



Evento	Salão UFRGS 2024: SIC - XXXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2024
Local	Virtual
Título	Estabelecimento de protocolo para extração, isolamento e cultivo de células-tronco hematopoiéticas murinas in vitro para edição gênica com sistema CRISPR/Cas9 como terapia gênica para Mucopolissacaridose tipo II
Autor	VINÍCIUS SCHUSTER DA SILVA
Orientador	GUILHERME BALDO

Justificativa: A mucopolissacaridose tipo II (MPSII) é uma doença genética rara marcada pelo acúmulo de glicosaminoglicanos devido à deficiência da enzima lisossômica iduronato sulfatase. Como tratamento, o transplante de células-tronco hematopoiéticas (CTH) a partir de um doador saudável é eficaz, porém limitado pela incompatibilidade de doadores e da doença do enxerto contra hospedeiro, urgindo a necessidade de novos tratamentos. **Objetivo:** Estabelecer método de extração e isolamento de CTH murinas, preservando a integridade celular e fenótipo indiferenciado *in vitro*, possibilitando a expansão populacional para edição gênica com CRISPR/Cas9, seguido de transplante alogênico em animais doentes, como nova terapia para MPSII. **Metodologia:** Para obtenção da medula óssea, camundongos com 10 semanas foram eutanasiados por sobredose de isoflurano, fêmur e tibia foram coletados e lavados internamente com PBS em seringa. O isolamento das CTH foi realizado usando kit comercial com anticorpos anti-lineage associado a beads magnéticas, seguido por separação em coluna cromatográfica para seleção de linhagens celulares não diferenciadas (*lineage* negativas). As CTH isoladas foram cultivadas em meio Ham F-12 suplementado, com troca de meio a cada 48h, e mantidas em incubadora a 37°C e 5% O₂. A expansão populacional foi monitorada por 15 dias para avaliação da taxa de crescimento e manutenção do perfil indiferenciado. **Resultados:** Nas amostras processadas, foram extraídas em média 76,8 milhões de células da medula por animal, sendo 1% CTH *lineage* negativas após o isolamento. Após 15 dias em cultura, a contagem de células demonstrou, em média, uma expansão populacional de 80%. Quando comparada com CTH de animais saudáveis, a expansão de CTH de animais MPSII se mostrou em média 40% mais discreta. O estudo, ainda em andamento, demonstra uma eficiência inicial no protocolo, garantindo o isolamento e expansão das CTH murinas *in vitro*, crucial para a posterior edição e transplante.