

Ficha de Projeto



Designação do projeto: CentMitPSCs – Funcionamento dos centrómeros e fidelidade mitótica em células pluripotentes

Referência do projeto: LISBOA-01-0145-FEDER-031502

Código do projeto: 02/SAICT/2017

Objetivo principal: OT 1 – Reforçar a investigação, o desenvolvimento tecnológico e a inovação

Localização do projeto (NUTS II): Lisboa (100%)

Entidades Beneficiárias: Fundação Calouste Gulbenkian - Instituto Gulbenkian de Ciência

Data de aprovação: 03-05-2018

Data de início: 10-08-2018

Data de conclusão: 09-08-2022

Custo total elegível: 238.635,60 EUR

Apoio financeiro da União Europeia (FEEI): 95.454,24 EUR

Apoio financeiro publico nacional (orçamento de estado): 143.181,36 EUR

Descrição do projeto:

As células estaminais pluripotentes (PSCs) têm um grande potencial para serem usadas em medicina regenerativa e na investigação básica e aplicada. No entanto, para que se possam usar no seu potencial máximo, estas células têm de manter um cariótipo estável, através da correta segregação dos cromossomas durante a mitose. Os centrómeros são essenciais para a fidelidade mitótica, por formarem a estrutura que recruta as proteínas associadas aos microtúbulos que governam a segregação dos cromossomas. Apesar dos mecanismos de montagem e manutenção dos centrómeros estarem muito bem estabelecidos em células diferenciadas, quase nada se sabe acerca da sua regulação em PSCs e colmatar essa falha no conhecimento é o principal objectivo deste projeto. Iremos caracterizar os principais agentes na biologia dos centrómeros em PSCs, tanto em células estaminais embrionárias como em células pluripotentes induzidas. Combinando técnicas de fluorescência pulse-label e microscopia de ponta, iremos

caracterizar os níveis da histona centromérica CENP-A, a marca epigenética essencial para a manutenção da identidade do centrómero, bem como de factores associados à sua regulação e proteínas importantes para a ligação dos microtúbulos durante a mitose. Iremos determinar as consequências, na cromatina do centrómero, da extensiva remodelação da cromatina que ocorre durante a reprogramação, em particular dos níveis e distribuição da histona modificada H3K4me2. Elucidando assim os mecanismos de manutenção dos centrómeros em células pluripotentes no geral, e durante a reprogramação em particular. Paralelamente, iremos determinar a fidelidade mitótica em PSCs utilizando técnicas de microscopia que permitem observar células vivas em tempo-real. Ao analisar os tipos de erros que podem ocorrer durante a segregação dos cromossomas, poderemos identificar que aspetos dos centrómeros, cinetocoro, fuso mitótico e/ou função dos mecanismos de regulação do ciclo celular estão a falhar nas células estaminais, contribuindo para a elevada incidência de aneuploidia nestas células. Por fim, iremos modificar os protocolos de reprogramação de modo a melhorar a fidelidade mitótica, usando modificações específicas em proteínas reguladoras da biologia dos centrómeros e do cinetocoro, que demonstrámos serem importantes em células diferenciadas e que iremos identificar na parte inicial deste projeto. O IR e Co-IR desta proposta contribuem com um conjunto de competências científicas ímpares na biologia das células estaminais, dos centrómeros e divisão celular. Com o objetivo de compreender os mecanismos que controlam a correta segregação dos centrómeros em PSCs e os potenciais erros que necessitam ser evitados para manter a estabilidade genómica durante a reprogramação. Pretendemos modificar protocolos de reprogramação existentes de modo a otimizar aspectos essenciais da regulação dos centrómeros, o que permitirá obter células pluripotentes mais seguras e robustas, de um modo mais eficiente.



O prazo de execução de projeto CentMitPSCs foi prolongado até 09 de agosto de 2022.