

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-347>

© НОВИКОВ Д.В., МЕЛЕНТЬЕВ Д.А., ТАЛАЕВ В.Ю., НОВИКОВА Н.А., МОХОНОВА Е.В., КАШНИКОВ А.Ю., ЗАИЧЕНКО И.Е., СВЕТЛОВА М.В., КУРКОВА Е.В., БАБАЙКИНА О.Н., ЛАПИН В.А., ЦЫГАНОВА М.И., ЗАЙЦЕВ Д.Е., НОВИКОВ В.В., 2025



Антитела против VP3 echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) нейтрализуют вирус *in vitro*

Новиков Д.В.^{1,2✉}, Мелентьев Д.А.^{1,2}, Талаев В.Ю.¹, Новикова Н.А.¹, Мохорова Е.В.¹, Кашников А.Ю.¹, Заиченко И.Е.¹, Светлова М.В.¹, Куркова Е.В.¹, Бабайкина О.Н.¹, Лапин В.А.^{1,2}, Цыганова М.И.¹, Зайцев Д.Е.^{1,2}, Новиков В.В.^{1,2}

¹ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 603950, г. Нижний Новгород, Россия;

²ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», 603950, г. Нижний Новгород, Россия

Резюме

Введение. Широкая распространенность энтеровируса echovirus 30 (E30) и случаи тяжелого течения инфекции указывают на необходимость разработки средств иммунопрофилактики. В структуре поверхностного белка VP3 ряда энтеровирусов найдены эпитопы для нейтрализующих антител и Т-клеточного ответа. Однако иммуногенные свойства VP3 E30 не изучены.

Целью настоящей работы явилась характеристика иммуногенности капсидного белка VP3 E30 и изучение вируснейтрализующих свойств антител против VP3 E30.

Материалы и методы. Рекомбинантный VP3_{E30} и химерный белок S_N-VP3_{E30}, состоящий из S-региона VP1 норовируса и полноразмерного VP3 E30, экспрессировали в *Escherichia coli*. S_N-VP3_{E30} использовали для формирования вирусоподобных частиц (ВпЧ). Действие S_N-VP3_{E30} на дендритные клетки (ДК) человека оценивали методом проточной цитофлуориметрии по изменению экспрессии HLA-DR, CCR7, CD80, CD83 и CD86. Для исследования иммуногенных свойств S_N-VP3_{E30} иммунизировали мышей линии BALB/c и морскую свинку. Титры антител и их avidность определяли методом иммуноферментного анализа. Взаимодействие антител против VP3 с вирусом E30 изучали с помощью иммуноэлектронной микроскопии. Способность нейтрализовать вирус исследовали в культуре клеток эмбриональной рабдомиосаркомы (RD).

Результаты. Рекомбинантный VP3_{E30} вызывал неполное созревание ДК человека, характеризующееся отсутствием стимуляции экспрессии хемокинового рецептора CCR7. Включение VP3 в состав химерных ВпЧ приводило к полному созреванию ДК и сильному гуморальному иммунному ответу у лабораторных животных. Антитела против VP3 характеризовались высокой avidностью, способностью вызывать агрегацию вирусных частиц *in vitro* и нейтрализовать вирус E30 в культуре клеток RD.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что VP3 может быть использован в качестве антигена в составе субъединичной вакцины против энтеровируса E30.

Ключевые слова: echovirus 30; VP3; вирусоподобные частицы; химерные белки; вакцины

Для цитирования: Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., Талаев В.Ю., Новикова Н.А., Мохорова Е.В., Кашников А.Ю., Заиченко И.Е., Светлова М.В., Куркова Е.В., Бабайкина О.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е., Новиков В.В. Антитела против VP3 echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) нейтрализуют вирус *in vitro*. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 477–486.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-347> EDN: <https://elibrary.ru/thqkln>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 23.07.2010). Проведение исследований одобрено Этическим комитетом ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (протокол № 5 от 25.11.2021).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-347>

Antibodies against VP3 protein of echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) neutralize virus *in vitro*

Dmitry V. Novikov^{1,2✉}, Dmitry A. Melentev^{1,2}, Vladimir Yu. Talayev¹, Nadezhda A. Novikova¹, Ekaterina V. Mokhonova¹, Alexander U. Kashnikov¹, Irina E. Zaichenko¹, Marya V. Svetlova¹, Elena V. Kurkova¹, Olga N. Babaykina¹, Vladislav A. Lapin^{1,2}, Maria I. Tsyganova¹, Dmitry E. Zaitsev^{1,2}, Viktor V. Novikov^{1,2}

¹Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rosпотребнадзор), 603950, Nizhny Novgorod, Russia;

²N.I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 603950, Nizhny Novgorod, Russia

Abstract

Introduction. The widespread occurrence of enterovirus echovirus 30 (E30) and cases of severe disease indicate the need for vaccine development. Epitopes for neutralizing antibodies and T-cell response have been found in VP3 proteins of some enteroviruses. However, the immunogenic properties of VP3 E30 have not been studied. The aim of this work is to characterize the immunogenic properties of VP3 E30 and testing the virus-neutralizing properties of antibodies against VP3 E30.

Materials and methods. VP3_{E30} and the chimeric protein S_N-VP3_{E30}, consisting of the S region of norovirus VP1 and VP3 E30 were expressed in *Escherichia coli*. S_N-VP3_{E30} was used to form virus-like particles (VLPs). The effect on human dendritic cells (DCs) was assessed by flow cytometry to measure changes in HLA-DR, CCR7, CD80, CD83 and CD86 expression. BALB/c mice and guinea pig were used for immunization with S_N-VP3_{E30}. Antibody titers and avidity were determined by ELISA. The interaction of antibodies with VP3 E30 was studied by immunoelectron microscopy and virus neutralization in embryonal rhabdomyosarcoma (RD) cell culture.

Results. Recombinant VP3 E30 caused incomplete DCs maturation, characterized by the understimulation of the CCR7 chemokine receptor expression. Inclusion of VP3 in the chimeric VLPs resulted in complete DCs maturation and a strong humoral immune response in laboratory animals. Antibodies against VP3 were characterized by high avidity, the ability to induce agglomeration of viral particles and neutralization of E30 in RD cell culture.

Conclusion. The obtained results indicate that VP3 can be used as an antigen in the composition of a subunit vaccine against enterovirus E30.

Keywords: echovirus 30; VP3; virus-like particles; chimeric proteins; vaccines

For citation: Novikov D.V., Melentev D.A., Talayev V.Yu., Novikova N.A., Mokhonova E.V., Kashnikov A.Yu., Zaichenko I.Ye., Svetlova M.V., Kurkova E.V., Babaykina O.N., Lapin V.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E., Novikov V.V. Antibodies against VP3 protein of echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) neutralize virus *in vitro*. *Problems of Virology (Voprosy Virologii)*. 2025; 70(5): 477–486 (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-347> EDN: <https://elibrary.ru/thqkln>

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethical statement. The authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with the Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, July 23, 2010). The research was approved by the Ethics Committee of the Federal Budgetary Science Institution Academician I.N. Blokhina NNRIEM of Rosпотребнадзор (protocol No. 5 dated November 25, 2021).

Введение

Echovirus 30 (E30), являющийся одним из представителей вида *Enterovirus betacoxsackie* (*Enterovirus B*), широко распространен по всему миру и представляет серьезную проблему для здравоохранения [1]. Вирус E30 является нейротропным, инфицирование может проявляться в форме менингита реже менингоэнцефалита, энцефалита или системного заболевания. Наиболее часто E30 детектируется при вирусном менингите у детей и у лиц с ослабленным иммунитетом [2].

У инфицированных пациентов отмечаются сильные приступы мигрени, высокая температура, светобоязнь и другие клинические проявления. Обследование детей с вызванным E30 менингитом показало, что инфицирование ассоциируется с нарушениями регионарного кровотока, вероятно связанными с цереброваскулярным воспалением [3]. Энцефалит E30 является частой причиной вспышек и подъемов заболеваемости менингитом. В Европе в 2015–2018 гг. E30 составил 14,5% всех подтвержденных случаев энтеровирусной инфекции [4]. Имеются сообщения

о том, что E30 генетически разнообразен. Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей гена капсидного белка VP1 показал существование 8 монофилетических групп или линий вируса [5]. Таким образом, широкая распространенность и случаи тяжелого течения болезни указывают на необходимость разработки средств иммунопрофилактики E30-инфекции.

Вирус E30, как и другие энтеровирусы, имеет мелкие безоболочечные вирионы, поверхность капсида которых образована тремя белками – VP1, VP2 и VP3. Взаимодействие этих белков между собой приводит к образованию участка связывания вируса с рецептором клетки. Наиболее исследованным у энтеровирусов является белок VP1, в котором обнаружено множество линейных эпитопов для нейтрализующих вирус антител. Это определяет выбор большинства исследователей в пользу VP1 для создания вакцин против энтеровирусов [6]. Свойства других поверхностных белков E30 изучены недостаточно. На примере полиовируса было показано, что VP3 проявлял более выраженную способность к проникновению в головной мозг через гематоэнцефалический барьер по сравнению с VP1 [7]. Установлено, что VP3 Enterovirus D68 играет ключевую роль в подавлении врожденного иммунитета хозяина, блокируя синтез интерферонов I типа [8]. В структуре VP3 некоторых энтеровирусов найдены эпитопы для нейтрализующих антител [9–11] и Т-клеточного ответа [12]. Это указывает на возможность использования белка VP3 энтеровирусов в качестве антигена для разработки вакцин или терапевтической мишени. Однако иммуногенные свойства VP3 E30 не изучены.

Цель исследования – характеристика иммуногенных свойств VP3 E30.

Материалы и методы

В работе использовали нуклеотидную последовательность VP3 Echovirus 30 isolate NSW-V46-2008-ECHO30 (GenBank № MF678335.1). Для успешной экспрессии в *Escherichia coli* проводили оптимизацию кодонов с использованием информации, представленной в базе данных Codon usage database (<http://www.kazusa.or.jp/codon/>). ДНК синтезировали в ООО «Люмипроб РУС» (Россия). Рекомбинантный VP3_{E30} получали, как описано ранее [13]. Для повышения иммуногенности VP3 E30 объединяли в одну молекулу с последовательностью, кодирующей S и шарнирный регион VP1 норовируса (S_N-VP3_{E30}), как описано ранее [14]. Белок S_N-VP3_{E30} экспрессировали в *E. coli* Rosetta 2 (DE3) (Novagen, США) и очищали с использованием IMAC Sepharose 6 Fast Flow (GE Healthcare, Швеция) в денатурирующих условиях. Для формирования вирусоподобных частиц (ВпЧ) проводили диализ против 1000 объемов буферного раствора, содержащего 50 мМ трис-HCl, 150 мМ NaCl, 20% сахарозы, pH 7,5. Для удаления эндотоксинов применяли Detoxi-Gel (Pierce) в соответствии с рекомендациями производителя и стерилизовали фильтрованием с диаметром пор 0,45 мкм.

Получение антисывороток. Самок 25 мышей линии BALB/c (возраст 8 нед, масса 18–20 г) дважды иммунизировали внутривбрюшинно с интервалом 2 нед. Для иммунизации 1-й группы (10 мышей) использовали 500 мкл раствора, содержащего 10 мкг белка S_N-VP3_{E30}, 50 мМ трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы; 2-ю группу (10 мышей) иммунизировали 500 мкл раствора, содержащего 10 мкг белка S_N-VP3_{E30}, 100 мкг Al(OH)₃ («ИмБио», Россия), 50 мМ трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы. Контрольную группу (5 мышей) иммунизировали введением 500 мкл буферного раствора (50 мМ трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы). Через 21 сут после второй иммунизации у мышей забирали кровь, готовили сыворотку крови и хранили при –70 °C.

Самку морской свинки (*Cavia porcellus*) (возраст 9 мес, масса 700 г) иммунизировали подкожно дважды с интервалом 2 нед. Для каждой иммунизации использовали 1 мл раствора, содержащего 500 мкг белка S_N-VP3_{E30}, 5 мкг Al(OH)₃, 50 мМ трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы. Через 21 сут после второй иммунизации у животного забирали кровь, готовили сыворотку крови и хранили при –70 °C. Для получения фракции иммуноглобулинов класса G из сыворотки крови использовали метод высаливания сульфатом аммония.

Иммуноферментный анализ. Обнаружение антител против VP3 E30 и определение индекса avidности антител проводили, как описано ранее [13], с небольшими изменениями. Для обнаружения антител в сыворотке крови мыши использовали конъюгированные с пероксидазой хрена антитела козы к суммарным иммуноглобулинам мыши (ИМТЕК, Россия) и антитела против мышинных иммуноглобулинов класса М (IgM) (Elabscience, Китай). Для выявления антител против VP3 E30 у морской свинки применяли белок А, меченный пероксидазой хрена (ФГУН НИИЭМ им. Пастера, Россия).

Электронная микроскопия. Для получения микрофотографий ВпЧ использовали трансмиссионную электронную микроскопию. На медную сетку, покрытую парлордиевой пленкой-подложкой, наносили 5 мкл раствора белка в концентрации 100 мкг/мл, инкубировали в течение 5 мин, отмывали водой от несвязавшихся компонентов и окрашивали водным раствором 2% уранилацетата (pH 4,5) в течение 20 с. Образцы анализировали с помощью просвечивающего электронного микроскопа HT7700 (Hitachi, Япония).

При оценке способности антител против S_N-VP3_{E30} взаимодействовать с вирионами E30 в качестве источника энтеровируса использовали фекалии двух больных, в которых методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией были обнаружены E30 с генотипом eC2 (E30-eC2 1194/24) и h (E30-h 2671/17). Готовили 10% суспензию фекалий в физиологическом растворе, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин, супернатант последовательно фильтровали через мембранные фильтры с размером пор 0,45 и 0,22 мкм. К 20 мкл вирусной суспензии добавляли 20 мкл иммуноглобулинов,

выделенных из сыворотки крови морской свинки, иммунизированной S_N -VP3_{E30} методом высаливания. В качестве отрицательного контроля использовали иммуноглобулины морской свинки, иммунизированной полученным ранее VP1 норовируса [15]. Смесь инкубировали в течение 30 мин при 37 °С, затем в течение 12 ч при 4 °С. После инкубации препараты центрифугировали в течение 30 мин при 14 000 об/мин. Полученные осадки разводили в 20 мкл воды и наносили на сетку для электронной микроскопии, контрастировали в водном растворе 2% фосфорно-вольфрамовой кислоты и визуализировали с помощью электронного микроскопа, как описано выше.

Действие на дендритные клетки (ДК). ДК получали, как описано ранее [16]. Моноциты выделяли из мононуклеарных клеток крови взрослых здоровых доноров с помощью 2-часовой адгезии на 48-луночных планшетах (Costar, США). Неприлипшие клетки отмывали, оставшиеся клетки инкубировали в среде RPMI-1640 (Gibco, Великобритания), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (РАА, Австрия). На 1-е и 3-и сутки в культуры вносили по 20 нг/мл интерлейкина (IL)-4 и 100 нг/мл гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (Sci.store.ru, Россия). На 7-е сутки полученные незрелые ДК (нДК) переводили в свежую питательную среду и культивировали с добавлением 10 мкг/мл полипептида VP3_{E30} или S_N -VP3_{E30} в течение 48 ч. Негативными контролями являлись ДК без добавления рекомбинантных белков (нДК) и ДК, инкубированные с контрольным раствором (КР) – лизатом бактерий, трансфицированных рЕТ22b, который прошел все этапы очистки, аналогично VP3_{E30} и S_N -VP3_{E30}. Положительным контролем являлись зрелые ДК (зДК), инкубированные в течение 48 ч в присутствии 25 нг/мл IL-6 (Sci.store.ru, Россия), 25 нг/мл IL-1 β , 50 нг/мл фактора некроза опухоли- α (TNF- α) (R&D, США) и 1 мкг/мл простагландина E2 (Sigma, США). После инкубации ДК собирали, окрашивали флуоресцентно-мечеными моноклональными антителами к HLA-DR («Сорбент», Россия), CCR7, CD80 (BioLegend, США), CD83 (Elabscience, КНР) и CD86 (eBioscience, США) и анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (BD Biosciences, США). ДК гейтировали по профилю прямого и бокового светорассеивания и оценивали долю клеток, несущих мембранные молекулы, а также геометрическую среднюю интенсивности флуоресценции (GMFI) как показатель среднего количества молекул на одной клетке.

Реакцию нейтрализации проводили, как детально описано ранее [17]. На клетках эмбриональной рабдомиосаркомы (RD) («Биолот», Россия) определяли 50% цитопатическое действие (ЦПД₅₀) для штаммов E30 с генотипом eC2 (изолят 2045/23) и генотипом h (изолят 2700/16), ранее выделенных от больных энтеровирусным менингитом и хранящихся в рабочей коллекции ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. ЦПД регистрировали на 4-е сутки визуально и колориметрическим методом

восстановления тетразолия (МТТ) (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид) [18]. Далее для исследования нейтрализующих свойств антител сыворотку крови иммунизированных лабораторных животных прогревали в течение 30 мин при 56 °С. Для последовательных разведений использовали полную питательную среду, содержащую 100 ЦПД₅₀ E30. Смесь инкубировали в течение 1 ч при 37 °С и переносили в 96-луночный планшет, содержащий не менее 95% монослоя клеток RD. Для каждого вируса использовали по три сыворотки крови мышей и сыворотку морской свинки, иммунизированные S_N -VP3_{E30}. Исследование проводили в двух повторах. В контрольные лунки вносили питательную среду без вируса. Клетки инкубировали в течение 96 ч при 37 °С и 5% CO₂. При использовании МТТ нейтрализующий титр определяли по последнему разведению сыворотки крови, в котором средний показатель оптической плотности при длине волны 570 нм (ОП) был равен или превышал разницу между ОП в лунках с незараженными клетками и ОП в лунках с клетками, зараженными 100 ЦПД₅₀ E30, разделенную на 2.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). При сравнении нескольких зависимых выборок использовали тест Фридмана и при неравенстве выборок группы сравнивали парным знаковым ранговым тестом Вилкоксона.

Результаты

Ранее сообщалось, что отдельные пептиды поверхностных белков enterovirus-A71 обладали слабой иммуногенностью даже при использовании адьюванта [19]. В связи с этим для повышения иммуногенности нами был получен химерный белок S_N -VP3_{E30}, состоящий из S-части VP1 норовируса и VP3_{E30} (рис. 1 а), с молекулярной массой 51 кДа. Такой белок способен формировать округлые вирусоподобные структуры, диаметр которых варьировал приблизительно от 20 до 50 нм (рис. 1 б).

На первом этапе исследования иммуногенных свойств оценивали действие рекомбинантных VP3_{E30} и S_N -VP3_{E30} на ДК. С этой целью незрелые моноцитарные ДК человека инкубировали с исследуемыми белками, а затем оценивали их фенотип. Действие VP3 на ДК выражалось в небольшом приросте доли CD83⁺ и CD86⁺-клеток и увеличении GMFI CD80⁺-клеток относительно отрицательных контролей (рис. 2). Инкубация ДК с S_N -VP3_{E30} вызывала увеличение доли CD86⁺-клеток и рост их GMFI, что говорит об увеличении количества копий этой костимулирующей молекулы на клетке. Также S_N -VP3_{E30} индуцировал увеличение экспрессии CD80, которое проявлялось в росте интенсивности флуоресценции окрашенных ДК и оказывал воздействие на CD83 и CCR7, которое регистрировалось как увеличение доли клеток, несущих эти маркеры. Следует отметить, что экспрессия всех перечисленных выше молекул, индуцированная VP3 или S_N -VP3_{E30}, заметно уступала уровню экспрессии этих молекул на зДК положительного контроля,

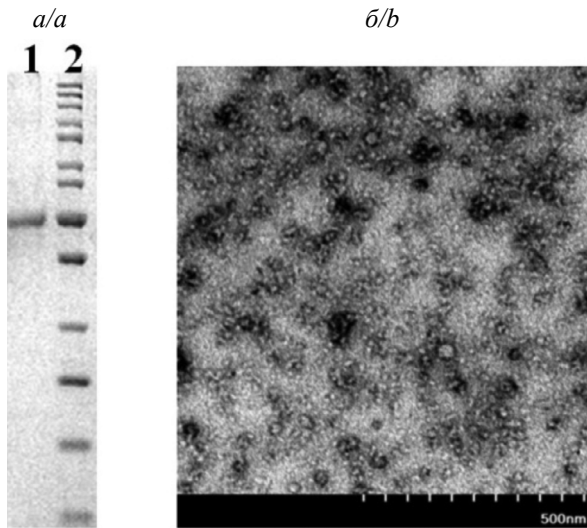


Рис. 1. Белок S_N-VP3_{E30} формирует вирусоподобные частицы (ВпЧ).

a – электрофоретическая подвижность очищенного S_N-VP3_{E30} (1) в сравнении с PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Scientific) (2); *б* – электронная микрофотография ВпЧ, образованных белком S_N-VP3_{E30} (увеличение 12 000).

Fig. 1. The S_N-VP3_{E30} protein forms virus-like particles (VLPs).

a – electrophoretic mobility of purified S_N-VP3_{E30} (1) compared to PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Scientific) (2); *b* – electron micrograph of VLP formed by e S_N-VP3_{E30} (12,000× magnification).

созревание которых было индуцировано смесью медиаторов воспаления.

Иммунизация мышей белком S_N-VP3_{E30} показала, что средний титр суммарных антител против VP3

составил приблизительно 1/35 000, а при использовании адьюванта – 1/115 000. Титры анти-VP3 IgM также были высокими и в среднем составляли 1/6600 и 1/8800 при иммунизации совместно с адьювантом (рис. 3 *a*). Антитела обладали относительно высокими индексами авидности, в среднем 75% для суммарных антител и 49% для IgM. Использование адьюванта не приводило к значимым изменениям индекса авидности антител против VP3 (рис. 3 *б*).

При исследовании взаимодействия антител против VP3 с вирионами E30 показано, что добавление иммуноглобулинов морской свинки, иммунизированной S_N-VP3_{E30}, к выделенным из фекалий препаратам E30 разных генотипов приводило к образованию вирусных агломератов (рис. 4 *б*, *в*). В реакции нейтрализации было установлено, что при разведении в 20–40 раз содержащие анти-VP3 сыворотки крови мышей и морской свинки нейтрализовали 100 ЦПД₅₀ E30 обоих генотипов.

Обсуждение

Энтеровирус E30 является широко распространенным патогеном, который занимает ведущее место среди представителей вида *Enterovirus betacoxsackie*, обладающих нейротропностью. Повсеместная распространенность и тяжесть вызываемого заболевания определяют необходимость разработки E30-вакцины, в том числе на основе поверхностных белков капсида вируса. Поверхностные белки вириона энтеровирусов не гликозилируются, поэтому исследуемые в настоящей работе белки были получены в *E. coli*. VP3_{E30} представляет собой рекомбинантный аналог полно-

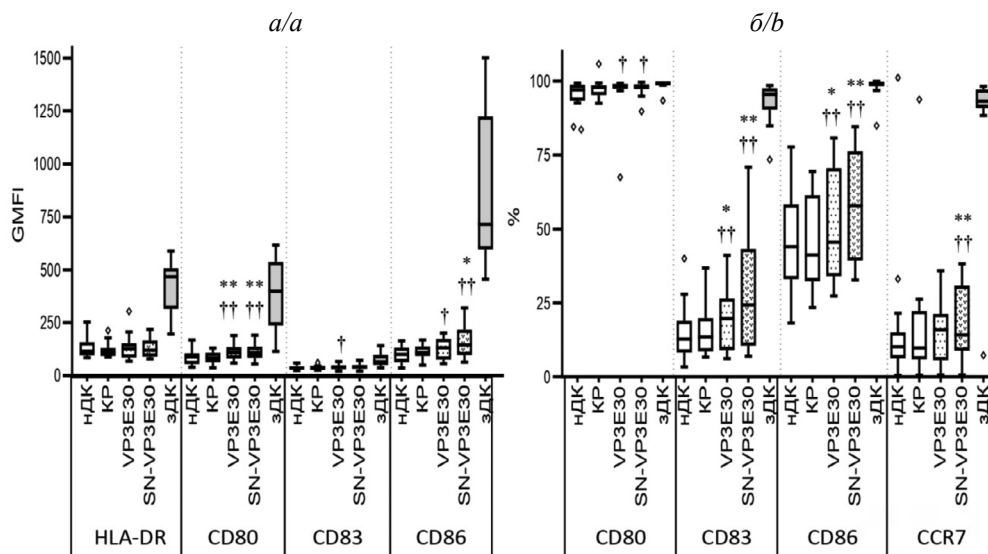


Рис. 2. Экспрессия молекул HLA-DR, CD80, CD83, CD86 и CCR7 на дендритных клетках (ДК) после инкубации с VP3 или S_N-VP3_{E30}.

a – интенсивность флуоресценции (GMFI); *б* – процент клеток, несущих маркер (гистограммы Тьюки). Тип клеток, их стимуляторов и анализируемые маркеры – под гистограммами. Различия с нДК обозначены: † – $p < 0,05$, †† – $p < 0,005$; различия с ДК, инкубированными с KP, обозначены: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,005$ (в парном знаковом ранговом тесте Вилкоксона).

Fig. 2. Expression of HLA-DR, CD80, CD83, CD86, and CCR7 molecules on dendritic cells (DCs) after incubation with VP3 or S_N-VP3_{E30}.

a – the fluorescence intensity (GMFI); *b* – the percentage of cells bearing the marker (Tukey histograms). The cell type, their stimulators, and analyzed markers are shown below the histograms. Differences from unstimulated DCs are indicated: † – $p < 0.05$, †† – $p < 0.005$; differences from DCs incubated with negative control are indicated: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.005$ (paired Wilcoxon signed rank test).

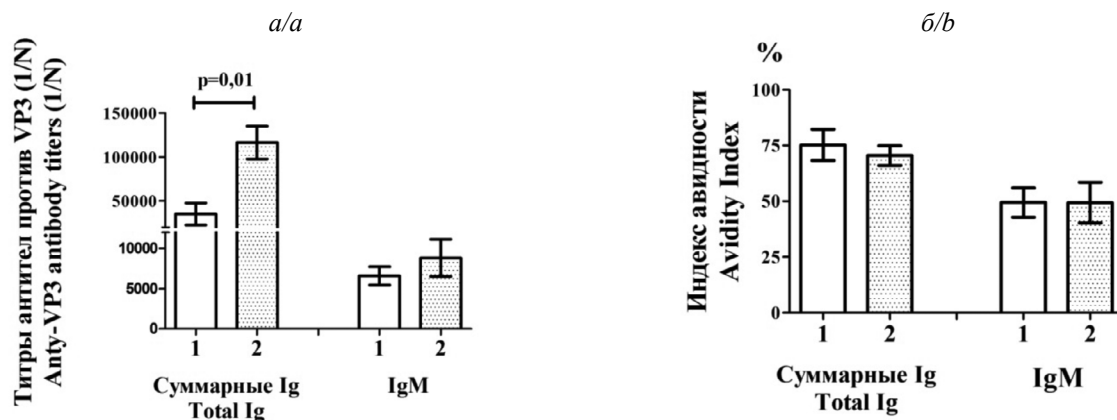


Рис. 3. Характеристика антител к VP3_{E30} после иммунизации мышей химерным белком S_N-VP3_{E30}.
a – титры антител; *b* – индекс avidности антител. 1 – иммунизация без адъюванта (*n* = 10), 2 – иммунизации с адъювантом (*n* = 10).

Fig. 3. Characteristics of antibodies to VP3_{E30} after mice immunization by the chimeric protein S_N-VP3_{E30}.

a – antibody titers; *b* – antibody avidity index. 1 – immunization without adjuvant (*n* = 10), 2 – immunization with adjuvant (*n* = 10).

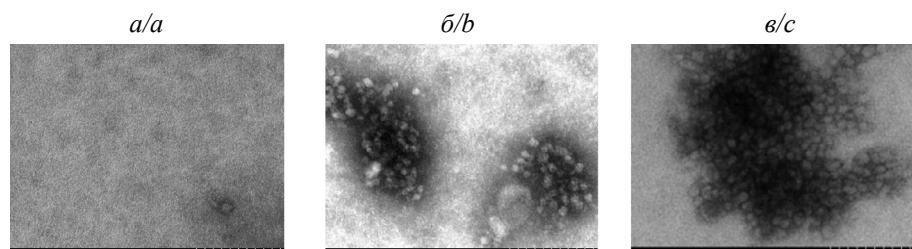


Рис. 4. Иммуноэлектронные микрофотографии E30 (увеличение 12 000).

a – препарат после взаимодействия с антителами против VP1 норовируса; *b* – агрегаты E30-eC2 1194/24 после взаимодействия с антителами против VP3_{E30}; *б* – агрегаты E30-h 2671/17 после взаимодействия с антителами против VP3_{E30}.

Fig. 4. Immunoelectron micrographs of E30 (12,000× magnification).

a – preparation with antibodies against norovirus VP1; *b* – E30-eC2 1194/24 aggregates after interaction with antibodies against VP3_{E30}; *c* – E30-h 2671/17 aggregates after interaction with antibodies against VP3_{E30}.

размерного VP3 E30. Молекула S_N-VP3_{E30} является химерой, в которой S-домен белка VP1 норовируса GII.4 слит в одну молекулу с VP3 E30. Такое слияние позволяло получать ВпЧ, у которых на поверхности представлен VP3 E30. Электронная микроскопия показала, что S_N-VP3_{E30} формирует ВпЧ разного размера (рис. 2 б). Это наблюдение согласуется с ранее опубликованными данными, в которых показано, что рекомбинантный VP1 норовируса с генотипом GII.4 образует по крайней мере три типа ВпЧ с диаметром ~ 52, 45 и 26 нм [20].

Поскольку ДК являются важным звеном развития приобретенного иммунитета и необходимы для первой фазы инициации фолликулярных Т-хелперов, которые, в свою очередь, способствуют выработке В-клетками долгоживущих высокоаффинных антител [21], нами было проведено сравнение воздействия VP3_{E30} и S_N-VP3_{E30} на фенотип ДК. Установлено, что инкубация ДК с VP3 вызывала слабые изменения фенотипа ДК (небольшой прирост доли CD83⁺- и CD86⁺-клеток и увеличение экспрессии CD80⁺) и не стимулировала экспрессию CCR7 на поверхности ДК (рис. 2). CCR7 является основным хемокиновым рецептором, который направляет миграцию ДК из периферических тканей в лимфатические узлы, а при его отсут-

ствии активация фолликулярных Т-хелперов нарушается [22]. Возможно, это наблюдение объясняет описанную ранее слабую иммуногенность отдельных пептидов поверхностных белков энтеровирусов [19]. S_N-VP3_{E30} вызывал увеличение экспрессии костимулирующих молекул CD80 и CD86, маркера зрелости CD83 и хемокинового рецептора CCR7 на поверхности ДК, что вероятно связано со способностью S_N-VP3_{E30} формировать ВпЧ. Однако по сравнению с положительным контролем увеличение экспрессии исследуемых маркеров было умеренным, что отражало созревание не всех ДК человека.

Для дальнейших экспериментов по иммунизации лабораторных животных мы использовали только S_N-VP3_{E30}. У мышей, иммунизированных S_N-VP3_{E30}, детектировались высокие титры и индексы avidности как суммарных антител, так и IgM-антител против VP3 E30 (рис. 3). Сравнение иммуногенности S_N-VP3_{E30} с иммуногенностью аналогичного химерного белка S_N-VP1_{E30}, содержащего VP1 E30, иммунизация которым происходила по аналогичной схеме [17], показало, что титры и индексы avidности антител против VP3 были выше, чем у антител против VP1 E30. Это свидетельствует о более скором процессе созревания антител против VP3. Имму-

ноглобулины морской свинки, иммунизированной S_N -VP3_{E30}, вызывали образование агрегатов двух наиболее распространенных в России генотипов вирусов E30, выделенных из клинического материала. Этот результат свидетельствует о способности антител против VP3 связываться с диким вирусом. Кроме того, сывороточные антитела против VP3, полученные при иммунизации мышей и морской свинки, были способны нейтрализовать генетически различающиеся штаммы E30 в культуре клеток. Сходные результаты были получены для других энтеровирусов. При исследовании поликлональных сывороток человека моноклональные антитела против одного генотипа могут блокировать заражение клеток в культуре с другими генотипами и серотипами энтеровирусов [23, 24].

Заключение

Таким образом, VP3 E30 вызывал неполное созревание ДК, характеризующееся отсутствием стимуляции экспрессии хемокинового рецептора CCR7. Включение VP3 в состав химерных ВпЧ приводило к созреванию ДК и сильному гуморальному иммунному ответу у лабораторных животных. Антитела против VP3 E30 характеризовались высокой авидностью и способностью связывать и нейтрализовать вирусы двух наиболее распространенных на территории России генотипов E30. Полученные результаты свидетельствуют, что VP3 в составе S_N -VP3_{E30} в перспективе может быть включен в состав комбинированной вакцины для профилактики энтеровирусных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

- Brouwer L., Moreni G., Wolthers K.C., Pajkrt D. World-wide prevalence and genotype distribution of enteroviruses. *Viruses*. 2021; 13(3): 434–49. <https://doi.org/10.3390/v13030434>
- Chuang Y., Huang Y. Enteroviral infection in neonates. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2019; 52(6): 851–7. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.08.018>
- Nishikawa M., Matsubara T., Yoshitomi T., Ichiyama T., Hayashi T., Furukawa S. Abnormalities of brain perfusion in echovirus type 30 meningitis. *J. Neurol. Sci.* 2000; 179(S 1-2): 122–6. [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(00\)00398-1](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(00)00398-1)
- Broberg E.K., Simone B., Jansa J. Upsurge in echovirus 30 detections in five EU/EEA countries, April to September, 2018. *Euro Surveill.* 2018; 23(44): 1800537. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.44.1800537>
- Lema C., Torres C., Van der Sanden S., Cisterna D., Freire M.C., Gómez R.M. Global phylogenetics of Echovirus 30 revealed differential behavior among viral lineages. *Virology*. 2019; 531: 79–92. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.02.012>
- Новиков Д.В., Мелентьев Д.А. Энтеровирусные (Picornaviridae: Enterovirus) (неполио) вакцины. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(3): 185–92. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-111> <https://elibrary.ru/fwqjow>
- Mizutani T., Ishizaka A. Poliovirus capsid protein VP3 can penetrate vascular endothelial cells. *FEBS Lett.* 2024; 598(15): 1909–18. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14974>
- Kang J., Huang M., Li J., Zhang K., Zhu C., Liu S., et al. Enterovirus D68 VP3 targets the interferon regulatory factor 7 to inhibit type I interferon response. *Microbiol. Spectr.* 2023; 11(3): e0413822. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04138-22>
- Kiener T.K., Jia Q., Meng T., Chow V.T.K., Kwang J. A novel universal neutralizing monoclonal antibody against enterovirus 71 that targets the highly conserved “knob” region of VP3 protein. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(5): e2895. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002895>
- Jia Q., Ng Q., Chin W., Meng T., Chow V.T.K., Wang C., et al. Effective in vivo therapeutic IgG antibody against VP3 of enterovirus 71 with receptor-competing activity. *Sci. Rep.* 2017; 7: 46402. <https://doi.org/10.1038/srep46402>
- Huang K.A. Structural basis for neutralization of enterovirus. *Curr. Opin. Virol.* 2021; 51: 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.10.006>
- Marttila J., Hyöty H., Vilja P., Harkonen T., Alho A., Roivainen M., et al. T cell epitopes in coxsackievirus B4 structural proteins concentrate in regions conserved between enteroviruses. *Virology*. 2002; 293(2): 217–24. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1259>
- Мелентьев Д.А., Новиков Д.В., Лапин В.А., Мохонова Е.В., Цыганова М.И., Манакова Э.А. и др. Антитела к поверхностным белкам echovirus 30 (Enterovirus, Picornaviridae) в крови жителей Нижегородской области. *Инфекция и иммунитет*. 2024; 14(6): 1179–86. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-BAC-16103> <https://elibrary.ru/exbfff>
- Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., Мохонов В.В., Кашников А.Ю., Новикова Н.А., Лапин В.А. и др. Получение вирусоподобных частиц норовируса (Caliciviridae: Norovirus), содержащих белок VP1 энтеровируса Echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus B). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(5): 383–9. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-79>
- Лапин В.А., Новиков Д.В., Мохонова Е.В., Мелентьев Д.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е. и др. Получение рекомбинантного белка VP1 норовируса и его антигенные и иммуногенные свойства. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024; 101(5): 661–7. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-552> <https://elibrary.ru/ubmktf>
- Talayev V., Zaichenko I., Svetlova M., Matveichev A., Babaykina O., Voronina E., et al. Low-dose influenza vaccine Grippol Quadrivalent with adjuvant Polyoxidonium induces a T helper-2 mediated humoral immune response and increases NK cell activity. *Vaccine*. 2020; 38(42): 6645–55. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.07.053>
- Мелентьев Д.А., Новиков Д.В., Мохонова Е.В., Новикова Н.А., Кашников А.Ю., Селиванова С.Г. и др. Иммунологические свойства химерного белка, содержащего основной капсидный белок echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie). *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 189–98. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-311> <https://elibrary.ru/peagdt>
- Riss T.L., Moravec R.A., Niles A.L., Duellman S., Benink H.A., Worzella T.J., et al. Cell viability assays. In: Markossian S., Grossman A., Baskir H., Arkin M., Auld D., Austin C., et al. *Assay Guidance Manual*. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.
- Anasir M.I., Poh C.L. Advances in antigenic peptide-based vaccine and neutralizing antibodies against viruses causing hand, foot, and mouth disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(6): 1256. <https://doi.org/10.3390/ijms20061256>
- Devant J.M., Hofhaus G., Bhella D., Hansman G.S. Heterologous expression of human norovirus GII.4 VP1 leads to assembly of T=4 virus-like particles. *Antiviral Res.* 2019; 168: 175–82. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.05.010>
- Luo W., Yin Q. B cell response to vaccination. *Immunol. Invest.* 2021; 50(7): 780–801. <https://doi.org/10.1080/08820139.2021.1903033>
- Krishnaswamy J.K., Gowthaman U., Zhang B., Mattsson J., Szepontik L., Liu D., et al. Migratory CD11b⁺ conventional dendritic cells induce T follicular helper cell-dependent antibody responses. *Sci. Immunol.* 2017; 2(18): eaam9169. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aam9169>

23. Mao Q., Cheng T., Zhu F., Li J., Wang Y., Li Y., et al. The cross-neutralizing activity of enterovirus 71 subgenotype C4 vaccines in healthy Chinese infants and children. *PLoS One*. 2013; 8(11): e79599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079599>
 24. Rosenfeld A.B., Shen E.Q.L., Melendez M., Mishra N., Lipkin W.I., Racaniello V.R. Cross-reactive antibody responses against nonpoliovirus enteroviruses. *mBio*. 2022; 13(1): e0366021. <https://doi.org/10.1128/mbio.03660-21>
- ## REFERENCES
1. Brouwer L., Moreni G., Wolthers K.C., Pajkrt D. World-wide prevalence and genotype distribution of enteroviruses. *Viruses*. 2021; 13(3): 434–49. <https://doi.org/10.3390/v13030434>
 2. Chuang Y., Huang Y. Enteroviral infection in neonates. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2019; 52(6): 851–7. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.08.018>
 3. Nishikawa M., Matsubara T., Yoshitomi T., Ichiyama T., Hayashi T., Furukawa S. Abnormalities of brain perfusion in echovirus type 30 meningitis. *J. Neurol. Sci.* 2000; 179(S 1-2): 122–6. [https://doi.org/10.1016/s0022-510x\(00\)00398-1](https://doi.org/10.1016/s0022-510x(00)00398-1)
 4. Broberg E.K., Simone B., Jansa J. Upsurge in echovirus 30 detections in five EU/EEA countries, April to September, 2018. *Euro Surveill.* 2018; 23(44): 1800537. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.44.1800537>
 5. Lema C., Torres C., Van der Sanden S., Cisterna D., Freire M.C., Gómez R.M. Global phylogenetics of Echovirus 30 revealed differential behavior among viral lineages. *Virology*. 2019; 531: 79–92. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.02.012>
 6. Novikov D.V., Melentev D.A. Enteroviral (Picornaviridae: Enterovirus) (nonpolio) vaccines. *Voprosy virusologii*. 2022; 67(3): 185–92. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-111> <https://elibrary.ru/fwqjow> (in Russian)
 7. Mizutani T., Ishizaka A. Poliovirus capsid protein VP3 can penetrate vascular endothelial cells. *FEBS Lett.* 2024; 598(15): 1909–18. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14974>
 8. Kang J., Huang M., Li J., Zhang K., Zhu C., Liu S., et al. Enterovirus D68 VP3 targets the interferon regulatory factor 7 to inhibit type I interferon response. *Microbiol. Spectr.* 2023; 11(3): e0413822. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04138-22>
 9. Kiener T.K., Jia Q., Meng T., Chow V.T.K., Kwang J. A novel universal neutralizing monoclonal antibody against enterovirus 71 that targets the highly conserved “knob” region of VP3 protein. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(5): e2895. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002895>
 10. Jia Q., Ng Q., Chin W., Meng T., Chow V.T.K., Wang C., et al. Effective in vivo therapeutic IgG antibody against VP3 of enterovirus 71 with receptor-competing activity. *Sci. Rep.* 2017; 7: 46402. <https://doi.org/10.1038/srep46402>
 11. Huang K.A. Structural basis for neutralization of enterovirus. *Curr. Opin. Virol.* 2021; 51: 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.10.006>
 12. Marttila J., Hyöty H., Vilja P., Harkonen T., Alho A., Roivainen M., et al. T cell epitopes in coxsackievirus B4 structural proteins concentrate in regions conserved between enteroviruses. *Virology*. 2002; 293(2): 217–24. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1259>
 13. Melentev D.A., Novikov D.V., Lapin V.A., Mokhonova E.V., Tsiganova M.I., Manakova E.A., et al. Blood anti-surface proteins Echovirus 30 (Enterovirus, Picornaviridae) antibodies in residents of the Nizhny Novgorod region. *Infektsiya i immunitet*. 2024; 14(6): 1179–86. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-BAC-16103> <https://elibrary.ru/exbfif> (in Russian)
 14. Novikov D.V., Melentev D.A., Mokhonov V.V., Kashnikov A.Yu., Novikova N.A., Lapin V.A., et al. Construction of norovirus (Caliciviridae: Norovirus) virus-like particles containing VP1 of the Echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus B). *Voprosy virusologii*. 2021; 66(5): 383–9. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-79> <https://elibrary.ru/mkbqet> (in Russian)
 15. Lapin V.A., Novikov D.V., Mokhonova E.V., Melentyev D.A., Tsiganova M.I., Zaitsev D.E., et al. Production of recombinant norovirus VP1 protein and its antigenic and immunogenic properties. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2024; 101(5): 661–7. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-552> <https://elibrary.ru/ubmktf> (in Russian)
 16. Talayev V., Zaichenko I., Svetlova M., Matveichev A., Babaykina O., Voronina E., et al. Low-dose influenza vaccine Grippol Quadrivalent with adjuvant Polyoxidonium induces a T helper-2 mediated humoral immune response and increases NK cell activity. *Vaccine*. 2020; 38(42): 6645–55. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.07.053>
 17. Talayev V., Novikov D.V., Mokhonova E.V., Novikova N.A., Kashnikov A.Yu., Selivanova S.G., et al. Immunological properties of a chimeric protein containing the major capsid protein of echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie). *Voprosy virusologii*. 2025; 70(2): 189–98. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-311> <https://elibrary.ru/peagdt> (in Russian)
 18. Riss T.L., Moravec R.A., Niles A.L., Duellman S., Benink H.A., Worzella T.J., et al. Cell viability assays. In: Markossian S., Grossman A., Baskir H., Arkin M., Auld D., Austin C., et al. *Assay Guidance Manual*. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.
 19. Anasir M.I., Poh C.L. Advances in antigenic peptide-based vaccine and neutralizing antibodies against viruses causing hand, foot, and mouth disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(6): 1256. <https://doi.org/10.3390/ijms20061256>
 20. Devant J.M., Hofhaus G., Bhella D., Hansman G.S. Heterologous expression of human norovirus GII.4 VP1 leads to assembly of T=4 virus-like particles. *Antiviral Res.* 2019; 168: 175–82. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.05.010>
 21. Luo W., Yin Q. B cell response to vaccination. *Immunol. Invest.* 2021; 50(7): 780–801. <https://doi.org/10.1080/08820139.2021.1903033>
 22. Krishnaswamy J.K., Gowthaman U., Zhang B., Mattsson J., Szepontik L., Liu D., et al. Migratory CD11b⁺ conventional dendritic cells induce T follicular helper cell-dependent antibody responses. *Sci. Immunol.* 2017; 2(18): eaam9169. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aam9169>
 23. Mao Q., Cheng T., Zhu F., Li J., Wang Y., Li Y., et al. The cross-neutralizing activity of enterovirus 71 subgenotype C4 vaccines in healthy Chinese infants and children. *PLoS One*. 2013; 8(11): e79599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079599>
 24. Rosenfeld A.B., Shen E.Q.L., Melendez M., Mishra N., Lipkin W.I., Racaniello V.R. Cross-reactive antibody responses against nonpoliovirus enteroviruses. *mBio*. 2022; 13(1): e0366021. <https://doi.org/10.1128/mbio.03660-21>

Информация об авторах:

Новиков Дмитрий Викторович✉ – канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии, ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: novikov.dv75@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Мелентьев Дмитрий Александрович – младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: dim-melente@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2441-6874>

Талаев Владимир Юрьевич – д-р. мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник-заведующий лабораторией клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: talaev@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1993-0622>

Новикова Надежда Алексеевна – д-р. биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: novikova_na@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3710-6648>

Мохонова Екатерина Валерьевна – научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: ekaterinamohonova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9742-7646>

Кашников Александр Юрьевич – научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: mevirfc@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1033-7347>

Заиченко Ирина Евгеньевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: imm.irina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5063-3111>

Светлова Мария Владимировна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: marya.talaeva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4097-6780>

Куркова Елена Викторовна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: el2v@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1801-9693>

Бабайкина Ольга Николаевна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: olga_babaykina@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4527-6134>

Лапин Владислав Александрович – младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: fridens.95@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5905-5722>

Цыганова Мария Игоревна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: maria_che@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2811-6844>

Зайцев Дмитрий Евгеньевич – младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: mitya.zaitseff@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7663-6924>

Новиков Виктор Владимирович – д-р. биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: mbre@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Участие авторов: Новиков Д.В. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментальных работ, написание текста; Мелентьев Д.А. – проведение экспериментальных работ; Талаев В.Ю., Новикова Н.А. – проведение экспериментальных работ, написание текста; Мохонова Е.В., Кашников А.Ю., Заиченко И.Е., Светлова М.В., Куркова Е.В., Бабайкина О.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е. – проведение экспериментальных работ; Новиков В.В. – написание текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации.

Поступила 10.09.2025
Принята в печать 24.10.2025
Опубликована 30.10.2025

Information about the authors:

Dmitry V. Novikov✉ – PhD (Biology), Leading Researcher, laboratory of immunochemistry Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: novikov.dv75@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Dmitry A. Melentev – Junior Researcher, laboratory of immunochemistry Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: dim-melente@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2441-6874>

Vladimir Yu. Talayev – DSc (Medicine), Professor, Leading Researcher, Head of the Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: talaev@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1993-0622>

Ekaterina V. Mokhonova – Researcher, laboratory of immunochemistry Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: ekaterinamohonova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9742-7646>

Nadezhda A. Novikova – DSc (Biology), Professor, Leading Researcher, Head of the laboratory of molecular epidemiology of viral infections Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: novikova_na@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3710-6648>

Alexander U. Kashnikov – Researcher, laboratory of molecular epidemiology of viral infections Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: mevirfc@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1033-7347>

Irina E. Zaichenko – PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: imm.irina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5063-3111>

Marya V. Svetlova – PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: marya.talaeva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4097-6780>

Elena V. Kurkova – PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: el2v@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1801-9693>

Olga N. Babaykina – PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia.

E-mail: olga_babaykina@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4527-6134>

Vladislav A. Lapin – Junior Researcher, laboratory of immunochemistry Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: fridens.95@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5905-5722>

Maria I. Tsyganova – PhD (Biology), Leading Researcher, laboratory of immunochemistry Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: maria_che@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2811-6844>

Dmitry E. Zaitsev – Junior Researcher, laboratory of immunochemistry Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: mitya.zaitseff@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7663-6924>

Viktor V. Novikov – DSc (Biology), Professor, Leading Researcher, Head of the laboratory of immunochemistry Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: mbre@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Contribution: Novikov D.V. – the study concept and design, analysis and interpretation of the data, preparing of the text; Melentev D.A. – conducting experimental research; Talayev V.Yu., Novikova N.A. – conducting experimental research, writing the text; Mokhonova E.V., Zaichenko I.E., Svetlova M.V., Kurkova E.V., Babaykina O.N., Lapin V.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E. – conducting experimental research; Novikov V.V. – writing the text, approving the final version of the article for publication.

Received 10 September 2025

Accepted 24 October 2025

Published 30 October 2025