

## **ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ, КОПИРУЮЩИХ АКТУАЛЬНЫЕ АНТИГЕННЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ВИЧ**

**Коробова С.В.<sup>1</sup>, Корнилаева Г.В.<sup>2</sup>, Топорова В.А.<sup>3</sup>, Николаева И.А.<sup>1</sup>,  
Трубченинова Л.П.<sup>1</sup>, Трефильева Н.Ф.<sup>1</sup>, Сизякина Л.П.<sup>4</sup>,  
Сидорович И.Г.<sup>1</sup>, Апарин П.Г.<sup>1</sup>, Хаитов Р.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup> Научно-исследовательский институт иммунологии Ростовского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Резюме.** Разработка эффективной вакцины против ВИЧ/СПИД, способной остановить распространение вируса, по-прежнему остается важнейшей задачей в профилактике и терапии ВИЧ/СПИД. Существует множество подходов по созданию кандидатных вакцинных препаратов, основанных на индукции как нейтрализующих антител, так и активации цитотоксических лимфоцитов. Одним из перспективных направлений является использование синтетических пептидов в качестве антигенов. Пептиды способны вызывать активацию как клеточного, так и гуморального звена иммунного ответа. Оболочечный белок gp120 ВИЧ1 содержит эпитопы для нейтрализующих антител. Область V3-петли ВИЧ1 необходима для связывания вируса с корцепторами клетки, кроме того, этот эпитоп индуцирует высокий иммунный ответ. В клинических испытаниях кандидатной вакцины против ВИЧ/СПИД RV144 уровень вакцин-индуцированных антител к V1-/V2-региону обратно коррелировал с риском заражения ВИЧ. Отличительной особенностью ВИЧ является его высокая изменчивость. Использование консенсусных последовательностей позволяет вызывать иммунный ответ широкой специфичности. Нами проведено исследование иммуногенных и биологических свойств синтетических пептидов, копирующих V1-, V2-, V3-петли оболочечного белка gp120 консенсусной последовательности вирусов группы M CON-S и последовательности V3-петлю российского изолята RUA022a2. Исследуемые пептиды специфически распознавались сыворотками ВИЧ-инфицированных людей в иммуноферментном анализе, что свидетельствует об их схожести с вирусным прототипом. Пептиды сами по себе являются слабыми иммуногенами, т.к. имеют низкую молекулярную массу. Поэтому для усиления иммунного ответа они вводились совместно с полным адьювантом Фрейн-

### **Адрес для переписки:**

Коробова Светлана Вячеславовна  
ФГБУ «Государственный научный центр «Институт  
иммунологии»» ФМБА России  
115478, Россия, Москва, Каширское шоссе, 24, корп. 2.  
Тел.: 8 (906) 706-47-67.  
Факс: 8 (499) 618-71-56.  
E-mail: korobovas@gmail.com

### **Address for correspondence:**

Korobova Svetlana V.  
NRC Institute of Immunology FMBA of Russia  
115478, Russian Federation, Moscow, Kashirskoye ch., 24,  
bldg 2.  
Phone: 7 (906) 706-47-67.  
Fax: 7 (499) 618-71-56.  
E-mail: korobovas@gmail.com

### **Образец цитирования:**

С.В. Коробова, Г.В. Корнилаева, В.А. Топорова,  
И.А. Николаева, Л.П. Трубченинова, Н.Ф. Трефильева,  
Л.П. Сизякина, И.Г. Сидорович, П.Г. Апарин,  
Р.М. Хаитов, «Иммунологическая характеристика  
синтетических пептидов, копирующих актуальные  
антигенные детерминанты ВИЧ» // Медицинская  
иммунология, 2016. Т. 18, № 1. С. 51-62.  
doi: 10.15789/1563-0625-2016-1-51-62

© Коробова С.В. и соавт., 2016

### **For citation:**

S.V. Korobova, G.V. Kornilaeva, V.A. Toporova, I.A. Nikolaeva,  
L.P. Trubcheninova, N.F. Trefilyeva, L.P. Sizyakina,  
I.G. Sidorovich, P.G. Aparin, R.M. Khaïtov, "Immunological  
characteristic of synthetic peptides similar to actual HIV antigen  
determinants", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya  
Immunologiya*, 2016, Vol. 18, no. 1, pp. 51-62.  
doi: 10.15789/1563-0625-2016-1-51-62

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-1-51-62>

да. Иммунизация лабораторных животных вызывала образование антител на все пептиды, входящие в состав смеси, в основном IgG изотипа. Титр антител на каждый пептид зависел от его протяженности. Полученные в результате иммунизации антитела не обладали нейтрализующей активностью. Нейтрализующие свойства антител были изучены на модели псевдовиральной инфекции, используя молекулярные клоны вирусных изолятов CAP 45.2.00.G3 и QH.209.14.M.EnvA2. Нейтрализация вируса — достаточно сложный процесс, на который влияет ряд факторов: количество антител (титр), изотип антител, строение самих антител. Возможно, для индукции нейтрализующих антител данной смесью пептидных антигенов необходимо провести подбор иммуноадъювантов и способов иммунизации. Исследование биологической активности пептидов выявило, что они способны усиливать проникновение псевдовиральных частиц в клетку в модели *in vitro*. Исследование проводилось на молекулярных клонированных вирусных изолятах CAP 45.2.00.G3, QH209.14M.ENV.A2, QD435.100M.ENV.E1. Данные вирусные изоляты относятся к разным субтипам ВИЧ1.

*Ключевые слова:* ВИЧ, пептиды, вакцина, нейтрализующие антитела, усиление инфекции, мыши

## IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTIC OF SYNTHETIC PEPTIDES SIMILAR TO ACTUAL HIV ANTIGEN DETERMINANTS

Korobova S.V.<sup>a</sup>, Kornilaeva G.V.<sup>b</sup>, Toporova V.A.<sup>c</sup>, Nikolaeva I.A.<sup>a</sup>, Trubcheninova L.P.<sup>a</sup>, Trefilyeva N.F.<sup>a</sup>, Sizyakina L.P.<sup>d</sup>, Sidorovich I.G.<sup>a</sup>, Aparin P.G.<sup>a</sup>, Khaitov R.M.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> N.Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

<sup>d</sup> Research Institute of Immunology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Abstract.** The development of HIV vaccine remains an important goal in prophylaxis and therapy of HIV/AIDS epidemics. There are various approaches for development of a candidate vaccine based on induction of neutralizing antibodies and cell-mediated immunity. Synthetic peptides are considered promising vaccine antigens since they are capable of activating both humoral and cellular immune response. HIV-1 envelope gp120 is the target for neutralizing antiviral antibodies. The V3 region of the HIV-1 gp120 is highly immunogenic and important for the virus-coreceptor interaction. In a RV144 vaccine trial, the levels of vaccine-induced IgG antibodies recognizing V1V2 regions from multiple HIV-1 subtypes show inverse correlations with a risk for HIV-1 infection. Meanwhile, HIV is characterized by high diversity. The consensus and mosaic immunogens are complete but artificial proteins, which are computationally designed to elicit immune responses with improved cross-reactive broadness. We have been studied immunogenic properties of synthetic peptides derived from V1, V2, V3 loop regions of the consensus M HIV1 (CON-S) sequence group of the gp 120 envelope protein and V3 loop derived from a Russian RUA022a2 isolate. These peptides specifically reacted to HIV-positive sera in ELISA, thus indicating their similarity to appropriate HIV proteins. The peptides proved to be weakly immunogenic. Therefore, Freund complete adjuvant was used to enhance peptide immunogenicity. To assess the immunogenicity, the mice were immunized with a peptide mixture. Antibodies have been developed to every peptide from the mixture, being, predominantly, of IgG isotype. The antibody titers depended on the length of peptide sequences. However, the sera from immunized mice did not have a HIV neutralizing activity. The serum neutralization was assessed by pseudovirus-based assay, using a molecular clone of virus isolates CAP 45.2.00.G3 and QH.209.14.M.EnvA2. The virus neutralization is a complex process and may be influenced by several factors, such as antibody titer, isotype, or antibody structure. Probably, to induce neutralizing antibodies by this peptide mixture, it is necessary to choose appropriate adjuvants and immunization schedule. Moreover, it was shown that peptides could increase *in vitro* virus infectivity in pseudovirus-based model, using the CAP 45.2.00.G3, QH209.14M.ENV.A2, QD435.100M.ENV.E1 molecular clone. These viral isolates belong to different HIV-1 subtypes.

*Keywords:* HIV, peptides, vaccine, neutralizing antibodies, mice, infection enhancement

## Введение

Создание профилактической вакцины, способной вызывать защитный иммунный ответ против ВИЧ, является основной задачей с момента открытия ВИЧ. Иммунизация вакцинами на основе аттенуированных или инактивированных патогенов вызывает, как правило, иммунный ответ схожий с образующимся в ходе естественной инфекции. Это классический способ получения вакцинных препаратов. В случае ВИЧ-инфекции ни тот, ни другой метод не может быть использован из соображений безопасности. Поэтому при разработке вакцин против ВИЧ/СПИД используются различные варианты представления вакцинных антигенов: синтетические пептиды, рекомбинатные белки, рекомбинантные вирусные и бактериальные векторы и т.п.

Разработанные и испытанные к настоящему времени кандидатные вакцинные препараты против ВИЧ/СПИД не индуцировали защитный иммунный ответ у добровольцев, также были отмечены случаи увеличения числа инфицированных среди вакцинированных людей по сравнению с контрольными группами (получавших плацебо и неиммунизированных) (STEP trial) [2]. Исключением является клиническое испытание RV144, где была впервые показана возможность формирования протективного иммунного ответа кандидатными вакцинными препаратами. Эффективность вакцинации составила 31,9%. Вакцина, проходившая клиническое исследование в RV144, представляет собой комбинированный препарат, включающий в себя рекомбинантный вирус *Saragurox*, кодирующий гены белков ВИЧ1 gag, pol, gp120, а также рекомбинантный белок gp120.

От выбора антигена и его последовательности зависит, будет ли вакцина индуцировать защитный иммунный ответ широкой специфичности [6].

Считается, что превентивная вакцина должна вызывать образование нейтрализующих антител. Эти антитела, связываясь с вирусом, прерывают его жизненный цикл на самом раннем этапе, не допуская интеграции вирусного генома с геномом клетки-мишени. Именно интеграция является тем crucialным событием, после которого организм человека остается инфицированным на всю жизнь. Вирусный геном, сохраняясь в CD4<sup>+</sup> клетках памяти и макрофагах, становится недоступным ни для специфической терапии, ни для иммунной системы [1]. Извест-

но, что нейтрализующие эпитопы расположены на оболочечном белке вируса gp120 и трансмембранном gp41 [21].

Одним из таких эпитопов является т.н. V3-петля оболочечного белка gp120. Получен ряд моноклональных антител к этому участку, обладающих широкой нейтрализующей активностью (2G12, PGT121) [9, 16]. Другим примером защитных свойств антител к V3-петле является эксперимент, в котором животным (макаки) предварительно вводили моноклональное антитело против V3-петли HGN194, после чего заражали ВИЧ. Данные животные не развивали инфекцию. HGN194 было изолировано из В-клеток памяти ВИЧ-инфицированного нонпрогрессора [17].

В настоящее время большое внимание уделяется так называемым не-нейтрализующим антителам. Эти антитела принимают участие в антитело-зависимой клеточной цитотоксичности (ADCC). Исследование корреляции между иммунным ответом и сниженным риском инфицирования у людей, участвующих в RV144, показало, что образовавшиеся в результате иммунизации антитела способны к ADCC. Анализ специфичности антител показал, что они направлены на V1/V2-регион gp120 [7, 18, 20].

Особенностью ВИЧ является высокая изменчивость. Базируясь на филогенетическом анализе, выделяют 9 субтипов (A-D, F-H, J, K), подсубтипы (A1-A4 и F1 и F2), а также множество циркулирующих (более 60) и уникальных рекомбинантных штаммов. Все они объединены в группу M [12]. Вирусы, входящие в эту группу, распространены по всему миру. На основании аминокислотных и нуклеотидных последовательностей белков вирусов, входящих в эту группу, была получена консенсусная последовательность CON-S [10]. Использование консенсусных последовательностей при конструировании вакцинных антигенов позволяет вызывать иммунный ответ широкой специфичности, против большинства циркулирующих штаммов.

Основной задачей нашей работы было исследование иммуногенных и биологических свойств синтетических пептидов, копирующих актуальные антигенные детерминанты ВИЧ: V1-, V2-, V3-петлю оболочечного белка gp120 ВИЧ на основе консенсусной последовательности CON-S, а также V3-петлю на основе российского изолята RUA022a2.

## Материалы и методы

### Синтетические пептиды

Пептиды, повторяющие V1-, V2-, V3-петлю оболочечного белка gp 120 консенсусной последовательности вирусов группы M DBX1 и последовательности V3-петли российского изолята RUA022a2 были синтезированы НПФ «Верта».

### Постановка ИФА с сыворотками ВИЧ-инфицированных людей

Синтетические пептиды сорбировали в концентрации 10 мкг/мл на полистироловых планшетах («Greiner») в 0,05М карбонатно-бикарбонатном буфере 18 часов при комнатной температуре. По окончании инкубации вносили сыворотки людей в разведении 1:10 в растворе для разведения (0,01 М фосфатно-солевом буфере (0,45М NaCl) pH 7,2, содержащем 0,05% раствора Твин-20 (ФСБ-Т) и 0,02% бычьего сывороточного альбумина) (ФСБ-АТ). Выдерживали 60 мин при 37 °С. По окончании инкубации отмывали ФСБ-Т для удаления несвязавшихся антител. Далее вносили конъюгат пероксидазы хрена с антителами против  $\gamma$ -цепи иммуноглобулина человека (Sigma) в рабочем разведении в растворе для разведения и выдерживали 60 мин при 37 °С. По окончании инкубации лунки отмывали, вносили субстратный буферный раствор (ортофенилендиамин (ОФД) в цитратно-фосфатном перборатном буферном растворе). Реакцию останавливали, внося в лунки 0,2М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Оптическую плотность (ОП) определяли при длине волны 492 нм. ОП крит. рассчитывали по формуле: ОП крит. = ОП отр. сыв. + 0,2, где ОП отр. сыв. – оптическая плотность сыворотки, не содержащей антитела к ВИЧ, в разведении 1:10

### Иммунизация животных

Для работы были использованы мыши, самки линии (СВАхС57В1/6) F1 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». Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23.08.2010 № 708н г. Москва «Об утверждении правил лабораторной практики».

Животных иммунизировали подкожно смесью пептидов 3 раза с интервалом 3 недели в ФСБ растворе или ПАФ. Иммунизирующая доза составляла по 100 мкг/животное каждого пептида, входящего в состав смеси. Кровь отбирали из ретроорбитального синуса на 7 день (после 3-го введения).

### Постановка ИФА с сыворотками иммунизированных мышей

Реакцию ставили так же как и с сыворотками людей. Отличием было разведение сывороток иммунных животных – готовили ряд двоичных разведений. Для проявления реакции были использованы конъюгаты антител кролика к IgG мыши, меченные пероксидазой хрена (Sigma) и антител кролика к IgM мыши, меченные пероксидазой хрена (Sigma).

### Постановка иммуноблота с сыворотками иммунизированных мышей

Были использованы полоски нитроцеллюлозы из коммерческого набора New Lav Blot1 (Bio-Rad), где в качестве антигена используются белки культурального вируса ВИЧ. Пулированные сыворотки иммунных животных в разведении 1:100 инкубировали в ФСБ-АТ буфере совместно с полосками в течение 2 часов при покачивании при температуре 18-25 °С. По окончании инкубации полоски промывали от несвязавшихся антител. Далее в лунки добавляли раствор конъюгата: конъюгат козьих антител против иммуноглобулинов мыши с пероксидазой хрена (Sigma). Конъюгат вносили в рабочем разведении на ФСБ-АТ и выдерживали течение 1 часа при покачивании при температуре 18-25 °С. Лунки промывали раствором ФСБ-Т. Реакцию проявляли, внося в каждую лунку раствор хромогена – ТМБ. Реакцию останавливали, промывая полоски 5 раз дистиллированной водой.

### Реакция нейтрализации

Реакцию ставили в полной питательной среде (DMEM, 10% FCS), содержащей 15 мкг/мл DEAE-dextran. Исследуемые сыворотки инактивировали прогреванием до 56 °С в течение 1 часа. Готовили ряд разведений сывороток (1:10 – 1:160) в полной питательной среде с DEAE-dextran, далее добавляли сток псевдовиральных частиц вирусных изолятов CAP 45.2.00.G3 и QH.209.14.M.EnvA2, в разведении соответствующему 10 TCID50 или 50TCID50. Плазмиды, необходимые для получения псевдовиральных частиц, были любезно предоставлены The National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Инкубировали

1 час в 5% атмосфере CO<sub>2</sub> при 37 °С, по окончании инкубации вносили клетки линии TZM-bl (10<sup>4</sup> клеток/лунку). Оставляли на 48 часов. 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 °С. Полученный лизат переносили в другой планшет и вносили раствор 2х CPRG (Roch) инкубировали 3 часа в темноте при комнатной температуре. Учитывали результаты при 540 нм.

#### Определение усиления инфекции

Реакцию ставили в полной питательной среде (DMEM, 10% FCS), содержащей 15 мкг/мл DEAE-dextran. Пептиды предварительно растворяли в DMSO (Sigma) и смешивали с псевдовиральными частицами вирусных изолятов CAP 45.2.00.G3, QH209.14M.ENVA2, QD435.100M.ENVE1. Концентрация пептидов составляла 10 мкг/мл, инфекционная доза – 10TCID<sub>50</sub>, 50TCID<sub>50</sub>, 100TCID<sub>50</sub> инкубировали 1 час при 37 °С в 5% атмосфере CO<sub>2</sub>. В группах сравнения вирусные стоки инкубировались без пептидов в полной питательной среде или в присутствии DMSO в той же концентрации, как и при добавлении пептидов. По окончании инкубации вносили клетки линии TZM-bl (10<sup>4</sup> клеток/лунку). Оставляли на 48 часов. Далее удаляли супернатант и отмывали лунки фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБ). Затем добавляли лизирующий раствор (0,5% NP40 в ФСБ), оставляли на 15 мин при 37 °С. Полученный лизат переносили в другой планшет и вносили раствор 2х CPRG (Roch) инкубировали 1 часа в темноте при комнатной температуре. Учитывали результаты при 540 нм % усиления инфекции подсчитывали по формуле: (ОП исследуемой группы [содержащей пептиды или DMSO]/ОП контрольной [среда, без добавления пептидов и DMSO]) x 100%.

## Результаты

#### Иммунореактивность синтетических пептидов, копирующих актуальные детерминанты ВИЧ1, с сыворотками ВИЧ-инфицированных людей

Для анализа сходства синтетических пептидов, копирующих актуальные антигенные детерминанты ВИЧ с вирусным прототипом, нами была изучена их способность связываться с антителами ВИЧ-инфицированных людей. Исследование проводили методом ИФА. Для рабо-

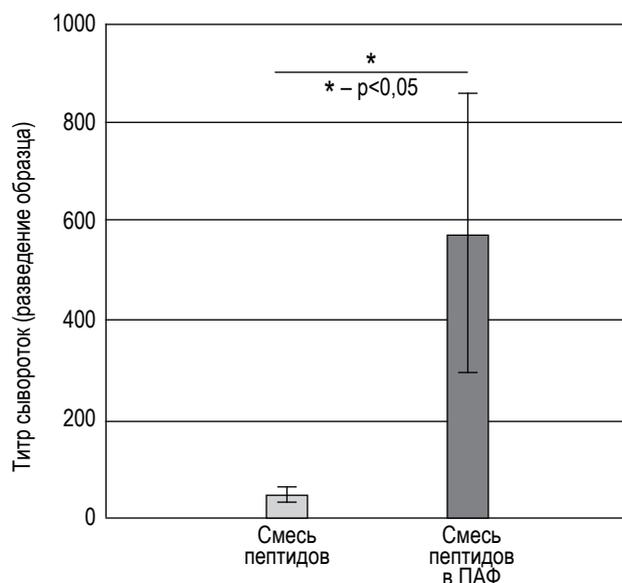


Рисунок 1. Титр антител, сывороток животных, иммунизированных смесью пептидов, копирующих V1-, V2-, V3-петлю оболочечного белка gp120 консенсусной последовательности группы M CON-S и V3-петлю российского изолята RUA022a2

ты была использована панель сывороток ВИЧ-инфицированных людей, собранных с 1986 по 2010 год в различных регионах (СССР, Россия, Иран, Узбекистан). Контролем служили сыворотки людей, не содержащих антитела к ВИЧ. Результаты представлены в таблице 1.

Большинство сывороток (31 из 34) ВИЧ-инфицированных людей распознавали синтетические пептиды, повторяющие V3-петлю консенсусной последовательности и российского изолята. V1-петлю распознавался 2 из 34 сывороток, V2-петлю – 4 из 34.

#### Иммуногенные свойства синтетических пептидов. Специфическая активность антител

Иммуногенные свойства синтетических пептидов были изучены на лабораторных животных – мышах. Животных иммунизировали смесью пептидов с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) и без него. Смесью пептидов вводили три раза. Иммуный ответ определяли после последней иммунизации (табл. 2, рис. 1).

Иммунизация лабораторных животных смесью пептидов без иммуноадъюванта вызывала слабый иммунный ответ. Использование иммуноадъюванта (ПАФ) позволило значительно увеличить титр антител. Антитела образовывались на все пептиды, входящие в состав композиции. Наибольший титр антител был отмечен для пептидов, повторяющих V2- и V3-петлю. Введение

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОК ЛЮДЕЙ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИЧ, С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПЕПТИДАМИ, КОПИРУЮЩИМИ V1-, V2-, V3-ПЕТЛЮ ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА gp120 КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГРУППЫ M CON-S И V3-ПЕТЛЮ РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2

| № образца | Место сбора | Год  | V1-петля консенсусной последовательности CON-S |           | V2-петля консенсусной последовательности CON-S |           | V3-петля консенсусной последовательности CON-S |           | V3-петля российского изолята RUA022a2 |           |
|-----------|-------------|------|--|-----------|--|-----------|--|-----------|---------------------------------------|-----------|
|           |             |      | ОП иссл. / ОП нег.                             | Результат | ОП иссл. / ОП нег.                             | Результат | ОП иссл. / ОП нег.                             | Результат | ОП иссл. / ОП нег.                    | Результат |
| 1         | Москва      | 1986 | 1,0  | отр       | 1,28   | отр       | > 8  | пол       | 4,4                                   | пол       |
| 2         | Москва      | 1987 | 1,04   | отр       | 2,6  | пол       | > 8  | пол       | 4,5                                   | пол       |
| 3         | Москва      | 1995 | 2,99   | пол       | 1,5  | отр       | н/о  | н/о       | > 8                                   | пол       |
| 4         | Москва      | 1995 | 1,11   | отр       | 0,9  | отр       | н/о  | н/о       | > 8                                   | пол       |
| 5         | Москва      | 1994 | 0,8  | отр       | 0,69   | отр       | > 8  | пол       | 3,9                                   | пол       |
| 6         | Москва      | 1994 | 1,04   | отр       | 0,79   | отр       | > 8  | пол       | 3,09                                  | пол       |
| 7         | Иран        | 1998 | 0,9  | отр       | 0,86   | отр       | > 8  | пол       | > 8                                   | пол       |
| 8         | Иран        | 1998 | 0,6  | отр       | 0,76   | отр       | 0,68   | отр       | 0,2                                   | отр       |
| 9         | Москва      | 1995 | 0,6  | отр       | 0,52   | отр       | > 8  | пол       | 4,24                                  | пол       |
| 10        | Москва      | 1995 | 1,2  | отр       | 1,04   | отр       | > 8  | пол       | 4,5                                   | пол       |
| 11        | Москва      | 1995 | 1,17   | отр       | 0,74   | отр       | > 8  | пол       | 2,1                                   | пол       |
| 12        | Москва      | 1995 | 0,89   | отр       | 0,75   | отр       | > 8  | пол       | > 8                                   | пол       |
| 13        | Москва      | 1995 | 1,25   | отр       | 0,75   | отр       | > 8  | пол       | 3,99                                  | пол       |
| 14        | Москва      | 1995 | 1,26   | отр       | 1,32   | отр       | 6,2  | пол       | 1,99                                  | пол       |
| 15        | Москва      | 1995 | 1,15   | отр       | 1,06   | отр       | 6,0  | пол       | 3,77                                  | пол       |
| 16        | Москва      | 1995 | 3,09   | пол       | 2,67   | пол       | 3,7  | пол       | 2,86                                  | пол       |
| 17        | Москва      | 1995 | 1,0  | отр       | 0,89   | отр       | > 8  | пол       | 3,46                                  | пол       |
| 18        | Москва      | 1996 | 0,69   | отр       | 0,97   | отр       | 7,48   | пол       | 3,38                                  | пол       |
| 19        | Узбекистан  | 2004 | 0,5  | отр       | 0,98   | отр       | с8   | пол       | 4,08                                  | пол       |
| 20        | Узбекистан  | 2004 | 1,3  | отр       | 9,5  | пол       | > 8  | пол       | > 8                                   | пол       |
| 21        | Узбекистан  | 2004 | 1,06   | отр       | 1,7  | отр       | > 8  | пол       | > 8                                   | пол       |
| 22        | Узбекистан  | 2004 | 0,84   | отр       | 0,88   | отр       | > 8  | пол       | > 8                                   | пол       |
| 23        | Узбекистан  | 2004 | 0,7  | отр       | 0,86   | отр       | > 8  | пол       | > 8                                   | пол       |

Таблица 1 (окончание)

| № образца | Место сбора    | Год  | V1-петля<br>консенсусной<br>последовательности<br>CON-S |                | V2-петля<br>консенсусной<br>последовательности<br>CON-S |                | V3-петля<br>консенсусной<br>последовательности<br>CON-S |                | V3-петля<br>российского<br>изолята<br>RUA022a2 |                |
|-----------|----------------|------|---|----------------|---|----------------|---|----------------|--|----------------|
|           |                |      | ОП<br>иссл. /<br>ОП нег.                                | Резуль-<br>тат | ОП<br>иссл. /<br>ОП нег.                                | Резуль-<br>тат | ОП<br>иссл./<br>ОП нег.                                 | Резуль-<br>тат | ОП<br>иссл. /<br>ОП нег.                       | Резуль-<br>тат |
| 24        | Узбекистан     | 2004 | 0,72  | отр            | 1,29  | отр            | > 8   | пол            | > 8  | пол            |
| 25        | Узбекистан     | 2004 | 0,56  | отр            | 0,59  | отр            | > 8   | пол            | > 8  | пол            |
| 26        | Узбекистан     | 2004 | 0,7   | отр            | 1,17  | отр            | > 8   | пол            | > 8  | пол            |
| 27        | Узбекистан     | 2004 | 0,8   | отр            | 2,0   | пол            | > 8   | пол            | > 8  | пол            |
| 28        | Иран           | 1998 | 1,23  | отр            | 1,7   | отр            | > 8   | пол            | > 8  | пол            |
| 29        | Иран           | 1998 | 0,56  | отр            | 0,5   | отр            | > 8   | пол            | 1,75   | пол            |
| 30        | Иран           | 1998 | 1,0   | отр            | 0,74  | отр            | > 8   | пол            | > 8  | пол            |
| 31        | Иран           | 1998 | 0,96  | отр            | 0,77  | отр            | > 8   | пол            | 4,44   | пол            |
| 32        | Иран           | 1998 | 0,62  | отр            | 0,96  | отр            | > 8   | пол            | 4,58   | пол            |
| 33        | Ростов-на-Дону | 2010 | 0,67  | отр            | 1,25  | отр            | > 8   | пол            | > 8  | пол            |
| 34        | Ростов-на-Дону | 2010 | 0,56  | отр            | 0,54  | отр            | > 8   | пол            | > 8  | пол            |

ТАБЛИЦА 2. ТИТР АНТИТЕЛ, ПУЛИРОВАННЫХ СЫВОРОТОК ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ СМЕСЬЮ ПЕПТИДОВ, КОПИРУЮЩИХ V1-, V2-, V3-ПЕТЛЮ ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА gp120 КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГРУППЫ M CON-S И V3-ПЕТЛЮ РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2

| Антиген на твердой фазе | Конъюгат | V1-петля<br>консенсусной<br>последовательности<br>CON-S | V2-петля<br>консенсусной<br>последовательности<br>CON-S | V3-петля<br>консенсусной<br>последовательности<br>CON-S | V3-петля<br>российского<br>изолята<br>RUA022a2 | Смесь<br>пептидов |
|-------------------------|----------|---|---|---|--|-------------------|
| Пептиды                 | IgG      | н/о   | 1:10  | 1:20  | 1:80   | 1:40              |
|                         | IgM      | н/о   | н/о   | 1:20  | 1:20   | 1:20              |
| Пептиды в ПАФ           | IgG      | 1:40  | 1:10240   | 1:2560  | 1:10240  | 1:10240           |
|                         | IgM      | н/о   | 1:40  | 1:10  | 1:20   | 1:20              |

препарата вызывало образование антител преимущественно класса IgG.

Изучение специфической активности антител проводили методом иммуноблоттинга. Принцип этого метода заключается в том, что белки вируса ВИЧ1, полученные из лизата зараженных вирусом клеток разделяются по молекулярно-

му весу методом электрофореза в полиакриламидном геле в диссоциирующей и восстанавливающей среде, и в последующем переносятся на нитроцеллюлозную мембрану методом электропереноса. Присутствие специфических антител к белковым компонентам ВИЧ1 определяется по появлению на стрипах специфических окра-

**ТАБЛИЦА 3. НЕЙТРАЛИЗУЮЩИЕ СВОЙСТВА СЫВОРОТОК ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ СМЕСЬЮ ПЕПТИДОВ, КОПИРУЮЩИХ V1-, V2-, V3-ПЕТЛЮ ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА gp120 КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГРУППЫ M CON-S И V3-ПЕТЛЮ РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2**

| Вирусный изолят   | CAP 45.2.00.G3 |               |                      | QH.209.14.M.EnvA2 |               |                      |          |               |                      |
|-------------------|----------------|---------------|----------------------|-------------------|---------------|----------------------|----------|---------------|----------------------|
|                   | 50 TCID50      |               |                      | 10TCID50          |               |                      | 50TCID50 |               |                      |
| Инфекционная доза | Пептиды        | Пептиды В ПАФ | Негативная сыворотка | Пептиды           | Пептиды В ПАФ | Негативная сыворотка | Пептиды  | Пептиды В ПАФ | Негативная сыворотка |
| IC50              | 0,065          | 0,052         | 0,048                | 0,05              | > 0,1         | 0,97                 | 0,048    | 0,058         | 0,065                |
| IC75              | > 0,1          | > 0,1         | > 0,1                | 0,076             | > 0,1         | > 0,1                | > 0,1    | 0,076         | 0,08                 |
| IC90              | > 0,1          | > 0,1         | > 0,1                | 0,089             | > 0,1         | > 0,1                | > 0,1    | 0,089         | 0,09                 |
| Titer 50          | 15             | 19            | 21                   | 17                | н/о           | 10                   | 21       | 17            | 15                   |
| Titer 75          | н/о            | н/о           | н/о                  | 13                | н/о           | н/о                  | н/о      | 13            | 12                   |
| Titer 90          | н/о            | н/о           | н/о                  | 11                | н/о           | н/о                  | н/о      | 11            | 11                   |

шенных полос (фиолетово-голубые). Их расположение на стрипе соответствует молекулярной массе вирусных белков. Антитела, полученные в результате иммунизации не распознавали белок gp160/120.

**Нейтрализующая активность сывороток животных, иммунизированных синтетическими пептидами**

Нейтрализующую активность антител, полученных в результате иммунизации, изучали на модели псевдовиральной инфекции [11]. Для работы нами были использованы сыворотки животных, иммунизированных смесью пептидов с ПАФ и без адьюванта. Желательно, чтобы полу-

ченные в результате иммунизации антитела могли нейтрализовать различные изоляты ВИЧ, относящиеся к различным субтипам. Известно, что на территории РФ преимущественно циркулирует ВИЧ1, принадлежащий к субтипу A1 (IDU-A) [5]. В наших исследованиях мы использовали молекулярные клоны, копирующие оболочечные белки вирусов двух субтипов А и С: CAP 45.2.00. G3 (субтип С), QH209.14M.ENV.A2 (субтип А). Контролем служили сыворотки неиммунных животных (табл. 3).

Полученные в результате иммунизации антитела не обладали нейтрализующей активностью.

**ТАБЛИЦА 4. УСИЛЕНИЕ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ПРИСУТСТВИИ ПЕПТИДОВ, КОПИРУЮЩИХ V1-, V2-, V3-ПЕТЛЮ ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА gp120 КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГРУППЫ M CON-S И V3-ПЕТЛЮ РОССИЙСКОГО ИЗОЛЯТА RUA022a2**

| Молекулярный клон вирусного изолята | Инфекционная доза |           |            |
|-------------------------------------|-------------------|-----------|------------|
|                                     | 10 TCID50         | 50 TCID50 | 100 TCID50 |
| QD435.100M.ENV.E1                   | 105               | 138       | 130,4      |
| QH.209.14.M.EnvA2                   | 131,6             | 125       | 115        |
| CAP 45.2.00.G3                      | 111               | 127       | 104,2      |

**Примечание.** Данные представлены в виде %.

Концентрации ингибирования (IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub>, IC<sub>90</sub>) и разведения, необходимые для подавления вирусной инфекции (Titer 50, 75, 90), сывороток иммунных животных не отличались от контрольной неиммунной группы.

Способность сывороток нейтрализовать различные штаммы ВИЧ зависит от многих факторов, в том числе и от титра антител. Вероятно, иммунизация лабораторных животных не вызвала образование количества или качества антитела, достаточного для нейтрализации вируса.

#### Биологические свойства пептидов

Основная функция участка V3-петли оболочечного белка gp120 ВИЧ состоит во взаимодействии с рецепторами клетки-мишени: CD4, CCR5 и/или CXCR4 [4]. Это специфическое рецепторное взаимодействие в конечном итоге приводит к слиянию вирусной и клеточной мембран и проникновению вирусного генетического материала в клетку. Блокирование хемокиновых рецепторов CCR5 и CXCR4 антагонистами, такими как Maraviroc, значительно уменьшает вероятность проникновения вируса в клетки-мишени [8]. Наряду с этим в ряде работ показано усиление инфекции в модели *in vitro*, после предварительной инкубации клеточных культур с пептидами, копирующими V3-петлю [3, 19].

Поэтому нами было проведено исследование возможности исследуемых пептидов усиливать инфекцию. Изучение проводили на модели псевдовirusной инфекции. Псевдовirusные частицы не способны к репликации, у них отсутствует генетический материал. Частицы связываются с соответствующими рецепторами на поверхности клеток-мишеней и проникают внутрь клетки. Из-за отсутствия генетического материала у псевдовirusных частиц внутри клетки они не реплицируются, т.е. это инфекция с одним циклом. В качестве клеток-мишеней нами была использована генетически модифицированная клеточная линия HeLa, экспрессирующая на своей поверхности рецепторы и корепторы для ВИЧ – CD4, CCR5, (TZM-bl) [13].

Смесь пептидов вносили в клеточную культуру и инкубировали в течение 1 часа, после чего добавляли псевдовirusные частицы изолятов CAP 45.2.00.G3, QH209.14M.ENV.A2, QD435.100M.ENV.E1, инфекционная доза составляла 10TCID<sub>50</sub>, 50TCID<sub>50</sub> и 100 TCID<sub>50</sub>. Через 2 суток определяли инфекцию. Т.к. пептиды растворены в DMSO, то контролем служили

клетки, к которым был добавлен DMSO, в той же концентрации, что и при добавлении пептидов. Группой сравнения служили клетки без пептидов и DMSO. Результаты представлены в таблице 4.

Присутствие пептидов повышало заражающую активность вируса, т.е. проникновение псевдовirusных частиц внутрь клетки, от 4 до 38% во всех группах, вне зависимости от субтипа, к которому относился вирусный клон. В контрольных группах с DMSO уровень инфекции был таким же, как и в контрольной группе (не содержащей пептиды).

## Обсуждение

Разработка вакцинных препаратов на основе синтетических пептидов является одним из перспективных направлений в области создания вакцин против ВИЧ/СПИД. Основным достоинством такого типа вакцин является безопасность, способность вызывать иммунный ответ на строго определенный эпитоп, активировать как гуморальную, так и клеточную ветвь иммунного ответа. Недостатком – слабая иммуногенность и необходимость использования иммуноадъювантов.

Ранее Н. Liao и др. [10] была исследована способность пептидов, повторяющих V1-, V2-, V3-, V4- и V5-петлю оболочечного белка gp120 ВИЧ, синтезированных на основе консенсусной последовательности группы М ВИЧ1 (CON-S), абсорбировать нейтрализующие антитела против ряда изолятов ВИЧ. Исследование проводили на модели псевдовirusной инфекции. Оказалось, что только пептиды, копирующие V3-петлю, были способны уменьшать нейтрализующую активность сывороток (86% по отношению к изоляту B.SS1196, 92% – C.TV, 67% – C.DU123, 33% – C.DU172, 43% – C.02ZM233M, 48% – A.92RW020). Используемые изоляты относились к разным субтипам. Иммунизация морских свинок этими пептидами не приводила к образованию нейтрализующих антител. Однако иммунизация животных рекомбинантным белком gp140ΔCFI последовательности CON-S, повторяющим часть оболочечного белка ВИЧ, индуцировала нейтрализующие антитела. Т.е. представление антигенов в определенной конформации является существенным моментом для развития протективного иммунного ответа.

В этой работе нами были изучены иммуногенные свойства пептидов, повторяющие акту-

альные антигенные детерминанты ВИЧ (V1-, V2- и V3-петлю оболочечного белка gp120 ВИЧ1), основанные на консенсусной последовательности группы M CON-S и российского изолята RUA022a2 (V3-петля).

Исследование специфической активности исследуемых пептидов показало, что большинство сывороток ВИЧ-инфицированных людей распознавало антигены, копирующие V3-петлю. V1- и V2-пептиды распознавались лишь небольшим количеством сывороток из коллекции. Это можно объяснить различной иммуногенностью вирусных эпитопов, их представленностью иммунной системе человека. Отличительной особенностью оболочечного белка gp120 ВИЧ является высокая степень гликолизации. Это позволяет вирусу уйти от распознавания иммунной системой и выработки нейтрализующих антител [14]. Поэтому не все сыворотки содержат антитела, направленные к этим эпитопам, и с этим связано различное распознавание синтетических пептидов сыворотками в ИФА.

Изучение биологических свойств пептидов выявило их способность усиливать проникновение псевдовиральных частиц, относящихся к разным вирусным изолятам и субтипам, в клетку. Данный феномен уже описывался С. Zanotto et al. Авторами было показано, что V3-пептид (штамм MN) был способен связываться с CD4-растворимым рецептором в области связывания V1-/V2-петли. При этом было установлено, что лишь пептиды с незамещенным позитивным зарядом (т.е. копирующие V3-петлю) были способны увеличивать экспрессию молекул CD4 на поверхности клеток (без дополнительного синтеза) и таким образом повышать пул прони-

кающих в клетку вирусных частиц. Поэтому при разработке терапевтических вакцин на основе пептидов, имитирующих V3-петлю, следует провести более детальные исследования в отношении структуры, длины и других биологических свойств пептидов, избираемых в качестве кандидатных иммуногенов [19].

Иммунизация лабораторных животных вызвала образование антител на все пептиды, входящих в состав смеси. Т.к. пептиды сами по себе являются слабыми иммуногенами, то для усиления иммунного был использован иммуноадъювант – ПАФ. Все пептиды индуцировали образование специфических антител. Титр антител на каждый пептид зависел от протяженности пептида, его молекулярной массы. Несмотря на достаточно высокий титр, полученные антитела не распознавали белки культурального вируса в иммуноблоте и не обладали нейтрализующей активностью.

Нейтрализация вируса – достаточно сложный процесс, на который влияет ряд факторов: количество антител (титр), изотип антител, строение самих антител. Показано, что антитела подкласса IgG1 и IgG3 ассоциированы с нейтрализацией ВИЧ, ADCC/ADCVI, фиксацией комплемента и связыванием FcR [15]. Использование различных иммуноадъювантов позволяет переключать синтез подклассов антител. Возможно, для индукции нейтрализующих антител данной смесью пептидных антигенов необходимо провести подбор иммуноадъювантов и способов иммунизации. Работа в данном направлении будет продолжена.

## Список литературы / References

1. Chavez L., Calvanese V., Verdin E. HIV Latency Is Established Directly and Early in Both Resting and Activated Primary CD4 T Cells. *Plos Pathog.*, 2015, Vol. 11, no. 6, e1004955.
2. Duerr A., Huang Y., Buchbinder S., Coombs R.W., Sanchez J., del Rio C., Casapia M., Santiago S., Gilbert P., Corey L., Robertson M.N. Extended follow-up confirms early vaccine-enhanced risk of HIV acquisition and demonstrates waning effect over time among participants in a randomized trial of recombinant adenovirus HIV vaccine (Step Study). *J. Infect. Dis.*, 2012, Vol. 206, no. 2, pp. 258-266.
3. Dettin M., Scarinci C., Zanotto C., Roncon R., De Rossi A., Di Bello C. Biological and conformational studies on analogues of a synthetic peptide enhancing HIV-1 infection. *J. Pept. Sci.*, 1998, Vol. 4, no. 7, pp. 436-448.
4. Deng H., Liu R., Ellmeier W., Choe S., Unutmaz D., Burkhardt M., Di Marzio P., Marmon S., Sutton R.E., Hill C.M., Davis C.B., Peiper S.C., Schall T.J., Littman D.R., Landau N.R. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*, 1996, Vol. 381, pp. 661-666.
5. Díez-Fuertes F., Cabello M., Thomson M.M. Bayesian phylogeographic analyses clarify the origin of the HIV-1 subtype A variant circulating in former Soviet Union's countries. *Infect. Genet. Evol.* 2015, pii: S1567-1348(15)00165-3.

6. Edlefsen P.T., Rolland M., Hertz T., Tovanabutra S., Gartland A.J., deCamp A.C., Magaret C.A., Ahmed H., Gottardo R., Juraska M., McCoy C., Larsen B.B., Sanders-Buell E., Carrico C., Menis S., Bose M., Arroyo M.A., O'Connell R.J., Nitayaphan S., Pitisuttithum P., Kaewkungwal J., Rerks-Ngarm S., Robb M.L., Kirys T., Georgiev I.S., Kwong P.D., Scheffler K., Pond S.L., Carlson J.M., Michael N.L., Schief W.R., Mullins J.I., Kim J.H., Gilbert P.B. Comprehensive sieve analysis of breakthrough HIV-1 sequences in the RV144 vaccine efficacy trial. *PLoS Comput. Biol.*, 2015, Vol. 11, no. 2, e.1003973.
7. Haynes B.F., Gilbert P.B., McElrath M.J., Zolla-Pazner S., Tomaras G.D., Alam S.M., Evans D.T., Montefiori D.C., Karnasuta C., Sutthent R., Liao H.X., DeVico A.L., Lewis G.K., Williams C., Pinter A., Fong Y., Janes H., DeCamp A., Huang Y., Rao M., Billings E., Karasavvas N., Robb M.L., Ngauy V., de Souza M.S., Paris R., Ferrari G., Bailer R.T., Soderberg K.A., Andrews C., Berman P.W., Frahm N., De Rosa S.C., Alpert M.D., Yates N.L., Shen X., Koup R.A., Pitisuttithum P., Kaewkungwal J., Nitayaphan S., Rerks-Ngarm S., Michael N.L., Kim J.H. Immune-correlates analysis of an HIV-1 vaccine efficacy trial. *N. Engl. J. Med.*, 2012., Vol. 366, pp. 1275-1286.
8. Henrich T.J., Kuritzkes D.R. HIV-1 entry inhibitors: recent development and clinical use. *Curr. Opin. Virol.*, 2013, Vol. 3, no. 1, pp. 51-77.
9. Julien J.P., Sok D., Khayat R., Lee J.H., Doores K.J., Walker L.M., Ramos A., Diwanji D.C., Pejchal R., Cupo A., Katpally U., Depetris R.S., Stanfield R.L., McBride R., Marozsan A.J., Paulson J.C., Sanders R.W., Moore J.P., Burton D.R., Poignard P., Ward A.B., Wilson I.A. Broadly neutralizing antibody PGT121 allosterically modulates CD4 binding via recognition of the HIV-1 gp120 V3 base and multiple surrounding glycans. *PLoS Pathog.*, 2013, Vol. 9, no. 5, e1003342.
10. Liao H.X., Sutherland L.L., Xia S.M., Brock M.E., Scarce 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.
11. Montefiori D.C. Measuring HIV neutralization in a luciferase reporter gene assay. *Methods Mol. Biol.*, 2009, Vol. 485, pp. 395-405.
12. Peeters M., D'Arc M., Delaporte E. Origin and diversity of human retroviruses. *AIDS Rev.*, 2014, Vol. 16, no. 1, pp. 23-34.
13. Sarzotti-Kelsoe M., Bailer R.T., Turk E., Lin C.L., Bilaska M., Greene K.M., Gao H., Todd C.A., Ozaki D.A., Seaman M.S., Mascola J.R., Montefiori D.C. Optimization and validation of the TZM-bl assay for standardized assessments of neutralizing antibodies against HIV-1. *J. Immunol. Methods*, 2014, Vol. 409, pp. 131-146.
14. Sagar M., Wu X., Lee S., Overbaugh J. Human immunodeficiency virus type 1 V1-V2 envelope loop sequences expand and add glycosylation sites over the course of infection, and these modifications affect antibody neutralization sensitivity. *J. Virol.*, 2006, Vol. 80, no. 19, pp. 9586-9598.
15. Tomaras G.D., Haynes B.F. Strategies for eliciting HIV-1 inhibitory antibodies. *Curr. Opin. HIV AIDS*, 2010, Vol. 5, no. 5, pp. 421-427.
16. Trkola A., Purtscher M., Muster T., Ballaun C., Buchacher A., Sullivan N., Srinivasan K., Sodroski J., Moore J.P., Katinger H. Human monoclonal antibody 2G12 defines a distinctive neutralization epitope on the gp120 glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.*, 1996, Vol. 70, no. 2, pp. 1100-1108.
17. Watkins J.D., Siddappa N.B., Lakhashe S.K., Humbert M., Sholukh A., Hemashettar G., Wong Y.L., Yoon J.K., Wang W., Novembre F.J., Villinger F., Ibegbu C., Patel K., Corti D., Agatic G., Vanzetta F., Bianchi S., Heeney J.L., Sallusto F., Lanzavecchia A., Ruprecht R.M. An anti-HIV-1 V3 loop antibody fully protects cross-clade and elicits T-cell immunity in macaques mucosally challenged with an R5 clade C SHIV. *PLoS One*, 2011, Vol. 6, no. 3, e18207.
18. Yates N.L., Liao H.X., Fong Y., deCamp A., Vandergrift N.A., Williams W.T., Alam S.M., Ferrari G., Yang Z.Y., Seaton K.E., Berman P.W., Alpert M.D., Evans D.T., O'Connell R.J., Francis D., Sinangil F., Lee C., Nitayaphan S., Rerks-Ngarm S., Kaewkungwal J., Pitisuttithum P., Tartaglia J., Pinter A., Zolla-Pazner S., Gilbert P.B., Nabel G.J., Michael N.L., Kim J.H., Montefiori D.C., Haynes B.F., Tomaras G.D. Vaccine-induced Env V1-V2 IgG3 correlates with lower HIV-1 infection risk and declines soon after vaccination. *Sci. Transl. Med.*, 2014, *Sci. Transl. Med.*, Vol. 6, no. 228, p. 228ra39.
19. Zanutto C., Calderazzo F., Dettin M., Di Bello C., Autiero M., Guardiola J., Chieco-Bianchi L., De Rossi A. Minimal sequence requirements for synthetic peptides derived from the V3 loop of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) to enhance HIV-1 binding to cells and infection. *Virology*, 1995, Vol. 206, no. 2, pp. 807-816.
20. Zolla-Pazner S., deCamp A., Gilbert P.B., Williams C., Yates N.L., Williams W.T., Howington R., Fong Y., Morris D.E., Soderberg K.A., Irene C., Reichman C., Pinter A., Parks R., Pitisuttithum P., Kaewkungwal J., Rerks-Ngarm S., Nitayaphan S., Andrews C., O'Connell R.J., Yang Z.Y., Nabel G.J., Kim J.H., Michael N.L., Montefiori D.C.,

Liao H.X., Haynes B.F., Tomaras G.D. Vaccine-induced IgG antibodies to V1V2 regions of multiple HIV-1 subtypes correlate with decreased risk of HIV-1 infection. *PLoS One*, 2014, Vol. 9, no. 2, e87572.

21. Zolla-Pazner S. Identifying epitopes of HIV-1 that induce protective antibodies. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, Vol. 4, no. 3, pp. 199-210.

---

**Авторы:**

**Коробова С.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория полисахаридных вакцин, отдел иммунной биотехнологии ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

**Корнилаева Г.В.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория иммунохимии, отдел молекулярной вирусологии ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Топорова В.А.** — младший научный сотрудник, лаборатория инженерии белка, отдел биоинженерии ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия

**Николаева И.А.** — д.б.н., ведущий научный сотрудник, отдел планирования и координации научных исследований ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

**Трубченинова Л.П.** — к.б.н., заведующая лабораторией диагностики иммунозависимых заболеваний, отдел иммунодиагностики и иммунокоррекции ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

**Трефильева Н.Ф.** — врач лаборатории диагностики иммунозависимых заболеваний, отдел иммунодиагностики и иммунокоррекции ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

**Сизякина Л.П.** — д.м.н., профессор, директор, Научно-исследовательский институт иммунологии Ростовского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Сидорович И.Г.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, информационно-аналитический отдел ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

**Апарин П.Г.** — д.м.н., заведующий лабораторией полисахаридных вакцин, отдел иммунной биотехнологии ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

**Хаитов Р.М.** — д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия

**Authors:**

**Korobova S.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Polysaccharide Vaccines, Department of Immune Biotechnology, Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Kornilaeva G.V.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Immunochemistry, Department of Molecular Virology, N. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

**Toporova V.A.**, Junior Research Associate, Laboratory of Protein Engineering, Department of Bioengineering, M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

**Nikolaeva I.A.**, PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Department of Scientific Research Planning and Coordination, Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Trubcheninova L.P.**, PhD (Biology), Head, Immune Disease Diagnosis Laboratory, Department of Immunodiagnosis and Immune Correction, Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Trefilyeva N.F.**, Laboratory medical adviser, Immune Disease Diagnosis Laboratory, Department of Immunodiagnosis and Immune Correction, Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Sizyakina L.P.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Research Institute of Immunology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Sidorovich I.G.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Information and Analysis Department, Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Aparin P.G.**, PhD, MD (Medicine), Head, Polysaccharide Vaccines Laboratory, Department of Immune Biotechnology, Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

**Khaitov R.M.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Chief of Research, Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 01.07.2015  
Принята к печати 30.08.2015

Received 01.07.2015  
Accepted 30.08.2015