

## BIỂU HIỆN KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG KHÁNG SARS-CoV-2 TRÊN DÒNG TẾ BÀO CHO (CHINESE HAMSTER OVARY)

Trần Thảo Vi<sup>1</sup>, Đỗ Quang Huy<sup>1</sup>, Nguyễn Việt Anh<sup>1</sup>, Hứa Hoàng Quốc Huy<sup>1</sup>  
Cao Thị Bằng Giang<sup>1</sup>, Huỳnh Văn Chung<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu Mỹ<sup>1</sup>, Cao Minh Ngọc<sup>1</sup>  
Y Lim Niê<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thùy Trang<sup>1</sup>, Trịnh Thanh Hùng<sup>4</sup>, Đỗ Quyết<sup>2</sup>  
Hoàng Văn Lương<sup>2</sup>, Nguyễn Trường Giang<sup>2</sup>, Đỗ Minh Trung<sup>3</sup>, Bruce May<sup>1</sup>  
Đoàn Chính Chung<sup>1</sup>, Hồ Nhân<sup>1</sup>, Đỗ Minh Sĩ<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Biểu hiện được kháng thể đơn dòng kháng Sars-CoV-2 trên dòng tế bào CHO (Chinese Hamster Ovary). **Đối tượng và phương pháp:** Trình tự mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể đơn dòng CB6 kháng SARS-CoV-2 được lấy từ cơ sở dữ liệu GenBank có mã số lần lượt là QJU69682.1 (DBSOURCE accession MT470197.1) và QJU69681.1 (DBSOURCE accession MT470196.1). Nghiên cứu sử dụng công nghệ protein tái tổ hợp để biểu hiện phân tử kháng thể CB6, được phân lập từ bệnh nhân (BN) COVID-19 đã hồi phục và có khả năng ức chế sự tương tác giữa protein gai S trên virus SARS-CoV-2 và thụ thể ACE-2 trên tế bào phổi người. Trình tự mã hóa cho chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể CB6 được dòng hóa bằng các công cụ sinh học phân tử vào vector biểu hiện protein trên động vật có vú pNANOGEN để biểu hiện trên tế bào CHO. **Kết quả:** 2/114 dòng tế bào đơn có khả năng sản xuất lần lượt 732.87 µg/ml và 406.67 µg/ml được chọn cho nghiên cứu sản xuất quy mô lớn. Mẫu tinh chế chứa 97,82% kháng thể CB6 có hiệu quả trung hòa in vitro 86% tương tác giữa vùng bám thụ thể SARS-CoV-2 RBD và ACE-2. **Kết luận:** Đã biểu hiện thành công phân tử IgG1 CB6 kháng SARS-CoV-2 với khả năng bám đặc hiệu với phân tử RBD của SARS-CoV-2 và có hoạt tính trung hòa SARS-CoV-2 in vitro thông qua sự ngăn cản tương tác giữa RBD và ACE-2

\* Từ khóa: SARS-CoV-2; Kháng thể; CB6; CHO; RBD.

### **Expression of Recombinant Monoclonal IgG Against Sars-Cov-2 on Chinese Hamster Ovary Cell Line**

#### **Summary**

**Objectives:** To express of recombinant monoclonal IgG against SARS-COV-2 on the Chinese hamster ovary cell line. **Subjects and methods:** The heavy chain and light chain encoding sequences of the CB6 monoclonal antibody against SARS-CoV-2 were obtained from the GenBank database with codes QJU69682.1 (DBSOURCE accession MT470197.1) and QJU69681.1 (DBSOURCE accession MT470196.1) DBSOURCE accession MT470196.1).

<sup>1</sup> Công ty Cổ phần Công nghệ Sinh học Dược Nanogen

<sup>2</sup> Học viện Quân y

<sup>3</sup> Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

<sup>4</sup> Bộ Khoa học Công nghệ

Người phản hồi: Đỗ Minh Sĩ (minhsi@nanogenpharma.com)

Ngày nhận bài: 11/6/2021

Ngày bài báo được đăng: 26/6/2021

*Monoclonal antibody-based therapies could be promising as blocking the viral entrance or inhibiting replication. This study designed a vector expressing the IgG1 of CB6, a published monoclonal antibody against SARS-CoV-2 from a convalescent COVID-19 patient. CHO cells were co-transfected with separate plasmids encoded heavy and light chains of CB6, respectively. **Results:** two out of 114 single clones selected from CB6 expressing cell pools yielded 732.87 µg/mL and 406.67 µg/mL. The sample of 97.82%-purified CB6 performed an 86% in vitro efficacy on inhibiting the interaction between recombinant SARS-CoV-2 RBD and ACE-2. **Conclusion:** This study has successfully expressed the anti-SARS-CoV-2 IgG1 CB6 with the ability to specifically bind to the RBD molecule of SARS-CoV-2 and has SARS-CoV-2 neutralizing activity in vitro through the inhibition of interactions between recombinant SARS-CoV-2 RBD and ACE-2.*

\* Keywords: SARS-CoV-2; Antibody; CB6; CHO; RBD.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Dịch COVID-19 do virus SARS-CoV-2 bùng phát từ cuối năm 2019 đến nay đã làm cho gần 4 triệu người trên thế giới tử vong. Virus SARS-CoV-2 liên tục đột biến ở các vùng địa lý mà nó lây nhiễm, với tốc độ lây lan nhanh và gây ra số người bị tử vong ngày càng tăng tạo ra thách thức rất lớn hiện nay trong việc tìm ra phương pháp hiệu quả để ngăn chặn sự lây nhiễm cũng như điều trị cho BN COVID-19. Song song với việc phát triển vaccine, công nghệ phân lập và tạo dòng lympho B cùng với giải trình tự bộ gen đã cho phép phân lập các phân tử IgG đơn dòng kháng SARS-CoV-2 từ các BN COVID-19 tự phục hồi [1, 2, 3], mở ra cơ hội điều trị cho nhiều trường hợp nhiễm COVID-19 trong khi vaccine còn đang trong giai đoạn thử nghiệm hoặc khan hiếm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu thử nghiệm sản xuất IgG1 CB6, phân tử có khả năng bám đặc hiệu với vùng bám thụ thể RBD trên protein gai S của SARS-CoV-2 nhờ đó ngăn cản tương tác giữa vùng này với thụ thể ACE-2 vốn đóng vai trò quan trọng trong cơ chế xâm nhiễm của virus [4]. Phân tử kháng thể CB6

được biểu hiện trên hệ thống tế bào CHO, thường được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp dược để sản xuất các protein có cấu trúc phức tạp với ưu điểm từ bộ gen đã được giải trình tự và cơ chế biến đổi sau dịch mã của tế bào động vật có vú [5, 6].

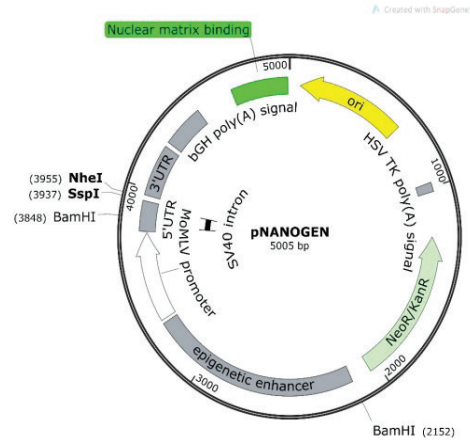
## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

Trình tự mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể đơn dòng CB6 kháng SARS-CoV-2: Trình tự amino acid cho vùng biến đổi (Fv) của chuỗi nặng CB6H và chuỗi nhẹ CB6L trên kháng thể CB6 được lấy từ cơ sở dữ liệu GenBank có mã số lần lượt là QJU69682.1 (DBSOURCE accession MT470197.1) và QJU69681.1 (DBSOURCE accession MT470196.1) thuộc công trình của Shi R, Yan J và Wang Q, trình tự codon mã hóa cho chuỗi amino acid của chuỗi nặng và nhẹ kể trên được tối ưu hóa bằng công cụ GenSmart™ Codon Optimization (hãng GenScript Biotech, Mỹ) để biểu hiện trên hệ thống tế bào CHO.

**2. Phương pháp nghiên cứu**

Hệ thống biểu hiện chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể CB6 được thiết kế dựa trên hệ thống vector pcDNA™3.1 (hãng Thermo Fisher™ Invitrogen™, Mỹ) với tên gọi pNANOGEN (Hình 1). Về cơ bản, vector pNANOGEN là vector thương mại pcDNA™3.1 được bổ sung thêm cấu trúc hỗ trợ quá trình sáp nhập vào bộ gen như *nuclear matrix binding*, tăng mức độ phiên mã bằng promoter MoMLV, *epigenetic enhancer* có tác dụng giảm nguy cơ “im lặng” của vùng DNA được gắn chèn. Đoạn gen CB6H (1407 bp) và CB6L (720 bp) được tổng hợp nhân tạo (hãng GenScript Biotech, Mỹ). DNA mang gen được xử lý với enzyme *NheI* - đầu dính và *EcoRV* - đầu bằng; pNANOGEN được xử lý với *NheI* và *SspI* - đầu bằng. Đoạn gen được dòng hóa vào plasmid bằng T4 DNA Ligase, lần lượt tạo ra vector biểu hiện protein trên tế bào CHO hoàn chỉnh với tên gọi pNANOGEN-CB6H (Hình 2A) và pNANOGEN-CB6L (Hình 2B) có kích thước hoàn chỉnh lần lượt là 6409 bp và 5722 bp. Sản phẩm nổi được biến nạp vào vi khuẩn khả nạp *E. coli* Top10 (One Shot™ TOP10 Chemically Competent *E. coli*, Thermo Fisher Scientific, Mỹ) và sàng lọc trên đĩa thạch LB chứa 70 mg/l kanamycin. Sự hiện hiện của vector biểu hiện mang gen trong *E. coli* được xác nhận bằng PCR và enzyme cắt giới hạn *BamHI*. Các enzyme cắt giới hạn *NheI*, *SspI*, *EcoRV*, *BamHI* và T4 DNA Ligase được mua từ hãng Thermo Fisher Scientific, Mỹ.



Hình 1: Cấu trúc vector pNANOGEN biểu hiện protein trên tế bào CHO.

\* Chuyển gen và sàng lọc tế bào mang gen chuyển:

Tế bào có số lượng  $0,25 \times 10^5$  tế bào/ml, có tỷ lệ tế bào sống  $\geq 95\%$  được nuôi cấy vào môi trường Gibco™ Opti-MEM® I Reduced-Serum (hãng ThermoFisher Scientific, Mỹ) trong đĩa nuôi cấy 24 giếng. Hỗn hợp DNA plasmid Lipofectamine™ LTX Reagent (hãng ThermoFisher Scientific, Mỹ) được bổ sung vào và ủ với tế bào trong 6 giờ ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Tế bào không mang gen được sàng lọc trong môi trường nuôi chứa 300 µg/ml Gibco™ Geneticin™ (G-418, hãng Thermo Fisher Scientific, Mỹ). Quá trình chọn lọc kết thúc khi tế bào ở nhóm đối chứng âm (được ủ với lipofectamine không chứa DNA) bị chết 100%. Dòng tế bào đơn từ tế bào mang gen được sàng lọc bằng ELISA để chọn ra các dòng tế bào có sản lượng (protein titer) tốt nhất.

\* Nuôi cấy tế bào CHO sản xuất kháng thể đơn dòng CB6:

Tế bào được nuôi trong TPP® TubeSpin bioreactor 50 ml tubes (hãng

Sigma-Aldrich, Mỹ) trên hệ thống Climo-Shaker ISF1-XC, 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Mẫu môi trường được thu nhận từ ngày thứ 8 - 13 để phân tích nồng độ kháng thể CB6 bằng phương pháp ELISA gián tiếp.

\* Thu nhận tách tinh sạch kháng thể CB6:

Kháng thể CB6 được thu nhận từ môi trường nuôi cấy bằng hệ thống sắc ký AKTA Purifier (hãng GE Healthcare, Mỹ) với gel Mab select (hãng GE Healthcare, Mỹ). Protein, DNA tế bào chủ, nội độc tố, virus được loại bỏ bằng sắc ký màng Anion (Sartobind Q). Dimer và CB6 bị thủy phân được loại bỏ bằng sắc ký trao đổi Cation với gel SP Sepharose FF (hãng GE Healthcare, Mỹ). Kháng thể được lý giải ra khỏi cột và trữ trong đệm bảo quản bằng hệ thống TFF (hãng Sartorius, Đức). Kháng thể CB6 trong môi trường nuôi cấy hoặc mẫu đã tinh chế được định lượng với cột sắc ký TSKgel Protein A-5PW, 20 µm, 4,6 mm ID × 3,5 cm (hãng Tosoh Bioscience, Nhật Bản) trên hệ thống Analytical HPLC, 1260 Infinity II LC System (hãng Agilent, Mỹ) ở bước sóng 280 nm.

\* Định lượng kháng thể CB6 bằng kỹ thuật ELISA gián tiếp:

Đĩa Immunoplate ELISA (hãng SPL Life Sciences, Hàn Quốc) được gắn 100 ng/giếng với phân tử SARS-CoV-2 Spike protein RBD-His Tag tái tổ hợp (hãng Genscript, Mỹ). Môi trường nuôi cấy đã loại tế bào được cho lên đĩa và ủ với 1:5000 kháng thể thứ cấp HRP-conjugate Anti-Human IgG (whole molecule) (hãng Sigma-Aldrich, Singapore). Phản ứng được

hiện màu bằng 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) và phân tích ở bước sóng 450 nm bằng hệ thống GloMax®Discover System (hãng Promega, Mỹ).

\* Western Blot:

Protein trong mẫu môi trường được khử bằng 2-Mercaptoethanol (hãng Sigma-Aldrich, Mỹ) ở 80°C, 5 phút. Dưới tác dụng của 2-Mercaptoethanol trong đệm khử, liên kết disulfide của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của phân tử IgG bị khử tạo thành dạng tự do [10]. SDS-PAGE được tiến hành trên hệ thống Mini-PROTEAN® Tetra Vertical Electrophoresis Cell (hãng Bio-Rad, Mỹ); protein được chuyển sang màng Amersham™ Protran® nitrocellulose 0.45 µm. Màng lai được ủ với HRP-conjugate Anti-Human IgG (whole molecule) 1:5000 hoặc với SARS-CoV-2 Spike protein RBD-HRP tái tổ hợp (hãng Genscript, Mỹ) và hiện màu bằng 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB).

\* Hoạt tính trung hòa SARS-CoV-2 in vitro của kháng thể CB6:

Khả năng trung hòa của kháng thể CB6 được kiểm tra bằng bộ kit GenScript cPass™ SARS-CoV-2 Neutralization Antibody Detection Kit (hãng Genscript, Mỹ). Đầu tiên mẫu chứng âm, chứng dương và mẫu cần kiểm tra lần lượt được trộn với RBD-HRP theo tỷ lệ 1:1. Tiếp theo hỗn hợp vừa ủ được cho vào giếng ELISA đã được cố định sẵn thụ thể ACE2 tái tổ hợp. Phản ứng được hiện màu bằng 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB). Tín hiệu từ giếng được ghi nhận và phân tích bằng hệ thống GloMax®Discover System (hãng Promega, Mỹ). Phần trăm khả năng trung hòa được tính theo công thức:



% Khả năng trung hòa =  $(1 - OD \text{ mẫu}) / (OD \text{ của chứng âm}) \times 100$

Mẫu có % Khả năng trung hòa < 20% được xem là âm tính,  $\geq 20\%$  được xem có khả năng trung hòa SARS-CoV-2.

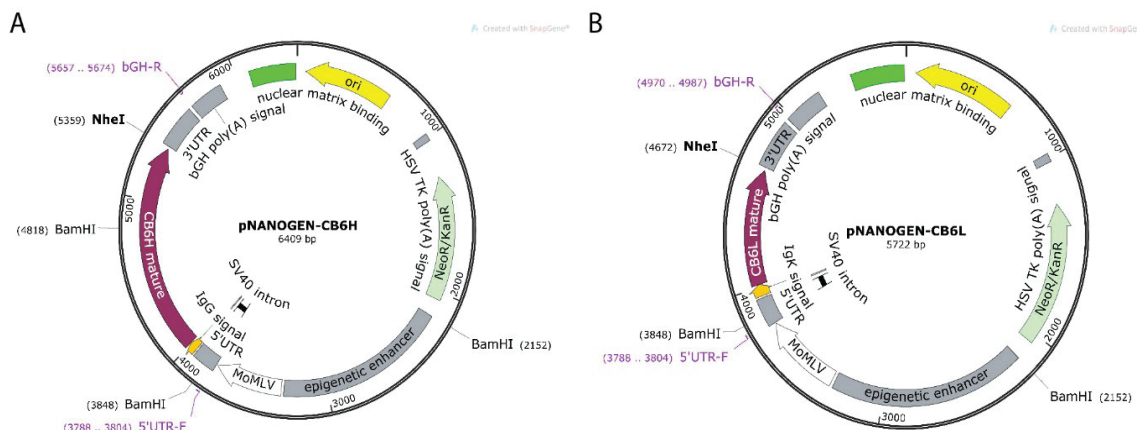
\* Xử lý số liệu và hình ảnh:

Số liệu trong nghiên cứu này được phân tích và xử lý bằng phần mềm MS Excel. Các minh họa cấu trúc vector được trình bày bằng phần mềm SnapGene® Viewer (GSL Biotech LLC, San Diego, CA 92108).

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN**

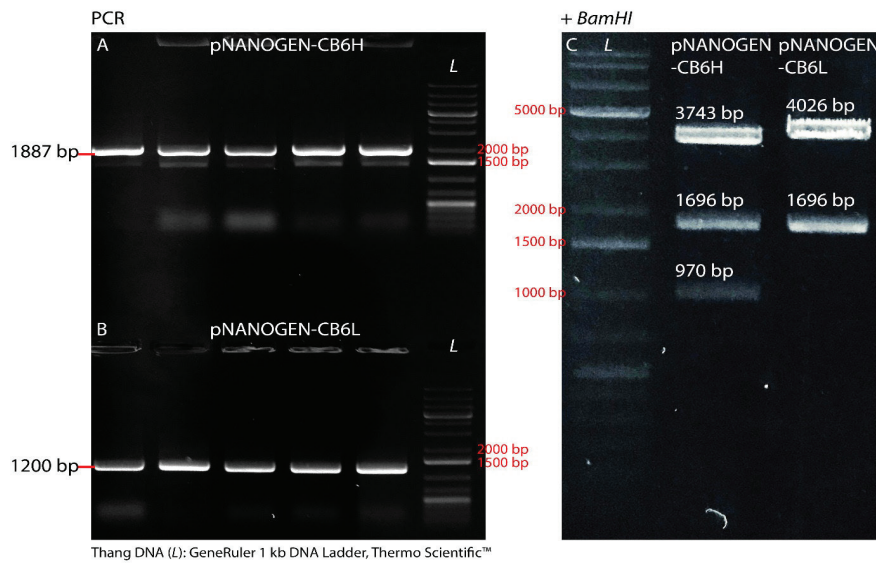
**1. Dòng hóa trình tự DNA mã hóa chuỗi nặng CB6H và chuỗi nhẹ CB6L vào vector pNANOGEN biểu hiện trên tế bào CHO**

Phương pháp PCR sử dụng 2 đoạn mồi 5'UTR-F và bGH-R được dùng để kiểm tra 5 khuẩn lạc *E. coli* Top 10 từ vi khuẩn được biến nạp DNA vector pNANOGEN-CB6H và -CB6L và sàng lọc với kanamycin. Sản phẩm PCR có kích thước 1887 bp và 1200 bp lần lượt xuất hiện ở 5 khuẩn lạc biến nạp pNANOGEN-CB6H và -CB6L (Hình 3A, B). Kết quả này phù hợp với sự gắn chèn của đoạn DNA mã hóa cho CB6H (1407 bp) và CB6L (720 bp). Tiếp theo, DNA được tách từ mỗi 1 trong 5 khuẩn lạc *E. coli* kể trên được xử lý với *Bam*HI (Hình 3C). Kết quả điện di cho thấy 3 sản phẩm có kích thước tương ứng với kích thước lý thuyết của pNANOGEN-CB6H khi xử lý với *Bam*HI lần lượt là 3743 bp, 1696 bp, 970 bp; pNANOGEN-CB6L khi xử lý với *Bam*HI lần lượt là 4206 bp và 1696 bp.



Hình 1: Cấu trúc vector biểu hiện protein trên tế bào động vật có vú pNANOGEN.

(A): pNANOGEN-CB6H mang trình tự CB6H (1407 bp) biểu hiện chuỗi nặng của kháng thể CB6; (B) pNANOGEN-CB6L mang trình tự CB6L (720 bp) biểu hiện chuỗi nhẹ của kháng thể CB6.

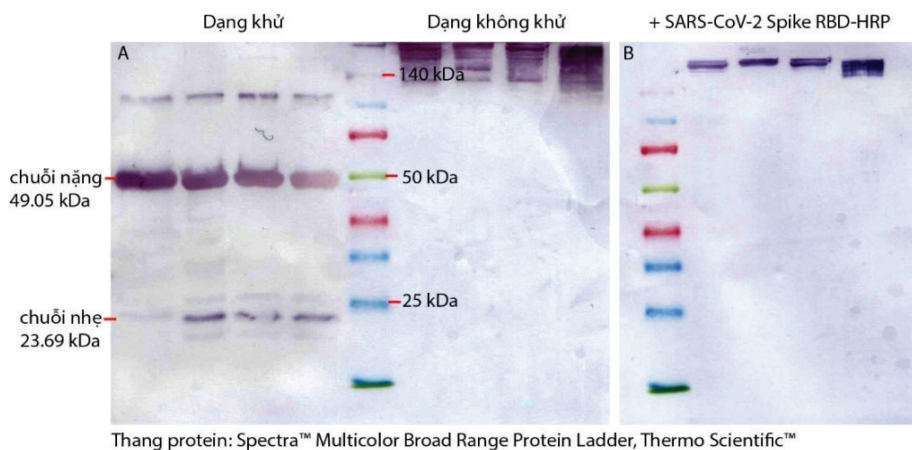


Thang DNA (L): GeneRuler 1 kb DNA Ladder, Thermo Scientific™

Hình 3: Sản phẩm PCR xác nhận sự hiện diện của trình tự mã hóa CB6H (A) và CB6L (B) trên vector pNANOGEN; (C) Sản phẩm cắt giới hạn bằng *Bam*HI của pNANOGEN-CB6H và -CB6L.

## 2. Biểu hiện kháng thể đơn dòng CB6 ở tế bào CHO sau khi sàng lọc

Chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trưởng thành CB6 lần lượt có kích thước 49,05 kDa và 23,69 kDa (Hình 4A); đồng thời, kết quả western blot từ mẫu môi trường nuôi thu nhận từ tế bào CHO chuyển gen CB6 cho thấy có phản ứng với SARS-CoV-2 Spike protein RBD-HRP tái tổ hợp cho vạch protein trùng khớp với kích thước của kháng thể CB6 dạng không khử (Hình 4B).



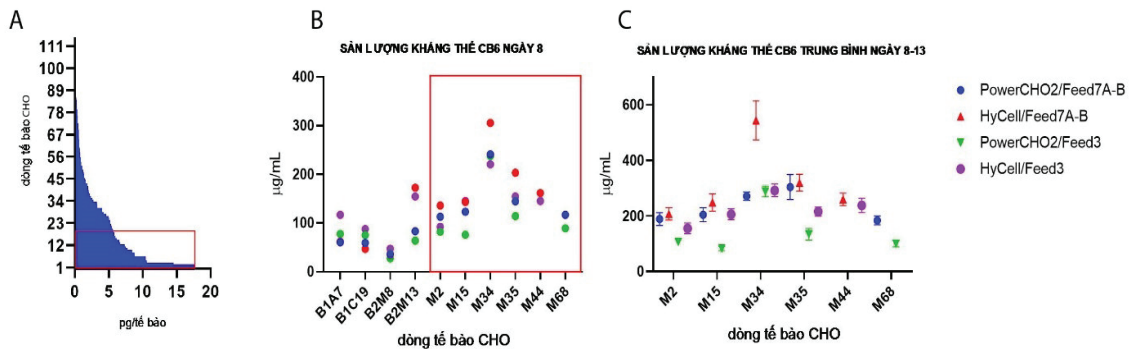
Thang protein: Spectra™ Multicolor Broad Range Protein Ladder, Thermo Scientific™

Hình 4: Biểu hiện kháng thể đơn dòng CB6 ở tế bào CHO.

(A) Kết quả Western blot từ mẫu môi trường nuôi tế bào CHO chuyển gen kháng thể đơn dòng CB6 sau khi sàng lọc; (B) Kết quả lai trên màng giữa mẫu môi trường nuôi từ tế bào CHO chuyển gen biểu hiện kháng thể CB6 và SARS-CoV-2 Spike RBD-HRP.

### 3. Sàng lọc dòng tế bào đơn và khảo sát môi trường nuôi cấy

Từ kết quả định lượng bằng ELISA gián tiếp chúng tôi dựa trên các chỉ tiêu về sản lượng protein, sức sống tế bào và khả năng tăng sinh chọn ra 19/114 dòng tế bào đơn (16,67%) cho thí nghiệm tiếp theo. Trong 19 dòng tế bào đơn, dòng tế bào cho sản lượng cao nhất là 17,68 pg/tế bào, thấp nhất là 5,7 pg/tế bào (Hình 5A).



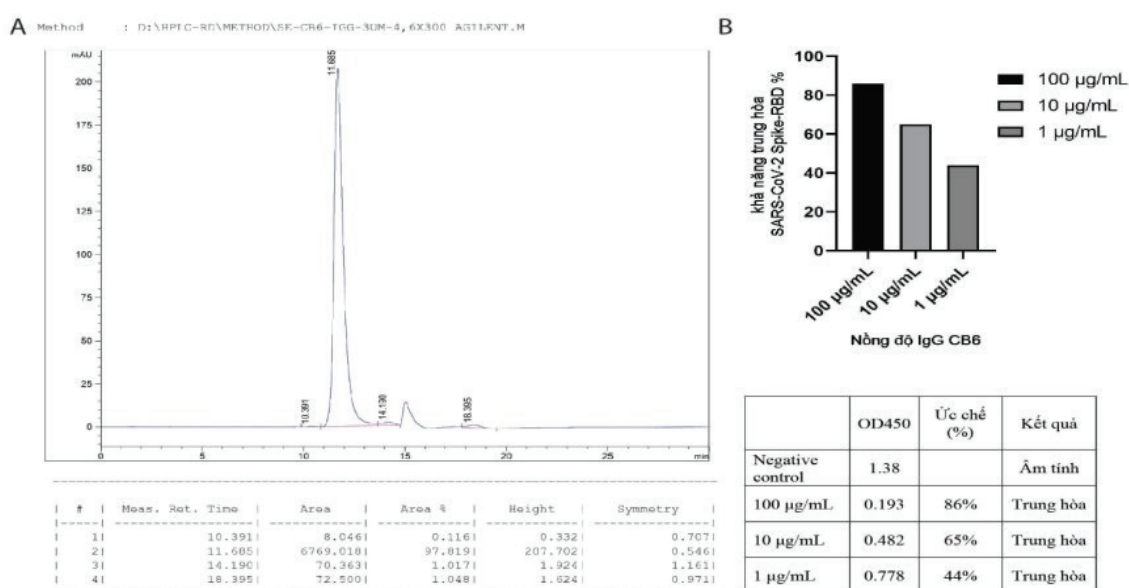
Hình 5: Sàng lọc dòng tế bào đơn và khảo sát môi trường nuôi cấy.

(A): Kết quả định lượng kháng thể CB6 từ các dòng tế bào đơn bằng ELISA gián tiếp với SARS-CoV-2 Spike protein (RBD, His Tag) tái tổ hợp. Đường màu đỏ cho thấy các dòng tế bào được giữ lại kèm theo sản lượng kháng thể CB6 tương ứng; (B) và (C): Sản lượng kháng thể CB6 định lượng bằng sắc ký ái lực với protein A ở các dòng tế bào CHO; (B): Sản lượng kháng thể CB6 trung bình ngày thứ 8 ở các dòng tế bào có ký hiệu là CHO-M2, M15, M34, M35, M44, M68 được chọn tiếp tục theo dõi (khung chữ nhật màu đỏ); (C): Sản lượng kháng thể CB6 trung bình từ ngày 8 - 13 của các dòng tế bào CHO-M2, M15, M34, M35, M44, M68.

Các môi trường thử nghiệm bao gồm PowerCHO™ 2 (hãng Lonza, Bỉ), HyClone™ HyCell CHO (hãng Cytiva, Mỹ), G12.2 (hãng FUJIFILM Irvine Scientific, Inc, Mỹ) kết hợp với thành phần bổ sung Cell Boost™ 7a-7b (hãng GE Healthcare, Mỹ) và BalanCD CHO Feed 3 (hãng FUJIFILM Irvine Scientific, Mỹ). Từ 19 dòng tế bào đơn kể trên, chúng tôi tiếp tục sàng lọc và giữ lại 10/19 dòng tế bào cho thử nghiệm với môi trường. Kết quả sắc ký ái lực ở ngày thứ 8 cho thấy các dòng tế bào CHO-B1A7, B1C19, B2M8 có sản lượng CB6 thấp hơn đáng kể so với các dòng còn lại; đồng thời, dòng B2M13 có mức độ tăng sinh yếu từ ngày thứ 8 ở tất cả các nghiệm thức (Hình 5B); các dòng tế bào này được loại ra khỏi thí nghiệm. Dòng tế bào CHO-M34 và M35 theo thứ tự đó là hai dòng tế bào có sản lượng cao nhất, trong đó M34 đạt 732.87 µg/ml ở ngày thứ 13 khi nuôi với môi trường HyClone™ HyCell CHO/Cell Boost™ 7a-7b. Ở cùng thời điểm, dòng tế bào M35 khi nuôi ở cùng môi trường cho sản lượng 406.67 µg/ml, đồng thời cũng cho sản lượng tương đương 444.55 µg/ml với PowerCHO™ 2/Cell Boost™ 7a-7b (Hình 5C).

#### 4. Kết quả tinh chế kháng thể CB6 và hoạt tính trung hòa SARS-CoV-2 in vitro của kháng thể CB6

Kháng thể CB6 được thu nhận từ môi trường nuôi cấy sau khi tách tinh sạch được kiểm tra đánh giá. Độ tinh sạch của mẫu kháng thể sau tinh chế được xác định bằng cột phân tích Agilent Bio SEC-3, 300Å, 4,6 x 300 mm, 5 µm (hãng Agilent, Mỹ). Kết quả cho thấy mẫu thu được có độ sạch 97,82% (Hình 6A). Thử nghiệm khả năng trung hòa của kháng thể CB6 tinh sạch cho thấy nồng độ 100 µg/ml có khả năng khóa 86% tương tác giữa phân tử SARS-CoV-2 RBD và ACE-2. Ở nồng độ 1 µg/ml kháng thể vẫn còn khả năng trung hòa đến 44% (Hình 6B).



Hình 6: (A) Kết quả SE-HPLC đánh giá độ tinh sạch của mẫu kháng thể CB6 sau tinh sạch;

(B) Kết quả trung hòa tương tác giữa ACE-2 và SARS-CoV-2 RBD bằng kháng thể CB6 đã tinh sạch.

Hiện tại, các phác đồ điều trị SARS-CoV-2 hiện nay tập trung vào việc làm giảm triệu chứng suy hô hấp cấp tính (SARS) dựa vào kinh nghiệm trước đó từ việc điều trị các ca nhiễm SARS-CoV và MERS. Một số thuốc được nghiên cứu như ribavirin, interferon IFN  $\alpha$ , mycophenolic acid hoặc kết hợp với oseltamivir, remdesivir, và chloroquine [11]. Tuy nhiên, chloroquine được chứng

minh không có hiệu quả bảo vệ tế bào phổi trước sự xâm nhiễm của SARS-CoV-2 [12], hoặc làm trầm trọng triệu chứng SARS [13, 14]. Liệu pháp miễn dịch sử dụng kháng thể đơn dòng để điều trị cho các trường hợp nhiễm SARS-CoV-2 tiến triển nặng càng được quan tâm trong bối cảnh khan hiếm vaccine [15, 16]; với phác đồ điều trị khẩn cấp sử dụng etesevimab (CB6) được thông qua



bởi FDA với số đăng ký FDA UNII Code N7Q9NLF11I.

Từ nhu cầu thực tế tại Việt Nam cần chủ động nguồn vaccine và thuốc điều trị COVID-19, lần đầu tiên Công ty Nanogen Biopharmaceutical JSC biểu biến thành công phân tử IgG1 CB6 trên hệ thống tế bào CHO dựa vào công nghệ tái tổ hợp với sản lượng và mức độ tinh sạch phù hợp cho nghiên cứu sản xuất ở quy mô công nghiệp. Các kết quả điện di SDS-PAGE, western blot và khả năng phản ứng đặc hiệu với SARS-CoV-2 Spike RBD tương tự như công bố của Rui Shi, Chao Shan và CS, đồng thời cung cấp thêm bằng chứng trực tiếp cho thấy CB6 có khả năng nhận diện đặc hiệu vùng RBD trên protein gai S của SARS-CoV-2 và ngăn tương tác của vùng này với thụ thể ACE-2 [4]. Kết quả này cho thấy CB6 là một đối tượng tiềm năng cho việc phát triển một phương pháp điều trị tích cực cho các trường hợp nhiễm SARS-CoV-2 tiến triển nặng.

### **KẾT LUẬN**

Đã biểu hiện thành công phân tử IgG1 CB6 kháng SARS-CoV-2 với khả năng bám đặc hiệu với phân tử RBD của SARS-CoV-2 và có hoạt tính hòa SARS-CoV-2 *in vitro* thông qua sự ngăn cản tương tác giữa RBD và ACE-2. Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng tạo được dòng tế bào đơn đi kèm với môi trường nuôi cho sản lượng CB6 cao để làm nguyên liệu cho các nghiên cứu tối ưu hóa quy trình sản xuất trước khi đưa vào sản xuất quy mô lớn.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Sun, Y and M Ho. Emerging antibody-based therapeutics against SARS-CoV-2 during the global pandemic. *Antibody Therapeutics* 2020; 3(4):246-256.
2. Ju B, et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature* 2020; 584(7819):115-119.
3. Deb P, MMA Molla, and KM Saif-Ur-Rahman. An update to monoclonal antibody as therapeutic option against COVID-19. *Biosafety and Health* 2021.
4. Shi R, et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2. *Nature* 2020; 584(7819):120-124.
5. Liang JG, et al. S-Trimer, a COVID-19 subunit vaccine candidate, induces protective immunity in nonhuman primates 2020.
6. Kuo TY, et al. Development of CpG-adjuvanted stable prefusion SARS-CoV-2 spike antigen as a subunit vaccine against COVID-19 2020; 10(1):1-10.
7. Girod PA, MM Zahn-Zabal, and N Mermoud. Mar elements as tools to increase protein production by CHO cells, in animal cell technology meets genomics 2005. Dordrecht: Springer Netherlands.
8. Kung SK, DS An, and IS Chen. A murine leukemia virus (MuLV) long terminal repeat derived from rhesus macaques in the context of a lentivirus vector and MuLV gag sequence results in high-level gene expression in human T lymphocytes. *J Virol* 2000; 74(8):3668-3681.
9. Zhang F, et al. A ubiquitous chromatin opening element (UCOE) confers resistance to DNA methylation-mediated silencing of lentiviral vectors. *Mol Ther* 2010; 18(9):1640-1649.
10. Capel PJ, et al. The effect of 2-mercaptoethanol on IgM and IgG antibody activity. *J Immunol Methods* 1980; 36(1):77-80.

11. Prajapat M, et al. Drug targets for corona virus: A systematic review. *Indian J Pharmacol* 2020; 52(1):56-65.
12. Hoffmann M, et al. Chloroquine does not inhibit infection of human lung cells with SARS-CoV-2. *Nature* 2020; 585(7826):588-590.
13. Sevilla-Castillo F, et al. Both chloroquine and lopinavir/ritonavir are ineffective for COVID-19 treatment and combined worsen the pathology: A single-center experience with severely ill patients. *Biomed Res Int* 2021; 2021:8821318.
14. Altulea D, et al. What makes (hydroxy) chloroquine ineffective against COVID-19: Insights from cell biology. *J Mol Cell Biol* 2021.
15. Deb P, MMA Molla, and KM Saif-Ur-Rahman. An update to monoclonal antibody as therapeutic option against COVID-19. *Biosafety and Health* 2021; 3(2):87-91.
16. Marovich M, JR Mascola, and MSJJ. Cohen. Monoclonal antibodies for prevention and treatment of COVID-19 2020; 324(2):131-132.
17. WHO. <https://covid19.who.int/> 4:12pm CEST, 25 June 2021.