

Efeitos de sistemas nanoestruturados sobre a expressão gênica em fibroblastos bovinos *in vitro*

Vanessa Candiotti Buzatto¹; Alexandre Lima de Oliveira²; Marina Ibelli Pereira Rocha²; Suelen Scarpa de Mello²; Simone Cristina Méo Niciura³

¹ Aluna de graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, vcbuzatto@hotmail.com.

² Alunos de mestrado em Genética Evolutiva e Biologia Molecular, Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

³ Pesquisadora, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

O mundo da nanotecnologia é uma área relativamente nova na ciência. Para trabalhar com dimensões em nanoescala, os cientistas estão desenvolvendo novas ferramentas, protocolos, produtos, tecnologias; tudo isso para poder desvendar os mistérios das nanoestruturas e enfrentar os desafios por elas estabelecidos. Diferentes tipos de nanomateriais são nomeados de acordo com suas formas e dimensões, e tratam-se de simples partículas, tubos, fios e filmes, que têm uma ou mais das suas dimensões de tamanho nanométrico. Qualquer uso, *in vivo* ou *in vitro*, de nanopartículas, implica o conhecimento profundo da cinética e toxicologia das partículas, estabelecimento de princípios e procedimentos de teste para assegurar produção e uso seguros dos nanomateriais, e informações compreensíveis a respeito de sua segurança e potencial perigo. Dentre as nanopartículas fabricadas, as de dióxido de titânio (TiO₂) estão entre as mais produzidas. TiO₂ é uma partícula pouco solúvel, com numerosas aplicações tais como: corante alimentício, pigmento branco de numerosos produtos, incluindo, tintas, plásticos, papéis, cosméticos, produtos médicos e farmacêuticos. TiO₂ também é altamente usado como agente bloqueador de raios ultravioleta. O TiO₂ é anfótero e polimorfo, podendo existir em 3 fases cristalográficas: rutilo, anatase e brookite. Essa última é uma fase de difícil síntese, ocorre naturalmente, sendo muito instável e de baixo interesse. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de sistemas nanoestruturados (TiO₂ anatase comercial e TiO₂ rutilo, gerado pela Rede Agronano) sobre a expressão de genes em células bovinas cultivadas *in vitro*. Para isso, fibroblastos, obtidos a partir de biópsia de pele de dois bovinos adultos, foram cultivados *in vitro* em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), com 40% de soro fetal bovino (SFB) e 1% antibiótico-antimicótico, em estufa a 5% de CO₂ em ar e temperatura de 37°C e umidade máxima, durante 4 dias para o estabelecimento da linhagem primária. Após isso, o cultivo celular foi mantido em DMEM com 10% de SFB e 1% antibiótico-antimicótico. Linhagens celulares em confluência, cultivadas por 3 ou 4 passagens, foram expostas a um dos tipos de materiais nanoestruturados, por 24, 48 e 72 horas. A seguir, as células expostas ou não (controle), foram destinadas à extração de RNA com Trizol, transcrição reversa com Superscript III e avaliação da expressão gênica relativa. Os genes GAPDH, beta-actina, RPS-9, RPL-19, e 18S foram avaliados para a escolha do melhor gene de referência. Cinco genes candidatos (*HSPA1A, PRDX1, SOD2, CASP3* e *HIF1A*), relacionados a apoptose, estresse oxidativo, estresse térmico e produção de citocinas, estão sendo avaliados por PCR em tempo real com SYBR Green e normalizados pelo gene de referência GAPDH. O cálculo da expressão gênica relativa será realizado pela metodologia descrita por PFAFFL (2001). Para mensurar as diferenças significativas a 5% será utilizado o *Pair Wise Fixed Reallocation Randomisation Test*, no *Relative Expression Software Tool*.

Apoio financeiro: CNPq e Embrapa – MPI (Rede Agronano).

Área: Biotecnologia.