

BIOLOGIA MOLECULAR

SELEÇÃO DO GENE DE REFERÊNCIA PARA CULTURA PRIMÁRIA DE CÉLULAS DE CARCINOMA PROSTÁTICO

ALINE FRANCIELLE DAMO SOUZA; GISELE BRANCHINI; BRASIL SILVA NETO; MILTON BERGER; ILMA SIMONI BRUM DA SILVA

INTRODUÇÃO: Genes de referência ou *Housekeeping Genes (HKGs)* são tidos como padrão-ouro para normalização de dados de RT-PCR em estudos de expressão gênica. Como não existe um *HKG* universal, a seleção e a validação apropriadas do *HKG* mais adequado para o tipo amostral e para as condições experimentais a serem estudados são imprescindíveis para evitar a quantificação inadequada dos níveis de mRNA de genes alvo. **OBJETIVO:** avaliar cinco candidatos a *HKG*, *Aminolevulinato sintase 1 (ALAS1)*, *Beta-2-microglobulina (B2M)*, *Hipoxantina fosforibosil-transferase 1 (HPRT1)*, *Complexo succinato desidrogenase, subunidade A (SDHA)* e *Proteína de ativação tirosina 3-monooxigenase 5-triptofano, polipeptídeo zeta (YWHAZ)*, validando o que apresentar maior estabilidade de expressão em amostras de cultura primária de células de carcinoma prostático submetidas ou não a tratamento experimental. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Coleta de fragmentos de carcinoma prostático de pacientes submetidos à prostatectomia radical no Serviço de Urologia do HCPA e realização de: cultura primária de células, silenciamento pela técnica de *RNAi*, extração do RNA total, síntese de cDNA, análise dos níveis de mRNA dos genes em estudo (RT-PCR em tempo real) e análise da estabilidade de expressão dos mesmos (*softwares geNorm* e *NormFinder*). **RESULTADOS:** o gene *SDHA* apresentou elevada variabilidade quando submetido à amplificação nas amostras em questão sendo excluído das análises posteriores. A análise realizada por ambos os *softwares* para os demais genes foi bastante semelhante e indicou o gene *ALAS1* como sendo o mais estável por apresentar os menores valores de Valor M - *geNorm* e de Valor de Estabilidade - *NormFinder* nas amostras deste estudo. **CONCLUSÃO:** para o propósito de normalização em estudos de expressão gênica o gene *ALAS1* é recomendado como o gene de referência mais adequado em cultura primária de células de carcinoma prostático submetidas ou não a tratamento experimental por *RNAi*.