

010

**ISOLAMENTO DE SEQÜÊNCIAS DIFERENCIALMENTE EXPRESSAS EM DUAS FASES DO CICLO VITAL DE MESOCESTOIDES CORTI.** *Felipe Klein Ricachenevsky, Cristiano Valim Bizarro, Anelise Volkweiss, Mário Henrique Bengtson, Mari Cleide Sogayar, Arnaldo Zaha, Henrique Bunselmeyer Ferreira (orient.)* (Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Instituto de Biociências, UFRGS).

Mesocestoides corti é um platelminto endoparasita, pertencente à classe Cestoda. Apesar de não apresentar um ciclo vital totalmente elucidado, ele constitui-se num bom modelo para o estudo da segmentação em cestódeos, pois tanto a fase larval (tetratirídeo) quanto a fase adulta (verme segmentado) são bem caracterizadas e podem ser cultivadas in vitro. Com o objetivo de estudar genes expressados diferencialmente nessas duas fases, foram feitas extrações de RNA total de tetratirídeos e de vermes segmentados, que foram utilizadas na construção de duas bibliotecas subtraídas utilizando a técnica de cDNA-RDA (cDNA representational difference analysis), uma direta, enriquecida com seqüências relacionadas ao estágio adulto, e uma reversa, enriquecida com seqüências relacionadas ao estágio larval. Após o seqüenciamento parcial de vários clones de ambas as bibliotecas, foi possível observar que alguns dos cDNAs clonados correspondiam a diferentes regiões de um mesmo gene ortólogo. Assim, com base nas seqüências de cDNA disponíveis, mais a 5' e mais a 3' em relação a um mesmo gene ortólogo, foram projetados primers visando à amplificação de seqüências mais completas do gene de M. corti correspondente, gerando o que passou a ser chamado de transcrito virtual. Esta estratégia permite, a partir da disponibilidade de pequenas regiões de um gene, conseguir-se a amplificação e a clonagem da quase totalidade de sua seqüência de cDNA. Até o momento, dois transcritos virtuais, ambos derivados da biblioteca reversa, foram produzidos: um relacionado a um gene que codifica um fator de remodelamento de cromatina, de 2,5 kb, e outro relacionado a um gene que codifica uma proteína envolvida em transporte intracelular de vesículas, de 2,0 kb. Os produtos de amplificação obtidos estão agora sendo seqüenciados e, com a disponibilização das seqüências praticamente completas dos genes, será viabilizada uma análise mais confiável de suas homologias com os prováveis ortólogos. (FAPERGS, RTPD Network/SIDA-SAREC, CAPES, CNPq).