



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

Análise Filogenética da Família *mariner* de Elementos Transponíveis em espécies neotropicais de *Drosophila*

Wallau¹, Gabriel; Capy², Pierre; Loreto³, Élgion Lúcio da Silva.

1 - Mestrando PPG Biodiversidade Animal, UFSM, Santa Maria, RS.

2 - Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS, Laboratoire populations, Génétique, Evolution, Gif sur Yvette Cedex; France.

3 - Depto. de Biologia, CCNE, Univ. Fed. de Santa Maria, Santa Maria, RS.

A família *mariner* de elementos transponíveis está incluída entre os transposons de classe II, subclasse I da ordem TIR dentro da superfamília *TCl-mariner*. Esta família é caracterizada por apresentar seqüências de aproximadamente 1.3Kb com repetições terminais invertidas imperfeitas (TIRs “Terminal Inverted Repeats”) de 26 a 38pb. Possui apenas uma ORF e são flanqueadas por um pequeno sítio de duplicação do sítio de inserção (TSD “Target Site Duplication”). Este TSD, é representado pela seqüência AT gerado após sua transposição.

Esta família apresenta uma ampla distribuição, estando presentes nos genomas de diversos filos animais, como artrópodes, vertebrados, celenterados, assim como também nos genomas de protozoários, fungos e plantas. Esta ampla distribuição é marcada por uma significativa diversidade de seqüências relacionadas (*mariner-like elements* - *MELs*), que são classificadas em 6 subfamílias de acordo com o grau de similaridade de aminoácidos do sítio catalítico. Apesar desta família já ser descrita em vários organismos, em drosofilídeos existem poucos estudos com seqüências relacionadas à *mariner*. Neste trabalho propomos uma busca mais abrangente de seqüências relacionadas à *mariner* em 68 espécies neotropicais de *Drosophila*. Para a análise molecular, foram utilizadas buscas por PCR no DNA genômico de diferentes espécies de *Drosophila* com *primers* degenerados de regiões de aminoácidos conservadas da ORF (WVPHEL-YSPDALP) descritas por Robertson e MacLeod (1993), que na presença desses elementos produzem um fragmento de 491pb. As seqüências obtidas a partir dos clones são usadas como sondas em uma busca por seqüências similares no banco de dados do GENBANK, empregando a ferramenta BLAST P (National Center for Biotechnology Information) para triagem das seqüências relacionada à *mariner*. Posteriormente, as seqüências das prováveis proteínas codificadas por estas seqüências, são estabelecidas pelo programa Genedoc (2.7.000) alinhadas no Clustal X e analisadas filogeneticamente com o programa MEGA 4.1. Além das seqüências obtidas das espécies de drosófilas neotropicais, seqüências de *mariner* já descritas são empregadas para a identificação das diferentes subfamílias. Como grupo externo para as análises filogenéticas foram utilizadas as seqüências de dois elementos pertencentes duas famílias distintas da ordem TIR, *Bari* e *TCl*. As buscas com os *primers* degenerados já foram realizadas em 11 espécies, sendo que 9 apresentaram o fragmento de tamanho esperado. Destas 9 espécies 6 (*D. ornatifrons*, *D. mediotriata*, *D. neocardini*, *D. pallidpenis*, *D. mediopunctata* e *D. paramediotriata*) apresentaram clones com seqüências relacionadas a *mariner* (tab.1). Com esses dados podemos visualizar que a subfamília *mellifera* é a mais amplamente distribuída estando presente em 5 das 6 espécies em que obtivemos seqüências de *mariner*. Já a subfamília *mauritaniana* está presente em 3 destas espécies e a subfamília *irritans* em 1 espécie. Em quatro das seis espécies em que obtivemos seqüências relacionadas à *mariner* (*D. ornatifrons*, *D. mediotriata*, *D. neocardini*, e *D. pallidpenis*) estas seqüências mostraram-se degeneradas e com mutações sem sentido, deleções ou substituições. Já *D. mediopunctata* e *D. paramediotriata* apresentaram seqüências com indicativos de que são provavelmente provenientes de elementos ativos, pois não são degenerados. Analisando a média da dN/dS, pelo MEGA3 (Codon-Based-Z-Test), dos 7 clones de *D. mediopunctata* da subfamília *mauritaniana* e o elemento ativo *Mos 1* descrito para *D. mauritaniana* podemos observar a existência de uma seleção purificadora atuando a nível de nucleotídeo (dN=0,0863, dS=0,1424, P<0,5, Prob = 0,0004) o que é confirmada quando estas seqüências são “traduzidas” para proteínas (fig. 1). Os dois clones de *D. paramediotriata* da subfamília *mellifera* quando traduzidos também apresentam os sítios catalíticos conservados. A árvore filogenética dos *MELs* (fig. 2) demonstra algumas incongruências comparadas com a filogenia das espécies descrita por Robe e colaboradores (2005). Essa distribuição pode ser decorrente das diferentes taxas de evolução dos genomas, polimorfismo ancestral ou perda estocástica, sendo que essas hipóteses não são mutuamente exclusivas. Esses



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

dados apesar de parciais demonstram a coexistência de subfamílias de *mariner* em um mesmo genoma.

Tabela 1 - Espécies analisadas até o momento.

Espécies	Amplificação por PCR	Clones com <i>mariner</i>	Número de clones em cada subfamília
<i>D. ornatifrons</i>	Sim	2	(2) <i>mellifera</i>
<i>D. mediopunctata</i>	Sim	8	(7) <i>mauritiana</i> e (1) <i>irritans</i>
<i>D. mediotriata</i>	Sim	4	(4) <i>mellifera</i>
<i>D. nebulosa</i>	Sim	Não apresentou clones com <i>mariner</i>	
<i>D. hydei</i>	Não		
<i>D. neocardini</i>	Sim	4	(1) <i>mauritiana</i> e (3) <i>mellifera</i>
<i>D. mercatorum</i>	Não		
<i>D. fumipenis</i>	Sim	Não apresentou clones com <i>mariner</i>	
<i>D. pallidipenis</i>	Sim	1	(1) <i>mellifera</i>
<i>D. paramediotriata</i>	Sim	5	(2) <i>mauritiana</i> e (3) <i>mellifera</i>
<i>D. gasisi</i>	Sim	Não apresentou clones com <i>mariner</i>	

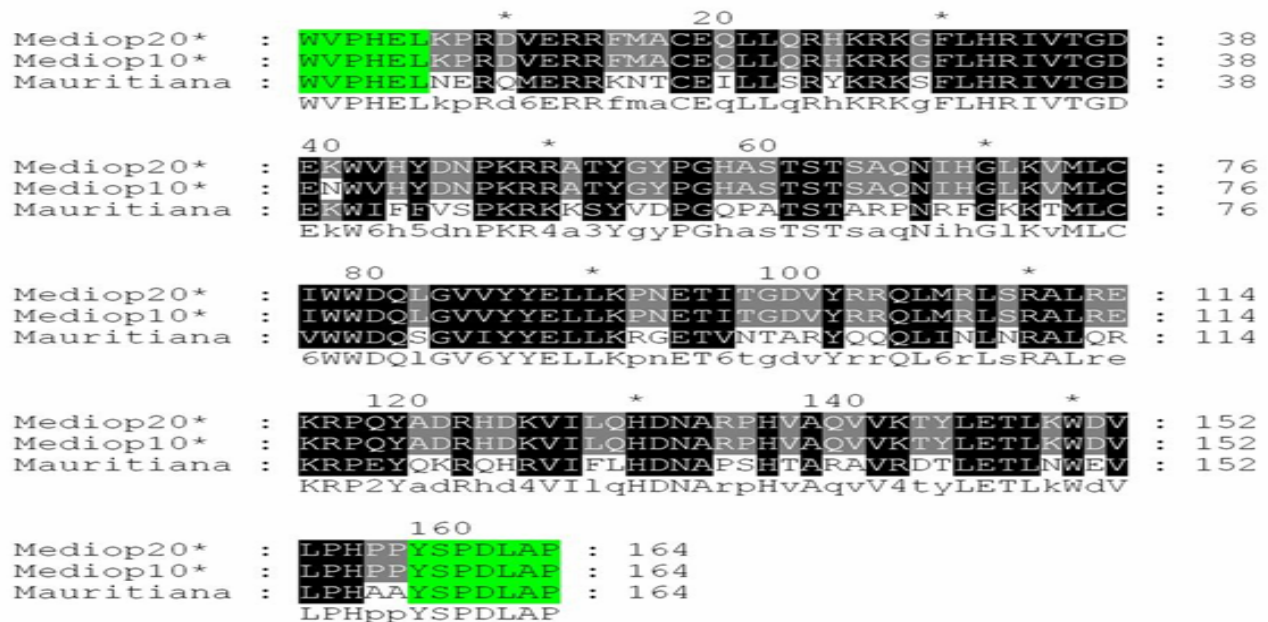


Figura 1 - Tradução das 2 seqüências não degeneradas de *D. mediopunctata* e 1 seqüência do elemento ativo *Mos1*.



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

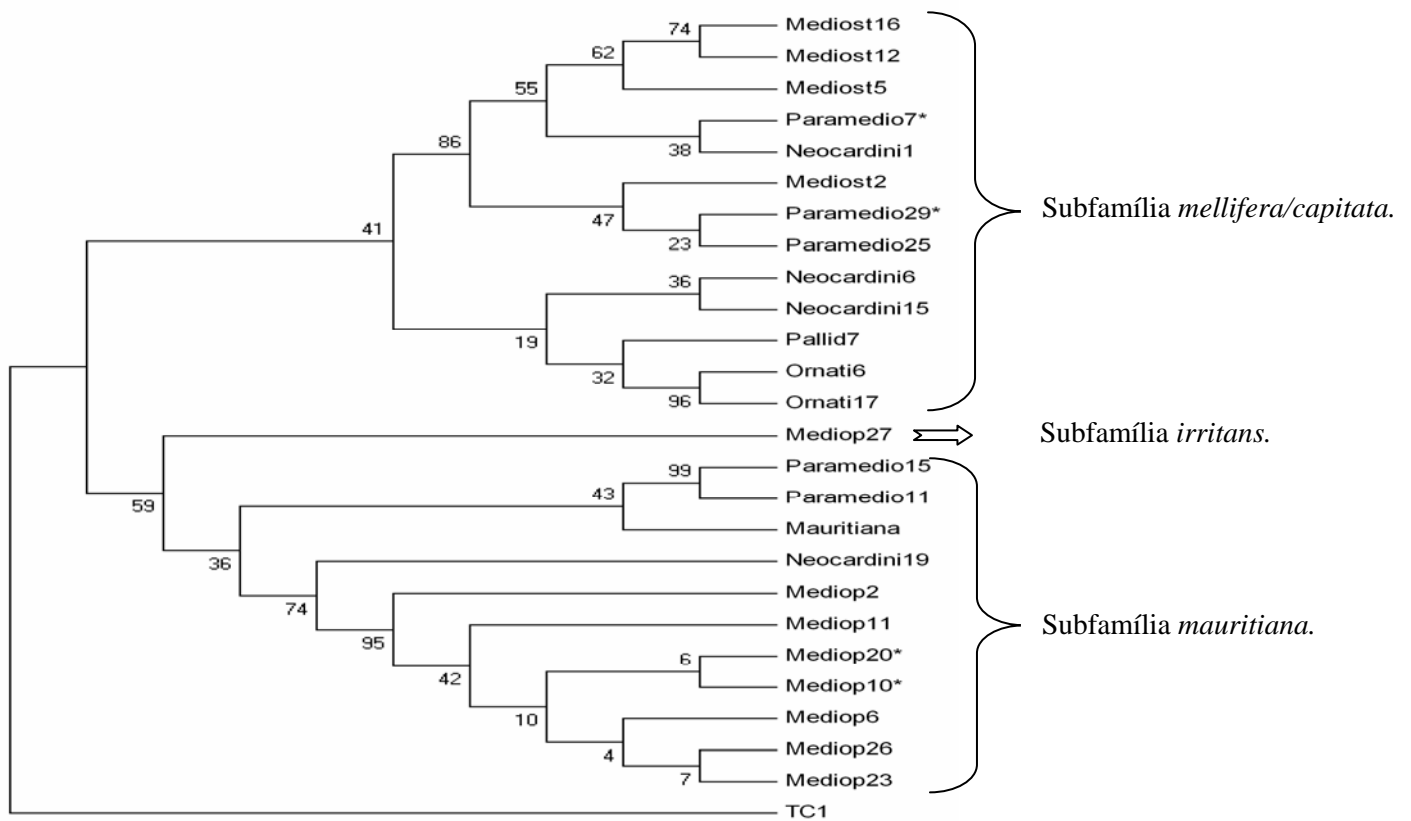


Figura 2 - Árvore Filogenética da seqüência de aminoácidos do sítio catalítico dos clones por Máxima Parcimônia, ((*) - seqüências não degeneradas).