

Título: Caracterização molecular de clones e subclones da cepa 21SF do *Trypanosoma cruzi*: uma cepa estável preservada em laboratório.

Autor(es): Campos, R.F.;

Co-autor(es): Gonçalves, M.S.; Reis, E.A.G.; Reis, M.G.; Andrade, S.G.

Instituição: Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz- FIOCRUZ

O *Trypanosoma cruzi* é encontrado na natureza em populações com considerável variabilidade biológica. Esse caráter tem permitido a classificação das cepas dentro de biotemas específicos, diferentes zimodemas e esquizodemas. A estrutura clonal proposta para o *T. cruzi* tem sugerido a ocorrência de clones naturais que possam influir no comportamento biológico e patogenicidade das cepas. Considerando a estabilidade de caracteres biológicos de algumas cepas de laboratório, é interessante investigar as características genéticas de suas populações clonais e identificar sua possível homogeneidade. A cepa 21SF, do *Trypanosoma cruzi*, uma cepa estável, originária da área endêmica de São Felipe, Bahia, mantida em laboratório através de passagens seriadas em camandungos por 15 anos, preservando as suas características biológicas e bioquímicas, foi submetida a uma análise molecular com finalidade de esclarecer se essa estabilidade é dependente de sua composição clonal. A cepa foi clonada, pela técnica de obtenção de um único parasita, sendo obtidos 5 clones e 14 subclones. A cepa 21 SF, seus clones e subclones foram classificados como Tipo II (biotema) e Z2 (zimodema). A análise do esquizodema foi feita a partir da extração do kDNA de formas de cultura e amplificação de um fragmento de 330 pares de bases (pb) da região variável do minicírculo do kDNA, pela técnica de PCR, usando-se a Taq DNA polimerase (Perkin Elmer Cetus), e um grupo de primers da região variável do DNA do minicírculo. As amostras amplificadas foram digeridas por endonucleases RsaI e Hinf I e os produtos resultantes dessa digestão foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 12,5%. Para confirmação dos resultados, os produtos obtidos do PCR foram separados por eletroforese, transferidos para membranas de nylon pelo método de Southern e hibridizados com sondas de diferentes seqüências da região do minicírculo, marcadas pelo método de emissão de quimioluminescência com fluoresceína-11-dUTP, associado à oxidação catalizada pela horseradish peroxidase. Os resultados demonstraram elevados índices de similaridade quando comparados os padrões dos fragmentos de tamanho variado (RFLP) obtidos da digestão enzimática e detectados pela eletroforese das amostras: da cepa parental e dos seus clones (67 a 100%), dos clones individuais (70 a 100%) e dos clones e seus subclones (79 a 100%) evidenciando a existência de alto grau de associação entre as características biológicas, isoenzimáticas e genéticas da cepa 21SF do *T. cruzi*. Estudos anteriores têm demonstrado que todas as cepas isoladas da área de São Felipe-Bahia pertencem ao mesmo tipo biológico e isoenzimático. É possível, portanto, que exista uma predominância de um ou mais clones naturais, ou uma homogeneidade de populações clonais nas cepas circulantes nessa área endêmica.