

LA SECUENCIACIÓN POR NANOPOROS PERMITE CONOCER EL EPIGENOMA EN VACUNO LECHERO

González-Recio¹, O., López-Catalina¹, A., Gutiérrez-Rivas¹, M., Nieto², A., Fernández¹, A., Peiró-Pastor², R. y Bach², A.

¹Departamento de mejora genética animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Crta. La Coruña km 7.5, 28040 Madrid, Spain. ²Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y Biosistemas-UPM, Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain. ³Marlex, Recerca i Eduació, 08173 Barcelona; gonzalez.oscar@inia.es

INTRODUCCIÓN

La información epigenética es relevante en mejora genética animal (González-Recio *et al.* 2012). Esta fuente de información puede ayudar a entender la expresión génica, la programación prenatal, el efecto de factores de estrés sobre el fenotipo, e incluso mejorar la precisión de las evaluaciones genéticas. Sin embargo, la obtención de esta información es aún costosa y difícil de conseguir en las poblaciones comerciales. El objetivo de este trabajo es presentar un método de secuenciación que permite conocer la metilación del genoma usando tecnología de nanoporos al mismo tiempo que permite la secuenciación completa de animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se secuenció el genoma de 23 vacas Holstein, usando el dispositivo MinION, y se detectaron las modificaciones de nucleótidos (5mC y 6mA) según la señal de disrupción iónica que se produce cuando la hebra de ADN atraviesa el nanoporo (Simpson *et al.*, 2017). Se comparó el rendimiento de dos métodos de extracción de ADN (Salting Out vs Kit Epicentre). Se realizó un estudio de asociación entre las regiones metiladas y la ingesta media diaria. Se optimizó un flujo de trabajo para la imputación de secuencia a genoma completo usando la población de referencia de los 1000 genomas bovinos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectó una media de 801.556 (sd = 249605) regiones metiladas por muestra. Para cada muestra se calculó el porcentaje de metilación global (PGM) a lo largo del genoma a diferentes profundidades de lecturas (<1x, 5x, 10x, 15x, 20x, and 25x). Cuando la profundidad de lectura fue superior a 15x, el cálculo del PGM fue más repetible. Además, se observaron diferencias entre los kits de extracción para la metilación detectada, resultando en mayores PGM con el uso del kit Epicentre. El análisis de asociación se realizó con aquellas regiones con una profundidad >20x (17.648), y que además estuviesen secuenciadas en al menos 18 vacas (1879 regiones). En total se detectaron 25 regiones relacionadas con la ingesta media diaria de materia seca (e.g. MTHFD2L, SLC19A1, DCTN6, COL18A1). Se realizó un análisis in-silico de estas regiones que mostraron estar involucradas en la síntesis de tejido muscular, niveles de ácido fólico, mitosis celular y angiogénesis. En todas estas regiones se asoció una mayor ingesta con una menor metilación de la región.

La imputación a genoma completo resultó en un error inferior al 5% en variantes homocigóticas, pero mayor a posiciones heterocigóticas.

CONCLUSIÓN

La secuenciación por nanoporos ofrece la posibilidad de detectar regiones metiladas, a la vez que se realiza una secuenciación a menor profundidad. Esta tecnología podría usarse en los programas de mejora para incorporar información genómica y epigenómica, utilizando métodos de imputación apropiados a este tipo de secuenciación, a un coste relativamente asequible. Para ello es necesario explorar con más profundidad cómo implementar este procedimiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gonzalez-Recio, O., Toro, M.A. & Bach, A. 2015. *Front. Genet.* 6:305
- Simpson, J.T., Workman, R.E., Zuzarte, P.C., David, M., Dursi, L.J. & Timp, W. 2017. *Nat. Met.* 14: 407-410.

Agradecimientos: Los autores agradecen la colaboración de BLANCA de los Pirineos para la toma de datos y muestras.