

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**

**Expressão de *Ultrabithorax* e o desenvolvimento casta-específico de apêndices
torácicos de *Apis mellifera***

ANA DURVALINA BOMTORIN

**RIBEIRÃO PRETO
-2013-**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

**Expressão de *Ultrabithorax* e o desenvolvimento casta-específico de apêndices
torácicos de *Apis mellifera***

ANA DURVALINA BOMTORIN

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Genética

Orientadora: Profa. Dra. Zilá L. P. Simões

RIBEIRÃO PRETO
-2013-

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento da Informação do Serviço de Biblioteca –FMRP-USP

BOMTORIN, ANA DURVALINA

Expressão de *Ultrabithorax* e o desenvolvimento casta-específico de apêndices torácicos de *Apis mellifera*./Ana Durvalina Bomtorin – Ribeirão Preto, 2013.

Tese de Doutorado, apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Departamento de Genética. 2013.

Orientadora: Zilá Luz Paulino Simões

115p.:28il.

1. *Apis mellifera*. 2. Hox. 3. Genes diferencialmente expressos. 4.

Folha de Aprovação

Ana Durvalina Bomtorin

Expressão de *Ultrabithorax* e o desenvolvimento casta-específico de apêndices torácicos de *Apis mellifera*.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para Obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Genética

DATA DA DEFESA: __ / __ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Mudam-se os tempos, mudam-se as vontades,
Muda-se o ser, muda-se a confiança;
Todo o Mundo é composto de mudança,
Tomando sempre novas qualidades.
(...) Do mal ficam as mágoas na lembrança,
E do bem, se algum houve, as saudades.
(Luís de Camões)

A meus pais, por todo amor...

... Dedico.

Agradecimentos

Deixo aqui registrado os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a elaboração deste trabalho. Agradeço:

- ✓ À Profa. Dra. Zilá Luz Paulino Simões minha orientadora, pela amizade, carinho e paciência ao longo destes anos e também pela oportunidade de poder fazer parte de seu grupo de trabalho;
- ✓ Ao Prof. Dr. Angel Roberto Barchuk, meu co-orientador, pela amizade, paciência e colaboração científica, da qual eu só aprendi coisas boas;
- ✓ Ao Prof. Dr. Claudio R. Alonso, meu orientador no Exterior, durante o “sanduíche” na Universidade de Sussex, por me receber em seu grupo de trabalho, com o qual tive a oportunidade de aprender muito;
- ✓ À Profa. Dra. Márcia Maria Gentile Bitondi e ao Prof. Dr. Klaus Hartfelder pela amizade e discussões científicas sempre muito produtivas para mim;
- ✓ Aos Professores Dr. Lionel Segui Gonçalves, Dr. David de Jong,, Dr. Fábio dos Santos Nascimento, Dr. Eduardo A. B. de Almeida, Dr. Carlos A. Garófalo e em especial, ao Dr. Ademilson Espencer Soares (coordenador do Programa de Pós-Graduação em Genética) que completam o grupo de pesquisa com abelhas em Ribeirão Preto;
- ✓ Aos técnicos do laboratório, Vera L. C. Figueiredo, Marcela Ap. F. B. Laure, Luis Roberto Aguiar, Rogério A. Pereira e Pedro R. Prado, que são essenciais para o desenvolvimento de todos os trabalhos;
- ✓ Ao Departamento de Biologia Celular e Molecular de Bioagentes Patogênicos pelos microscópios confocal e varredura e aos técnicos, José Augusto Maulin and Maria Dolores Seabra Ferreira;
- ✓ À Profa. Dra. Eliana Gertrudes de Macedo Lemos e ao Prof. Dr. Jackson Antonio Marcondes de Sousa, do Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas do Departamento de Tecnologia da UNESP (*campus* de Jaboticabal), pela concessão do Scanner de lâminas de *microarrays*;
- ✓ Aos Dr. Alexandre dos Santos Cristino e Dr. Daniel Pinheiro pela ajuda com as análises de bioinformática;
- ✓ A todos os colegas e amigos do Laboratório de Ribeirão Preto pela colaboração diária nos trabalhos e amizade (Dra. Érica Tanaka, Dra. Karina Guidugli, Dra. Michelle Prioli, Dra. Lívia M. R. Moda, Dr. Rodrigo D’allaqua, Dr. Francis M. Franco Nunes, MSc. Flávia Cristina, MSc. Tathiana Mello, MSc. Ana Rita Baptistella, MSc. Liliane M. F. Macedo, MSc. Camilla Valente, Tiago Falcon e Natália Hernandes);
- ✓ My friends and labmates from Brighton, thank you very much for being part of my life – Dr Stefan Thomsen, Dr Inacio Pueyo, Dr John Cheesbro, MSc Richard Kaschula, MSc Casandra Villava, MSc João Osório, MSc Pedro Patraquim, MSc Elvira Lafuente, MSc Ipek Özdemir, Msc Ali Mumtaz, MSc Unum Amin;

- ✓ Ao Departamento de Genética e ao Programa de Pós-Graduação em Genética pela oportunidade de aprendizado e especialmente às secretárias, Maria Aparecida Oliveira Silva Elias, Susie Adriana Penha Nalon e Silvia Sant'anna Consiglieri.
- ✓ Ao Departamento de Biologia e aos Programas de Pós-Graduação em Biologia Comparada e Entomologia, em especial às secretárias Renata Andrade Cavallari e Vera Lucia Cicilini de Lucca
- ✓ Às agências de fomento, FAPESP e CAPES, pelo apoio financeiro.

Sumário

RESUMO I

ABSTRACT III

1. INTRODUÇÃO 1

1.1. A DIFERENCIAÇÃO MORFOLÓGICA DE OPERÁRIAS E RAINHAS EM ABELHAS 1

1.2. ULTRABITHORAX E A REGULAÇÃO DAS DIFERENÇAS MORFOFISIOLÓGICAS DE RAINHAS E OPERÁRIAS 2

1.3. DO PROCESSAMENTO DO MRNA DE UBX EM DROSOPHILA 4

1.4. A REGULAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS APÊNDICES TORÁDICOS POR MIRNAS 6

1.5. FORMULAÇÃO DA HIPÓTESE DE TRABALHO 7

2. OBJETIVOS 9

2.1. OBJETIVOS GERAIS 9

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 9

3. MATERIAL E MÉTODOS 10

3.1. MATERIAL BIOLÓGICO - OBTENÇÃO DE PERNAS E ASAS DE ABELHAS ADULTAS 11

3.1.1. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA 11

3.1.2. FOTOGRAFIA EM ESTEREOMICROCÓPIO 12

3.2. MATERIAL BIOLÓGICO - OBTENÇÃO DE ABELHAS, DISCOS IMAGINAIS E PERNAS 12

3.3. HIBRIDAÇÃO DE LÂMINAS DE MICROARRAYS PARA ANÁLISE DOS PERFIS TRANSCRICIONAIS 15

3.3.1. HIBRIDAÇÃO DE LÂMINAS DE MICROARRAYS 15

3.3.2. OBTENÇÃO DOS DADOS DAS LÂMINAS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS 18

3.4. ANÁLISES COMPUTACIONAIS DAS REGIÕES 5' E 3' DOS GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS 20

3.5. MATERIAL BIOLÓGICO - OBTENÇÃO DE ASAS E PERNAS DE PUPAS DE FÊMEAS 20

3.6. EXTRAÇÃO DE RNA E SÍNTESE DO CDNA 21

3.7. ANÁLISES DE EXPRESSÃO GÊNICA DE UBX 21

3.7.1. ANÁLISES POR RT-PCR SEMI-QUANTITATIVA (RT-SQPCR) 21

3.7.2. CLONAGEM E SEQUENCIAMENTO 23

3.7.3. ANÁLISES POR RT-PCR QUANTITATIVA (RT-QPCR) 23

3.8. ANÁLISES DE BIOINFORMÁTICA DA REGIÃO 3'UTR DE UBX 24

3.9. MATERIAL BIOLÓGICO - OBTENÇÃO DE DISCOS IMAGINAIS DE ASAS DE OPERÁRIAS.....	26
3.10. ANÁLISES DO SEQÜENCIAMENTO DE RNA CURTOS QUANTO AO CONTEÚDO DE MIRNA	26
4. RESULTADOS	28
4.1. MORFOLOGIA DOS CARACTERES EXTERNOS DOS APÊNDICES TORÁDICOS DE OPERÁRIAS E RAINHAS	28
4.2. ASSINATURAS DE EXPRESSÃO GÊNICA DURANTE O DESENVOLVIMENTO DE PERNAS METATORÁDICAS DE OPERÁRIAS E RAINHAS	31
4.3. GENES SIMILARES AO GRUPO TRITHORAX (TRX-G) SÃO MAIS EXPRESSOS NO INÍCIO DA DIFERENCIAÇÃO DAS PERNAS MESOTORÁDICAS	38
4.4. O MIR-9A E SEUS ALVOS ESTÃO DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS ENTRE OPERÁRIAS E RAINHAS	39
4.5. OS GENES DO <u>CLUSTER 1A</u> PODEM SER REGULADOS POR <u>UBX</u>	41
4.6. A TRANSCRIÇÃO DE <u>UBX</u> NOS APÊNDICES TORÁDICOS <u>A. MELLIFERA</u>	47
4.6.1. <u>UBX</u> SOFRE <u>SPLICING</u> ALTERNATIVO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DOS APÊNDICES TORÁDICOS DE FÊMEAS DE ABELHAS	47
4.6.2. DA NATUREZA DAS ISOFORMAS DE <u>UBX</u>	48
4.6.3. A TRANSCRIÇÃO DIFERENCIAL DE <u>UBX</u> EM PUPAS ESTÁ RELACIONADA AOS APÊNDICES TORÁDICOS MORFOLOGICAMENTE DIFERENTES EM OPERÁRIAS E RAINHAS.....	51
4.7. O USO DA REGIÃO 3'UTR DE <u>UBX</u> DURANTE O DESENVOLVIMENTO DAS ASAS DE OPERÁRIAS	54
4.8. A REGIÃO REPETITIVA DA REGIÃO 3'UTR DE <u>UBX</u> TEM MENOS SÍTIOS DE LIGAÇÃO PARA OS MIRNAS	56
4.9. OS MIRNAS EXPRESSOS NAS ASAS DE OPERÁRIAS.....	60
4.9.1. DEZ MIRNAS COM SÍTIOS DE LIGAÇÃO PREDITOS EM <u>UBX</u> SÃO EXPRESSOS NAS ASAS DE OPERÁRIAS	62
5. DISCUSSÃO	64
5.1. A REGULAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DIFERENCIAL DO PAR DE PERNAS METATORÁDICAS DE OPERÁRIAS E RAINHAS	65
5.1.1. A REGULAÇÃO GÊNICA DO DESENVOLVIMENTO DE CERDAS SENSORIAIS EM PERNAS METATORÁDICAS DE OPERÁRIAS	67
5.1.2. O CONTROLE DA EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL ENTRE AS CASTAS POR <u>UBX</u>	69
5.2. A EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE <u>UBX</u> ENTRE AS CASTAS ESTÁ ASSOCIADA A APÊNDICES TORÁDICOS COM ESTRUTURAS CASTA-ESPECÍFICAS	71
5.2.1. SOBRE O CONTROLE DO <u>SPLICING</u> ALTERNATIVO DE <u>UBX</u> EM <u>A. MELLIFERA</u>	73
5.2.2. SOBRE O USO DA REGIÃO 3'UTR DE <u>UBX</u> EM ABELHAS.....	76

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

