

402

ESTRATÉGIAS DE TRANSFEÇÃO PLASMIDEAL EM LINHAGEM ERITROLEUCÊMICA K562. Daniel Garcia dos Santos, Nance Beyer Nardi, Katia Kvitko (orient.) (UFRGS).

A linhagem celular K562 é derivada de uma paciente acometidos por leucemia mielóide crônica(LMC).Essas células caracterizam-se pela presença do cromossomo Philadelphia correspondente a translocação t(9;22)gerando uma proteína quimérica(BCR-ABL) com atividade constitutiva de tirosina quinase. Essa linhagem pode ser também empregada em estudos de eritropoiese, na avaliação de outros genes envolvidos na LMC e em estudos de novas abordagens terapêuticas, *in vitro*, envolvendo a LMC.A eletroporação tem se destacado como um método promissor para transferência gênica, induzindo a permeabilização da membrana celular, através do emprego de um pulso elétrico, permitindo a entrada de moléculas exógenas.Os parâmetros exigidos para o melhor emprego dessa técnica são altamente variáveis, sendo então necessário que se leve em consideração diversos fatores.Dentro desse contexto, empregando a linhagem celular K562, temos como objetivo a otimização de um protocolo de eletroporação de células eucarióticas, visando a eficiente transferência de DNA(pEGFP-N1), com a mínima morte celular.Nesse estudo, células K562[1×10^7 células/ml] foram eletroporadas sobre diferentes condições de voltagem, capacitância e resistência, além de serem centrifugadas, para formação de precipitado, a fim de aumentar a viabilidade.A avaliação da viabilidade celular tanto antes quanto após o pulso foi realizada empregando teste de exclusão por azul tripan. A eficiência de transfeção foi observada 48hs após eletroporação, sendo as células analisadas através de citometria de fluxo quanto à expressão da proteína EGFP. A condição que obteve melhor eficiência foi 350V, 500mF e resistência infinita. Nessa situação, atingiu-se uma média de 52% de células vivas, com uma média de 81% de eficiência de transfeção. O protocolo otimizado demonstrou uma alta viabilidade e eficiência na eletroporação quando comparado com os dados da literatura. (PIBIC).