

## RESUMO

Nascimento, João Batista Placido do. Identificação de RNAs não codificadores expressos no epitélio olfatório. 2018. 103 páginas. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Bioquímica). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Odorantes são detectados por centenas de receptores olfatórios (ORs) que pertencem à superfamília dos receptores acoplados à proteína G. Estes receptores são expressos nos neurônios sensoriais olfatórios localizados na cavidade nasal. Cada neurônio sensorial olfatório expressa um único alelo de gene OR de uma grande família de genes OR. Este padrão característico da expressão de genes OR resulta na formação de um mapa olfatório espacial no bulbo olfatório, que é necessário para a discriminação de odorantes pelo sistema olfatório. Os mecanismos envolvidos nesta regulação ainda não são bem conhecidos. O DNA genômico em neurônios olfatórios é coberto com marcas repressivas de metilação de histonas, indicando que a regulação da estrutura da cromatina deve desempenhar um papel importante na regulação da expressão de genes OR. Trabalhos anteriores demonstraram que RNAs não codificadores (ncRNAs) estão envolvidos na deposição de marcas de histonas em determinados genes. No entanto, os ncRNAs expressos no epitélio olfatório ainda não são conhecidos. Neste trabalho, identificamos e catalogamos o repertório completo de ncRNAs anotados, incluindo os miRNAs, expressos no epitélio olfatório de camundongos recém-nascidos e adultos. Muitos destes, apesar de já anotados como ncRNAs, ainda não foram descritos na literatura como expressos no MOE. Identificamos ao todo 1161 miRNAs e 295 lincRNAs expressos no epitélio olfatório, e pudemos verificar como os níveis de expressão destes RNAs variam durante o desenvolvimento. A partir deste repertório, selecionamos lincRNAs que são preferencialmente expressos no epitélio olfatório quando comparados a outros tecidos de camundongo. Dez destes lincRNAs foram selecionados para validação utilizando-se RT-PCR. Cinco lincRNAs foram validados e analisados quanto à sua expressão em diferentes tecidos. Nosso trabalho estabelece uma plataforma de dados que permitirá o estudo do papel desempenhado por ncRNAs no epitélio olfatório. Além disto, os nossos resultados mostram que a abordagem utilizada permite a identificação de novos lincRNAs que apresentam expressão restrita ou preferencial no epitélio olfatório, e que, portanto, devem apresentar uma função relevante para o olfato.

**Palavras-chave:** Epitélio Olfatório, Receptores olfatórios, ncRNAs, miRNAs, lincRNAs, sequenciamento de DNA em larga escala, expressão gênica.

## ABSTRACT

Nascimento, João Batista Placido do. Identification of noncoding RNAs expressed in the olfactory epithelium. 2018. 103 pages. PhD Thesis - Graduate Program in Biochemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Sao Paulo.

Odorants are detected by hundreds of odorant receptors (ORs) which belong to the superfamily of G protein-coupled receptors. These receptors are expressed in the olfactory sensory neurons of the nose. Each olfactory sensory neuron expresses one single OR gene allele from a large family of OR genes. This characteristic pattern of OR gene expression results in the formation of a spatial olfactory map in the olfactory bulb, which is required for odorant discrimination by the olfactory system. The mechanisms involved in this regulation are unknown. OR genomic DNA in olfactory neurons is covered with repressive histone methylation marks, indicating that the chromatin structure should play an important role in the regulation of OR gene expression. Previous studies suggest that noncoding RNAs (ncRNAs) are involved in the deposition of histone marks in certain genes. However, the ncRNAs expressed in the olfactory epithelium are completely unknown. In this work, we used RNA-seq to identify and catalogue the complete repertoire of ncRNAs, including miRNAs, expressed in the olfactory epithelium from newborn and adult mice. In this way, we were able to identify 1161 miRNAs and 295 lincRNAs and analyze how their levels of expression varies during development. Out of these repertoire, we selected lincRNAs that are preferentially expressed in the olfactory epithelium when compared to other mouse tissues. Ten out of these lincRNAs were selected for validation by using RT-PCR, and five of them could be validated and further analyzed. Our work establishes a data platform which will enable the study of the role played by ncRNAs in the olfactory epithelium. In addition, our results show that our approach can be successfully used to identify ncRNAs that are restrictedly or preferentially expressed in the olfactory epithelium, and which therefore must be relevant for olfaction.

**Keywords:** Olfactory epithelium, odorant receptors, ncRNAs, miRNAs, lincRNAs, RNA-seq.