

# Částice podobné virům: Praktická alternativa ke kultivanému viru zarděnek

## Nový kandidát pro objevování protilátek, vývoj vakcín a diagnostiku.

Diagnostika a léčba infekčních onemocnění má v moderní medicíně zásadní význam. Faktory, jako jsou nově se objevující patogeny, narůstající antimikrobiální rezistence, rostoucí cestování po celém světě a měnící se životní styl, přidávají ke kontrole a zvládnutí infekcí další vrstvy složitosti.<sup>1</sup> Kromě toho je vývoj léků časově i zdrojově náročný proces - většina z nich je v současné době kandidátů, kteří selhávají v klinických studiích<sup>2</sup>, což činí účinná preventivní zdravotnická opatření mimořádně důležitými pro omezení přenosu nemocí.<sup>3</sup> Hlavní výzvou při řešení infekčních nemocí je nalezení účinných a nákladově efektivních způsobů posílení imunity, aniž by byla ohrožena bezpečnost očkovanych osob.

V mnoha zemích nyní poskytuje rutinní očkovací schéma kojencům a dětem včasnou ochranu před infekcemi, které jsou nejnebezpečnější v mladém věku, přičemž další očkování se nabízí v průběhu celého života, aby se dosáhlo optimálního prospěchu. Součástí tohoto schématu jsou obvykle dvě dávky vakcíny proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám (MMR), živé oslabené vakcíny, která byla zavedena v roce 1988 s cílem chránit jedince před třemi závažnými a nakažlivými virovými onemocněními.<sup>4</sup> Z těchto tří onemocnění je virus zarděnek považován za hlavní problém veřejného zdraví kvůli teratogennímu potenciálu infekce získané během těhotenství.<sup>5</sup> Zvýšené využívání očkování proti viru zarděnek - a nejméně 28 dalším lidským onemocněním<sup>6</sup> - mělo významný dopad na počet úmrtí, kterým lze každoročně předcházet. Ve skutečnosti mezi lety 2010 a 2017 znamenalo zlepšení proočkovanosti pokles úmrtnosti dětí mladších pěti let téměř o čtvrtinu.<sup>7</sup>

Přístupy k objevování protilátek a vývoji vakcín v posledních letech významně pokročily, což ještě urychlilo požadavky pandemie COVID-19. Imunizační metody se posunuly od vakcín založených na inaktivovaných nebo živých oslabených virech<sup>3</sup> k modernějším přístupům, jako jsou vakcíny založené na mRNA a vektorech a částice podobné virům (VLP). Neinfekční VLP dokonale napodobují povrch infekčních virových částic. To z nich činí nejen bezpečné, účinné a škálovatelné řešení pro vývoj vakcín, ale také znamená, že jsou velkým příslibem v oblasti diagnostiky, protože mohou vázat a zachycovat protilátky proti imunoglobulinu M (IgM), které vznikají během primární infekce. Cílem této bílé knihy je diskutovat mechanismy, aplikace a přínosy VLP ve výzkumu a vývoji a potenciál, který tyto neaktivní virové částice mají pro zlepšení diagnostiky a prevence zarděnek.

Tato bílá kniha se zabývá:

- Pozadí a vývoj virologie;
- Produkce a mechanismy VLP;
- Portfolio VLP společnosti The Native Antigen Company;
- Potenciální využití VLP ve výzkumu a vývoji a
- Specifické použití VLP pro diagnostiku a léčbu zarděnek.

## 1. POZADÍ A VÝVOJ VIROLOGIE

### 1.1. CO JE TO VIRUS?

Viry jsou submikroskopická infekční agens, která jsou při svém množení závislá na nitrobuněčném mechanismu živočišných, rostlinných nebo bakteriálních buněk.<sup>8</sup> Všechny viry obsahují genetický materiál - buď RNA, nebo DNA kódující virové proteiny - uzavřený v ochranném bílkovinném obalu zvaném kapsida, který tvoří nukleokapsidu. Mnoho virionů replikujících se v eukaryotických buňkách má také vnější obal, který se skládá z hostitelských lipidů a virových glykoproteinů, přičemž některé viry do svých obalů začleňují proteiny hostitelské buňky.<sup>8</sup>

### 1.2. POKROKY VE VIROLOGII

Virologie - vědecké studium virů a nemocí, které způsobují - začala objevem viru tabákové mozaiky dvěma nezávislymi badateli, Dmitrijem Ivanovským a Martinusem Beijerinckem, v 90. letech 19. století.<sup>9</sup> Tito badatelé klasifikovali viry jako odlišné entity od ostatních etiologických agens a od té doby bylo podrobně popsáno více než 5 000 virů.<sup>10</sup> Vývoj virologie byl poznamenán několika významnými milníky, včetně vývoje metod izolace a charakterizace virů, rozpoznání chemických vlastností virů a návrhu a použití vakcín a terapeutik.<sup>9</sup> V poslední době vedly pokroky ve virologii a molekulární biologii k vývoji platform pro výrobu VLP, které mají nahradit tradiční vakcíny a diagnostické nástroje.

## 2. ČÁSTICE PODOBNÉ VIRŮM

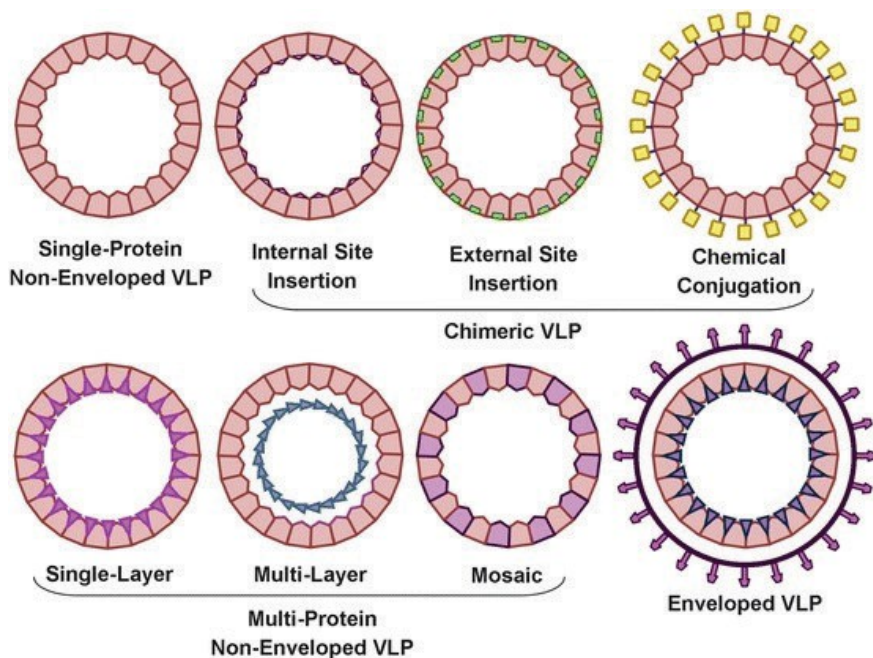
### 2.1. ÚVOD DO VLPS?

VLP jsou rekombinantní struktury vytvořené z jedné nebo několika virových strukturních složek, které dokonale napodobují vnější obal živých virionů - co se týče velikosti, tvaru a molekulárního složení - ale postrádají genetický materiál potřebný k produktivní infekci hostitelských buněk.<sup>1,3</sup> Navzdory tomu, že VLP jsou replikačně defektní a neinfekční, jejich konformace podobná přirozeným virovým částicím znamená, že napodobují antigenní epitopy živých virů a vyvolávají tak srovnatelné imunogenní odpovědi.<sup>10,11,12</sup> To z nich činí ideální kandidáty pro výzkum a vývoj diagnostických testů a vakcín.<sup>12</sup>

### 2.2. VÝROBA EFEKTIVNÍCH VLPS

Výroba VLP může být složitý a obtížný postup; vyžaduje dostatečný výtěžek více virových strukturních proteinů, správné sestavení těchto proteinů do částic, které napodobují konformaci vnějšího obalu infekčního viru, a exprese těchto částic v systému, který je bezpečný a schopný produkovat více proteinů jak v malém měřítku (pro testování), tak ve větším měřítku (pro výrobu).<sup>13</sup> Různé typy virů mají například různé struktury a úroveň složitosti:

- Jednoduché neobalené viriony - jako jsou parvoviry a papilomaviry - obsahují pouze nukleovou kyselinu obalenou jedním nebo dvěma kapsidovými proteiny;
- Větší neobalené virové kapsidy - jako jsou reoviry - mají více než jednu proteinovou vrstvu, která je kódována více segmenty RNA nebo vzniká z jednoho polyproteinu;
- Složitější viry mají lipidový obal s virovými glykoproteinovými hroty, které fungují jako receptory a činitelé membránové fúze. Do této kategorie patří virus chřipky, HIV, hepatitidy B a C a virus zarděnek.<sup>14</sup>
- Dosud byla syntetizována různorodá škála VLP v různých expresních systémech - včetně bakterií, kvasinek, savčích, hmyzích a rostlinných systémů -, které napodobují viry s jedním nebo více kapsidovými proteiny, s lipidovými obaly nebo bez nich (obrázek 1).<sup>15</sup>



Obrázek 1: VLP lze rozdělit podle strukturní složitosti od jednoproteinových částic s relativně jednoduchou strukturou až po víceproteinové VLP s několika odlišnými vrstvami kapsidy.<sup>15</sup> Příkladem jednoproteinových neobalených VLP jsou částice odvozené od kalicivirů, papilomavirů a parvovirů. Chimérické VLP obsahují antigenní materiál z cílového zdroje, vložený jako peptidy do kapsidového proteinu VLP nebo do substrukturálních sekundárních proteinů VLP, nebo kovalentně spojený s povrchem VLP (např. fág Q-beta). Multiproteinové neobalené VLP lze získat z viru infekční burzální choroby, polioviru a reovirů. VLP zarděnek vyráběné společností The Native Antigen Company jsou příkladem obalených VLP.

### 2.3. PORTFOLIO VLP SPOLEČNOSTI THE NATIVE ANTIGEN COMPANY

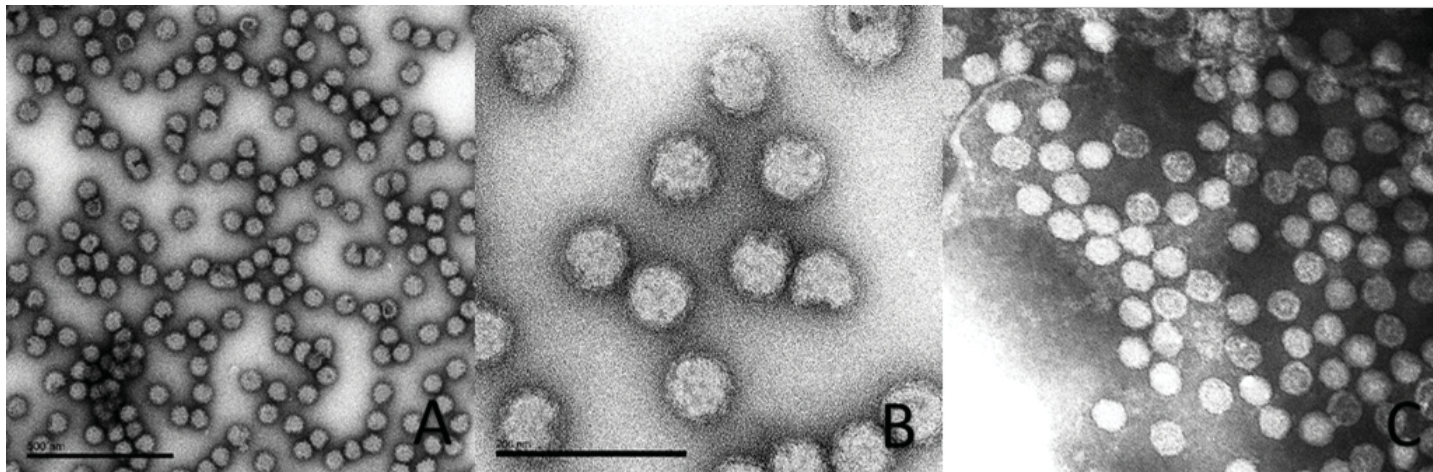
Společnost Native Antigen Company vyvinula řadu více než 20 VLP s využitím vlastní expresní linie savčích buněk VirtuE™ (HEK293) a expresních systémů hmyzích buněk. Tyto VLP jsou navrženy tak, aby zobrazovaly epitopy a glykosylační vzorce shodné s nativními viry, přičemž nabízejí další výhodu, že jsou neinfekční a bezpečné pro použití. Jejich vysoce repetitivní struktura jsou ideálními antigeny pro tvorbu a zachycení protilátek s vysokou afinitou a aviditou, a jsou také užitečné pro vývoj diagnostických testů in vitro a vakcín.

Naše nabídka VLP zahrnuje:

- VLP zarděnek;
- VLP proti chikungunye;
- Mayaro VLP;
- O'nyong'nyong VLP;
- VLP Ross River;
- VLP sérotypu 1-4 horečky dengue;
- VLP japonské encefalidity;
- VLP eboly;
- VLP noroviru;
- VLP parvoviru;
- další VLP, které jsou v současné době ve vývoji nebo v raných studiích proveditelnosti.

### 2.4. POROVNÁNÍ STRUKTURY VLPS S NATIVNÍMI VIRY

Klíčovou vlastností VLP je jejich schopnost replikovat trojrozměrnou architekturu nativních virových částic se sférickou strukturou a rovnoměrným rozdělením velikosti. Jejich strukturu a morfologii lze vizualizovat pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM), což je zobrazovací metoda, která se běžně používala před širokou dostupností sekvenování celého genomu a RNA k identifikaci a kvantifikaci různých virů na základě morfologie.<sup>11</sup> Výsledné snímky (obr. 2) ukazují blízkou morfologickou podobnost VLPs s odpovídajícími nativními částicemi virionu.<sup>16</sup>



Obrázek 2: Snímky TEM ukazují, že VLP viru dengue (A a B) se velmi podobají nativním částicím viru dengue (C).<sup>16,17</sup>

Správně vytvořené VLP napodobují infekční viriony také z hlediska uspořádání epitopů a dalších fyzikálně-chemických vlastností.<sup>18</sup> Metz a kol. provedli nezávislou studii, v níž porovnávali podobnost antigenních vlastností syntetických VLP společnosti The Native Antigen Company a nativních virových částic pomocí protilátek proti konformačním epitopům. Výzkumníci porovnávali čtyři sérotypy živých částic viru dengue se čtyřmi sérotypy VLP exprimovaných virem dengue společnosti VirtuE™. Výsledky studie potvrdily, že VLP vykazují srovnatelnou prezentaci epitopů jako nativní virus dengue.<sup>18</sup>

### 3. POTENCIÁLNÍ VYUŽITÍ VLPS VE VÝZKUMU A VÝVOJI

Díky tomu, že VLP napodobují strukturu a symetrii patogenních virů, jsou rozpoznávány, přijímány a zpracovávány imunitním systémem stejným způsobem jako živé viry, a proto jsou účinné jako kandidáti na vakcíny i jako nástroje pro vývoj diagnostických testů in vitro. Nabízejí také způsob zobrazení antigenních epitopů a doručení malých molekul do buněk a tkání a staly se důležitými nástroji v biomedicíně s řadou potenciálních aplikací (obrázek 1).

#### 3.1. VLPS PRO DETEKCI A DIAGNOSTIKU PROTILÁTEK

Jakmile je virus rozpoznán imunitním systémem, dochází k produkci imunoglobulinů - glykoproteinů, které identifikují specifické antigenní epitopy na částicích virionu a vážou se na ně, aby napomohly jeho odstranění.<sup>19</sup> Výsledkem je, že měření virové sérologie lze použít k detekci specifických protilátek v séru infikovaného lidského hostitele, což potvrzuje současnou nebo proběhlou infekci. Detekce protilátek IgM svědčí o nedávné primární infekci, zatímco protilátky IgG lze detekovat v pozdějších stadiích infekce, a dokonce i roky po odeznění infekce.

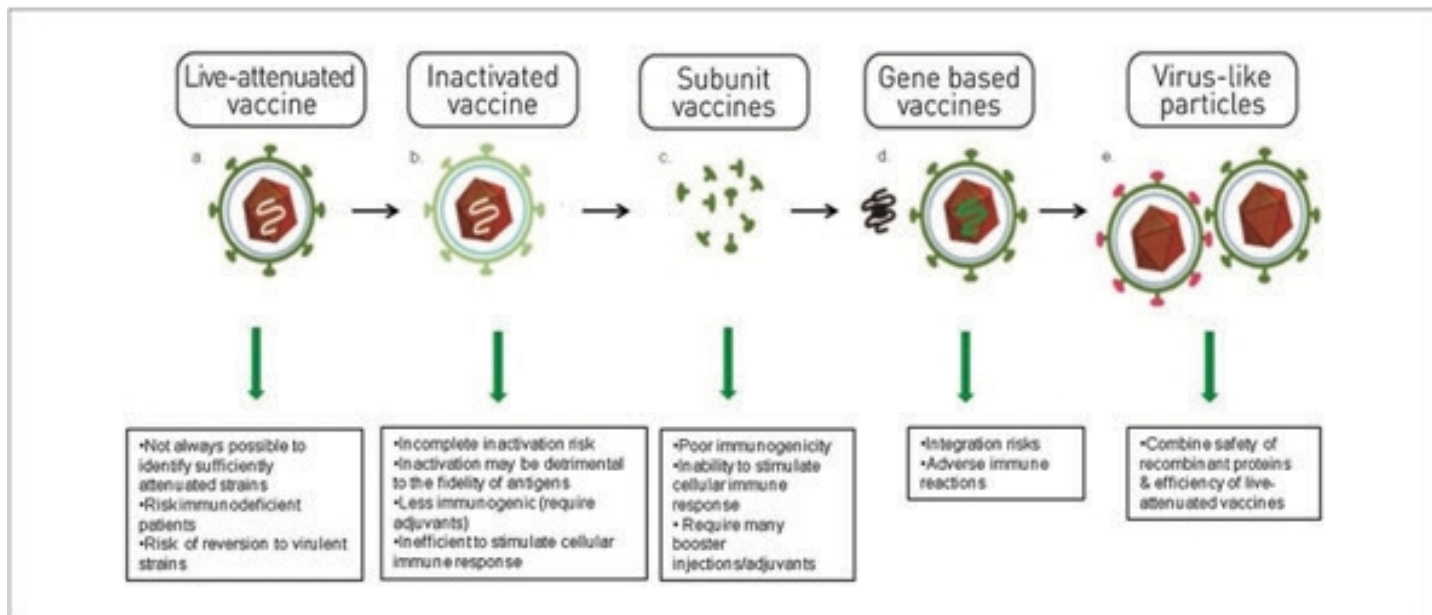
Protilátky IgM mají obvykle nízkou afinitu k cíli - v důsledku nedostatečného afinitního zrání - ale při vylučování se vyskytují jako pentamery, což zvyšuje jejich aviditu pro vazbu na opakující se struktury, jako jsou struktury na povrchu virů nebo bakterií. Výsledkem je, že inaktivované virové lyzáty - které obsahují tyto repetitivní struktury - jsou tradičními biologickými složkami klinických diagnostických testů. Aby však byly virové částice bezpečné pro použití při výrobě testů, musí být vystaveny působení tepla a/nebo detergentů, což je proces, který může poškodit nebo zničit neporušené viriony a snížit kvalitu a dostupnost potenciálních epitopů vázajících protilátky. Naproti tomu VLP nevyžadují takové potenciálně destruktivní ošetření, nabízejí srovnatelnou imunitní odpověď jako nativní viry a poskytují tak bezpečnou a spolehlivou platformu pro sérologická měření a detekci protilátek.<sup>20</sup> Jejich opakující se povrchy navíc umožňují lepší vazbu molekul IgM odvozených od pacienta ve srovnání s monomerními antigeny a jednotlivými rekombinantními proteiny.<sup>21</sup>

V posledních letech se k charakterizaci imunitních reakcí na různá virová onemocnění používají enzymové imunoanalýzy na bázi VLP - testy, které využívají enzym spojený s protilátkou k detekci interakcí mezi protilátkou a antigenem.<sup>22</sup> Kromě toho lze VLP a další nanočástice - například feritin nebo tepelně šokové proteinové klece - upravit tak, aby do nich bylo možné zapouzdřit fluorescenční barviva, magnetické nanočástice a kontrastní látky, které se běžně používají v diagnostických zobrazovacích metodách.<sup>23</sup>



### 3.2. TRANSFORMACE VÝVOJE VAKCÍN

Očkování je jedním z nákladově nejefektivnějších způsobů kontroly a prevence šíření infekčních nemocí.<sup>24</sup> Vakcíny vnášejí do těla epitopy patogenu a preventivně spouštějí ochrannou imunitní reakci specifickou pro danou nemoc. Během pandemie COVID-19 byla urychleně schválena nová generace typů vakcín, která zahrnuje vakcíny na bázi mRNA, DNA a vektorů, proteinové podjednotky a VLP. Tyto nové vakcíny zcela odstraňují celé viry ze složení (obrázek 3), čímž snižují riziko neúplné inaktivace nebo reverze virových částic do virulentnější formy.<sup>25,26,27</sup>



Obrázek 3: VLP jsou součástí nové generace vakcín, které odstraňují celé viry ze složení, čímž snižují riziko neúplné inaktivace nebo návratu k patogenním formám.<sup>26</sup>

Ve srovnání s jinými subjednotkovými vakcínami mají VLP vysoký potenciál jako profylaktické a terapeutické vakcíny, protože mohou napodobovat antigenicitu viru - aktivovat silnou buněčnou a humorální imunitní odpověď - aniž by byly patogenní. Díky tomu nemusí procházet potenciálně škodlivými deaktivacími kroky, a nabízejí tak větší podobnost s odpovídajícími nativními viriony, což zvyšuje jejich imunogenicitu a specifčnost.<sup>15</sup> Nabízejí také řadu dalších výhod.

- VLP mají uspořádanou, vysoce repetitivní antigenní epitopovou řadu.
- Díky své velikosti (20 až 200 nm) mohou být snadno rozpoznány a absorbovány antigen prezentujícími buňkami.<sup>27</sup>
- Mohou stimulovat humorální i buněčnou imunitní odpověď.<sup>27</sup>
- Víceproteinové VLP mohou obsahovat několik proteinových vrstev, aby se podobaly složitějším virionům, nebo dokonce variantním kopiím téhož viru. proteinu pocházejícího z různých virových kmenů, aby byla zajištěna vícekmenná imunita.<sup>15</sup>
- Některé částice mohou být opatřeny imunomodulátory - například podněty vrozeného imunitního systému -, které vyvolávají účinnější imunitní reakce. imunitní reakce.<sup>13</sup>
- VLP lze vytvářet v řadě výrobních systémů.<sup>27</sup>
- VLP nabízejí mnohem rychlejší způsob syntézy podjednotkových vakcín, jejichž příprava po sekvenování nového virového kmene trvá pouhých 12 až 14 týdnů<sup>3</sup> - zatímco kultivace a trvalá deaktivace celých virových částic trvá až 24 až 32 týdnů.
- Výrobní proces je reprodukovatelný - snižuje odchylky mezi jednotlivými šaržemi, které se mohou vyskytovat u kultivovaných virových kmenů - a zároveň je škálovatelný.<sup>13</sup>

### 3.3. DALŠÍ APLIKACE

Kromě základního výzkumu, diagnostiky a imunizace lze VLP využít k začlenění a dodávání (a) exogenní oligonukleotidy, b) molekuly léčiv nebo c) malé proteiny do cílových orgánů a buněk (obrázek 4).<sup>24</sup>

a) Genomická informace může být zabalena do VLP a doručena do cílových buněk, což vede k expresi virových genových produktů.<sup>28</sup> Dosud neúspěšnější aplikace genové terapie vyzkoušela použití retrovirových vektorů k léčbě těžké kombinované imunodeficience vázané na chromozom X (X-SCID), onemocnění, při kterém pacient postrádá jak buněčnou imunitní odpověď, tak schopnost vytvářet protilátky.<sup>28</sup>

b) Terapeutické molekuly mohou být zapouzdřeny do VLP a uvolňovány v tkáních hostitele.<sup>29</sup> Adenoviry jsou nejčastěji používanými virovými vektory pro podávání léčiv.<sup>24</sup>

c) VLP mohou být použity jako nosiče a mohou být upraveny s cílovými skupinami tak, že se na jejich buněčnou membránu připojí řada proteinů nebo malých molekul, aby se zvýšila jejich specifita.<sup>15,30</sup> Často jsou tyto nosiče VLP upraveny tak, aby obsahovaly aminokyseliny s reaktivními skupinami - například cysteinové nebo lyzinové skupiny -, které umožňují snadnější vazbu na antigeny.<sup>31</sup>

Úspěšnost VLP jako diagnostických nástrojů a kandidátů na vakcíny již byla prokázána u řady virů, včetně viru hepatitidy B, lidského papilomaviru (HPV) a viru hepatitidy E (HEV).<sup>24</sup> Pokračující pokroky v biomedicíně přinesou nové možnosti lepšího zvládnutí mnoha dalších nakažlivých virových infekcí, včetně viru zarděnek.

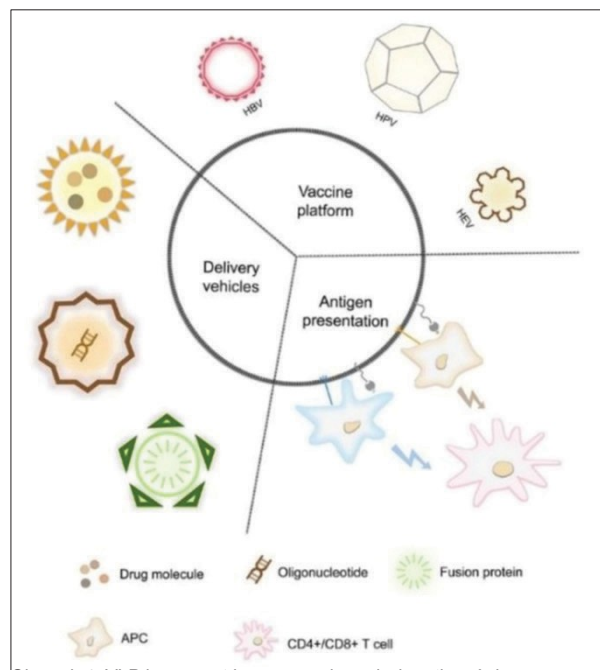
## 4. RUBELLA VLPS

### 4.1. SOUČASNÝ MANAGEMENT VIRU ZARDĚNEK

Virus zarděnek je vysoce infekční lidský patogen, známý také jako německé spalničky, který se přenáší respirační cestou a obvykle způsobuje mírné příznaky podobné spalničkám u dětí nebo dospělých. Primární infekce těhotných žen virem zarděnek, zejména v prvním trimestru, však může mít za následek potrat nebo soubor dlouhodobých vrozených vad - včetně neúplného vývoje orgánů a mentálního postižení - známých jako kongenitální zarděnkový syndrom (CRS).<sup>32</sup>

Mezi lety 2000 a 2019 se celosvětově rozšířil očkování proti zarděnkám. v rámci rutinních očkovacích plánů se zvýšil z 99 zemí

Většina vakcín proti zarděnkám - včetně MMR - používá živý oslabený virus a úspěšně snižuje výskyt CRS.<sup>5</sup> Kromě toho je nyní každá těhotná žena ve vyspělých zemích vyšetřována na přítomnost protilátek proti viru zarděnek v séru pomocí TORCH panelu, který detekuje také protilátky proti několika dalším infekčním onemocněním - včetně toxoplazmózy, cytomegaloviru a herpes simplex - které mohou komplikovat těhotenství.<sup>33</sup>



Obrázek 4: VLP lze použít k přenosu cizorodých antigenů, k doručení terapeutického nákladu nebo jako platformu pro vakcíny.<sup>24</sup>

## 4.2. NAHRAZENÍ POUŽÍVÁNÍ KULTIVOVANÉHO VIRU ZARDĚNEK

Virus zarděnek je vzhledem ke své rozšířenosti a teratogennímu potenciálu jedním z nejčastěji testovaných virů na světě. Navzdory rozšířenosti testování zarděnek ve zdravotnictví je však kultivace viru notoricky obtížná a jeho rozmnožení ve velkém měřítku nesmírně náročné. Pro diagnostické zákazníky je proto velmi nákladným činidlem, které je třeba získat, a navíc existují další otázky týkající se kvality kultivovaných kmenů zarděnek; pro detekci časného stadia virové infekce (IgM) lze použít pouze nejlepší šarže, zatímco méně kvalitní šarže lze použít pouze pro diagnostiku IgG.

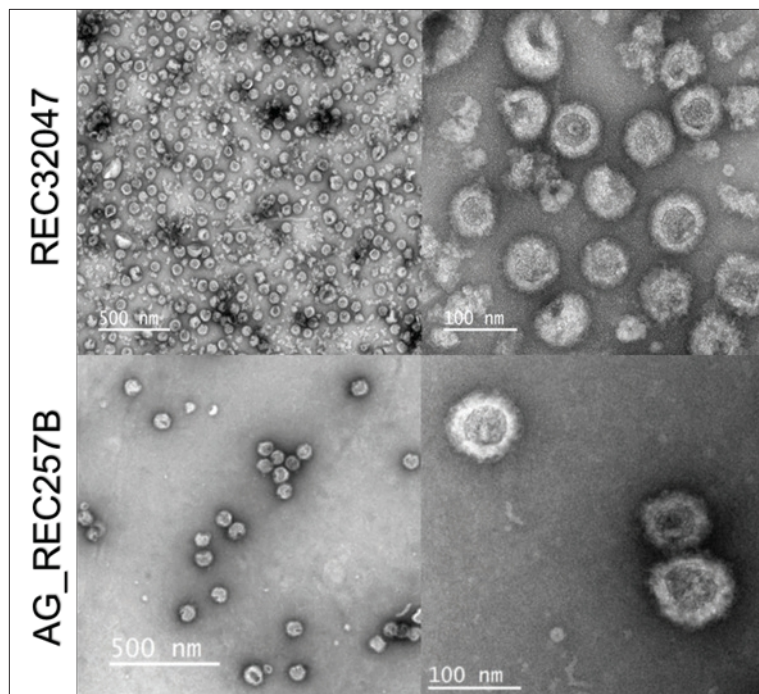
K překonání těchto problémů nabízí společnost The Native Antigen Company VLP viry zarděnek (obrázek 5) jako součást svého portfolia reagensí pro virus zarděnek. Tato řada zahrnuje také antigeny E1 zarděnek, myší monoklonální protilátky IgG a rekombinantní lidské protilátky IgM proti viru zarděnek pro použití v široké škále výzkumných aplikací. Z hlediska struktury je virus zarděnek malý, obalený, jednovláknový RNA virus z čeledi Matonaviridae. Viry obsahují tři hlavní strukturální polypeptidy: dva membránové glykoproteiny (E1

a E2) - které existují jako heterodimer a tvoří komplexy virových hrotů na povrchu virionu - a jediný neglykosylovaný kapsidový protein asociovaný s RNA (C).<sup>34</sup> Společná exprese všech tří strukturálních proteinů v buňkách HEK293 vede k samovolnému sestavení a vylučování VLP zarděnek<sup>32</sup> a nabízí spolehlivý a nákladově efektivní zdroj činidel, který pomáhá výzkumným pracovníkům dosáhnout konzistentních a přesných výsledků při vývoji imunoanalýzy a výrobě ve větším měřítku.

## 4.3. ZLEPŠENÍ VÝZKUMU A PREVENCE ZARDĚNEK

Ačkoli se očkování proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám široce používá a je účinné, stále jsou hlášeny nové případy a epidemie. Světová zdravotnická organizace proto vypracovala Strategický rámec pro spalničky a zarděny, jehož cílem je dosáhnout do roku 2030 světa bez infekcí spalniček a zarděnek.<sup>35</sup> Problémy při kontrole těchto onemocnění přetrvávají a lepší proočkovanost vyžaduje jak sociální změny, tak zlepšení infrastruktury, řízení a zásobování očkováním. Vzhledem ke složitému, nákladnému a zdlouhavému výrobnímu procesu současných vakcín proti zarděnkám - navíc k jejich zastaralé technologii a z toho vyplývajícimu nárůstu váhivosti vůči očkování - je však obtížné reagovat na rostoucí požadavky na očkování.<sup>35</sup> Proto se zarděnek

VLP mají obrovský potenciál jako nová platforma pro výzkum a diagnostiku zarděnek a nabízejí vývojářům vakcín škálovatelnou a nákladově efektivní cestu k imunizaci.



\*Informace získané na základě osobní komunikace mezi výrobcem a uživateli nativního antigenu viru zarděnek.

Obrázek 5: Společnost Native Antigen Company dodává rekombinantní VLP zarděnek (kmen F-Therien), které se skládají z hrotového glykoproteinu E1, hrotového glykoproteinu E2 a kapsidového proteinu.

Patří mezi ně VLP zarděnek čištěné sacharózou (#REC32047) a VLP zarděnek čištěné sacharózou a iontovou výměnou (#AG\_REC257B).

## 5. SHRNUÍ

Preventivní léčba virových infekcí je v moderní medicíně zásadní a vyžaduje neustálé inovace v oblasti výzkumu, diagnostiky a imunizace. Historicky byly objevování protilátek a vývoj vakcín založeny především na inaktivovaných nebo živých oslabených virech,<sup>3</sup> tyto techniky však mají svá omezení. Místo toho se v rámci nové generace vakcín objevily VLP, které nabízejí bezpečnější a škálovatelnější řešení. Kromě toho mají VLP mnohostranné využití, od imunizace po systémy pro podávání léčiv a molekulární diagnostiku. Úspěšnost VLP již byla prokázána pro virů a pokračující biomedicínský pokrok poskytne nové možnosti lepšího zvládnání mnoha dalších infekcí, včetně zarděnek.

Částice podobné virům: Praktická alternativa ke kultivovanému viru zarděnek



## ODKAZY

1. Excler, J.L. a kol. 2021. Vývoj vakcín proti nově se objevujícím infekčním onemocněním. *Nat Med*, 27:591-600. doi: 10.1038/s41591-021-01301-0.
2. Sun, D. a kol. 2022. Proč 90 % klinického vývoje léčiv selhává a jak ho zlepšit? *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 12(7):3049-3062. doi: 10.1016/j.apsb.2022.02.002.
3. Tariq, H. a kol. 2022. Virům podobné částice: Revoluční platformy pro vývoj vakcín proti novým infekčním onemocněním. *Frontiers in Microbiology*, 12. doi: 10.3389/fmicb.2021.790121.
4. Agentura pro zdravotní bezpečnost Spojeného království. 2013. Kapitola 28: Rubella in: *The Green Book*, 343-365.
5. Vakcíny proti zarděnkám: WHO - červenec 2020. 2020. Týdenní epidemiologický záznam, č. 27. Světová zdravotnická organizace. Dostupné na: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332952/WER9527-306-324-eng-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
6. Vanderslott, S. et al. 2015. Očkování. Náš svět v datech. Dostupné na: <https://ourworldindata.org/vaccination>.
7. Světová zdravotnická organizace. Počítání dopadu vakcín. 2021. Dostupné na: <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/counting-the-impact-of-vaccines>.
8. Cassidy, A., Parle-McDermott, A. a O'Kennedy, R. 2021. Detekce virů: Přehled současných a nových molekulárních a imunologických metod. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8:637559. doi: 10.3389/fmolb.2021.637559.
9. Burrell, C.J., Howard, C.R. a Murphy, F.A. 2017. Historie a dopady virologie. In: *Virologie a virologie: Fenner and White's Medical Virology*. 5th vydání. Academic Press, 3-14.
10. Roldão, A. et al. 2011. Viry a virům podobné částice v biotechnologiích. *Comprehensive Biotechnology*, 625-649. doi: 10.1016/b978-0-08-088504-9.00072-6.
11. Bhat, T., Cao, A. a Yin, J. 2022. Částice podobné virům: Částičky, které mají podobu částic, se vyskytují v různých oblastech: měření a biologické funkce. *Viruses*, 14(2):383. doi: 10.3390/v14020383.
12. Pushko, P., Pumpens, P. a Grens, E. 2013. Vývoj technologie virům podobných částic od malých vysoce symetrických po velké složité struktury částic podobné virům. *Intervirology*, 56(3), s. 141-165. doi: 10.1159/000346773.
13. Nooraei, S. a kol. 2021. Částice podobné virům: příprava, imunogenicita a jejich role jako nanovakcín a nanonosičů léčiv. *J Nanobiotechnol* 19(1):59. doi: 10.1186/s12951-021-00806-7.
14. Shirbaghaee, Z. a Bolhassani, A. 2015. Různé aplikace virům podobných částic v biologii a medicíně: Vakcinace a doručovací systémy. *Biopolymers*, 105(3):113-132. doi: 10.1002/bip.22759.
15. Donaldson, B. et al. 2014. Virům podobné částice, univerzální platforma pro subjednotkové vakcíny. *Advances in Delivery Science and Technology*, 159-180. doi: 10.1007/978-1-4939-1417-3\_9.
16. TEM snímky našich částic podobných virům. 2020. The Native Antigen Company. Dostupné na: <https://thenativeantigencompany.com/tem-images-of-our-virus-like-particles/>.
17. Barth, O.M. 2000. Atlas morfologie a morfogeneze virů dengue. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz.
18. Metz, S.W. et al. 2018. Dengue virus-like particles mimic the antigenic properties of the Infectious Dengue Virus Envelope. *Virology Journal*, 15(1). doi: 10.1186/s12985-018-0970-2.
19. Vaillant, A.A.J. et al. 2022. Imunoglobulin. StatPearls Publishing LLC.
20. Storch, G.A. 2000. Diagnostická virologie. *Clinical Infectious Diseases*, 31(3):739-751. doi: 10.1086/314015.



21. Mohsen, M. et al. 2018. Interakce virových částic podobných virům (VLP) odvozených od kapsidy s vrozeným imunitním systémem. Vaccines,

- 6(3):37. doi: 10.3390/vaccines6030037.
22. Lundstig, A. a Dillner, J. 2006. Sérologická diagnostika infekce lidským polyomavirem. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York: Springer. doi: 10.1007/0-387-32957-9\_7.
  23. Manchester, M. a Singh, P. 2006. Nanočástice na bázi virů (VNP): Technologie platformy pro diagnostické zobrazování. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(14):1505-1522. doi: 10.1016/j.addr.2006.09.014.
  24. Qian, C. a kol. 2020. Nejnovější pokroky v oblasti všestrannosti virům podobných částic. *Vaccines*, 8(1):139. doi: 10.3390/vaccines8010139.
  25. Gupta, R. a kol. 2023. Platformy, pokroky a technické výzvy v oblasti vakcín založených na částicích podobných virům. *Frontiers in Immunology*, 14. doi: 10.3389/fimmu.2023.1123805.
  26. Fuenmayor, J., Gòdia, F. a Cervera, L. 2017. Produkce virům podobných částic pro vakcíny. *New Biotechnology*, 39:174-180. doi: 10.1016/j.nbt.2017.07.010.
  27. Dai, S., Wang, H. a Deng, F. 2018. Pokroky a výzvy v oblasti vakcín založených na obalených částicích podobných virům (VLP). *Journal of Immunological Sciences*, 2(2):36-41. doi: 10.29245/2578-3009/2018/2.1118.
  28. Roldão, A. et al. 2011. Viry a virům podobné částice v biotechnologiích. *Comprehensive Biotechnology*, 1: 625-649. doi: 10.1016/b978-0-08-088504-9.00072-6.
  29. Zdanowicz, M. a Chroboczek, J. 2016. Částice podobné virům jako nosiče léčiv. *Acta Biochimica Polonica*, 63(3). doi: 10.18388/abp.2016\_1275.
  30. Ikwuagwu, B. a Tullman-Ercek, D. 2022. Částice podobné virům pro podávání léčiv: A review of methods and applications (Přehled metod a aplikací). *Current Opinion in Biotechnology*, 78:102785. doi: 10.1016/j.copbio.2022.102785.
  31. Fietze, K.M., Peabody, D.S. a Chackerian, B. 2016. Inženýrství virům podobných částic jako platformy pro vakcíny. *Current Opinion in Virology*, 18:4449. doi: 10.1016/j.coviro.2016.03.001.
  32. Das, PK. a Kielian, M. 2021. Molekulární a strukturní poznatky o životním cyklu viru zarděnek. *Journal of Virology*, 95(10). doi: 10.1128/jvi.02349-20.
  33. Haldeman-Englert, C., Turley, R. a Novick, T. TORCH panel. *Encyklopedie zdraví*. Lékařské centrum Rochesterské univerzity. Dostupné na: [https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?ContentTypeID=167&ContentID=torch\\_panel](https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?ContentTypeID=167&ContentID=torch_panel).
  34. Parkman, PD. 1996. Togaviry: Rubella Virus. In: *V: Medical Microbiology*. 4. vydání. Galveston (TX): University of Texas Medical Pobočka v Galvestonu.
  35. Kauffmann, F. a kol. 2021. Prevence spalniček, příušnic a zarděnek: Jak to můžeme udělat lépe? *Expert Review of Vaccines*, 20(7):811- 826. doi: 10.1080/14760584.2021.1927722.

## O NÁS

Společnost Native Antigen Company vyvíjí a vyrábí antigeny a protilátky špičkové kvality a nabízí řadu služeb pro diagnostický a biofarmaceutický průmysl. Náš patentovaný expresní systém VirtuE™ byl vyvinut za účelem výroby proteinů podobných nativním, které jsou široce využívány předními in vitro diagnostickými, vakcinačními a akademickými skupinami ve špičkovém výzkumu a vývoji, kde je důležité správné skládání a glykosylace. Naše smluvní služby sahají od generování protilátek přes výrobu rekombinantních a nativních antigenů až po vývoj testů na míru a

kontrolu kvality. **CLINICAL**



POUZE PRO VÝZKUMNÉ ÚČELY. NENÍ URČENO K POUŽITÍ PŘI  
DIAGNOSTICKÝCH POSTUPECH. MKT-00665 Rev. 2