

Ciência, Tecnologia e Inovação na Amazônia Pós-Pandemia

I SEMINÁRIO PIBEX
IV SEMINÁRIO DE ENSINO
XVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
II ED CONGRESSO UFRA VIRTUAL - UNIVERSIDADE VIVA



INVESTIGAÇÃO *IN SILICO* DE GENES DE REFERÊNCIA PARA qPCR EM TEMPO REAL EM OÓCITOS E BLASTOCISTOS BUBALINOS

Andreza Farias Almeida¹; Tayná da Silva Santos²; Marcela Oliveira das Mercês³; Priscila Di Paula Bessa Santana⁴

1. Bolsista PIBIC, Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural da Amazônia, Capitão Poço/UFRA, e-mail: andreza.almeida528@gmail.com; 2. Bolsista PIVIC, Graduanda, Nome da em Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural da Amazônia, Capitão Poço/UFRA, e-mail: taynamyy@gmail.com; 3. Mestranda, Programa de pós graduação em biotecnologia aplicada a agropecuária, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém/UFRA, e-mail: marcelamercesgn@gmail.com; 4. Orientadora, UFRA/Belém, Universidade Federal Rural da Amazônia, e-mail: ppbsantana@gmail.com.

RESUMO:

O uso de genes de referência é um método simples e popular para normalizar dados em Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa em Tempo Real (qPCR), a partir de comparações da diferença de quantificação entre um gene de interesse e um gene de referência. Teoricamente, genes de referências ideais devem apresentar funções celulares básicas e ter baixa variabilidade na expressão através dos tecidos e condições experimentais. Sendo assim, a seleção de genes de referência confiáveis é essencial para normalizar e interpretar corretamente os resultados da qPCR. Atualmente, têm sido utilizadas metodologias *in silico* para identificação de candidatos a genes de referência ideais para cada situação experimental a partir de dados de RNA-seq. O objetivo deste trabalho foi empregar um conjunto de metodologias *in silico* para identificação de novos genes candidatos a referência em oócitos e blastocistos bubalinos produzidos *in vitro*. Para tanto, foram utilizados dados de RNA-seq normalizados em *Reads Per Kilobase Million* (RPKM) para calcular os valores de coeficiente de variação (CV), *Maximo fold change* (MFC), e o Índice de Gini (IG) a fim de medir a desigualdade nos níveis de expressão de cada gene entre as amostras. Durante a seleção, foram necessárias duas etapas de filtragens dos dados. Na primeira etapa, foram selecionados 184 genes que apresentaram expressão estável entre as amostras, foram considerados genes estáveis aqueles com os menores valores de CV (<3%), MFC (<2) e IG (<1). A segunda etapa consistiu na seleção de 18 genes que apresentaram expressão estável e moderada ou alta entre as amostras, foi definido como valor mínimo o RPKM >40. Do total de 8.649 genes em oócitos e embriões de búfalo, dezoito (*NACC2*, *ZNF106*, *DDX28*, *MED4*, *THUMPDI*, *IRF2BP2*, *ELK1*, *QKI*, *EFTUD2*, *RAPGEF1*, *RAPGEF1*, *CCNYLI*, *PJA2*, *NUP58*, *GOLT1B*, *TTC4*, *GNL3* e *PRR14L*) apresentaram valores de expressão estáveis e foram selecionados como candidatos a genes de referência, os quais serão validados por meio da qPCR, a fim de contribuir em futuros trabalhos sobre o desenvolvimento embrionário da espécie bubalina.

PALAVRAS-CHAVE: qPCR; RNA-seq; genes de referência.

¹ Link do Vídeo: https://youtu.be/IIE9q_grO70