

Validação de cópia potencialmente funcional de gene *sstr3* localizada no cromossomo B de *Astatotilapia latifasciata* (Cichlidae).

Amanda Alves Caetano Lima Da Silva, Adauto Lima Cardoso, Jordana Inácio N. Oliveira, Cesar Martins. Laboratório Genômica Integrativa, Departamento de Morfologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. alves.caetano@unesp.br

Palavras Chave: cromossomos supranumerários; duplicação gênica; somatostatina.

Introdução

Cromossomos B¹ (B) são unidades genéticas extras presentes em várias espécies de eucariotos e seus efeitos são pouco esclarecidos. Estudos genômicos no ciclídeo *Astatotilapia latifasciata*², revelaram a presença de vários genes com altos níveis de integridade em seu cromossomo B, como o gene *somatostatin receptor type 3 like* (*sstr3*), um receptor de somatostatina³, que é um hormônio regulatório das vias endócrinas e pancreática, tendo papel notável como inibidor da secreção de hormônios do crescimento.

Objetivo

Assim, o objetivo do presente estudo foi validar a presença do gene *sstr3* no cromossomo B de *A. latifasciata* e verificar sua possível transcrição a fim de testar possíveis efeitos de cromossomos B em seus portadores.

Material e Métodos

Reads de genomas e transcriptomas de indivíduos sem B e com B foram alinhadas contra a sequência do gene *sstr3* de *Maylandia zebra* (genoma de referência) a fim de se verificar os níveis de cobertura deste gene e possíveis mutações associadas com o cromossomo B.

Em seguida, realizamos PCR com *primers* construídos especificamente para a cópia de *sstr3* no cromossomo B. Para avaliarmos o nível transcricional de *sstr3* utilizamos RT-qPCR em um *pool* de RNA de cérebro, gônadas e músculos, com os *primers* específicos para o gene no cromossomo B.

Resultados e Discussão

Pelo alinhamento das *reads* contra a sequência de gene *sstr3*, nós verificamos maior cobertura de *reads* nas amostras com cromossomo B, além de mutações em parte das *reads* destas essas amostras (Figura 1 A). Isso indica que há uma duplicação desse gene nos indivíduos que possuem B.

Realizamos PCR com *primers* específicos para estas mutações, onde houve amplificação apenas nas amostras com cromossomo B, confirmando a presença deste gene no cromossomo B (Figura 1 B). Posteriormente, fizemos a análise

transcricional utilizando RT-qPCR e confirmamos expressão específica da cópia de *sstr3* localizada no cromossomo B (Figura 1C).

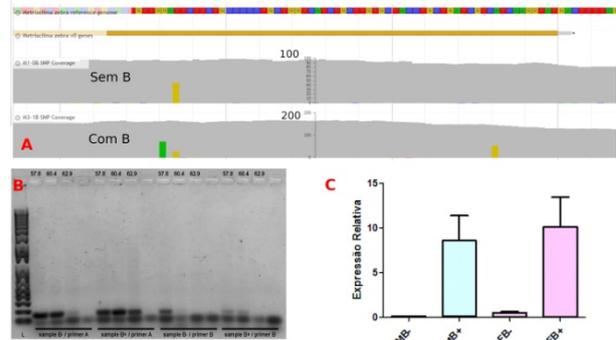


Figura 1. A – Cobertura das *reads* do gene *sstr3*; B – Gradiente de amplificação do gene *sstr3*; C – Expressão do gene *sstr3*.

Conclusões

Nossos dados confirmam a presença de uma cópia transcionalmente ativa do gene *sstr3* no cromossomo B. Tendo isso como base, podemos prever que indivíduos portadores de cromossomo B devem expressar mais receptores para somatostatina e, portanto, devem absorver mais este hormônio e ter suas secreções exócrinas e endócrinas mais inibidas.

Agradecimentos

Agradecimentos à FAPESP e ao Laboratório de Genômica Integrativa.

¹Camacho JPM, Sharbel TF, Beukeboom LW, B-chromosome evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2000, 355:163-178.

²Valente, G. T. et al. Origin and evolution of B chromosomes in the cichlid fish *Astatotilapia latifasciata* based on integrated genomic analyses. *Mol. Biol. Evol.* 31, 2014, 2061–2072.

³Patel, Y. C. Somatostatin and Its Receptor Family. *Frontiers in Neuroendocrinology* 20,1999, 157–198.