



Associações entre o polimorfismo no gene MUC1 e diferenças esperadas na progênie em animais da raça Nelore (*Bos taurus indicus*)¹

Fabio Ricardo Pablos de Souza², Pedro Alejandro Vozzi³, Reginaldo Aparecido Vila², Arione Augusti Boligon⁴, Marli Aparecida Vani Galerani², Raysildo Barbosa Lôbo^{2,3}, Lucia Regina Martelli²

¹Parte da tese de doutorado do primeiro autor, financiado pela CAPES. E-mail: fabiopablos@hotmail.com

²Departamento de Genética - FMRP - USP/ Ribeirão Preto.

³Associação Nacional de Criadores e Pesquisadores ANCP / Ribeirão Preto.

⁴Departamento de Zootecnia - FCAV - UNESP/Jaboticabal. Bolsista FAPESP.

Resumo: MUC1 é uma proteína transmembrana altamente glicosilada de mamíferos expressada por tecidos secretórios de mucosas para lubrificação e proteção contra infecções microbianas. Uma importante característica da MUC1 é sua região VNTR que contém vários sítios de glicosilação. O comprimento do VNTR tem sido associado a muitas doenças em seres humanos e com algumas características de importância econômica em ruminantes domésticos. O objetivo do presente estudo foi correlacionar a variação no comprimento do VNTR do gene MUC1 com Diferenças Esperadas na Progênie (DEPs) obtidas para características de crescimento, fertilidade e carcaça. Cinco alelos foram identificados, sendo os alelos formados por VNTR curtos mais frequentes do que os alelos formados por VNTRs longos. Os genótipos mais frequentes foram os genótipos formados de alelos com VNTRs curtos (1036, 1175, e 1323 bp). A análise estatística entre o comprimento dos VNTRs e as DEPs foi inconclusiva devido à baixa frequência de VNTRs longos, mas uma estreita relação foi observada entre o VNTR mais curto e as DEPs médias de algumas características de interesse econômico como peso aos 120 dias de idade (P_{120}), perímetro escrotal aos 365 dias (PE_{365}) e 450 dias (PE_{450}), idade ao primeiro parto (IPP) e área de olho do lombo (AOL).

Palavras-chave: *Bos taurus indicus*, estudo de associação, marcador molecular, VNTR

Association between MUC1 gene polymorphism and expected progeny differences in Nelore cattle (*Bos taurus indicus*)

Abstract: MUC1 is a heavily glycosylated mammalian transmembrane protein expressed by mucosal secretory tissues for protection against microbial infections and lubrication. An important characteristic of MUC1 is its variable number of tandem repeats (VNTR) that contain several sites for O-glycosylation. VNTR length has been associated with many human diseases and with some economically important traits in domestic ruminants. The aim of the present study was to correlate the length of the MUC1 gene VNTR with expected progeny differences (EPDs) obtained for growth, fertility and carcass traits. Five alleles were identified, with alleles containing short VNTRs being more frequent than those with long VNTRs. The most frequent genotypes were those consisting of alleles with short VNTRs (1036, 1175, and 1323 bp). The statistical analysis between VNTRs length and EPDs were inconclusive due the low frequency of long VNTRs, but a relationship was observed between the short VNTR and means for some interesting traits such as weight at 120 days of age (W_{120}), scrotal circumference at 365 (SC_{365}) and 450 days (SC_{450}), age at first calving (AFC), and rib eye area (REA).

Keywords: association study, *Bos taurus indicus*, molecular marker, VNTR

Introdução

A MUC1 é uma proteína altamente glicosilada concomitantemente expressada por tecidos mucosos de diversos órgãos. A MUC1 bovina, assim como a humana, é formada por um curto domínio citoplasmático, um domínio transmembrana hidrofóbico e um longo domínio extracelular contendo um VNTR formado por uma repetição de 20 aminoácidos (Pallesen et al., 2001). Em humanos o comprimento do VNTR tem sido associado a condições que precedem carcinoma gástrico (Carvalho et al., 2007) e a infertilidade feminina (Horne et al., 2001). Em bovinos já foi associada a uma maior produção de leite, a porcentagem de gordura do leite e a produção de proteína do leite (Hens et al., 1995).

O objetivo do presente estudo foi analisar a relação do polimorfismo MUC1 com Diferenças Esperadas na Progênie (DEPs) em animais da raça Nelore com o intuito de avaliar o efeito do VNTR em características de interesse econômico.

Material e Métodos

A amostra foi constituída por 279 bovinos Nelore com DEPs calculadas pelo Programa de Melhoramento Genético da Raça Nelore (PMGRN) da Associação Nacional de Criadores e Pesquisadores (ANCP). DEPs para as seguintes características foram avaliadas: peso aos 120 dias incluindo os efeitos direto (P_{120}) e materno (PM_{120}), como características de crescimento; perímetro escrotal aos 365 (PE_{365}) e 450 dias de idade (PE_{450}), e idade ao primeiro parto (IPP), como características de fertilidade; e área de olho do lombo (AOL), como característica de carcaça. As DEPs foram estimadas pelo método de máxima verossimilhança restrita usando o software MTDREML. O DNA genômico foi extraído de sangue periférico por precipitação em NaCl usando técnicas padrões. Os animais foram genotipados por PCR utilizando a sequência de primers forward e reverse (5'-CGCAGA ACT ACG CCA GTT TCC-3' e 5'-AGA GCGGGT GGT CAT GGA TG-3') baseadas na sequência do gene MUC1 bovino depositada no GeneBank (AF399757) e adaptadas da sequência de primers que flanqueiam a região repetitiva do gene MUC1 publicada por Rasero et al. (2002). As DEPs maternas e diretas foram independentemente comparadas entre os genótipos por análise de variância (ANOVA) usando o procedimento GLM do software SAS (Statistical Analysis System, 2001).

Resultados e Discussão

Cinco alelos com diferentes comprimentos foram amplificados e nomeados de acordo com Souza et al. (2007) (Figura 1). O modelo descrito por Souza et al. (2007) foi usado para estimar o número de repetições em cada alelo usando o alelo 1036 com 13 repetições como parâmetro. O alelo 1175 apresentou 15 repetições, o alelo 1323 apresentou 18 repetições, o alelo 1526 foi estimado em 21 repetições e o alelo 1894 foi estimado em 27 repetições.

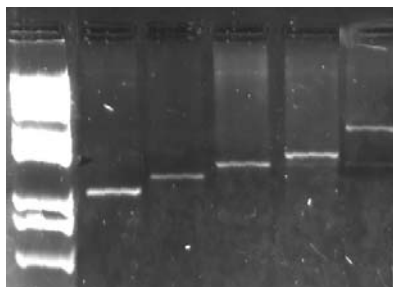


Figura 1 - Gel de agarose mostrando alelos MUC1. Linha 1, 1-kb Plus DNA Ladder; linha 2, genótipo 1036/1036; linha 3, genótipo, 1175/1175; linha 4, genótipo, 1323/1323; linha 5, genótipo, 1526/1526, linha 6, genótipo, 1894/1894.

Todos os alelos relatados no presente estudo apresentaram freqüências similares as já descritas na raça Nelore (Souza et al., 2007). O alelo 1036 foi o mais freqüente e o alelo 1894 o menos freqüente. Cerca de 11 genótipos foram identificados, sendo que a combinação entre VNTRs curtos foi mais freqüente que a combinação entre VNTRs longos. A diferença entre o primeiro e o segundo alelo mais freqüente foi alta, sendo de 0,67 para o homozigoto 1036/1036 e 0,103 para o heterozigoto 1036/1175. Os genótipos menos freqüentes foram os que incluíam o alelo 1894. As freqüências alélicas e genotípicas podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1- Freqüências alélicas e genotípicas do polimorfismo no gene MUC1 em 279 bovinos Nelore.

Alelos	Freqüências	Genótipos	Freqüências
1036	0,793	1036/1036	0,670
1175	0,080	1036/1175	0,103
1323	0,087	1036/1323	0,100
1526	0,027	1036/1526	0,030
1894	0,007	1036/1894	0,003
		1175/1175	0,025
		1175/1323	0,007
		1323/1323	0,035
		1323/1894	0,003
		1526/1526	0,007
		1894/1894	0,003

Em bovinos, a variação no gene MUC1 tem sido associada com a produção e composição do leite (Hens et al., 1995). Em gado de corte, genes relacionados à produção de leite afetam a habilidade materna que, por sua vez, pode afetar o desenvolvimento inicial dos bezerros e assim, outras características. Contudo, no presente estudo, a análise estatística para os três mais frequentes genótipos não mostrou nenhuma associação entre o polimorfismo e as DEPs. A DEP para peso aos 120 dias foi a característica mais próxima de um valor significativo ($P=0,08$) (Tabela 2). Os outros genótipos apresentaram frequência muito baixa e nenhuma associação pode ser realizada.

Entretanto, apesar do teste estatístico não ter sido significativo, pode-se notar uma tendência para maiores valores de DEPs de P_{120} , PE_{365} , P_{450} e AOL para o genótipo 1036/1036. O mesmo aconteceu para a idade ao primeiro parto na qual valores negativos expressam animais com maior precocidade. Tal resultado indica que é possível que esteja havendo uma pressão seletiva para o alelo 1036 e que sua alta frequência reflita a seleção praticada para características economicamente importantes.

Caso os valores das DEPs não seja um efeito direto do gene MUC1, é possível que o gene esteja em desequilíbrio de ligação com outros genes importantes para as DEPs aqui estudadas, já que o mesmo se localiza próximo a QTLs para produção de leite, peso ao nascimento e espessura de gordura, características que indiretamente pode afetar o desenvolvimento inicial do bezerro e influenciar os valores das DEPs P_{120} , PE_{365} , PE_{450} , IPP e AOL.

Outra possibilidade é que a raça Nelore seja caracterizada pela alta frequência do alelo 1036 e que a presença dos outros alelos se deva a introgressão de genes de outras raças durante o processo de melhoramento genético da raça.

Tabela 2 - Níveis de significância, médias e respectivos desvios padrões para DEPs de características de crescimento, fertilidade e carcaça obtidas para os três mais frequentes genótipos do gene MUC1.

DEPs	p (0,05)	Genótipo MUC1		
		1036/1036	1036/1175	1036/1323
P_{120} (kg)	0,08	$3,68 \pm 1,64$	$3,30 \pm 1,85$	$3,16 \pm 2,43$
PM_{120} (kg)	0,29	$0,90 \pm 1,25$	$1,24 \pm 0,77$	$1,06 \pm 1,13$
PE_{365} (cm)	0,37	$9,62 \pm 4,07$	$9,49 \pm 3,85$	$8,93 \pm 5,07$
PE_{450} (cm)	0,79	$10,0 \pm 4,97$	$9,71 \pm 4,62$	$9,40 \pm 6,07$
IPP (meses)	0,72	$-0,56 \pm 0,49$	$-0,46 \pm 0,37$	$-0,38 \pm 0,39$
AOL (cm ²)	0,82	$0,49 \pm 0,54$	$0,38 \pm 0,55$	$0,44 \pm 0,54$

DEPs = Diferenças esperadas na progênie; P_{120} = peso aos 120 dias de idade; PM_{120} = peso aos 120 dias efeito materno; PE_{365} = perímetro escrotal aos 365 dias; PE_{450} = perímetro escrotal aos 450 dias; IPP= idade ao primeiro parto; AOL=área de olho do lombo.

Conclusões

Os VNTRs de menor comprimento podem estar associados a animais com DEPs de valores interessantes e sua alta frequência pode refletir a seleção praticada para características economicamente importantes.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES e a ANCP (Associação Nacional de Criadores e Pesquisadores) pelo financiamento da pesquisa, assim como o veterinário Argeu Silveira do grupo Helio Coelho & Filhos por ceder as amostras do presente trabalho.

Literatura citada

- CARVALHO, F.; SERUCA, R.; DAVID, L. et al. MUC1 gene polymorphism and gastric cancer - an epidemiological study. **Glycoconjugates Journal**, v.14, p.107-111, 1997.
- HENS, J.R.; ROGERS, G.W.; HUOTT, M.L. et al. Associations of epithelial mucin, PAS-1, with yield, health and reproductive traits in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.2473-2480, 1995.
- HORNE, A.W.; WHITE, J.O.; MARGARA, R.A. et al. MUC 1: a genetic susceptibility to infertility? **The Lancet**, v.357, p.1336-1337, 2001.
- PALLESEN, L.T.; ANDERSEN, M.H.; NIELSEN, R.L. et al. (2001) Purification of MUC1 from bovine milkobules and characterization of a corresponding full-length cDNA clone. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.2591-2598, 2001.
- RASERO, R.; SACCHI, P.; ROSATI, S. et al. Molecular analysis of the length polymorphic MUC1 gene in cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.119, p.342-349, 2002.
- SOUZA, F.R.; DENTILLO, D.B.; MEOLA, J. et al. The polymorphism in MUC1 gene in Nelore cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.124, p.42-46, 2007.