



**БЕЛЫЕ
НОЧИ**

Петербургский международный
онкологический форум

XII Петербургский международный Онкологический форум «Белые ночи 2026»



РАЗРАБОТКА ИНСТРУМЕНТОВ АНАЛИЗА ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СВОЙСТВ CAR-T КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЦР

Леоничева М.А., Моллаев М.Д., Ларин С.С.

Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии, иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Лаборатория молекулярной иммунологии, Москва, Россия

e-mail: ritaleonicheva@gmail.com

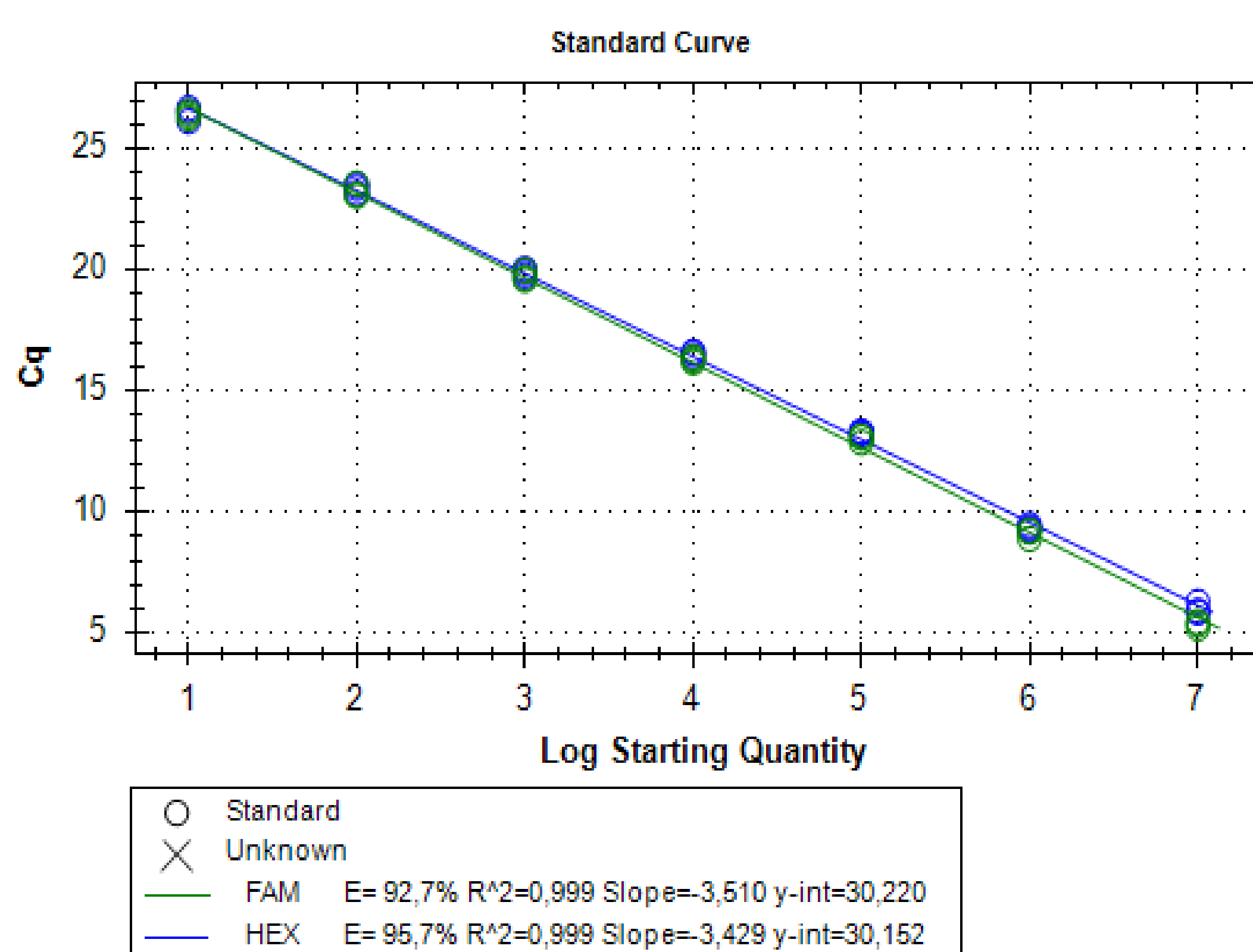
Цель исследования

Многоступенчатая процедура производства CAR-T в совокупности с расширением их клинического применения требует создания универсальных систем анализа ключевых показателей их качества.

Цель работы

Разработка ПЦР тест-систем для изучения и оценки различных биологических свойств CAR-T клеток.

Материалы и методы



Использовали количественную оценку показателя количества копий вектора (VCN) относительно референсных генов: альбумина человека (для выпускного контроля клеточных продуктов) и альбумина мыши (для оценки органного тропизма CAR-T в органах мышей). Для партий CAR-T параллельно выполняли цитометрический анализ. Расчет количества копий вектора и доли CAR(+) геномов в органах мышей выполняли по формуле:

$$CAR(+)\text{ копий} = \frac{\text{Среднее } SQ\ CAR}{\text{Среднее } SQ\ ALB/2}$$

Для обнаружения остаточных репликационно-компетентных лентивирусов в культуре проводили ПЦР в реальном времени на детекцию гена VSV-G по контрольной точке.

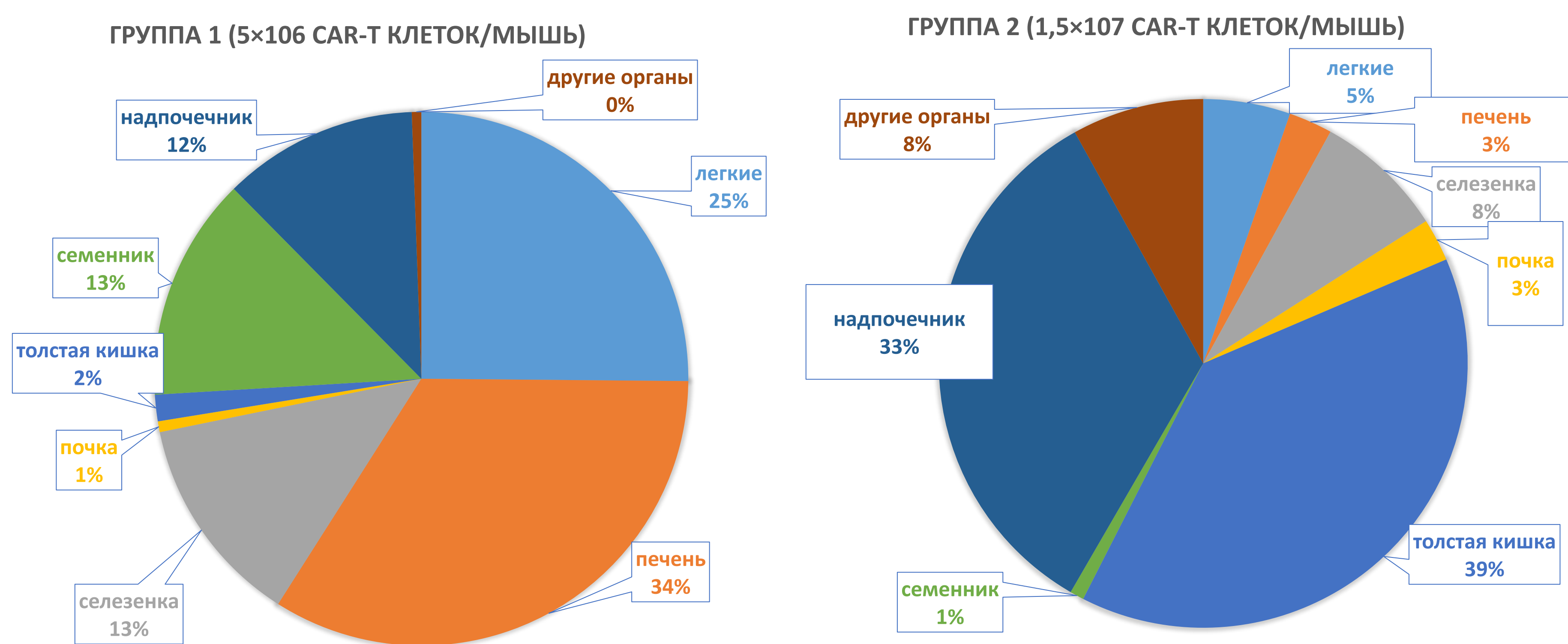
Результаты

Образец	Значение показателя VCN по кПЦР-PB	Процент CAR+ клеток по цитометрии
GD2 CAR-T 31.07.24	0,99	51,88
GD2 CAR-T 15.10.24	1,13	55,38
CAR19-T 08.09.24	1,41	61,60
CAR19-T 04.03.25	2,00	60,81
GD2 CAR-T 17.02.26	0,45	65,61
GD2 CAR-T 19.02.26	1,05	64,91

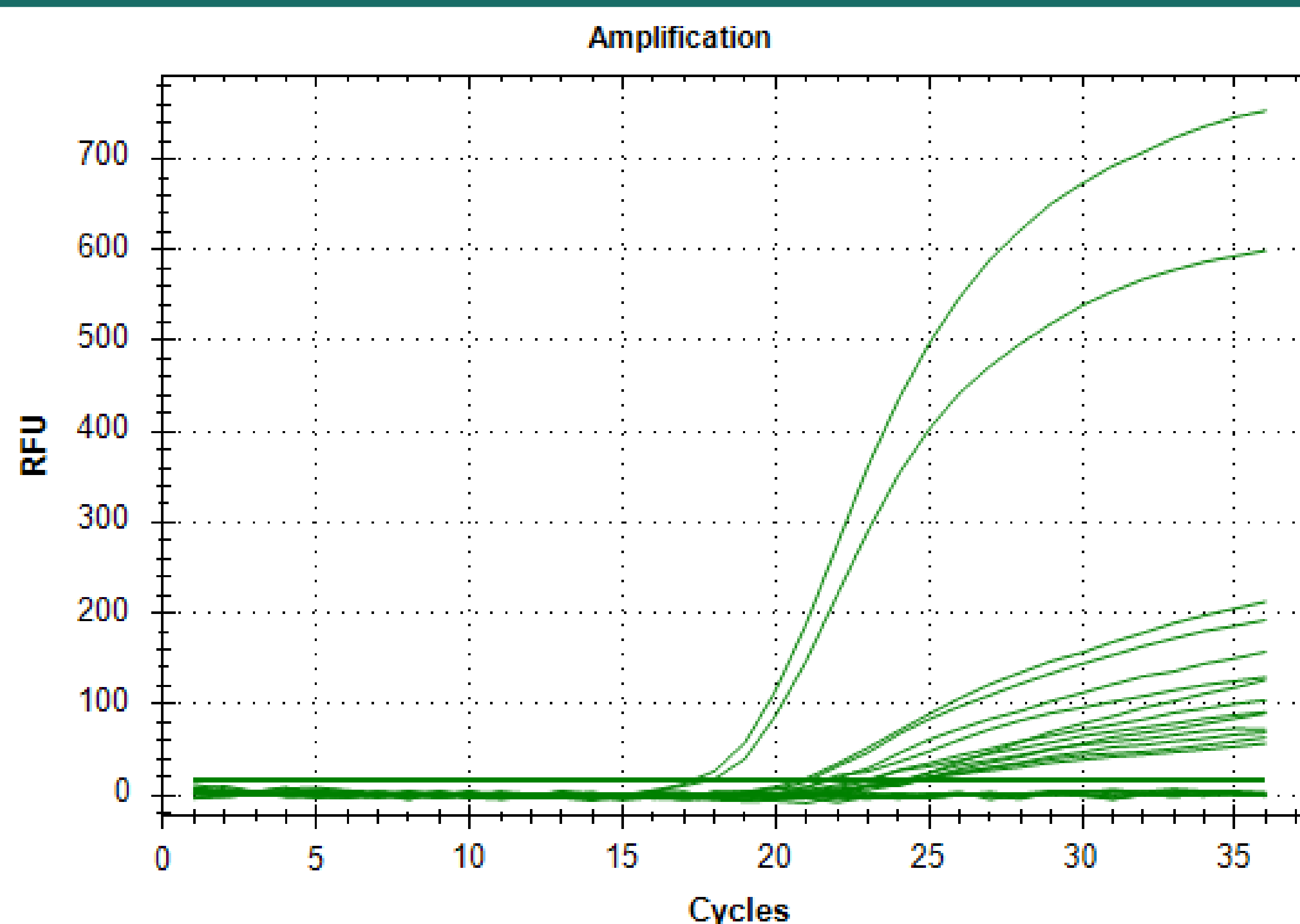
VCN составил от **0,45 до 1,41 копий/клетку** при проценте трансдукции по цитометрии от 51,88 до 65,61% в зависимости от партии, что соответствует требованиям международных регуляторов по обоим показателям.

Выводы

- 1) Отмечена тенденция к прямой зависимости между значением VCN и долей трансдуцированных клеток в популяции по цитометрии;
- 2) Накопление CAR-T клеток в органах мышей носило дозозависимый эффект с неравномерным распределением и преимущественным присутствием в легких, печени и селезенке животных;
- 3) Безопасность лентивирусного вектора была верифицирована отсутствием репликационно-компетентных вирусов: сигнал в опытных и контрольных пробах не достигнул уровня порогового предела обнаружения, эквивалентного 100 копиям контрольной плазмиды.



В рамках ДКИ ФГБУ НМИЦ Радиологии, анализ тканевого тропизма пула CAR-T, вводимых мышам, показал преимущественное накопление **в легких, печени и селезенке**.



Кривые амплификации 100 копий контрольной плазмиды с последовательностью VSV-G. Сигнал от гДНК трансдуцированных и интактных клеток детектировались **позже контрольной точки**.