DOI: https://doi.org/10.22263/2312-4156.2020.1.13

ГЛАВНЫЙ АЛЛЕРГЕН ПЫЛЬЦЫ БЕРЕЗЫ – BET V 1: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ПАРХОМЧУК О.Ю., ЗВЕРКО В.В., ГРИГОРЬЕВА Е.Е., ФОМИНА Е.Г.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №1. – С. 13-23.

THE MAIN ALLERGEN OF BIRCH POLLEN BET V 1: LITERATURE REVIEW

PARKHAMCHUK O.Y., ZVERKO V.V., GRIGORYEVA E.E., FOMINA E.G.

Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(1):13-23.

Резюме.
Во всем мире отмечается быстрый рост аллергических заболеваний. У значительного количества населения развитых стран (более 20%) выявлены аллергические реакции I типа: риниты, конъюктивиты, бронхиальная астма. Пыльца березы, наряду с пыльцой других родственных растений семейств Betulaceae и Fagaceae, является одной из причин сезонных аллергических реакций I типа. Bet v 1, главный белок пыльцы березы, ответственен за выработку специфического IgE у более чем 95% пациентов, страдающих от аллергии на пыльцу березы. В настоящее время аллерген-специфическая иммунотерапия является единственным методом лечения аллергических реакций I типа. Применение современных противоаллергических вакцин на основе рекомбинантных аллергенов, рекомбинантных производных гипоаллергенных аллергенов и Т-клеточных пептидов, полученных из аллергенов, для аллерген-специфической иммунотерапии способствует уменьшению побочных эффектов и повышению эффективности лечения. В данном обзоре представлена информация о белке Bet v 1: от истории открытия до создания вакцины против аллергии на пыльцу березы.
Ключевые слова: аллергия, пыльца березы, весенний поллиноз, Bet v 1, аллерген-специфическая иммунотерапия, рекомбинантные аллергены.

Abstract.
All over the world there is a rapid increase in allergic diseases. A significant number of the population in the developed countries (more than 20%) have allergic reactions of type I: rhinitis, conjunctivitis, bronchial asthma. Birch pollen, along with the pollen from other related plants of the Betulaceae and Fagaceae families, is one of the causes of seasonal type I allergic reactions. Bet v 1, the main protein of birch pollen, is responsible for the production of specific IgE in more than 95% of patients who are allergic to birch pollen. Allergen-specific immunotherapy is currently the only treatment for type I allergic reactions. The use of modern antiallergic vaccines based on recombinant allergens, recombinant derivatives of hypoallergenic allergens and T-cell peptides derived from allergens for allergen-specific immunotherapy helps to reduce side effects and increase the effectiveness of treatment. This review provides information on Bet v 1 protein: from the discovery history to the creation of a vaccine against allergies to birch pollen.
Key words: allergy, birch pollen, spring hay fever, Bet v 1, allergen-specific immunotherapy, recombinant allergens.

В течение прошлого столетия аллергические заболевания приобрели массовый характер: примерно полмиллиарда людей во всем мире страдают аллергическим ринитом. Одним из основных факторов риска как сезонного аллергического ринита, так и астмы считаются аллергены пыльцы деревьев отряда Fagales (например, береза, ольха, орешник, дуб и граб) [1-3]. Достижения

в области молекулярного клонирования и рекомбинантных технологий позволили определить белковые компоненты, отвечающие за формирование аллергической реакции. Одним из таких белков является главный аллерген пыльцы березы Bet v 1 [4].

В данной статье представлены основные сведения о главном белке пыльцы березы Bet v 1, его структурных особенностях, роли белка в аллерген-специфической иммунотерапии. С этой целью были использованы доступные источники информации профессиональной базы данных научной информации Национальной медицинской библиотеки и Национального института здравоохранения США (PubMed), электронные информационные ресурсы издательства «Wiley» и издательства «Springer Nature».

Исторический аспект исследований пыльцевой аллергии

Изучение такого явления, как аллергия, началось еще в древности и продолжается в наше время. Первые документальные упоминания об аллергических заболеваниях относятся к третьему тысячелетию до нашей эры. Были обнаружены описания дыхательных расстройств (папирус Эбнера, Каннон внутренней медицины). Первым, кто всерьез заинтересовался аллергией, был Гиппократ. Именно Гиппократ показал взаимосвязь между респираторными заболеваниями и окружающей средой (период Греко-Римской цивилизации). Позже Плиний Старший определил, что источником дыхательной недостаточности является пыльца. В Средневековье продолжились дальнейшие исследования аллергии. Внимание исследователей в этот период было направлено на облегчение симптомов аллергии. Иранским учёным-энциклопедистом Разесом были описаны симптомы аллергического ринита, который в то время называли «розовый жар». В эпоху Ренессанса началось изучение внешних причин аллергических реакций. Первым, кто предположил, что загрязнение окружающей среды может привести к заболеваниям легких, был немецкий исследователь Георгиос Агрикола. Активное изучение пыльцевой аллергии началось в XVI в. Ведутся исследования сезонной аллергии, происходит становление аллергологии как науки. Первым европейцем, который описал симптомы сезонной аллергии, был Леонардо Баттало, употребив для определения этого явления термин «розовый катар». Со временем интерес к изучению пыльцевой аллергии возрастал. Началось изучение пыльцы растений (Неемия Грю, 1700 г.). В 1889 г. доктор Л. Силич на заседании Общества русских врачей в Санкт-Петербурге сделал первое в России сообщение о поллинозе. Клеменс фон Пирке в 1906 г. пришел к выводу, что иммунная система способна продуцировать антитела и ввел термин «аллергия», а Альфред Вольф-Ейснер выдвинул утверждение, что сезонный аллергический ринит – это гиперчувствительная реакция. Начиная с XX в. начинается современная эпоха изучения аллергии. Ведущую роль в симптоматике астмы отводят сезонному аллергическому риниту. Развиваются направления исследования в области аллергологии, направленные на изучение методов лечения и профилактики аллергических заболеваний [5]. На сегодняшний день пыльцевая аллергия является важной проблемой здравоохранения. Особое место в формировании пыльцевой аллергии занимают аллергены деревьев: пыльца березы, ольхи, лещины и др. Голосеменные деревья (вечнозеленые) имеют относительно мягкую пыльцу, которая склонна к осыпанию прямо вниз и не обладает высокой аллергенностью. Из хвойных деревьев чаще всего аллергию вызывает пыльца ели и сосны. Покрытосеменные растения продуцируют более аллергенную пыльцу (береза, ольха, бук, вяз, орешник). Пыльца березы обладает наиболее выраженной активностью, так как ее содержание в воздухе составляет 20 000 пыльцевых зерен в 1 м³ [6, 7].

Общее представление об аллергенах пыльцы березы

Среди произрастающих в мире около 120 видов берез (род Betula L.) наиболее известна береза повислая – Betula pendula Roth., семейства Березовые – Betulaceae L., (syn.: береза бородавчатая – Betula verrucosa Ehrh.) (рис. 1) [8].

Представители рода Betula L. произрастают практически по всему миру, за исключением Африки и Австралии. В медицине довольно широко используются листья березы, березовые почки и березовый сок, кора березы. Однако пыльца березы является причиной тяжелых аллергических заболеваний – поллинозов. Поллиноз — сезонное заболевание, причиной которого является аллергическая реакция на пыльцу различных растений, проявляющееся в виде риноконьюктивитов. Береза повислая цветет весной (апрель – май)

А

Б

Рисунок 1 – Мужское соцветие березы повислой (*Betula pendula Roth*) (А) и пыльцевое зерно березы повислой (*Betula pendula Roth*) – растровая электронная микроскопия (SEM) (Б) [8].

до раскрытия листьев. Пыльца, образующаяся в этот период в больших количествах, легко распространяется ветром (рис. 1) [8].

Аллергическая реакция возникает в результате попадания в организм человека пыльцевых аллергенов, которые представляют собой водорастворимые белки, или гликопротеины, с молекулярной массой от 10 до 70 кДа, сосредоточенные в спородерме, митохондриях, рибосомах, вблизи крахмальных гранул [9]. Аллергены пыльцы березы представляют собой большую группу неинфекционных аллергенов, в состав которых входит несколько белковых структур. Те белковые структуры, которые содержатся в большем количестве и более крупные по размеру, являются главными («мажорными») аллергенами. Обычно это видоспецифические белки, устойчивые к нагреванию. Белки, содержащиеся в меньшем количестве, – «минорные» (второстепенные) белки. К «минорным» аллергенам пыльцы березы относятся следующие белки: Bet v 2 (белок из семейства профилинов), Bet v 3 (4 EF-кальций-связывающий белок), Bet v 4 (2 EF-кальций-связывающий белок, полькальцин), Bet v 6 (изофлавоновая редуктаза), Bet v 7 (циклофилин). Белок Bet v 2 может выступать в роли перекрестно-реагирующего аллергена, выявляется в пыльце различных деревьев, луговых и сорных трав, овощах, фруктах, орехах, специях. Белки Bet v 4, Bet v 6 и Bet v 7 – IgE-связывающие белки; белок Bet v 3 не вызывает перекрестные реакции. Главным аллергеном пыльцы березы является белок Bet v 1, принадлежащий к семейству белков PR-10 (pathogenesis-related proteins). Именно этот белок вызывает формирование так называемой истинной аллергии к пыльце березы, что подтверждается наличием в крови специфических антител IgE к аллергокомпоненту Bet v 1 [3, 10, 11].

Главный аллерген пыльцы березы – Bet v 1

Белки семейства PR-10 – внутриклеточные белки с неизвестной ферментативной функцией, синтез которых индуцируется в различных стрессовых условиях и во время физиологических изменений на определенных стадиях развития. Этот класс белков был впервые выделен из петрушки. Из различных белков семейства PR-10 хорошо изучен белок Bet v 1 с молекулярной массой 17 кДа. Структура этого белка гомологична структуре белков пыльцы других деревьев из семейств Березовых, Буковых, Ореховых и таксономически связанных фруктов (яблоки, абрикосы, персики, черешня), овощей (морковь, сельдерей) и специй. Поэтому у лиц, сенсибилизированных к белку Bet v 1, кроме респираторных симптомов на пыльцу нередко при употреблении в пищу фруктов, некоторых овощей, орехов, наблюдается синдром оральной аллергии: зуд, жжение, отек, покраснение в ротовой полости. Некоторые аллергены, гомологичные Bet v 1, были выделены из яблок (Mal d1), черешни (Pru av 1), сельдерея (Api g 1), моркови (Dau c 1), персика (Pru p 1) и груши (Pyr c 1). При сравнении нуклеотидных

последовательностей некоторых из этих гомологичных аллергенов было показано значительное сходство последовательностей Bet v 1 с пищевыми аллергенами: около 52,5 % с Mal d 1, 57,8 % с Pru av 1, 39,8 % с Api g 1, 35,9 % с Dau c 1, около 55,0 % и 56,6 % с Pru p 1 и Pyr c 1 соответственно. Структурно гомологичными белку Bet v 1 являются и белки, отвечающие за формирование аллергии на бобовые: Gly m 4 (соевый белок), Ara h 8 (белок, выделенный из арахиса), Vig r 1 (белок проростков бобов). Сходство нуклеотидных последовательностей выявлено и с белками фундука (Cor a 1) и каштана (Cas s 1). Максимальное сходство структуры белка Bet v 1 наблюдается с белком Cor a 1 (рис. 2). Перекрестная реактивность формируется, когда антитела IgE, образующиеся первоначально в ответ на сенсибилизацию Bet v 1, распознают сходные эпитопы, присутствующие на поверхности этих пищевых аллергенных белков [10].

Bet v 1 хорошо охарактеризован биохимически и структурно. Большой гидрофобный карман, образованный элементами вторичной структуры Bet v 1, позволяет предположить, что этот аллерген действует в качестве запасного или переносящего белка (рис. 3) [10, 11].

Экстракты пыльцы березы проявляют высокую степень гетерогенности и содержат различные изоформы Bet v 1, которые отличаются, как правило, только несколькими аминокислотами [2, 12]. Первой изоформой Bet v 1, описанной на уровне ДНК, была Bet v 1a [13, 12]. В настоящее время по способности индуцировать иммунный ответ выделяют 9 изоформ аллергена (a, b, c, d, e, f, g, j, i), а по вариабельности нуклеотидной последовательности – 47 изоформ [14]. Исследования протеомного профиля экстрактов пыльцы березы различного происхождения или вида выявили существенные различия в составе и количестве изоформ. Наиболее распространенной изоформой является Bet v 1a (от 50% до 70%), за которой следуют Bet v 1d (20%), Bet v 1b (от 3% до 20%), Bet v 1f (от 2% до 8%) и Bet v 1j (~ 1%) [15]. Изоформы Bet v 1 могут быть сгруппированы в три класса, каждый из которых объединяет молекулы, проявляющие высокую (изоформы a, e и j), промежуточную (изоформы b, c и f) и низкую / отсутствие IgE-связывающей активности (d, g и i) [16]. IgE-антитела к аллергену Bet v 1 выявляются у более чем 95% пациентов, сенсибилизированных к пыльце березы. Определение специфических антител IgE к отдельным аллер-

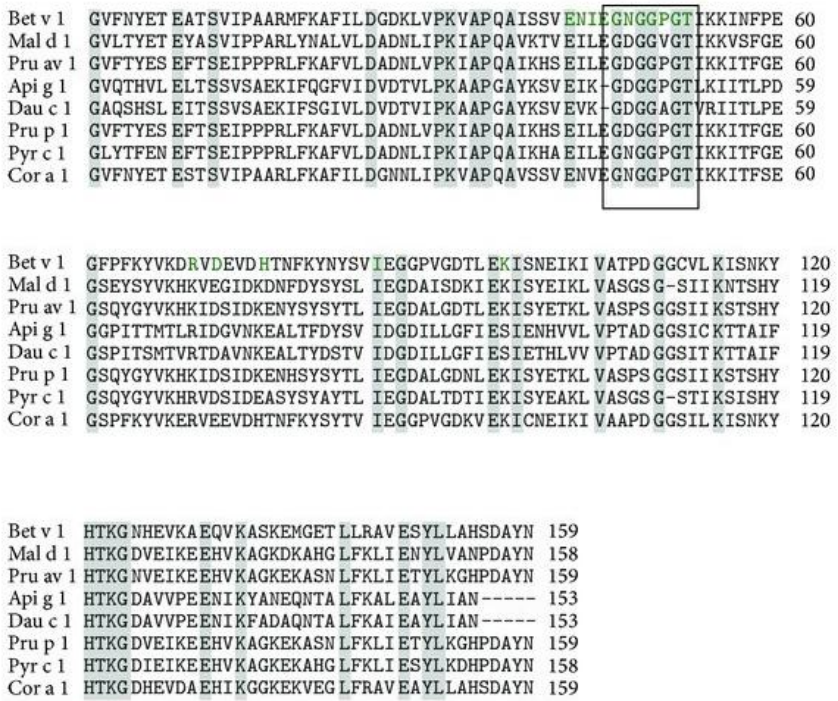

Рисунок 2 – Выравнивание нескольких аминокислотных последовательностей аллергена пыльцы березы Bet v 1 с пищевыми аллергенами: Mal d 1, Pru av 1, Api g 1, Dau c 1, Pru p 1, Pyr c 1, Cor a 1. Одинаковые последовательности выделены серым цветом. Аминокислотные остатки Bet v 1, ответственные за связывание IgE, отмечены зеленым [10].

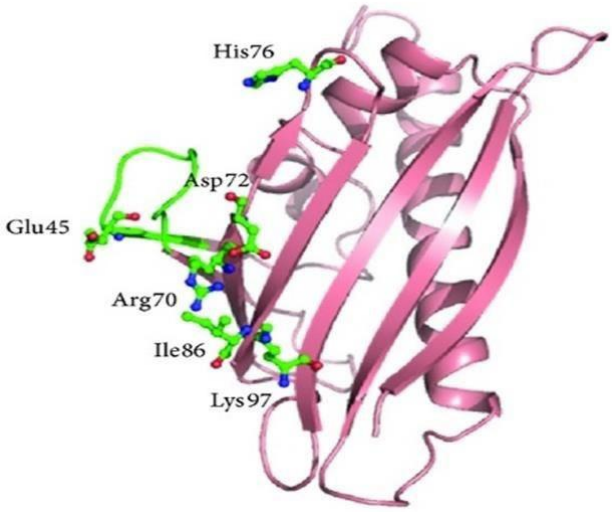

Рисунок 3 – Структура белка Bet v 1, показывающая конформационный эпитоп, образованный аминокислотными остатками от Glu45 до Thr52 (зеленый) и дополнительными диспергированными аминокислотами Arg70, Asp72, His76, Ile86 и Lys97 (зеленый) для связывания Fab. Отмечен критический остаток для связывания антитела Glu45 [10].

генным молекулам позволяет дифференцировать истинную сенсибилизацию и перекрестную реактивность, что необходимо учитывать при планировании аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) с аллергенами пыльцы березы. АСИТ может быть эффективна только при истинной аллергии [17].

Аллерген-специфическая иммунотерапия

АСИТ – метод патогенетического лечения аллергических заболеваний, связанных с IgE-опосредованным механизмом аллергии, заключающийся во введении в организм пациента возрастающих доз аллергена, ответственного за клинические проявления заболевания у данного пациента [18]. Метод основан на стимуляции секреции IgG, которые связывают попавший в организм антиген до того, как он прореагирует с IgE, секретируемыми в избытке при гиперчувствительности I типа, и тем самым предотвращают развитие аллергической реакции. Термин «иммунотерапия» был предложен Филипом Норманом. Первоначально аллергия рассматривалась не как иммунологически опосредованное заболевание, основанное на реакции гиперчувствительности, а как реакция на токсин. Приверженец этой идеи, Вильям Дунбар, в 1903 году иммунизировал животных «токсинами пыльцы» для создания антисыворотки, которая могла бы нейтрализовать предполагаемые токсические эффекты у пациентов [19]. Впервые иммунотерапию пыльцевыми аллергенами для лечения больных поллинозом применил в 1911 г. Леонард Нун, который подкожно вводил экстракты пыльцы травы, что способствовало уменьшению симптомов аллергии. В 1914 г. Джон Фримен (последователь Нуна) опубликовал результаты исследования, в котором экстракты антигена вводили пациентам с сенной лихорадкой в течение трех лет. Лечение привело к снижению чувствительности к антигену, сохранявшееся длительное время [20]. В это же время были сформулированы основные положения АСИТ, которые гласят, что эффективность лечения зависит от введенной дозы аллергена; интервал между инъекциями не должен превышать 2 недель; превышение рекомендуемой дозы антигена может привести к развитию системной реакции [21]. В результате последующих экспериментов, проводимых Робертом Куком, был выделен сывороточный фактор – блокирующие антитела (АТ), ингибировавшие пассивный перенос аллергенов в реакции Прауснитца – Кюстнера [20, 22]. Дальнейшие испытания не выявили чёткой связи между титром блокирующих АТ и ослаблением симптомов аллергии при АСИТ аллергенами. Результаты первого контролируемого исследования, подтверждающего эффективность иммунотерапии, были опубликованы только в 1949 г. [20]. Лекарственные средства, применяемые для АСИТ в настоящее время, делятся на аллергены, содержащие натуральные экстракты, и модифицированные (рекомбинантные) аллергены. При проведении АСИТ с применением натуральных экстрактов аллергенов возрастает риск нежелательных реакций, так как в таких экстрактах возможна вариабельность композиции и концентрации аллергенов [18]. С целью совершенствования АСИТ производятся очищенные (стандартизированные) и рекомбинантные аллергены, разрабатываются новые направления исследований по совершенствованию АСИТ. Первое такое направление – подавление синтеза IgE к данному аллергену, второе – уменьшение аллергенности лекарственных средств с сохранением их иммуногенности. Рекомбинантные технологии позволяют производить хорошо охарактеризованные незагрязнённые посторонними примесями компоненты лекарственных средств

для АСИТ с известной биологической активностью [20]. Разработка рекомбинантных аллергенов с диагностической целью или в качестве средства для специфической иммунотерапии начинается с идентификации и клонирования гена рассматриваемого аллергена. На начальном этапе необходимо протестировать различные системы экспрессии и различные генетические варианты аллергена, провести подбор оптимальных условий экспрессии [23].

Системы экспрессии для получения рекомбинантного белка Bet v 1

В настоящее время для получения рекомбинантных белков применяются прокариотические (бактерии) и эукариотические (дрожжи, бакуловирусы, растения, клетки млекопитающих) системы экспрессии. Для продукции рекомбинантного белка Bet v 1 чаще всего применяется прокариотическая система экспрессии (Escherichia coli). Это связано, в первую очередь, с простотой в использовании этой системы, дешевизной и возможностью получения большого количества рекомбинантного белка. Однако существуют определенные трудности, с которыми сталкиваются исследователи при экспрессии белков в прокариотических системах. Многие белки, продуцируемые Escherichia coli, в результате их неправильной укладки накапливаются в виде нерастворимых телец включения. Рефолдинг может быть только частично эффективным и требует значительных временных затрат. Одним из подходов к преодолению этой проблемы является использование молекулярных шаперонов, которые помогают правильной укладке синтезированных белков [23-25]. Наряду с белками-шаперонами важную роль в экспрессии рекомбинантных аллергенов в прокариотической системе играет фермент дисульфидизомераза, который катализирует окисление свободных SH-групп цистеина и образование дисульфидных связей, что способствует правильному фолдингу белков [26, 27]. При экспрессии рекомбинантных белков в прокариотической системе еще одной проблемой могут стать редко встречающиеся кодоны (например, AGA и AGG) в клонированной последовательности, что может привести к подавлению синтеза белка на мРНК (трансляции). Такие проблемы могут быть решены при помощи сайт-специфического мутагенеза, в результате которого редкие кодоны заменяются на синонимичные с более высокой частотой встречаемости, что не сказывается на первичной структуре белка. Так как в хозяйской клетке может не хватать транспортной РНК (тРНК), еще одним решением проблемы неэффективной трансляции может стать использование в качестве экспрессирующей системы модифицированных штаммов кишечной палочки с дополнительными копиями необходимых генов тРНК [27, 28]. Рекомбинантный белок Bet v 1 в ходе культивирования клеточной культуры, трансформированной плазмидным вектором, содержащим соответствующую вставку, как правило, накапливается в прокариотических клетках в виде телец включения. Поэтому помимо выбора системы экспрессии особое внимание следует уделить очистке полученного рекомбинантного белка, от которой во многом зависит качество конечного продукта [29].

Очистка рекомбинантного аллергена Bet v 1, оценка его физико-химических и иммунологических свойств

Тельца включения представляют собой частицы, состоящие из агрегатов рекомбинантного белка и ряда бактериальных белков. Для того, чтобы очистить рекомбинатные белки, которые в виде отложений содержатся в бактерии, применяют такие денатурирующие агенты, как мочевина, гуанидинхлорид, раствор гидроокиси калия или натрия (0,2-1 М). Таким образом, первоначально образованные нерастворимые агрегаты растворяют в денатурирующих реагентах. Дальнейшая очистка белка проводится методами жидкостной хроматографии (ионообменная хроматография, хроматография на основе гидрофобных взаимодействий, гель-фильтрация). В качестве хроматографического элюента, который применяется для очистки рекомбинантного аллергена Bet v 1, применяются неорганические, щелочные, солесодержащие растворы (например, NaOH или KOH вместе с NaCl или KCl). Благодаря этим растворам удаляются денатурирующие реагенты и загрязняющие включения путем связывания растворенного рекомбинантного белка с хроматографическим материалом и замены денатурирующего раствора элюентом. Затем осуществляется нейтрализация щелочного раствора, полученного после этапа заключительной очистки путем добавления разбавленной кислоты (например, HCl). В растворе должен содержаться только рекомбинантный белок Bet v 1 [30]. Степень очистки и анализ соста-

ва полученных фракций осуществляются в 15% полиакриламидном геле в денатурирующих условиях (в присутствии додецилсульфата натрия). Помимо хроматографического и электрофоретического анализов для характеристики полученного рекомбинантного белка Bet v 1 применяется масс-спектрометрический анализ с целью получения значения молекулярной массы очищенного белка [4, 3, 31]. Оценка способности полученного рекомбинантного белка Bet v 1 связываться со специфическими IgE (иммунологические свойства) осуществляется такими методами, как ИФА и иммунный блоттинг, которые позволяют сравнить иммунологические свойства рекомбинантного и нативного белков. В данных методах используются клинически протестированные сыворотки пациентов с высоким титром специфического IgE к аллергенам березы [4, 29, 31]. Рекомбинантная форма белка Bet v 1 может быть использована для определения аллерген-специфических IgE в образцах сыворотки крови, для аллерген-специфической иммунотерапии поллинозов, для создания рекомбинантных вакцин [4, 18].

Разработка вакцины на основе рекомбинантного белка Bet v 1

Длительное время ведутся исследования по разработке вакцины, которую можно было бы использовать как для профилактики возникновения аллергической реакции на пыльцу березы, так и для лечения поллинозов. Вакцины должны быть легко применимыми, безопасными и эффективными. Рекомбинантные технологии позволяют производить компоненты вакцин высокого качества, которые являются альтернативой натуральным экстрактам аллергенов, избегать возникновения проблем, связанных с низким качеством природных экстрактов. Но вопрос потенциальных побочных эффектов при применении рекомбинантных аллергенов «дикого» типа долгое время оставался открытым. Для предотвращения возникновения возможных побочных эффектов модифицируется структура IgE-связывающих эпитопов аллергенов «дикого» типа методами генной инженерии: фрагментацией, олигомеризацией, точечными мутациями, образованием химер (гибридных белков) и мозаик. Результатом таких модификаций является получение аллергенов с пониженной реактивностью с IgE, что приводит к снижению риска возникновения побочных эффектов в ходе АСИТ. Впервые такие рекомбинантные вакцины были применены около 20 лет назад [32-34]. Гипоаллергенные производные основного аллергена пыльцы березы Bet v 1 – два рекомбинантных фрагмента Bet v 1 (rBet v 1) (аминокислоты 1 – 73 без метионина; аминокислоты 74 – 159) и рекомбинантный тример rBet v 1 (три ковалентно связанные копии аллергена Bet v 1) – вводили подкожно в течение 12 месяцев пациентам с аллергией на пыльцу березы. Результаты, полученные в этом исследовании, позволили предположить, что АСИТ рекомбинантными аллергенами вызывает аллерген-специфический смешанный Th2 / Th1-подобный иммунный ответ. Активное лечение индуцировало выработку защитных IgG, которые ингибировали высвобождение медиаторов воспаления. У вакцинированных пациентов был значительно снижен уровень аллерген-специфического IgE, продукция которого была вызвана сезонным воздействием пыльцы березы. Аллерген-специфические IgG были обнаружены не только в сыворотке крови пациентов, но и в выделениях из полости носа. Был сделан вывод, что аллерген-специфические IgG на слизистой оболочке полости носа могут нейтрализовать проникающие аллергены и препятствовать формированию аллергической реакции [34, 35]. В связи с тем, что большинство аллерген-специфических Т-клеточных эпитопов сохраняются в гипоаллергенах, могут возникать поздние аллергические реакции [36-39]. Полученные результаты стали толчком для дальнейших исследований в области рекомбинантных вакцин. Результатом таких исследований стала разработка вакцин с пониженной или отсутствующей иммуноглобулиновой Е- и Т-клеточной реактивностью, содержащих В-клеточный эпитоп [35]. Принцип построения гипоаллергенов, входящих в состав таких вакцин, основан на концепции гаптен-носитель [40, 41]. Для этого выбирают пептиды из сайтов связывания IgE или вблизи таких сайтов (длиной около 30 аминокислот), которые не проявляют или имеют минимальную реакционную способность с IgE, не содержат или имеют минимальное количество Т-клеточных эпитопов. При выборе пептидов основываются на данных картирования эпитопа IgE, трехмерной структуре аллергена и / или на основе компьютерных программ, позволяющих прогнозировать участки аллергена, находящиеся на поверхности белковой молекулы. Иммуногенность пептидов достигается путем связывания с белком-носи-

телем, который содержит Т-клеточные эпитопы (может быть получен из вирусов или других иммуногенов). Пептиды ковалентно связываются с белками-носителями путем химического взаимодействия или экспрессируются в виде рекомбинантных белков, состоящих из пептидов, полученных из аллергена и белка-носителя [35, 42]. В 2004 году были опубликованы результаты первого применения на животных вакцины на основе пептидов главного белка пыльцы березы Bet v 1, химически связанных с гемоцианином улитки, доказывающие возможность использования таких вакцин. Введение пептидной вакцины индуцировало образование Bet v 1-специфических IgG и предотвращало IgE-опосредованную аллергическую сенсибилизацию к Bet v 1 [35]. Индуцированный аллерген-специфический IgG предотвращает дегрануляцию тучных клеток и базофилов и высвобождение медиаторов аллергии (гистамин, лейкотриены, протеазы, противовоспалительные цитокины), ответственных за аллергическую реакцию немедленного типа. Кроме того, аллерген-специфический IgG способствует предотвращению повышения выработки IgE при повторном воздействии аллергена. Еще одним положительным результатом образования IgG является снижение активации Т-клеток и выделения воспалительных цитокинов Т-лимфоцитами вследствие ингибирования IgE-стимулированной презентации аллергена антигенпрезентирующими клетками. Такой разносторонний эффект вакцин, содержащих В-клеточные эпитопы, будет способствовать значительному повышению эффективности проводимой АСИТ и возможному применению таких вакцин с профилактической целью [42, 43].

Литература

1. Birch pollen allergy in Europe / T. Biedermann [et al.] // Allergy. – 2019 Jan. – Vol. 74, N 7. – P. 1237–1248.
2. Tree pollen allergens-an update from a molecular perspective / C. Asam [et al.] // Allergy. – 2015 Oct. – Vol. 70, N 10. – P. 1201–1211.
3. Purification and characterization of recombinant Bet v I, the major birch pollen allergen / F. D. Ferreira [et al.] // J. Biol. Chem. – 1993 Sep. – Vol. 268, N 26. – P. 19574–19580.
4. Получение и оценка свойств рекомбинантного аналога мажорного аллергена пыльцы березы Bet v 1 / А. Е. Павлов [и др.] // Рос. аллергол. журн. – 2012. – № 3. – С. 7–13.
5. Николаева, Н. В. Анализ литературных данных по исследованиям древесных аллергенов / Н. В. Николаева, К. Г. Гаркава // Экол. вестн. – 2016. – № 1. – С. 72–77.
6. Allergenic pollen and pollen allergy in Europe // G. D'Amato [et al.] // Allergy. – 2007 Sep. – Vol. 62, N 9. – P. 976–990.
7. Мирсаитов, Н. Г. Аэропалинологические особенности пыления хвойных и лиственных деревьев в городе Казани: анализ результатов пыльцевого мониторинга / Н. Г. Мирсаитов, К. К. Ибрагимова // Вестн. МГПУ. Сер. Естеств. науки. – 2017. – № 1. – С. 30–38.
8. Боков, Д. О. Аллергенный профиль полного экстракта пыльцы березы (Betula pendula Roth): изучение методологических подходов к идентификации и количественному определению мажорного белка Bet v 1 методом ВЭЖХ/МС/МС / Д. О. Боков, В. В. Смирнов // Химия растит. сырья. – 2014. – № 2. – С. 213–218.
9. Свойства пыльцевых аллергенов и их клиническое значение / Б. А. Шамгунова [и др.] // Рос. аллергол. журн. – 2014. – № 5. – С. 21–27.
10. Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families / M. Sinha [et al.] // Sci. World J. – 2014. – Vol. 2014. – 543195.
11. X-ray and NMR structure of Bet v 1, the origin of birch pollen allergy / M. Gajhede [et al.] // Nat. Struct. Biol. – 1996 Dec. – Vol. 3, N 12. – P. 1040–1045.
12. Isoforms of Bet v 1, the major birch pollen allergen, analyzed by liquid chromatography, mass spectrometry, and cDNA cloning / I. Swoboda [et al.] // J. Biol. Chem. – 1995 Feb. – Vol. 270, N 6. – P. 2607–2613.
13. The gene coding for the major birch pollen allergen Bet v l, is highly homologous to a pea disease resistance response gene / H. Breiteneder [et al.] // EMBO J. – 1989 Jul. – Vol. 8, N 7. – P. 1935–1938.
14. Žiarovská, J. Central and Eastern European spring pollen allergens and their expression analysis-state of the art [Electronic resource] / J. Žiarovská, L. Zelenáková // Diversity. – 2016. – Vol. 8, N 19. – Mode of access: https://www.mdpi.com/1424-2818/8/4/19/pdf. – Date of access: 05.02.2020.
15. Proteomic profiling of birch (Betula verrucosa) pollen extracts from different origins / A. Erler [et al.] // Proteomics. – 2011 Apr. – Vol. 11, N 8. – P. 1486–1498.
16. Dissection of immunoglobulin E and T lymphocyte reactivity of isoforms of the major birch pollen allergen Bet v 1: potential use of hypoallergenic isoforms for immunotherapy / F. Ferreira [et al.] // J. Exp. Med. – 1996 Feb. – Vol. 183, N 2. – P. 599–609.
17. Spergel, J. M. From atopic dermatitis to asthma: the atopic march / J. M. Spergel // Ann. Allergy Asthma Immunol. – 2010 Aug. – Vol. 105, N 2. – P. 99–106.
18. Мировые стандарты аллерген-специфической иммунотерапии [Электронный ресурс] : науч. обзор. – Режим доступа: http://www.allergen.ru/images/staloral_10.pdf. – Дата доступа: 05.02.2020.
19. Allergen-specific immunotherapy: from therapeutic vaccines to prophylactic approaches / R. Valenta [et al.] // J. Intern. Med. – 2012 Aug. – Vol. 272, N 2. – P. 144–157.
20. Греммер, Л. К. Принципы иммунотерапии аллергических заболеваний. Заметки для практикующих врачей / Л. К. Греммер, А. М. Шоннесси // Паттерсон, Р. Аллергические болезни: диагностика и лечение / Р. Паттерсон, Л. К. Греммер, П. А. Гринбенгер. – Москва : Гэотар Медицина, 2000. – С. 194–208.
21. Курбачева, О. М. Аллерген-специфическая иммунотерапия: история, методы и новые возможности / О. М. Курбачева, К. С. Павлова, И. Е. Козулина // Мед. совет. – 2013. – № 3-2. – С. 10–19.

22. Serological evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy (hay fever) / R. A. Cooke [et al.] // J. Exp. Med. – 1935 Nov. – Vol. 62, N 6. – P. 733–750.
23. Schmidt, M. Expression systems for production of recombinant allergens / M. Schmidt, D. R. Hoffman // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2002 Aug. – Vol. 128, N 4. – P. 264–270.
24. Baneyx, F. Recombinant protein expression in Escherichia coli / F. Baneyx // Curr. Opin. Biotechnol. – 1999 Oct. – Vol. 10, N 5. – P. 411–421.
25. Thomas, J. G. Molecular chaperones, folding catalysts, and the recovery of active recombinant proteins from E. coli. To fold or to refold / J. G. Thomas, A. Ayling, F. Baneyx // Appl. Biochem. Biotechnol. – 1997 Jun. – Vol. 66, N 3. – P. 197–238.
26. Qiu, J. Expression of active human tissue-type plasminogen activator in Escherichia coli / J. Qiu, J. R. Swartz, G. Georgiou // Appl. Environ. Microbiol. – 1998 Dec. – Vol. 64, N 12. – P. 4891–4896.
27. ППроблемы экспрессии чужеродных генов // Современные проблемы и методы биотехнологии [Электронный ресурс] : электрон. учеб. пособие / Н. А. Войнов [и др.]; под науч. ред. Т. Г. Воловой. – Красноярск : ИПК СФУ, 2009. – С. 73–74. – Режим доступа: http://urhtd.narod.ru/files/4.pdf. – Дата доступа: 13.02.2020.
28. Kleber-Janke, T. Use of modified BL21(DE3) Escherichia coli cells for high-level expression of recombinant peanut allergens affected by poor codon usage / T. Kleber-Janke, W. M. Becker // Protein Expr. Purif. – 2000 Aug. – Vol. 19, N 3. – P. 419–424.
29. High level expression and purification of the major birch pollen allergen, Bet v 1 / K. Hoffmann-Sommergruber [et al.] // Protein Expr. Purif. – 1997 Feb. – Vol. 9, N 1. – P. 33–39.
30. Способ выделения и очистки рекомбинантных вариантов Bet v 1 : пат. RU 2299214 : МПК C 07 K 1/36, C 07 K 1/113 / Р. Зукк, О. Кромвелль, Х. Фибиг ; заявитель и патентообладатель МЕРК ПАТЕНТ ГМБХ. – № 2003109430/13 ; заявл. 27.10.04 ; опубл. 20.05.07, Бюл. № 14. – 10 с.
31. Определение специфических иммуноглобулинов класса Е к аллергену березы Bet v 1 методом иммуно-ПЦР / М. А. Симонова [и др.] // Биоорган. химия. – 2018. – Т. 44, № 2. – С. 203–211.
32. Vaccine development for allergen-specific immunotherapy based on recombinant allergens and synthetic allergen peptides: Lessons from the past and novel mechanisms of action for the future / R. Valenta [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2016 Feb. – Vol. 137, N 2. – P. 351–357.
33. Recombinant allergens: What does the future hold? / R. Valenta [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2011 Apr. – Vol. 127, N 4. – P. 860–864.
34. Vaccination with genetically engineered allergens prevents progression of allergic disease / V. Niederberger [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004 Oct. – Vol. 101, suppl. 2. – P. 14677–14682.
35. Developments in allergen-specific immunotherapy: from allergen extracts to allergy vaccines bypassing allergen specific immunoglobulin E and T cell reactivity / M. Focke [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 2010 Mar. – Vol. 40, N 3. – P. 385–397.
36. Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives / A. Purohit [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 2008 Sep. – Vol. 38, N 9. – P. 1514–1525.
37. Allergen-specific immunotherapy: from therapeutic vaccines to prophylactic approaches / R. Valenta [et al.] // J. Intern. Med. – 2012 Aug. – Vol. 272, N 2. – P. 144–157.
38. Hypoallergenic derivatives of the major birch pollen allergen Bet v 1 obtained by rational sequence reassembly / R. Campana [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2010 Nov. – Vol. 126, N 5. – P. 1024–1031.
39. Non-IgE-mediated chronic allergic skin inflammation revealed with rBet v 1 fragments / R. Campana [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2008 Feb. – Vol. 121, N 2. – P. 528–530.
40. Carrier function in anti-hapten immune responses. I. Enhancement of primary and secondary anti-hapten antibody responses by carrier preimmunization / D. H. Katz [et al.] // J. Exp. Med. – 1970 Aug. – Vol. 132, N 2. – P. 261–282.
41. Carrier function in anti-hapten immune responses. II. Specific properties of carrier cells capable of enhancing anti-hapten antibody responses / W. E. Paul [et al.] // J. Exp. Med. – 1970 Aug. – Vol. 132, N 2. – P. 283–299.
42. Valenta, R. Recombinant allergy vaccines based on allergen-derived B cell epitopes / R. Valenta, R. Campana, V. Niederberger // Immunol. Lett. – 2017 Sep. – Vol. 189. – P. 19–26.
43. Vaccine development for allergen-specific immunotherapy based on recombinant allergens and synthetic allergen peptides: Lessons from the past and novel mechanisms of action for the future / R. Valenta [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2016 Feb. – Vol. 137, N 2. – P. 351–357.

Поступила 30.08.2019 г.
Принята в печать 31.01.2020 г.

References

1. Biedermann T, Winther L, Till SJ, Panzner P, Knulst A. Valovirta E. Birch pollen allergy in Europe. Allergy. 2019 Jan;74(7):1237-48. doi: 10.1111/all.13758
2. Asam C, Hofer H, Wolf M, Aglas L, Wallner M. Tree pollen allergens-an update from a molecular perspective. Allergy. 2015 Oct;70(10):1201-11. doi: 10.1111/all.12696
3. Ferreira FD, Hoffmann-Sommergruber K, Breiteneder H, Pettenburger K, Ebner C, Sommergruber W, et al. Purification and characterization of recombinant Bet v I, the major birch pollen allergen. J Biol Chem. 1993 Sep;268(26):19574-80.
4. Pavlov AE, Seylieva NA, Mukhortykh OYu, Stefanov VE. Obtaining and evaluating the properties of a recombinant analogue of a major allergen of birch pollen Bet v 1. Ros Allergol Zhurn. 2012;(3):7-13. (In Russ.)
5. Nikolaeva NV, Garkava KG. Analysis of literature data on the study of wood allergens. Ekol Vestn. 2016;(1):72-7. (In Russ.)
6. D'Amato G, Cecchi L, Bonini S, Nunes C, Annesi-Maesano I, Behrendt H, et al. Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. Allergy. 2007 Sep;62(9):976-90. doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01393.x
7. Mirsaitov NG, Ibragimova KK. Aeropalinological features of dusting of coniferous and deciduous trees in the city of Kazan: analysis of the results of pollen monitoring. Vestn MGPU Ser Estestv Nauki. 2017;(1):30-8. (In Russ.)
8. Bokov DO, Smirnov VV. Allergenic profile of a complete extract of birch pollen (Betula pendula Roth): study of methodological approaches to the identification and quantification of major Bet v 1 protein by HPLC/MS/MS.

Khimiia Rastit Syr'ia. 2014;(2):213-8. (In Russ.)
9. Shamgunova BA, Levitan BN, Sartova AR, Yarilina LG, Suchkov SV. Properties of pollen allergens and their clinical significance. Ros Allergol Zhurn. 2014;(5):21-7. (In Russ.)
10. Sinha M, Singh RP, Kushwaha GS, Iqbal N, Singh A, Kaushik S, et al. Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families. Sci World J. 2014;2014:543195. doi: 10.1155/2014/543195
11. Gajhede M, Osmark P, Poulsen FM, Ipsen H, Larsen JN, Joost van Neerven RJ, et al. X-ray and NMR structure of Bet v 1, the origin of birch pollen allergy. Nat Struct Biol. 1996 Dec;3(12):1040-5.
12. Swoboda I, Jilek A, Ferreira F, Engel E, Hoffmann-Sommergruber K, Scheiner O, et al. Isoforms of Bet v 1, the major birch pollen allergen, analyzed by liquid chromatography, mass spectrometry, and cDNA cloning. J Biol Chem. 1995 Feb;270(6):2607-13. doi: 10.1074/jbc.270.6.2607
13. Breiteneder H, Pettenburger K, Bito A, Valenta R, Kraft D, Rumpold H, et al. The gene coding for the major birch pollen allergen Bet v l, is highly homologous to a pea disease resistance response gene. EMBO J. 1989 Jul;8(7):1935-8.
14. Žiarovská J, Zelenáková L. Central and Eastern European spring pollen allergens and their expression analysis-state of the art. Diversity. 2016;8(19). Available from: https://www.mdpi.com/1424-2818/8/4/19/pdf. [Accessed 05thFev 2020]. doi: 10.3390/d8040019
15. Erler A, Hawranek T, Krückemeier L, Asam C, Egger M, Ferreira F, et al. Proteomic profiling of birch (Betula verrucosa) pollen extracts from different origins. Proteomics. 2011 Apr;11(8):1486-98. doi: 10.1002/pmic.201000624
16. Ferreira F, Hirtenlehner K, Jilek A, Godnik-Cvar J, Breiteneder H, Grimm R, et al. Dissection of immunoglobulin E and T lymphocyte reactivity of isoforms of the major birch pollen allergen Bet v 1: Potential use of hypoallergenic isoforms for immunotherapy. J Exp Med. 1996 Feb;183(2):599-609. doi: 10.1084/jem.183.2.599
17. Spergel JM. From atopic dermatitis to asthma: the atopic march. Ann Allergy Asthma Immunol. 2010 Aug;105(2):99-106. doi: 10.1016/j.anai.2009.10.002
18. World standards for allergen-specific immunotherapy [Elektronnyi resurs]: nauch obzor. Rezhim dostupa: http://www.allergen.ru/images/staloral_10.pdf. Data dostupa: 05.02.2020. (In Russ.)
19. Valenta R, Campana R, Marth K, van Hage M. Allergen-specific immunotherapy: from therapeutic vaccines to prophylactic approaches. J Intern Med. 2012 Aug;272(2):144-57. doi: 10.1111/j.1365-2796.2012.02556.x
20. Gremmer LK, Shonnessi AM. The principles of immunotherapy of allergic diseases. Notes for practitioners. V: Patterson R, Gremmer LK, Grinbenger PA. Allergicheskie bolezni: diagnostika i lechenie. Moscow, RF: Geotar Meditsina; 2000. P. 194-208. (In Russ.)
21. Kurbacheva OM, Pavlova KS, Kozulina IE. Allergen-specific immunotherapy: history, methods and new possibilities. Med Sovet. 2013;(3-2):10-9. (In Russ.)
22. Cooke RA, Barnard JH, Hebald S, Stull A. Serological evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy (hay fever). J Exp Med. 1935 Nov;62(6):733-50. doi: 10.1084/jem.62.6.733
23. Schmidt M, Hoffman DR. Expression systems for production of recombinant allergens. Int Arch Allergy Immunol. 2002 Aug;128(4):264-70.
24. Baneyx F. Recombinant protein expression in Escherichia coli. Curr Opin Biotechnol. 1999 Oct;10(5):411-21. doi: 10.1016/s0958-1669(99)00003-8
25. Thomas JG, Ayling A, Baneyx F. Molecular chaperones, folding catalysts, and the recovery of active recombinant proteins from E. coli. To fold or to refold. Appl Biochem Biotechnol. 1997 Jun;66(3):197-238.
26. Qiu J, Swartz JR, Georgiou G. Expression of active human tissue-type plasminogen activator in Escherichia coli. Appl Environ Microbiol. 1998 Dec;64(12):4891-6.
27. Problems of expression of foreign genes. Voynov NA, Volova TG, Zobova NV, Markova SV, Frank LA, Shishatskaya EI, Volova TG, Volova TG, nauch red. Sovremennye problemy i metody biotekhnologii [Elektronnyi resurs]: elektron ucheb posobie. Krasnoyarsk, RF: IPK SFU; 2009. R. 73-4. Rezhim dostupa: http://urhtd.narod.ru/files/4.pdf. Data dostupa: 13.02.2020. (In Russ.)
28. Kleber-Janke T, Becker WM. Use of modified BL21(DE3) Escherichia coli cells for high-level expression of recombinant peanut allergens affected by poor codon usage. Protein Expr Purif. 2000 Aug;19(3):419-24. doi: 10.1006/prep.2000.1265
29. Hoffmann-Sommergruber K, Susani M, Ferreira F, Jertschin P, Ahorn H, Steiner R, et al. High level expression and purification of the major birch pollen allergen, Bet v 1. Protein Expr Purif. 1997 Feb;9(1):33-9. doi: 10.1006/prep.1996.0671
30. Zukk R, Kromvell' O, Fibig Kh; MERK PATENT GMBKh, zaiavitel' i patentoobladatel'. The method of isolation and purification of recombinant variants Bet v 1: pat RU 2299214: MPK C 07 K 1/36, C 07 K 1/113. № 2003109430/13; zaiavl 27.10.04; opubl 20.05.07, Biul № 14. 10 p. (In Russ.)
31. Simonova MA, Pivovarov VD, Ryazantsev DYu, Kostromina MA, Murav'yeva TI, Mokronosova MA, i dr. Determination of specific immunoglobulins of class E to birch allergen Bet v 1 by immuno-PCR method. Bioorgan Khimiia. 2018;44(2):203-11. (In Russ.)
32. Valenta R, Campana R, Focke-Tejkl M, Niederberger V. Vaccine development for allergen-specific immunotherapy based on recombinant allergens and synthetic allergen peptides: Lessons from the past and novel mechanisms of action for the future. J Allergy Clin Immunol. 2016 Feb;137(2):351-7. doi: 10.1016/j.jaci.2015.12.1299
33. Valenta R, Niespodziana K, Focke-Tejkl M, Marth K, Huber H, Neubauer A, et al. Recombinant allergens: What does the future hold? J Allergy Clin Immunol. 2011 Apr;127(4):860-4. doi: 10.1016/j.jaci.2011.02.016
34. Niederberger V, Horak F, Vrtala S, Spitzauer S, Krauth MT, Valent P, et al. Vaccination with genetically engineered allergens prevents progression of allergic disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Oct;101 Suppl 2:14677-82. doi: 10.1073/pnas.0404735101
35. Focke M, Swoboda I, Marth K, Valenta R. Developments in allergen-specific immunotherapy: from allergen extracts to allergy vaccines bypassing allergen specific immunoglobulin E and T cell reactivity. Clin Exp Allergy. 2010 Mar;40(3):385-97. doi: 10.1111/j.1365-2222.2009.03443.x
36. Purohit A, Niederberger V, Kronqvist M, Horak F, Grönneberg R, Suck R, et al. Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives. Clin Exp Allergy. 2008 Sep;38(9):1514-25. doi: 10.1111/j.1365-2222.2008.03042.x
37. Valenta R, Campana R, Marth K, van Hage M. Allergen-specific immunotherapy: from therapeutic vaccines to

prophylactic approaches. J Intern Med. 2012 Aug;272(2):144-57. doi: 10.1111/j.1365-2796.2012.02556.x
38. Campana R, Vrtala S, Maderegger B, Jertschin P, Stegfellner G, Swoboda I, et al. Hypoallergenic derivatives of the major birch pollen allergen Bet v 1 obtained by rational sequence reassembly. J Allergy Clin Immunol. 2010 Nov;126(5):1024-31. doi: 10.1016/j.jaci.2010.05.023
39. Campana R, Mothes N, Rauter I, Vrtala S, Reininger R, Focke-Tejkl M, et al. Non-IgE-mediated chronic allergic skin inflammation revealed with rBet v 1 fragments. J Allergy Clin Immunol. 2008 Feb;121(2):528-530.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2007.09.014
40. Katz DH, Paul WE, Goidl EA, Benacerraf B. Carrier function in anti-hapten immune responses. I. Enhancement of primary and secondary anti-hapten antibody responses by carrier preimmunization. J Exp Med. 1970 Aug;132(2):261-82. doi: 10.1084/jem.132.2.261
41. Paul WE, Katz DH, Goidl EA, Benacerraf B. Carrier function in anti-hapten immune responses. II. Specific properties of carrier cells capable of enhancing anti-hapten antibody responses. J Exp Med. 1970 Aug;132(2):283-99. doi: 10.1084/jem.132.2.283
42. Valenta R, Campana R, Niederberger V. Recombinant allergy vaccines based on allergen-derived B cell epitopes. Immunol Lett. 2017 Sep;189:19-26. doi: 10.1016/j.imlet.2017.04.015
43. Valenta R, Campana R, Focke-Tejkl M, Niederberger V. Vaccine development for allergen-specific immunotherapy based on recombinant allergens and synthetic allergen peptides: Lessons from the past and novel mechanisms of action for the future. J Allergy Clin Immunol. 2016 Feb;137(2):351-7. doi: 10.1016/j.jaci.2015.12.1299

Submitted 30.08.2019
Accepted 31.01.2020

Сведения об авторах:
Пархомчук О.Ю. – младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и клеточной биотехнологии, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии;
Зверко В.В. – лаборант I категории лаборатории иммунологии и клеточной биотехнологии, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии;
Григорьева Е.Е. – к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и клеточной биотехнологии, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии;
Фомина Е.Г. – к.б.н., заведующая лабораторией иммунологии и клеточной биотехнологии, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

Information about authors:
Parkhamchuk O.Y. – associate research officer of the Laboratory for Immunology & Cellular Biotechnology, Republican Research and Practical Center for Epidemiology & Microbiology;
Zverko V.V. – the first category laboratory assistant of the Laboratory for Immunology & Cellular Biotechnology, Republican Research and Practical Center for Epidemiology & Microbiology;
Grigoryeva E.E. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, leading research officer of the Laboratory for Immunology & Cellular Biotechnology, Republican Research and Practical Center for Epidemiology & Microbiology;
Fomina E.G. – Candidate of Biological Sciences, head of the Laboratory for Immunology & Cellular Biotechnology, Republican Research and Practical Center for Epidemiology & Microbiology.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23, Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, лаборатория иммунологии и клеточной биотехнологии. E-mail: olgaparhom4uk@mail.ru – Пархомчук Ольга Юрьевна.

Correspondence address: *Republic of Belarus, 220114, Minsk, 23 Filimonova str., Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Laboratory for Immunology & Cellular Biotechnology. E-mail: olgaparhom4uk@mail.ru – Olga Y. Parkhamchuk.*