

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-156

**ДОСТАВКА МРНК, КОДИРУЮЩЕЙ ГЕН ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ ПОДТИПА А/Н5NХ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ\*****DELIVERY OF MRNA ENCODING HEMAGGLUTININ OF HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA VIRUS SUBTYPE A/H5NX USING LIPID NANOPARTICLES**

В. А. Яковлев, В. Р. Литвинова, Е. В. Тигеева, Н. Б. Рудометова, М. Б. Боргоякова, Е. В. Старостина,  
К. П. Макарова, Д. И. Вахитов, Л. А. Кисакова, Л. И. Карпенко, А. П. Рудометов

*Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово*

V.A. Yakovlev, V.R. Litvinova, E.V. Tigeeva, N.B. Rudometova, M.B. Borgoyakova, E.V. Starostina,  
K.P. Makarova, D.I. Vahitov, L.A. Kisakova, L.I. Karpenko, A.P. Rudometov

*State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo*

✉ yva20009@mail.ru

**Аннотация**

В данной работе были получены и охарактеризованы препараты mRNA-H5, инкапсулированной в липидные наночастицы. Было показано, что mRNA-H5-ЛНЧ эффективно стимулирует специфический гуморальный иммунный ответ и обеспечивает 100%-ю защиту иммунизированных мышей от летального заражения штаммами вируса гриппа A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8) и A/chicken/Magadan/14-7V/2022 (H5N1).

**Abstract**

In this work, formulations of mRNA-H5 encapsulated in lipid nanoparticles were obtained and characterized. It was shown that mRNA-H5-LNP effectively stimulate a specific humoral immune response and provide 100 % protection of immunized mice from lethal challenge with influenza virus strains A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8) and A/chicken/Magadan/14-7V/2022 (H5N1).

По данным Всемирной организации здравоохранения, на 13 июня 2025 г. было зарегистрировано 976 случаев заражения людей высокопатогенным вирусом гриппа птиц (HPAI) подтипа А/Н5N1, из которых 470 привели к смерти. Дальнейшая передача вирусов HPAI H5Nx среди птиц и млекопитающих представляет угрозу появления нового вируса HPAI и вызывает опасения по поводу возможной пандемии.

Перспективной вакцинной платформой для защиты от вирусов гриппа являются мРНК-вакцины, обладающие рядом преимуществ, выгодно выделяющих их в сравнении с классическими инактивированными вакцинами. Известно, что мРНК в «голом» виде проявляет низкую иммуногенность, которую можно усилить на порядки с помощью подходящих методов доставки. Таким методом являются зарекомендовавшие себя липидные наночастицы (ЛНЧ). Они способны успешно доставлять мРНК в иммунокомпетентные клетки, а также защищать ее от деградации внеклеточными нуклеазами.

Ранее в отделе биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» была получена кандидатная мРНК-вакцина, кодирующая модифицированный тример гемагглютинаина высокопатогенного вируса гриппа A/turkey/Stavropol/320-01/2020 (H5N8), названная mRNA-H5.

Целью данной работы стала оценка иммуногенных и протективных свойств mRNA-H5, вводимой в организм мышей с использованием ЛНЧ.

Для иммунизации mRNA-H5 была инкапсулирована в ЛНЧ, которые были охарактеризованы и проанализированы методами динамического и электрофоретического светорассеяния, а также методом электронной микроскопии. Показано (рис. 1), что используемый состав ЛНЧ обеспечивает инкапсуляцию более 90 % мРНК, формируя монодисперсную суспензию наночастиц со средним размером  $93,5 \pm 0,8$  нм.  $\zeta$ -потенциал наночастиц составил  $-0,02 \pm 0,26$ , что указывает на практически полную инкапсуляцию мРНК в наночастицы. В качестве контроля были также получены ЛНЧ без мРНК, со средним размером  $131,6 \pm 1,6$  нм и  $\zeta$ -потенциалом  $1,15 \pm 0,26$ .

Была проведена иммунизация мышей BALB/c полученным препаратом mRNA-H5-ЛНЧ в дозе 10 мкг мРНК, рекомбинантным белком HA/H5 в дозе 25 мкг, а также препаратом ЛНЧ без мРНК, содержащим экви-

\* Исследование выполнено в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

© В. А. Яковлев, В. Р. Литвинова, Е. В. Тигеева, Н. Б. Рудометова, М. Б. Боргоякова, Е. В. Старостина, К. П. Макарова, Д. И. Вахитов, Л. А. Кисакова, Л. И. Карпенко, А. П. Рудометов, 2025

валентную опытной группе дозу ЛНЧ в качестве контроля. Дополнительным контролем выступала группа интактных мышей. На 35-е сутки после 2-й иммунизации оценили гуморальный иммунный ответ методом ИФА. Показано (рис. 2, 1), что иммунизация мышей линии BALB/c полученной мРНК-вакциной вызывает выработку высокого титра специфических антител (средний титр специфических антител 1 : 656000). Данный титр статистически значимо отличался от остальных групп, включая группу, иммунизированную рекомбинантным белком с гидроокисью алюминия (средний титр в данной группе составил 1 : 175000).

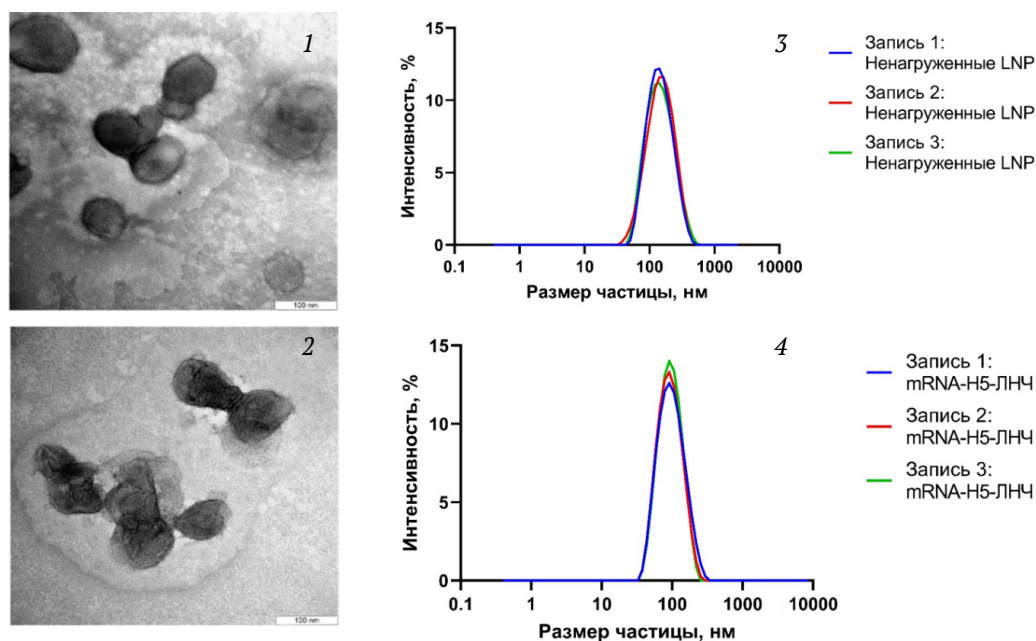


Рис. 1. Электронная микрофотография комплексов mRNA-H5-ЛНЧ (1), ЛНЧ без мРНК (2). Динамическое рассеяние света: профили распределения размеров ЛНЧ без мРНК (3) или с мРНК (4)

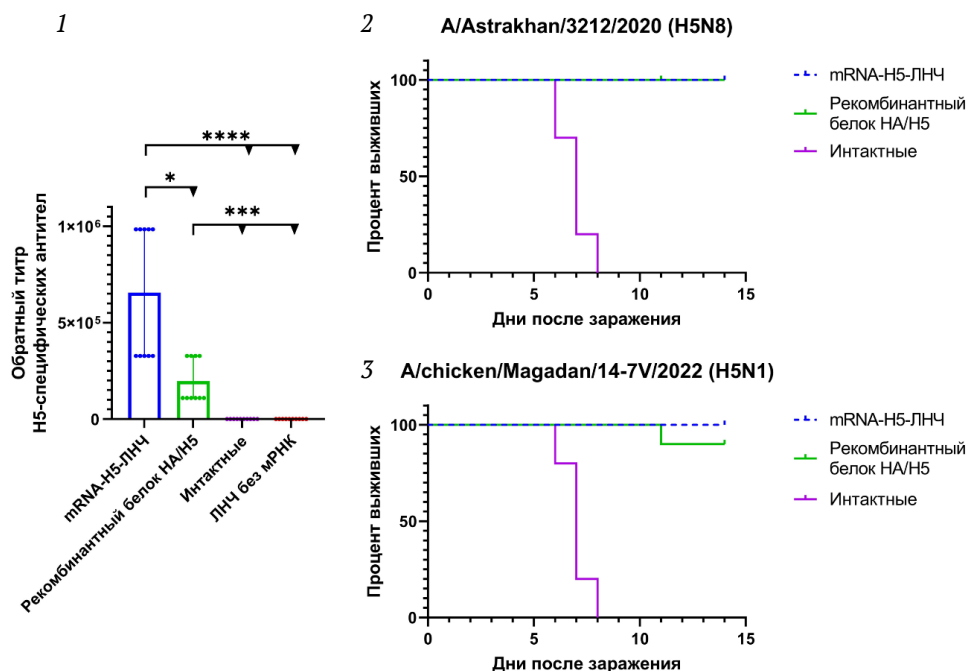


Рис. 2. Иммуногенные и защитные свойства mRNA-H5: 1 — реципрокный титр (разведение) антител, специфичных к H5, выявленных в иммунных сыворотках с помощью ИФА (\*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ); 2, 3 — кривые выживаемости иммунизированных животных после заражения штаммом вируса гриппа: A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8) и A/chicken/Magadan/14-7V/2022 (H5N1) соответственно

Далее мышей, иммунизированных mRNA-H5-ЛНЧ, рекомбинантным белком HA/H5, а также интактных мышей разделили на 2 подгруппы и заражали интраназально штаммами вируса гриппа A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8) и A/chicken/Magadan/14-7V/2022 (H5N1). В результате было показано (рис. 2, 2, 3), что выживаемость в группах мышей, иммунизированных mRNA-H5 с использованием ЛНЧ, при заражении обоими штаммами составляет 100 %. В группе, иммунизированной рекомбинантным белком, выживаемость при заражении гомологичным штаммом составила 100 %, а при заражении гетерологичным штаммом — 90 %.

Протективные свойства вакцины в отношении нескольких штаммов вируса гриппа могут указывать на универсальность данной вакцины, что требует дальнейшего исследования протективности в отношении большего числа гетерологичных штаммов. Проведенное исследование указывает на то, что mRNA-H5, инкапсулированная в ЛНЧ, является перспективным кандидатом в качестве вакцины против гриппа, вызываемого высокопатогенным вирусом гриппа птиц подтипа A/H5 с пандемическим потенциалом.