

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

## Разработка и создание кандидатных вакцин против COVID-19 на основе растительных систем экспрессии: состояние исследований и перспективы

Е.А. Уварова<sup>1#</sup> , П.А. Белавин<sup>1#</sup>, Е.В. Дейнеко<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

 [uvarova@bionet.nsc.ru](mailto:uvarova@bionet.nsc.ru)

**Аннотация.** Вспышка нового варианта коронавирусной инфекции, известной как COVID-19, произошла в конце 2019 г. в Китае, в городе Ухань, и была вызвана вирусом SARS-CoV-2. Данный вариант вируса характеризуется высокой степенью изменчивости и, как показывает сложившаяся ситуация с его распространением по различным регионам земного шара, способен приводить к прогрессирующему распространению инфекции среди человеческой популяции и становится причиной возникновения пандемии. Мировое сообщество исследователей прилагает огромные усилия для разработки средств защиты, профилактики и лечения этого заболевания, основываясь на современных достижениях в области молекулярной биологии, иммунологии и вакцинологии. В предлагаемом обзоре суммирована информация о современном состоянии исследований в области создания вакцин против COVID-19 с акцентом на роль растений в решении этой сложной проблемы. Хотя растения издавна использовались человечеством в качестве источников различных лекарственных субстанций, в условиях пандемии растительные системы экспрессии становятся привлекательными в качестве биофабрик или биореакторов для наработки искусственно созданных белковых молекул, включающих протективные антигены для вакцины против вирусной инфекции. Дизайн и конструирование таких искусственных молекул лежат в основе создания рекомбинантных субъединичных вакцин, нацеленных на быстрое реагирование против распространения инфекций с высокой степенью изменчивости. В обзоре представлено состояние исследований, охватывающее период немногим более двух лет, т. е. с момента появления новой коронавирусной инфекции. Обсуждается важность быстрого реагирования исследовательских групп из разных научных областей в направлении использования уже существующих разработок для создания средств защиты против различных патогенов. На примере двух растительных систем экспрессии – стабильной и транзиторной – показано развитие работ по конструированию рекомбинантных субъединичных вакцин против COVID-19 в различных лабораториях и коммерческих компаниях. Подчеркнута перспективность использования растительных систем экспрессии для разработки не только средств защиты в условиях быстрого реагирования (субъединичные вакцины), но и терапевтических средств в виде моноклональных антител против COVID-19, синтезируемых в растительных клетках. Ключевые слова: растительные вакцины; системы экспрессии растений; вирусоподобные частицы; транзиторная экспрессия; стабильная экспрессия; рекомбинантные белки.

**Для цитирования:** Уварова Е.А., Белавин П.А., Дейнеко Е.В. Разработка и создание кандидатных вакцин против COVID-19 на основе растительных систем экспрессии: состояние исследований и перспективы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022;26(3):327-335. DOI 10.18699/VJGB-22-39

## Design and assembly of plant-based COVID-19 candidate vaccines: recent development and future prospects

Е.А. Uvarova<sup>1#</sup> , P.A. Belavin<sup>1#</sup>, E.V. Deineko<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Tomsk State University, Tomsk, Russia

 [uvarova@bionet.nsc.ru](mailto:uvarova@bionet.nsc.ru)

**Abstract.** An outbreak of a new variant of the coronavirus infection, known as COVID-19, occurred at the end of 2019 in China, in the city of Wuhan. It was caused by the SARS-CoV-2 virus. This variant of the virus is characterized by a high degree of variability and, as the current situation with its spread across different regions of the globe shows, it can lead to a progressive spread of infection among the human population and become the cause of a pandemic. The world scientific community is making tremendous efforts to develop means of protection,

prevention and treatment of this disease based on modern advances in molecular biology, immunology and vaccinology. This review provides information on the current state of research in the field of vaccine development against COVID-19 with an emphasis on the role of plants in solving this complex problem. Although plants have long been used by mankind as sources of various medicinal substances, in a pandemic, plant expression systems become attractive as biofactories or bioreactors for the production of artificially created protein molecules that include protective antigens against viral infection. The design and creation of such artificial molecules underlies the development of recombinant subunit vaccines aimed at a rapid response against the spread of infections with a high degree of variability. The review presents the state of research covering a period of just over two years, i.e. since the emergence of the new outbreak of coronavirus infection. The authors tried to emphasize the importance of rapid response of research groups from various scientific fields towards the use of existing developments to create means of protection against various pathogens. With two plant expression systems – stable and transient – as examples, the development of work on the creation of recombinant subunit vaccines against COVID-19 in various laboratories and commercial companies is shown. The authors emphasize that plant expression systems have promise for the development of not only protective means under conditions of rapid response (subunit vaccines), but also therapeutic agents in the form of monoclonal antibodies against COVID-19 synthesized in plant cells.

Key words: plant-based vaccines; plant expression systems; virus-like particles; transient expression; stable expression; recombinant proteins.

**For citation:** Uvarova E.A., Belavin P.A., Deineko E.V. Design and assembly of plant-based COVID-19 candidate vaccines: recent development and future prospects. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(3):327-335. DOI 10.18699/VJGB-22-39

## Введение

Одним из наиболее эффективных методов борьбы с инфекционными заболеваниями является вакцинация. Вакцина – это препарат, стимулирующий организм на формирование защитной реакции против инфекционного агента. В основу вакцинации положено программирование специфических иммунологических механизмов на защиту от возбудителей различных инфекций. Именно благодаря вакцинации человечеству удалось избежать всплеск многих опасных инфекций, тем не менее имеющиеся в арсенале вакцины все еще далеки от «идеальных». Использование традиционных вакцин, производство которых основано на аттенуированных или инактивированных патогенах, иногда сопровождается сенсibilизацией организма, большой нагрузкой на иммунную систему, реактогенностью, токсичностью и др. (Francis, 2018).

Разработанные к настоящему времени методы и подходы в области молекулярной биологии, иммунологии, вакцинологии, клеточной и синтетической биологии, а также биоинформатики позволяют по-новому взглянуть на открывающиеся возможности создания более совершенных средств защиты от патогенов вирусного и бактериального происхождения, лишенных вышеперечисленных недостатков. Методы современной биологии дают возможность идентифицировать и изолировать биологические макромолекулы или их фрагменты, которые можно было бы использовать в качестве иммуногенных компонентов для активации иммунной системы в ответ на патоген. Такими компонентами могут выступать белки патогенов (например, белки оболочек возбудителей инфекции), являющиеся иммуногенами. С применением генно-инженерных технологий успешно развивается направление по разработке рекомбинантных субъединичных вакцин, включающих протективные антигены в сочетании с адьювантами и синтезируемых в различных системах экспрессии (Salazar-González et al., 2015; Demurtas et al.,

2016; Fischer, Buyel, 2020; McNulty et al., 2020; Rybicki, 2020).

Разработка рекомбинантных субъединичных вакцин наиболее актуальна для патогенов, характеризующихся высоким уровнем изменчивости. Это возбудители вирусных инфекций, вызывающие острые респираторные заболевания и грипп (Shoji et al., 2011; Ward et al., 2020). Данные патогены способны приводить к прогрессирующему распространению инфекции среди человеческой популяции и становиться причиной возникновения эпидемий и пандемий. Именно к таким патогенам относится новая разновидность коронавируса – SARS-CoV-2.

Доступность данных о структуре генома нового штамма вируса, выделенного с использованием классических методов вирусологии, электронной микроскопии и молекулярного анализа в конце 2019 г. (Zhu et al., 2020), открыла широкие возможности для применения уже разработанных и имеющихся в арсенале исследователей новых подходов к конструированию вакцин. Первые заявления о клинических испытаниях (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04283461>) появились уже через два месяца после опубликования первичной структуры генома этого вируса (Zhu et al., 2020). Данный факт свидетельствует о том, что имеющиеся разработки и понимание молекулярных механизмов формирования защитных реакций со стороны иммунной системы организма позволяют достаточно оперативно отреагировать на появление новых вариантов вирусной инфекции (Pogrebnyak et al., 2005). Однако для использования новой вакцины в целях профилактики населения необходимо оценить ее эффективность и влияние на организм человека, а также возможности ее промышленной наработки (Jiang, 2020).

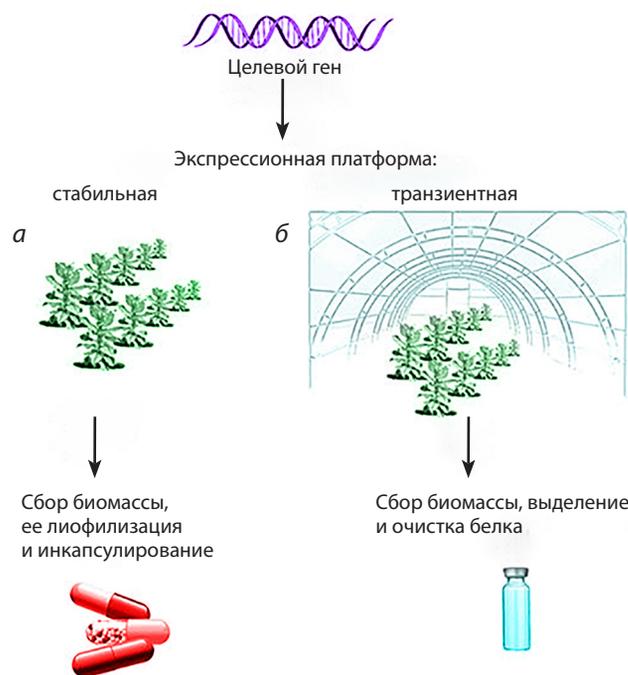
В предлагаемом обзоре авторы сделали попытку проанализировать возможности применения растительных систем экспрессии, направленных на создание противовирусных субъединичных рекомбинантных вакцин, в частности кандидатных вакцин против COVID-19.

## Растительные системы экспрессии

При разработке вакцин нового поколения, в том числе рекомбинантных, актуальным остается вопрос о поиске высокоэффективных и экономически выгодных систем их экспрессии. В настоящее время для этих целей чаще всего используют *Escherichia coli*, несколько видов *Saccharomyces* и клетки млекопитающих. Новые перспективы в наработке рекомбинантных белков открываются благодаря генетически модифицированным растениям (биофарминг), которые могли бы выступать в качестве растительных (съедобных) вакцин (Salazar-González et al., 2015). Растения, в тканях которых синтезируются и накапливаются рекомбинантные иммуногены, привлекательны для получения субстанций ветеринарного и медицинского назначения, в том числе субъединичных рекомбинантных противовирусных вакцин. Во многих ведущих биотехнологических лабораториях и коммерческих фирмах растительные клетки используются в качестве альтернативной системы экспрессии для получения рекомбинантных белков медицинского назначения (Fischer, Buvel, 2020; Rybicki, 2020).

Применяемые для синтеза рекомбинантных белков, в частности вакциногенных, растительные экспрессионные платформы основаны на стабильной экспрессии целевого гена при его доставке в ядерный или хлоропластный геном растения, а также на временной или транзientной его экспрессии. На рис. 1 представлены две основные платформы, развиваемые в ведущих биотехнологических центрах для производства рекомбинантных белков, в том числе медицинского назначения, с использованием синтетических возможностей транскрипционно-трансляционного аппарата растений. Общий принцип, положенный в основу этих платформ, состоит в следующем: методами генетической инженерии создается искусственная матрица с целевым геном, по которой синтезируется соответствующий белок, накапливаемый в тканях растений. Растительные ткани могут быть лиофильно высушены и инкапсулированы, либо из тканей может быть выделен и очищен непосредственно рекомбинантный белок. Как правило, в качестве целевого гена выбирают гены белков оболочек возбудителей инфекционных заболеваний, являющихся иммуногенами. В составе кассет экспрессии целевые гены могут быть интегрированы в геном растений (ядерный или хлоропластный), что обеспечит стабильную экспрессию целевого гена и накопление в тканях растения целевого продукта (см. рис. 1, а). Однако использование хлоропластного генома для этих целей хотя и представляется весьма перспективным, все еще далеко от практического применения в силу большого числа нерешенных проблем (Waheed et al., 2015; Yu Y. et al., 2020).

При транзientной системе экспрессии целевые гены доставляются в ткани растений с помощью специально созданных для этого вирусных векторов (Sainsbury et al., 2010), а также растения *Nicotiana benthamiana*, особенности строения листовой паренхимы которого оптимальны для проведения успешной агроинфильтрации (см. рис. 1, б). В компании IconGenetics (Германия) разработана и запатентована система «магнификации», с применением которой выход рекомбинантного белка при транзientной системе экспрессии может достигать 80 % от общего рас-



**Рис. 1.** Растительные экспрессионные платформы для получения рекомбинантных белков.

творимого белка (ОРБ) (Gleba et al., 2005). Несмотря на относительно низкий (немногим более 1 % ОРБ) выход рекомбинантного белка в растениях со стабильной системой экспрессии в случае ядерной трансформации, применение уже имеющихся агротехнологий выращивания трансгенных растений обеспечивает им неограниченную масштабируемость при минимальных затратах (Kermode, 2018). Таким образом, растительная платформа со стабильной экспрессией целевого гена перспективна для производства продуктов с большим объемом, например для получения вакцин для профилактики заболеваний, в особенности в развивающихся странах.

Трансгенные или транспластомные растения со стабильной экспрессией целевого гена используются для крупномасштабного производства рекомбинантных белков в течение длительного периода, тогда как особенности транзientной экспрессии позволяют получить необходимые количества рекомбинантного белка за короткий промежуток времени, что представляется чрезвычайно важным при необходимости экстренного реагирования на распространение патогена. Так, Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) на случай чрезвычайной ситуации был одобрен коктейль против вируса Эбола под названием ZMapp™, состоящий из трех моноклональных антител, транзientно синтезированных в растениях табака (Phoolcharoen et al., 2011).

Транзientная система экспрессии перспективна для развития мелкосерийного производства персонализированных лекарственных препаратов, таких как антиидиотипические антитела scFv для неходжкинской лимфомы, а также при необходимости массовой вакцинации на-

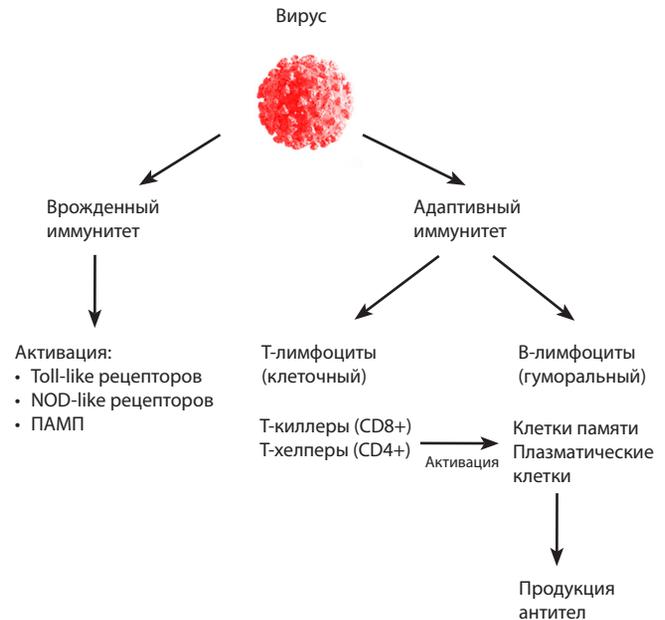
селения в случае вспышек сезонных вирусных заболеваний, вызываемых быстро мутирующими вирусами. В растениях *N. benthamiana* уже после трех недель с момента выделения вирусной последовательности были синтезированы достаточно большие количества антигенов из штаммов вируса гриппа H5N1 (птичий грипп) и H1N1 (свиной грипп) (Hodgins et al., 2019; Makarkov et al., 2019). Данные рекомбинантные белки, нарабатываемые в транзientной растительной системе экспрессии, рассматриваются в качестве кандидатных вакцин против вируса гриппа и завершили II фазу испытаний на людях (Pillet et al., 2019).

Американской компанией DowAgroSciences в качестве передовой платформы для производства рекомбинантного антигена против вируса ньюкаслской болезни (псевдожумы) домашней птицы разработана система культивирования растительных клеток Concert™. Несмотря на то что компанией не было запущено коммерческое производство данного рекомбинантного продукта, эта технология послужила основой для создания других коммерческих препаратов. Реальность и эффективность такого подхода многократно подтверждена исследователями ведущих биотехнологических лабораторий мира, а также деятельностью многочисленных компаний и фирм, специализирующихся на производстве одного или нескольких близкородственных продуктов на базе собственной экспрессионной платформы (Margolin et al., 2018; Rybicki, 2018).

Учитывая драматическое воздействие пандемии COVID-19, крайне важно рассмотреть все имеющиеся в распоряжении исследователей технологии, которые можно было бы применить для борьбы с возбудителем этого инфекционного заболевания – вирусом SARS-CoV-2. Поскольку технология производства растительных биофармацевтических препаратов в целом уже разработана, то в рамках пандемии она представляется весьма привлекательной с точки зрения наработки не только недорогих вакцин, но и антител, используемых для терапии, профилактики и диагностики. Производство антител, например анти-COVID-19, даже более перспективно, чем производство вакциногенных белков, так как рекомбинантные антитела растительного происхождения могут быть своевременно произведены и одобрены для применения на людях в более короткие сроки по сравнению с разработкой вакцин (Hiatt et al., 1989; Tian et al., 2020). Перспективность растительных систем экспрессии для применения в борьбе с COVID-19 обсуждается в обзорах (Rosales-Mendoza, 2020; Shanmugaraj et al., 2020b).

### Общее представление об ответных иммунологических реакциях организма на заражение вирусными инфекциями

Возбудители респираторных заболеваний, к которым относятся и различные типы коронавирусов, попадают в организм человека через слизистые верхних дыхательных путей. Вирусные частицы присоединяются к клеточным рецепторам, сливаются с клеточной мембраной и проникают внутрь клетки. Используя репликативный аппарат клетки, вирус размножается, и вирусные частицы выходят наружу, поражая соседние с ней клетки. В случае



**Рис. 2.** Схема ответных иммунных реакций организма на вторжение вирусной инфекции.

с вирусом SARS-CoV-2 проникновение внутрь клетки обеспечивает белок S-2, являющийся одной из двух частей поверхностного вирусного S белка (spike-белок). Вторая часть этого белка – S-1 – обеспечивает связывание с ACE2-рецептором легочного эпителия. Оказавшись внутри клетки, вирусы становятся внутриклеточными паразитами, и борьба с ними со стороны иммунной системы хозяина становится непростой задачей.

В процессе эволюции сформировались две системы защиты организма от патогенов: наследственная, немедленно реагирующая на опасность, нацеленная на опознавание патогена в целом (врожденный иммунитет), и специфическая, нацеленная на опознавание огромного числа специфичностей (антигенов) у различных патогенов (приобретенный иммунитет, или адаптивный). Молекулярный механизм опознавания патогена основан на выявлении некоторых стандартных «молекулярных меток» или патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (ПАМП). Общая схема развития ответных иммунных реакций организма на проникновение вируса представлена на рис. 2.

Реакции врожденного иммунитета запускаются на первом этапе взаимодействия организма с патогеном. Структуры патогена распознаются рецепторами фагоцитирующих клеток и натуральных киллеров, при взаимодействии с которыми запускаются каскады Т-клеточного иммунного ответа и координируется устранение патогенов и инфицированных клеток. Основную группу рецепторов при развитии неспецифической защиты составляют Toll-like и NOD-like рецепторы (Takeuchi, Akira, 2010; Channappanavar et al., 2014).

Необходимо подчеркнуть, что, защищаясь от вирусов, клетка использует как антитела (гуморальное звено иммунитета), так и стратегию уничтожения клеток, зараженных вирусом (клеточное звено иммунитета). Мембранные

белки большинства вирусов являются для клетки «опознавательными знаками» или мишенями, при опознавании которых В-лимфоциты, активированные Т-хелперами (CD4<sup>+</sup>), дифференцируются в плазматические клетки, синтезирующие антитела (см. рис. 2). Антитела способны связывать вирус, препятствуя тем самым прикреплению и проникновению вируса в клетку. Такая стратегия защиты эффективна на ранних стадиях развития инфекции, до тех пор пока вирус не проник в клетку. После заражения клетки включается другая стратегия, направленная на уничтожение вирусов, которая осуществляется натуральными киллерами и цитотоксическими Т-лимфоцитами (CD8<sup>+</sup>) (см. рис. 2). Важность формирования цитотоксических реакций в борьбе с коронавирусами подчеркивалась ранее (Channappanavar et al., 2014). Представленная на рис. 2 схема ответных иммунных реакций организма на вторжение вирусной инфекции предельно упрощена с целью привлечения внимания к ключевым моментам, важным для выбора стратегии при разработке вакцины.

### Принципы разработки вакцин против COVID-19

Современные знания в области молекулярной биологии, иммунологии и вакцинологии предоставляют исследователям широкие наборы методов и подходов для конструирования вакцин нового поколения, основанных не только на данных об антигенной структуре патогена, но и на механизмах иммунного ответа организма на патоген и его компоненты.

На сайтах Национальной библиотеки по медицине и Банка генов (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>) доступна информация о составе нуклеотидных последовательностей генома вируса SARS-CoV-2. По состоянию на середину июля 2021 г. в свободном доступе была информация о более чем 377 тысячах полностью прочитанных геномов данного вируса, а также более чем 526 тысячах частично прочитанных геномов. Поскольку вспышка новой коронавирусной инфекции COVID-19 произошла в конце 2019 г. в Китае, в городе Ухань, то в качестве референсной была условно выбрана нуклеотидная последовательность именно этого штамма вируса. Данные о референсной последовательности и всем секвенированным геномам доступны в генном банке по ссылке [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NC\\_045512.2](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NC_045512.2).

Сейчас на сайте ВОЗ можно найти информацию о состоянии завершённых разработок по созданию вакцин против SARS-CoV-2 ([https://cdn.who.int/media/docs/default-source/blue-print/15april2022-novel-covid-19-vaccine-tracker.zip?sfvrsn=225505e5\\_3&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/blue-print/15april2022-novel-covid-19-vaccine-tracker.zip?sfvrsn=225505e5_3&download=true)). К настоящему времени в мире зарегистрировано 196 препаратов кандидатных вакцин на стадии доклинических исследований и 153 препарата на стадии клинических испытаний. На сайте ВОЗ по этой же ссылке можно найти информацию о производителях и о конкретных препаратах вакцин, находящихся на стадии клинических испытаний и получения одобрения в качестве вакцин со стороны ВОЗ (см. таблицу).

Анализируя состояние исследований в области разработки вакцин против COVID-19, следует отметить, что в качестве основы почти все разработчики выбирают иммуногенный белок S коронавируса, который представляется иммунной системе разными путями. Именно

этот белок вируса SARS-CoV-2 связывается с рецептором ACE2 клеток слизистого эпителия и обеспечивает его проникновение в клетки организма человека. Как видно из результатов анализа состояния вакцин, прошедших регистрацию и подготовленных разработчиками для использования (см. таблицу), современный рынок включает как классические вакцины против COVID-19, основанные на представлении иммунной системе антигенов инактивированных вирусов (Gao et al., 2020), так и мРНК-вакцины, в которых мРНК, кодирующая белок S, упакована в липидную оболочку. Попадая в клетки человека, такая мРНК является матрицей для синтеза белка S, который и опознается клетками иммунной системы как сигнал опасности (Pardi et al., 2018). РНК-вакцины продемонстрировали индукцию нейтрализующих антител с высокими титрами (Jackson et al., 2020). На таком же механизме представления антигена разрабатываются и ДНК-вакцины, которые включают фрагмент ДНК, кодирующий S белок, в векторы, например в плазмиды или аденовирусы (см. таблицу). В исследованиях на макаках-резус эти вакцины стимулировали образование высоких титров антител, а также образование цитотоксических лимфоцитов (Yu J. et al., 2020). Недостатком векторных вакцин является иммуногенность самих векторов.

Перспективными считаются вакцины на основе рекомбинантных белков или пептидов. В случае с SARS-CoV-2 в качестве кандидатов на антигены рассматриваются полно-размерные белки S, M и N или их домены, для повышения иммуногенности которых дополнительно используют эпитопы, распознаваемые Т- и В-клетками иммунной системы (Marjan, 2021). Такие искусственно созданные рекомбинантные белки при попадании в организм активируют клетки систем иммунной защиты, запускающие образование соответствующих субклеточных популяций, биосинтез антител и формирование «клеток памяти». Наиболее полно стратегии создания вакцин против SARS-CoV-2 и современное состояние исследований в этой области представлены в обзоре (Bakhiet, Taurin, 2021).

Следует подчеркнуть, что при разработке противовирусных вакцин, в том числе против COVID-19, условно можно выделить два важных этапа, первый из которых связан непосредственно с созданием самой вакцины, представляемой иммунной системе в виде большого числа антигенов (инактивированный вирус) или в виде доминирующего антигена (антигенов) – мРНК, ДНК, рекомбинантного белка или пептида. Важность второго этапа определяется надежными системами наработки либо самого вируса, либо его антигенов. Анализируя современное состояние исследований при разработке вакцин, и в особенности субъединичных вакцин нового поколения, необходимо отметить, что наряду с устоявшимися платформами, например клетками китайского хомячка (CHO), используемыми при наработке рекомбинантной вакцины Recombinant Novel Coronavirus Vaccine китайской фирмой Zhifei Longcom (см. таблицу), все большее внимание мирового сообщества привлекают растительные системы экспрессии (Fischer, Buyel, 2020; Kannan et al., 2020).

Информация о состоянии рынка вакцин, прошедших и проходящих регистрацию ВОЗ на 2 апреля 2022 г.

Платформа вакцины	Название вакцины	Фирма-изготовитель, страна	Стадия регистрации
Вирусный не реплицирующий вектор	AZD1222	AstraZeneca, Великобритания	*
	Ad26.COV2.S	Janssen Infectious Diseases & Vaccines (J&J), США	*
	Sputnik-V	Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Россия	**
	Ad5-nCoV	SanSinoBIO, Китай	**
	Covishield (ChAdOx1_nCoV-19)	Serum Institute of India, Индия	*
Инактивированный вирус	SARS-CoV-2 Vaccine, Inactivated (Vero Cell) CoronavacTM	IMBCAMS, Китай	*
	Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine (Vero Cell)	Sinopharm/WBIBP, Китай	**
	COVAXIN	Bharat Biotech, Индия	**
	SARS-CoV-2 Vaccine, Inactivated (Vero Cell)	IMBCAMS, Китай	**
	CovIran® vaccine	Иран	***
	SARS-CoV-2 Vaccine, Inactivated (Vero Cell)	IMBCAMS, Китай	***
РНК	BNT162b2/COMIRNATY	Pfizer, США	*
	mRNA-1273	Moderna, США	*
	Zovrecimeran	CureVac, Германия	***
Субъединичная, рекомбинантная	Recombinant Novel Coronavirus Vaccine (CHO Cell)	Zhifei Longcom, Китай	***
	NVX-CoV2373/Covovax	Novavax, США	**
	CoV2 preS dTM-AS03 vaccine	Sanofi, Франция	***
	SCB-2019	Clover Biopharmaceuticals, Китай	***
	Soberana 01, Soberana 02 Soberana Plus Abdala	BioCubaFarma, Куба	***
	Corbevax	Biological E, Индия	***
	GBP510	SK Bioscience, Южная Корея	***
Пептидный антиген	EpiVacCorona	ГНЦ ВБ «Вектор», Россия	***
На основе растительной платформы экспрессии	COVIFENZ®	Medicago Inc., Канада	***

Примечание. Информация взята с сайта [https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/documents/Status\\_COVID\\_VAX\\_02April2022.pdf](https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/documents/Status_COVID_VAX_02April2022.pdf)  
Стадия регистрации вакцины: \* зарегистрирована; \*\* окончание регистрации; \*\*\* подготовительные процедуры.

### Состояние исследований в области разработки вакцин растительного происхождения против COVID-19

Несмотря на то что первая работа о привлекательности растительных систем экспрессии для биотехнологического производства вакциногенных белков против COVID-19 появилась сравнительно недавно (Rosales-Mendoza, 2020; Shanmugaraj et al., 2020a), к настоящему времени число таких публикаций заметно увеличилось (Capell et al., 2020; Dhama et al., 2020; Ma et al., 2020; Prasad et al., 2020;

Shanmugaraj et al., 2020a). Авторы всесторонне обсуждают возможности приложения уже существующих биотехнологических разработок для получения субъединичных вакцин на основе растительных систем экспрессии (Capell et al., 2020; Ma et al., 2020), а также особенности создания такого типа вакцин в случае необходимости быстрого реагирования на распространение патогена (Shanmugaraj et al., 2020a).

Имеющиеся у исследователей данные по созданию растительных вакцин против гриппа на основе виру-

соподобных частиц также легли в основу разработки вакцин против COVID-19 (Hodgins et al., 2019; Makarkov et al., 2019).

Более того, канадская фирма Medicago, которая использует растительные системы экспрессии для производства рекомбинантных белков медицинского назначения, применяет транзистентную систему экспрессии в растениях *N. benthamiana* для синтеза вакциногенного белка, включающего белок S-1 вируса SARS-CoV-2 (<https://www.medicago.com/en/covid-19-programs/>). Разработчики компании слили последовательность, кодирующую вирусный белок S-1, с последовательностью, обеспечивающей конформационные преобразования белковой молекулы, имитирующие поверхность вирусной частицы. Перспективность получения рекомбинантных белков, конформационно свернутых в виде вирусоподобных частиц, на поверхности которых представлены антигены в виде рекомбинантных полипептидов, отмечалась ранее (Baï et al., 2008). Фолдинг рекомбинантного белка в виде вирусоподобной частицы существенно повышает эффективность презентации антигенов клеткам иммунной системы организма (Rybicki, 2020). И хотя приготовленная на основе вирусоподобных частиц вакцина имитирует вирус, такой «искусственный вирус» лишен генетического аппарата (РНК или ДНК) и, соответственно, возможности реплицироваться при попадании в клетку. Ранее многочисленные исследования показали, что посттрансляционные преобразования белка в растительных системах экспрессии обеспечивают его сворачивание в вирусоподобную частицу (D'Aoust et al., 2010; Lua et al., 2014). Более того, растительные системы экспрессии поддерживают создание функциональных рекомбинантных белков, в том числе и таких сложных, как антитела (Diamos et al., 2020).

На сайте биотехнологической компании Medicago Inc. размещена информация об одобрении Канадским регулятором вакцины, представляющей собой рекомбинантный белок S вируса SARS-CoV-2, в виде вирусоподобных частиц, синтезируемых в растениях табака (*N. benthamiana*) (<https://medicago.com/app/uploads/2022/02/Covifenz-PM-en.pdf>). Выделенный и очищенный из растительной биомассы вакциногенный белок используется в испытаниях на добровольцах (в эксперименте участвовали около 30 тыс. человек). Следует подчеркнуть, что вакцина, полученная на основе растительной системы экспрессии, успешно прошла три фазы клинических испытаний на добровольцах (Pillet et al., 2019; Ward et al., 2021) и в настоящее время одобрена под коммерческим названием COVIFENZ® в Канаде. Компанией заявлено о формировании высоких титров антител у испытуемых. Medicago Inc. провела оценку своей вакцины-кандидата с пандемическим адьювантом GSK. Сейчас такие компании, как GlaxoSmithKlein (GSK, Великобритания), Seqirus (Великобритания) и Dynavax (США), разрабатывают создание лицензированных адьювантов (AS03, MF59 и CpG 1018 соответственно) для их использования с вакцинами против COVID-19. Применение адьюванта может иметь особое значение в ситуации пандемии, поскольку может снизить количество белка вакцины, требуемого на дозу, что позволяет производить больше доз вакцины и, следовательно, способствует защите большего числа

людей. Несмотря на то что точная дозировка вакцины для людей все еще не определена, компания оценивает потенциальные объемы производства с 2021 г. до 80 млн доз в год с увеличением производительности с 2023 г. до более 1 млрд доз вакцины против COVID-19 в год.

## Заключение

Как показывает опыт ведущих биотехнологических компаний и лабораторий по оптимизации систем экспрессии для производства рекомбинантных белков, растительные системы экспрессии весьма привлекательны для этих целей и уже востребованы некоторыми крупными и средними биотехнологическими компаниями. Перспективность использования растительных клеток для разработки рекомбинантных белков, предназначенных для вакцинопрофилактики, основана также на возможности их перорального и интраназального применения и активации мукозальных ответных реакций.

Пероральная доставка фармацевтических белков представляется желанной целью биофармацевтической промышленности, так как обеспечивает более удобное введение лекарственного средства по сравнению с внутривенными, внутримышечными и подкожными инъекциями. Пероральная доставка приведет к лучшим результатам лечения пациентов наряду с повышением качества их жизни. Более того, привлекательность растительных систем экспрессии основывается на возможности быстрого реагирования на патогены с высокой степенью изменчивости. Приведенные в рамках данного обзора примеры успешного испытания растительной вакцины против COVID-19 и обеспечения больших объемов производства для наработки вакциногенного рекомбинантного белка подтверждают перспективность растительных систем экспрессии для получения рекомбинантных субъединичных вакцин.

## Список литературы / References

- Bai B., Hu Q., Hu H., Zhou P., Shi Z., Meng J., Lu B., Huang Y., Mao P., Wang H. Virus-like particles of SARS-like coronavirus formed by membrane proteins from different origins demonstrate stimulating activity in human dendritic cells. *PLoS One*. 2008;3:e2685. DOI 10.1371/journal.pone.0002685.
- Bakhiet M., Taurin S. SARS-CoV-2: targeted managements and vaccine development. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2021;58:16-29. DOI 10.1016/j.cytogfr.2020.11.001.
- Capell T., Twyman R.M., Armario-Najera V., Ma J.K., Schillberg S., Christou P. Potential applications of plant biotechnology against SARS-CoV-2. *Trends Plant Sci*. 2020;25(7):635-643. DOI 10.1016/j.tplants.2020.04.009.
- Channappanavar R., Fett C., Zhao J., Meyerholz D.K., Perlman S. Virus-specific memory CD8 T cells provide substantial protection from lethal severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J. Virol*. 2014;88:11034-11044. DOI 10.1128/jvi.01505-14.
- D'Aoust M.A., Couture M.M., Charland N., Trepanier S., Landry N., Ors F., Vézina L.-P. The production of hemagglutinin-based virus-like particles in plants: a rapid, efficient and safe response to pandemic influenza. *Plant Biotechnol. J*. 2010;8(5):607-619. DOI 10.1111/j.1467-7652.2009.00496.x.
- Demurtas O.C., Massa S., Illiano E., De Martinis D., Chan P.K., Di Bonito P., Franconi R. Antigen production in plant to tackle infectious diseases flare up: the case of SARS. *Front. Plant Sci*. 2016;7:1-12. DOI 10.3389/fpls.2016.00054.

- Dhama K., Natesan S., Yatoo M.I., Patel S.K., Tiwari R., Saxena S.K., Harapan H. Plant-based vaccines and antibodies to combat COVID-19: current status and prospects. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2020;16(12):2913-2920. DOI 10.1080/21645515.2020.1842034.
- Diamos A.G., Hunter J.G.L., Pardhe M.D., Rosenthal S.H., Sun H., Foster B.C., DiPalma M.P., Chen Q., Mason H.S. High level production of monoclonal antibodies using an optimized plant expression system. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020;7:472. DOI 10.3389/fbioe.2019.00472.
- Fischer R., Buyel J.F. Molecular farming – the slope of enlightenment. *Biotechnol. Adv.* 2020;40:107519. DOI 107519 10.1016/j.biotechadv.2020.107519.
- Francis M.J. Recent advances in vaccine technologies. *Vet. Clin. Small Anim.* 2018;48(2):231-241. DOI 10.1016/j.cvsm.2017.10.002.
- Gao Q., Bao L., Mao H., Wang L., Xu K., Yang M. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science.* 2020;369(6499):77-81. DOI 10.1126/science.abc1932.
- Gleba Y., Klimyuk V., Marillonnet S. Magnification: a new platform for expressing recombinant vaccines in plants. *Vaccine.* 2005;23:2042-2048. DOI 10.1016/j.vaccine.2005.01.006.
- Hiatt A., Cafferkey R., Bowdish K. Production of antibodies in transgenic plants. *Nature.* 1989;342(6245):76-78. DOI 10.1038/342076a0.
- Hodgins B., Pillet S., Landry N., Ward B.J. Prime-pull vaccination with a plant-derived virus-like particle influenza vaccine elicits a broad immune response and protects aged mice from death and frailty after challenge. *Immun. Ageing.* 2019;16:27. DOI 10.1186/s12979-019-0167-6.
- Jackson L.A., Anderson E.J., Roupael N.G., Roberts P.C., Makhene M., Coler R.N., McCullough M.P., Chappell J.D., Denison M.R., Stevens L.J., Pruijssers A.J., McDermott A., Flach B., Doria-Rose N.A., Corbett K.S., Morabito K.M., O'Dell S., Schmidt S.D., Swanson P.A., Padilla M., Mascola J.R., Neuzil K.M., Bennett H., Sun W., Peters E., Makowski M., Albert J., Cross K., Buchanan W., Pikaart-Tautges R., Ledgerwood J.E., Graham B.S., Beigel J.H. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2 – preliminary report. *N. Engl. J. Med.* 2020;383:1920-1931. DOI 10.1056/nejmoa2022483.
- Jiang S. Don't rush to deploy COVID-19 vaccines and drugs without sufficient safety guarantees. *Nature.* 2020;579:321. DOI 10.1038/d41586-020-00751-9.
- Kannan S., Shaik Syed Ali P., Sheeza A., Hemalatha K. COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) – recent trends. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2020;24:2006-2011. DOI 10.26355/eurrev\_202002\_20378.
- Kermode A.R. Current Status and Perspectives of the Molecular Farming Landscape. In: Kermode A.R. (Ed.) *Molecular Pharming*, First Edition. John Wiley & Sons, 2018;3-25. DOI 10.1002/9781118801512.ch10.
- Lua L.H.L., Connors N.K., Sainsbury F., Chuan Y.P., Wibowo N., Middelberg A.P.J. Bioengineering virus-like particles as vaccines. *Biotechnol. Bioeng.* 2014;111(3):425-440. DOI 10.1002/bit.25159.79.
- Ma C., Su S., Wang J., Wei L., Du L., Jiang S. From SARS-CoV to SARS-CoV-2: safety and broad-spectrum are important for coronavirus vaccine development. *Microbes Infect.* 2020;22(6-7):245-253. DOI 10.1016/j.micinf.2020.05.004.
- Makarkov A.I., Golizeh M., Ruiz-Lancheros E., Gopal A.A., Costas-Cancelas I.N., Chierzi S., Pillet S., Charland N., Landry N., Rouiller I., Wiseman P.W., Ndao M., Ward B.J. Plant-derived virus-like particle vaccines drive cross-presentation of influenza A hemagglutinin peptides by human monocyte-derived macrophages. *NPJ Vaccines.* 2019;4:1-13. DOI 10.1038/s41541-019-0111-y.
- Margolin E., Chapman R., Williamson A.L., Rybicki E.P., Meyers A.E. Production of complex viral glycoproteins in plants as vaccine immunogens. *Plant Biotechnol. J.* 2018;16(9):1531-1545. DOI 10.1111/pbi.12963.
- Marian A.J. Current state of vaccine development and targeted therapies for COVID-19: impact of basic science discoveries. *Cardiovasc. Pathol.* 2021;50:107278. DOI 10.1016/j.carpath.2020.107278.
- McNulty M.J., Gleba Y., Tusé D., Hahn-Löbmann S., Giritch A., Nandi S., McDonald K.A. Techno-economic analysis of a plant-based platform for manufacturing antimicrobial proteins for food safety. *Biotechnol. Prog.* 2020;36(1):e2896. DOI 10.1002/btpr.2896.
- Pardi N., Hogan M.J., Porter F.W., Weissman D. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2018;17(4):261-279. DOI 10.1038/nrd.2017.243.
- Phoolcharoen W., Bhoo S.H., Lai H., Ma J., Arntzen C.J., Chen Q., Mason H.S. Expression of an immunogenic Ebola immune complex in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Biotechnol. J.* 2011;9(7):807-816. DOI 10.1111/j.1467-7652.2011.00593.x.
- Pillet S., Couillard J., Trépanier S., Poulin J.F., Yassine-Diab B., Guy B., Ward B.J., Landry N. Immunogenicity and safety of a quadrivalent plant-derived virus like particle influenza vaccine candidate – two randomized Phase II clinical trials in 18 to 49 and ≥50 years old adults. *PLoS One.* 2019;14(6):e0216533. DOI 10.1371/journal.pone.0216533.
- Pogrebnyak N., Golovkin M., Andrianov V., Spitsin S., Smirnov Y., Egolf R., Koprowski H. Severe acute respiratory syndrome (SARS) S protein production in plants: development of recombinant vaccine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005;102(25):9062-9067. DOI 10.1073/pnas.0503760102.
- Prasad A., Muthamilarasan M., Prasad M. Synergistic antiviral effects against SARS-CoV-2 by plant-based molecules. *Plant Cell Rep.* 2020;39(9):1109-1114. DOI 10.1007/s00299-020-02560-w.
- Rosales-Mendoza S. Will plant-made biopharmaceuticals play a role in the fight against COVID-19? *Expert Opin. Biol. Ther.* 2020;20(6):545-548. DOI 10.1080/14712598.2020.1752177.
- Rybicki E. History and promise of plant-made vaccines for animals. In: MacDonald J. (Ed.) *Prospects of Plant-Based Vaccines in Veterinary Medicine*. Cham: Springer, 2018;1-22. DOI 10.1007/978-3-319-90137-4\_1.
- Rybicki E.P. Plant molecular farming of virus-like nanoparticles as vaccines and reagents. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2020;12:1-22. DOI 10.1002/wnan.1587.
- Sainsbury F., Sack M., Stadlmann J., Quendler H., Fischer R., Lomonosoff G.P. Rapid transient production in plants by replicating and non-replicating vectors yields high quality functional anti-HIV antibody. *PLoS One.* 2010;5(11):e13976. DOI 10.1371/journal.pone.0013976.
- Salazar-González J.A., Bañuelos-Hernández B., Rosales-Mendoza S. Current status of viral expression systems in plants and perspectives for oral vaccines development. *Plant Mol. Biol.* 2015;87(3):203-217. DOI 10.1007/s11103-014-0279-5.
- Shanmugaraj B., Malla A., Phoolcharoen W. Emergence of Novel Coronavirus 2019-nCoV: need for rapid vaccine and biologicals development. *Pathogens.* 2020a;9(2):148. DOI 10.3390/pathogens9020148.
- Shanmugaraj B., Siriwananon K., Wangkanont K., Phoolcharoen W. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 2020b;38(1):10-18. DOI 10.12932/AP-200220-0773.
- Shoji Y., Chichester J.A., Jones M., Manceva S.D., Damon E., Mett V., Musiychuk K., Bi H., Farrance C., Shamloul M., Kushnir N., Sharma S., Yusibov V. Plant-based rapid production of recombinant subunit hemagglutinin vaccines targeting H1N1 and H5N1 influenza. *Hum. Vaccine.* 2011;7(Suppl.):41. DOI 10.4161/hv.7.0.14561.
- Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* 2010;140(6):805-820. DOI 10.1016/j.cell.2010.01.022.
- Tian X., Li C., Huang A., Xia S., Lu S., Shi Z., Lu L., Jiang S., Yang Z., Wu Y., Ying T. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg. Microbes Infect.* 2020;9(1):382-385. DOI 10.1080/22221751.2020.1729069.
- Waheed M.T., Ismail H., Gottschamel J., Mirza B., Lössl A.G. Plastids: the green frontiers for vaccine production. *Front. Plant Sci.* 2015;6:1-11. DOI 10.3389/fpls.2015.01005.

- Ward B.J., Gobeil P., Séguin A., Atkins J., Boulay I., Charbonneau P.Y., Couture M., D'Aoust M.A., Dhaliwall J., Finkle C., Hager K., Mahmood A., Makarkov A., Cheng M.P., Pillet S., Schimke P., St-Martin S., Trépanier S., Landry N. Phase 1 randomized trial of a plant-derived virus-like particle vaccine for COVID-19. *Nat. Med.* 2021;27:1071-1078. DOI 10.1038/s41591-021-01370-1.
- Ward B.J., Makarkov A., Séguin A., Pillet S., Trépanier S., Dhaliwall J., Libman M.D., Vesikari T., Landry N. Efficacy, immunogenicity, and safety of a plant-derived, quadrivalent, virus-like particle influenza vaccine in adults (18–64 years) and older adults (≥65 years): two multicentre, randomised phase 3 trials. *Lancet.* 2020;396(10261):1491-1503. DOI 10.1016/S0140-6736(20)32014-6.
- Yu J., Tostanosk L.H., Peter L., Mercad N.B., McMahan K., Mah-rokhia S.H., Nkolol J.P., Liu J., Li Z., Chandrashekar A., Martine D.R., Loos C., Atyeo C., Fischinger S., Burk J.S., Sleil M.D., Chen Y., Zuiani A., Lelis F.J.N., Travers M., Habibi S., Pessaint L., Van Ry A., Blade K., Brown R., Cook A., Finneyfrock B., Dodson A., Teow E., Velasco J., Zahn R., Wegmann F., Bondzi E.A., Dagotto G., Gebr M.S., He X., Jacob-Dolan C., Kirilova M., Kordana N., Lin Z., Maxfiel L.F., Nampanya F., Nityanandam R., Ventur J.D., Wan H., Cai Y., Chen B., Schmid A.G., Weseman D.R., Bari R.S., Alter G., Andersen H., Lewi M.G., Barou D.H. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science.* 2020;369(6505):806-811. DOI 10.1126/science.abc6284.
- Yu Y., Yu P.C., Chang W.J., Yu K., Lin C.S. Plastid transformation: how does it work? Can it be applied to crops? What can it offer? *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(14):4854. DOI 10.3390/ijms21144854.
- Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Zhao X., Huang B., Shi W., Lu R., Niu P., Zhan F., Ma X., Wang D., Xu W., Wu G., Gao G.F., Tan W. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China. *N. Engl. J. Med.* 2020;382:727-733. DOI 10.1056/NEJMoa2001017.

---

**ORCID ID**

E. Uvarova orcid.org/0000-0002-1490-4196

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования, грант № FWNR-2022-0022.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 22.07.2021. После доработки 08.11.2021. Принята к публикации 10.11.2021.