

## Expressão dos genes relacionados ao processo de SUMOilação em abelhas

Milena Piaia Barboza, discente de Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel;

Guilherme Henrique Aparecido de Oliveira, discente de Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel;

Mateus Morel Fonseca, discente de Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel;

Eduardo Guilherme Molero dos Santos, discente de Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel;

Nicolly Maria Payva Nunes, discente de Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel;

Andrés Delgado Cañedo, docente, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel.

[milenabarboza.aluno@unipampa.edu.br](mailto:milenabarboza.aluno@unipampa.edu.br)

Processo celular imprescindível e específico dos seres eucarióticos, a SUMOilação está relacionada à adição da pequena proteína SUMO (do inglês, *Small Ubiquitin-like Modifier*) a outras proteínas com o objetivo de modificar sua função ou estabilidade. Não se tem conhecimento concreto sobre sua ação em abelhas; contudo, por ser um gene conservado em diversos organismos, podemos utilizar outros seres similares como base para sua compreensão. Outrossim, este processo é uma das inúmeras modificações pós-traducionais (MPTs) que têm ocorrência em diversos compartimentos celulares. Ademais, possui funções biológicas significativas para os organismos, visto que estas modificações se associam à regularização das interações, atividades e localização das proteínas dentro das células. Além de ser uma ferramenta auxiliar, também pode ter papel direto e afetar os processos celulares, como em situações de estresse oxidativo. A SUMOilação é responsável por regular – principalmente – a transcrição gênica, reparo de DNA, transporte entre o núcleo e o citoplasma, além de moderar a função e organização dos cromossomos. Portanto, caso a regulação de SUMO esteja adulterada é possível que algumas funções biológicas não desempenhem seu papel integralmente. Resultando em, por exemplo, uma porta de abertura para infecções virais, o que acarretará em problemas na execução do papel do organismo – afetando diretamente a produtividade da colmeia. À luz do exposto, o trabalho que está sendo desenvolvido tem como propósito investigar a expressão dos genes envolvidos com o processo da SUMOilação em abelhas, desde o início até o final do ciclo de vida das mesmas para serem usados como marcadores da qualidade produtiva das colmeias. Atualmente estamos no início do estudo no processo de definir os genes a serem avaliados pela técnica da RT-qPCR. Para tal, inicialmente procuramos sequências de mRNA de abelhas correspondentes aos genes de interesse e desenhamos os primers a serem utilizados. Genes de participantes das vias de SUMOilação de abelhas não estão devidamente anotados nas bases de dados e, conseqüentemente, para obter sequências homólogas fizemos buscas em bases de dados tanto de *Homo sapiens* quanto de *Drosophila melanogaster* – por possuírem estudos mais aprofundados sobre o assunto. A partir da obtenção das sequências destes genes, usamos as mesmas na ferramenta BLAST para obtenção das sequências gênicas de abelhas correspondentes a estes genes. Após a obtenção das sequências de abelha, as mesmas foram

carregadas na ferramenta primer-BLAST para obtenção de primers específicos para cada um destes genes. Ao final, como produto desta pesquisa, obtivemos primers para os seguintes genes: NSE2, Polycomb, DCR, LWR, CHST11L, Rangap1, D-Pias, ILP-2, SAE 1, SAE 2, RanBP2, SIZ, SUMO e Actina. Além disso, também optamos por testar a Vitelogenina, que não possui ligação direta à via de SUMO. Para avaliar os primers obtidos, RNA total foi extraído a partir de uma abelha adulta completa, utilizando o kit de extração da empresa Norgen biotek “Total RNA Purification”. A síntese de cDNA foi realizada com a enzima transcriptase reversa MMLV usando com primer um oligonucleotídeo poli(T) a partir de 1 µg de RNA total previamente tratado com DNase para degradar DNA contaminante da amostra de RNA. Para a PCR, usamos o equivalente a 0,2 µL de cDNA por reação, 0,4 nM de dNTP e 10 pmol de cada um dos primers. Foram realizados um ciclo de desnaturação inicial a 94°C por 2 minutos e 35 ciclos de amplificação nas seguintes condições: desnaturação a 94°C por 30 segundos; hibridização de primers a 60°C por 30 segundos e extensão das fitas a 72°C por 30 segundos. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% corados com corante de DNA GelRed (Biotium) e avaliados em fotodocumentador sob luz UV. Até o presente momento 14 pares de primers foram testados. Os resultados preliminares foram satisfatórios, verificando que 13 dos 14 genes mostraram produto de amplificação na amostra testadas. O gene que codifica a vitelogenina foi o único primer com o qual não obtivemos sucesso na amplificação, precisando da realização de novos ensaios usando outras amostras ou modificando as condições de PCR usadas. Salienta-se que os resultados ainda são preliminares; porém, a partir dos mesmos já estamos organizando o primeiro ensaio envolvendo indivíduos em diferentes estágios do desenvolvimento para estudar a expressão destes genes. Levando em consideração o exposto, podemos concluir que as sequências desenhadas e as condições experimentais estão estabelecidas, permitindo o uso das mesmas em trabalhos experimentais pioneiros como marcadores da qualidade produtiva das colmeias, uma vez que pesquisas acerca do processo de SUMOilação em abelhas são inexistentes.

**Agradecimentos:** Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA.

**Palavras-chave:** Abelha; SUMO; SUMOilação; Proteína; Genes.