

009

AVALIAÇÃO DO RISCO DA INGESTÃO DE MOLÉCULAS DE RNAs DE DUPLA FITA POR MAMÍFEROS. *Daiane Bobermin, Rogério Margis (orient.) (UFRGS).*

Há atualmente grande preocupação em relação a OGMs, principalmente no consumo por humanos. A tendência é que essas pesquisas avancem cada vez mais e também se venha a utilizar a tecnologia do RNA interferente na produção de OGMs. O projeto busca avaliar o consumo de transgênicos que contenham moléculas de RNAs dupla-fita (dsRNAs) por mamíferos. Como dsRNAs podem induzir o silenciamento do produto gênico através da degradação do RNA mensageiro, esses dsRNAs, caso não sejam degradados pelo organismo que os ingerir, acabariam por silenciar um gene do organismo consumidor, homólogo ao gene do OGM. A avaliação do risco será feita através da administração de moléculas de dsRNAs a ratos e verificação dos efeitos. O primeiro passo do projeto foi a escolha do gene a ser silenciado e a clonagem do cDNA a partir da extração do mRNAs totais de rato. O gene escolhido foi o da fibrose cística (CFTR). Após a obtenção do cDNA, amplificado por RT-PCR, ele foi ligado ao vetor pGemTEasy. *E.coli* XL1 eletrocompetentes foram transformadas e selecionadas em meio LB contendo ampicilina, IPTG e X-gal. Colônias brancas tiveram seus DNAs extraídos e a presença do inserto confirmada por digestão com EcoRI. Quatro clones foram seqüenciados para confirmar-se a integridade do produto amplificado e clonado. O inserto CFTR foi posteriormente subclonado no sítio EcoRI do vetor pLitmus, que contém promotores para T7 RNA-polimerase em cada extremidade do sítio de clonagem múltipla. A etapa seguinte consistirá na produção e administração de dsRNAs a ratos e comparação com um grupo controle. Se não for observada redução nos mRNAs do gene CFTR ou outra indicação de silenciamento gênico, poderemos inferir que a ingestão de dsRNA com seqüências homólogas não terão capacidade de provocar esse tipo de alteração. (PIBIC).