., Petteway S.R. Jr. V3 loop region of the HIV-1 gp120 envelope protein is essential for virus infectivity. *Virology*, 1992, Vol. 187, no. 2, pp. 423-432.
6. Kirby K.A., Ong Y.T., Hachiya A., Laughlin T.G., Chiang L.A., Pan Y., Moran J.L., Marchand B., Singh K., Gallazzi F., Quinn T.P., Yoshimura K., Murakami T., Matsushita S., Sarafianos S.G. Structural basis of clade-specific HIV-1 neutralization by humanized anti-V3 monoclonal antibody KD-247. *FASEB J.*, 2015, Vol. 29, no. 1, pp. 70-80.
7. Kiepiela P., Ngumbela K., Thobakgale C., Ramduth D., Honeyborne I., Moodley E., Reddy S., de Pierres C., Mncube Z., Mkhwanazi N., Bishop K., van der Stok M., Nair K., Khan N., Crawford H., Payne R., Leslie A., Prado J., Prendergast A., Frater J., McCarthy N., Brander C., Learn G.H., Nickle D., Rousseau C., Coovadia H., Mullins J.I., Heckerman D., Walker B.D., Goulder P. CD8+ T-cell responses to different HIV proteins have discordant associations with viral load. *Nat. Med.*, 2007, Vol. 13, no. 1, pp. 46-53.
8. Liao H.X., Sutherland L.L., Xia S.M., Brock M.E., Scearce R.M., Vanleeuwen S., Alam S.M., McAdams M., Weaver E.A., Camacho Z., Ma B.J., Li Y., Decker J.M., Nabel G.J., Montefiori D.C., Hahn B.H., Korber B.T., Gao F., Haynes B.F. A group M consensus envelope glycoprotein induces antibodies that neutralize subsets of subtype B and C HIV-1 primary viruses. *Virology*, 2006, Vol. 353, no. 2, pp. 268-282.
9. Matsumoto M., Seya T. TLR3: interferon induction by double-stranded RNA including poly(I:C). *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008, Vol. 60, no. 7, pp. 805-812.
10. O'Garra A., Vieira P. T(H)1 cells control themselves by producing interleukin-10. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007, Vol. 7, no. 6, pp. 425-428.
11. Schmidt S.T., Khadke S., Korsholm K.S., Perrie Y., Rades T., Andersen P., Foged C., Christensen D. The administration route is decisive for the ability of the vaccine adjuvant CAF09 to induce antigen-specific CD8(+) T-cell responses: The immunological consequences of the biodistribution profile. *J. Control. Release*, 2016, Vol. 239, pp. 107-117.
12. Siljic M., Cirkovic V., Jovanovic L., Antonova A., Lebedev A., Ozhmegova E., Kuznetsova A., Vinogradova T., Ermakov A., Monakhov N., Bobkova M., Stanojevic M. Reconstructing the temporal origin and the transmission dynamics of the HIV subtype B epidemic in St. Petersburg, Russia. *Viruses*, 2022, Vol. 14, no. 12, 2748. doi: 10.3390/v14122748.
13. Zolla-Pazner S. Identifying epitopes of HIV-1 that induce protective antibodies. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, Vol. 4, no. 3, pp. 199-210.
14. von Andrian U.H., Mempel T.R. Homing and cellular traffic in lymph nodes. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003, Vol. 3, no. 11, pp. 867-878.

**Авторы:**

**Коробова С.В.** – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории полисахаридных вакцин ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

**Топорова В.А.** – научный сотрудник лаборатории инженерии белка ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

**Алхазова Б.И.** – младший научный сотрудник лаборатории полисахаридных вакцин ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

**Authors:**

**Korobova S.V.**, PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Polysaccharide Vaccine, National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Toporova V.A.**, Researcher, Laboratory of Protein Engineering, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Alkhazova B.I.**, Junior Researcher, Laboratory of Polysaccharide Vaccine, National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Головина М.Э.** – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории полисахаридных вакцин ФГБУ «Государственный научный центр “Институт иммунологии” Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

**Апарин П.Г.** – д.м.н., заведующий лабораторией полисахаридных вакцин ФГБУ «Государственный научный центр “Институт иммунологии” Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

**Golovina M.E.**, PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Polysaccharide Vaccine, National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Aparin P.G.**, PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Polysaccharide Vaccine, National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Поступила 16.09.2024

Отправлена на доработку 01.10.2024

Принята к печати 22.03.2025

Received 16.09.2024

Revision received 01.10.2024

Accepted 22.03.2025