

# DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE PRIMERS PARA ANÁLISE DAS PRINCIPAIS REGIÕES DE INTERESSE CLÍNICO DO GENE ASXL1 ASSOCIADO A NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

GUSTAVO HENRIQUE LEITE MAGALHÃES<sup>1</sup>, IGOR JOSE LOPES DOS SANTOS<sup>2</sup>, GIOVANA PAOLA ZACCARIAS BEMVIDES<sup>3</sup>, JOSÉ RENATO PATTARO JÚNIOR<sup>4</sup>, JEANE ELIETE LAGUILA VISENTAINER<sup>5</sup>

1. Acadêmico de Graduação em Farmácia, Universidade Estadual de Maringá (UEM); 2. Acadêmico de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM); 3. Acadêmico de Doutorado PBF-UEM; 4. Acadêmico de Pós-Doutorado PBF-UEM; 5. Docente PBF-UEM.

\* [azucenaperespco@gmail.com](mailto:azucenaperespco@gmail.com)

**Eixo:** Imunogenética

## RESUMO

As doenças mieloproliferativas, originadas na medula óssea, se desenvolvem quando há mutações nas células maduras da linhagem mieloide e proliferam-se descontroladamente excedendo as células saudáveis. Essas mutações podem diferenciar-se de acordo com o gene no qual essa mutação ocorre e sua função. Por conta disso, se fez necessário o estudo dessas mutações genéticas responsáveis pelo desencadeamento de neoplasias mieloproliferativas.

Este estudo teve por objetivo desenvolver primers para realizar a amplificação das regiões interesse clínico do exón 14 do gene ASXL1, frequentemente associado a essas mutações. O projeto foi executado conforme aprovação pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos da UEM (parecer no 2.364.250/2017). Para o desenho dos primers foram utilizados os softwares Primer Blast e Oligo Analyzer.

Objetivou-se primers com temperatura de melting de 60 C, 40-60% CG e com  $\Delta G$  maior que -9 kcal/mol para a formação de homo, heterodímeros e grampos.

Utilizou-se a metodologia de PCR seguido de eletroforese em gel de agarose com concentração de 1%, ajustes nos volumes de magnésio e DNTPs, temperatura de anelamento e tempo de extensão foram realizados para obter a amplificação do ASXL1. Além disso, as amostras analisadas foram adquiridas do sangue de pacientes através da prestação de serviço do LIG e o gene HGH foi utilizado para validar as reações.

Considerando o tamanho da região do exón em questão ( $\approx 2500$ nts), diferentes primers foram testados para que a amplificação acontecesse. Dessa forma, para 20uL de volume, obteve-se que o gene amplifica-se em condições nas quais as concentrações de DNTPs e magnésio sejam de 0,75mM e 1,87mM respectivamente, com os primers QA1F e QA2R em temperatura de anelamento a 55°C.

Por fim, os resultados obtidos possibilitaram o desenvolvimento de primers capazes de amplificar a região do gene ASXL1, posteriormente com o objetivo de realizar sequenciamento e análise do gene a fim de levar inovação em diagnóstico clínico e tratamento direcionado para o paciente.

**PALAVRAS-CHAVE:** primers; gene ASXL1; doenças mieloproliferativa.