



“Aspectos Genéticos de la transducción de señales y  
fenómenos de imprinting en gametos de animales domésticos”

***Dra. PhD. Silvia Llambí  
Prof. Agr. D.T Área Genética  
Facultad de Veterinaria***

***Curso-Taller “Transducción de señales en fisiología espermática: aspectos básicos y aplicados”  
2009***

Fecundación: Para que los espermatozoides de mamíferos puedan fecundar deben sufrir un proceso de capacitación (cambios bioquímicos de su membrana plasmática con remodelación de moléculas de superficie).

El espermatozoide responde al estímulo de las moléculas ligando de la Zona Pelúcida (ZP) y sufre la reacción acrosómica.

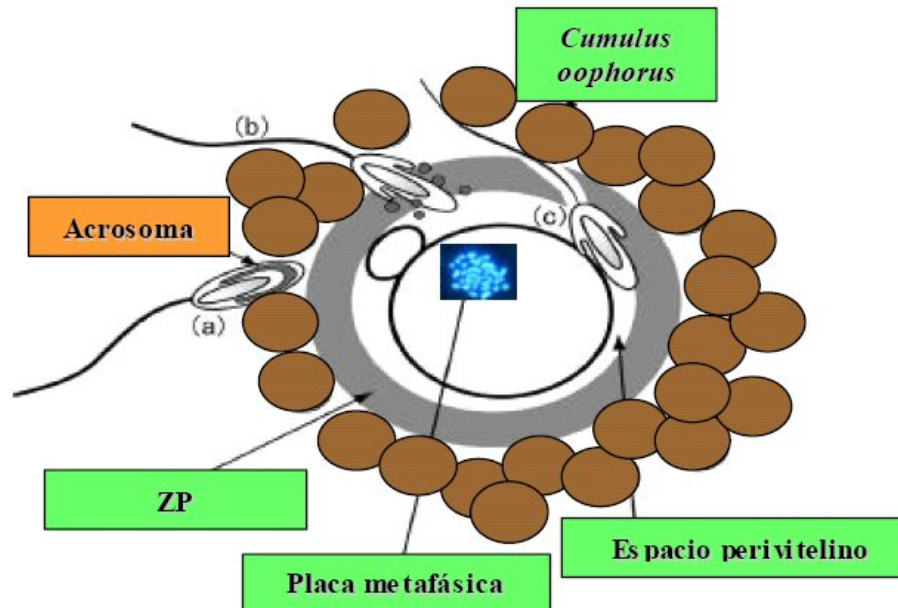
Importancia de los oligosacáridos (No existe un modelo único, variando según la especie animal)

La ZP esta formada por un n<sup>o</sup> variable de glicoproteínas (familia de proteínas ZP ZP1, ZP2, ZP3, y la ZP4)

Funciones principales: unión del espermatozoide, prevenir polispermia, protección del embrión hasta implantación y bloqueo de fecundación heteroespecífica).



Extraído de Cánovas y Coy (2008)



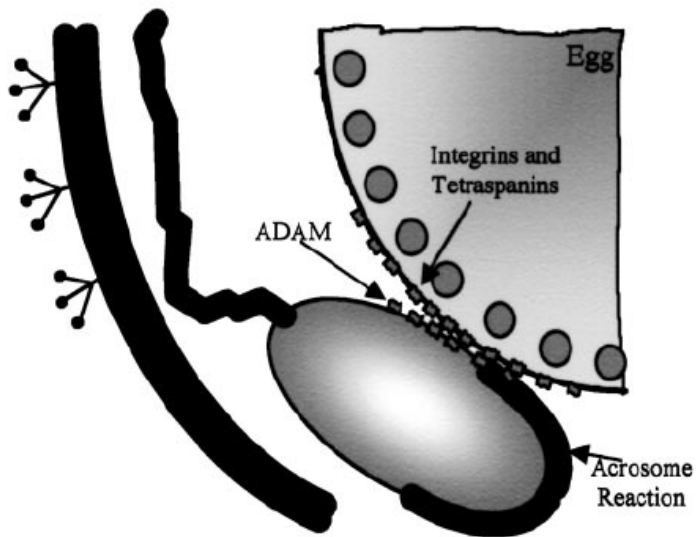
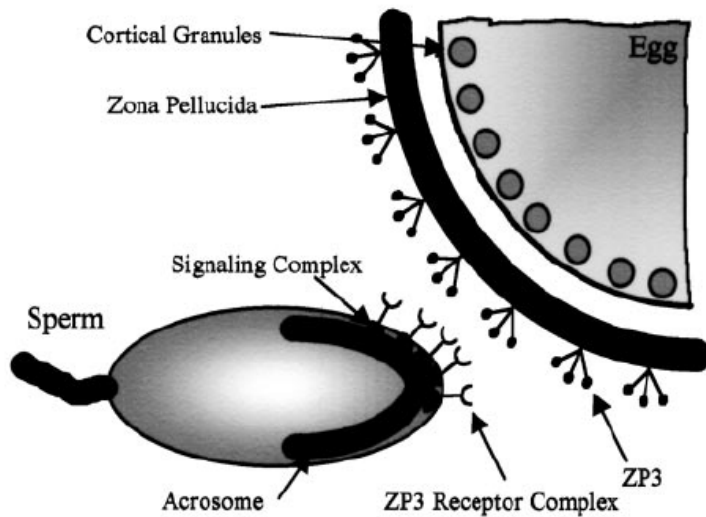
## Moléculas receptoras del espermatozoide que se unen a la ZP

Roedores: sp56 tiene afinidad a los Oligosacáridos de la ZP.

Adhesinas, proacrosina, espermadhesinas, Sp38, P47 (unión primaria y secundaria a la ZP)  
En cerdos: SED1

Una de las más estudiadas: [beta-1,4 Galactosiltransferasa \(GalT-I\)](#): se localiza en la membrana plasmática y actuaría como receptor específico de las glicoproteínas Tipo ZP3.

Ratones “knock-out” sin [GalT-I](#) sus espermatozoides lograban unión a ZP pero en número disminuido



**Molecular Basis of Mammalian Gamete Binding**  
 DAVID J. MILLER, XUDONG SHI, AND HEATHER BURKIN

En animales la familia de genes de las proteínas ZP se encuentran subdivididas en 6 subfamilias:

ZPA/ZP2, ZPB/ZP4, ZPC/ZP3, ZP1, ZPAX, y ZPD

Compleja Clasificación

Se han identificado pseudogenes en: Humanos, bovinos, perros, chimpancé, ratones.

Ej.

En bovinos y perros la ZP presenta 3 proteínas ZP (ZPA/ZP2, ZPB/ZP4, y ZPC/ZP3).

y en estas especies se identificó el pseudogén

**Zp1**

BIOLOGY OF REPRODUCTION 78, 796–806 (2008)  
 Published online before print 28 November 2007.  
 DOI 10.1095/biolreprod.107.064568

**Minireview**

Phylogenetic Analysis and Identification of Pseudogenes Reveal a Progressive Loss of Zona Pellucida Genes During Evolution of Vertebrates<sup>1</sup>

Ghylene Goudet,<sup>2,3</sup> Sylvie Mugnier,<sup>3</sup> Isabelle Callebaut,<sup>4</sup> and Philippe Monget<sup>3</sup>

*Homo sapiens* (Hsa), Human  
ZPA/ZP2

NM\_003460  
AF001550  
BC096304  
BC096305  
BC096306  
BC096307  
M90366

Q05996

ZPB/ZP4 (also named ZPB2 [16])

NM\_021186  
AL359924  
BC069521  
U05781

Q12836

ZPC/ZP3

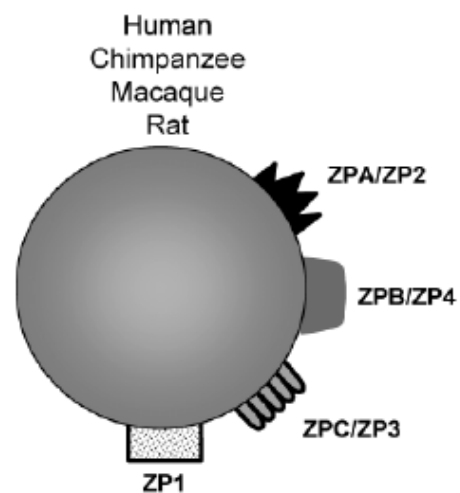
NM\_007155  
M60504  
X56777  
A18567

P21754

ZP1

NM\_207341  
AC004126

P60852



## Envoltura perivitelina

*Gallus gallus* (Gga), Chicken

ZPA/ZP2

ZPB/ZP4/ZPB2

ZPC/ZP3

ZP1/ZPB1

ZPAX/ZPX1

ZPD/ZPX2

BN000517  
BAE72123  
AB025428  
BAA76739  
NM\_204879  
AY628622  
NM\_204389  
AB031033  
NM\_204683  
AJ289697  
NM\_001045837  
AJ698915  
AB114441  
BAD13713  
NP\_998741  
NM\_213576

Q5CZI6  
Q2PGY2  
Q6WV21  
  
P79762  
  
Q9DER4  
Q6WV24  
Q684L7  
Q6WV22  
Q766V2

## Envoltura vitelina

*Xenopus laevis* (Xla), African clawed frog

ZPA/ZP2/69kDa

ZPB/ZP4/gp37

ZPC/ZP3

ZPAX/ZPX1

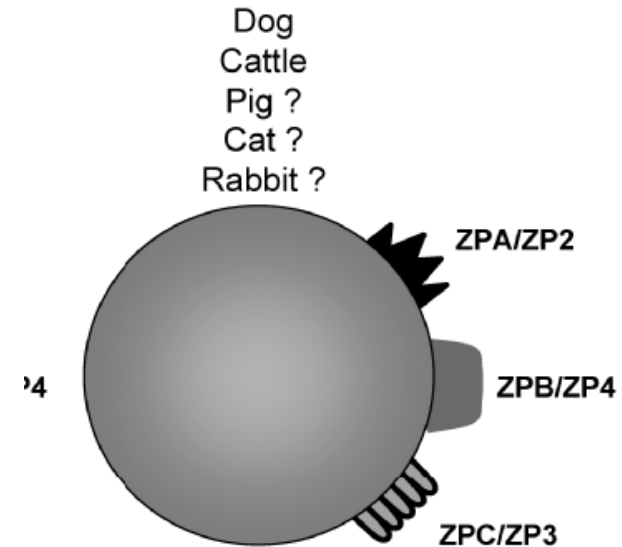
ZPD/ZPX2

AAD12172  
BC079825  
AF038151  
XLU44950  
BC123370  
AAA91465  
U44952  
AAB39079  
BC072326  
AF225906  
AY079195  
AAF43011  
XLU44949  
AY079194  
AAA91467

O73735  
Q6AX05  
  
Q91675  
  
Q91672

TABLE 1. Characterized genes belonging to the *ZP* gene family.

Current symbol	GenBank accession no.
<i>Sus scrofa</i> (Ssc), Pig	
<i>ZPA/ZP2</i> (also named <i>ZP1</i> [10, 15])	NM_213848 D45064 L22170 S74651
<i>ZPB/ZP4</i> (also named <i>ZP3alpha</i> [13])	NM_214045 L11000
<i>ZPC/ZP3</i> (also named <i>ZP3beta</i> [13])	NM_213893 L22169 D45065
<i>Bos taurus</i> (Bta), Cow	
<i>ZPA/ZP2</i>	NM_173973 AB042653
<i>ZPB/ZP4</i> (also named <i>ZPB2</i> [16])	NM_173975 AB042652
<i>ZPC/ZP3</i> (also named <i>ZP3B</i> [4])	NM_173974 U05775 BT021613
<i>Canis familiaris</i> (Cfa), Dog	
<i>ZPA/ZP2</i>	NM_001003304 D45069 U05779
<i>ZPB</i>	AY573930
<i>ZPC/ZP3</i>	NM_001003224 U05780 D45070
<i>Felis catus</i> (Fca), Cat	
<i>ZPA/ZP2</i>	NM_001009875 D45067 U05776
<i>ZPB/ZP4</i> (also named <i>ZPB2</i> [16])	NM_001009260 U05777
<i>ZPC/ZP3</i>	NM_001009330 U05778 D45068



En la base de datos EST para la ZP1 humana no se encuentran EST en bovinos, Cerdos, perros y conejo.

Presencia de pseudogenes ZP1 en perros y bovinos.

# Alineamiento de parte la proteína ZP1 Humano/Perro

## Formación de codones stop en perros

### Exon 3

Human 107 DGRFHLRVFMEAVLPNGRVDVAQDATLICPKPDPSPRTLDSQLAPPAMFSVSTPQTLNFLPTSGHTSQGSGHAF-----PSPLDPGHSS  
 Dog DRHFHLRVFVEVVLNPNHVGAGTQEVTLICPKPGHAWTLAPCLAP\*AWASPFPP-----LVPSPSTPPQGTALSAQFLPC\*PSDLDPDPNP

Human 190 VHptpalpspggptlatlAQPHWGTL-----EHWLVNKRDIYIGTHLS-----QEQCQVASGHL  
 Dog TQAQPQWGTLEERRGLTSYPTQVHRPPL\*VHTASGLSGTASDPFALDRAEEANSLHVRGLRGHFLCPPPSVPSGRPPMQDQCRVASRHF

Human 243 PCIVRRTSKEACQQAGCCYDNTREVPCYYGN 274  
 Dog PCVRRSKEACQQAGCCYDN+ VP YYGN  
 Dog PCRVRRSKEACQQAGCCYDNSGGVPRYYGN

### Exon 5

Human 277 TVQCFRDGYFVLVVSQEMALTHRITLANIHAYAPTSCTSCPTQHTAEFVVVFPLTHCGTMMQVAG 341  
 Dog TV\*AGQSGHFVLAVPQETALAHGITLAHIHMLYTPSSCSQT-GAGVFRVLPPLPAHPLWATVQVGG

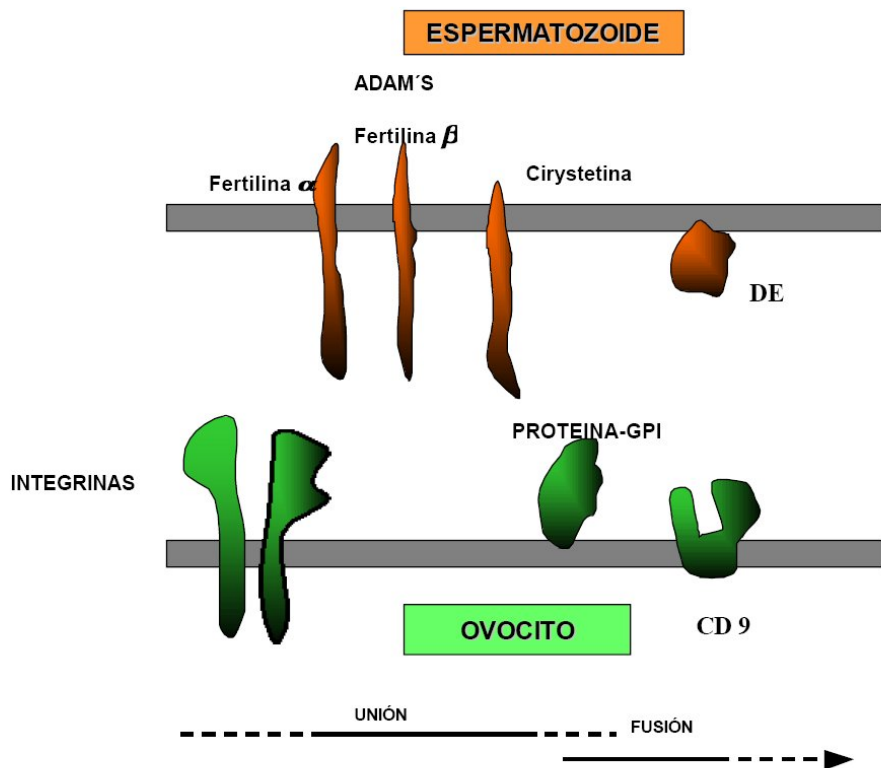
### Exon 8

Human 414 DETFSSYYGEDDYPIVRLLEPVEVRLLRQTDPNLVLLHQCWGAPSANPFQQPQWPILSDGCPFKGDSYRTQMVALDGATP 497  
 Dog EETFCSY\*EERDYPNIRLPCKPVPVGVRLLRQTP-----VWSSC-CTSAGPLPVPAPSSSLSGPSYQTDEWQGMFLLPQGVTP

La familia de genes ZP en animales evolucionó debido a la perdida de funciones de determinados genes integrantes de la misma (formando pseudogenes)



Representación de las moléculas implicadas en el proceso de unión y fusión espermatozoide-ovocito.



Extraído de Cánovas y Coy (2008)

A nivel del espermatozoide:

**Proceso Unión: proteínas tipo ADAM'S**

**Proceso de fusión: proteínas tipo "Izumo" y proteínas epididimales DE.**

Ratones "knock-out" con ausencia de fertilina *b*, ADAM 3 o ambas  $\rightarrow$  espermatozoides de cada una de las líneas de ratones muestran importante reducción en la unión a ovocitos

Ratones con deleciones del gen "Izumo"  $\rightarrow$   
1.- producen espermatozoides aparentemente normales (se únen y penetran la ZP)  
2.-incapaces de fusionarse con el oolema de ovocitos.

# En Bovinos muy poca información del Gen Izumo

Ensembl genome browser 53: B.taurus - text search

Ensembl  
Home > Cow  
Login / Register | BLAST/BLAT | BioMart | Docs & FAQs

Search Ensembl

- Feature type (1)
  - Gene (1)
    - Bos taurus (1)
- Species (1)
  - Bos taurus (1)
    - Gene (1)

- Configure this page
- Add custom data to page
- Export data
- Bookmark this page

**Ensembl text search**

IZUMO corporate/tree:"Top/Species/Bos taurus" conj Search

Your query matched 1 entries in the search database

**Ensembl protein\_coding Gene: ENSBTAG00000011621 (IPI: IPI00701171.1) [Region in detail]**

Ensembl protein\_coding gene ENSBTAG00000011621 has 1 transcript: ENSBTAT00000015434, associated peptide: ENSBTAP00000015434 and 9 exons: ENSBTAE00000125395, ENSBTAE00000125404, ENSBTAE00000125407, ENSBTAE00000125409, ENSBTAE00000125411, ENSBTAE00000125414, ENSBTAE00000125417, ENSBTAE00000125422, ENSBTAE00000125423

The gene has the following external identifiers mapped to it:  
EntrezGene: 618057, **IZUMO**  
GO: GO:0016021, GO:0007342  
IPI: IPI00701171.1, IPI00701171  
RefSeq DNA predicted: XM\_870387, XM\_870387.1  
RefSeq peptide predicted: XP\_875480.1, XP\_875480

Source: e53; Feature type: Gene; Bos taurus; Species: Bos taurus; Gene;

Ensembl release 53 - Mar 2009 © WTSI / EBI

Permanent link - View in archive site

Ensembl  
Home > Cow  
Login / Register | BLAST/BLAT | BioMart | Docs & FAQs

Location: 18:55,194,798-55,198,048 Gene: IPI00701171.1 Transcript: IPI00701171.1

Chromosome 18: 55,194,798-55,198,048

chromosome 18

Export image

« Region overview Region in detail help Genomic alignments »

Contigs  
Ensembl gene

1.00 Mb  
54.70 Mb 54.90 Mb 55.10 Mb 55.30 Mb 55.50 Mb Forward strand

AAAF03127484 >

CABP5\_BOVIN XR\_028007.2 IPI00699467.3 FUT2\_BOVIN PR15A\_BOVIN UN7B\_BOVIN LSHB\_BOVIN  
NP\_001096018.1 EMP3\_BOVIN RL18\_BOVIN IPI00691303.1 BAX\_BOVIN NP\_001095783.1 IPI00  
NP\_001069933.1 SNG4\_BOVIN IPI00701846.1 BCAT2\_BOVIN RUVB2\_BOVIN GYS1\_BOVIN  
IPI00839616.1 ERD21\_BOVIN DBP\_BOVIN DHB14\_BOVIN LSHB\_BOVIN RUVB2\_BOVIN  
IPI00905774.2 LOC618181 CA11 MASTR\_BOVIN DHHD\_BOVIN IPI00695659.3  
IPI00905030.1 GRWD1\_BOVIN Q9TTY3\_BOVIN NP\_001092343.1 IPI00828  
IPI00717466.3 IPI00697528.1 IPI00713049.1 FRIL\_BOVIN  
ENSBTAG00000011122 IPI00692718.4 IPI00907817.1 RU17\_BOVIN  
TM143\_BOVIN IPI00701171.1 GYS1\_BOVIN  
CYH2\_BOVIN NP\_803465.2 IPI00687047.2  
NUCB1\_BOVIN IPI00709028.3

54.70 Mb 54.90 Mb 55.10 Mb Click or drag to centre display 10 Mb

Ensembl Bostaurus version 53.4c (Btau\_4.0) Chromosome 18: 54,696,423 - 55,696,422

Export image

**Curso-Taller “Transducción de señales en fisiología espermática: aspectos básicos y aplicados”  
2009**

## IMPRONTA GENÓMICA MASCULINA Y REPRODUCCIÓN

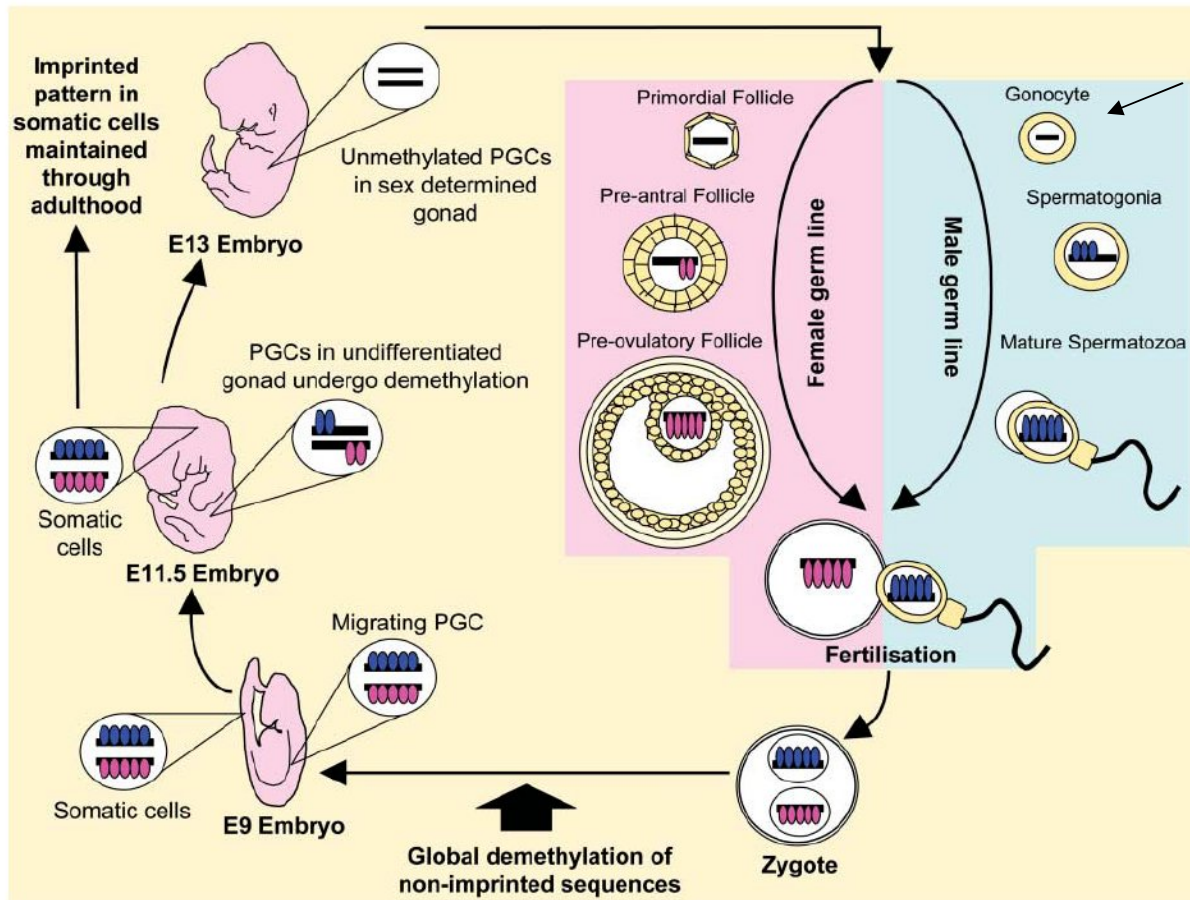
**Impronta genómica** ➔ Modificación epigenética diferencial en secuencias reguladoras de la expresión de genes específicos en el espermatozoide y en el oocito.

**No todo el genoma esta bajo la influencia de la impronta genómica**

**Genes con Impronta** ➔ El Alelo que proviene del padre o madre es modificado epigenéticamente con la finalidad de reprimir su transcripción por lo que en el embrión se expresara el alelo de uno u otro progenitor (paterno/materno).

En las células espermátogónicas en división mitótica y también en los espermátocitos se va estableciendo la metilaciones paternas (proceso continuo y temprano)

Epigenética: “Fuera de la genética convencional”. Metilación del DNA (no se altera la secuencia) y modificación de histonas.

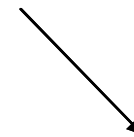
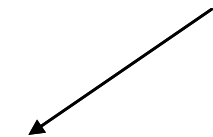


**Comienzo  
Temprano  
De la metilación**

El nuevo imprinting en las PGC  
Machos ratones comienza al  
Día 14.5 dpc.

En ratones el genoma paterno es significativamente y activamente demetilado entre las primeras 6-8 hrs post fecundación.

Metilaciones del ADN ocurren en:

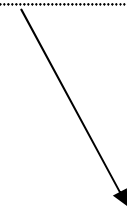


DMR

Regiones diferencialmente metiladas

ICR

Regiones de Control de la Impronta



Se metilan en las copias activas

Se metilan en el alelo silencioso

Enzimas encargadas del proceso: familia de las ADN Citosina metil transferasa (Dnmt)

DMR más estudiada en los últimos años en distintas especies es las de los genes Igf2 y H19 (humanos, ratón, ovinos, suinos)

Igf2 ➔ se transcribe el alelo de origen paterno

Humano Cromosoma 11, Ratón Cromosoma 7, Suinos Cromosoma 2, Ovino Cromosoma 21  
Bovino Cromosoma 29

H19 ➔ se transcribe el alelo de origen materno

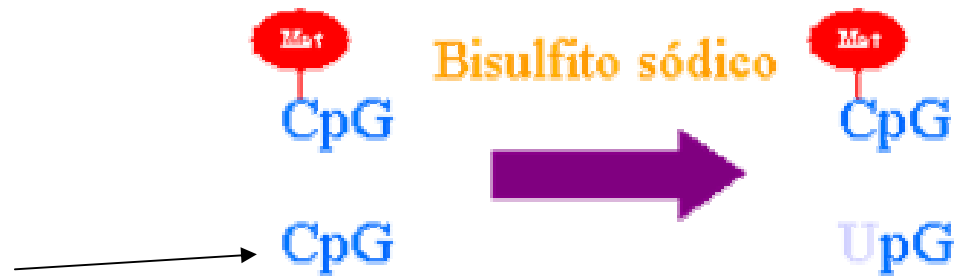
Ambos genes comparten el ICR

En el cromosoma paterno el ICR está metilado impidiendo la unión de la proteína factor CTCF (dedos de Zn) activándose el gen Igf2 y Reprimiendo la expresión de H19.

Factores de regulación de la impronta espermática → Factor BORIS (se expresa en Testículo), estaría involucrado en establecer las marcas de CH3 durante la diferenciación de la célula germinal masculina.

Durante la espermatogénesis la metilación “de novo” podría estar asociada a la activación de BORIS y al silenciamiento de CTCF.

Técnica de secuenciación con bisulfito de sodio permite medir el estado de Metilación de las islas CpG



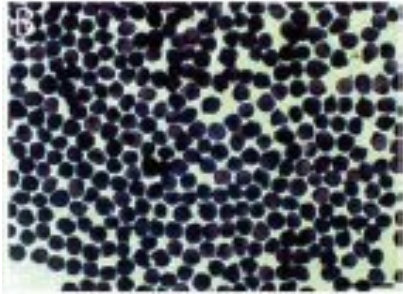
El bisulfito actúa sobre las Citocinas no metiladas

**CODIGO EPIGENÉTICO DEL ADN:**

METILACIONES EN ISLAS CpG asociado a represión génica.



## La Metilación en células primordiales de la línea germinal (PGC) en suinos



**Aspecto de las PGC**

- ⇒ Precursoras de los gametos
- ⇒ Sometidas a fuerte reprogramación epigenética (borrado y posterior etiquetado mediante metilaciones) para restaurar el estado totipotente.
- ⇒ Existe interés para la utilización de las PGC como donantes de núcleos en clonación
- ⇒ El gene Igf2 de suinos tiene una alta homología con humano y ratón (secuencia y organización, 10 exones)

### RESEARCH ARTICLE

Molecular Reproduction & Development 76:22–30 (2009)

Methylation Changes in Porcine Primordial Germ Cells

STOYAN G. PETKOV,\* WADE A. REH, AND GARY B. ANDERSON



El objetivo principal de estos investigadores era conocer el estado de metilación/demetilación De las PGC después de arribar a la cresta genital.



## Diseño

1.-Cerdas Preñadas  
(24,26,28,30 y 31 días)

2.-Sacrificio y colecta embriones

3.- Sexaje embriones PCR

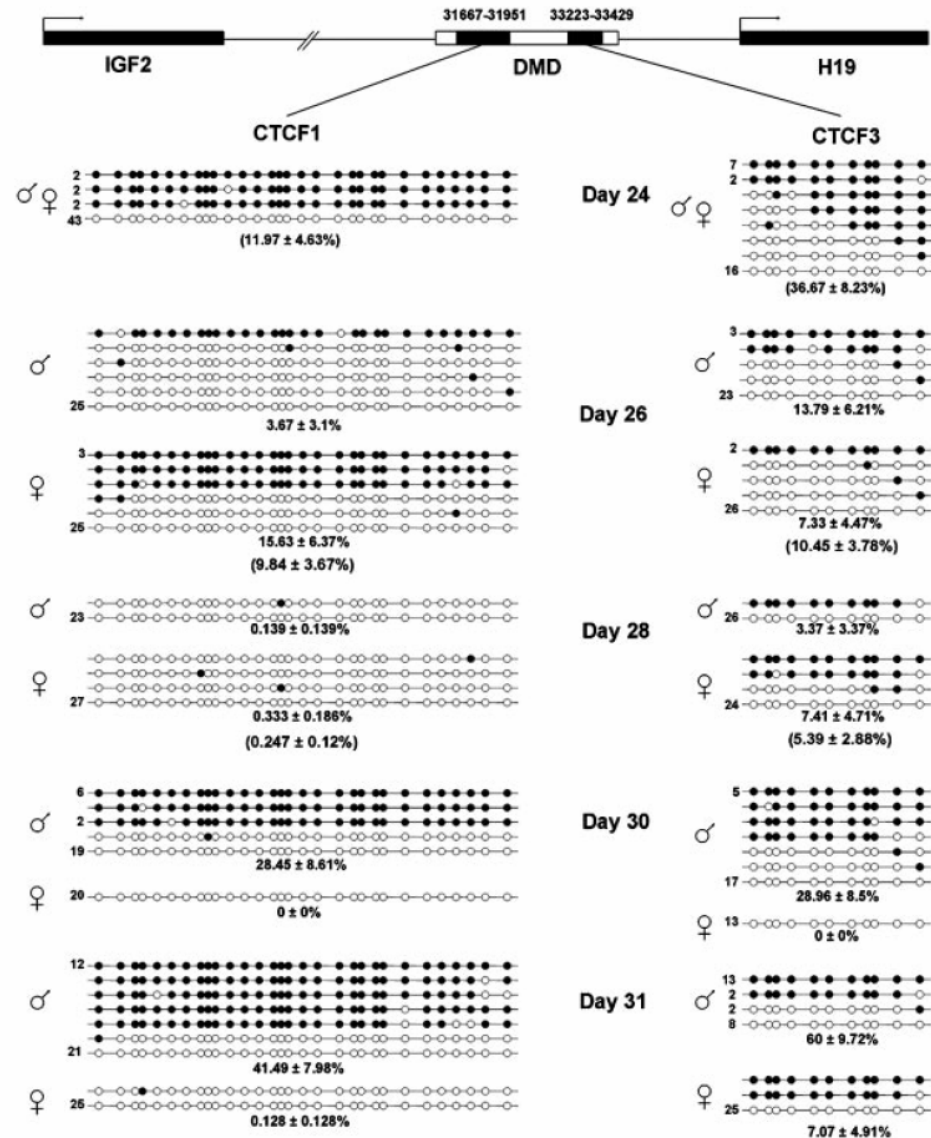
4.-Aislamiento de las PGC

5.-Aislamiento ADN y

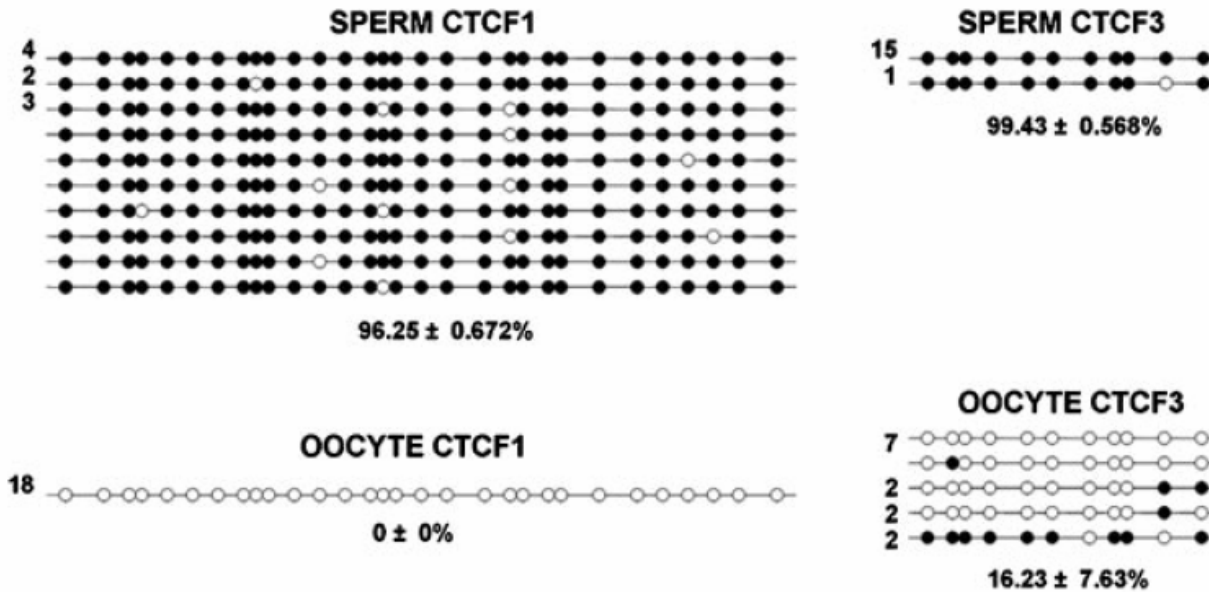
Técnica de bisulfito

Con primers para 2 DMR

De Igf2-H19



## Metilaciones en gametas (Igf2-H19)



En Cerdos al igual que en ratones los cambios en el estado de metilación de las células PGC ocurrirían al arribar a la cresta genital.

El genoma porcino consta de unos 30.000 genes distribuidos a lo largo de 18 pares de cromosomas autosómicos y la pareja de cromosomas sexuales. El conocimiento del genoma porcino es todavía muy limitado, aunque está aumentando exponencialmente (ver *gráfica*). Hasta ahora, hay al menos 1.673 QTL porcinos relativos a 281 caracteres diferentes. Según el tipo de caracteres, los de calidad de carne predominan por el gran número de QTL identificados (*tabla 1*). En cuanto a caracteres más delimitados, el espesor de tocino dorsal (*tabla 2*) es el que cuenta con mayor número de ellos.

**TABLA 1. NÚMERO DE QTL EN FUNCIÓN DE LOS CARACTERES.**

FUENTE [HTTP://WWW.ANIMALGENOME.ORG/CGI-BIN/QTLDB/SS/SUMMARY](http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLDB/SS/SUMMARY).

Tipo de carácter	Número de QTL
Exterior	50
Salud	15
Calidad de carne	1.283
Producción	258
Reproducción	67

**EVOLUCIÓN ANUAL DEL NÚMERO DE QTL DESDE 1994.**

FUENTE [HTTP://WWW.ANIMALGENOME.ORG/CGI-BIN/QTLDB/SS/SUMMARY](http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLDB/SS/SUMMARY).



**TABLA 4.**

**CARACTERÍSTICAS DE ALGUNOS GENES Y QTL EN PORCINO.**

Denominación	Número de cromosoma	Inf. molecular	Carácter	Comentarios
RYR1	1	HAL/hal	Hipertemia maligna Calidad canal (favorable) Calidad carne (desfavorable)	Existe test PCR-RFLP para genotipado Es un ejemplo clásico de detección de un gen mayor en animales domésticos, ya que fue el primero que se caracterizó molecularmente, mediante la estrategia del gen candidato con mapeo comparativo
MC4R	1	Cambio de G por A	Contenido graso Tasa de crecimiento Apetito	El alelo mutado los aumenta. Se asocia con con animales más grasos, buscados para producción de jamones curados
IGF2	2	Cambio de G por A en el nucleótido 3.072 del intrón 3 Se denotan como Q y q	Miogénesis Masa muscular (15-30% de la variación fenotípica) Espesor del tocino dorsal (10-20% de la variación)	Efecto de impronta (el alelo funcional es el heredado del padre). Mutación situada en parte reguladora del gen. Pertenece a la parte conservada del genoma
SLA	7	-	Complejo mayor de histocompatibilidad	-
PIT1	13	-	Gen candidato a caracteres de crecimiento y de canal	Es miembro de familia de proteínas del dominio POU, reguladoras de hormonas como la hormona de crecimiento o la prolactina



The bovine *IGF2* gene is differentially methylated in oocyte and sperm DNA<sup>☆</sup>

Claudia Gebert<sup>a,1</sup>, Christine Wrenzycki<sup>a</sup>, Doris Herrmann<sup>a</sup>, Daniela Gröger<sup>b</sup>, Richard Reinhardt<sup>b</sup>, Petra Hajkova<sup>c</sup>, Andrea Lucas-Hahn<sup>a</sup>, Joseph Carnwath<sup>a</sup>, Hans Lehrach<sup>b</sup>, Heiner Niemann<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Biotechnology, Institute for Animal Breeding, Hoelystrasse 10, D-31535 Neustadt-Mariensee, Germany

<sup>b</sup> Max-Planck-Institute for Molecular Genetics, Ihnestrasse 63-73, D-14195 Berlin-Dahlem, Germany

<sup>c</sup> Wellcome Trust/Cancer Research UK Institute of Cancer and Developmental Biology and Department of Physiology, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge CB2 1QR, UK

En bovinos no existe al momento una completa descripción de la secuencia del gen *Igf2*

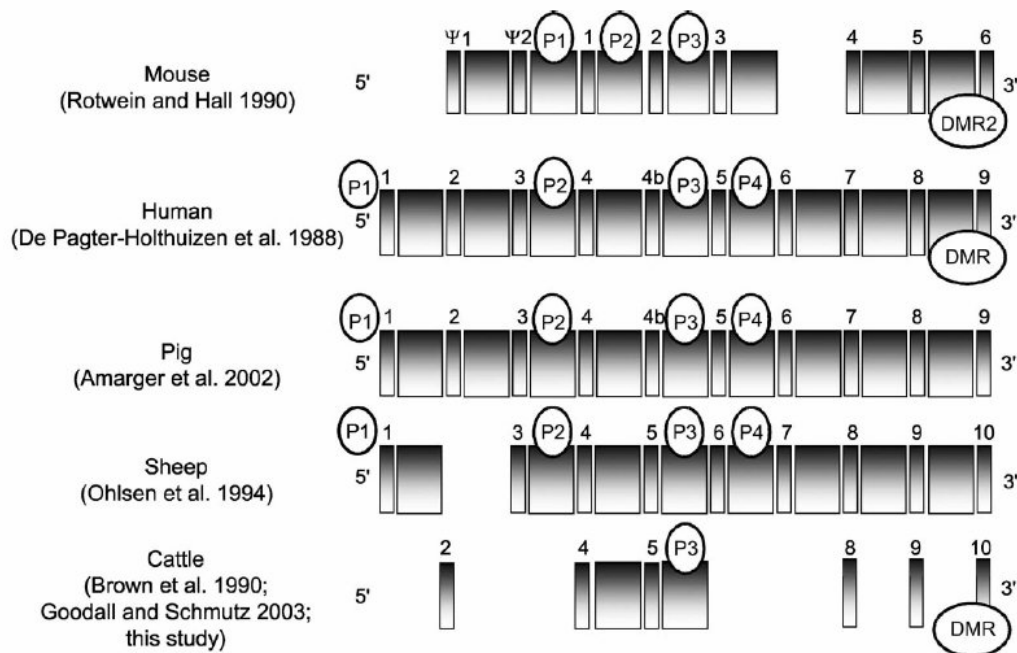
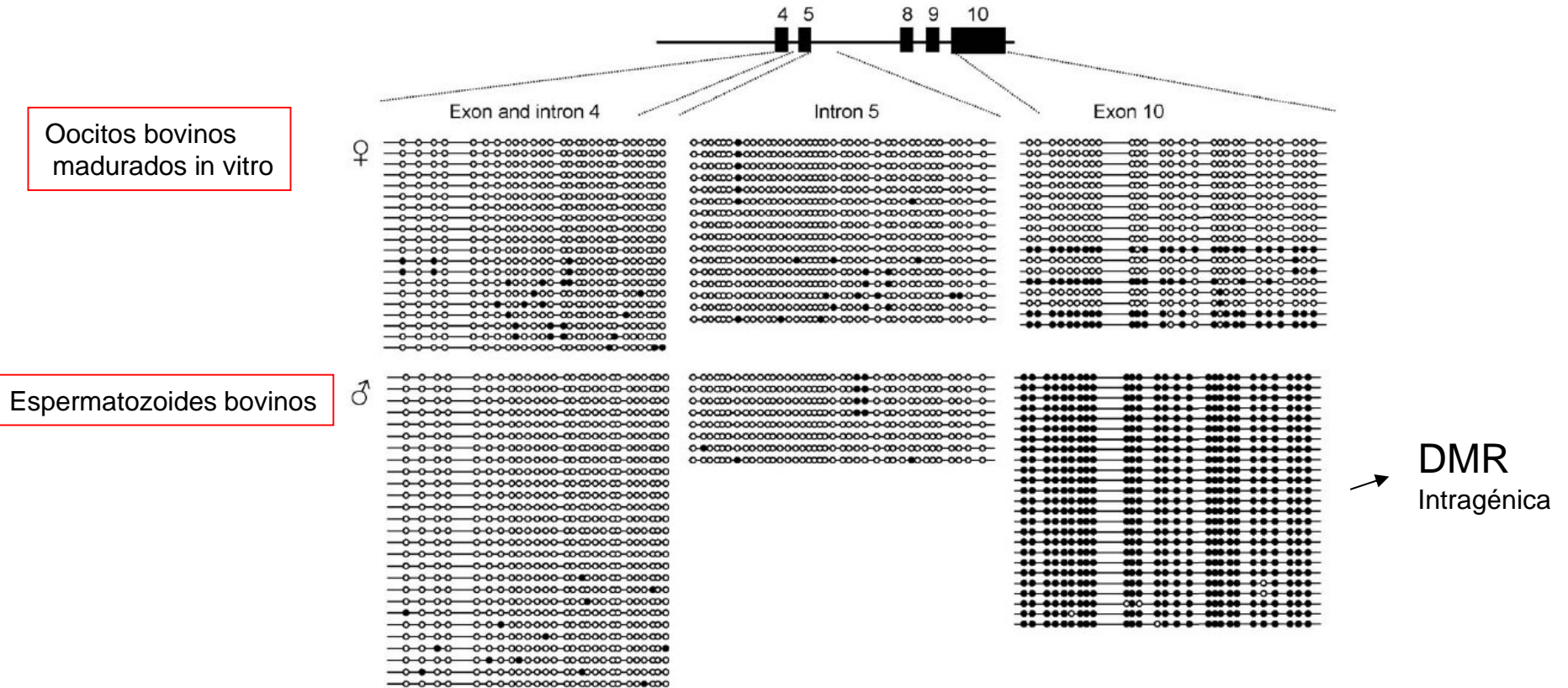


Fig. 1. Comparative representation of the *IGF2* gene in different mammalian species. Numbered rectangles represent exons, promoter regions are indicated as P1–P4 and intragenic differentially methylated regions as DMR below a rectangle. Ψ1 and Ψ2 represent pseudo-exons 1 and 2 in the mouse. These exons are active in other species.

Mediante secuenciación del ADN y técnica del bisulfito se identificó en espermatozoides bovinos una DMR en el exón 10

226

C. Gebert et al. / Genomics 88 (2006) 222-229



En bovinos a nivel del exón 10 se encontró una DMR homologa a la DMR2 del ratón y a la DMR del humano

**EN LA CLONACIÓN POR TRANSFERENCIA DE NUCLEAR  
DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN BOVINOS HAY REPORTES  
SOBRE ERRORES EN LA EXPRESIÓN DEL GEN Igf2**

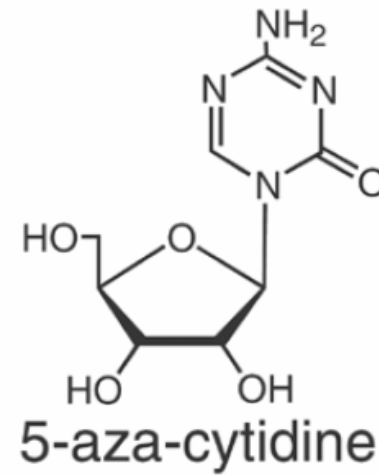
**LA IDENTIFICACIÓN DE DMR EN ESTE GEN SE CONVIERTE  
ES UNA POTENCIAL HERRAMIENTA PARA EVALUAR  
PATRONES DE METILACIÓN EN OTRAS ETAPAS DEL  
DESARROLLO EMBRIONARIO**



## Sustancias Inhibidoras de las metilaciones del ADN:

5'azacitidina C

5'aza 2' desoxicytina



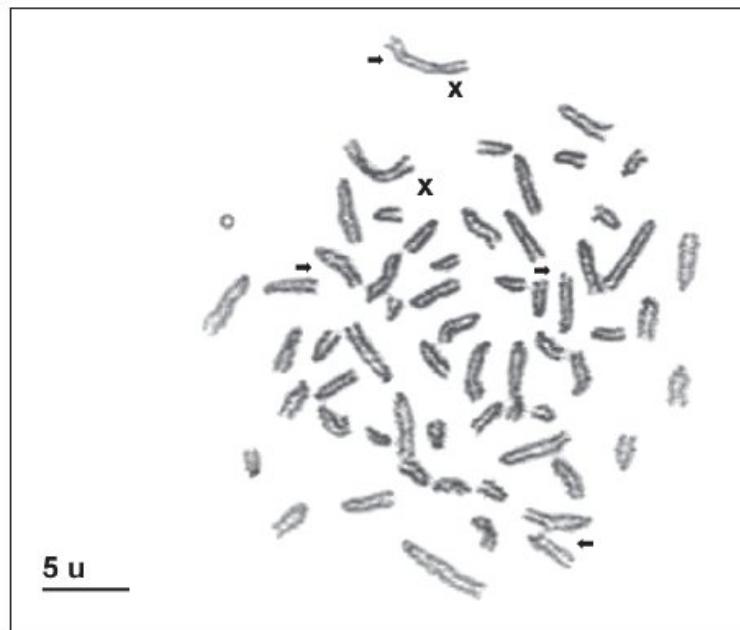


Arch. Med. Vet. 39, N° 1, 2007  
COMUNICACION

**Identificación de fragilidad cromosómica mediante 5'azacitidina en linfocitos de bovinos**

Identification of chromosome fragility using 5'azacytidine in cattle lymphocytes

S Llambí<sup>1\*</sup>, R Núñez<sup>2</sup>



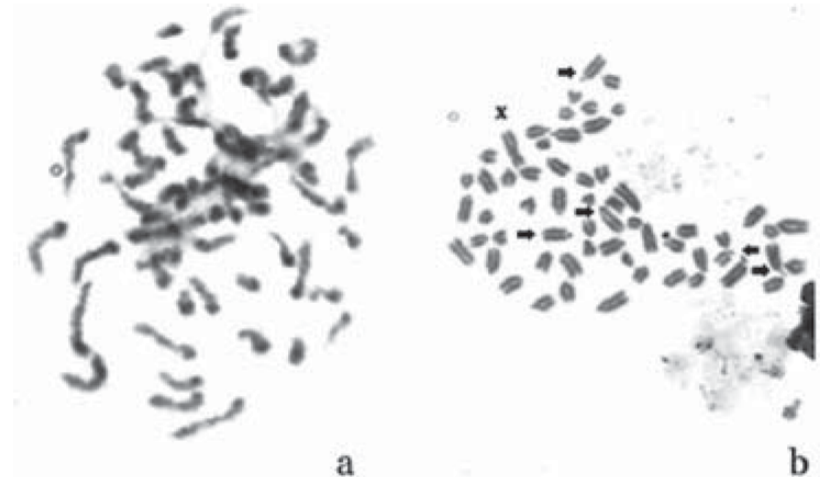
**Figura 1.** Metafase pretratada con 5'azacitidina. Las flechas indican sitios frágiles en el cromosoma X y en cromosomas autosómicos.

**Acción de la 5'azacitidina en cromosomas de células linfocitarias de bovinos**  
5' azacytidine effect in bovine lymphocytes chromosomes

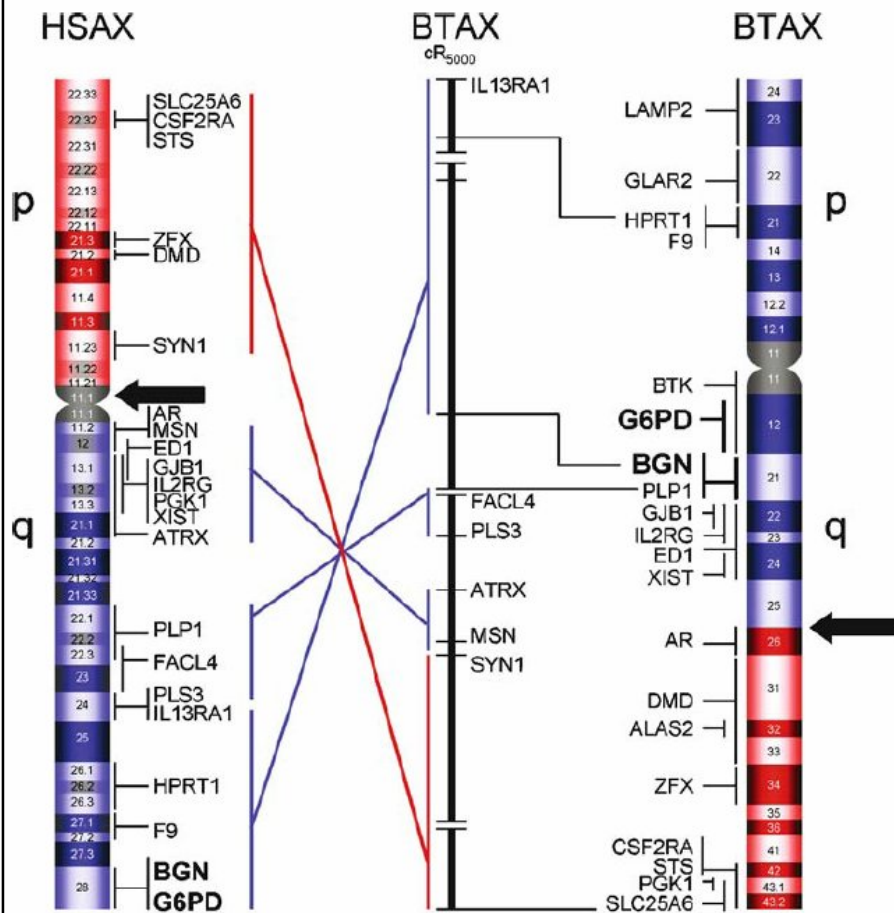
Silvia Llambí,<sup>1\*</sup> Betina Coppola,<sup>2</sup> Rosa Gagliardi,<sup>3</sup> Teresa Tejedor,<sup>4</sup> María V. Arruga<sup>5</sup>

**Tabla 1.** Frecuencia y porcentajes de fracturas cromosómicas y placas con decondensación cromosómica observadas en los cultivos linfocitarios bovinos tratados con distintas concentraciones de 5-azaC y en el cultivo control.

N° tubo	5azaC uM	N° Placas metafásicas estudiadas	Fracturas en el cromosoma X (%)	Fracturas en el cromosoma Y (%)	Figuras de decondensación cromosómica (%)	Fracturas centroméricas en autosomas (%)
1	0	50	1 (2%)	0	0	0
2	5	50	0	0	0	0
3	10	50	0	0	0	0
4	20	50	1 (2%)	0	0	0
5	50	50	3 (6%)	0	6 (12%)	1 (2%)
6	70	50	11 (22%)	0	8 (16%)	2 (4%)







**Gen TRO**  
 Codifica para la proteína trofinina que integra un complejo grupo de proteínas de adhesión del blastocisto al epitelio endometrial (Implantación embrionaria)

Mapeo por FISH:  
 humanos HSAXp11.21-p11.2  
 Bovino BTAXq25-33

Este Gen esta localizado en región de Fragilidad cromosómica del BTAX.  
 Esta región se asocia con alteraciones De la fertilidad en bovinos (mortalidad embrionaria)

PROFUNDIZACIÓN EN EL ESTUDIO DE FRAGILIDAD DEL CROMOSOMA SEXUAL BTAX Y ANÁLISIS DE SECUENCIAS DEL GEN TRO (TROFININA) EN BOVINOS HOLANDO. Proyecto de Investigación D.T Área Genética, Facultad de Veterinaria-UdelaR. Dra. Silvia Llambí.2009-2011

Gen TRO en Humanos ha sido secuenciado (1 Kb aprox)

Presenta múltiples variantes de transcritos (corte y empalmes alternativos)  
Locus complejo.

En Bovinos existe un reporte de secuencia parcial del gen TRO (GenBank AY444495)

Nuestro objetivo es comenzar a estudiar “in silico” al gen TRO en bovinos.

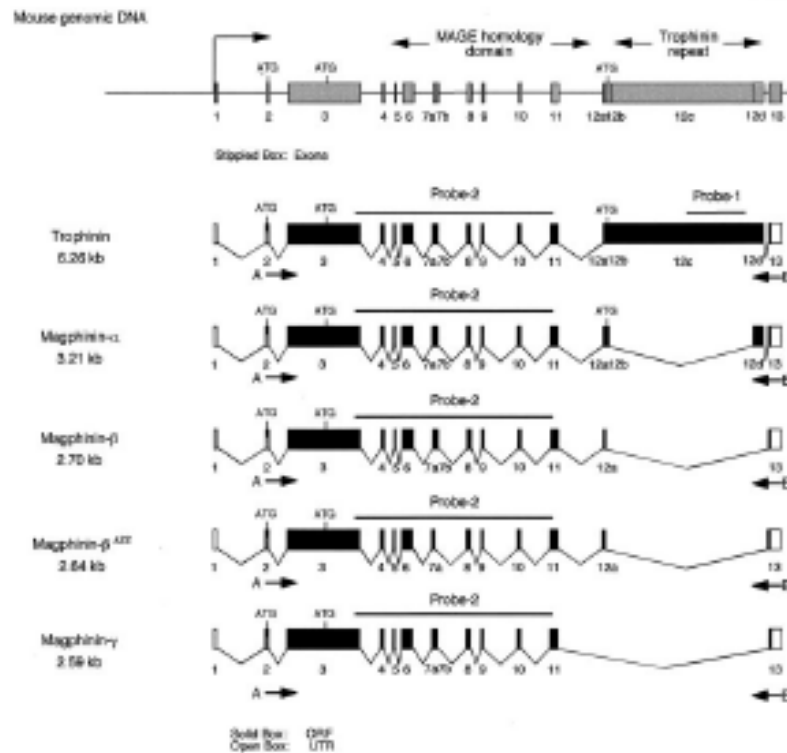
PROFUNDIZACIÓN EN EL ESTUDIO DE FRAGILIDAD DEL CROMOSOMA SEXUAL BTAX Y ANÁLISIS DE SECUENCIAS DEL GEN TRO (TROFININA) EN BOVINOS HOLANDO.  
Proyecto de Investigación D.T Área Genética, Facultad de Veterinaria-UdelaR. Dra. Silvia Llambi.2009-2011

***Curso-Taller “Transducción de señales en fisiología espermática: aspectos básicos y aplicados”  
2009***

## The Trophinin Gene Encodes a Novel Group of MAGE Proteins, Magphininins, and Regulates Cell Proliferation during Gametogenesis in the Mouse\*

Received for publication, September 6, 2001, and in revised form, September 14, 2001  
Published, JBC Papers in Press, October 5, 2001, DOI 10.1074/jbc.M108584200

Sakura Saburi<sup>‡</sup>, Daita Nadano<sup>‡</sup>, Tomoya O. Akama<sup>‡</sup>, Kyoko Hirama<sup>¶</sup>, Keitaro Yamanouchi<sup>||</sup>,  
Kunihiko Naito<sup>||</sup>, Hideaki Tojoi<sup>||</sup>, Chikashi Tachi<sup>\*†</sup>, and Michiko N. Fukuda<sup>‡</sup> §§



Bovinos Criollos de Uruguay  
(Reserva de San Miguel, Rocha)



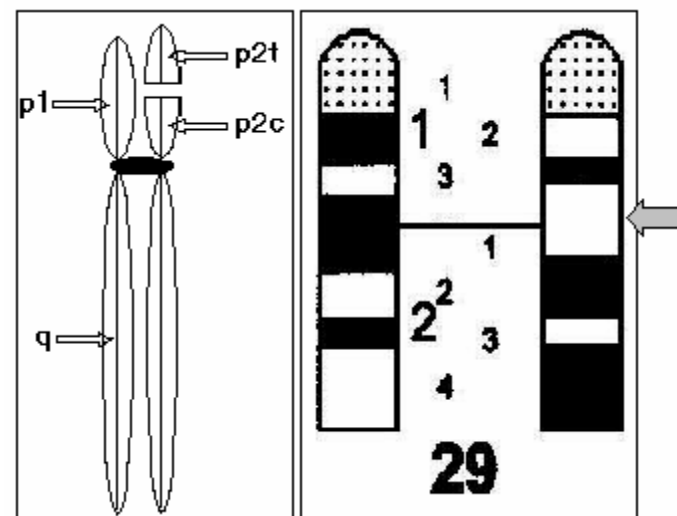
***Curso-Taller “Transducción de señales en fisiología espermática: aspectos básicos y aplicados”  
2009***

## Aphidicolin induced break points in heterozygous Robertsonian translocation (rob1;29) in Creole cattle.

Artigas R, Iriarte A, Tellechea B, Llambí S, De Bethencourt M, Postiglioni A.

Journal of Basic & Applied Genetics 19 (1): 1-10. 2008

Fragments	Mean	SD
p1	0,72	0,05
p2t	0,43	0,04
p2c	0,32	0,03
q1	2,27	0,18
p2c/p1	0,45	0,06
p2t/p1	0,61	0,07



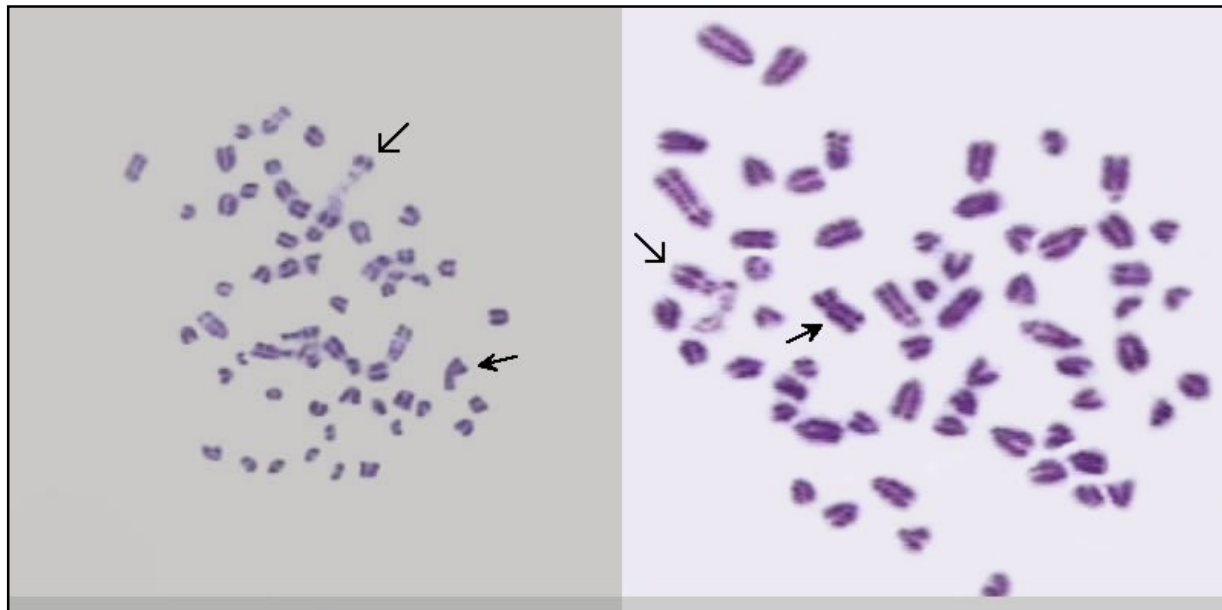
Fragments are identified as follows: p1=short arm; p2t= fragment next to the telomere; p2c= fragment next to the centromere; q=large arm (see Fig 3).





***Heterocromatin decondensation in Creole cattle carrier of  
Robertsonian translocation (rob1;29). Action of 5-azacytidine-C***

Artigas R, Iriarte W, de Soto L, Iriarte A, Llambí S, de Bethencourt M, Postiglioni A.2008  
Acta Agron. (PALMIRA) 57(1): 65-69



**Cariotipo de hembras bovinas normales.**  
Se muestra la estandarización del efecto  
de la 5-aza-C.

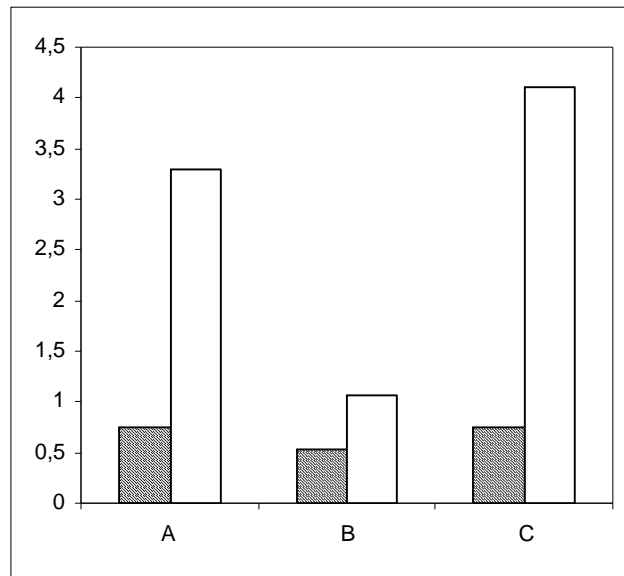
**Next:**

# EFFECTS OF 5-AZACYTIDINE-C IN LYMPHOCYTES-METAPHASES OF CREOLE COWS CARRYING THE ROB(1;29).

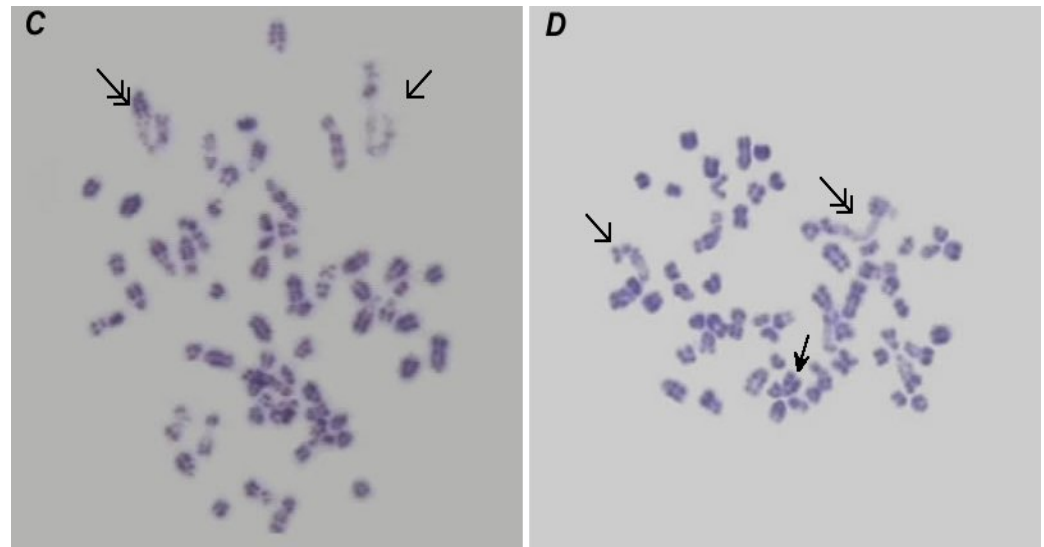
Rody Artigas, Wanda Iriarte, Andrés Iriarte, Miguel de Bethencourt, Silvia Llambí, Alicia Postiglioni (in revision)

## Cuantificación del efecto de la 5-aza-C sobre los cromosomas X's y la rob(1;29).

Se demuestra la demetilación de la rob(1;29) con un comportamiento similar a la heterocromatina facultativa del cromosoma X inactivo de las hembras.

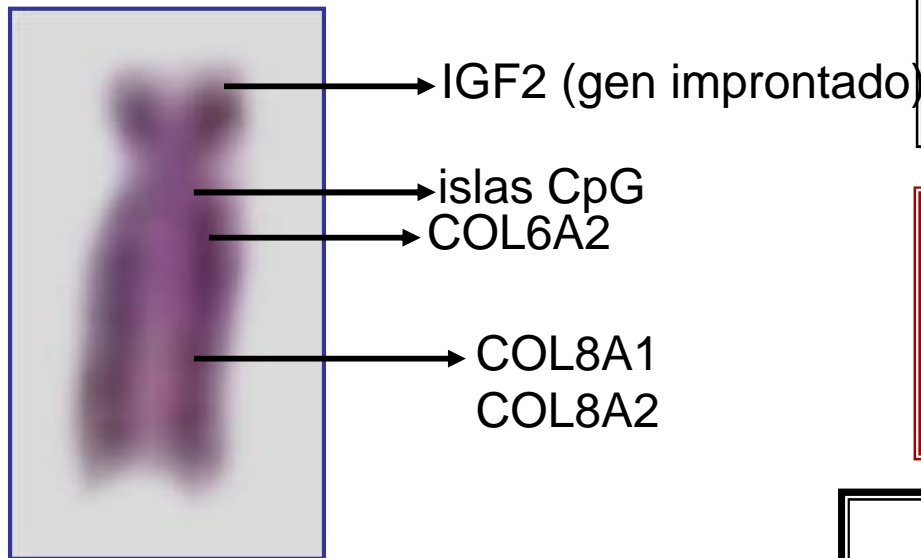


Centrómero	0,75	0,54	0,75
Brazos	3,29	1,07	4,11
<b>Rob(1;29)</b>	<b>X activo</b>	<b>X inactivo</b>	



5-aza-C ( $1 \times 10^{-3} \text{M}$ , 2hrs).

# Genome imprinting en rob(1;29)



ENSBTAG00000011802

*Postiglioni y colaboradores,  
2009 (en preparación)*

- ✓ Hembras portadoras de rob(1;29)  
**36%** embriones no balanceados
- ✓ Machos portadores de rob(1;29)  
**19%** embriones no balanceados.

Bonnet-Garnier *et al.*, 2008

**Hipótesis:** La rob(1;29) es portadora de genes imprintados asociados con mortalidad embrionaria diferencial

## Metodología de trabajo:

Bovinos con cariotipo normal  
**versus** bovinos portadores de rob(1;29)

bisulfito/MSP o Real-Time.





En 1694, Nicolas Hartsoeker descubrió «animalúnculos» en el esperma de humanos y otros animales. La escasa resolución de aquellos primeros microscopios hizo parecer que la cabeza del espermatozoide era un hombre completo en miniatura. A raíz de ahí se desataron las teorías que afirmaban que el esperma era de hecho un «hombre pequeño» (homúnculo) que se ponía dentro de una mujer para que creciese hasta ser un niño (Fuente Wikipedia)

MUCHAS GRACIAS!!!!!!!!!!!!