

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 615.37

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ХИМЕРНЫХ АНТИГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ С ДВОЙНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ К CD19 И CD20

Беловежец Т. Н., Горчаков А. А., Самочерных К. А., Кулемзин С. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Кулемзин Сергей Викторович,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: skulemzin@mcb.nsc.ru

Статья поступила в редакцию 30.08.2024
и принята к печати 19.09.2024.

РЕЗЮМЕ

CAR T-клеточная терапия онкогематологических заболеваний обладает высокой эффективностью и приемлемым профилем безопасности, однако часть пациентов не отвечает на лечение или быстро возвращается в состояние рецидива. Одной из причин недостаточного ответа на терапию CAR T-клетками может быть возникновение опухолевых эскейперов, не экспрессирующих эпитоп, распознаваемый CAR. Помочь снизить этот риск может использование CAR T-клеток двойной специфичности. В настоящей работе нами были получены CAR T-клетки, специфичные к CD19 и CD20, при этом исследовались четыре варианта организации антиген-распознающих доменов: два в виде biCAR и два в формате dualCAR. Было обнаружено, что наиболее перспективной является экспрессия двух независимых CAR (dualCAR) с одного промотора.

Ключевые слова: биспецифические CAR, клеточная иммунотерапия, химерный антигенный рецептор, CD19, CD20.

Для цитирования: Беловежец Т.Н., Горчаков А.А., Самочерных К.А., Кулемзин С.В. Сравнительный анализ химерных антигенных рецепторов с двойной специфичностью к CD19 и CD20. Российский журнал персонализированной медицины. 2024;4(5):413-420. DOI: 10.18705/2782-3806-2024-4-5-413-420. EDN: EENWVA

COMPARATIVE ANALYSIS OF CAR T-CELLS WITH DUAL SPECIFICITY FOR CD19 AND CD20

Belovezhets T. N., Gorchakov A. A., Samochernykh K. A., Kulemzin S. V.

Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Kulemzin Sergei V.,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: skulemzin@mcb.nsc.ru

Received 30 August 2024; accepted
19 September 2024.

ABSTRACT

CAR T-cell therapy of patients with B-cell malignancies demonstrates high efficacy and an acceptable safety profile. However, some patients do not respond to treatment or quickly relapse. One of the reasons for an inadequate response to CAR T-cell therapy may be the emergence of cancer cells escape variants that do not express the epitope recognized by the CAR. Using CAR T-cells with dual specificity could help mitigate this issue. In this study, we developed CAR T-cells specific to human CD19 and CD20 by exploring four configurations of antigen-recognition domains: two in the biCAR format and two in the dualCAR format. Expression of two independent CARs (dualCAR) driven by a single promoter was found to be the most promising format.

Key words: bispecific CAR T, CD19, CD20, chimeric antigen receptor, immunotherapy.

For citation: Belovezhets TN, Gorchakov AA, Samochernykh KA, Kulemzin SV. Comparative Analysis of CAR T Cells with Dual Specificity for CD19 and CD20. Russian Journal for Personalized Medicine. 2024;4(5):413-420. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2024-4-5-413-420. EDN: EENWVA

ВВЕДЕНИЕ

Клеточная терапия онкогематологических заболеваний В-клеточного происхождения при помощи CAR Т-клеток активно применяется уже более десяти лет и начинает включаться во многие национальные стандарты терапии. Значительное количество пациентов с рецидивирующими и резистентными случаями В-ОЛЛ или НХЛ после терапии CD19-специфичными CAR Т-клетками переходят в состояние стабильной ремиссии и в ряде случаев могут даже не требовать дальнейшей терапии (например, трансплантации ГСК). Тем не менее, пятилетняя выживаемость пациентов с В-ОЛЛ после CAR Т-клеточной терапии в большинстве исследований все еще не превышает 50 % [1]. Основными причинами неудач при CAR Т-терапии являются либо недостаточная персистенция CAR Т-клеток, либо потеря опухолевыми клетками поверхностного маркера CD19, на который были направлены CAR Т-лимфоциты [2, 3]. Решение первой проблемы требует изменения разнообразных аспектов в производстве CAR Т-клеток, коррекции сигналинга и метаболизма Т-клеток и выходит за рамки настоящего исследования. Для решения второй проблемы наиболее логичным выглядит использование двух (или более) антиген-распознающих модулей в составе CAR Т [4]. В данной работе мы описываем создание CAR Т-клеток со специфичностями одновременно к опухолевым маркерам CD19 и CD20 и изучение их активности *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клонирование ДНК

В качестве векторов для клонирования использовали рекомбинантные последовательности, полученные ранее [5]. Для создания биспецифичных рецепторов необходимые модули CAR или целиком последовательности CAR заимствовали из конструкций, функциональность которых была описана нами ранее [6].

Сборка лентивирусных частиц и трансдукция Т-лимфоцитов человека

Лентивирусные частицы были получены путем котрансфекции клеток HEK293T смесью плазмидной ДНК CAR-кодирующего вектора и паковочных плазмид psPAX2 и pMD2.G с использованием набора для кальций-фосфатной трансфекции CPT-03 («Биоспецифика», Россия) по инструкции производителя. Супернатанты, содержащие псевдовиральные частицы, собирали через 48 часов, фильтровали через PES-фильтр (диаметр пор 0,45 мкм) (TPP,

Швейцария) и концентрировали центрифугированием в течение 1,5 часов при $35\,000\times g$. Осадок вируса затем ресуспендировали в буферном растворе, быстро замораживали в жидком азоте и хранили до 3 месяцев при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Первичные моноклеарные клетки периферической крови человека были выделены из крови здорового донора с использованием центрифугирования на фиколле («ПанЭко», Россия). Т-клетки затем выделяли и активировали с помощью магнитных частиц CD3/CD28 Dynabeads (Thermo Fisher Scientific, США). Клетки культивировали в среде TexMACS (Miltenyi Biotec, Германия) с добавлением 50 ед/мл рекомбинантного человеческого IL-2 и 7 нг/мл IL-15 (Miltenyi Biotec, Германия). Через 48 часов после этого Т-клетки трансдуцировали путем центрифугирования при $600\times g$ в течение 40 минут при $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ в присутствии 10 мкг/мл протамина сульфата и $\text{MOI} = 3$. Через три дня эффективность трансдукции оценивали с использованием окрашивания анти-NGFR антителами (APC, клон ME20.4, BioLegend, США) и проточной цитометрии.

Тест продолжительной сокультивации CAR Т-клеток

CAR Т-клетки смешивали в лунках 96-луночного планшета (TPP, Швейцария) с клетками-мишенями линии Nalm6 (которые экспрессируют одновременно CD19 и CD20) в соотношении Е:Т 1:2 в среде Tex-MACS без добавления экзогенных цитокинов. Через 48 часов число клеток-мишеней и CAR Т-клеток в каждой лунке определяли с помощью проточной цитометрии. Затем в каждую лунку добавляли свежие клетки-мишени для восстановления начального соотношения 1:2. Подсчет клеток и повторный анализ повторяли 4 раза.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для придания CAR Т-клеткам специфичности к двум опухолевым мишеням можно применять два принципиально разных подхода. В первом случае можно проводить одновременную или последовательную трансдукцию Т-клеток двумя различными лентивирусными векторами, кодирующими CAR разной специфичности. Преимуществами такого пути являются очевидно большая гибкость и возможность использования уже существующих расходных материалов без необходимости дополнительных исследований и производства нового лентивирусного вектора. Однако есть очевидные недостатки — значительно большая стоимость (так как затрачивается в два раза больше ресурсов для производства двух лентивирусных препара-

тов) и большая вариабельность (часть клеток будет трансдуцирована только одним вектором, доля клеток одновременно с двумя CAR на поверхности будет сильно отличаться от донора к донору). Второй способ — это использование CAR двойной специфичности, когда в составе одного полипептида присутствуют две антиген-распознающих структуры, или использование так называемых дуальных CAR, то есть конструкций, кодирующих два независимых CAR в составе одной генетической кассеты [4]. В настоящей работе мы создали и протестировали несколько вариантов кассет

для придания CAR Т-клеткам двойной специфичности. На рисунке 1 изображены схемы полученных конструкций. Вариант dualCAR представлен конструкцией, кодирующей два полноразмерных CAR, имеющих независимые антиген-распознающие домены, трансмембранные районы и сигнальные участки. Экспрессия двух независимых белков происходит за счет использования одного промотора и P2A-сайта «саморасщепления» полипептидной цепочки. Структурно каждый CAR организован одинаково: лидерный пептид заимствован от белка CD8a человека или FcεRα, scFv, распозна-

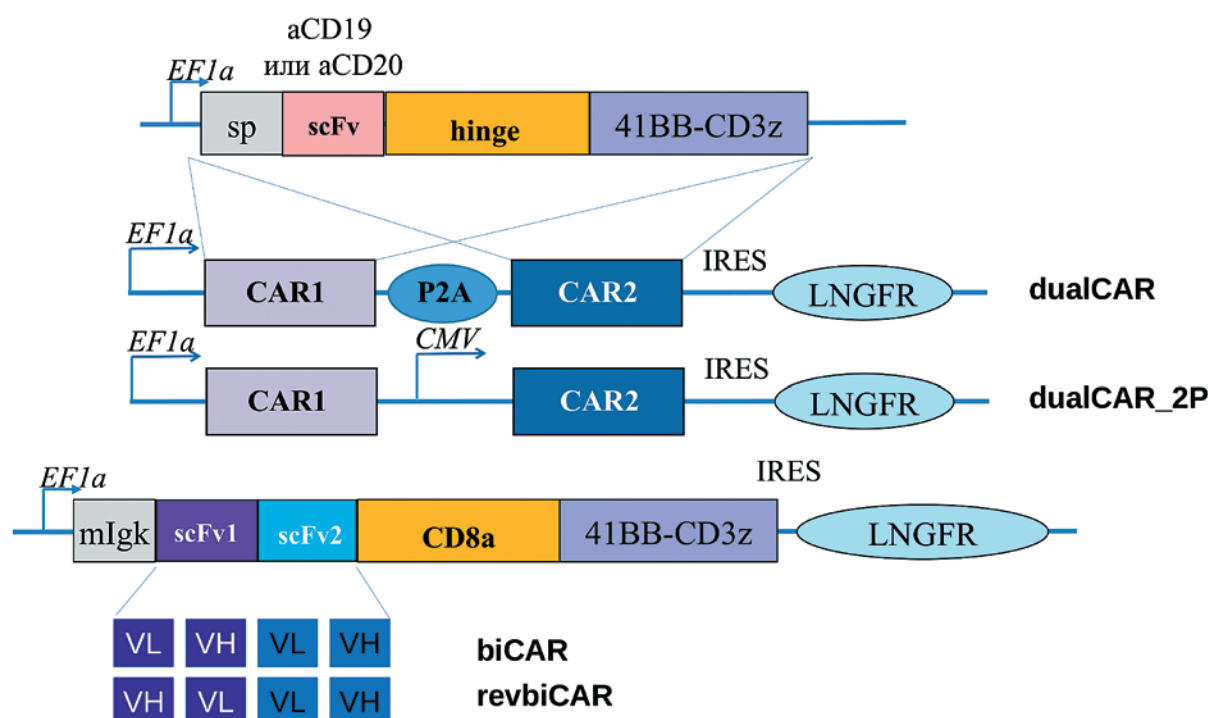


Рис. 1. Структура созданных в данной работе конструкций

Обозначения: Igk — сигнальный пептид каппа цепи иммуноглобулина мыши; EF1a — промоторная последовательность гена EF1a человека; P2A — последовательность «проскока» рибосомы; CD8a — шарнирный участок, заимствованный от белка CD8; 41BB-CD3z — сигнальная последовательность на основе участков белков 4-1BB и CD3zeta человека; IRES — участок связывания рибосом; CMV — ранний промотор цитомегаловируса; LNGFR — репортерный белок от внеклеточной части низкоаффинного рецептора нейротрофинов. Для dualCAR конструкций sp — сигнальный пептид или CD8a или FCER1A; hinge — шарнирный участок либо от CD8a, либо от IgG4. Трансмембранный участок для всех белков был заимствован от CD28 (не показан на схеме).

Figure 1. The structure of the structures created in this work

Designations: Igk — signaling peptide of the mouse immunoglobulin kappa chain; EF1a — promoter sequence of the human EF1a gene; P2A — ribosome “slip” sequence; CD8a — hinge region borrowed from the CD8 protein; 41BB-CD3z — signal sequence based on sections of human proteins 4-1BB and CD3zeta; IRES — ribosome binding site; CMV is an early promoter of cytomegalovirus; LNGFR is a reporter protein from the extracellular part of the low-affinity neurotrophin receptor. For dualCAR designs, sp is a signaling peptide of either CD8a or FCER1A; hinge is a hinge site from either CD8a or IgG4. The transmembrane region for all proteins was borrowed from CD28 (not shown in the diagram).

ющие CD19 или CD20, шарнирный участок IgG4 или CD8a человека, трансмембранный район CD28 человека и сигнальные последовательности 4-1BB и CD3zeta человека. В варианте dualCAR_2P экспрессия каждого из CAR осуществляется с независимого промотора (EF1alpha человека и CMV). Варианты biCAR кодируют «классические» биспецифические CAR, в которых два scFv последовательно соединены посредством длинного гибкого серин-глицинового линкера, за которым следует шарнирный район CD8a человека, трансмембранный участок CD28 человека и сигнальные последовательности 4-1BB и CD3zeta человека. При этом biCAR и revbiCAR отличаются друг от друга порядком расположения вариабельных доменов, узнающих CD20.

Каждая из четырех конструкций была использована для производства лентивирусных частиц и последующего получения CAR T, при этом для контроля были также сделаны полностью идентичные по всем участкам, кроме распознающих областей, CAR T-клетки моноспецифичные только к CD19, CD20 или PSMA (последние выступали в экспериментах как нерелевантные эффекторы

для оценки специфичности). Поскольку в нашем распоряжении нет универсальных молекулярных инструментов для надежной детекции каждого из CAR, уровень экспрессии CAR-кодирующей кассеты был исследован непрямым способом, при помощи проточной цитометрии с антителами против репортерного маркера NGFR (рис. 2). Уровень экспрессии CAR-кассеты оказался близким для разных конструкций (50–70 %), что позволяет корректно проводить сравнительные исследования функциональной активности CAR T-клеток. В то же время необходимо отметить, что в препаратах моноспецифических CAR T (против CD19, CD20 и PSMA) наблюдалась тенденция к обогащению более яркими клетками, то есть часть клеток экспрессировали CAR-кассету на большем уровне.

Высокой предсказательной силой, с точки зрения оценки биологической активности *in vivo*, обладает тест продолжительной сокультивации CAR T-клеток и опухолевых мишеней. В этом тесте CAR T-клетки смешивают с мишенями в соотношении 1:2, а затем на протяжении 7–9 дней каждые 2–3 дня измеряют количество живых опухолевых мишеней и, если их количество упало, добавляют для сохра-

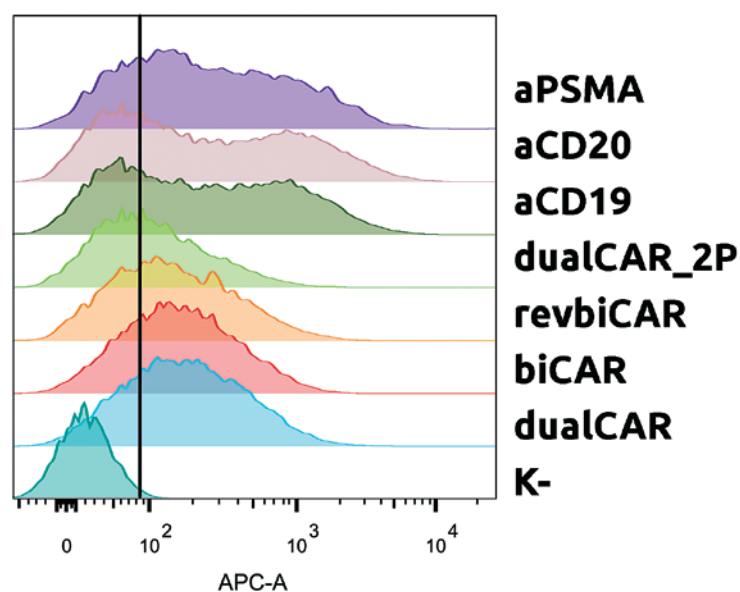


Рис. 2. Поверхностная экспрессия разнообразных вариантов CAR на поверхности Т-лимфоцитов

Уровень экспрессии CAR оценивали при помощи окраски антителами специфичными к репортерному белку NGFR, конъюгированными с APC. Эффективность трансдукции была близкая и колебалась от 50 до 70 %. Однако именно моноспецифические конструкции опосредовали более сильную экспрессию CAR-кассеты.

Figure 2. Surface expression of various CAR variants on the surface of T lymphocytes

The level of CAR expression was assessed by staining with antibodies specific to the NGFR reporter protein conjugated with APC. The efficiency of transduction was close and ranged from 50 to 70 %. However, it was the monospecific constructs that mediated the stronger expression of the CAR cassette.

нения соотношения 1:2 с эффекторами [7]. Такой тест моделирует *in vitro* условия CAR T-клеточной терапии пациентов с высокой опухолевой нагрузкой. Чтобы оценивать цитотоксическую активность одновременно биспецифических и моноспецифических CAR T-клеток, в качестве мишеней были использованы клетки Nalm6, экспрессирующие одновременно CD19 и CD20. Было обнаружено, что наилучший противоопухолевый контроль обеспечивается моноспецифичными CAR T-клетками, сопоставимую эффективность демонстрируют CAR T-клетки с конструкцией dualCAR, несколько хуже при длительной коинкубации уничтожают опухоли CAR T-клетки с конструкцией dualCAR_2P, и наконец варианты revbiCAR и biCAR способны сдерживать рост опухолевых клеток в течение первых пяти дней, но перестают эффективно контролировать опухоль после этого (рис. 3).

Таким образом, сравнительный анализ четырех различных типов дизайна биспецифических CAR позволяет сделать вывод, что без дополнительных оптимизаций наиболее эффективно работают dualCAR T-клетки (с экспрессией двух независимых CAR с одного промотора, разделенные по-

следовательно P2A). Бифункциональные CAR «классического» дизайна способны уничтожать опухолевые клетки вначале, но затем становятся нефункциональными.

ОБСУЖДЕНИЕ

Бифункциональные CAR T-клетки со специфичностью к CD19 и CD20 представляют собой перспективный терапевтический агент для терапии онкогематологических заболеваний В-клеточного происхождения, в особенности неходжкинских лимфом. Первые данные клинических испытаний подобных клеточных препаратов указывают на хороший профиль безопасности и меньший, по сравнению с моноспецифическими CAR T, уровень рецидивов [8–10]. Однако в отличие от моноспецифичных CAR T возникают значительные сложности с тем, как именно перенаправлять активность CAR T-клеток против двух различных опухолевых мишеней. Исторически первыми рассматривались варианты бифункциональных CAR, в которых на одном рецепторе находятся два распознающих домена. Было обнаружено, что

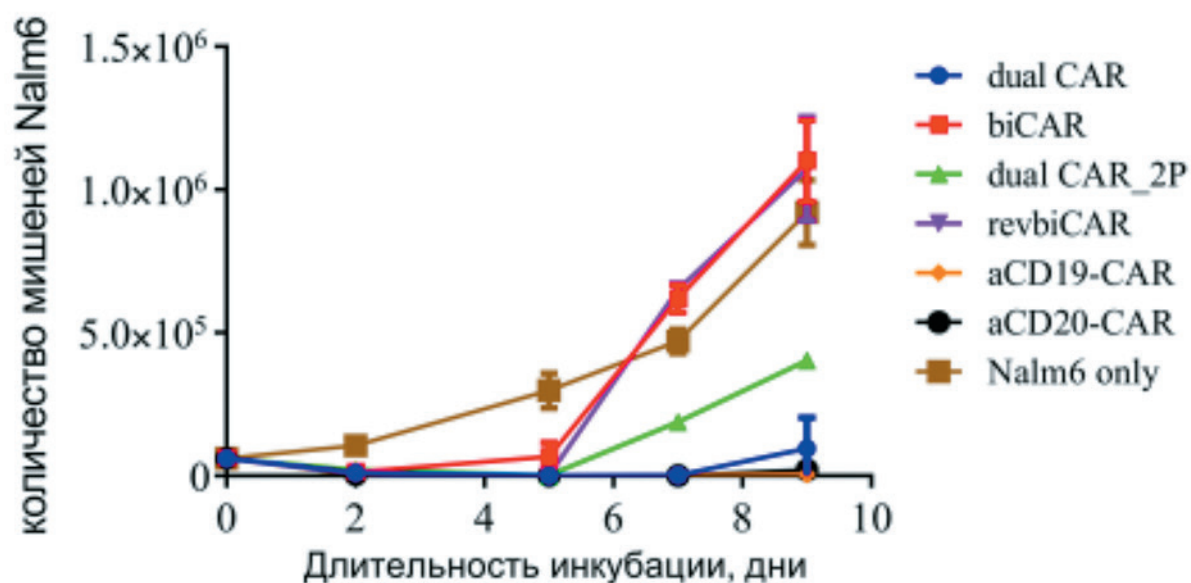


Рис. 3. В тесте повторяющейся цитотоксичности наиболее эффективно работают моноспецифичные CAR T-клетки и dualCAR T-клетки

При этом в первые пять дней эксперимента все проверенные конструкции проявляют одинаково высокую эффективность. Был выполнен цитометрический анализ для подсчета клеток-мишеней в динамике.

Figure 3. In the repeated cytotoxicity test, monospecific CART cells and dual CARB cells work most effectively

At the same time, in the first five days of the experiment, all tested designs show equally high efficiency. Cytometric analysis was performed to count target cells in dynamics.

взаимное положение доменов и организация линейных последовательностей критически значимы для достижения хороших уровней эффективности [11]. При этом для каждой новой пары scFv такую работу, вероятно, необходимо проводить заново. Возможным решением проблем с оптимизацией взаимного положения доменов может быть использование dualCAR, то есть по сути независимых рецепторов, закодированных одной конструкцией. Пионерские работы группы под руководством профессора Теггу Фри показали, что эффективность таких CAR T-клеток может быть даже выше, чем в случае «классических» биспецифических CAR T [12]. Ранее были описаны различные варианты CAR T с двойной специфичностью к CD19 и CD20 [13–15], однако никто не предпринимал попыток использовать в качестве CD20-распознающего домена scFv от полностью человеческого антитела Ofatumumab (2F2). Мы проверили 4 разных варианта организации CD19- и CD20-распознающих доменов: два биспецифических CAR классической структуры и два дуальных. Наиболее эффективной оказалась конструкция dualCAR, организованная в единую рамку считывания. Примечательно, что biCAR и revbiCAR уничтожали опухолевые клетки некоторое время, но не были способны к повторяющейся цитотоксичности. Возможно, некорректная сборка scFv в таких сложных структурах приводила к тоническому сигналингу и потере функциональности. Остается неясным, почему двупромоторный вариант dualCAR_2P T-клеток достоверно менее эффективен, чем dualCAR, экспрессирующийся с одного промотора. Первая часть этой конструкции (до начала второго промотора) полностью соответствует конструкции dualCAR и кодирует CD19-специфичный CAR, идентичный моноспецифичному контролю. Тем не менее, активность dualCAR_2P клеток значительно ниже активности моноспецифического анти-CD19 CAR. Возможно, слишком сильный промотор CMV, использованный в конструкции dualCAR_2P, вызывает гиперэкспрессию CD20-специфичного CAR на поверхности, что в свою очередь приводит к истощению T-клеток [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бифункциональные CAR T-клетки «классического» дизайна проявляют хороший уровень цитотоксичности в течение первых нескольких суток коинкубации с опухолевой мишенью, однако теряют способность к лизису опухолевых клеток-мишеней после этого. Полученные в настоящей работе dualCAR T-клетки обладают способностью в течение

длительного времени уничтожать опухолевые мишени, что позволяет рассчитывать на эффективность этих клеток *in vivo*. В перспективе этот CAR может быть далее модифицирован, например, за счет ослабления сигналинга одного из рецепторов или коррекции уровня экспрессии целевой кассеты.

Конфликт интересов/ Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors stated no conflict of interest.

Финансирование / Funding

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2022-301 от 20.04.2022). / The work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2022-301 dated 04/20/2022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Awasthi R, Maier HJ, Zhang J, Lim S. Kymriah® (tisagenlecleucel) - An overview of the clinical development journey of the first approved CAR-T therapy. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2023;19(1):2210046. <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2210046>
2. Ruella M, Korell F, Porazzi P, Maus MV. Mechanisms of resistance to chimeric antigen receptor-T cells in haematological malignancies. *Nature reviews. Drug discovery*. 2023;22(12):976–995. <https://doi.org/10.1038/s41573-023-00807-1>
3. Shah NN, Fry TJ. Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy. *Nature reviews. Clinical oncology*. 2019;16(6): 372–385. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0184-6>
4. Cronk RJ, Zurko J, Shah NN. Bispecific Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy for B Cell Malignancies and Multiple Myeloma. *Cancers*. 2020;12(9):2523. <https://doi.org/10.3390/cancers12092523>
5. Kulemzin SV, Chikaev NA, Volkova OYu, et al. A modular system of lentiviral vectors for working with chimeric antigenic receptors. *Bioorganicheskaya khimiya*=Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2017;43(2):124–132. In Russian [Кулемзин С.В., Чикаев Н.А., Волкова О.Ю. и др. Модульная система лентивирусных векторов для работы с химерными антигенными рецепторами. *Биоорганическая химия*. 2017;43(2):124–132].
6. Belovezhets T, Kulemzin S, Volkova O, et al. Comparative Pre-Clinical Analysis of CD20-Specific

CAR T Cells Encompassing 1F5-, Leu16-, and 2F2-Based Antigen-Recognition Moieties. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(4):3698. <https://doi.org/10.3390/ijms24043698>

7. Mamonkin M, Rouce RH, Tashiro H, Brenner MK. A T-cell-directed chimeric antigen receptor for the selective treatment of T-cell malignancies. *Blood*. 2015;126(8):983–992. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-629527>

8. Wang L, Fang C, Kang Q, et al. Bispecific CAR-T cells targeting CD19/20 in patients with relapsed or refractory B cell non-Hodgkin lymphoma: a phase I/II trial. *Blood cancer journal*. 2024;14(1):130. <https://doi.org/10.1038/s41408-024-01105-8>

9. Larson SM, Walthers CM, Ji B, et al. CD19/CD20 Bispecific Chimeric Antigen Receptor (CAR) in Naive/Memory T Cells for the Treatment of Relapsed or Refractory Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer discovery*. 2023;13(3):580–597. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-22-0964>

10. Shah NN, Johnson BD, Schneider D, et al. Bispecific anti-CD20, anti-CD19 CAR T cells for relapsed B cell malignancies: a phase 1 dose escalation and expansion trial. *Nature medicine*. 2020;26(10):1569–1575. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1081-3>

11. Qin H, Ramakrishna S, Nguyen S, et al. Preclinical Development of Bivalent Chimeric Antigen Receptors Targeting Both CD19 and CD22. *Molecular therapy oncolytics*. 2018;11:127–137. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2018.10.006>

12. Qin H, Nguyen SM, Ramakrishna S, et al. Novel CD19/CD22 Bicistronic Chimeric Antigen Receptors Outperform Single or Bivalent Cars in Eradicating CD19+CD22+, CD19-, and CD22- Pre-B Leukemia. *Blood*. 2017;130:810–810.

13. Wang Y, Zhong K, Ke J, et al. Combined 4-1BB and ICOS co-stimulation improves anti-tumor efficacy and persistence of dual anti-CD19/CD20 chimeric antigen receptor T cells. *Cytotherapy*. 2021;23(8): 715–723. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2021.02.117>

14. Larson SM, Walthers CM, Ji B, et al. CD19/CD20 Bispecific Chimeric Antigen Receptor (CAR) in Naive/Memory T Cells for the Treatment of Relapsed or Refractory Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer discovery*. 2023;13(3):580–597. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-22-0964>

15. Shah NN, Johnson BD, Schneider D, et al. Bispecific anti-CD20, anti-CD19 CAR T cells for relapsed B cell malignancies: a phase 1 dose escalation and expansion trial. *Nature medicine*. 2020;26(10):1569–1575. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1081-3>

16. Gomes-Silva D, Mukherjee M, Srinivasan M, et al. Tonic 4-1BB Costimulation in Chimeric Antigen Receptors Impedes T Cell Survival and Is Vector-

Dependent. *Cell reports*. 2017;21(1):17–26. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.09.015>

Информация об авторах:

Беловежец Татьяна Николаевна, младший научный сотрудник НИЛ геномного редактирования НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Горчаков Андрей Александрович, к.б.н., старший научный сотрудник НИЛ геномного редактирования НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Самочерных Константин Александрович, д.м.н., профессор РАН, директор РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиала ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Кулемзин Сергей Викторович, к.б.н., старший научный сотрудник НИЛ геномного редактирования НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Authors information:

Belovezhets Tatyana N., scientist, genome editing group, World Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Gorchakov Andrey A., Candidate of Biological Sciences, senior scientist, genome editing group, World Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Samochernykh Konstantin A., Doctor of Medical Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery — the branch of Almazov National Medical Research Centre;

Kulemzin Sergei V., Candidate of Biological Sciences, senior scientist, genome editing group, World Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre.