

Células dendríticas: explorando  
novas vacinas

O sistema imunitário: um vigilante  
contra o cancro



Ciência  
Viva

2011

# Objetivos de estágio

- 1. Caracterizar o papel das células dendríticas**
  - No sistema imunitário
  - Na imunoterapia
- 2. Conhecer melhor o processo da citometria de fluxo e as suas aplicações**
- 3. Caracterizar apoptose/necrose**
- 4. Regras de trabalho em condições de esterilidade**
- 5. Isolamento de monócitos a partir do sangue total**
- 6. Diferenciação de monócitos em DC's**
- 7. Fenotipagem**
- 8. Ensaios de maturação, fagocitose e apoptose.**

# Células dendríticas





## No sistema imunitário

- As células dendríticas (DCs) são células com longas extensões membranares que são capazes de fagocitar no estado imaturo e também de apresentar antígenos processados aos linfócitos T. Estes, quando activados, são essenciais numa resposta de combate a organismos invasores ou células cancerígenas.

A microscopic view of a white blood cell (leucocyte) in the center, surrounded by numerous red blood cells (erythrocytes). The white blood cell is spherical and has a highly textured, bumpy surface. The red blood cells are biconcave and have a smooth surface. The background is dark, making the cells stand out.

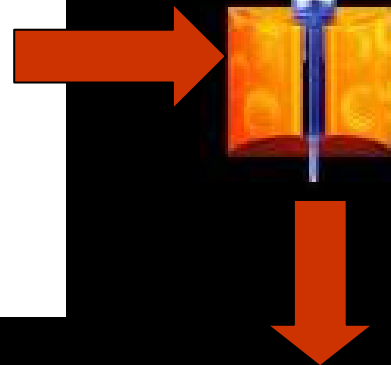
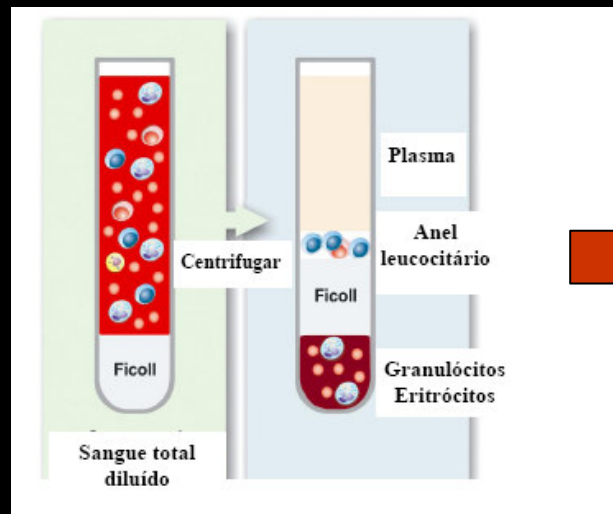
# Na imunoterapia

- Na área de imunologia têm-se realizado variados estudos tentando manipular o sistema imunitário para produzir vacinas celulares e usá-las com fins terapêuticos.
- Em laboratório estas células são produzidas para uso em imunoterapia. O processo envolve o isolamento de monócitos do sangue periférico e depois a diferenciação “in vitro” para células dendríticas (DCs). Depois de maduras e postas em contacto com um antígeno tumoral do paciente, estas células são re-introduzidas com maior capacidade de estimulação imunitária.

# **Técnicas laboratoriais usadas esta semana**

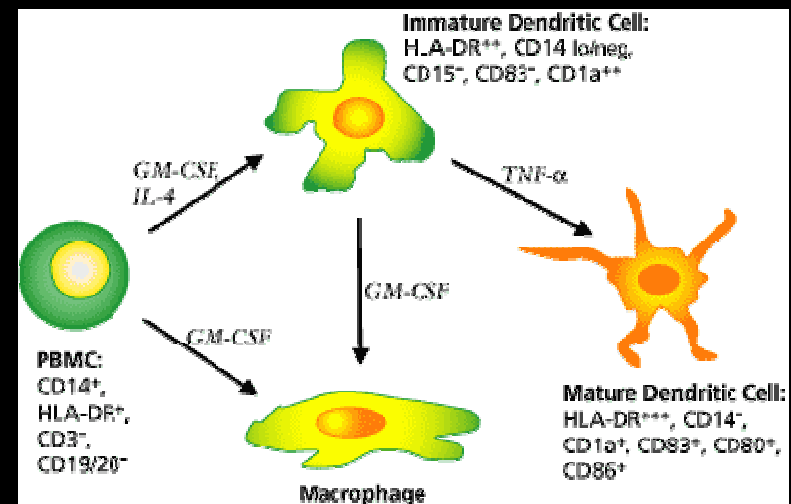
- 1. Isolamento de monócitos e indução de diferenciação em DCs**
- 2. Indução da maturação das DCs.**
- 3. Fenotipagem por citometria de fluxo**
- 4. Monitorização do isolamento dos monócitos**
- 5. Avaliação da maturação das DCs.**
- 6. Avaliação da capacidade fagocítica das DCs**
- 7. Cultura das linhas celulares tumorais**
- 8. Indução da apoptose**
- 9. Determinação das células em apoptose.**

# Isolamento de monócitos e indução de diferenciação em DCs



➤ Marcação com Beads anti-CD14 (marcador de monócitos)

➤ Separação imunomagnética



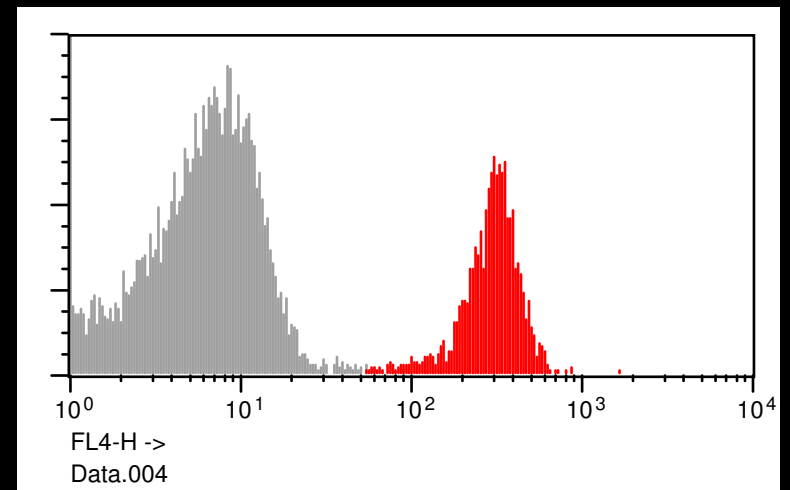
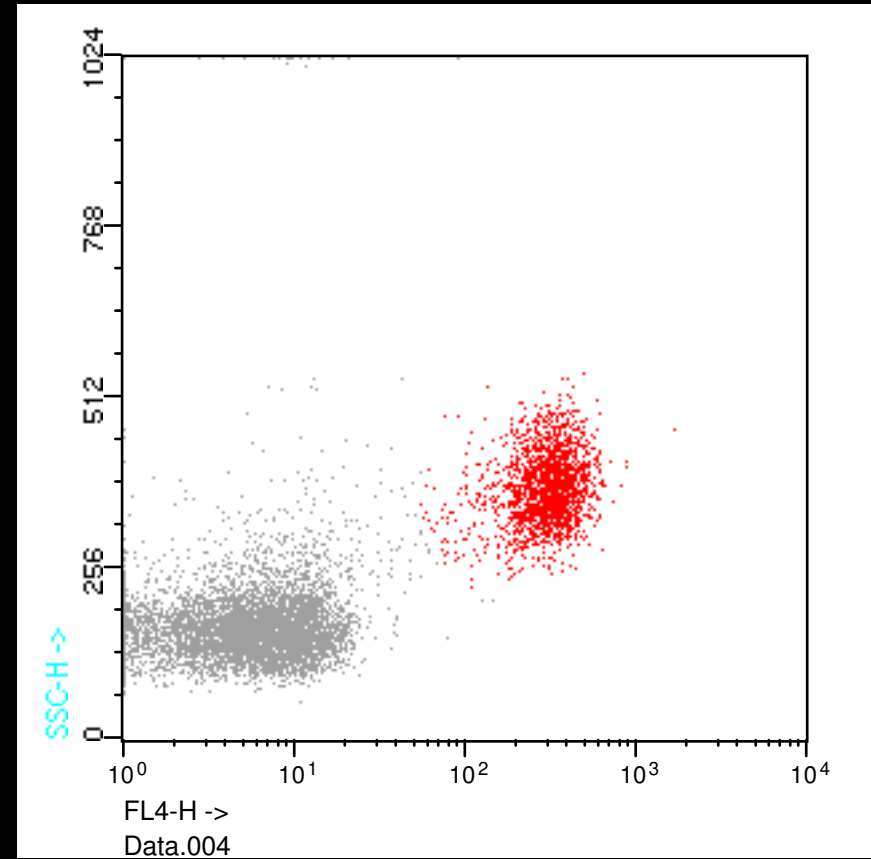
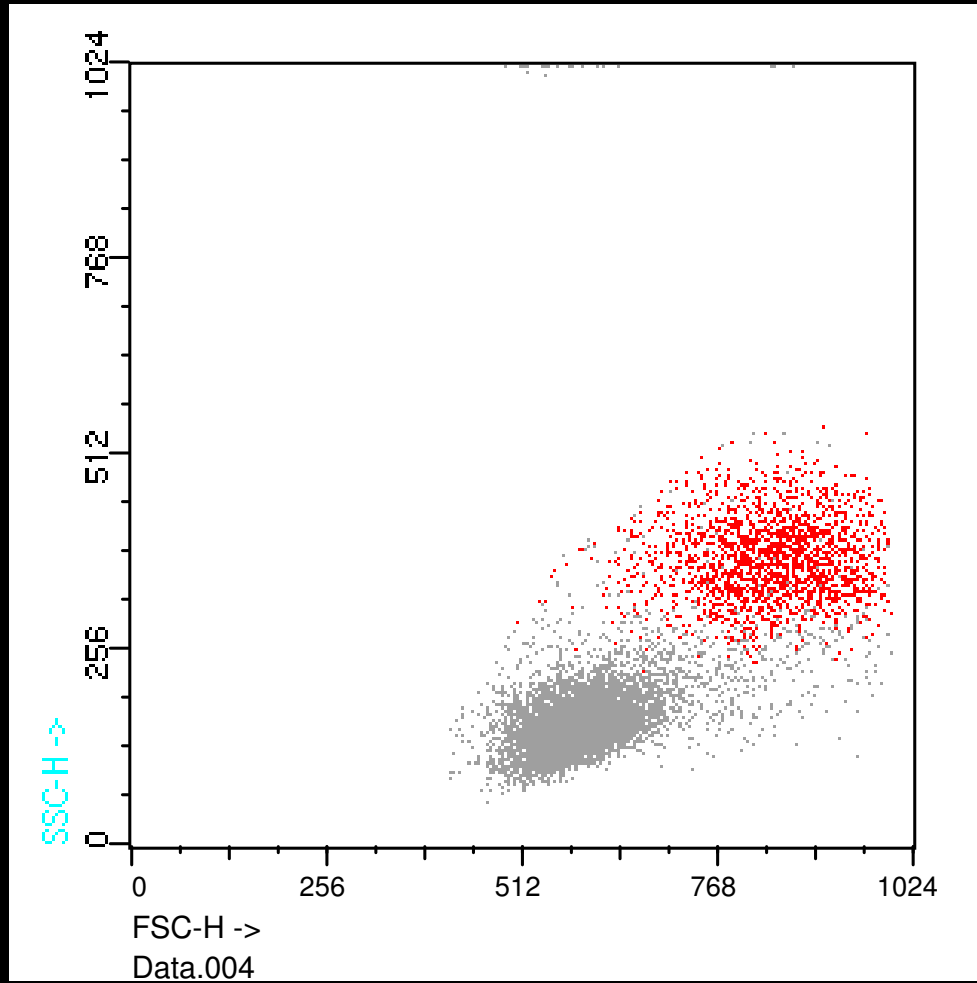
# Resultados experimentais

**Monitorização do isolamento dos monócitos por citometria de fluxo (com marcação com o anticorpo anti- CD14):**

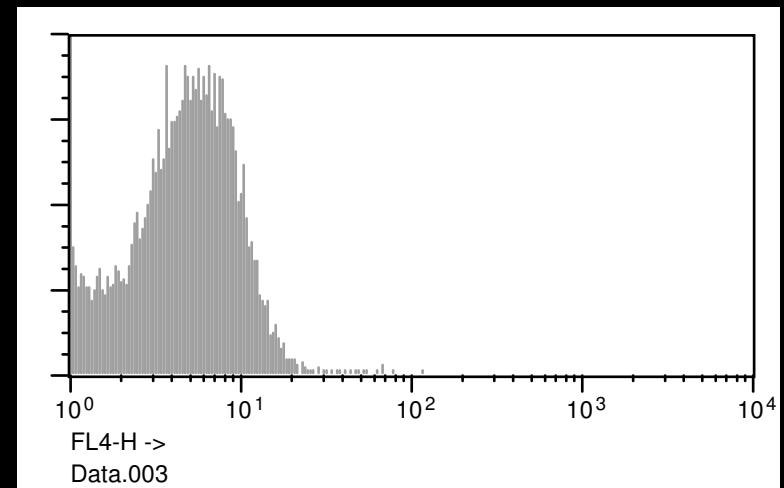
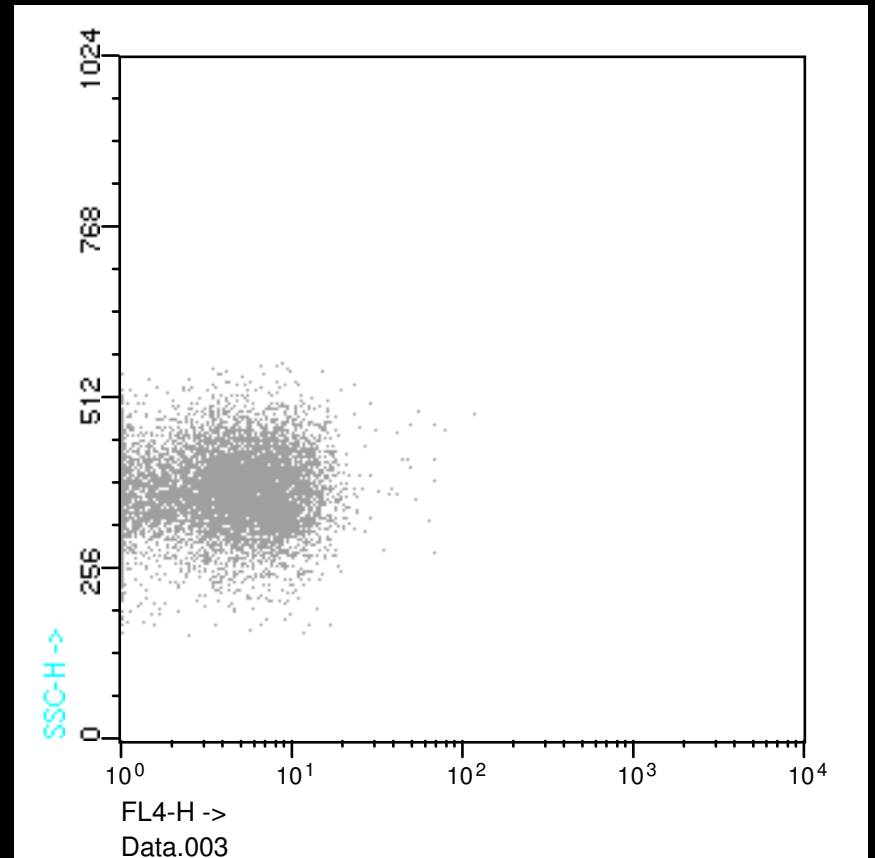
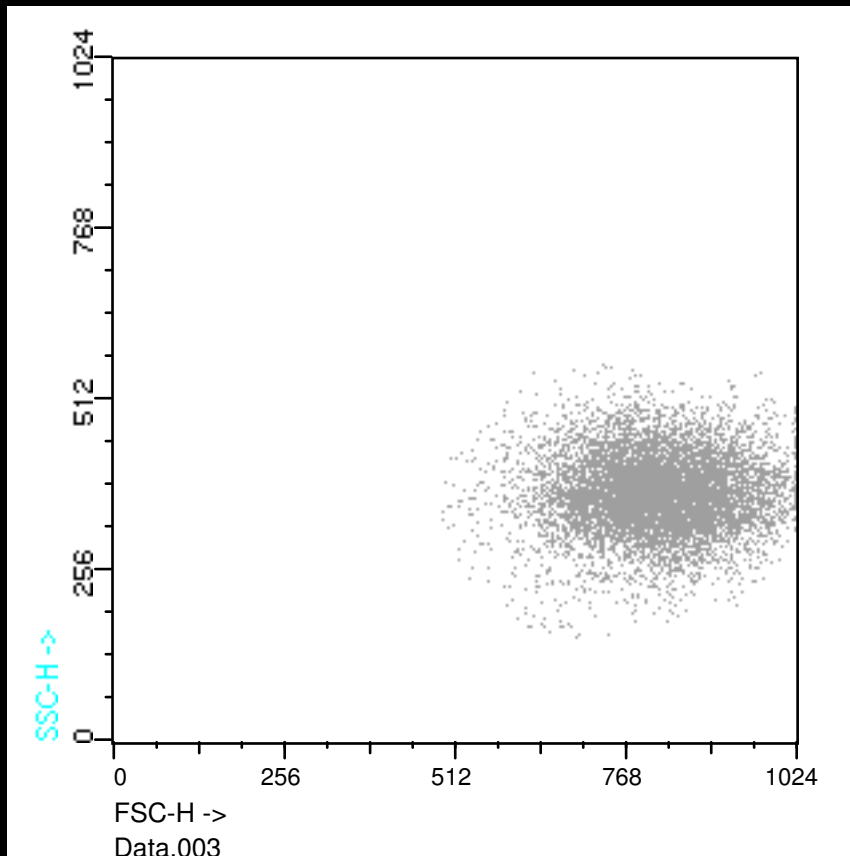
- a)Pré-coluna;**
- b)Primeiro eluído;**
- c)Segundo eluído.**



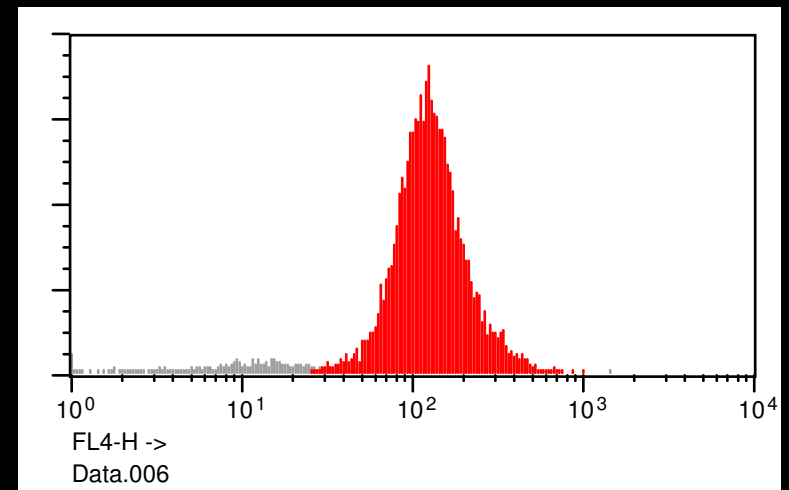
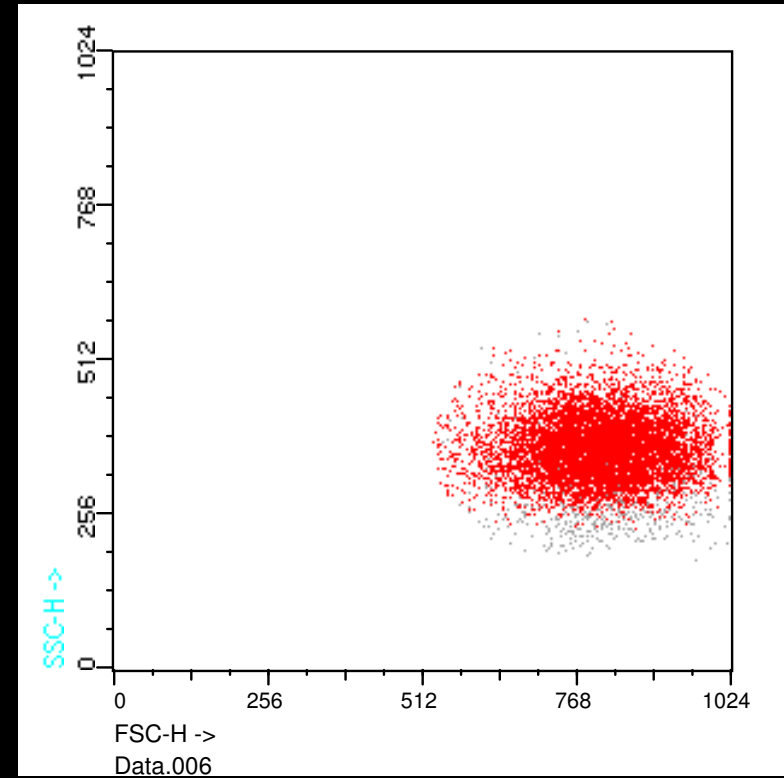
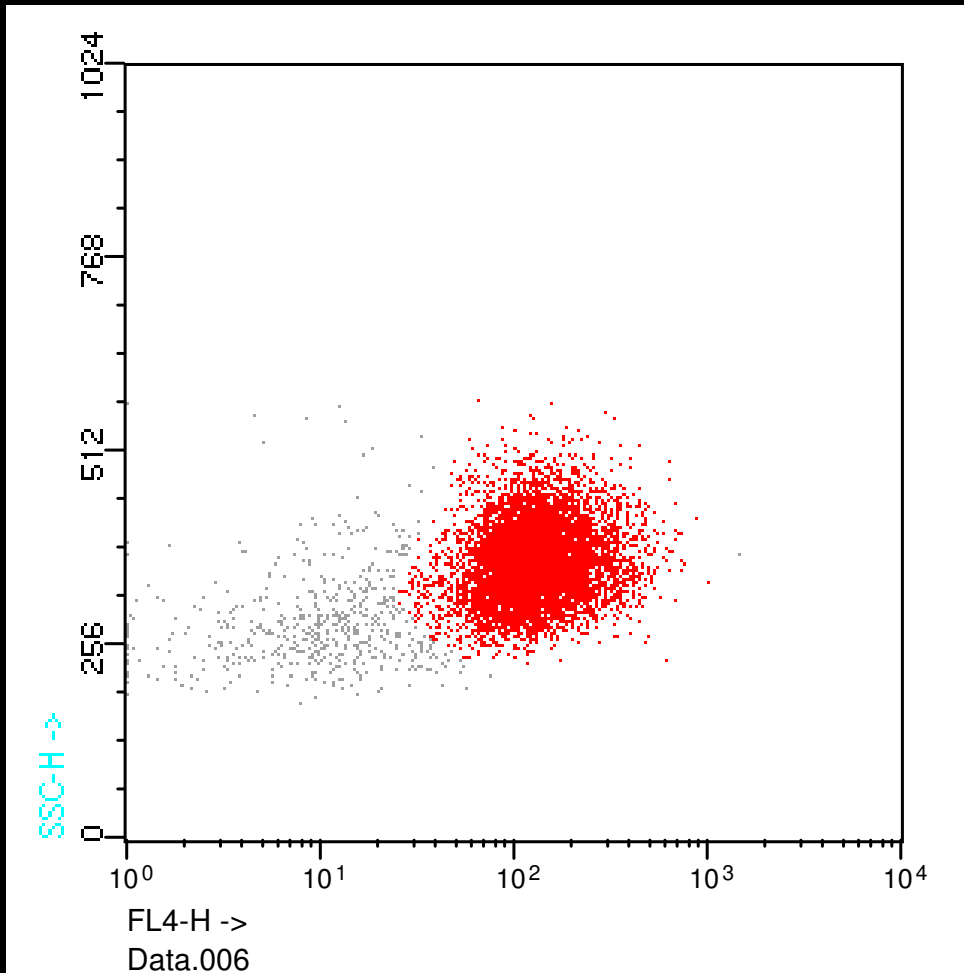
# a) Pré-coluna



## b) Primeiro eluído



# c) Segundo eluído





# Conclusões

- Todos os objectivos foram cumpridos com sucesso:
  - Conseguiu-se isolar a população de monócitos com elevado grau de pureza
  - Os monócitos em cultura diferenciaram-se em DCs
  - As DCs apresentaram uma boa capacidade fagocítica
  - As DCs maturaram convenientemente após estimulação
  - As células cancerígenas sofreram um processo de apoptose induzido por acção de um fármaco



# Thank you 😊

- Guadalupe Cabral
- Zélia Silva
- Manuela Correia
- Teresa Veríssimo

# Trabalho realizado por ☺

- André Ramos
- Cátia Gonçalves
- Daniela Carvalho
- Margarida Santos



# A nossa equipa...

