

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 $\gamma$ -продуцирующих клеток методом ELISpot.

**Результаты.** Показано, что стимуляция клеток селезенки и легких хомячков вирусом в дозе 0,1 ТЦИД<sub>50</sub>/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 $\gamma$ .

## 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 $\gamma$ -producing cells by ELISpot method.

**RESULTS:** Stimulation of spleen and lung cells with SARS-CoV-2 at a dose 0.1 TCID<sub>50</sub>/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 $\gamma$ .

## 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 $\gamma$ -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 $\gamma$  ELISpot PLUS kit (Mabtech, Швеция) и инкубировали 24 ч при 37 °C в атмосфере 5 % CO $_2$ . После инкубации планшеты проявляли, а уровни IFN $\gamma$ -продуцирующих клеток количественно учитывали на приборе AID vSpot Spectrum (Advanced Imaging Devices, Германия).

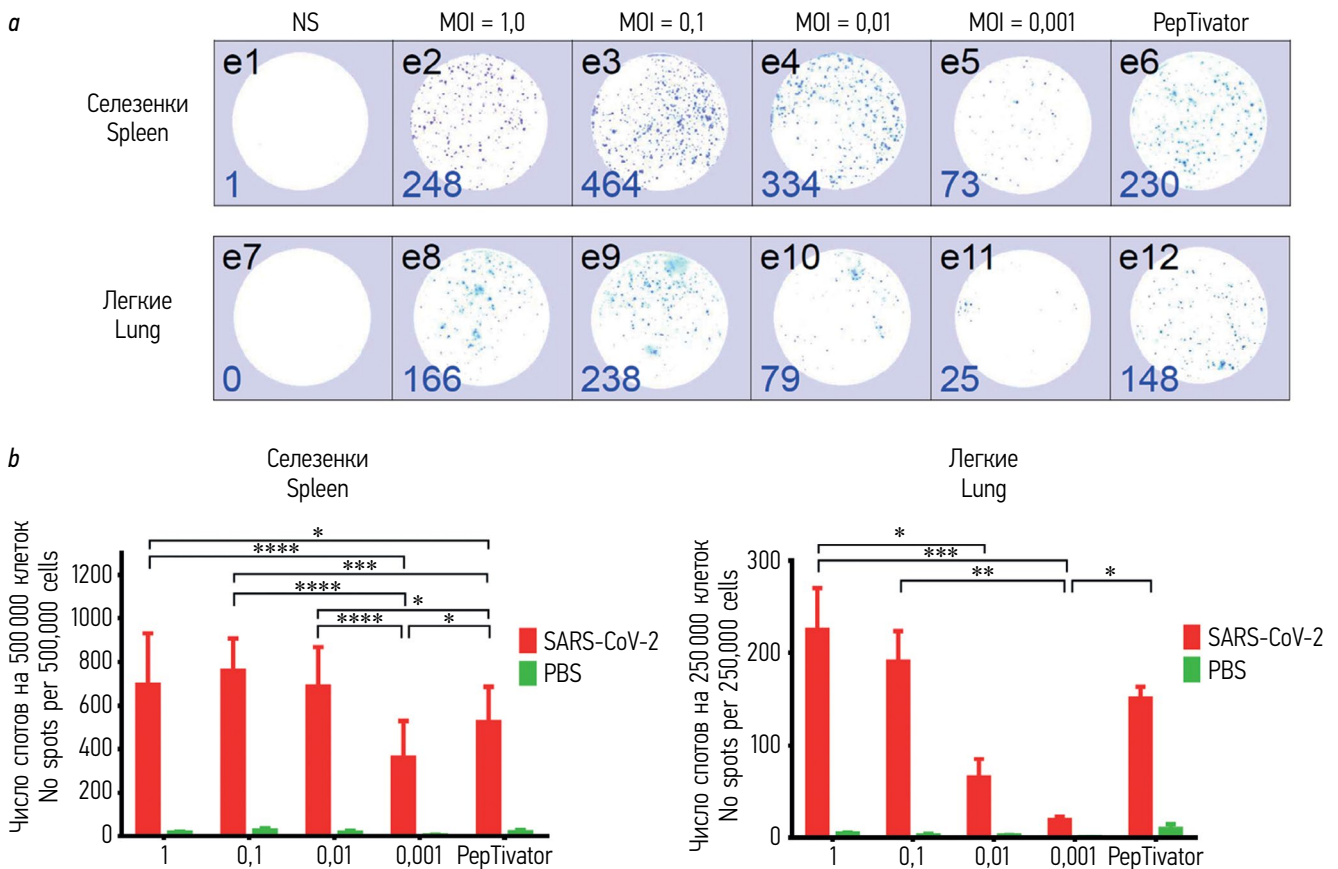
Работу с вирусом SARS-CoV-2 выполняли в лаборатории, соответствующей уровню биобезопасности BSL-3.

## 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 $\gamma$ -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 $\gamma$  (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 значимого 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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto:dasmez@iemspb.ru)