

---

REVISTA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE E  
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DO RIO GRANDE DO SUL

---

REVISTA HCPA 2005; 25 (Supl 1) :1-251

# 25<sup>a</sup> Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre 12º Congresso de Pesquisa e Desenvolvimento em Saúde do Mercosul

---

# Anais

REVISTA HCPA - Volume 25 (Supl 1) - Setembro 2005  
International Standard Serial Numbering (ISSN) 0101-5575  
Registrada no Cartório do Registro Especial de Porto Alegre sob nº 195 no livro B, n.2  
Indexada no LILACS

A Correspondência deve ser encaminhada para: Editor da Revista HCPA - Largo Eduardo Zaccaro Faraco - Rua Ramiro Barcelos, 2350  
90035-903 - Porto Alegre, RS - Tel: +55-51-2101.8304 - [www.hcpa.ufrgs.br](http://www.hcpa.ufrgs.br)

## PROTOCOLO DE TRIAGEM POR SSCP PARA A DISTINÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS E MUTAÇÕES PATOGÊNICAS NO GENE DA BETA-GALACTOSIDASE ÁCIDA EM PACIENTES COM GANGLIOSIDOSE GM1

MATHEUS BARBOSA VIEIRA; MARIANA GOLDIM; JANICE CARNEIRO COELHO; ROBERTO GIUGLIANI; URSULA MATTE

A Técnica de SSCP (Single Strand Conformational Polimorfism) é um método fácil e prático de detecção de polimorfismos devido a sua boa sensibilidade. O método baseia-se na suposição de que uma alteração na seqüência de nucleotídeos causada por uma mutação afetaria a conformação da fita simples de DNA, resultando em uma mobilidade eletroforética alterada. Entretanto, um simples polimorfismo no gene que codifica uma proteína não implica, necessariamente, patogenicidade. O método de SSCP tem sido usado para avaliar se mutações novas encontradas no gene da beta-galactosidase em pacientes com Gangliosidose GM1 são patogênicas ou polimorfismos. Para isto é necessário realizar o screening de 100 indivíduos sem a doença. O objetivo deste trabalho é propor um protocolo de triagem por SSCP que possa ser usado em grupos de 10 indivíduos. O exon 2 do gene da beta-galactosidase foi amplificado por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em um grupo de 10 indivíduos normais e um paciente com a mutação R59C. Para testar a sensibilidade da técnica, o padrão de migração de um pool de PCRs de 10 indivíduos normais foi comparado com um pool de PCR 9 indivíduos normais e um com a alteração. As concentrações de DNA utilizadas variaram de 8-9ng/uL e os pools foram concentrados utilizando a coluna GFX Amersham. O SSCP foi feito em gel de poliacrilamida 12%, sendo que as amostras migraram por 2 horas e 30 minutos a 250V. O gel foi corado com nitrato de prata. A comparação do perfil de migração da fita simples de DNA do pool de controles com o pool de controles contendo a amostra revelou uma diferença marcante, confirmando a possibilidade da utilização deste teste para a distinção entre polimorfismos e mutações patogênicas com um custo reduzido e com a otimização de tempo.