

ОЦЕНКА РИСКА ПЕРЕКРЕСТНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ВИРУСОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДЕЛЬНЫХ АДЕНОВЕКТОРОВ, НЕСУЩИХ ГЕНЫ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ

П.М. Петрова, О. Попова, Т.А. Ожаровская, Д.В. Воронина, Д.И. Зрелкин

НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

Производство биотехнологических препаратов с использованием клеток-продуцентов сопряжено с риском перекрестной контаминации клетками других культур или посторонними микроорганизмами. Такая проблема существует при изготовлении противовирусных вакцин, в частности на базе аденовирусных векторов различных серотипов. Например, в вакцинах от гриппа аденовирусные векторы представлены 5, 26, 35 или другими серотипами [1], вакцины против COVID-19 включают серотипы 5, 26 и полученный от шимпанзе серотип Y25 [2, 3]. Риск перекрестной контаминации повышается при получении на одном предприятии двух и более векторов. Так, крупным прецедентом стал брак нескольких серий вакцины против COVID-19 JNJ-78436735 на основе аденовируса 26 серотипа из-за смешения субстанции с компонентами вакцины AZD1222 на базе Y25, производство которой расположено на том же заводе [4]. Существует целый ряд методов, направленных на предотвращение, обнаружение и устранение биологического загрязнения.

Целью работы было определение контаминирующей дозы вируса при совместном культивировании аденовекторов 26 и 5 серотипов методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Мы проводили исследование с использованием двух модельных аденовирусов – 5 (Ad5) и 26 (Ad26) серотипов, несущих гены красного (mCherry) и зеленого (EGFP) флуоресцентных белков соответственно. В культуру клеток НЕК 293 зараженных Ad26-EGFP в дозе 10^6 вирусных частиц вносили десятикратные разведения Ad5-mCherry в дозе от 10^4 до 10^7 вирусных частиц. Контаминацию оценивали визуально по экспрессии репортерных генов с помощью флуоресцентной микроскопии и детекцией вирусных геномов методом ПЦР-РВ. При первом культивировании визуально контаминацию не наблюдали только при заражающей дозе Ad5-mCherry 10^4 частиц. Соотношение количества геномов целевого вируса Ad26-EGFP и вируса Ad5-mCherry, вызывающего контаминацию, на 5 день культивирования составило $3,22 \times 10^{11}$ и $2,64 \times 10^7$ соответственно. При следующем культивировании Ad26-EGFP экспрессия mCherry была обнаружена для всех доз, а соотношение количества геномов Ad26-EGFP и Ad5-mCherry составило $4,50 \times 10^{11}$ к $2,23 \times 10^{12}$, $2,89 \times 10^{10}$, $7,68 \times 10^8$ и $9,22 \times 10^7$ соответственно.

Таким образом, регулярный мониторинг перекрестной контаминации при производстве вирусных векторов различных серотипов на одних производственных площадках является важным этапом в определении качества производимых препаратов, а использование современных молекулярно-биологических методов, таких как ПЦР в режиме реального времени, значительно ускоряет и упрощает контроль.

Литература

- Coughlan L. et al. Adenoviral vectors as novel vaccines for influenza. *Pharm Pharmacol.* – 2015. 67(3): 382–399.
- Logunov DY et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet.* – 2021. 397(10275): 671–681.
- Voysey M et al. Oxford COVID Vaccine Trial Group. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet.* – 2021. 397(10269): 99–111.
- FDA: Decision memorandum to Janssen COVID-19 Vaccine № 27205 [утверждён 11 июня 2021 года]. – Food&drug administration – Текст: электронный.