

James Alexandre Martins* (IC)¹ ; Maria Luiza Silveira Mello(PQ)¹

(1)INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS (UNICAMP), CNPq

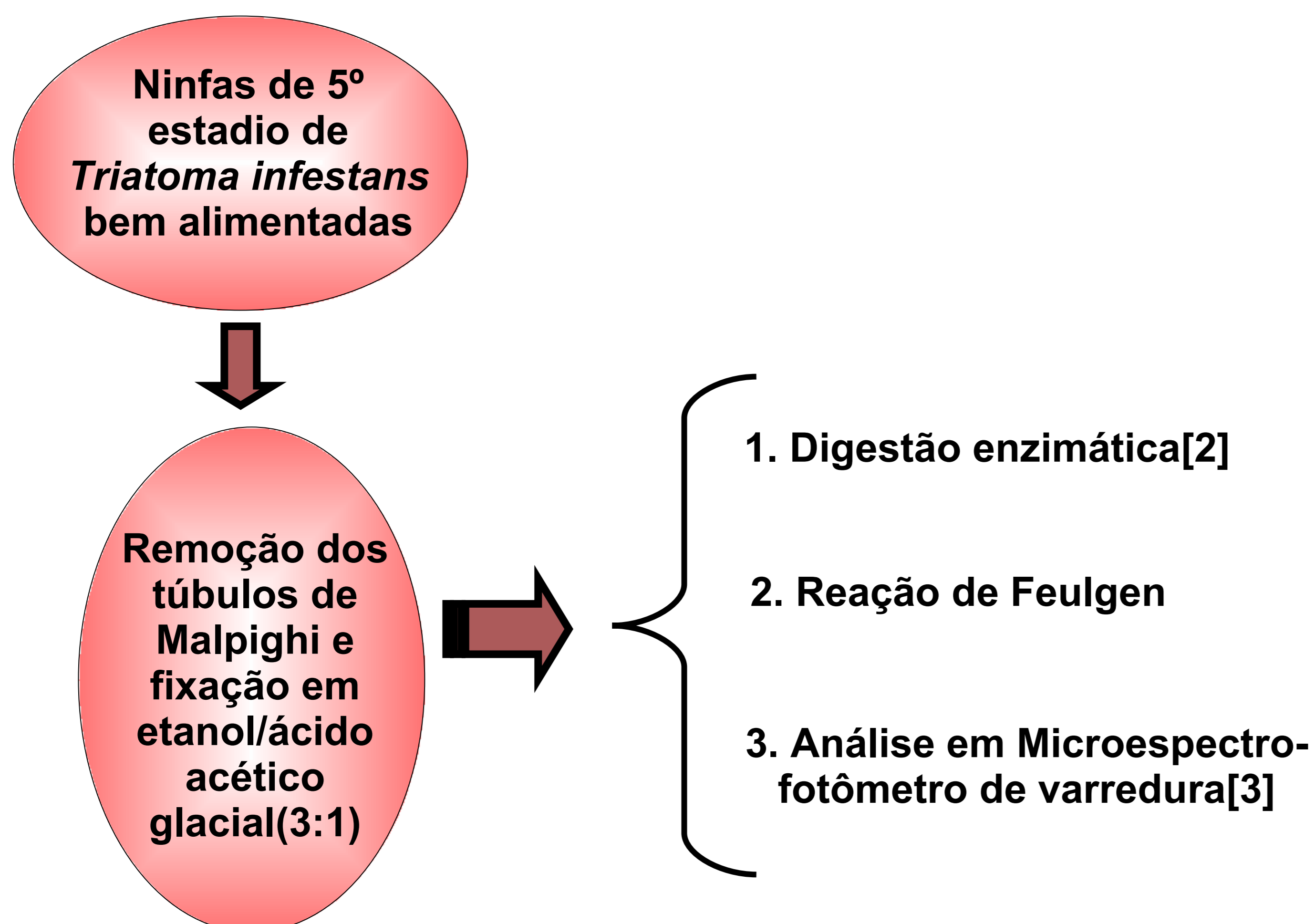
Palavras-chave: metilação de DNA - heterocromatina - enzimas de restrição

* jamesumartins@gmail.com

Introdução

A influência de mecanismos epigenéticos na organização e função da cromatina e em especial a metilação de DNA rico em CG tem sido relatada como influenciando a organização de cromatina condensada. Esses estudos envolvem tanto a hiper- e a hipometilação do DNA, como a hiper- e a hipacetilação de histonas. A ocorrência de metilação de DNA em sequências -CCGG- em cromossomos e em cromatina condensada de núcleos interfásicos pode ser avaliada *in situ* após tratamento com enzimas de restrição *Msp* I e *Hpa* II [1]. Ambas as enzimas clivam a seqüência -CCGG-, porém a *Hpa* II não cliva essa seqüência se a citosina interna do dinucleotídeo CG estiver metilado.

Materiais e métodos



Resultados

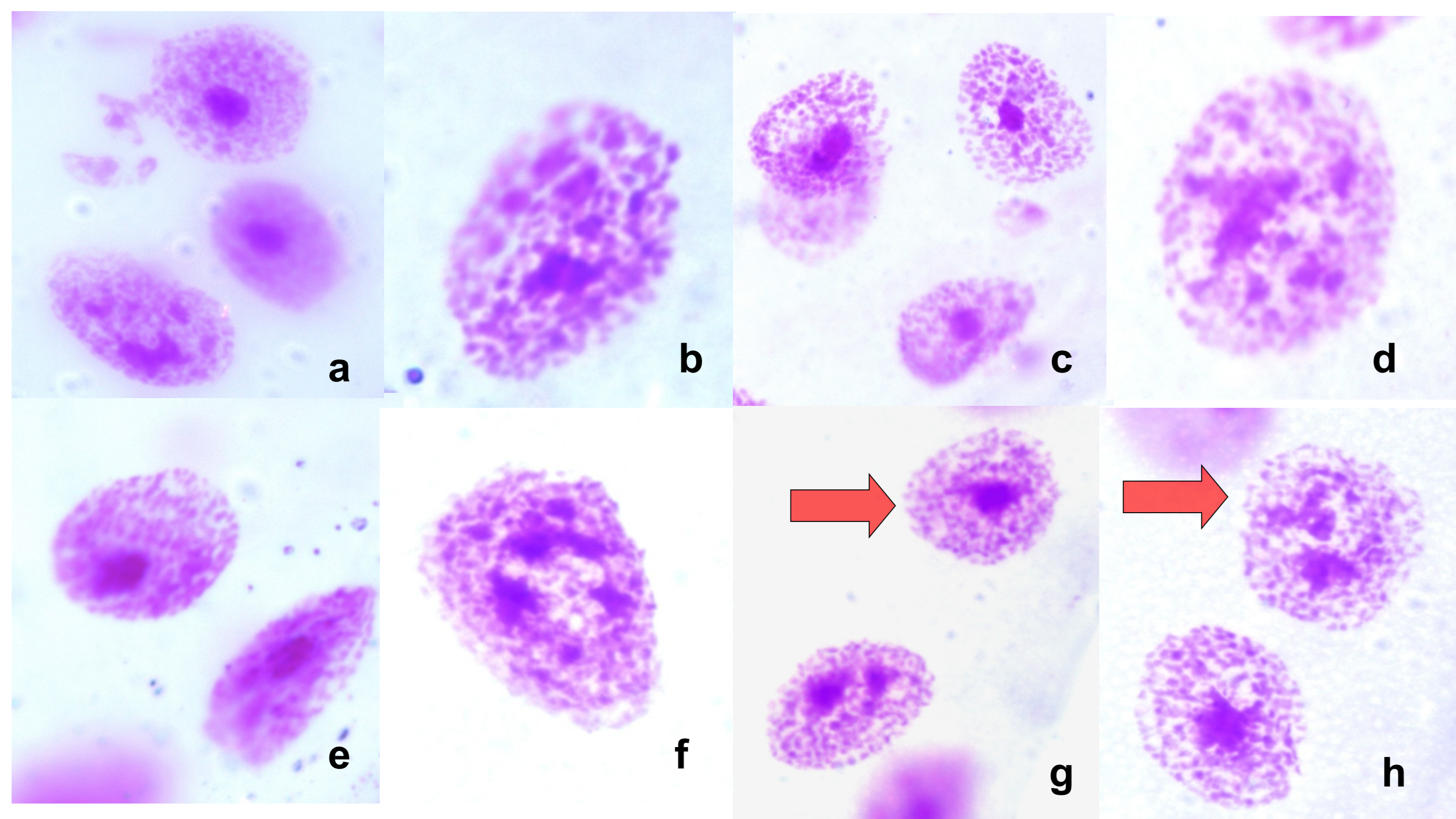


Figura1: Núcleos de células epiteliais de túbulos de Malpighi de *Triatoma infestans* submetidos à reação de Feulgen após tratamentos com *Msp* I (e,f) e respectivos controles (a, b), e com *Hpa* II (g, h) e respectivos controles (c, d). Acham-se mostrados núcleos com um (a,c,e,g (seta)) ou vários (b, d, f, h (seta)) cromocentros. Os tamanhos nucleares variados são justificados pela variação no grau de ploídia verificado para a fase ninfal utilizada.

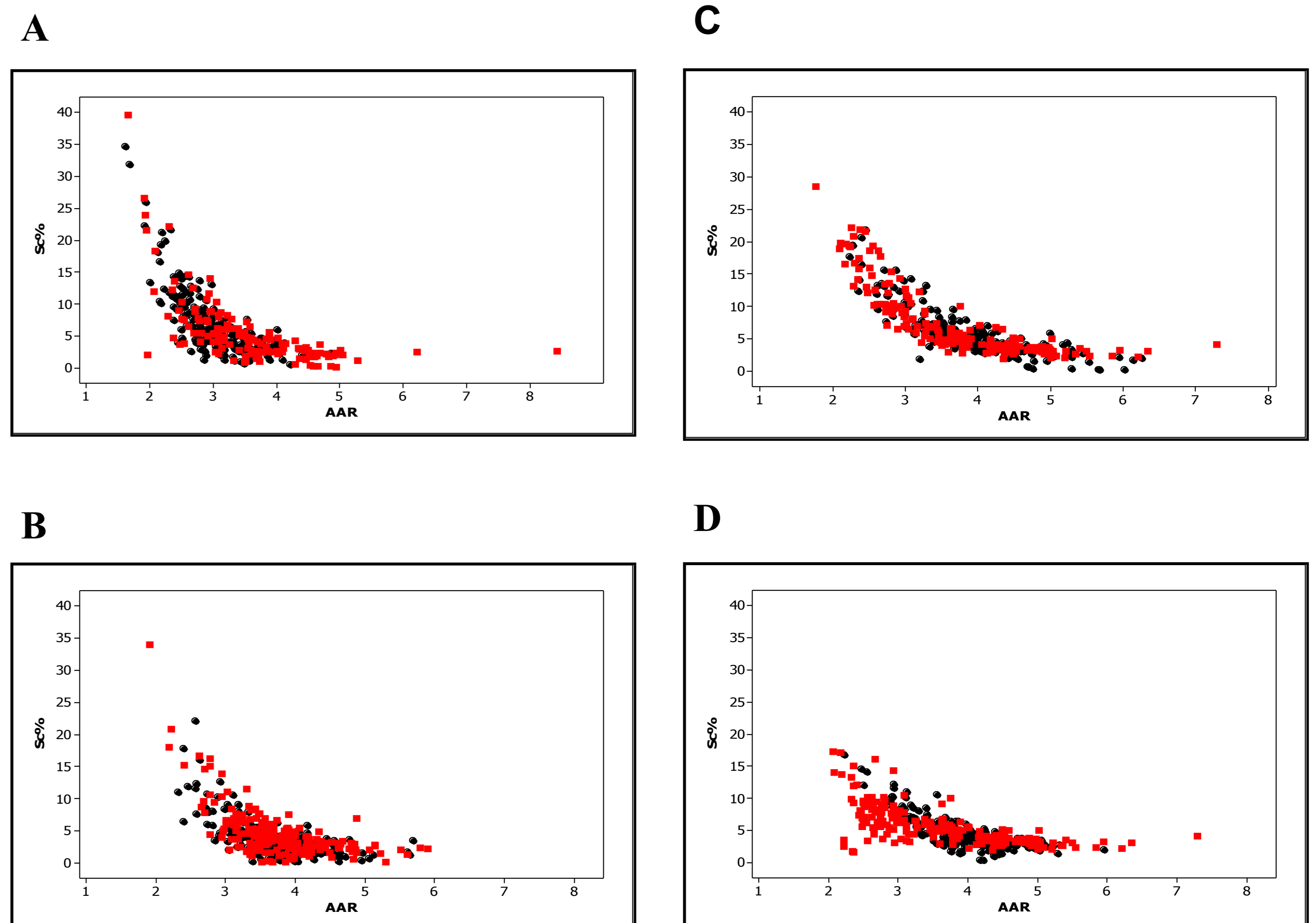


Figura 2: Diagramas de dispersão de Sc% vs. AAR para núcleos de túbulos de Malpighi de *T. infestans* submetidos à reação de Feulgen após tratamento com *Msp* I (A e C) (pontos vermelhos) e *Hpa* II (B e D) (pontos vermelhos) em comparação aos respectivos controles (pontos pretos). Foram analisados núcleos com vários cromocentros (A e B) e com um único cromocentro (C e D).

Tabela 1

Dados estatísticos de Sc% e AAR para núcleos de túbulos de Malpighi submetidos à reação de Feulgen após tratamento com *Msp* I ou *Hpa* II.

Tratamentos	Fenótipos Nucleares											
	Um cromocentro						vários cromocentros					
	Sc%			AAR			Sc%			AAR		
	X	S	Md	X	S	Md	X	S	Md	X	S	Md
Tampão de <i>Msp</i> I	5,97	3,76	5,24 ^a	3,86	0,79	3,71 ^a	6,79	5,24	5,21 ^a	3,05	0,54	2,99 ^a
<i>Msp</i> I	7,31	5,25	5,21 ^a	3,72	0,98	3,64 ^a	5,46	5,35	4,06 ^b	3,55	0,82	3,51 ^b
Tampão de <i>Hpa</i> II	4,40	2,59	3,70 ^A	3,99	0,60	4,00 ^A	3,63	3,15	2,82 ^A	3,75	0,62	3,76 ^A
<i>Hpa</i> II	5,64	3,05	4,99 ^B	3,60	1,03	3,55 ^B	4,50	3,94	3,45 ^B	3,76	0,67	3,68 ^A

X: média aritmética; S: desvio padrão; Md: mediana; n= 200. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatísticas a $p > 0,05$ (teste estatístico não paramétrico Mann-Whitney).

Conclusões

Os resultado indicam que C metiladas não ocorrem em heterocromatina de *T. infestans*, diferindo de observações em outros tipos de insetos [2]. Dados de nosso laboratório com imunocitoquímica estão de acordo com esses resultados. No entanto, seqüências -CCGG- puderam ser discriminadas com a presente metodologia neste material, porém nas áreas de cromatina não condensada (eucromatina). Conclui-se então que metilação de DNA não participe na formação de heterocromatina de *T. infestans*.

Referências

- [1] Mello MLS, Chambers AF, Vidal BC, Planding W, Schenck U. Anal Cell Pathol 2000;20:163-171.
- [2] Mampumbu AR, Mello MLS. Cytometry Part A 69: 986-991, 2006.
- [3] Vidal BC.. Biol Cell 1984; 50:137-146.
- [4] Mello MLS. Nuclear behavior in the Malpighian tubes of *Triatoma infestans*. Cytologia 36: 42-49, 1971.