

АКТИВАЦИЯ НК-КЛЕТОК В БИОРЕАКТОРНЫХ СИСТЕМАХ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* В ПРИСУТСТВИИ ФИДЕРНЫХ КЛЕТОК



© В.А. Рыбачук^{1,2*}, Н.В. Михайловский^{1,2}, Е.В. Абакушина^{1,2}

¹ООО «Текон Медицинские приборы», Москва

²ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

АКТУАЛЬНОСТЬ. Получение клинически значимого количества функционально эффективных естественных клеток-киллеров (НК) является важной задачей для иммунотерапии онкологических заболеваний. Современные методы производства НК-клеток ограничены из-за трудностей масштабирования и лицензионных ограничений. Целью данного исследования являлась оценка уровня экспрессии поверхностных маркеров активации и пролиферативной активности НК-клеток здоровых доноров в процессе длительной экспансии в газопроницаемых биореакторных системах G-Rex.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Градиентным методом выделяли мононуклеарные клетки, содержащие, в т.ч. НК-клетки, из периферической крови 10 здоровых доноров по стандартной методике. Применяли два способа культивирования. В первом способе клетки культивировали без добавления фидерных клеток (ФК), во втором добавляли ФК линии TMDK-562-15. Процесс культивирования проводили в 6-луночных биореакторах G-Rex6M (Wilson Wolf, США) с площадью поверхности 10 см² в полной питательной среде на основе RPMI-1640 с добавлением ИЛ-2 (ронколейкин, «БИОТЕХ», Россия), в условиях CO₂-инкубатора при температуре 37°C в течение 14 дней. Индекс пролиферации (ИП) определяли как отношение общего числа клеток на 14 день к количеству клеток до начала культивирования. Активацию экспансированных *in vitro* НК-клеток оценивали по уровням экспрессии поверхностных маркеров HLA-DR и CD38 методом проточной цитометрии на 0-е, 7-е и 14-е сутки культивирования (AMNIS Image Stream MkII, «Luminex», США). Статистический анализ осуществляли с помощью «MS Excel 2016».

РЕЗУЛЬТАТЫ. По полученным данным средний ИП НК-клеток на 14-е сутки культивирования в 1-м способе составил 32, во 2-м — 206. Экспансия НК-клеток в условиях активации ИЛ-2 с ФК показывала увеличение НК-клеток до 96%. Рост этой же популяции также наблюдался и в клеточной культуре при культивировании с ИЛ-2 до 21% (p<0,05). В группе №2 уровень экспрессии HLA-DR⁺ находился на уровне 80% на протяжении всего цикла культивирования, а в первой группе составил 74 и 66% на 7-е и 14-е сутки, соответственно. Доля CD38⁺ на 7-е и 14-е сутки в группе №2 составила 99 и 97%, соответственно. В 1-й группе процент активированных НК-клеток, экспрессирующих маркер CD38, был постоянен и в среднем составил 95%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Показано, что GMP-совместимый метод в газопроницаемых биореакторных системах G-Rex в присутствии ИЛ-2 и ФК позволяет получить большое количество активированных НК-клеток из периферической крови здоровых доноров, что указывает на их перспективное использование в клинических исследованиях.

ЦИТИРОВАТЬ:

Рыбачук В.А., Михайловский Н.В., Абакушина Е.В. Активация НК-клеток в биореакторных системах после культивирования *in vitro* в присутствии фидерных клеток // *Эндокринная хирургия*. — 2023. — Т. 17. — №4. — С. 84. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12906>

TO CITE THIS ABSTRACT:

Rybachuk VA, Mikhailovsky NV, Abakushina EV. Activation of NK cells in bioreactor systems after *in vitro* cultivation in the presence of feeder cells. *Endocrine surgery*. 2023;17(4):84. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12906>

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

