

354

**PADRONIZAÇÃO DE PCR ARMS-MULTIPLEX PARA O DIAGNÓSTICO DE DUAS MUTAÇÕES COMUNS EM PACIENTES BRASILEIROS COM GANGLIOSIDOSE GM1.**

*Michelle Fraga, Roberto Giugliani, Ursula da Silveira Matte (orient.)* (Centro de Pesquisas, Laboratório de Terapia Gênica, HCPA).

**Introdução:** A Gangliosidose GM1 é uma doença lisossômica de depósito causada pela deficiência da enzima (-galactosidase. A forma infantil (GM1 tipo I) é predominantemente neurológica, com retardo do desenvolvimento neuropsicomotor iniciando por volta dos seis meses e óbito ao redor de dois anos. O gene para esta enzima está localizado no cromossomo 3 e possui 16 exons. Estudos anteriores demonstraram que duas mutações (R59H e 1622-1627insG) correspondem a cerca de 60% dos alelos em pacientes brasileiros com GM1 tipo I. **Objetivo:** Padronizar um teste direto para a detecção das mutações R59H e 1622-1627insG utilizando a técnica de PCR ARMS-Multiplex. **Material e métodos:** Amostras de DNA de pacientes já diagnosticados com ou sem ambas as mutações foram utilizadas para a padronização da técnica. Foram desenhados primers contendo a última base complementar à sequência normal ou à sequência mutada. Os primers foram desenhados de forma a ter a mesma temperatura de anelamento, o que permitiu a realização do PCR em dois tubos por paciente. Os resultados foram visualizados em gel de agarose. **Resultados:** Nos pacientes sem as mutações, a amplificação ocorreu com os primers correspondentes à sequência normal. Nos pacientes com as mutações, a presença de amplificação correspondeu ao padrão esperado, tanto para homocigotos quanto heterocigotos e heterocigotos compostos. **Conclusão:** Foi possível estabelecer um novo método de diagnóstico molecular para as duas mutações frequentes de GM1, que poderá substituir a análise por SSCP ou com enzimas de restrição realizadas até o momento. As principais vantagens são a simplicidade da técnica e o tempo necessário para sua execução.