

Indagare sui Virus nelle cellule utilizzate per produrre Vaccini; e valutare la potenziale minaccia posta, dalla trasmissione di virus agli umani.

Principal Investigator: Arifa S. Khan, PhD - Office / Division / Lab: OVRP / DVP / LR

Panoramica generale

L'emergere di infezioni virali patogene come l'influenza e l'HIV hanno creato un bisogno urgente di nuovi vaccini.

I vaccini basati su virus sono fatti in cellule viventi (substrati cellulari). Alcuni produttori stanno studiando l'uso di nuove linee cellulari per produrre vaccini. La continua crescita delle linee cellulari assicura che vi sia un rifornimento costante delle stesse cellule che può produrre elevate quantità di vaccino.

In alcuni casi le linee cellulari che vengono utilizzate potrebbero essere tumorigeniche, cioè formano tumori quando iniettati nei roditori. Alcune di queste linee cellulari che formano tumore possono contenere virus cancerogeni che non si riproducono attivamente. Tali virus sono difficili da rilevare utilizzando metodi standard. Questi virus latenti o "silenziosi" rappresentano una potenziale minaccia, poiché potrebbero diventare attivi in condizioni di produzione di vaccino. Pertanto, per garantire la sicurezza dei vaccini, il nostro laboratorio sta studiando i modi per attivare i virus latenti nelle linee cellulari e per rilevare i virus attivati, nonché altri virus sconosciuti, utilizzando nuove tecnologie. Adatteremo quindi le nostre scoperte per rilevare i virus negli stessi tipi di substrati cellulari utilizzati per produrre vaccini. Stiamo anche cercando di identificare specifici processi biologici che riflettono l'attività del virus.

Questi metodi consentiranno agli scienziati della FDA di aiutare i produttori a determinare se il loro substrato cellulare specifico è sicuro da usare per la produzione di vaccini. I metodi che il nostro laboratorio sta sviluppando e test aiuteranno a garantire la produzione di vaccini sicuri ed efficaci in due modi: 1) la FDA sarà in grado di sviluppare linee guida per i produttori che usano nuovi substrati cellulari per produrre vaccini; e 2) la FDA pubblicherà i nuovi metodi che sviluppa in riviste scientifiche peer-reviewed, rendendoli così facilmente accessibili a tutti i produttori.

Stiamo anche valutando il rischio di infezioni da retrovirus negli esseri umani. (I retrovirus sono virus RNA che usano un enzima chiamato trascrittasi inversa (RT) per replicare, l'RNA è la forma decodificata del DNA). Il virus schiumoso di Simian (SFV) può essere trasmesso agli esseri umani da primati non umani (ad es. Scimmie). Sebbene non vi siano prove che l'SFV possa causare malattie, il virus può rimanere in uno stato di quiete per tutta la vita nel DNA dopo l'infezione. Inoltre, due persone in Africa sono state recentemente scoperte essere infette sia da HIV-1 che da SFV. Pertanto, è importante determinare se SFV rappresenta una minaccia per la salute umana e capire come si diffonde il virus al fine di creare strategie per il controllo delle infezioni umane. Tale lavoro aiuterà inoltre la FDA a sviluppare una nuova politica riguardante la donazione del sangue da parte di individui che lavorano con primati non umani e che implementa linee guida di sicurezza formali per le persone che lavorano con animali infetti da SFV. Stiamo anche studiando le conseguenze della doppia infezione da SFV e HIV-1 nel modello di scimmia.

Panoramica scientifica

Rilevazione di virus latenti nei substrati cellulari per la sicurezza del vaccino. L'urgente richiesta di vaccini contro le malattie emergenti ha reso necessario l'utilizzo di nuovi substrati cellulari. Questi includono cellule tumorigeniche come le cellule MDCK e CHO (per i vaccini del virus dell'influenza), 293 e cellule PER.C6 (per l'HIV-1 con vettore di adenovirus e altri vaccini) e cellule derivate dal tumore come le cellule HeLa (per HIV-1 vaccini).

L'uso di cellule tumorigeniche e tumorali è un importante problema di sicurezza a causa della potenziale presenza di virus come retrovirus e virus di DNA oncogenico che potrebbero essere associati a tumorigenicità, pertanto, rilevamento di virus persistenti e latenti del DNA e retrovirus endogeni nel vaccino i substrati cellulari sono importanti per la sicurezza del vaccino, in particolare nello sviluppo di vaccini virali vivi, in cui non vi sono o inattivazione minima del virus e fasi di rimozione durante la produzione di vaccini.

L'induzione chimica è un metodo rigoroso per valutare la presenza di retrovirus endogeni e alcuni virus latenti del DNA che hanno il potenziale per diventare attivi e produrre virus infettivi. Questo approccio è stato ampiamente utilizzato per le cellule del mouse. Abbiamo ottimizzato le condizioni di induzione virale nelle cellule di topo utilizzando un saggio di trascrittasi inversa (STF-PERT) potenziato con PCR fluorescente a provetta singola altamente reattivo standardizzato. Abbiamo ulteriormente determinato le condizioni ottimali per l'attivazione del virus del DNA latente da una linea cellulare umana. Abbiamo esteso il dosaggio per sviluppare un approccio graduale per indurre e rilevare retrovirus endogeni e virus latenti del DNA durante la valutazione dei substrati cellulari per la sicurezza del vaccino.

L'algoritmo di induzione chimica sviluppato utilizzando queste linee cellulari di controllo positivo può essere utilizzato per valutare la sicurezza di nuovi substrati di cellule vaccinali per nuovi vaccini. Ora stiamo studiando le tecnologie emergenti per la rilevazione di virus ampi per identificare nuovi virus indotti e altri sconosciuti. Inoltre, stiamo studiando potenziali biomarcatori per l'induzione del virus

Indagini in vitro e in vivo per affrontare i problemi dei retrovirus in campo biologico. I virus schiumosi di Simian (SFV) sono altamente prevalenti in tutti i primati non umani (NHP) e possono infettare l'uomo attraverso la trasmissione di specie diverse. Sebbene non vi siano ancora prove della malattia con SFV, il virus infettivo persiste nel DNA ospite. Pertanto, stiamo cercando di capire la latenza e l'attivazione di SFV e i fattori coinvolti nella trasmissione del virus, che sarà importante per la gestione delle infezioni da SFV negli esseri umani.

Stiamo anche studiando le potenziali interazioni di SFV e SIV nel modello di scimmia per predire l'esito di duplice infezione da SFV e HIV-1 in casi umani, riportati in Africa. Inoltre, i nostri studi sulle trasfusioni di sangue nelle scimmie riguardanti il rischio di trasmissione di SFV da donatori di sangue infetti a destinatari contribuiranno alle decisioni politiche di donazione di sangue.

Pubblicazioni

Genome Announc 2017 Aug 17; 5 (33): e00827-17 Sequenza

[completa del genoma di un virus schiumogeno simian che si trova in natura isolato dal macaco rhesus \(SFVmmu_K3T\).](#)

Nandakumar S, Bae EH, Khan AS

Genome Announc 2017 24 agosto; 5 (34): e00829-17 Sequenza
[dell'intero genoma della linea di cellule di insetto Sf9 Spodoptera frugiperda.](#)

Nandakumar S, Ma H, Khan AS

PDA J Pharm Sci Technol 2016 nov-dic; 70 (6): 591-5

[Advanced Virus Detection Technologies Interest Group \(AVDTIG\): sforzi per l'high throughput sequencing \(HTS\) per il rilevamento di virus.](#)

Khan AS, Vacante DA, Cassart JP, Ng SH, Lambert C, Charlebois RL, King K

Virus 2016 23 novembre, 8 (11): 318

[Undicesima Conferenza internazionale sul virus schiumoso: rapporto della riunione.](#)

Buseyne F, Gessain A, Soares MA, Santos AF, Materniak-Kornas M, Lesage P, Zamborlini A, Lochelt M, Qiao W, Lindemann D, Wohrl BM, Stoye JP, Taylor IA, Khan AS

Virus 2015 31 marzo; 7 (4): 1651-66

[Decima conferenza internazionale sul virus schiumoso 2014: risultati e prospettive.](#)

Materniak M, Kubis P, Rola-Luszczak M, Khan AS, Buseyne F, Lindemann D, Lochelt M, Kuzmak J

Vaccine 2015 Jan 1; 33 (1): 73-5

[The Brighton Collaboration Viral Vector Vaccines Safety Working Group \(V3SWG\).](#)

Chen RT, Carbery B, Mac L, Berns KI, Chapman L, Condit RC, Excler JL, Gurwith M, Hendry M, Khan AS, Khuri-Bulos N, Klug B, Robertson JS, Seligman S, Fogli R, Williamson AL

PDA J Pharm Sci Technol 2014 Nov-Dic; 68 (6): 661-6

[Nuove tecnologie e sfide per il rilevamento di nuovi virus.](#)

Khan AS, Ma H, Taliaferro LP, Galvin TA, Shaheduzzaman S

PDA J Pharm Sci Technol 2014 Nov-Dic; 68 (6): 546-7

[Introduzione e sommario di workshop: tecnologie avanzate per l'individuazione di virus nella valutazione di applicazioni biologiche e sfide.](#)

Khan AS, Vacante DA

J Virol 2014 Jun 15; 88 (12): 6576-85

[Identificazione di un romanzo rhabdovirus in linee cellulari Spodoptera frugiperda.](#)

Ma H, Galvin TA, Glasner DR, Shaheduzzaman S, Khan AS

Viruses 2014 Apr 25; 6 (5): 1876-96

[Valutazione del sistema di spettrometria di massa a ionizzazione PCR-elettrospray \(PCR / ESI-MS\) e microarray di virus per il rilevamento di virus.](#)

Taliaferro LP, Galvin TA, Ma H, Shaheduzzaman S, Williams DK, Glasner DR, Khan AS

J Virol 2013 Ago; 87 (15): 8792-7

[Identificazione della ricombinazione nel gene dell'involucro del sierotipo di virus schiumoso simian 2 isolato dal ciclopis Macaca.](#)

Galvin TA, Ahmed IA, Shahabuddin M, Bryan T, Khan AS

Virus 2013 6 giugno, 5 (6): 1414-30

[Influenza dei virus schiumosi simian che si verificano in natura \(SFV\) sulla progressione della malattia SIV](#)

[nel modello macaco rhesus \(Macaca mulatta\).](#)

Choudhary A, Galvin TA, Williams DK, Beren J, Bryant MA, Khan AS

J Virol 2013 Feb; 87 (4): 2278-86

[Nessuna evidenza di trasmissione virale xenotropa del virus della leucemia murino mediante trasfusioni di sangue da macachi rhesus infetti.](#)

Williams DK, Galvin TA, Gao Y, O'Neill C, Glasner D, Khan AS

PDA J Pharm Sci Technol 2012 Nov 1; 66 (6): 502-11

[PDA / FDA Agenti avventizi e nuovi substrati cellulari: tecnologie emergenti e nuove sfide, 3-4 novembre 2011, Rockville, MD.](#)

Khan AS, Lubiniecki A, King KE

Adv Virol 2011; 2011: 787394

[Xenotropico e altri virus correlati al virus della leucemia murina negli esseri umani.](#)

Khan AS, McClure M, Kubo Y, Jolicoeur P

Biologicals 2011 Nov; 39 (6): 378-83

[Studio del virus virale della xenotropia del virus della leucemia murina \(XMRV\) in linee cellulari umane e di altro tipo.](#)

Williams DK, Galvin TA, Ma H, Khan AS

PDA J Pharm Sci Technol 2011 Nov 1; 65 (6): 627-33

[Attuali metodi di test e sfide per il rilevamento di virus avventizi.](#)

Khan AS

PDA J Pharm Sci Technol 2011 Nov 1; 65 (6): 685-9

[Rilevamento di retrovirus latenti in substrati cellulari legati a vaccino: Indagine sull'attività RT prodotta dall'induzione chimica di cellule Vero.](#)

Ma H, Khan AS

Vaccine 2011 Oct 26; 29 (46): 8429-37

[Indagini sul circovirus suino di tipo 1 \(PCV1\) in linee cellulari correlate ad altri vaccini.](#)

Ma H, Shaheduzzaman S, Williams DK, Gao Y, Khan AS

J Virol 2011 Jul; 85 (13): 6579-88

[Induzione chimica di particelle di retrovirus endogene dalla linea cellulare vera di scimmie verdi africane.](#)

Ma H, Ma Y, Ma W, Williams DK, Galvin TA, Khan AS

Biologicals 2011 May; 39 (3): 158-66

[Ottimizzazione delle condizioni di induzione chimica per la riattivazione di herpesvirus 8 \(HHV-8\) con 12-O-tetradecanoil-phorbol-13-acetato \(TPA\) da cellule BC-3 latenti .](#)

Ma W, Galvin TA, Ma H, Ma Y, Muller J, Khan AS

PDA J Pharm Sci Technol 2010 Set-Ott; 64 (5): 426-31

[Considerazioni sui test per nuovi substrati cellulari: una prospettiva normativa.](#)

Khan AS

PDA J Pharm Sci Technol 2010 Set-Ott; 64 (5): 451-7

[Considerazioni normative per le materie prime utilizzate nei prodotti biologici.](#)

Khan AS

Transfusion 2010 Jan; 50 (1): 200-7

[Ruolo degli anticorpi neutralizzanti nel controllo della trasmissione e dell'infezione del virus schiumoso simian.](#)

Williams DK, Khan AS

Biologicals 2009 Jun; 37 (3): 196-201

[Algoritmo proposto per studiare virus latenti e occulti nei substrati di cellule vaccinali mediante induzione chimica.](#)

Khan AS, Ma W, Ma Y, Kumar A, Williams DK, Muller J, Ma H, Galvin TA

Expert Rev Anti Infect Ther 2009 Giu; 7 (5): 569-80

[Infezione da virus schiumoso di Simian nell'uomo: prevalenza e gestione.](#)

Khan AS

J Virol Methods 2009 May; 157 (2): 133-40

[Valutazione di diversi standard degli enzimi RT per la quantificazione dei retrovirus usando il test della transcriptasi inversa potenziata dal prodotto fluorescente monotubo.](#)

Ma YK, Khan AS

Trasfusione 2006 ago; 46 (8): 1352-9

[infezione da virus schiumoso di Simian mediante trasferimento di sangue intero in macachi rhesus: potenziale di trasmissione trasfusionale nell'uomo.](#)

Khan AS, Kumar D

Tratto da:

<https://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/scienceresearch/biologicsresearchareas/ucm127327.htm>