



## Grupo da USP testa métodos para monitorar identidade de células-tronco pluripotentes

09 de maio de 2018

**Karina Toledo | Agência FAPESP –**

O avanço das técnicas que permitem transformar células adultas em células-tronco pluripotentes induzidas (IPS, na sigla em inglês) tem levado à geração de grandes coleções de linhagens

celulares, que abrigam material genético de milhares de indivíduos e, muitas vezes, são compartilhadas entre diferentes grupos de pesquisa.

A importância de se implantar na rotina dos laboratórios um método de monitoramento – capaz de confirmar a identidade de cada linhagem celular e detectar eventuais casos de troca de material ou contaminação cruzada – foi tema de um [artigo publicado](#) na revista *Stem Cell Research* por cientistas do Laboratório Nacional de Células-Tronco Embrionárias (LaNCE) da Universidade de São Paulo (USP).

“Analisamos diferentes métodos de monitoramento disponíveis comercialmente. Mostramos que, por meio da análise de marcadores do tipo STR [*Short Tandem Repeat*, ou Regiões Repetitivas Polimórficas], com equipamentos simples e baixo custo, é possível criar uma espécie de código de barras capaz de diferenciar cada indivíduo”, contou Lygia da Veiga Pereira, coordenadora do LaNCE e pesquisadora do Centro de Terapia Celular ([CTC](#)), um dos [CEPIDs](#) financiados pela FAPESP.

Em 2016, a equipe do LaNCE começou a desenvolver uma coleção de células-tronco pluripotentes capaz de refletir a mistura genética da população brasileira. As linhagens são geradas a partir de amostras de sangue doadas por participantes do estudo multicêntrico ELSA-Brasil (Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto), que vem sendo realizado desde 2008 em seis universidades brasileiras de diferentes estados. Ao todo, são acompanhados 15.105 homens e mulheres entre 35 e 74 anos (*leia mais em: <http://agencia.fapesp.br/24217/>*).

“Temos material congelado de 2 mil participantes e já geramos linhagens de células IPS a partir de 60 desses indivíduos”, disse Pereira.

A equipe do LaNCE faz uso de uma técnica premiada com o Nobel de Medicina em 2012 e descrita em 2006 por Shinya Yamanaka, da Universidade de Kyoto, no Japão. O método consiste em inserir na célula adulta – nesse caso, células do sangue periférico dos voluntários do ELSA – certas proteínas capazes de reprogramar o genoma celular.

Esses fatores de transcrição, como são conhecidos, ativam genes relacionados ao estágio embrionário da célula e desligam outros genes que deveriam estar ativos após o amadurecimento. São criadas assim células-tronco pluripotentes induzidas que podem, com o devido estímulo, se diferenciar nos mais diversos tecidos do corpo humano.

“Temos células de aproximadamente 200 pessoas com hipertensão. Algumas delas respondem bem ao tratamento, outras são resistentes. Um dos nossos objetivos é usar as linhagens geradas para estudar resposta a medicamentos anti-hipertensivos”, contou a pesquisadora.

O uso de células IPS na modelagem de doenças e no descobrimento de novos fármacos tem se mostrado bastante promissor. No entanto, esse tipo de pesquisa envolve a manipulação concomitante de células de vários indivíduos, aumentando a chance de contaminação cruzada.

Dados da literatura científica indicam que erros de identificação afetam pelo menos 15% das linhagens analisadas – o que impacta a validade de uma parcela significativa das descobertas científicas.

Segundo Pereira, a adoção de métodos de monitoramento da identidade celular já é rotina nos grandes repositórios públicos de células, porém, eles ainda são raros nos laboratórios das universidades e centros de pesquisa.

“Quando começamos a montar nossa coleção, surgiu a preocupação de incluir esse monitoramento como parte do nosso controle de qualidade. Decidimos então estudar qual das opções disponíveis era mais vantajosa em termos de praticidade e custo”, disse a coordenadora do LaNCE.

As plataformas de monitoramento mais sofisticadas, explicou Pereira, avaliam cerca de 1 milhão de marcadores moleculares do tipo polimorfismo de base única (SNPs, na sigla em inglês) – o que confere um perfil genético da amostra celular bastante extenso e detalhado.

“A desvantagem é que se trata de um método caro. Além disso, é necessário mandar a amostra para ser avaliada em outro local. Decidimos então testar métodos mais antigos e mais simples”, explicou.

Entre as opções avaliadas, o grupo escolheu a tecnologia até hoje mais usada em exames de DNA no mundo inteiro, que consiste na análise de marcadores do tipo STR, únicos em cada indivíduo. O método requer equipamentos relativamente fáceis de serem encontrados em *facilities* de biologia molecular: PCR (reação em cadeia da polimerase) e sequenciador de DNA. O custo fica em torno de US\$ 50 por linhagem – aceitável, na avaliação de Pereira.

“Esse método permite criar uma espécie de código de barras a partir de 15 marcadores que fornecem um padrão específico para cada indivíduo. Depois podemos comparar o padrão da linhagem celular e ver se combina com o do DNA contido na amostra de sangue do doador. A ideia é fazer essa verificação de tempos em tempos”, explicou.

Durante as análises que deram origem ao artigo agora publicado, a equipe do LaNCE detectou dois casos de linhagens celulares identificadas erroneamente.

“A criação desse código de barras permite que outros grupos de pesquisa – caso venhamos a compartilhar nosso material com parceiros – também façam a verificação da identidade celular com certa frequência”, disse Pereira.

O artigo *Monitoring cell line identity in collections of human induced pluripotent stem cells* (doi: 10.1016/j.scr.2018.01.030), de Raquel Sarafian, Mariana Morato-Marques, Juliana Borsoi e Lygia Veiga Pereira, pode ser lido em: [www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1873506118300369](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1873506118300369).