

**«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ  
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»  
ФАКУЛЬТЕТ БІОМЕДИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ  
КАФЕДРА ТРАНСЛЯЦІЙНОЇ МЕДИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ**

«На правах рукопису»  
УДК 604.4:615.371:67.02(043.3)

До захисту допущено:  
В.о. завідувача кафедри  
\_\_\_\_\_ Олександр БЕСАРАБ  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 р.

**Магістерська дисертація  
на здобуття ступеня магістра  
за освітньо-професійною програмою «Регенеративна та біофармацевтична  
інженерія»  
зі спеціальності 163 «Біомедична інженерія»  
на тему: «Біоінженерні засади виробництва мРНК-вакцини  
від COVID-19»**

Виконала:

студентка II курсу, групи БФ-11мп  
Кізім Марія Сергіївна \_\_\_\_\_

Науковий керівник:

Доцент кафедри ТМБ, доктор філософії  
Мотроненко Валентина Василівна \_\_\_\_\_

Рецензент:

Доцент кафедри ББЕ, к.т.н., с.н.с  
Маринченко Лоліта Вікторівна \_\_\_\_\_

Засвідчую, що у цій дипломній  
роботі немає запозичень з праць  
інших авторів без відповідних  
посилань.

Студентка \_\_\_\_\_

Київ – 2022 року

**Національний технічний університет України**  
**«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»**  
**Факультет біомедичної інженерії**  
**Кафедра трансляційної медичної біоінженерії**

Рівень вищої освіти: другий (магістерський)

Спеціальність: 163 – Біомедична інженерія

Освітньо-професійна програма «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. завідувача кафедри трансляційної  
медичної біоінженерії

\_\_\_\_\_ Олександр БЕСАРАБ

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**на магістерську дисертацію студентці**

Кізим Марії Сергіївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема магістерської дисертації: Біоінженерні засади виробництва мРНК-вакцини від COVID-19, науковий керівник дисертації доцент кафедри ТМБ Мотроненко Валентина Василівна, доктор філософії затверджені наказом по університету від « 9 » листопада 2022 р. № 4133-с.
2. Термін подання дисертації здобувачем « 09 » грудня 2022 р.
3. Об'єкт дослідження: наукове обґрунтування технології виготовлення мРНК-вакцин.
4. Предмет дослідження: адаптація технологічного виробництва мРНК-вакцини для використання в Україні.
5. Перелік завдань, які потрібно реалізувати: аналіз технології виробництва мРНК-вакцин, з метою оцінки можливості їх адаптації до ринку України, розробка технологічної схеми, схеми компоновки приміщень, потоків персоналу і сировини виробництва мРНК-вакцини проти COVID-19, розробка системи якості контролю виробництва, оцінка ризиква запропонованої технології виробництва, розробка стартап-проєкту по впровадженню запропонованої технології.
6. Перелік ілюстративного матеріалу: технологічна схема виробництва, схема компоновки приміщення та обладнання, схема потоків сировини і персоналу.
7. Консультанти розділів дисертації: не передбачено робочим навчальним планом.
8. Дата видачі завдання: « 10 » листопада 2022 р.

## Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Аналіз літературних джерел по вакцинах та мРНК-вакцинах	27.10.22-30.10.22	
2	Пошук нормативно-технічної документації для забезпечення реалізації проекту виробництва біоімплантів шкіри	31.10.22-02.11.22	
3	Технологія виготовлення мРНК-вакцини та забезпечення контролю якості	03.11.22-10.11.22	
4	Технологічна схема виробництва	11.11.22-16.11.22	
5	Схема компоновки приміщень	17.11.22-19.11.22	
6	Схема потоків сировини та персоналу	20.11.22-22.11.22	
7	Оцінка ризиків	22.11.22-25.11.22	
8	Розробка старта-проєкту	25.11.22-29.11.22	
9	Оформлення роботи	30.11.22-01.12.22	
10	Підготовка до захисту МД	02.12.22-09.12.22	

Здобувач:

студентка гр. БФ-11мп \_\_\_\_\_

Марія КІЗИМ

Науковий керівник дисертації:

доцент каф. ТМБ \_\_\_\_\_

Валентина МОТРОНЕНКО

## АНОТАЦІЯ

Магістерська дисертація має обсяг 80 сторінок, де міститься 2 рисунки, 1 формула та 16 таблиць. Загалом опрацьовано 128 джерел.

**Актуальність:** мРНК – це висхідна зірка в біофармацевтичному просторі. Інтерес до цього нового типу вакцини зумовлений гнучкістю, безпекою та точністю, яку ці вакцини демонструють у порівнянні із традиційними підходами. В Україні, наразі, вакцини не виробляють і немає спеціальних технологій виробництва мРНК-вакцин.

**Мета дисертації:** адаптувати технологію виробництва мРНК-вакцин від Covid-19 для реалізації в Україні.

**Об'єкт дослідження** – наукове обґрунтування технології виготовлення мРНК-вакцин.

**Предмет дослідження** – адаптація технологічної виробництва мРНК-вакцини для використання в Україні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше в Україні запропоновано теоретично обґрунтовано засади технології виробництва мРНК-вакцини, яка задовольнить потреби ринку серед населення, що потребує вакцинації проти Covid-19.

Під час виконання магістерської дисертації проаналізовано різні типи вакцин в порівнянні з мРНК і розглянуто їх принцип будови та дії, на основі чого можна стверджувати що мРНК є кращими, тому що безпечніші і дешевші у виготовленні. Розроблено технологічну, схему компоновки приміщень та схему потоків сировини і персоналу виробництва мРНК-вакцини проти COVID-19 відповідно з чинним законодавством України. Технологічний процес виготовлення противірусної вакцини від Covid-19 складається з 23 основних етапів. Виробництво має обґрунтування компоновки приміщень за класами чистоти та відповідну систему контролю якості. У роботі передбачено можливі ризики на всіх етапах виробництва. Найбільш критичними ризиками є

контамінація готової вакцини. Для всіх ризиків проведено перспективну валідацію та запропоновано шляхи мінімізації.

Розроблено стартап-проект для впровадження виробництва, розраховано економічні показники, а саме: собівартість 1 ампули не перевищуватиме 150 грн.

**Ключові слова:** мРНК-вакцини, технологічна схема, технологія виробництва, проектування лабораторії.

## SUMMARY

The master's thesis has a volume of 80 pages, which contains 2 pictures, 1 formula and 16 tables. A total of 128 sources were processed.

Relevance: mRNA is a rising star in the biopharmaceutical space. Interest in this new type of vaccine is driven by the flexibility, safety, and accuracy these vaccines demonstrate compared to traditional approaches. Currently, vaccines are not produced in Ukraine and there are no special technologies for the production of mRNA vaccines.

The purpose of the dissertation: to adapt the production technology of mRNA vaccines against Covid-19 for implementation in Ukraine.

The object of the research is the scientific justification of the technology of manufacturing mRNA vaccines.

The subject of the study is the adaptation of technological production of mRNA vaccine for use in Ukraine.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time in Ukraine, the principles of the mRNA vaccine production technology, which will meet the needs of the market among the population in need of vaccination against Covid-19, have been proposed in a theoretically grounded manner.

During the execution of the master's thesis, various types of vaccines were analyzed in comparison with mRNA and their principles of structure and action were considered, on the basis of which it can be argued that mRNA is better because it is safer and cheaper to manufacture. A technological scheme, a scheme of the layout of the premises and a scheme of flows of raw materials and personnel for the production of the mRNA vaccine against COVID-19 have been developed in accordance with the current legislator of Ukraine. The technological process of manufacturing an antiviral vaccine against Covid-19 consists of 23 main stages. The production has a justification for the layout of the premises according to cleanliness classes and a corresponding quality control system. The work foresees possible risks at all stages of production. The

most critical risks are contamination of the finished vaccine. Prospective validation was conducted for all risks and ways of minimization were proposed.

A start-up project for the introduction of production has been developed, economic indicators have been calculated, namely: the cost of 1 ampoule will not exceed UAH 150.

**Keywords:** mRNA vaccines, technological scheme, production technology, laboratory design.

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	9
РОЗДІЛ 1. АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	11
1.1. Виникнення та прогрес мРНК-вакцин в історії.....	11
1.2. Характеристика мРНК-вакцин .....	13
1.3. Принцип роботи та склад мРНК-вакцин .....	13
1.4. Порівняння мРНК-вакцин із традиційними .....	19
1.5. Сучасне положення мРНК-вакцин в Україні.....	20
Висновки до розділу 1 .....	21
РОЗДІЛ 2. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА мРНК-ВАКЦИН .....	22
Висновки до розділу 2 .....	25
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА .....	26
3.1 Опис стадій технологічного процесу .....	26
3.2 Характеристика виробництва .....	36
3.3 Система контролю якості на виробництві.....	38
Висновки до розділу 3 .....	44
РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА РИЗИКІВ.....	45
Висновки до розділу 4. ....	57
РОЗДІЛ 5. СТАРТАП-ПРОЄКТ .....	58
5.1 Резюме стартап-проекту.....	58
5.2 Детальний ринковий аналіз реалізації проекту .....	60
5.3 Розрахунок фінансових показників.....	65
5.4 Розробка ринкової стратегії стартап проекту .....	67
Висновки до розділу 5. ....	68
ВИСНОВОК.....	69
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	71



## ВСТУП

У сучасному світі багато дискусій про вакцинацію, але незаперечним фактом залишається те, що вакцина є ефективним засобом боротьби з деякими захворюваннями, які краще попередити заздалегідь, ніж лікувати безпосередньо. Всесвітня організація охорони стверджує, що щеплення рятує життя від двох до трьох мільйонів людей щороку, запобігаючи 20 хворобам. Вакинацію вважають одним з найбільших медичних досягнень сучасного світу. Завдяки щепленням людство перемогло віспу, кір, малярію, Окрім того, захворюваність на поліомієліт знизилася на 99%, тому щороку понад 750 тисяч дітей уникають інвалідності. [1].

Вакцини – це імунобіологічні препарати з бактерій, вірусів або їх метаболітів, які використовуються для активної імунізації людей і тварин з метою профілактики захворювань інфекційного походження [2]. Це визначення підходить для традиційних вакцин, але не для новітніх мРНК, котрі рятують нас від нової пандемії. мРНК-вакцини прорив 21 століття навколо яких і досі точаться гострі дискусії, тому що суспільство не розуміє як вони працюють та чому такі ефективні та інноваційні. Вакцини мРНК є безпечними і не можуть змінити ДНК людини. мРНК-вакцини показали найбільшу ефективність до різних мутації коронавірусу, цей показник становить більше 90% у всіх випадках.

мРНК-вакцина – вакцина, де діюча частина – матрична рибонуклеїнова кислота, що кодує білок, характерний для патогена.

**Мета дисертації:** адаптувати технологію виробництва мРНК-вакцин від Covid-19 для реалізації в Україні.

У відповідності із метою потрібно виконати наступні **задачі:**

1. Проаналізувати технології виробництва мРНК-вакцин, з метою оцінки можливості їх адаптації до ринку України.

2. Розробити технологічну схему та схему компоновки приміщень виробництва мРНК-вакцини проти COVID-19.

3. Розробити систему якості контролю виробництва.

4. Оцінити ризики запропонованої технології виробництва.

5. Розробити стартап-проект по впровадженню запропонованої технології.

**Об'єкт дослідження** – наукове обґрунтування технології виготовлення мРНК-вакцин.

**Предмет дослідження** – адаптація технологічного виробництва мРНК-вакцини для використання в Україні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше в Україні запропоновано теоретично обґрунтовано засади технології виробництва мРНК-вакцини, яка задовольнить потреби ринку серед населення, що потребує вакцинації проти Covid-19.

**Практичне значення отриманих результатів.** Реалізація запропонованої технології дозволить вивести український фармацевтичний ринок на новий рівень, забезпечувати вакциною населення нашої країни. Окрім того, технологія доволі гнучка до змін, тому в майбутньому її можна змінювати та вдосконалювати не лише для боротьби з Covid-19.

**Обсяг і структура дисертації.**

Обсяг магістерської дисертації 80 сторінок. Робота складається з п'яти розділів: аналізу літературних джерел, нормативно-технічної документації для реалізації виробництва мРНК-вакцин, технології виробництва мРНК-вакцин проти Covid-19, оцінки ризиків та стартап проекту, також містить вступ, висновки та перелік літературних джерел. Робота супроводжується трьома кресленнями: технологічною схемою, апаратною схемою, схемою потоків сировини і персоналу. Дисертація має 2 ілюстрації, 16 таблиць та 1 формулу. Перелік опрацьованих джерел становить 128.

## РОЗДІЛ 1. АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

### 1.1. Виникнення та прогрес мРНК-вакцин в історії

мРНК-вакцини набули піку своєї популярності під час пандемії Covid-19, але винайдені вони були задовго до цього. Наприкінці 1987 року молодий аспірант Інституту біологічних досліджень Солка в Ла-Хойя, Каліфорнія, виконав знаковий експеримент. Роберт Малоун змішав нитки інформаційної РНК із крапельками жиру, щоб створити свого роду молекулярне пагу. Людські клітини поглинули мРНК і почали виробляти з неї білки. Він зрозумів, що це відкриття має потенціал в майбутньому і занотував свої дослідження [3].

Пізніше того ж року експерименти Малоуна показали, що ембріони жаби поглинали таку мРНК. Це був перший раз, коли хтось використав жирові краплі, щоб полегшити проходження мРНК у живий організм [4].

Експерименти Малоуна не виникли зненацька, ще в 1978 році вчені використовували жирові мембранні структури, які називаються ліпосомами, для транспортування мРНК у клітини миші та людини, щоб індукувати експресію білка. Ліпосоми упаковували та захищали мРНК, а потім зливали з клітинними мембранами, щоб доставити генетичний матеріал у клітини. Ці експерименти базувалися на роках роботи з ліпосомами та мРНК, а відкриті були у 60-их роках 20 століття [5].

Дослідники не розглядали мРНК як медичний продукт, тому що тоді не існувало виробництва генетичного матеріалу в лабораторних умовах. Ситуація змінилася в 1984 році, коли Кріг та інші члени групи під керівництвом біолога Дугласа Мелтона та молекулярних біологів Тома Маніатіса та Майкла Гріна з Гарвардського університету в Кембриджі, використали фермент синтезу РНК (взятий із вірусу) та інші інструменти для виробництва біологічно активної мРНК у лабораторії — метод, який, за своєю

суттю, залишається в експлуатації й сьогодні. Потім Кріг ввів отриману в лабораторії мРНК в яйцеклітини жаб і показав, що вона працює так само, як справжня [6,7].

І Мелтон, і Кріг кажуть, що розглядали синтетичну мРНК переважно як дослідницький інструмент для вивчення функції та активності генів. У 1987 році, коли Мелтон виявив, що мРНК можна використовувати як для активації, так і для запобігання виробленню білка, він допоміг створити компанію під назвою Oligogen, щоб досліджувати способи використання синтетичної РНК для блокування експресії цільових генів — з метою лікування хвороби. Ні в його лабораторії, ні в їхніх співробітниках не думали про вакцини.

У 1990-х і протягом більшої частини 2000-х років майже кожна компанія з виробництва вакцин, яка розглядала роботу над мРНК, вирішила інвестувати свої ресурси в інше місце. Загальноприйнята думка вважала, що мРНК надто схильна до деградації, а її виробництво занадто дороге. Ідея мРНК-вакцини була більш прихильно сприйнята в онкологічних колах, хоча як терапевтичний засіб, а не як засіб для запобігання захворюванням. Починаючи з роботи генного терапевта Девіда Куріеля, кілька академічних вчених і нових компаній досліджували, чи можна використовувати мРНК для боротьби з раком. Якщо мРНК кодує білки, що експресуються раковими клітинами, то введення її в організм може навчити імунну систему атакувати ці клітини. Куріель досяг певного успіху на мишах. Інший імунолог з раку досяг більшого успіху, що призвело до заснування першої терапевтичної компанії мРНК у 1997 році. Елі Гільбоа запропонував взяти імунні клітини з крові та спонукати їх сприймати синтетичну мРНК, яка кодує пухлинні білки. Потім клітини будуть введені назад в організм, де вони зможуть спрямувати імунну систему на атаку прихованих пухлин [8,9].

Робота Гільбоа мала важливий наслідок для сучасності. Його дослідження надихнуло засновників німецьких фірм CureVac і BioNTech — двох найбільших існуючих на сьогодні компаній мРНК почати роботу над мРНК.

## 1.2. Характеристика мРНК-вакцин

мРНК є проміжною стадією між трансляцією ДНК, що кодує білок, і виробництвом білка рибосомами в цитоплазмі. В даний час досліджуються два типи РНК-вакцин:

- нереплікуюча мРНК-вакцина;
- самореплікуюча мРНК-вакцина *in vivo*.

Найпростіший типом РНК-вакцин є нереплікуючі. Вони включають послідовність мРНК, що кодує цільовий антиген, який фланкується 3' і 5' нетрансльованими ділянками (UTRs). Послідовність мРНК невелика за розміром і проста в побудові, оскільки вона не містить жодних додаткових послідовностей, що кодують білок, для підтримки самовідтворення мРНК [10,11].

У самовідтворюваних мРНК-вакцинах використовується вірусний геном, в якому послідовність вірусних генів, відповідальна за кодування структурних білків, замінюється послідовністю антигенів, які становлять інтерес. Послідовність вірусної РНК, створена таким чином, все ще може реплікуватися і може бути транскрибована за допомогою вірусної РНК-полімерази. Хоча процес побудови самовідтворюваних мРНК-вакцин складніший, ніж в нереплікуючих мРНК-вакцин, значно вища швидкість посилення послідовності мРНК, що кодує антиген, робить самовідтворювані вакцини більш вигідними з точки зору значно вищого виробництва цільового антигену з відносно низьких доз вакцин [11,12,13].

## 1.3. Принцип роботи та склад мРНК-вакцин

Основний принцип мРНК як технології вакцинації полягає в доставці зацікавленого транскрипта, що кодує один або кілька імуногенів, в цитоплазму

клітини-господаря, де експресія генерує трансльований білок, який повинен знаходитися всередині мембрани, секретуватися або розташовуватися всередині клітини. Активно оцінюються дві категорії конструкцій мРНК: конструкції, що не реплікуються, мРНК (NRM) і самореплікуюча конструкції мРНК (SAM). Обидві мають загальну структуру кепа, 5'- і 3'-нетрансльовані області (UTR), відкриту рамку зчитування (ORF) та 3'-полі(A) хвіст. SAM відрізняється включенням механізму генетичної реплікації, отриманого з вірусів з позитивним ланцюжком мРНК, найчастіше альфавірусів, таких як віруси Sindbis і Semliki-Forest. Як правило, ORF, що кодує вірусні структурні білки, замінюється обраним транскриптом, що становить інтерес, а вірусна РНК-залежна РНК-полімераза зберігається для направлення цитоплазматичної ампліфікації конструкції реплікону. Конструкції мРНК (NRM), що не реплікуються, створюють кодуєчу послідовність (CDS) і фланковані 5'- і 3'-нетрансльованими областями (UTR), 5'-кеп-структурою і 3'-полі-(A) хвостом. Самоампліфікована конструкція мРНК (SAM) кодує додаткові компоненти реплікази, здатні спрямовувати внутрішньоклітинну ампліфікацію мРНК. NRM та SAM показані у ліпідних наночастинках (LNP), які інкапсулюють конструкції мРНК, щоб захистити їх від деградації та сприяти клітинному поглинанню (рис.1.1). Клітинне поглинання мРНК з її системою доставки зазвичай використовує ендочитарні шляхи, що походять з мембран. Ендосомальний вихід дозволяє вивільняти мРНК у цитозоль. Конструкції NRM, що знаходяться в цитозолі, негайно трансльуються рибосомами з утворенням потрібного білка, який піддається наступній посттрансляційній модифікації. SAM-конструкції можуть бути негайно трансльовані рибосомами з утворенням механізму реплікази, необхідного для самоампліфікації мРНК. Самоампліфіковані конструкції мРНК трансльуються рибосомами з утворенням потрібного білка, який піддається наступній посттрансляційній модифікації. Експресовані білки генеруються як

секретований, трансмембранний або внутрішньоклітинний білки. Вроджені та адаптивні імунні відповіді виявляють білок [14,15,16,17,18].

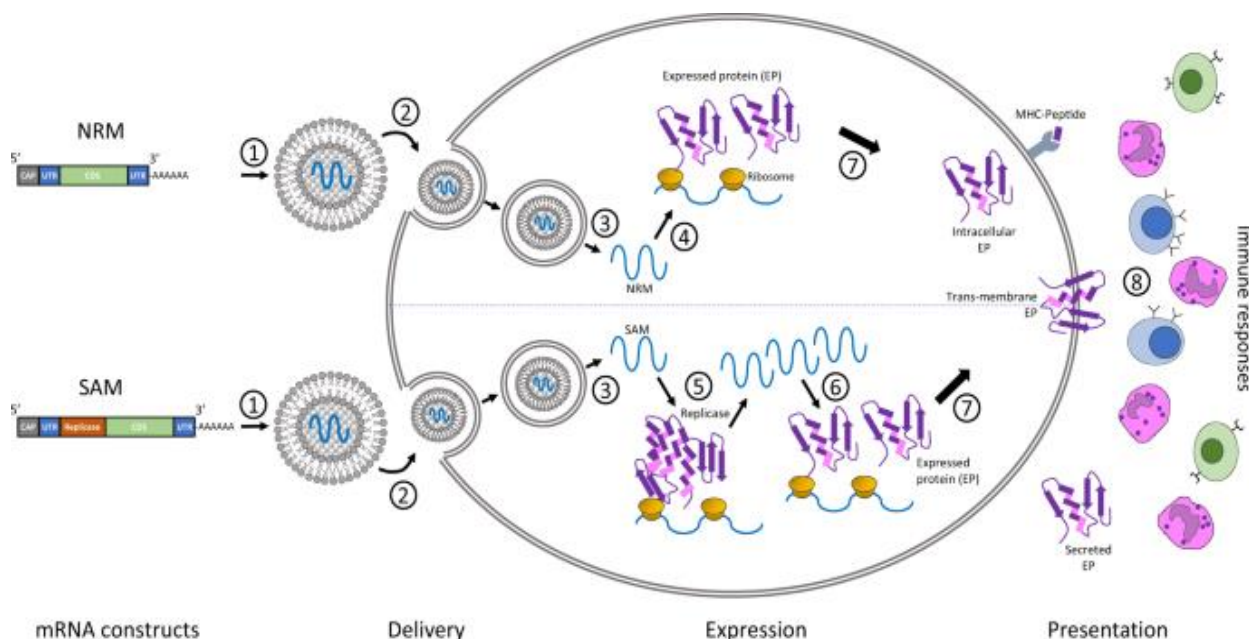


Рисунок 1.1 – Два типи конструкцій мРНК[18]

Процес виробництва починається зі створення плазмідної ДНК, що містить промотор ДНК-залежної РНК-полімерази, такий як Т7, і відповідну послідовність для конструкції мРНК. пДНК лінеаризується, щоб служити матрицею для ДНК-залежної РНК-полімерази для транскрипції мРНК, а потім розщеплюється на стадії ДНКази. Додавання 5'-кепу та 3'-полі(А)-хвоста може бути досягнуто під час стадії транскрипції *in vitro* або ферментативно після транскрипції. Ферментативне додавання кепу може бути виконано з використанням гуанілілтрансферази та 2'-О-метилтрансферази для отримання кепа 0 (N7Me GpppN) або кепа 1 (N7Me GpppN 2'-OMe) відповідно, у той час як хвіст полі-А може бути отриманий шляхом ферментативного додавання за допомогою полімерази полі-А [19, 20].

Очищення є важливим наступним кроком, якого можна досягти за допомогою рідинної хроматографії високого тиску. Отримана лікарська речовина потім переробляється на лікарський препарат і випускається на основі випробувань на стерильність, ідентичність, чистоту та активність. Ці

процеси дозволяють підприємствам, які відповідають вимогам належної виробничої практики (GMP), перейти на нову вакцину протягом дуже короткого періоду часу, враховуючи, що реакційні матеріали та судини залишаються тими самими [21].

Конструкція мРНК для вакцинації після вивільнення в цитоплазму клітини полягає в ефективному використанні механізму трансляції клітини-господаря для отримання достатньої кількості імуногену, що кодується, який належним чином презентується імунній системі. У всьому світі кілька критичних атрибутів якості були і залишаються в центрі уваги намагань щодо максимізації експресії генів. По-перше, чистота мРНК є вирішальним фактором, що визначає вихід, і відомо, що ДНК-залежні РНК-полімерази дають менші домішки олігорибонуклеотидів в результаті абортівних подій ініціації, а також дволанцюгову РНК, що генерує самоодаткове 3'-розширення, може призвести до продукції інтерферону I типу та запальних цитокінів через рецептори розпізнавання образів. Видалення домішок із препаратів мРНК знижувало вроджені імунні відповіді та призводило до значно вищих рівнів експресії репортерного білка *in vitro* [22, 23].

П'ять основних факторів ефективності включають: кеп-структуру; структуру, довжину та регуляторні елементи UTR; модифікацію кодуючої послідовності; властивості полі-А-хвоста; чистоту мРНК (дивись рис.1.2) [24].

По-друге, 5'- та 3'-області UTR важливі для максимізації експресії генів. Довжина 3'-UTR, структур 5'-UTR і регуляторні елементи обох UTR впливають на ефективність. По-третє, 5'-7-метилгуанозиновий кеп молекули мРНК, пов'язаний трифосфатним містком з першим нуклеотидом, що транскрибується, необхідним для ефективної трансляції і блокуючим 5'-3'-опосередковану деградацію. Специфічна структура кепу грає критичну роль як у продукції білка, так і в імуногенності. Виробники мРНК-вакцин приділяють особливу увагу вибору ферменту та умов реакції, щоб каталізувати максимально високий відсоток утворення кепу. По-четверте,



полі(А)-хвіст та його властивості, такі як довжина, мають вирішальне значення для трансляції та захисту молекули мРНК [25,26,27,28].

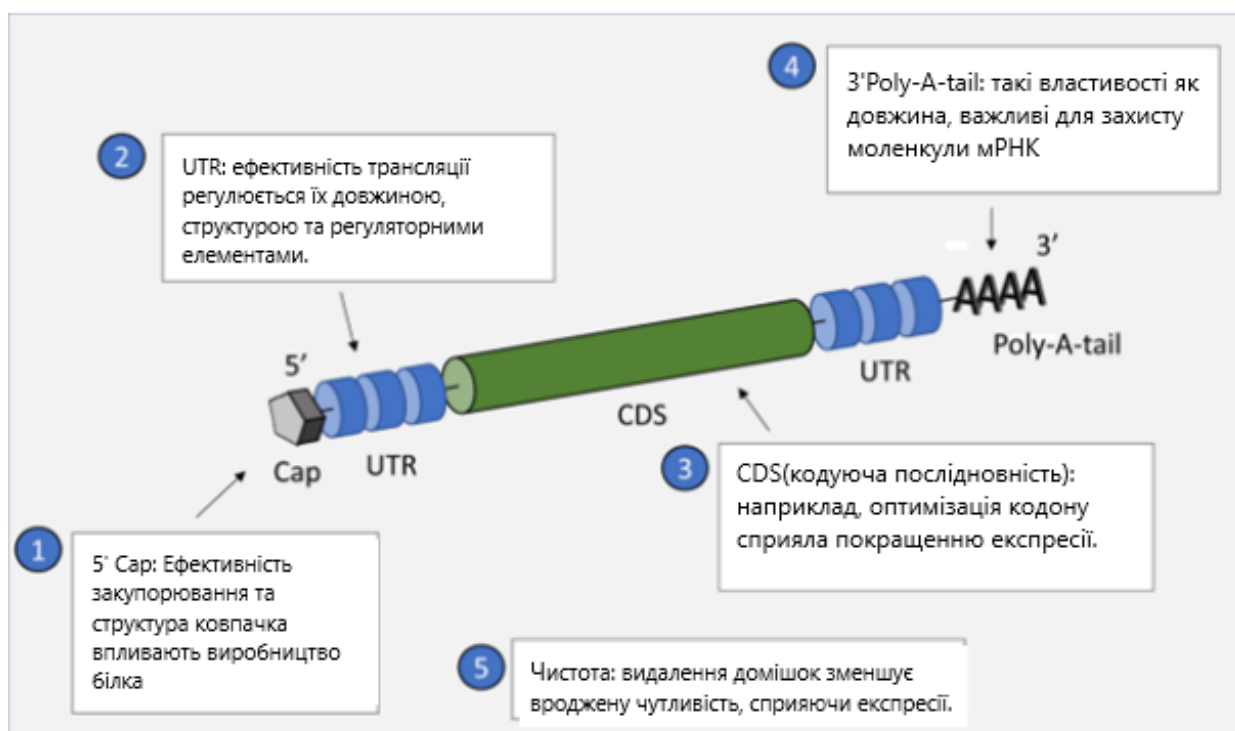


Рисунок 1.2 – Основні ознаки якості мРНК

Оптимізація кодонів і модифікація нуклеотидів сприяли ефективності трансляції. Наприклад, оптимізація вмісту гуаніну та цитозину (GC) може мати значний вплив, і це добре зарекомендувало себе з ДНК-вакцинами. Вроджена імунна активація мРНК також може впливати на її корисність як системи доставки. Використання модифікованих нуклеозидів, таких як псевдоуридин або N-1-метилпсевдоуридин, для усунення сигнальних внутрішньоклітинних тригерів для активації протеїнкінази, призвело до посилення експресії антигену та адаптивних імунних відповідей. Було продемонстровано, що успішні виробництва білка, мінімальних небажаних запальних реакцій і системних адаптивних імунних реакцій можна досягти доклінічним шляхом за допомогою немодифікованої мРНК шляхом поєднання оптимізації кодуючої послідовності та видалення будь-яких небажаних запальних домішок. Зрештою, порівняльна імуногенність між цими підходами

потребує досліджень, які контролюватимуть всі потенційні фактори, включаючи систему доставки. Дослідження на людях, які порівнюють модифіковані та немодифіковані нуклеозидні мРНК конструкції, підтвердять клінічно значущі відмінності, якщо такі є. Подібним чином, контрольовані порівняння вищезгаданих NRM і SAM необхідні для визначення будь-яких відмінностей. До того часу всі підходи – модифікований, немодифікований, NRM, SAM та їх комбінації — здаються можливими та підтверджуються доклінічними даними, хоча немодифіковані нуклеозидні конструкції можуть бути бажаними для ефективності виробництва та точності транскрипції [29,30,31,32].

Крім оптимізації конструкції мРНК, найбільш важливою є доставка мРНК-вакцини з місця ін'єкції в цитоплазму клітин для ініціації трансляції. Оскільки мРНК за своєю природою є тимчасовою молекулою, яка схильна до деградації в першу чергу за рахунок активності нуклеази, потрібен ефективний захист. На додаток до вищезгаданої стійкої стабільності, що забезпечується за рахунок захисту від нуклеазної деградації, вони також сприяють органій специфічності, ефективному клітинному поглинанню та забезпечують властивості виходу з ендосоми, які можуть покращити успішну доставку вантажу мРНК до цитоплазматичного місця дії. Є численні приклади успішної доставки мРНК з використанням LNP в терапевтичних цілях, а також у вакцинах [33, 34].

Значна частина постійного розвитку таких систем носіїв LNP передбачає оптимізацію іонізованого ліпідного компонента, з особливим акцентом на константі кислотної дисоціації (pKa) і фузогенних властивостях (як іонізованого компонента, так і допоміжних ліпідів), які, як було продемонстровано, відіграють ключову роль у ефективному проникненні в цитоплазму та вивільненні вмістк. LNP наступного покоління можуть включати специфічні мотиви націлювання для хоумінгу та поглинання професійними антигенпрезентуючими клітинами, такими як дендритні клітини. Ліганди для рецепторів DC можуть бути вбудовані в поверхню LNP

для націлювання на ці клітини та сприяння презентації антигену імунній системі [35, 36, 37].

#### **1.4. Порівняння мРНК-вакцин із традиційними**

Пандемія коронавірусу відкрила для кожного з нас новий тип вакцини щодо якого тривали серйозні суперечки: вакцинуватися чи ні? Який вплив на організм? Людині страшно пробувати щось нове і це нормально, така наша природа. Відхилятися від традиційного і вже зрозумілого становить небезпеку для життя, але ми вакцинувалися і вже встигли на собі побачити та перевірити переваги чи недоліки нових мРНК-вакцин.

Що всіх хвилювало найбільше – це безпечність нового препарату. РНК-вакцини не виготовляються з частинками патогена або інактивованого патогена, тому є неінфекційними на відміну від вже традиційних. РНК не інтегрується в геном хазяїна, і нитка РНК у вакцині деградує після створення білка. Результати ранніх клінічних випробувань вказують на те, що ці вакцини генерують надійну імунну відповідь і добре переносяться здоровими людьми, з невеликою кількістю побічних ефектів. У вакцинованих людей теоретичні ризики зараження або інтеграції вектора в ДНК клітини-господаря не становлять небезпеки для мРНК [38, 39].

мРНК-вакцина має змогу формувати як гуморальні, так і клітинні імунні відповіді. В звичних для нас вакцинах використовується ослаблений збудник, котрий, хоч і мало ймовірно, але може повторно активуватися і викликати інфекцію з ослабленим імунітетом. З вакцинами четвертого покоління така небезпека виключена. Вищевказані причини дають змогу вважати мРНК-вакцини безпечним форматом для щеплення.

Оскільки процес виробництва мРНК не потребує токсичних хімікатів або клітинних культур, які можуть бути заражені випадковими вірусами, виробництво мРНК дозволяє уникнути загальних ризиків, пов'язаних з іншими

платформами вакцин, включаючи живі віруси, вірусні вектори, інактивовані віруси та субодиничні білкові вакцини. З іншого боку, короткий час виробництва мРНК забезпечує малоімовірну появу забруднюючих мікроорганізмів [39].

Методи виготовлення мРНК-вакцин можуть бути дуже ефективними. Однак існують технічні проблеми, які потрібно подолати, щоб забезпечити належну роботу цих вакцин. РНК-вакцин, як і звичайні вакцини, потрібно заморожувати або охолоджувати. Це може бути проблемою для бідних країн, де бракує потрібного устаткування. Низькі температури потрібні тому, що молекула РНК дуже ламка — вона швидко руйнується і перетворюється на беззмстовні фрагменти. Тривають дослідження з виробництва вакцин, які можна зберігати поза холодильним обладнанням, оскільки вони будуть більш придатними для використання.

Нитка мРНК у вакцині може викликати ненавмисну імунну реакцію. Щоб мінімізувати це, послідовності мРНК-вакцин розробляються так, щоб імітувати послідовності, які продукуються клітинами ссавців [40].

Ефективна доставка вакцини до клітин є складною, оскільки вільна РНК в організмі швидко розщеплюється. Щоб допомогти досягти доставки, нитка РНК включена в більшу молекулу. Для стабілізації молекули її ще додатково упаковують в ліпосоми [40].

## **1.5. Сучасне положення мРНК-вакцин в Україні**

В сучасній Україні немає виробництв вакцин, а тим паче, мРНК. Компанія «Дарниця» повідомляє, що Всесвітня Організація Охорони Здоров'я (ВООЗ) офіційно визначила цю вітчизняну фармацевтичну компанію як єдину в Україні, що отримає технологію виробництва вакцин на основі мРНК. Так, з квітня 2022 року Україна приєдналася до списку країн, які отримали підтримку з передачі технологій для виробництва вакцин на основі мРНК [41].

Окрім ковідних мРНК-вакцин, на основі мРНК-технології у світі ведуться дослідження вакцини від вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) та онкологічних захворювань, тому створення власної технології дозволить біофармацевтичному ринку України вийти на інший рівень.

## **Висновки до розділу 1**

мРНК – це висхідна зірка в біофармацевтичному просторі. Інтерес до цього нового типу вакцини зумовлений гнучкістю, безпекою та точністю, яку ці вакцини демонструють у порівнянні із традиційними підходами. Зростаюча кількість клінічних випробувань для лікування раку та інфекційних захворювань підкреслює попит промисловості до виведення на ринок цих типів вакцин. мРНК-вакцини можна ввести в значні масштаби виготовлення для клінічних застосувань, використання їх для профілактики поширення Covid-19 це підтвердили.

В Україні, наразі, вакцини не виробляють і немає спеціальних технологій виробництва мРНК вакцин, тому це питання залишається актуальним.

## РОЗДІЛ 2. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА мРНК-ВАКЦИН

Вакцина відноситься до лікарських засобів, тому за основу взято настанови щодо лікарських засобів. При виробництві технологічні процеси та технологічне обладнання повинні бути відповідними. Для належного проектування лабораторії, розробки технологічного процесу та врахування усіх вимог була використана лише чинна документація, яка відповідає законам України та Євросоюзу. Промислове виробництво регулюється нормативно-технічними документами, переліченими у таблиці 2.1

Таблиця 2.1

### Список нормативних документів

№	Назва нормативного документа
1	Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016 Лікарські засоби. Належна виробнича практика [42]
2	Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.7:2020 Лікарські засоби. Керівництво щодо клінічної оцінки вакцин [43]
3	СТ-Н МОЗУ 42-4.4:2011 Лікарські засоби. Міжнародні гармонізовані вимоги щодо сертифікації серії [44]
4	ДСТУ ISO 9000:2015 (ISO 9000:2015, IDT) Системи управління якістю. Основні положення та словник термінів [45]
5	ДСТУ ISO 9001:2015 (ISO 9001:2015, IDT) Системи управління якістю. Вимоги [46]
6	ДСТУ ISO 11239:2018 (ISO 11239:2012, IDT) Інформатика в галузі охорони здоров'я. Ідентифікація лікарських засобів. Елементи та структура даних для унікальної ідентифікації й обміну регламентованою інформацією про фармацевтичні форми дозування, одиниці подання, шляхи введення та пакування [47]

7	ДСТУ 1.7-2015. – Національна стандартизація. Правила та методи прийняття міжнародних і регіональних нормативних документів - Київ, ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр стандартизації, сертифікації та якості», 2015 [48]
8	EMA/CHMP/VWP/164653/05 Rev. 1 «Guideline on clinical evaluation of vaccines - April 2018» (Керівництво щодо клінічної оцінки вакцин – квітень 2018» [49]
9	ДСТУ EN ISO 11957:2018 Акустика. Визначення звукоізоляції кабін. Випробування в лабораторії та на місці встановлення (EN ISO 11957:2009, IDT; ISO 11957:1996, IDT) [50]
10	ДСТУ EN ISO 15189:2015 Медичні лабораторії. Вимоги до якості та компетентності (EN ISO 15189:2012, IDT) [51]
11	ДСТУ OHSAS 18002:2015 Системи управління гігієною та безпекою праці. Основні принципи виконання вимог OHSAS 18001:2007 (OHSAS 18002:2008, IDT) [52]
12	СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008 «Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика» [53]
13	ДСТУ EN 12128:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що проводять дослідження, розроблення та аналізування. Коефіцієнт заповнення мікробіологічних лабораторій, зони ризику, місце розташування та вимоги фізичної безпеки (EN 12128:1998, IDT) [54]
14	ДСТУ EN 12741:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Настанови щодо діяльності біотехнологічних лабораторій (EN 12741:1999, IDT) [55]
15	ДСТУ CR 12739:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Звіт стосовно вибирання устаткування для біотехнологічних лабораторій залежно від ступеня небезпеки (CR 12739:1998, IDT) [56]

16	Настанова 42-02-2002 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика активних фармацевтичних інгредієнтів» [57]
17	Настанова 42-01-2003 «Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація» [58]
18	ДСТУ ISO 18436-5:2015 Моніторинг і діагностика стану машин. Вимоги до кваліфікації та сертифікації персоналу. Частина 5. Технік-аналітик лабораторії аналізу мастильних матеріалів (ISO 18436-5:2012, IDT) [59]
19	ДСТУ EN 13441:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Настанови щодо стримування поширення генетично змінених рослин (EN 13441:2001, IDT) [60]
20	ДСТУ ISO 11615:2018 Інформатика в галузі охорони здоров'я. Ідентифікація лікарських засобів. Елементи і структури даних для унікальної ідентифікації та обміну регламентованою інформацією про лікарські засоби (ISO 11615:2017, IDT) [61]
21	СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 «Настанова. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8) [62]
22	СТ-Н МОЗУ 42-5.1:2011 «Настанова. Лікарські засоби. Належна практика зберігання» [63]
23	СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011 «Настанова. Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9) [64]
24	Настанова «Виробництво фармацевтичної продукції в асептичних умовах. Частина I. Загальні умови» (2004) [65]
25	Настанова «Стерилізація медичної продукції. Вимоги до валідації й поточного контролю. Промислова стерилізація вологою парою» (2004) [66]



26	Настанова «Чисті приміщення й пов'язане з ними контрольоване середовище. Частина 1. Класифікація чистоти повітря» (2004) [67]
27	Настанова 42-3.6:2004 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Допоміжні речовини» [68]
28	Управління ризиками виробництва медичних виробів згідно ДСТУ EN ISO 14971:2015 [69]
29	Керування ризиком. Методи загального оцінювання ризику. ДСТУ ІЕС ISO 31010:2013 [70]
30	ДСТУ ISO 31000:2014 «Менеджмент ризиків. Принципи та керівні вказівки» [71]
31	ДСТУ ISO Guide 73:2013 «Керування ризиком. Словник термінів» [72]
32	ISO/AWI 8184 Healthcare organization management - Vaccination administering [73]
33	ДСТУ EN ISO 13485:2018 (EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT). Система управління якістю. Вимоги до регулювання. 2018 [74]

## Висновки до розділу 2

Створення нової технології виробництва цього та запуск для будь-якого лікарського засобу можливе лише за умов дотримання нормативно-технічної документації, яка регламентує усі процеси та вимоги. Для розробки технології, підготовки, на її основі відповідних креслень: технологічної схеми, схеми компоновки приміщень та апаратів, схеми потоків сировини, матеріалів, напівпродуктів та персоналу використані настанови та стандарти які дозволяють на виході отримати кінцевий продукт належної якості, який буде конкурентноспроможним на світовому ринку.

## **РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА**

### **3.1 Опис стадій технологічного процесу**

Пандемія ХХІ століття, якою став всплеск захворювання на Covid-19, дозволила зрозуміти, що мРНК-вакцини ні в чому не поступаються іншим типам у своїй ефективності. При розробці технологічного процесу за основу були взяті наукові дослідження [75-82], стандарти та технології [42-74].

На основі отриманих даних ми пропонуємо наступну технологічну схему виробництва мРНК-вакцини проти COVID-19, зображену на схемі МД.163.БФ-1102.01.01 ТС. Наведена технологія розрахована на виробництво 100 млн. ампул на рік об'ємом 0,45 мл.

#### **ДР 1 Санітарна підготовка виробництва**

До санітарної підготовки виробництва входять три основні етапи: підготовка персоналу, підготовка приміщення, підготовка обладнання та комунікацій. Всі процеси відбуваються згідно стандартів, що визначені вимогами належної виробничої практики (GMP).

#### **ДР 1.1. Підготовка персоналу**

Весь персонал, який задіяний на виробництві обов'язково має проходити періодичні профілактичні медичні огляди задля уникнення поширення інфекційних хвороб, котрі мають бути задокументовані в особову медичну книжку.

Згідно з СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016, виробник повинен забезпечити навчання всього персоналу, обов'язки якого передбачають перебування у виробничих зонах, контрольних лабораторіях, зонах зберігання. Мають бути складені детальні програми з гігієни праці. Кожен співробітник, обов'язки якого передбачають перебування в зонах виробництва і контролю, повинен пройти навчання щодо цих програм та суворо дотримуватися їх.

Безпосередня підготовка працівників до виробничого процесу включає в себе підготовку до роботи в чистих приміщеннях – миття рук та вдягання спеціального одягу для роботи у цих приміщеннях.

Перед роботою руки ретельно миють упродовж 6 хвилин під проточною водою із гексахлорановим або 70 % господарським милом, повторно намилюючи декілька разів, а далі обробляють 0,5 % розчином аміачної води, обсушують феном і протирають 80 % етиловим спиртом як дезінфікуючим розчином.

У приміщенні класу С працівники одягаються у відповідний комбінезон та взуття чи бахили, ділянки діла з волоссям повинні бути закриті. Для роботи у приміщенні класу А / В – головний убір повністю закриває волосяні ділянки на колові та тілі, він має бути вставлений у комір костюма. На обличчя обов'язково одягнена маска, а на руках і ногах простерилізовані рукавички та бахіли. Краї штанів заправлені в бахіли, аналогічно, рукава одягу заправлені у рукавички.

На даній стадії виконується хімічний, мікробіологічний і технологічний контроль.

### **ДР 1.2. Підготовка миючих та дезінфікуючих розчинів**

Для дезінфекції використовується засіб “Стериліум Классік Пур”, що задовільняє вимоги ДСТУ EN 14348:2014. Додатково може бути використаний Аніосгель 800 UA, в котрого діюча речовина діюча речовина етанол. Для миття застосовують лужний миючий засіб з вмістом харчової соди. Засоби закупляються у постачальника та зберігаються на складі.

Виконується технологічний та хімічний контроль.

### **ДР 1.3. Підготовка обладнання, комунікацій**

#### **ДР 1.3.1. Миття обладнання та комунікацій**

Для миття обладнання і комунікацій використовуються миючий та дезінфікуючий розчини, також, використовується вода питна для ополіскування. Миття відбувається протягом 1.5 год за температури 50-60°C.

Ополіскування відбувається 30-60 хвилин за температури 70-80°C. Відпрацьовані розчини до ЗВ 23 на переробку.

На даній стадії проводять технологічний та мікробіологічний контроль.

#### **ДР 1.3.2. Стерилізація обладнання та комунікацій**

Стерилізація здійснюється гострою парою при температурі 125-130 °С протягом 90 хвилин. Здійснюють мікробіологічний та технічний контроль, щоб перевірити якість стерилізації і справність обладнання.

#### **ДР 1.3.3. Стерилізація тари та інструментів**

Миття здійснюється у машині для миття посуду для інструментів водою питною. Для стерилізації була вибрана сухожарова шафа, завдяки свої низькій вартості та ефективності. Посуд з пластику стерилізуються 1 год при 120°C. Металеві та скляні інструменти стерилізуються 1 год при 180 °С.

Відпрацьовані розчини подаються на знешкодження до ЗВ 23.

Виконується мікробіологічний та технологічний контролю.

#### **ДР 1.4. Підготовка виробничих приміщень**

За стандартами GMP приміщення класу А передбачає робоче місце з ламінарним потоком повітря 0,45 м/с, кількість колоній повинна бути в межах < 1 КУО/м<sup>3</sup>. Обов'язкове щоденне прибирання і разове генеральне прибирання щотижня із застосуванням миючих та дезінфікуючих засобів.

Приміщення класу А має навколишнє середовище для забезпечення належних умов – це клас В. Наступними чистими зонами для реалізації виробництва є класи С і D, котрі мають вищий ризик контамінації в порівнянні з попереднім, для них характерна умова: 100-200 КУО/м<sup>3</sup>.

Контроль: технологічний та мікробіологічний.

#### **ДР 2 Підготовка стерильного повітря**

Проводимо забір повітря, опісля чого відбувається його механічна очистка частинок 5-10 мкм. Ефективність очистки становить 50-60%. Для різних класів приміщень потрібно різний стан очищення повітря. Для класу С і D пускаємо повітря через фільтри другого ступеня для видалення механічних частинок розміром 1,5 мкм. Для забезпечення зони класу А повітря

пропускаємо через фільтри третього ступеня, а саме на фільтри НЕРА, що забезпечують ефективність фільтрації більше 99 % та відокремлення для частинок розміром 0,3 мкм. Для забезпечення стерильних умов в локальній зоні класу А створюється ламінарний потік повітря з рівномірною швидкістю повітря 0,45 м/с.

Виконується контроль мікробіологічний та технологічний.

### **ДР 3. Підготовка води**

#### **ДР 3.1. Підготовка води очищеної**

Вода очищена отримується з води питної. Згідно з СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 технологія очищення проходить через етапи: підігрівання та термостатування – фільтрація груба – пом'якшення – фільтрація через фільтр вугільний – фільтрація через фільтр з діаметром отворів 3 мкм – зворотній осмос.

Виконується контроль технологічний, хімічний та мікробіологічний.

#### **ДР 3.2. Підготовка води для ін'єкцій**

Воду для ін'єкцій отримують з води очищеної в процесі дистиляції та з дотриманням певних умов: температура 85-90°C, бактеріальні ендотоксини < менше 0,25 МО/мл, зберігання не більше 24 годин в асептичних умовах.

Виконується контроль технологічний, хімічний та мікробіологічний.

### **ДР 4 Підготовка ампул**

#### **ДР 4.1. Миття ампул**

Миття здійснюється в два етапи. Для поверхневого миття використовують воду очищену, яка подається струменем з температурою 55-60 °C. Для промивки всередині застосовується та ж очищена вода вакуумним способом. Для повторного миття використовують воду для ін'єкцій за тих самих умов.

#### **ДР 4.2. Сушка та стерилізація ампул**

Ампули розміщуються в тунельних сушарках і осушуються при температурі 150 °C інфрачервоним промінням, далі відбувається стерилізація при температурі 280-300 °C.

Забезпечується контроль технологічний та мікробіологічний.

#### **ДР 5. Підготовка стерильного піногасника**

Приготування піногасника відбувається в реакторі-змішувачі з увімкненим перемішувальним пристроєм протягом 30 хвилин, частота обертання 50 об/хв. Подається олеїнова кислота з вмістом основної речовини 0,05-3 %. Піногасник обов'язково проходить стерилізацію при температурі 100-125 °С протягом 45 хвилин.

Забезпечуються контролю хімічний та технологічний.

#### **ДР 6. Підготовка робочого розчину**

##### **ДР 6.1. Приготування 10 % розчину гідроксиду натрію.**

Розчин NaOH готують в реакторах-змішувачах з 3000 г сухого гідроксиду натрію та 30 л води питної при увімкненій турбінній мішалці з частотою обертання 50 об/хв впродовж 10 хв.

Забезпечується контроль хімічний та технологічний.

##### **ДР 6.2. Стерилізація розчину гідроксиду натрію.**

Стерилізацію виконують при температурі 130 °С протягом 45 хв. Не допускається контамінація розчину.

Забезпечуються контролю технологічний та мікробіологічний.

#### **ДР 7 Підготовка поживного середовища**

В якості поживного середовища буде слугувати середовище Ейкмана. Його готують у реакторі з коефіцієнтом заповнення 0,7 та частотою обертання 25-30 у хвилину. Для приготування розчину потрібно: вода очищена, натрію хлорид, глюкоза та пептон.

Забезпечується контролю хімічний та технологічний.

#### **ТП 8 Вирощування клітин**

##### **ТП 8.1 Трансформація тепловим шоком**

Першим кроком є модифікація плазмід із ДНК в бактерії кишкової палички – трансформація теплового шоку. Найкращий стан клітин *E. coli* для поглинання ДНК досягається обробкою клітин 60% кальцій хлоридом при температурі 10-12 °С. Інгібітори формування клітинної стінки можуть бути

додані до бактеріальної культури та можуть покращити ефективність трансформації. У цьому методі ДНК потрапляє в бактерії після короткого нагрівання до 42 °С.

Забезпечується контроль хімічний та технологічний.

### **ТП 8.2 Культивування культури в колбах**

Модифіковані бактерії висівають в колбі з поживним і стерильним середовищем та вирощують в теплі протягом 12 годин, підтримуючи  $pH = 6,7-7,1$ ;  $t = 36-37$  °С. Вирощування проводять на орбітальному шейкері з частотою струшування 15 об/хв.

Виконується контроль технічний та мікробіологічний.

### **ТП 8.3. Культивування культури в інокуляторі**

Вирощену на попередній стадії культуру культивують в інокуляторі для нарощування посівного матеріалу, при температурі 37 °С,  $pH=6,9$ , тривалість 8 год,  $pO_2=40\pm 10\%$  та ввімкненій турбінній імішалці з частотою обертання 25-30 об/хв.

Забезпечується контроль технологічний.

### **ТП 8.4 Культивування у ферментері**

Нарощений посівний матеріал вирощують у великому ферментері об'ємом 90 чи 150 літрів, котрий містить поживне середовище. Культивування проводять за наступних параметрів: температура 36,5°С,  $pH$  6,7-7,1;  $pO_2=40\pm 10\%$ , аерація 2 л/хв, частота перемішування 250 об/хв., коефіцієнт заповнення 0,7. Загальний час культивування 4 доби при часі подвоєння кожні 20 хвилин, отримуючи триліони копій плазмід ДНК.

Виконуються контролю: мікробіологічний та технологічний.

### **ТП 9 Концентрування клітин у сепараторі**

Культуральну рідину спочатку охолоджують до 12-14°С та концентрують на сепараторі в 9-10 разів. Сепаратор обертається зі швидкістю 5000 об/хв.

Забезпечується контроль технологічний.

## **ТП 10 Очистка ДНК**

### **10.1 Руйнування клітин *E.coli***

Для руйнування клітинної оболонки в отриману суспензію подають гідроксиметил амінометану ( $C=0,1M$ ), сечовину (до 1,5 M) та етилендіамінтетраоцтову кислоту до 1мМ. Коли досягнеться  $pH=7,0$  отриману суспензію пускають через гомогенізатор тричі за тиску 0,7-0,8 МПа і температурі 15-20 °С.

Виконуються контролю технологічний та хімічний.

### **10.2 Фільтрування плазмід від залишків бактерій**

Фільтрування проходить у тангенційному потоці з використанням cross-flow фільтра. Під час фільтрація забезпечуються умови асептики з тиском 0,4 МПа, розмір пор фільтруючого матеріалу – 0,2 мкм. Плазмідні перевіряють на чистоту та порівнюють із попередніми зразками, щоб підтвердити, що послідовність гена коронавірусу не змінилася.

Забезпечуються контролю технологічний та мікробіологічний.

## **ТП 11 Лінеаризація**

Для перевірки якості проводять розрізання кільцевих плазмід та гени коронавірусу розподіляють на прямі сегменти за допомогою ферменту. Лінеаризація відбувається при 25 °С, з використанням NaOH як буферу.

Забезпечуються контролю технологічний та хімічний.

## **ТП 12 Фільтрування ДНК**

ДНК фільтрують, пропускаючи компоненти реакційної суміші через керамічну мембрану з розміром пор 0,2 мкм. Фільтрувальні елементи до ЗВ.

Виконується технологічний контроль.

## **ТП 13 Транскрипція ДНК в мРНК**

У біореакторі протягом 2-4 годин при температурі 37°С із застосуванням ферменту РНК-залежної ДНК-полімерази відбувається розкривання матриць ДНК та транскрибування у нитки мРНК.

Виконується контроль технологічний.



## **ТП 14 Контроль отриманої мРНК**

Працівники лабораторії випадковим чином відбирають кілька проб мРНК та проводять огляд для перевірки чистоти та підтвердження правильності генетичної послідовності.

Виконується контроль технологічний.

## **ТП 15 Приготування ліпідів**

До реактора-змішувача зі складу подаються готові ALC-0315, ALC-0159, холестерол. Відбувається реакція полімеризації протягом 90 хвилин за температури 22-24 °С з утворенням полімерного ліпиду і створення капсули ЛНЧ на наступному етапі.

Виконується контроль технологічний, хімічний.

## **ТП 16 Отримання мРНК-вакцини**

### **ТП 16.1. Збирання вакцини**

Штатив із 16 насосів подає розчини мРНК та ліпиди, а потім змішує їх разом для створення ліпідних наночастинок у біореакторі. Коли ліпиди вступають у контакт із оголеними нитками мРНК, відбувається стягування їх разом за наносекунду. мРНК покрита кількома шарами ліпідів, утворюючи маслянисту захисну частинку вакцини.

Виконується контроль технологічний.

### **ТП 16.2. Фільтрування готової вакцини**

Після формування ЛНЧ інкапсульований ультраконцентрований РНК-розчин надходить у фінішну фільтрацію для діафільтрації з допомогою напівпроникних мембран розміром до 0,2 мкм. Фільтрувальні елементи до ЗВ.

Виконується контроль технологічний.

### **ТП 16.3. Стерилізація готової вакцини**

Стерилізація готової вакцини відбувається на мембранних шприцевих фільтрах з поліефірсульфону у поліпропіленовому корпусі. Розмір пор 0,1 мкм зі швидкістю 0,8 мл/хв.

Виконуються контролю технологічний та мікробіологічний.

### **ТП 17. Ампулювання вакцини**

Наповнення ампул здійснюють на автоматі шприцевого наповнення по однорядній лінії в умовах асептики (зона класу А). Автомат вводить по 0,45 мл концентрованого розчину вакцини в кожен ампулу, що еквівалентно для 5 доз вакцинування після розведення.

Виконується контроль технологічний.

### **ТП 18. Ліофілізація вакцини**

Ампули розміщують у ліофільну сушарку. Попереднє заморожування відбувається при температурі від -65 до -75 °С. Потім створюється глибокий вакуум та підтримується знижена температура до -70 °С з подачею в ампули інертного газу при різниці тисків на вході і виході потоків  $\Delta P = 0,98-2,94$  Па. Сушіння препарату здійснюється протягом 24 год.

Виконується контроль технологічний.

### **ТП 19. Герметизація ампул**

Ампули закупорюють вакуумним способом з дотриманням правил асептики, запечатують фольгою і спеціальними кришками.

Виконується контроль технологічний.

### **ТП 20. Контроль якості готово продукту**

У відповідності із ДСТУ EN ISO 13485:2018 Медичні вироби. Система управління якістю та рекомендацій ВООЗ потрібно провести оцінку якості готової вакцини, для цього з кожної партії випадковим чином відбирається проба готово продукту і перевіряється за ознаками наведеними у таблиці 3.1.

Один цикл виготовлення партії вакцини становить 60-75 днів і на контроль якості відводиться третина часу.

Виконуються контролю хімічний, мікробіологічний та технологічний.

## Ознаки якості готового вакцини

Характеристика	Перевірка
Ідентичність	Підтвердження послідовності
Склад	Вміст РНК
Цілісність	Відсоток інтактної мРНК і фрагментів мРНК
	5' cap
	3' poly(A)
	Цілісність ланцюга мРНК
Безпека	Ендотоксини
	Стерильність
	Біологічне навантаження
Чистота	Домішки з мРНК
	Шаблон залишкової ДНК
Інше	Зовнішній вигляд
	pH

**ПМВ 21. Пакування, маркування, відвантаження**

Герметизовані ампули маркуються відповідною етикеткою, де вказано умови зберігання, використання та основна характеристика вакцини. Вони пакуються у спеціальні пластикові лотки по 195 штук, одна ампула містить 0,45 мл біомаси, що еквівалентно 5 дозам. Довготривале зберігання можливе лише за температури  $-70^{\circ}\text{C}$ . Для транспортування лотки складаються у коробки по 5 штук із сухим льодом ( $m=20,5$  кг).

Виконується контроль технологічний.

**ПВ 22. Переробка відходів****ЗВ 23. Знешкодження відходів**

## 3.2 Характеристика виробництва

Виробництво противірусної вакцини відноситься до виробництв стерильних лікарських засобів, а також таких, де відбувається виробництво в асептичних умовах. Для забезпечення відповідних умов та правил згідно з Належною виробничою практикою використано Настанову СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020, що інтерпретує принципи роботи за GMP на національне законодавство, тому під час проектування лабораторії, обґрунтування класів чистоти, потоків сировини та персоналу, даний документ взято за основу [42].

Виробництво має другорядні приміщення та декілька головних приміщень, де відбуваються основні процеси. Лабораторія складається з:

- приміщення для персоналу (кімната для переодягання, душові, туалети);
- комп'ютерний кабінет;
- склад непродовольчих товарів;
- склад готової продукції;
- зона підготовки обладнання, інструментів та комунікацій;
- цех підготовки ампул;
- лабораторія підготовки основних розчинів та середовищ;
- лабораторія культивування клітин;
- лабораторія синтезу ліпідів;
- лабораторія синтезу вакцини;
- відділ розливу вакцини;
- відділ охолодження та осушення;
- відділ герметизації, пакування та маркування.

Через все приміщення проходить основний технічний коридор класу D від якого створенні входи до інших приміщень. Основні виробничі лабораторії та відділи об'єднані в єдину систему задля запобігання контамінації на будь-якому етапі приготування вакцини.

Обов'язкові умови для проектування лабораторії:

1. Запобігання створення мертвих зон, котрі можуть бути недоступні під час прибирання.
2. Весь трубопровід схований за обшивкою.
3. Створення повітряного шлюзу на вході у приміщення.
4. Облаштування достатньої вентиляції приміщення – мінімально шість повних змін повітря на годину.
5. Забезпечення відповідного освітлення та опалення [96].

Важливим етапом при плануванні всього лабораторного приміщення була розробка потоків персоналу та сировини задля запобігання необґрунтованого пересування працівників по кімнатах з різними класами чистоти. У лабораторії передбачені класи чистоти: D, C, B, A. Для переходу в більш чистий клас встановлені спеціальні кімнати-переодягальні із суміжними класами чистоти. Щоб потрапити до класу A з класу D, необхідно пройти через роздягальні в зонах класу C і B. У цехи з класом чистоти A є три можливі входи: через зону підготовки ампул, склад непродовольчих товарів та зону підготовки обладнання, інструментів і комунікацій. Вони працюють лише в одну сторону і кожен з них влаштований через кімнати-переодягальні, вихід передбачений через склад готової продукції. Все обладнання, інструменти та сировина відправляються із зони їх стерилізації, для повторної обробки вони проходять через кімнати-переодягальні і потрапляють до лабораторії підготовки допоміжних розчинів, їх вихід можливий лише через склад готової продукції.

Потоки сировини організовані таким чином, щоб виключити крос-контамінацію. З лабораторії підготовки поживних середовищ створений трубопровід, який проходить через всі основні лабораторії синтезу класу A і закінчується в зоні розливу вакцини. Розроблений ще один трубопровід від реактора у зоні синтезу ліпідів і направлений до лабораторії синтезу вакцини, де два трубопроводи із готовими частинами вакцини сполучаються та насосом направляються до апарату розливу.

Ампульована вакцина спершу відправляється на охолодження, потім на осушення. Ампули потрапляють у наступний відділ, де відбувається герметизація та її перевірка, далі ампули прямують в апарат наклеювання етикеток і до пакувальної машини. Продукція готова і може відправитися у морозилки на склад. Зі складу її реалізують через технічний коридор до виходу і завантажують в спеціально обладнанні автомобілі.

Для здійснення робіт у приміщеннях різного класу чистоти персонал переодягається у спеціальних кімнатах-переодягальнях, які передбачені при кожному переході у чистішу зону. Персонал в одязі для роботи в приміщеннях класу С - волосся, а також борода і вуса закриті; комбінезон або брючний костюм, який щільно прилягає на зап'ястях і має високий комір; відповідне взуття або бахіли – рухається по виробничим приміщенням класу С відповідно до виробничих потреб. Персонал в спеціальному одязі для роботи в приміщенні класу А/В - головний убір повністю закриває волосся, а також бороду і вуса; головний убір вставлений у комір костюма; на обличчі маска для запобігання поширення крапель; відповідним чином простерилізовані та ненапудрені гумові або пластикові рукавички та простерилізовані/ продезінфіковані бахіли; нижні краї штанів мають вставлені у бахіли, а рукави одягу заправлені у рукавички [42-75].

### **3.3 Система контролю якості на виробництві**

Наявність належного контролю якості – це один із критеріїв дозволу виробництва на випуск продукції. Якість кінцевого продукту — це ступінь відповідності сукупності ознак вимогам і потребам споживачів відповідно до цільового використання продукту [96].

Неналежна продукція може мати різного ступеня пошкодження, не пройти усі контролі якості та безпеки і відповідного до того не матиме документації [97].

У разі виявлення невідповідності продукту, він визнається бракованим. Уся неналежна продукція зберігається в спеціальних місцях, які запобігають прямому контакту з якісною продукцією та обмежують доступ до неї. [98].

Для забезпечення якості готової продукції необхідною умовою є контроль якості вихідної сировини, матеріалів, інструментів, напівпродуктів, допоміжних речовин, персоналу, приміщень та готової продукції. Параметри контролю для оцінки якості і нормативно-технічна документація (НТД), що їх регламентують, наведені у таблиці 3.2 [96-118].

Таблиця 3.2.

Параметри контролю для оцінки якості

Найменування	НТД, що регламентує показник якості	Показник для перевірки	Примітка
<b>Основна сировина</b>			
Плазмідні із ДНК SARS-CoV-2	Регламент лабораторного синтезу	Цілісність, якісний і кількісний склад	Для помноження кількості ДНК
Гідроксиметил амінометану	Tris(hydroxymethyl) aminomethane, Sigma-Aldrich, 252859	Порошок від білого до світлого коричнювато-жовтого кольору	Для Руйнування клітин E.coli
Етилендіамін-тетраоцтову кислоту	Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry	Білий дрібнокристалічний порошок	Для Руйнування клітин E.coli
РНК-залежна ДНК-полімераза	Регламент лабораторного синтезу	Поліпептидні ланцюги	Для процесу транскрипції
CaCl <sub>2</sub>	Монографія ДФУ 2.0, 2014	Білий порошок без запаху	Для трансформації тепловим шоком
Холестерол	ДСТУ 8124:2015	Білий кристалічний порошок	Складова ліпідної наночастинки
ALC-0315	Регламент лабораторного синтезу	Безбарвний маслянистий матеріал	Складова ліпідної наночастинки

Продовження таблиці 3.2

ALC-0159	Регламент лабораторного синтезу	Ланцюг з 45-46 мономерів	Складова ліпідної наночастинки
Вода для ін'єкцій	СТ-Н МОЗУ 42-3.7: 2013	Безбарвна прозора рідина без смаку і запаху	Складова готової вакцини
Вода очищена	Монографія ДФУ 2.0, 2016	Безбарвна прозора рідина без смаку і запаху	Використовується у процесі виробництва
Вода питна	ДСТУ 7525: 2014	Відсутність неприємного запаху, смаку, кольору	Використовується у процесі виробництва
<b>Напівпродукти</b>			
Ліпідні наночастинки	Регламент лабораторного синтезу	Кількісний та якісний склад	Складова вакцини
Поживне середовище	Регламент лабораторного синтезу	Концентрація	Для культивування клітин
<b>Допоміжні речовини</b>			
Аміачна вода	ДСТУ 9-92		Для обробки рук
Аніосгель 800 UA	EN 1040, EN 1500, EN 12791, EN 13727	Атестований відповідно до ЕС 1272/2008	Для стерилізації та обробки
NaHCO <sub>3</sub>	ДСТУ 2156-76	Дрібний порошок білого кольору, без запаху	Складова миючого розчину
Олеїнова кислота	Монографія ДФУ 2.0, 2016.	Безбарвна рідина, без запаху	Для приготування піногасника
NaOH	Монографія ДФУ 2.0, 2014	Кристали білого кольору, гігроскопічні	Складник дезінфікуючого розчину
NaCl	ДСТУ 3747-98	Колір та смак, агрегатний стан - кристали	Складова поживного середовища
Глюкоза	Монографія ДФУ 2.0, 2014	Безбарвні солодкі кристали	Складова ліпідної наночастинки



Продовження таблиці 3.2

Пептон	ДСТУ 7963:2015	Порошок світло-жовтого кольору, гігроскопічний.	Складова ліпідної наночастинки
Етиловий спирт	ГОСТ 18300-87	Прозора рідина зі спиртовим запахом	Для стерилізації та обробки
Гіпохлорит натрію	ДСТУ EN 15077:2020	Рідина жовто-зеленого кольору із запахом хлору	Для дезинфекції
Гіпохлорит кальцію	ДСТУ EN 15077:2020	Порошок білого кольору із запахом хлору	
Хлоровмісний розчин	ГОСТ 6718-93	Жовтувато ріднина	Миючий розчин
Спиртовий антисептик	ГОСТ Р 56990-2016	Безбарвна рідина зі спиртовим запахом	Стерилізуючий засіб
Стериліум Класік Пур	ДСТУ EN 14348:2014	Атестований відповідно з prEN 12791, EN 1500, EN 13727, EN 12054	Стерилізуючий та дезифікуючий засіб
<b>Матеріали</b>			
Серветки стерильні	ГОСТ 16427-93	Білий колір, ціла пачка	Для обробки рук та поверхонь
Халати хірургічні, маски, шапочки, бахіли	ДСТУ EN 13795:2018	Цілісність	Спеціальний одяг для роботи в лабораторії
Рукавички стерильні	ДСТУ EN 420-2007	Цілісність	Засіб індивідуального захисту
Лотки пластикові	ДСТУ 2887-94	Відсутність пошкоджень  Дотримання вимог стандарту	Пакування вакини

Продовження таблиці 3.2

Етикетки	ДСТУ ISO 780-2001	Відсутність пошкоджень  Якісно надрукована етикетка	Маркування вакцини
<b>Персонал</b>			
Навчання	Наказ «Про затвердження Типового положення про навчання, інструктаж і перевірку знань працівників з питань охорони праці»	Компетентність персоналу  Здатність виконувати свої обов'язки	Для здійснення процесу виробництва
Медичний огляд персоналу	Наказ «Про затвердження Положення про порядок проведення медичних оглядів працівників певних категорій»	Перевірка стану здоров'я працівників, їх можливості приступати до виконання обов'язків. Недопущення поширення хвороб.	Допуск до роботи здорових людей
<b>Обладнання</b>			
Обладнання	ДСТУ EN 61010-1:2014	Дотримання вимог стандартів  Контроль електроустаткування та обслуговування обладнання	Прилади на виробництві

<b>Приміщення</b>			
Чисті приміщення	ДСТУ ISO 14644-1:2009, ДСП 9.9.5.-080-2002	Класифікація відповідно до стандартів та виконання вимог щодо чистоти приміщень	Все приміщення лабораторії
<b>Відходи</b>			
Відпрацьована вода та рідкі відходи	ДСТУ ISO 14001:2015	Належна утилізація	Знешкодження відходів

Причини виникнення неналежного продукту:

- недоробка технології;
- збій/неналежний стан/неналежне налаштування приладів;
- халатність на робочому місці;
- людський фактор.

Виявлення неналежного продукту виконується:

- на входному контролі усієї сировини та обладнання, що закупляється та постачається до лабораторії;
- на кожному етапі синтезу;
- під час тестуванні;
- під час зберігання та постачання.

За місцем виявлення невідповідна продукція класифікується на:

- внутрішню невідповідну продукцію (виявлену у процесі виробництва);
- зовнішню невідповідну продукцію (продукція реалізована, невідповідність встановлено виробником).

Неналежним продуктом є:

- вакцина, яка не пройшла всі етапи контролю якості;
- вакцина, яка не пройшла випробування;
- вакцина, що зберігалася без відповідних умов;
- вакцина, яка транспортувалася без відповідних умов;

- вакцина без належного маркування.

У разі виявлення неналежності продукції браковані вироби за вимогою керівника знімаються з виробництва. Слід зазначити, будь-які виявлені розбіжності (як письмові, так і усні) фіксуються. Інформація про виявлені неналежності невідкладно передається начальнику відділу та працівникам, які займаються усуненням невідповідностей.

Аналіз браку виконується для оцінки характеру неналежності, її впливу та рішення щодо цієї неналежності. Аналіз проводять начальник лабораторій синтезу, начальник відділу якості, менеджер. За результатами аналізу окремих неналежностей розробляються коригувальні заходи, накладаються штрафні санкції за їх усунення та укладається договір.

Якщо під час аналізу неналежності товару встановлено неможливість та / або неможливість усунення неналежності, покупець приймає товар з відхиленнями від нормативних документів та / або вимог. Система управління помилками, які призводять до втрати якості, контролюється внутрішніми аудитами системи управління якістю [95].

### **Висновки до розділу 3**

Технологічний процес виготовлення противірусної вакцини від Covid-19 складається з 23 основних етапів. Кожен етап виробництва підібраний таким чином, щоб забезпечити високу якість кінцевої продукції, мінімалізувати ризики, які можуть на неї вплинути, а забезпечити максимальну економічну вигоду. Запроваднена технологія виробництва доповнюється компоновкою приміщень в залежності від класів чистоти та розміщенням обладнання в них разом з трубопроводами та віма необхідними комунікаціями. Окрім того, розроблено схеми потоків персоналу, сировини та матеріалів, згідно з діючими нормативними документами. Задля забезпечення належного виробництва розроблено систему контролю якості на всіх стадіях виробництва згідно із нормативно-технічною документацією.

## РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА РИЗИКІВ

Для планування і подальшої реалізації виробництва мРНК-вакцин необхідно врахувати виробничі ризики, які неодмінно виникають в технологічному процесі. Оскільки, виробництво противірусної вакцини відноситься до фармацевтичних технологій, доцільно користуватися нормативними документами, які регламентують виробництво лікарських засобів.

Оцінка ризиків розроблена для лікарського засобу матричної РНК вакцини проти Covid-19 на основі СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011 «Настанова. Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ІСН Q9), “Настанова СТН МОЗУ 42-4.0:2016. Лікарські засоби. Належна виробнича практика”, ДСТУ ISO 9001:2015 “Системи управління якістю. Вимоги” та інших супровідних документів. Вона відноситься до всіх виробничих етапів та підетапів [64-67].

Оцінка ризиків розроблена на основі кількісного методу та з використанням термінів “імовірність” і “тяжкість”.

Імовірність(I) – це числовий показник, що описує можливість того, що певна подія відбудеться. Значення наведені у таблиці 4.1.

Тяжкість(T) – це числовий показник, що описує завданий збиток/ушкодження або летальний випадок. Пояснення терміну наведено у таблиці 4.2.

Таблиця 4.1

Значення імовірності

<b>Значення</b>	<b>Числовий показник</b>
Неминуче	5
Часто	4
Нечасто	3

Рідко	2
Дуже рідко	1

Таблиця 4.2

## Роз'яснення терміну “тяжкість”

<b>Визначення</b>	<b>Числовий показник</b>
Летальний випадок	5
Загроза для життя	4
Погіршення стану, що потребує медичного втручання	3
Погіршення загального стану здоров'я, що не потребують медичної допомоги	2
Тимчасова незручність	1

Для визначення рівня ризику застосовано математичну формулу:

$$R = I * T, \quad (4.1)$$

де  $I$  – імовірність виникнення ризику;

$T$  – тяжкість наслідків.

Опісля математичних обрахунків створюємо таблицю (4.3) для визначення рівню можливого ризику та оцінювання його математичним способом.

Матриця для визначення загального впливу ризику

Імовірність	Тяжкість				
	Припустимий	Незначний	Серйозний	Критичний	Катастрофічний
Неминуче	5	10	15	20	25
Часто	4	8	12	16	20
Нечасто	3	6	9	12	15
Рідко	2	4	6	8	10
Дуже рідко	1	2	3	4	5

Рівень ризику, котрий оцінюється від 1 до 9 включно є припустимим, рівень ризику, котрий оцінюється від 10 до 25 включно є неприпустимим.

Рівень ризику 1–9: низький рівень ризику (рівень ризику прийнятний).

Рівень ризику 10–25: високий рівень ризику (рівень ризику неприйнятний).

## Аналіз можливих ризиків під час виробництва мРНК-вакцини та методи впливу

Група ризиків	Небезпека	Причина появи	Шкода	Оцінка ризику			Заходи щодо зниження рівня ризику	Оцінка ризику після заходів		
				Імовірність	Тяжкість	Загальний вплив		Імовірність	Тяжкість	Загальний вплив
Ризики на підготовчому етапі	Неналежний температурний режим	Використання сухожарової шафи	Погана стерилізація, можливість контамінації	3	4	12	Перевірка налаштувань сухожару. Нлаштування згідно регламенту.	2	4	8
	Використання нераглантованих засобів	Проведення заходів миття та дезінфекції	Використання брудних інструментів, тар, обладнання, поверхонь	2	5	10	Співпраця лише із сертифікованими постачальниками, наявність супровідної документації щодо якості, самостійна перевірка засобів на вході	1	5	5
	Неналежне миття та стерилізація ампул	Підготовка ампул перед наповнення вакциною	Контамінація вакцини. Псування напівпродуктів.	2	5	10	Робота відповідно із СОП. Вчасне обслуговування та калібрування приладів. Перевірка дій персоналу.	1	5	5



	Кількість обертів у хвилину реакторів	Використання реакторів-змішувачів на постійній основі на кількох виробничих етапах	Неналежне приготування розчинів та середовищ. Псування сировини. Неналежний синтез мРНК. Виготовлення неякісного продукту.	2	4	8	Робота персоналу згідно СОПів. Вчасне обслуговування та калібрування приладів. Контроль роботи приладів на всіх етапах та підетапах.	1	3	3
	Концентрації хімічних речовин	Приготування або використання зі складу речовин неправильної концентрації	Порушення СОП. Неналежне приготування розчинів та середовищ. Псування сировини. Неналежний синтез мРНК. Виготовлення неякісного продукту.	2	4	8	Призначення менеджера по контролю якості. Виконання обов'язків відповідно до СОП. Перевірка кваліфікації персоналу та періодичне навчання	1	3	3
	Подання хім.речовин до реактора	Порушення порядку подання	Хімічна реакція може не відбутися або пройти	2	4	8	Призначення менеджера по контролю якості. Виконання обов'язків відповідно до СОП.	1	3	3

		речовин до реактора	частково. Автоматичне подання до реакторів середовищ неналежної якості і концентрації				Перевірка кваліфікації персоналу та періодичне підвищення			
Ризики під час синтезу	Бактерії <i>E.coli</i>	Використання у виробництві бактерій кишкової палички	Зараження людей. Безконтрольне поширення та забруднення	3	3	9	Робота з бактеріями у спеціальних лабораторних приміщеннях. Робота лише у спеціальному одязі та рукавичках. Виконання будьманіпуляцій згідно із ДСТУ	1	3	3
	Трансформація тепловим шоком	Порушення процесу	Непроникнення плазмід із ДНК всередину клітин <i>E.coli</i>	4	3	12	Чітка послідовність дій при трансформації, обов'язкове забезпечення точних параметрів вказаних у технології виробництва.	1	3	3
	Складна апаратура	Невміння персоналу налаштувати та працювати з апаратами	Поломка апарату. Непередбачений вплив на кожному етапі виробництва.	3	3	9	Прийом на роботу лише дипломованих спеціалістів. Робота персоналу згідно СОПів. Вчасне обслуговування та калібрування приладів. Перевірка дій працівників. Перевірка кваліфікації	1	2	3

							персоналу та періодичне підвищення			
	Фільтри	Використання фільтрів неправильним ими розмірами пор	Неналежна фільтрація	4	3	12	Робота персоналу згідно СОПів. Вчасна перевірка, заміна і обслуговування фільтрів	2	3	6
	Трубопровід	Пошкодження трубопроводу	Витікання готових середовищ назовні. Розгерметизація виробництва. Забруднення кімнат, трубопроводів.	3	4	12	Розміщення трубопроводів ізольовано (за обшивкою), але з можливим досупом за потреби. Використання стійких та надійних матеріалів під час будування	1	4	4
	Матеріал мРНК	Транскрипція з ДНК неналежної якості	Утворення помилкової і непотрібної генетичної послідовності, яку неможливо використати у виготовленні вакцини	4	5	20	Відбирати мРНК для проведення контролю якості вибіркоким способом. Робота лише із якісним вихідним матеріалом	2	3	6
	Плазмід	Пошкодження молекули	Неможливість провести трансформацію	3	4	12	Відбирати плазмід для проведення контролю якості	2	3	6

			тепловим шоком				вибірковим способом. Робота лише із якісним матеріалом			
Ризики під час збірки вакцини	Процес фільтрування	Використання фільтрів	Погана фільтрація через неналежне налаштування або встановлення пор завеликих розмірів	4	4	16	Перевірка встановлених фільтрів. Вчасне очищення від фільтрату.	1	4	4
	Процес стерилізації	Встановлення неправильних температур. Використання звичайних, а не стерилізаційних фільтрів	Вакцина не відповідає встановленим параметрам. Партія неякісна	4	4	16	Стерилізація проводиться в асептичних умовах. Лише у визначених технологією апаратах та згідно із СОП	1	4	4
	Процес герметизації	Неналежна герметизація. Не пройдений контроль якості	Забруднення та псування готової вакцини	4	5	20	Обов'язковий контроль якості після герметизації	2	5	10
	Процес маркування	Нанесення етикеток з розмитими написами.	Неможливо належним чином оцінити інформацію по	5	3	15	Контроль надходження сировини. Перевірка етикеток відбіркою способом. Робота персоналу згідно СОПів.	1	3	3

		Нанесення пустих етикеток. Не вказано всю інформацію по готовому продукту	вакцині: терміни виготовлення, умови зберігання, дозування, порядок введення, склад та ін.				Вчасне обслуговування та калібрування приладів. Контроль якості після маркування			
	Процес пакування	Автоматизована лінія пакування. Налаштування параметру завшидкого поміщення ампули у пластикову тару	Пошкодження скляної ампули і подальше забруднення готової вакцини	3	4	12	Налаштування параметрів апарату пакування згідно норм. Вчасна перевірка та обслуговування	1	4	4
Ризики для готової вакцини	Пакування	Розмір ячейки під ампулу не відповідає розміру ампули. Ампули незафіксовані у пластиковій тарі.	Пошкодження скляної ампули. Розбиття скляної ампули і подальше забруднення готової вакцини	3	4	12	Перевірка всіх характеристик пластикової тари на вході. Контроль упакованої продукції.	1	4	4

	Етикетка	Використання не термостійких клеїв та чорнил	Розмивання тексту на етикетці та її відклеювання	3	3	9	Використання регламентовано клею та чорнила під час маркування. Перевірка продукції на вході.	1	3	3
	Умови зберігання	Застосування низьких температур для ліофілізації та подальшого зберігання	Псування готової вакцини	4	5	20	Контроль за параметрами під час тривалого зберігання.	1	5	5
	Умови транспортування	Доставка вакцини замовникам	Перевезення не у авторефрижераторі. Встановлення помилкової температури. Псування партії вакцини.	3	5	15	Співпраця з надійним та сертифікованим перевізником відповідно до СОП. Перевірка кваліфікації персоналу	1	5	5
Інші ризики	Шуми	Використання різноманітних апаратів великої кількості	Виведення з ладу апаратів. Негативний вплив на персонал.	3	3	9	Вчасне калібрування та обслуговування. Передбачення шумоізоляції приміщень	1	3	3
	Речовини та середовища	Неправильне берігання,	Псування хімічних	2	4	8	Призначення менеджера по контролю якості. Виконання	1	3	3

		використання та синтез багатьох хімічних речовин.	речовин. Порухення концентрацій.				обов'язків відповідно до СОП. Перевірка дій персоналу			
	Повітря неналежного класу чистоти	Створення у лабораторії цехів з чотирма класами чистоти та використання повітря відповідної якості до класу чистоти приміщення	Забруднення апаратів, середовищ, тари інструментів, одягу персоналу. Можлива контамінація вакцини	3	5	15	Робота персоналу згідно СОПів. Вчасне обслуговування та калібрування приладів. Перевірка якості повітря на кожному етапі. Запровадження автоматизованої системи очищення та подання повітря. Планова перевірка справності фільтрів	2	3	6
	Застарілі та нечинні ДСТУ і настанови	Людська помилка. Безлад у документації. Похабне виконання обов'язків	Порушення законодавства. Випуск неякісного продукту.	4	4	15	Структурована та впорядкована документація. Оновлення ДСТУ, Настанов та СОПів згідно із законодавством. Проведення аудитів.	1	1	1
	Невідповідний клас чистоти цеху/відділу	Лабораторія має кімнати з різними	Мікробіологічне забруднення усього обладнання та	3	5	15	Розробка кімнатей-переодягалень у проєктуванні лабораторії. Щоденне прибирання та щотижневе	1	3	3

		класами чистоти	сировини. Контамінація напівготових розчинів.				генеральне прибирання. Догляд за приміщеннями згідно ДСТУ та СОПів			
	Обладнання	Використання великої кількості лабораторного обладнання	Поломки під час роботи, розгерметизація, помилки під час змішування, збої налаштування	5	3	15	Взяття на роботу інженера з обслуговування апаратів. Пояснення персоналу умов роботи з кожним приладом та його специфікацією. Правильний і вчасний догляд та обслуговування.	2	2	4
	Пересування персоналу по лабораторії	Порушення правил пересування Прохід між лабораторіями класу А через коридор класу D	Забруднення повітря, поверхонь, сировини, вакцини, лабораторних приміщень класу А	3	5	15	Пересування лише згідно регламенту та правил лабораторії. Проведення інструктажів.	1	5	5
	Людський фактор	Робота персоналу у лабораторії на різних стадіях виробництва	Втручання та помилка на будь-якому етапі виробництва	5	5	25	Прийняття на роботу дипломованих спеціалістів. Нормований робочий день. Огляд персоналу перед допуском до лабораторії. Забезпечення належних умов праці. Контроль виконання правил та обов'язків.	1	5	5



## **Висновки до розділу 4.**

У цьому розділі проводилася оцінка ризиків. Під час опрацювання знайдено, описано та передбачено наслідки для 30 ризиків під час виготовлення мРНК-вакцини. Найбільш частими та імовірними є ризики пов'язані з апаратами у лабораторіях синтезу та людські помилки. Найбільш серйозний негативний вплив можливий через пошкодження генетичної послідовності у мРНК та забруднення вакцини, що може трапитися на кожному етапі виготовлення.

Для кожного передбаченого ризику розроблено перспективну валідацію задля можливості зменшити імовірність та тяжкість будь-якого ризику або уникнути його взагалі.

## РОЗДІЛ 5. СТАРТАП-ПРОЄКТ

### 5.1. Резюме стартап-проєкту

**Тема:** впровадження та розвиток виробництва мРНК вакцин проти COVID-19 в Україні.

**Мета стартапу:** розробити технологічну лінію та розпочати виробництво мРНК-вакцини проти COVID-19.

**Напрямки застосування:** фармація, імунологія.

**Основна проблема, яку зможе вирішити реалізований стартап:** потреба у забезпеченні населення України достатньою кількістю вакцин проти коронавірусної хвороби та основних штамів.

**Цінність:**

1. Зменшення залежності від міжнародних постачальників та корпорацій (Pfizer, Johnson, AstraZeneca).

2. Більша ефективність у порівнянні з іншими типами вакцин проти коронавірусу (інактивовані, вірусно-векторні, пептидні тощо) [119,120].

3. Зменшення витрат державного бюджету на вакцинацію шляхом зниження вартості виробництва (нижча заробітна плата працівників у порівнянні з міжнародними виробниками, зниження вартості доставки до закладів охорони здоров'я).

4. Можливість швидкого розповсюдження вакцини у межах України.

**Суб'єкт замовлення:** Міністерство охорони здоров'я України (головний підрядник), заклади охорони здоров'я.

**Місце товару у міжнародній класифікації товарів:** Клас 5: Фармацевтичні, медичні та ветеринарні препарати; гігієнічні препарати на медичні потреби; дієтичні харчові продукти і речовини, призначені для медичного чи ветеринарного використання, продукти для дитячого харчування; дієтичні добавки для людей і для тварин; пластири, перев'язувальні матеріали;

матеріали для пломбування зубів, стоматологічний віск; дезінфікувальні засоби; препарати для знищення шкідників; фунгіциди, гербіциди [121].

**Наявність аналогів або прототипів ідеї:** на території України відсутні підприємства, що займаються виробництвом даного виду вакцин. У світі наявні як великі, так і малі фармацевтичні корпорації, які налагодили виробництво мРНК вакцин. Найбільш відомі: Pfizer, Moderna.

Додаткові характеристики, які стосуються даного стартап-проєкту, можна розглянути у таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Додаткові характеристики стартап-проєкту

№ п/п	Характеристика	Значення
1	КВЕД підприємства	КВЕД-2010, клас 21.10 Виробництво основних фармацевтичних продуктів- [122]
2	Очікувана потужність	Велике підприємство
3	Масштаб виробництва	Масове
4	Рівень спеціалізації	Вузькопрофільне
5	Чисельність персоналу	Середнє (до 1000 осіб)
6	Бізнес модель стартапу	B2G (business to government)
7	Ключові фактори успіху стартапу	Наявність потреби у ревакцинації громадян проти коронавірусної хвороби додатковими дозами вакцин
8	Споживачі	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Пацієнти</li> <li>- Заклади охорони здоров'я</li> <li>- Міністерство охорони здоров'я України</li> </ul>
9	Джерела фінансування	Зовнішні (фармацевтичні компанії)
10	Потенційні постачальники складових компонентів розробки	Фармацевтична компанія «Дарниця», ВАТ "Фармак", АТ «ПЗМС» та інші

11	Спосіб реалізації продукції	Отримання тендерів на постачання вакцини через електронну систему публічних закупівель «Prozorro»
----	-----------------------------	---

## 5.2 Детальний ринковий аналіз реалізації проекту

Визначення сильних (S), слабких (W) та нейтральних (N) характеристик ідеї стартап-проекту у порівнянні із потенційними конкурентами (виробниками вакцини проти COVID-19), представлено у таблиці 5.2.

Таблиця 5.2.

Порівняльна таблиця сильних, слабких та нейтральних характеристик проекту

№ п/п	Характеристика	Пропозиції конкурентів				S	W	N
		Власний проект	Pfizer	Moderna	AstraZeneca			
1	Довіра потенційних користувачів	-	+	+	-		+	
2	Контроль якості	-	+	+	+			+
3	Наявність та доступність ресурсів	-	+	+	+		+	
4	Налагоджена лінія виробництва	-	+	+	+		+	
5	Ефективність	+	+	+	-	+		
6	Вартість виробництва [123]	+	+	+	-	+		

Із порівняння сильних, слабких та нейтральних сторін проекту, можна дійти до висновку, що сильними сторонами даної ідеї є ефективність запланованої технології (мРНК), а також вартість виробництва у порівнянні із аналогами. Водночас слабкими сторонами є довіра потенційних користувачів, відсутність налагодженого контролю якості, лінії виробництва. Однак контроль якості може забезпечити потенційний замовник, а саме Міністерство охорони здоров'я України (Державна служба України з лікарських засобів та контролю за наркотиками), тому дана характеристика відноситься до нейтральної.

Розглянемо також фактори можливостей (opportunities) та загроз (threats), які представлені у таблицях 5.3 та 5.4.

Таблиця 5.3.

Фактори можливостей

<b>№ п/п</b>	<b>Фактор</b>	<b>Можливість</b>	<b>Можлива реакція</b>
1	Відсутність конкуренції на ринку	Відсутнє виробництво вакцини проти COVID-19 в Україні іншими компаніями	Можливість отримати підтримку інвесторів (як внутрішніх, так і закордонних) та уряду
2	Науково-технічний розвиток	Виробництво мРНК вакцин в Україні та світі є відносно новою галуззю у фармації	Можливість отримати додаткові знання про ефективність даного типу вакцини та внести удосконалення. Можливість стимулювання наукової діяльності різних інститутів НАНУ
3	Стратегічна важливість проекту для держави	Зараз Україна повністю залежить від поставок закордонних постачальників та міжнародних програм	Сприяння діяльності підприємства на державному рівні

Таблиця 5.4.

## Фактори загроз

№ п/п	Фактор	Загроза	Можлива реакція компанії
1	Поява нових конкурентів	Інші українські фармацевтичні корпорації можуть також розпочати виробництво	Залучення маркетологів; побудова рекламної кампанії навколо факту розробки першої української мРНК вакцини проти коронавірусу
2	Складність розширення продажу вакцини на міжнародний ринок	Потенційні закордонні конкуренти мають беззаперечну репутацію, можливість лобювання своїх інтересів	Зменшення вартості виробництва за допомогою його розширення та зниження ціни для закордонних покупців
3	Державне регулювання	Складність реєстрації бізнесу та медичних засобів [124]	Найняти кваліфікованого юриста та бухгалтера для обліку
4	Забезпечення якості вакцини	Можливість підробки, проблема із контролем температури мРНК вакцин	Розробити чітку політику розповсюдження продукту відповідно до наявних закордонних аналогів

Розглянемо також аналіз конкуренції в галузі, використовуючи методикку М. Портера [125]:

### 1. Потужність постачальників.

В Україні та у світі розвинута мережа постачальників обладнання для виробництва, розчинів, ампул тощо. Також наявні підрядники по ремонту та

дистриб'юції. Таким чином можна вважати, що постачальники не будуть мати вирішальну роль у бізнес-моделі.

## **2. Потужність покупців.**

Оскільки основний покупець – держава, варто враховувати особливість продажі вакцин для державних установ (дотримання усіх юридичних формальностей, продажі через платформу публічних закупівель, антикорупційні перевірки тощо). Таким чином, варто пам'ятати про залежність підприємства від органів охорони здоров'я.

## **3. Загроза нових учасників.**

Існує небезпека виробництва протиковідних вакцин як закордонними корпораціями, так і українськими (наприклад, Фармацевтична фірма «Дарниця», Борщагівський ХФЗ, «Київмедпрепарат» тощо). Водночас при вдалій рекламній кампанії та покращення виробничого циклу, а також досить значному обсягу потенційних замовлень (практично все населення України) можна вважати, що даний чинник не є проблемою.

## **4. Загроза заміни товарів/послуг.**

Оскільки пандемія коронавірусної хвороби продовжується, а також постійно з'являються нові штами COVID-19, можна вважати, що жителі України і надалі будуть потребувати вакцини від вірусу. Також при розробці вакцини потрібно пам'ятати про ефективність вакцини від зараження/складного перебігу хвороби, міжнародне визнання вакцини для використання у COVID-сертифікатах, безпечність вакцини для різних категорій населення. Таким чином, дана складова несе як можливості, так і загрози.

## **5. Конкурентне суперництво.**

Рівень конкуренції на ринку досить високий, оскільки наявні сертифіковані та ефективні закордонні аналоги. Водночас, при підтвердженій ефективності виробленої вакцини, суперництво всередині країни буде мінімальним, а даний продукт буде у вииграшному положенні як перша українська мРНК вакцина проти COVID-19.

Таким чином, на основі п'яти сил Портера можна зробити висновок, що даний стартап є стабільним від зовнішніх та внутрішніх загроз [126].

Опишемо також фактори конкурентоспроможності нашого продукту у таблиці 5.5.

Таблиця 5.5.

Фактори конкурентоспроможності.

№ п/п	Фактор	Обґрунтування
1	Новизна	Даний тип вакцини не виробляється на території України, що дозволяє бути єдиним аналогом міжнародним виробникам
2	Якість	мРНК вакцини є найбільш ефективними у порівнянні з іншими видами вакцин
3	Ціна	мРНК вакцини є найдешевшими у виробництві у порівнянні з іншими видами вакцин

Проведемо також SWOT-аналіз стартап-проекту.

Таблиця 5.6.

SWOT-таблиця

Сильні сторони	Слабкі сторони
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Постійний попит та велика кількість потенційних клієнтів</li> <li>• Ефективність вакцини</li> <li>• Наявність великої кількості підрядників та постачальників</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Наявність міжнародних конкурентів</li> <li>• Високі вимоги до безпеки та ефективності вакцини, що сповільнюють впровадження</li> </ul>



Можливості	Загрози
<ul style="list-style-type: none"> <li>Відсутність конкурентів в Україні</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Можлива внутрішня конкуренція</li> </ul>

Проведемо також технологічний аудит стартап проекту за допомогою аналізу технологічної здійсненності ідеї проекту.

**Технології для реалізації ідеї:** виробництво вакцини на основі мРНК.

**Наявність технологій:** наявні, однак є потреба у покращенні ефективності (зменшення ймовірності зараження, збільшення стійкості ефективності відносно нових штамів, зменшення побічних ефектів тощо).

**Доступність технологій:** доступні.

Таким чином, можна вважати, що технічна реалізація за даних умов є можливою.

### 5.3 Розрахунок фінансових показників

Орієнтовна вартість виготовлення мРНК вакцини (на прикладі BNT162b2 від виробника Pfizer) представлена у таблицях 5.7, 5.8. Розрахунки представлені на виробництво 100 млн ампул/рік ємністю 0.45 мл [127].

Таблиця 5.7.

#### Витрати на матеріали

№ п/п	Найменування	Вартість (у млн доларів)
1	Вартість мРНК матеріалу	127
2	Виробничі витрати	88
3	Вартість пакувальних, закупорювальних, гігієнічних матеріалів	17

4	Вартість допоміжних речовин	54
5	Вартість ампул	39
	<b>Усього</b>	<b>325</b>

Таблиця 5.8.

## Оперативні витрати

№ п/п	Найменування	Показник
1	Кількість людино-годин, необхідних для виготовлення вакцини	207 000 годин
2	Кількість працівників	75 чоловік
3	Вартість (середня заробітна плата до податків – 3 000 доларів/місяць)	2 700 000 доларів
4	Оренда приміщення та обладнання (на рік)	5 000 000 доларів
5	Вартість додаткових витрат (транспортування, юридичні формальності, амортизаційні витрати, податки тощо)	10 000 000 доларів
	<b>Усього</b>	<b>≈ 18 млн доларів</b>

Таким чином, орієнтовний розрахунок вартості виробництва 100 млн ампул вакцини на рік становить близько 343 млн доларів, тобто 3.4 долари на 1 ампулу чи 0.68 доларів на одну дозу (в одній ампулі – 5 доз). Водночас, для повноцінного запуску виробництва потрібно враховувати вартість випробувань, сертифікації, контролю якості та інші форс-мажорні витрати.

## 5.4 Розробка ринкової стратегії стартап проєкту

Для успішної реалізації даного стартап проєкту необхідною є розробка ринкової стратегії підприємства, що передбачає визначення цільової групи потенційних споживачів, розробка стратегії розвитку та стратегії протидії конкурентам.

Таблиця 5.9.

Вибір цільової групи потенційних споживачів

№ п/п	Фактор	Характеристика
1	Профіль цільової групи	Державні
2	Готовність споживачів споживати продукт	Готові
3	Орієнтовний попит у межах цільової групи	Високий
4	Ступінь конкуренції	Високий
5	Простота входу	Складний

Визначимо також базову стратегію розвитку для нашого стартап проєкту.

- 1) Альтернатива розвитку: покращення сильних сторін проєкту та технології;
- 2) Стратегія охоплення ринку: урізноманітнення маркетингового дослідження;
- 3) Ключові позиції спроможності до конкуренції: ефективність вакцини, перша українська вакцина;
- 4) Базова стратегія розвитку: диференціація.

У випадку появи конкурентів на внутрішньому ринку, базова стратегія поведінки буде складатися з основних характеристик:

- 1) Проєкт є «першопрохідцем» в Україні;
- 2) Підприємство зможе забирати існуючих користувачів (тобто пацієнтів) у конкурентів через вигідну ціну та репутацію у закупівлях;

- 3) Підприємство не буде старатися копіювати характеристики конкурента, а буде старатися покращити технологію виробництва вакцини;
- 4) Основною стратегією конкурентної поведінки буде домінатор [128].

### **Висновки до розділу 5.**

У даному розділі був описаний стартап-проект на основі розробленої технології по виробництву мРНК вакцини. Були описані основні економічні, фінансові та ринкові характеристики даного підприємства, оцінені сильні та слабкі сторони, а також способи зменшення негативного впливу зовнішніх та внутрішніх чинників. Також була проведена оцінка вартості виробництва та розроблена стратегія ринкової поведінки.

Після проведеного аналізу можна зробити висновок, що даний проект може бути успішно реалізованим та бути прибутковим при вартості однієї ампули більше 150 грн., в той час як закордонні компанії ставлять цінік 4000-4500 грн. Водночас при створенні підприємства потрібно враховувати особливості ведення бізнесу із державними закладами охорони здоров'я та можливими конкурентами.

## ВИСНОВОК

Магістерська дисертація присвячена створенню та реалізації технології виробництвом РНК-вакцин від Covid-19 адаптованої для виробництва в Україні.

На основі аналізу літературних даних було встановлено найкращі способи для реалізації різних етапів виробництва мРНК-вакцини, на основі яких можна розробити адаптовану для української промисловості технологію виробництва мРНК-вакцини, яка відповідає усім стандартам та нормативним документам, які регламентують виробництво лікарських засобів в Україні, задля забезпечення випуску якісної продукції. Розроблено технологічну та апаратурно-технологічну (компоновки приміщень) схему для реалізації виробництва, в якій передбачено всі потрібні приміщення та їх розташування, пролягання трубопроводів, умови роботи, класи чистоти.

Розроблено систему контролю якості та кожній стадії, підстадії, яка включає систему контролю самого виробництва (персоналу, приміщень, обладнання), систему контролю вхідної сировини та матеріалів, систему контролю напівпродукції та кінцевого продукту. Слід зазначити, що основне місце в цій системі займає контроль якості готової продукції, а технологічна схема має відповідний етап цього контролю.

Для розробленої технології проведено оцінку ризиків, які можуть виникати у процесі виробництва, і здійснено його перспективну валідацію для мінімізації можливості заподіяння шкоди виробництву та потенційним споживачам.

Розроблено стартап-проект для реалізації в Україні. Описано основні економічні, фінансові та ринкові характеристики майбутнього підприємства, оцінено сильні та слабкі сторони, а також способи зменшення негативного впливу зовнішніх та внутрішніх чинників.

За запропонованою технологією розраховано, що можливий випуск складатиме 100 млн. ампул на рік об'ємом 0,45 мл. Одна ампула містить 5 доз, собівартість вакцини ~ 150 грн за ампулу або ~32 грн. за дозу.

## ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Все, що варто знати про вакцинацію [Електронний ресурс] // Державна установа «Центр громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я України». – 2020. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.phc.org.ua/news/vse-scho-var-to-znati-pro-vakcinaciyu>.
2. Медуницын Н. В. Вакцинология / Н. В. Медуницын. – Москва: Трида-Х, 2004. – 448 с.
3. Malone, R. W., Felgner, P. L. & Verma, I. M. Proc. Natl Acad. Sci. USA 86, 6077–6081 (1989).
4. Malone, R. W. Focus 11, 61–66 (1989).
5. Ostro, M. J., Giacomoni, D., Lavelle, D., Paxton, W. & Dray, S. Nature 274, 921–923 (1978).
6. Melton, D. A. et al. Nucleic Acids Res. 12, 7035–7056 (1984).
7. Krieg, P. A. & Melton, D. A. Nucleic Acids Res. 12, 7057–7070 (1984).
8. Conry, R. M. et al. Cancer Res. 55, 1397–1400 (1995).
9. Boczkowski, D., Nair, S. K., Snyder, D. & Gilboa, E. J. Exp. Med. 184, 465–472 (1996).
10. PHG Foundation. RNA vaccines: an introduction. <https://www.phgfoundation.org/briefing/rna-vaccines>.
11. Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. Nature. 2017; 547(7662): 222-226.
12. Sahin, U., Kariko, K. & Tureci, O. mRNA-based therapeutics — developing a new class of drugs. Nat. Rev. Drug Discov. 13, 759–780 (2014).
13. Pardi, N., Muramatsu, H., Weissman, D. & Kariko, K. In vitro transcription of long RNA containing modified nucleosides. Methods Mol. Biol. 969, 29–42 (2013).
14. Kose, N. et al. A lipid-encapsulated mRNA encoding a potently neutralizing human monoclonal antibody protects against chikungunya infection. Sci. Immunol. 4, eaaw6647 (2019).
15. Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W. & Weissman, D. mRNA vaccines—a new era in vaccinology. Nat. Rev. Drug Dis. 17, 261–279 (2018).
16. Cheng, W. F. et al. Enhancement of sindbis virus self-replicating RNA vaccine potency by linkage of herpes simplex virus type 1 VP22 protein to antigen. J. Virol. 75, 2368–2376 (2001).
17. Ljungberg, K. & Liljestrom, P. Self-replicating alphavirus RNA vaccines. Exp. Rev. Vacc. 14, 177–194 (2015).

18. mRNA as a Transformative Technology for Vaccine Development to Control Infectious Diseases [Электронный ресурс] / Giuletta Maruggi, Cuiling Zhang, Jeffrey B. Ulmer, Junwei Li // *Molecular Therapy* 27(4). – 2019. – Режим доступа до ресурсу: [https://www.researchgate.net/publication/331007460\\_mRNA\\_as\\_a\\_Transformative\\_Technology\\_for\\_Vaccine\\_Development\\_to\\_Control\\_Infectious\\_Diseases](https://www.researchgate.net/publication/331007460_mRNA_as_a_Transformative_Technology_for_Vaccine_Development_to_Control_Infectious_Diseases).
19. Stepinski, J., Waddell, C., Stolarski, R., Darzynkiewicz, E. & Rhoads, R. E. Synthesis and properties of mRNAs containing the novel “anti-reverse” cap analogs 7-methyl(3'-O-methyl) GpppG and 7-methyl(3'-deoxy) GpppG. *RNA* 7, 1486–1495 (2001).
20. Grudzien-Nogalska, E. et al. Synthesis of anti-reverse cap analogs (ARCAs) and their applications in mRNA translation and stability. *Meth. Enzym. Ch.* 431, 203–227 (2007).
21. Weissman, D., Pardi, N., Muramatsu, H., & Karikó, K. HPLC Purification of in vitro transcribed long RNA. in *Synthetic Messenger RNA and Cell Metabolism Modulation. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)* (ed. Rabinovich, P.) Vol. 969 pp 43–45 (Humana Press, Totowa, NJ, 2012).
22. Triana-Alonso, F. J., Dabrowski, M., Wadzack, J. & Nierhaus, K. H. Self-coded 3'-extension of run-off transcripts produces aberrant products during in vitro transcription with T7 RNA polymerase. *J. Biol. Chem.* 270, 6298–6307 (1995).
23. Karikó, K., Muramatsu, H., Ludwig, J. & Weissman, D. Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. *Nucleic Acids Res.* 39, e142 (2011).
24. Nicholas A. C. Jackson. The promise of mRNA vaccines: a biotech and industrial perspective [Электронный ресурс] / Nicholas A. C. Jackson, Kent E. Kester, Danilo Casimiro // *nature*. – 2020. – Режим доступа до ресурсу: <https://www.nature.com/articles/s41541-020-0159-8>.
25. Leppek, K., Das, R. & Barna, M. Functional 5' UTR mRNA structures in eukaryotic translation regulation and how to find them. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 19, 158–174 (2018).
26. Devarkar, S. C. et al. Structural basis for m7G recognition and 2'-O-methyl discrimination in capped RNAs by the innate immune receptor RIG-I. *PNAS* 113, 596–601 (2016).
27. Xu, X. X. et al. RIG-I: a multifunctional protein beyond a pattern recognition receptor. *Protein Cell* 9, 246–253 (2018).
28. Lassig, C. & Hopfner, K. P. Discrimination of cytosolic self and non-self RNA by RIG-I-like receptors. *J. Biol. Chem.* 292, 9000–9009 (2017).
29. Andries, O. et al. N1-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J. Contr. Rel.* 217, 337–344 (2015).



30. Pardi, N. et al. Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses. *J. Exp. Med.* 215, 1571–1588 (2018).
31. Thess, A. et al. Sequence-engineered mRNA without chemical nucleoside modifications enables an effective protein therapy with large animals. *Mol. Ther.* 23, 1456–1464 (2015).
32. Potapov, V. et al. Base modifications affecting RNA polymerase and reverse transcriptase fidelity. *Nucleic Acids Res.* 46, 5753–5763 (2018).
33. Tsui, N. B., Ng, E. K. & Lo, Y. M. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma. *Clin. Chem.* 48, 1647–1653 (2002).
34. Houseley, J. & Tollervey, D. The many pathways of RNA degradation. *Cell* 136, 763–776 (2009).
35. Stanton, M. Current status of messenger RNA delivery systems. *Nucleic Acids Ther.* 28, 158–165 (2018).
36. DeRosa, F. et al. Improved efficacy in a Fabry disease model using a systemic mRNA liver depot system as compared to enzyme replacement therapy. *Mol. Ther.* 27, 878–889 (2019).
37. Asrani, K. H., Cheng, L., Cheng, C. J., Subramanian, R. R. & Arginase, I. mRNA therapy—a novel approach to rescue arginase 1 enzyme deficiency. *RNA Biol.* 15, 914–922 (2018).
38. Understanding mRNA COVID-19 Vaccines. Centers for Disease Control and Prevention. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/mrna.html>.
39. John, S. et al. Multi-antigenic human cytomegalovirus mRNA vaccines that elicit potent humoral and cell-mediated immunity. *Vaccine* 36, 1689–1699 (2018).
40. Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W. & Weissman, D. mRNA vaccines—a new era in vaccinology. *Nat. Rev. Drug Dis.* 17, 261–279 (2018).
41. «Дарниця» отримає від ВООЗ технологію виробництва мРНК вакцин [Електронний ресурс] // Дарниця. – 2022. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.darnitsa.ua/press-center/novini-kompan/darnitsya-otrимаie-vid-vooz-tekhnologiyu-virobnitstva-mrnk-vaktsin>.
42. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016 Лікарські засоби. Належна виробнича практика.
43. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.7:2020 Лікарські засоби. Керівництво щодо клінічної оцінки вакцин.
44. СТ-Н МОЗУ 42-4.4:2011 Лікарські засоби. Міжнародні гармонізовані вимоги щодо сертифікації серії.

45. ДСТУ ISO 9000:2015 (ISO 9000:2015, IDT) Системи управління якістю. Основні положення та словник термінів.
46. ДСТУ ISO 9001:2015 (ISO 9001:2015, IDT) Системи управління якістю. Вимоги.
47. ДСТУ ISO 11239:2018 (ISO 11239:2012, IDT) Інформатика в галузі охорони здоров'я. Ідентифікація лікарських засобів. Елементи та структура даних для унікальної ідентифікації й обміну регламентованою інформацією про фармацевтичні форми дозування, одиниці подання, шляхи введення та пакування.
48. ДСТУ 1.7-2015. – Національна стандартизація. Правила та методи прийняття міжнародних і регіональних нормативних документів - Київ, ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр стандартизації, сертифікації та якості», 2015.
49. EMEA/CHMP/VWP/164653/05 Rev. 1 «Guideline on clinical evaluation of vaccines - April 2018» (Керівництво щодо клінічної оцінки вакцин – квітень 2018).
50. ДСТУ EN ISO 11957:2018 Акустика. Визначення звукоізоляції кабін. Випробування в лабораторії та на місці встановлення (EN ISO 11957:2009, IDT; ISO 11957:1996, IDT).
51. ДСТУ EN ISO 15189:2015 Медичні лабораторії. Вимоги до якості та компетентності (EN ISO 15189:2012, IDT).
52. ДСТУ OHSAS 18002:2015 Системи управління гігієною та безпекою праці. Основні принципи виконання вимог OHSAS 18001:2007 (OHSAS 18002:2008, IDT)
53. СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008 «Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика».
54. ДСТУ EN 12128:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що проводять дослідження, розроблення та аналізування. Коефіцієнт заповнення мікробіологічних лабораторій, зони ризику, місце розташування та вимоги фізичної безпеки (EN 12128:1998, IDT).
55. ДСТУ EN 12741:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Настанови щодо діяльності біотехнологічних лабораторій (EN 12741:1999, IDT).
56. ДСТУ CR 12739:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Звіт стосовно вибирання устаткування для біотехнологічних лабораторій залежно від ступеня небезпеки (CR 12739:1998, IDT).
57. Настанова 42-02-2002 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика активних фармацевтичних інгредієнтів».
58. Настанова 42-01-2003 «Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація».

59. ДСТУ ISO 18436-5:2015 Моніторинг і діагностика стану машин. Вимоги до кваліфікації та сертифікації персоналу. Частина 5. Технік-аналітик лабораторії аналізу мастильних матеріалів (ISO 18436-5:2012, IDT).
60. ДСТУ EN 13441:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Настанови щодо стримування поширення генетично змінених рослин (EN 13441:2001, IDT).
61. ДСТУ ISO 11615:2018 Інформатика в галузі охорони здоров'я. Ідентифікація лікарських засобів. Елементи і структури даних для унікальної ідентифікації та обміну регламентованою інформацією про лікарські засоби (ISO 11615:2017, IDT).
62. СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 «Настанова. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8).
63. СТ-Н МОЗУ 42-5.1:2011 «Настанова. Лікарські засоби. Належна практика зберігання».
64. СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011 «Настанова. Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9).
65. Настанова «Виробництво фармацевтичної продукції в асептичних умовах. Частина I. Загальні умови» (2004).
66. Настанова «Стерилізація медичної продукції. Вимоги до валідації й поточного контролю. Промислова стерилізація вологою парою» (2004).
67. Настанова «Чисті приміщення й пов'язане з ними контрольоване середовище. Частина 1. Класифікація чистоти повітря» (2004).
68. Настанова 42-3.6:2004 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Допоміжні речовини».
69. Управління ризиками виробництва медичних виробів згідно ДСТУ EN ISO 14971:2015.
70. Керування ризиком. Методи загального оцінювання ризику. ДСТУ IEC ISO 31010:2013.
71. ДСТУ ISO 31000:2014 «Менеджмент ризиків. Принципи та керівні вказівки».
72. ДСТУ ISO Guide 73:2013 «Керування ризиком. Словник термінів».
73. ISO/AWI 8184 Healthcare organization management - Vaccination administering.
74. ДСТУ EN ISO 13485:2018 (EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT). Система управління якістю. Вимоги до регулювання. 2018.
75. Emma Cott. How Pfizer Makes Its Covid-19 Vaccine [Електронний ресурс] / Emma Cott, Elliot deBruyn, Jonathan Corum // nytimes.com. – 2021. – Режим доступу до ресурсу:

<https://www.nytimes.com/interactive/2021/health/pfizer-coronavirus-vaccine.html?searchResultPosition=2>.

76. Miao L, Li L, Huang Y, Delcassian D, Chahal J, Han J, Shi Y, Sadtler K, Gao W, Lin J, et al. 2019. Delivery of mRNA vaccines with heterocyclic lipids increases anti-tumor efficacy by STING-mediated immune cell activation. *Nat Biotechnol.* 37(10):1174-1185. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0247-3>.

77. Kulkarni JA, Witzigmann D, Leung J, Tam YYC, Cullis PR. On the role of helper lipids in lipid nanoparticle formulations of siRNA. *Nanoscale.* 11(45):21733-21739. <https://doi.org/10.1039/c9nr09347h>.

78. Issa J, Barberio J, Aunins J, Aefyan N. ION EXCHANGE PURIFICATION OF MRNA (Patent No. WO/2014/144767 A1)

79. Bancel S, Issa J, Aunins J. Ribonucleic acid purification (Patent No. WO2014152031A1).

80. Bancel S, Issa J, Aunins J, Chakraborty T. 2014. Manufacturing methods for production of rna transcripts (Patent No. WO2014152027A1). Available from: <https://patents.google.com/patent/WO2014152027A1/en>.

81. Gabor Tamas Szabo. COVID-19 mRNA vaccines: Platforms and current developments [Електронний ресурс] / Gabor Tamas Szabo, Azita Josefine Mahiny, IrenaVlatkovic // [sciencedirect.com](https://www.sciencedirect.com). – 2022. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1525001622000995>.

82. A.K.K. Leung, Y.Y.C. Tam, P.R. Cullis. Lipid nanoparticles for short interfering RNA delivery. *Adv. Genet.*, 88 (2014), pp. 71-110, 10.1016/B978-0-12-800148-6.00004-3.

83. Государственный научный центр лекарственных средств. Технология и стандартизация лекарств. Сборник научных трудов. – Т.2 – Харьков: ИГ «РИРЕГ». – 2000. – 784с.

84. Наказ МОЗ України «Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів від 14 грудня 2001 р. № 502.

85. ДСТУ EN ISO 13485:2016 Медичні вироби. Система управління якістю. Вимоги до регулювання.

86. Державне підприємство "Центр стандартизації ракетно-космічної техніки". Чисті приміщення та пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 1. Класифікація чистоти повітря. ДСТУ ISO 14644-1:2009 (ISO 14644-1:1999, IDT), 2009.

87. Конспект лекцій з дисципліни «Асептика біотехнологічних виробництв» освітньо-професійної програми другого рівня усіх форм навчання / Укл.: Головей О.П., Гуляєв В.М. – Кам'янське, ДДТУ, 2017 р., 140 с.
88. Яйченя Ю. О. Відділення підготовки води для ін'єкцій: дипломний проект освітньо-кваліфікаційного рівня «бакалавр». Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут», Київ, 2015.
89. Бекер М.Е. Введение в биотехнологию. Изд. Пищ. пром-сть, 1978. - 232 с.
90. Апарати мікробіологічної промисловості: навч. посібник / І.П. Данилов, С.І. Самійленко. – Харків : НТУ «ХПІ», 2008. – 272 с.
91. Sławomir Kumala. DNA of a circular minichromosome linearized by restriction enzymes or other reagents is resistant to further cleavage: an influence of chromatin topology on the accessibility of DNA [Електронний ресурс] / Sławomir Kumala, Yasmina Hadj-Sahraoui // <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. – 2012. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3479189/>.
92. Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger RNA vaccines for 10 the prevention of infectious diseases: regulatory considerations [Електронний ресурс] // World Health Organization – Режим доступу до ресурсу: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/call-for-comments/bs.2021.bs2402\\_who-regulatory-considerations-for-mrna-vaccines\\_final.pdf?sfvrsn=c8623b32\\_5](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/call-for-comments/bs.2021.bs2402_who-regulatory-considerations-for-mrna-vaccines_final.pdf?sfvrsn=c8623b32_5).
93. Analytical Procedures for mRNA Vaccine Quality [Електронний ресурс] // <https://www.usp.org/>. – 2022.  
Режим доступу до ресурсу: <https://www.uspnf.com/notices/analytical-procedures-mrna-vaccines-20220210>.
94. Україна, Міністерство охорони здоров'я України. Державна санітарно-епідеміологічна служба України. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю. Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи, № ДСП 9.9.5.-080-2002, 28 січ. 2002.
95. Винниченко Е. Що робити, якщо придбано товар неналежної якості? [Електронний ресурс] / Едуард Винниченко // ЮрЛіга. – 2021. – Режим доступу до ресурсу: [https://jurliga.ligazakon.net/aktualno/10052\\_tovar-nenalezchno-yakost-yak-prava-u-pokuptsya](https://jurliga.ligazakon.net/aktualno/10052_tovar-nenalezchno-yakost-yak-prava-u-pokuptsya).
96. Технічний комітет стандартизації «Системи управління якістю» (ТК 189). Системи управління якістю. Настанови щодо вхідного контролю продукції. ДСТУ 9027:2020, 2020.
97. (ІСН Q8): СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011/ – К. : Міністерство охорони здоров'я України, 2011.

98. Лікарські засоби. Формалізоване загальне оцінювання ризиків з метою встановлення відповідної належної виробничої практики для допоміжних речовин, використуваних у лікарських препаратах для людини : СТ-Н МОЗУ 42-4.8:2016. – К. : Міністерство охорони здоров'я України, 2016.

99. Analysis Techniques for system reliability. Procedures for failure mode and effects analysis (FMEA) : ІЕС 60812 – [Edition 2.0, 2006- 01-01] – International Electrotechnical Commission (ІЕС), 2006.

100. Україна, Міністерство охорони здоров'я України. Державна фармакопея України Друге видання. 2016, docplayer.net/77551242-Derzhavna-farmakopeya-ukrayini.html.

101. Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия. ГОСТ 18300-87, 1988.

102. ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»). Гіпохлорит натрію. ДСТУ EN 15077:2020, 2020.

103. ДСТУ 7525:2014 Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості.

104. ДСТУ ISO 14026:2018 Экологические этикетки и декларации. Принципы, требования и указания относительно поддержанию связи о влиянии деятельности человека на окружающую среду (ISO 14026:2017, IDT) ДСТУ ISO 14026:2018 Экологические этикетки и декларации. Принципы, требования и указания относительно поддержанию связи о влиянии деятельности человека на окружающую среду (ISO 14026:2017, IDT).

105. ДСТУ ISO 6778:2003 Якість води. Визначення амонію. Потенціометричний метод.

106. ГОСТ 9-92 Амiак водний технічний. Технічні умови.

107. ДСТУ 7963:2015 Продукти харчові. Готування проб для мікробіологічних аналізів.

108. Технічний комітет «Безпека промислової продукції та засоби індивідуального захисту працюючих» (ТК 135). Рукавички захисні. Загальні вимоги та методи випробування. ДСТУ EN 420-2017 (EN 420:2003+A1:2009, IDT), 2017.

109. Технічний комітет стандартизації «Упаковка, тара, пакувальні матеріали» (ТК 120). Пакування. Графічне маркування щодо поводження з товарами. ДСТУ ISO 780-2001 (ISO 780:1997, IDT), 2002.

110. ДСТУ ISO 14644-1:2009 Чисті приміщення та пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 1. Класифікація чистоти повітря (ISO 14644-1:1999, IDT).

111. ДСТУ ISO 14001:2015 Системи екологічного управління. Вимоги та настанови щодо застосування (ISO 14001:2015, IDT).

112. ДСТУ EN 14348:2014 Засоби хімічні дезінфекційні та антисептики. Кількісне визначання мікобактерицидної активності суспензії хімічних дезінфекційних засобів стосовно медичних інструментів. Метод випробовування та вимоги (стадія 2, етап 1) (EN 14348:2005, IDT).
113. ДСТУ EN 13795:2018 «Хірургічний одяг та білизна, застосовувані як медичні вироби для пацієнтів, хірургічного персоналу та обладнання. Загальні вимоги до виробників, процесу оброблення та виробів. Методи випробування, вимоги до характеристик та рівнів якості».
114. ДСТУ EN 61010-1:2014 Вимоги щодо безпечності контрольно-вимірвального та лабораторного електричного устаткування. Частина 1. Загальні вимоги (EN 61010-1:2010, IDT).
115. ДСТУ 7963:2015 Продукти харчові. Готування проб для мікробіологічних аналізів.
116. ДСТУ EN 420:2017 Рукавички захисні. Загальні вимоги та методи випробування (EN 420:2003+A1:2009, IDT).
117. BS EN 12791:2016+A1:2017
118. Chemical disinfectants and antiseptics. Surgical hand disinfection. Test method and requirements (phase 2, step 2).
119. Shaun Grannis. Vaccines effective against Delta variant [Електронний ресурс] / Shaun Grannis. – 2021. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.regenstrief.org/article/covid-vaccines-effective-against-delta-variant/>.
120. Nick Andrews. Effectiveness of COVID-19 vaccines against the Omicron (B.1.1.529) variant of concern [Електронний ресурс] / Nick Andrews, Julia Stowe, Freja Kirsebom // Now published in New England Journal of Medicine doi: 10.1056/NEJMoa2119451. – 2021. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.12.14.21267615v1>.
121. Міжнародна класифікація товарів і послуг для реєстрації знаків (Ніццька класифікація) [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://nice.uipv.org/class/good/5>.
122. [http://kved.ukrstat.gov.ua/KVED2010/21/KVED10\\_21\\_1.html](http://kved.ukrstat.gov.ua/KVED2010/21/KVED10_21_1.html).
123. Donald W Light. The costs of coronavirus vaccines and their pricing [Електронний ресурс] / Donald W Light, Joel Lexchin. – 2021. – Режим доступу до ресурсу: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/01410768211053006>.
124. Реєстрація лікарських засобів, фармаконагляд і GMP [Електронний ресурс] // ТОВ «Кратія» – Режим доступу до ресурсу: <https://cratia.ua/uk/registration-medicines-pharmacovigilance-and-gmp>.

125. 5 сил Портера [Електронний ресурс] // Дія.Бізнес. – 2020. – Режим доступу до ресурсу: <https://business.dii.gov.ua/handbook/marketing/5-sil-portera>.

126. Маркетинг стартап-проектів [Електронний ресурс] : навч. посіб. для усіх спеціальностей другого освітнього ступеню «магістр» / За заг. ред. С. О. Солнцева / С.О. Солнцев, О.В. Зозульов, Н. В. Юдіна, Т. О. Царьова, Н. В. Язвінська ; Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського. –

127. [https://msfaccess.org/sites/default/files/202109/COVID19\\_TechBrief\\_Process\\_cost\\_modelling\\_ENG.pdf](https://msfaccess.org/sites/default/files/202109/COVID19_TechBrief_Process_cost_modelling_ENG.pdf)

128. Stanley Plotkin. The complexity and cost of vaccine manufacturing – An overview [Електронний ресурс] / Stanley Plotkin, James M. Robinson, Gerard Cunningham // ScienceDirect. –2017.Режим доступу до ресурсу: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X17307703>.