



Evento	Salão UFRGS 2020: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2020
Local	Virtual
Título	Automatização da análise de atividade de cinases através de KTR em células únicas a partir de pipeline em CellProfiler
Autores	ANGELO LUIZ ANGONEZI JULIANO LUIZ FACCIÓNI
Orientador	GUIDO LENZ

RESUMO

TÍTULO DO PROJETO: Automatização da análise de atividade de cinases através de KTR em células únicas a partir de pipeline em CellProfiler.

Aluno: Angelo Luiz Angonezi

Orientador: Guido Lenz

RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO BOLSISTA

Cinases são enzimas que regulam processos biológicos por meio da fosforilação de famílias de proteínas, e estão ligadas a diversas vias de sinalização celular. Utilizando um *Kinase Translocation Reporter* (KTR), é possível avaliar dinâmica de atividade de cinases por meio da translocação núcleo-citoplasmática de uma molécula fluorescente ligada a seu peptídeo-alvo. A atividade da cinase é inferida a partir da razão de intensidades de fluorescência do núcleo e da região citoplasmática adjacente (anel citoplasmático). Realizar este processo de maneira manual para cada célula é trabalhoso e produz uma quantidade limitada de informações de cada célula. O presente projeto tem por objetivo desenvolver um pipeline no programa CellProfiler que permita a automatização da análise de KTR em células únicas, através da identificação e delimitação das regiões nucleares e citoplasmáticas e cálculo de razão de suas intensidades de fluorescência. Para o desenvolvimento inicial e validação do pipeline proposto, foram utilizadas imagens de microscopia de fluorescência disponibilizadas em um protocolo envolvendo KTR da cinase JNK (KUDO et al 2017, doi:10.1038/nprot.2017.128). O pipeline desenvolvido consiste em 4 etapas: correção de imagem; identificação dos núcleos; expansão dos núcleos e identificação do anel citoplasmático; medição da morfologia nuclear e intensidades de fluorescência. O pipeline foi capaz de corretamente identificar os núcleos nas imagens de referência, gerando banco de dados contendo informações sobre cada célula. Quando aplicado em imagens do próprio laboratório, alguns núcleos foram identificados de maneira incorreta, mostrando que há limitações em sua aplicação quanto à qualidade do sinal de fluorescência nas imagens. Espera-se, futuramente, aperfeiçoar e validar o pipeline com novos conjuntos de dados, melhorando seu desempenho e permitindo sua aplicação na análise de distintos experimentos, bem como realizar análises posteriores de células únicas com o conjunto de dados coletados, utilizando programas já desenvolvidos no laboratório.