

Введение хорькам мРНК-вакцины mRNA-H5 методом струйной инъекции формирует защитный иммунитет в отношении вируса гриппа подтипа H5N1

В.Р. Литвинова , А.С. Гудымо , В.А. Яковлев , М.Б. Боргоякова ,
Е.В. Старостина , Е.В. Яковлева , К.И. Иванова , О.Н. Перфильева ,
К.П. Макарова , Д.И. Вахитов , Н.В. Данильченко , М.Л. Егорова,
Н.Н. Васильцова , С.В. Шарабрин , Н.Б. Рудомётова , Д.Н. Кисаков ,
Л.А. Кисакова , Т.Н. Ильичёва , В.Ю. Марченко , Л.И. Карпенко ,
А.А. Ильичёв , А.П. Рудомётов 

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, р.п. Кольцово, Новосибирская область, 630559, Российская Федерация

✉ Литвинова Виктория Руслановна; litvinova_vr@vector.nsc.ru; viktoriya_litvinova_1999@mail.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Высокопатогенный вирус гриппа птиц подтипа H5Nx быстро эволюционирует и заражает различные виды диких и домашних млекопитающих, включая крупный рогатый скот, что подчеркивает его пандемический потенциал для человека. Для борьбы с угрозой пандемии необходимо разрабатывать подходящие вакцинные платформы, к которым относятся мРНК-вакцины, их эффективность во многом зависит от системы доставки. Данное исследование посвящено оценке иммуногенности и протективности мРНК-вакцины mRNA-H5, доставленной с помощью липидных наночастиц (LNP) и струйной инъекции (СИ).

ЦЕЛЬ. Изучение иммуногенных и протективных свойств экспериментальной мРНК-вакцины mRNA-H5 на модели хорьков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Проведена двухкратная иммунизация хорьков мРНК-вакциной mRNA-H5 в дозе 30 мкг в комплексе с LNP и в дозе 100 мкг при введении СИ. Сыворотки иммунизированных хорьков исследованы методами иммуноферментного анализа (ИФА) на рекомбинантном белке HA/H5, ELISpot с использованием пула специфических пептидов и вируснейтрализации в культуре клеток MDCK-SIAT1 с использованием штамма вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8). Произведено интраназальное заражение иммунизированных хорьков 5 LD₅₀ штамма вируса гриппа A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1) и регистрация состояния хорьков в течение 14 сут после заражения.

РЕЗУЛЬТАТЫ. С помощью метода ИФА установлены титры специфических антител в группах животных, иммунизированных мРНК-вакциной mRNA-H5 с помощью СИ и в составе LNP; средние титры в группах составили 1:180 000 и 1:4 000 000 соответственно. С помощью метода вируснейтрализации показано, что сыворотки животных, иммунизированных мРНК-вакциной mRNA-H5 с помощью СИ и в составе LNP, обладают вируснейтрализующей активностью; средние 50% нейтрализующие титры составили 1:250 и 1:1500 соответственно. Методом ELISpot показано, что в группах хорьков, иммунизированных мРНК-вакциной mRNA-H5, активируется специфический клеточный иммунитет. Иммунизация обеспечивала 100% защиту хорьков от гибели при заражении 5 LD₅₀ штамма вируса гриппа A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1).

ВЫВОДЫ. Результаты исследования свидетельствуют о высокой эффективности активации вирус-специфического гуморального и клеточного иммунного ответа у хорьков, иммунизированных мРНК-вакциной mRNA-H5 в случае доставки СИ и в комплексе с LNP.

Ключевые слова: мРНК-вакцина; вирус гриппа H5Nx; струйная инъекция; хорьки; иммуногенность; ИФА; вируснейтрализация; протективность

Для цитирования: Литвинова В.Р., Гудымо А.С., Яковлев В.А., Боргоякова М.Б., Старостина Е.В., Яковлева Е.В., Иванова К.И., Перфильева О.Н., Макарова К.П., Вахитов Д.И., Данильченко Н.В., Егорова М.Л., Васильцова Н.Н., Шарабрин С.В., Рудомётова Н.Б., Кисаков Д.Н., Кисакова Л.А., Ильичёва Т.Н., Марченко В.Ю., Карпенко Л.И., Ильичёв А.А., Рудомётов А.П. Введение хорькам мРНК-вакцины mRNA-H5 методом струйной инъекции формирует защитный иммунитет в отношении вируса гриппа подтипа H5N1. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2026;26(3):276–286. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-3-276-286>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Administration of the mRNA-H5 vaccine to ferrets via jet injection provides protective immunity against the H5N1 influenza virus

Victoria R. Litvinova , Andrei S. Gudymo , Vladimir A. Yakovlev , Mariya B. Borgoyakova , Ekaterina V. Starostina , Elena V. Yakovleva , Ksenia I. Ivanova , Olga N. Perfil'yeva , Kristina P. Makarova , Danil I. Vahitov , Natalia V. Danilchenko , Marina L. Egorova, Natalya N. Vasil'tsova , Sergei V. Sharabrin , Nadezhda B. Rudometova , Denis N. Kisakov , Lyubov A. Kisakova , Tatiana N. Ilyicheva , Vasiliy Yu. Marchenko , Larisa I. Karpenko , Alexander A. Ilyichev , Andrey P. Rudometov 

State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation

✉ Victoria R. Litvinova; litvinova_vr@vector.nsc.ru; viktoriya_litvinova_1999@mail.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. The highly pathogenic avian influenza virus subtype H5Nx is rapidly evolving and infecting various species of wild and domestic mammals, including cattle, highlighting its pandemic potential for humans. To combat the pandemic threat, it is essential to develop suitable vaccine platforms, including mRNA vaccines, the efficacy of which largely depends on the delivery system. This study evaluates the immunogenicity and protective efficacy of the mRNA-H5 vaccine, delivered via lipid nanoparticles (LNPs) and jet injection (JI).

AIM. The aim of the study was to evaluate the immunogenic and protective properties of the experimental mRNA-H5 vaccine in a ferret model.

MATERIALS AND METHODS. Ferrets were immunized twice with the mRNA-H5 vaccine at a dose of 30 µg formulated with LNPs and at a dose of 100 µg administered by JI. Sera from immunized ferrets were analyzed using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the recombinant HA/H5 protein, an enzyme-linked immunospot (ELISpot) assay using a pool of specific peptides, and a virus neutralization assay in MDCK-SIAT1 cell culture using the influenza virus strain A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8). Immunized ferrets were intranasally challenged with 5 LD₅₀ of the influenza virus strain A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1), and their status was recorded for 14 days after challenge.

RESULTS. Using ELISA, it was established that specific antibody titers were determined in groups of animals immunized with the mRNA-H5 vaccine administered by JI or formulated with LNPs; the average titers in the groups were 1:180,000 and 1:4,000,000, respectively. Using the virus neutralization assay, sera from animals immunized with the mRNA-H5 vaccine administered by JI or formulated with LNPs had virus-neutralizing activity; the average 50% neutralizing titers were 1:250 and 1:1500, respectively. The ELISpot assay showed that in groups of ferrets immunized with the mRNA-H5 vaccine, specific cellular immunity was induced. Immunization with the mRNA-H5 vaccine provided 100% protection against mortality in ferrets challenged with 5 LD₅₀ of the influenza virus strain A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1).

CONCLUSIONS. This study demonstrated the effective induction of virus-specific humoral and cellular immune responses in ferrets immunized with the mRNA-H5 vaccine administered by JI or formulated with LNPs.

Keywords: mRNA vaccine; H5Nx influenza virus; jet injection; ferrets; immunogenicity; ELISA; virus neutralization; protective efficacy

For citation: Litvinova V.R., Gudymo A.S., Yakovlev V.A., Borgoyakova M.B., Starostina E.V., Yakovleva E.V., Ivanova K.I., Perfil'yeva O.N., Makarova K.P., Vahitov D.I., Danilchenko N.V., Egorova M.L., Vasil'tsova N.N., Sharabrin S.V., Rudometova N.B., Kisakov D.N., Kisakova L.A., Ilyicheva T.N., Marchenko V.Yu., Karpenko L.I., Ilyichev A.A., Rudometov A.P. Administration of the mRNA-H5 vaccine to ferrets via jet injection provides protective immunity against the H5N1 influenza virus. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2026;26(3):276–286. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-3-276-286>

Funding. The study was conducted under the state assignment of the State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector".
Disclosure. The authors declare no conflicts of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Высокопатогенные вирусы птичьего гриппа вызывают серьезную обеспокоенность из-за их пандемического потенциала. Основные риски связаны с возможностью мутаций, которые могут привести к устойчивой передаче вируса от человека к человеку. В настоящее время случаи передачи птичьего гриппа, как правило, связаны с тесным контактом с инфицированными животными [1, 2]. По данным Всемирной организации здравоохранения, по состоянию на 22.01.2026 зафиксировано 993 случая заражения людей вирусом гриппа H5N1, из которых 477 привели к смертельному исходу¹.

В 2024 г. вирус гриппа подтипа H5N1 клады 2.3.4.4b был впервые выявлен у молочного скота. За этим последовало документирование первого случая межвидовой передачи от крупного рогатого скота к работникам молочных ферм [3, 4]. Вирусологические и эпидемиологические исследования показали, что штамм A/Texas/37/2024, передавшийся от животных человеку, характеризуется повышенной вирулентностью и трансмиссивностью. Эксперименты на мышах и хорьках подтвердили возможность его передачи воздушно-капельным путем. Кроме того, штамм A/Texas/37/2024 содержит ключевую адаптационную аминокислотную замену E627K в белке

полимеразного комплекса PB2, связанную с повышением репродукции вируса в клетках млекопитающих [5, 6], что потенциально повышает риск дальнейшей адаптации патогена к хозяину.

Быстрая эволюция высокопатогенных вирусов гриппа птиц требует разработки гибких и оперативных мер профилактики. В этом контексте мРНК-вакцины рассматриваются как перспективная платформа для быстрого реагирования на возможные новые вспышки. мРНК-вакцины неинфекционны, эффективно индуцируют клеточный и гуморальный иммунный ответ, а их производство может быть налажено в кратчайшие сроки. В настоящее время во всем мире активно разрабатываются мРНК-вакцины для профилактики различных инфекционных заболеваний [7, 8].

Одним из важных вопросов, который нужно решить при разработке мРНК-вакцины, является выбор способа ее внутриклеточной доставки. Липидные наночастицы (LNP) — наиболее распространенный метод доставки мРНК-вакцин. LNP обычно состоят из четырех липидных компонентов, которые обеспечивают эффективную инкапсуляцию и высвобождение мРНК, длительный период циркуляции в организме и стабильность комплекса. Дополнительным преимуществом LNP является адъювантный

¹ Human infection with avian influenza A(H5) viruses. Avian influenza weekly update No. 1040. WHO; 2026.

эффект, усиливающий иммунный ответ на вакцину. Однако для LNP характерен ряд недостатков, таких как токсичность, нежелательные явления и реактогенность [9, 10].

В последнее время все больше внимания уделяется альтернативному методу доставки — методу струйной инъекции (СИ), который основан на внутрикожной инъекции под высоким давлением, при этом физическое воздействие на клеточную мембрану повышает ее проницаемость для нуклеиновых кислот. Кроме того, широкое распределение препарата в дерме способствует поглощению мРНК антигенпрезентирующими клетками, что еще больше повышает его иммуногенность. СИ позволяет эффективно доставлять неинкапсулированную мРНК в клетки, что исключает недостатки, связанные с LNP [11].

В рамках наших предыдущих исследований была создана экспериментальная мРНК-вакцина mRNA-H5 для профилактики заболевания, вызываемого высокопатогенным вирусом гриппа птиц подтипа H5Nx. В экспериментах на мышах линии BALB/c продемонстрирована ее высокая иммуногенность [11]. Мышей традиционно используют в качестве модели для изучения патогенеза вируса гриппа, и они имеют ряд преимуществ перед другими лабораторными животными, в том числе низкую стоимость содержания [12]. Однако многие клинические признаки заражения вирусом гриппа, характерные для людей, не проявляются у мышей, что ограничивает применимость этой модели для изучения передачи вируса и течения заболевания [13].

Хорьки как модель являются «золотым стандартом» для оценки доклинической эффективности вакцин и воздушно-капельной передачи вирусов гриппа [14]. Хорьки имеют сходные с людьми физиологию легких, клинические признаки инфекции и распределение клеточных рецепторов сиаловой кислоты в дыхательных путях, что играет важную роль в репликации и проникновении вируса в клетку [15, 16]. Высокая восприимчивость хорьков к вирусу гриппа и способность больных животных передавать вирус здоровым были впервые продемонстрированы в 1933 г. С тех пор хорьки стали незаменимыми в экспериментальных исследованиях, направленных на изучение взаимодействия вируса с организмом хозяина [17]. Например, на модели хорьков проведены исследования мРНК-вакцин для борьбы с заболеванием, вызываемым вирусом гриппа H5N1 [18, 19].

Цель работы — изучение иммуногенных и протективных свойств экспериментальной мРНК-вакцины mRNA-H5 на модели хорьков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Плазмиды. Для синтеза мРНК-вакцины mRNA-H5 использовали плазмиду pVAX-Cas1CC-H5, полученную ранее в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора [11].

Вирусные штаммы. В реакции вируснейтрализации был использован штамм вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8) (EPI_ISL_1114749) (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора). При исследовании протективных свойств мРНК-вакцины mRNA-H5 использовали штамм вируса гриппа A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1) (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора).

Культуры клеток. Использована культура клеток MDCK-SIAT1 (Коллекция культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора). Клетки выращивали на среде DMEM (Sigma-Aldrich, США) с добавлением 10% фетальной коровьей сыворотки, 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 0,25 мкг/мл амфотерицина В. При работе с вирусом использовали поддерживающую среду: среда DMEM, 0,2% бычьего сывороточного альбумина; 2 мкг/мл трипсин ТРСК (Sigma-Aldrich); 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 0,25 мкг/мл амфотерицина В.

Животные. В работе использовали 8–10 мес. половозрелых самок беспородных хорьков (*Mustela putorius furo*) весом 700–1500 г (ООО «Кэра», Россия). Работу с животными проводили в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных»² и с соблюдением принципов гуманности в соответствии с протоколами, утвержденными Биоэтическим комитетом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Протокол № 3 от 03.04.2025). Более подробное описание экспериментов на животных приведено в Приложении 1 (размещено на сайте журнала³).

Методы

Синтез мРНК *in vitro*

Подготовку матрицы для синтеза мРНК и синтез мРНК проводили по ранее описанному протоколу [11]. В качестве матрицы для синтеза мРНК использовали генетическую

² ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами.

³ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-3-276-286-annex>

конструкцию pVAX-Cas1CC-H5, несущую целевой ген под контролем T7-промотора, который был модифицирован для правильного присоединения AG-Cap-аналога. Перед процедурой получения мРНК плазида была линейаризована с использованием эндонуклеазы рестрикции *EcoRI* (ООО «СибЭнзайм», Россия). Условия реакции (температура, состав буфера и длительность проведения ферментативного гидролиза ДНК) подбирали в соответствии с инструкциями производителя. Для очистки линейной формы плазмиды pVAX-Cas1CC-H5 был проведен электрофорез в 1% агарозном геле с последующим выделением продукта из геля с использованием набора «HiPure Gel DNA Mini Kit» (Magen, Китай).

Синтез мРНК проводили с использованием набора T7 High Yield RNA Synthesis Kit (Yeasen, Китай). Реакционная смесь содержала 1 мкг линейаризованной матрицы; T7-полимеразу с буфером; AG-Cap-аналог кэпа m⁷GmAmG («Биолабмикс», Россия) (6 мМ); смесь рибонуклеозидтрифосфатов (7 мМ), в которой уридин был заменен на N1-метилпсевдоуридин; ингибитор РНКаз («БелБиоЛаб», Россия) и безнуклеазную воду. Смесь инкубировали в течение 3 ч при температуре 37 °С. После инкубации в смесь добавляли 1 мкл ДНКазы I (1 ед. активности/мкл) (Thermo Fisher Scientific, США) и инкубировали в течение 30 мин при температуре 37 °С для разрушения ДНК-матрицы. Выделение синтезированной мРНК из реакционной смеси проводили с помощью осаждения 5М аммония ацетатом, инкубации при минус 20 °С в течение 1 ч и последующей промывки 70% этанолом. Осадок мРНК подсушивали при комнатной температуре и растворяли в безнуклеазной воде.

Получение липидных наночастиц (LNP)

LNP получали методом быстрого микрофлюидного смешивания водной и органической фаз. Водная фаза содержала мРНК mRNA-H5 в 100 мМ цитратном буфере (pH 4). Органическая фаза представляла собой смесь растворенных в 96% этаноле липидов в молярном процентном соотношении: ионизируемый липид SM-102 – 50%; нейтральный фосфолипид DSPC – 10%; холестерин – 38,5%; ПЭГ-липид (DMG-PEG2000) – 1,5%. Препараты липидов были получены от AVT Pharmaceutical Tech Co. (КНР). Фазы смешивали с использованием прибора Automated NP System (Dolomite Microfluidics, Великобритания).

Иммунизация хоряков мРНК-вакциной mRNA-H5

Для иммунизации использовали самок хоряков весом 700–1500 г. Препараты mRNA-H5 LNP и рекомбинантного белка HA/H5 в 100 мкл

фосфатно-солевого буфера – ФСБ (pH 7,4) вводили в четырехглавую мышцу бедра с помощью инсулиновых шприцев с иглой 29G. Препараты мРНК-вакцины, растворенные в 50 мкл ФСБ, вводили в область левой задней лапы методом СИ с помощью инжектора Comfort-IN (Comfort-IN, Австралия) с использованием индивидуальных насадок-сопло. Животные были распределены в 4 группы по 6 животных: группа 1 – введение мРНК-вакцины mRNA-H5 в дозе 100 мкг с помощью СИ; группа 2 – введение mRNA-H5 в дозе 30 мкг в составе LNP внутримышечно; группа 3 – введение рекомбинантного белка HA/H5 с гидроокисью алюминия в дозе 15 мкг внутримышечно; группа 4 – введение физиологического раствора внутримышечно (интактные животные). Размер данной выборки обусловлен тем, что в исследовании прототипы вакцины оценивались *in vivo* на модели хоряков впервые и целью был сбор первоначальных данных для дальнейших экспериментов с большим размером выборки. Иммунизацию осуществляли двукратно с интервалом 28 сут. Через 21 сут после второй иммунизации осуществляли забор венозной крови для оценки гуморального и клеточного иммунного ответа.

Иммуноферментный анализ (ИФА)

В качестве антигена для ИФА использовали рекомбинантный эукариотический белок HA/H5, сорбированный на поверхности 96-луночных планшетов в концентрации 1 мкг/мл в 2 М мочеvine в течение ночи при 4 °С [20]. ИФА проводили по методике, описанной в работе [21]. Лунки планшетов трижды промывали и инкубировали в течение 1,5 ч при комнатной температуре с 1% казеина в ФСБ с добавлением 0,05% Tween 20 (ФСБ-Т) для блокирования неспецифического связывания белка. Затем планшеты инкубировали с трехкратными серийными разведениями сыворотки иммунизированных животных в течение 1 ч при комнатной температуре, после промывки ФСБ-Т добавляли вторичные козы антитела против иммуноглобулина G хоряка, меченные пероксидазой хрена (Abscam, Великобритания) и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре. После окончательной промывки в планшеты добавляли субстрат TMB (Amresco, США). Реакцию останавливали 1N HCl и проводили измерение оптической плотности на приборе Varioskan LUX (Thermo Fisher Scientific) при длине волны 450 нм. Конечный титр определяли по последнему разведенному образцу, дававшему положительные результаты по значению оптической плотности.

Определение вируснейтрализующей активности иммунных сывороток

В работе использовали штамм вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8). Сыворотки крови иммунизированных хорьков обрабатывали ферментом RDE (Denka Seiken, Япония) для удаления неспецифических ингибиторов, содержащих сиаловую (нейраминовую) кислоту, которые могут имитировать действие антител, связываясь с вирусом гриппа. Сыворотки инактивировали нагреванием в течение 30 мин при температуре 56 °C. Рабочая доза вируса составляла 100 TCID₅₀/100 мкл вирусного разбавителя (среда DMEM с добавлением 0,2% бычьего сывороточного альбумина (Gibco), 1% пенициллина-стрептомицина и 2 мкг/мл TPCK-трипсина). В 96-луночных серологических планшетах готовили двукратные разведения сыворотки в 100 мкл поддерживающей среды, затем в каждую лунку вносили 100 мкл рабочего разведения вируса (общий объем 200 мкл) и инкубировали в течение 1 ч при температуре 37 °C и 5% CO₂. В качестве контроля использовали сыворотку интактных хорьков. После этого 180 мкл суспензии переносили в лунки 96-луночного планшета с клеточной культурой MDCK-SIAT1 и инкубировали в течение 3 сут при температуре 37 °C и 5% CO₂. После инкубации клетки окрашивали раствором кристаллического фиолетового и анализировали с помощью Agilent BioTek Cytation 5 (Thermo Fisher Scientific). Титр сыворотки в тесте на нейтрализацию вируса соответствовал разведению сыворотки, при котором остается 50% живых клеток. В контрольной группе оставалось не более 5% живых клеток [21].

Оценка Т-клеточного ответа методом ELISpot

Т-клеточный иммунный ответ определяли с помощью метода ELISpot с использованием набора ELISpot Plus: Ferret IFN-γ (ALP) (Mabtech, Швеция). Через 3 нед. после второй иммунизации осуществляли забор крови у иммунизированных хорьков. После лизиса эритроцитов буфером ACK Lysing Buffer (BD, США) Т-лимфоциты дважды отмывали в среде RPMI и помещали в 1 мл среды RPMI с 2 мМ L-глутамина и 50 мкг/мл гентамицина. На 96-луночном планшете из набора были иммобилизованы антитела против интерферона гамма (IFN-γ) хорька. После блокировки планшета RPMI Т-лимфоциты пассивировали в количестве 5×10⁵ клеток/лунка и стимулировали пулом вирус-специфических пептидов PepMix (JPT, Германия). Клетки инкубировали в течение 20 ч при температуре 37 °C в атмосфере 5% CO₂. Плашки затем отмывали,

добавляли биотинилированные антитела против IFN-γ хорька, которые проявляли с помощью конъюгата «стрептавидин — пероксидаза хрена» и субстрата АЕС (3-амино-9-этилкарбазол). Число IFN-γ-продуцирующих клеток подсчитывали с помощью системы для ELISpot-анализа на базе стереомикроскопа (Carl Zeiss, Германия) [21].

Изучение протективных свойств мРНК-вакцины

Все исследования по оценке защитных свойств вакцины проводили в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных заболеваний». Через 21 сут после второй иммунизации хорьков заражали интраназально 5 LD₅₀ штамма вируса гриппа A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1) для изучения протективных свойств мРНК-вакцины mRNA-H5. Заражение осуществляли под наркозом с использованием смеси зарегистрированных ветеринарных препаратов Золетил 100 (Франция) и Ксила (Нидерланды). В течение 14 сут после заражения регистрировали физиологические реакции, смертность животных и измеряли их вес. В случаях, когда у животных развивались тяжелые состояния, несовместимые с жизнью, при которых животное не могло нормально жить и питаться, а также при потере более 20% первоначальной массы тела, животное выводили из эксперимента. Всех остальных животных гуманно выводили из эксперимента при его завершении.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, США). Количественные данные представлены в виде среднего арифметического значения со стандартным отклонением и проанализированы с помощью непараметрических тестов. Межгрупповые различия оценивали с помощью непараметрического одностороннего дисперсионного анализа (критерия Краскела — Уоллиса) с post-hoc тестом Данна. Моделирование функции выживания проводилось с использованием метода Каплана — Мейера [21].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В предыдущих исследованиях мы провели молекулярный дизайн модифицированного гемагглютинина штамма вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8): удалены трансмембранный и цитоплазматический домены для получения секретируемого белка;

заменен сайт протеолиза высокопатогенного вируса гриппа; внесены аминокислотные замены для повышения стабильности белка. На основе спроектированного иммуногена была получена мРНК-вакцина mRNA-H5, кодирующая модифицированный гемагглютинин вируса гриппа. Показана эффективная стимуляция гуморального и Т-клеточного ответа у мышей линии BALB/c на введение мРНК-вакцины методом СИ или в составе LNP. Вакцина mRNA-H5, введенная методом СИ или в составе LNP, обеспечила 100% защиту иммунизированных мышей от гибели при заражении летальными дозами штаммов вируса птичьего гриппа A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8) и A/chicken/Magadan/14-7V/2022 (H5N1) [11].

В настоящем исследовании изучали иммуногенные и протективные свойства mRNA-H5 на модели хоряков. Получение мРНК-вакцины mRNA-H5, а также получение комплексов mRNA-H5 LNP проводили согласно ранее описанному протоколу [11]. В ходе анализа данных иммуногенности мРНК-вакцины, полученных на мышах линии BALB/c, и анализа литературных данных были выбраны дозы для разных методов введения mRNA-H5 — 100 мкг в случае

использования СИ и доза 30 мкг в случае LNP. Хорьков двукратно иммунизировали препаратами mRNA-H5 в указанных дозах методом СИ и в комплексе с LNP. В качестве положительного контроля хорякам вводили рекомбинантный белок HA/H5. Сыворотки иммунизированных животных исследовали с помощью ИФА. Титры специфических антител были выявлены у животных, иммунизированных mRNA-H5 с помощью СИ и в составе LNP и животных, иммунизированных рекомбинантным белком HA/H5; средние титры антител в группах составили 1:180 000, 1:4 000 000 и 1:1 800 000 соответственно (рис. 1А).

Сыворотки крови иммунизированных хоряков далее анализировали в реакции вируснейтрализации в отношении штамма вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8). Сыворотки крови животных, иммунизированных mRNA-H5 с помощью СИ и в составе LNP, а также сыворотки животных, иммунизированных рекомбинантным белком HA/H5, обладают вируснейтрализующей активностью; средние 50% нейтрализующие титры составили 1:250, 1:1500 и 1:1900 соответственно (рис. 1В).

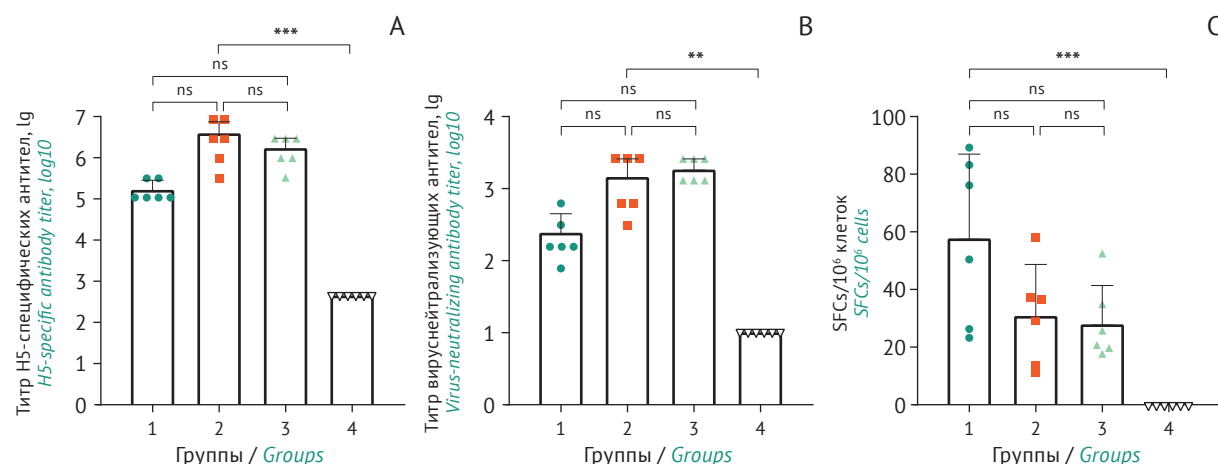


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors based on their own data

Рис. 1. Анализ иммуногенности мРНК-вакцины mRNA-H5 на модели хоряков: А — результаты иммуноферментного анализа сывороток хоряков, иммунизированных мРНК-вакциной mRNA-H5; В — вируснейтрализующая активность иммунных сывороток хоряков в отношении вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8); С — количество Т-лимфоцитов, экспрессирующих IFN-γ в ответ на стимуляцию пулом специфических пептидов, определенное методом ELISpot.

Группа 1 — животные, иммунизированные 100 мкг мРНК-вакцины mRNA-H5 с помощью струйной инъекции; группа 2 — животные, иммунизированные 30 мкг мРНК-вакцины mRNA-H5 в составе липидных наночастиц; группа 3 — животные, иммунизированные рекомбинантным белком HA/H5; группа 4 — животные, не подвергавшиеся каким-либо манипуляциям. Каждый столбик представляет собой среднее число клеток, образующих пятна IFN-γ (SFCs), на 1 млн стимулированных Т-лимфоцитов; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ns — различия статистически не значимы.

Fig. 1. Immunogenicity analysis of the mRNA-H5 vaccine in a ferret model. A, enzyme-linked immunosorbent assay results for sera from ferrets immunized with mRNA-H5 vaccine. B, Virus-neutralizing activity of immune sera from ferrets against influenza virus A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8). C, Number of T lymphocytes expressing IFN-γ in response to stimulation with a pool of specific peptides, as determined by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISpot).

Group 1, animals immunized with 100 μg of the mRNA-H5 vaccine administered by jet injection (JI); group 2, animals immunized with 30 μg of the mRNA-H5 vaccine formulated with lipid nanoparticles; group 3, animals immunized with recombinant HA/H5 protein; group 4, animals not subjected to any manipulations. Each bar represents the mean number of IFN-γ spot-forming cells (SFCs) per 1 million stimulated T lymphocytes; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; ns, not significant.

Формирование Т-клеточного иммунитета у хорьков было изучено с помощью метода ELISpot. Для этого из образцов крови иммунизированных хорьков выделяли Т-лимфоциты и оценивали их способность выделять IFN- γ в ответ на стимуляцию пептидами, входящими в состав гемагглютинаина вируса. У хорьков, иммунизированных mRNA-H5 и рекомбинантным белком HA/H5, активируется специфический Т-клеточный иммунитет, что выражается в значительном повышении количества лимфоцитов, продуцирующих IFN- γ (>15 SFCs) (рис. 1С).

Анализ результатов изучения иммуногенности показывает, что наблюдается тенденция к более высокому уровню гуморального ответа в случае доставки мРНК в составе LNP, но при этом в случае доставки методом СИ есть тенденция к более высокому уровню клеточного ответа. Активация клеточного ответа может объясняться тем, что введение мРНК методом СИ обеспечивает широкое распределение препарата в эпидермисе и дерме, в которых плотность антиген-презентирующих клеток выше, чем в мышечной ткани, тогда как при доставке в составе LNP мРНК поглощается в основном клетками мышц [22].

Не установлено статистически значимых различий титров специфических антител (данные ИФА и реакции вируснейтрализации) и в количестве Т-лимфоцитов (данные ELISpot) между группой хорьков, иммунизированных

мРНК-вакциной, и группой положительного контроля. В то же время были показаны статистически значимые различия при сравнении с группой интактных хорьков. Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности активации вирус-специфического гуморального и клеточного иммунного ответа у хорьков, иммунизированных mRNA-H5, в случае доставки методом СИ или в комплексе с LNP.

Для анализа протективных свойств был выбран циркулировавший на территории России штамм вируса гриппа A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1). Через 21 сут после второй иммунизации хорьки были заражены данным штаммом в дозе 5 LD₅₀. В течение 14 сут после заражения регистрировали физиологические реакции, смертность животных и измеряли их вес (рис. 2А). Выживаемость всех иммунизированных животных составила 100%, клинические признаки заболевания отсутствовали (рис. 2В). В группе интактных животных погибло 2 из 6 хорьков (33%), остальные животные были выведены из эксперимента из-за сильной ($>20\%$) потери веса или неврологических симптомов; у всех интактных хорьков наблюдались явные признаки заболевания, такие как плохой аппетит, хрипение и чихание, выделения из носа на внешней стороне, атаксия.

Впервые на модели хорьков продемонстрированы иммуногенные и протективные свойства

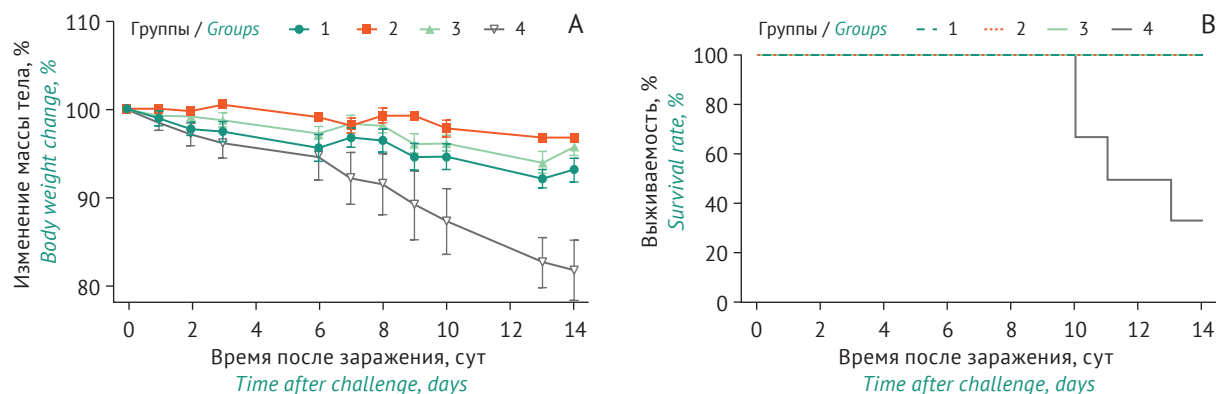


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors based on their own data

Рис. 2. Анализ протективных свойств мРНК-вакцины mRNA-H5 на модели хорьков: А — график изменения веса хорьков после заражения вирусом гриппа; В — график выживаемости хорьков после заражения 5 LD₅₀ штамма вируса гриппа A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1).

Группа 1 — животные, иммунизированные 100 мкг мРНК-вакцины mRNA-H5 с помощью струйной инъекции; группа 2 — животные, иммунизированные 30 мкг мРНК-вакцины mRNA-H5 в составе липидных наночастиц; группа 3 — животные, иммунизированные рекомбинантным белком HA/H5; группа 4 — животные, не подвергавшиеся каким-либо манипуляциям.

Fig. 2. Analysis of the protective efficacy of the mRNA-H5 vaccine in a ferret model. A, Body weight change in ferrets after challenge with influenza virus; B, Survival of ferrets after challenge with 5 LD₅₀ of the influenza virus strain A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1).

Group 1, animals immunized with 100 μ g of the mRNA-H5 vaccine administered by jet injection (JI); group 2, animals immunized with 30 μ g of the mRNA-H5 vaccine formulated with lipid nanoparticles (LNPs); group 3, animals immunized with the recombinant HA/H5 protein; group 4, animals not subjected to any manipulations.

мРНК-вакцины mRNA-H5, кодирующей модифицированный гемагглютинин штамма вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8). Важный аспект данного исследования заключается в сравнении эффективности двух разных способов доставки мРНК-вакцины (СИ и в составе LNP) в одном эксперименте. Для обоих способов показано сопоставимое формирование защитного иммунитета у животных при заражении вирусом гриппа (рис. 2). В группе с введением mRNA-H5 методом СИ установлены более низкие вируснейтрализующие титры (рис. 1B) по сравнению с группой mRNA-H5 LNP, но при этом наблюдалась тенденция к увеличению уровня Т-клеточного ответа (рис. 1C). Это позволяет предположить, что для формирования протективного иммунитета очень важна эффективная активация не только гуморального, но и Т-клеточного ответа. Необходимо отметить, что неинкапсулированная мРНК, введенная струйным инъектором, способствует обеспечению защитного иммунитета без использования LNP, имеющих ряд недостатков [9, 10]. Описанные выше данные согласуются с данными нашей предыдущей работы на мышах [11] и являются продолжением изучения mRNA-H5 на другой модели животных — хорьках, которые представляют собой более релевантную модель для исследования патогенеза вируса гриппа. Таким образом, мРНК-вакцина mRNA-H5 является перспективным вакцинным кандидатом для профилактики заболевания, вызываемого высокопатогенным вирусом гриппа птиц подтипа H5Nx.

Необходимо отметить следующие ограничения данного исследования. На хорьках была исследована только одна доза мРНК для каждого метода доставки (100 мкг для СИ и 30 мкг для LNP),

выбранная на основании экспериментальных данных на мышах и анализа данных литературы; целесообразен анализ дозозависимого эффекта mRNA-H5 на хорьках и более тщательный подбор дозы. Протективные свойства вакцины изучены только на гомологичном штамме вируса гриппа и в дозе 5 LD₅₀; необходимо изучение на более широком спектре штаммов и диапазоне доз. Дальнейшая работа будет направлена на преодоление указанных ограничений.

ВЫВОДЫ

1. При введении mRNA-H5 в организм хорька в дозе 30 мкг в комплексе с липидными наночастицами и в дозе 100 мкг с помощью струйной инъекции индуцируется как вирус-специфический гуморальный, так и Т-клеточный ответ.
2. Формирование Т-клеточного иммунного ответа следует из значительного увеличения количества лимфоцитов, продуцирующих IFN-γ в ответ на стимуляцию пулом специфических пептидов к гемагглютинуину HA/H5.
3. Формирование вирус-специфического гуморального иммунного ответа подтверждено при изучении вируснейтрализующей активности сывороток крови иммунизированных хорьков; продемонстрировано формирование нейтрализующих антител в отношении штамма вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8).
4. Результаты изучения протективных свойств mRNA-H5 указывают на способность вакцины обеспечивать 100% защиту хорьков от гибели при заражении 5 LD₅₀ штамма вируса гриппа A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023 (H5N1) при использовании обоих методов доставки.

Литература/References

1. Lam JY, Yuen CK, Cheung SK, et al. Nasal RNA-scaffold-protein vaccine protects mice from human H5N1 clade 2.3.4.4b virus lethal infection and safeguards against vaccine-unmatched viruses. *EBio-Medicine*. 2026;126:106228. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2026.106228>
2. Hannoun C. The evolving history of influenza viruses and influenza vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2013;12(9):1085–94. <https://doi.org/10.1586/14760584.2013.824709>
3. Mostafa A, Nogales A, Martinez-Sobrido L. Highly pathogenic avian influenza H5N1 in the United States: Recent incursions and spillover to cattle. *Npj Viruses*. 2025;3(1):54. <https://doi.org/10.1038/s44298-025-00138-5>
4. Uyeki TM, Milton S, Abdul Hamid C, et al. Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N1) Virus infection in a dairy farm worker. *N Engl J Med*. 2024;390(21):2028–9. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2405371>
5. Li H, Huang M, Feng S, et al. Preclinical evaluation of an mRNA vaccine developed from the first human isolate of bovine H5N1. *Cell Rep Med*. 2026;7(4):102702. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2026.102702>
6. Marchenko VY, Panova AS, Kolosova NP, et al. Characterization of H5N1 avian influenza virus isolated from bird in Russia with the E627K mutation in the PB2 protein. *Sci Rep*. 2024;14(1):26490. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-78175-y>
7. Wang Z, Tian C, Zhu J, et al. Avian influenza mRNA vaccine encoding hemagglutinin provides complete protection against divergent H5N1 viruses in specific-pathogen-free chickens. *J Nanobiotechnology*. 2025;23(1):55. <https://doi.org/10.1186/s12951-025-03156-w>
8. Sharabrin SV, Krasnikova SI, Kisaikov DN, et al. A naked lyophilized mRNA vaccine against seasonal influenza, administered by jet injection, provides a robust response in immunized mice. *Vaccines (Basel)*. 2026;14(1):56. <https://doi.org/10.3390/vaccines14010056>
9. Michel T, Luft D, Abraham MK, et al. Cationic nanoliposomes meet mRNA: Efficient delivery of modified mRNA using hemocompatible and stable vectors for therapeutic applications. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2017;8:459–68. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2017.07.013>
10. Hatziantoniou S, Maltezou HC, Tsakris A, et al. Anaphylactic reactions to mRNA COVID-19 vaccines: A call for further study. *Vaccine*. 2021;39(19):2605–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.03.073>
11. Yakovlev VA, Litvinova VR, Rudometova NB, et al. Immunogenic and protective properties of mRNA vaccine encoding hemagglutinin of

- avian influenza A/H5N8 virus, delivered by lipid nanoparticles and needle-free jet injection. *Vaccines (Basel)*. 2025;13(8):883. <https://doi.org/10.3390/vaccines13080883>
12. Belser JA, Szretter KJ, Katz JM, Tumpey TM. Use of animal models to understand the pandemic potential of highly pathogenic avian influenza viruses. *Adv Virus Res*. 2009; 73:55–97. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(09\)73002-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(09)73002-7)
 13. Lowen AC, Mubareka S, Tumpey TM, et al. The guinea pig as a transmission model for human influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(26):9988–92. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604157103>
 14. Septer KM, Sim DG, Patel DR, et al. Immunity to hemagglutinin and neuraminidase results in additive reductions in airborne transmission of influenza H1N1 virus in ferrets. *Sci Adv*. 2026;12(11):eaea8719. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aea8719>
 15. Belser JA, Barclay W, Barr I, et al. Ferrets as models for influenza virus transmission studies and pandemic risk assessments. *Emerg Infect Dis*. 2018;24(6):965–71. <https://doi.org/10.3201/eid2406.172114>
 16. Kim CU, Choi WS, Lee P, et al. A consensus HA DNA vaccine targeting clade 2.3.4.4 H5Nx influenza viruses provides broad cross-clade protection in mice and ferrets. *Biomed Pharmacother*. 2025;191:118485. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.118485>
 17. Belser JA, Katz JM, Tumpey TM. The ferret as a model organism to study influenza A virus infection. *Dis Model Mech*. 2011;4(5):575–9. <https://doi.org/10.1242/dmm.007823>
 18. Furey C, Scher G, Ye N, et al. Development of a nucleoside-modified mRNA vaccine against clade 2.3.4.4b H5 highly pathogenic avian influenza virus. *Nat Commun*. 2024;15(1):4350. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-48555-z>
 19. Hatta M, Brock N, Hauguel T, et al. Influenza mRNA vaccine reduces pathogenicity and transmission of A(H5N1) virus in a ferret model. *NPJ Vaccines*. 2025;10(1):263. <https://doi.org/10.1038/s41541-025-01318-3>
 20. Rudometova NB, Fando AA, Kisakova LA, et al. Immunogenic and protective properties of recombinant hemagglutinin of influenza A (H5N8) virus. *Vaccines (Basel)*. 2024;12(2):143. <https://doi.org/10.3390/vaccines12020143>
 21. Litvinova VR, Rudometov AP, Rudometova NB, et al. DNA vaccine encoding a modified hemagglutinin trimer of avian influenza A virus H5N8 protects mice from viral challenge. *Vaccines (Basel)*. 2024;12(5):538. <https://doi.org/10.3390/vaccines12050538>
 22. Abbasi S, Matsui-Masai M, Yasui F, et al. Carrier-free mRNA vaccine induces robust immunity against SARS-CoV-2 in mice and non-human primates without systemic reactogenicity. *Mol Ther*. 2024;32(5):1266–83. <https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2024.03.022>

Дополнительная информация. На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» опубликовано Приложение 1. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-3-276-286-annex>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **В.Р. Литвинова, А.С. Гудымо, В.А. Яковлев, Т.Н. Ильичёва, В.Ю. Марченко, Л.И. Карпенко, А.А. Ильичёв, А.П. Рудомётов** — концепция работы, написание текста рукописи, формулировка выводов; **М.Б. Боргоякова, Е.В. Старостина, Е.В. Яковлева, К.И. Иванова, О.Н. Перфильева, К.П. Макарова, Д.И. Вахитов, Н.В. Данильченко, М.Л. Егорова, Н.Н. Васильцова** — получение экспериментальных данных; **С.В. Шарабрин, Н.Б. Рудомётова, Д.Н. Кисаков, Л.А. Кисакова** — участие в формулировке выводов, утверждение окончательной версии статьи для публикации.

Соответствие принципам этики. Эксперименты с животными проводили с соблюдением принципов гуманности в соответствии с протоколами, утвержденными Bioэтическим комитетом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Протокол № 3 от 03.04.2025).

Использование генеративного искусственного интеллекта. Авторы заявляют, что не использовали генеративный ИИ при подготовке рукописи.

Supplementary information. Supplementary material 1 is available on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-3-276-286-annex>

Author contributions. All authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **V.R. Litvinova, A.S. Gudymo, V.A. Yakovlev, T.N. Ilyicheva, V.Yu. Marchenko, L.I. Karpenko, A.A. Ilyichev, A.P. Rudometov** conceptualized the study, drafted the manuscript, and formulated the conclusions. **M.B. Borgoyakova, E.V. Starostina, E.V. Yakovleva, K.I. Ivanova, O.N. Perflyeva, K.P. Makarova, D.I. Vahitov, N.V. Danilchenko, M.L. Egorova, N.N. Vasiltsova** contributed to the acquisition of experimental data. **S.V. Sharabrin, N.B. Rudometova, D.N. Kisakov, L.A. Kisakova** participated in formulating the conclusions and approved the final version of the manuscript for publication.

Ethics approval. Animal experiments were conducted in compliance with humane principles and in accordance with the protocols approved by the Bioethics Committee of the Federal Budgetary Research Institution State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector” (Protocol No. 3 dated April 3, 2025).

Use of generative artificial intelligence. The authors declare that they did not use generative AI in the preparation of this manuscript.

Об авторах / Authors

Литвинова Виктория Руслановна / Victoria R. Litvinova

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-6524-3222>

Гудымо Андрей Сергеевич / Andrei S. Gudymo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6952-6412>

Яковлев Владимир Андреевич / Vladimir A. Yakovlev

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-4563-2099>

Боргоякова Мария Борисовна, канд. биол. наук / Mariya B. Borgoyakova, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0768-1561>

Старостина Екатерина Владимировна, канд. биол. наук / Ekaterina V. Starostina, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1733-9524>

Яковлева Елена Витальевна / Elena V. Yakovleva

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-5203-2130>

Иванова Ксения Ивановна / Ksenia I. Ivanova

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-3191-1360>

Перфильева Ольга Николаевна / Olga N. Perflyeva

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4170-0552>

Макарова Кристина Петровна / Kristina P. Makarova

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-2309-0137>

Вахитов Данил Игоревич / Danil I. Vahitov

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-0706-8119>

Данильченко Наталья Викторовна / Natalia V. Danilchenko

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2655-4629>

Егорова Марина Леонидовна / Marina L. Egorova

Васильцова Наталья Николаевна / Natalya N. Vasiltsova

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-1548-5608>

Шарабрин Сергей Валерьевич, канд. биол. наук / **Sergei V. Sharabrin**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0664-3587>

Рудомётова Надежда Борисовна, канд. биол. наук / **Nadezhda B. Rudometova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1684-9071>

Кисаков Денис Николаевич / Denis N. Kisakov

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4889-6865>

Кисакова Любовь Александровна / Lyubov A. Kisakova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7214-1855>

Ильичёва Татьяна Николаевна, д-р биол. наук, доц. / **Tatiana N. Ilyicheva**, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2354-7688>

Марченко Василий Юрьевич, д-р биол. наук / **Vasiliy Yu. Marchenko**, Dr. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1339-6732>

Карпенко Лариса Ивановна, д-р биол. наук, доц. / **Larisa I. Karpenko**, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4365-8809>

Ильичёв Александр Алексеевич, д-р биол. наук, проф. / **Alexander A. Ilyichev**, Dr. Sci. (Biol.), Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5356-0843>

Рудомётов Андрей Павлович, канд. биол. наук / **Andrey P. Rudometov**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2808-4309>

Поступила 27.04.2026

После доработки 25.08.2026

Принята к публикации 25.09.2026

Received April 27, 2026

Revised August 25, 2026

Accepted September 25, 2026