

Efecto regulador de una mutación distal en la expresión hepática del gen *CRP* en cerdo

Carles Hernández-Banqué^{1*}, Teodor Jové-Juncà¹, Alba Chofre¹, Josep M. Folch^{2,3}, Olga González-Rodríguez¹, Raquel Quintanilla¹, Maria Ballester¹

¹ Programa de Genética y Mejora Animal, IRTA, Torre Marimon, 08140, Caldes de Montbui.

² Genómica de Plantas y Animales, CRAG, Consorcio CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus UAB, 08193, Bellaterra.

³ Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, UAB, 08193 Bellaterra.

* Corresponding author: carles.hernandez@irta.cat

Resumen

La proteína C-reativa (PCR) es una de las principales proteínas de fase aguda, implicadas en diversos procesos inmunitarios. El objetivo principal de este estudio fue identificar regiones genéticas y variantes que regulan la expresión del gen *C-reactive protein (CRP)* y sus niveles plasmáticos en cerdos. El estudio forma parte del proyecto METAPIGSEL, que investiga la base genética del inmunometabolismo porcino, con el fin de identificar variantes genéticas funcionales que permitan mejorar la inmunocompetencia sin afectar a los caracteres productivos.

Se cuantificaron los niveles plasmáticos de PCR mediante ELISA en una población comercial de 432 cerdos Duroc sanos. Se determinó el genotipo de toda la población mediante el panel GGP Porcine HD Array y se realizó un GWAS con los niveles de PCR mediante la herramienta fastGWA de GCTA. Además, se obtuvieron secuencias del genoma completo de un subconjunto de 100 animales de esta población, así como de 100 cerdos Landrace y 100 cerdos Large-White. En los tres grupos de 100 cerdos se cuantificaron los niveles de expresión hepática del gen *CRP* utilizando datos de RNA-Seq, y se realizó un eGWAS con dicha expresión. Finalmente, se realizaron ensayos de luciferasa, mutagénesis dirigida y experimentos de interferencia de ARN para validar la función de los SNP asociados a la abundancia de la proteína en plasma y a la expresión del gen *CRP*.

El estudio de asociación reveló una región asociada con los niveles séricos de PCR en el cromosoma SSC4 (90,54-90,80 Mb), solapando con la región genómica del gen *CRP*. Se caracterizó la región promotora del *CRP* porcino, observándose una elevada conservación respecto a los promotores del gen homólogo en bovino y humano, incluyendo secuencias de unión a factores de transcripción necesarios para la expresión del gen. Asimismo, se identificó un eQTL fuertemente asociado con la expresión del *CRP*, localizado 39,3 kb aguas arriba de dicho gen. El SNP más asociado (rs713631040) se localiza en una región reguladora enhancer, y forma parte de la secuencia de unión para el factor de transcripción *HNF4a*. Los ensayos de luciferasa utilizando constructos que contenían haplotipos alternativos de las regiones promotora y enhancer del *CRP* demostraron una interacción funcional entre ambas regiones, afectando significativamente a la actividad de la luciferasa. La mutagénesis dirigida del SNP rs713631040, que altera la unión del *HNF4a*, disminuyó significativamente dicha actividad. Estos resultados concuerdan con la correlación entre la expresión hepática de los genes *CRP* y *HNF4a*. Finalmente, los ensayos de interferencia de ARN dirigidos a inhibir la expresión del gen *HNF4a* también provocaron una disminución de la actividad de la luciferasa en los constructos que contenían el alelo que permite la unión de este factor de transcripción, respaldando el papel regulador del *HNF4a* en la expresión del gen *CRP* porcino. Estos resultados mejoran la comprensión de los mecanismos que rigen la expresión hepática del *CRP* y demuestran la relevancia funcional del SNP rs713631040. Todo ello señala dicho SNP como un marcador de los niveles plasmáticos de esta proteína de fase aguda implicada en la inmunidad.

Keywords: Proteína C-reativa; Cerdos; SNP; Luciferasa; *HNF4a*; eGWAS; Enhancer.

Agradecimientos Este estudio ha sido financiado por la subvención PID2023-148961OB-C21 concedida por MCIN/AEI/<https://doi.org/10.13039/501100011033>. C. Hernández ha sido financiado con una beca FPI (PRE2021-097825). A. Chofre ha sido financiado con una beca FPI (PREP2023-001728).