

РОСЛИННІ ВАКЦИНИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ.

О.Є. Макарова, канд. фарм. наук, Національний університет харчових технологій; доц. каф. біотехнології і мікробіології

Я. В. Фазекош, Націон. університет харч. технологій; студ. 2 к., 4 гр. БТЕК.



Актуальним питанням сучасної імунології є удосконалення технології виробництва вакцин з метою підвищення їх ефективності, впровадження новітніх методик розробки, конструювання генно-інженерних вакцин і створення вакцин рослинного походження. Традиційно вакцина виготовляється з ослаблених чи убитих мікроорганізмів, продуктів їх життєдіяльності, або з їх антигенів [1, 6]. Проблема використання живих вакцин полягає в існуванні певного ризику повернення використовуваним штамми вірулентності, застосування ж синтетичних вакцин усуває можливість реплікації збудника в організмі вакцинованих осіб. Дослідження у напрямку одержання вакцин генно-інженерними методами ведуться у багатьох лабораторіях світу [8, 10]. Револьюційним напрямком сучасної вакцинології є розробка вакцин на основі трансгенних рослин – так званих «їстівних вакцин» – з вбудованим відповідним фрагментом геному патогенного мікроорганізму, який викликає в організмі людини чи тварини утворення антитіл, що формують імунітет. З урахуванням необхідності використання цих вакцинних продуктів у сирому вигляді, досліджується вирощування вакцин на рослинах, які не потребують кулінарної обробки перед вживанням: бананах, томатах, салаті.

Успіхи в галузі генетичної інженерії рослин відкрили нові можливості для отримання рекомбінантних білків. За ліцензією Groupe Limagrain компанія Meristem Therapeutics започаткувала великомасштабне виробництво рекомбінантних терапевтичних білків рослин. Тютюн, зерно, картопля, томати, морква, салат і рапс використовуються як біореактори для виробництва

ферментів, антитіл і вакцин. Сільськогосподарські масштаби продукції гарантують доступність рекомбінантного препарату в кількостях, достатніх для клінічних випробувань і широкого терапевтичного використання. На відміну від тваринних, рослинні клітини не містять патогенних для людини вірусів, і таким чином, можуть бути безпечним джерелом рекомбінантних білків медичного призначення. Хоча вартість виділення і очищення цільового білка з рослин-продуцентів може бути порівняна з такою для інших систем, проте напрацювання сировинного матеріалу обходиться значно дешевше. У ряді випадків, наприклад, при використанні трансгенних рослин в якості «їстівних вакцин» виділення білка в чистому вигляді взагалі не потрібно.

Перша така вакцина була одержана у 1992 році: трансгенна рослина табаку стала продукувати «австралійський» антиген. Одержаний з рослин та частково очищений антиген, введений мишам, викликав імунну відповідь подібно до вакцини проти гепатиту В. У 1998 році за допомогою картоплі, що продукує В-субодиницю холерного анатоксину, було одержано виражений захист у мишей, до раціону яких входила трансгенна картопля, при зараженні їх холерою. Аналогічна вакцина проти кору була одержана на табаку.

Перший клінічний досвід з випробування харчових вакцин на людині відбувся в 1997 році, коли добровольці їли генетично змінену сирю картоплю з протидіарейними генами. Десять з одинадцяти добровольців, які отримали по 100 грамів сирої картоплі, що продукує антигени ентеропатогенної кишечної палички, мали вчетверо підвищений рівень антитіл до цього збудника, які почали вироблятися у слизовій оболонці кишечника. Враховуючи те, що більшість патогенних мікроорганізмів потрапляє в організм крізь слизові оболонки, створення і підтримання повноцінного місцевого імунітету слизових оболонок має забезпечити захист людини від більшості інфекційних захворювань. На даний час випробовуються «картопляні» вакцини до вірусу Ньюарк (збудника діареї) та гепатиту В, з обнадійливими результатами. На тваринах досліджуються вакцини проти сказу, вирощені на томатах.

На сьогодні їстівну комплексну вакцину проти вірусу ВІЛ і гепатиту В

створено дослідниками з Новосибірського ДНЦ вірусології і біотехнології «Вектор» у співпраці із Сибірським інститутом фізіології і біохімії рослин, Інститутом хімічної біології і фундаментальної медицини, та з американськими партнерами зі Служби сільськогосподарських досліджень США. Новосибірські вчені за допомогою бактеріальної плазмід ввели ген, який кодує химерний білок вірусів ВІЛ і гепатиту В, в рослини томатів. Плоди, висушені в ліофілізаторі і подрібнені у гомогенізаторі до однорідної маси, після аналізу на необхідний вміст білку, розчиняли у воді і вводили лабораторним мишам у стравохід за допомогою катетера. Контрольна група мишей отримувала аналогічний препарат, отриманий зі звичайних, не трансгенних томатів. Через певні інтервали часу визначались показники імунітету у крові та на слизових оболонках мишей. При триразовому годуванні мишей трансгенними томатами спостерігалась ефективна імунна відповідь проти гепатиту В, і дещо слабша, проте також досить ефективна – проти вірусу імунодефіциту людини. Дослідженнями встановлено, що вже після першого прийому «томатної» вакцини формується мукозний імунітет проти гепатиту В та ВІЛ, а після другого — збільшується рівень антитіл у крові (системний імунітет). Найближчим часом планується розробка актуальних для Сибіру вакцин проти гепатиту А і кліщового енцефаліту на основі моркви й салату.

Дослідники з Інституту фізико-хімічної біології ім. О.М. Белозерського та МДУ ім. М.В. Ломоносова розробили технологію виробництва рослинної протитуберкульозної вакцини. Протитуберкульозне щеплення на сьогодні отримує кожен з новонароджених. Проте цільові іонні вакцини викликають імунну відповідь не тільки на хвороботворні компоненти збудника, але й на додаткові білкові речовини, присутні у складі вакцини, що допускає можливість виникнення ускладнень від вакцинації. Цих недоліків позбавлені штучні вакцини, що є синтетичними молекулами з хімічно прикріпленими антигенами збудника, які викликають в організмі імунну відповідь. Джерелом антигенів можуть бути і рослини з штучно викликаною здатністю виробляти потрібний білок. На даний момент білки-антигени проходять клінічні

випробування як туберкульозні вакцини. В експериментах, проведених раніше, продукція вакцинних білків у рослинах була досить низькою – 100 мг на 1 кг свіжого листа. Крім того, як з'ясували вчені, деякі туберкульозні вакцинні білки токсичні для рослинної клітини: наприклад, продукція одного з антигенів приводила до омертвіння листа. У ході досліджень було розроблено оригінальну методику одержання необхідного білку з рослинного матеріалу: при видаленні зі складу білків так званого «трансмембранного домену» істотно підвищується їх стабільність, що дозволяє довести рівень накопичення до 1 г на 1 кг свіжого листа. Вироблені рослинами вакцинні білки можна вводити в продукти харчування і таким чином отримувати їстівні вакцини.

Оральний спосіб імунізації є найбільш зручним і доступним, виключається потенційна небезпека ін'єкційного зараження. Особливо привабливо виглядає пероральне введення вакцин у педіатрії, оскільки дозволяє уникнути стресу для маленьких пацієнтів, а також необхідності використання професійних навичок та спеціальних пристосувань, зокрема ін'єкційних голок, і допускає самостійне застосування. Проте існує також чимало пересторог та сумнівів відносно застосування їстівних вакцин, зокрема постають поки що нез'ясовані питання:

- стійкість і тривалість імунної відповіді на харчові продукти;
- здатність збереження антигену у кислому середовищі шлунку;
- час «достигання» вакцин;
- здатність переносити зберігання;
- оптимальне дозування.

Інтеграція чужорідних генів в ядерний геном рослини пов'язана і з низкою проблем біобезпеки використання генетично модифікованих організмів: у сільськогосподарських масштабах існує небезпека витоку трансгена в навколишнє середовище і вихід з-під контролю у результаті переzapилення з близькоспорідними дикорослими видами. Іншою проблемою, що виникає при інтеграції гетерологічних генів в ядерний геном рослин, є вірогідність «замовкання» трансгенів у наступних поколіннях (сайленсінг).

З точки зору ефективності витрат виробництво вакцин за допомогою рослин

є досить економічно привабливим підходом. Крім того, важливе значення має висока економічність рослинних вакцин з урахуванням того, що за прогнозами багатьох фахівців вартість існуючих вакцин буде суттєво зростати. Можливості створення рослинних вакцин практично необмежені і не вимагають здійснення складних технологічних маніпуляцій: трансгенні рослини, до складу яких входять необхідні для вакцинації антигени, можна вирощувати у промислових масштабах без розробки й застосування складних і високовартісних виробничих процесів та обладнання.

На даний момент бульби картоплі трансгенних сортів, що експресують бактеріальний токсин і антигени гепатиту В і вірусу Норфолка і в сирому вигляді представляють собою їстівні вакцини, успішно пройшли I фазу клінічних випробувань. Однак у ході подальших досліджень необхідно наступне: детальне вивчення можливості розвитку імунологічної толерантності слизової оболонки ротової порожнини при вживанні їстівних вакцин; розробка протоколів прийому таких препаратів; створення ад'ювантів, що підвищують ефективність вакцин; пошук рослин – оптимальних систем для виробництва вакцин (одним із критеріїв відбору є їстівність плодів рослини в сирому вигляді, що дозволяє уникнути втрати антигенів при термічній обробці).

За словами вчених-біотехнологів, для подальшої роботи над овочами-вакцинами та розробкою їх промислового впровадження крім фінансування необхідно ще кілька років клінічних випробувань. Вони впевнені, що в майбутньому рекомбінантні препарати, отримані з генетично модифікованих рослин, замінять високовартісні бактеріальні і тваринні аналоги на фармацевтичній ринку. «Їстівні вакцини» дозволять значно удосконалити програми загальної імунізації, особливо для населення країн, що розвиваються.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дельвиг А.А., Семенов Б.Ф., Розенквист Э., Робинсон Д.Г. *Neisseria Meningitidis: от антигенной структуры к новому поколению вакцин.* – М.: Медицина, 2000. – 217 с.
2. Daniell H., Streatfield S., Wycoff K. Medical molecular farming: production of antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines in plants // *Trends in Plant Sci.* – 2001. – V. 6. – P. 219-226.
3. Haq T., Mason H.S., Clements J. et al. Oral immunization with a recombinant bacterial antigen produced in transgenic plants // *Science.* – 1995. – V. 268. – P. 714-716.
4. Kapusta J., Modelska A., Figlerowicz M. et al. A plant-derived edible vaccine against hepatitis B virus // *FASEB J.* – 1999. – V. 13. – P. 1796-1799.
5. Mason HS, Warzecha H, Tsafir MS, Arntzen CJ. Edible plant vaccines: applications for prophylactic and therapeutic molecular medicine. // *Trends Mol. Med.* – 2002. – V. 8 – P. 324-329.
6. Mor TS, Moon YS, Palmer KE, Mason HS. Geminivirus vectors for high level expression of foreign proteins in plant cells. // *Biotechnol. Bioeng.* – 2003. – V. 81– P. 430-437.
7. Richter L., Thanavala Y., Arntzen C. et al. Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization // *Nature Biotechnol.* – 2000. – V. 18. – P. 1167-1171.
8. Ruf S, Hermann M, Berger IJ, Carrer H, Bock R. Stable genetic transformation of tomato plastids and expression of a foreign protein in fruit. // *Nat. Biotechnol.* – 2001. – V. 19 – P. 870-875.
9. Streatfield S., Jilka J., Hood E. et al. Plant-based vaccines: unique advantages // *Vaccine.* – 2000. – V. 19. – P. 2742-2748.
10. Tacket C., Mason H. A review of oral vaccination with transgenic vegetables // *Microbes and Infection.* – 1999. – V. 1. – P. 777-783.
11. Tacket C., Mason H., Losonsky G. et al. Human immune responses to a novel Norwalk virus vaccine delivered in transgenic potatoes // *J. of Infectious Diseases.* – 2000. – V. 182. – P. 302-305.
12. Walmsley A., Arntzen C. Plants for delivery of edible vaccines // *Current Opinion in Biotechnol.* – 2000. – V. 11. – P. 126-129.
13. Yu J, Langridge WH. A plant-based multicomponent vaccine protects mice from enteric diseases. // *Nat. Biotechnol.* – 2001. – V. 19 – P. 548-552.

УДК 615.371:578.74

О.Е. Макарова, Я.В. Фазекош

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ВАКЦИНЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Ключевые слова: вакцины, иммунобиологические препараты, генная инженерия, биотехнология.

В обзоре приведена информация о современном состоянии разработки растительных вакцин, описаны результаты научных исследований, проводимых учеными-иммунологами в данном направлении, а также общие принципы производства нового поколения вакцин: растительных вакцинных препаратов, и перспективы их медицинского применения.

УДК 615.371: 578.74

О.Є. Макарова, Я.В. Фазекош

РОСЛИННІ ВАКЦИНИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ.

Ключові слова: вакцини, імунобіологічні препарати, генна інженерія, біотехнологія.

В огляді наведена інформація про сучасний стан розробки рослинних вакцин, описані результати наукових досліджень, що здійснюються вченими-імунологами у даному напрямку, а також загальні принципи виробництва нового покоління вакцин: рослинних вакцинних препаратів, та перспективи їх медичного застосування.

UDK 615.371:578.74

O.Y. Makarova, J.V. Fasekosch

VEGETABLE VACCINE AND PROSPECTS OF THEIR USE.

Key words: vaccines, immunologic drugs, genetic engineering, biotechnology.

The survey provides information about the current status of plants vaccine production, and about the vaccines used and their components. The composition and the general principles of vaccines production were described; the new generations of vaccines were characterized indicating advantages and disadvantages of each type, and the perspectives of their use in future.