

## DIAGNOSIS OF SPINAL MUSCULAR ATROPHY THROUGH qPCR METHOD

Coliban Iulia, Usurelu Natalia, Revenco Ninel, Sacara Victoria

Scientific adviser: Sacara Victoria

Institute of Mother and Child

**Background.** Spinal muscular atrophy (SMA) is a progressive neuromuscular disease inherited in an autosomal recessive way. The prevalence of SMA in the RM constitutes  $8.43 \pm 0,15:100000$  population. 95% of SMA is caused by deletion of exon 7 of SMN1. In carrier couples there is a 25% chance of offspring with SMA. **Objective of the study.** Diagnosis of SMA through qPCR method (caused by deletion of exon 7 SMN1) in Human Molecular Genetics Lab. This will reduce the time of diagnosis and offer the possibility to identify the carriers of deletion. **Material and Method.** 60 DNAs representing 15 couples from control group and 10 families (mother, father and child affected or suspected) were diagnosed for determining the status of exon 7 SMN1 by qPCR method, melting curve (2 replicates for SMN1 exon 7, 1 replicate for the ALB exon 12). The DNA concentration was measured by spectrophotometry. EvaGreen was used as a DNA-binding dye. **Results.** Diagnosis of SMA is available through different methods. The molecular genetic diagnosis by PCR-RFLP is expensive and time consuming than qPCR method. For all DNA samples, amplification occurred for both exon 12 ALB and exon 7 SMN1. According to the melting curves, In families with history of SMA 9 DNAs with heterozygous status were identified and 7 DNA with exon deletion 12 have the status normal for exon 7 gene SMN1 and for 2 DNAs the reaction did not take place. For 22 persons from control group the exon7 SMN1 was determined to be present and for 8 persons was determined heterozygous status (5 women and 3 men). Among those who are heterozygous, 2 people form the same couple. **Conclusion.** Considering the presence of treatment the diagnosis as soon as possible is needed and QPCR is an effective method for this: prenatal for families in which the history of SMA is already present, for newborns (newborn screening) and even in the family planning process (carrier screening). **Keywords:** molecular genetics, diagnosis, method, screening, SMA

## DIAGNOSTICUL ATROFIEI MUSCULARE SPINALE PRIN METODA qPCR

Coliban Iulia, Uşurelu Natalia, Revenco Ninel, Sacară Victoria

Conducător științific: Sacară Victoria

IMSP Institutul Mamei și Copilului

**Introducere.** Amiotrofia spinală (AMS) este o boală neuromusculară progresivă, moștenită autosomal-recesiv. Prevalența SMA în RM constituie  $8,43 \pm 0,15:100000$  populație. 95% din AMS este cauzată de deleția exonului 7 a genei SMN1. În cuplurile purtătoare de mutație există o șansă de 25% de descendenți cu SMA. **Scopul lucrării.** Diagnosticul prin qPCR a AMS (cauzată de deleția exonului 7 SMN1) în Laboratorul de genetică moleculară umană. Metoda reduce timpul de diagnostic și oferă posibilitatea de a identifica purtătorii de mutație. **Material și Metode.** 60 de ADN-uri reprezentând 15 cupluri din grupul de control și 10 familii (mamă, tată și copil afectat sau suspectat) au fost diagnosticate pentru a determina starea exonului 7 SMN1 prin metoda qPCR, melting curve (2 teste per ADN pentru SMN1 exon 7, 1 test pentru ALB exon 12). Concentrația de ADN a fost stabilită prin spectrofotometrie. EvaGreen a fost utilizat ca DNA-binding dye. **Rezultate.** Diagnosticul SMA este disponibil prin diferite metode. Diagnosticul molecular genetic prin PCR-RFLP este costisitor și consumă mai mult timp decât metoda qPCR. Pentru toate probele de ADN (în afară de 2) amplificarea a avut loc atât pentru exonul 12 ALB, cât și pentru exonul 7 SMN1. Conform melting curve, pentru 22 de persoane din grupul de control, a fost determinată prezența exonului 7 SMN1 și pentru 8 persoane a fost determinat statutul heterozigot (5 femei și 3 bărbați). Printre cei care sunt heterozigoți, 2 persoane formează același cuplu. În familiile cu istoric de SMA, 9 ADN-uri au fost identificate cu statut heterozigot și 7 ADN cu deleția exonului. 12 ADN au statutul normal. **Concluzii.** Odată cu apariția tratamentului pentru SMA, este necesar diagnosticul rapid, iar QPCR este o metodă eficientă: în perioada prenatală pentru familiile cu istoric de SMA, pentru nou-născuți (screening nou-născut) și chiar în procesul de planificare familială (screening al purtătorului). **Cuvinte-cheie:** genetică moleculară, diagnostic, metodă, amiotrofie.