ASOCIACIÓN DE NUEVOS POLIMORFISMOS DEL GEN ÁCIDO GRASO SINTASA (FASN) CON LA CANTIDAD DE GRASA POR LACTACIÓN EN LA ESPECIE VACUNA

Roy R.[1],Ordovás L.[1],Romero A.[1],Moreno C.[2],Zaragoza P.[1],Altarriba J.[2] y Rodellar C[1].

[1] LAGENBIO. Laboratorio de Genética Bioquímica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza
[2] Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

INTRODUCCIÓN

A pesar de su influencia sobre importantes desordenes en humanos y también sobre parámetros relacionados con la calidad de alimentos de origen animal, existe todavía un desconocimiento sobre la regulación del metabolismo lipídico. Es de todos conocido que los lípidos tienen una gran variedad de funciones celulares; son la principal fuente de almacenamiento de energía en forma de triglicéridos en la mayoría de los organismos así como los principales constituyentes de las membranas celulares (fosfolípidos). La habilidad de sintetizar una determinada variedad de lípidos es esencial en todos los organismos. Los ácidos grasos se obtienen del alimento o bien son sintetizados por el organismo, existiendo grandes diferencias entre la forma de obtener los ácidos grasos en rumiantes y en monogástricos. En rumiantes la síntesis de ácidos grasos se realiza principalmente en el tejido adiposo a partir del acetato**,** mientras que en monogástricos ocurre fundamentalmente en el hígado, utilizando como precursor la glucosa (Vernon, 1980).

La síntesis de ácidos grasos, principales componentes de triglicéridos y fosfolípidos, se lleva a cabo por un complejo multienzimático llamado Ácido Graso Sintasa (Fatty Acid Synthase, FASN) que juega un papel central en la síntesis de los ácidos grasos en mamíferos (Wakil et al. 1983). Esta enzima cataliza las siete reacciones necesarias para la síntesis de palmitoil-CoA a partir de acetil-CoA y malonil-CoA en presencia de NADPH.

En nuestro laboratorio se ha llevado a cabo la caracterización de la FASN en la especie bovina. El gen tiene una secuencia de 18 Kb y está estructurado en 42 exones y 41 intrones, el transcrito tiene unas 8 Kb y codifica para una proteína de 2507 aminoácidos. Se ha caracterizado así mismo la región promotora del gen y las regiones no traducidas 5' y 3' (Roy et al., 2005)

También se ha realizado el mapeo físico del gen en el cromosoma 19 (19q22) y el mapeo genético entre los marcadores BL1006 Y BMS1069 (Roy et al., 2001; Roy et al., 2005). En esta región se han detectado varios QTLs relacionados con el porcentaje de grasa en la leche (Boichard et al., 2003; Falaki et al., 1997), porcentaje de grasa en la carne (Taylor et al., 1998), contenido de grasa subcutánea (Kim et al., 2003) y grasa dorsal (Li et al 2003).

El objeto de esta comunicación es analizar la posible asociación entre la variabilidad del gen FASN, y la cantidad de grasa por lactación en la especie bovina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han detectado varios polimorfismos (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) en diferentes regiones del gen, de los cuales hemos elegido dos para iniciar esta línea de investigación. El SNP*FASN1* supone un cambio A/G y afecta al primer nucleótido

del triplete generando un cambio de aminoácido Thr/Ala. Este cambio de aminoácido podría afectar la estructura global de la FASN viéndose modificada así su actividad enzimática. El SNP*FASN2* que origina un cambio G/C está localizado en la zona reguladora de expresión del gen. El alelo G forma parte de un sitio de reconocimiento del factor de transcripción SP1, mientras que el alelo C hace que este sitio de reconocimiento se anule.

Para ello se han utilizado dos tipos de muestras. En primer lugar se muestrearon 100 animales pertenecientes a dos razas vacunas (50/50) con características de engrasamiento diferentes (Asturiana de los Valles y Frisona). Por otra parte, el estudio de asociación entre este locus y la producción de grasa se ha realizando a partir de sendas muestras obtenidas en las colas de la distribución de los índices de selección para el carácter producción de grasa por lactación de las vacas de raza Frisona explotadas en Aragón. A través de la Asociación de Productores de Leche de Aragón (APLA) se dispuso de la identificación de los animales en producción, su ubicación y de los índices de selección elaborados por CONAFE. El muestreo se centró en 4 explotaciones con unos efectivos totales de 5.248 vacas, de las cuales 2.573 presentaban un valoración genética para el carácter de interés con una fiabilidad mínima del 47%. La muestra finalmente obtenida estaba compuesta por 211 vacas, de las cuales se obtuvo un muestra de sangre mediante punción de la vena coccígea.

El genotipado se ha realizado mediante una PCR alelo específica en tiempo real utilizando metodología SYBR green. Para cada uno de los SNPs se han diseñado tres primers: un primer reverso común y 2 primers directos que difieren únicamente en el nucleótido del extremo 3'. La PCR alelo específica se ha llevado a cabo en 2 pooles de 50 animales en el primer tipo de muestras. A partir del DNA inicial se han preparado diluciones a 100 ng/μl que se normalizan posteriormente a 50ng/μl. La cuantificación individual de las muestras se lleva a cabo mediante mediciones repetidas de la absorbancia a 260nm. Y los pooles se constituyen finalmente añadiendo 10 μl de cada uno de los 50 DNA hasta un volumen final de 500μl. En el segundo tipo de muestras, el genotipado se ha realizado individualmente en cada uno de los 211 animales.

RESULTADOS

Las frecuencias génicas obtenidas para los alelos de ambos SNPs han presentado diferencias significativas entre las razas Asturiana de los Valles y Frisona (Tabla 1)

Tabla 1. Frecuencias génicas y significación de la comparación entre razas

	SNP*FASN1*		SNP*FASN2*	
	Alelo A	Alelo G	Alelo C	Alelo G
Asturiana de los Valles	0,300	0,700	0,295	0,705
Frisona	0,060	0,940	0,517	0,483
Significación (p)	<0,001		<0,010	

Como se muestra en las Tablas 2 y 3, cuando los SNPs son estudiados en los 2 grupos de animales pertenecientes a las colas de la distribución para el carácter cantidad de grasa en la leche, las frecuencias génicas obtenidas han mostrado igualmente diferencias significativas entre los dos grupos de animales estudiados.

Si bien no podemos asegurar que la FASN representa un QTL para la cantidad de grasa, los resultados obtenidos permiten proponer a dicho gen como un firme

candidato a QTL para la cantidad de grasa. Especialmente significativo puede resultar el hecho de que el SNP*FASN2* se encuentre en la zona reguladora de la expresión y que suponga la existencia o no de un sitio de unión a un factor de transcripción. Las diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de las dos razas analizadas, así como la significación observada en las diferencias entre los dos grupos con alto y bajo contenido en grasa, unido al papel clave de la enzima en el metabolismo lipídico y su localización en BTA19 (19q22), avalan la propuesta de la FASN como QTL de la grasa de la leche.

Tabla 2. **Relación entre BLUP para grasa y genotipos del locus SNP*FASN1***

Grasa		A/A	A/G	G/G	Total	q(G)	Sig.(p)
	N	0	24	91	115	0,896	
Alta	Media		44,8	45,3	45,2	±0,020	
	Min/Max		39/63	39/62	39/63		0,057
	N	3	25	61	89	0,826	
Baja	Media	-25,3	-24,4	-24,4	-24,8	±0,028	
	Min/Max	-37/-17	-49/-17	-53/-17	-53/–17		
	N	3	49	152	204	0,865	
Total	Media	-25,3	9,5	17,2	14,7	±0,017	0,060
	Min/Max	-37/-17	-49/63	-53/62	-53/63		

Tabla 3. **Relación entre BLUP para grasa y genotipos del locus SNP*FASN2***

Grasa		C/C	C/G	G/G	Total	q(G)	Sig.(p)
	N	27	59	31	117	0,517	
Alta	Media	45,7	45,4	44,3	45,2	±0,033	
	Min/Max	39/62	39/63	39/54	39/63		0,010
	N	9	46	39	94	0,660	
Baja	Media	-27,7	-24,1	-24,1	-24,4	±0,035	
	Min/Max	-53/-17	-48/-17	-49/-17	-53/–17		
	N	36	105	70	211	0,581	
Total	Media	27,4	15,0	6,2	14,2	±0,024	0,013
	Min/Max	-53/62	-48/63	-49/54	-53/63		

AGRADECIMIENTOS

A D. Javier Aparicio, gerente del APLA, y a las empresas ganaderas en las cuales se realizó el muestreo: Granja San José S.A., Tauste Ganadera S.A., Robres Fuertes S.C. y la de D. Jorge Berges Valdecara.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Boichard D, Grohs C, Bourgeois F, Cerqueira F, Faugeras R, Neau A, Rupp R, Amigues Y, Boscher MY,Leveziel H. (2003). Genet Sel. Evol 35:77-101.

Falaki M, Prandi A, Corradini C, Sneyers M, Gengler N, Massart S, Fazzini U, Burny A, Portetelle D, Renaville R**.** J Dairy Res. 1997 Feb;64(1):47-56.

Kim JJ, Farnir F, Savell J, Taylor JF. (2003). J Anim Sci. 81(8):1933-42.

Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Kneeland J, Murdoch B, Hansen C, Moore SS. J Anim Sci. 2004 Apr;82(4):967-72.

Roy R, Gautier M, Hayes H, Laurent P, Osta R, Zaragoza P, Eggen A, Rodellar C. (2001)Cytogenet Cell Genet. 2001;93(1-2):141-2.

R. Roy, M. Gautier, P. Zaragoza, A. Eggen, and C. Rodellar (2005). Animal Biotechnology (en prensa, Mayo 2005)

Taylor JF, Coutinho LL, Herring KL, Gallagher DS, Jr., Brenneman RA, Burney N, Sanders JO, Turner JW, Smith SB, Miller RK, Savell JW, Davis SK. (1998). Anim Genet 29:194-201.

Vernon, RG (1980). Biochem Soc Trans 8:291-292.