

B13 - CONSTRUÇÃO DE VETORES LENTIVIRAIS PARA MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DO $DD3^{PCA3}$ EM CÉLULAS DE CÂNCER DE PRÓSTATA

Ana Emília Goulart^{1,2}; Luciana Ferreira Bueno²; Nadia Maria Batoreu¹; Martin Hernan Bonamino² e Etel Rodrigues Pereira Gimba^{2,3}.

1-Fundação Oswaldo Cruz, Bio-Manguinhos, Laboratório de Tecnologia Recombinante/
Programa de Biofármacos

2-Instituto Nacional de Câncer, Centro de Pesquisa, Programa de Carcinogênese
Molecular

3-Pólo Universitário de Rio das Ostras - Universidade Federal Fluminense, Departamento
Interdisciplinar

Objetivo: O estudo proposto tem como objetivo construir vetores lentivirais que modulem a expressão do RNA não codificante $DD3^{PCA3}$ em células de câncer de próstata (CaP) visando testá-lo como potencial alvo terapêutico para esta neoplasia.

Metodologia: Foram construídos vetores lentivirais não indutíveis pLVTHM contendo duas sequências shRNA complementares ao transcrito $DD3^{PCA3}$ (cuja expressão é específica em tecidos prostáticos). Células LNCaP (que expressam o $DD3^{PCA3}$ em altos níveis) foram transduzidas com os vetores lentivirais contendo os shRNA. Estudos funcionais *in vitro* (viabilidade celular, frequência de células GFP+, nível de expressão de RNAm por PCR em tempo real) foram realizados para avaliar o possível efeito da diminuição da expressão do $DD3^{PCA3}$ induzida pela interferência com os shRNAs. Os efeitos específicos da ação do shRNA do $DD3^{PCA3}$ foram determinados ao comparar com os efeitos promovidos em células não transduzidas, células transduzidas com vetores contendo sequências inespecíficas de shRNA (*scrambles*) ou com o vetor vazio (sem sequência de shRNA clonada). Atualmente, estamos construindo vetores lentivirais indutíveis controlados por doxíciclina denominados pInducer 11 e pInducer 13 contendo uma sequência shRNA complementares ao $DD3^{PCA3}$ e uma sequência inespecífica de shRNA (*scramble*).

Resultados: A transdução de células LNCaP com os lentivírus não indutíveis gerados mostrou-se eficiente, com elevado percentual de células GFP positivas na leitura por

citometria de Fluxo (cerca de 80%). Foi observada uma diminuição de até 60% no percentual de células GFP positivas transduzidas com uma das sequências de shRNA específica para *DD3^{PCA3}*. O nível de expressão do *DD3^{PCA3}* diminuiu em até 70% quando comparado com células controle não transduzidas com vetores virais. Do mesmo modo, foi possível observar a diminuição da viabilidade das células transduzidas com uma das sequências de shRNA específica para *DD3^{PCA3}*.

Conclusão: Os resultados supracitados sugerem que a expressão da sequência de shRNA específica para *DD3^{PCA3}* induz as células LNCaP à morte.