

224

ANÁLISE DE DIFERENÇA REPRESENTACIONAL (RDA) APLICADA ÀS VARIEDADES DE CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Paula Santos da Rosa, Josiane Faganello, Augusto Schrank (orient.) (UFRGS).

A criptococose é uma infecção fúngica oportunista causada por *Cryptococcus neoformans* que acomete a pele, os órgãos profundos e o sistema nervoso central. Antígenos capsulares permitem a identificação de sorotipos distintos. Os sorotipos A e D pertencem às variedades *C. neoformans* var. *grubii* e *C. neoformans* var. *neoformans*, respectivamente, atingindo principalmente pacientes imunodeprimidos. Os sorotipos B e C pertencem à variedade *C. neoformans* var. *gattii*, com maior relevância para pacientes imunocompetentes. Características bioquímicas e moleculares diferenciais já foram estudadas entre as variedades, além de diferentes manifestações clínicas e nichos ecológicos. O objetivo do projeto é identificar as diferenças presentes no genoma destas variedades através da Análise de Diferença Representacional (RDA). Este método une ciclos de hibridização subtrativa a etapas de enriquecimento cinético através da reação em cadeia da polimerase para identificar diferenças em populações de DNA de reduzida complexidade (representações). É possível purificar pequenos fragmentos de restrição presentes em uma população de fragmentos de DNA que estejam ausentes em outra população. A hibridização subtrativa envolve a hibridização de DNA contendo a seqüência de interesse (*tester*) com grandes quantidades de DNA sem essa seqüência (*driver*). Ao se repetirem vários ciclos de hibridização subtrativa e amplificação por PCR as seqüências alvo podem ser amplificadas a níveis detectáveis por eletroforese em gel de agarose. Com a clonagem do produto de diferença e análise por *Southern blot* as diferenças existentes entre os genomas podem ser confirmadas. Inicialmente estão sendo comparadas as variedades *grubii* (*tester*) e *gattii* (*driver*). (PIBIC).