

**Разработка инструментов для анализа характеристики свойств CAR-T
клеточных продуктов с использованием ПЦР**

Научный руководитель – Ларин Сергей Сергеевич

Леоничева Маргарита Алексеевна

Студент (бакалавр)

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.

Пирогова, Москва, Россия

E-mail: ritaleonicheva@gmail.com

CAR-T клеточная терапия – одно из наиболее прогрессивных направлений иммуно-терапии, использующее модифицированные T-лимфоциты для лечения онкогематологических заболеваний. С расширением производства биомедицинских клеточных продуктов и их клинического применения возникает необходимость создания универсальных систем анализа ключевых показателей их качества [1]. Целью данной работы являлась разработка ПЦР тест-систем для изучения и оценки биологических свойств CAR-T клеток.

Для характеристики безопасности, функционального потенциала и биораспределения CAR-T клеток были разработаны методы ПЦР в реальном времени. Во всех анализах использовали количественную оценку показателя количества копий вектора (VCN) относительно референсных генов: альбумина человека (для клеточных продуктов) и альбумина мыши (для обнаружения CAR-T в органах лабораторных животных). Специфичность анализов обеспечивалась подбором праймеров к последовательности на стыке доменов CAR-конструкций. Расчет количества копий вектора выполняли по калибровочным прямым стандартным разведениям плазмид, содержащих вставки целевых последовательностей. Для обнаружения остаточных репликационно-компетентных вирионов в культуре культивировали клетки 18 дней после трансдукции со сменой питательной среды, после чего проводили ПЦР на ген белка упаковки VSV-G.

По результатам выполненных ПЦР для разных партий CAR-T продуктов рассчитанные значения VCN находились в диапазоне от 0,99 до 1,41 копий на клетку, что коррелировало с данными цитометрии для этих клеток (от 51,88% до 61,60% трансдукции), что соответствует требованиям международных стандартов. Накопление CAR-T клеток в органах мышей носило дозозависимый эффект с преимущественным присутствием в легких, печени и селезенке животных. Безопасность вектора была верифицирована отсутствием репликационно-компетентных вирусов, поскольку сигнал в опытных пробах не достигнул уровня порогового предела обнаружения.

Источники и литература

- 1) 1. Marton, C., Clémenceau, B., Dachy, G. et al. Harmonisation of quality control tests for academic production of CAR-T cells: a position paper from the WP-bioproduction of the UNITC consortium. Bone Marrow Transplant 60, 1209–1217 (2025).