

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗМОЖНОЙ ПРИЧИНЫ ПЕРЕКРЕСТНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АНТИТЕЛ С АНТИГЕНАМИ, ПРИНАДЛЕЖАЩИМИ К РАЗНЫМ ПАТОГЕННЫМ ТИПАМ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

А.С. Столбиков^{1,2}, Р.К. Салаяев¹, Н.И. Рекославская^{1,3}

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Россия

² Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия

³ Иркутский научный центр СО РАН, г. Иркутск, Россия

Резюме. Вирус папилломы человека (ВПЧ) относится к группе чрезвычайно распространенных вирусных инфекций, передающихся преимущественно половым путем. Вирус папилломы человека вызывает рак шейки матки, который является четвертой по распространенности формой рака у женщин. В 2012 г. было зафиксировано 266 тыс. смертей и 528 тыс. новых случаев. На сегодняшний день в мире созданы 3 профилактические вакцины против ВПЧ — двухвалентная «Церварикс», четырехвалентная «Гардасил» и девятивалентная «Гардасил-9». В процессе научного исследования этих вакцин выяснилось, что они способны индуцировать выработку антител к типам ВПЧ, антигенные белки которых не содержатся в составе вакцинного препарата. Причины такого перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам ВПЧ, не определены. Данная работа посвящена попытке с помощью биоинформационных методов найти вероятное объяснение перекрестного взаимодействия антител к одним типам вирусов с антигенами других. Это даст возможность в будущем оптимизировать процесс создания кандидатных вакцин и получать более эффективные поливалентные иммунобиологические препараты против ВПЧ. В исследовании нами использованы аминокислотные последовательности белка L1 оболочки вирусов ВПЧ 4 наиболее онкогенных типов (16, 18, 31, 45). Последовательности были извлечены из международной базы данных NCBI (National Center for Biotechnology Information) и выровнены в программе «Clustal Omega» и в редакторе «BioEdit». Поиск и анализ потенциальных антигенных детерминант мы проводили с помощью программ «BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor», «DiscoTope 2.0 Server», «SYFPEITHI». Результаты биоинформационного исследования выявили значительный потенциал перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к патогенным типам ВПЧ (16, 18, 31, 45) за счет сходства антигенных детерминант. Были обнаружены общие линейные детерминанты для Т-клеток и В-клеток у всех 4 типов вирусных белков L1. Также обнаружены сходные трехмерные антигенные детерминанты для В-клеток у ВПЧ16 L1 и ВПЧ18 L1. Антигенные

Адрес для переписки:

Столбиков Алексей Сергеевич
664033, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН.
Тел.: 8 (3952) 42-46-59. Факс: 8 (3952) 51-07-54.
E-mail: valkir5@yandex.ru

Contacts:

Aleksey S. Stolbikov
664033, Russian Federaton, Irkutsk, Lermontov str., 132,
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS.
Phone: +7 (3952) 42-46-59. Fax: +7 (3952) 51-07-54.
E-mail: valkir5@yandex.ru

Библиографическое описание:

Столбиков А.С., Салаяев Р.К., Рекославская Н.И. Биоинформатический анализ возможной причины перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам вируса папилломы человека // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 4. С. 695–706. doi: 10.15789/2220-7619-TBA-1263

Citation:

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 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 4, pp. 695–706. doi: 10.15789/2220-7619-TBA-1263

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

детерминанты ВПЧ16 L1 и ВПЧ31 L1 более близки друг другу. Сходство наблюдается между ВПЧ18 L1 и ВПЧ45 L1. Поэтому при иммунизации ВПЧ16 L1 стоит ожидать более выраженного перекрестного взаимодействия антител с антигенами ВПЧ31 L1 и умеренного с ВПЧ18 L1 и ВПЧ45 L1. Напротив, при иммунизации ВПЧ18 L1 возможно активное перекрестное взаимодействие антител с антигенами ВПЧ45 L1 и менее выраженное с ВПЧ16 L1 и ВПЧ31 L1.

Ключевые слова: антигенные детерминанты, В-клетки, ВПЧ16 L1, ВПЧ18 L1, ВПЧ31 L1, ВПЧ45 L1.

BIOINFORMATICS ANALYSIS OF PUTATIVE CAUSES FOR CROSS-REACTIVE ANTIBODIES INTERACTING WITH ANTIGENS DERIVED FROM VARIOUS PATHOGENIC HUMAN PAPILLOMAVIRUSES

Stolbikov A.S.^{a,b}, Salyaev R.K.^a, Rekoslavskaya N.I.^{a,c}

^a Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

^b Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

^c Irkutsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Human papillomaviruses (HPVs) belong to highly abundant resulting in sexually transmitted virus infections, and cause cervical cancer holding place 4 among most common cancer types in women. In 2012, there were registered 266,000 death cases and 528,000 new cases. At present, three HPV prophylactic vaccines were generated worldwide: bivalent Cervarix, quadrivalent Gardasil and nonavalent Gardasil-9. Examining such vaccines uncovered that they are able to induce anti-HPV antibody production against viral antigens lacked in vaccine formula. The mechanism of such cross-neutralizing antibodies recognizing antigens derived from various HPV pathogenic types remains unknown. In our study we attempted to uncover putative basis underlying cross-reactive interaction between vaccine-induced antibodies and non-vaccine antigens by bioinformatical approaches, that might allow optimize generation of future candidate vaccines and obtain more effective polyvalent immunobiological preparations against HPV. We used amino acid sequences of L1 coat protein of four top high-risk oncogenic HPV types (16, 18, 31 and 45) in the study. Work sequences were retrieved from the International Data Base of NCBI (National Center for Biotechnology Information) and aligned by using Clustal Omega' and BioEdit software. A search and analysis of distinct antigenic determinant (epitopes) were performed by using software suite BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor, DiscoTope 2.0 Server, and SYFPEITHI. Bioinformatics data revealed pronounced potential of cross-neutralizing vaccine-induced antibodies and non-vaccines antigens derived from high-risk pathogenic types HPV 16, 18, 31 and 45 owing to the similarity in antigenic determinants (epitopes). Common linear determinants for T- and B-cells were found in all four types of L1 protein counterparts. In addition, similar three-dimensional B-cell determinants were discovered in HPV16 L1 and HPV18 L1. Antigenic determinants derived from HPV16 L1 and HPV31 L1 exhibited most close similarity. Hence, while immunizing with HPV16 L1, a more pronounced and moderate cross-reactive antibodies interacting with HPV31 L1 as well as HPV18 L1 and HPV45 L1 antigens, respectively, should be expected. Inversely, immunization with HPV18 L1 might elicit active and less efficient cross-neutralizing response with HPV45 L1 as well as HPV16 L1 and HPV31 L1, respectively.

Key words: antigenic determinants, B-cell, HPV16 L1, HPV18 L1, HPV31 L1, HPV45 L1.

Введение

Вирус папилломы человека (ВПЧ) относится к группе чрезвычайно распространенных вирусных инфекций, передающихся преимущественно половым путем. По последним данным, во многих индустриально развитых странах распространенность ВПЧ-инфекции у молодых женщин составляет 40–80%, а вероятность персистенции ВПЧ-инфекции — 80–90% [1, 5]. При этом, по прогнозам специалистов, к возрасту 50 лет почти у 80% женщин будет выявлен тот или иной тип ВПЧ [12, 14]. На сегодняшний день в медицине известно более 200 видов ВПЧ. Из них более 40 видов могут вызвать поражение аногенитального тракта (половые органы и перианальная область) и по-

явление остроконечных кондилом у мужчин и женщин. Вирус папилломы человека вызывает рак шейки матки, который является четвертой по распространенности формой рака у женщин. В 2012 г. было зафиксировано 266 тыс. смертей и 528 тыс. новых случаев. Большая часть (около 85%) ВПЧ-инфекции сосредоточена в менее развитых регионах, где на их долю приходится почти 12% всех раковых заболеваний у женщин (ВОЗ, 2012).

Хотя в большинстве случаев инфицирование ВПЧ не возникает никаких симптомов, хроническая генитальная ВПЧ-инфекция может вызвать рак шейки матки. ВПЧ может также вызвать другие виды рака аногенитальной области, головы и шеи, а также остроконечные кондиломы у мужчин и женщин.

На сегодняшний день в мире созданы и успешно применяются 3 профилактические вакцины против ВПЧ — двухвалентная («Церварикс», типы вирусов 16 и 18), четырехвалентная («Гардасил», типы вирусов 16, 18, 6 и 11) и девятивалентная («Гардасил-9», типы вирусов 16, 18, 31, 33, 45, 52, 6 и 11). В большинстве стран, где эти вакцины одобрены для применения, первичной целевой группой для иммунизации против ВПЧ являются девочки-подростки в возрасте от 9 до 14 лет. Данные клинических испытаний и первичного послерегистрационного эпиднадзора, проведенных на нескольких континентах, свидетельствуют о безопасности этих вакцин. Считается, что эти профилактические вакцины обеспечивают защиту на 70% («Гардасил») и на 90% («Гардасил-9») от ВПЧ высокого риска онкогенности, а также от аногенитальных папилломатозов.

В процессе исследования этих вакцин выяснилось, что они способны индуцировать синтез антител к типам ВПЧ, антигенные белки которых не содержатся в составе вакцинного препарата [4, 6, 10, 20, 22]. В нашей работе, посвященной разработке четырехвалентной пероральной вакцины против цервикального рака на базе трансгенных растений, мы также обнаружили, что антитела к антигенному белку ВПЧ16 L1 могут взаимодействовать с антигенами других вирусов ВПЧ, вызывающих цервикальный рак. Оказалось, что антитела к ВПЧ16 L1 успешно реагируют с антигенами ВПЧ18 L1, ВПЧ31 L1 и ВПЧ45 L1 [17]. Некоторые авторы отдельно отмечают, что на перекрестное взаимодействие антител с антигенами оказывают влияние следующие факторы: доза вводимых антигенов ВПЧ при вакцинировании; продолжительность времени, прошедшего после вакцинирования; пол и ВИЧ-статус [20, 22].

Существуют несколько предположений, которые могут объяснить возможности подобного взаимодействия антигенных белков с неродственными антителами. Прежде всего, это возможно в случае сходства антигенных детерминант у разных типов ВПЧ. Такое сходство может наблюдаться как в линейных, так и конформационных (трехмерных) эпитопах или в одном из них. Второе предположение касается полиморфного распределения эпитопов (epitope spreading). Суть его заключается в том, что в результате внутри- и межмолекулярных перестроек формируются новые вторичные эпитопы, отличающиеся от исходных первичных эпитопов, возникающих под влиянием патогена. Эти вторичные эпитопы формируют новые пептиды, распознаваемые антигенпрезентирующими Т-клетками, которые стимулируют образование новой иммунологической памяти. При этом происходит модификация

популяции Т-клеток и создаются самораспознаваемые Т-клеточные мишени для деградации тканей [6, 11, 15, 20]. Третьей причиной перекрестного взаимодействия может выступать процесс индукции синтеза антител *de novo*, который происходит при участии пептидов главного комплекса гистосовместимости [11].

Анализ литературных данных показал, что зарубежные исследователи активно интересуются этим направлением работ. Ведутся исследования по увеличению спектра действия профилактических вакцин против ВПЧ. Однако, по мнению ряда ученых, классический подход, заключающийся во включении в вакцинный препарат большего количества антигенных белков, относящихся к различным типам ВПЧ, практически исчерпал себя. Так, девятивалентная вакцина «Гардасил-9» уже содержит максимально допустимое количество антигенных белков (270 мкг белка в одной дозе), при этом она не обеспечивает защиту примерно в 10% случаев. К тому же увеличение разнообразия антигенных белков в вакцинном материале связано с повышением сложности производства и увеличением затрат при изготовлении подобных вакцин. Поэтому зарубежные исследователи, используя различные методы биоинформатического анализа, активно изучают перекрестное взаимодействие антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам ВПЧ. На основе полученных данных они предпринимают попытки по созданию вакцин на основе химерных антигенных белков, содержащих общие для нескольких типов ВПЧ антигенные детерминанты [11].

Нас заинтересовали факты перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам ВПЧ, и мы решили провести работу по определению причины данного явления с использованием биоинформационных методов и ресурсов. По нашему мнению, более вероятное объяснение перекрестного взаимодействия между антителами к одним типам вирусов и антигенами других лежит в области того или иного сходства антигенных детерминант. Поэтому задачей исследования стало проведение анализа имеющихся литературных данных, а также массивов биологической информации по аминокислотным последовательностям основного антигенного белка L1 различных типов ВПЧ, хранящихся в общедоступных научных базах.

Получение данных о сходстве антигенных детерминант различных типов ВПЧ может способствовать оптимизации процесса создания новых перспективных вакцинных препаратов против максимального количества высокоонкогенных типов папилломавирусов.

Материалы и методы

Выравнивание антигенных детерминант разных типов ВПЧ. Для сравнения антигенных детерминант разных типов ВПЧ мы использовали полноразмерные аминокислотные последовательности, полученные в формате FASTA из базы данных NCBI (GenBank). Образцы ВПЧ (16, 18, 31, 45) из банка данных были выбраны не случайно: именно их нуклеотидные последовательности, кодирующие белок L1, использовались нами в генетических конструкциях для получения пероральной вакцины против цервикального рака, создаваемой с помощью растительной экспрессирующей системы на основе трансгенных плодов томата [17, 18, 19]. Испытание данной вакцины на мышах выявило перекрестное взаимодействие антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам ВПЧ [17]. Из базы NCBI также извлекались все имеющиеся там варианты полноразмерных белковых сиквенсов L1 по каждому из 4 типов ВПЧ. Это было необходимо для проведения множественного выравнивания всех известных изолятов ВПЧ каждого типа и последующего определения различия антигенных детерминант в пределах одного типа.

Выравнивание аминокислотных последовательностей проводили с помощью программы «Clustal Omega», находящейся на сервере Европейской молекулярно-биологической лаборатории — EMBL-EBI (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/index.html>), а также редактора множественного выравнивания нуклеотидных и аминокислотных последовательностей «BioEdit». Филогенетические деревья строили с помощью программы «Simple Phylogeny» (EMBL-EBI) методом «ближайшего соседа» (neighbour-joining).

Анализ потенциальных антигенных детерминант. Потенциальные линейные антигенные детерминанты для В-клеток искали с помощью программы «BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor», находящейся на сервере <http://www.cbs.dtu.dk/services> (Датский технический университет DTU Bioinformatics). Потенциальные трехмерные антигенные детерминанты для В-клеток искали с помощью программы «DiscoTope 2.0 Server» (<http://www.cbs.dtu.dk/services/DiscoTope>, Датский технический университет DTU Bioinformatics). Анализ проводили с максимально строгими для программы условиями: чувствительность 47%, специфичность 75%. Трехмерную модель белка HPV L1, которую мы использовали для выявления антигенных детерминант, извлекали из международной базы данных трехмерных структур белков Protein Data Bank (PDB). Для определения потенциальных антигенных детерминант для Т-клеток мы использовали программу «SYFPEITHI», располагающуюся на сервере <http://www.syfpeithi.de/bin/MHCServer.dll/EpitopePrediction.htm> (BMI (Biomedical Informatics)-Heidelberg).

Результаты

Выравнивание антигенных детерминант

Аминокислотные последовательности белка L1 оболочки вирусов ВПЧ 4 типов — 16 (NCBI AAQ10719.1), 18 (NCBI AAP20601.1), 31 (NCBI AEI61029.1), 45 (NCBI CAB44705.1 L1), были извлечены из международной базы данных NCBI и выравнены в программе «Clustal Omega» и в редакторе «BioEdit» (рис. 1). Так как антигенные детерминанты белка L1 в научной литературе предсказываются чаще всего для ВПЧ16



Рисунок 1. Выравнивание аминокислотных последовательностей L1 белка 4 типов ВПЧ

Figure 1. The alignment of amino acid sequences L1 protein of 4 types HPV

А) Редактор «BioEdit». Б) Программа «Clustal Omega».

A) Editor “BioEdit”. B) Program “Clustal Omega”.

Phylogram

Branch length: Cladogram Real

Phylogenetic Tree

Рисунок 2. Филогенетическое древо, построенное с помощью программы «Simple Phylogeny» (EMBL-EBI) методом ближайшего соседа (neighbour-joining)

Figure 2. The phylogenetic tree was constructed using the program “Simple Phylogeny” (EMBL-EBI) by the nearest neighbor (neighbor-joining) method

(в нашей работе перекрестное взаимодействие антигенов наблюдалось именно с антителами на HPV16 L1), то выравнивание и обрезку аминокислотной последовательности мы проводили относительно ВПЧ16 [8, 9, 13, 21].

По результатам выравнивания было построено филогенетическое древо (рис. 2), которое показывает высокое сродство последовательностей разных типов вируса, в особенности между 16 и 31 типами. Несколько отличаются от них 45 и 16 тип, которые эволюционно более близки между собой. Мы предположили, что так как 4 типа вирусов филогенетически близки, то их антигенные детерминанты располагаются примерно в одних и тех же участках линейной аминокислотной последовательности, и их молекулы формируют схожие трехмерные структуры.

Анализ потенциальных трехмерных антигенных детерминант для В-клеток

Поиск потенциальных трехмерных антигенных детерминант для В-клеток мы начали с изучения базы данных PDB на предмет подходящих трехмерных моделей белка HPV16 L1 «DiscoTope 2.0 Server». Из 11 доступных трехмерных моделей выбрали одну (1DZL, DOI: 10.2210/pdb1DZL/pdb; <https://www.rcsb.org/structure/1dzl>), которая наиболее удовлетворяла нашим условиям и параметрам программы «DiscoTope 2.0 Server» [7]. Программа указала на существование группы потенциальных антигенных детерминант, способных взаимодействовать с В-клетками иммунной системы. Одна из аминокислотных последовательностей, указанная программой (405–443), практически полностью совпала с описанной в литературе наиболее вероятной антигенной детерминантой в третичной структуре HPV16 L1 (402–446) [13]. Так как в научном источнике указывалось, что на данном участке белковой молекулы, в позициях 420–429, должны быть аминокислоты, обладающие наиболее

A	54	LYS	4	1.415	0.792	<=B
A	55	PRO	0	2.587	2.290	<=B
A	56	ASN	0	4.447	3.936	<=B
A	57	ASN	8	4.017	2.635	<=B
A	58	ASN	0	4.187	3.706	<=B
A	59	LYS	1	3.644	3.110	<=B
A	60	ILE	10	-0.911	-1.956	<=B
A	61	LEU	7	-1.942	-2.524	<=B
A	272	PRO	2	-2.472	-2.418	<=B
A	273	ASP	4	-2.828	-2.962	<=B
A	274	ASP	1	-0.880	-0.894	<=B
A	275	LEU	6	-3.114	-3.446	<=B
A	276	TYR	13	-3.732	-4.798	<=B
A	277	ILE	4	-3.251	-3.337	<=B
A	278	LYS	3	-3.462	-3.409	<=B
A	301	THR	7	-0.567	-1.307	<=B
A	302	SER	1	-1.418	-1.370	<=B
A	303	ASP	1	-2.092	-1.966	<=B
A	350	THR	0	-4.082	-3.613	<=B
A	351	SER	5	-2.752	-3.011	<=B
A	352	GLU	10	-2.227	-3.121	<=B
A	353	THR	0	-2.126	-1.881	<=B
A	354	THR	2	-1.995	-1.995	<=B
A	355	TYR	3	-2.902	-2.914	<=B
A	405	GLY	17	-1.880	-3.619	<=B
A	406	LEU	15	-1.372	-2.940	<=B
A	407	GLN	10	-0.821	-1.877	<=B
A	408	PRO	6	-0.792	-1.391	<=B
A	409	PRO	13	-0.712	-2.125	<=B
A	410	PRO	2	0.100	-0.142	<=B
A	411	GLY	0	0.360	0.318	<=B
A	412	GLY	12	-0.140	-1.504	<=B
A	413	THR	3	-0.415	-0.712	<=B
A	414	LEU	0	-1.799	-1.592	<=B
A	415	GLU	1	-1.927	-1.820	<=B
A	416	ASP	8	-1.657	-2.387	<=B
A	417	THR	5	-1.156	-1.598	<=B
A	418	TYR	4	-2.326	-2.519	<=B
A	419	ARG	8	-1.907	-2.608	<=B
A	420	PHE	15	-1.768	-3.290	<=B
A	421	VAL	8	-1.850	-2.558	<=B
A	422	THR	6	-2.316	-2.739	<=B
A	423	SER	13	-2.481	-3.691	<=B
A	424	GLN	13	-1.136	-2.500	<=B
A	425	ALA	7	-2.403	-2.932	<=B
A	426	ILE	5	-2.345	-2.651	<=B
A	427	ALA	13	-0.637	-2.059	<=B
A	428	CYS	7	-1.160	-1.831	<=B
A	429	GLN	9	-1.661	-2.505	<=B
A	430	LYS	0	-0.446	-0.395	<=B
A	431	HIS	9	0.340	-0.735	<=B
A	432	THR	1	1.411	1.134	<=B
A	433	PRO	4	1.847	1.175	<=B
A	434	PRO	10	3.387	1.847	<=B
A	435	ALA	2	4.991	4.187	<=B
A	436	PRO	2	2.876	2.315	<=B
A	437	LYS	11	2.328	0.795	<=B
A	438	GLU	4	2.366	1.634	<=B
A	439	ASP	13	-0.087	-1.572	<=B
A	440	PRO	12	0.756	-0.711	<=B
A	441	LEU	25	-4.094	-6.498	<=B
A	442	LYS	5	0.642	-0.007	<=B
A	443	LYS	7	0.098	-0.718	<=B

Рисунок 3. Результат обработки трехмерной структуры белка HPV16 L1 в программе «DiscoTope 2.0 Server»

Figure 3. The result of processing three-dimensional structure of the HPV16 L1 protein in the program “DiscoTope 2.0 Server”

Примечание. <=B — вероятные антигенные детерминанты.
Note. <=B — probable antigenic determinants.

выраженными антигенными свойствами, то мы решили сравнить последовательности 4 типов ВПЧ именно в этом месте белкового сиквенса. Кроме того, программа «DiscoTope 2.0 Server» указала на следующие последовательности, которые могут выступать в качестве антигенных детерминант: 53–61, 272–278, 301–303, 350–358 (рис. 3).

A	53	PRO	3	-1.009	-1.238	<=B
A	54	ALA	0	0.341	0.301	<=B
A	55	GLY	7	-0.176	-0.961	<=B
A	56	GLY	18	-1.493	-3.391	<=B
A	57	GLY	20	-1.834	-3.923	
A	58	ASN	22	-2.456	-4.703	<=B
A	59	LYS	8	0.177	-0.763	<=B
A	60	GLN	5	-0.648	-1.149	<=B
A	61	ASP	1	-3.233	-2.976	<=B
A	174	ALA	11	-2.506	-3.483	<=B
A	175	SER	11	-0.441	-1.655	<=B
A	176	LYS	0	0.116	0.103	<=B
A	177	SER	3	0.652	0.232	<=B
A	178	ARG	12	1.385	-0.154	<=B
A	179	PRO	4	0.383	-0.121	<=B
A	180	LEU	20	-0.934	-3.127	<=B
A	181	SER	11	-0.831	-2.000	<=B
A	438	ASN	12	2.886	1.174	<=B
A	439	LYS	2	0.951	0.611	<=B
A	440	ASP	16	-1.898	-3.520	<=B
A	441	PRO	14	-2.073	-3.445	<=B
A	442	TYR	25	-7.516	-9.527	<=B
A	443	ASP	3	-1.494	-1.667	<=B
A	444	LYS	3	-2.488	-2.547	<=B

Рисунок 4. Результат обработки трехмерной структуры белка HPV18 L1 в программе «DiscoTope 2.0 Server»

Figure 4. The result of processing three-dimensional structure of the HPV 18 L1 protein in the program “DiscoTope 2.0 Server”

Примечание. <=B — вероятные антигенные детерминанты. Note. <=B — probable antigenic determinants.

Мы извлекли из базы PDB трехмерные модели белка HPV18 L1, проанализировали ее в программе «DiscoTope 2.0 Server» и сравнили с результатами HPV16 L1 (2R5I, DOI: 10.2210/pdb2R5I/pdb; <http://www.rcsb.org/structure/2R5I>) [3]. Оказалось,

что программа предсказывает расположение антигенных детерминант у исследуемых нами HPV18 L1 белков примерно одинаково. У белка HPV18 L1 были выявлены антигенные детерминанты в следующих положениях: 53–61, 174–181, 438–444 (рис. 4). И хотя в некоторых позициях расположение антигенных детерминант не совпадает [HPV16 L1 (272–278, 301–303, 350–358) против HPV18 L1 (174–181)], все же можно полагать, что наличие общих эпитопов в положениях 53–61, 438–444 (405–443) дает право предположить возможность перекрестного взаимодействия антител с антигенами.

Трехмерных структур белков HPV31 L1 и HPV45 L1 в базе данных PDB мы, к сожалению, не обнаружили. Учитывая результаты выравнивания аминокислотных последовательностей, филогенетическое древо, а также литературные данные, можно предположить, что белки HPV31 L1 и HPV45 L1 имеют похожую пространственную структуру и, следовательно, сходное с HPV18 L1 и HPV16 L1 расположение антигенных детерминант [8, 9].

Исследование потенциальных линейных антигенных детерминант для В-клеток

Для дальнейшего подтверждения своих предположений о сходных антигенных детерминантах у вирусных белков HPV16 L1, HPV18 L1, HPV31 L1, HPV45 L1 мы решили исследовать их аминокислотные последовательности с помощью программы «BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor». Данная программа предсказывает потенциальные линейные антигенные



Рисунок 5. Результат обработки линейной последовательности белка HPV16 L1 в программе «BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor»

Figure 5. The result of processing linear sequence of the HPV16 L1 protein in the program “BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor”

Примечание. E — вероятные антигенные детерминанты. Note. E — probable antigenic determinants.

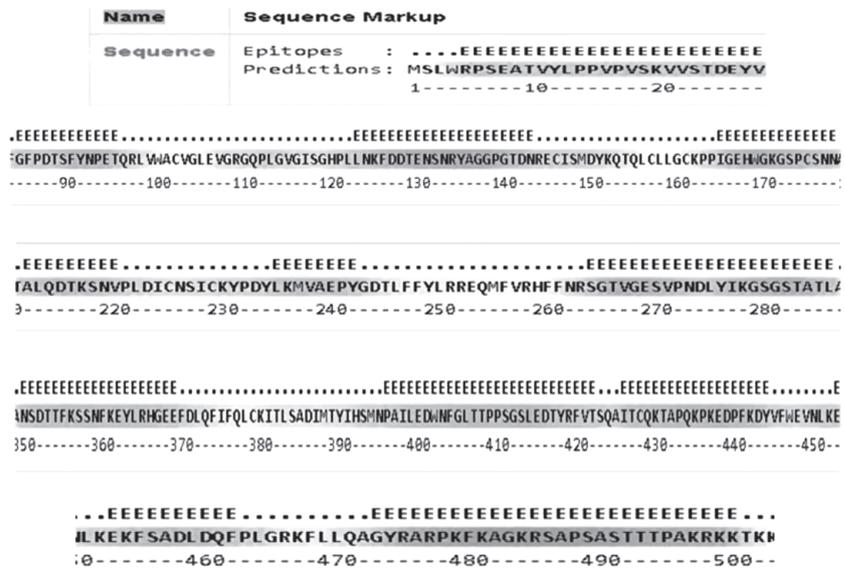


Рисунок 6. Результат обработки линейной последовательности белка HPV31 L1 в программе «BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor»

Figure 6. The result of processing linear sequence of the HPV 31 L1 protein in the program “BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor”

Примечание. E — вероятные антигенные детерминанты.
Note. E — probable antigenic determinants.

детерминанты для В-клеток. Исследование проводили при показателе Epitope Threshold = 0,5 (чувствительность и специфичность имеют одинаковые значения).

Анализ линейных последовательностей HPV16 L1 выявил следующие аминокислотные 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 (рис. 5). Исследование HPV31 L1 показало на-

личие следующих детерминант: 5–28, 85–96, 124–144, 166–179, 213–221, 236–243, 265–287, 351–370, 397–423, 427–445, 454–463, 474–501 (рис. 6). Обработка последовательности HPV18 L1 показала такие антигенные детерминанты: 5–27, 82–95, 123–144, 166–183, 212–219, 235–242, 264–286, 351–370, 397–445, 453–463, 474–503 (рис. 7). Исследование последовательности белка HPV45 L1 показало возможные антигенные детерминанты 5–28, 84–96, 124–144, 167–182,

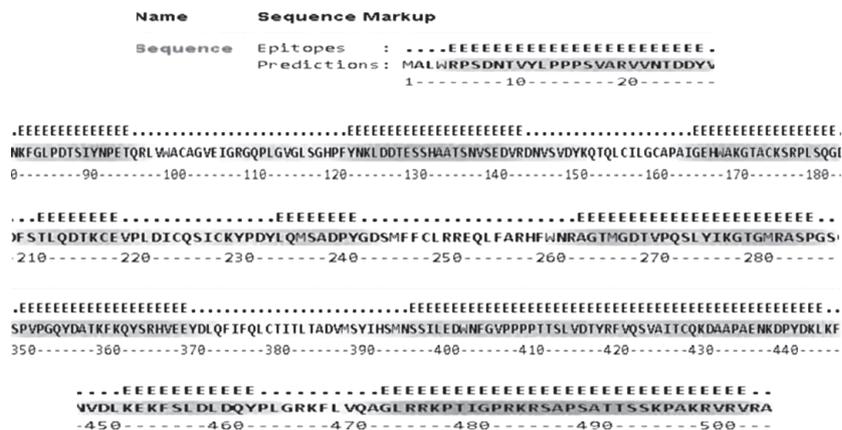


Рисунок 7. Результат обработки линейной последовательности белка HPV18 L1 в программе «BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor»

Figure 7. The result of processing linear sequence of the HPV 18 L1 protein in the program “BepiPred-2.0: Sequential B-Cell Epitope Predictor”

Примечание. E — вероятные антигенные детерминанты.
Note. E — probable antigenic determinants.

кислоты, способной образовывать водородную связь, на аминокислоту, не способную ее образовывать. Это может приводить к уменьшению степени сродства с антигенами. Отсутствие замен в аминокислотных последовательностях или замены близкими по свойствам аминокислотами может сохранять уровень аффинности антител. Поэтому важно определить наличие и качество аминокислотных замен в предполагаемых антигенных детерминантах белка L1 у разных типов ВПЧ. Для анализа аминокислотных замен в предполагаемых линейных антигенных детерминантах мы провели множественное выравнивание последовательностей белков L1 ВПЧ (16, 18, 31, 45) (рис. 1). Из исследования мы исключили антигенные детерминанты, которые не присутствуют у всех 4 белков, и эпитопы, в которых наблюдаются множественные аминокислотные замены, так как с большой долей вероятности эти участки будут обладать разными антигенными свойствами. В итоге нами были выбраны следующие антигенные детерминанты: 82–96, 234–243, 452–466.

В детерминанте 82–96 у 4 типов ВПЧ имеется ряд различий в аминокислотной последовательности (рис. 9). В частности, фенилаланин в HPV18 L1 и HPV45 L1 заменен на лейцин. Эти 2 аминокислоты являются неполярными и обладают достаточно близкими физико-химическими свойствами: гидрофобностью (H), полярностью (P), средним значением площади доступной растворителю в структурах белков (SA), изоэлектрической точкой (pI), Вандерваальсовыми радиусами (Vw) и др. У белка HPV45 L1 имеются замены треонина на серин и серина на треонин. Это очень близкие по свойствам полярные оксимоноаминокарбоновые кислоты, поэтому маловероятно, что их взаимная замена может сказаться на антигенных свойствах белка. В последовательностях HPV18 L1 и HPV45 L1 детерминанты 82–96 обнаружена замена фенилаланина на изолейцин. Обе аминокислоты полярны и имеют сходные физико-химические свойства. У белков HPV18 L1, HPV45 L1 и HPV31 L1 относительно белка HPV16 L1 имеется замена аспарагиновой кислоты на глутаминовую. Это полярные, заряженные отрицательно аминокислоты с практически одинаковыми физико-химическими свойствами. В целом можно заключить, что детерминанты 82–96 у HPV16 L1 и HPV31 L1 белков имеют практически одинаковый аминокислотный состав, а значит, обладают практически одинаковыми антигенными свойствами. Белки HPV18 L1 и HPV45 L1 имеют некоторое отличие от HPV16 L1 в аминокислотном составе в детерминанте 82–96, но оно незначительное, поэтому с большей вероятностью можно предполагать у этих белков сходные антигенные свойства этого региона.

```

HPV16 L1KEKFSADLDQF
HPV18 L1.....L....Y
HPV31 L1.....
HPV45 L1.....S....Y

```

Рисунок 11. Результат аминокислотного выравнивания предполагаемой антигенной детерминанты 452–466

Figure 11. The result of amino acid alignment of presumed antigenic determinant 452–466

Антигенная детерминанта, располагающаяся в регионе 234–243, у разных белков L1 также имеет некоторые аминокислотные замены (рис. 10). У белков HPV18 L1, HPV45 L1 и HPV31 L1 относительно белка HPV16 L1 имеется замена изолейцина на лейцин. Данные аминокислоты относятся к одному классу (алифатические неполярные) и имеют практически одинаковые физико-химические свойства, поэтому такая замена не должна влиять на антигенные свойства детерминанты. В белках HPV18 L1 и HPV45 L1, в отличие от белков HPV16 L1, лизин заменен на глутамин. Эти аминокислоты являются полярными, но имеют разный заряд (лизин заряжен положительно при pH = 7, а глутамин — нейтрально), есть небольшое различие в pI и Vw, что может незначительно повлиять на антигенные свойства. Следующая аминокислотная замена у HPV18 L1 и HPV45 L1 относительно HPV16 L1 является критической, так как неполярный валин заменен на полярный незаряженный серин. Это разные по свойствам аминокислоты. Далее из результатов выравнивания обнаруживается замена у HPV18 L1, HPV45 L1 и HPV31 L1 относительно белка HPV16 L1 полярного незаряженного серина на неполярный аланин. Последняя замена в этом регионе аминокислотной последовательности — это замена глутаминовой кислоты у HPV18 L1, HPV45 L1 на аспарагиновую. Это полярные, заряженные отрицательно аминокислоты с практически одинаковыми физико-химическими свойствами. По результатам сравнения аминокислотных последовательностей антигенной детерминанты 234–243 можно полагать, что у HPV16 L1 и HPV31 L1 имеется сходство в антигенных свойствах в этом участке. У белков HPV18 L1 и HPV45 L1 данная антигенная детерминанта будет иметь некоторое различие в антигенных свойствах относительно HPV16 L1.

Исследование детерминанты 452–466 выявило незначительные аминокислотные замены (рис. 11). Так, у HPV18 L1 наблюдается замена относительно белка HPV16 L1 неполярной аминокислоты аланина на неполярный лейцин. Это аминокислоты одного класса, имеющие

Тип HPV HPV type	Position Позиция	Score	Аминокислотная последовательность Amino acid sequence
HPV16	12	22	YLPPVPVSKV
	304	22	AQIFNKPYWL
	372	22	LQFIFQLCKI
HPV18	181	24	SQGDCPPLEL
	12	22	YLPPPSVARV
	304	21	SQLFNKPYWL
HPV31	12	22	YLPPVPVSKV
	69	22	LQYRVFRVRL
	373	22	LQFIFQLCKI
HPV45	12	22	YLPPPSVARV
	307	21	SQLFNKPYWL
	464	21	DQYPLGRKFL

Таблица. Вероятные антигенные детерминанты для Т-клеток (HLA-B13 decamers) в белковых последовательностях HPV16 L1, HPV18 L1, HPV31 L1, HPV45 L1 согласно программе «SYFPEITHI»

Table. Probable antigenic determinants for T-cells (HLA-B13 decamers) in the protein sequences HPV16 L1, HPV 18 L1, HPV31 L1, HPV45 L1 according to the program "SYFPEITHI"

сходство по физико-химическим характеристикам, поэтому влияние на антигенные свойства данная замена практически не оказывает. В том же месте наблюдается замена у HPV45 L1 относительно HPV16 L1 неполярной аминокислоты аланина на полярный серин. Эта замена теоретически может повлиять на антигенные свойства, так как аминокислоты обладают разными физико-химическими характеристиками. Последняя аминокислотная замена в данном регионе белка L1 наблюдается у HPV18 L1 и HPV45 L1 относительно белка HPV16 L1. Это замена ароматической аминокислоты фенилаланина на ароматическую кислоту тирозин. Данные аминокислоты обладают сходными физико-химическими свойствами, поэтому не должны влиять на антигенные свойства детерминанты. В итоге можно сказать, что детер-

```

HPV16 L1YLPPVPVSKV
HPV18 L1....PS.AR.
HPV31 L1.....
HPV45 L1....PS.AR.
    
```

Рисунок 12. Результат аминокислотного выравнивания предполагаемой антигенной детерминанты 12–21

Figure 12. The result of amino acid alignment of presumed antigenic determinant 12–21

минанта 452–466 является наиболее сходной у всех четырех белков L1, в особенности это касается HPV16 L1 и HPV31 L1, здесь можно предполагать абсолютное сходство антигенных свойств. Белок HPV45 L1 хоть и имеет критическую замену аминокислоты, но, так как подобное замещение единично, оно, скорее всего, не отразится на антигенных свойствах детерминанты 452–466.

Мы сочли целесообразным получить дополнительные доказательства влияния сходства антигенных детерминант вирусных белков HPV16 L1, HPV18 L1, HPV31 L1, HPV45 L1 на перекрестное взаимодействие антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам вируса папилломы человека. Для этого был осуществлен поиск потенциальных антигенных детерминант для Т-клеток с помощью программы «SYFPEITHI». Данная программа ранжирует возможные варианты антигенных детерминант согласно вероятности их взаимодействия с Т-клетками. Используемые алгоритмы расчета взяты из книги «MHC Ligands and Peptide Motifs» (H.G. Rammensee, J. Bachmann, S. Stevanovic).

Результаты обработки белковых последовательностей 4 белков L1 показали, что наиболее вероятной антигенной детерминантой для Т-клеток будет детерминанта, находящаяся в позиции 12–21. Хотя у HPV18 L1 программа показала, что эта детерминанта находится на второй позиции, но несмотря на это имеет достаточно высокий балл (Score) вероятности (табл.).

Для того чтобы удостовериться, что данная детерминанта обладает сходными антигенными свойствами у всех 4 белков L1, мы провели сравнения ее аминокислотных последовательностей (рис. 12). По результатам выравнивания видно, что HPV18 L1 и HPV45 L1 имеют 4 замены относительно HPV16 L1 и HPV31 L1. Две из них — это замены на близкие по свойствам аминокислоты: валин на пролин и лизин на аргинин. Две другие являются заменами на отличающиеся по физико-химическими свойствам аминокислоты: пролин на серин и серин на аланин. В целом надо отметить, что данная антигенная детерминанта у белков HPV16 L1 и HPV31 L1 должна обладать близкими антигенными свойствами. Белки HPV18 L1 и HPV45 L1 по данной антигенной детерминанте должны обладать сходными антигенными свойствами и несколько отличаться по этому показателю от HPV16 L1 и HPV31 L1.

Обсуждение

Результаты биоинформационного исследования выявили значительный потенциал перекрестного взаимодействия антител с антигена-

ми, принадлежащими к патогенным типам ВПЧ 16, 18, 31, 45 за счет сходства антигенных детерминант. Были обнаружены общие линейные детерминанты для Т-клеток и В-клеток у всех 4 типов вирусных белков L1. Также обнаружены сходные трехмерные антигенные детерминанты для В-клеток у HPV16 L1 и HPV18 L1. К сожалению, сравнить трехмерные антигенные детерминанты для HPV31 L1 и HPV45 L1 не удалось по причине отсутствия трехмерных моделей этих белков в базах данных. Однако учитывая сходства их аминокислотных последовательностей и линейных детерминант с белками HPV16 L1 и HPV18 L1, можно предположить похожую пространственную структуру и, следовательно, сходное расположение антигенных детерминант. Стоит отметить, что антигенные детерминанты HPV16 L1 и HPV31 L1 более близки друг другу. Подобное сходство наблюдается между HPV18 L1 и HPV45 L1. Поэтому при иммунизации HPV16 L1 стоит ожидать более выраженного перекрестного взаимодействия антител с антигенами HPV31 L1 и умеренного с HPV18 L1 и HPV45 L1. Напротив, при иммунизации HPV18 L1 возможно активное перекрестное взаимодействие антител с антигенами HPV45 L1 и менее выраженное с HPV16 L1 и HPV31 L1.

Полученные результаты соотносятся с данными зарубежных коллег, которые, используя схожие биоинформатические методы, исследовали перекрестное взаимодействие антител с антигенами, принадлежащими к разным

патогенным типам вируса папилломы человека. На основе этих данных они создавали кандидатные мультиэпитопные вакцины, которые испытывали на лабораторных мышах. Исследования данных препаратов *in vivo* показали, что даже без использования адъюванта рекомбинатные вакцины индуцировали эффективные иммунные ответы и защищали мышей от опухолевых клеток (процент мышей без опухоли ~66,67) [16].

Используемые в работе методы можно применять для анализа сродства антигенных детерминант у широкого круга патогенных типов ВПЧ. Это позволит за относительно короткий срок выявить возможные варианты перекрестного взаимодействия антител с антигенами, принадлежащими к разным патогенным типам ВПЧ, что значительно сократит время и средства на практические лабораторные исследования. Полученные данные можно использовать для оптимизации производства вакцин против различных патогенных типов вируса папилломы человека, в частности производить вакцины на основе химерных антигенных белков, которые содержат общие антигенные детерминанты для нескольких типов ВПЧ. Это, возможно, снизило бы стоимость производства вакцин и уменьшило бы нагрузку на организм вакцинируемого человека в силу сокращения количества вводимых антигенных белков и сопутствующих веществ (адъювантов), которые могут вызывать аллергические реакции.

Список литературы/References

1. Костин А.А., Старинский В.В., Самсонов Ю.В., Асратов А.Т. Анализ статистических данных о злокачественных новообразованиях, ассоциированных с вирусом папилломы человека // Исследования и практика в медицине. 2016. Т. 3, № 1. С. 66–78. [Kostin A.A., Starinskiy V.V., Samsonov Y.V., Asratov A.T. The analysis of statistical data on malignant neoplasms associated with human papillomavirus. *Issledovaniya i praktika v meditsine = Research'n Practical Medicine Journal*, 2016, vol. 3. no. 1, pp. 66–78. doi: 10.17709/2409-2231-2016-3-1-9 (In Russ.)]
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник; в 2-х т. Т. 1. Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 448 с. [Medical microbiology, virology and immunology. Eds. Zverev V.V., Boychenko M.N. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. Vol. 1. 448 p. (In Russ.)]
3. Bishop V., Dasgupta J., Klein M., Garcea R.L., Christensen N.D., Zhao R., Chen X.S. Crystal structures of four types of human papillomavirus L1 capsid proteins: understanding the specificity of neutralizing monoclonal antibodies. *J. Biol. Chem.*, 2007, vol. 282, pp. 31803–31811. doi: 10.1074/jbc.M706380200
4. Bisset S.L., Draper E., Myers R.E., Godi A., Bedrows S. Cross-neutralizing antibodies elicited by the Cervarix® human papillomavirus vaccine display a range of Alpha-9 inter-type specificities. *Vaccine*, 2014, vol. 32, no. 10, pp. 1139–1146. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.01.008
5. Bosch F.X., Broker T.R., Forman D., Moscicki A.B., Gillison M.L., Doorbar J., Stern P.L., Stanley M., Arbyn M., Poljak M., Cuzick J., Castle P.E., Schiller J.T., Markowitz L.E., Fisher W.A., Canfell K., Denny L.A., Franco E.L., Steben M., Kane M.A., Schiffman M., Meijer C.J., Sankaranarayanan R., Castellsagué X., Kim J.J., Brotons M., Alemany L., Albero G., Diaz M., de Sanjosé S. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*, 2013, vol. 31, suppl. 7: H1–H31. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.10.003
6. 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., Ferris 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-naïve women aged 16–26 years. *J. Infect. Dis.*, 2009, vol. 199, no. 7, pp. 926–935. doi: 10.1086/597307

7. Chen X.S., Garcea R.L., Goldberg I., Casini G., Harrison S.C. Structure of small virus-like particles assembled from the L1 protein of human papillomavirus 16. *Mol. Cell.*, 2000, vol. 5 (3), pp. 557–567. doi: 10.1016/S1097-2765(00)80449-9
8. Christensen N.D., Dillner J., Eklund C., Carter J.J., Wipf G.C., Reed C.A., Cladel N.M., Galloway D.A. Surface conformational and linear epitopes on HPV-16 and HPV-18 L1 virus-like particles as defined by monoclonal antibodies. *Virology*, 1996, vol. 223, pp. 174–184. doi: 10.1006/viro.1996.0466
9. Combita A.L., Touzé A., Bousarghin L., Christensen N.D., Coursaget P. Identification of two cross-neutralizing linear epitopes within the L1 major capsid protein of Human Papillomaviruses. *J. Virol.*, 2002, vol. 76 (13), pp. 6480–6486. doi: 10.1128/jvi.76.13.6480-6486.2002
10. 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, vol. 29 (11), pp. 2011–2014. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.01.001
11. 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, vol. 9: 5360. doi: 10.1038/s41467-018-07199-6
12. McLaughlin-Drubin M.E., Münger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses. *Virus Res.*, 2009, vol. 143 (2), pp. 195–208. doi: 10.1016/j.virusres.2009.06.008
13. Modis Y., Trus B.L., Harrison S.C. Atomic model of the papillomavirus capsid. *EMBO J.*, 2002, vol. 21, no. 18, pp. 4754–4762. doi: 10.1093/emboj/cdf494
14. Myers E.R., McCrory D.C., Nanda K., Bastian L., Matchar D.B. Mathematical model for the natural history of human papillomavirus infection and cervical carcinogenesis. *Am. J. Epidemiol.*, 2000, vol. 151 (12), pp. 1158–1171. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a010166
15. 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, vol. 22, no. 7, pp. 679–687. doi: 10.1128/CVI.00149-15
16. 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, vol. 9 (1): 15225. doi: 10.1038/s41598-019-51679-8
17. Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I., Stolbikov A.S. Cross-reactivity of antigens and antibodies belonging to different pathogenic types of human papillomaviruses. *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2017, vol. 477, no. 3, pp. 371–375. doi: 10.1134/S1607672917060084
18. Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I., Stolbikov A.S., Tretyakova A.V. Using the omega leader sequence of tobacco mosaic virus to transform tomato fruits with the papillomavirus HPV16 L1 gene to enhance production of the antigenic protein HPV16 L1. *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2016, vol. 468, no. 1, pp. 187–189. doi: 10.1134/S1607672916030078
19. Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I., Tretyakova A.V. The study of immunogenicity of the antigenic protein of high risk oncogenic type of the human papillomavirus HPV16 L1 produced in the plant expression system on the base of transgenic tomato. *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2017, vol. 474, no. 1, pp. 186–188. doi: 10.1134/S1607672917030140
20. 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, vol. 8, no. 9: e74797. doi: 10.1371/journal.pone.0074797
21. Shen Z.T., Nguyen T.T., Daniels K.A., Welsch R.M., Stern L.J. Disparate epitopes mediating protective heterologous immunity to unrelated viruses share pMHC structural features recognized by cross-reactive T cells. *J. Immunol.*, 2013, vol. 191, no. 10, pp. 5139–5152. doi: 10.4049/jimmunol.1300852
22. Toft L., Tolstrup M., Müller M., Sehr P., Bonde J., Storgaard M., Østergaard L., Søgaard O.S. Comparison of the immunogenicity of Cervarix® and Gardasil® human papillomavirus vaccines for oncogenic non-vaccine serotypes HPV-31, HPV-33, and HPV-45 in HIV-infected adults. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2014, vol. 10, iss. 5, pp. 1147–1154. doi: 10.4161/hv.27925

Авторы:

Столбиков А.С., к.б.н., старший научный сотрудник Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Россия; доцент кафедры физиологии растений, клеточной биологии и генетики Иркутского государственного университета, г. Иркутск, Россия;
Салаяев Р.К., член-корреспондент РАН, д.б.н., советник РАН, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Россия;
Рекославская Н.И., д.б.н., главный научный сотрудник, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН; Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук, г. Иркутск, Россия.

Authors:

Stolbikov A.S., PhD (Biology), Senior Researcher, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation; Associate Professor, Department of Plant Physiology, Cell Biology and Genetics, Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation;
Salyaev R.K., RAS Corresponding Member, PhD, MD (Biology), Advisor for Russian Academy of Sciences, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation;
Rekoslavskaya N.I., PhD, MD (Biology), Head Researcher, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation; Irkutsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 29.08.2019
 Отправлена на доработку 20.11.2019
 Принята к печати 11.03.2020

Received 29.08.2019
 Revision received 20.11.2019
 Accepted 11.03.2020