

INTRODUÇÃO

O uso de Células Natural Killer (NK) em imunoterapia tem sido considerado uma alternativa promissora para tratamento de doenças malignas. Nosso grupo, em parceria com *M.D. Anderson Cancer Center* da Universidade do Texas (EUA), está adaptando um protocolo para expansão de células NK em grau clínico, utilizando uma célula apresentadora de antígeno artificial (aAPC). Células da linhagem celular K562 de eritroleucemia humana foram modificadas geneticamente⁽¹⁾ para atuarem como aAPCs, denominadas K562mII-21 clone 9, expressando moléculas para a ativação e expansão das células NK.

OBJETIVO

1. Padronizar o cultivo de uma aAPC para expansão de células NK em grau clínico, de acordo com as boas práticas de manufatura.
2. Estabelecer um certificado de qualidade para liberação das células para uso em ensaios clínicos.

RESULTADOS

As aAPCs tem apresentado adequada expansão e viabilidade média em torno de 98%. Os marcadores para a imunofenotipagem estão em fase de aquisição e os testes para detecção de micoplasma e endotoxinas estão sendo estabelecidos.

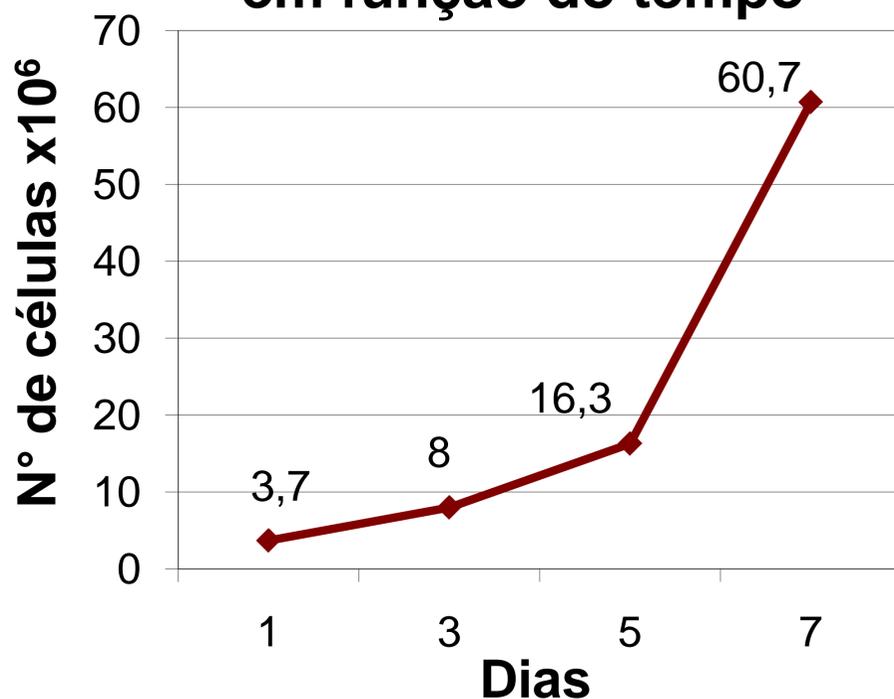
CONSIDERAÇÕES FINAIS

Até o presente momento as aAPCs tem demonstrado viabilidade e crescimento esperado para o uso na expansão de células NK em grau clínico. Ainda é necessário o estabelecimento dos testes para detecção de contaminantes e aquisição de reagentes para o painel fenotípico.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. As células K562 foram modificadas geneticamente conforme descrição prévia⁽¹⁾.
2. As aAPCs são cultivadas a 37°C e 5% CO₂ em meio de cultura composto por RPMI 1640, 10% SFB e Glutamax-1.
3. A troca de meio é realizada em um esquema: segunda, quarta e sexta-feira.
4. A concentração celular é mantida 5x10⁵ células/mL.
5. Avaliação fenotípica por citometria de fluxo.
6. Testes para detecção de agentes contaminantes.

Curva de Crescimento de aAPCs em função do tempo



REFERÊNCIAS

- (1) Manuri PVR, Wilson MH, Maiti SN et al. *piggyBack* Transposon/Transposase System to Generate CD19-Specific T cells for the Treatment of B-Lineage Malignancies. *Human Gene Therapy*, 2010; 21:427-437