



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO SILENCIAMENTO DO GENE AAG NA VIABILIDADE CELULAR DE LINHAGENS CELULARES DE GLIOBLASTOMA FRENTE AO AGENTE ALQUILANTE METILMETANOSSULFONATO
Autor	SAMIA SQUIZANI
Orientador	JOAO ANTONIO PEGAS HENRIQUES

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO SILENCIAMENTO DO GENE AAG NA VIABILIDADE CELULAR DE LINHAGENS CELULARES DE GLIOBLASTOMA FRENTE AO AGENTE ALQUILANTE METILMETANOSSULFONATO.

Squizani, Samia^{1,2}; Henriques, João Antonio Pêgas².

¹Curso de Graduação em Farmácia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS.

²Laboratório de Reparação de DNA em Eucariotos, Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS.

A enzima *alkyladenine DNA glycosylase* – AAG, também chamada de MPG: *N-methylpurine-DNA glycosylase*, é uma glicosilase envolvida no sistema de Reparação de DNA por Excisão de Bases atuando na etapa inicial deste sistema. Trabalhos recentes mostram o envolvimento desta enzima na resposta de diferentes tipos de tumores frente à quimioterapia. No entanto, a influência da enzima AAG na sensibilidade de glioblastomas à terapia antitumoral ainda não está claramente definida. Neste contexto, o presente trabalho faz parte de um projeto desenvolvido na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em colaboração com a University of Surrey (Guildford, UK) e tem como objetivo investigar a influência de diferentes níveis de silenciamento do gene AAG na resposta de células de glioblastoma frente ao metilmetanossulfonato (MMS), agente alquilante que induz danos no DNA que são reparados pela enzima AAG. Para isso, primeiramente foi gerado um painel de linhagens contendo diferentes níveis de expressão do gene AAG a partir da linhagem de glioblastoma humano U87-MG pela técnica de transdução e caracterizadas por RT-PCR. Para a avaliação da viabilidade, foi utilizado o protocolo padrão do Ensaio de Redução de MTT que representa um método simples e rápido para a avaliação da viabilidade celular pela estimativa da atividade mitocondrial das células. Basicamente, a linhagem não transduzida U87-MG *wild-type* (*wt*) e as células transduzidas U87-MG NS (controle de silenciamento), U87-MG AAG1, U87-MG AA2, U87-MG AAG3 e U87-MG AAG4 (transduzidas com as sequências shAAG nº 1 – 4), livres de micoplasma e após 24 horas de crescimento, foram expostas a diferentes concentrações do composto MMS durante 1 ou 3 horas. Após a exposição, as células foram incubadas com meio de cultura completo durante 72 horas a 37 °C e 5 % de CO₂. Ao final deste período, as células foram lavadas e incubadas com o sal MTT (brometo de 3,4[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5-difeniltetrazolium, por 4 horas. Após a incubação e remoção do sobrenadante, adicionou-se DMSO em cada cultura para a solubilização dos cristais de formazan, que são o produto da hidrólise do sal MTT pela enzima mitocondrial succinato desidrogenase. Em seguida, a densidade óptica foi quantificada em um leitor de microplacas, em um comprimento de onda de 570 nm. A viabilidade celular foi indicada pelo comprimento de onda referente à coloração azul-violeta (formazan). Assim, a absorbância das culturas expostas ao controle negativo foi considerada como 100 % de viabilidade e àquelas dos demais grupos foram comparadas com esta. Os resultados preliminares obtidos até o momento sugerem que o silenciamento do gene AAG parece não alterar a sensibilidade da linhagem de glioblastoma frente ao agente alquilante metilmetanossulfonato (MMS). Nesses experimentos foram observados apenas uma tendência de diminuição da sensibilidade na linhagem U87-MG AAG2 em relação às linhagens não silenciadas quando as células foram expostas a baixas concentrações de MMS e durante 3 horas.

APOIO: CNPq. *E-mail*: pegas.henriques@gmail.com