УДК 571.27

У. П. Шишаева

Научный руководитель: к.м.н., старший преподаватель В. О. Омельченко

*Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»
г. Новосибирск, Российская Федерация*

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ХИМЕРНЫХ АНТИГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ JURKAT И ПЕРВИЧНЫХ Т-КЛЕТКАХ

Введение

Совершив прорыв в онкогематологиии, клеточная терапия с использованием химерных антигенных рецепторов (CAR) заняла место в центре внимания исследовательских работ и начала проникать в другие сферы медицины. Это повлекло за собой не только совершенствование структуры уже известных антигенраспознающих доменов, но и активный поиск новых как на основе клинически релевантных антител, так и с опорой на доступные библиотеки. Ключевым вопросом остается этап доклинической оценки вновь синтезированных конструкций. Для отсеивания нефункциональных вариантов CAR на начальных стадиях в качестве скрининговой модели используется линия иммортализованных Т-клеток Jurkat. Привлекательность данного метода обусловлена его дешевизной и удобством в работе, однако вопрос о достоверности, получаемых данных и их прогностической ценности, остается дискуссионным [1–4].

Цель

Демонстрация ограничений клеточной линии Jurkat в качестве доклинической модели при функциональной оценке новых CAR-конструкций в сравнении с первичными Т-лимфоцитами доноров.

Материал и методы исследования

В исследовании использовали четыре варианта CD19-специфичных CAR, а также контрольный нерелевантный рецептор к PSMA. Лентивирусные векторы нарабатывали с помощью клеток HEK293T после их модификации кальций-фосфатной трансфекцией. Полученным материалом трансдуцировали клетки линии Jurkat и активированные первичные Т-лимфоциты, выделенные из периферической крови трех условно здоровых доноров (ж29, м28, м42). Функциональность CAR Т-клеток оценивали с помощью стандартного протокола тестов. В модели на основе линии Jurkat измеряли уровень активации (по экспрессии маркера CD69 методом проточной цитометрии) после стимуляции клетками-мишенями. Для первичных CAR Т-лимфоцитов, помимо активации, анализировали продукцию цитокинов (ИЛ-2, ИФН-γ), а также моментальную и повторяющуюся цитотоксичность. В качестве клеток-мишеней использовали линии Nalm6 (CD19+, В-клеточный острый лимфобластный лейкоз), K562 и K562-CD19.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе экспериментов на клеточной модели Jurkat не удалось зафиксировать различий между тестируемыми CAR-конструкциями: все варианты показали значимую активацию при коинкубации с CD19-позитивными мишенями по сравнению с нерелевантным CAR. Платформа первичных донорских Т-клеток, в свою очередь, уже на этапе активационных тестов смогла продемонстрировать специфические различия, намекающие на ограничения применения конструкций на моделях in vivo и в дальнейших клинических исследованиях. Несмо-

тря на то, что все донорские CAR T-продукты продемонстрировали выраженную цитотоксичность в отношении Nalm6, а также повышенную секрецию ИЛ-2 и ИФН-γ по сравнению с отрицательным контролем (aPSMA-CAR), полученные результаты также подтверждают наличие минорных различий в функциональных характеристиках между выбранными рецепторами, которые невозможно оценить при скрининге на клеточной линии Jurkat.

Выводы

Успех такого сложного и многоступенчатого процесса как разработка и внедрение новых CAR-конструкций зависит от большого количества этапов, где первым из ключевых является выбор релевантной оценочной платформы. В настоящее время широко распространенный подход с применением линии Jurkat для первичного скрининга обладает низкой разрешающей способностью, связанной с рядом существенных ограничений модели. Клетки этой линии не позволяют оценить ключевые эффекторные функции (цитотоксическую активность и секрецию ИФН-γ), ограничивая возможности исследователя лишь констатацией факта способности CAR активировать Т-клетку. Кроме того, получаемые при этом результаты обладают невысокой прогностической ценностью для последующих экспериментов in vivo. Напротив, использование первичных Т-клеток здоровых доноров предоставляет более полную картину, позволяя выявить различия в функциональной активности и потенциальном профиле безопасности новых CAR-конструкций.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. A High-Throughput Method for Characterizing Novel Chimeric Antigen Receptors in Jurkat Cells / D. Bloemberg, T. Nguyen, S. MacLean [et al.]. // Molecular Therapy: Methods & Clinical Development. – 2020. – Vol. 16. – P. 238–254.

2. Phosphoproteomic analysis of successive Jurkat CD19–CAR generations reveals TCRζ-driven signalling / V. Callahan, J. Hawksworth, E. McNaughton [et al.]. // Cellular Signalling. – 2026. – Vol. 138. – P. 112–204.

3. Using the Jurkat reporter T cell line for evaluating the functionality of novel chimeric antigen receptors / F. Jahan, F. Ghaedi, F. Rezaei // Frontiers in Molecular Medicine. – 2023. – Vol. 3. – P. 107–384.

4. A Quantitative Approach to Potency Testing for Chimeric Antigen Receptor-Encoding Lentiviral Vectors and Autologous CAR-T Cell Products, Using Flow Cytometry / J. J. Mata-Molanes, L. Alserawan, C. España [et al.]. // Pharmaceutics. – 2025. – Vol. 17, № 3. – P. 303.

УДК 616-006-07:537.533.35

А. В. Якимович

Научный руководитель: преподаватель А. А. Шихалова

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

ДИАГНОСТИКА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПО МЕХАНИЧЕСКИМ СВОЙСТВАМ КЛЕТОК (ОБЗОР ВОЗМОЖНОСТЕЙ АСМ)

Введение

Благодаря развитию атомно-силовой микроскопии (АСМ) как метода локальных измерений, стало возможным определение механических свойств живых клеток как индикатора прогрессирования рака. Одним из важнейших качеств атомно-силовой микроскопии является наноскопический характер, который позволяет количественно оценить локальные изменения. С помощью АСМ результаты измерений различных видов рака показывают, что для большинства видов рака отдельные клетки характеризуются более низким кажущимся модулем Юнга, что говорит о более высокой деформируемости клеток. Измеренное значе-