



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Edital para 02 Bolsas de Pós-Doutorado Vinculadas a Projeto Temático – FAPESP

Título: Bolsa de Pós-Doutorado em Odontologia

Número do Processo FAPESP: 2017/12622-7

Título do Projeto Temático: Terapia celular: potencial de células-tronco mesenquimais, VEGF-A e BMP-9 para regenerar tecido ósseo

Área do Conhecimento: Ciências da saúde – Odontologia – Cirurgia Buco-Maxilo-Facial

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Adalberto Luiz Rosa

Unidade/Instituição: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP – Ribeirão Preto

Número de Bolsas: 02

Data Limite para Inscrições: 08/08/2022

O Bone Research Lab, localizado na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Ribeirão Preto, busca candidatos altamente motivados para oportunidade de Pós-Doutorado vinculado a Projeto Temático financiado pela FAPESP. As 02 bolsas terão duração inicial de 01 ano.

O(A) candidato(a) deverá ter obtido o título de Doutor a menos de 02 anos em qualquer área da Saúde. O(A) candidato(a) deve possuir interesse pelo trabalho na área de terapia celular para regenerar tecido ósseo. É fundamental que o(a) candidato(a) tenha proficiência, comprovada preferencialmente por artigos publicados, em cultura de células com ênfase na cultura de células-tronco mesenquimais e sua diferenciação osteoblástica, transfecção de células, CRISPR, PCR em tempo real, western blot, cirurgia em animais de pequeno porte (ratos e camundongos) e análises microtomográfica e histológica de cortes não-descalcificados e desejável que tenha experiência em análises genômica e proteômica. Excelente comunicação oral e escrita é indispensável.

Cada um(a) dos(as) 02 candidatos(as) selecionados(as) atuará nos subprojetos 1 e 2, respectivamente, descritos no Resumo do Projeto apresentado abaixo.

Para inscrever-se, favor enviar por e-mail, até **08/08/2022**, **carta de interesse**, **curriculum vitae** e **02 cartas de recomendação** para o Professor Adalberto Luiz Rosa (adalrosa@forp.usp.br).

Resumo do Projeto

O osso é um tecido com grande capacidade de regeneração, mas em algumas situações a extensão da injúria impede o reparo do tecido. Nesse cenário, a terapia celular utilizando células-tronco mesenquimais (do Inglês, mesenchymal stem cells – MSCs) tem atraído a atenção de diversos grupos de pesquisa por ser uma alternativa promissora em relação aos tratamentos existentes. No entanto, diversos aspectos moleculares, celulares e teciduais, ainda não abordados na literatura, necessitam ser investigados para tornar essa terapia um tratamento efetivo para a regeneração de defeitos ósseos em pacientes saudáveis ou acometidos por doenças sistêmicas que afetam o processo de reparo ósseo, como a osteoporose, a diabetes mellitus e a hipertensão. Nesse contexto, o presente projeto é composto por três subprojetos, cujos objetivos são: (1) investigar o potencial de MSCs derivadas de medula óssea (do Inglês, bone marrow – BM-MSCs) e de tecido adiposo (do Inglês, adipose tissue – AT-MSCs), tratadas com fator de crescimento do endotélio vascular A (do Inglês, vascular endothelial growth factor A – VEGF-A) e/ou proteína óssea morfogenética 9 (do Inglês, bone morphogenetic protein 9 – BMP-9) para regenerar o tecido ósseo; (2) investigar o potencial dessas MSCs modificadas geneticamente para sobre-expressar VEGF-A e/ou BMP-9 para regenerar o tecido ósseo e (3) avaliar a influência de BM-MSCs obtidas de ratos saudáveis sobre o potencial osteogênico de BM-MSCs obtidas de ratos osteoporóticos, diabéticos e hipertensos. Para o desenvolvimento dos subprojetos 1 e 2, BM-MSCs e AT-MSCs serão tratadas com VEGF-A e/ou BMP-9 ou modificadas geneticamente utilizando agrupados de curtas repetições palindrômicas regularmente interespaçadas (CRISPR-Cas9) para sobre-expressar VEGF-A e/ou BMP-9. Essas células serão caracterizadas in vitro quanto ao potencial angiogênico e osteogênico e à expressão gênica e proteica em larga escala. Para a regeneração do tecido ósseo, as BM-MSCs e AT-MSCs associadas ao VEGF-A e/ou BMP-9 ou modificadas para sobre-expressar VEGF-A e/ou BMP-9 serão injetadas diretamente em defeitos criados em calvárias de ratos. Inicialmente, o tempo de permanência das células nos defeitos ósseos será avaliado por luminescência, utilizando a injeção de células transfectadas com luciferase. Por até 4 semanas após a injeção de células, a progressão da formação de vasos sanguíneos e de tecido ósseo será avaliada por microtomografia computadorizada (micro-CT) in vivo. Ao final de 4 semanas, os animais serão eutanasiados e as amostras serão avaliadas por análise histológica. No subprojeto 3, será avaliada a influência de BM-MSCs obtidas de ratos saudáveis sobre a diferenciação osteoblástica de BM-MSCs obtidas de ratos osteoporóticos, diabéticos e hipertensos utilizando um modelo de co-cultura indireta. Trata-se de estudo in vitro, cujos resultados, poderão gerar desdobramentos durante o desenvolvimento do presente projeto, com vistas à aplicação das terapias abordadas nos subprojetos 1 e 2 para a investigação da regeneração óssea nos modelos de patologias abordados no subprojeto 3.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Postdoctoral Positions to Join a Thematic Project – FAPESP

Title: Postdoctoral Scholarship in Dentistry

FAPESP Grant: 2017/12622-7

Title of Thematic Project: Cell therapy: potential of mesenchymal stem cells, VEGF-A and BMP-9 to regenerate bone tissue

Research Field: Health Care Science – Dentistry – Oral and Maxillofacial Surgery

Principal Investigator: Professor Adalberto Luiz Rosa

Institution: School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo – Ribeirão Preto, SP, Brazil

Number of Scholarships: 02

Application Deadline: August 8th, 2022

The Bone Research Lab, School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo – Ribeirão Preto, SP, Brazil, is accepting applications for 02 postdoctoral research positions to join a Thematic Project supported by FAPESP for 01 year.

The highly motivated candidate must have received a PhD degree in Biological Sciences within last 02 years and should be interested in working with cell therapy to regenerate bone tissue.

The candidate must have proficiency, preferentially demonstrated by published articles, in cell culture with emphasis in culture of mesenchymal stem cells and their osteoblastic differentiation, cell transfection, CRISPR, real-time PCR, western blot, genomic and proteomic analyses, animal surgery (rat and mouse), microtomographic analysis and histological analysis of non-decalcified tissues.

Excellent oral and written communication skills are required.

Each one of the 02 selected candidates will work on subprojects 1 and 2, respectively, which are described below in the Project Abstract.

Please, e-mail your application by **August 8th, 2022**, including **cover letter, CV and 02 recommendation letters** to Professor Adalberto Luiz Rosa (adalrosa@forp.usp.br).

Project Abstract

Bone tissue has high capacity of regeneration, but in several situations the extent of the injury overcomes its regenerative potential. In this scenario, therapies based on the use of mesenchymal stem cells (MSCs) have aroused the attention of many researchers for being a promising alternative compared with the available treatments. However, many molecular, cellular and tissue characteristics remain unmet in the literature to make cell therapy an effective treatment for bone repair both in healthy and systemic compromised patients by pathologies such as osteoporosis, diabetes and hypertension. In keeping with this, this research project consists of three subprojects that aim to: (1) evaluate the potential of MSCs harvested from either bone marrow (BM-MSCs) or adipose tissue (AT-MSCs) combined with vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) and/or bone morphogenetic protein 9 (BMP-9) to repair bone defects; (2) evaluate the potential of these MSCs genetically edited to overexpress VEGF-A and/or BMP-9 to repair bone defects; and (3) evaluate the effect of BM-MSCs harvested from healthy rats on the osteogenic potential of BM-MSCs harvested from osteoporotic, diabetic and hypertensive rats. To develop subprojects 1 and 2, BM-MSCs and AT-MSCs will be treated with VEGF-A and/or BMP-9 or genetically edited by clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR-Cas9) to overexpress VEGF-A and/or BMP-9. Those cells will be evaluated *in vitro* to assess their angiogenic and osteogenic potentials as well as their large scale genomic and proteomic profile. For bone repair, BM-MSCs and AT-MSCs either combined with VEGF-A and/or BMP-9 or edited to overexpress these factors will be directly injected into rat bone calvarial defects. To evaluate the presence of cells in the defects, Luc-expressing cells will be tracked by bioluminescent imaging. Up to 4 weeks, vasculogenesis and bone formation will be evaluated by *in vivo* micro-CT. After 4 weeks, the animals will be euthanized and the harvested calvaria evaluated by histological analysis. In the subproject 3, the effect of BM-MSCs harvested from healthy rats on the osteoblastic differentiation of BM-MSCs from osteoporotic, diabetic and hypertensive rats will be evaluated using an indirect co-culture model. These studies are the first step aiming to apply these cell therapies to regenerate bone defects in the presence of such pathologies.