

## (EPI)GENOTIPADO POR SECUENCIACIÓN A BAJA PROFUNDIDAD USANDO LECTURAS LARGAS DE NANOPORE BAJO UN ENFOQUE DE SELECCIÓN GENÓMICA Y EPIGENÓMICA

González-Recio<sup>1</sup>, O., López-Catalina<sup>1</sup>, A., Peiró-Pastor<sup>1</sup>, R., Nieto-Valle<sup>1,2</sup>, A., Castro<sup>1</sup>, M. y Fernández<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup>Departamento de Mejora Genética Animal, INIA-CSIC, Ctra. de la Coruña, km. 7,5, 28040, Madrid.;

<sup>2</sup>ETSIAAB-Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, 28040, Madrid

\*gonzalez.oscar@inia.csic.es

### INTRODUCCIÓN

El objetivo de este trabajo fue determinar la utilidad de la secuenciación por nanoporos a baja profundidad como alternativa a los chips de genotipado, a un coste asumible (Gilly *et al.*, 2018; Lamb *et al.*, 2021). La secuenciación por nanoporos puede además proporcionar información de la metilación de los nucleótidos, y puede ser utilizada en los programas de mejora genética y para mejorar el manejo de las poblaciones ganaderas (González-Recio, 2012). Para ello es necesario adaptar las herramientas de imputación de genotipos a secuenciación de baja profundidad, y evaluar la precisión de la secuenciación y la imputación en comparación a las herramientas habituales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se secuenciaron 32 muestras de sangre de terneras recién nacidas a una profundidad de secuenciación <2x. Se desarrolló un flujo bioinformático para determinar las variantes, las bases metiladas, realizar la imputación a genoma completo usando la población de referencia de los 1000 genomas bovinos, y calcular el valor genómico directo (VGD).

Todos los animales se genotiparon con el chip EUROG MD con ~70.000 marcadores disponibles.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los kits de secuenciación más recientes (LSK14 y Q20) lograron una precisión de secuenciación con una moda del 99,55 %, mientras que el kit anterior (LSK109) logró una precisión ligeramente inferior (99,1 %). Se consiguió una precisión de la imputación cercana al 92 %, incluso superior (95 %) con los kits más recientes. La precisión del valor genómico directo de la secuenciación a baja profundidad con LSK114 osciló entre 0,79 y 0,99, según el carácter, incluso a una profundidad de secuenciación de 2x. Una profundidad menor condujo a estimaciones sesgadas, pero aún con altas correlaciones. Los kits de secuenciación anteriores lograron precisiones más bajas (0,57-0,93). Se obtuvieron más de un millón de sitios metilados a una alta cobertura (>10x), incluso a baja profundidad de secuenciación, ubicados principalmente en regiones intergénicas distales (87 %) y promotoras (5 %). Esto es un valor añadido para incluir información epigenética en los estudios genómicos y en los programas de selección.

### CONCLUSIÓN

Este estudio mostró que la última tecnología de secuenciación por nanoporos se puede usar en un marco de secuenciación a baja profundidad para estimar valores genómicos directos con alta fiabilidad. Esto puede proporcionar ventajas en poblaciones en las que no existen chips de genotipado de SNP disponibles, no proporcionan una fiabilidad adecuada o cuando se necesita una gran densidad de marcadores con una amplia diversidad de frecuencias alélicas. Con una tendencia a un menor coste y una mayor precisión de secuenciación, el (epi)genotipado por secuenciación de nanoporos se ofrece como una alternativa de futuro.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Gilly, A., Southam, L., Suveges, D., Kuchenbaecker, K., Moore, R., Melloni, G.E.M., Hatzikotoulas, K., Farmaki, A.-E., Ritchie, G., Schwartzenuber, J., Danecek, P., Kilian, B., Pollard, M.O., Ge, X., Tsafantakis, E., Dedoussis, G., Zeggini, E. 2018. Very low-depth whole-genome sequencing in complex trait association studies. *Bioinformatics*. 35(15): 2555-2561 • González-Recio, O. 2012. Epigenetics: A new challenge in the post-genomic era of livestock. *Front Genet*. 2: 106 • Lamb, H.J., Hayes, B.J., Randhawa, I.A., Nguyen, L.T., Ross, E.M. 2021. Genomic prediction using low-coverage portable nanopore sequencing. *PLoS ONE*. 16(12): e0261274.