

СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ



Научная статья


УДК 006.91:620.11:615.331

<https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-4-27-34>



Вириноподобные частицы: свойства и характеристики стандартных образцов

Е. В. Кулябина¹  , Т. В. Кулябина¹ , Т. В. Гребенникова² ,
В. В. Морозова^{1,3} , В. Ю. Морозов⁴

¹ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы», г. Москва, Россия
 kuliabina@vniims.ru

²ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва, Россия

³Fresno State University, USA, California, Fresno

⁴АО «Волга», г. Балахна, Нижегородская область, Россия

Аннотация: Вириноподобные частицы давно вызывают интерес молекулярных биологов и метрологов, так как являются, с одной стороны, биологической, а с другой – упорядоченной структурой, как правило, имеющей не свойственную живым организмам, а свойственную вирусам форму в виде икосаэдра, спирали, куба, цилиндра. Несмотря на напоминающую вирус структуру, вириноподобная частица не содержит ДНК или РНК вируса, тем самым не может служить источником заражения. Стандартизация свойств таких частиц, методов их создания и контроля характеристик является важной задачей развития биотехнологий и молекулярной биологии.

Целью настоящего исследования является обоснование требований, методов и средств прослеживаемости результатов исследований стандартных образцов (СО) вириноподобных частиц.

В ходе исследования рассмотрены такие методы подтверждения биологических и физико-химических свойств СО вириноподобных частиц, как баланс масс; высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ–МС); газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ–МС); кулонометрическое титрование по Карлу Фишеру; ионная хроматография; масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой; аминокислотный анализ с изотопным разбавлением.

В результате аналитического обзора установлены основные требования, которым должны удовлетворять характеристики СО вириноподобных частиц: присутствие молекулярных паттернов, общих для многих *патогенных биологических агентов* (ПБА), но отсутствующих у организма; обладание составом, прослеживаемым к единицам Международной системы единиц (СИ); отсутствие собственного генетического материала, а в случае доставки с их помощью вакцин – наличие только инактивированных гомогенных штаммов.

Практическая значимость создания СО на основе вириноподобных частиц позволит улучшить системы метрологического обеспечения для диагностических и терапевтических применений, а также для производства вакцин.

Ключевые слова: вириноподобные частицы, стандартные образцы, требования к характеристикам, вакцины

Ссылка при цитировании: Вириноподобные частицы: свойства и характеристики стандартных образцов / Е. В. Кулябина [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. 2023. Т. 19, № 4. С. 27–34. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-4-27-34>


Статья поступила в редакцию 22.02.2023; одобрена после рецензирования 05.04.2023; принята к публикации 25.05.2023.

REFERENCE MATERIALS

Research Article

Virus-like Particles: Properties and Characteristics of Reference Materials

Elena V. Kulyabina¹  , Tatiana V. Kulyabina¹ , Tatyana V. Grebennikova² ,
Valeria V. Morozova^{1,3} , Vitaly Yu. Morozov⁴

¹All-Russian Scientific Research Institute for Metrological Service, Moscow, Russia
 kuliabina@vniims.ru

²National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

³California State University, Fresno, California, USA

⁴JSC Volga, Balakhna, Nizhny Novgorod region, Russia

Abstract: Virus-like particles (VLPs) have long attracted the attention of biologists and metrologists due to their dual nature. Despite their similarity to viruses, VLPs lack a virus DNA or RNA, thereby posing no threat of infection. The development of methods for the creation and standardization of VLPs, as well as for monitoring their characteristics, represents an important problem in the field of biotechnology and molecular biology. In this work, we aim to substantiate the requirements, methods, and instruments used to ensure the traceability of VLP-based certified reference materials (CRMs). The following methods for characterization of biological and physicochemical properties of such CRMs were considered: mass balance; high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC–MS); gas chromatography-mass spectrometry (GC–MS); Karl Fischer coulometric titration; ion chromatography; inductively coupled plasma mass spectrometry; and isotope dilution. It was established that VLP-based CRMs should meet the following requirements: the presence of molecular patterns common to many pathogenic biological agents (PBAs) but absent in the organism; traceability to SI units (Système international d'unités, SI); the absence of own genetic material; the presence only of inactivated homogenous strains when used for vaccine delivery. VLP-based CRMs facilitate metrological support in the field of medicine and vaccine production.

Keywords: virus-like particles, VLPs, reference materials, requirements to reference materials, vaccines

For citation: Kulyabina E. V., Kulyabina T. V., Grebennikova T. V., Morozova V. V., Morozov V. Yu. Virus-like particles: properties and characteristics of reference materials. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2023;19(4):27–34. (In Russ.). <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-4-27-34>

The article was submitted 22.02.2023; approved after reviewing 05.04.2023; accepted for publication 25.05.2023.

Введение

Вириноподобные частицы представляют собой востребованный объект для производства и применения вакцин. Следовательно, исследование свойств и характеристик вириноподобных частиц является крайне перспективным и значимым.

Вириноподобные, или вирусоподобные, частицы (ВПЧ, или VLP – virus-like particles) представляют собой частицы, которые выглядят как вирусы и могут, если их создать определенным образом, проникать в целевые (запланированные для проникновения), самые разные клетки организма, практически таким же образом,

как это делают вирусы. Огромным уникальным достоинством вириноподобных частиц является отсутствие в них самих их собственного генетического материала, то есть они не содержат ни ДНК, ни РНК. Таким образом они не могут ничем заразить организм, но могут целенаправленно доставить лекарственное средство именно в те клетки, в которые необходимо.

При выяснении роли ВПЧ необходимо подчеркнуть их широкое применение для доставки лекарств или вакцин не только в клетки организма человека [1], но и животных [2], и растений [3]. Вирусоподобные частицы могут являться не только «транспортом» для вакцины или

лекарственного средства, но также играть антибактериальную роль [4] в случае, если их конструируют соответствующим образом. Они действуют как предварительно концентрированные противомикробные агенты, которые вызывают быстрые и локальные реакции, разрушают мембрану клетки путем создания новых, не присущих клетке, отдельных пор в точных местах посадки на мембрану. Такой подход делает возможным создание вирусоподобных каркасов с биологически регулируемыми свойствами.

Доставка вакцин является важной сущностью ВПЧ [5, 6]. Так происходит потому, что присущие им свойства, например, мультимерные антигены размером с вирус, высокоорганизованная и повторяющаяся структура, отсутствие инфекционности, делают их подходящими для возбуждения безопасных и эффективных гуморальных и клеточных иммунных ответов. Вакцины на основе ВПЧ уже лицензированы для лечения вируса гепатита Б и папилломы человека, а также для использования в ветеринарии [2], например, для профилактики цирковирусной инфекции у свиней. Следовательно, структурная характеристика ВПЧ является важным требованием для возбуждения иммунного ответа организма.

Таким образом, стандартизация свойств вирионоподобных частиц, методов их создания и контроля характеристик является важной задачей развития биотехнологий и молекулярной биологии. Важнейшим инструментом обеспечения сопоставимости и достоверности результатов измерений в лабораторной медицине является метрологическая прослеживаемость. При этом основным средством обеспечения прослеживаемости являются стандартные образцы (СО), так как они позволяют определить воспроизводимость и прослеживаемость систем доставки в корреляции с их физико-химическими и биологическими свойствами.

Целью данного исследования является обоснование требований, теории и практики применения в российской метрологии методов и средств обеспечения прослеживаемости результатов исследований стандартных образцов вирионоподобных частиц.

Аналитический обзор

Вирионоподобные частицы не содержат РНК или ДНК патогенного инфекционного агента, являются неинфекционными и представляют собой структурно нативные, иммунологически релевантные вирусные антигены или белки, входящие в состав вируса, которые распознаются иммунной системой. ВПЧ морфологически напоминают свои аналоги живых вирусов и легко распознаются и процессируются антигенпрезентирующими

клетками иммунной системы, то есть благодаря сродству с живыми вирусами введение в организм ВПЧ запускает иммунный ответ организма.

ВПЧ являются хорошими кандидатами в вакцины, потому что вызывают защитный иммунный ответ. Иммунная система человека прошла долгий эволюционный путь и научилась распознавать неинфекционное «я» и «инфекционное не-я». Организм научился вызывать сильный иммунный ответ на микробные инфекции, но, как правило, не реагирует на собственные молекулы. Наша иммунная система состоит из врожденной (неспецифической) и адаптивной (специфической) ветвей [7, 8]. Врожденная иммунная система представляет собой первую линию защиты хозяина от микробных инфекций. После того, как патоген преодолевает физические барьеры хозяина, такие как слизистые оболочки носа, рта, глаз или кожу, иммунная система инициирует врожденный иммунный ответ в течение нескольких минут. Клетки врожденной иммунной системы, могут распознавать общие характеристики патогенного биологического агента (ПБА) и запускать реакцию. Связанные с ПБА структура, размеры, форма (например, икосаэдр), состав внешней оболочки клетки и так называемые молекулярные паттерны – это молекулы или свойства (паттерны), общие для многих ПБА, – обычно отсутствуют у человека, а наоборот присутствуют у клеток вирусной инфекции. Молекулярные паттерны, упорядоченная структура молекулы патогена, форма поверхности могут распознаваться рецепторами распознавания образов, которые находятся в наших клетках, что в свою очередь приводит к повышенной иммуногенности. То есть, запускаются механизмы врожденного иммунного восприятия, что в свою очередь стимулирует создание антигена.

Стандартизация свойств вирионоподобных частиц и методов их определения представляет настоящий вызов для метрологов [1]. В тоже время нельзя не признать необходимость создания средств и методов метрологического обеспечения характеристик ВПЧ.

Вирусоподобные системы доставки генов представляют собой быстро развивающуюся область генной терапии. Однако отсутствие аттестованных методик измерений и стандартных образцов утвержденных типов, применяемых в качестве систем доставки необходимого материала в клетки, делает необходимой разработку соответствующих стандартных образцов и методов для сравнительного анализа характеристик как синтетических, так и полученных из вирусов систем доставки генов. Видится актуальной задача согласовать подходы к их характеристике и программам испытаний.

Как показывает проведенный анализ выполненных в этой области работ, стандартизация вириноподобных частиц уже проводится в мировом сообществе, существуют СО, прослеживаемые к СИ, так как они позволяют определить воспроизводимость и прослеживаемость систем доставки в корреляции с их физико-химическими и биологическими свойствами.

Так, например, уже существует СО (RM), основанный на нуклеиновых кислотах высокой чистоты [9]. Он хорошо охарактеризован, обеспечивает эффективное средство для оценки точности анализов методом секвенирования нового поколения (NGS), может способствовать количественному определению общего содержания нуклеиновых кислот. Однако он не гомогенен, а его составляющие не полностью охарактеризованы, что может привести к вариациям в результатах измерений.

В своей работе A. Briones [10] описывает разработку СО вириноподобных частиц с установленной прослеживаемостью до Международной системы единиц (SI). Где в качестве материала СО и его основным компонентом является пептид СЗ-трискелион, сконструированный в форму икосаэдра. При этом установлено, что белки и пептиды, из которых состоит вириноподобная частица, через соответствующие референтные материалы прослеживаются к Международной системе единиц.

Таким образом, учитывая опыт разработки СО [9,10], можно предположить, что для получения высокоточных охарактеризованных ВПЧ необходимо создавать подходящие коммутативные СО утвержденных типов.

Требования к характеристикам СО вириноподобных частиц

В результате проведенного аналитического обзора было установлено, что основными требованиями, которым должны удовлетворять характеристики СО вириноподобных частиц, являются следующие:

- материал СО должен иметь родство к живым вирусам;
- иметь форму поверхности в виде спирали, цилиндра, икосаэдра, то есть такую, которая будет легко распознаваться иммунной системой организма как «чужая», не присущая организму;
- обладать повторяющейся структурой;
- иметь размеры вирусов;
- иметь молекулярные паттерны, общие для многих ПБА, но отсутствующие у организма человека, животного, растения;
- состав материала должен быть прослеживаемым к единицам SI;

– материал СО может выполнять антибактериальную роль, если будет представлять собой вирусоподобные каркасы с биологически регулируемыми свойствами;

– материал СО не должен содержать собственно генетического материала, то есть не должен содержать ни ДНК, ни РНК патогенных биологических агентов. В случае доставки с их помощью вакцин может содержать только инаktivированные штаммы;

– материал СО должен быть гомогенным.

Материал для оболочки СО должен содержать известную, измеренную с указанной неопределенностью, массовую долю основного компонента. В соответствии с нормативными директивами для передовых терапевтических лекарственных средств (например, 2009/120/EC [11]), таких как продукты генной терапии, эталонный материал должен быть уместным и специфичным для продуктов и веществ, которые он использует для сравнения, а его физико-химические свойства должны быть охарактеризованы и задокументированы [10]. В качестве требований к материалу можно предъявить его доступность, он должен быть понятным и предсказуемым образом собираться в вириноподобную частицу, переносить содержимое капсулы в клетки организма. Так, например, трискелион синтетически доступен, предсказуемо собирается в ВПЧ, которые инкапсулируют и переносят гены в клетки человека и лишены побочных эффектов, типичных для вируса [10].

Материалы и методы

Говоря о возможности создания СО вириноподобных частиц, предлагаем следующие методы и средства определения аттестованных характеристик (в том числе качественных свойств), указанных СО.

Определение чистоты материала стандартного образца

Метод баланса массы

Как и для любого СО биологической природы, прежде всего необходимо подтвердить чистоту белков и/или пептидов, применяемых в качестве материала для оболочки вириноподобной частицы. Для этого осуществляют их сравнение с соответствующими СО белков/пептидов с установленной прослеживаемостью к Международной системе единиц.

Подходящим методом является метод, основанный на балансе массы. В данном случае мы понимаем чистоту как массовую долю основного компонента за вычетом массовых долей всех примесей в материале из 100 % согласно РМГ 55–2003 по формуле (1):

$$w_{OK} = 100\% - w_{pc} - w_{pacm} - w_{cz}, \quad (1)$$

где w_{OK} – массовая доля основного компонента в аттестуемом образце, %;

w_{pc} – массовая доля родственных соединений, %;

$w_{расм}$ – массовая доля воды и органических растворителей, %;

$w_{сз}$ – массовая доля неорганических примесей, %.

Массовые доли родственных соединений определяются методом ВЭЖХ–МС, например, с применением масс-спектрометра X500R QTOF фирмы AB Sciex Pte. Ltd., Сингапур.

Можно определить совместно массовую долю воды и органических растворителей методом определения потери в массе при высушивании, можно использовать общую фармакопейную статью ОФС.1.2.1.0010.15.

В тоже время можно определять массовую долю воды и органических растворителей двумя отдельными методами.

Массовую долю воды определяют методом кулонометрического титрования Карла Фишера, например, с применением титратора автоматического по методу Карла Фишера CA-31, KF-31 и CA-310 фирмы Nittoseiko Analytech Co. Ltd., Япония.

Массовую долю остаточных органических растворителей можно определить методом масс-спектрометрии путем введения пробы через газовый хроматограф – ГХ–МС, например, с применением хромато-масс-спектрометра газового Hexin GCMS1000 фирмы Guangzhou Hexin Instrument Co., Ltd, Китай.

Массовую долю неорганических примесей можно определить методом ионной хроматографии с применением, например, ионного хроматографа Dionex ICS-6000 компании Thermo Fisher Scientific Inc., США, или с применением, например, масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой NexION2000 фирмы PerkinElmer, Inc., США. Также иногда используют метод определения сульфатной золы, когда проводят нагревание материала, помещенного в тигель, на электрической плитке с закрытым нагревательным элементом и терморегулятором до обугливания. После охлаждения смачивают остаток концентрированной серной кислотой и осторожно нагревают до удаления паров серной кислоты. Затем тигель помещают в муфельную печь и прокаливают при температуре 600 °С до тех пор, пока остаток полностью не превратится в пепел. Процентное содержание остатка и будет равно суммарной массовой доле неорганических примесей.

Аминокислотный анализ с изотопным разбавлением

Аминокислотный анализ позволяет определить чистоту материала через измерения массовых долей аминокислотных остатков, являющихся составными

аминокислотами материала стандартного образца. Необходимо выбирать в качестве основы для сравнения уже существующие стандартные образцы аминокислот с доказанной метрологической прослеживаемостью к системе SI. Наличие указанных стандартных образцов позволит провести точную и прослеживаемую количественную оценку материала.

Применение двух ортогональных методов анализа характеристик стандартного образца позволит дать максимально точные значения его характеристик, прослеживаемых до SI.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования можно сделать следующие выводы.

Вириноподобные частицы составляют основной тип материалов для адресной доставки лекарств. Они удовлетворяют потребность в нетоксичной и биологически дифференцированной активности и обеспечивают эффективные решения для структурной однородности, имитируя оболочку и архитектуру вирусных капсидов.

Вириноподобные частицы являются перспективными кандидатами для разработки вакцин благодаря их нативным свойствам:

- их размеры совпадают с размерами вирусов,
- они имеют высокоорганизованную и повторяющуюся структуру,
- не обладают инфекционной активностью.

Данные свойства обеспечивают безопасность ВПЧ и прогнозируемый клеточный иммунный ответ.

Важнейшую роль в стандартизации вириноподобных частиц играют прослеживаемые к SI стандартные образцы, так как они позволяют определить воспроизводимость и прослеживаемость систем доставки в корреляции с их физико-химическими и биологическими свойствами.

Так как мономеры упаковываются вокруг поверхности капсида ВПЧ, образуя правильную наноразмерную сетку, то количественная оценка ВПЧ сводится к количественной оценке его мономера.

Белки и пептиды, имеющие терапевтическую или диагностическую ценность, необходимо сравнивать с соответствующими стандартными образцами полипептидных материалов с установленной прослеживаемостью к Международной системе единиц. Таким образом обеспечивается прослеживаемость стандартных образцов к SI.

Первым и необходимым шагом в разработке таких материалов является проверка их чистоты с установленной прослеживаемостью к системе единиц SI.

Заключение

Приведенный выше подход к определению характеристик стандартных образцов вириноподобных частиц позволяет надеяться на будущие их разработки и гармонизацию подходов к их характеристике и содержанию испытаний.

Создание СО вириноподобных частиц на основе белков позволят обеспечить метрологическую прослеживаемость результатов измерений их характеристик, калибровку средств измерений, применяемых в биоанализе [12], обеспечить условия для создания вакцин без побочных эффектов. Исследование вириноподобных частиц и создание на их основе СО позволит обеспечить улучшение системы метрологического обеспечения лабораторной медицины [13].

Благодарности: Авторы выражают благодарность д-ру техн. наук, профессору Льву Константиновичу Исаеву за его бесценные советы относительно рассматриваемой темы; д-ру техн. наук Федору Владиленовичу Булыгину за активное участие в формировании научно-обоснованной позиции авторов; ведущему инженеру ФГБУ «ВНИИМС» Ольге Николаевне Мелковой.

Это исследование не получало финансовой поддержки в виде гранта от какой-либо организации государственного, коммерческого или некоммерческого сектора.

Acknowledgements: The authors express their gratitude to Prof. Lev Konstantinovich Isaev for his invaluable recommendations on the topic under consideration; to Fyodor Vladilenovich Bulygin for fruitful discussions; to Olga Nikolaevna Melkova, VNIIMS Lead Engineer.

This study did not receive financial support in the form of a grant from any organization of the state, commercial, or non-profit sector.

Вклад соавторов: Кулябина Е. В. – руководство научно-исследовательской работой, разработка методологии; Кулябина Т. В. – проверка и редакция текста статьи, валидация, контроль; Гребенникова Т. В. – разработка замысла исследования, предоставление материалов для исследования; Морозова В. В. – написание чернового варианта статьи, проведение исследовательских работ; Морозов В. Ю. – осуществление формального анализа, курирование данных.

Author Contribution: Kulyabina E. V. – research supervision, methodology development; Kulyabina T. V. – editing the article text, validation, control; Grebennikova T. V. – research concept development, material collection; Morozova V. V. – article draft preparation, carrying out the research; Morozov V. Yu. – formal analysis, research data supervision.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов. Материал статьи подготовлен на основе доклада, представленного на V Международной научной конференции «Стандартные образцы в измерениях и технологиях» (Екатеринбург, 13–16 сентября 2022 г.). Переводная версия статьи на английском языке планируется к публикации в книге Sobina E. et al. (eds.). Reference Materials in Measurement and Technology. RMMT 2022. Switzerland: Springer, Cham.

Conflict of interest: The author declare no conflict of interest. The material of the article was prepared on the basis of the report presented at the V International Scientific Conference «Reference Materials in Measurement and Technology» (Yekaterinburg, September 13–16, 2022). A translated version of the article in English is planned for publication in the book Sobina E. et al. (eds.). Reference Materials in Measurement and Technology. RMMT 2022. Switzerland: Springer, Cham.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. DNA origami inside-out viruses / J. R. Burns [et al.] // ACS Synthetic Biology. 2018. Vol. 7, № 3. P. 767–773. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00278>
2. *Bárcena J., Blanco E.* Design of novel vaccines based on virus-like particles or chimeric virions. In: Mateu M. (eds.). Structure and Physics of Viruses // Subcellular Biochemistry. 2013. Vol. 68. P. 631–665. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6552-8_21
3. Citrus sudden death-associated virus as a new expression vector for rapid in planta production of heterologous proteins, chimeric virions, and virus-like particles / E. E. Matsumura [et al.] // Biotechnology Reports. 2022. Vol. 35. P. e00739. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00739>
4. Structurally plastic peptide capsules for synthetic antimicrobial viruses / V. Castelletto [et al.] // Chemical Science. 2016. Vol. 7. P. 1707–1711. <https://doi.org/10.1039/c5sc03260a>
5. *Syomin B. V., Ilyin Y. V.* Virus-like particles as an instrument of vaccine production // Molekulyarnaya Biologiya. 2019. Vol. 53, № 3. P. 367–379. <https://doi.org/10.1134/S0026898419030157>
6. Reovirus virion-like particles obtained by recoating infectious subvirion particles with baculovirus-expressed sigma3 protein: an approach for analyzing sigma3 functions during virus entry / J. Jané-Valbuena [et al.] // Journal of Virology. 1999. Vol. 73, № 4. P. 2963–2973. <https://doi.org/10.1128/JVI.73.4.2963-2973.1999>

7. Zepp F. Principles of vaccine design-lessons from nature. *Vaccine*. 2010. Vol. 28, Suppl 3. P. 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.07.020>
8. Virus offence meets host defense / S. J. Flint [et al.] // Principles of virology: molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses, 2nd edn. Washington: ASM Press, 2003. P. 531–584.
9. Development and characterization of reference materials for genetic testing: focus on public partnerships / L. V. Kalman [et al.] // *Annals of Laboratory Medicine*. 2016. Vol. 36, № 6. P. 513–520. <https://doi.org/10.3343/alm.2016.36.6.513>
10. An SI-traceable reference material for virus-like particles / A. Briones [et al.] // *iScience*. 2022. Vol. 25, № 5. P. 104294. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104294>
11. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council on the Community code relating to medicinal products for human use as regards advanced therapy medicinal products // European Joint Programme on Rare Diseases. URL: <https://www.ejprarediseases.org/wp-content/uploads/2021/10/DIRECTIVE-2009-120-EC.pdf>. (Accessed: 10 August 2022).
12. Кулябина Е. В., Кулябина Т. В. Применение государственных стандартных образцов и тестовых смесей для поверки и калибровки средств измерений, используемых в биологических исследованиях // *Измерительная техника*. 2013. № 12(56). С. 50–51. <https://doi.org/10.1007/s11018-014-0395-2>
13. Кулябина Е. В. К взаимосвязи возможности сохранения человека как биологического вида и уровня метрологического обеспечения лабораторной медицины и биоанализа // *Законодательная и прикладная метрология*. 2017. № 6(151). С. 49–51.

REFERENCES

1. Burns J. R., Lamarre B., Pyne A. L. B., Noble J. E., Ryadnov M. G. DNA origami inside-out viruses. *ACS Synthetic Biology*. 2018;7(3):767–773. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00278>
2. Bárcena J., Blanco E. Design of novel vaccines based on virus-like particles or chimeric virions. In: Mateu M. (eds). *Structure and Physics of Viruses. Subcellular Biochemistry*. 2013;68:631–665. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6552-8_21
3. Matsumura E. E., Guo F., Boogers D., Oevelen D. V., Vu S. T., Falk B. W. Citrus sudden death-associated virus as a new expression vector for rapid in planta production of heterologous proteins, chimeric virions, and virus-like particles. *Biotechnology Reports*. 2022;35: e00739. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00739>
4. Castelletto V., de Santis E., Alkassam H., Lamarre B., Noble J. E., Ray S. Structurally plastic peptide capsules for synthetic antimicrobial viruses. *Chemical Science*. 2016;7:1707–1711. <https://doi.org/10.1039/c5sc03260a>
5. Syomin B. V., Ilyin Y. V. Virus-like particles as an instrument of vaccine production. *Molekulyarnaya Biologiya*. 2019;53(3):367–379. <https://doi.org/10.1134/S0026898419030157>
6. Jané-Valbuena J., Nibert M. L., Spencer S. M., Walker S. B., Baker T. S., Chen Ya. et al. Reovirus virion-like particles obtained by reconstituting infectious subvirion particles with baculovirus-expressed sigma3 protein: an approach for analyzing sigma3 functions during virus entry. *Journal of Virology*. 1999;73(4):2963–2973. <https://doi.org/10.1128/JVI.73.4.2963-2973.1999>
7. Zepp F. Principles of vaccine design-lessons from nature. *Vaccine*. 2010;28(Suppl 3):14–24. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.07.020>
8. Flint S. J., Enquist L. W., Racaniello V. R., Skalka A. M. Virus offence meets host defense. In: Principles of virology: molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses, 2nd edn. ASM Press, Washington. 2003. P. 531–584.
9. Kalman L. V., Datta V., Williams M., Zook J. M., Salit M. L., Han J. Y. Development and characterization of reference materials for genetic testing: focus on public partnerships. *Annals of Laboratory Medicine*. 2016;36(6):513–520. <https://doi.org/10.3343/alm.2016.36.6.513>
10. Briones A., Martos G., Bedu M., Choteau T., Josephs R. D., Wielgosz R. I., Ryadnov M. G. An SI-traceable reference material for virus-like particles. *iScience*. 2022;25(5):104294. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104294>
11. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council on the Community code relating to medicinal products for human use as regards advanced therapy medicinal products. Available via: <https://www.ejprarediseases.org/wp-content/uploads/2021/10/DIRECTIVE-2009-120-EC.pdf>. Accessed 10 August 2022.
12. Kulyabina E. V., Kulyabina T. V. Use of state standard specimens and test mixtures for verification and calibration of measurement provisions used in biological research. *Measurement Techniques*. 2013;56:1429–1431. <https://doi.org/10.1007/s11018-014-0395-2>
13. Kulyabina E. V. To the relationship between the possibility of surviving of human being as a biological species and the level of metrological support for laboratory medicine and bioassay. *Zakonodatel'naja i prikladnaja metrologija*. 2017;6(151):49–51. (In Russ.).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- РМГ 55-2003 Стандартные образцы состава чистых органических веществ. Методы аттестации. Основные положения. М.; Издательство стандартов, 2004. 12 с.
- ОФС.1.2.1.0010.15 Потеря в массе при высушивании // Фармакопея.рф [сайт]. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-1-0010-15-poterya-v-masse-pri-vysushivanii/> (дата обращения: 10.08.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кулябина Елена Валериевна – канд. техн. наук, начальник лаборатории метрологического обеспечения биологических и информационных технологий ФГУП «ВНИИМС»

Россия, 119361, г. Москва, ул. Озерная, 46
e-mail: kuliabina@vniims.ru
<http://orcid.org/0000-0002-6076-4569>
Researcher ID: C-5857-2019

Кулябина Татьяна Валериевна – канд. физ.-мат. наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИМС»

Россия, 119361, г. Москва, ул. Озерная, 46
e-mail: t.kulyabina@vniims.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3923-5571>

Гребенникова Татьяна Владимировна – профессор, д-р биол. наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, руководитель лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России

Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18
e-mail: t_grebennikova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>
Researcher ID Y-8115-2018

Морозова Валерия Витальевна – лаборант ФГБУ «ВНИИМС», студент California State University, Fresno

Россия, 119361, г. Москва, ул. Озерная, 46
USA, 5241 N. Maple Ave. Fresno, CA 93740
e-mail: lerapuri@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0003-1251-5872>
Researcher ID: HJY-3009-2023

Морозов Виталий Юрьевич – менеджер проектов АО «Волга»
Россия, 606400, Нижегородская область, г. Балахна, ул. Горького, 1
e-mail: vitmor50@gmail.com

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elena V. Kulyabina – Cand. Sci. (Eng.), Head of the Laboratory for Metrological Assurance of Biological and Information Technologies, All-Russian Scientific Research Institute for Metrological Service

46 Ozernaya str., Moscow, 119361, Russia
e-mail: kuliabina@vniims.ru
<http://orcid.org/0000-0002-6076-4569>
Researcher ID: C-5857-2019

Tatiana V. Kulyabina – Cand. Sci. (Phys.-Math. Sci.), Leading Researcher, All-Russian Scientific Research Institute for Metrological Service

46 Ozernaya str., Moscow, 119361, Russia
e-mail: t.kulyabina@vniims.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3923-5571>

Tatyana V. Grebennikova – Professor of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biol.), Corresponding Member of the RAS, Head of the Laboratory of Molecular Diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation

18 Gamalei str., Moscow, 123098, Russia
e-mail: t_grebennikova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>
Researcher ID Y-8115-2018

Valeria V. Morozova – Laboratory Assistant, All-Russian Scientific Research Institute for Metrological Service; student at California State University, Fresno

46 Ozernaya str., Moscow, 119361, Russia
USA, 5241 N. Maple Ave. Fresno, CA 93740
e-mail: lerapuri@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0003-1251-5872>
Researcher ID: HJY-3009-2023

Vitaly Yu. Morozov – Project Manager of JSC Volga
1 str. Gorky, Balakhna, Nizhny Novgorod region, 606400, Russia

e-mail: vitmor50@gmail.com