

AMPLIFICAÇÃO POR PCR DA AMOSTRA DE GALINHAS CAIPIRAS

Manuela Kich Wegener¹, Maurício Velho Sezerino², Gustavo Kellermann Reolon³, Carlos André da Veiga Lima Rosa⁴

¹ Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas – Opção Biodiversidade - CERES - bolsista PROIP/UDESC.

² Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas – Opção Biodiversidade - CERES

³ Professor participante do projeto, Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas – CERES

⁴ Orientador, Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas, CERES – carlos.lima@udesc.br.

Palavras-chave: MHC. Extração de DNA. Amostra

O Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC – *Major Histocompatibility Complex*) é o nome dado a um segmento cromossômico no qual se localiza um conjunto de genes que codificam glicoproteínas de diferentes estruturas e funções, as quais são expressas na superfície de uma grande variedade de células. A função principal da maioria destas moléculas é a apresentação de fragmentos de proteínas antigênicas (epitopos) às células efectoras do sistema imune, a partir da qual toda cadeia da resposta imune se desenvolve. Assim, estes genes exercem o controle principal da resistência hospedeira a doenças autoimunes, víricas, bacterianas e parasitárias. Tal resistência tanto pode ser individual quanto de grupos, como raças ou linhagens, sendo estas últimas definidas como populações que possuem características comuns a uma raça e podem ser subdivisões da mesma. A resistência pode variar, assim, tanto de indivíduo para indivíduo, ou linhagem para linhagem, quanto de patógeno para patógeno no mesmo indivíduo. Os genes do MHC são altamente polimórficos, ou seja, cada loco apresenta várias formas (alelos). Estes genes, em galinhas, dividem-se em quatro classes: I, II, III e IV. Os genes de classe II codificam moléculas que apresentam antígenos exógenos (epitopos derivados do processamento de proteínas de parasitas e bactérias extracelulares). Duas cadeias polipeptídicas compõem as moléculas do MHC de classe II: uma cadeia alfa e uma cadeia beta, de tamanhos semelhantes, e a fenda das moléculas do MHC, na qual o peptídeo é complexado, é formada por ambas as cadeias nas moléculas de classe II. O Complexo Maior de Histocompatibilidade da galinha é denominado de Complexo B por ter sido inicialmente descrito como o loco controlador de antígenos dos grupos sanguíneos (*blood group antigens*). O gene de classe II da cadeia alfa do Complexo B é denominado *B-L alfa*, e é o único gene que codifica a cadeia alfa das moléculas de classe II detectado no genoma da galinha. Com o objetivo de estudar a variabilidade genética do gene do sistema imune das galinhas *B-L alfa*, o DNA total foi isolado com sucesso do sangue periférico através do protocolo estabelecido por Sambrook et al. (1989) de 100 animais caipiras eclodidos de ovos azuis provenientes das regiões rurais do município de Dois Lajeados (RS). A amplificação dos fragmentos desejados foi realizada pela técnica da PCR (Polymerase Chain

Reaction), conforme descrita por Chen et al. (2012), a partir do DNA total. Foram utilizados os iniciadores 5'-GATGGCGGTGCTGAGCGGAG-3' e 5'-GCTCAGAGCAGCCCCGGT-3'. As condições de amplificação consistem de 1 minutos de desnaturação inicial a 96°C; 35 ciclos de 1 minuto de desnaturação a 96°C, 1 minuto de anelamento a 67°C e 2 minutos de extensão a 72°C; bem como 10 minutos de extensão final a 72°C. Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5%.