



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Criação de linhagens imortalizadas de células-tronco mesenquimais murinas isoladas de diferentes órgãos e tecidos
Autor	ISADORA BIANCHIN
Orientador	GUIDO LENZ

Introdução. As células-tronco mesenquimais (CTM) são aquelas que apresentam potencial de diferenciação em células de origem mesenquimal como osteócitos, condrócitos e adipócitos, havendo evidências de que elas podem também se diferenciar em células de outras origens embrionárias. Além disso, apresentam a capacidade de secretar fatores que propiciam a regeneração do tecido lesado - mecanismo chamado de ação parácrina - e são imunorregulatórias. Todas estas características tornaram as CTM excelentes candidatas para estudos envolvendo terapia celular e regeneração de tecidos, porém a grande variação nos resultados desses estudos é uma dificuldade. Uma das principais hipóteses para esta variabilidade são as diferenças nos protocolos de cultivo destas células, sendo possível então aumentar a concordância entre as pesquisas na área por meio da criação de linhagens celulares imortalizadas. **Objetivo.** Este trabalho tem como objetivo criar linhagens imortalizadas a partir de CTM isoladas de medula óssea, rim e pulmão de camundongos C57bl/6 utilizando um vetor retroviral contendo o gene da subunidade catalítica da telomerase (hTERT). **Materiais e Métodos.** Bactérias de linhagem XL1 foram usadas para produção do plasmídeo vetor pBABE-neo-hTERT. Posteriormente este plasmídeo foi usado para produzir as partículas virais juntamente com os plasmídeos acessórios (codificando envelope, capsídeo e enzimas). As diferentes CTM foram tratadas com o antibiótico geneticina (G418) por duas semanas para estabelecer a quantidade mínima para selecionar as células transduzidas. As células foram incubadas com o vetor retroviral por 16h utilizando 8µg/mL de polibreno. O sucesso de transdução será avaliado através de PCR com oligonucleotídeos específicos para o gene da hTERT. Posteriormente serão avaliados o potencial de diferenciação osteogênica e adipogênica além da presença dos marcadores de superfície CD29, CD45 e CD90. Todos estes resultados serão comparados com os de células não imortalizadas. **Resultados.** Os vetores foram produzidos em bactérias XL1. O vetor retroviral foi produzido na linhagem celular HEK293T e congelado para uso posterior. As diferentes CTM foram tratadas por duas semanas com 0,6 a 2,2 mg/mL de geneticina, em intervalos de 0,2 mg/mL e a quantidade ideal encontrada foi 1,8 mg/mL. As CTMs foram transduzidas com o vetor retroviral e estão sendo selecionadas para análises posteriores.