

ESTABELECIDO DE UM NOVO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I

ANDRESA CARDOSO GRANDINI ALMEIDA; GABRIELA PASQUALIM; FERNANDA DOS SANTOS PEREIRA; MARIA VERÔNICA M.ROJAS; IDA VANESSA SCHWARTZ; ROBERTO GIUGLIANI; URSULA MATTE

A mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença autossômica recessiva causada pela deficiência da enzima lisossomal  $\alpha$ -L-iduronidase (IDUA), levando à não degradação ou degradação parcial de heparan e dermatan sulfato, os quais se acumulam no interior do lisossomo. Essa deficiência é causada pela presença de mutações no gene IDUA, o qual é formado por 14 éxons. Devido ao extenso tamanho do gene, técnicas convencionais de diagnóstico molecular que se baseiam na análise de DNA despendem muito tempo e recursos. Assim sendo, abordagens que utilizem RNA ao invés de DNA, podem reduzir o tempo e o custo do diagnóstico. O objetivo desse trabalho é padronizar um novo método de diagnóstico molecular mais rápido e capaz de amplificar na íntegra todo o mRNA do gene IDUA com poucas reações. Para isso foi coletado sangue de pacientes MPS I, com diagnóstico molecular de DNA já realizado, em tubos específicos para evitar a degradação de RNA. Após a extração de RNA total, foi feita a amplificação de todo o RNA num total de cinco fragmentos. Esses fragmentos foram desenhados com sobreposições, de forma a englobar todo o gene. Em seguida, foi feito o seqüenciamento dos mesmos. Até o momento foram padronizadas todas as extrações e amplificações visando diminuir o tempo gasto na análise das novas amostras recebidas. Com essa abordagem, podemos em poucas reações seqüenciar todos os éxons do gene, visualizando mutações comuns (W402X, Q70X, R89Q, entre outras), e também mutações antes pouco visualizadas, como mutações em sítios de splice.