

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

«На правах рукопису»

УДК [604+661]:615.4+577

До захисту допущено:

Завідувач кафедри

 Наталія ГОЛУБ

«05» грудня 2024 р.

Магістерська дисертація

на здобуття ступеня магістра

за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

на тему: «Виробництво вакцини від COVID-19 на основі
вірусоподібних частинок *in planta*»

Виконав:

студент 2 курсу, групи ББ-31мп

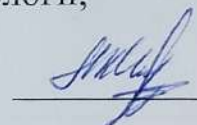
Савченко Тимофій Андрійович



Науковий керівник:

Доцент каф. біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології,
к.т.н, с.н.с.

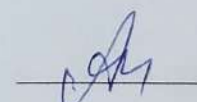
Маринченко Лоліта Вікторівна



Консультант з розділу: економічна частина

Доц. каф. економіки і підприємництва, к.е.н., доц.

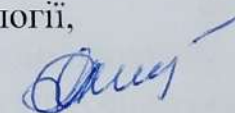
Погребняк Анна Юріївна



Консультант з розділу: проектування

Проф. каф. біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології,
д.т.н., проф.

Саблій Лариса Андріївна



Рецензент:

доцент кафедри трансляційної медичної біоінженерії, д.б.н., с.н.с.

Солдаткін Олександр Олексійович



Засвідчую, що у цій магістерській
дисертації немає запозичень з праць
інших авторів без відповідних
посилань.

Студент



Київ – 2024 року

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

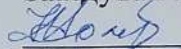
Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

 Наталія ГОЛУБ
«29» серпня 2024 р.

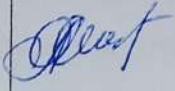
ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студенту
Савченку Тимофію Андрійовичу

1. Тема дисертації «Виробництво вакцини від COVID-19 на основі вірусоподібних частинок *in planta*», науковий керівник дисертації Маринченко Лоліта Вікторівна доцент каф. біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології, к.т.н., с.н.с. затверджені наказом по університету від «05» 11 2024 р. № 4974-С
2. Термін подання студентом дисертації 16.12.24
3. Об'єкт дослідження виробництво вакцини від COVID-19 на основі вірусоподібних частинок *in planta*.
4. Вихідні дані: біологічний агент – рослина *Nicotiana benthamiana* модифікована за допомогою бактерії *Agrobacterium tumefaciens*.
5. Перелік завдань, які потрібно розробити: обґрунтувати вибір продукту та основ технології виробництва вакцини від COVID 19 на основі вірусоподібних частинок; описати біохімічні процеси, що забезпечують реалізацію технології; розробити технологічну та апаратурну схеми виробництва, скласти матеріальний баланс виробництва; розрахувати та спроектувати камеру для вакуумної інфільтрації рослин; розробити стартап-проект на основі наведеної технології; описати заходи з охорони праці та захисту довкілля.
6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: Технологічна схема виробництва вакцини (A1); Апаратурна схема виробництва вакцини (A1); Креслення вакуумної камери для агроінфільтрації (A1), Техніко-економічні показники проекту (A1).

7. Орієнтовний перелік публікацій *2 тиж*

8. Консультанти розділів дисертації

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Економічна частина	Погребняк Анна Юріївна доц. каф. економіки і підприємництва, к.е.н., доц.		
Проектування	Саблій Лариса Андріївна Проф. каф. біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології, д.т.н., проф.		

9. Дата видачі завдання *29 серпня 2024 р.*

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
	Визначення проблеми за темою магістерської дисертації та її актуальності	01.09.2024 – 10.09.2024	<i>Виконано</i>
	Розгляд наявних вакцин від COVID-19, їхніх механізмів дії, переваг та недоліків	10.09.2024 – 20.09.2024	<i>Виконано</i>
	Аналіз технологій і методів, що лежать в основі виробництва вірусоподібних частинок	20.09.2024 – 11.10.2024	<i>Виконано</i>
	Вибір параметрів готової лікарської форми вакцини від COVID-19 на основі вірусоподібних частинок	11.10.2024 – 17.10.2024	<i>Виконано</i>
	Розроблення проекту технології виробництва вакцини від COVID-19 на основі вірусоподібних частинок у рослинах	17.10.2024 – 04.11.2024	<i>Виконано</i>
	Виконання технологічної та апаратурної схеми проекту виробництва. Розрахунок параметрів вакуумної камери та виконання креслення за результатами розрахунків.	04.11.2024 – 18.11.2024	<i>Виконано</i>
	Розроблення стартап-проекту	18.11.2024 – 28.11.2024	<i>Виконано</i>
	Опис охорони праці і охорони довкілля	28.11.2024 – 01.12.2024	<i>Виконано</i>
	Оформлення магістерської дисертації та підготовка до захисту	01.12.2024 – 18.12.2024	<i>Виконано</i>

Студент

Науковий керівник

 Тимофій САВЧЕНКО

Лоліта МАРИНЧЕНКО

РЕФЕРАТ

Магістерська дисертація складається зі 119 сторінок, 4 рисунки, 20 таблиць, 132 посилань, 1 додаток, 5 аркушів А1 графічного матеріалу.

У магістерській дисертації розроблено проєкт технології виробництва вакцини від COVID-19 на основі вірусоподібних частинок *in planta*.

Новизна магістерської дисертації полягає у проєктуванні технології отримання у рослинах виду *Nicotiana benthamiana* вірусоподібних частинок з S-білком SARS-CoV-2, які можуть бути застосовані як високоефективна вакцина від COVID-19. Новизна технічного рішення полягає у розробці конструкції вакуумної камери на основі конструктивного та теплового розрахунку.

Обґрунтовано переваги транзїєнтної експресії у рослинах *Nicotiana benthamiana* – основи технології, та вакуумної інфільтрації як методу доставки вектору *Agrobacterium tumefaciens*.

Виконано розрахунок матеріального балансу виробництва, розроблені та описані технологічна та апаратурна схеми виробництва вакцини, а також представлено методи контролю станів процесів виробництва. Окрему увагу приділено проєктуванню вакуумної камери об'ємом 0,4 м³ діаметром 1000 мм для забезпечення агроінфільтрації великої кількості рослин, як важливої ланки виробництва.

На основі представленої технології розроблено стартап-проєкт виробництва вакцини від COVID-19 на основі вірусоподібних частинок та визначено його основні техніко-економічні показники.

Базуючись на інформації, представлений у чинних стандартах та специфіці спроектованого виробництва описано вимоги з охорони праці та захисту навколишнього середовища.

Ключові слова: ВАКЦИНА, COVID-19, ВІРУСОПОДІБНІ ЧАСТИНКИ, ВАКУУМНА ІНФІЛЬТРАЦІЯ, ТРАНЗІЄНТНА ЕКСПРЕСІЯ, NICOTIANA BENTHAMIANA, AGROBACTERIUM TUMEFACIENS.

ABSTRACT

The master's thesis consists of: 119 pages, 4 figures, 20 tables, 132 references, 1 appendix, 5 A1 sheets of graphic material.

In the master's thesis, the project of technology for the production of a vaccine against COVID-19 based on virus-like particles in planta was developed.

The novelty of the master's thesis is the design of a technology for producing virus-like particles with SARS-CoV-2 protein in *Nicotiana benthamiana* plants, which can be used as a highly effective vaccine against COVID-19. The novelty of the technical solution lies in the development of a vacuum chamber design based on structural and thermal calculations.

The advantages of transient expression in *Nicotiana benthamiana* plants as the basis of the technology, and vacuum infiltration as a method of delivering the *Agrobacterium tumefaciens* vector are substantiated.

The material balance of production was calculated, technological and equipment schemes for vaccine production were developed and described, and methods for monitoring the conditions of production processes are presented. Special emphasis is given to the design of a vacuum chamber with a volume of 0.4 m³ and a diameter of 1000 mm to ensure agroinfiltration of a large number of plants as an important production component.

Based on the presented technology, a start-up project for the production of a vaccine against COVID-19 based on virus-like particles is developed and its main technical and economic characteristics are evaluated.

Based on the information provided in the current standards and the specifics of the designed production, the requirements for workplace safety and environmental protection are described.

Keywords: VACCINE, COVID-19, VIRUS-LIKE PARTICLES, VACUUM INFILTRATION, TRANSIENT EXPRESSION, NICOTIANA BENTHAMIANA, AGROBACTERIUM TUMEFACIENS.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	8
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. ОБҐРУНТУВАННЯ ТА ВИБІР ТЕХНОЛОГІЇ.....	13
1.1 Вибір продукту для вирішення наявної проблеми	13
1.1.1 Вакцини на основі нуклеїнових кислот	13
1.1.2 Живі ослаблені та інактивовані вакцини	18
1.1.3 Субодиночні вакцини	20
1.1.4 Вакцини на основі ВПЧ.....	20
1.2 Вибір основи технології виробництва продукту. Експресійні системи для отримання вірусоподібних частинок	27
1.2.1. Бактеріальні системи експресії.....	27
1.2.2 Системи експресії на основі дріжджів	28
1.2.3 Системи експресії на основі культури клітин комах.....	30
1.2.4 Системи експресії на основі культури клітин ссавців	31
1.2.5 Рослинні системи експресії.....	32
РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ	34
2.1. Характеристика кінцевого продукту.....	34
2.2 Опис біологічного агенту	36
2.3 Основні характеристики вектору.....	38
2.4 Опис перебігу процесів.....	39

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дат</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Савченко Т.А.</i>				<i>ЗМІСТ</i>			
<i>Конс.</i>								
<i>Керів.</i>	<i>Маринченко Л.В.</i>							
<i>Затверд.</i>								
						<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
							<i>6</i>	<i>119</i>
						<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ, ББ-31мп</i>		

РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	41
3.1 Опис технологічного процесу	41
3.2 Матеріали основні і допоміжні	55
3.3 Контроль виробництва.....	57
3.4 Матеріальний баланс виробництва	60
РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ.....	64
4.1 Конструктивний розрахунок вакуумної камери	64
4.2 Визначення теплофізичних властивостей суспензії вектору	65
4.3 Розрахунок механічного перемішувального пристрою	67
4.4 Тепловий розрахунок	69
РОЗДІЛ 5. РОЗРОБКА СТАРТАП-ПРОЄКТУ	73
5.1 Резюме: конкретизація бізнес-ідеї, мети стартапу, об'єкту дослідження, місця розробки у інноваційному ланцюжку цінності.	73
5.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу	75
5.3. Визначення ключових факторів успіху проєкту.....	78
5.4. Визначення потенційних споживачів.....	79
5.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку.....	80
5.6 Концепція бізнес-моделі проєкту та карта бізнес процесів.....	85
РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....	94
5.1. Заходи з охорони праці на виробництві.....	94
5.2. Заходи із забезпечення охорони довкілля	95
ВИСНОВКИ.....	97
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	99
Додаток А	115

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

AEBSF – 4-(2-аміноетил)бензенсульфоніл фторид

E-64 – епоксисукцинил-лейциламід-(4-гуанідинобутан)

FDA – Управління з продовольства і медикаментів США

HEV – вірус гепатиту E

MHC – головний комплекс гістосумісності

MLV – вірус лейкемії мишей

OD600 – оптична густина за довжини хвилі 600 нм

RBD – рецептор-зв'язуючий домен

БА – біологічний агент

ВПЛ – вірус папіломи людини

ВПЧ – вірусоподібні частинки

ДФУ – державна фармакопея України

ЕДТА – Етилендіамінтетраоцтова кислота

ІФА – імуноферментний аналіз

кВПЧ – капсидні ВПЧ

ЛНЧ – ліпідні наночастинки

оВПЧ – оболонкові ВПЧ

ПАР – поверхнево активні речовини

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

Трис – трис(гідроксиметил)амінометан

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						8
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВСТУП

У 2021 році смертність від захворювання на COVID-19 в Україні перевищила смертність від новоутворень та зайняла друге місце, поступившись лише серцево-судинним захворюванням [1]. Пандемія поставила систему охорони здоров’я перед безпрецедентними викликами, викликавши зростання навантаження на лікарні, нестачу медичного персоналу та ресурсів, а також збільшення випадків ускладнень серед пацієнтів. Швидке поширення вірусу SARS-CoV-2 та його нових штамів зробило актуальним завдання розробки вакцин, які б не лише забезпечували надійний захист від захворювання, але й були доступними та легко масштабованими.

У цей період традиційні підходи до розробки вакцин, що базувалися на тривалих та дорогих виробничих процесах, виявилися недостатньо швидкими для ефективного реагування на пандемію. Більше того, багато країн, включно з Україною, зіткнулися з проблемою доступності вакцин через глобальний попит, логістичні труднощі та обмежену кількість виробничих потужностей.

Згідно зі статистичними даними Державної служби статистики України, за 2023 рік, в Україну було імпортовано 34661,6 кг вакцин для людей вартістю 28591,0 тис. доларів США [2]. У той час експорт склав лише 69,4 кг вартістю 89,1 тис. доларів США. Така різниця явно показує великий попит на ринку України та необхідність розвитку галузі. Також імпорт «вакцин проти коронавірусів, що викликають тяжкий гострий респіраторний синдром (SARS-CoV види)» у 2023 році становив 7,9 кг вартістю 69,6 тис. доларів США, а у 2022 році 23437,5 кг вартістю 6154,0 тис. доларів США. Така різниця може бути пов’язана з насиченням ринку та зменшенням попиту, оскільки більшість населення яка бажала виконати імунізацію вже це зробила.

Однак, за липень 2024 року в Україні все ж вакцинувалися близько 2,5 тисяч людей [3]. Того ж місяця виявили близько 12 тисяч випадків захворювань на

					МД ББ31. 12.000 ПЗ								
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата									
Розроб.	Савченко Т.А.				ВСТУП				Літ.		Арк.	Аркушів	
Конс.													
												9	119
Керів.	Маринченко Л.В.								КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ, ББ-31мп				
Затверд.													

COVID-19, з яких 2,5 тисячі у стаціонарі. Враховуючи це, можна сказати, що активна фаза вакцинації пройшла, але проблема лишається актуальною з появою нових штамів та необхідністю повторної імунізації та можливих сезонних ефектів, тому подальше зниження попиту на вакцини від коронавірусної хвороби не буде таким стрімким як після перших років масової імунізації населення, та може лишитися на теперішньому рівні із певними сезонними коливаннями.

Великим фактором ризику перебігу COVID-19 став також і довготривалий вплив на здоров'я населення. Цей вплив значною мірою проявляється через погіршення стану здоров'я серцево-судинної системи людей [4]. Але останні дослідження вказують також і на онкогенний потенціал вірусу SARS-CoV-2 через механізм подібний до вірусу герпесу та вірусу папіломи людини, за рахунок зменшення експресії білків pRB та p53, що є одними з основних факторів пригнічення розвитку пухлин [5]. Що цікаво, чим важче протікало захворювання, тим більшим було пригнічення цих білків та триваліший час зберігався їх рівень на значно нижчому від норми. Однак у зв'язку з відносно недавньою появою вірусу дані прямого зв'язку захворювання на COVID-19 та появи новоутворень відсутні, та можна очікувати встановлення наявності або відсутності такого зв'язку тільки через десятки років.

Тому, хоча сучасні штами хвороби протікають легше, небезпека не зникла повністю і нові технологічні рішення для створення вакцин є необхідними для захисту здоров'я населення. Популярними в Україні швидко стали вакцини на основі мРНК вірусу, однак вони є дорогими і складними у транспортуванні і зберіганні через низьку стабільність, а також через середній рівень імуногенності. Вакцини інших типів проявляють більшу імуногенність та економічну ефективність. Звісно, мРНК вакцини дали можливість впровадити масову вакцинацію населення по всьому світу для того, щоб якнайшвидше зупинити пандемію, але наразі існують більш ефективні варіанти, оскільки пройшло достатньо часу на їхню розробку.

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						10
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

Одним із перспективних підходів є виробництво вакцин на основі вірусоподібних частинок (ВПЧ), яке передбачає використання рослинних систем для синтезу білкових структур, подібних до вірусу. Отримання ВПЧ в рослинах забезпечує можливість швидкого масштабування виробництва та зниження його вартості, що є важливим чинником для забезпечення масової вакцинації.

Метою цієї магістерської дисертації є обґрунтування та розробка проєкту технології виробництва вакцини від COVID-19 на основі вірусоподібних частинок *in planta*.

Об'єктом роботи є накопичення ВПЧ у рослинах та їхнє очищення до рівня необхідного для приготування лікарської форми. Предметом є науково-технологічні основи технології виробництва вакцини від COVID-19 на основі ВПЧ.

Для досягнення мети було сформульовано такі **завдання**:

1. Обґрунтувати вибір типу вакцини від COVID-19 та технології її виробництва.
2. Описати біохімічні процеси, що забезпечують реалізацію технології.
3. Розробити технологічну та апаратурну схеми виробництва. Скласти матеріальний баланс виробництва.
4. Розрахувати та спроектувати камеру для вакуумної інфільтрації рослин.
5. Розробити стартап-проєкт на основі наведеної технології.
6. Описати заходи з охорони праці та захисту довкілля.

Робоча гіпотеза – використання рослинної платформи для виробництва ВПЧ забезпечить створення економічно ефективної, безпечної та легко масштабованої вакцини проти COVID-19, яка матиме високу імуногенність і потенціал швидкої адаптації до нових штамів SARS-CoV-2.

Новизна магістерської дисертації полягає у проєктуванні технології отримання у рослинах виду *Nicotiana benthamiana* вірусоподібних частинок з S-білком SARS-CoV-2, які можуть бути застосовані як високоефективна вакцина від COVID-19.

Новизна технічного рішення полягає у розробці конструкції вакуумної камери на основі конструктивного та теплового розрахунку.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						11
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Практична цінність – використання рослинної системи як біофабрики значно зменшує собівартість кінцевого продукту порівняно з традиційними платформами.

Апробація результатів:

- Савченко Т.А., Маринченко Л.В. Імуногенні властивості вірусоподібних частинок / *«Період трансформаційних процесів в світовій науці: задачі та виклики»*: матеріали IV Міжнародної наукової конференції, м. Рівне, 2024. – С. 244-251.

- Савченко Т.А., Маринченко Л.В. Технологія виробництва вірусоподібних частинок sars-cov-2 на платформі транзйентної експресії in planta / *«Актуальні питання та перспективи проведення наукових досліджень»*: матеріали VIII Міжнародної студентської наукової конференції, м. Дніпро, 2024. – С. 185-187.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						12
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 1. ОБҐРУНТУВАННЯ ТА ВИБІР ТЕХНОЛОГІЇ

1.1 Вибір продукту для вирішення наявної проблеми

Розробка вакцини в середньому займає від десяти до 15 років [6]. Однак вакцини проти COVID-19, дозволені для використання в США, проходили прискорену процедуру затвердження, яка скорочувала цей час до 10-18 місяців [7].

1.1.1 Вакцини на основі нуклеїнових кислот

Вірусні вакцини на основі нуклеїнових кислот можуть бути ДНК- або РНК-вакцинами, які функціонують шляхом використання клітинних механізмів транскрипції та трансляції хазяїна для виробництва вірусних білків, які згодом можуть бути розпізнані імунною системою людини [8]. Вакцини на основі нуклеїнових кислот мають перевагу над іншими типами вакцин, оскільки їх відносно просто створювати [9]. Вакцини на основі нуклеїнових кислот привабливі тим, що їх виробництво не вимагає вирощування живих вірусів [10]. Створення генної конструкції, що кодує антиген, замість інактивації чи ослаблення патогену або створення рекомбінантних білків, є простішим і швидшим, ніж інші методи виробництва вакцин, і дає змогу уникнути потенційних ризиків і пасток, пов'язаних з роботою з живими патогенами [8]. З точки зору зберігання та терміну придатності, вакцини на основі ДНК є дуже стабільними і менше потребують охолодження [10].

Вакцини на основі мРНК є більш нестабільними, ніж вакцини на основі ДНК, що вказує на необхідність спеціальних методів зберігання або доставки. Вакцини на основі мРНК проти SARS CoV-2 потребують 2 доз для досягнення максимальної ефективності і повинні зберігатися за наднизьких температур. З іншого боку, період напіврозпаду ДНК в клітинах більший, ніж мРНК, і існує теоретична можливість того, що мутації ДНК можуть мати довготривалий вплив, особливо якщо вірусна або векторна ДНК інтегрується в організм хазяїна [11].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ				
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата					
Розроб.	Савченко Т.А.				ОБҐРУНТУВАННЯ ТА ВИБІР ТЕХНОЛОГІЇ				
Конс.									
Керів.	Маринченко Л.В.								
Затверд.									
					Лім.	Арк.	Аркушів		
						13	119		
					КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ, ББ-ЗІмп				

1.1.1.1 Вірусні вакцини проти SARS-CoV-2 на основі мРНК

Pfizer-BioNTech розробила мРНК-вакцину проти SARS CoV-2 під назвою BNT162b2, яка стала першою вакциною, дозволеною (грудень 2020 року) та схваленою (серпень 2021 року) в США для використання у людей. Ранні дослідження включали 4 кандидати мРНК, з яких 2, BNT162b1 та BNT162b2, пройшли фазу I та II випробувань [12]. Вакцина-кандидат BNT162b1 включала модифіковану мРНК, що кодує RBD (рецептор-зв'язуючий домен) S-білка, тоді як вакцина-кандидат BNT162b2 включала модифіковану мРНК, що кодує повнорозмірний S-білок [12]. Кандидат BNT162b2 увійшов до фази III випробувань, оскільки, хоча обидва кандидати викликали схожі титри антитіл у фазах I і II, вакцина BNT162b2 індукувала більш виражену відповідь Т-клітин, що свідчить про більш тривалу імунну відповідь [13].

BNT162b2 – це ліпідна наночастинка (ЛНЧ), модифікована нуклеозидною РНК, яка кодує префузійний, стабілізований, мембранно закріплений повнорозмірний S-білок SARS-CoV-2 [14]. Термін "префузійна стабілізація" означає утримання вірусного шипового білка в його префузійній конформації шляхом запобігання структурним перебудовам і, таким чином, пригнічення екстерналізації антигенно переважних поверхонь [15]. Оскільки мРНК вакцини BNT162b2 інкапсульована в ЛНЧ, мРНК захищена від деградації РНК-азами. Крім того, ЛНЧ забезпечують проникнення в клітини хазяїна завдяки їх фазовій розчинності в клітинному фосфоліпідному бішарі.

Клінічне дослідження BNT162b2 фази III було багаторічним, плацебо-контрольованим, сліпим дослідженням, в якому взяли участь 43 448 осіб. 21 720 осіб були включені в групу тестової когорти BNT162b2, тоді як 21 728 осіб були включені в групу плацебо. Кожну дозу вакцини вводили у дельтоподібний м'яз у дозі 30 мкг мРНК в 0,3 мл. Другу дозу BNT162b2 вводили через 21 день після першої дози. Вважається, що повний імунітет досягається через 7-10 днів після введення другої дози [16]. Серед 36523 учасників, які не мали ознак наявної або попередньої інфекції COVID-19, протягом 7-денного періоду після введення другої

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		14

дози вакцини було зафіксовано 8 випадків COVID-19 порівняно з 162 позитивними випадками COVID-19 за той самий період у групі плацебо, що пояснюється 95% профілем ефективності після введення обох доз вакцини.

Moderna розробила іншу мРНК-вакцину під назвою mRNA-1273, яка також кодує стабілізований префузійний S-білок SARS-CoV-2 [17]. Вакцина поставляється в концентрації 100 мкг мРНК в 0,5 мл розчинника в 2 дозах, причому друга доза вводиться через 28 днів після першої. Повний імунітет досягається через 7 днів після другої дози. Клінічне дослідження mRNA-1273 фази III було рандомізованим, сліпим, плацебо-контрольованим дослідженням, в якому взяли участь 30 420 учасників, розподілених у співвідношенні 1:1 для груп лікування та плацебо відповідно. Як і у випадку з вакциною BNT162b2, первинною кінцевою точкою дослідження mRNA-1273 була безпека та ефективність для пацієнтів, а вторинна кінцева точка включала ефективність при важких формах COVID-19. Ефективність вакцини mRNA-1273 була однаковою у більшості підгруп. Загальна ефективність вакцини mRNA-1273 становила 94,1%, і, окрім транзиторних місцевих та системних реакцій, не було виявлено жодних проблем, пов'язаних з безпекою.

Вакцини Pfizer-BioNTech і Moderna містять подібну послідовність мРНК, але відрізняються за складом допоміжних речовин. Хоча ефективність вакцини BNT162b2 виявилася подібною у всіх підгрупах, ефективність вакцини mRNA-1273 виявилася подібною у всіх підгрупах, окрім старших груп (>65 років) [16, 17]. Згідно з відповідними первинними рішеннями про екстрені застосування, вакцина BNT162b2 була схвалена для введення особам віком від 16 років, а вакцина mRNA-1273 була схвалена для введення особам віком від 18 років. Дослідження вакцини BNT162b2 було багатораціональним і було дозволено для екстреного застосування в багатьох країнах, тоді як дослідження вакцини mRNA-1273 обмежувалося США і отримало дозвіл на екстрене застосування тільки в США.

Важливо, що клінічні випробування вакцин Pfizer-BioNTech та Moderna відрізняються в аналізі безсимптомної передачі інфекції після введення вакцини.

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						15
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Наприклад, у клінічному дослідженні mRNA-1273 фази III у групі плацебо було в 3 рази більше безсимптомних випадків COVID-19 порівняно з групою вакцини - однак розмір вибірки, який використовувався для виявлення цієї значущості, дуже малий і тому потребує подальшого дослідження [17, 18].

Обидві мРНК-вакцини можуть мати більш виражений профіль побічних ефектів після введення другої дози. Побічні ефекти можуть включати біль у місці ін'єкції, втому, головний біль, біль у м'язах, суглобах, озноб та лихоманку [17]. BNT162b2 виявляється дещо менш реактогенною, ніж вакцина mRNA1273, що дозволяє припустити, що вакцина mRNA1273 викликає більш сильну відповідь антитіл і може бути кращою для запобігання важкому перебігу COVID-19, однак клінічна значущість невідома [7].

Під час дефіциту вакцин на початку пандемії виявилось, що вакцина mRNA-1273 краще зберігається і не потребує розведення. Для порівняння, вакцина BNT162b2 потребувала наднизьких температур (від -80°C до -60°C) для транспортування та зберігання, а також розведення перед використанням. Однак, розширені дослідження стабільності та подальша реформуляція вакцини BNT162b2 привели до покращення стабільності (включаючи 12 годин за кімнатної температури після відкриття флакону) та відсутності необхідності розведення перед застосуванням [16, 17]. Вакцина BNT162b2 все ще має більш суворі вимоги до зберігання, порівняно з вакциною mRNA-1273, яку можна зберігати за температури від 2 до 8°C

1.1.1.2 Вірусні вакцини проти SARS-CoV-2 на основі ДНК

ДНК-вакцини складаються з очищеної кільцевої плазмідної ДНК або нездатних до реплікації вірусних векторів, що містять гени, які кодують вірусні антигени. Для створення ДНК-вакцини ген, що кодує антиген, клонують у плазмиду, яку доставляють до хазяїна традиційними шляхами вакцинації [11]. Вакцина складається таким чином, що генетичний матеріал транслокується в ядро клітини хазяїна, де промотор, присутній у структурі вектора, активується,

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

запускаючи транскрипцію необхідного гена за допомогою клітинних механізмів хазяїна. Після трансляції транслокованого гена в білок або білковий фрагмент, він далі обробляється в пептиди, які зв'язуються з головним комплексом гістосумісності (МНС) класу I або II, що дає змогу активувати Т-клітини CD8⁺ і CD4⁺, відповідно [19]. Т-лімфоцити CD4⁺ стимулюють імунітет, опосередкований антитілами або В-клітинами, що приводить до вироблення високоафінних антитіл з перемиканням класів, довгоживучих плазматичних клітин і В-клітин пам'яті [20]. Крім того, синтетична ДНК має більшу стабільність під час зберігання, ніж мРНК-вакцини. Однак титри антитіл і Т-лімфоцитів за умови застосування ДНК-вакцин є низькими, а через потенційну інтеграцію з геномом хазяїна існує ймовірність мутацій у цьому типі вакцин.

1.1.1.3 Вірусні векторні вакцини

Вірусні векторні вакцини використовують вірусні вектори як середовище для доставки потрібного імуногену [21]. Вектор доставляє вірусні гени, які використовуються для вироблення антигенів проти інфекційного агента, що дає змогу організму сформувати імунну відповідь. Наприклад, ген, що кодує S-білок SARS-CoV-2, інтегрований в геном іншого вірусного вектора, який був генно-інженерно розроблений, щоб не викликати захворювання [22]. Наприклад, вірус у вакцині проти COVID-19 - це не коронавірус, а інший вірус, наприклад, аденовірус. Однак сам вірусний вектор відіграє додаткову важливу роль у подальшому посиленні імунної відповіді, що приводить до більш сильної реакції, ніж якби генетична послідовність патогена була доставлена самостійно [23]. Вірусні векторні вакцини не потребують ад'ювантів і мають явні переваги над іншими вакцинами завдяки цільовій доставці та індукції стійкого клітинного імунітету [22]. Однак вірусні векторні вакцини несуть ризик мутагенності, оскільки вірусні вектори потребують інтеграції вірусу в геном хазяїна [24]. Крім того, якщо хазяїн вже піддавався впливу вірусу і виробив нейтралізуючі антитіла проти вірусу до введення вакцини, ефективність вакцини знижується [25].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		17

Аденовіруси викликають поширені захворювання. Це віруси без оболонки з дволанцюгової ДНК (длДНК) з ємністю упаковки до 7,5 тисяч п.н. чужорідних генів, які, як було доведено в ході клінічних випробувань I і II фази, викликають потужну відповідь антитіл і захист від COVID-19 у гризунів, приматів і людей [26].

Оксфордський університет та AstraZeneca розробили нереплікаційну векторну вакцину AZD1222 на основі аденовірусу шимпанзе [27]. Клінічні випробування AZD1222 вивчали вплив ацетамінофену на зменшення побічних ефектів, спричинених вакциною. Крім того, клінічні випробування AZD1222 фази III також досліджували безсимптомну передачу вірусу, а вакцина випробовувалася з одно- або багатодозовим режимом. Ефективність вакцини AZD1222 проти безсимптомних інфекцій склала 59%. Незважаючи на ці позитивні результати, у березні 2021 року використання вакцини AZD1222 було призупинено в тринадцяти європейських країнах через зростання частоти рідкісних тромболітичних явищ у пацієнтів.

1.1.2 Живі ослаблені та інактивовані вакцини

Жива атенуйована вакцина - це 1 вакцина, яка містить ослаблену версію шкідливого вірусу і готується шляхом введення вірусу в організм "не-господаря", в якому він погано реплікується. Альтернативною стратегією є лабораторне "пасажування клітин" – процес, в якому вірус змушують багаторазово реплікуватися в культурі тканин і таким чином він стає нездатним викликати захворювання, хоча його здатність задіяти імунну систему залишається [28].

Переваги живих атенуйованих вакцин над інактивованими полягають у тривалому імунітеті та високій ефективності. До порівняльних недоліків можна віднести те, що атенуйовані вакцини потребують тривалого тестування на безпеку, а отже, процес їх розробки займає багато часу [24]. Крім того, атенуйовані вакцини не можна використовувати у пацієнтів з ослабленим імунітетом через побоювання, що вони можуть спричинити небезпечні для життя інфекції [29].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						18
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Інактивовані вакцини виготовляються шляхом нагрівання, опромінення або хімічного впливу. Однак інактивовані вакцини переважно стимулюють гуморальну або опосередковану антитілами імунну відповідь. Це пов'язано з тим, що вони не можуть інфікувати клітини, а отже, не викликають клітинного імунітету. Крім того, інактивовані вакцини мають низький титр продукції і тому потребують бустерних доз [24]. Виробництво інактивованих вакцин може бути складним, оскільки необхідно працювати з великими кількостями вірусу і підтверджувати цілісність антигену в лабораторних умовах. Натомість, інактивовані вакцини є стабільнішими і безпечнішими порівняно з живими ослабленими вірусними вакцинами, і їх можна використовувати у пацієнтів з ослабленим імунітетом.

У контексті коронавірусу SARS CoV-2 пекінська компанія SinoVac Biotech розробила інактивовану вакцину [30]. Вакцина була розроблена шляхом спочатку вирощування великих запасів SARS CoV-2 в клітинах нирок мавп у культурі в лабораторних умовах з подальшою хімічною інактивацією за допомогою β -пропіолактону, який пошкоджує вірусні S-білки, позбавляючи SARS-CoV-2 можливості зв'язуватися з клітинами господаря. На наступних етапах виробництва інактивований вірус може бути змішаний зі сполукою на основі алюмінію, яка стимулює імунну систему для посилення її відповіді.

Компанія SinoVac Biotech провела рандомізоване, подвійне сліпе, плацебо-контрольоване клінічне дослідження фази I і II, в якому учасники були розділені на групи лікування і плацебо у співвідношенні 1:1. Учасникам досліджуваних груп вводили одноразово низьку або високу дозу, 3 мкг на 0,5 мл та 6 мкг на 0,5 мл розчинника гідроксиду алюмінію на дозу, відповідно [30]. Вакцина з низькою дозою виявилася безпечнішою. Після завершення третьої фази випробувань було встановлено, що ефективність вакцини становила 78%, однак пізніше вона знизилася до 50,4%, якщо врахувати "дуже легкі" випадки COVID-19. Нарешті, рівень антитіл проти SARS-CoV-2 був значно знижений у тих, хто отримав вакцину, порівняно з тими, хто одужав від хвороби.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		19

1.1.3 Субодиничні вакцини

Субодиничні вакцини містять частини інфекційного агента, які, як відомо, викликають імунну відповідь - антигени. Субодиничні вакцини можуть бути композитними і містити від 1 до 20 різних антигенів. Перевага субодиничних вакцин полягає в тому, що завдяки використанню лише основних антигенів можна зменшити побічні реакції (наприклад, гіперчутливість) [31].

На відміну від інших вакцин проти COVID-19, субодиничні вакцини, націлені не лише на S-білок, але й на N- та М-білки. Приклад субодиничної вакцини від COVID-19 – NVX-CoV2373.

Компанія Novavax, що займається розробкою вакцин, розробила вакцину NVX-CoV2373, яка базується на рекомбінантному білку S та матричному рекомбінантному білку-М1 [32]. Ця вакцина містить повнорозмірний префузійний білок S, виготовлений за допомогою рекомбінантної технології. Очищений S-білок отримують з генетичної послідовності SARS-CoV-2 і виробляють у клітинах комах [33]. NVX-CoV2373 добре переносився і викликав вищі рівні антитіл, ніж у людей, які одужали від клінічно значущого COVID-19. Додавання ад'ювантного рекомбінантного білка матриксу-М1 привело до посилення імунної відповіді та індукування відповіді Т1-хелперів. Показано, що NVX-CoV2373 має менше побічних ефектів порівняно з іншими типами вакцин і виробляє більшу кількість нейтралізуючих антитіл та специфічних до S-білка IgG. NVX-CoV2373 повинна зберігатися за температури від 2 до 8°C, а отже, потребує спеціального температурного режиму зберігання, подібного до BNT162b2 і mRNA-1273 який легко забезпечити у звичайному холодильнику.

1.1.4 Вакцини на основі ВПЧ

На відміну від інших субодиничних вакцин, ВПЧ пропонують вірусні антигени в більш автентичній формі і швидко розпізнаються імунною системою; тому ВПЧ продемонстрували вражаючу ефективність як потенційні вакцини [34]. Процес розробки вакцини зазвичай займає від 10 до 15 років, перш ніж вона буде

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		20

використана на людях; однак дослідження вакцин проти COVID-19 просувалися шаленими темпами через тяжкість цієї пандемії, особливо клінічні фази, які значно прискорилися [35]. Наразі вчені підготували ВПЧ-вакцини проти SARS-CoV-2 з використанням традиційних систем експресії хазяїна, наприклад, дріжджів, рослин, ссавців та комах [36]. ВПЧ-вакцини діють як гнучка платформа, що дає змогу демонструвати антигени різних варіантів SARS-CoV-2 на ВПЧ. ВПЧ можна використовувати як діагностичний інструмент, підхід до лікування та можливу вакцинацію проти SARS-CoV-2 [37]. Очікується, що порівняно з наявними на цей час платформними вакцинами, вакцина ВПЧ проти SARS-CoV-2 забезпечить перехресну імунну відповідь проти різних варіантів вірусу. Вона також може стати відправною точкою для розробки потенційних вакцин проти інших смертельних вірусів [36].

Імунна система отримує ряд сигналів в результаті приєднання важливих антигенів до білків оболонки ВПЧ, що значно підвищує ефективність вакцини [38, 39, 40, 41]. Вакцини на основі SARS-CoV-2 ВПЧ були розроблені швидше, ніж вакцини проти SARS-CoV та MERS. Одинадцять вакцин проти COVID-19 на цей час успішно завершили фазу III випробувань і отримали схвалення ВООЗ для екстреного використання в усьому світі. Станом на вересень 2023 року 183 кандидати в вакцини проти SARS-CoV-2 перебували на стадії клінічної розробки, а 199 кандидатів - на доклінічній стадії. Наразі 7 (приблизно 4 %) вакцин, що випробовуються в клінічних умовах, створені на основі ВПЧ [42].

1.1.4.1 COVIVAXX

COVIVAXX – це кон'югована вакцина на основі капсидної ВПЧ (кВПЧ), розроблена компанією SpyBiotech за допомогою їхньої запатентованої технології суперклейких білків SpyCatcher/SpyTag, у якій RBD SARS-CoV-2 представлений на поверхні ВПЧ поверхневого антигену гепатиту В (HBsAg) [43].

Spytag/Spycatcher – унікальний метод зв'язування антигену з білком капсиду, який дозволяє подолати труднощі, пов'язані з прикріпленням антигенів. У технології Spytag/Spycatcher процес кон'югації досить простий, на відміну від

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						21
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

більшості кон'югованих вакцин, в яких процес кон'югації здійснюється за допомогою складних хімічних методів [44]. Система Spytag/Spycatcher складається з двох компонентів: сконструйованого білка Spycatcher, який має 138 амінокислот і молекулярну масу 10 кДа, та короткого (13 амінокислот) пептиду Spy-Tag. Платформою експресії вакцини проти COVID-19 на основі ВПЧ SpyBiotech/SIPL є дріжджі.

Оскільки це ліцензована FDA вакцина, HBsAg VLP – ідеальний вектор на основі кВПЧ, який може працювати як дуже універсальний носій для будь-якого бажаного антигену завдяки своїй високій імуногенності та профілю безпеки у людей [45]. У виробництві вакцин значну користь принесла технологія SpyCatcher/SpyTag, яка забезпечує високу щільність представлення антигену на ВПЧ за допомогою ковалентних зв'язків за певної орієнтації або презентації епітопу. Виробництво вакцини в промислових масштабах є можливим. Для зберігання вакцини COVIVAXX необхідна лише стандартна температура 2-8 °C в холодильнику. Тварини демонстрували високі титри антитіл проти RBD білка S, а сероконверсія становила 100%. У неклінічних дослідженнях було показано, що попередній імунітет до гепатиту В не впливає на імуногенність вакцини [43, 45].

У рандомізованому, плацебо-контрольованому клінічному дослідженні I фази брали участь здорові дорослі віком від 18 до 45 років. Безпека та імуногенність вакцини оцінювалися для доз 5 і 25 мкг вакцини з інтервалом у 28 днів і порівнювалися з плацебо в дослідженні II фази за участю іншої групи з 280 здорових добровольців у віці 18-79 років в Австралії. Дві дози ВПЧ, ад'ювантовані галунами + CpG 1018 або тільки галунами, були введені в рамках дослідження фази I/II (ACTRN12620001308987) для оцінки безпечності та імуногенності у здорових осіб [46].

1.1.4.2 ABNCoV2

Дві вакцини на основі кВПЧ (капсидні ВПЧ компанії AdaptVac та ExpreS2ion), що містять RBD S-білка SARS-CoV-2, були створені на платформі *E. coli* для розробки ABNCoV2 [47]. Антигени RBD представлені на кВПЧ

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

бактеріофага AP205 за допомогою розщепленої білкової кон'югації Tag/Catcher, що забезпечує односпрямоване та високощільне представлення RBD. ABNCoV2 був розроблений компанією Bavarian Nordic [48].

кВПЧ мають дві характеристики: вони жорсткі і мають білкову (неліпідну) природу. І генетичний синтез, і модульний дисплей антигенів, в якому антигени прикріплюються до поверхні попередньо зібраних кВПЧ, є методами відображення антигенів на кВПЧ. Модульний дисплей антигенів використовує систему Tag/Catcher, в якій антигени вакцин ковалентно прикріплюються до кВПЧ [47]. Для забезпечення односпрямованого та високощільного представлення антигенів RBD, вироблених в клітинах *Drosophila melanogaster*, вони були відображені на кВПЧ фага *Acinetobacter* AP205, вироблених в *E. coli*, з використанням розщепленого білка Tag/ Catcher.

У технології Tag/Catcher основа кВПЧ отримана з бактеріофага, де SpyTag/SpyCatcher генетично доданий до капсидного білка фага AP205 [47, 49, 50]. Було показано, що RBD-антиген кВПЧ є високо відтворюваним і таргетованим, та незалежно від приєднання до N- або С-кінця кВПЧ, викликають підвищення титру антитіл. Порівняно з приєднанням до С-кінця, RBD на N-кінці (ABNCoV2) показав більшу стабільність та імуногенність у мишей, тому саме такий варіант вакцини був обраний як потенційний об'єкт для клінічних досліджень.

Доклінічні дослідження показали, що вакцина ефективно нейтралізує SARS-CoV-2 на мишачій моделі. Макаки-резуси були одноразово вакциновані 15 або 100 мкг ABNCoV2, що призвело до зв'язування та нейтралізації антитіл у дозозалежний спосіб на рівнях, порівнянних з тими, що спостерігаються у людей, які одужали. Рівень нейтралізуючих антитіл збільшився більш ніж у 50 разів після другої ін'єкції вакцинації, причому середні рівні в групі 100 мкг ABNCoV2 були в 2 рази вищими, ніж у зразках одужалих людей [50]. У мишей, які отримали одноразову дозу вакцини ABNCoV2, розвивалися титри вірусонейтралізуючих антитіл, еквівалентні титрам, що спостерігалися у пацієнтів, які одужали від SARS-

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						23
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

CoV-2. Титри вірусної нейтралізації можуть перевищувати 1:10 000 при подальшому збільшенні бустерної дози [48].

1.1.4.3 COVIFENZ

Канадська біофармацевтична компанія Medicago у партнерстві з Glaxo SmithKline виготовила ВПЧ-вакцину на платформі *Nicotiana benthamiana* [51]. Glaxo SmithKline та Dynavax додають ад'юванти (AS03 та CpG 1018, відповідно) до вакцини від COVID-19, розробленого Medicago. Вакцина містить самозбірні ВПЧ, виготовлені зі стабілізованих тримерів S-білка у префузійній конформації, злитих з трансмембранним доменом і цитоплазматичним хвостом грипозного гемаглютиніну, тимчасово експресованого в *N. benthamiana* [52]. Ефективна Th1 імунна відповідь стимулюється добре визначеним агоністом Toll-подібного рецептора 9 CpG 1018 [53].

У клінічному дослідженні I фази (NCT04450004) вакцина (з ад'ювантами) може ефективно викликати імунологічні відповіді IL-4 та IFN γ і підвищити рівень антиспайкового IgG [54]. Клінічне дослідження I/II фази проводилося за участю дорослих японців для оцінки безпеки та імуногенності препарату MT-2766 (COVIFENZ). Препарат COVIFENZ, що має ад'ювант AS03, містить химерний S-білок SARS-CoV-2, із деякими замінами в ділянці S1/S2 та специфічну антигенну послідовність вірусу грипу H5 [55]. Ефективність препарату COVIFENZ становила від 69,5 % у разі симптоматичної інфекції до 78,8 % у разі захворювання середнього та тяжкого ступеня і була продемонстрована у фазі 3 з високими титрами вірусонейтралізуючих антитіл у сироватці крові.

Фаза II клінічного дослідження надала дані щодо безпечності та імуногенності вакцини CoVLP SARS-CoV-2 [56]. Три різні дози (3,75, 7, 5 або 15 мкг) вакцини вводили двічі внутрішньом'язово з інтервалом у 21 день як окремо, так і в поєднанні з AS03 або CpG1018. Після отримання другої дози ад'ювантної вакцини COVIFENZ клітинні (IFN γ та IL-4) та гуморальні (анти-S IgG та нейтралізуючі антитіла) відповіді були виявлені через двадцять один день. У порівнянні з перехворілими на COVID-19, вакцина з додаванням AS03 (3,75 мкг)

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		24

виробляла в 10 разів вищі титри нейтралізуючих антитіл. Не повідомлялося про серйозні побічні ефекти, а реактогенність, як правило, була від низької до помірної та транзиторної. Люди похилого віку (віком 65 років і старше) та молоді люди (віком 18-64 роки) добре реагували на одноразову дозу COVIFENZ і давали хорошу відповідь на ІФН-γ, хоча молоді люди демонстрували більшу відповідь на ІФН-γ та ІЛ-4.

Для оцінки ефективності та безпечності препарату COVIFENZ у фазі II/III (NCT04636697) залучено 30 918 учасників у Північній Америці з використанням рандомізованого, сліпого перехресного дослідження, що базується на подіях. Метою дослідження III фази (NCT05040789) було порівняння імуногенності трьох послідовно виготовлених партій COVIFENZ у приблизно 900 здорових серонегативних дорослих віком від 18 до 49 років після введення двох доз COVIFENZ (3,75 мкг), ад'ювантних до AS03. У результаті вона продемонструвала 100,0% ефективність проти альфа-варіанту, 75,3% проти дельта-варіанту та 88,6% проти гамма-варіанту в аналізі за кожним протоколом.

Цікаво відзначити, що вакцина COVIFENZ (ВПЧ S-білка SARS-CoV-2) схвалена в Канаді з лютого 2022 року, однак компанію Medicago було закрито за рішенням власника – Mitsubishi Tanabe Pharma, а інтелектуальну власність передано Aramis Biotechnologies.

1.1.4.4 VBI-2902a

Спільно з Національною дослідницькою радою Канади компанія Viva BioInnovator розпочала програму під назвою VBI-2900, яка використовує технологію ВПЧ для виробництва вакцин проти коронавірусу. Потенційна вакцина проти SARS-CoV-2 VBI-2900, яка складається з вакцин VBI-2901 і VBI-2902, була розроблена з використанням ВПЧ на основі вірусу лейкемії мишей (MLV) [57, 58]. VBI-2902 є моновалентною вакциною, яка експресує префузійно-стабілізовану форму S-білка SARS-CoV-2. В той час як VBI-2901 є тривалентною панкоронавірусною вакциною, яка експресує S-білки SARS-CoV-2, SARS-CoV та MERS-CoV. Висока ефективність експресії антигенів ВПЧ у мишей була показана

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		25

в доклінічних даних. Сирійські золотисті хом'ячки були захищені від виклику SARS-CoV-2 та запалення легенів одноразовою дозою VBI-2902a (ВПЧ з додаванням алюмофосфату). Вона індукувала стійкі реакції нейтралізуючих антитіл проти S-білку SARS-COV-2 [59].

Дослідження фази I/II (NCT04773665) проводили за плацебо-контрольованим, сліпим дизайном. В експерименті оцінювали імуногенність, безпеку та переносимість VBI-2902a в одній дозі (5 мкг S-білка на дозу) та двох дозах (з інтервалом у 28 днів) порівняно з плацебо. Було виявлено, що 5 мкг VBI-2902a викликає сильну імунну відповідь на рівні, вищому, ніж у сироватках пацієнтів, які одужують, і добре переноситься всіма пацієнтами. Крім того, немає жодних проблем з безпекою, пов'язаних з вакциною [60].

1.1.4.5 LYB001

LYB001, розроблена Yantai Patronus Biotech, має RBD, що відображається на ВПЧ-векторі, виготовленому з гідроксиду алюмінію. Ця вакцина має високу ефективність, широкий спектр дії і не містить генетичного матеріалу, що робить її однією з найперспективніших для запобігання появі нових штамів коронавирних мутантів, таких як Дельта [36].

Тридозова вакцина LYB001 призначена для використання в рандомізованих, подвійних сліпих, плацебо-контрольованих клінічних дослідженнях фази I (NCT05125926) та фази II/III (NCT05137444) з інтервалом 28 днів. Очікується, що дорослі віком від 18 до 59 років візьмуть участь у фазі I клінічного дослідження для оцінки безпеки, реактогенності та імуногенності LYB001 у високій дозі 50 мкг після успішної 7-денної оцінки безпеки та реактогенності у низькій дозі 25 мкг. Фаза II/III дослідження оцінює імуногенність та безпеку вакцини. Фаза III – це відкрите дослідження з розширеною оцінкою безпеки, яке завершується після 360 днів моніторингу безпеки для всіх добровольців після введення третьої дози вакцини [57, 61].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		26

1.2 Вибір основи технології виробництва продукту. Експресійні системи для отримання вірусоподібних частинок

Для виготовлення ВПЧ-вакцин використовують різні системи експресії, включаючи рослини, ссавців, комах, дріжджі та бактерії.

1.2.1. Бактеріальні системи експресії

Більшість бактеріальних систем орієнтовані на добре вивчені промислові штами та експресійні вектори *Escherichia coli* [62]. Культури бактеріальних клітин були досліджені як платформа для розробки ВПЧ, що має переваги з точки зору вартості та масштабованості [63]. Інші переваги використання бактеріальних систем для виробництва ВПЧ включають легкість маніпуляцій, високий рівень експресії, швидкий темп росту, генетичну стабільність і простоту експресії [64].

Експресійний вектор pCold було використано для експресії та очищення ВПЧ норовірусу у *E. coli* і продемонстровано подібний патерн зв'язування для ВПЧ, зібраних в *E. coli*, як і для ВПЧ, зібраних на клітинах *Spodoptera frugiperda* [65]. Аналогічно, в нещодавньому дослідженні повнорозмірний капсидний білок цирковірусу свиней типу 2 та білок VP2 парвовірусу свиней були експресовані в *E. coli*, які самозбиралися у ВПЧ. Дослідження дало змогу припустити, що експресія капсидного білку і VP2 в *E. coli* можлива для масової розробки ВПЧ-вакцин [66]. Досліджено можливість використання ВПЧ вірусу виноградного віяла як потенційного вектора для представлення епітопу L2 вірусу папіломи людини (ВПЛ) [67]. Антигенну детермінуючу послідовність було генетично інкорпоровано в домен С «αВ-αВ» капсидного білка вірусу виноградного віяла, який потім було надекспресовано в *E. coli* та *Pichia pastoris*. У *E. coli* спостерігався найвищий вихід експресії. Для вірусу гепатиту Е (HEV) область білка ORF2 368-606 aa була очищена *in vitro* з нерозчинної фракції *E. coli*, яка збирається у ВПЧ. Цей HEV ВПЧ обіцяє 100% ефективність у клінічних випробуваннях проти симптоматичного HEV і схвалений як вакцина для комерційного використання в Китаї [68]. В іншому дослідженні були реконструйовані в *E. coli* і показали відмінну фізичну

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		27

стабільність ВПЧ з рекомбінантного капсидного білку інфекційного вірусу підшкірного та гемопоетичного некрозу [69].

Бактеріальні системи не завжди є оптимальною стратегією розробки ВПЧ у зв'язку із такими факторам, як: низька імуногенність, неможливість розробки рекомбінантних білків з посттрансляційними модифікаціями, подібними до ссавців, проблеми розчинності білків, неможливість створення правильних дисульфідних зв'язків та присутність бактеріальних ендотоксинів та/або ліпополісахаридів при отриманні рекомбінантних білків [70, 64].

Brito та Singh (2011) виділили прийнятний рівень ендотоксинів для різних типів вакцин. Існують різні методи, за допомогою яких ендотоксини видаляються на етапі очищення, такі як іммобілізована сефароза, поверхнево-активні речовини, активоване вугілля, ультрафільтрація та аніонообмінна хроматографія. Однак використання цих методів часто призводить до значного зниження виходу, збільшення вартості або відсутності біологічної активності цільового білка. Тому було розроблено ClearCol – генно-інженерний штам *E. coli* з генетично модифікованим ліпополісахаридом, який не викликає ендотоксичної реакції у людини [71]

1.2.2 Системи експресії на основі дріжджів

Еукаріотичні системи експресії є переконливою альтернативою прокаріотичним, особливо, якщо йдеться про вирішення проблеми бактеріальних ендотоксинів у виробництві вакцин [70]. ВПЧ можна виробляти більш економічно ефективно шляхом рекомбінантної експресії білків у дріжджових клітинах. Маніпуляції з генами в дріжджах порівняно прості, і трансформовані клітини можуть рости до надзвичайно високої щільності, поки не буде індуковано експресію рекомбінантних білків. Це дає змогу на промислових ферментаторах виробляти ВПЧ у великих обсягах [72]. Деякі структурні гени вірусів ссавців, що експресуються в дріжджах, можуть утворювати ВПЧ [70].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		28

FDA схвалила деякі дріжджові вакцини ВПЧ, зокрема Gardasil® і Gardasil9® проти ВПЛ та Mosquirix™ проти *P. falciparum* [73]. Деякі дослідження вивчали виробництво ВПЧ з використанням дріжджів як системи експресії. Було створено надійну та економічно ефективну дріжджову модель для виробництва кВПЧ [74]. Інтегральний малий поверхневий білок (dS) мембрани вірусу гепатиту В качки був обраний як каркас для ВПЧ, а безпечні та промислово застосовані дріжджі *Hansenula polymorpha* – як гетерологічний експресійний хазяїн. 8 різних високомолекулярних антигенів були отримані з чотирьох вірусів, що інфікують тварин і генетично пов'язані з білком dS, а потім рекомбінантні ізоляти були ідентифіковані та очищені. Злиті білки були високо експресовані у всіх випадках, і після спільного виробництва з білком dS стало можливим генерувати химерні ВПЧ, що включають обидва білки. Виробнича система на основі дріжджів дає змогу отримати недорогий продукт, який не обмежується невеликими фундаментальними дослідженнями. В іншому дослідженні було отримано химерні білки L1/L2 ВПЧ в системі *P. pastoris*, спочатку вставивши перехресно-нейтралізуючий епітоп з гена ВПЛ-16 L2 в ген L1 ВПЛ-16 [75]. Після цього химерний L1/L2 ВПЛ-16 було введено в плазмиду (pPICZA) та експресовано в *P. pastoris*. Результати ІФА для виявлення L1-ВПЛ-16 Ab, а також L2-ВПЛ-16 Ab показали позитивну реакцію з чутливістю, порівняною з комерційною тест-системою. Аналогічно, в системі експресії *P. pastoris* було отримано рекомбінантний ВПЧ проти HEV, який включав ділянку амінокислотних залишків 112-608 білка ORF2 [68].

Конструювання систем експресії дріжджів набагато складніше, ніж систем експресії бактерій, особливо для штамів *Pichia* та *Hansenula*. Крім того, вихід ВПЧ нижчий, ніж у *E. coli*. Іншим недоліком дріжджової системи експресії є її недостатня схожість з системами експресії ссавців у білкових посттрансляційних модифікаціях (ПТМ), зокрема в глікозилюванні [70]. Їхні глікоформи здебільшого мають високий тип манози, що є небажаним для більшості фармацевтичних глікопротеїнів [63].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		29

1.2.3 Системи експресії на основі культури клітин комах

Експресія білків на основі бакуловірусу (БВ) в клітинних лініях комах виявилася ефективним інструментом для розробки складних біопрепаратів на основі білків для різних цілей, починаючи від мультибілкових комплексів і закінчуючи розробкою білків для терапевтичного застосування, таких як ВПЧ [76]. БВ вирізняється з-поміж широко використовуваних вірусних векторів своєю здатністю переносити гетерологічну ДНК у великих кількостях і безпомилково доставляти її до потрібної клітини-хазяїна [77].

MultiVac – це інноваційна система експресії БВ вектору, яка складається з вірусного геному, сконструйованого для конкретних цілей. Нещодавно група вчених описала розробку ВПЧ-фабрики на основі MultiVac, залежної від капсидного білку (М1) вірусу грипу, та її використання для створення арсеналу грипозних ВПЧ з функціональними модифікаціями гемаглютиніну вірусу грипу, які, як очікується, регулюватимуть імунологічну відповідь на основі ВПЧ [76].

Вірусні вакцини на основі клітин комах з використанням системи експресії БВ вектору виявилися настільки ж ефективними, як і традиційні підходи на основі яєць і клітин у виробництві вакцин проти вірусу грипу, з додатковими перевагами, такими як високі виробничі показники і короткі строки виробництва. Крім того, конструювання стало швидшим, простішим і гнучкішим, що дає змогу поєднувати гени різних типів та/або підтипів вірусів грипу в одному експресійному векторі. Було успішно створено надійну комашину платформу на основі клітин *Trichoplusia ni*, яка поєднує стабільну експресію з БВ-опосередкованою експресією для генерації полівалентних грипозних ВПЧ [78].

Основними обмеженнями системи експресії клітин комах є забруднення білка оболонковими бакуловірусами, складність масштабування і більш просте N-глікозилування, ніж у клітинах ссавців [70, 64]

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						30
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1.2.4 Системи експресії на основі культури клітин ссавців

Понад два десятиліття різні клітинні лінії ссавців, такі як мишача мієлома (Sp2/0, NS0), яєчник китайського хом'яка (CHO), мишача C127, нирка дитячого хом'яка (BHK21), HT-1080 та HEK293 були визнані можливим джерелом комерціалізованих білкових терапевтичних препаратів для медичних цілей завдяки їх здатності до належного згортання, збирання та посттрансляційної модифікації білків [79, 70]. Системи на основі культури клітин ссавців мають багато переваг, включаючи послідовність і гнучкість у процесі розробки. Це також допомагає відновлювати глікозильовані білки за допомогою композицій ліпідної мембрани, подібних до мембрани вірусу-хазіяїна. Повідомлялося, що стабільна трансфекція вірусних генів у клітинні лінії ссавців, включаючи клітини 293 або Vero, приводить до виробництва ВПЧ [80].

У кількох дослідженнях повідомляється про ефективне виробництво ВПЧ з клітинних культур ссавців. Була розроблена система ВПЧ MERS з використанням клітин Huh7 як експресійної системи для розуміння вірусної інфекції та морфогенезу [81]. В іншому дослідженні ВПЧ грипу, що кодують нейрамінідазу (NA), гемаглютинін і матричні білки М1, експресували в клітинних лініях Vero, 293 Т або CHO-K1 за допомогою транзитornoї трансфекції. Доклінічні дослідження на мишах BALB/c показали, що грипозні ВПЧ у разі внутрішньом'язового введення були значно імуногенними в низьких дозах, індуюючи функціональні антитіла проти нейрамінідази і гемаглютиніну [80].

Експресійні системи на основі клітин ссавців вимагають великомасштабних виробничих потужностей, таких як ферментаційні біореактори, які є надзвичайно дорогими у будівництві. Як наслідок, висока вартість виробництва є складною частиною системи експресії на основі клітин ссавців [63]. Інші обмеження включають тривалий час експресії, низький вихід і вразливість до інфекцій патогенів ссавців [64].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						31
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1.2.5 Рослинні системи експресії

«Молекулярне фермерство» – це термін, що використовується для опису використання рослин або рослинних клітин для виробництва рекомбінантних білків або інших біологічних препаратів для застосування як косметичних засобів, біофармацевтичних препаратів, терапевтичних засобів, вакцин та інших реагентів [82]. Рослини є привабливою альтернативною системою для виробництва ВПЧ-вакцин завдяки їхньому потенціалу генерувати значні кількості рекомбінантних білків за мінімальних витрат, еукаріотичному механізму ПТМ і правильному згортанню та збиранню білків, а також низькому ризику занесення сторонніх патогенів людини. Рослини не вимагають встановлення дорогих ферментаційних установок для виробництва біомаси, а також не потребують створення дублюючих потужностей для розширення виробництва. На відміну від мікробної ферментації, рослини мають здатність здійснювати N-глікозилювання під час ПТМ глікопротеїнів [83]. До сконструйованих кВПЧ, які експресуються в рослинних клітинах, належать капсидний білок норовірусу людини, білок L1 ВПЛ, серцевинний і поверхневий антигени гепатиту В, поліпротеїн Gag вірусу ВІЛ і гемаглютиніну вірусу грипу [82].

У кількох дослідженнях широко обговорюються концепції конструювання ВПЧ в різних системах рослинної експресії, ефективний ріст ВПЧ в рослинах-хазяїнах і самозбірка численних структурних білків вірусів в рослинах. Отримано належним чином зібрані рекомбінантні ВПЧ вірусу *Norwalk* у листках *Nicotiana benthamiana* з використанням транзійтної системи експресії, отриманої з TMV [84]. Створено відстежувані ВПЧ на основі гемаглютиніну, що дало змогу дослідити збірку частинок у рослинах та взаємодію ВПЧ в імунологічній системі ссавців [85]. Досліджено продукцію ВПЧ вірусу катаральної лихоманки в *N. benthamiana* за допомогою агробактеріальної транзійтної експресії, яка є недорогою системою [86]. Подібним чином було транзиторно експресовано ВПЧ вірусу ящуру в *N. benthamiana* [87]. Отримано норовірусні ВПЧ у рослинній системі з використанням модифікованих гемінівірусних векторів [88]. На початку

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						32
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

пандемії COVID-19 було представлено перспективу розробки вакцин на основі ВПЧ SARS-CoV-2 у рослинних системах експресії [89].

Хоча в рослинних клітинах відсутні ПТМ, подібні до ссавців, специфічне для рослин глікозилювання може мати імуностимулюючий ефект [90]. Крім того, створення нових систем експресії рослин, а також досягнення в галузі рослинної глікоінженерії вже вирішили цю проблему [83].

Отже, у зв'язку із підтвердженою ефективністю та вищенаведеними перевагами, за прикладом біофармацевтичного виробництва компанії Medicago, за основу технологічного процесу обрано систему транз'єнтної експресії ВПЧ у рослинах. Методом внесення генетичного матеріалу у рослинні тканини обрано вакуумну інфільтрацію, оскільки даний метод дає змогу найповнішого використання рослинного матеріалу, легко масштабований та забезпечує вихідні умови для більш ефективної експресії терапевтичних білків [91, 92]

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						33
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

2.1. Характеристика кінцевого продукту

Активний фармацевтичний інгредієнт готового продукту, вакцини від коронавірусної хвороби, являє собою ВПЧ у вигляді «шипованої» везикули розміром 40-160 нм, антигенним елементом якої є S-білок SARS-CoV-2 (рис. 2.1) із змінами амінокислотних залишків R667G, R668S та R670S у ділянці розщеплення S1/S2 для підвищення стабільності та заміни K971P та V972P для стабілізації білка у префузійній конформації [93]. Сигнальний пептид замінено на дисульфідізомеразу з люцерни, а трансмембранний домен і цитоплазматичний хвіст S-білка було замінено на трансмембранний домен і цитоплазматичний хвіст з вірусу грипу А H5N1, щоб збільшити ефективність збірки і брунькування ВПЧ [94, 95].

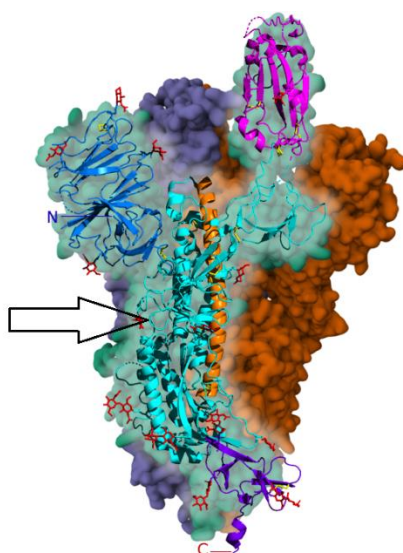


Рисунок 2.1 – Тример S-білку SARS-CoV-2 та виділена структура одного мономеру. Зображені такі структурні елементи мономеру: N-кінцевий домен (синій), домен зв'язування рецептора ACE2 (пурпурний), основна структура (блакитний), центральна спіраль (помаранчевий, звернена всередину гомотримера), коннекторний домен (фіолетовий, зв'язує S-білок з вірусною оболонкою). Стрілка вказує на ділянку розщеплення S1/S2.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ				
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ				
Розроб.	Савченко Т.А.								
Конс.									
Керів.	Маринченко Л.В.								
Затверд.					КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ, ББ-31мп				
					Літ.	Арк.	Аркушів		
							34	119	

Ділянка S1/S2 – це місце (рис. 2.1), де відбувається розщеплення S-білків під час проникнення вірусу в організм. Аргінін (R) у позиціях 667, 668 і 670 замінюється на гліцин (G) та серин (S). Модифікація цих залишків підвищує стабільність S-білка, роблячи його менш схильним до розщеплення, що допомагає підтримувати його структурну цілісність під час виробництва та введення вакцини.

Заміни K971P та V972P вносяться до S-білка в позиціях 971 і 972, де лізин (K) та валін (V) замінюється на пролін (P). Ці пролінові заміни допомагають стабілізувати S-білок у його префузійній конформації. Префузійна форма – це форма, яку шиповий білок природним чином набуває перед злиттям з клітиною-хазяїном. Ця конформація є найбільш ефективною для запуску сильної та цілеспрямованої імунної відповіді, оскільки вона імітує природний стан S-білка, коли він вперше взаємодіє з імунною системою.

Вакцина від коронавірусної хвороби (COVID-19) на основі вірусоподібних частинок, що містять S-білок SARS-CoV-2 згідно з ДФУ повинна проходити випробування на стерильність, випробування на сторонні агенти, випробування на пірогенність та аномальну токсичність.

Склад:

Одна імунізуюча доза вакцини (0,5 мл) містить:

– *діючі речовини:*

вірусоподібних частинок (виготовлено у рослинах) 3,75 мкг

– *допоміжні речовини:*

натрію гідрофосфат, калію дигідрофосфат, натрію хлорид, калію хлорид, ад'ювант AS03 (DL- α -токоферол 11,69 мг, сквален 10,86 мг, полісорбат 80 4,85 мг), вода для ін'єкцій.

Може містити сліди канаміцину та рифампіцину.

Вакцина не містить живих вірусів, нуклеїнових кислот, тваринних білків, консервантів або матеріалів отриманих з людини.

Лікарська форма: суспензія для ін'єкцій (виключно внутрішньом'язово).

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						35
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Основні фізико-хімічні властивості: після легкого струшування має вигляд безбарвної або жовтуватої опалесцентної рідини.

Упаковка: суспензія для ін'єкцій по 0,5 мл у попередньо заповненому шприці, голка, інструкція до лікарського засобу.

Особливості щодо застосування: вакцину слід вводити ін'єкційно внутрішньом'язово. Рекомендованим місцем для внутрішньом'язової ін'єкції є дельтовидний м'яз.

За жодних обставин вакцину не можна вводити внутрішньосудинно!

З метою покращення відстеження біологічних лікарських засобів слід чітко фіксувати назву та номер серії введеного препарату в медичній документації.

Умови зберігання:

Зберігати за температури 2 – 8°C в недоступному для дітей місці. Не заморожувати. Зберігати шприц у оригінальній зовнішній упаковці, щоб захистити препарат від потрапляння світла. Не допускати потрапляння прямих сонячних променів. Не використовувати після закінчення терміну придатності, зазначеного на упаковці.

2.2 Опис біологічного агенту

Багато рослинних систем було досліджено для виробництва біопрепаратів, але на цей час основним об'єктом для виробництва є *Nicotiana benthamiana* [96]. Ця рослина була основним виробничим хазяїном для багатьох компаній, включаючи Medicago, Kentucky BioProcessing, PlantForm, Icon Genetics, iBio, CapeBio, Bioapp та Leaf Expression Systems. *N. benthamiana* привернула увагу дослідницької спільноти через свою високу сприйнятливість до патогенів, що зробило її чудовою системою для вивчення взаємодії рослинних патогенів [97]. Вважають, що ця австралійська рослина прийняла життєву стратегію жертвування захистом від патогенів на користь прискореного циклу розмноження. Вважається, що ця надзвичайна сприйнятливість до інфекцій, зокрема вірусів, відіграє певну роль у

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						36
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

здатності рослини до генетичної трансформації та високорівневої транзиторної експресії генів, що робить її чудовим хазяїном для виробництва білків [98].

Nicotiana benthamiana є автотрофним, аеробним, багатоклітинним організмом, не здатна засвоювати молекулярний азот. Є еукаріотом та займає таке систематичне положення [99]:

Царство – Рослини (*Plantae*);

Порядок – Пасльоноцвіті (*Solanales*);

Родина – Пасльонові (*Solanaceae*);

Рід – Тютюн (*Nicotiana*);

Вид – *Nicotiana benthamiana*.

Рослини висотою до 2,0 м, які не формують розеток. У посушливі періоди суцвіття може складатися лише з кількох прикореневих листків (3-5), сильно скорочених, і 1-3 клейстогамних квіток. Листя серцеподібної форми, майже рівне за довжиною і шириною, розміром 1,0-16,5 x 1,8-16,8 см (без черешка). Вони розташовані поодинокі вздовж головного стебла, яке може галузитися по-різному: біля основи чи у верхній половині. Черешки безкрилі або слабко крилаті, довжиною близько 1-3 см; у разі наявності крил вони часто мають вушкоподібну основу.

Опушення складається з густих багатоклітинних залозистих волосків різної довжини. На стеблах і жилках волоски довші, тоді як на нижній стороні листків – менш густі. Квітконіжки та чашечки густо вкриті залозистими волосками: короткі чергуються з довгими багатоклітинними волосками з розширеними основами (пустульозного типу), що добре помітні на поверхні листової пластинки. Прикореневі листки мають черешки, основа зазвичай нерівномірна, серцеподібна, верхівка загострена й вигнута. Верхні листки яйцеподібної форми, сидячі, з округлою основою та загостреною верхівкою. Листки, розташовані біля суцвіття, мають ерозійно-зубчасті краї та хвилясту структуру.

Чашолистки нерівні: одна частина довші за інші, всі сильно відхилені. У плодах деякі чашолистки стають більшими й нагадують листки. Трубка віночка має довжину 2,0-6,5 см (від краю чашечки) і діаметр 0,2-0,3 см, часто з невеликим

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						37
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

розширенням біля горловини. Приймочка зазвичай дорівнює довжині 4 довших тичинок або трохи перевищує їх. Ці 4 тичинки однакової довжини або дві з них дещо коротші й розташовані біля гирла квіткової трубки на коротких нитках. П'ята, коротша тичинка, розташована нижче в трубці, але має довшу нитку, ніж у інших тичинок.

Плід – коробочка, що розпадається на дві стулки, містить численне темно-коричнєве насіння. Насіння розміром 0,5-0,8 мм завдовжки та 0,05-0,10 мм у діаметрі, трохи сплюснуте і зігнуте, з хвилястою або сотоподібною поверхневою структурою [100]. Вид *Nicotiana benthamiana* поширений в австралії на південних виступах скелястих гір і ущелин, в захищених від екстремальної спеки і сезонної посухи місцях [101].

2.3 Основні характеристики вектору

Agrobacterium tumefaciens – це вид ґрунтових грам-негативних бактерій паличковидної форми, облігатних аеробів, які відносяться до фітопатогенів [102]. Після проникнення в тканини рослини вони спричиняють появу пухлин рослинних тканин – корончастих галлів. Це відбувається внаслідок передачі фрагмента Т-ДНК з Ті-плазміді бактерії до клітин рослини, де інформація, закодована на цій ділянці, експресується.

Agrobacterium tumefaciens – це альфапротеобактерія родини *Rhizobiaceae*, до якої належать азотфіксуєчі бобові симбіонти. На відміну від азотфіксуєчих симбіонтів, види *Agrobacterium*, що утворюють пухлини, є патогенними і не приносять користі рослині. Широке розмаїття рослин, уражених агробактеріями, викликає велике занепокоєння у сільському господарстві.[103]

Оптимальною температурою культивування *A. tumefaciens* є 28°C [104]. Час подвоєння може коливатися від 2,5 до 4 годин залежно від середовища, формату культури та рівня аерації. За температурі вище 30°C *A. tumefaciens* починає відчувати тепловий шок, що може призвести до помилок у поділі клітин.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

Щоб бути вірулентною, дикий тип *A. tumefaciens* містить плазмиду, що індукує пухлиноутворення (Ti-плазмиду або pTi) довжиною 200 п.н., яка містить T-ДНК і всі гени, необхідні для її перенесення в рослинну клітину [105].

Оскільки плазмиди Ti є необхідною умовою для виникнення хвороби, події попереднього проникнення в ризосфері сприяють бактеріальній кон'югації – обміну плазмід між бактеріями. У присутності опінів *A. tumefaciens* виробляє дифузний сигнал кон'югації, який називається N-(3-оксо-октаноил)-L-гомозерин лактон, що є агробактеріальним автоіндуктором [106]. Це активує фактор транскрипції TraR, який позитивно регулює транскрипцію генів, необхідних для кон'югації [107].

Штам *A. tumefaciens* EHA105 є електрокомпетентним та невірулентним, оскільки плазмиди позбавлена функції самотранспорту, а також має стійкість до рифампіцину, але чутлива до канаміцину.

2.4 Опис перебігу процесів

Транз'єнтна експресія в *N. benthamiana* дає змогу виробляти рекомбінантні продукти за кілька днів, а не за 3-6 місяців, як це відбувається у разі створення стабільних трансгенних рослин. У типовому протоколі транз'єнтної експресії *N. benthamiana* рослини вирощують до 4-6-тижневого віку, а потім інфікують штамом рослинного патогену *Agrobacterium tumefaciens*, що містить гени інтересу.

A. tumefaciens передає *N. benthamiana* кілька копій касети експресії генів, які рослина потім експресує в інфікованих клітинах. Продукт гену інтересу зазвичай досягає пікового рівня після 5-7-денного періоду. Ця система була вдосконалена для виробництва біопрепаратів шляхом вилучення глікотрансфераз, що спричиняють специфічне для рослин N-зв'язане глікозилювання, а також розробки методологій для включення N і O глікозилювання людського типу [108, 109, 110]. Ці вдосконалення дають змогу отримувати рекомбінантні білки з профілями глікозилювання ссавців. Тривають подальші вдосконалення цієї системи з метою підвищення виходу та якості продукції шляхом модифікації рослини-хазяїна,

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		39

штаму бактерій *A. tumefaciens*, методів інфікування та системи векторів експресії ДНК [111].

Виділення продукту можна досягти шляхом гомогенізації рослинного матеріалу та очищення за допомогою комбінації методів фільтрації та хроматографії. ВПЧ нестійкі до ПАР, багатьох полімерів, емульгаторів та розчинників через їхню властивість руйнувати ліпідні мембрани, тому їхнє використання не допускається у технологічному процесі екстракції та очищення ПВЧ. З іншого боку, S-білок SARS-CoV-2 має ізоелектричну точку за рН близько 7 та зберігає нативний стан за діапазону рН від 6 до 9, крім того не втрачає активності у разі нагрівання за широкого діапазону температур [112, 113]. Тим більше, S-білок інтегрований у склад ВПЧ, додатково стабілізований відносно фізико-хімічних факторів. Водночас, велика кількість рослинних білків мають ізоелектричну точку за рН близько 6. Інші макромолекули та органели також не стабільні за умов стрімкого зсуву рН та нагрівання, що призводить до їхньої агрегації та стрімкого випадіння в осад, яке додатково можна стимулювати внесенням неорганічних коагулянтів на основі оксиду силіцію, алюмокалієвих галунів, абощо, що використовують для грубої очистки ВПЧ отриманих на рослинних платформах експресії.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						40
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Опис технологічного процесу

ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Підготовка персоналу

Перед тим, як приступити до виконання своїх обов'язків, кожен працівник повинен пройти медичний огляд і отримати допуск до роботи. На виробництві діють суворі правила гігієни та безпеки, яких повинні дотримуватися всі працівники без винятку. Зокрема, перед початком робочої зміни працівники зобов'язані переодягнутися у спеціальний одяг і пройти додатковий санітарний контроль.

ДР 1.2 Приготування мийних та дезінфекційних розчинів

Для обробки обладнання, комунікацій та виробничих приміщень готують спеціальні мийні та дезінфекційні розчини.

ДР 1.2.1 Приготування мийного дезінфекційного розчину

Для приготування мийного дезінфекційного розчину у реактор Р-31 вносять: гіпохлорит натрію $5,0 \pm 0,1$ кг/м³, ЕДТА $10,0 \pm 0,1$ кг/м³, ізодециловий спирт $1,0 \pm 0,1$ кг/м³, воду очищену та перемішують.

ДР 1.2.2 Приготування лужного мийного розчину

Для приготування лужного мийного розчину у реактор Р-31 вносять гідроксид натрію 20 кг/м³ та воду очищену, перемішують за 40°C. Перед застосуванням розчин нагрівають до 75-90°C.

ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень

Підготовка виробничих приміщень включає в себе комплекс заходів, необхідних для забезпечення сприятливих умов для виконання роботи працівниками, та забезпечення необхідних норм для недопущення негативного впливу на якість кінцевого продукту. Підготовка приміщень включає щозмінне та генеральне прибирання, вентилявання, освітлення, та кондиціонування або обігрів

					МД ББ31. 12.000 ПЗ				
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата					
Розроб.	Савченко Т.А.				ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА		Лім.	Арк.	Аркушів
Конс.									
								41	119
Керів.	Маринченко Л.В.						КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ, ББ-ЗІмп		
Затверд.									

приміщення для забезпечення прийнятних умов праці. Щозміни, перед початком роботи здійснюється миття поверхонь виробничих приміщень мийним розчином від ДР 1.2.1 та обробка ультрафіолетовим випромінюванням приміщень, у яких відсутні незахищені живі організми, реактиви та компоненти які використовуються у виробничому процесі.

ДР 1.4 Підготовка обладнання та комунікацій

Обладнання та комунікації, де це можливо, миють лужним мийним розчином від ДР 1.2.3 за температури 75-90°C, після чого споліскують очищеною водою (де це необхідно – ін'єкційною). Стерилізацію обладнання, де це необхідно, проводять гострою парою за температури 140°C і тиску 0,2 МПа протягом 1,5 год, після чого обладнання охолоджують до 20°C. Гостру пару подають всередину апарату, а також у сорочку та суміжні комунікації, утворений конденсат і вторинну пару відводять із системи.

ДР 2 Підготовка повітря

ДР 2.1 Підготовка повітря для приміщень

За допомогою повітрозбірника Пз-1 з решітчастим металевим фільтром та фільтром попередньої очистки класу ISO Coarse (ефективність очищення частинок розміром 0,3-10 мкм до 50%) з висоти 8-10 м здійснюють забір атмосферного повітря через, після чого воно проходить через фільтри Ф-2 класу ISO ePM₁₀, що встановлено перед нагнітальним вентилятором В-3. Після цього повітря підігрівається або охолоджується у теплообміннику Т-4 та подається на фільтр Ф-5 ISO ePM_{2,5}, звідки подається у приміщення, до яких не висуваються вимоги щодо рівня чистоти та на подальші етапи очищення. Для подачі у чисті приміщення повітря проходить через касетний фільтр Ф-6 ISO ePM₁.

ДР 2.2 Підготовка стерильного стисненого повітря

Стерильне повітря отримують із вентиляційного повітря з ДР 2.1. Для цього повітря стискається за допомогою насосу KB-11 до 0,5 ± 0,1 МПа. В результаті стиснення відбувається нагрів повітря до близько 150°C, тому з'являється необхідність охолодження. Повітря охолоджують до 30°C, для цього

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						42
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

використовують теплообмінник Т-12 типу труба в трубі з технічною водою як теплоносій і нерухомими решітками. Після охолодження повітря підвищується його вологість, що матиме негативний вплив на фільтр тонкого очищення. Тому, у теплообміннику встановлено краплевловлювач, з якого відводять конденсат. Після осушення і повітря під тиском 0,3 МПа закачують у проміжний балон РС-13 з якого подають на головний фільтр Ф-14 зі скловолокном як фільтрувальним матеріалом із діаметром пор 1,5 мкм. Останнім етапом є фільтрування на індивідуальному фільтрі Ф-15 тонкого очищення, встановленим безпосередньо перед апаратами, в які надходить повітря.

ДР 3 Підготовка води

ДР 3.1 Мембранна демінералізація води

Водопровідна вода проходить через теплообмінник Т-16 де відбувається нормалізація температури та через фільтр Ф-17 де відбувається видалення частинок розміром до 100 мкм. Після цього вода накопичується у збірнику 3-18 для безперебійного постачання на наступні етапи очищення, щоб не допустити затягування повітря у систему у випадку припинення подачі води трубопроводом. Зі збірника воду подають насосом Н-19 на колонки з катіонообмінною смолою Ф-20, де з неї видаляються катіони жорсткості. Після пом'якшення води вона проходить через фільтри Ф-21 з діаметром пор 50 мкм, звідки поступає на вугільні фільтри Ф-22 для видалення хлору, який має негативний вплив на мембрану зворотного осмосу. Наступним етапом очищення є прокачування води насосом Н-23 через мембрани Ф-24, що видаляють частинки розміром 0,1-1,0 мкм. У результаті цього процесу відбувається розділення води на чистий фільтрат і на концентрат, що містить видалені забруднення. Концентрат з цього етапу зливають у каналізацію, але попередньо перевіряють показники та розбавляють у випадку необхідності для доведення до допустимих значень концентрації забруднень, а фільтрат пропускають через мембрани Ф-25, що видаляють частинки розміром 0,01-0,1 мкм. Концентрат з цього етапу є чистішим за водопровідну воду, а тому його повертають до вхідного збірника 3-18 для розбавлення і разом із

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						43
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

водопровідною водою повертають на очищення. Фільтрат подають на мембрани зворотного осмосу Ф-26, після яких вода позбувається частинок 0,001-0,01 мкм. Концентрат з цього етапу також повертають у збірник 3-18, а фільтрат подають у збірник 3-27 для очищеної води. Готова вода очищена подається у трубопровід В3.1 насосом Н-28.

ДР 3.2 Підготовка води для ін'єкцій

Воду для ін'єкцій готують із води очищеної пропусканням за допомогою насосу Н-29 через стерилізуючий блок ГФ-20. Зберігають у постійному русі за температури 90°C не довше 24 годин. Проби води для ін'єкцій перевіряють на електропровідність, мікробіологічну чистоту та апірогенність згідно методів описаних у ДФУ.

ДР 4 Підготовка поживних середовищ та робочих розчинів

ДР 4.1 Приготування лужних та кислотних розчинів

Виконують приготування розчинів для використання у подальшому технологічному процесі виробництва на різних етапах.

ДР 4.1.1 Приготування розчину натрію гідроксиду

Готують 2М розчин натрію гідроксиду. Для цього у реактор Р-32 завантажують гранули натрію гідроксиду – $80 \pm 1 \text{ кг/м}^3$, воду для ін'єкцій та перемішують до розчинення за частоти 100 хв^{-1} .

ДР 4.1.2 Приготування розчину калію гідроксиду

Готують 2М розчин калію гідроксиду: для цього у реактор Р-32 завантажують гранули калію гідроксиду – $112 \pm 1 \text{ кг/м}^3$, воду для ін'єкцій та перемішують до розчинення за частоти 100 хв^{-1} .

ДР 4.1.3 Приготування розчину хлоридної кислоти

Готують 2М розчин хлоридної кислоти. Для цього у реактор Р-32 заливають р-н 30% хлоридної кислоти – $243 \pm 1 \text{ кг/м}^3$, воду для ін'єкцій та перемішують за 100 хв^{-1} протягом 1 хв.

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		44

ДР 4.1.4 Приготування розчину оцтової кислоти

Готують 1М розчин оцтової кислоти, для цього у реактор Р-32 змішувач вносять оцтову кислоту – 60 ± 1 кг/м³, воду для ін'єкцій та перемішують за частоти 100 хв⁻¹ протягом 1 хв.

ДР 4.2 Приготування розчину для екстракції

Для приготування буферного розчину для екстракції у реактор Р-32 завантажують компоненти: Трис – 6,06 кг/м³, натрію хлорид – 2,92 кг/м³, натрію метабісульфіт – 0,40 кг/м³, АЕBSF – 0,24 кг/м³, Апротинін – 5,21 кг/м³, Бестатин – 15,42 г/м³, Е-64 – 5,36 г/м³, Лейпептин – 8,53 г/м³, Пепстатин А – 6,86 г/м³, вода очищена; змішування проводять за частоти 100 хв⁻¹, за температури $25 \pm 5^\circ\text{C}$ до повного розчинення компонентів. Перевіряють рівень рН та доводять до $8,0 \pm 0,1$ додаючи розчин хлоридної кислоти від ДР 4.1.3 або натрію гідроксиду від ДР 4.1.1 за потреби [114, 94].

ДР 4.3 Приготування фосфатно-сольового буферу

Готують фосфатно-сольовий буфер із підвищеною концентрацією хлориду натрію: у реактор Р-32 завантажують натрію гідрофосфат – 1,42 кг/м³, калію дигідрофосфат – 0,24 кг/м³, натрію хлорид – 66,45 кг/м³, калію хлорид – 0,20 кг/м³, воду для ін'єкцій, та перемішують за температури $60 \pm 10^\circ\text{C}$ і частоті обертання 100 хв⁻¹ до розчинення, після чого охолоджують до $20 \pm 1^\circ\text{C}$ і перевіряють відповідність рівню рН $7,5 \pm 0,1$ [115].

Також готують окрему партію фосфатно-сольового буферу у реакторі Р-32 без додавання натрію хлориду та доводять рН до $6,0 \pm 1$ розчином оцтової кислоти від ДР 4.1.4.

ДР 4.4 Приготування елюенту для афінної хроматографії

У реактор Р-32 завантажують компоненти: натрію ацетат – 8,20 кг/м³, магнію хлориду гексагідрат – 406,60 кг/м³, вода для ін'єкцій, змішують за температури $55 \pm 5^\circ\text{C}$ та частотою обертання 100 хв⁻¹, охолоджують до $8 \pm 2^\circ\text{C}$ та перевіряють відповідність рН $4,3 \pm 0,1$ [115].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						45
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДР 4.5 Приготування та стерилізація середовищ для агробактерій

Готують щільне та рідке лізогенне середовище (LB), для цього у реактор Р-39 додають пептон – 10 кг/м³, дріжджовий екстракт – 5 кг/м³, натрію хлорид – 10 кг/м³, а для щільного середовища додатково додають агар – 12 кг/м³, розчиняють за температури 90 ± 10°C встановлюють рН 7,0 ± 0,1 за допомогою розчинів натрію гідроксиду та хлоридної кислоти від ДР 4.1.1 і 4.1.3. Після цього у сорочку реактора подають подяну пару за рахунок чого середовище стерилізують за 121°C, тиску близько 0,20 ± 0,01 МПа, протягом 60 хв. Рідке середовище охолоджують до кімнатної температури та у стерильних умовах додають канаміцин – 50 г/м³; рифампіцин – 25 г/м³; агаризоване середовище охолоджують до температури 60 ± 5°C, у стерильних умовах додають канаміцин – 50 г/м³; рифампіцин – 25 г/м³, розливають у чашки Петрі ЧП-41 та виконують подальше охолодження до кімнатної температури 25 ± 5°C.

ДР 4.6 Приготування та стерилізація поживного середовища для рослин

Для культури тканин рослин використовують середовище Мурасіге-Скуга (MS) із сахарозою 30 кг/м³ і агаром 7,5 кг/м³. Для цього відповідні компоненти завантажують у реактор Р-35 та встановлюють рН 5,7 ± 0,1 додаючи розчин калію гідроксиду від ДР 4.1.2 [116]. Середовище стерилізують при 121°C, 0,2 МПа протягом 60 хв, після чого середовище для укорінення у стерильних умовах розливають по 30 см³ у банки Б-50 ємністю 250 см³ та охолоджують до кімнатної температури, а середовище для утворення пагонів охолоджують до 45 ± 3°C, у стерильних умовах додають кінетин 0,5 г/м³, індоліл-3-бутанову кислоту 0,1 г/м³ та розливають по 30 см³ у банки Б-50 ємністю 250 см³ та охолоджують до кімнатної температури.

ДР 4.7 Підготовка субстрату для вирощування рослин

Для вирощування *Nicotiana benthamiana* використовують суміш складу: торф – 90%, пісок – 10% [117]. Приготовану суміш насипають у пластикові горщики діаметром 10 см, куди методом затоплення та дренажування вносять розчин добрива від ДР 4.8 [118].

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		46

ДР 4.8 Приготування розчину добрива

Сухе добриво складу 15-16-17 (N-P-K) завантажують у реактор Р-31, додають воду очищену у кількості, зазначеній виробником добрива, та перемішують за температури 40-50°C з частотою обертання 100 хв⁻¹ до повного розчинення.

ДР 5 Підготовка вектору

Етап підготовки вектору вимагає ретельного мікробіологічного і біохімічного контролю, оскільки від його активності та чистоти залежить кінцевий вихід готового продукту.

ДР 5.1 Відновлення музейної культури вектору

Здійснюють відновлення із ліофілізованої культури *Agrobacterium tumefaciens* ЕНА105-рEAQ-Sch35S. Ліофілізат висівають у стерильних умовах на щільне середовище LB із ДР 4.5 у чашках Петрі ЧП-41, додають 200 мкл стерильного рідкого середовища LB, який розподіляють по поверхні агару тонким шаром. Культивують протягом 72 год за температури 28°C [119]. Після виростання колоній *A. tumefaciens* здійснюють візуальне визначення культуральних особливостей, та розсівають найбільші колонії кожену на окрему чашку Петрі із щільним середовищем LB від ДР 4.5 і культивують протягом 24 год за температури 28°C. Після чого обирають 3 чашки Петрі на яких візуально спостерігають найбільш інтенсивний ріст, з кожної обирають візуально 3 найбільші колонії та кожену переносять у окрему банку Б-42 об'ємом 250 мл із 40 мл рідкого середовища LB від ДР 4.5 і культивують на шейкері за 180 хв⁻¹, 28°C протягом 24 годин. Після цього виконують дослідження проб із вмісту кожної з банок методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та перевіряють оптичну густину суспензії OD₆₀₀, як негативний контроль використовують рідке поживне середовище LB від ДР 4.5. Культуральну рідину зразка, що показав найбільш чітку смугу що відповідає цільового гену на електрофореграмі після проведення ПЛР та найвищій OD₆₀₀ переносять на щільне середовище LB від ДР 4.5, вирощують протягом 24 год за температури 28°C у термостаті, використовують у подальшому етапі та зберігають

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		47

у холодильнику за температури від 4 до 8°C. Щотижня виконують пересівання з чашки на чашку для збереження чистоти культури. Відновлення нової партії виконують за потреби.

ДР 5.2 Накопичення вектору в банках

Із чашки Петрі ЧП-41 з культурою *A. tumefaciens* за допомогою мікробіологічної петлі набирають 3-5 разів біомасу та переносять у 50 см³ рідкого LB від ДР 3.1.2 у банці Б-42 на 250 см³ та культивують на шейкері за 180 хв⁻¹, температури 28°C протягом 24 годин.

Отриману культуральну рідину переносять у банки об'ємом 1000 см³ із 200 см³ LB від ДР 3.1.2 та культивують на шейкер КЧ-43і із 180 хв⁻¹ за температури 28°C протягом 24 год.

Одразу після засіву та через кожні 12 год здійснюють мікробіологічний контроль.

ДР 5.3 Накопичення вектору у ферментері

У ферментер Р-45 об'ємом 0,1 м³ стерильно вносить накопичену культура вектору із банок об'ємом 2% від поживного середовища з ДР 3.1.2. Культивування здійснюють за температури 28°C, що досягають подачею води очищеної відповідної температури у сорочку, протягом 23 год із перемішуванням з частотою 200 хв⁻¹ та аерацією барботером із витратою 1 дм³ стерильного повітря на 1 дм³ поживного середовища за хвилину. Одразу після засівання, через 6 год та через 12 год здійснюють відбір проби для контролю відсутності контамінуючої мікрофлори.

ДР 5.4 Сепарація клітин вектору

Культуральну рідину подають на центрифугування насосом Н-46 та на центрифугі Ц-47 за 5000 g протягом 15 хв осаджують клітини вектору. Осад клітин надходить на наступний етап в реактор Р-48, а фугат на етап знищення відходів ЗВ-15.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		48

ДР 5.5 Приготування суспензії для інфільтрації

Для приготування суспензії для інфільтрації у реактор Р-48 вносять: 2-(N-морфоліно)етансульфонова кислота (MES) – 97,5 г/м³, MgCl₂·6H₂O – 4,06 кг/м³, ацетосирингон – 196 г/м³, D-глюкоза – 50 кг/м³, вода очищена, та доводять рН до $5,6 \pm 0,1$ використовуючи розчин калію гідроксиду від ДР 4.1.2 [120].

У реактор Р-48 з клітинами вектору вносять буферний розчин для інфільтрації за перемішування частотою 200 хв⁻¹ до утворення суспензії з OD₆₀₀ = $1,0 \pm 0,1$ (концентрація біомаси близько $1,0 \cdot 10^8$ КУО/мл [121]). Отриману суспензію охолоджують до $20 \pm 2^\circ\text{C}$ та витримують 3 год перед застосуванням [122], [123].

ДР 6 Підготовка біологічного агенту

ДР 6.1 Мікроклональне розмноження

Зі стебла біологічного агента *Nicotiana benthamiana* вирощеного *in vitro* для мікроклонального розмноження вирізають вузлові сегменти, які в стерильних умовах вносять у банки Б-50 з поживним середовищем MS від ДР 4.6 по 5 одиниць на кожну, закривають кришкою та культивують у культуральній кімнаті КК-51 за температури 25°C під білим світлом з інтенсивністю 30 мкмоль/(м²·с) та фотоперіодом 16 годин протягом 14 діб [116]. Кожної доби здійснюють візуальний огляд банок з культурою для вчасного виявлення контамінації та фенотипових порушень розвитку рослин задля можливості усунення негативних факторів впливу і збереження культури.

ДР 6.2 Коренегенез

Після 14 діб культивування утворені бічні пагони довжиною від 2 мм (візуально) у стерильних умовах обережно відокремлюють та переносять у індивідуальні банки об'ємом 250 см³ Б-50 із поживним середовищем MS від ДР 4.6 (без фітогормонів). Культивують у культуральній кімнаті КК-51 під білим світлом з фотоперіодом 16 годин та інтенсивністю 30 мкмоль/(м²·с) за температури 25°C

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		49

протягом 14 діб. Кожної доби здійснюють огляд банок для контролю фенотипових ознак рослин, відсутності контамінації та активності утворення коренів.

ТП 7 Культивування самостійних рослин

Рослини з утвореними коренями обережно висмикують з агару та переносять у субстрат так, щоб корені були повністю занурені. Після цього горщики транспортуються у теплицю Т-52. Культивування біологічного агенту здійснюють під штучним освітленням білого кольору інтенсивністю $150 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ із фотоперіодом 16 годин за температури 25°C та вологості 60-80% протягом 28 діб. Поливають розчином добрива від ДР 4.8 методом затоплення і дренажування кожні 12 годин [124].

ТП 8 Вакуумна інфільтрація

Суспензією вектору від ДР 5.5 температурою $20 \pm 2^\circ\text{C}$ наповнюють ванну вакуумної камери для інфільтрації ВК-52, зверху на яку, догори дном, розташовують горщики з біологічним агентом так, щоб всі листки були занурені у суспензію. Поверх горщиків встановлюють кришку вакуумної камери, що герметично закриває ванну, та відкривають вентиль що сполучає вакуумну камеру з вакуумним трубопроводом Г6. Вакуумування проводять до досягнення тиску $30 \pm 5 \text{ кПа}$, після чого витримують 15 секунд та впускають атмосферне повітря [125]. Горщики із біологічним агентом після інфільтрації повертають у теплицю Т-51 для експресії ВПЧ. Суспензію вектору використовують повторно додаючи нову суспензію до необхідного рівня рідини та перемішуючи між кожним циклом інфільтрації із частотою 400 хв^{-1} протягом 1 хвилини. Також між циклами інфільтрації контролюють рН суспензії.

ТП 9 Експресія ВПЧ

Після вакуумної інфільтрації вектору у листки горщики з біологічним агентом повертають у теплицю Т-52 та витримують під штучним освітленням білого кольору інтенсивністю $150 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ із фотоперіодом 16 годин за температури 25°C та вологості 60-80%. Контроль температури здійснюють за допомогою обігріву ІЧ лампами, регулюванням інтенсивності вентильовання та

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						50
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

температури повітря, що подається. Керування вологістю здійснюють розпилюючи воду очищену із форсунок, встановлених у теплиці. На 3 добу відбирають зразок листя (близько 100 мг) і у лабораторії визначають початок експресії [126]. Починаючи з 7 доби кожні 12 годин відбирають зразки листя та визначають вміст вірусоподібних частинок виділених методом центрифугування у градієнті сахарози та подальшого аналізу як описано Moon et al (2022 рік) [127]. Експресію у кожній групі рослин продовжують до 12-ої доби або припиняють раніше, якщо відмічають максимум накопичення ВПЧ в аналізованих зразках [84]. Максимумом є відсутність підвищення вмісту ВПЧ у зразках порівняно із групою зразків, відібраних за попередні 12 годин. Концентрація ВПЧ у вихідному рослинному матеріалі може становити близько 10 мг/кг свіжої біомаси [128].

ТП 10 Збирання рослинного біоматеріалу, гомогенізація і екстракція

Рослини зрізають на висоті 5 ± 1 см від верхнього краю горщика, зважують та переносять у реактор Р-54, куди додають буферний розчин для екстракції від ДР 4.2 у кількості $1,5 \text{ дм}^3$ розчину на 1 кг свіжої біомаси. У середньому отримують 100 г свіжої біомаси з рослини. Після цього здійснюють подрібнення рослинного біоматеріалу за допомогою зубчатої мішалки із частотою обертання 1500 хв^{-1} за перемішуванні рамним перемішувальним пристроєм за 100 хв^{-1} упродовж 5 хвилини за температури 10°C . У сорочку реактора підводять воду очищену охолоджену для відведення тепла.

На центрифугі Ц-55 із утвореного гомогенізату осаджують біомасу при 5000g упродовж 20 хв та відводять назад у реактор Р-54 для повторної екстракції за тим самим протоколом, а фугат пропускають насосом Н-56 через фільтр Ф-57 з діаметром пор 22-25 мкм. Після другої екстракції осаджену біомасу відводять до ЗВ-15.

ТП 11 Грубе очищення ВПЧ

Об'єднаний фільтрат вносять у реактор Р-58, де до нього додають розчин оцтової кислоти від ДР 4.1.4 для зниження рівня рН до $6,0 \pm 0,1$ за перемішування 100 хв^{-1} , після чого нагрівають до температури $40 \pm 2^\circ\text{C}$ протягом 5 хв та додають

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		51

діатоміт у кількості 0,05% у якості коагулянту, після чого охолоджують до температури $25 \pm 3^\circ\text{C}$ [94, 113]. За рахунок фізико-хімічних властивостей S-білку SARS-CoV-2 у складі ВПЧ описаних у Розділі 2, це не призводить до втрати готового продукту, але дає змогу вилучити з розчину велику кількість сторонніх компонентів. Отриману суміш центрифугують на Ц-59 за 10000g і температури $25 \pm 3^\circ\text{C}$ протягом 10 хв і пропускають через касету мембранних фільтрів Ф-61 з діаметром пор 0,8 мкм, 0,45 мкм та 0,2 мкм та подають у реактор Р-62, де перевіряють відповідність рН до $6,0 \pm 0,1$ та, за потреби, доводять до необхідного рівня розчином натрію гідроксиду від ДР 4.1.1 або оцтової кислоти від ДР 4.1.4 при перемішуванні 100 хв^{-1} , потім охолоджують розчин до температури $8 \pm 2^\circ\text{C}$.

ТП 12 Тонке очищення ВПЧ

Для тонкого очищення ВПЧ використовують методи іонообмінної, афінної хроматографії, а також ультрафільтрацію на мембранних фільтрах та центрифугування [129].

ТП 12.1 Іонообмінна хроматографія

Отриманий розчин із рН $6,0 \pm 0,1$ за температури $8 \pm 2^\circ\text{C}$ подають насосом Н-63 у підготовлену колонку КІ-64 із катіонообмінною смолою, оскільки за даного рН ВПЧ з S-білком набувають позитивного сумарного заряду; промивають фосфатно-сольовим буфером без натрію хлориду та з рН $6,0 \pm 0,1$ від ДР 4.3 за температури $8 \pm 2^\circ\text{C}$.

Елюцію виконують фосфатно-сольовим буфером із підвищеним вмістом натрію хлориду від ДР 4.3 за рН $7,5 \pm 0,1$ та температури $8 \pm 2^\circ\text{C}$ [130].

ТП 12.2 Афінна хроматографія

Отриманий елюент із рН $7,5 \pm 0,1$ за температури $8 \pm 2^\circ\text{C}$ подають у хроматографічну колонку КА-65 заповнену “NGL COVID-19 Spike Protein Affinity Resin” – смолою для афінної хроматографії на основі рекомбінантного білку, що є сильним високо-специфічним лігандом до S-білку SARS-CoV-2 [115, 131].

Для промивання використовують фосфатно-сольовий буферний розчин зі збільшеною концентрацією натрію хлориду від ДР 4.3.

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		52

Елюцію здійснюють елюентом для афінної хроматографії з рН $4,3 \pm 0,1$ від ДР 4.4.

ТП 12.3 Ультрафільтрація

Елюат з афінної хроматографії подають на ультрафільтрацію через керамічну мембрану КМ-66 з діаметром пор 10 нм. Отриманий концентрат центрифугують на центрифугі Ц-67 за 10000g протягом 30 хв, осаджені ВПЧ відправляють на наступний етап ТП 13, а супернатант центрифугують повторно іще 2 рази за 14000g протягом 30 хв.

ТП 13 Приготування суспензії для ін'єкцій

Осаджені ВПЧ зважують та з розрахунку $12,50 \text{ г/м}^3$ ВПЧ, у реактор ГФ-69 вносять натрію гідрофосфат – $1419,60 \text{ г/м}^3$, калію дигідрофосфат – $244,96 \text{ г/м}^3$, натрію хлорид – $8006,69 \text{ г/м}^3$, калію хлорид – $201,29 \text{ г/м}^3$, воду для ін'єкцій та перемішують за температури $40 \pm 10^\circ\text{C}$ за 100хв^{-1} до розчинення, після чого охолоджують до температури $5 \pm 3^\circ\text{C}$ та перевіряють рН $7,4 \pm 0,1$. Отриманий буферний розчин використовують для ресуспендування ВПЧ – $12,50 \text{ г/м}^3$ за перемішування рамною мішалкою 100 хв^{-1} та пропеллерної мішалки за 1500 хв^{-1} протягом 10 хв.

До отриманого розчину, що становить близько 30% об'єму готової форми додають за продовження перемішування компоненти ад'юванта AS03: сквален – $21400,00 \text{ г/м}^3$, DL- α -токоферол – $23760,00 \text{ г/м}^3$, полісорбат 80 – $9700,00 \text{ г/м}^3$ [132].

Після цього доводять тим же буферним розчином до об'єму розчину з розрахунку на концентрацію ВПЧ – $7,50 \text{ г/м}^3$.

Після чого з реактора ГФ-69 відкачують повітря у трубопровід з вакуумом Г6 до $0,02 \text{ МПа}$ та повертають тиск $0,15 \text{ МПа}$ азотом з трубопроводу Г3 який проходить через стерилізуючий фільтр Ф-68. Дану процедуру з видалення кисню із розчину повторюють 3 рази, останній раз повертають тиск $0,1 \text{ МПа}$.

Протягом усього процесу температура не повинна підійматися вище 8°C або опускатися нижче 2°C . Готовий розчин прокачують насосом Н-70 через

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		53

мембранний фільтр Ф-71 для стерилізації діаметром пор 0,22 мкм безпосередньо перед подачею на етап ПМВ 14.1.

ПМВ 14 Пакування, маркування та відвантаження

ПМВ 14.1 Наповнення шприців

Стерильні одноразові шприци для попереднього заповнення номінальним об'ємом 1 см³ надходять на машину ГФ-73, яка автоматично вливає 0,5 см³ розчину готової лікарської форми за температури $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$, закупорює їх гумовим корком та запаковує у герметичний пакет в стерильних умовах чистої зони класу А.

Наповнені та закупорені шприци перевіряють на герметичність зануренням у розчин метиленового синього з вакуумуванням та відновленням тиску у обладнанні ГФ-74.

ПМВ 14.2 Пакування в пачки

Готові одноразові попередньо наповнені шприци у герметичних пакетах, разом із герметичним пакетом, що містить голку до шприца та інструкцією до лікарського засобу вкладають пакувальники в картонні пачки із зазначеною на них інформацією, та необхідним маркуванням на конвеєрі ГФ-75. Кожен шприц оглядають, та у випадку виявлення порушення якості, таких як зміна кольору, випадіння осаду, невідповідність об'єму, порушення герметичності та інші, шприци вилучають та зберігають для інспекції, а інформацію передають представникам відділу контролю якості підприємства.

ПМВ 14.3 Пакування у групову упаковку

Пачки з наповненими шприцами вкладають у шоубокси, а ті у свою чергу у картонні коробки та заклеюють клейкою стрічкою, наносять необхідне маркування. Коробки із готовою продукцією відправляються на склад готової продукції.

ЗВ 15 Знешкодження відходів та викидів

У відповідності до Закону України «Про управління відходами» (2023, № 17, ст.75) відходи утворені на проєктованому підприємстві є небезпечними та потребують особливих заходів утилізації.

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						54
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Рідкі відходи відстоюють у відстійниках, та окремо видаляють осад. Відстояні стічні води знезаражують ультрафіолетовим випромінюванням. Тверді відходи передають компанії сертифікованій для поводження із небезпечними відходами для знищення. Відпрацьоване повітря пропускають через фільтр, звідки випускають в атмосферу.

3.2 Матеріали основні і допоміжні

Характеристику сировини, необхідної для реалізації технології, наведено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. – Характеристика основної та допоміжної сировини та матеріалів

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення
1. Основна сировина		
Натрію гідрофосфат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Калію дигідрофосфат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Натрію хлорид	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Калію хлорид	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Магнію хлориду гексагідрат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Натрію гідроксид	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Калію гідроксид	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Хлоридна кислота	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Оцтова кислота	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Сквален	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
DL-α-токоферол	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Полісорбат 80	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Сахароза	ДСТУ 4623-2006.	Усі показники згідно з наведеним стандартом
D-глюкоза	ДСТУ 4464:2005.	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Азот	ISO 8573-1:2010	Усі показники згідно з наведеним стандартом
2. Допоміжна сировина		
ЕДТА	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Натрію гіпохлорид	ДСТУ EN 15077:2020	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Ізодециловий спирт	ДСТУ 2216-93	
Гідроксид натрію	ДСТУ ISO 979-2001	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Вода очищена	ДФУ	Усі показники у відповідності до державної фармакопеї України
Вода для ін'єкцій	ДФУ	Усі показники у відповідності до державної фармакопеї України

Повітря стиснене	ISO 8573-1:2010	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Торф	РСТ УССР 1958-85	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Пісок	ДСТУ Б В.2.7-32-95	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Добриво мінеральне	ДСТУ EN 13535:2012	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Пептон	ISO 11290-2:1998	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Дріжджовий екстракт	ТУ 9385-007-39484474-2003	Усі показники згідно з наведеними технічними умовами
Агар-агар	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Канаміцин	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Рифампіцин	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Кінетин	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Індоліл-3-масляна кислота	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Ацетосирингон	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
MES	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Амонію сульфат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Магнію сульфату гептагідрат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Кальцію хлориду дигідрат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Магнію хлориду гексагідрат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Натрію ЕДТА	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Кобальту хлорид	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Феруму сульфат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Мангану сульфат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Цинку сульфат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Купруму сульфат	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Мезоінозит	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Нікотинова кислота	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Піридоксину гідрохлорид	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Тіаміну гідрохлорид	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами
Гліцин	ДСТУ 2216-93	Усі показники згідно з наведеними стандартами

3. Матеріали

Чашки Петрі	ТУ У 23.1-36265663-001:2016	Усі показники згідно з наведеними технічними умовами
Банки скляні, 250/1000 см ³	ДСТУ ГОСТ 5717.2:2006	Усі показники згідно з наведеними технічними умовами
Горщики пластикові	ТУ У 22.2-36265663-002:2016	Усі показники згідно з наведеними технічними умовами
Шприці	ISO 13485:2016	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Корки гумові	ISO 13485:2016	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Голки ін'єкційні	ISO 13485:2016	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Пакети пакувальні поліетиленові	ДСТУ ISO 15378:2019	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Пачки пакувальні картонні	ст. 12 Закону України «Про лікарські засоби»	Всі вимоги до вторинного пакування згідно із наведеним законом та стандартом

	ДСТУ 7276:2012	
Інструкції до лікарського засобу	Наказ МОЗ України від 26.08.2005 № 426	Вимоги щодо оформлення інструкції до лікарського засобу згідно із наведеним наказом
Шоубокси	ДСТУ 7276:2012	Усі показники згідно з наведеним стандартом
Ящики гуртові з гафрокартону	ДСТУ 8401:2015	Показники матеріалу ящиків з гафрокартону згідно із наведеним стандартом

3.3 Контроль виробництва

Параметри контролю для кожної контрольної точки та виду контролю, а також норми технологічного режиму наведено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2. – Точки і параметри контролю виробництва

№	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
1	ДР 1.2.1 Приготування мийного дезінфекційного розчину	Маса Об'єм	Кожна операція	$5,0 \pm 0,1 \text{ кг/м}^3$ $10,0 \pm 0,1 \text{ кг/м}^3$ $1,0 \pm 0,1 \text{ кг/м}^3$	Кт Ваги технічні Витратомір
2	ДР 1.2.2 Приготування лужного мийного розчину	Концентрація Температура	Кожна операція	$20 \pm 2 \text{ кг/м}^3$ $40 \pm 5^\circ\text{C}$	Кт, Кх Ваги технічні, Термометр
3	ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень	Мікробіологічна чистота	Кожна операція	Класи: А: КУО<1 /м ² В: КУО<10/м ²	Км Висів на агар мазків
4	ДР 1.4 Підготовка обладнання та комунікацій	Стерильність Мікробіологічна чистота Температура	Кожна операція	Стерильне КУО<10/м ² $140 \pm 3^\circ\text{C}$	Кт, Км Змиви Термометр
5	ДР 2.1 Підготовка повітря для приміщень	Мікробіологічна чистота	Кожна операція	Класи: А: КУО<1 /м ² В: КУО<10/м ²	Км Висів на агар
6	ДР 2.2 Підготовка стерильного стисненого повітря	Стерильність Температура	Кожна операція	Стерильне $120 \pm 1^\circ\text{C}$	Кт, Км Висів на агар Термометр
7	ДР 3.1 Підготовка води очищеної	Стерильність Електропровідність	Кожна операція	Стерильна < 20 мкСм/см	Кт, Кх, Км Висів на агар Кондуктометр
8	ДР 3.2 Підготовка води для ін'єкцій	Стерильність Вміст бак. ендотоксинів Електропровідність	Кожна операція	Стерильна < 0,25 МО бак. ендотоксинів < 1,1 мкСм/см	Кт, Кх, Км Висів на агар Біологічне випробування Кондуктометр

9	ДР 4.1.1 Приготування розчину натрію гідроксиду	Маса рН	Кожна операція	$80 \pm 1 \text{ кг/м}^3$ $\text{pH} \gg 7$	Кт, Кх Ваги технічні рН-метр
10	ДР 4.1.2 Приготування розчину калію гідроксиду	Маса рН	Кожна операція	$112 \pm 1 \text{ кг/м}^3$ $\text{pH} \gg 7$	Кт, Кх Ваги технічні рН-метр
11	ДР 4.1.3 Приготування розчину хлоридної кислоти	Маса рН	Кожна операція	$243 \pm 1 \text{ кг/м}^3$ $\text{pH} \ll 7$	Кт, Кх Ваги технічні рН-метр
12	ДР 4.1.4 Приготування розчину оцтової кислоти розчину для екстракції	Маса рН	Кожна операція	$60 \pm 1 \text{ кг/м}^3$ $\text{pH} \ll 7$	Кт, Кх Ваги технічні рН-метр
13	ДР 4.2 Приготування розчину для екстракції	рН Температура	Кожна операція	$\text{pH } 8,0 \pm 0,1$ $25 \pm 5^\circ\text{C}$	Кт, Кх рН-метр Термометр
14	ДР 4.3 Приготування фосфатно-сольового буферу	рН Температура	Кожна операція	$\text{pH } 7,5 \pm 0,1$ $60 \pm 10^\circ\text{C}$	Кт, Кх рН-метр Термометр
15	ДР 4.4 Приготування елюенту для афінної хроматографії	рН Температура	Кожна операція	$\text{pH } 4,3 \pm 0,1$ $55 \pm 5^\circ\text{C}$	Кт, Кх рН-метр Термометр
16	ДР 4.5 Приготування стерилізація середовищ для агробактерій	рН Температура Стерильність Тиск Органолептичні показники	Кожна операція	$\text{pH } 7,0 \pm 0,1$ $121 \pm 2^\circ\text{C}$ Стерильні $0,20 \pm 0,01 \text{ МПа}$ Без осаду і помутніння	Кт, Кх, Км рН-метр Термометр Манометр
17	ДР 4.6 Приготування стерилізація поживного середовища для рослин	рН Температура Стерильність Тиск Органолептичні показники	Кожна операція	$\text{pH } 5,7 \pm 0,1$ $121 \pm 2^\circ\text{C}$ Стерильні $0,20 \pm 0,01 \text{ МПа}$ Без осаду і помутніння	Кт, Кх, Км рН-метр Термометр Манометр
18	ДР 4.7 Підготовка субстрату для вирощування рослин	Масове співвідношення	Кожна операція	90% 10%	Кт Ваги
19	ДР 4.8 Приготування розчину добрива	Температура	Кожна операція	$45 \pm 5^\circ\text{C}$	Кт Термометр
20	ДР 5.1 Відновлення музейної культури вектору	Температура Оптична густина	Кожна операція	$28,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ > 1,0 Відповідає	Кт, Кх, Км Термометр Спектрофотометр

		Генетична відповідність			Ампліфікатор
21	ДР 5.2 Накопичення вектору в банках	Температура Чистота культури	Кожна операція Що 12 год	$28 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ Відсутність сторонньої мікрофлори	Кт, Кх, Км Термометр Мікроскоп
22	ДР 5.3 Накопичення вектору у ферментері	Температура Чистота культури	Що 12 год	$28 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ Відсутність сторонньої мікрофлори	Кт, Кх, Км Термометр Мікроскоп
23	ДР 5.4 Сепарація клітин вектору	Доцентрове прискорення	Кожна операція	5000g	Кт Центрифуга
24	ДР 5.5 Приготування суспензії для інфільтрації	Оптична густина рН Чистота культури	Кожна операція	$\text{OD}_{600} = 1,0 \pm 0,1$ $\text{pH } 5,6 \pm 0,01$ Відсутність контамінації	Кт, Кх, Км Спектрофотометр Мікроскоп Ампліфікатор
25	ДР 6.1 Мікроклональне розмноження	Світловий потік Температура	Що 6 год	$30 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$	Кт Фотометр Термометр
26	ДР 6.2 Коренегенез	Світловий потік Температура	Що 6 год	$30 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$	Кт Фотометр Термометр
27	ТП 7 Культивування самостійних рослин	Світловий потік Температура Вологість	Що 6 год	$150 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ $70 \pm 10\%$	Кт Фотометр Термометр Психометр
28	ТП 8 Вакуумна інфільтрація	Тиск рН	Кожна операція	$0,030 \pm 0,005 \text{ МПа}$ $\text{pH } 5,6 \pm 0,1$	Кт, Кх Вакуумметр рН-метр
29	ТП 9 Експресія	Світловий потік Температура Вологість	Що 6 год	$150 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ $70 \pm 10\%$	Кт Фотометр Термометр Психометр
30	ТП 10 Збирання рослинного біоматеріалу, гомогенізація і екстракція	Маса та об'єм Температура Доцентрове прискорення	Кожна операція	1 кг на 1,5 л $10 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 5000g	Кт Ваги технічні Витратомір Центрифуга
31	ТП 11 Грубе очищення ВПЧ	Температура рН Доцентрове прискорення	Кожна операція	$40 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ $8 \pm 2^{\circ}\text{C}$ $\text{pH } 6,0 \pm 0,1$ 10000g	Кт, Кх Термометр рН-метр Центрифуга
32	ТП 12.1 Іонообмінна хроматографія	Температура рН	Кожна операція	$8 \pm 2^{\circ}\text{C}$ $\text{pH } 7,5 \pm 0,1$	Кт, Кх рН-метр Термометр
33	ТП 12.2 Афінна хроматографія	Температура рН	Кожна операція	$8 \pm 2^{\circ}\text{C}$ $\text{pH } 4,3 \pm 0,1$	Кт, Кх рН-метр Термометр
34	ТП 12.3 Ультрафільтрація	Температура рН	Кожна операція	$5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ $\text{pH } 7,4 \pm 0,1$	Кт, Кх Термометр

			Доцентрове прискорення		10000g, 14000g	рН-метр Центрифуга
35	ГП Приготування суспензії ін'єкцій	13 для	Тиск Температура рН Апірогенність Аномальна токсичність	Кожна операція	0,02 МПа, 0,15 МПа $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ рН $7,4 \pm 0,1$ Апірогенний Відсутня	Кт, Кх, Км Вакуумметр Манометр Термометр рН-метр Біологічні об'єкти
36	ПМВ Наповнення шприців	14.1	Температура Герметичність	Кожна операція	$5 \pm 3^{\circ}\text{C}$	Кт Термометр Занурення під вакуумом
37	ПМВ Пакування в пачки	14.2	Цілісність упаковки	Кожна операція	Відсутність видимих ушкоджень, змін кольору, прозорості	Кт Візуальний огляд

3.4 Матеріальний баланс виробництва

Враховуючи розглянуту актуальність проблеми відсутності вітчизняного виробництва вакцин та збереження високої захворюваності на COVID-19, а також попиту на вакцинацію від цього захворювання, для повного покриття потреб всередині України та виходу на міжнародний ринок торгівлі із перспективою подальшого розширення виробництва, прийmemo кількість виготовлення продукту, як 3 млн доз або 1500 дм³ готової лікарської форми на рік. Дана кількість відповідає виробництву близько 11,25 г ВПЧ на рік. Отже, приймаємо добову норму виробництва 10000 доз або 37,5 мг ВПЧ (табл. 3.3).

Таблиця 3.3. – Матеріальний баланс виробництва.

Використано					Отримано				
Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість				Назва кінцевого продукту або напівпродукту, відходів та втрат	Кількість			
	г	мг	мл	шт		г	мг	мл	шт
Стадія ТП 7 Культивування повністю розвинених рослин									
Рослини				51	Висаджені рослини, в тому числі:				51
Субстрат			153000		Горщики				51
Горщики				51	Субстрат			153000	

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						60
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Всього	0	0	153000	102		0	0	153000	102
Стадія ТП 8 Вакуумна інфільтрація									
Суспензія вектору			136688		Залишки суспензії			106250	
Горщики з рослинами				51	Горщики з рослинами				51
					в тому числі: увібрана суспензія			30438	
Всього	0	0	136688	51	Всього	0	0	136688	51
Стадія ТП 9 Експресія									
Горщики з рослинами				51	Горщики з рослинами				51
в тому числі: увібрана суспензія			30438		Водяна пара виражена у рідкій воді			30438	
Всього	0	0	30438	51	Всього	0	0	30438	51
Стадія ТП 10 Збирання рослинного біоматеріалу, гомогенізація і екстракція									
Горщики з рослинами, у тому числі:				51	Екстракт ВПЧ	11667,9			
Субстрат	122400		153000		Використаний субстрат	122400		153000	
Рослинний біоматеріал	5073				Горщики порожні				51
Буфер для екстракції	7609,5				Відходи тверді	1014,6			
Всього	135082,5	0	153000	51	Всього	135083	0	153000	51
Стадія ТП 11 Грубе очищення									
Екстракт ВПЧ у тому числі ВПЧ	11667,9	50,73			Очищений екстракт ВПЧ у тому числі ВПЧ	10501,1	49,74		
Діатоміт	5,83				Втрати 20%		0,99		
					Відходи тверді	1172,62			
Всього	11673,73	50,73	0	0	Всього	11673,7	50,73	0	0
Стадія ТП 12 Тонке очищення ВПЧ									
Очищений екстракт ВПЧ у тому числі ВПЧ	10501,11	49,74			ВПЧ		38,26		
					Втрати 30%		11,48		
Буфер для промивання катіонообмінної колонки			2100		Сукупні рідкі відходи, в тому числі:			4399	
Елюент для катіонообмінної колонки			2100		Рухома фаза завантаження катіонообмінної колонки	10501,1			

Буфер для промивання афінної колонки			49,74		Полісорбат 80		0,75		
Елюент для афінної колонки			149,22						
Полісорбат 80		0,75							
Всього	10501,11	50,49	4399,4	0	Всього	10501,1	50,49	4399,4	0

Стадія ТП 13 Приготування суспензії для ін'єкцій

ВПЧ		38,26			Суспензія для ін'єкцій	5070,96		5050,00	
натрію гідрофосфат	7,17				у тому числі ВПЧ		37,88		
калію дигідрофосфат	1,24				втрати 1%		0,38		
натрію хлорид	40,43				Суміш повітря-азот (н.у.)			30000	
калію хлорид	1,02								
сквален	108,07		133,42						
DL-α-токоферол	119,99		126,31						
полісорбат 80	48,99		46,22						
Вода для ін'єкцій	4744,05		4744,05						
Азот (н.у.)			30000						
Всього	5070,96	38,26	35050,00	0,00	Всього	5070,96	38,26	35050,00	0,00

Стадія ПМВ 14 Пакування, маркування та відвантаження

Суспензія для ін'єкцій			5050,00		Готовий лікарський засіб, розфасований і запакований, у тому числі:				10000
ВПЧ		37,88			Суспензія для ін'єкцій			5000,00	
Шприци скляні одноразові для попереднього заповнення				10000	ВПЧ		37,50		
Корки гумові				10000	втрати 1%		0,38	50	
Голки ін'єкційні				10000	Корки гумові				10000
Пакети поліетиленові				10000	Голки ін'єкційні				10000
Інструкції до лікарського засобу				10000	Пакети поліетиленові				10000

Пачки картонні				10000	Інструкції до лікарського засобу				10000
Шоубокси				1000	Пачки картонні				10000
Ящики гуртові з гафрокартону				100	Шоубокси				1000
					Ящики гуртові з гафрокартону				100
Всього	0		5050	61100	Всього	0		5050	61100

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						63
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ

4.1 Конструктивний розрахунок вакуумної камери

Метою розрахунку основних розмірів вакуумної камери для агроінфільтрації рослин є отримання інформації необхідної для подальших розрахунків які впливають на прийняття конструктивних рішень.

Оскільки планується розміщення до 6 рослин за один цикл інфільтрації по колу, а кожна доросла рослина *Nicotiana benthamiana* має розкид листків діаметром близько 250 мм та висоту росту 300 мм, то діаметр циліндричної частини вакуумної камери складає: $D = 1000 \text{ мм}$

Враховуючи, що висота стовпа рідини складає 300 мм, робочий об'єм суспензії становить:

$$V_p = \frac{\pi D^2 h}{4} = \frac{3,14 \cdot 1^2 \cdot 0,3}{4} = 0,233 \text{ м}^3 \quad (4.1)$$

Висота еліптичної частини апарату: $h_g = D \cdot 0,25 = 1000 \cdot 0,25 = 250 \text{ мм}$;

Загальну висоту циліндричної частини вакуумної камери обирають із врахуванням висоти рослин та горщиків у яких вони знаходяться, тому

Висота циліндричної частини апарату: $h_g = D \cdot 0,25 = 1000 \cdot 0,25 = 250 \text{ мм}$;

Висота основи еліптичного днища: $h_1 = 25 \text{ мм}$;

Товщина стінки еліптичного днища: $s_d = 10 \text{ мм}$;

Товщина стінки циліндричної частини: $s_{ц} = 10 \text{ мм}$;

Ємність еліптичного днища: $V_{дн} = 0,1499 \text{ м}^3$;

Таким чином, висота циліндричної частини становить:

$$H_{ц} = \frac{4(V_p - V_{дн})}{\pi D^2} + h_g = \frac{4 \cdot (0,233 - 0,150)}{3,14 \cdot 1^2} + 0,1 = 0,12 \text{ м} = 120 \text{ мм} \quad (4.2)$$

Загальна висота апарату становить:

$$H = H_{ц} + (h_1 + h_g) \cdot 2 = 110 + (250 + 25) \cdot 2 = 670 \text{ мм} . \quad (4.3)$$

					МД ББЗІ. 12.000 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Савченко Т.А.				ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ		Літ.	Арк.
Конс.								Аркуші
							64	119
Керів.	Маринченко Л.В.				КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ, ББ-ЗІмп			
Затверд.								

Час зливу залишків суспензії приймаємо 10 хв. Тоді її об'ємні витрати становлять:

$$W_{з.с.} = \frac{V_{з.с.}}{\tau_{зл}} = \frac{0,223}{10 \cdot 60} = 3,7 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3/\text{с}, \quad (4.4)$$

де $V_{зс} = V_p$ – об'єм суспензії по завершенню інфільтрації, м³; $\tau_{зл}$ – обраний час зливу.

Діаметр патрубку для виводу продукту, за швидкості руху рідини 0,5 м/с:

$$d_{ум.з.с.} = \sqrt{\frac{4W_{з.с.}}{\pi \omega_{з.с.}}} = \sqrt{\frac{4 \cdot 3,7 \cdot 10^{-3}}{3,1416 \cdot 0,5}} = 0,1 \text{ м.}$$

Приймаємо штуцер для зливу суспензії з діаметром $d_{ум.з.с.} = 100$ мм, товщиною стінки $S_{ум.з.с.} = 6,0$ мм та довжина патрубка $l_{ум.з.с.} = 150$ мм.

Суспензія на вхід у камеру подається насосом, тому швидкість руху рідини є вищою та час наповнення скорочується. Час подачі суспензії приймаємо 5 хв:

$$W_{с.} = \frac{V_{с.}}{\tau_{н}} = \frac{0,223}{5 \cdot 60} = 7,4 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3/\text{с}, \quad (4.5)$$

Діаметр патрубку для виводу продукту, за швидкості руху рідини 0,5 м/с:

$$d_{ум.з.с.} = \sqrt{\frac{4W_{з.с.}}{\pi \omega_{з.с.}}} = \sqrt{\frac{4 \cdot 7,4 \cdot 10^{-3}}{3,1416 \cdot 4}} = 0,049 \text{ м.} \quad (4.6)$$

Приймаємо штуцер для зливу суспензії з діаметром $d_{ум.з.с.} = 50$ мм, товщиною стінки $S_{ум.з.с.} = 4,0$ мм та довжина патрубка $l_{ум.з.с.} = 150$ мм.

4.2 Визначення теплофізичних властивостей суспензії вектору

Метою даного розрахунку є встановлення основних теплофізичних властивостей суспензії для інфільтрації, на яких базується вибір устаткування вакуумної камери.

Вихідні дані:

- Температура суспензії початкова $t_{1п} = 28$ °С;
- Температура суспензії кінцева $t_{1к} = 20$ °С;

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		65

- Початкова температура холодного теплоносія (вода) $t_{2п} = 18\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- Кінцева температура холодного теплоносія $t_{2к} = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Середня температура теплоносія:

$$t_{2cp} = \frac{t_{1n} + t_{1к}}{2} = \frac{18 + 22}{2} = 20\text{ }^{\circ}\text{C}. \quad (4.13)$$

Питома теплоємність гарячого носія:

$$C_2 = C_{\epsilon}^{20^{\circ}\text{C}} = 4183\text{ Дж/}(\text{кг} \cdot \text{K}).$$

Густина теплоносія:

$$\rho_2 = \rho_{\epsilon}^{20^{\circ}\text{C}} = 998,2\text{ кг/м}^3.$$

Теплопровідність теплоносія:

$$\lambda_2 = \lambda_{\epsilon}^{20^{\circ}\text{C}} = 0,599\text{ Вт/}(\text{м} \cdot \text{K}).$$

Кінетична в'язкість теплоносія:

$$\mu_2 = \mu_{\epsilon}^{20^{\circ}\text{C}} = 1004 \cdot 10^{-6}\text{ Па} \cdot \text{с}.$$

Кінематична в'язкість теплоносія:

$$\nu_2 = \nu_{\epsilon}^{20^{\circ}\text{C}} = 1,006 \cdot 10^{-6}\text{ м}^2/\text{с}.$$

Коефіцієнт теплового об'ємного розширення:

$$\beta_2 = \beta_{\epsilon}^{20^{\circ}\text{C}} = 1,82 \cdot 10^{-4}\text{ K}^{-1}.$$

Теплофізичні властивості суспензії вектору

Теплоємність розчину глюкози становить, Дж/(кг · К):

$$C_1 = 4187 - 46,14n + (0,0687n - 0,05)T. \quad (4.14)$$

Оскільки основним компонентом є глюкоза концентрацією 5%, тоді, відповідно до (4.14):

$$\begin{aligned} C_1 &= 4187 - 46,14 \cdot 5 + (0,0687 \cdot 5 - 0,05)(273,15 + 20) = \\ &= 4042,34\text{ Дж/}(\text{кг} \cdot \text{K}). \end{aligned}$$

Густина суспензії вектору:

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						66
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$\rho_1 = 1173 + 4,64n - 0,589T = 1173 + 4,64 \cdot 5 - 0,589 \cdot (273,15 + 20) = 1023,53 \text{ кг/м}^3. \quad (4.15)$$

Кінетична в'язкість поживного середовища [58]:

$$\mu_1 \cdot 10^2 = (2,7 + 0,192n)t^{-m}; \quad (4.16)$$

$$\mu_1 = \frac{(2,7 + 0,192 \cdot 5) 20^{-0,426}}{10^2} = 10,22 \cdot 10^{-3} \text{ Па} \cdot \text{с}.$$

Теплопровідність поживного середовища:

$$\lambda_1 = \frac{0,663 - 0,0057n}{1000\alpha_1} \rho_1 = \frac{0,663 - 0,0057 \cdot 5}{1000 \cdot 1,144} 1023,53 = 0,5677 \text{ Вт/(м} \cdot \text{К)}, \quad (4.17)$$

$$\text{де } \alpha_1 = \alpha_{273\text{К}} \cdot \frac{\lambda_{273\text{К}}}{\lambda_{e,1}} \cdot \frac{\rho_{e,1}}{\rho_{273\text{К}}} = 1,240 \cdot \frac{0,569}{0,6146} \cdot \frac{996,2}{999,8} = 1,144 - \text{коефіцієнт.}$$

Поверхневий натяг:

$$\sigma_1 \cdot 10^3 = 75 - 0,183(1,46n + t); \quad (4.17)$$

$$\sigma_1 = \frac{75 - 0,183(1,46 \cdot 5 + 20)}{10^3} = 70,00 \cdot 10^{-3} \text{ Н/м}.$$

4.3 Розрахунок механічного перемішувального пристрою

З метою підтримування рівномірної концентрації вектору у суспензії виконують перемішування.

З рекомендованого для лопатевої мішалки співвідношення до діаметру апарату:

$$d_m = \frac{D}{3} \div \frac{D}{4} = \frac{1000}{4} = 250 \text{ мм}, \quad (4.7)$$

де d_m – діаметр перемішуючого пристрою; D – внутрішній діаметр ємності.

Обираємо перемішуючий пристрій відповідно до стандартного з наступними параметрами:

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						67
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

діаметр $d_m = 250$ мм, висота $h_m = 70$ мм, ширина лопаті перемішуючого пристрою $b_m = 50$, товщина лопаті $S_m = 4$ мм, діаметр валу $d_g = 25$ мм.

Довжина лопаті:

$$l_m = \frac{d_m - d_1}{2} = \frac{d_m - 0,5d_m}{2} = 0,25d_m = 0,25 \cdot 250 = 63 \text{ мм.} \quad (4.8)$$

Висота розміщення перемішуючого пристрою над днищем апарату:

$$h = (0,4 \div 0,1) \cdot d_m = 0,1 \cdot 250 = 25 \text{ мм.} \quad (4.9)$$

Рекомендовано встановлювати один перемішуючий пристрій на кожні 20 м^3 , отже приймаємо 1 перемішуючий пристрій.

Приймаємо значення частоти обертання мішалки $n = 100 \text{ хв}^{-1} = 10,5 \text{ рад/с}$.

Відцентровий критерій Рейнольдса:

$$\text{Re} = \frac{nd_m^2}{\nu_1} = \frac{nd_m\rho_1}{\mu_1} = \frac{10,5 \cdot 0,250^2 \cdot 1023,53}{10,22 \cdot 10^{-3}} = 65723,2 \quad (4.19)$$

Знаходимо критерій потужності K_N за розрахованим значенням Re (рис. 4.1):

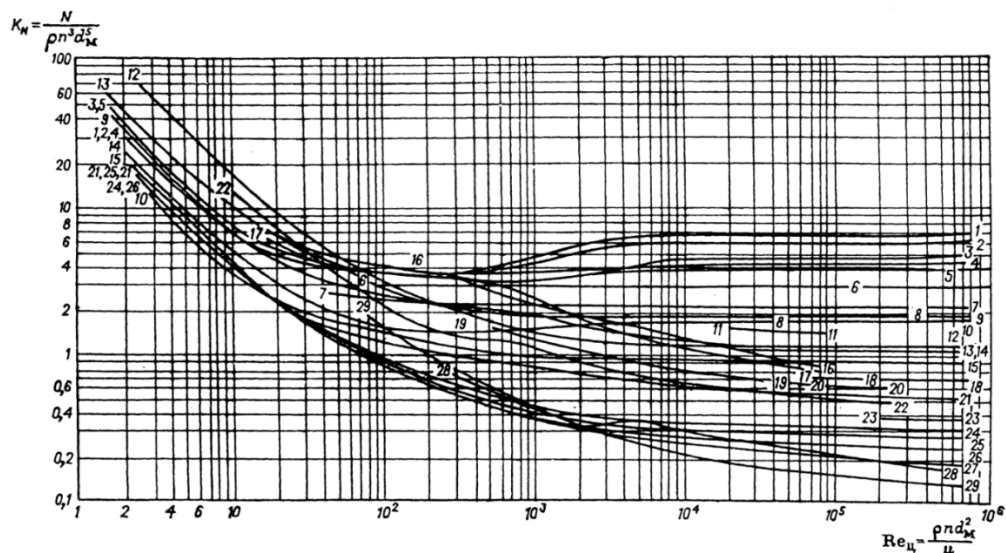


Рисунок 4.2 – Залежність K_N від Re (20 – для дволопатевої мішалки)

Потужність, що витрачається на перемішування однією мішалкою:

$$N_p = K_N \rho_1 n^3 d_m^5 = 0,85 \cdot 1023,53 \cdot 10,5^3 \cdot 0,250^5 = 983,5 \text{ Вт,} \quad (4.20)$$

де K_N - критерій потужності.

Потужність, що витрачається на подолання тертя в торцевому ущільненні:

$$N_{\text{ущ}} = 6020 \cdot d_g^{1,3} = 6020 \cdot 0.025^{1,3} = 49,8 \text{ Вт.}$$

(4.22)

Потужність привода перемішуючого пристрою:

$$N_{\text{ел}} = \frac{K_n K_H \sum K_i \cdot N_p + N_{\text{ущ}}}{\eta} = \frac{0,548 \cdot 1,5 \cdot 1,25 \cdot 983,5 + 49,8}{0,85} = 1276,8 \text{ Вт,}$$

(4.23)

де $K_n = \sqrt{\frac{H_p}{D}} = \sqrt{\frac{0,30}{1,00}} = 0,548$ – коефіцієнт рівня густини в апараті;

$K_H = 1,25$ – коефіцієнт врахування відсутності перегородок в апараті;

$\sum K_i = 1,5$ – коефіцієнт врахування внутрішніх пристроїв ферментера;

$\eta = 0,85 \div 0,9$ – коефіцієнт корисної дії, приймаємо 0,9.

За отриманими даними, обираємо електродвигун з достатньою номінальною потужністю:

$$N_{\text{ел}} = 3,0 \text{ кВт} (> 1,28 \text{ кВт}).$$

4.4 Тепловий розрахунок

Метою даного розрахунку є встановлення необхідної площі поверхні теплообміну для вакуумної камери.

Для встановлення необхідного ефекту, який має бути отриманим у результаті процесу теплообміну з ціллю забезпечення оптимальних умов інфільтрації вектору необхідно розрахувати баланс теплової енергії процесу.

Потужність надходження дисипативної енергії від перемішуючого пристрою:

$$N_{\text{дис}} = N_p = 983,5 \text{ Вт} \quad (4.35)$$

Тоді, необхідне теплове навантаження теплообмінних пристроїв ферментера упродовж процесу культивування:

$$Q_N = N_{\text{дис}} = 983,5 \text{ Вт} \quad (4.44)$$

Витрати холодного носія (води):

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						69
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$G_2 = \frac{Q_N}{C_2 \cdot \Delta t_2} = \frac{983,5}{4183 \cdot (22 - 18)} = 0,059 \text{ кг/с.}$$

(4.45)

Об'ємні витрати теплоносія:

$$W_2 = \frac{G_2}{\rho_2} = \frac{0,059}{998,2} = 59,11 \cdot 10^{-6} \text{ м}^3/\text{с.}$$

(4.46)

Мінімальне значення коефіцієнта теплопередачі для випадку теплообміну від рідини до рідини:

$$K_{\min} = 800 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)}.$$

Тоді, орієнтовна площа поверхні теплообміну:

$$F_{op} = \frac{Q_N}{K_{\min} \cdot \Delta t_2} = \frac{983,5}{800 \cdot 4} = 0,307 \text{ м}^2.$$

(4.47)

Розрахунок площі поверхні теплообміну:

Визначення коефіцієнта тепловіддачі від середовища до внутрішньої стінки апарату

Коефіцієнт тепловіддачі від середовища в реакторі до стінки апарата визначають за значенням критерія Нуссельта:

$$Nu = \frac{\alpha \cdot D}{\lambda}; \quad \alpha = \frac{Nu \cdot \lambda}{D}, \quad (4.48)$$

Критерій Нуссельта розраховують за наступною формулою:

$$Nu_1 = C \cdot Re_y^n \cdot Pr^{0,33}. \quad (4.49)$$

Відцентровий критерій Рейнольдса:

$$Re_y = \frac{nd_m^2 \rho}{\mu} = 65723,2. \quad (4.50)$$

Критерій Прандтля для середовища:

$$Pr_1 = \frac{\mu_1 \cdot C_1}{\lambda_1} = \frac{10,22 \cdot 10^{-3} \cdot 4042,34}{0,5677} = 72,77. \quad (4.51)$$

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						70
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Значення коефіцієнтів C і n залежать від типу мішалки, наявності перегородок в апараті та оснащені ферментера сорочкою чи зміювиком. Для реактора з лопатевою мішалкою без перегородок та з сорочкою – $C = 0,360$, $n = 0,67$. Тоді критерій Нуссельта за (4.48):

$$Nu_1 = 0,360 \cdot 65723,2^{0,67} \cdot 72,77^{0,33} = 2503,91$$

Коефіцієнт тепловіддачі:

$$\alpha_1 = \frac{Nu_1 \cdot \lambda_1}{D} = \frac{2503,91 \cdot 0,5677}{1,0} = 1421,47 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)}. \quad (4.52)$$

Визначення коефіцієнта тепловіддачі теплоносія в сорочці

Критерій Нуссельта для теплоносія в сорочці розраховують за формулою:

$$Nu_2 = C(Gr \cdot Pr)^n. \quad (4.53)$$

Критерій Прандтля:

$$Pr_2 = \frac{\mu_2 \cdot C_2}{\lambda_2} = \frac{1004 \cdot 10^{-6} \cdot 4042,34}{0,599} = 6,775. \quad (4.54)$$

Критерій Грасгофа:

$$Gr_2 = \frac{\beta_2 \cdot (t_{cm} - t_{2cp}) \cdot g \cdot H_p^3}{\nu_2^2} =$$

$$= 1,82 \cdot 10^{-4} \cdot \frac{(24 - 20) \cdot 9,8 \cdot 0,30^3}{(1,006 \cdot 10^{-6})^2} = 0,1903 \cdot 10^9 \quad (4.55)$$

де $t_{cm} = \frac{t_{2cp} + t_1}{2} = \frac{20 + 28}{2} = 24 \text{ }^\circ\text{C}$ – наближена температура стінки апарату.

Коефіцієнти C і n залежать від добутку $Gr_2 \cdot Pr_2$. При $10^9 < Gr_2 \cdot Pr_2$:

$$C = 0,15; n = 0,33.$$

Тоді, критерій Нуссельта за (4):

$$Nu_2 = 0,15 \cdot (0,1903 \cdot 10^9 \cdot 6,775)^{0,33} = 152,23. \quad (4.56)$$

Коефіцієнт тепловіддачі:

$$\alpha_2 = \frac{Nu_2 \cdot \lambda_2}{D} = \frac{152,23 \cdot 0,5677}{0,5} = 172,84 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)}. \quad (4.57)$$

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		71

Тоді, розрахований коефіцієнт теплопередачі:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{\delta_{cm}}{\lambda_{cm}} + \frac{1}{\alpha_2}} = \frac{1}{\frac{1}{3338,705} + \frac{0,01}{17,5} + \frac{1}{172,84}} = 150,23 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)}, \quad (4.58)$$

де $\delta_{cm} = 0,010$ м - товщина стінки; $\lambda_{cm} = 17,5$ Вт/(м · К) - теплопровідність сталеві стінки.

Середня різниця температур для процесу охолодження:

$$\Delta t_{cp} = \frac{\Delta t_{\delta} - \Delta t_m}{\ln(\Delta t_{\delta} / \Delta t_m)} = \frac{8 - 2}{\ln(8 / 2)} = 4,33 \text{ }^{\circ}\text{C}, \quad (4.59)$$

де $\Delta t_{\delta} = t_{1n} - t_{2n} = 28 - 18 = 8$ °С - більша різниця температур;

$\Delta t_m = t_{2k} - t_{1k} = 22 - 20 = 2$ °С - менша різниця температур.

Розрахована площа поверхні теплообміну:

$$F_p = \frac{Q_N}{K \cdot \Delta t_{cp}} = \frac{983,5}{150,23 \cdot 4,33} = 1,52 \text{ м}^2. \quad (4.60)$$

Площа теплопередачі еліптичного днища:

$$F_{\delta} = \pi \cdot \left(\frac{D^2}{4} + h_1^2 \right) = 3,1416 \cdot \left(\frac{1,0^2}{4} + 0,025^2 \right) = 0,79 \text{ м}^2. \quad (4.61)$$

$$H_c = \frac{F_p - F_{\delta}}{\pi \cdot D} = \frac{1,52 - 0,79}{3,1416 \cdot 1,0} = 0,232 \text{ м}. \quad (4.61)$$

Оскільки $F_p > F_{op}$, то умови теплообміну виконуються, а отже заданий температурний режим є задовільним для охолодження та утримання температури суспензії у процесі інфільтрації. Додаткові охолоджувальні елементи не є необхідними.

РОЗДІЛ 5. РОЗРОБКА СТАРТАП-ПРОЄКТУ

5.1 Резюме: конкретизація бізнес-ідеї, мети стартапу, об'єкту дослідження, місця розробки у інноваційному ланцюжку цінності.

Бізнес-ідея полягає у отриманні ВПЧ-вакцини від COVID-19 на основі експресії ВПЧ у рослинах.

Об'єктом дослідження є готова лікарська форма ВПЧ-вакцина отримана у рослинах *N. benthamiana* на платформі транзійентної експресії.

Суб'єктами є розробник та споживачі вакцини.

Актуальність полягає у необхідності створення конкурентного продукту у зв'язку з виключною наявністю на ринку вакцин іноземного виробництва.

Метою проекту є розробка ефективної технології отримання вакцини від COVID-19 та доведення її ефективності та рентабельності.

Конкурентні переваги – дешевизна виробництва за рахунок використання рослинного біологічного агенту, гнучка платформа транзійентної експресії може бути швидко адаптована для виробництва вакцин від інших вірусних збудників, відсутність аналогів в Україні та відсутність повних аналогів у світі.

Таблиця 5.1 — Резюме стартап-проекту

Показник	Характеристика
Сутність ідеї	Отримання вакцини від COVID-19 на основі ВПЧ вироблених у рослинах
Наявність аналогів або прототипів ідеї	Вакцина Covifenz компанії Medicago була сертифікована у Канаді.
Основна потреба, яку задовольнить реалізований стартап	Профілактика захворюваності населення від COVID-19
Ступінь розробленості технології реалізації	У розробці
Класифікація продукту стартапу за міжнародною класифікацією товарів	Клас 5 № 050107, вакцини
КВЕД, до якого може належати дане виробництво	21.2 Виробництво фармацевтичних препаратів і матеріалів; 46.46 Оптова

					МД ББ31. 12.000 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗРОБКА СТАРТАП-ПРОЄКТУ			
Розроб.	Савченко Т.А.							
Конс.								
Керів.	Маринченко Л.В.							
Затверд.								
					Літ.	Арк.	Аркушів	
							73	119
					КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ, ББ-31мп			

	торгівля фармацевтичними товарами, 01.28 Вирощування пряних, ароматичних і лікарських культур
Очікувана потужність стартапу	Середнє
За масштабом виробництва	Масове
За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільне
За ресурсами, що споживатимуться	Матеріаломістке, капіталомістке, інформаційномістке
За чисельністю персоналу	Середнє
Органи управління при реалізації стартапу	Керівництво, відділ продажів, маркетингу, виробничий відділ, відділ фармаконагляду, відділ контролю якості, фінансовий, юридичний.
Бажане географічне розташування:	Потужності стартапу: Україні Офіс: Україна, м. Київ Збутова мережа: Україна та решта Європи, середня Азія, Африка, Південна Америка.
Місце ідеї у ланцюжку цінностей інноваційного процесу	Виробництво
Гранична корисність ідеї стартапу	Підвищення рівня здоров'я населення України та світу та швидке реагування на виникнення нових пандемій
Бізнес-модель стартапу	B2B, B2C
Конкуренти вітчизняні	Відсутні
Конкуренти іноземні (ціна, на якому етапі реалізації знаходяться, основні конкурентні переваги, фактори успіху)	Фармацевтичні компанії, що випускають вакцини, однак використовують іншу технологію. Середня вартість однієї дози вакцини становить 276 грн.
Ключові фактори успіху стартапу	Відсутність конкурентів в Україні, екологічність виробництва, підвищена безпека та ефективність ВПЧ-вакцин.
Споживачі (основні на етапі впровадження, групи, орієнтовна чисельність)	Населення України: 2,5 тис. людей на місяць.
Планова кількість продукту розробки для першого етапу реалізації	5000 доз
Споживачі на етапі розвитку	Населення України

Споживачі на етапі зрілості	Світові державні інституції у рамках програм вакцинації населення.
Конкурентна ціна на продукт стартапу	250 грн/дозу
Плановий рівень рентабельності при реалізації продукту	188,5%
Капіталовкладення в проект	135 500 000 грн
Період повернення капіталовкладень у проект	0,46 років
Джерела фінансування	Зовнішні, національне
Основні компоненти продукції стартапу	Наведено у табл. 3.1
Потенційні постачальники складових компонентів розробки	Ruian Xuanli Machinery Co., Ltd. Cytiva Shanghai Iven Pharmatech Engineering Co., Ltd.
Планове місце реалізації результату розробки	Аптечні мережі 90%, лікарні 10%
Наявність посередників при реалізації (так, ні, орієнтовні посередники, форми оплати їх діяльності)	Так, передбачено використання послуг дистриб'юторів. Орієнтовна форма оплати їх діяльності – комісійний відсоток від обсягу продажів
Методи просування результатів розробки на ринок	Прямий маркетинг, прес-інформація, маркетинг взаємовідносин

5.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу

Зовнішнє середовище являє собою оточення, в якому діє організація, і складається головним чином з учасників ринкових відносин.

Таблиця 5.2 – Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища

Фактори	Загрози	Можливості
Економіка		
Ринкові ціни	Інфляція	Регіональні та міжнародні ринки
Підтримка державою	Світові потрясіння	Тендери на розвиток місцевого виробництва
Політика		
Вплив влади США та ЄС	Втрати через погіршення військового становища	Економічне зростання після завершення війни
Підвищення податків	Зменшення прибутку	Підвищення рентабельності локального виробництва
Науково-технічний прогрес		

Розробка нових методів лікування вірусних захворювань	Зникнення потреби у вакцинації людей	Перехід підприємства на виробництво інших продуктів на основі ВПЧ та рекомбінантних білків
Новітність використання ВПЧ як вакцин від COVID-19	Низький рівень відомості населення про переваги продукту	Сприятливий клімат конкуренції
Географія		
Погода і клімат	Необхідність витрат на опалення взимку та охолодження влітку.	Сезонне підвищення захворюваності, що стимулює попит. Можливість використання сонячного світла для вирощування рослин.
Екологічна ситуація	Природні і техногенні катастрофи. Глобальне потепління.	Підвищений інтерес до виробників що використовують рослинні матеріали та мають знижений вуглецевий слід.
Культура		
Скептичне ставлення до вакцин	Велика кількість населення досі боїться використовувати вакцини та не є споживачами продукції. Визначення ВПЧ відлякуватиме людей, які вірять у наявність мікрочипів у паццинах	Відсутність генетичного матеріалу в вакцині та використання рослин може спонукати до зменшення міфів про генетичну модифікацію людей через РНК вакцини або зараження вірусом з атенуйованих або деактивованих вакцин.
Хвилювання щодо побічних ефектів	Потенційні побічні ефекти відлякують деяких людей від вакцинації	Побічні ефекти у ВПЧ вакцин менш виражені ніж у РНК та субодиничних вакцин, що може спонукати обрати саме цей тип вакцини на ринку.

Таблиця 5.3 – Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища

Фактори	Переваги	Недоліки
Конкуренти (фармацевтичні компанії виробники вакцин)	Стабільне положення на ринку. Великий асортимент продукції. Висока якість.	Висока ціна. Низька стабільність та тривалість зберігання. Складність транспортування.
Постачальники	Велика кількість різних дистриб'юторів хімічно чистих речовин. Висока якість сировини. Низька ціна оптових закупівель мінеральних солей та речовин широкого вжитку.	Виробники сировини переважно іноземні. Висока ціна окремих спеціалізованих товарів.
Споживачі	Зростання обізнаності серед населення про власне здоров'я. Позитивне ставлення до вироблених в Україні продуктів.	Скептичність до нових розробок.

Таблиця 5.4 – Аналіз зацікавлених сторін.

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проекту	Цікавість її до проекту	Загальний коефіцієнт впливу на проект
Суб'єкти внутрішнього середовища			
Конкуренти	4	2	3
Постачальники	3	2	2,5
Споживачі	4	4	4
Посередники	4	4	4
Суб'єкти зовнішнього середовища			
Політичні структури	4	1	2,5
Інвестори	5	3	4
Власники географічних об'єктів	2	2	2

Суб'єкти культурного середовища	4	3	3,5
Суб'єкти НТП	2	5	3,5

5.3. Визначення ключових факторів успіху проєкту

Таблиця 5.5 – Оцінка характеристики за методом Шонфільда

Характеристика	Коефіцієнт вагомості характеристики	Оцінка характеристик		
		Наша продукції	Конкурент А	Конкурент Б
Ціна	0,2	5	1	2
Імуногенність	0,3	5	4	5
Побічні реакції	0,3	3	3	4
Ціна доставки в Україну та сусідні країни	0,1	5	2	1
Можливість забезпечення великих виробництв	0,1	5	5	5

Таблиця 5.6 – Бальна характеристика за методом Шонфільда

Характеристика	Оцінка характеристик		
	Наша продукції	Конкурент А	Конкурент Б
Ціна	1	0,2	0,4
Імуногенність	1,5	1,2	1,5
Побічні реакції	1,5	0,9	1,2
Ціна доставки в Україну та сусідні країни	0,5	0,2	0,1
Можливість забезпечення великих виробництв	0,5	0,5	0,5

На підставі отриманих бальних оцінок будується графік порівняння конкурентних переваг нашого підприємства з конкурентами.

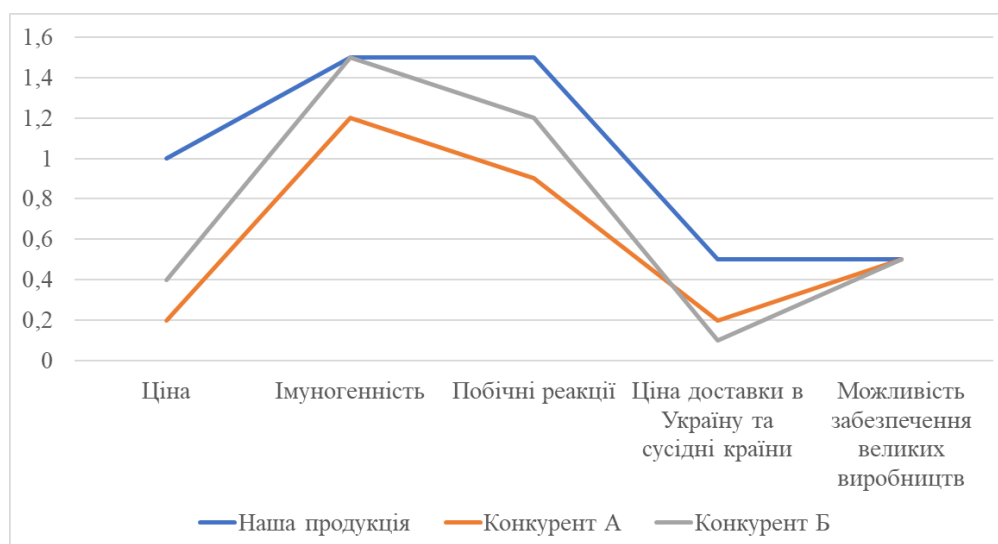


Рисунок 5.1 – Графік порівняння конкурентних переваг проектного підприємства з конкурентами.

На підставі аналізу отриманих результатів, факторами переваги підприємства порівняно з конкурентами є ціна, менша кількість побічних реакцій та ціна доставки в Україну та сусідні країни. Інші параметри, такі як імуногенність вакцини та можливість забезпечення великих виробництв також не поступаються конкурентам.

Таблиця 5.7 — Варіанти розвитку ідеї стартапу

Варіант	Стислий опис можливого розвитку
Найкращий	Висока цікавість до імунізації від COVID-19, значні інвестиції у галузь, державні програми з імунізації населення віддають перевагу місцевому виробництву.
Прийнятний	Попит на вакцини від COVID-19 невисокий, достатні інвестиції,
Несприятливий	Попит на вакцини від COVID-19 низький, серед населення перевага надана відомим вакцинам компаній конкурентів, відсутність інвестицій, відсутність державної програми імунізації населення.

5.4. Визначення потенційних споживачів

Таблиця 5.8 – Класифікація потенційних споживачів

Критерій	Значення
----------	----------

Юридична особа	
Форма власності	Державні, приватні
За масштабом	Малі, середні, великі
КВЕД	46.46 Оптова торгівля фармацевтичними товарами, 47.73 Роздрібна торгівля фармацевтичними товарами в спеціалізованих магазинах
За рівнем спеціалізації	Багатопрофільні, вузькопрофільні
За ресурсами, які споживаються	Капіталомісткі
За чисельністю персоналу	Малі, середні, великі
За сферою діяльності	Дистриб'юторські
За характером діяльності	Фармацевтика
За наявністю вільних ОБЗ	Наявні
За географічним розташуванням	Україна та решта Європи, середня Азія, Африка, Південна Америка
За часткою іноземного капіталу	З іноземними інвестиціями та іноземні підприємства
Фізична особа	
Вік	18-80 років
За платоспроможністю	Низький та середній клас
Тип особистості споживачів	Реаліст, ідеаліст
За інтенсивністю споживання товару	Разове та періодичне придбання
За інформованістю	Самоосвіта, соціальні мережі, ЗМІ, спеціальні джерела

5.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Таблиця 5.9 – Забезпеченість проекту основними засобами

Назва ОЗ	Кількість	Повна початкова вартість ОЗ	Очікуваний постачальник	Джерело фінансування придбання	Амортизація на 5 років
Реактори	44 од.	32 млн. грн	Ruian Xuanli Machinery Co., Ltd.	Фінансові інвестиції; дохід від реалізації	6,4 млн. грн
Фільтри	41 од.	1,25 млн. грн			0,25 млн. грн
Центрифуги	7 од.	2,1 млн. грн			0,42 млн. грн
Теплообмінники	3 од.	600 тис. грн			120 млн. грн

Насоси	26 од.	1,3 млн. грн			0,26 млн. грн
Компресори	2 од.	1 млн. грн			0,2 млн. грн
Колони хроматографії	19 од.	19 млн. грн	Cytiva		3,8 млн. грн
Теплиці	5 од.	7,5 млн. грн	N/A		1,5 млн. грн
Інше обладнання	20 од.	3 млн. грн	Shanghai Iven Pharmatech Engineering Co., Ltd.		0,6 млн. грн
				Сума	133,43 млн. грн/рік

Таблиця 5.10 – Забезпеченість проекту оборотними засобами

Оборотні засоби	Річне використання	Ціна	Вартість
Натрію гідрофосфат	130 кг	250 грн/кг	32500 грн/рік
Калію дигідрофосфат	26 кг	300 грн/кг	7800 грн/рік
Натрію хлорид	325 кг	15 грн/кг	4875 грн/рік
Калію хлорид	39 кг	40 грн/кг	1560 грн/рік
Амонію сульфат	195 кг	35 грн/кг	6825 грн/рік
Магнію сульфату гептагідрат	104 кг	50 грн/кг	5200 грн/рік
Кальцію хлориду дигідрат	78 кг	60 грн/кг	4680 грн/рік
Магнію хлориду гексагідрат	65 кг	75 грн/кг	4875 грн/рік
Натрію ЕДТА	32,5 кг	900 грн/кг	29250 грн/рік
Кобальту хлорид	0,65 кг	1500 грн/кг	975 грн/рік
Феруму сульфат	13 кг	100 грн/кг	1300 грн/рік
Мангану сульфат	10,4 кг	120 грн/кг	1248 грн/рік
Цинку сульфат	6,5 кг	150 грн/кг	975 грн/рік
Купруму сульфат	5,2 кг	130 грн/кг	676 грн/рік
Мезоінозит	2,6 кг	2000 грн/кг	5200 грн/рік
Нікотинова кислота	1,3 кг	1200 грн/кг	1560 грн/рік
Піридоксину гідрохлорид	0,65 кг	3500 грн/кг	2275 грн/рік
Тіаміну гідрохлорид	0,52 кг	3200 грн/кг	1664 грн/рік
Гліцин	39 кг	500 грн/кг	19500 грн/рік
Натрію гідроксид	260 кг	60 грн/кг	15600 грн/рік

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						81
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Калію гідроксид	130 кг	80 грн/кг	10400 грн/рік
Хлоридна кислота	195 л	10 грн/л	1950 грн/рік
Оцтова кислота	130 л	15 грн/л	1950 грн/рік
Канаміцин	1,3 кг	7000 грн/кг	9100 грн/рік
Рифампіцин	0,65 кг	12000 грн/кг	7800 грн/рік
Кінетин	0,13 кг	1500 грн/г	195 грн/рік
Індоліл-3-масляна кислота	0,065 кг	3000 грн/г	195 грн/рік
Ацетосирингон	2,6 кг	2000 грн/г	5200 грн/рік
MES	13 кг	450 грн/кг	5850 грн/рік
Сквален	39 л	25000 грн/л	975000 грн/рік
DL-α-токоферол	45,5 л	8000 грн/л	364000 грн/рік
Полісорбат 80	26 л	300 грн/л	7800 грн/рік
Пептон	65 кг	400 грн/кг	26000 грн/рік
Дріжджовий екстракт	26 кг	500 грн/кг	13000 грн/рік
Агар-агар	26 кг	2500 грн/кг	65000 грн/рік
Сахароза	390 кг	30 грн/кг	11700 грн/рік
Торф	650 кг	10 грн/кг	6500 грн/рік
Пісок	130 кг	5 грн/кг	650 грн/рік
Добриво мінеральне	260 кг	25 грн/кг	6500 грн/рік
D-глюкоза	130 кг	200 грн/кг	26000 грн/рік
Азот	650 л	5 грн/л	3250 грн/рік
ЕДТА	32,5 кг	900 грн/кг	29250 грн/рік
Натрію гіпохлорид	65 л	25 грн/л	1625 грн/рік
Ізодециловий спирт	39 л	150 грн/л	5850 грн/рік
Гідроксид натрію	195 кг	60 грн/кг	11700 грн/рік
		Сума	1,75 млн. грн/рік

Таблиця 5.11 – Трудові ресурси проекту

Посада	Кількість	Заробітна плата, грн	ЄСВ, грн	Фонд оплати праці, грн
Оператори основного обладнання	15	25000	5500	5490000
Інженери-технологи	2	35000	7700	1024800
Лаборанти/аналітики	4	22000	4840	1288320
Механіки/електрики	5	25000	5500	1830000
Складські працівники	6	14000	3080	1229760
Працівники з прибирання	4	16000	3520	936960
Бухгалтери/HR/менеджмент	5	30000	6600	2196000
Маркетологи	4	30000	6600	1756800
Фахівці контролю якості	2	35000	7700	1024800

Фахівець із фармаконагляду	1	35000	7700	512400
Фахівці відділу реєстрації	2	35000	7700	1024800
Фахівець медичного відділу	1	35000	7700	512400
Медичні представники	4	30000	6600	1756800
			Сума	20583840

Розрахунок собівартості однієї дози ВПЧ вакцини від COVID-19 виготовленої *in planta*:

$$C_n = \frac{B_{об.з.} + B_{ос.з.} + B_{т.р.}}{N_{прод.}} = \frac{(1,75 + 133,43 + 20,58) \cdot 10^6}{3000000} = 51,92 \approx 52 \text{ грн}$$

- Розрахунок ціни продукції витратним методом:

За умови погашення витрат та отримання 5% прибутку, очікувана ціна продукції становить:

$$Ц = 52 \cdot (100\% + 5\%) = 54,6 \text{ грн/од.}$$

Ціноутворення таким методом є неоптимальним для стартапів оскільки рівень прибутку від іноваційної технології є надто низьким.

- Агрегатний метод ціноутворення не застосовується для даної продукції, у зв'язку із неможливістю розділення на складові компоненти при реалізації технології.

- Розрахунок ціни продукції параметричним методом:

На основі бальної характеристики (табл. 5.6) визначаємо ціну нової моделі:

$$Ц_{\text{нovoї моделі}} = \frac{\sum (B_{\text{нovoї моделі}} \cdot k)}{\sum (B_{\text{базової моделі}} \cdot k)} \cdot Ц_{\text{базової моделі}} = \frac{1,5 \cdot 0,6 + 1,5 \cdot 0,3 + 0,5 \cdot 0,1}{1,5 \cdot 0,6 + 1,2 \cdot 0,3 + 0,2 \cdot 0,1} \cdot 260 = 284,4 \text{ грн/од.}$$

Де k – коефіцієнт вагомості параметру.

- Розрахунок конкурентним методом:

Вважають оптимальним для стартап-проектів. Конкурентні ціни вакцини від COVID-19 на ринку знаходяться у межах від 200 грн за дозу до 300 грн за дозу. Відповідно за конкурентним методом встановлюємо ціну за одну дозу 150 грн для отримання прибутку та досягнення ідеї проекту у підвищенні доступності вакцинації ширшого кола споживачів.

- Розрахунок ціни на основі аналізу точки беззбитковості:

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		83

На основі визначеної собівартості визначено залежність доходів та витрат від кількості реалізованої продукції (рис. 5.2).

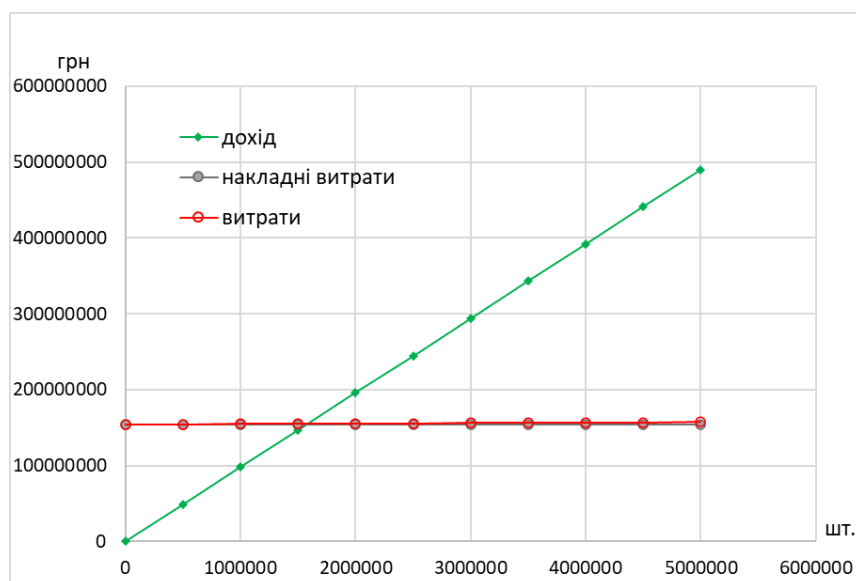


Рисунок 5.2 – Графік безбитковості реалізації продукції

На основі аналізу графіку безбитковості встановлено, що для погашення витрат та отримання прибутку необхідна реалізація щонайменше 1,7 млн. доз на рік із ціною близько 100 грн за дозу.

Отже, у результаті обрано ціну 150 грн за одну дозу вакцини як оптимальну з точки зору конкретності та отримання прибутку.

Таблиця 5.12 – Техніко-економічні показники проекту

Показники	Одиниця виміру	Умовне позначення, формула розрахунку
Річний обсяг реалізації ідеї	шт.	$B = 3000000$
Середньорічна чисельність персоналу за списком	Осіб	$\text{Ч}_{\text{сп}} = 55$
у тому числі - основних - допоміжних - інженерно-технічного персоналу		$\text{Ч}_{\text{спо}} = 15$ $\text{Ч}_{\text{спд}} = 29$ $\text{Ч}_{\text{спіт}} = 11$
Середньорічний виробіток робітника	шт./особу	$\text{ППс.p.} = B / \text{Ч}_{\text{спо}} = 200\,000$
. Капіталовкладення у проект: - на одиницю продукції	млн. грн грн/шт.	$K = \text{ОФ} + \text{ОбК} = 133,43 + 1,75 = 135,18$ $K_{\text{од.пр.}} = K / N_{\text{пр}} = 135180000 / 3000000 = 45,06$

Повна собівартість: - на одиницю продукції	млн. грн грн/шт	$C = 156\,000\,000$ $C_p = 52\text{ грн}$
Відносний прибуток	грн/шт.	$\Pi = \Pi - C = 150 - 52 = 98$
Рентабельність	%	$R = (\Pi/C) \cdot 100\% = (98/52) \cdot 100 = 188,5$
Період повернення капіталовкладень	Років	$T_{\text{пов}} = 45,06/98 = 0,46$
Фондовіддача виробничих фондів	грн/грн	$\Phi B = (\Pi \cdot B) / \text{ОФ} = (150 \cdot 3000000) / 133430000 = 3,37$
Фондоємкість	грн/грн	$\Phi \epsilon = 1/\Phi B = 1/3,37 = 0,30$
Продуктивність праці	грн / (ос. · год)	$\Pi\Pi = B \cdot \Pi / (\text{Чсп} \cdot T) = 3000000 \cdot 150 / (55 \cdot 1987) = 4117$
Коефіцієнт економічної ефективності		$E = \Pi/K = 98/45,06 = 2,17$

5.6 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес процесів

Таблиця 5.13 — Карта бізнес-процесів виконання стартап-проекту

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат
Розробка ідеї стартапу	Підготовка проєктної документації	Людські	3 місяці	50 000 грн
	Пошук співзасновників	Людські	1 місяць	20 000 грн
	Отримання інвестицій	Людські	12 місяців	80 000 грн
	Лабораторне дослідження	Людські, фінансові	12 місяців	900 000 грн
Реалізація ідеї	Закупівля обладнання	Фінансові	18 місяців	20 000 000 грн
		Людські, фінансові		180 000 грн
	Пошук працівників	Людські, фінансові	6 місяців	
	Закупівля матеріалів	Людські, фінансові	6 місяців	200 000 грн
		Людські, фінансові, матеріальні		7 200 000 грн
	Клінічне дослідження	Людські, фінансові, матеріальні	24 місяці	
	Реєстраційні процедури	Людські	12 місяців	300 000 грн
		Людські, матеріальні, фінансові		188 055 грн
	Виробництво продукту	Людські, фінансові	18 місяців	

Впровадження у виробництво	Впровадження лінії виробництва	Фінансові	1 рік	500 000 000 грн
	Реклама	Фінансові	4 роки	10 000 000 грн
	Виробництво та продаж продукту	Фінансові, матеріальні, людські	4 роки	30 000 000 грн
	Агресивний маркетинг	Людські, фінансові	4 роки	80 000 000 грн
	Юридичні процедури	Людські, фінансові	5 років	10 000 000 грн
Масова реалізація	Створення філій, побудова нових ліній виробництва	Фінансові, людські	2 роки	2 000 000 000 грн
	Реклама	Фінансові	-	1 000 000 грн/рік
	Науково-дослідні роботи	Фінансові, людські	-	20 000 000 грн/рік
	Виготовлення та продаж продукту	Фінансові, матеріальні, людські	-	500 000 000 грн/рік

Таблиця 5. 14 – Системний аналіз бізнес-процесів стартапу

Функції	Елементи									
	Засновники стартапу	Інженери-технологи, Лаборанти/аналітики	Оператори основного обладнання, Механіки/електрики, Складські працівники, Працівники з прибирання	Бухгалтерія	Відділ людських ресурсів	Менеджмент	Маркетологи	Фахівці контролю якості, реєстрації фармаконагляду, юридичні	Медичні представники	Фахівець медичного відділу
Підготовка проєктної документації	+	+								
Пошук співзасновників	+									
Отримання інвестицій	+									
Лабораторне дослідження		+								
Закупівля обладнання	+	+		+		+				
Пошук працівників	+				+	+				+
Закупівля матеріалів	+	+		+						
Клінічне дослідження	+			+				+		+
Реєстраційні процедури	+							+		
Виробництво продукту		+	+			+		+		

Впровадження лінії виробництва	+	+	+			+		+		
Реклама							+			
Агресивний маркетинг							+	+	+	
Юридичні процедури	+							+		
Створення філій, побудова нових ліній виробництва	+			+	+	+				
Науково-дослідні роботи		+	+					+		+

Таблиця 5.19 – Ризики інноваційної розробки

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Зовнішні ризики	Внутрішні ризики
Розробка ідеї стартапу	Підготовка проектної документації	Війна Тотальний блекаут Порушення роботи електронних носіїв	Втрата документації через людський фактор
	Пошук співзасновників	Відсутність інтересу	Хибний вибір колег
	Отримання інвестицій	Відсутність прийнятних інвестиційних пропозицій Низька репутація Низька зацікавленість	Неефективне використання інвестицій
	Лабораторне дослідження	Нестача робітників на ринку праці (відсутність пропозиції кваліфікованих виконавців)	Виявлення шкідливості продукту Виявлення неефективності технології
Реалізація ідеї	Закупівля обладнання	Неякісне обладнання Пошкодження при транспортуванні	Неправильний вибір обладнання

	Пошук працівників	Нестача робітників на ринку праці (відсутність пропозиції кваліфікованих виконавців)	Неправильний вибір кадрового складу
	Закупівля матеріалів	Неякісні матеріали Втрата матеріалів при транспортуванні	Неправильний вибір матеріалів
	Клінічне дослідження	Нестача волонтерів Нестача інвестицій	Виявлення неефективності продукту
	Реєстраційні процедури	Зміна законодавства	Некваліфіковане виконання
	Виробництво продукту	Війна, Тотальний блекаут, Порухення логістики	Неякісне проектування виробництва. Виявлення неефективності технології
Впровадження у виробництво	Впровадження лінії виробництва	Війна, Тотальний блекаут, Порухення логістики, Неякісне обладнання	Неякісне проектування виробництва
	Реклама	Заборона реклами лікарських засобів	Неякісні рекламні матеріали
	Виробництво та продаж продукту	Відсутність інтересу до продукту у споживачів	Неефективний маркетинг та логістика
	Агресивний маркетинг	Зупинка інвестицій	Порухення законодавства
	Юридичні процедури	Неякісна система державного керування	Неефективне врегулювання
Масова реалізація	Створення філій, побудова нових ліній виробництва	Націоналізація майна, Арешт активів, Знищення активів	Нестача ресурсів
	Реклама	Заборона реклами лікарських засобів	Неякісні рекламні матеріали
	Науково-дослідні роботи	Нестача робітників на ринку праці (відсутність пропозиції кваліфікованих виконавців)	Виявлення неефективності технології, Виявлення шкідливості продукту

	Виготовлення та продаж продукту	Втрат попиту на продукцію	Неефективна логістика
--	---------------------------------------	---------------------------	--------------------------

Таблиця 5.20 – Ризики інноваційної розробки та ймовірність їх настання

Види ризиків	Назва ризику	Ймовірність настання	Вплив на очікуваний результат	Оцінка впливу ризику
Зовнішні ризики				
Непередбачені ризики				
Політико-законодавчий ризик	Посилення військових дій	2	3	6
Макроекономічний ризик	Значний економічний спад	2	2	4
Природно-екологічний ризик	Екстремальні погодні умови	2	1	2
Культурно-соціальний, демографічний ризик	Скептичність споживачів	2	2	4
	Нестача робітників на ринку праці	1	2	2
Науково-технічний ризик	Виявлення неефективності/шкідливості продукту	1	3	3
Передбачені ризики				
Ризик ліквідності	Спад ліквідності активів	1	2	2
Ризик бізнес-подій	Низька репутація	3	2	6
	Затримка постачання сировини	1	2	2
	Некомпетентність тестувальника моделей або некоректність тесту	1	3	3
	Блекаут	2	2	4
Інвестиційний ризик	Відсутність прийнятних інвестиційних пропозицій	3	2	6
	Низька зацікавленість	1	2	2
Ринковий ризик	Гіперінфляція	1	2	2

	Зниження попиту, зацікавленості	2	1	2
Внутрішні ризики				
Інформаційний ризик	Неякісна реклама	1	3	3
Управлінський ризик	Конфлікт між засновниками або інвесторами	2	3	6
Фінансовий ризик	Банкрутство	2	3	6
Операційний ризик:				
Виробничий ризик:	Виявлення неефективності технології	1	3	3
- Ризик персоналу	Зупинка розвитку	2	1	2
- Ресурсний ризик	Вихід з ладу обладнання	1	2	2
- Техніко-технологічний ризик	Якість продукту нижче очікуваної	1	2	2
Торговий ризик	Низький дохід	2	2	4
Організаційний ризик	Неефективне використання інвестицій	1	2	2

Таблиця 7.21 – План заходів з управління ризиками

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Відповідальні виконавці	Період виконання / застосування методу	Очікувані результати від впровадження методів управління
Посилення військових дій	Прийняття	Власники	До закінчення війни	Послаблення ефекту ризику
Значний економічний спад	Прийняття	Власники	Постійно	Послаблення ефекту ризику
Екстремальні погодні умови	Прийняття	Власники	Постійно	Послаблення ефекту ризику
Скептичність споживачів	Попередження	Власники Маркетинг	4 роки	Зменшення вірогідності настання ризику
Нестача робітників на ринку праці	Прийняття Попередження	Власники Відділ кадрів	Постійно	Послаблення ефекту ризику

Виявлення неефективності/шкідливості продукту	Ухилення від ризику Попередження	Власники Лаборанти	9 місяців	Зменшення вірогідності настання ризику	
Спад ліквідності активів	Прийняття	Власники	Постійно	Послаблення ефекту ризику	
Низька репутація	Ухилення від ризику Попередження	Власники Маркетинг	4 роки	Послаблення ефекту ризику	
Затримка постачання сировини	Ухилення від ризику Прийняття	Власники Менеджмент	Постійно	Послаблення ефекту ризику Зменшення вірогідності настання ризику	
Блекаут	Ухилення від ризику Попередження	Власники	6 місяців	Послаблення ефекту ризику	
Відсутність прийнятних інвестиційних пропозицій	Попередження	Власники	4 роки	Послаблення ефекту ризику	
Низька зацікавленість	Прийняття	Власники Маркетинг	Постійно	Послаблення ефекту ризику	
Гіперінфляція	Попередження	Власники Бухгалтерія Менджмент	Постійно	Послаблення ефекту ризику	
Зниження попиту, зацікавленості	Ухилення від ризику	Власники Маркетинг	4 роки	Зменшення вірогідності настання ризику	
Неякісна реклама	Попередження Передача	Власники Маркетинг	Постійно	Послаблення ефекту ризику	
Конфлікт між засновниками або інвесторами	Попередження Ухилення від ризику	Власники	Постійно	Зменшення вірогідності настання ризику	
Банкрутство	Попередження	Власники Бухгалтерія	Постійно	Послаблення ефекту ризику	
Вихід з ладу обладнання	Ухилення від ризику Прийняття	Робітники, механіки, електрики	Постійно	Послаблення ефекту ризику Зменшення	
					МД ББ31. 12.000 ПЗ Арк. 92
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	

				вірогідності настання ризику
Якість продукту нижче очікуваної	Ухилення від ризику Попередження	Відділ фармаконагляду. Відділ контролю якості.	4 місяці	Послаблення ефекту ризику Зменшення вірогідності настання ризику
Виявлення неефективності технології	Ухилення від ризику Попередження	Власники Інженери-технологи, відділ контролю якості	2 роки	Послаблення ефекту ризику Зменшення вірогідності настання ризику
Низький дохід	Прийняття Попередження	Власники Менеджмент	Постійно	Послаблення ефекту ризику
Неефективне використання інвестицій	Ухилення Передача	Власники Менеджмент	6 місяці	Послаблення ефекту ризику. Зменшення вірогідності настання ризику

Отже, розроблено стартап-проект виробництва вакцини від COVID-19 на основі ВПЧ отриманих *in planta*. На підставі проаналізованих даних можна стверджувати, що даний проєкт може бути реалізований як підприємство, що задовольнить потреби у імунізації від COVID-19 широкого кола споживачів в Україні та має потенціал для розвитку за кордоном. Капіталовкладення для реалізації проєкту становлять 135,18 грн, із періодом повернення капіталовкладень у 0,46 року. Рентабельність такого проєкту встановлено на рівні у 188,5%.

Підприємство має закордонних конкурентів, які виробляють подібну продукцію – вакцини від COVID-19 інших типів, однак використовують іншу технологію. Вакцина на основі ВПЧ має свої переваги та матиме достатній попит на ринку для реалізації. Конкурентоспроможна ціна однієї дози вакцини становить 150 грн.

РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

5.1. Заходи з охорони праці на виробництві

Робота в хімічній, біотехнологічній та фармацевтичній промисловості пов'язана з певними виробничими ризиками, які визначаються типом діяльності, специфікою підприємства та характером технологічного процесу. У рамках цього проекту, що стосується виробництва, застосовуються водяна пара, концентрована та розчин гідроксиду натрію за умов підвищеної температури. Неналежне поводження з цими речовинами може призвести до серйозних ушкоджень здоров'я або навіть летальних наслідків у випадку аварійних ситуацій.

Щоб запобігти небезпеці на етапі будівництва виробничих приміщень, необхідно дотримуватися стандартів, викладених у ДСТУ Б А.3.2-13:2011 «Система стандартів безпеки праці. Будівництво» та ДСТУ Б В.2.2-29:2011 «Будівлі підприємств. Параметри». Для забезпечення пожежної безпеки слід керуватися положеннями ДСТУ 3273-95 «Безпечність промислових підприємств» та НАПБ Б.03.002-2007 «Норми визначення категорій приміщень, будинків та зовнішніх установок за вибухопожежною та пожежною небезпекою». Працівники повинні обов'язково використовувати індивідуальні засоби захисту зору та дихання в цехах, де є контакт із хімічними речовинами.

Навіть за нормального функціонування виробничих процесів існує ризик шкідливих впливів умов праці, що є неприйнятним. Тому необхідно постійно здійснювати моніторинг і контроль виробничого середовища, щоб підтримувати належний рівень освітлення, допустимий рівень шуму та вібрації, а також забезпечувати якісне повітря, оптимальну температуру й вологість.

Стандарти освітленості відрізняються для різних типів приміщень: виробничих, службових, кімнат відпочинку, прилеглих територій та доріг на підприємстві. Вимоги до освітлення визначаються ДБН В.2.5-28:2018 «Природне і штучне освітлення». Параметри освітлення розраховуються з урахуванням

					МД ББ31. 12.000 ПЗ					
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата						
Розроб.	Савченко Т.А.				ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ			Літ.	Арк.	Аркушів
Конс.										
									94	119
Керів.	Маринченко Л.В.							КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ, ББ-31мп		
Затверд.										

контрастності середовища, розміру та планування приміщення, а також його призначення.

Рівні шуму, що виникають під час роботи обладнання (двигунів, вентиляторів, насосів, трубопроводів тощо), повинні відповідати нормам, встановленим у ДСН 3.3.6.037-99 «Санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку». Для дотримання цих норм застосовуються звукоізоляційні матеріали, відокремлення робочих зон та індивідуальні засоби захисту органів слуху, а також обмеження тривалості перебування у шумному середовищі.

Оптимальна температура та вологість у приміщеннях забезпечуються завдяки системам опалення й кондиціонування. При цьому враховуються теплоізоляційні характеристики, кількість стін, що контактують із зовнішнім середовищем, площа й розташування вікон, а також тепловиділення від обладнання, людей та інших джерел тепла. Вимоги до мікроклімату регулюються ДСН 3.3.6.042-99 «Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень».

Недотримання цих норм може значно знизити ефективність роботи працівників, а тривале перебування в умовах шкідливих впливів провокує хронічні захворювання, погіршення психоемоційного стану, розвиток постійної втоми, фізичне та моральне виснаження.

5.2. Заходи із забезпечення охорони довкілля

У процесі виробництва утворюються відходи, які потребують спеціального поводження для забезпечення екологічної безпеки. Усі операції з відходами повинні виконуватися відповідно до стандартів ДСТУ 4462.0.02:2005 «Охорона природи. Комплекс стандартів у сфері поводження з відходами. Загальні вимоги» та ДСТУ 4462.3.01:2006 «Охорона природи. Поводження з відходами. Порядок здійснення операцій».

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						95
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

Гранично допустимі норми викидів необхідно узгоджувати з місцевими органами екологічного контролю, а також здійснювати регулярний моніторинг відповідності цим показникам.

Виробництво ВПЧ не потребує використання значної кількості органічних розчинників, оскільки отриманий продукт є білкової природи. Тому стічні води, які переважно складаються з води, відводяться до міських очисних споруд. У разі перевищення допустимого рівня солей, вода перед надходженням до очисних систем розбавляється водопровідною водою. Крім того, обов'язковим є контроль рівня рН, який має залишатися в установлених межах.

Рослинні залишки, субстрат, осаджена біомаса після екстрагування, суспензія вектору, використаний агар та вода після миття обладнання підлягають обов'язковій стерилізації перед передачею на очисні споруди або спеціалізовані підприємства для подальшої переробки (компостування, повторне використання тощо). Це необхідно через наявність у складі залишків активного вектору, викид якого у навколишнє середовище є недопустимим.

Відпрацьоване повітря очищується за допомогою скловолоконного фільтра перед викидом в атмосферу. Додаткові заходи очищення, такі як використання скрубєрів або вугільних фільтрів, не є необхідними, оскільки виробництво не створює великої кількості пилу або летких хімічних речовин. Повітря із чистих приміщень повертається у систему очищення для повторного використання.

Використання торфу як основного компонента субстрату для вирощування рослин зменшує вплив на навколишнє середовище порівняно з синтетичними матеріалами, такими як мінеральна вата. Торф є природним матеріалом і не завдає шкоди довкіллю після використання.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						96
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВИСНОВКИ

У результаті виконання магістерської дисертації запропоновано технологію виробництва вакцини від COVID-19 на основі ВПЧ з використанням системи транз'єнтної експресії у рослинах.

1. Обґрунтовано вибір основи технології виробництва самозбірних ВПЧ SARS-CoV-2 на основі експресії S-білку у рослинах та накопичення агробактеріального вектору. Запропоновано виконувати вакуумну інфільтрацію для внесення вектору у тканини біологічного агенту.

2. Описано біохімічні процеси, що лежать в основі технології. Біологічним агентом є *Nicotiana benthamiana* із видаленими генами $\alpha 1,3$ -фукозил трансферази та $\beta 1,3$ -ксилозил трансферази методом нокауту генів та модифікована за допомогою *Agrobacterium tumefaciens* EHA105, що несе плазмиду із генами, що кодують S-білок SARS-CoV-2 та людської галактозилтрансферази.

3. Технологія виробництва вакцини від COVID-19 на основі ВПЧ включає вакуумну інфільтрацію суспензії вектору в тканини листків біологічного агенту, транз'єнту експресію ВПЧ, гомогенізацію рослинного матеріалу та екстракцію ВПЧ із подальшим грубим очищенням за рахунок нагрівання та преципітації, а також тонким очищенням із використанням хроматографічних методів, ультрафільтрації та центрифугування. Також технологія передбачає приготування готової лікарської форми вакцини з ад'ювантом – суспензії для внутрішньом'язових ін'єкцій, розфасовану у шприци для одноразового використання. Розроблено технологічну та апаратурну схеми виробництва, які включають допоміжні роботи із санітарної підготовки виробництва, підготовки повітря, води очищеної та води для ін'єкцій.

4. Виконано конструктивний та тепловий розрахунок вакуумної камери для інфільтрації рослин об'ємом $0,4 \text{ м}^3$ діаметром 1000 мм із однією лопатевою мішалкою діаметром 250 мм і частотою обертання 100 хв^{-1} .

					<i>МД ББЗІ. 12.000 ПЗ</i>			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Савченко Т.А.				<i>ВИСНОВКИ</i>			
Конс.								
Керів.	Маринченко Л.В.							
Затверд.								
					Літ.	Арк.	Аркушів	
							97	119
					КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ, ББ-ЗІмп			

5. Розроблено стартап-проект на основі представленої технології виробництва та розраховано його основні техніко-економічні показники.

6. Базуючись на інформації представлений у діючих стандартах та специфіці спроектованого виробництва описано вимоги з охорони праці та захисту навколишнього середовища.

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
						98
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Державна служба статистики України. (2022) Кількість померлих за причинами смерті <https://www.ukrstat.gov.ua/>
2. Державна служба статистики України. (2024) Зовнішня торгівля окремими видами товарів за країнами світу у 2023 році (6.VI. Продукція хімічної та пов'язаних з нею галузей промисловості). URL: https://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2024/zd/e_iovt/arh_iovt2023.htm
3. Вікторія Кіхтенко. Віледж. (2024) На ковід стали хворіти частіше. Кому треба вакцинуватися вже зараз. URL: <https://www.village.com.ua/village/city/asking-question/353725-killist-hvorih-na-koronavirus-zrosla-vp-yatero-za-misyats-chi-treba-vaktsinuvatisya>
4. Krishna B.A. et al. Cardiovascular disease and covid-19: A systematic review // IJC Heart & Vasculature. Elsevier BV, 2024. Vol. 54. P. 101482. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2024.101482>
5. Jaiswal A. et al. Oncogenic potential of SARS-CoV-2—targeting hallmarks of cancer pathways // Cell Communication and Signaling. Springer Science and Business Media LLC, 2024. Vol. 22, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12964-024-01818-0>
6. Brothers W. A timeline of COVID-19 vaccine development. Biospace. (2020) URL: www.biospace.com/article/a-timeline-of-covid-19-vaccine-development/
7. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development // Nature. Springer Science and Business Media LLC, 2020. Vol. 586, № 7830. P. 516–527. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2798-3>
8. Leitner W.W., Ying H., Restifo N.P. DNA and RNA-based vaccines: principles, progress and prospects // Vaccine. Elsevier BV, 1999. Vol. 18, № 9–10. P. 765–777. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(99\)00271-6](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(99)00271-6)

					МД ББ31. 12.000 ПЗ				
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ				
Розроб.	Савченко Т.А.								
Конс.									
Керів.	Маринченко Л.В.								
Затверд.					КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ, ББ-31мп				
					Літ.			Арк.	Аркуші
								99	119

9. Restifo N.P. et al. The promise of nucleic acid vaccines // Gene Therapy. Springer Science and Business Media LLC, 2000. Vol. 7, № 2. P. 89–92. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301117>
10. Lee L.Y.Y., Izzard L., Hurt A.C. A Review of DNA Vaccines Against Influenza // Frontiers in Immunology. Frontiers Media SA, 2018. Vol. 9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01568>
11. Silveira M.M., Moreira G.M.S.G., Mendonça M. DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges // Life Sciences. Elsevier BV, 2021. Vol. 267. P. 118919. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118919>
12. Walsh E.E. et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates // New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society, 2020. Vol. 383, № 25. P. 2439–2450. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2027906>
13. Sahin U. et al. BNT162b2 induces SARS-CoV-2-neutralising antibodies and T cells in humans. Cold Spring Harbor Laboratory, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.12.09.20245175>
14. U.S. Food & Drug Administration . Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee Meeting - FDA Briefing Document: Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. Silver Spring, MD: U.S. Food & Drug Administration; (2020) URL: www.fda.gov/media/144245/
15. National Institute of Health . Prefusion Coronavirus Spike Proteins and Their Use. Bethesda, MD: National Institute of Health; (2020) URL: www.ott.nih.gov/technology/e-234-2016
16. Polack F.P. et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine // New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society, 2020. Vol. 383, № 27. P. 2603–2615. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2034577>
17. Jackson L.A. et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 — Preliminary Report // New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society, 2020. Vol. 383, № 20. P. 1920–1931. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2022483>

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		100

18. National Institute of Allergy and Disease . Peer-Reviewed Report on Moderna COVID-19 Vaccine Publishes: Data from Phase 3 Clinical Trial Confirm Vaccine Is Effective. Bethesda, MD: National Institute of Allergy and Disease; (2020) URL: www.nih.gov/news-events/n
19. Florindo H.F. et al. Immune-mediated approaches against COVID-19 // Nature Nanotechnology. Springer Science and Business Media LLC, 2020. Vol. 15, № 8. P. 630–645. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41565-020-0732-3>
20. Elsner R.A., Hastey C.J., Baumgarth N. CD4+T Cells Promote Antibody Production but Not Sustained Affinity Maturation during Borrelia burgdorferi Infection // Infection and Immunity / ed. Ehrt S. American Society for Microbiology, 2015. Vol. 83, № 1. P. 48–56. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.02471-14>
21. Centers for Disease Control and Prevention . Vaccines and Immunizations: Viral Vector COVID-19 Vaccines. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; (2021) URL: www.cdc.gov/vaccines/covid-19/hcp/viral-vector-vaccine-basics.html
22. Ura T., Okuda K., Shimada M. Developments in Viral Vector-Based Vaccines // Vaccines. MDPI AG, 2014. Vol. 2, № 3. P. 624–641. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines2030624>
23. Hewings-Martin Y. COVID-19: How do viral vector vaccines work?. Medical New Today. (2021) URL: www.medicalnewstoday.com/articles/covid-19-how-do-viral-vector-vaccines-work
24. Mathew S. et al. Platforms Exploited for SARS-CoV-2 Vaccine Development // Vaccines. MDPI AG, 2020. Vol. 9, № 1. P. 11. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines9010011>
25. Vrba S.M. et al. Development and Applications of Viral Vectored Vaccines to Combat Zoonotic and Emerging Public Health Threats // Vaccines. MDPI AG, 2020. Vol. 8, № 4. P. 680. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8040680>
26. Lundstrom K. Viral Vectors for COVID-19 Vaccine Development // Viruses. MDPI AG, 2021. Vol. 13, № 2. P. 317. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13020317>

27. Knoll M.D., Wonodi C. Oxford–AstraZeneca COVID-19 vaccine efficacy // The Lancet. Elsevier BV, 2021. Vol. 397, № 10269. P. 72–74. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32623-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32623-4)
28. Center for Disease Control and Prevention . Understanding How Vaccines Work. Atlanta, GA: Center for Disease Control and Prevention; (2018) URL: www.cdc.gov/vaccines/hcp/conversations/downloads/vacsafe-understand-color-office.pdf
29. Prentice D, Lee TS. A Visual Aid to Viral Infection and Vaccine Production. Arlington, VA: Charlotte Lozier Institute; (2020) URL: <https://lozierinstitute.org/a-visual-aid-to-viral-infection-and-vaccine-production/>
30. Zhang Y. et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial // The Lancet Infectious Diseases. Elsevier BV, 2021. Vol. 21, № 2. P. 181–192. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30843-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30843-4)
31. Rauch S. et al. New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations // Frontiers in Immunology. Frontiers Media SA, 2018. Vol. 9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01963>
32. Zhao J. et al. COVID-19: Coronavirus Vaccine Development Updates // Frontiers in Immunology. Frontiers Media SA, 2020. Vol. 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.602256>
33. Keech C. et al. Phase 1–2 Trial of a SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Nanoparticle Vaccine // New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society, 2020. Vol. 383, № 24. P. 2320–2332. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2026920>
34. Noad R., Roy P. Virus-like particles as immunogens // Trends in Microbiology. Elsevier BV, 2003. Vol. 11, № 9. P. 438–444. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(03\)00208-7](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(03)00208-7)

35. Yong C.Y. et al. Development of virus-like particles-based vaccines against coronaviruses // Biotechnology Progress. Wiley, 2022. Vol. 38, № 6. DOI: <https://doi.org/10.1002/BTPR.3292>
36. Gao X. et al. A perspective on SARS-CoV-2 virus-like particles vaccines // International Immunopharmacology. Elsevier BV, 2023. Vol. 115. P. 109650. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2022.109650>
37. Chan S.K. et al. Biomimetic Virus-Like Particles as Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Diagnostic Tools // ACS Nano. American Chemical Society (ACS), 2020. Vol. 15, № 1. P. 1259–1272. DOI: <https://doi.org/10.1021/ACSNANO.0C08430>
38. Sternberg A., Naujokat C. Structural features of coronavirus SARS-CoV-2 spike protein: Targets for vaccination // Life Sciences. Elsevier BV, 2020. Vol. 257. P. 118056. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2020.118056>
39. Zepeda-Cervantes J., Ramírez-Jarquín J.O., Vaca L. Interaction Between Virus-Like Particles (VLPs) and Pattern Recognition Receptors (PRRs) From Dendritic Cells (DCs): Toward Better Engineering of VLPs // Frontiers in Immunology. Frontiers Media SA, 2020. Vol. 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01100>
40. Huang X. et al. Escherichia coli-derived virus-like particles in vaccine development // npj Vaccines. Springer Science and Business Media LLC, 2017. Vol. 2, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41541-017-0006-8>
41. Cohen J. et al. From the circumsporozoite protein to the RTS,S/AS candidate vaccine // Human Vaccines. Informa UK Limited, 2010. Vol. 6, № 1. P. 90–96. DOI: <https://doi.org/10.4161/HV.6.1.9677>
42. Dhawan M., Saied A.A., Sharma M. Virus-like particles (VLPs)-based vaccines against COVID-19: Where do we stand amid the ongoing evolution of SARS-CoV-2? // Health Sciences Review. Elsevier BV, 2023. Vol. 9. P. 100127. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hsr.2023.100127>

43. Kaur H. et al. Indian contribution toward biomedical research and development in COVID-19 // Indian Journal of Pharmacology. Medknow, 2021. Vol. 53, № 1. P. 63–72. DOI: https://doi.org/10.4103/IJP.IJP_168_21
44. Sharifzadeh M., Mottaghi-Dastjerdi N., Soltany Rezae Raad M. A Review of Virus-Like Particle-Based SARS-CoV-2 Vaccines in Clinical Trial Phases // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. Brieflands, 2022. Vol. 21, № 1. DOI: <https://doi.org/10.5812/IJPR-127042>
45. Marini A. et al. A Universal Plug-and-Display Vaccine Carrier Based on HBsAg VLP to Maximize Effective Antibody Response // Frontiers in Immunology. Frontiers Media SA, 2019. Vol. 10. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.02931>
46. Wang D. et al. Protein-based nano-vaccines against SARS-CoV-2: Current design strategies and advances of candidate vaccines // International Journal of Biological Macromolecules. Elsevier BV, 2023. Vol. 236. P. 123979. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.123979>
47. Brune K.D. et al. Plug-and-Display: decoration of Virus-Like Particles via isopeptide bonds for modular immunization // Scientific Reports. Springer Science and Business Media LLC, 2016. Vol. 6, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep19234>
48. Fougereux C. et al. Capsid-like particles decorated with the SARS-CoV-2 receptor-binding domain elicit strong virus neutralization activity // Nature Communications. Springer Science and Business Media LLC, 2021. Vol. 12, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20251-8>
49. Thrane S. et al. Bacterial superglue enables easy development of efficient virus-like particle based vaccines // Journal of Nanobiotechnology. Springer Science and Business Media LLC, 2016. Vol. 14, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/S12951-016-0181-1>
50. Volkmann A. et al. A Capsid Virus-Like Particle-Based SARS-CoV-2 Vaccine Induces High Levels of Antibodies and Protects Rhesus Macaques // Frontiers in Immunology. Frontiers Media SA, 2022. Vol. 13. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.857440>

51. Ward B.J. et al. Phase 1 randomized trial of a plant-derived virus-like particle vaccine for COVID-19 // Nature Medicine. Springer Science and Business Media LLC, 2021. Vol. 27, № 6. P. 1071–1078. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01370-1>
52. Klasse P.J., Nixon D.F., Moore J.P. Immunogenicity of clinically relevant SARS-CoV-2 vaccines in nonhuman primates and humans // Science Advances. American Association for the Advancement of Science (AAAS), 2021. Vol. 7, № 12. DOI: <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABE8065>
53. Huang X., Yang Y. Targeting the TLR9–MyD88 pathway in the regulation of adaptive immune responses // Expert Opinion on Therapeutic Targets. Informa UK Limited, 2010. Vol. 14, № 8. P. 787–796. DOI: <https://doi.org/10.1517/14728222.2010.501333>
54. Dubé C. et al. Broad neutralization against SARS-CoV-2 variants induced by ancestral and B.1.351 AS03-Adjuvanted recombinant Plant-Derived Virus-Like particle vaccines // Vaccine. Elsevier BV, 2022. Vol. 40, № 30. P. 4017–4025. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2022.05.046>
55. Hager K.J. et al. Efficacy and Safety of a Recombinant Plant-Based Adjuvanted Covid-19 Vaccine // New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society, 2022. Vol. 386, № 22. P. 2084–2096. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMOA2201300>
56. Charland N. et al. Safety and immunogenicity of an AS03-adjuvanted plant-based SARS-CoV-2 vaccine in Adults with and without Comorbidities // npj Vaccines. Springer Science and Business Media LLC, 2022. Vol. 7, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00561-2>
57. Fluckiger A.-C. et al. An enveloped virus-like particle vaccine expressing a stabilized prefusion form of the SARS-CoV-2 spike protein elicits highly potent immunity // Vaccine. Elsevier BV, 2021. Vol. 39, № 35. P. 4988–5001. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2021.07.034>
58. Yahalom-Ronen Y. et al. A single dose of recombinant VSV-ΔG-spike vaccine provides protection against SARS-CoV-2 challenge // Nature Communications. Springer

Science and Business Media LLC, 2020. Vol. 11, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20228-7>

59. Rosales-Mendoza S. Will plant-made biopharmaceuticals play a role in the fight against COVID-19? // Expert Opinion on Biological Therapy. Informa UK Limited, 2020. Vol. 20, № 6. P. 545–548. DOI: <https://doi.org/10.1080/14712598.2020.1752177>

60. Garay E. et al. Design and characterization of chimeric Rabies-SARS-CoV-2 virus-like particles for vaccine purposes // Applied Microbiology and Biotechnology. Springer Science and Business Media LLC, 2023. Vol. 107, № 11. P. 3495–3508. DOI: <https://doi.org/10.1007/S00253-023-12545-W>

61. Yahalom-Ronen Y. et al. A single dose of recombinant VSV-ΔG-spike vaccine provides protection against SARS-CoV-2 challenge // Nature Communications. Springer Science and Business Media LLC, 2020. Vol. 11, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20228-7>

62. Zeltins A. Construction and Characterization of Virus-Like Particles: A Review // Molecular Biotechnology. Springer Science and Business Media LLC, 2012. Vol. 53, № 1. P. 92–107. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12033-012-9598-4>

63. Kim K.-H. et al. Neuraminidase expressing virus-like particle vaccine provides effective cross protection against influenza virus // Virology. Elsevier BV, 2019. Vol. 535. P. 179–188. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.07.008>

64. Masavuli M.G. et al. Preclinical Development and Production of Virus-Like Particles As Vaccine Candidates for Hepatitis C // Frontiers in Microbiology. Frontiers Media SA, 2017. Vol. 8. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02413>

65. Huo Y. et al. Expression and purification of norovirus virus like particles in Escherichia coli and their immunogenicity in mice // Molecular Immunology. Elsevier BV, 2018. Vol. 93. P. 278–284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.07.014>

66. Liu G. et al. Reduction of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome-Associated Clinical Symptoms by Virus-Like Particle Vaccine Against Porcine Parvovirus and Porcine Circovirus Type 2 // Viral Immunology. Mary Ann Liebert Inc, 2020. Vol. 33, № 6. P. 444–456. DOI: <https://doi.org/10.1089/vim.2019.0201>

67. Yazdani R. et al. Production and characterization of virus-like particles of grapevine fanleaf virus presenting L2 epitope of human papillomavirus minor capsid protein // BMC Biotechnology. Springer Science and Business Media LLC, 2019. Vol. 19, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12896-019-0566-y>
68. Lin Y. et al. Expression, purification and biological characterization of human vasostatin120–180 in Pichia pastoris // Protein Expression and Purification. Elsevier BV, 2013. Vol. 92, № 2. P. 141–147. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pep.2013.09.016>
69. Kiatmetha P. et al. Nanocontainer designed from an infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) has excellent physical stability and ability to deliver shrimp tissues // PeerJ. PeerJ, 2018. Vol. 6. P. e6079. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.6079>
70. Shirbaghaee Z., Bolhassani A. Different applications of virus-like particles in biology and medicine: Vaccination and delivery systems // Biopolymers. Wiley, 2015. Vol. 105, № 3. P. 113–132. DOI: <https://doi.org/10.1002/bip.22759>
71. Mamat U. et al. Endotoxin-free protein production—ClearColi™ technology // Nature Methods. Springer Science and Business Media LLC, 2013. Vol. 10, № 9. P. 916–916. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.367>
72. Stephen S.L. et al. Recombinant Expression of Tandem-HBc Virus-Like Particles (VLPs) // Methods in Molecular Biology. Springer New York, 2018. P. 97–123. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7808-3_7
73. Nooraei S. et al. Virus-like particles: preparation, immunogenicity and their roles as nanovaccines and drug nanocarriers // Journal of Nanobiotechnology. Springer Science and Business Media LLC, 2021. Vol. 19, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00806-7>
74. Wetzel D. et al. Establishment of a yeast-based VLP platform for antigen presentation // Microbial Cell Factories. Springer Science and Business Media LLC, 2018. Vol. 17, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0868-0>
75. Sanchooli A. et al. VLP Production from Recombinant L1/L2 HPV-16 Protein Expressed in Pichia Pastoris // Protein & Peptide Letters. Bentham Science

Publishers Ltd., 2018. Vol. 25, № 8. P. 783–790. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929866525666180809124633>

76. Sari-Ak D. et al. High-Throughput Production of Influenza Virus-Like Particle (VLP) Array by Using VLP-factory™, a MultiBac Baculoviral Genome Customized for Enveloped VLP Expression // Methods in Molecular Biology. Springer New York, 2019. P. 213–226. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9624-7_10

77. Gupta K. et al. MultiBac: Baculovirus-Mediated Multigene DNA Cargo Delivery in Insect and Mammalian Cells // Viruses. MDPI AG, 2019. Vol. 11, № 3. P. 198. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11030198>

78. Sequeira D.P. et al. Combining stable insect cell lines with baculovirus-mediated expression for multi-HA influenza VLP production // Vaccine. Elsevier BV, 2018. Vol. 36, № 22. P. 3112–3123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.02.043>

79. Dumont J. et al. Human cell lines for biopharmaceutical manufacturing: history, status, and future perspectives // Critical Reviews in Biotechnology. Informa UK Limited, 2015. Vol. 36, № 6. P. 1110–1122. DOI: <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1084266>

80. Buffin S. et al. Influenza A and B virus-like particles produced in mammalian cells are highly immunogenic and induce functional antibodies // Vaccine. Elsevier BV, 2019. Vol. 37, № 46. P. 6857–6867. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.09.057>

81. Hsin W.-C. et al. Nucleocapsid protein-dependent assembly of the RNA packaging signal of Middle East respiratory syndrome coronavirus // Journal of Biomedical Science. Springer Science and Business Media LLC, 2018. Vol. 25, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0449-x>

82. Rybicki E.P. Plant molecular farming of virus-like nanoparticles as vaccines and reagents // WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology. Wiley, 2019. Vol. 12, № 2. DOI: <https://doi.org/10.1002/wnan.1587>

83. Chen Q., Lai H. Plant-derived virus-like particles as vaccines // Human Vaccines & Immunotherapeutics. Informa UK Limited, 2013. Vol. 9, № 1. P. 26–49. DOI: <https://doi.org/10.4161/hv.22218>

84. Santi L. et al. An efficient plant viral expression system generating orally immunogenic Norwalk virus-like particles // Vaccine. Elsevier BV, 2008. Vol. 26, № 15. P. 1846–1854. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.01.053>
85. Young K.R. et al. Generation and characterization of a trackable plant-made influenza H5 virus-like particle (VLP) containing enhanced green fluorescent protein (eGFP) // The FASEB Journal. Wiley, 2015. Vol. 29, № 9. P. 3817–3827. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.15-270421>
86. van Zyl A.R., Meyers A.E., Rybicki E.P. Transient Bluetongue virus serotype 8 capsid protein expression in Nicotiana benthamiana // Biotechnology Reports. Elsevier BV, 2016. Vol. 9. P. 15–24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2015.12.001>
87. Veerapen V.P. et al. Transient expression of heat- and acid-resistant foot-and-mouth disease virus P1-2A mutants in Nicotiana benthamiana // Virus Research. Elsevier BV, 2018. Vol. 256. P. 45–49. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2018.08.004>
88. Diamos A.G., Mason H.S. High-level expression and enrichment of norovirus virus-like particles in plants using modified geminiviral vectors // Protein Expression and Purification. Elsevier BV, 2018. Vol. 151. P. 86–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pep.2018.06.011>
89. Rosales-Mendoza S. et al. What Does Plant-Based Vaccine Technology Offer to the Fight against COVID-19? // Vaccines. MDPI AG, 2020. Vol. 8, № 2. P. 183. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8020183>
90. Donaldson B. et al. Virus-Like Particles, a Versatile Subunit Vaccine Platform // Advances in Delivery Science and Technology. Springer New York, 2014. P. 159–180. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1417-3_9
91. Leuzinger K. et al. Efficient Agroinfiltration of Plants for High-level Transient Expression of Recombinant Proteins // Journal of Visualized Experiments. MyJove Corporation, 2013. № 77. DOI: <https://doi.org/10.3791/50521>
92. Huafang Lai Q.C., Jake Stahnke J.H. Agroinfiltration as an Effective and Scalable Strategy of Gene Delivery for Production of Pharmaceutical Proteins // Advanced

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		109

Techniques in Biology & Medicine. OMICS Publishing Group, 2013. Vol. 01, № 01. DOI: <https://doi.org/10.4172/atbm.1000103>

93. Wrapp D. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation // Science. American Association for the Advancement of Science (AAAS), 2020. Vol. 367, № 6483. P. 1260–1263. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>

94. D'Aoust M. et al. Influenza virus-like particles produced by transient expression in *Nicotiana benthamiana* induce a protective immune response against a lethal viral challenge in mice // Plant Biotechnology Journal. Wiley, 2008. Vol. 6, № 9. P. 930–940. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2008.00384.x>

95. D'Aoust, M. A., Couture, M., Lavoie, P. O. & Vezina, L. P. Virus like particle production in plants. (2012) URL: https://www.lens.org/lens/patent/WO_2012_083445_A1

96. LeBlanc Z., Waterhouse P., Bally J. Plant-Based Vaccines: The Way Ahead? // Viruses. MDPI AG, 2020. Vol. 13, № 1. P. 5. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13010005>

97. Goodin M.M. et al. *Nicotiana benthamiana*: Its History and Future as a Model for Plant–Pathogen Interactions // Molecular Plant-Microbe Interactions®. Scientific Societies, 2008. Vol. 21, № 8. P. 1015–1026. DOI: <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-8-1015>

98. Bally J. et al. The extremophile *Nicotiana benthamiana* has traded viral defence for early vigour // Nature Plants. Springer Science and Business Media LLC, 2015. Vol. 1, № 11. DOI: <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.165>

99. National Center for Biotechnology Information. The Taxonomy Database. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy>

100. Chase M.W. et al. Taxonomy of the Australian // Australian Systematic Botany / ed. Nargar K. CSIRO Publishing, 2022. Vol. 35, № 5. P. 345–363. DOI: <https://doi.org/10.1071/SB22009>

101. Pierroz G. Genomics reveal a complicated past and suggest a possible future for *Nicotiana benthamiana* // The Plant Journal. Wiley, 2022. Vol. 111, № 1. P. 5–6. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.15869>

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		110

102. Smith E.F., Townsend C.O. A Plant-Tumor of Bacterial Origin // Science. American Association for the Advancement of Science (AAAS), 1907. Vol. 25, № 643. P. 671–673. DOI: <https://doi.org/10.1126%2Fscience.25.643.671>
103. Moore L.W., Chilton W.S., Canfield M.L. Diversity of opines and opine-catabolizing bacteria isolated from naturally occurring crown gall tumors // Applied and Environmental Microbiology. American Society for Microbiology, 1997. Vol. 63, № 1. P. 201–207. DOI: <https://doi.org/10.1128%2FAEM.63.1.201-207.1997>
104. Morton E.R., Fuqua C. Laboratory Maintenance of Agrobacterium // Current Protocols in Microbiology. Wiley, 2012. Vol. 24, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1002%2F9780471729259.mc03d01s24>
105. Gordon J.E., Christie P.J. The Agrobacterium Ti Plasmids // Microbiology Spectrum / ed. Tolmasky M.E., Alonso J.C. American Society for Microbiology, 2014. Vol. 2, № 6. DOI: <https://doi.org/10.1128%2Fmicrobiolspec.PLAS-0010-2013>
106. Oger P., Farrand S.K. Two Opines Control Conjugal Transfer of anAgrobacteriumPlasmid by Regulating Expression of Separate Copies of the Quorum-Sensing Activator GenettraR // Journal of Bacteriology. American Society for Microbiology, 2002. Vol. 184, № 4. P. 1121–1131. DOI: <https://doi.org/10.1128%2Fjb.184.4.1121-1131.2002>
107. Zhang H.-B., Wang L.-H., Zhang L.-H. Genetic control of quorum-sensing signal turnover in Agrobacterium tumefaciens // Proceedings of the National Academy of Sciences. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2002. Vol. 99, № 7. P. 4638–4643. DOI: <https://doi.org/10.1073%2Fpnas.022056699>
108. Jansing J. et al. CRISPR/Cas9-mediated knockout of six glycosyltransferase genes in Nicotiana benthamiana for the production of recombinant proteins lacking β -1,2-xylose and core α -1,3-fucose // Plant Biotechnology Journal. Wiley, 2018. Vol. 17, № 2. P. 350–361. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbi.12981>
109. Kallolimath S. et al. Engineering of complex protein sialylation in plants // Proceedings of the National Academy of Sciences. Proceedings of the National Academy

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
						111
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- of Sciences, 2016. Vol. 113, № 34. P. 9498–9503. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1604371113>
110. Castilho A. et al. Engineering of Sialylated Mucin-type O-Glycosylation in Plants // Journal of Biological Chemistry. Elsevier BV, 2012. Vol. 287, № 43. P. 36518–36526. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.402685>
111. Sainsbury F. Innovation in plant-based transient protein expression for infectious disease prevention and preparedness // Current Opinion in Biotechnology. Elsevier BV, 2020. Vol. 61. P. 110–115. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.11.002>
112. Xie Y. et al. The pH Effects on SARS-CoV and SARS-CoV-2 Spike Proteins in the Process of Binding to hACE2. Research Square Platform LLC, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-871118/v1>
113. Harapan H. et al. Effect of elevated temperature on SARS-CoV-2 viability // F1000Research. F1000 Research Ltd, 2023. Vol. 11. P. 403. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.110305.2>
114. Cell Signaling Technology, Inc. Protease Inhibitor Cocktail (100X) #5871 URL: <https://www.cellsignal.com/products/buffers-dyes/protease-inhibitor-cocktail-100x/5871>
115. REPLIGEN. “NGL COVID-19 Spike Protein Affinity Resin”: User Guide. URL: https://www.repligen.com/Products/Resins/covid/NGL_COVID-19_Spike_Protein_Affinity_Resin_User_Guide.pdf
116. Deo P.C. et al. In vitro micro propagation of Nicotiana benthamiana via axillary shoots // The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences. CSIRO Publishing, 2014. Vol. 32, № 2. P. 55. DOI: <https://doi.org/10.1071/SP14009>
117. Dudley Q.M. et al. Reconstitution of monoterpene indole alkaloid biosynthesis in genome engineered Nicotiana benthamiana // Communications Biology. Springer Science and Business Media LLC, 2022. Vol. 5, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03904-w>

					МД ББ31. 12.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		112

118. Esqueda A., Jugler C., Chen Q. Design and expression of a bispecific antibody against dengue and chikungunya virus in plants // Methods in Enzymology. Elsevier, 2021. P. 223–238. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2021.05.003>
119. Watthanasakphuban N. et al. Development of a Molasses-Based Medium for Agrobacterium tumefaciens Fermentation for Application in Plant-Based Recombinant Protein Production // Fermentation. MDPI AG, 2023. Vol. 9, № 2. P. 149. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation9020149>
120. Norkunas K. et al. Improving agroinfiltration-based transient gene expression in Nicotiana benthamiana // Plant Methods. Springer Science and Business Media LLC, 2018. Vol. 14, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0343-2>
121. Ramadhan F. et al. A New Approach for Controlling Agrobacterium tumefaciens Post Transformation Using Lytic Bacteriophage // Plants. MDPI AG, 2022. Vol. 11, № 22. P. 3124. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11223124>
122. Su G. et al. Low Co-Cultivation Temperature Resulted in the Reproducible Maximum Increase in Both the Fresh Weight Yield and Stable Expression of GUS Activity after Agrobacterium tumefaciens-Mediated Transformation of Tobacco Leaf Disks // American Journal of Plant Sciences. Scientific Research Publishing, Inc., 2012. Vol. 03, № 04. P. 537–545. DOI: <http://doi.org/10.4236/ajps.2012.34064>
123. Dillen W. et al. The effect of temperature on Agrobacterium tumefaciens-mediated gene transfer to plants // The Plant Journal. Wiley, 1997. Vol. 12, № 6. P. 1459–1463. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1997.12061459.x>
124. Kjemtrup S., Talarico T.L., Ursin V. Biotechnology: Pharming // Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. Elsevier, 2014. P. 117–133. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00215-1>
125. Tague B.W., Mantis J. <i>In Planta Agrobacterium</i>-Mediated Transformation by Vacuum Infiltration // Arabidopsis Protocols. Humana Press. P. 215–224. DOI: <https://doi.org/10.1385/1-59745-003-0:215>
126. Khai Swan G. et al. Transient Expression of an Immunogenic Envelope Attachment Glycoprotein of Nipah Virus in Nicotiana benthamiana // Sains Malaysiana. Penerbit

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		113

Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM Press), 2018. Vol. 47, № 3. P. 499–509. DOI: <http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2018-4703-09>

127. Moon K.-B. et al. Construction of SARS-CoV-2 virus-like particles in plant // Scientific Reports. Springer Science and Business Media LLC, 2022. Vol. 12, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-04883-y>

128. Marsian J. et al. Plant-Made Nervous Necrosis Virus-Like Particles Protect Fish Against Disease // Frontiers in Plant Science. Frontiers Media SA, 2019. Vol. 10. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00880>

129. Morenweiser R. Downstream processing of viral vectors and vaccines // Gene Therapy. Springer Science and Business Media LLC, 2005. Vol. 12, № S1. P. S103–S110. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302624>

130. Ingawale M. et al. An unconventional strategy for purifying recombinant SARS-CoV-2 spike protein // Journal of Chromatography B. Elsevier BV, 2024. Vol. 1247. P. 124328. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2024.124328>

131. REPLIGEN. “NGL COVID-19 Spike Protein Affinity Resin”: Data Sheet. URL: https://www.repligen.com/solutions/COVID/NGL_COVID-19_Spike_Protein_Affinity_Resin_03AUG2021.pdf

132. Ballou W.R., Hanon E. J. (2012) Vaccine comprising an oil in water emulsion adjuvant. URL: <https://patents.google.com/patent/EP2433648A2/en>

					<i>МД ББ31. 12.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		114

Додаток А

Таблиця А.1 – Специфікація обладнання

Поз.	Найменування	К-сть	Примітка
Пз-1, Пз-9	Повітрозабірники, висота труби 10 м, діаметр 300 мм, з решітчастим фільтром та інтегрованим фільтром грубої очистки.	2	ISO Coarse 60% (G4)
Ф-2, Ф-8	Фільтри грубого очищення повітря для приміщень. Пилоємність 200 г/м ² . Уловлення частинок від 5 мкм. Питома продуктивність 3000 м ³ /(м ² ·год). Гідравлічний опір – 40 Па. Цикл роботи до регенерації – 70 год.	4	ISO ePM10 80% (M5)
В-3, В-7	Вентилятори відцентрові	4	
Т-4	Теплообмінник для охолодження повітря	1	
Ф-5	Головний фільтр очищення повітря для приміщень. Фільтруючий матеріал скловата з діаметром пор до 10 мкм.	2	ISO ePM2,5 80% (M5)
Ф-6	Фільтр тонкого очищення. Уловлення частинок від 0,3 до 1 мкм.	2	ISO ePM1 90% (F9)
Ф-10	Фільтр грубого очищення повітря для аерації. Продуктивність 100 м ³ /год. Цикл роботи 5 діб.	2	ISO Coarse 60% (G4)
Ф-14	Головний фільтр очищення повітря для аерації. Уловлення частинок від 0,3 до 10 мкм.	2	ISO ePM10 60% (M5)
Ф-15	Фільтр тонкого очищення. Уловлення частинок від 0,3 до 1 мкм.	2	ISO ePM1 90% (F9)
КВ-11	Компресор для стиснення повітря.	2	
Т-12	Теплообмінник для охолодження повітря і видалення конденсату.	1	Неірж. сталь 12X18H10T
РС-13	Ресивер стисненого повітря об'ємом 0,05 м ³ .	1	Неірж. сталь 12X18H10T
Т-16	Теплообмінник для підігріву води	1	Неірж. сталь 12X18H10T
Ф-17	Фільтр сітчастий грубого очищення води від часток 100 мкм.	1	Неірж. сталь 12X18H10T
З-18, З-27	Збірники для води об'ємом 10 м ³	1	Неірж. сталь 12X18H10T
Н-19, Н-23, Н-28,	Насоси відцентрові горизонтальні одноступеневі з робочим колесом закритого типу.	14	

					<i>МД ББЗІ. 12.000 ПЗ</i>			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Савченко Т.А.				<i>Додаток А</i>			
Конс.								
Керів.	Маринченко Л.В.							
Затверд.								
						Літ.	Арк.	Аркушів
							115	119
						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ, ББ-ЗІмп		

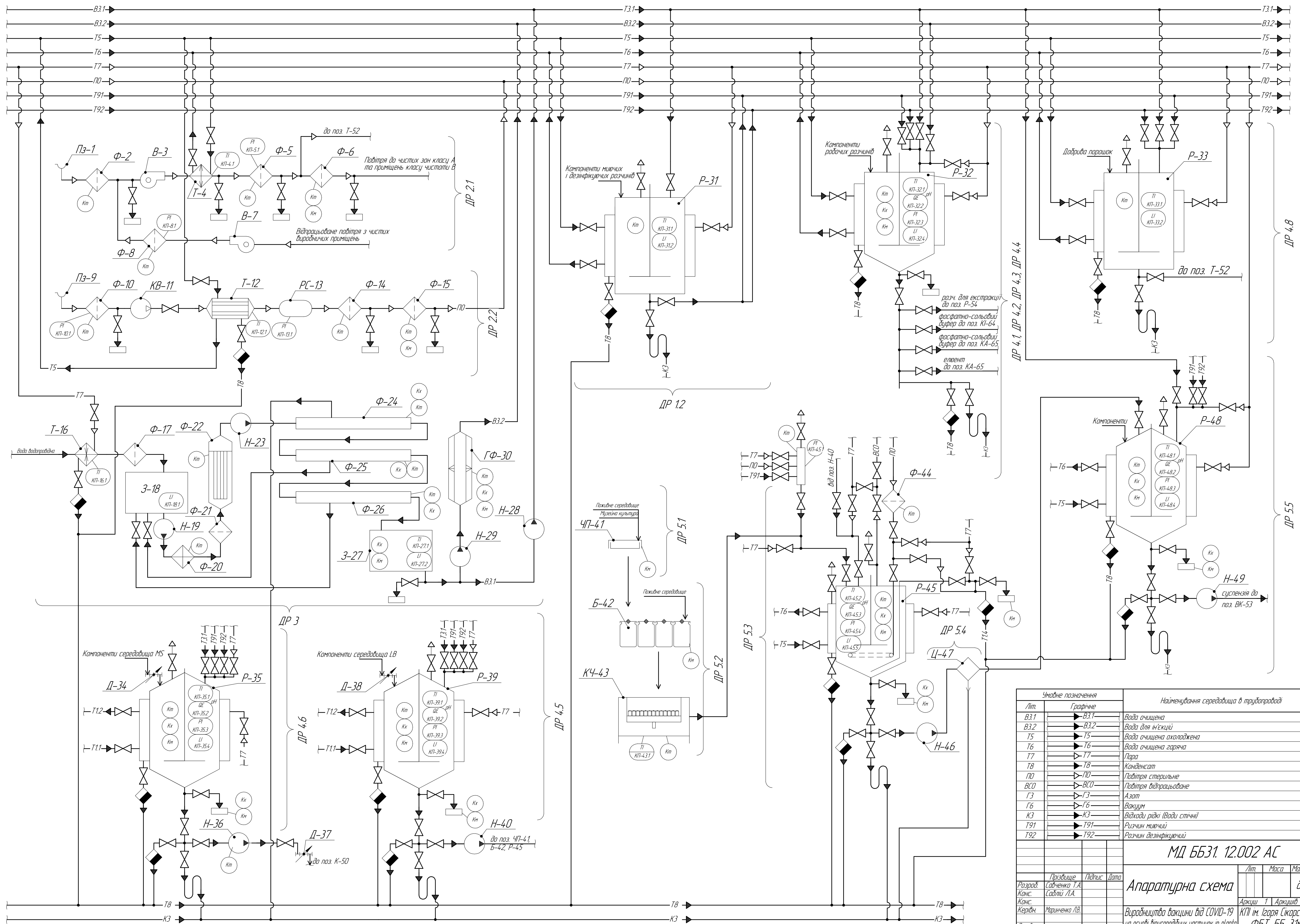
Н-29, Н-36, Н-40, Н-49			
Ф-20	Катіонобмінна колонка для пом'якшення води. Регенерація натрію хлоридом.	2	
Ф-21	Фільтр сітчастий грубого очищення води від часток 50 мкм.	1	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Ф-22	Фільтр для очищення води вугільний призначений для видалення хлору.	2	
Ф-24	Фільтр мембранний з діаметром пор 0,1-1 мкм	2	Поліамід
Ф-25	Фільтр мембранний з діаметром пор 0,01-0,1 мкм	2	Поліамід
Ф-26	Фільтр мембранний з діаметром пор 0,001-0,01 мкм	2	Поліамід
ГФ-30	Стерилізуючий блок для приготування води для ін'єкцій.	3	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Р-31	Реактор для приготування миючих і дезінфікуючих розчинів об'ємом 5 м ³ , коефіцієнт заповнення 0,7 із ручним завантаженням через люк і штуцери, нижнім зливом і лопатевою мішалкою. Робота при атмосферному тиску. З сорочкою.	2	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Р-32	Реактор для приготування робочих розчинів об'ємом 50м ³ , коефіцієнт заповнення 0,7 із ручним завантаженням через люк і штуцери, нижнім зливом і відкритою турбінною мішалкою. Робота при атмосферному або вищому за атмосферний тиску. З сорочкою. Стерилізація парою.	6	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Р-33	Реактор для приготування розчину добрива об'ємом 50 м ³ , коефіцієнт заповнення 0,7 із ручним завантаженням через люк і штуцери, нижнім зливом і лопатевою мішалкою. Робота при атмосферному тиску. З сорочкою.	1	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Д-34, Д-38	Об'ємно-вагові дозатори для внесення рідких компонентів у реактор	2	Збірні
Р-35	Реактор для приготування і стерилізації поживних середовищ об'ємом 0,1 м ³ , коефіцієнт заповнення 0,7 із завантаженням через дозатор, нижнім зливом і лопатевою мішалкою. Робота при атмосферному або вищому за атмосферний тиску. З сорочкою. Стерилізація парою.	2	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Д-37	Об'ємно-вагові дозатори для розливання поживного середовища у банки.	2	

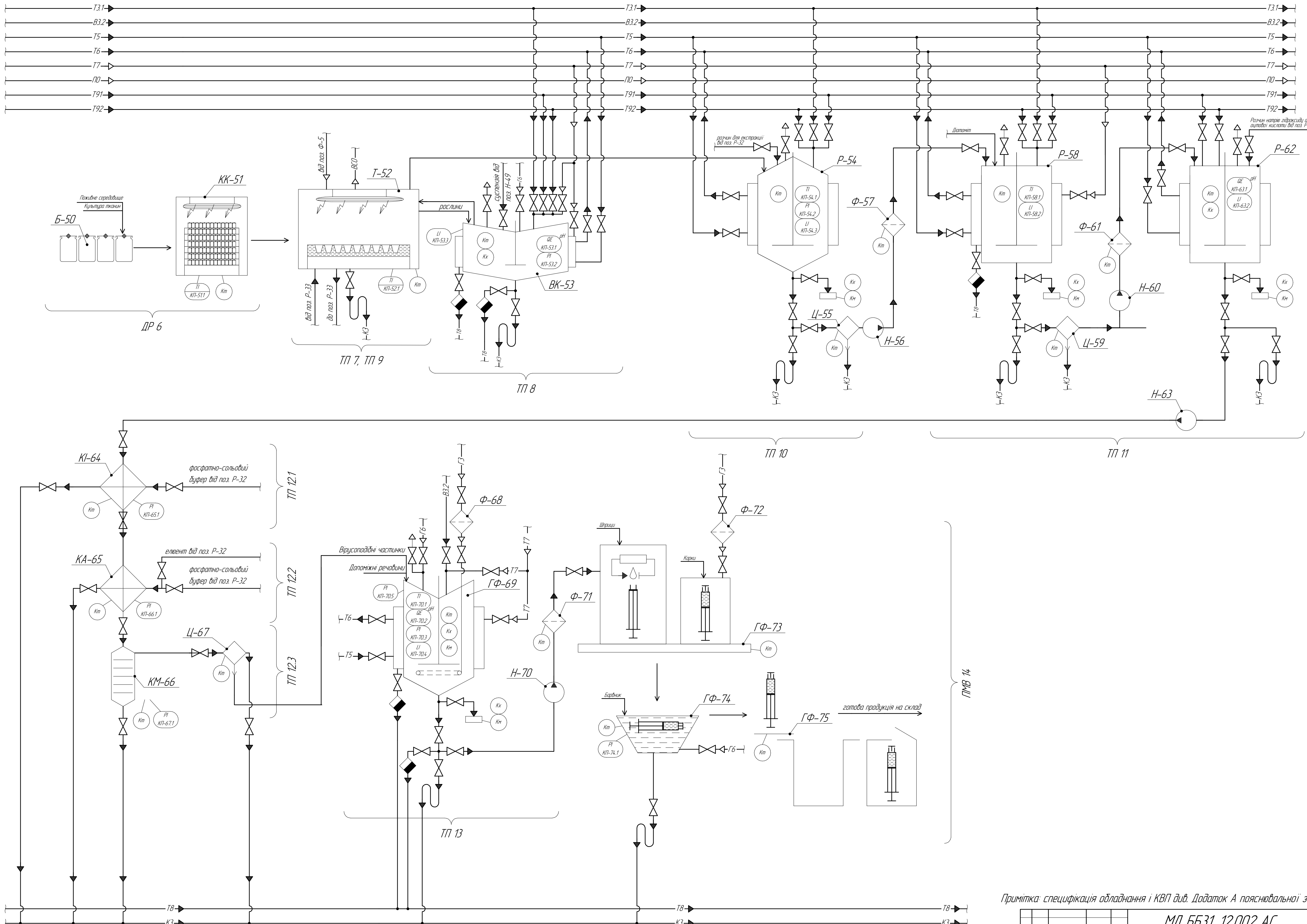
Р-39	Реактор для приготування і стерилізації поживних середовищ об'ємом 0,1 м ³ , коефіцієнт заповнення 0,7 із завантаженням через дозатор, нижнім зливом і лопатевою мішалкою. Робота при атмосферному або вищому за атмосферний тиску. З сорочкою. Стерилізація парою.	2	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
ЧП-41	Чашки петрі скляні для активації вектору на агаризованому середовищі.	100	
Б-42	Банки скляні об'ємом 1 л для рідкофазного культивування на качалках. Заповнення 200 мл.	40	
КЧ-43	Качалка для культивування у колбах.	2	
Ф-44	Фільтр тонкий індивідуальний для подачі стерильного повітря у ферментер. Продуктивність 36 м ³ /год Ефективність очистки 99,9999%.	2	
Р-45	Ферментер для накопичення вектору об'ємом 0,1м ³ , коефіцієнт заповнення 0,6 із завантаженням через штуцери, нижнім зливом культуральної рідини, відкритою турбінною мішалкою і барботером. Робота при атмосферному або вищому за атмосферний тиску. З сорочкою. Стерилізація парою.	2	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Н-46	Насос для транспортування культуральної рідини. Номінальна потужність 0,55 кВт	2	
Ц-47	Центрифуга для сепарації біомаси. 5000g	2	
Р-48	Реактор для приготування суспензії для інфільтрації об'ємом 2 м ³ , коефіцієнт заповнення 0,7 із завантаженням через штуцери і ручним завантаженням через люк, нижнім зливом і лопатевою мішалкою. Робота при атмосферному або вищому за атмосферний тиску. З сорочкою. Стерилізація парою.	2	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Б-50	Банки для мікроклонального розмноження рослин і коренегенезу на щільному поживному середовищі скляні, конічні, об'ємом 250 мл, заповненням 50 мл.	7200	
КК-51	Культуральна кімната зі стелажами для розміщення банок із культурою рослин. Фотоперіод 16 год. Інтенсивність світлового потоку 30 мкмоль/(м ² ·с).	1	
Т-52	Теплиця для культивування біологічного агента у горщиках та експресії. Фотоперіод 16 год. Інтенсивність світлового потоку 150 мкмоль/(м ² ·с).	4	

ВК-53	Вакуумна камера для інфільтрації рослин з підставкою для горщиків і лопатевою мішалкою. Робота при тиску меншому за атмосферний.	4	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Р-54	Реактор для гомогенізації біомаси і екстракції ВПЧ об'ємом 50 м ³ , коефіцієнт заповнення 0,7, із завантаженням через штуцери, нижнім зливом, рамною і зубчатою мішалками. Робота при атмосферному та підвищеному тиску. З сорочкою.	4	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Н-56, Н-60	Насоси відцентрові горизонтальні одноступеневі з робочим колесом закритого типу. Продуктивність 100 м ³ /год.	8	
Ц-55, Ц-59	Центрифуги для сепарації осаду біомаси і нецільових протеїнів. Доцентрове прискорення 7000g.	3	
Р-58	Реактор для грубого очищення ВПЧ об'ємом 50 м ³ , коефіцієнт заповнення 0,7, із завантаженням через штуцери, нижнім зливом, сорочкою, рамною і зубчатою мішалками. Робота при атмосферному тиску. З сорочкою.	4	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Ф-61	Фільтр для видалення нерозчинених контамінантів. Фільтруючий матеріал скловолокно. Діаметр пор 0,8 мкм.	1	
Р-62	Реактор для нормалізації рН об'ємом 50 м ³ , коефіцієнтом заповнення 0,7, з сорочкою лопатевою мішалкою із нижнім спуском. Завантаження через штуцери вручну. Робота при атмосферному тиску.	4	Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Н-63	Насос постійного тиску для хроматографічних колонок, відцентровий. Продуктивність 1 м ³ /год.	2	
КІ-64	Колонка іонообмінної хроматографії із катіонообмінною смолою. Періодичної дії.	12	
КА-65	Колонка афінної хроматографії з «NGL COVID-19 Spike Protein Affinity Resin». Періодичної дії.	6	
КМ-66	Прилад на основі керамічної мембрани для концентрування ВПЧ із інтегрованим насосом. Періодичної дії.	1	Діаметр пор 10 нм
Ц-67	Центрифуга для осадження ВПЧ. Робоче доцентрове прискорення 14000g.	2	
Ф-68	Фільтр індивідуальний для тонкого очищення азоту. Продуктивність 18 м ³ /год.	4	ISO ePM1
ГФ-69	Реактор для приготування суспензії для ін'єкцій ВПЧ. Об'єм 30 м ³ , з мішалкою турбінною відкритого типу, барботером і сорочкою. Робота	4	Неірж. сталь 12Х18Н10Т

	при атмосферному, нижчому і вищому за атмосферний тиску.		
Н-70	Насос для транспортування суспензії для ін'єкцій	2	
Ф-71	Фільтр стерилізаційний діаметром пор 0,22 мкм.		Поліамід
Ф-72	Фільтр індивідуальний для тонкого очищення азоту. Продуктивність 18 м³/год.	2	ISO ePM1
ГФ-73	Апарат для наповнення і закупорювання шприців. Продуктивність 500 од/год.	1	
ГФ-74	Камера для перевірки шприців на герметичність під вакуумом із метиленовим синім.	1	
ГФ-75	Конвеєр для ручного пакування шприців у пачки.	1	
КП-4.1, КП-12.1, КП-16.1, КП-27.1, КП-31.1, КП-32.1, КП-33.1, КП-35.1, КП-39.1, КП-43.1, КП-45.1, КП-48.1, КП-51.1, КП-52.1, КП-54.1, КП-58.1, КП-69.1	Температура ТІ Прилад для вимірювання температури. Діапазон вимірювань -50...150°C		Монтаж по місцю
КП-32.2, КП-35.2, КП-39.2, КП-45.2, КП-48.2, КП-53.1, КП-54.2, КП-63.1, КП-69.2	рН QE Датчик для вимірювання рН з термоперетворювачем опору. Вихідний сигнал: 4...20мА. Діапазон вимірювання рН 0...14 Точність 0,01.		Монтаж по місцю
КП-5.1, КП-8.1, КП-10.1, КП-13.1, КП-32.3, КП-35.3, КП-39.3, КП-45.3, КП-48.3, КП-64.1, КП-65.1, КП-67.1, КП-69.3	Тиск РІ Манометр для вимірювання тиску від 0 до 2,5 МПа. Клас точності 1,5.		Монтаж по місцю
КП-18.1, КП-27.2, КП-31.2, КП-32.4, КП-33.2, КП-35.4, КП-39.4, КП-45.4, КП-48.4, КП-53.3, КП-54.3, КП-58.2, КП-63.2, КП-69.4	Рівень LI Рівнемір пневматичний показуючий.		Монтаж по місцю
КП-53.2, КП-69.5	Розрідження Вакуумметр показуючий. Діапазон вимірювань від 0 до 1000 мбар.		Монтаж по місцю

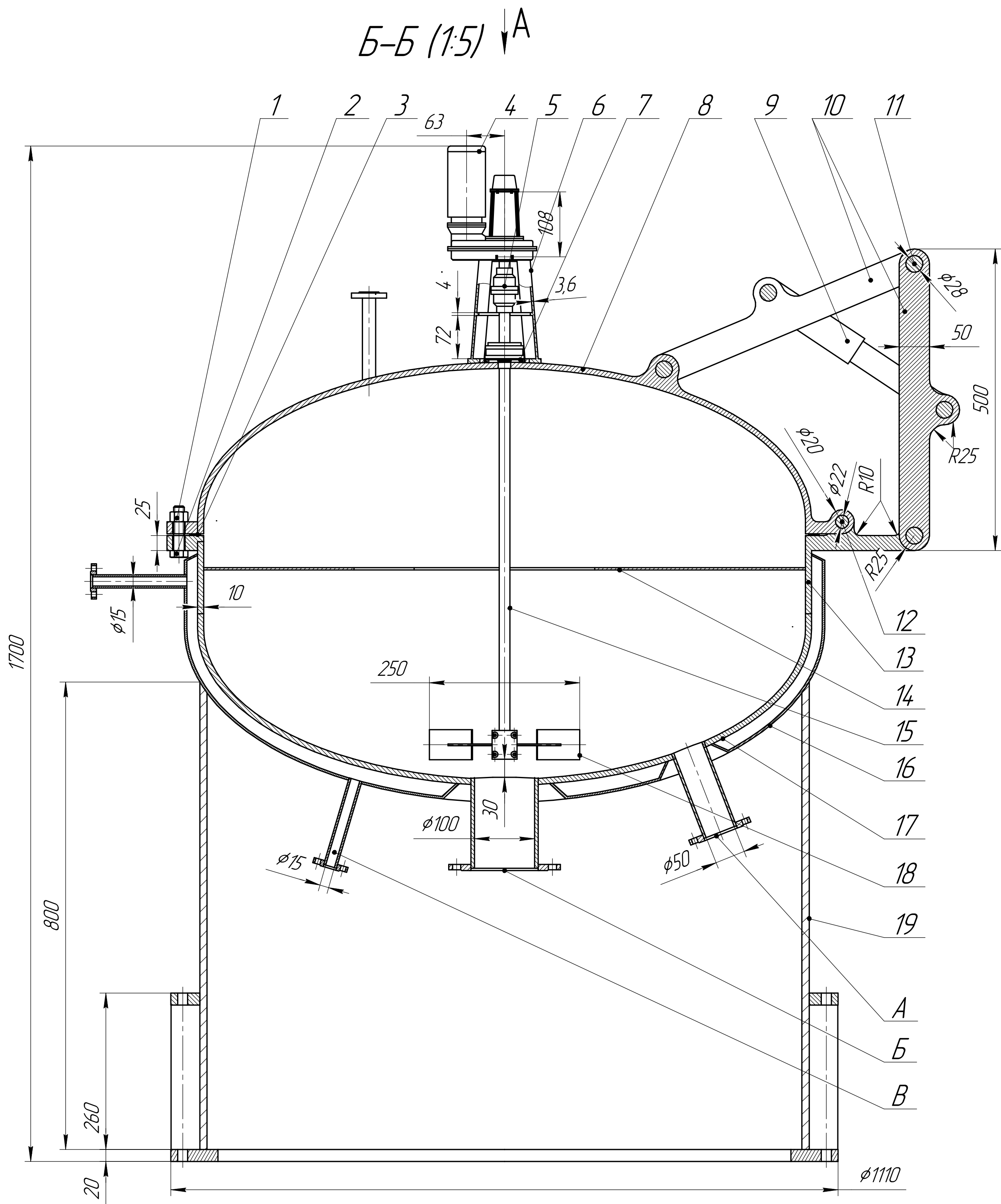






Примітка: специфікація обладнання і КВП див. Додаток А пояснювальної записки

Зм.	Арх.	№ докум.	Підп.	Дата



Таблиця штучерів

Позначення	Найменування	Кільк.	Прохід умовний D _у , мм	Тиск умовний P _у , МПа
A	Вхід суспензії	1	50	0,6
Б	Вихід суспензії	1	15	0,6
В	Вхід теплоносія	1	15	0,6
Г	Вихід теплоносія	1	100	0,6
Д	Для термометра	1	15	0,6
К	Вхід та вихід повітря	1	15	0,6
Л	Для створення вакууму	1	15	0,6
М	Для вакуумметра	1	15	0,6

Технічна характеристика

Апарат призначений для культивування вектору з використанням дурякової м'якоти.

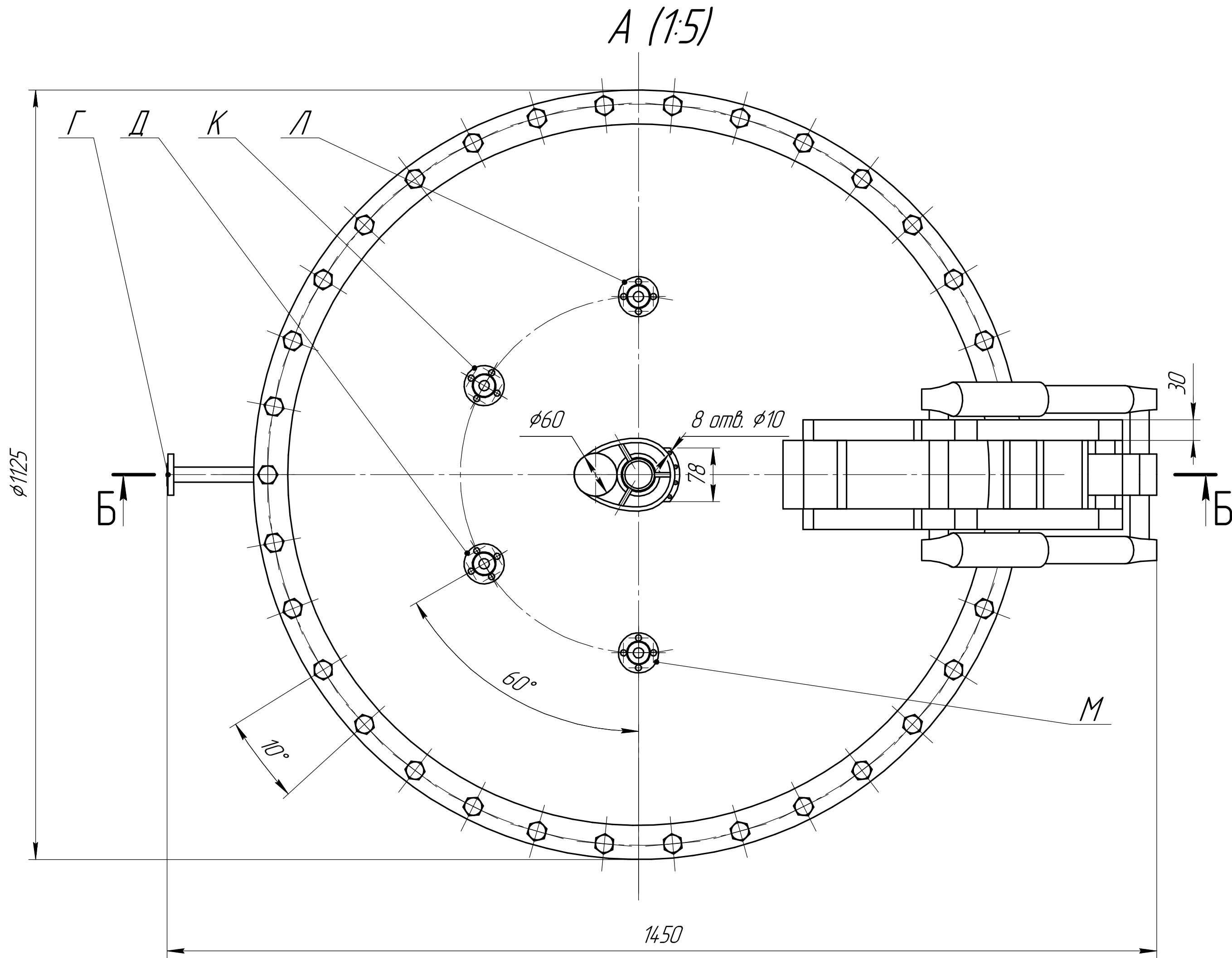
1. Об'єм апарату, м³
номинальний 0,4;
робочий 0,223;
2. Тип перемішуючого пристрою мішалка лопатева;
3. Кількість мішалок 1
4. Частота обертання вала мішалки, хв⁻¹ 100
5. Потужність електродвигуна, кВт 3,0
6. Поверхня теплообміну, м² 0,371;
7. Середовище та матеріали в апараті суспензія для інфільтрації, рослини у горщиках
у сорочці вода очищена охолоджена
8. Тиск, МПа
робочий 0,02 МПа;
максимальний 0,6 МПа;
9. Температура середовища, °C
середовища в апараті 20;
теплоносія у сорочці на вході 18;
на виході 20;
10. Габаритні розміри, мм
висота апарату 1700;
ширина апарату 1125;
довжина апарату 1450.

Технічні вимоги

1. Конструкція апарату відповідає вимогам СОУ МПП 71.120-217-2009. Посудини та апарати сталеві зварні. Загальні технічні умови.
2. Апарат підлягає дії НПАОП 0.00-181-18 Правила охорони праці під час експлуатації обладнання, що працює під тиском.
3. Матеріал деталей апарату – сталь 12Х18Н10Т ГОСТ 5632-95
4. Зварні шви контролювати рентгенопробіванням або УЗД.
5. Монтаж згідно ДСТУ-Н Б А.3.1-32:2015 Настанова щодо монтажу та зварювання посудин, що працюють під тиском, при будівництві будівель та споруд.
6. Тиск випробувань гідравлічних випробувань 0,6 МПа.

Специфікація складових частин

Поз.	Найменування	Кільк.	Примітка
1	Гайка М18	31	
2	Болт М18	31	
3	Прокладка	1	
4	Мотор-редуктор	1	
5	Муфта	1	
6	Стійка	1	
7	Торцеве ущільнення	1	
8	Кришка еліптична	1	
9	Гідравлічний поршень	2	
10	Важіль	4	
11	Вісь 28мм	5	
12	Вісь 22 мм	1	
13	Обичайка циліндрична	1	
14	Платформа для горщиків	1	
15	Вал	1	
16	Сорочка U-подібна	1	
17	Днище еліптичне	1	
18	Мішалка лопатева	1	
19	Опорна стійка циліндрична	1	



				МД ББ31. 12.003 ВК			
	Прізвище	Підпис	Дата	Виробництво вакцини від COVID-19 на основі вірусоподібних частинок in plate Вакуумна камера	Лист	Маса	Масштаб
Розроб.	Савченко Т.А.						
Конс.	Садий Л.А.						
Конс.							
Керівн.	Маринченко Л.В.			Розріз фронтальний Б-Б, вид зверху А, технічна характеристика, таблиця штучерів, перелік складових частин	Аркушів 1		
Затв.					КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ, ББ-31мп		

Показники	Одиниця виміру	Умовне позначення, формула розрахунку
Річний обсяг реалізації ідеї	шт.	$B = 30000000$
Середньорічна чисельність персоналу за списком у тому числі – основних – допоміжних – інженерно-технічного персоналу	Осіб	$Ч_{сп} = 55$ $Ч_{спо} = 15$ $Ч_{спд} = 29$ $Ч_{спт} = 11$
Середньорічний виробіток робітника	шт./особу	$ПП_{с.р.} = B / Ч_{спо} = 200\ 000$
Капіталовкладення у проект: – на одиницю продукції	млн. грн грн/шт	$K = ОФ + ОДК = 133,43 + 1,75 = 135,18$ $Код.пр. = K / N_{пр} =$ $= 135180000 / 3000000 = 45,06$
Повна собівартість: – на одиницю продукції	млн. грн грн/шт.	$C = 156\ 000\ 000$ $C_{п} = 52\ \text{грн}$
Відносний прибуток	грн/шт.	$П = Ц - C = 150 - 52 = 98$
Рентабельність	%	$P = (П / C) \cdot 100\% = (98 / 52) \cdot 100 = 188,5$
Період повернення капіталовкладень	Років	$T_{пов} = 45,06 / 98 = 0,46$
Фондовіддача виробничих фондів	грн/грн	$ФВ = (Ц \cdot B) / ОФ =$ $= (150 \cdot 3000000) / 133430000 = 3,37$
Фондоємкість	грн/грн	$ФЕ = 1 / ФВ = 1 / 3,37 = 0,30$
Продуктивність праці	грн/(ос. · год)	$ПП = B \cdot Ц / (Ч_{сп} \cdot T) =$ $= 3000000 \cdot 150 / (55 \cdot 1987) = 4117$
Коефіцієнт економічної ефективності		$E = П / К = 98 / 45,06 = 2,17$