

Charla

Análisis por epigenómica comparativa de elementos cis-reguladores conservados y activos durante el estado filotípico de vertebrados



Tena JJ (1), González-Aguilera C (1), Fernández-Miñán A (1), Vázquez-Marín J (1), Parra-Acero H (1), Cross JW (2), Rigby PWJ (2), Carvajal JJ (1, 2), Wittbrodt J (3), Gómez-Skarmeta JL (1), Martínez-Morales JR (1)

1. Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CSIC/UPO/JA), 41013 Sevilla, Spain.
2. Division of Cancer Biology, The Institute of Cancer Research, London SW3 6JB, UK.
3. Centre for Organismal Studies, COS, University of Heidelberg, 69120 Heidelberg, Germany.

Palabras clave: elementos cis-reguladores; estado filotípico; SPARRs; teleósteos

RESUMEN

Motivación: Determinar qué fase del desarrollo es más resistente a los cambios evolutivos, y por tanto, está más conservada entre los vertebrados ha sido objeto de debate desde hace años. Existen dos propuestas: el modelo del embudo, que propone que la mayor conservación fenotípica se da durante las etapas más tempranas del desarrollo, y el modelo del reloj de arena, que la establece en el estado filotípico, una etapa intermedia. Aunque se ha demostrado que las formulaciones de éste último son ciertas desde el punto de vista morfológico, la controversia persiste a nivel molecular. El propósito de este proyecto es contribuir a resolver este debate mediante un estudio transcriptómico y epigenómico comparativo en peces cebra y medaka, dos especies separadas evolutivamente varios millones de años.

Métodos: Se ha realizado un experimento de RNA-seq de embriones de medaka de 48 hpf (horas post-fertilización) para analizar su transcriptoma y compararlo con el de peces cebra de 24 hpf durante la fase filotípica. También se han llevado a cabo experimentos de ChIP-seq para identificar enhancers conservados y activos en ambas especies durante esa etapa del desarrollo (SPARRs). Se han realizado experimentos de transgénesis por inyección en embriones de pez cebra y medaka en estadio de una célula, transformándolos con plásmidos ZED y SED, respectivamente. Estos vectores contienen algunos de los SPARRs identificados, que se han clonado para controlar la expresión específica de tejido de un gen reportero, con el objetivo de averiguar si su patrón de expresión asociado se conserva en ambas especies.

Resultados: El análisis transcriptómico comparativo ha determinado un nivel de expresión similar en la mayoría de genes, exceptuando los que son específicos de tejidos que se desarrollan heterocrónicamente, como el músculo y el tejido nervioso. El estudio epigenómico ha permitido identificar unos 700 SPARRs en ambas especies, que en su mayoría controlan el nivel de expresión de factores de transcripción importantes en el desarrollo, y el experimento de transgénesis ha demostrado que el perfil de actividad de los SPARRs examinados está conservado.

Conclusiones: La alta similitud morfológica que caracteriza a embriones de distintas especies de vertebrados en el estado filotípico no sólo se debe a una alta conservación de genes específicos de desarrollo, sino a una conservación de toda la estructura genética de regulación subyacente, que permanece activa en dicha etapa.

BIBLIOGRAFIA

- Bessa J, Tena JJ, de la Calle-Mustienes E, Fernandez-Minan A, Naranjo S, et al. (2009) Zebrafish enhancer detection (ZED) vector: a new tool to facilitate transgenesis and the functional analysis of cis-regulatory regions in zebrafish. *Dev Dyn* 238: 2409–2417.
- Bogdanovic O, Fernandez-Minan A, Tena JJ, de la Calle-Mustienes E, Hidalgo C, van Kruysbergen I, van Heeringen SJ, Veenstra GJ, Gomez-Skarmeta JL. (2012) Dynamics of enhancer chromatin signatures mark the transition from pluripotency to cell specification during embryogenesis. *Genome Res* 22(10): 2043–2053.
- Collins JE, White S, Searle SM, Stemple DL. (2012) Incorporating RNA-seq data into the zebrafish Ensembl genebuild. *Genome Res* 22(10): 2067–2078.