



PCR – TEMPO REAL

Oncologia



Produtos para detecção quantitativa e qualitativa de Cromossomo Philadelphia.

Gene Híbrido – método de diagnóstico da leucemia mielóide crônica, em que normalmente aparece o cromossomo chamado Philadelphia (Ph1) ou 22-q, resultado da união entre fragmentos dos cromossomos 9 e 22. Esse cromossomo traduz pelo qual os genes BCR (proto-oncogene c-abl) e ABL (M-BCR), inicialmente em cromossomos diferentes, acabam por se unir, formando o gene híbrido BCR/ABL.

Na medula óssea, esse gene produz uma proteína que desregula a proliferação da célula (p210 ou p190). A leucemia mielóide crônica (LMC) foi a primeira doença neoplásica associada à alteração cromossômica específica. A presença do cromossomo Ph1 em pacientes com Leucemia Mielóide Aguda é um fenômeno raro, sendo descrita em apenas 2% dos casos.

Em geral, esse cromossomo está associado aos subtipos FAB M1 e M2. Na Leucemia Mielóide Aguda, podem ocorrer dois tipos de rearranjo BCR-ABL: o primeiro com envolvimento da região M-BCR e idêntico ao encontrado na LMC, podendo ser do tipo b3-a2 ou b2-a2 (com ou sem o exon b3), ambos levando à expressão da proteína p210, com intensa atividade tirosina quinase; o segundo envolvendo o primeiro intron do gene BCR ou região m-BCR, com expressão da p190.

Os rearranjos que codificam p210 tornam a LMA indistinguível da LMC em crise blástica mielóide, enquanto a expressão da p190 identifica a verdadeira LMA.

A PCR – Tempo Real é a técnica mais recente utilizada na biologia molecular. Permite a quantificação de DNA e RNA, determinando valores durante a fase exponencial da reação.

O sistema de quantificação em tempo real tem aplicações como: identificação de alelos de DNA genômico, análise de seqüências virais, bacterianas ou protozoários a partir de várias fontes, análise de patógenos em alimentos e de alimentos transgênicos. A aplicação em diagnóstico, como a detecção de patógenos, ou doenças, torna-se interessante uma vez que esta técnica permite a quantificação e rapidez no resultado, pois não mais requer a detecção em gel de eletroforese, necessária na análise da PCR tradicional.

A inovação tecnológica da PCR, a PCR – Tempo Real, vem ganhando espaço nos laboratórios de pesquisa e nos de diagnósticos clínicos, principalmente pela capacidade de gerar resultados com maior sensibilidade, reprodutibilidade, precisão, velocidade na análise, facilidade na quantificação, melhor controle de qualidade no processo e menor risco de contaminação.

A Biometrix Diagnóstica e Nanogen apresentam sua linha de produtos para detecção quantitativa e qualitativa de cromossomo Philadelphia:

CATÁLOGO	Nº TESTES	GENE	SÍTIO DE RECONHECIMENTO
RTSG07-210	48 x 2	Philadelphia p210	Região específica cDNA da translocação BCR-ABL (9;22) p210
RTSG07-190	48 x 2	Philadelphia p190	Região específica cDNA da translocação BCR-ABL (9;22) p190

Produtos em processo de Registro no Ministério da Saúde - ANVISA.

Materiais fornecidos no kit:

- Q-PCR Alert AmpliMIX
- Q-PCR Alert AmpliPROBE
- Q-PCR AmpliSTANDARD 10², 10³, 10⁴, 10⁵
- Q-PCR Alert AmpliMASTER
- Microplaca para amplificação
- Lâmina adesiva para amplificação



TAQMAN

Taqman tem uma característica única no campo de "in vitro" diagnóstico, por PCR - TEMPO REAL.

FONTES PARA PESQUISA:

- **TANIA, N. et al.** Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. NATURE PROTOCOLS. 1 : 3 1559-1582, 2006.
- **SANTONOCITO, C. et al.** Comparison between three molecular methods for detection of blood melanoma tyrosinase mRNA. Correlation with melanoma stages and S100B, LDH, NSE biochemical markers. Clinica Chimica Acta. 362 : 85-93, 2005.
- **GABERT, J.** Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – A Europe Against Cancer Program. Leukemia. 1:40 0887-6924, 2003.
- **BEILLARD, E.** Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) – a Europe against cancer program. Leukemia. 1:13 0887-6924, 2003.
- **CHARMONE, A.A.F.** Estudo de Marcadores Biológicos com Possível Implicação Prognóstica em Doenças Linfo-Mieloproliferativas: Emprego de Técnicas de Citogenética, Biologia Molecular e Imunofenotipagem. Revista Pesquisa FAPESP ciência e tecnologia no Brasil. Edição 59, novembro de 2000.
- **COLLEONI, G.W.B et al.** Leucemia mielóide aguda Ph1-positivo de novo ou crise blástica de leucemia mielóide crônica? Análise molecular e evolução clínica de um caso. Revista da Associação Médica Brasileira vol.44 n.3 São Paulo Julho/Setembro. 1998.