

TRIAGEM GENÉTICA DE BAIXO CUSTO PARA DEFICIÊNCIA DE AADC: APLICAÇÃO DO SEQUENCIAMENTO POR NANOPORE

JULIANA SANTANA DE CURCIO*; LIVIA DO CARMO SILVA; DIEGO MICHEL FERNANDES; LUIZ MOREIRA PEREIRA NETO; IGOR MARQUES CESÁRIO CALASSA; SILVA MARIA SALEM IZACC FURLANETO; ELISÂNGELA DE PAULA SILVEIRA LACERDA.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

* julianadecurcio1@gmail.com

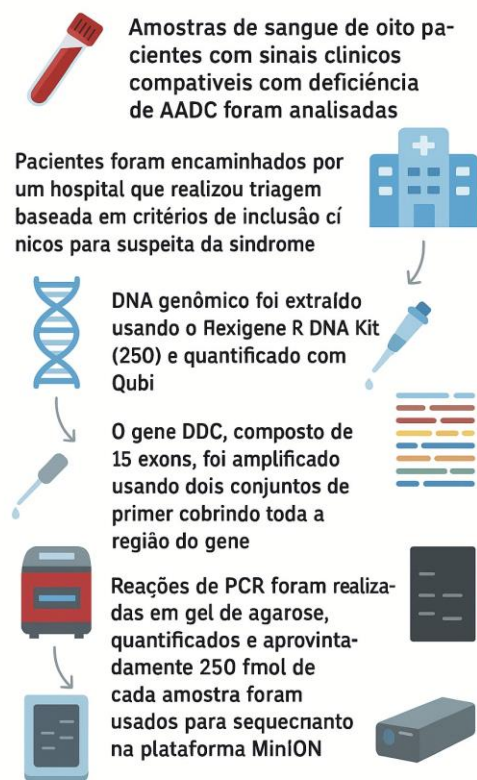
INTRODUÇÃO

A deficiência de aromática L-aminoácido descarboxilase (AADC) é uma doença genética rara causada por mutações no gene DDC. Os sintomas geralmente aparecem no período neonatal e incluem dificuldade de sucção, problemas de alimentação, ptose, letargia, hipotermia, hipotensão e disfunções neurológicas e motoras. Na ausência de tratamento farmacológico eficaz, a expectativa de vida é geralmente reduzida. O diagnóstico muitas vezes é tardio e pode ser confundido com outras condições neurológicas, como a paralisia cerebral, especialmente devido à dependência de métodos invasivos, como a análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) (1).

OBJETIVO

Validar um método de triagem genética para a identificação de variantes patogênicas no gene DDC utilizando a plataforma MinION.

METODOLOGIA



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras apresentaram um amplicon de aproximadamente 10 kb no gel de agarose, utilizando o conjunto de iniciadores 1 (figura 1) e 2 (figura 2). As características de cada amostra foram registradas de acordo com o identificador correspondente: 346, 348, 383, 399, 404, 408, 412, 497; amostras de pacientes analisadas CP: controle positivo.

Os resultados indicam que todas as amostras analisadas produziram o amplicon esperado, confirmando a eficiência do conjunto de primers utilizado.

AGRADECIMENTOS: Seleção pública MCTI/FINEP/FNDCT pesquisa, desenvolvimento e inovação no diagnóstico, tratamento e reabilitação de pessoas com doenças raras (dr)

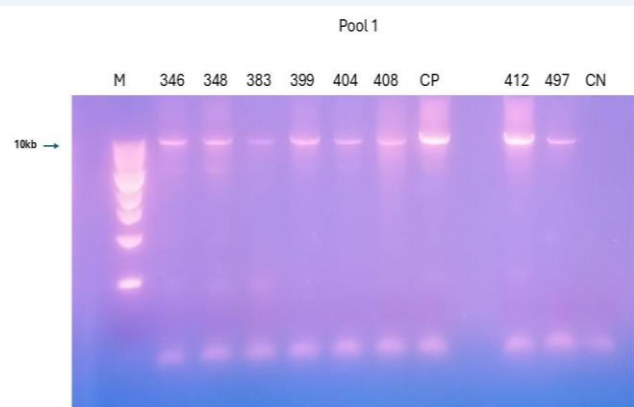


Figura 1 – Gel de agarose das amostras de pacientes utilizadas para sequenciamento na plataforma MinION. Primeiro conjunto de iniciadores.

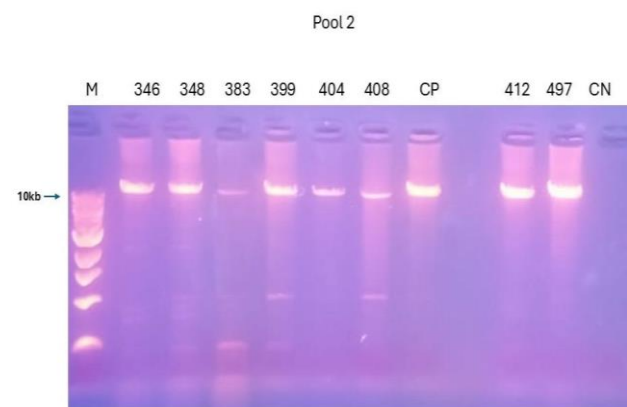


Figura 2 – Gel de agarose das amostras de pacientes utilizadas para sequenciamento na plataforma MinION. Segundo conjunto de iniciadores

A estratégia adotada, baseada na montagem de pools e amplificação do gene DDC por PCR e sequenciamento dos amplicons mostrou-se eficiente. No pool 1 foi obtida cobertura de 100X, enquanto no pool 2 a cobertura alcançou 50X.

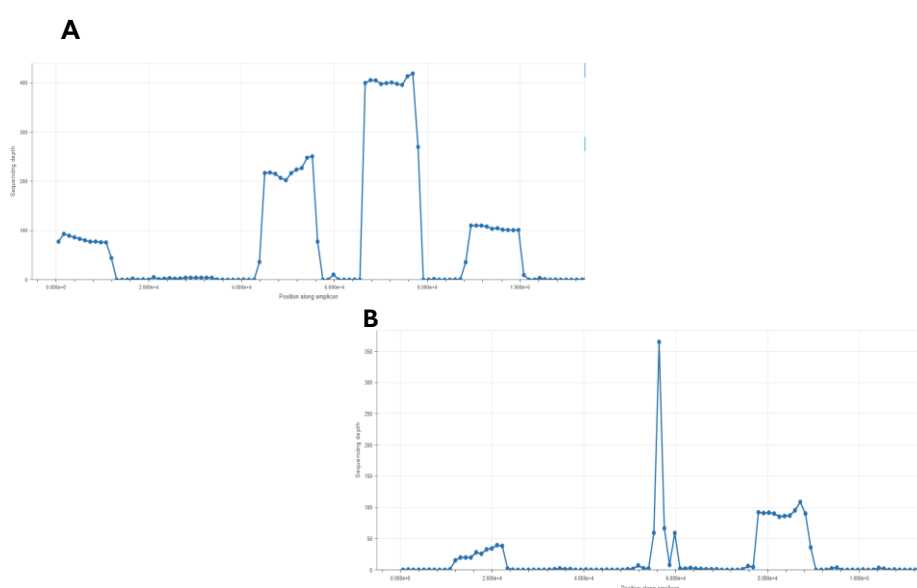


Figura 3-Perfil de cobertura das amostras 346 em relação ao genoma de referência, obtido por sequenciamento com o Pool de primers 1 (A) e Pool de primers 2 (B).

CONCLUSÃO

A amostra com a variante patogênica **DDC c.1040G>A** foi usada como controle positivo, mostrando alta concordância entre **MinION** e **Illumina**. O MinION é mais econômico e eficaz, sendo viável para triagem neonatal e diagnóstico de deficiência de AADC.

REFERÊNCIAS

Lee HF, Tsai CR, Chi CS, Chang TM, Lee HJ. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency in Taiwan. European Journal of Paediatric Neurology. 2009 Mar;13(2):135–40.