

## MODULAÇÃO NA EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS AO SISTEMA IMUNE DO CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* APÓS SILENCIAMENTO VIRAL VIA RNA DE INTERFERÊNCIA (RNAi) DOS VÍRUS WSSV E IMNV

Luciane M. Perazzolo\*, Emily B. Justino, Cristhiane Guertler, Rubens G. Feijó, Luis F. F. Marins, Rafael D. Rosa

\*Laboratório de Imunologia Aplicada à Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Florianópolis/SC, Brasil.

As doenças infecciosas representam hoje uma das mais sérias ameaças para o sucesso da carcinicultura mundial. No Brasil, episódios de mortalidade devido a infecções virais, como o vírus da mancha branca (WSSV) e o da mionecrose infecciosa (IMNV), foram responsáveis pelo declínio da carcinicultura em vários estados da costa litorânea. Assim, a prevenção e o controle de infecções nos cultivos representam a mais urgente ação a ser realizada, pois dela depende o sucesso e a sustentabilidade da Aquicultura. Dentro desse contexto, a utilização da técnica de RNA de interferência (RNAi), para inibir a replicação de vírus, tem despontado como uma ferramenta biotecnológica promissora para a prevenção de mortalidades nos cultivos de camarões. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os níveis de expressão de genes associados ao sistema imune de *Litopenaeus vannamei* desafiados com o WSSV ou IMNV, após o silenciamento viral por RNAi. Animais previamente tratados com dsRNA específico para o gene VP28 (dsRNA-WSSV) do vírus WSSV foram desafiados com uma dose letal deste mesmo vírus ( $1,3 \times 10^7$  cópias virais), enquanto que animais tratados com dsRNA específico para a região ORF1 do genoma do IMNV (dsRNA-IMNV) foram infectados com  $1,02 \times 10^6$  cópias do IMNV. Camarões não infectados e tratados com dsRNA inespecífico ou solução salina foram utilizados como controle. Os tratamentos com dsRNA-WSSV e dsRNA-IMNV conferiram uma proteção viral específica de 73% e 90%, respectivamente. Através de PCR quantitativa em tempo real, a expressão de genes associados ao sistema imune de diferentes categorias funcionais (defesas antimicrobianas e antivirais, sistema redox, sinalização celular, homeostasia e coagulação, sistema de ativação da profenoloxidase) foi analisada 24 h e 48 h pós-infecção nos diferentes grupos experimentais. Tanto em animais tratados com dsRNA específico para o WSSV quanto para o IMNV houve um aumento nos níveis de expressão de genes associados às defesas antivirais (HHAP, SVC1, Sid-1, Dicer-2 e Argonauta-2) e antimicrobianas (proPO, peptídeos antimicrobianos e inibidores de proteases). De maneira interessante, enquanto que os níveis de expressão do gene Dicer-1 diminuíram com o tratamento com dsRNA-IMNV, a sua expressão não foi alterada com dsRNA-WSSV. Assinaturas transcricionais específicas para cada vírus foram identificadas e podem servir como candidatos ao desenvolvimento futuro de marcadores moleculares de resistência/tolerância aos respectivos vírus. Esse estudo pioneiro demonstra que a modulação desses genes pode estar associada à limitação da infecção viral, sugerindo ainda a participação desses efetores nas defesas antivirais de camarões.

**Palavras chave:** RNA de interferência, silenciamento viral, WSSV, IMNV, carcinicultura.