

УДК 571.27

DOI:10.14427/jipai.2024.4.47

Комплексная оценка иммунологической активности рекомбинантных AD26 и AD5, экспрессирующих ген S белка вируса SARS-COV-2

О.В. Зубкова, Т.А. Ожаровская, О. Попова, Д.В. Воронина, Д.И. Зрелкин, А.И. Тухватулин, А.Ш. Джаруллаева, И.В. Должикова, Д.В. Щебляков, Д.Ю. Логунов, А.Л. Гинцбург

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

Comprehensive evaluation of immunological activity of recombinant AD26 and AD5 expressing S protein gene of the SARS-COV-2 virus

O.V. Zubkova, T.A. Ozharovskaia, O. Popova, D.V. Voronina, D.I. Zrelkin, A.I. Tukhvatulin, A.S. Dzharullaeva, I.V. Dolzhikova, D.V. Shcheblyakov, D.Y. Logunov, A.L. Gintsburg

N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Аннотация

Пандемия COVID-19 стала огромным вызовом для всей мировой системы здравоохранения. Одним из самых эффективных методов прекращения и предотвращения распространения заболевания является вакцинация. Наиболее изученной технологической платформой, используемой для разработки вакцинных препаратов, являются векторы на основе рекомбинантных аденовирусов различных серотипов.

Цель исследования – изучить формирование В- и Т-клеточного иммунного ответа после введения рекомбинантных Ad26 и Ad5, экспрессирующих гликопротеин S коронавируса SARS-CoV-2, у экспериментальных животных. *Материалы и методы.* В работе использовали мышей линий BALB/c и C57BL/6. Иммунизацию животных проводили внутримышечно рекомбинантными аденовирусами. Антиген-специфические IgG антитела определяли методом иммуноферментного анализа. Для выявления вируснейтрализующих антител проводили реакцию микронейтрализации. Методом проточной цитофлуориметрии проводили анализ количественных показателей клеточного иммунитета.

Выводы. Полученные рекомбинантные аденовирусы rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 были охарактеризованы по различным параметрам, которые доказали их чистоту и функциональность. rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 индуцируют формирование сбалансированного адаптивного иммунитета у экспериментальных животных. Полученные результаты сравнительного изучения эффективности различных схем иммунизации показали эффективность гетерологичной прайм-буст вакцинации.

Ключевые слова

Рекомбинантные аденовирусы, гуморальный иммунитет, клеточный иммунитет, SARS-CoV-2, прайм-буст вакцинация.

Summary

The COVID-19 pandemic has posed a significant challenge to the global healthcare system. Vaccination is one of the most effective ways to stop and prevent the spread of the disease. Recombinant vectors based on various types of adenoviruses are the most studied platform for vaccine development.

The aim of this research is to study the development of B- and T-cell immunity after administering recombinant Ad26 and Ad5 vectors that express the glycoprotein S of the SARS-CoV-2 virus in laboratory animals.

Materials and methods. In this study, BALB/c and C57BL/6 mice were used. Animals were intramuscularly immunized with recombinant adenoviruses. Antigen-specific IgG antibodies were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay. A microneutralization assay was performed to identify virus-neutralizing antibodies. Quantitative indicators of cellular immunity were measured using flow cytometry.

Conclusions. The resulting recombinant adenoviruses, rAd26-S-CoV2 and rAd5-S-CoV2, were characterized according to several parameters, demonstrating their purity and functional activity. These viruses induce balanced adaptive immunity in experimental animals, as shown by the results of our study. A comparative analysis of different immunization schedules revealed the efficacy of heterologous prime-boost vaccination, providing valuable insights into the development of effective COVID-19 vaccines.

Keywords

Recombinant adenoviruses, humoral immunity, cellular immunity, SARS-CoV-2, prime-boost vaccination.

Введение

Коронавирусная болезнь 2019 (COVID-19), вызванная SARS-CoV-2 (коронавирус тяжёлого острого респираторного синдрома 2), привела к глобальной пандемии, ставшей вызовом для мирового сообщества [1,2]. Вирус SARS-CoV-2 считается серьёзной угрозой из-за своей высокой инфекционности и способности вызывать тяжёлые осложнения, в первую очередь пневмонию и синдром острой респираторной недостаточности [3–5]. Для борьбы с пандемией множество исследователей и фармацевтических компаний по всему миру начали разработку вакцин с использованием ранее существовавших или новых технологий. Имеющиеся наработки, полученные в ходе исследований коронавирусов тяжёлого (SARS-CoV) и ближневосточного (MERS-CoV) респираторного синдрома, оказались актуальными при разработке профилактических средств против SARS-CoV-2 и, в первую очередь, для их производства в рекордно короткие сроки. К настоящему моменту ряд вакцин не только получили разрешение на экстренное или временное использование, но и были зарегистрированы для медицинского клинического применения, в то время как другие находятся на стадии доклинических и клинических исследований. Среди них выделяются вакцины на основе нуклеиновых кислот (мРНК) и вирусных векторов [6–9]. В частности, векторные вакцины на основе аденовирусов (Ad) представляют собой эффективный подход в борьбе с инфекционными заболеваниями, который реализуется за счёт нескольких преимуществ. Во-первых, аденовирусы способны эффективно стимулировать иммунную систему, что приводит к сильному и длительному иммунному ответу на целевой антиген [10,11]. Во-вторых, рекомбинантные аденовирусы производятся в большом количестве и стабильны при непрерывном пассировании, что делает их привлекательным объектом для широкомасштабного производства [12.]. В-третьих, аденовирусы человека широко изучены в клинических исследованиях, что подтверждает их безопасность и низкий потенциал для вызова серьёзных побочных эффектов.

Наиболее изученной системой для доставки генов является платформа на основе аденовируса человека 5 серотипа [13]. Несколько лет назад активно начали разрабатывать и исследовать другие серотипы аденовирусов человека (Ad26, Ad35, Ad11), а также аденовирусы обезьян [14,15].

Интересной стратегией усиления антиген-специфических ответов служит применение

гетерологичной прайм-буст вакцинации, сочетающей использование серотипов аденовирусов с низкой серопревалентностью (редко встречающихся в человеческой популяции) с Ad5, которая позволяет преодолевать супрессивные эффекты предсуществующего иммунитета [14,16]. Учитывая большое разнообразие серотипов Ad, потенциально доступно множество различных вариантов. При этом оптимальные серотипы аденовирусных векторов для включения в такую схему вакцинации достоверно не определены.

Несмотря на активные исследования различных альтернативных серотипов, наиболее популярными являются два аденовируса: Ad5 и Ad26. Поэтому интересно оценить иммунологические характеристики каждого из векторов.

Цель исследования – изучить формирование В- и Т-клеточного иммунного ответа после введения рекомбинантных Ad26 и Ad5, экспрессирующих гликопротеин S коронавируса SARS-CoV-2, у экспериментальных животных.

Материалы и методы

Получение рекомбинантных аденовирусов.

Геном рекомбинантного аденовируса с геном S белка под контролем промотора CMV (pAd26-only-CMV-S-CoV2 или pAd5-too-CMV-S-CoV2) получали методом гомологичной рекомбинации в бактериальных клетках по технологии, описанной ранее [15,17,18]. Для оживления рекомбинантных аденовирусов клетки линии HEK 293 трансфицировали полногеномными плазмидами, которые предварительно гидролизовали по PacI (для Ad5) или PacI+SwaI (для Ad26). Сборку рекомбинантных вирусов детектировали по развитию цитопатического действия (ЦПД).

Определение размера аденовирусных частиц. Размер частиц определяли с использованием наносайзера Zetasizer Nano ZS. Препараты аденовирусов разводили до концентрации 10^5 вирусных частиц/мл, переносили в кювету и проводили измерение. Расчёт размера частиц вычисляли с использованием программного обеспечения Zetasizer Software.

Определение спектра аденовирусных белков. Полипептидный состав аденовирусов анализировали методом белкового электрофореза в 12% полиакриламидном геле в денатурирующих условиях. Молекулярную массу белков оценивали с использованием стандарта Precision Plus Protein™.

Иммуноблотинг. Для определения гликопротеина S использовали метод иммуноблота. Клетки линии A549 трансдуцировали рекомбинантными аденовирусами, через 48 ч выделяли тотальный

белок. Белки разделяли методом электрофореза с использованием 10% готового полиакриламидного геля и переносили на нитроцеллюлозную мембрану. После блокировки мембраны добавляли моноклональные антитела к RBD-домену S белка SARS-CoV-2. В качестве проявляющих антител использовали конъюгат anti-human IgG с пероксидазой хрена. Для визуализации белков использовали субстрат Clarity™ Western ECL.

Иммунизация животных. Гуморальный иммунный ответ исследовали на мышах линии BALB/c, клеточный – на мышах линии C57BL/6, обоего пола массой 16-18 г, полученных из «Питомника лабораторных животных г. Пушкино» (филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН). Животные содержались на базе вивария Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» в соответствии с ГОСТ 33216-2014, ГОСТ Р 53434-2009. Мыши были разделены на группы по 6 животных в каждой. Препараты аденовирусов в дозе 10^{10} вирусных частиц вводили внутримышечно в объёме 0,1 мл. Иммунизацию в режиме прайм-буст проводили с интервалом 21 день: сначала вводили rAd26-S-CoV2, затем rAd5-S-CoV2. Животным из группы контроля вводили 0,9% солевой буфер в эквивалентном объёме. У животных всех групп перед иммунизацией, а также на 14, 21, 28 и 42 дни эксперимента производили забор крови из хвостовой вены. Специфические IgG определяли в сыворотке крови каждого животного. Исследование одобрено комитетом центра Гамалеи по биомедицинской этике (протокол № 9 от 16 апреля 2021 г., протокол № 24 от 21 апреля 2022 г.).

Реакция микронеutralизации. Вируснейтрализующие антитела (ВНА) к SARS-CoV-2 определяли в реакции микронеutralизации как описано ранее [16]. За титр ВНА принимали наибольшее разведение сыворотки, при котором не наблюдается цитопатическое действие вирусов. Результаты исследования представлены в виде среднего геометрического значения и его стандартного отклонения.

Определение титров IgG к вирусу SARS-CoV-2. Выявление специфических сывороточных IgG антител после иммунизации проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), как описано ранее [16]. Вторичные антитела заменяли на anti-mouse IgG-HRP. Результаты исследования представлены в виде среднего геометрического значения и его стандартного отклонения.

Определение пролиферативной активности Т-лимфоцитов. Спленоциты из селезёнки выделяли в градиенте плотности раствора фикола стандартной методикой и рассевали в 96-луночные планшеты в концентрации 2×10^5 клеток/луночку. Культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки. Для стимуляции Т-лимфоцитов добавляли рекомбинантный S белок коронавируса SARS-CoV-2 в количестве 5 мкг/мл. В качестве контроля использовали клетки, к которым не добавляли антиген. Перед культивированием клетки окрашивали витальным красителем CFSE. Через 96 часов клетки окрашивали мечеными антителами к кластерам дифференцировки CD3, CD4 и CD8 по протоколу, рекомендованному производителем. Анализ субпопуляций Т-лимфоцитов проводили на проточном цитометре BD FACSAria III. Результаты были проанализированы с помощью программного обеспечения с применением стратегии гейтирования. Пролиферативную активность Т-лимфоцитов выражали в процентах. Результаты исследования представлены в виде медианы со стандартным отклонением.

Определение концентрации цитокинов. Концентрацию цитокинов определяли набором «Bio-Plex Pro Mouse Cytokine 8-plex Assay» в культуральной среде активированных Т-лимфоцитов в соответствии с протоколом, прилагаемым к набору, с использованием системы мультиплексного анализа MAGPIX и программного обеспечения к прибору. Результаты исследования представлены в виде медианы со стандартным отклонением.

Статистическая обработка результатов. Анализ экспериментальных данных выполняли в программе GraphPad Prism 8. Для оценки значимости различий между группами использовали критерий Манна-Уитни. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты и обсуждение

Векторы, основанные на геноме рекомбинантных аденовирусов человека 26 и 5 серотипов (rAd26 и rAd5), экспрессирующие гликопротеин S вируса SARS-CoV-2, получали по технологии, описанной нами ранее [17–19]. Ген гликопротеина S коронавируса SARS-CoV-2 штамма Wuhan-Hu-1 с оптимизированными кодонами синтезировали в ЗАО «Евроген» и клонировали в рекомбинантный геном Ad26 или Ad5 (рис. 1А). Особенностью генома rAd26 является замена открытой рамки считывания 6/7, кодирующей белок 34К, на аналогичную рамку Ad5. Данная модификация обеспечивает эффективную про-

дукцию рекомбинантного вируса в клетках НЕК 293 за счёт образования белкового комплекса 34К-55К (белка E1В области), который отвечает за транспорт и накопление вирусных мРНК во время поздней фазы продуктивной инфекции [20]. Рекомбинантные аденовирусы оживляли и накапливали в клетках НЕК 293. Полученные рекомбинантные аденовирусы (rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2) характеризовали по физико-химическим и молекулярно-биологическим свойствам.

Размер вирионов rAd26-S-CoV2 составляет $88,43 \pm 21,98$ нм, размер вирионов rAd5-S-CoV2 составляет $127,6 \pm 40,03$ нм (рис. 1Б). Анализ белкового спектра рекомбинантных аденовирусов rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 свидетельствует о наличии мажорных белков капсида (гексона (II), основания пентона (III) и фибера (IV)), минорных белков (V, VI VIII, IX) и некоторых из коровых белков (VII) (рис. 1В). Экспрессию гена гликопротеина S вируса SARS-CoV-2 rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 определяли методом иммуноблоттинга (рис. 1Г). В образцах был обнаружен гликозилированный полноразмерный S белок молекулярной массой ~180 кДа (соответствует ожидаемой) и субъединица S1 массой ~120 кДа (образуется в результате расщепления полноразмерного гликопротеина S протеазами клетки).

Комплексную оценку специфической иммунологической активности полученных рекомбинантных аденовирусов, экспрессирующих гликопротеин S вируса SARS-CoV-2, проводили на мышах. При изучении индукции гуморального иммунного ответа у животных после введения рекомбинантных аденовирусов rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 наблюдали повышение уровня антиген-специфических IgG антител (рис. 2А). У контрольных животных антиген-специфические антитела не были обнаружены. При оценке вклада отдельных изоформ или подклассов IgG выявлено, что IgG1 был наиболее распространённым подклассом через 42 дня после введения rAd26-S-CoV2, а IgG1 и IgG2a – после rAd5-S-CoV2 (рис. 2Б). Уровни IgG1 и IgG2a были сходными после иммунизации вектором на основе Ad5, тогда как уровень IgG1 был намного выше уровня IgG2a и IgG2b после введения рекомбинантного Ad26 вектора. У мышей IgG1, IgG2a, IgG2b и IgG3 соответствуют IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 подклассам у человека. Подклассы IgG, индуцируемые вакцинацией, служат важными детерминантами эффективности вакцины [21]. У людей после вакцинации, а также перенесённой инфекции COVID-19 IgG1 и IgG3 являются доминирующими подклассами и проявляют наибольшую вируснейтрализующую способность [22].

Т-клеточный иммунный ответ функционально гетерогенен: Т-клетки участвуют в формировании общего иммунного ответа посредством секреции цитокинов и хемокинов, проявлением цитотоксических функций, а также поддерживают выработку высокоаффинных антител и В-клеток долгоживущей памяти. Хелперные CD4+ и цитотоксические CD8+ Т-лимфоциты играют важную роль в формировании противовирусного иммунитета и обеспечивают клиренс коронавируса. При изучении развития клеточных реакций иммунитета у мышей после введения рекомбинантных аденовирусов rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 наблюдали статистически достоверную разницу в значениях пролиферирующих CD4+ и CD8+ субпопуляций Т-лимфоцитов в сравнении с неиммунизированными животными (рис. 3А).

Исследования цитокинового профиля, который является одним из способов оценки функционального баланса основных субпопуляций Т-хелперных лимфоцитов, показали продукцию маркерных цитокинов (ИФН γ для Th1-субпопуляции и ИЛ-4 для Th2-субпопуляции лимфоцитов) (рис. 3Б). Кроме того, среди анализируемого спектра цитокинов наблюдали значимые отличия в концентрации ИЛ-2, ИЛ-10 и ИЛ-12 (данные не представлены). Таким образом, экспрессия этих цитокинов способствует регуляции механизмов В- и Т-клеточного иммунного ответа.

Помимо этого, существует риск развития антителозависимого усиления инфекции (ADE эффект) после вакцинации против бета-коронавирусов, в том числе и против SARS-CoV-2 [23]. Поэтому развитие сбалансированного иммунного ответа является важной характеристикой безопасности вакцины. Таким образом, также был исследован баланс Th1/Th2 после введения рекомбинантных аденовирусов rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2. Th1-ассоциированным подклассом IgG антител у мышей являются IgG2a, а Th2-ассоциированным – IgG1. Иммунизация rAd26-S-CoV2 индуцировала Th2-доминантный иммунный ответ (рис. 3Б). rAd5-S-CoV2 активировал Th1 и Th2 сопоставимый иммунитет. Эти результаты показывают, что различные серотипы аденовирусных векторов обеспечивают разную поляризацию антиген-специфического адаптивного иммунного ответа.

Представленные выше данные в совокупности указывают на то, что иммунизация рекомбинантными аденовирусами rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 сопровождается активацией обоих типов иммунитета (В- и Т-клеточного).

Для развития долгосрочного иммунного ответа перспективным подходом является гетеро-

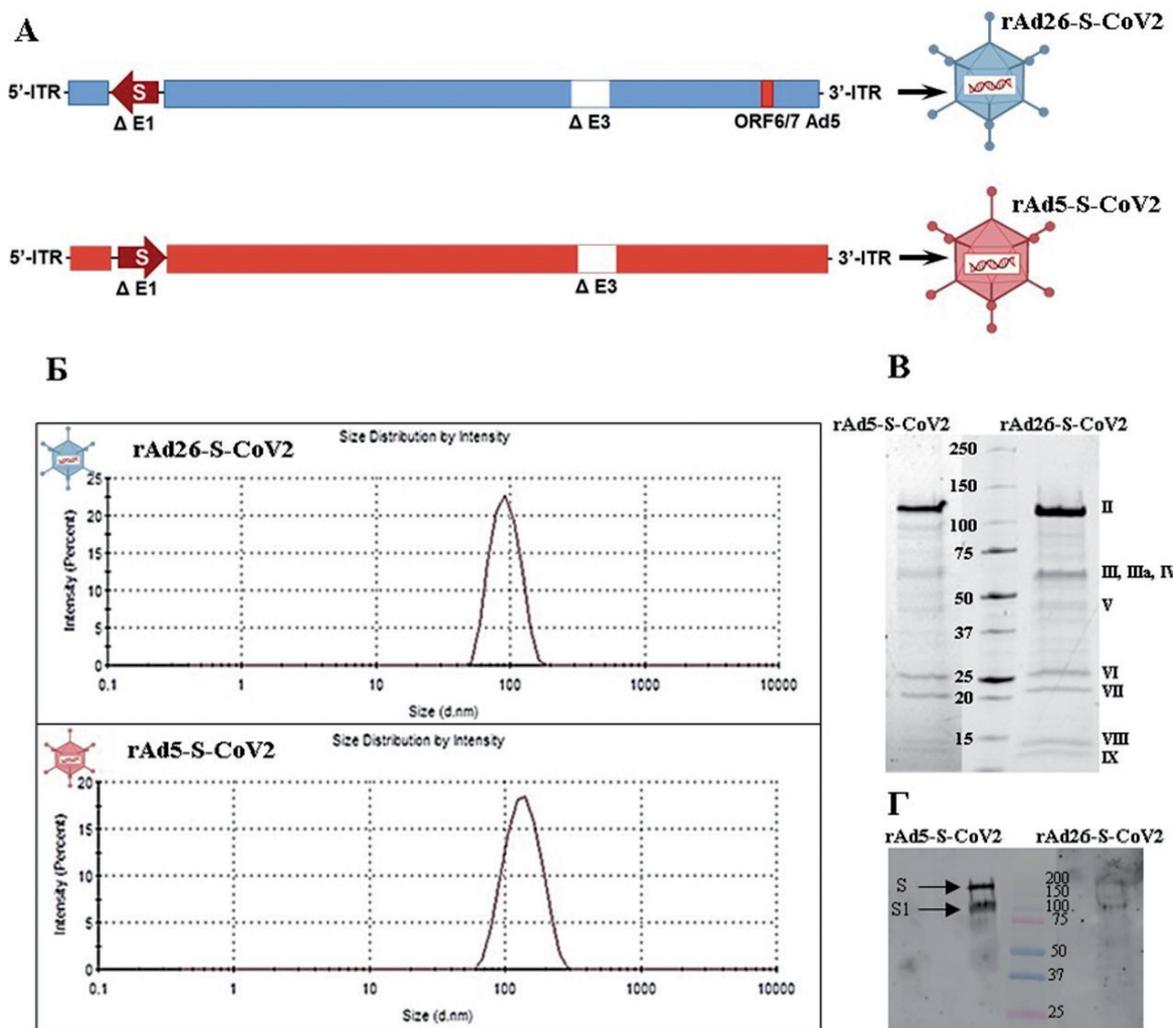


Рис. 1. Характеристика рекомбинантных аденовирусов rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2

Примечание: А – схема геномов, Б – анализ распределения рекомбинантных аденовирусных частиц по размерам, В – полипептидный состав аденовирусных векторов, Г – иммуноблоттинг лизатов клеток A549, трансдуцированных rAd5-S-CoV2 или rAd26-S-CoV2.

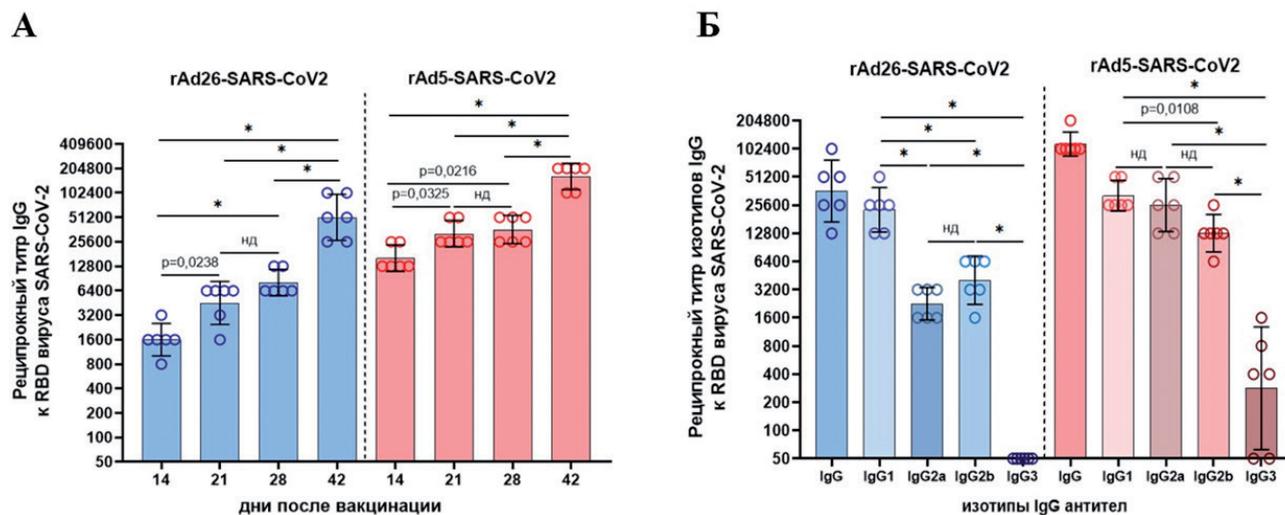


Рис. 2. Изменение титров (А) и анализ изотипов (Б) IgG антител у мышей после иммунизации рекомбинантными аденовирусами rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2

Статистически достоверная разница по Т-критерию Манна-Уитни обозначена символом * ($p=0,0022$) и значениями р, нд – отсутствие статистически достоверной разницы.

логичная вакцинация в режиме прайм-буст. С целью установить влияние различных подходов по вакцинации на индукцию специфических IgG-антител, было проанализировано 6 схем: однократная иммунизация (rAd5-S-CoV2 или rAd26-S-CoV2), гомологичная двукратная иммунизация (rAd5-S-CoV2 + rAd5-S-CoV2 или rAd26-S-CoV2 + rAd26-S-CoV2), гетерологичная двукратная иммунизация (rAd5-S-CoV2 + rAd26-S-CoV или rAd26-S-CoV2 + rAd5-S-CoV2). Самые высокие результаты титров антиген-специфических антител к вирусу SARS-CoV-2 в сыворотке крови иммунизированных животных на 42 день исследования наблюдали в случае двукратной вакцинации (рис. 4). При сравнении гетерологичных схем вакцинации использование rAd26-S-CoV2 в качестве праймирующего компонента, а rAd5-S-CoV2 в качестве бустерного приводит к достоверному повышению титра RBD-специфических IgG антител по сравнению с обратной схемой вакцинации.

Помимо общей оценки гуморального иммунного ответа проводили комплексный анализ адаптивного иммунитета у животных после гетерологичной прайм-буст вакцинации (введения rAd26-S-CoV2, а затем через 21 день rAd5-S-CoV2). Анализ включал определение подклассов IgG антител, нейтрализующих антител к вирусу SARS-CoV-2, процентов пролиферирующих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов (рис. 5).

Исследование показало интересные результаты о распределении подклассов антител. У животных после последовательного введения двух векторов rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 наблюдали наличие всех четырёх подклассов IgG. Достаточно высокие уровни были детектированы для IgG1, IgG2a, IgG2b и средние уровни для IgG3 (рис. 5А). Полученные нами результаты у животных соотносятся с данными исследований у людей, в которых показано, что после вакцинации вырабатываются высокие уровни IgG1 и IgG3 антител, специфичных к RBD, по сравнению с незначительными ответами IgG4 [24]. Различия в кинетике изотипов IgG антител обусловлены их специфической структурой и функцией. Отличительной особенностью изотипа IgG4 является его тенденция проявляться в достаточно поздние сроки после естественной инфекции или иммунизации [25]. Кроме того, высокий уровень IgG2 антител коррелирует со снижением вирусной нагрузки и уменьшением системного воспаления, связанного с заболеванием COVID-19 [26].

Определение специфичных IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 является индикатором разви-

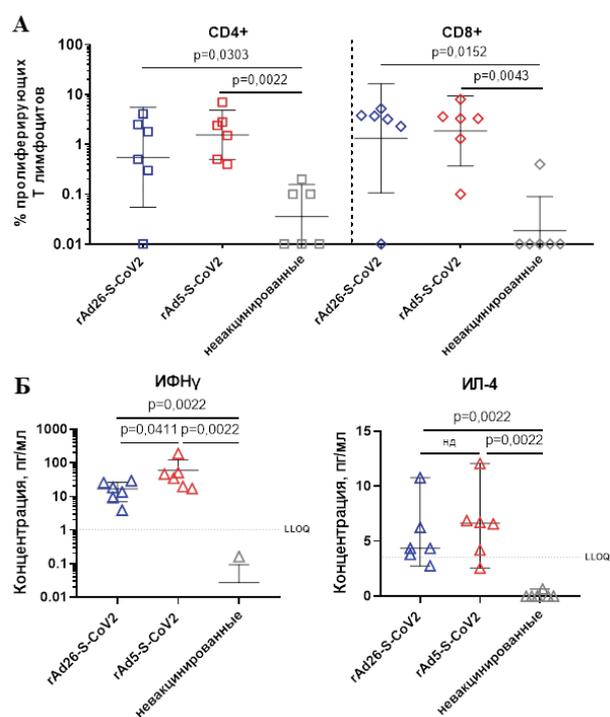


Рис. 3. Процент пролиферирующих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов (А) и концентрации цитокинов в культуральной среде спленоцитов (Б) после антигенной рестимуляции *in vitro*

Статистически достоверная разница по Т-критерию Манна-Уитни обозначена р, nd – отсутствие статистически достоверной разницы.

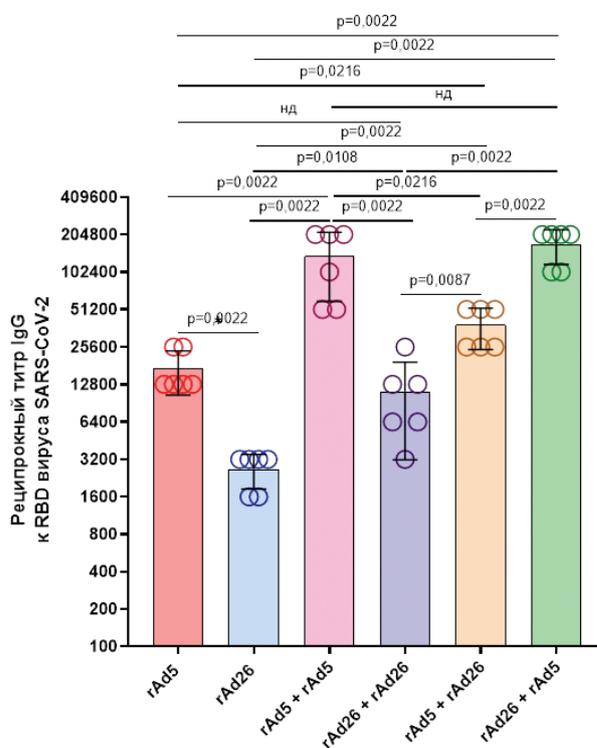


Рис. 4. Титры IgG антител через 42 дня после первичной иммунизации при использовании различных схем вакцинации

Статистически достоверная разница по Т-критерию Манна-Уитни обозначена р, nd – отсутствие статистически достоверной разницы.

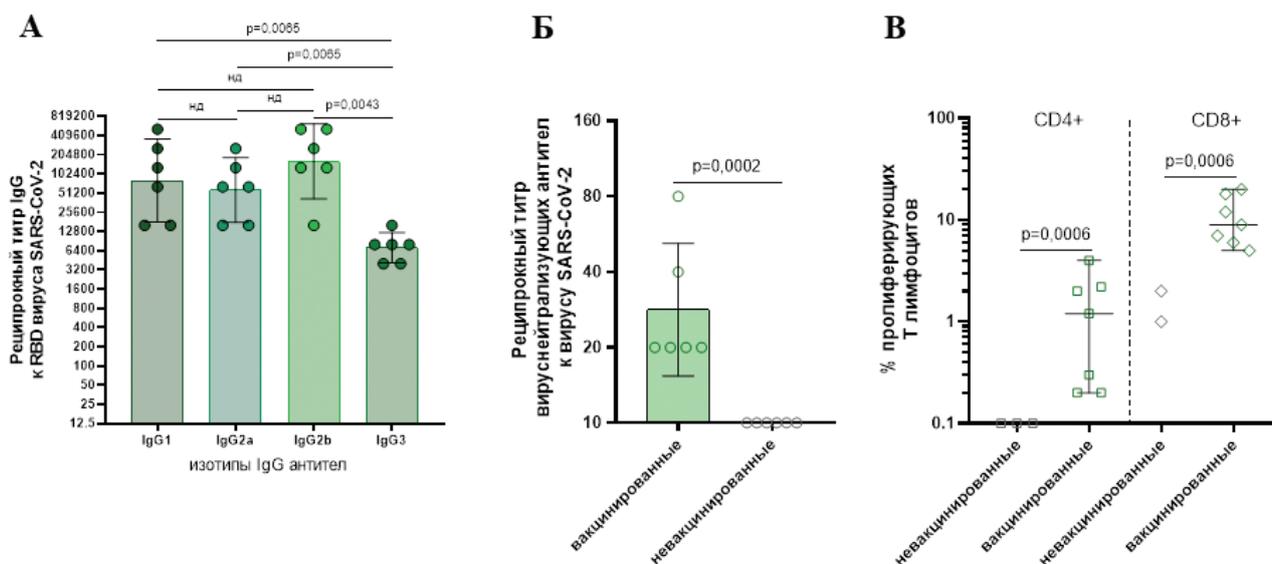


Рис. 5. Анализ иммунного ответа после гетерологичной прайм-буст вакцинации

А – определение изомеров IgG антител, Б – оценка нейтрализующих антител к вирусу SARS-CoV-2, В – оценка количества пролиферирующих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, статистически достоверная разница по Т-критерию Манна-Уитни обозначена символом р, нд – отсутствие статистически достоверной разницы.

тия иммунного ответа. Однако наличие нейтрализующих антител в настоящее время служит основным маркером протективной активности вакцин. RBD-специфичные IgG антитела, индуцированные введением рекомбинантных аденовирусов rAd26-S-CoV2 и rAd5-S-CoV2 в режиме прайм-буст, обладали вируснейтрализующей активностью (рис. 5Б).

Анализ количественных показателей клеточного иммунитета показал достоверное увеличение CD4+ и особенно CD8+ субпопуляций Т-лимфоцитов у иммунизированных животных по сравнению с невакцинированными.

Наши результаты свидетельствуют о том, что двукратная иммунизация в режиме прайм-буст рекомбинантными аденовирусами rAd26-S-CoV2 + rAd5-S-CoV2 приводит к большим значениям не только титров специфичных IgG антител, но и CD4+, CD8+ Т-лимфоцитов по сравнению с однократной иммунизацией, что показывает преимущества бустерной схемы вакцинации.

Заключение

В многочисленных предыдущих исследованиях аденовирусные векторные вакцины показали свою иммуногенность, безопасность и масштабируемость производства. В данной работе охарактеризованные по биологическим и иммунологическим параметрам Ad26 и Ad5 демонстрируют высокий потенциал в качестве эффективного вакцинного препарата и могут быть использованы для конструирования современных безопасных и эффективных вакцин, тем самым представляя собой надёжный инструмент в борьбе с глобальной угрозой COVID-19.

Детальное изучение иммунного ответа (антиген-специфичных IgG антител и их подклассов, ВНА, пролиферации CD4+, CD8+ Т-лимфоцитов) важно для понимания механизмов противовирусного иммунитета, особенно в контексте иммунизации векторными вакцинами и возможного будущего развития и более широкого применения технологии на основе рекомбинантных аденовирусов.

Литература

- Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017.
- Du Toit A. Outbreak of a novel coronavirus. *Nat Rev Microbiol.* 2020;18(3):123. doi:10.1038/s41579-020-0332-0.
- Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med.* 2021;27(4):601-615. doi:10.1038/s41591-021-01283-z.
- Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan,

China. *Lancet.* 2020;395(10223):496. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

- Lu H, Stratton CW, Tang YW. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. *J Med Virol.* 2020;92(4):401-402. doi:10.1002/jmv.25678.

- Jain S, Venkataraman A, Wechsler ME, et al. Messenger RNA-based vaccines: Past, present, and future directions in the context of the COVID-19 pandemic *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;179:114000. doi:10.1016/j.addr.2021.114000.

7. Yadav T, Srivastava N, Mishra G, et al. Recombinant vaccines for COVID-19. *Hum Vaccin Immunother.* 2020;16(12):2905-2912. doi:10.1080/21645515.2020.1820808.
8. Jacob-Dolan C, Barouch DH. COVID-19 Vaccines: Adenoviral Vectors. *Annu Rev Med.* 2022;73:41-54. doi:10.1146/annurev-med-012621-102252.
9. Hasanpourghadi M, Novikov M, Ertl HCJ. COVID-19 Vaccines Based on Adenovirus Vectors. *Trends Biochem Sci.* 2021;46(5):429-430. doi:10.1016/j.tibs.2021.03.002.
10. Kerstetter LJ, Buckley S, Bliss CM, et al. Adenoviral Vectors as Vaccines for Emerging Avian Influenza Viruses. *Front Immunol.* 2021;11:607333. doi:10.3389/fimmu.2020.607333.
11. Zhu J, Huang X, Yang Y. Innate immune response to adenoviral vectors is mediated by both Toll-like receptor-dependent and -independent pathways. *J Virol.* 2007;81(7):3170-3180. doi:10.1128/JVI.02192-06.
12. Sayedahmed EE, Kumari R, Mittal SK. Current Use of Adenovirus Vectors and Their Production Methods. *Methods Mol Biol.* 2019;1937:155-175. doi:10.1007/978-1-4939-9065-8_9.
13. Черенова Л.В., Каштиго Т.В., Саядян Х.С., и др. Разработка вакцин на основе аденовирусных векторов: обзор зарубежных клинических исследований. *Медицинская иммунология.* 2017;19(2):111-126. doi:10.15789/1563-0625-2017-2-111-126.
14. Abbink P, Lemckert AA, Ewald BA, et al. Comparative seroprevalence and immunogenicity of six rare serotype recombinant adenovirus vaccine vectors from subgroups B and D. *J Virol.* 2007;81(9):4654-4663. doi:10.1128/JVI.02696-06.
15. Ожаровская Т.А., Попова О., Зубкова О.В., и др. Разработка и характеристика векторной системы на основе аденовируса обезьян 25-го серотипа. *Вестник РГМУ.* 2023;1:4-11. doi:10.24075/vrgmu.2023.006.
16. Tuhvatulin AI, Gordeychuk IV, Dolzhikova IV, et al. Immunogenicity and protectivity of intranasally delivered vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine Sputnik V in mice and non-human primates. *Emerg Microbes Infect.* 2022;11(1):2229-2247. doi:10.1080/22221751.2022.2119169.
17. Logunov DY, Zubkova OV, Karyagina-Zhulina AS, et al. Identification of HI-like loop in CELO adenovirus fiber for incorporation of receptor binding motifs. *J Virol.* 2007;81(18):9641-9652. doi:10.1128/JVI.00534-07.
18. Garas MN, Tillib SV, Zubkova OV, et al. Construction of a pIX-modified Adenovirus Vector Able to Effectively Bind to Nanoantibodies for Targeting. *Acta Naturae.* 2014;6(2):95-105.
19. Islamov RR, Bashirov FV, Sokolov ME, et al. Gene-modified leucoconcentrate for personalized ex vivo gene therapy in a mini pig model of moderate spinal cord injury. *Neural Regen Res.* 2021;16(2):357-361. doi:10.4103/1673-5374.290902.
20. Rubenwolf S, Schütt H, Nevels M, et al. Structural analysis of the adenovirus type 5 E1B 55-kilodalton-E4orf6 protein complex. *J Virol.* 1997;71(2):1115-1123. doi:10.1128/JVI.71.2.1115-1123.1997.
21. Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol.* 2014;20(5):520. doi:10.3389/fimmu.2014.00520.
22. Goyins KA, Yu JJ, Papp SB, et al. Isotyping and quantitation of the humoral immune response to SARS-CoV-2. *Exp Biol Med (Maywood).* 2022;247(12):1055-1060. doi:10.1177/15353702221084966.
23. Lee WS, Wheatley AK, Kent SJ, et al. Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nat Microbiol.* 2020;5(10):1185-1191. doi:10.1038/s41564-020-00789-5.
24. Moura AD, da Costa HHM, Correa VA, et al. Assessment of avidity related to IgG subclasses in SARS-CoV-2 Brazilian infected patients. *Sci Rep.* 2021;11(1):17642. doi:10.1038/s41598-021-95045-z.
25. Aalberse RC, Stapel SO, Schuurman J, et al. Immunoglobulin G4: An odd antibody. *Clin. Exp. Allergy.* 2009;39:469-477. doi:10.1111/j.1365-2222.2009.03207.x.
26. Andualem H, Kiros M, Getu S, et al. Immunoglobulin G2 Antibody as a Potential Target for COVID-19 Vaccine. *Immunotargets Ther.* 2020;9:143-149. doi:10.2147/ITT.S274746.
27. Гуцин В.А., Мануйлов В.А., Мазунина Е.П., и др. Иммунологическая память как основа рациональной вакцинопрофилактики населения. Обоснование создания системы сероэпидемиологического мониторинга в России. *Вестник РГМУ.* 2017;5:5-28.

Сведения об авторах

Зубкова Ольга Вадимовна – к.б.н., в.н.с. лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: olga-zubkova@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7893-8419.

Ожаровская Татьяна Андреевна – к.б.н., с.н.с. лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: t.ozh@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7147-1553

Попова Ольга – м.н.с. лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: olga.popova31@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-3248-1227.

Воронина Дарья Владимировна, м.н.с. лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: daryavoronin2009@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-6629-744X.

Зрелкин Денис Игоревич – м.н.с. лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: aleza4striker@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-0899-8357.

Тухватулин Амир Ильдарович – к.б.н., зав. лаб. микоплазм и L-форм бактерий ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: amir_tuhvatulin@yahoo.com. ORCID: 0000-0001-8506-2339.

Джаруллаева Алина Шахмировна – к.б.н., н.с. лаб. клеточной микробиологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: alina-dzharullaeva@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1743-0798.

Должилова Инна Вадимовна – к.б.н., зав. лаб. государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: dolzhikova@gamaleya.org. ORCID: 0000-0003-2548-6142.

Щебляков Дмитрий Викторович – к.б.н., зав. лаб. иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: sdmiriyv@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1289-3411.

Логунов Денис Юрьевич – д.б.н., академик РАН, зав. лаб. клеточной микробиологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: ldy78@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-4035-6581.

Александр Леонидович Гицбург – д.б.н., академик РАН, профессор, директор ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: gintsburg@gamaleya.org. ORCID: 0000-0003-1769-5059.

Поступила 26.08.2024.

Статья принимает участие в Ермолевском конкурсе научных публикаций