

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ Fc-СЛИЯНИЯ БЕЛКОВ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ВАКЦИН ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА*

(обзор)

Е.И. КАТОРКИНА, С.Ж. ЦЫБАНОВ, А.С. МАЛОГОЛОВКИН

Основные требования к современным вакцинным препаратам — эффективность, надежность и отсутствие побочных действий (безвредность). Повышение требований к безопасности и чистоте препаратов стимулировало как развитие традиционных препаратов, так и создание искусственных вакцин нового поколения — субъединичных, рекомбинантных, антиидиотипических, ДНК-вакцин и др. Технология получения рекомбинантных белков доказала свое преимущество при разработке широкого спектра терапевтических и лечебных препаратов против инфекционных болезней человека и животных (S. Khan с соавт., 2016). В 2011 году создано шесть лекарственных препаратов на основе технологии Fc-фьюжирования белков. Большинство этих Fc-химерных протеинов влияют на рецептор-лигандные взаимодействия как антагонисты, либо блокирующие связывание рецептора, например Энбрел® (этанерцепт; «Amgen», США), Залтрап® (афлиберцепт; «Sanofi», Франция), Аркалист® (рилонацепт; «Regeneron», США), либо прямо стимулирующие рецепторную функцию, вызывая снижение (Амевив® — алефацепт; «Astellas», США) или повышение (Энплейт® — ромиплостим; «Amgen», США) активности иммунного ответа. В представленном обзоре мы уделили особое внимание наиболее актуальным результатам, полученным в последние годы при применении технологии Fc-слияния для создания вакцин против вирусных и бактериальных агентов. В таких химерных последовательностях Fc-фрагмент IgG (Fc-IgG) и целевой терапевтический белок представляют собой единый гибридный белковый продукт (V. Pechtner с соавт., 2017). При слиянии шарнирный участок Fc-IgG играет роль гибкого спейсера между терапевтическим белком и константной частью иммуноглобулина, предотвращая возможное негативное влияние двух функциональных доменов друг на друга. Препараты на основе химерных Fc-белков делятся на три типа: рецептор-Fc, пептид-Fc и мономер-Fc. Полученные с помощью этой технологии протеины имеют больший терапевтический потенциал, так как они связаны с Fc-доменом, который обеспечивает таргетное увеличение показателей фармакокинетики у гибридного белка. Наличие Fc-домена удлиняет период полувыведения белков из плазмы крови, что продлевает терапевтическую активность, а также приводит к более медленному почечному клиренсу для молекул большего размера. Компилируя основные экспериментальные данные по применению технологии Fc-слияния для таких патогенов, как вирус иммунодефицита человека (D. Sarop с соавт., 1989), вирус Эбола (K. Konduru с соавт., 2011), вирус лихорадки Денге (M.Y. Kim с соавт., 2018), вирус гриппа (L. Du с соавт., 2011), *Mycobacterium tuberculosis* (S. Soleimanpour с соавт., 2015), вирус классической чумы свиней (Z. Liu с соавт., 2017), мы обсуждаем основные критические аспекты механизма действия, дизайна и производства Fc-слиянных белков. Таргетная активации эффекторных систем организма позволяет повысить протективный потенциал иммуногенных молекул и расширить область их применения. Особое внимание в обзоре уделено использованию Fc-слиянных белков в качестве вакцин против инфекционных болезней человека и животных. На примере вируса африканской чумы свиней рассмотрены перспективы применения Fc-слиянных белков для разработки современных эффективных средств профилактики.

Ключевые слова: Fc-фрагмент, вирус иммунодефицита человека, вирус Эбола, вирус гриппа, туберкулез, вирус классической чумы свиней, вирус африканской чумы свиней, вакцинация.

Вакцинация (иммунизация) — один из наиболее результативных и эффективных методов борьбы с инфекционными заболеваниями животных и человека. Число созданных вакцин против инфекций за последние годы значительно увеличилось (1). В 2017 году ассоциация фармацевтических производителей Америки (Pharmaceutical Research and Manufacturers of America, PhRMA) опубликовала список 144 разрабатываемых вакцин против инфекционных заболеваний (2). Основные требования к современным вакцинным препаратам — их эффективность, надежность и отсутствие по-

* Работа выполнена при поддержке РФФИ в рамках гранта мол_а № 18-316-00092.

бочного действия (3). Повышение требований к безвредности и чистоте препаратов стало стимулом к совершенствованию традиционных препаратов и созданию вакцин следующего поколения — субъединичных, рекомбинантных, антиидиотипических, ДНК-вакцин и др. С разработкой новых вакцин также связывают возможность успешно противостоять высококонтагиозным инфекциям, которые ранее не поддавались лечению (4).

Эмерджентные инфекции животных заслуживают особого внимания из-за необходимости предотвращать распространение эпидемий и ограничивать вероятность перехода возбудителями межвидового барьера (5). В отечественном и мировом сельском хозяйстве одной из острых и наиболее важных проблем на протяжении последних нескольких лет остается создание эффективной вакцины против вируса африканской чумы свиней (АЧС, African swine fever virus, ASFV). Многочисленные исследования ведутся специалистами многих стран (Россия, США, Великобритания, Германия) для разработки новых и безопасных средств борьбы с этим вирусом (6).

Полученные результаты применения прототипных вакцин против вируса АЧС демонстрируют протективный эффект от гомологичного вируса, однако не обеспечивают защиту от вирусов АЧС гетерологичного происхождения. Проблемы, с которыми сталкиваются ученые, обусловлены биологическими особенностями вируса АЧС и отсутствием способности у антител нейтрализовать вирус (7) Еще одно отличительное свойство этого вируса заключается в его чрезвычайной антигенной вариабельности и гетерогенности. Также отсутствуют данные о протективных антигенах вируса и их роли в патогенезе болезни. Строение вирусной оболочки, в состав которой входит большое количество гликозилированных белков, позволяет вирусу «маскировать» антигенные детерминанты и избегать воздействия иммунной системы хозяина. Одним из подходов к созданию средств лечения и профилактики африканской чумы свиней стало изучение роли поверхностных антигенов вируса (белка CD2v, С-лектиноподобного белка, белка мембраны вируса P54) (6, 8).

Технология получения рекомбинантных белков доказала свое преимущество, эффективность и безопасность при разработке широкого спектра терапевтических и лечебных препаратов против инфекционных болезней человека и животных (9). В 2015 году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов — агентство Министерства здравоохранения и социальных служб США (U.S. Food and Drug Administration, FDA) одобрило более 180 терапевтических рекомбинантных белков и пептидов (10). Тем не менее у рекомбинантных белков есть некоторые недостатки. Из-за небольшого размера и/или вследствие гидролиза такие белки обычно быстро выводятся из организма. Короткий период полувыведения терапевтических белков требует более частого введения препарата для поддержания их концентрации в эффективном диапазоне (11).

Существуют две основные стратегии для улучшения фармакокинетики интересующего пептида или белка. Первая предполагает формирование депо или введение импланта, что обеспечивает распространение лекарственного средства из места введения в кровеносную систему с использованием полимерных и липидных микрочастиц (12). Вторая заключается в уменьшении скорости почечной элиминации целевой молекулы за счет увеличения ее размера (13). Это достигается увеличением гидродинамического радиуса терапевтического белка посредством химической конъюгации с большим полимером, таким как полиэтиленгликоль (PEG), или с помощью рекомбинантных методов (14), а также повышением молекуляр-

ной массы белка до порога прохождения через почечную фильтрацию (около 60-70 кДа) за счет либо нековалентного слияния терапевтического пептида с белком-носителем большего размера, либо ковалентного слияния терапевтического пептида с белком-носителем с использованием генетической рекомбинации (15).

Довольно часто в качестве партнера по слиянию используют фрагмент иммуноглобулина (IgG-Fc). Терапевтический белок, слитый с IgG-Fc фрагментом, может дополнительно обеспечить лечебное действие, которое различается в зависимости от патогенеза заболевания. Fc-слитые белки хорошо зарекомендовали себя в качестве терапевтических и профилактических средств (16). В 2011 году было создано шесть лекарственных препаратов на основе Fc-слияния. Большинство этих Fc-слитых белков влияют на рецептор-лигандные взаимодействия как антагонисты, либо блокирующие связывание рецептора, например Энбрел® (этанерцепт; «Amgen», США), Залтрап® (афлиберцепт; «Sanofi», Франция), Аркалист® (рилонацепт; «Regeneron», США), либо прямо стимулирующие рецепторную функцию, вызывающие снижение активности иммунного ответа, как Амевив® (алефацепт, «Astellas», США), или ее повышение, как Энплеит® (ромиплостим; «Amgen», США) (17, 18). Преимущества препаратов на основе Fc-слияния по сравнению с другими биофармацевтическими средствами обсуждаются в ряде работ (18-21). Полученные с помощью этой технологии протеины имеют бóльший терапевтический потенциал, так как они связаны с Fc-доменом, который обеспечивает таргетное увеличение показателей фармакокинетики у гибридного белка. Доказано, что наличие Fc-домена заметно удлиняет период полувыведения белков из плазмы крови, что продлевает терапевтическую активность, а также приводит к более медленному почечному клиренсу для молекул большего размера (21).

В представленном обзоре мы уделили внимание наиболее актуальным результатам, полученным в последние годы при применении технологии Fc-слияния при создании вакцин против вирусных и бактериальных агентов, а также перспективам этого метода для разработки средств профилактики АЧС.

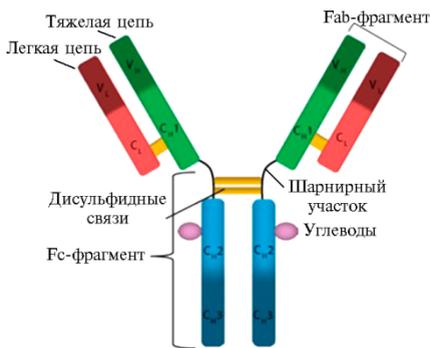


Рис. 1. Строение иммуноглобулина G (IgG) (10).

цитотоксичными Т-лимфоцитами (cytotoxic T-cell, T-killer, CD8+) (24). На IgG (рис. 1) приходится порядка 85 % всех сывороточных иммуноглобулинов (типы A, D, E, G, M) (13). Как и альбумин, IgG имеет самый длинный период полувыведения по сравнению с остальными белками плазмы (25). Благодаря небольшой молекулярной массе (около 150 кДа) молекулы IgG свободно диффундируют из сосудистого русла во внеклеточное простран-

Функции Fc-фрагмента. Иммуноглобулины G (IgG) — антитела, которые участвуют в нейтрализации бактериальных и вирусных токсинов, стимуляции фагоцитоза, реакциях связывания комплемента. Взаимодействуя с клеточной поверхностью лейкоцитов Fc-рецептором (FcR), они запускают эффекторный механизм иммунного ответа (22, 23). Это процесс, известный как проявление антителозависимой клеточной цитотоксичности (antibody-dependent cell cytotoxicity), которая приводит к лизису инфицированных патогеном клеток

ство, где осуществляют защитную функцию. IgG может проникать через плацентарный барьер из крови матери в кровь плода (26).

Принципы дизайна и структура Fc-слитых белков. IgG — класс антител, которые наиболее часто используются для терапии инфекционных болезней. В качестве целевого пептида или белка могут выступать различные лиганды, внеклеточные домены растворимого рецептора, вирусный антиген и т.д. (27). Вследствие увеличенного размера и естественных процессов преобразования IgG в организме белки, слитые с Fc-фрагментом, защищены от деградации из-за их рециркуляции с участием неонатального рецептора FcRn.

Fc-химерные последовательности — это гибридные молекулы, в которых Fc-фрагмент IgG (Fc-IgG) и целевой терапевтический белок представляют собой единый белковый продукт, полученный на основе генных конструкций. В таком слиянии шарнирный участок Fc-IgG играет роль гибкого спейсера между терапевтическим белком и константной частью иммуноглобулина, предотвращая возможное негативное влияние двух функциональных доменов друг на друга (15, 27).

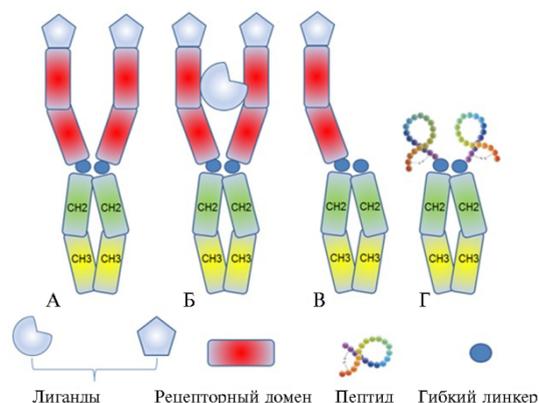


Рис. 2. Схема белок-белкового слияния Fc-части иммуноглобулина G с целевыми последовательностями: димерное слияние с белками-рецепторами (А, Б; два варианта связывания с лигандами), мономерное слияние с целевым белком (В), димерное слияние с целевым пептидом (Г).

Наиболее распространенные типы химерных белков — рецептор-Fc, пептид-Fc и мономер-Fc (рис. 2).

Один из современных подходов в создании вакцин, приводящих к индукции Т-лимфоцитов, реализовали при получении химерного белка, состоящего из антигена и адьюванта на основе Fc-фрагмента IgG (27, 28). Такие вакцины предлагалось использовать в форме субъединичной вакцины (очищенный белок) или в виде вектора, несущего ген этого химерного белка (29).

Рассмотрим примеры применения технологии Fc-слияния для разработки вакцин против

инфекционных болезней человека и животных.

Fc-слитые белки в качестве противовирусных вакцин. *Fc-слитые белки как вакцины против вируса иммунодефицита человека.* Пионерская работа D.J. Сарон с соавт. (30) по использованию Fc-слияния для разработки средств против синдрома приобретенного иммунодефицита человека (СПИД) (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) раскрыла огромный потенциал химерных Fc-белков для терапии широкого спектра заболеваний. D.J. Сарон с коллегами показали, что гибридный белок на основе внеклеточной части рецептора CD4⁺ и Fc-фрагмента IgG, созданный для терапии инфекции ВИЧ-1 (вирус иммунодефицита человека 1), препятствует проникновению вируса в клетки. Антитела к CD4⁺ блокировали проникновение вируса ВИЧ-1 в Т-клетки, а клетки человека, которые трансфицировали комплементарной ДНК (кДНК) CD4⁺, становились нечувствительными к инфекции.

Растворимый CD4⁺ (rCD4), лишенный трансмембранных и цитоплазматических последовательностей CD4⁺, может блокировать проникновение вируса ВИЧ-1 в клетку, однако это позволяет сформировать

только временный иммунитет (31, 32).

Fc-слитые белки как вакцины против вируса Эбола. Вирус Эбола, относящийся к семейству *Filoviridae*, вызывает у людей геморрагическую лихорадку, для которой характерна высокая заболеваемость и смертность (33). Филовирусы классифицируются как агенты биотерроризма категории А. Вакцина rVSV-ZEBOV не имеет коммерческой лицензии, но использовалась в условиях «расширенного доступа» во время вспышек лихорадки Эбола в Северном Киву (34).

В настоящее время разрабатываются несколько видов рекомбинантных вакцин на основе различных векторов, включая аденовирус, вирус парагриппа, вирус венесуэльского энцефалита, вирус везикулярного стоматита, вирусоподобных частиц, несущих вирусный гликопротеин (35). Гликопротеин (glycoprotein, Gp) филовируса — основной протективный антиген, благодаря которому обеспечивается защита от инфекции.

В 2017 году К. Konduru с соавт. (36) сообщили об использовании химерного белка вирусного гликопротеина, слитого с Fc-доменом иммуноглобулина, в качестве вакцины. С этой целью внеклеточный домен гликопротеина вируса Zaire Ebola (ZEBOV), слитого с Fc-фрагментом иммуноглобулина IgG1 человека (ZEBOVGP-Fc), экспрессировали в клетках млекопитающих. Результаты исследований показали, что вирусный гликопротеин при этом подвергается расщеплению фурином (37). У мышей, иммунизированных рекомбинантным химерным белком ZEBOVGP-Fc, активировался Т-клеточный иммунитет против вируса ZEBOV и вырабатывались нейтрализующие антитела против рекомбинантного вируса везикулярного стоматита (rVSV-GP). Мыши, вакцинированные химерным белком ZEBOVGP-Fc, были защищены от заражения смертельной дозой вируса ZEBOV (38). Эти результаты свидетельствуют, что вакцинация только химерным белком ZEBOVGP-Fc может быть достаточной для появления защитного иммунитета против вируса ZEBOV у мышей.

Высокая степень защиты от заражения вирулентным вирусом ZEBOV, индуцированная гибридным белком ZEBOVGP-Fc, указывает на то, что субъединичная вакцина на основе гибридных белков (Filovirus GP-Fc) может использоваться для защиты от вирусной инфекции (39). Filovirus GP-Fc, содержащий гликопротеин, сшитый с Fc-доменом, может использоваться как самостоятельная вакцина или в сочетании с другими препаратами, такими как ДНК-вакцины, вирусоподобные частицы или вирусные векторные вакцины, которые разрабатываются в настоящее время. Субъединичная вакцина на основе гибридных белков Filovirus GP-Fc достаточно проста и экономична в производстве, в случае ее применения снижается влияние побочных эффектов. Однако для подтверждения безопасности разрабатываемой вакцины на основе гибридных белков Filovirus GP-Fc необходимы дополнительные эксперименты на модельных объектах — морских свинках и обезьянах (40).

Fc-слитые белки как вакцины против вируса гриппа. Гемагглютинины (hemagglutinins, HAs) вирусов гриппа человека (подтипы H1 и H3) и вируса гриппа птиц (подтип H5) были получены в виде рекомбинантных белков, слитых с Fc-доменом иммуноглобулина человека. Клетки насекомых, инфицированные бакуловиром, секретировали рекомбинантные белки HA-HuFc (гемагглютинин вируса гриппа человека, слитый с Fc-доменом иммуноглобулина человека) в виде гликозилированных олигомерных гемагглютининов. При иммунизации мышей очищенным рекомбинантным белком HA-HuFc в отсутствие адъюванта полученные образцы сывороток вызывали подавление гемагглютинации, демонстрировали эпитоп-

ную специфичность и нейтрализовали вирус. На основании полученных результатов авторы сделали заключение о том, что гемагглютинины вируса гриппа человека, слитые с Fc-доменом иммуноглобулина, могут рассматриваться как потенциальные кандидатные вакцины против гриппа (41-43).

Fc-слитые белки в качестве вакцин против вируса папилломы человека. Вирус папилломы человека (ВПЧ) является огромной проблемой современного здравоохранения. Половым путем передаются 15 типов генитальных ВПЧ, вызывающих около 5 % карцином, прежде всего цервикальных, аногенитальных и орофарингеальных. Все типы ВПЧ, поражающие кожный покров человека, как правило, вызывают доброкачественную форму рака (44). Лицензированные вакцины против ВПЧ на основе вирусоподобных частиц, несущие основной капсидный антиген L1, эффективны против широко распространенных типов вируса, но не защищают от других типов, вызывающих кожные поражения, и не относятся к терапевтическим. Вакцины с усиленными адъювантными свойствами, включающие малый капсидный антигена L2, в конструировании которых используют капсидный дисплей и слияние с ранними антигенами ВПЧ или антагонистами Toll-подобных рецепторов, находятся на стадии разработки.

По данным X. Chen и соавт. (45), рекомбинантные Fc-слитые антигены различных вирусов повышают иммуногенность и индуцируют синтез вируснейтрализующих антител против ВПЧ, обеспечивают защитный иммунитет против вирулентного вируса герпеса II типа, вирусов гриппа и Эбола. X. Chen с соавт. (45) впервые показали, что слияние эпитопа ВПЧ 16 L2 (позиции 17-36 п.о.) с рекомбинантным лигандом для рецептора FcRs способен значительно увеличить иммуногенность пептида L2 и индуцировать выработку перекрестных нейтрализующих антител и защитный иммунитет против ряда филогенетически отдаленных типов вируса папилломы человека.

Модифицированный Fc-фрагмент человеческого IgG1 можно использовать в качестве основы для презентации антигена L2, чтобы индуцировать перекрестно-нейтрализующие антитела и защитный иммунитет к разным типам вируса папилломы человека. Этот тип рекомбинантного слитого белка экспрессируется в больших количествах и легко поддается последующей очистке. Поэтому презентация антигена L2 совместно с модифицированным Fc-фрагментом дает новые возможности для разработки вакцины против вируса папилломы человека (46, 47).

Fc-слитые белки в качестве вакцин против туберкулеза. Туберкулез, вызываемый *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), занимает второе место по заболеваемости и смертности среди инфекционных заболеваний во всем мире (48). По оценкам ВОЗ, 2017 году от туберкулеза умерли около 1,6 млн человек, в том числе 300000 ВИЧ-инфицированных (49). Важная особенность Mtb как патогена — его способность выживать в течение длительного времени внутри клетки в латентной форме, которая позже может развиться в активный туберкулезный процесс. ТБ-вакцина (Bacille Calmette—Guérin, BCG, БЦЖ) — единственная доступная лицензированная вакцина против туберкулеза. Она обеспечивает достаточно высокую эффективность защиты от туберкулеза легких, которая колеблется от 60 до 80 %, однако не защищает от скрытых инфекций (50). Следовательно, существует необходимость в новой, безопасной и эффективной противотуберкулезной вакцине и инновационном подходе к стратегии вакцинации, которая смогла бы предотвратить все формы туберкулеза, особенно латентную. Большинство новых противотуберкулезных вакцин в настоящее время находятся на разных стадиях клинических испытаний или в доклинических иссле-

дованиях (51).

Одновременная вакцинация множественными антигенами Mtb может улучшить защитный эффект против различных форм туберкулеза. Разработаны многоступенчатые слитые белки с использованием ESAT-6 в качестве антигена острой фазы, с белком HspX в качестве латентного антигена, с фрагментом Fc 2a мыши.

Антигенная мишень ESAT-6 — одна из наиболее иммунодоминантных и Mtb-специфических целевых антигенов, содержащих множественные иммуногенные эпитопы Т-клеток, способные усиливать клеточный иммунный ответ. Mtb ESAT-6 рассматривается как важный кандидатный антиген для противотуберкулезной вакцины. У мышей, морских свинок и приматов ТБ вакцина, содержащая ESAT-6, обеспечивает более высокую степень защиты, чем БЦЖ (52).

HspX представляет собой белок размером 16 кДа (также известен как α -кристаллин Mtb), который накапливается преимущественно в покоящихся микобактериях. Он высокоиммуногенный и может вызывать сильный клеточный иммунный ответ у пациентов, подвергшихся воздействию Mtb. Секретируемые белки — антигены Mtb10.4 (Rv0288), Mtb8.4 (Rv1174c), ESAT-6 (Rv3875) и Ag85B (Rv1886c) тоже высокоиммуногенные и способны обеспечить сильный защитный иммунитет против заражения *M. tuberculosis*, что позволяет предположить, что это перспективные кандидатные антигены (53, 54).

Профилирование иммуногенов на Fc-рецепторы (FcR), а также на антигенпрезентирующие клетки (АПК, antigen presenting cells, APC), такие как миелоидные и плазмитоидные дендритные клетки (ДК), моноциты и макрофаги, может усиливать иммунный ответ *in vitro* и *in vivo*. Этот метод эффективен, поскольку он увеличивает период полувыведения антигена и облегчает его поглощение АПК через FcR и, следовательно, повышает эффективность кросс-презентации для мощного иммунного ответа Th1. FcRI опосредует селективное поглощение антигенов дендритными клетками, что приводит к их доставке в цитоплазму, где эпитопы узнаются основными комплексами гистосовместимости I класса и представляются CD8+ клеткам. Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) служат эффективным фактором клеточного иммунитета для уничтожения внутриклеточных патогенов. Активация ЦТЛ через FcR уничтожает инфицированную Mtb клетку с образованием γ -интерферона (IFN- γ), который активирует инфицированные макрофаги для уничтожения внутриклеточных бактерий (55).

Fc-слитые белки как кандидаты для создания вакцины против лихорадки Денге. Лихорадка Денге — острое трансмиссивное вирусное заболевание, протекает с лихорадкой, интоксикацией, миалгией, артралгией, сыпью и увеличением лимфатических узлов. При некоторых вариантах лихорадки Денге развивается геморрагический синдром, в основном у детей до 15 лет (56). Встречается лихорадка Денге преимущественно в странах Южной и Юго-Восточной Азии, Африки, Океании и Карибского бассейна. Ежегодная заболеваемость составляет порядка 50 млн человек (57). Возбудитель лихорадки Денге относится к арбовирусам семейства *Flaviviridae* рода *Flavivirus* (арбовирусы антигенной группы В) (58).

Лицензированная вакцина Dengvaxia® («Sanofi Pasteur», Франция) не защищает детей в возрасте до 9 лет, поэтому необходимы дополнительные стратегии вакцинации, чтобы остановить эту растущую глобальную эпидемию. Для получения гуманизированного и высокоиммуногенного полииммуноглобулина G (polymeric immunoglobulin G scaffold, PIGS), слитого с доменом III гликопротеина Е вируса лихорадки Денге (D-PIGS), ис-

пользовали систему экспрессии в клетках растений (59). Иммуногенность этой таргетированной на рецептор IgG-Fc кандидатной вакцины продемонстрирована на трансгенных мышах, экспрессирующих FcRI/CD64 человека (60). Кроме того, рекомбинантные молекулы стимулировали антигеноспецифическую пролиферацию CD4+ и CD8+ Т-клеток, а также продукцию нейтрализующих антител к IFN- γ . Очищенная фракция D-PIGS индуцировала более сильную иммунную активацию, чем мономерная форма, что указывает на эффективное взаимодействие с низкоаффинными рецепторами Fc γ на антигенпрезентирующих клетках. Эти результаты показывают, что D-PIGS, экспрессируемая в растениях, имеет потенциал для применения в качестве однокомпонентной вакцины против лихорадки Денге серотипа 2 (60, 61).

Новый подход к вакцинации против лихорадки Денге основан на применении технологии Fc-слияния (62). Конструкция, состоящая из D-PIGS, слитого с Fc мышиного IgG2a, показала высокую иммуногенность. Для реализации этого подхода при разработке кандидатной вакцины против лихорадки Денге человека создали версию конструкции D-PIGS с использованием человеческого иммуноглобулина. D-PIGS показал высокую иммуногенность у трансгенных мышей, экспрессирующих рецептор IgG человека, и, что более важно, в культуре клеток миндалин человека. Таким образом, D-PIGS индуцировал ответы клеток памяти, продукцию IFN- γ и нейтрализующие антитела против всех четырех серотипов вируса Денге. Эта вакцина против лихорадки Денге, основанная на домене III и полимерном каркасе IgG1 человека, обладает потенциальным преимуществом по сравнению с другими вакцинами. Она проста при производстве и масштабировании, риск заражения патогенами животных минимален и, что самое главное, отсутствует антигенная интерференция, обычно связанная с применением четырехвалентной вакцины. Последнее преимущество обеспечивается использованием последовательности домена III EDIII поверхностного гликопротеина, слитого с человеческим IgG1-Fc (63).

Fc-слитые белки как вакцина против вируса классической чумы свиней (КЧС). Для создания кандидатных вакцин против вируса КЧС в последние годы широко используется комбинаторный подход на основе бакуловирусного вектора (64). Скрининг ряда векторов на основе бакуловируса, выявил, что бакуловирусный вектор, экспрессирующий Fc-домен свиного IgG1, обладает наибольшим антагонизмом к комплементу (75,6 %). Анализ трансдуцированных клеток с помощью проточной цитометрии показал, что при использовании этого бакуловирусного вектора Fc-домен значительно увеличивает эффективность трансдукции и трансгенной экспрессии репортерных генов (65).

Белок E2 вируса КЧС сшивали с Fc-доменом свиного IgG1 и дополнительно встраивали усилители трансляции *Syn21* и *P10UTR* для повышения экспрессии антигена. Было показано, что белок E2 вируса КЧС эффективно экспрессировался как в клетках насекомых, так и в клетках млекопитающих. У свиней, иммунизированных рекомбинантным бакуловирусом, синтезировались (с высокими титрами) специфические антитела против белка E2, которые отвечают за нейтрализацию вируса КЧС, активацию клеточной иммунной реакции и секрецию IFN- γ . Эти результаты указывают на потенциал широкого использования Fc-домена свиного IgG1 и поверхностного антигена вируса КЧС (66, 67).

Таким образом, технология Fc-слияния успешно применяется для разработки средств борьбы со многими инфекционными болезнями вирусной и бактериальной этиологии. В качестве протективных антигенов

при этом выступают структурные, капсидные белки и поверхностные гликопротеины. Доставку антигена могут обеспечивать как очищенные рекомбинантные белки, так и вирусные векторы (бакуловирусы, аденовирусы и др.) (66, 68). Вне зависимости от способа доставки антигена Fc-слиятые молекулы индуцируют сильный клеточный и гуморальный иммунные ответы. При использовании рекомбинантного белка на основе Fc-слияния в бакуловирусной системе в качестве кандидатной вакцины против вируса классической чумы свиней было показано, что внутримышечная, внутривнутрибрюшинная или интраназальная вакцинация такими конструкциями вызывает стойкий гуморальный и клеточный иммунный ответ. Высокие титры КЧС-специфических и нейтрализующих антител, а также усиление секреции IFN- γ указывают на то, что бакуловир вирус эффективно доставляет экзогенный антиген в клетки свиней (65).

В других рассмотренных нами случаях применения Fc-технологии (вирусы лихорадки Эбола, Денге, папилломы человека, возбудитель туберкулеза) для создания антигенных конструкций использовали иммунизацию животных очищенными рекомбинантными белками и также отмечали эффективную активацию клеточного и гуморального иммунитета. В связи с этим технология Fc-слиятых вирусных антигенов как подход для создания кандидатных вакцин выглядит перспективной и в случае вируса АЧС, в частности при использовании вирусного белка CD2v, отвечающего за сероспецифичность.

Итак, представленный обзор демонстрирует частные примеры применения стратегии Fc-слияния белков для разработки кандидатных вакцин против опасных инфекций животных и человека. Таргетная активации эффекторных систем организма позволяет повысить протективный потенциал иммуногенных молекул и расширить область их применения. Технология Fc-слияния рекомбинантных антигенов считается хорошо зарекомендовавшим себя подходом для создания терапевтических препаратов. Этот подход можно рассматривать как перспективный при разработке кандидатных вакцин против африканской чумы свиней на основе антигена CD2v вируса африканской чумы свиней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Institute of Medicine (US) Committee to Study Priorities for Vaccine Development. Progress in vaccine development. In: *Vaccines for the 21st century: a tool for decisionmaking* /K.R. Stratton, J.S. Durch, R.S. Lawrence (eds.). The National Academies Press, Washington, DC, 2000: 17-38 (doi: 10.17226/5501).
2. Shen A.K., Cooke M.T. Infectious disease vaccines. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2018, 18: 169-170 (doi: 10.1038/d41573-018-00011-6).
3. Dellepiane N., Griffiths E., Milstien J.B. New challenges in assuring vaccine quality. *Bulletin of the World Health Organization: the International Journal of Public Health*, 2000, 78(2): 155-162.
4. Odir S., Dellagostin A. The development of veterinary vaccines: a review of traditional methods and modern biotechnology approaches. *Biotechnology Research and Innovation*, 2017, 1(1): 6-13 (doi: 10.1016/j.biori.2017.10.001).
5. Cantas L., Suer K. Review: The important bacterial zoonoses in “one health” concept. *Frontiers in Public Health*, 2014, 2: 114 (doi: 10.3389/fpubh.2014.00144).
6. Arias M., de la Torre A., Dixon L., Gallardo C., Jori F., Laddomada A., Martins C., Parkhouse R.M., Revilla Y., Rodriguez F., Sanchez-Vizcaino J.-M.. Approaches and perspectives for development of African swine fever virus vaccines. *Vaccines*, 2017, 5(4): 35 (doi: 10.3390/vaccines5040035).
7. Burmakina, G, Malogolovkin, A., Tulman, E.R., Zsak, L., Delhon, G., Diel D.G. Shobogoro N.M, Morgunov Y.P., Morgunov S.Y., Kolbasov D., Rock D. African swine fever virus serotype-specific proteins are significant protective antigens for African swine fever. *Journal of General Virology*, 2016, 97(7): 1670-1675 (doi: 10.1099/jgv.0.000490).
8. Середя А.Д., Имамдинов А.Р., Дубровская О.А., Колбасов Д.В. Механизмы иммунной за-

- щиты и перспективы создания ДНК-вакцин против африканской чумы свиней. *Сельскохозяйственная биология*, 2017, 52(6): 1069-1082 (doi: 10.15389/agrobiol.2017.6.1069rus).
9. Khan S., Ullah M.V., Siddique R., Nabi G., Manan S., Yousaf M., Hou R. Role of recombinant DNA technology to improve life. *International Journal of Genomics*, 2016, 2016: Article ID 2405954 (doi: 10.1155/2016/2405954).
 10. Pechtner V., Karanikas C.A., Garcia-Pérez L.E., Glaesner W. A new approach to drug therapy: Fc-fusion technology. *Primary Health Care*, 2017, 7: 255 (doi: 10.4172/2167-1079.1000255).
 11. Strohl W.R. Fusion proteins for half-life extension of biologics as a strategy to make Biobetters. *BioDrugs*, 2015, 29(4): 215-239 (doi: 10.1007/s40259-015-0133-6).
 12. Chen X., Zaro J., Shen W.C. Fusion protein linkers: effects on production, bioactivity, and pharmacokinetics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2013, 65(10): 1357-1369 (doi: 10.1016/j.addr.2012.09.039).
 13. Unverdorben F., Richter F., Hutt M., Seifert O., Malinge P., Fischer N., Kontermann R.E. Pharmacokinetic properties of IgG and various Fc fusion proteins in mice. *MAbs*, 2016, 8(1): 120-128 (doi: 10.1080/19420862.2015.1113360).
 14. Levin D., Golding B., Strome S.E. Fc fusion as a platform technology: potential for modulating immunogenicity. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(1): 27-34 (doi: 10.1016/j.tibtech.2014.11.001).
 15. Звонова Е.А., Тюрин А.А., Соловьев А.А., Голденкова-Павлова И.В. Стратегии к модуляции фармакокинетики рекомбинантных терапевтических белков. *Успехи современной биологии*, 2017, 4(137): 398-419 (doi: 10.7868/S004213241704007X).
 16. Czajkowsky D.M., Hu J., Shao Z., Pleass R.J. Fc-fusion proteins: new developments and future perspectives. *EMBO Molecular Medicine*, 2012, 4(10): 1015-1028 (doi: 10.1002/emmm.201201379).
 17. Nelson A., Reichert J. Development trends for therapeutic antibody fragments. *Nature Biotechnology*, 2009, 27(4): 331-337 (doi: 10.1038/nbt0409-331).
 18. Strohl W.R. Optimization of Fc-mediated effector functions of monoclonal antibodies. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, 20(6): 685-691 (doi: 10.1016/j.copbio.2009.10.011).
 19. Strohl W.R., Knight D.M. Discovery and development of biopharmaceuticals: current issues. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, 20(6): 668-672 (doi: 10.1016/j.copbio.2009.10.012).
 20. Reichert J. Antibody-based therapeutics to watch in 2011. *MAbs*, 2011, 3(1): 76-99 (doi: 10.4161/mabs.3.1.13895).
 21. Beck A., Reichert J. Therapeutic Fc-fusion proteins and peptides as successful alternatives to antibodies. *MAbs*, 2011, 3(5): 415-416 (doi: 10.4161/mabs.3.5.17334).
 22. Dumont J., Low S., Peters R., Bitonti A. Monomeric Fc fusions: impact on pharmacokinetic and biological activity of protein therapeutics. *BioDrugs*, 2006, 20(3): 151-160 (doi: 10.2165/00063030-200620030-00002).
 23. Ye L., Zeng R., Bai Y., Roopenian D.C., Zhu X. Efficient mucosal vaccination mediated by the neonatal Fc receptor. *Nature Biotechnology*, 2011, 29(2): 158-163 (doi: 10.1038/nbt.1742).
 24. Congy-Jolivet N., Probst A., Watier H., Thibault G. Recombinant therapeutic monoclonal antibodies: mechanisms of action in relation to structural and functional duality. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2007, 64(3): 226-233 (doi: 10.1016/j.critrevonc.2007.06.013).
 25. Curtis J., Bourne F.J. Half-lives of immunoglobulins IgG, IgA and IgM in the serum of newborn pigs. *Immunology*, 1973, 24(1): 147-155.
 26. Rath T., Baker K., Dumont J.A., Peters R.T., Jiang H., Qiao S.W., Lencer W.I., Pierce G.F., Blumberg R.S. Fc-fusion proteins and FcRn: structural insights for longer-lasting and more effective therapeutics. *Current Opinion in Biotechnology*, 2015, 35(2): 235-254 (doi: 10.3109/07388551.2013.834293).
 27. Ghose S., Hubbard B., Cramer S.M. Binding capacity differences for antibodies and Fc-fusion proteins on protein A chromatographic materials. *Biotechnology and Bioengineering*, 2007, 96(4): 768-779 (doi: 10.1002/bit.21044).
 28. Li F., Ravetch J.V. Inhibitory Fc γ receptor engagement drives adjuvant and anti-tumor activities of agonistic CD40 antibodies. *Science*, 2011, 333(6045): 1030-1034 (doi: 10.1126/science.1206954).
 29. Stapleton N.M., Andersen J.T., Stemerding A.M., Bjarnason S.P., Verheul R.C., Gerritsen J., Zhao Y., Kleijer M., Sandlie I., de Haas M., Jonsdottir I., van der Schoot C.E., Vidarsson G. Competition for FcRn-mediated transport gives rise to short half-life of human IgG3 and offers therapeutic potential. *Nature Communications*, 2011, 2: 599 (doi: 10.1038/ncomms1608).
 30. Capon D.J., Chamow S.M., Mordenti J., Marsters S.A., Gregory T., Mitsuya H., Byrn R.A., Lucas C., Wurm F.M., Groopman J.E. Designing CD4 immunoadhesins for AIDS therapy. *Nature*, 1989, 337(6207): 525-531 (doi: 10.1038/337525a0).
 31. Ratcliff A., Arts E. HIV-1 entry, inhibitors, and resistance. *Viruses*, 2010, 2(5): 1069-1105 (doi: 10.3390/v2051069).
 32. Dennison S., Anasti K., Jaeger F., Stewart S., Pollara J., Liu P., Kunz E., Zhang R., Vandergrift N., Permar S., Ferrari G., Tomaras G., Bonsignori M., Michael N., Kim J., Kaewkungwal J., Nitayaphan S., Pitisuttithum P., Rerks-Ngarm S., Liao H.X., Haynes B.F., Alam S.M. Vaccine-induced HIV-1 envelope gp120 constant region 1-specific antibodies expose a CD4-inducible epitope and block the interaction of HIV-1 gp140 with galactosylceramide. *Journal of Virology*, 2014,

- 88(16): 9406-9417 (doi: 10.1128/JVI.01031-14).
33. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola haemorrhagic fever. *Lancet*, 2011, 377(9768): 849-862 (doi: 10.1016/S0140-6736(10)60667-8).
 34. Henaou-Restrepo A.M., Camacho A., Longini I. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease: final results from the Guinea ring vaccination, open-label, cluster-randomised trial. *Lancet*, 2017, 389(10068): 505-518 (doi: 10.1016/S0140-6736(16)32621-6).
 35. Towner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L., Albarico C.G., Conlan S., Reeder S.A., Quan P.L., Lipkin W.I., Downing R., Tappero J.W., Okware S., Lutwama J., Bakamutumaho B., Kayiwa J., Comer J.A., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T. Newly discovered Ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(11): e1000212 (doi: 10.1371/journal.ppat.1000212).
 36. Konduru K., Bradfute S.B., Jacques J., Manangeeswaran M., Nakamura S., Morshed S., Wood S.C., Bavari S., Kaplan G.G. Ebola virus glycoprotein Fc fusion protein confers protection against lethal challenge in vaccinated mice. *Vaccine*, 2011, 29(16): 2968-2977 (doi: 10.1016/j.vaccine.2011.01.113).
 37. Jeffers S., Sanders S., Sanchez A. Covalent modifications of the Ebola virus glycoprotein. *Journal of Virology*, 2002, 76(24): 12463-12472 (doi: 10.1128/JVI.76.24.12463-12472.2002).
 38. Takada A., Robison C., Goto H., Sanchez A., Murti K.G., Whitt M.A., Kawaoka Y. A system for functional analysis of Ebola virus glycoprotein. *PNAS USA*, 1997, 94(26): 14764-14769 (doi: 10.1073/pnas.94.26.14764).
 39. Jones S.M., Feldmann H., Ströher U., Geisbert J.B., Fernando L., Grolla A., Klenk H.D., Sullivan N.J., Volchkov V.E., Fritz E.A., Daddario K.M., Hensley L.E., Jahrling P.B., Geisbert T.W. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nature Medicine*, 2005, 11(7): 786-790 (doi: 10.1038/nm1258).
 40. Sullivan N.J., Geisbert T.W., Geisbert J.B., Xu L., Yang Z.Y., Roederer M., Koup R.A., Jahrling P.B., Nabel G.J. Accelerated vaccination for Ebola virus haemorrhagic fever in non-human primates. *Nature*, 2003, 424(6949): 681-684 (doi: 10.1038/nature01876).
 41. Du L., Leung V.H., Zhang X., Zhou J., Chen M., He W., Zhang H.Y., Chan C.C., Poon V.K., Zhao G., Sun S., Cai L., Zhou Y., Zheng B., Jiang S. A recombinant vaccine of H5N1 HA1 fused with foldon and human IgG Fc induced complete cross-clade protection against divergent H5N1 viruses. *PLoS ONE*, 2011, 6(1): e16555 (doi: 10.1371/journal.pone.0016555).
 42. Price G.E., Soboleski M.R., Lo C.Y., Misplon J.A., Pappas C., Houser K.V., Tumpey T.M., Epstein S.L. Vaccination focusing immunity on conserved antigens protects mice and ferrets against virulent H1N1 and H5N1 influenza A viruses. *Vaccine*, 2009, 27(47): 6512-6521 (doi: 10.1016/j.vaccine.2009.08.053).
 43. Loureiro S., Ren J., Phapugrangkul P., Colaco C., Bailey C., Shelton H., Molesti E., Temperton N., Barclay W., Jones I. Adjuvant-free immunization with hemagglutinin-Fc fusion proteins as an approach to influenza vaccines. *Journal of Virology*, 2011, 85(6): 3010-3014 (doi: 10.1128/JVI.01241-10).
 44. Bernard H.U., Burk R.D., Chen Z., van Doorslaer K., zur Hausen H., de Villiers E.M. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, 2010, 401(1): 70-79 (doi: 10.1016/j.virol.2010.02.002).
 45. Chen X., Liu H., Zhang T., Liu Y., Xie X., Wang Z., Xu X. A vaccine of L2 epitope repeats fused with a modified IgG1 Fc induced cross-neutralizing antibodies and protective immunity against divergent human papillomavirus types. *PLoS ONE*, 2014, 9(5): e95448 (doi: 10.1371/journal.pone.0095448).
 46. Kemp T.J., Hildesheim A., Safaeian M., Dauner J.G., Pan Y., Porras C., Schiller J.T., Lowy D.R., Herrero R., Pinto L.A. HPV16/18 L1 VLP vaccine induces cross-neutralizing antibodies that may mediate cross-protection. *Vaccine*, 2011, 29(11): 2011-2024 (doi: 10.1016/j.vaccine.2011.01.001).
 47. Alphs H.H., Gambhira R., Karanam B., Roberts J.N., Jagu S., Schiller J.T., Zeng W., Jackson D.C., Roden R.B. Protection against heterologous human papillomavirus challenge by a synthetic lipopeptide vaccine containing a broadly cross-neutralizing epitope of L2. *PNAS USA*, 2008, 105(15): 5850-5855 (doi: 10.1073/pnas.0800868105).
 48. Khiavi F., Arashkia A., Golkar M., Nasimi M., Roohvand F., Azadmanesh K. A dual-type L2 11-88 peptide from HPV types 16/18 formulated in Montanide ISA 720 induced strong and balanced Th1/Th2 immune responses, associated with high titers of broad spectrum cross-reactive antibodies in vaccinated mice. *Journal of Immunology Research*, 2018: 9464186 (doi: 10.1155/2018/9464186).
 49. *Global Tuberculosis Report 2018*. World Health Organization, Geneva, 2018. Режим доступа: <http://www.unaids.org/ru/resources/presscentre/featurestories/2018/september/tb-and-hiv>. Без даты.
 50. Soleimanpour S., Farsiani H., Mosavat A., Ghazvin K., Eydgahi M., Sankian M., Sadeghian H., Meshkat Z., Rezaeei S.A. APC targeting enhances immunogenicity of a novel multistage Fc-fusion tuberculosis vaccine in mice. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015,

- 99: 10467-10480 (doi: 10.1007/s00253-015-6952-z).
51. O'Garra A., Redford P.S., McNab F.W., Bloom C.I., Wilkinson R.J., Berry M.P. The immune response in tuberculosis. *Annual Review of Immunology*, 2013, 31: 475-527 (doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095939).
 52. Ohara N. Current status of tuberculosis and recombinant bacillus Calmette-Guérin vaccines. *Journal of Oral Biosciences*, 2012, 54(2): 92-95 (doi: 10.1016/j.job.2012.04.002).
 53. Xin Q., Niu H., Li Z., Zhang G., Hu L., Wang B., Li J., Yu H., Liu W., Wang Y., Da Z., Li R., Xian Q., Wang Y., Zhang Y., Jing T., Ma X. Zhu B. Subunit vaccine consisting of multi-stage antigens has high protective efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *PLoS ONE*, 2013, 8(8): e72745 (doi: 10.1371/journal.pone.0072745).
 54. Jee B., Singh Y., Yadav R., Lang F. Small heat shock protein 16.3 of *Mycobacterium tuberculosis*: after two decades of functional characterization. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 49(1): 368-380 (doi: 10.1159/000492887).
 55. Taylor J.L., Wiczorek A., Keyser A.R., Grover A., Flinkstrom R., Karls R.K., Bielefeldt-Ohmann H., Dobos K.M., Izzo A.A. HspX-mediated protection against tuberculosis depends on its chaperoning of a mycobacterial molecule. *Immunology and Cell Biology*, 2012, 90(10): 945-954 (doi: 10.1038/icc.2012.34).
 56. Bhatt S., Gething P.W., Brady O.J., Messina J.P., Farlow A.W., Moyes C.L., Drake J.M., Brownstein J.S., Hoen A.G., Sankoh O., Myers M.F., George D.B., Jaenisch T., Wint G.R., Simmons C.P., Scott T.W., Farrar J.J., Hay S.I. The global distribution and burden of Dengue. *Nature*, 2013, 496(7446): 504-507 (doi: 10.1038/nature12060).
 57. *Pigmented ethnic skin and imported dermatoses: a text-atlas* /C. Orfanos, C. Zouboulis, C. Assaf (eds.). Springer International Publishing, 2018 (doi: 10.1007/978-3-319-69422-1).
 58. Kim M.Y., Copland A., Nayak K., Chandele A., Ahmed M.S., Zhang Q., Diogo G.R., Paul M.J., Hofmann S., Yang M.S., Jang Y.S., Ma J.K., Reljic R. Plant expressed Fc-fusion protein tetraivalent Dengue vaccine with inherent adjuvant properties. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(7): 1283-1294 (doi: 10.1111/pbi.12869).
 59. Brewoo J.N., Kinney R.M., Powell T.D., Arguello J.J., Silengo S.J., Partidos C.D., Huang C.Y., Stinchcomb D.T., Osorio J.E. Immunogenicity and efficacy of chimeric Dengue vaccine (DENVax) formulations in interferon-deficient AG129 mice. *Vaccine*, 2012, 30(8): 1513-1520 (doi: 10.1016/j.vaccine.2011.11.072).
 60. Kim M.Y., Van Dolleweerd C., Copland A., Paul M.J., Hofmann S., Webster G.R., Julik E., Ceballos-Olvera I., Reyes-Del Valle J., Yang M.S., Jang Y.S., Reljic R., Ma J.K. Molecular engineering and plant expression of an immunoglobulin heavy chain scaffold for delivery of a Dengue vaccine candidate. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(12): 1590-1601 (doi: 10.1111/pbi.12741).
 61. De Alwis R., Smith S.A., Olivarez N.P., Messer W.B., Huynh J.P., Wahala W.M., White L.J., Diamond M.S., Baric R.S., Crowe J.E., de Silva A.M. Identification of human neutralizing antibodies that bind to complex epitopes on Dengue virions. *PNAS USA*, 2012, 109(19): 7439-7444 (doi: 10.1073/pnas.1200566109).
 62. Kim M.Y., Kim B.Y., Oh S.M., Reljic R., Jang Y.S., Yang M.S. Oral immunization of mice with transgenic rice calli expressing cholera toxin B subunit fused to consensus Dengue cEDIII antigen induces antibodies to all four Dengue serotypes. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 92(3): 347-356 (doi: 10.1007/s11103-016-0517-0).
 63. Tripathi N.K., Shrivastava A. Recent developments in recombinant protein-based Dengue vaccines. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1919 (doi: 10.3389/fimmu.2018.01919).
 64. Ji W., Guo Z., Ding N.Z., He C.Q. Studying classical swine fever virus: making the best of a bad virus. *Virus Research*, 2015, 197: 35-47 (doi: 10.1016/j.virusres.2014.12.006).
 65. Liu Z., Liu Y., Zhang Y., Yang Y., Ren J., Zhang X., Du E. Surface displaying of swine IgG1 Fc enhances baculovirus-vectored vaccine efficacy by facilitating viral complement escape and mammalian cell transduction. *Veterinary Research*, 2017, 48(1): 29 (doi: 10.1186/s13567-017-0434-5).
 66. Martyn J.C., Cardin A.J., Wines B.D., Cendron A., Li S., Mackenzie J., Powell M., Gowans E.J. Surface display of IgG Fc on baculovirus vectors enhances binding to antigen-presenting cells and cell lines expressing Fc receptors. *Archives of Virology*, 2009, 154(7): 1129-1138 (doi: 10.1007/s00705-009-0423-8).
 67. Renson P., Le Dimna M., Keranflech A., Cariolet R., Koenen F., Le Potier M-F. CP7_E2alf oral vaccination confers partial protection against early classical swine fever virus challenge and interferes with pathogeny-related cytokine responses. *Veterinary Research*, 2013, 44(1): 9 (doi: 10.1186/1297-9716-44-9).
 68. Nascimento I.P., Leite L.C.C. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2012, 45(12): 1102-1111 (doi: 10.1590/S0100-879X2012007500142).

RESULTS OF Fc-PROTEIN FUSION TECHNOLOGY APPLICATION FOR VACCINE DESIGN AGAINST INFECTIOUS DISEASES OF ANIMALS AND HUMAN (review)

E.I. Katorkina, S.Zh. Tsybanov, A.S. Malogolovkin

Federal Research Center for Virology and Microbiology, 1, ul. Akademika Bakuleva, pos. Vol'ginskii, Petu-
shinskii Region, Vladimir Province, 601125 Russia, e-mail elena.fadeeva.1990@inbox.ru, cybanov@mail.ru,
AMalogolovkin@vniivvm.ru (corresponding author ✉)

ORCID:

Katorkina E.I. orcid.org/0000-0003-3329-0182

Malogolovkin A.S. orcid.org/0000-0003-1352-1780

Tsybanov S.Zh. orcid.org/0000-0002-4919-3080

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Foundation for Basic Research, grant mol_a No. 18-316-00092

Received November 27, 2018

doi: 10.15389/agrobiologia.2019.4.642eng

Abstract

The main criteria for current vaccines design are effectiveness, efficaciousness and safety. Increasing requirements for vaccine safety and purity push forward not only classical vaccine development, but also new generation vaccine technology, including sub-unit, recombinant, anti-idiotypic, DNA vaccines etc. This recombinant technology has already demonstrated its advantage, efficaciousness and safety in a large field of therapeutic and curative drug development for animal and human (S. Khan et al., 2016). In 2011, six novel drugs were created based on the new Fc-fusion protein technology. Most of the newly developed drugs affect receptor-ligand interactions, acting as antagonists by blocking direct receptor binding, i.e. Enbrel® (etanercept; Amgen, USA), Zaltrap® (aflibercept; Sanofi, France), Arcalyst® (rilonacept; Regeneron, USA), or as agonists for direct stimulation of receptor function which augment immune response as Amevive® (alefacept, Astellas, USA) does, or decrease immune response as Nplate® (romiplostim; Amgen, USA) does. In this review, we pay attention to the most relevant results from the last few years for virus and bacterial vaccine designed based on Fc-fusion technology. The Fc-chimeras are hybrid sequences in which Fc-fragment of IgG (Fc-IgG) and targeted therapeutic protein are fused in an entire protein molecule (V. Pechtner et al., 2017). In this fusion, the hinge region of Fc-IgG is a flexible spacer between therapeutic protein and conservative part of IgG. It helps to minimize potential negative effect of two functional domains to each other. Therapeutic drugs based on Fc-fusion proteins are divided in three types, the receptor-Fc, peptide-Fc, and monomer-Fc. The Fc-fused proteins have tremendous therapeutic potential, since Fc domain in this molecules helps to specifically augment the pharmacodynamics values. Presence of Fc-domain in hybrid molecules prolongs half elimination of protein from plasma, which extends drug therapeutic activity and slows down kidney clearance for large molecules. Here, we summarize the most significant experimental data of Fc-fusion technology application against such pathogens as human immunodeficiency virus (D. Capon et al., 1989), Ebola virus (K. Konduru et al., 2011), Dengue virus (M.Y. Kim et al., 2018), influenza virus (L. Du et al., 2011), *Mycobacterium tuberculosis* (S. Soleimanpour et al., 2015), classical swine fever virus (Z. Liu et al., 2017). We also discuss the critical aspects of mechanism of action, drug design and Fc-fused protein production. Targeted activation of effector systems boosts protective potential of immunogenic molecules and broadens its application. The interest of this review is focused on an application of Fc-fused proteins as potential vaccines against infectious human and animal diseases. We also briefly discuss the perspectives of Fc-fused antigens for novel effective medicine developments using African swine fever virus as an example.

Keywords: Fc fragment, human immunodeficiency virus, Ebola virus, influenza virus, tuberculosis, classical swine fever virus, African swine fever virus, vaccination.

Научные собрания

PIG WELFARE SYMPOSIUM

(November 13-15, 2019, hosted by the National Pork Board)

Information: <http://www.pork.org/events/pig-welfare-symposium/>