

TIPIFICACIÓN MOLECULAR DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN BOVINOS

Ma. Del Carmen Castro M., Ciro Estrada-Chávez, Rebeca Acosta R., Rogelio Alonso M.
FMVyZ, UNAM; CENID Microbiología, INIFAP.

Laboratorio de Genética Molecular FMVyZ, UNAM-CU. México, D.F. 04510 fax (52) 56166536

e-mail: ralonsom@servidor.unam.mx

Palabras clave: BoLA; PCR-RFLP; Microsatélites.

Introducción. El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) consiste en genes polimórficos, que codifican a un grupo de glicoproteínas que son receptores de superficie, cuya función es la presentación de antígenos a los linfocitos T. Dicha presentación media la especificidad de la respuesta inmunológica. El MHC bovino se denomina antígeno leucocitario bovino (BoLA). Algunos alelos han sido asociados con un aumento en la resistencia o en la susceptibilidad hacia algunas enfermedades infecciosas tales como: mastitis, leucosis, parasitosis gastrointestinales e infestaciones por garrapatas (1). La identificación y caracterización de estos alelos puede emplearse en la selección asistida por marcadores genéticos de animales resistentes a diversas enfermedades infecciosas. Así como en la evaluación del potencial genético de diversas del germoplasma en México.

El objetivo del presente trabajo fue el desarrollar la tipificación de BoLA por PCR-RFLP y análisis de microsatélites.

Metodología. Para la PCR-RFLP se amplificó el exon 2 de los *loci* DRB3 y DYA. Los productos fueron digeridos con las enzimas de restricción, *RsaI*, *HaeIII* y *BstY* para el DRB3 y *HindIII* para DYA. Los fragmentos obtenidos se resolvieron por electroforesis en geles de poliacrilamida al 8% y se tiñeron con plata (2). Los alelos presentes se definen por el tamaño de los fragmentos resultantes analizados con un programa de pesos moleculares convencional. En el segundo método, la variación del BoLA se evaluó con 3 microsatélites. Dos de ellos localizados en la clase II, DRB3 y DRBP1 (3). Uno más se uso como control externo BM1815. Para la lectura se utilizó un secuenciador automático y el "software GenScan".

Resultados y Discusión. Se analizaron 3 familias de bovinos siendo las hembras Holstein x Cebú y los machos: Simmental, Limusin y Australian Friesan-Sahiwal. Una vez tipificados y clasificados los alelos para cada marcador, PCR-RFLP ó microsatélite, se estudio su segregación en las familias. Se observó que el marcador DYA fue poco polimorfismo, en contraste los locus DRB3 y DRBP1 se encontraron nuevos alelos previamente no descritos. El estudio familiar pudo determinar que es posible establecer haplotipos con la combinación de los 5 marcadores, con lo cual se obtendrá una tipificación más exacta del BoLA. Un hallazgo interesante fue la selección gamética en los tres sementales y la detección de gametos recombinantes.

Tabla 1. Ejemplo de tipificación de BoLA en una familia de bovinos.

Familia 1	AFS	F1	
	Semental	Madre	Hijo
Exón 2 DRB3	DRB3*1501	DRB3*3001	DRB3*1501 DRB3*3001
Exón 2 DYA	153,21	153,21	153,21
DRB3	184	164	164 184
DRBP1	118 132	108 118	108 118
BM1815	148 150	150 168	150
Haplotipos	184,118,150, DRB3*1501, 153,21	164,118,168, DRB3*3001,153,21	184,118,150, DRB3*1501, 153,21 184,132,148, DRB3*1501,153,21

Conclusiones. Se implemento la tipificación molecular del MHC bovino con lo cual se pretenden realizar análisis de asociación con diversas enfermedades. En un futuro se medirá la frecuencia genética de los diferentes alelos en distintas poblaciones bovinas y desarrollará un banco de alelos para facilitar la estandarización y clasificación de los mismos.

Agradecimientos. Este trabajo fue parcialmente financiado por Proyecto Papiit-UNAM IN204799.

Bibliografía.

1. Rothschild M.F. Skow L., Lamont S.J. (2000) The major histocompatibility complex and its role in disease resistance and immune responsiveness. En: Breeding for Disease resistance in farm animals. 2 nd edition. Ed. Axford R.F.E., Bishop S.C., Nichols F.W., Owen J.B. CABI publishing pp.73.
2. Van Eijk, M.J.T., Steward-haynes, J.A. y Lewin, H.A. (1992). Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. *Animal Genetics*. 23: 483-496.
3. Ellegren, H., Davies, C.J. y Anderson,, L. (1993). Strong association between polymorphism in an intronic microsatellite and the coding sequence of the BoLA-DRB3 gene: implications for microsatellite stability and PCR-based DRB3 typing. *Animal Genetics*. 24: 269-275.