

## Сенсорные клеточные линии как инструмент для оценки функциональной активности CD40L

Научный руководитель – Филатов Александр Васильевич

Гусева П.П.<sup>1</sup>, Михайлов А.А.<sup>2</sup>, Сухова М.М.<sup>3</sup>, Бязрова М.Г.<sup>4</sup>, Цой Т.Д.<sup>5</sup>

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: guseva-2004@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: artem.mihaylov.2001@mail.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: mary.sukhova13@gmail.com*; 4 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: manhva@yandex.ru*; 5 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: tatjanatsoi@yandex.ru*

CD40-лиганд (CD40L) представляет собой мембранный белок, который играет ключевую роль в регуляции В-клеточного иммунного ответа. CD40L экспрессируется преимущественно на активированных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитах, но также может быть представлен в растворимой форме (sCD40L) [2]. Повышение концентрации sCD40L в сыворотке сопровождается такими заболеваниями, как ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, болезнь Крона, а также некоторые заболевания, связанные с системным воспалением [1,2]. Существуют разные подходы, используемые для количественного определения CD40L, но они не позволяют регистрировать функционально активную форму CD40L. Для решения данной проблемы нами были получены сенсорные клеточные линии, которые могут быть использованы для определения функционально активных форм CD40L.

В клетки НЕК293 с помощью лентивирусных вирус-подобных частиц (VLP) была вставлена конструкция гена люциферазы под промотором, активирующимся транскрипционным фактором NF- $\kappa$ B. Затем полученные трансдуценты повторно инфицировали VLP, содержащими ген CD40. Через несколько дней клетки с высокой экспрессией поверхностного рецептора CD40 сортировали с помощью проточного сортировщика клеток. Нами были получены две клеточные линии с разной экспрессией CD40. Линия H40hi обладает высокой экспрессией CD40, линия H40med – более низкой экспрессией CD40.

Тестирование линий H40hi и H40med проводили с полученными нами ранее препаратами рекомбинантного CD40L, получившими названия 40LIF и 40LA. Первая конструкция (40LIF) состоит из Fc-фрагмента человеческого IgG, изолейцинового зиппера и рецепторного домена CD40L. Для создания другой конструкции (40LA) использовали последовательное слияние мышинового адипонектина и рецепторного домена CD40L. В предыдущих экспериментах нами было показано, что препарат 40LA в большей степени мультимеризован, чем препарат LIF, что делает их привлекательными объектами для тестирования полученных сенсорных линий. Препараты рекомбинантных белков 40LA и 40LIF добавляли к полученным клеточным линиям в разных концентрациях и инкубировали в течение суток, после этого активацию клеток тестировали с помощью люциферазного теста. Сравнение функциональной активности 40LA и 40LIF в равных дозах показало, что препарат, содержащий большее количество мультимерных форм, вызывал более сильную активацию сенсорных клеток. Клеточная линия H40hi была более чувствительна к обоим препаратам и позволила детектировать сигнал до 10 нг/мл. Следующим этапом нашей работы станет создание сенсорных клеточных линий, экспрессирующих CD40, с флуоресцентным репортером для определения функционально активного CD40L в проточной цитометрии.

### Источники и литература

- 1) Cognasse F. et al. Platelets as key factors in inflammation: focus on CD40L/CD40 // *Frontiers in immunology*. – 2022. – Т. 13. – С. 825892.
- 2) Nofal R. et al. Investigating soluble CD40 ligand as a prognostic factor among acute coronary syndromes patients: A multi-center prospective case-control study // *Medicine*. – 2024. – Т. 103. – №. 39. – С. e39891.