

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ мРНК И ПЛАЗМИДНЫХ ВЕКТОРОВ ПРИ ТРАНСФЕКЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Киселева Я.Ю., Шишкин А.М., Кулинич Т.М., Боженко В.К.

ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Адоптивная CAR-T-клеточная терапия – инновационный подход в онкологии, который использует полученные от пациента генетически модифицированные Т-клетки в качестве терапевтического инструмента для борьбы с раком. Использование ДНК-плазмид и транскрибируемой *in vitro* (IVT) мРНК в качестве векторов для получения CAR-T-лимфоцитов имеет ряд преимуществ по сравнению с вирусными векторами, такими как: отсутствие модификации генома клеток, высокая эффективность трансфекции, быстрота и потенциально более низкая стоимость получения конечного продукта. В работе исследована эффективность трансфекции (в терминах жизнеспособности клеток и экспрессии целевого белка) мононуклеарных клеток периферической крови и клеток перевиваемой культуры (эмбриональные клетки почки человека, HEK293) методом электропорации, используя модельные ДНК-плазмиду (pmaxGFP) и IVT-мРНК (мРНК-GFP), кодирующих зеленый флуоресцентный белок (green fluorescent protein, GFP). Проведен подбор оптимального режима трансфекции. Показано, что, хотя мРНК-GFP дает сравнимое количество клеток, экспрессирующих GFP, жизнеспособность клеток и, соответственно, эффективность трансфекции в целом при использовании мРНК-GFP как вектора значительно выше. При этом сравнение уровня экспрессии клеток трансфицированных двумя методами показывает, что использование мРНК дает более однородные показатели, тогда как при использовании плазмидного вектора уровень экспрессии отличается на несколько порядков. Было проведено сравнение изменения уровня экспрессии в течении 7 дней после трансфекции. Показано, что доля GFP-позитивных клеток убывает со временем и не зависит от способа трансфекции, при этом оценка доли жизнеспособных клеток показала, что трансфекция плазмидой приводит к снижению доли жизнеспособных клеток через 7 суток до 30%, в то время как использование мРНК практически не влияет на жизнеспособность (количество живых клеток через 7 суток практически не отличается от контроля). Полученные результаты указывают, что использование IVT-мРНК может оказаться более предпочтительным средством при производстве CAR-T-продуктов методом электропорации.

Ключевые слова: адоптивная иммунотерапия, химерный антигенный рецептор, CAR-T-терапия, электропорация, плазида, матричная РНК

Адрес для переписки:

Кулинич Татьяна Михайловна
ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики»
Министерства здравоохранения РФ
117997, Россия, Москва, ул. Профсоюзная, 86.
Тел.: 8 (926) 137-20-35.
E-mail: sobral@mail.ru

Address for correspondence:

Tatyana M. Kulinich
Russian Research Center of Roentgenoradiology
86 Profsoyuznaya St
Moscow
117997 Russian Federation
Phone: +7 (926) 137-20-35.
E-mail: sobral@mail.ru

Образец цитирования:

Я.Ю. Киселева, А.М. Шишкин, Т.М. Кулинич, В.К. Боженко «Сравнение эффективности мРНК и плазмидных векторов при трансфекции лимфоцитов периферической крови» // Медицинская иммунология, 2026. Т. 28, № 1. С. 187-192.
doi: 10.15789/1563-0625-CEO-168215

© Киселева Я.Ю. и соавт., 2026
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Ya. Yu. Kiseleva, A. M. Shishkin, T. M. Kulinich, V. K. Bozhenko "Comparing efficacy of mRNA-based and plasmid vectors in transfection of peripheral blood lymphocytes", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2026, Vol. 28, no. 1, pp. 187-192.
doi: 10.15789/1563-0625-CEO-168215

© Kiseleva Ya. Yu. et al., 2026
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-CEO-168215

COMPARING EFFICACY OF mRNA-BASED AND PLASMID VECTORS IN TRANSFECTION OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

Kiseleva Ya.Yu., Shishkin A.M., Kulinich T.M., Bozhenko V.K.

Russian Research Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Adoptive CAR-T cell therapy is an innovative approach in oncology that uses genetically modified autologous T cells from the patient as a therapeutic tool to fight cancer. The use of DNA plasmids and *in vitro* transcribed (IVT) mRNA as vectors for the production of CAR-T lymphocytes has a number of advantages compared to viral vectors, such as the absence of cell genome modification, high transfection efficiency, speed and potentially lower cost of obtaining the final product. In current work, we studied the efficiency of transfection (in terms of cell viability and expression of the target protein) of peripheral blood mononuclear cells and cells of transplanted culture (human embryonic kidney cells, HEK293) by electroporation using model DNA plasmid (pmaxGFP) and IVT-mRNA (mRNA-GFP) encoding green fluorescent protein (green fluorescent protein, GFP). The selection of an optimal transfection regimen was performed. It has been shown that although mRNA-GFP yields a comparable number of cells GFP-expressing cells, the cell viability, and, consequently, general efficiency of transfection is significantly higher when using mRNA-GFP as a vector. At the same time, a comparison of expression level by the cells transfected by two techniques showed that the use of mRNA provides more uniform parameters, whereas usage of plasmid vector results in expression levels differing by several orders of magnitude. The changes in expression level were also tested within 7 days after transfection. It was shown that the proportion of GFP-positive cells decreases with time and does not depend on the method of transfection, while the assessment of the proportion of viable cells showed that plasmid transfection leads to a decreased proportion of viable cells after 7 days to 30%, while the use of mRNA practically does not affect viability (the number of viable cells after 7 days did not significantly differ from the control). The results obtained indicate that the usage of IVT-mRNA may be a more preferable tool in production of CAR-T products by electroporation.

Keywords: adoptive immunotherapy, chimeric antigen receptor, CAR-T therapy, electroporation, plasmid, messenger RNA

Введение

Одним из перспективных подходов к иммунотерапии опухолей является CAR-T-терапия, эффективность которой показана для ряда гемобластозов [6, 9]. В основе CAR-T-терапии лежит принудительная экспрессия в лимфоцитарной клетке искусственного белка – химерного антигенного рецептора (chimeric antigen receptor, CAR), выполняющего функции распознавания специфического поверхностного антигена опухолевой клетки и последующей активации лимфоцита. Это реализуется с помощью переноса в клетку чужеродной нуклеиновой кислоты, кодирующей нужный белок. Лимфоциты традиционно считаются наиболее трудно трансфецируемыми клетками. Для получения CAR-T-лимфоцитов наиболее широко используется трансдукция клеток лентивирусными векторами [14]. Вирусная частица доставляет и интегрирует ген *CAR* в геном клетки, результатом чего является его стабильная экспрессия. Данная технология легла в

основу терапевтических препаратов, внедренных в клиническую практику с 2017 года [6]. Однако уже на этапе их создания высказывались оправдавшиеся опасения по поводу возможной генетической трансформации клеток с высоким риском канцерогенеза [2, 10, 18]. Основные причины таких побочных эффектов связаны с нерегулируемым встраиванием ретровирусных конструкций в геном и вероятностью повреждения в областях генов онкосупрессоров или онкогенов, а также с неограниченной персистенцией генетически модифицированных клеток в организме [4, 17, 18].

Альтернативным подходом является разработка методов получения CAR-T-клеточных продуктов, использующих другие векторы для генетической модификации – плазмиды и молекулы РНК, которые не интегрируются в клеточный геном [3, 7, 13, 19]. В доклинических исследованиях было показано, что эффективность противоопухолевой CAR-терапии с использованием таких клеточных продуктов не уступает CAR-терапии на основе вирусных векторов и

обладает гораздо меньшей токсичностью [5, 11, 12]. Плазмиды использовались для получения CAR-T-клеток, распознающих CD19, NY-BR1, РЭА [1, 3]. Применение молекул РНК в виде искусственно синтезированной, транскрибируемой *in vitro* (IVT) мРНК позволяет экспрессировать широкий спектр функционально активных белков [15] и ряд полученных таким образом CAR-T-клеточных продуктов проходит в настоящее время клинические испытания [16]. Для получения CAR-T-клеточных продуктов в качестве метода внутриклеточной доставки векторов широко использовалась *ex vivo* трансдукция плазмид или IVT-мРНК в Т-лимфоциты с помощью электропорации [3, 7, 13, 15, 19]. Несмотря на широкое использование электропорации для получения CAR-T-клеточных продуктов, до настоящего времени не проводилось прямого сравнения эффективности применения этого метода при использовании плазмид и IVT-мРНК как векторов для доставки генетического материала.

Целью данной работы было сравнить эффективность трансфекции (в терминах жизнеспособности клеток и экспрессии целевого белка) методом электропорации мононуклеарных клеток периферической крови и клеток перевиваемой культуры (эмбриональные клетки почки человека), используя модельные ДНК-плазмиду и IVT-мРНК, кодирующих зеленый флуоресцентный белок (green fluorescent protein, GFP).

Материалы и методы

В качестве носителя генетического материала, кодирующего зеленый флуоресцентный белок (green fluorescent protein, GFP), использовали плазмиду (pmaxGFP, Lonza, Германия) и линейную матричную РНК (мРНК-GFP, НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи).

Оценка экспрессии GFP-плазмиды и мРНК-GFP в клеточной линии НЕК293

Трансфекцию культуры эмбриональных клеток почки человека – линии НЕК293 (клетки после 2-го пассажа, конфлюэнтность 70%, жизнеспособность 97%) проводили на электропораторе Neon (Invitrogen, США) с использованием набора Neon™ Transfection System 100 µL Kit согласно рекомендациям производителя. Для каждой трансфекции использовали 1,2 млн клеток в объеме 100 мкл образца, содержащего 2 мкг либо плазмиды pmaxGFP либо мРНК-GFP. Оптимальные параметры электропорации для данной культуры клеток были подобраны с использованием плазмиды pmaxGFP и составили: напряжение пульса 1150 В, продолжительность пульса 30 мс, количество пульсов – 2. Клетки после каждой трансфекции переносили в чашки Петри и культивировали

ли в стерильных условиях без антибиотика в 5 мл культуральной среды ДМЕМ в присутствии 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) при температуре 37 °С во влажной атмосфере с 5% CO₂ в течение 24 ч. В качестве контроля использовали клетки, подвергнутые электропорации без плазмиды и мРНК. Через 24 ч после трансфекции клетки монослоя снимали по стандартной методике с помощью 0,25%-ного раствора трипсина-ЭДТА (НПП «ПанЭко», Россия) и смешивали их с культуральной средой, содержащей открепившиеся клетки. Оценку экспрессии GFP и жизнеспособности проводили методом проточной цитометрии на приборе Cell Sorter SH800S (Sony, Япония), с использованием встроенного программного обеспечения. Для оценки жизнеспособности клетки окрашивали красителем DAPI в конечной концентрации 0,2 мкг/мл.

Оценка экспрессии GFP-плазмиды и мРНК-GFP в первичной культуре мононуклеаров периферической крови

Мононуклеары периферической крови (МПК) выделяли из лейкоконцентрата здоровых доноров центрифугированием в градиенте плотности фиколла (1,077 г/мл; НПП «ПанЭко», Россия) при 700 g в течение 20 мин. МПК трижды отмывали фосфатно-солевым буфером с pH 7,4, используя следующие режимы центрифугирования: 350 g 10 мин, 160 g 15 мин, 300 g 10 мин и культивировали в полной ростовой среде RPMI-1640, содержащей 10% ЭТС, L-глутамин и антибиотики в стандартной концентрации, при 37 °С и 5% CO₂. Количество и состав выделенных МПК контролировали на гематологическом анализаторе Адвия-60 (Bayer HealthCare LLC, США). Для трансфекции одного образца объемом 100 мкл использовали 5-10 млн клеток, 2 мкг плазмиды pmaxGFP или мРНК-GFP. Трансфекцию проводили с помощью нуклеофектора 4D-Nucleofector System (Lonza), используя модуль X Unit, в кюветах объемом 100 мкл с помощью набора V4XP-3024 P3 Primary Cell 4D-Nucleofector™ Kit L 24 reactions в соответствии с инструкцией производителя. Клетки подвергали электропорации, используя два режима, рекомендованных производителем для нестимулированных лимфоцитов: «жесткий» режим FI-115 (High efficiency) и более мягкий EO-115 (High functionality). В качестве контроля использовали трансфекцию клеток без плазмиды и мРНК. К суспензии трансфицированных клеток добавляли 500 мкл полной ростовой среды, переносили в чашки Петри для адгезивных культур диаметром 6 см и инкубировали в 5 мл полной ростовой среды при температуре 37 °С во влажной атмосфере с 5% CO₂ в течение 24 ч. Оценку экспрессии GFP и жизнеспособности клеток проводили методом проточной цитометрии

трии в динамике на 1-е, 4-е, 5-е, 8-е и 13-е сутки после трансфекции. Для оценки жизнеспособности клетки окрашивали красителем DAPI в конечной концентрации 0,2 мкг/мл.

Результаты и обсуждение

Оценка экспрессии плазмиды pmaxGFP и мРНК-GFP в культуре клеток НЕК293 показала их высокую эффективность: доля трансфицированных клеток составила 91±1% для pmaxGFP и 96±2% для мРНК-GFP, при этом доля жизнеспособных клеток составила 89±2% и 95±3% соответственно. Как можно видеть, и по доле клеток, экспрессирующих GFP, и по жизнеспособности, мРНК-GFP превосходит плазмиду. Однако медиана интенсивности флуоресценции (MFI) для pmaxGFP была в 22 раза выше, чем для мРНК-GFP.

Исследование жизнеспособности клеток и экспрессии GFP-плазмиды и мРНК-GFP в первичной культуре МПК показало, что через сутки после трансфекции плазмидой pmaxGFP в режиме F115 доля клеток, экспрессирующих GFP, среди живых лимфоцитов была выше, чем во всех остальных условиях и составила 72±3%, а жизнеспособность – 79±1%. Экспрессия GFP в клетках, трансфицированных плазмидой, начала снижаться после 4-го дня, в то время как жизнеспособность клеток к 4-му дню упала в полтора раза. Далее оба показателя монотонно снижались, и к 13-м суткам их значения составляли 36±3% и 20±1% соответственно. Для мРНК-GFP наиболее оптимальным оказался режим трансфекции EO-115, способствующий

функциональной сохранности клеток. Через сутки после трансфекции доля GFP⁺ клеток составила 66±3%, а жизнеспособность была сравнима с контролем и составляла 88±2%. Далее к 4-м и 5-м суткам доля клеток, экспрессирующих GFP (GFP⁺ клеток) немного снизилась, а к 13-м суткам упала до 29±3%, при этом жизнеспособность клеток снижалась медленно и к 13-м суткам достигла 63±2%.

Для того чтобы сравнить долю жизнеспособных трансфицированных клеток для всех исследуемых условий в динамике мы ввели параметр – индекс эффективности трансфекции (ИЭТ). ИЭТ представляет собой произведение доли GFP⁺ клеток и доли живых клеток. Значения ИЭТ в динамике для четырех исследуемых условий представлены на рисунке 1. Наибольший ИЭТ на протяжении 13 суток инкубации соответствовал мягкому режиму для мРНК-GFP, в то же время этот показатель оказался наименьшим при трансфекции мРНК-GFP в жестком режиме. ИЭТ для плазмиды как для жесткого, так и мягкого режимов трансфекции оказался одинаковым.

На рисунке 2 представлены данные проточной цитофлуориметрии – двухпараметрические диаграммы, отображающие долю GFP⁺ клеток и интенсивность флуоресцентного сигнала для плазмиды (жесткий режим) и для мРНК (мягкий режим). Важно отметить, что медиана интенсивности флуоресценции (MedFI), отражающая накопление продукта GFP в клетках, для плазмиды значительно (в 12 раз) выше, чем для мРНК.

Результаты исследований, проведенных в разных клеточных системах – перевиваемой клеточной линии и первичной культуре мононуклеарных клеток, показали более высокую жизнеспособность клеток при использовании в качестве носителя генетического материала мРНК. При этом интенсивность флуоресценции, отражающая количество накопленного GFP в каждой клетке, значительно выше при использовании для трансфекции плазмиды, чем мРНК. Это, видимо, связано с тем, что плазмида, попав в ядро, нарабатывает значительно большее количество копий мРНК, с которых идет трансляция, чем фиксированное количество копий мРНК, попавшее в клетки при трансфекции. Однако, поскольку жизнеспособность клеток при использовании плазмиды для трансфекции падает гораздо быстрее, чем для мРНК, может оказаться, что в совокупности мРНК является более предпочтительным носителем генетической информации при получении живых клеток, экспрессирующих CAR. Кроме того, поскольку, согласно [8], период полужизни GFP составляет 26 ч, а наработка белка с трансфицированной мРНК, как видим в

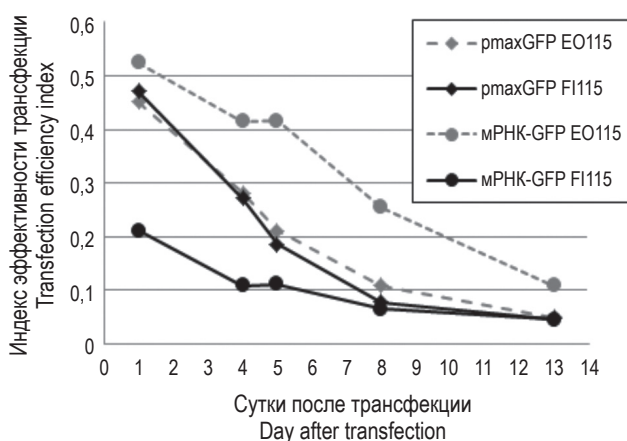


Рисунок 1. Динамика индекса эффективности трансфекции мононуклеаров периферической крови плазмидой pmaxGFP и мРНК-GFP при разных режимах трансфекции

Figure 1. Dynamics of the index of efficiency of transfection of peripheral blood mononuclears by pmaxGFP plasmid and mRNA-GFP under different transfection regimes

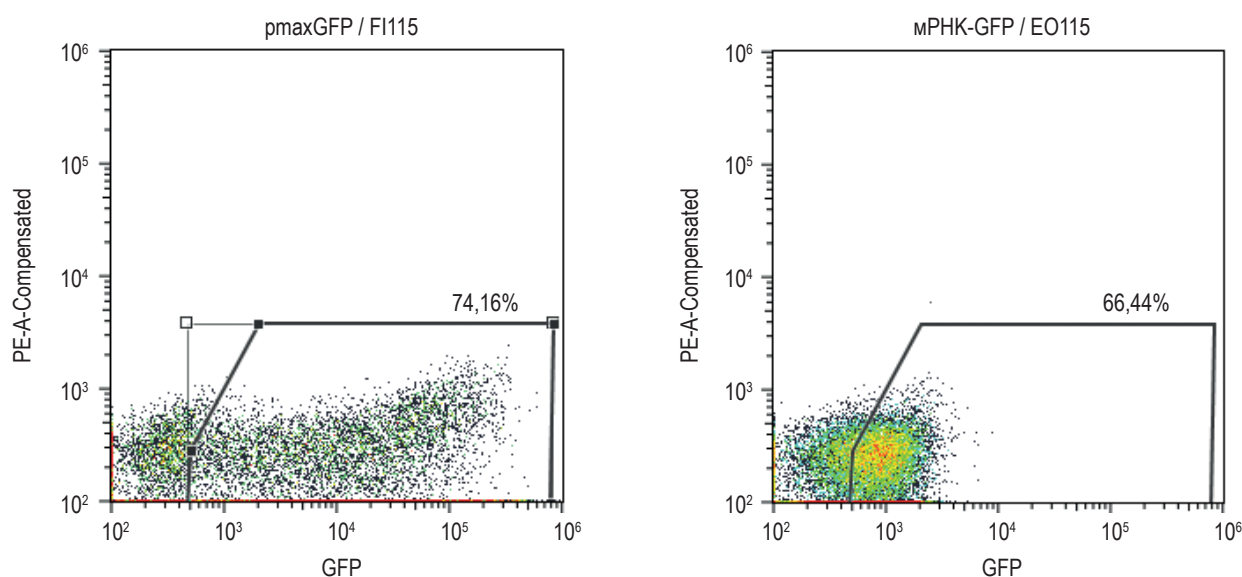


Рисунок 2. Экспрессия GFP в клетках мононуклеаров периферической крови при трансфекции плазмидой pmaxGFP и мРНК-GFP в оптимальных режимах

Figure 2. Expression of GFP in peripheral blood mononuclear cells during transfection by pmaxGFP plasmid and mRNA-GFP in optimal modes

эксперименте, идет достаточно длительное время, то значит мРНК остается стабильной в живых трансфицированных клетках, по крайней мере в течение 2 недель. Необходимо проведение дальнейших исследований по сравнению плазмиды мРНК, кодирующих уже настоящий CAR.

Заключение

Полученные результаты позволяют предположить, что использование мРНК для электропорации при получении CAR-T-клеток может оказаться более предпочтительным средством для производства CAR-T-продуктов.

Список литературы / References

1. Боженко В.К., Шишкин А.М., Шкопоров А.Н., Я.Ю. Киселева, Кулинич Т.М., Большакова О.Б., Кудинова Е.А., Солодкий В.А. Исследование подавления роста опухоли, экспрессирующей раково-эмбриональный антиген, новым высокотехнологичным препаратом карплазмин (сAR-T-терапия) у мышей линии Balb/c nude // Успехи молекулярной онкологии, 2023. Т. 10, № 1. С. 79-86. [Bozhenko V.K., Shishkin A.M., Shkoporov A.N., Kiseleva Y.Yu., Kulinich T.M., Bolshakova O.B., Kudinova E.A., Solodkiy V.A. Study of the suppression of a tumor growth expressing a carcinoembryonic antigen with a new high-tech drug carplasmin (CAR-T therapy) in Balb/c nude mice. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology*, 2023, Vol. 10, no. 1, pp. 79-86. (In Russ.)]
2. Bonifant C.L., Jackson H.J., Brentjens R.J., Curran K.J. Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Mol. Ther. Oncolytics*, 2016, Vol. 3, 16011. doi: 10.1038/mt.2016.11.
3. Bozza M., De Roia A., Correia M.P., Berger A., Tuch A., Schmidt A., Zörnig I., Jäger D., Schmidt P., Harbottle R.P. A nonviral, nonintegrating DNA nanovector platform for the safe, rapid, and persistent manufacture of recombinant T cells. *Sci. Adv.*, 2021, Vol. 7, no. 16, eabf1333. doi: 10.1126/sciadv.abf1333.
4. Bulcha J.T., Wang Y., Ma H., Tai P.W.L., Gao G. Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Sig. Transduct Target Ther.*, 2021, Vol. 6, no. 1, 53. doi: 10.1038/s41392-021-00487-6.
5. Chen W, Zhu Y, He J, Sun X. Path towards mRNA delivery for cancer immunotherapy from bench to bedside. *Theranostics*, 2024, Vol. 14, no. 1, pp. 96-115.
6. Chen Y.J., Abila B., Mostafa Kamel Y. CAR-T: What Is Next? *Cancers*, 2023, Vol. 15, no. 3, 663. doi: 10.3390/cancers15030663.
7. Cooper L.J., Ausubel L., Gutierrez M., Stephan S., Shakeley R., Olivares S., Serrano L.M., Burton L., Jensen M.C., Forman S.J., DiGiusto D.L. Manufacturing of gene-modified cytotoxic T lymphocytes for autologous cellular therapy for lymphoma. *Cytotherapy*, 2006, Vol. 8, no. 2, pp. 105-117.
8. Corish P., Tyler-Smith C. Attenuation of green fluorescent protein half-life in mammalian cells. *Protein Eng.*, 1999, Vol. 12, no. 12, pp. 1035-1040.

9. Garfall A.L., Cohen A.D., Susanibar-Adaniya S.P., Hwang W.T., Vogl D.T., Waxman A.J., Lacey S.F., Gonzalez V.E., Fraietta J.A., Gupta M., Kulikovskaya I., Tian L., Chen F., Koterba N., Bartoszek R.L., Patchin M., Xu R., Plesa G., Siegel D.L., Brennan A., Nelson A.M., Ferthio R., Cooney A., Shea K.M., Leskowitz R., Four M., Wilson W.V., Miao F., Lancaster E., Carreno B.M., Linette G.P., Hexner E.O., Young R.M., Bu D., Mansfield K.G., Brogdon J.L., June C.H., Milone M.C., Stadtmauer E.A. Anti-BCMA/CD19 CAR T cells with early immunomodulatory maintenance for multiple myeloma responding to initial or later-line therapy. *Blood Cancer Discov.*, 2023, Vol. 4, no. 2, pp. 118-133.
10. Ghilardi G., Fraietta J.A., Gerson J.N., van Deerlin V.M., Morrisette J.J.D., Caponetti G.C., Paruzzo L., Harris J.C., Chong E.A., Susanibar Adaniya S.P., Svoboda J., Nasta S.D., Ugwuanyi O.H., Landsburg D.J., Fardella E., Waxman A.J., Chong E.R., Patel V., Pajarillo R., Kulikovskaya I., Lieberman D.B., Cohen A.D., Levine B.L., Stadtmauer E.A., Frey N.V., Vogl D.T., Hexner E.O., Barta S.K., Porter D.L., Garfall A.L., Schuster S.J., June C.H., Ruella M. T cell lymphoma and secondary primary malignancy risk after commercial CAR T cell therapy. *Nat Med.*, 2024, Vol. 30, no. 4, pp. 984-989.
11. Kenoosh H.A., Pallathadka H., Hjazi A., Al-Dhalimy A.M.B., Zearah S.A., Ghildiyal P., Al-Mashhadani Z.I., Mustafa Y.F., Hizam M.M., Elawady A. Recent advances in mRNA-based vaccine for cancer therapy; bench to bedside. *Cell Biochem. Funct.*, 2024, Vol. 42, no. 2, e3954. doi: 10.1002/cbf.3954.
12. Koppu V., Polaju D., Puvvala B., Madineni K., Balaji S., Sheela C.M.P., Manchikanti S.S.C., Moon S.M. Current Perspectives and Future Prospects of mRNA Vaccines against Viral Diseases: A Brief Review. *Int. J. Mol. Cell. Med.*, 2022, Vol. 11, no. 3, pp. 260-272.
13. Krug C., Wiesinger M., Abken H., Schuler-Thurner B., Schuler G., Dörrie J., Schaft N. A GMP-compliant protocol to expand and transfect cancer patient T cells with mRNA encoding a tumor-specific chimeric antigen receptor. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2014, Vol. 63, no. 10, pp. 999-1008.
14. Labbé R.P., Vessillier S., Rafiq Q.A. Lentiviral vectors for T cell engineering: clinical applications, bioprocessing and future perspectives. *Viruses*, 2021, Vol. 13, no. 8, 1528. doi: 10.3390/v13081528.
15. Liu C., Shi Q., Huang X., Koo S., Kong N., Tao W. mRNA-based cancer therapeutics. *Nat. Rev. Cancer*, 2023, Vol. 23, no. 8, pp. 526-543.
16. Qin S., Tang S., Chen Y., Chen K., Fan N., Xiao W., Zheng Q., Li G., Teng Y., Wu M., Song X. mRNA-based therapeutics: powerful and versatile tools to combat diseases. *Signal Transduct. Target Ther.*, 2022, Vol. 7, no. 1, 166. doi: 10.1038/s41392-022-01007-w.
17. Sayadmanesh A., Yekehfallah V., Valizadeh A., Abedelahi A., Shafaei H., Shانهbandi D., Basiri M., Baradaran . Strategies for modifying the chimeric antigen receptor (CAR) to improve safety and reduce toxicity in CAR T cell therapy for cancer. *Int. Immunopharmacol.*, 2023, Vol. 125, Pt A, 111093. doi: 10.1016/j.intimp.2023.111093.
18. Wang H., Tang L., Kong Y., Liu W., Zhu X., You Y. Strategies for reducing toxicity and enhancing efficacy of chimeric antigen receptor T cell therapy in hematological malignancies. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 11, 9115. doi: 10.3390/ijms24119115.
19. Zhang Z., Qiu S., Zhang X., Chen W. Optimized DNA electroporation for primary human T cell engineering. *BMC Biotechnol.*, 2018, Vol. 18, no. 1, 4. doi: 10.1186/s12896-018-0419-0.

Авторы:

Киселева Я.Ю. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии и онкоцитологии ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия
Шишкин А.М. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и онкоцитологии ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия
Кулинич Т.М. — к.м.н., заведующая лабораторией иммунологии и онкоцитологии ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия
Боженко В.К. — д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, заведующий научно-исследовательским отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Kiseleva Ya. Yu., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Oncocytology, Russian Research Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation
Shishkin A.M., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Oncocytology, Russian Research Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation
Kulinich T.M., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Immunology and Oncocytology, Russian Research Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation
Bozhenko V.K., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Doctor of Russian Federation, Head, Department of Molecular Biology and Experimental Tumor Therapy, Russian Research Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation

Поступила 31.03.2024
Отправлена на доработку 04.04.2024
Принята к печати 02.05.2024

Received 31.03.2024
Revision received 04.04.2024
Accepted 02.05.2024