



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Influência dos fatores de Yamanaka na formação de teratomas
Autor	DARUZI CEZAR FELIPPE
Orientador	GUIDO LENZ

Em 2006, Takahashi e Yamanaka publicaram um trabalho pioneiro em que células fetais e adultas de camundongo tiveram o seu estado diferenciado alterado pela expressão de quatro fatores de transcrição, reprogramando uma pequena fração destas em células pluripotentes induzidas (iPSCs). Entretanto, uma das características fundamentais das iPSCs é a formação de teratomas, crescimentos malignos caracterizados pela presença de células dos três folhetos embrionários, que impediriam o uso clínico dessas células. O objetivo desse trabalho é produzir uma metodologia para avaliar o potencial tumorigênico de iPSCs que seja facilmente aplicável em cultura. Para isso optamos pelo uso de uma linhagem, a P19 que é derivada de teratocarcinoma de camundongo e que apresenta as características semelhantes das iPSCs.

Células da linhagem P19 foram silenciadas para os fatores de Yamanaka (Oct4, Sox2, c-Myc e Klf4) além de Nanog. Avaliamos a proliferação dessas células pelo método de *Cumulative Population Doubling* em que 7000 células foram plaqueadas e no dia 3 elas foram dissociadas e contadas em hemocitômetro. Células foram replaqueadas e contadas novamente no dia 5 e 7. Os valores obtidos por dia foram colocados na fórmula $PD = (\text{LOG}(N_i) - \text{LOG}(N_f)) / \text{LOG}(2)$, sendo N_i o valor inicial de células (7000 células) e N_f o valor total de células obtidas após cada dia de contagem. O *Cumulative Population Doubling* (CPD) é o resultado da soma dos valores de PD obtidos por dia. Também avaliamos a capacidade dessas células formarem colônias pelo ensaio clonogênico em que 100 células foram semeadas em placa de 6 poços e cresceram por 10 dias. Após o décimo dia, as colônias foram fixadas com metanol e coradas com cristal violeta e o número de colônias foi contado. Avaliamos também se o silenciamento afetou a capacidade dessas células migrarem pela técnica de *Scratch* onde 45000 células foram plaqueadas em placa de 24 poços, após 2 dias foi feito um risco no poço. A migração foi avaliada nos tempos 0 h, 6 h e 24 h, em que foi acompanhado o tempo que as células demoram para fechar o risco.

Os resultados de CPD mostraram que a linhagem silenciada para c-Myc teve redução na proliferação enquanto que a para Klf4 teve um aumento na proliferação. As demais linhagens proliferaram igual a célula selvagem. O ensaio clonogênico mostrou que nenhuma linhagem teve a capacidade de formar colônias alterado. Resultados preliminares da migração mostraram que a linhagem silenciada para Nanog migrou tanto quanto o selvagem, enquanto as demais linhagens migraram menos.

A próxima etapa desse trabalho é avaliar a capacidade das células silenciadas em diferenciar em células derivadas nos três folhetos embrionários.