

Использование метода проточной цитофлуориметрии для определения способности антител связываться с мутантными штаммами SARS-CoV-2

Научный руководитель – Филатов Александр Васильевич

Морозов А.А.¹, Астахова Е.А.², Прилипов А.Г.³, Бязрова М.Г.⁴, Миляев С.⁵

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: 20030101@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: ast_kat@mail.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия, *E-mail: a.g.prilipov@gmail.com*; 4 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: manhva@yandex.ru*; 5 - Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Москва, Россия, *E-mail: sav.m.97@mail.ru*

Поиск антител, способных связываться с разными штаммами SARS-CoV-2, является актуальной задачей не только для фундаментальных исследований, но и для клинического применения. Целью нашего исследования было определение моноклональных антител, высокоаффинных к различным штаммам SARS-CoV-2.

Первая часть нашей работы была посвящена качественному анализу мышинных моноклональных антител против SARS-CoV-2. Панель из 18 моноклональных антител была любезно предоставлена Ю.С.Лебединым. Моноклональные антитела инкубировали с клетками НЕК293, экспрессирующими на поверхности S-белок SARS-CoV-2 дикого типа или его мутантные варианты Beta (B.1.351) и Alpha (B.1.1.7)). В качестве вторичных антител использовали SHAM-FITC. Уровень флуоресценции анализировали с помощью проточного цитофлуориметра. Нам удалось выявить два клона антител, XR15 и XR12, которые эффективно связывались с S-белком как дикого штамма, так и с его мутантными вариантами. Данные клоны антител могут рассматриваться в качестве претендентов для создания гуманизированных терапевтических антител.

Во второй части работы мы оценивали вирус-связывающую способность сывороток доноров, вакцинированных Спутником-V (N=22). Используя вышеописанный метод, вместо мышинных антител клетки НЕК293, экспрессирующие на поверхности S-белок дикого типа, инкубировали с плазмами доноров. В качестве вторичных антител использовали SH1-FITC и MA2-PE для определения уровня антител IgG и IgM изотипов соответственно. Уровень специфических к S-белку антител IgG изотипа в сыворотке увеличивается примерно в 2000 раз через 3 месяца после вакцинации Спутником-V. Полученные данные подтверждаются результатами RBD-специфической ELISA, а также коррелируют с результатами суррогатного теста вирус-нейтрализации.

Таким образом, мы показали применимость метода оценки вирус-нейтрализующей способности антител с помощью проточной цитофлуориметрии, что может быть использовано для скрининга потенциальных терапевтических антител, а также для анализа формирования гуморального иммунитета переболевших или вакцинированных людей.

Работа поддержана грантом РНФ №21-15-00286