

## VARIABILIDADE DO INDEL DE 23 PB NO GENE *PRNP* ASSOCIADO À RESISTÊNCIA À ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA NA RAÇA GIR

*Variability of the 23-bp indel in the PRNP gene associated with resistance to bovine spongiform encephalopathy in the Gir breed*

Júlia Villane Santos de Moraes<sup>(1)</sup>

Beatriz Bastos Senes<sup>(2)</sup>

Silel Vinícius Simões Andrade Maciel<sup>(2)</sup>

Ingrid Pereira Pinto Oliveira<sup>(2)</sup>

Lavínia Barbosa de Jesus Ferreira<sup>(3)</sup>

Jackeline Santos Alves<sup>(4)</sup>

Gregório Miguel Ferreira de Camargo<sup>(5)</sup>

### Resumo

Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) é uma enfermidade priônica cuja susceptibilidade pode ser influenciada por polimorfismos no gene *PRNP*, especialmente pelo polimorfismo de inserção/deleção (indel) de 23 pares de bases (pb) localizado na região promotora. Este estudo teve como objetivo estimar as frequências alélicas e genotípicas desse marcador em bovinos da raça Gir. Foram analisadas amostras de folículos pilosos de 223 animais provenientes de diferentes regiões do Brasil. A genotipagem foi realizada por PCR, seguida de eletroforese em gel de agarose a 4%, permitindo a identificação dos genótipos II, ID e DD. As frequências alélicas e genotípicas foram estimadas no software GeneAEx 6.5, sendo também avaliado o equilíbrio de Hardy-Weinberg. A frequência do alelo de inserção (I) foi de 32,74%, enquanto a do alelo de deleção (D) foi de 67,26%. As frequências genotípicas observadas foram de 16,38% (II), 30,17% (ID) e 49,57% (DD), evidenciando predominância do genótipo DD e do alelo de deleção na população avaliada. Esses resultados são consistentes com estudos realizados em outras populações bovinas e contribuem para a caracterização da variabilidade genética do *PRNP* em bovinos zebuínos brasileiros, fornecendo subsídios para futuras investigações sobre resistência genética à EEB e para aplicações em programas de melhoramento genético.

**Palavras-chave:** polimorfismo, príon, vaca louca, zebu.

### Abstract

*Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) is a prion disease whose susceptibility may be influenced by polymorphisms in the PRNP gene, particularly the 23-base pair (bp) insertion/deletion (indel) polymorphism located in the promoter region. This study aimed to estimate the allelic and genotypic frequencies of this marker in Gir cattle. Hair follicle samples from 223 animals collected in different regions of Brazil were analyzed. Genotyping was performed by polymerase chain reaction (PCR) followed by 4% agarose gel electrophoresis, allowing the identification of the II, ID, and DD genotypes. Allelic and genotypic frequencies were estimated using GeneAEx 6.5 software, and*

Identificação do(s) autor(es): <sup>1</sup>Mestranda em Ciência Animal pela Unesp/FCAV; <sup>2</sup>Doutorando(a) em Zootecnia pela UFBA; <sup>3</sup>Graduanda em Zootecnia pela UFBA; <sup>4</sup>Pós-doutoranda em Zootecnia pela UFBA. <sup>5</sup>Professor Doutor em Zootecnia. Departamento Zootecnia, UFBA.

*Hardy-Weinberg equilibrium was evaluated. The insertion (I) and deletion (D) allele frequencies were 32.74% and 67.26%, respectively. Observed genotype frequencies were 16.38% (II), 30.17% (ID), and 49.57% (DD), demonstrating a predominance of the DD genotype and the deletion allele in the studied population. These findings are consistent with previous reports in other cattle populations and contribute to the characterization of PRNP genetic variability in Brazilian Bos indicus cattle, providing a basis for future studies on genetic resistance to BSE and potential applications in breeding programs.*

**Keywords:** mad-cow disease, polymorphism, prion, zebu.

---

## 1. Introdução

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) é causada pelo acúmulo da isoforma anormal da proteína priônica (PrP<sup>Sc</sup>), resultante da conversão da proteína celular normal (PrP<sup>C</sup>), codificada pelo gene *PRNP*. A enfermidade possui importância sanitária, econômica e em saúde pública devido às perdas na cadeia produtiva e ao potencial zoonótico da forma clássica da doença, associada ao desenvolvimento da variante da doença de Creutzfeldt-Jakob em humanos (MARZOLA et al., 2026). Embora a ocorrência da EEB clássica tenha sido drasticamente reduzida após medidas de controle alimentar, casos atípicos continuam sendo registrados esporadicamente em diversos países, incluindo o Brasil. Diferentemente do observado em ovinos, onde polimorfismos codificantes do *PRNP* apresentam forte associação com resistência ao scrapie, em bovinos a maior parte das variantes relacionadas à susceptibilidade localiza-se em regiões regulatórias do gene. Entre elas, destacam-se os polimorfismos de inserção/deleção (indels) de 23 pares de bases (pb) na região promotora e de 12 pares de bases no íntron 1, considerados marcadores candidatos para resistência à EEB (SANDER et al., 2004).

Estudos funcionais demonstraram que esses indels alteram sítios de ligação de fatores de transcrição, modulando os níveis de expressão do *PRNP*. A deleção de 23 pb remove um sítio de ligação para o fator repressor RP58, enquanto a deleção de 12 pb elimina um sítio de ligação para o fator SP1, resultando em maior expressão da proteína priônica. Dessa forma, animais portadores dos alelos de inserção tendem a apresentar menor expressão de *PRNP* e, conseqüentemente, menor susceptibilidade ao desenvolvimento da EEB (KERBER et al., 2008; HE et al., 2023).

Apesar da relevância desses marcadores, ainda são escassas as informações sobre a distribuição desses polimorfismos em raças zebuínas brasileiras. Assim, o objetivo

deste trabalho foi estimar as frequências genotípicas e alélicas do indel de 23 pb do gene *PRNP* em bovinos Gir.

## 2. Materiais e Métodos

Foram analisadas amostras de folículos pilosos de 223 bovinos da raça Gir provenientes de diferentes regiões do Brasil. O DNA genômico foi extraído utilizando o kit comercial NucleoSpin® Tissue, de acordo com as recomendações do fabricante, sendo posteriormente quantificado em espectrofotômetro NanoDrop®. A genotipagem do polimorfismo de inserção/deleção (indel) de 23 pb localizado na região promotora do gene *PRNP* foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando primers específicos (F: *GTGCCAGCCATGTAAGTG*; R: *CCTATTCTGGCTATTGTTGC*) para amplificação da região de interesse.

Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 4%, permitindo a distinção dos genótipos de acordo com o tamanho dos fragmentos obtidos através de imagens geradas em alta exposição pelo foto-documentador L-Pix Touch (Loccus Biotecnologia, São Paulo, Brazil). Os indivíduos foram classificados como homozigotos para inserção (II), heterozigotos (ID) ou homozigotos para deleção (DD). As frequências genotípicas e alélicas foram estimadas utilizando o software GeneAlEx versão 6.5. Adicionalmente, foi realizado o teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg por meio da comparação entre as frequências genotípicas observadas e esperadas, adotando-se nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ).

## 3. Resultados e Discussão

Na população avaliada de bovinos Gir, as frequências alélicas, relatadas na Tabela 1, foram de 32,74% para o alelo I e 67,26% para o alelo D.

**Tabela 1.** Frequências alélicas do indel de 23 pb do gene *PRNP* na raça Gir.

| Alelos | Frequência alélica (%) |
|--------|------------------------|
| I      | 32,74                  |
| D      | 67,26                  |

Foram observadas frequências genotípicas de 16,38% para o genótipo homozigoto para a inserção (II), 30,17% para o heterozigoto (ID) e 49,57% para o homozigoto para a deleção (DD), como descrito na Tabela 2.

**Tabela 2.** Frequências genotípicas do indel de 23 pb do gene *PRNP* na raça Gir.

| Genótipos    | Quantidade | Frequência Genotípica Observada (%) | Frequência Genotípica Esperada (%) |
|--------------|------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| II           | 38         | 16,38                               | 10,74                              |
| ID           | 70         | 30,17                               | 44,04                              |
| DD           | 115        | 49,57                               | 45,23                              |
| <b>TOTAL</b> | 223        | -                                   | -                                  |

A predominância do genótipo DD corrobora com a maior frequência do alelo de deleção na população, com o padrão observado em diversas populações bovinas. Kerber et al. (2008) verificaram uma elevada frequência dos haplótipos contendo a deleção de 23 pb em raças taurinas com aptidão para corte, como Aberdeen Angus e Charolais, com frequências do genótipo de DD de 50% e 46%, respectivamente. Msalya et al. (2009) também relataram maior ocorrência do alelo de deleção (D) em diferentes raças bovinas japoneses, variando de 55% até 100% dentro delas. Resultados semelhantes foram descritos por Yang et al. (2018) em raças bovinas chinesas, demonstrando que a deleção representa o alelo predominante em diferentes grupos genéticos.

A associação desse polimorfismo com a susceptibilidade à EEB foi inicialmente descrita por Sander *et al.* (2004), que observaram maior frequência do alelo de deleção em animais acometidos pela enfermidade quando comparados a bovinos sadios. Posteriormente, estudos funcionais demonstraram que a deleção de 23 pb remove um sítio regulatório para ligação do fator de transcrição RP58, que atua como uma proteína repressora (HE *et al.*, 2023). Com a ausência desse sítio de ligação, expressão do gene *PRNP* aumenta, assim como a disponibilidade da proteína celular (*PrP<sup>C</sup>*) necessária para a conversão em sua forma patogênica (*PrP<sup>Sc</sup>*).

Como no Brasil, os casos registrados de EEB no país foram classificados como atípicos, o conhecimento da variabilidade genética do *PRNP* mostra-se essencial para programas de vigilância sanitária, caracterização e seleção genética dos rebanhos, além de auxiliar no desenvolvimento de estratégias de melhoramento visando resistência às

doenças priônicas. Além disso, a representatividade da raça Gir na pecuária brasileira torna necessários estudos populacionais que permitam caracterizar a distribuição desses marcadores em animais zebuínos, visto que as frequências de alelos associados à resistência podem diferir significativamente entre linhagens de *Bos taurus* e *Bos indicus*

#### **4. Conclusão**

A população Gir avaliada apresentou elevada frequência do genótipo DD e do alelo de deleção para o indel de 23 pb do gene *PRNP*. Esses resultados contribuem para a caracterização da variabilidade genética desse marcador em bovinos zebuínos brasileiros e fornecem subsídios para futuros estudos envolvendo resistência genética à encefalopatia espongiforme bovina, análise conjunta com outros polimorfismos do *PRNP* e aplicação em programas de melhoramento genético.

#### **Referências**

- GALVÃO, C. E. *et al.* **Polymorphisms of Intron 1 and the Promoter Region at the PRNP Gene in BSE-Free Caracu Cattle.** *Biochemical Genetics*, v. 50, p. 657–669, 2012.
- HE, X. *et al.* **Comparative Analysis of PRNP Gene Indel Polymorphism and Expression among Zhongdian Yellow Cattle, Zhongdian Yak, and Their Hybrids.** *Animals*, v. 13, 3627, 2023.
- KERBER, A. R. *et al.* **Polymorphisms of Two Indels at the PRNP Gene in Three Beef Cattle Herds.** *Biochemical Genetics*, v. 46, p. 1–7, 2008.
- MARZOLA, G. P. *et al.* **Bovine Spongiform Encephalopathy: An Integrated Review of Prion Mechanisms, Neuroanatomy, and Control.** *Veterinary Sciences*, v. 13, 398, 2026.
- MSALYA, G. *et al.* **Gene and Haplotype Polymorphisms of the Prion Gene (PRNP) in Japanese Brown, Japanese Native and Holstein Cattle.** *Animal Science Journal*, v. 80, p. 520–527, 2009.
- SANDER, P. *et al.* **Analysis of Sequence Variability of the Bovine Prion Protein Gene (PRNP) in German Cattle Breeds.** *Neurogenetics*, v. 5, p. 19–25, 2004.
- YANG, Q. *et al.* **The Evaluation of 23-bp and 12-bp Insertion/Deletion within the PRNP Gene and Their Effects on Growth Traits in Healthy Chinese Native Cattle Breeds.** *Journal of Applied Animal Research*, v. 46, p. 505–511, 2018.