

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

EXPRESSÃO DO GENE *DNAJA1* NO MÚSCULO *LONGISSIMUS THORACIS* DE BOVINOS NELORE E SUA RELAÇÃO COM O CRESCIMENTO MUSCULAR

Rayssa Santucci SCAPOL*¹, Jessica Moraes MALHEIROS², Cruz Elena HENRIQUEZ-VALENCIA³, Bruno Oliveira da Silva DURAN⁴, Maeli DAL-PAI-SILVA⁴, Luis Artur Loyola CHARDULO²

*corresponding author: rascapol_02@hotmail.com

¹Faculdade Eduvale de Avaré - EDUVALE, Avaré, São Paulo, Brasil

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

³Universidad Francisco de Paula Santander - UFPSO, Norte de Santander, Colombia

⁴Instituto de Biociências - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

Abstract: The objective of this study was to evaluate the association of expression of *HSP90AA1*, *DNAJA1* and *HSPB1* genes with muscle growth in Nelore cattle. A population of 90 Nelore cattle was used and two experimental groups were selected based on initial weight (IW), final weight (FW), carcass yield (CY) and rib eye area (REA): lower muscle growth (IW = 386.5 ± 39 kg; FW = 500.4 ± 42.0 kg; CY = 280.3 ± 20.6 kg; REA = 73.6 ± 9.0 cm²; n = 16) and higher muscle growth (IW = 397.1 ± 36.5 kg; FW = 597.5 ± 40.6 kg; CY = 325.0 ± 30.9 kg; REA = 80.6 ± 8.8 cm²; n = 16). Gene expression was evaluated by real-time PCR. Expression of the *HSP90AA1* e *HSPB1* genes did not differ between groups. Expression of the *DNAJA1* was up-regulated (P<0.05) in the lower muscle growth group. The present results suggest that muscle growth in Nelore cattle is associated with the expression of the *DNAJA1*.

Palavras-chave: área de olho de lombo, HSPs, RT-qPCR

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

As alterações nos hábitos alimentares dos consumidores expressa a necessidade da pecuária de corte em fornecer carne de qualidade. O desenvolvimento muscular é uma das principais características avaliadas na produção de carne em bovinos de corte. Identificar bovinos que tenham propensão genética para produzir carne de qualidade é de alta prioridade para a indústria. Nesse sentido, considerando a importância do rebanho zebuino para o agronegócio nacional, a seleção utilizando um programa de melhoramento genético surge como alternativa promissora para a produção de carne zebuina de qualidade (VELHO et al., 2009).

As proteínas de choque térmico (Hsps) foram associadas com características de qualidade da carne como o amaciamento da carne de bovinos Nelore (MALHEIROS et al., 2018), pH (ZHANG et al., 2014) e perdas por cozimento (ZHANG et al., 2017). No entanto, as Hsps ainda não foram relacionadas com o crescimento muscular de bovinos. Dentro deste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a expressão gênica das proteínas de choque térmico (*HSP90AA1*, *HSPDNAJ1* e *HSPB1*) em animais da raça Nelore (*Bos indicus*) com características contrastantes de crescimento.

Material e Métodos

Foi utilizada uma população de 90 animais contemporâneos, machos não castrados da raça Nelore com peso médio inicial (PI) 390 ± 37 kg. O período de terminação foi de 95 dias no Confinamento Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia FMVZ, Unesp, Botucatu/SP, seguindo procedimentos aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da FMVZ (159/2014).

Os animais foram enviados ao abate com peso final médio (PF) 550 ± 75 kg e 27 meses. Durante o abate foi obtido o peso de carcaça (PC) de cada animal e foram colhidas amostras do músculo *Longissimus thoracis*, as quais foram

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

armazenadas em solução RNAlater® (Ambion, ThermoFisher Scientific, EUA) para os ensaios de expressão gênica. As carcaças foram resfriadas por 24 horas, período seguido da colheita de amostras do músculo *Longissimus thoracis* entre a 12^a e 13^a costelas da meia carcaça para análise de área de olho de lombo (AOL, cm²). Utilizando as medidas de crescimento muscular foram selecionados dois grupos experimentais contrastantes de animais com menor crescimento muscular (PI = 386,5 ± 39 kg; PF = 500,4 ± 42,0 kg; PC = 280,3 ± 20,6 kg; AOL = 73,6 ± 9,0 cm²; n = 16) e maior crescimento muscular (PI = 397,1 ± 36,5 kg; PF = 597,5 ± 40,6 kg; PC = 325,0 ± 30,9 kg; AOL = 80,6 ± 8,8 cm²; n = 16).

O RNA total foi extraído, mensurado a concentração, pureza e integridade usando o espectrofotômetro NanoDrop 1000 (ThermoFisher Scientific) e eletroforese em gel de agarose 1%, respectivamente. A eliminação e confirmação da ausência do DNA genômico foi realizada e o cDNA foi sintetizado utilizando-se o *High Capacity RNA-to-cDNA Kit* (Life Technologies Corporation, EUA). Nas reações de RT-qPCR foram utilizados quatro sondas *HSP90AA1* (Bt03218068_g1), *DNAJA1* (Bt03219626_g1), *HSPB1* (Bt03220563_m1) e *GAPDH* (Bt03210915_g1).

As reações de RT-qPCR foram realizadas no *QuantStudio 12K Flex* (Applied Biosystems) e para análise estatística utilizou-se o SAS (*Statistical Analysis System*). Para a normalização dos dados foi utilizado o Ct do gene referência (*GAPDH*). Posteriormente a expressão relativa dos genes alvo (*HSP90AA1*, *DNAJA1* e *HSPB1*) foi calculada como proposto por Steibel et al. (2009).

Resultados e Discussão

Apesar da associação da maciez da carne com os genes das proteínas de choque térmico em bovinos Nelore (MALHEIROS et al., 2018), neste trabalho, a expressão dos genes *HSP90AA1* e *HSPB1* relativos as proteínas Hsp90-alfa e Hsp27 não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos contrastantes referentes ao crescimento muscular de bovinos Nelore. Por outro

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

lado, a expressão gênica da *DNAJA1* referente à proteína Hsp40 foi significativamente aumentada (*up regulation*, $p < 0,05$) no grupo de menor crescimento muscular (Figura 1).

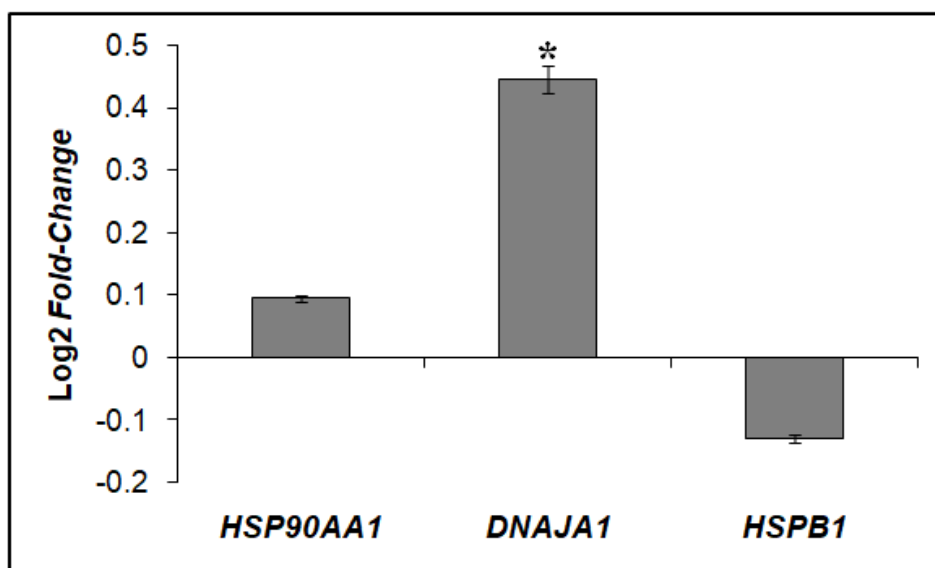


Figura 1. Expressão gênica relativa ($\text{Log}_2 \text{Fold Change}$) dos genes da proteína de choque térmico (*HSP90AA1*, *DNAJA1* e *HSPB1*) do músculo *Longissimus thoracis* entre os grupos contrastantes de menor crescimento muscular e maior crescimento muscular de bovinos Nelore. *Diferença significativa ($p < 0,05$).

A Hsp40 é uma co-chaperona da Hsp70, e o complexo Hsp40/Hsp70 possui função anti-apoptótica que atua na preservação das funções celulares e reparação de proteínas que sofreram danos estruturais (GUILLERMIN et al., 2011). Malheiros et al. (2018), também observou a expressão do gene *DNAJA1* significativamente diminuída (*down regulation*, $p < 0,05$) no grupo de carne macia de bovinos quando comparado ao grupo dura. Deste modo, os resultados do presente estudo sugerem que a expressão do gene da *DNAJA1* está negativamente associada com o crescimento muscular de bovinos Nelore.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Conclusão

O crescimento do músculo esquelético de bovinos Nelore parece depender da expressão e modulação do gene *DNAJA1* pertencente à família das proteínas de choque térmico.

Agradecimentos (Opcional)

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP: 2015/13021-1) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo suporte financeiro.

Referências

- GUILLEMIN, N.; JURIE, C.; CASSAR-MALEK, I.; HOCQUETTE, J.; RENAND, G.; PICARD, B. Variations in the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness according to muscle and animal type. **Animal**, v. 5, p. 885–894, 2011.
- MALHEIROS, J. M.; ENRÍQUEZ-VALENCIA, C. E.; DA SILVA DURAN, B. O.; DE PAULA, T. G.; CURI, R. A.; DE VASCONCELOS SILVA, J. A. I. I.; DAL-PAI-SILVA, M.; OLIVEIRA, H. N.; CHARDULO, L. A. L. Association of CAST2, HSP90AA1, DNAJA1 and HSPB1 genes with meat tenderness in Nellore cattle. **Meat Science**, v. 138, p. 49–52, 2018.
- STEIBEL, J. P.; POLETTO, R.; COUSSENS, P. M.; ROSA, G. J. M. A powerful and flexible linear mixed model framework for the analysis of relative quantification RT-PCR data. **Genomics**, v. 94, p. 146–152, 2009.
- VELHO, J. P.; BARCELLOS, J.O. J.; LENGELER, L.; ELIAS, S. A.; OLIVEIRA, T. E. O. Disposição dos consumidores porto-alegrenses à compra de carne bovina com certificação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n.2, p. 399-404, 2009.
- ZHANG, M.; LIU, Y. L.; FU, C. Y.; WANG, J.; CHEN, S. Y.; YAO, J. Expression of MyHC genes, composition of muscle fiber type and their association with intramuscular fat, tenderness in skeletal muscle of Simmental hybrids. **Molecular Biology Reports**, v. 41, p. 833-840, 2014.
- ZHANG, M.; WANG, D.; GENG, Z.; SUN, C.; BIAN, H.; XU, W.; ZHU, YONGZHI, LI, P. Differential expression of heat shock protein 90, 70, 60 in chicken muscles postmortem and its relationship with meat quality. **Ausin-Australas Journal of Animal Sciences**, v. 30, p. 94-99, 2017.