

Abstract (CZ)

Chimérické antigenní receptory (CAR) jsou syntetické molekuly kombinující antigenní specifitu monoklonální protilátky se signalizací běžného T-buněčného receptoru. Těmito receptory jsou geneticky modifikovány lidské T-lymfocyty a ty jsou tak vyzbrojeny konkrétní antigenní specifitou. Tato technologie je průlomovou v oboru nádorové imunoterapie. Adoptivní transfer geneticky upravených T-lymfocytů byl doposud nejúspěšnější formou léčby hematologických malignit. To z toho důvodu, že nádory krve mají difúzní charakter, na rozdíl od pevných nádorů, které mají charakteristické imunosupresivní mikroprostředí. CAR technologie je v současné době nejintenzivněji studována ve Spojených státech, kde probíhají desítky klinických studií. Přesto, že se tato terapeutická metoda jeví jako velice perspektivní, v České republice se jí věnuje velmi omezený počet lidí a probíhající klinické studie neexistují.

Ve spolupráci s MUDr. Pavlem Otáhalem, který se tímto tématem zabývá a má velký zájem dostat tuto terapeutickou metodu do české klinické praxe, jsme připravili několik receptorů, jejichž samostatnou funkčnost jsme ověřili dvěma nezávislými metodami. Stabilní CAR-exprimující T-buněčné linie rozpoznávající B-buněčné antigenům CD19 a CD20 byly připraveny za pomoci lentivirů. T-buněčné linie exprimující jednotlivé konstrukty dokázaly rozeznat B-buněčné antigeny a došlo k jejich aktivaci bezprostředně po ko-kultivaci s cílovými Raji buňkami. Aktivace se projevila významným zvýšením exprese aktivační molekuly CD69. Funkčnost konstruktů jsme potvrdili dalším alternativním přístupem, a to prostřednictvím jejich exprese v myší thymomové buněčné linii obsahující NFAT-GFP reportér. Příprava superCAR konstruktů, jehož využití by zajistilo simultánní expresi CD19 a CD20 specifických receptorů v T-lymfocytech je zatím ve fázi přípravy.

V rámci mé diplomové práce jsem si osvojila základní metodiku pro přípravu chimérických antigenních receptorů a byla připravena půda pro budoucí *in vitro* a *in vivo* experimenty. V budoucnu bychom rádi dokončili přípravu superCAR konstruktů a prokázali, že jeho využití znemožní únik nádorových klonů, u kterých došlo ke ztrátě jednoho z B-buněčných povrchových antigenů. CAR technologie je perspektivní nádorovou imunoterapeutickou metodou, které by měl být v České republice věnován větší prostor.

Klíčová slova: léčba leukemie, T lymfocyty, TCR, chimerický antigenní receptor, B-lymfocyty, CD19, CD20, kostimulace, imunoterapie