



## EXPRESSÃO DO GENE FABP3 NO MÚSCULO *LONGISSIMUS DORSI* DE SUÍNOS COMERCIAIS EM DIFERENTES PERÍODOS DO DESENVOLVIMENTO<sup>1,2</sup>

DANIELLE SERRA DE LIMA MORAES<sup>3</sup>, PAULO SÁVIO LOPES<sup>4</sup>, SIMONE ELISA FACIONI GUIMARÃES<sup>5</sup>, PAULA VIANNA CORRÊA DA SILVA<sup>6</sup>, ALESSANDRO PARIS<sup>7</sup>, GUILHERME DE OLIVEIRA BAND<sup>8</sup>, JOSÉ VICENTE PELOSO<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Entidades Financiadoras: CNPq, FAPEMIG, CAPES.

<sup>2</sup> Agradecimentos: À Empresa Applied Biosystems do Brasil, pelas facilidades proporcionadas.

<sup>3</sup> Professora assistente da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus do Pantanal, Departamento de Ciências do Ambiente. Doutoranda em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa (MG).

<sup>4</sup> Professor Adjunto da Universidade Federal de Viçosa (MG), Departamento de Zootecnia.

<sup>5</sup> Professora Adjunta da Universidade Federal de Viçosa (MG), Departamento de Zootecnia, Laboratório de Biotecnologia Animal.

<sup>6</sup> Estudante do curso de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

<sup>7</sup> Senior Field Applications Specialist Genetic Analysis. Applied Biosystems.

<sup>8</sup> Doutorando em Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

**RESUMO** - Atualmente, a produção de carcaças com grande quantidade de carne de boa qualidade é o principal objetivo comercial e industrial dos suinocultores. O presente trabalho teve como objetivo, determinar as diferenças na expressão do gene FABP3 no músculo *Longissimus dorsi* de suínos comerciais (Landrace X Large White X Pietran), em diferentes fases do desenvolvimento. Foi utilizado o sistema de detecção de seqüências ABI Prism 7000, sendo empregado o tipo de quantificação relativo. A diferença observada na expressão do gene FABP3 em suínos de diferentes idades, pode estar relacionada à deposição de gordura intramuscular em determinados períodos do desenvolvimento desses animais.

**PALAVRAS-CHAVE:** expressão gênica, FABP3, gordura intramuscular, *Sus scrofa*

FABP3 GENE EXPRESSION IN COMMERCIAL PIGS' *LONGISSIMUS DORSI* MUSCLE AT DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES

**ABSTRACT** - Nowadays, carcass production with higher quantity and quality is the main commercial and industrial goal of pig breeders. The objective of the present study was to determine differences in FABP3 gene expression of commercial pigs' (Landrace X Large White X Pietran) *Longissimus dorsi* muscle, in different developmental stages. ABI Prism 7000 Sequence Detection System was used, employing relative quantification analyses. Differences observed for FABP3 gene expression at different ages can be related to intramuscular fat deposition at given developmental periods of the animals.

**KEYWORDS:** FABP3, gene expression, intramuscular fat, *Sus scrofa*

### INTRODUÇÃO

A produção de carcaças com grande quantidade de carne de boa qualidade é o principal objetivo comercial e industrial da moderna criação de suínos. Foi demonstrado que o gene FABP3 (*Heart fatty acid-binding protein gene*) afeta a gordura intramuscular, com impacto limitado sobre a espessura de toucinho. Isto permite a seleção para aumento da gordura intramuscular, o que melhora o gosto e a maciez, sem aumentar a espessura de toucinho (Dekkers *et al.*, 2001), podendo ser usado como marcador para aquela característica.

O desenvolvimento acelerado de conhecimentos voltados à genética molecular está dando origem a uma nova geração de tecnologias aplicadas ao melhoramento genético de suínos. A técnica denominada PCR (reação em cadeia da polimerase) quantitativa em tempo real (QPCR), é um método confiável e utilizado na detecção e quantificação da expressão gênica. Por meio dela é possível medir a quantidade do produto de PCR ainda na fase exponencial do processo (Ginzinger, 2002).

O presente trabalho teve como objetivo determinar as diferenças na expressão do gene FABP3 no músculo *Longissimus dorsi* de suínos comerciais (Landrace X Large White X Pietran), em diferentes fases do desenvolvimento.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os animais utilizados no presente experimento foram criados na Granja de Melhoramento de Suínos sendo os procedimentos analíticos realizados no Laboratório de Biotecnologia Animal, do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. Foram abatidos 24 suínos comerciais (12 machos e 12 fêmeas), provenientes do cruzamento das raças Large White, Landrace e Pietran, nas seguintes idades: ao nascimento, com 21; 60; 90; 120 e 180 dias, sendo dois animais para cada idade. As amostras de músculo *Longissimus dorsi* foram coletadas após o abate e armazenadas em condição livre de RNAses à  $-70^{\circ}\text{C}$ . O RNA total das amostras foi extraído com Trizol. Posteriormente, foi efetuado o tratamento com DNase, utilizando-se o protocolo descrito por Colonna-Romano (1998).

O desenho e a construção dos *primers* e das sondas marcadas para o gene candidato (FABP3) e para um gene constitutivo (controle endógeno –  $\beta$ -actina) foram feitos por meio do serviço *Assay-by-Design*, usando a tecnologia Taqman<sup>TM</sup> (Applied-Biosystems). Foi utilizado o sistema de detecção de seqüências ABI Prism 7000, sendo empregado o tipo de quantificação relativo (ou método comparativo) em tempo real, onde os resultados obtidos com a análise do gene de interesse e do controle endógeno ( $\beta$ -actina), foram comparados diretamente, por meio das seguintes fórmulas aritméticas:

1.  $\Delta C_T = C_T(\text{alvo}) - C_T(\text{referência})$ ;
2.  $\Delta\Delta C_T = \Delta C_T(\text{amostra}) - \Delta C_T(\text{calibrador})$ ;
3. Quantidade Relativa =  $2^{-\Delta\Delta C_T}$

Onde:

- $C_T$  (*Threshold Cycle*) – ciclo em que cada curva de amplificação atravessa o limiar de detecção do equipamento, servindo como base para comparação entre amostras;
- Referência –  $\beta$ -actina;
- Calibrador – material coletado do animal do sexo masculino aos 180 dias;
- Alvo – gene FABP3 (expressão).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final do processo de quantificação relativa da expressão do gene FABP3 em suínos comerciais, no qual utilizou-se como calibrador o animal do sexo masculino aos 180 dias de idade, foi observado que os animais recém-nascidos apresentaram os maiores níveis de expressão. Nesse período, as fêmeas tiveram o gene expresso 26 vezes mais que no calibrador, enquanto nos machos, a expressão foi 32 vezes maior. A partir da desmama (21 dias) houve queda acentuada na expressão do gene em animais de ambos os sexos, quando comparada aos animais recém-nascidos. No entanto, esses mesmos níveis foram de uma a seis vezes superiores aos verificados nos animais machos de 180 dias, utilizados como calibradores. Nesse período, as maiores variações foram observadas em fêmeas de 120 e 180 dias, que expressaram seis vezes mais que os animais calibradores e 20 vezes menos que os animais recém-nascidos do mesmo sexo.

Embora as funções e o metabolismo da proteína H-FABP resultante da expressão do gene FABP3 ainda não estejam completamente elucidados, acredita-se que ela esteja envolvida no transporte de ácidos graxos, a fim de regular sua concentração (Veerkamp *et al.*, 2000). Essa função explica as diferenças nos níveis de expressão gênica, encontradas no presente estudo, com os maiores níveis observados em animais recém-nascidos, os quais apresentam menor peso e, provavelmente, menor deposição de gordura intramuscular. Com o desenvolvimento do animal, o gene tem sua expressão reduzida, havendo, como consequência, o acúmulo de gordura intramuscular. Para comprovar esta hipótese, amostras do músculo *Longissimus dorsi* estão sendo analisadas para detecção dos percentuais de gordura intramuscular.

### CONCLUSÕES

Concluiu-se, no presente estudo, que: o gene FABP3 apresenta diferentes níveis de expressão em suínos comerciais, de acordo com o período de desenvolvimento do animal, podendo estar relacionado à deposição de gordura intramuscular nestes animais. A PCR quantitativa em tempo real representa uma ferramenta útil e eficaz em estudos de genética molecular aplicada ao melhoramento animal.

Outras populações e outros tecidos deverão ser analisados para elucidação do papel do gene FABP3 na deposição da gordura intramuscular em suínos.



### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COLONNA-ROMANO, S.; LEONE, A.; MARESCA, B. **Differential display reverse transcription PCR (DDRT-PCR)**. Berlim : Ed. Springer, 1998. 124 p.
- DEKKERS, J.C.M.; ROTHSCHILD, M.F.; MALEK, M.M. Potencial e aplicação de seleção assistida por marcadores para qualidade de carne. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DE CARNE SUÍNA, 2, 2001.USA. Via Internet.
- GINZINGER, D.G. Gene quantification using real-time quantitative PCR: An emerging technology hits the mainstream. **Experimental Hematology**, v. 30, p. 503–512, 2002.
- VEERKAMP, J.H.; VAN MOERKERK, H.T.B.; ZIMMERMAN, A.W.. Effect of fatty acid-binding proteins on intermembrane fatty acid transport. Studies on different types and mutant proteins. **Eur. J. Biochem**, v. 267, p. 5959-5966, 2000.