

ПЛАЗМАБЛАСТНЫЙ ОТВЕТ ПРИ ОСТРОЙ SARS-CoV-2 ИНФЕКЦИИ

Бязрова М. Г.^{1, 2},
Сухова М. М.^{1, 3},
Михайлов А. А.^{1, 3},
Романова А. Ф.³,
Юсубалиева Г. М.⁴,
Филатов А. В.^{1, 3}

¹ ФГБУН «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА, Москва, Россия.

² ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы", Москва, Россия.

³ ФГБОУ ВО "Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова", Москва, Россия.

⁴ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА, Москва, Россия.

PLASMABLAST RESPONSE DURING ACUTE SARS-CoV-2 INFECTION

Byazrova M. G.^{a, b},
Sukhova M. M.^{a, c},
Mikhailov A. A.^{a, c},
Romanova A. F.^c,
Yusubalieva G. M.^d,
Filatov A. V.^{a, c}

^a National Research Center – Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency, 115522, Moscow, Russian Federation.

^b Peoples' Friendship University of Russia of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, 117198, Moscow, Russian Federation.

^c Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation.

^d Federal Research and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical-Biological Agency, 115682, Moscow, Russian Federation.

Резюме

Плазмабласты представляют собой популяцию коротко живущих В-клеток, которые появляются в циркуляции вскоре после вакцинации и в процессе острой инфекции. Плазмабласты образуются из покоящихся В-лимфоцитов, от которых они отличаются способностью секретировать антитела, что делает их похожими на плазматические клетки. От последних они отличаются экспрессией на своей поверхности BCR рецептора. Плазмабластный ответ является показателем успешности вакцинации, а также помогает в прогнозировании уровня антител после выздоровления или вакцинации. Однако определение и классификация плазмабластов сталкивается с большими экспериментальными и теоретическими трудностями. Целью работы являлось определение особенностей плазмабластного ответа при острой SARS-CoV-2 инфекции. В исследование были включены пациенты ($n = 28$), характеризовавшиеся тяжелой формой COVID-19. Забор крови для исследования проводили однократно на 10-18-е сутки с момента госпитализации. В-клетки выделяли методом иммуномагнитной сепарации. Клетки фенотипировали с помощью проточной цитометрии. Секрецию IgM и IgG определяли методом ELISpot. Субпопуляции В-клеток выделяли с помощью проточного сортировщика.

У пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровыми донорами наблюдалось примерно четырехкратное повышение уровня общих плазмабластов. Еще более выраженное превышение над отрицательным контролем наблюдалось для RBD-специфичных плазмабластов. К этому времени количество RBD-специфичных В-клеток памяти оставалось невысоким. Это свидетельствует том, что на ранней стадии COVID-19 В-клетки памяти еще не успевают сформироваться и гуморальный иммунитет обеспечивался исключительно плазмабластами. По своему составу плазмабласты на треть являлись IgM⁺ клетками. Доля плазмабластов с поверхностным IgG почти в 7 раз была ниже. Такое распределение между изотипами В-клеточных рецепторов BCR соответствовало первичному характеру иммунного ответа при COVID-19. Примерно треть плазмабластов несла антиген CD138, при этом у 4-х пациентов доля CD138⁺ клеток была выше 50%. Следует отметить, что маркер CD138 характерен для поздней стадии созревания плазмабластов и который также встречается на плазматических клетках. Популяция CD27⁺CD38⁺ была разделена по экспрессии антигена CD138. Методом ELISpot нами было показано, что значительная часть циркулирующих плазмабластов являются антителосекретирующими клетками. Таким образом нами было показано, что при инфекции SARS-CoV-2 формируется выраженный плазмабластный ответ. Среди циркулирующих плазмабластов можно выделить как ранние, так и более поздние плазмабласты, которые характеризуются отсутствием поверхностного BCR, но которые несут антиген CD138. Определение того, как плазмабласты соотносятся с другими В-клеточными популяциями имеет первостепенное значение для разработки новых методов лечения COVID-19 и для создания перспективных вакцин против SARS-CoV-2 инфекции.

Ключевые слова: наивные В-клетки, В-клетки памяти, плазматические клетки, плазмабласты, антителосекретирующие клетки, SARS-CoV-2.

Abstract

Plasmablasts are a population of short-lived B cells that appear in the circulation shortly after vaccination and during acute infection. Plasmablasts are formed from resting B lymphocytes, from which they differ in their ability to secrete antibodies, making them similar to plasma cells. Plasmablasts are terminally differentiated cells that can form at various nodes and branches of the B cell response. The plasmablast response is an indicator of the success of vaccination and also helps in predicting antibody levels after recovery or vaccination. However, the definition and classification of plasmablasts faces great experimental and theoretical difficulties. The aim of the work was to determine the characteristics of the plasmablast response during acute SARS-CoV-2 infection. The study included patients (n = 28) with a severe form of COVID-19. Blood sampling was carried out once on the 10-18th day from the moment of hospitalization. B cells were isolated by immunomagnetic separation. Cells were phenotyped using flow cytometry. Secretion of IgM and IgG was determined by ELISpot method. B cell subsets were isolated using a cell sorter. Patients with COVID-19 had an approximately fourfold increase in total plasmablast levels compared to healthy donors. An even more pronounced excess over the negative control was observed for RBD-specific plasmablasts. In terms of their composition, plasmablasts were one third IgM+ cells. This distribution between B-cell BCR receptor isotypes was consistent with the primary nature of the immune response in COVID-19. Approximately a third of plasmablasts carried the CD138 antigen. CD138 marker is characteristic of the late stage of plasmablast maturation and is also found on plasma cells. The CD27+CD38+ population was divided according to the expression of the CD138 antigen. Using the ELISpot method, we have shown that a significant portion of circulating plasmablasts are antibody-secreting cells. Among circulating plasmablasts, both early and late plasmablasts can be distinguished, which are characterized by the absence of a surface BCR, but which carry the CD138 antigen. Determining how plasmablasts relate to other B cell populations is of paramount importance for the development of new treatments for COVID-19 and for the creation of promising vaccines against SARS-CoV-2 infection.

Keywords: naive B cells, memory B cells, plasma cells, plasma blasts, antibody secreting cells, SARS-CoV-2.

1 Введение

Плазмабласты представляют собой популяцию коротко живущих В-клеток, которые появляются в циркуляции вскоре после вакцинации и в процессе острой инфекции. Плазмабласты образуются из покоящихся В-лимфоцитов, от которых они отличаются способностью секретировать антитела, что делает их похожими на плазматические клетки. От последних они отличаются поверхностной экспрессией BCR рецептора. В отличие от наивных и коммитированных В-клеток, а также плазматических клеток, плазмабласты способны пролиферировать. Плазмабласты представляют собой терминально дифференцированные клетки, которые могут образовываться в различных точках и ветвях В-клеточного ответа [9]. В частности, плазмабласты могут генерироваться как при фолликулярном, так и экстрафолликулярном пути активации [10]. Плазмабластный ответ является показателем успешности вакцинации, а также помогает в прогнозировании уровня антител после выздоровления или вакцинации [2]. Однако определение и классификация плазмабластов сталкивается с большими экспериментальными и теоретическими трудностями [8]. При острой инфекции SARS-CoV-2 зачастую наблюдается образование большого количества плазмабластов [2], таким образом COVID-19 может являться удобным объектом для изучения плазмабластного ответа.

2 Материалы и методы

В исследование были включены пациенты (n = 28), получавшие стационарное лечение в ФНКЦ ФМБА России. Всем пациентам был поставлен диагноз COVID-19 на основании данных ПЦР-анализа. На момент обследования все пациенты находились в реанимационном отделении и характеризовались тяжелой формой COVID-19. Клиническое исследование выполнено в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации "Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека". Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования был рассмотрен и одобрен Этическим комитетом ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (протокол № 12-1, 29 декабря 2020 г.). Пациенты были в возрасте от 19 до 65 лет (медиана – 45 лет), из них 15 мужчин (53,6%) и 13 женщин (46,4%). В группу сравнения были включены соотносимые по возрасту здоровые доноры (n = 12). Забор крови для исследования проводили однократно на 10-18-е сутки с момента госпитализации.

Для окрашивания лимфоцитов использовали антитела CD19-FITC, CD27-PECy5.5, CD38-PECy7, CD138-APC, анти-IgG-FITC, анти-IgM-FITC, а также белок RBD-PE. Флуоресценцию клеток регистрировали с помощью проточного цитометра CytoFLEX S (Beckman Coulter, США). Клетки сортировали на проточном сортировщике SH800S (Sony Biotechnology, США). ELISpot проводили как описано ранее [1].

Экспериментальные данные обрабатывали с использованием программы GraphPad Prism. Значимость различий между выборками оценивали с помощью критерия Манна–Уитни и критерия Уилкоксона.

Различия сравниваемых параметров считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Экспериментальные данные на графиках представляли в виде медианы (столбы) и межквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля; усы).

3 Результаты исследований и обсуждение результатов

Одним из самых ранних проявлений В-клеточного ответа является появление циркулирующих тотальных и антигенспецифических плазмбластов [4]. Мы определяли плазмбласты как CD19⁺ клетки с высокой экспрессией антигенов CD27 и CD38. У здоровых доноров регистрировалось небольшое количество плазмбластов (медиана 1,42%, межквартильный размах от 0,58 до 1,97%). Этот уровень плазмбластов может объясняться фоновой активацией В-лимфоцитов неопределенным кругом антигенов. У пациентов с COVID-19 наблюдалось примерно четырехкратное повышение уровня плазмбластов (медиана 4,03; межквартильный размах от 2,91 до 6,99%; $p < 0,0001$) (рис. 1А). Еще более выраженное превышение над отрицательным контролем наблюдалось для RBD-специфических плазмбластов (медиана 8,03; межквартильный размах от 3,81 до 17,38%) (рис. 1Б). При этом доля RBD-специфических лимфоцитов среди В-клеток памяти находилась на уровне 0,48% (межквартильный размах от 0,15 до 0,97%), что немного превышало базовый уровень у здоровых доноров (0,2%). Это свидетельствует том, что к моменту забора крови (10-18 дни) антигенспецифические В-клетки памяти еще не сформировались и плазмбласты представляли единственный тип В-клеток, которые обеспечивали гуморальный иммунитет у пациентов в острой фазе SARS-CoV-2 инфекции. По своему составу плазмбласты в основном являлись IgM⁺ клетками (медиана 35,55; межквартильный размах от 13,68 до 45,08%). Доля плазмбластов с поверхностным IgG была значительно ниже (медиана 5,37; межквартильный размах от 3,33 до 13,28%; $p < 0,0001$). Такое распределение между изотипами В-клеточных рецепторов BCR соответствует первичному характеру иммунного ответа при COVID-19. Обращает на себя внимание, что сумма долей IgM⁺ и IgG⁺ клеток равнялось примерно 40%. Ограничением нашего исследования являлось то, что мы не учитывали долю IgA⁺ клеток, однако даже с учетом этих клеток суммарная доля Ig⁺ клеток будет заметно ниже 100%. Мы предполагаем, что в популяции плазмбластов присутствуют как более ранние (sIg⁺), так и более поздние (sIg⁻) клетки. Для того чтобы оценить долю более поздних плазмбластов мы определили количество CD138⁺ клеток. Действительно довольно значительная часть плазмбластов (медиана 27,40; межквартильный размах от 19,78 до 53,13%; рис. 1Г) несла этот маркер поздней стадии созревания плазмбластов, который более характерен для плазматических клеток. При этом следует отметить, что у 4-х пациентов доля CD138⁺ клеток была выше 40%. Среди В-клеток памяти доля CD138⁺ клеток не превышала 5%, что соответствовало порогу детекции этого параметра. Таким образом вполне вероятно, что среди циркулирующих

плазмабластов заметную долю составляют поздние плазмабласты, которые характеризуются отсутствием поверхностного BCR, но которые несут антиген CD138. В нескольких случаях популяция CD27⁺CD38⁺ была разделена по экспрессии антигена CD138. На рис. 2А представлены репрезентативные ELISpot данные, которые показывают клетки, секретирующие антитела IgM (слева) или IgG (справа) в популяциях CD138⁺ и CD138⁻ плазмабластов. Судя по полученным данным, заметная доля как среди ранних, так и более поздних плазмабластов являлись антителосекретирующими клетками.

Плазмабласты являются популяцией В-лимфоцитов, которая сочетает в себе функциональные активности, характерные для оппозитных популяций В-лимфоцитов. В силу этого обстоятельства классификация плазмабластов и их позиционирование в общей схеме В-клеточного ответа сталкивается со значительными трудностями. Распространенным мнением является то, что плазмабласты представляют собой терминально дифференцированные клетки и, что они не превращаются ни в В-клетки памяти, ни плазматические клетки [6]. Однако в некоторых случаях, например, при инфекции малярийного плазмодия, было показано, что плазмабласты могут образовываться из В-клеток памяти [7] или быть предшественниками плазматических клеток [5].

В настоящей работе показано, что при SARS-CoV-2 инфекции, протекающей в тяжелой форме, развивается выраженный плазмабластный ответ. Циркулирующие плазмабласты характеризуются экспрессией поверхностных IgM и IgG и секрецией соответствующих антител. Среди плазмабластов можно выделить как ранние, так и более поздние популяции.

Плазмабласты, В-клетки герминативных центров, В-клетки памяти и плазматические клетки представляют собой различные ветви и стадии В-клеточного иммунитета. Определение того, как эти популяции взаимодействуют между собой, имеет первостепенное значение для разработки методов лечения COVID-19 и для создания перспективных вакцин против SARS-CoV-2 инфекции.

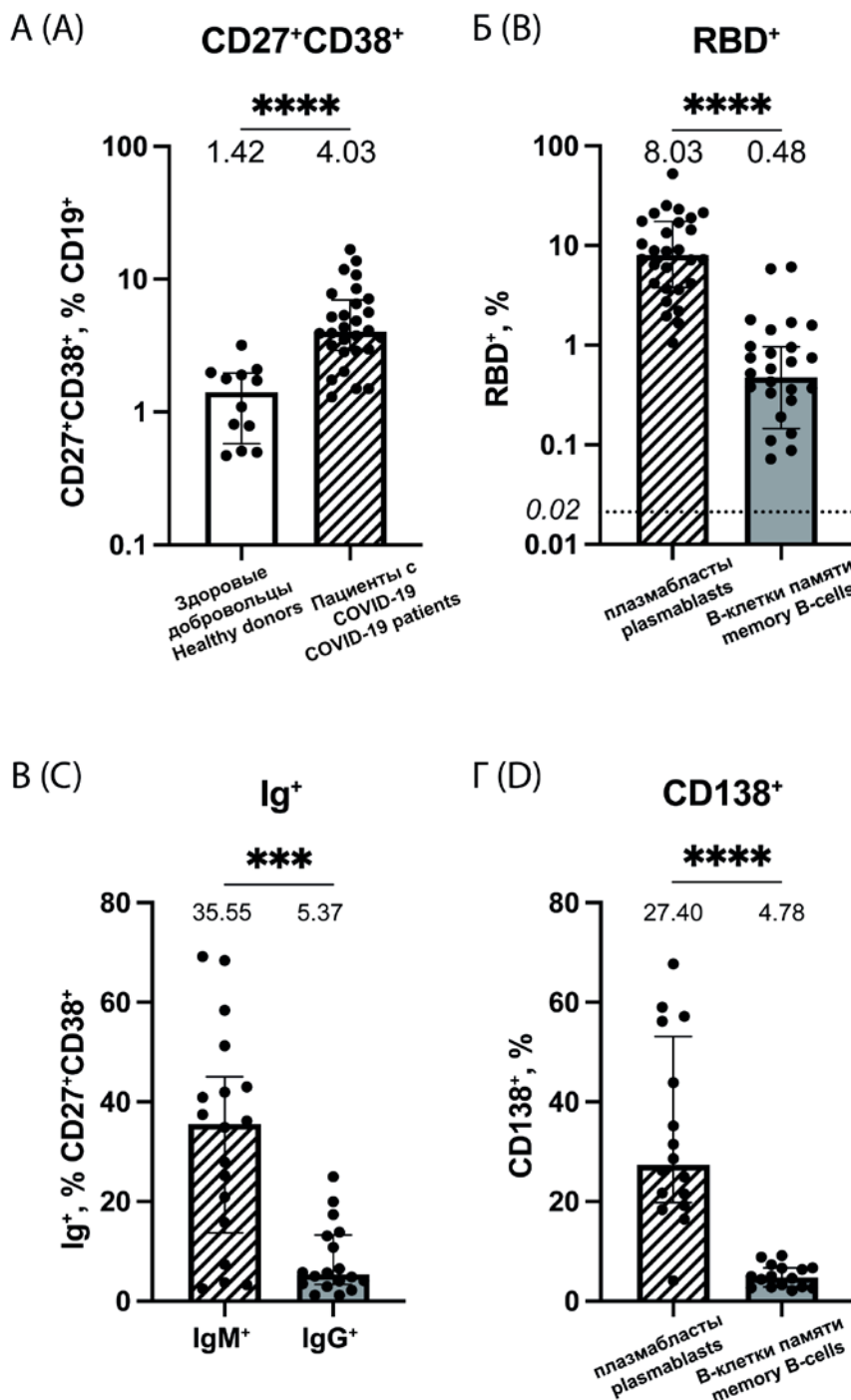
Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-25-00486).

РИСУНКИ

Рисунок 1. Показатели плазмабластного ответа у пациентов страдающих COVID-19.

Figure 1. Indicators of plasmablast response in patients with COVID-19.



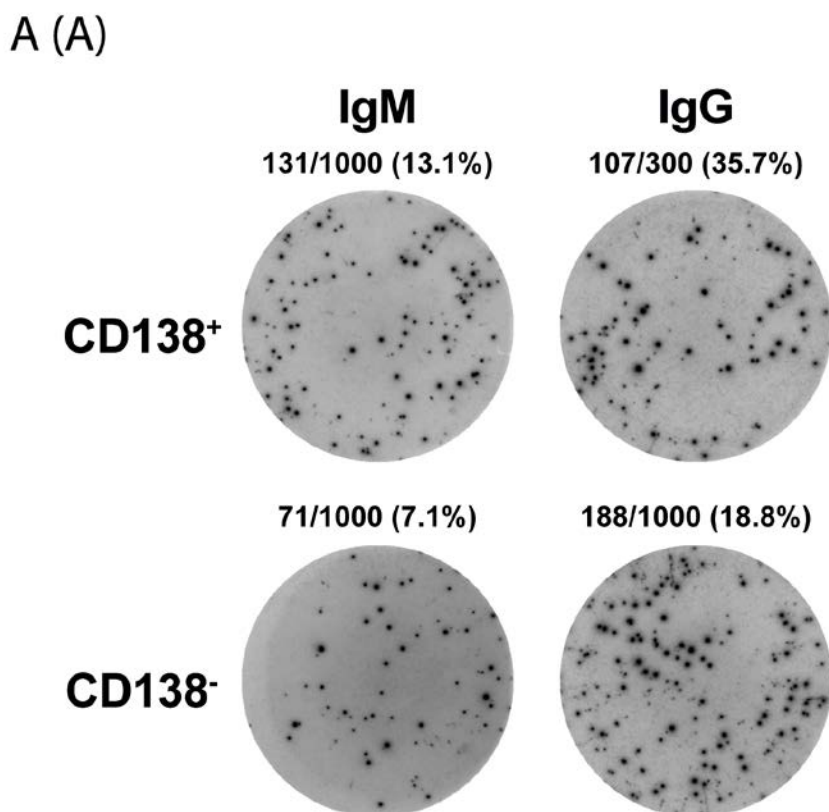
Примечание: А – Доля общих плазмабластов (CD27⁺CD38⁺) в популяции CD19⁺ клеток (справа). Для сравнения приведены данные из группы здоровых доноров (слева). Б – доля RBD-специфических В-клеток в популяциях плазмабластов (слева) и В-клеток памяти (справа). Пунктирной линией обозначен базовый уровень у здоровых доноров. В – доля клеток,

экспрессирующих поверхностный IgM (слева) или IgG (справа), в популяции плазмбластов. Г – доля CD138⁺ клеток в популяциях плазмбластов (слева) и В-клеток памяти (справа). Цифрами указаны медианы % позитивных клеток. *** – $p < 0,001$, **** – $p < 0,0001$.

Note: A – Proportion of total plasmablasts (CD27⁺CD38⁺) in the population of CD19⁺ cells. For comparison, data from a group of healthy donors are presented. B – proportion of RBD-specific B cells in the populations of plasmablasts (left) and memory B cells (right). The dotted line indicates the baseline level in healthy donors. C – proportion of cells expressing surface IgM (left) or IgG (right) in the plasmablast population. D – proportion of CD138⁺ cells in the populations of plasmablasts (left) and memory B cells (right). The numbers indicate the median % of positive cells. *** – $p < 0.001$, **** – $p < 0.0001$.

Рисунок 2. Репрезентативный ELISpot, показывающий клетки, секретирующие антитела IgM (слева) или IgG (справа), в популяциях CD138⁺ (верхний ряд) и CD138⁻ (нижний ряд) плазмбластов.

Figure 2. Representative ELISpot showing cells secreting IgM (left) or IgG antibodies (right) in the CD138⁺ (top row) and CD138⁻ (bottom row) plasmablast populations.



Примечание: Цифры, указанные над лунками, указывают количество положительных клеток, общее количество клеток в лунке и процент положительных клеток.

Note: The numbers above the wells indicate the number of positive cells, the total number of cells in the well, and the percentage of positive cells.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственным за переписку

Бязрова Мария Георгиевна – без степени, научный сотрудник лаборатории иммунохимии;

адрес: Каширское шоссе 24, 115522, Москва;

телефон: 8(495)177-77-65;

e-mail: mbyazrova@list.ru

Byazrova Maria Georgievna – without degree, research fellow;

address: Kashirskoye Shosse 24, 115522, Moscow;

telephone: 8(495)177-77-65;

e-mail: mbyazrova@list.ru

Блок 2. Информация об авторах

Сухова М. М. – без степени, младший научный сотрудник;

Sukhova M. M. – without degree, junior researcher;

Михайлов А. А. – без степени, лаборант;

Mikhailov A. A. – without degree, laboratory assistant;

Романова Альфира Фердинандовна – без степени, младший научный сотрудник;

Romanova A. F. – without degree, junior researcher;

Юсубалиева Г. М. – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник;

Yusubalieva G. M. – PhD, senior researcher;

Филатов А. В. – профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией;

Filatov A. V. – professor, head of the laboratory.

Блок 3. Метаданные статьи

ПЛАЗМАБЛАСТНЫЙ ОТВЕТ ПРИ ОСТРОЙ SARS-CoV-2 ИНФЕКЦИИ
PLASMABLAST RESPONSE DURING ACUTE SARS-CoV-2 INFECTION

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ПЛАЗМАБЛАСТНЫЙ ОТВЕТ
PLASMABLAST RESPONSE

Ключевые слова: наивные В-клетки, В-клетки памяти, плазматические клетки, плазмабласты, антителосекретирующие клетки, SARS-CoV-2.

Keywords: naive B cells, memory B cells, plasma cells, plasma blasts, antibody secreting cells, SARS-CoV-2.

Объединенный иммунологический форум 2024.

Количество страниц текста – 3,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 2.

29.03.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядков ый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Бязрова М.Г., Астахова Е.А., Спиридонова А.Б., Васильева Ю.В., Прилипов А.Г., Филатов А.В. Стимуляция В-лимфоцитов человека <i>in vitro</i> с помощью ИЛ- 21/CD40L и их характеристика. <i>Иммунология</i> , 2020, т. 41, no. 1, с. 18–27.	Byazrova M.G., Astakhova E.A., Spiridonova A.B., Vasileva Yu.V., Prilipov A.G., Filatov A.V. IL-21/CD40L stimulation of human B-lymphocytes in vitro and their characteristics. <i>Immunologiya</i> , 2020; Vol. 41, no. 6, pp. 18–27.	10.33029/0206-4952-2020-41- 6-00-00
2	Appanna R., Kg S., Xu M.H., Toh Y.X., Velumani S., Carbajo D., Lee C.Y., Zuest R., Balakrishnan T., Xu W., Lee B., Poidinger M., Zolezzi F., Leo Y.S., Thein T.L., Wang C.I., Fink K. Plasmablasts during acute Dengue infection represent a small subset of a broader virus-specific memory B cell	Appanna R., Kg S., Xu M.H., Toh Y.X., Velumani S., Carbajo D., Lee C.Y., Zuest R., Balakrishnan T., Xu W., Lee B., Poidinger M., Zolezzi F., Leo Y.S., Thein T.L., Wang C.I., Fink K. Plasmablasts during acute Dengue infection represent a small subset of a broader virus-specific memory B cell pool. <i>EBioMedicine</i> , 2016, Vol. 12, pp. 178-188.	10.1016/j.ebiom.2016.09.003

	pool. <i>EBioMedicine</i> , 2016, Vol. 12, pp. 178-188.		
3	Byazrova M., Yusubalieva G., Spiridonova A., Efimov G., Mazurov D., Baranov K., Baklaushev V., Filatov A. Pattern of circulating SARS-CoV-2-specific antibody-secreting and memory B-cell generation in patients with acute COVID-19. <i>Clin. Transl. Immunology</i> . 2021, Vol. 10, no. 2, p. e1245.	Byazrova M., Yusubalieva G., Spiridonova A., Efimov G., Mazurov D., Baranov K., Baklaushev V., Filatov A. Pattern of circulating SARS-CoV-2-specific antibody-secreting and memory B-cell generation in patients with acute COVID-19. <i>Clin. Transl. Immunology</i> . 2021, Vol. 10, no. 2, p. e1245.	10.1002/cti2.1245
4	Kuri-Cervantes L., Pampera M.B., Meng W., Rosenfeld A.M., Ittner C.A.G., Weisman A.R., Agyekum R.S., Mathew D., Baxter A.E., Vella L.A., Kuthuru O., Apostolidis S.A., Bershaw L., Dougherty J., Greenplate A.R., Pattekar A., Kim J., Han N., Gouma S., Weirick M.E., Arevalo C.P., Bolton M.J., Goodwin E.C., Anderson E.M., Hensley S.E., Jones T.K., Mangalmurti N.S., Luning Prak E.T.,	Kuri-Cervantes L., Pampera M.B., Meng W., Rosenfeld A.M., Ittner C.A.G., Weisman A.R., Agyekum R.S., Mathew D., Baxter A.E., Vella L.A., Kuthuru O., Apostolidis S.A., Bershaw L., Dougherty J., Greenplate A.R., Pattekar A., Kim J., Han N., Gouma S., Weirick M.E., Arevalo C.P., Bolton M.J., Goodwin E.C., Anderson E.M., Hensley S.E., Jones T.K., Mangalmurti N.S., Luning Prak E.T., Wherry E.J., Meyer N.J., Betts M.R.	10.1126/sciimmunol.abd7114

	Wherry E.J., Meyer N.J., Betts M.R. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. <i>Sci. Immunol.</i> , 2020, Vol. 5, no. 49, p. eabd7114.	Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. <i>Sci. Immunol.</i> , 2020, Vol. 5, no. 49, p. eabd7114.	
5	Papillion A.M., Kenderes K.J., Yates J.L., Winslow G.M. Early derivation of IgM memory cells and bone marrow plasmablasts. <i>PLoS One</i> , 2017, Vol. 12, no. 6, p. e0178853.	Papillion A.M., Kenderes K.J., Yates J.L., Winslow G.M. Early derivation of IgM memory cells and bone marrow plasmablasts. <i>PLoS One</i> , 2017, Vol. 12, no. 6, p. e0178853.	10.1371/journal.pone.0178853
6	Pracht K., Meinzing J., Daum P., Schulz S.R., Reimer D., Hauke M., Roth E., Mielenz D., Berek C., Côte-Real J., Jäck H.M., Schuh W. A new staining protocol for detection of murine antibody-secreting plasma cell subsets by flow cytometry. <i>Eur. J. Immunol.</i> , 2017, Vol. 47, no. 8, pp. 1389-1392.	Pracht K., Meinzing J., Daum P., Schulz S.R., Reimer D., Hauke M., Roth E., Mielenz D., Berek C., Côte-Real J., Jäck H.M., Schuh W. A new staining protocol for detection of murine antibody-secreting plasma cell subsets by flow cytometry. <i>Eur. J. Immunol.</i> , 2017, Vol. 47, no. 8, pp. 1389-1392.	10.1002/eji.201747019

7	Rodda L.B., Pepper M. Metabolic constraints on the B cell response to malaria. <i>Nat. Immunol.</i> , 2020, Vol. 21, no. 7, pp. 722-724.	Rodda L.B., Pepper M. Metabolic constraints on the B cell response to malaria. <i>Nat. Immunol.</i> , 2020, Vol. 21, no. 7, pp. 722-724.	10.1038/s41590-020-0718-1
8	Sanz I., Wei C., Jenks S.A., Cashman K.S., Tipton C., Woodruff M.C., Hom J., Lee F.E. Challenges and opportunities for consistent classification of human B cell and plasma cell populations. <i>Front. Immunol.</i> , 2019, Vol. 10, p. 2458.	Sanz I., Wei C., Jenks S.A., Cashman K.S., Tipton C., Woodruff M.C., Hom J., Lee F.E. Challenges and opportunities for consistent classification of human B cell and plasma cell populations. <i>Front. Immunol.</i> , 2019, Vol. 10, p. 2458.	10.3389/fimmu.2019.02458
9	Shlomchik M.J., Weisel F. B cell primary immune responses. <i>Immunol. Rev.</i> , 2019, Vol. 288, no. 1, pp. 5-9.	Shlomchik M.J., Weisel F. B cell primary immune responses. <i>Immunol. Rev.</i> , 2019, Vol. 288, no. 1, pp. 5-9.	10.1111/imr.12756
10	Woodruff M.C., Ramonell R.P., Nguyen D.C., Cashman K.S., Saini A.S., Haddad N.S., Ley A.M., Kyu S., Howell J.C., Ozturk T., Lee S., Suryadevara N., Case J.B., Bugrovsky R., Chen W., Estrada J., Morrison-Porter A., Derrico A., Anam F.A., Sharma M., Wu H.M., Le S.N., Jenks S.A., Tipton C.M., Staitieh B.,	Woodruff M.C., Ramonell R.P., Nguyen D.C., Cashman K.S., Saini A.S., Haddad N.S., Ley A.M., Kyu S., Howell J.C., Ozturk T., Lee S., Suryadevara N., Case J.B., Bugrovsky R., Chen W., Estrada J., Morrison-Porter A., Derrico A., Anam F.A., Sharma M., Wu H.M., Le S.N., Jenks S.A., Tipton C.M., Staitieh B.,	10.1038/s41590-020-00814-z

	S.A., Tipton C.M., Staitieh B., Daiss J.L., Ghosn E., Diamond M.S., Carnahan R.H., Crowe J.E. Jr, Hu W.T., Lee F.E., Sanz I. Extrafollicular B cell responses correlate with neutralizing antibodies and morbidity in COVID-19. <i>Nat. Immunol.</i> , 2020, Vol. 21, no. 12, pp. 1506-1516.	Daiss J.L., Ghosn E., Diamond M.S., Carnahan R.H., Crowe J.E. Jr, Hu W.T., Lee F.E., Sanz I. Extrafollicular B cell responses correlate with neutralizing antibodies and morbidity in COVID-19. <i>Nat. Immunol.</i> , 2020, Vol. 21, no. 12, pp. 1506-1516.	
--	--	--	--