

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛИКОПРОТЕИНА GP ДЛЯ СОЗДАНИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЛИХОРАДКИ ЭБОЛА

И. В. Должикова<sup>✉</sup>, А. И. Тухватулин, А. С. Громова, Д. М. Гроусова, Н. М. Тухватулина, Е. А. Токарская, Д. Ю. Логунов, Б. С. Народицкий, А. Л. Гинцбург

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Болезнь, вызванная вирусом Эбола (БВВЭ) — одно из самых высоколетальных вирусных заболеваний, поражающих человека и приматов. Возбудителем БВВЭ является вирус Эбола. В настоящее время известно шесть видов этого вируса, три из них патогенны для человека — это виды Заир (ZEBOV), Судан (SUDV) и Бундибугио (BDBV), вызывающие острые вирусные высоконтагиозные лихорадки у людей и приматов с летальностью до 90%. В большинстве случаев БВВЭ вызвана видом ZEBOV. Разработка вакцин против БВВЭ началась сразу после идентификации возбудителя в 1976 г. На сегодняшний день в мире зарегистрировано четыре вакцинных препарата для профилактики БВВЭ. Все они основаны на протективном антигене — гликопротеине (GP) вируса Эбола вида ZEBOV. В силу того что виды SUDV и BDBV также могут быть причиной вспышек и эпидемий БВВЭ, очевидна необходимость разработки вакцин, способных обеспечить защиту от всех известных патогенных для человека видов вируса Эбола. В статье систематизированы данные относительно структуры, иммуногенных и протективных свойств GP вируса Эбола, проведен анализ иммунодоминантных эпитопов гликопротеина вирусов ZEBOV, SUDV и BDBV, необходимых для формирования протективного иммунитета, а также предложен рациональный, на наш взгляд, подход создания возможных вариантов вакцин против БВВЭ, вызванной разными видами вируса Эбола, состоящий в использовании векторных конструкций, экспрессирующих как минимум два варианта гликопротеина — GP вируса Эбола вида ZEBOV и вида SUDV.

**Ключевые слова:** болезнь, вызванная вирусом Эбола; БВВЭ; вакцины; кросс-реактивный иммунитет; кросс-протективный иммунитет

**Информация о вкладе авторов:** И. В. Должикова — анализ литературы, планирование исследования, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи; А. И. Тухватулин — анализ литературы, планирование исследования, сбор, анализ, интерпретация данных; А. С. Громова, Д. М. Гроусова, Н. М. Тухватулина, Е. А. Токарская — сбор и анализ данных; Д. Ю. Логунов — анализ литературы, планирование исследования, анализ и интерпретация данных; Б. С. Народицкий — интерпретация данных; А. Л. Гинцбург — интерпретация данных.

✉ **Для корреспонденции:** Инна Вадимовна Должикова  
ул. Гамалеи, д. 18, г. Москва, 123098; i.dolzhikova@gmail.com

**Статья получена:** 06.12.2018 **Статья принята к печати:** 20.02.2019 **Опубликована онлайн:** 03.03.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.005

## GLYCOPROTEIN GP AS A BASIS FOR THE UNIVERSAL VACCINE AGAINST EBOLA VIRUS DISEASE

Dolzhikova IV<sup>✉</sup>, Tukhvatulin AI, Gromova AS, Grousova DM, Tukhvatulina NM, Tokarskaya EA, Logunov DY, Naroditskiy BS, Gintsburg AL

N.F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Ebola virus disease (EVD) is one of the deadliest viral infections affecting humans and nonhuman primates. Of 6 known representatives of the *Ebolavirus* genus responsible for the disease, 3 can infect humans, causing acute highly contagious fever characterized by up to 90% fatality. These include Bundibugyo ebolavirus (BDBV), Zaire ebolavirus (ZEBOV) and Sudan ebolavirus (SUDV). The majority of the reported EVD cases are caused by ZEBOV. Vaccine development against the virus started in 1976, immediately after the causative agent of the infection was identified. So far, 4 vaccines have been approved. All of them are based on the protective epitope of the ZEBOV glycoprotein GP. Because SUDV and BDBV can also cause outbreaks and epidemics, it is vital to design a vaccine capable of conferring protection against all known ebolaviruses posing a threat to the human population. This article presents systematized data on the structure, immunogenicity and protective properties of ebolavirus glycoprotein GP, looks closely at the immunodominant epitopes of ZEBOV, SUDV and BDBV glycoprotein GP required to elicit a protective immune response, and offers a rational perspective on the development of a universal vaccine against EVD that relies on the use of vectors expressing two variants of GP represented by ZEBOV and SUDV.

**Keywords:** Ebola virus disease, EVD, vaccines, cross-reactive immunity, cross-protective immunity

**Author contribution:** Dolzhikova IV, Tukhvatulin AI and Logunov DY conceived and planned the study, analyzed the literature, collected, analyzed and interpreted the data; Gromova AS, Grousova DM, Tukhvatulina NM, and Tokarskaya EA helped to collect and analyze the data; Naroditskiy BS and Gintsburg AL contributed to data interpretation; Dolzhikova IV wrote this manuscript.

✉ **Correspondence should be addressed:** Inna V. Dolzhikova  
Gamalei 18, Moscow, 123098; i.dolzhikova@gmail.com

**Received:** 06.12.2018 **Accepted:** 20.02.2019 **Published online:** 03.03.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.005

Первая вспышка болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), была зафиксирована в 1976 г. в Ямбуку (Демократическая Республика Конго, в то время — Заир) и в Нзаре (Судан). В том же году от больного, проживавшего в долине реки Эбола, был впервые выделен возбудитель БВВЭ — вирус Эбола (*Ebolaviruses*), относящийся к семейству Филовирусов (*Filoviridae*) [1]. В настоящее время известно шесть видов вируса Эбола: *Bundibugyo ebolavirus* (BDBV), *Zaire ebolavirus* (ZEBOV), *Reston ebolavirus* (RESTV), *Sudan ebolavirus* (SUDV), *Tai forest ebolavirus* (TAFV), *Bombali ebolavirus* (BOMV), из которых наиболее патогенны для человека ZEBOV, SUDV и BDBV [2–3]. С момента первой вспышки в 1976 г. было зарегистрировано более 20 случаев БВВЭ, вызванных видами ZEBOV, SUDV и BDBV; самая

крупная вспышка 2014–2016 гг. в Западной Африке переросла в эпидемию и унесла жизни более 12 000 человек. Наибольшее количество зафиксированных случаев БВВЭ было связано с заражением ZEBOV (табл. 1) [4].

ZEBOV, SUDV и BDBV патогенны для человека, вызывают острые вирусные высоконтагиозные лихорадки у людей и приматов. RESTV не вызывает заболевания у человека, однако у людей, работающих с обезьянами, зараженными RESTV, в сыворотке крови детектируют специфичные антитела к RESTV [4]. Причины, лежащие в основе столь разной патогенности между RESTV и патогенных видов вируса Эбола, пока остаются неизученными.

Масштаб эпидемии 2014–2016 гг. заставил мировое сообщество значительно интенсифицировать разработки

вакцинных препаратов против БВВЭ. В настоящее время насчитывается более 10 вакцинных препаратов, четыре из них зарегистрированы для клинического применения [5]. Разработанные кандидатные и зарегистрированные вакцинные препараты обеспечивают 100%-ю защиту приматов от БВВЭ, вызываемой ZEBOV, их эффективность в отношении других видов вируса Эбола варьирует. Так как виды SUDV и BDBV тоже могут служить причиной вспышек и эпидемий БВВЭ, и вследствие выявления новых штаммов ZEBOV, необходима разработка вакцины/вакцин, способных обеспечить защиту от всех известных патогенных для человека видов вируса Эбола.

### Структура вируса Эбола

Вирионы вируса Эбола представлены нитями различной формы, состоят из оболочки, нуклеокапсида, полимеразного комплекса и матрикса [6] (рис. 1). В центре вириона находится нуклеокапсид, состоящий из оцРНК, связанной с белками NP, VP35, VP30 и L. Снаружи вирус Эбола покрыт липидной оболочкой, на поверхности которой расположены шиповидные структуры, образованные гликопротеином GP. В пространстве между оболочкой и нуклеокапсидом находятся белки VP40 и VP24, формирующие белковый матрикс [6].

Вирусный геном представлен оцРНК отрицательной полярности (рис. 2) [6], содержит семь генов, кодирующих девять белков: нуклеопротеин (NP), кофактор вирусной полимеразы (VP35), основной белок матрикса (VP40), три гликопротеина (секретируемый sGP, полноразмерный GP и малый секретируемый ssGP), минорный нуклеопротеин (VP30), мембраноассоциированный белок (VP24), вирусную полимеразу (L) [6–7].

Гликопротеин GP вируса Эбола — единственный белок, расположенный на поверхности вириона. Он играет ключевую роль на начальных этапах инфекционного процесса: связывании вириона с клеткой и последующей интернализации [7].

### Особенности синтеза и процессинга гликопротеина вируса Эбола

Ген гликопротеина вируса Эбола кодирует три белковых продукта pre-sGP, pre-ssGP (оба предшественники секретируемых неструктурных гликопротеинов) и pre-GP (предшественник структурного трансмембранного гликопротеина). Нуклеотидная последовательность гена гликопротеина содержит семь последовательных урацилов в позициях 880–886, где образуется шпилька; шпилька является сложным участком для вирусной L-полимеразы [7–8], что приводит к редактированию РНК. В результате образуется три транскрипта:

- транскрипт, содержащий семь урацилов (~71%), кодирует sGP (364 а.о.);

- транскрипт, содержащий восемь урацилов (~25%), кодирует GP (676 а.о.);

- транскрипт, содержащий девять урацилов (~4%), кодирует ssGP (298 а.о.).

Первые 295 а.о. у гликопротеинов GP, sGP и ssGP одинаковые, однако все белки имеют разную С-концевую часть, что сказывается на их функциях. После синтеза pre-sGP подвергается процессингу клеточными протеазами, что приводит к образованию секретируемого sGP. Последний снижает эффективность гуморального ответа, оттитровывая на себя антитела, и Δ-пептида, который формирует поры в клеточной мембране (рис. 2) [8–9].

Pre-GP также подвергается процессингу клеточными протеазами, что приводит к образованию двух субъединиц: GP1 и GP2. Субъединицы формируют тримеризующиеся гетеродимеры, образующие шипы на поверхности вируса. GP1 содержит рецепторсвязывающий домен, гликановый кэп и муцинподобный домен для взаимодействия с рецепторами на поверхности клетки; GP2 — трансмембранный домен, заякоривающий комплекс в мембране (рис. 2). При этом субъединица GP2 имеет сайт связывания протеазы TACE, и в случае протеолитического расщепления происходит отщепление гликопротеина от мембраны и образование четвертого варианта GP — «сброшенного» гликопротеина shed GP [8].

Зрелый поверхностный гликопротеин GP выполняет одну из самых важных функций в жизненном цикле вируса — взаимодействует с клеточными рецепторами, благодаря чему происходит интернализация: вирус захватывается клеткой путем эндоцитоза/макропиноцитоза, затем в эндосомах под действием фурина и катепсинов клетки происходит отщепление муцинподобного домена и гликанового кэпа гликопротеина, в результате укороченный GP связывается с транспортером холестерина Ниманна-Пика (NCP1), что инициирует слияние эндосомной и вирусной мембран и происходит интернализация нуклеокапсида вируса в цитоплазму [10–11].

### Структурные и иммунологические особенности различных форм гликопротеина вируса Эбола

Все секреторные формы белка (sGP, ssGP и «сброшенный» GP) выполняют функции защиты вируса от вируснейтрализующих реакций протективного иммунитета хозяина. Зараженные вирусом Эбола клетки, секретируя данные гликопротеины, направляют формирование гуморального ответа против ограниченного числа эпитопов [12–13]. При этом превосходящие по количеству sGP, ssGP и «сброшенный» GP оттитровывают на себя основную массу IgG, снижая вируснейтрализующее действие гуморального иммунитета хозяина [14]. Такие гликопротеины (особенно sGP, ssGP) способствуют формированию антител, которые обладают слабым

**Таблица 1.** Летальность при заражении вирусами Эбола разных видов. Данные обобщены по всем вспышкам БВВЭ по количеству заболевших и погибших [4]

Вид	Количество заболевших	Количество погибших	Летальность, %
ZEBOV	30154	12503	40–90
SUDV	792	426	36–65
BDBV	206	66	25–51
RESTV	0/13*	0	0
TAFV	1	0	0
BOMV	0	0	0

**Примечание:** \* — без клинических признаков заболевания, в сыворотке детектированы специфические антитела к RESTV.

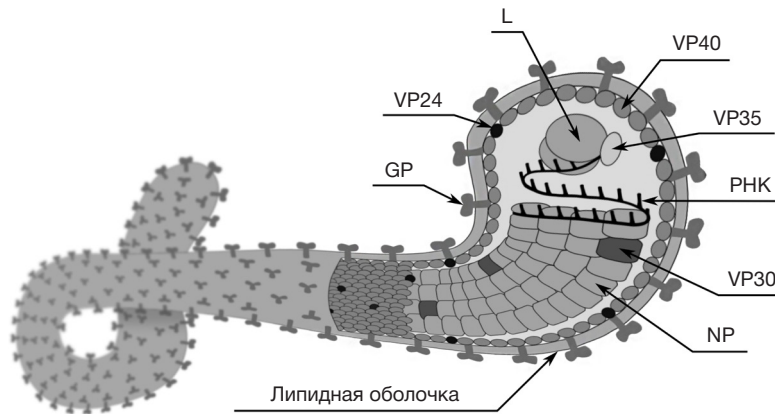
нейтрализующим потенциалом либо не обладают им вовсе, что приводит к развитию феномена антителозависимого усиления инфекции: такие антитела распознают вирус и взаимодействуют с Fc-рецепторами на фагоците, заставляя их интернализировать комплексы вирус-антитела с помощью FcγR-опосредованного фагоцитоза [15]. При этом необходимо отметить тот факт, что, несмотря на наличие в составе секретируемых форм GP сайтов связывания протективных антител, вакцинация редуцированными формами не позволяет сформировать протективный иммунитет у 100% животных. Для формирования полноценного протективного ответа, который позволял бы защищать всех иммунизированных животных от БВВЭ, необходимо наличие полноразмерного GP [16–18], по всей видимости, из-за того, что в структуре полноразмерного белка присутствуют дополнительные сайты нейтрализации и Т-клеточные эпитопы. На это указывают исследования, в которых было показано, что среди антител, выделенных от реконвалесцентов, протективным потенциалом, помимо антител, узнающих GP1 (гликановый кэп), обладают антитела, которые специфично связываются с надмембранной частью GP2 [18–21], а также

исследование CD8<sup>+</sup>-клеток памяти у реконвалесцентов, позволившее выявить эпитопы гликопротеина, важные для формирования протективного Т-клеточного ответа — области рецепторсвязывающего домена и гликанового кэпа гликопротеина [22].

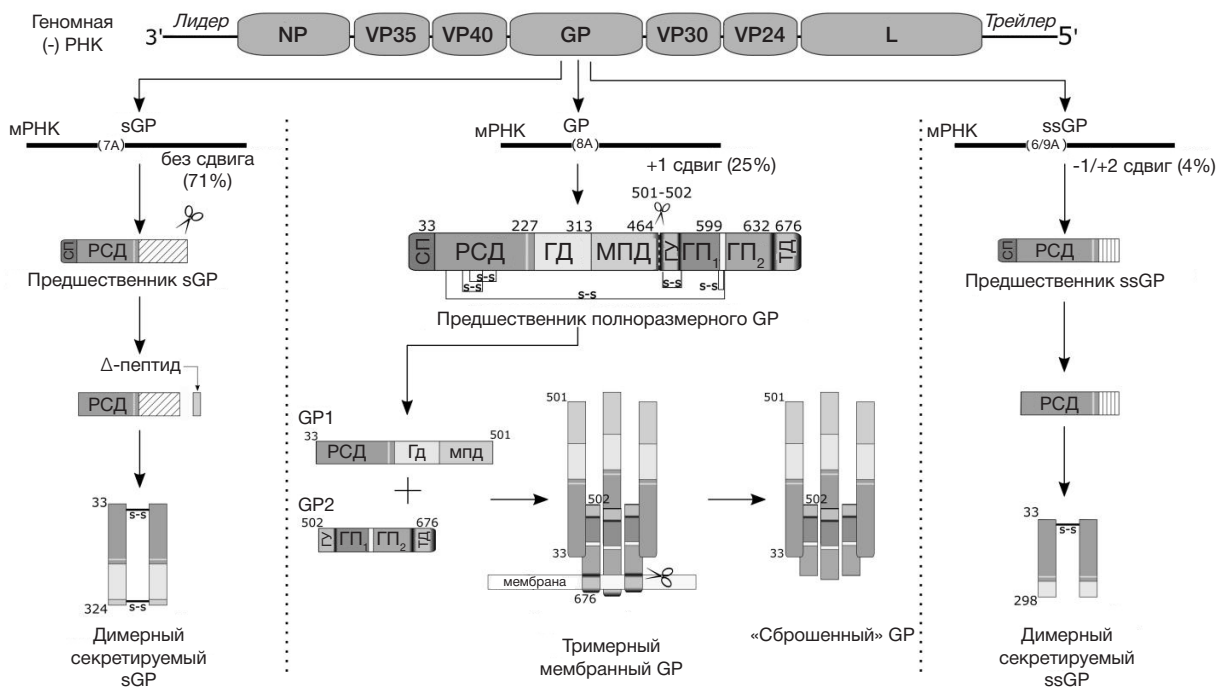
Поскольку формирование полноценного протективного ответа происходит в ответ именно на иммунизацию полноразмерным гликопротеином или экспрессирующими ген *gp* конструкциями, большинство разрабатываемых и уже зарегистрированных вакцин создается на основе именно гликопротеина GP [23–24].

**Анализ перекрестного иммунитета у вакцинированных и перенесших БВВЭ**

Идеальная вакцина против БВВЭ должна обеспечивать протективный ответ на инфицирование всеми патогенными для человека вирусами рода Эбола, в связи с этим крайне важно понимать возможность формирования иммунного ответа не только против гомологичных, но и против филогенетически удаленных видов. Анализ последних работ показывает, что иммунизация приматов вакциной на



**Рис. 1.** Структура вируса Эбола. GP — гликопротеин; L — каталитическая субъединица вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы; NP — нуклеопротеин; VP24 — минорный белок матрикса; VP30 — минорный нуклеопротеин; VP35 — белок нуклеокапсиды; VP40 — матриксный белок



**Рис. 2.** Формы гликопротеина вируса Эбола в клетках эукариот. ГД — гликановый домен (гликановый кэп); ГП — гептадный повтор; ГУ — гидрофобный участок; МПД — муциноподобный домен (муциновый домен); РСД — рецепторсвязывающий домен; СП — сигнальный пептид; ТД — трансмембранный домен

основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита (rVSV-ZEBOV), экспрессирующего гликопротеин GP вируса Эбола изолята 1995 г., приводит к формированию иммунитета против всех ZEBOV (изоляты 1976, 1995 и 2014 гг.) [25]. Об этом же свидетельствуют исследования сывороток реконвалесцентов, перенесших БВБЭ (ZEBOV). В этих исследованиях было показано наличие в сыворотках IgG, способных перекрестно реагировать с гликопротеинами гетерологичных видов (SUDV и BDBV) [26–27]. Исследование кросс-протективности на приматах показывает, что использование гликопротеина ZEBOV (в составе rVSV) позволяет защитить 100% животных от летальной инфекции, вызванной BDBV, при этом иммунизация животных rVSV, несущим гликопротеин SUDV, не обеспечивает защиты от ZEBOV и BDBV [28–30].

В результате исследований возникновения перекрестного иммунитета у животных выявлена одна закономерность: для видов ZEBOV и BDBV показана кросс-протективность поствакцинального иммунитета, в то время как между этими видами и SUDV она отсутствует.

Для объяснения разницы в способности гликопротеинов различных видов вируса Эбола формировать кросс-протективный иммунный ответ нами был проведен сравнительный анализ структуры белка GP. Для этого не только выравнивали аминокислотные последовательности

между вирусами видов ZEBOV, SUDV и BDBV, но и картировали иммунодоминантные эпитопы (ИЭ), т. е. обладающие наибольшей антигенностью, гликопротеинов у 1548 изолятов вируса Эбола (10 последовательностей BDBV, 23 последовательностей SUDV и 1515 последовательностей ZEBOV), взятых из открытой базы данных [31].

Детальный анализ иммунодоминантных регионов, проведенный в программе T Cell Epitope Prediction Tools в режиме деиммунизации [32], позволил идентифицировать 22 ИЭ (табл. 2 и 3). Наибольшее разнообразие было обнаружено в муциновом домене субъединицы GP1, наименьшее — в GP2. При попарном сравнении ИЭ гликопротеинов вирусов Эбола было выявлено, что гомология ИЭ гликопротеинов вирусов ZEBOV и BDBV составила 75,8%, в то время как гомология ИЭ гликопротеинов вирусов ZEBOV и SUDV, а также SUDV и BDBV составила 63,2% и 61,5% соответственно (табл. 2). Следует заметить, что гликопротеины разных изолятов вируса Эбола вида ZEBOV, выделенных в 1976, 1995, 2014 и 2018 гг., практически не отличаются друг от друга и имеют минорные различия в области гликанового кэпа и муцинового домена (табл. 3). Средняя гомология ИЭ составила 98,7–100%.

Полученные данные свидетельствуют о большей филогенетической близости видов ZEBOV и BDBV, по

**Таблица 2.** Гомология аминокислотных последовательностей ИЭ гликопротеинов вируса Эбола видов ZEBOV, SUDV и BDBV. Поиск ИЭ осуществляли в программе T Cell Epitope Prediction Tools [32], сравнение аминокислотных последовательностей было выполнено в программе Geneious® 10.2.3 (Biomatters; Auckland, New Zealand). На тепловой карте представлена гомология в %: темно-серый цвет — 100%, белый цвет — 0%

		Позиции аминокислот	Гомология аминокислотных последовательностей GP вируса Эбола видов ZEBOV, SUDV и BDBV, %			
			ZEBOV vs SUDV vs BDBV	ZEBOV vs SUDV	ZEBOV vs BDBV	SUDV vs BDBV
GP1	PCD	93–127*	82,9	91,4	88,6	82,9
		151–165	86,7	93,3	93,3	93,3
		156–170	86,7	93,3	93,3	86,7
		161–175	73,3	86,7	86,7	73,3
		171–185	66,7	80,0	86,7	66,7
		190–204**	40,0	53,3	73,3	53,3
	Гликановый кэп	211–225	26,7	26,7	40,0	53,3
		214–247*	26,5	29,4	58,8	35,3
		231–245	40,0	46,7	73,3	40,0
		236–250	40,0	46,7	86,7	40,0
		241–255	53,3	53,3	86,7	53,3
		246–260	66,7	66,7	80,0	66,7
		251–265	53,3	53,3	73,3	53,3
	Муцин	271–285**	26,7	40,0	66,7	26,7
		389–405**	0,0	17,6	5,9	11,8
401–417**		5,9	5,9	17,6	17,6	
GP2	476–490**	33,3	53,3	53,3	40,0	
	505–519**	66,7	73,3	73,3	66,7	
	566–580	100	100	100	100	
	571–585	86,7	86,7	100	86,7	
	576–590	86,7	86,7	100	86,7	
	581–595	80,0	80,0	100	80,0	
	599–631**	90,9	90,9	97,0	93,9	
632–651**	70,0	70,0	90,0	75,0		
Средняя гомология (%)			58,0	63,2	75,8	61,5

**Примечание:** \* — ИЭ, необходимые для формирования протективного Т-клеточного ответа [22]; \*\* — ИЭ, необходимые для формирования протективного В-клеточного ответа [20, 34–38].

**Таблица 3.** Гомология аминокислотных последовательностей ИЭ гликопротеинов вируса Эбола видов ZEBOV (изоляты 1976, 1995, 2014 и 2018 гг.). Поиск ИЭ осуществляли в программе T Cell Epitope Prediction Tools [32], сравнение аминокислотных последовательностей было выполнено в программе Geneious® 10.2.3 (Biomatters; Auckland, New Zealand). На тепловой карте представлена гомология в %: темно-серый цвет — 100%, белый цвет — 0%

		Позиции аминокислот	Гомология аминокислотных последовательностей GP вируса Эбола вида ZEBOV изолятов 1976, 1995, 2014 и 2018 гг, %							
			1976–1995–2014–2018	1976–1995	1976–2014	1976–2018	1995–2014	1995–2018	2014–2018	
GP1	PCD	93–127*	100	100	100	100	100	100	100	
		151–165	100	100	100	100	100	100	100	
		156–170	100	100	100	100	100	100	100	
		161–175	100	100	100	100	100	100	100	
		171–185	100	100	100	100	100	100	100	
		190–204**	100	100	100	100	100	100	100	
		Гликановый кэл	211–225	100	100	100	100	100	100	100
			214–247*	100	100	100	100	100	100	100
			231–245	100	100	100	100	100	100	100
	236–250		100	100	100	100	100	100	100	
	241–255		100	100	100	100	100	100	100	
	246–260	100	100	100	100	100	100	100		
	Муцин	251–265	93,3	100	93,3	100	93,3	100	93,3	
		271–285**	100	100	100	100	100	100	100	
		389–405**	94,1	100	94,1	100	94,1	100	94,1	
		401–417**	88,2	100	88,2	100	88,2	100	88,2	
		476–490**	93,3	100	100	93,3	100	93,3	93,3	
GP2	505–519**	100	100	100	100	100	100	100		
	566–580	100	100	100	100	100	100	100		
	571–585	100	100	100	100	100	100	100		
	576–590	100	100	100	100	100	100	100		
	581–595	100	100	100	100	100	100	100		
	599–631**	100	100	100	100	100	100	100		
	632–651**	100	100	100	100	100	100	100		
Средняя гомология (%)			98,7	100	99,0	99,7	99,0	99,7	98,7	

**Примечание:** \* — ИЭ, необходимые для формирования протективного Т-клеточного ответа [22]; \*\* — ИЭ, необходимые для формирования протективного В-клеточного ответа [20, 34–38].

сравнению с SUDV, однако не объясняют разницу в индукции защитного иммунитета у животных, иммунизированных соответствующими вариантами гликопротеина GP. Для объяснения этих различий мы проанализировали места связывания антител, которые способны обеспечивать перекрестную защиту от летальной инфекции, вызванной разными видами вируса Эбола. Такие антитела специфичны не только к GP1, но и к областям, примыкающим к трансмембранному домену GP2 [19–21, 33]. В недавних работах было обнаружено, что антитела, обладающие протективной эффективностью, связываются не с линейными, а с конформационными эпитопами в гликопротеине [34–36]. Проведенное нами исследование последовательностей GP показало, что позиции ключевых аминокислот, необходимых для связывания с протективными антителами, весьма консервативны. Анализ мест связывания антител, обладающих протективным потенциалом, показал, что позиции ключевых аминокислот (замена которых полностью блокирует способность антител связываться с GP) в эпитопах ZEBOV полностью идентичны позициям аминокислот в эпитопах гликопротеина вируса Эбола вида BDBV, при этом гомология с этими аминокислотами

в эпитопах гликопротеина вируса Эбола вида SUDV колеблется в пределах 30–60% (рис. 3). По нашему мнению, мутации в таких позициях аминокислот приводят к подавлению протективного действия антител. Гомология мест связывания протективных антител с гликопротеинами вируса Эбола различных видов, по-видимому, и обуславливает наличие кросс-протективного иммунного ответа между видами ZEBOV-BDBV и отсутствие кросс-протективного иммунного ответа между этими видами и SUDV.

Открытие универсальных антител, способных обеспечить протекцию от патогенных для человека видов вируса Эбола [19–21, 33–34, 36], служит предпосылкой к разработке не только эффективных средств терапии БВБЭ, вызванной различными видами вируса Эбола, но и рациональных подходов к созданию вакцины против этих патогенов. Исследования кросс-протективности, а также антител, полученных от реконвалесцентов после эпидемии БВБЭ, дают нам основания считать, что есть возможность создания вакцины на основе гликопротеина ZEBOV, которая могла бы обеспечивать протективный иммунный ответ против ZEBOV и BDBV. При этом для того, чтобы обеспечить протективный иммунитет



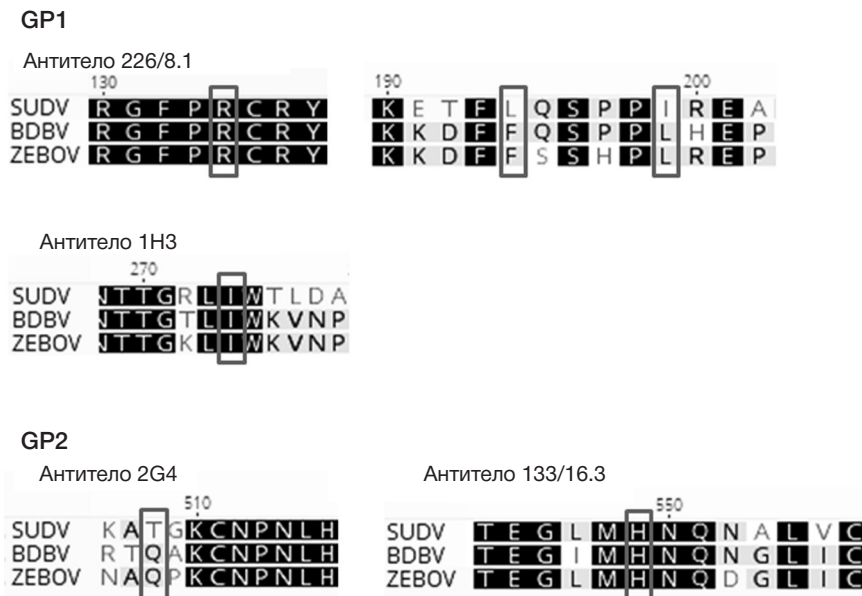


Рис. 3. Выровненные консенсусные аминокислотные последовательности гликопротеинов вируса Эбола видов ZEBOV, SUDV и BDBV. Ключевые позиции аминокислот, необходимые для связывания с антителами, отмечены прямоугольниками [34, 36]

к SUDV необходимо в состав вакцины включить гликопротеин SUDV.

**ВЫВОДЫ**

Сравнительный анализ структуры GP у 1548 изолятов, относящихся к ZEBOV, SUDV и BDBV, показал высокую вариабельность аминокислотных последовательностей GP вируса Эбола различных видов (~60–65% гомологии). Дальнейший анализ гомологии эпитопов GP ZEBOV, SUDV и BDBV, учитывающий третичную структуру белка, показал наличие общих аминокислот, связывание которых антителами позволяет нейтрализовать вирусы ZEBOV и BDBV, имеющие низкий процент гомологии в линейных аминокислотных последовательностях. Полученные

результаты полностью согласуются с данными о способности существующих кандидатных и зарегистрированных вакцин индуцировать перекрестный протективный иммунитет в отношении вирусов ZEBOV и BDBV. При этом защиту всех иммунизированных животных от летальной инфекции, вызванной SUDV, обеспечивают только вакцины, сконструированные на основе антигена GP SUDV, но не GP других видов.

По нашему мнению, перечисленные факты свидетельствуют о том, что для создания эффективной вакцины, обеспечивающей защиту от известных патогенных видов вируса Эбола, необходимо использовать векторные конструкции, экспрессирующие как минимум два варианта гликопротеина — антигена GP вируса Эбола видов ZEBOV и SUDV.

**Литература**

- Beer B, Kurth R, Bukreyev A. Characteristics of Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. *Naturwissenschaften*. 1999; 86 (1): 8–17.
- Kuhn JH, Becker S, Ebihara H, Geisbert TW, Johnson KM, Kawaoka Y, et al. Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: Classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Archives of Virology*. 2010; 155 (12): 2083–103.
- Goldstein T, Anthony SJ, Gbakima A, Bird BH, Bangura J, Tremeau-Bravard A, et al. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nature Microbiology*. 2018; 3 (10): 1084–89.
- CDC. Cases and Outbreaks of EVD by Year [updated 2018 Nov 9; cited 2018 Nov 12]. Available from: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/history/chronology.html>.
- Lévy Y, Lane C, Piot P, Beavogui AH, Kieh M, Leigh B, et al. Prevention of Ebola virus disease through vaccination: where we are in 2018. *Lancet*. 2018; 392 (10149): 787–90.
- Bharat TA, Noda T, Riches JD, Kraehling V, Kolesnikova L, Becker S, et al. Structural dissection of Ebola virus and its assembly determinants using cryo-electron tomography. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012; 109 (11): 4275–80.
- Volchkov VE, Becker S, Volchkova VA, Ternovoj VA, Kotov AN, Netesov SV, et al. GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and vaccinia virus polymerases. *Virology*. 1995; 214 (2): 421–30.
- Cook JD, Lee JE. The Secret Life of Viral Entry Glycoproteins: Moonlighting in Immune Evasion. *PLoS Pathog*. 2013; 9 (5): e1003258.
- He J, Melnik LI, Komin A, Wiedman G, Fuselier T, Morris CF, et al. Ebola Virus Delta Peptide is a Viroporin. *J Virol*. 2017; 91 (16): e00438–17.
- Lee JE, Saphire EO. Ebolavirus glycoprotein structure and mechanism of entry. *Future virology*. 2009; 4 (6): 621–35.
- Wang H, Shi Y, Song J, Qi J, Lu G, Yan J, et al. Ebola Viral Glycoprotein Bound to Its Endosomal Receptor Niemann-Pick C1. *Cell*. 2016; 164 (1–2): 258–68.
- Sanchez A, Yang ZY, Xu L, Nabel GJ, Crews T, Peters CJ. Biochemical Analysis of the Secreted and Virion Glycoproteins of Ebola Virus. *J Virol*. 1998; 72 (8): 6442–47.
- Dolnik O, Volchkova V, Garten W, Carbonnelle C, Becker S, Kahnt J, et al. Ectodomain shedding of the glycoprotein GP of Ebola virus. *EMBO J*. 2004; 23 (10): 2175–84.
- Ito H, Watanabe S, Takada A, Kawaoka Y. Ebola Virus Glycoprotein: Proteolytic Processing, Acylation, Cell Tropism, and Detection of Neutralizing Antibodies. *J Virol*. 2001; 75 (3): 1576–80.
- Kuzmina NA, Younan P, Gilchuk P, Santos RI, Flyak AI, Ilinykh PA, et al. Antibody-Dependent Enhancement of Ebola Virus Infection by Human Antibodies Isolated from Survivors. *Cell Rep*. 2018; 24 (7): 1802–15.

16. Sullivan NJ, Geisbert TW, Geisbert JB, Shedlock DJ, Xu L, Lamoreaux L, et al. Immune protection of nonhuman primates against Ebola virus with single low-dose adenovirus vectors encoding modified GPs. *PLoS Med.* 2006; 3 (6): e177.
17. Li W, Ye L, Carrion R, Nunneley J, Staples H, Ticer A, et al. Characterization of Immune Responses Induced by Ebola Virus Glycoprotein (GP) and Truncated GP Isoform DNA Vaccines and Protection Against Lethal Ebola Virus Challenge in Mice. *J Infect Dis.* 2015; 212 (Suppl 2): S398–403.
18. Saphire EO, Schendel SL, Fusco ML, Gangavarapu K, Gunn BM, Wec AZ, et al. Systematic Analysis of Monoclonal Antibodies against Ebola Virus GP Defines Features that Contribute to Protection. *Cell.* 2018; 174 (4): 938–52.
19. Wec AZ, Herbert AS, Murin CD, Nyakatura EK, Abelson DM, Fels JM, et al. Antibodies from a Human Survivor Define Sites of Vulnerability for Broad Protection against Ebolaviruses. *Cell.* 2017; 169 (5): 878–90.
20. Gilchuk P, Kuzmina N, Ilinykh PA, Huang K, Gunn BM, Bryan A, et al. Multifunctional Pan-ebolavirus Antibody Recognizes a Site of Broad Vulnerability on the Ebolavirus Glycoprotein. *Immunity.* 2018; 49 (2): 363–74.
21. Flyak AI, Kuzmina N, Murin CD, Bryan C, Davidson E, Gilchuk P, et al. Broadly neutralizing antibodies from human survivors target a conserved site in the Ebola virus glycoprotein HR2-MPER region. *Nat Microbiol.* 2018; 3 (6): 670–77.
22. Sakabe S, Sullivan BM, Hartnett JN, Robles-Sikisaka R, Gangavarapu K, Cubitt B, et al. Analysis of CD8+ T cell response during the 2013–2016 Ebola epidemic in West Africa. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018; 115 (32): E7578–E7586.
23. Lévy Y, Lane C, Piot P, Beavogui AH, Kieh M, Leigh B, et al. Prevention of Ebola virus disease through vaccination: where we are in 2018. *Lancet.* 2018; 392 (10149): 787–90.
24. Dolzhnikova IV, Tokarskaya EA, Dzharullaeva AS, Tukhvatulin AI, Shchelyakov DV, Voronina OL, et al. Virus-Vectored Ebola Vaccines. *Acta Naturae.* 2017; 9 (3): 4–11.
25. Marzi A, Robertson SJ, Haddock E, Feldmann F, Hanley PW, Scott DP, et al. EBOLA VACCINE. VSV-EBOV rapidly protects macaques against infection with the 2014/15 Ebola virus outbreak strain. *Science.* 2015; 349 (6249): 739–42.
26. Macneil A, Reed Z, Rollin PE. Serologic cross-reactivity of human IgM and IgG antibodies to five species of Ebola virus. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5 (6): 1175.
27. Natesan M, Jensen SM, Keasey SL, Kamata T, Kuehne AI, Stonier SW, et al. Human Survivors of Disease Outbreaks Caused by Ebola or Marburg Virus Exhibit Cross-Reactive and Long-Lived Antibody Responses. *Clin Vaccine Immunol.* 2016; (23): 717–24.
28. Hensley LE, Mulangu S, Asiedu C, Johnson J, Honko AN, Stanley D, et al. Demonstration of cross-protective vaccine immunity against an emerging pathogenic Ebolavirus Species. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (5): e1000904.
29. Mire CE, Geisbert JB, Marzi A, Agans KN, Feldmann H, Geisbert TW. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against Bundibugyo ebolavirus. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013; (7): e2600.
30. Marzi A, Ebihara H, Callison J, Groseth A, Williams KJ, Geisbert TW, et al. Vesicular stomatitis virus-based Ebola vaccines with improved cross-protective efficacy. *J Infect Dis.* 2011; 204 (Suppl 3): S1066–74.
31. Hatcher EL, Zhdanov SA, Bao Y, Blinkova O, Nawrocki EP, Ostapchuck Y, et al. Virus Variation Resource — improved response to emergent viral outbreaks. *Nucleic Acids Res.* 2016; 45 (D1): 482–90.
32. T Cell Epitope Prediction Tools [cited 2018 Nov 12]. Available from: <http://tools.iedb.org/main/tcell/>.
33. Ilinykh PA, Santos RI, Gunn BM, Kuzmina NA, Shen X, Huang K, et al. Asymmetric antiviral effects of ebolavirus antibodies targeting glycoprotein stem and glycan cap. *PLoS Pathog.* 2018; 14 (8): e1007204.
34. Audet J, Wong G, Wang H, Lu G, Gao GF, Kobinger G, et al. Molecular characterization of the monoclonal antibodies composing ZMAb: a protective cocktail against Ebola virus. *Sci Rep.* 2014; (4): 6881.
35. Murin CD, Fusco ML, Bornholdt ZA, Qiu X, Olinger GG, Zeitlin L, et al. Structures of protective antibodies reveal sites of vulnerability on Ebola virus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111 (48): 17182–7.
36. Ponomarenko J, Vaughan K, Sette A, Maurer-Stroh S. Conservancy of mAb Epitopes in Ebolavirus Glycoproteins of Previous and 2014 Outbreaks. *PLoS Curr.* 2014; (6).
37. Zhao X, Howell KA, He S, Brannan JM, Wec AZ, Davidson E, et al. Immunization-Elicited Broadly Protective Antibody Reveals Ebolavirus Fusion Loop as a Site of Vulnerability. *Cell.* 2017; 169 (5): 891–904.
38. Misasi J, Gilman MS, Kanekiyo M, Gui M, Cagigi A, Mulangu S, et al. Structural and molecular basis for Ebola virus neutralization by protective human antibodies. *Science.* 2016; 351 (6279): 1343–6.

## References

1. Beer B, Kurth R, Bukreyev A. Characteristics of Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. *Naturwissenschaften.* 1999; 86 (1): 8–17.
2. Kuhn JH, Becker S, Ebihara H, Geisbert TW, Johnson KM, Kawaoka Y, et al. Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: Classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Archives of Virology.* 2010; 155 (12): 2083–103.
3. Goldstein T, Anthony SJ, Gbakima A, Bird BH, Bangura J, Tremeau-Bravard A, et al. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nature Microbiology.* 2018; 3 (10): 1084–89.
4. CDC. Cases and Outbreaks of EVD by Year [updated 2018 Nov 9; cited 2018 Nov 12]. Available from: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/history/chronology.html>.
5. Lévy Y, Lane C, Piot P, Beavogui AH, Kieh M, Leigh B, et al. Prevention of Ebola virus disease through vaccination: where we are in 2018. *Lancet.* 2018; 392 (10149): 787–90.
6. Bharat TA, Noda T, Riches JD, Kraehling V, Kolesnikova L, Becker S, et al. Structural dissection of Ebola virus and its assembly determinants using cryo-electron tomography. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109 (11): 4275–80.
7. Volchkov VE, Becker S, Volchkova VA, Ternovoj VA, Kotov AN, Netesov SV, et al. GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and vaccinia virus polymerases. *Virology.* 1995; 214 (2): 421–30.
8. Cook JD, Lee JE. The Secret Life of Viral Entry Glycoproteins: Moonlighting in Immune Evasion. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (5): e1003258.
9. He J, Melnik LI, Komin A, Wiedman G, Fuselier T, Morris CF, et al. Ebola Virus Delta Peptide is a Viroporin. *J Virol.* 2017; 91 (16): e00438–17.
10. Lee JE, Saphire EO. Ebolavirus glycoprotein structure and mechanism of entry. *Future virology.* 2009; 4 (6): 621–35.
11. Wang H, Shi Y, Song J, Qi J, Lu G, Yan J, et al. Ebola Viral Glycoprotein Bound to Its Endosomal Receptor Niemann-Pick C1. *Cell.* 2016; 164 (1–2): 258–68.
12. Sanchez A, Yang ZY, Xu L, Nabel GJ, Crews T, Peters CJ. Biochemical Analysis of the Secreted and Virion Glycoproteins of Ebola Virus. *J Virol.* 1998; 72 (8): 6442–47.
13. Dolnik O, Volchkova V, Garten W, Carbonnelle C, Becker S, Kahnt J, et al. Ectodomain shedding of the glycoprotein GP of Ebola virus. *EMBO J.* 2004; 23 (10): 2175–84.
14. Ito H, Watanabe S, Takada A, Kawaoka Y. Ebola Virus Glycoprotein: Proteolytic Processing, Acylation, Cell Tropism, and Detection of Neutralizing Antibodies. *J Virol.* 2001; 75 (3): 1576–80.
15. Kuzmina NA, Younan P, Gilchuk P, Santos RI, Flyak AI, Ilinykh PA, et al. Antibody-Dependent Enhancement of Ebola Virus Infection by Human Antibodies Isolated from Survivors. *Cell Rep.* 2018; 24 (7): 1802–15.
16. Sullivan NJ, Geisbert TW, Geisbert JB, Shedlock DJ, Xu L, Lamoreaux L, et al. Immune protection of nonhuman primates against Ebola virus with single low-dose adenovirus vectors

- encoding modified GPs. *PLoS Med.* 2006; 3 (6): e177.
17. Li W, Ye L, Carrion R, Nunneley J, Staples H, Ticer A, et al. Characterization of Immune Responses Induced by Ebola Virus Glycoprotein (GP) and Truncated GP Isoform DNA Vaccines and Protection Against Lethal Ebola Virus Challenge in Mice. *J Infect Dis.* 2015; 212 (Suppl 2): S398–403.
  18. Saphire EO, Schendel SL, Fusco ML, Gangavarapu K, Gunn BM, Wec AZ, et al. Systematic Analysis of Monoclonal Antibodies against Ebola Virus GP Defines Features that Contribute to Protection. *Cell.* 2018; 174 (4): 938–52.
  19. Wec AZ, Herbert AS, Murin CD, Nyakatura EK, Abelson DM, Fels JM, et al. Antibodies from a Human Survivor Define Sites of Vulnerability for Broad Protection against Ebolaviruses. *Cell.* 2017; 169 (5): 878–90.
  20. Gilchuk P, Kuzmina N, Ilinykh PA, Huang K, Gunn BM, Bryan A, et al. Multifunctional Pan-ebolavirus Antibody Recognizes a Site of Broad Vulnerability on the Ebolavirus Glycoprotein. *Immunity.* 2018; 49 (2): 363–74.
  21. Flyak AI, Kuzmina N, Murin CD, Bryan C, Davidson E, Gilchuk P, et al. Broadly neutralizing antibodies from human survivors target a conserved site in the Ebola virus glycoprotein HR2-MPER region. *Nat Microbiol.* 2018; 3 (6): 670–77.
  22. Sakabe S, Sullivan BM, Hartnett JN, Robles-Sikisaka R, Gangavarapu K, Cubitt B, et al. Analysis of CD8+ T cell response during the 2013–2016 Ebola epidemic in West Africa. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018; 115 (32): E7578–E7586.
  23. Lévy Y, Lane C, Piot P, Beavogui AH, Kieh M, Leigh B, et al. Prevention of Ebola virus disease through vaccination: where we are in 2018. *Lancet.* 2018; 392 (10149): 787–90.
  24. Dolzhikova IV, Tokarskaya EA, Dzharullaeva AS, Tukhvatulin AI, Shcheblyakov DV, Voronina OL, et al. Virus-Vectored Ebola Vaccines. *Acta Naturae.* 2017; 9 (3): 4–11.
  25. Marzi A, Robertson SJ, Haddock E, Feldmann F, Hanley PW, Scott DP, et al. EBOLA VACCINE. VSV-EBOV rapidly protects macaques against infection with the 2014/15 Ebola virus outbreak strain. *Science.* 2015; 349 (6249): 739–42.
  26. Macneil A, Reed Z, Rollin PE. Serologic cross-reactivity of human IgM and IgG antibodies to five species of Ebola virus. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5 (6): 1175.
  27. Natesan M, Jensen SM, Keasey SL, Kamata T, Kuehne AI, Stonier SW, et al. Human Survivors of Disease Outbreaks Caused by Ebola or Marburg Virus Exhibit Cross-Reactive and Long-Lived Antibody Responses. *Clin Vaccine Immunol.* 2016; (23): 717–24.
  28. Hensley LE, Mulangu S, Asiedu C, Johnson J, Honko AN, Stanley D, et al. Demonstration of cross-protective vaccine immunity against an emerging pathogenic Ebolavirus Species. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (5): e1000904.
  29. Mire CE, Geisbert JB, Marzi A, Agans KN, Feldmann H, Geisbert TW. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against Bundibugyo ebolavirus. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013; (7): e2600.
  30. Marzi A, Ebihara H, Callison J, Groseth A, Williams KJ, Geisbert TW, et al. Vesicular stomatitis virus-based Ebola vaccines with improved cross-protective efficacy. *J Infect Dis.* 2011; 204 (Suppl 3): S1066–74.
  31. Hatcher EL, Zhdanov SA, Bao Y, Blinkova O, Nawrocki EP, Ostapchuck Y, et al. Virus Variation Resource — improved response to emergent viral outbreaks. *Nucleic Acids Res.* 2016; 45 (D1): 482–90.
  32. T Cell Epitope Prediction Tools [cited 2018 Nov 12]. Available from: <http://tools.iecb.org/main/tcell/>.
  33. Ilinykh PA, Santos RI, Gunn BM, Kuzmina NA, Shen X, Huang K, et al. Asymmetric antiviral effects of ebolavirus antibodies targeting glycoprotein stem and glycan cap. *PLoS Pathog.* 2018; 14 (8): e1007204.
  34. Audet J, Wong G, Wang H, Lu G, Gao GF, Kobinger G, et al. Molecular characterization of the monoclonal antibodies composing ZMAb: a protective cocktail against Ebola virus. *Sci Rep.* 2014; (4): 6881.
  35. Murin CD, Fusco ML, Bornholdt ZA, Qiu X, Olinger GG, Zeitlin L, et al. Structures of protective antibodies reveal sites of vulnerability on Ebola virus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111 (48): 17182–7.
  36. Ponomarenko J, Vaughan K, Sette A, Maurer-Stroh S. Conservancy of mAb Epitopes in Ebolavirus Glycoproteins of Previous and 2014 Outbreaks. *PLoS Curr.* 2014; (6).
  37. Zhao X, Howell KA, He S, Brannan JM, Wec AZ, Davidson E, et al. Immunization-Elicited Broadly Protective Antibody Reveals Ebolavirus Fusion Loop as a Site of Vulnerability. *Cell.* 2017; 169 (5): 891–904.
  38. Misasi J, Gilman MS, Kanekiyo M, Gui M, Cagigi A, Mulangu S, et al. Structural and molecular basis for Ebola virus neutralization by protective human antibodies. *Science.* 2016; 351 (6279): 1343–6.