



REVISTA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE E  
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

REVISTA HCPA 2006; 26 (Supl 1) :1-267

# 26<sup>a</sup>

Semana Científica  
do Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
5<sup>a</sup> Reunião da Rede Nacional de Pesquisa  
Clínica em Hospitais de Ensino  
13<sup>o</sup> Congresso de Pesquisa e Desenvolvimento em Saúde do Mercosul

# Anais

## DETECÇÃO DE GFP POR ESPECTROFOTOMETRIA DE FLUORESCÊNCIA E PCR QUANTITATIVO

ANTÔNIO CARLOS BURLAMAQUE NETO; GABRIELLA REJANE DOS SANTOS; URSULA MATTE; ROBERTO GIUGLIANI

A transferência de material genético permite abordagens terapêuticas diferentes e requer sua introdução por vetores virais ou não virais, tais como os lipossomos. Os eventos fisiológicos após a administração do vetor interferem nos níveis de expressão gênica. Protocolos diferentes podem ser usados para estudar a eficácia da transferência e da expressão do gene. A espectrofotometria de fluorescência possibilita a análise de tecidos inteiros, incluindo todos os tipos de células e comprimentos de onda. Este estudo tem como objetivo detectar a green fluorescent protein (GFP) por espectrofotometria de fluorescência após a transfecção de células HepG2, bem como quantificar a presença deste gene nestas células. A fluorescência celular basal foi determinada para concentrações de 10 a 10<sup>7</sup> células por mL. As células foram transfectadas com o plasmídeo pTracer (GFP, nu ou associado a Lipofectamine 2000) e o plasmídeo pREP9 (controle negativo de fluorescência). As células transfectadas e não transfectadas (controle) foram submetidas à análise espectrofotométrica de fluorescência nos tempos 0, 12, 24 e 48 h após a transfecção. Realizou-se extração de DNA de alguns grupos de células para implementação da técnica de PCR quantitativo (qPCR), objetivando também detectar e quantificar a presença do gene da GFP nestas. A fluorescência celular basal foi linear até 10<sup>5</sup> células por mL, sendo esta concentração a escolhida para as análises. As células tratadas com pTracer/Lipofectamine 2000 mostraram, em geral, fluorescência mais elevada. Foi possível comparar níveis de fluorescência de acordo com o tempo. A espectrofotometria de fluorescência apresenta a vantagem de ser uniforme para tipos de células diferentes, o que permite a análise de tecidos inteiros, e pode ser uma ferramenta útil para verificar a eficácia de sistemas de transfecção. A implementação da técnica de qPCR encontra-se em fase inicial e vem demonstrando resultados promissores. (Apoio: FIPE-HCPA e CNPq)