

CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS RELACIONADAS AO METABOLISMO DE LIPÍDEOS EM *Aedes aegypti*

Luan Valim dos Santos¹; Sabrina Rita da Fonseca Rezende²; Mario Geraldo de Carvalho³ & Emerson Guedes Pontes⁴

1. Bolsista FAPERJ, Discente do Curso de Ciências Biológicas, IB/UFRRJ; 2. Pós-doutoranda PNPd/CAPES, DEQUIM/ICE/UFRRJ; 3. Professor do DEQUIM/ICE/UFRRJ 4. Professor do DEQUIM/ICE/UFRRJ.

Palavras-chave: Lipase; perilipina; CGI-58; bioenergética.

Introdução

A cada ano observa-se um aumento crescente nos casos de dengue no Brasil. Na ausência de uma vacina contra essa doença, o controle deve se concentrar no vetor *Aedes aegypti*. Uma alternativa é compreender como ocorre o funcionamento de mecanismos essenciais para a manutenção da vida do inseto, como por exemplo, o metabolismo de lipídios. A caracterização molecular da expressão de lipases, perilipina e CGI-58, proteínas que estão diretamente associadas ao metabolismo, é de suma importância para compreender a homeostase do animal. As lipases estão associadas à hidrólise de triacilglicerol (Lord & Brown, 2012). A CGI-58 é um co-ativador da hidrólise de triacilglicerol por lipases (Lass et al., 2006), quando não encontra-se sob estímulo hormonal a proteína CGI-58 é sequestrada pela perilipina e mantida na gotícula de lipídios e a ATGL (Adipose triglyceride lipase) está associada à gotícula de lipídios. Uma vez submetida a uma estimulação hormonal uma proteína quinase fosforila a perilipina que libera a CGI-58 que vai se ligar a ATGL ativando-a (Granneman et al., 2007). O presente estudo tem como objetivo caracterizar a expressão dessas proteínas em estágios larvais, pupas e adultos de *Aedes aegypti*.

Metodologia

Os animais foram mantidos em condições controladas de umidade, luminosidade e alimentação. Os insetos foram coletados para a extração de RNA total utilizando Direct-zol™ RNA MiniPrep Kit em diferentes estágios de desenvolvimento. Após isso, as amostras foram quantificadas utilizando Nanodrop® ND-1000 e amostras com a concentração de 1µg diluído em 8µl de H₂O-DEPC 0,1% (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA). As amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Fermentas Internacional Inc., Burlington, Canadá) para a remoção de uma eventual contaminação por DNA genômico. Foi executada a síntese do cDNA através do High-capacitycDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystem, Foster City, EUA). As amostras de cDNA foram amplificadas através de uma técnica de Reações da Polimerase em Cadeia (PCR End-Point) com a utilização da enzima Taq DNA polimerase (Fermentas) e *primers* específicos para a amplificação de cada fragmento do gene da perilipina. Aos produtos de PCR obtidos foi adicionado o corante blue-green LoadingDye I (LGC Biotecnologia) e submetidos a eletroforese em gel de agarose 1,8% em tampão TAE 1X (Tris-acetato 40 mM, EDTA 1 mM). As reações de PCR em tempo real (qPCR) foram realizadas equipamento StepOnePlus Real Time PCR System (Applied Biosystems) usando Power SYBR® Green PCR Master Kit (Applied Biosystems). RP49 foi utilizado como gene normalizador.

Resultados e Discussão

Os resultados mostram que o mosquito *Aedes aegypti* expressa o gene da perilipina. A expressão diferencial foi determinada através de PCR quantitativo (Figura). Foram avaliados larvas (L1, L2, L3 e L4), pupas, machos e fêmeas adultos alimentados com sacarose e fêmeas alimentadas com sangue. Nos estágios larvais foi observada maior expressão em L1, o que

sugere uma preparação no estabelecimento de reservas de lipídios nos estágios seguintes. Em fêmeas adultas alimentadas com sangue observou-se o aumento de aproximadamente sete vezes mais na expressão relativa, quando comparadas com machos e fêmeas alimentados com sacarose. O aumento dessa expressão indica uma preparação para estabelecimento de reservas de lipídios e futura contribuição na ovogênese (Ziegler & Ibrahim, 2001). A pupa em relação ao controle L1 foi observada uma redução na expressão da perilipina.

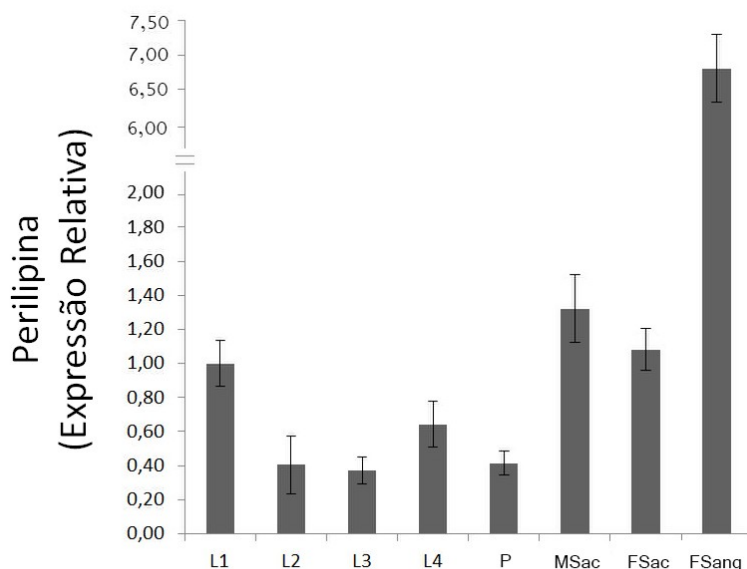


Figura. Expressão do gene da perilipina em *Aedes aegypti* em diferentes estágios de desenvolvimento. Estágios larvais (L1, L2, L3 e L4), pupa (P), macho alimentado com sacarose (MSac), fêmea alimentada com sacarose (FSac) e fêmea alimentada com sangue (FSang).

Conclusão

Os resultados indicam que a perilipina é expressa em *A. aegypti* e que essa expressão ocorre de forma diferencial nos diferentes estágios larvais, pupa e adultos.

Agradecimento e Auxílio financeiro

Professor Mario Geraldo de Carvalho, professor titular ICE, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Entomologia Molecular/CNPq, PNPd Institucional - CAPES.

Referências Bibliográficas

- GRANNEMAN, J. G., MOORE, H. P. H., GRANNEMAN, R. L., GREENBERG, A. S., OBIN, M. S., & ZHU, Z. (2007). Analysis of lipolytic protein trafficking and interactions in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 282(8), 5726–5735. <http://doi.org/10.1074/jbc.M610580200>
- LASS, A., ZIMMERMANN, R., HAEMMERLE, G., RIEDERER, M., SCHOISWOHL, G., SCHWEIGER, M., ... ZECHNER, R. (2006). Adipose triglyceride lipase-mediated lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in Chanarin-Dorfman Syndrome. *Cell Metabolism*, 3(5), 309–319. <http://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.03.005>

LORD, C. C., & BROWN, J. M. Distinct roles for a - b hydrolase domain 5 (ABHD5 / CGI-58) and adipose triglyceride lipase (ATGL / PNPLA2) in lipid metabolism and signaling, 123–131. September, 2012.

ZIEGLER R., IBRAHIM, M. M. Formation of lipid reserves in fat body and eggs of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *J Insect Physiol.* 47:623-27. 2001.