



6005-232. SECUENCIACIÓN MASIVA NO ÓPTICA DE LOS PRINCIPALES GENES DE LA MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA

Juan Gómez de Oña, Eliecer Coto García, José Julián Rodríguez Reguero, César Moris de la Tassa, Sara Iglesias, Belén Alonso y María Martín Fernández del Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo (Asturias).

Resumen

Introducción y objetivos: Mutaciones en más de 30 genes han sido relacionadas con la miocardiopatía hipertrófica (MCH). Mediante las técnicas tradicionales de secuenciación (método de Sanger) se requiere mucho tiempo y un coste elevado para determinar la presencia de mutaciones. Las nuevas técnicas de secuenciación masiva (next-generation sequencing, NGS) permiten analizar varios genes simultáneamente en la misma reacción, lo que facilitaría el diagnóstico genético en los pacientes con MCH. Nuestro objetivo ha sido optimizar un protocolo para secuenciar los 9 genes más frecuentemente mutados mediante NGS no óptica Ion Torrent (Life technologies).

Métodos: Diseñamos un protocolo para amplificar (Ampliseq) en dos tubos todos los exones y las bases intrónicas flanqueantes (15.690 bases de genoma) de los genes MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNT3, MYL2, MYL3, TPM1, ACTC1 y TNNC1. Amplificamos dos mezclas de ADN de 15 pacientes, de los que conocíamos la mutación en 10 casos (5 por mezcla). Para la secuenciación se utilizó un chip de análisis iónico Ion Torrent. Las secuencias se analizaron mediante un programa informático para identificar todas las variantes nucleotídicas y aquellas que podrían ser mutaciones fueron determinadas mediante secuenciación Sanger en todos los ADNs de la mezcla correspondiente.

Resultados: El método de amplificación masiva tenía una cobertura del 98,62% de la región a secuenciar de los 9 genes. Todas las mutaciones en los pacientes ya conocidos ($n = 10$) fueron detectadas por la técnica. Identificamos 6 mutaciones que no estaban en los 10 casos ya conocidos y que se confirmaron mediante secuenciación clásica en alguno de los 20 casos nuevos.

Conclusiones: Los resultados avalan la utilidad de la técnica de secuenciación masiva no óptica (ion-torrent) para la búsqueda de mutaciones en pacientes con MCH. El análisis simultáneo de varios casos en una misma reacción seguida de resecuenciación clásica de las regiones candidatas individualmente facilitaría el estudio de series grandes de pacientes.