



B0097

TRIAGEM DE MUTAÇÕES PELO MÉTODO DA DESNATURAÇÃO EM CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (DHPLC)

Romênia Ramos Domingues (Bolsista FAPESP), Cláudia V. Maurer-Morelli e Profa. Dra. Iscia Lopes-Cendes (Orientadora), Faculdade de Ciências Médicas - FCM, UNICAMP

A triagem de mutações é uma ferramenta de grande importância que pode ser realizada por vários métodos. Recentemente, um novo método tem sido empregado com sucesso: a triagem de mutações por DHPLC (*denaturing high-performance liquid chromatography*). Este método automatizado é baseado na detecção de heteroduplexes nos produtos de PCR em condições parciais de desnaturação e permite a identificação de polimorfismos e pequenas deleções e inserções. O objetivo deste estudo foi realizar triagem de mutações em 4 exons do gene *NDUFV2* pelo método de DHPLC em pacientes com epilepsia de lobo temporal mesial familiar (ELTMF). Após a amplificação de cada exon por PCR, seus produtos foram desnaturados a 95°C por 3 minutos e permitida a formação de heteroduplexes em temperatura ambiente por 40 minutos. Após essa etapa, 5 µl dos produtos foram colocados em coluna DNASep[®]. As condições ideais de gradiente para cada exon foram definidas pelo software WAVEMAKER[™] e a análise das temperaturas pelo sistema WAVE de análise de fragmentos de ácidos nucleicos. Para os exons selecionados, não foram encontradas quaisquer diferenças nos perfis de picos tanto para os indivíduos controle quanto para os pacientes, indicando que ao menos estes exons não são os responsáveis pelo fenótipo encontrado na ELTMF. A análise por DHPLC é um método para a detecção de mutações rápido, eficiente e altamente sensível.

DHPLC - Gene - Mutação