

## Identificação e expressão do gene codificador da leucil-aminopeptidase citosólica (Lap-A) em *Apis mellifera*

Luana Bataglia<sup>1</sup>, Marco Antonio Del Lama<sup>2</sup>, Francis Morais Franco Nunes<sup>2</sup>

1. Estudante de IC do Curso de Bacharelado em Biotecnologia, CCBS, UFSCar; \*luanabataglia19@gmail.com

2. Professor do Departamento de Genética e Evolução, CCBS, UFSCar

Palavras Chave: *abelha*, *expressão gênica*, *Lap-A*

### Introdução

Aminopectidases hidrolisam resíduos de aminoácidos da região N-terminal de peptídeos e polipeptídios. As inúmeras classes de aminopectidases são bem conservadas em estrutura e função, de bactérias a humanos. Em abelhas, estudos de atividade enzimática utilizando eletroforese em gel de amido revelaram aminopectidases em catorze espécies, incluindo *Apis mellifera*. Dentre as aminopectidases de *A. mellifera*, as análises sugeriram a existência de quatro genes distintos que potencialmente codificariam leucil-aminopeptidases (Lap). Nesse estudo, nosso objetivo foi identificar o gene codificador da leucil-aminopeptidase A (Lap-A) no genoma de *Apis mellifera* e verificar o padrão de expressão dos RNAs mensageiros (mRNA) em diferentes tecidos e fases do desenvolvimento.

### Resultados e Discussão

Identificamos 38 potenciais genes codificadores de aminopectidases no genoma de *A. mellifera*, dos quais um único modelo gênico, localizado no cromossomo 15, refere-se a Lap, que codifica uma proteína de 549 aminoácidos. As respectivas sequências de Lap em formato *fasta* foram recuperadas no *GenBank*, XM\_006560708.1 (mRNA) e XP\_006560771.1 (proteína), e serviram de entrada para buscas de ortólogos em genomas de outras abelhas, usando a ferramenta Blast. Detectamos ortólogos de Lap em Apidae (*Apis florea*, *Melipona quadrifasciata*, *Eufriesea mexicana*, *Bombus terrestris*, *Bombus impatiens*, *Habropoda laboriosa*), Megachilidae (*Megachile rotundata*), e Halictidae (*Lasioglossum albipes*, *Dufourea novaengliae*), que compreendem desde espécies solitárias às eussociais. Cabe ressaltar que a sequência proteica da Lap de *A. mellifera* apresenta 54% de identidade (*score: 507, query cover: 87%, e-value: 2e-173*) com a aminopectidase citosólica humana (NP\_056991.2). Foi realizada extração de RNA total a partir de amostras de diversos tecidos e fases do desenvolvimento de rainhas, operárias e zangões, usando o protocolo *TRIZOL* (*Life Technologies*). Após tratamento com DNase, procedeu-se a síntese de cDNA usando oligodT e a enzima *SuperScript* (*Life Technologies*). Oligonucleotídeos específicos foram desenhados para verificar a expressão de transcritos de Lap por meio de RT-PCR, seguido de eletroforese em géis de agarose 1%, corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta. Nossos achados indicam que Lap se expressa durante toda a embriogênese (0 a 72 horas) de ambos os sexos, indicando que são depositados como RNAs maternos bem como são transcritos após a ativação do genoma zigótico. Além disso, detectamos transcritos de Lap durante toda a fase larval (de larvas de primeiro instar a pré-pupas) de zangões e operárias. Tanto

em rainhas quanto em zangões, observamos a expressão de Lap ao longo do desenvolvimento dos órgãos reprodutores (ovários e testículos, respectivamente) desde as fases larvais (L4) até a emergência dos adultos (RE). Em operárias, verificamos a expressão de Lap no tegumento torácico e abdominal, desde pupas de olho branco até a fase de forrageamento, bem como no cérebro e no corpo gorduroso de indivíduos com 7 dias de vida adulta. Os perfis de expressão do presente estudo são coerentes com os dados de publicados por Del Lama & Mestriner (1984) e Del Lama et al. (2001). Esses autores detectaram a atividade enzimática de Lap-A em todos os estágios do desenvolvimento (embriões, larvas, pupas e adultos) e em diferentes tecidos de ambos os sexos (trato digestivo, trato reprodutivo, gânglio cerebral, tórax, antena e túbulos de Malpighi).

### Conclusões

As aminopectidases são classicamente conhecidas como enzimas digestivas. No entanto, nossos dados de expressão gênica ao longo do desenvolvimento e/ou em tecidos específicos de castas e sexos indicam que Lap é um gene de expressão ubíqua, com potencial função em diversos processos biológicos, ainda pouco explorados. Postula-se que, além do papel digestivo, as aminopectidases possuam papéis metabólicos, como regulação da concentração de aminoácidos e peptídeos circulantes nos organismos, manutenção da estabilidade osmótica e fornecimento de aminoácidos para anabolismo de proteínas (ver Del Lama & Ferreira, 2003). Dadas as presumidas funções exercidas por estas enzimas, análises quantitativas da expressão tecidual e no desenvolvimento das diferentes castas e sexos de *Apis mellifera* são indicativos de aspectos multifuncionais desta enzima, abrindo perspectivas para novas investigações.

### Agradecimentos

A todos os membros do Laboratório de Genética Evolutiva de Himenópteros pelo apoio técnico.

Del Lama MA, Mestriner MA. 1984. Starch-Gel Electrophoretic patterns of exopeptidase phenotypes in 14 different species of bees. *Rev Bras Gen.* 7(1):9 - 20.

Del Lama MA, Bezerra RM, Soares AEE, Ruvolo-Takasusuki MCC. 2001. Genetic, ontogenetic, and tissue-specific variation of aminopectidases of *Apis mellifera*. *Apidologie.* 32:1-11.

Del Lama MA, Ferreira KM. 2003. Genetic characterization of the peptidases of *Polistes versicolor* (Hymenoptera: Vespidae). *Braz J Biol.* 63(2):291-9.