

215

EXPANSÃO DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DURANTE CULTIVO IN VITRO. *Pedro C. Chagastelles, Elvira A. Cordero, Waldir F. Allebrand, Nance B. Nardi.* (Laboratório de Imunogenética - Departamento de Genética, Instituto de Biociências - UFRGS)

As células sanguíneas são formadas na medula óssea, a partir de uma célula pluripotente e com alta capacidade de auto-renovação chamada célula tronco hematopoética (HSC). A HSC é caracterizada por marcadores de superfície tais como CD34 em humanos e Sca-1 em camundongos. Para que ocorra a hematopoiese é necessária a interação dessa célula com o estroma de medula óssea, através de contato célula-célula, de componentes da matriz extracelular e da secreção de fatores reguladores solúveis. Assim, a manipulação e cultivo de HSC altamente purificadas pode resultar em uma perda do potencial de recolonização do sistema hematopoético, que caracteriza as células tronco. Este projeto tem como objetivo analisar diferentes sistemas de cultivo de HSC obtidas a partir de sangue de cordão umbilical humano e medula óssea de camundongos. No primeiro sistema, as células tronco (CD34+ ou Sca-1+ respectivamente) purificadas em colunas de contas magnéticas são cultivadas isoladamente, enquanto no segundo as células são co-cultivadas durante diferentes períodos com os demais componentes da fração mononuclear. As culturas são realizadas em placas plásticas, em meio Stem Span a 37°C com 5% de CO₂ no ar. Para a análise dos resultados, é feito um ensaio clonogênico em meio semi-sólido nos dias 0, 1 e 7 de cultura e as colônias derivadas de células tronco são contadas após 10 dias. Esse ensaio é feito com a fração positiva para células tronco, a fração negativa, as células totais e a fração positiva e negativa co-cultivadas por diferentes períodos. Por citometria de fluxo, é feita a análise imunofenotípica das células no dia 0 e após o cultivo, com marcadores Sca-1, CD34, CD38 e CD45. Resultados preliminares mostram que uma maior frequência de células tronco é encontrada nas condições em que as mesmas são co-cultivadas com as outras células da fração mononuclear, enfatizando a importância da interação da célula tronco hematopoética com seu microambiente. (Fapergs, CNPq).