

O que é sequenciamento de DNA?

Criado por
Adriana Bastos Carvalho, MD PhD
Dilza Balteiro Pereira de Campos, PhD
Raiana Andrade Quintanilha Barbosa, PhD
Tais Hanae Kasai Brunswick, PhD

A RENOMICA foi financiada pelo Departamento de Ciência e Tecnologia da Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos do Ministério de Saúde (Decit/SCTIE/MS), por meio do Programa Nacional de Genômica e Saúde de Precisão – Genomas Brasil, instituído pela Portaria GM/MS nº 1.949/2020.



GENOMAS BRASIL
Programa Nacional de Genômica
e Saúde de Precisão

O que é sequenciamento de DNA?

O sequenciamento de DNA é uma técnica de laboratório que permite identificar a ordem das nossas bases nitrogenadas (adenina – A, citosina – C, guanina – G, timina – T), que são os componentes do nosso DNA. É a partir dessas quatro bases, organizadas em sequências específicas, que tudo no nosso corpo é formado, desde os cabelos até o coração.

Exemplo prático:

Abaixo está mostrada a sequência de DNA de um gene chamado SRY. Esse gene é responsável por determinar o sexo do bebê durante a gravidez. Quando o SRY está presente, desenvolve-se um embrião do sexo masculino. Quando ele está ausente, desenvolve-se um embrião do sexo feminino.

```
AGAAGTGAGTTTTGGATAGTAAAATAAGTTTCGAACTCTGGCACCTTTCAATTTGTTCGC  
ACTCTCCTTGTTTTGACAATGCAATCATATGCTTCTGCTATGTTAAGCGTATTCAACAGC  
GATGATTACAGTCCAGCTGTGCAAGAGAATATCCCGCTCTCCGGAGAAGCTCTTCCTT  
CCTTTGCACTGAAAGCTGTAAGTATCAGTGTGAAACGGGAGAAAACAGTAAAG  
GCAACGTCCAGGATAGAGTGAAGCGACCCATGAACGCATTCATCGTGTGGTCTCGCG  
ATCAGAGGCGCAAGATGGCTCTAGAGAATCCCAGAATGCGAACTCAGAGATCAGCA  
AGCAGCTGGGATACCAGTGGAAAATGCTTACTGAAGCCGAAAATGGCCATTCTTCCA  
GGAGGCACAGAAATTACAGGCCATGCACAGAGAGAAATACCCGAATTATAAGTATCGA  
CCTCGTCGGAAGGCGAAGATGCTGCCGAAGAATTGCAGTTTGCTTCCCGCAGATCCC  
GCTTCGGTACTCTGCAGCGAAGTGCAACTGGACAACAGGTTGTACAGGGATGACTGTA  
CGAAAGCCACACACTCAAGAATGGAGCACCAGCTAGGCCACTTACCGCCCATCAACG  
CAGCCAGCTCACCGCAGCAACGGGACCGCTACAGCCACTGGACAAAGCTGTAGGAC  
AATCGGGTAACATTGGCTACAAAGACCTACCTAGATGCTCCTTTTTACGATAACTTACAG  
CCCTCACTTTCTTATGTTTAGTTTCAATATTGTTTTCTTTCTCTGGCTAATAAAGGCCTTAT  
TCATTTCA
```

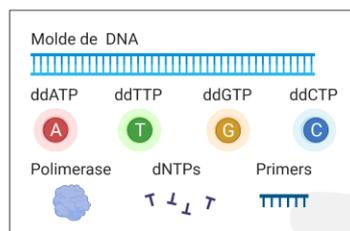
Parece uma sopa de letrinhas? Tem razão, parece mesmo. Todo o nosso DNA é assim. O sequenciamento apenas determina a ordem em que essa sopa de letrinhas aparece em cada ser humano.

Quer saber mais sobre genética? Baixe nosso e-book “O que é genética?”.

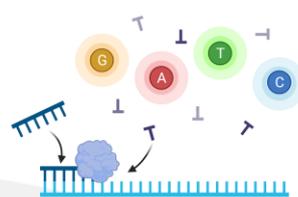
O que é sequenciamento pelo método de Sanger?

Sequenciamento pelo método de Sanger é uma das técnicas possíveis para se sequenciar o DNA. Ela foi desenvolvida na década de 70 por Frederick Sanger. Essa técnica é altamente precisa, mas é cara e demorada. O Projeto Genoma Humano usou essa técnica para sequenciar o DNA completo de um ser humano pela primeira vez. Isso demorou 13 anos para ser concluído! Hoje, é possível sequenciar o DNA completo de um ser humano em apenas um dia, usando o sequenciamento de nova geração. Mesmo assim, o sequenciamento de Sanger ainda é muito usado para determinar a sequência de pequenos trechos do DNA e para confirmar os resultados do sequenciamento de nova geração.

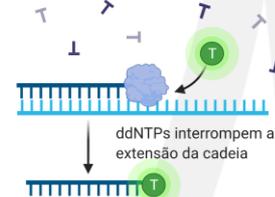
Reagentes



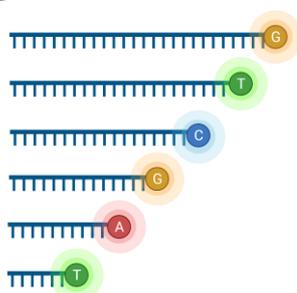
① Anelamento do primer e extensão da cadeia



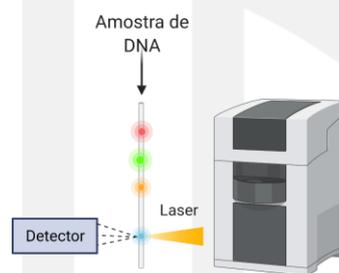
② Ligação de ddNTP e terminação da cadeia



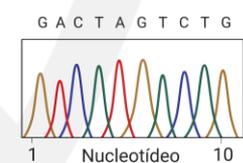
③ Amostras de DNA fluorescente



④ Eletroforese capilar em gel e detecção da fluorescência



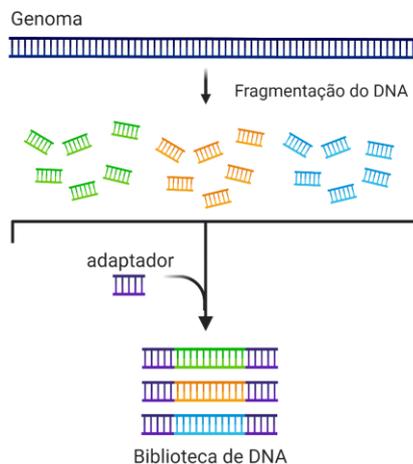
⑤ Análise e reconstrução das sequências



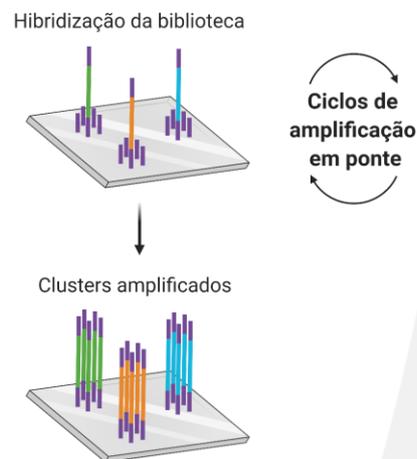
O que é sequenciamento de nova geração?

Sequenciamento de nova geração é uma técnica mais moderna para se sequenciar o DNA. Ela foi desenvolvida ao longo dos anos 2000, mas seu uso cresceu vertiginosamente a partir de 2007. Essa técnica é menos precisa do que o sequenciamento de Sanger, mas é muito mais rápida e barata. A maioria dos laboratórios que fazem diagnóstico usam o sequenciamento de nova geração.

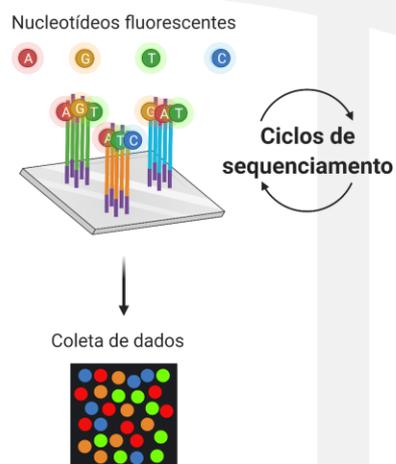
1 Preparo de bibliotecas



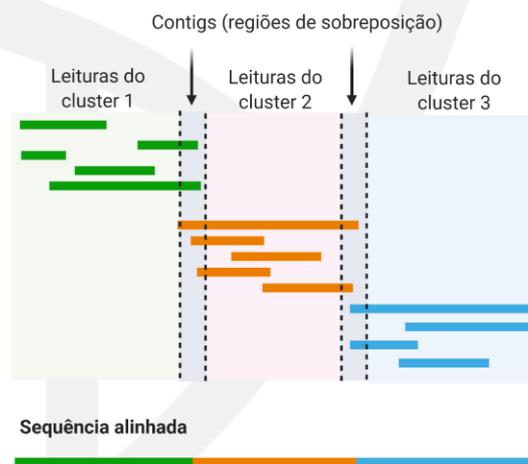
2 Amplificação em ponte



3 Sequenciamento



4 Alinhamento e análise



Para realizar o sequenciamento, nós extraímos seu DNA de uma amostra de saliva coletada usando um swab de bochecha (uma espécie de cotonete). A saliva contém células que, por sua vez, contém o seu DNA. Usando substâncias que dissolvem os componentes das células, conseguimos isolar o DNA. Então, ele passa por um processamento bioquímico e é analisado no sequenciador. Cada base nitrogenada tem uma cor (adenina – vermelho, citosina – azul, guanina – amarelo, timina – verde). O computador processa e analisa a imagem, extraindo dela a sequência do DNA. Essa sequência é, então, comparada à sequência de outros indivíduos para determinar se existe alguma diferença.

O que é sequenciamento de exoma? E de genoma?

O termo exoma refere-se ao conjunto dos nossos éxons. Os éxons são as partes do nosso DNA dão as instruções para fazer as proteínas. O resto do nosso DNA é formado por ín-trons. Apenas 1% do nosso DNA é formado por éxons, mas quase todas as alterações que causam doenças estão localizadas nessas regiões. Por isso, a análise do exoma é muito usada na área diagnóstica. Já o termo genoma refere-se a todo o nosso DNA, incluindo éxons e íntrons. Esse tipo de análise é mais usado na área de pesquisa.

Por que fazer sequenciamento?

O sequenciamento de DNA deve ser feito para confirmar o diagnóstico de uma doença genética. Ele está indicado em diversas situações. Embora a gente não possa mudar o nosso DNA, existem doenças genéticas que têm tratamento. Além disso, o diagnóstico de um familiar afetado pela doença permite o rastreio de outras pessoas da mesma família. Dessa forma, é possível determinar o risco de os familiares desenvolverem a doença.

Exemplo prático:

A hipercolesterolemia familiar é uma doença genética que leva ao acúmulo de colesterol de baixa densidade (LDL) no sangue. As pessoas portadoras dessa doença têm um risco muito grande de infarto do miocárdio. Entretanto, a doença pode ser tratada com drogas que promovem a redução do colesterol sanguíneo, como as estatinas.

Quando não fazer sequenciamento?

O seu DNA é a sua informação mais íntima. Você pode trocar de nome e até de documento de identidade, mas não pode mudar seu DNA. Não entregue o seu bem mais íntimo a ninguém a menos que haja um motivo forte para fazê-lo, como diagnosticar uma doença. Mesmo assim, certifique-se de que o laboratório segue os mais rígidos padrões de segurança, que não compartilhará seus dados pessoais sem sua autorização e que sua amostra será destruída após a conclusão da investigação diagnóstica. Os Estados Unidos já têm legislação impedindo a discriminação de indivíduos com base em informações genéticas, mas o mesmo tipo de legislação ainda não existe no Brasil.

Além disso, existem fortes restrições éticas ao sequenciamento de DNA em crianças. Ele só deve ser feito para diagnosticar uma doença que apresente sintomas e precise de tratamento durante a infância. Do contrário, a escolha sobre realizar ou não o sequenciamento de DNA deve ser da própria criança, quando esta atingir uma idade em que possa compreender as implicações do exame e fazer essa escolha por si mesma.

Exemplo prático:

A doença de Huntington é uma doença genética que altera o funcionamento da huntingtina, uma proteína presente nos neurônios. O acúmulo da proteína alterada causa movimentos involuntários e sintomas de demência. Entretanto, essa doença só começa a se manifestar na vida adulta. Por mais que um pai diagnosticado com doença de Huntington queira saber se seu filho carrega a alteração que causa a doença, essa decisão não cabe a ele, mas sim ao seu filho.