

DIVERSIDAD NUCLEOTÍDICA EN REGIONES REGULADORAS DE GENES RELACIONADOS CON EL METABOLISMO LIPÍDICO EN BOVINOS ESPAÑOLES Y CUBANOS

NUCLEOTIDE DIVERSITY IN REGULATORY REGIONS OF LIPID METABOLISM RELATED GENES IN SPANISH AND CUBAN CATTLE.

Variabilidad en regiones reguladoras de genes involucrados en el metabolismo lipídico de bovinos

Sanz A.¹, Serrano C.¹, Uffo O.², Ordovás L.¹, Acosta A.², Millán P.¹, Martín-Burriel I.¹, Osta R.¹, Zaragoza P.^{1*} y Rodellar C.¹.

¹Laboratorio de Genética Bioquímica (LAGENBIO). Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. *pilarzar@unizar.es

²Laboratorio de Genética Molecular. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), La Habana, Cuba.

Palabras clave:

Polimorfismos
Fatty acid synthase
Stearoyl-CoA desaturase
Perilipin
Glycerol-3-phosphate
acyltransferase mitochondria

Keywords:

Polymorphism
Fatty acid synthase
Stearoyl-CoA desaturase
Perilipin
Glycerol-3-phosphate
acyltransferase mitochondria

Abstract

In this work we have investigated the variability of regulatory regions in key genes involved in lipid metabolism with potential impact on production parameters related with the quality of meat and milk derived products from cattle. We report the nucleotide diversity detected in the regulatory region of the genes coding for Fatty acid synthase (FASN), Stearoyl-CoA desaturase (SCD), Perilipin (PLIN) and Glycerol-3-phosphate acyltransferase mitochondrial (GPAM); and Melanocortin-4 receptor (MC4R) in *Bos Taurus* and *Bos indicus* populations. Individuals from cattle breeds exploited in Spain (Asturiana de los Valles, Parda de Montaña, Pirenaica and Holstein-Friesian) and also a cuban zebu population (Cuban Zebu) have been studied. In total, 42 new polymorphisms have been identified. The largest nucleotide diversity was found in the regulatory regions of genes *FASN*, *SCD*, *PLIN* and *MC4R* in zebu; whilst the lowest one was found in the regulatory region of zebu *GPAM*. This differential variability suggests not only a greater diversity of progenitors of indicine vs taurine cattle, but also that selection pressures exerted mainly in *Bos taurus* commercial breeds to improve some economic and productive traits have diminished genetic variation. These results, given the key role of the genes studied in important metabolic pathways and differential domestication history of these species, may be an important starting point for using them in marker-assisted selection programs.

Resumen

En el presente trabajo se ha analizado la variabilidad en regiones reguladoras de genes involucrados en el metabolismo lipídico con potencial incidencia en parámetros productivos relacionados con la calidad de la carne y de los derivados de la leche en bovinos. Se describe la diversidad nucleotídica detectada en los promotores de los genes que codifican para Fatty acid synthase (FASN), Stearoyl-CoA desaturase (SCD), Perilipin (PLIN), Glycerol-3-phosphate acyltransferase mitochondrial (GPAM) y Melanocortin-4 receptor (MC4R) en poblaciones de *Bos taurus* y *Bos indicus*. Se han estudiado individuos de las razas Asturiana de los Valles, Parda de Montaña, Pirenaica y Holstein-Friesian explotadas en España; y además una población de Cebú Cubano. En total se han identificado 42 nuevos polimorfismos. La mayor diversidad nucleotídica se ha encontrado en las secuencias reguladoras de los genes *FASN*, *SCD*, *PLIN* y *MC4R* de cebú; la menor en la región reguladora del *GPAM* en cebú. Esta variabilidad diferencial puede responder no solo a una mayor diversidad de los antecesores de raza cebuina, sino también a la diferente presión de selección que se ha ejercido en las razas comerciales de *Bos taurus* con el objetivo de mejorar determinados caracteres productivos. Los resultados obtenidos, habida cuenta del papel clave de los genes estudiados en rutas metabólicas importantes y

la histórica domesticación diferencial de estas especies, pueden ser un punto de partida importante para su utilización en programas de selección asistida por marcadores.

Introducción

La cantidad y calidad de grasa de la carne y la leche bovinas son caracteres de interés económico y nutricional que están influenciadas por factores ambientales y genéticos. En los últimos años se ha incrementado el interés en la detección y caracterización de marcadores asociados con caracteres productivos, debido a las ventajas que ofrecen en los programas de selección asistida por marcadores (MAS). En este trabajo se ha estudiado la diversidad nucleotídica de las regiones reguladoras de los genes que codifican para Fatty acid synthase (FASN), Stearoyl-CoA desaturase (SCD), Perilipin (PLIN), Glycerol-3-phosphate acyltransferase mitochondrial (GPAM) y Melanocortin-4 receptor (MC4R) en poblaciones de *Bos taurus* y *Bos indicus*. Estos genes están involucrados en el metabolismo lipídico y en algunos casos se han descrito polimorfismos relacionados con caracteres productivos (Boichard *et al.* 2003; Valle *et al.* 2004; Morris *et al.* 2007; Garcia-Fernandez *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2009) o con obesidad (Dempfle *et al.* 2004; Yan *et al.* 2004; Corella *et al.* 2005). El estudio de la variabilidad genética de las regiones reguladoras de estos genes contribuirá a la identificación de nuevas variantes asociadas a caracteres relacionados con el metabolismo lipídico.

Material y métodos

Se obtuvieron un total de 311 muestras de ADN a partir de sangre de individuos de 4 razas de la especie *Bos taurus*: Asturiana de los Valles (AV, n=35), Parda de Montaña (PM, n=103), Pirenaica (PI, n=97) y Holstein-Friesian (HF, n=41). Además se estudió una población de Cebú Cubano (CC, n=35), resultado de la mezcla de diferentes razas de la especie *Bos indicus*. La búsqueda de polimorfismos en las regiones reguladoras de los genes se ha llevado a cabo mediante PCR y posterior secuenciación. El análisis de las secuencias obtenidas se realizó con el software BioEdit v.7.0.9. Se calcularon las frecuencias alélicas, el número de sitios polimórficos (*S*) y la diversidad nucleotídica (*Pi*) por locus, raza y especie.

Resultados y discusión

Se han analizado entre 0.36 y 1.5 kb de las secuencias reguladoras de los genes *FASN*, *SCD*, *PLIN*, *GPAM* y *MC4R* bovinos en individuos de diferentes razas de *Bos taurus* (BT) y *Bos indicus* (BI). En total se han identificado 42 nuevos polimorfismos, 34 en la población de Cebú Cubano y 12 en las razas taurinas (Tabla I; Figura 1.A). Los resultados obtenidos para la diversidad nucleotídica en cada gen y especie se muestran en la Figura 1.B. La mayor diversidad se ha encontrado en las secuencias promotoras de los genes *FASN*, *SCD*, *PLIN* y *MC4R* de Cebú Cubano; solamente la región reguladora del *GPAM* mostró mayor diversidad en los individuos de *Bos taurus* (respecto al Cebú Cubano). Las diferencias encontradas entre especies pueden ser debidas no solo a una mayor diversidad de los antecesores de raza cebuina, sino también a la diferente presión de selección que se ha ejercido en las razas comerciales de *Bos taurus* con el objetivo de mejorar determinados caracteres productivos.

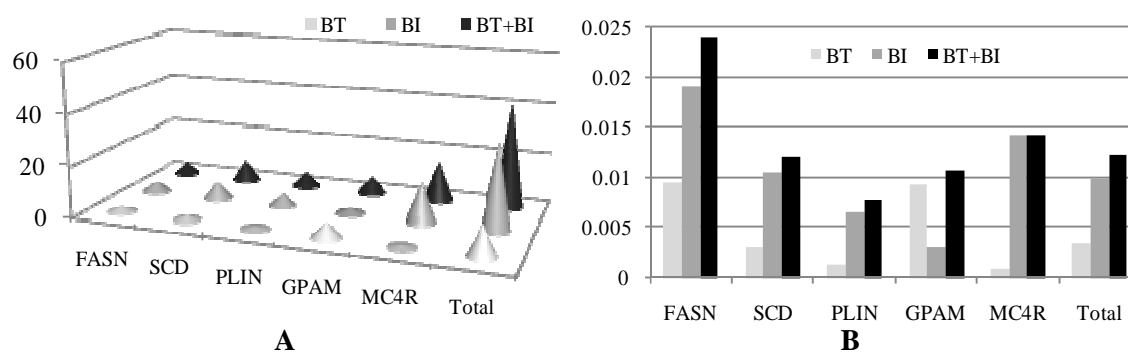


Figura 1. Distribución de la variación nucleotídica por gen y especie. A: Número de sitios polimórficos (*S*) por gen y especie. B: Diversidad nucleotídica (*Pi*) por gen y especie [The distribution of nucleotide variation across gene fragments by species. A: Number of polymorphic sites (*S*) by gene and species; B: Nucleotide diversity (*Pi*) by gene and species]

Tabla I. Polimorfismos detectados por razas y especie. Los polimorfismos aparecen numerados de acuerdo al número de referencia del GenBank. Las frecuencias alélicas se muestran para la nueva variante (segundo alelo). [New polymorphisms detected by species and allele frequencies by breeds. Polymorphisms are numbered according to the reference GenBank accession numbers. Allele frequencies are displayed for new variants (second allele)]

Prom-5'UTR FASN Genbank Ac. No. AF285607.						Prom-Ex1 MC4R Genbank Ac. No. AAFC03039591					
<i>Bos Taurus</i>					Bos Indicus	<i>Bos Taurus</i>					Bos Indicus
Polimorfismo	AV	PM	PI	HF	CC	Polimorfismo	AV	PM	PI	HF	CC
775 C/G					0.87	34043 G/A					0.13
791 T/C					0.87	34165 A/G					0.77
798 C/A					0.87	34210 T/C					0.77
841 G/C	0.17	0.08	0.08	0.29	0.02	34227 C/T					0.07
984 A/T	0.04	0	0	0.08		34273 A/C					0.77
						34274 T/A					0.77
						34374 G/C					0.77
						34421 C/T					0.4
						34469 C/T					0.77
						34490 T/C					0.77
						34644 T/C	0.21	0.59	0.32	0.25	0.78
						34747 C/A					0.72
						34759 C/G					0.72
						34768 C/T					0.72
						34806 G/A					0.72
						34816 G/T					0.72
Prom-5'UTR GPAM Genbank Ac. No. AY945226						Prom-Ex1 PLIN Genbank Ac. No. NW_001494026					
<i>Bos Taurus</i>					Bos Indicus	<i>Bos Taurus</i>					Bos Indicus
Polimorfismo	AV	PM	PI	HF	CC	Polimorfismo	AV	PM	PI	HF	CC
136 G/A	0.05	0.12	0	0		366069 T/G	0.11	0	0	0	
249 C/T	0.03	0.12	0	0		366278 A/G					0.5
447 T/A	0.14	0	0	0		366558 -					0.5
467 T/G					0.14	/A(ins)					
543 T/C	0.36	0.29	0.46	0.21		366710 T/G					0.41
668 C/T	0.09	0	0	0.04		366897 A/G					0.41
802 AG/C	0.5	0.75	0.67	0.62	0.18	367081 G/T					0.41
Prom-Ex1 SCD Genbank Ac. No. AY241932											
<i>Bos Taurus</i>					Bos Indicus						
Polimorfismo	AV	PM	PI	HF	CC						
976 T/G					0.59						
1003 C/A					0.55						
1011G/-(indel)	0.25	0.05	0.39	0.8	0.73						
1017 C/G	0.05	0.05	0.11	0.1							
1029 C/T					0.59						
1073 G/A					0.23						
1089 G/A					0.59						
1104 T/C					0.59						

Conclusiones

Dado el papel clave en el metabolismo lipídico de los genes estudiados, los nuevos polimorfismos descritos pueden tener una importante repercusión en la selección de determinadas variantes para su utilización en programas de selección asistida por marcadores.

Bibliografía

- Boichard D., Grohs C., Bourgeois F., Cerqueira F., Faugeras R., Neau A., Rupp R., Amigues Y., Boscher M.Y. & Leveziel H. (2003) Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds. *Genet Sel Evol* 35, 77-101.
- Corella D., Qi L., Sorli J.V., Godoy D., Portoles O., Coltell O., Greenberg A.S. & Ordovas J.M. (2005) Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 5121-6.
- Dempfle A., Hinney A., Heinzel-Gutenbrunner M., Raab M., Geller F., Gudermann T., Schafer H. & Hebebrand J. (2004) Large quantitative effect of melanocortin-4 receptor gene mutations on body mass index. *J Med Genet* 41, 795-800.
- Garcia-Fernandez M., Gutierrez-Gil B., Garcia-Gamez E. & Arranz J.J. (2009) Genetic variability of the Stearoyl-CoA desaturase gene in sheep. *Mol Cell Probes* 23, 107-11.
- Morris C.A., Cullen N.G., Glass B.C., Hyndman D.L., Manley T.R., Hickey S.M., McEwan J.C., Pitchford W.S., Bottema C.D. & Lee M.A. (2007) Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat. *Mamm Genome* 18, 64-74.
- Valle E., Habermann F.A., Moore S.S., Crews D.H. & Benkel B.F. (2004) Genomic localization and SNP discovery in the bovine melanocortin receptor 4 gene (MC4R). *Anim Genet* 35, 351-2.
- Yan W., Chen S., Huang J., Shen Y., Qiang B. & Gu D. (2004) Polymorphisms in PLIN and hypertension combined with obesity and lipid profiles in Han Chinese. *Obes Res* 12, 1733-7.
- Zhang C.L., Wang Y.H., Chen H., Lan X.Y., Lei C.Z. & Fang X.T. (2009) Association between variants in the 5'-untranslated region of the bovine MC4R gene and two growth traits in Nanyang cattle. *Mol Biol Rep* 36, 1839-43.