

Подбор условий для проведения генетической модификации Естественных киллерных клеток методом электропорации

Научный руководитель – Шман Татьяна Викторовна

Мухаметшина Анастасия Станиславовна

E-mail: mukhametshyna_n@yahoo.com

Аспирант

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

Актуальность. Активное использование генетически модифицированных естественных киллерных клеток (НК) ограничено методологическими трудностями доставки генетического материала в эти клетки и затрудняет разработку иммунотерапии на основе НК-клеток. Хотя вирусные векторы достигли наивысшей эффективности переноса генов в НК-клетки, они несут в себе проблемы случайного инсерционного мутагенеза [1]. Поэтому появляются более безопасные невирусные векторы и подходы к переносу генов — электропорация, липофекция, наночастицы и трогоцитоз [1]. Однако, проблемы с генетической модификацией первичных НК-клеток остаются до сих пор. В работе мы исследовали безвирусный протокол генетической модификации НК-клеток методом электропорации с использованием плазмидной ДНК.

Цель. Подобрать условия для проведения генетической модификации НК-клеток методом электропорации.

Материалы и методы исследования. Свежевыделенную популяцию НК-клеток подвергали электропорации с помощью Neon Transfection System (Thermo Fisher Scientific, США). Количество ДНК составляло 1,1 мкг/мл. Для получения оптимальной эффективности генетической модификации тестировали различные среды (Opti-MEM (Thermo Fisher Scientific, США), T-buffer (Neon Transfection System, США), Opti-MEM + DMSO) и два варианта импульса (2050/20 500/100 *1, 1820/20 500/100 *1). Количество трансдуцированных клеток анализировали по экспрессии репортерного белка EGFP, показатели жизнеспособности клеток оценивали по накоплению витального красителя DRAGQ7 методом проточной цитофлуориметрии на приборе DxFLEX Flow Cytometer (Beckman Coulter Life Sciences, США).

Результаты. Наибольшее количество трансдуцированных клеток после электропорации было получено с использованием среды T-buffer, количество EGFP клеток и их жизнеспособность составили $4.1 \pm 1.1\%$ и $65.2 \pm 23.1\%$, соответственно, однако продолжительная экспансия не была достигнута. Исходя из полученных данных, нами была выбрана среда Opti-MEM, жизнеспособность клеток после электропорации достигла $70.5 \pm 18.4\%$, количество EGFP клеток составило $2.7 \pm 1.3\%$, однако достоверных различий получено не было. Наиболее высокая жизнеспособность клеток после электропорации была достигнута с использованием варианта импульса 2050/20 500/100 *1 - $79.8 \pm 9.8\%$, количество EGFP клеток составило $20.1 \pm 3.8\%$ ($p < 0.05$).

Выводы. Для получения оптимальной эффективности генетической модификации методом электропорации с целью проведения дальнейших исследований нами была выбрана среда Opti-MEM и вариант импульса 2050/20 500/100 *1.

Источники и литература

- 1) Sandro Matosevic: Viral and Nonviral Engineering of Natural Killer Cells as Emerging Adoptive Cancer Immunotherapies // Journal of Immunology Research. 2018, №2018. p 20.