

doi 10.18699/vjgb-25-63

Env-псевдовirusы на основе генетического варианта, циркулирующего на территории Сибири

Н.Б. Рудометова , А.А. Фандо , Д.Н. Щербаков , Б.Н. Зайцев , А.П. Рудометов , Л.И. Карпенко 

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия
 nadenkaand100@mail.ru

Аннотация. Несмотря на многочисленные усилия мирового сообщества, остановить пандемию ВИЧ/СПИД пока не удастся. Чтобы остановить распространение вируса, требуются эффективная профилактическая вакцина, а также поиск новых противовирусных агентов. Для того чтобы иметь возможность быстро и адекватно оценивать разрабатываемые вакцинные конструкции, характеризовать ВИЧ-специфические антитела и потенциальные лекарственные препараты, необходим надежный метод тестирования. В этом аспекте хорошо зарекомендовал себя анализ нейтрализации вирусного псевдотипа с использованием панели Env-псевдовirusов разных субтипов ВИЧ-1. В настоящее время созданы отдельные панели псевдовirusов основных генетических подтипов ВИЧ-1: А, В, С и ряда CRF. Эти панели необходимы для получения стандартизированных наборов данных, которые могут быть использованы для ранжирования эффективности вакцины и выявления перспективных кандидатов для дальнейшего исследования. На сегодняшний день в европейской части России доминирует субтип А6 ВИЧ-1, а в Сибири – рекомбинантная форма CRF63_02A6, которая обнаруживается более чем в 80 % новых случаев ВИЧ-1 в Сибири. Цель работы состояла в расширении и характеристике коллекции Env-псевдовirusов, полученных на основе рекомбинантной формы CRF63_02A6 ВИЧ-1, циркулирующей в регионах Сибири. В настоящем исследовании получены и охарактеризованы два новых варианта Env-псевдовirusов на основе CRF63_02A6 ВИЧ-1, которые вошли в нашу коллекцию. Коллекция включает 13 Env-псевдовirusов, являющихся CCR5-тропными. Филогенетический анализ полноразмерных нуклеотидных последовательностей гена *env* подтвердил, что все 13 псевдовirusов кластеризуются с референсными последовательностями рекомбинантной формы CRF63_02A6. Env-псевдовirusы были охарактеризованы с помощью широко нейтрализующих антител (bnAb), нацеленных на разные регионы уязвимости ВИЧ-1, расположенных на поверхности гликопротеиновых комплексов Env. Показано, что Env-псевдовirusы чувствительны к нейтрализации bnAb VRC01 и 10E8; умеренно чувствительны к нейтрализации bnAb PG9 и PGT126; и устойчивы к нейтрализации антителами 2G12 и 2F5. Полученная коллекция – важное дополнение к существующим в мире панелям псевдовirusов против других подтипов ВИЧ-1.

Ключевые слова: ВИЧ-1; CRF63_02A6; Env-псевдовirusы; bnAb; анализ вирусной нейтрализации

Для цитирования: Рудометова Н.Б., Фандо А.А., Щербаков Д.Н., Зайцев Б.Н., Рудометов А.П., Карпенко Л.И. Env-псевдовirusы на основе генетического варианта, циркулирующего на территории Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(4):600-607. doi 10.18699/vjgb-25-63

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Env-pseudoviruses based on the HIV-1 genetic variant circulating in Siberia

N.B. Rudometova , A.A. Fando , D.N. Shcherbakov , B.N. Zaitsev , A.P. Rudometov , L.I. Karpenko 

State Research Center Center of Virology and Biotechnology "Vector" Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia
 nadenkaand100@mail.ru

Abstract. Despite numerous efforts of the global community, it is still not possible to stop the HIV/AIDS pandemic. To stop the spread of the virus, an effective preventive vaccine is needed, as well as the search for new antiviral agents. In order to be able to quickly and adequately evaluate the developed vaccine constructs, characterize HIV-specific antibodies and potential drugs, a reliable testing method is needed. In this regard, pseudotype neutralization assays using a panel of Env-pseudoviruses of different HIV-1 subtypes has proven itself well. Currently, separate panels of Env-pseudoviruses of the main genetic subtypes of HIV-1 (A, B, C and a number CRFs) have been created. These panels are necessary to obtain standardized data sets that can be used to rank the effectiveness of the vaccine and identify promising candidates for further study. Currently, the HIV-1 subtype A6 dominates in the European part of Russia, and the recombinant form CRF63_02A6, which has currently been detected in more than 80 % of new

HIV-1 cases in Siberia, dominates in Siberia. The aim of this work was to expand and characterize the collection of Env-pseudoviruses obtained on the basis of the recombinant form CRF63_02A6 of HIV-1 circulating in Siberia. In this study, two new variants of Env-pseudoviruses based on CRF63_02A6 of HIV-1 were obtained, characterized, and included in our collection. At present, the collection includes 13 Env-pseudoviruses that are CCR5-tropic. Phylogenetic analysis of the full-length nucleotide sequences of the *env* gene confirmed that all 13 pseudoviruses cluster with the reference sequences of the recombinant form CRF63_02A6. The Env-pseudoviruses were characterized using broadly neutralizing antibodies (bnAbs) targeting different regions of vulnerability of HIV-1 located on the surface of Env glycoprotein complexes. It was shown that the Env-pseudoviruses are sensitive to neutralization by bnAbs VRC01 and 10E8; moderately sensitive to neutralization by bnAbs PG9 and PGT126; and resistant to neutralization by antibodies 2G12 and 2F5. The resulting collection is an important addition to the existing panels of pseudoviruses against other HIV-1 subtypes in the world.

Key words: HIV-1; CRF63_02A6; Env-pseudoviruses; bnAbs; virus neutralization assay

For citation: Rudometova N.B., Fando A.A., Shcherbakov D.N., Zaitsev B.N., Rudometov A.P., Karpenko L.I. Env-pseudoviruses based on the HIV-1 genetic variant circulating in Siberia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(4):600-607. doi 10.18699/vjgb-25-63

Введение

Инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1), представляет собой серьезную проблему мирового здравоохранения. Несмотря на достигнутые успехи антиретровирусной терапии (АРТ), до сих пор не удается остановить распространение ВИЧ. По данным ВОЗ, около 1.2 млн человек ежегодно заражаются ВИЧ-1¹. В значительной степени это связано с тем, что применение препаратов для лечения ВИЧ-инфекции сопровождается возникновением мутаций устойчивости у вируса². В результате требуется разработка более эффективных препаратов. Вакцинация населения смогла бы обеспечить надежную защиту против ВИЧ/СПИДа, но, к сожалению, эффективная вакцина пока не создана (Levy, 2024). Разработка вакцины против ВИЧ-1 является очень сложной задачей из-за высокой изменчивости вируса и его способности интегрироваться в геном человека. Исследования в этой области в настоящее время идут в направлении разработки иммуногенов, способных индуцировать антитела, нейтрализующие широкий спектр изолятов ВИЧ-1 (bnAb) (Trkola, Moore, 2024).

Для того чтобы иметь возможность быстро и адекватно оценивать разрабатываемые вакцинные конструкции, характеризовать ВИЧ-специфические антитела и потенциальные лекарственные препараты (ингибиторы проникновения), необходим надежный метод тестирования. В этом аспекте наилучшим образом зарекомендовала себя технология Env-псевдовirusов. Анализ нейтрализующей активности с использованием псевдовirusов имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными реплицирующимися вирусными системами в культурах мононуклеарных клеток периферической крови. Во-первых, псевдовirusы не способны к репликации и с ними можно безопасно обращаться за пределами дорогостоящей лаборатории с уровнем биобезопасности 3. Во-вторых, анализы нейтрализации или ингибирования можно проводить на перевиваемой клеточной линии, тем самым снижая потребность в первичных донорских клетках. В совокупности эти элементы обеспечивают точность, воспроизводимость и простоту стандартизации анализов на основе псевдовirusов (Рудометова и др., 2022).

В настоящее время созданы отдельные панели псевдовirusов основных генетических подтипов ВИЧ-1: А, В, С и ряда CRF (Li et al., 2005; Hrabec et al., 2017; Wang et al., 2018; Stefic et al., 2019). Эти панели необходимы для получения стандартизированных наборов данных, которые могут быть использованы для ранжирования эффективности вакцины и выявления перспективных кандидатов для дальнейшего исследования (deCamp et al., 2014).

Следует отметить, что в Российской Федерации генетическое разнообразие ВИЧ-1 имеет региональную специфику (Антонова и др., 2023). В европейской части России доминирует субтип А6 ВИЧ-1 (Антонова и др., 2023; Кузнецова и др., 2023), а в Сибири – рекомбинантная форма CRF63_02A6 (Maksimenko et al., 2020; Rudometova et al., 2021), которая в настоящее время обнаруживается более чем в 80 % новых случаев ВИЧ-1 в Сибири (Sivay et al., 2022). Ряд данных свидетельствует о том, что CRF63_02A6 более заразна и может иметь более высокую репликативную активность, чем другие подтипы, что может привести к росту количества инфицированных этим вариантом вируса (Богачева и др., 2017). С учетом вышесказанного существует необходимость в разработке отдельной коллекции псевдовirusов для CRF63_02A6 ВИЧ-1.

Ранее нами было описано получение ряда Env-псевдовirusов, относящихся к рекомбинантной форме CRF63_02A6 (Rudometova et al., 2022). Однако для обеспечения актуальности коллекции необходимо проведение постоянной работы, направленной на получение новых псевдовirusов на основе циркулирующих штаммов ВИЧ-1.

Цель данной работы – расширение и характеристика коллекции Env-псевдовirusов, полученных на основе рекомбинантной формы CRF63_02A6 ВИЧ-1, циркулирующей в регионах Сибири.

Материалы и методы

Для исследования было отобрано 63 образца сывороток ВИЧ-инфицированных доноров Кемеровской области и Республики Алтай, которые были предоставлены региональными центрами СПИД в соответствии с решениями, принятыми этическими комитетами вышеуказанных организаций. Каждому образцу был присвоен анонимный

¹ HIV statistics, globally and by WHO region, 2024.

² HIV drug resistance: brief report, 2024.

номер в соответствии с требованиями этических норм Российской Федерации. Далее из индивидуальной сыворотки выделяли РНК с использованием комплекта реагентов «МАГНО-Сорб» («Амплисенс», Россия) согласно рекомендациям производителя. Выделенные образцы РНК хранили при -80°C .

Для получения амплифицированных вариантов гена *env* ВИЧ-1 проводили реакцию обратной транскрипции, совмещенную с ПЦР (ОТ-ПЦР), с использованием праймеров Env_S-1 и Env_02A_AS_1 (5'-TTGGGTGTCAAC ATAGCAGAATAGG-3' и 5'-CCTGTGGCCTGACTGGA AAGC-3') и набора реагентов SuperScript™ IV One-Step RT-PCR System (Invitrogen, США) согласно рекомендациям производителя. После проведения ОТ-ПЦР продукты амплификации анализировали с помощью электрофореза в 1 % агарозном геле.

Клонирование амплифицированных вариантов гена *env* ВИЧ-1 осуществляли в составе коммерческого экспрессионного вектора pcDNA3.1/V5-His TOPO TA (Invitrogen). Трансформацию химически компетентных клеток *Escherichia coli* штамм Stbl3 (Thermo Fisher Scientific, США) проводили по методу теплового шока (Chang et al., 2017) и отбирали клоны, несущие плазмиду со встроенным геном *env*.

Для наработки Env-псевдовирuсов проводили трансфекцию культуры клеток HEK293 сконструированными рекомбинантными плазмидами pEnv совместно с коровой плазмидой pSG3Δenv (NIH Reagent Program) с использованием липофектамина 3000 (Invitrogen) в формате 6-луночного планшета. Через 48 ч после трансфекции собирали псевдовирuсные частицы путем фильтрации культуральной среды через 0.45-микронный фильтр; концентрировали в 20 % растворе сахарозы в течение 3 ч при 25000 об.; делали аликвоты по 1 мл и хранили при -80°C .

Электронно-микроскопические изображения получали методом негативного контрастирования с помощью электронного микроскопа JEM-1400 с ускоряющим напряжением 80 кВ, при увеличении от 10000 до 80000х.

Функциональную активность псевдовирuсов определяли с использованием клеточной линии TZM-bl (NIH Reagent Program, США) по методике, описанной ранее (Revilla et al., 2011). Клоны псевдовирuсов считали функциональными и пригодными для дальнейшей работы, если уровень люминесценции клеток TZM-bl, несущих эти клоны, как минимум в 50 раз превышал уровень люминесценции клеток без добавления псевдовирuсных частиц.

Нуклеотидные последовательности амплифицированных вариантов гена *env* ВИЧ-1 были определены путем секвенирования по методу Сэнгера (ЦКП «Геномика» ИХБФМ СО РАН, Новосибирск). Полученные секвеннограммы анализировали с помощью программы BioEdit.

Субтипическую принадлежность вариантов гена *env* ВИЧ-1 определяли с использованием онлайн-ресурса HIV BLAST (https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/BASIC_BLAST/basic_blast.html). Построение филогенетического дерева осуществляли с помощью IQ-TREE на портале <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/IQTREE/iqtree.html> с добавлением эталонных референсных последовательностей субтипов ВИЧ1 из Лос-Аламосской базы дан-

ных последовательностей ВИЧ-1 (<http://www.hiv.lanl.gov/>). Тропность полученных Env-псевдовирuсов ВИЧ-1 к корецептору (CCR5 или CXCR4) определяли по нуклеотидной последовательности V3-петли с использованием онлайн-программы geno2pheno (<http://coreceptor.geno2pheno.org/>).

Анализ нейтрализации псевдовирuсов моноклональными широко нейтрализующими антителами (bnAb) проводили по методике, описанной ранее (Revilla et al., 2011). В работе использовали моноклональные bnAb к ВИЧ-1, нацеленные на разные регионы уязвимости на поверхности тримерных комплексов gp120/gp41 – 2G12, VRC01, PG9, PGT126, 2F5, 10E8 (NIH HIV Reagent Program). Образцы тестировали в двух повторах, эксперимент повторяли дважды. Статистическую обработку данных и вычисление IC_{50} осуществляли с применением программы GraphPad Prism 9.

Результаты

Получение новых вариантов

Env-псевдовирuсов ВИЧ-1

В результате проведенного исследования с помощью ОТ-ПЦР амплифицировано пять полноразмерных вариантов гена *env*, которые были клонированы в составе экспрессионного плазмидного вектора. Для каждого варианта гена *env* получено от одной до шести генетических конструкций со вставкой, которые использовали для котрансфекции.

Далее проводили наработку Env-псевдовирuсов и определяли их функциональную активность. Формирование псевдовирuсных частиц регистрировали с помощью электронной микроскопии (рис. 1, а). Функциональный анализ полученных вариантов псевдовирuсов показал, что сборка функционально активных псевдовирuсных частиц происходит для двух вариантов псевдовирuсов, 22RUAR13 (клон 16) и 22RUKR21 (клон 14) (см. рис. 1, б). Уровень люминесценции клеток, несущих эти клоны, более чем в 150 раз превышал уровень люминесценции чистых клеток. Данные секвенирования и филогенетический анализ подтвердили, что функциональные Env-псевдовирuсы принадлежат к рекомбинантной форме CRF63_02A6 и являются CCR5-тропными (см. рис. 1, в).

Характеристика коллекции

Env-псевдовирuсов CRF63_02A6 ВИЧ-1

Ранее нами было получено 11 Env-псевдовирuсов, относящихся к рекомбинантной форме CRF63_02A6 (Rudometova et al., 2022). В данной работе мы дополнили коллекцию двумя новыми псевдовирuсами и решили провести более детальную ее характеристику. Выполнен филогенетический анализ полноразмерных нуклеотидных последовательностей гена *env*, который подтвердил, что все 13 псевдовирuсов кластеризуются с референсными последовательностями рекомбинантной формы CRF63_02A6 (рис. 2). Из представленных данных (см. рис. 2), видно, что наблюдается определенная генетическая гетерогенность из-за наличия различий в нуклеотидных последовательностях генов *env* псевдовирuсов, вошедших в коллекцию.

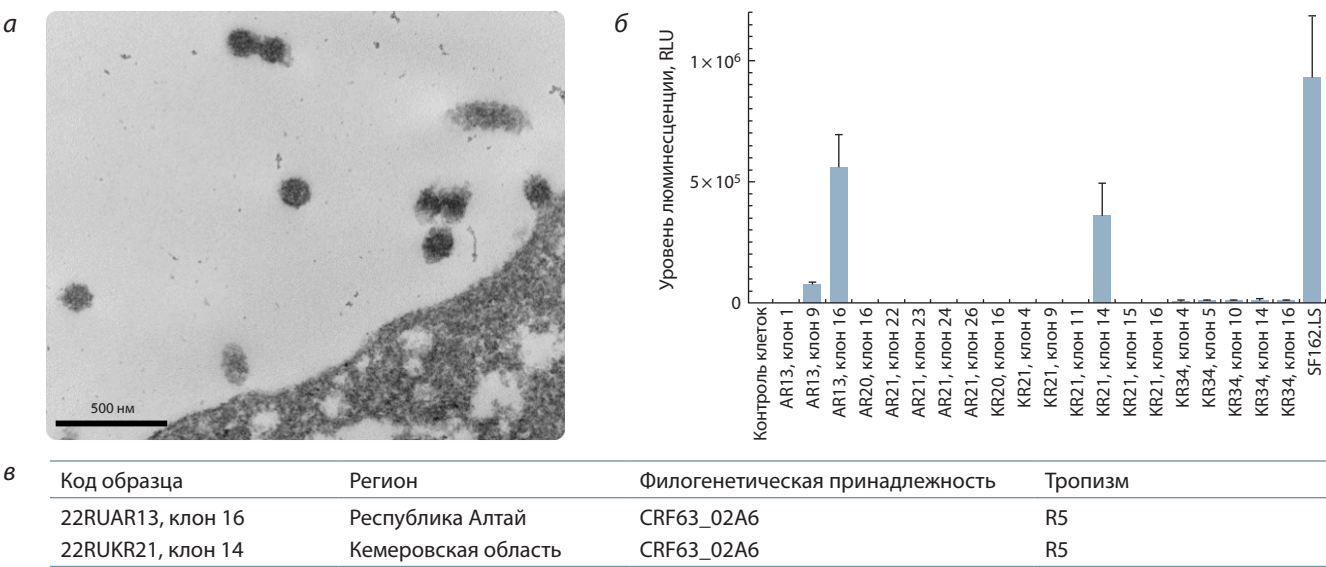


Рис. 1. Характеристика Env-псевдовирусов ВИЧ-1.
а – электронная микрофотография клеток HEK293 после трансфекции с опточковавшимися псевдовирусными частицами рекомбинантной формы CRF63_02A6; *б* – функциональная активность полученных вариантов Env-псевдовирусов ВИЧ-1 (данные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение); в качестве положительного контроля использовали Env-псевдовирус SF162.LS подтипа В из международной референсной панели псевдовирусов; *в* – особенности функционально активных Env-псевдовирусов ВИЧ-1.

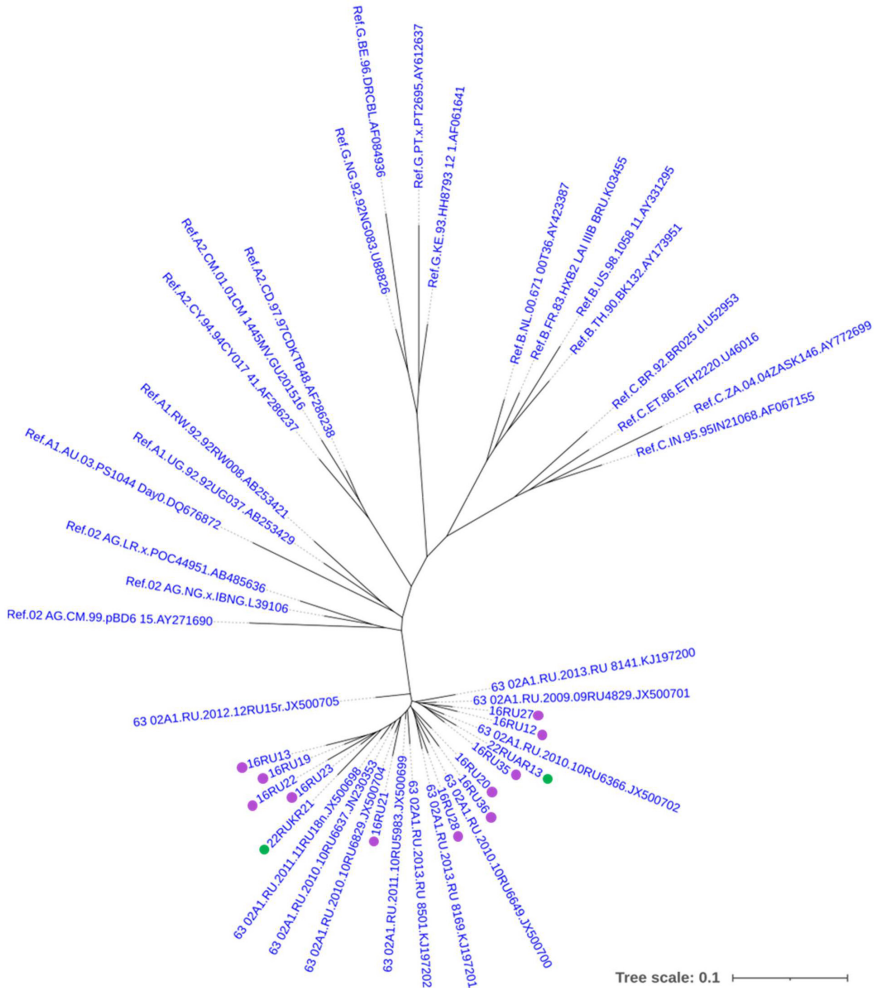


Рис. 2. Филогенетическое дерево максимального правдоподобия гена *env* псевдовирусов ВИЧ-1 (визуализировано с использованием онлайн-инструмента iTOL).
Зелеными точками отмечены гены *env* клонов 22RUAR13 (клон 16) и 22RUKR21 (клон 14); фиолетовыми – гены *env* псевдовирусов, полученных нами ранее (Rudometova et al., 2022).

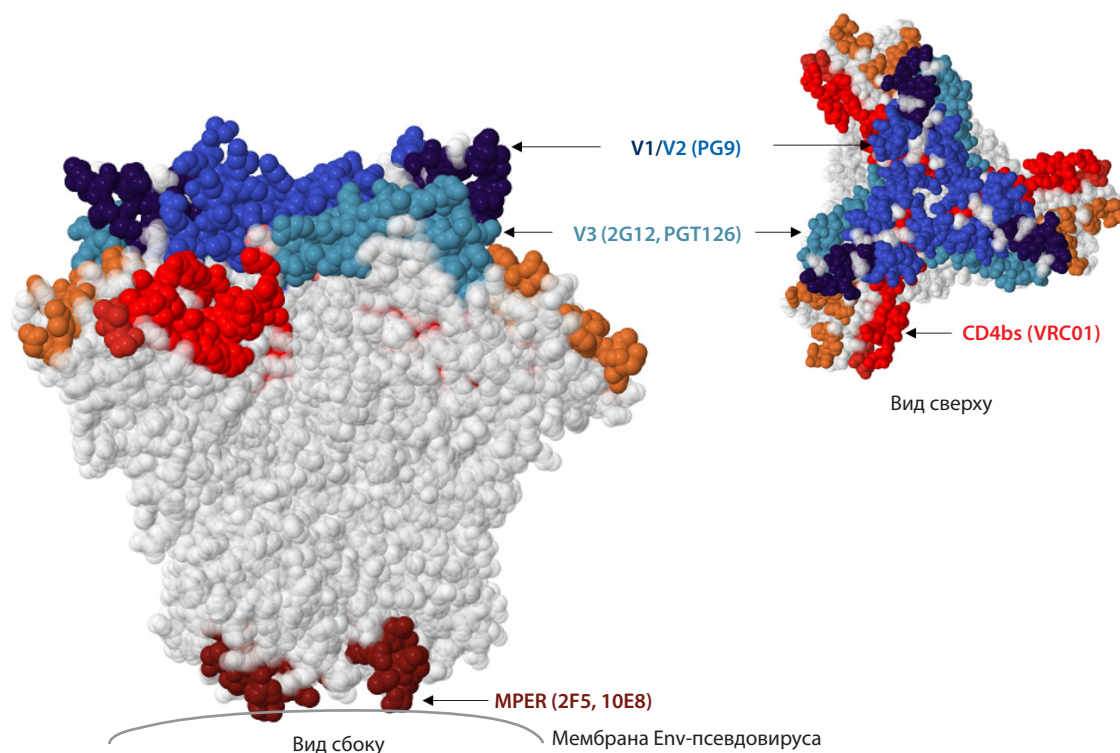


Рис. 3. Сайты уязвимости широко нейтрализующих антител на модели Env тримера (PDB: 4ZMJ).

Модель Env тримера ВИЧ-1 визуализирована с использованием программы HIV 3D Structure Viewer. В скобках указаны обозначения широко нейтрализующих антител (bnAb), связывающихся с сайтами уязвимости вируса и используемых в данной работе.

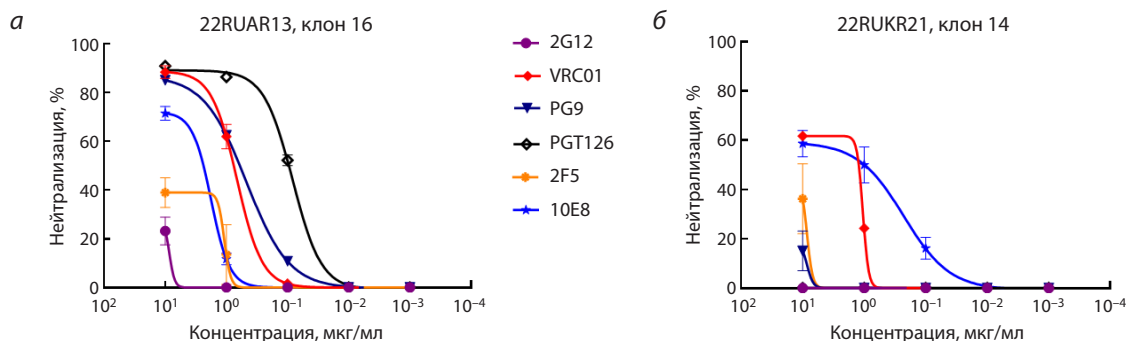


Рис. 4. Нейтрализующая активность моноклональных широко нейтрализующих антител в отношении Env-псевдовирусов ВИЧ-1 22RUAR13, клон 16 (а) и 22RUKR21, клон 14 (б).

Определение фенотипа нейтрализации

Псевдовирусы, обладающие функциональной активностью, были исследованы в реакции нейтрализации псевдовируса с антителами, обладающими способностью нейтрализовать широкий спектр изолятов ВИЧ-1 (bnAb). Для анализа были выбраны bnAb, узнающие основные участки уязвимости ВИЧ-1 на тримерном комплексе gp120/gp41 (рис. 3): bnAb VRC01 – связывания вируса с клеточным рецептором CD4; bnAb PG9 – структуру переменных петель V1/V2 на вершине тримера; bnAb 2G12 и PGT126 – область петли V3 в комплексе в гликанами; bnAb 2F5 и 10E8 – мембрано-проксимальную наружную область gp41 (MPER) (Walsh, Seaman, 2021; Thavarajah et al., 2024).

В качестве примера на рис. 4 приведены типичные кривые нейтрализации Env-псевдовирусов моноклональными

широко нейтрализующими антителами для новых вариантов 22RUAR13 (клон 16) и 22RUKR21 (клон 14).

Согласно полученным данным (рис. 4), Env-псевдовирус 22RUAR13 (клон 16) оказался высокочувствительным к нейтрализации моноклональными антителами VRC01, PG9 и PGT126; проявил умеренную чувствительность к нейтрализации антителом 10E8; он оказался устойчивым к нейтрализации антителами 2G12 и 2F5. В то же время псевдовирус 22RUKR21 (клон 14) продемонстрировал умеренную чувствительность к нейтрализации антителами VRC01 и 10E8 и оказался устойчивым к нейтрализации антителами 2G12, PG9, 2F5 и PGT126.

В таблице приведены значения IC_{50} , определенные для bnAb в отношении всей нашей коллекции Env-псевдовирусов рекомбинантной формы CRF63_02A6, включая

Значения IC_{50} , определенные для bnAb в отношении Env-псевдовirusов рекомбинантной формы CRF63_02A6

Env-псевдовirus	IC_{50} , мкг/мл					
	VRC01	PG9	2G12	PGT126	2F5	10E8
22RUAR13	0.75	0.62	>10	0.097	>10	2.41
22RUKR21	1.22	>10	>10	>10	>10	1.02
16RU12	0.11	>10	>10	>10	>10	0.02
16RU13	1.71	4.83	>10	0.11	>10	0.05
16RU19	2.63	1.61	>10	0.03	8.43	0.12
16RU20	0.11	0.22	>10	0.16	>10	0.12
16RU21	0.11	4.23	2.31	>10	>10	0.01
16RU22	2.93	6.72	>10	0.01	8.0	0.15
16RU23	3.81	>10	>10	>10	>10	0.11
16RU27	0.31	>10	1.71	0.19	>10	0.61
16RU28	0.31	1.0	1.42	0.01	4.51	0.32
16RU35	0.43	>10	>10	0.11	3.52	0.19
16RU36	0.32	0.22	>10	0.41	>10	0.26

22RUAR13 и 22RUKR21. Сравнительный анализ IC_{50} показал, что Env-псевдовirusы данной коллекции имеют достаточно гетерогенную чувствительность к нейтрализации bnAb (см. таблицу), которая, вероятно, обусловлена их антигенными различиями (Приложение)³. Как видно из таблицы, Env-псевдовirusы рекомбинантной формы CRF63_02A6 демонстрируют высокую чувствительность к нейтрализации bnAb VRC01 и 10E8.

Известно, что данные антитела обладают высокой нейтрализующей активностью и в отношении других субтипов ВИЧ-1, включая А, В, С, рекомбинантные формы CRF02_AG и CRF01_AE (Wu et al., 2010; Huang et al., 2012; Hrabec et al., 2017; Wang et al., 2018; Stefic et al., 2019; Wicczorek et al., 2024). К антителам 2F5, PG9, 2G12 и PGT126, напротив, Env-псевдовirusы продемонстрировали умеренную или даже низкую чувствительность к нейтрализации. Вероятно, это связано с тем, что bnAb PG9, 2G12 и PGT126 распознают сложные конформационные эпитопы в комплексе с гликанами, которые могут препятствовать эффективному связыванию и, как следствие, нейтрализации вируса (Sanders et al., 2002; Doores, Burton, 2010; Krumm et al., 2016).

Обсуждение

Рекомбинационная и мутационная изменчивости ВИЧ-1 оказывают существенное влияние на изменение циркулирующих virusов ВИЧ-1 на территории России. В результате наблюдается не только возникновение новых рекомбинантных форм ВИЧ, но и их распространение с формированием новых, отличающихся филогенетических кластеров ВИЧ-1. Такие изменения генетических характеристик современного ВИЧ-1 необходимо учитывать разработчикам антиретровирусных препаратов и вакцин (Rashid et al., 2022; Nair et al., 2024). Для этого нужны ин-

струменты проверки, к которым и относятся коллекции Env-псевдовirusов разных субтипов ВИЧ-1 (deCamp et al., 2014).

В данном исследовании получены и охарактеризованы два новых варианта Env-псевдовirusов ВИЧ-1 на основе генетических вариантов, циркулирующих на территории Сибирского федерального округа. Филогенетический анализ показал, что оба варианта принадлежат к рекомбинантной форме CRF63_02A6 и являются CCR5-тропными (см. рис. 1, в, рис. 2). Полученные варианты Env-псевдовirusов ВИЧ-1 дополнили существующую коллекцию. Таким образом, в настоящее время наша коллекция включает 13 Env-псевдовirusов, относящихся к рекомбинантной форме CRF63_02A6. Env-псевдовirusы были охарактеризованы с помощью bnAb, нацеленных на разные регионы уязвимости ВИЧ-1, расположенных на поверхности гликопротеиновых комплексов Env. Результаты анализа показали, что входящие в коллекцию Env-псевдовirusы проявляют высокую чувствительность к bnAb VRC01 и 10E8; умеренную чувствительность к bnAb PG9 и PGT126 и устойчивость к антителам 2G12 и 2F5 (см. таблицу).

Достоинство данной коллекции заключается в том, что она является относительно репрезентативной, поскольку включает псевдовirusы, отличающиеся как генетическим разнообразием, так и чувствительностью к bnAb. По данным Р. Hrabec с коллегами (2017), коллекция из 12 псевдовirusов определенного субтипа ВИЧ-1 может быть достаточной для первичной оценки эффективности вакцинных кандидатов.

Вследствие того, что рекомбинантная форма CRF63_02A6 ВИЧ-1 в настоящее время составляет около 80 % в Сибири и продолжает активно распространяться (Sivay et al., 2022), разработанная коллекция – важное дополнение к существующим в мире коллекциям против других подтипов ВИЧ-1.

³ Приложение см. по адресу:

<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2025-29/appx22.pdf>

Заклучение

В настоящей работе дополнена и охарактеризована коллекция Env-псевдовирuсов ВИЧ-1 рекомбинантной формы CRF63_02A6, которая позволит осуществлять комплекс научных и прикладных работ: исследовать противовирусную активность создаваемых химиопрепаратов и оценивать эффективность вакцин против ВИЧ-1; изучать широту и спектр нейтрализующих свойств моноклональных широко нейтрализующих антител и проводить поиск новых широко нейтрализующих антител путем скрининга нейтрализующих свойств сывороток крови инфицированных ВИЧ-1, а также изучать субтип-специфические особенности циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1.

Список литературы / References

- Антонова А.А., Кузнецова А.И., Ожмегова Е.Н., Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Ким К.В., Туманов А.С., Глинкина Л.Н., Бобкова М.Р. Генетическое разнообразие ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации: увеличение распространенности рекомбинантных форм. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2023;15(3):61-72. doi 10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72
- [Antonova A.A., Kuznetsova A.I., Ozhmegova E.N., Lebedev A.V., Kazennova E.V., Kim K.V., Tumanov A.S., Glinkina L.N., Bobkova M.R. Genetic diversity of HIV-1 at the current stage of the epidemic in the Russian Federation: an increase in the prevalence of recombinant forms. *VICH-infektsiya i Immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2023;15(3):61-72. doi 10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72 (in Russian)]
- Богачева Н.В., Бледных Н.А., Тотменин А.В., Мирджамалова Ф.О., Соколов Ю.В., Гашникова Н.М. Создание коллекции современных изолятов ВИЧ-1, включающей основные российские генетические варианты вируса. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2017;9(1):65-76. doi 10.22328/2077-9828-2017-9-1-65-76
- [Bogacheva N.V., Blednyh N.A., Totmenin A.V., Mirdzhamalova F.O., Sokolov J.V., Gashnikova N.M. Creation a collection of up-to-date HIV-1 isolates including major Russian genetic variants of virus. *VICH-infektsiya i Immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2017;9(1):65-76. doi 10.22328/2077-9828-2017-9-1-65-76 (in Russian)]
- Кузнецова А.И., Мунчак Я.М., Лебедев А.В., Туманов А.С., Ким К.В., Антонова А.А., Ожмегова Е.Н., Пронин А.Ю., Дробышевская Е.В., Казеннова Е.В., Бобкова М.Р. Генетическое разнообразие капсидного белка (p24) у вариантов вируса иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1), циркулирующих в Российской Федерации. *Вопросы вирусологии*. 2023;68(1):66-78. doi 10.36233/0507-4088-161
- [Kuznetsova A.I., Munchak Ya.M., Lebedev A.V., Tumanov A.S., Kim K.V., Antonova A.A., Ozhmegova E.N., Pronin A.Yu., Drobyshevskaya E.V., Kazennova E.V., Bobkova M.R. Genetic diversity of capsid protein (p24) in human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) variants circulating in the Russian Federation. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology*. 2023;68(1):66-78. doi 10.36233/0507-4088-161 (in Russian)]
- Рудометова Н.Б., Щербakov Д.Н., Рудометов А.П., Ильичев А.А., Карпенко Л.И. Модельные системы вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1), используемые для оценки эффективности кандидатных вакцин и лекарственных препаратов против ВИЧ-1 *in vitro*. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022; 26(2): 214-221. doi 10.18699/VJGB-22-26
- [Rudometova N.B., Shcherbakov D.N., Rudometov A.P., Ilyichev A.A., Karpenko L.I. Model systems of human immunodeficiency virus (HIV-1) for *in vitro* efficacy assessment of candidate vaccines and drugs against HIV-1. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii*. 2022;26(2):214-221. doi 10.18699/VJGB-22-26]
- Chang A.Y., Chau V., Landas J.A., Pang Y. Preparation of calcium competent *Escherichia coli* and heat-shock transformation. *JEMI Methods*. 2017;1:22-25
- deCamp A., Hraber P., Bailer R.T., Seaman M.S., Ochsenbauer C., Kappes J., Gottardo R., Edlefsen P., Self S., Tang H., Greene K., Gao H., Daniell X., Sarzotti-Kelsoe M., Gorny M.K., Zolla-Pazner S., LaBranche C.C., Mascola J.R., Korber B.T., Montefiori D.C. Global panel of HIV-1 Env reference strains for standardized assessments of vaccine-elicited neutralizing antibodies. *J Virol*. 2014; 88(5):2489-2507. doi 10.1128/JVI.02853-13
- Doores K.J., Burton D.R. Variable loop glycan dependency of the broad and potent HIV-1-neutralizing antibodies PG9 and PG16. *J Virol*. 2010;84(20):10510-10521. doi 10.1128/JVI.00552-10
- Hraber P., Rademeyer C., Williamson C., Seaman M.S., Gottardo R., Tang H., Greene K., Gao H., LaBranche C., Mascola J.R., Morris L., Montefiori D.C., Korber B. Panels of HIV-1 subtype C Env reference strains for standardized neutralization assessments. *J Virol*. 2017;91(1):e00991-17. doi 10.1128/JVI.00991-17
- Huang J., Ofek G., Laub L., Louder M.K., Doria-Rose N.A., Longo N.S., Imamichi H., ... Wyatt R., Haynes B.F., Kwong P.D., Mascola J.R., Connors M. Broad and potent neutralization of HIV-1 by a gp41-specific human antibody. *Nature*. 2012;491(7424):406-412. doi 10.1038/nature11544
- Krumm S.A., Mohammed H., Le K.M., Crispin M., Wrinn T., Poignard P., Doores K.J. Mechanisms of escape from the PGT128 family of anti-HIV broadly neutralizing antibodies. *Retrovirology*. 2016; 13:8. doi 10.1186/s12977-016-0241-5
- Levy Y. DNA and protein HIV vaccines: how should we mix it? *Lancet HIV*. 2024;11(5):e274-e275. doi 10.1016/S2352-3018(24)00092-4
- Li M., Gao F., Mascola J.R., Stamatos L., Polonis V.R., Koutsoukos M., Voss G., Goepfert P., Gilbert P., Greene K.M., Bilska M., Kothe D.L., Salazar-Gonzalez J.F., Wei X., Decker J.M., Hahn B.H., Montefiori D.C. Human immunodeficiency virus type 1 env clones from acute and early subtype B infections for standardized assessments of vaccine-elicited neutralizing antibodies. *J Virol*. 2005; 79(16):10108-10125. doi 10.1128/JVI.79.16.10108-10125.2005
- Maksimenko L.V., Totmenin A.V., Gashnikova M.P., Astakhova E.M., Skudarnov S.E., Ostapova T.S., Yashchenko S.V., Meshkov I.O., Bocharov E.F., Maksyutov R.A., Gashnikova N.M. Genetic diversity of HIV-1 in Krasnoyarsk Krai: area with high levels of HIV-1 recombination in Russia. *BioMed Res Int*. 2020;2020:9057541. doi 10.1155/2020/9057541
- Nair M., Gettins L., Fuller M., Kirtley S., Hemelaar J. Global and regional genetic diversity of HIV-1 in 2010-21: systematic review and analysis of prevalence. *Lancet Microbe*. 2024;5(11):100912. doi 10.1016/S2666-5247(24)00151-4
- Rashid A., Li K., Feng Y., Ahmad T., Getaneh Y., Yu Y., Hu X., Abidi S.H., Shao Y. HIV-1 genetic diversity a challenge for AIDS vaccine development: a retrospective bibliometric analysis. *Hum Vaccin Immunother*. 2022;18(1):2014733. doi 10.1080/21645515.2021.2014733
- Revilla A., Delgado E., Christian E.C., Dalrymple J., Vega Y., Carreira C., González-Galeano M., ... Pérez-Álvarez L., Nájera R., Montefiori D.C., Seaman M.S., Thomson M.M. Construction and phenotypic characterization of HIV type 1 functional envelope clones of subtypes G and F. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011;27(8):889-901. doi 10.1089/AID.2010.0177
- Rudometova N.B., Shcherbakova N.S., Shcherbakov D.N., Mishenova E.V., Delgado E., Ilyichev A.A., Karpenko L.I., Thomson M.M. Genetic diversity and drug resistance mutations in reverse transcriptase and protease genes of HIV-1 isolates from Southwestern Siberia. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2021;37(9):716-723. doi 10.1089/AID.2020.0225
- Rudometova N.B., Shcherbakova N.S., Shcherbakov D.N., Taranov O.S., Zaitsev B.N., Karpenko L.I. Construction and characterization of HIV-1 env-pseudoviruses of the recombinant form CRF63_02A

- and subtype A6. *Bull Exp Biol Med.* 2022;172(6):729-733. doi 10.1007/s10517-022-05466-7
- Sanders R.W., Venturi M., Schiffrin L., Kalyanaraman R., Katinger H., Lloyd K.O., Kwong P.D., Moore J.P. The mannose-dependent epitope for neutralizing antibody 2G12 on human immunodeficiency virus type 1 glycoprotein gp120. *J Virol.* 2002;76(14):7293-7305. doi 10.1128/jvi.76.14.7293-7305.2002
- Sivay M.V., Maksimenko L.V., Osipova I.P., Nefedova A.A., Gashnikova M.P., Zyryanova D.P., Ekushov V.E., Totmenin A.V., Nalimova T.M., Ivlev V.V., Kapustin D.V., Pozdnyakova L.L., Skudarnov S.E., Ostapova T.S., Yaschenko S.V., Nazarova O.I., Chernov A.S., Ismailova T.N., Maksutov R.A., Gashnikova N.M. Spatiotemporal dynamics of HIV-1 CRF63_02A6 sub-epidemic. *Front Microbiol.* 2022;13:946787. doi 10.3389/fmicb.2022.946787
- Stefic K., Bouvin-Pley M., Essat A., Visdeloup C., Moreau A., Goujard C., Chaix M.L., Braibant M., Meyer L., Barin F. Sensitivity to broadly neutralizing antibodies of recently transmitted HIV-1 clade CRF02_AG viruses with a focus on evolution over time. *J Virol.* 2019;93(2):e01492-18. doi 10.1128/JVI.01492-18
- Thavarajah J.J., Hønge B.L., Wejse C.M. The use of broadly neutralizing antibodies (bNAbs) in HIV-1 treatment and prevention. *Viruses.* 2024;16(6):911. doi 10.3390/v16060911
- Trkola A., Moore P.L. Vaccinating people living with HIV: a fast track to preventive and therapeutic HIV vaccines. *Lancet Infect Dis.* 2024;24(4):e252-e255. doi 10.1016/S1473-3099(23)00481-4
- Walsh S.R., Seaman M.S. Broadly neutralizing antibodies for HIV-1 prevention. *Front Immunol.* 2021;12:712122. doi 10.3389/fimmu.2021.712122
- Wang H., Yuan T., Li T., Li Y., Qian F., Zhu C., Liang S., Hoffmann D., Dittmer U., Sun B., Yang R. Evaluation of susceptibility of HIV-1 CRF01_AE variants to neutralization by a panel of broadly neutralizing antibodies. *Arch Virol.* 2018;163(12):3303-3315. doi 10.1007/s00705-018-4011-7
- Wieczorek L., Sanders-Buell E., Zemil M., Lewitus E., Kavusak E., Heller J., Molnar S., ... Ake J., Krebs S.J., Peel S., Tovanabutra S., Polonis V.R. Evolution of HIV-1 envelope towards reduced neutralization sensitivity, as demonstrated by contemporary HIV-1 subtype B from the United States. *PLoS Pathog.* 2023;19(12):e1011780. doi 10.1371/journal.ppat.1011780
- Wieczorek L., Chang D., Sanders-Buell E., Zemil M., Martinez E., Schoen J., Chenine A.L., ... Michael N.L., Crowell T.A., Ake J.A., Tovanabutra S., Polonis V.R. Differences in neutralizing antibody sensitivities and envelope characteristics indicate distinct antigenic properties of Nigerian HIV-1 subtype G and CRF02_AG. *Virol J.* 2024;21(1):148. doi 10.1186/s12985-024-02394-y
- Wu X., Yang Z.Y., Li Y., Hogerkerp C.M., Schief W.R., Seaman M.S., Zhou T., ... Kwong P.D., Roederer M., Wyatt R.T., Nabel G.J., Mascola J.R. Rational design of envelope identifies broadly neutralizing human monoclonal antibodies to HIV-1. *Science.* 2010;329(5993):856-861. doi 10.1126/science.1187659

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 03.11.2024. После доработки 09.03.2025. Принята к публикации 10.03.2025.