

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Departamento de Microbiología e Inmunología



**Discriminación Alélica de Polimorfismos en los Genes de Calpaína y  
Calpastatina Asociados a Terneza de Carne en Muestras de Ganado Bovino,  
mediante PCR-Tiempo Real**

**TESIS**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA

POR

**Luis Ernesto Osuna Rosales**

San Nicolás de los Garza, N.L., Noviembre de 2009

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Departamento de Microbiología e Inmunología



**Discriminación Alélica de Polimorfismos en los Genes de Calpaína y Calpastatina Asociados a Terneza de Carne en Muestras de Ganado Bovino, mediante PCR-Tiempo Real**

POR

**Luis Ernesto Osuna Rosales**

## COMISIÓN DE TESIS

**Dra. Irma Olivia Martínez Vázquez:** \_\_\_\_\_

Asesor Interno de Tesis

**Dr. Alberto Morales Loredó:** \_\_\_\_\_

Director de Tesis

**Dra. Genoveva Álvarez Ojeda:** \_\_\_\_\_

Directora de Tesis

**Q.B.P. Belén Olimpia Ávila Montañez:** \_\_\_\_\_

Asesor Externo de Tesis

San Nicolás de los Garza, N.L., Noviembre de 2009

## Resumen

El objetivo principal de este trabajo fue el de implementar el uso de la PCR Tiempo Real para hacer una discriminación alélica de los polimorfismos encontrados en 2 genes implicados en la terneza de la carne. La terneza es una característica muy deseable y esperada tanto por productores como consumidores en la carne de bovino. Dicha característica está influenciada por distintos factores, que van desde antes de sacrificar al animal (*ante mortem*) y después del mismo (*post mortem*). Algunos factores anteriores al sacrificio incluyen los cuidados que recibe el animal, su alimentación, condiciones que presenta el lugar donde habita, entre otros. Después del sacrificio y cuando las canales son almacenadas a temperaturas de almacenamiento transcurre un tiempo que está en esta condición y estos factores influyen en la terneza de la carne (*post mortem*), ya que también afectan a las enzimas que se activan en este lapso. Estas enzimas son: Calpaína y Calpastatina. La Calpaína es una enzima responsable de degradar fibras musculares en un proceso *post mortem*, mientras que la Calpastatina regula la actividad de la Calpaína. Cada enzima está codificada en sus respectivos genes. A éstos se le han observado distintos polimorfismos (pequeñas variaciones de un mismo gen) que afectan a la actividad de las enzimas. El resultado de dichos polimorfismos es un cambio de un aminoácido por otro, lo que resulta en un cambio de la enzima. Estos polimorfismos pueden ser analizados de diversas maneras, siendo la PCR Tiempo Real una de ellas. Con esta técnica, es posible detectar estas variaciones gracias al uso de sondas y fluorescencia. Para realizar el ensayo, se utilizaron muestras de sangre provenientes de 2 razas de bovino: Angus y Limousin. A tales muestras se les extrajo el DNA, que posteriormente fue utilizado en los ensayos de PCR Tiempo Real, usando distintas sondas e iniciadores obtenidos a partir de secuencias de DNA de los genes que codifican para las enzimas Calpaína y Calpastatina reportadas en el banco de genes (GenBank) del Centro Nacional para la Información Biotecnológica. Se realizaron 3 ensayos denominados: CAPN 316, CAPN 4751 y CAST para dos razas de bovinos: Angus y Limousin. En la PCR se recurrió al uso de 2 sondas para cada ensayo, marcadas con 2 fluorocromos distintos denominados VIC y FAM; con el fin de realizar la discriminación alélica. La detección de uno u otro fluorocromo indicada el polimorfismo encontrado. En el ensayo CAPN 316 se obtuvo la menor frecuencia de genotipos asociados a terneza, con un 100% para Limousin y 88% para Angus. Esta frecuencia varió más en el ensayo de CAPN 4751, teniéndose 37% de condición homocigota del polimorfismo asociado a terneza para Angus y 23% para Limousin, 52% en condición de heterocigoto para Angus y 36% para Limousin; y un 11% de

frecuencia homocigota no asociada a ternera para Angus y 36% para Limousin. Finalmente, el ensayo de CAST fue el menos favorable para Limousin, con un 53% de individuos indeterminados y 17% de individuos homocigotos para el polimorfismo asociado a la ternera; mientras que en Angus se presentó un 85% de frecuencia de heterocigotos, 3% de homocigotos asociados y 11% no asociados. Estadísticamente, el ensayo 316 fue significativamente diferente. Para concluir esto, se recurrió a las pruebas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney. Con la primera prueba se comprobó que existía una alta diferencia significativa entre los tres ensayos, y con la segunda prueba pudo determinarse que el ensayo CAPN 316 fue el responsable de esta diferencia. Considerando los resultados obtenidos, se concluyó que la PCR Tiempo Real es una técnica útil para realizar una discriminación alélica de los polimorfismos encontrados en genes implicados en ternera de carne, en las razas de Angus y Limousin.