

Importancia de la solución salina para pretratar muestras de carne y extraer ARN de calidad

Torres-Galeana, Abril¹; Hernández-Rodríguez, Martha^{2*}; Cruz-Monterrosa, Rosy G.³; Pérez-Ruiz, Rigoberto, V.³

¹ Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Programa de Ganadería. Carretera México Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. C.P. 56264.

² Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Programa de Genética. Carretera México Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. C.P. 56264.

³ Universidad Autónoma Metropolitana Departamento de Ciencias de la Alimentación. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Av. De Las Garzas 10, Col. El Panteón, Lerma de Villada, Estado de México. C.P. 52005.

* Autor para correspondencia: hernandez.martha@colpos.mx

Problema

La calidad del ácido ribonucleico, o ARN, es un requisito clave para analizar la expresión de un gen o del transcriptoma completo. En muestras de carne, la extracción del ARN representa un reto debido a que contiene una alta cantidad de proteínas. Aunque las proteínas suelen eliminarse de la mezcla de extracción con solventes como el cloroformo, cuando la muestra contiene lípidos y glucógeno en abundancia, las muestras se vuelven espesas y viscosas al momento de adicionar el cloroformo lo que ocasiona dificultad para pipetear la mezcla de extracción. Otras veces, los componentes de la carne coprecipitan y contaminan el ARN comprometiendo la precisión de las lecturas para determinar su cantidad. Aunque existen numerosos protocolos y kits comerciales para extraer ARN, éstos han sido diseñados para especies modelo y usualmente su rendimiento y pureza no es la adecuada cuando se aplican a tejidos como los de la carne. Estas desventajas se corrigen parcialmente con el uso de perlas magnéticas recubiertas con oligo-dT, las cuales son costosas y solo ayudan a capturar los ARN mensajeros, dejando de lado otro tipo de biomoléculas importantes como los ARN reguladores en las muestras de ARN total.

Solución planteada

La obtención satisfactoria de ARN de alta calidad y sin degradación de muestras de carne se facilita con un paso de pretratamiento antes de extraer el ARN. El pretratamiento consiste en la incubación de las muestras en solución fisiológica salina al 0.9% (NaCl) estéril en una relación 1:3 (p/v) durante 3 a 4 horas a 4 °C. Con esta incubación se elimina la viscosidad de la muestra, aumenta el volumen de la fase donde se encuentra el ARN y los análisis de expresión no se ven afectados (Figura 1). Las muestras

Cómo citar: Torres-Galeana, A., Hernández-Rodríguez, M., Cruz-Monterrosa, R. G., & Pérez-Ruiz, R. V. (2024). Importancia de la solución salina para pretratar muestras de carne y extraer ARN de calidad. *Agro-Divulgación*, 4(6). <https://doi.org/10.54767/ad.v4i6.402>

Editores académicos: Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza y Dr. Jorge Cadena Iñiguez.

Publicado en línea: Octubre 2024.

Agro-Divulgación, 4(6). Suplemento. 2024. pp: 85-87.

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International



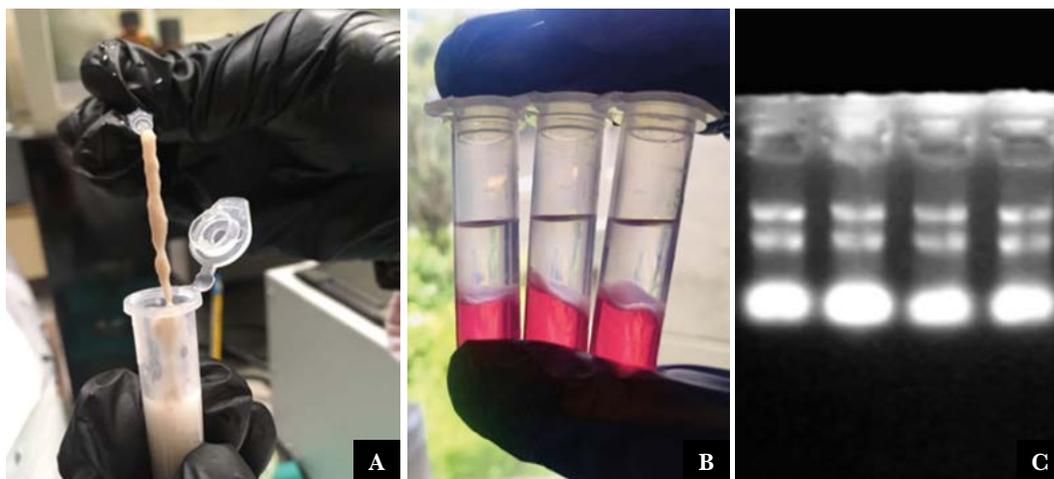


Figura 1. Pretratamiento en solución salina NaCl 0.9% de muestras de carne para obtener ARN de calidad. A) Muestra sin pretratamiento. B) Muestras con pretratamiento. C) Migración en agarosa de ARN íntegro de muestras con pretratamiento.

pueden procesarse enseguida de la incubación o pueden retirarse de la solución para inmediatamente congelarlas en nitrógeno líquido y mantenerlas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de la extracción.

Con el pretratamiento se obtiene un rendimiento promedio de $1046.84\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$ de ARN íntegro para una muestra de carne de 100 mg de ovino utilizando el reactivo TRIzolTM (Invitrogen). La incubación en solución salina también favorece la pureza del ARN. En tal caso, la pureza promedio es de 1.99 para la relación A_{260}/A_{280} y de 1.67 para la relación A_{260}/A_{230} en 100 mg de músculo *Longissimus dorsi* de ovinos (Cuadro 1).

La evaluación de la calidad de ácidos nucleicos se basa en los criterios de concentración, pureza e integridad. El primer criterio (la concentración) se mide en $\text{ng }\mu\text{L}^{-1}$ con base en la absorbancia obtenida con un espectrofotómetro UV/VIS a una absorbancia de 260 nm (A_{260}) que proporciona un valor específico del ARN, donde un valor de 1.0 es igual a $40\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ de ARN total. Como varios microgramos de ARN total son necesarios para un análisis de expresión génica y el ARN total contiene de 1-2% de ARN mensajero, la cantidad de ARN total debe ser alta para enriquecer las moléculas poli(A). Por ejemplo, alrededor de 30 μg de ARN son requeridos para un microarreglo de hibridación. El segundo criterio o de pureza del ARN se refiere a la ausencia de contaminantes. Además de medir el ARN a A_{260} , las absorbancias a 280 nm y 230 nm también se miden para examinar la presencia de otros posibles contaminantes como proteínas y carbohidratos, respectivamente. De ahí que los valores de las relaciones A_{260}/A_{280} entre 1.8-2.1 y $A_{260}/A_{230} \geq 2.0$ indiquen un ARN de

Cuadro 1. Concentración de ARN, rendimiento y relaciones de pureza de muestras de músculo *Longissimus dorsi* de dos razas de ovino.

Raza	Concentración ($\text{ng }\mu\text{L}^{-1}$)	Intervalo A_{260}/A_{280}	Intervalo A_{260}/A_{230}
Pelibuey	532.3 (286.6 - 749.4)	1.9 - 2.0	1.3 - 1.9
Hampshire	1561.3 (725.1 - 2544.0)	1.9 - 2.0	1.3 - 2.1

Valores de 10 repeticiones biológicas (animales).

alta pureza, requisito indispensable para los ensayos de expresión normalizados. Como las lecturas de absorbancia califican solo dos criterios (concentración y pureza), una manera tradicional de evaluar el tercer criterio (integridad) es a través de un gel de agarosa teñido con un colorante fluorescente. Con esta prueba, el ARN total debe verse como dos bandas superiores intensas que corresponden al ARN ribosomal (28S y 18S) que señalan que el ARN está intacto, no degradado y que las muestras han sido apropiadamente manipuladas (Figura 1). Un manejo adecuado de las muestras se relaciona con la viabilidad celular. En bacterias, la solución salina al 0.85% se emplea como diluyente para mantener la viabilidad celular a corto plazo. En mamíferos, el sodio es esencial para la homeostasis celular al ser el principal catión del líquido extracelular y presentar la misma presión osmótica que los fluidos corporales cuando se emplea al 0.9%. Por lo tanto, la implementación del pretratamiento en solución salina (NaCl al 0.9%) antes de extraer el ARN es un aporte satisfactorio que podría ser aplicado para el estudio de la expresión de genes en muestras de carne, sobre todo de pequeños rumiantes de razas criollas que, por razones de distancia, traslado, número de muestras, trabajo de laboratorio y presupuesto se encuentran limitadas como sujetos de estudio.

Los autores agradecen a la LGAC “Ganadería eficiente, cambio climático y bienestar sustentable”.

Innovaciones, impactos e indicadores

Nivel de Innovación	Descripción	Transferido	Impacto		Indicador General de Políticas Públicas	Indicadores Específicos	Subindicador
			Sector	Ámbito			
Procesos	Implementación de una significativa mejora de un método de investigación.	Estudiantes de licenciatura y posgrado mediante cursos, prácticas y capacitación para el desarrollo de su investigación.	Cuaternario: Procesos de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+I)	Económico Conocimiento	Ciencia y Tecnología	Competitividad Capacitación	Capacitación a estudiantes de licenciatura y posgrado. Aplicación de técnicas y conocimientos tecnológicos.

