

Resumen

Los genes de referencia son genes que se expresan constantemente en las células, independientemente de su estado fisiológico y patológico. Por ello, son usados como controles comparativos en análisis de expresión génica. Estos genes pueden tener una expresión diferencial cuando son expuestos a diferentes condiciones experimentales. Por ello, se debe validar que gen o conjunto de genes de referencia son más estables ante una condición en particular. El objetivo del presente estudio es comparar la estabilidad de los genes *ACTBL2*, *ACTB* y *HPRT* en la línea celular McCoy ATCC CRL-1696 expuesta a nanopartículas de plata cubiertas con doxiciclina (Ag-Dox NPs). Para ello, se establecieron ensayos de qPCR utilizando ARN extraído previamente de células expuestas a Ag-Dox NPs y ARN recién extraído de células de control no expuestas. Se analizó la estabilidad de los genes de referencia usando la herramienta integral NormFinder. Los datos crudos de Cq fueron corregidos para que incluya la influencia de la eficiencia de amplificación de cada gen. Como resultado se obtuvo que el gen *ACTB* es el más estable dentro de los 3 genes estudiados. Los valores de estabilidad fueron los siguientes: 1,637 para *ACTBL2*, 0,556 para *HPRT* y 0,187 para *ACTB*; siendo el gen *ACTB* más estable. Los análisis de este estudio permitirán usar al gen *ACTB* como gen de referencia en posteriores análisis de expresión génica y en la búsqueda de posibles mecanismos de nanotoxicidad y vías de muerte celular regulada inducida por exposición a Ag-Dox NPs.

Palabras clave: Gen de referencia, Eficiencia de amplificación, Estabilidad génica

Abstract

Reference genes are genes that are constantly expressed in cells, independent of their physiological or pathological state. Therefore, they are used as comparative controls in gene expression analysis. These genes may have differential expression when exposed to different experimental conditions. Therefore, it is necessary to validate which gene or set of reference genes are more stable under a particular condition. The aim of the present study is to compare the stability of the genes *ACTBL2*, *ACTB* and *HPRT* in the McCoy ATCC CRL-1696 cell line exposed to silver nanoparticles coated with doxycycline (Ag-Dox NPs). For this, qPCR assays were set up using previously extracted RNA from Ag-Dox NPs exposed cells and RNA freshly extracted from non-exposure control cells. The stability of the reference genes was analysed using the comprehensive NormFinder tool. The raw Cq data were corrected to include the influence of the amplification efficiency of each gene. Stability values were as follows: 1.637 for *ACTBL2*, 0.556 for *HPRT* and 0.187 for *ACTB*; with *ACTB* gene being more stable. The results of this study will allow the *ACTB* gene to be used as a reference gene in subsequent gene expression analyses and in the study of possible mechanisms of nanotoxicity and regulated cell death induced by exposure to Ag-Dox NPs.

Keywords: Reference gene, Amplification efficiency, Stability gene