

Aline Francielle Damo Souza<sup>1,2</sup>, Gisele Branchini<sup>1,2</sup>, Brasil Silva Neto<sup>3</sup>, Walter José Koff<sup>3</sup>, Milton Berger<sup>3</sup>, Ilma Simoni Brum da Silva<sup>1,2</sup>

1- Laboratório de Biologia Molecular Endócrina e Tumoral, Departamento de Fisiologia - UFRGS;

2- Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia Molecular, Centro de Pesquisas – HCPA;

3- Serviço de Urologia - HCPA

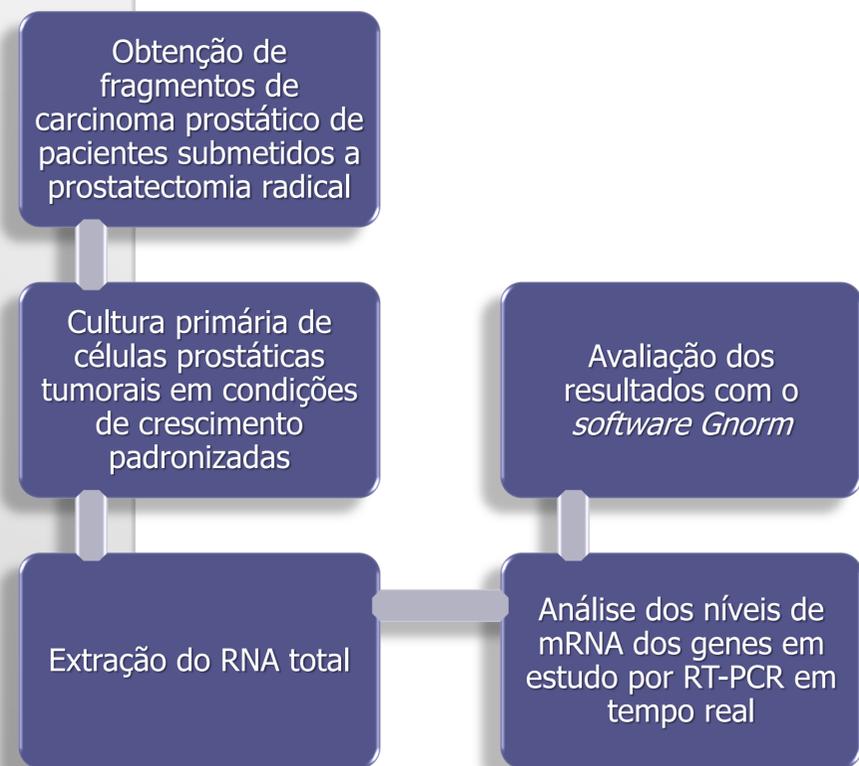
## INTRODUÇÃO

A análise do perfil de expressão gênica pela técnica de RT-PCR (reação em cadeia da polimerase a partir de transcrição reversa) em um tecido tumoral contribui para uma melhor compreensão do processo de carcinogênese, desde que os dados obtidos sejam devidamente normalizados em função de variações inerentes da técnica. Genes de referência ou *Housekeeping Genes* (HKGs) satisfazem os critérios de estabilidade e expressão não-regulada no tipo de amostra analisado, sendo utilizados com o propósito de normalização em estudos de expressão.

## OBJETIVO

Analisar a expressão gênica de três candidatos a HKG,  $\beta$ -2-microglobulina (BMG), Hipoxantina fosforibosiltransferase 1 (HPRT1) e Aminolevulinato sintetase 1 (ALAS1) em cultura primária de células prostáticas tumorais.

## MATERIAIS E MÉTODOS



Estes dados foram analisados por um programa estatístico específico para a busca de genes normalizadores (geNorm, Applied Biosystems). Foram analisadas 9 amostras. Os dados de variabilidade calculados pelo programa (*índice M* – deve ser menor que 1,5) indicam uma menor variação dos genes *ALAS1* e *BMG* nas amostras em estudo, enquanto que o gene *HPRT1* apresentou maior índice de variabilidade.

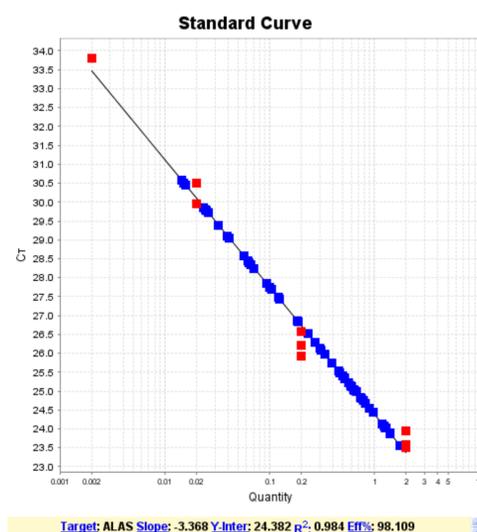


Figura 1. Curva padrão de um dos experimentos de PCR em tempo real, para o gene *ALAS1* (vermelho: valores da curva padrão; azul: valores das amostras).

Change Data	ALAS1	BMG	Normalisation Factor
Amostra 1	1,00E+00	1,00E+00	1,0000
Amostra 2	0,101170304	0,075778042	0,0876
Amostra 3	0,906476919	0,589418853	0,7310
Amostra 4	0,019611318	0,018952396	0,0193
Amostra 5	0,522278794	0,24746409	0,3595
Amostra 6	0,30987068	0,137182627	0,2062
Amostra 7	0,039823045	0,041182821	0,0405
Amostra 8	0,015603472	0,008196089	0,0113
Amostra 9	0,026476348	0,011423203	0,0174
<b>M &lt; 1,5</b>	<b>0,520</b>	<b>0,520</b>	

Figura 2. Resultado estatístico obtido no programa geNorm, indicando os dois melhores genes normalizadores para a amostra estudada.

## RESULTADOS

As reações de RT-PCR para os genes em estudo foram padronizadas em amostras de culturas de células em condição controle, sem tratamento androgênico. Os resultados de quantidade de cDNA (em ng) obtidos a partir da amplificação das amostras comparadas a uma curva padrão (figura 1) foram relativizados de forma que o maior valor de expressão correspondesse a 1,0.

## CONCLUSÃO

Estes dados, apesar de preliminares, mostram que os genes *BMG* e *ALAS1* parecem ser a melhor escolha para genes normalizadores nas amostras em estudo do que o gene *HPRT1*. A ampliação do número de amostras, inclusão de grupos com tratamentos, bem como de genes investigados (*TBP* – *TATA box binding protein* e *18S*) contribuirão para a escolha de um gene normalizador adequado (ou mais de um) para estudos de expressão gênica em culturas primárias de células de carcinoma prostático.