

Получение моноклонального антитела к рецептор-связывающему домену SARS-CoV-2**Научный руководитель – Малоголовкин Александр Сергеевич***Титов И.А.¹, Нефедьева М.В.², Каторкин С.А.³*

1 - Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Лаборатория, Покров, Россия, *E-mail: titoffia@yandex.ru*; 2 - Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Лаборатория, Покров, Россия, *E-mail: masha67111@mail.ru*; 3 - Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Лаборатория, Биофизика, Покров, Россия, *E-mail: katorkin2012@mail.ru*

Высокая скорость распространения COVID-19 требует разработки новых молекул для понимания биологии возбудителя. Учитывая высокую идентичность рецептор-связывающего домена (RBD) SARS-CoV и SARS-CoV-2019, допустимо использовать антитела, которые имеют кросс-реактивность с RBD SARS-CoV и SARS-CoV-2019 [2]. Показано, что человеческое моноклональное антитело CR3022 может эффективно связываться с RBD SARS-CoV-2019. При этом эпитоп связывания CR3022 не перекрывается с сайтом связывания ACE2-рецептора [1]. Целью работы являлось получение моноклонального антитела к рецептор-связывающему домену SARS-CoV-2 (mAbRBDSARS-CoV-2) для изучения молекулярных и клеточных механизмов антитело-зависимого усиления инфекции при SARS-CoV-2019.

В нашей работе за основу использовали аминокислотную последовательность человеческого моноклонального антитела CR3022 [2]. Нуклеотидная последовательность CR3022 была синтезирована с кодоновой оптимизацией под экспрессию в клетках яичника китайского хомячка (СНО). Были созданы экспрессионные плазмиды: рНС-CR3022, несущая тяжелую цепь, и рLC-CR3022, несущая легкую цепь. Трансфекция клеток линии СНО плазмидами рНС-CR3022 и рLC-CR3022 показала удовлетворительный уровень транзитной экспрессии моноклонального антитела mAbRBDSARS-CoV-2. Спустя 6 дней транзитной экспрессии антитела проводили аналитическое выделение из культуральной жидкости на аффинном сорбенте ProteinA (MabSelectPrismA). Продуктивность антитела mAbRBDSARS-CoV-2 составила 195 мг/л. Подлинность антитела проверяли с помощью SDS-Page в 12,5% ПААГ геле в невозстановленных и восстановленных с добавлением β -меркаптоэтанола условиях. Электрофоретическая подвижность антитела в невозстановленных условиях составила 180 кДа. В восстановленных условиях тяжелая цепь мигрировала на уровне 55 кДа, а легкая цепь на уровне 25 кДа. Подтверждение наличия отдельных тяжелой и легкой цепей в восстановленных условиях свидетельствует о димеризации полученного антитела. Дополнительно видоспецифичность моноклонального антитела была подтверждена с помощью WesternBlot с использованием специфичных антител Anti-HumanIgG (Abcam, ab211339). Функциональная активность связывания mAbRBDSARS-CoV-2 с RBDSARS-CoV-2 была подтверждена методом ИФА с использованием набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 (D5501, Вектор Бест, Россия).

Таким образом, нами получено функционально активное антитело mAbRBDSARS-CoV-2, которое способно связываться с RBDSARS-CoV-2 и может быть использовано для изучения молекулярных и клеточных механизмов антитело-зависимого усиления инфекции при SARS-CoV-2019.

Работа выполнена при поддержке РФФИ №20-04-60028/20

Источники и литература

- 1) Lan J., Ge J., Yu J., et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor // *Nature*. 2020. Т. 581. С. 215-220.
- 2) Tian X., Li C., Huang A., et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody // *Emerging Microbes & Infections*. 2020. Т. 9. С. 382–385.