

Análisis transcriptómico en el hígado de dos líneas de conejo seleccionadas divergentemente por su contenido de grasa intramuscular

Jesús Valdés-Hernández¹, Agostina Zubiri-Gaitán¹, Marina Martínez-Álvaro¹, Agustín Blasco¹, Pilar Hernández^{1*}

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología Animal (ICTA), Universitat Politècnica de València, 46022 València, España

* Corresponding autor: phernan@dca.upv.es

Resumen

El contenido de grasa intramuscular (GIM) es un carácter poligénico crucial para determinar la calidad de la carne. En la Universitat Politècnica de València se ha realizado un experimento de selección divergente por GIM del músculo *Longissimus thoracis et Lumborum* en conejos a las 9 semanas de edad. En conejos en crecimiento, el hígado es el tejido con mayor actividad lipogénica y por tanto se espera que haya jugado un papel importante en la diferenciación de las líneas. En este trabajo el objetivo fue identificar genes expresados diferencialmente (ED) en el hígado de dos líneas divergentes (líneas alta y baja), y estudiar aquellos genes que modulan la deposición de grasa. Se utilizó un total de 48 conejos (balanceados por sexo y línea) pertenecientes a la novena generación de selección divergente por GIM. Los niveles de expresión génica del hígado se determinaron mediante el método 3' RNA-Seq, el cual implica la amplificación del extremo 3' del ARN mensajero. La secuenciación de librerías se realizó en la plataforma Illumina NovaSeq X (2 × 150 bp paired-end con un promedio de 5 millones de reads/muestra). El análisis de los datos de secuenciación se realizó utilizando un pipeline bioinformático desarrollado *in-house*, las secuencias obtenidas fueron finalmente alineadas sobre el genoma de referencia del conejo (UM_NZW_1.0, RefSeq GCF_009806435.1) disponible en el NCBI. La matriz de counts obtenida (36775 genes) fue utilizada para el estudio de expresión diferencial de los genes del organismo vía modelo binomial negativo usando el paquete DESeq2. Subsecuentemente, llevamos a cabo un análisis de genes reguladores (factores de transcripción) y predicción de sus genes dianas putativos usando el paquete RegEnrich, así como un análisis funcional basado en términos de ontología génica (TOG) y pathways usando el plug-in ClueGO. Nuestros resultados indicaron un total de 551 genes ED (cutoff de fold change = 1.5 y BH $P_{adj} \leq 0.05$) entre las líneas divergentes, de los cuales 235 mostraron un incremento de expresión y 316 una disminución de la expresión en línea alta comparada con la baja. Entre ellos, detectamos genes candidatos asociados a la lipólisis, lipogénesis, adipogénesis, betaoxidación de ácidos grasos, biosíntesis de ácidos grasos, transporte de lípidos y secreción de ácidos biliares (por ejemplo, *ALOXE3*, *ANKRD1*, *ARSI*, *ACAD10*, *CPT1B*, *CROT*, *CUBN*, *CYP4A6*, *ELOVL6*, *FABP4*, *FITM1*, *GCKR*, *GGT1*, *HADHB*, *PLIN2*, *PPP1R3B*, *SLC44A4*, *SLC51A*, *SLC51B*). También se identificó un total de 12 factores de transcripción ED (*BACH2*, *BAZ2A*, *BHLHE22*, *CREB5*, *ETV1*, *IKZF3*, *NFKB2*, *NR4A1*, *NR4A2*, *RAB11FIP4*, *TAL2*, *ZFP57*) asociados a la regulación de la expresión en el hígado. Entre ellos, *BAZ2A* exhibió una diana (*LOC100134865*) con un peso superior al 5%, basado en un *weighted correlation network análisis* (WGCNA). *ETV1* y *NR4A1* fueron los reguladores con el mayor número de dianas predichas, incluyendo genes candidatos del metabolismo lipídico (por ejemplo, *FABP4*, *PLIN2*, *SLC44A4*), aunque con pesos menores al 5%. Asimismo, el análisis funcional de los genes ED identificó 10 TOG (8 procesos biológicos y 2 funciones moleculares) y 28 pathways sobrerrepresentados (BH $P_{adj} \leq 0.05$), entre los cuales se detectó la "*peroxisome proliferator-activated receptor signaling (PPAR)*, *fatty acid elongation*, *fatty acid degradation*, *biosynthesis of unsaturated fatty acids*, *arachidonic and retinol metabolism*". En resumen, nuestros resultados revelaron 551 genes ED entre las líneas, entre los cuales se identificaron 12 factores de transcripción que pueden modular la expresión génica en hígado. La predicción de dianas putativas sugirió múltiples dianas en cada factor de transcripción, incluyendo algunas dianas involucradas en el metabolismo lipídico. Asimismo, el análisis funcional indicó varios bioprocesos y vías metabólicas asociadas al metabolismo de los lípidos y deposición de grasas.

Keywords: Metabolismo lipídico hepático; Deposición de grasa; Expresión génica en hígado; 3' Tag-Seq; Conejos.