

М.А. Ефимова^{1, 2, 3, ✉}
А.Г. Галеева^{1, 2, 3},
А.И. Хамидуллина¹,
Р.Х. Равилов¹

¹ Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, Казань, Российская Федерация

² Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности — Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт, Казань, Российская Федерация

³ Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Российская Федерация

✉ antonina-95@yandex.ru

Поступила в редакцию:
02.02.2023

Одобрена после рецензирования:
15.02.2023

Принята к публикации:
01.03.2023

Marina A. Efimova^{1, 2, 3, ✉}
Antonina G. Galeeva^{1, 2, 3},
Alina I. Khamidullina¹,
Rustam Kh. Ravilov¹

¹ Kazan state academy of veterinary medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russian Federation

² Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety — All-Russian scientific research veterinary institute, Kazan, Russian Federation

³ Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation

✉ antonina-95@yandex.ru

Received by the editorial office:
02.02.2023

Accepted in revised:
15.02.2023

Accepted for publication:
01.03.2023

Анализ иммунодоминантных пептидов вируса африканской чумы свиней для конструирования кандидатных вакцин

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Профилактика и борьба с АЧС значительно затруднены из-за отсутствия доступных вакцин и эффективных терапевтических мер. Вирус АЧС способен вмешиваться в различные клеточные сигнальные пути, приводя к иммуномодуляции, что делает разработку эффективной вакцины крайне сложной задачей. Ввиду того что известные стратегии разработки вакцин против АЧС имеют различные ограничения, в настоящее время продолжается поиск перспективных платформ для разработки безопасных и эффективных препаратов для борьбы с вирусом. Основой для конструирования кандидатных вакцин являются выбор иммуногенных пептидов, обеспечивающих устойчивые гуморальные и клеточные иммунные ответы, и определение потенциальных мишеней иммунных реакций.

Методы. Анализ 31 кандидатной аминокислотной последовательности более 100 штаммов и эпизоотических изолятов вируса африканской чумы свиней был осуществлен с использованием стандартных биоинформатических методов.

Результаты. На основании выявленных в ходе первичного анализа количества Т- и В-клеточных эпитопов, типа и выраженности иммунного ответа у целевых животных было установлено, что наибольшим иммуногенным потенциалом обладают протеины p72 (B646L), p30 (CP204L), p54 (E183L), pp62 (CP530R), pp220 (CP2475L). Для анализируемых протеинов были определены in silico сайты N- и O-гликозилирования, локализация сигнальных пептидов и трансмембранных доменов, а также предсказаны их основные физико-химические свойства. Применение предложенных подходов позволило отобрать потенциально иммуногенные эпитопы протеинов вируса АЧС, которые в перспективе будут использованы для конструирования новых кандидатных векторных вакцин. Учитывая количество антигенных детерминант, рассматриваемые протеины, на наш взгляд, имеют значительный вакцинный потенциал, однако реальные данные об их иммуногенности будут установлены при практическом испытании разрабатываемых векторных конструкций.

Ключевые слова: африканская чума свиней, кандидатные вакцины, in silico прогнозирование, анализ иммуногенности пептида

Для цитирования: Ефимова М.А., Галеева А.Г., Хамидуллина А.И., Равилов Р.Х. Анализ иммунодоминантных пептидов вируса африканской чумы свиней для конструирования кандидатных вакцин. *Аграрная наука*. 2023; 368(3): 40–45. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-368-3-40-45>

© Ефимова М.А., Галеева А.Г., Хамидуллина А.И., Равилов Р.Х.

Analysis of immunodominant African swine fever virus peptides for candidate vaccine design

ABSTRACT

Relevance. Prevention and control of ASF is significantly hampered by the lack of available vaccines and effective therapeutic measures. The ASF virus is capable of interfering with various cellular signaling pathways, leading to immunomodulation, which makes the development of an effective vaccine extremely difficult. Given the various limitations of known strategies for the development of ASF vaccines, the search for promising platforms for the development of safe and effective drugs to combat the virus is ongoing. The basis for the design of candidate vaccines is the choice of immunogenic peptides that provide stable humoral and cellular immune responses and the identification of potential targets for immune responses.

Methods. In this study, 31 candidate amino acid sequences of more than 100 strains and epizootic isolates of the African swine fever virus was analyzed using standard bioinformatic methods.

Results. Based on the number of T- and B-cell epitopes identified during the initial analysis, the type and severity of the immune response in target animals, it was found that the proteins p72 (B646L), p30 (CP204L), p54 (E183L), pp62 (CP530R), pp220 (CP2475L) have the greatest immunogenic potential. For the analyzed proteins, the N- and O-glycosylation sites, the localization of signal peptides and transmembrane domains were determined in silico, and their main physicochemical properties were predicted. The application of the proposed approaches made it possible to select potentially immunogenic epitopes of ASFV proteins, which in the future will be used to design new candidate vector vaccines. Given the number of antigenic determinants, the considered proteins, in our opinion, have a significant vaccine potential, however, real data on their immunogenicity will be established during practical testing of the developed vector constructs.

Key words: african swine fever, candidate vaccines, in silico forecasting, peptide immunogenicity assay

For citation: Efimova M.A., Galeeva A.G., Khamidullina A.I., Ravilov R.Kh. Analysis of immunodominant African swine fever virus peptides for candidate vaccine design. *Agrarian science*. 2023; 368(3): 40–45. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-368-3-40-45> (In Russian).

© Efimova M.A., Galeeva A.G., Khamidullina A.I., Ravilov R.Kh.

Введение / Introduction

Вirus африканской чумы свиней (АЧС) — сложный оболочечный дезоксирибонуклеопротеид семейства *Asfarviridae*, поражающий домашних и диких свиней и переносимый клещами-мягкотелками рода *Ornithodoros* [1]. Вирусный геном представлен двухцепочечной ДНК размером от 170 до 195 т. п. н. и кодирует более 150 полипептидов с молекулярными массами от 10 до 150 кДа [2], не менее 50 из которых являются компонентами вириона [3]. По своим функциональным характеристикам они подразделяются на несколько основных групп: белки прикрепления и проникновения; белки вирусного морфогенеза; белки тропизма и вирулентности; регуляторные белки [4].

Вirus АЧС при диаметре вирусных частиц, достигающем 260–300 нм, имеет многослойную структуру, включающую наружную оболочку, капсид, внутреннюю оболочку, сердцевинную оболочку и нуклеоид [5]. Внешняя оболочка, как правило, формируется из клеточной мембраны хозяина в процессе отпочковывания вируса и характеризуется наличием белков: *CD2v* — основного маркера вневирусной структуры и *p12*, обеспечивающего адсорбцию вирионов путем связывания со специфическими рецепторами клеточной мембраны хозяина [6]. Вирусный капсид диаметром около 250 нм состоит из белков *p72*, образующего псевдогексамерные капсомеры, *pB438L*, необходимого для формирования вершин капсида, *pE120R*, ответственного за транспорт вируса от места сборки к цитоплазматической мембране, а также минорных капсидных белков *M1249L*, *p17*, *p49*, *H240R* [7]. В формировании третьего слоя — двухслойной липидной внутренней оболочки — задействованы *p17* и *p54*, участвующие в сборке капсидного слоя, *pE248R*, *pE199L*, являющиеся частью механизма вирусной интеграции, и белок прикрепления *p12*, который ранее считался находящимся на внешней мембране [8]. Сердцевинная оболочка состоит из предшественников полипротеинов *pp220* (*p150*, *p37*, *p34*, *p14*, *p5*), *pp62* (*p35*, *p15*, *p8*) и цистеиновой протеазы *pS273R*. Нуклеоид ASFV диаметром 70–100 нм представляет собой электроплотную структуру, включающую вирусный геном и связанные с ним белки, такие как структурный протеин *p10*, *pA104R*, и части транскрипционного аппарата. Помимо структурных белков, геном ASFV кодирует ряд ферментов, участвующих в транскрипции генов: мультисубъединичные ДНК-полимеразы, полиаденилат-полимеразы, блокирующие ферменты и факторы ранней транскрипции [9].

Большинство белков ASFV обладают ограниченным количеством экспериментально доказанных функций, а функциональная геномика вируса базируется преимущественно на прогнозах на основе консервативных аминокислотных последовательностей. Определение роли белков вируса АЧС в развитии инфекционного процесса имеет решающее значение для раскрытия патогенеза АЧС, а также механизмов, обеспечивающих способность вируса к уклонению от обнаружения иммунной системой организма-хозяина.

При выборе иммуногенных пептидов для конструирования кандидатных вакцин прежде всего необходимо определить потенциальные мишени иммунных реакций, что достигается посредством анализа геномных и кодируемых ими аминокислотных последовательностей [10]. В связи с этим цели настоящего исследования — поиск и биоинформатический анализ иммунодоминантных пептидов ASFV для конструирования кандидатной вакцины против АЧС.

Материал и методы исследования / Material and methods

Анализ 31 кандидатной протеиновой последовательности более 100 штаммов и эпизоотических изолятов ASFV, полученных из депозитария Национального центра биотехнологической информации (NCBI, США), проводили с использованием методов *in silico* прогнозирования по базе данных иммуногенных эпитопов The Immune Epitope Database (IEDB) (NIH, США). Анализ был произведен относительно следующих протеинов: *B169L*, *C257L*, *I329L*, *pI243L* (*TFIIS*), *A151R*, *B602L*, *H339R*, *p14.5*, *p72*, *p54*, *p30*, *pp62*, *MGF 100-2L*, *MGF 110-1L*, *MGF 110-4L*, *MGF 110-6L*, *MGF 300-1L*, *MGF 300-4L*, *MGF 360-1L*, *MGF 360-2L*, *M1249L*, *p17*, *p49*, *p12*, *p22*, *p54*, *pE248R*, *I226R*, *EP153R*, *H240R*, *pp220*. Поиск трансмембранных доменов и сигнальных пептидов осуществляли при помощи онлайн-ресурсов TMHMM 2.0 и SignalP 5.0 (DTU Health Tech, Дания). Прогнозирование сайтов N- и O-гликозилирования осуществляли при помощи сервисов NetNGlyc 1.0 и DictyOGlyc 1.1 (DTU Health Tech, Дания) при установленных стандартных параметрах.

Физико-химические свойства протеинов определяли при помощи онлайн-ресурса Peptide Property Calculator — www.pepcalc.com (Innovagen AB, Швеция).

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Известно, что антигенные эпитопы, способные к индукции Т- и В-клеточного иммунитета, позиционируются как перспективные кандидаты для конструирования вакцин и диагностических тестов. Ключевым этапом конструирования вакцин является прогнозирование иммуногенных эпитопов [11].

Таблица 1. Наличие иммуногенных эпитопов в структуре кандидатных протеинов вируса АЧС
Table 1. Presence of immunogenic epitopes in the structure of candidate ASFV proteins

Протеин	Тип иммунного ответа	Позиции эпитопов в аминокислотной последовательности
<i>MGF100-2L</i>	Т-клеточный	68–86
<i>p54</i>	В-клеточный	54–68, 61–76, 65–80, 65–76, 71–84, 83–97, 88–102, 93–107, 94–108, 98–114, 98–113, 113–127, 115–127, 118–132, 119–128, 123–137, 128–142, 134–148, 165–181
<i>p30</i>	В-клеточный	11–30, 12–18, 23–33, 24–60, 40–80, 61–90, 61–93, 61–110, 84–91, 91–130, 91–103, 96–105, 111–160, 116–125, 123–137, 143–182, 144–154, 146–160, 161–204, 175–196
<i>p72</i>	Преимущественно В-клеточный	37–48, 179–210, 242–269, 364–395, 455–465, 518–552, 586–595
<i>pp220</i>	Преимущественно В-клеточный	161–169, 214–221, 374–389, 488–520, 505–520, 538–559, 543–551, 544–554, 549–559, 859–867, 976–985, 1129–1146, 1362–1370, 1462–1470, 1539–1561, 1546–1556, 1795–1807, 1889–1898, 1973–1989, 2019–2029, 2095–2121, 2096–2103, 2226–2234
<i>pp62</i>	Т-клеточный	225–235, 232–241, 358–365
<i>CD2v</i>	В-клеточный	279–287
<i>S273R</i>	В-клеточный	12–29, 37–51, 96–104, 113–122, 133–151, 174–185, 223–233

Фосфопротеин *p30* обладает наиболее высокой экспрессией на ранней стадии инфекции и является одним из наиболее антигенных белков ASFV, индуцирующих образование вируснейтрализующих антител у инфицированных свиней [9]. Несмотря на то что ранние исследования продемонстрировали роль *p30* в интернализации вируса в клетку-хозяина, его регуляторная функция в процессах инфицирования остается в значительной степени неизвестной [13]. В структуре *p30* было выявлено 20 иммуногенных участков с преимущественно В-клеточным типом иммунного ответа; протеин является высокоиммуногенным. Трансмембранные домены и сигнальные пептиды не выражены, определен один сайт N-гликозилирования.

Полипротеин *pp220* представляет собой N-миристоилированный полипептид, который в ходе протеолитического процессинга образует белки *p150*, *p37*, *p34* и *p14*, присутствующие внутри зрелого вириона в эквимольном количестве и составляющие до четверти его общей белковой массы. Мажорные белки *p35* и *p15* также являются продуктами процессинга предшественника *pp62* и участвуют в морфогенезе основных компонентов вириона. Оба полипротеина экспрессируются на поздних стадиях инфекции и подвергаются посттрансляционному процессингу вирусной цистеиновой протеиназой *pS273R* [9]. В структуре *pp220* были определены 23 сайта N-гликозилирования, 20 иммуногенных участков с преимущественно В-клеточным типом иммунного ответа; трансмембранных доменов и сигнальных пептидов не выявлено.

Капсидный белок *p72*. Икосаэдрический капсид ASFV состоит из 8280 копий *p72*, кодируемого геном *B646L*, на долю которого приходится около 32% от общей массы вирусных частиц [7, 14], что делает его основным антигеном, обнаруживаемым у инфицированных свиней. Более того, благодаря своей иммуногенности и антигенной стабильности *p72* используется в рутинной серологической диагностике АЧС [15]. Отдельные исследования показали, что для образования икосаэдрического вирусного капсида необходим также белок *B602L*, описанный как молекулярный шаперон для правильной укладки *p72* [16]. В структуре *p72* было выявлено 12 иммуногенных эпитопов с преимущественно В-клеточным типом иммунного ответа, а также 7 сайтов N-гликозилирования. Выраженные трансмембранные домены и сигнальные пептиды отсутствуют.

Полипротеин *pp62*. Роль полипротеина *pp62* в построении коровой оболочки вируса малоизучена, однако предполагается, что совместно с миристоилированным *pp220* он формирует сердцевинную оболочку вириона, связанную с липидной мембраной. В структуре *pp62* было обнаружено три эпитопа с Т-клеточным типом иммунного ответа. Определены шесть сайтов N-гликозилирования; трансмембранные домены и сигнальные пептиды отсутствуют.

Таким образом, структура всех представленных белков обладает потенциалом для формирования иммунного ответа. Кроме того, имеются данные о формировании одного случая Т-клеточного иммунного ответа

Таблица 3. Физико-химические свойства кандидатных протеинов ASFV по данным Peptide Property Calculator — www.pepcalc.com (Innovagen AB, Швеция)

Table 3. Physicochemical properties of candidate ASFV proteins по данным Peptide Property Calculator — www.pepcalc.com (Innovagen AB, Sweden)

Название	Молекулярная масса, г/моль	Коэффициент экстинкции, М ⁻¹ × см ⁻¹	Суммарный заряд при нейтральном pH	Изоэлектрическая точка, pH	Растворимость в воде
<i>MGF 100-2L</i> (141 a.o.)	16 803,54	25 460	3,1	8,39	хорошая
<i>p54</i> (175 a.o.)	18 929,25	13 370	-1,8	5,86	хорошая
<i>p30</i> (182 a.o.)	20 958,45	20 340	-7,5	5,07	хорошая
<i>pp220</i> (2475 a.o.)	281 478,36	217 050	-12,8	6,22	хорошая
<i>p72</i> (646 a.o.)	73 154,02	84 490	3,5	7,55	плохая
<i>pp62</i> (530 a.o.)	60 516,55	59 740	-2,6	6,58	хорошая
<i>CD2v</i> (402 a.o.)	45 324,15	45 230	9,1	8,07	плохая
<i>S273R</i> (273 a.o.)	31 579,94	35 560	8,3	8,71	хорошая

к *MGF 100-2L*, а также слабо выраженного В-клеточного иммунного ответа к последовательностям *CD2v* и цистеиновой протеазы *S273R* [17]. Карты аминокислотных последовательностей анализируемых протеинов с указанием локализации Т- и В-клеточных эпитопов, сигнальных пептидов, сайтов N- и О-гликозилирования и трансмембранных доменов представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы, аминокислотные последовательности *p54*, *p30*, *pp220*, *pp62*, *pS273R* представлены экзогенной структурой без внутренней части молекулы, трансмембранных доменов и сигнальных пептидов, что подразумевает возможность формирования иммунного ответа: многие исследователи отмечают, что мембранная топология белков коррелирует с их иммуногенностью [18, 19]. Последовательности *MGF 100-2L*, *p54*, *p72* и *CD2v* характеризуются наличием, кроме экзогенной последовательности, трансмембранного домена и (в случае последовательностей *p54* и *CD2v*) наличием внутренней части белковой молекулы. В последовательности *CD2v*, помимо этого, идентифицирован и сигнальный пептид. Сообщается, что присутствие лидерного пептида может способствовать повышению стабильности и растворимости целевого белка при гетерологичной экспрессии, а также уровней его внеклеточной секреции [20]. Кроме того, в недавних исследованиях было показано, что сигнальный пептид способен стимулировать клеточный ответ и может быть использован как самостоятельный вакцинный кандидат [21].

На следующем этапе исследования для прогнозирования безопасности и эффективности применения белков в качестве компонентов вакцин была проведена оценка их физико-химических свойств. Известно, что конформация синтезируемого рекомбинантного белка может отличаться от той, которую он имеет в клетке, что может приводить к изменению его свойств и влиять на эффективность конъюгации с адъювантами. Нами были рассчитаны физико-химические параметры отобранных протеинов, влияющие на их стабильность и растворимость при экспрессии *in vitro* и применении *in vivo*: молекулярная масса, коэффициент экстинкции, суммарный заряд при нейтральном pH, изоэлектрическая точка *pI* и степень растворимости в воде. Обобщенная пептидная калькуляция анализируемых

аминокислотных последовательностей представлена в таблице 3.

Вакцинный потенциал некоторых исследуемых белков был частично изучен ранее. Так, в ряде работ были идентифицированы белки, отвечающие за способность к интернализации вируса: *p72*, *p54* и *p30*. Показано, что антитела к белкам *p72* и *p54* могут ингибировать связывание вируса с клетками, а антитела к *p30* — непосредственно интернализацию вируса [22]. Были идентифицированы и другие белки вируса АЧС, которые также отвечают за проникновение и распространение вируса, в частности *EP402R*, *p12*, *D117L* [23]. Применение данных белков в качестве протективных антигенов обеспечивало только частичную защиту, однако не защищало животных от вирусов АЧС гетерологического происхождения [11]. Исходя из локализации, структуры и функций белков, проявляемых в оболочке вирионов и цитоплазме инфицированных клеток, а также последствий иммунизации свиней рекомбинантными белками либо ДНК-конструкциями, в качестве потенциально иммуногенных рассматривались также различные комбинации белков *p72*, *p54*, *p30*, *CD2v* [15]. Экспериментально и теоретически обоснованной является гипотеза о том, что формирование

вирусоспецифической защиты при АЧС должно базироваться на нескольких белках, каждый из которых способен индуцировать гуморальные либо клеточные эффекторы иммунитета [24, 25]. Для того чтобы избежать нежелательной индукции антител и усилить специфические ответы, целесообразным представляется создание генетических конструкций, кодирующих несколько антигенных детерминант, что, в свою очередь, подразумевает поиск новых мишеней, которые будут использоваться в исследованиях по разработке вакцин.

Выводы / Conclusion

Применение биоинформатических подходов позволило отобрать потенциально иммуногенные протеины вируса АЧС, которые в перспективе будут использоваться для конструирования новых кандидатных векторных вакцин. Учитывая количество антигенных детерминант, наибольший потенциал для применения в качестве вакцинного антигена, на наш взгляд, имеют протеины *p54*, *p30*, *p72*, *pp62*, однако реальные данные об их иммуногенности будут установлены при практическом испытании рекомбинантных антигенов.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу.

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work.

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-76-00013 «Оценка эффективности векторной системы на основе аденоассоциированного вируса для доставки генов, кодирующих иммунодоминантные белки вируса африканской чумы свиней, в клетки млекопитающих».

FUNDING

The materials were prepared as part of the grant of Russian Science Foundation No. 22-76-00013 «Evaluation of the effectiveness of a vector system based on adeno-associated virus for the delivery of genes encoding immunodominant proteins of the African swine fever virus into mammalian cells».

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Alejo A., Matamoros T., Guerra M., Andrés G. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle. *J. Virol.* 2018; 92: e01293-18. DOI: 10.1128/JVI.01293-18
- Gonzalez A., Talavera A., Almendral J.M., Viñuela E. Hairpin loop structure of African swine fever virus DNA. *Nucleic Acids Res.* 1986; 14(17): 6835-6844. DOI: 10.1093/nar/14.17.6835
- Dixon L.K., Chapman D.A.G., Netherton C.L., Upton C. African swine fever virus replication and genomics. *Virus Res.* 2013; 173: 3-14. DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.020.
- Власова Н.Н. и др. Проблемы специфической профилактики африканской чумы свиней. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67(3): 206-216. DOI: 10.36233/0507-4088-117
- Xian Y., Xiao C. The Structure of ASFV Advances the Fight Against the Disease. *Trends Biochem Sci.* 2020; 45: 276-278. DOI 10.1016/j.tibs.2020.01.007
- Angulo A., Viñuela E., Alcamí A. Inhibition of African Swine Fever Virus Binding and Infectivity by Purified Recombinant Virus Attachment Protein P12. *J. Virol.* 1993; 67: 5463-5471. DOI: 10.1128/jvi.67.9.5463-5471.1993
- Wang N. *et al.* Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly. *Science.* 2019; 366: 640-644. DOI: 10.1126/science.aaz1439
- Rodríguez J.M., García-Escudero R., Salas M.L., Andrés G. African Swine Fever Virus Structural Protein P54 Is Essential for the Recruitment of Envelope Precursors to Assembly Sites. *J. Virol.* 2004; 78: 4299-4313. DOI: 10.1128/JVI.78.8.4299-4313.2004
- Salas M.L., Andrés G. African Swine Fever Virus Morphogenesis. *Virus Res.* 2013; 173: 29-41. DOI: 10.1016/j.virusres.2012.09.016.
- Соболев Б.Н., Порошков В.В., Оленина Л.В., Колесанова Е.Ф., Арчаков А.И. Компьютерное конструирование вакцин. *Биомедицинская химия.* 2003; 49(4): 309-332. eLIBRARY ID: 21358056
- Mima K.A., Katorkina E.I., Katorkin S.A., Цыбанов С.Ж., Малоголовкин А.С. *In silico* идентификация В- и Т-клеточных эпитопов белка CD2v вируса африканской чумы свиней (*African swine fever virus*, *Asfarviridae*). *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(2): 103-112. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-103-112
- Mima K.A., Burmakina G.S., Titov I.A., Malogolovkin A.S. African swine fever virus glycoproteins p54 and CD2v in the context of immune response modulation: bioinformatic analysis of genetic variability and heterogeneity. *Agricultural biology.* 2015; 6(50): 785-793. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.6.785rus

REFERENCES

- Alejo A., Matamoros T., Guerra M., Andrés G. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle. *J. Virol.* 2018; 92: e01293-18. DOI: 10.1128/JVI.01293-18
- Gonzalez A., Talavera A., Almendral J.M., Viñuela E. Hairpin loop structure of African swine fever virus DNA. *Nucleic Acids Res.* 1986; 14(17): 6835-6844. DOI: 10.1093/nar/14.17.6835
- Dixon L.K., Chapman D.A.G., Netherton C.L., Upton C. African swine fever virus replication and genomics. *Virus Res.* 2013; 173: 3-14. DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.020.
- Vlasova N.N. *et al.* Problems of specific prevention of African swine fever. *Voprosy virusologii.* 2022; 67(3): 206-216. DOI 10.36233/0507-4088-117 (In Russian).
- Xian Y., Xiao C. The Structure of ASFV Advances the Fight Against the Disease. *Trends Biochem Sci.* 2020; 45: 276-278. DOI 10.1016/j.tibs.2020.01.007
- Angulo A., Viñuela E., Alcamí A. Inhibition of African Swine Fever Virus Binding and Infectivity by Purified Recombinant Virus Attachment Protein P12. *J. Virol.* 1993; 67: 5463-5471. DOI: 10.1128/jvi.67.9.5463-5471.1993
- Wang N. *et al.* Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly. *Science.* 2019; 366: 640-644. DOI: 10.1126/science.aaz1439
- Rodríguez J.M., García-Escudero R., Salas M.L., Andrés G. African Swine Fever Virus Structural Protein P54 Is Essential for the Recruitment of Envelope Precursors to Assembly Sites. *J. Virol.* 2004; 78: 4299-4313. DOI: 10.1128/JVI.78.8.4299-4313.2004
- Salas M.L., Andrés G. African Swine Fever Virus Morphogenesis. *Virus Res.* 2013; 173: 29-41. DOI: 10.1016/j.virusres.2012.09.016.
- Sobolev B.N., Poroykov V.V., Olenina L.V., Kolesanova E.F., Archakov A.I. Computer-aided design of vaccines. *Biomeditsinskaya Khimiya.* 2003; 49(4): 309-332. eLIBRARY ID: 21358056 (In Russian).
- Mima K.A., Katorkina E.I., Tsybanov S.Zh., Malogolovkin A.S. *In silico* prediction of B- and T-cell epitope in the CD2v protein of African swine fever virus (*African swine fever virus*, *Asfarviridae*). *Voprosy virusologii.* 2020; 65(2): 103-112. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-103-112 (In Russian).
- Mima K.A., Burmakina G.S., Titov I.A., Malogolovkin A.S. African swine fever virus glycoproteins p54 and CD2v in the context of immune response modulation: bioinformatic analysis of genetic variability and heterogeneity. *Agricultural biology.* 2015; 6(50): 785-793. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.6.785rus

13. Hernaez B., Escribano J.M., Alonso C. African swine fever virus protein p30 interaction with heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNP-K) during infection. *FEBS Letters*. 2008; 23-24(582): 3275–3280. DOI: 10.1016/j.febslet.2008.08.031
14. Liu S. *et al.* Cryo-EM Structure of the African Swine Fever Virus. *Cell Host Microbe*. 2019; 26: 836–843.e833. DOI: 10.1016/j.chom.2019.11.004
15. Kollnberger S.D., Gutierrez-Castañeda B., Foster-Cuevas M., Corteyn A., Parkhouse R.M.E. Identification of the principal serological immunodeterminants of African swine fever virus by screening a virus cDNA library with antibody. *J. Gen Virol.* 2002; 83(6): 1331–1342. DOI: 10.1099/0022-1317-83-6-1331
16. Epifano C., Krijnse-Locker J., Salas M.L., Salas J., Rodríguez J.M. Generation of filamentous instead of icosahedral particles by repression of African swine fever virus structural protein pB438L. *J. Virol.* 2006; 80(23): 11456–11466. DOI: 10.1128/JVI.01468-06
17. Ivanov V. *et al.* Vaccination with viral protein-mimicking peptides postpones mortality in domestic pigs infected by African swine fever virus. *Mol Med Rep.* 2011; 4(3): 395–401. DOI: 10.3892/mmr.2011.454
18. Hayat S., Peters C., Shu N., Tsirigos K.D., Elofsson A. Inclusion of dyad-repeat pattern improves topology prediction of transmembrane β -barrel proteins. *Bioinformatics.* 2016; 32(10): 1571–1573. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw025
19. Ong E., Wong M.U., He Y. Identification of New Features from Known Bacterial Protective Vaccine Antigens Enhances Rational Vaccine Design. *Front Immunol.* 2017; 8: 1382. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01382
20. Low K.O., Jonet M.A., Ismail N.F., Ilias R.M. Optimization of a Bacillus sp signal peptide for improved recombinant protein secretion and cell viability in *Escherichia coli*: Is there an optimal signal peptide design? *Bioengineered.* 2012; 3(6): 334–338. DOI: 10.4161/bioe.21454
21. Kovjazin R., Carmon L. The use of signal peptide domains as vaccine candidates. *Hum Vaccin Immunother.* 2014; 10(9): 2733–2740. DOI: 10.4161/21645515.2014.970916
22. Zsak L., Onisk D.V., Afonso C.L., Rock D.L. Virulent African swine fever virus isolates are neutralized by swine immune serum and by monoclonal antibodies recognizing a 72-kDa viral protein. *Virology.* 1993; 196(2): 596–602. DOI: 10.1006/viro.1993.1515
23. Neilan J., Zsak L., Lu Z., Burrage T., Kutish G., Rock D. Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection. *Virology.* 2004; 319: 337–342. DOI: 10.1016/j.virol.2003.11.011
24. Середина А.Д., Иматдинов А.Р., Дубровская О.А., Колбасов Д.В. Механизмы иммунной защиты и перспективы создания ДНК-вакцин против африканской чумы свиней. *Сельскохозяйственная биология.* 2017; 52(6): 1069–1082. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.6.1069rus
25. Ravilov R.Kh. *et al.* Viral Vector Vaccines Against ASF Problems and Prospectives. *Front Vet Sci.* 2022; 9: 830244. DOI: 10.3389/fvets.2022.830244
13. Hernaez B., Escribano J.M., Alonso C. African swine fever virus protein p30 interaction with heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNP-K) during infection. *FEBS Letters*. 2008; 23-24(582): 3275–3280. DOI: 10.1016/j.febslet.2008.08.031
14. Liu S. *et al.* Cryo-EM Structure of the African Swine Fever Virus. *Cell Host Microbe*. 2019; 26: 836–843.e833. DOI: 10.1016/j.chom.2019.11.004
15. Kollnberger S.D., Gutierrez-Castañeda B., Foster-Cuevas M., Corteyn A., Parkhouse R.M.E. Identification of the principal serological immunodeterminants of African swine fever virus by screening a virus cDNA library with antibody. *J. Gen Virol.* 2002; 83(6): 1331–1342. DOI: 10.1099/0022-1317-83-6-1331
16. Epifano C., Krijnse-Locker J., Salas M.L., Salas J., Rodríguez J.M. Generation of filamentous instead of icosahedral particles by repression of African swine fever virus structural protein pB438L. *J. Virol.* 2006; 80(23): 11456–11466. DOI: 10.1128/JVI.01468-06
17. Ivanov V. *et al.* Vaccination with viral protein-mimicking peptides postpones mortality in domestic pigs infected by African swine fever virus. *Mol Med Rep.* 2011; 4(3): 395–401. DOI: 10.3892/mmr.2011.454
18. Hayat S., Peters C., Shu N., Tsirigos K.D., Elofsson A. Inclusion of dyad-repeat pattern improves topology prediction of transmembrane β -barrel proteins. *Bioinformatics.* 2016; 32(10): 1571–1573. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw025
19. Ong E., Wong M.U., He Y. Identification of New Features from Known Bacterial Protective Vaccine Antigens Enhances Rational Vaccine Design. *Front Immunol.* 2017; 8: 1382. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01382
20. Low K.O., Jonet M.A., Ismail N.F., Ilias R.M. Optimization of a Bacillus sp signal peptide for improved recombinant protein secretion and cell viability in *Escherichia coli*: Is there an optimal signal peptide design? *Bioengineered.* 2012; 3(6): 334–338. DOI: 10.4161/bioe.21454
21. Kovjazin R., Carmon L. The use of signal peptide domains as vaccine candidates. *Hum Vaccin Immunother.* 2014; 10(9): 2733–2740. DOI: 10.4161/21645515.2014.970916
22. Zsak L., Onisk D.V., Afonso C.L., Rock D.L. Virulent African swine fever virus isolates are neutralized by swine immune serum and by monoclonal antibodies recognizing a 72-kDa viral protein. *Virology.* 1993; 196(2): 596–602. DOI: 10.1006/viro.1993.1515
23. Neilan J., Zsak L., Lu Z., Burrage T., Kutish G., Rock D. Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection. *Virology.* 2004; 319: 337–342. DOI: 10.1016/j.virol.2003.11.011
24. Sereda A.D., Imatdinov A.R., Dubrovskaya O.A., Kolbasov D.V. Mechanisms of immune response and prospects for DNA vaccines against African swine fever. *Agrobiological biology.* 2017; 52(6): 1069–1082. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.6.1069eng (In Russian).
25. Ravilov R.Kh. *et al.* Viral Vector Vaccines Against ASF Problems and Prospectives. *Front Vet Sci.* 2022; 9: 830244. DOI: 10.3389/fvets.2022.830244

ОБ АВТОРАХ:

Марина Анатольевна Ефимова,
 доктор биологических наук, профессор,
 — Казанская государственная академия ветеринарной
 медицины им. Н.Э. Баумана,
 ул. Сибирский тракт, 35, Казань, 420029, Российская
 Федерация;
 — Федеральный центр токсикологической, радиационной
 и биологической безопасности — Всероссийский научно-иссле-
 довательский ветеринарный институт,
 Научный городок — 2, Казань, 420075, Российская Федерация;
 — Казанский (Приволжский) Федеральный университет,
 ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008, Российская Федерация
 marina-2004r@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8786-1310>

Антонина Глебовна Галеева,
 кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник,
 — Казанская государственная академия ветеринарной
 медицины им. Н.Э. Баумана,
 ул. Сибирский тракт, 35, Казань, 420029, Российская Федера-
 ция;
 — Федеральный центр токсикологической, радиационной
 и биологической безопасности — Всероссийский научно-
 исследовательский ветеринарный институт,
 Научный городок — 2, Казань, 420075, Российская Федерация;
 — Казанский (Приволжский) Федеральный университет,
 ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008, Российская Федерация
 antonina-95@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2650-6459>

Алина Ильфатовна Хамидуллина,
 студент,
 Казанская государственная академия ветеринарной медицины
 им. Н.Э. Баумана,
 ул. Сибирский тракт, 35, Казань, 420029, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0001-5593-2399>

Рустам Хаметович Равилов,
 доктор ветеринарных наук, профессор,
 Казанская государственная академия ветеринарной медицины
 им. Н.Э. Баумана,
 ул. Сибирский тракт, 35, Казань, 420029, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0001-7210-7470>

ABOUT THE AUTHORS:

Marina Anatolyevna Efimova,
 Doctor of Biological Sciences, Professor,
 — Kazan state academy of veterinary medicine named after
 N.E. Bauman,
 35 Sibirsky trakt Str., Kazan, 420029, Russian Federation;
 — Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological
 Safety — All-Russian scientific research veterinary institute,
 Nauchny gorodok — 2, Kazan, 420075, Russian Federation;
 — Kazan (Volga Region) Federal University,
 18 Kremlyovskaya Str., Kazan, 420008, Russian Federation
 marina-2004r@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8786-1310>

Antonina Glebovna Galeeva,
 PhD in Veterinary Sciences, senior researcher,
 — Kazan state academy of veterinary medicine named after
 N.E. Bauman,
 35 Sibirsky trakt Str., Kazan, 420029, Russian Federation;
 — Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological
 Safety — All-Russian scientific research veterinary institute,
 Nauchny gorodok — 2, Kazan, 420075, Russian Federation;
 — Kazan (Volga Region) Federal University,
 18 Kremlyovskaya Str., Kazan, 420008, Russian Federation
 antonina-95@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2650-6459>

Alina Ilfatovna Khamidullina,
 Student,
 Kazan state academy of veterinary medicine named after
 N.E. Bauman,
 35 Sibirsky trakt Str., Kazan, 420029, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0001-5593-2399>

Rustam Khametovich Ravilov,
 Doctor of Veterinary Sciences, Professor,
 Kazan state academy of veterinary medicine named after
 N.E. Bauman,
 35 Sibirsky trakt Str., Kazan, 420029, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0001-7210-7470>