

416

PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÕES RARAS NO GENE DA GLICOCEREBROSIDASE EM PACIENTES COM DOENÇA DE GAUCHER. *Marina Siebert,*

Hugo Bock, Kristiane Michelin, Ricardo Flores Pires, Roberto Giugliani, Janice Carneiro Coelho,

Maria Luiza Saraiva Pereira (orient.) (UFRGS).

A doença de Gaucher (DG) é uma doença lisossômica de depósito, de herança autossômica recessiva, causada por mutações no gene da glicocerebrosidase (GBA). O gene GBA está localizado na região 1q21.3-23.1, dividido em 11 exons. Até o momento, mais de 100 mutações distintas foram identificadas nesse gene, sendo que 2 delas (a N370S e a L444P) são freqüentemente encontradas em pacientes com DG. No nosso laboratório, pacientes com DG confirmados através da avaliação da atividade enzimática são testados para N370S, L444P, del55pb, 84GG e IVS2+1. Esse trabalho teve como objetivo introduzir um protocolo de identificação de mutações raras no gene GBA. A população analisada é composta por 47 pacientes com DG previamente testados para as 5 mutações comuns, sendo heterozigotos para alguma dessas mutações ou homozigotos normais para as mesmas. O DNA desses indivíduos foi isolado através do método de precipitação de sais e proteinase K. Os exons 8 e 9 do gene GBA foram amplificados através de primers específicos baseados na metodologia de nested PCR, para amplificação apenas do gene funcional. Os produtos amplificados foram submetidos à técnica de SSCP em gel de MDE 6% e coloração com prata para visualização dos fragmentos amplificados. As amostras que apresentaram padrão de migração alterado foram seqüenciadas para identificação da alteração nucleotídica. Utilizando este protocolo foi possível identificar, até o momento, 3 pacientes com padrão de migração alterados. Essas amostras estão em fase de identificação através de seqüenciamento direto. Portanto, a metodologia descrita acima permitiu detectar pacientes com alterações nucleotídicas nas regiões testadas. O protocolo proposto pode ser adaptado para a identificação de mutações e/ou polimorfismos em outras regiões do gene. (PIBIC).