

## **Cultivo de uma Célula Apresentadora de Antígeno Artificial para Expansão de Células NK em Grau Clínico**

**Introdução:** Células Natural Killer (NK) tem sido abordadas como uma alternativa terapêutica para tratamento de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA). Um protocolo está sendo padronizado pelo nosso grupo em Cooperação com o *M.D. Anderson Cancer Center* da Universidade do Texas (EUA), com o objetivo de sensibilizar linfócitos a produzirem células NK efetoras. Células K562 apresentam a translocação t(9;22) (Cromossomo Filadélfia) e derivam da linhagem celular K562 de eritroleucemia humana. Estas células foram modificadas geneticamente (mIL21-K562 Clone 9) e atuam como Células Apresentadoras de Antígeno (APCs), expressando os marcadores de superfície para a ativação dos linfócitos. **Objetivo:** Padronizar o cultivo de células apresentadoras de antígeno artificial para expansão de células NK em grau clínico. **Metodologia:** As células são expandidas mantendo-as em estufa com controle de temperatura (37°C) e pressão de CO<sub>2</sub> (5%); o meio das células é composto por RPMI, 10% SFB e Antibiótico; a troca do meio é feita periodicamente e a concentração das células é ajustada a uma concentração ótima para sua proliferação. O cultivo das células é realizado de acordo com as normas da GMP (*Good Manufacturing Practices*). Para que haja um controle de qualidade, são realizados testes de imunofenotipagem e testes para verificar a presença de contaminantes (Micoplasma, Endotoxina). **Resultados:** Após 2 semanas de cultura celular as células APCs apresentam o seguinte padrão de imunofenotipagem:  $\geq 80\%$  CD64<sup>+</sup>,  $\geq 80\%$  CD86<sup>+</sup>,  $\geq 80\%$  CD137L<sup>+</sup>,  $\geq 80\%$  CD19<sup>+</sup>,  $\geq 80\%$  CD32<sup>+</sup>,  $\geq 80\%$  IL21<sup>+</sup>,  $\leq 5\%$  CD20<sup>+</sup> e  $\leq 5\%$  CD3<sup>+</sup>. As detecções de presença de micoplasma e endotoxinas nas culturas têm apresentado resultado negativo. **Conclusão:** O cultivo das células APCs foi realizado de acordo com o estabelecido e os resultados da imunofenotipagem se adequa às normas estabelecidas pelo protocolo seguido. **Perspectivas futuras:** Início do protocolo de expansão das células NK.