

**PRODUCTION OF THE WORKING VIRUS SEED (WVS) FROM
THE MASTER VIRUS SEED (MVS) OF NDV-HXP-S EXPRESSING
THE SARS-CoV-2 SPIKE PROTEIN FOR QUALIFIED USE IN COVID-19
VACCINE MANUFACTURING**

**Nguyen Thi Thuy Doan^{*}, Duong Huu Thai, Dam Xuan Cuong, Vu Thi Thu Huong, Tran
Ngoc Nhon , Le Duong Huyen Vuong , Nguyen Sy Tuan, Le Phuong Lien**

Institute of Vaccines and Medical biologicals

Received 06 June 2025

Accepted 26 June 2025

Abstract: Covid-19 is a global pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus, posing a significant burden on healthcare systems and impacting the global economy. Therefore, the development of high-quality working virus seed (WVS) lots derived from the master virus seed (MVS) is essential to enable rapid, safe, and effective domestic production of Covid-19 vaccines. A WVS lot was successfully generated from the NDV-HXP-S MVS, a recombinant Newcastle Disease virus (NDV) modified to express the SARS-CoV-2 spike (S) protein, originally developed and supplied by the Department of Microbiology at the Icahn School of Medicine, Mount Sinai, USA. From the MVS, a WVS lot was produced under the designation WS 210521/P1, comprising 200 vials (0,6 mL per vial), with a viral titer of $10^{8,83}$ EID₅₀/ml. The WVS met all quality criteria, including sterility, NDV identification, spike protein identification, absence of Mycoplasma and extraneous viruses (e.g., ALV), and 100% nucleotide sequence identity compared to the MVS. The WVS maintained its quality after 12 months of storage at $\leq -60^{\circ}\text{C}$. The virus replication titer was determined at a dilution of 10^{-6} , with an optimal incubation period of 96 hours.

Keywords: *NDV-HXP-S virus, spike (S) protein, Covid-19 vaccine, WVS (Working Virus Seed)*

* Corresponding author:

E-mail address: doannguyenthithuy@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i5.214>

**NHÂN CHỦNG SẢN XUẤT WVS (WORKING VIRUS SEED)
TỪ CHỦNG GỐC NDV-HXP-S MVS (MASTER VIRUS SEED)
CÓ BIỂU HIỆN PROTEIN S CỦA SARS-COV-2 ĐẠT CHẤT LƯỢNG
DÙNG TRONG SẢN XUẤT VẮC XIN PHÒNG BỆNH COVID-19**

Nguyễn Thị Thùy Đoàn*, Dương Hữu Thái, Đàm Xuân Cường, Vũ Thị Thu Hương, Trần Ngọc Nhơn, Lê Dương Huyền Vương, Nguyễn Sỹ Tuấn, Lê Phương Liên

Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế

Nhận ngày 06 tháng 06 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 26 tháng 06 năm 2025

Tóm tắt: Bệnh Covid-19 là đại dịch do vi rút SAR-CoV-2 gây ra, là gánh nặng của nền y tế, ảnh hưởng đến kinh tế toàn cầu. Việc nghiên cứu để sản xuất lô chủng WVS có chất lượng tốt từ chủng giống gốc MVS là rất cần thiết để sản xuất vắc xin phòng bệnh COVID-19 trong nước một cách nhanh chóng, hiệu quả và an toàn. Chủng vi rút giống gốc NDV-HXP-S MVS được sản xuất bằng cách biến đổi vi rút Newcastle (NDV) để biểu hiện protein đột biến (S) của SARS-CoV-2 do Khoa vi sinh của trường đại học Y Icahn, Mount Sinai- Mỹ cung cấp. Từ chủng MVS, sản xuất một lô chủng WVS lô số WS 210521/P1, số lượng 200 ống (0,6 ml/ ống), hiệu giá chủng $10^{8,83}$ EID50/ml, đạt tất cả các chỉ tiêu vô khuẩn, nhận dạng NDV, nhận dạng protein S, *Mycoplasma*, vi rút ngoại lai (ALV) và trình tự gen tương đồng 100% khi so sánh với chủng MVS. Chủng WVS đảm bảo chất lượng khi bảo quản ở điều kiện nhiệt độ $\leq -60^{\circ}\text{C}$ sau 12 tháng. Thông số tăng sinh vi rút WVS áp dụng vào sản xuất quy mô công nghiệp được xác định ở độ pha loãng vi rút 10^{-6} và thời gian nuôi cấy vi rút là 96 giờ.

Từ khoá: *Vi rút NDV-HXP-S, protein đột biến (S), vắc xin phòng bệnh Covid-19, chủng WVS*

1. Đặt vấn đề

Bệnh Covid-19 là một bệnh truyền nhiễm do vi rút SARS-CoV-2 gây ra, đã được Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) tuyên bố là đại dịch vào ngày 11 tháng 3 năm 2020. Với khả năng lây lan nhanh chóng, bệnh COVID-19 đã nhanh chóng lan rộng trên toàn thế giới. Số ca nhiễm và phạm vi ảnh hưởng của COVID-19 đã vượt xa cả SARS và MERS, trở thành mối đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng toàn cầu. Vi rút SARS-CoV-2 gây ra các hội chứng hô hấp cấp tính

nghiêm trọng đặc trưng chủ yếu bởi sốt, ho, đau cơ và thường kèm theo khó thở. SARS-CoV-2 lây truyền qua bọt và giọt khi tiếp xúc gần không được bảo vệ giữa người bị nhiễm và chưa bị nhiễm. Tính đến ngày 27/5/2025, tổng số ca mắc tích lũy Covid-19 trên toàn thế giới được báo cáo khoảng 778 triệu ca nhiễm. Theo Tổ chức Y tế thế giới SARS-CoV-2 vẫn tiếp tục sự lưu hành và diễn biến khó lường. [1,2,8]

Vi rút SARS-CoV-2 thuộc họ *Coronaviridae*, phân họ *Coronavirinae* rất phổ biến ở cả người và động vật. Protein S của SARS-CoV-2 khác biệt với hầu hết các thành viên trong nhóm Sarbecovirus, chia sẻ 76,7–77,0% sự tương đồng trình tự axit amin với SARS-CoVs ở cầy hương và người, 75,0–97,7% với các coronavirus từ dơi cùng nhóm và 90,7–92,6% với các coronavirus từ tê tê. [2,3,4,7]

COVIVAC- một loại vắc xin Covid-19 đang được nghiên cứu là vắc-xin bất hoạt toàn hạt vi rút vector Newcastle (NDV) đã mã hóa gen biểu hiện protein S của SARS-CoV-2 trên bề mặt. Công nghệ tạo chủng được phát triển tại Trường Y khoa Icahn ở Mount Sinai (ISMMS), New York, Hoa Kỳ và trường Đại học Texas (Austin, TX, Hoa Kỳ).

NDV phát triển cho hiệu giá vi rút cao trong trứng gà có phôi nên có hiệu quả trong sản xuất vắc xin. NDV bị lây nhiễm qua đường hô hấp và đã được chứng minh là gây ra các phản ứng miễn dịch dịch thể và tế bào ở cấp độ niêm mạc. Những điều này chứng tỏ rằng vắc xin vec tơ NDV cung cấp một nền tảng thuận tiện cho việc tiêm chủng nhanh chóng, hiệu quả và tiết kiệm. Hiện nay, trên thế giới đã có những nghiên cứu ứng dụng NDV như là một vec tơ trong sản xuất vắc xin phòng bệnh Ebola, HIV, cũng như đã được sử dụng để sản xuất vắc xin H5N1 vi rút cúm gia cầm có khả năng gây bệnh cao (HPAIV). [5-10]

Nhằm mục tiêu sản xuất 1 lô chủng WVS có chất lượng tốt từ chủng MVS để sản xuất vắc xin phòng bệnh Covid-19 trên quy mô công nghiệp, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “ Nhân chủng sản xuất WVS (Working virus seed) từ chủng gốc NDV-HXP-S MVS (Master virus seed) có biểu hiện protein S của SARS-CoV-2 đạt chất lượng dùng trong sản xuất vắc xin phòng bệnh Covid-19 ”.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: chủng vi rút sản xuất NDV-HXP-S (WVS)
- Địa điểm: Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế
- + Giải trình tự gen: Viện Kiểm định quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB)

- Thời gian: từ tháng 04/2021 – tháng 5/2022

2.2. Vật liệu, hoá chất

– Máy móc, thiết bị chính: phòng ấp, phòng ủ, BSC, tủ ẩm, tủ mát, bể ổn nhiệt, máy đọc Elisa, máy rửa Elisa, máy ủ nhiệt khô 4-100°C, tủ ẩm, máy chạy gel điện di đứng, iBlot 2 gel transfer device, Fusion Solo S new Edge gel imager, máy luân nhiệt PCR real-time, hệ thống chụp ảnh quang hoá Fusion Solo S, màng nitrocellulose, máy lắc.... Tất cả các máy móc thiết bị còn hạn thẩm/chuẩn định và bảo dưỡng.

– Chủng giống gốc NDV-HXP-S, mã số BN:2020-08-27-NDV được cung cấp bởi Trường Đại học Y Icahn tại Mt Sinai, Mỹ.

- Trứng gà

+ Trứng gà siêu sạch SPF, từ Công ty VALO BioMedia GmbH, CHLB Đức được sử dụng nhân chủng WVS.

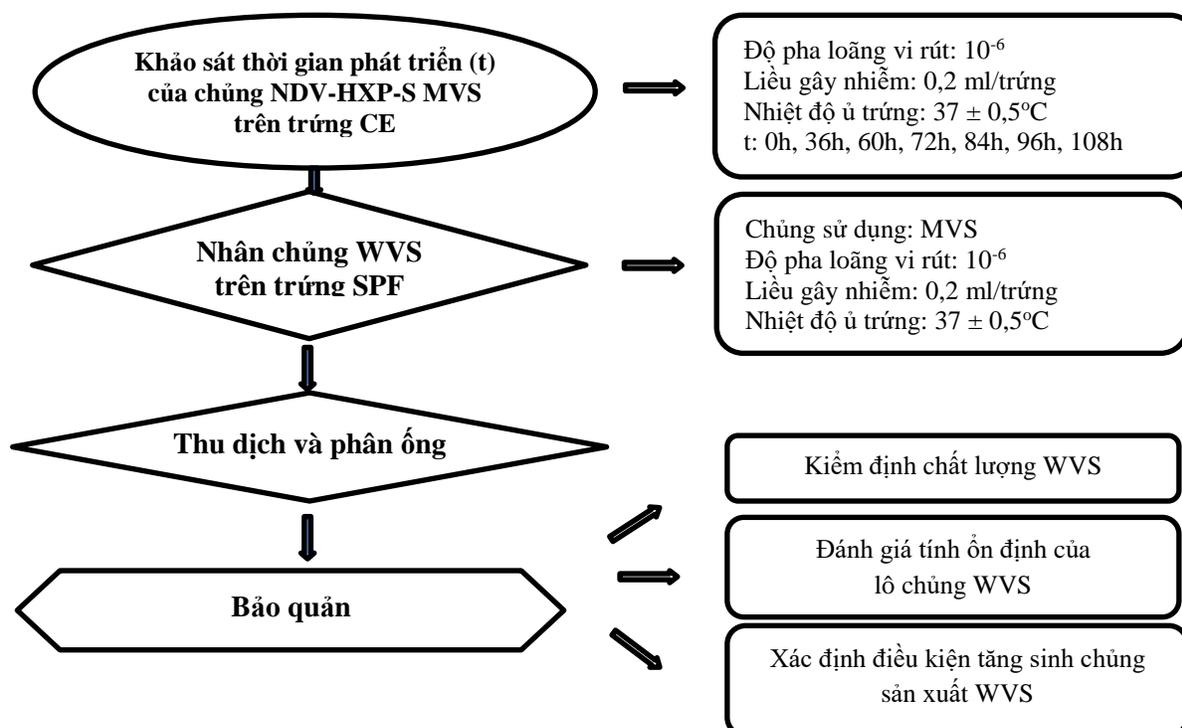
+ Trứng gà sạch CE từ giống gà siêu trứng NovoWhite nuôi tại IVAC được sử dụng để sản xuất và kiểm định.

– Hoá chất chính: dung dịch Phosphate-Buffered Saline, Tris-Glycine-SDS buffer, Non-reducing sample buffer (4x), Pierce 1-Step Ultra TMB Blotting Solution, Mini-PROTEAN TGX Gels 12%, dung dịch DPBS, Goat anti Human IgG HRP, mẫu chuẩn protein S, kháng thể kháng protein S, kháng thể trung hòa, dung dịch TMB, HRP,...

– Dụng cụ: chai thủy tinh, tube nhựa, kẹp, pipet các loại, đầu côn các loại, bơm kim tiêm các loại, màng chuyển, hộp ủ, khay rửa, phiến ELISA,....

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát



Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát

2.3.2. Nhân chủng WVS từ chủng MVS

Gây nhiễm chủng MVS ở độ pha loãng 10^{-6} vào trứng CE, 0,2 ml/ trứng, ủ trứng ở nhiệt độ 37°C để tăng sinh vi rút, lấy mẫu theo thời gian 0h, 36h, 60h, 72h, 84h, 96h, 108h. Kiểm tra các chỉ tiêu hiệu giá chủng bằng phương pháp xác định liều EID_{50} , hiệu giá kháng nguyên HA bằng phương pháp ngưng kết hồng cầu, thể tích thu dịch, cảm quan, hàm lượng protein S bằng phương pháp ELISA, để xác định thời gian thích hợp để thu dịch vi rút, xác nhận lại thời gian nuôi cấy theo khuyến cáo của nhà sản xuất chủng MVS (72h).

Sau khi chọn thời gian thích hợp, nhân chủng MVS trên trứng gà SPF để sản xuất 1 lô chủng sản xuất WVS đạt tiêu chuẩn chất lượng cơ sở.

Quy trình sản xuất WVS được tiến hành trong tủ cấy sinh học (BSC) (cấp sạch A), xung quanh môi trường không khí (môi trường đệm) là cấp sạch C.

2.3.3. Kiểm định chất lượng chủng WVS

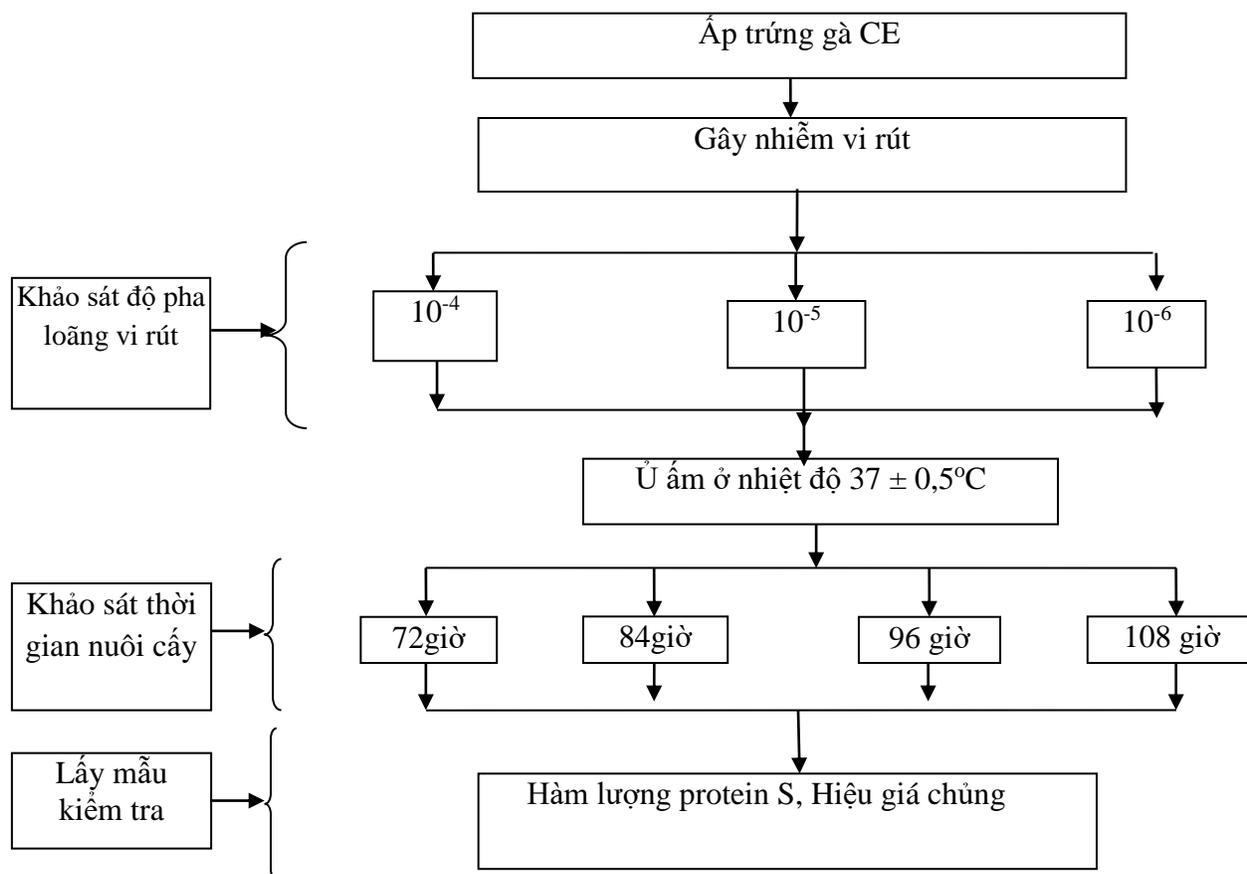
Kiểm tra chất lượng lô chủng WVS bằng các phương pháp và chỉ tiêu chất lượng theo bảng 1 dưới đây. Riêng nhận dạng chủng WVS bằng phương pháp giải trình tự gen toàn bộ bộ gen với chủng tham chiếu MVS, mang trình tự protein S của chủng Wuhan – Hu – 1 mã số Genbank: MN908947.3.

Bảng 1. Tiêu chuẩn chất lượng chủng sản xuất WV

| TT | Chỉ tiêu | Phương pháp | Tiêu chuẩn | Tài liệu áp dụng |
|----|---|--|--|---|
| 1 | Vô khuẩn | Cấy trực tiếp | Không có sự phát triển của vi sinh vật sau 14 ngày theo dõi. | Dược điển Việt Nam V, 2018 Phụ lục 15.7 |
| 2 | Hiệu giá chủng | Chuẩn độ EID ₅₀ trên trứng gà có phôi | $\geq 10^6$ EID ₅₀ /ml | TCCS |
| 3 | Nhận dạng NDV | Western blot | Dương tính | TCCS |
| 4 | Nhận dạng protein S | Dot Blot và Western blot | Dương tính | TCCS |
| 5 | <i>Mycoplasma gallisepticum</i> và <i>Mycoplasma synoviae</i> | PCR | Không phát hiện | TCCS |
| 6 | Virus ngoại lai (ALV) | ELISA | Không phát hiện | TCCS |
| 7 | Nhận dạng | Giải trình tự gen | Mức độ tương đồng > 95% so sánh với chủng MVS | TCCS |

Đánh giá tính ổn định của lô chủng WVS sau khi bảo quản ở nhiệt độ $\leq -60^{\circ}\text{C}$ dựa trên 3 chỉ tiêu: kiểm tra hiệu giá chủng bằng phương pháp xác định liều EID₅₀, hiệu giá kháng nguyên HA bằng phương pháp ngưng kết hồng cầu và cảm quan. Chất lượng chủng ổn định khi kết quả hiệu giá chủng (log EID₅₀/ml) giảm dưới 10% và hiệu giá kháng nguyên HA ≥ 32 HAU/50 μl , cảm quan dịch trong đồng nhất, không tủa.

Xác định điều kiện tăng sinh WVS (thời gian nuôi cấy, độ pha loãng vi rút tiêm vào trứng) dựa trên đánh giá hàm lượng protein S bằng phương pháp ELISA và hiệu giá chủng bằng phương pháp xác định liều EID₅₀/ml theo sơ đồ bố trí thí nghiệm dưới đây:



Hình 2. Sơ đồ quy trình xác định các điều kiện nuôi cấy vi rút

2.3.4. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel 2016, sử dụng phân tích phương sai 1 yếu tố (ANOVA-single factor).

3. Kết quả

3.1. Kết quả sản xuất lô chủng WVS từ chủng MVS

3.1.1 Kết quả khảo sát thời gian phát triển của vi rút NDV-HXP-S MVS

Bảng 2. Kết quả khảo sát thời gian phát triển của vi rút NDV-HXP-S MVS

| Các chỉ tiêu khảo sát | Thời gian theo dõi (giờ) | | | | | | | |
|--|---------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------------------------------|
| | 24 | 36 | 48 | 60 | 72 | 84 | 96 | 108 |
| Hàm lượng protein S (µg/ml) | 0 | 1,16 ± 0,12 | 1,90 ± 0,06 | 2,14 ± 0,11 | 2,61 ± 0,16 | 3,57 ± 0,15 | 4,55 ± 0,12 | 4,96 ± 0,07 |
| Hiệu giá chủng (log EID ₅₀ /ml) | 0 | 7,80 ± 0,05 | 8,03 ± 0,18 | 8,20 ± 0,18 | 8,77 ± 0,08 | 8,63 ± 0,10 | 8,70 ± 0,07 | 8,88 ± 0,10 |
| Hiệu giá kháng nguyên HA (HAU/50µl) | 0 | 4 ± 2,53 | 11,2 ± 3,92 | 21,6 ± 8,80 | 54,4 ± 14,66 | 57,6 ± 12,80 | 48 ± 16,00 | 54,4 ± 14,66 |
| Thể tích dịch vi rút TB/trứng (ml) | 9,87 ± 0,20 | 9,64 ± 0,13 | 9,57 ± 0,15 | 9,64 ± 0,16 | 9,76 ± 0,13 | 9,75 ± 0,13 | 9,69 ± 0,16 | 8,85 ± 0,16 |
| Cảm quan | Đạt | Đạt | Đạt | Đạt | Đạt | Đạt | Đạt | Không đạt, (dịch nhầy, có hồng cầu) |

Sau thời gian 72h kết quả hiệu giá chủng, hiệu giá kháng nguyên HA không có sự thay đổi rõ rệt, hàm lượng protein S tăng theo thời gian. Thời gian thích hợp nhất áp dụng để thu dịch vi rút cho lô chủng WVS là 72h. Kết quả này phù hợp với khuyến cáo của nhà sản xuất: nhân chủng WVS ở độ pha loãng 10^{-6} , 72h nuôi cấy, nhiệt độ $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

3.1.2 Kết quả sản xuất lô chủng WVS từ chủng MVS

Chủng MVS ở độ pha loãng 10^{-6} , gây nhiễm 0,2 ml/trứng SPF (20 trứng), ủ ấm ở nhiệt độ $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ sau 72h thu dịch niệu nang từng trứng và kiểm tra nhanh hiệu giá HA. Chọn các trứng có hiệu giá HA ≥ 32 HAU/50µl, dịch trong, không lắng cặn, không hồng cầu. Trong số 20 trứng được thu dịch, loại 2 trứng hiệu giá HA không đạt (8 HAU/50µl và 16 HAU/50µl) và 1 trứng chết phôi. Tổng thể tích dịch vi rút thu được 122,5 ml tiến hành phân ống, đông băng lô WVS. Thông tin lô chủng WS 210521/P1 như sau:

- + Thể tích đóng ống: 0,6 ml \pm 10% (Ống Cryo 2 ml)
- + Số lượng thành phẩm: 200 ống, Nhiệt độ bảo quản: $\leq -60^{\circ}\text{C}$

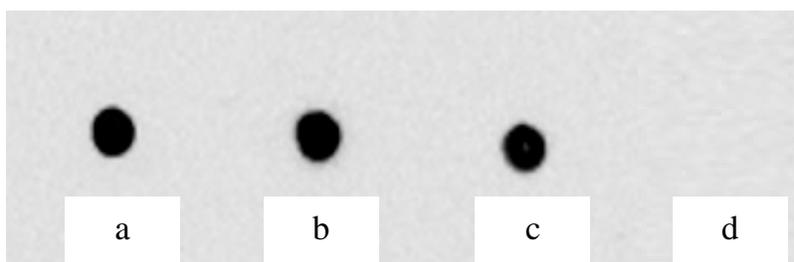
3.2. Kiểm định chất lượng chủng WVS

3.2.1 Kiểm định chủng WVS

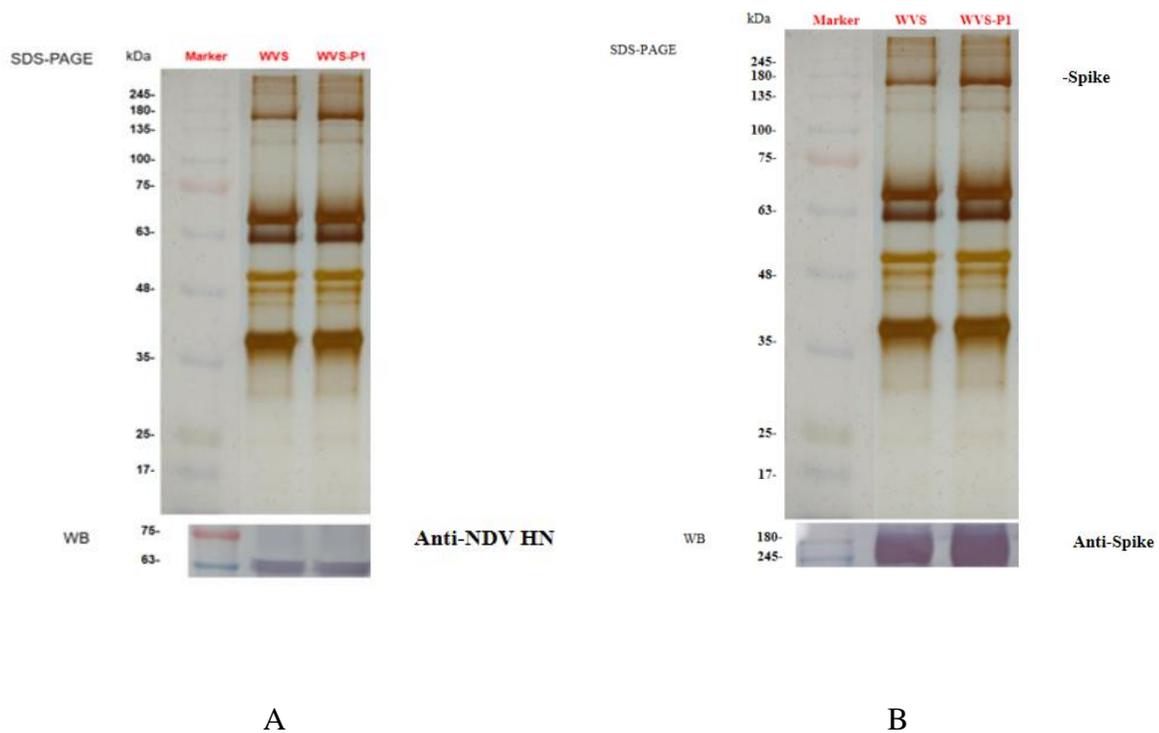
Lô chủng WVS đạt tiêu chuẩn nội bộ về vô khuẩn, hiệu giá chủng, nhận dạng NDV, nhận dạng protein S, *Mycoplasma*, vi rút ngoại lai (ALV)

Bảng 3. Kết quả kiểm tra chất lượng lô chủng sản xuất WVS

| TT | Chỉ tiêu | Kết quả được chấp nhận | Kết quả |
|----|--|--|-------------------------|
| 1 | Vô khuẩn | Không có sự phát triển của vi sinh vật sau 14 ngày theo dõi. | Đạt |
| 2 | Hiệu giá chủng | $\geq 10^6$ EID50/ml | $10^{8,83}$ EID50/ml |
| 3 | Nhận dạng NDV | Dương tính | Dương tính (Hình 4A) |
| 4 | Nhận dạng protein S | Dương tính | Dương tính (Hình 3, 4B) |
| 5 | <i>Mycoplasma gallisepticum</i> và <i>Mycoplasma synovia</i> . | Không phát hiện | Không phát hiện |
| 6 | Vi rút ngoại lai (ALV) | Không phát hiện | Không phát hiện |
| 7 | Nhận dạng | Mức độ tương đồng > 95% so sánh với chủng MVS | Đạt |



Hình 3. Kết quả nhận dạng protein S bằng phương pháp Dot Blot (a - chứng dương (chủng MVS), b - chủng WVS, c - chủng WVS cấy truyền qua 1 đời (WVS-P1), d - chứng âm (dung dịch PBS)



Hình 4. Nhận dạng NDV và protein S bằng phương pháp Western blot (hình A- nhận dạng NDV, hình B- nhận dạng protein S) chủng WVS và WVS-P1

Kết quả giải trình tự gen

Chiều dài đoạn gen của chủng WVS được giải trình tự có chiều dài 18.986 nucleotide. Khi so sánh với chủng tham chiếu NDV-HXP-S, Mã số BN:2020-08-27-NDV thì độ tương đồng về mặt nucleotide là 100%, không có sự khác biệt nucleotide nào. Tuy nhiên, so với chiều dài toàn bộ bộ gen của chủng tham chiếu là 18.986 thì chủng được giải trình tự ngắn hơn 12 nucleotide do tín hiệu bị nhiễu ở đầu 5'.

So sánh trình tự được mô tả là mang trình tự protein S của chủng Wuhan – Hu – 1 mã số Genbank: MN908947.3 cho thấy, tại vị trí 682-685 có 4 acid amin bị cắt có trình tự RRAR trên chủng Wuhan – Hu – 1. Ngoài ra, khi so sánh trình tự acid amin của chủng WVS được giải trình tự với trình tự protein S của chủng Wuhan – Hu – 1 thì thấy có 6 đột biến acid amin F817P, A892P, A899P, A942P, K986P and V987P.

3.2.2 Kết quả kiểm tra tính ổn định của lô chủng WVS sau khi bảo quản ở nhiệt độ $\leq -60^{\circ}\text{C}$

Bảng 4. Kết quả kiểm tra tính ổn định của lô chủng WVS

| Chỉ tiêu | Thời gian bảo quản | | | | |
|--|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 tháng | 3 tháng | 6 tháng | 9 tháng | 12 tháng |
| Hiệu giá chủng (EID50/ml) | $10^{8,83}$ | $10^{8,56}$ | $10^{8,63}$ | $10^{8,71}$ | $10^{8,62}$ |
| Hiệu giá kháng nguyên HA (HAU/50 μ l) | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 |
| Cảm quan | Đạt | Đạt | Đạt | Đạt | Đạt |

Kết quả hiệu giá kháng nguyên HA, hiệu giá chủng và cảm quan đạt yêu cầu.

3.3. Kết quả xác định điều kiện tăng sinh của chủng sản xuất WVS

Bảng 5. Kết quả xác định điều kiện tăng sinh của chủng sản xuất WVS

| Độ pha loãng vi rút | Thời gian nuôi cấy (giờ) | Hàm lượng protein S ($\mu\text{g/ml}$) | Hiệu giá chủng (log EID50/ml) |
|------------------------|-----------------------------|---|----------------------------------|
| 10^{-4} | 72 | $2,59 \pm 0,64$ | $8,77 \pm 0,19$ |
| | 84 | $3,56 \pm 0,20$ | $8,83 \pm 0,13$ |
| | 96 | $4,42 \pm 0,16$ | $8,92 \pm 0,22$ |
| | 108 | $4,46 \pm 0,09$ | $8,99 \pm 0,23$ |
| 10^{-5} | 72 | $2,92 \pm 0,51$ | $8,56 \pm 0,16$ |
| | 84 | $3,70 \pm 0,22$ | $8,82 \pm 0,14$ |
| | 96 | $4,48 \pm 0,25$ | $8,87 \pm 0,03$ |
| | 108 | $4,70 \pm 0,21$ | $9,01 \pm 0,08$ |
| 10^{-6} | 72 | $2,91 \pm 0,76$ | $8,58 \pm 0,09$ |
| | 84 | $3,23 \pm 0,15$ | $8,63 \pm 0,32$ |
| | 96 | $4,65 \pm 0,24$ | $8,75 \pm 0,08$ |
| | 108 | $4,76 \pm 0,17$ | $8,95 \pm 0,46$ |

Hàm lượng protein S và hiệu giá chủng tăng theo thời gian ở các nồng độ pha loãng khảo sát. Độ pha loãng vi rút NDV-HXP-S WVS là 10^{-6} và thời gian nuôi cấy vi rút là 96 giờ là thông số phù hợp để đưa vào sản xuất.

4. Bàn luận

Trong quá trình phát triển vắc xin, việc sản xuất lô chủng WVS chất lượng cao có ý nghĩa then chốt, giúp tăng hiệu suất sinh tổng hợp kháng nguyên S, từ đó nâng cao năng lực sản xuất vắc xin phòng Covid-19 trên quy mô lớn và đảm bảo hiệu quả kinh tế.

Chủng NDV-HXP-S MVS là vi rút tái tổ hợp mang gen mã hóa protein S của SARS-CoV-2 có khả năng nhân lên tốt trên trứng gà có phôi, hỗ trợ sản xuất protein S hiệu quả. Dựa trên kết quả khảo sát (Bảng 2), thời điểm thu hoạch để lưu chủng WVS là sau 72 giờ nuôi cấy, phù hợp khuyến cáo của nhà sản xuất.

Kết quả Western blot cho thấy một băng đặc hiệu xuất hiện tại vị trí khoảng 180 kDa, phù hợp với khối lượng phân tử dự kiến của protein S, cho thấy lô chủng WVS có mang gen mã hóa cho protein này; các chỉ tiêu vô khuẩn, hiệu giá chủng, nhận dạng NDV, *Mycoplasma*, vi rút ngoại lai đều đạt theo tiêu chuẩn cơ sở.

Kết quả giải trình tự đoạn gen của chủng WVS có chiều dài 18.986 nucleotide, đạt độ tương đồng 100% với chủng tham chiếu NDV-HXP-S (BN:2020-08-27-NDV), cho thấy sự ổn định về mặt di truyền của chủng WVS so với chủng MVS. Kết quả giải trình tự gen WVS có 6 gen đột biến, kết quả này phù hợp với dữ liệu giải trình tự gen do nhóm nghiên cứu chủng của trường đại học Y Icahn cung cấp, chủng NDV-HXP-S MVS đã được chèn sáu đột biến proline ổn định (HexaPro), bao gồm: F817P, A892P, A899P, A942P, K986P và V987P, đột biến này được biết là giúp ổn định cấu trúc tiền hòa nhập (prefusion) của protein S, tăng khả năng sinh miễn dịch và phù hợp với các nền tảng vắc xin tái tổ hợp hiện nay.

Kết quả theo dõi chủng WVS bảo quản ở nhiệt độ $\leq -60^{\circ}\text{C}$ có hiệu giá chủng duy trì ổn định, phân tích ANOVA 1 yếu tố cho thấy không có sự khác biệt hiệu giá chủng qua thời gian ($p=0,244$).

Kết quả khảo sát cho thấy thời gian nuôi cấy 96 giờ và độ pha loãng 10^{-6} cho hàm lượng protein S cao và phù hợp với điều kiện sản xuất quy mô công nghiệp, tiết kiệm chi phí sản xuất.

5. Kết luận

Đã chuẩn bị 1 lô chủng WVS từ chủng gốc NDV-HXP-S MVS đạt tất cả các chỉ tiêu kiểm tra theo tiêu chuẩn cơ sở; trình tự gen chủng WVS hoàn toàn tương đồng với chủng tham chiếu MVS. Chủng WVS đảm bảo chất lượng ổn định khi bảo quản ở nhiệt độ $\leq -60^{\circ}\text{C}$ sau 12 tháng. Thời gian 96h và độ pha loãng vi rút 10^{-6} được chọn để áp dụng vào giai đoạn tăng sinh vi rút khi

sản xuất quy mô công nghiệp. Những kết quả nghiên cứu này là một bước chuẩn bị quan trọng để sản xuất vắc xin phòng bệnh Covid-19.

Tài liệu tham khảo

- [1] Bộ Y tế (2021), Thuyết minh đề án sản xuất vắc xin phòng COVID-19 trong nước giai đoạn đến năm 2025, tầm nhìn đến 2030.
- [2] Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL (2021), “ Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19”, *Nat Rev Microbiol*, pp.141-154.
- [3] B Coutard, C Valle, et al (2020), “The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade”, *Antiviral Research*, 176, 104742.
- [4] Huang Y, Yang C, et al (2020), “Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19”, *Acta Pharmacol Sinica*, pp.1141-1149.
- [5] K Ganar, Das M, et al (2014), “Newcastle disease virus: Current status and our understanding”, *Virus Research*, pp. 71-81.
- [6] Kim HS, Samal SK (2016), “Newcastle Disease Virus as a Vaccine Vector for Development of Human and Veterinary Vaccines”, *Virus Research*, 7, 183.
- [7] Hardenbrook NJ, Zhang P (2021), “A structural view of the SARS-CoV-2 virus and its assembly”, *Nature reviews drug discovery*, pp. 123-134.
- [8] <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=c>
- [9] Song H, Zhong LP, et al (2019), “Application of Newcastle disease virus in the treatment of colorectal cancer”, *World Journal of Clinical Cases*, pp. 2143-2154.
- [10] Sun W, McCroskery S, et al (2020), “Newcastle disease virus (NDV) expressing the spike protein of SARS-CoV-2 as a live virus vaccine candidate”, *Nature reviews drug discovery*, pp. 667-668.
- [11] Sun W, Liu Y, et al (2021), “A Newcastle disease virus expressing a stabilized spike protein of SARS-CoV-2 induces protective immune responses”, *Nature Communications*, 12, 6197.