



Realização:



Apoio:



**XVII CIC  
X ENPOS**

Conhecimento sem fronteiras

XVII Congresso de Iniciação Científica

X Encontro de Pós-Graduação

11, 12, 13 e 14 de novembro de 2008

## **Extração de RNA e síntese de cDNA de rim de coelhos para a clonagem do gene da Eritropoetina**

**Autor(es):** Collares, Thais Farias; Campos, Vinicius Farias; Gonçalves, Breno Xavier; Kaefer, Cristian; Franco, Adeline Dias; Silva, Evelise Sampaio da; Amaral, Marta Gonçalves; Seixas, Fabiana Kömmling; Deschamps, João Carlos; Tiago Collares

**Apresentador:** Thais Farias Collares

**Orientador:** João Carlos Deschamps

**Revisor 1:** Cláudia Pinho Hartleben Fernandes

**Revisor 2:** Luciano da Silva Pinto

**Instituição:** Ufpel

### **Resumo:**

A eritropoetina (EPO) é o fator de crescimento hematopoiético responsável pelo estímulo à eritrogênese em resposta a anemia. A rHuEPO (eritropoetina humana recombinante) é aprovada para uso em pessoas no tratamento de anemias associado com hemodiálise ou doença renal crônica, pacientes com câncer em quimioterapia e pacientes HIV em terapia com AZT. O uso de eritropoetina recombinante para aumento de performance de atletas é ilegal, mas a prática presumivelmente continua ilícita. O termo doping genético tem origem na utilização de proteínas recombinantes e vetores de DNA para aumentar desempenho atlético em humanos e animais. Avanços na tecnologia de transferência gênica incluindo a terapia gênica através de vacinas de DNA podem fornecer os meios para o aumento da performance física de atletas. O reflexo do uso da EPO sobre parâmetros reprodutivos in vivo ainda não tem sido descritos, por outro lado, estudos in vitro com cultivo de células têm demonstrado que a eritropoetina estimula a esteroidogênese nas células de Leydig desencadeando um aumento na produção de testosterona. Essa observação leva a formulação da hipótese de que a administração de rHuEPO in vivo induz ao aumento na síntese de testosterona levando a um feedback negativo sobre a liberação de GnRH/LH e conseqüentemente afetando direta e indiretamente a espermatogênese e o potencial espermática podendo desencadear uma infertilidade temporária ou permanente. Neste estudo dois coelhos foram anestesiados e eutanasiados para a coleta do rim que imediatamente após sua retirada foi armazenado em nitrogênio líquido para posterior extração de RNA total a qual foi realizada com o reagente TRIzol® (Invitrogen®, USA) de acordo com instruções do fabricante. Após a extração, o RNA total foi quantificado com o fluorômetro Qubit™ (Invitrogen®, USA) para a posterior confecção do cDNA. O cDNA foi sintetizado com a enzima SuperScript III™ Reverse Transcriptase (Invitrogen®, USA) de acordo com instruções do fabricante. Uma reação de RT-PCR para amplificação do gene housekeeping da beta-actina foi realizada para a confirmação da síntese de cDNA. Em estudos futuros os cDNAs serão purificados e utilizados como moldes para a amplificação das regiões codificadoras dos genes da eritropoetina de coelho.