

Comparación de los perfiles genómicos de metilación de la glándula mamaria de cabras Murciano-Granadinas lactantes y secas

A. Noce¹, M.G. Luigi-Sierra¹, A. Martínez², M. Wang¹, M. Macri², J.V. Delgado², J. Fernández Álvarez^{2,3}, A.A.K. Salama⁴, X. Such⁴, J. Jordana⁴ & M. Amills^{1,4*}

¹Centre de Recerca Agrigenòmica (CRAG), CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193, España.

²Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Córdoba 14071, España.

³Asociación Nacional de Criadores de Caprino de Raza Murciano-Granadina (CAPRIGRAN), Cortijo Peinado. 18340 Fuente Vaqueros, Granada, España.

⁴Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193, España.

* Autor de correspondencia: marcel.amills@uab.cat

Resumen

La metilación del ADN desempeña un papel crucial en la regulación génica. Mientras que la hipometilación se asocia típicamente con la activación génica, la hipermetilación está relacionada con la represión de la expresión génica. En este estudio, hemos investigado la relación existente entre los patrones de metilación de la glándula mamaria caprina y la lactación. Para ello, obtuvimos muestras de glándula mamaria de cabras lactantes (N=5) y secas (N=5) alojadas en las instalaciones del *Servei de Granges i Camps Experimentals* de la UAB. El ADN se purificó y se prepararon las correspondientes librerías mediante el *NEBNext Enzymatic Methyl-seq Kit*. La secuenciación se llevó a cabo con un instrumento *NovaSeq 6000* (Illumina), obteniéndose entre 570 y 870 millones de lecturas (2 × 150 pb) por muestra. Realizamos controles de calidad de los datos de secuencia con FASTQC y eliminamos adaptadores y lecturas de baja calidad con Trimalore-0.6.6. Además, eliminamos lecturas duplicadas con PICARD. Alineamos las secuencias con el genoma de referencia caprino ARS1 utilizando BWA-METH, obteniéndose una tasa de alineamiento del 97%. La identificación de sitios de metilación a nivel de genoma completo se realizó con el programa Methyldankler, mientras que la comparación de perfiles de regiones metiladas entre glándulas mamarías lactantes y secas se llevó a cabo con el paquete R MethylSign. En la glándula mamaria lactante, identificamos 1.926 regiones hipometiladas y 166 regiones hipermetiladas. Mediante el algoritmo *methSeg* agrupamos los segmentos genómicos que contienen motivos CpGs con niveles de metilación similares. Mediante esta metodología, identificamos 54 segmentos hipometilados y 15 segmentos hipermetilados en las cabras lactantes. La anotación de estos segmentos reveló que los segmentos hipometilados se distribuyen sobre todo en regiones promotoras (87.04%), y de forma más minoritaria en regiones 3'UTR (3.7%), primer exón (1.85%), primer intrón (5.56%) y zonas intergenicas distales (1.85%). En cambio, los segmentos hipermetilados se hallaron exclusivamente en las regiones promotoras. Los genes localizados en regiones hipometiladas estuvieron relacionados con rutas metabólicas y síntesis de ácidos grasos, rutas típicamente activadas durante la síntesis de leche en la glándula mamaria. Por otro lado, los genes situados en regiones hipermetiladas estuvieron involucrados en la esteroidogénesis ovárica y la síntesis de hormonas de la reproducción. En conclusión, estos resultados demuestran que la metilación del ADN está involucrada en la regulación de la lactación en la cabra doméstica. La integración de estos resultados de metiloma con datos ATAC-Seq y RNA-Seq proporcionarán información valiosa sobre los mecanismos de regulación génica asociados a la síntesis de leche en la especie caprina.

Keywords: Methyl-Seq, glándula mamaria, cabra, regulación génica.