



# **MODELATGE DE L'ESTRUCTURA CROMOSÒMICA TRIDIMENSIONAL EN LES CÈL·LULES BETA PER IDENTIFICAR MECANISMES GENÈTICS DE LA DIABETIS TIPUS 2**

## **Jorge Ferrer Marrades**

IDIBAPS Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer

## **Marc A. Martí-Renom**

Centre Nacional d'Anàlisi Genòmica - CRG Centre de Regulació Genòmica

## **José Luis Gómez Skarmeta**

Centro Andaluz de Biología de Desarrollo - CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas

## 1. Resum

La diabetis de tipus 2 és la principal forma de diabetis; afecta més de 400 milions de persones i el 2019 va causar la mort de més d'un milió de persones. Malgrat la seva importància cabdal, els mecanismes moleculars implicats en la diabetis de tipus 2 encara són en gran part desconeguts. La principal conseqüència d'aquesta mancança és que no disposem de tractaments capaços de corregir els defectes moleculars que causen la malaltia i, per tant, no podem utilitzar tractaments per frenar-ne la progressió, ni per prevenir-la o guarir-la. Durant els últims 12 anys s'han realitzat estudis genètics amb centenars de milers de mostres de malalts i controls, i aquests estudis han permès identificar més de 400 parts del genoma que contenen variants genètiques que individualment tenen un efecte petit, però inequívoc, sobre la susceptibilitat de patir DT2. Aquestes troballes genètiques obren una porta per esbrinar quins processos moleculars podrien determinar per què diferents persones amb un mateix entorn ambiental pateixen diabetis o, al contrari, estan relativament protegides. No obstant això, la interpretació dels senyals genètics ha sigut molt complicada pel fet que la major part de les variants implicades no es troben en les parts del genoma més fàcils d'interpretar —els gens— sinó que es troben predominantment en parts del genoma que inicialment no tenien una funció coneguda.

El grup CRG que coordina aquest projecte va crear mapes de regions del genoma que, malgrat que en si no contenen gens, fan que certs gens estiguin actius en les cèl·lules beta —les cèl·lules del pàncrees que fabriquen insulina. Aquestes parts del genoma, anomenades *enhancers*, actuen, per tant, com a interruptors, i desxifren la seqüència de l'ADN en les cèl·lules beta perquè aquestes utilitzin els gens adients per fabricar i segregar insulina. Aquests mapes del genoma van demostrar que una gran part de les variacions genètiques modifiquen l'ADN d'aquests interruptors, malgrat que no afecten l'ADN de cap gen directament. En alguns casos fins i tot es va demostrar com alteren la funció dels interruptors. Tot això obre noves oportunitats per comprendre a escala molecular per què algunes persones tenen més risc de patir diabetis de tipus 2.

D'altra banda, els grups CRG-CNAG i CABD-Sevilla han estat pioners en el desenvolupament de mètodes per comprendre el funcionament d'aquestes regions no codificants del genoma. L'aplicació d'aquestes aproximacions a models de malalties com la diabetis de tipus 2 té potencials evidents.

L'objectiu del projecte finançat per La Marató de TV3 ha estat utilitzar noves eines d'edició genètica (CRISPR-Cas9) i mètodes pioners desenvolupats pels grups CR-CNAG i CABD-Sevilla per dissecionar l'impacte de variants genètiques associades a la diabetis de tipus 2, establir amb seguretat quines són les variants i dianes gèniques causals i avaluar com afecten la funció del nostre genoma.

## 2. Resultats

Durant aquest projecte es van crear i completar mapes tridimensionals del genoma que han permès connectar variants genètiques amb gens implicats en la malaltia (Miguel Escalada *et al.*, *Nature Genetics*, 2019). Es van utilitzar eines d'edició genòmica per desxifrar una dotzena de regions del genoma que contenen variants i afecten gens diana en cèl·lules beta humana; per tant, vam establir relacions causa-efecte rellevants als mecanismes genètics de la malaltia. En treballs col·laboratius dels grups d'aquesta proposta es van crear models tridimensionals del genoma de les zones afectades, la qual cosa permet comprendre per què regions aparentment molt allunyades dels seus gens diana en la seqüència lineal del genoma es troben en realitat molt properes en l'espai tridimensional.

Malgrat la importància de les cèl·lules beta productores d'insulina en la diabetis, hi ha altres teixits que també són importants (espatlla, fetge, greix, cervell). Se sap que diferents persones desenvolupen diabetis per defectes visiblement diferents, encara que a la pràctica no es disposa d'eines objectives per separar-les. Aquest estudi va demostrar que una gran part de les variants genètiques implicades en la diabetis de tipus 2 estan situades en espais tridimensionals del genoma que connecten «interruptors» genètics amb gens importants per a la funció de les cèl·lules beta. Això va permetre crear models genètics que informen sobre el risc de patir diabetis de tipus 2 a través de gens que actuen sobre les cèl·lules beta, a diferència d'altres conjunts de variants que afecten el risc de patir diabetis a través d'altres mecanismes. Els models derivats d'aquest estudi obren vies per estratificar persones no només pel seu risc genètic de patir diabetis, sinó pels mecanismes específics que actuen en diferents persones que aparentment tenen el mateix risc genètic de patir la malaltia. Aquest treball es va publicar a *Nature Genetics* (Irene Miguel Escalada *et al.*, 2019).

En altres estudis col·laboratius, es van utilitzar eines d'edició genètica per modificar el genoma humà en cèl·lules d'illots pancreàtics de donants d'òrgans, en lloc de fer-ho en línies cel·lulars, i es van identificar dianes implicades en la diabetis de tipus 2. Aquest estudi, que representa un canvi metodològic transformatiu, es va publicar a *Nature Communications* (Romina Bevacqua, 2021).

Un altre treball d'aquest període ha generat més de 10.000 mutacions en una regió del genoma important per a la diabetis, a fi de disseccionar el seu funcionament a escala genòmica. El treball no s'ha publicat encara, però forma part d'una tesi doctoral dipositada per Berta Font Conill.

L'ajut ha permès que el grup liderat pel professor Martí Renom desenvolupi models per esbrinar les estructures tridimensionals del genoma que regulen gens en les cèl·lules beta pancreàtiques, on actuen les variants genètiques. Aquesta feina ha donat lloc a les publicacions col·laboratives esmentades i, addicionalment, a treballs metodològics importants en les revistes descrites a sota, així com a la tesi doctoral del Dr. Julen Mendieta Esteban.

El grup del CABD de Sevilla, liderat pel tristament difunt professor José Luis Gómez Skarmeta, va generar i caracteritzar mapes reguladors en teixits fetals humans, incloent-hi el pàncrees, els quals han estat utilitzats pel projecte de La Marató per identificar variants genètiques que actuen durant el desenvolupament fetal. A més, ha treballat i col·laborat per permetre aplicar nous mètodes que permeten detectar canvis tridimensionals en el genoma en teixits pancreàtics rellevants als mecanismes genètics de la diabetis de tipus 2 (Gerrard *et al.*, *Nature Communications*, 2020). Finalment, el grup també va identificar regions importants per a la diabetis que poden ser estudiades en peixos zebra; per tant, s'obren noves possibilitats d'anàlisi que no estan a l'abast dels models basats en cèl·lules o teixits humans.

### **3. Rellevància i possibles implicacions futures**

Aquests resultats estableixen vincles moleculars entre variants genètiques i mecanismes de risc de patir diabetis de tipus 2. Aquest tipus de coneixement és necessari per desenvolupar teràpies futures dirigides als mecanismes genètics implicats

en la DT2. El grup CRG està actualment emprant informació d'aquest tipus amb aquesta finalitat.

La diabetis de tipus 2 és una malaltia molt comuna, però molt heterogènia. Actualment no existeixen eines per distingir quins mecanismes moleculars estan darrere de la diabetis de tipus 2 en diferents persones. Els estudis publicats per Miguel-Escalada *et al.* demostren com es pot utilitzar la informació genòmica per generar models predictius per distingir persones amb diferents tipus de variants genètiques que actuen de manera diferent sobre el risc de patir diabetis. El desenvolupament d'aquest tipus d'eines és important per implementar models de medicina de precisió.

#### 4. Bibliografia científica generada

1. Bevacqua RJ, Dai X, Lam JY, Gu X, Friedlander MSH, Tellez K, Miguel-Escalada I, Bonàs-Guarch S, Atla G, Zhao W, Kim SH, Dominguez AA, Qi LS, Ferrer J, MacDonald PE, Kim SK.

*CRISPR-based genome editing in primary human pancreatic islet cells.*

Nat Commun. 2021 Apr 23;12(1):2397. doi: 10.1038/s41467-021-22651-w. PMID: 33893274.

2. Miguel-Escalada I, Bonàs-Guarch S, Cebola I, Ponsa-Cobas J, Mendieta-Esteban J, Atla G, Javierre BM, Rolando DMY, Farabella I, Morgan CC, García-Hurtado J, Beucher A, Morán I, Pasquali L, Ramos-Rodríguez M, Appel EVR, Linneberg A, Gjesing AP, Witte DR, Pedersen O, Grarup N, Ravassard P, Torrents D, Mercader JM, Piemonti L, Berney T, de Koning EJP, Kerr-Conte J, Pattou F, Fedko IO, Groop L, Prokopenko I, Hansen T, Martí-Renom MA, Fraser P, Ferrer J.

*Human pancreatic islet three-dimensional chromatin architecture provides insights into the genetics of type 2 diabetes.*

Nat Genet. 2019 Jul;51(7):1137-1148. doi: 10.1038/s41588-019-0457-0. Epub 2019 Jun 28. PMID: 31253982; PMCID: PMC6640048.

3. Mendieta-Esteban J, Di Stefano M, Castillo D, Farabella I, Martí-Renom MA.

*3D reconstruction of genomic regions from sparse interaction data.*

NAR Genom Bioinform. 2021 Mar 22;3(1):lqab017. doi: 10.1093/nargab/lqab017.  
PMID: 33778492; PMCID: PMC7985034.

4. Stik G, Vidal E, Barrero M, Cuartero S, Vila-Casadesús M, Mendieta-Esteban J, Tian TV, Choi J, Berenguer C, Abad A, Borsari B, le Dily F, Cramer P, Martí- Renom MA, Stadhouders R, Graf T.

*CTCF is dispensable for immune cell transdifferentiation but facilitates an acute inflammatory response.*

Nat Genet. 2020 Jul;52(7):655-661. doi: 10.1038/s41588-020-0643-0. Epub 2020 Jun 8. PMID: 32514124.

5. Gerrard DT, Berry AA, Jennings RE, Birket MJ, Zarrineh P, Garstang MG, Withey SL, Short P, Jiménez-Gancedo S, Firbas PN, Donaldson I, Sharrocks AD, Hanley KP, Hurles ME, Gomez-Skarmeta JL, Bobola N, Hanley NA.

*Dynamic changes in the epigenomic landscape regulate human organogenesis and link to developmental disorders.*

Nat Commun. 2020 Aug 6;11(1):3920. doi: 10.1038/s41467-020-17305-2. PMID: 32764605; PMCID: PMC7413392.