



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	ANÁLISE DAS VARIANTES NÃO-PATOGÊNICAS DO GENE GNPTAB NA POPULAÇÃO BRASILEIRA
Autor	MALU BETTIO SOARES
Orientador	FERNANDA SPERB LUDWIG

ANÁLISE DAS VARIANTES NÃO-PATOGÊNICAS DO GENE *GNPTAB* NA POPULAÇÃO BRASILEIRA

Aluno: Malu Bettio Soares

Orientador: Fernanda Sperb Ludwig

Doenças lisossômicas são causadas pelo acúmulo de substratos nos lisossomos. As Mucopolioses II e III alfa/beta são doenças causadas pela deficiência da enzima UDP-N-acetyl-1-phosphotransferase, que é um complexo hexamérico composto por três subunidades ($\alpha/\beta/\gamma$), com tamanho de 540 kDa, das quais as subunidades α/β são codificadas pelo gene *GNPTAB*, e γ por *GNPTG*. O *GNPTAB* está localizado no cromossomo 12, na posição 23.2q. A enzima codificada por ele é responsável pela adição de GlcNac-fosfato aos resíduos de manose na síntese do marcador manose-6-fosfato, responsável pelo direcionamento correto das hidrolases lisossômicas. Com a deficiência parcial ou total da síntese desse marcador, estas são direcionadas incorretamente, acarretando na secreção excessiva e falta de atividade intracelular das mesmas. Polimorfismos são alterações genéticas que se originam de eventos raros e acabam fixando-se na população por não portarem efeitos patogênicos, tornando-se comuns. *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) são alterações onde apenas um nucleotídeo é substituído, inserido ou deletado; são o tipo mais comum e estudado de variante não patogênica, e representam importantes marcadores moleculares.

O objetivo deste estudo é analisar a frequência das variantes não patogênicas do gene *GNPTAB* na população brasileira, variantes estas previamente descritas em pacientes com Mucopolioses II e III.

Foram coletadas 100 amostras de sangue de voluntários anônimos da população brasileira. O DNA genômico (gDNA) foi extraído através do kit Easy-DNA (Invitrogen). Dez polimorfismos intragênicos foram analisados: c.-41_-39delGGC (5'UTR); c.18G>A e c.27G>A (éxon 1); c.323+20delT (íntron 3); c.365+96_97delGT e c.365+145C>T (íntron 4); c.1285-166G>A (íntron 10); c.3135+5T>C (íntron 15); c.3336-25T>C (íntron 17). As regiões intrônicas de *GNPTAB* foram amplificadas por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), purificadas com PEG8000/2,5M NaCl e sequenciadas através de sequenciamento automatizado. Os resultados do sequenciamento foram analisados através do software Chromas Lite e comparados com o banco de dados do NCBI através de alinhamento com a sequência de referência NG_021243.1 (RefSeqGene) pela ferramenta Basic Local Alignment Tool (BLAST).

Os resultados comprovaram que as alterações analisadas se tratavam de variantes não patogênicas. As frequências observadas foram: c.365+96_97delGT em 41,5% dos alelos e c.365+145C>T em 46%, ambas no íntron 4; c.1285-166G>A em 64% no íntron 10; c.3135+57T>C em 58% no íntron 15; e c.3336-25T>C em 45,5% no íntron 17. A alteração com maior frequência foi no íntron 10, apresentando 64% de alelos alterados. Tendo em vista as altas frequências das alterações, inclusive em homozigose, esses dados comprovam que o gene é bastante polimórfico, o que é coerente com os dados da literatura. A importância desse tipo de estudo se dá na possibilidade de analisar ligações não aleatórias dos alelos nos genes, ou seja, analisar o desequilíbrio de ligação, possibilitando a inferência de haplótipos e definição de um histórico, chegando à origem das mutações em determinadas populações, além de analisar se existem relações fenotípicas dessas alterações com as alterações patogênicas. Além disso, destaca-se a importância do estudo de SNPs, uma vez que eles podem acarretar em alterações em sítios de ligação de proteínas e elementos regulatórios, alterando a expressão do gene. Esta é a mais extensa série de polimorfismos analisados no gene *GNPTAB*.

Suporte: CNPq, FAPERGS, FIPE - HCPA