

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Distribuição dos SNPs de painel de alta densidade em bovinos da raça Guzerá por gene descrito¹

Daniel Jordan de Abreu Santos², Maria Gabriela Campolina Diniz Peixoto³, Maria Raquel Santos Carvalho⁴, Marcos Vinícius Gualberto Barbosa da Silva³, Rusbel Raul Aspilcueta Borquis², Humberto Tonhati²

¹ Trabalho financiado pela Fapemig e CNPq

² Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – FCAV - Unesp, Jaboticabal. e-mail: hcs@hotmail.com

³ Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora.

⁴ Instituto de Ciências Biológicas – UFMG, Belo Horizonte.

⁵ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Jaboticabal.

Resumo: Avanços recentes nas tecnologias moleculares têm auxiliado no estudo e compreensão de processos genéticos. Desta forma, objetivou-se avaliar, na raça Guzerá, a distribuição dos marcadores SNPs em relação aos genes bovinos descritos. Vinte e cinco touros foram genotipados utilizando *chip* de alta densidade e essas informações, depois de editadas, foram cruzadas com as informações das descrições dos genes pelo conjunto Btau_4.2. Para todos os cromossomos, foi observado que há mais SNPs do que genes descritos. As análises também indicaram que 156.698 SNPs (33%) são intragênicos (localizados dentro dos genes) e, o restante, 313.730, intergênicos (localizado entre genes). Verificou-se que 61% dos genes (15.254) possuem pelo menos um SNP intragênico, enquanto que 9.932 não apresentaram nenhum SNP. O número de SNPs dentro de genes foi satisfatório, indicando uma grande porção de cobertura genética direta, ainda que a maioria dos SNPs esteja localizada entre os genes.

Palavras-chave: Zebu, Marcadores moleculares, Genoma, Seleção genômica

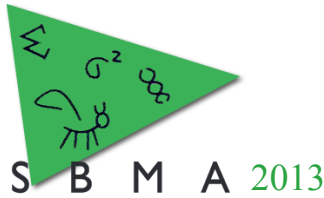
Distribution of SNP from a high density panel in bovines of Guzerá breed per described gene

Abstract: Recent advances in the molecular technologies have supported the studies and understanding of genetic processes. Thus, this study aimed at evaluating, in Guzerá breed, the distribution of SNPs markers in relation to bovine genes described. Twenty-five bulls were genotyped using high-density chip and this information, after edition, was combined with the information from the descriptions by the set of Btau_4.2 genes. For all chromosomes, it was observed that there are more SNPs than genes described. The analysis also showed that 156,698 (33%) SNP are intragenic (located within the gene), and that the remaining 67% (313,730) are intergenic (located between genes). It was found that 61% of those genes (15,254) have, at least, one intragenic SNP, while 9,932 showed no SNP. The number of SNPs within genes was satisfactory, indicating a large proportion of direct gene coverage, although most SNPs are located in the intergenic sequences.

Keywords: Zebu, Molecular markers, Genome, Genomic selection.

Introdução

Avanços recentes nas tecnologias moleculares têm auxiliado no estudo e compreensão de processos genéticos. Entre essas tecnologias estão o sequenciamento com montagem do genoma e a utilização de marcadores moleculares para polimorfismo de nucleotídeo único (SNP). O sequenciamento, ultimamente realizado por *BAC* (*bacterial artificial chromosome*) e *WGS* (*whole-genome shotgun*), possibilita a montagem do genoma de uma determinada espécie, permitindo, portanto, estabelecer o posicionamento (cromossomo e número de pares de base) de sequências menores e dos SNPs no genoma (Matukumalli et al., 2009). Pelo baixo custo do processo de genotipagem, a tecnologia dos marcadores SNPs está sendo utilizada em larga escala em diversas populações. Um dos principais projetos genômicos para a espécie bovina é o BTAU, cujo sequenciamento foi realizado utilizando apenas um animal da raça Hereford (Michelizzi et al., 2011). Este sequenciamento contribuiu para grande parte da detecção de SNPs para *Bos taurus*. O *High Density Bovine SNP BeadChip* da Illumina, contém, além de muitos destes SNPs, informações de SNPs baseados em outras raças taurinas, raças africanas e raças zebuínas, principalmente Brahman, Nelore e Gir (Illumina, 2010). Dentre as raças zebuínas, a Guzerá se destaca por seu potencial para produção de carne e leite em condições adversas de ambiente, sendo de interesse aos sistemas de produção de duplo propósito. Com base em tudo isto, os objetivos deste



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

trabalho foram avaliar a distribuição dos marcadores do *Chip* da Illumina® para Guzerá em relação aos genes descritos, com foco na futura utilização desta tecnologia no programa de seleção genômica.

Material e Métodos

Neste estudo foram utilizados 25 touros pertencentes ao Programa Nacional de Melhoramento de Guzerá para Leite. Estes animais foram escolhidos por representarem geneticamente as principais linhagens do programa. A genotipagem foi realizada utilizando *High Density Bovine SNP BeadChip* do Illumina Infinium HD Assay®. O *High Density Bovine SNP BeadChip* contém mais de 770 mil marcadores, espaçados a uma distância média de 3.43 kb. As informações utilizadas nas análises consistiram de dados da genotipagem, do nome do marcador SNP e cromossomo em que se encontra, e do mapa de localização em pares de base (bp). Dos 786.799 marcadores presentes no *chip*, apenas marcadores dos cromossomos autossômicos e X foram utilizados, sendo eliminados os marcadores sem posicionamento no genoma (1867) e heterozigotos para o cromossomo X. Foi adotado como critério, o escore *Gencall* mínimo de 0,15. Para maior rigor da qualidade da genotipagem, foi também adotado o critério de $GC10 > 0,30$ (percentil 10 da distribuição do *Gencall*), $call\ rate > 0,90$ (para amostra e SNP) e $MAF > 0,05$. Ainda foram considerados $het\ excess > -0,7$ e $het\ excess < 0,7$. Após a edição, o conjunto de dados permaneceu com 25 animais e com o número de marcadores autossômicos igual à 470.428, sendo 448.316 autossômicos e, para o cromossomo X, 22.112. As informações utilizadas no estudo incluíram o símbolo do gene, a posição inicial, posição final, orientação no cromossomo, e a descrição do gene. Foi realizado estudo de quantificação dos SNPs por gene descrito pelo conjunto Btau_4.2.

Resultados e Discussão

Pela descrição atualizada do genoma bovino (Btau_4.2), o número de genes nos cromossomos bovinos variaram de 299 no cromossomo 27 a 1555 no cromossomo 3, enquanto que o número de SNPs do Illumina Bovine SNP770 BeadChip, editado para a raça Guzerá, variou de 792 no cromossomo 25 a 28.821 no cromossomo 1 (Figura 1). Para todos os cromossomos há muito mais SNPs do que genes descritos. Isto indica que a cobertura do *chip* é suficiente para todos os cromossomos. As análises também indicaram que 156.698 SNPs (33%) são intragênicos (categoria de SNPs localizados dentro dos genes) e 313.730 são intergênicos (67%) (categoria de SNPs localizados entre genes). A figura 2 mostra o número de SNPs por genes e por região intergênica. 61% dos genes (15.254) possuem pelo menos um SNP intragênico, enquanto que 9.932 não apresentaram nenhum SNP. Na primeira categoria, os genes contiveram de 1 a 341 SNPs, sendo que 3409 genes têm apenas um SNP; mais de 2000 genes têm dois SNPs; 3973 genes têm entre 3 a 6 SNPs, e 7067 genes têm mais de sete SNPs.

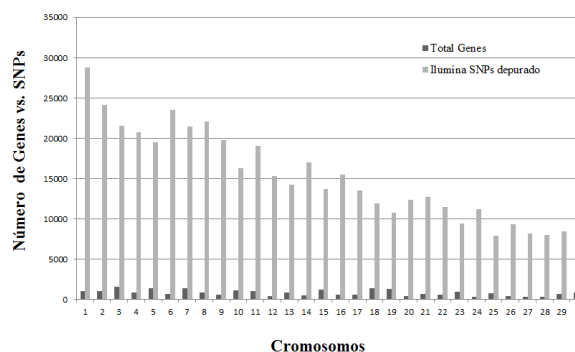


Figura 1. Distribuição global dos SNPs e gene em cada cromossomo bovino.

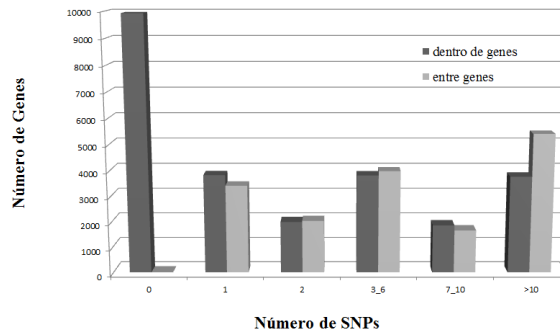


Figura 2. Distribuição dos SNPs selecionados pelos genes descritos.

Na Figura 3 é possível observar que, de modo geral, por cromossomo, há muito mais genes com do que sem SNP. Os cromossomos 23 e 15 tiveram número menor de genes com do que sem SNPs. Os cromossomos 27, 29 e X tiveram os menores valores para essa proporção. Já nas regiões intergênicas, 11.081 contêm até 10 SNPs e mais 5400 genes contêm mais que 10 SNPs (Figura 2). O número de SNPs dentro de genes foi satisfatório, indicando uma grande porção de cobertura genética direta, ainda que a maioria dos SNPs estejam entre os genes. Apesar das informações codificantes estão contidas nos genes, a parte intergênica, conhecida como DNA lixo, tem importante influência na regulação expressão gênica, replicação do DNA, montagem, estruturação e manutenção do cromossomo e auxílio a separação meiótica (Ludwig 2002).

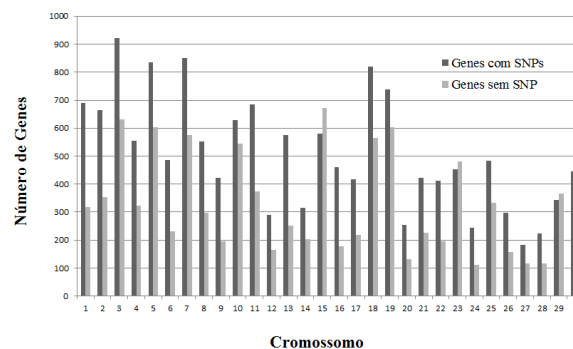


Figura 3. Número de genes com e sem SNP por cromossomo.

Conclusões

Embora a seleção genômica explore o desequilíbrio de ligação entre os marcadores, o conjunto de SNPs para a raça Guzerá no High Density Bovine SNP BeadChip da *Illumina* indicou uma cobertura genética direta satisfatória, embora muitos genes não tenham apresentado nenhum marcador.

Literatura citada

- ILLUMINA. BovineHD Genotyping BeadChip. **Technology Spotlight**, 2010.
- MATUKUMALLI, L.K.; LAWLEY, C.T.; SCHNABEL, R.D.; et.al.. **Development and characterization of high density SNP genotyping assay for cattle**. Plos one, 4, e5350, 2009.
- MICHELIZZI, V.N.; WU,X.; DODSON, M.D.; et.al.. **A Global View of 54,001 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) on the Illumina BovineSNP50 BeadChip and Their Transferability to Water Buffalo**. Int. J. Biol. Sci. v.7, p.18-27, 2011.
- LUDWIG M.Z.. Functional evolution of noncoding DNA. **Curr. Opin. Genet. Dev.** v.12, p.634-639, 2002.