

1 – Государственный научный центр Российской Федерации ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» (ФГУП «ГосНИИгенетика»), 117545, Россия, г. Москва, 1-й Дорожный пр-д, 1

1 – Scientific Center of Russian Federation «Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms», 1, 1st Dorozhny proezd, Moscow, 117545, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: axiflipper@gmail.com

РЕКОМБИНАНТНЫЕ АНТИГЕНЫ ВАКЦИН ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ (ОБЗОР)

М.А. Жученко^{1*}

Резюме. Профилактика заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека, на сегодняшний день осуществляется двумя лицензированными вакцинами – «Гардасил» и «Церварикс», содержащими в качестве антигена вирусоподобные частицы на основе главного капсидного белка L1. Свойства L1 не позволяют обеспечить защиту от всех патогенных штаммов ВПЧ, демонстрируют низкую эффективность при вакцинации пациентов среднего и пожилого возрастов и не являются терапевтически эффективными. Следующее поколение вакцин, содержащих консервативные эпитопы минорного белка L2, а также онкобелки E6 и E7, обещают предоставить широкую защиту от всех ВПЧ, препятствуя как возникновению, так и распространению кожных новообразований.

Ключевые слова: ВПЧ, VLP, L1, L2, E6, E7, БТШ, вакцина.

THE RECOMBINANT ANTIGENS FOR VACCINES FOR THE TREATMENT OF PAPILLOMAVIRUS (REVIEW)

М.А. Zhuchenko^{1*}

Abstract. Two licensed vaccines Gardasil and Cervarix, containing main capsid protein L1 virus-like particles antigen, are used for prevention of diseases associated with human papilloma virus. L1 cannot provide protection against all pathogenic strains of HPV, shows low efficacy in middle and old age vaccinated patients, and are not therapeutically effective. The next generation of vaccines that contain minor protein L2 conserved epitopes as well as oncoproteins E6 and E7 promise to provide broad protection against all HPV, and prevent the emergence and spread of skin lesions.

Keywords: HPV, VLP, L1, L2, E6, E7, HSP, vaccine

ВВЕДЕНИЕ

Иммунологическая специфичность и клеточная память лежат в основе принципа вакцинации, направленного на создание более быстрого и эффективного вторичного иммунного ответа [1]. Эволюция представлений о структуре и свойствах антигенов вакцин позволяет классифицировать их на несколько поколений. Первое поколение – живые, инактивированные, корпускулярные и химические вакцины – представлено препаратами микроорганизмов, аттенуированных различными типами воздействий [2]. Несмотря на значительную эффективность ряда вакцин первого поколения, их основными критическими недостатками остаются риски реверсии вирулентности, высокое содержание клеточного балласта, высокая реактогенность, присутствие остаточного количества химических инактиваторов и вирусов-контаминантов, затруднённый контроль качества при промышленном производстве [3].

Развитие биотехнологии и геной инженерии послужило импульсом для разработки вакцин второго поколения. Био-

синтетические вакцины представлены рекомбинантными белками, соответствующими аминокислотным последовательностям тех структур вирусного или бактериального белка, которые распознаются иммунной системой и вызывают иммунный ответ. Подобные вакцины лишены недостатков вакцин первого поколения и способны вызывать иммунный ответ узкой специфичности. Несмотря на меньшую эффективность вакцин второго поколения вследствие меньшей иммуногенности искусственно созданных участков в сравнении с исходным вирусом, комбинированное использование нескольких иммуногенов способно обеспечить высокий иммунный ответ при существенном снижении реактогенности и побочного действия вакцины [4].

Считается, что все профилактические вакцины работают по механизму индукции нейтрализующих антител, понижая количество зараженных клеток и предотвращая заболевание. Эффективные профилактические вакцины позволяют имитировать целевые инфекции и подготавливают приобретённый иммунитет к последующей

встрече с инфекционным агентом. Терапевтические вакцины предназначены для уничтожения инфицированных клеток. Такие вакцины должны активировать антигенспецифические Т-клеточные эффекторные механизмы, которые используются иммунной системой организма для контроля и ликвидации вирусных инфекций. Эти механизмы включают Т-клеточную цитотоксичность и секрецию цитокинов с прямым или косвенным воздействием на инфицированные клетки – IFN- α и IFN- γ или IL-1 и IL-12 соответственно [5].

Открытие Х. Хаузена, установившего роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки, послужило основанием для профилактики ВПЧ-ассоциированных заболеваний методом вакцинации [6]. Вирусы папилломы человека, включающие свыше 100 различных типов, способны инфицировать гениталии и слизистую ануса и служат основным провоцирующим фактором в развитии аденокарциномы, рака влагалища, рака полового члена [7]. Несмотря на отсутствие летальных случаев, папилломы наносят существенный вред здоровью, снижают качество жизни пациентов, требуют длительного лечения и весьма часто рецидивируют вне зависимости от типа лечения.

СТРОЕНИЕ ВПЧ

Вирусы папилломы человека, ВПЧ (Human Papillomavirus, HPV), – группа вирусов из рода папилломавирусов, рода А семейства паповирусов

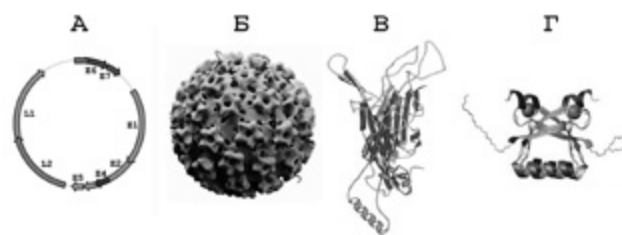


Рисунок 1. А – структура генома ВПЧ, Б – модель структуры капсида ВПЧ, В – модель L1, Г – модель димера E7

(Papovaviridae). Вирусы диаметром 52–55 нм обладают капсидом кубического типа симметрии, состоящим из 72 капсомеров и образующим икосаэдр с триангуляционным числом, равным семи; суперкапсид отсутствует. Сферическая структура сформирована двумя типами пентамеров, образующих соответственно по шесть и по пять связей с соседними пентамерами. Геном вируса, заключенный в кольцевидной замкнутой двухцепочечной ДНК, образован приблизительно 8000 пар оснований, разделенных на шесть ранних, «Е» (early), и два поздних, «L» (late), гена (рисунок 1). Классификация папилломавирусов обусловлена различиями в их последовательностях [8].

ВПЧ реплицируются исключительно в многослойном плоском эпителии, используя дифференциацию эпителия для регуляции собственной репликации (рисунок 2). Инфицирование эпителиальных стволовых клеток, расположенных в базальном слое,

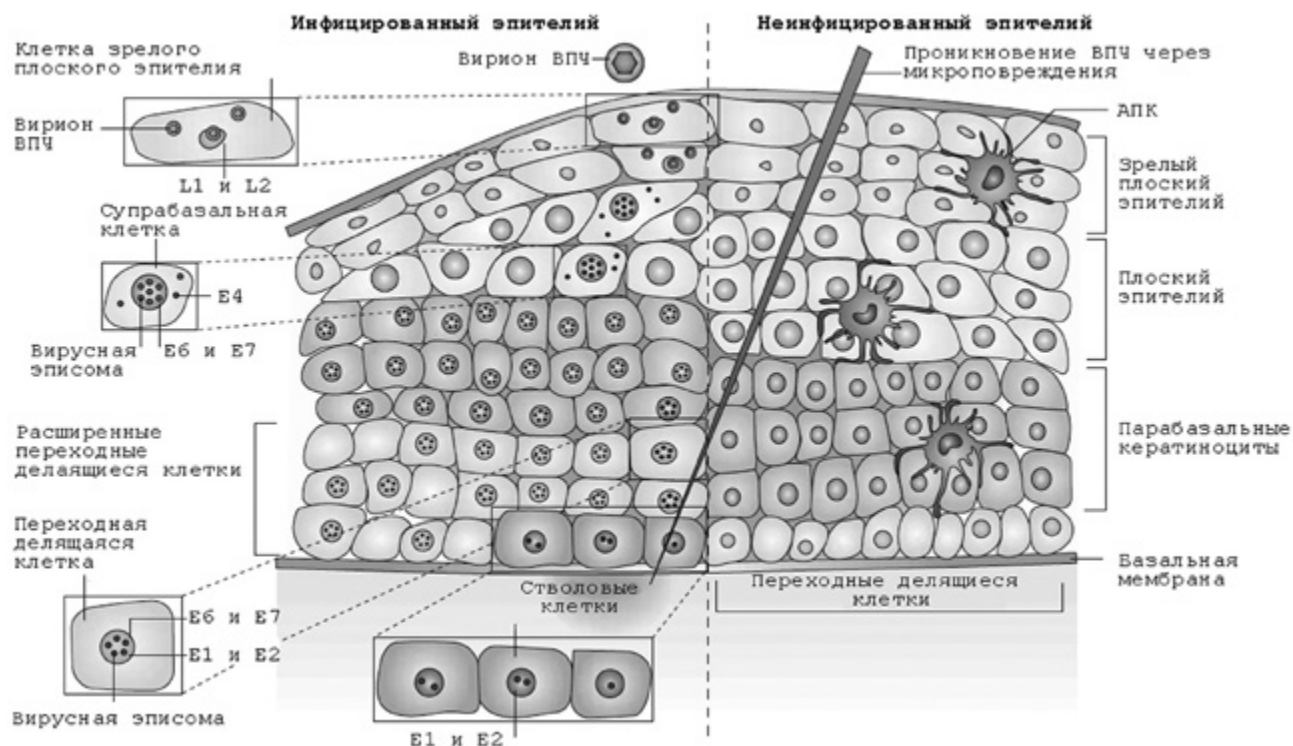


Рисунок 2. Основные этапы жизненного цикла ВПЧ в плоском эпителии [5]

происходит за счёт проникновения вируса через микроповреждения эпителиальных тканей. Репликация вирусной ДНК, протекающая в эпителиальных стволовых клетках и переходных делящихся клетках, требует участия белков E1 и E2. В результате репликации переходные делящиеся клетки заполняют базальный слой эпителия. Последующая экспрессия вирусных белков E6 и E7 задерживает процессы остановки и дифференциации клеточного цикла, препятствуя развитию эпителиальных клеток до фенотипа кератиноцитов. Сбой в остановке клеточного цикла приводит к дальнейшей вирусной репликации в супрабазальных эпителиальных клетках и к утолщению кожи и возникновению бородавок. По мере завершения процессов дифференциации эпителиальных клеток до зрелых кератиноцитов происходит сборка структурных белков L1 и L2. Финальная сборка зрелых вирионов осуществляется в поверхностных слоях эпителиальных клеток.

Инфицирование вирусами папилломы высокого риска может приводить к интеграции вирусной эписомы в ДНК хозяина. Интеграция зачастую сопровождается изменением последовательности вирусного гена E2, отвечающего за подавление транскрипции генов E6 и E7. Как следствие, клетки с избыточной экспрессией E6 и E7 приобретают способность к неконтролируемой пролиферации, приводящей к различного рода дисплазиям [5].

Инфицирование половых органов и анальной области папилломавирусами проявляется в форме кондилом и дисплазий, их злокачественность обусловлена свойствами ранних генов. Идентификация папилломавирусов в организме пациента позволяет установить клинический исход и определить наиболее эффективную терапию. Известно, что папиллома-вирусы 2 и 27 типов опосредуют появление «простых» бородавок, 6 и 11 типов связаны с незлокачественными папилломами и кондиломами аногенитальной области и гортани, а 16 и 18 типов – с карциномами. Другие типы ВПЧ также могут приводить к инвазивному раку или карциномам [9].

АНТИГЕНЫ НА ОСНОВЕ СТРУКТУРНЫХ БЕЛКОВ ВПЧ

Белки L1 и L2 отвечают за сборку капсида и упаковку ДНК, при этом L1 является определяющим в образовании пентамеров капсида [10]. Рекомбинантная экспрессия L1 в дрожжевых и вирусных системах позволяет получать вирусоподобные частицы (VLP), состоящие из пентамеров L1, объединённых в структуру, близкую к оригинальному вириону [11]. Аминокислотные последовательности L1 высококонсервативны, так, оценка 49 последовательностей

различных типов ВПЧ показала, что отличия в аминокислотных последовательностях L1 составляют приблизительно 10% [12]. Типоспецифичные переменные аминокислотные остатки перемежаются с сегментами консервативных остатков. Пространственное моделирование структуры VLP позволило определить, что переменные регионы, представленные последовательностями размером 10–30 аминокислотных остатков, находятся на выступающей наружной поверхности VLP и образуют пространственные структуры типа альфа-спираль, при этом консервативные области погружены во внутреннюю часть вириона (рисунок 2). Экспозиция переменных регионов на поверхности VLP позволяет предположить, что альфа-спирали L1 являются вероятными кандидатами для взаимодействия с рецепторами клеток. Одним из возможных внеклеточных мембранных белков является интегрин альфа, биосинтезирующийся в разнообразных типах клеток [13].

Распознавание эпитопов при их нейтрализации моноклональными и поликлональными сыворотками позволило определить, что именно плотноупакованная структура поверхности капсомера опосредует его высокую иммуногенность [14]. Типоспецифичность определяется именно составом эпитопов. VLP, сформированные главным капсидным белком L1, индуцируют выработку нейтрализующих антител класса IgG у привитых животных. Иммунизация препаратами VLP позволяет защищать экспериментальных животных от последующего заражения вирусом [15, 16].

Функциональные физиологические характеристики L1 послужили поводом для разработки вакцин на основе VLP. Как было показано выше, подобные препараты не содержат продукты экспрессии ранних генов и не являются инфекционными. Современные вакцины против ВПЧ-ассоциированных заболеваний представлены препаратами Гардасил® и Церварикс®, содержащими в качестве действующих веществ вирусоподобные частицы на основе L1 (таблица 1).

II и III фазы клинических исследований, проведённые в Америке и Европе, показали, что через месяц после третьей вакцинации почти для 100% женщин в возрасте от 15 до 26 лет уровни антител к каждому генотипу ВПЧ были в 10–104 раз выше, чем для контрольной группы, при этом уровни, достигнутые после вакцинации, были обратно пропорциональны возрасту [18, 19]. Выработка антител после введения третьей дозы и через 18 месяцев после вакцинации сокращалась примерно на один порядок, после чего выравнивалась, оставаясь неизменной на протяжении как минимум 5 лет наблюдения [20]. Исследование терапевтической эффективности вакцин в лечении

умеренной дисплазии шейки матки (CIN II) и аденокарциномы шейки матки (AIS) среди женщин, инфицированных ВПЧ 16 и 18 типов, показало отсутствие защитного эффекта. Наблюдаемая эффективность вакцин в отношении CIN II и AIS была намного ниже для инфицированных женщин, чем для женщин без признаков ВПЧ-инфекции в прошлом [21].

Таблица 1.

Зарегистрированные VLP-вакцины ВПЧ [17]

Производитель / торговое наименование	Квадριвалентная вакцина	Бивалентная вакцина
	Merck [Gardasil]	GlaxoSmithKline [Cervarix]
Генотипы VLP	6, 11, 16, 18	16, 18
Клеточный субстрат	Дрожжи (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Клетки насекомых (бакуловирусная экспрессионная система)
Адъювант	Аморфный гидроксифосфат-сульфат алюминия (AAHS)	3-О-дезацил-4'-монофосфориллипид А (MPL), сорбированный на гидроксиде алюминия (AS04)

Зафиксированные данные позволили рекомендовать «Гардасил» и «Церварикс» исключительно для профилактики ВПЧ-ассоциированных заболеваний. Среди недостатков вакцин можно выделить низкую эффективность при вакцинации пациентов среднего и пожилого возрастов, побочные эффекты в форме болевых ощущений в месте инъекции, эритем и отёков, необходимость повторной вакцинации и высокую цену (на уровне 3000–5000 руб.). Вакцины на основе L1 не защищают от всех патогенных типов ВПЧ. Следующее поколение вакцин, содержащих консервативные эпитопы белка L2, обещает предоставить широкую защиту от всех ВПЧ, препятствуя как возникновению рака, так и распространению доброкачественных кожных неоплазий.

Минорный структурный белок L2 присутствует в вирионе ВПЧ в количестве примерно в 30 раз меньше, чем L1 [22]. Мономеры L2 формируют межмолекулярный комплекс с пентамерами L1, закрепляясь во внутренней части капсида ВПЧ. Считается, что L2 не

участвуют в формировании капсида и не взаимодействуют с клеточными рецепторами. Их биохимическая активность опосредует сборку вирусных ДНК [23]; обеспечивает процессы проникновения вируса в клетки хозяина и последующего внутриклеточного транспорта вирусного генома [24]; индуцирует конформационные изменения в поражённых вирусом клетках за счёт нарушения структуры мембран [25].

Несмотря на тот факт, что L2 не участвует в процессах связывания вирионов с клетками, небольшой фрагмент L2 экспонируется на поверхности капсида и является доступным для множества нейтрализующих антител [26]. Известно, что на N-концевой части L2 содержатся высококонсервативные для человеческих и животных штаммов вируса последовательности. Некоторые антитела, специфичные к ряду эпитопов N-концевой части L2, могут перекрестно нейтрализовать широкий спектр человеческих и животных штаммов вируса [27].

Иммунизация кроликов двумя модельными белками, представленными фрагментами эпитопов L2, конъюгированных с белками λ -CII и trpE, приводила к выработке высокого титра антител и препятствовала развитию модельной кожной инфекции [28, 29]. Иммунизация крупного рогатого скота экспериментальной профилактической вакциной на основе L2, слитого с глутатион-S-трансферазой, и алюминиевого адъюванта приводила к выработке нейтрализующих антител и обеспечивала продолжительную устойчивость к инфекции при низких дозах антигена [30]. Терапевтическая вакцина на основе L2 для лечения генитальных бородавок в настоящее время проходит клинические испытания [31].

Имеются данные о выделении двух антител к эпитопам L2 ВПЧ 16 типа, способных нейтрализовать модельную вирусную инфекцию как 16, так и 6 типов ВПЧ. Эти моноклональные антитела распознают фрагменты L2, соответствующие аминокислотным остаткам №108-120; стоит отметить, что эта область гомологична для различных генотипов вируса папилломы [32]. По всей видимости, эти кросс-реактивные эпитопы экспонируются на поверхности вириона ВПЧ, что делает возможным их нейтрализацию [30, 32].

Известно, что в развитии ВПЧ-ассоциированных неоплазий участвуют как минимум 15 штаммов ВПЧ высокого риска [33]. Изготовление на основе вирусоподобных частиц, полученных из штаммов различных серотипов, лекарственных препаратов, направленных на полную защиту от инфекции, представляется громоздким и дорогим. По этой причине кросс-реактивные консервативные эпитопы L2, обладающие широкой специфичностью к ВПЧ различных

генотипов, являются перспективными кандидатами для создания эффективных профилактических вакцин против ВПЧ.

АНТИГЕНЫ НА ОСНОВЕ РАННИХ БЕЛКОВ ВИРИОНА ВПЧ

Онкобелки E5, E6 и E7 отвечают за возникновение и поддержание предраковых новообразований и являются приоритетными кандидатами при разработке вакцин терапевтического действия [8]. E6 и E7 играют критическую роль в патогенезе опухолевого роста, приводя к подавлению механизмов иммунного контроля и неконтролируемому клеточному делению [35]. Они способны изменять клеточный цикл за счёт связывания с белками-супрессорами опухолевого роста p53 и pRb. Прочность связывания и степень инактивации белков-супрессоров напрямую влияют на вероятность перевода незлокачественной папилломы в злокачественное новообразование. Трансформационная активность ВПЧ опосредована комбинированным действием E6 и E7, использование отдельного антигена E7 устраняет риски реверсии вирулентности.

При изучении биопсийного материала установлено, что связь между гиперэкспрессией E7 и уменьшением количества pRb. Основное свойство онкопротеинов E7 заключается в их трансформационной активности, приводящей к изоляции гипофосфорилированных форм pRb [35]. E7 штаммов высокого риска связывают pRb плотнее и фосфорилируют до большей степени, нежели E7 штаммов низкого риска; различия обусловлены их разной аффинностью к pRb для различных штаммов ВПЧ [36].

Аминокислотную последовательность онкопротеинов E7 можно условно разделить на три региона: CR1, CR2 и CR3 (рисунок 2). CR1 и CR2 представлены неструктурированными гибкими последовательностями, готовыми к взаимодействию с pRb без предварительной реструктуризации E7. Аминокислотная последовательность LHCYE, принадлежащая CR2, непосредственно отвечает за связывание с pRb. CR3 способен автономно сворачиваться в высокоструктурированный цинксвязывающий домен, опосредующий димеризацию E7 [37]. В многочисленных исследованиях было показано, что E7 демонстрирует АТФ-зависимую шаперонную активность на ряде модельных белков, что может объяснить его широкую специфичность к различным мишеням, в том числе pRb [38].

Экспериментальные терапевтические вакцины на основе E7 показали эффективность на животных моделях, часть из них находится на II и III фазах клинических исследований [5, 39]. Показано, что основные недос-

татки антигенов E7 связаны с их слабой презентацией иммунокомпетентным клеткам, что отражается на низких уровнях выработки эффекторных популяций Т-клеток и плохом распространении этих популяций в невоспаленные участки организма. Таким образом, при разработке эффективной вакцины на основе E7 решающее значение имеет выбор адъюванта [40].

Одним из наиболее интересных решений по увеличению иммуногенности E7 является их рекомбинантная гибридизация с высокомолекулярными белками теплового шока (БТШ). БТШ усиленно вырабатываются под воздействием стрессовых условий, предотвращая агрегацию и участвуя в сборке неверно свёрнутых белков. Они отвечают за транспорт белков вдоль мембранных органелл, стабилизацию свежесинтезированных или несвёрнутых полипептидов и контролируют биологическую активность белков-субстратов посредством регуляции фолдинга, что позволяет классифицировать их как белки-шапероны [41].

Основной интерес к высокомолекулярным БТШ связан с их влиянием на иммунокомпетентные клетки, что позволяет рассматривать их использование при создании вакцин. Считается, что при стрессовых ситуациях и при повреждениях тканей БТШ выходят из клеток, выступая в качестве модуляторов иммунного ответа [42]. Исследования биопсийного материала показали, что половина изученных опухолей имели на наружной мембране БТШ70, при исследовании здоровых тканей аналогичного происхождения белок не был обнаружен [43].

В многочисленных исследованиях показано, что БТШ70 способен стимулировать выработку естественных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов и участвовать в их транспорте к опухолевым клеткам [44]. Известно, что БТШ70 может принимать участие в презентации антигенов совместно с белками главного комплекса гистосовместимости, при этом формирование комплекса с антигеном предотвращает протеолитический гидролиз антигена и позволяет депонировать достаточное количество антигена для презентации [45]. Введение белка мышам с привитой опухолью приводило к увеличению продолжительности их жизни и уменьшению опухолей [46].

Ещё одной описанной иммуномодулирующей функцией БТШ70 является его способность стимулировать выработку фактора некроза опухолей, интерлейкинов, макрофагов и лимфоцитов, что приводит к активации системы врождённого иммунитета [47]. Предполагается, что ковалентная конъюгация E7 с БТШ70 позволит увеличить иммуногенность E7 [48].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение структуры и свойств функциональных элементов вириона ВПЧ позволяет моделировать вакцины с предсказуемой профилактической и терапевтической эффективностью. Основными недостатками таких вакцин являются слабая презентация антигена и пониженный транспорт в невоспаленные участки организма. При разработке эффективной вакцины определяющим моментом является правильный выбор адъюванта, способного участвовать в процессах презентации и обладающего ярко выраженными иммуногенными свойствами. Комплексные адъюванты на основе неорганических солей алюминия и высокомолекулярные белки теплового шока могут стать перспективными кандидатами для повышения иммуногенности вакцин для лечения ВПЧ-ассоциированных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Ройт. Иммунология. – М.: Мир, 2000. С. 15.
2. Н.В. Медуницын. Вакцинология. – М.: Триада-Х, 2004. Ч. 1.
3. R.T. Kenney, R. Edelman, M.M. Levine, J.B. Kaper, R. Rappuoli. In *New Generation Vaccines*. 2nd ed. – N.Y.; Basel: Marcel Dekker, 1997. P. 213–223.
4. M. Liniger, A. Zuniga, H.Y. Naim. Use of viral vectors for the development of vaccines // *Expert Rev. Vaccines*. 2007. V. 6. № 2. P. 255–266.
5. I.H. Frazer. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination // *Nature Rev. Immunol.* 2004. V. 4. P. 46–54.
6. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2008. URL: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2008/ (дата обращения 23.01.2016).
7. V. Cogliano, R. Baan, K. Straif, Y. Grosse, B. Secretan. Carcinogenicity of human papillomaviruses // *Lancet Oncol.* 2005. V. 6. P. 204.
8. F. Fehrmann, L.A. Laimins. Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation // *Oncogene*. 2003. V. 22. № 33. P. 5201–5207.
9. В.А. Исаков, Д. К. Ермоленко, Ф. Р. Кутуева. Использование циклоферона в терапии папилломавирусной инфекции. Рекомендации для врачей. – СПб.; Великий Новгород: Тактик-Студио, 2007. С. 64.
10. X.S. Chen, G. Casini, S.C. Harrison, R.L. Garcea. Papillomavirus capsid protein expression in *Escherichia coli*: purification and assembly of HPV11 and HPV16 L1 // *J. Mol. Biol.* 2001. V. 307. № 1. P. 173–182.
11. J. Zhou, X.Y. Sun, D.J. Stenzel, I.H. Frazer. Expression of vaccinia recombinant HPV 16 L1 and L2 ORF proteins in epithelial cells is sufficient for assembly of HPV virion-like particles // *Virology*. 1991. V. 185. P. 251–257.
12. X.S. Chen, R.L. Garcea, I. Goldberg, G. Casini, S.C. Harrison. Structure of small virus-like particles assembled from the L1 protein of human papillomavirus 16 // *Mol. Cell*. 2000. V. 5. № 3. P. 557–567.
13. R.B. Roden, R. Kirnbauer, A.B. Jenson, D.R. Lowy, J.T. Schiller. Interaction of papillomaviruses with the cell surface // *J. Virol.* 1994. V. 68. № 11. P. 7260–7266.
14. V.A. Olcese, Y. Chen, R. Schlegel, H. Yuan. Characterization of HPV16 L1 loop domains in the formation of a type-specific, conformational epitope // *Microbiol.* 2004. V. 4. P. 29.
15. J.A. Suzich, S.J. Ghim, F.J. Palmer-Hill, W.I. White, J.K. Tamura. Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1995. V. 92. № 25. P. 11553–11557.
16. F. Breitburd, R. Kirnbauer, N.L. Hubbert, B. Nonnenmacher, G. Trin-Dinh-Desmarquet. Immunization with viruslike particles from cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) can protect against experimental CRPV infection // *J. Virol.* 1995. V. 69. № 6. P. 3959–3963.
17. F.T. Cutts, S. Franceschi, S. Goldie, X. Castellsague, S. de Sanjose. Human papillomavirus and HPV vaccines: a review // *Bull. World Health Organ.* 2007. V. 85. № 9. P. 719–726.
18. L.L. Villa, K.A. Ault, A.R. Giuliano, R.L. Costa, C.A. Petta. Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18 // *Vaccine*. 2006. V. 24. № 27–28. P. 5571–5583.
19. D.M. Harper, E.L. Franco, C.M. Wheeler, A.B. Moscicki, B. Romanowski. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial // *Lancet*. 2006. V. 367. № 9518. P. 1247–1255.
20. L.L. Villa, R.L.R. Costa, C.A. Petta, R.P. Andrade, J. Paavonen. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up // *Br. J. Cancer*. 2006. V. 95. № 11. P. 1459–1466.
21. Vaccines And Related Biological Products Advisory Committee Meeting. URL: <http://www.fda.gov/>

- ohrms/dockets/ac/06/briefing/2006-4222b-index.htm (дата обращения 23.01.2016).
22. R. Kirnbauer, J. Taub, H. Greenstone, R. Roden, M. Dürst. Efficient self-assembly of human papillomavirus type 16 L1 and L1-L2 into virus-like particles // *J. Virol.* 1993. V. 67. № 12. P. 6929–6936.
 23. S.C. Holmgren, N.A. Patterson, M.A. Ozbun, P.F. Lambert. The minor capsid protein L2 contributes to two steps in the human papillomavirus type 31 life cycle // *J. Virol.* 2005. V. 79. № 7. P. 3938–3948.
 24. M.E. Hagensee, N. Yaegashi, D.A. Galloway. Self-assembly of human papillomavirus type 1 capsids by expression of the L1 protein alone or by coexpression of the L1 and L2 capsid proteins // *J. Virol.* 1993. V. 67. № 1. P. 315–322.
 25. N. Kämper, P.M. Day, T. Nowak, H.C. Selinka, L. Florin. A membrane-destabilizing peptide in capsid protein L2 is required for egress of papillomavirus genomes from endosomes // *J. Virol.* 2006. V. 80. № 2. P. 759–768.
 26. J.M. Gaukroger, L.M. Chandrachud, B.W. O'Neil, G.J. Grindlay, G. Knowles, M.S. Campo. Vaccination of cattle with bovine papillomavirus type 4 L2 elicits the production of virus-neutralizing antibodies // *J. Gen. Virol.* 1996. V. 77. № 7. P. 1577–1583.
 27. M.E. Embers, L.R. Budgeon, T.D. Culp, C.A. Reed, M.D. Pickel, N.D. Christensen. Differential antibody responses to a distinct region of human papillomavirus minor capsid proteins // *Vaccine.* 2004. V. 22. № 5–6. P. 670–680.
 28. N.D. Christensen, J.W. Kreider, N.C. Kan, S.L. DiAngelo. The open reading frame L2 of cottontail rabbit papillomavirus contains antibody-inducing neutralizing epitopes // *Virology.* 1991. V. 181. № 2. P. 572–579.
 29. Y.L. Lin, L.A. Borenstein, R. Selvakumar, R. Ahmed, F.O. Wettstein. Effective vaccination against papilloma development by immunization with L1 or L2 structural protein of cottontail rabbit papillomavirus // *Virology.* 1992. V. 187. № 2. P. 612–619.
 30. L.M. Chandrachud, G.J. Grindlay, G.M. McGarvie, B.W. O'Neil, E.R. Wagner. Vaccination of cattle with the N-terminus of L2 is necessary and sufficient for preventing infection by bovine papillomavirus-4 // *Virology.* 1995. V. 211. № 1. P. 204–208.
 31. C.J. Lacey, H.S. Thompson, E.F. Monteiro, T. O'Neill, M.L. Davies. Phase IIa safety and immunogenicity of a therapeutic vaccine, TA-GW, in persons with genital warts // *J. Infect. Dis.* 1999. V. 179. № 3. P. 612–618.
 32. K. Kawana, H. Yoshikawa, Y. Taketani, K. Yoshiike, T. Kanda. Common Neutralization Epitope in Minor Capsid Protein L2 of Human Papillomavirus Types 16 and 6 // *J. Virol.* 1999. V. 73. № 7. P. 6188–6190.
 33. Human Papillomaviruses. URL: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol90/mono90.pdf> (дата обращения 23.01.2016).
 34. M. Rolfe, P. Beer-Romero, S. Glass, J. Eckstein, I. Berdo. Reconstitution of p53-ubiquitinylation reactions from purified components: the role of human ubiquitin-conjugating enzyme UBC4 and E6-associated protein (E6AP) // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. № 8. P. 3264–3268.
 35. K. Mürnger, B.A. Werness, N. Dyson, W.C. Phelps, E. Harlow, P.M. Howley. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product // *EMBO J.* 1989. V. 8. № 13. P. 4099–4105.
 36. K. Mürnger, W.C. Phelps, V. Bubba, P.M. Howley, R. Schlegel. The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes // *J. Virol.* 1989. V. 63. № 10. P. 4417–4421.
 37. O. Ohlenschläger, T. Seiboth, H. Zengerling, L. Bries, A. Marchanka, R. Ramachandran. Solution structure of the partially folded high-risk human papilloma virus 45 oncoprotein E7 // *Oncogene.* 2006. V. 25. № 44. P. 5953–5959.
 38. K. Mürnger, J.R. Basile, S. Duensing, A. Eichten, S.L. Gonzalez. Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein // *Oncogene.* 2001. V. 20. № 54. P. 7888–7898.