

IMPLANTAÇÃO DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR DA HEMOGLOBINOPATIA S

Mariane ALMEIDA (UnilesteMG); Rívia Mara Morais SILVA (UnilesteMG)

Objetivo: Implantar a técnica de diagnóstico molecular da hemoglobinopatia S no Laboratório de Biologia Molecular do UnilesteMG, através da técnica de PCR (Reação em cadeia da polimerase) e RFLP (Análise com enzima de restrição) e determinar ocorrência de hemoglobina S em cinco casais sem filhos e sobrinhos nascidos após 2001. **Metodologia:** Serão avaliados 5 casais, sem filhos nem sobrinhos nascidos após 2001. Previamente à realização das análises dos participantes foi realizado treinamento teórico e prático das técnicas moleculares da pesquisa: extração e quantificação de DNA, preparo dos géis de agarose e poliacrilamida, padronização da técnica de PCR/RFLP. O sangue dos participantes será colhido em EDTA 0,1%. Após a extração e quantificação do DNA, será realizada a PCR e o seu produto será submetido à digestão com a enzima de restrição DdeI. Os fragmentos de DNA obtidos serão visualizados pela aplicação das amostras em gel de poliacrilamida a 6%. **Resultados:** As técnicas de biologia molecular foram estudadas por meio de aulas e realização de encontros com professores. Feito isso, foi realizado o treinamento das técnicas necessárias para a realização da pesquisa. O DNA genômico dos leucócitos foi extraído a partir de 5mL de sangue colhido em EDTA. Após a extração, a quantidade e pureza do DNA genômico foi avaliada por ensaio espectrofotométrico, com absorção máxima no comprimento de onda 260nm. A concentração do DNA foi padronizada em 10ng. Foi realizado o treinamento para preparo dos géis de agarose a 1% e poliacrilamida a 6%. A esses géis foram aplicadas amostras de DNA amplificadas estocadas. Foi realizada a eletroforese e os mesmos foram corados para se detectar os produtos de amplificação: o gel de agarose corado com brometo de etídio e as bandas visualizadas com luz ultravioleta. No gel de poliacrilamida o DNA foi precipitado e corado com nitrato de prata. Na padronização da técnica da reação em cadeia da polimerase e da digestão enzimática (PCR/ RFLP) estão sendo testadas várias concentrações de reagentes e de DNA na PCR, e variando o tempo de incubação e as concentrações de DNA e enzima Ddel na etapa da digestão. **Conclusão:** A partir do treinamento realizado e da padronização obtida, serão selecionados os cinco casais participantes, realizada a coleta das amostras de sangue, extração do DNA e execução da técnica de PCR/ RFLP para avaliar a presença da hemoglobina S.

Palavras-chave: Diagnóstico molecular. Hemoglobinopatia s. Técnicas.

Agências de fomento: FAPEMIG, FGPA, UnilesteMG