

IDENTIFICAÇÃO DOS POLIMORFISMOS E DAS SIMILARIDADES EXISTENTES NO SEGUNDO EXON DOS ALELOS DO GENE BoLA-DRB3 DA RAÇA *BOS TAUROS*

Danielle Loureiro Roges¹
Rita de C. L. Idalino¹
Kleber Régis Santoro²

Resumo: O melhoramento genético é uma ciência utilizada para a obtenção de plantas e animais com características desejáveis, e se processa com base na escolha correta daqueles que participam. O estudo da genética molecular permite identificar genes com responsabilidade de conferir resistência a algumas doenças como a mastite que é uma inflamação da glândula mamária que acomete os mamíferos, dentre eles os bovinos. O gene BoLA-DRB3, pertencente à famílias dos genes BoLA (Bovine Lymphocyte Antigen), que se localizam no Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC – Major Histocompatibility Complex) do genoma bovino, está envolvido no processo molecular de resistência à mastite destes animais. Ele é altamente polimórfico, o que dificulta uma genotipagem correta dos animais. O objetivo deste trabalho foi avaliar e fazer uma análise descritiva do polimorfismo, do segundo exon, nos 78 alelos deste gene, nos animais da raça Bos Tauros.

Palavras-chave: Melhoramento genético, mastite, gene BoLA-DRB3, mastite.

INTRODUÇÃO

Os rumos do comércio ao nível nacional e internacional, e o aumento da competitividade na busca de novos mercados, tem levado os produtores de alimentos a procurar saídas para um crescimento em quantidade e qualidade. Desta forma o melhoramento genético se mostra fundamental para um progresso destas atividades, já que é uma ciência utilizada para a obtenção de plantas e animais com características desejáveis, a partir do conhecimento do controle genético destas características e de sua variabilidade.

O melhoramento genético animal, tem como objetivo principal a utilização da variação genética entre os indivíduos, para aumentar qualitativa e quantitativamente a produção dos animais domésticos (TONHATI,1998).

A melhoria genética se processa com base na escolha correta daqueles que participam, ou melhor, daqueles aos quais é dada a possibilidade de participar, do processo de constituição da geração seguinte.

Os seres vivos possuem vários pares de cromossomos. Cada um destes possui genes, que são porções de informação contida no DNA dos indivíduos sob a forma de sequências de nucleótidos. Os genes contidos no material nuclear herdado dos progenitores expressam boa parte das características apresentadas pelos indivíduos em seu fenótipo.

Muitos aspectos da forma do corpo, do funcionamento dos órgãos e dos comportamentos dos animais e de dos seres humanos são transmitidos por hereditariedade. Cada novo indivíduo recebe ao se formar um conjunto de cromossomos do pai e outro da mãe sendo restabelecido o número de cromossomos da espécie. Na reconstituição dos cromossomos, a predominância ou não dos genes para uma mesma característica determinará se ela será expressa ou não.

Alguns genes também determinam a resistência, que os seres vivos possuem, a determinadas doenças bem como a predisposição em relação a outras. O controle e/ou a eliminação desta predisposição a algumas doenças pode ser possível por meio do melhoramento genético.

A mastite é uma inflamação da glândula mamária que acomete os mamíferos, dentre eles os bovinos. É a doença infecciosa, causada por inúmeros agentes etiológicos, que mais afeta as vacas leiteiras e a responsável pelas maiores perdas econômicas do setor leiteiro. Essa inflamação acarreta a diminuição da secreção láctea, ou a perda total desta capacidade, além de representar importante problema de saúde pública (LEITE et al. 1976). O leite proveniente de vacas infectadas apresenta modificação em sua composição, alterando conseqüentemente suas características organolépticas, físicas, químicas e microbiológicas (VIANNI, 1986).

No Brasil, a produção de leite é uma atividade cada vez mais competitiva. Portanto é importante quantificar e qualificar os fatores que podem influenciar nesta produção, buscando

¹ Alunas do Programa de Pós Graduação em Biometria e Estatística Aplicada - UFRPE
dani.loureiro@yahoo.com.br, ritalimex@yahoo.com.br

² Professor orientador do Programa de Pós Graduação em Biometria e Estatística Aplicada - UFRPE
krsantoro@uag.ufrpe.br

maior ganho, na tentativa de suprir a demanda nacional. A seleção de indivíduos melhoradores para acasalamento e multiplicação repercute nos índices de produtividade e produção.

O estudo da genética molecular permite identificar genes com responsabilidade de conferir resistência à mastite bovina, que é o principal problema de saúde relacionado à produção de leite, tanto no Brasil quanto no mundo, visando o aumento da saúde da glândula mamária de bovinos. Nas últimas décadas estudos vêm sendo realizados na espécie bovina a fim de identificar regiões cromossômicas ou genes associados à resistência a essa doença. Esses estudos visam identificar animais produtivos e resistentes a doença ao mesmo tempo.

Os genes BoLA (Bovine Lymphocyte Antigen), que se localizam no Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC – Major Histocompatibility Complex) do genoma bovino e que são altamente polimórficos, estão envolvidos nos processos celulares relacionados ao sistema imunológico dos animais. Eles são responsáveis por codificar as proteínas presentes na superfície das células e envolvidas na relação entre antígenos e anticorpos.

O extenso polimorfismo dos genes BoLA dificulta uma genotipagem correta dos animais. O gene BoLA-DRB3 desta família está envolvido no processo molecular de resistência à mastite.

O loco BoLA tem sido amplamente estudado nos últimos 20 anos em razão de sua influência sobre as características produtivas e às relacionadas à saúde animal. O efeito sobre a saúde animal pode ser resultante da ação direta dos alelos BoLA sobre as funções imunológicas. O produto do gene BoLA-DRB3 é uma proteína relacionada com a formação do complexo antígeno-anticorpo associada com a resposta imunológica específica.

A identificação dos genes responsáveis por conferir a resistência à ocorrência de mastite nos animais e posterior emprego no melhoramento animal pode constituir uma abordagem efetiva para o incremento genético da resistência a esta doença. Esse processo é especialmente importante no caso de caracteres de baixa herdabilidade (Dietz et al., 1997; Shook, 1989; Starkenburg et al., 1997), como a mastite.

O estudo do polimorfismo de genes candidatos relacionados à resistência à mastite em vacas é importante para a identificação de genótipos adequados para a produção leiteira. O processo de identificação destes genes inclui, além de análises dessa característica, o emprego de ferramentas estatísticas e computacionais como os softwares de alinhamento de sequências genéticas.

Este projeto teve como objetivo verificar, através do alinhamento de sequências, a frequência de polimorfismo nos alelos do gene BoLA-DRB3 dos animais da raça Bos Tauros, que são animais europeus sem cupim, estabelecer a similaridade destes genes e realizar uma análise descritiva dos polimorfismos encontrados.

METODOLOGIA

Foram analisadas as 78 sequências de alelos do segundo exon do gene BoLA-DRB3 dos animais da raça Bos Tauros. Estas sequências foram colhidas no site do NCBI (National Center for Biotechnology Information) e os alinhamentos foram realizados utilizando a ferramenta ClustalW do software DAMBE (Data Analysis in Molecular Biology and Evolution).

Com o alinhamento das sequências destes alelos foi possível observar as regiões onde os nucleotídeos se repetiam e desta forma foi gerada uma sequência padrão, para comparação e análise do polimorfismo, denominado sequência consenso. Após a construção e análise dos alinhamentos foi feito um estudo descritivo com a composição de cada sequência e com a similaridade dos alelos com a sequência consenso, esta obtida a partir dos pontos de similaridade no alinhamento.

RESULTADOS

A partir dos alinhamentos das sequências dos alelos do gene BoLA-DRB3 dos animais da raça Bos Tauros, foi possível observar a presença de pontos polimórficos com troca de nucleotídeos, sítios de deleções, sítios de adição de nucleotídeos e similaridades.

```

540          550          560          570          580
-----|-----|-----|-----|-----|
BoLA-DRB3*R-158 GAAAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*1103  GAGAGTTTCACTGTG-----
BoLA-DRB3*R-141 GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*2002 GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGGGGGTGACGGCCAGTGT
BoLA-DRB3-qbb   GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGC-----
BoLA-DRB3*R-08  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-05  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-02  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-155 GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-121 GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-109 GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-19  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-18  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-17  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-13  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-09  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*0101  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGGGGGTGGAC-----
BoLA-DRB3*R-12  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-73  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-28  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-29  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
BoLA-DRB3*R-21  GAGAGTTTCACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAA-----
** *****

```

Figura 1: Alinhamento das seqüências da posição 537 até a posição 587.

A figura 1 representa uma parte, da posição 537 até a posição 587, do alinhamento das 78 seqüências de alelos do gene BoLA-DRB3 no exon 2, realizado no software DAMBE, a partir da ferramenta ClustalW. Neste exemplo é possível verificar na posição 539 a existência de um polimorfismo com troca de nucleotídeo, a ocorrência de sítios de deleções, da posição 552 até a posição 578, e de sítios de adição, da posição 579 até a posição 587. Nas posições 537, 538, 540 até 551, estão as similaridades.

Com o alinhamento destas seqüências de alelos foi possível observar a presença de 172 pontos de similaridade e 550 pontos de polimorfismo. Os locais onde os nucleotídeos se repetiam entre si gerou uma seqüência padrão, denominada seqüência consenso, para comparação e análise do polimorfismo. O alinhamento desta seqüência com a seqüência de cada alelo forneceu o número de similaridades e de polimorfismo existentes em cada estrutura bem como a média de cada informação.

A média da quantidade de similaridades foi 0.55, logo a média dos polimorfismos foi 0,45. Ficaram acima dessa média dos polimorfismos 47 alelos.

Tabela 1: Média da quantidade de similaridades e de polimorfismos.

ALELO	SIMILARIDADE	POLIMORFISMO	PERCENTUAL DE SIMILARIDADE	PERCENTUAL DE POLIMORFISMO
BoLA-DRB3*0101	548	179	0.753782669	0.246217331
BoLA-DRB3*2002	471	256	0.64786795	0.35213205
BoLA-DRB3*R-73	293	434	0.403026135	0.596973865
BoLA-DRB3*R-144	293	434	0.403026135	0.596973865
BoLA-DRB3*R-148	293	434	0.403026135	0.596973865
BoLA-DRB3*R-195	293	434	0.403026135	0.596973865
BoLA-DRB3*R-02	292	435	0.401650619	0.598349381
BoLA-DRB3*R-142	292	435	0.401650619	0.598349381
BoLA-DRB3*R-143	291	436	0.400275103	0.599724897
BoLA-DRB3*R-29	291	436	0.400275103	0.599724897
BoLA-DRB3*R-141	291	436	0.400275103	0.599724897
BoLA-DRB3*R-192	290	437	0.398899587	0.601100413
BoLA-DRB3*R-164	290	437	0.398899587	0.601100413
BoLA-DRB3*R-147	290	437	0.398899587	0.601100413
BoLA-DRB3*R-185	290	437	0.398899587	0.601100413
BoLA-DRB3*R-109	290	437	0.398899587	0.601100413
BoLA-DRB3*R-13	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-28	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-154	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-19	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-186	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-08	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-177	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-184	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-193	289	438	0.397524072	0.602475928
BoLA-DRB3*R-191	288	439	0.396148556	0.603851444
BoLA-DRB3*R-146	288	439	0.396148556	0.603851444
BoLA-DRB3*R-121	288	439	0.396148556	0.603851444
BoLA-DRB3*R-18	288	439	0.396148556	0.603851444
BoLA-DRB3*R-155	288	439	0.396148556	0.603851444
BoLA-DRB3*R-182	287	440	0.39477304	0.60522696
BoLA-DRB3*R-161	287	440	0.39477304	0.60522696
BoLA-DRB3*R-150	287	440	0.39477304	0.60522696

Tabela 1: Média da quantidade de similaridades e de polimorfismos (continuação).

ALELO	SIMILARIDADE	POLIMORFISMO	PERCENTUAL DE SIMILARIDADE	PERCENTUAL DE POLIMORFISMO
BoLA-DRB3*R-166	287	440	0.39477304	0.60522696
BoLA-DRB3*R-12	287	440	0.39477304	0.60522696
BoLA-DRB3*R-158	287	440	0.39477304	0.60522696
BoLA-DRB3*R-17	287	440	0.39477304	0.60522696
BoLA-DRB3*R-156	286	441	0.393397524	0.606602476
BoLA-DRB3*R-09	286	441	0.393397524	0.606602476
BoLA-DRB3*R-189	285	442	0.392022008	0.607977992
BoLA-DRB3*R-194	285	442	0.392022008	0.607977992
BoLA-DRB3*R-190	285	442	0.392022008	0.607977992
BoLA-DRB3*R-168	285	442	0.392022008	0.607977992
BoLA-DRB3*R-172	285	442	0.392022008	0.607977992
BoLA-DRB3*R-188	284	443	0.390646492	0.609353508
BoLA-DRB3*R-05	283	444	0.389270977	0.610729023
BoLA-DRB3-13	269	458	0.370013755	0.629986245
BoLA-DRB3-qbb	269	458	0.370013755	0.629986245
BoLA-DRB3-17	266	461	0.365887208	0.634112792
BoLA-DRB3-19	266	461	0.365887208	0.634112792
BoLA-DRB3-4-2	261	466	0.359009629	0.640990371
BoLA-DRB3-4-1	261	466	0.359009629	0.640990371
BoLA-DRB3-5-2	258	469	0.354883081	0.645116919
BoLA-DRB3-3-2	258	469	0.354883081	0.645116919
BoLA-DRB3-8-1	257	470	0.353507565	0.646492435
BoLA-DRB3-15-1	257	470	0.353507565	0.646492435
BoLA-DRB3-5-1	257	470	0.353507565	0.646492435
BoLA-DRB3-10-2	256	471	0.35213205	0.64786795
BoLA-DRB3-6-1	256	471	0.35213205	0.64786795
BoLA-DRB3-16-1	255	472	0.350756534	0.649243466
BoLA-DRB3-1-1	255	472	0.350756534	0.649243466
BoLA-DRB3-12-1	255	472	0.350756534	0.649243466
BoLA-DRB3-3-1	254	473	0.349381018	0.650618982
BoLA-DRB3-10-1	254	473	0.349381018	0.650618982
BoLA-DRB3-11-2	253	474	0.348005502	0.651994498
BoLA-DRB3-9-1	253	474	0.348005502	0.651994498
BoLA-DRB3-9-2	251	476	0.34525447	0.65474553
BoLA-DRB3-15-2	250	477	0.343878955	0.656121045
BoLA-DRB3-6-2	249	478	0.342503439	0.657496561
BoLA-DRB3-16-2	249	478	0.342503439	0.657496561
BoLA-DRB3-18-1	249	478	0.342503439	0.657496561
BoLA-DRB3-1-2	249	478	0.342503439	0.657496561
BoLA-DRB3-12-2	248	479	0.341127923	0.658872077
BoLA-DRB3-8-2	248	479	0.341127923	0.658872077
BoLA-DRB3-18-2	246	481	0.338376891	0.661623109
BoLA-DRB3-11-1	243	484	0.334250344	0.665749656
BoLA-DRB3*1103	240	487	0.330123796	0.669876204
BoLA-DRB3*R-21	191	536	0.262723521	0.737276479
TOTAL	21795	34911		
MÉDIA	279.4230769	447.5769231	0.384350862	0.615649138

A análise descritiva da composição das sequências dos alelos estudados e da sequência consenso, realizada no DAMBE, forneceu os seguintes resultados.

Tabela 2: Quantidade e frequência de cada base (A, C, T, G) em cada alelo do gene BoLA-DRB3 no exon 2.

Sequência	A	C	G	T	Soma	PA	PC	PG	PT
BoLA-DRB3-17	60	68	102	48	278	0,2158	0,2446	0,3669	0,1727
BoLA-DRB3-18-1	54	68	93	53	268	0,2015	0,2537	0,3470	0,1978
BoLA-DRB3-18-2	57	67	91	53	268	0,2127	0,2500	0,3396	0,1978
BoLA-DRB3-19	66	63	97	52	278	0,2374	0,2266	0,3489	0,1871
BoLA-DRB3-16-2	66	67	88	48	269	0,2454	0,2491	0,3271	0,1784
BoLA-DRB3-16-1	60	66	96	47	269	0,2230	0,2454	0,3569	0,1747
BoLA-DRB3-15-2	56	62	102	49	269	0,2082	0,2305	0,3792	0,1822
BoLA-DRB3-13	61	65	101	51	278	0,2194	0,2338	0,3633	0,1835
BoLA-DRB3-15-1	57	67	97	48	269	0,2119	0,2491	0,3606	0,1784
BoLA-DRB3-12-2	57	65	97	50	269	0,2119	0,2416	0,3606	0,1859
BoLA-DRB3-12-1	57	65	99	48	269	0,2119	0,2416	0,3680	0,1784
BoLA-DRB3-11-2	62	67	94	46	269	0,2305	0,2491	0,3494	0,1710
BoLA-DRB3-11-1	60	65	97	47	269	0,2230	0,2416	0,3606	0,1747
BoLA-DRB3-10-2	60	62	98	49	269	0,2230	0,2305	0,3643	0,1822
BoLA-DRB3-10-1	63	61	97	48	269	0,2342	0,2268	0,3606	0,1784
BoLA-DRB3-9-2	59	66	95	49	269	0,2193	0,2454	0,3532	0,1822
BoLA-DRB3-9-1	58	66	95	50	269	0,2156	0,2454	0,3532	0,1859
BoLA-DRB3-8-2	55	64	97	52	268	0,2052	0,2388	0,3619	0,1940
BoLA-DRB3-8-1	57	62	99	50	268	0,2127	0,2313	0,3694	0,1866
BoLA-DRB3-6-2	61	62	98	47	268	0,2276	0,2313	0,3657	0,1754
BoLA-DRB3-6-1	60	63	98	47	268	0,2239	0,2351	0,3657	0,1754
BoLA-DRB3-5-2	59	62	99	49	269	0,2193	0,2305	0,3680	0,1822
BoLA-DRB3-5-1	58	64	98	49	269	0,2156	0,2379	0,3643	0,1822
BoLA-DRB3-4-2	61	60	96	51	268	0,2276	0,2239	0,3582	0,1903
BoLA-DRB3-4-1	61	60	96	51	268	0,2276	0,2239	0,3582	0,1903
BoLA-DRB3-3-2	63	63	93	50	269	0,2342	0,2342	0,3457	0,1859
BoLA-DRB3-3-1	57	65	98	49	269	0,2119	0,2416	0,3643	0,1822
BoLA-DRB3-1-2	57	59	103	50	269	0,2119	0,2193	0,3829	0,1859
BoLA-DRB3-1-1	56	69	97	47	269	0,2082	0,2565	0,3606	0,1747

Tabela 2: Quantidade e frequência de cada base (A, C, T, G) em cada alelo do gene BoLA-DRB3 no exon 2 (continuação).

Sequência	A	C	G	T	Soma	PA	PC	PG	PT
BoLA-DRB3*R-143	67	75	105	55	302	0,2219	0,2483	0,3477	0,1821
BoLA-DRB3*R-144	67	72	105	58	302	0,2219	0,2384	0,3477	0,1921
BoLA-DRB3*R-146	68	73	104	57	302	0,2252	0,2417	0,3444	0,1887
BoLA-DRB3*R-147	69	74	101	58	302	0,2285	0,2450	0,3344	0,1921
BoLA-DRB3*R-148	68	73	104	57	302	0,2252	0,2417	0,3444	0,1887
BoLA-DRB3*R-150	67	72	107	56	302	0,2219	0,2384	0,3543	0,1854
BoLA-DRB3*R-154	69	71	103	59	302	0,2285	0,2351	0,3411	0,1954
BoLA-DRB3*R-156	67	72	107	56	302	0,2219	0,2384	0,3543	0,1854
BoLA-DRB3*R-158	71	72	99	60	302	0,2351	0,2384	0,3278	0,1987
BoLA-DRB3*1103	54	55	95	45	249	0,2169	0,2209	0,3815	0,1807
BoLA-DRB3*R-141	66	74	105	57	302	0,2185	0,2450	0,3477	0,1887
BoLA-DRB3*2002	114	105	179	88	486	0,2346	0,2160	0,3683	0,1811
BoLA-DRB3-qbb	58	73	98	55	284	0,2042	0,2570	0,3451	0,1937
BoLA-DRB3*R-08	68	69	107	58	302	0,2252	0,2285	0,3543	0,1921
BoLA-DRB3*R-05	66	74	105	54	299	0,2207	0,2475	0,3512	0,1806
BoLA-DRB3*R-02	69	71	102	60	302	0,2285	0,2351	0,3377	0,1987
BoLA-DRB3*R-155	70	69	105	58	302	0,2318	0,2285	0,3477	0,1921
BoLA-DRB3*R-121	65	73	105	59	302	0,2152	0,2417	0,3477	0,1954
BoLA-DRB3*R-109	70	71	97	64	302	0,2318	0,2351	0,3212	0,2119
BoLA-DRB3*R-19	66	68	107	61	302	0,2185	0,2252	0,3543	0,2020
BoLA-DRB3*R-18	68	72	103	59	302	0,2252	0,2384	0,3411	0,1954
BoLA-DRB3*R-17	68	73	101	60	302	0,2252	0,2417	0,3344	0,1987
BoLA-DRB3*R-13	72	69	101	60	302	0,2384	0,2285	0,3344	0,1987
BoLA-DRB3*R-09	66	71	107	58	302	0,2185	0,2351	0,3543	0,1921
BoLA-DRB3*0101	116	150	197	109	572	0,2028	0,2622	0,3444	0,1906
BoLA-DRB3*R-12	69	71	104	58	302	0,2285	0,2351	0,3444	0,1921
BoLA-DRB3*R-73	66	71	107	58	302	0,2185	0,2351	0,3543	0,1921
BoLA-DRB3*R-28	67	72	106	57	302	0,2219	0,2384	0,3510	0,1887
BoLA-DRB3*R-29	70	73	96	63	302	0,2318	0,2417	0,3179	0,2086
BoLA-DRB3*R-21	70	68	105	59	302	0,2318	0,2252	0,3477	0,1954

Tabela 2: Quantidade e frequência de cada base (A, C, T, G) em cada alelo do gene BoLA-DRB3 no exon 2 (continuação).

Sequência	A	C	G	T	Soma	PA	PC	PG	PT
BoLA-DRB3*R-188	68	73	104	54	299	0,2274	0,2441	0,3478	0,1806
BoLA-DRB3*R-189	70	73	102	54	299	0,2341	0,2441	0,3411	0,1806
BoLA-DRB3*R-190	68	72	101	58	299	0,2274	0,2408	0,3378	0,1940
BoLA-DRB3*R-191	66	73	104	56	299	0,2207	0,2441	0,3478	0,1873
BoLA-DRB3*R-192	63	71	108	57	299	0,2107	0,2375	0,3612	0,1906
BoLA-DRB3*R-193	64	75	104	56	299	0,2140	0,2508	0,3478	0,1873
BoLA-DRB3*R-194	65	75	104	55	299	0,2174	0,2508	0,3478	0,1839
BoLA-DRB3*R-195	70	72	99	61	302	0,2318	0,2384	0,3278	0,2020
BoLA-DRB3*R-186	69	75	99	59	302	0,2285	0,2483	0,3278	0,1954
BoLA-DRB3*R-177	68	72	102	60	302	0,2252	0,2384	0,3377	0,1987
BoLA-DRB3*R-182	65	71	106	60	302	0,2152	0,2351	0,3510	0,1987
BoLA-DRB3*R-184	70	71	100	61	302	0,2318	0,2351	0,3311	0,2020
BoLA-DRB3*R-185	64	73	105	60	302	0,2119	0,2417	0,3477	0,1987
BoLA-DRB3*R-161	65	70	107	60	302	0,2152	0,2318	0,3543	0,1987
BoLA-DRB3*R-164	66	72	101	63	302	0,2185	0,2384	0,3344	0,2086
BoLA-DRB3*R-166	66	72	101	63	302	0,2185	0,2384	0,3344	0,2086
BoLA-DRB3*R-168	66	73	103	60	302	0,2185	0,2417	0,3411	0,1987
BoLA-DRB3*R-172	67	71	106	58	302	0,2219	0,2351	0,3510	0,1921
BoLA-DRB3*R-142	67	71	106	58	302	0,2219	0,2351	0,3510	0,1921
Média	65,3	70,31	103,08	55,86	-	0,2200	0,2400	0,3500	0,1900

Tabela 3: Quantidade e frequência de cada base (A, C, T, G) na sequência consenso.

SEQUÊNCIA	A	C	G	T	SOMA	PA	PC	PG	PT
CONSENSO	164	175	248	140	727	0,2256	0,2407	0,3411	0,1926

CONCLUSÃO

A partir dos resultados dos alinhamentos das sequências dos 78 alelos do segundo exon do gene BoLA-DRB3 com a sequência consenso foi possível observar que o percentual médio de similaridades, 0,384, foi inferior ao percentual médio de polimorfismo 0,615.

Na análise da composição das sequências dos alelos do gene estudado, a média de cada base não se aproxima da quantidade de cada base da sequência consenso, ao contrário do que acontece com a probabilidade de ocorrência das bases onde os valores são muito semelhantes.

O alinhamento das sequências mostrou que a sequência do alelo BoLA-DRB3*0101 é a que apresenta maior similaridade com a sequência consenso, e a sequência do alelo BoLA-

DRB3*R-21 é a que tem menor similaridade. Na análise da composição das sequências dos 78 alelos foi possível concluir que os alelos BoLA-DRB3*1103, BoLA-DRB3*R-143, BoLA-DRB3*R-09, BoLA-DRB3*R-146, BoLA-DRB3*R-147, BoLA-DRB3*R-148, BoLA-DRB3-4-1, BoLA-DRB3-6-2, BoLA-DRB3-13, BoLA-DRB3*R-29, BoLA-DRB3*R-73, BoLA-DRB3*R-50, BoLA-DRB3*R-155, BoLA-DRB3*R-191, BoLA-DRB3*R-19, BoLA-DRB3*R-184, BoLA-DRB3*R-177, BoLA-DRB3*R-168, BoLA-DRB3*R-156, BoLA-DRB3*R-150, foram os que apresentaram maior semelhança de probabilidade de ocorrência das bases quando comparadas com a sequência consenso.

Algumas análises ainda precisam ser realizados em laboratório para se determinar quais, dos alelos estudados, fornecem aos animais da raça Bos Tauros maior resistência à mastite, proporcionando desta forma o melhoramento genético da raça.

BIBLIOGRAFIA

BRAZ, A. C. V. S; MORAIS F.V. Análise in silico de genes relacionados à autofagia de três isolados do *Paracoccidioides brasiliensis*: Avaliação do polimorfismo, trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biomedicina), UNIVAP, 2009.

CARDOSO, V.L., MONSALVES, F.M., EL FARO, L. et al. Valores econômicos para ocorrência de mastite clínica e contagem de células somáticas em um sistema intensivo de Produção de Leite. 42ª Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia . Goiânia, Goiás. CDROM. 2005.

LEITE, R.C., BRITO, J.R.F., e FIGUEIREDO, J.B. Alterações da glândula mamária de vacas ratadas intensivamente via mamária, com penicilina em veículo aquoso. Arq. Esc. Vet., UFMG, v.28, p.27-31. 1976.

NACTIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov.

TONHATI, H. Critérios de seleção para produção total de leite em bubalinos criados no estado de São Paulo, Brasil. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2002. 68p. Tese (Livre Docência) - Universidade Estadual Paulista, 2002.

VIANNI, M.C.E., LÁZARO, N.S. Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativos, isolados de mastite subclínica bubalina. Pesq. Veterin. Bras. n.23, p.47-51. 2003.