Anais do Semana de Ciência e Tecnologia da PUC Goiás 2014
Disponível em: http://pucgoias.edu.br/ucg/prope/pesquisa/anais/2015/index.htm
ISSN: 2177-3327

PADRONIZAÇÃO DOS PRIMERS BETA A –B, BETA S –B PARA DETECÇÃO DE DOENÇA DO TRAÇO FALCIFORME (HEMOGLOBINA AS)

MARIA CAROLINE SILVA GOMES; KÁTIA KARINA VEROLLI O. MOURA

A hemoglobina é a proteína globular presente nas hemácias responsável pelo transporte de oxigênio no organismo. Estruturalmente é formada pela associação de quatro cadeias polipeptídicas de globina com grupamentos heme. Os arranjos tetraméricos das cadeias estão na dependência de genes estruturais e de genes reguladores. Na ocorrência de mutação gênica tem-se modificação estrutural e funcional ou alteração quantitativa das moléculas de hemoglobina, dando origem a hemoglobinopatias ou talassemias hereditárias, respectivamente. É o caso da anemia falciforme, na qual uma mutação pontual (troca de A por T) determina a substituição do ácido glutâmico pela valina na sexta posição da cadeia β, determinando a hemoglobina S (HbS). Assim, as propriedades físico-químicas da molécula são alteradas. Em baixas concentrações de oxigênio ocorre a polimerização e precipitação na membrana dos eritrócitos que tomam conformação de foice. Em estudos nacionais, foram observadas frequências de 2,7% de AS e 0,09% de doença falciforme (0,07% HbSS e HbSC 0,02%). A alta frequência de heterozigotos e a gravidade clínica dos homozigotos demonstram a necessidade de programas de triagem populacional das hemoglobinopatias hereditárias. O diagnóstico neonatal possibilita o tratamento precoce e aconselhamento genético. Com o advento da biologia molecular, surgiu a possibilidade do diagnóstico laboratorial através do estudo do DNA. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é um método de biologia molecular que permite a produção de grande quantidade de fragmentos específicos de DNA a partir de substratos complexos e em concentrações diminutas. A PCR necessita de primers específicos. Estes são sequências de oligonucleotídeos que funcionam como iniciadores, sinalizando onde a Taq polimerase deve se ligar para prosseguir a extensão do segmento. No caso da doença do Traço Falciforme, foram utilizados os primers Beta A –b (5' TAACGGCAGACTTCTCCTC 3'), Beta S –b (5' TAACGGCAGACTTCTCCAC 3') segundo o protocolo de Sambrook et al., (2001) com algumas modificações de nosso laboratório. O produto obtido foi submetido à eletroforese em gel de agarose à 1,5%, corado com brometo de etídio (5µg/mL) e visualizado no Sistema de Vídeo Documentação (VDS). A padronização foi eficiente evitando desvios na reação, e minimizando a chances de um resultado equivocado.

Palavras-chave: Hemoglobina. Anemia Falciforme. PCR, Primers.