



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Análise entre os controles internos no qRT-PCR em linhagens celulares humanas
Autor	GABRIELLE PEDRONI
Orientador	MARCELO LAZZARON LAMERS

Análise entre os controles internos no qRT-PCR em linhagens celulares humanas

Gabrielle Pedroni (1), Marcelo Lazzaron Lamers (1,2).

(1)Centro de Pesquisa Básica em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

(2)Departamento de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

O ensaio da reação da transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) é uma técnica amplamente utilizada para estudos de biologia molecular. A partir deste ensaio é possível quantificar o RNA mensageiro (RNAm) extraído a partir de células ou tecidos, utilizando *primers* com sequências específicas para identificação do gene de interesse. Contudo, a fim de obter resultados fidedignos, utilizam-se alguns genes já pesquisados como controles internos para normalização de dados. No entanto, observa-se que os mesmos controles internos não podem ser utilizados para todos os tipos celulares. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes genes de controles internos entre linhagens celulares humanas de origens distintas. Foram utilizadas linhagens celulares de queratinócitos (HaCat), três linhagens de carcinoma espinocelular oral de diferentes graus de agressividade (Cal27, SCC9 e SCC25) e células endoteliais (HUVEC). Inicialmente o RNAm foi extraído com Trizol, após isso foi realizada a quantificação e análise de pureza através do espectrofotômetro. Para análise de pureza utilizou-se o comprimento de onda da absorvância de 260 nm dividido pelo comprimento de onda da absorvância de 280 nm. Foi considerado um RNA puro quando este valor foi igual ou maior que 1,8. A partir da quantificação, foi adicionado 2 µg para confecção de fita complementar de DNA (cDNA), utilizando a transcriptase reversa. A seguir, realizamos a reação em cadeia da polimerase utilizando os *primers* GAPDH, B-actina, RPL0, SDHA e HPRT1 no termociclador. Estes dados serão analisados por $\Delta\Delta C_t$ e comparados entre os diferentes tipos celulares, auxiliando na escolha de qual o gene de referência para controle interno ideal para as nossas futuras pesquisas. Dessa forma, este trabalho possui relevância no sentido de padronizar e melhorar a eficiência do uso destes genes de controle interno nas pesquisas, envolvendo o ensaio de qRT-PCR, desenvolvidas posteriormente.