

Современные подходы к иммунотерапии рака: выявление антигенспецифичных TCR с помощью секвенирования единичных клеток

Алрхмун С.^{1,2*}, Фишер М.С.¹, Лопатникова Ю.А.¹, Перик-Заводская О.Ю.¹,
Волынец М.О.¹, Перик-Заводский Р.Ю.¹, Шевченко Ю.А.¹, Назаров К.В.¹,
Филиппова Ю.Г.¹, Алсаллум А.¹, Курилин В.В.¹, Силков А.Н.¹, Сенников С.В.^{1,3}

¹ Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

² Факультет естественных наук, Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт медицины и медицинских технологий, кафедра иммунологии, Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

* saleh.alrhouni@gmail.com

Ключевые слова: TCR-Т-клеточная терапия; секвенирование единичных клеток; TCRscape

Мотивация и цель: Т-клеточная терапия (TCR-Т), как одна из перспективных форм адаптивной клеточной терапии, является передовой стратегией борьбы с солидными опухолями. Однако текущие методы разработки TCR-Т позволяют получить лишь ограниченное количество кандидатов TCR, что не позволяет раскрыть весь возможный репертуар антигенспецифичных TCR и затрудняет выделение наиболее эффективных рецепторов. Это ограничение подчеркивает потребность в усовершенствовании подходов к разработке TCR-Т для применения в TCR-Т-клеточной терапии.

Методы и алгоритмы: Дендритные клетки условно здоровых доноров нагружали иммуногенными пептидами для получения антигенспецифичных CD8+ Т-лимфоцитов из периферической крови, после чего репертуар полноразмерных TCR анализировали с помощью секвенирования мРНК единичных клеток. Этот анализ включал оценку доминантности клонотипов, транскриптома и вероятности связывания с комплексом пептид/МНС с использованием инструмента TCRscape, разработанного в нашей лаборатории, и ERGO-II. Завершили анализ с группировкой клеток через HDBSCAN и выделением доминирующих клонотипов на основе прогнозируемых вероятностей связывания и числа клеток на клонотип.

Результаты: Разработанный протокол демонстрирует значительное повышение количества антигенспецифичных Т-клеток, увеличивая их популяцию более чем в 200 раз. Благодаря этому подходу удалось успешно идентифицировать свыше 100 уникальных клонотипов антигенспецифичных TCR. Полученные в результате TCR-Т-клетки проявляют высокую цитотоксическую активность и избирательность в отношении целевого антигена.

Заключение: Нами был разработан комплексный подход для обнаружения и анализа полного репертуара природных антигенспецифичных TCR, что позволяет определить наиболее эффективные TCR-кандидаты для создания TCR-Т-клеточной терапии. Этот протокол также можно адаптировать к разным антигенам и вариантам МНС, делая его универсальным инструментом.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 21-65-00004.