

## VARIABILIDAD EN GENES MICRORNA PORCINOS Y SU ASOCIACIÓN CON FENOTIPOS DE EXPRESIÓN DE ARN MENSAJERO

Mármol-Sánchez<sup>1</sup>, E., Luigi-Sierra<sup>1</sup>, M.G., Castelló<sup>1,4</sup>, A., Guan<sup>1</sup>, D., Quintanilla<sup>2</sup>, R., Tonda<sup>3</sup>, R. y Amills<sup>1,4</sup>, M.

<sup>1</sup>Centre de Recerca Agrigenòmica (CRAG), CSIC-IRTA-UAB-UB. <sup>2</sup>Animal Breeding and Genetics Program, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). <sup>3</sup>CNAG-CRG, Centre for Genomic Regulation (CRG), Spain. <sup>4</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona; Marcel.Amills@uab.cat

### INTRODUCCIÓN

Los microRNAs (miRNAs) regulan la expresión de un amplio rango de transcritos codificantes (mRNA). En porcino, la variabilidad de los genes miRNA y su efecto sobre la expresión génica y la variación fenotípica no se han estudiado en profundidad.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron 120 secuencias genómicas de cerdos y jabalíes europeos y asiáticos. La detección de polimorfismos nucleotídicos sencillos (SNPs) en genes miRNA se llevó a cabo con el software GATK (McKenna *et al.*, 2010). Además, se analizó la densidad de SNPs en genes miRNA (*seed*, miRNA maduro y precursor), y en sus regiones flanqueantes. Por otra parte, se realizó la secuenciación de los genomas de 5 verracos Duroc, fundadores de una población comercial (Lipgen) constituida por 345 descendientes. Mediante dicho experimento, se identificaron 15 SNPs en genes miRNA que fueron genotipados en 87-89 descendientes con datos microarray de expresión génica hepática y muscular. Los análisis de asociación entre SNPs genotipados y datos de expresión génica de mRNAs diana (evidencia bioinformática y experimental) se llevaron a cabo mediante el software GEMMA (Zhou y Stephens, 2012). También se llevaron a cabo experimentos de confirmación de la asociación entre genotipos miRNA y niveles de expresión de mRNAs mediante PCR cuantitativa a tiempo real.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De un total de 58,5 millones de SNPs detectados en las 120 secuencias genómicas porcinas, sólo 285 SNPs estuvieron localizados en genes miRNA (N = 370), y la mayoría de miRNAs (76,98%) sólo presentaron 1-2 SNPs. El análisis de componentes principales (PCA) permitió detectar una clara diferenciación entre poblaciones europeas y asiáticas, y no tanto entre razas domésticas y jabalíes. La densidad de SNPs fue significativamente menor en la *seed* respecto a otras regiones del miRNA maduro o en sus secuencias flanqueantes, lo que denota que los genes miRNA porcinos están sometidos a una fuerte selección purificadora (Omariba *et al.*, 2020). Del conjunto de 15 SNPs en miRNAs genotipados en la población Lipgen (N = 345), sólo 3 de ellos mostraron asociaciones significativas con datos de expresión de mRNAs diana. Por ejemplo, el SNP rs319154814 (G>A) en el bucle apical del gen ssc-miR-326 mostró asociación significativa con la reducción de la expresión del mRNA *PPP1CC* (*P*-value = 0.027), lo que se confirmó mediante RT-qPCR. Asimismo, los cerdos Duroc con genotipo AA para rs319154814 mostraron un incremento de la expresión de ssc-miR-326, aunque no de forma significativa (*P*-value = 0.178). Dicho incremento podría deberse a un cambio en la conformación estructural de ssc-miR-326, lo que modificaría el proceso de maduración del precursor del miRNA (Fernandez *et al.*, 2017). Se observaron, en cambio, muy pocas asociaciones entre un SNP localizado en la *seed* del miRNA ssc-miR-9792-5p y datos de expresión de sus mRNAs diana.

### CONCLUSIONES

Los genes miRNA porcinos poseen bajos niveles de variabilidad, y muy especialmente en la región *seed* que determina la unión del miRNA a sus mRNAs diana. A pesar de ello, el genotipado de SNPs en genes miRNA en la población Lipgen reveló que el que presenta asociaciones más significativas con datos de expresión génica está situado fuera de la *seed*, en una región precursora.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fernandez, N. 2017. Nat Comm. 8: 1-12.
- McKenna, A. 2010. Genome Res. 20: 1297-303.
- Omariba, G. 2020. Sci. Rep. 10: 1-9.
- Zhou, X. 2012. Nat. Genet. 44: 821-4.

**Agradecimientos:** Esta investigación se financió parcialmente con los proyectos AGL2013-48742-C2-1-R y AGL2013-48742-C2-2-R concedidos por el Ministerio de Economía y Competitividad.