

073

**DETECÇÃO DE HETEROZIGOTOS PARA MPS II (DOENÇA DE HUNTER) ATRAVÉS DA BIOLOGIA MOLECULAR.** *Luciane Cauduro Lima, Luciene Scherer, Roberto Giugliani e Sandra Leistner* (Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS)

A doença de Hunter é uma doença lisossômica de depósito que se deve à deficiência da enzima iduronato sulfatase (IDS) envolvida no catabolismo de glicosaminoglicanos. O gene da IDS foi mapeado ao braço longo do cromossomo X na região 28.1 sendo que o mesmo divide-se em 9 exons que englobam 24kb. Após a identificação do gene responsável pela MPS II estudos sobre a natureza molecular das mutações envolvidas nesta doença começaram a ser realizados com o objetivo de explicar as bases moleculares da doença bem como caracterizar a relação entre genótipo e fenótipo nestes pacientes. O protocolo utilizado segue uma rotina que envolve: 1. extração de DNA; 2. amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR) dos exons do gene da IDS com maior número de mutações descritas na literatura (exons 3, 5, 6, 8 e 9) 3. análise do produto de amplificação através de eletroforese em gel de agarose para a confirmação do tamanho do fragmento amplificado. 4. quando possível, a confirmação de mutações conhecidas (já descritas na literatura) é feita através da clivagem com enzima de restrição, ou então; 5. a identificação de possíveis alterações desconhecidas é feita pelo método do Polimorfismo ou Análise de Conformação de Cadeia Simples (SSCP/A). Até o momento 2 mutações diferentes foram encontradas através da SSCA e sequenciamento direto do gene da IDS, ambas no exon 3. Estas, além de outras duas mutações previamente encontradas em pacientes brasileiros poderão ser analisadas nos familiares destes pacientes. Através das técnicas de biologia molecular é possível revelar a condição de portador destes familiares, sem que haja um resultado duvidoso como ocorre nas dosagens enzimáticas. Além disto, estas técnicas evitam a realização de diagnóstico pré-natal naquelas familiares que não são portadoras da mutação, podendo diminuir o número de análises invasivas desnecessárias. FAPERGS, PROPESQ, FIPE-HCPA