



## SEQUENCIAMENTO DO GENE BRCA1 NO CÂNCER DE MAMA EM *Canis familiaris*

Bruno Meneguim Artacho<sup>1</sup>; Pedro Castro<sup>2</sup>; Bruno Lala<sup>3</sup>; Marcela Funaki dos Reis<sup>4</sup>; Eliane Gasparino<sup>5</sup>; Stefania Caroline Claudino da Silva<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Acadêmico do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. Maringá-PR. Bolsista PROBIC-UniCesumar. bruno.artacho@hotmail.com

<sup>2,3</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá-PR

<sup>4</sup> Docente do Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, UNICESUMAR

<sup>5</sup> Docente do Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá – UEM

<sup>6</sup> Orientadora, Docente do Departamento de Medicina Veterinária, UNICESUMAR

### RESUMO

Neste estudo, serão analisadas 40 amostras de tecido tumoral mamário, tendo como objetivo realizar o sequenciamento do gene BRCA1 em animais positivos e negativos para tumores mamários. As sequências determinadas, posteriormente, serão comparadas através de ferramentas de bioinformática a fim de se estabelecer a relação entre os polimorfismos encontrados com o desenvolvimento de tumores mamários. Para tal, as amostras serão previamente extraídas de fêmeas *Canis familiaris*, submetidas a jejum hídrico e sólido de 12 horas, sedação com Acepromazina e anestesia com Tiopental sódico; das quais 20 constituirão o controle positivo para o carcinoma mamário e 20 o controle negativo. Para a extração do material genômico serão avaliadas 4 metodologias distintas, aplicando-se a mais eficiente. Já para a avaliação da concentração e pureza do DNA genômico, será realizada corrida eletroforética em gel de agarose a 1% e análise em espectrofotômetro, respectivamente. O material extraído será amplificado pela técnica de PCR e purificado utilizando kit de purificação de bandas em gel de agarose. Posteriormente, a reação de sequenciamento será efetivada através da técnica de Reação em Cadeia Polimerase (PCR) e o sequenciamento propriamente dito, realizado em sequenciador MegaBACE TM 1000 sequencer. Após, as amostras serão analisadas e editadas, sendo a sequência genômica encontrada identificada via comparação com a sequência sob número de acesso NC\_006591.3 presente no banco de dados NCBI (National Center for Biotechnology Information website). As sequências das fêmeas portadoras, não portadoras e a sequência NCBI serão comparadas através do programa BLAST e alinhadas através do programa MEGA versão 5.1. A análise estatística se dará pelo software POPGENE 1.31, onde será avaliado a determinação da frequência genotípica, frequência alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg através do teste de  $\chi^2$ , sendo o genótipo submetido a análise de risco relativo para verificação de interrelação entre a presença do genótipo e o risco de tumor carcinogênico. Considerando a comprovada relação entre mutações no gene BRCA1 e a incidência de tumores mamários, e a reduzida quantidade de informações sobre tais variações genéticas na espécie *Canis familiaris*, justifica-se a realização desta pesquisa como ferramenta exploratória inicial na busca de polimorfismos genéticos e posteriormente, determinação de marcadores moleculares no gene BRCA1, resultados estes que contribuirão como mecanismo de diagnóstico molecular precoce de tumor mamário em cães.

**PALAVRAS-CHAVE:** Polimorfismo, Sequenciamento, *Canis familiaris*, carcinoma mamário.