

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2023-22-6-183-200>

Проблемы и коллизии вакцинологии

Е. П. Харченко*

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН

Резюме

В статье рассматриваются ограниченность защитного потенциала иммунной системы, определяемая особенностями эволюционных механизмов, приведших к разнообразию белков, и эволюционно поздним возникновением адаптивной иммунной системы, а также проблемы, связанные с формированием иммунитета к вирусным инфекциям и иммунными коллизиями при вакцинации. На примере гемагглютинаина вируса гриппа H1N1 и S-белка коронавируса SARS-Cov-2 иллюстрируются особенности аминокислотного состава их иммунодоминантных (HA1 и S1) и субдоминантных (HA2 и S2) субъединиц и анализируется возможность создания универсальной вакцины против гриппа. Излагается принцип нового метода выявления линейных пептидных иммуоэпитопов, распознаваемых MHC I и II, и биомаркеров долговременного иммунитета в поверхностных вирусных белках, используемых в вакцинах. Рассматриваются: модель протеолиза белков вакцин в иммунопротосомах и лизосомах; особенности аминокислотного состава поверхностных белков вирусов; вакцины, способные вызывать долговременный иммунитет; вирусы, вакцины к которым еще не разработаны, а также возможные коллизии с мРНК-вакцинами в связи с выявлением ограничений в кодировании генов.

Ключевые слова: вакцины, вирусы, иммунодоминантность, иммуоэпитопы, иммунитет, прогнозирование, иммунные коллизии

Problems and Collisions of Vaccinology

EP Kharchenko**

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Federation, St. Petersburg

The article discusses the limitations of the protective potential of the immune system associated with the peculiarities of the evolutionary mechanisms of the emergence of protein diversity and the late emergence in the evolution of the adaptive immune system, as well as problems associated with the formation of immunity to viral infections and immune collisions during vaccination. Using the example of hemagglutinin of the H1N1 influenza virus and S protein of the SARS-Cov-2 coronavirus, the features of the amino acid composition of their immunodominant (NA1 and S1) and subdominant (NA2 and S2) subunits are illustrated and the possibility of creating a universal vaccine against influenza viruses is analyzed. The principle of a new method for detecting linear peptide immunoepitopes recognized by MHC I and II and biomarkers of long-term immunity in surface viral proteins used as vaccines is described. The model of proteolysis of vaccine proteins in immunoproteosomes and lysosomes, features of the amino acid composition of surface proteins of viruses to which vaccines cause long-term immunity, and viruses to which vaccines have not yet been developed, as well as possible collisions with mRNA vaccines are examined. Possible collisions with mRNA vaccines are also being considered in connection with the identification of gene encoding limitations.

Keywords: vaccines, influenza viruses, immunodominance, immunoepitopes, immunity, prediction, immune collisions

Вакцины – ценнейшее приобретение медицины в борьбе против эпидемий и пандемий, вызываемых инфекционными агентами, природа которых может быть весьма разнообразной. В последние годы активно используется лечебная вакцинация, в частности в онкологии. Классические методы вакцинологии мало эффективны в борьбе против быстро мутирующих возбудителей инфекций или возбудителей со сложной биологией. Извечная проблема вакцинологии – как

обеспечить эффективность и безопасность вакцин, формируя прочный долговременный иммунитет к возбудителю, – по-прежнему актуальна.

Эффект вакцин основан на индукции в организме синтеза антител (Ат). Это сложный процесс, связанный с участием герминативных центров вторичных образований иммунной системы (ИС). В герминативных центрах происходят сложные взаимодействия ансамблей клеток и их регуляторов. Хотя сегодня наука располагает возможностями

* Для переписки: Харченко Евгений Петрович, д. б. н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44. +7 (812) 552-70-31, neuro.children@mail.ru. ©Харченко Е. П.

** For correspondence: Kharchenko Eugene P., Dr. Sci. (Biol.), leader researcher Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, 44 Torea pr., St. Petersburg, Russian Federation, 194223, +7 (812) 552-70-31, neuro.children@mail.ru. ©Kharchenko EP.

детально охарактеризовать в различных аспектах одиночную клетку, но, увы, по одной клетке практически невозможно судить о динамике изменений в ИС при антителогенезе, разнесенном как в пространстве, так и во времени и подверженном влиянию и систем всего организма. Большая часть информации о функционировании герминативных центров приобретена посредством проточной цитометрии и гистологии, и данные, полученные с помощью этих методов, служат основой для создания моделей структурно-функциональной организации герминативных центров.

Если характеризовать развитие вакцинологии в последнее десятилетие, то следует отметить, что не удалось преодолеть проблемы с созданием вакцин против ВИЧ-инфекции и гриппа, а настоящим экзаменом для нее стала пандемия Covid-19, породившая около 150 вакцин. Однако ни одна из них не обеспечила длительный иммунитет и не стала совершенным противодействием против новых возникающих штаммов коронавирусов. Прорыв произошел, что нельзя не отметить, лишь по линии быстрого и широкомасштабного производства вакцин в результате внедрения мРНК-вакцины. Перспективность ее связана с возможностью создания экономных (емких) поливалентных вакцин, сводя до минимума балластный антигенный груз, свойственный убитым, живым и векторным вакцинам. Опасности встраивания в геном вакцинируемого мРНК-вакцина не несет, быстро деградирует и перспективна для использования в качестве платформы при создании вакцин разного назначения. Но и этот тип вакцины не приблизил нас к полному пониманию, как формируется долговременный эффективный специфичный иммунный ответ и как преодолеть разнообразные защитные механизмы возбудителей инфекций.

Говоря о новых вакцинах, следует заметить, что неполнота знаний о структурно-функциональной организации ИС и неудачи с получением эффективных вакцин против многих инфекционных агентов классическими методами побудили исследователей к разработке вакцин, действие которых отличается от того, что происходит с ИС при естественной инфекции. Такой подход можно рассматривать, как «индукцию неестественного иммунитета» [1]. Но и он срывает не всегда и не решает проблему с получением вакцин против быстро мутирующих вирусов или вирусов со сложной биологией. В полной мере стала очевидной определяющая роль антигена в структурировании специфичности иммунного ответа и вспомогательная роль платформы для антигена и способа его введения в организм.

Представляется естественным задать вопрос: не является ли «индукция неестественного иммунитета» нарушением физиологических границ ИС человека и игнорированием сложившихся в ней эволюционных ограничений? Ведь функции ИС не только в защите от инфекций,

и попытки навязать ей действия и состояния, желаемые нашему разуму, чреваты ломкой существующего в ней клеточного гомеостаза и программного функционирования. В рамках здравого смысла не лучше ли обратить более пристальное внимание к естественным истокам формирования иммунитета, к его ключевым процессам и ограничениям в них, анализируя и сравнивая белки разных вирусов с разными исходами по формированию иммунитета при естественном течении инфекции или вакцинации с целью выяснения перспектив использования того или иного вирусного белка в вакцине, выявления биомаркеров узнавания в вакцинных белках иммунных эпитопов (ИЭ), их иммунодоминантности и ассоциацией с формированием длительного иммунитета. Биоинформатика становится важным инструментом в определении стратегии конструирования вакцин и прогнозирования их свойств. Рассмотрим этот подход с акцентом на вирусы гриппа и коронавирусы.

В гонке за вакциной против Covid-19 у ее участников нет недостатка в выборе: убитая вакцина, множество модификаций векторных вакцин, мРНК, субъединичная и пептидная вакцины, вирусоподобные частицы, нановакцины. Если класть на чашу весов, определяющих важность вклада иммуногена и его платформы в эффективность и безопасность вакцины, то, признавая существенную роль платформы, первоначально решается проблема выбора самого иммуногена, а лишь потом «примеряется» к нему соответствующая платформа. Изобретательность по части платформ вакцин по своему характеру является биотехнологической. Что же касается выбора «правильного» иммуногена, то он требует основываться на глубоких фундаментальных положениях иммунологии и представляется очень сложной задачей, и первая генерация вакцин против Covid-19 построена в основном на ловле удачи в выборе платформы при единообразии антигена. Важность вклада платформы вакцины в индукцию самих Ат неоспорима, но особенность индуцируемого иммунного ответа в отношении свойств Ат (нейтрализующих или протективных), широта их специфичности, долговременность иммунитета обуславливаются природой самого иммуногена.

Границы иммунной системы

Функционирование ИС не автономно от других систем организма и согласовано с эволюционно сложившимися связями между ними, которые могут полностью блокировать, ограничивать или способствовать эффекторным реакциям врожденной и адаптивной ветвей ИС. Иммунную систему можно охарактеризовать как сложный функционально-структурный ансамбль молекул и клеток обеих ее ветвей. Иерархичность в структурно-функциональной организации ИС обуславливается, прежде всего, более ранним возникновением врожденной ИС, намного превосходящей возраст адаптивной ИС,

и поэтому она функционально глубже, чем адаптивная, связана с различными системами организма. Иммунная реакция стартует с включением врожденной ИС и завершается с ее участием.

Непрерывное обновление клеток ИС и их циркуляция по всему организму представляет ИС как размытую систему с континуумом состояний дифференциаций и линий (популяций, клонов) клеток, в котором каждая клетка проявляет в данный момент ее жизненного цикла определенный уникальный паттерн качеств, реализуемых ее геномом. Динамичность и регулярная обновляемость клеточных популяций ИС и цитокинов избавляют организм от сыгравших свою роль клонов лимфоцитов, оставляя их клетки памяти и позволяя снова и снова возникать другим клонам. Есть все основания также как и терминами (необходимый и достаточный признаки) характеризовать ИС как нечеткое множество. Ей свойственны его особенности: многозначность, ненадежность, неполнота, нечеткость, неточность и недетерминированность. Даже полученные из одного клона клеток так называемые моноклональные Ат всегда полиспецифичны [2]. Иллюстрацией нечеткости функционирования ИС служит и то, что любой ИЭ может быть распознан разными Т-клеточными рецепторами и, следовательно, активировать большое множество клонов лимфоцитов, т.е. иммунное узнавание можно охарактеризовать как поликлональное. Любой же клон лимфоцитов способен распознавать различные ИЭ, что можно было бы определить как полиузнавание [3]. При этом иммунное узнавание не сводится лишь к взаимодействию комплекса МНС-эпитоп с Т-клеточным рецептором, а является результатом коллективного взаимодействия разных клеток, поскольку ключевым моментом служат последствия контакта комплекса МНС-эпитоп с Т-клеточным рецептором, а последствия контакта неоднозначны. Этот контакт является триггером последующей, уже подготовленной (запрограммированной) цепи молекулярно-клеточных событий, определяемых состоянием участников иммунного узнавания, средой, в которой оно происходит, и составом и состоянием других участников эффекторного ответа ИС, и прежде всего – герминативных центров. В них происходит второй раунд созревания аффинности Ат (реализуемый после встречи В-клеток с антигеном) – диверсификацией генов иммуноглобулинов соматическими гипермутациями. А первый раунд диверсификации генов иммуноглобулинов происходит в наивных В-клетках до встречи с антигеном через механизм соматической рекомбинации V(D) и J генных сегментов. Оба раунда диверсификации иммуноглобулинов стохастичны по своей природе с непрерывной селекцией В-клеток в герминативных центрах. Структурирование герминативных центров на зоны со специализированным составом в них клеток ИС и запрограммированными в них этапами межклеточных конкурентных взаимодействий, ведущих в итоге к созреванию либо

гибели В-клеток, несомненно являет собой пример нечеткой системы. Непознанная полностью сложность процессов в ИС способна ставить в тупик создателей вакцин.

Состав компартментов герминативных центров тесно связан с их функцией. В темной зоне В-клетки пролиферируют и подвергаются соматическим гипермутациям, формируя популяцию клеток, экспрессирующих близкородственные Ат с разной способностью (аффинностью) связывать антиген. Далее мутантные В-клетки мигрируют в светлую зону, где тестируют обновленные рецепторы на презентруемых фолликулярными дендритными клетками антигенах и получают помощь от родственных фолликулярных Т-хелперных клеток, в результате чего происходит позитивная селекция В-клеток, экспрессирующих Ат с более высокой аффинностью. Разделение процессов пролиферация/гипермутация и связанной с антигеном селекции между темными и светлыми зонами герминативных центров требует динамичной миграции В-клеток между этими зонами [4,5].

Судьба В-клетки (пролиферация, смерть либо выход) в герминативных центрах определяется свойствами их поверхностных рецепторов, распознающих антиген. Возрастание средней аффинности рецепторов в В-клетках влечет их клональную экспансию (позитивная селекция), в то время как пул В-клеток с более низкой аффинностью пропорционально сокращается. При этом эффективность Ат определяется не только аффинностью и длительностью созревания, но и тонкой эпитопной специфичностью пула Ат, возникающих в результате селективного процесса В-клеток. Отсутствие клонального разнообразия в пуле Ат облегчает вирусу избегание гуморального иммунитета мутированием. Лишь порождение и сосуществование в герминативных центрах множества разных клонов В-клеток к разным ИЭ обеспечивает эффективность гуморального иммунитета [4,5].

Высокая аффинность рецептора В-клетки к презентруемому ею эпитопу предопределяет ее более тесный и длительный контакт с фолликулярной Т-хелперной клеткой и соответственно более протяженный сигналинг, осуществляемый последней. Кроме того, выраженная аффинность рецептора В-клетки к презентруемому ею эпитопу предопределяет следование В-клетки по пути позитивной селекции. Исходя из известных данных о межмолекулярных взаимодействиях между белками (белками и пептидами) и участия в них разных сил (ионных, гидрофобных, водородных и ван-дер-ваальсовых), самое сильное взаимодействие (соответственно высокая аффинность рецепторов) связано с участием ионных сил, реализуемых полярными аминокислотами. Поэтому при наличии в ИЭ полярных аминокислот созревание аффинности рецептора В-клетки должно бы проявляться появлением в нем (посредством соматических гипермутаций) в соответствующих позициях

комплементарных полярных аминокислот. В этом аспекте при поисках маркеров иммунодоминантности и долговременности иммунитета представляет интерес сравнение особенностей первичной структуры белков вирусов (используемых в вакцине), вызывающих и не вызывающих длительный/пожизненный иммунитет,

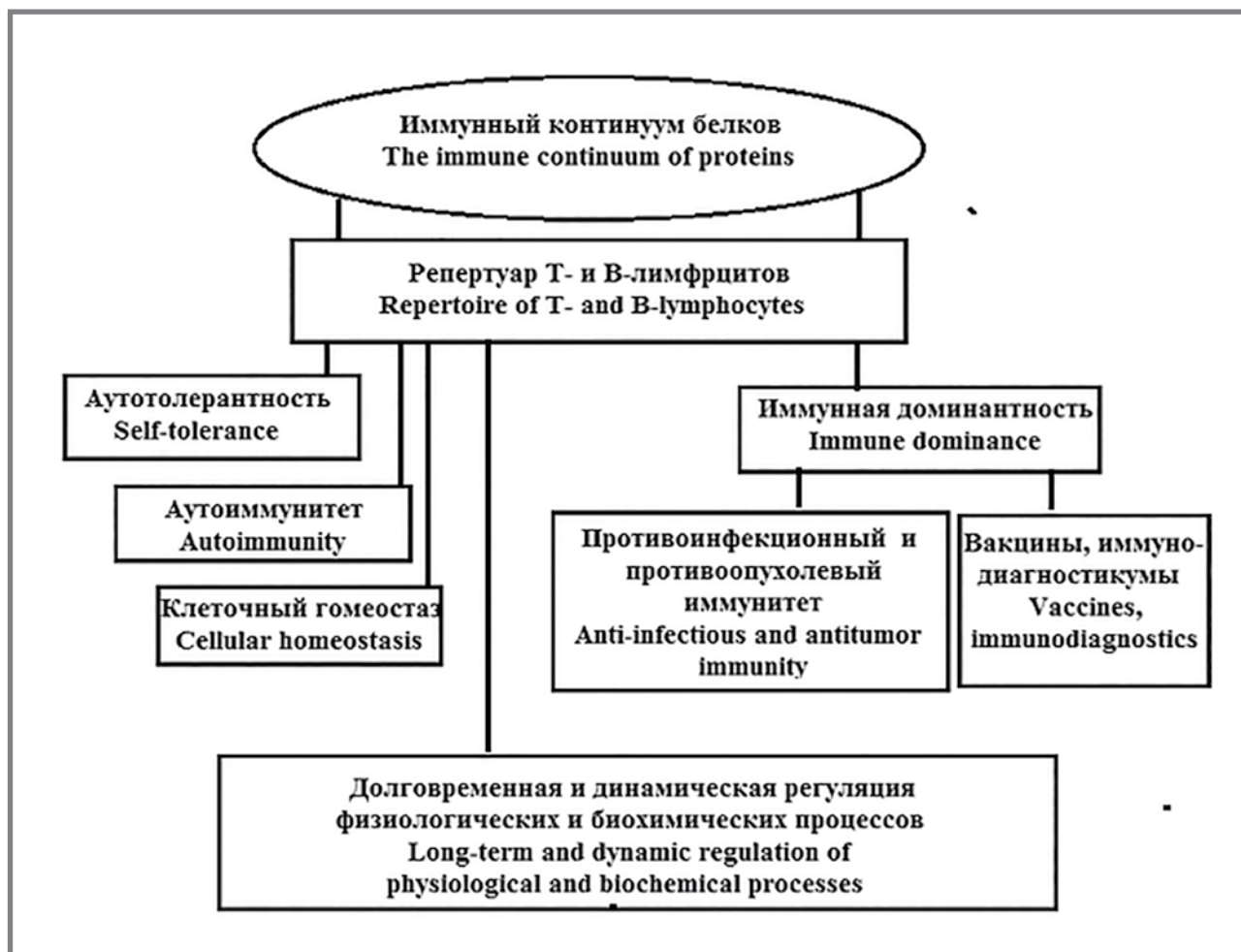
Способность вакцинации обеспечить защиту против инфекций ограничена возможностями ИС и особенностями ее эволюционного формирования, связанного, с одной стороны, с существованием во всей эволюционной иерархии клеточных организмов и вирусов пептидного континуума родства белков (частным проявлением служит иммуоэпитопный континуум родства белков) [6] и, с другой стороны, с распространенностью генетической рекомбинации между вирусами и человеком и особенностями биологии вирусов [7,8].

Адаптивная ИС возникла на уровне позвоночных, намного позднее развития основных функциональных систем и вовлеченных в них белков, и обречена формироваться и функционировать на предуготовленном ей иммуоэпитопном континууме родства белков, который ответственен за многие процессы, происходящие в ИС. Некоторые из них представлены на рисунке 1 [6].

Проявление в организме континуума родства белков и иммуоэпитопного континуума родства при вакцинации будет определяться репертуаром лимфоцитов, в котором могут быть элиминированы, блокированы либо недостаточно представлены лимфоциты, распознающие «свои» ИЭ, идентичные либо гомологичные вирусным белкам, т.е. в отношении части ИЭ вирусов ИС хозяина «ослеплен» [6]. Лишь частичная распознаваемость ИЭ вирусных белков как чужеродных объясняет феномен иммунной доминантности в аспекте способности ИС реагировать лишь на малую долю ИЭ из их большого множества. Если на «ослепляющие» ИЭ и возникает реакция ИС, например, выработкой Ат, то по времени она непродолжительна, поскольку организм элиминирует сами Ат и клоны В-лимфоцитов, их синтезирующие, минимизируя риск возникновения аутоиммунного заболевания.

Свежим примером такой реакции ИС служит непродолжительный эффект вакцинации против SARS-Cov-2, белки которого включают в себя множество фрагментов, гомологичных множеству белков человека [9]. У переболевших же Covid-19 нередко его продолжением оказываются различные аутоиммунные заболевания в результате, по-видимому, разблокировки либо размножения

Рисунок 1. Некоторые возможные проявления иммуоэпитопного континуума родства белков [6]
Figure 1. Some possible manifestations of the immunoepitopic continuum of protein relationship



клонов лимфоцитов, аутореактивных к белкам хозяина, содержащим последовательности, гомологичные белкам SARS-Cov-2 [10].

Весомой аргументацией возникновения реактивности ИС на «ослепляющие» ИЭ при Covid-19 служит концепция критериев иммуногенности [11]. В соответствии с нею, для реакции ИС на антиген важны его количество, выраженные молекулярные отличия от предсуществовавшего в организме континуума антигенов и скорость возникновения новой антигенной модификации, т.е. внезапным появлением в организме паттернов антигенов, которые сильно отличаются от того континуума антигенов, с которым рецепторы клеток ИС непрерывно взаимодействовали ранее. И инфекция, и вакцинация против инфекционного агента отвечают перечисленным критериям иммуногенности, и в этом аспекте не только сам вирус SARS-Cov-2, но и изготовленная из него или его компонентов вакцина не лишена риска индукции у прививаемых аутоиммунной реакции.

Нельзя не заметить, что ограниченность возможностей ИС и ее защитного потенциала кажется парадоксальной при наличии огромного потенциала в создании многообразия Ат за счет рекомбинирования их V, J и D генов и созревании специфичности Ат в герминативных центрах лимфоидных органов посредством соматических мутаций их генов. ИС не в состоянии противостоять не только ВИЧ, но и множеству других вирусов. Вовлеченность в формирование специфичности и разнообразия Ат двух раундов, разнесенных по времени и в пространстве с участием нескольких типов клеток, – не признак щедрости природы, а свидетельство сложности этого фильтруемого процесса, еще не полностью раскрытого исследователями.

Моделирование протеолиза вакцины

Первопричина неудач с разработкой вакцины может быть связана с антигенным процессингом: белки инфекционного агента, используемые при разработке вакцины, могут деградировать в клетках до пептидов, протяженных либо малых по длине. В результате их экспонирование в качестве ИЭ в МНС окажется невозможным. Прогнозирование реакции ИС индивидуума на ИЭ патогена осложняется многочисленностью гаплотипов МНС, выявленной в последние годы размытостью путей представления антигена через МНС I и МНС II, а также особенностями иммунопротеасом и лизосом в разных типах клеток.

В антиген-презентирующих клетках МНС I комплексируется с пептидами длиной в 9-11 аминокислот из белков, синтезированных внутриклеточно (например, в случае аттенуированной живой вакцины или векторной вакцины) и процессированных в иммунопротеасомах, в эндоплазматическом ретикулуме, а внеклеточные белки (например, убитая или субъединичная вакцина) фагоцитируются

антиген-презентирующими клетками и деградируются в составе эндосом лизосомами, и их фрагменты длиной в 14–23 аминокислот комплексируют с МНС II.

Однако оба класса МНС имеют доступ к экзогенным и эндогенным антигенам, и презентацию МНС I пептидов из экзогенных белков, интернализованных эндоцитозом или фагоцитозом, именуют кросс-презентацией. Сам же спектр образованных ИЭ будет определяться составом протеаз в лизосомах и иммунопротеасомах в разных типах клеток и условиями протекания процесса протеолиза. К тому же антителогенез запускается координированным узнаванием ИЭ рецепторами В-клеток, которые распознают его трехмерную структуру, и рецепторами хелперных Т-клеток, узнающими линейную структуру ИЭ. Облегчает протеолиз наличие в белке дезорганизованных областей, а третичная структура, как и внутримолекулярные связи, например, дисульфидные, препятствуют деградации.

Моделирование протеолиза белка позволяет оценить спектр выщепляемых из него пептидов как по длине, так и по первичной структуре, однако обречено быть «размытым» из-за возможной одновременной вовлеченности в него протеаз иммунопротеасом и лизосом (содержащих общие компоненты и способных взаимодействовать), а также присутствующих в цитоплазме клеток каспаз и кальпаинов. Поскольку конкретная цель моделирования протеолиза заключается в зондировании возможности образования пептидов, соответствующих по своей длине ИЭ и комплексируемых с МНС I и МНС II, то, возможно, в моделируемый протеолиз ввести ограничения по участию в нем числа протеаз с учетом того, что, по сравнению с протеосомами, в иммунопротеасомах утрачена активность по типу каспазы и усилена трипсиноподобная и химотрипсиноподобная активность, а в лизосомах преобладают катепсины А, субстратная специфичность которых сходна со специфичностью пепсина [12].

В таблице 1 представлены результаты ограниченного протеолиза гемагглютинаина Н1 вируса гриппа и поверхностных белков вируса полиомы и вируса Марбурга в иммунопротеасомах (приняв за сайты для трипсиноподобной активности аргинин и лизин, а для химотрипсиновой активности – тирозин, фенилаланин и триптофан) как поставщиков ИЭ для МНС I и в лизосомах (приняв за сайты специфичности для катепсинов А тирозин, фенилаланин, аспарагиновую и глутаминовую кислоты) как поставщиков ИЭ для МНС II. Выбор белков этих вирусов обусловлен особенностями их аминокислотного составов. Если в гемагглютинине Н1 нет экстремального количества отдельных аминокислот, то поверхностный белок вируса полиомы отличается высоким содержанием основных аминокислот, а поверхностный белок вируса Марбурга содержит очень высокое количество треонина и серина. Продуктами моделирования

ограниченного (исключением дополнительных сайтов специфичности протеаз и участия каспаз и кальпаина) протеолиза представлены незатененные фрагменты в аминокислотных последовательностях белков. Очевидно резкое отличие белков по составу вырезаемых из них пептидных фрагментов: белок вируса Марбурга характеризуется преобладанием крупных фрагментов, белок вируса полиомы отличается доминированием коротких фрагментов, а гемагглютинин Н1 занимает

промежуточное положение с представленностью и коротких, и длинных фрагментов.

Предварительный вывод из полученных данных по моделированию ограниченного протеолиза белков трех разных вирусов дает основание предположить, что лишь гемагглютинин Н1 потенциально может служить источником ИЭ для обоих классов МНС. Заражение человека вирусом Марбург сопряжено со смертью. Нереагирование адаптивной ИС на этот вирус, возможно, связано

Таблица 1. Результаты моделирования протеолиза поверхностных белков вирусов
Table 1. Results of modeling proteolysis of surface proteins of viruses

Гемагглютинин, вирус гриппа (трипсин+химотрипсин) / Hemagglutinin, influenza virus, (trypsin+chymotrypsin)

"MKAILVLLYTFATANADTL CIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLEEDKHNGKLCCLRGVAPLHLCKCNLAGWILGNPECESLSLASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSSEFEIIFPKTSSWPNDHNSKNGVTAACPHAGAKSFYKNIWLVKKGNSYPKLSKSYNDKCKEVLVLWGIIHPSTADQQLSYQNADTVFVGSRRYSKKFKPEIAIRPKVRDQEGRAMNYWTLVEP GDKITFEATGNLVPRYAFAMERNAGSGIISDTPVHDCNTTCQTPKCAINTSLPFQNIHPITICKCPKYVKSTKLRLATGLRNPSIQS RGLFGAIAAGFIEGCGWTGAVDCWYGYHHQNEQSGCYAADLSTQNAIDEITNKVNSVIEKAMTQFTAVGKFEFNHLEKRIENLNKKV DDGFLDIWTVNAELLVLENERITLDYHDSNVKNLYEKVRSQKKNNAKEICNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLN REEIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVVSLGASIFWMCNGLSQCRICI"

Гемагглютинин, вируса гриппа (катепсин А) / Hemagglutinin, influenza virus, (cathepsin A)

"MKAILVLLYTFATANADTL CIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLEEDKHNGKLCCLRGVAPLHLCKCNLAGWILGNPECESLSLASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSSEFEIIFPKTSSWPNDHNSKNGVTAACPHAGAKSFYKNIWLVKKGNSYPKLSKSYNDKCKEVLVLWGIIHPSTADQQLSYQNADTVFVGSRRYSKKFKPEIAIRPKVRDQEGRAMNYWTLVEP GDKITFEATGNLVPRYAFAMERNAGSGIISDTPVHDCNTTCQTPKCAINTSLPFQNIHPITICKCPKYVKSTKLRLATGLRNPSIQS RGLFGAIAAGFIEGCGWTGAVDCWYGYHHQNEQSGCYAADLSTQNAIDEITNKVNSVIEKAMTQFTAVGKFEFNHLEKRIENLNKKV DDGFLDIWTVNAELLVLENERITLDYHDSNVKNLYEKVRSQKKNNAKEICNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLN REEIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVVSLGASIFWMCNGLSQCRICI"

Большой t-антиген, вирус полиомы, (трипсин+химотрипсин) / Large t antigen, Polyomavirus, (trypsin+chymotrypsin)

"MDKVLNREESMELMDLLGLDRSAWGNIPVMRKAYLKKCKELHPDKCGDEDKMKRANFLYKKMEQGVKVAHQPDFGTWNSSEVPTYGTDEWESWNTFNEKWDEDLFCHEEMFASDDENTGCSQHSPTPKKKKKVEDPKDFPVDLHAFLSQAVFSNRTVASF AVYTTKEKAQILYKKLMEKYSVTISRHCFCGHNILFFLTPHRRHVSAINNYCQKLCFSEFLICKGVNKEYLFYSALCRQPYAVVEES IQGCLKEHDFNPEEPETKQVSWKLVTOYALETKCEDVFLLMGMYLDFQENPQCKKCKEKKDQPNHFNHHEKHYYNAQIFADSK NQKSICQQAVIDTVAQRVDSIHMTREEMLVERFNELLDKMDLIFGAHGNVLEQYMAAGVAVIHCLLPQMDTVTYDFLKCIVLNP KKRYYWLFKGPIDSGKTTLLAALLDLCCGKSLNVMPLERLNFELGVGIDQFMVVFEDVKGTGAESRDLPSCHGISNLDCLRDYDGS SVKVNLERKHQNKRTQVFPFCIVTANEYSVPRTLQARFVRQIDFRPKAYLRKSLSCSEYVLEKRLQSCATLILLIWFPRVADFAA AIHERIVQWKERLDELSMTFTSTMKANVGMRPILDFPREEDSEAESDGHSGSSTESQSQCFQVSEASGADTQENCTFHICKGFCQCF KKPPTPPPK"

Большой t-антиген, вирус полиомы, (катепсин А) / Large t antigen, Polyomavirus, (cathepsin A)

"MDKVLNREESMELMDLLGLDRSAWGNIPVMRKAYLKKCKELHPDKCGDEDKMKRANFLYKKMEQGVKVAHQPDFGTWNSSEVPTYGTDEWESWNTFNEKWDEDLFCHEEMFASDDENTGCSQHSPTPKKKKKVEDPKDFPVDLHAFLSQAVFSNRTVASF AVYTTKEKAQILYKKLMEKYSVTISRHCFCGHNILFFLTPHRRHVSAINNYCQKLCFSEFLICKGVNKEYLFYSALCRQPYAVVEES IQGCLKEHDFNPEEPETKQVSWKLVTOYALETKCEDVFLLMGMYLDFQENPQCKKCKEKKDQPNHFNHHEKHYYNAQIFADSK NQKSICQQAVIDTVAQRVDSIHMTREEMLVERFNELLDKMDLIFGAHGNVLEQYMAAGVAVIHCLLPQMDTVTYDFLKCIVLNP KKRYYWLFKGPIDSGKTTLLAALLDLCCGKSLNVMPLERLNFELGVGIDQFMVVFEDVKGTGAESRDLPSCHGISNLDCLRDYDGS SVKVNLERKHQNKRTQVFPFCIVTANEYSVPRTLQARFVRQIDFRPKAYLRKSLSCSEYVLEKRLQSCATLILLIWFPRVADFAA AIHERIVQWKERLDELSMTFTSTMKANVGMRPILDFPREEDSEAESDGHSGSSTESQSQCFQVSEASGADTQENCTFHICKGFCQCF KKPPTPPPK"

Белок gp, вирус Марбурга, (трипсин+химотрипсин) / Protein gp, Marburg virus, (trypsin+chymotrypsin)

"MKTTCEFLISLILIQGTKNLPILIASNNQPNVDSVCSGLTQKTEDVHLMGFTLSGQKVADSPLEASKRWAFRTGVPPKN VEYTEGEEAKTCYNISVTDPSGKSLLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGNPHAQIALHLWGAFLLYDRIASTMYRGKVFTEGNIAA MIVNKTIVHKMFISRQCGCYRHMNLTSNKYWTSSNGTQNTDTCFGALQEYNSTKNQTCAPSKIPPPLPTARPEIKLTSTPTDATKL NTDPSDDDELATSGSGSCGEREPHTTSDAVTKQGLSSTMPPTSPQSPSTPQCGGNTNHSQDAVTELDKNNTTAQPSMPPHNTTIS TNNTSKHNFSTLSAPLQNTTNDNTQSTITENEQTSAPSITLPTGNTTAKSTSSKKGPATTAPNTTNEHFTSPPTPSSTAQHLVYFR RKRSLWREGDMFFFLDGLINAPIDFDPVNTKTIFDESSSSGASAEEDQHASPNISLTSYFPNINENTAYSGENENDCAELRIWVSQ EDDLAAGLSWIPFFCPGIEGLYTAVLKNQNNLVCLRLRANQATAKSELLELLRVTTTEERTFSLINRHAIIDELLTRWGCTCKVLCPDC CIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTCWGLCGKWWTSDWCVLTNLGILLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG"

Белок gp, вирус Марбурга, (катепсин А) / Protein gp, Marburg virus, (cathepsin A)

"MKTTCEFLISLILIQGTKNLPILIASNNQPNVDSVCSGLTQKTEDVHLMGFTLSGQKVADSPLEASKRWAFRTGVPPKN VEYTEGEEAKTCYNISVTDPSGKSLLLDPPTNIRDYPKCKTIHHIQGNPHAQIALHLWGAFLLYDRIASTMYRGKVFTEGNIAA MIVNKTIVHKMFISRQCGCYRHMNLTSNKYWTSSNGTQNTDTCFGALQEYNSTKNQTCAPSKIPPPLPTARPEIKLTSTPTDATKL NTDPSDDDELATSGSGSCGEREPHTTSDAVTKQGLSSTMPPTSPQSPSTPQCGGNTNHSQDAVTELDKNNTTAQPSMPPHNTTIS TNNTSKHNFSTLSAPLQNTTNDNTQSTITENEQTSAPSITLPTGNTTAKSTSSKKGPATTAPNTTNEHFTSPPTPSSTAQHLVYFR RKRSLWREGDMFFFLDGLINAPIDFDPVNTKTIFDESSSSGASAEEDQHASPNISLTSYFPNINENTAYSGENENDCAELRIWVSQ EDDLAAGLSWIPFFCPGIEGLYTAVLKNQNNLVCLRLRANQATAKSELLELLRVTTTEERTFSLINRHAIIDELLTRWGCTCKVLCPDC CIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTCWGLCGKWWTSDWCVLTNLGILLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG"

Примечание: в скобках указано, по сайтам каких протеаз моделировали протеолиз белка. В статье используется международный код аминокислот: А – аланин, С – цистеин, Д – аспарагиновая кислота, Е – глутаминовая кислота, F – фенилаланин, G – глицин, Н – гистидин, I – изо-лейцин, К – лизин, L – лейцин, М – метионин, N – аспарагин, P – пролин, Q – глутамин, R – аргинин, S – серин, T – треонин, V – валин, W – триптофан, Y – тирозин.
Note: in parentheses it is indicated by the sites of which proteases protein proteolysis was modeled.

с непродуктивным процессингом его белков в отношении образования пептидов, презентруемых обоими классами МНС. Относительно белка вируса полиомы, отличающегося высоким содержанием основных аминокислот и протеолизом его на короткие фрагменты, можно прогнозировать также трудности конструирования на его основе вакцины. Аргументацией для такого предположения служит слабая иммуногенность ядерных белков гистонов, отличающихся особенно высоким содержанием основных аминокислот. Пример рассмотренных трех белков разных вирусов свидетельствует о полезности моделирования протеолиза как начального этапа построения стратегии конструирования вакцины и замечателен иллюстрацией того, что уже на уровне ограниченного протеолиза можно предвидеть перспективность выбираемой вакцины-кандидата.

Моделирование протеолиза вирусных белков может также помочь объяснить (прогнозировать) изменение вирулентности разных штаммов вируса, например, в случае пандемических коронавирусов при Covid-19. Так, омикроны отличаются от своих предшественников в пандемии резким увеличением числа лизина и потерей тирозина в их S-белке, что резко изменяет мозаику нарезаемых из него пептидов, обладающих иной биоактивностью.

Иммунодоминантность

Хотя в организме представлено множество аллелей МНС, реакция адаптивной ИС на введенную в организм сложную смесь антигенов асимметрична и иерархична: преимущественная реакция на единичные антигены (именуемых иммунодоминантными) и слабая реакция на остальные (именуемые субдоминантными). В последние годы термин «иммунодоминантность» используется применительно к клеткам адаптивной ИС, реактивным на иммунодоминантные ИЭ, и к Ат.

Насколько белки вирусов могут сильно различаться реагированием на них ИС, иллюстрирует таблица 2, являющаяся фрагментом таблицы из статьи [13], в которой приводятся показатели иммунодоминантности Ат в сыворотке к белкам вируса гриппа А в ответ на инфекцию или иммунизацию. Очевидно отсутствие линейной связи иммунодоминантности с числом структурных белков, приходящихся на вирион.

Не будучи самым многочисленным в структуре вириона, гемагглютинин предстает иммунодоминантным. Еще больше контрастируют по иммунодоминантности структурные белки коронавируса SARS-Cov-2. Если исходить из количества спайков в вирионе 24 ± 9 [14] и содержания в каждом спайке 3 молекул S-белка (т.е. на вирион коронавируса приходится в максимальном варианте всего лишь около 100 молекул) и превосходства размеров вириона коронавируса над вирионом вируса гриппа (что предопределяет большее число М-белка у коронавируса, чем М1-белка в вирионе гриппа), то доля S-белка относительно к М-белку у коронавируса значительно ниже, чем гемагглютинина к М1-белку в вирионе вируса гриппа. Однако именно S-белок коронавируса SARS-Cov-2, как хорошо известно, является иммунодоминантным, что предопределило выбор его при разработке вакцины.

Поскольку иммунодоминантными в гемагглютине и S-белке являются их фрагменты, соответственно HA1 и S1, то следовало бы задать вопрос: как отличаются HA1 и S1 от вторых половин (HA2 и S2) гемагглютинина и S-белка? При принадлежности HA и S-белка совершенно разным вирусам, как и при различиях их первичных структур (по длине молекула S-белка более чем в 2 раза превосходит HA), сопоставление их особенностей кажется некорректным. К тому же молекулярные механизмы их эволюции разные. Однако возможно предпринять их сравнение на низшем уровне характеристик белков (на уровне количественных изменений в аминокислотном составе), соотнося их с проявлением иммунодоминантности фрагментов.

Приведенные в таблице 3 данные аминокислотного состава фрагментов белков свидетельствуют о резком их отличии. Как HA1 отличается от HA2, так и S1 отличается от S2 по содержанию тех аминокислот, которые характерны для внутренне дезорганизованных областей и петель белков. К таковым, как известно, относятся полярные аминокислоты (глутамин, аспарагин, глицин, серин и пролин), обогащенность которыми HA1 и S1 предопределяет наличие в них областей с «вытянутой» конформацией, потенциально способных быть доминантными ИЭ, поскольку их «вытянутая» конформация наиболее конгруэнтна полости в МНС I

Таблица 2. Показатели иммунодоминантности белков вируса гриппа А [13]
Table 2. Immunodominance indicators of influenza A virus proteins [13]

Белок Protein	Число мономеров на вирион Monomer copies per virion	% антительного ответа % of antibody respons	Иммуногенность Immunogenicity
M1	4500	0	0%
NP	1000	10	5%
HA	1200	55	21%
NA	160	35	100%

Таблица 3. Сравнение аминокислотного состава поверхностных и матричных белков вирусов
Table 3. Comparison of amino acid composition of surface and matrix proteins of viruses

Белок, вирус		K	R	H	D	E	P	C	L	I	V	A	Y	W	F	G	M	N	Q	S	T	(I)
HA1	H1N1 A/California/04/2009	26	12	10	15	16	19	9	27	22	22	21	15	6	11	22	3	22	8	32	26	344
HA2	H1N1 A/California/04/2009	16	6	5	11	19	1	6	19	15	14	12	12	4	8	18	4	19	7	15	11	222
M1	H1N1 A/California/04/2009	13	17	6	6	17	8	3	26	10	14	25	5	1	7	16	14	11	14	18	21	252
S1	Wuhan-Hu-1	30	29	9	31	23	37	20	54	34	57	37	36	7	49	45	4	54	28	55	58	697
S2	Wuhan-Hu-1,	31	13	8	31	25	21	20	54	42	40	42	18	5	28	37	10	34	34	44	39	576
M	Wuhan-Hu-1	7	14	5	6	7	5	4	35	20	12	19	9	7	11	14	4	11	4	15	13	222
M белок,	Measles virus	20	23	3	21	15	19	5	37	23	27	17	11	3	15	24	10	15	10	17	20	335
M белок,	Mumps virus	27	20	9	20	11	19	10	31	26	22	30	9	4	13	19	9	11	17	36	17	360
Капсидный белок,	Rubella virus	3	41	6	16	17	40	2	20	3	12	32	4	7	6	29	5	5	15	17	20	308

и МНС II, в которой располагаются ИЭ для узнавания их рецепторами лимфоцитов. Дополнительно заметим, что самые первые методы оценки иммуногенности были основаны на наблюдении, что в ИЭ доля гидрофильных аминокислот гораздо больше, чем гидрофобных.

Весьма характерной особенностью аминокислотного состава субъединиц HA1 и S1 является высокое содержание положительно заряженных аминокислот. Присутствие их в ИЭ должно предопределять тенденцию созревания В-клеток в герминативных центрах увеличением их аффинности, поскольку аргинин и лизин формируют ионные связи, превосходящие по своей силе другие связи, участвующие в образовании межбелковых (или пептида с белком) взаимодействий. При наличии в структуре ИЭ аргинина и лизина созревание рецептора В-клеток в герминативных центрах должно реализоваться (как результат соматических гипермутаций) появлением в рецепторе (топологически комплементарно) другого партнера ионной связи - дикарбоновых аминокислот. В этом аспекте присутствие в структуре ИЭ полярных аминокислот можно рассматривать как маркер иммунодоминантности.

Проявлению иммунодоминантности Ат способствуют высокая частота В-клеток-предшественников, высокая аффинность их рецепторов к антигену, помощь фолликулярных Т-хелперных и регуляторных клеток в герминальных центрах, доступность самого антигена и его конформация, вариация репертуара В-клеток. В числе других факторов, определяющих иммунодоминантность, микробиом хозяина, влияние окружающей среды, генетический статус (он определяет, например, наличие конкретного аллеля МНС, специфику протеасом, генерирующих образование ИЭ) и возраст индивидуума [4,5,15–17]. Первые признаки увядания компетенции ИС отмечаются у лиц старше 50 лет, а в возрасте 70–100 лет истощение ИС проявляется множеством разных клинических проблем. Нестабильность генома, эпигенетические сдвиги, старение клеток, измененный клеточный метаболизм, нарушенный нейрогомеостаз и сдвиги

в составе микробиоты – вот ключевые факторы старения ИС [18]. Возраст индивидуума является определяющим в реакции ИС на инфекцию и вакцинацию.

Распознавание иммунных эпитопов

Реакция адаптивной ИС на вакцинацию старрует презентацией ИЭ МНС I и МНС II лимфоцитам, и знание состава ИЭ в вакцине может предопределять прогноз ее свойств. Используются три основных экспериментальных метода распознавания кандидатов ИЭ. В их числе определение прямого связывания синтезированного пептида МНС, элюция связанных с МНС лигандов с последующей их идентификацией, а также анализ способности Т-клетки реагировать на соответствующий ИЭ-кандидат. С накоплением базы данных по первичным структурам идентифицированных ИЭ и не связывающихся с МНС пептидов (далее в тексте они будут именоваться как неИЭ) возникла возможность компьютерного прогнозирования Т-клеточных ИЭ, что стало неотъемлемым элементом формирующейся ныне компьютерной (вычислительной) вакцинологии. Компьютерному выявлению ИЭ свойственен отход от поиска ИЭ по простейшим каноническим мотивам с характерным расположением якорных аминокислот, присутствующих лишь у трети известных ИЭ [19].

Генетическое многообразие субъединиц МНС I и МНС II, динамичность их структуры, как и конформационные изменения связывающихся с ними ИЭ, позволяют реализовать взаимодействие МНС-ИЭ множеством, однако ограниченным числом, способов. Нейронные сети позволяют успешно распознавать ИЭ. Особенно они эффективны по распознаванию ИЭ, рестриктированных МНС I, однако по ИЭ, рестриктированных МНС II, результаты скромнее [19–22]. Этим, по-видимому, объясняется преобладание (более чем на порядок) количества ИЭ, рестриктированных МНС II, по сравнению с ИЭ, рестриктированными МНС I.

Другой подход распознавания ИЭ построен на иных предпосылках [23]. Его можно

рассматривать как следующий шаг в расширении возможностей прогнозирования вакцин. Этот метод исходит из того, что сложная цепь реакций адаптивной ИС на «не своего» ИЭ стартует узнаванием его, реализуемым межмолекулярным взаимодействием между ИЭ, МНС и рецепторами лимфоцитов. Хорошо известно, для того чтобы ускользнуть вирусу от сформированного ранее инфекцией или вакцинацией иммунитета, достаточно одной мутации в поверхностном белке вируса – настолько тонкие межмолекулярные взаимодействия обеспечивают иммунное узнавание. Сам процесс распознавания ИЭ предполагает связывание его первоначально с МНС, являющимся гетеродимером, а затем с двумя разными молекулами рецептора Т-клеток.

При анализе иммунного узнавания следует исходить из того факта, что в природе межмолекулярные взаимодействия реализуются участием коротких комплементарных фрагментов комплексирующих молекул. Примерами использования природой минимальных «образов» для взаимного распознавания служат обонятельная система и генетический код. Последний является вырожденным, и в 32 его триплетах определяющими являются лишь первые два нуклеотида. Природа не роскошествует.

ИС распознает белки по их коротким фрагментам – ИЭ. Последние служат носителем информации, с одной стороны для МНС, а с другой – для рецепторов Т-клеток. Рецепторы Т-клеток, как и МНС, представляют собой гетеродимеры. Априорно можно предположить, что в связывании ИЭ с полостью МНС задействованы 3 аминокислоты ИЭ (по обоим концам и центральной части ИЭ), еще два контакта реализуют связывание ИЭ с разными цепями рецептора Т-клеток. Если принять длину ИЭ, связывающегося с МНС I, в 9 аминокислот, а ИЭ, связывающегося с МНС II, в 15 аминокислот, то становится очевидным, что каждый из 5 контактов в иммунном узнавании МНС-ИЭ-Т-клеточный рецептор опосредуется участием 1–2 аминокислот в случае ИЭ, рестриктированного МНС I, и не более 2–3 аминокислот в случае ИЭ, рестриктированного МНС II, вовлекая в контакт практически всю последовательность ИЭ. Этим можно было бы объяснить очень слабую аффинность взаимодействий компонентов в комплексах МНС-ИЭ-Т-клеточный рецептор, необходимую для обеспечения динамичности и обратимости самого процесса иммунного узнавания и деградации каждого компонента иммунных комплексов во избежание их патологического накопления в организме.

По поводу ограниченности взаимодействия МНС-ИЭ-рецептор лимфоцита нельзя не заметить, что в адаптивной ИС, исходя из комбинаторных расчетов, возможно образование астрономического числа разных Ат и рецепторов лимфоцитов. Однако, несмотря на исключительное многообразие Ат, в их базовом репертуаре обнаруживаются

общие фрагменты, а в репертуаре рецепторов В- и Т-клеток человека высока частота общих клоно-типов [24,25]. При формировании разнообразия белков природа использовала мозаичные генные комбинации, распространяя их в организмах разных ступеней эволюционного развития, и поэтому в белках эукариот, прокариот и их вирусов обнаруживается квазиидентичность (по иной терминологии: гомология, мимикрия). Поразительным примером эволюционной консервативности от одноклеточных до человека служит хромосомный катионный белок гистон H4.

Да, из 20 природных аминокислот возможно сконструировать астрономическое число белков различной длины, но в природе на их разнообразие существуют ограничения. И рецепторам лимфоцитов, и Ат свойственна доменная структура, и в пределах даже вариабельных их областей присутствуют консервативные каркасные последовательности. В самих же вариабельных областях позволительна не любая комбинация соседства аминокислот, что особенно очевидно даже при анализе состава дипептидов всего белка: некоторые из них присутствуют в минимальном количестве либо вовсе отсутствуют. Сохранение функции белка несовместимо с безграничными изменениями его структуры. При известной беспрецедентной вариабельности гемагглютинаина вирусов гриппа у каждого подтипа и типа вирусов гриппа гемагглютинин обладает каркасом, консервативным в разной степени.

Как отмечено выше, замена в последовательности ИЭ одной аминокислоты может привести к снижению аффинности связывания и даже к утрате способности связываться с МНС, но ИЭ и полученный из него пептидный аналог по своим интегральным физико-химическим свойствам практически неразличимы, что ведет к низкой эффективности их распознавания подходами, основанными на использовании только физико-химических параметров аминокислот [20,21] без учета их последовательности в пептиде. Особенность разработанного нами метода дискриминации связывающихся с МНС II (либо с МНС I) пептидов от неИЭ заключается в обнаружении тонких различий в их первичных структурах, в частности в выявлении по каждой позиции в их аминокислотных последовательностях разрешенных и запрещенных коротких пептидов (ди- и трипептидов) [23]. Поскольку контакты между компонентами в комплексе МНС-ИЭ-Т клеточный рецептор, как отмечено выше, ограничены короткими последовательностями ИЭ (1–3 аминокислоты), анализ включал определение частоты встречающихся как в ИЭ, так и в неИЭ аминокислот, ди- и трипептидов по каждой из позиций (а применительно к дипептидам – и по нескольким позициям одновременно) с записью их в отдельные многомерные массивы компьютерной программы. Такая инвентаризация репертуара коротких пептидов по каждой позиции

аминокислотной последовательности ИЭ и неИЭ обучающих выборок позволила использовать принцип запрета (невозможности) для различения ИЭ от неИЭ [23].

Метод позволил достигнуть правильного распознавания 92–97% ИЭ в тестируемых выборках при полном исключении неИЭ. Распознавание ИЭ представляется ценным в нескольких аспектах. Один из них связан, как отмечалось выше, с дизайном пептидных или субъединичных вакцин и позволяет посредством анализа состава ИЭ и неИЭ в первичной структуре пептида или белка прогнозировать их иммуногенность и тем самым ускорить создание вакцин.

Универсальные вакцины

Многообразие подтипов вирусов гриппа, их вечная изменчивость и ожидания новой пандемии гриппа вновь обострили проблему получения универсальных вакцин. Предложены разные подходы поисков универсальной вакцины, основанные преимущественно на использовании иммунодоминантных консервативных эпитопов в гемагглютанине. Но эти консервативные ИЭ оказываются гомологичными фрагментам белков хозяина и характеризуются недостаточной иммуногенностью, по-видимому, из-за предсуществующей толерантности, и риском возникновения аутоиммунной патологии.

Снижением остроты проблемы с поиском универсальной вакцины против гриппа мог бы послужить альтернативный подход к конструированию противогриппозной вакцины. При высокой генетической изменчивости вируса гриппа традиционно каждый год специальный комитет ВОЗ по гриппу рекомендует состав вакцинных штаммов для обоих полушарий, основываясь на данных эпидемиологического, антигенного и генетического анализов. Ведущим фактором в определении вакцинного штамма служат данные серологического анализа. Однако часто рекомендуемые ВОЗ вакцинные штаммы частично или в значительной степени оказываются неактуальными. Нами был разработан новый биоинформационный подход к прогнозированию доминантной структуры гемагглютинаина для вакцинных штаммов для предстоящих эпидсезонов гриппа с использованием адаптированной скрытой марковской модели [26].

Суть метода состоит в нахождении такой первичной структуры гемагглютинаина (и соответственно штамма, которому она принадлежит), которая максимально была бы близка гемагглютину подавляющего большинства циркулирующих в эпидсезоне штаммов вируса гриппа, т. е. структуры, представляющей собой обобщенный (доминирующий) образ гемагглютинаина циркулирующих в конкретном эпидсезоне штаммов вируса гриппа. Метод был расширен и для прогнозирования универсальной вакцины против гриппа [27], и сегодня с подтверждением (во время пандемии Covid-19)

возможности использовать мРНК вакцины он представляется особенно перспективным, поскольку позволяет конструировать последовательность гемагглютинаина с наибольшим антигенным соответствием циркулирующим штаммам гриппа, превосходя по критерию структурной близости гемагглютинины штаммов, рекомендованных ВОЗ.

Для вирусов гриппа свойственна стабильность длины фрагментов генома (и соответственно белков, которые они кодируют) и делеции и вставки встречаются в них очень редко. База данных по секвенированным геномам вирусов гриппа охватывает штаммы с 1918 г. и по сей день, что позволяет с высокой вероятностью идентифицировать области, например, в гемагглютанине вируса гриппа A(H1N1), сохраняющих инвариантность за более чем столетний период. На рисунке 2 представлена его последовательность (именуемая инвариантной), в которой аминокислоты проставлены только в консервативных позициях, не изменившихся с 1918 г. по 2019 г.

В поиске универсальных вакцин можно выделить по времени их предназначения три уровня [29]. Первый уровень связан с определением 4 вакцинных штаммов (или доминантных аминокислотных последовательностей их гемагглютининов) на предстоящий эпидсезон гриппа. Второй уровень имеет отношение к прогнозированию тенденции эволюции вирусов гриппа на 2–3 года вперед. Прогнозирование пандемий гриппа – предмет анализа третьего уровня и является наиболее сложным. С новыми возможностями использования мРНК-вакцин построенные доминантные аминокислотные последовательности гемагглютининов 4 штаммов далее кодируются в последовательности мРНК с последующим их химическим синтезом. В итоге вакцина будет содержать 4 разных мРНК гемагглютининов без антигенного балласта цельных вирионов.

Предложенный нами подход близок алгоритму COBRA, основанному на поиске консенсусных последовательностей гемагглютинаина разных штаммов гриппа [28]. Хотя алгоритм COBRA и наш алгоритм построения доминантных и инвариантных последовательностей базируются на разных принципах и разных базах данных, общность между консенсусными и доминантными последовательностями гемагглютинаина в том, что в них отражены общие консервативные последовательности разных штаммов [26–29]. Особенность этих консервативных блоков заключается в их расположении вне переменных позиций гемагглютинаина, и по длине своей они соответствуют пептидным ИЭ, презентуемым МНС классов I и II. Особенность нашего метода состоит в том, что используется вся длина гемагглютинаина, поскольку консервативные последовательности в нем, как показал наш анализ, присутствуют и в HA1, и в HA2 (см. рис. 2). Метод можно распространить и на конструирование вакцин против других вирусов, особенно тех,

Рисунок 2. Инвариантная последовательность гемагглютинина вирусов гриппа подтипа H1N1
Figure 2. H1N1 influenza virus hemagglutinin invariant sequence

```

1 MK.IL...L...T.A.A.TLCIGYHANNST.T.DT.LEKNV.VT.SVN.LE..HNG..C.L.G..PL.LG.C.IAGW.LG
81 NPEC.SL..A.SW.YIVETS.SD.GTCYPGDFINY.E.REQLSSVS.FE.FE.FPK..SWPN..S..G.TAAC...G...
161 FYKNL.WL.KKG.SYP..NQ.Y.N.KGKE.LVLWG.HHP.T...Q..LYQN.D.Y.FVGTS.YS.KF.PEI..RPKVR..
241 .GRM.YYWT...PGD..TFE.TGNL..P.YAF..ER...SGI.ISD....CNTTCQT.EGA.NTSLPFQNV.P..IG.C
321 PKY.KS..LRLATG.RN.PS.QSRG.FG.IAGFIEGGWTGMVDGWYGYHH...QGSGYAADLKSTQ.A.D.ITNKNV.VI
401 EKMTQFTAVGKEFNHLEK...NLNKKVDDGFLD.WTYN.ELL..LEN.RTLD.HDSN...Y....QL..NA.EI.NG
481 CFEF.HKC...CME...N.TY.YP.YS.E.K.....I.GV.L..T..YQILAIYST..SSL...VSLGATSFWMC.NGSL
561 QCR.CI

```

Примечание: точками отмечены вариабельные позиции.
 Note: the dots mark the variable positions.

белки которых при мутировании остаются инвариантными по длине.

Ожидания перехода Covid-19 в сезонные эпидемии породили попытки создания единой вакцины против Covid-19 и гриппа. Можно предвидеть, что создание такой эффективной комбинированной вакцины на практике столкнется с рядом труднопреодолимых препятствий хотя бы потому, что вакцина должна быть поливалентной как по коронавирусам, так и по вирусам гриппа, и нацеленной на циркулирующие в эпидсезоне штаммы. Учитывая, что существующие вакцины против обоих вирусов не обеспечивают длительного иммунитета и не обладают широким спектром специфичности на фоне быстро возникающих новых штаммов, привитый комбинированной вакциной может «успеть» в течение эпидсезона переболеть и Covid-19, и гриппом. Возможным подходом к созданию универсальных вакцин мог бы быть путь разработки новых конструкций вакцин и композиций профилактических иммуномодуляторов, обеспечивающих сочетание долговременного адаптивного и тренированного иммунитета.

Долговременный иммунитет

Одним из важнейших качеств вакцины является формирование ею стойкого долговременного иммунитета к инфекционному патогену. Множество вакцин против Covid-19, к сожалению, обеспечивают недолговременную индукцию специфичных Ат, что можно было бы объяснить, как уже отмечалось, наличием в S-белке, использованном в вакцинах, многих последовательностей, гомологичных разным белкам человека. Мимикрия вирусами белков хозяина – распространенный феномен в природе, поэтому естественным представляется вопрос: существуют ли биомаркеры прогнозирования долговременности эффекта, вызываемого вакцинами?

Биоинформативный анализ белков вирусов, вызывающих долговременный иммунитет, показал, что их поверхностные белки резко отличаются от S-белка коронавирусов по аминокислотному составу, особенно по пролину и его сочетанию в первичной структуре с другими аминокислотами [23]. Выявленные особенности побудили расширить

анализ других вирусов с целью прогнозирования их потенциала индукции долговременного иммунитета, и в таблице 4 представлены аминокислотные составы поверхностных белков различных вирусов. В верхней части таблицы (до разделяющей черты) представлены аминокислотные составы поверхностных белков тех вирусов, к которым индуцировался долговременный иммунитет вакцинацией или перенесенной инфекцией, а в нижней части – данные о вирусах, вакцины к которым разрабатываются или поиски их еще не начаты. Общность аминокислотного состава белков вирусов, к которым вырабатывается долговременный иммунитет, проявляется в преобладании тех же аминокислот (характерных для внутренне дезорганизованных областей и петель белков), что и у доминантных ИЭ. Эта особенность была прогнозируема, поскольку без наличия доминантности у ИЭ иммунного ответа не последовал бы этап формирования клеток иммунной памяти. Соответственно следует уточнить, что наличия доминантных ИЭ в белке (вакцине) недостаточно для обладания потенциалом индуцирования долговременного иммунитета. Дополнительным (необходимым) маркером последнего служит повышенное относительное содержание пролина в поверхностных белках вирусов. Фактором, усиливающим потенциал индуцирования долговременного иммунитета, по-видимому, является высокое относительное содержание пролина и в капсидных (матриксных) белках (их аминокислотные составы приведены дополнительно к поверхностным белкам в табл. 3), что характерно для вирусов кори, паротита и краснухи, вызывающих, как известно, пожизненный иммунитет.

Высокое содержание пролина в белках вирусов, к которым индуцируется долговременный иммунитет, обеспечивает, по-видимому, более длительное время полужизни содержащих его ИЭ в результате защиты их от атак трипсиноподобных протеаз. Аргументирует это предположение высокая доля дипептидов из лизина, аргинина и пролина в поверхностных белках вирусов, к которым индуцируется долговременный иммунитет, по сравнению с S-белком коронавируса SARS-Cov2. Как известно, соседствование пролина с лизином или

аргинином с карбоксильного конца существенно препятствует активности трипсина [30].

В списке белков вирусов, к которым разработаны вакцины, индуцирующие долговременный иммунитет, единственным исключением является Е-белок вируса желтой лихорадки, не отличающийся высоким содержанием пролина. Возможным объяснением этого исключения служит то, что для потенциала индукции долговременного иммунитета достаточно содержания в протяженной области белка локально высокой концентрации пролина, что и характерно для Е-белка вируса желтой лихорадки.

Что касается поверхностных белков вирусов, для которых эффективные вакцины еще

не разработаны, то они составляют пеструю мозаику по аминокислотному составу и сильно разнятся по содержанию пролина (см. табл. 4). Особенно высоко его содержание в белках вирусов Nipah, Ebola, Marburg, Norovirus, Hendra, Bocavirus и Astrovirus. Разработка вакцин по-прежнему является трудоемкой, длительной и связана с большими финансовыми затратами. Приведенный в таблице 4 аминокислотный состав поверхностных белков вирусов может ориентировать относительно того, какие подходы могут быть использованы для сокращения сроков разработки вакцин. В случае высокого содержания пролина в поверхностных белках вирусов велик шанс успешности использования более простых

Таблица 4. Аминокислотный состав поверхностных белков вирусов человека
Table 4. Amino acid composition of human virus surface proteins

Вирус (белок)	K	R	H	D	E	P	C	L	I	V	A	Y	W	F	G	M	N	Q	S	T	(L)
В. кори (H)	31	32	16	34	27	35	13	65	35	49	32	24	9	25	40	16	31	18	49	36	(617)
В. паротита (HN)	16	21	7	18	17	34	17	56	37	41	31	27	7	26	38	12	44	25	57	51	(583)
В. полиомиелита (VP1)	15	15	7	17	11	21	2	19	12	27	24	15	4	12	17	5	14	8	24	31	(300)
В. полиомиелита (VP2)	5	12	6	11	11	19	8	26	11	15	20	11	6	11	20	6	22	10	18	24	(272)
В. полиомиелита (VP3)	10	9	5	16	10	19	5	23	14	13	13	8	3	11	13	12	8	7	18	21	(238)
В. краснухи (E1)	9	24	17	16	21	47	24	34	11	40	55	16	15	13	46	3	12	17	22	39	(481)
В. краснухи (E2)	1	19	20	10	4	30	15	28	2	14	36	6	9	6	30	6	6	9	10	21	(282)
В. папилломы 18 (L1)	27	28	16	35	14	47	16	51	25	43	31	29	8	23	35	11	22	26	44	37	(568)
В. папилломы 16 (L1)	34	19	11	28	21	37	13	44	26	36	30	25	7	27	35	11	30	21	33	43	(531)
В. гепатита E (CP)	0	8	3	3	0	21	8	13	3	10	11	0	0	4	9	2	1	3	12	3	(114)
В. гепатита B (L)	3	14	6	11	3	52	14	46	17	14	21	6	18	26	34	9	17	17	41	31	(400)
Ротавирус A (VP4)	34	36	6	47	38	36	5	59	57	51	47	33	9	36	39	14	52	34	76	67	(776)
В. желтой лихорадки (E)	30	16	13	27	24	13	12	35	31	45	36	9	11	19	50	16	20	16	31	39	(493)
В. Нипа (G)	39	22	5	27	26	36	17	49	55	41	23	25	7	21	40	11	45	25	51	37	(602)
В. Зика Zika (E)	29	18	16	26	25	16	13	43	21	41	36	11	10	19	55	17	14	13	36	41	(500)
В. Эбола Zaire (GP)	30	33	18	35	36	35	12	51	41	35	48	15	14	30	53	4	37	27	48	74	(676)
В. Эбола Sudan (GP)	27	33	15	29	40	46	13	60	48	28	43	16	14	24	51	6	38	28	47	70	(676)
В. гепатита A (VP2)	8	8	9	9	12	10	2	21	13	20	13	10	3	10	15	2	8	14	16	19	(222)
В. гепатита A (VP3)	10	11	5	13	7	13	7	15	14	20	17	10	4	16	11	7	13	13	18	22	(246)
В. гепатита A (VP1)	12	11	5	16	12	17	2	23	13	17	15	11	4	16	21	8	13	7	28	27	(278)
В. гепатита C (E1)	3	9	8	8	2	9	8	19	8	21	19	6	6	5	15	7	8	6	12	13	(193)
В. гепатита C (E2)	7	20	8	12	12	25	20	36	14	24	22	16	13	11	34	5	20	9	25	30	(364)
В. Денге (E)	35	15	10	19	30	14	13	45	25	41	30	8	10	18	49	14	13	19	30	57	(495)
В. клещевого энцефалита (E)	32	18	18	21	26	19	12	46	18	45	41	11	10	16	54	13	18	12	24	42	(496)
В. Марбурга (GP)	35	22	15	33	34	48	13	58	42	21	39	13	11	21	45	9	48	30	62	82	(681)
В. Ласса Lassa (GP)	25	17	19	19	22	14	18	56	33	23	21	22	8	20	33	20	32	20	34	35	(491)
В. лифтоц. хориоменингита (GP)	30	21	17	20	17	12	17	47	33	24	26	19	9	28	35	18	29	14	43	39	(496)
В. лихорадки Крима-Конго (Gn)	19	18	6	15	19	14	20	35	27	21	12	10	3	8	23	5	11	11	24	22	(323)
В. лихорадки Крима-Конго (Gc)	47	26	22	31	42	22	30	60	37	38	28	16	14	30	44	14	24	15	55	49	(644)
В. Ханта (Gn)	36	19	19	21	33	30	33	45	43	56	34	28	6	33	33	14	24	22	57	44	(630)
В. Ханта (Gc)	30	15	17	29	25	20	28	38	32	29	17	15	10	25	46	7	17	12	40	35	(467)
В. Синдбис (E2)	27	20	19	22	16	29	17	28	23	32	32	22	5	9	24	6	11	11	30	40	(423)
В. Синдбис (E1)	23	10	13	18	19	27	17	27	24	35	42	16	4	19	27	10	16	15	43	34	(439)
В. Чикунгунья (E2)	30	15	17	29	25	20	28	38	32	29	17	15	10	25	46	7	17	12	40	35	(467)
Респираторно-синц. вирус (G)	32	8	11	6	10	24	5	17	20	10	12	3	1	4	2	2	21	15	31	65	(299)
Респираторно-синц. вирус (F)	41	19	4	20	24	14	15	60	52	43	26	22	3	16	25	10	51	21	60	48	(574)
В. везик. стоматита (G)	31	15	16	28	25	27	15	39	37	29	25	20	15	26	38	11	18	18	47	31	(511)
Риновир (VP2)	6	11	8	14	6	20	3	19	17	17	14	10	7	9	18	5	16	12	33	22	(267)
Риновир (VP3)	7	9	5	12	7	16	6	22	9	21	14	8	4	12	13	7	8	10	21	25	(236)
Риновир (VP1)	13	13	9	17	15	17	4	8	21	23	22	15	4	11	15	7	13	14	26	28	(295)
Норовир (VP1)	8	19	14	25	13	52	7	48	24	44	33	11	6	27	52	14	30	22	46	35	(530)
В. Хендра (G)	37	21	8	35	22	33	17	54	60	38	24	25	7	18	37	10	40	25	55	38	(604)
В. Хендра (FG)	31	14	3	25	24	16	13	61	57	47	31	25	1	11	31	11	32	24	50	39	(546)
Бокавир (VP1)	36	38	20	36	24	38	4	45	33	41	49	30	13	19	58	17	52	35	42	43	(673)
Астровир (VP90)	37	43	12	38	34	41	7	57	26	57	63	21	15	24	62	17	47	31	71	83	(766)
В. полиом (LT-ag)	59	29	22	41	52	30	19	62	27	41	36	22	11	40	37	23	30	33	43	31	(688)

Примечание: (L) – длина белка
Note: (L) – a protein length.

классических методов получения вакцин, разработанных еще в пастеровскую эпоху.

Коллизии вакцинации

Безопасность вакцин – одно из важнейших требований для разрешения их применения, однако реакция ИС на вакцину, как и на инфекцию, весьма многолика и не обходится без иммунных коллизий. В их числе аутоиммунные реакции, изменение клеточного репертуара ИС и разрушение пула клеток памяти ИС к другим патогенам, селекция новых вариантов вирусных ИЭ, избегающих иммунное узнавание, изменение патогенеза вирусной инфекции и специфики ее протекания, непрогнозируемая и трудно выявляемая активность антиидиотипических Ат. Иммунными коллизиями можно объяснить, например, появление во время пандемии Covid-19 и новых штаммов SARS-Cov2, длительность последствий Covid-19, феномен интерференции SARS-Cov2 с другими возбудителями ОРВИ, распространенность в разных регионах мира вспышек кори.

Существующие ныне белки произошли из сравнительно небольшого числа предковых генов посредством генных дупликаций и мозаичных комбинаций, обнаруживая блочное родство, т.е. их последовательности родственны по отдельным протяженным блокам и обуславливают, как отмечено выше, пептидный континуум родства белков, пронизывающий всю эволюционную иерархию организмов, включая и вирусы. Кроме того, химеризм генов вирусов и их хозяев из-за активно происходящих в эволюции генетических рекомбинаций как между вирусами и их хозяевами, так и между самими вирусами, также обуславливает присутствие и в белках вирусов, и в белках человека гомологичных последовательностей [6–8].

В совокупности пептидный континуум родства белков и химеризм генов могут быть причиной возникновения двух типов поствакцинальных рисков: аутоиммунных заболеваний и гетерологичного иммунитета. Последний проявляется иммунным импринтингом, т.е. может произойти активация иммунной памяти к ранее вторгавшемуся инфекционному агенту на новый патоген. В результате возникает вероятность изменения реакции ИС на новый патоген и вызываемый им инфекционный процесс, усиливая либо ослабляя его. По другому сценарию, гетерологичный иммунитет на инфекцию может быть вызван предшествующей заражению вакцинацией, когда белковые компоненты вакцины и патогена, вызвавшего инфекцию, содержат гомологичные последовательности. Формирование гетерологичного иммунитета может приводить ко множеству иммунных коллизий. Из-за сложности распознавания патогенез гетерологичного иммунного ответа остается скрытым, и нередко для врача он явно предстает в виде осложненного и тяжелого течения инфекционного процесса.

Возможны неблагоприятные последствия вакцинации, которые трудно предсказуемы при разработке

вакцин. Здесь имеются в виду такие свойства Ат, как активное участие их в долговременной [31] и динамической [6] регуляции биохимических и физиологических процессов в организме, а также проявление ими энзиматической активности. Особняком стоят возможные проявления активности возникающих в результате вакцинации антиидиотипических Ат, являющихся по своей природе иммунологическим образом фрагментов белка патогена.

Возникшие в результате вакцинации Ат из-за существования иммуноэпитопного континуума родства белков хозяина и вируса могут взаимодействовать множеством способов с разными белками, вызывая дисрегуляцию функций организма [6], и длительность эффектов Ат будет определяться не только временем их полужизни, но и длительностью их синтеза. Характерная особенность белков SARS-Cov2 – высокое содержание, в частности в S-белке, последовательностей, гомологичных ко множеству белков человека, особенно к белкам системы свертывания крови и ИС [9], что коррелирует с длительным нарушением этих систем при Covid-19.

Дезорганизация функций организма может обуславливаться не только Ат к самому вирусу, но и индуцируемыми антиидиотипическими Ат к ним [32]. Являясь иммунным образом фрагментов белков вируса, например, S-белка SARS-Cov2, антиидиотипические Ат способны не только взаимодействовать с клеточным рецептором SARS-Cov2 (ангиотензин-конвертирующим ферментом 2), изменяя функциональное состояние клетки, но и с другими белками хозяина, с которыми взаимодействуют соответственно белки, обладающие последовательностями, гомологичными фрагментам S-белка, что влечет множественность нарушений в организме, затрагивая разные функции. К сожалению, преклинические и клинические оценки иммунного ответа на инфекцию SARS-Cov2 ограничиваются Ат к самому вирусу. Анализ же антиидиотипических Ат исходно представляется трудным из-за поликлональной природы иммунного ответа, динамической кинетики образования и совместного присутствия обоих типов Ат [32], т.е. идентификация и выявление активности антиидиотипических Ат (как и устранение их эффектов терапевтически) в условиях больницы практически невозможны. Более того, антиидиотипические Ат могут продолжать свою активность и после выведения самого вируса и падения титров Ат к нему, и не без их участия столь длительны последствия Covid-19, трудно поддающиеся терапии и часто практически неизлечимые, если не произойдет самоугасание их синтеза [33].

Что касается энзимной активности Ат, индуцированных вакцинацией, то она может быть направлена не только против вируса (протективное свойство), но и деструктивно против различных биохимических субстратов хозяина (в том числе белки, имеющие последовательности, гомологичные

белкам вируса), индуцируя аутоиммунные процессы. Теоретически энзимной активностью не должны быть обойдены и антиидиотипические Ат, что еще больше усложняет понимание патогенеза иммунных коллизий при вакцинации.

мРНК-вакцины и ограничения в кодировании генов

Пандемия Covid-19 открыла дорогу активному использованию для иммунизации мРНК-вакцин. Они имеют превосходство над другими типами вакцин прежде всего в том, что сама мРНК-вакцина как носитель информации о вирусе может быть использована многократно для разных штаммов возбудителя инфекции и для получения новых мРНК-вакцин против других патогенов. Новые перспективы использования мРНК-вакцин связаны с конструированием кольцевых мРНК-вакцин, что обеспечит их большую стабильность [34].

По существу, мРНК-вакцина является продуктом рекодирования отдельного гена либо генома, например вируса, путем модификации нуклеотидов, оптимизации и деоптимизации частот динуклеотидов CpG и UpA, кодонов и их пар. Результаты рекодирования неоднозначны и нередко сопряжены с ухудшением свойств у новых вариантов синтетических геномов и генов. У вирусов введенные в геном синонимические замены могут в результате мутаций реверсировать к кодомам диких штаммов [35], что можно рассматривать как сигнал о существовании ограничений в кодировании генома

Рисунок 3. Таблица генетического кода с приведенными значениями индексов комплементарности кодонов
Figure 3. Table of the genetic code with the given values of the codon complementarity indices

TCT	S	7	TGT	C	7	TTT	F	6	TAT	Y	6
TCC	S	8	TGC	C	8	TTC	F	7	TAC	Y	7
TCA	S	7	TGA	Z	0	TTA	L	6	TAA	Z	0
TCG	S	8	TGG	W	8	TTG	L	7	TAG	Z	0
ACT	T	7	AGT	S	7	ATT	I	6	AAT	N	6
ACC	T	8	AGC	S	8	ATC	I	7	AAC	N	7
ACA	T	7	AGA	R	7	ATA	I	6	AAA	K	6
ACG	T	8	AGG	R	8	ATG	M	7	AAG	K	7
CCT	P	8	CGT	R	8	CTT	L	7	CAT	H	7
CCC	P	9	CGC	R	9	CTC	L	8	CAC	H	8
CCA	P	8	CGA	R	8	CTA	L	7	CAA	Q	7
CCG	P	9	CGG	R	9	CTG	L	8	CAG	Q	8
GCT	A	8	GGT	G	8	GTT	V	7	GAT	D	7
GCC	A	9	GGC	G	9	GTC	V	8	GAC	D	8
GCA	A	8	GGA	G	8	GTA	V	7	GAA	E	7
GCG	A	9	GGG	G	9	GTG	V	8	GAG	E	8

и отторжение введенных синонимических замен кодонов.

Частные ограничения в кодировании генов на отдельные кодоны особенно свойственны вирусам. Так, более столетия в гене гемагглютинаина штаммов вируса гриппа H1N1 прослеживается неизменное исключение квартета триплетов (CGA, CGG, CGC и CGT), кодирующих аргинин [29]. Имитируя процесс считывания кодонов мРНК (разных организмов) в рибосомах и используя количественное представления нуклеотидов в кодонах, с помощью компьютерного анализа нами выявлены ограничения в линейной последовательности трикодонов в генах. В практическом аспекте выявленные ограничения имеют отношение, прежде всего, к синонимическому рекодированию, активно используемому при конструировании мРНК-вакцин.

С целью выявления ограничений в кодировании генов в разных генах вирусов, прокариотов, архей и эукариотов были построены линейные последовательности оцифрованных трикодонов, считанных со сдвигом рамки на один кодон, имитируя процесс трансляции на рибосомах. Числовым показателем трикодонов служил индекс комплементарности (ИК)-сумма водородных связей, которые способны образовывать составляющие их нуклеотиды. ИК отдельных кодонов приведены в таблице генетического кода (рис. 3).

В качестве примера на рисунке 4 представлена последовательность ИК трикодонов гена S-белка коронавируса SARS-Cov-2. Поскольку при каждом сдвиге считывания трикодонов заменяется лишь один триплет, то максимально разница между ИК соседних трикодонов будет равна 3. У гена S-белка коронавируса SARS-Cov-2, отличающегося наиболее низким содержанием гуанина и цитозина (37%), доминируют ИК со значением 20–22, а у гена структурного полипротеина вируса краснухи, содержащего 69% GC, наиболее часты ИК со значением 24 и 25.

У гена S-белка коронавируса SARS-Cov-2 максимальное и минимальное значения ИК составляют соответственно 26 и 18, и видно, что лишь 16 ИК из 1273 соседствующих пар (табл. 5) имеют разницу 3, а у остальных она не более 2, т. е. кодирование гена S-белка коронавируса SARS-Cov-2 имеет определенные ограничения. Сходная картина ограничений в соседстве трикодонов проявляется и у гена структурного полипротеина вируса краснухи, а также у генов других организмов, резко варьирующих по процентному содержанию GC. Лишь 2–3% трикодонов в каждом гене разнятся от предшествующих трикодонов по ИК на 3, а разницу по ИК 0 или 1 имеют 74–84% соседствующих трикодонов, т. е. даже разница между ИК на 2 не предпочтительна.

Как и при трансляции мРНК на рибосомах, в нашей модели считывания триплетов в мРНК каждый кодон, за исключением первых

Figure 4. The sequence of values of the tricodon complementarity indices of the SARS-Cov-2 S-protein gene when the reading frame is shifted by 1 codon

20, 19, 20, 20, 20, 20, 21, 22, 23, 22, 22, 22, 22, 22, 20, 20, 20, 22, 22, 22, 21, 20, 22, 23, 25, 23, 22, 20, 20, 20, 21, 22, 23,
23, 21, 20, 21, 23, 22, 21, 20, 21, 22, 22, 22, 20, 20, 20, 21, 22, 23, 23, 22, 20, 21, 21, 21, 21, 20, 21, 20, 22, 22, 22, 22, 21,
21, 21, 22, 24, 24, 23, 22, 21, 22, 22, 21, 21, 20, 22, 23, 23, 23, 21, 20, 19, 21, 22, 21, 19, 20, 22, 23, 23, 22, 22, 21, 20, 19,
19, 22, 24, 23, 20, 20, 21, 22, 20, 20, 21, 22, 23, 23, 24, 23, 22, 20, 20, 19, 20, 21, 22, 21, 20, 20, 20, 19, 20, 21, 22, 20, 20,
19, 20, 19, 20, 21, 21, 21, 21, 22, 21, 20, 21, 21, 21, 20, 20, 20, 21, 22, 22, 21, 22, 22, 22, 21, 20, 20, 20, 23, 22, 21, 20, 21,
21, 20, 19, 21, 21, 23, 23, 22, 21, 20, 22, 22, 22, 22, 21, 22, 22, 22, 21, 19, 19, 19, 21, 22, 21, 21, 20, 21, 19, 19, 19, 21, 21,
20, 18, 18, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 22, 20, 18, 20, 22, 23, 23, 23, 24, 24, 22, 22, 22, 22, 21, 21, 22, 22, 21, 21, 22, 21, 22, 20,
21, 20, 21, 22, 21, 21, 20, 20, 20, 21, 21, 21, 20, 21, 20, 20, 20, 22, 23, 23, 22, 21, 21, 22, 23, 23, 23, 23, 24, 24, 24, 22, 20,
20, 22, 22, 21, 20, 22, 23, 23, 21, 20, 19, 19, 18, 18, 19, 19, 21, 22, 22, 21, 20, 22, 22, 23, 22, 23, 22, 23, 23, 24, 23, 22, 21,
21, 21, 22, 22, 21, 21, 21, 22, 21, 21, 20, 21, 21, 21, 20, 20, 21, 21, 20, 20, 21, 22, 23, 22, 22, 21, 20, 20, 20, 20, 21, 20, 20,
19, 20, 21, 22, 23, 22, 22, 21, 22, 20, 20, 22, 24, 24, 21, 21, 21, 22, 20, 21, 22, 23, 23, 22, 22, 21, 22, 22, 22, 21, 22, 22, 21,
20, 21, 22, 21, 19, 20, 22, 23, 21, 21, 21, 21, 20, 20, 20, 21, 22, 23, 23, 22, 21, 19, 18, 19, 21, 23, 22, 21, 19, 21, 20, 22, 21,
22, 20, 20, 19, 20, 21, 22, 22, 22, 22, 22, 21, 22, 23, 25, 24, 23, 22, 22, 21, 21, 21, 21, 19, 18, 18, 18, 20, 21, 22, 20, 20, 22,
24, 24, 21, 21, 22, 22, 21, 20, 20, 20, 20, 21, 21, 21, 22, 23, 22, 20, 18, 19, 21, 21, 21, 20, 20, 21, 21, 22, 20, 21, 20, 22, 20,
22, 21, 22, 20, 20, 20, 21, 21, 20, 21, 23, 25, 25, 23, 23, 22, 21, 21, 21, 22, 22, 21, 20, 19, 20, 20, 21, 20, 21, 20, 20, 21, 21,
22, 23, 23, 22, 21, 21, 23, 22, 22, 22, 22, 22, 21, 21, 21, 21, 21, 20, 20, 20, 21, 21, 22, 23, 24, 23, 22, 21, 22, 23, 22, 21, 20,
21, 20, 20, 20, 20, 20, 19, 20, 21, 21, 21, 20, 21, 20, 21, 20, 21, 22, 23, 24, 22, 22, 21, 22, 22, 22, 20, 20, 19, 21, 22, 23, 22,
21, 20, 22, 22, 24, 21, 22, 22, 23, 22, 21, 22, 23, 24, 23, 23, 23, 23, 22, 22, 21, 21, 21, 21, 21, 21, 22, 22, 20, 21, 22, 24, 23,
22, 20, 20, 21, 23, 23, 21, 20, 20, 21, 22, 22, 23, 22, 22, 20, 21, 21, 22, 21, 22, 22, 22, 22, 23, 23, 23, 21, 21, 21, 22, 22, 21,
21, 22, 22, 23, 23, 23, 21, 20, 20, 22, 22, 21, 20, 19, 20, 20, 22, 23, 25, 24, 22, 19, 21, 23, 24, 22, 22, 22, 22, 21, 20, 21, 21,
23, 21, 23, 21, 23, 22, 24, 22, 22, 22, 23, 21, 21, 21, 23, 22, 21, 20, 21, 24, 26, 26, 25, 23, 22, 22, 22, 22, 22, 22, 21, 22, 22,
23, 21, 21, 21, 22, 23, 23, 21, 20, 20, 22, 22, 22, 20, 20, 20, 20, 22, 21, 24, 22, 22, 19, 19, 19, 20, 20, 22, 22, 22, 20, 20, 21,
23, 23, 22, 22, 22, 22, 21, 21, 21, 21, 21, 21, 20, 20, 21, 22, 22, 21, 21, 22, 23, 22, 21, 20, 21, 21, 20, 22, 22, 22, 20, 20,
21, 20, 20, 21, 23, 22, 21, 21, 21, 22, 21, 22, 21, 22, 21, 21, 21, 22, 22, 21, 20, 21, 21, 23, 21, 21, 19, 20, 19, 20, 21, 23, 22,
20, 19, 19, 21, 22, 22, 20, 18, 19, 20, 20, 19, 20, 21, 23, 22, 21, 21, 22, 23, 23, 22, 21, 19, 19, 20, 21, 21, 21, 21, 20, 21, 21,
22, 22, 22, 23, 24, 24, 23, 20, 20, 19, 21, 21, 23, 22, 23, 22, 21, 21, 22, 23, 23, 23, 22, 21, 21, 22, 22, 20, 20, 22, 23, 23, 21,
21, 22, 23, 23, 23, 22, 22, 21, 21, 20, 21, 21, 22, 21, 21, 22, 23, 22, 23, 23, 24, 22, 21, 21, 22, 23, 24, 22, 22, 22, 24, 24, 24,
22, 21, 19, 21, 20, 22, 21, 22, 21, 22, 21, 22, 20, 20, 20, 20, 22, 21, 22, 22, 21, 21, 21, 21, 22, 21, 22, 20, 20, 19, 22, 22, 23,
20, 19, 19, 21, 21, 23, 21, 21, 19, 21, 22, 22, 21, 22, 22, 23, 22, 23, 22, 23, 21, 21, 20, 21, 22, 23, 23, 22, 20, 21, 21, 23, 21,
21, 21, 22, 22, 20, 20, 20, 22, 23, 22, 20, 20, 22, 22, 21, 20, 21, 20, 19, 19, 20, 21, 21, 22, 22, 23, 21, 21, 21, 23, 23, 23, 22,
21, 20, 21, 22, 22, 21, 23, 23, 23, 21, 21, 21, 22, 22, 21, 21, 21, 22, 21, 20, 19, 19, 21, 23, 23, 22, 21,

Выявленный феномен ограничения в кодировании генов сужает диапазон их изменения в эволюции, т.е. обеспечивает сохранение приобретенной полезной информации, а применительно к мРНК-вакцинам уменьшает возможность использования синонимических замен. Ограничение, вероятнее всего, будет проявляться в случае аминокислот, синонимические кодоны которых имеют ИК 6 и 9. Так, в представленном на рисунке 5 фрагменте последовательности S-белка коронавируса SARS-Cov-2 синонимические мутации CCC и CCG в кодоне пролина CCT (либо синонимические мутации GCC и GCG в кодоне аланина GCA) изменяют ИК

Таблица 5. Различия трикодонов, считываемых со сдвигом на один шаг, по их ИК

Table 5. Differences of tricodons, read with a shift of one step, according to their complementarity indices

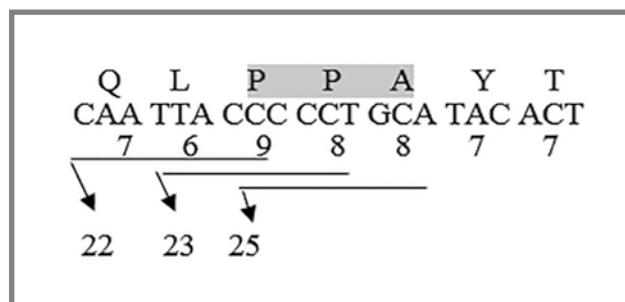
Название белка гена The name of the gene protein	% GC гена %GC of the gene	Длина гена в кодонах The length of the gene in codons	Частота встречаемости разницы последовательных трикодонов по индексам комплементарности Frequency of occurrence of the difference of consecutive tricodons according to complementarity indices			
			Значения разницы Difference values			
			0	1	2	3
S-белок (коронавирус SARS-Cov-2) S-protein (SARS-Cov2 coronavirus)	37	1273	445	600	211	16
Структурный полипротеин (вирус краснухи) Structural polyprotein (rubella virus)	69	1062	345	552	141	21

выделенного серым цветом трикодона с 25 на 26, в результате чего разница его от ИК предшествующего трикодона составит 3. Эту разницу, как следует из таблицы 5, природа в 97–98% случаев избегает при кодировании генов.

Отметим, что при конструировании мРНК вакцин необходимо обеспечить их стабильность, сохраняя первичную (антигенную) структуру белка. Но мРНК не только задает первичную структуру белка, но и содержит в себе регуляторный код. О наличии последнего свидетельствуют возможности изменения синонимическими мутациями стабильности мРНК и ее вторичной структуры, эффективности трансляции, локализации и сплайсинга мРНК и котрансляционного свертывания белка [35]. Изменения этих свойств мРНК при синонимических заменах, вероятно, связаны с выявленным феноменом ограничений в кодировании генов на уровне последовательности кодонов.

Рисунок 5. Иллюстрация расчета индексов комплементарности трикодонов, считываемых со сдвигом на 1 кодон

Figure 5. An illustration of the calculation of a complementarity index in tricodons read by a shift of one codon



Примечание: 1-й ряд букв – последовательность аминокислот, 2-й ряд – обозначения кодонов, 3-й ряд – обозначения индексов комплементарности кодонов, 4-й ряд – обозначения индексов комплементарности трикодонов.

Note: the 1st row of letters is a sequence of amino acids, the 2nd row – a designation of codons, the 3rd row – a designation of codon complementarity indices, the 4th row – a designation of tricodon complementarity indices. The segments of the arrows before their break are sequentially located under 3 tricodons, the values of the complementarity indices of which are given in the 4th row.

Заключение

Вакцинология – активно развивающаяся область медицины, и ныне стимулом ее прогресса послужила пандемия Covid-19, открыв дорогу широкому применению вакцин, сконструированных на основе мРНК. Последние позволили успешно решить ряд проблем, связанных с вакцинами, но их конструирование сопряжено с выявленным феноменом ограничений в кодировании генов. Использование биоинформационного анализа особенностей белков вирусов способствует выявлению ИЭ, биомаркеров иммунодоминантности, особенностей белков вирусов и вакцин на их основе, вызывающих долговременный иммунитет. По-прежнему труднопреодолимыми остаются проблемы изыскания универсальных вакцин против быстро мутирующих возбудителей инфекций или возбудителей со сложной биологией. Прогнозирование возникновения поствакцинальных аутоиммунных осложнений, иммунного импринтинга и гетерологического иммунитета тесно связано с наличием квазиидентичных последовательностей между белками человека и инфекционного агента и между самими инфекционными агентами. «Камнем преткновения» вакцинации предстают антиидиотипические антитела, предсказанные Н. К. Йерне еще в 1974 г. и обязательно возникающие при иммунизации. Их вклад в иммунные коллизии остается не исследованным, хотя они, весьма вероятно, могут быть в числе ведущих факторов, определяющих длительные, трудно корректируемые последствия после инфекции, с беспрецедентно высокой частотой которых медицина столкнулась при пандемии Covid-19.

Залогом успешного преодоления существующих проблем и коллизий в вакцинологии станет обращение к углубленным фундаментальным основам иммунологии, использование методов биоинформатики и развитие вычислительной вакцинологии, расширяющим возможности прогнозировать свойства конструируемых сложных вакцин.

Литература

- Nabel G.J., Fauci A.S. Induction of unnatural immunity: prospects for a broadly protective universal influenza vaccine. *Nature Medicine*. 2010;16(12):1389–1291. doi: 10.1038/nm1210-1389.
- Van Regenmortel M. An outdated notion of antibody specificity is one of the major detrimental assumptions of the structure-based reverse vaccinology paradigm, which prevented it from helping to develop an effective HIV-1 vaccine. *Frontiers in Immunology*. 2014, Vol. 5, pp. 1–8. doi: 10.3389/fimmu.2014.00593.
- Van Regenmortel M.H.V. Specificity, polyspecificity and heterospecificity of antibody-antigen recognition. *J. Mol. Recognit.*, 2014, Vol. 27, pp. 627–639. doi: 10.1002/jmr.2394.
- Victoria G.D., Nussenzweig M.C. Germinal Centers. *Annu. Rev. Immunol.* 2022. 40:413–42. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-120419-022408>
- Young C., Brink R. The unique biology of germinal center B cells *Immunity* 2021 ; Vol. 54, pp. 1652–1664. doi: 10.1016/j.immuni.2021.07.015.
- Харченко Е. П. Иммуноэпитопный континуум родства белков и полиреактивность и аутореактивность антител. *Медицинская иммунология*. 2015. Т. 17, N. 4. С. 335–346. doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-335-346.
- Харченко Е. П. Распространенность генетической рекомбинации между вирусами и человеком, возможное ее влияние на вакцинацию. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2019;18(5):4–14. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-6-4-14>.
- Харченко Е. П. Распространенность в геноме вирусов человека малых гомологичных и комплементарных фрагментов и возможная их роль. *Инфекция и иммунитет*. 2017. Т. 7, № 4. С. 393–404. doi: 10.15789/2220-7619-2017-4-393-404.
- Харченко Е. П. Коронавирус SARS-CoV-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2020;19(2):13–30. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>
- Dotan A, Muller S, Kanduc D, et al. The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2021;20(4):102792. doi: 10.1016/j.autrev.2021.102792.
- Pradeu T., Carosella E.D. On the definition of a criterion of immunogenicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, Vol. 103, pp. 17858–17863. doi: 10.1073/pnas.0608683103
- Кудряева А.А., Белозуров А.А. Протеасома: наномашинерия созидательного Успехи биологической химии, т. 59, 2019, с. 323–392.
- Altman M.O., Angeletti D., Yewdell J.W. Antibody Immunodominance: The Key to Understanding Influenza Virus Antigenic Drift. *Viral Immunology*. 2018. Vol. 31, no 2, pp. 1–8. doi: 10.1089/vim.2017.0129.
- Ke Z., Oton J., Qu K., Cortese M., et al. Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions. *Nature*. 2020. doi:10.1038/s41586-020-2665-2
- Akkaya M., Kwak K., Pierce S.K. B cell memory: building two walls of protection against pathogens. *Nat Rev Immunol.* 2020; vol. 20(4) pp. 229–238. doi:10.1038/s41577-019-0244-2.
- Inoue T., Shinnakasu R., Kurosaki T. Generation of high quality memory B cells. *Front Immunol.* 2022; vol. 12: (825813). doi: 10.3389/fimmu.2021.825813.
- Narayanan H.V., Hoffmann A. From Antibody Repertoires to Cell-Cell Interactions to molecular networks: bridging scales in the germinal center. *Front. Immunol* 2022; vol. 13: (898078). doi: 10.3389/fimmu.2022.898078.
- Zhang H., Weyand C.M., Goronzy J. Hallmarks of the aging T-cell system. *The FEBS Journal* 2021; vol. 288 pp. 7123–7142 doi:10.1111/febs.15770.
- Peters B., Nielsen M., Sette A. T Cell Epitope Predictions. *Annu. Rev. Immunol.* 2020. vol. 38 pp. 123–45. doi: 10.1146/annurev-immunol-082119-124838
- Loan Ping Eng, Tin Wee Tan, Joo Chuan Tong, Söllner J. Building MHC Class II Epitope Predictor Using Machine Learning Approaches. In: Peng Zhou and Jian Huang (eds.), *Computational Peptidology, Methods in Molecular Biology*. 2015. vol. 1268, doi: 10.1007/978-1-4939-2285-7_4.
- Söllner J. Computational Peptide Vaccinology. In: Peng Zhou and Jian Huang (eds.), *Computational Peptidology, Methods in Molecular Biology*. 2015. Vol. 1268, doi: 10.1007/978-1-4939-2285-7_13
- Joglekar AV, Li G. T cell antigen discovery. *Nature Methods*. 2020. Vol. 18(8): pp. 873–880. doi: 10.1038/s41592-020-0867-z
- Харченко Е. П. Новый метод распознавания иммуноэпитопов, маркеры долговременного иммунитета, иммуносупрессивные домены и вакцины против COVID-19. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2022;21(1):4–20. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-1-4-20>.
- Briney B., Inderbitzin A., Joyce C., Burton D.R. Commonality despite exceptional diversity in the baseline human antibody repertoire. *NATURE*. 2019. vol. 566(7744) pp. 393–397. doi:10.1038/s41586-019-0879-y.
- Soto C., Bombardi R.G., Branchizio A., Kose N, et al. High frequency of shared clonotypes in human B cell receptor repertoires. *Nature*. 2019. vol. 566(7744) pp. 398–402. doi: 10.1038/s41586-019-0934-8
- Харченко Е. П. Оптимизация прогнозирования вакцинных штаммов гриппа *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2019;18(1):4–17. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17>
- Харченко Е. П. Поиски универсальной противогриппозной вакцины: возможности и ограничения. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2019;18(5):70–84. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-70-84>.
- Gilesa B.M., Ross T.M. A computationally optimized broadly reactive antigen (COBRA) based H5N1 VLP vaccine elicits broadly reactive antibodies in mice and ferrets. *Vaccine*. Vol. 29, P. 3043–3054. doi:10.1016/j.vaccine.2011.01.100.
- Харченко Е. П. Три уровня прогнозирования штаммов вируса гриппа. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2019;18(2):4–17. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-2-4-17>.
- Douglass J., Civelli O., Herbert E. Polyprotein gene expression: generation of diversity of neuroendocrine peptides. *Annu Rev Biochem.* 1984; Vol. 53. pp. 665–715. doi: 10.1146/annurev.bi.53.070184.003313.
- Ашмарин И. П., Фрейдлин И. С. Гипотеза об антителах как новейших регуляторах физиологических функций, созданных эволюцией. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, 1989. Т. 25, № 2. С. 176–181.
- Murphy W.J., Longo D.L., A Possible Role for Anti-idiotype Antibodies in SARS-CoV-2 Infection and Vaccination. *N Engl J Med* 2022 Vol. 386, no 4, pp. 394–396. doi: 10.1056/NEJMcibr2113694.
- Naveed A., Naz D., Rahman S. U. Idiotype/anti-idiotype antibodies: as a glorious savior in COVID-19 pandemics. *Translational Medicine Communications*. 2021. Vol. 6. doi:10.1186/s41231-021-00097-y.
- Dolgin E. Why rings of RNA could be the next blockbuster drug. 2023. *Nature*. Vol. 622, pp. 22–24. doi:10.1038/d41586-023-03058-7.
- Martínez MA, Jordan-Paiz A, Franco S, Nevot M. Synonymous Virus Genome Recoding as a Tool to Impact Viral Fitness. *Trends Microbiol.* 2016. Vol. 24, no 2. pp. 134–147. doi: 10.1016/j.tim.2015.11.002.

References

- Nabel G.J., Fauci A.S. Induction of unnatural immunity: prospects for a broadly protective universal influenza vaccine. *Nature Medicine*. 2010;16(12):1389–1291. doi: 10.1038/nm1210-1389.
- Van Regenmortel M. An outdated notion of antibody specificity is one of the major detrimental assumptions of the structure-based reverse vaccinology paradigm, which prevented it from helping to develop an effective HIV-1 vaccine. *Frontiers in Immunology*. 2014;5:1–8. doi: 10.3389/fimmu.2014.00593.
- Van Regenmortel M.H.V. Specificity, polyspecificity and heterospecificity of antibody-antigen recognition. *J. Mol. Recognit.* 2014;27:627–639. doi: 10.1002/jmr.2394.
- Victoria G.D., Nussenzweig M.C. Germinal Centers. *Annu. Rev. Immunol.* 2022; 40:413–42. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-120419-022408>
- Young C., Brink R. The unique biology of germinal center B cells *Immunity*. 2021;54:1652–1664. doi: 10.1016/j.immuni.2021.07.015.
- Kharchenko E.P. Immune epitope continuum of the protein relationships, poly- and autoreactivity of antibodies, *Medical Immunology /Meditsinskaya Immunologiya*. 2015;17(4):335–346 (In Russ.). doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-335-346
- Kharchenko E.P. The Occurrence of Genetic Recombination between Viruses and Human – its Possible Influence on Vaccination. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18(5):4–14 (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-6-4-14.
- Kharchenko E.P. Occurrence of small homologous and complementary fragments in human virus genomes and their possible role. *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet*, 2017;7(4):393–404 (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-2017-4-393-404
- Kharchenko E.P. The Coronavirus SARS-CoV-2: the Characteristics of Structural Proteins, Contagiousness, and Possible Immune Collisions. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(2):13–30 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>.
- Dotan A, Muller S, Kanduc D, et al. The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2021;20(4):102792. doi: 10.1016/j.autrev.2021.102792.
- Pradeu T., Carosella E.D. On the definition of a criterion of immunogenicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006;103:17858–17863. doi: 10.1073/pnas.0608683103
- Kudryaeva A.A., Belozurov A.A. Proteasome: nanomachinery of the creative Progress of biological chemistry. 2019;59:323–392 (In Russ.).
- Altman M.O., Angeletti D., Yewdell J. W. Antibody Immunodominance: The Key to Understanding Influenza Virus Antigenic Drift. *Viral Immunology*. 2018;31(2):1–8. doi: 10.1089/vim.2017.0129.
- Ke Z., Oton J., Qu K., Cortese M., et al. Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions. *Nature*. 2020. doi:10.1038/s41586-020-2665-2
- Akkaya M., Kwak K., Pierce S.K. B cell memory: building two walls of protection against pathogens. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(4):229–238. doi:10.1038/s41577-019-0244-2.
- Inoue T., Shinnakasu R., Kurosaki T. Generation of high quality memory B cells. *Front Immunol.* 2022;12:825813. doi: 10.3389/fimmu.2021.825813.
- Narayanan H.V., Hoffmann A. From Antibody Repertoires to Cell-Cell Interactions to molecular networks: bridging scales in the germinal center. *Front. Immunol.* 2022;13:(898078). doi: 10.3389/fimmu.2022.898078.

18. Zhang H., Weyand C. M., Goronzy J. Hallmarks of the aging T-cell system. *The FEBS Journal*. 2021;288:7123–7142 doi:10.1111/febs.15770.
19. Peters B, Nielsen M, Sette A. T Cell Epitope Predictions. *Annu. Rev. Immunol.* 2020;38:123–45. doi: 10.1146/annurev-immunol-082119-124838
20. Loan Ping Eng, Tin Wee Tan, Joo Chuan Tong, Söllner J. Building MHC Class II Epitope Predictor Using Machine Learning Approaches. In: Peng Zhou and Jian Huang (eds.), *Computational Peptidology, Methods in Molecular Biology*, 2015;1268. doi: 10.1007/978-1-4939-2285-7_4,
21. Söllner J. Computational Peptide Vaccinology. In: Peng Zhou and Jian Huang (eds.), *Computational Peptidology, Methods in Molecular Biology*. 2015;1268, doi: 10.1007/978-1-4939-2285-7_13.
22. Joglekar AV, Li G. T cell antigen discovery. *Nature Methods*. 2020;18(8):873–880. doi: 10.1038/s41592-020-0867-z
23. Kharchenko EP. Novel Method of Immunoepitope Recognition, Long-Term Immunity Markers, Immunosuppressive Domens and Vaccines against COVID-19. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(1):4–20 (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-4-20.
24. Briney B., Inderbitzin A., Joyce C., Burton D.R. Commonality despite exceptional diversity in the baseline human antibody repertoire. *Nature*. 2019;566(7744):393 – 397. doi:10.1038/s41586-019-0879-y.
25. Soto C., Bombardi R.G., Branchizio A., Kose N, et al. High frequency of shared clonotypes in human B cell receptor repertoires. *Nature*. 2019;566(7744):398 – 402. doi:10.1038/s41586-019-0934-8.
26. Kharchenko E. P. Optimization of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18(1):4 –17 (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17.
27. Kharchenko EP. The Search for a Universal Influenza Vaccine: Possibilities and Limitations. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18(5):70–84 (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-5-70-84.
28. Gilesa BM., Ross TM. A computationally optimized broadly reactive antigen (COBRA) based H5N1 VLP vaccine elicits broadly reactive antibodies in mice and ferrets. *Vaccine*. 2011;29:3043–3054. doi:10.1016/j.vaccine.2011.01.100.
29. Kharchenko E. P. Three Levels of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18(2):4–17 (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-2-4-17.
30. Douglass J, Civelli O, Herbert E. Polyprotein gene expression: generation of diversity of neuroendocrine peptides. *Annu Rev Biochem*. 1984;53:665 –715. doi: 10.1146/annurev.bi.53.070184.003313.
31. Ashmarin I.P., Freidlin I.S. Hypothesis on antibodies as the latest regulators of physiological functions created by evolution. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii* = *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 1989;25(2):176 –181 (In Russ.).
32. Murphy W.J., Longo D.L. A Possible Role for Anti-idiotypic Antibodies in SARS-CoV-2 Infection and Vaccination. *N Engl J Med*. 2022;386(4):394 –396. doi: 10.1056/NEJM-cibr2113694.
33. Naveed A., Naz D., Rahman S. U. Idiotypic/anti-idiotypic antibodies: as a glorious savior in COVID-19 pandemics. *Translational Medicine Communications*. 2021;6. doi:10.1186/s41231-021-00097-y.
34. Dolgin E. Why rings of RNA could be the next blockbuster drug. *Nature*. 2023;622:22–24. doi:10.1038/d41586-023-03058-7.
35. Martinez MA, Jordan-Paiz A, Franco S, Nevot M. Synonymous Virus Genome Recoding as a Tool to Impact Viral Fitness. *Trends Microbiol*. 2016;24(2):134 –147. doi: 10.1016/j.tim.2015.11.002.

Об авторе

- **Евгений Петрович Харченко** – д. б. н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, РАН. 194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44. +7 (904) 338-22-80, neuro.children@mail.ru

Поступила: 02.06.2023. Принята к печати: 04.10.2023.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Author

- **Eugene P. Kharchenko** – Dr. Sci. (Biol.), leader researcher of I. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy Sciences. 194223, Russian Federation, St. Petersburg, Toreza pr., 44. +7 (904) 338-22-80, neuro.children@mail.ru

Received: 02.06.2023. Accepted: 04.10.2023.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.