

## **Исследование иммуногенности и потенциальной протективности вакцины «ЭпиВакКорона»**

Криницкий А. А.<sup>1,2</sup>, Группа добровольцев-исследователей вакцины «ЭпиВакКорона»<sup>1</sup> и  
Участники 3 фазы клинических испытаний вакцины «ЭпиВакКорона»<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – Российская Федерация

<sup>2</sup> – Неофициальная организация «ГраИс» по проверке работы вакцин

Связь с авторами: public@epivakorona.com

### **Резюме**

«ЭпиВакКорона» – вакцина на основе пептидных иммуногенов против коронавирусной инфекции COVID-19. В этой работе мы продемонстрировали, что иммуногенность вакцины «ЭпиВакКорона» составляет порядка 70%. Также мы показали, что иммунизация этой вакциной не приводит к формированию нейтрализующих антител у здоровых добровольцев. Кроме того, с помощью компьютерного моделирования нами было установлено, что один пептид вакцины, соответствующий участку в рецептор-связывающем домене S-белка вируса SARS-CoV-2, имеет в растворе конформацию, значительно отличающуюся от конформации соответствующего участка в полноразмерном белке. Наконец, с помощью алгоритмов предсказания Т-клеточных эпитопов мы показали, что эпитопы вакцинного белка-носителя и линкерного участка в этом белке обладают наибольшей иммуногенностью среди всех компонентов вакцины.

**Ключевые слова:** «ЭпиВакКорона», COVID-19, SARS-CoV-2, вакцина, пептидные иммуногены, антитела, иммунный ответ

### **1. Введение.**

«ЭпиВакКорона» – первая зарегистрированная пептидная вакцина от COVID-19. На сегодняшний день нет исчерпывающей информации об аминокислотных последовательностях пептидов, входящих в состав вакцины, однако из патента (Рыжиков и соавт., 2021) и статьи с описанием доклинических исследований (Ryzhikov et al., 2021) известно, что в вакцину входят пептиды RLFRKSNLKPFERDISTEIQAGS, KEIDRLNEVAKNLNESLIDLQE и KNLNESLIDLQELGKYEQYIK, соотносящиеся с участками 454-477, 1181-1202 и 1191-1211 полноразмерного S-белка коронавируса SARS-CoV-2 соответственно.

По задумке разработчика иммунизация этими пептидами, конъюгированными с рекомбинантным белком-носителем из нуклеокапсидного белка коронавируса и MBP-6H E. coli, должна вызывать выработку нейтрализующих антител к возбудителю COVID-19 и таким образом предотвращать тяжелое течение инфекции. Однако иммунизация пептидами может вызывать выработку антител, аффинных к полноразмерному белку, лишь в исключительных случаях (Goding, 1996), и зачастую антипептидные антитела используют в молекулярной биологии для работы с денатурированным белком, утратившим пространственную структуру.

В настоящий момент не существует ни одной зарегистрированной пептидной вакцины, которая способна индуцировать гуморальный ответ. В разное время исследователи пытались создать прототипы таких вакцин: например, существовали разработки ветеринарных пептидных вакцин от ящура (DiMarchi et al., 1986; Wang et al., 2002). Оболочечный белок вируса ящура (FMDV) VP1 использует для связывания с рецептором доступную с поверхности

петлю без вторичной структуры, которую можно симитировать с помощью пептида из 20-40 аминокислотных остатков (Bittle et al., 1982). Однако из-за низкой эффективности эти разработки не получили дальнейшего развития и не применяются в ветеринарии (Taboga et al., 1997).

Для проведения 3 фазы клинических испытаний пептидной вакцины, очевидно, требуются экспериментальные данные из доклинических исследований и I-II фазы клинических исследований, достоверно подтверждающие способность антипептидных антител связывать соответствующие эпитопы полноразмерного белка. Это необходимое условие для работы пептидной вакцины (Bittle et al., 1982; Skwarczynski and Toth, 2016). Однако ни в доклинических, ни в клинических исследованиях 1-2 фазы вакцины «ЭпиВакКорона» этот вопрос не был исследован в должной мере. Вместо этого сероконверсия оценивается с помощью тест-системы «SARS-CoV-2-IgG-Вектор», которую производит разработчик вакцины и которая недоступна ни для коммерческих, ни для исследовательских лабораторий, не аффилированных с разработчиком. Состав антигена этой тест-системы неизвестен, а воспользоваться ей можно только по предъявлению документа о вакцинации «ЭпиВакКороной» и только в нескольких аффилированных с Роспотребнадзором лабораториях.

Эта работа посвящена изучению реальной иммуногенности вакцины «ЭпиВакКорона» и ее способности индуцировать образование факторов защиты от коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2. На здоровых добровольцах была исследована сероконверсия к антигенам вакцины и коронавируса SARS-CoV-2, а также оценивались титры нейтрализующих антител. С помощью компьютерного моделирования и биоинформатических методов изучена конформация одного из вакцинных пептидов и предсказаны Т-клеточные эпитопы в составе антигена вакцины.

## 2. Результаты.

### Иммуногенность вакцины «ЭпиВакКорона»

Согласно опубликованным результатам I-II фаз клинических испытаний, сероконверсия к антигенам вакцины «ЭпиВакКорона» составила 100% (Ryzhikov et al., 2021). Это означает, что антитела были обнаружены у всех участников. Однако в ходе нашего исследования мы получили иные данные.

Лишь 68% привитых в рамках гражданской вакцинации имели антитела, определяемые тест-системой, рекомендованной разработчиками вакцины (n=19). Похожие результаты наблюдались и среди участников 3 фазы клинических испытаний (n=120). 52 участника не имели определяемых тест-системой «SARS-CoV-2-IgG-Вектор» антител, у 64 наблюдалась сероконверсия к антигенам вакцины, 4 участника имели пограничный результат. Мы полагаем, что наша выборка участников испытаний в высокой степени случайна и потому репрезентативна, поскольку подавляющее большинство людей становилось членами сообщества добровольцев еще до сдачи анализа на антитела к антигенам вакцины: участники зачастую узнавали о нем лишь от других членов группы (вероятность случайно получить выборку с таким соотношением сероположительных к серонегативным при стопроцентной сероконверсии и 25% участников в группе плацебо составляет  $1,4 \times 10^{-6}$  (Лагуткин и Криницкий, 2021)).

Допущение о случайности выборки позволяет вычесть 25% участников с отсутствием сероконверсии (от всех участников) как поправку на плацебо (согласно протоколу III фазы клинического исследования, 25% участников получили плацебо (Maksyutov et al., 2020)) и судить об иммуногенности по оставшейся части отрицательных результатов.

Иммунологическую эффективность вакцины в выборке участников клинических испытаний в этом случае представляется целесообразным рассчитывать по формуле:

$$\text{ИЭ} = \frac{n_{sp}}{n - 0,25n} \times 100 \quad (1),$$

где  $n_{sp}$  – количество сероположительных участников исследования,  $n$  – общее количество участников, ИЭ – иммунологическая эффективность вакцины.

Согласно (1), иммунологическая эффективность в выборке участников КИ составила 71% (53% сероположительных участников от  $n=120$ ), что согласуется с 68% вакцинированных с сероконверсией из группы гражданской вакцинации ( $n=19$ ), а также соответствует данным, полученным в работе (Плоскирева и соавт., 2021). Результаты представлены на Рис. 1.

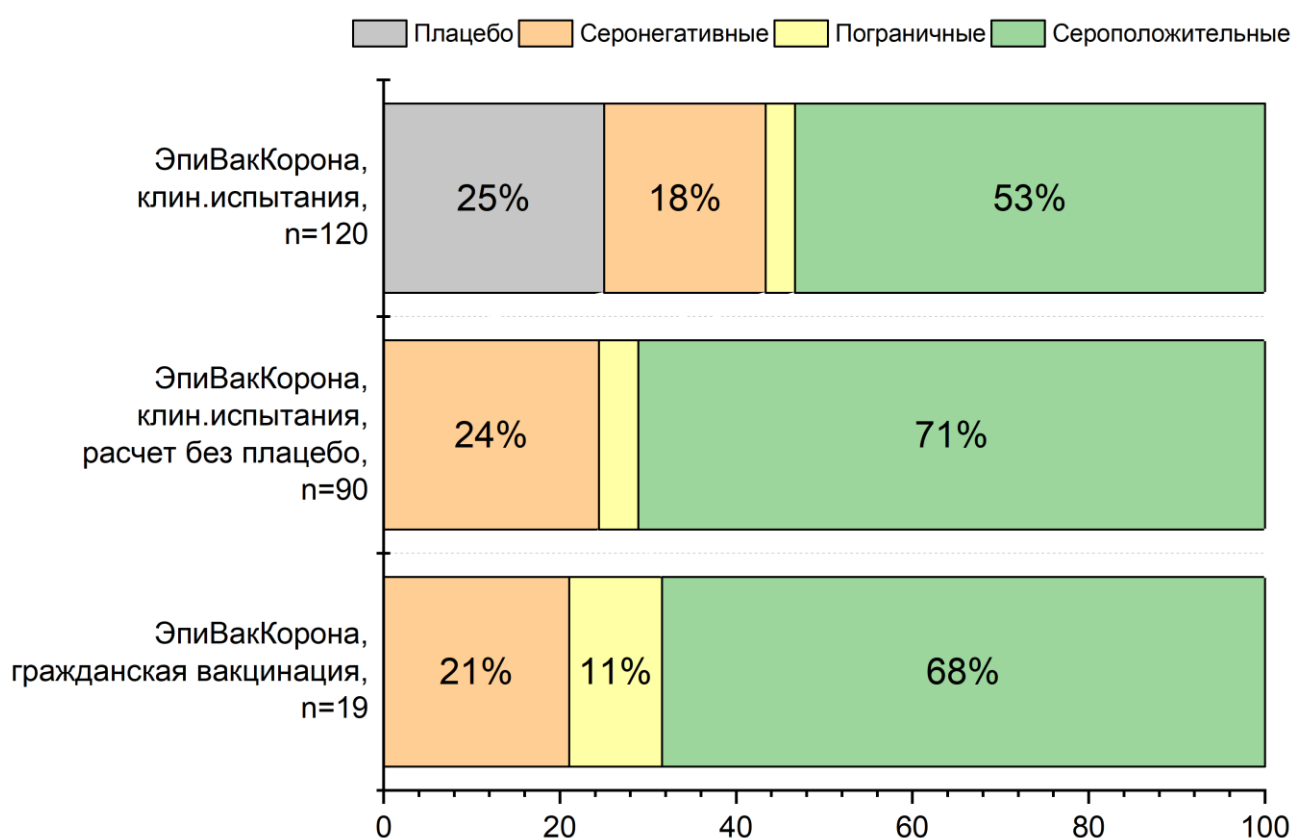


Рис. 1. Сероконверсия у участников 3 фазы клинических испытаний «ЭпиВакКороны» и привитых в рамках гражданской вакцинации.

#### Исследование гуморального ответа на иммунизацию «ЭпиВакКороной»

Гуморальный ответ изучали в группе из 28 человек. В этой группе было 18 человек, вакцинированных «ЭпиВакКороной», 4 человека, получивших вакцину «Спутник V», 3 реконвалесцента, привитых «Спутником V», и 3 невакцинированных реконвалесцента. Для удобства значимость различий оценивали между группой вакцинированных

«ЭпиВакКороной» (18 человек) и остальными участниками исследования (10 человек; далее – «совокупная группа»). В исследовании выявлялись антитела IgG к двум антигенам коронавируса SARS-CoV-2 – нуклеокапсидному (N) и S-белку.

Антитела IgG к S-белку коронавируса были выявлены у всех участников из совокупной группы, т. е. у всех участников исследования, кроме привитых «ЭпиВакКороной». Наибольшее значение коэффициента позитивности (КП) зарегистрировано в группе вакцинированных «Спутником V». Медианные значения КП в совокупной группе достоверно отличались от таковых в группе привитых «ЭпиВакКороной» ( $p < 0,000001$ ), при этом между медианами значений КП подгрупп совокупной группы значимых различий по этому показателю выявлено не было (Рис. 2а).

У части (36.8%) вакцинированных «ЭпиВакКороной» были обнаружены антитела IgG к нуклеокапсидному белку. В группах вакцинированных и невакцинированных реконвалесцентов антитела к N-белку также детектировались почти во всех исследованных образцах. Однако значимых различий между уровнями антител к N-белку у участников совокупной группы и группы вакцинированных «ЭпиВакКороной» выявлено не было (Рис. 2б). Стоит отметить, что, как и ожидалось, в группе вакцинированных «Спутником V» антител к N-белку обнаружено не было. Важную роль среди всех протективных антител играют нейтрализующие антитела. Поэтому в данной работе выявлению этих антител было уделено особое внимание. Мы не обнаружили нейтрализующих антител в сыворотках привитых «ЭпиВакКороной» (Рис. 2в). Однако такие антитела были обнаружены в сыворотках всех участников совокупной группы. Титры нейтрализующих антител в совокупной группе варьировали от 1:16 до 1:64. Средний геометрический титр нейтрализующих антител в совокупной группе значимо отличается от такового в группе вакцинированных «ЭпиВакКороной» ( $p < 0,000001$ ). При попарных сравнениях титров нейтрализующих антител в подгруппах совокупной группы не было выявлено статистически значимых различий.

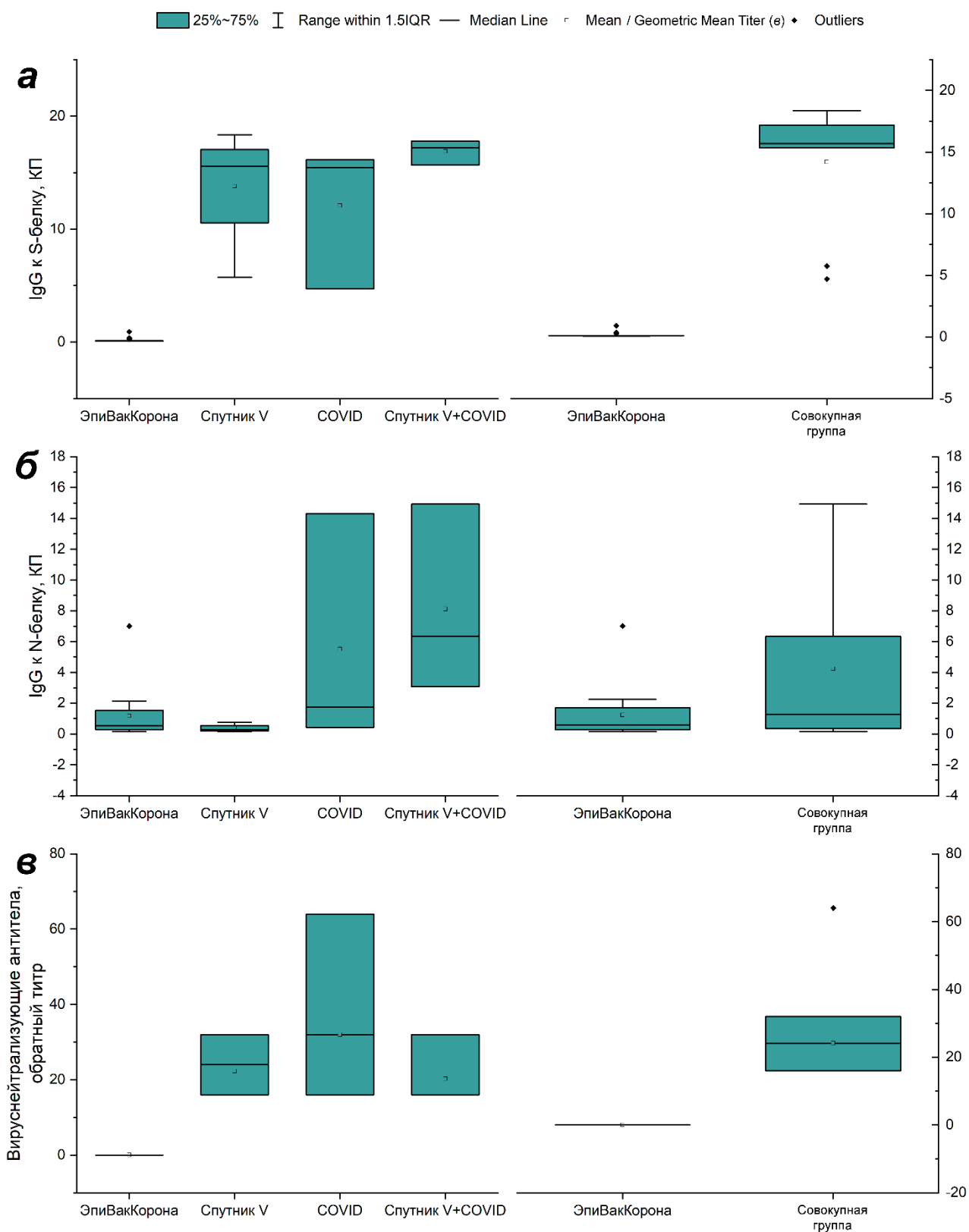


Рис. 2. IgG к S- (а) и N-белку (б) и вируснейтрализующие антитела (в) у вакцинированных «ЭпиВакКороной», «Спутником V», реконвалесцентов и привитых «Спутником V» переболевших COVID-19.

Таким образом, при оценке нейтрализующей активности сыворотки вакцинированных ЭпиВакКороной были получены результаты, свидетельствующие об отсутствии вируснейтрализующих поствакцинальных антител. Также у привитых «ЭпиВакКороной» не было обнаружено антител IgG к S-белку коронавируса. Известно, что антитела к S-белку могут обладать протективной активностью против SARS-CoV-2 и защищать от ассоциированного с ним заболевания COVID-19 (Ni et al., 2020; Bao et al., 2021), однако нет данных, показывающих, что антитела к другим антигенам коронавируса обладают какими бы то ни было защитными свойствами. Полученные нами результаты противоречат данным, опубликованным разработчиками вакцины о наличии нейтрализующих антител в сыворотках вакцинированных (Ryzhikov et al., 2021).

### Предсказание МНС I/МНС II эпитопов в вакцинном антигене

Для презентации на поверхности неиммунных клеток белок должен производиться внутри самой клетки или каким-то другим способом оказываться в свободном виде в ее цитоплазме (интернализироваться) – такой путь формирования клеточного ответа подходит для векторных и мРНК-вакцин (в этом случае антиген нарабатывается внутри клеток), но не для субъединичных и цельновирионных. Пептидная вакцина «ЭпиВакКорона» в этом отношении не отличается от инактивированных – крупный белок (>100 kDa) без сродства к клеточным рецепторам может попасть в клетку с помощью макропиноцитоза (Bloomfield and Kay, 2016; Kerr and Teasdale, 2009), однако в неиммунных клетках этот способ интернализации преимущественно связан с расщеплением белков до аминокислот без последующей презентации, поскольку макропиносома сливается с лизосомой внутри клетки (Bloomfield and Kay, 2016; Kerr and Teasdale, 2009). По-видимому, какое-то количество интернализованных таким образом белков может оказываться в цитоплазме, однако вероятность того, что эпитопы этих белков будут презентированы на МНС I, исчезающе низкая по причине их малого количества (Yewdell et al., 2003). Исключением является так называемая кросс-презентация, в процессе которой поглощаемые фагоцитами внеклеточные антигены презентируются на молекулах МНС I, но для активации этого процесса требуется сигнал цитокинов и колониестимулирующих факторов (Kerr and Teasdale, 2009; Norbury et al., 1995).

Чтобы определить наиболее иммуногенные Т-клеточные эпитопы в составе вакцинного антигена, мы провели предсказание эпитопов с помощью ряда биоинформатических методов.

В настоящее время существуют программные инструменты для картирования иммуногенных эпитопов для молекул МНС и Т-клеточных рецепторов (TCR) по аминокислотной последовательности белка. Эти инструменты довольно точны, поскольку данные эпитопы представляют собой короткие линейные пептиды, которые появляются в клетке в результате протеолиза и процессинга (Murphy and Weaver, 2016). Презентация фрагментов внутриклеточных белков на молекулах МНС I – необходимый для клеточного цитотоксического ответа этап. На поверхности клеток человека существует три типа молекул МНС I (HLA-A, HLA-B и HLA-C). Также существует несколько типов молекул МНС II, необходимых для Т-зависимого гуморального ответа. Наборы молекул HLA отличаются у разных групп людей. Чтобы понять, какие эпитопы белка-носителя будут презентироваться у большей части населения России, мы провели расчет аффинности различных участков белка к МНС I и МНС II и затем расчет иммуногенности комплексов этих участков с молекулами МНС I для разных аллелей HLA-A и HLA-B. Для расчета иммуногенности комплексов пептид:МНС I в анализ брали только пептиды, аффинные к МНС I со значением Score > 0.5, во втором столбце Таблицы 1 обозначено общее количество таких пептидов, а в третьем - доля пептидов из MBP среди всех пептидов со Score>0.5

В результате проведенного предсказания МНС I эпитопов в последовательностях пептидов и белка-носителя было обнаружено, что бактериальная часть белка-носителя чрезвычайно богата эпитопами для МНС I. Фрагменты бактериального белка составляют в среднем половину от всех аффинных к МНС I эпитопов для распространенных в России аллелей HLA (приблизительно от 40 до 60 процентов в зависимости от аллеля; см. Таблицу 1). Наиболее удачный с точки зрения предсказанных эпитопов аллель - HLA-A\*03 - не имеет ни одного пептида из MBP со Score > 0.88.

Поиск иммуногенных для Т-клеток комплексов пептидов с молекулами МНС I по аллельным вариантам HLA-A\*01, HLA-A\*02, HLA-A\*24, HLA-B\*07, HLA-B\*15, HLA-B\*35, HLA-B\*40 и HLA-B\*44 показывает, что эпитопы из MBP-6Н более иммуногенны для TCR, чем эпитопы нуклеокапсидного белка в комплексе с большинством аллельных вариантов МНС I. Полная таблица эпитопов с рассчитанными показателями представлена в Приложении (Таблица П1).

В результате предсказания МНС II эпитопов в последовательностях антигена «ЭпиВакКороны» было установлено, что для распространенных в России аллельных вариантов HLA-DPA1\*01:03/DPB1\*04:01 и HLA-DPA1\*02:01/DPB1\*14:01 доля эпитопов из полиаспарагинового линкерного участка составляет 40 и 45% от 20 результатов с наивысшим значением IC50 соответственно (Таблица П2 Приложения). МНС II эпитопы в составе самих вакцинных пептидов не обладают значимым сродством к МНС II.

Таблица 1. Расчет доли аффинных к МНС I эпитопов в составе бактериального компонента антигена ЭпиВакКороны

Аллель HLA	Эпитопы со значением score > 0.5 (n)	Количество эпитопов из MBP-6Н в n	% эпитопов из MBP-6Н в n
HLA-A*01	10	4	40
HLA-A*02	17	11	64,71
HLA-A*03	14	6	42,86
HLA-A*24	8	5	62,5
HLA-B*07	8	4	50
HLA-B*15	23	9	39,13
HLA-B*35	9	4	44,44
HLA-B*40	9	6	66,67
HLA-B*44	12	7	58,33
Среднее±SD	12,22±5,04	6,22±2,44	52,07±11,08

### Проблема конформационного несоответствия пептида и соответствующего ему участка полноразмерного S-белка

Обеспокоенность вызывает и тот факт, что ни один из вошедших в финальную композицию пептидов не совпадает с наиболее иммуногенными линейными эпитопами спайк-белка. Картирование нейтрализующих линейных В-клеточных эпитопов проводилось несколькими разными коллективами авторов (Yi et al., 2020; Chek et al., 2020; Li et al., 2020; Farrera-Soler et al., 2020). Согласно данным этих исследований, антитела, аффинные к участкам S-белка, которым соответствуют пептиды «ЭпиВакКороны», образуются менее, чем у 5% реконвалесцентов.

Как правило, линейные пептиды плохо подходят для иммунизации с целью получения антител к полноразмерному белку из-за несовпадения конформаций пептидов и соответствующих им участков белка. Антипептидные антитела иногда могут связывать

полноразмерный антиген – например, в тех случаях, когда используют пептиды из гибких участков без вторичной структуры или с N- или С-конца (Godis, 1996).

Два пептида «ЭпиВакКороны» соответствуют участку 1181-1211 в регионе HR2, который представляет из себя мотив coiled coil и состоит из трех альфа-спиралей. Конформация этих пептидов в растворе примерно соответствует таковой в самом HR2, однако этот участок обладает крайне слабой иммуногенностью и, более того, его связывание антителами не приводит к нейтрализации вируса. Интересно, что остаток N1194 гликозилирован, однако неизвестно, мешает ли гликан на полноразмерном белке связыванию антитела, выработанного к негликозилированному пептиду.

Пептид, соответствующий участку 454-477, расположенному в рецептор-связывающем домене S-белка, в растворе представляет из себя две альфа-спирали, соединенные линкером (Рис. 3а). Однако участок, которому он должен соответствовать, имеет совершенно иную пространственную структуру (Рис. 3б). В рецептор-связывающем домене располагается значительная часть нейтрализующих эпитопов, поэтому антитела к этому региону обладают высоким нейтрализующим потенциалом, однако при столь значительном конформационном несоответствии антипептидное антитело, по-видимому, вовсе неспособно связать какой-либо эпитоп на полноразмерном белке. Эта гипотеза согласуется с отрицательными результатами ИФА при использовании любых тест-систем помимо «SARS-CoV-2-IgG-Вектор», состав антигена которой остается неизвестным.

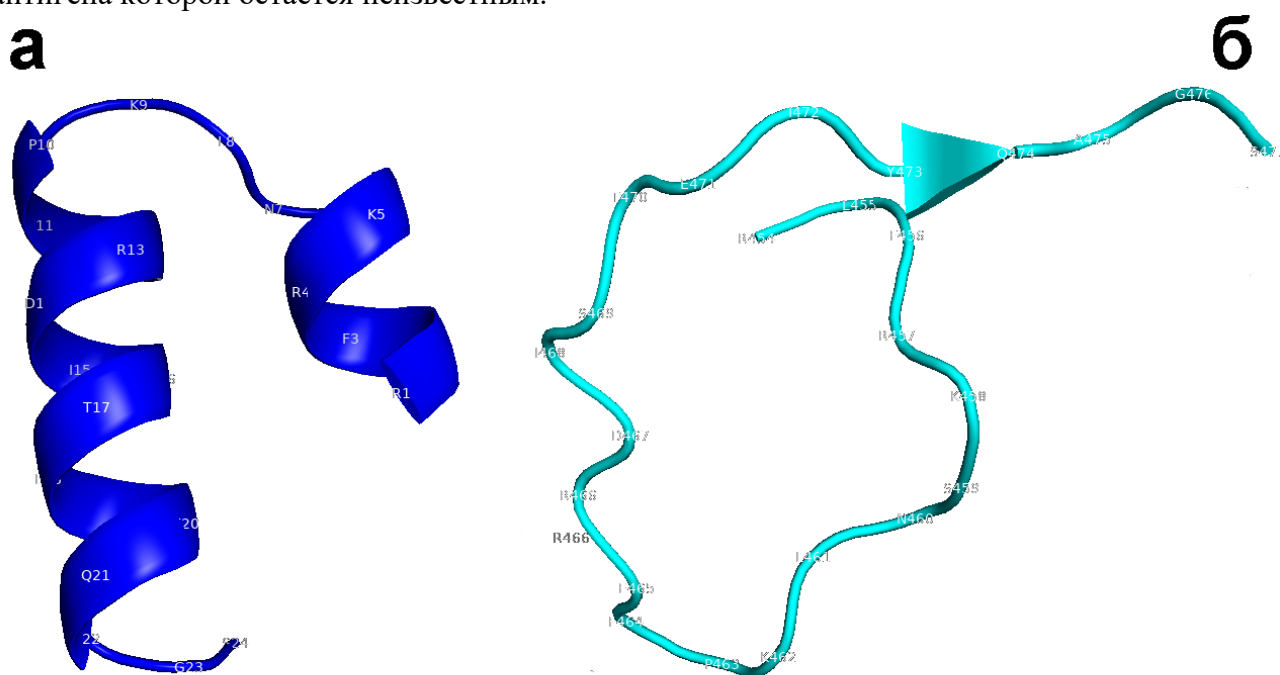


Рис. 3. Конформации пептида 454-477 «ЭпиВакКороны» (а) и соответствующего ему участка полноразмерного S-белка коронавируса SARS-CoV-2 (PDB ID: 6VXX; Walls et al., 2020).

### 3. Обсуждение.

Вопросы к протективности антител, индуцируемых ЭпиВакКороной, появились вместе с первыми результатами специального ИФА-теста, когда при положительном спецтесте наблюдались отрицательные результаты всех остальных коммерчески доступных ИФА. Иммунизация пептидами подразумевает аффинность антипептидных антител к



соответствующим эпитопам полноразмерного белка. Однако, согласно заверениям разработчика (Роспотребнадзор и «Вектор», 2020), напряженность поствакцинального иммунитета после применения «ЭпиВакКороны» можно оценить только с помощью тест-системы «SARS-CoV-2-IgG-Вектор» (ТУ 21.20.23-093-05664012-2020, РЗН 2020/10017), поскольку формирующиеся в результате вакцинации антитела формируют «узкий пул» и занимают лишь малую часть доступных эпитопов, что приводит к отсутствию сигнала в ИФА. К сожалению, это утверждение вызывает большие сомнения по ряду нижеописанных причин.

1. С одной молекулой антигена не может связаться большое количество антител одновременно. Это следует из относительных размеров молекул. Тример спайк-белка коронавируса и связанные с ним переменные домены нейтрализующих антител в соотношении 1:1 приведены на Рис. 4.

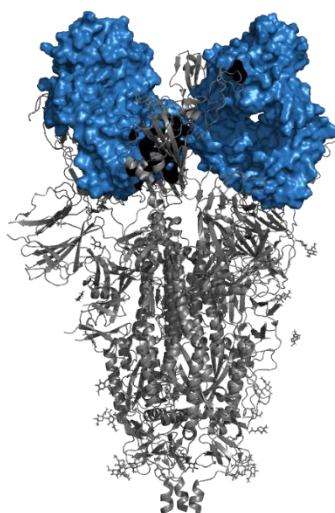


Рис. 4. Тример S-белка с Fab-фрагментами нейтрализующих антител, соотношение 1:1. Синий – Fab-фрагменты антител, серый – субъединицы S-белка. PDB ID: 6ZDH (Zhou et al., 2020).

2. Известно, что связывание моноклональных антител (mAb), аффинных строго к одному эпитопу S-белка, вызывает детектируемый сигнал в ИФА (Zheng et al., 2020). В указанной работе видимый сигнал от связывания mAb со спайк-белком наблюдали при концентрации mAb 10-100 нг/мл, тогда как медианная концентрации IgG к рецептор-связывающему домену у переболевших в работе (Zeng et al., 2021) составила 16,5 мкг/мл – на три порядка больше.

3. В патенте №2743595 (Рыжиков и соавт., 2021) в таблицах 1 и 2 приведены довольно высокие титры антител к полноразмерному спайк-белку у экспериментальных животных. Почему высокие титры IgG к S белку, которые обнаруживаются у животных, не должны определяться и не определяются у людей? Интересно отметить, что высокие титры IgG к S-белку у животных – это не единственное противоречие в патенте. Например, антитела к пептидам 6 и 7, расположенным в S2-субъединице, связывали полноразмерный антиген (крайний правый столбец таблиц 1 и 2 патента). При этом по словам А. Б. Рыжикова в качестве полноразмерного антигена использовалась S1-субъединица, закупленная у китайского производителя (Протокол встречи, 2021).

Таким образом, тезис о «меньшем разнообразии формирующихся антител» представляется несостоятельным в контексте обсуждения отрицательных результатов ИФА с полноразмерным антигеном S-белка и не может быть аргументом, оправдывающим такие

результаты. Рассуждения на тему секреторных IgA также не имеют под собой оснований: по меньшей мере сывороточных IgA, способных связывать S-белок, в сыворотках вакцинированных «ЭпиВакКороной» добровольцев нам обнаружить не удалось (данные не показаны), разработчик же никаких данных такого рода в своих публикациях не приводил.

Состав антигена тест-системы SARS-CoV-2-IgG-Вектор неизвестен. Необходимо отметить, что эта тест-система не использовалась разработчиком при оценке сероконверсии в первых фазах КИ; вместо нее использовалась незарегистрированная в Российской Федерации тест-система «Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител к антигенам вакцины для профилактики COVID-19 «Вектор ИФА Корона-АТ» для научных исследований» (ТУ 21.10.60-082-05664012-2020) и SARS-CoV-2-ИФА-Вектор (ТУ 21.20.23-093-05664012-2020), РЗН 2020/12952) с цельновирионным инаktivированным антигеном (Ryzhikov et al., 2021). Чувствительность и специфичность всех перечисленных тест-систем невозможно независимо проверить, а открытых данных по этим параметрам нет. Тест-системы нельзя приобрести ни для коммерческого использования, ни для исследований.

Не внушают оптимизма и первые открытые данные по профилактике COVID-19 с помощью «ЭпиВакКороны». Выводы о высокой эффективности вакцины в работе (Плоскирева и соавт., 2021) не сочетаются с представленными в статье данными. В исследовании описываются гражданские испытания вакцины, которые не являются клиническими испытаниями. В этих испытаниях не определялись самые важные критерии эффективности вакцины, а именно способность индуцировать защитный иммунитет против коронавирусной инфекции или хотя бы уровень вируснейтрализующих антител. Авторами оценивается сероконверсия к вакцинным антигенам. Однако, как мы продемонстрировали в данной работе, эти поствакцинальные антитела не способны нейтрализовать вирус и даже связывать S-белок коронавируса SARS-CoV-2. Также в исследовании (Плоскирева и соавт., 2021) нет контрольной группы. Доля заболевших и умерших после полного курса вакцинации не имеет достоверных отличий от средней доли заболевших и умерших по Москве за указанный период (Стопкоронавирус.рф, 2020). Исследования с отсутствующим контролем наблюдались с «ЭпиВакКороной» и раньше. Так, в статье, описывающей I-II фазы клинических испытаний (Ryzhikov et al., 2021), в реакции нейтрализации отсутствует положительный контроль. Строго говоря, обсуждаемое исследование (Плоскирева и соавт., 2021) не является научной работой в общепринятом смысле, поскольку в нем не приведено достаточно оснований для выводов об эффективности вакцины, а сероконверсия оценивается безотносительно протективной способности выявляемых антител.

Приведенные результаты предсказания эпитопов МНС I/МНС II не претендуют на высокую исследовательскую значимость сами по себе, однако они достаточно четко отражают, насколько неудачно сконструирован антиген с точки зрения формирования клеточного ответа. Основной проблемой для формирования цитотоксического клеточного ответа бесспорно являются не эпитопы бактериального белка, а затруднения с проникновением в клетку и последующей презентацией на МНС I по причинам, описанным в начале соответствующего подраздела Результаты исследования. Остается неизвестным, насколько высокоаффинные участки линкера белка-носителя помешают формированию специфических к эпитопам нуклеокапсидного белка Th2-лимфоцитов. Известно, что клеточно-ориентированные прототипы пептидных вакцин не используют белки-носители (Soema et al., 2015) и представляют собой либо длинные пептиды (Pleguezuelos et al., 2012; Francis et al., 2015), либо более короткие пептиды, но иммобилизованные на «виросомы» или другие подложки (Ichihashi et al., 2011; Soema et al., 2015). Универсальные Т-клеточные эпитопы применяются в пептидных прототипах (Alexander et al., 2004), однако они используются скорее для разового усиления цитокинового сигнала и повышения иммуногенности конъюгата, чем для формирования пула специфических протективных Т-клеток.

Бесспорно, как и заявляет разработчик (Роспотребнадзор и ГНЦ «Вектор», 2020), вакцина действительно индуцирует формирование узкого пула антител. Однако они неспособны связывать наиболее значимый вирусный антиген и нейтрализовать вирус. Вместе с узким пулом антител мы получаем и широкий пул хелперных Т-клеток 2 типа, значительная часть которых распознает линкерный участок или эпитопы бактериального белка и, как и поствакцинальные антитела, не обладает каким-либо протективным эффектом.

#### **4. Материалы и методы.**

*Отбор участников для исследований.* В исследование иммуногенности вакцины вошли 120 добровольцев 3 фазы клинических испытаний «ЭпиВакКороны», соответствующих критериям отбора, перечисленным в протоколе испытания (Maksyutov et al., 2020). 19 участников исследования, привитых в рамках гражданской вакцинации, соответствовали тем же критериям, однако достоверных данных о ВИЧ, гепатит- и сифилис-статусе этих участников нет. В исследование гуморального ответа вошли 28 добровольцев 18-60 лет без серьезных хронических заболеваний. Участниками являлись как добровольцы 3 фазы клинических испытаний «ЭпиВакКороны» с положительной сероконверсией к антигенам вакцины (n=13), так и привитые ей в рамках гражданской вакцинации (n=5). У участников исследования, привитых «ЭпиВакКороной» в рамках гражданской вакцинации, на момент взятия крови прошло более 32 дней от первой инъекции – согласно (Ryzhikov et al., 2021), это достаточный срок для формирования антител у всех участников. У всех вакцинированных «ЭпиВакКороной» в рамках клинических испытаний на момент взятия крови прошло более 42 дней от первой инъекции вакцины. Также в исследование вошли в разное время переболевшие COVID-19 и вакцинированные Спутником добровольцы.

*Отбор и транспортировка образцов.* Венозную кровь добровольцев собирали в вакуумные пробирки с ЭДТА-K2, центрифугировали при 1000g и затем отбирали по 1 мл сыворотки в чистые микропробирки. Пробы хранили при -20°C до окончания сбора образцов (период 03.02.2021-06.02.2021) и затем транспортировали к месту проведения эксперимента в термоконтейнере с сухим льдом и хладоэлементами.

*Исследование иммуногенности вакцины.* Участники исследования проходили рекомендованное разработчиком тестирование с помощью тест-системы «SARS-CoV-2-IgG-Вектор». Данные брали в анализ по факту наличия официального бланка с результатом.

*Иммуноферментный анализ и реакция нейтрализации вируса SARS-CoV-2.* Иммуноферментный анализ проводили с помощью тест-систем производства Вектор-Бест (Россия) и аналогичных им коммерческих наборов реагентов. Количественные значения выражали в условных единицах коэффициента позитивности (далее – КП), вычисляемого согласно инструкции производителя тест-системы.

Для проведения реакции нейтрализации в 96-луночных культуральных планшетах выращивали до конфлюентности 100% монослой культуры клеток (КК) Vero E6 не более двухсуточного возраста. Для выращивания КК использовали культуральную среду Игла MEM с 10% фетальной бычьей сывороткой и добавлением 1% антибиотика/антимикотика производства Gibco. В анализ брали нативные сыворотки, замороженные-размороженные не более 2 раз. Для приготовления реакционной смеси использовали вспомогательные 96-луночные полистироловые стерильные планшеты с U-образными лунками, в которые вносили

по 100 мкл стерильного физиологического раствора для предотвращения коагуляции сыворотки. В первую лунку каждого ряда вносили 100 мкл исследуемой сыворотки и далее проводили серийные двукратные разведения образца, перенося из лунки в лунку по 100 мкл со сменой пластиковых наконечников на каждом переносе. Затем в каждую лунку вносили суспензию коронавируса (штамм SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020 (Chernov et al., 2020)) в дозе 100 ЦПЕ50 (цитопатических единиц). Доза подобрана как нивелирующая артефакты сывороток и компонентов среды, но не преодолевающая специфический нейтрализующий эффект. Вспомогательный планшет со смесями инкубировали 30 мин при 37°C, затем переносили по 100 мкл смеси из лунок вспомогательного планшета в соответствующие лунки 96-луночного планшета со сформированным монослоем клеток Vero, не убирая ростовую среду и не промывая монослой. Планшет инкубировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 5% CO<sub>2</sub> и повышенной влажности 4 суток, а затем учитывали результат визуально по появлению цитопатического действия (ЦПД) в лунках без нейтрализации с помощью инвертированного микроскопа, прокрашивая затем монослой генцианвиолетом.

В качестве контролей использовали интактную сыворотку человека (К-) и сыворотку тяжело переболевшего COVID-19 (К+) с диагнозом, неоднократно подтверждённым положительными результатами ПЦР и иммуноферментного анализа на IgG к белкам S и N. Лунки с монослоем Vero и внесенными 100 мкл физиологического раствора являлись контролем монослоя. Разведения, в лунках которых монослой Vero оставался стабильным, оценивались как вируснейтрализующие. Лунки, в которых наблюдалось тотальное ЦПД с округлением клеток и отслоением от подложки, оценивались как несостоятельные по способности нейтрализовать вирус. Т.е., при отсутствии ЦПД в разведениях сыворотки 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 и т.д. и появлении ЦПД в последующих разведениях последнее разведение сыворотки, способное подавлять дозу вируса, учитывалось как нейтрализующий титр в РН. При этом интактная сыворотка не должна подавлять инфекционность вируса вообще, либо следовало бы вычитать титр интактной. Трёхкратное воспроизведение одного и того же разведения как конечного по нейтрализации оценивалось как конечный результат и регистрировалось.

Статистическую значимость различий между группами оценивали попарно с помощью критерия Манна-Уитни. При множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони. Графическую визуализацию результатов осуществляли с помощью программного пакета Origin 9.5.

*Картирование эпитопов для MHC I, MHC II и TCR.* Поиск иммуногенных Т-клеточных эпитопов и предсказание связывания эпитопов с молекулами MHC I и MHC II для различных аллелей HLA проводили с помощью соответствующих инструментов сервера IEDB (Reynisson et al., 2020; Jensen et al., 2018; Calis et al., 2013). Данные по распространенности аллельных вариантов HLA получали с помощью инструмента Allele Frequency Net Database (Gonzalez-Galarza et al., 2020).

*Моделирование структур пептидов.* Фолдинг пептидов моделировали с помощью сервера PEPFOLD3 (Lamiable et al., 2016). Визуализацию PDB-структур белков и пептидов осуществляли с помощью PyMol (DeLano, 2002).

## 5. Выводы

Из полученных результатов можно сделать следующие выводы:

- 1) Иммунологическая эффективность вакцины «ЭпиВакКорона» составляет порядка 70%. Вероятно, это результат неудачной конструкции вакцинного антигена;
- 2) «ЭпиВакКорона» неспособна индуцировать образование антител, связывающих S-белок коронавируса SARS-CoV-2. Поскольку этот белок является единственным известным на сегодняшний день мишенью гуморального ответа, механизм действия вакцины представляется необъяснимым;
- 3) «ЭпиВакКорона» неспособна индуцировать выработку вируснейтрализующих антител. Сыворотки вакцинированных этой вакциной никаким образом не блокируют проникновение вируса в клетку и его цитопатическое действие;
- 4) Пептид, соответствующий участку рецептор-связывающего домена, имеет конформацию, которая сильно отличается от пространственной структуры этого участка в полноразмерном белке. Вероятно, это является одной из причин, по которым «ЭпиВакКорона» не способствует формированию антител, связывающих S-белок, в том числе вируснейтрализующих антител;
- 5) Присутствие MBP-6Н в составе белка-носителя, по-видимому, может способствовать формированию пула CD4+ лимфоцитов, специфичных к антигенам, не имеющим ничего общего с белками коронавируса и не способствующих защите от заболевания.

**Финансирование.** Данное исследование не получало финансирования. Все расходы осуществлялись за счет личных средств исследователей и добровольцев.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Доступность данных.** По запросу авторы готовы предоставить обезличенные бланки анализов участников исследования и первичные экспериментальные данные.

## Литература

1. Alexander J. et al. Development of experimental carbohydrate-conjugate vaccines composed of *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharides and the universal helper T-lymphocyte epitope (PADRE®) // *Vaccine*. – 2004. – Т. 22. – №. 19. – С. 2362-2367.
2. Bao Y. et al. Dynamic anti-spike protein antibody profiles in COVID-19 patients // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2021. – Т. 103. – С. 540-548.
3. Bittle J. L. et al. Protection against foot-and-mouth disease by immunization with a chemically synthesized peptide predicted from the viral nucleotide sequence // *Nature*. – 1982. – Т. 298. – №. 5869. – С. 30-33.
4. Bloomfield G., Kay R. R. Uses and abuses of macropinocytosis // *Journal of cell science*. – 2016. – Т. 129. – №. 14. – С. 2697-2705.
5. Calis J. J. A. et al. Properties of MHC class I presented peptides that enhance immunogenicity // *PLoS Comput Biol*. – 2013. – Т. 9. – №. 10. – С. e1003266.
6. Chepurnov A. A. et al. Antigenic properties of SARS-CoV-2/human/RUs/nsk-FRCFtM-1/2020 coronavirus isolate from a patient in Novosibirsk // *Jurnal Infektologii*. – 2020. – Т. 12. – №. 3.
7. DeLano W. L. et al. Pymol: An open-source molecular graphics tool // *CCP4 Newsletter on protein crystallography*. – 2002. – Т. 40. – №. 1. – С. 82-92.
8. DiMarchi R. et al. Protection of cattle against foot-and-mouth disease by a synthetic peptide // *Science*. – 1986. – Т. 232. – №. 4750. – С. 639-641.
9. Farrera-Soler L. et al. Identification of immunodominant linear epitopes from SARS-CoV-2 patient plasma // *PloS one*. – 2020. – Т. 15. – №. 9. – С. e0238089.
10. Francis J. N. et al. A novel peptide-based pan-influenza A vaccine: a double blind, randomised clinical trial of immunogenicity and safety // *Vaccine*. – 2015. – Т. 33. – №. 2. – С. 396-402.
11. Goding J. W. *Monoclonal antibodies: principles and practice*. – Elsevier, 1996.
12. Gonzalez-Galarza F. F. et al. Allele frequency net database (AFND) 2020 update: gold-standard data classification, open access genotype data and new query tools // *Nucleic acids research*. – 2020. – Т. 48. – №. D1. – С. D783-D788.
13. Ichihashi T. et al. Cross-protective peptide vaccine against influenza A viruses developed in HLA-A\* 2402 human immunity model // *PloS one*. – 2011. – Т. 6. – №. 9. – С. e24626.
14. Jensen K. K. et al. Improved methods for predicting peptide binding affinity to MHC class II molecules // *Immunology*. – 2018. – Т. 154. – №. 3. – С. 394-406.
15. Kerr M. C., Teasdale R. D. Defining macropinocytosis // *Traffic*. – 2009. – Т. 10. – №. 4. – С. 364-371.
16. Lamiable A. et al. PEP-FOLD3: faster de novo structure prediction for linear peptides in solution and in complex // *Nucleic acids research*. – 2016. – Т. 44. – №. W1. – С. W449-W454.
17. Li Y. et al. Linear epitopes of SARS-CoV-2 spike protein elicit neutralizing antibodies in COVID-19 patients // *Cellular & molecular immunology*. – 2020. – Т. 17. – №. 10. – С. 1095-1097.

18. Maksyutov R. A. et al. (November 18, 2020 – September, 2021) Study of the Tolerability, Safety, Immunogenicity and Preventive Efficacy of the EpiVacCorona Vaccine for the Prevention of COVID-19 // <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04780035> – Identifier: NCT04780035. – 2020.
19. Murphy K., Weaver C. Janeway's immunobiology. – Garland science, 2016.
20. Ni L. et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals // *Immunity*. – 2020. – T. 52. – №. 6. – C. 971-977. e3.
21. Norbury C. C. et al. Class I MHC presentation of exogenous soluble antigen via macropinocytosis in bone marrow macrophages // *Immunity*. – 1995. – T. 3. – №. 6. – C. 783-791.
22. Pleguezuelos O. et al. Synthetic Influenza vaccine (FLU-v) stimulates cell mediated immunity in a double-blind, randomised, placebo-controlled Phase I trial // *Vaccine*. – 2012. – T. 30. – №. 31. – C. 4655-4660.
23. Poh C. M. et al. Two linear epitopes on the SARS-CoV-2 spike protein that elicit neutralising antibodies in COVID-19 patients // *Nature communications*. – 2020. – T. 11. – №. 1. – C. 1-7.
24. Reynisson B. et al. NetMHCpan-4.1 and NetMHCIIpan-4.0: improved predictions of MHC antigen presentation by concurrent motif deconvolution and integration of MS MHC eluted ligand data // *Nucleic acids research*. – 2020. – T. 48. – №. W1. – C. W449-W454.
25. Ryzhikov A. B. et al. A single blind, placebo-controlled randomized study of the safety, reactogenicity and immunogenicity of the “EpiVacCorona” Vaccine for the prevention of COVID-19, in volunteers aged 18–60 years (phase I-II) // *Russian Journal of Infection and Immunity*. – 2021. – T. 11. – №. 2. – C. 283-296.
26. Ryzhikov A. B. et al. Immunogenicity and protectivity of the peptide vaccine against SARS-CoV-2 // *Annals of the Russian academy of medical sciences*. – 2021. – T. 76. – №. 1. – C. 5-19.
27. Skwarczynski M., Toth I. Peptide-based synthetic vaccines // *Chemical science*. – 2016. – T. 7. – №. 2. – C. 842-854.
28. Soema P. C. et al. Development of cross-protective influenza A vaccines based on cellular responses // *Frontiers in immunology*. – 2015. – T. 6. – C. 237.
29. Soema P. C. et al. Influenza T-cell epitope-loaded virosomes adjuvanted with CpG as a potential influenza vaccine // *Pharmaceutical research*. – 2015. – T. 32. – №. 4. – C. 1505-1515.
30. Taboga O. et al. A large-scale evaluation of peptide vaccines against foot-and-mouth disease: lack of solid protection in cattle and isolation of escape mutants // *Journal of virology*. – 1997. – T. 71. – №. 4. – C. 2606.
31. Walls A. C. et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein // *Cell*. – 2020. – T. 181. – №. 2. – C. 281-292. e6.
32. Wang C. Y. et al. Effective synthetic peptide vaccine for foot-and-mouth disease in swine // *Vaccine*. – 2002. – T. 20. – №. 19-20. – C. 2603-2610.
33. Yewdell J. W., Reits E., Neefjes J. Making sense of mass destruction: quantitating MHC class I antigen presentation // *Nature Reviews Immunology*. – 2003. – T. 3. – №. 12. – C. 952-961.
34. Yi Z. et al. Functional mapping of B-cell linear epitopes of SARS-CoV-2 in COVID-19 convalescent population // *Emerging microbes & infections*. – 2020. – T. 9. – №. 1. – C. 1988-1996.

35. Zeng W. et al. Characterization of SARS-CoV-2-specific antibodies in COVID-19 patients reveals highly potent neutralizing IgA //Signal transduction and targeted therapy. – 2021. – Т. 6. – №. 1. – С. 1-3.
36. Zheng Z. et al. Monoclonal antibodies for the S2 subunit of spike of SARS-CoV-1 cross-react with the newly-emerged SARS-CoV-2 //Eurosurveillance. – 2020. – Т. 25. – №. 28. – С. 2000291.
37. Zhou D. et al. Structural basis for the neutralization of SARS-CoV-2 by an antibody from a convalescent patient //Nature structural & molecular biology. – 2020. – Т. 27. – №. 10. – С. 950-958.
38. Лагуткин Д. А., Криницкий А. А. «ЭпиВакКорона» глазами участников испытаний и ученых-биологов / Троицкий Вариант – Наука. – 2021. – №6(325). – С. 10-11, 13.
39. Плоскирева А. А. и соавт. Первый опыт вакцинопрофилактики коронавирусной инфекции COVID-19 пептидной вакциной «ЭпиВакКорона» //COVID19-PREPRINTS.MICROBE.RU. <https://doi.org/10.21055/preprints-3111945>. – 2021.
40. Протокол встречи сотрудников Роспотребнадзора, ГНЦ «Вектор» и группы добровольцев / <https://epivakorona.com/protokol.vstrechi02022021.htm> // epivakorona.com. 2 февраля 2021 года.
41. Роспотребнадзор и ГНЦ «Вектор» ТОП-20 вопросов о вакцине ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» / [http://rospotrebнадzor.ru/about/info/news/news\\_details.php?ELEMENT\\_ID=15649](http://rospotrebнадzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=15649) // Роспотребнадзор. 27 января 2021 года.
42. Рыжиков А. Б. и соавт. Вакцинная композиция против коронавирусной инфекции COVID-19 // Патент России №2743595. – 2021. – Бюл. №5
43. Стопкоронавирус.рф – Официальный интернет-ресурс для информирования населения по вопросам коронавируса. – 2021.



## Приложение.

Таблица П1. Т-клеточные эпитопы в составе вакцинного антигена.

Расшифровка: столбец 1 содержит наименование аллеля HLA, в столбце 2 – иммуногенность для Т-клеток (Calis et al., 2013), столбец 3 – последовательность аминокислот в пептиде, столбец 4 – номер пептида «ЭпиВакКороны» или компонент носителя (N или MBP), столбец 5 – аффинность пептида к МНС I (Reynisson et al., 2020). Красным обозначены эпитопы из бактериального белка MBP.

МНС I allele	Tcell immunogenicity score	Peptide	Seq	МНС I binding score
HLA-A*01	0.19913	AADGGYAFKY	MBP	0.907989
HLA-A*01	0.10348	VTPSGTWLTY	N	0.709701
HLA-A*01	0.085	SSPDDQIGYY	N	0.97298
HLA-A*01	0.03532	NSSPDDQIGY	N	0.652103
HLA-A*01	-0.0083	LIDLQELGKY	3	0.791918
HLA-A*01	-0.26914	SNIDTSKVNY	MBP	0.5745
HLA-A*01	0.067	SSPDDQIGY	N	0.671997
HLA-A*01	0.06124	SPDDQIGYY	N	0.62606
HLA-A*01	-0.05876	AVEALSLIY	MBP	0.825038
HLA-A*01	-0.29398	NIDTSKVNY	MBP	0.826051
HLA-A*02	0.40893	KTWEEIPAL	MBP	0.885602
HLA-A*02	0.38953	KLYPFTWDAV	MBP	0.711453
HLA-A*02	0.33808	KLYPFTWDA	MBP	0.842624
HLA-A*02	0.26234	LLTDEGLEAV	MBP	0.605773
HLA-A*02	0.2356	YLLTDEGLEA	MBP	0.517029
HLA-A*02	0.20371	KLIAYPIAV	MBP	0.974782
HLA-A*02	0.05239	NLNESLIDL	2	0.618877
HLA-A*02	-0.00282	ALKSYEEEL	MBP	0.557348
HLA-A*02	-0.0101	RLNEVAKNL	2	0.652653
HLA-A*02	-0.01446	LLDRLNQL	N	0.955818
HLA-A*02	-0.04359	KLEEKFPQV	MBP	0.980917
HLA-A*02	-0.17274	KLDDKDPNF	N	0.551611
HLA-A*02	0.23787	LTDEGLEAV	MBP	0.699979
HLA-A*02	0.05068	AQSGLLAEI	MBP	0.758251
HLA-A*02	-0.02622	EIMPNIQPM	MBP	0.530063
HLA-A*02	-0.04022	LQLPQGTTL	N	0.704713
HLA-A*02	-0.1528	AQFAPSASA	N	0.561668
HLA-A*03	0.3048	KSYEEELAK	MBP	0.889952
HLA-A*03	0.2834	SIAEAAFNK	MBP	0.81128
HLA-A*03	0.22336	YKTFPPTEPK	N	0.738659
HLA-A*03	0.13406	GVTVLPTFK	MBP	0.631596
HLA-A*03	0.1306	KTFPPTEPK	N	0.985561
HLA-A*03	0.04661	SLIDLQELGK	3	0.677463
HLA-A*03	0.01273	KTFPPTEPKK	N	0.986352

HLA-A*03	-0.05598	AGINAASPNK	MBP	0.587788
HLA-A*03	-0.07922	KSAAEASKK	N	0.646546
HLA-A*03	-0.0935	GINAASPNK	MBP	0.819848
HLA-A*03	-0.10638	KLDDKDPNFK	N	0.651227
HLA-A*03	-0.21307	CRLFRKSNLK	1	0.517896
HLA-A*03	-0.26166	LPTFKGQPSK	MBP	0.593301
HLA-A*03	-0.28759	RLFRKSNLK	1	0.978678
HLA-A*24	0.23014	AYPIAVEAL	MBP	0.661339
HLA-A*24	0.12118	NYGVTVLPTF	MBP	0.812303
HLA-A*24	0.07155	NLQEPYFTW	MBP	0.526439
HLA-A*24	0.00554	KHWPQIAQF	N	0.531462
HLA-A*24	-0.03397	MFNLQEPYF	MBP	0.526914
HLA-A*24	-0.08844	QFAPSASAFF	N	0.560166
HLA-A*24	-0.09987	QFAPSASAF	N	0.632306
HLA-A*24	-0.2422	AFQDKLYPF	MBP	0.71609
HLA-B*07	0.34101	SPRWYFYYL	N	0.848089
HLA-B*07	0.02894	KFPRGQGVPI	N	0.912587
HLA-B*07	-0.00164	FPRGQGVPI	N	0.971411
HLA-B*07	-0.07592	QPSKPFVGV	MBP	0.85131
HLA-B*07	-0.11666	QPSKPFVGV	MBP	0.666907
HLA-B*07	-0.20542	KPRQKRTAT	N	0.856789
HLA-B*07	-0.23288	MPNIPQMSA	MBP	0.627495
HLA-B*07	-0.27384	MPNIPQMSAF	MBP	0.741035
HLA-B*15	0.22131	NQRNAPRITF	N	0.666095
HLA-B*15	0.21503	LAKEFLENY	MBP	0.645555
HLA-B*15	-0.00587	KAYNVTQAF	N	0.891442
HLA-B*15	-0.01033	LMFNLQEPY	MBP	0.745448
HLA-B*15	-0.02074	LLNKHIDAY	N	0.870339
HLA-B*15	-0.05692	KMKDLSRWY	N	0.77861
HLA-B*15	-0.06462	RQKRTATKAY	N	0.957244
HLA-B*15	-0.12245	GLAEVGKKF	MBP	0.718929
HLA-B*15	-0.14232	LQELGKYEQY	3	0.505374
HLA-B*15	-0.17446	AQFAPSASAF	N	0.986204
HLA-B*15	-0.18238	TQHGKEDLKF	N	0.573871
HLA-B*15	-0.41854	RQKKQQTIVL	N	0.592197
HLA-B*15	-0.28678	NIDTSKVNY	MBP	0.631944
HLA-B*15	0.41627	YPFTWDVRY	MBP	0.694225
HLA-B*15	0.24182	WAHDRFGGY	MBP	0.524483
HLA-B*15	0.24003	TPSGTWLTY	N	0.829722
HLA-B*15	0.20642	FERDISTEY	1	0.513578
HLA-B*15	0.11966	IAADGGYAF	MBP	0.790158
HLA-B*15	0.0601	ELIRQGTDY	N	0.76521
HLA-B*15	-0.02626	AVEALSLIY	MBP	0.653701
HLA-B*15	0.01268	ALMFNLQEPY	MBP	0.540496
HLA-B*15	-0.02175	ILLNKHIDAY	N	0.58283

HLA-B*15	-0.30083	RLNQLESKM	N	0.57049
HLA-B*35	0.12256	VTPSGTWLTY	N	0.676352
HLA-B*35	0.06844	SPDDQIGYY	N	0.919394
HLA-B*35	0.15108	YPIAVEALSL	MBP	0.582484
HLA-B*35	0.05582	LPNNTASWF	N	0.738148
HLA-B*35	-0.11035	IPQMSAFWY	MBP	0.693806
HLA-B*35	-0.16785	HPDKLEEF	MBP	0.905047
HLA-B*35	0.21126	NPANNAIVL	N	0.576047
HLA-B*35	0.09491	LPAADLDDL	N	0.629283
HLA-B*35	-0.29416	NAASPNKEL	MBP	0.595491
HLA-B*40	0.22131	AKEFLENYLL	MBP	0.684415
HLA-B*40	0.15852	KEIDRLNEV	2	0.808555
HLA-B*40	0.10865	KEFLENYLL	MBP	0.970352
HLA-B*40	0.10425	FERDISTEI	1	0.84839
HLA-B*40	0.07464	MEVTPSGTWL	N	0.668827
HLA-B*40	0.00834	FEKDTGIKV	MBP	0.625551
HLA-B*40	-0.04328	EEIPALDKEL	MBP	0.552028
HLA-B*40	-0.0668	AEITPDKAF	MBP	0.875269
HLA-B*40	-0.10236	GEIMPNIQM	MBP	0.854505
HLA-B*44	0.13618	QELIRQGTDY	N	0.57806
HLA-B*44	0.11186	FERDISTEY	1	0.586808
HLA-B*44	0.09628	QDKLYPFTW	MBP	0.629583
HLA-B*44	-0.0002	LAETPDKAF	MBP	0.510269
HLA-B*44	-0.05185	KIEEGKLVW	MBP	0.625807
HLA-B*44	-0.05859	GMEVTPSGTW	N	0.871281
HLA-B*44	-0.07374	IEEGKLVW	MBP	0.822879
HLA-B*44	-0.07619	MEVTPSGTW	N	0.956843
HLA-B*44	-0.07788	GEIMPNIQM	MBP	0.52959
HLA-B*44	-0.11	AEITPDKAF	MBP	0.990294
HLA-B*44	-0.14498	EEIPALDKEL	MBP	0.791103
HLA-B*44	-0.16256	QELGKYEY	3	0.984568

Таблица П2. МНС II эпитопы в составе антигена «ЭпиВакКороны». Красным отмечены пептиды из линкерного участка белка-носителя.

МНС II allele	Sequence	Peptide	IC50
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	MBP	TNSSNNNNNNNNNN	39053,89
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	MBP	SSNNNNNNNNNNLG	38256,75
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	MBP	QTNSSNNNNNNNNNN	37885,2
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	MBP	NSSNNNNNNNNNNL	37819,67
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	PSDSTGSNQNGERSG	36601,48
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	PPTPEPKDKKKKADE	36587,63
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	MBP	AQTNSSNNNNNNNNNN	36583,67
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	SDSTGSNQNGERSGA	36503,4
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	DSTGSNQNGERSGAR	36075,82

HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	MBP	DAQTNSSSSNNNNNNNN	36012,25
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	PTEPKKDKKKKKADET	35900,21
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	GGPSDSTGSNQNGER	35870,31
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	MBP	SSNNNNNNNNNNNLGI	35859,83
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	GPSDSTGSNQNGERS	35772,64
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	STGSNQNGERSGARS	35409,5
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	FGGPSDSTGSNQNGE	35320,73
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	TFGGPSDSTGSNQNG	35076,23
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	TEPKKDKKKKKADETQ	34771,67
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	N	TGSNQNGERSGARSK	34492,89
HLA-DPA1*01:03/DPB1*04:01	MBP	SNNNNNNNNNNNLGIE	34353,59
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	SSSNNNNNNNNNNNLG	41227,09
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	TNSSSSNNNNNNNNNN	41186,96
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	NSSSNNNNNNNNNNNL	41075,26
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	QTNSSSSNNNNNNNNNN	39957,47
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	SSNNNNNNNNNNNLGI	39314,63
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	PSDSTGSNQNGERSG	39173,66
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	GGPSDSTGSNQNGER	38978,75
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	FGGPSDSTGSNQNGE	38902,49
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	GPSDSTGSNQNGERS	38840,24
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	SNNNNNNNNNNNLGIE	38721,92
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	SDSTGSNQNGERSGA	38569,71
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	AQTNSSSSNNNNNNNN	38057,76
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	NNNNNNNNNNNLGIEG	38045,41
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	MBP	DAQTNSSSSNNNNNNNN	37996,86
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	TFGGPSDSTGSNQNG	37863,07
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	DSTGSNQNGERSGAR	37102,68
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	RRGPEQTQGNFGDQE	36830,7
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	PTEPKKDKKKKKADE	36792,86
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	PTEPKKDKKKKKADET	36278,97
HLA-DPA1*02:01/DPB1*14:01	N	RGPEQTQGNFGDQEL	36164,14