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

QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO ÁCIDO GRAXO SINTETASE (*FASN*) EM BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA SUBMETIDOS A DIETA COM SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA

Vitor Kosloski[1] (PIBIC/FA), Adriana de Souza Martins[1], Matheus Azambuja[2], Viviane Nogaroto[2], Marcelo Ricardo Vicari[2] (Orientador), e-mail: vicarimr@uepg.br

[1]Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Zootecnia; [2]Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética

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

Palavras-Chave: *Bovinocultura de leite, células somáticas do leite, nutrição de ruminantes, qRT-PCR.*

Resumo

O *FASN* participa da síntese de novo de ácidos graxos do leite em glândula mamária bovina. Neste trabalho, avaliamos a influência da contagem de células somáticas (CCS) em amostras de leite de vacas holandesas na expressão do *FASN*. Para isso, foram quantificados os níveis de RNAm por qRT-PCR de leite obtido de vacas com alta *versus* baixa CCS. Nossos resultados não evidenciaram diferenças significativas na expressão do *FASN* entre os grupos analisados.

Introdução

A tecnologia aplicada nas instalações e nutrição, aliado à genética melhorada do rebanho, tornam a região dos Campos Gerais excelência em bovinocultura leiteira. Dada a similaridade dos genes expressos na glândula mamária, em relação àqueles das células somáticas do leite, uma quantificação dos níveis de RNAm do leite dispensaria a necessidade de biópsia de tecido para estudos de expressão gênica, permitindo uma análise mais rápida e segura no rebanho. Em análises da expressão gênica de leite, é essencial conhecer se as diferentes condições de CCS interferem na expressão dos genes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da CCS na expressão do *FASN*, gene ligado a síntese de novo de ácidos graxos no leite.

Materiais 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 transcrição reversa (kits Promega). A quantificação da expressão gênica foi realizada via qRT-PCR em *QuantStudio* 5 (Thermo Fisher) e a análise da expressão gênica foi realizada segundo Livak et al. (2001). O GAPDH foi utilizado como gene constitutivo. Análises estatísticas foram realizadas por teste t Student ($p<0,05$).

Resultados e Discussão

Os procedimentos utilizados na extração de RNA total a partir das células somáticas do leite foram eficazes, permitindo a obtenção de RNA em alta quantidade e pureza. Os primers sintetizados para amplificação de *FASN* (FASN_Fw 5'-AGTCGAACATGGGACATCCG-3' e FASN Rv 5'-GGGATCTTGGGGTTTGGGTT-3') apresentaram uma eficiência de 95.182%, segundo curva padrão obtida (Fig. 1a). Comparando-se vacas com alta *versus* baixa CCS, não houve diferença estatisticamente significativa em relação à expressão do gene *FASN* ($p=0,6114$) (Fig. 1b).

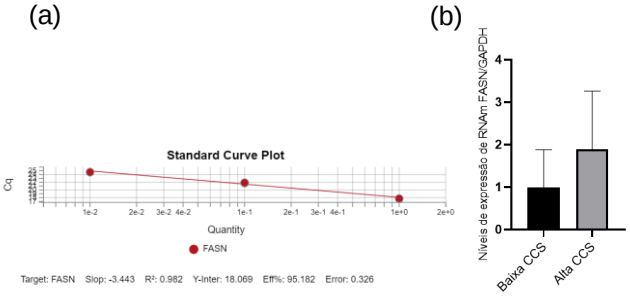


Figura 1. Gráficos obtidos para análise da expressão de *FASN* a partir de células do leite. (a) Curva padrão obtida para teste de eficiência do primer *FASN*; (b) Quantificação dos níveis de expressão do mRNA do gene *FASN*, comparando-se leite de vacas com baixa e alta CCS.

Conclusão

Segundo os dados obtidos, o número de células somáticas presentes no leite não interfere na expressão de *FASN*. Assim, a variável quantidade de células somáticas pode ser desconsiderada em estudos de expressão gênica comparativa em bovinos de leite.

Agradecimentos

CAPES, CNPq e Fund. Araucária 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.