

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

ДОСТАВКА МРНК, КОДИРУЮЩЕЙ ГЕН ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ ПОДТИПА А/Н5НХ, 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 (НРАИ) подтипа А/Н5Н1, из которых 470 привели к смерти. Дальнейшая передача вирусов НРАИ Н5Нх среди птиц и млекопитающих представляет угрозу появления нового вируса НРАИ 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 гемагглютинина 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. ζ -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 ζ -потенциалом $1,15 \pm 0,26$.

Была проведена иммунизация мышей BALB/c полученным препаратом mRNA-H5-ЛНЧ в дозе 10 мкг мРНК, рекомбинантным белком НА/Н5 в дозе 25 мкг, а также препаратом ЛНЧ без мРНК, содержащим экви-

^{*} Исследование выполнено в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

валентную опытную группу 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).

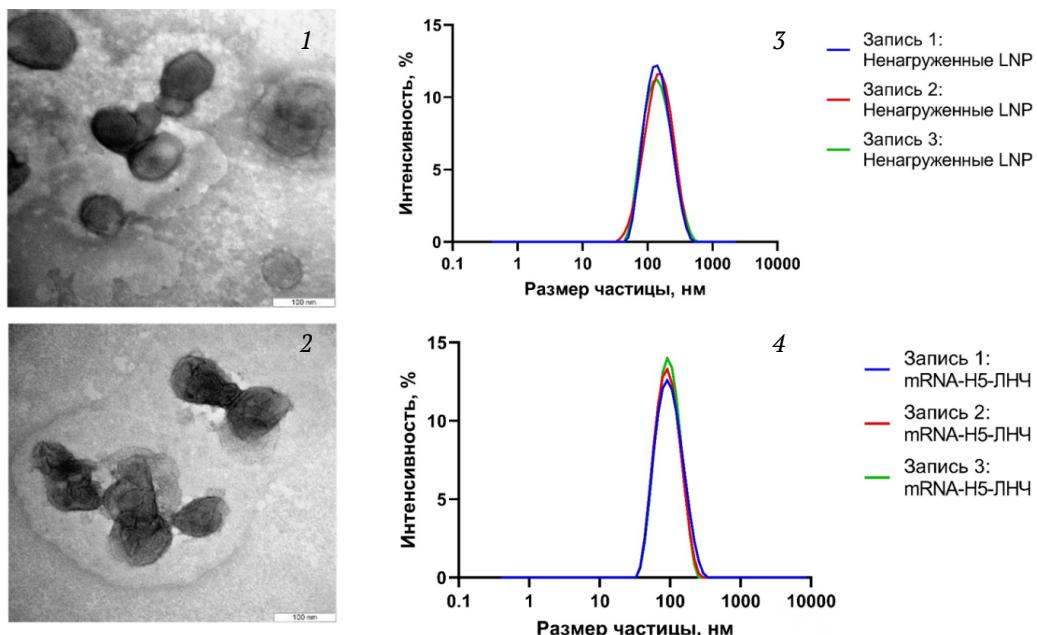


Рис. 1. Электронная микрофотография комплексов mRNA-H5-ЛНЧ (1), ЛНЧ без мРНК (2). Динамическое рассеяние света: профили распределения размеров ЛНЧ без мРНК (3) или с мРНК (4)

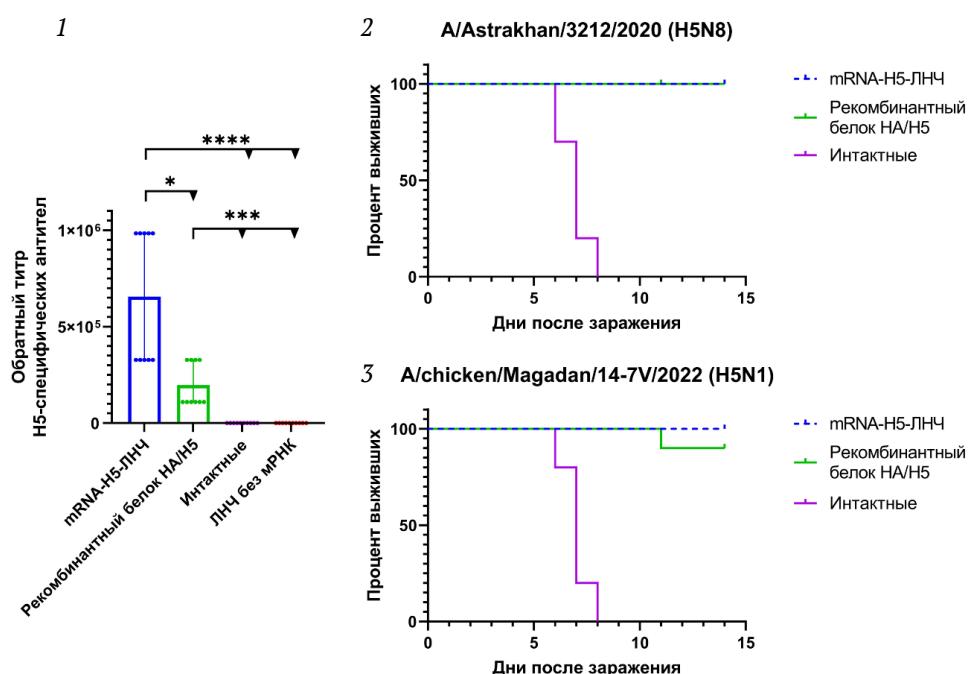


Рис. 2. Иммуногенные и защитные свойства mRNA-H5: 1 — реципрокный титр (разведение) антител, специфичных к H5, выявленных в иммунных сыворотках с помощью ИФА (* p < 0,05; *** p < 0,001; **** p < 0,0001); 2, 3 — кривые выживаемости иммунизированных животных после заражения штаммом вируса гриппа: A/Astrakhan/3212/2020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

Далее мышей, иммунизированных mRNA-H5-ЛНЧ, рекомбинантным белком НА/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.