

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии

Аннотация к дипломной работе

ЛЕБЕДЕВА
Юлия Владиславовна

**ОПТИМИЗАЦИЯ СТРУКТУРЫ CAR-РЕЦЕПТОРА ДЛЯ
ПОЛУЧЕНИЯ CAR-EK КЛЕТОК**

Научный руководитель:
Зав. лабораторией
иммунологических
исследований РНПЦ Детской
онкологии, гематологии и
иммунологии
Вашкевич Е.П.
кандидат биологических наук,
доцент Е.А.Николайчик

Минск, 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 44 страниц, 14 рисунков, 8 таблиц, 45 источников.

Ключевые слова: рак, химерный антигенный рецептор, CAR-EK клетки, мембранный IL-15, рекомбинантная плазмида, мишень CD19.

Объект исследования: генетический вектор, содержащий последовательности мембранного IL-15 и химерного антигенного рецептора против мишени CD19.

Цель: создание рекомбинантной плазмиды на основе вектора *pULTRA*, содержащей последовательности, кодирующие *antiCD19* химерный антигенный рецептор (CAR) и мембранный IL-15 (*mIL15*).

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), генетические (трансформация), молекулярно-генетические (выделение плазмидной ДНК, ПЦР, рестрикционный анализ, клонирование, секвенирование), методы биоинформатики, связанные с дизайном праймеров и конечной конструкции.

Результаты работы: в составе вектора *pULTRA* была впервые создана бицистронная экспрессионная кассета, содержащая последовательность химерного антигенного рецептора против мишени CD19, а также последовательность мембраносвязанного IL-15. Последовательности *antiCD19* и *mIL15* отделены друг от друга последовательностью пептида T2A, что позволит им при транскрипции в единую мРНК транслироваться в отдельные пептидные молекулы. Правильность сборки конструкции была подтверждена с помощью секвенирования, плазмиду выделили и измерили ее концентрацию.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 44 старонкі, 14 малюнкаў, 8 табліц, 45 крыніц.

Ключавыя словы: рак, хімерны антыгенны рэцэптар, CAR-EK клеткі, мембранны IL-15, рэкамбінантная плазмідна, мішэнь CD19.

Аб'ект даследавання: генетычны вектар, які змяшчае паслядоўнасці мембраннага IL-15 і хімернага антыгеннага рэцэптара супраць мішэні CD19.

Мэта даследавання: стварэнне рэкамбінантнай плазміды на аснове вектара *pULTRA*, якая змяшчае паслядоўнасці, кадавальныя *antiCD19* хімерны антыгенны рэцэптар (CAR) і мембранны IL-15 (*mIL15*).

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), генетычныя (трансфармацыя), малекулярна-генетычныя (выдзяленне плазміднай ДНК, ПЦР, рэстрыкцыйны аналіз, кланаванне, секвеніраванне), метады біяінфарматыкі, звязаныя з дызайнам праймераў і канчатковай канструкцыі.

Вынікі працы: у складзе вектара *pULTRA* была ўпершыню створана біцыстронная экспрэсійная касета, якая змяшчае паслядоўнасць хімернага антыгеннага рэцэптара супраць мішэні CD19, а таксама паслядоўнасць мембраназвязнага IL-15. Паслядоўнасці *antiCD19* і *mIL15* адзеленыя адзін ад аднаго паслядоўнасцю пептыда T2A, што дазволіць ім пры транскрыпцыі ў адзіную мРНК транслявацца ў асобныя пептыдная малекулы. Правільнасць зборкі канструкцыі была пацверджана з дапамогай секвеніравання, плазміды выдзелілі і вымералі яе канцэнтрацыю.

ABSTRACT

Diploma project 44 pages, 14 figures, 8 tables, 45 sources.

Keywords: cancer, chimeric antigen receptor, CAR-NK cells, membrane IL-15, recombinant plasmid, CD19 target.

Object of study: genetic vector containing sequences of membrane IL-15 and chimeric antigen receptor against CD19 target.

The aim of the research: to create a recombinant plasmid based on the *pULTRA* vector containing sequences encoding *antiCD19* chimeric antigen receptor (CAR) and membrane IL-15 (*mIL15*).

Research methods: microbiological (microorganism cultivation), genetic (transformation), molecular-genetic (plasmid DNA isolation, PCR, restriction analysis, cloning, sequencing), bioinformatics methods related to the design of primers and final construct.

Results: A bicistronic expression cassette containing a chimeric antigenic receptor sequence against target CD19 as well as a sequence of membrane-bound IL-15 was created for the first time as part of the *pULTRA* vector. The *antiCD19* and *mIL15* sequences are separated from each other by a T2A peptide sequence, which will allow them to be translated into separate peptide molecules when transcribed into a single mRNA. The correct assembly of the construct was confirmed by sequencing, the plasmid was isolated and its concentration was measured.