

Е.А.Курбатова¹, Э.А.Ахматова¹, Н.К.Ахматова¹, Н.Б.Егорова¹,
Н.Е.Ястребова¹, Е.В.Сухова², Ю.Е.Цветков², Д.В.Яшунский², Н.Э.Нифантьев²

СИНТЕТИЧЕСКИЕ КОНЬЮГИРОВАННЫЕ АНАЛОГИ КАПСУЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ПНЕВМОКОККА — ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

¹НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, ²Институт органической химии им. Н.Д.Зелинского, Москва

Цель. Оценка способности капсульных полисахаридов (КП) *Streptococcus pneumoniae* серотипов 3 и 14 и их синтетических структурных аналогов, конъюгированных с бычьим сывороточным альбумином (БСА), выявлять антитела в поствакцинальных сыворотках мышей. **Материалы и методы.** Синтезированы олигосахариды, соответствующие одному, полутора и двум повторяющимся звеньям КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14, а также скваратным методом получены их конъюгаты с БСА. Содержание лигандов на одну молекулу БСА контролировали с помощью MALDI-TOFF спектрометрии. Имунные сыворотки получали после двукратно внутривнутрибрюшинного введения мышам гликоконъюгатов, сорбированных на гидроксиде алюминия, или 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины. Определение уровня поствакцинальных антител класса G и его субизотипов проводили в ИФА. **Результаты.** Иммунизация мышей неогликоконъюгатами приводила к образованию преимущественно IgG1, распознающих КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14. Показано, что IgG1 у мышей, вакцинированных 13-валентной конъюгированной вакциной, распознавали КП *S. pneumoniae* серотипа 3, но слабо выявляли КП *S. pneumoniae* 14. Все конъюгированные синтетические олигосахариды характеризовались высокой способностью связывать антитела в сыворотке крови мышей, иммунизированных полисахаридной конъюгированной вакциной. Наиболее высокой способностью выявлять IgG1 к КП характеризовались БСА-тетрасахарид *S. pneumoniae* серотипа 3 и БСА-тетрасахарид *S. pneumoniae* серотипа 14. **Заключение.** Синтетические олигосахариды, конъюгированные с белком-носителем БСА, могут быть использованы для разработки диагностических тест-систем, предназначенных для определения уровня антител в поствакцинальных сыворотках привитых.

Журн. микробиол., 2016, № 6, С. 54—60

Ключевые слова: капсульный полисахарид, конъюгат, синтетический олигосахарид, антитело, пневмококк

Е.А.Курбатова¹, Е.А.Ахматова¹, Н.К.Ахматова¹, Н.Б.Егорова¹,
Н.Е.Ястребова¹, Е.В.Сухова², Ю.Е.Цветков², Д.В.Яшунский², Н.Э.Нифантьев²

SYNTHETIC CONJUGATED ANALOGUES OF CAPSULE POLYSACCHARIDES OF PNEUMOCOCCUS — AN INSTRUMENT FOR DETECTION OF POST-VACCINATION ANTIBODIES

¹Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, ²Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Moscow, Russia

Aim. Evaluation of the ability of capsule polysaccharides (CP) of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 and 14 and their synthetic structure analogues, conjugated with bovine serum albumin (BSA), to detect antibodies in post-vaccination sera of mice. **Materials and methods.** Oligosaccharides corresponding to one, one and a half and two repeating links of serotype 3 and 14 *S. pneumoniae* CP were synthesized, their conjugates with BSA were produced by squarate method as well. Ligand content per BSA molecule was controlled by MALDI-TOF spectrometry. Immune sera were obtained after 2 intraperitoneal administrations to mice of glucoconjugates adsorbed on aluminum hydroxide or 13-valent pneumococcal conjugated vaccine. Determination of levels of post-vaccination class G antibodies and their sub-isotypes was carried out in EIA. **Results.** Immunization of mice with neoglucoconjugates resulted in formation of predominantly IgG1 recognizing serotype 3 and 14 *S. pneumoniae* CP. IgG1 in mice immunized with a 13-valent conjugated vaccine recognized serotype 3 *S. pneumoniae* CP, but detected serotype 14 *S. pneumoniae* CP weakly. All the conjugated synthetic oligosaccharides were

characterized by a high ability to bind antibodies in blood of mice immunized with the polysaccharide conjugated vaccine. BSA-tetrasaccharide of serotype 3 *S. pneumoniae* and BSA-tetrasaccharide of serotype 14 *S. pneumoniae* were characterized by the highest ability to detect IgG1 against CP. *Conclusion.* Synthetic oligosaccharides, conjugated with BSA protein-carrier, may be used to develop diagnostic test-systems for determination of antibodies in post-vaccination sera.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2016, No. 6, P. 54—60

Key words: capsule polysaccharide, conjugate, synthetic oligosaccharide, antibody, pneumococcus

ВВЕДЕНИЕ

Широкое распространение высоковирулентных и антибиотикорезистентных штаммов пневмококка, легко передающихся воздушно-капельным путем от больных и носителей, определяет значительную роль и перспективность вакцинопрофилактики для предупреждения распространения инфекций, вызываемых *Streptococcus pneumoniae*, снижения их тяжести и смертности.

Эффективная специфическая профилактика пневмококковой инфекции является одним из значимых достижений современной вакцинологии. Несмотря на наличие и широкое использование противопневмококковых вакцин, сконструированных на основе капсульных полисахаридов (КП) *S. pneumoniae* (Pneumovax) и конъюгированных с белком-носителем (Prevenar-7, 10 и 13, Synflorix), показатели заболеваемости и летальности остаются стабильно высокими (до 12%), особенно при инвазивной пневмококковой инфекции [11]. При этом следует помнить, что массовое применение рекомендуемых в настоящее время вакцин требует постоянного мониторинга за возможной сменой этиологически значимых серотипов *S. pneumoniae* и увеличением роли серотипов, не входящих в состав вакцины. В настоящее время существуют коммерческие диагностические ИФА наборы для определения поствакцинальных титров антител к КП *S. pneumoniae* (Anti-S. Pneumococcal vaccine Prevenar-7/PCV-7, Synflorix/PCV-10, Pneumovax (Alpha Diagnostic Int. Inc., USA). Тем не менее, для проведения мониторинга пневмококковой инфекции и оценки сероконверсии после вакцинации необходимо наличие легко воспроизводимых, стандартных и доступных тестов. Это определяет перспективу использования химически чистых препаратов, предпочтительно синтетических, содержащих протективные эпитопы КП пневмококка.

В предыдущих исследованиях были представлены данные, характеризующие высокую серотиповую специфичность конъюгированного дисахарида — повторяющегося звена КП *S. pneumoniae* серотипа 3, а также его способность ингибировать связывание антител в антимицробной сыворотке [4]. Наряду с этим установлено, что при иммунизации мышей конъюгированным гексасахаридом, соответствующим фрагменту цепи КП *S. pneumoniae* серотипа 14, происходило образование антител, взаимодействующих с КП этого серотипа [3]. Конъюгированные олигосахариды защищали мышей от заражения соответствующим серотипом пневмококка [5].

Цель работы — оценка способности капсульных полисахаридов *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14 и их синтетических структурных аналогов, конъюгированных с бычьим сывороточным альбумином, выявлять антитела в поствакцинальных сыворотках мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Олигосахариды, соответствующие одному, полутора и двум повторяющимся звеньям КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14, синтезированы в лаборатории химии гликоконъюгатов ИОХ РАН им. Н.Д.Зелинского в соответствии с ранее описанным методом [7]. В результате синтеза получены ди- (1а), три- (2а) и тетрасахарид (3а), аналогичные фрагментам КП *S. pneumoniae* серотипа 3, и тетра- (4а), гекса- (5а) и октасахарид (6а), соответствующие фрагментам КП *S. pneumoniae* сероти-

па 14. Для индукции Т-зависимого иммунного ответа все синтезированные олигосахариды конъюгировали с БСА скваратным методом и получали соответствующие гликоконъюгаты (1b-6b) [9]. Содержание лигандов на одну молекулу БСА контролировали с помощью MALDI-TOFF спектрометрии.

Определение титра поствакцинальных IgG, включая IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 субизотипы, к гликоконъюгатам 1b-6b и к конъюгированной пневмококковой вакцине Превенар-13 в сыворотках крови мышей проводили в ИФА в соответствии с методом [6]. В частности, на дне лунок полистироловых планшет (Biomedicals, Россия) абсорбировали бактериальные КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14 или гликоконъюгаты 1b-6b. КП сорбировали на твердой фазе в концентрации 1 мкг/лунка, гликоконъюгаты — 0,4 мкг/лунка. Оптическую плотность (ОП) сыворотки определяли на ИФА-ридере (iMark, Япония) при длине волны 450 нм. ОП₄₅₀ < 0,2 считали точкой отсечения отрицательных результатов.

Бактериальные КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14 получали из среды культивирования пневмококка [1]. Присутствие КП в препарате подтверждено методом ЯМР-спектроскопии.

Иммунные сыворотки получали путем двукратного, с двухнедельным интервалом, внутривнутрибрюшинного введения мышам линии BALB/c гликоконъюгатов (1b-6b), сорбированных на гидроксиде алюминия (Sigma, США). Взятие крови проводили на 14 сутки после второй иммунизации мышей гликоконъюгатами 1b-3b в разовой дозе 20 мкг по углеводу и 4b-6b — 10 мкг в расчете на углевод.

Сыворотки к бактериальным КП получали при использовании той же схемы иммунизации конъюгированной пневмококковой вакциной Превенар-13 (Pfizer, США), содержащей КП тринадцати серотипов *S. pneumoniae* (в том числе КП серотипов 3 и 14), конъюгированных с рекомбинантным дифтерийным анатоксином CRM-197 и сорбированных на фосфате алюминия. Разовая иммунизирующая доза Превенара-13 в расчете на КП *S. pneumoniae* для каждого серотипа составляла 1,1 — 2,2 мкг на мышь, что соответствовало 1 — 1/2 дозы, рекомендуемой для человека.

Использовали метод Манна-Уитни для независимых выборок. Статистически достоверными считали различия при $P \leq 0,05$. Программное обеспечение — STATISTICA 8.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследования проведено изучение способности бактериальных КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14 выявлять IgG в сыворотках крови мышей, иммунизированных синтетическими конъюгированными олигосахаридами, соответствующими фрагментам КП двух серотипов пневмококка (рис. 1 — 3). Для этого были получены иммунные сыворотки к гликоконъюгатам (1b-6b), абсорбированным на гидроксиде алюминия. В процессе получения иммунных сывороток определяли оптимальную иммунизирующую дозу и кратность иммунизации мышей. Для этого использовали конъюгированный — дисахарид 1b — повторяющееся звено КП *S. pneumoniae* серотипа 3 в разовых дозах 5; 10 и 20 мкг по углеводу и гексасахарид 5b — полуторное звено КП *S. pneumoniae* серотипа 14 в разовых дозах 2,5; 5 и 10 мкг. Титр антител в сыворотках мышей, иммунизированных гликоконъюгатами, оценивали в ИФА, используя бактериальные КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14 соответственно для покрытия дна лунок планшет.

Однократная иммунизация мышей гликоконъюгатами не вызывала образования антител к КП серотипов 3 и 14 даже при использовании наибольшей из иммунизирующих доз — 10 и 20 мкг соответственно (рис. 1). После повторной иммунизации через 14 суток выявлено дозозависимое повышение титров IgG к КП обоих серотипов пневмококка. Наиболее высокий уровень антител к конъюгированному дисахариду *S. pneumoniae* серотипа 3 (1: 1200) и к конъюгированному гексасахариду *S. pneumoniae* серотипа 14 (титр 1:2400) получен при иммунизации наибольшими из испытанных доз — 20 и 10 мкг по углеводу соот-

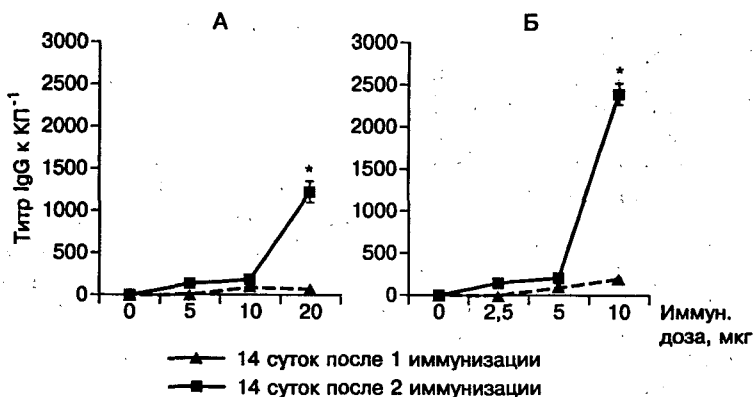


Рис. 1. Титр IgG к конъюгатам 1b и 5b в сыворотках крови мышей в зависимости от иммунизирующей дозы и кратности иммунизации.

В качестве покрывающего дно лунок антигена в ИФА использовали бактериальный КП *S. pneumoniae* серотипов 3 (А) и 14 (Б). Мыши BALB/c, самцы. Иммунизация 2-кратно внутрибрюшинно с интервалом 14 суток, кровь брали на 14 сутки после 1 и 2 иммунизации. Иммунизирующая доза — в расчете на углевод. Достоверность различий между однократной и двукратной иммунизацией * $P < 0,05$.

ответственно. Эти иммунизирующие дозы использовали в дальнейших исследованиях для получения иммунных сывороток к гликоконъюгатам (1b-6b).

Субизотиповой состав IgG оценивали в сыворотках мышей, иммунизированных неогликоконъюгатами 1b и 5b и бактериальным КП *S. pneumoniae* серотипа 3, конъюгированным с CRM, входящим в состав 13-валентной пневмококковой вакцины (рис. 2).

На 14 сутки после двукратной иммунизации мышей конъюгатами 1b и 5b (доза по углеводу 20 и 10 мкг соответственно), сорбированными на гидроксиде алюминия, в сыворотке крови преобладали IgG1 в титрах 1:3200 и 1:6400 соответственно,

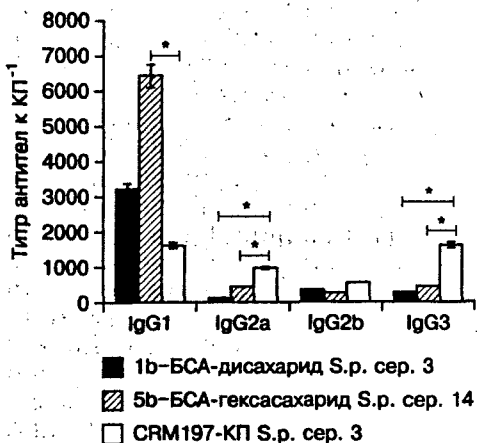


Рис. 2. Субизотипы IgG в сыворотке крови мышей, иммунизированных гликоконъюгатами 1b, 5b и капсульным полисахаридом *S. pneumoniae* серотипа 3, конъюгированным с CRM197.

Сыворотки получены после 2-кратной внутрибрюшинной иммунизации мышей. Достоверность различий в сопряженных группах * $P < 0,05$.

другие субизотипы определяли в титре 1:100 — 1:400. Иммунизация бактериальным КП-CRM197 *S. pneumoniae* серотипа 3 приводила к образованию более широкого спектра субизотипов (IgG1, IgG2a и IgG3). При этом уровень IgG1 в ответ на введение КП-CRM197 хотя и был высоким (1:1600), но оказался существенно ниже, чем при иммунизации конъюгатом 5b (1:6400), а титр IgG2a и IgG3 превышал значения, полученные при иммунизации конъюгатами 1b и 5b ($P < 0,05$). Образование высокого уровня IgG1 при иммунизации всеми исследованными препаратами явилось основанием для определения в дальнейшем исследованиях только этого субизотипа.

При использовании выбранной схемы иммунизации и оптимальных доз неогликоконъюгатов получены мышинные сыворотки к конъюгированным олигосахаридам с различной длиной цепи, относящиеся к КП *S. pneumoniae* серотипа 3 (дисахарид-BCA 1b, три-

сахарид-БСА 2b, тетрасахарид-БСА 3b) и *S. pneumoniae* серотипа 14 (тетрасахарид-БСА 4b, гексахарид-БСА 5b, октасахарид-БСА 6b), соответствующие одному, полтора и двум повторяющимся звеньям КП соответственно.

Сыворотки к неогликоконъюгатам 1b-6b исследовали в ИФА на содержание IgG1 при иммобилизации на твердой фазе КП соответствующего серотипа пневмококка (рис. 3).

КП *S. pneumoniae* серотипа 3, сорбированный на твердой фазе, в наиболее высоком титре выявлял IgG1 в сыворотках, полученных к конъюгированному тетрасахариду 3b, что существенно отличалось от содержания антител в сыворотках крови мышей, иммунизированных конъюгированным дисахаридом 1b ($P < 0,05$). При использовании в качестве покрывающего лунки антигена КП *S. pneumoniae* серотипа 14 самый высокий титр антител определяли в сыворотках крови мышей, иммунизированных конъюгированным октасахаридом 6b, который существенно превышал титр антител в сыворотках мышей, иммунизированных другими гликоконъюгатами 1b-4b независимо от их серотипа ($P < 0,05$). Можно предположить, что длина цепи синтетических олигосахаридов в значительной степени определяет их иммуногенность.

Основной задачей настоящего исследования являлась оценка способности неогликоконъюгатов выявлять антитела к КП в ИФА после иммунизации бактериальными КП, входящими в состав коммерческих пневмококковых вакцин. Для этого на дне лунок полистироловых планшет сорбировали гликоконъюгаты (1b-6b), а в качестве референс-препарата использовали КП соответствующего серотипа пневмококка. Титр антител определяли в сыворотках мышей, иммунизированных коммерческой 13-валентной пневмококковой вакциной (рис. 4).

Неогликоконъюгаты обладали высокой способностью выявлять IgG1 к КП в сыворотке крови мышей, иммунизированных 13-валентной пневмококковой вакциной. Самый высокий титр антител в отношении *S. pneumoniae* серотипа 3 получен при использовании в качестве покрывающих лунки антигенов конъюгата 3b с тетрасахаридом (1:12800). В отношении *S. pneumoniae* серотипа 14 титры антител были ниже, хотя наиболее высокий уровень IgG1 выявлял гликоконъюгат 4b с тетрасахаридом (1:3200). Важно отметить, что КП в этом случае выявлял антитела к пневмококковой вакцине в низком титре (1:200). Таким образом, наиболее высокой способностью

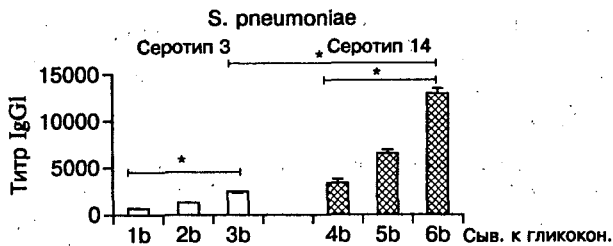


Рис. 3. IgG1, выявленные к капсульному полисахариду в сыворотках крови мышей, иммунизированных гликоконъюгатами (1b-6b).

Достоверность различий в сопряженных группах * $P < 0,05$.

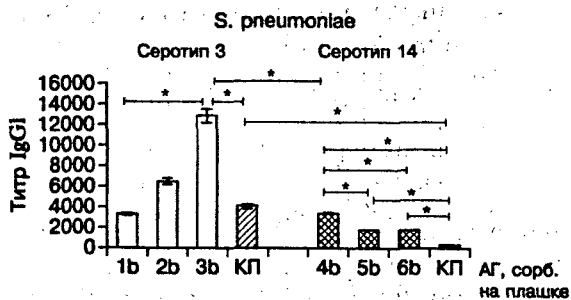


Рис. 4. IgG1 в сыворотках крови мышей, иммунизированных конъюгированной 13-валентной пневмококковой вакциной, выявленные с помощью неогликоконъюгатов и капсульных полисахаридов в ИФА.

В качестве покрывающих лунки антигенов в ИФА использованы неогликоконъюгаты 1b-3b *S. pneumoniae* серотипа 3 и 4b-6b *S. pneumoniae* серотипа 14, в качестве референс-препаратов — капсульные полисахариды соответствующих серотипов пневмококка. Сыворотка к 13-валентной пневмококковой вакцине получена на 14 сутки после 2-кратной внутрибрюшинной иммунизации мышей дозой 1,1 — 2,2 мкг/мышь КП каждого серотипа. Достоверность различий в сопряженных группах * $P < 0,05$.

выявлять IgG1 к КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14 обладали конъюгаты 3b и 4b, соответствующие тетрасахаридному фрагменту КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследована способность КП и конъюгатов БСА с синтетическими олигосахаридами, соответствующих различным фрагментам КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14, связывать антитела соответствующей специфичности в поствакцинальных сыворотках мышей. Для получения иммунных сывороток мышам вводили гликоконъюгаты, сорбированные на гидроксиде алюминия, что приводило к образованию преимущественно антител субизотипа G1, тогда как введение конъюгированной 13-валентной пневмококковой вакцины, сорбированной на фосфате алюминия, наряду с образованием IgG1 стимулировало выработку IgG2a и IgG3. Известно, что иммунный ответ на антигены, сорбированные на солях алюминия, реализуется главным образом по Th2 пути с выработкой соответствующих цитокинов и доминирующим образованием IgG1 [13].

КП *S. pneumoniae* серотипов 3 и 14, иммобилизованные на твердой фазе в ИФА, обладали способностью связывать антитела к КП. Независимо от серотипа пневмококка, увеличение длины олигосахарида в конъюгате с БСА, использованном для иммунизации мышей, приводило к увеличению уровня IgG1, обнаруживаемых в сыворотках с использованием КП, абсорбированного на дне лунок в ИФА. Ранее было показано, что с увеличением длины цепи олигосахаридов, соответствующих фрагментам КП *S. pneumoniae* серотипа 14, иммуногенность гликоконъюгатов возрастает [2, 12].

В настоящем исследовании впервые продемонстрирована способность неогликоконъюгатов выявлять в ИФА антитела в сыворотках мышей, иммунизированных пневмококковой вакциной Превенар-13, которую в настоящее время широко используют для профилактики пневмококковой инфекции. После вакцинации мышей 13-валентной конъюгированной вакциной происходило образование антител к КП, которые мы определяли в отношении серотипов 3 и 14, входящих в ее состав. Способность исследованных неогликоконъюгатов, иммобилизованных на твердой фазе, связывать IgG1 в зависимости от исследованного серотипа пневмококка, различалась. С увеличением длины цепи конъюгированных синтетических олигосахаридов *S. pneumoniae* серотипа 3, сорбированных на планшетах, антигенраспознающая способность антител к КП увеличивалась и была наибольшей при сорбции на планшете конъюгированного тетрасахарида 3b. Напротив, при использовании неогликоконъюгатов, соответствующих *S. pneumoniae* серотипа 14, наибольший уровень антител к КП определяли при иммобилизации на планшете конъюгированного тетрасахарида 4b, который снижался при иммобилизации на твердой фазе конъюгированного октасахарида 6b, содержащего в своем составе два тетрасахаридных повторяющихся звена. Эти различия подтвердились и при использовании в качестве покрывающих лунки антигенов высокомолекулярных КП. Если КП *S. pneumoniae* серотипа 3 выявлял IgG1 в сыворотке крови мышей, иммунизированных полисахаридной конъюгированной вакциной, примерно также, как БСА-трисахарид, но меньше, чем БСА-тетрасахарид, то КП *S. pneumoniae* 14 выявлял IgG1 в этой же сыворотке лишь в титре 1:200. Использование КП *S. pneumoniae* серотипа 14 в ИФА как покрывающего лунки антигена может дать ложноотрицательный результат при определении антител G1 субизотипа в сыворотках людей, вакцинированных пневмококковыми вакцинами. Возможно, такими свойствами обладают КП и ряда других серотипов пневмококка.

Такие результаты, демонстрирующие меньшую способность КП *S. pneumoniae* серотипа 14 выявлять IgG1 к КП в поствакцинальных сыворотках мышей, могут быть связаны с методом его получения и очистки, а также с особенностями физико-химической структуры КП. Известно, что капсульные полисахариды *S. pneumoniae* являются нецвиттерионовыми, то есть они имеют только положительно заряженные группы, за исключением КП *S. pneumoniae* серотипа 1, име-

ющего отрицательно заряженные группы. Капсульный полисахарид *S. pneumoniae* серотипа 14 отличается от других серотипов, так как хотя и относится к нецвиттерионовым полисахаридам, но имеет нейтральный заряд [8].

Использование конъюгированных олигосахаридов в качестве покрывающих лунки антигенов дает возможность определить титр антител в тех случаях, когда использование бактериальных КП в ИФА дает сомнительный результат. Синтетические олигосахариды, конъюгированные с белком-носителем БСА, могут быть успешно использованы для разработки диагностических тест-систем для определения уровня антител в поствакцинальных сыворотках привитых, а также применяться в качестве покрывающих антигенов альтернативно природным и синтетическим КП [10], биотинилированным гликоконъюгатам [Курбатова Е.А. и др., 2016] и другим биомолекулярным системам [Ananikov V.P. et al., 2016].

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант 14-50-00126).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванеева Н.П., Ястребова Н.Е. Специфический иммунный ответ к отдельным капсульным полисахаридам *Streptococcus pneumoniae* у здоровых доноров крови и лиц, иммунизированных пневмококковыми вакцинами. Журн. микробиол. 2015, 5: 20-26.
2. Генинг М.Л., Курбатова Е.А., Цветков Ю.Е., Нифантьев Н.Э. Разработка подходов к созданию углеводной конъюгированной вакцины третьего поколения против *Streptococcus pneumoniae*: поиск оптимальных олигосахаридных лигандов. Успехи химии. 2015, 8: 1100-1113.
3. Курбатова Е.А., Воробьев Д.С., Егорова Н.Б. и др. Иммуногенная активность конъюгата синтетического гексасахарида — родственного фрагменту цепи капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 14. Журн. микробиол. 2013, 6: 56-63.
4. Курбатова Е.А., Ахматова Н.К., Егорова Н.Б. и др. Эпитопная специфичность синтетического дисахарида, повторяющегося звена капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3. Журн. микробиол. 2015, 3: 46-53.
5. Курбатова Е.А., Воробьев Д.С., Ахматов Э.А. и др. Протективная активность гликоконъюгата на основе синтетического гексасахарида — родственного фрагменту цепи капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 14. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014, 157 (5): 630-633.
6. Курбатова Е.А., Воробьев Д.С., Семенова И.Б. и др. Разработка подходов к созданию экспериментальной тест-системы для оценки антигенной активности синтетических олигосахаридных лигандов, родственных фрагментам цепи капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* типа 14. Биохимия. 2013, 7: 1046-1052.
7. Сухова Е.В., Яшунский Д.В., Цветков Ю.Е. и др. Синтез олигосахаридных фрагментов капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* тип 14 и их неогликоконъюгатов с бычьим сывороточным альбумином. Известия АН. Серия химическая. 2014, 2: 511-521.
8. Avcı F.Y., Li X., Tsuji M., Kasper D.L. Carbohydrates and T cells: A sweet twosome. Semin Immunol. 2013, 25 (2): 146-151.
9. Karelin A.A., Tsvetkov Y.E., Paulovicova L. et al. Synthesis of a heptasaccharide fragment of the mannan from *Candida guilliermondii* cell wall and its conjugate with BSA. Carbohydr. Res. 2009, 344: 29-35.
10. Kochetkov N.K., Nifant'ev N.E., Backinowsky L.V. Synthesis of the capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 14. Tetrahedron. 1987, 43: 3109-3121.
11. Ludwig E., Bonnani P., Rohde G., Sayiner A. et al. The remaining challenges of pneumococcal disease in adults. Eur. Respir. Rev. 2012, 21: 177-187.
12. Safari D., Dekker H.A.T., Joosten A.F. Identification of the smallest structure capable of evoking opsonophagocytic antibodies against *S. pneumoniae* type 14. Infect. Immun. 2008, 76: 4615-4623.
13. Valiante N.M., O'Hagan D.T., Ulmer J.B. Innate immunity and biodefence vaccines. Cellular Microbiology. 2003, 5 (11): 755-760.

Поступила 10.05.16

Контактная информация: Курбатова Екатерина Алексеевна, д.м.н., 105064, Москва, М. Казенный пер., 5А, р.т. (495)917-57-74