

КОМИСАРЕНКО

Сергій Васильович — академік НАН України, в.о. академіка-секретаря Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України, директор Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

ПРО УЧАСТЬ ВЧЕНИХ НАН УКРАЇНИ В ПРОТИДІЇ COVID-19. СТВОРЕННЯ ВАКЦИН ПРОТИ SARS-COV-2 ТА COVID-19 В УКРАЇНІ: СТАН, ПРОБЛЕМИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Стенограма доповіді на засіданні
Президії НАН України 9 червня 2021 року

У доповіді зазначено, що в установах НАН України, зокрема в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Інституті біології клітини НАН України, Інституті молекулярної біології і генетики НАН України, Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, активно ведуться роботи з розроблення прототипів вітчизняних РНК- та субодичних вакцин проти коронавірусу SARS-CoV-2, який викликає небезпечне вірусне захворювання COVID-19.

Шановний Анатолію Глібовичу!
Шановні учасники засідання!

Усі ми розуміємо, що сучасна медицина побудована на досягненнях медико-біологічних наук. Нещодавно на Загальних зборах НАН України я розповідав про те, що останнім часом було зроблено в Академії в напрямі боротьби з поширенням коронавірусу SARS-CoV-2 та наслідками захворювання COVID-19, яке він викликає. У сьогоднішній доповіді основну увагу я приділятиму питанню створення вакцин проти SARS-CoV-2.

У зв'язку з поширенням пандемії COVID-19 система біобезпеки в Україні набуває надзвичайно важливого значення. Загалом можна виокремити такі головні підходи до боротьби з пандеміями: 1) профілактика, насамперед вакцинація; 2) вжиття протиепідемічних заходів; 3) застосування специфічних протівірусних чи протибактеріальних препаратів. Специфічних ліків проти SARS-CoV-2 поки не знайдено, протиепідемічні заходи ефективні, але спричиняють великі загрози для економіки, а тому зараз у світі найбільшу увагу прикуто до робіт зі створення вакцин проти коронавірусу SARS-CoV-2.

Створення високоефективних вакцин проти коронавірусу та ще й у найкоротші терміни (перші результати I фази клініч-

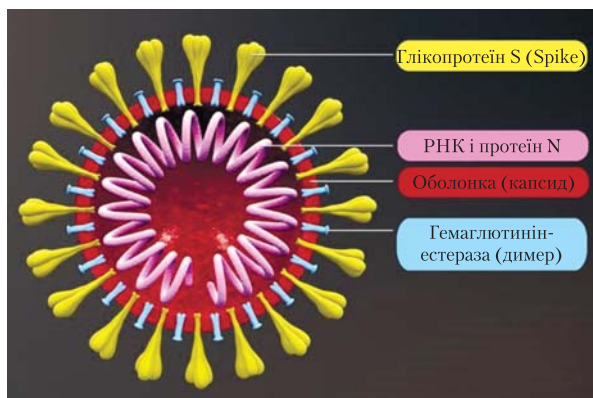


Рис. 1. Схема будови коронавірусу SARS-CoV-2. Показано протеїни на його поверхні, які найчастіше є мішенями при розробленні вакцин

ного випробування мРНК-вакцини Moderna з'явилися вже у травні 2020 р.) є прикладом визначного успіху сучасних медико-біологічних наук, який навіть порівнюють з польотом людини на Місяць.

Першим у світі пацієнтом, який отримав щеплення в рамках програми з вакцинації проти COVID-19, стала 91-річна жителька м. Ковентрі у Великій Британії Маргарет Кінан — 8 грудня 2020 р. їй було введено першу дозу вакцини BioNTech-Pfizer. Відтоді у світі принаймні однією дозою вакциновано вже понад 2 млрд осіб, а повну вакцинацію двома дозами отримали близько 500 млн осіб, що становить 5,9% населення земної кулі. У США на сьогодні повністю імунізовано 140 млн осіб (42,6% населення), у Великій Британії — 28 млн (41,9%), в Ізраїлі — 5,14 млн (56,8%), у сусідній Польщі — 8,37 млн (22%), а в Україні — 152 тис. (0,3%). Отже, таке незадовільне становище з вакцинацією в Україні є вкрай небезпечним.

На перший погляд створення вакцини — це дуже просто. Для цього лише потрібно знайти антиген (найчастіше це протеїн), напрацювати достатньо велику його кількість і перетворити цей антиген на вакцину. Проте в реальності розроблення вакцини — це дуже складний, тривалий і фінансово затратний процес. Крім того, що спочатку слід знайти правильний ан-

тиген, необхідно ще визначити його антигенну структуру — імунодомінантні області, епітопи для антитіл та Т-лімфоцитів тощо, правильно здійснити дизайн, розробити коректні методики синтезу та очищення, визначити оптимальні дози і схеми імунізації, передбачити можливі побічні ефекти та мінімізувати їх, провести доклінічні та клінічні випробування. Як правило, цей процес триває кілька років і розробники витрачали на нього кілька мільярдів доларів.

На рис. 1 наведено схему будови коронавірусу SARS-CoV-2 і показано чотири протеїни, проти яких розробляють переважно більшість вакцин: це глікопротеїн «шипа» (S-протеїн), нуклеокапсидний N-протеїн, мембранний M-протеїн і E-протеїн оболонки.

Загалом при розробленні вакцини застосовують такі основні платформи: а) на основі нуклеїнових кислот — ДНК або РНК, які можуть різнитися способами доставки; б) на основі протеїнів (субодиничні вакцини); в) вірусні вектори, які реплікуються та які не реплікуються; г) власне віруси SARS-CoV-2 — інактивовані або атенуйовані (тобто в ослабленому стані).

Створення вітчизняної вакцини важливе не лише з огляду на пандемію COVID-19, а й як ключовий крок до відновлення процесів розроблення та виробництва вакцин в Україні, що дасть змогу в майбутньому своєчасно реагувати на виклики, пов'язані з поширенням нових захворювань. Вакцина для профілактики COVID-19 повинна мати три основні властивості: 1) надійну імунну відповідь, яка генерує довготривалі нейтралізуючі антитіла до антигенів SARS-CoV-2 (наприклад, протеїнів S та/або N); 2) викликати потужний Т-лімфоцитний імунітет; 3) вакцина не повинна спричиняти будь-яких серйозних побічних ефектів, а також супроводжуватися такими явищами, як антитілозалежна клітинна цитотоксичність, вакцино-асоційоване захворювання дихальних шляхів, цитокиновий «шторм» тощо, що призводять до смерті важких хворих на COVID-19. Тобто майбутня вакцина має пройти детальну перевірку на безпечність, адже амінокислотні послідовності

протеїнів вірусу і людського організму іноді містять схожі фрагменти, внаслідок чого побічними ефектами вакцини можуть бути аутоімунні захворювання.

Сьогодні установи НАН України виконують чотири проекти зі створення вітчизняних вакцин. Так, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України та Інститут біології клітини НАН України у Львові працюють над створенням субодиночних вакцин проти S-протеїну, але в Інституті біохімії використовують прокаріотичні та еукаріотичні системи, а в Інституті біології клітини — гуманізовані дріжджі. Ці проекти фінансуються за грантами Національного фонду досліджень України. Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України бере участь у розробленні субодиночної вакцини на основі N-протеїну нуклеокапсиду вірусу. І нарешті, є серйозні сподівання на успішне співробітництво між НАН України та ПрАТ «Індар» зі створення вітчизняної вакцини на основі мРНК.

Науковці Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України отримали продуценти рекомбінантних протеїнів SARS-CoV-2 та злитих кон'югантів, виділили у чистому вигляді S-протеїн «шипа», його мутантну форму (Smut), рецептор-зв'язувальний домен (RBD) «шипа», злиті кон'югати RBD з носієм CRM197 і флуоресцентним протеїном EGFP, а також отримали N-протеїн нуклеокапсиду. З використанням кон'юганта RBD-EGFP розроблено дуже цікавий метод безвірусної перевірки потенційних лікарських препаратів (зокрема, на основі антитіл) на здатність перешкоджати взаємодії коронавірусу SARS-CoV-2 з рецепторами ACE2 клітин людини та захищати клітини від інфікування коронавірусом (рис. 2). У результаті виконання проекту ми плануємо визначити оптимальний склад вакцинного препарату проти COVID-19 на основі рекомбінантних протеїнів, який має потужні імуногенні та захисні властивості, а також випробувати його дослідний зразок на тваринах. У разі використання імуногена CRM197 (дифтерійного токсиду) вакцина одночасно стає і протиковідною, і протидифтерійною.

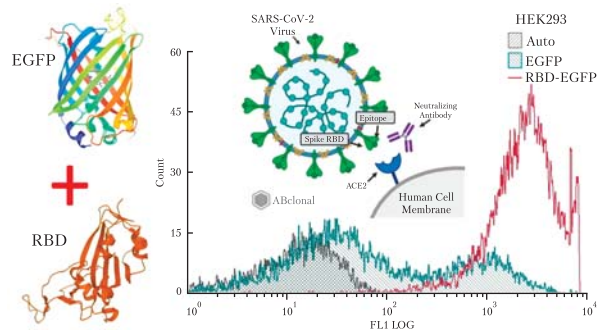


Рис. 2. Використання злитого кон'югата RBD-домену S-протеїну із зеленим флуоресцентним протеїном (EGFP) для тестування нейтралізуючої активності антитіл

В Інституті біології клітини НАН України розробляють вакцини на основі експресії фрагментів S-білка SARS-CoV-2 в гуманізованих дріжджах. Вчені сконструювали вектори для експресії різних секретованих та внутрішньоклітинних варіантів фрагментів S-білка та отримали відповідні рекомбінантні штами дріжджів *Komagataella phaffii* GlycoSwitch. Результати аналізів свідчать, що отримані рекомбінантні штами експресують різні варіанти фрагментів S-білка, а також його гептадні повтори. В Інституті проводяться також піонерські роботи з конструювання векторів для експресії білків, які формуватимуть вірусоподібні частинки, здатні сильніше індукувати утворення антитіл та Т-лімфоцитів в організмі. Вже отримано відповідні рекомбінантні штами згаданих дріжджів. Надалі передбачено напрацювання за допомогою біореактора білків, якими (після їх очищення) у співпраці з вченими НАН України планується провести імунізацію трансгенних гуманізованих мишей для синтезу антитіл. Однак для подальшої роботи та перевірки ефективності такої імунізації планується залучити можливості польських вчених, які мають живі штами коронавірусу SARS-CoV-2.

Науковці Інституту біології клітини НАН України пропонують ще один, більш ощадливий шлях отримання вакцини. Для цього також використовуватимуться дріжджі, які

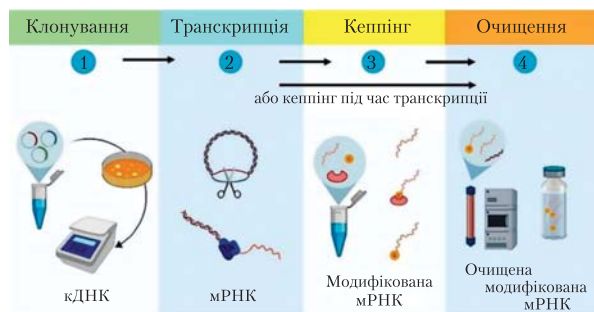


Рис. 3. Основні етапи виготовлення мРНК для виробництва вакцин

синтезуватимуть та накопичуватимуть на поверхні клітини антигени коронавірусу SARS-CoV-2. В результаті поверхня клітини дріжджів буде повністю вкрита ковалентно прикріпленими вірусними білками, а отже, клітина дріжджів буде ад'ювантом, а білки вірусу на її поверхні – вакциною.

Учені Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України разом із приватною науково-виробничою компанією «Діапроф-Мед» у складі україно-американського консорціуму DiaPrep System Inc. (Атланта, США) беруть участь у розробленні субодиночної вакцини на основі N-протеїну нуклеокапсиду вірусу. За інформацією авторів, вони вже завершили доклінічні випробування прототипу вакцини. Тепер вони планують організувати в Україні виробництво кількох тисяч доз цієї вакцини для початку I та II фаз клінічних випробувань.

Важливою складовою впровадження наукових результатів у цій галузі є налагодження тісної співпраці з вітчизняними фармвиробниками, які мають відповідні GMP-умови для вакцинного виробництва, а також проведення всіх необхідних фаз клінічних випробувань. Першим кроком на цьому шляху стало підписання меморандуму про співробітництво між

НАН України та ПрАТ «Індар» з метою створення вітчизняної мРНКової вакцини (аналога широковідомої вакцини BioNTech-Pfizer). Таке співробітництво може мати стратегічне значення для створення вакцин на основі мРНК не лише проти COVID-19, а й проти інших небезпечних захворювань.

Крім того, наприкінці минулого року компанія Moderna, яка є піонером у розробленні вакцин і терапевтичних препаратів на основі мРНК, офіційно заявила, що вона відкриває патенти для виробників вакцин проти COVID-19 для якнайшвидшого припинення пандемії. Це значно спрощує завдання з організації в Україні виробництва мРНКових вакцин, оскільки ці патенти коштували дуже дорого.

Процес виготовлення мРНК для подальшого виробництва вакцин її на основі складається з чотирьох основних етапів (рис. 3). На першому етапі потрібно отримати плазмідну кДНК, що містить необхідні гени. Другий етап – одержання відповідної мРНК розрізанням кільцевої кДНК; синтез *in vitro* мРНК на основі кДНК з використанням РНК-полімерази бактеріофагу T7, T3 або SP6 (транскрипція); руйнування ДНК за допомогою ензимів ДНКаз. Далі, на третьому етапі, необхідно забезпечити наявність у мРНК потрібних структурних елементів та оптимізувати їх дизайн. Четвертий етап – це очищення мРНК за допомогою комбінування стадій осадження та екстракції, а також хроматографії високої роздільної здатності.

На завершення зазначу, що відновлення в Україні власного фармацевтичного виробництва імунологічних препаратів – це питання національної безпеки, і дуже добре, що воно нарешті розглядається на найвищому рівні.

Дякую за увагу!

За матеріалами засідання підготувала О.О. Мележик

Serhiy V. Komisarenko

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3244-3194>

ON THE PARTICIPATION OF SCIENTISTS OF THE NAS OF UKRAINE
IN COUNTERACTING COVID-19. DEVELOPMENT OF VACCINES AGAINST
SARS-COV-2 AND COVID-19 IN UKRAINE: STATUS, PROBLEMS AND PROSPECTS

Transcript of report at the meeting of the Presidium of NAS of Ukraine, June 9, 2021

The report states that in the institutions of the NAS of Ukraine, in particular at the Palladin Institute of Biochemistry of the NAS of Ukraine, Institute of Cell Biology of the NAS of Ukraine, Institute of Molecular Biology and Genetics of the NAS of Ukraine, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine, work is underway to develop prototypes of domestic RNA and subunit vaccines against the coronavirus SARS-CoV-2, which causes the dangerous viral disease COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, subunit vaccines, mRNA vaccines.