

# CLONAGEM MOLECULAR E SEQUENCIAMENTO DO GENE NEUROPEPTÍDEO Y EM PEIXE-REI (*Odontesthes humensis* DE BUEN, 1953)

SILVA, Lucas<sup>1\*</sup>; CAMPOS, Vinicius<sup>1</sup>.



<sup>1</sup>Laboratório de Genômica Estrutural - Centro de Desenvolvimento Tecnológico Universidade Federal de Pelotas.  
Campus Capão do Leão, RS, Brasil  
E-mail: lucasantos\_17@hotmail.com



paz no plural

## 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Dentre as moléculas orexigênicas existentes, destacam-se os neuropeptídeos. Especificamente em peixes, o Neuropeptídeo Y (NPY) é considerado o mais importante estimulador de apetite. O rápido ganho de peso corporal é uma característica desejável na aquicultura. Para isso, é fundamental o conhecimento das rotas moleculares envolvidas no processo de alimentação dos peixes. No entanto, em peixe-rei *Odontesthes humensis*, uma espécie encontrada na região sul do Rio Grande do Sul (RS) e com potencial para aquicultura, até o momento não existem estudos genômicos de expressão em relação ao NPY. Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo a clonagem molecular, o sequenciamento e a caracterização do gene NPY em peixe-rei.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS



## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Extração de RNA e confecção de cDNA

O RNA extraído apresentou concentração de 200 ng/μl e uma relação A260/A280 ≥ 2, apresentando condições ideais para confecção do cDNA.

### 3.2. Clonagem e purificação

A PCR em gradiente evidenciou 55°C como melhor temperatura de anelamento para *primers* desenhados, como constatado por eletroforese em gel de agarose. Após excisão e purificação a partir banda contendo o fragmento amplificado, a quantificação do produto final apresentou relação A260/280 ≥ 1.8, podendo assim, realizar outra reação de PCR com diluições para identificar a melhor diluição para posterior sequenciamento (Fig. 1).

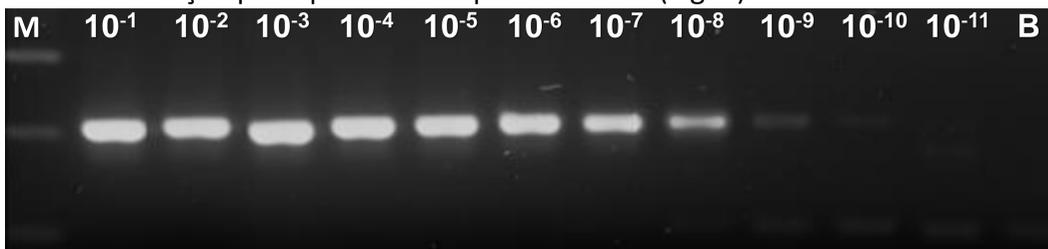


Fig. 1: Visualização em gel de agarose dos fragmentos amplificados por PCR com diluições, variando de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-11</sup> e controle negativo (B), podendo identificar a diluição 10<sup>-7</sup> ideal para ser sequenciada.

### 3.4. Sequenciamento

O sequenciamento resultou em uma sequência consenso contendo 193bp, que após análise por bioinformática, apresentou identidade superior a 90% com sequências de Neuropeptídeo Y de outras espécies (Fig. 2).

ATCGTGC GTGACATCAAGGAGAAGCTGTGCTACGTTGCCCTGGACTT

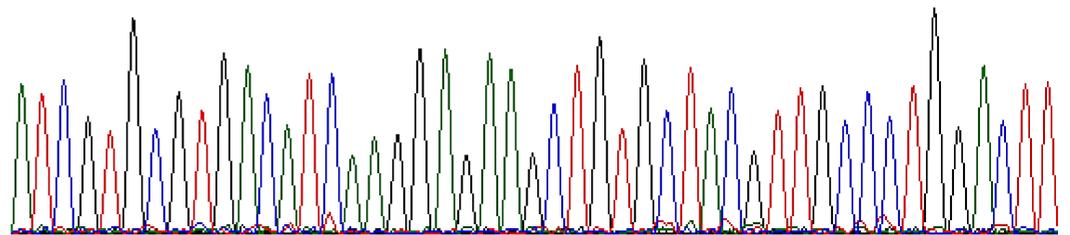


Fig. 2: Porção do eletroferograma resultante do sequenciamento do gene do Neuropeptídeo Y.

### 3.5. Análise da Expressão Gênica

Através da técnica de qPCR, obteve-se o resultado em que peixes expostos ao herbicida Glifosato não elevaram seu nível de expressão do gene Neuropeptídeo Y (Fig.3).

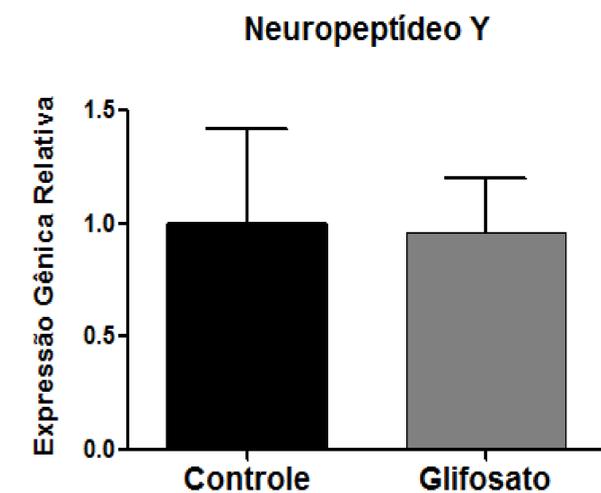


Fig. 3: Análise da expressão gênica do gene Neuropeptídeo Y.

## 4. PERSPECTIVAS

Este trabalho tem como perspectiva a ampliação do estudo referente a expressão gênica de outros genes envolvidos com estresse oxidativo, já clonados pelo nosso grupo de pesquisa, através da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real.

## 5. BIBLIOGRAFIA

CAMPOS, V *et al.* Identification, tissue distribution and evaluation of brain neuropeptide Y gene expression in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. n.35. Journal of Biosciences, 2010. pag: 405-413.

CAMPOS, V *et al.* Neuropeptide Y gene expression around meal time in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. n.37. Brief communication, 2012. pag: 227-232.

LI, M; TAN, X; SUI, Y; JIAO, S; WU, Z; WANG, L; YOU, F. The stimulatory effect of neuropeptide Y on growth hormone expression, food intake, and growth in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish Physiology and Biochemistry, 2016. pag: 1-8.