

Проекты Института

СОЗДАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПЛАТФОРМ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ И ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ

1. Технологическая платформа на основе механизма интерференции РНК

1.1 Противодействие эпидемии COVID-19

1.1.1 Разработка препарата МИР 19 для терапии COVID-19, совершенствование технологической платформы синтеза действующих компонентов препарата МИР 19 и масштабирование выпуска.

На базе ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России создана платформа, позволяющая в кратчайшие сроки создавать препараты, действующие по механизму интерференции РНК. Разработан и зарегистрирован (регистрационное удостоверение ЛП-007720) инновационный лекарственный препарат для лечения COVID-19 – МИР 19, основанный на механизме интерференции РНК. В препарат входят миРНК (малая интерферирующая РНК, действующее вещество) и пептид (для доставки в клетки-мишени пациента). Препарат обладает прямой противовирусной активностью, избирательно подавляя активность возбудителя COVID-19 – вируса SARS-CoV-2 и не затрагивая геном человека. Закончены доклинические испытания препарата, в которых безопасность и противовирусная активность препарата доказана *in vitro* и на экспериментальных животных. Успешно закончена I фаза клинических испытаний, продолжается II фаза клинических испытаний.

На этапе 2022 г. выполнена работа по масштабированию выпуска препарата МИР 19. Оптимизирована технология получения компонентов препарата МИР 19 – молекул миРНК и пептида КК-46. Это позволит увеличить выход целевой молекулы миРНК в 7 – 10 раз и выйти на производительность в 40,0 – 60,0 г миРНК в год. Нарботано 3 партии пептида КК-46 общим количеством 86,0 граммов. Разработанная методика позволит нарабатывать пептид в количестве 900,0 – 1200,0 граммов в год.

1.2 Другие лекарственные средства на основе механизма интерференции РНК

Создано лекарственное средство МРК-4-13, представляющее собой комплекс молекул миРНК, подавляющих выработку цитокинов IL-4 и IL-13, которое облегчает течение аллергического ринита. Завершены доклинические исследования этого лекарственного средства, доказана его безопасность и специфическая активность.

Ведется разработка молекул малых интерферирующих РНК (миРНК) для подавления риновирусной инфекции. Эта работа будет продолжена, на следующем этапе будет выбран оптимальный носитель для доставки миРНК в клетки-мишени.

Таким образом, разработанная платформа позволит создавать кандидатные лекарственные препараты для лечения патологических состояний, при которых требуется временное прекращение синтеза какого-либо белка, как эндогенного, так и экзогенного. В частности, эта платформа может быть использована для оперативного создания противовирусных препаратов от вновь появляющихся вирусных инфекций.

2. Платформа по разработке алерговакцин на основе рекомбинантных антигенов

2.2. Новая рекомбинантная вакцина для профилактики и лечения аллергии к пыльце березы и перекрестной пищевой аллергии

На базе ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России совместно с профессором Рудольфом Валентой (Австрия) в рамках Мегагранта Правительства РФ "От иммунного распознавания мажорного алергена пыльцы березы Bet v 1 к специфическим диагностическим, терапевтическим и профилактическим стратегиям при аллергии, вызванной пыльцой березы" разработана платформа по созданию алерговакцин. Принцип создания алерговакцин заключается в выделении пептидных эпитопов мажорных (преобладающих, главных) белков алергенов и получении генно-инженерной структуры, содержащей эти эпитопы. Такие конструкции будут приводить к выработке IgG на целевой алерген и, как следствие, невозможности выработки IgE, что обеспечит стабильный противоалергический эффект.

На основе уникальной рекомбинантной молекулярной конструкции создана принципиально новая алерговакцина для профилактики и лечения поллинозов (аллергии к пыльце растений). Патологический процесс при аллергии связан с образованием IgE антител, поэтому при создании препаратов для профилактики и лечения аллергии следует предотвращать образование антител IgE класса. Этого можно достичь с помощью алерген-специфической иммунотерапии, что позволяет надолго избавиться от аллергии.

Показано, что препарат не вызывает образования IgE антител, что обеспечивает его безопасность при вакцинации. В состав вакцины включены наиболее распространенные молекулы пыльцевых и пищевых алергенов, что позволит

использовать ее для профилактики и лечения аллергии к пыльце березы и ассоциированной пищевой аллергии (аллергены яблока, арахиса, сои, персика).

По возможностям производства, безопасности и удобству применения молекулярная аллерговакцина превосходит традиционные препараты на основе экстрактов аллергенов.

Аллерговакцина проходит доклинические исследования. Ожидается, что применение вакцины поможет снизить частоты клинических проявлений аллергии.

Данная платформа позволит создавать поливалентные вакцины, обеспечивающие защиту от различных аллергенов.

3. Инновационная разработка противовирусных лекарственных препаратов на основе фуллеренов

На базе ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России был разработан метод синтеза водного раствора фуллерена C₆₀. Фуллерен представляет собой аллотропную форму углерода и имеет формулу C₆₀. Благодаря своим уникальным свойствам фуллерен обладает высокой биологической активностью. Основным препятствием использования его в медицине до настоящего времени являлась его полная нерастворимость. В исследованиях *in vitro* конъюгат фуллерена с аминокислотой лизином показал сильную противовирусную активность относительно возбудителя COVID-19 – вируса SARS-CoV2.

Кроме того, была продемонстрирована противовирусная активность в отношении вируса простого герпеса и вируса гриппа. Показано также, что фуллерен C₆₀ – перспективный препарат для терапии раневых и химических поражений кожного покрова.

Таким образом, разработка препаратов на основе водорастворимого фуллерена представляет перспективное направление исследований.

4. Технология создания инновационных пептидных лекарственных препаратов, обладающих неспецифической антимикробной активностью и преодолевающих антибиотикорезистентность микроорганизмов

Одним из больших вызовов современности является антибиотикорезистентность. В связи с этим остро стоит вопрос создания и применения альтернативных антибиотикам и дополнительных средств терапии.

На базе ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России ведутся исследования по созданию антимикробных пептидов с широким антимикробным действием. Механизм действия пептидов неспецифичен и связан с нарушением структуры и функции мембраны клетки. Синтез ведется в двух направлениях. Первое – это создание рекомбинантных аналогов природных противомикробных пептидов. Второе – создание синтетических пептидов с антимикробной активностью, в Институте была синтезирована линейка из 25 кандидатных пептидов.

Данные наработки позволят создать лекарственные средства, которые позволят бороться с растущей антибиотикорезистентностью.

5. Инновационная платформа для создания полисахаридных вакцин

На базе ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России разработана платформа по созданию полисахаридных вакцин с встроенным адьювантом. Общий принцип создания полисахаридных вакцин с встроенным адьювантом заключается в химической конъюгации нетоксичного адьюванта на основе ЛПС с полисахаридом клеточной стенки целевого патогена. Нетоксичный адьювант получают путем удаления 3 жирных кислот из липида А, при этом иммуногенность сохраняется. Разработанная платформа использует реагенты только российского производства, что делает ее доступной для производства вакцин от инфекций, вызванных различными патогенами.

6. Биотехнологическая платформа – рекомбинантные аденовирусные векторы. Исследование новых иммуноадьювантов, в том числе исследование свойств и механизмов действия агонистов TLR-рецепторов

Одним из важнейших направлений исследований в области иммунологии, которое продолжит развиваться, является разработка вакцин. В частности, это вакцины на основе рекомбинантных нереплицирующихся аденовирусных векторов (rAd), современных высокоэффективных генетических векторов. Такие векторы применяются в ряде вакцин, находящихся в различных фазах клинических испытаний. На основе rAd создаются кандидатные вакцины против гриппа, малярии, ВИЧ, сибирской язвы, лихорадки Эбола, ближневосточного респираторного синдрома MERS и других актуальных инфекций человека. Несмотря на огромные успехи в создании вакцин от многих заболеваний, остаются области, где до сих пор не создано достаточно эффективных вакцин. В последнее время появилась новая универсальная биотехнологическая платформа – рекомбинантные аденовирусные векторы, на базе которых созданы и проходят клинические испытания вакцины против таких

заболеваний, против которых не удавалось создать традиционные вакцины (малярия, геморрагическая лихорадка Эбола, туберкулез, гепатит и ряд других).

Этот подход имеет ряд существенных преимуществ: использование генно-инженерных технологий позволяет не применять при производстве вакцин живые вирусы и бактерии, сокращает время разработки и получения новых вакцинных препаратов. Аденовирусные векторы естественным путем проникают в клетки человека, вызывая довольно длительный и значительный гуморальный и клеточный иммунный ответ.

Первая в мире зарегистрированная вакцина против COVID-19 (Спутник-V) также основана на рекомбинантных нереплицирующихся аденовирусных векторах. Известные сегодня вакцинные rAd-конструкции применяются в режиме «прайм-буст» иммунизации, что позволяет усилить иммунные реакции на целевой антиген (как это и происходит в схеме иммунизации вакциной Спутник-V).

Другим способом усиления иммуногенности rAd-вакцин является использование адъювантных веществ, среди которых применяются агонисты Toll-подобных рецепторов (TLR). На сегодняшний день нет отчетливых научных данных об эффективности применения иммуноадъювантов для вакцин на основе рекомбинантных аденовирусных частиц. В связи с этим планируется изучение иммуноадъювантных свойств и механизмов действия TLR-агонистов в составе вакцин на основе рекомбинантных аденовирусных векторов. Целью исследования станет получение новых знаний о механизмах иммуноадъювантного действия агонистов рецепторов врожденного иммунитета при иммунизации рекомбинантными аденовирусными векторами для рационального создания вакцин.

При разработке традиционных вакцин широко применяются различные адъюванты, позволяющие усилить эффективность вакцинации. Предполагается исследовать принципиальную возможность усиления эффективности вакцинации рекомбинантными аденовирусами с помощью адъювантов на основе агонистов TLR3 и TLR4 рецепторов.

Ожидается, что в результате этих исследований будут получены новые знания о механизме адъювантного действия агонистов TLR3 и TLR4 рецепторов при использовании вакцин на основе рекомбинантного вирусного вектора. Будут изучены механизмы влияния TLR3- или TLR4-агонистов на способность антиген-презентирующих дендритных клеток, трансдуцированных rAd-H1, индуцировать ответы антиген-реактивных Т-клеток, специфичных к целевому трансгену H1 *in vitro*.

Будет изучена возможность использования агонистов TLR3 и TLR4 для усиления эффекта вакцинации при иммунизации мышей rAd-вектором, кодирующим целевой антиген.

Полученные знания могут быть использованы при разработке новых вакцин на основе рекомбинантных аденовирусных векторов и для усиления эффективности существующих вакцин на основе рекомбинантных аденовирусных векторов.

ОНКОИММУНОЛОГИЯ

Генное редактирование с целью получения клеточных линий с aberrантным гликозилированием и создание киллеров с химерными рецепторами (CAR) против Tn-антигена для иммунотерапии карцином

Это направление работ имеет отношение к иммунотерапии рака. В рамках данного направления проводились работы по генному редактированию с целью получения клеточных линий с aberrантным гликозилированием и созданию киллеров с химерными рецепторами (CAR) против Tn-антигена для иммунотерапии карцином.

CAR T-терапия (от английского chimeric antigen receptor of T-cells, химерный антигенный рецептор T-клеток) представляет собой способ лечения злокачественных опухолей с помощью иммунотерапии. При этом T-лимфоциты извлекают из организма и в них вносят ген CAR рецептора (т.е. генетически модифицируют). Модификация T-клеток химерными антигенными рецепторами наделяет T-клетки специфической активностью, вызывая иммунный ответ против злокачественных новообразований. Затем модифицированные клетки возвращают пациенту. Сегодня CAR-T-клеточная терапия успешно применяется для лечения лейкозов. Нацеливание CAR-T-клеток на солидные опухоли – более сложная задача.

Целью исследования было создание T-киллеров с химерными рецепторами (CAR-клеток), предназначенных для лечения карцином (разновидности солидных опухолей). В качестве опухолеспецифического маркера выбрали Tn антиген (опухолеспецифический антиген, появляющийся на раковых клетках в результате aberrантного O-гликозилирования). Антитела против Tn антигена используются для диагностики опухолей и для создания T-киллеров с химерным рецептором. В ходе исследования был выполнен поиск анти-Tn антител. Были созданы гибридомы-продуценты моноклональных антител. Моноклональное антитело АКС3 реагировало с клетками аденокарциномы легкого A549 и распознавало Tn антиген в составе белка

CD44. Таким образом, было установлено, что T_n-антиген, ассоциированный с белком CD44, является новым биомаркером опухолевых клеток с aberrантным гликозилированием.

Антитело АКСЗ может найти применение в диагностике CD44+ опухолей.

Таким образом, была создана основа для последующего получения Т-киллеров с химерным рецептором (CAR Т клетки), предназначенных для лечения карцином. Были получены генетические конструкции, кодирующие химерные Т-клеточные рецепторы. Конструкции создавали путем внедрения генов переменных доменов тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов в последовательность дзета цепи Т-клеточного рецептора. Созданные генетические конструкции, кодирующие химерные Т-клеточные рецепторы, с помощью лентивирусных векторов были трансдуцированы (внесены) в Т- и NK -клетки. Была показана киллерная активность Т-клеток с химерным рецептором.

Поиск биомаркеров опухолевого роста, создание антител для диагностики опухолей и создание клеток-киллеров с химерными рецепторами (CAR) против T_n-антигена для иммунотерапии карцином остаются важными направлениями онкоиммунологии.

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА, В ТОМ ЧИСЛЕ НА ОСНОВЕ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Важным направлением научных исследований является создание новых технологий генетического анализа, в том числе на основе высокопроизводительного секвенирования.

В ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» разрабатывается метод синтеза олигонуклеотидов с применением фотоактивируемого линкера. Этот метод позволит повысить эффективность реакции обратной транскрипции в изолированном объеме. В комплексе с методикой молекулярного мечения (баркодированием) технология может быть использована для доставки олигонуклеотида и синтеза последовательности, несущей метку. Метка является маркером единичной клетки, что позволяет получать информацию об уровне экспрессии генов и последовательности транскриптов на принципиально новом уровне разрешения. Новые методы синтеза баркодированных олигонуклеотидных последовательностей на твердофазном носителе с применением современных технологий являются уникальной разработкой, позволяющей превзойти качество зарубежных аналогов и снизить стоимость их изготовления. Внедрение этой

технологии в практику позволит создать новое высокотехнологичное оборудование, повысить точность и информативность генетического анализа, установить механизмы развития онкологических и иммунозависимых патологий, разработать новые подходы к их терапии.

АНАЛИЗ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ SARS-CoV-2

Показано, что естественный иммунитет после перенесенного заболевания COVID-19 снижает риск повторного заражения вирусом SARS-CoV-2, а также заболеваемости и смертности, связанных с COVID-19. Вакцинация также значительно снижает передачу инфекции и тяжесть заболевания, а также риск инвалидности и смерти. Было проведено несколько популяционных исследований, в которых сравнивались иммунитет, вызванные инфекцией и вакцинацией.

В исследованиях, проведенных в ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, выполнен анализ долговременной иммунной памяти, а именно сравнению ответа В-клеток на вакцинацию Спутником V у лиц, не инфицированных SARS-CoV-2, с ответом, наблюдаемым у реконвалесцентных пациентов перенесших COVID-19.

Исследования долговременной иммунной памяти в форме В-клеток, производящих антитела и Т-клеток-киллеров продолжаются. Результаты таких исследований могут представлять интерес для органов общественного здравоохранения, определяющих политику, при планировании графика вакцинации против COVID-19.

РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ (АСИТ)

АСИТ является основным методом лечения IgE-опосредованных аллергических заболеваний и специфическим методом лечения. Терапия инъекционными формами аллергенов, содержащими экстракты, сопряжена с развитием анафилактических реакций, что существенно ограничивает популяцию пациентов, которым данный метод лечения может быть применен. Появление препаратов для сублингвальной иммунотерапии отчасти решило эту проблему, так как риск развития анафилаксии при данном пути введения аллергена минимален. Однако сублингвальная иммунотерапия предполагает ежедневный приём аллергена в течение длительного времени (для

пыльцевых аллергенов период лечения составляет 4–6 месяцев в течение 3–5 лет), что снижает приверженность к терапии. Кроме того, спровоцированные заболевания ротовой полости (пародонтоз, рецидивирующий стоматит, период активной смены зубов и другие) или планируемые стоматологические манипуляции приводят к тому, что часть пациентов отказывается от данного вида лечения.

Снижение аллергенности препаратов для АСИТ и получение аллергоидов, сохранивших иммуногенность, но потерявших аллергенность, по-прежнему является актуальной задачей. Такие аллергоиды могут стать хорошим выбором для АСИТ в связи с удобной схемой использования при высоком профиле безопасности.

ПРОТИВОДЕЙСТВИЕ ТЕХНОГЕННЫМ УГРОЗАМ: РАЗРАБОТКА И ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ ОЧИСТКИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ КОМПОНЕНТАМИ РАКЕТНЫХ ТОПЛИВ

Одним из важных направлений является противодействие техногенным, биогенным, социокультурным угрозам, терроризму и идеологическому экстремизму, а также киберугрозам и иным источникам опасности для общества, экономики и государства.

Отвечая на эти вызовы, в ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» проведены полевые испытания биотехнологии рекультивации почв, загрязненных ракетным топливом (КРТ). Результаты испытаний показали высокую эффективность микробной деструкции гептила и авиационного керосина, снижение интегральной токсичности и фитотоксичности очищаемой почвы, повышение ее биологической активности.

Будет продолжена работа по эколого-токсикологической оценке (включая генотоксические эффекты) воздействия компонентов ракетных топлив – диметилгидразина и авиакеросина на объекты окружающей среды и разработка нормативно-технической документации по биомониторингу космодромов с целью снижения токсического риска.

Проводилась оценка чувствительности (в остром и хроническом экспериментах) различных тест-объектов: дафний, рыб гуппи и данио-рерио, дождевых червей, а также проростков однодольных и двудольных растений к диметилгидразину и авиакеросину.

Разработанная биотехнология и полученная ассоциация микроорганизмов-деструкторов КРТ позволят проводить эффективную биоремедиацию территорий,

загрязненных КРТ. Осуществление комплекса мероприятий по рекультивации загрязненной почвы позволит снизить риск возникновения профпатологий у работников, занятых на проведении работ по ликвидации последствий аварийных запусков и при утилизации военной ракетной техники.