

## **CARACTERIZAÇÃO DO GENE *XPD* (XERODERMA PIGMENTOSUM D) EM *Trypanosoma evansi*.**

Willyan Peyerl<sup>1</sup>, Cristina Alves Ribeiro<sup>2</sup>, Ketriane Mota de Souza<sup>3</sup>, Carla Ivane Ganz Vogel<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Acadêmico do Curso de Engenharia Florestal - CAV - bolsista PIVIC/UDESC.

<sup>2</sup> Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – CAV.

<sup>3</sup> Mestranda do Programa de Pós Graduação Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular – CAV.

<sup>4</sup> Orientadora, Departamento de Produção Animal e Alimentos - CAV – carla.vogel@udesc.br.

Palavras-chave: Reparo de DNA. Tripanossomatídeos. Reparo por excisão de nucleotídeos.

Descrito pela primeira vez em 1880, por Griffith Evans, *Trypanosoma evansi* é considerado o tripanossomatídeo patogênico com maior distribuição mundial e está na lista das doenças de declaração obrigatória da WOA (World Organization for Animal Health). No Brasil relatos da infecção foram registrados no Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina, Paraná e no Pantanal. Trabalhos sugerem que o *T. evansi* tenha origem africana, a partir da perda total ou parcial do DNA mitocondrial (cinetoplasto) do *Trypanosoma brucei*, responsável pela doença do sono em humanos. Popularmente conhecida por “Surra” ou “Mal das Cadeiras”, afeta principalmente equinos e camelídeos e esporadicamente ruminantes. Os sinais clínicos mais comuns incluem febre, anemia, perda de apetite, emagrecimento, perda de produtividade, aborto, caquexia e morte. Até o presente momento não existem métodos de tratamento eficazes para os animais infectados e a doença tem sido responsável por grandes prejuízos na pecuária. O genoma dos tripanossomatídeos apresenta diferenças em relação aos demais eucariotos, sendo assim seu estudo torna-se imprescindível. Sujeitos a diversos agentes genotóxicos que desestabilizam as moléculas de DNA, os organismos precisam de mecanismos que reparem os danos sofridos. Um desses mecanismos, o Reparo de DNA por Excisão de Nucleotídeo (NER), estudado em *T. brucei* revelou que o gene *TbXPD*, crucial no recrutamento do complexo TFIIH em mamíferos, não apresentou evidências de reparo de nas lesões testadas, ou seja, em *T. brucei* parece não haver a atividade do complexo TFIIH quando a *proteína XPD* não está ativa. Como até o momento não existem estudos com o gene *XPD* em *T. evansi*, pretende-se conhecer melhor os mecanismos de reparo de DNA neste parasita. O presente trabalho objetivou caracterizar este gene. A caracterização foi realizada seguindo uma série de procedimentos, sendo estes: 1) Extração de DNA de *Trypanosoma evansi*, realizado através do método fenol-clorofórmio; 2) Construção de *primers* para o gene *XPD*, com sítios de clivagem para as enzimas *XhoI* e *NdeI*; 3) Amplificação por PCR (Reação em cadeia da polimerase) do gene *XPD*. A amplificação se confirmou através da utilização de eletroforese, onde os fragmentos amplificados corresponderam ao tamanho de 2400 pb.; 4) Produção de bactérias *Escherichia coli* DH10B eletrocompetentes para a clonagem do gene, 5) Ligação do gene amplificado ao vetor de clonagem pGEM; 6) Transformação bacteriana; 7) Análise das colônias obtidas utilizando-se PCR; 8) Sequenciamento das colônias positivas. A sequência encontrada nas colônias correspondeu à sequência do gene *XPD* no banco de dados de tripanossomatídeos (<http://tritrypdb.org/tritrypdb/>) confirmando-se a identidade do gene. A seguir o gene *XPD* de *T. evansi* será introduzido em um vetor de expressão para estudos obtenção de proteína purificada.