

## ПРОИЗВОДСТВО ТЕРАПИИ CAR-T В АКАДЕМИЧЕСКОМ ФОРМАТЕ: КАК ОБЕСПЕЧИТЬ ВЕКТОРАМИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ПРОЦЕСС ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ CAR-T В КАЗАХСТАНЕ?

**В.В. Кеер**

*Национальный центр биотехнологии, Республика Казахстан, 000010, г. Астана, Кургальжинское шоссе 13/5*

*e-mail: keer@biocenter.kz*

Терапевтическая технология химерного антигенного рецептора (CAR-T) демонстрирует замечательные успехи при лечении гематологических раков, таких как лейкоз, лимфома, миелома. Технология CAR-T позволяет нацеливать Т-клетки против патологической клеточной популяции. Терапия проводится следующим образом: у пациента берут лейкоциты периферической крови, из них выделяют фракцию Т-лимфоцитов, которые активируют для пролиферации и обрабатывают вирусным вектором, который интегрирует в клеточный геном ген CAR. Далее CAR+ клетки культивируют *ex vivo*, чтобы наработать нужное количество клеток, и вводят полученный клеточный препарат назад пациенту с помощью инфузии. В организме пациента разные субпопуляции CAR+ клеток пролиферируют, продолжают дифференцировку в эффекторные типы, распознают мишени, в частности цитотоксические CAR+ клетки уничтожают опухолевые клетки-мишени.

Внедрение в Казахстане терапии CAR-T требует освоения передовых технологий. Покупка готовой технологии CAR-T заинтересованной частной клиникой или государственной структурой не представляется возможной по причине того, что мировые биотехнологические компании-разработчики CAR-T в этом не заинтересованы. Невозможен пока и “индустриальный формат” CAR-T, когда клеточные препараты производятся централизованно, на одном предприятии, и данное производство обслуживает все онкоклиники. Внедрение терапии CAR-T в Казахстане сейчас возможно только через “академический формат”, который предусматривает партнёрство одобренных государственным регулятором онкоклиники и биотехнологиче-

ского центра, так что клеточные препараты изготавливаются и применяются в пределах этого консорциума. Академический формат требует организации на одной площадке полного производственного цикла, не только клеточного препарата, но и нужного лентивирусного вектора. Организация полного производственного цикла является единственным экономически жизнеспособным подходом для внедрения терапии CAR-T в Казахстане.

Авторы создали в НЦБ производство лентивирусного вектора для CAR-T в количествах достаточных для обслуживания производственной установки CliniMACS Prodigy, которая является индустриальным стандартом для изготовления CAR+ клеток клинического назначения. Оптимизированы условия упаковки и концентрирования лентивирусных векторов. Было обнаружено, что метод осаждения фосфатом кальция подходит для трансфекции культур с высокой плотностью клеток, что является необходимым условием для высоких титров. Достигнуто увеличение объёмов от 6-луночных планшетов до чашек P100, кубышек T-175 и 5-слойных клеточных станций, с сохранением высоких титров,  $>10^8$  трансдуцирующих единиц. Эксперименты по концентрированию вектора с помощью ультрацентрифугирования показали преимущество применения длительного низкоскоростного центрифугирования. Полученные партии лентивирусных векторов показывают функциональный титр  $10^{10}$  трансдуцирующих единиц в 1 мл. Этот вектор был использован авторами для трансдукции донорских первичных Т-лимфоцитов и получения CAR+ клеток на установке CliniMACS Prodigy.