

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE VARIANTES *MISSENSE* NO DOMÍNIO WD40 DE PALB2

Thiago da Cunha Silva, Daniel Soares Chrispim, Anna Beatriz Ribeiro Elias, Thiago Torres Gomes, Marcelo Alex de Carvalho
marcelo.carvalho@ifrj.edu.br

O câncer é atualmente um dos principais problemas de saúde pública no mundo. Mutações no gene supressor de tumor *PALB2* estão associadas à susceptibilidade hereditária ao câncer de mama e pâncreas. *PALB2* codifica uma proteína homônima que apresenta um papel fundamental na manutenção da integridade genômica através do reparo de quebras de dupla fita do DNA pela via de recombinação homóloga, através da interação do seu domínio *coiled-coil* com BRCA1 e seu domínio WD40 com BRCA2, formando o complexo proteico BRCA1-PALB2-BRCA2. Nos últimos anos, a identificação de variantes genéticas em *PALB2* na população aumentou significativamente, porém a classificação da maioria dessas variantes quanto a sua patogenicidade ainda é um desafio clínico. Mutações do tipo *missense*, que resultam da troca de um único aminoácido, constituem um grupo de difícil interpretação quanto a sua associação com a doença, normalmente sendo classificados como variantes de significado incerto (VUS) e ensaios funcionais buscam contornar esse problema. O objetivo do presente trabalho é avaliar funcionalmente 10 variantes *missense* no domínio WD40 de *PALB2* pela sua capacidade de interação com BRCA2 através do ensaio de dois híbridos em mamífero. A partir de uma curadoria prévia da literatura foram selecionados 10 VUS. Todos os variantes foram previamente gerados pelo grupo. O ensaio de dois híbridos em mamífero foi realizado em células HEK293FT cotransfectadas com construções codificantes de BRCA2 N-terminal fusionado ao domínio de ligação ao DNA de GAL4, *PALB2* C-terminal selvagem ou um dos variantes analisados fusionado ao ativador transcricional de VP16, além de pG5Luc contendo sequência codificante do gene repórter luciferase e pGR-TK, um controle interno da transfecção. Todos os 10 variantes foram avaliados, pelo menos uma vez, pelo ensaio de dois híbridos em mamífero. Sete variantes (V919L; C933G; Q958E; V991A; M992K; P1009L; G1021E) demonstraram atividade intermediária da luciferase. Os outros três (E943K; G1028D e G1028V) demonstraram atividade reduzida da luciferase, o que pode ser um indicativo de uma potencial patogenicidade desses variantes. A análise funcional desses variantes é fundamental para a geração de informação sobre o impacto no reparo ao dano no DNA e consequentemente sobre a patogenicidade no câncer hereditário.

Palavras-chave: câncer; *PALB2*, mutação *missense*, ensaio funcional.

Área de conhecimento: Ciências Biológicas.

Financiamento: IFRJ, CNPq, FAPERJ, CAPES e INCA.

