

ЭФФЕКТИВНАЯ УПАКОВКА ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА, ТРАНСДУЦИРУЮЩЕГО ХИМЕРНЫЙ АНТИГЕННЫЙ РЕЦЕПТОР (CAR), С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПАКУЮЩИХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ, НЕСУЩИХ АВТОНОМНО РЕПЛИЦИРУЮЩИЕСЯ РНК-ВЕКТОРЫ

Л.Р. Сыздыкова

Национальный центр биотехнологии

Республика Казахстан, 000010, г. Астана, Кургальжинское шоссе 13/5

e-mail: syzdykova@biocenter.kz

Вирусные векторы приобрели статус практически незаменимых инструментов для доставки генов в генной терапии и клеточной терапии генно-модифицированными клетками. В адоптивной клеточной иммунотерапии рака, получившей название технология химерного антигенного рецептора (CAR-T), применяется вирусная доставка генов *ex vivo*. Технология CAR-T вышла из стадии клинических испытаний и применяется как допущенная терапия в США, Европейском Союзе, большинстве стран ОЕСД. В Казахстане технология CAR-T никогда не применялась по причине инновационности, сложности и дороговизны (например, 475 000 долларов США стоит в США лечение одного пациента с использованием наиболее часто применяемой терапии CAR-T Kymriah). Поскольку терапия CAR-T показывает высокую эффективность при лечении пациентов, которым не помогает химиотерапия или трансплантация костного мозга, существует усиливающийся запрос со стороны пациентов и врачей-онкологов с тем, чтобы внедрить CAR-T в Казахстане. Среди труднопреодолимых препятствий для внедрения – невозможность приобретать вирусный вектор для изготовления CAR+ клеток на открытых рынках, и высокая цена вектора клинического назначения, если заказывать производство вектора у контрактных производственных организаций (СМО). В настоящее время все одобренные регуляторами (FDA, EMA, NMPA) протоколы изготовления клеточных препаратов CAR+ клеток используют доставку гена CAR с применением лентивирусных или гамма-ретровирусных векторов. Цена таких векторов высока, обычные цифры составляют десятки тысяч долларов за один лот вектора (количество, достаточное для

изготовления клеточного препарата для лечения одного пациента).

Чтобы сделать генную и клеточную терапию экономически доступными, нужны более эффективные способы производства упакованных векторов. Авторы создали и испытали альтернативную технологию упаковки лентивирусного вектора с применением клеточных линий, в которых все компоненты пакующей системы (вектор переноса для трансдукции гена CAR; белки GAG-POL для доставки белков капсида лентивирусной частицы и ферментов вируса HIV-1; белок оболочки VSV-G) производятся с помощью автономно реплицирующихся РНК. Автономно реплицирующиеся РНК были сконструированы с использованием репликативного остова, генов белков репликативной машины и *cis*-действующих элементов из генома альфавируса, вируса венесуэльского энцефалита. В один из репликонных векторов были встроены последовательности HIV-1 для геномной интеграции и трансген CAR; в другой РНК-вектор клонировали гены GAG-POL; в третий вектор клонировали ген VSV-G. Три вида репликонов были с высокой эффективностью упакованы в инфекционные частицы (репликонные частицы) путём трансфекции с альфавирусными пакующими хелперами. Полученными репликонными частицами заражали клетки HEK293FT для получения культуры, которая уже производит частицы упакованного лентивирусного вектора. С помощью данной технологии было изготовлено достаточное количество лентивирусного вектора для запуска производственной установки CliniMACS Prodigy и производства CAR+ клеток в терапевтических количествах.