

AVALIAÇÃO DE MUTAÇÕES GENÉTICAS EM BOVINOS POR PCR-RFLP

PE06200620/055

Brenda Ariel da Silva Dorneles (Discente - IFSul Campus Pelotas Visconde da Graça – Licenciatura em Ciências Biológicas –

brendaariel.dorneless@gmail.com)

Pedro Augusto Silva Silveira (Orientador - IFSul Campus Pelotas Visconde da Graça - Coordenadoria de Zootecnia - pedrosilveira3@hotmail.com)

Maria Selo Pereira (Discente - IFSul Campus Pelotas Visconde da Graça - Licenciatura em Ciências Biológicas - pereiramariaseloi@gmail.com)

Augusto Schneider (Docente - Universidade Federal de Pelotas - Faculdade de Nutrição - augustoschneider@gmail.com)

Câmpus Pelotas – Visconde da Graça

14^o
JIC
IFSul

JORNADA DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO
INSTITUTO FEDERAL SUL-RIO-GRANDENSE

2021

INSTITUTO
FEDERAL
Sul-rio-grandense

introdução

A utilização de bovinos com maior mérito genético para produção de carne e leite tem sido alavancada pelos estudos sobre o tema e o desenvolvimento de novas tecnologias. Neste contexto, buscamos entender a ocorrência de mutações de nucleotídeo único (SNP, *single nucleotide polymorphism*) no DNA e sua relação com parâmetros produtivos de interesse, através da genotipagem por PCR-RFLP.

Objetivo

Este trabalho objetiva-se a apresentar esta técnica e discutir algumas vantagens e limitações.

Metodologia

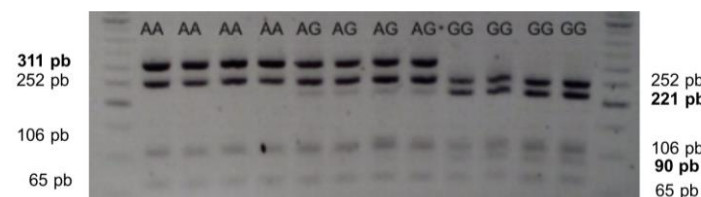
Utilizamos amostras de sangue total de 210 vacas para extração do DNA e genotipagem de um SNP previamente observado no gene de uma proteína ligada a inflamação (Paraoxonase 1). Para a reação em cadeia da polimerase (PCR, *polymerase chain reaction*) uma alíquota de DNA de cada amostra foi diluída em água destilada, contendo também dois primers iniciadores específicos, nucleotídeos do DNA (adenina, citosina, guanina e timina), tampão, cloreto de magnésio (MgCl₂) e polimerase.

A reação passou por 40 ciclos com três fases: desnaturação da fita de DNA (94 °C, 60 seg), alinhamento dos primers (57 °C, 45 seg) e alongamento da nova fita molde (72 °C, 60 seg). Para a digestão enzimática (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*), uma alíquota da reação de PCR foi diluída em água destilada, juntamente com tampão e a enzima BstII, com afinidade específica para o SNP estudado (A/G). Após, foi feita eletroforese em gel de agarose para identificação dos genótipos.

Figura 1. Gel de agarose com sete amostras após o PCR, amplificando fragmento da PON1



Figura 2. Gel de agarose com 12 amostras genotipadas para o SNP da PON1 pelo método do RFLP.



Conclusões

Como vantagens observamos o baixo custo em relação a outras técnicas, com repetibilidade de resultados e grande sensibilidade e especificidade. A análise de uma mutação por vez e o tempo entre a coleta da amostra e o resultado são os maiores limitantes para a utilização em larga escala. Sendo assim, a técnica de PCR-RFLP tem se mostrado uma excelente alternativa para estudos em bovino, visando identificar potenciais marcadores genéticos para o melhoramento animal.

Referências

SILVEIRA, Pedro Augusto Silva et al. Polymorphisms in the anti-oxidant paraoxonase-1 (PON1) gene associated with fertility of postpartum dairy cows. *Theriogenology*, v. 125, p. 302-309, 2019.

Caso o bolsista seja financiado pelo
CNPq ou FAPERGS inserir o devido logo
AQUI

REALIZAÇÃO
propesp

INSTITUTO FEDERAL
Sul-rio-grandense