

Universidade de São Paulo

Projeto: Identificação de genes regulados pelo mecanismo de Metilação

Disciplina: Genética Molecular e de Populações

Docente Responsável: Wilson Araújo

Aluno: Sidney Luis Pirani      nº USP: 6872515

Esse projeto foi realizado em várias etapas sendo que a primeira consistiu em realizar algumas anotações gênicas obtendo informações sobre os genes em tecido de pulmão. Foram obtidas informações de vinte e cinco genes no tecido tumoral e vinte cinco no tecido normal com o auxílio da ferramenta BLAT, cujo objetivo é localizar rapidamente seqüências com maior similaridade. Após aplicar o Blat foi escolhida a seqüência com maior score e maior identidade, logo em seguida foi anotado o símbolo do gene e sua localização no cromossomo e validava-o. Depois de concluída essa etapa para todos os genes, os mesmos eram separados do tecido tumoral e normal por símbolo e com o auxílio do Excel anotava suas freqüências.

O passo seguinte foi fazer uma análise dos genes do tecido tumoral usando o aplicativo GSEA que analisa blocos de genes, onde foram encontrados cinco genes (ACTB, HBB, GAPDH, TPM2 e HBA2) que estavam associados com o cMYC, que é um oncogene e algumas versões mutantes é encontrada em muitos tipos de câncer pois ele ativa a expressão de alguns genes envolvidos com proliferação celular e resulta na formação de câncer. Também chamou a atenção o MALAT1 pois ele está relacionado com metástases associada com adenocarcinoma de pulmão. Foram encontrados também alguns oncogenes (COL1A1 e GNAS) e EIF2AK3 pertencente a família das proteínas quinases que são componentes fundamentais ao controle intracelular na regulação e na transdução de sinais.

O gene escolhido para análise foi o ACTB por estar presente no tecido tumoral e normal, estar hipo-expresso no tecido tumoral e por apresentar ilhas CpGs associada a região promotora, foco maior desse projeto. Através do site BLAT Genome, foi obtida a seqüência que continha a região promotora incluindo o primeiro exon para análise, em seguida essa sequência pode ser analisada com o auxílio do programa MethPrimer pelo método metilação-específica PCR (MSP) que detectou uma ilha CpG com tamanho de 381pb e sua localização. Gerou também cinco pares de primers para estudo.

Sabe-se também que a metilação do DNA constitui em um importante mecanismo epigenético regulador da integridade genômica e expressão gênica. Consiste na adição de radicais metil às bases citosina (C) localizadas a 5' de bases guanina (G), principalmente nas ilhas CpG. Recentemente seu papel vem sendo reconhecido como importante fator no desenvolvimento e progressão tumoral, com a demonstração de alteração do padrão de metilação afetando a expressão de vários genes em diferentes tipos de câncer. O ACTB é um gene codificador da proteína actin beta que estão envolvidos com a motilidade celular, com a estrutura e integridade além de ser a principal constituinte do aparelho contrátil e do citoesqueleto.

Portanto, se ocorrer a metilação das ilhas CpGs na região promotora isso irá bloquear a ligação dos fatores de transcrição ocasionando o silenciamento gênico impedindo a transcrição, o que pode originar tumores e até mesmo o câncer.