

**Ретровирусная трансдукция гена iCasp9 в НК-клетки с целью изучения
индукции их клеточной смерти**

Научный руководитель – Стрельцова Мария Алексеевна

Паламарчук Анастасия Игоревна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический
факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия

E-mail: palanastasia@yandex.ru

Всё чаще в иммунотерапии раковых заболеваний стали применять модифицированные НК-клетки, обладающие рядом преимуществ над Т-клетками - меньший риск развития реакции трансплантат против хозяина и наличие антитело-зависимой клеточной цитотоксичности. Однако многочисленные побочные эффекты, выявленные при клеточной терапии, свидетельствуют о необходимости контроля над применяемыми клетками. Вирусная трансдукция гена индуцирующей каспазы 9 (iCasp9), позволяющая в короткое время запускать апоптоз в модифицированных клетках, показала себя наиболее успешной системой их элиминации. Целью данной работы являлось изучение ретровирусной трансдукции гена iCasp9 в НК-клетки и индукции их апоптоза.

НК-клетки выделяли из периферических мононуклеаров методом отрицательной магнитной сепарации и стимулировали IL-2 и облучёнными клетками линии K562-mbIL21, экспрессирующей мембраносвязанный IL-21. Вирусные частицы собирали в трансфицированных плазмидами pMSCV-F-del Casp9.IRES.GFP и RD114 клетках линии Phoenix Amrho. Эффективность заражения оценивали по уровню экспрессии GFP. Затем клетки инкубировали с димеризатором CID (chemical inductor of dimerization) для индукции апоптоза, определяемого окрашиванием Annexin V и Sytox AAD.

Показано, что после стимуляции НК-клетки приобретали менее дифференцированный фенотип, характеризующийся высоким пролиферативным потенциалом. Замечена лучшая выживаемость клеток NKG2C⁺. Среди трансдуцированных клеток отмечен переход к более дифференцированному фенотипу со снижением доли некоторых активирующих рецепторов. Доля трансдуцированных клеток со временем уменьшалась, что может быть связано с меньшей пролиферативной активностью, однако уровень экспрессии репортерного белка в среднем на одну клетку повышался.

Культивирование iCasp9-НК-клеток с CID (10 нМ, 20 нМ, 100 нМ) в течение 12 или 16 ч приводило к запуску апоптоза. Доля погибших клеток увеличивалась с ростом концентрации димеризатора. Клетки с меньшим уровнем экспрессии GFP хуже отвечали на CID, однако увеличение концентрации димеризатора приводило к увеличению доли этих клеток в апоптозе.

Таким образом, показано, что стимуляция IL-2/K562-mbIL21 приводит к активации и увеличению пролиферативного потенциала клеток. После трансдукции преимущественно выживали клетки с более дифференцированным фенотипом, а CID индуцирует апоптоз iCasp9-модифицированных клеток.