

IDENTIFICAÇÃO DE VARIAÇÕES DE SEQUÊNCIA EM REGIÕES REGULADORAS DA EXPRESSÃO DO GENE CFTR

Giovana Bavia Bampi^{1,2}; Mariana Siebert^{1,2,3}; Hugo Bock^{1,2,4}; Vinícius Dal' Maso⁵; Paulo Dalcin⁵; Maria Luiza Saraiva-Pereira^{1,2,3,4,6}.

¹Laboratório de Identificação Genética - Centro de Pesquisa Experimental, ²Serviço de Genética Médica - HCPA, ³Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, ⁴Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, ⁵Serviço de Pneumologia - HCPA e ⁶Depto. de Bioquímica (email: mlpereira@hcpa.ufrgs.br).

INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva causada por mutações no gene regulador da condutância transmembrânica da fibrose cística (*CFTR*)¹. A FC afeta principalmente a população de euro-descendentes, com uma incidência de 1:2.500 nascidos vivos. O *CFTR* está localizado no locus 7q31 e codifica para uma proteína de 1.480 aminoácidos responsável pelo transporte de íon cloreto nas células epiteliais².

A disfunção do *CFTR* pode afetar diferentes órgãos, configurando um quadro clínico de insuficiência respiratória e pancreática, azospermia obstrutiva, concentração elevada de cloreto no suor, entre outros sintomas. Atualmente, não existem tratamentos curativos para FC; apenas tratamentos que amenizam os sintomas aumentando a expectativa de vida dos pacientes.

Até o momento, aproximadamente 1900 variações já foram identificadas no gene *CFTR*, mas a mutação mais comum continua sendo a deleção de 3pb no exon 10 que causa perda do aminoácido fenilalanina na posição 508 da cadeia polipeptídica, denominada F508del².

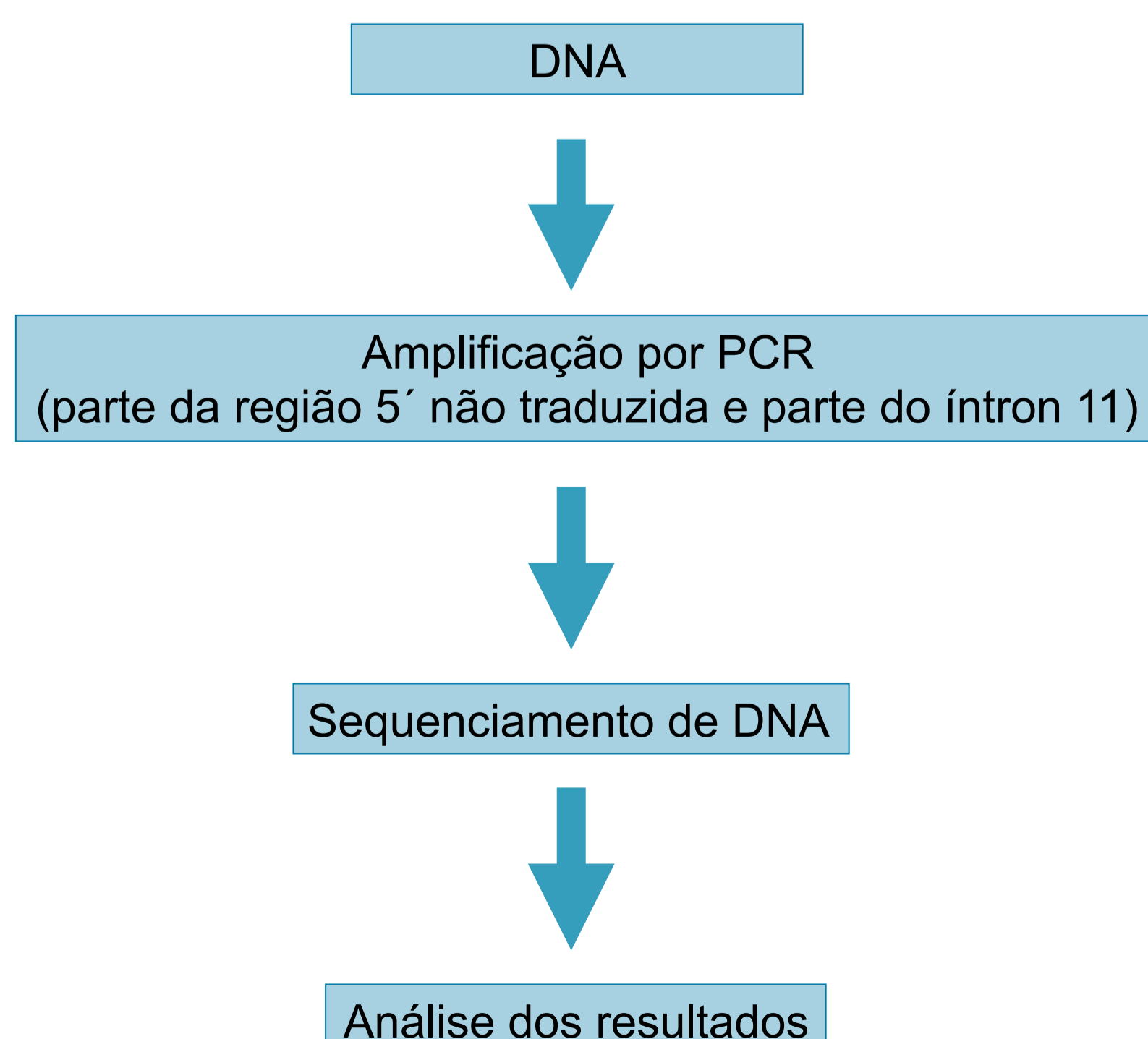
Entretanto, mutações nas regiões codificantes não explicam boa parte do fenótipo apresentado pelos pacientes e nem a grande variabilidade dos sintomas. Portanto, análise de outras regiões gênicas, como regiões reguladoras de transcrição do gene *CFTR*, podem fornecer valiosas informações sobre o funcionamento da proteína *CFTR*.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi identificar variações de sequências em duas regiões do gene *CFTR* (na região 5' não traduzida e no íntron 11), pois estas regiões apresentam um papel importante na regulação da expressão deste gene.

MATERIAIS E MÉTODOS

As análises foram realizadas em amostras de 37 pacientes com suspeita clínica de FC (pacientes atípicos). O isolamento de DNA foi realizado a partir de sangue periférico utilizando a técnica de *salting-out* seguido da quantificação pelo método fluorimétrico, visando a diluição da solução de DNA a uma concentração de 50ng/μl.



RESULTADOS

Após a análise dos 74 alelos nas duas regiões de interesse, inserção de uma timina (T) foi encontrada em um dos alelos de um dos pacientes na região 5' não traduzida (Figura 1). Esta alteração não foi previamente descrita e não foi encontrada após o sequenciamento de DNA de 50 indivíduos normais (100 alelos). Portanto, esses achados indicam que essa alteração é rara.

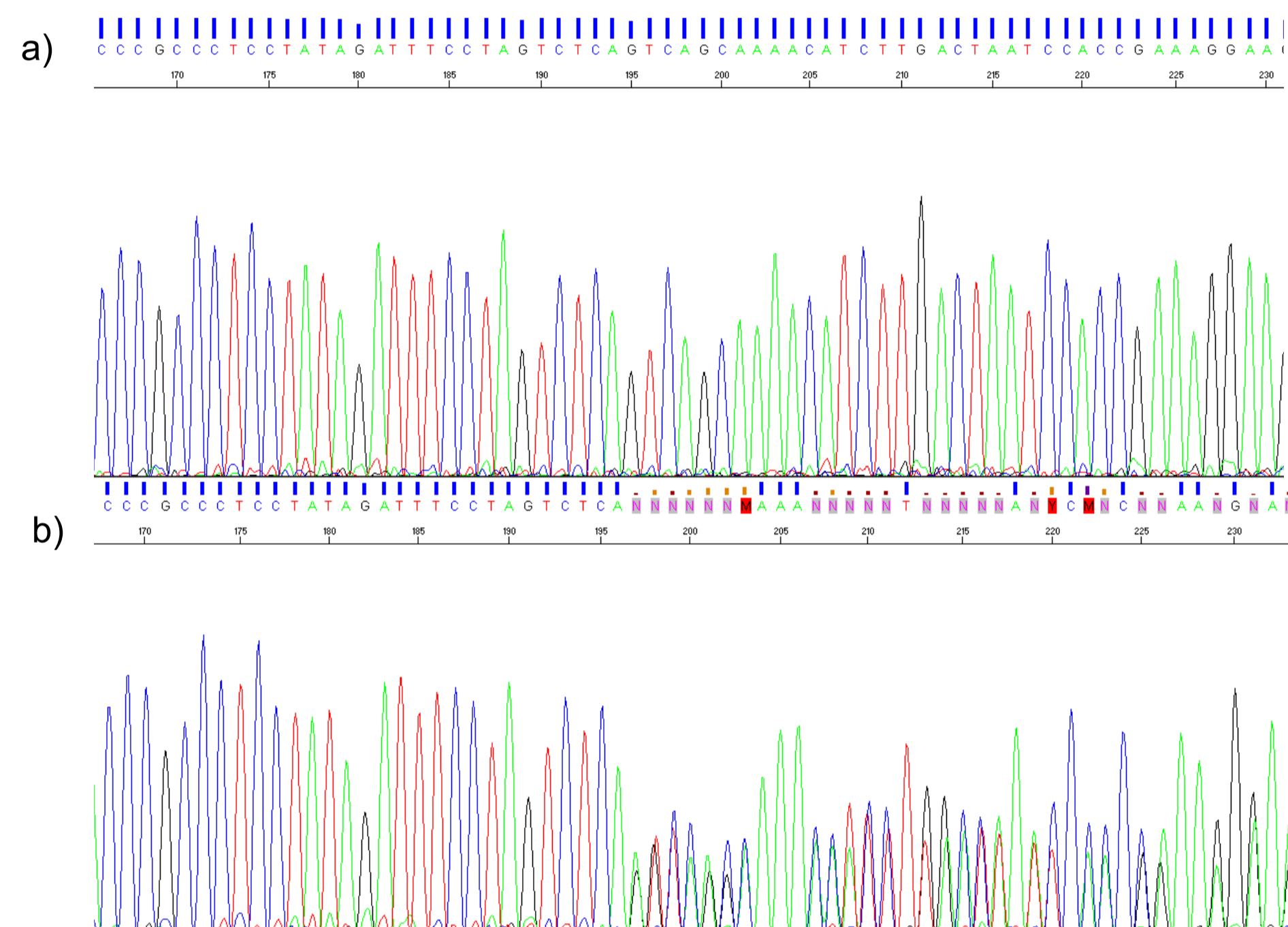


Figura 1 - Sequenciamento de DNA da região 5' não traduzida do gene *CFTR* com *primer reverso*. a) amostra de um indivíduo normal. b) amostra de paciente com a inserção de uma timina (T) em um dos alelos (heterozigoto para a alteração).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A análise dessas duas regiões em alguns pacientes com mutações ainda não identificadas no gene *CFTR* permitiu a identificação de uma alteração a aproximadamente 1000 pb antes do início da transcrição do gene. Análises *in silico* demonstraram que essa inserção pode determinar a perda da sequência de reconhecimento de um fator de transcrição. Essa região do gene *CFTR* ainda é pouco estudada e é ainda difícil prever se essa alteração causa ou não um efeito deletério na proteína.

Conforme dados prévios da literatura, o gene *CFTR* apresenta um padrão de expressão altamente regulado e variável^{4,5}. Portanto, a compreensão dos mecanismos que controlam a sua expressão pode fornecer ferramentas adicionais para o desenvolvimento de novas terapias para a doença. No momento, estudos adicionais de regulação da expressão gênica estão em andamento para esclarecer o papel desse fator de transcrição e sua relação com o gene *CFTR*.

REFERÊNCIAS

- [1] Rommens et al (1989) Science 245: 1066–1079
- [2] Zielenski et al (1995) Annu. Rev. Genetics 29: 777-807.
- [3] Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>
- [4] Ott et al (2009) PNAS. 106: 19934-39
- [5] Ott et al (2009) Biochem Basis Resp Disease 37: 843–848