

VOZES DIVERSAS

DIFERENTES SABERES



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXX SIC

15 A 19 OUTUBRO CAMPUS DO VALE



Padronização da técnica de MS-MLPA para análise simultânea do perfil de metilação de 25 genes supressores de tumor associados a carcinogênese mamária.

Laís Damasceno¹ - Rúbia Denise Ruppenthal²



1- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

2- Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

rubia.ruppenthal@ufrgs.br



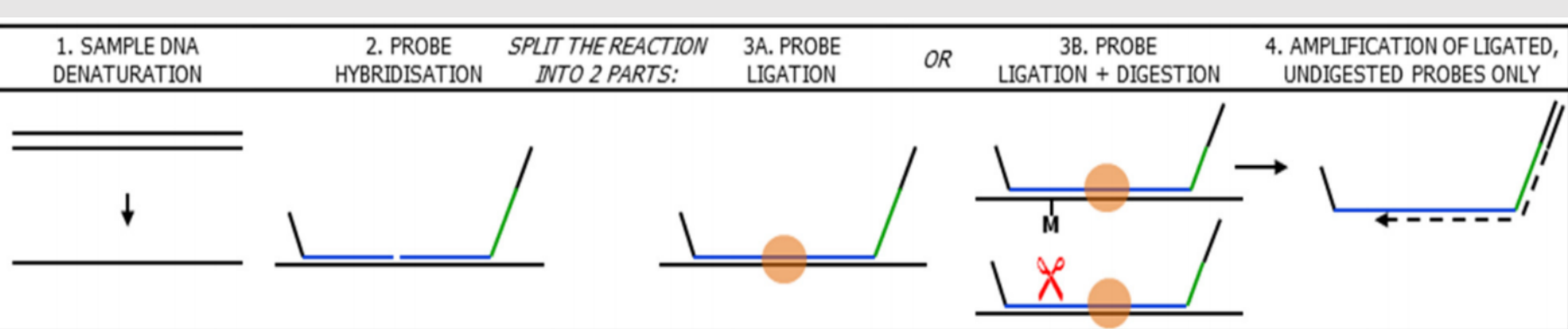
Introdução: O carcinoma mamário é um dos cânceres mais comuns em mulheres e apresenta vários subtipos, sendo, portanto, altamente heterogêneo. Por este fato é relevante clinicamente conhecer esses subtipos com a finalidade de se adequar o tratamento de acordo com a agressividade do carcinoma e associá-lo ao prognóstico do paciente. A metilação é resultado de uma desregulação do DNA, que ocorre epigeneticamente e pode estar correlacionada com os subtipos de carcinoma e sua severidade.

Objetivo: Padronizar a as reações de Methylation-Specific Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MS-MLPA) utilizando DNA controle (referência) para posterior aplicação do teste em amostras clínicas.

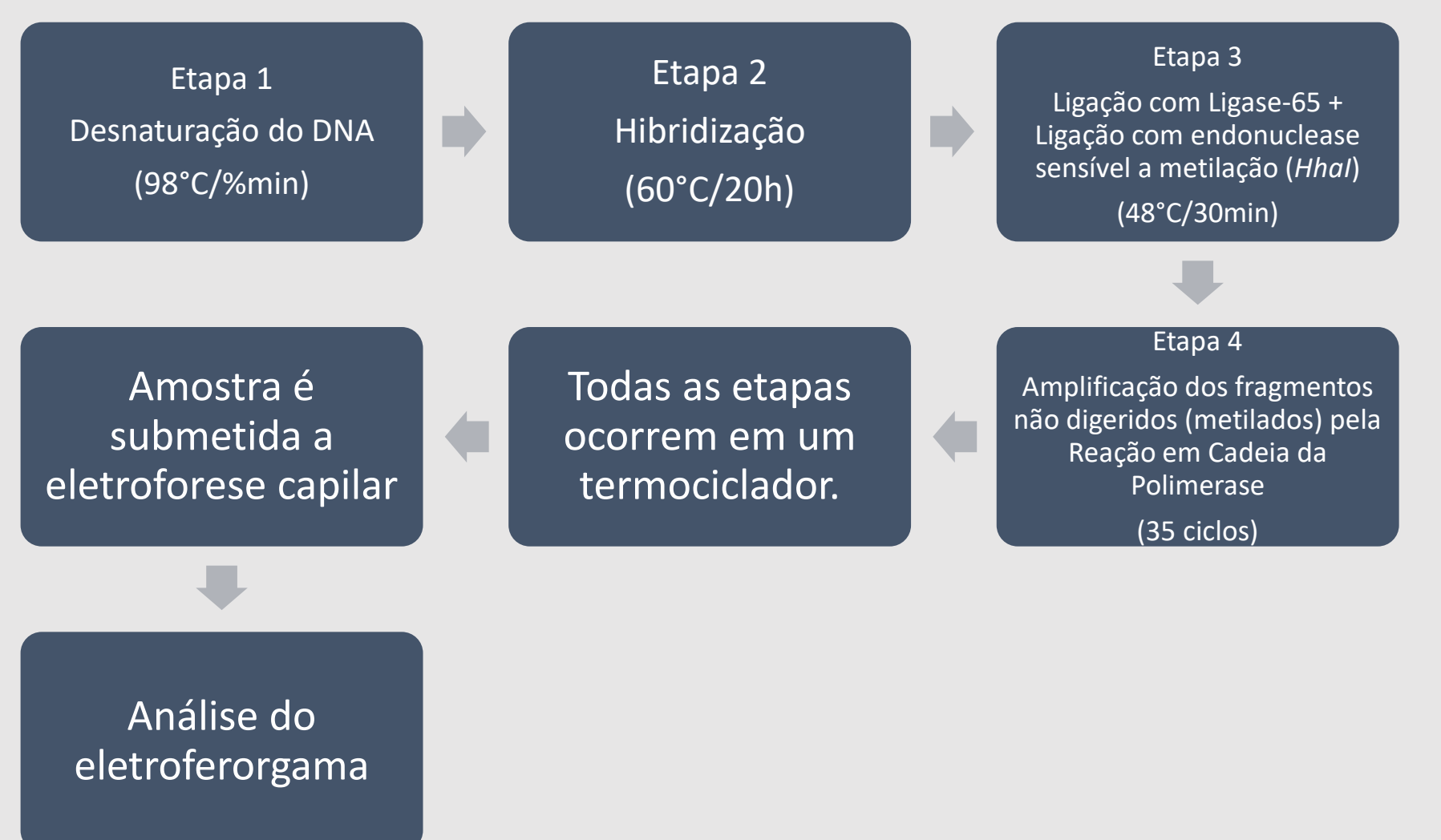


Fonte: <http://www.falco-genetics.com/salsa/>.

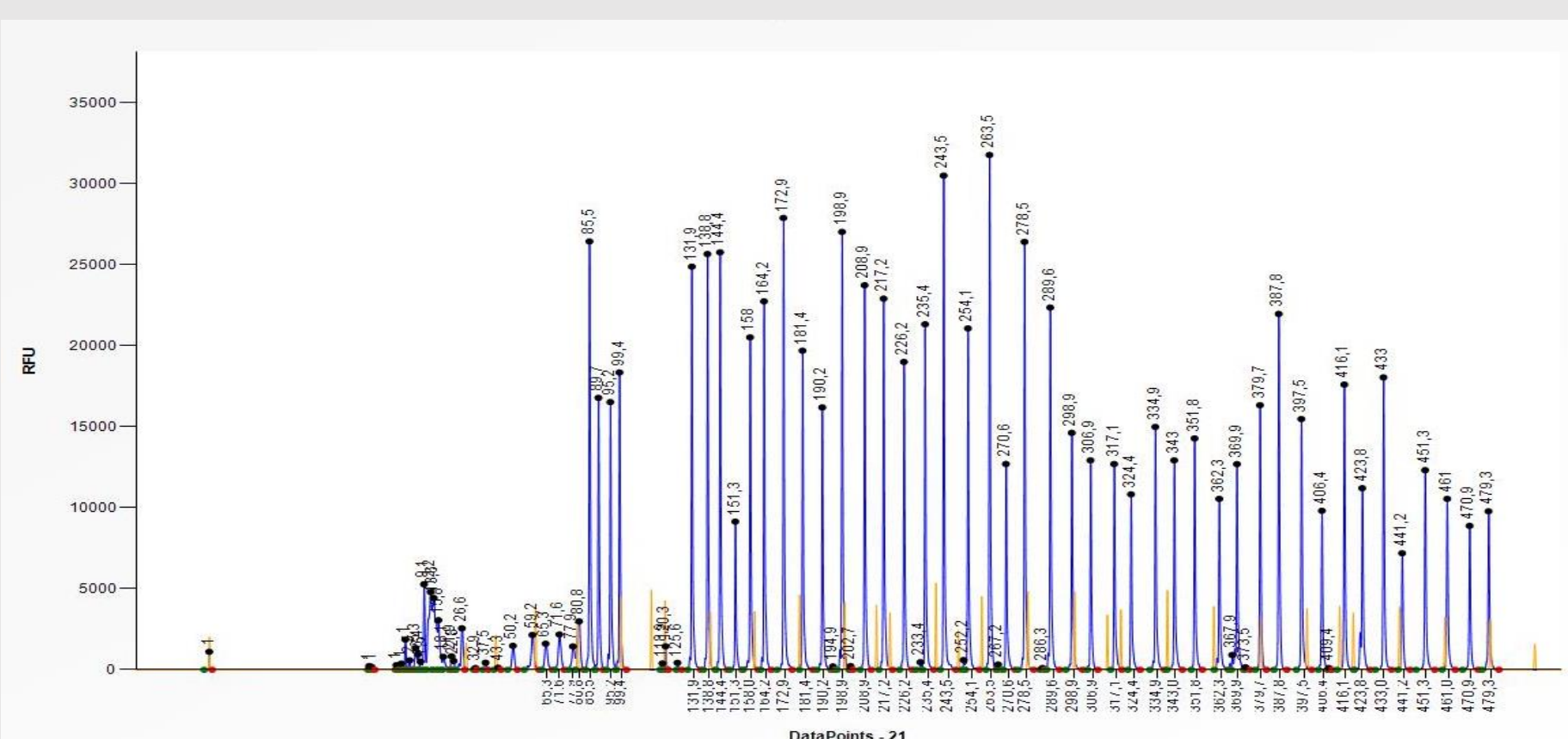
Metodologia: Na padronização do MS-MLPA o kit comercial utilizado foi Salsa[®] MLPA ME001-C2 Tumour Suppressor Mix 1 (MCR Holland, Amsterdam, Netherlands), que contém um total de 41 sondas específicas para 25 genes alvo (TP73, CASP8, VHL, RARB, MLH1, RASSF1, FHIT, APC, ESR1, CDKN2A, CDKN2B, DAPK1, CELF2, KLLM, CD44, GSTP1, ATM, CADM1, CDKN1B, CHFR, BRCA2, CDH13, H1C1, BRCA1, TIMP3). O DNA referência utilizado foi o Human Genomic DNA Female (Promega Corporation, Madison, USA 100ug).



Fonte: MCR Holland, protocol general.



Resultados: O teste resultou em um eletroferograma onde puderam ser observados fragmentos de DNA condizentes com os tamanhos esperado para os 25 locus analisados, na faixa de 136 à 484 pb. Foi possível observar a amplificação das 9 fragmentos controle com tamanho de amplificação menor que 120 pb: 4 fragmentos Q (DNA quantity, 64, 70, 76 e 82 pb), 3 fragmentos D (DNA desnaturation: 88, 92 e 96 pb), um fragmento X de 100 pb (marcador do cromossomo X) e ausência do fragmento Y.



Fonte: Autores.

Conclusão: Foi possível padronizar a reação da MS-MLPA após a introdução de modificações no protocolo original.

Perspectivas: determinação do perfil de metilação pela comparação dos resultados da MS-MLPA de amostras clínicas (carcinomas mamários) quando comparadas ao DNA referência.

Referências: Anders O, Nygren H, Ameziane N, Duarte HMB, Vijzelaar R, Waisfisz Q, Hess CJ, Schouten JP, Errami A. Methylation-Specific MLPA (MS-MLPA): simultaneous detection of CpG methylation and copy number changes of up to 40 sequences. Nucleic Acids Res 2005; 33: e128. [14]

Atherly AJ, Camidge DR. The cost-effectiveness of screening lung cancer patients for targeted drug sensitivity markers. Br J Cancer. 2012;106(6):1100-6.

Brasil, Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. Incidência do Cancer no Brasil – Estimativa 2015. Disponível em www.saude.gov.br/sas. Acessado em: 22/02/2018

Grupo de Pesquisa: Prof.ª Drª Rúbia Denise Ruppenthal, Laís Damasceno, Brenda Silva Caetano.

Financiamento: FAPERGS