



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	AMPLIFICAÇÃO, CLONAGEM E SEQUENCIAMENTO DO GENE DA PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO (HSP70) EM PEIXE-REI (Odontesthes humensis DE BUEN, 1953)
Autor	BRUNA FAGUNDES BARRETO
Orientador	VINICIUS FARIAS CAMPOS



AMPLIFICAÇÃO, CLONAGEM E SEQUENCIAMENTO DO GENE DA PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO (HSP70) EM PEIXE-REI (*Odontesthes humensis* DE BUEN, 1953)

BARRETO, Bruna; CAMPOS, Vinicius (orientador).

*Bruna Fagundes Barreto: brunaf.barreto@live.com

Universidade Federal de Pelotas, Laboratório de Genômica Estrutural, CD Tec, Campus
Universitário, S/N – CEP 96160-000, Capão do Leão, RS-Brasil

As proteínas de choque térmico (HSPs) têm como principal função o enovelamento protéico e a manutenção da estrutura frente à variação térmica no organismo. Pouco se sabe sobre as funções da HSP70 em peixes submetidos a variações de cultivo. *Odontesthes humensis* ocorre com frequência no sul da América do Sul. Porém, a alta exigência por qualidade de água tem dificultado seu cultivo. Visando subsidiar estudos futuros sobre fisiologia e manejo, o estudo teve por objetivo a clonagem e o sequenciamento do gene HSP70 em peixe-rei. A coleta de tecidos branquiais foi realizada no Laboratório de Piscicultura na Barragem do Chasqueiro (UFPEL). Posteriormente, foi realizada a extração de RNA, seguida da estimativa de concentração e pureza por espectrofotometria. Apenas as amostras de RNA que apresentaram $\geq 500\text{ng}/\mu\text{l}$ e pureza satisfatória foram utilizadas para a confecção de cDNA. Após, *primers* foram desenhados com a ferramenta *on-line* PriFi. Para a amplificação do gene foram realizadas reações de *Degenerate* PCR em diferentes temperaturas de anelamento dos *primers*. A confirmação da amplificação foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1,2%, seguida da purificação do produto, utilizando colunas para lavagem e precipitação. O produto de PCR purificado foi sequenciado através do método de Sanger automatizado. Obtido o produto final do sequenciamento, BLASTs foram realizados no GenBank para análise do grau de semelhança entre a sequência obtida e as sequências depositadas. As amostras de RNA extraídas a partir de brânquias apresentaram uma concentração média de $600\text{ng}/\mu\text{l}$ e grau de pureza ≥ 2.0 , sendo todas as amostras utilizadas para confecção de cDNA. Foi obtido um primer senso com 20 nucleotídeos e um antisenso com 21 nucleotídeos. A partir de reações de PCR com diferentes temperaturas de anelamento e da visualização em gel de agarose, foi possível eleger uma temperatura ótima de anelamento de 61°C , pois assim foi possível a visualização de uma única banda com o tamanho esperado de 286bp. Obtivemos uma sequência final de 286bp e observou-se que o gene sequenciado teve 99% de identidade com HSP70 de outros organismos. Sendo assim, realizou-se o depósito da sequência no GenBank, sob o número de acesso KU639716. Como perspectiva temos a análise da expressão da HSP70, de forma a esclarecer seu papel em organismos exigentes quanto às variações de temperatura e qualidade da água.