«ҚАРАҒАНДЫ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ ФАРМАЦИЯ ФАКУЛЬТЕТІ КЕҢЕЙТІЛГЕН МӘЖІЛІСІНІҢ ХАТТАМАСЫНАН ҮЗІНДІ	НАО «КАРАГАНДИНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА РАСШИРЕННОГО ЗАСЕДАНИЯ СОВЕТА ШКОЛЫ ФАРМАЦИИ
31.03.2026 Хаттама №4 Қарағанды қ. Төрайым - Абдуллабекова Р.М. Хатшы - Левая Я.К.	31.03.2026 Протокол №4 г. Караганда Председатель – Абдуллабекова Р.М. Секретарь – Левая Я.К.
Қатысқандар: Абдуллабекова Р.М. төрайым, фарм.ғ.д., профессор Левая Я.К., секретарь, PhD, қауымдастырылған профессор Шахабаева А.А., Фармация мектебі деканының м.а. Лосева И.В., б.ғ.к., профессор Итжанова Х.И., фарм.ғ.д., қауымдастырылған профессор Ивасенко С.А., фарм.ғ.д., профессор Хрусталев Д.П., х.ғ.д., профессор Абдрахманова Г.М., PhD, қауымдастырылған профессор Тулеутаева С.Т., м.ғ.к., қауымдастырылған профессор Ахметова С.Б., м.ғ.к., профессор Оразбаева П.З., PhD, қауымдастырылған профессор Сабиева А., PhD қауымдастырылған профессор Жунусова М.А., PhD, қауымдастырылған профессор Едрисов А.Т., х.ғ.д., профессор Махмутова А.С., х.ғ.к., қауымдастырылған профессор Фигуринене И.В., х.ғ.к., профессор Балмагамбетов Д.Ш., Қазақстан Республикасы Президентінің Әкімшілігінің Медициналық орталық ауруханасы, Ядролық медицина орталығы, Циклотрон өндірістік кешені бойынша сапаны қамтамасыз ету маманы. Лавриненко А.В., PhD, зертхана меңгерушісі Тулебаев Е.А., PhD, Болашақ академиясының фармацевтикалық ғылымдар кафедрасының меңгерушісі	**Присутствовали**: Абдуллабекова Р.М. председатель, д.фарм.н., профессор Левая Я.К., секретарь, PhD, ассоциированный профессор Шахабаева А.А., и.о. декана Школы фармации Лосева И.В., к.б.н., профессор Итжанова Х.И., д.фарм.н., ассоциированный профессор Ивасенко С.А., д.фарм.н., профессор Хрусталев Д.П., д.х.н., профессор Абдрахманова Г.М., PhD, ассоциированный профессор Тулеутаева С.Т., к.м.н., ассоциированный профессор Ахметова С.Б., к.м.н., профессор Оразбаева П.З., PhD, ассоциированный профессор Сабиева А., PhD, ассоциированный профессор Жунусова М.А., PhD, ассоциированный профессор Едрисов А.Т., д.х.н., профессор Махмутова А.С., к.х.н., ассоциированный профессор Фигуринене И.В., к.х.н., профессор Балмагамбетов Д.Ш., специалист отдела обеспечения качества больницы медицинского центра Управление Делами Президента РК, Центр ядерной медицины, Циклотронно-производственный комплекс Лавриненко А.В., PhD, заведующая лабораторией Тулебаев Е.А., PhD, заведующий кафедры фармацевтических дисциплин ЧУ «Академии Bolashaq»
КҮН ТӘРТІБІНДЕ: Максим Валерьевич Соломадиннің 8D07201 «Фармацевтикалық өндіріс технологиясы» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін «COVID-19-ға қарсы вакцинаны әзірлеу үшін бакуловирус технологиясын қолдана отырып	**ПОВЕСТКА ДНЯ:** Апробация диссертации Соломадина Максима Валерьевича на соискание степени доктора философии (PhD) 8D07201 «Технология фармацевтического производства» на тему: «Получение и оценка рекомбинантного белка на основе бакуловирусной технологии для создания вакцины против COVID-19». **Научные консультанты**:

рекомбинантты ақуызды өндіру және бағалау» тақырыбындағы диссертациясын қорғауы.

Ғылыми кеңесшілер:

ҚазҰАЗУ-дағы Халықаралық вакцинология орталығының директоры, ветеринария ғылымдарының кандидаты, профессор, К.К. Табынов, Алматы (Қазақстан)

Шетелдік ғылыми кеңесші:

Vaxine Pty компаниясының директоры, MBBS, PhD, профессор Николай Петровский

Рецензенттер:

Тулебаев Е. А. – PhD, Болашақ академиясының фармацевтикалық ғылымдар кафедрасының меңгерушісі

Хрусталев Д.П. – х.ғ.д., Фармация мектебінің профессоры

ТЫҢДАЛДЫ:

«COVID-19-ға қарсы вакцинаны әзірлеу үшін бакуловирус технологиясын қолдана отырып рекомбинантты ақуызды өндіру және бағалау» тақырыбы бойынша диссертациялық жұмысын ұсынған философия докторы (PhD) дәрежесін алуға үміткер Соломадин Максим Валерьевич.

<u>Қойылған сұрақтар:</u>

1. Балмагамбетов Д.Ш.:

- Биотехнология туралы сөз болып тұрғандықтан, төменгі және жоғарғы сатыларда қандай айнымалы параметрлер болғанын түсіндіріп бере аласыз ба?
- Өндірістің қай кезеңдері ең өзгермелі? Ал алдыңғы кезеңде ше?
- Өсіру параметрлерінде сіз температуралық режимді көрсеткенсіз. Осы жасуша түрі үшін маңызды, бірақ параметрлерде көрсетілмеген оттегі мен CO_2 көрсеткіштерін ескердіңіз бе?
- Сіз жасуша культурасының CO_2 реттеуді қажет етпейтініне қандай негізде келдіңіз?
- Сіз екі әдісті атадыңыз — тұздау және PEG. Бұл әдістемені кім әзірледі?
- Кем дегенде бастапқы валидация мен валидацияның минималды параметрлерін ескердіңіздер ме? Әдістің өнімділігі мен нәтижелердің сенімділігін қалай растайсыздар?
- Ақуызды (белсенді ингредиентті, доза түрі емес) сақтауға арналған қаптамаға, оның сақтау шарттары мен мерзіміне және тұрақтылығына қатысты мәселелер зерттелді ме?
- Трансфекция жүргізу және жұқпалы дозаны есептеу кезінде мастер жасуша банкімен және жұмыс жасуша банкімен қалай жұмыс

директор международного центра вакцинологии КазНАИУ, к.в.н. профессор Табынов Кайсар Казыбаевич

Зарубежный консультант:

директор компании Vaxine Pty, MBBS, доктор PhD, профессор Николай Петровский (Аделаида, Австралия)

Рецензенты:

Тулебаев Е. А. – PhD, заведующий кафедры фармацевтических дисциплин ЧУ «Академии Bolashaq»

Хрусталев Д.П. – д.х.н., профессор Школы фармации

СЛУШАЛИ:

Соискателя степени доктора философии (PhD) Соломадина Максима Валерьевича, который представил диссертационную работу на тему: «Получение и оценка рекомбинантного белка на основе бакуловирусной технологии для создания вакцины против COVID-19».

<u>Заданные вопросы:</u>

1. Балмагамбетов Д.Ш.:

- Поскольку речь идет о биотехнологии, какие вариабельные параметры присутствовали на стадиях даунстрим (downstream) и апстрим (upstream)?
- Какие производственные стадии являются наиболее вариабельными? А на стадии апстрим?
- В параметрах культивирования вы указываете температурный режим. Учитывали ли вы для данного типа клеток такие важные показатели, как кислород и CO_2, которые в параметрах не указаны?
- На основании чего вы сделали вывод, что культура не требует регулирования CO_2?
- У вас фигурируют два метода — высаливание и ПЭГ. Кто является разработчиком данной методики?
- Учитывали ли вы хотя бы минимальные превалидационные и валидационные параметры? Как вы подтверждаете работоспособность методики и достоверность результатов?
- Изучались ли вопросы о том, в какой упаковке должен храниться сам белок (активная субстанция, а не лекарственная форма), каковы условия и сроки его хранения, а также его стабильность?
- При проведении трансфекции и расчете инфекционной дозы, как вы работали с мастер-банком и рабочим банком клеток? Изучались ли параметры качества этих банков?

істедіңіз? Осы банктердің сапа параметрлері зерттелді ме?
- Яғни, сіз трансфекцияланған жасушалық культураны алған бойда жұмыс істеп, оны әрі қарайғы зерттеулер үшін сақтамадыңыз ба? Жасуша банкін құру жүйесін дамытпадыңыз ба?
- Трансдукция кезінде геномдық тұрақтылықты қалай растап, құрылымы бірдей ақуыз синтезделетініне қалай кепілдік бердіңіз? Жасуша банкінің болмауы трансдуцирленген жасуша культурасының генетикалық тұрақтылығын әр жолы қайтадан дәлелдеуге мәжбүр етеді.
- Енгізілетін формада басқа компоненттердің қатынастары зерттелді ме, сондай-ақ адъювантқа қосымша консерванттар немесе басқа стабилизаторларды қолдану қажеттілігі қарастырылды ма? Енгізілетін вакцина сулы ерітіндіде болады, онда тотығу процестері мүмкін, сондықтан стабилизаторлардың болуы орынды сияқты.
- Диссертацияда екі дозалық түріне сапа стандартын әзірлеу туралы айтылған, бірақ диссертацияда да, презентацияда да сапа параметрлері мен әдістемелерге сілтеме жоқ. Оларға қалай қол жеткізуге болады?
- «Quality by Design» тәсілін қолданған кезде, сіздің ойыңызша, өнімнің сапасына қандай факторлар әсер етті? Бұл аспект диссертацияда жеткілікті түрде қарастырылмаған, алайда ол өте күрделі қағида, оны егжей-тегжейлі қарастыру жұмысты айтарлықтай жақсартар еді.

Жауаптар:

- Лизис буферін таңдаған кезде біз мүмкіндігінше жұмсақ экстракцияны қамтамасыз етуге тырыстық. Мен бұған дейін айтқанымдай, белсенді фармацевтикалық зат (ақуыз) жасушалардан тыс бөлінгенін анықтадық, себебі біздің бөлінуге арналған сигналдық молекуламыз бар еді. Алайда өнімнің бәрі бөлініп шықпайтынын бірден байқамадық, сондықтан жасушалардан ақуызды алу үшін лизис буферін тәжірибелік түрде таңдап, аффинді хроматография параметрлерін оңтайландырдық.
- Ең өзгермелі кезеңдер тікелей афинді хроматографияға қатысты болып шықты, себебі біз қажетті элюция буферін таңдап жатқан едік. Алдын ала биологиялық процесте ең өзгергіш параметр – инфекция титрі болды. Біз жәндік жасушаларының культурасын жұқтыру үшін

- То есть вы работали на трансфецированной клеточной культуре сразу после ее получения и не сохраняли ее для дальнейших наработок? Систему банков клеток вы не разрабатывали?
- Как вы подтверждали геномную стабильность и гарантировали, что при транзиции будет синтезироваться белок идентичной структуры? Отсутствие банка клеток вынуждает вас каждый раз заново доказывать генетическую стабильность транзицированной клеточной культуры.
- Изучались ли в инъекционной форме другие соотношения компонентов, а также необходимость использования консервантов или иных стабилизаторов помимо адъюванта? Инъекционная вакцина находится в водном растворе, где возможны окислительные процессы, поэтому наличие стабилизаторов кажется целесообразным.
- В диссертации указано о разработке нормативного документа по качеству на две лекарственные формы, однако в работе и презентации отсутствуют ссылки на показатели качества и методики. Как можно с ними ознакомиться?
- При использовании подхода Quality by Design, какие факторы, по вашему мнению, влияли на качество продукта? Данный аспект в работе раскрыт недостаточно, а ведь это очень сложный принцип, который сделает работу намного лучше, если его детально осветить.

Ответы:

- При подборе лизисного буфера мы стремились обеспечить максимально мягкую экстракцию. Как я уже отмечал, мы обнаружили, что активная фармацевтическая субстанция (белок) секретировалась наружу клеток, поскольку у нас присутствовала сигнальная молекула для секреции. Однако мы не сразу поняли, что секретируется не весь продукт, поэтому для экстракции белка из клеток был экспериментально подобран лизисный буфер и оптимизированы параметры аффинной хроматографии.
- Наиболее вариабельными оказались стадии непосредственно аффинной хроматографии, поскольку мы подбирали необходимый элюирующий буфер. В биотехнологическом процессе апстрим самым вариабельным параметром была множественность инфицирования. Мы подбирали необходимое количество вирусов для инфицирования клеточной культуры насекомых. Оптимальное значение составило 5, несмотря на то, что мы имели возможность инфицировать до 7 миллионов клеток.

қажетті вирус санын таңдадық. Оптималды мән 5-ке тең болды, тіпті біз 7 миллионға дейін жасушаны жұқтыра алатын мүмкіндігімізге қарамастан.

- Бұл жасушалық культура CO_2-ге тәуелді емес, сондықтан атмосферадағы көмірқышқыл газын реттеу қажет емес. ExpiSf9 жәндік жасушаларын өсіру үшін көмірқышқыл газын жеткізу қажет емес, бұл бакуловирустық платформаның негізгі технологиялық және экономикалық артықшылықтарының бірі болып табылады және оны масштабтау үшін өте қолайлы етеді.

- Бұл қорытынды өндірушінің ұсынымдарына сүйене отырып жасалды. Біз Thermo Fisher Scientific компаниясы өндірген коммерциялық қолжетімді культураны қолданғандықтан, өндірушінің ұсынған инкубация параметрлерін қатаң сақтадық.

- Бұл әдісті біздің зерттеу тобымыз әзірледі.

- Бұл әдіс зертханалық хаттамада құжатталған. Сенімділікке келетін болсақ, біз ақуыздарға арналған арнайы антиденелерді ескердік. Слайд нәтижелерді көрсетеді: бір спецификалық антидене S ақуызын (сол жақтағы маркер) анықтайды, ал екіншісі молекулалық салмағы төмен RBD ақуызын (оң жақта) анықтайды. Молекулалық салмақ стандарттары ретінде Thermo Fisher компаниясының коммерциялық тұрғыдан қолжетімді стандартталған маркерлері қолданылды, бұл да зертханалық хаттамада көрсетілген.

- Тұрақтылық сынақтарының деректері реттеуші құжаттамада көрсетілген, ол біздің қолымызда қағаз түрінде бар. Белсенді зат зертханалық хаттамада көрсетілгендей элюция буферінде сақталды. Белсенді заттың өзіне жеке тұрақтылық сынақтары жүргізілмеді; тұрақтылық тікелей дайындалған вакцинада зерттелді.

- Иә, расында да, біз трансфекция тиімділігін тексеруіміз керек еді. Плазмидтеріміз антибиотик канамицинге төзімділікті қамтамасыз ететіндей етіп кодталған. Плазмидті құрастырған кезде бактериялық жасушаларды канамицин қосылған ортаға егіп, вектордың интеграция тиімділігін анықтап, бакуловирустық өнімді кейін өндіру үшін жасушаларды іріктедік.

- Трансформация тиімділігі жасуша культурасының төзе алатын үш өтуімен шектелді, одан кейін рәсімді басынан қайталауға тура келді. Осы кезеңде біз жасушалық банк жүйесін дамытпадық.

- Данная культура клеток не подвержена влиянию CO_2, поэтому атмосферное регулирование углекислого газа для нее не требуется. Для культивирования клеток насекомых линии ExpiSf9 подача углекислого газа не требуется, и это является одним из главных технологических и экономических преимуществ бакуловирусной платформы, делающим ее оптимальной для масштабирования.

- Данный вывод сделан на основании рекомендаций производителя. Поскольку мы использовали коммерчески готовую культуру производства Thermo Fisher Scientific, мы строго следовали параметрам инкубации, рекомендованным производителем.

- Разработчиком данной методики является наша исследовательская группа.

- Данная методика зафиксирована в лабораторном регламенте. Что касается достоверности, мы учитывали специфичные антитела к белкам. На слайде представлены результаты: одно специфичное антитело детектирует белок S (маркер слева), а другое — белок RBD с меньшей молекулярной массой (справа). В качестве стандартов молекулярного веса применялись коммерчески доступные стандартизированные маркеры компании Thermo Fisher, что также отражено в лабораторном регламенте.

- Данные испытания на стабильность приведены в нормативной документации, которая имеется у нас в печатном виде. Активная субстанция хранилась в элюирующем буфере, что указано в лабораторном регламенте. Отдельных испытаний на стабильность самой активной субстанции не проводилось; стабильность изучалась уже непосредственно в сформулированной вакцине.

- Да, действительно, нам необходимо было проверить эффективность трансфекции. В наших плазмидах была закодирована устойчивость к антибиотику канамицину. При формировании плазмиды мы высевали бактериальные клетки на среду с канамицином, определяя таким образом эффективность встраивания вектора и проводя селекцию для дальнейшего формирования бакуловирусного продукта.

- Эффективность трансформации ограничивалась тремя пассажами, которые культура выдерживала, после чего процедуру приходилось повторять заново. Систему банков клеток на данном этапе мы не разрабатывали.

- Перед заражением коммерческой культуры клеток мы создаем бакмиду для получения бакуловируса. Этот банк клеток (на основе E. coli DH10Bac с использованием вектора pFastBac Dual)

- Коммерциялық жасушалық культураны жұқтырмас бұрын біз бакуловирусты өндіру үшін бакмид жасаймыз. Бізде осы жасуша банкісі болды (E. coli DH10Bac негізінде, pFastBac Dual векторын пайдалана отырып). Канамицин бойынша селекциядан кейін бұл өнім банк ретінде және жәндік жасушалық культураны жұқтырудың негізі ретінде қызмет етті. Жәндік жасушалық культураның өзі банкте сақталмады және әр жолы жаңадан жұқтырылды. Процестің стандартталуы « » деп аталатын бірдей химиялық дифференциацияланған ортаны ауытқусыз қолдану және бастапқы жасуша тығыздығын тұрақты ұстау арқылы қамтамасыз етілді, ал банк бактериялық агентте синтезделгеннен кейін бакуловирусты сақтау орны ретінде ғана пайдаланылды.
- Енгізілетін формаға қатысты біз адъювант өндірушісінің ұсынымдарын орындадық. Сонымен қатар біз антиген мен адъюванттың қатынасын тексердік; алайда өндірушінің айтуынша басқа тұрақтандырғыш қоспаларды қосу қажет болмады. Вакцина бір реттік дайындалды. Сонымен қатар, протоколға сәйкес сулы ерітінді емес, элюция буфері қолданылды. Дайындалған вакцинада тұрақтылық сынақтары жүргізілді; заттың жеке тұрақтылық зерттеулері жүргізілмеді.
- Бұл құжаттар диссертацияның қосымша материалдарында қолжетімді
- Осы тәсіл аясында біз екі негізгі параметрге назар аудардық: белсенді фармацевтикалық ингредиенттің тазалығын 95%-дан астам деңгейде қамтамасыз ету және LAL тесті арқылы бактериялық токсиндерді бақылау (миллилитрге 1 эндотоксин бірлігінен аспайтын). «Quality by Design» тұжырымдамасын іске асырудың айқын мысалы ретінде гистидин таңбасын байланыстыру үшін арнайы афинді хроматография қолдану болды, бұл заттың формулацияға дейінгі жоғары сапасы мен тазалығын қамтамасыз етті.

2. Итжанова Х.И.:

- Сіз өндіріс процесінде мұздату кептіруді қолдандыңыз. Бұл қандай жағдайларда жүзеге асырылды және параметрлерді қалай таңдадыңыз? Процесс 48 сағатқа дейін созылады, және егер сіз оны диссертацияңызда сипаттап отырсаңыз, осы параметрлермен таныс болуыңыз керек.

у нас имелся. После селекции на канамицине этот продукт служил банком и базой для заражения культуры клеток насекомых. Сама культура клеток насекомых в банке не хранилась и заражалась каждый раз заново. Стандартизация процесса обеспечивалась использованием одной и той же химически дифференцированной среды без отклонений и стабильной начальной плотности клеток, а банк использовался исключительно как хранилище бакуловируса после его синтеза в бактериальном агенте.
- В отношении инъекционной формы мы действовали согласно рекомендациям производителя адъюванта. Мы дополнительно проверили соотношение антигена к адъюванту, однако, по заявлению производителя, добавление иных стабилизирующих соединений не требовалось. Вакцина готовилась экстемпорально. Кроме того, использовался не водный раствор, а элюирующий буфер, что зафиксировано в регламенте. Испытания стабильности проводились на уже сформулированной вакцине, отдельных исследований стабильности субстанции не проводилось.
- Данные документы доступны в дополнительных материалах к диссертации.
- В рамках данного подхода мы ориентировались на два основных параметра: обеспечение чистоты активной фармацевтической субстанции на уровне более 95% и контроль бактериальных токсинов с помощью LAL-теста (не более 1 единицы эндотоксина на миллилитр). Ярким примером реализации Quality by Design стало использование специфичной аффинной хроматографии для связывания гистидиновой метки, что обеспечило высокое качество и чистоту субстанции перед её формулированием.

2. Итжанова Х.И.:

- В процессе производства вы использовали лиофилизацию. При каких условиях это проводилось и как вы подбирали режимы? Процесс длится до 48 часов, и если вы описываете его в диссертации, вы должны владеть этими параметрами.
- Какой теоретический и практический выход активного фармацевтического ингредиента и белка был получен при наработке нескольких серий? Проводился ли анализ качества вспомогательных веществ и имеются ли сертификаты на исходные материалы?
- Проводился ли внутрипроизводственный контроль полученной лекарственной формы,

- Бірнеше партия өндіру кезінде алынған теориялық және практикалық өнімділік қандай болды? Қосалқы заттардың сапасына талдау жүргізілді ме, шикізатқа сертификаттар бар ма?
- Алынған дәрілік формаға аралық бақылау жүргізілді ме, бақылау нүктелері мен үлгі алу әдістері қандай болды?
- Еріту үшін тазартылған ионсыздандырылған су қолданыңыз ба? Ол стерильдендірілді ме және оның параметрлері Фармакопея талаптарына сәйкес анықталды ма, өйткені инъекцияға арналған су үшін стерильділік міндетті талап болып табылады?
- Ақуыздар сүзгі бетіне сіңірілген болуы мүмкін бе?
- Әзірленген вакцинаның оңтайлы құрамы қандай? Бұл ақпарат слайдқа енгізілуі керек.
- Вакциналардың ерігеннен кейінгі тиімділігін сынап көрдіңіз бе?

Жауаптар:

- Бұл параметрлер диссертацияда егжей-тегжейлі сипатталған. Антигеннің кристалдануы мен механикалық зақымдануын болдырмау үшін мұздату кептіру шарттары таңдалды. Терең мұздату –80 °C температурада төрт сағат бойы жүргізілді. Алғашқы кептіру 0,05–0,13 мб артық қысымда және өнім температурасы –32 °C-та 16–24 сағатқа созылды. Екінші кептіру 0,05 мб-дан төмен қысымда 12 сағат бойы, сөрелерді +15 °C-қа дейін қыздыру арқылы жүргізілді.

Жағдайлар матрицаның толық витрификациясын қамтамасыз ету және антигеннің кристалдануын болдырмау үшін таңдалды. Криопротектор ретінде 5 пайыздық концентрациядағы сахароза қолданылды

- Тазартылған ақуыздың практикалық өнімі шамамен 1,5 миллиграмм/литр, ал RBD ақуызы үшін — 2,4 миллиграмм/литрге дейін болды. Келіп түскен сапаны бақылау жүргізілді: қолданылған барлық коммерциялық заттар мен материалдар өндірушілерден сатып алынып, тиісті талдау және сапа сертификаттарымен бірге ұсынылды, тазартылған судан басқа, оны біз өздеріміз дайындадық.
- Өндіріс үдерісіндегі бақылауға ақуыздарды растау үшін электрофорез және Вестерн-блотталдыру әдістері кірді. Адъювант немесе маннозамен формуляциялағаннан кейін дайындықтар зертханалық жануарларда сынақтан өткізілді, бақылау параметрі ретінде спецификалық және вирус-нейтрализациялайтын антиденелер өндірілуі қолданылды.

каковы были точки контроля и методы отбора проб?
- Для растворения вы использовали очищенную деионизированную воду. Проводилась ли её стерилизация и определялись ли ее параметры по Фармакопее, ведь показатель стерильности характерен для воды для инъекций?
- Не могли ли белки абсорбироваться на поверхности фильтра?
- Каков оптимальный состав разработанной вакцины? Эту информацию необходимо вывести на слайд.
- Проверяли ли вы эффективность вакцин после разморозки?

Ответы:

- Данные параметры подробно описаны в тексте диссертации. режимы лиофилизации подбирались так, чтобы избежать кристаллизации и механического повреждения антигена. Глубокое замораживание проводилось при температуре минус 80 градусов Цельсия в течение четырех часов. Первичная сушка длилась от 16 до 24 часов при вакууме 0,05–0,13 миллибар и температуре продукта минус 32 градуса. Вторичная сушка занимала 12 часов при вакууме менее 0,05 миллибар с нагревом полок до плюс 15 градусов. Режимы подбирались для полной витрификации матрицы и предотвращения кристаллизации антигена. В качестве криопротектора использовалась сахароза в концентрации 5 процентов
- Практический выход очищенного белка составил около 1,5 миллиграмма/литр, а для RBD белка — до 2,4 миллиграмма/литр. Мы осуществляли входной контроль качества: все используемые коммерческие субстанции и материалы закупались у производителей и сопровождались соответствующими паспортами и сертификатами качества, за исключением очищенной воды, которую мы готовили самостоятельно.
- Внутрипроизводственный контроль включал электрофорез и вестерн-блоттинг для проверки самих белков. После формулирования с адъювантом или маннозой препараты испытывались на лабораторных животных, где точкой контроля выступала выработка специфичных и вируснейтрализующих антител.
- Вся используемая вода, а также приготовленные на ее основе буферные растворы и финальные композиции вакцин подвергались обязательной стерилизующей фильтрации. Этот процесс проводился через мембранные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм.

- Қолданылған барлық су, сондай-ақ одан дайындалған буферлік ерітінділер мен соңғы вакцина формулациялары міндетті стерильдеу сүзгіден өткізуден өтті. Бұл процесс 0,22 мкм тесік диаметрі бар мембраналық сүзгілерді пайдалана отырып жүргізілді.
- Адсорбция қаупі минимализацияланды. Ультрасүзу және стерильдеу сүзу кезеңдерінде полиэфирсульфон картридждері мен мембраналар қолданылды. Бұл материал бейспецификалық ақуыз байланысуын азайтуға арнайы әзірленген.
- Иммундық бұлшықетке енгізілетін вакцинаның оңтайлы құрамы рекомбинантты антиген мен май негізіндегі Sepivac SWE адъювантынан көлемі бойынша қатаң 50:50 қатынаста тұрады.

Интраназалық нано вакцина маннозамен модификацияланған хитозан нанобөлшектеріне қапталған рекомбинантты RBD ақуызы мен лиофилизделген CpG 55.2 нуклеотидтік адъюванттан тұрады.
- Ерітуден кейінгі тиімділік расталды. Нано вакцинаның лиофилизделген түрі кем дегенде 12 ай бойы -20 °C-та мұздатылған күйде сақталғанда тұрақты қалды. Ерітуден кейін препарат белгілі бір иммундық жауап тудыру қабілетін толық сақтап, белсенділігін жоғалтпады. Бакуловирустың жұмыс қоры үш рет мұздату-еріту циклынан кейін де тұрақты титрді сақтады.

3. Лосева И.В.:
- Тізбелеу кез келген маңызды мутацияларды анықтады ма, және сіз қандай гендерді талдадыңыз?
- Жануарлар антитело титрлерін қанша уақыт сақтайды?

Жауаптар:
- Секвенирлеу айналымдағы штаммдарда Omicron BA.5 вариантына тән маңызды мутацияларды анықтады. Зерттеуде Omicron BA.5 вариантының рецепторға байланысатын домен гендері және фуриннің ыдырау орны алынып тасталған, толық ұзындықтағы шип ақуызының сыртжасушалық домені қолданылды.
- Эксперимент аясында екінші иммундаудан кейін 21 күн өткен соң, яғни иммундау басталғаннан бері 42 күн өткенде антидене деңгейі өлшенді. Осы уақытта жануарларда вирус-нейтрализациялайтын антиденелердің тұрақты түрде жоғары титрі байқалды. Титрдің

- Риск абсорбции был сведен к минимуму. На этапах ультрафильтрации и стерилизующей фильтрации применялись картриджи и мембраны из полиэфирсульфона. Этот материал специально предназначен для снижения неспецифического связывания белков.
- Оптимальный состав внутримышечной вакцины включает рекомбинантный антиген и масляный адъювант Sepivac SWE в строгом объемном соотношении 50 на 50. Интраназальная нановакцина состоит из рекомбинантного белка RBD, инкапсулированного в наночастицы хитозана с модификацией маннозой, и нуклеотидного адъюванта CpG 55.2 в виде лиофилизата.
- Эффективность после разморозки подтверждена. Лиофилизированная форма нановакцины сохраняла стабильность при хранении в замороженном виде при минус 20 градусах не менее 12 месяцев. После разморозки препарат полностью сохранял способность индуцировать специфический иммунный ответ без потери активности. Рабочий банк бакуловируса также сохранял стабильный титр после трех циклов замораживания и оттаивания.

3. Лосева И.В.:
- Показало ли секвенирование серьезные мутации и какие гены вы использовали?
- Насколько долго у животных сохраняется титр антител?

Ответы:
- Секвенирование выявило критические мутации циркулирующих штаммов, характерные для варианта Omicron BA.5. В работе использовались гены рецептор-связывающего домена варианта Omicron BA.5 и экстраклеточного домена полноразмерного спайкового белка штамма Ухань с удаленным сайтом расщепления фурином.
-В рамках эксперимента уровень антител измерялся на 21, сутки после второй иммунизации? что соответствует 42 суткам от начала иммунизации. На этот момент у животных фиксировался устойчивый высокий титр вируснейтрализующих антител. Оценка сохранения титра в более отдаленные сроки в рамках данной диссертационной работы не проводилась

***4. Абдрахманова Г.М.*:**
- Какой срок хранения и какие условия хранения необходимо соблюдать для разработанных вами вакцин?

ұзақ мерзімді сақталуын бағалау осы диссертация шеңберінде жүргізілмеді. ***4. Абдрахманова Г.М.*:** - Сіз әзірлеген вакциналардың сақтау мерзімі қанша және қандай сақтау шарттарын сақтау қажет? **Жауап:** -Фармацевтикалық белсенді ингредиенттің көрсетілген сақтау мерзімі – жарықтан қорғалған жерде минус 20 градус температурада бір жыл. Дайын вакциналарды сақтау шарттары олардың дозалық түріне байланысты әртүрлі. Майлы адъювант қосылған дайын инъекциялық эмульсия 2–8 °C температурада сақталды. Лиофилизделген интраназальды нано вакцина –20 °C температурада мұздатылған кезде кем дегенде 12 ай бойы толық тұрақтылық пен белсенділікті сақтайды. 4 °C тоңазытқышта сақталғанда препарат кем дегенде 6 ай бойы тұрақты қалады. Сонымен қатар, бұл формула бөлме температурасында жеті күнге дейін сақталуы мүмкін, бұл қатаң салқын тізбексіз қысқа мерзімді тасымалдауға мүмкіндік береді. ***5. Оразбаева П.З.:*** - Сіз әзірлеген вакцинаны қолданыстағы вакциналармен салыстыра отырып талдадыңыз ба? Сіз әзірлеген вакцинаның артықшылықтары қандай? - Сіздің технологияңызды басқа вирустарға қарсы қолдануға бейімдеуге бола ма? **Жауаптар:** - Осы диссертация аясында әзірленген вакциналардың коммерциялық препараттарға қарсы *in vivo* тікелей салыстырмалы зерттеуі жүргізілмеді. Алайда, интрамускулярлық NARUVAX-C19 вакцинасы үшін қатаң тиімділік бақылауы ретінде сауығып кеткен науқастардың сывороткалары қолданылды. Нәтижелер әзірленген вакцинаның антидене титрлері мен вирус-нейтрализациялау белсенділігі табиғи инфекциядан кейінгі иммунитет деңгейімен салыстырмалы немесе айтарлықтай жоғары екенін көрсетті. Сонымен қатар, мұрын арқылы енгізу жолын растау үшін жүйелі жауапты бағалау мақсатында алюминий гидроксидімен адъюванталған RBD дайындамасы оң бақылау ретінде қолданылды. - Иә, бұл технологияны оңай бейімдеуге	**Ответ:** -Заявленный срок годности для активной фармацевтической субстанции составляет один год при хранении в защищенном от света месте при температуре минус 20 градусов. Условия хранения готовых вакцин различаются в зависимости от их лекарственной формы. Готовая инъекционная эмульсия с масляным адъювантом закладывалась на хранение при температуре от 2 до 8 градусов тепла. Лиофилизированная интраназальная нановакцина сохраняет полную стабильность и активность не менее 12 месяцев при замораживании до минус 20 градусов. При хранении в холодильнике при температуре плюс 4 градуса препарат остается стабильным не менее 6 месяцев. Кроме того, допускается хранение этой формы при комнатной температуре до семи суток, что позволяет осуществлять кратковременную транспортировку без строгой холодовой цепи. ***5. Оразбаева П.З.:*** -Проводили ли вы сравнительный анализ разработанной вакцины с уже существующими? В чем преимущество разработанной вакцины? - Можно ли адаптировать вашу технологию в отношении других вирусов? **Ответ:** - Прямого параллельного исследования разработанных вакцин с коммерческими препаратами *in vivo* в рамках данной диссертации не проводилось. Однако, в качестве строгого контроля эффективности для внутримышечной вакцины NARUVAX-C19 использовались сыворотки реконвалесцентов. Результаты показали, что титры антител и вируснейтрализующая активность разработанной вакцины были сопоставимы или достоверно превосходили уровни естественного постинфекционного иммунитета. Также, для валидации интраназального пути введения в качестве положительного контроля системного ответа использовался препарат RBD адъювантированный гидроксидом алюминия. - Да, данную технологию можно легко адаптировать Бакуловирусная система экспрессии позволяет очен быстро клонировать векторы и масштабировать производство рекомбинантных белков для широкого спектра патогенов. Разработанные нами адъювантны и полимерные системы доставки также являются универсальной платформой. В перспективе они

болады. Бакуловирустық экспрессия жүйесі векторларды өте жылдам клондауға және рекомбинантты ақуыздар өндірісін әртүрлі патогендерге кең ауқымда ұлғайтуға мүмкіндік береді. Біз әзірлеген адъюванттық және полимерлік жеткізу жүйелері де универсалды платформа болып табылады. Болашақта олар пандемиялық әлеуеті бар басқа тыныс алу вирустық инфекцияларына қарсы вакциналарды әзірлеу үшін сенімді технологиялық негіз бола алады.

ШЕШІМІ:
Ізденуші Соломадин Максим Валерьевичиның 8D07201 – «Фармацевтикалық өндіріс технологиясы» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін «COVID-19-ға қарсы вакцинаны әзірлеу үшін бакуловирус технологиясын қолдана отырып рекомбинантты ақуызды өндіру және бағалау» тақырыбындағы диссертациялық жұмысын қоғамдық қорғауға ұсынылды.

Төрайым: Абдуллабекова Р.М.

Хатшы: Левая Я.К.

могут служить надежной технологической основой для создания вакцин против других респираторных вирусных инфекций с пандемическим потенциалом.

РЕШЕНИЕ:
Рекомендовать работу соискателя Соломадина Максима Валерьевича на тему: «Получение и оценка рекомбинантного белка на основе бакуловирусной технологии для создания вакцины против COVID-19» к публичной защите на соискание степени доктора (PhD) по специальности 8D07201 – «Технология фармацевтического производства».

Председатель: Абдуллабекова Р.М.

Секретарь: Левая Я.К.