

**Исследование противоопухолевой активности НК клеток человека с  
оверэкспрессией белка Vav1**

**Научный руководитель – Кулемзин Сергей Викторович**

**Смагина Анна Сергеевна**

*Студент (специалист)*

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,  
Новосибирск, Россия  
*E-mail: smagina\_as@mail.ru*

НК клетки человека в настоящий момент представляют интерес как основа для клеточной иммунотерапии онкологических заболеваний. Это связано со способностью естественных киллеров распознавать и убивать клетки, которые могут представлять опасность для организма-хозяина (опухолевые, чужеродные и вирус-инфицированные) [1]. При этом эффекторная функция НК клеток регулируется балансом сигналов от ингибирующих и активирующих рецепторов на их поверхности [2]. Нередко раковым клеткам удаётся ускользнуть от иммунного ответа за счёт избыточной плотности лигандов ингибирующих рецепторов НК лимфоцитов или снижения количества проактивационных лигандов на своей поверхности. Это заметно ограничивает терапевтический эффект НК-клеточных препаратов, особенно аутологичных.

Для того чтобы достичь более эффективного уничтожения злокачественных клеток НК лимфоцитами, баланс сигналов необходимо сдвинуть в сторону активации. Это возможно за счёт усиления проактивационных или ослабления ингибирующих сигналов.

В данной работе мы пошли по пути усиления активационных сигналов за счёт оверэкспрессии белка Vav1. Известно, что данный белок является важным элементом активационного сигнального каскада, одним из ключевых регуляторов цитотоксической активности НК клеток [3, 4].

Чтобы добиться гиперэкспрессии Vav1 в НК-клетках мы решили интегрировать в их геном кассету с кДНК гена Vav1 под контролем сильного конститутивного промотора EF1alpha. Для этого мы клонировали кДНК гена Vav1 в лентивирусный вектор, затем, с применением лентивирусной конструкции, были наработаны псевдовиральные частицы и получена линия НК клеток человека YT с конститутивной гиперэкспрессией Vav1 (далее YT-Vav1).

Методом Вестерн-блота показано, что клетки полученной линии экспрессируют на порядок больше белка Vav1, по сравнению с YT дикого типа и другими НК-клеточными линиями (КНУГ-1, NK92).

Методом RTCA (платформа iCelligence) было обнаружено, что YT-Vav1 клетки проявляют более выраженную цитотоксичность в отношении раковых клеток в опыте *in vitro* по сравнению с YT клетками дикого типа и линией КНУГ-1. Более того, модифицированные YT клетки в среде без добавления цитокинов не уступали в цитотоксичности первичным НК-клеткам, стимулированным ИЛ-2 и ИЛ-15.

Таким образом, оверэкспрессия Vav1 в результате генетической модификации усиливает противоопухолевую активность линейных НК-клеток. Потенциально это может использоваться при создании эффективных клеточных препаратов для лечения онкологической патологии.

**Источники и литература**

- 1) Guillerey C, Huntington ND, Smyth MJ. Targeting natural killer cells in cancer immunotherapy // *Nat. Immunol.* Vol. 17. 2016. P.1025–1036.
- 2) Rezvani K. et al. Engineering Natural Killer Cells for Cancer Immunotherapy // *Mol. Ther.* Vol. 25. 2017. P. 1769–1781
- 3) Cella M. et al. Differential requirements for Vav proteins in DAP10- and ITAM-mediated NK cell cytotoxicity // *J. Exp. Med.* Vol. 200. 2004. P. 817–823
- 4) Graham D.B. et al. Vav1 controls DAP10-mediated natural cytotoxicity by regulating actin and microtubule dynamics // *J Immunol.* Vol. 177. 2006. P. 2349–2355