

## PROSPECÇÃO DE SNPs EM UM FRAGMENTO DO GENE DA OSTEOPONTINA EM FRANGOS DE CORTE

Neis, K.L.<sup>1\*</sup>; Fornari, M.B.<sup>2</sup>; Ibelli, A.M.G.<sup>3</sup>; Marchesi, J.A.P.<sup>1</sup>; Tessmann, A.L.<sup>3</sup>; Peixoto, J.O.<sup>3</sup>; Ledur, M.C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, Estagiária da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CNPQ/PIBIC. E-mail: karinaneis@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná

<sup>3</sup>Embrapa Suínos e Aves

**Palavras-chave:** sequenciamento, SNP, linhagem pura, gene candidato.

### Introdução

Na avicultura avanços significativos foram alcançados nas últimas décadas, especialmente para características como a conversão alimentar, período até o abate e taxa de crescimento (1). Entretanto, associadas a esse progresso obtido pelo melhoramento tradicional, surgiram algumas características correlacionadas indesejáveis, como aumento na incidência de problemas locomotores, pela fragilidade de pernas e ossos. Estes problemas representam perdas econômicas para a cadeia avícola, por aumentar o descarte das aves em função de carcaças mal desenvolvidas e fraturas. Medidas para reduzir tais perdas vêm sendo estudadas através da identificação de genes que controlam as características de integridade óssea, por meio de marcadores moleculares, em especial SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único). Dessa maneira, objetivou-se verificar a presença de polimorfismos e genotipar um SNP no gene da osteopontina (SPP1) em uma linhagem paterna de frangos de corte.

### Material e Métodos

O DNA genômico das aves foi extraído a partir de sangue utilizando o Kit DNAzol®. Para a busca de SNPs no gene SPP1, um fragmento de 766 pb foi sequenciado em 15 animais (10 machos da linhagem TT e 5 fêmeas da linhagem CC). Foram efetuadas duas reações de sequenciamento para cada indivíduo, utilizando os primers direto (5' TGGGAAGGGTGGTGAGGATAAGAA 3') e reverso (5' ATGCACAGGTTCTCTTAACGGGT 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.

Em seguida, um SNP (217 pb – A>T) foi escolhido e genotipado em 1340 animais da linhagem paterna da População Referência TT. A genotipagem do SNP foi realizada por meio da técnica de PCR-RFLP utilizando a enzima Xmn I. 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

Na região amplificada foram encontrados 11 SNPs, sendo quatro localizados em região de éxon e sete em região de íntron, correspondendo a uma média de 1,44 SNPs/ 100bp.

Nas aves parentais da População Referência TT, 49 (48,5%) apresentaram o genótipo AA, 51 foram heterozigotos (50,5%) e apenas 1 animal apresentou o genótipo TT(1%).

Do total de 1340 animais genotipados na População Referência TT, 945 (70%) apresentaram o genótipo AA, 363 (27%) o genótipo AT e 30 (2,32%) o genótipo TT (Figura 1), evidenciando variabilidade desse SNP na população em estudo.

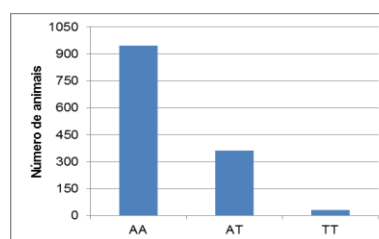


Fig. 1. Distribuição dos genótipos para o SNP A>T no gene SPP1

Na análise de qui-quadrado, observa-se que a população não se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0, 05$ ) (Tabela 1), indicando que a seleção praticada na população está favorecendo o genótipo AA.

Tab. 1. Análise de Qui-quadrado para o SNP no gene SPP1.

| Genótipo         | Esperado | Observado |
|------------------|----------|-----------|
| Homozigotos AA   | 949      | 945       |
| Heterozigotos AT | 356      | 363       |
| Homozigotos TT   | 34       | 30        |

Na região do gene já foram descritos QTLs para características como gordura visceral, peso da coxa e sobrecoxa, largura da tibia, razão de quantidade de carne/osso da coxa, entre outros. Além disso, o gene da osteopontina é um importante marcador biológico para o desenvolvimento do tecido ósseo. Considerando sua ação biológica e localização no genoma, pode-se considerar que esse é um gene candidato para estudos de associação em frangos de corte.

### Conclusões

Onze SNPs foram descritos no gene da osteopontina. O SNP 217 A>T está segregando na população TT e é um forte candidato para futuras análises de associação com características produtivas em frangos de corte.

### Referências

- LEDUR, M. C.; NONES, K.; MOURA, A. S. A. M. T.; RIBEIRO, J. B.; COUTINHO, L. L. O Uso de Marcadores Moleculares na Produção de Aves. In: BRIDI, A. M.; FONSECA, A. N. A.; SILVA, C. A.; PINHEIRO, J. W. Zootec 2007 – A zootecnia frente a novos desafios. Anais... Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, p.457-482, 2007.
- 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.