

186

IDENTIFICAÇÃO DE UM FRAGMENTO DE 380PB NA REGIÃO 5' DO GENE DA DESIODASE TIPO 1 DO CAMUNDONGO. *Luciana C. Barbosa, Márcia S. Wagner e Ana Luiza Maia* (Laboratório de Endocrinologia Molecular, Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, UFRGS).

Os hormônios tireoidianos são essenciais para vários processos biológicos como desenvolvimento, o crescimento e o metabolismo. T₃, o hormônio tireoidiano ativo, é produzido através da retirada de um átomo de iodo do T₄ pela enzima desiodase tipo 1 (D1). O gene da D1 é regulado positivamente pelo T₃, que atua através da ligação de seus receptores a seqüências específicas de nucleotídeos denominadas Elementos Responsivos aos Hormônios Tireoidianos (TREs). Recentemente dois TREs foram identificados no gene da D1 humana dentro dos primeiros 800 pb anteriores ao sítio do início da transcrição (SIT) enquanto que nenhum TRE foi encontrado nos 1.542 pb proximais do gene da D1 do camundongo. No presente estudo nós isolamos e sequenciamos um fragmento adicional na tentativa de localizarmos o TRE do gene da D1 do camundongo. Utilizando a técnica da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR), uma biblioteca genômica de camundongo, um *primer* gene-específico e um *primer* complementar ao *linker* do vetor, nós amplificamos um fragmento de 380pb correspondente à região entre -1543 a -1923 referente ao SIT do gene da D1 do camundongo. Esse fragmento foi posteriormente subclonado no vetor PGEM-Tvector e a análise da sua seqüência de nucleotídeos revelou alguns potenciais TREs. Para confirmar que o fragmento amplificado a partir da biblioteca genômica era realmente pertencente ao gene da D1, desenhamos um *primer* a partir da seqüência de nucleotídeos obtida e amplificamos o DNA genômico do camundongo, obtendo o mesmo fragmento que será subclonado em um vetor de expressão (POCAT) para a identificação funcional do(s) TRE(s). (FAPERGS, CAPES, CNPq)