



- Apresentação**
- Comitês Organizacionais**
 - Agropecuária
 - Engenharias e Exatas
 - Ciências Biológicas e da Saúde
 - Humanas e Humanidades
- Trabalhos/Resumos**
 - Área/Autor
 - Área/Título
 - Autor
 - Orientador
 - Título

Título do Trabalho (Portugues): DESENHO E OTIMIZAÇÃO DE PRIMERS DO GENE FGF2 ASSOCIADO AO CRESCIMENTO DA GALINHA DOMÉSTICA

Título do Trabalho (Ingles): PRIMER DESIGN AND OPTIMIZATION FOR FGF2 GENE ASSOCIATED WITH CHICKEN GROWTH

Autor/Colaborador: Letícia Trevizan ,Dênia Borges Attílio ,Marcela Paduan

Bolsista Agência: RUSP

Instituição (Sigla): Universidade de São Paulo / USP

Unidade: Esc Superior de Agricultura Luiz de Queiroz / ESALQ

Departamento: Zootecnia / LZT

Laboratório/Setor:

Orientador: Millor Fernandes do Rosário

Agência Financiadora: RUSP

Área de Pesquisa: CIÊNCIAS AGRÁRIAS / Genética e Melhoramento dos Animais Domésticos

[Visualizar resumo do trabalho](#)

Universidade de São Paulo
Simpósio Internacional de Iniciação Científica
e-mail.: siicusp@usp.br

DESENHO E OTIMIZAÇÃO DE PRIMERS DO GENE *FGF2* ASSOCIADO AO CRESCIMENTO DA GALINHA DOMÉSTICA

Letícia Trevizan¹, Dênia B. Attilio¹, Kerli Ninov¹, Marcela Paduan¹, Mônica C. Ledur², Luiz L. Coutinho¹, Millor F. Rosário¹

¹Departamento de Zootecnia, ESALQ/USP, Piracicaba, SP;

²Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

1. Objetivos

Determinar a qualidade de cDNAs previamente sintetizados e estocados, desenhar e avaliar a qualidade de primers (direto e reverso) localizados na sequência do gene *FGF2* e otimizá-los utilizando-se destes cDNAs provenientes de duas linhagens de galinha em diferentes estádios de desenvolvimento muscular.

2. Material e Métodos

Foram estudadas uma linhagem de postura (CC) e uma de corte (TT), ambas desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento Genético de Aves da Embrapa Suínos e Aves, em Concórdia/SC. A incubação dos ovos, coleta dos tecidos musculares, extração do RNA total e síntese do cDNA foram realizados previamente por [3]. Tecidos de 9 aves de cada linhagem foram coletados em cinco estádios de desenvolvimento: 2 embrionários (9 e 17 dias) e 3 pós-eclosão (1, 21 e 42 dias). Foi feito um *pool* das 90 amostras a partir de 2,5 μ L de cDNA concentrado de cada idade avaliada para cada linhagem (total de 5 μ L). Obtiveram-se cinco alíquotas, uma para cada idade, diluídas 10 X. Os testes de amplificação e otimização da reação de PCR empregaram os primers dos genes referência *MRPS27* (ID: 427216) e *EEF1* (ID:373963). Os produtos amplificados foram visualizados em gel de agarose 1,5%. O desenho dos primers do gene alvo *FGF2* (ID: 396413) empregou o programa Primer 3 plus [4], a qualidade e a especificidade foram avaliadas pelos programas NetPrimer [2] e BLAST [1], respectivamente. A otimização destes primers baseou-se em gradiente de temperatura por PCR para determinação da temperatura de anelamento e posterior visualização em gel de agarose 1,5%.

3. Resultados

As amostras de cDNA, mesmo estocadas há três anos, encontram-se apropriadas para a condução de estudos de expressão gênica, já que o produto amplificado foi específico e

de tamanho esperado (184 pb) apenas para *EEF1* (Figura 1a).

Os primers direto (reverso) desenhados apresentaram as seguintes caracterizações: posição inicial 73 (203) pb, temperatura de *melting* 57,85 (58,04) $^{\circ}$ C e conteúdo de GC 45,4 (50,0)%.

Pela otimização destes primers (Figura 1b), foi possível determinar a temperatura de anelamento a partir de 54 $^{\circ}$ C, pois o produto amplificado foi específico e de tamanho esperado (150 pb).

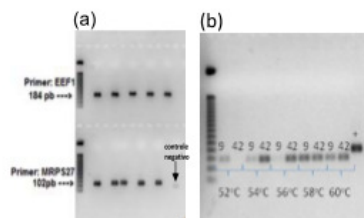


Figura 1: (a) Eletroforese dos primers *EEF1* e *MRPS27* amplificados por PCR empregando *pool* de cDNA em cada uma das cinco idades; (b) Otimização dos primers do gene alvo *FGF2* através de gradiente de temperatura.

Estes resultados abrem as portas para que a quantificação de mRNA, proveniente do *FGF2*, possa ser conduzida através de qRT-PCR.

4. Conclusão

As amostras de cDNA ainda apresentam qualidade apropriada para que o estudo da expressão do gene *FGF2*, cujos primers foram desenhados e otimizados, possa ser conduzido através de RT-PCR quantitativa.

5. Bibliografia

- [1] NUCLEOTIDE BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>).
- [2] NetPrimer (<http://www.premierbiosoft.com/netprimer/>).
- [3] NINOV K. Tese. ESALQ/USP, 2010.
- [4] UNTERGASSER, A. et al. Nucleic Acids Research, 35:W71-W74, 2007.