



## Expressão do gene Dopa descarboxilase nas células da serosa de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Lucas Rodrigues Xavier, Gustavo Lazzaro Rezende

O besouro *Tribolium castaneum* é um modelo biológico muito utilizado para investigações que lançam mão de ferramentas genéticas. Também é muito conhecido por ser uma praga de grãos estocados, causando grandes prejuízos em várias partes do mundo. Nosso grupo utiliza-o para responder perguntas biológicas que envolvem a aquisição de resistência dos ovos de insetos à dessecação a partir da cutícula serosa (CS). A CS é a matriz extracelular secretada por várias células poliplóides que formam uma membrana extraembrionária, a serosa. As células que darão origem à serosa se diferenciam das células do embrião logo nas primeiras horas após a postura do ovo e, depois de diferenciadas, envolvem todo o embrião e secretam a CS que é depositada de forma adjacente à casca do ovo. Já se sabe que a CS tem papel na viabilidade de ovos expostos à ambientes secos e que é secretada entre 13 e 17 horas após a oviposição (hao). Dopa descarboxilase (Ddc) é uma enzima que participa das vias de esclerotização e melanização em insetos. Além disso, já é sabido que no mosquito *Anopheles gambiae* o gene de Ddc é expresso na serosa, onde provavelmente está relacionado com esclerotização da cutícula. Este estudo pretende verificar se o gene de Ddc de *T. castaneum* (*Tc-Ddc*) é expresso nas células da serosa durante o período em que a CS é secretada. Para isto, foram levantadas informações de bioinformática nos bancos de dados *BeetleBase*, *NCBI*, *BRENDA* e *Ensembl*, realizados RT-PCR para examinar o padrão de expressão do gene durante a embriogênese, clonagem e sequenciamento. A partir das sequências preditas foram desenhados *primers* de PCR. *Tc-Ddc* é expresso com 2, 6, 10, 14, 28 e 48 hao, estágios que compreendem a primeira metade da embriogênese. Ocorre um pico de expressão entre 10 e 28 hao, sugerindo a atuação de *Tc-Ddc* na formação da CS. Em seguida, fragmentos de *Tc-Ddc* foram clonados e sequenciados. Além da obtenção da sequência de *Tc-Ddc* esperada, descobriu-se um novo *splicing* alternativo desse gene nunca descrito antes. Este novo *splice* apresenta, em relação à forma canônica, uma redução de 52 aminoácidos na região central da proteína. O próximo passo é verificar, espacialmente, onde se dá a expressão dos dois diferentes *splices* de *Tc-Ddc* dentro do ovo via hibridização *in situ*. Futuramente, almeja-se fazer o silenciamento de *Tc-Ddc* através de RNAi, observar seu efeito no desenvolvimento da CS e na viabilidade dos ovos no seco.

Palavras-chave: Dopa descarboxilase, Cutícula serosa, Resistência à dessecação

Instituição de fomento: FAPERJ, UENF, CNPq