

УДК 616.9-079

DOI:10.14427/jipai.2024.1.33

Алгоритм поиска иммунодоминантных эпитопов *in silico* для иммунодиагностики вакциноуправляемых инфекций

А.М. Цыганков, В.В. Янченко

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

Algorithm for *in silico* search of immunodominant epitopes for immunodiagnosis of vaccine-targeted infections

A.M. Tsygankov, U.V. Yanchanka

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Аннотация

В данной публикации приводится алгоритм выбора иммунодоминантных эпитопов, которые являются участками белков вирусов гриппа, используемых при вакцинации в 2023-2024 годах с целью использования в иммунодиагностике. С помощью различных программ удалённого доступа реализован алгоритм поиска иммунодоминантных эпитопов исходя из анализа аминокислотной последовательности белков вирусов, входящих в состав вакцин, реализуемых в Республике Беларусь. В результате проделанной работы выбрано 10 иммунодоминантных эпитопов из 96 эпитопов вируса гриппа. Это является шагом перед синтезом пептидов для лабораторной диагностики клеточного ответа системы иммунитета на вакцину против вируса, а также после перенесённой инфекции. Так, различный набор пептидов позволяет выявлять ответ системы иммунитета на поверхностные белки вирусов из вакцин «Гриппол», «Ваксигрипп Тетра», «Инфлювак Тетра» либо на другие белки вирусов гриппа в случае болезни, что является дополнительным исследованием после оценки гуморального ответа в виде нейтрализующих антител на гемагглютинин.

Ключевые слова

HLA, иммунодоминантные эпитопы, пептиды, грипп, вакцины против гриппа.

Введение

На примере вакциноуправляемой инфекции типа грипп в данной работе представлен этап иммуноинформатического исследования: алгоритм поиска иммунодоминантных эпитопов *in silico* с учётом используемых на территории Республики Беларусь вакцин («Гриппол», производство Российская Федерация; «Ваксигрипп Тетра», производство Франция; «Инфлювак Тетра», производство Нидерланды).

Summary

This publication presents an algorithm for selecting immunodominant epitopes that are regions of influenza virus proteins used in vaccination in 2023-2024 for use in immunodiagnosics. Using various remote access programmes, an algorithm for searching for immunodominant epitopes was implemented based on the analysis of the amino acid sequence of virus proteins included in vaccines marketed in the Republic of Belarus. This is a stage before synthesis of peptides for laboratory diagnostics of cellular response of immunity system to virus vaccine. That in the future will allow to use only suitable peptides for diagnostics of postvaccinal immune response. Thus, a different set of peptides allows to detect the response of the immunity system to the surface proteins of viruses from vaccines "Grippol", "Vaxigripp Tetra", "Influvak Tetra" or to other proteins of influenza viruses in case of disease. Which is an additional test after evaluation of the humoral response in the form of neutralising antibodies to haemagglutinin.

Keywords

HLA, immunodominant epitopes, peptides, influenza, influenza vaccines.

Для точной диагностики стоит знать заранее носительство аллелей HLA I класса для искомой группы – граждан Республики Беларусь. Белорусы, носители часто встречающихся аллелей в Европе, имеют аллели HLA I класса: HLA-A *01:01, *02:01, *03:01, *24:02; HLA-B *07:02, *08:01, *35:01, *44:02, *51:01; HLA-C *02:09, *04:01, *05:01, *06:02, *07:01, *07:02, *12:03. Исходя из представленности аллелей среди доноров г. Витебска, можно сделать

вывод об использовании таких вариантов в настоящей работе: HLA-A *01:01, 02:01, 03:01; 24:02; HLA-B *07:02, 08:01; HLA-C *02:09, 04:01, 06:02, 07:01, 07:02 [1].

Нами были выбраны рекомендованные штаммы вирусов сезона заболеваемости гриппом в Северном полушарии в 2023-2024 году, вакцинный состав различных производителей, которые реализуются на территории Республики Беларусь. Далее для анализа были выбраны белки вирусов из баз открытого доступа, исходя из состава интересующих нас вакцин: вирус, подобный A/Victoria/4897/2022 и 2570/2019 (H1N1) pdm09; A/Darwin/9/2021 (H3N2); B/Austria/1359417/2021 (или B/Michigan/01/2021, wild type); B/Phuket/3073/2013 (линия B/Yamagata).

Также для изучения можно выбрать следующие иммунодоминантные эпитопы из внутренних белков вируса гриппа А: NP44-52 STELKLSDY HLA-A1; NP174-184 ILRGSVANK HLA-B27; NP265-273 RRSGAAGAAVK HLA-A3; M158-66 GILGFVFTL HLA-A*0201; M1128-135 ASCMGLIY HLA-B*3501; PB1591-599 VSDGGPNLY HLA-A1 [2]. Для внутренних белков вируса гриппа В можно выбрать следующие иммунодоминантные консервативные эпитопы: PB1 413-421 (NMLSTVLGV); NP 30-38; В НА 190 (YYSTAASSL); В НА 543-551 (GLDNHTILL) для HLA-A *02:01 [3]. Выбор матричных (M1 и M2), полимеразных (PB1 и PB2) белков, гемоглобулина (НА), нуклеопротеина (NP) вирусов гриппа объясняется ответом адаптивного звена системы иммунитета на эти белки [4]. Для дальнейшей работы использовались такие программы удалённого доступа как NetMHCpan 4.1.El (IEDB), NetTepi, NCBI PROTEIN BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), средство поиска сходных аминокислотных последовательностей. Использован удобный язык в текстовом формате для нуклеотидных или полипептидных последовательностей, в котором аминокислоты обозначаются при помощи однобуквенных кодов (FASTA).

Без учёта HLA-фенотипа создание диагностических пептидов не будет приближаться к групповым наборам пептидов, и, тем более, индивидуальным. Эффективной стратегией групповой диагностики клеточного ответа на вирус или вакцину является создание набора иммунодоминантных пептидов.

Материалы и методы

В настоящей работе нами применён похожий алгоритм поиска иммунодоминантных эпитопов для аллелей HLA I класса с акцентом на всегда актуальный вирус гриппа [1]:

- Этап первый: подбор белков исследуемых вирусов из базы данных ProteinBank.
- Этап второй: формирование в формате FASTA набора исследуемых белков вирусов в отдельном документе.
- Этап третий: анализ степени специфического сродства активного центра антитела к эпитопу (аффинность) всех исследуемых белков программным обеспечением сервиса IEDB (NetMHCpan 4.1. El).
- Этап четвёртый: проверка на гомологию человеческим белкам (мимикрию) программным обеспечением серверов NCBI (BLAST protein-protein) для исключения подобных эпитопов белков человека.
- Этап пятый: окончательное формирование наборов пептидов.

Результаты и обсуждение

Применялись следующие условия поиска иммунодоминантных эпитопов: формат последовательности FASTA; MHC alleles – HLA-A *01:01, 02:01, 03:01; 24:02; HLA-B *07:02, 08:01; HLA-C *02:09, 04:01, 06:02, 07:01, 07:02; длина – 9 аминокислотных остатков; метод предсказания – NetMHCpan 4.1. El. Отдельно использовалась программа NetTepi для аллелей HLA-A и HLA-B. Результатом стала таблица № 1, где представлены эпитопы, полученные на третьем действии.

Итого выбрано 22 эпитопа из 96, которые проверяются на 4 этапе.

Четвёртый этап предполагает проверку эпитопов на гомологию с белками человека (мимикрию) с помощью программы BLAST protein-protein (NCBI): база данных – RefSeq Genome Database, Homo Sapiens, optimization – megablast, степень схожести аминокислотных остатков и охват ≥80%.

Если иммунодоминантные эпитопы не прошли 4 этап, следует выбрать из оставшихся (таблица 1).

В итоге на 5 этапе получилось 10 подходящих эпитопов для последующего синтеза пептидов, причём 2 эпитопа рассмотрены как возможно используемые (таблица 2). Также можно продолжить исследование остальных неиспользованных эпитопов. Далее шло формирование наборов пептидов для различных целей (таблица 3).

Комбинация синтезированных пептидов позволит исследовать клеточный иммунный ответ по росту гамма-интерферона как ответ активированных лейкоцитов крови обследуемых. Это даст ответ на вопрос о состоянии клеточного иммунного ответа на вирус гриппа после вакцинации или перенесённой инфекции.

Таблица 1. Иммунодоминантные эпитопы вирусов гриппа в эпидемическом сезоне 2023-2024 гг.

Белок	Эпитопы штаммов вирусов гриппа				
	A/Victoria/4897/2022	A/Victoria/2570/2019	A/Darwin/9/2021	B/Austria/1359417/2021 B/Michigan/01/2021	B/Phuket/3073/2013
M1, M2	LLTEVETYY, MVLASTTAK	GILGFVFTL, KTRPILSPL, NNMDRAVKL	RLFKHGLKR, RLFFKCVYR, LLTEVETPI, LLTEVETYY, GILGFVFTL, RMGAVTTEV, MVLASTTAK	YLNPGNYSM, ILAERKMRK, SMQVKLGL, KLHCWFGGK	
PB1, PB2	VSDGGPNLY, KLWDQTQSK, LLMDGTASL, IPKRNRSIL, SYINKTGTF, IPKRNRSIL, KVKYTYFEK, TYFEKVERL, GTEKLTITY, GPALSINEL, YPKVYKTYE, LLIDGTASL, KVKYTYFDK, RLNPMHQLL			NMLSTVLGV, KLLGINMSK, VADGGPNLY, LLHPQNPFFV, EYIKRALS, IYNLRNLHI	MANRIPLEY, KMWEMGTTK, QLLSPMYQL, IYHPGGNKL, LIKEKREKL, KPVGQHSML
HA	VPSIQSRGL, SYPKINQTY, TVLEKNVTV, NVHPITIGK, NADTLCIGY, HLEKRIENL	GVAPLHLGK, VPSIQSRGL, SYPKINQTY, TVLEKNVTV, TIADQQSLY, NVHPITIGK, HLEKRIENL	RPRIRGIPS ALLGFIMWA ALSNILCLV KLYIWGVHH ALNNRFOJK GYKDWILWI	IPSARVSIL, ATMAWAVPK, EADCLHEKY, IWVKTPLKL, AMDELHNEI	TPSAKASIL, EADCLHEEY, ATMAWAVPK, AMDELHNEI, IWVKTPLKL, SANGVTTHY
NP	CTELKLSYD, FQGRGVFEL, ILRGVAHK, RVSSFIRGK IFLARSALI	-	MIDGIGRFY, ILRGVAHK, IPFEKSTIM	FMSCFGAAY ALYNMATPV NLIQNAHAV KMMNDSMAK ATLAPPSNK GMNTGTIDK VVRPSVASK YFSPIRITF RPIIRPATL AIRFIGRAM RPSVASKVV VPRRSGATG	FMSCFGAAY ALYNMATPV KMMNDSMAK YFSPIRITF

Примечание: жирным шрифтом выбраны идентичные эпитопы разных штаммов вирусов гриппа.

Таблица 2. Исключение мимикричных эпитопов

Белок	Иммунодоминантные эпитопы вирусных белков	Мимикрия	Итог
Матричные белки M1,M2	GILGFVFTL	-	+
	MVLASTTAK	Много мимикричных эпитопов	-
	LLTEVETYY	1 мимикричный эпитоп	+/-
	ASCMGLIY	Много мимикричных эпитопов	-
	YLNPGNYSM	-	+
	ILAERKMRK	Много мимикричных эпитопов	-
PB1, PB2	VSDGGPNLY		-
	KLWDQTQSK	-	+
	NMLSTVLGV	Много мимикричных эпитопов	-
	KPVGQHSML	-	+
Гемагглютинин, HA	IWVKTPLKL	-	+
	ATMAWAVPK	-	+
	VPSIQSRGL	Много мимикричных эпитопов	-
	YYSTAASSL		-
	GLDNHTILL	-	+
	HLEKRIENL	Много мимикричных эпитопов	-
	SYPKINQTY	-	+
NP	CTELKLSYD	1 мимикричный белок	+/-
	ILRGVAHK	Много мимикричных эпитопов	-
	ALYNMATPV		-
	KMMNDSMAK	-	+
	FQGRGVFEL	-	+

Примечание: «+» – пептид подходит для дальнейшего исследования; «-» – пептид не подходит для дальнейшего исследования; «+/-» – пептид может быть рассмотрен для исследования.

Таблица 3. Набор эпитопов для оценки клеточного ответа системы иммунитета после перенесённого гриппа и на противогриппозные вакцины

Белок	Формируемый набор
Гемагглютинин, HA	GLDNHTILL, SYPKINQTY, IWVKTPLKL, ATMAWAVPK
Полимеразы, PB1, PB2	KLWDQTQSK, KPVGQHSML
Матричные белки M1, M2	GILGFVFTL, YLNPGNYSM
Нуклеопротеин, NP	KMMNDSMAK, FQGRGVFEL

Заключение

В работе представлен алгоритм выбора *in silico* иммунодоминантных пептидов для диагностических целей. На примере вакциноуправляемой инфекции (грипп) было выбрано 10 эпитопов для дальнейших исследований их 96 ис-

ходных. Комбинация синтезированных пептидов для исследования клеточного иммунного ответа позволит ответить на ряд вопросов: имеется ли защита на уровне лейкоцитов (CD-8 Т-лимфоцитов) после вакцинации и/или после перенесённой инфекции гриппа.

Литература

1. Цыганков А.М., Янченко В.В. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2021;3:45-55. doi:10.14427/jipai.2021.3.45
2. Найхин А.Н., Лосев И.В. Роль консервативных и гипервариабельных иммунодоминантных эпитопов внутренних белков вирусов гриппа А в формировании цитотоксического Т-клеточного иммунного ответа. Вопросы вирусологии. 2015;1:11-16.
3. Tsybalova LM, Stepanova LA, Ramsay ES, et al. Influenza B: prospects for the development of cross-protective vaccines. *Viruses*. 2022;14(6):1323. doi:10.3390/v14061323
4. Isakova-Sivak I, Stepanova E, Mezhenkaya D, et al. Influenza vaccine: Progress in a vaccine that elicits a broad immune response. *Expert Review of Vaccines*. 2021;9:1097-1112. doi:10.1080/14760584.2021.1964961

Сведения об авторах

Цыганков Арсений Михайлович – старший преподаватель военной кафедры, Витебский государственный медицинский университет. 210009, Республика Беларусь, г. Витебск, пр. Фрунзе, д. 27. E-mail: 87senka@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1367-7742.

Янченко Владимир Вилиянович – к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный медицинский университет. ORCID: 0000-0002-9355-8534.

Поступила 22.12.2023.