

IDENTIFICAÇÃO DE VARIAÇÕES DE SEQUÊNCIA NO DOMÍNIO REGULATÓRIO DO GENE CFTR EM PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA

Edina Poletto, Marina Siebert, Mariana Fitarelli Kiehl, Maria Teresa Vieira Sanseverino, Fernando Antonio 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 se localiza no cromossomo 7 e é dividido em 27 éxons. Até o momento, mais de 1900 variações de sequência nesse gene foram identificadas. Metodologias de triagem são necessárias para facilitar a análise molecular do gene devido a sua extensão e ao grande número de mutações. O objetivo deste trabalho foi identificar as variações de sequência em parte do domínio regulatório (éxons 13D e 14A) do gene CFTR de pacientes com FC utilizando a técnica de dissociação em alta resolução (HRM). O DNA de 19 pacientes e de 5 controles foi extraído por precipitação em excesso de sais e quantificado pelo método fluorimétrico. Os éxons 13D e 14A foram amplificados por PCR, submetidos à dissociação e analisados pelo programa HRM v.2.0.1. Os resultados do éxon 14A demonstram a ocorrência de um perfil de dissociação diferente do normal em 9 pacientes. O sequenciamento de DNA das amostras mostrou que esses pacientes apresentam o polimorfismo silencioso c.2562T>G, previamente descrito na literatura. Na análise do éxon 13D, as amostras apresentaram 3 perfis de dissociação, sugerindo a presença de, pelo menos, duas variações de sequência. A metodologia empregada tem se mostrado eficiente para identificar variações no gene CFTR, podendo ser potencialmente empregada para analisar toda a região codificante desse gene, visando a genotipagem de pacientes (Apoio: PROBIC-FAPERGS, CNPq, FIPE-HCPA).