



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Construção de vetor plasmidial para análise da expressão de SDF-1 in vitro.
<b>Autor</b>	JÉSSICA OLIVAES PEREIRA
<b>Orientador</b>	MELISSA MEDEIROS MARKOSKI
<b>Instituição</b>	Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul

**Introdução** Novas abordagens terapêuticas vem sendo estudadas para tratar as doenças cardiovasculares como, por exemplo, a terapia celular e gênica. A associação dessas terapias pode potencializar o processo regenerativo, pois células-tronco podem ser transformadas com vetores que contenham genes envolvidos na expressão de fatores sinalizadores pró-angiogênicos e/ou moléculas que induzem *homing* celular, ou seja, a migração e a aderência de células-tronco em um tecido lesionado. Uma molécula muito envolvida na indução de *homing* celular é o Fator-1 Derivado de Estroma (SDF-1, do inglês *Stromal Derived Factor-1*). Dessa forma a transfecção de células-tronco mesenquimais com um vetor contendo o gene SDF-1 pode ser uma ferramenta para potencializar as funções moduladoras das células-tronco. **Objetivo** Construir um vetor plasmidial para expressar o gene SDF-1. **Métodos** Foi realizada coleta da medula esternal de pacientes do Instituto de Cardiologia e a camada mononuclear isolada por gradiente de Ficoll foi dividida em duas frações: A) Amostra pré-hipóxia – o RNA foi extraído imediatamente após o isolamento da fração mononuclear e B) Amostra pós-hipóxia - o RNA foi extraído após a fração mononuclear ser submetida a hipóxia de 4 horas *in vitro* para induzir a expressão de SDF-1. O RNA total foi extraído com kit comercial (PureLinK, Invitrogen), conforme indicações do fabricante. Após esse processo, foi realizado o isolamento do RNA mensageiro (mRNA) e síntese do DNA complementar (cDNA) utilizando a enzima SuperScript III (Invitrogen). A confirmação do cDNA foi realizada através de reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) com *primers* internos. A amplificação da sequência codificadora do gene foi realizada por PCR com *primers* externos à sequência total do mRNA. **Resultados** A primeira parte deste projeto foi realizada com sucesso, tendo em vista que foi possível obter um produto de amplificação interno do cDNA do SDF-1 a partir das amostras submetidas à hipóxia. A segunda parte (amplificação do cDNA completo do SDF-1) encontra-se em desenvolvimento. **Conclusão** O experimento encontra-se em fase de desenvolvimento. Estão sendo testados diferentes protocolos para a amplificação do cDNA do SDF-1. **Apoio** PIBIC/CNPq, PPSUS/FAPERGS