

429

DETECÇÃO DE GFP POR ESPECTROFOTOMETRIA DE FLUORESCÊNCIA. *Gabriella Rejane dos Santos, Antônio Carlos Burlamaque Neto, Ursula Matte, Roberto Giugliani (orient.) (UFRGS).*

A terapia gênica transformou-se em um campo de intensa pesquisa. A transferência de material genético permite propostas 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 finais de expressão gênica. Uma vez que o material genético é disposto como o agente terapêutico, a compreensão dos seus parâmetros farmacológicos é necessária. 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. A fluorescência celular basal foi determinada para concentrações de 10^4 a 10^7 células por mL. As células foram transfectadas com o plasmídeo pTracer contendo o gene da 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. A fluorescência celular basal é linear até 10^5 células por mL, sendo esta concentração a escolhida para as análises. As células tratadas com pTracer/Lipofectamine 2000 mostraram, em geral, fluorescência mais elevada, e aquelas tratadas com plasmídeo nu foram similares ao controle negativo. Foi possível diferenciar células transfectadas e não transfectadas, assim como comparar níveis de fluorescência de acordo com o tempo. Este método tem 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.