

**KACZUREK Esteban<sup>1</sup> ; RIVERO Donovan A.<sup>1,2</sup> ; ACOSTA Karina B<sup>1</sup>.**

1) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología de Misiones "Dra. Maria Ebe Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Misiones, Argentina.

2) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

## 1.Introducción

El cáncer de mama (CM) y el cáncer cervical (CC) se encuentran entre las neoplasias malignas más frecuentes en mujeres a nivel mundial. La proteína PD-L1, codificada por el gen *CD274*, se expresa tanto en tejidos sanos como en diversos tumores sólidos, incluidos CM y CC. Al unirse a su receptor, PD-1, suprime la respuesta inmunitaria por parte de los linfocitos T, favoreciendo la supervivencia y progresión tumoral. La sobreexpresión de PD-L1 está asociada a un pronóstico clínico desfavorable en cáncer gástrico, colorrectal, pulmón, células renales, entre otros. Se ha observado que la variante *rs2297136* es capaz de modular diferencialmente el riesgo y el pronóstico clínico de ciertos tumores.

## 2.Objetivo

Optimizar la técnica ARMS-PCR para la detección de los alelos G, A y T de la variante *rs2297136* del gen *CD274*, en muestras de mujeres jóvenes con CM y CC.

## 3.Materiales y métodos

a. Se utilizaron los siguientes cebadores reportados en la bibliografía, los cuales fueron corroborados mediante el programa Primer-BLAST.

**Tabla 1.** Cebadores diseñados y fragmentos correspondientes

Cebadores <i>forward</i>	Cebador <i>reverse</i>	Tamaño de fragmento
GAGCGTGACAAGAGGAAGGAATTGG	TATCAAGGTCTCCCTCCAGGCTC	150pb
GAGCGTGACAAGAGGAAGGAATTGA		
GAGCGTGACAAGAGGAAGGAATTGT		

b. El proceso de ciclado constó de una etapa inicial de 5 min a 94°, seguidos de 30 ciclos de desnaturalización a 94°, hibridación a 62° y extensión a 72°, una etapa de extensión final de 5 min a 72°.

Los amplicones resultantes fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 2%, con bromuro de etidio, a 110V por 30 minutos con buffer TBE 0,5X.

## 4.Resultados y conclusiones

- Las condiciones de amplificación utilizadas resultaron eficientes para la discriminación alélica, permitiendo la identificación de los diferentes genotipos. Se concluye que la implementación de esta técnica es adecuada para el estudio de variantes genéticas en el gen *CD274*.
- Con estos resultados, se procederá a la genotipificación de muestras clínicas de mujeres jóvenes diagnosticadas con CM y CC a fin de conocer las frecuencias alélicas y genotípicas y determinar si existe una relación con las características clínico-patológicas de las pacientes.

Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 20µl: 2µl de ADN muestra; 2µl de buffer; 1,5µl de MgCl<sub>2</sub>; 0,4µl de dNTPs; 0,5µl de cebador forward; 0,5µl de cebador reverse; 0,1µl de Taq Polimerasa.