

Ю.А.Попов, Н.И.Микшис

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ (ДНК) ВАКЦИНЫ

ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Развитие различных отраслей медицины и биологии изменяет традиционные представления о средствах профилактики инфекционных болезней. В настоящее время во многих странах мира интенсивно ведутся разработки в области генетических вакцин. Отличительной особенностью ДНК-вакцинации является длительная экспрессия в цитоплазме эукариотической клетки нуклеиновых кислот, кодирующих синтез иммуногенных белков. Генетические вакцины индуцируют как гуморальный, так и клеточный ответы с образованием большого пула клеток иммунологической памяти. В обзоре рассматриваются вопросы, касающиеся особенностей генно-инженерного конструирования и переноса ДНК-вакцин в клетки макроорганизма, структуры ДНК-вакцин, механизмов возникновения иммунного ответа, уделяется внимание проблемам безопасности геновакцинации и поиску путей повышения ее эффективности.

Ключевые слова: вакцины, ДНК-вакцины, геновакцинация, иммунный ответ.

В последнее десятилетие второго тысячелетия в области разработки и усовершенствования вакцин появилась неординарная идея, с реализацией которой связывают большие надежды на повышение эффективности профилактики не только инфекционных заболеваний бактериальной, вирусной и паразитарной этиологии, но и аллергических, аутоиммунных и даже онкологических болезней. Обнаружено, что развитие адаптивного иммунитета возможно не только в ответ на введение аттенуированных, инактивированных микроорганизмов или изолированных протективных антигенов, но и «голой» (naked) ДНК со встроенными генами, детерминирующими синтез иммуногенных молекул. J.Wolff и Ph.Felgner зарегистрировали экспрессию измеримых количеств белка при инъекции в ткани мыши, кодирующих его синтез нуклеотидных последовательностей, находящихся под сильным промотором цитомегаловируса [37]. Доставку ДНК в макроорганизм первоначально осуществляли в комплексе с катионными липидами, однако эффект от введения препарата чистой нуклеиновой кислоты оказался более выраженным.

Пионерскими исследованиями, определяющими точку отсчета ДНК-вакцинологии, следует считать работу D.Tang *et al.*, показавшую способность плазмидной ДНК, детерминирующей экспрессию гормона роста человека, индуцировать выработку антител, преимущественно IgG и IgE [30], а также исследование J.Ulmer *et al.*, продемонстрировавшее формирование приобретенного иммунитета, в частности образование цитотоксических лимфоцитов, после внутримышечного введения плазмид, кодирующих нуклеопротеин вируса гриппа [31].

Генетические вакцины представляют собой генно-инженерные конструкции, состоящие из молекул ДНК (или их фрагментов), содержащих детерминанты синтеза иммуногенных молекул (или их частей). При введении генетической вакцины в клетки и ткани эукариотических организмов осуществляется сопряженная транскрипция/трансляция струк-

турных генов и индукция иммунного ответа. Более широко используемый термин «ДНК-вакцина», на наш взгляд, менее точен, поскольку молекулой, вызывающей иммунный ответ является не нуклеиновая кислота, хотя она и обладает иммуногенными свойствами. К тому же, генетические вакцины можно получать и на основе РНК. В частности, РНК-вакцины разрабатывались для профилактики СПИДа [10]. Подобные препараты не имеют бластогенного эффекта, но лабильны, дороги и вызывают кратковременный иммунитет [2]. Несмотря на некоторую условность термина «ДНК-вакцина», он остается наиболее употребляемым.

Первая конференция по ДНК-вакцинам в 1995 г. прошла с большим энтузиазмом и надеждой на то, что новая методология революционизирует получение вакцин нового поколения [32]. В 1997 г. были разработаны рекомендации ВОЗ по созданию и контролю ДНК-вакцин. Содержащиеся в них положения получили развитие в различных методических пособиях, описывающих способы очистки сверхскрученной плазмидной ДНК, в том числе организованные в соответствии с требованиями GMP технологические линии, особенности лиофилизации препаратов и другие аспекты конструирования и использования генетических вакцин [7, 28].

В состав ДНК-вакцин входят: фрагмент векторной молекулы ДНК, содержащий участок инициации репликации в бактериальной клетке; интронная последовательность, стимулирующая транскрипцию гена в эукариотических клетках; линкер, содержащий сайты рестрикции для встраивания чужеродной информации; сигнал полиаденилирования; сильный промотор; встроенный ген, кодирующий целевой белок.

Средствами доставки ДНК-вакцин в ткани эукариот являются плазмидные векторы или вирусные геномы. Пример плазмидных векторов – производные серии рUC. Из числа вирусных векторов, обеспечивающих более высокий уровень экспрессии целевого антигена [20], чаще всего используются дефектный

по репликации аденовирус серотипа 5 и ортопоксвирусы, как правило, модифицированные вирусы осповакцины. Аденовирусный вектор обладает высокой эффективностью трансфекции – до 100 %, в него можно включать до 8 kb генетического материала. Отрицательный момент – синтез собственных белков, способных индуцировать иммунный ответ. Исправить этот недостаток можно, в частности, покрытием аденовирусных карпускул полиэтиленгликолем [26].

Самые используемые осповакцинные модификации – Ankara (MVA) и New York Vaccinia strain (NYVAC). Первая получена в результате 56-кратного пассирования вируса в куриных эмбриональных фибробластах. В этом производном утрачено около 30 kb, что составляет примерно 15 % всей ДНК. В геноме NYVAC делетировано 18 открытых рамок считывания, ассоциированных с диапазоном хозяев и вирулентностью. В каждый из перечисленных векторов можно встроить до 50 kb наследственной информации. Чужеродные белки подвергаются тем же посттрансляционным изменениям, что и в естественной системе. Однако для вирусов осповакцины характерна сильная собственная иммуногенность и, как следствие, снижение иммунного ответа к чужеродным экспрессируемым антигенам. Кроме того, сконструированные на их основе препараты имеют ограничения использования у лиц, страдающих аллергией или иммунодефицитом. В качестве средств доставки ДНК-вакцин могут служить и другие вирусы, например, вирус венесуэльского энцефаломиелита лошадей.

Существуют различные пути переноса генетических вакцин в клетки макроорганизма. Самыми распространенными являются внутримышечные инъекции. Однако следует учитывать, что мышечные клетки слабо экспрессируют продукты генов главных комплексов гистосовместимости (ГКГ) I и II класса, которые необходимы для представления антигена Т-клеткам. Инъекционный способ индуцирует, в основном, воспалительный ответ, поэтому прямая инъекция ДНК в скелетные мышцы малоэффективна. Более высокую иммунологическую эффективность обеспечивают методы электропорации и «генного ружья» [35]. Преимущество электропорации особенно выражено в случаях иммунизации ДНК вакцинами крупных биомоделей [28, 33].

Среди подкожных и внутрикожных способов доставки перспективно внедрение в эпидермальные клетки покрытых молекулами ДНК золотых микрокапсул. Важно, при этом, что для индукции клеточного и гуморального иммунного ответа требуется трансфекция небольшого количества клеток. Введенная таким образом вакцина непосредственно попадает в профессиональные антиген-презентирующие клетки и кератиноциты кожи [6]. С целью повышения эффективности иммунизации путем внутрикожной инъекции предложено использование покрытых поли-L-лизинем наночастиц [24]. Для инфекций дыхатель-

ного, кишечного и мочеполового трактов актуальна доставка ДНК на поверхность слизистых оболочек. Такая вакцинация индуцирует не только системный ответ, но и мукозальный, и приемлема для различных возрастных групп [23]. Введение ДНК-вакцин в воротную или печеночную вену приводит к высокому уровню экспрессии антигена даже у крупных биомоделей – собак и приматов [38].

Свои преимущества есть и у орального пути доставки генетических вакцин. Обычно в этих случаях плазмидную ДНК инкапсулируют в микрокапсулы или бактериальные клетки [14]. Показана способность аттенуированных штаммов сальмонелл, шигелл, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, инвазивных *Escherichia coli* переносить *in vivo* и *in vitro* экспрессирующиеся в эукариотах плазмиды в клетки млекопитающих. При введении препарата *per os* ДНК доставляется непосредственно к иммунитет-индуцирующим сайтам на слизистых оболочках, а в конечном итоге – к антиген-презентирующим клеткам [21, 39]. Получен аттенуированный штамм *Shigella flexneri*, с делецией в гене *asd*. Мутантные бактерии растут *in vitro*, на среде с диаминопимелиновой кислотой, они могут проникать в эукариотические клетки, не размножаясь в них, так как отсутствует упомянутая кислота, и продуцируют плазмид-кодированные антигены [26]. Перспективным вектором для ДНК-вакцин являются микобактерии, персистирующие в макрофагах и обладающие адьювантными свойствами [25].

Недавно предложена оригинальная система доставки ДНК с помощью «теней» – неживых клеток грамотрицательных бактерий, лишенных цитоплазматического содержимого, но сохраняющих морфологию и антигенные структуры, включая адгезивные свойства [34]. «Тени» обладают тропностью к антиген-презентирующим клеткам макроорганизма и адьювантными свойствами, усиливающими иммунный ответ. Кроме того, в лиофильно-высушенном состоянии препараты «теней» хранятся при комнатной температуре неопределенно долгое время и их производство дешево [22].

Механизмы иммунного ответа при генетической вакцинации еще не окончательно выяснены [3]. В трансфицированной эукариотической клетке ген, детерминирующий фактор иммуногенности, экспрессируется длительное время, от нескольких недель до нескольких месяцев, индуцируя развитие адаптивного иммунитета. Характеристики иммунного ответа на введенный обычным образом антиген и синтезирующийся с матрицы ДНК-вакцины отличаются. В частности, ДНК-вакцинация приводит к так называемому Т-хелперному ответу с секрецией интерферона. При обычной иммунизации Т-хелперы секретируют только интерлейкины, но не интерферон. Генетическая вакцина вызывает выработку нейтрализующих антител, Т-хелперный ответ и продукцию цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ). Одновременно генерируется CD4⁺ опосредованная продукция цитокинов

и CD8⁺ Т-клеточный ответ [15]. Предполагают, что ДНК распознается антиген-презентирующими клетками и, проникая внутрь, попадает в условия, способствующие образованию комплексов антигена с продуктами генов ГКГ и представления их Т-хелперам и цитотоксическим Т-лимфоцитам [2, 4].

Существует множество факторов, влияющих на тип иммунного ответа. Например, инъекция ДНК в мышечные ткани вызывает образование Th1 хелперных лимфокинов (ИФγ и ИЛ2) и комплементзависимых антител, а инокуляция в кожу или мышцы при помощи «генного ружья» преимущественно усиливает выработку Th2-хелперных лимфокинов и комплементнезависимых антител [4, 5, 6, 10]. Степень выраженности адаптивного иммунитета зависит не только от способа доставки ДНК-вакцин (внутримышечный, подкожный, внутривенный, интраназальный и т.д.), но и от кратности иммунизаций, доз вводимого препарата и внутриклеточной локализации детерминируемого антигена.

Предложены различные гипотезы возникновения иммунного ответа на введение ДНК-вакцин. Согласно одной из них миоциты, конститутивно экспрессирующие компоненты ГКГ I, индуцируют развитие иммунных реакций с участием CD8⁺ ЦТЛ. На матрице ДНК, проникшей в скелетные мышцы, синтезируются белки, которые процессируются протеосомами и презентуются клеткам иммунной системы. Таким образом, введение ДНК, содержащей гены иммуногенности, моделирует естественную инфекцию, когда белки продуцируются клетками патогенных микроорганизмов. Этот эндогенный белковый синтез приводит к развитию иммунного ответа с участием цитотоксических Т-лимфоцитов путем взаимодействия с молекулами ГКГ I. Параллельно белки высвобождаются во внеклеточное пространство и вызывают индукцию гуморального ответа, так как захватываются антиген-презентирующими клетками, участвующими в иммунном ответе посредством взаимодействия с хелперными Т-лимфоцитами. Но миоциты не вырабатывают важных костимулирующих молекул (CD8, CD4), которые нужны CD8⁺ ЦТЛ для цитотоксического эффекта. Поэтому маловероятно, что миоциты могут эффективно презентировать антиген Т-лимфоцитам.

Две другие гипотезы основаны на участии в иммунном процессе моноцитов/макрофагов или дендритных клеток. Они являются «профессиональными» антиген-презентирующими клетками, поскольку экспрессируют ГКГ I и ГКГ II, а также костимулирующие молекулы. Небольшое количество антиген-презентирующих клеток напрямую трансфицируется ДНК, затем они попадают в региональные лимфатические ткани, где могут активировать CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки, а также В-клетки. Эта цепь событий более вероятна при подкожной иммунизации, так как кожа содержит большое число клеток Лангерганса. В мышечной ткани редко встречаются дендритные клетки и моноциты/макрофаги. Предполагают, что при вну-

тримышечном способе иммунизации антиген, синтезированный в миоцитах, попадает в профессиональные антиген-презентирующие клетки, являющиеся участниками воспалительного процесса, в момент инфильтрации мышечной ткани в месте инъекции. В пользу последних двух гипотез свидетельствует тот факт, что антиген-специфические антитела и цитотоксические лимфоциты длительно циркулируют в организме биомоделей.

Генетические вакцины обладают множеством достоинств. В отличие от химических средств специфической профилактики инфекционных заболеваний они индуцируют как гуморальный, так и клеточный ответы с образованием большого пула клеток иммунологической памяти. При использовании генетических вакцин отсутствует присущий живым вакцинам риск реверсии вирулентности. Важно, что технология конструирования ДНК-вакцин позволяет сочетать в одном поливалентном препарате детерминанты, кодирующие синтез различных гомо- и гетерологичных антигенов. Кроме того, существует возможность модификации генов путем сайт-специфического мутагенеза. Достоинством ДНК-вакцин является также рентабельность их производства. Дешевизна конечного продукта обусловлена относительной простотой конструирования рекомбинантной ДНК и технологичностью ее накопления. К преимуществам относится и устойчивость подобных препаратов к воздействию неблагоприятных факторов. Термостабильность ДНК-вакцин обеспечивает сохранение биологической активности в отсутствие «холодовой» цепи. Генетические вакцины эффективны при различных способах введения, в том числе в случае применения *per os*.

Наряду с перечисленными положительными моментами, ДНК-вакцинация вызывает небезосновательные сомнения в ее эффективности особенно при экстраполяции на крупных млекопитающих и человека [18]. Так, для получения напряженного иммунитета в ряде случаев требуется дополнительная одно- или двукратная иммунизация лабораторных животных препаратами белков, кодируемых ДНК-вакциной. До сих пор не решена проблема эффективной доставки ДНК-вакцин в антигенпрезентирующие клетки. Нельзя исключить атипичный процессинг бактериальных антигенов в клетках эукариот. Недостатком вакцинации с применением вирусных систем доставки является также ослабление иммунного ответа на целевой антиген за счет активности обладающих иммуногенностью вирусных белков.

Тот факт, что ДНК-препараты уступают в эффективности живым вакцинам [8, 26], поддерживает интерес ученых к поиску путей усиления иммунного ответа на геновакцинацию. Один из перспективных подходов – разработка оптимальных систем доставки ДНК и подбор адъювантов. Как правило, с этой целью используют эмульсии, липосомы, липоспермин и микрочастицы других веществ, нейтрализующих заряд и стимулирующих трансмембранный перенос.

Возможен выбор из иммуностимуляторов – липополисахарид, монофосфорилипиды, мурамилпептиды, флагеллины, хитозан. Хорошо зарекомендовали себя такие вещества, как левамизол, интерферон-гамма, локальный анестетик бапивакаин, а также коинъектируемый с ДНК поливинилпирролидон [27]. Показано усиление эффекта геновакцинации за счет применения микрочастиц полилактид-ко-гликолипида, увеличивающих поглощение антигена и его процессинг [13]. Недавно установлено, что CpG-участки молекул ДНК могут до 500 раз ускорять и усиливать выработку антиген-специфических антител [17, 19]. Неметилованные CpG-мотивы, названные иммуностимулирующими последовательностями, способствуют продукции Т1-хелперов и провоспалительных цитокинов, а также индуцируют созревание и активацию профессиональных антиген-презентирующих клеток. Предлагается искусственно обогащать векторные плазмидные ДНК CpG-мотивами [36].

Для усиления иммуногенного действия используют совместное введение ДНК-вакцин и плазмид, экспрессирующих цитокины, хемокины и другие иммуностимуляторные молекулы, например, ИЛ-12 и ИЛ-15 [11]. Предложен специальный термин «генетические адъюванты», то есть векторы, экспрессирующие гены цитокинов или хемокинов [9]. В последние годы большое внимание уделяется усилению вакцинирующего эффекта при помощи прайминг-бустерных систем. В одних случаях для первичной иммунизации и бустирования используются гетерологичные векторы, кодирующие одни и те же целевые антигены, в других – ДНК-вакцинацию «поддерживают» иммунизацией белковым препаратом [5, 16]. Оригинальный подход к повышению эффективности геновакцинации – направленные модификации кодонов для усиления транскрипции/трансляции.

Необходимо отметить, что разработка и внедрение ДНК-вакцин сталкиваются с серьезной проблемой обеспечения безопасности. До сих пор остаются неизученными те последствия, к которым приводит длительная экспрессия в макроорганизме чужеродной генетической информации. Не получено однозначного ответа на вопрос, может ли введенная ДНК встраиваться в геном клетки человека и вызывать развитие онкологических заболеваний. Несмотря на оптимистичную точку зрения некоторых авторов, считающих риск инсерционного мутагенеза при геновакцинации минимальным ввиду малого количества экзогенной ДНК [10, 29], теоретически не исключена вероятность возникновения нежелательных перестроек и изменений наследственной информации [12]. Кроме того, вследствие пролонгированной экспрессии антигена в макроорганизме возможны неожиданные иммунологические реакции в виде хронических воспалительных процессов или генерализованной иммуносупрессии. В некоторых случаях синтез антител против инъектированной чужеродной ДНК приводит к аутоиммунным реакциям [1]. Дополнительный риск возникает при использовании

генов, кодирующих цитокины или костимулирующие молекулы. Показано, в частности, что избыток цитокинов (IFN- γ , IL-4) стимулирует ответ одних Т-хелперных клеток при явной супрессии других, что провоцирует развитие воспаления. Геновакцинация иногда сопровождается изменениями метаболизма. Например, в крови мышей, иммунизированных экспериментальной ДНК-вакциной против гепатита В, обнаруживались молекулы-биомаркеры, свидетельствующие о стимуляции синтеза в печени сфинголипидов. Доказана способность этих веществ менять структуру циркулирующих липопротеинов и вызывать атерогенез [40].

Несмотря на некоторые недостатки ДНК-вакцин и сомнения по поводу безопасности, потенциальные преимущества их использования очевидны и весьма значительны. Разработки в области генетических вакцин проводятся широко во многих странах мира. В настоящее время сконструированы экспериментальные ДНК-вакцины для профилактики инфекционных заболеваний паразитарной, бактериальной и вирусной природы. В этом перечне присутствуют: туберкулез, хламидиоз, токсоплазмоз, шистосомоз, лейшманиоз, клостридиоз, чума, сибирская язва, а также инфекции, вызванные микоплазмами, боррелиями, стрептококками и пиогенными стафилококками. На разных стадиях доклинических и клинических испытаний находятся генетические вакцины против вирусов гриппа, гепатитов А и В, герпеса, кори, геморрагических лихорадок (в том числе, ГЛПС), ВИЧ, ТОРС, оспы, бешенства, лихорадок Западного Нила, Эбола, Сендай; собачьей чумы, ящура, папилломавирусов, цитомегаловирусов, вируса Коксаки, вирусов, вызывающих небактериальный гастроэнтерит, лимфоцитарный хориоменингит, болезнь Ньюкастла. Столь интенсивное развитие данной отрасли вакцинологии, вероятно, уже в ближайшей перспективе обеспечит реальный выход в виде эффективных и безопасных вакцинных препаратов, рекомендованных для применения в здравоохранении и ветеринарии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гендон Ю.З. Полинуклеотидные (ДНК) вирусные вакцины и проблемы их безопасности. Журн. микробиол. 1997; 1:78–81.
2. Медунцын Н.В. Вакцинология. М.: Медицина; 1999.
3. Савилова А.М., Трофимов Д.Ю., Алексеев Л.П., Хаитов Р.М. ДНК-вакцины: современное состояние и перспективы. Иммунология. 2007; 2:114–23.
4. Ada G. Ramshaw I. DNA vaccination. Expert. Opin. Emerg. Drugs. 2005; 8:27–35.
5. Chen J., Zhang F., Fang F. et al. Vaccination with haemagglutinin or neuraminidase DNA protects BALB/c mice against influenza virus infection in the presence of maternal antibody. BMC Infect. Dis. 2007; 7:118.
6. Dean H. Epidermal delivery of protein and DNA vaccines. Expert. Opin. Drug Deliv. 2005; 2:227–36.
7. DNA Vaccines. Methods and Protocols. In: W. Salzman, H. Shen, J. Brandsma (ed.). Humana Press Inc; 2006.
8. Dzierzbicka K., Kolodziejczyk A. Adjuvants – essential components of new generation vaccines. Postepy Biochem. 2006; 52:204–11.
9. Ertl H., Pasquini S., He Z. et al. Genetic adjuvants. Methods Mol. Med. 1999; 29:251–60.
10. Giri M., Ugen K., Weiner D. DNA Vaccines against human immunodeficiency virus type 1 in the past decade. Clin. Microb. Reviews. 2004. 17(2):370–89.

11. Halwany R., Boyer J., Yassine-Diab B. et al. Therapeutical vaccination with simian immunodeficiency virus DNA + IL 12 or IL 15 induces distinct CD8 memory subsets in SIV-infected macaques. *J. Immunol.* 2008; 180:7969–79.
12. Hanke T. On DNA vaccines and prolonged expression of immunogens. *Eur. J. Immunol.* 2006; 36:806–9.
13. Helson R., Olszewska W., Singh M. Polylactide-co-glycolipid microparticles modify the immune response to DNA vaccination. *Vaccine.* 2008; 26:753–61.
14. Hermann J.E. DNA vaccines against enteric infections. *Vaccine.* 2005; 24:3705–8.
15. Howarth M., Elliott T. The processing of antigens delivered as DNA vaccines. *Immunol. Reviews.* 2004; 199:27–39.
16. Hsieh M., Wu C., Lin T. Priming with DNA vaccine and boosting with killed vaccine conferring protection of chickens against infections bursal disease. *Vaccine.* 2007; 25:5417–27.
17. Ihata A., Watabe S., Okuda K. DNA vaccination. *Nippon Rinsho.* 2006; 64:1865–9.
18. Kjeker R., Bogen B., Mathiesen I. DNA – the future in vaccine technology? *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* 2006; 126:2964–8.
19. Klinman D. Adjuvant activity of CpG oligodeoxynucleotides. *Int. Rev. Immunol.* 2006; 25(3–4):135–54.
20. Liu M., Acres B., Balloul J. et al. Gene-based vaccines and immunotherapeutics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(2):14567–71.
21. Loessner H., Weiss S. Bacterial-mediated DNA transfer in gene therapy and vaccination. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2004; 4(2):157–68.
22. Mayr U., Walcher P., Azimpour C. et al. Bacterial ghosts as antigen delivery vehicles. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2005; 59(9):1381–91.
23. McCluskie M., Davis H.L. Mucosal Immunization with DNA Vaccines. *Methods Mol. Med.* 1999; 29.
24. Minigo G., Scholzen A., Tang C. et al. Poly-L-lysine coated nanoparticles - a potent delivery system to enhance DNA vaccine efficacy. *Vaccine.* 2007; 25:1316–27.
25. Mo Y., Quanquin N., Vecino W. et al. Genetic alteration of *Mycobacterium smegmatis* to improve mycobacterium-mediated transfer of plasmid DNA into mammalian cells and DNA immunization. *Infect. Immun.* 2007; 75(10):4804–16.
26. Nabel J. The development of gene-based vectors for immunization. In: Plotkin S., Orenstein W., Offit P., editors. *Vaccines.* Saunders-Elsevier; 2008. P. 1748.
27. Norman J., Hartikka J., Strauch P. et al. Adjuvants for plasmid DNA vaccines. *Methods Mol. Med.* 1999; 29:185–96.
28. Raviprakash K., Porter K. Needle-free injection of DNA vaccine: a brief overview and methodology. *Methods Mol. Med.* 2006; 127:83–9.
29. Robertson J., Griffiths E. Assuring the quality, safety and efficacy of DNA vaccines. *Mol. Biotechnol.* 2001; 17:143–9.
30. Tang D., DeVit M., Johnston S. et al. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. *Nature.* 1992; 356:152–4.
31. Ulmer J., Donnelly J., Parker S. et al. Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein. *Science.* 1993; 259:1745–9.
32. Vaccines. A new Era in Vaccinology. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1995; 772:1–294.
33. Van Drunen L., Hurk S., Babiuk S. et al. Needle-free delivery of veterinary vaccines. *Methods Mol. Med.* 2006; 127:91–105.
34. Walcher P., Mayr U., Azimpour-Tabrizi C. et al. Antigen discovery and delivery of subunit vaccines by nonliving bacterial ghost vectors. *Expert. Rev. Vaccines.* 2004; 3:681–91.
35. Wang S., Zhang C., Zhang L. et al. The relative immunogenicity of DNA vaccines delivered by the intramuscular needle injection, electroporation and gene gun method. *Vaccine.* 2008; 26:2100–10.
36. Weiss R., Schneibhofer S., Thalhammer J. DNA vaccines for allergy treatment. *Methods Mol. Med.* 2006; 127:253–67.
37. Wolff J., Malone R., Williams P. et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science.* 1990; 247:1465–8.
38. Wolff J., Budker V. The mechanism of naked DNA uptake and expression. *Adv. Genet.* 2005; 54:3–20.
39. Xu F., Ulmer J. Attenuated *Salmonella* and *Shigella* as carriers for DNA vaccines. *J. Drug. Target.* 2003; 11:481–8.
40. Yang F., Yan S., Wang S. et al. DNA immunization perturbs lipid metabolites and increases risk of atherogenesis. *J. Proteome Res.* 2008; 7(2):741–8.

Yu.A. Popov, N.I. Mikshis

Genetic (DNA) Vaccines

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

With the development of various branches of medicine and biology the classical ideas about means to prevent infectious diseases have changed. Nowadays in different countries of the world, investigations are carried out intensively in the sphere of genetic vaccines. Distinctive feature of DNA-vaccination is long lasted expression in eukaryotic cell cytoplasm of nucleic acids encoding synthesis of immunogenic proteins. Genetic vaccines induce both humoral and cellular responses accompanied by production of large pool of immunological memory cells. A number of questions regarding features of gene-engineered construction and transfer of DNA-vaccines into the cells of macroorganism, structure of DNA-vaccines and mechanisms of immune response generation are considered in the review. Attention is paid on the safety of gene vaccination and ways to improve its efficiency.

Key words: vaccines, DNA-vaccines, gene vaccination, immune response.

Об авторах:

Попов Ю.А., Микшис Н.И. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: microbe@san.ru

Authors:

Popov Yu.A., Mikshis N.I. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Получила 02.12.10.