



Ciências Biológicas

ANÁLISE DO PADRÃO DE METILAÇÃO DO DNA HUMANO DERIVADAS DE DIFERENTES AMOSTRAS CELULARES ATRAVÉS DO ENSAIO DE METHYLATION SENSITIVE RESTRICTION ASSAY – QUANTITATIVE PCR (MSRE-QPCR)

M.S.Mendonça, P.M. Mangiavacchi, T. B. Sarlo, A.F.L. Rios

Introdução: A regulação epigenética em diversos genes associados à etiologia de doenças humanas tem sido alvo de investigação em todo mundo. Fatores epigenéticos como a metilação do DNA podem afetar a função gênica sem alterar a sequência de DNA dos mesmos. Alterações dos padrões de metilação do DNA têm sido identificadas em genes associados ao estabelecimento de padrões de comportamento humano. Algumas doenças psiquiátricas têm sido postuladas como possuindo um “background” epigenético. Diversos relatos tem sugerido que essas alterações epigenéticas surgem da exposição das células de um indivíduo a fatores de estresse do ambiente (por exemplo: nutrição, drogas, estresse, poluição e mesmo diferenças em padrões sócios econômicos). Um gene associado à etiologia de doenças como transtorno obsessivo compulsivo (TOC), ao transtorno bipolar e ao alcoolismo é o gene 5-HTT (SLC6A4) presente no cromossomo 17 (17q11.2). Alguns autores sugerem que alterações na expressão desse gene estão associadas ao controle epigenético do mesmo. No entanto, pouco é conhecido sobre o padrão de metilação do DNA desse gene entre indivíduos de populações normais ou entre diferentes tecidos de um mesmo indivíduo. Resultados prévios do nosso grupo falharam em quantificar a metilação do DNA na região repetitiva polimórfica do gene 5-HTT. **Objetivo:** O presente estudo visa avaliar o padrão de metilação do DNA do Transportador de 5-hidroxitriptamina (5-HTT) utilizando um novo par de primers desenhados com maior eficiência, em amostras de DNA humano derivado de sangue periférico. **Metodos:** Para quantificação da metilação do DNA foi utilizado o protocolo de Methylation Sensitive Restriction Enzyme assay – quantitative PCR (MSRE-qPCR). A extração do DNA analisado foi realizada segundo o protocolo de Sambrook (1989). Para o protocolo MSRE-qPCR foi utilizado de 1-35 ng de DNA genômico e 2U de enzima de restrição sensível a metilação – Acil. **Resultados:** Os resultados do ensaio MSRE-qPCR demonstram que a região da repetição polimórfica do gene 5-HTT humano apresenta uma porcentagem de metilação média de aproximadamente 32%. **Conclusão:** No presente estudo foram redesenhados primers com melhor eficiência para o ensaio de MSRE-qPCR. Os resultados demonstram que esse novo par de primers permitiu a quantificação da metilação do DNA em amostras de sangue periférico.

Palavras-chave: Epigenética, Metilação do DNA, 5-HTT

Instituição de fomento: CNPq/FAPERJ/UENF

Email: mailpramariana@gmail.com