

251

MONITORAMENTO DO NÍVEL DE DETECÇÃO DO TRANSCRITO BCR/ABL NO RT-PCR. *Paula M. B. Dias, Rosely V. Meissner, Nance B. Nardi* (Depto de Genética, Inst. de Biociências, UFRGS)

A leucemia mielóide crônica é caracterizada pela presença do gene híbrido BCR/ABL derivado da translocação entre os cromossomos 9 e 22, originando o cromossomo Philadelphia (Ph) que está presente em mais de 95% dos casos. O gene híbrido é transcrito em dois tipos de mRNAs (b2a2 e b3a2). O RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) é uma das técnicas utilizadas para a detecção do gene híbrido através da amplificação da região de junção do BCR/ABL e análise eletroforética dos transcritos. Embora esta técnica tenha se mostrado válida para esta detecção, existem fatores limitantes para a sua aplicação pois há variáveis na reprodução e na sensibilidade dos testes, bem como situações em que se torna difícil a análise da amostra, como em pacientes que estão em tratamento ou no monitoramento da doença residual mínima (MRD) em pacientes pós-transplantados. Nestes casos torna-se necessária a realização de dois PCRs consecutivos (nested PCR) para aumentar a sensibilidade da técnica. O objetivo do trabalho é verificar o limiar de detecção do transcrito BCR/ABL. Células da linhagem K562 Philadelphia positivas (ATCC-CCL 243) são diluídas em diferentes proporções em células CCRF-CEM Philadelphia negativas (BCRJ N°CR068). Após a extração de RNA total e síntese de cDNA, a mistura é submetida ao RT-PCR e analisada por eletroforese. Os resultados obtidos até o momento, demonstram que a metodologia possibilita a detecção de um mínimo de $2,5 \times 10^6$ células K562(Ph+) em $7,5 \times 10^6$ células CCRF-CEM(Ph-) já no primeiro PCR. (CNPq)