

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-98

**ДОСТАВКА ГЕНОВ ТЕТРАМЕРИЗОВАННЫХ ОДНОДОМЕННЫХ АНТИТЕЛ
ПРИ ПОМОЩИ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСНОГО ВЕКТОРА
ДЛЯ ИНДУКЦИИ ЗАЩИТЫ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА А И ВИРУСА SARS-COV-2**

**DELIVERY OF TETRAMERIZED SINGLE-DOMAIN ANTIBODY GENES
USING A RECOMBINANT ADENO-ASSOCIATED VIRAL VECTOR TO INDUCE PROTECTION
AGAINST INFLUENZA A VIRUS AND SARS-COV-2 VIRUS**

Е. И. Рябова^{1,2}, А. А. Деркаев¹, М. А. Довгий¹, Д. В. Воронина¹, А. А. Блинов^{1,3},
А. С. Вансович¹, Р. М. Хоссаин¹, И. А. Фаворская¹, Д. В. Щебляков¹, И. Б. Есмагамбетов¹

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

²Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии —
МВА им. К.И. Скрябина

³Институт тонких химических технологий им. М. В. Ломоносова, Москва

E. I. Ryabova^{1,2}, A. A. Derkaev¹, M. A. Dovgiy¹, D. V. Voronina¹, A. A. Blinov^{1,3},
A. S. Vansovich¹, R. M. Khosain¹, I. A. Favorskaya¹, D. V. Shcheblyakov¹, I. B. Esmagambetov¹

¹Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow

²Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA by K. I. Skryabin

³Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, Moscow

✉ ryabovaei96@gmail.com

Аннотация

Вирусы гриппа А и SARS-CoV-2 продолжают представлять серьезную угрозу для здравоохранения. В нашей работе получен рекомбинантный аденоассоциированный вирусный вектор, экспрессирующий ген тетрамеризованных однодоменных антител, специфичных к различным вариантам вируса SARS-CoV-2 и вирусам гриппа А. Показано, что однократное внутримышечное введение полученного вектора обеспечивает защиту от инфекции гриппа А и COVID-19 в профилактическом режиме.

Abstract

Influenza A and SARS-CoV-2 viruses continue to pose a serious threat to public health. In our study we obtained a recombinant adeno-associated viral vector expressing the gene of tetramerized single-domain antibodies specific to various variants of the SARS-CoV-2 virus and influenza A viruses. It was shown that a single intramuscular administration of the obtained vector provides protection against influenza A infection and COVID-19 in a prophylactic mode.

Введение

Несмотря на значительный прогресс в разработке терапевтических и профилактических средств, вирусы гриппа А и SARS-CoV-2 продолжают представлять серьезную угрозу для глобального здравоохранения. Вакцинация, дополненная противовирусными препаратами, является основным способом контроля распространения гриппа и COVID-19. Однако вакцинация групп людей с иммунодефицитными состояниями не обеспечивает эффективного иммунного ответа.

Одним из перспективных направлений в разработке противовирусных препаратов является создание моноклональных антител, нацеленных на высококонсервативные участки вирусных белков. Среди таких антител выделяются однодоменные антитела семейства верблюдовых, которые благодаря длинным петлям CDR3 способны связываться с труднодоступными эпитопами вирусных антигенов. Однако их недостатком является ограниченное время циркуляции в организме, что делает их неподходящими для длительной профилактики инфекций. Решением проблемы может стать альтернативный способ пассивной иммунизации с применением аденоассоциированного вирусного вектора (rAAV), обеспечивающего доставку и продолжительную экспрессию в организме генов антител заданной специфичности. Существуют данные об успешном применении такого подхода для индукции длительной защиты против ВИЧ, вируса Эболы, вируса гриппа, вируса SARS-CoV-2, а также для интоксикации

ботулотоксином типа А [1–3]. В настоящей работе нами была изучена возможность индукции защиты от инфекции, вызванной вирусами гриппа А и SARS-CoV-2, при помощи доставки и длительной экспрессии генов тетрамеризованных однодоменных антител в составе rAAV.

Результаты

Однодоменные антитела, специфичные к RBD S белка вируса SARS-CoV-2, а также однодоменные антитела к гемагглютинирующему вирусу гриппа А, обладающие вируснейтрализующей активностью, были получены, как описано ранее [4, 5]. Тетрамеризованные антитела получали при помощи соединения 4 однодоменных антител через глицин-сериновый линкер, где 2 однодоменных антитела специфичны к различным вариантам вируса SARS-CoV-2 и 2 однодоменных антитела — к вирусам гриппа А. Дополнительно полученную конструкцию модифицировали с N-конца сигнальным пептидом и с С-конца — Fc-фрагментом IgG1 человека. Далее, генетическую конструкцию, кодирующую тетрамеризованное антитело, клонировали в плазмидную систему rAAV-DJ (Cell Biolabs, США). Рекомбинантный аденоассоциированный вирус rAAV-Tetra, несущий генетическую конструкцию, экспрессирующую тетрамеризованное однодоменное антитело, получали при помощи трансфекции клеток HEK293. Очистку rAAV-Tetra проводили при помощи тангенциальной фильтрации и аффинной хроматографии.

Защитную активность rAAV-Tetra против COVID-19 оценивали с использованием модели летальной инфекции ACE-2 трансгенных мышей вирусом SARS-CoV-2 варианта B.1.1.1 (hCoV19/Russia/Moscow_PMVL-1/2020). В результате серий экспериментов было показано, что однократное внутримышечное введение препарата в дозе 10^{11} гк/животное (5×10^{12} гк/кг) обеспечивает 100 % защиту животных через 14 дней после введения. Протективную активность rAAV-Tetra против вируса гриппа А оценивали на модели летальной инфекции мышей линии BALB/c. В работе использовали вирус гриппа А/California/04/2009 (H1N1), адаптированный для мышей. В результате серии экспериментов было показано, что доза 10^{11} гк/животное (5×10^{12} гк/кг) rAAV-Tetra способна обеспечивать защиту животных от вируса гриппа А в профилактическом режиме спустя 60 дней после однократного внутримышечного введения.

Таким образом, в нашей работе была продемонстрирована принципиальная возможность применения препарата rAAV для доставки гена тетрамеризованного однодоменного антитела и индукции защиты от инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 и вирусом гриппа А.

Литература

1. Derkaev A. A., Ryabova E. I., Esmagambetov I. B. et al. rAAV expressing recombinant neutralizing antibody for the botulinum neurotoxin type a prophylaxis // *Front. Microbiol.* 2022. Vol. 13. P. 960937.
2. Esmagambetov I. B., Ryabova E. I., Derkaev A. A. et al. rAAV expressing recombinant antibody for emergency prevention and long-term prophylaxis of COVID-19 // *Front. Immunol.* 2023. Vol. 14. P. 1129245.
3. Ryabova E. I., Derkaev A. A., Pimenov N. V. et al. The Use of Recombinant Adeno-Associated Virus for Passive Immunization and Protection against Infectious Diseases // *Mol. Genetics, Microbiol. Virology.* 2024. Vol. 39, No. 1. P. 31–39.
4. Favorskaya I. A., Shcheblyakov D. V., Esmagambetov I. B. et al. Single-domain antibodies efficiently neutralize SARS-CoV-2 variants of concern // *Front. Immunol.* 2022. Vol. 13. P. 822159.
5. Щебляков Д. В., Воронина Д. В., Фаворская И. А. и др. Наноантитело широкого спектра к гемагглютинирующему вирусу гриппа А подтипа H3 // *Acta Naturae.* 2024. Т. 16, № 1. С. 101–110.