

Desenvolvimento de marcadores moleculares no gene regulador do metabolismo de lipídios na glândula mamaria bovina – PPAR gamma.

Fonseca PAS¹, Rosse IC¹, Lamounier PF¹, Peixoto MGCD², Verneque RS², Machado MA², Carvalho MRS¹

¹Instituto de Ciências Biológicas- UFMG

²Embrapa de Gado e leite – Juiz de Fora

A busca por novos marcadores moleculares se torna cada vez mais importante para a melhoria dos processos de seleção assistida. O maior detalhamento das vias de ativação e controle dos genes de interesse e as variações encontradas nestas é de grande importância para o desenvolvimento e atualização das metodologias atualmente utilizadas neste processo. O gene peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG) é membro de uma família de receptores nucleares que se ligam diretamente a sequência de DNA e promovem a regulação gênica. Este processo é regulado pela ligação direta de esteróides, hormônios tireoidianos, vitaminas, lipídios e xenobióticos. O PPARG desempenha um papel central na regulação dos processos metabólicos relacionados à síntese de lipídios, participando da regulação direta de pelo menos 12 genes e indireta de outros três. Desempenha também, papel fundamental na rede que controla a expressão e função das proteínas SREBF que estão relacionadas a transcrição de genes alvos requeridos para a síntese de colesterol, ácidos graxos, triglicérides e fosfolipídios na glândula mamaria bovina. No entanto, apesar de sua grande participação no controle da síntese de lipídeos na glândula mamária bovina, este gene representa somente cerca de 0.01% do mRNA total. Isto indica que, possivelmente está ocorrendo uma regulação fina de seu produto gênico. Desta forma, o estudo das regiões sucessivas de regulação gênica na estrutura do gene, 5' e 3' UTR, não traduzidas, 5'e 3'UTRs se mostra de extrema importância. Até o momento, apenas um SNP foi descrito na região 3'UTR desse gene em bovinos e nenhum estudo associativo quanto a quantidade de lipídios produzida na glândula mamaria bovina foi desenvolvido. O objetivo do estudo foi seqüenciar a região 3'UTR do gene em busca de polimorfismos que possam estar relacionados com a regulação da transcrição. Para tal, foram seqüenciados, na plataforma MegaBACE® 1000, oito animais provenientes do Núcleo MOET da raça Guzerá, com baixa relação de parentesco. A curadoria e edição das seqüência obtidas foi feita mediante o pacote Phred/Phrap/Consed, o alinhamento e detecção dos SNPs foi feito utilizando o programa MEGA 5. Estimamos a fase de ligação dos haplótipos através do programa PHASE 2.1.1. A árvore filogenética foi gerada pelo método de Neighbor Joining sendo enraizada por uma seqüência de *Sus scrofa* (GenBank:397671). Foram detectados 3 SNPs: G→A (Freq. do alelo A 0.31), T→A (freq. do alelo A 0.687) e A→C (freq. do alelo C 0.4) e 6 haplótipos. A árvore nos permitiu observar a separação em duas linhagens haplotípicas (uma constituída por um haplótipo e outra com os 6 demais). O software Consite foi utilizado para busca de elementos regulatórios na seqüência dos haplotipos e possíveis diferenças quanto à presença destes. A partir dessa análise foi possível notar a ausência do elemento regulatório Irf-1 (ID: MA0050, classe TRP-Cluster) na presença do alelo C do terceiro SNP, para os demais não foram detectadas alterações na constituição dos elementos regulatórios presentes na seqüência. Para os demais elementos regulatórios na sequência dos haplotipos uma similaridade de 100% foi observada. Este trabalho é de grande relevância por se tratar do primeiro estudo deste âmbito em zebuínos da raça

Guzerá. Nosso Próximo passo será a genotipagem de um número maior de animais para futuros estudos de associação.

Agências Financiadoras: CNPq, CAPES, FAPEMIG, PRONEX

Development of molecular markers in a gene regulating lipid metabolism (PPARG) in the bovine mammary gland

Fonseca PAS¹, Rosse IC¹, Lamounier PF¹, Peixoto MGCD², Verneque RS², Machado MA², Carvalho MRS¹

¹Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

²Embrapa de Gado e Leite – Juiz de Fora

Abstract

The search for new molecular markers is becoming increasingly important for improving procedures for assisted selection. A better characterization of the pathways regulating some particularly interesting genes as well as their genetic variations is fundamental for the development and updating of the methodologies currently used in this process. The peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG) gene is a member of a family of nuclear receptors that bind directly to DNA sequences and promote gene regulation. This process is regulated by direct binding of steroids, thyroid hormones, vitamins, lipids, and xenobiotics. PPARG plays a central role in the regulation of metabolic processes related to synthesis of lipids, participating in the direct regulation of at least 12 genes and three other indirectly. It also plays key role in the network that controls the expression and function of SREBF proteins that are related to transcription of target genes required for the synthesis of cholesterol, fatty acids, triglycerides and phospholipids in the bovine mammary gland. However, despite of its participation in the control of lipid synthesis in bovine mammary gland, PPARG represents only about 0.01% of total mRNA. This suggests a fine regulatory adjustment of its gene product. Therefore, it is relevant to study the regulatory elements of the gene, such as its 5' and 3'-UTR. So far, only one SNP was described in the 3'-UTR region of this gene in cattle and no association study concerning to lipids produced in the bovine mammary gland was developed. In the search for regulatory polymorphisms, PPARG 3'-UTR region was sequenced. Eight unrelated animals from the MOET Nucleus of the Guzerat were sequenced in MegaBACE ® 1000 platform (GE Healthcare, USA). Curation and editing of the sequences generated were performed with the Phred/Phrap/Consed Package, alignment and detection of SNPs was done using the MEGA 5 software. Haplotype ligation phases were established with the program PHASE 2.1.1. A phylogenetic tree was generated by Neighbour Joining which was rooted with a sequence of *Sus scrofa* (GenBank: 397671). Three SNPs were detected: G → A (allele A frequency = 0.31), T → A (allele A frequency = 0.69) and A → C (allele C frequency = 0.4) and 6 haplotypes. The tree allowed us to observe the separation into two lineages, one of them with one haplotype and the other with the rest of them. The software Consite was used to search regulatory elements in the sequence of haplotypes.

Thirteen regulatory elements were observed with 100% similarity between the haplotypes. A new regulatory element was found to haplotypes 2, 4 and 6 in relation to the reference sequence. The element was named Ifr-1 (ID: MA0050, Class TRP-Cluster) and was observed in the presence of C allele of SNP A58352798C. This is the first study identifying SNPs in this gene for the indicine breed Guzerat. Our next step will be to genotype a larger number of animals for future association studies.

Supported by: CNPq, CAPES, FAPEMIG, PRONEX



X-meeting {

OCTOBER 12 TO 15, 2011 - FLORIANÓPOLIS, SC - BRAZIL

7th International Conference of the Brazilian Association for Bioinformatics and Computational Biology (AB3C) and 3rd International Conference of the IberoAmerican Society for Bioinformatics (SoIBio)

CERTIFICATE

We certify that: Pablo Augusto Fonseca

Participated in the "7th International Conference of the Brazilian Association for Bioinformatics and Computational Biology - X-Meeting", which was held at the Hotel Majestic Palace, Florianópolis, Santa Catarina, from October 12th to 15th, 2011.

Guilherme Oliveira, CEBio-Fiocruz
President AB³C, X-meeting 2011



AB³C