

УДК 577.29

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ108614>

ДОСТАВКА ДНК-ВАКЦИНЫ, КОДИРУЮЩЕЙ РЕЦЕПТОРСВЯЗЫВАЮЩИЙ ДОМЕН (RBD) SARS-CoV-2 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ

Д.Н. Кисаков, Л.А. Орлова, С.В. Шарабрин, А.П. Рудомётов, М.Б. Боргоякова, Е.В. Старостина, Л.И. Карпенко, А.А. Ильичев

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

Для цитирования: Кисаков Д.Н., Орлова Л.А., Шарабрин С.В., Рудомётов А.П., Боргоякова М.Б., Старостина Е.В., Карпенко Л.И., Ильичев А.А. Доставка ДНК-вакцины, кодирующей рецепторсвязывающий домен (RBD) SARS-CoV-2 с использованием электропорации // Медицинский академический журнал. 2022. Т. 22. № 2. С. 191–196. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ108614>

Рукопись получена: 01.06.2022

Рукопись одобрена: 08.06.2022

Опубликована: 30.06.2022

Обоснование. Средства профилактики на основе нуклеиновых кислот — многообещающая платформа для создания вакцин, в том числе против COVID-19. Ранее мы разработали ДНК-вакцину pVAXrbd, кодирующую RBD — рецепторсвязывающий домен SARS-CoV-2, индуцирующую при внутримышечном введении животным относительно слабый иммунный ответ. Следующая ступень исследования — усиление этого ответа, в частности электропорацией, одним из методов повышения иммуногенности ДНК-вакцин.

Цель статьи — оценить иммунный ответ с использованием электропорации у мышей после иммунизации pVAXrbd.

Материалы и методы. Мышей линии BALB/c иммунизировали pVAXrbd электропорацией постоянным током прямоугольной формы прямой и обратной полярности тремя импульсами с напряжением 12 В в течение 30 мс и интервалом 950 мс с ограничением по силе тока 45 мА.

Результаты. Мыши BALB/c иммунизированы дважды с интервалом в три недели дозой 100 мкг ДНК. Полученные с помощью иммуноферментного анализа крови титры RBD-специфических антител в группе животных, иммунизированных pVAXrbd с применением электропорации, составили 1 : 109 350, что в 16,2 раз выше, чем в группе животных, получавших ДНК-вакцину только внутримышечно (титры 1 : 6750). Анализ IFN γ ELISpot показал, что наибольшее количество клеток (2434 спотов/спленоциты, млн), продуцирующих IFN γ в ответ на стимуляцию пептидами из белка RBD, зарегистрировано в группе животных, иммунизированных pVAXrbd с применением электропорации. Для сравнения: в контрольной группе количество клеток в 6,5 раз ниже (380 спотов/спленоциты, млн).

Заключение. Введение ДНК-вакцины pVAXrbd лабораторным животным электропорацией значительно усиливает как гуморальный, так и клеточный специфический иммунный ответ в сравнении с внутримышечным введением «голой» ДНК-вакцины.

Ключевые слова: ДНК-вакцина; RBD; SARS-CoV-2; электропорация; иммунный ответ.

DELIVERY OF A DNA VACCINE ENCODING SARS-CoV-2 RECEPTOR-BINDING DOMAIN (RBD) BY ELECTROPORATION

Denis N. Kisakov, Lyubov A. Orlova, Sergey V. Sharabrin, Andrew P. Rudometov, Maria B. Borgoyakova, Ekaterina V. Starostina, Larisa I. Karpenko, Alexander A. Ilyichev

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

For citation: Kisakov DN, Orlova LA, Sharabrin SV, Rudometov AP, Borgoyakova MB, Starostina EV, Karpenko LI, Ilyichev AA. Delivery of a DNA vaccine encoding SARS-CoV-2 receptor-binding domain (RBD) by electroporation. *Medical Academic Journal*. 2022;22(2):191–196. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ108614>

Received: 01.06.2022

Accepted: 08.06.2022

Published: 30.06.2022

BACKGROUND: Nucleic acid-based prevention tools provide a promising platform for developing vaccines, including those against COVID-19. Previously, we developed the pVAXrbd DNA vaccine encoding the receptor-binding domain (RBD) of SARS-CoV-2, which, when administered intramuscularly to animals, induced a relatively weak immune response. The next stage of the study is to increase the immune response, in particular, using electroporation as one of the methods for increasing the immunogenicity of DNA vaccines.

AIM: The aim of this article is to evaluate the immune response using electroporation in mice after immunization with pVAXrbd.

MATERIALS AND METHODS: BALB/c mice were immunized with pVAXrbd using direct and reverse polarity square wave direct current electroporation with three pulses of 12 V for 30 ms and an interval of 950 ms with a current limit of 45 mA.

Список сокращений

pVAXrbd — ДНК-вакцина; RBD — рецепторсвязывающий домен; ИФА — иммуноферментный анализ.

RESULTS: BALB/c mice were immunized twice with an interval of three weeks with a dose of 100 µg of DNA. Using ELISA, the titers of RBD-specific antibodies in the group of animals immunized with pVAXrbd using electroporation were 1:109350, which is 16 times higher than in the group of animals that received the DNA vaccine only intramuscularly (titers 1:6750). IFN γ ELISpot analysis showed that the largest number of cells (2434 spots/splenocytes, million) producing IFN γ in response to stimulation with peptides from the RBD protein was registered in the group of animals immunized with pVAXrbd using electroporation. For comparison, in the control group, the number of cells is 6.5 times lower: 380 spots / splenocytes, mln.

CONCLUSIONS: Administration of the pVAXrbd DNA vaccine to laboratory animals by electroporation significantly enhances both the humoral and cellular specific immune response compared to intramuscular administration of the naked DNA vaccine.

Keywords: DNA vaccine; RBD; SARS-CoV-2; electroporation; immune response.

Обоснование

Средства профилактики на основе нуклеиновых кислот — многообещающая платформа для создания вакцин, в том числе против COVID-19 [1]. Ряд ДНК-вакцин проходит клинические испытания, а ZyCoV-D индийской компании Zydus Cadila стала первой в мире ДНК-вакциной, одобренной для вакцинации человека [2]. Преимущества вакцин на основе нуклеиновых кислот — быстрота и простота разработки, низкая стоимость производства, безопасность, способность индуцировать гуморальный и клеточный иммунитет. Но основной недостаток ДНК-вакцин — их низкая иммуногенность при введении в виде «голой» ДНК [3], именно поэтому во всем мире идет поиск эффективных способов доставки [4].

Процедура электропорации представляет собой генерацию электрических импульсов, способных вызвать обратимую дестабилизацию липидной мембраны клеток, что позволяет эффективно доставить нуклеиновые кислоты (введенные внутримышечно) из межклеточного пространства в клетки [5]. Эта процедура позволяет избежать многих нежелательных эффектов химических и вирусных методов доставки, может использоваться повторно, относительно проста и экономична, к тому же практически не имеет ограничений по длине вводимой ДНК [6, 7].

Цель работы — выбор наиболее эффективного протокола для введения животным ДНК-вакцины pVAXrbd электропорацией и оценка ее иммуногенных свойств.

Материалы и методы

Плазмиды. Для отработки протокола электропорации использовалась плазида pHMGFP, кодирующая зеленый флуоресцентный белок GFP (Promega), и экспериментальная ДНК-вакцина pVAXrbd, сконструированная ранее М.В. Borgoyakova и соавт. [8]. Плазмиды pHMGFP и pVAXrbd очищали коммерческими наборами EndoFree Plasmid Giga Kit (QIAGEN, Германия), отсутствие эндотоксинов контролировали LAL-тестом.

Животные. В работе использовали мышей BALB/c массой 16–18 г, полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Животных анестезировали 2,5 % изофлурана, брили бедренную часть лапки перед внутримышечным введением (в/м) плазмид в бедренную мышцу с применением депилирующего геля.

Электропорация. Отработку протоколов электропорации проводили на модели животных, иммунизированных pHMGFP в дозе 30 мкг/100 мкл PBS на животное.

Использовали электропоратор CUY21 EDIT II (BEX Co, Ltd., Япония) и электроды-пинцеты LF650P5 диаметром 5 мм (BEX Co, Ltd., Япония). Комплексное сопротивление между электродами и кожей проверяли перед каждой электропорацией. Различные по эффективности варианты протоколов представлены в таблице.

Из представленных в таблице данных следует, что наиболее эффективен протокол с параметрами: постоянный ток прямоугольной формы прямой и обратной полярности с 3 импульсами (напряжение 12 В) в течение 30 мс, интервалом 950 мс, с ограничением по силе тока 45 мА.

Иммунизация pVAXrbd. Животных разделили на две группы: первой группе вводили pVAXrbd в/м в дозе 100 мкг / 100 мкл, второй группе — pVAXrbd в дозе 100 мкг / 100 мкл PBS в/м с электропорацией с параметрами из протокола № 10 (см. таблицу).

Через три недели после иммунизации группам была проведена бустерная иммунизация с использованием той же самой процедуры, что и при первой. На 10-е сутки собирали сыворотки крови и селезенки животных для оценки иммуногенности pVAXrbd.

Иммуноферментный анализ сывороток. Антиген для иммуноферментного анализа (ИФА) — белок RBD (рецепторсвязывающий домен), полученный в эукариотических продуцентах (клетках CHO-K1) и очищенный с помощью аффинной и ионообменной хроматографии (чистота белка >98 %) [9]. Белок RBD (1 мкг/мл в 2 М мочевины) сорбировали на 96-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Германия) и блокировали 1 % раствором казеина. Затем в лунки добавляли

Различные варианты протоколов электропорации
Different options for electroporation protocols

Протокол, №	1	2	3	5	6	7	8	9	10
Режим импульса	Экспоненциальный		Прямоугольный						
Вид импульса	+			+/-					
Напряжение, В	100	40	50	40	30	15	12	12	12
Ограничение силы тока, мА	300	300	300	200	200	150	100	100	45
Время импульса, мс	50	30	50	40	40	30	30	30	30
Интервал импульсов, мс	1000	1000	1000	800	900	900	900	950	950
Количество импульсов	5	3	5	8	3	5	3	3	3
Травматичность, %	0	50	50	70	50	30	20	20	0
Качественная оценка флуоресценции GFP	—	—	—	+/-	+/-	+/-	+	+	+

Примечание. Эффективность доставки rhMGFP оценивалась визуально микроскопией мышечного среза по оценке интенсивности флуоресценции GFP.

сыворотки в трехкратном серийном разведении, начиная с 1:50, и инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре. Планшет промывали, добавляли конъюгированные с пероксидазой хрена кроличьи антитела против IgG мыши (Sigma), инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре. В лунки планшета, промытого PBST, вносили субстрат 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (TMB; Amresco, США). Оптическую плотность измеряли при длине волны 450 нм на микропланшетном ридере ChroMate-4300 (Awareness Technology Inc., США).

Выделение спленоцитов. Селезенки последовательно измельчали на нейлоновых фильтрах для клеток с диаметром пор 70 и 40 мкм (BD FalconTM, США). После лизиса эритроцитов лизирующим буфером (Sigma, США) спленоциты дважды отмывали в полной среде RPMI и помещали в 1 мл среды RPMI с 2 mM L-глутамина, гентамицина (50 мкг/мл) и 10 % фетальной бычьей сывороткой (FBS; Thermo Fisher Scientific, США). Клетки подсчитывали с помощью автоматического счетчика клеток TC20™ (Bio-Rad, США).

IFN γ ELISpot анализ. Анализ проводили наборами Mabtech (США) в соответствии с рекомендациями производителя. Для стимуляции спленоцитов, выделенных от иммунизированных животных, использовали пул из 9 пептидов SARS-CoV-2 RBD (20 мкг/мл каждого пептида), распознаваемых главным комплексом гистосовместимости (МНС) класса I (H-2-Dd, H-2-Kd, H-2-Ld) и молекулами класса II (H2-IA α , H2-IE α) для мышей BALB/c. Пептиды синтезированы компанией AtaGenix Laboratories, Китай (чистота пептидов >80 %). Количество IFN γ -продуцирующих клеток подсчитывали с помощью ELISpot-анализатора фирмы Carl Zeiss (Германия).

Статистика. Данные анализировали GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., Сан-Диего, Калифорния, США). Результаты выражены как медиана с диапазоном. Различия в иммунных реакциях между группами оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни.

Результаты

Оптимальный протокол доставки нуклеиновых кислот. Наиболее результативной доставкой нуклеиновых кислот для мышей линии Balb/c (рис. 1) оказался следующий протокол: постоянный ток прямоугольной формы прямой и обратной полярности с 3 импульсами напряжением 12 В в течение 30 мс, интервалом 950 мс, ограничением по силе тока в 45 мА.

Развитие гуморального иммунного ответа на внутримышечную иммунизацию pVAXrbd. Результаты ИФА сывороток животных, иммунизированных pVAXrbd, введенной либо в/м, либо электропорацией, приведены на рис. 2. Данные демонстрируют, что варианты индуцируют значительно больший уровень синтеза антител по сравнению с группой внутримышечного введения без электропорации.

Анализ Т-клеточного иммунного ответа на pVAXrbd. ELISpot анализ показал, что наибольшее количество клеток, продуцирующих IFN γ в ответ на стимуляцию специфическими пептидами, выявлено у мышей, иммунизированных электропорацией, тогда как в группе мышей, иммунизированных «голой» pVAXrbd, детектировано самое малое количество таких клеток среди экспериментальных групп (рис. 3). В целом результаты ELISpot свидетельствуют об усилении поствакцинального Т-клеточного ответа на иммунизацию электропорацией.

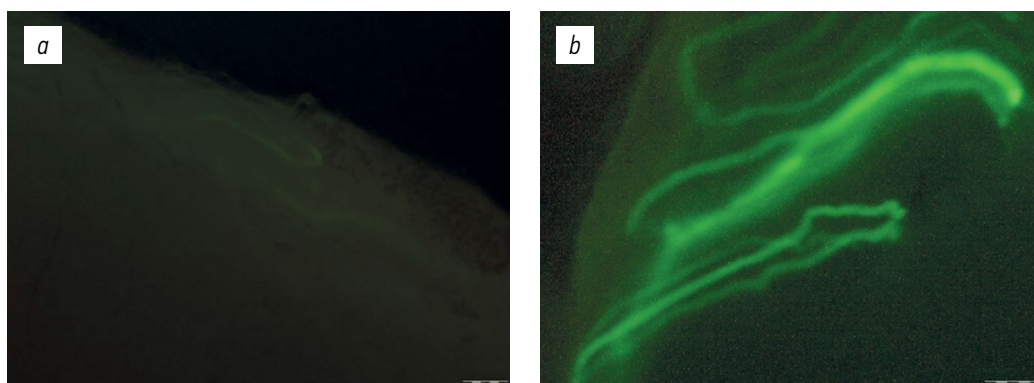


Рис. 1. Микроскопия мышечной ткани мышей, иммунизированной pHMGFP: *a* — внутримышечное введение pHMGFP; *b* — введение pHMGFP электропорацией

Fig. 1. Microscopy of mouse muscle tissue injected with pHMGFP: *a* — intramuscular injection of pHMGFP; *b* — introduction of pHMGFP by electroporation

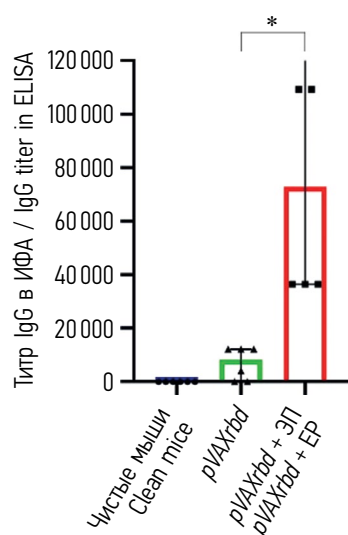


Рис. 2. RBD-специфичный гуморальный ответ у мышей, иммунизированных pVAXrbd. ИФА — иммуноферментный анализ; ЭП — электропорация. * $p < 0,05$

Fig. 2. RBD-specific humoral response in mice immunized with pVAXrbd. ELISA — linked immunosorbent assay; EP — electroporation. * $p < 0.05$

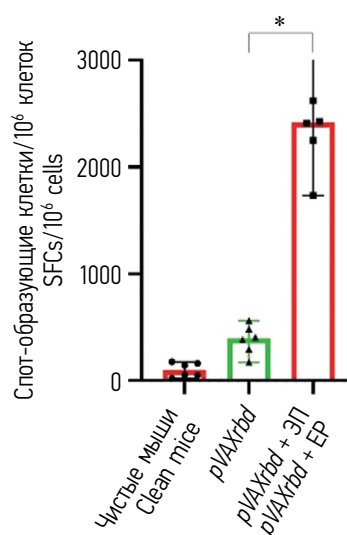


Рис. 3. Результаты анализа RBD-специфического Т-клеточного ответа у иммунизированных мышей линии BALB/c с использованием метода ELISpot. ЭП — электропорация. * $p < 0,05$

Fig. 3. Results of analysis of RBD-specific T-cell response in immunized BALB/c mice by ELISpot method. EP — electroporation. * $p < 0.05$

Обсуждение

Исходя из полученных нами данных, введение ДНК-вакцин электропорацией позволяет значительно повысить эффективность обычной инъекции. Это объясняется тем, что под действием электрического поля происходит дестабилизация липидной мембраны клетки, а это влечет большее поглощение ДНК-вакцин, соответственно увеличивается объем их доставки в ядро клетки. В результате электропорация повышает иммуногенность ДНК-вакцин.

В данной работе мы провели выбор оптимальных параметров электропорации на модельной плазмиде pHMGFP, затем использовали протокол для оценки иммуногенности ДНК-вакцины pVAXrbd. При анализе гумораль-

ного ответа с помощью ИФА мы показали, что титр RBD-специфических антител в группе мышей, иммунизированных pVAXrbd с применением электропорации, составил 1 : 109 350, что в 16,2 раза выше, чем в группе животных, получавших ДНК-вакцину только в/м (титры 1 : 6750). Анализ клеточного ответа показал, что наибольшее количество клеток (2433 спотов/спленоцитов, млн), продуцирующих $IFN\gamma$ в ответ на стимуляцию пептидами из белка RBD, зарегистрировано в группе животных, иммунизированных pVAXrbd с применением электропорации. Для сравнения: в группе контроля с в/м введением pVAXrbd количество клеток в 6,5 раз ниже — 380 спотов/спленоциты, млн.

Однако мы пока что ограничиваемся исследованием применения электропорации на модели мышей, но К. Modjarrad и соавт. [10] предпринимали попытки использовать этот метод для вакцинации людей, результат — формирование стойкого гуморального и клеточного иммунитета, причем о фактах серьезных нежелательных явлений, связанных с вакциной и методом доставки, не сообщалось.

Выводы

Таким образом, полученные результаты показывают, что электропорация pVAXrbd лабораторным животным значительно усиливает как гуморальный, так и клеточный специфический иммунный ответ.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Соблюдение этических норм. Работа с животными проводилась согласно «Руководству по уходу и использованию лабораторных животных». План эксперимента и протоколы были одобрены Биоэтическим комитетом Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (номер разрешения: НИЦ ВБ «Вектор» / 10.09.2020).

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Наибольший вклад распределен следующим образом: Д.Н. Кисаков, Л.А. Орлова, Л.И. Карпенко, М.Б. Боргоякова, Е.В. Старостина, А.П. Рудометов, С.В. Шарабрин, А.А. Ильичев — проведение экспериментальных исследований, обработка результатов, анализ полученных результатов.

Additional information

Funding sources. The study was conducted under the state assignment of FBRI SRC VB “Vector”, Rospotrebnadzor.

Competing interests. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Compliance with ethical standards. Work with animals was carried out according to the “Guidelines for the increase and use of laboratory animals.”

The experimental plan and protocols were approved by the Bioethical Committee of the State Scientific Center for Virology and Biotechnology “Vector” (permit number: SRC VB “Vector” / 10.09.2020).

Authors’ contribution. All authors made a significant contribution to the development of the concept and preparation of the article, read and approved the final version before publication. The largest contribution is distributed as follows: D.N. Kisa-kov, L.A. Orlova, L.I. Karpenko, M.B. Borgoyakova, E.V. Starostina, A.P. Rudometov, S.V. Sharabrin, A.A. Ilyichev — conducting experimental studies, processing the results, analyzing the results.

Список литературы

1. Chavda V.P., Pandya R., Apostolopoulos V. DNA vaccines for SARS-CoV-2: toward third-generation vaccination era // Expert. Rev. Vaccines. 2021. Vol. 20, No. 12, P. 1549–1560. DOI: 10.1080/14760584.2021.1987223
2. Momin T., Kansagra K., Patel H. et al. Safety and immunogenicity of a DNA SARS-CoV-2 vaccine (ZyCoV-D): Results of an open-label, non-randomized phase I part of phase I/II clinical study by intradermal route in healthy subjects in India // EClinicalMedicine. 2021. Vol. 38. P. 101020. DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.101020
3. Li L., Petrovsky N. Molecular mechanisms for enhanced DNA vaccine immunogenicity // Expert. Rev. Vaccines. 2016. Vol. 15, No. 3. P. 313–329. DOI: 10.1586/14760584.2016.1124762
4. Eusébio D., Neves A.R., Costa D. et al. Methods to improve the immunogenicity of plasmid DNA vaccines // Drug Discov. Today. 2021. Vol. 26, No. 11. P. 2575–2592. DOI: 10.1016/j.drudis.2021.06.008
5. Broderick K.E., Humeau L.M. Electroporation-enhanced delivery of nucleic acid vaccines // Expert. Rev. Vaccines. 2015. Vol. 14, No. 2. P. 195–204. DOI: 10.1586/14760584.2015.990890
6. Reed S.D., Li S. Electroporation advances in large animals // Curr. Gene Ther. 2009. Vol. 9, No. 4. P. 316–326. DOI: 10.2174/156652309788921062
7. Draghia-Akli R., Khan A.S. *In vivo* electroporation of gene sequences for therapeutic and vaccination applications // Recent Pat. DNA Gene Seq. 2007. Vol. 1, No. 3. P. 207–213. DOI: 10.2174/187221507782360245
8. Borgoyakova M.B., Karpenko L.I., Rudometov A.P. et al. Immunogenic properties of the DNA construct encoding the receptor-binding domain of the SARS-CoV-2 spike protein // Mol. Biol. (Mosk). 2021. Vol. 55, No. 6. P. 889–898. DOI: 10.1134/S0026893321050046
9. Merkuleva I.A., Shcherbakov D.N., Borgoyakova M.B. et al. Comparative immunogenicity of the recombinant receptor-binding domain of protein S SARS-CoV-2 obtained in prokaryotic and mammalian expression system // Vaccines (Basel). 2022. Vol. 10, No. 1. P. 96. DOI: 0.3390/vaccines10010096
10. Modjarrad K., Roberts C.C., Mills K.T. et al. Safety and immunogenicity of an anti-Middle East respiratory syndrome coronavirus DNA vaccine: a phase 1, open-label, single-arm, dose-escalation trial // Lancet Infect. Dis. 2019. Vol. 19, No. 9. P. 1013–1022. DOI: 10.1016/S1473-3099(19)30266-X

References

- Chavda VP, Pandya R, Apostolopoulos V. DNA vaccines for SARS-CoV-2: toward third-generation vaccination era. *Expert Rev Vaccines*. 2021;20(12):1549–1560. DOI: 10.1080/14760584.2021.1987223
- Momin T, Kansagra K, Patel H, et al. Safety and immunogenicity of a DNA SARS-CoV-2 vaccine (ZyCoV-D): Results of an open-label, non-randomized phase I part of phase I/II clinical study by intradermal route in healthy subjects in India. *EClinicalMedicine*. 2021;38:101020. DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.101020
- Li L, Petrovsky N. Molecular mechanisms for enhanced DNA vaccine immunogenicity. *Expert Rev Vaccines*. 2016;15(3):313–329. DOI: 10.1586/14760584.2016.1124762
- Eusébio D, Neves AR, Costa D, et al. Methods to improve the immunogenicity of plasmid DNA vaccines. *Drug Discov Today*. 2021;26(11):2575–2592. DOI: 10.1016/j.drudis.2021.06.008
- Broderick KE, Humeau LM. Electroporation-enhanced delivery of nucleic acid vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2015;14(2):195–204. DOI: 10.1586/14760584.2015.990890
- Reed SD, Li S. Electroporation advances in large animals. *Curr Gene Ther*. 2009;9(4):316–326. DOI: 10.2174/156652309788921062
- Draghia-Akli R, Khan AS. *In vivo* electroporation of gene sequences for therapeutic and vaccination applications. *Recent Pat DNA Gene Seq*. 2007;1(3):207–213. DOI: 10.2174/187221507782360245
- Borgoyakova MB, Karpenko LI, Rudometov AP, et al. Immunogenic properties of the DNA construct encoding the receptor-binding domain of the SARS-CoV-2 spike protein. *Mol Biol (Mosk)*. 2021;55(6):889–898. DOI: 10.1134/S0026893321050046
- Merkuleva IA, Shcherbakov DN, Borgoyakova MB, et al. Comparative immunogenicity of the recombinant receptor-binding domain of protein S SARS-CoV-2 obtained in prokaryotic and mammalian expression system. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(1):96. DOI: 0.3390/vaccines10010096
- Modjarrad K, Roberts CC, Mills KT, et al. Safety and immunogenicity of an anti-Middle East respiratory syndrome coronavirus DNA vaccine: a phase 1, open-label, single-arm, dose-escalation trial. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(9):1013–1022. DOI: 10.1016/S1473-3099(19)30266-X

Информация об авторах / Information about the authors

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по защите прав потребителей и благополучия человека, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

Денис Николаевич Кисаков — младший научный сотрудник.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4889-6865>;
e-mail: def_2003@mail.ru

Любовь Александровна Орлова — стажер-исследователь.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7214-1855>;
e-mail: orlova_la@vector.nsc.ru

Сергей Валерьевич Шарабрин — младший научный сотрудник.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0664-3587>;
Scopus Author ID: 57221380569;
e-mail: sharabrin.sv@gmail.com

Андрей Павлович Рудомётов — канд. биол. наук, старший научный сотрудник.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2808-4309>;
e-mail: rudometov_ap@vector.nsc.ru

Мария Борисовна Боргоякова — младший научный сотрудник.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0768-1561>;
Scopus Author ID: 57221732585;
e-mail: borgoyakova_mb@vector.nsc.ru

Екатерина Владимировна Старостина — канд. биол. наук, научный сотрудник.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1733-9524>;
e-mail: starostina_ev@vector.nsc.ru

Лариса Ивановна Карпенко — д-р биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4365-8809>;
Scopus Author ID: 7005000410;
e-mail: karpenko@vector.nsc.ru

Александр Алексеевич Иlichev — д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом биоинженерии.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5356-0843>;
Scopus Author ID: 7006402361;
ResearcherID: B-1327-2012; e-mail: ilyichev@vector.nsc.ru

Denis N. Kisakov — Junior Research Associate;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4889-6865>;
e-mail: def_2003@mail.ru

Lyubov A. Orlova — Trainee Researcher.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7214-1855>;
e-mail: orlova_la@vector.nsc.ru

Sergey V. Sharabrin — Junior Research Associate.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0664-3587>;
Scopus Author ID: 57221380569;
e-mail: sharabrin.sv@gmail.com

Andrey P. Rudometov — Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2808-4309>;
e-mail: rudometov_ap@vector.nsc.ru

Maria B. Borgoyakova — Junior Research Associate.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0768-1561>;
Scopus Author ID: 57221732585;
e-mail: borgoyakova_mb@vector.nsc.ru

Ekaterina V. Starostina — Cand. Sci. (Biol.), Research Associate.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1733-9524>;
e-mail: starostina_ev@vector.nsc.ru

Larisa I. Karpenko — Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Leading Research Associate.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4365-8809>;
Scopus Author ID: 7005000410;
e-mail: karpenko@vector.nsc.ru

Alexander A. Ilyichev — Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Department of Bioengineering.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5356-0843>;
Scopus Author ID: 7006402361;
ResearcherID: B-1327-2012; e-mail: ilyichev@vector.nsc.ru

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Денис Николаевич Кисаков / Denis N. Kisakov
Адрес: Россия, 630559, Новосибирской область, р. п. Кольцово
Address: Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia, 630559, Russia
E-mail: def_2003@mail.ru