

## Три уровня прогнозирования штаммов вируса гриппа

Е. П. Харченко\*

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

### Резюме

**Актуальность.** Снижения заболеваемости и смертности от гриппа и вызываемых им осложнений можно успешно добиться, если вакцинные штаммы будут соответствовать циркулирующим. Существует по крайней мере 3 уровня прогнозирования: прогнозирование вакцинных штаммов на предстоящий эпидсезон; прогнозирование тенденции изменения вирусов гриппа на 2–3 года вперед; прогнозирование появления препандемических штаммов вируса. **Цель работы** состояла в анализе возможностей биоинформатики реализовать прогнозирование на этих 3 уровнях для подтипов H1N1 и H3N2. **Материалы и методы.** Для компьютерного анализа были использованы доступные в Интернете базы данных первичных структур гемагглютинина (HA) штаммов H1N1 и H3N2, выделенных в эпидсезон гриппа 2016–2017 – 2018–2019 гг. На первом уровне прогнозирования использована адаптированная скрытая марковская модель, на втором – выполнялся поиск инвариантов в HA H1N1 и его антигенных сайтах, а на третьем уровне прогнозирования строилось на основе выявления инвариантов во внутренних белках пандемических штаммов. **Результаты.** Предсказана циркуляция нескольких доминирующих штаммов в эпидсезоне 2018–2019 гг., показано существование инвариантов в HA H1 и в его антигенных сайтах HA H1N1 и сделан вывод о маловероятности угрозы возникновению пандемии гриппа, вызванной птичьими штаммами вируса гриппа. **Заключение.** Биоинформационный подход можно рассматривать как ценный инструмент в прогнозировании на разных уровнях циркуляции определенных штаммов вируса гриппа в эпидсезон.

**Ключевые слова:** вирус гриппа, прогнозирование, эпидсезон, пандемия, антигенные сайты

**Конфликт интересов не заявлен.**

**Для цитирования:** 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>.

### Three Levels of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains

E. P. Kharchenko\*\*

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

#### Abstract

**Relevance.** The influenza vaccine can reduce the incidence and mortality from influenza if that are antigenically the same or related to the viruses. There are at least 3 levels of prediction: vaccine strains for the upcoming epidemic season; the trend of influenza viruses for 2–3 years ahead, the emergence of pre-pandemic virus strains. **The aim** of the work was to analyze the potential of bioinformatics to implement prediction at these 3 levels for subtypes H1N1 and H3N2. **Materials and methods.** For the computer analysis, the database of the hemagglutinin (HA) primary structures of the H1N1 and H3N2 strains isolated in the influenza epidemiological season 2016–2017 – 2018–2019 was used from the Internet. At the first prediction level, an adapted hidden Markov model was used, at the second, invariants were searched for HA H1N1 and its antigenic sites, and at the third level, prediction was based on identifying invariants in structural proteins of pandemic strains. **Results.** The circulation of several dominant strains in the epidemiological season 2018–2019 was predicted, the existence of invariants in HA H1 and its antigenic sites HA H1N1 was shown, and it was concluded that the threat of an influenza pandemic caused by avian influenza viruses was unlikely. **Conclusion** The bioinformatics approach can be considered as a valuable tool in predicting, at different levels of circulation, certain strains of the influenza virus in the epidemic season.

**Key words:** influenza, influenza virus strain, prediction, epidemic season

**No conflict of interest to declare.**

**For citation:** Kharchenko E. P. Three Levels of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2019; 18 (2): 4–17 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-2-4-17>.

\* Для переписки: Харченко Евгений Петрович, ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова», вед. научн. сотр. Тел./факс: 8 (812) 552-70-31 (служебн.); 8 904 338-22-80 (моб.), [neuro.children@mail.ru](mailto:neuro.children@mail.ru). ©Харченко Е. П.

\*\* For correspondence: Eugene P. Kharchenko Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, leader researcher. Phone/Fax: +7 (812) 552-70-31 (office); +7 904 338-22-80, [neuro.children@mail.ru](mailto:neuro.children@mail.ru) ©Kharchenko E. P.

## Введение

Для разных целей прогнозирования относительно штаммов вирусов гриппа используются различные концептуальные подходы и по крайней мере три уровня.

Первый уровень связан с определением вакцинного штамма (по каждому подтипу вируса гриппа, входящему в состав трех- либо четырехвалентной вакцины) на предстоящий эпидсезон гриппа посредством анализа информации о циркулирующих в текущем эпидсезоне штаммов. Второй уровень имеет отношение к прогнозированию тенденции эволюции вирусов гриппа на 2–3 года вперед и предполагает наличие базы данных по вирусам, охватывающей определенную эпоху. Его результаты полезны для планирования производства вакцин на последующие годы. Поскольку роль гемагглютинина (НА) является определяющей в распространении вируса гриппа и в формировании популяционного иммунитета к нему, то первые два аспекта прогнозирования ограничиваются рассмотрением изменения преимущественно первичной структуры НА. Прогнозирование возникновения будущих пандемий гриппа – предмет анализа третьего уровня и является наиболее сложным. До развития новых технологий секвенирования геномов и белков информационная база для прогнозирования изменений вирусов гриппа была недостаточной, и оно представлялось даже невозможным.

Накопившиеся в последние годы, после пандемии гриппа 2009 г., огромные доступные базы данных по молекулярным характеристикам вирусов гриппа стимулировали внедрение методов биоинформатики для прогнозирования их изменений [1, 2]. **Цель данной статьи** – показать возможности биоинформативного подхода к прогнозированию изменений вирусов гриппа на трех уровнях применительно к подтипам H1N1 и H3N2.

## Материалы и методы

**Первый уровень.** Описание этого уровня прогнозирования подробно изложено ранее [3], и в данной статье приводится лишь краткое его описание (с дополнением) для понимания сущности особенностей последних двух эпидсезонов. Компьютерный анализ первичной структуры НА включал штаммы (с полностью секвенированным НА) вируса гриппа подтипов H1N1 и H3N2, выделенные в северном полушарии у человека в эпидемических сезонах 2017–2018 и 2018–2019 гг. с 1 октября предыдущего года по 1 февраля последующего года. Общая численность штаммов по H1N1 и H3N2 составила соответственно 4663 и 5263. Источником первичных структур НА служила общедоступная в Интернете база данных (<http://www.platform.gisaid.org>). Во всех выборках были отсеяны штаммы со вставками, делециями или неидентифицированными позициями в первичной структуре НА, а также штаммы с резко отличающейся структурой либо

идентичные по НА штаммы из одного и того же источника. После фильтрации численность штаммов в каждой из анализируемых выборок снижалась примерно на 75–80%.

Для построения оптимальной первичной структуры НА возможного вакцинного штамма использована скрытая модель Маркова [4], адаптированная нами применительно к специфике, связанной с особенностями структуры НА и его эволюции. Первоначально для каждого года в последовательности из 566 позиций (длина НА) определяли расположение инвариантных (консервативных) аминокислот или их блоков для всей выборки штаммов, выделенных и секвенированных в период с 1 октября предыдущего года по 1 февраля последующего года. Следующий этап состоит в размещении конкретных аминокислот в вариабельных позициях между инвариантными блоками. Для этого определяли все аминокислотные замены и их частоты по каждой вариабельной позиции для НА всех включенных в анализ штаммов анализируемого эпидсезона. По каждой вариабельной позиции частоты встречаемости замещающих аминокислот резко отличаются, что упрощает процедуру достраивания аминокислотных последовательностей между консервативными позициями поскольку отпадает необходимость расчета вероятности нахождения конкретной аминокислоты в исследуемой позиции и вероятность соседства ее с другой. Аминокислота с наибольшей частотой встречаемости в ряду замен для конкретной позиции в первичной структуре НА названа нами как доминирующая, и поскольку сам процесс восстановления первичной структуры НА возможного вакцинного штамма построен на заполнении «инвариантной» цепи доминирующими аминокислотами, то построенная цепь НА названа также доминирующей (далее ради краткости она будет именоваться как «доминирующая последовательность НА»). В некоторых позициях ряд замещающих аминокислот содержит две разные аминокислоты с очень близкими высокими частотами встречаемости, что служит свидетельством доминирования в сезоне по крайней мере двух штаммов и предвестником того, что в любом варианте прогнозирования штаммов при вакцинации риск инфицирования в предстоящем сезоне не снизится на 50–60%, если обе эти доминантные аминокислоты входят в иммунные эпитопы НА, поскольку одним вакцинным штаммом или доминирующей последовательностью НА не возможно охватить многообразия изменений НА. Наличие двух доминирующих аминокислот в ряду замен в той или иной позиции требует уточнения о допустимых соседствующих аминокислотах, и для этого можно воспользоваться расчетами вероятности встречающихся в НА дуплетов (либо триплетов) аминокислот.

Для оценки рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по вакцинным штаммам H1N1 и H3N2 на эпидсезоны 2017–2018, 2018–2019 и 2019–2020 гг. построенные

доминантные последовательности HA сравнивали с HA штаммов, рекомендованных ВОЗ для включения в состав вакцины. Поскольку успешность выбора вакцинного штамма будет определяться близостью его HA к HA циркулирующих штаммов в эпидсезоне, то иллюстрацией близости может служить такой простой интегральный показатель как частотное распределение штаммов по общему числу аминокислотных различий первичной структуры HA циркулирующих штаммов от HA вакцинного штамма или доминирующей последовательности HA соответственно по интервалам различий. Для этого были использованы интервалы различий HA на 0–5 (А), 6–10 (Б) и >10 (В) аминокислотных остатков (табл. 1). Достоверность различий распределений штаммов по этим интервалам по вакцинному штамму и доминирующей последовательности HA оценивали по статическому критерию для сравниваемых выборочных долей вариантов [5]. Дополнительным показателем различий прогнозирования были средние (интервальные) значения отличий первичной структуры HA всех штаммов эпидсезона соответственно от HA рекомендованного ВОЗ штамма и доминантной последовательности HA. Статистическую значимость их различий оценивали по критерию Стьюдента [5].

Для сопоставления доминирующих последовательностей смежных эпидсезонов определяли изменения первичной структуры последующей доминирующей последовательности по отношению к предыдущей (см. табл. 1).

**Второй уровень.** Предметом анализа служили изменения построенных доминирующих последовательностей HA штаммов H1N1 и иммунных эпитопов в них. Была составлена сводка изменений иммунных эпитопов HA единичных штаммов от 1918 г. до 2009 г. и осуществлен поиск в ней инвариантных и редко мутирующих позиций. Для выявления особенностей трансляционного кода HA штаммов H1N1 были использованы более 100 других выделенных в разные годы штаммов.

**Третий уровень.** Его методология была разработана нами ранее [6], и объектами анализа на данном уровне чаще всего служат штаммы с резко отличающейся структурой HA. Компьютерный анализ включал первичные структуры внутренних белков (PB1, PB2, PA, NP, M1, M2 NS2) 150 штаммов вируса гриппа А, выделенных у человека, свиньи и птиц, в числе которых подтипы H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, H7N9, H9N2, H10N3, H7N7, H4N6 и H6N1. Из-за вариативности длины NS1 белок был исключен из анализа. Обучающая выборка пандемических штаммов (ПШ)

**Таблица 1. Распределение количества штаммов по интервалам различий первичной структуры их HA от доминантной последовательности HA и HA вакцинного штамма для эпидсезонов 2017–2019 гг.**

**Table 1. The distribution of the number of strains by the intervals of differences in the primary structure of their HA from the dominant sequence of HA and HA of the vaccine strain for epidemic seasons 2017–2019**

Период выделения штаммов The period of isolation of strains	Штаммы, рекомендованные ВОЗ (ШРВОЗ), доминирующие последовательности (ДП) The strains recommended by WHO (SRWHO), the dominant sequence (DS)	А	Б	В	$x_{cp}$	$\Sigma$
H1						
01.10.2017–01.02.2018	ШРВОЗ/SR WHO (2018–2019)*	134	106	1	(5-6)	241
01.10.2018–01.02.2019	ШРВОЗ/SR WHO (2018–2019)*	35	445	36	(8)	516
01.10.2018–01.02.2019	ШРВОЗ/SR WHO (2019–2020)**	31	439	46	(8)	516
H3						
01.10.2017–01.02.2018	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	226	12	3	(2-3)	241
01.10.2018–01.02.2019	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	297	218	1	(5)	516
01.10.2018–01.02.2019	ДП/DS (01.10.2018–01.02.2019)	406	109	1	(4-5)	516
01.10.2017–01.02.2018	ШРВОЗ/SR WHO (2018–2019)***	12	216	30	(8-9)	258
01.10.2018–01.02.2019	ШРВОЗ/SR WHO (2018–2019)***	3	212	85	(10-11)	300
01.10.2018–01.02.2019	ШРВОЗ/SR WHO (2019–2020)****	42	3	255	(16)	300
01.10.2017–01.02.2018	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	138	32	88	(6-7)	258
01.10.2018–01.02.2019	ДП/DS (01.10.2017–01.02.2018)	34	19	247	(12)	300
01.10.2018–01.02.2019	ДП/DS (01.10.2018–01.02.2019)	150	63	87	(8)	300

Примечание: ШРВОЗ – штамм, рекомендованный ВОЗ для вакцины на соответствующий эпидсезон; ДП – доминантная последовательность, построенная по штаммам по соответствующему периоду их выделения;  $x_{cp}$  – интервал значения средней.  $\Sigma$  – численность штаммов выборки; А, Б и В – соответственно интервалы различий на 0–5, 6–10 и > 10 аминокислот. \*A/Michigan/45/2015 (H1N1); \*\*A/Brisbane/02/2018; \*\*\*(H1N1)A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2); \*\*\*\*A/Kansas/14/2017/ H3N2.

Note: SR WHO – a strain recommended by the World Health Organization for a vaccine for the corresponding epidemic season; DS – the dominant sequence, built on the strains for the corresponding period of their selection;  $x_{mid}$  is the interval of the mean value.  $\Sigma$  is the number of sample strains; A, B and C – respectively, the intervals of differences by 0–5, 6–10 and > 10 amino acids. \*A/Michigan/45/2015 (H1N1); \*\*A/Brisbane/02/2018; \*\*\*(H1N1)A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2); \*\*\*\*A/Kansas/14/2017/H3N2.

включала H1N1 A/Brevig Mission/1/18, H1N1 A/USSR/90/1977, H1N1 A/California/08/2009, H2N2A/Japan/305/1957 и H3N2 A/Aichi/2/1968. Путем сравнения аминокислотных последовательностей внутренних белков пяти ПШ обучающей выборки для каждого белка выводили матрицу инвариантности первичной структуры (МИПС) ПШ. Затем был выполнен поиск в контрольной выборке других ПШ и определены отличия белков неПШ от МИПС. Исключение штамма из числа ПШ проводилось при наличии хотя бы одного отличия структуры их внутренних белков от МИПС.

Дополнительно в генах HA пандемических и птичьих штаммов анализировали присутствие иницирующей у эукариот трансляцию консенсусной последовательности Козак CCG/ACCATG и *in silico* определяли транслируемый с этой последовательностью белок.

В статье используется двойной международный код аминокислот: A,Ala – аланин, C,Cys – цистеин, D,Asp – аспарагиновая кислота, E,Glu – глутаминовая кислота, F,Phe – фенилаланин, G,Gly – глицин, H,His – гистидин, I,Iso – изолейцин, K,Lys – лизин, L,Leu – лейцин, M,Met – метионин, N,Asn – аспарагин, P,Pro – пролин, Q,Gln – глутамин, R,Arg – аргинин, S,Ser – серин, T,Tre – треонин, V,Val – валин, W,Try – триптофан, Y,Tyr – тирозин.

Для обозначения нуклеиновых оснований используется следующая аббревиатура: A – аденин, G – гуанин, C – цитозин, T – тимин, X – любое основание.

### Результаты и обсуждение

Цель прогнозирования на первом уровне состояла в построении оптимальных структур (доминирующих последовательностей) HA подтипов H1N1

и H3N2 вируса гриппа для вакцинных штаммов двух последних (2017–2018 и 2018–2019 гг.) и будущего (2019–2020 гг.) эпидсезонов и в сравнении их с первичной структурой HA штаммов, рекомендованных ВОЗ для включения в вакцину. Внимание к этим эпидсезонам мотивировано тем, что эпидсезон 2017–2018 гг., судя по числу образцов, оказавшихся позитивными к вирусу гриппа, оказался в некоторых странах (особенно в США [7]) наихудшим за длительный период наблюдения, а в текущем эпидсезоне 2018–2019 гг. максимум числа заболевших с подтвержденным диагнозом «грипп» отмечен позднее, чем в эпидсезоне 2017–2018 гг., на 2 недели, после чего фиксировался быстрый темп ослабления эпидемии гриппа в северном полушарии. Кроме того, возникла неопределенность с рекомендацией ВОЗ по вакцинному штамму для подтипа H3N2 на эпидсезон 2019–2020 гг. (см. материалы сайта ВОЗ в Интернете).

В таблице 1 дано сравнение показателей доминирующих последовательностей и HA вакцинных штаммов для эпидсезонов 2017–2019 гг. по распределению числа штаммов по интервалам различий их первичных структур от них.

Этапы построения доминирующей последовательности HA описаны в разделе «Методы», и на рисунке 1 представлен ее короткий фрагмент для выборки штаммов H3N2 эпидсезона 2017–2018 гг. Последовательность строилась по штаммам, циркулировавшим с 1 октября 2017 г. по 1 февраля 2018 г.

В полном варианте рисунка 1 спрессована информация об изменчивости первичной структуры HA всех отфильтрованных штаммов эпидсезона. Сравнение их по нескольким эпидсезонам служит ценным источником информации как для первого, так и второго уровней прогнозирования изменений

**Рисунок 1. Фрагмент доминантной последовательности гемагглютинина для штаммов H3N2 эпидсезона 2017/2018 гг.**

**Figure 1. Fragment of the dominant hemagglutinin sequence for strains H3N2 of the epidemiological season 2017/2018**

```

100 W W W
101 D D D
102 L L .L(256)I(2)
103 F F F
104 V V V
105 E E E
106 R R R
107 S S .N(3)S(255)
108 K K .K(168)R(90)
109 A A .V(1)A(257)
110 Y Y .H(9)Y(249)
111 S S S
112 N N .N(252)S(6)
113 C C C
114 Y Y Y

```

доминирующей последовательности. Первый вертикальный ряд аминокислот на рисунке 1 является последовательностью HA вакцинного штамма, рекомендованного ВОЗ (A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2), представлен для сравнения), второй вертикальный ряд аминокислот – собственно сама построенная доминирующая последовательность HA, параллельно ей, правее – «скелет» молекулы с расположением инвариантных (представлены обозначениями аминокислот) и переменных (представлены точками) сайтов. За последними следует горизонтальный ряд всех замещающих аминокислот, обнаруженных в этих позициях HA у разных штаммов, с указанием (в скобках) для каждой аминокислоты частоты ее встречаемости. Строилась доминирующая последовательность HA вставлением в цепь с инвариантными блоками доминантной аминокислоты из приводимого горизонтального ряда замещающих аминокислот. Особенность распределения встречаемости замен – резкие различия их частот. Условно их можно разделить на доминантные, промежуточные и минорные. В ряду замещающих аминокислот доминантные (их частота встречаемости > 100, если исходная выборка включает > 100 штаммов) преимущественно единственные. Но нередко выявляются позиции с двумя (позиция 108, см. на рис. 1) и даже с тремя доминантными аминокислотами. К минорным аминокислотным заменам условно отнесены те, частота встречаемости которых варьирует от 1 до 10. Промежуточные по частоте замены исчисляются десятками, они нередки, и их важно учитывать при характеристике антигенного спектра штаммов в эпидсезоне. Уточнения по выбору аминокислоты в варьирующей позиции можно дополнить, используя ограничения по встречаемости дуплетов аминокислот в HA. Такие уточнения особенно полезны в случае встречаемости в ряду замен соответствующей позиции молекулы HA двух доминантных замен либо, когда помимо доминантной замены, имеются замены с промежуточной частотой, служащие свидетельством того, что в текущем эпидемическом сезоне преобладают несколько социркулирующих штаммов.

Для лучшего понимания приведенных в таблице 1 данных по периодам необходимо дать краткое описание схемы регулярной подготовки к предстоящему эпидсезону гриппа, проводимой ВОЗ, и пояснить, какие неопределенности связаны с выбором вакцинного штамма конкретно на примере сезонов 2017–2018 гг. и 2018–2019 гг. Выбор комитетом ВОЗ вакцинных штаммов для эпидемического сезона 2018–2019 гг. (условно назовем его как «текущий») в северном полушарии утверждался в феврале 2018 г на основе анализа циркулировавших штаммов в 2017–2018 гг. (его временные границы для выделения штаммов и секвенирования их HA по регламенту определены с 1 октября 2017 г. по 1 февраля 2018 г.), а затем до 30 сентября 2018 г. шел активный процесс производства

вакцин и их испытания. Циркулировавшие же в промежутке с февраля по октябрь 2018 г. штаммы вируса гриппа не учтены в рекомендациях ВОЗ, и в них за этот период возможны изменения, которые могут полностью опрокинуть прогнозы, сформулированные комитетом ВОЗ ранее (в феврале 2018 г.). Такой регламент принятия рекомендаций ВОЗ объясняется длительностью процесса производства и испытания новой вакцины.

Штаммы, выделенные в текущем эпидсезоне 2018–2019 гг. (с 1 октября 2018 г. по 1 февраля 2019 г.), используются нами не только для прогнозирования доминирующей последовательности HA на будущий эпидсезон 2019–2020 гг, но и для оценивания ранее спрогнозированной для него доминирующей последовательности HA по данным эпидсезона 2017–2018 гг. Такая же двойная параллельная оценка прогнозирования осуществлялась для каждого эпидсезона и по вакцинным штаммам, рекомендованным ВОЗ. Соответственно в таблице 1 для каждого эпидсезона и для доминирующей последовательности HA, и для штаммов, рекомендованных ВОЗ, приводится оценка прогнозирования, выполненного для текущего эпидсезона по данным прошлого эпидсезона, и оценка прогнозирования на будущий эпидсезон по данным текущего эпидсезона. Такое двойное параллельное сравнение позволяет выявить эффективность разных подходов прогнозирования.

Сопоставление показателей для HA H1 по доминирующей последовательности и штамму, рекомендованному ВОЗ, свидетельствует о превосходстве доминирующей последовательности в обоих последних эпидсезонах: она более близка, чем штамм, рекомендованный ВОЗ, к структуре HA циркулировавших штаммов и существенно отличается в отражении сдвигов в распределении штаммов по интервалам А, Б и В в эпидсезоне. Рекомендованный ВОЗ (по данным эпидсезона 01.10.2017 – 01.02.2018 гг.) вакцинный штамм на эпидсезон 01.10.2018 – 01.02.2019 гг. A/Michigan/45/2015 (H1N1) очень слабо отразил сдвиг в распределении штаммов по интервалам А, Б и В в эпидсезоне 01.10.2018 – 01.02.2019 гг., в то время как соотношение доминирующей последовательности эпидсезона 01.10.2017 – 01.02.2018 гг. к штаммам иллюстрирует резкое изменение представленности циркулирующих штаммов эпидсезона 01.10.2018 – 01.02.2019 гг. по всем интервалам различий. Чтобы раскрыть природу различий, выявляемых вакцинным штаммом и доминирующей последовательностью, в последней были охарактеризованы изменения структуры от эпидсезона 01.10.2016 – 01.02.2017 гг. к эпидсезону 01.10.2018 – 01.02.2019 гг. (табл. 2), что невозможно было проделать с HA вакцинных штаммов, поскольку один и тот же вакцинный штамм A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) был рекомендован ВОЗ на оба последних эпидсезона.

**Таблица 2. Сравнение доминирующих последовательностей HA смежных эпидсезонов по возникшим в них изменениям**

*Table 2. Comparison of the dominant sequences of HA adjacent epidseasons for the changes in them*

Сравниваемые сезоны Compare seasons	Изменения в ДП Changes	Σ
H1		
ДП 2015/2016 – ДП 2016/2017	Идентичны Are identical	0
ДП 2016/2017 – ДП 2017/2018	S91R, S181T, I312V	3
ДП 2017/2018 – ДП 2018/2019	S200P	1
H3		
ДП 2015/2016 – ДП 2016/2017	N137K N187K I422V G500E	4
ДП 2016/2017 – ДП 2017/2018	K137N T147K R158K K187N R277Q V422I E500G	7
ДП 2017/2018 – ДП 2018/2019	E 78G K108R N137K K158G N187K Q277R H327Q I422V G500E	9

В таблице 2 можно видеть, что в доминирующей последовательности эпидсезона 01.10.2018 – 01.02.2019 гг., по сравнению с таковой эпидсезона 01.10.2017 – 01.02.2018 гг., произошло 9 замен, из которых 6 являются (выделены курсивом) реверсиями тех же позиций доминирующих последовательностей двух предшествующих ей эпидсезонов. Поскольку доминирующая последовательность является прообразом штаммов с доминирующими аминокислотами в HA и не отражает штаммы, например, те, в структуре HA которых аминокислотные замещения с промежуточной частотой встречаемости, естественно возник вопрос: порождены ли изменения в доминирующей последовательности эпидсезона 2018–2019 гг. новыми мутациями либо они являются следствием перераспределения в доминировании теми циркулировавшими штаммами, у которых в измененных позициях были аминокислоты с промежуточной частотой встречаемости? Оказалось, что все 9 замен в доминирующей

последовательности эпидсезона 01.10.2018 – 01.02.2019 гг. не являются мутациями, а проявились в ней в результате смены доминировавших штаммов на штаммы, имевшие ранее в соответствующих позициях аминокислоты с промежуточной частотой встречаемости, что отражено на рисунке 2. В левом столбце его – перечень тех 9 позиций аминокислот эпидсезона 01.10.2018 – 01.02.2019 гг., в которых произошли замены после эпидсезона 2017–2018 гг. (см. табл. 2), а правее расположены позиции тех же аминокислот в доминирующих последовательностях соответственно эпидсезонов 2017–2018 и 2016–2017 гг. Примечательно, что выборки штаммов H3N2 эпидсезонов 2016–2017 и 2017–2018 гг., но не более поздние, содержали в своем составе штаммы, HA которых практически были не отличимы от доминирующей последовательности 01.10.2018 – 01.02.2019 гг. В последнем произошло лишь перераспределение ролей штаммов предшествующих ему двух сезонов.

**Рисунок 2. Сравнение переменных позиций доминирующих последовательностей HA трех эпидсезонов**  
*Figure 2. Comparison of the variable positions of the dominant HA sequences of three epidemic seasons*

2018-2019	2017-2018	2016-2017
78 <b>G</b> <b>K</b> (4) <b>R</b> (1) <b>E</b> (96) <b>G</b> (199)	<b>E</b> <b>K</b> (4) <b>E</b> (202) <b>G</b> (52)	<b>E</b> <b>K</b> (10) <b>E</b> (1399) <b>G</b> (9)
103 <b>R</b> <b>K</b> (92) <b>R</b> (207) <b>Q</b> (1)	<b>K</b> <b>K</b> (168) <b>R</b> (90)	<b>K</b> <b>K</b> (1271) <b>R</b> (146) <b>T</b> (1)
137 <b>K</b> <b>K</b> (215) <b>D</b> (5) <b>N</b> (77) <b>S</b> (1) <b>T</b> (2)	<b>N</b> <b>K</b> (116) <b>N</b> (142)	<b>K</b> <b>K</b> (901) <b>D</b> (1) <b>E</b> (3) <b>I</b> (2) <b>Y</b> (1) <b>N</b> (508) <b>S</b> (2)
153 <b>G</b> <b>K</b> (37) <b>R</b> (11) <b>G</b> (252)	<b>K</b> <b>K</b> (139) <b>R</b> (58) <b>G</b> (61)	<b>R</b> <b>K</b> (220) <b>R</b> (916) <b>E</b> (5) <b>G</b> (277)
187 <b>K</b> <b>K</b> (210) <b>N</b> (90)	<b>N</b> <b>K</b> (91) <b>D</b> (3) <b>N</b> (164)	<b>K</b> <b>K</b> (812) <b>R</b> (14) <b>D</b> (3) <b>N</b> (586) <b>S</b> (2) <b>T</b> (1)
277 <b>R</b> <b>R</b> (233) <b>Q</b> (67)	<b>Q</b> <b>R</b> (101) <b>Q</b> (157)	<b>R</b> <b>R</b> (1193) <b>L</b> (1) <b>Q</b> (224)
327 <b>Q</b> <b>H</b> (49) <b>L</b> (1) <b>Q</b> (250)	<b>H</b> <b>H</b> (174) <b>Q</b> (84)	<b>H</b> <b>H</b> (1236) <b>Y</b> (2) <b>Q</b> (180)
422 <b>V</b> <b>I</b> (97) <b>V</b> (201) <b>F</b> (1) <b>T</b> (1)	<b>I</b> <b>I</b> (168) <b>V</b> (89) <b>T</b> (1)	<b>V</b> <b>I</b> (602) <b>V</b> (812) <b>F</b> (4)
500 <b>E</b> <b>E</b> (202) <b>G</b> (98)	<b>G</b> <b>E</b> (92) <b>G</b> (166)	<b>E</b> <b>E</b> (815) <b>G</b> (603)

Сходная с H3N2 ситуация выявлена и для штаммов подтипа H1N1, для которого свойственно, как видно из таблицы. 2, значительно меньшее изменение доминирующей последовательности. Обобщая, можно предположить, что на протяжении трех последних эпидсезонов циркулировали с разной частотой встречаемости преимущественно одни и те же штаммы, порождая разные сценарии доминирования и формируя иммунитет у населения. Поэтому на третий год их циркуляции потенциал восприимчивости к ним населения будет уже сниженным и раньше на спад пойдет волна эпидемии 2018–2019 гг., что было отмечено ВОЗ по северному полушарию на 6 и 7 недели 2019 г. и системой надзора за гриппом в России. Не исключен сценарий возникновения второй волны эпидемии после наблюдаемого сейчас ее спада из-за вытеснения в доминирующие других циркулирующих штаммов. Особенности статистики встречаемости аминокислот в переменных позициях HA H3 штаммов эпидсезона 2018–2019 гг. проявляются в существовании в HA 8 позиций, которым соответствуют 2 доминирующие аминокислоты, и 17 позиций, доминирующим аминокислотам которых сопутствуют замены аминокислот с промежуточной частотой встречаемости, т.е. нет недостатка в возникновении разных сценариев доминирования среди циркулирующих штаммов, в том числе и варианта социркуляции в сезоне нескольких доминирующих штаммов, что, вероятно, и породило неопределенность для своевременного (в феврале 2019 г.) принятия комитетом ВОЗ по гриппу рекомендации по вакцинному штамму подтипа H3N2 на сезон 2019–2020 гг. Глобальное по северному полушарию снижение волны эпидемии гриппа на 6–7 неделях 2019 г. и быстрый темп ослабления эпидемии гриппа в северном полушарии вряд ли можно объяснить только эффектом предшествующей вакцинации населения, игнорируя сдвиги в доминировании циркулирующих штаммов вируса гриппа.

Подтверждением неоптимального выбора ВОЗ вакцинного штамма A/Michigan/45/2015 (H1N1) на эпидсезон 2018–2019 гг. служит анализ позиций аминокислот, входящих в состав антигенных сайтов HA H1. Среди них имеются 2 позиции (91 и 181), в которых у A/Michigan/45/2015 (H1N1) по сравнению с большинством циркулировавших в эпидсезоне штаммов, находятся минорные замены. Особенно сильное несоответствие по 91-й позиции, где находится серин, свойственный лишь малой доле циркулировавших в эпидсезоне штаммов, в то время как у подавляющего числа штаммов в этой позиции аргинин. Для более углубленного анализа следует также принимать во внимание и изменения в позициях аминокислот, соседствующих с антигенным сайтом. Замены в них на аминокислоты, изменяющие вторичную структуру белка, также способны оказывать влияние на структуру антигенного сайта.

Штамм A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2), рекомендованный в качестве вакцинного на эпидсезон 2018–2019 гг., также отличался от большинства циркулирующих в нем штаммов по трем позициям 137, 158 и 78 соответственно в антигенных кластерах А, В и Е. У вакцинного штамма в этих позициях соответственно аминокислоты аспарагин, аргинин и глутаминовая кислота, а у большинства штаммов эпидсезона – соответственно лизин, глицин и лизин, т.е. имеет место резкое различие по этим позициям в антигенных кластерах.

Что касается рекомендованного ВОЗ в качестве вакцинного штамма на эпидсезон 2019–2020 гг. A/Brisbane/02/2018 (H1N1) вместо A/Michigan/45/2015 (H1N1), то при сравнении близости циркулирующих штаммов (распределение по интервалам А, Б и В, см. табл. 1) к ним обоим и к доминирующей последовательности HA на эпидсезон 2019–2020 гг., выбор ВОЗ штамма A/Brisbane/02/2018 (H1N1) оказывается худшим, чем сохранение в качестве вакцинного штамма A/Michigan/45/2015 (H1N1). По максимальной близости к доминирующей последовательности HA на 2019–2020 гг. кандидатами в вакцинный штамм по подтипу H1N1 можно было бы рекомендовать следующие штаммы: A/Anhui-Yian/SWL1863/2018 (H1N1), A/Iran/137742/2018 (H1N1) и A/Pays\_de\_Loire/2779/2018 (H1N1). Сам штамм A/Brisbane/02/2018/H1N1 отличается от доминирующей последовательности HA H1 2019–2020 гг. по четырем позициям: R62G Q240R P299A I315V. По тому же самому критерию кандидатами в вакцинный штамм по подтипу H3N2 можно было бы рекомендовать следующие штаммы:

- A/Yunnan-Mengzi/1969/2018 (H3N2),
- A/Finland/972/2018 (H3N2),
- A/Minnesota/54/2018 (H3N2),
- A/Brest/041/2019 (H3N2),
- A/Baden-Wuerttemberg/2/2019 (H3N2),
- A/Ulyanovsk/1V/2018 (H3N2),
- A/Switzerland/293/2018 (H3N2).

Для нового рекомендованного ВОЗ на эпидсезон 2019–2020 гг. штамма A/Kansas/14/2017/H3N2 (дата публикации ВОЗ была отсрочена на месяц) характерны наихудшие за исследованный нами период (2013–2019 гг. [3]) показатели соответствия циркулирующим в эпидсезоне штаммам вируса гриппа (см. табл. 1), что еще раз подчеркивает предпочтительность использования доминирующих последовательностей HA для оптимизации прогнозирования вакцинных штаммов на предстоящие эпидсезоны.

Завершая рассмотрение первого уровня прогнозирования штаммов вируса гриппа, хотелось бы подчеркнуть его *актуальность для* построения оптимальной первичной структуры HA вакцинных штаммов, максимально близкой к HA циркулирующих в эпидсезоне штаммов вирусов гриппа,

и минимизацию рисков принятия неоптимальных рекомендаций по составу вакцин, неизбежных при ориентации не серологические данные из-за вырожденности иммунного узнавания. На этом уровне происходит фильтрация штаммов для последующего анализа и выявление штаммов с аномальной структурой HA для более детального сравнения их внутренних белков с таковыми пандемических штаммов.

Для второго уровня прогнозирования необходимо анализ у HA подтипов H1N1 и H3N2 как инвариантных, так и часто мутирующих позиций их первичной структуры. Предложенный конструктор (см. рис. 1) – доминирующая последовательность HA, его инвариантный остов с численным составом заменяющих аминокислот в варьирующих позициях – как компактное представление информации о HA всей совокупности штаммов эпидсезона позволяет более глубоко, чем данные серологического анализа, вникнуть в особенности изменений HA и проследить их по нескольким эпидсезонам, определяя:

- позиции аминокислот, в которых произошли изменения;
- какие аминокислоты вовлечены в замены;
- у какого количества штаммов произошли замещения данной аминокислотой и принадлежность варьирующей позиции антигенным сайтам.

Поскольку определяющая роль в формировании популяционного иммунитета принадлежит

антигенным сайтам HA, то прогнозирование их изменений и поиск в них инвариантов представляется наиболее существенным. По изменениям антигенных сайтов HA H1 накоплена наиболее обширная информация, поэтому в данной публикации мы ограничим второй уровень прогнозирования только HA H1.

Известно, что HA H3 более подвержен изменениям, чем HA H1, что объясняется прежде всего строгим ограничением в трансляционном коде гена HA H1. Оно заключается в исключении в нем квартета (CGA, CGG, CGC и CGT) триплетов, кодирующих аргинин, и соблюдается в H1, выделенных с 1918 г. по настоящее время (рис. 3).

С целью подтверждения этой уникальности трансляционного кода H1 нами были проанализированы более сотни штаммов H1N1, и отклонений от этой консервативной характеристики H1 не выявлено. Сопоставление трансляционного кода штаммов A/SouthCarolina/1/18 и A/California/66/2017 свидетельствует не только о сохранении у них общей уникальности по кодированию аргинина, но и о близости по численным пропорциям использования триплетов остальных аминокислот.

Для других подтипов HA свойственна иная картина исключения триплетов из трансляционного кода, т.е. элиминация из трансляционного кода генов триплетов разных аминокислот, в том числе и триплетов аргинина, не является привилегией только подтипа H1N1, но полная элиминация из трансляционного кода квартета триплетов

**Рисунок 3. Трансляционный код гемагглютининов H1N1 пандемических штаммов**  
 Figure 3. The translation code of the H1N1 pandemic strain hemagglutinins

A/South Carolina/1/1918		A/California/04/2009	
TCT S	7	TGT C	10
TCC S	6	TTC F	10
TCA S	16	TTA L	11
TCG S	3	TAA Z	0
TTT F	9	TGA Z	1
TAT Y	17	TTG L	9
TAC Y	9	TAG Z	0
AGT S	6	ACT T	9
ATC I	10	AGC S	7
AAT N	26	ATT I	18
AAC N	16	AAT N	27
AAA K	21	ACC T	2
AAG K	12	AGC S	9
ATG M	8	ATC I	7
AAT N	26	ACA T	23
AAC N	16	AGA R	14
AAA K	21	ATA I	12
AAG K	12	AAA K	27
ATG M	8	ACG T	3
AAT N	26	AGG R	4
AAC N	16	ATG M	7
AAA K	21	AAG K	15
AAG K	12	ACT T	9
ATG M	8	AGT S	6
AAT N	26	ATT I	10
AAC N	16	AAT N	26
AAA K	21	ACC T	8
AAG K	12	AGC S	11
ATG M	8	ATC I	8
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG K	12
AAG K	12	ATG M	8
ATG M	8	AAT N	26
AAT N	26	AAC N	16
AAC N	16	AAA K	21
AAA K	21	AAG	



по субъединице HA1, в которой локализируются антигенные сайты штаммов подтипа.

Число позиций в HA с вариабельным составом аминокислот у циркулирующих в эпидсезоне штаммов может составлять 200–300 и даже более, но для прогнозирования мало значимы те из них, в которых зарегистрированы минорные замены. Игнорирование их сильно сокращает список позиций (до 20–30), в которых потенциально возможна смена доминирующей аминокислоты. Как показано выше (см. рис. 2), чаще всего в новом эпидсезоне доминирующими в той или иной вариабельной позиции являются те аминокислоты в ряду заменяемых, которые в предшествующем эпидсезоне имели промежуточную частоту замещения. Их многократное возникновение у штаммов служит свидетельством, что они могут быть альтернативой для смены доминирующей аминокислоты без нарушения функции HA, особенно тогда, когда частота их возрастает от одного эпидсезона к другому. Эта смена ролей между доминирующими и «промежуточными» аминокислотами в вариабельной позиции определяется, по-видимому, влиянием метеорологических особенностей эпидсезона и сдвигами в формирующемся к циркулирующим штаммам популяционном иммунитете.

Изменения антигенных сайтов HA H1 в доминирующих последовательностях с 2012 по 2019 гг. немногочисленны [3], и обращаясь к данным прогнозирования первого и второго уровней, следует помнить, что доминирующая последовательность каждого эпидсезона, как и любой рекомендованный ВОЗ вакцинный штамм, не отражает всего многообразия антигенных сайтов циркулирующих штаммов (она важна для выбора единственного кандидата) и не способна обеспечить максимальную эффективность вакцинации. Одним из выходов из этой ситуации могло бы быть включение в вакцину дополнительных штаммов по каждому подтипу вируса (особенно по H3N2), что, конечно, усложнит ее состав и производство. Такое усложнение состава гриппозной вакцины не следует рассматривать как экстраординарное в вакцинологии, поскольку

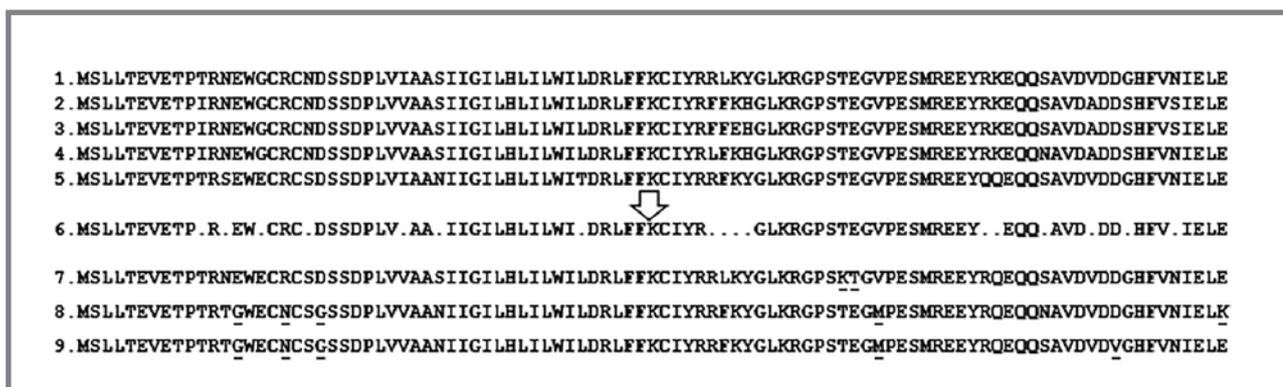
на практике успешно используются более 10 лет пентавалентная и гексавалентная вакцины.

Завершая рассмотрение второго уровня прогнозирования штаммов вируса гриппа, отметим, что антигенным кластерам HA H3 свойственны другие инварианты. Полученные в результате анализа штаммов вирусов гриппа в эпидсезонах с 2012 по 2019 гг. данные дают основание полагать, что в текущем и в предшествующих ему двух эпидсезонах среди множества штаммов предсуществуют те, которые станут доминирующими в последующем эпидсезоне и доминирующая последовательность HA текущего эпидсезона позволяет с высокой вероятностью охарактеризовать потенциальный тренд в предстоящем эпидсезоне. Возможность надежного прогнозирования (на 2–3 года вперед) изменений антигенных сайтов с помощью скрытой марковской модели лимитируется недостаточной пока информацией о влиянии особенностей метеорологических показателей на развитие эпидсезонов и немногочисленной еще последовательностью эпидсезонов с достаточно большой выборкой штаммов с секвенированным геномом, чтобы построить матрицы перехода из одного состояния в другое, как и вероятности сохранения начального состояния [4].

Проблему предсказания возникновения пандемий и связанных с ней вопросов (что?, где? и когда?), рассматриваемых на третьем уровне прогнозирования, можно переформулировать, пытаясь ответить на вопрос, имеются ли у белков штаммов вирусов гриппа минувших пандемий общие характеристики («молекулярные образы»), по которым можно было бы распознать пандемические штаммы. С этой целью нами были проанализированы внутренние белки 5 пандемических штаммов (по одному для каждой пандемии), составивших обучающую выборку: нуклеопротеин NP, матриксные белки M1 и M2, белки полимеразного комплекса PB1, PB2 и PA, неструктурный белок NS2; из-за вариабельности длины неструктурный белок NS1 был исключен из анализа. Путем сравнения аминокислотных последовательностей внутренних белков

**Рисунок 5. Пример построения матрицы инвариантности первичной структуры для белка M2 пандемических штаммов**

*Figure 5. An example of constructing the matrix of invariance of the primary structure for M2 protein of pandemic strains*



пяти пандемических штаммов обучающей выборки для каждого белка выводили матрицу инвариантности первичной структуры (МИПС) внутренних белков пандемических штаммов. Пример построения МИПС показан на M2 белке на рисунке 5. Его верхние 5 строк представлены первичными структурами белка M2 пяти пандемических штаммов обучающей выборки. Из них выводится МИПС M2 (строка 6), в которой обозначены только строго консервативные позиции аминокислот, а точками показаны позиции заменяемых аминокислот у разных пандемических штаммов. Последние, как правило, являются изофункциональными по размеру, гидрофобности или заряду. Ниже матрицы инвариантности M2 представлены первичные структуры M2 птичьих штаммов H5N1 A/Indonesia/5/2005, H7N9 A/Fujian/02151/2017 и H9N2 A/chicken/Anhui/2017 (соответственно строки 7–9), вызывающих тревогу из-за потенциальной опасности трансформации их в пандемические. Метод был разработан нами ранее [6], и в данной статье мы вновь вернулись к проблеме угрозы возникновения пандемий гриппа, виновниками которыми могли бы стать птичьи подтипы вируса гриппа, анализируя характеристики их новых циркулирующих штаммов.

Сравнение МИПС с первичными структурами белков вирусов гриппа штаммов контрольной выборки проводилось только по консервативным позициям. Как видно на рисунке 5, в случае белка M2 у H5N1A/Indonesia/5/2005 имеются отличия (они подчеркнуты) по двум, у H7N9 A/Fujian/02151/2017 и H9N2 A/chicken/Anhui/2017 по 5 позициям. Распознавание вируса гриппа А на основе МИПС позволило успешно идентифицировать в контрольной выборке все пандемические штаммы и подтвердило, что пандемические штаммы являются наиболее близкими по родству их внутренних белков.

В таблице 3 в качестве иллюстрации представлены различия по МИПС семи внутренних белков шести непандемических штаммов вирусов гриппа А. Видно, что от штамма к штамму отличия по МИПС по каждому внутреннему белку заметно варьируют. Если учесть сильные различия между внутренними белками по длине, то самыми консервативными являются белки полимеразного комплекса.

«Молекулярные образы» пандемических штаммов, представленные комплексом инвариантностей первичных структур внутренних белков, позволяют правильно распознавать все пандемические штаммы и исключить непандемические штаммы. Пандемические штаммы, разделенные по их возникновению десятками лет и отличающиеся составом подтипов HA и NA (H1, H2, H3 и N1, N2), имеют сильное сходство по внутренним белкам, образуя особое подмножество, от которого на разных расстояниях «отдалены» непандемические штаммы. МИПС отдельных белков составляют совокупный инвариантный паттерн внутренних белков пандемических штаммов вируса гриппа А. По суммарному показателю наиболее удалены от пандемических штаммов штаммы H7N9 A/Fujian/02151/2017 и H9N2 A/chicken/Anhui/2017. Среди птичьих штаммов H7N7/A/Netherlands/219/03 ближе всего к пандемическим штаммам. В первом приближении такая близость должна настораживать, но ни одна из пяти последних пандемий, как известно, не была ассоциирована по времени с эпизоотией у домашних или перелетных птиц. Хотя для гриппозной инфекции видовые барьеры низки, различия человеческих и птичьих вирусов гриппа по доминированию у них разных подтипов HA и NA, как и особенности первичных структур их внутренних белков, служат высоким барьером для трансмиссии птичьих вирусов от человека человеку и последующей продуктивной инфекции [8]. Эти особенности, возможно, не все еще распознаны.

**Таблица 3. Отличия по числу аминокислот внутренних белков некоторых штаммов вируса гриппа от матриц инвариантности пандемических штаммов**

*Table 3. Differences in the number of amino acids of the internal proteins of some strains of the influenza virus from the matrix of invariance of pandemic strains*

Штаммы	Внутренние белки								Σ
	M1	M2	NP	PB1	PB2	PA	NS2	(-) PB2-S40	
H1N1A/Puerto Rico/8/1934	1	4	6	7	8	4	2	+	32
H1N1 Netherlands/26/ 2007	2	3	6	7	12	8	3	+	41
H1N1 A/Mexico/4115/2009	0	0	0	0	0	0	0	+	0
H5N1 A/Indonesia/5/2005	4	2	5	5	4	12	3	-	35
H7N7 A/ Netherlands/219/03	0	2	3	0	2	5	0	-	12
H7N9 A/Fujian/02151/2017	11	5	9	11	4	14	2	-	56
H9N2 >A/chicken/Anhui/2017	11	5	8	11	4	14	3	-	56

В предпринятом нами анализе пандемических штаммов были использованы только «явные» внутренние белки. Возможно, что другие белки (PB1-F2, PA-X, M42, NS3, PB2-S1, PB1-N40, PA-N155 и PA-N182), транслируемые в результате сдвига рамки считывания или сплайсинга и обладающие мощными иммуномодулирующими свойствами и определяющие соответственно вирулентность вирусов гриппа, дополняют и еще более усилят критерии выявления ПШ. Как показали новые исследования, у вируса гриппа трансляции подвергаются также и (-)РНК NA [9], а ранее была высказана гипотеза о существовании белка NEG8, закодированного в (-)РНК NS гене [10]. Они послужили поводом для биоинформационного скрининга всех 8 (-)РНК вирусов гриппа на наличие в них последовательности Козак CCG/ACCAUG, которая рассматривается как распространенная у эукариот область инициации трансляции, и для анализа аминокислотной последовательности, стартующей с этой области инициации трансляции. В результате было выявлено, что ген PB2 у подтипов H1N1, H2N2 и H3N2 является, возможно, носителем информации для белка (обозначенного нами как (-)PB2-S40) длиной в 40 аминокислот (позиция в гене PB2 всех штаммов H1N1, H2N2 и H3N2: 292-172). У проанализированных нами птичьих подтипов H5N1, H7N7, H9N2 и H9N7 он отсутствует. Последовательности (-)PB2-S40 пандемических штаммов разных подтипов пандемических штаммов вирусов гриппа представлены на рисунке 6.

В гене PB1 у подтипов H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, H7N7, H9N2 и H7N9 с одной и той же позиции инициации трансляции *in silico* кодируются белки разной длины, но у H1N1 A/Brevig Mission/1/18 эта позиция инициации трансляции не выявляется. Безотносительно к функции (-)PB2-40 в жизненном цикле вирусов гриппа его консервативность по длине, положению в гене и структуре, а также его отсутствие у птичьих штаммов позволяют рассматривать (-)PB2-40 как возможного кандидата в маркеры пандемичности и использовать для более точной идентификации птичьих подтипов вирусов гриппа.

Уместен вопрос: можно ли было предсказать пандемию 2009–2010 гг. и иметь, вместо пяти, четыре штамма пандемий 1918, 1957, 1968 и 1977 гг., чтобы точно определить принадлежность к пандемическим того или иного

штамма, при условии, что в природе возникновение пандемических штаммов вирусов гриппа А связано с конвергенцией его внутренних белков к выявленным нами инвариантам пандемичности? Это условие у вируса пандемии 2009 г. проявилось, и, следовательно, используя описываемые нами подходы распознавания ПШ, пандемию 2009–2010 гг. можно было предсказать на самой ранней ее стадии [6].

Другой вопрос: может ли каждый птичий вирус гриппа А, способный инфицировать людей, приобрести пандемичность через последовательно генерируемые изменения фрагментов генома, не лимитированные структурными или функциональными эволюционными ограничениями, или же пандемические вирусы являются редкими образованиями, сложная констелляция фрагментов генома которых не может быть сформирована, кроме как посредством редких и пока неясных механизмов? [6]. Изначально озабоченность исследователей была вызвана вирусом H5N1. Модификации птичьих штаммов H5N1 показали, что обретение ими трансмиссивности среди экспериментальных животных можно достичь разными путями [11, 12]. Однако лабораторные модели часто не приемлемы в самой природе. Сущность формирования пандемичности является более сложной. Выявление у пандемических штаммов инвариантных матриц их внутренних белков свидетельствует о том, что возникновение пандемичности требует весьма строгого консенсуса первичных структур внутренних белков.

Ведущим механизмом в возникновении пандемических штаммов является реассортация компонентов генома вируса гриппа, сопровождаемая непрерывно протекающим мутационным процессом. В природе вирусы репродуцируются с континуумом изменений первичных последовательностей составляющих их белков, и отдельные штаммы разных хозяев могут содержать какой-то из белков, близкий или идентичный соответствующей МИПС. Такие штаммы вирусов не являются редкостью, и наблюдаемая в реальной жизни скоротечная летальность инфицированных – возможно, один из следов их краткого существования. Реассортация приводит к возникновению множества комбинаций генов, и наиболее жизнеспособными, возможно, оказываются вирионы

**Рисунок 6. Последовательности пептидов (-)PB2-S40 для пандемических штаммов**  
**Figure 6. Peptide (-)PB2-S40 sequences for pandemic strains**

H1N1 A/Brevig Mission/1/1918	MSQPEVIPS LGLIRHRSFY SIEFVLAHFSQESFPLSSCLL (40)
H2N2 A/JAPAN/305/1957	MSQPEVIPS HDPIRHH SFYSIEFALAHFSQESFLLSSCQL (40)
H3N2 A/AICHI/2/1968	MSLPRVIPS LDLIRHHSFCSIEFVLAHFSQEPFLLSSCQL (40)
H1N1 A/USSR/90/1977	MSQPGVIPS LGLIRHHSFY SIMFALAHFSQESFPLSFCLL (40)
H1N1 A/California/04/2009	MLRPEVIPS LGLIQHRLFC SRGFVLVHSSLESCPLFSCLL (40)

с констелляцией генов, обеспечивающей наибольшую близость с МИПС. Появление у реассортантов 2–3 белков с МИПС соответствующих белков можно было бы рассматривать как возникновение предпандемических штаммов, способных формировать траектории пандемичности. Поскольку пандемические штаммы обладают наиболее высокими характеристиками по репродукции и трансмиссивности, то приближающиеся к ним предпандемические штаммы будут, вероятно, обладать более высокой выживаемостью и способностью выступать в качестве аттрактора новых реассортаций, обновляя и еще более приближая состав компонентов их генома к пандемическим штаммам. Этот гипотетический сценарий способствует быстрому и неожиданному возникновению штамма с пандемическими свойствами, как это случилось с пандемией 2009 г. [6].

Если же решать дилемму: являются ли птичьих штаммы «отступающим риском или грядущей катастрофой» человечества [8,13], то данные по распознаванию образов внутренних белков пандемических штаммов свидетельствуют о большей вероятности первого. В этой связи примечательно, что подтип H7N7/A/Netherlands/219/03 ближе всех по совокупной МИПС к пандемическим штаммам (см. табл. 3), но по прошествии уже 16 лет после его описания, циркулируя в природе, он не трансформировался в пандемический штамм. Инварианты внутренних белков пандемических штаммов были описаны нами 5 лет назад [6], и на сегодняшний день дистанция их от внутренних белков птичьих штаммов еще больше возросла.

Завершая обсуждение проблемы прогнозирования возникновения будущих пандемий гриппа, хотелось бы подчеркнуть, что выполненный нами анализ позволяет предположить, что пандемические штаммы 1918, 1957, 1968, 1977 и 2009 гг. обрели свой пандемический потенциал конвергенцией их внутренних белков к пандемическим инвариантам; т.е. пандемический потенциал вирусов гриппа А формировался уникальной комбинацией внутренних белков, которая случайно и приближенно воссоздавалась через различные промежутки времени, исчисляемые десятками лет. Если эта комбинация молекулярных инвариантных паттернов служит фундаментальной основой пандемичности и воспроизводилась ранее в пандемиях минувших столетий, то прогнозирование будущих пандемий гриппа не представляется уже нереальным или недостижимым: новое поколение методов секвенирования нуклеиновых кислот позволяет в кратчайшие сроки получать информацию по большому числу циркулирующих в природе штаммов, а биоинформатика способна анализировать огромные базы данных на различных уровнях, отслеживая и траекторию

формирования возможной пандемической опасности при поддержке открытого международного сотрудничества [6].

Какое же место прогнозирования в поисках новых вакцин против вируса гриппа? Многообразие подтипов вирусов гриппа и их извечная изменчивость повернули вектор поисков к универсальным вакцинам, основой которых служат чаще всего короткие консервативные фрагменты НА или М белка, заключенные в различные по своей природе платформы. Характерно, что многообразие платформ превосходит множество консервативных последовательностей, используемых в качестве антигенов. Нет недостатка в изобретательности и разнообразии их сочетаний, экспериментируемых уже на протяжении десятилетия, как и в недостатке обзоров, их описывающих. Однако на сегодняшний день универсальная вакцина против гриппа остается «алхимической мечтой» [14]. При скрининге тысяч вирусных штаммов консервативные последовательности оказываются короткими фрагментами. Искатели универсальных вакцин против гриппа, как и искатели вакцин против ВИЧ, столкнулись с «капризами» иммунной системы, знания о которой оказались и по сей день недостаточными, чтобы потеснить методы, созданные пастеровской эпохой. Но дело не только в иммунной системе – уже в рамках лабораторных испытаний универсальных вакцин возникали мутанты вируса, резистентные к созданным против них вакцинам [15,16]. Ряд новых вакцин находятся в стадии клинических испытаний, ждут клинических подтверждений новые кандидаты в вакцины с удивительно широким спектром противовирусной активности [17,18]. Им предстоит пройти длинный путь к признанию, а сегодня человечество располагает лицензированными повсюду вакцинами: инактивированными, субъединичными и живыми. Исчерпан ли потенциал их совершенствования? Нет, не исчерпан, и одним из важнейших инструментов в увеличении их эффективности является прогнозирование на основе биоинформатики.

### Заключение

Рассмотренная нами трехуровневая система анализа циркулирующих в эпидсезоне штаммов вируса гриппа позволяет, с одной стороны, реализовать оптимальный выбор вакцинных штаммов для эпидсезона, минимизируя риски ошибочных их выборов (первый и второй уровни прогнозирования, нацеленные на выявление сдвигов в доминирующей группе штаммов в эпидсезонах), а с другой стороны, отслеживать (третий уровень прогнозирования) штаммы с препандемическим потенциалом, сочетающие в себе резко обновленную структуру НА и близость их внутренних белков к матрицам инвариантности структурных белков пандемических штаммов.

## Литература

- Klingen T.R., Reimering S., Guzmán C.A., et al. *In silico vaccine strain prediction for human influenza viruses* // *Trends in Microbiology*. 2018. Vol. 26, N 2. P. 119–131.
- Morris D.H., Gostic K.M., Pompei S., et al. *Predictive modeling of influenza shows the promise of applied evolutionary biology* // *Trends in Microbiology*. 2018. Vol. 26, N 2. P. 102–118.
- Харченко Е.П. Оптимизация прогнозирования вакцинных штаммов гриппа // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2019. Т. 18, № 1. С. 4–17.
- Rabiner L.R. *A tutorial on Hidden Markov Models and selected applications in speech recognition* // *Proceedings of the IEEE*. 1989. Vol. 77. P. 257–286.
- Урбах В.Ю. Биометрические методы. Москва; 1964. 415 с.
- Харченко Е.П. Инвариантные паттерны внутренних белков пандемических вирусов гриппа // *Инфекция и иммунитет*. 2015. Т. 5, № 4. С. 323–330.
- Estrada L.D., Schultz-Cherry S. *Development of a universal influenza vaccine* // *J. Immunol*. 2019. Vol. 202. P. 392–398.
- Morens D.M., Taubenberger J.K. *Pandemic influenza: certain uncertainties* // *Rev. Med. Virol*. 2011. Vol. 21. P. 262–284.
- Hickman H.D., Mays J.W., Gibbs J., et al. *Influenza A virus negative strand RNA is translated for CD8<sup>+</sup> T cell immunosurveillance* // *J Immunol*. 2018. Vol. 201, N 4. P. 1222–1228.
- Zhirnov O.P., Poyarkov S.V., Vorob'eva I.V., et al. *Segment NS of influenza A virus contains an addition gene NSP in positive-sense orientation* // *Dokl. Biochem. Biophys*. 2007. Vol. 414. P. 127–133.
- Herfst S., Schrauwen E.J.A., Linster M., et al. *Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets* // *Science*. 2012. Vol. 336. P. 1534–1541.
- Imai M., Watanabe T., Hatta M., et al. *Experimental adaptation of an influenza H5 haemagglutinin (HA) confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets* // *Nature*. 2012. Vol. 486, N. 7403. P. 420–428.
- Morens D.M., Taubenberger J.K., Fauci A.S. *Pandemic influenza viruses — hoping for the road not taken* // *N. Engl. J. Med*. 2013. Vol. 368, N. 25. P. 2345–2348.
- Cohen J. *Universal flu vaccine is 'an alchemist's dream'* // *Science*. 2018. Vol. 362, N. 6419. P. 1094.
- Chai N., Swem L.R., Reichelt M., et al. *Two escape mechanisms of influenza A virus to a broadly neutralizing stalk-binding antibody* // *PLoS Pathog*. 2016. Vol. 12, N. 6. P. e1005702.
- Prachanronarong K.L., Canale A.S., Liu P., et al. *Mutations in influenza A virus neuraminidase and hemagglutinin confer resistance against a broadly neutralizing hemagglutinin stem antibody* // *J Virol*. 2019. Vol. 93, N. 2. P. e01639–18.
- Laursen N.S., Friesen R.H.E., Zhu X., et al. *Universal protection against influenza infection by a multidomain antibody to influenza hemagglutinin* // *Science*. 2018. Vol. 362, N. 6414. P. 598–602.
- Kanekiyo M., Joyce M.G., Gillespie R.A., et al. *Mosaic nanoparticle display of diverse influenza virus hemagglutinins elicits broad B cell responses* // *Nat Immunol*. 2019. Vol. 20, N. 3. P. 362–372.

## References

- Klingen TR, Reimering S, Guzmán CA, et al. *In silico vaccine strain prediction for human influenza viruses*. *Trends in Microbiology*. 2018;26(2):119–131. doi: 10.1016/j.tim.2017.09.001
- Morris DH, Gostic KM, Pompei S, et al. *Predictive modeling of influenza shows the promise of applied evolutionary biology*. *Trends in Microbiology*. 2018;26(2):102–118. doi: 10.1016/j.tim.2017.09.004
- Kharchenko EP. *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
- Rabiner LR. *A tutorial on Hidden Markov Models and selected applications in speech recognition*. *Proceedings of the IEEE*. 1989;77:257–286.
- Urbakh VJ. *Biometric methods*. Moscow; 1964. (In Russ.)
- Kharchenko EP. *The invariant patterns of the internal proteins of pandemic influenza viruses*. *Infektsiya i immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2015;5(4):323–330. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-2015-4-323-330
- Estrada LD, Schultz-Cherry S. *Development of a universal influenza vaccine*. *J Immunol*. 2019;202:392–398. doi: 10.4049/jimmunol.1801054
- Morens DM, Taubenberger JK. *Pandemic influenza: certain uncertainties*. *Rev Med Virol*. 2011;21:262–284. doi: 10.1002/rmv.689
- Hickman HD, Mays JW, Gibbs J, et al. *Influenza A virus negative strand RNA is translated for CD8<sup>+</sup> T cell immunosurveillance*. *J Immunol*. 2018;201(4):1222–1228. doi: 10.4049/jimmunol.1800586
- Zhirnov OP, Poyarkov SV, Vorob'eva IV, et al. *Segment NS of influenza A virus contains an additional gene NSP in positive-sense orientation*. *Dokl Biochem Biophys*. 2007;414:127–133.
- Herfst S, Schrauwen EJA, Linster M, et al. *Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets*. *Science*. 2012;336:1534–1541. doi: 10.1126/science.1213362
- Imai M, Watanabe T, Hatta M, et al. *Experimental adaptation of an influenza H5 haemagglutinin (HA) confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets*. *Nature*. 2012;486(7403):420–428. doi: 10.1038/nature10831
- Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. *Pandemic influenza viruses — hoping for the road not taken*. *N Engl J Med*. 2013;368(25):2345–2348. doi: 10.1056/NEJMp1307009
- Cohen J. *Universal flu vaccine is 'an alchemist's dream'*. *Science*. 2018;362(6419):1094. doi: 10.1126/science.362.6419.1094
- Chai N, Swem LR, Reichelt M, et al. *Two escape mechanisms of influenza A virus to a broadly neutralizing stalk-binding antibody*. *PLoS Pathog*. 2016;12(6):e1005702. doi: 10.1371/journal.ppat.1005702
- Prachanronarong KL, Canale AS, Liu P, et al. *Mutations in influenza A virus neuraminidase and hemagglutinin confer resistance against a broadly neutralizing hemagglutinin stem antibody*. *J Virol*. 2019;93(2):e01639–18. doi: 10.1128/JVI.01639-18
- Laursen NS, Friesen RHE, Zhu X, et al. *Universal protection against influenza infection by a multidomain antibody to influenza hemagglutinin*. *Science*. 2018;362(6414):598–602. doi: 10.1126/science.aag0620
- Kanekiyo M, Joyce MG, Gillespie RA, et al. *Mosaic nanoparticle display of diverse influenza virus hemagglutinins elicits broad B cell responses*. *Nat Immunol*. 2019;20(3):362–372. doi: 10.1038/s41590-018-0305-x

## Об авторах

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

Поступила: 23.02.2019. Принята к печати: 28.03.2019.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## About the Authors

- 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: 23.02.2019. Accepted: 28.03.2019.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.