

Análise funcional de genes candidatos associados à resistência ao carrapato em bovinos da raça Gir¹

Líliá Silva Carvalho², Emily Alves Rodrigues Almeida², Karine Gabrielli Lima de Souza³, Marcos Vinícius Gualberto Barbosa da Silva⁴, Ana Fabrícia Braga Magalhães⁵, Lucas Lima Verardo⁵

¹Parte de trabalho de conclusão de curso do primeiro autor

²Discente de Graduação em Zootecnia - UFVJM Bolsista do CNPq. e-mail: lilia.carvalho@ufvjm.edu.br; emily.alves@ufvjm.edu.br

³Discente do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFVJM. e-mail: karinegablima@gmail.com

⁴Pesquisador da EMBRAPA Gado de Leite. e-mail: marcos.vb.silva@embrapa.br

⁵Docente do Departamento de Zootecnia - UFVJM. e-mail: ana.fabricia@ufvjm.edu.br; lucas.verardo@ufvjm.edu.br

Resumo: O ectoparasita *Rhipicephalus microplus* causa grandes prejuízos na pecuária nacional. Neste trabalho, usamos os genes previamente identificados como ponto de partida para buscar variantes (SNV e InDels) presentes nas suas regiões promotoras a partir do ressequenciamento de animais da raça Gir. Foram observados um total de 85 genes candidatos mostrando SNV/InDels na região promotora, 5'UTR ou codificantes identificadas nas sequências da raça Gir. A partir deles, construímos uma rede gene-processo biológico e observamos 8 genes associados a processos biológicos relacionados ao sistema imunológico. Desta forma, com o uso das redes gênicas foi possível encontrar genes candidatos e processos biológicos que tem relação com o sistema imunológico e que estão associados à resistência a este ectoparasita.

Palavras-chave: DNA, ectoparasita, genoma, imune, sequenciamento, variantes

Abstract: The ectoparasite *Rhipicephalus microplus* causes great damage to national livestock. In this work, we used the previously identified genes as a starting point to search for variants (SNV and InDels) present in their promoter regions from the resequencing of Gir animals. A total of 85 candidate genes showing SNV/InDels in the promoter region, 5'UTR or coding identified in the Gir breed sequences were observed. From them, we constructed a gene-biological process network and 8 genes associated with biological processes related to the immune system were observed. In this way, using gene networks it was possible to find candidate genes and biological processes that are related to the immune system and that are associated with resistance to this ectoparasite.

Keywords: DNA, ectoparasite, genome, immune, sequencing, variants

Introdução

O ectoparasita *Rhipicephalus microplus* causa grandes prejuízos na pecuária nacional, tendo em vista o seu alto potencial de prejudicar a saúde animal, acarretando perda de peso, redução na produção de couro e leite, e aumento de mortalidade causada pela tristeza parasitária (Gueretz et al. 2020). Estudos genéticos como os de associação genômica ampla (GWAS) para identificar regiões que possuem associação à resistência a carrapatos vêm sendo publicados (dos Santos et al., 2022). Além disso, dados de sequenciamento em diferentes raças de bovinos estão cada vez mais acessíveis, favorecendo a identificação de variantes. Assim, neste trabalho, foram usados os genes previamente identificados por Dos Santos et al., (2022) como ponto de partida para buscar variantes (SNV e InDels) nas regiões promotoras a partir do ressequenciamento de animais da raça Gir.

Material e Métodos

Resequenciamento da raça Gir

Foram analisados dados completos de sequenciamento do genoma de 13 animais Gir, fornecidas pela Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, Brasil). As leituras pareadas de ressequenciamento do genoma inteiro (2×125 pb) foram realizadas na plataforma Illumina HiSeq2500 com uma profundidade média de sequenciamento de 13,5X. As sequências foram analisadas para o controle de qualidade e o alinhamento realizado utilizando o genoma bovino de referência ARS-UCD 1.2 de acordo com as orientações do projeto 1000bulls. SNVs e InDels foram classificados e identificados via ferramenta Ensembl Variant Effect Predictor (VEP, versão 84).

Análises funcionais de genes candidatos contendo variantes

Com o objetivo de obter uma lista de genes candidatos à resistência a carrapatos em bovinos, foi utilizado a lista de genes apresentada por Dos Santos et al., (2022). A partir desta, genes que apresentaram SNV/InDels na região promotora, 5'UTR ou codificadoras, identificadas nas sequências Gir foram selecionados. As redes de genes de processos biológicos foram geradas por meio do Cytoscape ClueGO (<http://apps.cytoscape.org/apps/cluego>) para destacar as interações gênicas associadas à resistência a carrapatos. Assim, foi possível produzir as redes e esclarecer os principais processos biológicos.

Resultados e Discussão

Foram observados um total de 85 genes candidatos mostrando SNV/InDels na região promotora, 5'UTR ou codificantes identificadas nas sequências da raça Gir. A partir deles, foi construído uma rede gene-processo biológico (Figura 1) e foram observados 8 genes (*PUM1*, *MEIS2*, *RIMS3*, *CACNA1A*, *SPHKAP*, *LOC536229*, *PGSI*, *PLXNA4*) associados a processos biológicos e relacionados ao sistema imunológico (ex.: regulação positiva de RIG -I via de sinalização, regulação da proliferação de mioblastos, regulação da sinalização da proteína quinase A, processo biossintético de cardiopina, morfogênese do nervo vago).

O processo biológico da via de sinalização RIG-I relacionado ao gene *PUM1* é importante para controlar a infecção por vírus e reconhecer patógenos citoplasmáticos, questões que são cruciais para iniciar resposta imune contra vírus (Kell et al. 2015). Considerando que os carrapatos são conhecidos como vetores de vários vírus de interesse para a saúde animal (Souza et al. 2018), o gene citado pode ter um papel crucial no reconhecimento e controle destes patógenos, e assim, promover uma maior ou menor resistência dos animais. Outro gene em destaque foi o *RIMS3*, que é um gene regulador de uma citocina ligada ao sistema imunológico (Phelan et al. 2023). Estudos como o de Brossard e Wikel (2005) documentaram que o carrapato está relacionado a regulação negativa da citocina, ou seja, o *RIMS3* pode ter um papel no controle do sistema imune associado à resposta ao carrapato.

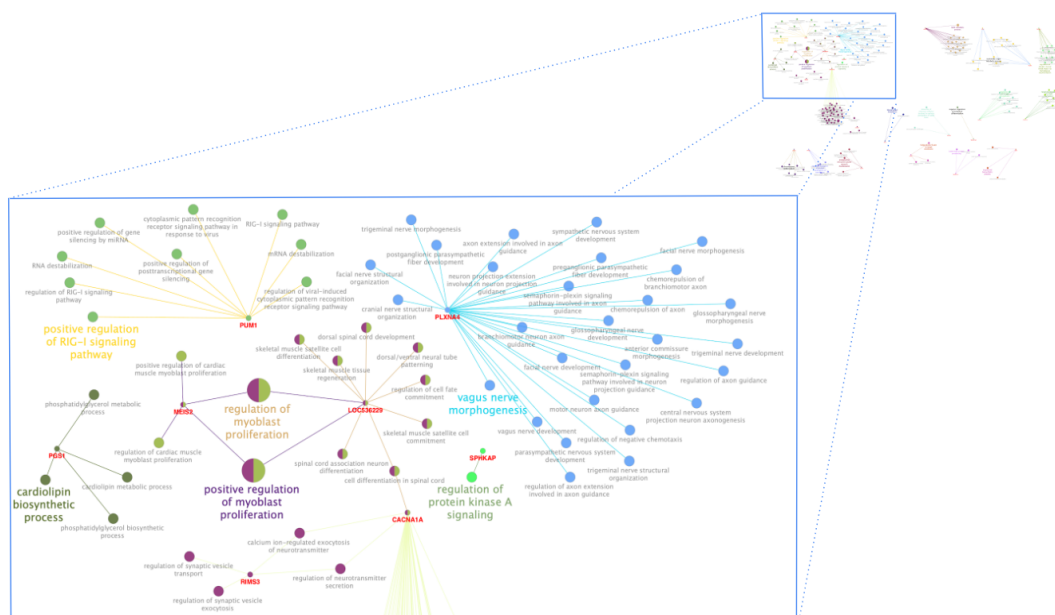


Figura 1. Redes entre genes e processos biológicos associados à resistência ao carrapato em bovinos da raça Gir. Em zoom estão as redes que possuem interação dos processos biológicos e os genes relacionados com sistema imunológico.

Conclusões

Genes candidatos relacionados à resistência a carrapato em bovinos da raça Gir foram identificados. Com o uso das redes gênicas foi possível destacar genes candidatos e processos biológicos que tem relação com o sistema imunológico e que estão associados à resistência a este ectoparasita.

Agradecimentos

CNPq (149864/2023-0), FAPEMIG (APQ-02750-23), CAPES, CNPq, INCT-CA/Brasil.

Literatura citada

BROSSARD, M.; WIKEL, S. K. Tick immunobiology. Cambridge core, 2005.
 GUERETZ, J. S. et al. Manual removal of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in cattle, as an alternative to the use of acaricides in small flakes. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 4, p. 19060- 19066, 2020.
 DE SOUZA, G. M. et al. Viral diversity of *Rhipicephalus microplus* parasitizing cattle in southern Brazil. *Nature communications*, 2018.
 DOS SANTOS, C. G. et al. Candidate genes for tick resistance in cattle: a systematic review combining post-GWAS analyses with sequencing data. *Journal Taylor e Francis Online*, 2022.
 KELL, A. M.; GALE JR, M. RIG-I in RNA virus recognition. *Virology*, v. 479, p. 110-121, 2015.
 PHELAN, J. et al. Genome-wide host-pathogen analyses reveal genetic interaction points in tuberculosis disease. *Nature communications*, 2023.