



XVI congresso interno de iniciação científica

Ginásio Multidisciplinar da Unicamp
24 a 25 de setembro de 2008



B0063

ANÁLISE DO EFEITO DA MUTAÇÃO E89K SOBRE A CAPACIDADE DE LIGAÇÃO DA PROTEÍNA SRY À SEQUÊNCIA DNA-ALVO

Renan Darin Bernardi (Bolsista PIBIC/CNPq), José Luiz Rosenberis Cunha Junior, Fernanda Caroline Soardi, Prof. Dr. Celso Eduardo Benetti (Co-orientador) e Profa. Dra. Maricilda Palandi de Mello (Orientadora), Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética - CBMEG, UNICAMP

A expressão do gene SRY constitui o primeiro passo para a diferenciação sexual masculina nos embriões de mamíferos. Este gene localizado no braço curto do cromossomo Y codifica uma proteína de 204 aminoácidos dos quais 79 constituem um domínio denominado HMG-box que confere a esta proteína a capacidade de interagir com o DNA. Mutações no gene SRY em indivíduos 46,XY causam disgenesia gonadal. Neste projeto pretende-se estudar o gene SRY de uma paciente previamente diagnosticada com disgenesia gonadal e que possui a alteração E89K provocada pela troca G>A na posição nucleotídica 265 a partir do ATG. Esta alteração está localizada dentro do domínio HMG-box da proteína e ainda não foi descrita na literatura. O objetivo deste projeto foi fazer o estudo molecular do efeito biológico desta variante e suas consequências na função de ligação da proteína SRY mutante ao DNA alvo. Para isso diversas ferramentas de biologia molecular foram utilizadas como PCR, sequenciamento automático, clonagem, digestão com enzimas de restrição, cultura celular, indução de expressão de proteína, Western blot, entre outras. Pelo ensaio de ligação entre proteína e DNA alvo (EMSA - Gel "shift"), verificou-se a não ligação entre a proteína mutante da paciente e o DNA alvo, possibilitando concluir que tal mutação causa disfunção na proteína SRY por modificar sua capacidade de interação com o DNA alvo.

SRY - Disgenesia gonadal - Mutação