

## CARACTERIZACIÓN DEL GEN *HAIRLESS*, CANDIDATO PARA EL FENOTIPO LAMPIÑO CARACTERÍSTICO DE UNA VARIEDAD DE CERDOS IBÉRICOS

Ana I. Fernández, Luís Silió y Cristina Óvilo

Departamento de Mejora Genética Animal. SGIT-INIA. Madrid

El crecimiento del pelo implica tres fases: crecimiento, regresión y reposo, donde múltiples genes e interacciones génicas permiten el normal desarrollo del mismo. Uno de los genes más estudiados es el denominado *hairless*, ya que ha sido asociado en numerosas ocasiones con la ausencia de pelo en humanos, roedores e incluso en ovinos (Cichon y col., 1998; Kim y col., 2004; Finocchiaro y col., 2003). El gen *hairless* codifica para una proteína que actúa como correpressor transcripcional de los receptores de hormona tiroidea, cuya función correpresora parece jugar un importante papel en el mantenimiento del balance entre proliferación celular, diferenciación y apoptosis del folículo piloso y de la epidermis interfolicular (Ahmad y col., 1999).

El fenotipo lampiño en cerdo es poco frecuente, sin embargo existen algunas variedades porcinas lampiñas conocidas como son el Pelón mejicano o el Kopia lampiño procedentes de Méjico/Yucatan, y la isla Tanna, respectivamente. Dentro de la raza Ibérica también existe una variedad caracterizada por la ausencia de pelo en su capa, denominada Negro lampiño. Los animales pertenecientes a esta variedad carecen prácticamente en su totalidad de pelo, presentan un color de capa negro y sin embargo no parecen presentar ningún otro desorden asociado a esta característica. En el presente estudio se ha analizado el gen *hairless* como candidato para el determinismo genético de este fenotipo.

El gen *hairless* porcino no ha sido analizado previamente excepto un estudio previo llevado a cabo por nuestro grupo donde se estableció su localización genética en el cromosoma 14 porcino (Fernández y col., 2003). La caracterización del gen se ha realizado a nivel de ARN, ya que como referencia, tanto en humano como en roedores, el gen está constituido por 19 exones y su principal transcrito abarca alrededor de 5000 bases. Muestras de piel procedente de cerdos lampiños representados por la línea Guadyervas, así como de jabalí y de cerdos con pelo de las razas Duroc y Meishan fueron recogidas en nitrógeno líquido y almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ . La extracción del ARN se llevo a cabo utilizando el reactivo TRI-Reagent (Sigma) y la síntesis del ADN copia mediante una retrotranscripción (Superscript –Invitrogen). Para la amplificación y secuenciación del mensajero porcino se diseñaron parejas de oligonucleótidos a partir de las secuencias disponibles en humano, ratón y rata, partiendo de aquellas regiones que presentaron mayor similitud entre especies. La amplificación y caracterización de los extremos 5' y 3' del mensajero se realizó mediante el empleo de la metodología RACE (SMART RACE, Clontech). Un total de 5098 pb han sido secuenciadas hasta el momento, incluyendo la región codificante completa del gen y los extremos del mensajero. Por comparación con la secuencia humana hemos determinado la presencia de 19 exones en el mensajero porcino con una similitud del 87% con la secuencia nucleotídica humana. El transcrito porcino codificaría para una proteína de 1175 aminoácidos con una similitud del 79% con la secuencia aminoacídica humana. Además se ha realizado el mapeo físico del gen utilizando un panel de células somáticas híbridas irradiadas (ImpRH-INRA, Toulouse), confirmado su posición en el extremo del brazo largo del cromosoma 14, con una fracción de retención del 27% y en el mismo grupo de ligamiento que el microsatélite sw857 (LOD score 20.34).

Se llevó a cabo la edición y comparación de las secuencias nucleotídicas obtenidas para los cuatro animales analizados (Guadyervas, Jabalí, Duroc y Meishan) utilizando el programa WinStar con el objetivo de identificar la mutación causal del fenotipo lampiño. En total se han identificado 14 polimorfismos de tipo SNP, nueve de los cuales aparecen en la región codificante del gen y de éstos, cinco provocan cambio aminoacídico en la secuencia de la proteína (Leu26Pro, Pro32Ser, Lys94Arg, His118Arg, Asp1175Asn). Sin embargo ninguno de los SNPs detectados hasta el momento es exclusivo y está en homocigosis en Guadyervas, como cabría esperar de la mutación responsable de este fenotipo. Por tanto, descartamos la posibilidad de la existencia de mutaciones estructurales en el ADN copia del gen como responsables del fenotipo lampiño característico de la línea Guadyervas.

Por otro lado, según los resultados obtenidos empleando la metodología RACE, parecen existir dos transcritos diferentes en porcino, uno de ellos implicaría la presencia de los exones 1 y 2 completos, mientras que otro carecería del exón 1 y de parte del 2, modificando el inicio de la traducción. Sin embargo estos resultados requieren su confirmación empleando una metodología diferente para el análisis de transcritos (ej. Northern blot). Por otra parte, la comparación de la expresión de los diferentes transcritos en animales con y sin pelo podría ayudar a identificar la potencial implicación de mutaciones reguladoras del gen *hairless* sobre este carácter.

Agradecimientos:

Agradecemos al doctor D. Milan el suministro del panel ImpRH y a Jordi Estellé la ayuda prestada durante el mapeo físico del gen.

Referencias:

- Ahmad W., Haque MF., Brancolini V., Tsou HC., Haque S., Lam H., Aita VM., Owen J. y col. 1998. Alopecia universalis associated with a mutation in the human hairless gene. *Science* 219, 720-724.
- Cichon S., Anker M., Vogt I., Rohleder H., Putzstuck M. y col. 1998. Cloning, genomic organization, alternative transcripts and mutational analysis of the gene responsible for autosomal recessive universal congenital alopecia. *Hum. Mol. Gen.* 7(11), 1671-1679.
- Fernández A., Silió L., Noguera JL., Sánchez A., Óvilo C. 2003. Linkage mapping of the porcine hairless gene (HR) to chromosome 14. *Animal Genetics* 34(4), 317-318.
- Finocchiaro R., Portolano B., Damián G., Caroli A., Budelli E., Bolla P., Pagnacco G. 2003. The hairless (hr) gene is involved in the congenital hypotrichosis of Valle del Belice sheep. *Genet. Sel. Evol.* 34, 147-156.
- Kim H., Panteleyev AA., Jahoda CAB., Ishii Y., Christiano AM. 2004. Genomic organization and analysis of hairless gene in four hypotrichotic rat stains. *Mamm. Genome* 15, 975-981.