Acta Zoológica Mexicana (n.s.) 22(1): 123-125 (2006)

Nota Científica

ANÁLISIS ESTRUCTURAL DEL GEN MITOCONDRIAL CITOCROMO B Y DE LA REGIÓN CONTROL DE *CYNOMYS MEXICANUS* Y *SPERMOPHILUS SPILOSOMA* (RODENTIA: SCIURIDAE)

Abstract: The nucleotide sequences of the cytochrome b gene and of the control region are described for *Cynomys mexicanus* and *Spermophilus spilosoma*. The cytochrome b gene was characterized by the presence of eight non-synonymous substitutions at the inter-generic level, presented mainly in the transmembrane zone (87%). The control region was characterized by the presence of the conserved blocks, ETAS1 and CSB1; by the absence of repetitive sequences and by the conserved blocks, ETAS2, CSB2 and CSB3. Most of the inter-generic variation (47.9%) was observed in the ETAS domain. The structure of the control region was similar to that of phylogenetic related species.

El gen mitocondrial, citocromo b, ha sido extensamente estudiado dentro de los mamíferos por ser un componente obligatorio de la cadena respiratoria (Mitchell 1976. *J. Theor. Biol.* 62: 327-367). Asimismo, la región control del ADN mitocondrial, se considera importante por contener el origen de la replicación (Larizza *et al.* 2002. *J. Mol. Evol.* 54: 145-155). Estas dos regiones han sido caracterizadas en diversas especies de roedores (Saccone *et al*. 1987. *J. Mol. Evol.* 26: 205-211; Gemmell *et al.* 1996. *Mol. Biol. Evol.* 13(6): 798-808; Larizza *et al.* 2002. *op. cit.*; Reyes *et al.* 2003. *Mol. Biol. Evol.* 20(4): 622-632), sin embargo se ha generado poco conocimiento al respecto dentro de la familia Sciuridae (Oshida *et al.* 2001. *Zool. Sci. Tokio.* 18(1): 107-114; Larizza *et al.* 2002. *op. cit.*). Por esta razón en el presente estudio se llevó a cabo la caracterización del gen citocromo b y de la región control de *Cynomys mexicanus* Merriam (1892) y *Spermophilus spilosoma* Bennett (1833).

Se tomaron muestras de tejido de oreja de *C. mexicanus* y *S. spilosoma* provenientes de San Luis Potosí [El Manantial (24º07'30''N, 100º55'30''O) y el Gallo (24º12'00''N, 100º54'06''O)] y Coahuila [San Juan del Retiro (24º51'13''N, 101º05'00''O)]. La extracción de ADN total se efectuó usando el Dneasy Tissue kit de QIAGEN. Para la amplificación por PCR se siguió el protocolo del kit Taq PCR de QIAGEN, para *C. mexicanus* se usaron los pares de cebadores MVZ05/MVZ14 y para *S. spilosoma* MVZ05/MVZ16 (Smith & Patton 1993. *Biol. J. Linnean Soc.* 50: 149-177) y para la región control, se usaron los cebadores L15933/H637 (Oshida *et al.* 2001. *op. cit.*). Las condiciones empleadas fueron las siguientes: un ciclo a 94º 90s, 45º 60s, 72º 90s; 30 ciclos a 94º 45s, 45º 30s, 72º 45s; y un ciclo final a 94º 45s, 45º 30s, 72º 10min. Para *S. spilosoma* la temperatura de anillamiento fue de 40ºC. La purificación se realizó mediante el kit QIAquick Spin de QIAGEN. Cada muestra se secuenció por duplicado en la Universidad de California, Berkeley y en Auburn University Genomics & Sequencing Lab, usando los analizadores genéticos ABI 377 y ABI 3100, respectivamente. Las secuencias nucleotídicas se alinearon con el programa Sequence Navigator™ 1.0.1, y el multialineamiento se llevó a cabo mediante el programa Esee V. 3.1 (Cabot 1997. *The Eyeball Sequence Editor*). La descripción de la estructura del gen citocromo b se basó en Whitmore *et al*. (1994. *J. Fish Biol.* 44: 637-645),

empleando el código genético de mamíferos para analizar las secuencias de aminoácidos. La descripción de la región control se efectuó de acuerdo a Larizza *et al*. 2002. *op. cit.* El análisis de inferencia filogenética se efectuó con el programa PAUP V. 4 (Swofford 2002. *PAUP* Sinauer Assoc. Massachusetts), empleando el método de Parsimonia y un bootstrap de 100 réplicas.

En ambas especies la secuencia compilada para el gen citocromo b fue de 713 nt (237 aminoácidos) (No. en GenBank DQ106851-DQ106854), ~ 62.5% en relación con *Sciurus vulgaris* (No. en GenBank NC_002369). La secuencia compilada promedio de la región control para *C. mexicanus* y *S. spilosoma* fue de 996 nt (No. en GenBank DQ106855-DQ106858), ~ 90% de la región completa registrada para *S. vulgaris* (No. en GenBank NC_002369). El gen citocromo b se caracterizó por las substituciones sinónimas (58), aunque también se observaron substituciones no sinónimas, de las cuales ocho cambios de aminoácidos se presentaron a nivel inter-genérico (*C. mexicanus-S. spilosoma*): cinco Val-Ileu, uno Ileu-Val, uno Val-Ala y uno Ileu-Thr, y la mayoría de ellos (7) corresponden a aminoácidos hidrofóbicos de la zona transmembranal, como se ha observado en diversos vertebrados (Irwin *et al.* 1991. *J. Mol. Evol.* 32: 128-144; Kornegay *et al.* 1993. *J. Mol. Evol.* 37: 367-379). Similar a lo reportado para otros roedores (Brown *et al.* 1986. *J. Mol. Biol.* 192: 503-511; Matson & Baker 2001. *Mol. Biol. Evol.* 18(8): 1494-1501; Reyes *et al.* 2003. *op cit*.) la región control de las especies de estudio se caracterizó por presentar los dominios ETAS, central y CSB, además de los bloques conservados ETAS1 y CSB1. No se presentaron secuencias de repetición cortas o largas, ni los bloques conservados ETAS2, CSB2 y CSB3 característicos de especies como *Rattus rattus, Mus musculus* y *Cavia porcellus* (Larizza *et al.* 2002. *op. cit.*). Se detectaron 117 substituciones entre *C. mexicanus* y *S. spilosoma*, de las cuales el 47.9% fueron en el dominio ETAS, considerado como el dominio más variable de la región control de mamíferos (Sbisà *et al.* 1997. *Gene*. 205: 125-140). El 44.4% de la variación inter-genérica se presentó en el dominio CSB que, para mamíferos, es menos variable que el dominio ETAS, y es donde ocurre el procesamiento de los cebadores de ARN para la replicación de la cadena pesada (Sbisà *et al.* 1997. *op. cit.*). Por su parte el dominio central presentó solamente el 7.7% de los cambios a nivel inter-genérico, coincidiendo con su carácter altamente conservado, asociado a la interacción con elementos del citoesqueleto (Jackson *et al.* 1996. *Nucleic Acids Res.* 24: 1212-1219, Reyes *et al.* 2003. *op. cit*).

Especies filogenéticamente cercanas (*S. vulgaris, C. mexicanus, S. spilosoma*) comparten un esquema general de la región control, conformado por los tres dominios característicos de roedores, además de los bloques conservados ETAS1 y CSB1 (Fig. 1). *R. rattus* y *M. musculus*, especies presentes en otro clado, tienen la característica de presentar dos bloques conservados del dominio ETAS (ETAS1 y 2) y tres bloques conservados en el dominio CSB (CSB1, 2 y 3). Ésta última especie presenta repeticiones de secuencias cortas. Finalmente, *C. porcellus* presenta bloques conservados en CSB y repeticiones de secuencias cortas dentro del mismo, y repeticiones de secuencias largas en ETAS (Larizza *et al.* 2002. *op. cit.*).

En conclusión, el análisis de las regiones del ADNmt abordadas en este trabajo para *C. mexicanus* y *S. spilosoma* mostró que guardan una estructura similar a la de otros mamíferos. Para el gen citocromo b presentaron la mayor variación inter-genérica de aminoácidos en la zona transmembranal (Irwin *et al.* 1991. *op. cit.*), mientras que para

la región control mostraron una estructura similar a la de *S. vulgaris*, y la mayor variación inter-genérica en el dominio ETAS (Larizza *et al.* 2002. *op. cit.*).

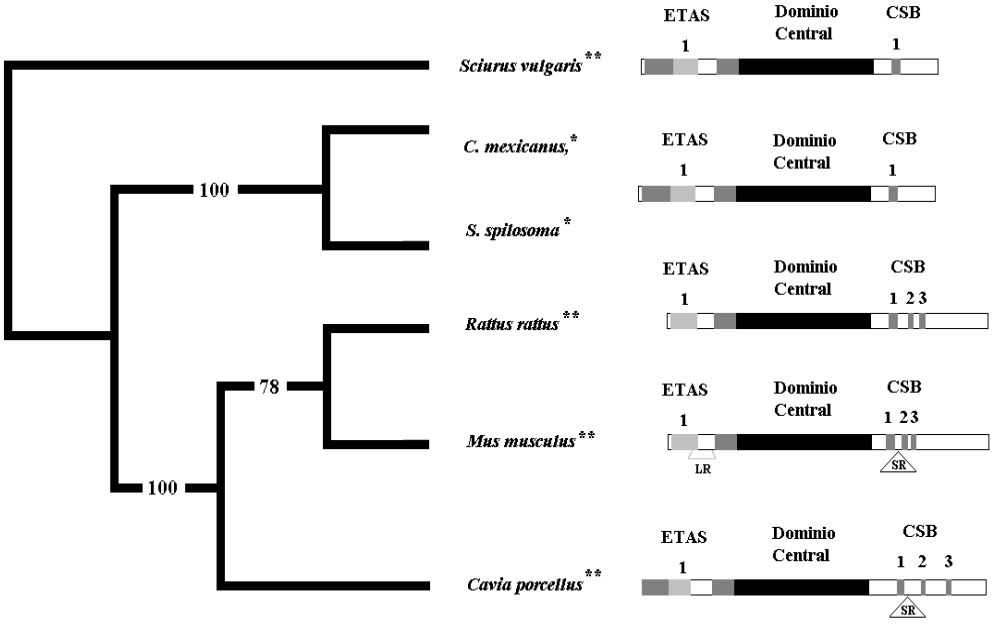


Figura 1

Derecha. Estructura de la región control de varias especies de roedores. Áreas en negro o gris son regiones de alta similitud; áreas blancas son regiones de divergencia; los números indican bloques de secuencias conservadas; LR, repeticiones largas; SR, repeticiones cortas. * Datos de este estudio, ** Datos de Larizza *et al.* 2002. *op. cit.* Izquierda. Cladograma generado por Parsimonia, utilizando un bootstrap de 100 réplicas.

Agradecimientos: A la Dra. Eileen Lacey y Dr. Eduardo Medinilla por facilitar cebadores, Biól. Alejandro Soto Castruita, MVZ Rosa María Aguilar y M. en B.R.A. Miguel León-Galván por su apoyo en el trabajo de campo; al Biól. Exp. Abel Chihuahua por su apoyo en el laboratorio y al Dr. Francisco Javier García de León y Dr. Alfonso Miguel Torre Blanco por sus constructivos comentarios para mejorar este manuscrito.

Luis Manuel GUEVARA-CHUMACERO[1],
Ricardo LÓPEZ-WILCHIS[1],
Francisco F. PEDROCHE[2] e
Irene de los Angeles BARRIGA-SOSA[2]

Departamentos de Biología[1] e Hidrobiología[2]
Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.
Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina.
Del. Iztapalapa C. P. 09340, México D. F.
E-mail: lmgc1@yahoo.com