

## Estudo da expressão dos genes de globinas em células HEL mediante o silenciamento do gene PIP4KII $\alpha$

**Thais T. Jorge\***, Daniela M. Ribeiro, Ana P. D. Costa, Susan E. D. C. Jorge, Maria F. Sonati

### Resumo

Diversos estudos têm demonstrado a possível relação existente entre a expressão gênica das globinas e as fosfatidilinositol-fosfato-quinases (PIPKs), dentre as quais a PIPK da família 4 do tipo II, pertencente ao subtipo  $\alpha$  (PIP4KII $\alpha$ ) se destaca por apresentar os resultados mais significativos e reprodutivos em cultura de células de pacientes com doença de hemoglobina H e de células eritroleucêmicas imortalizadas. A fim de elucidar a interação entre tais proteínas, este trabalho visou mensurar os níveis de expressão gênica e de síntese proteica das globinas  $\alpha$  e  $\gamma$  em células em que o gene PIP4KII $\alpha$  foi silenciado. Os resultados obtidos revelaram que a expressão gênica da globina  $\alpha$  apresentou tendência de elevação mediante o silenciamento do gene PIP4KII $\alpha$ , ocorrendo o oposto em relação à globina  $\gamma$ . As análises a nível protéico não confirmaram as de expressão gênica, o que evidencia a necessidade de repetição dos experimentos. No entanto, ainda assim os dados obtidos corroboram a hipótese de relação entre a expressão do gene PIP4KII $\alpha$  e a dos genes das globinas  $\alpha$  e  $\gamma$ , abrindo horizontes para a descoberta de novas medidas terapêuticas para hemoglobinopatias.

**Palavras-chave:** Silenciamento, Globinas, PIP4KII $\alpha$

### Introdução

A enzima fosfatidilinositol-5-fosfato-4-quinase, subtipo alfa (PIP4KII $\alpha$ ), responsável pela produção do segundo mensageiro fosfatidilinositol 4,5 fosfato, o qual exerce papel regulatório em vários processos celulares, inclusive na expressão gênica, é amplamente expressa em células hematopoiéticas durante as etapas da diferenciação eritróide. Estudos prévios sugerem que a expressão do gene PIP4KIIA pode estar relacionada à expressão dos genes de globinas. O presente trabalho teve por objetivo silenciar o gene PIP4KII $\alpha$  em células eritroleucêmicas imortalizadas (HEL) para observação do efeito da depleção da enzima PIP4KII $\alpha$  na síntese das cadeias globínicas  $\alpha$  e  $\gamma$ .

transdução de células eritroleucêmicas imortalizadas. **B.** Western Blotting da enzima PIP4KII $\alpha$  e das globinas  $\alpha$  e  $\gamma$  após o silenciamento do gene PIP4KII $\alpha$  em células eritroleucêmicas imortalizadas.

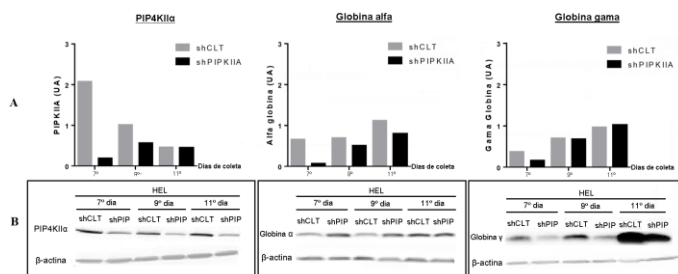
### Conclusões

Tais resultados, apesar de preliminares, corroboram a hipótese de relação entre a expressão do gene PIP4KII $\alpha$  e aquela dos genes das globinas  $\alpha$  e  $\gamma$ . No entanto, os experimentos deverão ser repetidos com outras linhagens celulares imortalizadas, bem como em precursores eritróides CD34+, a fim de melhor investigar a possível influência da PIP4KII $\alpha$  sobre a expressão dos genes de globinas.

### Resultados e Discussão

Após a transdução de células HEL com partículas lentivirais contendo RNA de interferência (RNAi) para o gene PIP4KII $\alpha$  e posteriores análises por Quantitative Real Time PCR e Western Blotting, observou-se que o nível de expressão gênica de globinas  $\alpha$  apresentou discreta tendência de diminuição, ao contrário da produção protéica, que aumentou mediante o silenciamento do gene PIP4KII $\alpha$ . A globina  $\gamma$  sofreu redução de síntese, em comparação às células controle, tanto a níveis de expressão gênica, quanto de produção protéica.

### Agradecimentos



**Figura 1. A.** Gráficos representativos de qPCR da expressão dos genes PIP4KII $\alpha$  e das globinas  $\alpha$  e  $\gamma$  após