

УДК 578.232

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ108629>

ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К АНТИГЕНАМ SARS-CoV-2 НА МОДЕЛИ СИРИЙСКИХ ХОМЯЧКОВ

Д.А. Меженская, И.Н. Исакова-Сивак, Л.Г. Руденко

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Меженская Д.А., Исакова-Сивак И.Н., Руденко Л.Г. Подходы к изучению клеточного иммунного ответа к антигенам SARS-CoV-2 на модели сирийских хомячков // Медицинский академический журнал. 2022. Т. 22. № 2. С. 215–220. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ108629>

Рукопись получена: 30.05.2022

Рукопись одобрена: 08.06.2022

Опубликована: 30.06.2022

Обоснование. Пандемия, вызванная появлением вируса SARS-CoV-2 в конце 2019 г., все еще остается серьезной проблемой здравоохранения. Ввиду постоянного антигенного дрейфа возбудителя, приводящего к снижению эффективности лицензированных вакцин от COVID-19, актуальна разработка вакцин широкого спектра действия, эффективных в отношении эволюционно удаленных вариантов коронавируса. В отличие от вирусспецифических антител с достаточно узким диапазоном действия, Т-клеточное звено иммунитета обладает более широким кросс-протективным потенциалом. Сирийские хомячки — адекватная модель для доклинической оценки новых вакцинных кандидатов, поскольку эти животные не только чувствительны к новой коронавирусной инфекции, но и способны проявлять клинические симптомы заболевания. Однако тестирование Т-клеточных вакцин на хомяках осложняется отсутствием доступных реагентов и тест-систем, позволяющих адекватно оценивать уровни вирусспецифического клеточного иммунитета на вакцинацию.

Цель работы — оптимизация условий стимуляции иммунных клеток сирийских хомячков живым вирусом SARS-CoV-2 для оценки уровней вирусспецифического Т-клеточного иммунного ответа.

Материалы и методы. Интраназальное заражение животных вирусом SARS-CoV-2 с последующей стимуляцией иммунных клеток различными дозами цельного живого коронавируса и подсчетом IFN γ -продуцирующих клеток методом ELISpot.

Результаты. Показано, что стимуляция клеток селезенки и легких хомячков вирусом в дозе 0,1 ТЦИД₅₀/клетку оптимальна для определения максимальных уровней цитокин-продуцирующих клеток у животных, зараженных SARS-CoV-2. Кроме того, стимуляция клеток цельным вирусом показала большее количество вирусспецифических клеток по сравнению с пулом перекрывающихся пептидов, соответствующих белкам S и N коронавируса.

Заключение. В целом новая методика позволит более точно оценивать иммуногенность Т-клеточных вакцин от COVID-19 в доклинических исследованиях на модели сирийских хомячков.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция; SARS-CoV-2; ELISpot; сирийские хомячки; IFN γ .

ASSESSMENT OF CELL-MEDIATED IMMUNE RESPONSES TO SARS-CoV-2 IN SYRIAN HAMSTERS

Daria A. Mezhenkaya, Irina N. Isakova-Sivak, Larisa G. Rudenko

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Mezhenkaya DA, Isakova-Sivak IN, Rudenko LG. Assessment of cell-mediated immune responses to SARS-CoV-2 in Syrian hamsters. *Medical Academic Journal*. 2022;22(2):215–220. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ108629>

Received: 30.05.2022

Accepted: 08.06.2022

Published: 30.06.2022

BACKGROUND: The pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus at the end of 2019 remains to be a serious health-care problem. Constant antigenic drift of the pathogen led to a decrease of licensed COVID-19 vaccines effectiveness. And the development of broad-spectrum vaccines with high effectiveness rate against evolutionarily divergent SARS-CoV-2 variants remains an urgent issue. Unlike virus-specific antibodies with limited spectrum of action, T-cell immunity has a wider cross-protective potential. Syrian hamsters are the most appropriate model for preclinical evaluation of new vaccine candidates, since these animals are susceptible to SARS-CoV-2 infection and show clinical symptoms of the disease. However, study of T-cell vaccine response in hamsters is complicated by the lack of available reagents and test systems for adequate assessment of the virus-specific cellular immunity levels after vaccination.

AIM: In this work, we report an optimized protocol of stimulation of Syrian hamsters' immune cells with a live SARS-CoV-2 virus to assess virus-specific T-cell responses.

MATERIALS AND METHODS: Intranasal infection of animals with SARS-CoV-2 virus followed by stimulation of immune cells with different doses of whole live coronavirus and counting of IFN γ -producing cells by ELISpot method.

RESULTS: Stimulation of spleen and lung cells with SARS-CoV-2 at a dose 0.1 TCID₅₀/cell is the most optimal viral concentration for detecting maximum of cytokine-producing cells in SARS-CoV-2-infected animals. Stimulation of cells with whole virus revealed greater number of virus-specific cells compared to a stimulation with pools of SARS-CoV-2 lyophilized peptides (S and N proteins).

CONCLUSIONS: Overall, the new methodology allows assessment of the immunogenicity of COVID-19 T-cell vaccines more accurately in preclinical studies using the Syrian hamsters model.

Keywords: new coronavirus infection; SARS-CoV-2; ELISpot; Syrian hamsters; IFN γ .

Обоснование

Пандемия COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, к настоящему времени насчитывает более 500 млн случаев острой респираторной инфекции, она унесла жизни более 6 млн человек во всем мире [1]. Созданные в кратчайшие сроки вакцины первого поколения позволили значительно снизить ущерб от новой инфекции [2]. Подавляющее большинство лицензированных вакцин от COVID-19 (в ответ на иммунизацию которыми вырабатываются преимущественно вирусспецифические антитела) включают основной поверхностный антиген коронавируса — spike-белок (S-белок). Однако существенный их недостаток — высокая степень антигенной изменчивости S-белка, что приводит к снижению эффективности вакцин против вновь появляющихся вариантов SARS-CoV-2 [3]. Вирусспецифические Т-клетки — важный элемент иммунитета, который может ограничивать тяжесть заболевания и способствовать выздоровлению, при этом Т-клетки более долгоживущие по сравнению с В-клетками, их действие чаще всего направлено на консервативные вирусные эпитопы [4, 5]. В этой связи разработка Т-клеточных вакцин от COVID-19 — перспективная стратегия для создания вакцин, обеспечивающих длительную защиту от широкого спектра антигенных вариантов SARS-CoV-2 [6]. Оценка иммуногенности Т-клеточных вакцин на наиболее распространенной модели лабораторных животных для SARS-CoV-2, сирийских хомячков, осложняется отсутствием доступных реагентов и тест-систем, позволяющих адекватно оценивать уровни вирусспецифического клеточного иммунитета на вакцинацию. Наиболее чувствительный метод оценки Т-клеточного ответа — метод ELISpot (Enzyme-Linked Immunospot assay), который позволяет количественно оценить секрецию цитокинов клетками, стимулированными *in vitro* [7]. В результате активированные клетки приобретают способность продуцировать различные цитокины, которые в свою очередь распознаются специфическими антителами, заранее нанесенными на подложку для ELISpot. Чаще всего для оценки клеточного иммунитета к новому коронавирусу используется стимуляция клеток пулом пептидов, покрывающих последовательность какого-либо белка вируса SARS-CoV-2 [8, 9]. Однако наборы таких пептидов соответствуют неполному вирусному протеому, что может привести к занижению данных об уровне вирусспецифических Т-клеток. В нашем исследовании для выявления максимального специфического ответа к вирусу SARS-CoV-2 предлагается стимуляция иммунных клеток цельным живым коронавирусом.

Цель статьи — отработка условий стимуляции иммунных клеток сирийских хомячков живым вирусом SARS-CoV-2 для выявления IFN γ -продуцирующих клеток методом ELISpot.

Материалы и методы

Для формирования значимого иммунного ответа к вирусам SARS-CoV-2 сирийских хомячков (*Mesocricetus auratus*, $n = 3$) заражали двукратно интраназально умеренной дозой коронавируса, не вызывающей клинических проявлений заболевания (10^4 ТЦИД $_{50}$), с трехнедельным интервалом. Для заражения использовали штамм вируса SARS-CoV-2 (номер доступа в базе GISAID: EPI_ISL_1789542). Контрольная группа животных получала раствор фосфатно-солевого буфера.

На 5-й день после повторного заражения провели забор тканей легких и селезенки. Выделение клеток из них проводили по стандартному протоколу [10], живые клетки подсчитывали на автоматическом счетчике клеток TC20 (Bio-Rad) с отсечением по размеру, соответствующему лимфоцитам. В стерильные 96-луночные планшеты вносили клетки в количестве $5 \cdot 10^5$ в объеме 100 мкл, после чего к ним добавляли различные дозы цельного вируса, очищенного на градиенте плотности сахарозы. Контроль стимуляции проводили PerTivator — набором коммерческих пептидов, покрывающих последовательности S- и N-белков SARS-CoV-2 (Miltenyi Biotec, Германия). После перемешивания смесь клеток и стимуляторов вносили в лунки планшета из коммерческого набора Hamster IFN γ ELISpot PLUS kit (Mabtech, Швеция) и инкубировали 24 ч при 37 °C в атмосфере 5 % CO $_2$. После инкубации планшеты проявляли, а уровни IFN γ -продуцирующих клеток количественно учитывали на приборе AID vSpot Spectrum (Advanced Imaging Devices, Германия).

Работу с вирусом SARS-CoV-2 выполняли в лаборатории, соответствующей уровню биобезопасности BSL-3.

Результаты и обсуждение

Разработка Т-клеточных вакцин от COVID-19 — перспективный путь усовершенствования первого поколения вакцин от SARS-CoV-2, направленных на выработку нейтрализующих антител к S-белку [11]. Однако это самый переменчивый белок нового коронавируса, поэтому вновь возникающие варианты SARS-CoV-2 могут ускользать от антител, выработанных после вакцинации [12]. При доклиническом изучении Т-клеточных вакцин важно подобрать адекватные условия оценки Т-клеточного иммунитета

на моделях животных, чтобы учитывались все возможные эпитопы коронавируса, участвующие в ответе на иммунизацию. В настоящем исследовании для поиска оптимальных условий стимуляции иммунных клеток сирийских хомячков использовали различные дозы вируса SARS-CoV-2, соответствующие множественности заражения (multiplicity of infection, MOI) 1, 0,1, 0,01 и 0,001 (количество инфекционных единиц вируса на одну клетку). Детекция спотов после стимуляции клеток селезенки не выявила достоверных различий между группами при дозах 1, 0,1 и 0,01 MOI (см. рисунок). Применение таких заражающих доз позволило получить статистически достоверно большее количество спотов по сравнению с использованием набора коммерческих пептидов (PepTivator) для стимуляции спленцитов. Данные литературы свидетельствуют,

что мишенями для Т-клеточного ответа могут быть неструктурные белки вируса [13], которые обычно не входят в состав коммерческих пептидных пулов. В данном исследовании стимуляция клеток проводилась цельным реплицирующимся вирусом и, соответственно, происходил синтез всех белков, включая неструктурные белки, что указывает на перспективность использования цельного вируса для стимуляции клеток *in vitro* для выявления максимального уровня цитокин-продуцирующих клеток у животных, зараженных SARS-CoV-2 или иммунизированных специфическими вакцинами. W.A. Mak и соавт. [9] отметили, что при стимуляции мононуклеаров периферической крови нет корреляции между количеством полученных спотов и концентрацией используемых для этого пептидов.

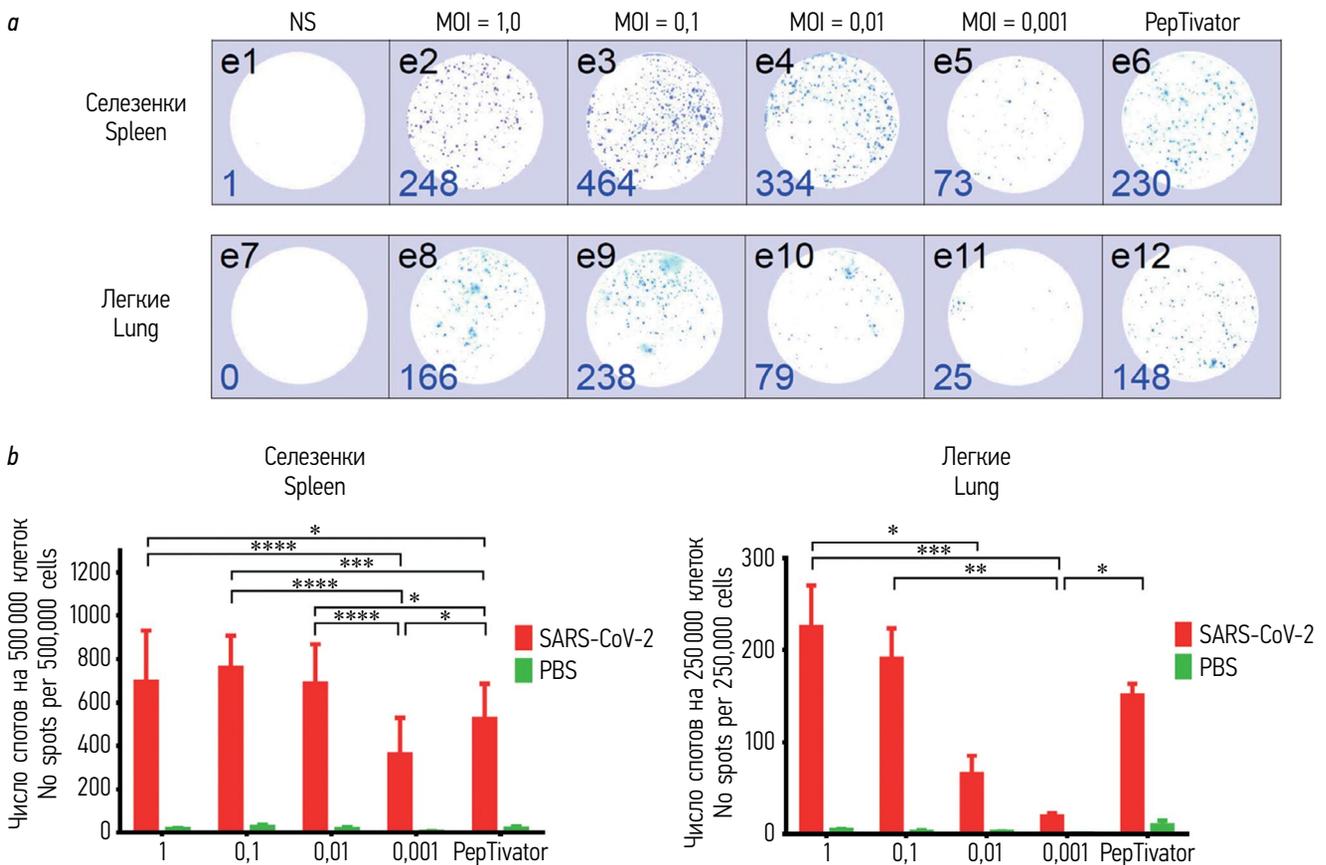


Рис. 1. Изучение специфического ответа к антигенам SARS-CoV-2 методом ELISpot на модели сирийских хомячков: *a* — пример данных анализа индивидуальных лунок планшета для ELISpot с помощью прибора AID vSpot Spectrum; *b* — оценка количества спотов после стимуляции клеток инфицированных животных. Двукратное заражение сирийских хомячков проведено с использованием вируса SARS-CoV-2 или фосфатно-солевого буфера (PBS). Статистический анализ проводился методом двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с поправкой Тьюки на множественное сравнение. MOI — multiplicity of infection, множественность заражения. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$

Fig. 1. Detection of antigen-specific response to SARS-CoV-2 in the spleens and lung cells of Syrian hamsters using ELISpot assay: *a* — example of data obtained after analysis of individual wells of the ELISpot plate using the AID vSpot Spectrum; *b* — number of spots after stimulation of the cells of infected animals. Syrian hamsters were infected twice using SARS-CoV-2 virus or PBS. Data were analyzed by two-way ANOVA with Tukey's post-hoc multiple analyses test. MOI — multiplicity of infection. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$

Кроме того, нам важно было оценить возможность изучения не только системного, но и локального Т-клеточного иммунного ответа на антигенную стимуляцию клеток селезенки. Поскольку вирус SARS-CoV-2 поражает в первую очередь респираторные органы, а тяжесть заболевания тесно связана с наблюдаемыми патологическими изменениями в легких [14], важно оценить, насколько вакцинация может формировать локальный ответ в легких на быструю активацию при обнаружении соответствующего патогена [10]. В этой связи мы оценивали возможность выявления IFN γ -продуцирующих клеток, выделенных из легочной ткани инфицированных животных. Показано, что при использовании высокой дозы стимулирующего вируса (множественность заражения 1 и 0,1) выявляется большее количество спотов по сравнению с действием коммерческих пептидов к S- и N-белкам, что также подтверждает возможность оценки Т-клеточного ответа к полному протеому вируса при использовании цельного реплицирующегося вируса (см. рисунок, *b*).

Стоит также отметить, что стимуляция клеток животных, получавших раствор фосфатно-солевого буфера, не привела к формированию специфического ответа к IFN γ (см. рисунок).

Таким образом, наше исследование показало возможность изучения клеточного иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 методом ELISpot на модели сирийских хомячков и продемонстрировало преимущество стимуляции клеток легких и спленоцитов цельным очищенным вирусом SARS-CoV-2 по сравнению с пулом перекрывающихся пептидов отдельных вирусных белков. Преимущество такого подхода не только в силе индуцируемого ответа, но и в его универсальности. Например, существующие стратегии вакцинации включают кроме основных антигенов вирусных белков S, N и M цельный вирус (как мишени) [15]. Кроме того, показано, что стимуляция моноцитов крови привитых мРНК-вакциной против S-белка с использованием N- и M-пептидов, неэффективна [9]. В то же время применение цельного вируса для стимуляции клеток — наиболее универсальный подход, который позволяет оценить иммунный ответ не только в результате перенесенной болезни, но и после проведения вакцинации любым типом вакцин.

Выводы

Итак, метод ELISpot — перспективный инструмент для изучения клеточного иммунного ответа к антигенам SARS-CoV-2 на модели сирийских хомячков. Максимальные уровни значимый ответа могут быть выявлены при стимуляции

иммунных клеток живым коронавирусом в дозе, соответствующей множественности заражения 0,1 или 0,01.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-75-30003).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Соблюдение этических норм. Исследование одобрено на заседании локального этического комитета ФГБНУ «Института экспериментальной медицины» (№ 1/22 от 18.02.2022).

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: *И.Н. Исакова-Сивак* — идея, план исследований; *Д.А. Меженская* — проведение экспериментов, анализ данных; *Л.Г. Руденко* — администрирование проекта.

Additional information

Funding sources. The study was funded by the Russian Science Foundation (grant No. 21-75-30003).

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. The study was approved by the local Ethical Committee of the Institute of Experimental Medicine (No. 1/22 by 18.02.2022).

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: *I.N. Isakova-Sivak* — concept, research plan; *D.A. Mezhenskaya* — conducting experiments, their interpretation; *L.G. Rudenko* — project administration.

Список литературы

1. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU) [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Дата обращения: 01.05.2022.
2. Zheng C., Shao W., Chen X. et al. Real-world effectiveness of COVID-19 vaccines: a literature review and meta-analysis // *Int. J. Infect. Dis.* 2022. Vol. 114. P. 252–260. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.11.0093.
3. Tatsi E.B., Filippatos F., Michos A. SARS-CoV-2 variants and effectiveness of vaccines: a review of current evidence //

- Epidemiol. Infect. 2021. Vol. 149. P. e237. DOI: 10.1017/S0950268821002430
4. Kedzierska K., Thomas P.G. Count on us: T cells in SARS-CoV-2 infection and vaccination // *Cell Rep. Med.* 2022. Vol. 3, No. 3. P. 100562. DOI: 10.1016/j.xcrm.2022.100562
 5. Zollner A., Watschinger C., Rössler A. et al. B and T cell response to SARS-CoV-2 vaccination in health care professionals with and without previous COVID-19 // *EBioMedicine.* 2021. Vol. 70. P. 103539. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103539
 6. Abbasi J. COVID-19 vaccine focused on T-Cell response promising in early trial // *JAMA.* 2022. Vol. 327, No. 2. P. 115. DOI: 10.1001/jama.2021.24118
 7. Cox J.H., Ferrari G., Janetzki S. Measurement of cytokine release at the single cell level using the ELISPOT assay // *Methods.* 2006. Vol. 38, No. 4. P. 274–282. DOI: 10.1016/j.ymeth.2005.11.006
 8. Bonifacius A., Tischer-Zimmermann S., Santamorenna M.M. et al. Rapid manufacturing of highly cytotoxic clinical-grade SARS-CoV-2-specific T cell products covering SARS-CoV-2 and its variants for adoptive T cell therapy // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022. Vol. 10. P. 867042. DOI: 10.3389/fbioe.2022.867042
 9. Mak W.A., Koeleman J.G.M., Ong D.S.Y. Development of an in-house SARS-CoV-2 interferon-gamma ELISpot and plate reader-free spot detection method // *J. Virol. Methods.* 2022. Vol. 300. P. 114398. DOI: 10.1016/j.jviromet.2021.114398
 10. Matyushenko V., Kotomina T., Kudryavtsev I. et al. Conserved T-cell epitopes of respiratory syncytial virus (RSV) delivered by recombinant live attenuated influenza vaccine viruses efficiently induce RSV-specific lung-localized memory T cells and augment influenza-specific resident memory T-cell responses // *Antiviral Res.* 2020. Vol. 182. P. 104864. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104864
 11. Fiolet T., Kherabi Y., MacDonald C.J. et al. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review // *Clin. Microbiol. Infect.* 2022. Vol. 28, No. 2. P. 202–221. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.10.005
 12. Martinez-Flores D., Zepeda-Cervantes J., Cruz-Reséndiz A. et al. SARS-CoV-2 vaccines based on the spike glycoprotein and implications of new viral variants // *Front. Immunol.* 2021. Vol. 12. P. 701501. DOI: 10.3389/fimmu.2021.701501
 13. Swadling L., Maini M.K. T cells in COVID-19 – united in diversity // *Nat. Immunol.* 2020. Vol. 21, No. 11. P. 1307–1308. DOI: 10.1038/s41590-020-0798-y
 14. Rong Y., Wang F., Liu J. et al. Clinical characteristics and risk factors of mild-to-moderate COVID-19 patients with false-negative SARS-CoV-2 nucleic acid // *J. Med. Virol.* 2021. Vol. 93, No. 1. P. 448–455. DOI: 10.1002/jmv.26242
 15. Dai L., Gao G.F. Viral targets for vaccines against COVID-19 // *Nat. Rev. Immunol.* 2021. Vol. 21, No. 2. P. 73–82. DOI: 10.1038/s41577-020-00480-0
 2. Zheng C, Shao W, Chen X, et al. Real-world effectiveness of COVID-19 vaccines: a literature review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2022;114:252–260. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.11.0093
 3. Tatsi EB, Filippatos F, Michos A. SARS-CoV-2 variants and effectiveness of vaccines: a review of current evidence. *Epidemiol Infect.* 2021;149:e237. DOI: 10.1017/S0950268821002430
 4. Kedzierska K, Thomas PG. Count on us: T cells in SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell Rep Med.* 2022;3(3):100562. DOI: 10.1016/j.xcrm.2022.100562
 5. Zollner A, Watschinger C, Rössler A, et al. B and T cell response to SARS-CoV-2 vaccination in health care professionals with and without previous COVID-19. *EBioMedicine.* 2021;70:103539. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103539
 6. Abbasi J. COVID-19 vaccine focused on T-Cell response promising in early trial. *JAMA.* 2022;327(2):115. DOI: 10.1001/jama.2021.24118
 7. Cox JH, Ferrari G, Janetzki S. Measurement of cytokine release at the single cell level using the ELISPOT assay. *Methods.* 2006;38(4):274–282. DOI: 10.1016/j.ymeth.2005.11.006
 8. Bonifacius A, Tischer-Zimmermann S, Santamorenna MM, et al. Rapid manufacturing of highly cytotoxic clinical-grade SARS-CoV-2-specific T cell products covering SARS-CoV-2 and its variants for adoptive T cell therapy. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:867042. DOI: 10.3389/fbioe.2022.867042
 9. Mak WA, Koeleman JGM, Ong DSY. Development of an in-house SARS-CoV-2 interferon-gamma ELISpot and plate reader-free spot detection method. *J Virol Methods.* 2022;300:114398. DOI: 10.1016/j.jviromet.2021.114398
 10. Matyushenko V, Kotomina T, Kudryavtsev I, et al. Conserved T-cell epitopes of respiratory syncytial virus (RSV) delivered by recombinant live attenuated influenza vaccine viruses efficiently induce RSV-specific lung-localized memory T cells and augment influenza-specific resident memory T-cell responses. *Antiviral Res.* 2020;182:104864. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104864
 11. Fiolet T, Kherabi Y, MacDonald CJ, et al. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(2):202–221. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.10.005
 12. Martinez-Flores D, Zepeda-Cervantes J, Cruz-Reséndiz A, et al. SARS-CoV-2 vaccines based on the spike glycoprotein and implications of new viral variants. *Front Immunol.* 2021;12:701501. DOI: 10.3389/fimmu.2021.701501
 13. Swadling L, Maini MK. T cells in COVID-19 – united in diversity. *Nat Immunol.* 2020;21(11):1307–1308. DOI: 10.1038/s41590-020-0798-y
 14. Rong Y, Wang F, Liu J, et al. Clinical characteristics and risk factors of mild-to-moderate COVID-19 patients with false-negative SARS-CoV-2 nucleic acid. *J Med Virol.* 2021;93(1):448–455. DOI: 10.1002/jmv.26242
 15. Dai L, Gao GF. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nat Rev Immunol.* 2021;21(2):73–82. DOI: 10.1038/s41577-020-00480-0

References

1. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU) [Internet]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Accessed: May 1, 2022.
2. Zheng C, Shao W, Chen X, et al. Real-world effectiveness of COVID-19 vaccines: a literature review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2022;114:252–260. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.11.0093
3. Tatsi EB, Filippatos F, Michos A. SARS-CoV-2 variants and effectiveness of vaccines: a review of current evidence. *Epidemiol Infect.* 2021;149:e237. DOI: 10.1017/S0950268821002430
4. Kedzierska K, Thomas PG. Count on us: T cells in SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell Rep Med.* 2022;3(3):100562. DOI: 10.1016/j.xcrm.2022.100562
5. Zollner A, Watschinger C, Rössler A, et al. B and T cell response to SARS-CoV-2 vaccination in health care professionals with and without previous COVID-19. *EBioMedicine.* 2021;70:103539. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103539
6. Abbasi J. COVID-19 vaccine focused on T-Cell response promising in early trial. *JAMA.* 2022;327(2):115. DOI: 10.1001/jama.2021.24118
7. Cox JH, Ferrari G, Janetzki S. Measurement of cytokine release at the single cell level using the ELISPOT assay. *Methods.* 2006;38(4):274–282. DOI: 10.1016/j.ymeth.2005.11.006
8. Bonifacius A, Tischer-Zimmermann S, Santamorenna MM, et al. Rapid manufacturing of highly cytotoxic clinical-grade SARS-CoV-2-specific T cell products covering SARS-CoV-2 and its variants for adoptive T cell therapy. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:867042. DOI: 10.3389/fbioe.2022.867042
9. Mak WA, Koeleman JGM, Ong DSY. Development of an in-house SARS-CoV-2 interferon-gamma ELISpot and plate reader-free spot detection method. *J Virol Methods.* 2022;300:114398. DOI: 10.1016/j.jviromet.2021.114398
10. Matyushenko V, Kotomina T, Kudryavtsev I, et al. Conserved T-cell epitopes of respiratory syncytial virus (RSV) delivered by recombinant live attenuated influenza vaccine viruses efficiently induce RSV-specific lung-localized memory T cells and augment influenza-specific resident memory T-cell responses. *Antiviral Res.* 2020;182:104864. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104864
11. Fiolet T, Kherabi Y, MacDonald CJ, et al. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(2):202–221. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.10.005
12. Martinez-Flores D, Zepeda-Cervantes J, Cruz-Reséndiz A, et al. SARS-CoV-2 vaccines based on the spike glycoprotein and implications of new viral variants. *Front Immunol.* 2021;12:701501. DOI: 10.3389/fimmu.2021.701501
13. Swadling L, Maini MK. T cells in COVID-19 – united in diversity. *Nat Immunol.* 2020;21(11):1307–1308. DOI: 10.1038/s41590-020-0798-y
14. Rong Y, Wang F, Liu J, et al. Clinical characteristics and risk factors of mild-to-moderate COVID-19 patients with false-negative SARS-CoV-2 nucleic acid. *J Med Virol.* 2021;93(1):448–455. DOI: 10.1002/jmv.26242
15. Dai L, Gao GF. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nat Rev Immunol.* 2021;21(2):73–82. DOI: 10.1038/s41577-020-00480-0

Информация об авторах / Information about the authors

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия
Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

Дарья Андреевна Меженская — научный сотрудник лаборатории иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6922-7682>;
Scopus Author ID: 57188763106;
eLibrary SPIN: 5799-8802;
e-mail: dasmez@iemspb.ru

Ирина Николаевна Исакова-Сивак — д-р биол. наук, заведующая лабораторией иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2801-1508>;
Scopus Author ID: 23973026600;
eLibrary SPIN: 3469-3600;
e-mail: isakova.sivak@iemspb.ru

Лариса Георгиевна Руденко — д-р мед. наук, профессор, заведующая отделом вирусологии им. А.А. Смородинцева.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0107-9959>;
Scopus Author ID: 7005033248;
eLibrary SPIN: 4181-1372;
e-mail: vaccine@mail.ru

Daria A. Mezhenkaya — Research Associate of Laboratory of Immunology and Prevention of Viral Infections, A.A. Smorodintsev Department of Virology.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6922-7682>;
Scopus Author ID: 57188763106;
eLibrary SPIN: 5799-8802;
e-mail: dasmez@iemspb.ru

Irina N. Isakova-Sivak — Dr. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of Immunology and Prevention of Viral Infections, A.A. Smorodintsev Department of Virology.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2801-1508>;
Scopus Author ID: 23973026600;
eLibrary SPIN: 3469-3600;
e-mail: isakova.sivak@iemspb.ru

Larisa G. Rudenko — MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the A.A. Smorodintsev Department of Virology.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0107-9959>;
Scopus Author ID: 7005033248;
eLibrary SPIN: 4181-1372;
e-mail: vaccine@mail.ru

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Дарья Андреевна Меженская / Daria A. Mezhenkaya

Адрес: Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12
Address: 12 Academician Pavlov St., Saint Petersburg, 197022, Russia
E-mail: dasmez@iemspb.ru