

**ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ОДНОКОМПОНЕНТНАЯ ВАКЦИНА
ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ
ФРАГМЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНОЙ
IGA1 ПРОТЕАЗЫ *N. MENINGITIDIS***

Ю.А. Прокопенко, А.А. Зинченко, О.В. Котельникова, Л.Д. Румш

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки,
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

Бактериальный менингит относится к группе социально опасных заболеваний и характеризуется тяжелым течением, многочисленными осложнениями и высокой смертностью. Заболевание сложно диагностируется на ранних стадиях и тяжело поддается лече-

нию. Оптимальным и наиболее эффективным методом борьбы с инфекцией является вакцинация.

Основными возбудителями бактериального менингита являются *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* и *Streptococcus pneumoniae*, которые составляют более 90% от всех случаев заболеваний. В настоящее время в медицинскую практику внедрены полисахаридные вакцины против менингококков серогрупп А, С, Х, Y и W [1], а также созданная в последнее время на основе поверхностных белков патогена поликомпонентная вакцина против менингококка серогруппы В [2]. Однако все эти вакцины имеют, как правило, узкую направленность против конкретного возбудителя инфекции. Чтобы обеспечить защиту от всего многообразия циркулирующих и непрерывно мутирующих штаммов менингококка, требуется создание монокомпонентной вакцины широкого спектра действия.

Бактериальная IgA1 протеаза, секретируемая рядом грамотрицательных (*N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*) и некоторыми грамположительными (*S. pneumoniae*, *S. sanguis*, *S. oralis*) бактериями [3-8], будучи одним из основных факторов вирулентности этих инфекций [9], может являться одним из перспективных протективных антигенов для создания монокомпонентной противоменингококковой поливакцины [10].

IgA1 протеазы, протеолитические ферменты ряда патогенных бактерий, высокоспецифичны в отношении иммуноглобулина А1 (IgA1) высших приматов. Расщепляя секреторные IgA1 антитела на поверхности слизистых оболочек человека, эти ферменты разрушают первую линию иммунной защиты, что способствует колонизации бактериями слизистой оболочки и проникновению их во внутреннюю среду организма. Таким образом, нейтрализация IgA1 протеаз на этой стадии инвазии может являться препятствием для развития инфекции, затрудняя адгезию бактерий на поверхности слизистой оболочки. Высокая гомология сериновых IgA1 протеаз грам-отрицательных бактерий, а также выраженная иммуногенная и протективная активность IgA1 протеаз из *N. meningitidis* в отношении менингококков трех основных эпидемических серогрупп А, В и С [11-13] позволяет надеяться на возможность создания универсальной вакцины против всех представителей этой инфекции.

Ранее нами было показано, что IgA1 протеаза, выделенная из живой культуры менингококка серогруппы А, рекомбинантная IgA1 протеаза *N. meningitidis* серогруппы В и рекомбинантные белки на основе фрагментов этого фермента эффективно защищают лабораторных животных от заражения менингококком различных серогрупп [11-17].

Для поиска и выбора протективных антигенов на основе структуры IgA1 протеазы *N. meningitidis* серогруппы В нами была разработана методология поиска фрагментов этого фермента, потенциально обладающих протективными свойствами в отношении менингококковой инфекции. Методология включала анализ данных об информационной структуре белков [18], гомологии IgA1 протеаз различных бактерий, локализации иммуноактивных участков, важных для индукции иммуногенного действия, а также учитывала физико-химические свойства потенциальных белковых фрагментов.

На основе генома менингококка серогруппы В штамм Н44/76 были сконструированы соответствующие рекомбинантные ДНК, созданы штаммы-продуценты выбранных структур, разработаны методы выделения и очистки рекомбинантных белков, содержащих один или несколько фрагментов первичной структуры фермента, получены препараты новых рекомбинантных белков, исследованы их иммуногенные и протективные свойства.

Был получен набор высокоочищенных рекомбинантных белков на основе фрагментов IgA1-протеазы с последовательностями MA²⁸-P¹⁰⁰⁴LEN₆ (мол. масса 109 kDa), ME¹³⁵-H³²⁸LEN₆ (мол. масса 23,4 kDa), MW³²⁹-H⁶²²LEN₆ (мол. масса 33,4 kDa) и MH⁸³⁵-P¹⁰⁰⁴LEN₆ ((мол. масса 19,8 kDa), а также рекомбинантные гибридные белки, состоящие из двух или трех соединенных между собой фрагментов различных участков IgA1 протеазы MA²⁸-P¹⁰⁰⁴LEN₆ с мол. массами 59,4 kDa и 34,7 kDa, соответственно [19, 20], и ряд других соединений.

В экспериментах на животных были исследованы иммуногенные и протективные свойства полученных рекомбинантных белков и показано, что Т- и В-эпитопы, расположенные в N-концевой части аминокислотной последовательности IgA1 протеазы, играют важную роль в защите животных от заражения менингококками трех основных серогрупп А, В и С. Низкомолекулярный рекомбинантный белок с последовательностью ME¹³⁵–H³²⁸LEN₆ и рекомбинантные гибридные белки, также содержащие N-концевые участки аминокислотной последовательности IgA1 протеазы, обладают эффективным протективным действием в отношении менингококков различных серогрупп, сопоставимым с действием высокомолекулярной рекомбинантной IgA1-протеазы MA²⁸–P¹⁰⁰⁴LEN₆ [19, 20].

Также было обнаружено, что иммунизация мышей рекомбинантной IgA1 протеазой *N.meningitidis* и некоторыми рекомбинантными белками на основе фрагментов этого фермента защищает животных не только от смертельного заражения живыми вирулентными культурами *N. meningitidis* серогрупп А, В и С, но и *S. pneumoniae* некоторых серотипов. В сыворотках кроликов, иммунизированных убитыми культурами пневмококков различных серотипов, выявлены антитела, связывающиеся с исследованными белками. Указанные сыворотки, защищали интактных мышей-реципиентов от смертельного заражения живой вирулентной культурой *N. meningitidis* серогруппы В [21].

Полученные результаты, позволяют рассматривать созданные нами рекомбинантные белки на основе фрагментов IgA1-протеазы в качестве перспективных кандидатов универсальной менингококковой вакцины.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект № 14-50-00131 от 26.12.14) и Программы Президиума РАН «Фундаментальная наука – медицине» (2012-2014).

Список использованных источников

1. Pace D., Pollard A.J. // Arch Dis Child. 2007. V. 92. P. 909–915.
2. Crum-Cianflone N., Sullivan E. // Meningococcal Vaccinations. Infect Dis Ther. 2016. V. 5. P. 89–112.
3. Henderson I.R., Nataro J.P. // Infect Immun. 2001. V. 69. P. 1231–1243.
4. Казеева Т.Н., Шевелев А.А. // Биохимия. 2007. Т. 72. С. 485–494.
5. Mistry D., Stockley R.A. // Int. J. Biochem Cell Biol. 2006. V. 38. P. 1244–1248.
6. Plaut A.G., Bachovchin W.W. // Methods Enzymol. V. 244. N.Y.: Acad. Press, 1994. P. 137–151.
7. Lei F., Zhao J., Lin L. et al. // Microbes Infect. 2016. V. 18. P. 285–289.
8. Roussel-Jazede V., Arenas J., Langereis J.D., Tommassen J., van Ulsen P. // Microbiology. 2014. V. 160. P. 2421–2431.
9. Mistry D., Stockley R.A. Intern. Int. J. Biochem Cell Biol. 2006. V. 38. P.1244–1248.
10. Gupta S.K., Smita S., Sarangi A.N., et al. // Vaccine. 2010. Vol. 8, N 28 (43). P. 7092-7097
11. Ягудаева Е. Ю., Жигис Л.С., Зуева В.С. и др. // Биоорган. химия. 2010. Т. 36(1). С. 89–97.
12. Котельникова О.В., Аллилуев А.П., Дрожжина Е.Ю. и др. // Биомед. хим. 2014. Т. 60(4). С. 479–486.
13. Румш Л.Д., Серова О.В., Зинченко А.А. и др. // Патент № 2486243. Бюлл. № 18. Опубликовано 27.06.2013.
14. Котельникова О.В., Зинченко А.А., Вихров А.А. и др. // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. 2016. Т. 80(3). С. 369–372.
15. Zinchenko A.A., Alliluev A.P., Serova O.P. et al // J. Meningitis. 2015. 1:102. doi. 10 4172/ 2572-2050.100102
16. Аллилуев А.П., Котельникова О.В., Зинченко А.А. и др. //Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016.Т. 15(6). С. 88–94.

17. Серова О.В., Мельников Э.Э., Зинченко А.А. и др. // Биофарм. журнал. 2011. Т. 3(6). – С. 42–47.

18. Nekrasov A.N., Anashkina A.A., Zinchenko A.A. // Proceedings of the 2nd International Conference TABIS.2013 / Ed. By B. Dragovich et al. – Institute of Physics Belgrade, 2014, Serbia. P. 1-22

19. Зинченко А.А., Котельникова О.В., Гордеева Е.А. и др. // Биоорган. химия, 44 (1). С. 61–70.

20. Зинченко А.А., Серова О.В., Прокопенко Ю.А. и др. // Заявка на патент РФ, рег. №2017145016. Бюл. №18. Опубликована 24.06.2019.

21. Kotelnikova O, Alliluev A, Zinchenko A. et al. // Microbes and Infection. 2019. [https://doi.org/ 10.1016/j.micinf.2019.02.003](https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.02.003)