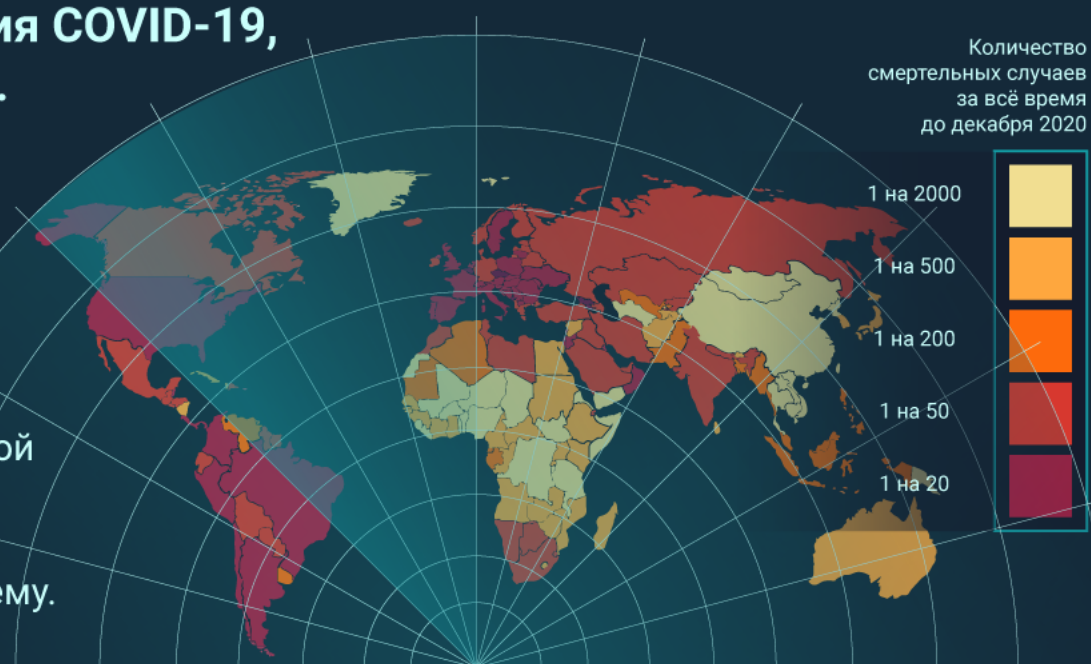


SARS-COV-2: КТО ЭТО?

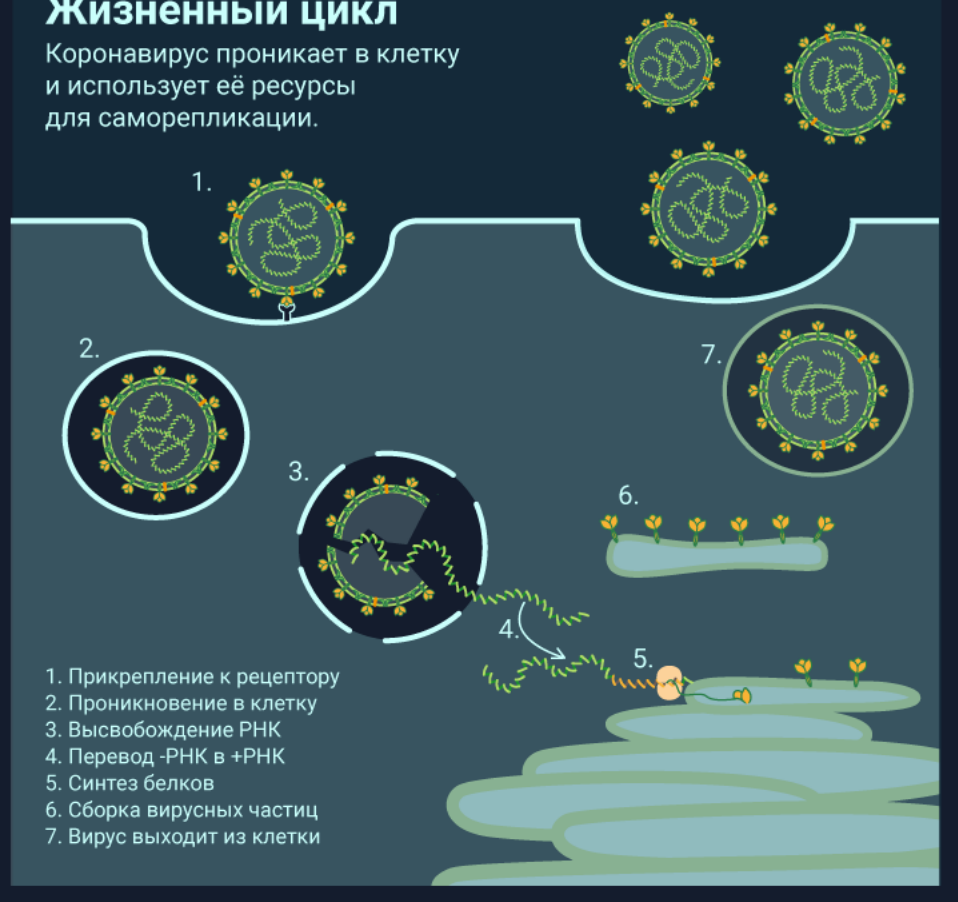
В 2020 году мир захватила новая инфекция COVID-19, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2.

Сочетание долгого периода инкубации и высокой эффективности заражения привело к тому, что с начала эпидемии в ноябре 2019 года до конца 2020 года заразилось более 72,4 миллионов человек. Каждая страна ввела меры для снижения количества заболевших: карантин, закрытие общественных мест, использование масок и другие. Но, по-видимому, самой эффективной мерой будет всеобщая вакцинация. Учёные всего мира разрабатывают вакцины, и каждая лаборатория подошла к этой задаче по-своему.



Жизненный цикл

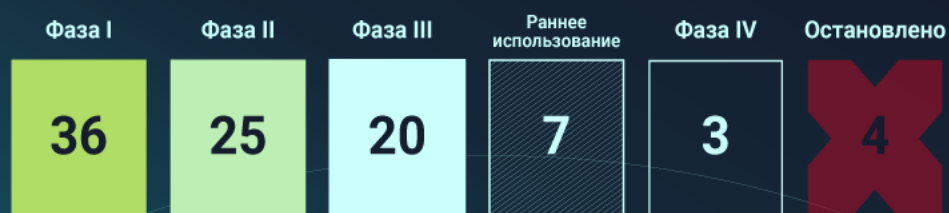
Коронавирус проникает в клетку и использует её ресурсы для саморепликации.



Сравнение с другими вирусами*

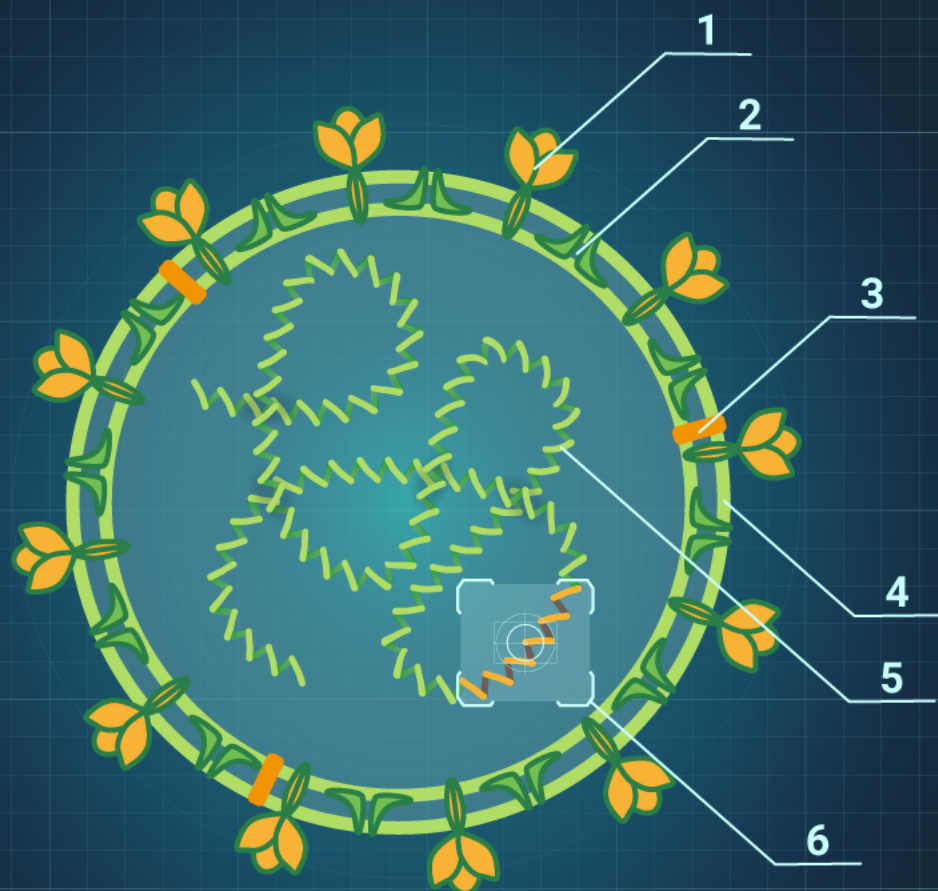
	Пути передачи инфекции	Сколько в среднем заражает людей	Инкубационный период (дни)
SARS-CoV-2	воздушно-капельный, близкий контакт, через поверхности	2 – 4	1 – 17,1
Грипп H1N1	воздушно-капельный, близкий контакт	0,5 – 3,1	1,4 – 4,3
MERS-CoV	воздушно-капельный, близкий контакт	0,42 – 0,92	4 – 8
SARS-CoV-1	воздушно-капельный, близкий контакт, через поверхности,	0,4	2 – 14

Вакцины в январе 2021



* Авторы не решились добавить больше данных для сравнения, потому как официальное заключение ВОЗ ещё не выпущено, а в научной литературе существуют разногласия касательно характеристик SARS-CoV-2.

УСТРОЙСТВО SARS-COV-2



120 нанометров

1 – 3 Мембранные белки

1. S-белок
2. М-белок
3. Е-белок

4 Билипидная мембрана

5 – 6 РНК

5. Большой одноцепочечный РНК геном
6. Участок РНК, ответственный за производство S-белка

Подробнее про S-белок



S-белок, вид сбоку

S-белок состоит из трёх субъединиц. С его помощью вирус прикрепляется к рецепторам ACE-2 на мембране клеток хозяина. В большинстве разрабатываемых вакцин S-белок используется в качестве антигена, на который будет формироваться иммунный ответ.



S-белок
рецептор ACE-2

клетка хозяина

КАЖДАЯ ВАКЦИНА ПРОХОДИТ ЧЕТЫРЕ ФАЗЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ

ФАЗА I

Исследуют молодых здоровых людей
≈ 50 человек



Иммуногенность



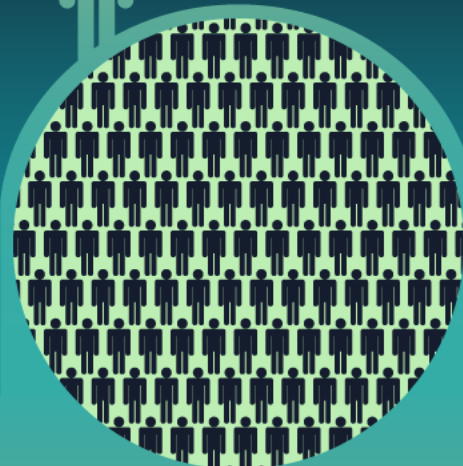
Нежелательные явления



Оптимальная дозировка

ФАЗА II

Исследуют все группы населения
≈ 500 человек



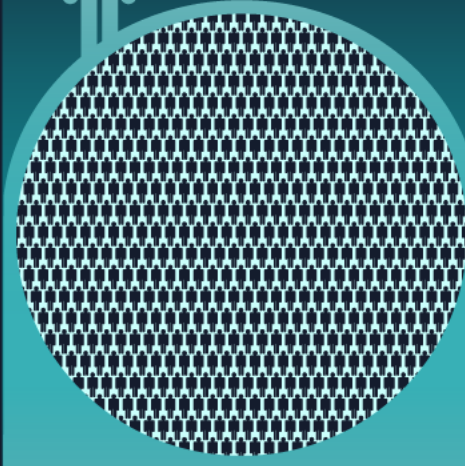
Иммунологическая эффективность



Оптимальная дозировка

ФАЗА III

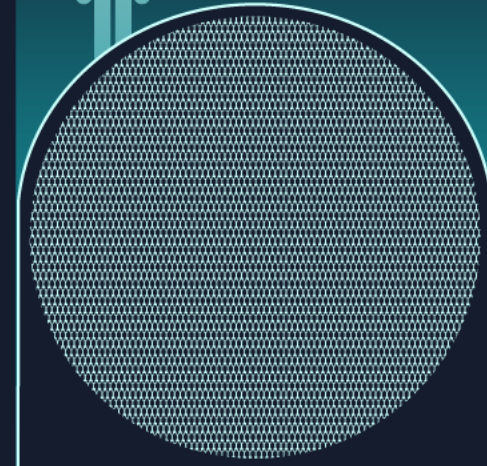
Исследуют все группы населения
≈ 1000 человек



Профилактическая эффективность

ФАЗА IV

Исследуют все группы населения
≈ 1 000 000 человек



Данные о работе вакцины собираются в течение длительного времени в разных группах пациентов и/или в комбинации с другими препаратами; оценивается эпидемиологическая эффективность.

Одобрение вакцины

Обычно для прохождения вакциной всех фаз клинических испытаний требуется несколько лет. Однако в условиях всемирной пандемии этот срок удалось существенно сократить, а некоторые фазы исследований объединить.

Разработка вакцины в обычных условиях



Разработка вакцины в период пандемии



Иммуногенность — способность вызывать иммунный ответ.

Иммунологическая эффективность — сравнительная оценка результатов титров специфических антител в сыворотках крови, взятых до и после вакцинации как в основной, так и в контрольной группах.

Профилактическая эффективность — потенциальные защитные свойства вакцины, которые оцениваются в контролируемых клинических исследованиях путём сравнения показателей заболеваемости в группе привитых и получивших плацебо.

Эпидемиологическая эффективность — оценка эффективности иммунизации при применении вакцины на практике.

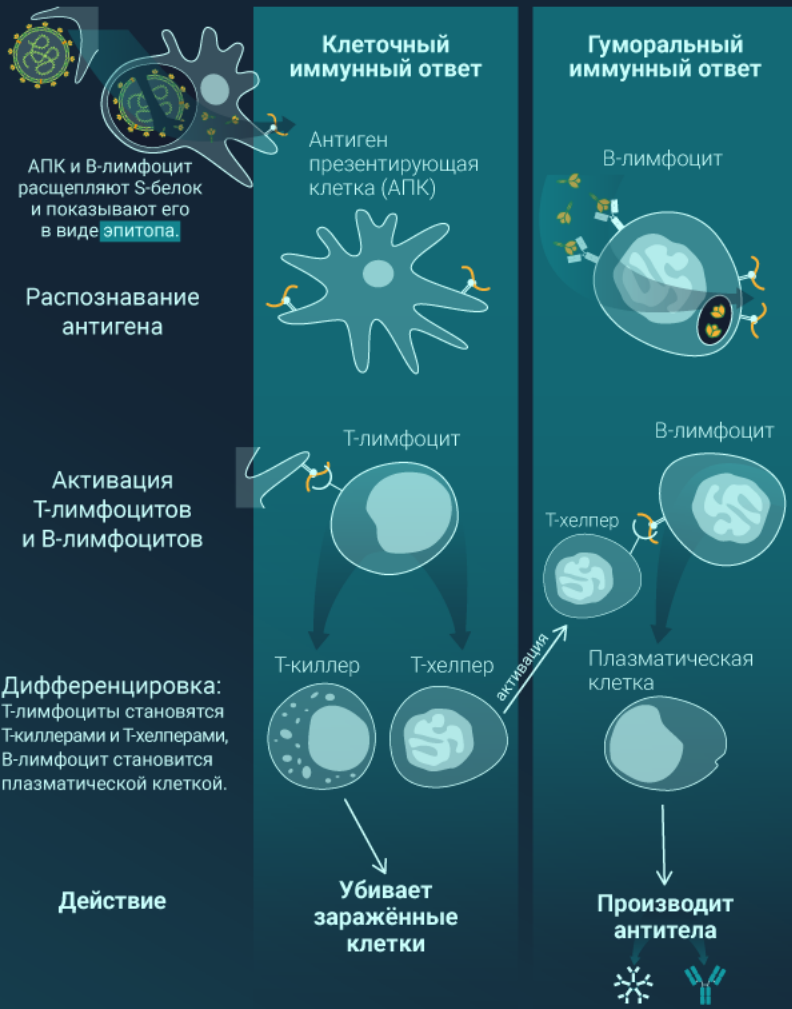
* Ниже вакцины, разрешенные для раннего или экстренного использования, отмечены как находящиеся на IV фазе клинических испытаний.

АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ

Чтобы вакцина сработала, необходимо выполнение двух условий:

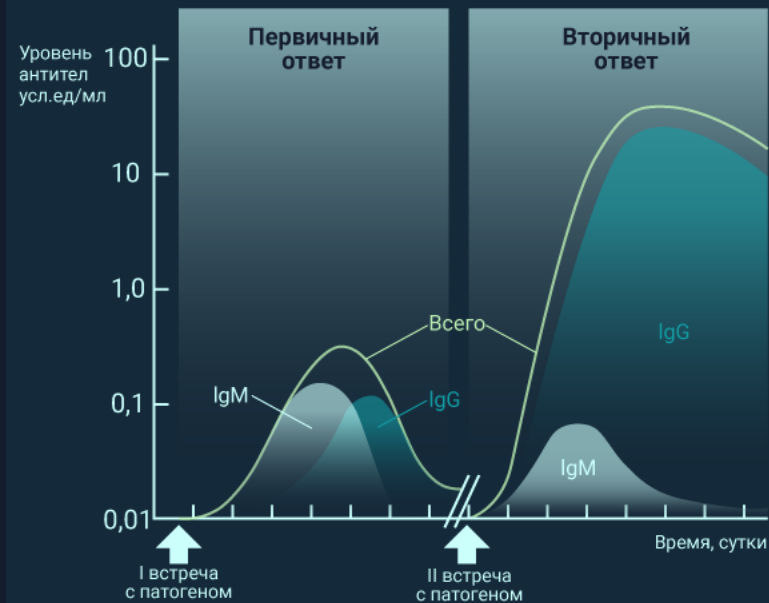
- присутствие **антигенов**
- воспаление

Если воспаления не будет, к антигену может выработаться **толерантность**.



Антитела

Антитела — важные участники иммунного ответа: они распознают и блокируют антигены, а также помогают иммунным клеткам их найти. Сначала появляются IgM-антитела, потом IgG-антитела, поэтому по количеству разных типов антител можно судить о стадии инфекции.



IgM и IgG антитела с разной специфичностью распознают антиген: IgM менее специфичные, IgG более специфичные.



Другие типы антител:
IgA
IgD
IgE

Антиген — любое вещество, которое распознаётся иммунной системой как чужеродное, против него вырабатывается иммунный ответ. У SARS-CoV-2 антигенами могут быть и вирус, и его деталь, например, S-белок.

Эпитоп — часть антигена, которая распознаётся иммунной системой.

Толерантность к антигену — это такое состояние иммунной системы, в котором она не реагирует на присутствие антигена.

Естественный иммунитет к коронавирусам обычно затухает довольно быстро, про SARS-CoV-2 пока нет данных об этом.

СВОЙСТВА ИДЕАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ



Безопасность

После введения вакцины количество проявившихся нежелательных явлений должно быть минимальным.



Высокая эффективность

Вакцина должна существенно уменьшать риск заражения для вакцинированного человека и снижать скорость распространения инфекции в популяции.



Длительный эффект

Сформированный иммунный ответ после вакцинации должен сохраняться надолго, в идеальном случае — на всю жизнь.



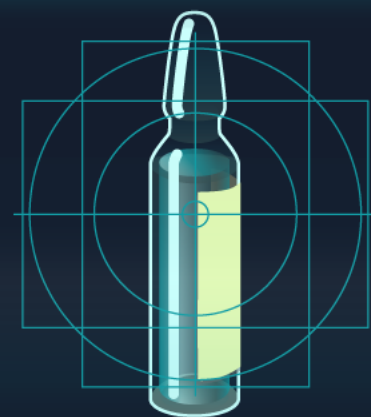
Полноценный иммунный ответ

В ответ на вакцину должны активироваться обе ветви иммунитета: и гуморальный, и клеточный.



Пероральный приём

Идеальная вакцина должна вызывать иммунный ответ особенно сильный в том месте, через которое обычно проникает инфекция. В большинстве случаев SARS-CoV-2 попадает в людей через рот или нос.



Отсутствие толерантности

Если вакцина вызовет толерантность, то при столкновении с реальной инфекцией организм не распознает её как что-то опасное.



Производство, хранение

В условиях пандемии очень важно, чтобы вакцину легко и быстро можно было произвести в каком угодно количестве доз, а транспортировка не требовала специальных условий.



Одна доза

Даже среди тех, кто инициирует вакцинацию самостоятельно, только 40-60% пациентов приходит, чтобы ввести повторную дозу.

CHOOSE YOUR FIGHTER!

Для создания вакцин используются различные биотехнологические подходы – платформы. Некоторые из них известны давно и проверены временем, другие же начали активно разрабатываться только в последние десятилетия.

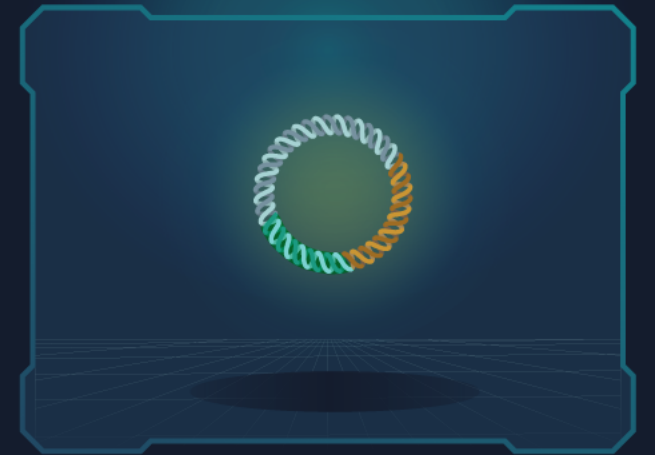
ВАКЦИНА НА ОСНОВЕ
УБИТОГО ВИРУСА



ВАКЦИНА НА ОСНОВЕ
ОСЛАБЛЕННОГО ВИРУСА



ДНК-ВАКЦИНА



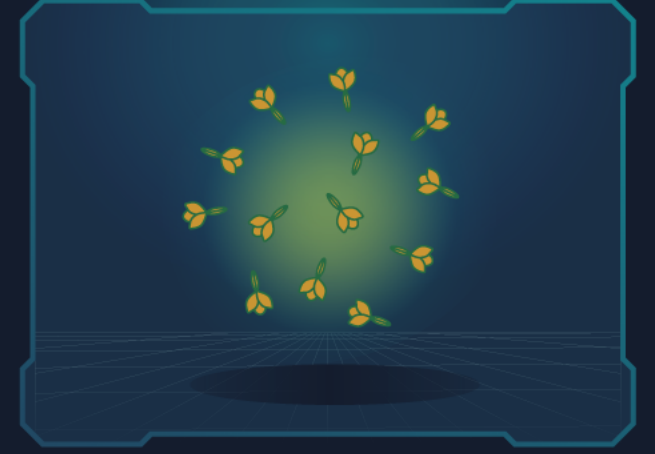
РНК-ВАКЦИНА



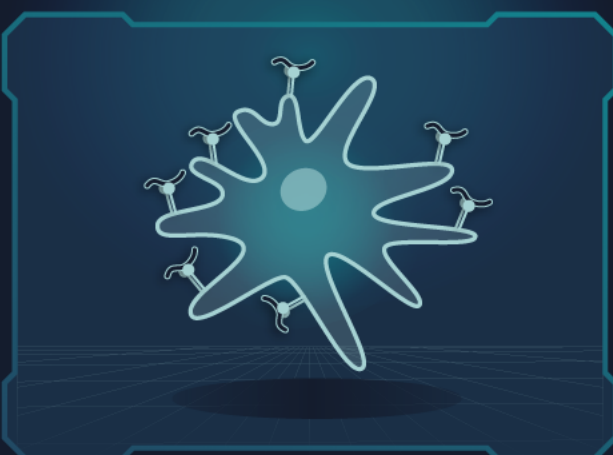
ВЕКТОРНАЯ ВАКЦИНА



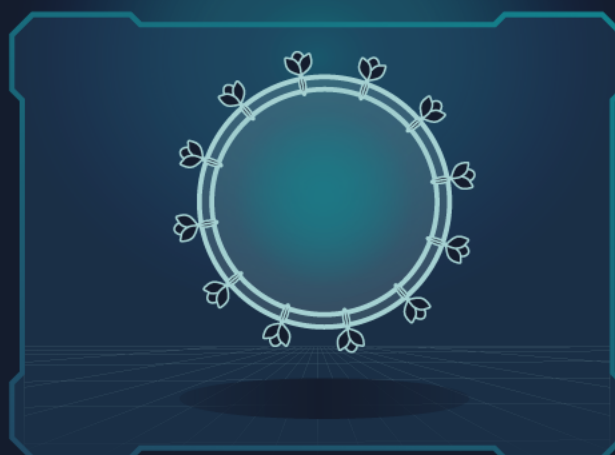
БЕЛКОВАЯ ВАКЦИНА



ВАКЦИНА НА ОСНОВЕ
ИСКУССТВЕННЫХ АПК



ВАКЦИНА НА ОСНОВЕ
ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ



CUSTOMIZE YOUR
VACCINE



ВАКЦИНА НА ОСНОВЕ УБИТОГО ВИРУСА



Убитый вирус вызывает иммунный ответ, но не приводит к развитию заболевания.

Плюсы:

- + быстрое производство
- + изученная платформа
- + легко хранить и перевозить

Минусы:

- риск более серьезного протекания заболевания
- сложности при работе с живым опасным вирусом
- только гуморальный иммунный ответ



Первое применение в 1935
Морис Броди
Вакцина от полиомиелита



Китай
CoronaVac
Sinovac Biotech



Россия
КовиВак
ФНЦ им. М.П. Чумакова



Китай
BBIBP-CorV
Sinopharm

На каком этапе клинических испытаний находится исследуемая вакцина

Где разрабатывается

Название вакцины

Институт

Успешные вакцины, созданные на этой платформе:

Вакцины от полиомиелита, гепатита А, гриппа.

ПОЛУЧЕНИЕ ВАКЦИНЫ

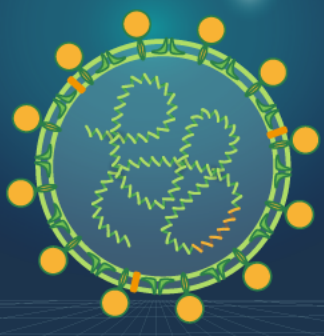
Убитый вирус



Вирус убивают разными способами:

1. Термически — нагреванием вирусной культуры до 92° по Цельсию.
2. Химически — при помощи химических агентов, которые необратимо повреждают вирус, например, формальдегида или бета-пропиолактона.
3. Физически — разбиванием вируса на кусочки (например, ультразвуком). Убитый вирус может использоваться как вакцина.

ВАКЦИНА НА ОСНОВЕ ОСЛАБЛЕННОГО ВИРУСА



Ослабленный вирус похож на обычный, но из-за изменения его свойств иммунной системе проще с ним справиться.

Плюсы:

- + хорошо исследованная платформа
- + быстрое производство
- + высокая эффективность

Минусы:

- риск более серьезного протекания заболевания
- возможно возвращение вируса к своему исходному патогенному состоянию
- плохо хранится
- сложности при работе с живым опасным вирусом
- длительная разработка



Первое применение в 1796

Эдвард Дженнер

Вакцина от оспы



США
MV-014-210
Meissa



Индия, США
Codagenix
Serum Insitute

Успешные вакцины, созданные на этой платформе:

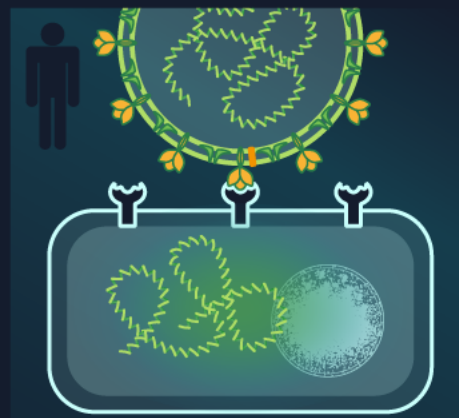
Вакцины от оспы, полиомиелита, кори, ветрянки, краснухи, свинки.



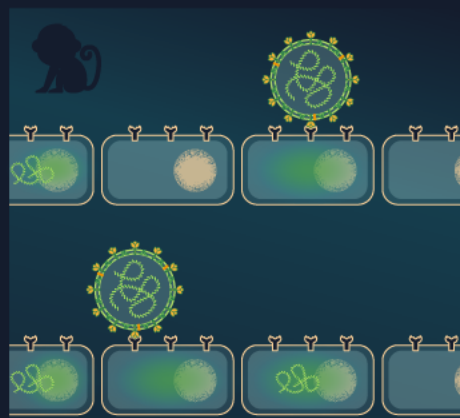
Турция
Acibadem Health Group
Acibaden University

ПОЛУЧЕНИЕ ВАКЦИНЫ

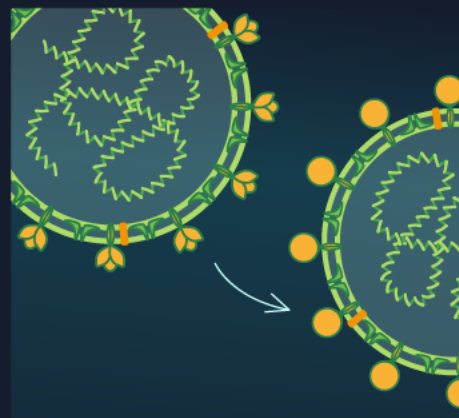
Выращивание нескольких поколений вируса в клеточных культурах



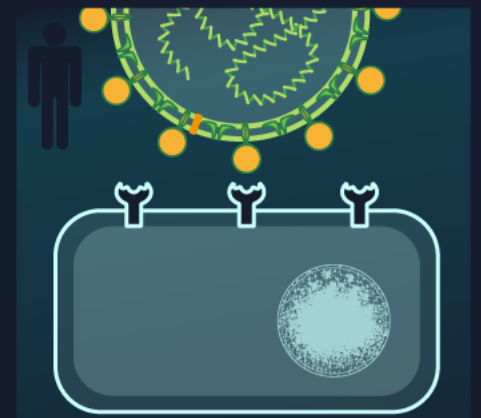
Вирус выращивают в культуре человеческих клеток.



Культура вируса используется, чтобы инфицировать клетки животных (например, обезьян).



S-белок мутирует так, что вирус больше не может заражать человеческие клетки.

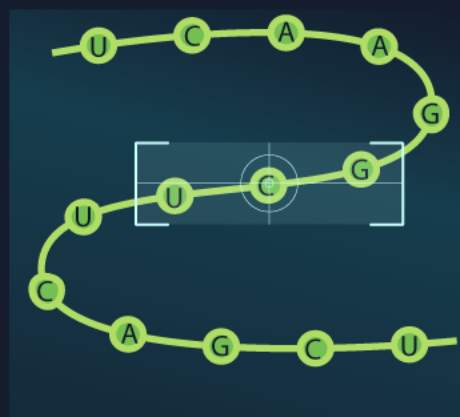


Культура вируса ослаблена, может использоваться как вакцина.

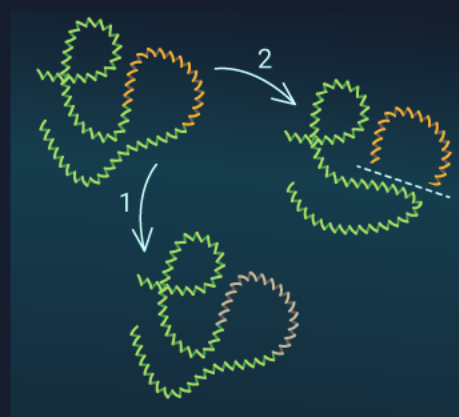
Генетические исправления в генах, влияющих на вирулентность вируса



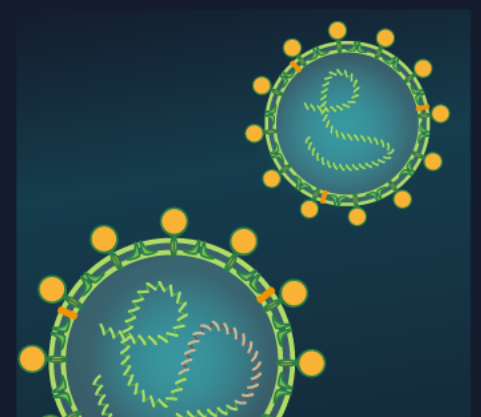
Геном коронавируса секвенируют и расшифровывают.



Сравнивая геном SARS-CoV-2 с геномами родственных вирусов, находят гены, ответственные за вирулентность.

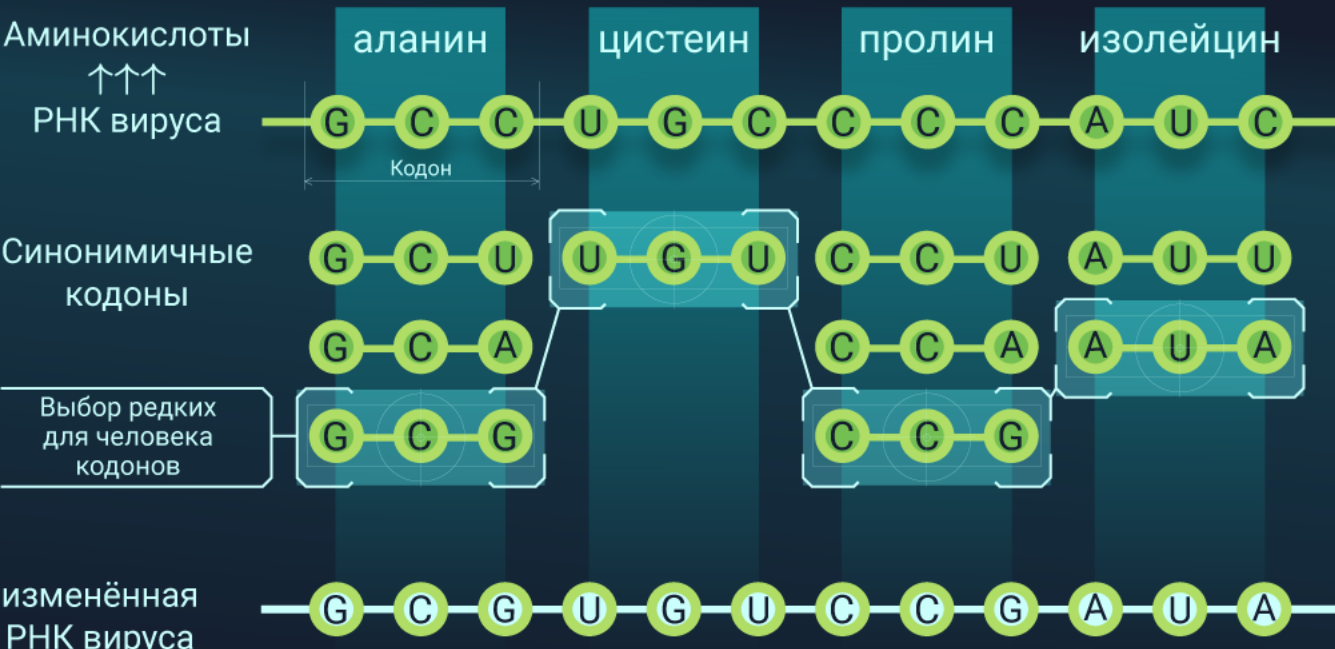


Эти гены изменяют (1) или вырезают (2) из генома вируса.



Вирус теряет вирулентность, но все ещё вызывает иммунный ответ и может использоваться как вакцина.

Кодонная деоптимизация



Генетический код устроен так, что одну аминокислоту может кодировать несколько синонимичных кодонов. Но эти кодоны не равнозначны и используются с неодинаковой частотой, отличающейся у разных организмов. От выбора кодона зависит скорость трансляции белка: если кодон редко встречается, соответствующих ему транспортных РНК будет мало, рибосома будет ждать их долго, и синтез белка замедлится. Эту особенность можно использовать для создания медленно размножающейся версии SARS-CoV-2, что даст иммунной системе больше времени на ответ.



ДНК-ВАКЦИНА



ДНК-вакцина запускает производство антигена собственными клетками организма, на что и реагирует иммунная система.

Плюсы:

- + быстрое производство
- + недорогое производство
- + безопасное производство

Минусы:

- ДНК плохо проникает в клетки
- плохо изученный на человеке способ
- изредка ДНК интегрируется в геном хозяина, но эта частота ниже частоты спонтанных мутаций



Публикация статьи о методе в 1992
Де-чу Танг, Майкл ДеВит,
Стефан А. Джонсон

Успешные вакцины, созданные на этой платформе:

Вакцины для человека проходят разные фазы клинических испытаний. Есть вакцины, одобренные для ветеринарного использования.



Индия
ZyCoV-D
Zydus Cadila



США
INO-4800
Inovio Pharmaceuticals



Япония
AG0301-COVID19
Osaka University



Южная Корея
GX-19
Genexine Consortium

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИНЦИП РАБОТЫ ВАКЦИНЫ

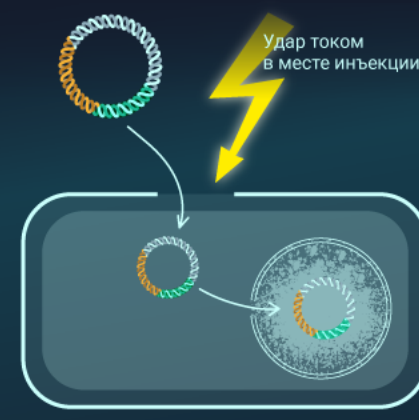
Изготовление плазмиды



На основе вирусной РНК производят искусственную одноцепочечную ДНК S-белка SARS-CoV-2.



Одноцепочечную ДНК удваивают и вставляют в плазмиду. Также в неё могут вставить дополнительные гены для повышения эффективности вакцины — например, гены цитокинов. После этого плазмиду **амплифицируют** (увеличивают количество) — и вакцина готова!



Удар током «продырявливает» клеточные мембраны, открывая доступ ДНК. Это называется **электропорацией**.

Принцип работы

Цитокины и другие стимулирующие молекулы способствуют более сильной иммунной реакции.



После того, как ДНК попала в ядро, с неё производится матричная РНК (мРНК). Используя мРНК, рибосома синтезирует аминокислотную последовательность, которая сворачивается в S-белок. Затем пузырьки с S-белком сливаются с клеточной мембраной. Иммунитет распознаёт S-белок как антиген, и организм запускает полноценный иммунный ответ.



РНК-ВАКЦИНА



РНК-вакцина запускает производство антигена собственными клетками организма, на что и реагирует иммунная система.

Плюсы:

- + быстрое производство
- + безопасное производство
- + высокая эффективность

Минусы:

- новая, еще не до конца изученная платформа
- вакцину нужно хранить при низких температурах



Публикация статьи о методе в 1993
Фредерик Мартинон и другие



США
mRNA-1273
Moderna



США, Индия
HGC019
HDT Bio,
Gennova Biopharmaceuticals



Германия
CVnCoV
CureVac



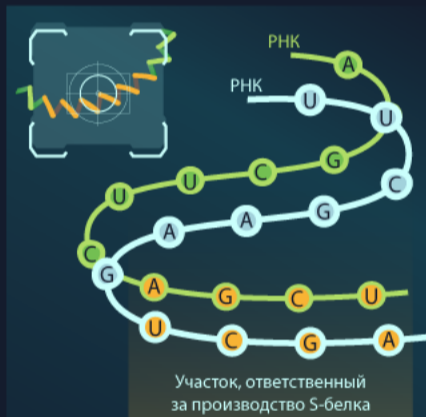
Германия, США
BNT162
Pfizer/BioNTech

Успешные вакцины, созданные на этой платформе:

Различные вакцины, в том числе для лечения рака, проходят разные фазы клинических испытаний.

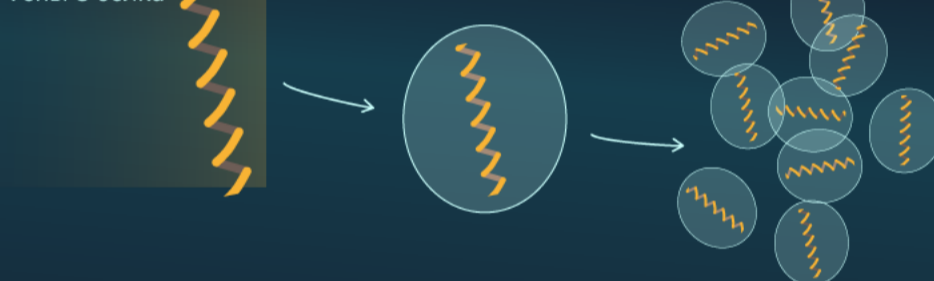
ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИНЦИП РАБОТЫ ВАКЦИНЫ

Изготовление липидных наночастиц с РНК



На основе вирусной РНК производят искусственную. Её часть, кодирующую S-белок, реплицируют в больших количествах.

Гены S-белка



Многие вирусы обладают РНК-геномом, и наш организм с осторожностью относится к любой РНК, которую он встречает вне клеток. Следовательно, если не защищать РНК, большая её часть будет уничтожена ферментами до попадания в клетку. Поэтому РНК упаковывают в липидные наночастицы — это и есть вакцина.

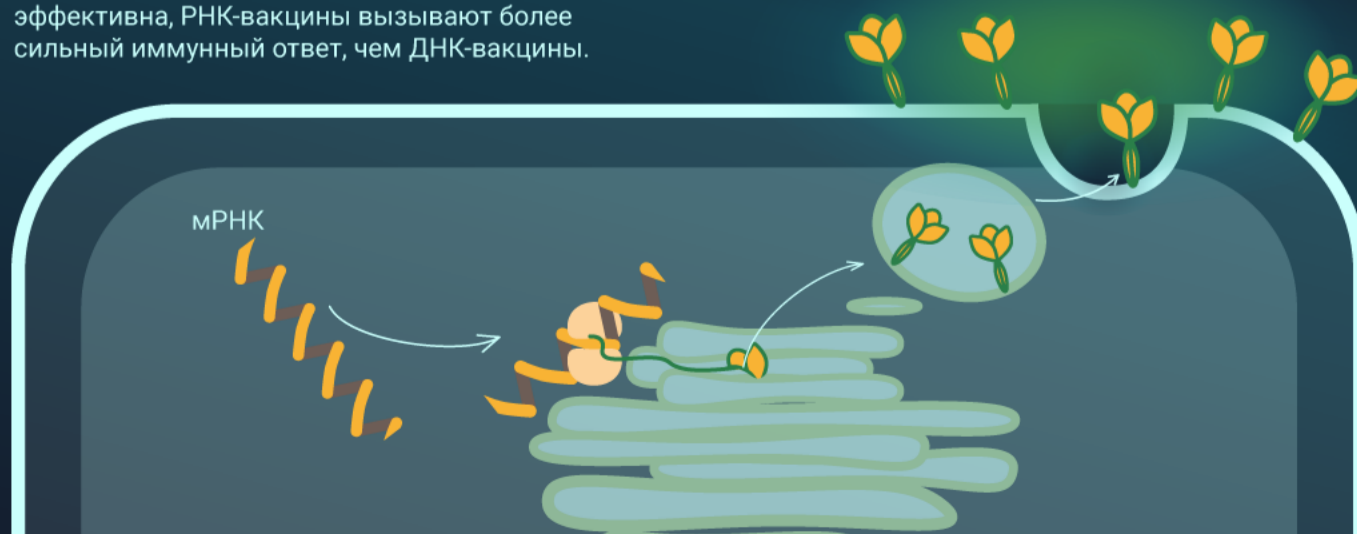
Помимо липидных наночастиц, для доставки РНК в клетки можно использовать различные белки, например, протамины.



Полученные наночастицы сливаются с клеточной мембраной, и РНК высвобождается внутри клетки.

Принцип работы

Так как РНК не нужно проникать в ядро, и система доставки в липидных наночастицах довольно эффективна, РНК-вакцины вызывают более сильный иммунный ответ, чем ДНК-вакцины.



Используя мРНК (матричную РНК), попавшую в клетку, рибосома синтезирует аминокислотную последовательность, которая сворачивается в S-белок. Затем пузырьки с S-белком сливаются с клеточной мембраной. Иммунитет распознаёт S-белок как антиген, и организм запускает полноценный иммунный ответ.



ВЕКТОРНАЯ ВАКЦИНА



Векторная вакцина запускает производство антигена собственными клетками организма, на что и реагирует иммунная система.

Плюсы:

- + быстрое производство
- + безопасное производство
- + сильный клеточный иммунный ответ

Минусы:

- возможность иммунитета к выбранному вектору, из-за чего эффективность будет понижена, а повторное введение бессмысленно



Публикация статьи о методе в 1972
Дэвид А. Джексон,
Роберт Х. Симонс, Поль Берг



Китай
Convidecia (Ad5-nCoV)
CanSino Biologics



США
Ad26.COV2.S
Johnson & Johnson

Успешные вакцины, созданные на этой платформе:

Вакцина от лихорадки Эболы.
Вакцины против других возбудителей проходят разные фазы клинических испытаний.



Великобритания
AZD1222
AstraZeneca,
Oxford University



Россия
Спутник-V
НИЦЭМ
им. Н.Ф. Гамалеи

Векторные вакцины могут быть изготовлены на основе бактерий или вирусов — векторов. Большинство разрабатываемых в 2020 году векторных вакцин от COVID-19 сделаны на основе аденовирусов.

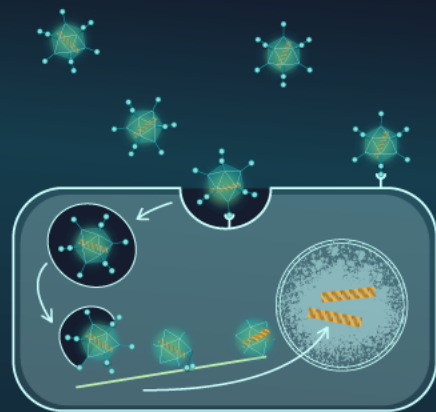
ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИНЦИП РАБОТЫ ВАКЦИНЫ

Объединение аденовируса с генами коронавируса

Гены S-белка



В геном аденовируса, у которого удалили необходимые для репликации гены, вставляют ДНК S-белка. Полученный вирус используют как вакцину.



После инъекции аденовирус внедряется в клетки и на микротрубочках подвезжает к ядру, где его ДНК проникает внутрь.

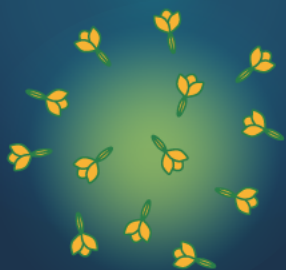


Иногда используется живой, способный к репликации вектор, в который вставляют необходимый ген. Такие вакцины будут более эффективными, но и менее безопасными.

В ядре происходит синтез мРНК на основе ДНК, с помощью мРНК рибосомы синтезируют аминокислотную последовательность. Затем она сворачивается в S-белок, и пузырьки с S-белком сливаются с клеточной мембраной. Иммунитет распознаёт S-белок как антиген, и организм вырабатывает иммунный ответ.



БЕЛКОВАЯ ВАКЦИНА



Белки в белковой вакцине являются антигенами, на которые реагирует иммунная система.

Плюсы:

- + быстрое производство
- + безопасное производство

Минусы:

- низкая эффективность
- только гуморальный иммунный ответ
- сложности с получением качественного белка



Первое применение в 1923
Александр Гленни
Вакцина от дифтерии



США
NVX-CoV2373
Novavax



Тайвань
-
Adimunne



Австралия
-
Clover Australia & GSK

Успешные вакцины, созданные на этой платформе:

Вакцины от дифтерии, столбняка.



Китай
ZF2001
Anhui Zhifei



Франция, Великобритания
-
Sanofi, GSK



Россия
ЭпиВакКорона
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

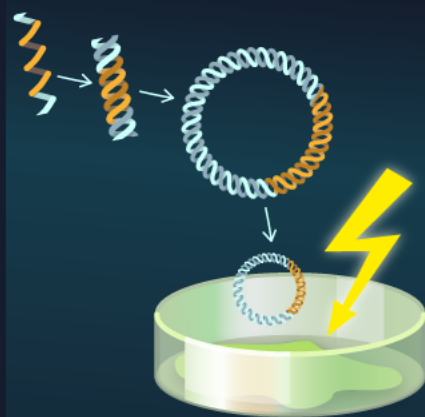
* Пептидная вакцина.

ПОЛУЧЕНИЕ ВАКЦИНЫ

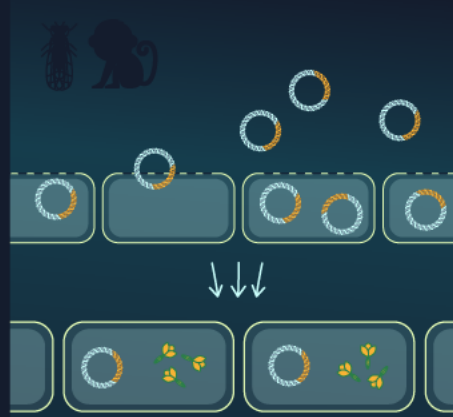
Наработка белка в клеточных культурах



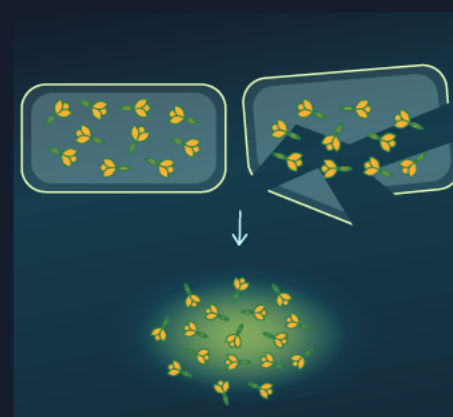
На основе вирусной РНК производят искусственную одноцепочечную ДНК S-белка SARS-CoV-2.



Синтезированную ДНК удваивают и вставляют в плазмиду. Затем плазмидой заражают клеточные культуры.



Заражённые клеточные культуры производят S-белок. Для производства используют клетки насекомых и млекопитающих.



После наработки S-белка клетки разрушают, S-белок очищают. Полученный раствор можно использовать как вакцину.

БУДУЩЕЕ УЖЕ НАСТУПИЛО

ВАКЦИНА НА ОСНОВЕ ИСКУССТВЕННЫХ АПК



Из человеческих клеток или клеток других организмов создаются искусственные АПК, которых модифицируют так, чтобы они презентировали S-белок. После эти АПК вводят пациенту, и они помогают организму в формировании клеточного иммунного ответа. Такая вакцина не спасёт от заражения, зато способствует более лёгкому течению болезни.

Также искусственные АПК используются для лечения рака: например, есть вакцина для терапии метастатической меланомы, прошедшая первую фазу клинических испытаний.

Плюсы:

+ сильный клеточный иммунный ответ

Минусы:

- медленное производство
- сложно хранить и перевозить
- только клеточный иммунный ответ
- это не массовая вакцина, подходящая для остановки эпидемии



 **Китай**

-
Shenzhen Geno-Immune Medical Institute

ВАКЦИНА НА ОСНОВЕ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ



Вирусоподобные частицы очень похожи на настоящие вирусы — у них тоже есть мембранная оболочка со встроенными в неё белками. Из-за сходства иммунная система хорошо распознает вирусоподобные частицы в качестве антигенов и запускает сильный иммунный ответ.

На основе вирусо-подобных частиц уже существует несколько одобренных вакцин: от папилломавируса человека, вируса гепатита В. Недавно получила лицензию вакцина от малярии.

Плюсы:

+ безопасное производство
+ сильный клеточный иммунный ответ

Минусы:

- сложное и медленное производство
- особые условия хранения
- слабый гуморальный иммунный ответ



 **США**

-
Merck, IAVI



 **Канада**

CoVLP
Medicago

* Испытания остановлены из-за выявленной низкой эффективности.

Одним из главных препятствий на пути к освобождению мира от коронавируса является производство достаточного количества вакцин (по некоторым оценкам, потребуется не менее 16 миллиардов доз).

Помимо требований к эффективности и безопасности, слабым местом любой вакцины в условиях пандемии является её быстрое производство и распространение среди всех нуждающихся. Поэтому, чтобы достичь появления коллективного иммунитета в кратчайшие сроки, нужно пользоваться теми вакцинами, которые доступны в данный момент.