

Оптимизация процесса Upstream для повышения эффективности производства рекомбинантных аденоассоциированных вирусов

Научный руководитель – Зайцев Валерий Геннадьевич

Грибков Эдуард Евгеньевич

Аспирант

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: astratys@gmail.com

Введение. Генная терапия представляет собой революционное направление в медицине, позволяющее лечить орфанные, онкологические и инфекционные заболевания. Одним из ключевых инструментов генной терапии являются рекомбинантные аденоассоциированные вирусы (rAAV), используемые в качестве векторов для доставки терапевтических генов [1]. Однако, существует проблема доступности данных препаратов, которая зависит как от технологических способностей производителя, так и от экономических затрат на производство. Несмотря на существующие достижения в процессе наработки rAAV [2], многие аспекты остаются вариативными. Среди них – влияние плотности клеток, состав питательной среды, условия инкубации, схемы трансфекции и вносимые добавки, что влияет на необходимость постоянной оптимизации процесса культивирования для увеличения конечного титра rAAV каждого нового препарата.

Основная часть. На основе проведенного литературного обзора и предварительных экспериментов было предложено несколько подходов к оптимизации процесса культивирования. В рамках кандидатской диссертации будут изучены следующие параметры: состав питательной среды, условия инкубации, трансфекция, используемые питательные добавки. Одним из ключевых аспектов стала оптимизация транзientной трансфекции, позволяющей получать наивысший титр вирусных частиц за счет использования оптимального соотношения плазмидных ДНК (пДНК) при трансфекции [3]. Дополнительно были применены методы дизайна эксперимента (DoE), который позволил систематически анализировать и оптимизировать влияние каждого из критических параметров (в нашем случае это были плазмиды Rep\Cap, GoI и Helper) на конечный результат. Оптимальный подбор плазмид привел к стабилизации и увеличению титра rAAV, при одновременном снижении затрат на производство пДНК [3].

Выводы. В рамках исследования был оптимизирован процесс транзientной трансфекции за счет подбора оптимального количества пДНК. Данный параметр показал, что оптимизация процесса наработки rAAV с помощью DoE может увеличить итоговый титр rAAV в 2,5 раза за счет подбора оптимального количества пДНК.

Источники и литература

- 1) Srinivasan P. et al. Multidose transient transfection of human embryonic kidney 293 cells modulates recombinant adeno-associated virus2/5 Rep protein expression and influences the enrichment fraction of filled capsids //Biotechnology and Bioengineering. 2024. Т. 121. №. 12. С. 3694-3714
- 2) Coplan L. et al. High-yield recombinant adeno-associated viral vector production by multivariate optimization of bioprocess and transfection conditions //Biotechnology Progress. 2024. С. e3445

- 3) Грибков Э. Оптимизация транзientной трехплазмидной трансфекции с помощью DoE для повышения титра при наработке рекомбинантных вирусных векторов//Сборник тезисов докладов конгресса молодых ученых. Электронное издание – 2024