

GENETICS

and MOLECULAR BIOLOGY

ISSN 1415-4757

VOL. 22 - Nº 3 - SUPPLEMENT

OCTOBER 1999



PROGRAMA E RESUMOS

45º CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA

03 A 06 DE OUTUBRO DE 1999

GRAMADO - RS - BRASIL

SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA

06.03 - GENÉTICA MOLECULAR ANIMAL

através dos marcadores 1kb DNA ladder e ϕ 174-Hae III. Um total de 140 produtos amplificados foram gerados por 16 primers, sendo 58 (41 %) deles polimórficos. Os resultados da análise estatística indicaram que as populações Norte (30-32° S) e Sul (33-34° 40' S) da distribuição de *P. americanus* não são geneticamente diferentes ($F_{ST} = -0.0449$) e que existe um significativo fluxo gênico entre elas. Um alto grau de diversidade genética ($H'_w = 0.3589$) foi detectado. A determinação de um estoque unitário de cherne na região Sul do Brasil é importante para o futuro direcionamento de sua pescaria, permitindo a realização de um gerenciamento mais adequado. Apoio Financeiro: PADCT; CNPq, Bolsa PIBIC/FURG

06.03-045 DIAGNÓSTICO PALEOPARASITOLÓGICO MOLECULAR EM POPULAÇÕES PRÉ-HISTÓRICAS: ANÁLISE DA REGIÃO INTERGÊNICA DO GENE RIBOSSOMAL 5S DE NEMATÓDEOS. Alena Mayo Iñiguez*/** Luis Fernando Ferreira * Adauto Araújo* e Ana Carolina Paulo Vicente** . Lab. de Paleoparasitologia Molecular-Depto. de Endemias-ENSP.* Lab. de Genética Molecular de Microorganismos-Depto. de Genética-IOC.** FIOCRUZ. Rio de Janeiro-Brasil. mayo @ dbbm.gene.

Estudos Paleoparasitológicos tradicionais demonstraram a presença de helmintos parasitas em coprólitos de populações pré-históricas. Mas, a identificação microscópica enfrenta problemas metodológicos referentes à precisão do diagnóstico em virtude da precária conservação dos espécimens recuperados. A Paleoparasitologia Molecular utiliza técnicas que permitem uma identificação mais precisa através da recuperação do DNA ancestral (aDNA) do patógeno, e se revela como instrumento de análise da diversidade genética e evolução destes parasitas, e possivelmente de seus hospedeiros humanos. A variação de tamanho da região intergênica dos genes ribossomais RNA 5S entre as diferentes espécies de Nematódeos permite sua utilização em estudos de especiação e no diagnóstico de doenças parasitárias especialmente nos casos onde a identificação morfológica é complicada. Propomos a utilização desta abordagem na identificação molecular de diferentes Nematódeos parasitas humanos em populações pré-históricas. Nos propomos também objetivos prévios referentes à padronização da metodologia em fezes de populações atuais e em coprólitos experimentais. A primeira análise a partir de DNA extraído de fezes positivas para Nematódeos foram de pacientes ambulatoriais do Centro de Saúde da ENSP/FIOCRUZ. O DNA é extraído por fenol-clorofórmio, purificado em coluna de resina e quantificado mediante leitura em espectrofotômetro. Depois da amplificação enzimática por PCR da região espaçadora intergênica 5S, se digeriram os produtos com enzimas de restrição específicas para cada parasita. Em outra etapa se elaborou um desenho experimental de avaliação do diagnóstico em fezes positivas dessecadas experimentalmente a 37°C, e finalmente em aDNA extraído de coprólitos com evidências microscópicas da presença de ovos e larvas não identificadas. Os coprólitos humanos são provenientes de diferentes sítios arqueológicos de América do Sul com uma datação desde 4110 BC até 1780 AN São tratadas com hipoclorito e expostas à radiação de UV para o posterior corte e macerado. Segue-se com a mesma metodologia anteriormente descrita, mais eletroforese em gel de poliacrilamida 5% seguido de coloração com prata e dot blot e hibridização com sonda de DNA humano. Na padronização da PCR em fezes observou-se na maioria dos casos um perfil de numerosas bandas além da correspondente à região espaçadora 5S do parasita específico. Este fenômeno era esperado devido a ampla gama de DNAs presentes nas amostras pelo que se faz necessário a verificação do diagnóstico. Os resultados da digestão com enzimas de restrição confirmaram a presença de *Ancylostoma deudendale* com *RsaI* e *Ascaris lumbricoides* com *AluI*. A dosagem mostrou pequenas concentrações de aDNA, altas de nucleotídeos livres e visivelmente degradado. A hibridização revelou-se positiva com intensidade diferente nas diversas amostras confirmando a origem humana. Atualmente trabalha-se na recuperação e análise dos fragmentos de aDNA. O estudo permite estabelecer uma metodologia rápida e precisa de diagnóstico de diferentes Nematódeos patogênicos podendo fornecer valiosas informações referentes à evolução destes parasitas através do tempo.

06.03-046 SEQUENCIAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM GENE DE *SCHISTOSOMA MANSONI* HOMÓLOGO A UM GENE QUE SE LIGA À MOLÉCULA DE HLA CLASSE II. Carina da Silva Pinheiro, Izabel Lara Resende de Carneiro e Elida Mara Leite Rabelo. Departamento de Parasitologia- ICB-UFMG, Belo Horizonte, MG. e-mail: rabelo@mono.icb.ufmg.br

Dentro do projeto de descoberta gênica em *Schistosoma mansoni*, que visa seqüenciar o maior número possível de genes para este organismo, alguns genes são selecionados para serem melhor caracterizados. Assim, um clone isolado a partir de uma biblioteca de verme adulto de *Schistosoma mansoni* denominado SMV0119, foi escolhido por possuir alto grau de homologia com a proteína PHAPI de humanos, apresentando 68% de similaridade. Acredita-se que esta proteína se ligue a parte citoplasmática da molécula de classe II e que esta interação contribua para os eventos de sinalização que levam à ativação de células B e T-helper durante uma resposta imune dependente de células T. O tamanho aproximado deste gene é de 1400pb. As extremidades do gene foram seqüenciadas produzindo um total de 1063 nucleotídeos. Técnicas