



УДК 577.152.342\*172

## IgA1-ПРОТЕАЗА КАК ОСНОВА ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ

© 2021 г. Л. С. Жигис\*, #, О. В. Котельникова\*, А. А. Зинченко\*, Д. М. Карлинский\*, Ю. А. Прокопенко\*, Л. Д. Румш\*

\*ФГБУН “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН, Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 17.08.2020 г.

После доработки 15.11.2020 г.

Принята к публикации 20.11.2020 г.

Обзор посвящен изучению протективных свойств IgA1-протеазы и возможности создания вакцинного препарата для профилактики бактериальных менингитов различного происхождения на ее основе. Бактериальный менингит относится к группе социально опасных заболеваний и характеризуется тяжелым течением, многочисленными осложнениями и высокой смертностью. Используемые в настоящее время в мировой практике подходы к созданию антимикробных вакцин основаны на узкой направленности против конкретного возбудителя. Разработка однокомпонентной вакцины против широкого спектра бактериальных возбудителей с общим фактором вирулентности по-прежнему остается актуальной. Таким антигеном может служить IgA1-протеаза – белок, выступающий одним из основных факторов вирулентности ряда грамотрицательных и грамположительных бактерий. Бактериальная IgA1-протеаза характеризуется уникальной специфичностью в отношении иммуноглобулинов A1 (IgA1), расщепляя пептидные связи в шарнирных участках IgA1 человека и высших приматов. Бактерии, попадая на слизистую оболочку, разрушают IgA1, выступающий первым барьером защиты организма от инфекций. Нейтрализация IgA1-протеазы на этой стадии может стать препятствием к развитию инфекции, затрудняя адгезию целого ряда патогенов, продуцирующих этот белок. Имеющиеся в литературе данные о механизме противобактериальной защиты носят разрозненный и неоднозначный характер. В обзоре рассматриваются литературные данные и результаты собственных экспериментов по протективной активности IgA1-протеазы. Нами было показано, что рекомбинантная IgA1-протеаза менингококка и некоторые ее фрагменты защищают мышей от заражения живой вирулентной культурой не только менингококков основных эпидемиологических серогрупп (A, B, C и W135), но и некоторых наиболее распространенных вирулентных серотипов пневмококка. Полученные данные говорят о возможности создания однокомпонентной вакцины против этих и, возможно, других бактериальных инфекций. В настоящее время достигнут значительный прогресс в изучении структуры и функций секретируемых белков у бактерий *Neisseria meningitidis* и *Haemophilus influenzae*. Описаны системы транслокации белков *N. meningitidis*, имеющие отношение к секреции белков у этих бактерий, и представлены современные данные о функциях этих белков. Анализ экспериментальных данных о структуре IgA1-протеазы *N. meningitidis* и формировании иммунитета при вакцинации имеет ключевое значение при создании профилактических препаратов.

**Ключевые слова:** IgA1-протеаза, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, вакцина

DOI: 10.31857/S0132342321040217

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время эффективность вакцинации для защиты от инфекционных заболеваний общепризнана во всем мире. За последние 30 лет

резко возросло число вновь создаваемых вакцин, благодаря которым были ликвидированы или сведены до минимума более десятка тяжелых инфекций (дифтерия, столбняк, краснуха, полиомиелит и др.).

Используемые в настоящее время в мировой практике подходы к созданию антимикробных вакцин основаны на узкой направленности против конкретного возбудителя. Для защиты от всего многообразия циркулирующих и непрерывно

Сокращения: IgA1 – иммуноглобулин A1; sIgA1 – секреторный иммуноглобулин; OMV – белки наружной мембраны; Hib – *H. influenzae* типа b; ЕСМ – внеклеточный матрикс.

# Автор для связи: (тел.: +7 (916) 388-90-55; эл. почта: zhigis@ibch.ru).

мутирующих штаммов этих микробов требуется комплексная вакцинация, включающая в себя многократное введение каждого компонента. Разработка, испытания и производство таких препаратов требуют огромных расходов, что существенно сказывается на себестоимости вакцинных препаратов. Высокая стоимость производимых вакцин делает их труднодоступными для многих развивающихся стран и осложняет процесс вакцинопрофилактики широких слоев населения.

Разработка однокомпонентной вакцины против широкого спектра бактериальных возбудителей с общим фактором вирулентности по-прежнему остается актуальной, а поиск соответствующих иммунологически безвредных протективных антигенов — важная научно-исследовательская задача.

Одним из перспективных протективных антигенов с точки зрения создания такой вакцины может служить бактериальная IgA1-протеаза, которая секретируется рядом грамотрицательных (*Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*) и грамположительных (*Streptococcus pneumoniae*, *S. sanguis*, *S. oralis*) бактерий [1–6]. IgA1-протеазы представляют собой семейство сериновых (Е.С. 3.4.21.72) и металло- (Е.С. 3.4.24.13) эндопептидаз. Эти ферменты характеризуются уникальной специфичностью в отношении иммуноглобулинов А1, обладая способностью расщеплять пептидные связи в шарнирных участках сывороточного (IgA1) и секреторного (sIgA1) иммуноглобулинов А1 человека и высших приматов [4, 7]. Бактерии, заселяя слизистую оболочку, разрушают sIgA1, который присутствует на слизистой оболочке в значительном количестве и служит первым барьером защиты организма от инфекций. Нейтрализация IgA1-протеазы на этой стадии инвазии может стать препятствием для развития инфекции, затрудняя адгезию бактерий на поверхности слизистой оболочки.

В данном обзоре обсуждаются проблемы создания монокомпонентной поливакцины для профилактики бактериальных менингитов, возбудителями которых выступает широкий спектр грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, патогенность которых обусловлена IgA1-протеазой.

## БАКТЕРИАЛЬНЫЕ МЕНИНГИТЫ

Бактериальный менингит — заболевание с высоким эпидемическим потенциалом, которое характеризуется тяжелым течением и часто носит молниеносный характер. Между появлением первых симптомов, сходных с таковыми при

ОРВИ и других инфекционных заболеваниях, и развитием токсического шока с высоким летальным исходом может пройти менее 24 ч, что затрудняет возможность оказания своевременной специализированной помощи. До 19% переболевших имеют серьезные отдаленные последствия, включая неврологические нарушения, судороги, потерю слуха или зрения, психологические нарушения, потерю конечностей и др. [8–10].

К возбудителям бактериального менингита относится широкий круг патогенов различной этиологии. Основные возбудители — *N. meningitidis*, *H. influenzae* и *S. pneumoniae*, вызывающие более 90% от всех случаев заболевания менингитом после младенческого возраста [11].

*Neisseria meningitidis*. Хотя клиническое описание менингита как заболевания появилось в начале 1880-х гг. [12], первые данные о его возбудителе, выделенном из спинномозговой жидкости больного, были опубликованы в статье Marchiafava et al. в 1884 г. [13]. Три года спустя были описаны идентификация и культивирование этой бактерии [14]. Патогенный микроорганизм *N. meningitidis*, проникая через эпителиальный барьер носоглотки и достигая кровотока, вызывает сепсис, а преодолевая гематоэнцефалический барьер, вызывает токсический отек головного мозга — менингит [15, 16].

Показатель заболеваемости, вызванной менингококком, может варьировать от <1 до 1000 случаев на 100 тыс. населения в зависимости от региона, времени года, демографических данных и других факторов [17].

*N. meningitidis* остается одной из наиболее распространенных причин менингита во многих географических районах, включая США, и выступает единственной бактерией, способной вызывать крупные вспышки этого заболевания [18–20]. В развитых странах уровень смертности составляет 10–15%, а в развивающихся странах — до 20% [12].

На основе структуры капсульного полисахарида *N. meningitidis* разделяют на 13 серогрупп, пять из которых (А, В, С, W и Y) ответственны за большинство менингококковых заболеваний.

Учитывая способность менингококка быстро вызывать смертельные и эпидемические заболевания во всем мире, понимание превентивных стратегий против этого патогена — глобальный приоритет для здравоохранения.

Первые менингококковые вакцины были созданы на основе капсульных полисахаридов *N. meningitidis* соответствующих серогрупп, однако эти вакцины оказались эффективными только для взрослого населения. У детей до одного года иммунитет на эти вакцины не формировался. Кроме того, полисахаридные вакцины — тимус-

независимые и не затрагивают механизмы клеточного иммунитета. Их действие основано на формировании специфических антител только к капсульному полисахариду данной серогруппы менингококка.

Толерантность детей раннего возраста к полисахаридным вакцинам удалось преодолеть только с конца 1990 г. после создания вакцин на основе капсульных полисахаридов, конъюгированных с различными белковыми носителями.

Преимуществом конъюгированных вакцин выступает их способность под влиянием антигена-носителя генерировать тимус-зависимый ответ и вызывать формирование иммунологической памяти, а также снижать бактерионосительство и, следовательно, предотвращать распространение инфекции. Наибольший интерес представляют 4-валентные вакцины против *N. meningitidis* серогрупп А, С, W и Y на основе их капсульных полисахаридов, конъюгированных с дифтерийным анатоксином, предназначенные для вакцинации людей всех возрастов, включая детей от двух месяцев [18].

Проблематичной оказалась разработка эффективной вакцины против менингококка серогруппы В на основе его капсульного полисахарида в связи с высоким сродством этого антигена с ганглиозидами эмбриональных тканей человека, что чревато возникновением аутоиммунного процесса [21]. В то же время заболеваемость менингитом, вызванным менингококком серогруппы В, в некоторых европейских странах достигает 64% [22]. В конце 2012 г. появилось сообщение о клинических испытаниях многокомпонентной вакцины 4СMenВ против менингококка серогруппы В на основе белков, характерных для недавно возникшего эпидемического штамма, а также трех поверхностных белков, обнаруженных при секвенировании бактериального генома [23–25].

Вакцины против менингококка серогруппы В на основе белков наружной мембраны (OMV) применяли во многих странах (Куба, Южная Америка, Норвегия и Новая Зеландия). Вакцина MeNZB, использованная в Новой Зеландии, была эффективна в снижении показателей заболеваемости и в борьбе с эпидемией, вызванной менингококком серогруппы В [26]. Создание полноценной вакцины на основе белков наружной мембраны менингококка было затруднено из-за высокой вариабельности этих белков.

Вакцины MenB-4C (Bexsero; Novartis Vaccines, Италия) и MenB-FHbp (Trumenba; Wyeth Pharmaceuticals, США) с более широким спектром действия, чем вакцины на основе OMV, были одобрены для использования в США, причем первая также одобрена к применению в странах Европы, Канаде и Австралии [18, 23].

К настоящему моменту в практике здравоохранения имеется широкий набор вакцин против различных серогрупп менингококка. Однако эти вакцины – многокомпонентные и требуют проведения нескольких повторных инъекций, что значительно увеличивает антигенную нагрузку на организм человека, в особенности детей младших возрастов.

***Haemophilus influenzae***. Данный патоген – грамотрицательная факультативная аэробная палочка. На основе структуры полисахаридной капсулы выделяют 6 серотипов *H. influenzae* (a, b, c, d, e, f), вызывающих инвазивные формы, в 95% случаев обусловленные серотипом b.

*H. influenzae* типа b (Hib) – возбудитель тяжелых инфекций у детей до 5 лет – в разных странах Европы в период до вакцинации вызывал 5–46 случаев на 100 тыс. детей и до 200 случаев в странах Африки с летальностью до 40% [27]. В мире в 2000 г. эта инфекция охватила 8.1 млн детей в возрасте 0–5 лет, при этом менингит был диагностирован в 60% случаев, из которых было зарегистрировано 363 тыс. летальных исходов. В России в 2005–2007 гг., в зависимости от региона, было выявлено 5–57% случаев гнойных менингитов, обусловленных Hib, с летальностью 5–15%. До 35% переболевших детей страдают стойкими дефектами ЦНС, до 5–10% – плевропневмонией, до 80% – эпиглоттитом [28].

Первая вакцина против Hib на основе капсульного полисахарида была лицензирована в США в 1985 г., но оказалась неэффективной для детей до 18 месяцев.

Капсульные полисахариды Hib, конъюгированные со столбнячным анатоксином, нетоксичным вариантом дифтерийного токсина, белком внешней мембраны *N. meningitidis* серогруппы В, – основа комбинированных препаратов Пентаксим (Санofi Пастер, Франция) и Инфанрикс-Гекса (Глаксо Смит Кляйн, Бельгия) [29]. Вакцинация этими препаратами приводит к снижению заболеваемости тяжелой пневмонией на 20–25%. Однако у 18% вакцинированных наблюдались различные осложнения, а у 33% отмечались низкие уровни защитных антител.

С 2013 г. конъюгированные вакцины стали применять в 184 странах мира. Несмотря на это, в мире ежегодно регистрировалось до 199 тыс. летальных исходов, что поставило Hib на третье место по летальности после пневмококковой и ротавирусной инфекций [29, 30].

В настоящее время в реестре ВОЗ зарегистрированы три вакцины на основе капсульного полисахарида Hib, конъюгированного со столбнячным анатоксином: вакцина гемофильная тип В (ФБУН “Ростовский научно-исследовательский

институт микробиологии и паразитологии”, Россия), Акт-Хиб (Санофи Пастер, Франция) и Хиберикс (Глаксо Смит Кляйн, Бельгия) [29]. Эффективность этих вакцин составляет 95–100%, а защитный титр антител сохраняется не менее 4 лет.

***Streptococcus pneumoniae***. Заболевания, вызываемые у человека этим возбудителем – самые частые во всем мире: ежегодно умирает более 1 млн человек, из которых больше половины – дети до 5 лет. В отсутствие вакцинации в России фиксируют 300–700 случаев заболевания на 100 тыс. населения, что согласуется с результатами зарубежных исследований [31–33]. Особой тяжестью отличается пневмококковый менингит [28].

В настоящее время для профилактики пневмококковой инфекции применяют как полисахаридные вакцины Пневмо 23 (Санофи Пастер, Франция) и Пневмовакс 23 (Мерк, Шарп и Доум, США), представляющие собой смесь очищенных капсульных полисахаридов 23 наиболее часто встречающихся серотипов пневмококка, так и вакцины на основе капсульных полисахаридов, конъюгированных с белком-носителем: Превенар 13 (Пфайзер, США) и Синфлорикс-10 (Глаксо Смит-Кляйн, Бельгия).

Применение этих вакцин в значительной степени ограничено из-за изменчивости серотипа и геномной пластичности, выступающими характерными чертами этой бактерии, а все возрастающая частота лекарственной устойчивости штаммов подчеркивает важность разработки противопневмококковых вакцин нового поколения, охватывающих многие серотипы [7, 18].

Несмотря на появление новых антибиотиков и вакцин, пневмококки продолжают вызывать по всему миру заболевания детей раннего возраста, пожилых людей и людей с ослабленным иммунитетом. Высокая заболеваемость и смертность от этой инфекции в последние десятилетия привели к необходимости разработки новых вакцин. Таким образом, замена всего огромного арсенала противобактериальных вакцин на одну монокомпонентную представляется целесообразным.

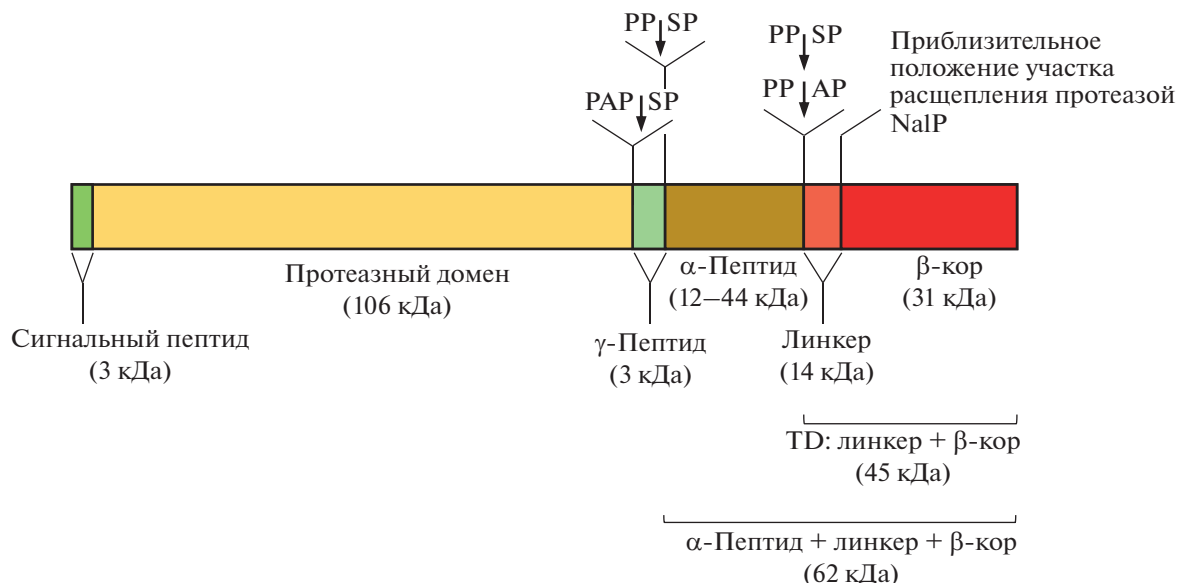
### СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ СЕРИНОВЫХ IgA1-ПРОТЕАЗ

В настоящее время достигнут значительный прогресс в изучении структуры и функций белков бактерий *N. meningitidis*. В обзоре Tommassen et al. [34] описаны системы транслокации, механизмы секреции и функции ряда белков *N. meningitidis*, в том числе IgA1-протеазы, классического аутопорттера грамотрицательных бактерий.

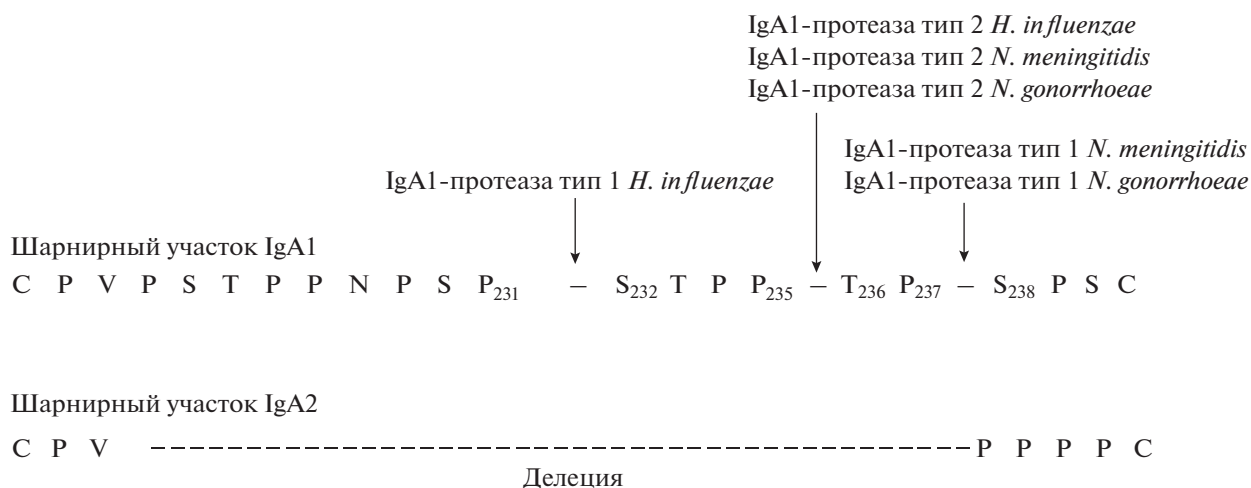
Аутопорттеры содержат три основных участка: сигнальный пептид, транспортируемый домен и транслокаторный домен (TD) [6, 35, 36] (рис. 1). Транспортируемый домен IgA1-протеазы расположен между сигнальным пептидом и транслокаторным доменом и состоит из двух субдоменов: *N*-концевого протеазного домена и  $\alpha$ -пептида, связанных между собой небольшим  $\gamma$ -пептидом. Транслокаторный домен расположен в *C*-концевом участке IgA1-протеазы и содержит линкерный пептид и  $\beta$ -кор. *N*-Концевой сигнальный пептид принимает участие в транспорте белка через цитоплазматическую мембрану. TD формирует во внешней мембране канал, через который транспортируемый домен переносится во внеклеточное пространство. На внешней мембране бактерии IgA1-протеаза подвергается аутокаталитическому расщеплению в сайтах (PAPSP, PPSP или PPA), расположенных между протеазным доменом и  $\gamma$ -пептидом, между  $\gamma$ -пептидом и  $\alpha$ -пептидом и между  $\alpha$ -пептидом и линкерным пептидом. Наличие последнего участка процессинга зависит от штамма [6]. В некоторых случаях весь транспортируемый домен, включая линкерный пептид, может высвободиться после расщепления аутопорттерной протеазой NalP (рис. 1) [6, 37].

IgA1-протеаза расщепляет иммуноглобулин A1 человека в сайте TPPTSPS, который гомологичен сайтам аутокаталитического процессинга и находится в шарнирной области между доменами Fab и Fc [38]. IgA1-протеаза не расщепляет иммуноглобулин IgA2, в котором отсутствует такой сайт расщепления (рис. 2) [39, 40]. Расщепление IgA1 может ингибировать IgA-опосредованную агрегацию и последующий механический клиренс бактерий в носоглотке. Также было показано, что IgA1-протеаза расщепляет ассоциированный с лизосомами мембранный белок LAMP1 [41], который, как сообщалось ранее, способствует выживанию бактерий в эпителиальных клетках [42], и трансцитозу через поляризованный эпителий [43]. Кроме того, IgA1-протеаза расщепляет везикулярный мембранный белок синаптобревин II в хром-аффинных клетках [44] и хорионический гонадотропный гормон человека [45], но физиологические последствия такого расщепления не ясны. Все эти альтернативные субстраты содержат мишень, гомологичную сайтам аутокаталитического расщепления.

Идентификация бактериальных IgA1-протеаз, их протеазная активность, специфичность и структура подробно описаны в обзоре Nicole et al. [36]. IgA1-протеазы *H. influenzae*, *N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae* обладают значительной гомологией, имеют структуры, характерные для аутопорттеров, и подвергаются аутопротеолитическо-



**Рис. 1.** Доменная структура IgA1-протеазы *H. influenzae* [6]. Представлено схематическое строение полноразмерной IgA1-протеазы с положениями участков аутокаталитического процессинга и их последовательностями, а также с положением участка расщепления протеазой NaIP.



**Рис. 2.** Последовательности шарнирных пептидов IgA1 и IgA2 человека и расположение сайтов расщепления различными членами семейства IgA-протеаз [38, 39].

му расщеплению, что приводит к высвобождению транспортируемого домена из встроеного в мембрану β-цилиндрического домена [35, 46–48]. IgA1-протеазы большинства штаммов *H. influenzae*, *N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae* способны расщеплять сывороточный IgA1 и в меньшей степени – димерную секреторную форму IgA1. В работе Kilian et al. [49] была исследована эффективность расщепления иммуноглобулинов внеклеточными штаммами *Haemophilus* и *S. pneumoniae* и показано, что *H. influenzae* и *S. pneumoniae* вырабатывают фермент, селективно расщепляющий белки мие-

ломы IgA1 человека, но не активный в отношении ряда других белков, включая IgA2, IgG и IgM человека, секреторный белок свиней и крупного рогатого скота. Ни один из непатогенных штаммов *Haemophilus* не продуцировал протеазу IgA1. Следовательно, продукция IgA1-протеазы – важный фактор в патогенезе этого заболевания.

Как отражение структуры клональной популяции инкапсулированных изолятов *H. influenzae*, типизируемые штаммы характеризуются IgA1-протеазами с аналогичной расщепляющей способностью. Напротив, нетипизируемые IgA1-протеазы

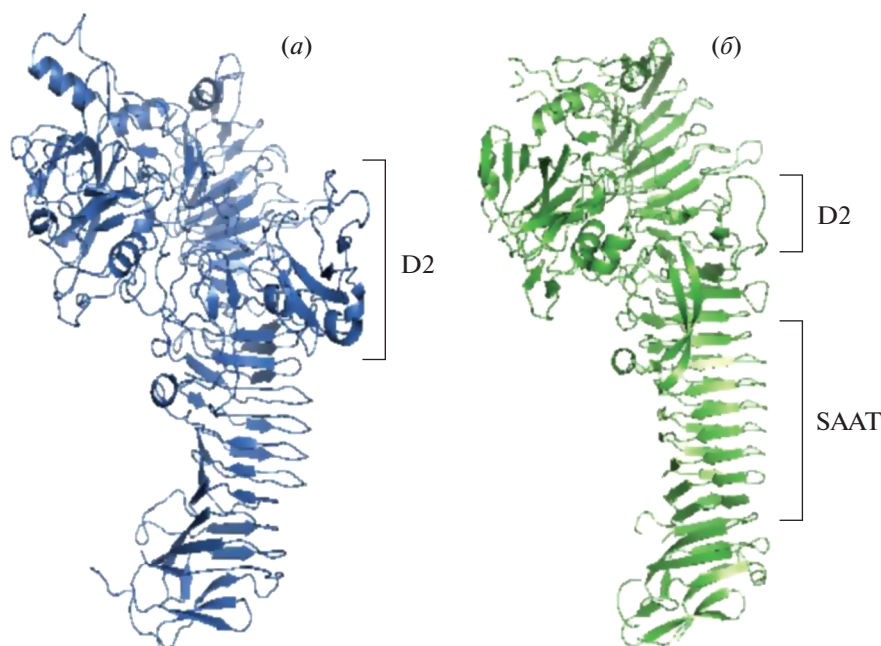
*H. influenzae* (NTHi) характеризуются высокой вариабельностью в отношении антигенности, предположительно из-за горизонтального переноса гена и рекомбинации между несколькими колонизирующими штаммами, чтобы уклоняться от защиты иммунной системой [50, 51]. Эта вариабельность приводит к изменению протеолитической активности от штамма к штамму для изолятов NTHi от больных пациентов с более высоким уровнем активности по сравнению с колонизирующими изолятами NTHi [52].

В работе Nicole et al. [36] показано, что IgA1-протеазы, ауто транспортеры Нар, Nia и Hsf *H. influenzae* – факторы вирулентности, способствующие колонизации и выживаемости бактерий в организме человека. Адгезия к респираторному эпителию, формирование микроколоний, приводящее к образованию биопленки, и протеазная активность, способствующая распространению бактерий и уклонению от иммунитета – важные патогенные механизмы, которые опосредуются этими белками. Описаны механизмы, с помощью которых эти факторы вирулентности могут действовать совместно для ускорения инфицирования бактериями *H. influenzae*.

Nia-опосредуемая адгезия к эпителиальным клеткам и Нар-опосредованная адгезия как к эпителиальным клеткам, так и к внеклеточному матриксу (ЕСМ) могут быть ответственны за пер-

воначальный контакт с организмом хозяина, в то время как IgA1-протеаза расщепляет IgA1, защищая бактерии от врожденного иммунного ответа. По мере прогрессирования инфекции взаимодействия белков Нар–Нар приводят к формированию микроколоний и могут в конечном итоге привести к формированию биопленки, что представляет собой еще один механизм уклонения от иммунитета. За счет аутопротеолитической активности Нар некоторые бактерии могут высвободиться из биопленки для колонизации на другом участке. Наконец, бактериальная инвазия, опосредованная Нар, может привести к формированию внутриклеточного бактериального резервуара, который может быть ответственным за рецидивирующие инфекции, наблюдаемые при хронической обструктивной болезни легких и отите. Дальнейшее изучение этих белков может способствовать более подробной оценке развития заболевания, вызванного бактериями *H. influenzae*, и ускорить разработку новых противомикробных препаратов [36].

Были исследованы трехмерные структуры указанных выше белков *H. influenzae* [53, 54]. В кристаллической структуре транспортируемого домена в качестве основных структурных компонентов были выявлены N-концевой трипсина/химотрипсиноподобный протеазный домен и  $\beta$ -спиральный остов. На рис. 3 представлена трехмерная струк-



**Рис. 3.** Пространственные структуры транспортируемых доменов IgA1-протеазы и Нар [40]: (а) – кристаллическая структура транспортируемого домена IgA1-протеазы с N-концевым глобулярным протеазным доменом (обозначен домен 2 – D2); (б) – кристаллическая структура транспортируемого домена Нар с N-концевым глобулярным протеазным доменом (обозначен C-концевой  $\beta$ -спиральный самоассоциирующийся домен SAAT).



тура IgA1-протеазы по сравнению со структурой транспортируемого домена белка Нар.

$\beta$ -Спиральный остов содержит ядро из гидрофобных остатков и остатков серина, треонина и аспарагина, расположенных на поверхности цепи и сложенных в складчатую структуру. Он служит для удаления *N*-концевого домена из бактериальной мембраны. *N*-Концевой домен характеризуется глобулярной структурой с уникальными петлями в области укладки химотрипсинового домена, имеющими значение для выбора субстрата [54], и содержит каталитическую триаду, отвечающую за активность протеазы [53]. Активный центр протеазного домена – идеален для остатков пролина, которые, как правило, обнаруживаются в специфических сайтах расщепления белков IgA1-протеазой. Следует отметить, что небольшой домен 2 формирует уникальную петлю, выступающую из стержня  $\beta$ -спирали, придавая белку Y-образную структуру. Расчетные исследования кристаллических структур IgA1 человека и IgA1-протеазы показали, что Fc-домен IgA1 связывается в углублении, образованном доменом 2 и протеазным доменом, что свидетельствует об участии этого небольшого фрагмента в распознавании субстрата [36, 54]. Уникальная петля расположена над активным центром фермента и выполняет роль крышки, закрытой в отсутствие иммуноглобулина. После связывания Fc-домена IgA1 в углублении, образованном между *N*-концевым доменом протеазы и доменом 2, присоединенным к  $\beta$ -спиральной цепи, крышка стабилизируется в открытой конформации. Это взаимодействие обеспечивает доступ шарнирного пептида к активному центру, что приводит к распознаванию и расщеплению субстрата. Таким образом обеспечивается протеолитическая специфичность фермента.

#### IgA1-ПРОТЕАЗА И ЕЕ ФРАГМЕНТЫ КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

В работе Wang et al. [55] была сконструирована и получена высокоактивная рекомбинантная IgA1-протеаза из *H. influenzae* 49247, способная расщеплять *in vitro* гликозилированный IgA1-содержащий иммунный комплекс, с целью возможного использования фермента в качестве терапевтического средства для лечения IgA-нефропатии. Тяжесть нарушений почечной функции, таких как протеинурия и гематурия, также может быть снижена с помощью инъекций IgA1-протеазы [56].

В 2007 г. Vitovski et al. [57] получили ряд белков-предшественников IgA1-протеазы менинго-

кокка. Были подробно изучены механизмы аутокаталитической активации этого фермента, но иммуногенные и протективные свойства полученных белков не были исследованы, и возможность их использования в качестве вакцины также не рассматривалась.

В работе Wani et al. [58] была впервые показана активность рекомбинантных форм IgA1-протеазы пневмококка и выявлены специфические ингибиторы, препятствующие колонизации слизистой оболочки пневмококком, а неактивный мутант рассматривался как компонент кандидатной вакцины.

В работе Romanello et al. [59] было показано, что IgA1-протеаза пневмококков связана с поверхностью бактериальной клетки с помощью *N*-концевого мембранного якоря. Описаны клонирование, экспрессия, ферментативная активность и иммуногенность трех фрагментов IgA1-протеазы, из которых один включает только аминокислоты *N*-концевого участка. Все полученные мутанты были полностью лишены ферментативной активности. Антигенные свойства рекомбинантных полипептидов авторы тестировали с сыворотками пациентов с диагнозом пневмония различной этиологии. В сыворотках пяти пациентов из девяти были обнаружены антитела к фрагменту IgA1-протеазы (1032–1964 а.о.), у семи пациентов – к фрагменту IgA1-протеазы (708–1964 а.о.). Полноразмерная IgA1-протеаза выявляла антитела во всех сыворотках, указывая на то, что IgA1-протеаза – основной антиген *S. pneumoniae* в патогенезе у человека. Эти фрагменты, так же как и IgA1-протеаза – поверхностные белки, присутствующие практически во всех серотипах пневмококка. Авторы заключили, что эти рекомбинантные белки могут быть кандидатами для создания противопневмококковой вакцины.

Описан синтез *N*-концевых фрагментов IgA1-протеазы из *N. meningitidis* серогруппы А, содержащих 40–104 а.о. [60], которые были использованы в качестве пептидов-носителей углеводных компонентов клеточных стенок различных микроорганизмов: *Neisseria*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella* и *Haemophilus*. Но конъюгация этих фрагментов с полисахаридом менингококка серогруппы С не позволила получить поливалентные композиции. Они обеспечивали защиту только от менингококка серогруппы С.

Для лечения аутоиммунных и других заболеваний, связанных с накоплением IgA1 в тканях и органах человека, методом рекомбинантных ДНК были получены растворимые формы IgA1-протеазы [61, 62]. Авторы использовали их в качестве терапевтических препаратов, но в качестве вакцины не рассматривали.

В статье Gupta et al. [63] описаны результаты компьютерного анализа потенциальных Т-клеточных эпитопов трех белков менингококка серогруппы В: белка А, стимулирующего Т-клетки (TspA), ауотранспортного белка А (AutA) и IgA1-протеазы. В результате исследования были выявлены шесть девятичленных Т-клеточных эпитопов. Авторы предположили, что эти пептиды могут быть использованы в качестве перспективных агентов для защиты от менингококков серогруппы В, но экспериментальные данные, подтверждающие эту гипотезу, в работе не приведены, и возможность получения поливалентной вакцины на их основе также не обсуждалась.

В дальнейшем многими авторами высказывалось предположение, что IgA1-протеаза – важнейший фактор вирулентности бактерий, может быть использована как средство защиты от этих патогенов [17, 63].

Экспериментальное подтверждение протективной активности IgA1-протеазы представлено небольшим количеством работ. В серии работ [64–74] в опытах на животных было показано, что нативная IgA1-протеаза, выделенная из живой вирулентной культуры *N. meningitidis* серогруппы А, а также рекомбинантные IgA1-протеазы *N. meningitidis* серогруппы В в активной или мутантной формах и некоторые укороченные аналоги этих белков обладают высокой иммуногенной и протективной активностью.

На примере отдельных низкомолекулярных фрагментов IgA1-протеазы показана важная роль В- и Т-эпитопов, расположенных в N-концевом участке IgA1-протеазы *N. meningitidis* серогруппы В (штамм H44/76), для сохранения иммуногенных и протективных свойств [64, 65]. Эти белки защищали мышей от заражения живой вирулентной культурой менингококков основных эпидемических серогрупп (А, В и С) и обладали характерной для белков способностью к формированию иммунологической памяти [68, 69, 73].

В опытах острого заражения животных показана роль клеточного и гуморального факторов в формировании иммунитета к менингококку серогруппы В. Защиту иммунизированных животных обеспечивали как иммунные лимфоциты, так и специфические антитела, способные *in vitro* связываться с IgA1-протеазой *N. meningitidis* [69].

Было также показано, что специфические антитела, образующиеся при иммунизации животных аналогами IgA1-протеазы или при инфицировании менингококком, способны связываться не только с секретруемым ферментом, но и с поверхностью микробных клеток [66].

Анализ популяционного состава лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup>) в крови и селезенке имму-

низированных животных на момент заражения менингококками показал, что механизм защиты обусловлен различными популяциями лимфоцитов в зависимости от структуры иммуногенов [69].

Аналогичные результаты были получены при изучении стрептококковых IgA1-металлопротеаз для защиты животных от заболеваний, вызываемых пневмококками и *S. suis* серотипа 2. Авторы рассматривают этот белок и его фрагменты в качестве протективного поверхностного антигена IgA1-протеазы [5, 75].

Группа авторов [75–78] исследовала антигенный состав и сходство IgA1-протеаз различных представителей микробов серинового типа и металлопротеаз, патогенность которых обусловлена IgA1-протеазой. Обнаружено высокое сходство эпитопов IgA1-протеаз *N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae*, что делает их привлекательными компонентами потенциальной вакцины широкого профиля. Незначительным оказалось сходство указанных эпитопов с IgA1-металлопротеазами *S. pneumoniae* [77].

Позднее Kotelnikova et al. [68] установили, что иммунизация животных IgA1-протеазой *N. meningitidis* и ее аналогами способна обеспечивать формирование иммунологической памяти и защиту от смертельного заражения не только менингококковой, но и пневмококковой инфекциями. Напротив, сыворотки кроликов, иммунизированных убитой культурой *S. pneumoniae*, содержали высокие титры протективных антител к IgA1-протеазе *N. meningitidis* и ее фрагментам.

Эти результаты представляют особый интерес, поскольку IgA1-протеаза *S. pneumoniae* относится к классу металлопротеаз и существенно отличается по аминокислотной последовательности от сериновых IgA1-протеаз, секретруемых *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae* и *H. influenzae*. Протективная активность менингококковой IgA1-протеазы и ее аналогов при инфицировании животных *S. pneumoniae* может зависеть от наличия у этих белков конформационных эпитопов, близких по структуре к эпитопам поверхностных белков пневмококков. Кроме того, секретруемые протеазы могут иметь несколько мишеней и, таким образом, разными способами вмешиваться в метаболизм и иммунный ответ хозяина [34, 79, 80].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных данных показал, что разработка вакцин против бактериальных менингитов на основе поверхностных антигенов микроорганизмов, вызывающих эти заболевания, привела к созданию целого ряда эффективных препаратов строго направленного действия про-



тив конкретного возбудителя. Поиски новых вакцинных антигенов стимулировали исследования не только поверхностных, но и секретлируемых белков. Интересным направлением стало изучение IgA1-протеазы как одного из основных факторов вирулентности, способствующих колонизации и выживаемости микроорганизмов в организме человека. Нейтрализация IgA1-протеазы на этой стадии инвазии может стать препятствием для развития инфекций, патогенность которых обусловлена этим ферментом. IgA1-протеаза способствует взаимодействию патогена с хозяином (адгезия к клеткам организма-хозяина, уклонение от формирования приобретенного иммунитета, предотвращение активации комплемента, нейтрализация антимикробных пептидов, деградация иммуноглобулинов и т.д.).

Представленные данные о свойствах IgA1-протеаз ряда патогенных микроорганизмов показали, что высокая иммуногенная и протективная активность рекомбинантных вариантов фермента и некоторых его фрагментов в отношении грамтрицательных (*N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*) и некоторых грамположительных (*S. pneumoniae*, *S. suis*) бактерий, в совокупности с высокой гомологией консервативных участков первичной структуры полноразмерных IgA1-протеаз, позволяют говорить о возможности формирования перекрестного иммунитета к различным возбудителям, патогенность которых обусловлена IgA1-протеазой. Приведенные исследования свидетельствуют о возможности и целесообразности создания монокомпонентной вакцины широкого спектра действия против ряда бактериальных инфекций.

#### ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-50-00131).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований, выполненных кем-либо из авторов данной работы, с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Henderson I.R., Nataro J.P.* // *Infect. Immun.* 2001. V. 69. P. 1231–1243. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.3.1231-1243.2001>
2. *Казеева Т.Н., Шевелев А.Б.* // *Биохимия.* 2007. Т. 72. С. 485–494. <https://doi.org/10.1134/s0006297907050045>
3. *Mistry D., Stockley R.A.* // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2006. V. 38. P. 1244–1248. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.10.005>
4. *Plaut A.G., Bachovchin W.W.* // *Methods Enzymol.* 1994. V. 244. P. 137–151. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)44012-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)44012-3)
5. *Lei F., Zhao J., Lin L., Zhang Q., Xu Z., Han L., Xie C., Zhou R., Jin M., Zhang A.* // *Microbes Infect.* 2016. V. 18. P. 285–289. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.12.005>
6. *Roussel-Jazédé V., Arenas J., Langereis J.D., Tommassen J., van Ulsen P.* // *Microbiology.* 2014. V. 160. P. 2421–2431. <https://doi.org/10.1099/mic.0.082511-0>
7. *Kilian M., Thomsen B., Petersen T.E., Bleg H.* // *Mol. Immunol.* 1983. V. 20. P. 1051–1058. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(83\)90046-9](https://doi.org/10.1016/0161-5890(83)90046-9)
8. Meningococcal vaccines: WHO position paper, November 2011 // *Wkly Epidemiol. Rec.* 2011. V. 86. P. 521–539.
9. *Erickson L.J., De Wals P., McMahon J., Heim S.* // *Clin. Infect. Dis.* 2001. V. 33. P. 737–739. <https://doi.org/10.1086/322587>
10. *Edwards M.S., Baker C.J.* // *J. Pediatr.* 1981. V. 99. P. 540–545. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(81\)80250-8](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(81)80250-8)
11. *Agrawal S., Nadel S.* // *Pediatr. Drugs.* 2011. V. 13. P. 385–400. <https://doi.org/10.2165/11593340-000000000-00000>
12. *Stephens D.S., Apicella M.A.* // In: *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases* / Eds. Bennett J.E., Dolin R., Blaser M.J. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2015. P. 2425–2445.
13. *Marchiafava E., Celli A.* // *Gazz. degli Ospedali.* 1884. V. 5. P. 59.
14. *Weichselbaum A.* // *Fortschr. Med.* 1887. V. 5. P. 573–583.
15. *Pace D., Pollard A.J.* // *Vaccine.* 2012. V. 30. P. B3–B9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.062>
16. *Takada S., Fujiwara S., Inoue T., Kataoka Yu., Hadano Y., Matsumoto K., Morino K., Shimizu T.* // *Intern. Med.* 2016. V. 55. P. 567–572. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.55.3272>
17. *Rouphael N.G., Stephens D.S.* // *Methods Mol. Biol.* 2012. V. 799. P. 1–20. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-346-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-346-2_1)
18. *Crum-Cianflone N., Sullivan E.* // *Infect. Dis. Ther.* 2016. V. 5. P. 89–112. <https://doi.org/10.1007/s40121-016-0107-0>
19. *Girard M.P., Preziosi M.P., Aguado M.T., Kieny M.P.* // *Vaccine.* 2006. V. 24. P. 4692–4700. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.03.034>
20. *Thigpen M.C., Whitney C.G., Messonnier N.E., Zell E.R., Lynfield R., Hadler J.L., Harrison L.H., Farley M.M., Reingold A., Bennett N.M., Craig A.S., Schaffner W.,*

- Thomas A., Lewis M.M., Scallan E., Schuchat A., *Emerging Infections Programs Network* // N. Engl. J. Med. 2011. V. 364. P. 2016–2025.  
<https://doi.org/10.1056/nejmoa1005384>
21. Caron F., du Châtelet I.P., Leroy J.P., Ruckly C., Blanchard M., Bohic N., Massy N., Morer I., Floret D., Delbos V., Hong E., Révillon M., Berthelot G., Lemée L., Deghmane A.E., Bénichou J., Lévy-Bruhl D., Taha M.K. // *Lancet Infect. Dis.* 2011. V. 11. P. 455–463.  
[https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(11\)70027-5](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(11)70027-5)
  22. Королева И.С., Белошицкий Г.В., Закроева И.М., Королева М.А. // *Инфекция и иммунитет.* 2012. Т. 2. С. 546–547.
  23. Gossger N., Snape M.D., Yu L.M., Finn A., Bona G., Esposito S., Principi N., Diez-Domingo J., Sokal E., Becker B., Kieninger D., Prymula R., Dull P., Ypma E., Toneatto D., Kimura A., Pollard A.J., *European MenB Vaccine Study Group* // *JAMA.* 2012. V. 307. P. 573–582.  
<https://doi.org/10.1001/jama.2012.85>
  24. Granoff D.M. // *Clin. Infect. Dis.* 2010. V. 50. P. S54–S65.  
<https://doi.org/10.1086/648966>
  25. Holst J., Oster P., Arnold R., Tatley M.V., Næss L.M., Aaberge I.S., Galloway Y., McNicholas A., O'Hallahan J., Rosenqvist E., Black S. // *Hum. Vaccin. Immunother.* 2013. V. 9. P. 1241–1253.  
<https://doi.org/10.4161/hv.24129>
  26. Folaranmi T., Rubin L., Martin S.W., Patel M., MacNeil J.R., *Centers for Disease Control (CDC)* // *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015. V. 64. P. 608–612.
  27. *Haemophilus influenzae* type b immunization // *Bulletins du Centre International de L'enfance.* 1992. P. 33–34.
  28. Платонов А.Е., Харут С.М., Платонова О.В. // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2009. № 5. С. 32–46.
  29. Озерецковский Н.А., Немировская Т.И. // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2016. V. 15. P. 61–66.  
<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-61-66>
  30. *Haemophilus influenzae* type b (Hib). Green Book. Immunization against infections disease // 2013. Part 2. Ch. 16. P. 127–143.  
<https://www.gov.uk/government/publications/haemophilus-influenzae-type-hib-the-green-book-chapter-16>
  31. Козлов Р.С. // *Пневмококки: прошлое, настоящее и будущее.* Смоленск: Смоленская государственная медицинская академия, 2005. 128 с.
  32. Таточенко В.А. // *Вопр. совр. педиатрии.* 2007. Т. 6. С. 85–91.
  33. Clark J.E., Hammal D., Hampton F., Spencer D., Parker L. // *Epidemiol. Infect.* 2007. V. 135. P. 262–269.  
<https://doi.org/10.1017/s0950268806006741>
  34. Tommassen J., Arenas J. // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017. V. 7. P. 256.  
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00256>
  35. Pohlner J., Halter R., Beyreuther K., Meyer T.F. // *Nature.* 1987. V. 325. P. 458–462.  
<https://doi.org/10.1038/325458a0>
  36. Spahich N.A., Geme J.W.St., 3rd // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2011. V. 1. P. 1–9.  
<https://dx.doi.org/10.3389%2Ffcimb.2011.00005>
  37. van Ulsen P., van Alphen L., ten Hove J., Fransen F., van der Ley P., Tommassen J. // *Mol. Microbiol.* 2003. V. 50. P. 1017–1030.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03773.x>
  38. Plaut A.G., Gilbert J.V., Artenstein M.S., Capra J.D. // *Science.* 1975. V. 190. P. 1103–1105.  
<https://doi.org/10.1126/science.810892>
  39. Boehm M.K., Woof J.M., Kerr M.A., Perkins S.J. // *J. Mol. Biol.* 1999. V. 286. P. 1421–1447.  
<https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2556>
  40. Torano A., Putnam F.W. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1978. V. 75. P. 966–969.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.75.2.966>
  41. Hauck C.R., Meyer T.F. // *FEBS Lett.* 1997. V. 405. P. 86–90.  
[https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)00163-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)00163-4)
  42. Lin L., Ayala P., Larson J., Mulks M., Fukuda M., Carlsson S.R., Enns C., So M. // *Mol. Microbiol.* 1997. V. 24. P. 1083–1094.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.4191776.x>
  43. Hopper S., Vasquez B., Merz A., Clary S., Wilbur J.S., So M. // *Infect. Immun.* 2000. V. 68. P. 906–911.  
<https://doi.org/10.1128/iai.68.2.906-911.2000>
  44. Binscheck T., Bartels F., Bergel H., Bigalke H., Yamasaki S., Hayashi T., Niemann H., Pohlner J. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 1770–1774.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.270.4.1770>
  45. Senior B.W., Stewart W.W., Galloway C., Kerr M.A. // *J. Infect. Dis.* 2001. V. 184. P. 922–925.  
<https://doi.org/10.1086/323397>
  46. Grundy F.J., Plaut A.G., Wright A. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 1987. V. 216B. P. 1251–1260.
  47. Poulsen K., Brandt J., Hjorth J.P., Thogersen H.C., Kilian M. // *Infect. Immun.* 1989. V. 57. P. 3097–3105.  
<https://doi.org/10.1128/iai.57.10.3097-3105.1989>
  48. Plaut A.G., Qiu J., Geme J.W.St., 3rd // *Vaccine.* 2000. V. 19 (Suppl. 1). P. S148–S152.  
[https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(00\)00296-6](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(00)00296-6)
  49. Kilian M., Mestecky J., Schrohenloher R.E. // *Infect. Immun.* 1979. V. 26. P. 143–149.  
<https://doi.org/10.1128/iai.26.1.143-149.1979>
  50. Musser J.M., Barenkamp S.J., Granoff D.M., Selander R.K. // *Infect. Immun.* 1986. V. 52. P. 183–191.  
<https://doi.org/10.1128/iai.52.1.183-191.1986>
  51. Lomholt H., van Alphen L., Kilian M. // *Infect. Immun.* 1993. V. 61. P. 4575–4581.  
<https://doi.org/10.1128/iai.61.11.4575-4581.1993>
  52. Vitovski S., Dunkin K.T., Howard A.J., Sayers J.R. // *JAMA.* 2002. V. 287. P. 1699–1705.  
<https://doi.org/10.1001/jama.287.13.1699>
  53. Perona J.J., Craik C.S. // *Protein Sci.* 1995. V. 4. P. 337–360.  
<https://doi.org/10.1002/pro.5560040301>

54. Johnson T.A., Qiu J., Plaut A.G., Holyoak T. // *J. Mol. Biol.* 2009. V. 389. P. 559–574.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.04.041>
55. Wang H., Zhong X., Li J., Zhu M., Wang L., Ji X., Fan J., Wang L. // *Mol. Biotechnol.* 2018. V. 60. P. 134–140.  
<https://doi.org/10.1007/s12033-017-0054-3>
56. Lechner S.M., Abbad L., Boedec E., Papista C., Le Stang M.B., Moal C., Maillard J., Jamin A., Bex-Coudrat J., Wang Y., Li A., Martini P.G., Monteiro R.C., Berthelot L. // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2016. V. 27. P. 2622–2629.  
<https://doi.org/10.1681/asn.2015080856>
57. Vitovski S., Sayers J.R. // *Infect. Immun.* 2007. V. 75. P. 2875–2885.  
<https://doi.org/10.1128/iai.01671-06>
58. Wani J.H., Gilbert J.V., Plaut A.G., Weiser J.N. // *Infect. Immun.* 1996. V. 64. P. 3967–3974.  
<https://doi.org/10.1128/iai.64.10.3967-3974.1996>
59. Romanello V., Marcacci M., Moschioni M., Censini S., Covacci A., Baritussio A.G., Montecucco C., Tonello F. // *Protein Expr. Purif.* 2006. V. 45. P. 142–149.  
<https://doi.org/10.1016/j.pep.2005.07.015>
60. Achtman M., Moreau M. // Patent US 7235242 B2, 26.06.2007.
61. Long S., Phan E., Vellard M.C. // *J. Biomed. Biotechnol.* 2010. V. 2010. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1155/2010/253983>
62. Plaut A.G., Qiu J. // Patent US 7407653 B2, 05.08.2008.
63. Gupta S.K., Smita S., Sarangi A.N., Srivastava M., Akhoond B.A., Rahman Q., Gupta S.K. // *Vaccine.* 2010. V. 28. P. 7092–7097.  
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.08.005>
64. Zinchenko A.A., Alliluev A.P., Serova O.P., Gordeeva E.A., Zhigis L.S., Zueva V.S., Razgulyaeva O.A., Melikhova T.D., Nokel E.A., Drozhzhina E.Yu., Kotelnikova O.V., Rumsh L.D. // *J. Meningitis.* 2015. V. 1. P. 1–5.  
<https://doi.org/10.4172/2572-2050.1000102>
65. Зинченко А.А., Котельникова О.В., Гордеева Е.А., Прокопенко Ю.А., Разгуляева О.А., Серова О.В., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А., Жигис Л.С., Зуева В.С., Аллилуев А.П., Румш Л.Д. // *Биоорг. химия.* 2018. Т. 44. С. 61–70. [Zinchenko A.A., Kotelnikova O.V., Gordeeva E.A., Prokopenko Yu.A., Razgulyaeva O.A., Serova O.V., Melikhova T.D., Nokel E.A., Zhigis L.S., Zueva V.S., Alliluev A.P., Rumsh L.D. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2018. V. 44. P. 64–72.  
<https://doi.org/10.1134/S1068162018010193>]
66. Kotelnikova O.V., Zinchenko A.A., Vikhrov A.A., Alliluev A.P., Serova O.V., Gordeeva E.A., Zhigis L.S., Zueva V.S., Razgulyaeva O.A., Melikhova T.D., Nokel E.A., Drozhzhina E.Y., Rumsh L.D. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. V. 161. P. 391–394.  
<https://doi.org/10.1007/s10517-016-3422-2>
67. Серова О.В., Мельников Э.Э., Зинченко А.А., Котельникова О.В., Аллилуев А.П., Бичучер А.М., Гордеева Е.А., Жигис Л.С., Зуева В.С., Козлов Л.В., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А., Ягудаева Е.Ю., Румш Л.Д. // *Биофарм. журнал.* 2011. Т. 3. С. 42–47.
68. Kotelnikova O.V., Alliluev A.P., Zinchenko A.A., Zhigisa L., Prokopenko Y., Nokel E.A., Razgulyaeva O.A., Zueva V.S., Tokarskaya M., Yastrebova N., Gordeeva E.A., Melikhova T.D., Kaliberda E.N., Rumsh L.D. // *Microbes Infect.* 2019. V. 21. P. 336–340.  
<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.02.003>
69. Kotelnikova O.V., Alliluev A.P., Zinchenko A.A., Prokopenko Yu.A., Zhigis L.S., Zueva V.S., Razgulyaeva O.A., Gordeeva E.A., Melikhova T.D., Nokel' E.A., Rumsh L.D. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018. V. 165. P. 763–766.  
<https://doi.org/10.1007/s10517-018-4260-1>
70. Котельникова О.В., Аллилуев А.П., Дрожжина Е.Ю., Королева И.С., Ситникова Е.А., Зинченко А.А., Гордеева Е.А., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А., Жигис Л.С., Зуева В.С., Разгуляева О.А., Серова О.В., Ягудаева Е.Ю., Румш Л.Д. // *Биомед. хим.* 2014. Т. 60. С. 479–486.  
<https://doi.org/10.18097/pbmc20146004479>
71. Румш Л.Д., Мельников Э. Э., Аллилуев А.П., Козлов Л.В., Котельникова О.В., Жигис Л.С., Серова О.В., Ягудаева Е.Ю., Бичучер А.М., Зубов В. П., Анохина И. В., Зуева В.С., Аваков А.Э. // Патент RU 2453599 С1, 20.06.2012.
72. Румш Л.Д., Серова О.В., Зинченко А.А., Аллилуев А.П., Козлов Л.В., Котельникова О.В., Жигис Л.С., Ягудаева Е.Ю., Андинина С.С., Анохина И.В., Зуева В.С., Гордеева Е.А., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А. // Патент RU 2486243 С1, 27.06.2013.
73. Зинченко А.А., Серова О.В., Прокопенко Ю.А., Гордеева Е.А., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А., Калиберда Е.Н., Котельникова О.В., Жигис Л.С., Разгуляева О.А., Аллилуев А.П., Румш Л.Д. // Патент RU 2701964 С2, 02.10.2019.
74. Zhigis L.S., Kotelnikova O.V., Vikhrov A.A., Zinchenko A.A., Serova O.V., Zueva V.S., Razgulyaeva O.A., Gordeeva E.A., Melikhova T.D., Nokel E.A., Alliluev A.P., Drozhzhina E.Yu., Rumsh L.D. // *Biotechnol. Lett.* 2015. V. 37. P. 2289–2293.  
<https://doi.org/10.1007/s10529-015-1916-z>
75. Janoff E.N., Rubins J.B., Fasching C., Charboneau D., Rahkola J.T., Plaut A.G., Weiser J.N. // *Mucosal Immunol.* 2014. V. 7. P. 249–256.  
<https://doi.org/10.1038/mi.2013.41>
76. Lomholt H., Kilian M. // *Infect. Immun.* 1994. V. 62. P. 3178–3183.  
<https://doi.org/10.1128/iai.62.8.3178-3183.1994>
77. Lomholt H., Poulsen K., Kilian M. // *Mol. Microbiol.* 1995. V. 15. P. 495–506.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1995.tb02263.x>
78. Lomholt J.A., Kilian M. // *J. Clin. Microbiol.* 2000. V. 38. P. 2760–2762.  
<https://doi.org/10.1128/jcm.38.7.2760-2762.2000>
79. Казеева Т.Н., Шевелев А.Б., Леонович О.А., Фаизов Т.Х., Белякова А.В., Лебедева А.А., Кузнецова Т.В., Маркасова Е.С., Ермохина О.В., Эпова Е.Ю., Дудорова М.Г., Соцкова Д.В., Волкова Е.А., Терехина А.С., Воронова Т.Ю., Васильев И.А. // *Электронный научный журнал Современные проблемы науки и образования.* 2012. № 1. <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5096>
80. Pérez-Ortega J., Rodríguez A., Ribes E., Tommassen J., Arenas J. // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. P. 434.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00434>

## IgA1 Protease as a Vaccine Basis for Prevention of Bacterial Meningitis

L. S. Zhigis\*<sup>‡</sup>, O. V. Kotelnikova\*, A. A. Zinchenko\*, D. M. Karlinsky\*,  
Yu. A. Prokopenko\*, and L. D. Rumsh\*

<sup>‡</sup>Phone: +7 (499) 336-06-00, e-mail: zhigis@ibch.ru

\*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

This review is intended to the study of the protective properties of IgA1 protease and the possibility of creating a vaccine preparation for the prevention of bacterial meningitis of various origins on its basis. Bacterial meningitis belongs to the group of socially dangerous diseases and is characterized by a severe course, numerous complications and high mortality. The approaches used in the world practice to create antimicrobial vaccines are based on a narrow focus against a specific pathogen. The development of a single-component vaccine against a wide range of bacterial pathogens with a common virulence factor remains relevant. IgA1 protease, a protein that is one of the main virulence factors of a number of gram-negative and gram-positive bacteria, can serve as such an antigen. Bacterial IgA1 protease is uniquely specific for immunoglobulins A1 (IgA1), cleaving peptide bonds in the hinge regions of human IgA1 and higher primates. Bacteria, getting on the mucous membrane, cleave IgA1, which is the body's first barrier against infection. Neutralization of IgA1 protease at this stage can become an obstacle to the development of infection, hindering the adhesion of a number of pathogens producing this protein. Available literature data on the mechanism of antibacterial protection are scattered and ambiguous. We have shown that the recombinant meningococcal IgA1 protease and some of its fragments protect mice from infection with a live virulent culture not only of meningococci of the main epidemic serogroups (A, B, C, and W135), but also of some of the most common virulent pneumococcal serotypes. The data obtained indicate the possibility of creating a single-component vaccine against these and possibly other bacterial infections. At present, significant progress has been achieved in the study of the structure and functions of secreted proteins in the bacteria *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae*. The *N. meningitidis* protein translocation systems, which are related to the secretion of proteins in these bacteria, and the current understanding of the functions of these proteins are described. Analysis of experimental data on the structure of IgA1 protease from *N. meningitidis* and the formation of immunity during vaccination are of key importance in the development of prophylactic preparations.

*Keywords:* IgA1 protease, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, vaccine