



Биоконъюгация как перспективный метод создания вакцин

Цыганова М.И.^{1✉}, Новиков Д.В.¹, Новиков В.В.¹, Караулов А.В.²

¹Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия;

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация

Введение. Биоконъюгация, или технология рекомбинантного бактериального гликозилирования (protein glycan coupling technology, PGCT), — это метод создания углеводно-белковых композитов, основанный на способности некоторых бактерий осуществлять гликозилирование по типу эукариот и позволяющий получать гликопротеины непосредственно в клетках бактерий-продуцентов, чаще всего *Escherichia coli*, минуя стадию химической конъюгации. Это значительно упрощает создание и производство конъюгированных вакцин, состоящих из полисахаридных антигенов, объединённых с белковым носителем, выполняющим функции Т-клеточного антигена и адъюванта.

Цель обзора: проанализировать и обобщить актуальные данные как о самом методе биоконъюгации, так и о биохимических процессах, лежащих в его основе, а также о разрабатываемых с его использованием вакцинах.

При подготовке обзора были рассмотрены работы, представленные в базах PubMed, Scopus, Google Scholar, eLIBRARY.RU по состоянию на февраль 2025 г. Для поиска использовали следующие ключевые слова: bios conjugation, vaccines, PGCT, биоконъюгация, конъюгированные вакцины, бактериальное гликозилирование.

Проведён анализ источников литературы, посвящённых изучению бактериального N-гликозилирования, на базе которого была создана технология биоконъюгации, а также сходных с ним процессов, протекающих в отдельных видах бактерий. Проанализированы сообщения о разработке новых и усовершенствовании уже имеющихся вакцин против наиболее актуальных патогенов. В настоящий момент вакцинация представляется наиболее эффективным способом борьбы с инфекционными заболеваниями, включая также противодействие распространению антибиотикорезистентных микроорганизмов. Разнообразие патогенов, с которыми сталкивается человечество, вынуждает искать множественные подходы для создания эффективных и безопасных вакцин. Упрощение и снижение себестоимости производства новых препаратов даёт возможность более уверенно противостоять угрозе новых эпидемий. Биоконъюгация помогает создавать новые вакцины и совершенствовать уже имеющиеся, хотя и обладает определёнными ограничениями.

Закключение. Современное производство вакцин характеризуется разнообразием подходов, объединённых одной целью — эффективно противостоять угрозам новых эпидемий. Биоконъюгация — один из новых, но довольно многообещающих методов, с помощью которого уже разрабатывается несколько вакцин-кандидатов. Анализ текущего состояния этих проектов может быть полезен при выборе подхода для создания последующих профилактических иммунопрепаратов.

Ключевые слова: обзор, вакцины, бактериальное гликозилирование, биоконъюгация, рекомбинантные белки

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Для цитирования: Цыганова М.И., Новиков Д.В., Новиков В.В., Караулов А.В. Биоконъюгация как перспективный метод создания вакцин. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2025;102(4):495–506. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-696>
EDN: <https://www.elibrary.ru/UYTNON>

Review
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-696>

Bioconjugation as a promising method for vaccine development

Maria I. Tsyganova^{1✉}, Dmitry V. Novikov¹, Viktor V. Novikov¹, Alexander V. Karaulov²

¹Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Bioconjugation, or protein glycan coupling technology, PGCT, is a method for creating carbohydrate-protein composites based on the ability of certain bacteria to perform eukaryotic-type glycosylation. This method allows for the production of glycoproteins directly in the cells of producer bacteria, most often *Escherichia coli*, bypassing the stage of chemical conjugation. This significantly simplifies the creation and production of conjugated vaccines, consisting of polysaccharide antigens combined with a protein carrier that performs the functions of a T-cell antigen and an adjuvant.

The aim of the review is to analyze and summarize current data on both the bioconjugation method itself and the underlying biochemical processes, as well as on the vaccines being developed using this method.

The preparation of the review involved studies presented in the PubMed, Scopus, Google Scholar, eLIBRARY.RU databases as of February 2025. The following keywords were used for the search: bioconjugation, vaccines, PGCT, conjugated vaccines, bacterial glycosylation.

An analysis of literature sources dedicated to the study of bacterial N-glycosylation, on the basis of which the bioconjugation technology was developed, as well as similar processes occurring in certain bacterial species, was conducted. Reports on the development of new vaccines and the improvement of existing vaccines against the most relevant pathogens have been analyzed. At present, vaccination appears to be the most effective way to combat infectious diseases, including efforts to counter the spread of antibiotic-resistant microorganisms. The diversity of pathogens encountered by the human population compels the search for multiple approaches of creating effective and safe vaccines. Simplifying and reducing the cost of producing new drugs allows for a more confident response to the threat of new epidemics. Bioconjugation helps create new vaccines and improve existing vaccines, although there are certain limitations.

Conclusion. Modern vaccine production is characterized by a variety of approaches united by a single goal — to effectively counter the threats of new epidemics. Bioconjugation is one of the new, yet quite promising methods through which several vaccine candidates are already being developed. The analysis of the current state of these projects may be useful in choosing an approach for developing subsequent preventive immunological drugs.

Keywords: review, vaccines, bacterial glycosylation, bioconjugation, recombinant proteins

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Tsyganova M.I., Novikov D.V., Novikov V.V., Karaulov A.V. Bioconjugation as a promising method for vaccine development. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2025;102(4):495–506.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-696>

EDN: <https://www.elibrary.ru/UYTHOH>

Введение

В ноябре 2024 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) уточнила список приоритетных эндемичных патогенов, в вакцинах против которых существует наибольшая необходимость [1], отметив при этом, что вакцинация позволяет не только сократить заболеваемость, но и уменьшить употребление антибиотиков, тем самым снижая смертность, вызванную антибиотикорезистентными штаммами. Согласно расчётам ВОЗ, вакцинация против 23 патогенов может снизить потребность в антибиотиках на 22% [2]. Более того, масштабное применение уже существующих вакцин про-

тив пневмококка, гемофильной палочки типа b и брюшного тифа потенциально позволит каждый год предотвращать до 106 тыс. смертей, обусловленных распространением устойчивости к противомикробным препаратам. Разработка и глобальное внедрение новых вакцин против *Mycobacterium tuberculosis* и *Klebsiella pneumoniae* в перспективе позволят ежегодно предотвращать более 500 тыс. случаев смертей, вызванных устойчивостью к противомикробным препаратам. Для изготовления наиболее эффективных вакцин в настоящий момент используются самые разные подходы. Одним из них является биоконъюгация, или технология рекомби-

нантного бактериального гликозилирования (protein glycan coupling technology, PGCT).

Цель данного обзора — анализ и обобщение актуальных данных как о самом методе биоконъюгации, так и о биохимических процессах, лежащих в его основе, а также о разрабатываемых с его использованием вакцинах.

При подготовке обзора был проведён анализ как англо-, так и русскоязычной литературы, представленной в научных базах PubMed, Scopus, Google Scholar, eLIBRARY.RU по состоянию на февраль 2025 г. Для поиска использовали следующие ключевые слова: bioconjugation, vaccines, PGCT, биоконъюгация, конъюгированные вакцины, бактериальное гликозилирование. На первом этапе при запросе «bioconjugation» за 1968–2025 гг. было обнаружено более 6000 источников, число которых путём комбинирования запросов было уменьшено до 250. Из них сначала были отобраны работы 2010–2025 гг., что сократило количество до 178, вслед за чем был добавлен ряд релевантных статей без временных ограничений для максимально полного освещения исследуемой проблемы. В связи с ограничением по объёму статьи отобрано 59 наиболее релевантных источника. Также из подборки были исключены работы, для которых невозможно было получить полный текст статьи, источники не на английском языке, а также те русскоязычные статьи, в которых затронутая проблема упоминалась, но не освещалась подробно, ограничиваясь ссылками на уже использованные в обзоре иностранные источники.

Ключевые особенности биоконъюгации

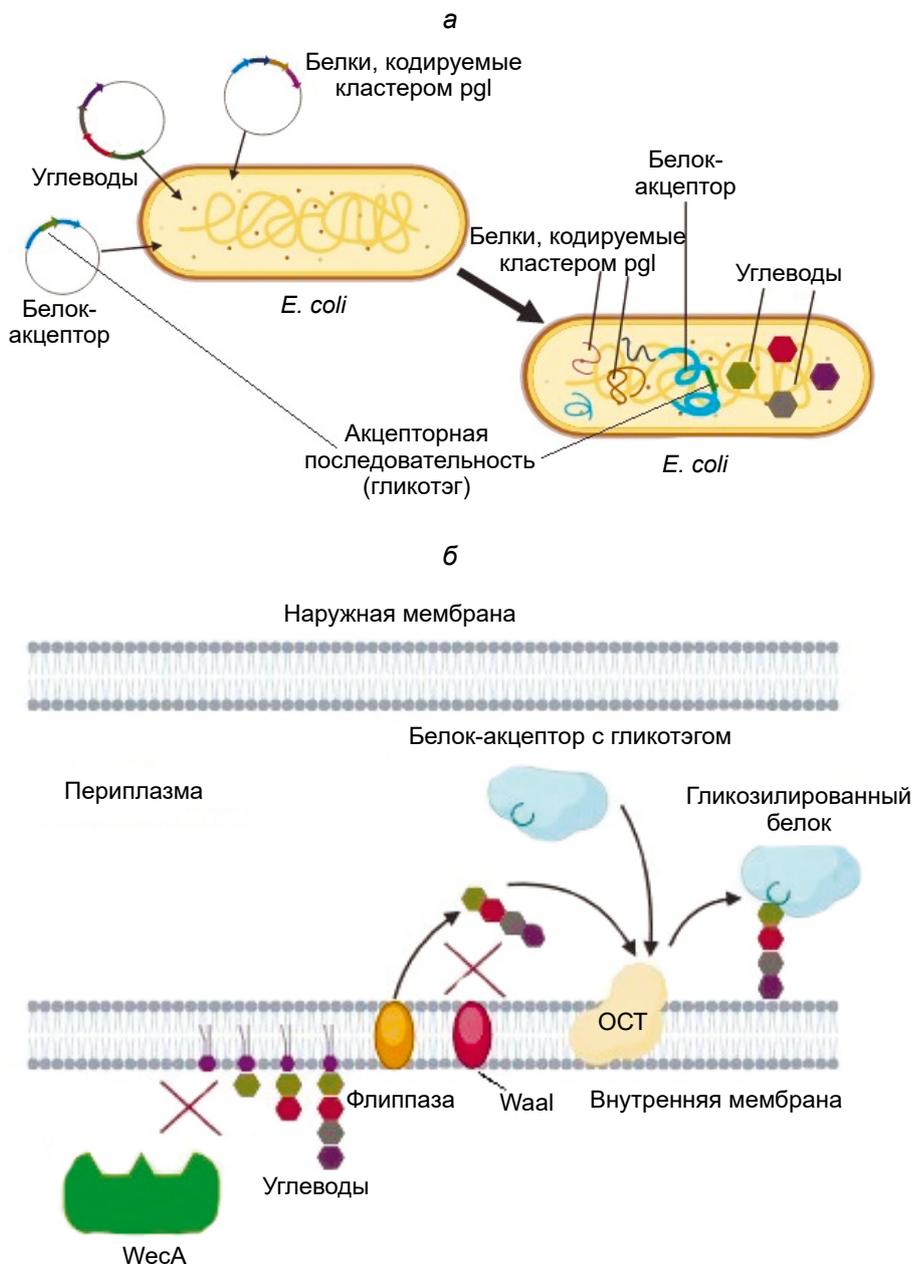
PGCT была создана на основе описанной в 1999 г. [3] способности микроорганизма *Campylobacter jejuni* осуществлять N-гликозилирование белков с помощью олигосахарилтрансферазы (ОСТ) PglB, экспрессируемой наряду с другими ферментами кластером, получившим название pgl (protein glycosylation). PglB является мембранным ферментом с активным центром, обращённым в периплазматическое пространство. Он способен присоединять олигосахарид, состоящий в основном из мономеров N-ацетилгалактозамина (GalNac), к остатку аспарагина, расположенному в центре так называемой акцепторной последовательности [4]. Акцепторная последовательность PglB следующая: Asp/Glu — Y — Asn — X — Ser/Tre, где X и Y — любые аминокислоты, кроме пролина [5]. Присоединение олигосахарида идёт через амидную группу аспарагина и относится к N-гликозилированию. Кластер pgl успешно клонирован в *Escherichia coli* и продемонстрировал способность экспрессировать весь набор необходимых для гликозилирования ферментов, а также — при наличии белков с необходимой акцепторной последовательностью — осуществлять собственно гликозилирование [6]. Таким

образом, появилась возможность получать гликозилированные белки непосредственно в *E. coli*. Этот процесс получил название биоконъюгации, или технологии PGCT (**рисунок**).

Исторически в производстве вакцин на базе полисахаридных антигенов используются углеводы, химическим способом ковалентно присоединенные к белку-носителю, выполняющему функции T-клеточного антигена и частично адьюванта. Открытие бактериального N-гликозилирования и возможности его функционального переноса в *E. coli* позволило начать разработку препаратов, в которых и получение антигенов, и их конъюгация происходит непосредственно в организме-производителе, что упрощает и удешевляет процесс.

Первые попытки создать вакцину с помощью технологий PGCT появились в 2010 г. [7]. J. Ihssen и соавт. опубликовали сообщение об успешном получении в *E. coli* конъюгатов, состоящих из O-антигена *Shigella dysenteriae* серотип 1 и белков AcrA *C. jejuni* и экзотоксина A *Pseudomonas aeruginosa* (EPA) соответственно. После этого сообщения о разработке новых вакцин против самых разных патогенов на базе PGCT стали поступать регулярно. Однако сразу возникли трудности, связанные прежде всего с тем, что PglB способен переносить только олигосахариды с редуцирующим концевым остатком, катализируя образование связи по ацетамидной группе во 2-м положении, что резко ограничивает количество углеводных антигенов, которые можно использовать. Чтобы преодолеть эти ограничения, исследователи стали применять O-гликозилирующие бактериальные ОСТ, которые были обнаружены в таких видах как *P. aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Francisella tularensis*, *Acinetobacter baylyi*.

В случае *P. aeruginosa* функции ОСТ выполняет фермент PilO, который переносит гликаны на белок PilA (пилин IV типа) [8]. *N. meningitidis* экспрессирует белок PglL, кодируемый геном *pglL*, также гликозилирующий пилины [9]. *F. tularensis* содержит фермент PglA, осуществляющий присоединение пентасахаридов к белку PilA [10]. Фермент PglS из *A. baylyi* — O-гликозилтрансфераза, переносящая углеводные остатки на пилиноподобный белок ComP [11]. Все перечисленные белки при клонировании в *E. coli* продемонстрировали способность гликозилировать свои нативные субстраты [12]. При этом PilO переносил только короткие олигосахариды, тогда как PglL осуществлял гликозилирование длинными олигосахаридами, а кроме того, взаимодействовал с такими гликанами, которые для PglB недоступны, например, с O4 O-антигеном *Salmonella typhimurium*. Относительно PglS было выяснено, что он способен переносить олигосахариды с глюкозой в качестве редуцирующего концевого сахара, что выгодно выделяет его среди других бактериальных ОСТ [13]. Используя



Общая схема PGCT в клетках *E. coli* ([18], с изменениями).

а — этап трансформации бактерий плазидами, содержащими нуклеотидные последовательности, кодирующие, соответственно, белок-носитель с акцепторной последовательностью, специфичной для используемой OCT, набор углеводов, необходимых для его гликозилирования, а также кластер, содержащий необходимые для гликозилирования ферменты; б — процесс собственно гликозилирования, протекающий на внутренней мембране модифицированных для более эффективного синтеза биоконъюгатов клеток *E. coli*.

WaaL — O-антиген лигаза *E. coli*, конкурирующая с рекомбинантной OCT за олигосахара; WecA — фермент, катализирующий биосинтез нативных гликанов бактерии-производителя; флиппаза — фермент, переносящий углеводную последовательность в периплазматическое пространство.

эти ферменты, исследователи смогли разработать и получить биоконъюгаты, способные вызывать иммунные реакции как у лабораторных животных, так и у людей. В настоящий момент в разной степени готовности находятся потенциальные биоконъюгатные вакцины против шигелл, патогенной *E. coli*, клебсиелл, пневмококка, бруцелл, золотистого стафилококка и других патогенов, составляющих наибольшую угрозу здравоохранению [2].

Биоконъюгированные вакцины против *Shigella*

Шигеллёз, или бактериальная дизентерия, вызывается микробами рода *Shigella*. Это грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, которые проникают в желудочно-кишечный тракт, инфицируют слизистую оболочку толстой кишки и вызывают воспаление. Шигеллёз является одной из основных причин смертей от диареи во всём ми-

ре. Больше всего страдают дети в возрасте до 5 лет в странах с низким и средним уровнем дохода [14]. В настоящий момент известно четыре вида шигелл: *S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. dysenteriae* и *S. boydii*. Наибольшую угрозу представляет вид *S. flexneri*. Известны 15 серотипов *S. flexneri*, наиболее распространённым из которых является *S. flexneri* 2a, за которым следуют *S. flexneri* 3a и *S. flexneri* 6. *S. sonnei* — доминирующий вид шигелл в промышленно развитых странах, для него известен один серотип. Несмотря на большое количество разработок, вышедших на стадию клинических испытаний [15] (таблица), лицензированной международной вакцины против шигеллёза пока не существует.

Первой биоинъюбированной вакциной, протестированной на людях, была кандидатная вакцина против *S. dysenteriae* [16]. При её создании

полисахарид О-антигена *S. dysenteriae* типа О1 был биоинъюбирован в *E. coli* с рекомбинантной версией EPA и кластером PglB, получил название GVXN SD133 и прошел фазу I клинических испытаний [17]. Результаты показали, что вне зависимости от способа введения препарат хорошо переносился и обладал приемлемым уровнем безопасности. В крови вакцинированных было выявлено статистически значимое повышение уровня антител классов IgG и IgA против полисахарида О1 [16].

Затем была создана другая моновалентная вакцина против шигелл на основе О-антигена *S. flexneri* 2a, разработанная также на базе PglB. В качестве белкового носителя был выбран тот же rEPA. Биоинъюбгат получил название Flexun 2a. Были подтверждены безопасность и иммуногенность этого прототипа вакцины. Аналогично результатам, полученным в ходе исследования вакци-

Биоинъюбированные вакцины против различных патогенов, разрабатываемые в настоящее время

Патоген	Название препарата/характеристика биоинъюбгата	Этап	Источник
<i>Shigella</i> spp.	GVXN SD133	Фаза I клинических испытаний	[17]
	Flexun 2a	Фаза 2b клинических испытаний	[19]
	S4V	Фаза 1/2 клинических испытаний	NCT04056117 — ClinicalTrials.gov
Патогенная <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> O157)	Конъюгат О-антигена и MBP <i>E. coli</i> O157, OCT — PglB	Доклинические испытания на мышах	[23]
	Конъюгат О-антигена и белка CmeA <i>Citrobacter sedlakii</i> NRC6070, OCT — PglB	Лабораторные испытания	[25]
Внекишечная патогенная <i>E. coli</i>	ExPEC9V	Фаза III клинических испытаний	NCT04899336 — ClinicalTrials.gov
	ExPEC10V	I и II фазы клинических испытаний	NCT04306302, NCT03819049 — ClinicalTrials.gov
<i>K. pneumoniae</i> гипервирулентного типа (hvKp)	Конъюгат O25B-антиген ExPEC и EPA, OCT — PglB	Лабораторные испытания	[32]
	Конъюгат капсульных полисахаридов серотипов K1 и K2 с белком EPA-ComP, OCT — PglS	Доклинические испытания на мышах	[34]
<i>K. pneumoniae</i>	Конъюгат О-антигенов липополисахарида и белка EPA, OCT — PglS	Доклинические испытания на мышах	[36]
<i>K. pneumoniae</i> O1	KPO1-VLP	Доклинические испытания на мышах	[37]
<i>S. pneumoniae</i>	Конъюгат капсульного полисахарида серотипа 4 и белка AcrA, OCT — PglB	Доклинические испытания на мышах	[39]
	Конъюгаты капсульного полисахарида ST4 и белков NanA, Sp-148, PiuA, OCT PglB	Доклинические испытания на мышах	[43]
	CPS8-EPA ^{IGToc}	Доклинические испытания на мышах	[44]
<i>S. agalactiae</i>	Конъюгат полисахаридов серотипов Ia, Ib и III с белком EPA-ComP, OCT — PglS	Доклинические испытания на мышах	[47]
<i>B. abortus</i>	Конъюгат О-полисахаридов <i>Yersinia enterocolitica</i> и холерного токсина В, OCT — PglL	Доклинические испытания на мышах	[52]
	Конъюгат О-полисахаридов <i>Brucella</i> и наночастиц Nano-B5, OCT — PglL	Доклинические испытания на мышах	[54]
<i>S. aureus</i>	CP5-EPA, CP8-EPA и CP5-Hla	Доклинические испытания на мышах	[56]
<i>F. tularensis</i>	Конъюгат О-антигена <i>F. tularensis</i> и EPA	Доклинические испытания на мышах	[58]
	Конъюгат О-антигена <i>F. tularensis</i> и белка CmeA <i>Citrobacter sedlakii</i> NRC6070, OCT — PglB	Лабораторные испытания	[25]

ны против *S. dysenteriae*, иммунизация препаратом Flexun 2a выявила значительное повышение титров антител классов IgG и IgA против липополисахарида *S. flexneri* 2a [18]. Рандомизированное двойное слепое и плацебо-контролируемое исследование фазы 2b [19] показало достаточный уровень безопасности и иммуногенности вакцины. Эффективность биоконъюгата Flexun 2a была дополнительно подтверждена и другими методами, включая оценку степени тяжести протекания шигеллёза. Было показано, что у вакцинированных этот показатель был ниже, чем у пациентов, получавших плацебо [20].

Многообещающие результаты, продемонстрированные при создании и испытании Flexun 2a, способствовали разработке поливалентной вакцины. S4V — это четырёхвалентная биоконъюгированная вакцина, которая содержит О-антигены *S. flexneri* серотипов 2a, 3a, 6, а также *S. sonnei*, соединённые с белком-носителем ЕРА. В настоящее время в Кении проводится двойное слепое исследование S4V по подбору дозы и возрастной категории (взрослые, дети, младенцы). Данные, собранные в ходе этого исследования, станут важным шагом в разработке вакцины против шигелл [21].

Биоконъюгированные вакцины против патогенных штаммов *Escherichia coli*

Патогенные штаммы *E. coli* делятся на две группы: внекишечная патогенная *E. coli* (ExPEC) и кишечная патогенная *E. coli* (InPEC). Штаммы ExPEC в основном связаны с неонатальным менингитом и инфекциями мочевыводящих путей у взрослых (ИМП). Штаммы InPEC вызывают различные диарейные заболевания и подразделяются на 6 патотипов, в том числе энтерогеморрагические штаммы *E. coli*. Одним из наиболее распространённых представителей штаммов группы ЕНЕС является энтерогеморрагическая кишечная палочка O157:H7 (*E. coli* O157), она вызывает диарею, геморрагический колит и гемолитико-уремический синдром [22]. Потребность в вакцинах для профилактики *E. coli* O157 очень высока. Работы по их созданию ведутся уже довольно давно, ряд препаратов проходит доклинические и клинические испытания, в том числе биоконъюгированная вакцина [23]. В качестве белка-носителя авторы выбрали мальтозосвязывающий белок, поскольку недавние исследования показали, что он является агонистом TLR4 и индуцирует активацию сигнального пути NF-κB, а также секрецию ряда провоспалительных цитокинов [24]. Конъюгацию осуществляли, используя PglB, к белку присоединяли О-антиген *E. coli* O157, организм-продуцентом выступал штамм *E. coli* W3110. Полученный в результате биоконъюгат вызывал активацию как гуморально-го, так и клеточного звена иммунитета [23].

Ещё один прототип биоконъюгированной вакцины против *E. coli* O157 был создан с использованием экспериментальной технологии MAGIC (Mobile-element Assisted Glycoconjugation by Insertion on Chromosome) [25]. Суть метода заключается в использовании мобильных генетических элементов, в частности транспозона tn5, для интеграции сконструированных генетических последовательностей в хромосому *E. coli*. Разработчики MAGIC утверждают, что такая конструкция в значительной степени облегчает метаболическую нагрузку и способствует прямому увеличению биомассы продуцента и выхода биоконъюгата. Чтобы добиться такого результата, они использовали транспозон tn5, в нуклеотидную последовательность которого встроены участки, кодирующие PglB, белок-носитель *C. jejuni* AсгА и ферменты, участвующие в биосинтезе полисахаридов [26]. Биоконъюгированный прототип MAGIC-вакцины был получен в непатогенной бактерии *Citrobacter sedlakii* NRC6070. Белок-носитель, использованный для создания препарата, — SmeA 6xHis, полисахаридный компонент — О-антиген *C. sedlakii*, аналогичный таковому у *E. coli* O157, в качестве ОСТ использовался PglB. По своим биохимическим показателям биоконъюгат соответствовал заявленным требованиям. К сожалению, пока нет данных о каких-либо клинических испытаниях полученного препарата.

Внекишечные штаммы патогенной *E. coli* (ExPEC) также довольно опасны, т. к. способны вызывать заболевания разного характера. Штаммы ExPEC относят к 3 основным патотипам: уропатогенная *E. coli* (UPEC), вызывающая сепсис *E. coli* (SEPEC), и *E. coli*, ассоциированная с неонатальным менингитом [27]. К сожалению, ИМП, вызванные ExPEC, крайне тяжело поддаются лечению. Создание эффективных вакцин, предотвращающих подобное развитие событий, является крайне важной задачей. Для её решения, наряду с другими подходами, применены и методы PGCT. Работы начались с создания 4-валентного прототипа, в состав которого входили 4 конъюгированные с ЕРА варианты О-антигена. Продемонстрирована хорошая переносимость прототипа и достоверное повышение уровня антител класса IgG против всех антигенов, снижение количества зарегистрированных случаев ИМП среди участников испытаний [28, 29]. На основе 4-валентного прототипа создана 9-валентная вакцина ExPEC9V, содержащая конъюгированный полисахарид и проходящая в настоящее время клинические испытания III фазы (NCT04899336).

Продолжается изучение безопасности и иммуногенности 10-валентного препарата ExPEC10V среди пожилых людей в возрасте 60–85 лет (I и II фазы, NCT04306302, NCT03819049). Как и четырёхвалентный прототип, этот препарат хорошо пе-

реносится и индуцирует выработку антигенспецифических антител у большинства участников, несмотря на их преклонный возраст [30].

Схожий подход был применён при создании прототипа вакцины на базе O25B антигена ExPEC. Хотя O-антиген *E. coli* насчитывает более 180 серотипов, среди изолятов, полученных от носителей ИМП, значительное число относится к серотипу O25B [31]. Поэтому группой исследователей была предпринята попытка создать вакцину на базе именно этого антигена. Кластер O-антигена был встроен в геном *E. coli* W3110, после чего экспрессированный полисахарид был ферментативно конъюгирован с EPA ферментом PglB. Детальная характеристика конъюгата O25B-EPA с использованием физико-химических методов, включая ядерно-магнитный резонанс и газовую хроматографию — масс-спектрометрию, подтвердила соответствие структуре O25B, открывая тем самым возможность разработки поливалентной конъюгированной вакцины против ExPEC [32].

Биоконъюгированные вакцины против *Klebsiella pneumoniae*

Грам-отрицательная бактерия *K. pneumoniae* является вторым по распространённости условно-патогенным микроорганизмом после *E. coli*. Она вызывает неонатальный сепсис, ИМП и внутрибольничные пневмонии, плохо поддающиеся лечению из-за устойчивости к противомикробным препаратам — бактерии приобретают такие факторы устойчивости, как β-лактамазы расширенного спектра действия и карбапенемазы *K. pneumoniae*. ВОЗ присвоила самые высокие уровни опасности изолятам, содержащим эти факторы [33], что подтверждает острую необходимость в создании эффективной и безопасной вакцины.

С использованием технологии PGCT разрабатывается несколько вакцинных препаратов. M.F. Feldman и соавт. сосредоточились на создании вакцины против *K. pneumoniae* гипервирулентного типа (hvKp), поскольку именно эта разновидность патогена является наиболее опасной. Если другие серотипы, как правило, вызывают заболевания у пациентов, находящихся в стационарах, пожилых людей, младенцев или людей с иммунодефицитами различной природы, то hvKp представляют угрозу и для здоровых людей [34]. Механизмы гипервирулентности до конца не выяснены, но предполагается, что основной причиной является избыток капсульного полисахарида, затрудняющий выведение патогена из организма. В качестве основной ОСТ исследователи выбрали PglS из *A. baylyi*, в качестве белка-носителя — EPA, слитый с белком ComP. В качестве углеводного компонента были использованы капсульные полисахариды наиболее распространённых серотипов K1 и K2, кластеры

синтеза которых клонировали в клетки-продуценты *E. coli* с частично заблокированными естественными гликозилтрансферазами. Полученные гликопротеины при введении мышам показали способность к индукции синтеза протективных антител класса IgG1, значительно повышающих выживаемость мышей при последующем заражении.

Ещё одна вакцина разрабатывается против классических серотипов *K. pneumoniae*. В качестве углеводного компонента используются O-антигены бактериального липополисахарида. В отличие от капсульных полисахаридов, в настоящий момент известно всего 11 серотипов O-антигенов, экспрессируемых *K. pneumoniae* [35]. На основе 7 наиболее часто встречающихся серотипов O-антигенов была сконструирована гептавалентная биоконъюгатная вакцина. В качестве ОСТ был выбран фермент PglS, белок-носитель — рекомбинантный EPA со вставкой акцепторной последовательности для PglS. В качестве продуцента использовали штамм *E. coli* CLM24. После выделения и очистки гликопротеины всех 7 типов были использованы для иммунизации мышей, что сопровождалось выработкой высокого уровня антител класса IgG ко всем гликопротеинам. Однако бактерицидность антител против различных штаммов *K. pneumoniae* оказалась невысокой, что свидетельствует о необходимости доработки вакцины. В связи с этим авторы предлагают ввести в состав вакцины капсульные антигены [36].

Ещё одна вакцина против *K. pneumoniae* с использованием PGCT разрабатывается на базе PglL. В качестве белка-акцептора использован универсальный рекомбинантный белок SpyCather4573 и специально модифицированный штамм *E. coli*, в геном которого интегрированы оба ключевых компонента: SC4573 и PglL. Гликопротеины, полученные таким образом, могут спонтанно связываться с белковыми наноносителями *in vitro* с помощью системы SpyTag с образованием конъюгированных нановакцин. Для повышения эффективности экспрессии гликопротеинов был удалён кластер генов *yfdGHI*. Полученная конъюгированная нановакцина против *K. pneumoniae* O1 (KPO1-VLP) продемонстрировала свою эффективность в экспериментах, где после трёхкратной иммунизации наблюдались высокие титры антител и 100-процентная защита от заражения вирулентным штаммом [37].

Биоконъюгированные вакцины против *Streptococcus pneumoniae*

S. pneumoniae, пневмококк, — один из самых распространённых и вредоносных возбудителей бактериальных пневмоний, менингитов и сепсиса. Несмотря на наличие вакцин, *S. pneumoniae* по-прежнему является причиной более 1 млн смертей в год, главным образом среди детей в возрасте до 5 лет из стран с низким и средним уровнем

дохода [38]. Поскольку большая часть капсульных полисахаридов *S. pneumoniae* содержат в качестве конечного остатка сахар, который не переносится с помощью PglB, первые попытки создать биоконъюгированную вакцину были сосредоточены на серотипе 4, где конечным остатком был распознаваемый GalNac. Акцептором был выбран нативный белок *C. jejuni* AcrA, в качестве ОСТ использовали PglB, клонированный в хромосому *E. coli* W3110. Полученный препарат защищал мышей при последующем инфицировании *S. pneumoniae* серотип 4 [39].

Следующий вариант биоконъюгированной вакцины создавался на базе нативных белков *S. pneumoniae*. Предполагалось, что это позволит создать гетерологичную защиту от неохраняемых вакцинами серотипов и повысить иммунную защиту слизистых, стимулируя активацию Th17. Авторы протестировали на мышинных моделях эффективность 3-валентного биоконъюгата, в состав которого входили капсульный полисахарид ST4 и 3 белковых антигена *S. pneumoniae*: N-концевой фрагмент NanA, фактор вирулентности, который способствует росту и выживанию в носоглоточном тракте, инвазии эндотелиальных клеток головного мозга [40], Th17-стимулирующий антиген Sp0148 [41] и ABC-транспортер липопротеин PiuA [42]. Полученные с помощью PglB в *E. coli* биоконъюгаты индуцировали у мышей синтез антикапсулярных антител на уровне, соответствующем уже имеющимся вакцинам, а также вызывали сильные ответы на белковые антигены, которые распространялись и на другие, гетерологичные серотипы. Авторы отметили также, что экспрессия нескольких серотипов капсульных полисахаридов в *E. coli* открывает новые возможности для конструирования вакцин против *S. pneumoniae*. Например, в качестве платформы можно использовать гликозилированные везикулы наружных мембран (glyOMV) [43].

Ещё один прототип, на этот раз поливалентный, был создан с использованием в качестве основной ОСТ фермента PglS из *A. baylyi*, способного переносить глюкозный концевой остаток. В качестве белкового акцептора выступал естественный субстрат PglS, пилиноподобный белок ComP, который в *E. coli* гликозилировался капсульными полисахаридами *S. pneumoniae* CPS8, CPS9V и CPS14. Полученный препарат показал в предварительных тестах иммуногенность, сравнимую с иммуногенностью вакцины Превнар13. Кроме того, сыворотки мышей, иммунизированных полученным препаратом, проявляли бактерицидную активность против *S. pneumoniae* серотипов 14 и 8. Развивая идею, авторы сконструировали биоконъюгат на базе белкового носителя EPA, модифицировав его C-конец путём присоединения к нему акцепторной последовательности из 23 аминокислот белка ComP, и пневмококкового полисахарида CPS8. Полученный

биоконъюгат вызывал у мышей активное образование антител класса IgG и обладал протективным действием [13]. В 2022 г. было показано, что полученный авторами биоконъюгат, получивший название CPS8-EPA^{IGTcc}, обладает высокой иммуногенностью, вызывает у мышей образование специфических для серотипа CPS8 антител класса IgM и IgG и обеспечивает защиту от инфицирования *S. pneumoniae* серотипа 8 [44].

Биоконъюгированные вакцины против других видов стрептококков

Разрабатываются также биоконъюгированные вакцины против патогенных стрептококков. Стрептококк группы В (СГВ, *S. agalactiae*, β-гемолитический стрептококк В) — это грамположительная условно-патогенная бактерия, которая чаще всего колонизирует нижние отделы желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы. Порядка 10–35% женщин заражены СГВ, что может приводить к различным острым заболеваниям у беременных и рожениц, а также к мертворождению [45]. СГВ также может передаваться новорождённому. Он обычно проявляется в виде В-стрептококковой болезни и может вызвать менингит, сепсис и пневмонию. Более того, недавние исследования показали, что СГВ также является причиной значительного числа заболеваний у взрослых людей, особенно старше 65 лет [46]. Всё это делает разработку вакцины против СГВ крайне необходимой. В связи с этим была сконструирована вакцина на базе PGCT. Характеристика 3-валентной биоконъюгированной вакцины, нацеленной на три наиболее распространённых в клинике серотипа СГВ: Ia, Ib, III, опубликована в работе J.A. Duke и соавт. [47]. Авторы внедрили в *E. coli* локусы, необходимые для экспрессии белка PglS из *A. baylyi*, что позволило провести гликозилирование сконструированного белка-носителя на базе EPA и белка ComP сиаловыми остатками согласно серотипам СГВ Ia, Ib и III. Дальнейшая иммунизация мышей полученным препаратом показала, что 3-валентная биоконъюгированная вакцина против СГВ вызывает продукцию специфических для задействованных серотипов антител класса IgG, которые обладают нейтрализующей способностью. Однако эффективность антител против разных серотипов, использованных при создании вакцины, различалась, и авторы предположили, что подобный эффект можно устранить путём изменения степени гликозилирования белка-носителя.

Технологии PGCT также могут быть применены и для создания вакцины от стрептококка группы А (*S. pyogenes*, или стрептококк А). *S. pyogenes* является чрезвычайно распространённым патогеном, вызывающим широкий круг заболеваний: от острого фарингита и импетиго до скарлатины и инвазивных заболеваний, таких как синдром токсического

шока или некротизирующий фасцит. Они приводят к развитию вторичных заболеваний аутоиммунной природы, например ревматических заболеваний сердца [48]. Кроме того, человек является единственным естественным хозяином *S. pyogenes*, следовательно, блокирование передачи этого патогена может привести к его полной элиминации. Стрептококк А, подобно *S. pneumoniae*, обладает высокой антигенной гетерогенностью. Серотипы определяются различиями в главном факторе вирулентности, белке М. Вследствие такой гетерогенности в поверхностных белках *S. pyogenes* исследователи сосредоточились на разработках конъюгированных вакцин на базе наружных полисахаридов патогена, в частности, полисахарида группы А. Однако R. Di Benedetto и соавт. показали, что для большей эффективности будущей вакцины необходимо сохранять белковые эпитопы носителей, т. к. случайное конъюгирование не влияло на синтез IgG к компоненту полисахарида группы А, но значительно снижало ответ на белковый компонент [49]. В результате случайной конъюгации полисахарида группы А с тремя белками *S. pyogenes* (SLO, SpyAD и SpyCEP) были получены конъюгаты, иммунизация которыми приводила к наработке антител, не блокирующих активность одного из использованных для конъюгации белков — SpyCEP. Он сохранял способность расщеплять интерлейкин-8. По-видимому, для создания эффективной вакцины на базе собственных белков *S. pyogenes* и его же полисахарида группы А потребуется обеспечить чрезвычайно высокую точность присоединения полисахарида к определенным участкам белков, что вполне может быть обеспечено при использовании PGCT [50].

Другие биоконъюгированные вакцины

Технологии PGCT используются при создании вакцины против *B. abortus* [51]. Данный патоген, хотя и является возбудителем преимущественно заболеваний сельскохозяйственных животных, тем не менее представляет опасность и для людей. Лицензированной вакцины, защищающей от инфицирования *B. abortus*, в настоящий момент нет. Существуют аттенуированные препараты, применяемые для защиты крупного (S19 и RB51) и мелкого (Rev1) рогатого скота [52]. Однако эти вакцины являются патогенными для человека, обладают остаточной токсичностью для животных и не защищают от всех известных видов возбудителя. Кроме того, для всех манипуляций с культурами бруцелл требуется оборудование высокого уровня биобезопасности из-за риска аэрозольной передачи. Чтобы избежать этих трудностей, для синтеза гликозилированных по типу *B. abortus* гликопротеинов нередко используют *Y. enterocolitica*, менее опасный оппортунистический патоген, поскольку О-полисахариды *Brucella* и *Y. enterocolitica* схожи [53]. В настоящий

момент в высокой степени готовности находятся прототипы вакцин на основе холерного токсина В в качестве белкового носителя и О-полисахаридов *Y. enterocolitica*, синтезируемых в генетически модифицированных *E. coli* [52], а также на основе наночастиц Nano-B5 в качестве платформы и О-полисахаридов *Brucella* [54]. Продуцентом в последнем случае является *Y. enterocolitica*. В обеих вакцинах использована О-гликозилирующая система с центральной ОСТ PglL из *N. meningitidis*. В обоих случаях исследователи сообщают об успешном применении полученных прототипов в доклинических исследованиях на мышах. При введении их животным наблюдались как повышенная продукция антител, так и активация клеточного иммунитета. Кроме того, оба прототипа продемонстрировали яркий защитный эффект иммунизации с последующим заражением мышей, а в случае нановакцины — даже против нескольких видов *Brucella*. Дальнейшие клинические исследования, очевидно, покажут применимость полученных препаратов для иммунизации людей.

Staphylococcus aureus является причиной многочисленных заболеваний человека, включая эндокардит, пневмонию и раневые инфекции. Особую опасность представляет собой метициллин-резистентный *S. aureus* (так называемые штаммы MRSA) [55]. В связи с этим существует острая необходимость в эффективной вакцинации против стафилококковой инфекции. В работе M. Wacker и соавт. привели результаты тестирования на мышах 3 конъюгатов, полученных с использованием технологий PGCT. По наименованию входящих в их состав компонентов они названы CP5-EPA, CP8-EPA и CP5-H1a, где CP5 и CP8 — капсульные полисахариды *S. aureus* серотипов 5 и 8 соответственно, EPA — экзотоксин А *P. aeruginosa*, а H1a — α -токсин *S. aureus*. В работе использовали PglB из *C. jejuni*. Биоконъюгаты были синтезированы в *E. coli*, после чего введены мышам. Все три прототипа вызывали индукцию антител на высоком уровне. При оценке защитной эффективности препаратов наилучшие результаты показал конъюгат CP5-H1a; введение CP5-Epa и CP8-Epa значительно снижало бактериемию; биоконъюгированная вакцина CP5-H1a защищала как от бактерий, так и от пневмонии со смертельным исходом.

Технология PGCT была применена для создания прототипов вакцин против *Francisella tularensis*, внутриклеточного патогена, вызывающего туляремию — потенциально смертельное заболевание. Для человека наиболее опасны два подвида: *F. tularensis tularensis* (тип А) и *F. tularensis holarctica* (тип В) [57]. Авторы с помощью PglB получили в *E. coli* биоконъюгат, состоящий из О-антигена *F. tularensis* и EPA, и испытали его на мышинной модели. Полученный рекомбинантный биоконъю-

югат отличался высоким выходом, стимулировал выработку специфических антител и обеспечивал защиту от последующего заражения вирулентным диким штаммом *F. tularensis* subsp. *holarctica* [58]. Авторы в дальнейшем провели модификацию носителя ЕРА, внося в него дополнительно 8 акцепторных последовательностей, чтобы увеличить степень его гликозилированности [59]. Новый биоконъюгат действительно эффективнее стимулировал образование специфических антител, защищая крыс от развития заболевания при инфицировании *F. tularensis*. Исследователи планируют дальнейшие работы над представленным прототипом вакцины, намереваясь заменить белок-носитель ЕРА на нативные белковые антигены *F. tularensis*.

Ещё одна попытка создать новую вакцину против *F. tularensis* была сопряжена с использованием уже упоминавшейся экспериментальной технологии MAGIC [25]. В качестве ОСТ использовался PglB, белок-носитель — периплазматический Стеа из *S. jejuni*, для удобства выделения оснащённый вставкой 6His, полисахарид — О-антиген *F. tularensis*. Организм-продуцент — *E. coli*, все компоненты внедрялись в бактериальную хромосому. Работа продемонстрировала эффективность технологии MAGIC в получении высокоиммуногенных биоконъюгатов.

Заключение

Таким образом, биоконъюгация, равно как и другие современные технологии, активно применяются в разработке новых и совершенствовании уже имеющихся вакцин. Несмотря на существующие ограничения, данный метод может быть использован для создания препаратов, предотвращающих инфекционные заболевания, тем самым снижая распространение антибиотикорезистентных микроорганизмов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Hasso-Agopsowicz M., Hwang A., Hollm-Delgado M.G., et al. Identifying WHO global priority endemic pathogens for vaccine research and development (R&D) using multi-criteria decision analysis (MCDA): an objective of the Immunization Agenda 2030. *EBioMedicine*. 2024;110:105424. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2024.105424>
- WHO. Estimating the impact of vaccines in reducing antimicrobial resistance and antibiotic use;2024.
- Szymanski C.M., Yao R., Ewing C.P., et al. Evidence for a system of general protein glycosylation in *Campylobacter jejuni*. *Mol. Microbiol.* 1999;32(5):1022–30. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01415.x>
- Kowarik M., Numao S., Feldman M.F., et al. N-linked glycosylation of folded proteins by the bacterial oligosaccharyltransferase. *Science*. 2006;314(5802):1148–50. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1134351>
- Bacon D.J., Szymanski C.M., Burr D.H., et al. A phase-variable capsule is involved in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Mol. Microbiol.* 2001;40(3):769–77. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02431.x>
- Wacker M., Linton D., Hitchen P.G., et al. N-linked glycosylation in *Campylobacter jejuni* and its functional transfer into *E. coli*. *Science*. 2002;298(5599):1790–3. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.298.5599.1790>
- Ihsen J., Kowarik M., Diletto S., et al. Production of glycoprotein vaccines in *Escherichia coli*. *Microb. Cell Fact.* 2010;9:61. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-9-61>
- Castric P. pilO, a gene required for glycosylation of *Pseudomonas aeruginosa* 1244 pilin. *Microbiology (Reading)*. 1995;141(Pt. 5):1247–54. DOI: <https://doi.org/10.1099/13500872-141-5-1247>
- Power P.M., Seib K.L., Jennings M.P. Pilin glycosylation in *Neisseria meningitidis* occurs by a similar pathway to wzy-dependent O-antigen biosynthesis in *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006;347(4):904–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.06.182>
- Egge-Jacobsen W., Salomonsson E.N., Aas F.E., et al. O-linked glycosylation of the PilA pilin protein of *Francisella tularensis*: identification of the endogenous protein-targeting oligosaccharyltransferase and characterization of the native oligosaccharide. *J. Bacteriol.* 2011;193(19):5487–97. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.00383-11>
- Harding C.M., Nasr M.A., Kinsella R.L., et al. *Acinetobacter* strains carry two functional oligosaccharyltransferases, one devoted exclusively to type IV pilin, and the other one dedicated to O-glycosylation of multiple proteins. *Mol. Microbiol.* 2015;96(5):1023–41. DOI: <https://doi.org/10.1111/mmi.12986>
- Faridmoayer A., Fentabil M.A., Haurat M.F., et al. Extreme substrate promiscuity of the *Neisseria* oligosaccharyl transferase involved in protein O-glycosylation. *J. Biol. Chem.* 2008;283(50):34596–604. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M807113200>
- Harding C.M., Nasr M.A., Scott N.E., et al. A platform for glycoengineering a polyvalent pneumococcal bioconjugate vaccine using *E. coli* as a host. *Nat. Commun.* 2019;10(1):891. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08869-9>
- Platts-Mills J.A., Liu J., Rogawski E.T., et al. Use of quantitative molecular diagnostic methods to assess the aetiology, burden, and clinical characteristics of diarrhoea in children in low-resource settings: a reanalysis of the MAL-ED cohort study. *Lancet Glob. Health*. 2018;6(12):e1309–18. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30349-8](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30349-8)
- López-Vélez R., Lebens M., Bundy L., et al. Bacterial travellers' diarrhoea: a narrative review of literature published over the past 10 years. *Travel Med. Infect. Dis.* 2022;47:102293. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2022.102293>
- Ravenscroft N., Haeuptle M.A., Kowarik M., et al. Purification and characterization of a *Shigella* conjugate vaccine, produced by glycoengineering *Escherichia coli*. *Glycobiology*. 2016;26(1):51–62. DOI: <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv077>
- Hatz C.F., Bally B., Rohrer S., et al. Safety and immunogenicity of a candidate bioconjugate vaccine against *Shigella dysenteriae* type 1 administered to healthy adults: a single blind, partially randomized Phase I study. *Vaccine*. 2015;33(36):4594–601. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.06.102>
- Martin P., Alaimo C. The ongoing journey of a *Shigella* bioconjugate vaccine. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(2):212. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines10020212>
- Talaat K.R., Alaimo C., Martin P., et al. Human challenge study with a *Shigella* bioconjugate vaccine: analyses of clinical efficacy and correlate of protection. *EBioMedicine*. 2021;66:103310. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103310>
- Clarkson K.A., Porter C.K., Talaat K.R., et al. *Shigella*-specific immune profiles induced after parenteral immunization or oral challenge with either *Shigella flexneri* 2a or *Shigella sonnei*. *mSphere*. 2021;6(4):e0012221. DOI: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00122-21>

21. Lu T., Das S., Howlader D.R., et al. Shigella vaccines: the continuing unmet challenge. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;25(8):4329. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25084329>
22. Rojas-Lopez M., Monterio R., Pizza M., et al. Intestinal pathogenic *Escherichia coli*: insights for vaccine development. *Front. Microbiol.* 2018;9:440. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00440>
23. Ma Z., Zhang H., Shang W., et al. Glycoconjugate vaccine containing *Escherichia coli* O157:H7 O-antigen linked with maltose-binding protein elicits humoral and cellular responses. *PLoS One.* 2014;9(8):e105215. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105215>
24. Fernandez S., Palmer D.R., Simmons M., et al. Potential role for Toll-like receptor 4 in mediating *Escherichia coli* maltose-binding protein activation of dendritic cells. *Infect. Immun.* 2007;75(3):1359–63. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00486-06>
25. Abouelhadid S., Atkins E.R., Kay E.J., et al. Development of a novel glycoengineering platform for the rapid production of conjugate vaccines. *Microb. Cell Fact.* 2023;22(1):159. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02125-y>
26. Wren B., Cuccui J., Abouelhadid S. Glycosylation method. Patent № US 2015/0344928 A1. London;2015.
27. Dale A.P., Woodford N. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones. *J. Infect.* 2015;71(6):615–26. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2015.09.009>
28. Inoue M., Ogawa T., Tamura H., et al. Safety, tolerability and immunogenicity of the ExPEC4V (JNJ-63871860) vaccine for prevention of invasive extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* disease: A phase 1, randomized, double-blind, placebo-controlled study in healthy Japanese participants. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2018;14(9):2150–7. DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1474316>
29. Frenc R.W.Jr., Ervin J., Chu L., et al. Safety and immunogenicity of a vaccine for extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ESTELLA): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 2019;19(6):631–40. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30803-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30803-X)
30. Fierro C.A., Sarnecki M., Doua J., et al. Safety, reactogenicity, immunogenicity, and dose selection of 10-valent extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* bioconjugate vaccine (VAC52416) in adults aged 60–85 years in a randomized, multicenter, interventional, first-in-human, phase 1/2a study. *Open Forum Infect. Dis.* 2023;10(8):ofad417. DOI: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofad417>
31. Phan M.D., Peters K.M., Sarkar S., et al. The serum resistome of a globally disseminated multidrug resistant uropathogenic *Escherichia coli* clone. *PLoS Genet.* 2013;9(10):e1003834. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003834>
32. Kowarik M., Wetter M., Haeuptle M.A., et al. The development and characterization of an E. coli O25B bioconjugate vaccine. *Glycoconj. J.* 2021;38(4):421–35. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10719-021-09985-9>
33. CDC. Antibiotic resistance threats in the United States;2019.
34. Feldman M.F., Mayer Bridwell A.E., Scott N.E., et al. A promising bioconjugate vaccine against hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019;116(37):18655–63. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1907833116>
35. Follador R., Heinz E., Wyres K.L., et al. The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microb. Genom.* 2016;2(8):e000073. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000073>
36. Wantuch P.L., Knoot C.J., Robinson L.S., et al. Capsular polysaccharide inhibits vaccine-induced O-antigen antibody binding and function across both classical and hypervirulent K2:O1 strains of *Klebsiella pneumoniae*. *PLoS Pathog.* 2023;19(5):e1011367. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011367>
37. Liu Y., Pan C., Wang K., et al. Preparation of a *Klebsiella pneumoniae* conjugate nanovaccine using glycol-engineered *Escherichia coli*. *Microb. Cell Fact.* 2023;22(1):95. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02099-x>
38. Sari R.F., Fadilah F., Maladan Y., et al. A narrative review of genomic characteristics, serotype, immunogenicity, and vaccine development of *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharide. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2024;13(2):91–104. DOI: <https://doi.org/10.7774/cevr.2024.13.2.91>
39. Herbert J.A., Kay E.J., Faustini S.E., et al. Production and efficacy of a low-cost recombinant pneumococcal protein polysaccharide conjugate vaccine. *Vaccine.* 2018;36(26):3809–19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.05.036>
40. Wren J.T., Blevins L.K., Pang B., et al. Pneumococcal neuraminidase A (NanA) promotes biofilm formation and synergizes with influenza A virus in nasal colonization and middle ear infection. *Infect. Immun.* 2017;85(4):e01044–16. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.01044-16>
41. Moffitt K.L., Gierahn T.M., Lu Y.J., et al. T(H)17-based vaccine design for prevention of *Streptococcus pneumoniae* colonization. *Cell Host Microbe.* 2011;9(2):158–65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.01.007>
42. Ogunniyi A.D., Mahdi L.K., Trappetti C., et al. Identification of genes that contribute to the pathogenesis of invasive pneumococcal disease by *in vivo* transcriptomic analysis. *Infect. Immun.* 2012;80(9):3268–78. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00295-12>
43. Reglinski M., Ercoli G., Plumtre C., et al. A recombinant conjugated pneumococcal vaccine that protects against murine infections with a similar efficacy to Prevnar-13. *NPJ Vaccines.* 2018;3:53. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41541-018-0090-4>
44. Aceil J., Paschall A.V., Knoot C.J., et al. Immunogenicity and protective efficacy of a prototype pneumococcal bioconjugate vaccine. *Vaccine.* 2022;40(42):6107–13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.09.018>
45. Russell N.J., Seale A.C., O'Driscoll M., et al. Maternal colonization with group B *Streptococcus* and serotype distribution worldwide: systematic review and meta-analyses. *Clin. Infect. Dis.* 2017;65(Suppl. 2):S100–S111. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/cix658>
46. McLaughlin J.M., Peyrani P., Furmanek S., et al. Burden of adults hospitalized with group B *Streptococcal* infection. *J. Infect. Dis.* 2021;224(7):1170–8. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa110>
47. Duke J.A., Paschall A.V., Robinson L.S., et al. Development and immunogenicity of a prototype multivalent group B *Streptococcus* bioconjugate vaccine. *ACS Infect. Dis.* 2021;7(11):3111–23. DOI: <https://doi.org/10.1021/acinfecdis.1c00415>
48. Watkins D.A., Johnson C.O., Colquhoun S.M., et al. Global, regional, and national burden of rheumatic heart disease, 1990–2015. *N. Engl. J. Med.* 2017;377(8):713–22. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1603693>
49. Di Benedetto R., Mancini F., Carducci M., et al. Rational design of a glycoconjugate vaccine against group A *Streptococcus*. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(22):8558. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21228558>
50. Burns K., Dorfmueller H.C., Wren B.W., et al. Progress towards a glycoconjugate vaccine against group A *Streptococcus*. *NPJ Vaccines.* 2023;8(1):48. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41541-023-00639-5>
51. Li S., Huang J., Wang K., et al. A bioconjugate vaccine against *Brucella abortus* produced by engineered *Escherichia coli*. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2023;11:1121074. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1121074>
52. Oliveira S.C., Giambartolomei G.H., Cassataro J. Confronting the barriers to develop novel vaccines against brucellosis. *Expert. Rev. Vaccines.* 2011;10(9):1291–305. DOI: <https://doi.org/10.1586/erv.11.110>
53. Skurnik M., Biedzka-Sarek M., Lübeck P.S., et al. Characterization and biological role of the O-polysaccharide gene cluster of *Yersinia enterocolitica* serotype O:9. *J. Bacteriol.*

- 2007;189(20):7244–53.
DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.00605-07>
54. Huang J., Guo Y., Yu S., et al. One-step preparation of a self-assembled bioconjugate nanovaccine against *Brucella. Virulence*. 2023;14(1):2280377.
DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2280377>
55. Bassetti M., Nicco E., Mikulska M. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2009;34(Suppl. 1): S15–9. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(09\)70544-8](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(09)70544-8)
56. Wacker M., Wang L., Kowarik M., et al. Prevention of *Staphylococcus aureus* infections by glycoprotein vaccines synthesized in *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis*. 2014;209(10):1551–61.
DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jit800>
57. McLendon M.K., Apicella M.A., Allen L.A. *Francisella tularensis*: taxonomy, genetics, and immunopathogenesis of a potential agent of biowarfare. *Annu. Rev. Microbiol.* 2006;60:167–85.
DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.60.080805.142126>
58. Cuccui J., Thomas R.M., Moule M.G., et al. Exploitation of bacterial N-linked glycosylation to develop a novel recombinant glycoconjugate vaccine against *Francisella tularensis*. *Open Biol.* 2013;3(5):130002.
DOI: <https://doi.org/10.1098/rsob.130002>
59. Prior J.L., Prior R.G., Hitchen P.G., et al. Characterization of the O antigen gene cluster and structural analysis of the O antigen of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis*. *J. Med. Microbiol.* 2003;52(Pt. 10):845–51.
DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05184-0>

Информация об авторах

Цыганова Мария Игоревна[✉] — канд. биол. наук, в. н. с. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, maria_che@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2811-6844>

Новиков Дмитрий Викторович — канд. биол. наук, в. н. с. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, novikov.dv75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Новиков Виктор Владимирович — д-р биол. наук, проф., зав. лаб. иммунохимии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, mbre@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Караулов Александр Викторович — д-р мед. наук, проф., академик РАН, зав. лаб. иммунопатологии Института молекулярной медицины, зав. каф. клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, drkaraulov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

Участие авторов: Цыганова М.И. — разработка концепции статьи, написание статьи; Новиков Д.В. — разработка концепции и дизайна исследования, анализ литературы, написание статьи; Новиков В.В. — разработка концепции статьи, анализ литературы, редактирование статьи; Караулов А.А. — разработка концепции статьи, редактирование статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 19.05.2025;
принята к публикации 21.07.2025;
опубликована 28.08.2025

Information about the authors

Maria I. Tsyganova[✉] — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, maria_che@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2811-6844>

Dmitry V. Novikov — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, novikov.dv75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Viktor V. Novikov — Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head, Laboratory of immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, mbre@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Alexander V. Karaulov — Dr. Sci. (Med.), Professor, RAS Full Member, Head, Laboratory of immunopathology, Institute of Molecular Medicine, Head, Department of clinical immunology and allergy, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, Sechenov First Moscow Medical University, Moscow, Russia, drkaraulov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

Authors' contribution: Tsyganova M.I. — developing the concept of the article, writing the article; Novikov D.V. — development of the research concept and design, literature analysis, writing the article; Novikov V.V. — article concept development, literature analysis, article editing; Karaulov A.A. — developing the concept of the article, editing the article. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 19.05.2025;
accepted for publication 21.07.2025;
published 28.08.2025