



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Otimização da técnica de RT-LAMP para a detecção de PCA3 em amostras de urina para o diagnóstico do câncer de próstata
Autor	MARIANA HENTZ
Orientador	KARINA MARIANTE MONTEIRO

Otimização da técnica de RT-LAMP para a detecção de PCA3 em amostras de urina para o diagnóstico do câncer de próstata

Mariana Hentz, Karina Mariante Monteiro
Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional - Centro de Biotecnologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O câncer de próstata (CaP) é o tipo de câncer mais prevalente entre os homens no Brasil, com exceção dos tumores de pele não melanoma. Atualmente, o diagnóstico do CaP se baseia em valores alterados na dosagem do Antígeno Prostático Específico (PSA, do inglês Prostate-Specific Antigen), variações no tamanho da próstata através do exame de toque retal e na biópsia do tecido prostático, considerada o padrão ouro para o diagnóstico. Entretanto, estes métodos apresentam limitações importantes. A dosagem do PSA no sangue é uma alternativa menos invasiva, porém não é específica para o câncer, mostrando-se também alterada em pacientes com Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) e outras condições não malignas. Já o exame de toque retal e a biópsia são exames extremamente invasivos, o que leva aproximadamente 2/3 dos homens a desistirem de procurar auxílio médico e cuidarem da sua saúde. Em meio a barreiras como estas, existe uma busca constante por novos biomarcadores que possam diagnosticar o CaP de forma precisa e não-invasiva. Nesse sentido, a urina vem se mostrando uma fonte interessante para a descoberta de novos biomarcadores. Um biomarcador específico já conhecido e bastante estudado é o PCA3, um RNA longo não-codificador (lncRNA) que é altamente expresso em tumores de próstata. Porém, a detecção de PCA3 é difícil e a sensibilidade dos testes disponíveis ainda é limitada. Além disso, os testes comercialmente disponíveis são onerosos e necessitam de equipamentos caros. Uma nova técnica chamada LAMP (Amplificação Isotérmica Mediada por Loop, do inglês Loop mediated isothermal amplification) vem despertando interesse para uso no diagnóstico molecular por sua alta sensibilidade, rapidez e por dispensar o uso de equipamentos sofisticados. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo a identificação de PCA3 em amostras de urina de pacientes com CaP, HPB e indivíduos saudáveis utilizando a técnica de RT-LAMP para o diagnóstico do CaP. Amostras de urina de pacientes com CaP, HPB e indivíduos saudáveis estão sendo coletadas nos Hospital Ernesto Dornelles (Porto Alegre, RS), e Hospital Ana Nery (Santa Cruz do Sul, RS). As coletas de urina foram realizadas antes do procedimento de biópsia. Até o momento, 25 amostras controle (indivíduos saudáveis) e 74 amostras de pacientes com suspeita de CaP/HPB foram coletadas. A partir do resultado do exame histopatológico os pacientes serão agrupados nos diferentes grupos de estudo. Dois conjuntos de primers específicos para a detecção de PCA3 foram projetados utilizando o software PrimerExplorer V.5. As condições da reação de RT-LAMP serão padronizadas a partir do RNA extraído de duas linhagens celulares de CaP, LNCaP, a qual expressa PCA3, e DU145, sem expressão de PCA3. As reações de RT-LAMP serão realizadas com o kit LavaLAMP™ (Lucigen) e a amplificação será avaliada por fluorescência com o uso do corante fluorescente Green Fluorescent Dye (Lucigen). A eficiência dos diferentes conjuntos de primers será comparada e serão otimizadas as condições da reação de RT-LAMP, como temperatura, concentração de primers, concentração de dNTPs, sulfato de magnésio e da enzima. Além disso, também será avaliada a eficiência da reação de RT-LAMP a partir de amostras de RNA total e de amostras de RNA enriquecidas a partir da incubação com *beads* contendo sequências nucleotídicas complementares à sequência de PCA3 para a captura do mesmo. Após a otimização das condições para a detecção de PCA3 por RT-LAMP, a técnica será aplicada na análise das amostras de urina dos pacientes.

Financiamento: PPSUS, DECIT/SCTIE/MS, CNPq, FAPERGS, SES-RS