

Получение серии однодоменных антител для терапии и диагностики SARS-CoV-2

Научный руководитель – Чумаков Степан Петрович

Жучков Владислав Александрович

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: vladislavzuckov79@gmail.com

Появившаяся в начале декабря 2019 года вирусная инфекция получила название тяжелого острого респираторного синдрома Коронавирус 2 (SARS-CoV2). С начала пандемии зарегистрировано более 115 миллионов случаев заражения и 2,5 миллиона смертей [5]. Болезнь поражает нижние дыхательные пути, вызывая такие симптомы, как жар, кашель и недомогание [1]. В данный момент крайне необходима разработка как вакцины, так и высокоспецифичных и эффективных противовирусных вмешательств.

Коронавирусы содержат на своей поверхности тримерный шиповидный гликопротеин S. Он отвечает за распознавание рецептора, ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2), и проникновение в клетку. Слияние мембран происходит за счёт изменения конформации S белка [4]. Воздействием высокоаффинных антител можно заблокировать эти изменения, в следствие чего вирион либо не будет прикрепляться к клетке, либо не сможет произойти проникновение внутрь.

Для данной цели подходящим решением являются однодоменные антитела (VHH) верблюдовых (HCAbs) [2], которые способны высокоэффективно связываться с антигенами-мишенями. Для получения генетических последовательностей антител было проведено четыре иммунизации двух взрослых альпак с двухнедельным интервалом [3]. Одно животное было иммунизировано целым тримером шиповидного белка, а второе - отдельным растворимым рецептор-связывающим доменом. Источником генетического материала служат периферические лимфоциты. Полученная из них РНК ревертируется и амплифицируется для дальнейшего использования в создании фаговых библиотек с последующей селекцией и отбором наиболее подходящих вариантов.

В ходе проекта получена панель высокоспецифичных однодоменных антител к S белку. Ряд образцов проявил способность ингибировать связывание шиповидного белка с рецептором ACE2. Остальные варианты проявляют высокую аффинность и могут быть использованы для диагностического применения в тестах *in vitro*.

Эффект нейтрализации вирусной активности был подтверждён у 5 антител в серии экспериментов *in vitro* на препаратах растворимого S-белка и рецептора ACE2, а также в опытах *ex vivo* на клеточных культурах с применением псевдотипированных S-белком лентивирусных частиц, а затем на живом вирусе. Полученные образцы являются перспективными терапевтическими агентами для лечения SARS-CoV2. Планируется дальнейшее изучение отобранных кандидатов и их свойств.

Источники и литература

- 1) Esakandari, H., et al., A comprehensive review of COVID-19 characteristics. Biol Proced Online, 2020. 22: p. 19.
- 2) Hanke, L., et al., An alpaca nanobody neutralizes SARS-CoV-2 by blocking receptor interaction. Nat Commun, 2020. 11(1): p. 4420.

- 3) . Maass, D.R., et al., Alpaca (Lama pacos) as a convenient source of recombinant camelid heavy chain antibodies (VHHs). J Immunol Methods, 2007. 324(1-2): p. 13-25.
- 4) Ujike, M. and F. Taguchi, Incorporation of spike and membrane glycoproteins into coronavirus virions. Viruses, 2015. 7(4): p. 1700-25.
- 5) www.worldometers.info. Coronavirus Cases. 2020. Worldometer.