

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA INTERUNIDADES DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOINFORMÁTICA

HENRY ANGEL BONILLA BRUNO

**Desenho de sondas *oligopaint* de cópia única e repetitiva para o estudo de cromossomos neo-sexuais em *Drosophila miranda***

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)  
(Processo 2019/10559-1 e 15/20844-4)

**São Paulo**  
**2023**

## RESUMO

BONILLA H. Desenho de sondas *oligopaint* de cópia única e repetitiva para o estudo de cromossomos neo-sexuais em *Drosophila miranda*. Dissertação (Mestrado em Bioinformática) - Instituto de Matemática e Estatística. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

*Drosophila miranda* é considerada uma espécie modelo para o estudo de processos genômicos, transcriptômicos ou epigenéticos que acontecem na evolução precoce dos cromossomos sexuais graças à presença dos chamados neo-cromossomos. Dois eventos de fusão cromossômica, ocorridos há cerca de 15 e 2 milhões de anos atrás, entre cromossomos sexuais e autossomos produziram os cromossomos sexuais XL/XR, Neo-X e Y (YD e Neo-Y) respectivamente. A hibridação *in situ* fluorescente (FISH) representa uma ferramenta valiosa que permite investigar a evolução cromossômica, o comportamento cromossômico e, também, avaliar a qualidade da montagem do genoma em um ensaio de célula única. Atualmente, bibliotecas complexas de sondas sintéticas estão se tornando cada vez mais populares. Assim, as sondas oligopaints representam uma nova geração de sondas sintetizadas sob medida, versáteis e altamente específicas. Utilizando o software OligoMiner e inspirados na modificação dele segundo OligoY foi possível desenhar oligos de cópia única e repetitivos suficientes para pintar completamente cromossomos sexuais de diferentes idades evolutivas. Experimentos de FISH em cromossomos metafásicos de cérebro mostraram que todas as bibliotecas de oligos são altamente específicas para sua região alvo. Os oligos repetitivos marcaram aqueles locais com escassa quantidade de oligos de cópia única. Nós propomos que uma densidade de oligos de 0,5 hits/Kb, com distância menores que 2500 nucleotídeos entre oligos e concentradas na mediana são suficiente para observar marcação numa região alvo no nível de Megabase (Mb), diminuindo, assim, o valor de densidade de oligos utilizado em estudos prévios (1 hit/Kb). Nossos experimentos de FISH no cromossomo Y mostraram que a região Neo-Y (Muller C) se encontra interrompida pelo YD. A utilização das bibliotecas de oligos na espécie irmã *D. pseudoobscura* e análises de alinhamentos entre cromossomos permitiram elaborar uma hipótese sobre o evento de fusão entre o YD e Muller C que deu origem ao cromossomo Y de *D. miranda*. Após a fusão telômero-telômero, é muito

provável que uma inversão pericêntrica e posteriores inversões sobrepostas tenha tido um papel fundamental na reorganização do Y. Por fim, nossas bibliotecas de oligos são os primeiros oligos desenhados para *D. miranda* e os únicos além da espécie modelo *D. melanogaster* em *Drosophila*, representando, assim, um recurso valioso que permitirá futuras pesquisas sobre comportamento cromossômico.

Palavras-chave: *Drosophila miranda*, cromossomos neo-sexuais, sondas oligopaint.