

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
ZOOTECNIA

**ANÁLISE DE MÓDULOS CIS-REGULATÓRIOS PARA
CARACTERÍSTICAS DE CARNE E CARCAÇA EM BOVINOS
NELORE**

Aluna: Nathalia Espanhol

Orientadora: Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca

Co-orientadora: Prof. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque

JABOTICABAL-SP

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE DE MÓDULOS CIS-REGULATÓRIOS PARA
CARACTERÍSTICAS DE CARNE E CARCAÇA EM BOVINOS
NELORE**

Nathalia Espanhol

Orientador: Prof Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca

Trabalho de Conclusão de Curso (Iniciação Científica) apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para graduação em Zootecnia.

Jaboticabal - SP
2022

E77a	Espanhol, Nathalia Análise de módulos cis-regulatórios para características de carne e carcaça em bovinos Nelore / Nathalia Espanhol. -- Jaboticabal, 2022 39 p. : il., tabs., fotos Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientadora: Larissa Fernanda Simielli Fonseca Coorientadora: Lucia Galvão de Albuquerque 1. Genética animal. 2. Melhoramento genético. 3. Bovinos. 4. Fator de Transcrição. 5. Genes. I. Título.
------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL



DEPARTAMENTO: Zootecnia

CERTIFICADO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: ANÁLISE DE MÓDULOS CIS-REGULATÓRIOS PARA CARACTERÍSTICAS DE CARNE E CARCAÇA EM BOVINOS NELORE

ACADÊMICO: Nathalia Espanhol

CURSO: Zootecnia

ORIENTADOR (ES): Profa. Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca

PERÍODO: Semestre 09 Ano 2022

Aprovado com conceito: A ☒ B ☐ C ☐

Este trabalho é recomendado para compor a base de dados CAPELO. ☒ Sim ☐ Não

Reprovado: ☐

BANCA EXAMINADORA:

	(Nomes)
Presidente	Profa. Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca
Membro	Me. Patrícia Iana Schmidt
Membro	Me. Leonardo Machestropa Arikawa

(Assinaturas)
<u>Larissa F. Simielli Fonseca</u>
<u>Patrícia Iana Schmidt</u>
<u>Leo Mach.</u>

Jaboticabal 12 / 08 / 2022

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 12 / 08 / 2022

Edney Pereira da Silva

Chefe do Departamento

Prof. Dr. EDNEY PEREIRA DA SILVA
Chefe do Departamento de Zootecnia
Matrícula Nº 422823-6

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, meus pais, Rodrigo Antonio Espanhol e minha mãe Carla Diane Chioda, juntamente com minha avó Norma T. G. Espanhol e meu tio Marcelo Henrique Espanhol, além de ser um amor incondicional, contribuíram muito para a minha formação e todo crescimento pessoal e profissional. Agradeço também aos meus irmãos: Vinicius, Eduardo e Valentina e ao Henrique Almeida Machado Borges, pessoas que são pilares em minha vida. Sem eles não estaria vivenciando esse momento único.

Por todas minhas amizades construídas na Faculdade, principalmente ao Luís Gustavo Valli Veloso e a Larissa Gonçalves Barbosa que foram grandes pessoas em minha vida durante esses cinco anos de curso. Agradeço a República Essakana por me proporcionar momentos únicos e construir uma segunda família. E principalmente agradeço a minha amiga de infância Maria Carolina Martinez por sempre estar ao meu lado e me apoiar.

Agradeço ao pessoal do Grupo de Genética e Melhoramento Animal do Campus de Jaboticabal, pelos ensinamentos, paciência, ajuda e amizades a qual construí.

Gostaria de agradecer à Professora Doutora Lucia Galvão de Albuquerque por aceitar-me como estagiária em seu departamento, proporcionando novas oportunidades. E juntamente com minha orientadora Larissa Fernanda Simielli Fonseca por todos os ensinamentos e auxílio para finalização deste trabalho, além de se tornar uma grande amiga a qual me espelho muito. Muito obrigada Larissa.

Por fim, agradeço a todos que torcem por mim e participam da minha vida até hoje, muito obrigada!

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que me apoiaram e acreditaram no meu potencial, minha família, meus amigos, professores e colegas da faculdade. Muito obrigada, não estaria aqui sem vocês.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
4. MATERIAL E MÉTODOS	8
4.1. Genes candidatos provenientes de análise sistemática	8
Tabela 1 (CORRÊA et al., 2022)	14
4.2 Análise dos módulos cis-regulatorios e enriquecimento funcional	14
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
6. CONCLUSÃO	25
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil em 2020 possuía o maior rebanho bovino do mundo, com 217 milhões de cabeças, representando 14,3% do rebanho mundial. Também é o líder do ranking de exportadores de carne bovina desde 2004, alcançando 2,2 milhões de toneladas exportadas no mesmo ano (EMBRAPA, 2021). O consumo de proteína animal advinda da carne bovina ocupa a terceira posição mundial, atrás somente de aves e suínos. (CARVALHO, 2007)

A pecuária de corte é uma atividade complexa. São várias características produtivas e reprodutivas do gado que interferem na eficiência do sistema de produção (SILVA, EMBRAPA et al., 2007). Desta forma, algumas características de qualidade de carne e carcaça como: área de olho de lombo (AOL), maciez, gordura de cobertura e rendimento devem ser avaliadas visando melhoria na qualidade do rebanho e maior eficiência do sistema de produção (RUBIANO et al., 2009.)

Dentre as características de carcaça, AOL está relacionada com a musculabilidade e ganho de peso do animal (CAETANO et al., 2013; SCHOLZ et al., 2015). O conteúdo de GI (gordura intramuscular) e taxa de marmorização influenciam na palatabilidade, maciez e valor nutricional (WOOD et al., 2008; COSTA et al., 2013; PICKWORTH et al., 2010). Já a maciez da carne bovina, característica afetada por vários fatores, incluindo genótipo, idade, sexo do animal e manejo pré e pós-abate, é o atributo sensorial preferido do consumidor (FONSECA, 2017). Apesar da importância para o mercado dessas características, sua mensuração é difícil e onerosa pois necessitam de mão-de-obra capacitada e equipamentos específicos.

Selecionar animais com altos valores genéticos para qualidade da carne e carcaça leva ao aumento do intervalo de gerações devido a avaliação tardia e custosa dessas características. Desta forma, a identificação de genes e o conhecimento dos mecanismos moleculares relacionados à expressão fenotípica dessas características podem auxiliar na seleção de animais da Raça Nelore, elevando o valor genético das características econômicas citadas anteriormente, além de contribuir para melhoria da carne brasileira (SILVA, 2019)

Nesse sentido, estudos envolvendo técnicas biomoleculares, têm sido extremamente utilizados com o intuito de encontrar genes candidatos e antecipar a avaliação dessas características (SILVA et al. 2016). Dentre elas, destaca-se o transcriptoma, definido como o conjunto completo de RNAs codificantes e não codificantes que são transcritos em um estágio de desenvolvimento específico e/ou estão presentes em várias condições fisiológicas dentro de um tipo de célula ou tecido (HENKEL et al. 2018). O transcriptoma visa à quantificação das variações nos níveis de expressão de cada transcrito durante o desenvolvimento do organismo e sob diferentes condições (GREENBAUM et al., 2001; WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009).

A sequência completa dos RNAs de um organismo (transcriptoma) pode ser obtida por meio do seu sequenciamento (RNA-Seq), sendo possível identificar os fatores de transcrição específicos de sequência (TFs). Os TFs ligam-se aos seus sítios de reconhecimento de DNA dentro de elementos *cis* - reguladores e assim, contribuem para o controle da taxa de iniciação da transcrição de seus genes-alvo por meio de uma interação com outros fatores de transcrição, cofatores, modificadores de cromatina e fábricas de transcrição (JANKY., 2014). A montagem do conjunto completo de regiões reguladoras compostas por sítios de ligação fracos e fortes permitirá obter listas mais abrangentes dos fatores que desempenham papéis na regulação gênica, possibilitando assim o entendimento mais profundo das redes reguladoras (NAGY, 2020.)

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi realizar análises de predições de módulos *cis-regulatórios* em genes associados as características de interesse econômico relacionadas à qualidade da carne, a partir de estudos prévios realizados em bovinos Nelore e agrupados de acordo com uma revisão sistemática.

3. REVISÃO DE LITERATURA

O DNA é uma molécula que possui o código das informações genéticas em seus genes, formado por duas cadeias pareadas de nucleotídeos. Os nucleotídeos são unidades de um polímero, constituídos de uma molécula de açúcar (desoxirribose), um grupo fosfato (ácido fosfórico) e uma base nitrogenada, que pode ser adenina (A), guanina (G), citosina (C) e timina (T). Essa molécula atua principalmente como molde para a síntese de uma molécula de RNA por meio da transcrição. O DNA contém a informação genética, o que significa armazená-la, transmiti-la ao longo das gerações, e traduzi-la na forma de proteínas.

O RNA é apontado como a molécula da vida, pois executa funções no armazenamento, na transmissão da informação genética e possui funções catalíticas (ALBERTS et al., 2017; NELSON e COX, 2017; MAIA, 2017). A transcrição acontece no núcleo da célula através de um complexo enzimático, do qual a enzima chave é o RNA polimerase que desempenha a polimerização do RNA a partir do DNA molde (DE OLIVEIRA ALMEIDA et al., 2016).

O processo inicial da expressão de um gene é a transcrição, realizada pela enzima RNA polimerase II, que através da anulação da barreira nucleossomal possibilita o acesso de complexos proteicos ao DNA, sintetizando uma molécula de RNA (PETESCH, LIS, 2012; DAHAN; CHODER, 2013). Para que o controle do processo transcricional seja eficiente, é necessário que ocorra uma ação combinatória de vários ativadores ou inibidores que se ligam à elementos regulatórios que podem ser cis ou trans, presentes no DNA. Assim, muitos

complexos regulatórios podem ser arranjados a partir de uma grande quantidade de combinações de fatores (GONÇALVES et al. 2008.)

Em eucariotos, a regulação gênica pode ser desempenhada por elementos cis. Esses elementos são sequências nucleotídicas que operam como regiões alvo, onde localizam-se sítios de ligação dos fatores de transcrição. Os genomas dos eucariotos possuem inúmeros elementos cis que agem como sítios alvos para a interação de diferentes proteínas regulatórias. Esses elementos cis estão localizados tanto a montante (*upstream*) quanto a jusante (*downstream*) da unidade transcricional e são responsáveis tanto pela ativação (*enhancer*) quanto pela inibição (silenciador) da expressão gênica (GONÇALVES et al., 2008).

Os Fatores de Transcrição (FTs) são proteínas que geralmente ligam-se ao DNA nos sítios de ligação (*motifs*) dos fatores de transcrição presentes no módulo cis e modulam a atividade transcricional da RNA polimerase, consequentemente sintetizam RNA (MARTINS,et al., 2012). Estes, também são proteínas reguladoras imprescindíveis na identificação dos genes a serem transcritos pela enzima DNA Polimerase 2 (Pol2) (HEYN et al., 2015).

Os FTs podem ser ativadores, co-ativadores ou Fatores de Transcrição Gerais (GTF). Os FTs ativadores localizam-se nos promotores modulando a estrutura da cromatina e intensificando a formação do complexo pré-iniciação da transcrição (PIC). Os FTs Co-ativadores tendem a alterar a habilidade dos ativadores de regular positiva ou negativamente a transcrição. Os GTFs se ligam aos promotores, formando o PIC, o qual é responsável pelo direcionamento da Pol2 ao *transcription start site (TSS)*.

O estudo dos fatores de transcrição pode contribuir para o progresso no conhecimento genético e molecular das características de interesse econômico. Além disso, compreender, através dos estudos de transcriptoma, a relevância dos módulos cis na regulação da expressão gênica, é entender a operação dessas regiões na expressão das características quantitativas

como as indicadoras da qualidade de carne bovina. Os módulos cis regulatórios é o conjunto dos *motifs*, FTs e mais os genes alvos.

A análise global de transcriptoma têm sido aplicada frequentemente para a identificação de genes diferencialmente expressos para muitas características, pois os múltiplos genes controlam a maior parte das características fenotípicas (PONSUKSILI et al., 2009; HAMILL et al., 2012). O método objetiva à quantificação das alterações nos níveis de expressão de cada transcrito no decorrer do desenvolvimento do organismo e perante diversas condições. O transcriptoma é dinâmico e sofre frequente alteração, seu conhecimento é imprescindível para a análise de elementos funcionais do genoma, vias metabólicas dos organismos e processos biológicos, além de indicar componentes moleculares de células e tecidos.

O RNA-Seq é uma das inúmeras metodologias aplicadas para a análise de transcriptoma que vem modernizando a medicina e a biologia na atualidade. Atualmente o RNA-Seq é muito aprimorado para analisar a expressão gênica e encontrar novas espécies de RNA (HRDLICKOVA et al., 2017).

O conhecimento do RNA-Seq está possibilitando o aprimoramento da anotação da transcrição, oferecendo, por exemplo, mapas precisos dos locais de início e término da transcrição (MARGUERAT et al., 2010). A avaliação da expressão gênica por meio do sequenciamento é fundamentada sobretudo na quantidade de leituras que mapeiam cada sequência de transcrição. Os métodos de normalização controlam as diferenças das amostras, logo colabora para a precisão das comparações entre as diversas condições avaliadas (CONESSA et al., 2016).

O RNA-Seq é um método primordial para descobrir os mecanismos subjacentes de características complexas, proporcionando uma melhor compreensão da regulação genética do fenótipo de interesse (TIZIOTO et al., 2015). Este método possibilitou descobertas significativas no que se refere aos mecanismos moleculares de características de interesse

econômico de animais da raça Nelore, sendo elas: Identificação de genes diferencialmente expressos relacionados à maciez da carne (FONSECA et al., 2017), marmoreio (CESAR et al., 2015; FONSECA et al., 2020), perfil de ácidos graxos (BERTON et al., 2016), espessura de gordura (SILVA-VIGNATO et al., 2017), conteúdo de lipídios (SANTOS SILVA et al., 2019[1]) e área de olho de lombo (SANTOS SILVA et al., 2020). Sucederam também estudos de microRNAs (OLIVEIRA et al., 2018), eventos de *splicing* alternativo (SANTOS SILVA et al., 2019[2]), lncRNAs (MUNIZ et al., 2022), isoformas e polimorfismos (MUNIZ et al., 2022), relacionados as diversas características de qualidade da carne em bovinos Nelore, entretanto, estudos relacionando módulos cis-regulatórios à essas características em bovinos Nelore ainda são incomuns na literatura.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Genes candidatos provenientes de análise sistemática

O estudo foi baseado em uma análise sistemática (CORREA et al., 2022) feita a partir de trabalhos realizados anteriormente e publicados em periódicos, os quais identificaram genes diferencialmente expressos, associados às características de produção, carcaça e carne em bovinos Nelore. A metodologia baseou-se por uma busca de artigos nas ferramentas PubMed e Google Scholar, usando combinações referentes a “RNA-Seq Nelore”, “Transcriptomics Nelore” e “Genes Nelore expressos diferencialmente”.

Os artigos encontrados foram incluídos na revisão de acordo com os seguintes critérios: (i) Estudo com bovinos Nelore; (ii) Estudos aplicando análise de transcriptoma de RNA-Seq incluindo mRNA; (iii) Estudos identificando genes diferencialmente expressos associados às características de produção, carcaça e carne.

Os genes diferencialmente expressos foram agrupados de 3 formas, sendo eles: Grupo 1- Produção (consumo de ração residual e escore de condição corporal), Grupo 2-carcaça (área de olho de lombo e espessura de gordura) Grupo 3- qualidade de carne (ácido graxo, teor de gordura intramuscular, concentração de minerais, maciez, índice de fragmentação miofibrilar e marmoreio). Nesse trabalho, foram incluídos apenas os genes comuns para o Grupo 3 (Tabela 1). Maiores detalhes sobre a obtenção dos dados por meio da revisão sistemática podem ser encontrados em Corrêa (2022).

Tabela 1 - Genes diferencialmente expressos comuns para as características de qualidade da carne (Grupo 3).

Símbolo do Gene	Nome do Gene
<i>ABCC5</i>	ATP binding cassette subfamily C member 5 (ABCC5)
<i>ABRA</i>	actin binding Rho activating protein (ABRA)
<i>ADAMTS20</i>	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 20 (ADAMTS20)
<i>AGTPBP1</i>	ATP/GTP binding carboxypeptidase 1 (AGTPBP1)
<i>AIMP2</i>	aminoacyl tRNA synthetase complex interacting multifunctional protein 2(AIMP2)
<i>AKAP9</i>	A-kinase anchoring protein 9(AKAP9)
<i>AKT1S1</i>	AKT1 substrate 1 (AKT1S1)
<i>ALCAM</i>	activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM)
<i>AMPD3</i>	adenosine monophosphate deaminase 3 (AMPD3)
<i>ANGPT1</i>	angiopoietin 1 (ANGPT1)
<i>ANK3</i>	ankyrin 3 (ANK3)
<i>ANKRD2</i>	ankyrin repeat domain 2 (ANKRD2)
<i>ANKRD52</i>	ankyrin repeat domain 52 (ANKRD52)
<i>APOL3</i>	apolipoprotein L, 3 (APOL3)
<i>APOL3</i>	apolipoprotein L, 3 (APOL3)
<i>AQP4</i>	aquaporin 4 (AQP4)
<i>ARID5B</i>	AT-rich interaction domain 5B (ARID5B)
<i>ASB12</i>	ankyrin repeat and SOCS box containing 12 (ASB12)
<i>ASB5</i>	ankyrin repeat and SOCS box containing 5 (ASB5)
<i>ATOH8</i>	atonal bHLH transcription factor 8 (ATOH8)
<i>ATP1A1</i>	ATPase Na ⁺ /K ⁺ transporting subunit alpha 1 (ATP1A1)
<i>AVPI1</i>	arginine vasopressin induced 1 (AVPI1)
<i>B3GALNT2</i>	beta-1,3-N-acetylgalactosaminyltransferase 2 (B3GALNT2)
<i>BANK1</i>	B cell scaffold protein with ankyrin repeats 1 (BANK1)
<i>BDH1</i>	3-hydroxybutyrate dehydrogenase 1 (BDH1)
<i>BLA-dqb</i>	MHC class II antigen (BLA-DQB)
<i>BMP1</i>	bone morphogenetic protein 1 (BMP1)
<i>BOLA</i>	major histocompatibility complex, class I, A (BoLA)
<i>C28H10orf116</i>	Adipogenesis Regulatory Factor (ADIRF)
<i>C7</i>	complement C7 (C7)
<i>C9orf172</i>	Apical Junction Component 1 Homolog (AJM1)
<i>CACNA2D2</i>	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit alpha2delta 2 (CACNA2D2)
<i>CACNG7</i>	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit gamma 7 (CACNG7)
<i>CAV3</i>	caveolin 3 (CAV3)
<i>CCL1</i>	C-C motif chemokine ligand 1 (CCL1)
<i>CDON</i>	cell adhesion associated, oncogene regulated(CDON)

Símbolo do Gene	Nome do Gene
<i>CDS1</i>	CDP-diacylglycerol synthase 1 (CDS1)
<i>CEBPD</i>	CCAAT enhancer binding protein delta (CEBPD)
<i>CHI3L1</i>	chitinase 3 like 1 (CHI3L1)
<i>CIB2</i>	calcium and integrin binding family member 2 (CIB2)
<i>CISH</i>	cytokine inducible SH2 containing protein (CISH)
<i>CLDN5</i>	claudin 5 (CLDN5)
<i>CNN1</i>	calponin 1 (CNN1)
<i>CNN2</i>	calponin 2 (CNN2)
<i>COL15A1</i>	collagen type XV alpha 1 chain (COL15A1)
<i>COL18A1</i>	collagen type XVIII alpha 1 chain (COL18A1)
<i>COL5A3</i>	collagen type V alpha 3 chain (COL5A3)
<i>CPXM1</i>	carboxypeptidase X, M14 family member 1 (CPXM1)
<i>CSRP3</i>	cysteine and glycine rich protein 3 (CSRP3)
<i>CYP4B1</i>	cytochrome P450, family 4, subfamily B, polypeptide 1 (CYP4B1)
<i>DAB2</i>	DAB adaptor protein 2 (DAB2)
<i>DGAT2</i>	diacylglycerol O-acyltransferase 2 (DGAT2)
<i>DIXDC1</i>	DIX domain containing 1 (DIXDC1)
<i>DMPK</i>	DM1 protein kinase (DMPK)
<i>DOC2G</i>	double C2 domain gamma (DOC2G)
<i>ECM2</i>	extracellular matrix protein 2 (ECM2)
<i>EEF1A1</i>	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1 (EEF1A1)
<i>ELN</i>	Elastin (ELN)
<i>ELTD1</i>	Adhesion G Protein-Coupled Receptor L4 (ADGRL4)
<i>EME2</i>	essential meiotic structure-specific endonuclease subunit 2 (EME2)
<i>ENSBTAG00000006182</i>	ENSBTAG00000006182 pseudogene
<i>ENSBTAG000000027962</i>	ENSBTAG000000027962
<i>ENSBTAG000000032057</i>	ENSBTAG000000032057
<i>ENSG00000202198</i>	7SK (promoter - enhancer)
<i>ESF1</i>	ESF1 nucleolar pre-rRNA processing protein homolog (ESF1)
<i>ESRRG</i>	estrogen related receptor gamma (ESRRG)
<i>F1MPT3</i>	F1MPT3
<i>FABP5</i>	fatty acid binding protein 5 (FABP5)
<i>FAM129A</i>	Niban Apoptosis Regulator 1 (NIBAN)
<i>FAM131A</i>	family with sequence similarity 131 member A (FAM131A)
<i>FAM134B</i>	Reticulophagy Regulator 1 (RETREG1)
<i>FAM184A</i>	family with sequence similarity 184 member A (FAM184A)
<i>FEM1C</i>	fem-1 homolog C (FEM1C)
<i>FKBP5</i>	FKBP prolyl isomerase 5 (FKBP5)
<i>FMOD</i>	Fibromodulin (FMOD)
<i>FNDC4</i>	fibronectin type III domain containing 4 (FNDC4)
<i>FOXO1</i>	forkhead box O1 (FOXO1)

Símbolo do Gene	Nome do Gene
<i>FXR2</i>	FMR1 autosomal homolog 2(FXR2)
<i>GADD45A</i>	growth arrest and DNA damage inducible alpha (GADD45A)
<i>GFPT2</i>	glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 2 (GFPT2)
<i>GNPTAB</i>	N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase subunits alpha and beta (GNPTAB)
<i>GPCPD1</i>	glycerophosphocholine phosphodiesterase 1 (GPCPD1)
<i>GPS2</i>	G protein pathway suppressor 2 (GPS2)
<i>GYPC</i>	glycophorin C (GYPC)
<i>HBB</i>	hemoglobin, beta (HBB)
<i>HDAC11</i>	histone deacetylase 11 (HDAC11)
<i>HGH1</i>	HGH1 homolog (HGH1)
<i>HMOX1</i>	heme oxygenase 1 (HMOX1)
<i>HPCAL4</i>	hippocalcin like 4 (HPCAL4)
<i>HSPA6</i>	heat shock protein family A (Hsp70) member 6 (HSPA6)
<i>HSPB8</i>	heat shock protein family B (small) member 8 (HSPB8)
<i>HSPH1</i>	heat shock protein family H (Hsp110) member 1 (HSPH1)
<i>IER3</i>	immediate early response 3 (IER3)
<i>IER5</i>	immediate early response 5 (IER5)
<i>IFI6</i>	interferon alpha inducible protein 6 (IFI6)
<i>ISG15</i>	ISG15 ubiquitin like modifier (ISG15)
<i>ISOC2</i>	isochorismatase domain containing 2 (ISOC2)
<i>ITGB1BP2</i>	integrin subunit beta 1 binding protein 2 (ITGB1BP2)
<i>ITIH4</i>	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 (ITIH4)
<i>JAM2</i>	junctional adhesion molecule 2 (JAM2)
<i>JMJD1C</i>	jumonji domain containing 1C (JMJD1C)
<i>JSRP1</i>	junctional sarcoplasmic reticulum protein 1 (JSRP1)
<i>KCNC4</i>	potassium voltage-gated channel subfamily C member 4 (KCNC4)
<i>KCNQ4</i>	potassium voltage-gated channel subfamily Q member 4 (KCNQ4)
<i>KERA</i>	Keratocan (KERA)
<i>KIAA1671</i>	KIAA1671 (KIAA1671)
<i>KIAA2013</i>	KIAA2013 ortholog (KIAA2013)
<i>KLHL21</i>	kelch like family member 21 (KLHL21)
<i>LBH</i>	LBH regulator of WNT signaling pathway (LBH)
<i>LCP1</i>	lymphocyte cytosolic protein 1 (LCP1)
<i>LMF1</i>	lipase maturation factor 1 (LMF1)
<i>LOC100848684</i>	uncharacterized LOC100848684 (LOC100848684)
<i>LOC104973907</i>	LOC104973907
<i>LUM</i>	Lumican (LUM)
<i>MAFF</i>	MAF bZIP transcription factor F (MAFF)
<i>MAOB</i>	monoamine oxidase B (MAOB)
<i>MAP1B</i>	microtubule associated protein 1B (MAP1B)
<i>MAPKAPK2</i>	MAPK activated protein kinase 2 (MAPKAPK2)

Símbolo do Gene	Nome do Gene
<i>MDFIC</i>	MyoD family inhibitor domain containing (MDFIC)
<i>MED25</i>	mediator complex subunit 25 (MED25)
<i>MFSD8</i>	major facilitator superfamily domain containing 8 (MFSD8)
<i>MGC148692</i>	Capping Protein Inhibiting Regulator Of Actin Dynamics (CRACD)
<i>MGLL</i>	monoglyceride lipase (MGLL)
<i>MICAL2</i>	microtubule associated monooxygenase, calponin and LIM domain containing 2 (MICAL2)
<i>MLF1</i>	myeloid leukemia factor 1 (MLF1)
<i>MMP2</i>	matrix metalloproteinase 2 (MMP2)
<i>MRPS6</i>	mitochondrial ribosomal protein S6 (MRPS6)
<i>MT1A</i>	metallothionein-1A (MT1A)
<i>MT2</i>	Metallothionein 2
<i>MT2A</i>	metallothionein 2A (MT2A)
<i>MX1</i>	MX dynamin like GTPase 1 (MX1)
<i>MXRA5</i>	matrix remodeling associated 5 (MXRA5)
<i>MYBPH</i>	myosin binding protein H (MYBPH)
<i>MYH10</i>	myosin heavy chain 10 (MYH10)
<i>MYLK3</i>	myosin light chain kinase 3 (MYLK3)
<i>MYOF</i>	Myoferlin (MYOF)
<i>MYOM3</i>	myomesin 3 (MYOM3)
<i>NDUFS6</i>	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit S6 (NDUFS6)
<i>NEDD4</i>	NEDD4 E3 ubiquitin protein ligase (NEDD4)
<i>NFIB</i>	nuclear factor I B (NFIB)
<i>NFKB2</i>	nuclear factor kappa B subunit 2 (NFKB2)
<i>NIPSNAP1</i>	nipsnap homolog 1 (NIPSNAP1)
<i>NOV</i>	Cellular Communication Network Factor 3 (CCN3)
<i>NPDC1</i>	neural proliferation, differentiation and control 1 (NPDC1)
<i>NR4A2</i>	nuclear receptor subfamily 4 group A member 2 (NR4A2)
<i>NRAP</i>	nebulin related anchoring protein (NRAP)
<i>NT5DC3</i>	5'-nucleotidase domain containing 3 (NT5DC3)
<i>OPRD1</i>	opioid receptor delta 1 (OPRD1)
<i>OTUD1</i>	OTU deubiquitinase 1 (OTUD1)
<i>P4HA3</i>	prolyl 4-hydroxylase subunit alpha 3 (P4HA3)
<i>PADI2</i>	peptidyl arginine deiminase 2 (PADI2)
<i>PCDH18</i>	protocadherin 18 (PCDH18)
<i>PDE4D</i>	phosphodiesterase 4D (PDE4D)
<i>PERP</i>	p53 apoptosis effector related to PMP22 (PERP)
<i>PGM2L1</i>	phosphoglucomutase 2 like 1 (PGM2L1)
<i>PHTF2</i>	putative homeodomain transcription factor 2 (PHTF2)
<i>PKDCC</i>	protein kinase domain containing, cytoplasmic (PKDCC)
<i>PLEKHA4</i>	pleckstrin homology domain containing A4 (PLEKHA4)
<i>PLEKHH3</i>	pleckstrin homology, MyTH4 and FERM domain containing H3 (PLEKHH3)

Símbolo do Gene	Nome do Gene
<i>PLIN2</i>	perilipin 2 (PLIN2)
<i>PLIN5</i>	perilipin 5 (PLIN5)
<i>PMP22</i>	peripheral myelin protein 22 (PMP22)
<i>PON3</i>	paraoxonase 3 (PON3)
<i>POSTN</i>	Periostin (POSTN)
<i>PPFIBP2</i>	PPFIA binding protein 2 (PPFIBP2)
<i>PPP1R27</i>	protein phosphatase 1 regulatory subunit 27 (PPP1R27)
<i>PRND</i>	prion like protein doppel (PRND)
<i>RAB11FIP3</i>	RAB11 family interacting protein 3 (RAB11FIP3)
<i>RANGAP1</i>	Ran GTPase activating protein 1 (RANGAP1)
<i>RAPSN</i>	receptor associated protein of the synapse (RAPSN)
<i>RCAN1</i>	regulator of calcineurin 1 (RCAN1)
<i>RFX2</i>	regulatory factor X2 (RFX2)
<i>RGS2</i>	regulator of G-protein signaling 2, 24kDa (RGS2)
<i>RGS2</i>	regulator of G protein signaling 2 (RGS2)
<i>RNF115</i>	ring finger protein 115 (RNF115)
<i>RNF128</i>	ring finger protein 128 (RNF128)
<i>ROCK2</i>	Rho associated coiled-coil containing protein kinase 2 (ROCK2)
<i>RPL36</i>	ribosomal protein L36 (RPL36)
<i>RPS15</i>	ribosomal protein S15 (RPS15)
<i>RPS6KA3</i>	ribosomal protein S6 kinase A3 (RPS6KA3)
<i>RRAD</i>	RRAD, Ras related glycolysis inhibitor and calcium channel regulator (RRAD)
<i>RUNX1</i>	RUNX family transcription factor 1 (RUNX1)
<i>RYR3</i>	ryanodine receptor 3 (RYR3)
<i>S100B</i>	S100 calcium binding protein B (S100B)
<i>SCN3B</i>	sodium voltage-gated channel beta subunit 3 (SCN3B)
<i>SCUBE2</i>	signal peptide, CUB domain and EGF like domain containing 2 (SCUBE2)
<i>SFRP5</i>	secreted frizzled related protein 5 (SFRP5)
<i>SHISA4</i>	shisa family member 4 (SHISA4)
<i>SLC12A7</i>	solute carrier family 12 member 7 (SLC12A7)
<i>SLC22A4</i>	solute carrier family 22 member 4 (SLC22A4)
<i>SLC7A4</i>	solute carrier family 7 member 4 (SLC7A4)
<i>SLK</i>	STE20 like kinase (SLK)
<i>SMPDL3A</i>	sphingomyelin phosphodiesterase acid like 3A (SMPDL3A)
<i>SMTNL1</i>	smoothelin like 1 (SMTNL1)
<i>SPOCK2</i>	SPARC (osteonectin), cwcv and kazal like domains proteoglycan 2 (SPOCK2)
<i>SRXN1</i>	sulfiredoxin 1 (SRXN1)
<i>STXBP3</i>	syntaxin binding protein 3 (STXBP3)
<i>SURF6</i>	surfeit 6 (SURF6)
<i>SYS1</i>	SYS1 golgi trafficking protein (SYS1)
<i>SYT4</i>	synaptotagmin 4 (SYT4)

Símbolo do Gene	Nome do Gene
<i>SYTL2</i>	synaptotagmin like 2 (SYTL2)
<i>TBKBP1</i>	TBK1 binding protein 1 (TBKBP1)
<i>TFPT</i>	TCF3 fusion partner (TFPT)
<i>TJAP1</i>	tight junction associated protein 1 (TJAP1)
<i>TMCO3</i>	transmembrane and coiled-coil domains 3 (TMCO3)
<i>TMUB1</i>	transmembrane and ubiquitin like domain containing 1 (TMUB1)
<i>TNC</i>	tenascin C (TNC)
<i>TNFRSF12A</i>	TNF receptor superfamily member 12A (TNFRSF12A)
<i>TPP1</i>	tripeptidyl peptidase 1 (TPP1)
<i>TRAFD1</i>	TRAF-type zinc finger domain containing 1 (TRAFD1)
<i>TRIM55</i>	tripartite motif containing 55 (TRIM55)
<i>UBA7</i>	ubiquitin like modifier activating enzyme 7 (UBA7)
<i>UBE2S</i>	ubiquitin conjugating enzyme E2 S (UBE2S)
<i>UBTD1</i>	ubiquitin domain containing 1 (UBTD1)
<i>UBXN6</i>	UBX domain protein 6 (UBXN6)
<i>UCHL1</i>	ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCHL1)
<i>UCP3</i>	uncoupling protein 3 (UCP3)
<i>USP13</i>	ubiquitin specific peptidase 13 (USP13)
<i>VCAN</i>	Versican (VCAN)
<i>VPS72</i>	vacuolar protein sorting 72 homolog (VPS72)
<i>WIPF1</i>	WAS/WASL interacting protein family member 1 (WIPF1)
<i>XIRP2</i>	xin actin binding repeat containing 2 (XIRP2)
<i>ZNF385C</i>	zinc finger protein 385C (ZNF385C)
<i>ZNF628</i>	zinc finger protein 628 (ZNF628)

Tabela 1 (CORRÊA et al., 2022)

4.2 Análise dos módulos cis-regulatorios e enriquecimento funcional

A partir dos genes diferencialmente expressos agrupados, por meio do plug-in iRegulon v.1.3 implementado no Cytoscape v.3.8.2 (JANKY et al., 2014), foram realizadas análises para prever os fatores de transcrição e seus sítios de ligações (Módulos cis-regulatórios). Os módulos encontrados, também chamados de *clusters* (fatores de transcrição e genes alvo) foram submetidos à análise de enriquecimento (processos biológicos) no plug-in Cluego implementado no programa Cytoscape v.3.8.2 (BINDEA et al., 2009).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fatores de transcrição são reguladores chave de processos biológicos que funcionam por ligação a regiões reguladoras da transcrição. Cada FT reconhece uma coleção de sequências de DNA semelhantes que podem ser representadas como *motifs*, os quais são sítios de ligação. A caracterização dos *motifs* é importante para a compreensão das funções reguladoras dos FTs que moldam as redes reguladoras dos genes

Foram avaliados 222 genes comuns para características de qualidade de carne (ácidos graxos, teor de gordura intramuscular, concentrações de minerais, maciez, índice de fragmentação miofibrilar, marmoreio e área de olho de lombo). No total foram encontrados 12 *clusters* (Tabela 2), entretanto, apenas 7 foram significativos (M2, M5, M7, M9, M10, M11, M12) e apesar de enriquecidos, 5 *cluster* (M1, M3, M4, M6 e M8) não foram associados à FTs conhecidos.

Tabela 2. *Motifs* associados à clusters significativos para qualidade da carne.

Motif id	Cluster Code	Transcription	Targets genes
jaspar-CN0086.1	M1		NR4A2, WIPF1, HDAC11, SPOCK2, CDON, RYR3, TJAP1
transfac_public-M00172	M2	JUN, FOS, JUND, FOSL2, FOSL1	MYBPH, COL5A3, P4HA3, PDE4D, HMOX1, ASB5, LMF1
transfac_pro-M03552	M2	JUND, FOSL1, JUNB, FOSL2, FOS, JUN, FOSB, BATF	HMOX1, MYBPH, ASB5, KIAA1671, SRXN1, RRAD, TRIM55
transfac_public-M00188	M2	FOS, JUN, JUND, FOSL2, FOSL1	MYBPH, ROCK2, HMOX1, FMOD, COL5A3, BMP1, FKBP5
homer-M01484	M2	NFE2, JUNB, FOS, FOSB, JUN, JUND	HMOX1, MYBPH, TRIM55, SRXN1, BMP1, FKBP5, ASB5, TNFRSF12A, WIPF1, TJAP1, TBKBP1, CAV3, MT2A

transfac_pro-M00926	M2	FOS, FOSL1, FOSB, JUNB, FOSL2, JUN, JUNB, IRF8, NFE2L2, PPARG, ISL1	HMOX1, MYBPH, COL5A3, KIAA1671, ASB5, SRXN1, TRIM55, P4HA3, FKBP5, BMP1, ANGPT1, RRAD, FAM184A, RYR3, ROCK2, TNFRSF12A, PDE4D, IER3
transfac_pro-M02095	M2	FOSL1, JUNB, FOS, JUNB, FOSB, JUN	HMOX1, MYBPH, TRIM55, COL5A3, SRXN1, ASB5, RPS6KA3, P4HA3
transfac_public-M00173	M2	FOS, JUN, JUNB, FOSL2, FOS, FOSL1, JUNB, JUNB, JUNB, JUNB	PDE4D, MYBPH, P4HA3, FMOD, FKBP5, KIAA1671, ROCK2, TRIM55
transfac_pro-M00925	M2	FOS, JUN, JUNB, FOSL2, FOS, FOSL1, JUNB, JUNB, JUNB, JUNB, JUNB	HMOX1, MYBPH, COL5A3, KIAA1671, ASB5, P4HA3, FKBP5
yetfasco-2042	M2	JUN, FOSL2, FOS, FOSL2, FOSL1, FOSB, JUNB	MYBPH, HMOX1, ASB5, MRPS6, COL5A3, TJAP1, FOXO1
transfac_pro-M03815	M2	JUNB	MYBPH, HMOX1, ASB5, SRXN1, KIAA1671, P4HA3, RYR3, RPS6KA3, TRIM55, RRAD
jaspar-PF0150.1	M3		UBA7, MYH10, ELN, BDH1, ESRRG, PDE4D
homer-M00190	M3	STAT6	GADD45A, JMJD1C, ATOH8, LCP1, FEM1C
flyfactorsurvey-br-PE_SANGER_5_FB			
gn0000210	M4		MYH10, USP13, WIPF1, ATOH8, PCDH18, BMP1, DAB2, FAM134B, DGAT2, SYT4, MICAL2, ESRRG, PDE4D, CNN1
hdpi-PSMC2	M4	PSMC2	RUNX1, ZNF628, CACNG7, MAP1B, NFIB
jaspar-MA0145.1	M4	TFCP2L1, TFCP2	ESRRG, RUNX1, TJAP1, RGS2, KCNQ4, FKBP5, PMP22, GFPT2
tfdimers-MD00551	M5	HOXD9, ETS2, HNF1A, IKZF1, HNF1B, PDX1, PITX2, OTX2, CRX, NOBOX, OTX1, ARID3A, IKZF2, CEBPG, CEBPD, CEBPE, CEBPB, CEBPA	NR4A2, PKDCC, ELN, PCDH18, RPS6KA3, FAM184A
tfdimers-MD00189	M5	EP300, HOXA13, GTF2IRD1	KLHL21, B3GALNT2, NFIB, NT5DC3, ESRRG, XIRP2, FMOD, ALCAM, GPCPD1, MYLK3, RNF115, FKBP5, NR4A2, HSPH1, ARID5B, VCAN
tfdimers-MD00472	M5		ESRRG, PDE4D
yetfasco-904	M6		NR4A2, SPOCK2, CACNA2D2, FKBP5, TJAP1, ATOH8, MRPS6, RUNX1, COL18A1, SFRP5, SYTL2, CDON, MYOM3, ANK3, PDE4D, WIPF1
yetfasco-1361	M6		COL5A3, LCP1, ARID5B, RYR3, MAFF, CACNG7, LMF1, FAM184A, ISOC2, FKBP5, ROCK2, BMP1, CDON, HPCAL4, VCAN, SYTL2, TJAP1, FMOD, PERP
transfac_pro-M03563	M7	RELA, NFKB1, NFKB2, BCL3, OVOL2, REL, AP3B1, CHURC1, STAT6, EBF1,	IER5, FAM129A, CACNG7, RFX2, CLDN5, IER3, VCAN, FKBP5, FMOD, CCL1, ALCAM, MDFIC, TNC, CSRP3, CDON, KCNQ4, COL5A3, LCP1, SYS1, MAFF, CHI3L1, MYBPH, BMP1, BDH1

Figura 1. Motif *tfdimers-MD00189* encontrado no cluster M5.

O motif *tfdimers-MD00189* encontrado no cluster M5 apresentou os seguintes genes alvos: *NR4A2*, *KLHL*, *B3GALNT2*, *ESRRG* e *ARID5B*, os quais destacam-se por participarem do metabolismo de proteínas e regulação da transcrição. Associando-se a formação de tecidos adipócitos que influenciará diretamente na marmorização da carne.

O gene *NR4A2*, possui papel importante na formação do tecido adiposo. De acordo com Chen et al. (2013), o *NR4A2* é associado à obesidade em humanos, sendo que este pode inibir a adipogênese e respostas inflamatórias (CHAO et al., 2008). Serna-Garcia (2022), ao trabalhar com bovinos Nelore avaliados para CAR (Consumo Alimentar Residual), também destacou o gene *NR4A2*, associando-o com marmorização na raça e rendimento de carcaça.

De acordo com Hu et al. (2014), o *NR4A2* é um regulador transcricional chave do metabolismo energético e aumenta a oxidação de ácidos graxos. Outros autores descreveram que esse gene pode estimular a absorção de glicose muscular no músculo esquelético, normalizando os níveis de glicose e insulina (HOLLA et al. 2011), além de regular a diferenciação celular promovendo a sobrevivência da célula (LAHTEENVUOU et al. 2002).

De acordo com Dhanoa et al. (2013), a família *KLHL*, gene alvo do motif- *MD00189*, desempenha papéis críticos em uma variedade de processos celulares, incluindo organização do citoesqueleto, bloqueio de canais iônicos, supressão transcricional e direcionamento de proteínas para ubiquitinação (processo de regulação das proteínas), associando-se à qualidade de carne, principalmente no processo *post-mortem*, interferindo diretamente na maciez do produto.

Na figura 2 foi encontrado o motif *transfac_public-M00172*, no cluster M2, este possui sete FTs associados e 20 *targets* (genes alvos) relacionados ao metabolismo muscular e de carboidratos.

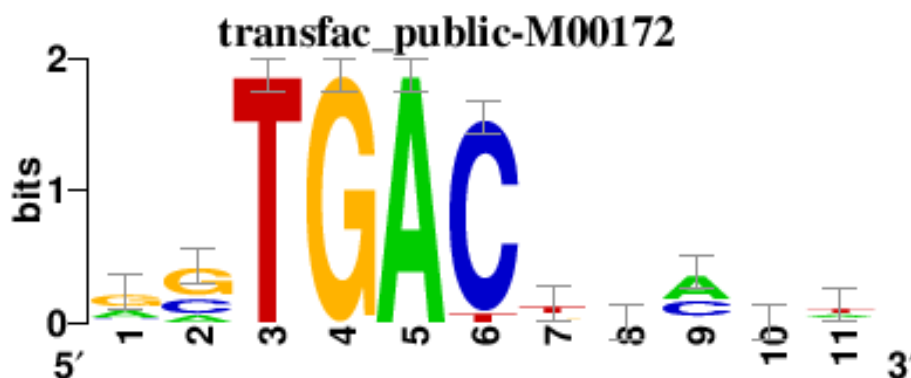


Figura 2. Motif *transfac_public-M00172* encontrado no cluster M2.

De acordo com a análise de enriquecimento os genes que desempenham papel no metabolismo muscular e de carboidratos são *PDE4D*, *MYBPH*, *COL5A3*, *LMF1*, *TRIM55*, *MYH10*, encontrados no *motif-M00172*. Estes influenciam no processo *post- mortem* da carne, o qual afeta diretamente a maciez.

O gene *PDE4D* desempenha papel no metabolismo muscular (CONTI et al., 2002 e SASSEVILLE et al., 2006). De acordo com Tsafirri, et al. (1996) o gene *PDE4D* está envolvido no metabolismo do nucleotídeo monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) nas células da granulosa. A deficiência de *PDE4D* pode causar infertilidade devido à incapacidade de retornar a meiose, demonstrando sua importância no controle da maturação de oócitos.

Além de exercer as funções citadas no parágrafo acima, Silva et al. (2020) afirmam que o gene codifica a fosfodiesterase que hidrolisa a ligação do segundo mensageiro cAMP relacionado ao metabolismo muscular e de carboidratos, desempenhando papel nas características de carcaça e qualidade de carne bovina.

Na figura 3, o *motif* com segundo maior NES (Normalized Score Enrichment) foi o *homer-M01484*, localizado no *cluster* M2, o qual apresentou *targets* relacionados ao metabolismo lipídico.



Figura 3. Motif homer- M01484 localizado no *cluster* M2

No motif *homer- M01484*, foram encontrados genes relacionados ao metabolismo de lipídeo como *DGAT2*, *FKBP5*, *ARID5B*, *ESSRG*, *FMOD*, *ARID5B*, e por isso podem ser importantes para a expressão de características de qualidade de carne em Bovinos Nelores, principalmente no marmoreio, ácidos graxos e teor de gordura intramuscular.

De acordo com a pesquisa de Mcfie et al. (2011), o *DGAT2* é uma proteína de membrana integral que possui um papel significativo na síntese de triacilglicerol (TG) em massa. O estudo demonstrou que *DGAT2* está presente no Retículo Endoplasmático, mas também interage com mitocôndrias e gotículas lipídicas citosólicas.

Resultados sobre o gene *DGAT2* foram encontrados por Rezende et al. (2009), o qual desempenha um papel em transportadores intracelulares de intermediários hidrofóbicos e metabólitos lipídicos através das membranas. O gene possui função no processo metabólico dos triglicerídeos, podendo ser associado a qualidade da carne bovina.

Pesquisa realizada por Silva et al. (2020) comprovou que o gene *FOXO1* está envolvido no apoptose e autofagia, enzimas antioxidantes, genes de parada do ciclo celular, reguladores metabólicos e imunológicos, tornando-se um super fator de transcrição com atividades complexas. Este desempenha papel no metabolismo de lipídeos e no sistema imunológico dos animais.

Takada et al. (2018) indicaram que o *ESRRG*, gene encontrado no *cluster* M2, influencia na precocidade sexual de novilhas Nelore através de sua ação na homeostase lipídica e no metabolismo energético oxidativo, o que está relacionado ao estrogênio. A relação do gene envolvido no metabolismo lipídico com uma característica reprodutiva é resultado do fato das fêmeas cicladoras precisarem atingir um determinado escore de condição corporal, o qual é alcançado na fase final através do acúmulo de gordura, ou seja, as fêmeas não são reprodutivamente ativas se não acumularem energia.

Carreño et al. (2019) notaram que *ESRRG* é um membro da família de receptores relacionados ao estrogênio que atuam como ativadores de transcrição para o gene *PERM1* que está associado à deposição de tecido adiposo, muscular e está envolvido no metabolismo energético do músculo esquelético e cardíaco.

A Figura 4 mostra uma rede de processos biológicos para fatores de transcrição e genes alvos relacionados com características de qualidade de carne bovina, produzida pelo programa Cluego, com os termos GO mais representados.

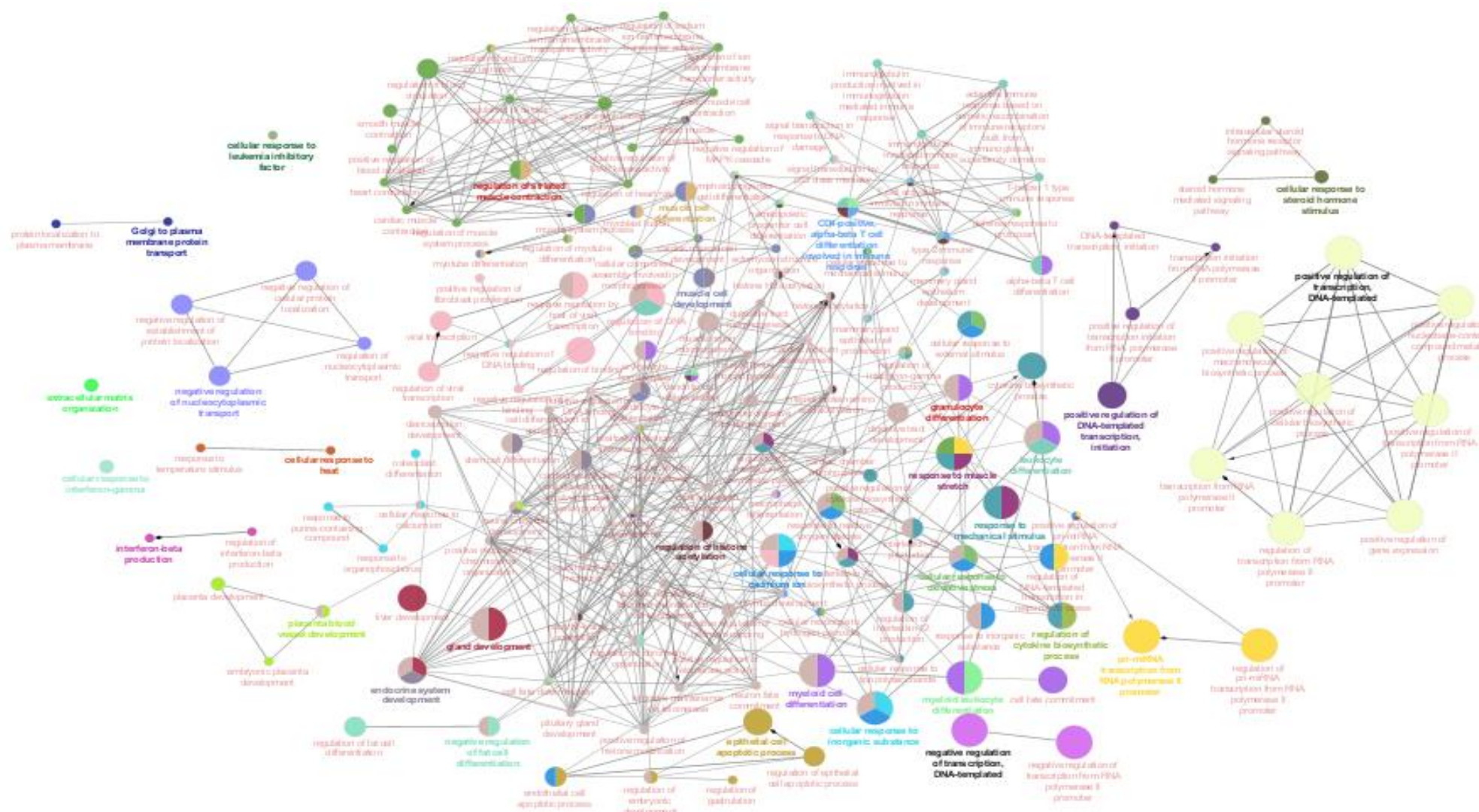


Figura4: Processos biológicos para fatores de transcrição e genes alvos relacionados com características de qualidade da carne de Bovinos Nelore.

Termos relacionados ao transporte de moléculas, (GO:2000649 e GO:0006942) resposta imune, (GO: 0002460), regulação positiva da transcrição (GO:0060261, GO:2000144 e GO:0045893) e resposta a espécies reativas de oxigênio (GO:0000302) foram os termos GO mais significativos encontrados no estudo.

Os termos GO:0060261, GO:2000144 e GO:0045893 estão relacionados com a regulação positiva da transcrição. De acordo com Lin et al. (2002) os genes possuem sequências que codificam proteínas e sequências regulatórias que irão determinar o início e a eficiência da transcrição. Visto isso, a taxa de transcrição do gene é o maior determinante da sua expressão, tornando-se um fator importante para a expressão de características econômicas de interesse na carne bovina.

De acordo com Morosini et al. (2018) os FTs juntamente com a enzima Polimerase reconhecem as sequências regulatórias dos genes viabilizando um ambiente bioquímico favorável para que a transcrição ocorra. A Polimerase 2 (*Pol 2*), destaca-se por ser responsável pela produção de RNA mensageiro (mRNA), sendo fundamental à transferência das informações genéticas para o citoplasma, característica que foi encontrada nos termos GO:0061614 e GO:0000122, estes são responsáveis pela regulação da transcrição pela *Polimerase 2*. Termos relacionados à regulação da transcrição eram esperados uma vez que identificar módulos regulatórios foi o principal objetivo desse trabalho.

GO termos relacionados ao transporte de moléculas (GO:2000649 e GO:0002028) também foram encontrados por meio da análise de enriquecimento. De acordo com Fonseca et al. (2016), o processo de transformação de músculo em carne, um dos fatores determinantes para o amaciamento da carne, depende de mecanismos de transporte de sódio e potássio através da membrana celular. Esse processo ocorre contra o gradiente de concentração e com gasto de ATP. Os prótons gerados nesse processo causam significativa queda no pH intracelular.

Segundo Darrel et al. (2003) a queda do pH principalmente durante o processo de maturação influencia diretamente na maciez final da carne.

Os termos GO:0002460, GO:0016064, GO:0002381, GO:0002286 e GO:0042092 estão relacionados ao processo imune. Segundo Silva et al. (2020) as células imunes interagem com várias classes de lipídeos, que controlam a plasticidade dos macrófagos e linfócitos.

Processos relacionados a espécies reativas de oxigênio ou radicais livres (GO:000030 e GO:0000302) também foram enriquecidos neste estudo. Os radicais livres podem causar morte celular e doenças degenerativas e são de extrema importância em processos biológicos relacionados ao sistema de defesa imune, na sinalização celular e na contração muscular (Gouveia et al., 2017). Vários trabalhos vêm associando espécies reativas de oxigênio com CAR (consumo alimentar residual) (Fonseca et al., 2015; Tizioto et al., 2015; De Novais et al., 2017). Segundo esses autores, animais de baixa eficiência apresentaram um quadro de maior estresse oxidativo em mitocôndrias do músculo esquelético, com aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, resultando em um aumento da demanda de energia (ATP). De acordo com Gomes et al., (2019) animais mais eficientes apresentam menor deposição de gordura subcutânea. Sendo assim, genes associados ao CAR podem apresentar efeitos pleiotrópicos, estando também associado à qualidade da carne.

6. CONCLUSÃO

Os genes presentes no *motifs* cis regulatórios encontrados nesse trabalho executam funções relacionadas ao metabolismo lipídico, metabolismo de proteínas e desenvolvimento muscular. Além de que o trabalho apresentou GO termos relacionados ao processo imune, espécies reativas ao oxigênio, regulação positiva da transcrição e transporte de moléculas. Esses resultados são fundamentais para o entendimento molecular biológico responsável pela expressão fenotípica de características de carne e carcaça e futuramente poderão integrar o planejamento de programas de seleção de bovinos da raça Nelore, além de gerar resultados positivos na produção de carne mundial.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar análises de predições de módulos *cis-regulatórios* em genes associados as características de interesse econômico relacionadas à qualidade da carne, a partir de estudos prévios realizados em bovinos Nelore e agrupados de acordo com uma revisão sistemática. Depois de agrupar os genes comuns à esses trabalhos (n = 222), foram preditos módulos *cis-regulatórios* (*clusters*). Foram encontrados 12 *clusters*, dos quais 7 foram significativos. Os fatores de transcrição (FTs) associados aos *clusters* foram relacionados ao desenvolvimento do músculo, metabolismo de proteínas, metabolismo de lipídeos e carboidratos. Os módulos também foram submetidos à análise e enriquecimento funcional. Os processos biológicos encontrados estão relacionados principalmente ao transporte de moléculas (GO:2000649 e GO:0002028), resposta imune (GO:0002460, GO:0016064 e GO:0002381), regulação positiva da transcrição (GO:0060261, GO:2000144 e GO:0045893) e resposta a espécies reativas de oxigênio (GO:000030 e GO:0000302) apresentando um papel fundamental para o entendimento molecular biológico responsável pela expressão fenotípica das características de carne e carcaça.

Palavras-chave: *clusters* regulatórios, expressão fenotípica, fatores de transcrição, genes-*cis*, processos biológicos.

ABSTRACT

The objective of this work was to carry out analyzes of predictions of *cis-regulatory* modules in genes associated with economically important traits related to meat quality, based on previous studies carried out in Nellore cattle and grouped according to a systematic review. From the genes common to these works (n= 222), *cis-regulatory* modules (*clusters*) were predicted. Were found 12 *clusters* but only 7 were significant. Transcription factors (TFs) associated with clusters were related to muscle development, protein metabolism, lipid, and carbohydrate metabolism. The modules were also subjected to analysis and functional enrichment. The biological processes found are mainly related to the transport of molecules (GO:2000649 and GO:0002028), immune response (GO:0002460, GO:0016064 and GO:0002381), positive regulation of transcription (GO:0060261, GO:2000144 and GO:0045893) and response to reactive oxygen species (GO:000030 and GO:0000302) presenting a role fundamental for understanding the biological molecular responsible for the phenotypic expression of meat and carcass traits.

Keywords: biological processes, cis-genes, phenotypic expression, regulatory clusters, transcription factors.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBERSOLD, Ruedi; MANN, Mathias. Mass-spectrometry-based proteomics. **Nature, London**, v. 422, p. 198– 207, 2003.
- BARBOSA, Eduardo Buzolin et al. Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, p. 366-375, 2012.
- CARREÑO, Luis Orlando Duitama et al. Genome association study for visual scores in Nellore cattle measured at weaning. **BMC genomics**, v. 20, n. 1, p. 1-9, 2019.
- CARVALHO, Thiago Bernardino de. Estudo da elasticidade-renda da demanda de carne bovina, suína e de frango no Brasil. 2007. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**
- CONESA, Ana et al. Um levantamento das melhores práticas para análise de dados RNA-seq. **Biologia do genoma**, v. 17, n. 1, pág. 1-19, 2016.
- CONTI, Marco et al. Role of cyclic nucleotide signaling in oocyte maturation. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 187, n. 1-2, p. 153-159, 2002.
- DAHAN, Nili; CHODER, Mordechai. The eukaryotic transcriptional machinery regulates mRNA translation and decay in the cytoplasm. **Biochim Biophys Acta**, v.1829, n.1, p. 169-73, Jan 2013.
- GOLL, Darrel et al. The calpain system. **Physiological reviews**, 2003.
- DHANOJA, Bajinder et al. Atualização sobre a família de genes Kelch-like (KLHL). **Genômica humana**, v. 7, n. 1, pág. 1-7, 2013.

NOVAIS, Francisco José de. Caracterização do metaboloma sérico de bovinos Nelore e sua potencial associação à eficiência alimentar. 2017. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**.

DE OLIVEIRA ALMEIDA, Rainne et al. Processo de transcrição de RNA a partir de DNA molde. **Mostra Científica da Farmácia**, v. 2, n. 1, 2016.

EMBRAPA – **Empresa de Pesquisa Agropecuária**. Brasil é o quarto maior produtor de grãos e o maior exportador de carne bovina do mundo, diz estudo. Acesso em: 26 ago. 2021

FONSECA, Larissa Fernanda Simielli et al. Differences in global gene expression in muscle tissue of Nellore cattle with divergent meat tenderness. **BMC genomics**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2017.

FONSECA, Larissa Fernanda Simielli. Expressão gênica diferencial em tecido muscular de bovinos Nelore com qualidade de carne divergentes. 2016.

FONSECA, Larissa Fernanda Simielli et al. Expression of genes related to mitochondrial function in Nellore cattle divergently ranked on residual feed intake. **Molecular biology reports**, v. 42, n. 2, p. 559-565, 2015.

FONSECA, Larissa Fernanda Simielli et al. Perfil de expressão gênica e identificação de genes hub em bovinos Nelore com diferentes níveis de marmoreio. **Genomics**, v. 112, n. 1, pág. 873-879, 2020.

GONÇALVES, Rodrigo Duarte. Identificação de fatores de transcrição de *Neurospora crassa* envolvidos na regulação do metabolismo de glicogênio. 2008.

GOMES, Mariana Mundim Alves et al. Association between feed efficiency and carcass finishing gain of Nellore cattle. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, p. 2017-2024, 2019.

GOUVEIA, Silas da Silva et al. Relação entre espécies reativas de oxigênio e a promoção carcinogênica. **Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 20, n. 3, p. 174-179, 2017.

HEYN, Patrícia. et al. Introns and gene expression: cellular constraints, transcriptional regulation, and evolutionary consequences. **Bioessays**, v. 37, n.2, p. 148-54, Feb 2015.

HENKEL, Ralf; SAMANTA, Luna; AGARWAL, Ashok. Oxidantes, antioxidantes e impacto do estado oxidativo na reprodução masculina. **Imprensa Acadêmica**, 2018.

HRDLICKOVA, Radmila; TOLOUE, Masoud; TIAN, Bin. Métodos de RNA-Seq para análise de transcriptoma. **Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA**, v. 8, n. 1, pág. e1364, 2017.

HU, Liuqing et al. O miR-409-3p exossomal secretado por mastócitos ativados promove migração microglial, ativação e neuroinflamação ao direcionar Nr4a2 para ativar a via NF- κ B. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n. 1, pág. 1-13, 2021.

JANKY, Rekin's et al. iRegulon: de uma lista de genes a uma rede reguladora de genes usando grandes coleções de motivos e trilhas. **Biologia computacional PLoS**, v. 10, n. 7, pág. e1003731, 2014.

LATCHMAN, David. Eukaryotic transcription factors. 4th ed. **New York: Elsevier**, 2003. 384p.

LIN, Chin Jia; BARBOSA, Angela Silva. Técnicas de análise da regulação da transcrição gênica e suas aplicações na endocrinologia molecular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, p. 330-340, 2002.

MARIELY, Simone Lopes Corrêa. Análise integrativa de dados multi-ômicos para descoberta de eqtls e estudos funcionais de genes associados à características de importância econômica de bovinos nelore. Tese de doutorado. **Unifenas, Alfenas**, MG, 2022 (dados não publicados).

MARGUERAT, Samuel; BÄHLER, Jürg. RNA-seq: da tecnologia à biologia. **Ciências da vida celular e molecular**, v. 67, n. 4, pág. 569-579, 2010.

MASTON, Glenn.; EVANS, Sara. K; GREEN, Michael. Transcriptional regulatory elements in the human genome. **Annu Rev Genomics Hum Genet**, v. 7, P 29-59, 2006.

MCFIE, Pamela. et al. A diacilglicerol aciltransferase-2 murina (DGAT2) pode catalisar a síntese de triacilglicerol e promover a formação de gotículas lipídicas independentemente de sua localização no retículo endoplasmático. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 32, pág. 28235-28246, 2011.

MOROSINI, Natalia Silva. Identificação e caracterização de regiões de eucromatina associadas à regulação da expressão gênica e à gordura intramuscular em bovinos da raça Nelore. 2018. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**.

MUNIZ, Maria Malane Magalhães et al. Characterization of novel lncRNA muscle expression profiles associated with meat quality in beef cattle. **Evolutionary applications**, v. 15, n. 4, p. 706-718, 2022.

MUNIZ, Maria Malane Magalhães et al. Small genetic variation affecting mRNA isoforms associated with marbling and meat color in beef cattle. **Functional & Integrative Genomics**, p. 1-16, 2022

NAGY, Gergely; NAGY, Laszlo. Gramática de motivos: A base da linguagem da expressão gênica. **Jornal de Biotecnologia Computacional e Estrutural**, v. 18, p. 2026-2032, 2020.

OLIVIERI, Bianca Ferreira. Análise multivariada com dados genômicos e transcriptômicos para perfil de ácidos graxos da carne em bovinos Nelore terminados em confinamento. 2019.

OLIVEIRA, Gabriella B. et al. Integrative analysis of microRNAs and mRNAs revealed regulation of composition and metabolism in Nelore cattle. **BMC genomics**, v. 19, n. 1, p. 1-16, 2018.

PETESCH, Steven. J; LIS, John. T. Overcoming the nucleosome barrier during transcript elongation. **Trends Genet**, v.28, n. 6, p.285-94, Jun 2012.

REZENDE, Fernanda Marcondes de. Prospecção da influência de marcadores genéticos sobre características de crescimento, carcaça e qualidade de carne em bovinos da raça Nelore. 2009. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**.

RUBIANO, Gabriel Antonio Garrido et al. Desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos superprecoces das raças Canchim, Nelore e seus mestiços. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 2490-2498, 2009.

SCHWARZ, Kátia Regina Lancellotti. O óxido nítrico e os nucleotídeos cíclicos em oócitos bovinos maturados in vitro. 2011. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**.

DOS SANTOS SILVA, Danielly Beraldo et al. Prediction of hub genes associated with intramuscular fat content in Nelore cattle. **BMC genomics**, v. 20, n. 1, p. 1-12, 2019.

SERNA, Marta Garcia. Determinação do perfil transcriptômico associados à eficiência alimentar de bovinos Nelore (*Bos taurus indicus*). 2022.

SILVA, Luiz Otavio et al. Características de importância econômica em gado de corte. **Embrapa Pecuária Sudeste-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2007.

SILVA, Bárbara Vignato et al. Comparative muscle transcriptome associated with carcass traits of Nellore cattle. **BMC genomics**, v. 18, n. 1, p. 1-13, 2017.

SILVA, Danielly et al. Spliced genes in muscle from Nelore Cattle and their association with carcass and meat quality. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.

TAKADA, Luciana et al. Genomic association for sexual precocity in beef heifers using pre-selection of genes and haplotype reconstruction. *PLoS One*, v. 13, n. 1, p. e0190197, 2018

TIZIOTO, Polyana. et al. Global liver gene expression differences in Nelore steers with divergent residual feed intake phenotypes. **BMC genomics**, v. 16, n. 1, p. 1-14, 2015.

UDVARDI, Michael. et al. Legume transcription factors: global regulators of plant development and response to the environment. **Plant Physiology**, v. 144, n. 2, p. 538-549, 2007.

VALLEDOR, Luis; JORRÍN, Jesús. Back to the basics: maximizing the information obtained by quantitative two dimensional gel electrophoresis analyses by an appropriate experimental design and statistical analyses. **Journal of Proteomics, Amsterdam**, v. 74, n. 1, p. 1-18, 2011.