

314

**IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÕES NO GENE DA ARILSULFATASE A ATRAVÉS DE PCR EM TEMPO REAL.** *Etiene Aquino Carpes, Hugo Bock, Bruna Doleys Cardoso, Maira Graeff Burin, Roberto Guigliani, Maria Luiza Saraiva Pereira (orient.) (UFRGS).*

A arilsulfatase A (ASA), enzima lisossômica que catalisa o primeiro passo da degradação do cerebrosideo sulfato, é codificada por um gene localizado no cromossomo 22, dividido em oito exons. Alterações na seqüência normal estão associadas à doença genética leucodistrofia metacromática (LDM) ou a uma condição freqüente em indivíduos normais denominada de pseudodeficiência de ASA (PD-ASA). Várias mutações no gene da ASA foram descritas e associadas à LDM, mas duas delas (459+1G>A e P426L) são as mais freqüentemente encontradas. Por outro lado, a PD-ASA é causada pelas alterações N350S e 1524+95A>G. O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma metodologia baseada em PCR em tempo real para identificação destas 4 mutações. No estudo, foram avaliados um grupo controle (26 indivíduos com ASA), para validar a metodologia, e um grupo teste (composto por amostras de DNA de 200 indivíduos normais e sadios). O DNA foi isolado a partir de uma amostra de sangue e quantificado pelo método fluorimétrico. As mutações foram analisadas pelo sistema TaqMan® no equipamento ABI 7500 PCR System. A validação do método foi realizada através da confirmação dos resultados no grupo controle, os quais tinham sido previamente genotipados por PCR-RFLP ou seqüenciamento direto. Após a validação, o grupo teste foi analisado e as mutações 459+1G>A e P426L não foram encontradas nos 400 alelos analisados e as freqüências alélicas das mutações N350S e 1524+95A>G foram mais baixas que as freqüências observadas em um estudo prévio. A metodologia se mostrou sensível e adequada para ser utilizada em larga escala. Por fim, a validação dessa metodologia é de grande utilidade para o diagnóstico complementar de LDM e de PD-ASA.