Estabelecimento de Técnica de Microinjeção de Morfolino em Embriões de *Zebrafish*

Natália Eltz Silva1, Monica Vianna (orientador)1

1 ZebLab e Laboratório de Biologia e Desenvolvimento do Sistema Nervoso, Faculdade de Biociências, PUCRS
Av. Ipiranga, 6681 - Partenon - Porto Alegre/RS - CEP: 90619-900

Resumo

O projeto visa a estabelecer e a validar um modelo de neurodegeneração induzido por injeção de morfolino (MO) para o produto do gene *psen1* pela análise de parâmetros de embriotoxicidade, avaliação de morte celular e comportamental em *zebrafish*.

A Doença de Alzheimer (AD) é uma doença neurodegenerativa progressiva, sendo a causa mais comum de demência em idosos. É caracterizada cognitivamente pela perda progressiva de memória e molecularmente pelo acúmulo de proteína β-Amiloide (Aβ), responsável pela formação de placas, e também pelos emaranhados neurofibrilares que são constituídos pela proteína tau hiperfosforilada. Nas formas familiares da doença há mutações nos genes *psen1* e *psen2* que codificam proteínas da família das presenilinas, responsáveis pela clivagem da proteína precursora do Amiloide, e quando alteradas funcionalmente, geram a proteína Aβ tóxica, principal agente da DA.

O *zebrafish* é um animal adequado para estudos embriológicos e de alterações funcionais e estruturais do sistema nervoso graças à complexidade típica de um animal vertebrado associado à transparência durante seu período embrionário e larval.

Pós a obtenção dos embriões pelo acasalamento de matrizes *wild-type* em nosso biotério, estes foram destinados à microinjeções de MO controle (scramble) e desenhados contra o gene da *psen1* nas quantidades 2,5ng, 12,5ng e 25ng, acompanhados de um controle não-injetado. Após a injeção os animais foram colocados em placas de 6 poços, até os 5 dias pós-fertilização (dpf) a mortalidade e alterações morfológicas foram monitoradas. Ao

completarem 5dpf foram submetidos a teste comportamental para avaliação de parâmetros de locomoção e exploratórios em placas de 24 poços durante 5min.

As análises de mortalidade não tiveram diferenças significativas entre os grupos, nos parâmetros teratogênicos os animais injetados com a dose 25ng mostraram um pequeno atraso no desenvolvimento e menos pigmentação. Os dados comportamentais apresentaram nas doses 12,5 e 25ng uma exploração menor comparada aos demais grupos, mas sem diferenças significativas.

A dose de 12,5ng foi escolhida para as etapas seguintes devido ao efeito negativo sobre o comportamento sem comprometer o desenvolvimento. Futuramente serão realizados os fechamentos dos N faltantes de cada grupo e com estes, amostras para analises de WB e PCR- real time serão armazenados e posteriormente analisados.

Palavras-chave: Morfolino; presenilina e *zebrafish***.**