

Получение и характеристика рекомбинантных МНС I тетрамеров, содержащих вирусные пептиды, для изучения Т-клеточного ответа на герпесвирусы

Ефимова Полина Родионовна¹, Вдовин Александр Сергеевич², Филькин Сергей Юрьевич³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия

E-mail: polina.efimova.epr@gmail.com

Активация оппортунистических вирусных инфекций (цитомегаловирус (CMV), вирус Эпштейна — Барр (EBV) и др.) - распространенное осложнение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток крови. В результате предтрансплантационного кондиционирования и иммуносупрессии, проводимой для профилактики реакции «трансплантат против хозяина», происходит значительное ослабление Т-клеточного звена иммунитета, обеспечивающего защиту от вирусных инфекций. Дополнительную опасность представляет то, что CMV подавляет не до конца восстановившийся гемопоэз. Противовирусная терапия далеко не всегда оказывается эффективной. В качестве экспериментального терапевтического подхода применяется адаптивный перенос донорских вирус-специфичных цитотоксических Т-клеток (CTL).

Одним из наиболее перспективных подходов является *ex vivo* селекция специфичных Т-клеточных клонов из донорской крови и их дальнейшая инфузия пациентам.

В настоящей работе были сконструированы несколько рекомбинантных молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (МНС I) в комплексе с различными CMV и EBV пептидами. Для этого штамм-продуцент *E.coli* был трансформирован плазмидами, содержащими гены тяжелой и легкой цепей МНС I, затем была проведена гетерологичная экспрессия, выделение и очистка рекомбинантных молекул, после чего в присутствии специфичного к данной аллели МНС вирусного пептида был сформирован комплекс пептид-МНС. Полученные комплексы были мечены биотином с использованием полученной в ходе данной работы рекомбинантной биотин-лигазы. Дальнейшая мультимеризация комплексов проводилась за счет связывания с флуоресцентно-меченым стрептавидином.

Полученные таким образом тетрамеры использовались для выявления вирус-специфичных CD8+ Т-клеток во фракции периферических мононуклеарных клеток крови (PBMC) путем окрашивания и детекции методом проточной цитофлуорометрии. PBMC выделялись из крови больных после трансплантации стволовых клеток крови и здоровых доноров, имеющих соответствующую аллель МНС.

Полученные мультимеры позволяют эффективно выявлять вирус-специфичные CD8+ Т-клетки в системной циркуляции. Они являются удобным инструментом для оценки состояния и мониторинга динамики клеточного звена противовирусного иммунитета у пациентов, а также отбора доноров для адаптивной Т-клеточной терапии.

В дальнейшем с использованием полученных тетрамеров планируется отбор доноров для адаптивного переноса вирус-специфичных лимфоцитов (для *ex vivo* селекции вирус-специфичных Т-клеточных будут использоваться тетрамеры, продуцированные в эукариотической системе), а также анализ динамики пролиферации перенесенных донорских клеток у пациентов.

Слова благодарности

Я хотела бы выразить слова благодарности моему научному руководителю Ефимову Григорию Александровичу. Спасибо за чуткое руководство и вдохновляющую атмосферу!