

Биологическая безопасность и биотехнологические процессы

Современная биотехнология представляет собой синтетическую науку, интегрирующую знания из разных научных дисциплин и имеющую конечную цель – получение продуктов биологического синтеза, важных для человека, в достаточных для обеспечения его потребностей количествах.

С точки зрения фундаментальных и прикладных разработок в данной области ее можно разделить на научную (исследовательскую) и технологическую части (собственно производство продукта). Научная составляющая в современных разработках связана с развитием методологий молекулярной биологии, генетики, микробиологии, клеточной биологии, биохимии, геной инженерии, генетическим редактированием, т.е. с теми, которые могут приводить к созданию продуцентов или искусственному синтезу важных для отдельных отраслей промышленности биологических структур. Масштабируемые технологии получения таких продуктов строятся на разработках, имеющих целью промышленный выпуск биологических соединений или живых объектов с использованием большого арсенала современных методологий и оборудования.

Понятие биологической безопасности биотехнологических процессов связано со свойствами используемых в производстве микроорганизмов, наиболее значимыми из которых являются вирулентность (степень патогенности), наличие генетических структур, которые могут быть бесконтрольно распространены в окружающей среде, и возможность попадания новых вариантов микроорганизмов в естественные экосистемы с непредсказуемыми последствиями.

Благодаря развитию современных методологий создания продуцентов ключевых молекул микроорганизмов, например антигенов для вакцин, нет необходимости в культивировании патогенов в больших масштабах. Вместе с тем в некоторых случаях такая необходимость может возникнуть при экстренном создании средств специфической профилактики, когда невозможно клонирование какого-либо протективного компонента в силу недостаточности информации или методологий. Кроме того, требования к производственным процессам получения даже клонированных компонентов вакцин приводят к необходимости создания условий для нераспространения продуцентов. Так, продуценты антигенов патогенов I–II групп патогенности, даже полученные на авирулентных культурах (например, *Escherichia coli*), относятся к III группе патогенности, что приводит к необходимости соблюдения требований санитарных правил для этой группы. При этом возникает коллизия, связанная с требованиями к производственным процессам по стандартам GMP, где в помещениях применяется положительное давление. Для выращивания культур, формально относящихся к III группе (продуценты), необходимо создание условий, обеспечивающих биологическую безопасность по стандартам BSL, где в производственном помещении применяется отрицательное давление. Разрешение таких противоречий требует разработки специальных конструктивных решений при организации производства. Мы сталкивались с такой проблемой при проектировании корпуса для производства рекомбинантных генно-инженерных вакцин против возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы, и ее решение было совершенно нетривиальным с учетом еще и дополнительных затрат на проектировку производства, удовлетворяющего всем требованиям BSL и GMP.

Что касается возможности распространения значимых генетических структур в окружающей среде, то данная проблема в настоящее время стоит особенно остро. Попадание генетических структур, кодирующих факторы патогенности вирулентных штаммов, в окружающую среду представляет значительную биологическую опасность в связи с возможностью их распространения, интеграции в сапрофитные культуры и создания новых форм патогенов. Такие процессы уже наблюдаются в природных экосистемах, например морских, когда патогены передают факторы вирулентности сапрофи-



там. Предотвращение такого распространения может быть гарантировано при соблюдении требований ко всем видам процессов в производственной технологической цепочке, начиная с этапов накопления биомассы и посевного материала (пробирки, колбы, бутыли, миниреакторы) и заканчивая процессами масштабной ферментации, сепарации биомассы, выделения антигенов или ферментов, очистки компонентов и лиофилизации конечного продукта. Рассчитывать на то, что гены факторов патогенности или они сами в отходах производства могут быть уничтожены какими-либо химическими или ферментативными методами, не стоит, здесь всегда может быть «проскок» части значимых молекул или генов. Наиболее приемлемым обеззараживанием отходов производства в настоящее время считается обработка высокими температурами, позволяющими разрушить белки и весь значимый генетический материал. Определение полноты разрушения генетического материала необходимо проводить генно-диагностическими методами, например полимеразной цепной реакцией на гены вирулентности.

Возможность попадания новых вариантов микроорганизмов в естественные экосистемы при производственных процессах также должна быть исключена. В этом отношении наибольшую опасность в отношении закрепления в экосистемах новых видов микроорганизмов с непредсказуемыми последствиями представляют фитопатогены, в последнее время все более часто используемые при получении различных препаратов для данной области. Здесь наблюдается значительное отставание в обеспечении безопасности нераспространения в сравнении с областью производства вакцин. Проблема весьма значительна.

Существенную проблему представляет организация системы мер обеспечения безопасности персонала, задействованного в биотехнологических разработках, пилотных исследованиях по получению продуктов и, собственно, в производстве. В нашей стране защите персонала при проведении исследований с зараженным патогенами материалом, включая чистые культуры, всегда уделялось большое внимание, и, собственно, в России и были разработаны все основные принципы безопасной работы в лабораториях, которые в последующем распространились в других странах. Были разработаны методологии работы с патогенами, гарантирующие защиту окружающей среды от контаминации, и эти подходы в настоящее время успешно используются. В зависимости от степени биологической опасности живого объекта в мире принято разделять уровни лабораторий от самого простого до самого сложного, что обозначается как BSL (уровень биологической защиты) от 1 до 4. При биотехнологических разработках в лабораториях соблюдение установленных правил особенно важно, так как утечка патогенов может привести к тяжелым последствиям глобального характера, что мы наблюдали в последние годы на примере ковида.

Кроме того, при разработке иммунопрофилактических и лечебных препаратов неизменным условием является оценка протективности в острых опытах на животных, так как никакими *in vitro* методами достоверную информацию получить не удастся. Это также весьма чувствительная область в отношении рисков утечки патогенов, и условия должны быть тщательно соблюдены. По нашему опыту работы с зараженными животными, от мышей до крупных обезьян, можно сделать вывод, что при анализе, например, вакцин против особо опасных инфекций, когда задействованы сотни или даже тысячи зараженных животных, должны быть созданы особые условия физической и биологической защищенности, и существующие правила необходимо существенно пересмотреть, учитывая объемы работ и использование новых штаммов, обладающих свойствами суперпатогенности, контагиозности и устойчивости к лекарственным средствам. При масштабных биотехнологических процессах, где используются уже не вирулентные, а рекомбинантные штаммы, особую значимость приобретает возможность высокой аллергизации персонала при работе с большими объемами биомассы и контакте с летучими метаболитами, отводимыми при аэрации, что может быть купировано созданием соответствующих условий при технологическом оснащении производства.

Для биологической безопасности на современном уровне развития науки представляется весьма значительной проблема возможности создания новых штаммов возбудителей – с повышенной вирулентностью и/или несущих комплекс факторов патогенности – и использования их в военных или террористических целях. Для готовности к решению такой проблемы необходимо создание комплекса биотехнологических разработок, от лабораторных исследований до пилотных полупроизводственных процессов, позволяющих в короткие сроки создать средства противодействия таким патогенным биологическим агентам. К средствам противодействия следует отнести прежде всего вакцины, которые можно применять в сочетании с превентивным введением антибиотиков. Часть платформ для ускоренной разработки в отношении рекомбинантных генно-инженерных вакцин против бактериальных патогенов уже нами создана (белковые, полисахаридные, живые аттенуированные, а также на основе клеточных теней и везикул), созданы и алгоритмы быстрой разработки технологий получения таких вакцин в пилотных условиях с последующим масштабированием для массового выпуска.

Разработка рекомбинантных, полностью человеческих моноклональных антител для купирования токсических состояний, вызванных токсинами, значимыми для биологической безопасности, и создание соответствующих производств также являются одной из приоритетных задач. Это биотехнологическое направление представляется особенно важным в связи с тем, что многие факторы патогенности, которые могут быть индуцированы во вновь создаваемых штаммах, представляют собой токсические продукты или ферменты. Мы уже значительно продвинулись в отношении создания полностью отечественной линейки технологий для разработки таких антител на основе иммунокомпетентных плазмобластов, что вылилось в получение моноклонов против рицина, шигатоксина второго типа, ботулотоксина, сибиреязвенного летального токсина, а также против ковида. Линейка данных препаратов должна быть существенно расширена в ближайшие годы, что обеспечит возможность купирования заболеваний у людей, вызванных патогенами, сочетающими в себе несколько выраженных поражающих свойств, а также превентивного введения при угрозе применения.

Еще одно направление обеспечения биологической безопасности для биотехнологии хотелось бы отметить в связи с все нарастающей проблемой резистентности бактерий к лекарственным средствам. Новых антибиотиков нет давно, ко многим уже есть стойкая резистентность патогенов, замены им практически нет, возможно только использование сочетаний имеющихся антибиотиков для достижения эффекта. В связи с этим приобретает особую важность разработка препаратов, альтернативных антибиотикам или используемых вместе с ними, а также создание их масштабируемых производств. Группой препаратов для этих целей являются рекомбинантные фаговые ферменты – эндолизины и деполимеразы, а также катионные пептиды бактерий – бактериоцины. Нами уже создан стабильный продуцент стафилококкового эндолизина с высокими терапевтическими свойствами, показавший, кроме того, высокую экономическую эффективность в биотехнологических процессах его масштабного получения. Также созданы группы рекомбинантных деполимераз против многочисленных серовариантов клебсиелл и ацинетобактера и разработаны технологии производства этих препаратов, что может существенно помочь в решении проблемы резистентности этих широко распространенных инфекций. В отношении данной группы препаратов, с учетом уже разработанных лабораторных технологий, с целью решения наиболее острых проблем биобезопасности, необходимо приступить к расширению спектра данных препаратов, например в отношении спор и вегетативных клеток сибирской язвы. Проблема лечения сибирской язвы заключается не только в возможности заражения полирезистентными штаммами, но и в том, что при попадании спор аэрозольным способом в легкие человека введение антибиотиков малоэффективно, как это было установлено при аспирации порошков, содержащих споры, в США в 2001 г. Эндолизины, или пептидогликангидролазы, в этом отношении намного более эффективны, так как, по имеющимся данным, они действуют не только на вегетативные клетки, но и на споры. Задача создания такого эндолизина является сложной, но, с учетом уже накопленного опыта, вполне решаемой.

Технологии создания и масштабируемого производства рекомбинантных фаговых ферментов, а также бактериоцинов широкого спектра действия, разработанные в последние годы против ряда актуальных патогенов III–IV группы по национальной классификации, должны быть непременно использованы для получения аналогичных продуктов против особо опасных высококонтагиозных инфекций, представляющих первый эшелон биологической защиты населения.

Учитывая возросшие в последние годы возможности биотехнологии для манипулирования живыми системами и их метаболическими процессами с целью создания продуктов биологического происхождения или биологических объектов с новыми свойствами или функциями, а также трансдисциплинарность самого предмета биотехнологии, следует обратить особое внимание на возможности использования искусственного интеллекта и машинного обучения для предотвращения неправомерного использования биотехнологических продуктов, устранения условий создания новых поражающих агентов, а также обеспечения разработки средств, им противодействующих. Алгоритмы машинного обучения, использующие высокопроизводительные компьютерные системы, уже могут прогнозировать свойства и поведение биологических систем в тех или иных условиях. Проблеме использования искусственного интеллекта в сфере биотехнологии в мире уделяется большое внимание в плотной связи с биологической безопасностью, накоплен и продолжает собираться массив аналитических материалов, которые должны стать темой для обсуждения в одной из будущих публикаций в колонке главного редактора нашего журнала.

Главный редактор, академик РАН И.А.Дятлов