

## APROXIMACIÓN A LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL DE LA DESMINA BOVINA Y DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE MUTACIONES PUNTUALES *IN-SILICO*

J. D. Leal<sup>1\*</sup>, L. M. Jiménez<sup>1</sup>

Artículo recibido: 3 de junio de 2013 • Aprobado: 26 de septiembre de 2013

### RESUMEN

La desmina es el mayor filamento proteico intermedio del miocito y desempeña un papel importante respecto de las características de calidad cárnica, dada su función intracelular de sostén y que es sustrato de los principales sistemas proteolíticos *post-mortem*. En la determinación de los parámetros fisicoquímicos de dicha proteína y de su ARNm, se consideraron siete mutaciones (polimorfismos de nucleótido simple, SNP) en bovino y cinco en porcino ubicadas en regiones exónicas. Mediante procedimientos computacionales se obtuvo un modelo tridimensional que incluyó desde el aminoácido 39 al 470 de la secuencia DAA32384.1. Se identificó que las mutaciones T49C y A45C del ARNm del bovino son responsables de una modificación en la estructura bidimensional del ARNm y de la disminución de su estabilidad *in-silico*, por lo que se les considera como las mutaciones más significativas para evaluar experimentalmente en bovinos.

**Palabras clave:** estructura celular, proteína, mutación, ARNm.

## APPROACH TO TRIDIMENSIONAL STRUCTURE OF BOVINE DESMIN AND *IN-SILICO* DETERMINATION OF PUNCTUAL MUTATIONS EFFECT

### ABSTRACT

Desmin is the major proteic intermediate filament protein of muscular cell and it has an important effect on meat quality features because this protein is structural and during *post-mortem* conversion is substrate of proteolysis systems. Seven functional SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) of bovine and five of porcine were evaluated in several physicochemical features of the molecules RNAm and protein of Desmin. A 3D model was obtained from aminoacid 39 to 470 of the sequence DAA32384.1. Mutations T49C and A45C of bovine RNAm modify the molecular structure and these have less *in-silico* stability. On this way, these should be tested to experimental level.

**Key words:** cell structure, protein, mutation, RNAm.

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Carrera 45 nro. 26-85, Bogotá (Colombia).

\* Autor para correspondencia: jdlealg@unal.edu.co.

## INTRODUCCIÓN

La desmina (DES) es el mayor filamento proteico intermedio de la célula muscular y su gen se considera altamente conservado desde el tiburón hasta el humano (Bar *et al.* 2004; Goldfarb *et al.* 2004). Se encuentra localizado principalmente en la periferia del disco-Z de los sarcómeros (Paulin y Li 2004) y los conecta con la membrana plasmática y la lámina nuclear en las células musculares estriadas, cardíacas y lisas (Goldfarb *et al.* 2004). Esta proteína juega un papel importante en el mantenimiento de la integridad de la estructura celular (Paulin y Li 2004) por ser uno de los filamentos intermedios principales involucrados en la conservación del alineamiento lateral de las miofibrillas adyacentes al unir la capa periférica de éstas con la membrana celular (Zhang *et al.* 2006).

Huff-Lonergan y Lonergan (2005), Ouali *et al.* (2006) y Zhang *et al.* (2006) determinaron que la degradación de proteínas estructurales, como la DES, durante el período *post-mortem* temprano tiene varias consecuencias a nivel estructural que modifican atributos del músculo permitiendo su conversión a carne (Campo *et al.* 2000; Monsón *et al.* 2005, Monsón *et al.* 2004; Sañudo *et al.* 2004; Kolczak *et al.* 2005). Varias investigaciones han podido establecer que la desmina tiene un rol importante en varios parámetros de calidad cárnica, por ser uno de los sustratos del sistema proteolítico de la calpaína-calpastatina (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005; Zhang *et al.* 2006).

Se han identificado varios polimorfismos en genes de este sistema proteolítico en bovinos y porcinos que se han asociado con variaciones en la calidad cárnica respecto de parámetros como la terneza (Curi *et al.* 2010; Iwanowska *et al.* 2011; Motter *et al.* 2009; Pinto *et al.* 2010) y la Capacidad de Retención de Agua (CRA) (Zhang *et al.* 2006; Bond y Warner 2007). En el estudio

de Chang *et al.* (2003), que empleó un microsatélite ubicado en la región 3'UTR del gen de la desmina del cerdo, se logró determinar su asociación con el valor de pH a 45 minutos y 24 horas *post-mortem*, dada la co-segregación de este marcador neutro con el polimorfismo responsable. Sin embargo, es posible que la asociación pueda ser producida por una mutación en el gen PRKAG3, gen que yace muy próximo a la desmina, tanto en porcinos como en bovinos.

Es posible que las mutaciones en el gen de la desmina puedan contribuir a alteraciones fenotípicas en parámetros cárnicos asociados, como la terneza y la CRA en especies como el bovino y el cerdo, por lo que se le considera como uno de los genes-candidato asociados a parámetros de calidad cárnica (Williams *et al.* 2009). A esto contribuye la alta variabilidad reportada en otros mamíferos y en el humano (Goldfarb *et al.* 2004), en el cual se han detectado múltiples variaciones que van desde cambios nucleotídicos, hasta *indels* (del inglés *insertion-deletion*, o inserción/delección) y *splicings* alternativos (del inglés *alternative splicing*, o empalme alternativo), lo que incrementa su valor en estudios de asociación fenotipo-genotipo.

El objetivo de este estudio fue determinar la estructura 3D de la proteína desmina en bovinos y el conjunto de SNP (del inglés *Single Nucleotide Polymorphism*, o polimorfismo en un solo nucleótido) con una mayor probabilidad de producir alteraciones funcionales en el ARNm y en la proteína mediante análisis computacional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Secuencias y SNP empleados

Se emplearon las secuencias de ARNm NM\_001081575.1 y NM\_001001535.1 (bovino y porcino, respectivamente) y para las proteínas DAA32384.1 y AAD46492.1

(bovina y porcina, respectivamente), las cuales serán denominadas en este artículo como ‘alelo silvestre’. Las mutaciones puntuales de las regiones exónicas evaluadas se listan en la Tabla 1 y fueron ubicadas manualmente. También se emplearon las secuencias NM\_001927.3 y NP\_001918.3 correspondientes al ARNm y la proteína de la desmina humana, así como un total de 11 mutaciones *missense* que se ha reportado se encuentran asociadas con miopatías en humanos (Van Spaendonck *et al.* 2011).

### Construcción de modelos de ARNm

Para el modelamiento del ARNm de la DES bovina fueron seleccionados siete SNPs (secuencias 1 a 7 de la Tabla 1) de los 25 reportados en la base de datos de NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), debido a que se producen en un nucleótido de la región exónica y que, por consiguiente, alteran la secuencia del ARNm. Para el modelamiento del ARNm del gen de DES porcino se utilizaron las

cinco mutaciones reportadas en la base de datos de NCBI que afectan regiones exónicas traducidas (secuencias 8 a 12 de la Tabla 1). También se realizó el modelamiento del ARNm de la DES humana normal el cual se designó como ‘humano silvestre’.

Para determinar la estructura secundaria adoptada más probablemente por las secuencias del ARNm y establecer el valor de Energía Mínima Libre ( $\Delta G$ ) se empleó el software MFold (Zuker, 2003) a temperatura fisiológica.

### Construcción de modelos de la proteína DES

Para el modelamiento de la proteína DES bovina fueron seleccionadas dos mutaciones (secuencias 3 y 4 de la Tabla 1) debido a que son *missense*. Para realizar una comparación con el modelo obtenido de la proteína DES bovina se ubicaron las mutaciones *missense* reportadas que alteran la proteína DES porcina (secuencias 10 y 12 de la Tabla 1) y las 11 mutaciones

**TABLA 1.** Mutaciones empleadas, posiciones alteradas y numeración de secuencias.

Secuencia	Número de accesoión	ARNm			Proteína			Valor de $\Delta G$ (kcal/mol)
		Silvestre	Cambio	Posición	Silvestre	Cambio	Posición	
<b>Bovino</b>								
Bovino silvestre	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-919,81
1	rs135943644	A	C	45	NA	NA	NA	-911,83
2	rs136748725	T	C	49	NA	NA	NA	-911,07
3	rs110342944	G	A	177	A	T	38	-914,41
4	rs134655764	A	C	213	T	P	50	-926,91
5	rs132973368	T	C	1588	NA	NA	NA	-917,97
6	rs110633827	C	T	1723	NA	NA	NA	-917,11
7	rs209238371	C	T	1965	NA	NA	NA	-919,81
<b>Cerdo</b>								
Porcino silvestre	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-891,36
8	rs81494989	A	G	305	A	A	86	-897,90
9	<b>ss86225527</b>	C	T	384	L	L	113	-891,36
10	rs81213204	T	G	719	I	M	224	-891,43
11	rs81213205	G	A	920	S	S	291	-890,26
12	<b>ss86225530</b>	T	G	933	W	G	296	-895,86

NA: no aplica,

$\Delta G$ : Energía Mínima Libre,

*missense* reportadas para la proteína DES humana (Van Spaendonck *et al.* 2011).

La estructura secundaria de las secuencias proteicas se determinó mediante el servidor Quick2d (toolkit.tuebingen.mpg.de/quick2\_d) y las regiones desordenadas con DISOPRED (Ward *et al.* 2004). Adicionalmente se detectaron los dominios constituyentes de la proteína mediante el servidor CD-Search (Marchler y Bryant 2004) del NCBI.

Se utilizó el modelamiento por homología para la determinación de la estructura terciaria del Multidominio Tipo Filamento mediante el servidor SWISS-MODEL y el *software* Deep Viewer (Guex y Peitsch 1997; www.expasy.org/spdbv/), mientras que para el modelamiento de la Superfamilia Cabeza de Filamento (aminoácidos 38 al 110) y los segmentos 240-271 y 407-470, se empleó el servidor I-TASSER (Zhang 2008; Roy *et al.* 2010), efectuando la minimización energética de cada segmento mediante la herramienta Gromos96 del *software* Deep Viewer (Guex y Peitsch 1997) para su posterior ensamblaje. El

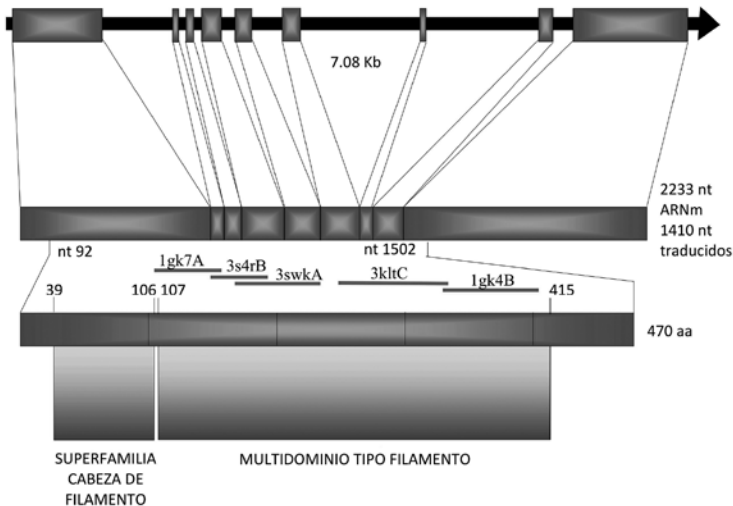
punto isoeléctrico (PI) y peso molecular se determinaron mediante el servidor Protparam (www.expasy.org/spdbv/).

**RESULTADOS**

En la Figura 1 se presenta la estructura y tamaño del gen de la DES bovina. Adicionalmente se presentan, los dominios predichos en la proteína lineal. De igual forma se ilustran las regiones modeladas con el servidor SWISS-MODEL. Para el proceso de modelamiento se emplearon los templates 1gk7A con una identidad de 78,95% (entre los aminoácidos 106 y 143), 3s4rB con una identidad del 69,23% (entre los aminoácidos 139 y 194), 3swkA con una identidad del 68,61% (entre los aminoácidos 158 y 243), 3kltC con 76,06% de identidad (entre los aminoácidos 268 y 338) y 1gk4B con 77,22% de identidad modelando los aminoácidos 333 al 411.

**Modelos de ARNm**

En la Figura 2 se presenta la estructura secundaria adoptada por el ARNm silvestre



**FIGURA 1.** Distribución del gen de la desmina bovina.

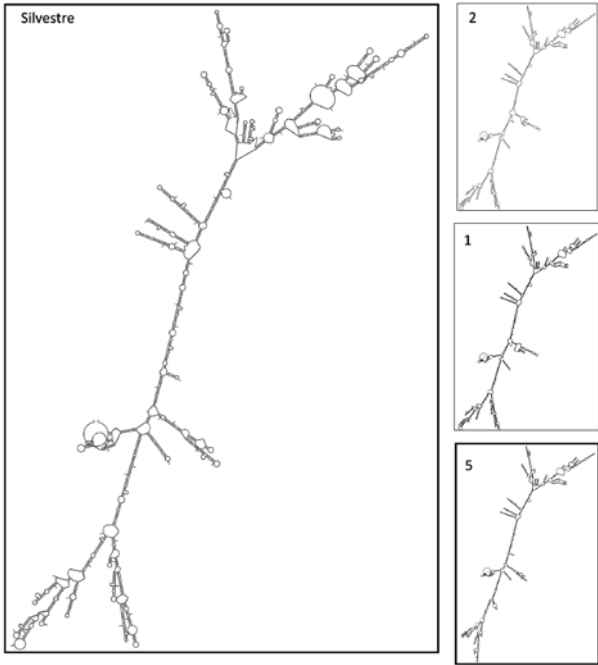
del gen de la DES bovina (bovino silvestre) y las tres modificaciones estructurales que producían los mayores cambios visibles en el plegamiento del ARNm: en orden descendente se encuentran las secuencias 2, 1 y 5, lo que las convierte en buenas candidatas para contribuir a la variación fenotípica en el bovino, especialmente en cuanto a parámetros de calidad cárnica, puesto que generan polimorfismos conformacionales en el ARNm. Por su parte, en la Figura 3 se muestran las estructuras del ARNm del gen DES porcino silvestre y el modelo de la secuencia 8 debido a que fue la que tuvo el mayor impacto sobre el modelo bidimensional y, adicionalmente, la estructura del ARNm del gen DES silvestre del humano.

A nivel de estabilidad molecular, el ARNm del alelo silvestre de la DES bovina

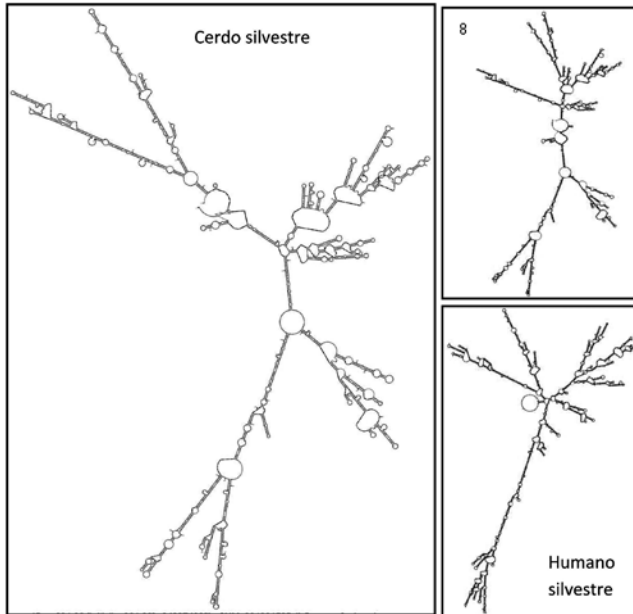
mostró un valor de Energía Mínima Libre ( $\Delta G$ ) de  $-919,81$  kcal/mol. En orden descendente, las mutaciones de la DES bovina que desestabilizan en mayor medida a esta molécula son los SNP 2, 1 y 3, con valores de  $\Delta G$  de  $-911,07$ ,  $-911,83$  y  $-914,41$  kcal/mol respectivamente. Se destaca el SNP 4 cuyo valor de  $\Delta G$   $-926,91$  kcal/mol le puede conferir un carácter estabilizante mayor a esta molécula. El alelo silvestre del cerdo presentó un valor de  $\Delta G$  de  $-891,36$ , mientras que sus secuencias 8 y 11 mostraron un valor de  $-890,26$  y  $-897,90$  kcal/mol, respectivamente.

**Modelo proteico**

En la Figura 4 se presenta la estructura secundaria predicha de la proteína DES



**FIGURA 2.** Polimorfismo conformacional de la desmina bovina. Se presenta la desmina silvestre y las estructuras adquiridas por las secuencias 2, 1 y 5, como las más importantes puesto que generan polimorfismos en el ARNm.



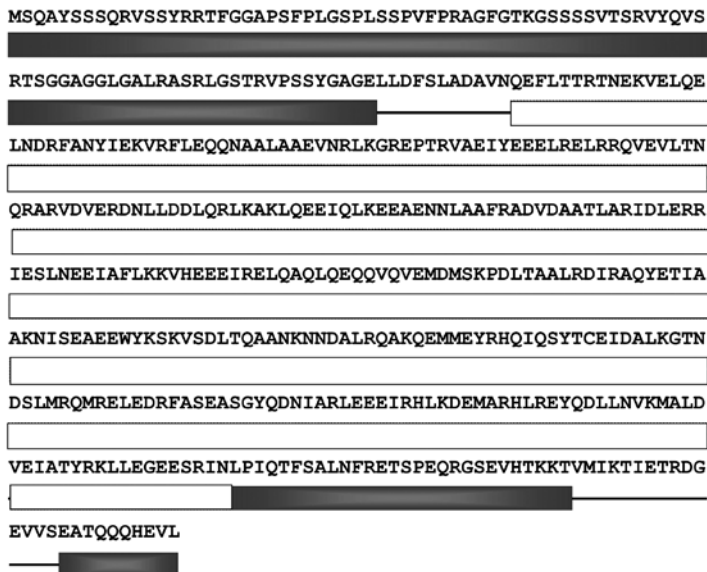
**FIGURA 3.** Polimorfismo conformacional de la desmina porcina (secuencias silvestre y 8) y la del tipo silvestre del humano.

bovina. En la Tabla 2 se muestran los parámetros de punto isoelectrico (PI) y peso molecular para las secuencias seleccionadas. Se debe tener en cuenta que, para obtener la predicción final del modelo, el segmento anterior al aminoácido 39 fue eliminado debido a que la predicción realizada por CD-Search no lo establecía como constituyente de la Superfamilia Cabeza de Filamento. Los ocho segmentos modelados de la proteína DES bovina (cinco resueltos mediante SWISS-MODEL y tres con I-TASSER) tenían fragmentos solapados ( $\approx 5$  aminoácidos) por lo que pudieron ser ensamblados con el programa Deep Viewer.

En la Figura 5a se presenta el modelo final de la proteína desmina bovina comprendida entre los aminoácidos 39 y 470 de la secuencia problema DAA32384.1. Se señala la presencia

de los segmentos constituyentes de la secuencia *Rod* (PCD, 1A, L1, 1B, L12, 2A, L2 y 2B); dentro de este último se ubica el denominado 'Stutter' que corresponde a 10 aminoácidos (350 a 359) altamente conservados en las proteínas de los filamentos intermedios celulares (Bar *et al.* 2004).

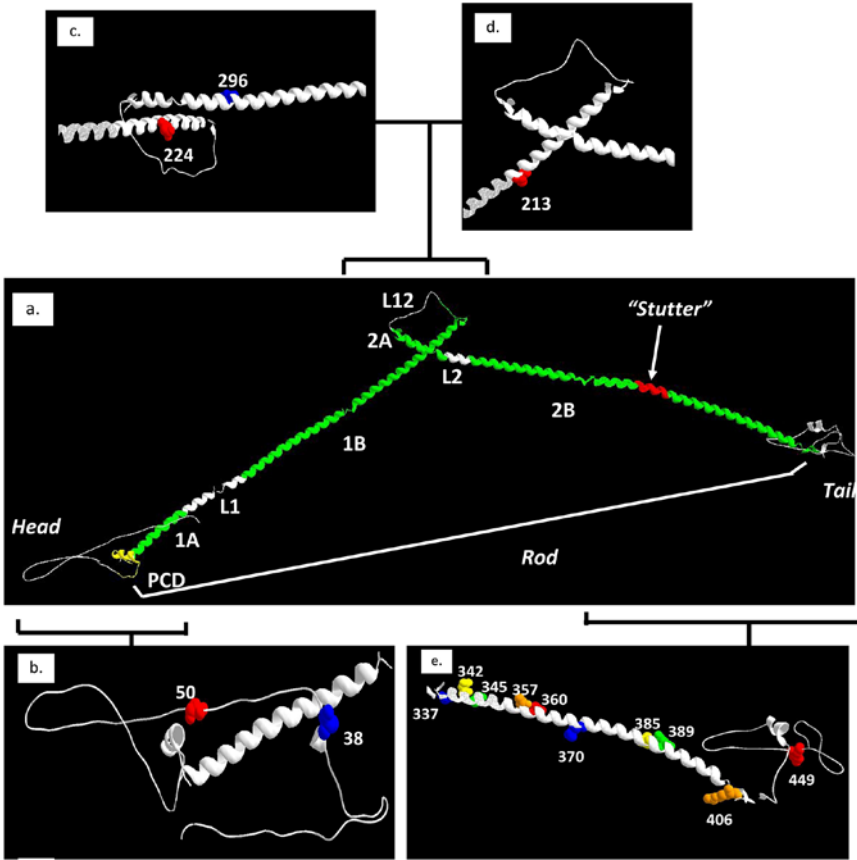
En el modelo obtenido de la proteína DES bovina se indican las posiciones 38 y 50 correspondientes a las secuencias *missense* 3 y 4 (Figura 5b). Sobre este modelo se señalan también las posiciones homólogas a los aminoácidos 224 y 296 del cerdo de las secuencias 10 y 12 respectivamente (Figura 5c) y las posiciones 213, 337, 342, 345, 357, 360, 370, 385, 389, 406 y 449 correspondientes a las 11 mutaciones *missense* reportadas para la proteína DES humana (Figuras 5d y 5e).



**FIGURA 4.** Estructura secundaria de la desmina bovina. En los rectángulos grises se presentan las regiones desordenadas y en los rectángulos blancos, la predicción de  $\alpha$ -hélices.

**TABLA 2.** Parámetros alterados de la proteína muscular desmina. Se presentan las secuencias silvestres del bovino, porcino y humano; se emplearon 11 de las mutaciones más frecuentes reportadas en el ser humano.

Secuencia	Parámetro	
	Peso molecular	Punto isoeléctrico
<b>Bovino silvestre</b>	53531,8	5,21
3	53561,8	5,21
4	53527,8	5,21
<b>Cerdo silvestre</b>	53628,9	5,21
10	53646,9	5,21
12	53499,8	5,21
<b>Humano silvestre</b>	53535,7	5,21
A213V	53563,8	5,21
A337P	53561,8	5,21
N342D	53536,7	5,17
L345P	53519,7	5,21
A357P	53561,8	5,21
A360P	53561,8	5,21
L370P	53519,7	5,21
L385P	53519,7	5,21
Q389P	53504,7	5,21
R406W	53565,8	5,17
K449T	53508,7	5,17



**FIGURA 5.** Estructura terciaria de la desmina bovina: **A.** Se detallan los segmentos *Head*, *Rod* y *Tail* constituyentes de la proteína DES bovina; dentro del segmento *Rod* se detallan las hélices 1A, 1B, 2A y 2B y las regiones desordenadas L1, L12 y L2; dentro del la región 2B se resalta en rojo el segmento constituyente del *Stutter*. **B.** Posiciones 38 y 50; se incluyó el segmento 1-39 para mostrar la primera posición. **C.** Posiciones 224 y 296. **D.** Posición 213. **E.** Posiciones 337, 342, 345, 357, 360, 370, 385, 389, 406 y 449 de la proteína DES sujetas a cambio aminoacídico según el polimorfismo evaluado.

**DISCUSIÓN**

El gen de la desmina se considera como uno de los genes candidato que se asocia con fenotipos relativos a parámetros de calidad cárnica. Por tanto, se puede asumir que la existencia de un bajo número de mutaciones reportadas en bases de datos (25 SNP en bovino y 5 en porcino), posiblemente se deriva de una reducida

cantidad de estudios. lo que permite sugerir la necesidad de implementar análisis que contribuyan a la caracterización de su estructura y funcionamiento fisiológico.

**Variaciones en el ARNm**

Las configuraciones análogas adoptadas por la molécula de ARNm (Figura 2), ocasionadas por las mutaciones T49C,



A45C, T177A y A213C (secuencias 2, 1, 5 y 4), pueden tener un efecto sobre la regulación en la expresión de la proteína (Andrade 2001). Adicionalmente a las variaciones en la estructura tridimensional adoptada por esta molécula, varias de las mutaciones mencionadas modifican su valor de Energía Mínima Libre, haciéndola *in-silico* más o menos estables. Las mutaciones T49C y A45C modifican, tanto la estructura conformacional como la Energía Mínima Libre, lo que hace menos estables a las moléculas de ARNm de la DES bovina.

Estudios previos utilizando estos mismos parámetros (configuración bidimensional y  $\Delta G$ ) han permitido confirmar que mutaciones sinónimas o mutaciones ubicadas en las regiones no traducidas del ARNm de genes candidato son causantes de variaciones fenotípicas en humanos (Duan *et al.* 2003; Johnson *et al.* 2011; Shen *et al.* 1999). Por su parte, Halvorsen *et al.* (2010), examinando SNP asociados con enfermedades del genoma humano que alteran significativamente la conformación de las regiones reguladoras UTR, definieron los *RiboSNitches* que inducen cambios conformacionales permanentes de la estructura del ARNm, actuando como interruptores moleculares (*molecular switch*) que apagan o encienden la expresión del gen. Ello se puede contrastar con los polimorfismos T49C y A45C, los cuales están ubicados en la región 5'UTR del ARNm de la DES y, por lo tanto, pueden tener un efecto fenotípico sobre parámetros de calidad cárnica, como la CRA y la terneza, entre otras.

### Efecto de mutaciones *missense* en la proteína DES

De las mutaciones *missense* evaluadas en las tres especies analizadas, únicamente

se presentó modificación del PI en tres de las 11 de la DES humana (N342D, K449T y R406W) (Van Spaendonck *et al.* 2011) siendo la R406W la que presenta el cuadro clínico más severo, que incluso puede conducir a la muerte (Park *et al.* 2000). El PI se modifica desde 5,21 para la DES humana silvestre hasta 5,17 en los tres casos citados anteriormente. En los casos de la DES de bovino y cerdo, el PI no se presentó variación alguna que permita postular a estas mutaciones como candidatas para una evaluación *in-vivo*.

Es interesante resaltar la ubicación de 10 de las 11 mutaciones humanas con efecto fenotípico en la región comprendida entre la región 2B del *Rod* (Figura 5e) y la parte terminal de la proteína, lo que podría señalar a este segmento como prometedor para llevar a cabo estudios de asociación fenotipo-genotipo en especies como el bovino y el porcino, con el fin de establecer su posible efecto sobre parámetros de calidad cárnica, dadas las funciones de sostén estructural, generación y transmisión de fuerza activa y pasiva desempeñadas por la desmina (Paulin y Li 2004).

### Modelo tridimensional de la DES bovina

En el modelo de estructura bidimensional de la DES bovina se predijo la existencia de una  $\alpha$ -hélice continua desde el aminoácido 99 al 417; sin embargo Bar *et al.* (2004) y Van Spaendonck *et al.* (2011) mencionan en esta misma ubicación la existencia de una estructura de  $\alpha$ -hélice interrumpida por tres enlaces o *linkers* (L1, L12 y L2), lo que permite la formación de cuatro segmentos separados en  $\alpha$ -hélice denominados 1A, 1B, 2A y 2B (Figura 5a).

Cabe destacar que en humanos (Park *et al.* 2000; Goldfarb *et al.* 2004) se han encontrado mutaciones *de novo* en 45% de

los casos clínicos asociados con fenotipos especiales, como en el caso de la presentación de cardiomiopatías causadas por la agregación proteica con un gran contenido de desmina y menores proporciones de alfa- $\beta$ -cristalina, distrofina y miotilina, generando la inhabilidad de la desmina para interactuar con otras estructuras celulares (Van Spaendonck *et al.* 2011). Lo anterior evidencia una susceptibilidad del gen DES a sufrir mutaciones principalmente en el segmento 2B (Park *et al.* 2000; Van Spaendonck *et al.* 2011) estableciendo al exón 6 de este gen como un *Hot-spot* (Goldfarb *et al.* 2004).

El bajo número de mutaciones reportadas en el gen DES de bovinos y porcinos podría indicar la necesidad de realizar estudios que contribuyan al conocimiento de la estructura y funcionamiento de este gen, ya que se postula la existencia de una gran variabilidad con posibles efectos fenotípicos. Es posible que en especies de animales domésticos, como el bovino, no se encuentren mutaciones con un efecto tan evidente como en el humano, dados los mecanismos de selección artificial a los que vienen siendo sometidos; sin embargo, no se puede descartar la existencia de mutaciones que contribuyan a la variabilidad fenotípica (Goldfarb *et al.* 2004) y que permitan relacionar la estructura y funcionalidad del miocito con parámetros de calidad cárnica como la CRA y la terneza. Con relación a lo anterior, Goldfarb *et al.* (2004) destacan que los filamentos de desmina que poseen un plegamiento diferente al normal, presentan una mayor resistencia al remodelamiento *in vitro* producido por los sistemas enzimáticos responsables. Cabe resaltar que uno de esos sistemas de remodelamiento *in vivo* a nivel celular, el sistema calpaína-calpastatina, es el responsable del proceso de tenderización

*post-mortem* en el paso de músculo a carne, por lo que una mutación en el gen de la desmina podría modificar este proceso, alterando su proteólisis *post-mortem*, lo que afectaría por consiguiente parámetros de calidad de la carne como la CRA y la terneza de la carne (Campo *et al.* 2000; Kolczak *et al.* 2005; Monsón *et al.* 2005, Monsón *et al.* 2004; Sañudo *et al.* 2004; Zhang *et al.* 2006).

## CONCLUSIONES

Se logró modelar la proteína DES del bovino en su totalidad y se pudo confirmar la presencia de los segmentos característicos de los filamentos intermedios del miocito de los mamíferos, que habían sido reportados previamente. La desmina es uno de los genes candidato con un posible efecto sobre parámetros de calidad cárnica en bovinos y en porcinos; sin embargo, en la actualidad sólo existe un número reducido de polimorfismos identificados en ambas especies, en comparación con los reportados para la DES humana, proteína en la que se ha podido determinar una amplia variabilidad de la región 2B del Multidominio Tipo Filamento.

A través de la evaluación del polimorfismo conformacional del ARNm de la DES del bovino se logró determinar que las mutaciones T49C y A45C pueden ser reconocidas como las más importantes, ya que al incrementar el valor de Energía Mínima Libre de la molécula, la hacen menos estable.

## REFERENCIAS

- Andrade E, 2011. La dualidad análogo digital de la información se ejemplifica en el estudio de las moléculas de RNA. Acta Biol. Colomb. 16(3): 15-42. [Internet] [citado 2013 febrero]. Disponible en: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/viewFile/20223/27998>

- Bar H, Strelkov S, Sjoberg G, Aebi U, Herrmann H. 2004. The biology of desmin filaments: how do mutations affect their structure, assembly, and organization? *J Struct Biol.* 148: 137-152.
- Bond J, Warner R. 2007. Ion distribution and protein proteolysis affect water holding capacity of *Longissimus thoracis et lumborum* in meat of lamb subjected to antemortem exercise. *Meat Sci.* 75: 406-414.
- Campo M, Santolaria P, Sañudo C, Lepetit J, Olleta J, Panea B, Alberti P. 2000. Assessment of breed type and ageing time effects on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Sci.* 55: 371-378.
- Chang K, Beuzen N, Hall A. 2003. Identification of microsatellites in expressed muscle genes: Assessment of a Desmin (CT) dinucleotide repeat as a marker for meat quality. *Vet J.* 165: 157-163.
- Curi R, Chardulo J, Giusti J, Silveira A, Martins C, de Oliveira H. 2010. Assessment of GH1, CAPN1 and CAST polymorphisms as markers of carcass and meat traits in *Bos indicus* and *Bos taurus*-*Bos indicus* cross beef cattle. *Meat Sci.* 86: 915-920.
- Duan J, Wainwright M, Comeron J, Saitou N, Sanders A, Gelernter J, Gejman P. 2003. Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affects mRNA stability and synthesis of the receptor. *Hum Mol Genet.* 12: 205-216.
- Goldfarb L, Vicart P, Goebel H, Dalakas M. 2004. Desmin myopathy. *Brain.* 127: 723-734.
- Guex N, Peitsch M. 1997. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis.* 18: 2714-2723.
- Halvorsen M, Martin J, Broadaway S, Laederach A. 2010. Disease-associated mutations that alter the RNA structural ensemble. *PLoS Genet.* 6(8): e1001074. doi:10.1371/journal.pgen.1001074 [Internet] [citado 2013 marzo]. Disponible en: <http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1001074>
- Huff-Lonergan H, Lonergan S. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* 71: 194-204.
- Iwanowska A, Grzes B, Mikołajczak B, Iwanska E, Juszcuk E, Rosochacki S, Pospiech E. 2011. Impact of polymorphism of the regulatory subunit of the  $\mu$ -calpain (CAPN1S) on the proteolysis process and meat tenderness of young cattle. *Mol Biol Rep.* 38:1295-1300.
- Johnson A, Trumbower H, Sadee W. 2011. RNA structures affected by single nucleotide polymorphisms in transcribed regions of the human genome. *WebmedCentral Bioinformatics.* 2(2):WMC001600 [Internet] [citado 2013 febrero]. Disponible en: [http://www.webmedcentral.com/article\\_view/1600](http://www.webmedcentral.com/article_view/1600)
- Kolczak T, Palka K, Lacki J. 2005. Water retention, shear force and texture parameters of cattle *Psoas* and *Semitendinosus* muscles unfrozen and frozen during post-mortem ageing. *Pol J Food Nutr Sci.* 14: 17-26.
- Marchler A, Bryant S. 2004. CD-Search: Protein domain annotations on the fly. *Nucleic Acids Res.* 32:327-331.
- Monsón F, Sañudo C, Sierra I. 2004. Influence of cattle breed and ageing time on textural meat quality. *Meat Sci.* 68: 595-602.
- Monsón F, Sañudo C, Sierra I. 2005. Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. *Meat Sci.* 71: 471-479.
- Motter M, Corva P, Krause M, Perez M, Soria L. 2009. Rol de la calpastatina en la variabilidad de la terneza de la carne bovina. *J Basic & Appl Genet.* 20: 15-24.
- Ouali A, Herrera C, Coulis G, Becila S, Boudjellal A, Aubry L, Sentandreu M. 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci.* 74: 44-58.
- Park K, Dalakas M, Semino C, Lee H, Litvak S, Takeda K, Ferrans V, Goldfarb L. 2000. Sporadic cardiac and skeletal myopathy caused by a *de novo* desmin mutation. *Clin Genet.* 57: 423-429.
- Paulin D, Li Z. 2004. Desmin: a major intermediate filament protein essential for the structural integrity and function of muscle. *Exp Cell Res.* 301(1): 1-7.
- Pinto LFB, JBS Ferraz, FV Meirelles, JP Eler, FM Rezende, ME Carvalho, HB Almeida y RCG Silva. 2010. Association of SNPs on CAPN1

- and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. *Genet Mol Res.* 9(3):1431-1442.
- Roy A, Kucukural A, Zhang Y. 2010. I-TASSER: A unified platform for automated protein structure and function prediction. *Nat Protoc.* 5:725-738.
- Sañudo C, Macie E, Olleta J, Villarroel M, Panea B, Alberti P. 2004. The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Sci.* 66: 925-932.
- Shen L, Basilion J, Stanton V. 1999. Single-nucleotide polymorphisms can cause different structural folds of mRNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 7871-7876.
- Van Spaendonck K, Van Hessem L, Jongbloed J, De Walle H, Capetanaki Y, Van der Kooi A, Van Langen I, Van den Berg M, Van Tintelen J. 2011. Desmin-related myopathy. *Clin Genet.* 80: 354-366.
- Ward J, Sodhi J, McGuffin L, Buxton B, Jones D. 2004. Prediction and functional analysis of native disorder in proteins from the three kingdoms of life. *J Mol Biol.* 337:635-645.
- Williams J, Dunner S, Valentini A, Mazza R, Amarger V, Checa M, Crisa A, Razzaq N, Delourme D, Grandjean F, Marchitelli C, García D, Pérez S, Negri R, Ajmone P, Levéziel H. 2009. Discovery, characterization and validation of single nucleotide polymorphisms within 206 bovine genes that may be considered as candidate genes for beef production and quality. *Anim Genet.* 40: 486-491.
- Zhang W, Lonergan S, Gardner M, Huff-Lonergan E. 2006. Contribution of postmortem changes of Integrin, Desmin and  $\mu$ -Calpain to variation in water holding capacity of pork. *Meat Sci.* 74: 578585.
- Zhang Y. 2008. I-Tasser server for protein 3D structure prediction. *BMC Bioinformatics.* 9:40. doi: 10.1186/1471-2105-9-40. [Internet] [citado 2013 febrero]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2245901/>
- Zuker M. 2003. MFold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic Acids Res.* 31:3406-3415

### Citation:

Leal JD, Jiménez LM. 2013. Aproximación a la estructura tridimensional de la desmina bovina y determinación del efecto de mutaciones puntuales *in-silico* [Approach to tridimensional structure of bovine desmin and *in-silico* determination of punctual mutations effect]. *Rev Fac Med Vet Zoot.* 62(3): 157-168.