

Studio della riparazione del danno al DNA in cellule staminali emopoietiche
M.T. Russo¹, I. Casorelli¹, E. Pelosi¹, C. Peschle¹, W. Piacibello², e M. Bignami¹

¹ *Istituto Superiore di Sanita', Roma;*

² *Istituto per la Ricerca sul Cancro Facoltà di Medicina Università di Torino*

russo@iss.it

Le cellule staminali mantengono la capacità di autorinnovarsi e di produrre cellule differenziate. Lo studio della capacità di riparare il danno al DNA in cellule staminali emopoietiche appare estremamente rilevante nella comprensione a) dei meccanismi di leucemogenesi, dal momento che le leucemie acute derivano da una cellula trasformata in uno stadio precoce del differenziamento emopoietico; b) dei fattori determinanti la tossicità ematologica che risulta essere il maggiore fattore dose-limitante delle terapie antitumorali. Abbiamo studiato i meccanismi di riparazione in cellule staminali emopoietiche a confronto con una popolazione di cellule mature derivate da cordone ombelicale. Abbiamo utilizzato cellule CD34+ immunoselezionate, coltivate in vitro per 4 giorni in presenza di citochine che permettono una cultura "multilineage" e nuovamente sottoposte ad immunoselezione per l'antigene CD34. La popolazione CD34- è stata ottenuta dal lavaggio della colonna. In queste condizioni sperimentali le cellule CD34+ e CD34- presentano lo stesso profilo citofluorimetrico con circa il 20% di cellule nella fase S del ciclo cellulare. Al fine di analizzare l'efficienza di riparazione del DNA, entrambe le popolazioni cellulari sono state trattate con raggi gamma e abbiamo seguito la cinetica di riparazione delle doppie rotture del DNA (DSBs). La formazione delle DSBs è stata seguita mediante rivelazione immunocitochimica dell'istone fosforilato γ H2AX. Dati preliminari mostrano che i progenitori delle cellule staminali CD34+ mostrano una cinetica piu' veloce di scomparsa dei foci γ H2AX rispetto alla popolazione CD34-. Questi dati suggeriscono che le cellule staminali riparano più rapidamente della controparte differenziata le DSBs. Sono in corso esperimenti di TUNEL per verificare se queste differenze osservate nella capacità di riparazione si riflettano in una apoptosi differenziale. Inoltre verranno analizzati tramite real-time PCR, i livelli di espressione di geni appartenenti a diversi sistemi di riparazione del DNA. In particolare il gene *msh2* del mismatch repair appare maggiormente espresso nella popolazione cellulare CD34+.

Keywords: cellule staminali, DSBs, riparazione.

15P/MB

CD 34+ immunoselezionate
coltivate in vitro per 4 giorni
in presenza di citochine
che permettono una cultura
"multilineage" e nuovamente
sottoposte ad immunoselezione
per l'antigene CD34.
La popolazione CD34- è stata
ottenuta dal lavaggio della
colonna. In queste condizioni
sperimentali le cellule CD34+
e CD34- presentano lo stesso
profilo citofluorimetrico con
circa il 20% di cellule nella
fase S del ciclo cellulare.