ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DE UMA PROTEÍNA (AAEL012774) EM *Aedes aegypti* DURANTE DIFERENTES CONDIÇÕES.

Eduardo Mendes de Oliveira, Eduarda Rodrigues Araujo Alves, Laís Marins Menezes, Bruno Regis Lyrio Ferraz, Tatiane Sanches Soares.

Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Campus Alegre, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, eduardo.oliveira.75@edu.ufes.br, eduardarodriguesaraujoalves5@gmail.com, laismarins28@gmail.com, bruno.ferraz@ufes.br, tatiane.s.soares@ufes.br.

Resumo

Os arbovírus constituem importantes problemas de saúde pública e são transmitidos principalmente pelo mosquito *Aedes aegypti*. Durante o ciclo de infecção, processos moleculares do vetor podem modular a replicação e a disseminação viral, favorecendo ou restringindo esses processos. As metaloproteinases são enzimas associadas à remodelação da matriz extracelular e podem estar relacionadas a mecanismos envolvidos na interação entre vetor-vírus. Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a expressão gênica da metaloproteinase codificada pelo gene AAEL012774 em diferentes condições do vetor. Para isso, foi realizada a análise da expressão do gene em larvas e em mosquitos adultos submetidos à alimentação com sacarose ou sangue, utilizando cDNA obtido das amostras, seguido de PCR convencional e eletroforese em gel de agarose. A análise dos produtos do PCR permitiu comparar a presença e a intensidade das bandas correspondentes ao gene AAEL012774 entre as diferentes condições avaliadas, fornecendo informações iniciais sobre seu perfil de expressão e contribuindo para a compreensão de seu possível papel na biologia de *A. aegypti*.

Palavras-chave: *Aedes aegypti.* Metaloproteinases. Expressão Gênica. Arbovírus.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas; Biologia Molecular.

Introdução

Os arbovírus possuem um importante desafio de saúde pública nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, afetando milhões de pessoas anualmente (*World Health Organization*, 2022). Entre os principais vetores desses vírus destaca-se o mosquito *A.* aegypti, cuja ampla distribuição geográfica e elevada capacidade de adaptação aos ambientes urbanos favorecem a manutenção e a disseminação de diversas arboviroses. Nesse contexto, o controle efetivo desse vetor permanece um desafio, especialmente diante do aumento da resistência aos inseticidas e da complexidade dos fatores ecológicos envolvidos em sua proliferação (Braga; Valle, WHO, 2023).

O ciclo de infecção viral no mosquito envolve uma complexa rede de interações moleculares entre o patógeno e o vetor, na qual diferentes classes de proteínas desempenham funções essenciais. Entre essas proteínas, destacam-se as metaloproteinases, enzimas cuja atividade catalítica é depende da presença de íons metálicos, especialmente o zinco (Nagase; Woessner, 1999). Em insetos, as metaloproteinases desempenham funções essenciais em diferentes processos fisiológicos, incluindo a digestão de proteínas, o desenvolvimento e a remodelação dos tecidos e a metamorfose. Além disso, essas enzimas podem estar envolvidas na interação com patógenos, embora essa função ainda seja pouco elucidada (Kantor *et al.*, 2017; Gomes *et al.*, 2012).

Embora as metaloproteinases já tenham sido descritas em outros gêneros de mosquitos, como *Anopheles* e *Culex* (Gomes *et al.*, 2012), seu papel específico em *A. aegypti* ainda permanece pouco estudada. Entre os componentes celulares e extracelulares envolvidos nessa interação, destaca-se a matriz extracelular (ECM), que desempenha funções fundamentais na manutenção da integridade e organização dos tecidos, além de participar de processos como adesão celular, sinalização,

proliferação, migração e remodelação tecidual (Theocharis *et al.*, 2016. Bonnans *et al.*, 2014). A remodelação da ECM é mediada, em grande parte, pela ação das metaloproteinases, tornando essas enzimas potenciais participantes da dinâmica da infecção viral. Considerando que os arbovírus precisam atravessar diferentes barreiras celulares e extracelulares ao longo de seu ciclo de infecção no mosquito, torna-se plausível que as metaloproteinases contribuam para a modulação desses processos e, consequentemente, possam influenciar a competência vetorial.

Diante disso, este trabalho propõe a caracterização da metaloproteinase de *A. aegypti* (AAEL012774), avaliando sua expressão gênica em larvas e adultos alimentados com sacarose ou sangue. Essa abordagem busca ampliar o conhecimento sobre seu padrão de expressão, função biológica e potencial biotecnológico.

Metodologia

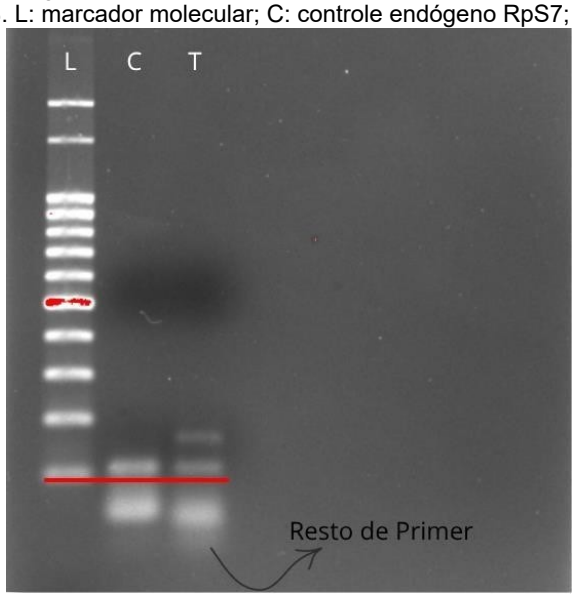
Para a análise do perfil de expressão gênica ao longo do desenvolvimento de *A. aegypti*, foram utilizados intestinos de larvas de 4° instar e de mosquitos adultos submetidos a diferentes condições de alimentação, sendo adultos alimentados com sangue e adultos alimentados com sacarose. Os primers específicos para o gene AAEL012774 foram desenhados utilizando a ferramenta *PrimerBLAST* do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), a partir da sequência de nucleotídeos do gene, visando à amplificação de um fragmento de 186 pb. As amostras de cada condição foram coletadas em triplicata, homogeneizadas em 500 µL de TRIzol (*Invitrogen*, USA) e incubadas por 5 minutos. A extração de RNA será realizada conforme protocolo do fabricante, incluindo os passos de adição de clorofórmio (200 µL/mL TRIzol), centrifugação a 12.000 g por 15 min a 4°C, ressuspensão do *pellet* em 10 µL de água tratada com DEPC. A concentração e a pureza do RNA extraído foram determinados utilizando espectrofotômetro *NanoDrop*.

A síntese de cDNA foi realizada a partir do RNA total, utilizando o kit de transcrição reversa, de acordo com as recomendações do fabricante. Para cada reação, foram utilizados o RNA extraído, 2X RT *Buffer Mix*, 2X RT *Enzyme Mix* e água livre de nucleases. Após a preparação, as reações foram submetidas ao programa de temperatura recomendado pelo fabricante em termociclador. O cDNA obtido foi posteriormente utilizado como molde para as reações de cadeia da polimerase (PCR) com os *primers* específicos para o gene AAEL012774 e o gene RpS7 como controle endógeno. Os produtos das reações de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, a 120 V, permitindo a visualização dos fragmentos amplificados. Posteriormente, o gel foi submetido a uma solução de brometo por 10 minutos para corar e levado logo após para visualização no Fotodocumentador.

Resultados

A análise da expressão gênica de AAEL012774 em intestinos de larvas de 4º instar foi realizada por PCR convencional, utilizando RpS7 como controle endógeno. A eletroforese evidenciou uma banda no controle (C), confirmando a amplificação da reação. Na amostra teste (T), correspondente ao gene AAEL012774, foram observadas duas bandas em diferentes posições no gel, ambas acima da região delimitada para os resíduos de primer, indicando a obtenção de diferentes produtos de amplificação (Figura 1). Também foi observado sinal na região inferior do gel, abaixo da linha de referência, correspondente aos resíduos de primer, que não foram considerados na análise.

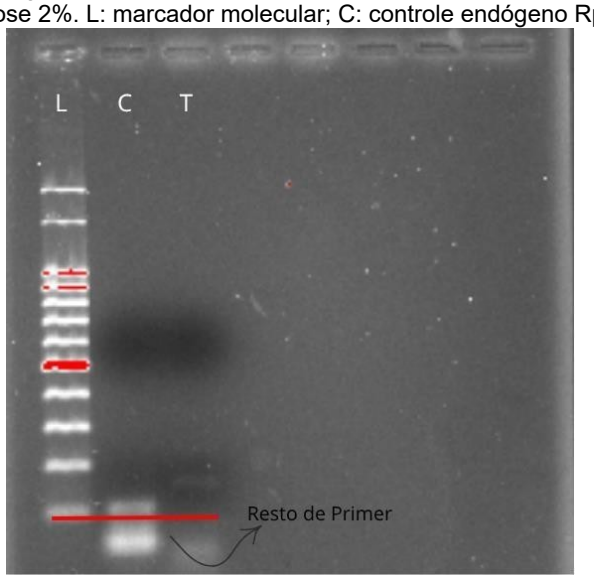
Figura 1 - Amplificação do gene AAEL012774 em intestinos de larvas de 4° instar de *Aedes aegypti* em gel de agarose 2%. L: marcador molecular; C: controle endógeno RpS7; T:AAEL012774.



Fonte: Autores, 2026.

A análise da expressão gênica de AAEL012774 em intestinos de mosquitos adultos alimentados com sacarose foi realizada por PCR convencional, utilizando RpS7 como controle endógeno. A eletroforese evidenciou a presença de uma banda no controle (C) e uma banda de menor intensidade na amostra teste (T), correspondente ao AAEL012774 (Figura 2). Ambas as bandas foram observadas acima da região delimitada para os resíduos de primer.

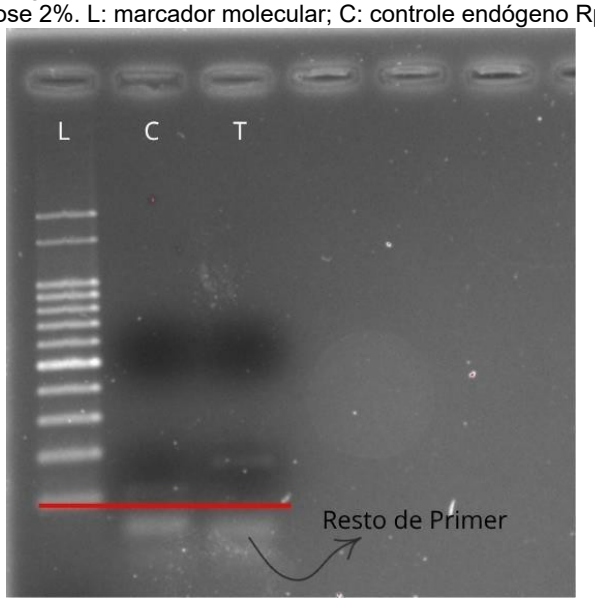
Figura 2 - Amplificação do gene AAEL012774 em intestinos de mosquitos, alimentados com sacarose, de *A. aegypti* em gel de agarose 2%. L: marcador molecular; C: controle endógeno RpS7; T:AAEL012774.



Fonte: Autores, 2026.

A análise da expressão gênica de AAEL012774 em intestinos de mosquitos adultos alimentados com sangue também foi realizada utilizando RpS7 como controle endógeno. A eletroforese evidenciou a presença de amplificação no controle (C) e na amostra teste (T), correspondente ao AAEL012774 (Figura 3). Na região inferior do gel, abaixo da linha de referência, foi observado sinal correspondente aos resíduos de primer, que não foram considerados na análise dos produtos de amplificação.

Figura 3 - Amplificação do gene AAEL012774 em intestinos de mosquitos, alimentados com sangue, de *A. aegypti* em gel de agarose 2%. L: marcador molecular; C: controle endógeno RpS7; T:AAEL012774.



Fonte: Autores, 2026.

Discussão

A análise da expressão gênica de AAEL012774 evidenciou a presença de amplificação nas três condições avaliadas, incluindo os intestinos de larvas de 4º instar e de mosquitos adultos alimentados com sacarose ou sangue. A utilização de RpS7 como controle endógeno permitiu verificar a ocorrência de amplificação nas reações, enquanto a detecção de produtos de PCR para AAEL012774 indica a presença do transcrito nas amostras analisadas. Entretanto, foram observadas diferenças no padrão das bandas entre as condições, principalmente quanto ao número e à intensidade dos produtos amplificados.

Nas amostras provenientes de larvas de 4º instar, foram observadas duas bandas para AAEL012774, sendo uma delas próxima à faixa de 200 pb do marcador molecular e, portanto, próxima ao tamanho esperado de 186 pb para o amplicon definido pelo par de *primers* utilizado. A segunda banda, localizada próxima a 100 pb, apresenta tamanho inferior ao esperado para o amplicon. Esse padrão pode estar relacionado à formação de produtos de amplificação inespecíficos, embora análises adicionais sejam necessárias para confirmar a identidade dos fragmentos.

Nos mosquitos adultos alimentados com sacarose, foi observada uma única banda para AAEL012774, enquanto nos adultos alimentados com sangue também foi detectada amplificação. A diferença observada entre as condições pode estar relacionada às características das amostras utilizadas para a extração de RNA e à composição do material proveniente dos diferentes tipos de alimentação. No caso dos mosquitos alimentados com sangue, componentes derivados da alimentação sanguínea podem interferir na qualidade da amostra ou na eficiência das etapas de extração e amplificação, o que pode contribuir para a menor definição do produto observado no gel.

Conclusão

A amplificação de AAEL012774 nas diferentes condições avaliadas demonstra a presença de seu transcrito no intestino de larvas de 4º instar e em mosquitos adultos alimentados com sacarose ou sangue. A detecção de um amplicon compatível com o tamanho esperado reforça essa evidência. Esses resultados fornecem informações iniciais sobre a expressão de AAEL012774 e destacam a necessidade de estudos complementares para elucidar sua função e participação em processos fisiológicos associados ao desenvolvimento do *Aedes aegypti*.

Referências

BONNANS, C.; CHOU, J.; WERB, Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 15, p. 786–801, 2014. DOI: https://doi.org/10.1038/nrm3904.

BRAGA, Ima Aparecida; VALE, Denise. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiol. Servir. Saúde,** Brasília, v. 2, pág. 113-118, jun. 2007. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.phpscript=sci_arttext&pid=S167949742007000200006&lng=pt&nrm=iso. Acesso em 18 agosto 2026.

GOMES, B.; TOLLEFSEN, D. M.; PAES, A. M. A.; *et al.* Effect of metal ion chelators on proteolytic activity in midgut homogenates of *Aedes aegypti* larvae. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: **Biochemistry and Molecular Biology,** v. 163, n. 3-4, p. 205–211, 2012. DOI: 10.1016/j.cbpb.2012.07.002.

KANTOR, A. M. *et al.* Identification and initial characterization of matrix metalloproteinases in the yellow fever mosquito*, Aedes aegypti.* **Insect Molecular Biology,** v. 26, n. 1, p. 113–126, 2017. DOI: 10.1111/imb.12275.

NAGASE, H.; WOESSNER, J. F. Matrix metalloproteinases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 31, p. 21491–21494, 1999. DOI: 10.1074/jbc.274.31.21491.

THEOCHARIS, A. D. *et al.* Extracellular matrix structure. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 97, p. 4– 27, 2016. DOI: 10.1016/j.addr.2015.11.001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue and severe dengue: fact sheet. Geneva: **WHO**, 2022. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue. Acesso em: 18 agosto 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global arbovirus initiative: tackling the increasing burden of arboviruses worldwide. Operational guidance. Geneva: **WHO**, 2023. Disponível em: https://www.who.int/initiatives/global-arbovirus-initiative. Acesso em: 16 agosto 2026.