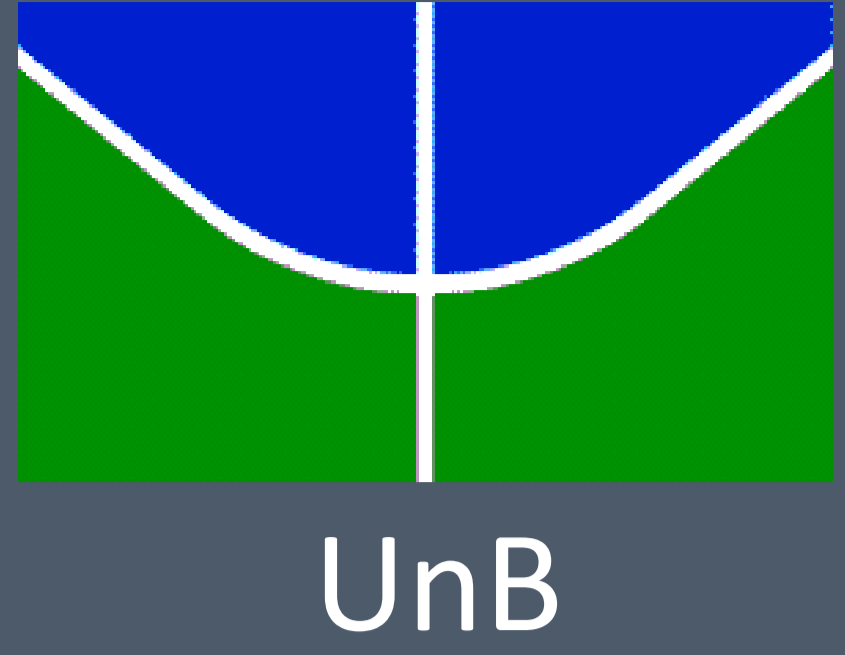


Padronização da técnica de PCR-RFLP para o estudo da influência do polimorfismo no gene *KCNJ2* no tratamento com o radiofármaco Iodeto de Sódio (^{131}I) em portadores de carcinoma papilífero de tireoide



LIMA, J.D.; OLIVEIRA, J.B.C.; MORAIS, R.M.; NÓBREGA, O.T.; OLIVEIRA, J.R.; SILVA, I.C.R.

Contato: dias12lima@gmail.com



INTRODUÇÃO

Polimorfismos genéticos são variações na sequência de DNA que alteram sítios de reconhecimento de enzimas de restrição. Essas mutações podem modificar as proteínas de forma qualitativa e/ou quantitativamente, e afetar o processo canceroso. O gene *KCNJ2* (localização citogenética: 17q24.3) codifica uma proteína de membrana integral e outra de canal de potássio do tipo retificador. Estudos anteriores mostraram que polimorfismos nesse gene surgem em pelo menos 2 vezes em pacientes com câncer de tireoide papilífero. Assim, este trabalho tem por objetivo padronizar a técnica de PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) para o estudo da influência do polimorfismo no gene *KCNJ2* no tratamento e prognóstico em pacientes com câncer de tireoide submetidos à dose terapêutica com o radiofármaco Iodeto de Sódio (^{131}I).

MÉTODOS



O projeto encontra-se aprovado pelo comitê de ética do **UNICEUB** sob o nº 57382416.6.0000.0023.

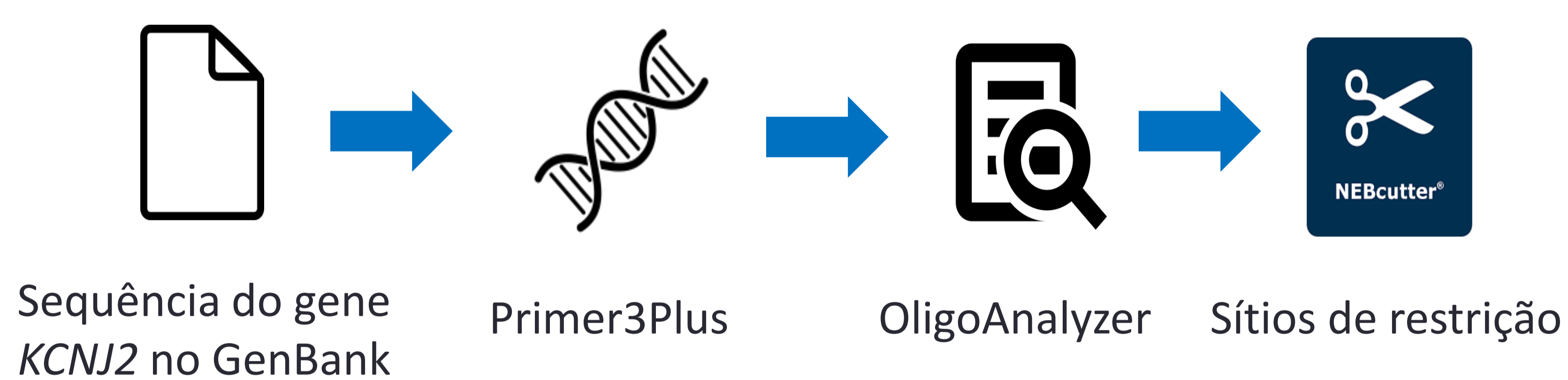


Tabela 1. Protocolos de padronização da PCR.

Reagentes da PCR	
DNA molde	10 ng
Tampão taq	1x
MgCl ₂	1,5 mM
dNTP	0,2 mM
Oligos F/R	0,4 μM
Taq DNA polimerase	2 U
Volume final	50 μL
Condições da Termociclagem	
Desnaturação	94°C (5 min)
	35 ciclos de 94°C (1 min)
Amplificação	52°C (1 min)
Extensão	72°C (1 min)
	72°C (8 min)
Condições de Eletroforese	
Gel de agarose	2% p/v
Tampão de corrida	TBE 1x
Condições	100 V por 40 min

RESULTADOS

Tabela 2. Primers desenhados para PCR-RFLP.

Primer	Sequência	Produto amplificado (bp)
KCNJ2_F	5'-CCGTAATGCACATGCAACTC-3'	926
KCNJ2_R	5'-TCCACACACGTGGTGAAGAT-3'	

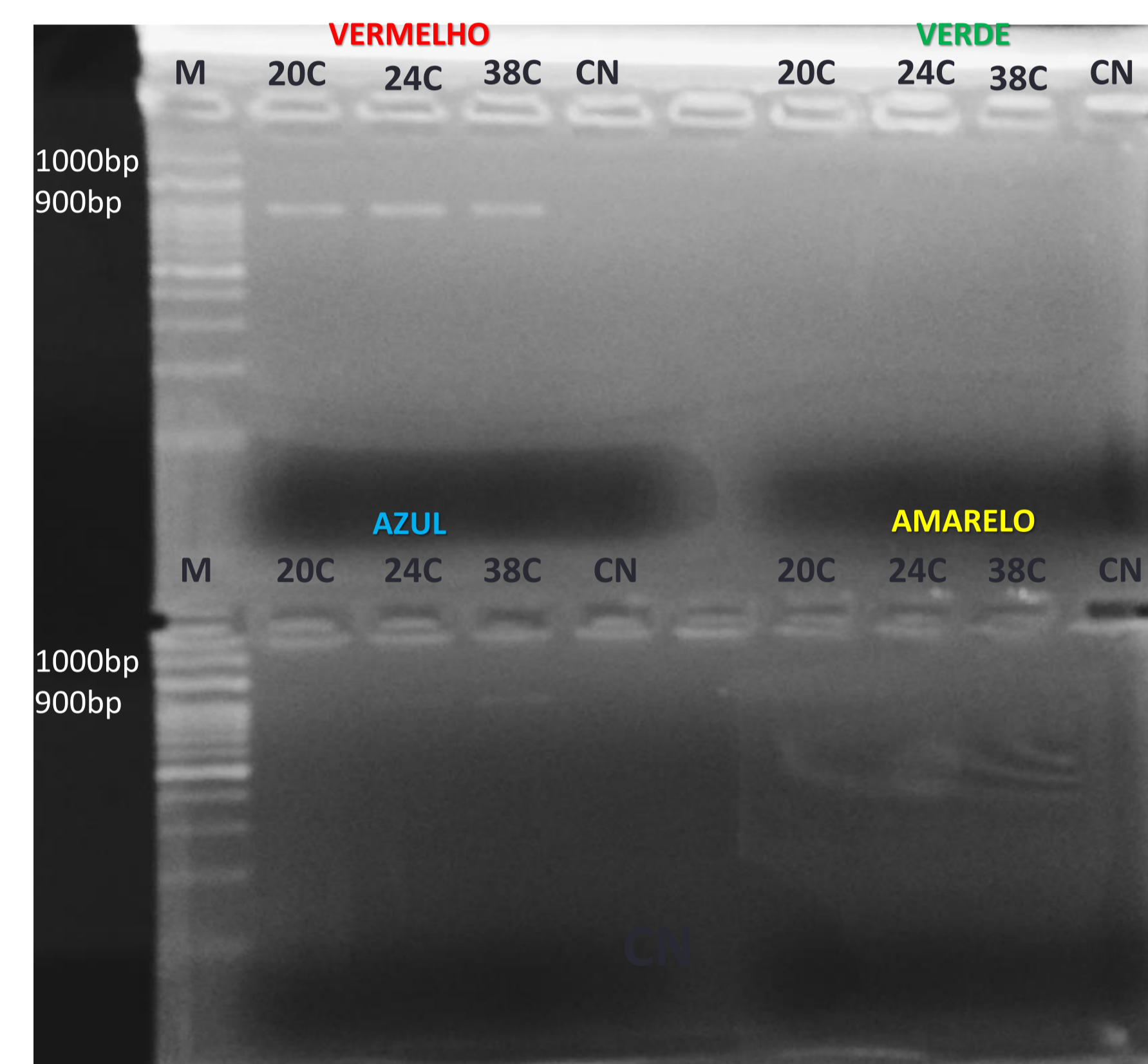


Figura 1. Padronização da PCR utilizando o par de primer *KCNJ2_F/R*. M: marcador molecular 100 bp (KASVI); CN: controle negativo.

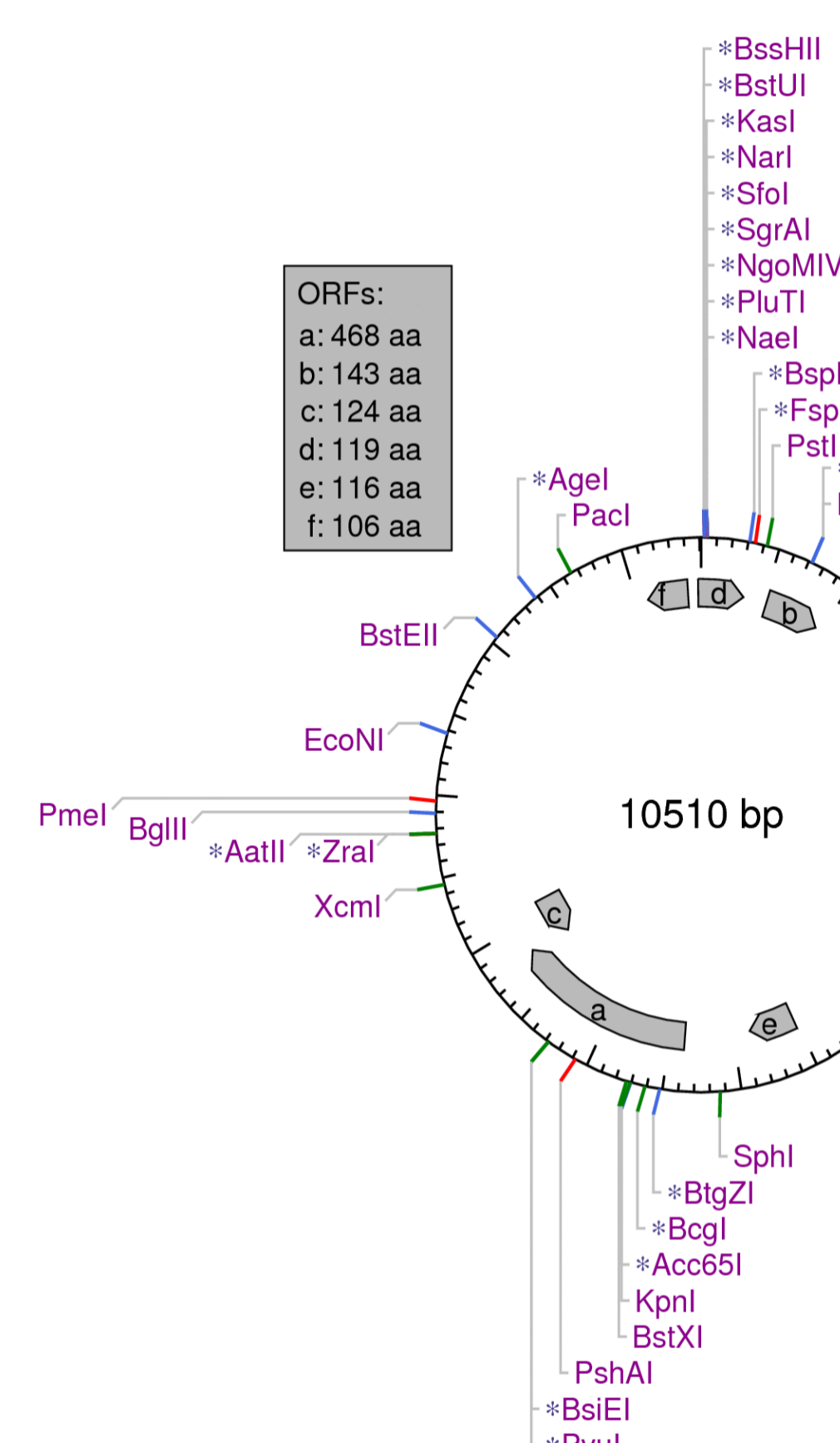


Figura 2. Mapa dos sítios de restrição do gene *KCNJ2* humano.

DISCUSSÃO

A técnica PCR-RFLP é utilizada para o estudo do genoma, pois detecta diferenças nas sequências de DNA por meio da presença de fragmentos de comprimentos diferentes após a digestão das amostras com endonucleases de restrição específicas. De acordo com os resultados da PCR-RFLP separados por gel de agarose, foi obtido o padrão de banda característico demonstrando a padronização efetiva para o gene *KCNJ2*.

CONCLUSÃO

Este estudo proporcionou o passo inicial no estudo da influência do polimorfismo no gene *KCNJ2* no tratamento e prognóstico em pacientes com câncer de tireoide submetidos ao radiofármaco Iodeto de Sódio (^{131}I).