

APLICAÇÃO DA ANÁLISE POR HRM PARA IDENTIFICAÇÃO DE VARIAÇÕES DE SEQUÊNCIA NO DOMÍNIO REGULATÓRIO DO GENE CFTR EM PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA

ÉDINA POLETTI; MARINA SIEBERT; MARIANA FITARELLI-KIEHL; MARIA TERESA SANSEVERINO; FERNANDO DE ABREU E SILVA; MARIA LUIZA SARAIVA-PEREIRA

A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva causada por mutações no gene regulador da condutância transmembrânica da fibrose cística (CFTR). O gene CFTR está localizado no cromossomo 7, sendo dividido em 27 éxons. Até o momento, mais de 1600 variações já foram identificadas nesse gene. Devido a sua extensão e ao elevado número de mutações, o diagnóstico molecular demanda muito tempo e metodologias de triagem se fazem necessárias para agilizar o processo. O objetivo deste trabalho foi identificar as variações de sequência no domínio regulatório (éxons 13 e 14A) do gene CFTR de pacientes com diagnóstico de FC. O DNA de 20 pacientes foi extraído por precipitação em excesso de sais e quantificado pelo método fluorimétrico. A região correspondente ao éxon 14A do gene CFTR foi amplificada por PCR, submetida à dissociação e analisada pelo programa HRM v.2.0.1. Simultaneamente, amostras de 5 indivíduos normais, previamente sequenciados, foram analisadas. Os resultados preliminares demonstram a ocorrência de 3 perfis diferentes do perfil normal, os quais foram encontrados em 14 pacientes. Essas amostras estão sendo analisadas por meio de sequenciamento direto para identificação da alteração nucleotídica presente. Além disso, a região do éxon 13 está sendo analisada por HRM e as amostras que apresentarem perfil de dissociação diferente do normal serão sequenciadas. A metodologia empregada neste trabalho será, posteriormente, utilizada para analisar toda a região codificante do gene CFTR visando a identificação do genótipo dos pacientes estudados (Apoio financeiro: PROBIC-CNPq, CNPq e FIPE-HCPA).