

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Директор Інституту біології клітини НАН України  
(посада)

Андрій СИБІРНИЙ

(Власне ім'я та ПІРІЗВИЩЕ)

(підпис)

252557 М.П.



## АНОТОВАНИЙ ЗВІТ

про виконану роботу в рамках реалізації проекту  
із виконання наукових досліджень і розробок

РОЗРОБКА ВАКЦИНИ ПРОТИ SARS-COV-2 НА ОСНОВІ ЕКСПРЕСІЇ ФРАГМЕНТІВ  
БІЛКА S У ДРІЖДЖІВ ТА ВИВЧЕННЯ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ У ЛАБОРАТОРНИХ  
ТВАРИН

(назва Проекту)

Назва конкурсу: «Наука для безпеки людини та суспільства»

Реєстраційний номер Проекту: №2020.01/0080

Підстава для реалізації Проекту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проекту) №2020.01/0080 «Розробка вакцини проти SARS-CoV-2 на основі експресії фрагментів білка S у дріжджів та вивчення імунної відповіді у лабораторних тварин»

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу «Наука для безпеки людини та суспільства» (назва конкурсу)  
протокол від «16-17» вересня 2020 року № 21

## 1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання Проекту:

Початок – 08 жовтня 2020 року

Закінчення – 15 грудня 2021 року

Загальна вартість Проекту, грн. 9 404 500,00

Вартість Проекту по роках, грн.:

1-й рік 3 000 000,00

2-й рік 6 404 500,00

## **2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ**

до виконання Проекту залучено 7 виконавців, з них:  
доктори наук 3;  
кандидати наук 3;  
інші працівники 1.

## **3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ**

Грантоотримувач: Інститут біології клітини НАН України, код за ЄДРПОУ 25255758, КВЕД 72.11, відомча підпорядкованість – НАН України.

## **4. ОПИС ПРОЄКТУ**

### **4.1. Мета Проекту (до 200 знаків)**

Розробка вакцини, що захищає від інфекції SARS-CoV-2 шляхом експресії фрагментів вірусного білка S1 та S2 у штамів дріжджів (*K. phaffii*, *O. polymorpha*) з «гуманізованим» типом глікозилювання білка.

### **4.2. Основні завдання Проекту (до 400 знаків)**

Отримання рекомбінантних «гуманізованих» штамів дріжджів *O. polymorpha* та *K. phaffii*, що продукують фрагменти глікопротеїна «шипа» SARS-CoV-2 або компоненти для збирання вірусоподібних частинок SARS-CoV-2. Отримання очищених препаратів рекомбінантних вірусних білків. Вивчення ефектів введення очищених вірусних білків на лабораторних тваринах.

### **4.3. Детальний зміст Проекту:**

#### **- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)**

COVID-2019 – це нове респіраторне захворювання, що спричинило глобальну пандемію. Збудником інфекції є коронавірус SARS-CoV-2. Запобігти поширенню інфекції можна шляхом карантину або вакцинації. Розробляються різні види вакцин, зокрема вакцини з використанням вірусних білків. Для виробництва вакцин на основі S-білка, використовуються клітини ссавців або комах, що здорожує цей процес.

#### **- Новизна Проекту (до 400 знаків)**

Новизна даного проекту полягає у клонуванні послідовностей S білка SARS-CoV-2 та їх експресії у дріжджів *O. polymorpha*, *K. phaffii* для розробки ефективної вакцини. Глікозилювання вірусних білків буде відбуватися так само, як у клітинах людини, завдяки використанню штамів дріжджів з «гуманізованим» глікозилюванням. Використання дріжджів на один-два порядки знижує вартість вакцини у порівнянні з її продукцією в клітинах тварин.

#### **- Методологія дослідження (до 400 знаків)**

При виконанні досліджень використовувалися генно-інженерні, мікробіологічні, біохімічні методи, та методи біоінформатичного аналізу.

## **5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проекту, зокрема:**

### **5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проекту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)**

На основі «гуманізованих» штамів дріжджів *O. polymorpha* та *K. phaffii* отримано колекцію рекомбінантних штамів, що містять в своєму геномі касети експресії фрагментів субодиниць S1 та S2 глікопротеїна «шипа» SARS-CoV-2. Продуковані цими штамами білки локалізувалися

переважно в нерозчинній фракції безклітинних екстрактів. За допомогою використання дегтергенту гуанідин гідрохлориду та металоафінної хроматографії проведено очистку білків з клітин дріжджів. Також сконструйовано штами *K. phaffii* та *O. polymorpha*, що продукують RBD з фланкуючими лінкерними ділянками, багатими на амінокислоти гліцин та серин. Цей варіант RBD секретується у культуральне середовище і може бути легко очищений без використання дегтергентів. Отримані фрагменти S білка після внутрішньочеревного введення лабораторним мишам викликали продукцію високого титру імуноглобулінів IgG. Також сконструйовано декілька варіантів рекомбінантних штамів *K. phaffii*, що містять NTD-RBD фрагмент S білка, M- та E-білки SARS-CoV2 і малий S білок (dS, білок риштування) вірусу гепатиту качки для збирання в подальшому вірусоподібних частинок SARS-CoV2. Ацетонові порошки з культури дріжджів або інактивовані нагріванням та ліофілізовані клітини дріжджів *K. phaffii*, що містять вірусоподібні частинки SARS-CoV-2 є безпечними для піддослідних тварин, та викликають виражену індукцію імуної відповіді у піддослідних мишей.

### **5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами**

Отримані фрагменти S білка глікозилюються так само, як у клітинах людини, за рахунок використання штамів дріжджів з «гуманізованим» глікозилюванням. За рахунок того, що дріжджі швидко нарощують біомасу і продукують великі кількості рекомбінантних білків, собівартість такої вакцини буде низькою в порівнянні з продукцією рекомбінантних білків в культурах клітин ссавців чи комах. Зокрема, секреторний варіант RBD особливо легко очистити з рідини, в якій культивувалися клітини дріжджів.

### **5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проекту для економіки та суспільства (стосується проектів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)**

Важливість вакцини проти SARS-CoV-2 для суспільства та економіки є величезною. Успішна реалізація даного Проекту є передумовою для подальшого впровадження вакцини у медичну практику.

### **5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проекту в суспільній практиці.**

Очищені рекомбінантні фрагменти білків «шипа» S1 та S2 необхідно продовжувати тестувати на лабораторних тваринах, а потім і на людях (волонтерах). У разі успіху вакцину слід зареєструвати та використовувати для вакцинації. Інша частина проекту, яка стосувалася створення вірусоподібних частинок SARS-CoV-2 в «гуманізованих» дріжджах, повинна бути продовжена в майбутніх дослідницьких проектах, тому що розробка вакцини на основі вірусоподібних частинок потребує більше часу, ніж експресія рекомбінантних білків. У майбутніх проектах необхідно здійснити удосконалення продуцентів вірусоподібних частинок та оптимізацію їх синтезу в клітинах дріжджів, розробити методи очищення вірусоподібних частинок та продовжувати вивчати їх ефективність як антигенів. Якщо ефективність вірусоподібних частинок буде високою, вони можуть в майбутньому замінити вакцину на основі розчинних антигенів.

Примітка: Анотований звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування

#### **Науковий керівник Проекту**

Директор Інституту біології клітини НАН України  
(посада)

Андрій СИБІРНИЙ  
(Власне ім'я та ПРІЗВИЩЕ)

(підпись)