

**НК-клеточные линии с нокаутом по гену *Cish* как перспективные  
противоопухолевые агенты**

**Научный руководитель – Горчаков Андрей Александрович**

**Князева Анна Анатольевна**

*Студент (специалист)*

Новосибирский государственный университет, Медицинский факультет, Новосибирск,  
Россия

*E-mail: annasuvorina18@gmail.com*

Разработка эффективных стратегий уничтожения опухолевых клеток является насущной задачей современной медицины. Одна из таких стратегий основана на использовании собственных иммунных клеток человека, таких как Т-лимфоциты и НК-клетки.

Натуральные киллеры (далее НК-клетки) являются важнейшими компонентами врожденного иммунитета. Их основной функцией является уничтожение измененных клеток, вследствие заражения вирусом или злокачественной трансформации.[1]

Одним из важнейших регуляторов цитотоксической активности НК-клеток является цитокин интерлейкин-15 (далее IL-15), его связывание с НК-клетками запускает каскад реакций, направленных на пролиферацию и синтез цитотоксических агентов. У мышей белок CIS является важным регулятором НК-клеточного ответа, этот белок по механизму обратной связи лимитирует цитотоксический ответ НК-клеток. При нокаутировании гена CISH, кодирующего этот белок, у мышей наблюдается более выраженная и продолжительная IL-15 зависимая активация и повышение цитотоксичности НК-клеток, а также резистентность животных к появлению метастазов. Таким образом, блокада CIS может являться основой для создания новых средств адоптивной клеточной иммунотерапии у человека.[2]

Целью данной работы является получение человеческих НК-клеточных линий с высоким цитотоксическим потенциалом за счет нокаутирования гена CISH.

Для выполнения работы были выбраны две НК-клеточные линии - НК-92 и YТ. Редактирование генома клеток линий YТ и НК-92 осуществлялось с использованием системы CRISPR/Cas9. Используя количественный ПЦР, было отобрано 70 кандидатных клонов линии YТ и 15 клонов линии НК-92. Их молекулярный анализ показал, что для всех исследованных моноклонов линии НК-92, в которой, как оказалось, локус CISH представлен тремя копиями, остается функциональным как минимум один аллель (отсутствие модификации или небольшие делеции без сдвига рамки считывания), что может указывать на то, что CISH является жизненно важным белком для этой линии клеток. В настоящее время продолжается поиск клонов линий YТ и НК-92 с нокаутом по гену CISH. Полученные линии будут в дальнейшем проверены на цитотоксичность и усиление противоопухолевой активности. Таким образом, CISH-негативные НК-клеточные линии послужат моделью для разработки универсальных противораковых агентов, а также платформой для идентификации других позитивных и негативных регуляторов НК-клеточной активности у человека.

**Источники и литература**

- 1) Cheng, M., Chen, Y., ... Tian, Z., NK cell-based immunotherapy for malignant diseases // Cellular and Molecular Immunology. Vol. 6(1). 2013. P. 56–66.

- 2) Delconte, R.B., Kolesnik, T.B., ... Huntington, N.D., CIS is a potent checkpoint in NK cell-mediated tumor immunity // Nature Immunology. Vol. 17. 2016. P. 816–824.