

CARACTERIZAÇÃO E EXPRESSÃO DE MUTAÇÕES ENCONTRADAS NO GENE CODIFICADOR DA  $\beta$ -GALACTOSIDASE

FERNANDA SPERB; FABIANA QUOOS MAYER; ROBERTO GIUGLIANI; URSULA MATTE

A deficiência hereditária da enzima lisossômica  $\beta$ -galactosidase, codificada pelo gene GLB1, causa duas doenças humanas clinicamente distintas, a Gangliosidose GM1 e a Mucopolissacaridose IV B (Morquio B). Clinicamente, pacientes com Gangliosidose GM1 mostram graus variados de neurodegeneração e anormalidades esqueléticas, enquanto que os com Mórquio B apresentam displasia esquelética e opacidade de córnea, sem envolvimento do sistema nervoso central. Inúmeros estudos descrevem novas mutações encontradas no gene GLB1, mostrando ampla diversidade nas populações analisadas. Outro fato relevante, é que os dados até hoje analisados não fornecem provas que expliquem as diferenças clínicas e bioquímicas de Gangliosidose GM-1 e Mórquio B. Na tentativa de elucidar estas diferenças, estamos analisando a expressão de diversas mutações, entre elas Y333C, que apresenta fenótipo intermediário, 1622-1627 insG, mais comumente encontrada em pacientes brasileiros com Gangliosidose GM1, R530C, Q580R, insT587 e C626R, mutações novas encontradas nos pacientes diagnosticados no HCPA. Para tanto, foi realizada a construção do plasmídeo pRep9:: $\beta$ -gal contendo o gene completo da  $\beta$ -galactosidase humana, que foi utilizado como molde para geração de mutagêneses sítio-dirigidas. Os mutantes foram seqüenciados e tiveram confirmadas as suas identidades. Os construtos serão introduzidos por eletroporação em linhagem de células CHO-1. As proteínas recombinantes geradas serão avaliadas por SDS-PAGE e Western blot. Também será avaliada a atividade enzimática e a sublocalização celular das proteínas mutantes. Através destes experimentos pretendemos traçar um panorama geral quanto a caracterização das mutações novas e das causas que levam um mesmo gene a gerar doenças fenotipicamente tão distintas. Apoio: FIPE/CNPq