



Análise do padrão de metilação do DNA humano através da técnica de MSRE-qPCR

Mariana da Silva Mendonça, Paula Magnelli Mangiavacchi,
Álvaro Fabrício Lopes Rios

RESUMO

As alterações epigenéticas durante o desenvolvimento de um indivíduo têm sido postuladas como fonte de variabilidade fenotípica influenciando o surgimento de doenças na vida adulta. Este estudo visa avaliar o padrão de metilação de genes como o P11 e o Transportador de 5-hidroxitriptamina (5-HTT), associado a doenças como o estresse pós-traumático, o alcoolismo, transtorno bipolar e o autismo, utilizando o ensaio MSRE_qPCR (Methylation Sensitive Restriction Enzyme assay – quantitative PCR) para analisar os níveis de metilação da região promotora do gene P11 em amostras de DNA derivados de sangue periférico, células de bulbo capilar e do epitélio bucal. A metodologia empregada (MSRE-qPCR) foi inicialmente padronizada no laboratório do Prof. Dr. Álvaro Fabrício Lopes Rios (LBT/CBB/UENF). Foram utilizados protocolos modificados de Sambrook (1989) e Zuccoti & Monk (1995) para estabelecer um método de extração de DNA de diferentes tecidos. Para o protocolo MSRE-qPCR foi utilizado de 2-25 ng de DNA genômico e 2U de enzima de restrição sensível a metilação - BstUI. Amostras digeridas e não digeridas foram amplificadas em um sistema StepOne-Plus Real Time PCR (Applied Biosystems) e os níveis de metilação do DNA estimados pela fórmula $Met\% = 0.5\Delta Ct$. A análise de metilação do DNA em sangue periférico (59.53%), células da mucosa bucal (36.94 %) e bulbos capilares (36.37%) demonstraram diferentes níveis de metilação do DNA. As condições experimentais desse protocolo tornam o custo do mesmo mais acessível e, permite a investigação dos níveis de metilação do DNA em quantias mínimas de células (10-100 células). A sensibilidade da técnica permite detecção de variações entre 5 a 10% de metilação. O presente protocolo deverá ser utilizado na análise da investigação interindividual da metilação do DNA em genes associados ao surgimento de doenças psiquiátricas, os quais poderão torna-se candidatos a marcadores moleculares epigenéticos das mesmas.

PALAVRAS CHAVE: Metilação do DNA, 5-HTT, Epigenética

**IV Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica
e Tecnológica**

17º Encontro de IC da UENF
9º Circuito de IC da IFF
5ª Jornada de IC da UFF



Genética