

ESTUDOS GENÉTICOS DOS PIGMENTOS VISUAIS DE *TAYASSU TAJACU* (ARTIODACTYLA, TAYASSUIDAE).

Priscila de Almeida C. C. Souza^{1,2}; Marcelo Fernandes da Costa^{1,2}

¹Departamento de Psicologia Experimental, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo; ²Núcleo de Neurociências e Comportamento, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP.

Objetivos

Sequenciar os genes de opsinas expressos nas retinas de *T. tajacu* e estimar o pico de sensibilidade espectral dos pigmentos visuais a partir das sequências de aminoácidos encontradas.

Métodos e Procedimentos

Este projeto possui licença do IBAMA nº 1501.5219/2011 e foi aprovado no Comitê de Ética Pesquisa com Animais (processo 034-2015), da Universidade Federal do Pará. As retinas de dois indivíduos adultos foram coletadas e preservadas em RNAlater® (Ambion). A extração de RNA total foi feita com o kit RNeasy (Qiagen) e para a síntese de cDNA foi utilizada a enzima transcriptase reversa Superscript III (Life Technologies). Para a reação de PCR foi utilizada a enzima Platinum Taq DNA Polymerase (Life Technologies), com *primers* desenhados a partir das sequências das opsinas *LWS/MWS* e *SWS1* de diferentes espécies de mamíferos. Os produtos de PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1,0% e mantidos a -20°C até a purificação. A purificação dos produtos de PCR foi feita com o Kit *Illustra GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit* (GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK). Os genes amplificados foram purificados e sequenciados com o sequenciador 3500 da Applied Biosystems. As sequências foram analisadas com o programa BioEdit.

Resultados

Pares de *primers* desenhados a partir de opsinas de cachorro (*Canis lupus familiaris*) amplificaram adequadamente fragmentos do gene *LWS* de *T. tajacu*. As sequências obtidas foram alinhadas com as sequências da rodopsina bovina (*Bos taurus*) e da opsina *LWS* de cavalo (*Equus caballus*).

Dois dos cinco sítios responsáveis pelo deslocamento espectral da opsina *LWS* foram identificados: A169 e H181 (Figura 1).

	160	170	180	190
Boi Rh1	NHAIMGVAF	WVMALACNRP	PLVGVSRYP	ELMOCSCGID
Cavalo Lws	KLAVAGIAFS	WVAANVWAP	PIFGMSRYWP	HGLKTS CGPD
<i>T. tajacu</i> Lws	KLAIAGIAFS	WMSAVWVAP	PIFGMSRYWP	HGLKTS CGPD
<i>T. tajacu</i> Lws	KLAIAGIAFS	WMSAVWVAP	PIFGMSRYWP	HGLKTS CGPD
<i>T. tajacu</i> Lws	KLAIAGIAFS	WMSAVWVAP	PIFGMSRYWP	HGLKTS CGPD

Figura 1. Alinhamento da sequência da opsina *LWS* de *T. tajacu* com as sequências da rodopsina bovina (*Bos taurus*) e da opsina *LWS* de cavalo (*Equus caballus*). Em destaque os sítios A169 e H181.

O sistema visual dos vertebrados exibe uma grande diversidade, demonstrando suas respostas adaptativas a vários ambientes fóticos (Yokoyama, 2002).

Comparando as sequências de aminoácidos das opsinas, podemos identificar o posicionamento de sítios que interferem nos espectros de absorção dos pigmentos visuais. Os pigmentos *LWS* e *MWS* sensíveis a comprimentos de onda longos e médios são responsáveis por alcançar valores de λ_{max} entre 500 e 570 nm (Bowmaker, 2008; Davies *et al.*, 2012) (Figura 2).

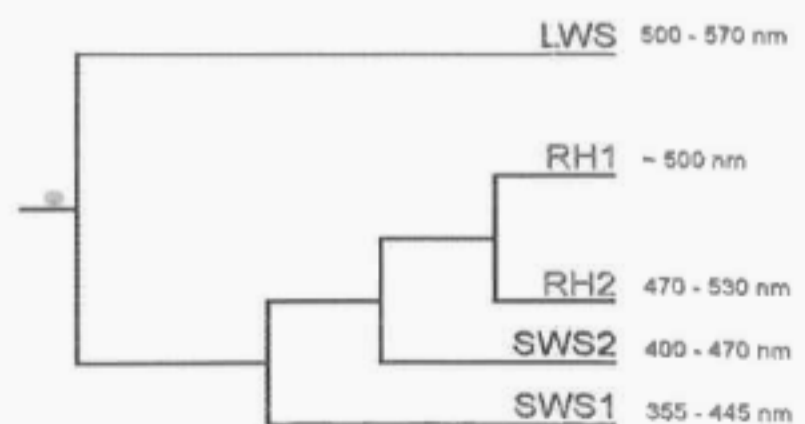


Figura 2. Relação filogenética entre as opsinas de vertebrados (modificado de Bailes *et al.*, 2007).

Para o gene LWS foram descritos cinco importantes posições, dos quais os aminoácidos correspondentes são SHYTA, respectivamente 164, 181, 261, 269 e 292 (Yokoyama & Radlwimmer, 1998).

Conclusão

Alguns dos pares de *primers* utilizados neste trabalho amplificaram fragmentos de gene de *T. tajacu*, que corresponderam ao gene LWS, de opsinas de vertebrados sensíveis a comprimentos de onda médios ou longos, resultando na identificação dos sítios de aminoácidos conservados em mamíferos que medeiam o ajuste espectral do fotopigmento.

Referências Bibliográficas

- Bowmaker, J. K. (2008). Evolution of vertebrate visual pigments. *Vision Research*, 48, 2022–2041
- Coyle, B. J., Hart, N. S., Carleton, K. L., & Borgia, G. (2012). Limited variation in visual sensitivity among bowerbird species suggests that there is no link between spectral tuning and variation in display colouration. *Journal of Experimental Biology*, 215(7).
- Davies, W. I. L., Wilkie, S. E., Cowing, J. A., Hankins, M. W., & Hunt, D. M. (2012). Anion sensitivity and spectral tuning of middle- and long-wavelength-sensitive (MWS/LWS) visual pigments. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 69(14), 2455–64.
- Yokoyama, S., & Radlwimmer, F. B. (1998). The “five-sites” rule and the evolution of red and green color vision in mammals. *Molecular Biology and Evolution*, 15(5), 560–7
- Yokoyama, S. (2002). Molecular evolution of color vision in vertebrates. *International Journal on Genes and Genomes*.