

Seleção de genes constitutivos para estudos de expressão gênica em linfonodo de bovinos infestados com carrapato *Rhipicephalus (B.) microplus*

Adriana Mércia Guaratini Ibelli¹; Gisele Batista Veneroni¹; Polyana Cristine Tizoto²; Luiz Lehmann Coutinho³; Márcia Cristina de Sena Oliveira⁴; Luciana Correia de Almeida Regitano⁴

¹Aluna de doutorado em Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, adriana.ibelli@gmail.com;

²Aluna de mestrado em Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

³Professor, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP;

⁴Pesquisadora, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

Um dos principais fatores em estudos de expressão gênica é a normalização dos dados por meio do uso de genes constitutivos. Esse é um método simples e amplamente utilizado, pois possibilita o controle de variação na quantidade inicial de material, na qualidade do RNA, na variação intrínseca do equipamento utilizado e nas diferenças na síntese de cDNA, permitindo avaliar se a variação encontrada está relacionada aos tratamentos estabelecidos ou a artefatos. O objetivo deste trabalho foi selecionar um gene constitutivo estável para análise de expressão gênica em linfonodos de bovinos resistentes e sensíveis ao carrapato *Rhipicephalus (B.) microplus*. Foram escolhidas cinco amostras de animais resistentes e cinco de animais sensíveis. Seis genes constitutivos selecionados com base na literatura foram testados, sendo eles: gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), proteína ribossomal 19 (RPL-19), proteína ribossomal 27 (RPL-27), proteína ribossomal S9 (RPS-9), hipoxantina fosforribosil transferase (HPRT-1) e tirosina 3-monoxigenase (YWHAZ). Os valores de “cycle threshold” (Cts) de cada gene para cada grupo experimental (resistente e sensível) foram obtidos em reações de qPCR e, então, foi realizada análise estatística descritiva para obtenção de médias, desvio padrão e erro padrão. Com o objetivo de observar diferenças na expressão gênica entre os grupos experimentais foi aplicado o teste não-paramétrico “Pair Wise Fixed Reallocation Randomisation”. Os programas Genorm e Bestkeeper, específicos para detecção da estabilidade de genes constitutivos, também foram utilizados neste trabalho. Na análise descritiva foi possível observar que os genes RPS-9 e RPL-19 foram os que apresentaram os menores valores de coeficiente de variação, amplitude, desvios e erros padrão, evidenciando que os dados obtidos para eles são mais homogêneos entre os grupos experimentais, enquanto que o gene RPL-27 apresentou-se como o mais variável. O mesmo padrão pôde ser observado quando a comparação foi feita apenas entre os genes, desconsiderando-se a influência do tratamento, no caso, resistência e sensibilidade ao desafio por carrapatos. Não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) na expressão gênica entre os grupos resistentes e sensíveis para nenhum dos genes constitutivos estudados. Os resultados tanto do programa Bestkeeper quanto do Genorm mostraram que o gene RPS-9 foi considerado o mais estável, corroborando os dados encontrados na análise descritiva. Assim o gene RPS-9 foi escolhido para análises de expressão gênica futuras para as condições aqui estudadas.

Apoio financeiro: EMBRAPA, CAPES, CNPq

Área: Genética / Reprodução Animal / Sanidade Animal / Melhoramento Animal