

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes
Tiago Sousa Melo
(Organizadores)

Biomedicina e Farmácia: Aproximações 3



Atena
Editora

Ano 2019

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes
Tiago Sousa Melo
(Organizadores)

Biomedicina e Farmácia: Aproximações 3

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Natália Sandrini e Lorena Prestes

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B615 Biomedicina e farmácia [recurso eletrônico] : aproximações 3 /
Organizadores Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes, Tiago
Sousa Melo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. –
(Biomedicina e Farmácia; v. 3)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-322-4

DOI 10.22533/at.ed.224191404

1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Lopes,
Letícia Bandeira Mascarenhas. II. Melo, Tiago Sousa. III. Série.
CDD 610

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de
responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos
autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Farmácia e Biomedicina integram o time das ciências da saúde que constituem nas áreas que estudam sobre a vida, a saúde e a doença. No qual focam na manutenção e na melhoria da saúde para o indivíduo, grupos específicos e comunidades.

A obra “Biomedicina e Farmácia: Aproximações” consiste de uma série de livro (E-book) de publicação da Atena Editora, em seus 28 capítulos de artigos científicos do volume I, a qual abordam temáticas atualizadas de diferentes âmbitos que vão desde relatos de casos até a análise de medicamentos, plantas e microbiologia, entre outros.

Sendo assim, almejamos que este livro possa contribuir com informações pertinentes e atualizadas para os estudantes e profissionais da área de farmácia e biomedicina, oportunizando a ampliação dos conhecimentos sobre o tema.

Desejamos a todos uma boa leitura!

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes

Tiago Sousa Melo

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| CAPÍTULO 1 | 1 |
| ETIOPATOGENESE DA ERITROBLASTOSE FETAL RELACIONADO AO FATOR RH | |
| José Virgulino de Oliveira Lima | |
| Gisele Lopes Cavalcante | |
| Maria Camila Leal de Moura | |
| Rayssa Hellen Ferreira Costa | |
| Maria Clara Nolasco Alves Barbosa | |
| Jéssica Maria Coelho de Sousa | |
| Ilana Dennyse Amorim Rêgo | |
| Dayana Cristina dos Santos Lima | |
| DOI 10.22533/at.ed.2241914041 | |
| CAPÍTULO 2 | 9 |
| EVENTOS ADVERSOS NOTIFICADOS APÓS IMUNIZAÇÃO CONTRA FEBRE AMARELA E O CONHECIMENTO POPULACIONAL | |
| Letícia de Souza Silva | |
| Márcia Cristina Pena Figueiredo | |
| Márcio Fernando Madureira Alves | |
| Sandra Heloisa Nunes Messias | |
| DOI 10.22533/at.ed.2241914042 | |
| CAPÍTULO 3 | 23 |
| FATORES ASSOCIADOS AO ABANDONO DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE NO MUNICÍPIO DE ILHÉUS-BA NOS ANOS DE 2014 A 2016 | |
| Victor Laranjeira Martins | |
| Laís Guedes Rodrigues | |
| Flamélia Carla Silva Oliveira | |
| Jane Francisca Benjamim Moraes | |
| Eliana Neres Mello | |
| DOI 10.22533/at.ed.2241914043 | |
| CAPÍTULO 4 | 34 |
| FREQUÊNCIA DOS CRISTAIS DE CHARCOT-LEYDEN NO EXAME PARASITOLÓGICO REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO ANO DE 2017 | |
| Jéssica Araújo Menezes | |
| Flávia Karen Carvalho Garcia | |
| Larissa Lisboa Rêgo Brito | |
| Marcos Emmanuel Vilanova da Costa | |
| Leonan Oliveira de Souza | |
| Vanessa Christine Gusmão Santos | |
| José Hugo Romão Barbosa | |
| DOI 10.22533/at.ed.2241914044 | |
| CAPÍTULO 5 | 37 |
| FUNGOS MACROSCÓPICOS DO SUDOESTE DO PARANÁ: PRIMEIROS REGISTROS | |
| Ligia Thix de Oliveira | |
| Fernanda Ferrari | |
| Daniela Aparecida Estevan | |
| DOI 10.22533/at.ed.2241914045 | |

CAPÍTULO 6 48

IMPACTOS DA HISTOPLASMOSE EM PORTADORES DA SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

Cicero Pinheiro Inácio
Rejane Pereira Neves
Maria Daniela Silva Buonafina
Melyna Chaves Leite de Andrade
Madi Veiga Diniz
Armando Marsden Lacerda Filho
Marcos Andre Cavalcanti Bezerra
Igor de Farias Domingos
Oliane Maria Correia Magalhães

DOI 10.22533/at.ed.2241914046

CAPÍTULO 7 62

INCIDÊNCIA DE PROTOZOÁRIOS E HELMINTOS NO EXAME PARASITOLÓGICO REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO PRIMEIRO SEMESTRE DE 2018

Luana Tenorio Olímpio
Flávia Karen Carvalho Garcia
Janaína Fontes Ribeiro
Larissa Lisboa Rêgo Brito
Marcos Emanuel Vilanova da Costa
Leonan Oliveira de Souza
José Hugo Romão Barbosa

DOI 10.22533/at.ed.2241914047

CAPÍTULO 8 67

INCIDÊNCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO RESISTENTE EM UM LABORATÓRIO PARTICULAR DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM-PA

Raimundo Gladson Corrêa Carvalho
Elianne da Silva Vieira
Carolina Beatriz Freitas Nunes
Larissa de Souza Mendes

DOI 10.22533/at.ed.2241914049

CAPÍTULO 9 81

ISOPULEGOL APRESENTA ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS PROMISSORAS: REVISÃO DE LITERATURA

Deyna Francélia Andrade Próspero
Manoel Pinheiro Lúcio Neto
Kidner Angelino Próspero
Emanuel Osvaldo de Sousa
Aline Raquel de Sousa Ibiapina
Antonio Alberto Ibiapina Costa Filho
Daniele Martins de Sousa Oliveira
Girzia Sammya Tajra Rocha
Janainna Maria Maia
Larissa Vanessa Ferreira Memória
Nayana Santos Arêa Soares
Camila Leyelle Sousa Neves Rocha
Matheus Evelyn Martins

Litamara dos Santos Miranda
Emília do Rosário Vale de Carvalho Silva
Emones Santos Souza Rodrigues
Juliana Nádia Figueiredo Piauiense

DOI 10.22533/at.ed.22419140410

CAPÍTULO 10 90

LEUCEMIA ASSOCIADA A CANDIDEMIA

Cicero Pinheiro Inácio
Rejane Pereira Neves
Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo
Carolina Maria da Silva
Franz de Assis Graciano dos Santos
Maria Eduarda Ferro de Mello
Maria da Conceição Alexandre Castro
Madi Veiga Diniz
Oliane Maria Correia Magalhães
Luiz Nascimento Araújo Neto
Melyna Chaves Leite de Andrade

DOI 10.22533/at.ed.22419140411

CAPÍTULO 11 99

LEVEDUROSOS: FRONTEIRAS ENTRE A COLONIZAÇÃO E A DOENÇA PARA O DESAFIO DIAGNÓSTICO

Rejane Pereira Neves
Melyna Chaves Leite de Andrade
Oliane Maria Correia Magalhães
Armando Marsden Lacerda Filho
Reginaldo Gonçalves de Lima Neto
Franz de Assis Graciano dos Santos
Carolina Maria da Silva
Cícero Pinheiro Inácio

DOI 10.22533/at.ed.22419140412

CAPÍTULO 12 111

MEDICAMENTOS INALATÓRIOS ORAIS: REVISÃO SOBRE ASPECTOS DA FORMULAÇÃO E DOS DISPOSITIVOS PARA LIBERAÇÃO DE DOSE

Ana Carolina Guimarães Ribeiro
Taízia Dutra Silva
Edilene Rodrigues
Márcio de Matos Coelho
Cristina Duarte Vianna-Soares

DOI 10.22533/at.ed.22419140413

CAPÍTULO 13 123

MORTALIDADE INFANTIL NAS POPULAÇÕES INDÍGENAS DE RORAIMA

Bianca Jorge Sequeira
Ana Iara Costa Ferreira
Fabiana Nakashima
Leila Braga Ribeiro
José Geraldo Ticianeli
Fernanda Zambonin
Wagner do Carmo Costa

DOI 10.22533/at.ed.22419140414

| | |
|--|------------|
| CAPÍTULO 14 | 138 |
| O ÁLCOOL E SEUS EFEITOS NO SISTEMA NERVOSO | |
| Aline Reis Silva | |
| Amanda Augusto De Arruda | |
| DOI 10.22533/at.ed.22419140415 | |
| CAPÍTULO 15 | 150 |
| O PERFIL CLÍNICO - EPIDEMIOLÓGICO DA MALÁRIA EM UM MUNICÍPIO DA AMAZÔNIA BRASILEIRA | |
| Raquel Alves Fernandes | |
| Joyce dos Santos Brasil | |
| Daniela Soares Leite | |
| DOI 10.22533/at.ed.22419140416 | |
| CAPÍTULO 16 | 162 |
| OCORRÊNCIA DE PARASITÓSES INTESTINAIS EM UM LABORATÓRIO PRIVADO DO MUNICÍPIO DE ATALAIA, ESTADO DE ALAGOAS, BRASIL | |
| Mayara de Melo Bezerra | |
| Polyanne de Melo Ferreira | |
| Alecio Marcelo Lima Dos Santos | |
| Evilma Nunes de Araújo | |
| Paulyanne Karlla Araújo Magalhães | |
| Thiago José Matos Rocha | |
| DOI 10.22533/at.ed.22419140417 | |
| CAPÍTULO 17 | 170 |
| PERCEPÇÃO DA DOR NO PACIENTE DE PAQUIONÍQUIA CONGÊNITA (PC) | |
| Dhara Leite Lopes | |
| Luanna Waléria Oliveira Santos | |
| Vinicius Mendes Souza Carneiro | |
| Marcus Vinicius Cardoso Matos Silva | |
| Carlos Danilo Cardoso Matos Silva | |
| DOI 10.22533/at.ed.22419140418 | |
| CAPÍTULO 18 | 182 |
| PREDIÇÃO DA ABSORÇÃO PASSIVA DE FÁRMACOS POR MEIO DA PERMEABILIDADE DETERMINADA IN VITRO UTILIZANDO O ENSAIO EM MEMBRANA ARTIFICIAL PARALELA (PAMPA) | |
| Iara Dévula Tiso Tana | |
| Tamires Guedes Caldeira | |
| Renata Rodrigues Lima | |
| Dênia Antunes Saúde Guimarães | |
| Jacqueline de Souza | |
| DOI 10.22533/at.ed.22419140419 | |
| CAPÍTULO 19 | 193 |
| PRINCIPAIS MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS EM CRIANÇAS DO ESTADO DE RORAIMA | |
| Ana Iara Costa Ferreira | |
| Victor Hugo Araújo Moraes | |
| Geovanna Ferreira Silva | |
| Yasmin de Freitas Santos | |
| Larissa Soares Cardoso | |
| Leila Braga Ribeiro | |
| Fabiana Nakashima | |
| Cynthia Dantas de Macedo Lins | |

Antonio Carlos Sansevero Martins
Bianca Jorge Sequeira
Wagner do Carmo Costa

DOI 10.22533/at.ed.22419140420

CAPÍTULO 20 201

PRODUÇÃO DE MOLÉCULAS EFETORAS, CITOCINAS E QUIMIOCINAS POR MACRÓFAGOS PERITONEAIS DE CAMUNDONGOS C57Bl/6 E Balb-c INFECTADOS *in vitro* COM *Leishmania infantum*

Rafaela Miranda Barbosa
Marcela Rezende Lemes
Lara Beatriz Ferreira
Laura Caroline de Faria
Paula Tatiana Mutão Ferreira
Jonatas da Silva Catarino
Rafael Obata Trevisan
Amanda Freire De Assis Riccardi
Helioswilton Sales de Campos
Juliana Reis Machado e Silva
Carlo José Freire de Oliveira
Virmondés Rodrigues Junior
Camila Belfort Piantino Faria
Marcos Vinícius Da Silva

DOI 10.22533/at.ed.22419140421

CAPÍTULO 21 216

QUANTIFICAÇÃO DO CARBONATO DE CÁLCIO EM DENTIFRÍCIOS POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

Déborah Fernandes Rodrigues
Brenda Caroline Andrade Santana
Whocely Victor de Castro
Ruben Dario Sinisterra Millán
Carlos Eduardo de Matos Jensen

DOI 10.22533/at.ed.22419140422

CAPÍTULO 22 221

REDE DE AJUDA ENTRE AMIGOS

Débora Rezeck Totti
Isabela Vieira Santana
Maria Paula Riolino
Karina Perez Mokarzel Carneiro

DOI 10.22533/at.ed.22419140423

CAPÍTULO 23 226

TRANSFORMAÇÃO DE E. COLI DH5 α PELO MÉTODO DE ELETROPORAÇÃO E EXTRAÇÃO DOS PLASMÍDEOS POR MINIPREP CASEIRA

Artur Fontenelle Lima Montenegro
Antônio Bruno Alves da Silva
Martha Jéssika Oliveira Santos
Walisson Leonidas de Albuquerque
Carlos Roberto Koscky Paier
Márcia Valéria Brandão dos Santos Martins

DOI 10.22533/at.ed.22419140424

CAPÍTULO 24 238

USO DA ESPINHEIRA SANTA (*Maytenus ilicifolia*) NO TRATAMENTO COADJUVANTE EM PACIENTES COM PROBLEMAS GASTROINTESTINAIS

Francisco Ítalo de Sousa Brito
Carolina Francisca Alves de Jesus Sousa
Mateus Marques Rodrigues de Jesus
Lília Rafaela Barbosa de Sousa
Carlos Átila Pereira de Araújo

DOI 10.22533/at.ed.22419140425

CAPÍTULO 25 243

UTILIZAÇÃO DE NEUROPROTETORES FAVORECE A SOBREVIVÊNCIA DOS MOTONEURÔNIOS DA MEDULA ESPINAL NA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA) – UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

Thaís Costa Porto Marinho
Angélica Dutra de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.22419140426

SOBRE OS ORGANIZADORES..... 255

TRANSFORMAÇÃO DE *E. COLI* DH5 α PELO MÉTODO DE ELETROPORAÇÃO E EXTRAÇÃO DOS PLASMÍDEOS POR MINIPREP CASEIRA

Artur Fontenelle Lima Montenegro

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS
Fortaleza - CE

Antônio Bruno Alves da Silva

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS
Fortaleza - CE

Martha Jéssika Oliveira Santos

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS
Fortaleza - CE

Walisson Leonidas de Albuquerque

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS
Fortaleza - CE

Carlos Roberto Koscky Paier

Universidade Federal do Ceará (UFC)
Departamento: Laboratório de Oncologia
Experimental (LOE) – Núcleo de Pesquisa e
Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM)
Fortaleza - CE

Márcia Valéria Brandão dos Santos Martins

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS
Fortaleza – CE

RESUMO: Através da tecnologia do DNA recombinante, várias opções terapêuticas foram introduzidas na medicina, possibilitando tratamento para doenças que não podem ser tratadas por drogas convencionais. Essa tecnologia envolve a clonagem de DNA exógeno em *Escherichia coli*. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é apresentar a eletroporação,

uma técnica de transformação genética em *E. coli* com um conjunto de plasmídeos de diferentes aplicações. Essa técnica foi realizada com a cepa TOP10 previamente submetida a um processo de eletrocompetência. A bactéria foi submetida a campo elétrico de alta voltagem em eletroporador, na presença do plasmídeo, que foi incorporado ao citoplasma das células transformantes. Uma incubação em meio LB líquido a 37°C por 1h foi realizada, seguido de centrifugação e uma nova incubação a 37°C por 16 h. O antibiótico do meio seletivo foi escolhido de acordo com a marca de resistência do plasmídeo transformado. Após o crescimento em meio sólido, uma colônia transformante foi inoculada em meio LB líquido seletivo a 37°C por 16 h. A cultura líquida foi centrifugada e o precipitado foi empregado na purificação dos plasmídeos clonados, processo denominado “miniprep”. A partir da execução da técnica foi possível a obtenção de plasmídeos puros, sem contaminação no processo de extração, e em maior número. Portanto, foi possível concluir que a técnica é de fácil execução e apresenta alta eficácia para a clonagem de plasmídeos em *E. coli*.

PALAVRAS-CHAVE: DNA recombinante. Eletroporação. *E. coli*. Cepa TOP10. Miniprep.

ABSTRACT: Through the recombinant DNA technology many therapeutic options have been

introduced into medicine, making it possible to treat diseases that can not be treated by conventional drugs. This technology involves the exogenous DNA cloning into *Escherichia coli*. The objective of this study is to introduce the electroporation which is a technique of genetic transformation on *E. coli* with a set of different application plasmids. This technique was performed on a TOP10 strain previously submitted to an electrocompetence process. The bacterium was submitted to a high voltage electric field in an electroporator, in the presence of the plasmid, which was incorporated into the cytoplasm of the transforming cells. An incubation in liquid LB medium at 37°C for 1h was performed. After that a centrifugation and another incubation at 37°C for 16h was performed. The antibiotic from the selective medium was chosen according to the resistance tag of the transformed plasmid. After the growth on solid medium, a transformed colony was inoculated in liquid selective LB medium at 37°C for 16h. The liquid culture was centrifuged and the precipitate was used on the cloned plasmid purification, a process known as “miniprep”. Through the execution of the technique it was possible to obtain pure plasmids with a higher number and without contamination of the extraction process. Therefore we conclude that the technique is easily executed and presents high efficacy to clone plasmids on *E. coli*.

PALAVRAS-CHAVE: Recombinant DNA. Electroporation. TOP10 *E. coli* strain. Miniprep.

1 | INTRODUÇÃO

Um gene pode ser caracterizado como uma sequência de DNA que contém toda a cadeia de nucleotídeos necessários e suficientes para a produção de um produto correspondente. Qualquer fragmento de DNA pode ser clonado, a mais simples destas maneiras envolve a inserção de um fragmento de DNA particular no DNA genômico purificado de um elemento genético que se autorreplica – plasmídeo (ALBERTS et al., 2010).

Podemos considerar que, com o início do século XXI, devido à grande evolução na tecnologia do sequenciamento genético, foi possível identificar uma parte considerável de determinadas sequências constituídas por segmentos de DNA com capacidade de movimentar-se dentro de genomas ou mesmo entre diferentes genomas e células. Esses segmentos são chamados de elementos genéticos móveis (ZAHA; FERREIRA; PASSAGLIA, 2014). Entre esses elementos genéticos móveis podemos citar os plasmídeos, sendo estes extracromossômicos e capazes de se replicar autonomamente. Contudo, apesar de obter a capacidade de se replicar de forma independente, por estarem fisicamente dissociados dos cromossomos, esses elementos ainda precisam se utilizar das mesmas enzimas que replicam o genoma da célula hospedeira (ZAHA; FERREIRA; PASSAGLIA, 2014).

Os plasmídeos tornaram-se ferramentas de uso essencial nas técnicas de biologia molecular devido a suas características, tais como: são autorreplicáveis; são

maleáveis; possuem estabilidade; são multifuncionais (WATSON, 2015). É importante mencionar que a base de conhecimento para utilização dos plasmídeos vem da observação de um processo de recombinação genética natural, como o que ocorre em bactérias. Os plasmídeos mais usados na tecnologia do DNA recombinante são aqueles que replicam em *E. coli* a informação genética responsável pela codificação de antígenos com aplicação vacinal, como será discutido mais a frente, é realizada a clonagem e propagação em linhagens de *E. coli*, um habitante inofensivo de nossa microbiota intestinal. Utilizados como vetores de clonagem, estes plasmídeos foram otimizados com a remoção de partes desnecessárias de plasmídeos naturais de *E. coli*, contendo agora somente as regiões essenciais para a clonagem do DNA: uma origem de replicação - estrutura que possibilita a replicação do DNA plasmidial dentro da célula inserida; um marcador que permite a seleção – geralmente é um gene de resistência a fármaco; uma região a qual fragmentos de DNA exógenos podem ser inseridos; Região Promotora - projetado para recrutar maquinaria transcricional de um determinado organismo ou grupo de organismos (LODISH, 2014; ADDGENE, 2017).

Além de obter uma classificação funcional, por serem ferramentas utilizadas na recombinação de DNA, os plasmídeos também apresentam uma classificação de acordo com sua aplicação em laboratório. Os mais conhecidos dentre esses tipos são: os vetores de clonagem, responsáveis pelo aumento da quantidade de plasmídeos; e os vetores de expressão, os quais são responsáveis, além da clonagem, pela expressão da proteína sintetizada a partir do gene alvo, ou pelo próprio estudo das utilidades do gene em si. A diferença estrutural entre esses dois tipos de vetores consiste na presença de uma região promotora, nos vetores de expressão, permitindo a transcrição e tradução do gene nele inserido (ADDGENE, 2017).

Pela sua maneabilidade, os plasmídeos são os vetores de excelência para a clonagem de genes ou fragmentos de DNA específicos, apesar de também serem usados na construção de bibliotecas de genes, hoje em dia a clonagem tem interesses múltiplos no âmbito da engenharia genética, tais como isolamento de um gene particular, parte de um gene, ou região de um genoma e produção de um RNA particular e proteínas moleculares em grandes quantidades (WATSON, 2015).

A tecnologia do DNA recombinante engloba a alteração genética de um material, externo ao organismo, e a inserção deste material alterado no organismo para que características sejam obtidas em organismos vivos ou em seus produtos. Sendo assim, essa tecnologia envolve a inserção de um fragmento de DNA a partir de uma sequência genética desejada, através de um vetor apropriado (KHAN et al., 2016).

2 | MATERIAL E MÉTODOS / METODOLOGIA

2.1 Material necessário

Água ultra pura; Glicerol; DNA para transformação (vetor com ou sem inserto); *E. coli* DH5α eletrocompetente; Meio líquido LB (Cloreto de sódio, extrato de levedura, triptona ou peptona); Cubas de eletroporação; Eletroporador (Gene Pulser Xcell); Placas com meio LB e o antibiótico apropriado para seleção dos transformantes, de acordo com o vetor utilizado (Ampicilina, Canamicina e Clorofenicol) e outro qualquer agente de seleção, por exemplo: X-Gal, para os vetores que o possuem; Demais instrumentos para pipetagem/banho de gelo; GET (25mM Tris-HCl pH 8,0; 10mM EDTA; 50mM Glicose); Acetato de amônia; Isopropanol; Etanol; TE (10mM Tris-HCl pH 8,0; 0,1mM EDTA); Solução de lise (100μL de SDS 10%, 200μL de NaOH 1M, 700μL de H₂O ultra pura autoclavada).

2.2 Método de preparo de células de *E. coli* eletrocompetentes.

O processo de indução de competência ao processo de eletroporação para *Escherichia coli* se inicia através da inoculação de uma colônia dessas bactérias em 50mL de meio LB (Luria-Bertani) com 0,5% de NaCl, realizando o crescimento a 37°C e 200 rpm, *overnight*, em uma incubadora. No dia seguinte, é necessário separar 1mL de meio LB, antes de inocular, para ser utilizado como branco nas medidas de densidade óptica a 600nm em espectrofotômetro. Logo após, ocorre a transferência de 2,5% da cultura crescida para 1L de meio LB (dividido em volumes de 500mL em dois erlens de 2L), realizando a incubação a 37°C e 200rpm, até atingir DO 0,6 a 600nm. Após esse processo, deve-se esfriar os frascos em gelos de 15 a 30 minutos e centrifugar por 20 minutos a 4000 rpm em centrífuga refrigerada, removendo com cuidado os sobrenadantes após centrifugação e ressuspender as células em 1L e água ultra pura estéril e gelada, realizando uma nova centrifugação por 20 minutos a 4000rpm e 4°C. Novamente deve-se descartar o sobrenadante e ressuspender as células cuidadosamente em 10mL de glicerol 10% estéril e gelado, realizando uma nova centrifugação por 10 minutos a 4000rpm e 4°C. Por fim, deve-se descartar novamente o sobrenadante e ressuspender as células cuidadosamente em 2 a 3mL de glicerol 10% gelado e estéril, fazendo com que as células permaneçam bem concentradas, aliquotar 40μL de células em microtubos de 500μL estéreis e gelados, mantendo-os sempre em gelo, e estocar a -80°C.

2.2.1 Método de execução de transformação de *E. coli* por eletroporação.

O procedimento deve se iniciar com a esterilização das cubetas com etanol e deixa-las secando no fluxo laminar. Enquanto ocorre a secagem das cubetas, deve-se manter microtubos contendo 40μL de *E. coli* DH5α eletrocompetente em banho de

gelo. Assim que as cubetas estiverem secas também devem ser mantidas em banho de gelo, sendo o restante do processo realizado dessa forma, em baixa temperatura. Terminando esses preparos iniciais, deve-se pipetar 1 ou 0,5µL do DNA para transformação no microtubo contendo a bactéria eletrocompetente e homogeneizar o material.

Após a homogeneização, o conteúdo presente no microtubo deve ser transferido para a cubeta (contendo aproximadamente 41µL) e deve ser levado ao eletroporador, em banho de gelo. Antes de colocar a cubeta no eletroporador é necessário verificar se existe a presença de bolhas na cultura líquida, realizar retirada das bolhas presentes através de movimentos bruscos, e retirar o excesso de umidade presente nas placas metálicas da cubeta. O pulso aplicado na cubeta deve ser ajustado entre 1800 e 2000V no eletroporador.

Após a eletroporação o material deve ser levado de volta ao fluxo laminar, em banho de gelo, onde será adicionado 1 mL de meio LB à cubeta e depois será transferido o meio líquido com as células eletroporadas para um novo microtubo, estéril. Dessa forma, as células eletroporadas são colocadas na incubadora a 200rpm e 37°C por uma hora, no mínimo, para que as células bacterianas possam produzir as proteínas contidas no plasmídeo e a sua seleção em meio sólido possa ocorrer.

Sendo assim, após o período de incubação, 100µL das células contidas no microtubo devem ser plaqueadas em meio LB sólido seletivo de acordo com a resistência conferida pelo plasmídeo, para crescimento apenas das bactérias transformadas. A incubação das placas deve ser mantida a 37°C por 16h em estufa.

É importante pontuar que a corrente elétrica gerada para ocorrer a abertura de poros dentro das células bacteriadas foi utilizada segundo o protocolo pré-estabelecido do equipamento, Gene Pulser Xcell, o qual configurava os seguintes parâmetros: 1800V, 25µF, 200Ω, utilizando uma cubeta de 0.1cm, um volume de células de 20µL e um pulso de decadência exponencial. O meio LB utilizado foi feito a partir de cloreto de sódio, extrato de levedura, triptona (Kasvi) e ágar (apenas no meio sólido).

2.2.2 Inoculação das bactérias transformadas

Após o crescimento das bactérias em placas de meio LB sólido, uma colônia foi retirada para que pudesse realizar seu crescimento em meio líquido. Para realizar a transferência de uma colônia isolada é necessário a utilização de um fluxo laminar, de tubos de ensaio de 10mL e palitos de dente autoclavados.

Sendo assim, foi executada a transferência de uma colônia isolada, a partir da utilização do palito de dente autoclavado para retirar a colônia do meio de cultura, para o tubo de ensaio contendo 10mL de meio LB líquido e 10µL do antibiótico específico, segundo o plasmídeo utilizado, deixando o palito em contato com o meio. O tubo de ensaio, então, é levado para a incubadora, onde deve ser mantido em uma rotação de 200rpm e 37°C, *overnight*.

2.2.3 Extração dos plasmídeos replicados

Após o crescimento das bactérias em meio líquido, o conteúdo presente no tubo de ensaio é transferido para microtubos de 2mL e centrifugado por 5 minutos a 13000rpm.

Ao fim da centrifugação, o sobrenadante presente no microtubo foi retirado e o conteúdo ainda restante no tubo de ensaio foi transferido para o microtubo para uma nova centrifugação, nos mesmos parâmetros. O processo é repetido até que todo o volume contido no tubo de ensaio tenha sido transferido e centrifugado no microtubo, realizando a retirada do sobrenadante.

Após todas as centrifugações é adicionado 100µL de GET ao microtubo, ressuspensando o *pellet* com uma pipeta. Adiciona-se 300µL de solução de lise, depois da ressuspensão, realizando a mistura do material por inversão, gentilmente, em temperatura ambiente e por no máximo 5 minutos. Em seguida é adicionado 300µL de acetato de amônia 7,5M, realizando uma mistura rápida e vigorosa por inversão. O material, então, é levado para centrifugação a 13000rpm por 10 minutos, transferindo-se o sobrenadante, após a centrifugação, para um novo microtubo de 1,5mL. Sendo assim, deve-se adicionar 700µL de isopropanol e deixar o material em repouso no freezer durante, no mínimo, 30 minutos.

Após o período de repouso, o material é novamente centrifugado a 13000rpm, a 4°C, por 10 minutos, ocorrendo a remoção do sobrenadante logo em seguida para a adição de 300µL de etanol 70% gelado, homogeneização gentil e nova centrifugação do material a 13000rpm, a 4°C, durante 3 a 4 minutos. Em seguida, retira-se o sobrenadante e o tubo é colocado, aberto e na posição horizontal, na estufa, a 37°C, durante 10 a 20 minutos para a secagem do pellet. Por fim, o material é ressuspensado em 50µL de TE e é acrescentado 1µL de RNase a 10mg/mL (DNase free) ao tubo contendo o material a 37°C por 30 minutos.

2.2.4 Eletroforese

Ao fim do processo de extração do DNA dos plasmídeos contidos nas células bacterianas, foi realizado uma eletroforese do DNA desses plasmídeos para verificar a pureza do conteúdo. Esse processo é importante pois caso haja alguma falha no processo de extração, pode haver apresentação de outros conteúdos além do DNA dos plasmídeos no produto final.

A eletroforese foi realizada a partir da preparação de um gel de agarose (0,8%) e de uma cuba para eletroforese, montada segundo o fabricante (Kasvi). O tampão tae, composto de 4,84g de Tris Base, 1,14mL de ácido acético glacial, 2mL de EDTA 0,5M pH 8,0 e ddH₂O, foi utilizado na preparação do gel e na corrida. Os parâmetros utilizados na corrida foram: 80V, por aproximadamente 1h. Foi utilizado o gel red como corante no gel de agarose, em uma proporção de 1:100.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da execução do método de eletroporação nas bactérias eletrocompetentes produzidas no laboratório de Citotoxicidade do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), localizado na Universidade Federal do Ceará (UFC), seguindo o protocolo padrão já estabelecido dentro do laboratório, podemos afirmar que a transformação das bactérias pelos plasmídeos utilizados, os quais são considerados variações de pET e pGEM, foi bem sucedida, assim como o processo de extração pela miniprep, como podemos observar na eletroforese realizada (Figura 1), sinalizando um resultado positivo.



Figura 1: Da esquerda para a direita, considerando a primeira banda como o peso molecular: pET28aGST-tev; pETDuet-1; pET28aSUMO; pETTEVplus; pETTEV; pMAL-c4X; pGEX-4T1; pET7-GroES; pET-Blue2; pET3a; pET11d; pET29a; pcDNA3.1/Neo; pcDNA3.1/Hygro; pcDNA3.1/Hygro-myc; pcDNA3.1/Hygro-His6; pcDNA3-FLAG; pcDNA3-FLAG-GFP; pGEM-mKO2.

Na manutenção da saúde e tratamento de doenças, existem várias formas da tecnologia do DNA recombinante ser aplicada. A terapia gênica pode ser utilizada também em combinação com a terapia medicamentosa e, segundo testes, pode oferecer proteção às células tronco hematopoiéticas da quimioterapia por agentes alquilantes contra glioblastoma (KHAN et al., 2016).

Assim como descrito por Vilela (2007), o uso da tecnologia do DNA recombinante para a produção de anticorpos contra um antígeno específico é totalmente possível, através da técnica de clonagem gênica e manipulação da expressão proteica em *E. coli*. O procedimento de produção é relativamente simples e menos oneroso do que aquele envolvido na obtenção de proteínas recombinantes (DINIZ, 2010). A aplicação desta tecnologia consiste basicamente em escolher uma imunoglobulina e posteriormente empregar a metodologia para fundir o DNA codificante da região variável da cadeia pesada do anticorpo com o DNA codificante para a região constante

(SCALLON, 2006).

A tecnologia do DNA recombinante pode ser usada através de diferentes estratégias, a depender do objetivo que se pretende alcançar. Na produção de vacinas é possível realizar a produção de proteínas recombinantes em sistemas heterólogos, com *E. coli*, manipulação genética para a inserção de genes que codifiquem antígenos e imunização com plasmídeos recombinantes (DINIZ, 2010).

A produção de anticorpos monoclonais através da técnica também pode ser realizada, em que serão produzidos anticorpos cujos alvos serão proteínas de membranas e receptores de membranas (FILPULA, 2007). O uso terapêutico de anticorpos monoclonais em pacientes com tumores sólidos tem demonstrado uma taxa maior de sucesso com os anticorpos específicos para o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) e para o Receptor do Fator de Crescimento Endotelial (EGFR) (SCOTT, 2012).

Outra aplicação desta tecnologia refere-se ao desenvolvimento de receptores antigênicos quiméricos (CARs) expressos em células T. Esses receptores, compostos por domínios anticorpo-ligante conectados com domínios que ativam as células T, podem superar a tolerância admitindo que células T respondam a antígenos de superfície celular. Sendo assim, estudos realizados por Tey (2007), foram capazes de verificar a reatividade de células apresentando esses tipos de receptores contra o tumor, utilizando um CAR de CD30 para Doença de Hodgkin refratária, assim como CAR direcionado a GD2, expresso no vírus Epstein-Barr. A partir desses estudos foi introduzida uma técnica de transplantação de células T reativas a tumores por meio da expressão de receptores antigênicos quiméricos contra o tumor, obtendo também um gene indutor de apoptose para uma função suicida caso essas células T venham a gerar reatividade contra o hospedeiro (doença do enxerto contra o hospedeiro) (TEY et al., 2007; LAM et al., 2013).

Citocinas são polipeptídeos que regulam a resposta inflamatória e a resposta imune de um indivíduo, provendo sinais importantes de patologias na fisiologia de um organismo. Elas fazem parte de um grupo de mediadores relevantes dentro de uma rede complexa e coordenada que rege as repostas inflamatórias, além de exercerem ações pleiotrópicas, são produzidas por uma grande quantidade de células e são capazes de realizar trabalhos terapêuticos no organismo (NAVARRO-GONZÁLEZ, 2008). Citocinas que estão relacionadas à ativação ou à proliferação das células do sistema imune podem ser usadas como estratégia para induzir o aumento da resposta desejada de uma vacina de DNA. Em estudos feitos por Diniz (2010), desenvolveram uma terceira versão das vacinas de DNA para tumores induzidos por HPV-16, coadministrada de plasmídeos que expressam as citocinas IL-12 ou GM-CSF em combinação com os plasmídeos que expressam a E7 ou E7E6E5 de HPV-16 fusionados à gD de HSV-1. Através desta abordagem, obteve-se resposta de imunização máxima, ou seja, foi obtido um efeito protetor terapêutico de 100% nos camundongos usados no experimento.

Em uma revisão feita por Baigent (2002), ele apresenta dados do uso de Interleucina-2 recombinante humana (Proleucina®) no tratamento de Carcinoma Metastático Renal (CMR) e de Melanoma Metastático (MM), em subgrupos de pacientes de CMR e MM obteve-se, respectivamente, respostas completas e duráveis de aproximadamente 7% e 6%, afirmando que estudos realizados dizem que pacientes tratados com a Proleucina® viveram por mais de 10 anos após o tratamento. A substância não possui efeito antitumoral, ao invés disso, acredita-se que ela estimula o sistema imune a reconhecer as células tumorais como células “estrangeiras”. As células tumorais frequentemente desenvolvem mecanismos para passarem despercebidas pelo sistema imune, o qual confunde células saudáveis com células mutadas.

A utilização de RNAs de pequena interferência (siRNA) também é capaz de gerar receptores de células T (TCRs) de atividade antitumoral aumentada, através da recombinação genética utilizando vetores genéticos. Essa maior atividade ocorre pela eliminação ou redução de expressão de componentes endógenos que ajudam a diminuir o despareamento desses receptores, sem mencionar que genes de TCR podem ser utilizados para redirecionar células T contra uma variedade de antígenos antitumorais (KERSHAW; WESTWOOD; DARCY, 2013).

A partir de estudos realizados pelo grupo de pesquisadores de Kim (2006), foi realizada a produção de um peptídeo rico em arginina que pode atuar como carreador de siRNA. Segundo esse grupo de pesquisadores, o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) pode ser inibido por esse siRNA desenvolvido. Para localizar tumores ativos também desenvolveram um carreador de gene bioreduzível conjugado com o peptídeo NGR, o qual pode ser revelado por imagem e poderia ser utilizado para direcionar plasmídeos para o local do tumor, mas ainda existem dúvidas se a expressão ocorreria (KIM et al., 2006; SON et al., 2012; LAM et al., 2013).

Inúmeros dados têm sido acumulados acerca de miRNAs, constantemente eles estão envolvidos em diferentes processos celulares de diferenciação, proliferação, sobrevivência e morte programada. Desse modo, não é novidade que alterações na expressão e na função de miRNA estejam relacionadas ao desenvolvimento de estados neoplásicos em um organismo. Genes clássicos podem ser superexpressos ou silenciados de acordo com seu papel no desenvolvimento do câncer e anormalidades em suas expressões e funções podem ser associadas como marcadores tumorais (PASCULLI, 2015).

Diferentes níveis de expressão de miRNA podem ser encontrados em diferentes tecidos saudáveis e em tecidos tumorais, como no caso de câncer de mama, colorretal, glioblastoma, adenocarcinomas, entre outros (BERINDAN-NEAGOE et al., 2015). Sobretudo, a literatura tem demonstrado que o fenótipo do câncer é caracterizado por uma redução geral de miRNA em relação a tecidos saudáveis, o que corrobora sobre o papel do miRNA na manutenção e diferenciação celular e homeostasia do organismo (PASCULLI, 2015).

O uso de injeções peri-tumorais de miRNA no tratamento de camundongos

com tumores de próstatas apresentou bons resultados na redução do crescimento tumoral em comparação ao grupo controle (ISCAIFE, 2016). Uma série de estudos sobre ganho e perda de função gênica em combinação com a predição de alvo demonstraram que alterações na expressão de miRNAs podem afetar não somente o processo tumorigênico, mas também a sensibilidade celular às drogas. Desse modo, o uso da tecnologia do DNA recombinante para produção de sequências gênicas que tenham como alvo miRNAs e os mecanismos que cercam os RNAs endógenos podem representar um vasto campo para o desenvolvimento de novas terapias contra o câncer, como por exemplo, o anticorpo monoclonal Herceptin® representa o primeiro medicamento alvo-específico para pacientes com câncer de mama que possuem mutação no gene HER-2 (BERINDAN-NEAGOE et al., 2015)

4 | CONCLUSÃO

O método de eletroporação é altamente eficaz, já que a maioria das bactérias foram capazes de ser transfectadas pelo processo, e de simples execução, dependendo somente de treinamento nas técnicas para a realização do método e um pouco de conhecimento teórico sobre o assunto para que seja executado de forma eficiente, segundo o protocolo.

A partir dos experimentos realizados, foi capaz de entender que existem alguns interferentes no processo de eletroporação, pois mesmo com o cuidado de realizar a tirada de bolhas presentes no meio e enxugar as placas metálicas ainda assim pode ocorrer uma falha no processo e a corrente ser conduzida pelo meio.

As regras de biossegurança também podem ser consideradas um importante parâmetro para a obtenção de resultados positivos, pois quando não são bem executadas podem acontecer acidentes ou ocorrência de resultados inesperados enquanto quando bem executadas geralmente o resultado esperado é alcançado.

AGRADECIMENTOS

Os autores e profissionais envolvidos no desenvolvimento deste projeto gostariam de agradecer a todos que se disponibilizaram para que tudo fosse realizado dentro do possível e da melhor forma possível.

Ao professor Dr. José Lima, reitor do Centro Universitário Christus (Unichristus) e ao professor Dr. Manoel Odorico, diretor do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará (NPDM-UFC) por se disponibilizarem e quebrarem barreiras ao promover o desenvolvimento científico entre instituições públicas e privadas.

À professora Dr^a Cláudia Roberta, coordenadora geral do curso de Biomedicina da Unichristus, por ser facilitadora e ajudar com oportunidades de experiência como

essa no Laboratório de Oncologia Experimental do NPDM.

À professora Dr^a Márcia Valéria, por ser nossa orientadora, se disponibilizar e nos motivar a prosseguir na carreira científica, sempre fazendo o que está a seu alcance para que tudo ocorra conforme esperado.

À professora Dr^a Raquel Montenegro, por se dispor a coordenar as atividades que seriam realizadas, se disponibilizar e ser facilitadora na receptividade e engajamento dos alunos dentro do Núcleo.

Ao professor Dr. Carlos Paier, por se responsabilizar, acompanhar, disponibilizar e dedicar seu tempo ao ensino dos alunos que desenvolveriam as atividades nos laboratórios do Núcleo.

REFERÊNCIAS

ADDGENE. **Addgene Protocols:** How to do a Bacterial Transformation. Disponível em: <https://www.addgene.org/protocols/bacterial-transformation/>. Acesso em: 23 de agosto de 2017.

ALBERTS, Bruce et al. **Biologia Molecular da Célula**. 5^a edição, Porto Alegre: Artmed, 2010. 1396p.

BAIGENT, G; BARNGROVER, D. **Recombinant Interleukin-2 (aldesleukin) for oncology and HIV disease and recombinant protein treatment (Fabrazyme) for Fabry's disease (No. 14 in a series of articles to promote a better understanding of the use of genetic engineering)**. Journal of Biotechnology Volume 95, Issue 3, 23 May 2002, Pages 277-283.

Berindan-Neagoe, I; Monroig, P. d. C; Pasculli, B; Calin, G. A. **MicroRNAome genome: A treasure for cancer diagnosis and therapy**. CA A Cancer Journal for Clinicians, 64: 311–336. 2014.

BROWN, T.A. **Clonagem genica e análise de DNA: uma introdução**. 4^o edição. Porto Alegre: Artmed, 2003. 376p.

DINIZ, M.O; FERREIRA, L.C.S. **Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas**. Estud. av., São Paulo, v. 24, n. 70, p. 19-30, 2010 .

FERENC, Matthew. **Plasmids 101:** Common Lab E. coli Strains. 2014. Addgene. Disponível em: <<http://blog.addgene.org/plasmids-101-common-lab-e-coli-strains>>. Acesso em: 23 de agosto de 2017.

FILPULA, D. **Antibody engineering and modification technologies**. Biomolecular Engineering, Amsterdam, v. 24, p. 201-215, 2007.

GOUVÊA, A; PEREIRA, I.; BOLITO, L. et al. **Controlo da Replicação de Plasmídeos**. Engenharia Biomédica. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. Universidade de Coimbra, 2005. Acesso em 17 agosto de 2017. Disponível em <http://www.fis.uc.pt/data/20042005/apontamentos/apnt_1354_35.pdf>

ISCAIFE, Alexandre. **O uso de microRNA para o tratamento do câncer de próstata: estudos *in vitro* e *in vivo*** / Alexandre Iscaife – São Paulo, 2016. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

KERSHAW, Michael H.; WESTWOOD, Jennifer A.; DARCY, Phillip K.. Gene- engineered T cells for cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, [s.l.], v. 13, n. 8, p.525-541, 24 jul. 2013. Springer Nature.

KHAN, Suliman et al. Role of Recombinant DNA Technology to Improve Life. **International Journal Of**

Genomics, [s.l.], v. 2016, p.1-14, 2016. Hindawi Limited.

KIM, Won Jong et al. Cholesteryl Oligoarginine Delivering Vascular Endothelial Growth Factor siRNA Effectively Inhibits Tumor Growth in Colon Adenocarcinoma. **Molecular Therapy**, [s.l.], v. 14, n. 3, p.343-350, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.03.022>.

LAM, P.; KHAN, G; STRIPECKE, R.; HUI, K.M.; KASAHARA, N.; PENG, K.W.GUINN, B.A. **The innovative evolution of cancer gene and cellular therapies**. Cancer Gene Therapy. [s.l.], v. 20, n. 3, p.141-149, 1 fev. 2013. Springer Nature.

LODISH, H. **Biologia Celular e Molecular**. 7º Edição. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1210p

Navarro-González JF¹, Mora-Fernández C. **The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy**. J Am Soc Nephrol. **March 2008** vol. 19 no. 3433-442.

PASCULLI, B; CALIN, G.A. **RNA Interference in Cancer Therapy**. Rev. Cell Biol. Mol. Medicine Vol 1, n 3, 2015.

SCALLON, B.J; SNYDER, L.A; ANDERSON, M.G; CHEN, Q; YAN, L; WEINER, L.M; NAKADA, M.T. A. **Review of Antibody Therapeutics and Antibody- Related Technologies for Oncology**. J Immunother 2006; 29:351–364.

SCOTT, A.M; WOLCHOK, J.D; OLD, L.J. **Antibody therapy of câncer**. *Nature Reviews Cancer* 12, 278-287; April 2012.

SON, Sejin et al. Bioreducible Polymers for Gene Silencing and Delivery. **Accounts Of Chemical Research**, [s.l.], v. 45, n. 7, p.1100-1112, 17 jul. 2012. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ar200248u>.

TEY, Siok-keen et al. Inducible Caspase 9 Suicide Gene to Improve the Safety of Allogeneic T Cells after Haploidentical Stem Cell Transplantation. **Biology Of Blood And Marrow Transplantation**, [s.l.], v. 13, n. 8, p.913-924, ago. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2007.04.005>.

VILELA, A.A; CALÁBRIA, L.K; COELHO, M.V; ESPINDOLA, F.S. **Uso de proteína recombinante e produção de anticorpo para miosina-v e dlc no estudo de cérebro da abelha Apis melífera**. Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Genética e Bioquímica, Bloco 2E, sala 39, Av.. Pará s/ número, CEP. 38400-920, Uberlândia-MG, foued@ufu.br.

WATSON, J.D; BAKER, T.A; BELL, S.P. **Biologia Molecular do Gene**. 7ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

ZAHA, Arnaldo; FERREIRA, Henrique Bunselmeyer; PASSAGLIA, Luciane M. P. **Biologia Molecular Básica**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 403 p.

SOBRE OS ORGANIZADORES

LETÍCIA BANDEIRA MASCARENHAS LOPES Farmacêutica, Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário INTA (UNINTA). Especialista em caráter de Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência (SCMS e UNINTA), especialista em Gestão e Logística Hospitalar pela Universidade Cândido Mendes (UCAM), pós - graduanda em Farmácia Clínica e Cuidados Farmacêutico, pela Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), pós - graduanda em Análises Clínicas e Microbiologia pela Universidade Cândido Mendes (UCAM).

TIAGO SOUSA MELO Possui graduação em FARMÁCIA pela Universidade Federal do Ceará (2009). Doutor em Biotecnologia em Saúde pela Rede Nordeste de Biotecnologia RENORBIO. Atualmente é professor dos Cursos de Farmácia e Odontologia e gestor de pesquisa do curso de Farmácia do Centro Universitário INTA. Também exerce atividade como tutor da Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência da Santa Casa de Misericórdia de SobralCE. Tem experiência na área de Farmacologia Pré-Clínica de Produtos Naturais, com ênfase no estudo de plantas medicinais com ação em distúrbios metabólicos (diabetes, dislipidemia e obesidade) e Farmacologia Clínica.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-322-4

