

eP1884**Validação do painel de sequenciamento de nova geração para osteogênese imperfeita: análise preliminar de mutações nos genes COL1A1 e COL1A2**

Liliane Todeschini de Souza, Marina Bauer Zambrano, Bruna de Souza Pinheiro, Têmis Maria Félix - HCPA

Osteogênese Imperfeita (OI) é causada por mutações nos genes da biossíntese do colágeno tipo 1. Em 90% dos casos é causada por mutações autossômicas dominantes em COL1A1 e COL1A2. Devido à variabilidade fenotípica e a heterogeneidade genética o sequenciamento de múltiplos genes por Sanger (padrão ouro) é trabalhoso e de alto custo. O sequenciamento de nova geração (NGS) veio a facilitar essa análise, detecta mutações com frequências menores de 5% enquanto que por Sanger é necessário 30%. O objetivo é confirmar a presença de variantes (patogênicas ou provavelmente patogênicas) em COL1A1 e COL1A2 identificadas pelo NGS utilizando o método de Sanger. As variantes foram identificadas, anteriormente pelo nosso grupo (13-0187), em pacientes com OI tipo I, III e IV através de um painel customizado que inclui 18 genes da biossíntese do colágeno com cobertura de 100% de COL1A1 e COL1A2. A plataforma utilizada foi o Ion Torrent PGM. Os dados foram processados e analisados pelo Ion Torrent Suite Server e IonReporter, segundo hg19 e as variantes classificadas segundo Richards et al (2015). Para a validação do painel, as mutações identificadas foram analisadas bidirecionalmente por Sanger, interpretados e alinhados através do FinchTV e Bioedit. O projeto foi aprovado pelo CEP-HCPA (16-0396/ CAAE:58153816500005327). Das 47 variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas em COL1A1 e COL1A2 identificadas, 80,85% (38/47) foram confirmadas, no entanto 6,38% (3/47) não foram identificadas por Sanger. A variante c.671G>A (p.Gly224Asp, exon 9 em COL1A1) foi encontrada em dois pacientes sendo que em um deles a variante não foi identificada. Cinco mutações ainda estão em análise. A média da cobertura das variantes confirmadas foi maior (315,76 vs 198,5), no entanto ambas dentro do recomendado (100 leituras). As variantes não confirmadas, c.3974G>A em COL1A2 (p.Gly1325Glu, exon 52) e c.3919G>T em COL1A1 (p.Tyr1301Ter, exon 49) apresentaram média de cobertura de 262 e 53% de alelos mutados, e localizam-se no domínio C-terminal dos respectivos genes. A terceira variante não confirmada, c.653delG (p.Gly218fs, exon 9) está localizada no domínio tripla hélice do COL1A1 foi identificada em dois pacientes no NGS. A cobertura média foi de 71 leituras e 85% de alelo mutado. Até o momento observamos uma sensibilidade da técnica de NGS de 93%, considerável aceitável. Para os casos não confirmados estudos adicionais por análise de segregação e análise da proteína são recomendados. Palavras-chaves: osteogênese imperfeita, COL1A1 E COL1A2, validação de painel NGS