

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DA SÍNDROME DE LI-FRAUMENI: UMA NOVA ABORDAGEM DE BAIXO CUSTO COM SEQUENCIAMENTO POR NANOPOROS

AUTORES: Juliana Ramos do Carmo¹; Luiz Henrique Alves Costa¹ (luizalvesc@discente.ufg.br); Miguel de Souza Andrade²; Sílvia Maria Salem-Izacc Furlaneto¹; Elisângela de Paula Silveira Lacerda¹

NOME DAS INSTITUIÇÕES: ¹Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil; ²Sabin Diagnóstico e Saúde, Brasília, Brasil.

INTRODUÇÃO

A Síndrome de Li-Fraumeni (SLF) é uma doença hereditária caracterizada principalmente pelo desenvolvimento de sarcomas em faixa etária jovem, sendo ocasionada por variantes no gene TP53. O diagnóstico molecular da SLF é de grande importância, pois permite a identificação precoce e manejo de indivíduos de alto risco. Os sequenciadores de 1º e 2º geração são amplamente usados, porém são caros e/ou levam muito tempo. Nesse contexto, o sequenciamento por nanoporos, de terceira geração, pode preencher essa lacuna, devido a possibilidade de gerar dados em tempo real, fluxo de trabalho simples e com necessidade de baixa infraestrutura no local de realização.

OBJETIVO

Desenvolver um painel para variantes exônicas e em sítios de splicing no gene TP53 por meio de sequenciamento por nanoporos para diagnóstico da SLF.

METODOLOGIA

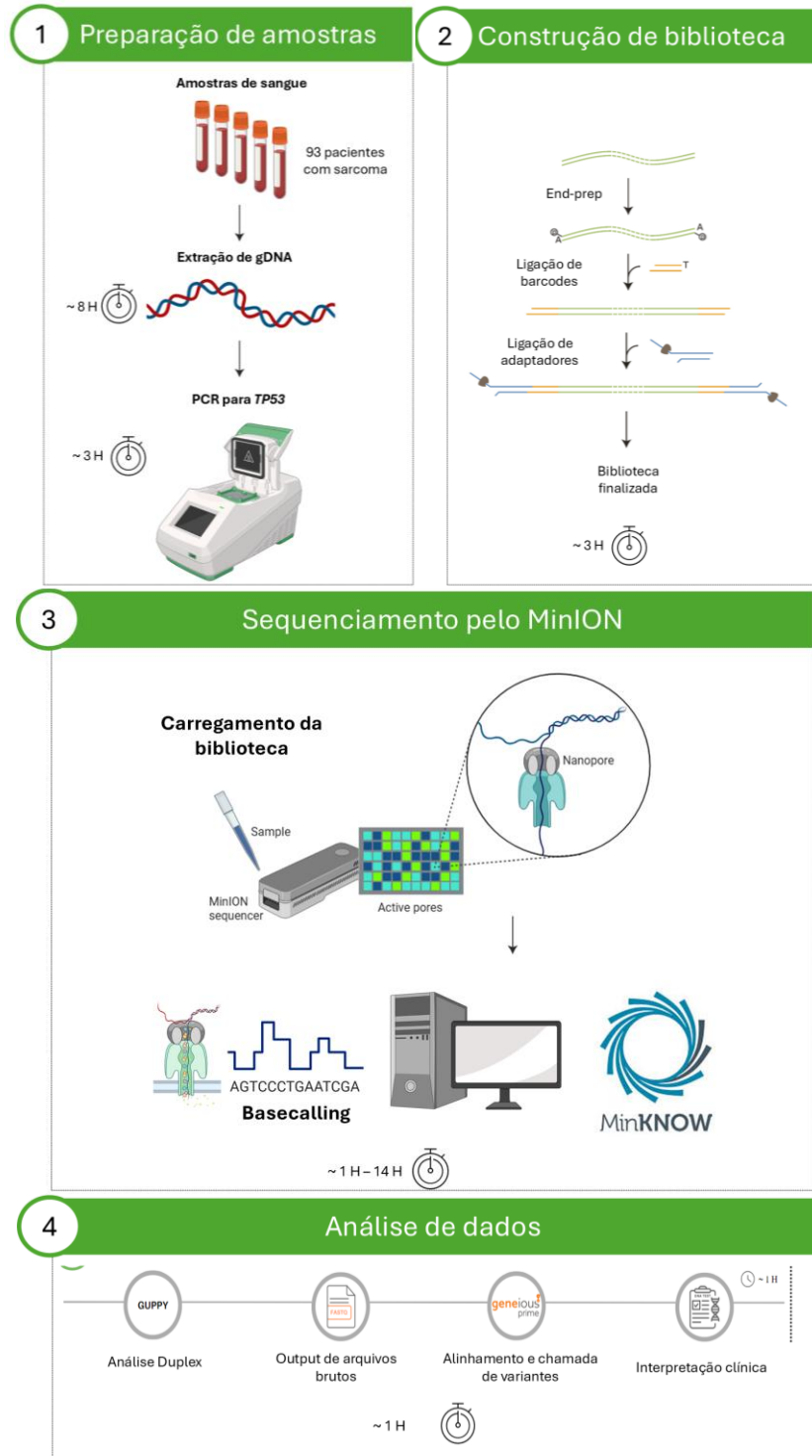


Figura 1. Etapas da metodologia empregadas no estudo. Criado com Biorender.

AGRADECIMENTOS: À CAPES pelo apoio financeiro (CHAMADA CNPQ/MS-SCTIE-DECIT Nº 50/2022) e às instituições parceiras (Universidade Federal de Goiás, Centro de Genética Humana, Hospital do Câncer Araújo Jorge)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, 5,38% (n = 5) dos pacientes apresentaram variantes patogênicas para o gene TP53 nas regiões avaliadas, sendo todas identificadas em heterozigose.

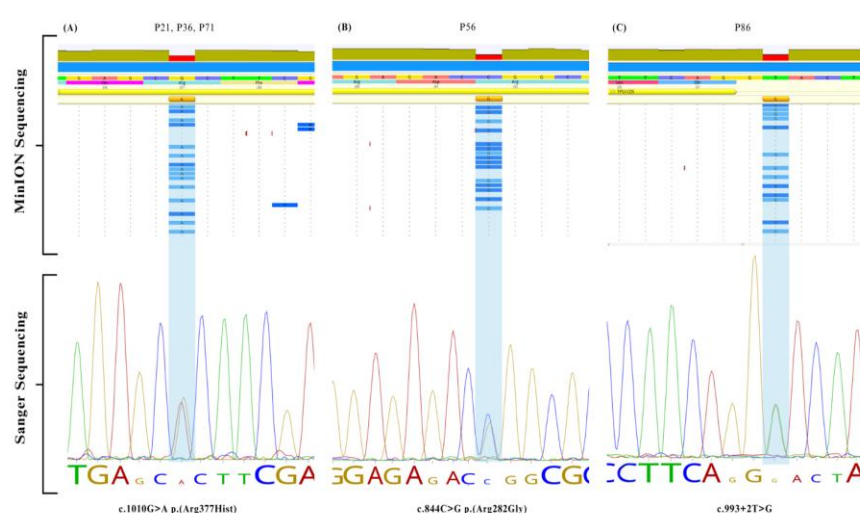


Figura 2. Representação das variantes clinicamente acionáveis no gene TP53 identificadas por sequenciamento com a plataforma MinION e confirmadas por sequenciamento de Sanger.

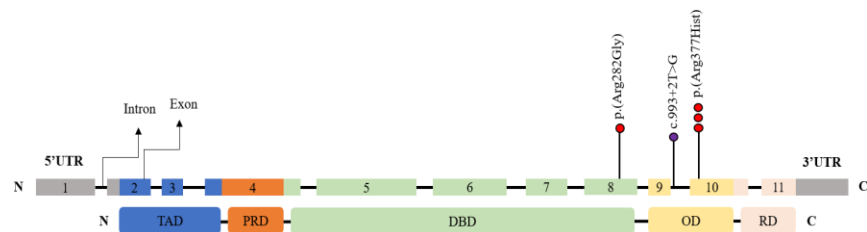


Figura 3. Espectro de variantes germinativas do TP53 em pacientes com sarcomas, por sequenciamento MinION. Abreviações: UTR, região não traduzida; TAD, domínio de transativação; PRD, domínio rico em prolina; DBD, domínio de ligação ao DNA; OD, domínio de oligomerização; RD, domínio regulatório.

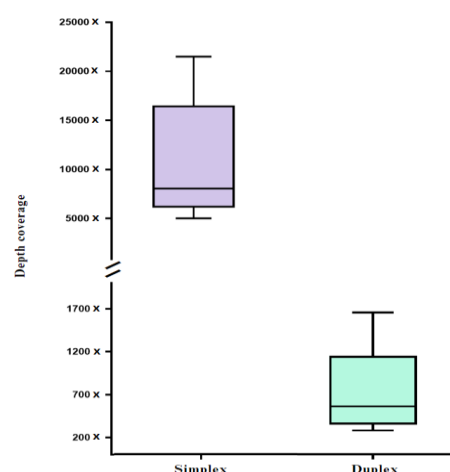


Figura 4. Boxplot da profundidade de cobertura do sequenciamento MinION calculada para regiões de variantes genômicas.

Considerando o tempo para a realização de todos os procedimentos necessários, a obtenção de diagnóstico molecular para indivíduos com SLF em até 2 dias, mesmo para mais de 90 pacientes, é altamente viável com essa tecnologia.

CONCLUSÃO

O sequenciamento por nanoporos é uma tecnologia promissora para o diagnóstico barato e rápido da SLF, com potencial de aplicação para outras doenças genéticas.

REFERÊNCIAS

- MALKIN, David et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. **science**, v. 250, n. 4985, p. 1233-1238, 1990.
- SINGH, Rajesh R. et al. Implementation of next generation sequencing in clinical molecular diagnostic laboratories: advantages, challenges and potential. **Expert review of precision medicine and drug development**, v. 1, n. 1, p. 109-120, 2016.