

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-65

**РЕКОМБИНАНТНЫЕ МУЛЬТИВАЛЕНТНЫЕ АНТИТЕЛА НА ОСНОВЕ VHH,
НЕЙТРАЛИЗУЮЩИЕ ШИРОКИЙ СПЕКТР ВАРИАНТОВ SARS-COV-2*****RECOMBINANT VHH-BASED MULTIVALENT ANTIBODIES
BROADLY NEUTRALIZING SARS-COV-2 VARIANTS**

П. Ю. Десюкевич, П. П. Солодков, Т. Н. Беловежец, А. Н. Чикаев

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск

P. Y. Desyukevich, P. P. Solodkov, T. N. Belovezhets, A. N. Chikaev

Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk

✉ p.desyukevich@g.nsu.ru

Аннотация

Высокая генетическая изменчивость SARS-CoV-2 приводит к появлению новых вариантов вируса, устойчивых к большинству авторизованных моноклональных антител. В этой работе мы сконструировали новую панель биспецифичных антител на основе наноантител ламы против трех разных эпитопов RBD S-белка SARS-CoV-2. Созданные антитела эффективно нейтрализовали весь спектр вариантов SARS-CoV-2, включая сублинии JN.1 и KP.2, а также сарбековир SARS-CoV-1.

Abstract

The high genetic variability of SARS-CoV-2 leads to the emergence of new escape variants that are resistant to most currently available therapeutic monoclonal antibodies. In this study, we developed a panel of novel bispecific antibodies derived from llama nanobodies targeting three distinct epitopes in the SARS-CoV-2 spike RBD. These newly derived antibodies were shown to potently neutralize a wide range of SARS-CoV-2 variants including JN.1 and KP.2 Omicron sublineages, as well as genetically related SARS-CoV-1 sarbecovirus.

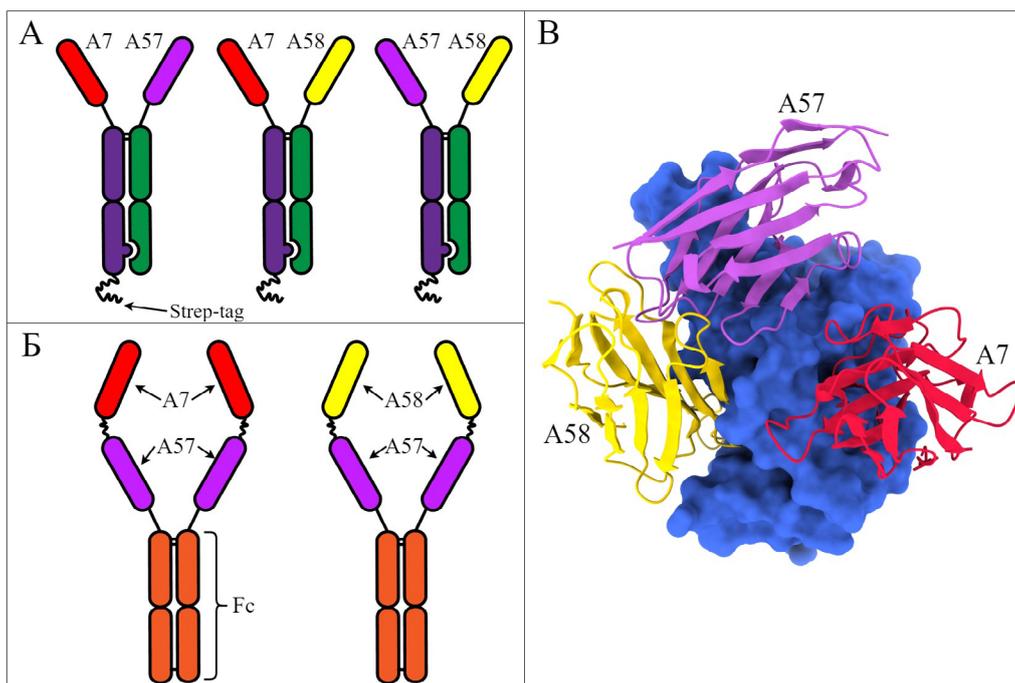
Прошедшая пандемия COVID-19 оказала глобальный эффект на здоровье всего населения, а также придала мощный импульс разработке средств противодействия коронавирусной инфекции. Тем не менее вирус по-прежнему активно циркулирует в популяции и, хотя и не несет непосредственной угрозы подавляющему большинству населения, остается смертельно опасным для отдельных категорий людей с ослабленным иммунитетом. Основным средством защиты для них служит пассивная иммунизация с использованием терапевтических моноклональных антител (МКА). Однако существенной проблемой является высокая генетическая изменчивость SARS-CoV-2, которая способствует появлению резистентных вариантов вируса, крайне плохо поддающихся нейтрализующему действию антител. На данный момент из 10 МКА, авторизованных для экстренного применения, лишь одно нейтрализует распространенные сегодня варианты сублинии JN.1. В связи с этим разработка антител, способных нейтрализовать не только существующие штаммы SARS-CoV-2, но и потенциальные будущие его варианты, остается важнейшей задачей. Многообещающим подходом к ее решению является создание би- или олигоспецифических молекул на основе вируснейтрализующих антител широкого спектра действия.

Ранее мы сообщали о получении четырех SARS-CoV-2-специфичных однодоменных антител (A7, A21, A57 и A58). Было показано, что все они обладают широким спектром противовирусной активности и при этом распознают различные эпитопы в составе RBD домена S-белка [1]. Цель настоящей работы заключалась в использовании полученных наноантител для конструирования различных вариантов Fc-димеризованных биспецифических молекул, а также в оценке их противовирусных свойств *in vitro* и *in vivo*.

В сборке конструкций использовали 3 наноантитела VHH: A7, A57 и A58, а реализация включала разные варианты димеризации молекул. Первая группа была сконструирована с использованием технологии Knobs-into-Holes (KiH), позволяющей получать биспецифические антитела путем объединения гетерологичных мономерных субъединиц за счет избирательного взаимодействия модифицированных Fc-фрагментов (рисунок, А). Вторая группа антител представляла собой тетравалентные биспецифичные гомодимеры (см. рисунок, Б). Нейтрализующую активность оценивали с помощью широкой панели лентивирусов, псевдотипированных спайк-белками

* Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение 075-15-2021-1086, контракт № РФ—193021X0015, 15.ИП.21.0015).

© П. Ю. Десюкевич, П. П. Солодков, Т. Н. Беловежец, А. Н. Чикаев, 2024



А — схема строения КiH-гетеродимера; Б — схема строения гомодимера вида VHH_i-VHH_i-Fc;
 В — трехмерная модель структуры комплексов VHH на RBD S-белка SARS-CoV-2, полученная с помощью анализа конкурентного связывания, *in silico* моделирования и молекулярного докинга

различных вариантов SARS-CoV-2 (включая распространенные в 2024 г. варианты JN.1 и KP.2), а также родственного сарбековируса SARS-CoV-1. Полученные биспецифические гомо- и гетеродимеры обладали выраженным синергическим эффектом нейтрализации относительно мономерных VHH, а также имели более равномерные показатели нейтрализации в сравнении с ранее описанными моноспецифичными Fc-гомодамирами [1]. Эксперименты *in vivo*, проведенные на гуманизированных по ACE2 мышах с использованием штамма SARS-CoV-2 JN.1, показали, что тетравалентные конструкции обеспечивают эффективную защиту мышей от вируса, предотвращая потерю веса и гибель животных. Таким образом, сконструированные нами антитела нейтрализуют все основные линии вариантов SARS-CoV-2 и потенциально могут быть использованы как средства профилактики и терапии коронавирусной инфекции у пациентов с ослабленным иммунитетом. Благодаря своей биспецифичности новые антитела способны более эффективно противодействовать мутационному ускользанию вируса.

Литература

1. Solodkov P.P. et al. Serial Llama Immunization with Various SARS-CoV-2 RBD Variants Induces Broad Spectrum Virus-Neutralizing Nanobodies // *Vaccines*. 2024. Vol. 12, № 2. P. 129.