

Construção de vetor plasmidial para análise da expressão de SDF-1 *in vitro*.

Jéssica Olivaes Pereira^{1,2}, Lucinara Dadda Dias¹, Andréia Koche^{1,3}, Melissa K. da Silva¹, Renato Kalil^{1,2}, Melissa Markoski¹

¹ Laboratório de Cardiologia Molecular e Celular, Serviço de Medicina Experimental, Instituto de Cardiologia/Fundação Universitária de Cardiologia

² Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre,

³ Universidade de Santa Cruz do Sul

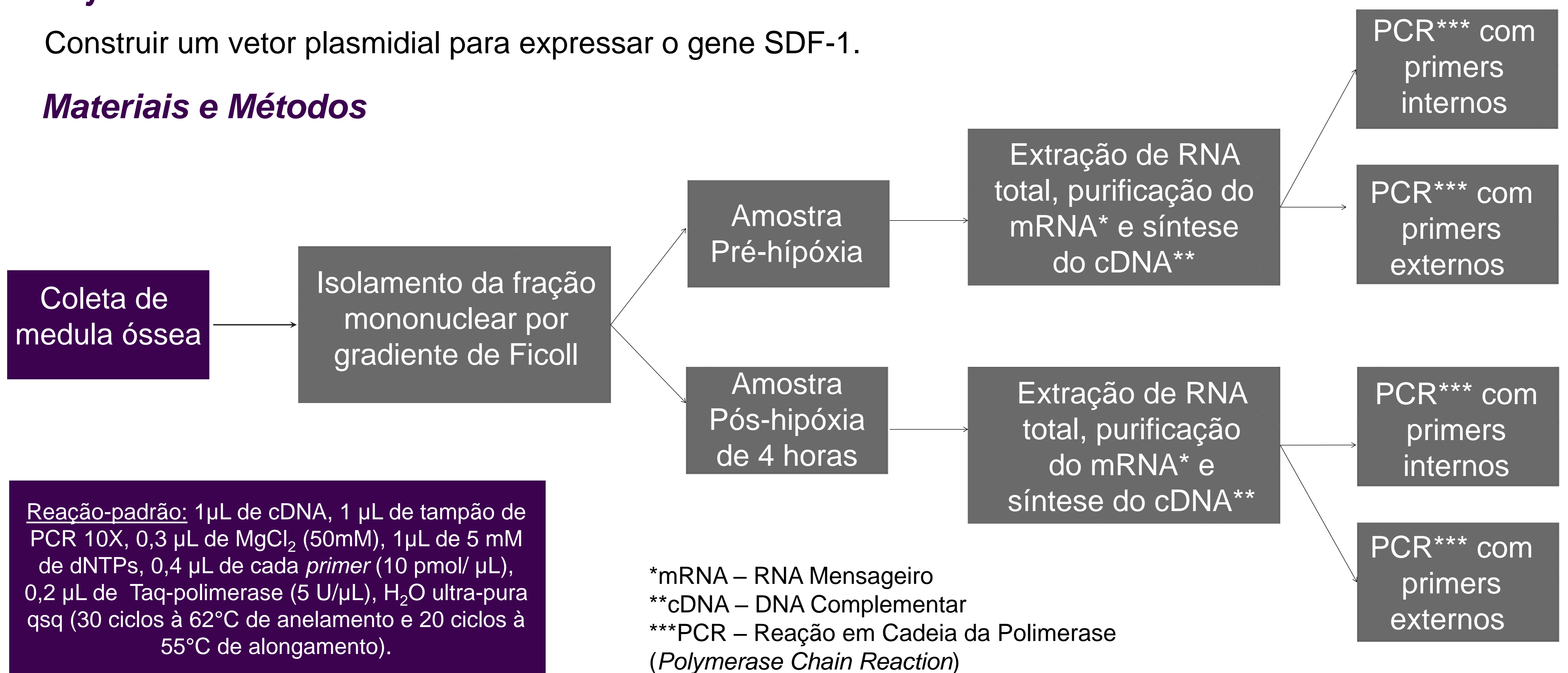
Introdução

A associação das terapias gênica e celular pode potencializar o processo regenerativo em doenças cardiovasculares. Células-tronco podem ser transformadas com vetores que contenham genes envolvidos na expressão de fatores sinalizadores pró-angiogênicos e/ou moléculas que induzem *homing* celular, ou seja, a migração e a aderência de células-tronco em um tecido lesionado. Uma molécula muito envolvida na indução de *homing* celular é o Fator-1 Derivado de Estroma (SDF-1, do inglês *Stromal Derived Factor-1*).

Objetivo

Construir um vetor plasmidial para expressar o gene SDF-1.

Materiais e Métodos



Resultados

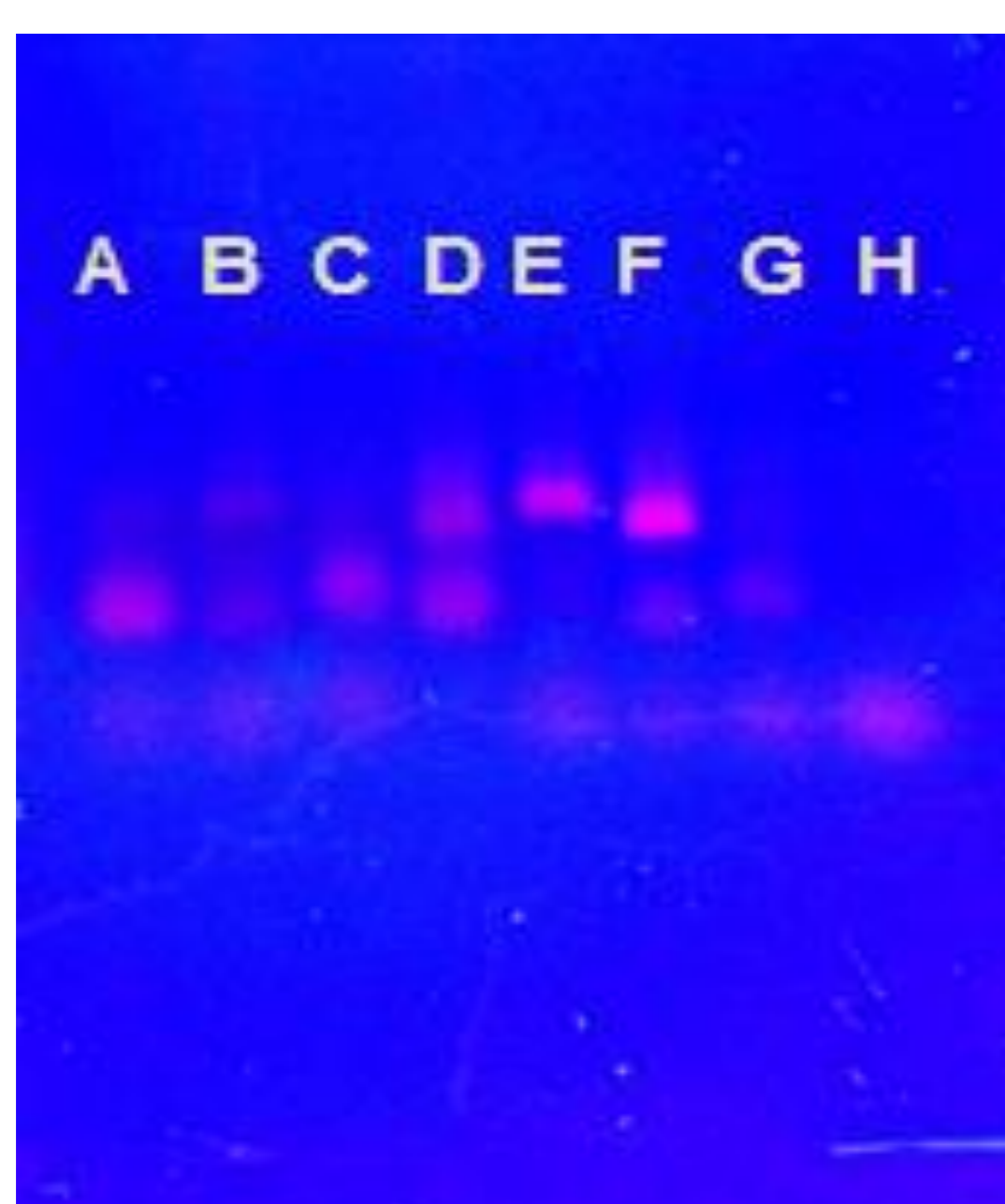


Figura 1. PCR utilizando primers internos para o gene SDF-1 α . Houve amplificação do gene SDF-1 α , o que é evidenciado pela presença de bandas no gel de agarose. Em A, B, C e D amostras de cDNA, pré-hipóxia (A e C) e pós-hipóxia (B e D). E e F) Controles de DNA genômico (controle das reações de PCR). G) Controle positivo de cDNA. H) Controle negativo (mix da reação).



Figura 2. PCR utilizando primers externos para o gene SDF-1 α . Houve amplificação inespecífica para todas as amostras utilizadas (A, B, C e D). A amplificação seria demonstrada através de fragmentos no gel de agarose. A e C) Amostras de cDNA pré-hipóxia. B) Amostras de cDNA pós-hipóxia. E) cDNA genômico para controle das reações. F) Controle negativo (mix da reação). G) Marcador de peso molecular (ladder).

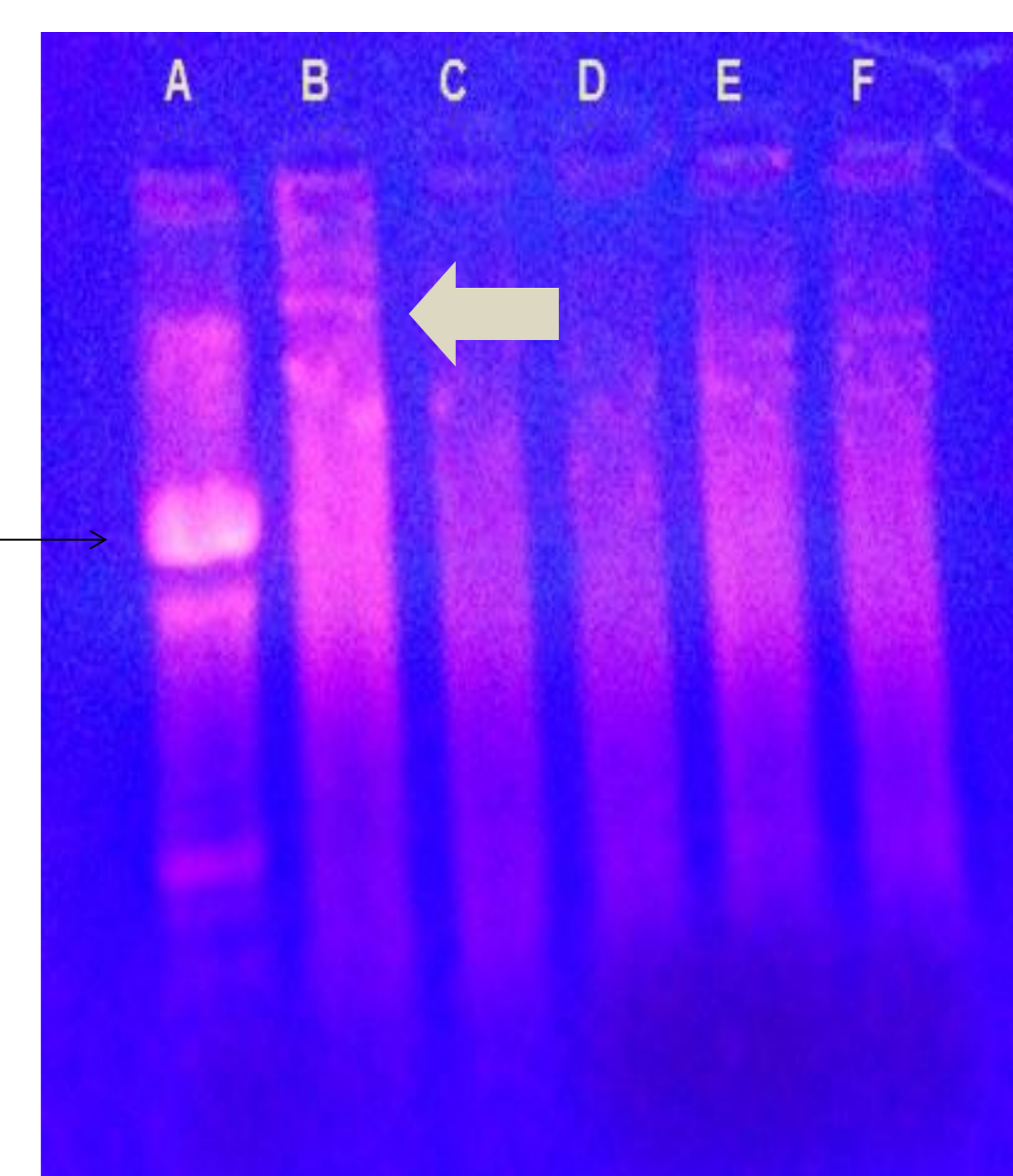


Figura 3. PCR com primers externos e modificações na reação. Adição de 1M de betaína e modificações da temperatura de anelamento dos *primers* (65 °C e 57°C. A) Marcador de peso molecular (ladder). B e D) Amostras de cDNA pré-hipóxia. C e E) Amostras de cDNA pós-hipóxia. F) Controle negativo (mix da reação). Na amostra B, a seta indica amplificação de fragmento de aproximadamente 1,6 Kb, o que corresponde ao gene SDF-1

Conclusões e Perspectivas

Embora tenha ocorrido amplificação do cDNA de SDF-1, as reações precisam ser otimizadas para exclusão de produtos de amplificação inespecíficos.