

POLIMORFISMO DO GENE KAPPA-CASEÍNA E MICROSSATÉLITE IGF-I NA RAÇA NELORE

Artur J.M. Rosa¹; Luciana C.A. Regitano³; Irineu U. Packer¹; Alexander G. Razook²; Leopoldo A. Figueiredo² e Luiz L. Coutinho¹.

O polimorfismo do gene Kappa-caseína e do microssatélite (MS) IGF-I foi avaliado em uma amostra de 98 animais da raça nelore, provenientes de diferentes rebanhos, dentre os participantes da "Prova de Ganho de Peso" de 1995 do Instituto de Zootecnia de Sertãozinho. Uma sequência de 350pb, localizada entre os nucleotídeos 201 do exon IV e 149 do intron IV do loco de Kappa-Caseína, foi amplificada e digerida com a enzima de restrição *Hinf I*. A reação de amplificação foi realizada na presença de 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl pH8,4, 0,20 μM de cada dNTP, 0,4 μM de cada "primer" e 0,5 unidades de Taq DNA polimerase em um total de 30 ciclos de desnaturação (94°C /45 seg), anelamento (55°C /1min) e extensão (73°C /75seg) seguidos de resfriamento (4°C). O produto da amplificação foi submetido à digestão com *Hinf I* gerando fragmentos de 134, 132 e 84pb para o alelo A e bandas de 266 e 94pb para o alelo B. O (MS) IGF-I, localizado na extremidade 5' do gene IGF-I, foi amplificado na presença de 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl pH8,4, 0,2 μM de cada dNTP, 0,5 unidades de Taq DNA polimerase e 5,0 pmoles de cada "primer", sendo o "forward" marcado na extremidade 5' com ³²P através da enzima T₄ Polinucleotídeo Kinase. A reação de amplificação do (MS) IGF-I

1- Lab. de Biotecnologia Animal, Depart. de Zootecnia, ESALQ-USP, Piracicaba-São Paulo.
2- Instituto de Zootecnia, Sertãozinho-São Paulo.
3- EMBRAPA, CPPSE, São Carlos- São Paulo.

inclui desnaturação inicial (94°C /2min) seguida de 35 ciclos de desnaturação (94°C /1min), anelamento (58°C /30seg) e extensão (72°C /1min), uma extensão final (72°C /4min) e resfriamento (4°C). O produto amplificado foi separado por eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante 6,66% por 3,5h sob 50W de potência. Os alelos foram visualizados após desidratação e autoradiografia.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores da frequência gênica de cada alelo com seu respectivo erro padrão, conteúdo de polimorfismo informativo e heteroziguidade.

Tabela 1: Frequência gênica (Fg), Erro padrão (Ep), Conteúdo de polimorfismo informativo (PIC) e Heteroziguidade (HET) nos locos Kappa-caseína (KpCs) e (MS) IGF-I (IGF-I).

Marcador	n° animais	n° Alelos	Fg	Ep	PIC	HET
IGF1	87	3(2,3,4)	2=0,2126	Ep2=0,031	0,3524	0,4077
			3=0,0517	Ep3=0,017		
			4=0,7356	Ep4=0,034		
KpCs	98	2 (A,B)	A=0,913	EpA=0,02	0,1461	0,1823
			B=0,087	EpB=0,02		

Para o (MS) IGF I foram visualizados 3 alelos de 229, 227 e 225pb. Os resultados indicam um baixo polimorfismo e heteroziguidade para o (MS) IGF-I na amostra considerada, não se mostrando um marcador adequado para a realização de teste de paternidade. No entanto, devido à sua localização estratégica na cromossomo 5, deverá ser incluído em futura análise de associação com características de importância econômica. As frequências gênicas encontradas para KpCs são concordantes com as frequências encontradas na literatura, evidenciando a baixa frequência do alelo B na raça Nelore.