

ADAPTAÇÕES METABÓLICAS SAZONAIS NA PERERECA SULAMERICANA *Boana pulchella*: OBTENDO SEQUÊNCIAS PARCIAIS PARA ESTUDOS MOLECULARES EM UM ORGANISMO NÃO-MODELO

AMARAL, Marjoriane¹; HOFF, Mariana Leivas Müller²; COLOMBO, Patrick³;
KUCHARSKI, Luiz Carlos⁴

RESUMO

Introdução: A perereca *Boana pulchella* habita regiões de clima subtropicais e se reproduz em todas estações do ano, inclusive no inverno. Resultados mostraram que variações no metabolismo da glicose no fígado e no músculo ao longo do ano podem estar relacionadas com o padrão de atividade desta espécie. A entrada de glicose nas células é regulada e ocorre através de um grupo de transportadores específicos, os GLUTs. Dessa forma, a expressão de GLUT 2 (gene *slc2a2*), a isoforma mais expressa em hepatócitos de outras espécies de anuros, pode contribuir para o entendimento do papel da glicose nesta espécie. Como não há sequência gênica descrita para *B. pulchella*, precisamos, primeiramente, obter sequências parciais de *slc2a2* e *actb* (escolhida como normalizador para PCR quantitativa). **Objetivo:** Obter as sequências parciais para *actb* e *slc2a2*. **Material e métodos:** Fígado de *B. pulchella* (capturada na APA do Banhado Grande/RS) foi coletado e congelado até extração de RNA. O RNA foi extraído com TRI Reagent[®] (Sigma) ou SV RNA Total Isolation System[®] (Promega) e sua qualidade foi verificada em NanoVue (Analítica) e gel de agarose. O cDNA foi sintetizado (kit SuperScript II Reverse Transcriptase[®] (Invitrogen) e usado como molde para PCR Taq DNA polimerase[®] (Invitrogen). Primers degenerados para *slc2a2* e *actb* foram desenhados a partir do alinhamento das sequências de espécies filogeneticamente próximas disponíveis no GenBank (NCBI). Amplificação foi confirmada em eletroforese, o produto extraído do gel com o kit PureLink[®] (Invitrogen) e sequenciado através de serviço comercial. **Resultados:** RNA extraído com TRI Reagent ($A_{260/280}=1,819$ $A_{260/230}=0,951$) foi usado para sintetizar cDNA, molde na PCR. Após muitas tentativas e modificações nos parâmetros da PCR, não houve amplificação. Então, extraímos RNA com SV RNA Total Isolation System[®] ($A_{260/280}$ e $A_{260/230} > 2$), sintetizamos cDNA e realizamos a PCR, obtendo amplificação somente para *actb*. O sequenciamento do amplificado mostrou a sequência parcial para *actb* de *B. pulchella*. **Conclusão:** Trabalhar com organismos alternativos é sempre um desafio. Possivelmente, parte da dificuldade esteja na qualidade do RNA e parte na especificidade do primer. Obtivemos a sequência parcial para *actb* e, quanto a *slc2a2*, novos primers degenerados foram desenhados para futuros experimentos.

Palavras-chave: Anuros; extração de RNA; primers degenerados

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. marjoriane.amaral@ufrgs.br.

² PPG Ciências Biológicas: Fisiologia, ICBS/UFRGS, bolsista PNPd/CAPES. hoffmlm@gmail.com.

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. patrick_colombo@hotmail.com.

⁴ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 00006898@ufrgs.br.