



Relación entre aspectos estructurales y dinámicos en la arquitectura del genoma del mono caí de las Yungas *Sapajus cay*

Fiona Puntieri¹, Nancy Andrioli², Lucia Fantini³, Nora Gorla^{4,6}, Mariela Nieves^{5,6}

539/121

¹ RG Development & Disease, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Alemania. ² Grupo de Investigación en Biología Evolutiva, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, IEGEBA, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, CABA, Buenos Aires, Argentina. ³ Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Arturo Jauretche, Florencio Varela, Buenos Aires, Argentina. ⁴ Laboratorio de Genética, Ambiente y Reproducción GenAR, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina. ⁵ Centro de Investigación en Reproducción Humana y Experimental (CIRHE)-CEMIC Saavedra. Unidad Asociada CONICET, CABA, Buenos Aires, Argentina. ⁶ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina (CONICET).

La estructura del DNA se conoce desde hace más de 60 años y, sin embargo, la organización de la información genética en el núcleo presenta aún interrogantes. Esto aplica particularmente para primates neotropicales (Platyrrhini) dada la escasez de información sobre la estructura de su genoma y su vinculación con la funcionalidad cromosómica (Wienberg, 2005).

En este sentido, un abordaje que incluya la identificación de factores relacionados a la conservación y estabilidad diferencial del genoma, favorece la comprensión de los procesos que dan lugar a reordenamientos cromosómicos de relevancia, por ejemplo, en biomedicina y biología evolutiva (Liu et al., 2006; Robinson & Ruiz-Herrera, 2010).

Se estudiaron 6 individuos (4 machos y 2 hembras) de *Sapajus cay*. Se recolectaron muestras de biopsia de tejido subepidérmico de muslo y muestras de sangre, con las que se realizaron cultivos de fibroblastos y linfoblastos, respectivamente. Posteriormente, se obtuvieron células mitóticas en metafase, a las cuales se les aplicó dos técnicas citogenéticas:

- ❖ La técnica de Zoo-FISH utilizando 12 sondas de pintado total de humano, incluidos los cromosomas involucrados en las sintenias 3/21, 10/16 y 14/15 (Fig. 1). Se siguió el protocolo detallado en Fantini et al. (2016) con modificaciones.
- ❖ La técnica de bandas G-Wright (García Haro, 2001) junto con la técnica de *Fluorescence Plus Giemsa* (modificada de Perry & Wolf, 1974) de manera secuencial (BG-FPG). Se cuantificó el número de ICHs por célula y por par cromosómico, considerando regiones conservadas y reordenadas evolutivamente. Adicionalmente, se analizó la frecuencia de ICHs en los distintos tipos de cromatina (eucromatina, heterocromatina y límite entre ambas; Fig. 1). El tratamiento estadístico de las frecuencias de ICHs se realizó aplicando un modelo lineal generalizado.

Objetivo

Explorar la relación entre la estructura y la dinámica cromosómica en la arquitectura del genoma de *Sapajus cay* (Cebidae, Platyrrhini) respecto a dos variables: **1.** El grado de conservación genómica utilizando Zoo-FISH, **2.** La estabilidad genómica empleando el biomarcador de inestabilidad ICH (Intercambio de Cromátides Hermanas).

RESULTADOS

Conservación genómica

Se confirmó la conservación de las sintenias 12/13, 10/16 y 14/15 (Fig. 2 A, B y D), y la ruptura de la sintenia 3/21 (Fig. 2C). Asimismo, se observó que los pares cromosómicos de *Sapajus cay* con heterocromatina extracentromérica muestran un grado de conservación eucromática elevado (4, 6, 12, 17 y 19, Figs. 1 y 2).

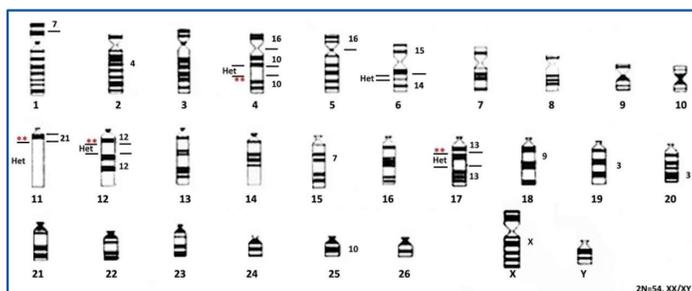


Figura 1. Ideograma con bandas G de *Sapajus cay* donde se ilustran los bloques de heterocromatina (Het) y la localización cromosómica de las sondas de humano homeólogas a cromosomas de *S. cay*. Los asteriscos denotan la localización de los ICHs que se observaron en mayor frecuencia.

El análisis estadístico basado en el modelo lineal generalizado mostró que en las bandas con regiones conservadas del cariotipo de *S. cay* la probabilidad de ocurrencia de ICHs es mayor, así como también lo es en los límites entre eucromatina y heterocromatina en todos los pares cromosómicos con heterocromatina extracentromérica (Fig. 4, Tabla 1). En particular para el límite entre eucromatina y heterocromatina, el incremento en la tasa de ICH fue del 2,17 respecto a la tasa de ICH en las regiones eucromáticas (Tabla 1).

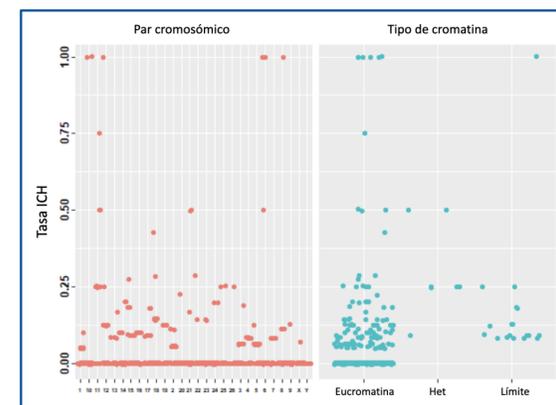


Figura 4. Distribución de la tasa de ICH por par cromosómico y por tipo de cromatina: eucromatina, heterocromatina (Het) y límite entre ambas.

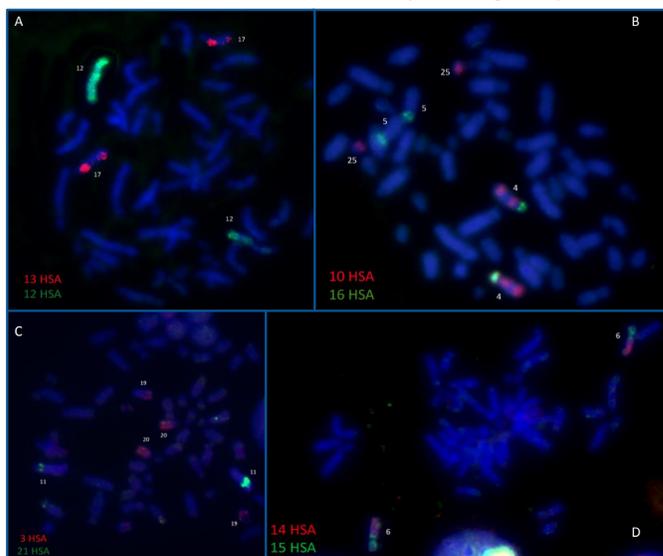


Figura 2. Zoo-FISH utilizando sondas de cromosoma completo de humano (HSA) sobre cromosomas de *Sapajus cay* (numerados en blanco). Señales de hibridación de sondas HSA 12 & 13 (A), 10 & 16 (B), 3 & 21 (C), 14 & 15 (D).

Estabilidad genómica

Respecto al biomarcador de inestabilidad, todos los individuos analizados mostraron una frecuencia promedio de ICH/célula de 6,00. Particularmente en los pares cromosómicos # 4, 11, 12 y 17 se observó una frecuencia de ICHs elevada respecto del genoma total (Fig. 3).

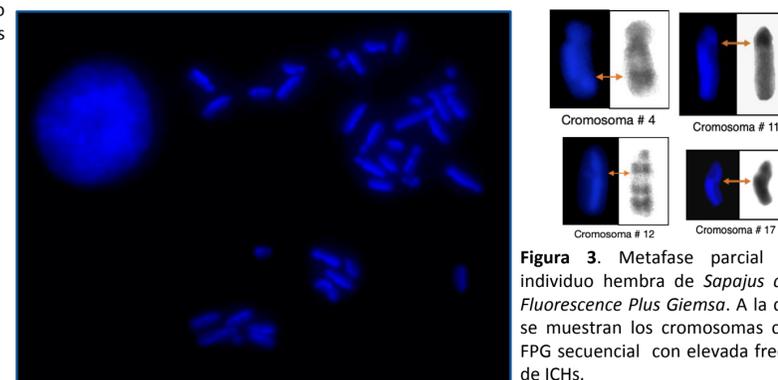


Figura 3. Metafase parcial de un individuo hembra de *Sapajus cay* con *Fluorescence Plus Giemsa*. A la derecha se muestran los cromosomas con BG-FPG secuencial con elevada frecuencia de ICHs.

Tipo de cromatina	Coficiente	p-valor
Heterocromatina	1.99765	0.000143 ***
Límite	2.17486	4.14e-08 ***

Tabla 1. Estadísticos del modelo lineal generalizado asumiendo una distribución de Poisson aplicado a los tipos de cromatina: heterocromatina y límite entre eucromatina y heterocromatina. Los coeficientes indican el incremento de la tasa de ICH relativizado a la eucromatina.

DISCUSIÓN

- ❖ El genoma de *Sapajus cay* mostró una inestabilidad global considerablemente baja respecto de otras especies de primates neotropicales previamente estudiadas (Puntieri et al., 2018).
- ❖ El biomarcador de inestabilidad ICH se evidenció mayoritariamente en regiones conservadas y se observó una inestabilidad diferencial entre los distintos tipos de cromatina (Fig.4).
- ❖ La baja inestabilidad genómica de *S. cay* puede ser explicada por la gran proporción de heterocromatina (aproximadamente un 13% de su genoma) (Dutrillaux et al., 1984), la cual podría presentar un rol estabilizador que influye no sólo en el proceso de compactación de la cromatina sino también en la protección frente a los daños endógenos que pueden afectar al genoma (Fantini, 2015).
- ❖ La estabilidad genómica evidenciada principalmente en los cromosomas con heterocromatina es consistente con el grado de conservación genómica elevado en dichos pares, de acuerdo con los resultados de Zoo-FISH.

Referencias

- Dutrillaux B, Martine Mulleris & Mafía Paravatou-Petsota. (1984). *Mutation Res.* 126: 81-92.
 Fantini L. (2015). Tesis de doctorado. Universidad de Buenos Aires.
 Fantini L, Jeffery NW, Pierossi P, Gregory TR, Nieves M. (2016). *Biological Journal of the Linnean Society.* Vol. 118, 752-762.
 García Haro F. (2001). Disertación PhD. Universidad Autónoma de Barcelona, España.
 Liu W, Yu S, Chen G, Li Y. (2006). *Acta Genetica Sinica.* Vol. 33, 381-390.
 Perry P & Wolff S. (1974). *Nature.* Vol. 251, 156-158.
 Puntieri F, Andrioli N B, Nieves M. (2018). *Genome biology and evolution,* 10(7), 1647-1656.
 Robinson TJ & Ruiz-Herrera A. (2010). *Evolutionary Biology—Concepts, Molecular and Morphological Evolution.* 143-158.
 Wienberg J. (2005). *Cytogenetic and genome research,* 108(1-3), 139-160.