

Оптимизация и стандартизация процесса получения CAR-T клеток для клеточной терапии

Научный руководитель – Булатов Эмиль Рафаэлевич

Мухаметшин Сабир Айратович

Студент (бакалавр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

E-mail: saba0203@mail.ru

Персонализированный подход в лечении онкологии и аутоиммунных заболеваний способствует развитию адаптивной клеточной терапии $\frac{3}{4}$ современного направления иммунотерапии, использующего модифицированные Т-лимфоциты с химерным антигенным рецептором (CAR-T), направленным на опухолевые клетки [1].

Получение CAR-T клеток сложный и многоэтапный процесс: сборка генетических конструкций; трансформация; трансфекция; трансдукция и культивирование CAR-T клеток [2]. Оптимизация и стандартизация получения клеточного препарата возможна благодаря автоматизированным системам - биореакторам.

Цель: определить возможность и эффективность применения биореакторов в производстве CAR-T клеток.

Методы и материалы: в работе использовались методы клеточной инженерии: получение генетических конструкций, трансформация, трансфекция, трансдукция а так же проведен статистический и литературный анализ. В работе использовались клеточные культуры E.Coli, HEK293, Т-лимфоциты. Применялись реактивы для трансфекции PEIMAX, CaCl₂, наборы для выделения MidiPrep Thermo Fisher и набор для магнитной сепарации CD-19 MicroBeads. При клеточных работах использовались колбы, чашки Петри, фласки T175 и биореакторы Biostat® B (Sartorius) и Minifors 2 (Infors, DIA-M).

Результаты: проведен анализ литературы по эффективности биореакторов и их устройству. Проведена трансформация штамма E.Coli, получены плазмиды для сборки вируса CAR в колбах и биореакторе Biostat® B Sartorius. Трансфицировали вирус в адгезионную культуру HEK293 на чашки Петри и фласки T175. Для культивации суспензионных клеток HEK293 использовали биореактор Minifors 2, Infors, DIA-M. Изучена возможность проведения трансфекции в реакторах с использованием микроносителей. Сбор и концентрирование вируса выполнены с использованием ультрацентрифуги Beckman. Выделены Т-лимфоциты из клеток периферической крови человека. Выполнена трансдукция Т-клеток с помощью вируса CAR.

Выход продукта при культивации в биореакторе выше, чем при использовании ручных методов. Затраченное время для подготовки реактора, количество действий и риски контаминации ниже в сравнении с ручными методами. Датчики pH, DO, глюкозы, лактата и биомасс сенсоров оптимизируют процесс культивации и сокращают время измерений показателей. Однако стоимость и обслуживание реакторов остаются высокими; некоторые компоненты быстро изнашиваются при механических, термических воздействиях.

Выводы: биореакторы оптимизируют рабочий процесс и снижают вероятность ошибки, имеют потенциал в производстве клеточных препаратов. Эффективность системы зависит от материала компонентов и наличия квалифицированного оператора. Биореакторы оптимизируют количество человеко-часов, необходимых для получения клеточного продукта, стандартизируют процесс и повышают качество биомедицинских продуктов.

Источники и литература

- 1) 1. CAR T cell immunotherapy for human cancer C.H. June, R.S. O'Connor, O.U. Kawalekar, S.Ghassemi, M.C. Milone, 2018
- 2) 2. Clinical Development and Manufacture of Chimeric Antigen Receptor T cells and the Role of Leukapheresis A. Fesnak, U. O'Doherty, 2017