



Detecção do polimorfismo K232A do gene DGAT1 através de tetra-primer ARMS-PCR

Pereira, L¹; Steinberg, RS¹; Peixoto, MGCD²; Machado, MA²; Verneque, RS²; Teodoro, RL²; Fonseca, CG¹; Carvalho, MRS¹

¹Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, MG, Brasil;

²Embrapa Gado de leite, Juiz de Fora, MG, Brasil

Palavras-chave: DGAT1, ARMS, tetra-primer ARMS, Guzerá

O gene DGAT1 codifica a enzima microsomal diacilglicerol-O-aciltransferase, que participa do metabolismo do diacilglicerol em processos como formação de tecido adiposo, absorção de gordura no intestino, montagem da lipoproteína, lactação e metabolismo do triacilglicerol em eucariotos superiores. Esta enzima controla a etapa final da síntese de triglicerídeos. Através de mapeamento genético, um locus relacionado a características de produção leiteira foi mapeado em BTA14. Um polimorfismo em DGAT1 (K232A) explica a maior parte da variância nos parâmetros de produção leiteira mapeada em BTA14. Outras evidências vem do estudo de modelos animais. Camundongos sem ambas as cópias do DGAT1 (DGAT1^{-/-}) não desenvolvem mamas. O polimorfismo K232A em DGAT1 leva à substituição de uma lisina por uma alanina. O alelo K está relacionado menor produção de leite, com diminuição do percentual de proteínas e aumento no percentual de gorduras. O alelo A está associado com um aumento da produção de leite, da percentagem de proteínas e uma diminuição no percentual de gordura. O método de detecção do polimorfismo, baseado em PCR-RFLP, é caro e trabalhoso. Neste estudo nós descrevemos um método alternativo, rápido, barato e de grande especificidade e sensibilidade para a detecção do polimorfismo K232A, baseado em tetra-primer ARMS-PCR (*amplification refractory mutation system*-PCR). Trata-se de um sistema de PCR alelo específica, onde produtos gerados pelos dois alelos são amplificados simultaneamente. O alelo K gera uma banda de 386 bp e o alelo A gera uma banda de 181 bp. Além disto, o sistema gera uma banda constante de 511 pb. Para testar sensibilidade e especificidade do método, comparamos, em sistema de duplo-cego, os resultados obtidos para uma amostra de 80 animais (47 da raça taurina Holandesa e 33 da raça zebuína Guzerá) testados por PCR-RFLP e pelo método aqui descrito. Todos os resultados foram concordantes, sugerindo que a tetra-primer ARMS-PCR que desenvolvemos apresente 100% de sensibilidade e 100% de especificidade. O desenvolvimento deste método representa uma contribuição importante para a redução dos custos na seleção assistida por marcadores.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, Fapemig.