

## Identificación de citosinas metiladas en islas cpg de la region promotora del colágeno (col8a1) en bovinos criollos. Metodología del bisulfito de sodio y secuenciación

N. Grasso<sup>1</sup>, W. Iriarte, G. Rincón<sup>2</sup>, A. Postiglioni

<sup>1</sup>Área Genética, Departamento de Genética y Mejora Animal, Instituto de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República Oriental del Uruguay.

<sup>2</sup>Depto. Animal Breeding and Genetics. University of Davis. California.

### Introducción y objetivos

En rodeos comerciales bovinos, uno de los problemas reproductivos que producen pérdidas económicas es la sub-fertilidad. A nivel genético, una serie de genes (tejido específico) asociados a la formación de la placenta, u otros involucrados en el crecimiento y desarrollo embrionario, podrían manifestar cierta plasticidad en la expresión monoalélica embrionaria temprana.

La translocación Robertsoniana produce sub-fertilidad en razas comerciales; es portadora de genes con «*impronta genética*» y, su cromatina presenta un comportamiento similar al X inactivo de las hembras bovinas. Estas características nos permitieron seleccionar este reordenamiento para estudio de genes propios, asociados a sub-fertilidad.

El gen del colágeno tipoVIII-á<sub>1</sub> (Col8A<sub>1</sub>), está ubicado en una región proximal a este reordenamiento, habiéndose demostrado una acción diferencial de su cromatina, frente a determinados inductores clastogénicos.

El propósito de este trabajo es identificar posibles islas CpG en regiones promotoras, esperándose encontrar metilación de éstas en un tejido donde el gen tejido específico, no se expresa, como lo es la sangre.

### Materiales y Métodos

Se aisló ADN genómico de sangre periférica (extraída con EDTA) de 5 bovinos Criollos normales y 4 portadores de la rob(1;29) para posterior tratamiento con bisulfito de sodio. Mediante el análisis de secuencias «*in silico*» con software MethPrimer, se identificaron islas CpG en la región promotora del gen. Con esto se realizó el diseño de dos pares de primers (metilados y no-metilados). La secuencia obtenida se alineó utilizando el software BioEdit. Finalmente, con el software BiQ Analyzer se analizó la conversión de citosinas no-metiladas en uracilos.

### Resultados y Discusión

A partir de los resultados se observaron 37 citosinas convertidas (no-metiladas: 75,51%), 10 citosinas no convertidas (metiladas: 20,41%) y 2 alineaciones inespecíficas (4,08%). Las citosinas convertidas corresponden a citosinas aisladas dentro de la región promotora. Las citosinas no convertidas ocupan la totalidad de aquellas que integran las islas CpG. Las islas CpG, no respondieron a la acción del bisulfito, por estar metiladas. A partir de ello, se logró establecer un patrón diferencial de metilación de citosinas, en este caso para la región promotora de un gen, situado en la región proximal al reordenamiento de la rob(1;29).

Se demuestra la eficiencia de la metodología para observar una represión transcripcional a través de la metilación del ADN. Este método puede ser utilizado para diversos tejidos, en especial fibroblastos, semen, embriones tempranos.

### Referencias

- ARTIGAS y COL. 2010. Resarch Veterinary Science 88, 263–266. Bock y col., 2005. Bioinformatics 21(21), 4067-8.  
LI Y DAHIYA. 2002 Bioinformatics 18(11), 1427-31.