

Análise Filogenética e de Polimorfismos do Gene *GBA1*: Implicações para a Doença de Gaucher

Juliana de Paula Bernardes^{1*}; Flávio Lichtenstein²; Aparecida Maria Fontes¹

¹ Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil

² CENTD, Centro de Excelência em Descoberta de Novos Alvos, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

*e-mail: julianabernardes@usp.br



INTRODUÇÃO

A **Doença de Gaucher (DG)** é um distúrbio autossômico recessivo causado por variantes no gene *GBA1*, que codifica β-glicocerebrosidase (**GCase**). A deficiência dessa enzima leva ao acúmulo de glicoesfingolípideos, especialmente em macrófagos. Apesar da Terapia de Reposição Enzimática (TRE) ser eficaz, ela é limitada em formas neuronais da DG. Este estudo busca identificar polimorfismos da GCase em primatas próximos a humanos, visando apoiar modificações experimentais futuras para otimizar suas propriedades bioquímicas.

OBJETIVOS

Este estudo tem como objetivo realizar uma **análise comparativa e filogenética *in silico*** do **polimorfismo** da proteína codificada pelo gene *GBA1* em humanos e primatas próximos não humanos.

METODOLOGIA

Foram analisadas **72 sequências da proteína GCase** de humanos (*Homo sapiens*) e primatas próximos, obtidas dos bancos de dados do NCBI e UniProt. O alinhamento múltiplo de sequências foi realizado com os softwares Clustal Omega e Muscle, e as sequências repetidas foram removidas, resultando num conjunto final de **24 sequências humanas** e **48 sequências** de espécies de **primatas próximos** aos humanos de acordo com a **árvore filogenética** calculada - a qual foi construída com o método BioNJ utilizando a ferramenta SeaView.

RESULTADOS

A análise de polimorfismo dos primatas não humanos identificou **99 resíduos polimórficos**, tendo 20 deles H>0,5 (Tabela 2) e distribuindo-se pelos 3 domínios não contínuos da enzima lisossomal, incluindo na região do peptídeo sinal.

Tabela 1: Resíduos polimórficos da GCase H<0,5

Posição	Contagem absoluta	Frequência	Entropia
3	[[‘F’, 60], [‘L’, 7], [‘-’, 5]]	F 60 89.6%; L 7 10.4%	0,483
9	[[‘E’, 60], [‘Q’, 7], [‘-’, 5]]	E 60 89.6%; Q 7 10.4%	0,483
21	[[‘M’, 60], [‘V’, 7], [‘-’, 5]]	M 60 89.6%; V 7 10.4%	0,483
66	[[‘D’, 66], [‘E’, 1], [‘-’, 5]]	D 66 98.5%; E 1 1.5%	0,112
70	[[‘F’, 60], [‘L’, 7], [‘-’, 5]]	F 60 89.6%; L 7 10.4%	0,483
73	[[‘L’, 60], [‘P’, 7], [‘-’, 5]]	L 60 89.6%; P 7 10.4%	0,483
95	[[‘I’, 65], [‘M’, 7]]	I 65 90.3%; M 7 9.7%	0,460
97	[[‘A’, 65], [‘T’, 7]]	A 65 90.3%; T 7 9.7%	0,460
109	[[‘Q’, 54], [‘K’, 2], [‘-’, 16]]	Q 54 96.4%; K 2 3.6%	0,222
112	[[‘Q’, 54], [‘K’, 1], [‘E’, 1], [‘-’, 16]]	Q 54 96.4%; K 1 1.8%; E 1 1.8%	0,258
113	[[‘K’, 55], [‘Q’, 1], [‘-’, 16]]	K 55 98.2%; Q 1 1.8%	0,129
116	[[‘K’, 55], [‘Q’, 1], [‘-’, 16]]	K 55 98.2%; Q 1 1.8%	0,129
117	[[‘V’, 55], [‘M’, 1], [‘-’, 16]]	V 55 98.2%; M 1 1.8%	0,129
123	[[‘A’, 55], [‘T’, 1], [‘-’, 16]]	A 55 98.2%; T 1 1.8%	0,129
124	[[‘M’, 55], [‘V’, 1], [‘-’, 16]]	M 55 98.2%; V 1 1.8%	0,129
129	[[‘A’, 54], [‘L’, 1], [‘S’, 1], [‘-’, 16]]	A 54 96.4%; L 1 1.8%; S 1 1.8%	0,258
130	[[‘L’, 55], [‘V’, 1], [‘-’, 16]]	L 55 98.2%; V 1 1.8%	0,129
131	[[‘N’, 55], [‘Y’, 1], [‘-’, 16]]	N 55 98.2%; Y 1 1.8%	0,129
133	[[‘L’, 55], [‘R’, 1], [‘-’, 16]]	L 55 98.2%; R 1 1.8%	0,129
138	[[‘P’, 50], [‘A’, 6], [‘-’, 16]]	P 50 89.3%; A 6 10.7%	0,491
139	[[‘A’, 54], [‘T’, 1], [‘V’, 1], [‘-’, 16]]	A 54 96.4%; T 1 1.8%; V 1 1.8%	0,258
141	[[‘N’, 55], [‘A’, 1], [‘-’, 16]]	N 55 98.2%; A 1 1.8%	0,129
142	[[‘L’, 55], [‘S’, 1], [‘-’, 16]]	L 55 98.2%; S 1 1.8%	0,129
150	[[‘E’, 55], [‘T’, 1], [‘-’, 16]]	E 55 98.2%; T 1 1.8%	0,129
154	[[‘G’, 65], [‘E’, 7]]	G 65 90.3%; E 7 9.7%	0,460
157	[[‘V’, 65], [‘L’, 7]]	V 65 90.3%; L 7 9.7%	0,460
184	[[‘H’, 65], [‘L’, 7]]	H 65 90.3%; L 7 9.7%	0,460
187	[[‘S’, 71], [‘G’, 1]]	S 71 98.6%; G 1 1.4%	0,106
193	[[‘T’, 65], [‘V’, 7]]	T 65 90.3%; V 7 9.7%	0,460
196	[[‘K’, 71], [‘E’, 1]]	K 71 98.6%; E 1 1.4%	0,106
202	[[‘R’, 65], [‘Q’, 7]]	R 65 90.3%; Q 7 9.7%	0,460
205	[[‘Q’, 65], [‘E’, 7]]	Q 65 90.3%; E 7 9.7%	0,460
206	[[‘L’, 65], [‘M’, 7]]	L 65 90.3%; M 7 9.7%	0,460
209	[[‘R’, 71], [‘H’, 1]]	R 71 98.6%; H 1 1.4%	0,106
210	[[‘P’, 65], [‘H’, 7]]	P 65 90.3%; H 7 9.7%	0,460
214	[[‘L’, 65], [‘F’, 7]]	L 65 90.3%; F 7 9.7%	0,460
225	[[‘K’, 71], [‘N’, 1]]	K 71 98.6%; N 1 1.4%	0,106
239	[[‘Q’, 65], [‘H’, 7]]	Q 65 90.3%; H 7 9.7%	0,460
243	[[‘I’, 65], [‘R’, 7]]	I 65 90.3%; R 7 9.7%	0,460
262	[[‘H’, 65], [‘Y’, 7]]	H 65 90.3%; Y 7 9.7%	0,460
272	[[‘E’, 65], [‘G’, 7]]	E 65 90.3%; G 7 9.7%	0,460
311	[[‘T’, 65], [‘E’, 7]]	T 65 90.3%; E 7 9.7%	0,460
313	[[‘H’, 65], [‘R’, 7]]	H 65 90.3%; R 7 9.7%	0,460
314	[[‘N’, 65], [‘G’, 7]]	N 65 90.3%; G 7 9.7%	0,460
318	[[‘L’, 65], [‘V’, 7]]	L 65 90.3%; V 7 9.7%	0,460
319	[[‘M’, 69], [‘V’, 3]]	M 69 95.8%; V 3 4.2%	0,250
329	[[‘H’, 65], [‘R’, 7]]	H 65 90.3%; R 7 9.7%	0,460
332	[[‘K’, 65], [‘Q’, 7]]	K 65 90.3%; Q 7 9.7%	0,460
336	[[‘T’, 65], [‘A’, 7]]	T 65 90.3%; A 7 9.7%	0,460
372	[[‘N’, 65], [‘D’, 7]]	N 65 90.3%; D 7 9.7%	0,460
381	[[‘C’, 71], [‘R’, 1]]	C 71 98.6%; R 1 1.4%	0,106
408	[[‘T’, 71], [‘M’, 1]]	T 71 98.6%; M 1 1.4%	0,106
422	[[‘L’, 71], [‘P’, 1]]	L 71 98.6%; P 1 1.4%	0,106
423	[[‘A’, 71], [‘S’, 1]]	A 71 98.6%; S 1 1.4%	0,106
426	[[‘P’, 71], [‘R’, 1]]	P 71 98.6%; R 1 1.4%	0,106
434	[[‘R’, 71], [‘H’, 1]]	R 71 98.6%; H 1 1.4%	0,106
447	[[‘K’, 65], [‘Q’, 7]]	K 65 90.3%; Q 7 9.7%	0,460
467	[[‘P’, 71], [‘L’, 1]]	P 71 98.6%; L 1 1.4%	0,106
471	[[‘Q’, 67], [‘E’, 4], [‘H’, 1]]	Q 67 93.1%; E 4 5.6%; H 1 1.4%	0,414
474	[[‘G’, 71], [‘A’, 1]]	G 71 98.6%; A 1 1.4%	0,106
476	[[‘V’, 70], [‘E’, 1], [‘D’, 1]]	V 70 97.2%; E 1 1.4%; D 1 1.4%	0,211
480	[[‘K’, 71], [‘R’, 1]]	K 71 98.6%; R 1 1.4%	0,106
482	[[‘D’, 68], [‘E’, 1], [‘N’, 1], [‘-’, 2]]	D 68 97.1%; E 1 1.4%; N 1 1.4%	0,216
483	[[‘L’, 68], [‘P’, 2], [‘-’, 2]]	L 68 97.1%; P 2 2.9%	0,187
489	[[‘M’, 69], [‘L’, 1], [‘-’, 2]]	M 69 98.6%; L 1 1.4%	0,108
490	[[‘H’, 69], [‘N’, 1], [‘-’, 2]]	H 69 98.6%; N 1 1.4%	0,108
494	[[‘S’, 69], [‘C’, 1], [‘-’, 2]]	S 69 98.6%; C 1 1.4%	0,108
495	[[‘A’, 69], [‘P’, 1], [‘-’, 2]]	A 69 98.6%; P 1 1.4%	0,108
497	[[‘V’, 68], [‘G’, 1], [‘A’, 1], [‘-’, 2]]	V 68 97.1%; G 1 1.4%; A 1 1.4%	0,216
503	[[‘S’, 67], [‘F’, 1], [‘P’, 1], [‘-’, 3]]	S 67 97.1%; F 1 1.4%; P 1 1.4%	0,218
509	[[‘L’, 67], [‘V’, 1], [‘F’, 1], [‘-’, 3]]	L 67 97.1%; V 1 1.4%; F 1 1.4%	0,218
513	[[‘D’, 68], [‘A’, 1], [‘-’, 3]]	D 68 98.6%; A 1 1.4%	0,109
516	[[‘V’, 68], [‘L’, 1], [‘-’, 3]]	V 68 98.6%; L 1 1.4%	0,109
519	[[‘L’, 68], [‘V’, 1], [‘-’, 3]]	L 68 98.6%; V 1 1.4%	0,109
523	[[‘S’, 68], [‘A’, 1], [‘-’, 3]]	S 68 98.6%; A 1 1.4%	0,109
525	[[‘G’, 62], [‘A’, 7], [‘-’, 3]]	G 62 89.9%; A 7 10.1%	0,474
532	[[‘L’, 68], [‘V’, 1], [‘-’, 3]]	L 68 98.6%; V 1 1.4%	0,109
535	[[‘R’, 68], [‘H’, 1], [‘-’, 3]]	R 68 98.6%; H 1 1.4%	0,109

Tabela 2: Resíduos polimórficos da GCase H>0,5

Domínio	Posição	Contagem absoluta	Frequência	Entropia
Domínio II	92	[[‘T’, 19], [‘L’, 7], [‘M’, 46]]	T 19 26.4%; L 7 9.7%; M 46 63.9%	1,247
Domínio III	208	[[‘R’, 15], [‘Q’, 50], [‘K’, 7]]	R 15 20.8%; Q 50 69.4%; K 7 9.7%	1,164
Peptídeo Sinal	19	[[‘N’, 13], [‘S’, 47], [‘H’, 7], [‘-’, 5]]	N 13 19.4%; S 47 70.1%; H 7 10.4%	1,158
Domínio II	94	[[‘T’, 45], [‘A’, 3], [‘P’, 24]]	T 45 62.5%; A 3 4.2%; P 24 33.3%	1,143
Peptídeo Sinal	15	[[‘S’, 38], [‘L’, 29], [‘-’, 5]]	S 38 56.7%; L 29 43.3%	0,987
Domínio II	485	[[‘T’, 27], [‘A’, 43], [‘-’, 2]]	T 27 38.6%; A 43 61.4%	0,962
Domínio I	65	[[‘L’, 24], [‘F’, 43], [‘-’, 5]]	L 24 35.8%; F 43 64.2%	0,941
Peptídeo Sinal	16	[[‘G’, 45], [‘S’, 22], [‘-’, 5]]	G 45 67.2%; S 22 32.8%	0,913
Domínio II	68	[[‘L’, 21], [‘P’, 46], [‘-’, 5]]	L 21 31.3%; P 46 68.7%	0,897
Domínio III	368	[[‘H’, 15], [‘R’, 57]]	H 15 20.8%; R 57 79.2%	0,738
Domínio II	479	[[‘Q’, 64], [‘E’, 7], [‘K’, 1]]	Q 64 88.9%; E 7 9.7%; K 1 1.4%	0,564
Domínio II	111	[[‘E’, 49], [‘D’, 7], [‘-’, 16]]	E 49 87.5%; D 7 12.5%	0,544
Domínio III	140	[[‘Q’, 49], [‘R’, 7], [‘-’, 16]]	Q 49 87.5%; R 7 12.5%	0,544
Domínio I	441	[[‘I’, 63], [‘V’, 9]]	I 63 87.5%; V 9 12.5%	0,544
Domínio II	522	[[‘I’, 62], [‘L’, 6], [‘V’, 1], [‘-’, 3]]	I 62 89.9%; L 6 8.7%; V 1 1.4%	0,534
Peptídeo Sinal	20	[[‘I’, 59], [‘V’, 8], [‘-’, 5]]	I 59 88.1%; V 8 11.9%	0,528
Peptídeo Sinal	23	[[‘G’, 59], [‘A’, 8], [‘-’, 5]]	G 59 88.1%; A 8 11.9%	0,528
Domínio II	484	[[‘D’, 62], [‘P’, 46], [‘-’, 5]]	D 62 88.6%; E 8 11.4%	0,513
Domínio II	534	[[‘R’, 63], [‘H’, 2], [‘C’, 4], [‘-’, 3]]	R 63 91.3%; H 2 2.9%; C 4 5.8%	0,506
Domínio II	99	[[‘H’, 64], [‘R’, 8]]	H 64 88.9%; R 8 11.1%	0,503
Domínio I	446	[[‘T’, 64], [‘A’, 8]]	T 64 88.9%; A 8 11.1%	0,503

Analisando a região de petídeo sinal, somente humanos e *Rhinopithecus* foram polimórficos dentre as espécies da amostra. Destacamos que no resíduo 20 há uma inversão entre o aminoácido prevalente para de cada espécie (*Rhinopithecus* V 87.50% e I 12.50%, enquanto em *Homo sapiens* V 3.70% e I 96.30%). Em relação às posições associadas a variantes patogênicas humanas de alta relevância clínica, a maioria mostrou-se conservada entre os primatas analisados (não polimórficas), como a p.L483P (associada à DG tipos 2 e 3), indicando forte pressão seletiva negativa.

Árvore filogenética da calculada a partir de sequências proteicas da GCase

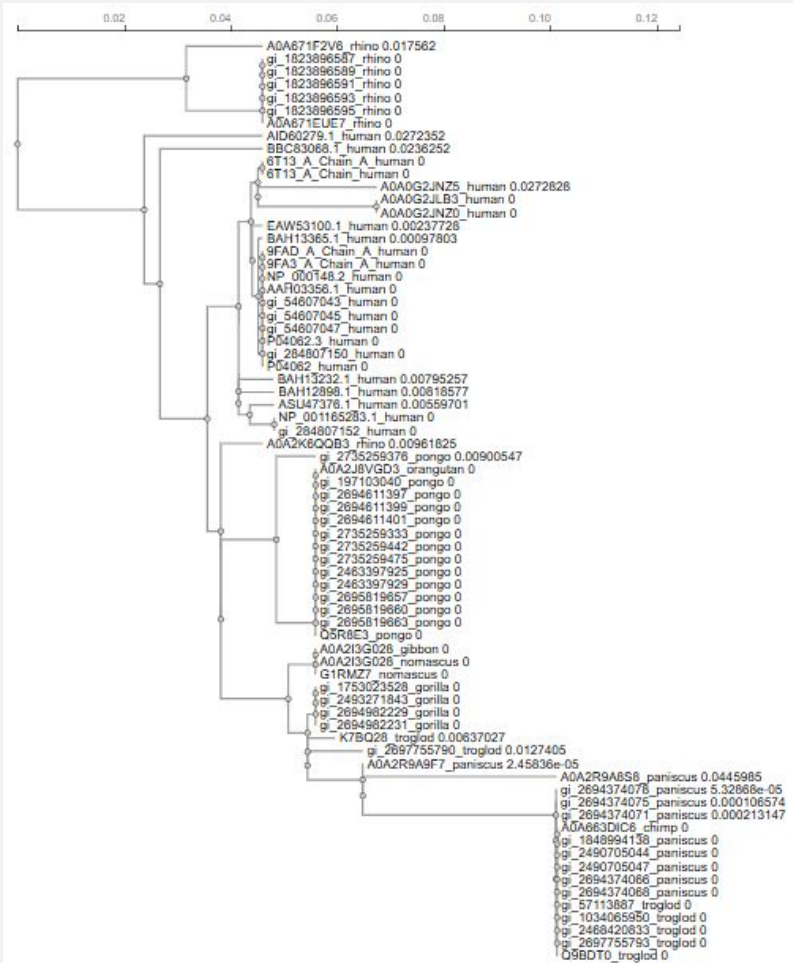


Figura 1: Árvore filogenética das sequências da proteína GCase (GBA1) em humanos (*Homo sapiens*) e primatas próximos. Observa-se a formação de clados distintos que agrupam sequências de *Pongo pygmaeus* (orangotango), *Rhinopithecus strykeri* (rinopiteco), *Pan paniscus* (bonobo), *Pan troglodytes* (chimpanzé), *Gorilla gorilla* (gorila) e *Nomascus leucogenys* (gibão), refletindo a proximidade evolutiva entre essas espécies e os humanos.

CONCLUSÕES

A análise comparativa do polimorfismo da proteína codificada pelo gene *GBA1* em primatas revelou **sítios polimórficos nos primatas não humanos distintos dos humanos**. A alta conservação de sítios diretamente ligados a formas graves da DG reforça sua criticidade funcional - enquanto a variabilidade observada em outras regiões, como no peptídeo sinal, dissulfeto e região enzimática, podem refletir distintas pressões evolutivas, que resultaram em mutações cujos significados funcionais e enzimáticos serão estudados. Estes achados direcionarão **futuros experimentos de engenharia de proteínas**, nos quais quimeras com alterações em resíduos específicos poderão ser testadas *in vitro* para avaliar o impacto na estabilidade da proteína e sua atividade.

PALAVRAS-CHAVE

Doença de Gaucher, GBA1, filogenética, polimorfismo.

AGRADECIMENTOS

