

P1074**Susceptibilidade genética e malformações cardíacas: análise de HAND2 na embriopatia da talidomida**

Bruna Duarte Rengel, Thayne Woycinck Kowalski, Julia do Amaral Gomes, Lavínia Schüler-Faccini, Lucas Rosa Fraga, Fernanda Sales Luiz Vianna - HCPA

Introdução: A talidomida, sintetizada na década de 50, leva a uma condição conhecida como Embriopatia da Talidomida (TE), que consiste no conjunto de malformações, especialmente nos membros, coração, olhos e orelhas. A focomelia é a anomalia mais observada nos membros e no coração as mais comuns são persistência do ducto arterial, defeito do septo ventricular, defeito do septo atrial e estenose pulmonar. HAND2 está envolvido na formação de diversos órgãos, com coração e membros, e é codificado pelo gene HAND2, o qual tem dois éxons. Um estudo recente identificou que HAND2 interage com TBX5 e que essa interação é inibida na presença de talidomida. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o papel de HAND2 na susceptibilidade genética à TE. **Métodos:** O DNA foi extraído de amostras de saliva de 35 indivíduos com TE. Foi feito PCR para amplificação e sequenciamento Sanger dos éxons de HAND2. As sequências foram lidas com o programa CodonCode® Aligner v.3.0.1. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado por teste qui-quadrado. As análises in silico foram feitas com os programas PredictSNP2 e MutationTaster para predições de efeito das variantes na proteína; Human Splicing Finder para sítios de splicing; miRBase para sítios de miRNA; MethPrimer para alteração em ilhas CpG; Enhancer Atlas 2.0 para sítios de reforçadores; e pacote do R motifbreakR para alterações em sítios de fatores de transcrição. O software SPSS v.18 foi usado para as análises estatísticas. **Resultados:** Dos indivíduos avaliados, 12% (3/25) tem anomalias cardíacas congênitas e 52% (10/19) desenvolveram efeitos cardíacos ao longo da vida. Na análise de HAND2, observou-se uma variante polimórfica sinônima p.P51 (rs59621536) no éxon 1 de 3 indivíduos. Não foi observada nenhuma variante no éxon 2. As frequências genótípicas e alélicas de p.P51 foram diferentes entre o grupo TE e amostra de referência (banco de dados GnomAD) ($p=0,005$; $p=0,003$, respectivamente). Nas análises in silico, a variante foi classificada como neutra, sem alterações em sítios miRNA e sítios de splicing. Observou-se a alteração de duas ilhas CpG adjacentes à variante e modificação de sítios de ligação dos fatores de transcrição MECP2 e PLAG1. **Conclusões:** A variante p.P51 parece afetar a regulação de HAND2 por meio de alterações à nível epigenético já que não altera a estrutura proteica mas leva modificação de duas ilhas CpG e do sítio de ligação de MECP2, que realiza a regulação de sequências metiladas. **Unitermos:** Talidomida; HAND2; Cardiopatia congênita.

P1115**Investigação in silico de miRNAs e elementos regulatórios associados à 3'UTR do gene BTD**

Gerda Cristal Villalba Silva, Fernanda Ludwig-Sperb, Ida Vanessa Doederlein Schwartz - UFRGS

A biotinidase (EC 3.5.1.12) é a enzima responsável por liberar a biotina da biocitina, e atua como cofator para diversas carboxilases. A deficiência de biotinidase (DB), doença de herança autossômica recessiva, pode resultar em problemas neurológicos e dermatológicos quando não tratada precocemente. O gene que codifica a biotinidase, BTD, é composto por 4 éxons e sua região 3'UTR possui 329 pb. Regiões 3'UTR são sítio de ação de reguladores pós-transcricionais que influenciam na expressão gênica, entre eles os microRNAs (miRNAs). A investigação de miRNAs com alvos em BTD poderia contribuir na compreensão da relação entre o genótipo e o fenótipo bioquímico de pacientes, que nem sempre é clara. **Objetivos:** identificar miRNAs e outros elementos regulatórios que possam estar influenciando nos níveis da enzima biotinidase dos pacientes. **Metodologia:** Para predição dos miRNAs foram utilizados os softwares miRBase e miRTarBase, baseados em similaridade de sequência; StarBase e TarBase, que utilizam alinhamento múltiplo entre espécies; TargetScanHuman, que combina status de ligações termodinâmicas e conservação evolutiva; e o banco miRDB. Para a análise dos demais elementos regulatórios, utilizou-se o RegRNA2.0. **Resultados e discussão:** Foram encontrados 42 miRNAs pelo software miRBase; 11 pelo miRTarBase; 2 pelo StarBase, 22 pelo TarBase e 1 pelo TargetScanHuman. Estes miRNAs estão relacionados com sinalização celular; vias de glicosilação; metabolismo de arginina, biotina, tirosina e tiamina. Na rota metabólica da Biotina, foram identificados miRNAs em genes alvos que interagem com o BTD: SPCS1 e SPCS3, subunidades do complexo sinal da peptidase e HLCS, um importante regulador de carboxilases dependentes de biotina. Os principais miRNAs encontrados foram hsa-miR-7-5p, supressor de proliferação celular e indutor de apoptose, hsa-miR-34a-5p, relacionado com proliferação celular e hsa-miR-145, identificado em recém-nascidos e expresso no fígado. Além disso, foram encontrados 6 elementos ricos em AU associados à 3'UTR, cuja função foi elucidada em diversos estudos, sendo elas decaimento e regulação da instabilidade do mRNA, e resposta ao stress celular. A região 3'UTR do gene BTD não havia sido caracterizada anteriormente, e até o presente estudo não há interações fortemente validadas entre os miRNAs e o gene BTD, o que deixa sua validação experimental como uma perspectiva futura. **Número do Projeto:** 160480. **Apoio Financeiro:** FIPE-HCPA. **Unitermos:** Biotinidase; MiRNAs; Elementos ricos em AU.

P1147**Análise de regiões alvo no genoma humano para inserção de sequências usando sistema CRISPR/CAS9**

Paola Barcelos Carneiro, Marina Hentschke Lopes, Martiela Vaz de Freitas, Ursula da Silveira Matte - HCPA

Introdução: CRISPR (do inglês: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) é um mecanismo imune de procaríotos contra infecções virais aplicado à edição gênica em outros organismos. O funcionamento se baseia em uma endonuclease capaz de clivar em uma região específica mediada por uma sequência de RNA com 20 nucleotídeos complementar ao sítio-alvo. Esse sistema pode ser utilizado para inserção de sequências de DNA em regiões específicas. **Objetivo:** Neste contexto, o objetivo deste trabalho é avaliar duas regiões gênicas associadas aos loci THUMP3-AS1 e AAVS1 como potenciais sítios-alvo para inserção gênica. **Métodos:** Para isso utilizaram-se métodos de identificação de potenciais off-targets e de eficiência a partir de análises computacionais. Para a predição de off-targets as sequências foram submetidas à ferramenta CHOPCHOP utilizando como base o genoma humano. Além disso, três aspectos foram avaliados para escolha das sequências: o número de mismatches, o conteúdo GC e a eficiência da endonuclease. **Resultados:** Foram obtidas cinco sequências-alvo sem mismatch para THUMP3-AS1 e duas para AAVS1. O conteúdo GC ficou entre 50 e 70%, visto que esta é a porcentagem ideal para eficiência do sistema no que se refere à estabilidade da molécula híbrida de DNA e RNA e à concentração de domínios CG. Além desses critérios, também foi levada em consideração a eficiência de corte associado à região PAM adjacente a sequência do sítio-alvo. Para confirmar a predição realizada pela ferramenta CHOPCHOP, as sequências foram submetidas a um alinhamento local com a utilização da ferramenta BLASTn. A avaliação foi estipulada levando em consideração as regiões seed (localizadas a 10-12 nucleotídeos a montante do códon PAM) e PAM, que são determinantes na complementaridade do mRNA e atividade da Cas9, respectivamente. A averiguação confirmou