



OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE REAL TIME-PCR PARA ANÁLISE QUANTITATIVA DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO CÂNCER DE INTESTINO

Pesquisador(es): ANSILIERO, Rafaela; BARATTO, Cesar Milton

Curso: Biotecnologia Industrial

Área: Ciências da vida e saúde

Resumo: O presente estudo tem como objetivo otimizar a técnica de Real Time-PCR (qPCR) para análise quantitativa da expressão gênica de ratos suplementados com *Lactobacillus* probióticos, os quais possuem lesões cancerosas no cólon induzidas por 1,2-dimetilhidrazina (DMH). Foram utilizados *Rattus Norvegicus* Wistar, com os tratamentos: 1- solução salina; 2 - DMH; 3 - DMH + *Lactobacillus casei*; 4 - *L. brevis*; 5 - DMH + *L. curvatus*; 6 - DMH + 'pool' dos lactobacilos; 7- 'pool' dos lactobacilos. Após eutanásia, o segmento colorretal foi coletado, realizando-se extração de RNA, síntese de cDNA e otimização da reação de qPCR para os genes GAPDH, p53, p21, Bcl-2 e FAS, utilizando o equipamento para PCR em tempo real, e com o sistema SYBR Green/Rox. A análise da colonização intestinal pelos lactobacilos também foi realizada por qPCR. A concentração ideal de primers variou conforme o gene alvo, consistindo em 1250nMx1250nM para os genes GAPDH e Bcl-2, 625nMx1250nM para p53 e FAS e 1875nMx1875nM para p21. A quantidade de amostra inicial também variou conforme gene de interesse, com 100ng para GAPDH, 4ng para p53, 0,8ng para p21 e 20ng para Bcl-2 e FAS. A técnica de qPCR evidenciou a presença de lactobacilos nas fezes e no intestino das cobaias, destacando *L. casei* que foi capaz de colonizar o trato intestinal de maneira mais eficiente que os demais lactobacilos. Foi possível otimizar a técnica de qPCR referente a concentração de primers e de amostra inicial, para os genes GAPDH, p53, p21, Bcl-2 e FAS e, utiliza-la para análises quantitativas e qualitativas.

Palavras-chave: *Lactobacillus*. Probióticos. Câncer colorretal. Colonização intestinal. qPCR.

E-mails: rafaelsansiliero19@gmail.com; cesar.baratto@unoesc.edu.br.