

Сравнительный анализ химерных антигенных рецепторов на основе 10-го домена фибронектина

Научный руководитель – Кулемзин Сергей Викторович

Сизенцова Яна Геннадьевна

Студент (магистр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: sizensova.yans@gmail.com

Среди иммунотерапевтических подходов для лечения онкологических заболеваний одним из наиболее перспективных является иммунотерапия CAR Т-лимфоцитами. CAR (Chimeric antigen receptor - химерный антигенный рецептор) - искусственно созданная молекула, состоящая из внутриклеточной сигнальной части и внеклеточной антигенраспознающей части. Внеклеточная антигенраспознающая часть обычно представлена одноцепочечными переменными фрагментами иммуноглобулинов scFv (scFv, single chain variable fragment). Терапия CAR Т-клетками основана на ex vivo трансгенезе аутологических Т-лимфоцитов, с последующим их введением пациентам. Пролиферируя в организме длительное время, CAR Т-клетки находят и направленно уничтожают опухолевые клетки, экспонирующие распознаваемый CAR антиген. Однако эффективность CAR Т-клеточной терапии может сильно снижаться при появлении и селективном размножении раковых клеток, на которых отсутствует или снижена экспрессия целевого антигена. Одной из стратегий, позволяющих решить проблему опухолевого ускользания, является создание CAR с двойной специфичностью (TanCAR). Получение TanCAR на основе scFv-антител осложняется их большим размером и низкой стабильностью в составе полидоменных цепей. В качестве альтернативы scFv для антигенраспознающего домена CAR мы предложили использовать 10-й домена фибронектина III человека (Fn3), который лишен указанных недостатков.

Целью данного исследования является проверка гипотезы о замене scFv на Fn3 в составе CAR и о возможности получения биспецифических CAR на основе Fn3. На первом этапе работы были наработаны лентивирусные частицы с вирусными кассетами, кодирующими моноFn3 против IGF1R и VEGFR2. Клетки Т-лимфомы Jurkat были трансдуцированы полученными вирусами. В результате, были получены две Т-клеточные линии, стабильно экспрессирующие Fn3 CAR против IGF1R или VEGFR2. С помощью метода проточной цитометрии было показано, что через 4 часа после инкубации с соответствующими клетками-мишенями моноFn3 CAR Т-лимфоциты активировались. На втором этапе работы аналогичным образом были получены семь Т-клеточных линий, эктопически экспрессирующих биFn3 CAR против IGF1R и VEGFR2 в разных вариантах. Было установлено, что через 4 часа после инкубации с клетками-мишенями все биFn3 CAR Т-лимфоциты активировались и каждый Fn3 в составе биCAR активировался независимо. В результате проведенных экспериментов мы впервые показали возможность использования Fn3 в качестве антигенраспознающей части CAR и создания биспецифических Fn3 CAR.

Выражаю благодарность своему научному руководителю, канд. биол. наук, Кулемзину С.В.