ESTRATÉGIA PARA OTIMIZAR A PERFORMANCE REPRODUTIVA DE LINHAGEM DE CAMUNDONGO HUMANIZADO PARA ESTUDOS DE ANEMIA FALCIFORME

ANA PAULA GIMENES, CARLA F FRANCO PENTEADO, CAROLINA LANARO, FERNANDO FERREIRA COSTA, MARCUS A F CORAT

EMIB - CENTRO MULTID.P/INVEST.BIOL.NA AREA DA CIENC.ANIMLABOR;DCQ - DIRETORIA DE PESQUISA;CG - SECAO DE GENETICA;

https://doi.org/10.20396/simtec.v7.2019.8739

Introdução:

O camundongo Hbatm1Paz Hbbtm1Tow Tg (HBA-HBBs) 41Paz/J é um modelo humanizado utilizado para estudos de anemia falciforme, que é causada por uma mutação pontual no exon 6 da hemoglobina S(HBS) (Figura1). Estes animais apresentam dificuldades reprodutivas, sendo mantidos em rotinas de acasalamento em heterozigose da fêmea, e homozigose do macho para na cadeia *beta* murina. No entanto, a transgênese com a mutação HbS pode ser encontrada em hemizigose e homozigose. Este trabalho tem como objetivo verificar se existe diferença de produtividade de animais com anemia falciforme gerados a partir de fêmeas hemi ou homozigotas para mutação HbS, e assim produzir uma estratégia de acasalamento direcionado, a fim de se otimizar a quantidade de neonatos falciformes obtidos. CEUA: 2277-1 .

Metodologia:

Para isso, foram selecionados DNAs de fêmeas reprodutoras para anemia falciforme e realizado PCR (polymerase chain reaction) em tempo real para análise do número de cópias do alelo da mutação HbS. A discriminação da cadeia *beta* humana foi feita através de primers e sondas desenhados especialmente para a seleção da mutação, comparados com um alelo endógeno do gene da ApoE (Tabela 1).

Resultados:

A transgênese com a mutação HbS pode ser encontrada em hemizigose e homozigose. Neste trabalho verificamos que existe diferença na viabilidade da prole quando a fêmea heterozigota utilizada no acasalamento contém uma ou duas cópias do gene mutado. Os nossos resultados quantitativos mostraram que as fêmeas hemizigotas parecem ter um melhor desempenho na sobrevida dos animais falciformes, quando comparadas com as fêmeas homozigotas. A fim de se verificar se esta melhora obtida não se tratou apenas de uma questão sazonal, e confirmar de forma mais consistente os resultados obtidos até aqui, estas fêmeas precisam ser colocadas em acasalamento em um maior número de casais para que seja possível seguir a produção dos animais falciformes durante todo o ano, fabricando-se gráficos e análises estatísticas comprobatórias.

Considerações finais:

Conclui-se que é possível se obter melhor viabilidade da prole de animais falciformes recém nascidos de fêmeas hemizigotas para a mutação HbS quando comparada com a das fêmeas homozigotas. A partir desses dados, pretende-se fazer a seleção das fêmeas hemizigotas para a transgenese da doença, e assim otimizar o manejo reprodutivo, utilizando-se a estratégia de orientar os acasalamentos na colônia de fundação a partir destas fêmeas, e verificar sua performance reprodutiva.

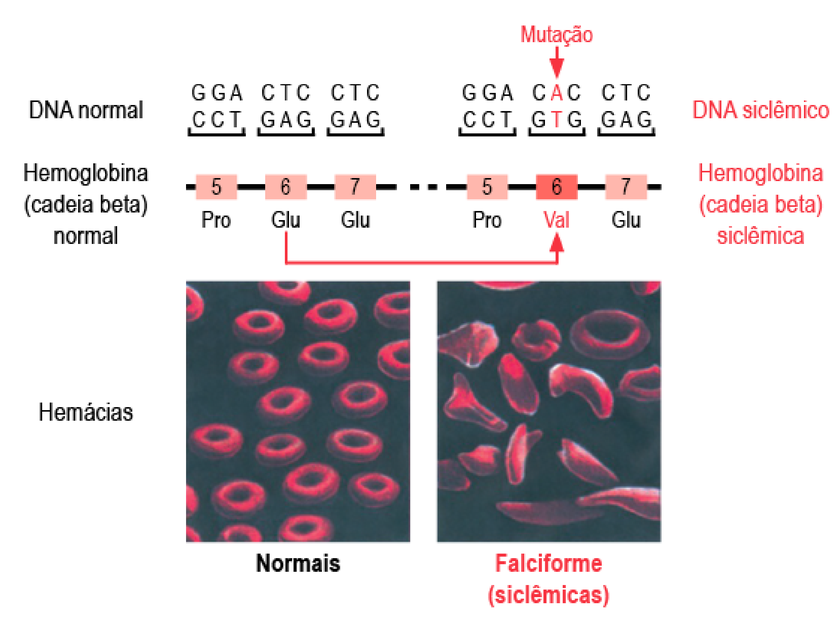

Figura.1 representação da mutação pontual e hemácias normais e falcizadas

Região	Sequências	
Primer HBB_RT_F	ACATTTGCTTCTGACACAACTGTG	
Primer HBB_RT_R	ACT TCATCCACGTTCACCTTGC	
Primer APO_RT_R	TCACCAGTCATTTCTGCCTTTG	
Primer APO_RT_F	CACGTGGGCTCCAGCATT	
		Fluorescência
Sonda HBS	TGTGGAGAAGTCTGCCGT	FAM
APO_probe	CCAATGGTCGGGCACTGTTAC	NED

Tabela. 1 Primers e sondas utilizados nas reações

Referências: Costa, F. F.; Zago, M. A.; Cheng, G.; Nechtman, J. F.; Stoming, At nucleotide -195 of the a gamma-globin gene, Blood, vol. 76, 1896-1897 1990 . Cunha, A. F.; Brugnerotto, A.F.; Corat, M.F.; Devlin, E.E.; Gimenes, A, P.; et. al. High level of human *gamma*Globin are expressed in adult mice carrying a transgene of the Brasilian type of hereditary persistence of fetal hemeglobin (A*gamma*-195).Hemoglobin, 33(6); 439-447, 2009. Pászty, C.; Brion C.M.; Manci, E.; Witkowska, E.; Stevens, M. E.; Mohandas N.; Rubin, E.M. Transgenic Knockout Mice with Exclusively human sickle hemoglobin and sickle cell disease. Science, Vol. 278(5339):876-8, 1997.

Agradecimentos: Agradecemos ao CEMIB-UNICAMP por ter dado todo apoio e suporte para a realização deste trabalho, e também à FAPESP pelo apoio financeiro.