

Exercícios – Células-Tronco e Diferenciação

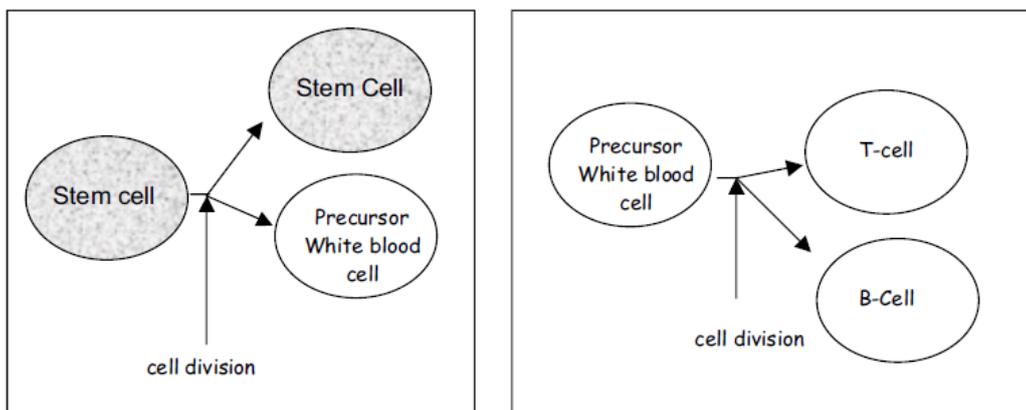
0420112 - Biologia Molecular da Célula (2020)

Profa Nathalie Cella - ncella@usp.br

1. Alguns estudos sugerem que células-tronco de tecido adiposo poderiam também se diferenciar em células da linhagem óssea. Para testar o potencial dessas células os cientistas criaram dois embriões de camundongo quiméricos, onde foram injetadas células-tronco de tecido adiposo que expressam GFP (proteína verde fluorescente). Dessa forma, essas células podem ser visualizadas no animal adulto. Na quimera 1 essas células foram injetadas em um embrião de 4 dias de vida (estágio de massa celular interna). Na quimera 2 essas células foram injetadas em um outro embrião de 8 dias de vida (estágio em que o desenvolvimento dos órgãos já começou). Na quimera 1, tanto osteoblastos (células ósseas jovens) quanto condroblastos (células cartilaginosas jovens) expressavam GFP. Na quimera 2, somente osteoblastos expressavam GFP. Explique brevemente por que as células-tronco injetadas tiveram destinos diferentes nas duas quimeras produzidas.

Os nichos encontrados pelas células injetadas são diferentes. Na quimera 1 o nicho foi capaz de prover sinais que direcionaram a diferenciação celular para ambos as linhagens ósseas. Em um embrião em um estágio posterior o sinal para diferenciação em cartilagem já não estava presente

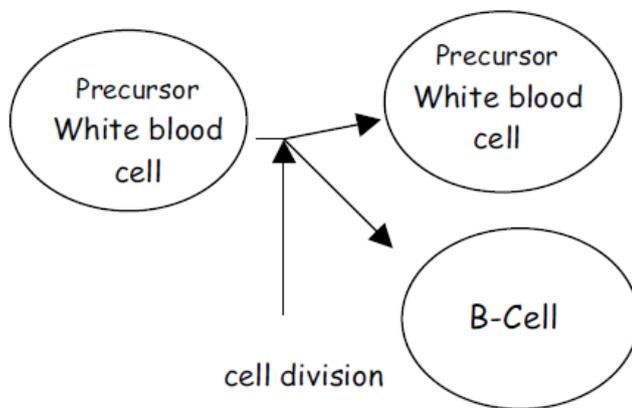
2. Uma célula-tronco se divide uma vez por dia e gera uma outra célula-tronco e uma precursora de leucócito (*precursor white blood cell*). A célula precursora de leucócito então se divide depois de um dia para dar origem a duas células diferenciadas – um linfócito T e um linfócito B.



- a) No início há uma única célula-tronco. Preencha a tabela indicando quantas células de cada tipo haverá em cada um dos dias indicados. Assuma que o tempo da divisão celular é de um dia.

Cell Type\ Day	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
Stem cells	1	1	1	1	1
Precursor white blood cells	0	1	1	1	1
T-cells	0	0	1	2	3
B-cells	0	0	1	2	3

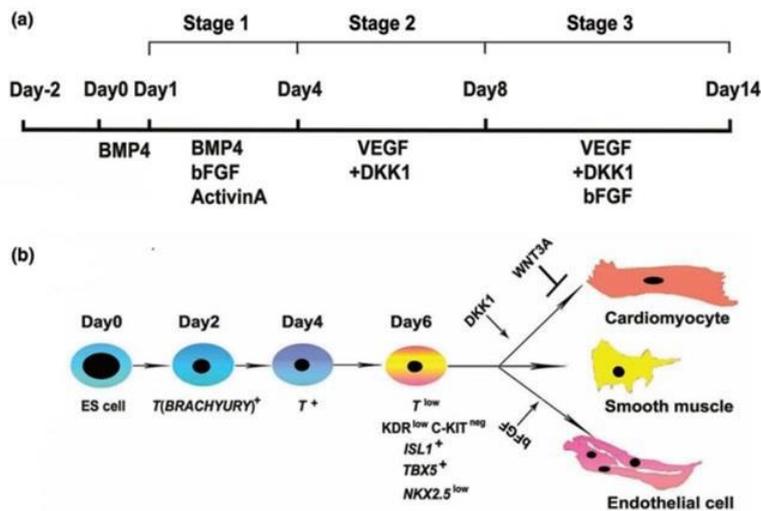
Você descobre uma célula-tronco que adquiriu uma mutação que impede que ela se diferencie em linfócito T. Como resultado, a célula precursora de leucócito resultante da divisão dessa célula-tronco se divide e gera uma célula precursora de leucócito e um linfócito B, como mostrado abaixo.



- b) Começando por uma célula-tronco mutada única, quantas células de cada tipo haverá nos dias subsequentes? Assuma que o tempo de divisão das células é de um dia.

Cell Type\ Day	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
Mutant Stem cells	1	1	1	1	1
Precursor white blood cells	0	1	2	3	4
T-cells	0	0	0	0	0
B-cells	0	0	1	3	6

3. O diagrama abaixo mostra a diferenciação de cardiomiócitos, células endoteliais e células de músculo liso a partir de células-tronco induzidas. BMP4, bFGF, Activin A, VEGF, DKK e WNT3A são fatores parácrinos. T(Brachyury), KDR, C-KIT, ISL1 e TBX5 são fatores de transcrição.



3.1 Qual/quais fator(es) de transcrição você sugere/hipotetiza que esteja envolvido no início do programa de diferenciação para cardiomiócitos?

T Brachyury

3.2 Para testar sua hipótese, que experimento você faria? Se tua hipótese for confirmada, qual resultado você esperaria?

Faço KO de T Brachyury. Se não houver diferenciação em cardiomiócitos, céls endoteliais e células de músculo liso confirmarei minha hipótese

3.3 Quais fatores de transcrição são essenciais para promover a diferenciação de cardiomiócitos, músculo liso e células endoteliais?

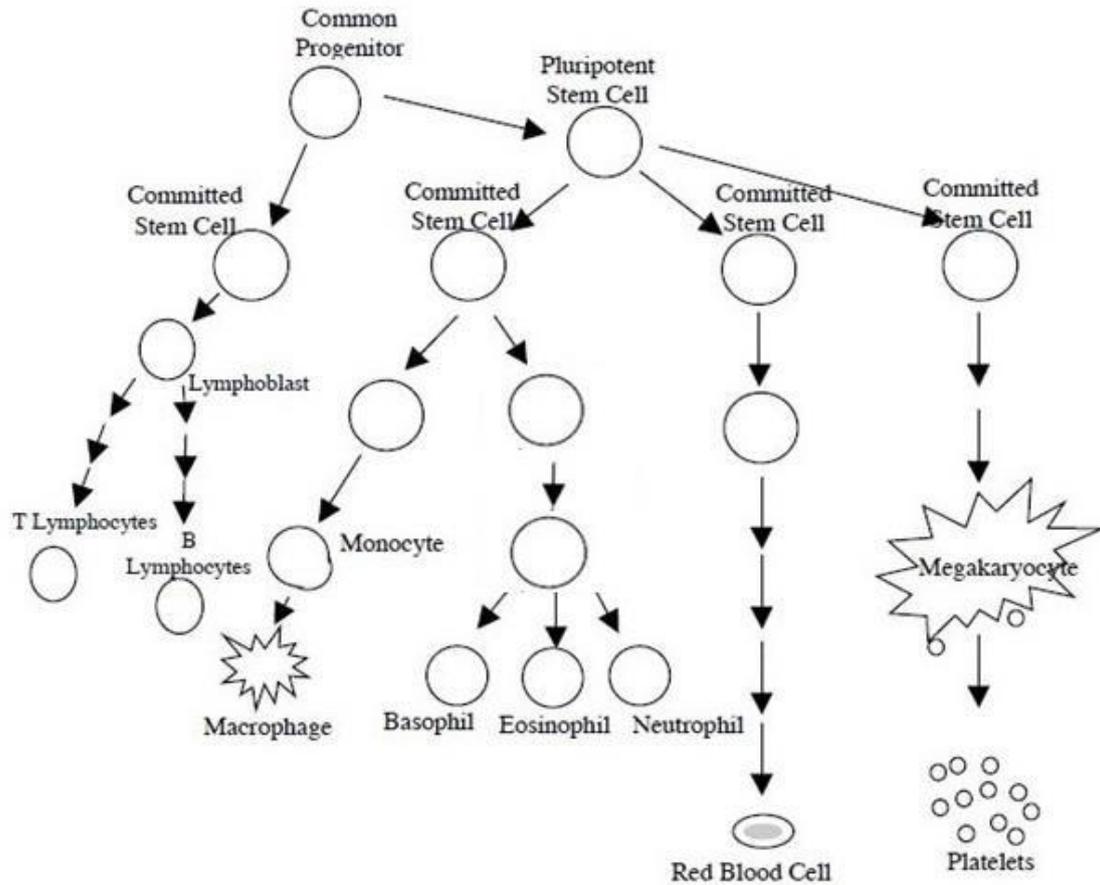
ENUNCIADO CERTO: Quais são os fatores de transcrição que induzem à diferenciação terminal de células-tronco induzidas para os três possíveis tipos celulares ?

ISL⁺ TBX5⁺

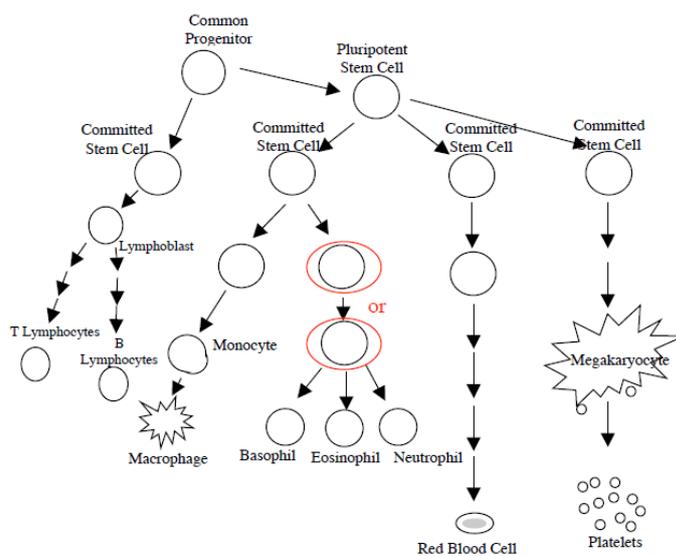
3.4. Se você quisesse maximizar a produção de cardiomiócitos, que fator(es) parácrino(s) você adicionaria e em que fase do programa de diferenciação (dia)?

Fator parácrino – DKK

4. Uma população de células-tronco pluripotentes foi irradiada com uma dada dose de raio-X. Essa dose não mata as células, mas gera quebras e rearranjos aleatórios nos cromossomos que podem ser detectados ao microscópio. Consequentemente, cada uma dessas células terá uma pequena anomalia cromossômica que servirá para distingui-las entre si (como uma MARCA). Essas células foram usadas para salvar a vida de um animal que foi irradiado. Utilize o diagrama abaixo para responder as questões.



4.1 Analisando o sangue do animal recuperado, você verifica que todos os basófilos, neutrófilos e eosinófilos têm a mesma MARCA. Marque no diagrama acima qual/qualis é/são a/as célula(s) que primeiro sofreu/ram o rearranjo.



4.2 Analisando o sangue de um segundo animal recuperado, você verifica que todos os basófilos, neutrófilos, eosinófilos e monócitos tem a mesma MARCA, enquanto megacariócitos

têm uma MARCA diferente. Quantas **tipos de células-tronco** da população doadora sofreram o rearranjo cromossômico? Explique.

UM – as committed stem cells

4.3 Você então analisa o sangue de um terceiro animal recuperado. Nesse animal você descobre que há células-tronco de medula óssea pluripotentes. Como é/são a/s MARCA(s) resultante(s) do(s) rearranjo(s) cromossômicos nesse animal?

The Macrophages, Basophils, Neutrophils, Eosinophils, Monocytes, Red Blood Cells, and Megakaryocytes all have the same marker.