

020

**DIAGNÓSTICO DAS MUTAÇÕES COMUNS EM GANGLIOSIDOSE GM1 POR PCR ARMS-MULTIPLEX.** *Michelle Fraga, Roberto Giuliani, Ursula Matte (orient.) (UFRGS).*

A técnica de PCR ARMS consiste de duas reações complementares e utiliza três primers. Um dos primers é constante e complementar à fita molde em ambas as reações, os outros diferem na última base na posição 3' terminal e são específicos ou à sequência normal ou à sequência mutada de DNA, sendo que apenas um destes primers é usado por tubo. A padronização das condições de reação é importante para realização desta técnica. A Gangliosidose GM1 é uma doença lisossômica de depósito causada pela deficiência da enzima b-galactosidase. A forma infantil (GM1 I) é predominantemente neurológica, com retardo do desenvolvimento neuropsicomotor. 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 I. O objetivo deste trabalho foi padronizar um teste direto para detecção das mutações R59H e 1622-1627insG utilizando a técnica de PCR ARMS-Multiplex. Amostras de DNA de pacientes já genotipados para 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, sendo estes desenhados de forma a ter a mesma temperatura de anelamento, permitindo a realização da PCR em dois tubos por paciente. Os resultados foram visualizados em gel de agarose. 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 homozigotos quanto heterozigotos. Obteve-se bons resultados nos experimentos preliminares, porém há dificuldades na reprodutibilidade da técnica. Se esta for estabelecida poderá substituir a análise por SSCP ou com enzimas de restrição realizadas até o momento, apresentando as vantagens de ser simples e gastar pouco tempo para sua execução.