

ADAPTAÇÃO METODOLÓGICA DO TESTE COMETA PARA DETECÇÃO DE BASES OXIDADAS ATRAVÉS DO USO DE ENDONUCLEASES DE REPARO.

* Mariana Merino, Danieli Benedetti, Bianca Abreu, Paula Rorh, Juliana Da Silva.
mariana17merino@hotmail.com

Laboratório de Genética Toxicológica - Universidade Luterana do Brasil RS, Brasil.

* Bolsista de Iniciação Científica PIBIT

INTRODUÇÃO

Biomarcadores são indicadores de efeitos ao risco ocupacional e ambiental em sistemas biológicos. O ensaio cometa estabeleceu-se como uma técnica muito útil para estudos envolvendo quebras e reparo de DNA. Os processos de reparo são convertidos em quebras de DNA, para remoção das bases oxidadas. Portanto, o teste torna-se mais sensível através da utilização de enzimas bacterianas conhecidas como endonucleases de reparo que possibilitam detectar bases oxidadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Células V79 foram plaqueadas em meio de cultura DMEM e tratadas com H₂O₂ durante 3 horas.

As enzimas testadas foram Formamidopirimidina DNA glicosilase (FPG), capaz de reconhecer bases púricas, Endonuclease III (ENDO III), detecta pirimidinas oxidadas e a 8-hidroxi guanina DNA glicosilase (hOOG1), reconhece produtos 8-oxo-7,8-dihidroguanina (8oxo-G).

Algumas amostras foram reservadas para processos de lavagem com o tampão das enzimas. Enquanto que outras lâminas além deste processo também foram incubadas com ENDO III, hOOG1 e FPG, em câmara úmida a 37°C. O parâmetro adotado no presente estudo foi porcentagem de fluorescência presente na cauda.

RESULTADO

O teste piloto com enzimas ENDOIII, FPG e hOOG1 se mostraram eficientes sobre os danos provocados por H₂O₂, uma vez que foram verificados aumento de lesões nas células tratadas com estas enzimas, decorrentes dos processos de reparo.

CONCLUSÃO E PERSPECTIVA

Até o momento, conseguimos adaptar o método cometa modificado para detecção de bases oxidadas. Através do estabelecimento da metodologia em nosso laboratório nossa perspectiva é usar o teste em estudos de ecogenotoxicologia e biomonitoramento humano.

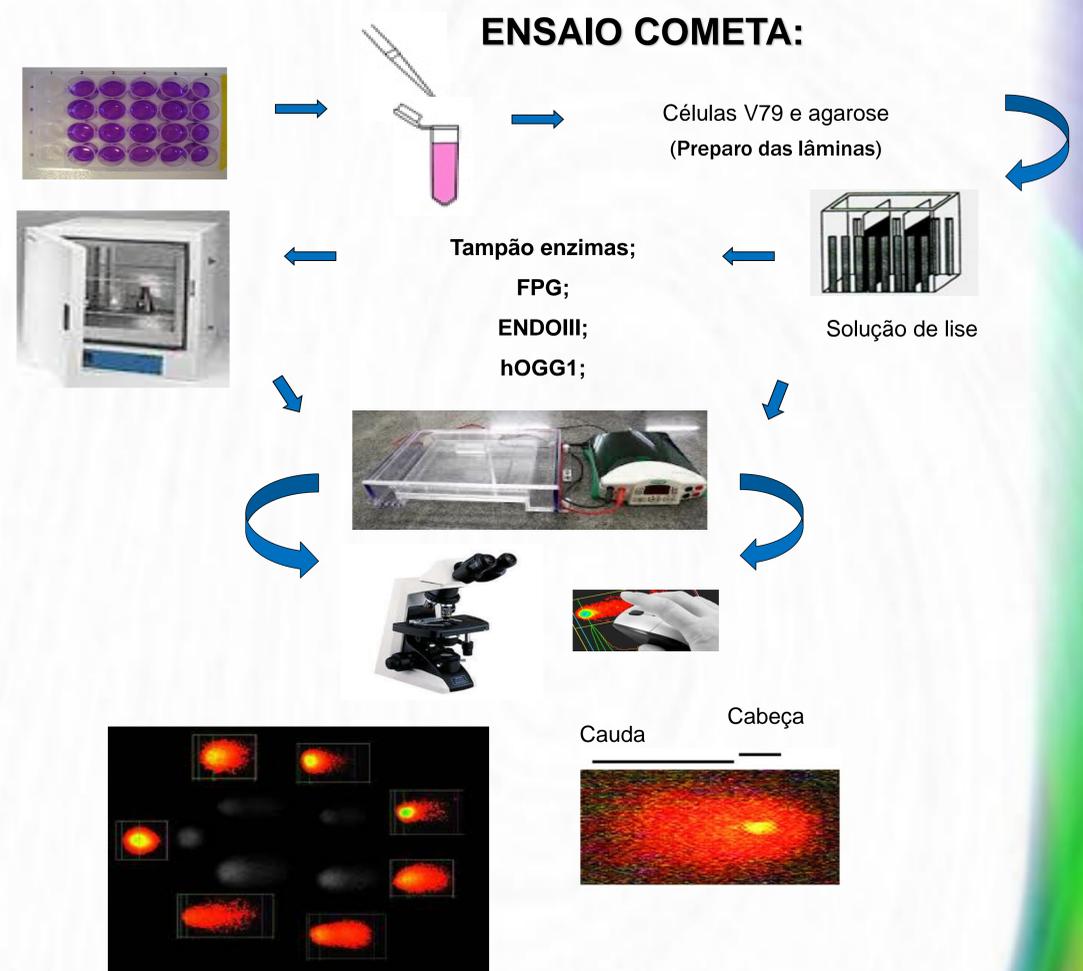
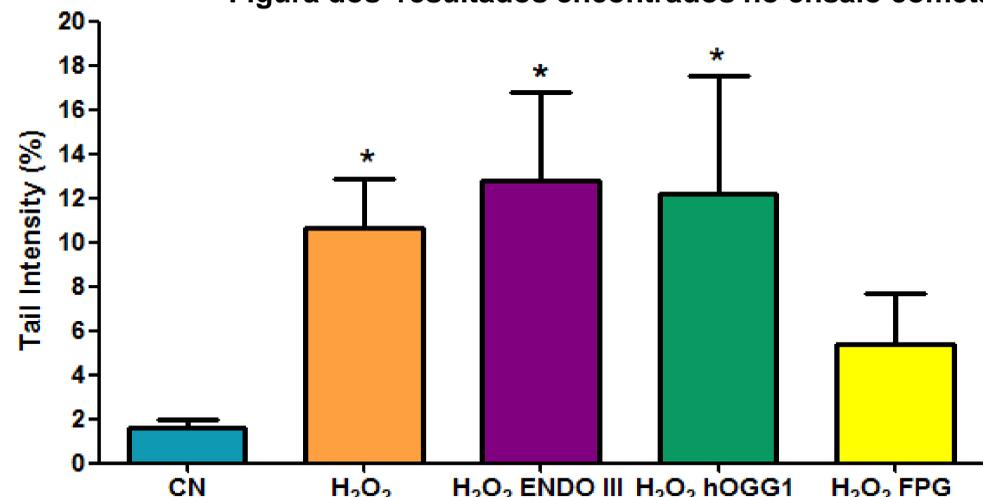


Figura dos resultados encontrados no ensaio cometa



Significante em relação ao controle negativo ($p < 0,05$). Média \pm desvio padrão.
Teste ANOVA.

APOIO: