XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

Normalização de dados de expressão gênica pelo volume celular na Leucemia Linfóide Aguda.

Victor Sande Vasconcelos*, José Andres Yunes.

Resumo

O desenvolvimento de tecnologias de análise da expressão gênica global são largamente usadas em biologia, para entender diversos fenômenos moleculares e celulares como função de genes, regulação gênica, marcadores em câncer, etc. No entanto, os valores de expressão gênica são normalizados por uma mesma massa de RNA e não por um mesmo número de células. Desconsidera-se o fato de diferentes tumores/leucemias terem volume celular diferente, logo, quantidade de RNA por célula também variável levando a resultados não condizentes com a realidade. Neste trabalho, normalizou-se os dados de expressão gênica de 17 casos de Leucemia Linfóide Aguda (LLA) T-derivada de acordo com o volume celular, para então buscar dados de expressão gênica associados aos diferentes tipos moleculares de LLA e com a resposta clínica.

Palavras-chave:

Expressão gênica, Normalização, Volume celular.

Introdução

Para se comparar valores de expressão gênica entre diferentes amostras deve-se normalizá-las a fim de colocá-las num mesmo referencial^[1].

O processo convencional de normalização ocorre em duas etapas: no preparo biológico do material e na normalização *in silico*^[2].

Após aplicação das duas etapas, a distribuição e a média do sinal da expressão ficam iguais. Logo, o método convencional presume que as amostras possuem volumes celulares e concentração de RNAm semelhantes. Em casos onde essa premissa não é verdadeira, os resultados dessa normalização podem fracassar em representar a realidade^[2].

Figura 1. Problemática da normalização convencional.

O objetivo deste projeto é padronizar uma forma de normalizar a expressão gênica considerando o volume celular médio das diferentes amostras.

Resultados e Discussão

Baseando-se no formato esférico das células leucêmicas^[3] e na relação entre superfície e volume de uma esfera, procura-se na expressão convencional, pares de genes que melhor fitem esta relação. Dentre os melhores pares de genes selecionados, ajusta-se a distribuição da expressão de cada amostra de modo que o par de genes fite as curvas referentes à superfície e volume da célula.

Então, realiza-se uma prova real que correlaciona e compara o resultado final da expressão de alguns genes específicos (CD7, CD34, etc) com a quantidade das proteínas traduzidas desses genes, determinadas por citometria de fluxo, nessas amostras.

Aplicando o método em 17 amostras de LLA de tipo T, o resultado da expressão para o gene CD7 correlacionou-se melhor à quantidade da proteína CD7 na superfície celular, quando comparada à expressão convencional.

Figura 2. Método para se ajustar a expressão gênica.

Figura 3. Comparação na expressão do gene CD7.

Conclusões

O método proposto nesse trabalho mostrou-se promissor embora haja espaço para melhorias no rigor matemático. Espera-se aplicá-lo e avaliar a nova expressão diferencial na LLA no intuito de achar novos mecanismos biológicos.

Agradecimentos

Agradecimento ao Centro Infantil de Investigações Hematológicas Dr. Domingos A. Boldrini pela infraestrutura e apoio técnico e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fomento.

^[1]Quackenbush J. *Nat. Genet.* **2002**, 32, 496–501.

^[2]Love' n J, Orlando D.A., Sigova A.A., Lin C.Y., Rahl P.B., Burge C.B., Levens D.L., Lee T.I. e Young R.A. *Cell* **2012**, 151, 476–482.

^[3]Löffler H., Gasmann w. *Baillieres Clin Haematol.* **1994**, 7(2), 263–72.