

CARACTERIZAÇÃO DE TRANSPOSONS DE CICLO ROLANTE NO GENOMA DE UMA VESPA PARASITOIDE DE *DROSOPHILA*

LUIZ FERNANDO DUARTE DA SILVA¹; ALEXANDRE FREITAS DA SILVA²; LAÍS CESCHINI MACHADO²; ELGION LORETO³; PAULO MARCOS PINTO²; GABRIEL DA LUZ WALLAU⁴

¹ Universidade Federal do Pampa – luzfernandoduarte92@hotmail.com

² Universidade Federal do Pampa – alexfreitasbiotec@gmail.com ; laisceschini@gmail.com ; paulopinto@unipampa.edu.br

³ Universidade Federal de Santa Maria – elgionl@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Pampa – gabriel.wallau@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os elementos de transposição são parasitas genômicos que utilizam a maquinaria molecular do genoma hospedeiro para sua própria propagação. Esses parasitas possuem uma grande diversidade e estão presentes em praticamente todos os genomas analisados até o momento (PRITHAM, 2009). Entretanto, existe um viés de conhecimento sobre a distribuição desses elementos, pois são bem caracterizados somente nos genomas de espécies que são modelos experimentais, tais como *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* e *Arabidopsis thaliana* (KAPITONOV & JURKA, 2001).

O desenvolvimento das técnicas de sequenciamento em larga escala, na última década, permitiu que os pesquisadores pudessem acessar os genomas tanto de espécies modelos, como as de não modelos. Dessa forma, atualmente podemos melhor caracterizar o conteúdo gênico de espécies que não são modelos para ciência e descrever mais fidedignamente a diversidade dessas sequências.

Os elementos *Helitrons* foram primeiramente caracterizados por KAPITONOV & JURKA (2001) em *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans* e *Oryza sativa*. Entretanto, nos anos subsequentes vários *Helitrons* foram encontrados nas mais variadas espécies, desde protistas até mamíferos (KAPITONOV & JURKA, 2007, SOROURIAN et al, 2010), mostrando assim que esses elementos possuem uma ampla distribuição na árvore da vida. Esses elementos são classificados como de classe II, que se transpõem por um intermediário de DNA, porém são posicionados na Subclasse II uma vez que cortam e replicam apenas uma das fitas de DNA, utilizando um mecanismo de cópia e cola. *Helitrons* são caracterizados por apresentar um tamanho que varia entre 5 até 16 kb e múltiplas regiões codificantes, incluindo uma DNA helicase que é uma proteína importante no seu mecanismo de transposição (KAPITONOV & JURKA, 2001).

O objetivo desse trabalho é caracterizar os elementos de transposição de ciclo rolante (também conhecidos como *Helitrons*) no genoma de uma vespa parasitóide de *Drosophila* neotropical que teve seu genoma recentemente sequenciado.

2. METODOLOGIA

Flores de *Cestrum* foram coletadas em Santa Maria - RS e levadas para o laboratório. Essas flores foram mantidas a temperatura ambiente por 10 dias para emergência das espécies de *Drosophila* e suas vespas parasitoides. A partir da

obtenção das vespas, seu DNA foi extraído utilizando o kit NucleoSpin Tissue XS (MACHEREY-NAGEL). Posteriormente, esse DNA foi sequenciado utilizando a plataforma Illumina de sequenciamento de nova geração Solexa-Illumina HiSeq2000. Com as leituras em mãos, utilizamos uma nova abordagem, baseada na clusterização de sequências usando gráficos, para a montagem dos elementos de transposição disponível no webserver RepeatExplorer (<http://repeatexplorer.org/>) (NOVÁK, NEUMANN, PECH, STEINHAIŠL, & MACAS, 2013). As montagens geradas por esse programa foram então analisadas por NCBI BLAST (ALTSCHUL et al., 1997) e RepeatMasker (JURKA et al., 2005) para avaliar se estes eram provenientes de elementos de transposição. Homólogos encontrados nesses bancos de dados foram recuperados e alinhados usando o programa MAFFT (KATOĤ & STANDLEY, 2013). A partir do alinhamento, uma árvore filogenética foi reconstruída, através de máxima verossimilhança utilizando o software PhyML (GUINDON et al., 2010), e o modelo de substituição de aminoácidos LG + I + G como sugerido pelo software Prottest 2.4. Esta análise visou compreender as relações dos *Helitrons* encontrados nesse trabalho com os já descritos na literatura. O suporte dos ramos foi avaliado pelo método de SH-like e 1000 réplicas de bootstrap.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Usando uma busca nas sequências geradas encontramos 3 *contigs* que apresentaram homologia com elementos *Helitrons* de *Acyrtosiphon pisum* (Helitron-1_AP), uma espécie de vespa parasitoide de lepidópteros, já descrito no banco de dados RepBase. No total 2534 reads foram montados em 3 *contigs* totalizando 3612 nucleotídeos. Ou seja, cobrindo todo o elemento de *A. pisum* que possui um tamanho de 2907 pares de bases. Esses *contigs* apresentaram uma média de cobertura de 95,3x, 22,6x e 17,6x.

O novo elemento apresentou 69% de similaridade com o elemento de *A. pisum* e 70% de similaridade com o elemento de *Bombix mori* em nível de aminoácidos. Além disso, esse novo elemento parece poder codificar uma *helicase* funcional, uma vez que observamos um quadro aberto de leitura que pode gerar uma *helicase* de 495 aa. Os *contigs* resultantes da montagem de vários reads pode nos dar uma ideia sobre o ancestral desses elementos. A possibilidade de reconstituir o ancestral com uma região codificante somente é possível se esses reads são provenientes de elementos altamente similares. Dessa forma, esse novo *Helitron* deve ser um elemento autônomo e com uma amplificação recente no genoma da vespa parasitoide.

Elementos homólogos aos *Helitrons* encontrados no genomas estudado foram obtidos tanto no repbase e no NCBI a partir de buscas por homologia com um fragmento de aminoácidos da DNA *helicase* do novo elemento. Todos os elementos obtidos foram então alinhados e analisados filogeneticamente para compreender de qual subfamília o novo *Helitron* pertence. Baseado nessa análise, observamos que esse elemento pertence a subfamília *Helianu* descrita por (THOMAS, SCHAACK, & PRITHAM, 2010). Além disso, essa análise mostrou um agrupamento congruente com a filogenia das espécies, uma vez que, o novo elemento *Helitron* de vespa parasitoide de *Drosophila* agrupou com os elementos *Helitrons* encontrados em outras espécies de vespas parasitoides, incluindo o elemento de *A. pisum*.

4. CONCLUSÃO

Nossos resultados mostram que esse é o primeiro elemento *Helitron* potencialmente autônomo caracterizado em um genoma de vespa parasitóide de *Drosophila* e que sua história evolutiva é compatível com o processo de transmissão vertical desde os ancestrais de todas as espécies de vespas parasitoides. Propomos chamar este elemento de *Helitron-1_DiPW* (*Drosophila imcompta* parasitoid wasp).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTSCHUL, S. F., MADDEN, T. L., SCHÄFFER, A. A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., & LIPMAN, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.25, n.17, p.3389–3402, 1997.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=146917&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- GUINDON, S., DUFAYARD, J.-F., LEFORT, V., ANISIMOVA, M., HORDIJK, W., & GASCUEL, O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. **Systematic Biology**, Montpellier, v.59, n.3, p.307–21, 2010. doi:10.1093/sysbio/syq010
- JURKA, J., KAPITONOV, V., PAVLICEK, A., KLONOWSKI, P., KOHANY, O., & WALICHIEWICZ, J. Repbase Update, a database of eukaryotic repetitive elements. **Cytogenetic and Genome Research**, v.110, n.1-4, p.462–467, 2005. doi:10.1159/000084979
- KAPITONOV, V. V., & JURKA, J. (2001). Rolling-circle transposons in eukaryotes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Arizona, v.98, n.15, p.8714–8719, 2001. doi:10.1073/pnas.151269298
- KAPITONOV, V. V., & JURKA, J. Helitrons on a roll: eukaryotic rolling-circle transposons. **Trends in Genetics: TIG**, Mountain View, v.23, n.10, p.521–9, 2007. doi:10.1016/j.tig.2007.08.004
- KATO, K., & STANDLEY, D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution**, Osaka, v.30, n.4, p.772–780, 2013, doi:10.1093/molbev/mst010
- NOVÁK, P., NEUMANN, P., PECH, J., STEINHAIŠL, J., & MACAS, J. RepeatExplorer: a Galaxy-based web server for genome-wide characterization of eukaryotic repetitive elements from next generation sequence reads, **Bioinformatics**, Ceske´ Bude Jovice, v.29 n.6, p.792–793, 2013.
- PRITHAM, E. J. Transposable elements and factors influencing their success in eukaryotes. **The Journal of Heredity**, Texas, v.100, n.5, p.648–655. 2009 doi:10.1093/jhered/esp065
- THOMAS, J., SCHAACK, S., & PRITHAM, E. J. Pervasive Horizontal Transfer of Rolling-Circle Transposons among Animals. **Genome Biology and Evolution**, Texas, v.2, p.656–664. 2010. doi:10.1093/gbe/evq050
- THOMAS, J., SOROURIAN, M., RAY, D., BAKER, R. J., & PRITHAM, E. J. The



limited distribution of Helitrons to vesper bats supports horizontal transfer. **Gene**, Texas, v.474, p.52-58, 2010. doi:10.1016/j.gene.2010.12.007