XXXII Encontro Anual de Iniciação Científica
IX Encontro Anual de Iniciação Científica Jr.
EAIC 2023

QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS GENES SUPEROXIDE DISMUTASE (*SOD*) EM BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA SUBMETIDOS A DIETA COM SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA.

Maria Raphaela Teixeira Pradela[1] (PIBIC/CNPq), Matheus Azambuja[1], Adriana de Souza Martins[2], Viviane Nogaroto[1], Marcelo Ricardo Vicari[1], e-mail: vicarimr@uepg.br

[1]UEPG/Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética; [2]UEPG/Departamento de Zootecnia

Área do Conhecimento: 2.02.00.00-5 Genética. Subárea: 2.02.04.00-0 Genética animal.

Palavras-Chave: *células somáticas, expressão gênica, perfil oxidante, produção de leite, qRT-PCR.*

Resumo

Foram analisadas as expressões gênicas diferenciais de 3 variantes de *SOD* (1-citossólica, 2-mitocondrial e 3-extracelular), comparando-se amostras de leite de vacas holandesas com baixa contagem de células (CCS) *versus* vacas com alta CCS. Sabe-se que a SOD catalisa a remoção dos radicais livres superóxido, evitando danos oxidativos. Nossos dados não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas da expressão de *SOD* entre os grupos analisados.

Introdução

Os principais genes expressos nas células somáticas do leite são os antioxidantes, os quais têm como função evitar possíveis danos oxidativos ao metabolismo. A SOD catalisa a remoção dos radicais livres superóxido, protegendo as células de seus efeitos nocivos. Em análises da expressão gênica de leite, é essencial conhecer se as diferentes condições de CCS interferem na expressão dos genes alvo. O objetivo deste trabalho foi quantificar os níveis de RNAm por qRT-PCR de *SOD* 1, 2 e 3 em leite de vacas com baixa e alta CCS.

Material e Métodos

Foram coletados 100 mL de leite de vacas holandesas com alta (n=3) e baixa CCS (n=3, grupo controle) da FESCON. As células foram precipitadas (MURA et al., 2013), extraiu-se o RNA total (Trizol - Invitrogen), seguindo-se então a síntese de cDNA (kits Promega). As amplificações de *SOD* 1, 2 e 3 foram realizadas em *QuantStudio* 5 (Thermo Fisher) e a análise da expressão gênica foi realizada segundo Livak et al. (2001). GAPDH foi utilizado como gene constitutivo. Análises estatísticas foram realizadas por teste t Student ($p<0,05$).

Resultados e Discussão

Foram obtidas amostras de RNA total em alta quantidade e pureza. De acordo com as curvas padrão obtidas, os *primers* sintetizados para *SOD* 1, 2 e 3 (Tabela 1), apresentaram as seguintes eficiências, respectivamente: 103.551%, 105.844% e 103.15% (Fig. 1). Comparando-se vacas com alta *versus* baixa CCS, não houve diferença estatisticamente significativa em relação à expressão dos genes *SOD* 1 ($p=0.3530$), 2 ($p=0.2095$) e 3 ($p=0,3282$) (Fig. 2).

Tabela 1. Sequências dos *primers* sintetizados para *SOD* 1, 2 e 3.

Gene *SOD*	*Primer* F	*Primer* R	Amplicon (em pb)
1	TGTTGCCATCGTGGATATTGTAG	CCCAAGTCATCTGGTTTTTCATG	102
2	TCAATAAGGAGCAGGGACGC	GCAGGGGGATAAGACCTGTTG	84
3	GAAGAGCTGGAAAGGGCCTG	TCACGGTTTGGGTACCACTG	108

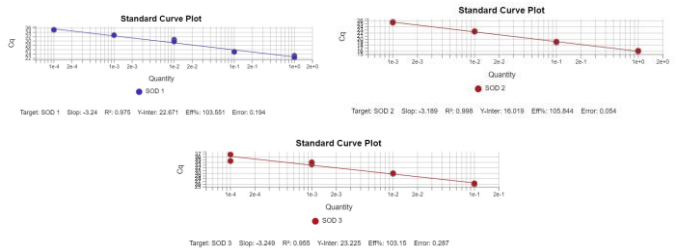


Figura 1. Curvas padrão obtidas dos testes de eficiência dos *primers*: (a) *SOD* 1; (b) *SOD* 2; (c) *SOD* 3.

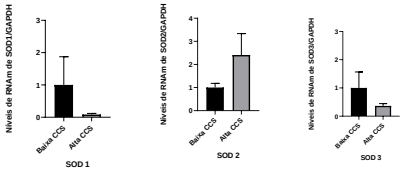


Figura 2. Análise da expressão gênica de *SOD* 1, 2 e 3, comparando-se amostras de leite de vacas de baixa e alta CCS. (a) *SOD* 1; (b) *SOD* 2; (c) *SOD* 3.

Conclusão

Segundo os dados obtidos, a quantidade de células somáticas não interfere na expressão de *SOD* 1, 2 e 3 em amostras de leite.

Agradecimentos

CAPES, Fund. Araucária e CNPq pela bolsa concedida.

LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. **Methods**, v. 25, p. 402-408, 2001.

MURA, M. C., et al. Development of a RNA extraction method from milk for gene expression study in the mammary gland of sheep. **Molecular Biology Reports**, v. 40, p. 2169-2173, 2013