

302

TRANSFERÊNCIA GÊNICA EM CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS (CD34+) DE AMOSTRAS DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL HUMANO. *Cecília H. F. Matte, Leonardo A. K. Teixeira, Camila M. Ilgenfritz, José A. B. Chies, Cristina B. C. Bonorino e Nance B. Nardi* (Departamento de Genética – UFRGS)

As células tronco hematopoéticas (HSCs) têm sido muito utilizadas em protocolos de terapia gênica. O sangue de cordão umbilical (HUCB) apresenta no mínimo a mesma frequência de HSCs quando comparado com a medula óssea. Nosso objetivo é transfectar HSCs (CD34+) de amostras de HUCB usando um plasmídeo estável contendo o gene EGFP (pREGFP). O método de transferência gênica usado já foi estabelecido em nosso laboratório através de um composto polycatiônico (SuperFect Transfection Reagent® - Qiagen) em uma linhagem celular hematopoética (K562). Amostras de HUCB foram obtidas do Hospital Conceição (RS, Brasil), com o consentimento informado dos pacientes. Células CD34+ foram purificadas usando o MACS Cell Isolation Kit (Miltenyi Biotec) com uma eficiência de isolamento de 95%. Moléculas de adesão (CD11c, CD31, CD49e, CD62 e CD117) também foram analisadas por citometria de fluxo. As células foram cultivadas em meio RPMI 10% FCS na presença/ausência de fatores estimulatórios (IL-3, IL-6, G-CSF, Flt3-L e SCF) por diferentes períodos de tempo. Estas células foram transfectadas e a eficiência de transfecção avaliada por citometria de fluxo e microscopia de fluorescência. Resultados preliminares mostraram o seguinte perfil fenotípico para estas células: CD34+ (98%); CD38- (90%) após a purificação, e CD34+ (92%); CD38+ (98%) 4 dias após este procedimento e cultivadas na presença de fatores estimulatórios. No momento as condições de transfecção estão sendo otimizadas. Ensaio clonogênicos (Methocult) estão sendo realizados para monitorar a manutenção da expressão do EGFP ao longo da progênie hematopoética. Este trabalho é parte de um projeto para o estabelecimento de um protocolo clínico usando o gene da α -L-iduronidase para o tratamento da Síndrome de Hurler (Mucopolissacaridose tipo I). (CNPq)