



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ

XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO. CAMPUS DO VALE

Salão UFRGS 2019
CONHECIMENTO FORMACÃO INOVAÇÃO

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Análise da sincronia do ciclo celular entre células tumorais clonais e sua relação com a variação de sensibilidade à quimioterapia
Autor	DAPHNE TÓRGO DE LEMOS
Orientador	GUIDO LENZ

Análise da sincronia do ciclo celular entre células tumorais clonais e sua relação com a variação de sensibilidade à quimioterapia

Autora: Daphne Tórgo de Lemos. **Orientador:** Guido Lenz. Laboratório de Sinalização e Plasticidade Celular, Departamento de Biofísica do Instituto de Biociências da UFRGS.

Introdução: O câncer é uma doença de alta relevância na pesquisa científica devido aos frequentes casos de recorrência em pacientes, que se submetem a diferentes estratégias terapêuticas com agentes quimioterápicos. Esse comportamento tolerante das células tumorais é possível devido a diversos mecanismos moleculares que conferem a essas células a capacidade de sobreviverem a pressões e condições específicas impostas por um ambiente nocivo. Esse é o caso de células que sobrevivem à tratamentos com agentes alquilantes, por não estarem em fase de síntese de DNA. Ao trabalhar com colônias de células, que são derivadas da mesma célula única, podemos acompanhar qual o nível de herdabilidade de qualquer fenótipo, como por exemplo de tolerância. Dessa forma, investigar a herdabilidade do tempo de divisão entre células-mães e filhas pode ajudar na investigação da relação entre fases do ciclo celular, que pode ter uma duração de 18 horas até dias, e sua correlação com a sensibilidade à terapia. Ao analisar diretamente a flutuação do fenótipo de células individuais através do marcador FUCCI (que marca em fluorescência verde as fases G2/S/M), podemos acompanhar a sincronia de ciclo celular entre células da mesma colônia, de forma que se todas as células dentro das colônias estiverem sincronizadas, teríamos colônias verdes e colônias sem fluorescência. Se as células perdem sincronia conforme a colônia cresce e ocorrem mais divisões celulares, a porcentagem de fluorescência verde dentro das colônias terá variação, e isso fará com que o número de colônias com células fluorescentes e não-fluorescentes misturadas aumente. A análise do número de gerações necessárias para que células clonais, que teoricamente possuem parentesco próximo e portanto compartilham o mesmo DNA, sejam dessincronizadas mostra a existência de possíveis diferentes respostas à quimioterapia de células com relação de parentesco próximo pelo simples fato de elas terem sido dessincronizadas ao longo das gerações.

Objetivo: Analisar quantas gerações são necessárias para que as células clonais constituam uma colônia com fenótipo dessincronizado.

Métodos: Células tumorais da linhagem U251 foram transduzidas com o plasmídeo FUCCI e cultivadas em DMEM LOW suplementado com 10% de soro fetal bovino e mantidas em estufas a 37°C e 5% de CO₂. Trezentas células foram plaqueadas por poço, em uma placa de 6 poços, e mantidas em cultura até formarem colônias. As colônias foram fotografadas com o aparelho SpectraMax® MiniMax Imaging Cytometer após a sua formação, seguidas de mais duas fotos separadas por intervalos de 3 dias. A contagem de células por colônia foi feita através do software ImageJ. Foram feitas simulações para colônias de tamanhos diferentes e com diferentes tempos de fase (que representa o quão dessincronizadas são as células, pois ele é a diferença de tempo no ciclo entre duas células). A distribuição simulada que mais se aproximou da distribuição experimental nos indicou qual é o tempo de fase entre as células de uma mesma colônia. Através da análise desses dados obtém-se o valor de CeV50, que é o número de gerações necessárias para alcançar o que representa metade da dessincronização máxima.

Resultados e Conclusão: Os resultados obtidos até o momento indicam que o valor de CeV50 é 3.8, o que significa que em 3.8 gerações (que resulta em torno de 14 células) as células têm metade da dessincronização máxima. Isso quer dizer que essas colônias já podem responder de forma diferente a quimioterapia porque o tempo de dessincronização já estaria com a metade do tempo máximo.