

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Использование биоинформационного анализа для определения вероятной причины перекрестного взаимодействия антител к антигенному белку ВПЧ16 L1 с белком ВПЧ6 L1

А.С. Столбиков^{1,2}✉, Р.К. Салаяев¹, Н.И. Рекославская¹

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

² Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

✉ valkir5@yandex.ru

Аннотация. С помощью биоинформационных ресурсов (программ и баз данных) предпринята попытка проанализировать вероятную причину перекрестного взаимодействия антител против ВПЧ16 L1 с антигенными белками ВПЧ6 L1, которое было выявлено при изучении кандидатной вакцины, полученной на основе растительной экспрессионной системы (растений томата). По нашему мнению, наиболее вероятной причиной перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам вируса папилломы человека (ВПЧ), является сходство антигенных детерминант. В ходе исследования были проанализированы аминокислотные последовательности ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1, которые использовались при разработке бинарной вакцины против цервикального рака и аногенитальных папилломатозов. Для анализа антигенных детерминант использовались программы BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor, DiscoTope 2.0 Server, SYFPEITHI. В результате исследования вероятных линейных детерминант для В-клеток установили, что у обоих типов ВПЧ белки имеют примерно одинаковое расположение и размер линейных антигенных детерминант, отличие наблюдается только в виде небольших сдвигов в несколько аминокислотных остатков. Однако выявлено некоторое различие в аминокислотном составе эпитопов, поэтому потенциал перекрестного взаимодействия антител с антигенами за счет сходства линейных антигенных детерминант для В-клеток незначителен. Анализ потенциальных трехмерных эпитопов для В-клеток показал, что по сумме различий белки ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1 не имеют предпосылок для перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к двум разным патогенным типам ВПЧ. Анализ вероятных линейных эпитопов для Т-клеток обнаружил у двух белковых последовательностей общую антигенную детерминанту. Согласно рейтингу, составленному программой SYFPEITHI, аминокислотная последовательность AQL(I)FNKPYWL представляет собой вторую, по вероятности, антигенную детерминанту для Т-клеток. При этом аминокислотная последовательность данной детерминанты у ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1 практически идентична. Отличие имеется лишь по одной позиции, но оно не является критичным в силу сходства физико-химических свойств аминокислот, по которым наблюдается замена в аминокислотной последовательности антигенных детерминант. Исходя из этого можно ожидать умеренно выраженное перекрестное взаимодействие антител к ВПЧ16 L1 с антигенами ВПЧ6 L1.

Ключевые слова: вирус папилломы человека; ВПЧ6 L1; ВПЧ16 L1; биоинформационный анализ.

Для цитирования: Столбиков А.С., Салаяев Р.К., Рекославская Н.И. Использование биоинформационного анализа для определения вероятной причины перекрестного взаимодействия антител к антигенному белку ВПЧ16 L1 с белком ВПЧ6 L1. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(7):787-792. DOI 10.18699/VJ21.090

A bioinformatics approach for identifying the probable cause of the cross-interaction of antibodies to the antigenic protein HPV16 L1 with the HPV6 L1 protein

A.S. Stolbikov^{1,2}✉, R.K. Salyaev¹, N.I. Rekoslavskaya¹

¹ Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia

² Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

✉ valkir5@yandex.ru

Abstract. This paper describes an attempt to analyze, with the aid of bioinformatics resources (programs and databases), the probable cause of the cross-interaction of antibodies against HPV16 L1 with antigenic protein HPV6 L1, which has been revealed in the investigation of the candidate vaccine obtained on the base of a plant expression system (tomato plants). In our opinion, the most likely reason for the cross-interaction of antibodies with antigens of different pathogenic HPV types is the similarity of their antigenic determinants. In this work, the amino acid sequences of HPV16 L1 and HPV6 L1 used for the development of a binary vaccine against cervical cancer and anogenital papillomatosis have been analyzed. For the analysis of antigenic determinants, the programs BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor, DiscoTope 2.0 Server and SYFPEITHI have been used. As a result of the analysis of probable B-cell linear determinants (epitopes), it has been found that in both types of HPV the proteins have approximately the same location and size of linear antigenic determinants; the difference is observed only in the form of small shifts in the size of several amino acid residues. However, there are some

differences in the amino acid composition of epitopes; therefore, the possibility for cross-interaction of the antibodies with the antigens due to the similarity of linear antigenic determinants for B-cells is very small. The analysis of potential three-dimensional epitopes for B-cells has shown that due to little difference between them the HPV16 L1 and HPV6 L1 proteins have no prerequisites for cross-interaction of the antibodies with the antigens belonging to the two different pathogenic HPV types. The analysis of probable linear epitopes for T-cells has revealed a common antigenic determinant in the two protein sequences. According to the rank made with the SYFPEITHI program, the amino acid sequence AQL(I)FNKPYWL is the second most likely antigenic determinant for T-cells. Meanwhile, the amino acid sequences of this determinant in HPV16 L1 and HPV6 L1 are virtually identical. There is a difference in only one position, but it is not critical due to the similarity of the physicochemical properties of amino acids, for which there is a replacement in the amino acid sequence of antigenic determinants. Consequently, some moderate cross-interaction of the antibodies to HPV16 L1 with the antigens of HPV6 L1 may be expected.

Key words: human papillomavirus; HPV6 L1; HPV16 L1; bioinformatics analysis.

For citation: Stolbikov A.S., Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I. A bioinformatics approach for identifying the probable cause of the cross-interaction of antibodies to the antigenic protein HPV16 L1 with the HPV6 L1 protein. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(7):787-792. DOI 10.18699/VJ21.090

Введение

Ежегодно инфицированию различными типами вируса папилломы человека (ВПЧ) подвергаются десятки миллионов людей, и это только в регионах мира, где ведутся соответствующие медицинские наблюдения и статистика (McLaughlin-Drubin, Münger, 2009). Поэтому создание профилактических вакцин против ВПЧ – одна из актуальных задач по сдерживанию роста числа заболеваний, вызываемых данным типом инфекционных агентов.

Разработка кандидатных вакцин на основе растительных экспрессионных систем является относительно новым направлением биофарминга. Растительные экспрессионные системы имеют определенные преимущества по сравнению с другими системами. Прежде всего эти преимущества связаны с безопасностью вследствие отсутствия прионов, патогенов млекопитающих, транспозонов и опасных вирусов в латентном состоянии, а также с относительной дешевизной получения вакцин, что в целом способствует более широкой коммерциализации и масштабированию. В предыдущих исследованиях нами была предпринята попытка создания кандидатной четырехвалентной пероральной вакцины на базе трансгенных растений против четырех типов ВПЧ (16, 18, 31, 45), способных вызывать цервикальный рак. В данной работе планировалось получить вакцину, обеспечивающую максимальную защиту от цервикального рака за счет использования основного антигенного белка L1 вирусной оболочки четырех высокоонкогенных типов папилломавирусов человека (ВПЧ16, ВПЧ18, ВПЧ31 и ВПЧ45), которые отвечают за большинство случаев возникновения рака шейки матки.

В ходе исследования выявлено, что антитела к антигенному белку ВПЧ16 L1 успешно взаимодействуют с антигенами ВПЧ18 L1, ВПЧ31 L1 и ВПЧ45 L1 (Salyaev et al., 2017). Исходя из полученных данных сделано предположение, что перекрестное взаимодействие антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам ВПЧ, может быть обусловлено сходством антигенных детерминант. Это предположение было проверено с помощью биоинформационного исследования, в ходе которого обнаружены общие линейные детерминанты для Т- и В-клеток у всех четырех типов вирусных белков L1. Кроме того, найдены сходные трехмерные антигенные детерминанты для В-клеток у ВПЧ16 L1 и ВПЧ18 L1

(Столбиков и др., 2020). При работе над бинарной вакциной, содержащей антигенные белки ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1, с помощью вестерн-блот гибридизации было выявлено перекрестное взаимодействие сывороточных антител против ВПЧ16 L1 с антигенными белками ВПЧ6 L1 (Salyaev et al., 2017; Рекославская и др., 2021). Папилломавирус человека 6-го типа не вызывает рак, но может приводить к развитию аногенитальных и респираторных папилломатозов. Несмотря на то что эти заболевания редко приводят к летальному исходу, они очень распространены и имеют высокую контагиозность (ВОЗ, 11 января 2020).

Широкий диапазон перекрестного взаимодействия между антигенами и антителами, выходящий за пределы вирусов, вызывающих цервикальный рак и относящихся к другому семейству, показался нам крайне интересным. В связи с этим мы подвергли сравнительному биоинформационному анализу антигенные детерминанты ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1. Полученные в ходе исследования данные могут быть полезны для оптимизации работ при создании кандидатных вакцин с использованием меньшего количества типов ВПЧ за счет перекрестного взаимодействия между антителами и антигенами неродственных типов, что, в свою очередь, снизит трудоемкость и себестоимость производства вакцин против опасных типов папилломавирусов человека.

Материалы и методы

Выравнивание аминокислотных последовательностей ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1. В качестве первого этапа анализа антигенных детерминант ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1 проводилось парное выравнивание изолятов ВПЧ каждого типа. В базе данных NCBI (GenBank) были найдены и обработаны их полноразмерные аминокислотные сиквенсы, кодируемые нуклеотидными последовательностями, ранее использованными нами в генетических конструкциях при разработке бинарной вакцины против цервикального рака и аногенитальных папилломатозов (Salyaev et al., 2017). Это было необходимо для последующего определения различий в антигенных детерминантах двух типов ВПЧ. Из базы GenBank извлекался также весь массив полноразмерных аминокислотных последовательностей ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1. Выравнивание аминокислотных последовательностей проводили с помощью редактора множественного выравнивания нуклеотидных и аминокислотных после-

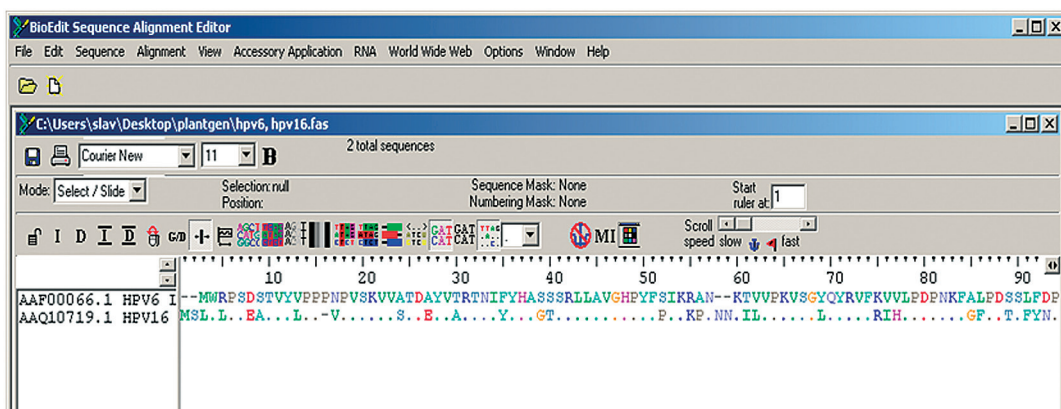


Рис. 1. Выравнивание аминокислотных последовательностей ВПЧ6 L1 и ВПЧ16 L1.

довательностей BioEdit. Филогенетическое древо строили в программе Simple Phylogeny (EMBL-EBI) методами ближайшего соседа (neighbour-joining) и невзвешенного парного среднего (UPGMA).

Выявление потенциальных антигенных детерминант. Для второго этапа анализа антигенных детерминант использовали программу BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor (<http://www.cbs.dtu.dk/services/BepiPred/>) (Jespersen et al., 2017). Данный биоинформационный ресурс позволяет выявить потенциальные линейные антигенные детерминанты для В-клеток. Для определения трехмерных антигенных детерминант для В-клеток применяли программу DiscoTope 2.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/DiscoTope/>) (Kringelum et al., 2012). При работе с этой программой задавались максимально строгие условия: чувствительность 47 %, специфичность 75 %. Трехмерные модели белков, которые анализировались с помощью программы DiscoTope 2.0 Server, находили в базе данных Protein Data Bank (PDB). Программы BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor и DiscoTope 2.0 Server были в открытом доступе на сервере Датского технического университета (DTU). Поиск потенциальных антигенных детерминант для Т-клеток производили с помощью программы SYFPEITHI, находящейся в открытом доступе (<http://www.syfpeithi.com>). Этот биоинформатический ресурс ранжирует все возможные варианты антигенных детерминант согласно вероятности их взаимодействия с Т-клетками (Rammensee et al., 1999).

Результаты

Аминокислотное выравнивание

Аминокислотные последовательности капсидных белков L1 вирусов ВПЧ16 и ВПЧ6 были извлечены из международной базы данных NCBI и выровнены в программе BioEdit (рис. 1).

По результатам выравнивания построены филограммы. Для акцентирования эволюционных отличий между 6-м и 16-м типами ВПЧ, в сравнительном анализе использовали ВПЧ 31, который относится к тому же виду *Alphapapillomavirus 9*, что и ВПЧ16 (рис. 2). Филогенетическое сравнение выявило существенные различия между ВПЧ6 L1 и ВПЧ16 L1.

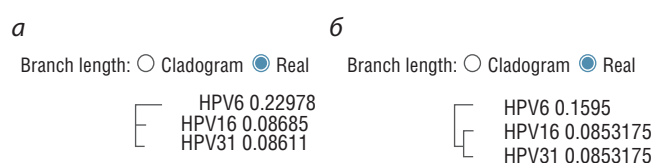


Рис. 2. Филограмма, построенная с помощью программы Simple Phylogeny (EMBL-EBI): а – методом ближайшего соседа (neighbour-joining); б – методом UPGMA.

Анализ линейных антигенных детерминант для В-клеток

Аминокислотные последовательности двух вирусных белков ВПЧ6 L1 и ВПЧ16 L1 анализировались на предмет потенциальных линейных антигенных детерминант для В-клеток с помощью программы BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor. Исследование показало, что у белка ВПЧ6 L1 имеются следующие антигенные детерминанты: 14–25, 79–83, 85–91, 120–141, 162–177, 208–216, 230–238, 260–283, 308–314, 345–358, 391–439, 447–457, 468–497 (рис. 3).

Ранее у ВПЧ16 L1 были выявлены следующие антигенные детерминанты: 8–28, 83–95, 123–143, 166–177, 213–220, 234–243, 264–286, 350–369, 396–421, 426–444, 452–462, 473–502 (Столбиков и др., 2020).

Таким образом, у обоих типов ВПЧ белки имеют примерно одинаковое расположение и размер линейных антигенных детерминант, отличие наблюдается только в виде небольших сдвигов в несколько аминокислотных остатков. Существенное различие заключается в присутствии у белка ВПЧ6 L1 линейных детерминант 79–83, 308–314, которых нет у ВПЧ16 L1. Кроме того, в белке 16-го типа ВПЧ присутствовала антигенная детерминанта 426–444, которой не обнаружено в белке 6-го типа вируса.

Для того чтобы сделать вывод о наличии сходных линейных антигенных детерминант у двух рассматриваемых типов ВПЧ, необходимо было сравнить аминокислотный состав предполагаемых эпитопов. Разница в аминокислотном составе может приводить к уменьшению степени родства с антителами. Отсутствие замен в аминокислотных последовательностях или замены близкими по свойствам аминокислотами может сохранять уровень аффинности антител. Поэтому важно определить наличие и оце-

Name	Sequence Markup
Sequence	Epitopes :E.....EEEEEEEEEEEE.....EEEE.EEEEEEE..... Predictions: HWIPSDSYVPPPNVSKVAATDAVYTRTNIFVHASSRLLAVGHVYFYSIKRANKTWPKVSGYQYRVKWLDPDKFALPDSSLFDPTTQRLVHACTGLEVGKQ 1-----10-----20-----30-----40-----50-----60-----70-----80-----90-----100-----
	..E.....EEEEEEEEEEEEEEEE.E.....EEEEEEEEEEEE.....EEEEEEEE.....EEEEEEEE.. PLGVGSGHPFLNKYDDVENSQSGGNPQDNRVWGHGDKYQQLCIVGCAAPLGEHIGKQKCTNTPVQAGDCPPELITSVIQDGDIVDTGFGAMNFADLQTNKSDVPIYICGTTCYKPYDYLHAAADPYGI --110-----120-----130-----140-----150-----160-----170-----180-----190-----200-----210-----220-----230-----
EEEEEEEEEEEEEEEEEEEE.....E.....EEEEEEEE.....EEEEEEEEEEEE.E..... IDRLFFLRKEQHFARHFFNRAGEVGEPPDTLIIKSGNRTSVGSSIYVNTPSGLVSSAQFLFKPYHILQKAGHNGTCIGNQLFVWDTTRSTNITLCASVTTSSYTYNSDYKEYHHRHVEEYDLQF .240-----250-----260-----270-----280-----290-----300-----310-----320-----330-----340-----350-----360-----
EE.....EEEEEEEE.....EEEEEEEEEEEEEEEEEEEEEEEE..... IFQLCSITLSAEVMAYIHTHNPVLEDFNGLSPPNGTLEDYRYVQSAITCQKPTPEKEKPDYKNSFHEVNLKEKFSSELQVPLGRKFLQSGYGRSSIRTVKRPVSKASAAPKRAKTKR -370-----380-----390-----400-----410-----420-----430-----440-----450-----460-----470-----480-----490-----500-----

Рис. 3. Вероятные антигенные детерминанты белка ВПЧ6 L1 (BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor). Epitope Threshold = 0.5; E – антигенные детерминанты.

нить качество аминокислотных замен в предполагаемых эпитопах белков ВПЧ6 L1 и ВПЧ16 L1.

Парное выравнивание последовательностей белков показало существенное различие по аминокислотному составу в большинстве антигенных детерминант. Однако между некоторыми аминокислотными последовательностями, находящимися в границах сходных для обоих белков антигенных детерминант, было обнаружено определенное сходство. Так, в детерминанте 166–177 для ВПЧ16 L1 наблюдается различие по двум аминокислотам: лизин заменен на серин, глутамин – на пролин (рис. 4). Серин является полярной незаряженной оксикарбоновой аминокислотой, а лизин – полярной положительно заряженной. Пролин является гетероциклической неполярной аминокислотой, а глутамин – полярной незаряженной. Учитывая разницу в физико-химических свойствах аминокислот, по которым наблюдаются различия в предполагаемых антигенных детерминантах, а также различие в протяженности линейных эпитопов, можно предположить слабое перекрестное взаимодействие с антителами.

В детерминанте 213–220 для ВПЧ16 L1 установлено отличие в две аминокислоты относительно последовательности ВПЧ6 L1: треонин заменен на аланин, аспарагиновая кислота – на глутаминовую (рис. 5). Поскольку

HPV6 L1 162–177	GEHWGK GKQCTNTPVQ
HPV16 L1 166–177	GEHWGKGS PCTN----

Рис. 4. Результат аминокислотного выравнивания предполагаемой антигенной детерминанты 166–177.

HPV6 L1 208–216	DLQTNKSDV
HPV16 L1 213–220	-LQANKSEV

Рис. 5. Результат аминокислотного выравнивания предполагаемой антигенной детерминанты 213–220.

треонин существенно отличается по физико-химическим свойствам от аланина, такая замена может сказаться на антигенных свойствах белка L1. В случае со второй заменой мы имеем дело с полярными отрицательно заряженными аминокислотами с практически одинаковыми физико-химическими свойствами. Учитывая это, а также расположение аминокислотных замен в последовательностях на некотором удалении друг от друга, можно предположить сходные антигенные свойства этого региона у двух вирусных белков.

Поиск антигенных детерминант для Т-клеток

Чтобы получить дополнительные доказательства влияния сходства антигенных детерминант вирусных белков ВПЧ6 L1 и ВПЧ16 L1 на перекрестное взаимодействие антител с антигенами, принадлежащими к двум патогенным типам вируса папилломы человека, был осуществлен поиск потенциальных антигенных детерминант для Т-клеток с помощью биоинформационного ресурса SYFPEITHI. Данная программа ранжирует возможные варианты антигенных детерминант согласно вероятности их взаимодействия с Т-клетками.

Анализ белковых последовательностей двух исследуемых вирусных белков выявил общую вероятную антигенную детерминанту для Т-клеток, которая располагается у ВПЧ6 L1 в позиции 300–309, а у ВПЧ16 L1 – в позиции 304–313 аминокислотного сиквенса. Согласно рейтингу, составленному программой SYFPEITHI, аминокислотная последовательность AQL(I)FNKPYWL представляет собой вторую, по вероятности, антигенную детерминанту для Т-клеток (рис. 6).

При сравнении аминокислотной последовательности этой детерминанты у двух белков было выявлено различие всего в одну аминокислоту: в ВПЧ16 L1 лейцин заменен на изолейцин. Подобная замена не должна приводить к изменению антигенных свойств детерминанты, так как лейцин и изолейцин относятся к одному классу амино-

а											б												
Pos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	Score	Pos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	Score
86	S	L	F	D	P	T	T	Q	R	L	23	12	Y	L	P	P	V	P	V	S	K	V	22
300	A	Q	L	F	N	K	P	Y	W	L	22	304	A	Q	I	F	N	K	P	Y	W	L	22
101	G	L	E	V	G	R	G	Q	P	L	21	372	L	Q	F	I	F	Q	L	C	K	I	22
455	D	Q	Y	P	L	G	R	K	F	L	21	460	D	Q	F	P	L	G	R	K	F	L	21
65	Y	Q	Y	R	V	F	K	V	V	L	20	68	L	Q	Y	R	V	F	R	I	H	L	20
209	L	Q	T	N	K	S	D	V	P	I	20	213	L	Q	A	N	K	S	E	V	P	L	20

Рис. 6. Вероятные антигенные детерминанты для Т-клеток (HLA-B13 decamers) в белковых последовательностях ВПЧ6 L1 (а) и ВПЧ16 L1 (б), согласно программе SYFPEITHI.

кислот и обладают сходными физико-химическими свойствами. В целом надо отметить, что данная антигенная детерминанта у белков ВПЧ6 L1 и ВПЧ16 L1 должна обладать близкими антигенными свойствами. Кроме того, множественное выравнивание всех представленных в NCBI полноразмерных аминокислотных последовательностей ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1 показало, что этот отрезок сиквенса, вероятно, высококонсервативен и практически одинаков у обоих белков.

Исследование потенциальных трехмерных эпитопов для В-клеток

В базе данных PDB была найдена лишь одна трехмерная модель белка ВПЧ6 L1 (6L31, DOI 10.2210/pdb6l31/pdb). К сожалению, модель оказалась не информативна для программы DiscoTope 2.0 Server, поэтому мы провели сравнительный анализ трехмерных антигенных детерминант, используя литературные данные.

Согласно некоторым публикациям, у белка ВПЧ6 L1 выделяют следующие регионы, формирующие трехмерные эпитопы, которые могут взаимодействовать с В-клетками: F49, R53, A54; K52, R53, A54, N55; Y123, N128; G130, S131, G132; K169, T172, N173, P175, V176, Q177, A178; E262, V263, E265, P266; V344, T345, T346; S353. Критически важными для распознавания паратопами являются области F49, R53, A54 и K169, T172, N173, P175, V176, Q177, A178 (McClements et al., 2001).

В нашей предыдущей работе было показано, что белок ВПЧ16 L1 имеет пространственный эпитоп в регионе K53–L61, который по расположению частично совпадает с критически важной областью F49, R53, A54 белка ВПЧ6 L1. Кроме того, наблюдается совпадение расположения эпитопа S353 белка ВПЧ6 L1 с трехмерной антигенной детерминантой T350–Y355 белка ВПЧ16 L1 (Столбиков и др., 2020). Для определения уровня сходства иммунологических свойств этих двух белков мы проанализировали парное выравнивание аминокислотных последовательностей в районах их предполагаемых трехмерных антигенных детерминант. В предполагаемых эпитопах антигенных белков были обнаружены несоответствия в аминокислотных остатках. В положении 53 аминокислотного сиквенса у ВПЧ16 L1 наблюдается замена аргинина на лизин, а в положении 353 – серина на глутаминовую кислоту. Хотя эти аминокислотные замены можно считать несущественными в силу сходства физико-химических свойств соответствующих аминокислот, по сумме разли-

чий можно предположить, что белки ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1 не имеют возможности перекрестного взаимодействия с антителами при иммунном ответе посредством трехмерных антигенных детерминант.

Обсуждение

Полученные нами результаты позволяют говорить о наличии умеренного сходства антигенных детерминант белков ВПЧ16 L1 и ВПЧ6 L1. При этом потенциал перекрестного взаимодействия антител с антигенами за счет сходства линейных антигенных детерминант для В-клеток очень незначителен. Анализ трехмерных эпитопов и вовсе свидетельствует об отсутствии предпосылок для перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к двум разным патогенным типам ВПЧ. Однако у двух типов (16 и 6) вирусных белков L1 наблюдается существенное сходство линейных антигенных детерминант для Т-клеток. Согласно программе SYFPEITHI, эти детерминанты находятся на второй позиции, но, тем не менее, имеют достаточно высокий балл (Score) вероятности. Аминокислотные последовательности этих эпитопов практически идентичны. Отличие имеется только по одной позиции, но оно не является критичным в силу сходства физико-химических свойств аминокислот, по которым наблюдается замена в аминокислотной последовательности антигенных детерминант. Исходя из вышесказанного, при иммунизации ВПЧ16 L1 можно ожидать умеренно выраженного перекрестного взаимодействия антител с антигенами ВПЧ6 L1.

Наши результаты дают некоторое объяснение причины эффекта перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам ВПЧ, выявленного ранее. Однако для более полного понимания перекрестного взаимодействия следует изучить также явление полиморфного распределения эпитопов и процесс индукции синтеза антител *de novo* (Brown et al., 2009; Kemp et al., 2011; Scherpenisse et al., 2013; Nakagawa et al., 2015).

Заключение

Эффективность и целесообразность используемых нами подходов и методов подтверждаются работами иностранных ученых. Так, коллективу авторов (Namvar et al., 2019) удалось, используя сходные с нами биоинформатические ресурсы (BepiPred-2, SYFPEITHI), провести исследование перекрестного иммунного ответа на поверхностные

белки L1 и L2 папилломавирусов человека высокоонкогенных типов 16 и 18. При этом большое внимание уделялось сравнению аминокислотных свойств, таких как гидрофобность, площадь поверхности, доступной для растворителя, заряд и вторичная структура, у выявленных сходных антигенных детерминант двух различных типов ВПЧ. В итоге была создана кандидатная мультиэпитопная вакцина, испытания которой на лабораторных мышках показали высокие результаты. Применение данной рекомбинантной вакцины способствовало индуцированию достаточно сильного иммунного ответа и защищало мышей от опухолевых клеток с эффективностью 66.67 % (Namvar et al., 2019).

В заключение следует сделать вывод о том, что использование подобных методов исследования может значительно ускорить создание эффективных вакцин широкого спектра действия против высокоопасных типов ВПЧ. На сегодняшний день существует вакцина «Гардасил-9», дающая защиту от девяти типов онкогенных ВПЧ. Однако она уже содержит максимально допустимое количество антигенных белков (270 мкг белка в одной дозе) и при этом не обеспечивает защиту примерно в 10 % случаев (Li et al., 2018). Поэтому исследование перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам ВПЧ, с привлечение биоинформационных методов анализа может дать возможность для создания мультиэпитопных вакцин самого широкого действия без увеличения количества антигенных белков в вакцинном препарате.

Список литературы / References

Рекоslавская Н.И., Салыев Р.К., Столбиков А.С. Синтез белка оболочки папилломавируса L1 аногенитального типа ВПЧ6 в растительной экспрессионной системе на основе плодов томата. *Докл. РАН. Науки о жизни*. 2021;498(1):268-274. DOI 10.31857/S2686738921030124.
[Rekoslavskaya N.I., Salyaev R.K., Stolbikov A.S. The synthesis of main capsid protein of anogenital type HPV6 L1 in plant expression system on the basis of tomato fruits. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2021;498(1):193-198. DOI 10.1134/S160767292103008X].
Столбиков А.С., Салыев Р.К., Рекоslавская Н.И. Биоинформатический анализ возможной причины перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам вируса папилломы человека. *Инфекция и иммунитет*. 2020;10(4):695-706. DOI 10.15789/2220-7619-TBA-1263.
[Stolbikov A.S., Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I. Bioinformatics analysis of putative causes for cross-reactive antibodies interacting with antigens derived from various pathogenic human papillomaviruses. *Infektsiya i Immunitet = Infection and Immunity*. 2020;10(4):695-706. DOI 10.15789/2220-7619-TBA-1263. (in Russian)]
Brown D.R., Kjaer S.K., Sigurdsson K., Iversen O.E., Hernandez-Avila M., Wheeler C.M., Perez G., Koutsky L.A., Tay E.H., Garcia P., Ault K.A., Garland S.M., Leodolter S., Olsson S.E., Tang G.W., Fer-

ris D.G., Paavonen J., Steben M., Bosch F.X., Dillner J., Joura E.A., Kurman R.J., Majewski S., Muñoz N., Myers E.R., Villa L.L., Taddeo F.J., Roberts C., Tadesse A., Bryan J., Lupinacci L.C., Giacoletti K.E., Sings H.L., James M., Hesley T.M., Barr E. The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV; types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in generally HPV-naive women aged 16–26 years. *J. Infect. Dis.* 2009;199(7):926-935. DOI 10.1086/597307.
Jespersen M.C., Peters B., Nielsen M., Marcatili P. BepiPred-2.0: improving sequence-based B-cell epitope prediction using conformational epitopes. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(W1):W24-W29. DOI 10.1093/nar/gkx346.
Kemp T.J., Hildesheim A., Safaean 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):2011-2014. DOI 10.1016/j.vaccine.2011.01.001.
Kringelum J.V., Lundegaard C., Lund O., Nielsen M. Reliable B cell epitope predictions: impacts of method development and improved benchmarking. *PLoS Comput. Biol.* 2012;8(12):e1002829. DOI 10.1371/journal.pcbi.1002829.
Li Z., Song S., He M., Wang D., Shi J., Liu X., Li Y., Chi X., Wei S., Yang Y., Wang Z., Li J., Qian H., Yu H., Zheng Q., Yan X., Zhao Q., Zhang J., Gu Y., Li S., Xia N. Rational design of a triple-type human papillomavirus vaccine by compromising viral-type specificity. *Nat. Commun.* 2018;9(1):5360. DOI 10.1038/s41467-018-07199-6.
McClements W.L., Wang X.M., Ling J.C., Skulsky D.M., Christensen N.D., Jansen K.U., Ludmerer S.W. A novel human papillomavirus type 6 neutralizing domain comprising two discrete regions of the major capsid protein L1. *Virology*. 2001;289(2):262-268. DOI 10.1006/viro.2001.1146.
McLaughlin-Drubin M.E., Münger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses. *Virus Res.* 2009;143(2):195-208. DOI 10.1016/j.virusres.2009.06.008.
Nakagawa M., Greenfield W., Moerman-Herzog A., Coleman H.M. Cross-reactivity, epitope spreading, and *de novo* immune stimulation are possible mechanisms of cross-protection of nonvaccine human papillomavirus (HPV) types in recipients of HPV therapeutic vaccines. *Clin. Vaccine Immunol.* 2015;22(7):679-687. DOI 10.1128/CVI.00149-15.
Namvar A., Bolhassani A., Javadi G., Noormohammadi Z. *In silico/in vivo* analysis of high-risk papillomavirus L1 and L2 conserved sequences for development of cross-subtype prophylactic vaccine. *Sci. Rep.* 2019;9(1):15225. DOI 10.1038/s41598-019-51679-8.
Rammensee H.G., Bachmann J., Emmerich N.P.N., Bacho O.A., Stevanovic S. SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs. *Immunogenetics*. 1999;50:213-219. DOI 10.1007/s002510050595.
Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I., Stolbikov A.S. Cross-reactivity of antigens and antibodies belonging to different pathogenic types of human papillomaviruses. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2017;477(1):372-376. DOI 10.1134/S1607672917060084.
Scherpenisse M., Schepp R.M., Mollers M., Meijer C.J.L.M., Berbers G.A.M. Characteristics of HPV-specific antibody responses induced by infection and vaccination: cross-reactivity, neutralizing activity, avidity and IgG subclasses. *PLoS One*. 2013;8(9):e74797. DOI 10.1371/journal.pone.0074797.

ORCID ID

A.S. Stolbikov orcid.org/0000-0002-6392-9365
R.K. Salyaev orcid.org/0000-0002-7602-7301
N.I. Rekoslavskaya orcid.org/0000-0003-3480-9855

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области в рамках научного проекта № 20-44-380001.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 27.07.2021. После доработки 23.08.2021. Принята к публикации 24.08.2021.