

中國團隊設計新冠疫苗新平台，發布mRNA首個動物實驗數據

新浪科技 2020-05-21 07:00

觀看數：10

原標題：中國團隊設計新冠疫苗新平台，發布mRNA首個動物實驗數據

疫苗被認為是終止此次新冠大流行，並幫助恢復全球經濟的最有效方法之一。來自上海交大、復旦大學等機構的聯合科研團隊最近設計了一款mRNA新冠疫苗。該疫苗通過模擬冠狀病毒表面蛋白和內部核酸，從而結合了滅活疫苗和mRNA疫苗的功能，這為全球的抗疫提供了一個全新的疫苗平台。這款疫苗名為**ShaCoVacc**，通過單次注射，即可誘導強烈的刺突特異性體液免疫反應，並具有有效的中和活性。

值得注意的是，目前mRNA新冠疫苗還未有動物實驗的詳細數據披露，該團隊提供的數據也是全球首個。以上研究來自當地時間5月15日，《單劑量SARS-CoV-2模擬顆粒疫苗誘導有效的中和活性》（**A single dose SARS-CoV-2 simulating particle vaccine induces potent neutralizing activities**），研究人員來自上海交通大學、復旦大學、上海本導基因技術有限公司、國家北京藥物安全評價研究中心、貴州醫科大學。該項研究的通訊作者為復旦大學基礎醫學院應天雷研究員、復旦大學附屬上海眼耳鼻喉科醫院副主任醫師洪佳旭，以及上海交通大學系統生物醫學研究院蔡宇伽研究員。

為了產生類似天然的免疫原，又不引起感染，研究者通過將編碼mRNA刺突蛋白（**Spike**）注入的病毒模擬顆粒（**VSPs**）內部，該病毒模擬顆粒由慢病毒顆粒衍生而來；研究者還對病毒模擬顆粒表面的刺突蛋白進行了修飾。該研究表徵了新疫苗平台的mRNA拷貝數、糖基化狀態、轉導效率和先天免疫特性。

重要的是，研究顯示**ShaCoVacc**通過單次注射，即可誘導強烈的刺突特異性體液免疫反應，並具有有效的中和活性。另外，研究者使用肽微陣列公開了刺突特異性抗體的表位，並揭示了對特異性中和抗體敏感的表位。這些結果支持**ShaCoVacc**作為**COVID-19**的候選疫苗，可進一步開發，而病毒模擬顆粒可以作為新興傳染病的新疫苗平台。

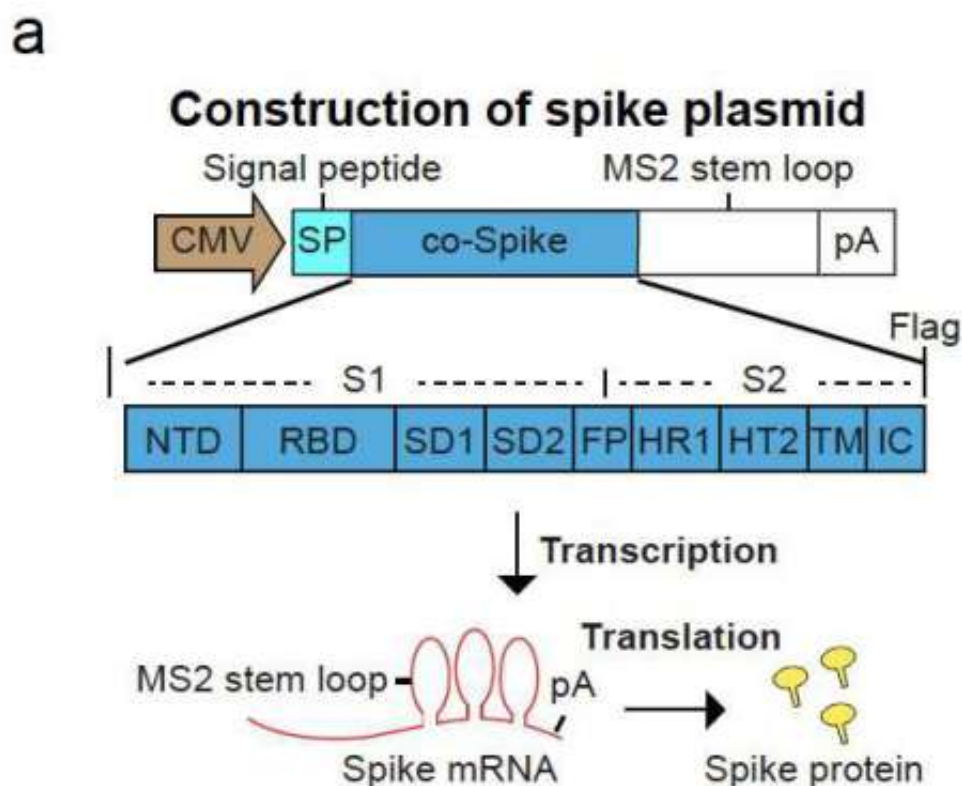
在過去的幾十年中，許多疫苗平台已經被批准用於市場或臨床試驗。滅毒活疫苗是

弱化的病原體，可引起強烈的體液和細胞免疫反應，但也有感染風險，尤其是對免疫功能低下的人。滅活疫苗可殺死具有完整結構的病原體並破壞其遺傳物質，因此風險較低，但功效也較低。

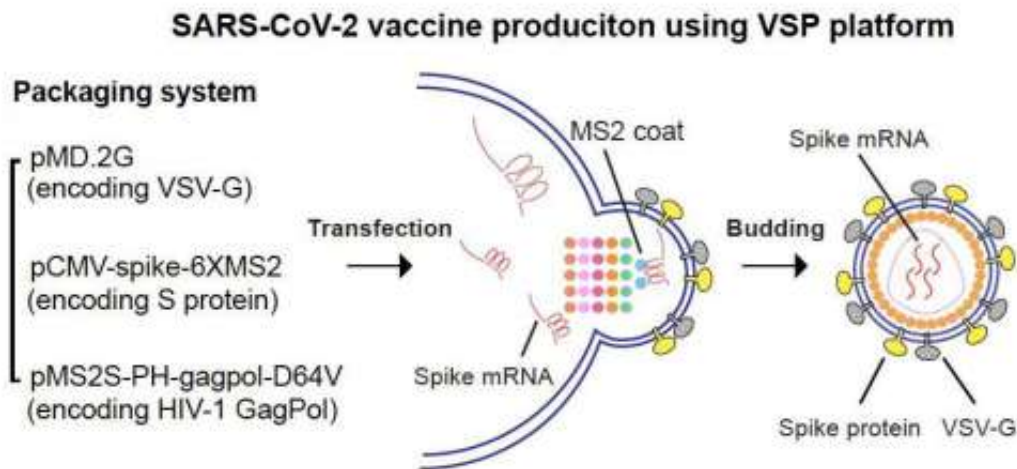
蛋白質亞單位疫苗、DNA疫苗和mRNA疫苗通常是安全的，但很難從本質上反映出病毒免疫原的構象結構。病毒樣顆粒（VLP）是殘缺顆粒，具有能夠以其天然構象呈現病毒刺突並引發構象依賴性中和抗體的能力。而更類似於病原體的VLP其表面有刺突結構，內部有編碼抗原核酸。哪種疫苗平台真正適用於SARS-CoV-2仍未知，這使得開發新的疫苗平台具有重要意義。由於在新冠患者康復期中已檢測到中和抗體，因此模擬SARS-CoV-2的疫苗可以將抗原傳遞給免疫系統，這與真實病毒的方式幾乎相同，從而激發類似的有效免疫響應。

研究者設計了一種候選疫苗，方法是將刺突蛋白包封在病毒模擬顆粒（VSP）中，並對其表面進行修飾。該病毒模擬顆粒以慢病毒顆粒的形式分別以mRNA和蛋白質模擬野生型SARS-CoV-2。假設，通過攜帶mRNA的慢病毒顆粒產生過程中，能夠實現對全長刺突的表達。

為了將全長刺突mRNA包裝到病毒模擬顆粒中，研究者還設計了一個刺突構建體，該刺突構建體在其轉錄物上表達帶有6X MS2 stem loop的刺突蛋白，這使得刺突mRNA通過與MS2外套融合的GagPol相互作用而被包裝到病毒模擬顆粒中。



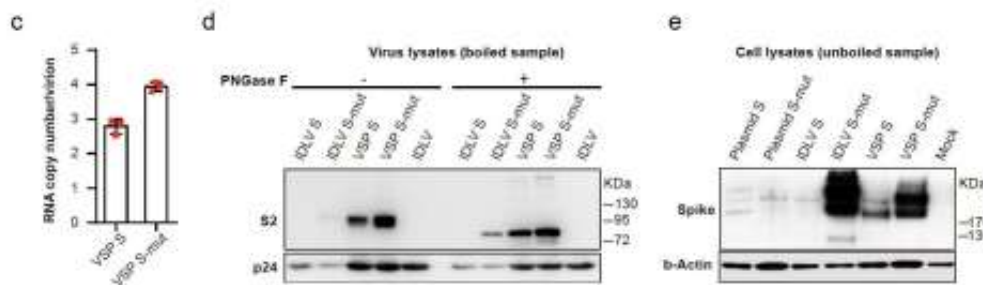
同時，作為包膜蛋白，刺突蛋白會自動組裝到病毒模擬顆粒的膜中。



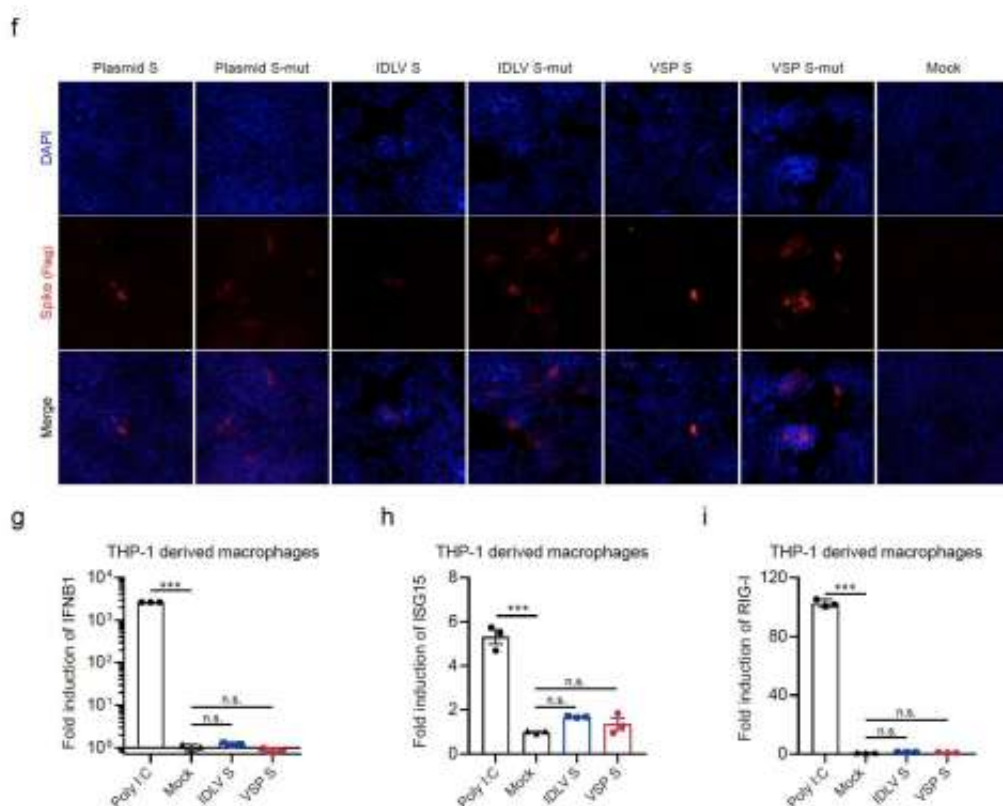
為了檢查是否已將刺突蛋白mRNA按照設計包裝到慢病毒顆粒中，研究者進行了RT-qPCR，發現每個病毒模擬顆粒平均有3或4個拷貝的刺突蛋白mRNA。為了驗證刺突蛋白是否已經組裝成病毒模擬顆粒及其糖基化狀態，研究者以整合缺陷型慢病毒（IDLV）為對照對病毒模擬顆粒的裂解物進行了蛋白質印跡分析。分析發現，其成功修飾了帶有或不帶有病毒模擬顆粒突變的刺突蛋白，同時可以裝載更多的突變此刺突蛋白。

由於糖基化影響疫苗的免疫原性和免疫優勢，實驗檢查了病毒模擬顆粒表面刺突的糖基化狀態。值得注意的是，PNGase F處理后，S2帶向下移動，表明病毒模擬顆粒上的刺突蛋白被N-連接的糖基化修飾，這與質譜法揭示的SARS-CoV-2的近期發現一致。

接下來，研究者將病毒模擬顆粒轉導至293T細胞並評估了刺突蛋白的表達。在感染后36小時收穫了細胞，進行Western印跡分析。在這裏，研究者仍然觀察到病毒模擬顆粒在293T細胞中的刺突蛋白表達，表明VSV-G被共組裝成病毒模擬顆粒，從而擴大了它們的向性。研究者發現了兩個主要的刺突帶，可能是糖基化的全長單刺突及其二聚體/三聚體形式。



此外，研究者使用共聚焦分析法對轉染或轉導的293T細胞進行了確認，其表達了刺突。為了檢查病毒模擬顆粒的先天免疫特性，使用THP-1衍生的巨噬細胞作為核酸感測模型，發現I型干擾素（IFN）和IFN刺激的基因ISG-15和視黃酸誘導的基因沒有明顯增加（RIG-I）。由於帶刺突的病毒模擬顆粒比野生型對應物更有效地摻入了刺突的mRNA和蛋白，因此研究者選擇它作為體內評估的候選疫苗（指定為ShaCoVacc）。



為了獲得ShaCoVacc的免疫原性，研究者將候選疫苗注射到C57BL / 6J小鼠中。在接種疫苗后兩周后，對小鼠血清進行了酶聯免疫吸附測定（ELISA），以獲取刺突特異性IgG。研究者觀察到了刺突特異性IgG的顯著誘導。

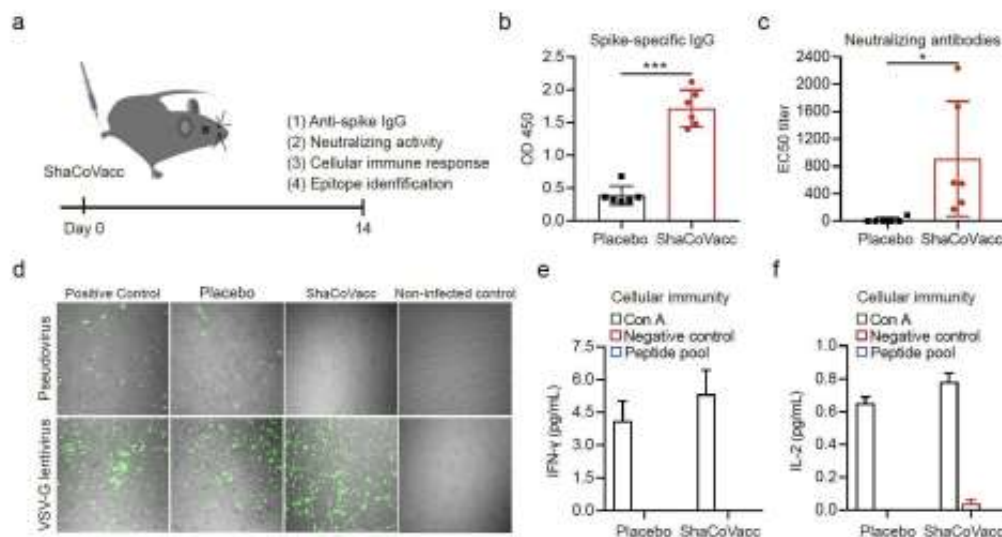
為了評估中和抗體的產生，還使用了編碼螢火蟲螢光素酶的刺突假型HIV進行了中和測定——一種成熟的偽病毒中和測定。有趣的是，在研究中，單次注射ShaCoVacc

cc可以誘導針對SARS-CoV-2的即刻有效免疫反應，而滅活疫苗則需要至少兩次或三劑注射。

研究者還採用了刺突假型慢病毒，該慢病毒編碼GFP來轉導Huh-7細胞。實驗發現，用來自疫苗接種小鼠的1:40稀釋血清進行的預培養幾乎完全消除了熒光，這對於安慰劑組和陽性對照很明顯。有趣的是，來自接種小鼠的血清在Huh-7細胞中沒有抑制VSV-G假型慢病毒的轉導，這表明中和抗體具有刺突特異性。

T細胞免疫應答通常對於疫苗控制病毒感染的功能很重要。但是，在COVID-19中，細胞因子的過度產生與癥狀嚴重程度相關。因此，研究團隊認為，對於任何SARS5 CoV-2疫苗，細胞免疫都必須謹慎。

在這項研究中，通過模擬帶有刺突衍生肽池的脾細胞來評估T細胞免疫反應。研究者沒有發現IFN- γ 和IL-2的表達增加，這表明對於ShaCoVacc而言，刺突特異性細胞免疫反應並不顯著。這與最近的滅活SARS-CoV-2疫苗研究相一致，該疫苗具有保護作用，但未發現接種獼猴的淋巴細胞和關鍵細胞因子的百分比有顯著變化。此外，在疫苗接種過程中未發現ShaCoVacc引起的體重減輕，表明無明顯毒性。

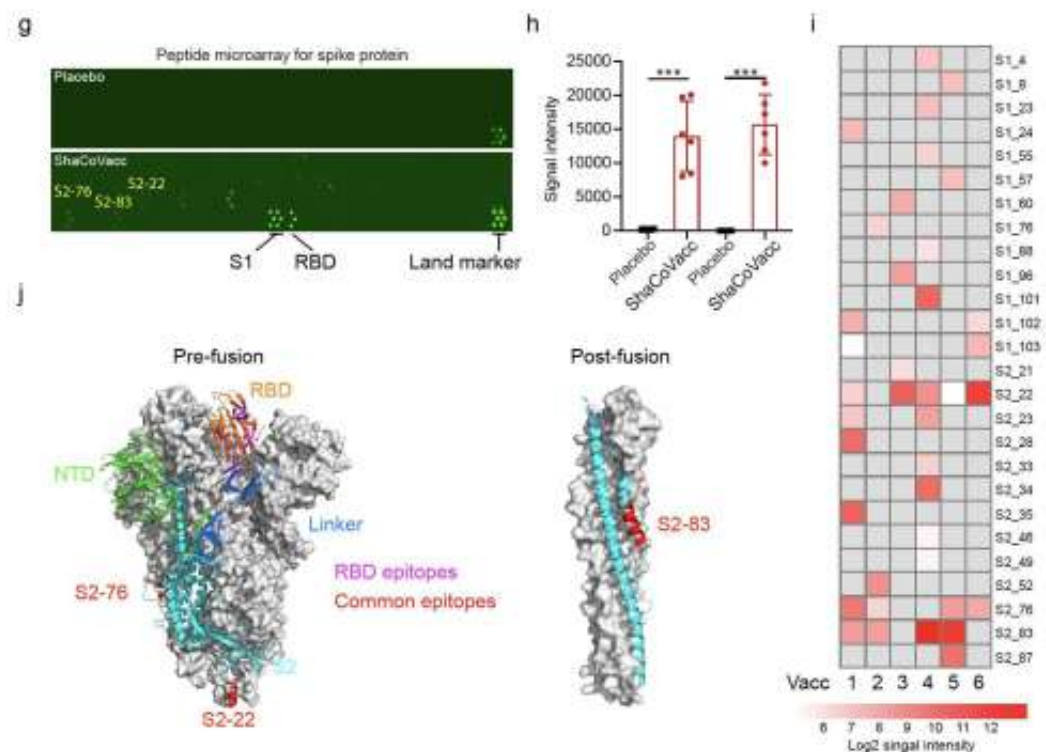


通過解剖接種疫苗的小鼠，可進一步了解刺突特異性抗體的線性表位特徵，研究者使用了一種新開發的肽微陣列，其中包含覆蓋刺突整個長度的短肽。研究者發現，與疫苗接種組的某些刺突肽相對應的信號強度各不相同，安慰劑治療的小鼠則未觀察到信號。

研究團隊還量化了分別針對S1域和受體結合域（RBD）的抗體的信號強度。接種小鼠的血清在兩個結構域均引發了明顯較高的信號，這與此前刺突特異性抗體的ELIS

A分析和中和測定相吻合。

為了獲得表位的全景圖，他們繪製了所有疫苗接種小鼠的熱圖，發現每隻疫苗接種小鼠的抗原決定簇特徵是不同的。但是，該研究還發現了**66.7%**的接種小鼠有三個常見的表位（**S2-22**，**S2-76**和**S2-83**）。從康復者血清中提取的針對該表位的抗體已顯示出強大的中和活性。值得注意的是，**S2-76**和**S2-83**表位是保守的表位，並由**SARS-CoV**和**SARS-CoV-2**共享。



總的來說，該研究通過模擬冠狀病毒表面蛋白和內部核酸，從而結合了滅活疫苗和mRNA疫苗的功能，提供了一個新的疫苗平台。由於**SARS-CoV-2**的資源有限，研究者目前無法用真實病毒再次感染接種過的動物。未來，研究者將進一步揭示了接種小鼠的表位概況和易受特定中和抗體影響的表位，這可能有助於藥物和抗體的開發。

觀看[原網站出處](#)