



B0099

ANÁLISE ESTRUTURAL E FUNCIONAL DE PROTEÍNAS RELACIONADAS À EPILEPTOGÊNESE HUMANA

André H. Zamboni, Marcelo J. Murai, Fábio F. Conte e Profa. Dra. Iscia Lopes-Cendes (Orientadora), Faculdade de Ciências Médicas - FCM, UNICAMP

Acredita-se que fatores genéticos contribuam com 60% dos casos de epilepsia. Uma categoria distinta de seus genes inclui mutações em canais iônicos, causando seu mau funcionamento. Epilepsias não relacionadas a canais iônicos são casos raros na literatura, como os produtos gênicos LGI1 (Leucine-rich Glioma Inactivated 1) e EFHC1 (EF-hand domain (C-terminal) containing 1). O objetivo do trabalho é clonar os genes LGI1 e EFHC1, utilizando diferentes caudas de fusão (MBP, SUMO e NusA), expressar e purificar as proteínas LGI1 e EFHC1, para posterior caracterização das mesmas. Os genes foram amplificados por PCR (Polimerase Chain Reaction), tanto a porção C-terminal quanto o gene inteiro, a partir de cDNA total de hipocampo humano. Os produtos de PCR foram purificados e clonados em vetor pGEM-T easy (Promega). Verificou-se a presença do inserto por digestão enzimática a partir de minipreparação alcalina e a integridade dos genes foi confirmada por seqüenciamento automático. Subclonou-se a proteína LGI1 inteira e sua porção C-terminal vetor de expressão pETSUMO, obtendo-se as mesmas fusionadas à proteína SUMO. As reações de ligação foram transformadas em Escherichia coli DH5 α para seleção dos recombinantes em meio contendo antibiótico apropriado. Testes de expressão e solubilidade estão em andamento, assim como a subclonagem com as caudas de fusão MBP e NusA.

Epilepsia - LGI1 - EFHC1