

Epimarcas do cromossomo B de *Astatotilapia latifasciata* e causas e efeitos deste elemento na expressão de genes da maquinaria de metilação do DNA

Cardoso, A.L.¹; Fantinatti, B.E.A.¹; Venturelli, N.B.¹; Carmello, B.O.¹;
Oliveira, R.A.²; Martins, C.¹

Abstract/Resumo

Cromossomos supernumerários são polimorfismos numéricos frequentemente registrados em eucariotos, sendo que seus efeitos são pouco elucidados. Em alguns indivíduos da espécie *Astatotilapia latifasciata* pode-se identificar um ou dois isocromossomos B, que são totalmente heterocromáticos. Em vista de compreender sua origem, evolução e efeitos, este elemento vem sendo largamente explorado por técnicas integradas de citogenética, biologia molecular e genômica. Dados prévios revelam seus efeitos na expressão de diversas classes de RNAs canônicos. É possível que estes efeitos sejam consequências de alterações epigenéticas, semelhante ao que ocorre em aneuploidias. Assim, o objetivo deste estudo foi identificar o padrão de epimarcas do DNA no cromossomo B de *A. latifasciata* e as causas e efeitos deste cromossomo na expressão de genes da maquinaria de metilação do DNA (*Dnmt1*, *Dnmt3a*, *Dnmt3b*, *Tet1*, *Tet2*, *Tet3* e *Tdg*). Para isso, foram empregadas técnicas de imunocitogenética usando-se anticorpos contra metilcitosina (5mC) e hidroximetilcitosina (5hmC) em cromossomos metafásicos do rim cefálico, expressão de mRNAs e epi-miRNAs (miRNAs que regulam genes da maquinaria epigenética) por RT-qPCR e quantificação global dos conteúdos de 5mC e 5hmC com uso dos kits MethylFlash™ Methylated DNA Quantification e MethylFlash™ Hydroxymethylated DNA Quantification (Epigentek), respectivamente. Nos experimentos de RT-qPCR e quantificação global de 5mC e 5hmC foram avaliados os tecidos: cérebro, músculo e gônadas. Predição de epi-miRNAs foi realizada pelos programas PITA, miRanda e RNAhybrid. Os dados foram comparados com uso do teste t e de um modelo linear generalizado com médias ajustadas pela distribuição gama (GENMOD). Os resultados indicam que o cromossomo B possui um padrão de marcas de 5mC e 5hmC semelhante ao complemento A, mas com distinção entre seus braços. Além disso, foram identificados efeitos heterogêneos deste cromossomo na expressão de epi-miRNAs e mRNAs e no conteúdo global de 5mC e 5hmC. Esse conjunto de dados reforça a hipótese de que mecanismos epigenéticos são afetados pelo cromossomo B, o que pode explicar as diferenças previamente observadas na expressão de RNAs canônicos. Além disso, estes dados estão em desacordo com a ideia mais difundida de que cromossomos B sejam elementos inertes.

Apoio: FAPESP, CNPq, CAPES.

Keyword/Palavras-chave: Imunocitogenética; Epi-miRNAs; Expressão gênica; Epigenética

1 Departamento de Morfologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil, adautolimacardoso@gmail.com
2 Departamento de Estatística, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil