

DESENVOLVIMENTO DE UMA REAÇÃO DE PCR-SBT PARA GENOTIPAGEM DOS GRUPOS ALÉLICOS HLA-C1 E HLA-C2

Meireli Mirian de Souza (PIBITI/CNPq/UEM, ra117445@uem.br), coorientadora Dra. Fernanda Pelisson Massi, fpmassi2@uem.br, orientador Prof. Dr. Quirino Alves de Lima Neto, qalneto@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá (UEM) / Departamento de Ciências Básicas da Saúde (DBS)

Área: 21100004 – Imunologia, Subárea: 21103003 – Imunogenética

Palavras-Chave: HLA, sequenciamento de DNA por Sanger, reprodução humana

Introdução

A genotipagem do gene *HLA-C* grupos C1 e C2, associada a genotipagem dos genes *KIR* é de grande importância em centros de fertilização *in vitro* e saúde reprodutiva. Essa relação é devido à presença dos genes *KIR* expressos nas células NK uterinas associadas às moléculas HLA-C presentes no feto e herdadas de origem paterna, favorecendo o sucesso ou os agravos gestacionais. Desta forma, é essencial determinar o grupo HLA-C paterno em processos de fertilização *in vitro* auxiliando nas tomadas de decisões e evitando complicações gestacionais. A metodologia de sequenciamento de DNA por Sanger permite avaliar de forma precisa o códon presente na posição 80 do éxon 2, responsável por codificar o domínio $\alpha 1$, na região da fenda de apresentação do antígeno da molécula HLA-C. O grupo HLA-C1 é caracterizado pela presença do aminoácido asparagina (códon AAC ou AAT) na posição do 80 do éxon 2, enquanto, o grupo HLA-C2 é caracterizado pela presença do aminoácido lisina (códon AAA) nesta posição. Portanto, desenvolver uma metodologia que permite avaliar de forma eficiente e de custo acessível essa região de interesse, auxiliando os profissionais que atuam nas clínicas de reprodução assistida a tomarem as melhores decisões quanto ao melhor número de embriões a serem implantados, evitando agravos gestacionais, evidencia a importância da realização deste trabalho.

Problema

Procedimentos de fertilização *in vitro* demandam avaliação prévia da combinação KIR materno (haplótipo A ou B) e HLA-C paterno (grupo C1 ou C2), a fim de determinar o número de embriões a serem implantados, buscando reduzir as falhas gestacionais. Técnicas atualmente disponíveis no mercado baseadas no sequenciamento de DNA demandam uso de equipamentos e kits comerciais altamente custosos.

Solução e Benefícios

Desenvolver uma metodologia de sequenciamento de DNA baseado em Sanger (PCR-SBT) para genotipagem HLA-C (grupo C1 e C2) permitindo avaliar de forma eficaz e economicamente viável o códon presente na posição 80 do éxon 2, responsável por codificar os aminoácidos asparagina (códon AAC ou AAT) ou lisina (códon AAA) e classificar precisamente os grupos HLA-C1 e HLA-C2.

Potencial de Mercado e Diferencial Competitivo

O desenvolvimento e padronização de uma metodologia de sequenciamento de DNA por Sanger que avalia precisamente somente a região de interesse (posição 80 éxon 2 do gene *HLA-C*) permite disponibilizar ao mercado uma técnica eficiente de genotipagem para uso em centros de reprodução assistida, auxiliando no desfecho bem-sucedido dos procedimentos de fertilização *in vitro*.

Considerações Finais

O sequenciamento de DNA é um procedimento altamente sensível e específico, desta forma, o desenvolvimento e a padronização da metodologia mencionada demanda muitos estudos e ajustes minuciosos na técnica. Por outro lado, a genotipagem *HLA-C* também é laboriosa, pois este gene é altamente polimórfico em humanos. Desta forma, encontrar a melhor condição para execução da técnica de sequenciamento de DNA por Sanger para genotipagem HLA-C1 e HLA-C2 demanda muitos esforços e testes adicionais. Atualmente, o desenvolvimento da metodologia encontra-se em fase de testes, com resultados promissores e com potencial uso futuro pelos centros de reprodução assistida auxiliando as tomadas de decisões e favorecendo as gestações bem-sucedidas.

Estágio de Desenvolvimento da Tecnologia

O presente projeto encontra-se em nível TRL/MRL 3. No entanto, há ainda a necessidade de realizarmos algumas análises laboratoriais para confirmarmos a viabilidade da proposta e otimizar alguns detalhes no protocolo de execução. Por fim, faremos uma validação de nosso processo comparando-o com uma técnica de referência, considerada padrão ouro, que faz a mesma análise que estamos propondo com nossa abordagem.

Agradecimentos

Agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Laboratório de Imunogenética da UEM (LIG-UEM).

Contato Institucional

Universidade Estadual de Maringá (UEM)
Departamento de Ciência Básicas da Saúde (DBS)
Laboratório de Imunogenética da UEM (LIG-UEM)
qalneto@uem.br / lab-liquem@uem.br
(44) 3011-4861 / (44) 3011-4847

