

PROSPECÇÃO DE SNPs NO GENE CALBIDINA E DISTRIBUIÇÃO GENOTÍPICA DO POLIMORFISMO CALB A>G EM UMA LINHAGEM DE FRANGOS DE CORTE

Marchesi, J.A.P.¹; Neis, K.L.^{1*}; Fornari, M. B.²; Ibelli, A. M. G.³; Pandolfi, J. R.³; Ledur, M.C.³
Peixoto, J.O.³;

¹Graduando em Ciências Biológicas pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, Estagiário da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CNPQ/PIBIC. *E-mail: karinaneis@hotmail.com

²Universidade Federal do Paraná

³Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: gene candidato, integridade óssea, polimorfismo, SNP.

Introdução

Os problemas relacionados à integridade óssea têm causado perdas econômicas à indústria avícola por diminuir o desempenho das aves, a qualidade das carcaças e também por comprometer o bem-estar animal.

Uma estratégia promissora para melhorar a qualidade do esqueleto das aves é a aplicação da genética molecular por meio do uso de marcadores associados a essas características, como complemento em programas de melhoramento. Dessa forma, por estar descrito como atuante em processos metabólicos envolvidos na ossificação (1), o gene da calbindina (CALB) pode ser considerado como candidato a associação com características de qualidade do esqueleto na galinha. Portanto, objetivou-se prospectar polimorfismos no gene calbindina e genotipar um SNP, verificando a distribuição alélica na população TT.

Materiais e Métodos

O DNA genômico foi extraído utilizando-se o reagente DNAzol®. Para a busca de SNPs, quatro regiões do gene CALB foram sequenciadas em 15 animais (10 machos da linhagem TT e 5 fêmeas da linhagem CC). Foram efetuadas duas reações de sequenciamento para cada indivíduo, uma utilizando o primer direto (5' ATGCTCAGCTAACTTGGTGGGAGT 3') e outra o primer reverso (5' ACAGCTGGGCAGTTATCAAGACCT 3'). O sequenciamento foi realizado em sequenciador ABI 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Os resultados foram analisados no programa Phred/Phrap/Consed/PolyPhred para verificação da qualidade, montagem das sequências e análise dos polimorfismos.

A detecção do SNP no gene CALB foi realizada pela técnica de PCR-RFLP utilizando a enzima de restrição Msp I que reconhece a mutação de polimorfismo de A>G.

Foram genotipados 1402 animais de uma população desenvolvida para validação de marcadores moleculares em frango de corte (População Referência TT).

Foram obtidas as frequências alélicas e foi verificado se a população estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg utilizando o teste do Qui-quadrado.

Resultados e Discussões

Foram encontrados 38 SNPs nas quatro regiões sequenciadas. Desses, apenas um está localizado em exon, enquanto todos os outros se apresentam em regiões de introns.

Dos parentais da População Referência TT, 45 (41,3%) apresentaram o genótipo AA, 49 foram heterozigotos (44,9%) e 15 animais tiveram o genótipo GG (13,76%). Do total de 1402 animais genotipados, 458 (32,6%) apresentaram o genótipo AA, 748 (53,3%) o

genótipo AG e 202 (14,40%) o genótipo GG, evidenciando elevada heterozigotidade desse SNP na população em estudo (Figura 1).

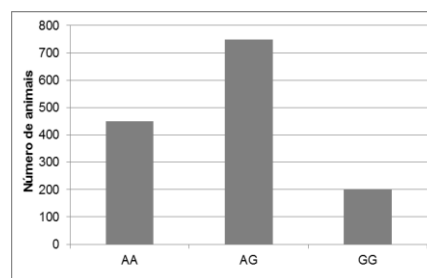


Fig. 1. Distribuição dos genótipos para o SNP A>G no gene CALB

Na análise de qui-quadrado, foi possível observar que para esse SNP a população se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Tab. 1. Análise de Qui-quadrado para o SNP no gene CALB na População Referência TT.

Genótipo	Esperado	Observado
Homozigotos AA	484	458
Heterozigotos AT	678	748
Homozigotos TT	236	202

Na região em que este gene está localizado já foram descritos QTLs para características como densidade óssea, tamanho, peso e diâmetro da tibia, razão entre peso e tamanho da tibia, peso do músculo do peito e distribuição de gordura. Considerando a importante função da calbindina como proteína ligadora de cálcio (2) e a localização do gene no genoma da galinha, pode-se considerar que esse gene é um forte candidato para estudos de associação com integridade óssea em frangos de corte.

Conclusões

Foram descobertos novos SNPs no gene calbindina na galinha que poderão ser utilizados em análises de associação com características de integridade óssea em frangos de corte.

Referências

1. WASSERMAN, RH; FULLMER, CS (1989). "On the molecular mechanism of intestinal calcium transport." *Advances in experimental medicine and biology* 249: 45–65. PMID 2543194.
2. EWING, B.; HILLIER, L.; WENDL, M.; GREEN P. Basecalling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Research*, v.8, p.175-185, 1998. Nickerson et al., 1997.