

IMPLANTAÇÃO E APERFEIÇOAMENTO DE METODOLOGIA MOLECULAR PARA GENOTIPAGEM DO GENE DA CITOCINA IL-33.

Camila Seganfredo (PIBITI/Cnpq/ Universidade Estadual de Maringá), Josiane Bazzo de Alencar (Co-Autora), Jeane Eliete Laguila Visentainer (Orientadora), jelvisentainer@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá/ Departamento de Ciências Básicas da Saúde.

Ciências Biológicas, Genética.

Palavras Chave: *interleucina-33*, *citocina*, *genotipagem*, *PCR-RFLP*, *padronização*.

Introdução

Membro da família das IL-1, a interleucina 33 está relacionada com a imunidade inata e adaptativa, modula a homeostase tecidual e respostas ambientais, sendo expressa em células epiteliais, endoteliais e fibroblastos. A literatura mostra relação da IL-33 com a proliferação de células hematopoiéticas CD34+ na leucemia mielóide crônica, além de poder induzir choque anafilático e dermatite alérgica em pacientes atópicos. O polimorfismo de nucleotídeo único A/G 9894 do gene da IL33 também apresenta maior expressão da interleucina em tecidos carcinomatosos de mama. Em contrapartida, foi verificada uma ação protetora da IL33 contra a aterosclerose, helmintos e infecções virais respiratórias, por exemplo. Portanto, faz-se necessário o aprimoramento da técnica para a genotipagem do gene da IL33 para entender a patogênese das diferentes doenças, as quais está associada.

Problema

Atualmente, são escassas as opções de métodos moleculares disponíveis com baixo custo para a genotipagem do SNP A/G 9894 da citocina IL-33. Grande parte das técnicas descritas são baseadas na metodologia de RT-PCR, uma técnica cara desde a obtenção do material biológico, que requer tubos específicos para a conservação do RNA, até a execução, que depende de equipamento específico. Com a padronização já iniciada, houve dificuldade para definir o melhor volume de amplicon a ser usado. Por fim, no intuito de desenvolver uma metodologia mais barata, acessível e com melhor visualização de bandas na eletroforese em gel, este projeto teve como objetivo melhorar as técnicas de genotipagem do polimorfismo em questão.

Solução e Benefícios

A solução encontrada para a genotipagem eficaz do polimorfismo estudado, foi usar a técnica de PCR-RFLP, sendo esta uma metodologia mais barata e acessível, diferentemente da técnica RT-PCR. Obtivemos uma melhora na visualização das bandas na eletroforese em gel usando 2µl de amplicon, apesar do provável homocigoto mutado ainda permanecer com uma banda, o que poderia confundir com o heterocigoto.

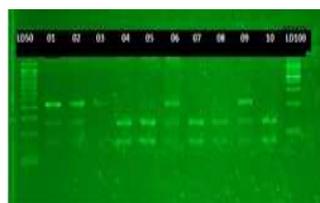


Figura 1. Gel de digestão setembro de 2017.

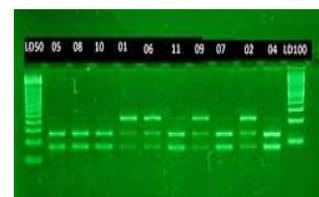


Figura 2. Gel de digestão de janeiro de 2018.

Potencial de Mercado e Diferencial Competitivo

A metodologia desenvolvida neste projeto a partir da técnica PCR-RFLP é mais barata que em comparação às atuais existentes no mercado, utilizando equipamentos e materiais mais simples e acessíveis, facilitando a genotipagem do SNP A/G 9894 da citocina IL-33 e consequentemente, o estudo das patologias associadas ao polimorfismo do gene da interleucina.

Considerações Finais

A técnica desenvolvida foi efetiva no seu objetivo de aperfeiçoamento e barateamento das metodologias já existentes para genotipagem do polimorfismo A/G 9894 da região do íntron 3 do gene da citocina IL-33.

Estágio de Desenvolvimento da Tecnologia

(x) Laboratório () Mercado
 () Scale-up (mudança de escala) () Protótipo

Agradecimentos

Agradeço ao Cnpq pelo apoio financeiro, a minha orientadora, Jeane Eliete Laguila Visentainer e a Josiane Bazzo de Alencar pelo total auxílio no desenvolvimento do projeto.

Contato Institucional

Camila Seganfredo
camila_seganfredo@hotmail.com

Universidade Estadual de Maringá
 Núcleo de Inovação Tecnológica
www.nit.uem.br
 (44)3011-3861