

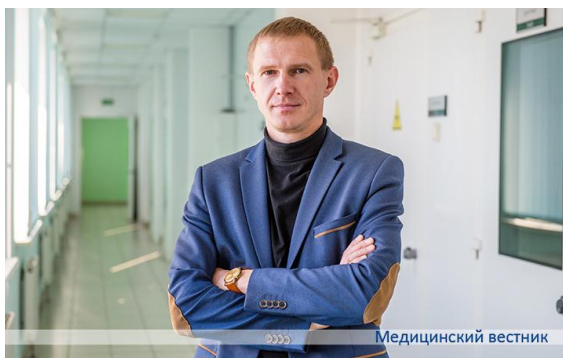
Белорусская вакцина уходит на доклинические исследования

Над разработкой отечественной вакцины против COVID-19 трудятся лучшие ученые РНПЦ эпидемиологии и микробиологии и Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Научный проект, который вплотную приблизился к этапу доклинических испытаний, станет платформой для создания аналогичных вакцин в будущем.

Что представляет собой отечественная вакцина?

Это классическая цельновирионная инактивированная вакцина (препарат вируса, специальным образом инактивированный, очищенный и конъюгированный с адьювантом — веществом, стимулирующим иммунную систему на выработку антител).

Белорусский препарат будет приготовлен по классической технологии, в основе которой лежит исходный вирус. Эта технология отработана на протяжении десятков лет, используется российскими и китайскими производителями.



Павел Семижон, заведующий лабораторией биотехнологии и иммунодиагностики особо опасных инфекций РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, канд. биол. наук.

Фактически белорусская вакцина станет аналогом Vero Cell. Она содержит полный состав антигенов, т. е. всю вирусную оболочку, включающую не только S-белок, но и N-белок (не представленный в «Спутнике V», т. к. эта вакцина создана на основе аденовируса, куда встроен фрагмент RBD-домена, который формирует шиповидную структуру (корону) коронавируса). Соответственно, антитела, вырабатываемые в ответ на введение этого препарата, будут антителами не только к RBD-домену S-белка. Наша вакцина будет более полноценной, реально соответствующей вирусной структуре. В этом ее особенность.

Павел Семижон, заведующий лабораторией биотехнологии и иммунодиагностики особо опасных инфекций РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, канд. биол. наук

Что уже сделано?

Павел Семижон:

На текущем этапе выделен ряд изолятов вируса SARS-CoV-2. Сначала мы выделяли уханьский вариант, европейский, обрабатывали их культивирование на специфической культуре клеток Vero E6, оптимизировали, подбирали дозы инфицирования, т. е. фактически подбирали условия оптимального роста и накопления вируса на культуре клеток.

В последующем ученые культивировали британский вариант, сейчас активно работают с вариантом «дельта», который в настоящий момент доминирует в республике.

Методом химической инактивации, т. е. путем обработки b-пропиолактоном, фактически получен уже инактивированный препарат вируса. Решено было идти по проверенному пути: b-пропиолактон эффективно используется в мировой вирусологической практике, при определенных условиях полностью разлагается и не

оказывает никакого действия на организм человека. Альтернативно для этих целей могут применяться формальдегид, физические факторы (гамма-облучение).

Сейчас полученный инактивированный препарат варианта «дельта» сконцентрирован, очищен и готов к использованию в качестве кандидатного варианта для создания вакцины.

Павел Семижон:

Лаборатория биотехнологии и иммунодиагностики особо опасных инфекций РНПЦ эпидемиологии и микробиологии имеет большой опыт работы с возбудителями, с выделением вирусов на культуре клеток. Соответственно, специалисты, кадры у нас свои. Но, учитывая масштабы, пришлось расширять парк оборудования.

В частности, в рамках этого проекта были выделены средства на закупку CO₂-инкубаторов, ламинарных боксов, центрифуг, а также современного жидкостного хроматографа, который позволит проводить двухступенчатую очистку концентрированного инактивированного препарата вируса и получать уже фактически готовый для конъюгирования с адьювантом препарат. То есть разрабатываемая технология будет использоваться на промышленном и опытно-промышленном производстве.

Помимо перечисленного выше, уже проведены конъюгирование (этот этап выполняют в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси), оценка полноты сорбции на адьюванте очищенного вирусного антигена и подготовлена опытная партия вакцины, которая сейчас находится в эксперименте на лабораторных животных.

Андрей Гончаров, директор Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси:

В исследовании мы определили несколько адьювантов на предмет их способности усиливать иммунные свойства инактивированного вируса в условиях *in vitro*. Всего было использовано 5 адьювантов, 7 разных изолятов коронавируса, которые нам передал РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, проверили токсические свойства этих изолятов и адьювантов на культурах клеток. В последнее время все больше токсикологических исследований проводится на культурах клеток без привлечения животных.

Необходимо было отсеять те лекарственные препараты, которые в доклинических исследованиях использовать будет явно невозможно. Важно сделать вакцину, которая будет хорошо восприниматься организмом.

Далее проверили иммуногенные свойства этих изолятов *in vitro*: специальные тесты в лабораторных условиях позволяют отобрать изоляты, интенсивнее всех стимулирующие клеточный иммунный ответ.

В итоге отобрали 2 изолята и продолжили с ними работать. Тесты включали цитофлуориметрическую оценку пролиферативной активности Т-клеток у пациентов, переболевших COVID-19, и, соответственно, неболевших (в качестве контроля). А также внутриклеточную продукцию интерферона-гамма Т-лимфоцитами при сокультивировании с вирусом.

После этого задачей ученых было подобрать концентрации антигена, адекватную концентрацию гидроксида алюминия на адьюванте. Остановились на гидроксиде алюминия, т. к. он хорошо себя показал в стимуляции клеток.

В результате была сделана лабораторная партия, фактически готовая лекарственная форма. И уже 3 партии отправлены на доклинические исследования.

Часть из них передана в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии для исследования на лабораторных животных.

Андрей Гончаров:

В Институте физиологии НАН Беларуси, который также является соисполнителем этого проекта, начата иммунизация лабораторных животных на оценку токсичности готового профилактического иммунного средства. Окончательных результатов пока нет, но предварительно очевидно, что вакцина хорошо переносится, гибели животных зарегистрировано не было, хотя вводили дозы, в 10 раз превышающие обычную, причем разными способами (внутримышечно, внутривенно). Часть животных вывели из эксперимента, морфологически внутренние органы не изменены, по всей видимости, результат будет позитивный.

Эксперимент должен закончиться в середине ноября. Павел Семижон также считает, что по предварительным данным можно сказать о том, что препарат нетоксичен и, вероятнее всего, будет хорошо стимулировать выработку специфических антител.

Следующая задача ученых — подготовка опытно-промышленной партии и проведение полноценных, по международным протоколам, доклинических исследований.

Этапы производства

Сейчас параллельно с работой по завершению эксперимента по острой и хронической токсичности осуществляется трансфер технологии на опытно-промышленное производство. Ученые готовят соответствующую документацию для передачи коллегам, которые будут заниматься непосредственно производством вакцины (для этого на базе РУП «Белмедпрепараты» и ОАО «БелВитунифарм» создано совместное предприятие; планируется, что опытно-промышленную партию для доклинических и клинических испытаний выпустят именно там).

В производстве опытно-промышленной партии отечественной вакцины можно выделить два основных этапа, они будут разделены. Первый — получение и накопление вируса и его инактивация, очистка, второй — конъюгирование с адъювантом, оценка готового продукта (по определенным параметрам), розлив и дальнейшие исследования.

Предполагается, что работы первого этапа будут выполнять специалисты ОАО «БелВитунифарм»: сейчас идет активное строительство площадей под эти цели, готовится модернизация, будет установлено соответствующее оборудование.

Этапы конъюгирования с адъювантом и розлив планируется проводить на базе РУП «Белмедпрепараты».

В последующем полный цикл производства будет сосредоточен на площадке ОАО «БелВитунифарм» в д. Должа Витебского района. Там строят отдельный цех, предусматривающий полноценное промышленное производство не только вакцины в отношении SARS-CoV-2, но и других вакцин для актуальных инфекций в будущем.