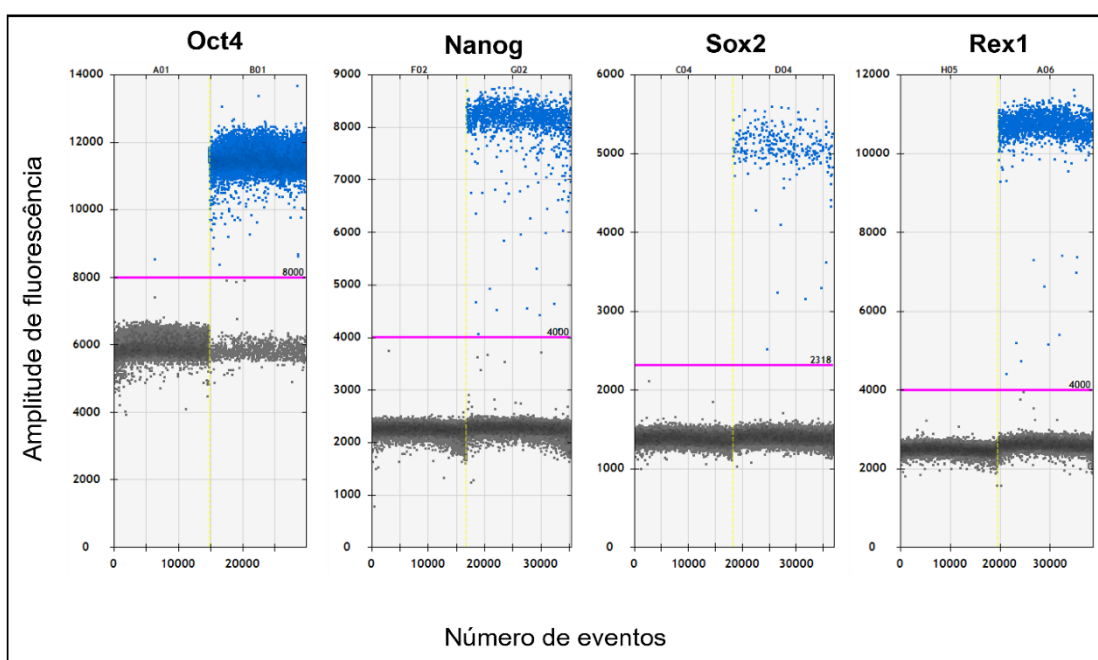


## Título do estudo

Avaliação da expressão diferencial dos genes Oct4, Sox2, Nanog e Rex1 pela abordagem de quantificação absoluta por ddPCR

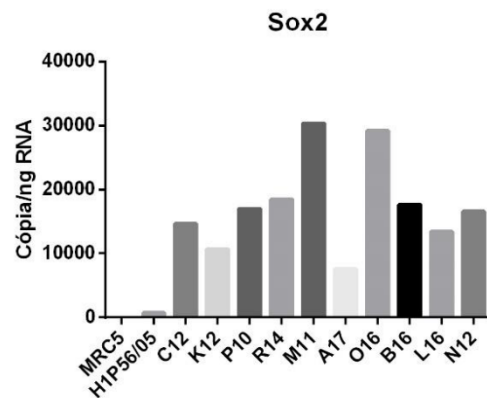
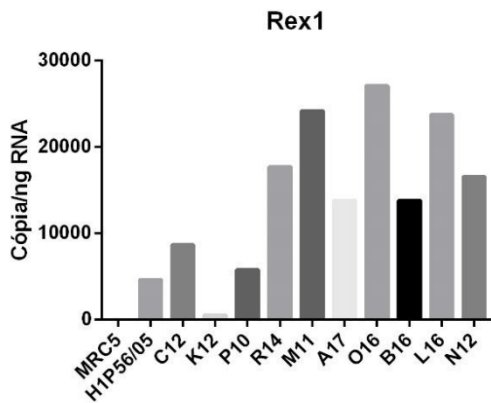
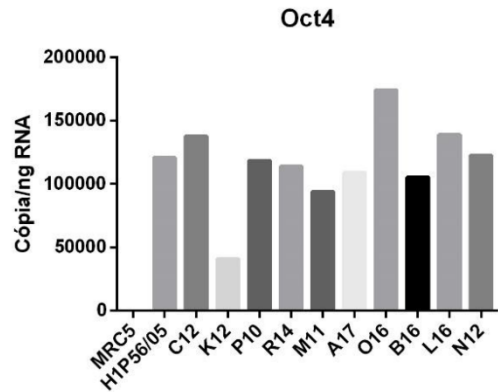
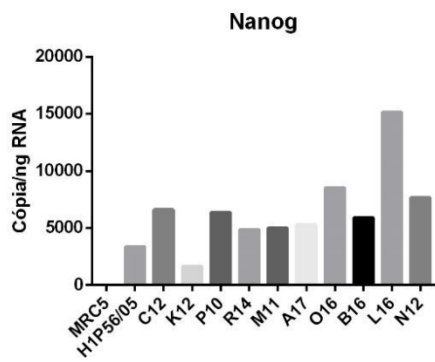
### 3. Resultados

O total de eventos lidos por análise foi superior a 10.000 gotas (eventos). Sendo a menor leitura de 13.846, a maior de 19.651, e com média de 17.009,56 eventos (**Tabela suplementar 01**). O *threshold* para cada alvo (o que separa as gotas positivas e negativas) foi definido em 8000, 4000, 2318 e 4000 para os genes Oct4, Nanog, Sox2 e Rex1, respectivamente, conforme **Figura 1**:

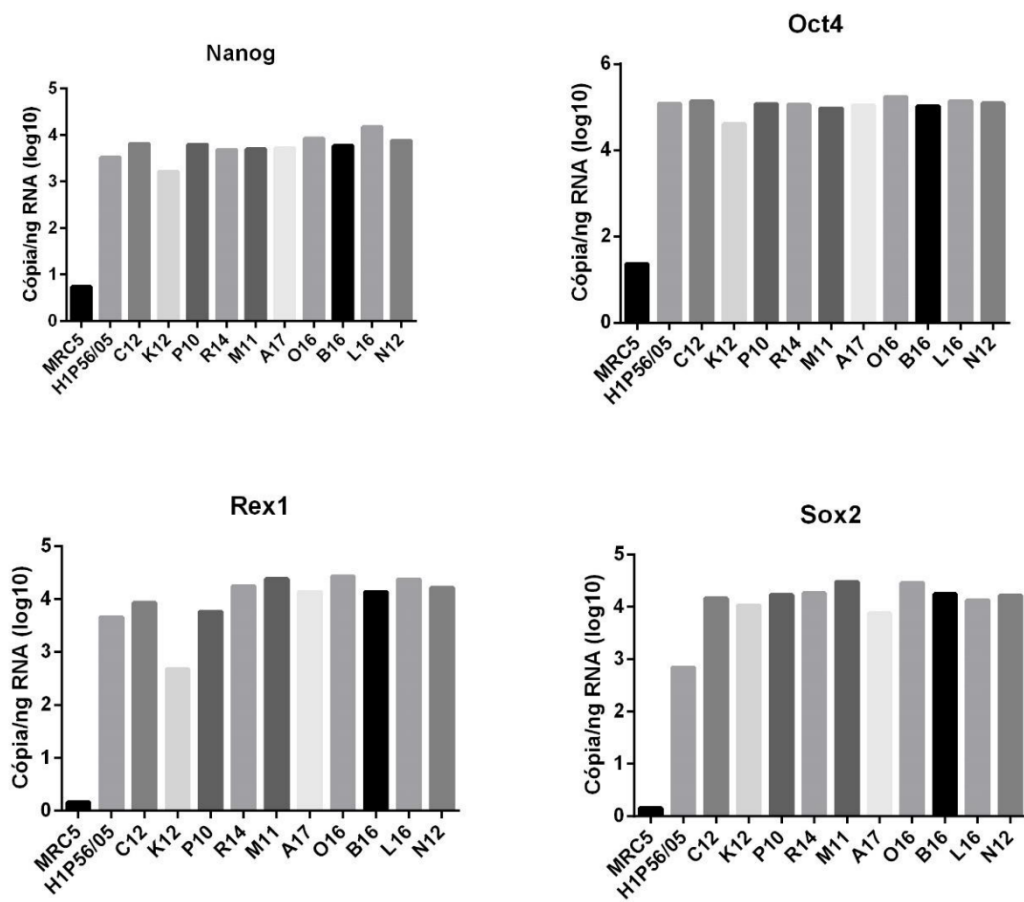


**Figura 1.** Separação entre gotas positivas e gotas negativas - ddPCR. Cada gráfico representa um dos genes analisados (Oct4, Nanog, Sox2 e Rex1), no eixo y são apresentados os dados de amplitude de fluorescência e no eixo x o número de eventos detectados, os pontos em azul são as gotas (drops) positivas e as em preto negativas. A linha rosa representa o threshold que separa as gotas positivas das negativas.

A partir do número de gotas obtidas e com base na distribuição de Poisson, os valores de quantificação foram determinados para cada gene em cada amostra. Os dados em valores absolutos são apresentados na **Figura 2** e **Tabela 3** e os resultados em  $\log_{10}$  na **Figura 3**. Informações suplementares na **tabela suplementar 02**.



**Figura 2.** Quantificação absoluta da expressão de genes por ddPCR. Cada gráfico representa um dos genes analisados (Nanog, Oct4, Rex1 e Sox2). No eixo y são apresentados os dados de cópias por nanograma de RNA e no eixo x as respectivas amostras.



**Figura 3.** Quantificação absoluta da expressão de genes por ddPCR representado em  $\text{Log}_{10}$ . Cada gráfico representa um dos genes analisados (Nanog, Oct4, Rex1 e Sox2), no eixo y são apresentados os dados de cópias por nanograma de RNA e no eixo x as respectivas amostras.

**Tabela 3** – Número de cópias de transcritos por nanograma de RNA total

Amostra	Cópias/ng de RNA total			
	Nanog	Oct4	Rex1	Sox2
MRC5	5,6	22,9	1,4	1,4
H1P56/05	3363,3	120863,3	4611,5	701,4
C12	6601,1	137752,8	8646,1	14662,9
K12	1639,8	40689,7	475,1	10720,3
P10	6369,4	118471,3	5732,5	17006,4
R14	4864,9	113983,5	17696,8	18495,9
M11	5015,4	93938,2	24169,9	30347,5
A17	5290,2	108928,6	13794,6	7544,6
O16	8539,7	174285,7	27079,4	29174,6
B16	5918,4	105442,2	13786,8	17641,7
L16	15147,9	138934,9	23716,0	13443,8
N12	7651,2	122558,1	16511,6	16589,1


#### 4. Conclusão

A análise de quantificação absoluta por ddPCR mostrou que as amostras C12, K12, P10, R14, M11, A17, O16, B16, L16 e N12 expressaram os genes Oct4, Nanog, Sox2 e Rex1 e a amostra controle MRC5 apresentou uma expressão muito baixa para os mesmos genes.

Em relação a amostra controle positivo (H1P56/05):

- Todas as amostras para o transcrito Nanog e Rex1, exceto a amostra K12, apresentaram expressão superior;
- Para o transcrito Sox2, todas as amostras apresentaram expressão superior;
- Já para o transcrito Oct4, apenas as amostras C12, O16 e L16 apresentaram expressão superior.

*Este relatório refere-se às amostras analisadas, não sendo aplicável ou extensível a outros lotes.*

Documento assinado digitalmente  
 LUCAS GABRIEL RIBEIRO  
Data: 02/05/2023 21:42:46-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Responsável técnico**  
**Chief Scientific Officer (CSO)**  
Eng. de Bioprocessos e Biotecnologia  
Dr.º Lucas Gabriel Ribeiro  
CRQ: 04368883