

**ÁREA DE INVESTIGACIÓN:** Ciencias Agropecuarias- Producción y Sanidad Animal.

**TIPO DE MODALIDAD:** Proyecto I+D.

## **Genotipificación de variantes de beta-caseína bovina mediante ACRS-PCR-RFLP**

### **Genotyping of bovine beta-casein variants by ACRS-PCR-RFLP**

**Caffaro, M. Eugenia<sup>1</sup>; Raschia, M. Agustina<sup>1,2</sup>; Polj, Mario A<sup>1,3</sup>.**

<sup>1</sup>*Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. CICVyA. Instituto de Genética, Hurlingham.*

<sup>2</sup>*Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. Av. 60 y Av. 120, La Plata.*

<sup>3</sup>*Facultad de Agronomía. USAL. Champagnat 1599, Pilar, Campus del Pilar.*

Contacto: [caffaro.maria@inta.gob.ar](mailto:caffaro.maria@inta.gob.ar)

Palabras Clave: creación de sitio de restricción mediante amplificación; reacción en cadena de la polimerasa-polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción; beta-caseína; ganado Holando

Keywords: amplification-created restriction site; polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism; beta-casein; Holstein cattle

Las variantes de la  $\beta$ -caseína bovina pueden clasificarse en dos grupos, tipo-A1 y tipo-A2, según el aminoácido que esté presente en la posición 67 de la proteína (His, tipo A1; Pro, tipo A2)<sup>1</sup>. En los últimos años se ha observado un creciente interés en la producción y comercialización de "leche A2", debido a las propiedades beneficiosas para la salud humana atribuidas a la variante A2<sup>2</sup>. El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de variantes tipo-A1 y tipo-A2 de  $\beta$ -caseína en ganado lechero de dos establecimientos. Las variantes de  $\beta$ -caseína presentes en el ADN de 1528 vacas de raza Holando fueron determinadas mediante la técnica de ACRS-PCR-RFLP<sup>3</sup>. Brevemente, se amplificó un fragmento de 316 pb del gen CSN2, creándose un sitio de restricción para la enzima *DdeI* en el amplicon obtenido. El producto de PCR luego se digirió con las enzimas *DdeI* y *HinfI*. La identificación de variantes se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa y posterior visualización de los fragmentos obtenidos. Se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas para las variantes tipo-A1 y tipo-A2. Las frecuencias genotípicas fueron de 0,046, 0,497 y 0,457 para A1A1, A2A2 y A1A2, respectivamente, con frecuencias alélicas de 0,274 y 0,726 para las variantes tipo-A1 y tipo-A2, respectivamente. El método utilizado demostró ser confiable para la identificación y diferenciación de variantes de  $\beta$ -caseína tipo-A1 y tipo-A2, permitiendo la determinación del genotipo de animales individuales. Los animales pertenecían a dos establecimientos con sistemas de producción de leche distintos y que nunca se seleccionó por variantes de  $\beta$ -caseína, por lo tanto, estos resultados permiten brindar a los productores asesoramiento sobre los cruzamientos a realizar en caso de orientar su producción a la comercialización de "leche A2A2".

Referencias bibliográficas

<sup>1</sup>Farrell HM, Jr Jimenez-Flores R, Bleck GT, Brown EM, Butler JE, Creamer LK, Hicks CL, Hollar CM, Ng-Kwai-Hang KF, Swaisgood HE, Nomenclature of the proteins of cows' milk—sixth revision, (2004) J. Dairy Sci. 87 (6) 1641–1674, doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73319-6.

<sup>2</sup>Chitra P. Bovine Milk: A1 and A2 Beta Casein Milk Proteins and their Impact on Human Health: A Review. (2021). Agricultural Reviews. DOI: 10.18805/ag.R-2126

<sup>3</sup>Raschia MA, Caffaro ME, Rossi UA, Poli MA. Modification of a previously patented method to unequivocally score A2-like and A1-like bovine  $\beta$ -casein variants. MethodsX 10 (2023) 102183. doi:10.1016/j.mex.2023.102183

# Genotipificación de variantes de beta-caseína bovina mediante ACRS-PCR-RFLP

Genotyping of bovine beta-casein variants by ACRS-PCR-RFLP

***Caffaro, M. Eugenia<sup>1</sup>; Raschia, M. Agustina<sup>1,2</sup>; Poli, Mario A<sup>1,3</sup>.***

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. CICVyA. Instituto de Genética, Hurlingham.

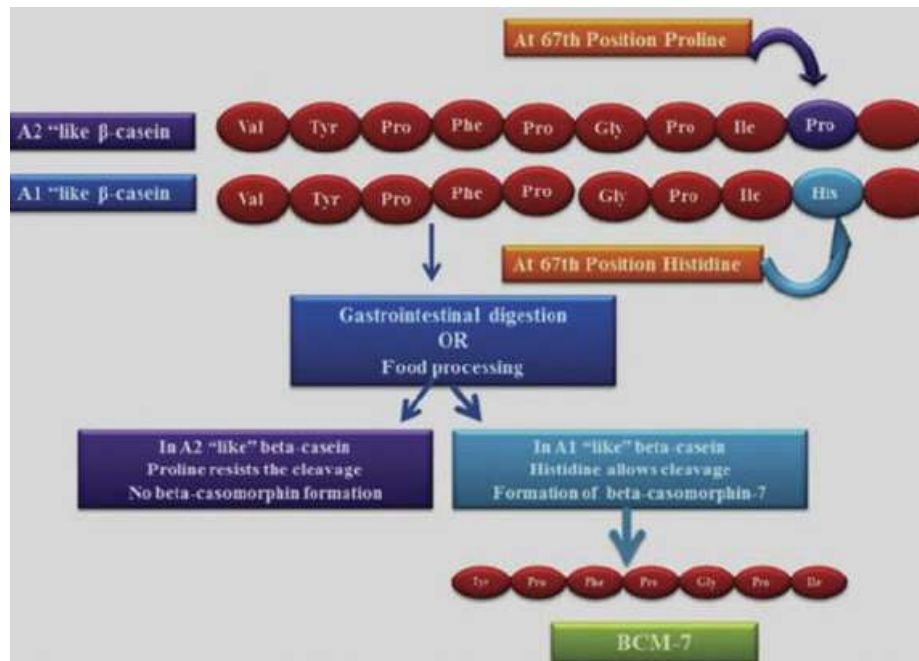
<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. Av. 60 y Av. 120, La Plata.

<sup>3</sup>Facultad de Agronomía. USAL. Champagnat 1599, Pilar, Campus del Pilar.

Contacto: [caffaro.maria@inta.gob.ar](mailto:caffaro.maria@inta.gob.ar)

# Genotipificación de variantes de beta-caseína bovina mediante ACRS-PCR-RFLP

## Introducción, Objetivo y Metodología



El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencias alélicas y genotípicas de variantes tipo-A1 y tipo-A2 de  $\beta$ -caseína en ganado lechero de dos establecimientos.

### Fragments produced from 316 bp amplicons after DdeI and HinfI restriction enzymes digestion

#### A1-like alleles

5'- TGTGAAGAAAGTGGGTTAATGAGAA 152 nt G<sup>HinfI</sup> (178 bp)

ACTC 98 nt ATAAGAGCCTCCCACAAAACATCCCTCCTTACTC-3' (138 bp)

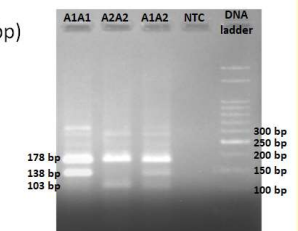
#### A2-like alleles

5'- TGTGAAGAAAGTGGGTTAATGAGAA 152 nt G<sup>HinfI</sup> (178 bp)

ACTC 98 nt C<sup>DdeI</sup> (103 bp)

TAAGAGCCTCCCACAAAACATCCCTCCTTACTC-3' (35 bp)

#### Band pattern in agarose gels



Modification of a previously patented method to unequivocally score A2-like and A1-like bovine  $\beta$ -casein variants. María Agustina Raschia, María Eugenia Caffaro, Úrsula Amaranta Rossi, Mario Andrés Poli. Method, 2023. doi.org/10.1016/j.mex.2023.102183

## Genotipificación de variantes de beta-caseína bovina mediante ACRS-PCR-RFLP

### Resultados y Conclusión

Genotipos	Frec Genéticas
tipoA1/tipoA1	0,046
tipoA2/tipoA2	0,497
tipoA1/tipoA2	0,457

Alelos	Frec Alélicas
tipoA1	0,274
tipoA2	0,726

n: 1528

Estos resultados permiten brindar a los productores asesoramiento sobre los cruzamientos a realizar en caso de orientar su producción a la comercialización de “leche A2A2”.

Financiamiento: INTA proyectos PE I018, PE I114, PE I145 y PT I513, ANPCyT PICT-2017-4208, FAO-IAEA CRP D3.10.30.