Кузнецова Мария Сергеевна Фенотипические и функциональные характеристики in vitro- генерированных цитотоксических Т-лимфоцитов, специфичных к эпитопам антигена HER2/neu

ОГЛАВЛЕНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

кандидат наук Кузнецова Мария Сергеевна

ВВЕДЕНИЕ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Потенциал иммунной системы в борьбе с опухолью

1.2. Роль цитотоксических Т-лимфоцитов в противоопухолевом иммунном ответе

1.3. Дифференцировка и созревание цитотоксических Т-лимфоцитов

1.3.1. Наивные Т-лимфоциты

1.3.2. Субпопуляции цитотоксических Т-лимфоцитов периферической крови

1.3.3. Дополнительные субпопуляции Т-клеток памяти

1.4. Методы исследования популяций Т-клеток памяти

1.4.1. Идентификация антиген-специфичных Т-клеток с помощью МНС-мультимеров

1.5. Дендритные клетки

1.5.1. Иммунобиология дендритных клеток

1.5.2. Получение дендритных клеток in vitro

1.5.3. Методы ex vivo нагрузки дендритных клеток опухолевыми антигенами

1.6. Опухоль-ассоциированные антигены

1.6.1. Классификация опухоль-ассоциированных антигенов

1.6.2. Опухоль-ассоциированный антиген HER2/neu

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Среды и реагенты

2.2. ДНК-конструкции

2.3. Объект исследования

2.4. Генотипирование для выявления аллеля HLA-A\*02

2.5. Выделение мононуклеарных клеток из цельной периферической крови

2.6. Получение прилипающей и неприлипающей фракций мононуклеарных клеток. Получение незрелых дендритных клеток из моноцитов прилипающей фракции МНК

2.6.1. Оптимизация метода выделения прилипающей фракции МНК

2.7. Трансфекция незрелых дендритных клеток. Стимуляция созревания трансфицированных

дендритных клеток

2.8. Фенотипирование дендритных клеток и оценка их функциональной активности

2.9. Получение активированных НЕЯ2-специфичных Т-лимфоцитов

2.10. Окрашивание стрептамерами и идентификация ИБЕ^-специфичных Т-лимфоцитов

2.11. Фенотипирование цитотоксических Т-лимфоцитов

2.12. Изоляция HER2-специфичных Т-лимфоцитов

2.13. Стимуляция пролиферации HER2-специфичных Т-лимфоцитов и оценка эффективности магнитной сортировки

2.14. Оценка экспрессии гена ErbB2 в клетках опухолевой линии MCF-7

2.15. Анализ цитотоксичности НБК2-специфичных клеток

2.16. Определение концентрации ^N-7 в кондиционных средах

2.17. Методы статистической обработки

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Оценка содержания НЕК2-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов в периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с НЕЯ2-позитивным раком молочной железы

3.2. Разработка протокола получения НЕК2-специфичных Т-лимфоцитов

3.2.1. Оптимизация метода выделения прилипающей фракции мононуклеарных клеток

3.2.2. Оценка эффективности доставки ДНК-конструкции в дендритные клетки методами магнитной трансфекции и нуклеофекции

3.2.3. Оценка фенотипа и функциональной активности полученных дендритных клеток

3.2.4. Оценка содержания НЕЯ2-специфичных Т-лимфоцитов в совместной культуре мононуклеарных клеток и нагруженных антигеном дендритных клеток

3.2.5. Получение популяций цитотоксических Т-лимфоцитов, специфичных к эпитопам Е75 и Е88 антигена HER2/neu

3.2.6. Обогащение культуры отсортированных НЕЯ2-специфичных Т-лимфоцитов

3.2.7. Подбор клеток-мишеней для анализа специфического противоопухолевого клеточного иммунного ответа

3.3. Цитотоксические свойства HER2-специфичных Т-лимфоцитов

3.3.1. Анализ цитотоксичности HER2-специфичных Т-лимфоцитов против клеток линии MCF-7

3.3.2. Анализ продукции ^N-7

3.4. Фенотипирование цитотоксических Т-лимфоцитов, специфичных к эпитопам HER2/neu

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ВЫВОДЫ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

ВВЕДЕНИЕ