Curso de Evolución 2020 Facultad de Ciencias Montevideo, Uruguay

http://evolucion.fcien.edu.uy/ http://eva.fcien.udelar.edu.uy/

10. Evolución a nivel genómico. Transcriptómica evolutiva. Aproximaciones genómicas al estudio de la selección natural y a otros temas. Síntesis.

## Transcriptómica evolutiva: explorando la interfase entre el genoma, el fenotipo, y el ambiente

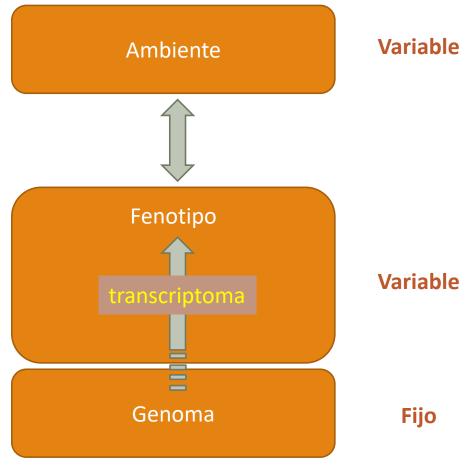
Enrique Lessa

Departamento de Ecología y Evolución
Facultad de Ciencias, Universidad de la República
Montevideo, Uruguay (<u>lessa@fcien.edu.uy</u>)

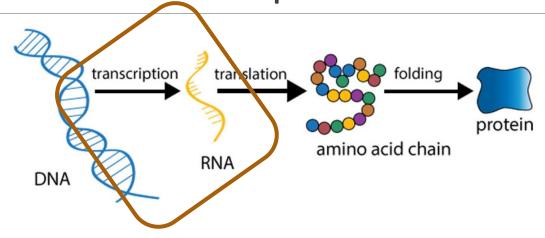


## Interfase entre el genoma, el fenotipo, y el ambiente





## ¿Qué es un transcriptoma?



Extracción masiva de ARNm / estabilización

Fragmentación/ secuenciación

Ensamblado

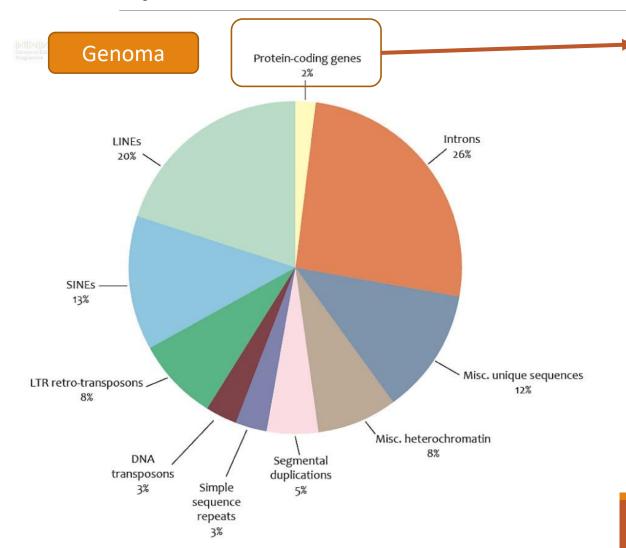
Mapeo de fragmentos

Todos los genes representados por ARNm

Cóctel de fragmentos de 200-500 pb; secuenciación (Illumina) Reconstrucción de las secuencias representadas

Estimación de la abundancia de los ARNm (expresión)

# Más vale gen conocido que marcador anónimo



#### Transcriptómica (secuencias):

- Muestra no aleatoria del genoma.
- Genes codificantes para proteínas (lo más conocido).

#### Transcriptómica (niveles de expresión):

- Estadio de desarrollo.
- Condición fisiológica.
- Órgano/tejido/célula....
- Ambiente.
- · Ubicación geográfica.
- · Posición filogenética.

• • • • •

## Esta presentación:

examinaremos, en ejemplos que me involucran

Problema biológico

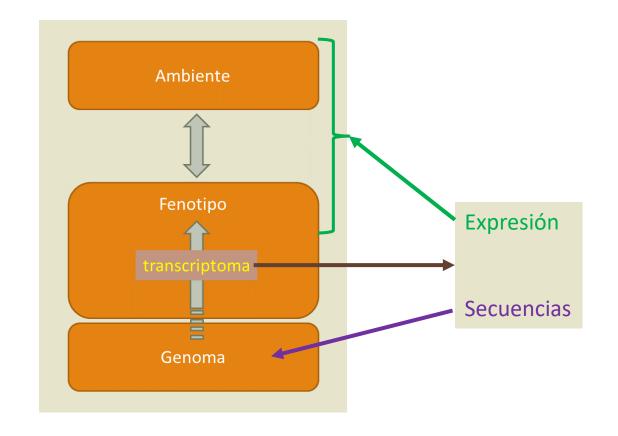
Taxón y órgano de interés

Diseño de muestreo

Qué hacer

Resultados

**Perspectivas** 



# Ejemplo 1: Divergencia adaptativa en murciélagos

Origen y evolución del vuelo

Múltiples adaptaciones

Energética

Sistema inmune



Robert J. Baker

•••

Filostómidos neotropicales: frugívoros, insectívoros, polinívoros, sanguívoros, piscívoros... una gran radiación adaptativa de unas 200 especies.

Apasionante, pero extremadamente difícil (en 2009): sin genoma de referencia, con una transcriptómica en su infancia.

## Costo energético del vuelo

El costo energético del vuelo es tal que el organismo debe consumir la energía obtenida de las presas, lípidos incluidos, durante el vuelo.

Más en general, se activan las vías lipídicas con mayor frecuencia.



## Enfoque minimalista

Problema biológico

Taxón y órgano de interés

Diseño de muestreo

Qué hacer

Resultados

Perspectivas

¿Podemos identificar adaptaciones al régimen de vida (energética/dieta) en murciélagos con un enfoque ómico?

Especie con genoma conocido: Myotis lucifugus.

Glándula submandibular (GSM).

Secretion by Striated Ducts of Mammalian Major Salivary Glands: Review From an Ultrastructural, Functional, and Evolutionary Perspective

BERNARD TANDLER, 1,2 EDWARD W. GRESIK,3 TOSHIKAZU NAGATO,4 AND CARLETON J. PHILLIPS<sup>2\*</sup>

Obtener 1 transcriptoma, mapeando los fragmentos en el genoma disponible.

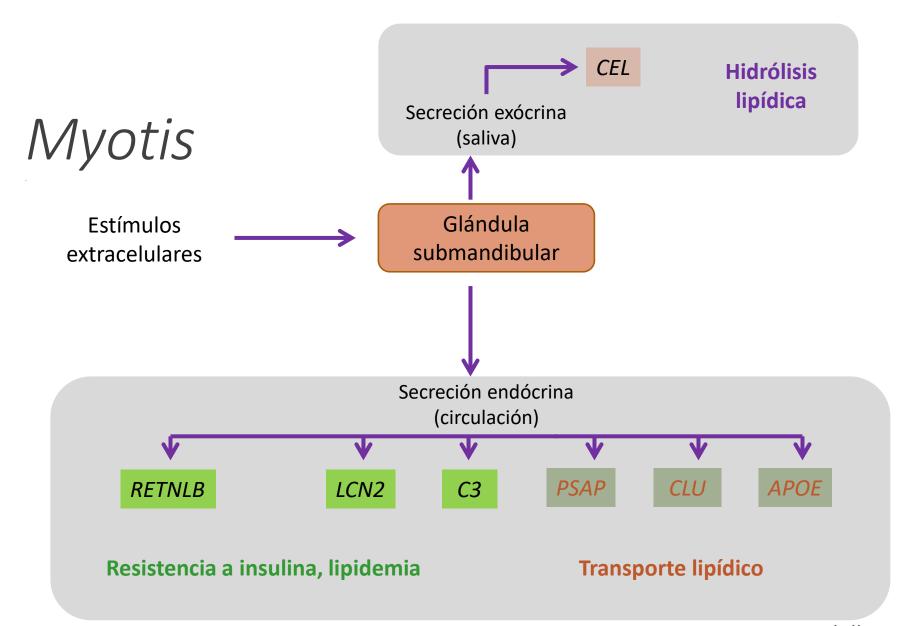
## Transcriptoma de GSM de Myotis

26 genes identificados como responsables de proteínas segregadas por estas glándulas.

Entre ellos 7 reclutados para expresión ectópica.

ectópico, ca. adj. Med. Que se produce fuera del lugar propio. Por ej.: embarazo ectópico.

Phillips et al. 2014, PloS One



Phillips et al. 2014, PloS One



### Nuevas preguntas

Problema biológico

Taxón y órgano de interés

Diseño de muestreo

Qué hacer

Resultados

Perspectivas

¿Cuál es la distribución filogenética de la expresión ectópica y de los procesos adaptativos a nivel génico?

Especies de murciélagos con genomas/transcriptomas disponibles.

Genes "candidatos":

7 del trabajo anterior: 5 en lista final

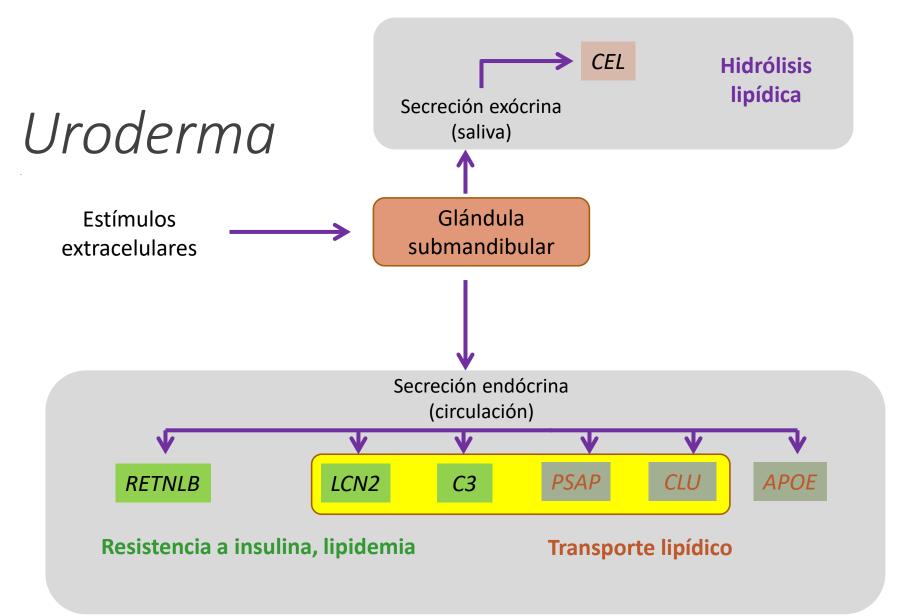
22 reportados como de importancia fisiológica (Schoiswhol et al. 2014)

(16 en lista final)

Lista final: 21 genes.

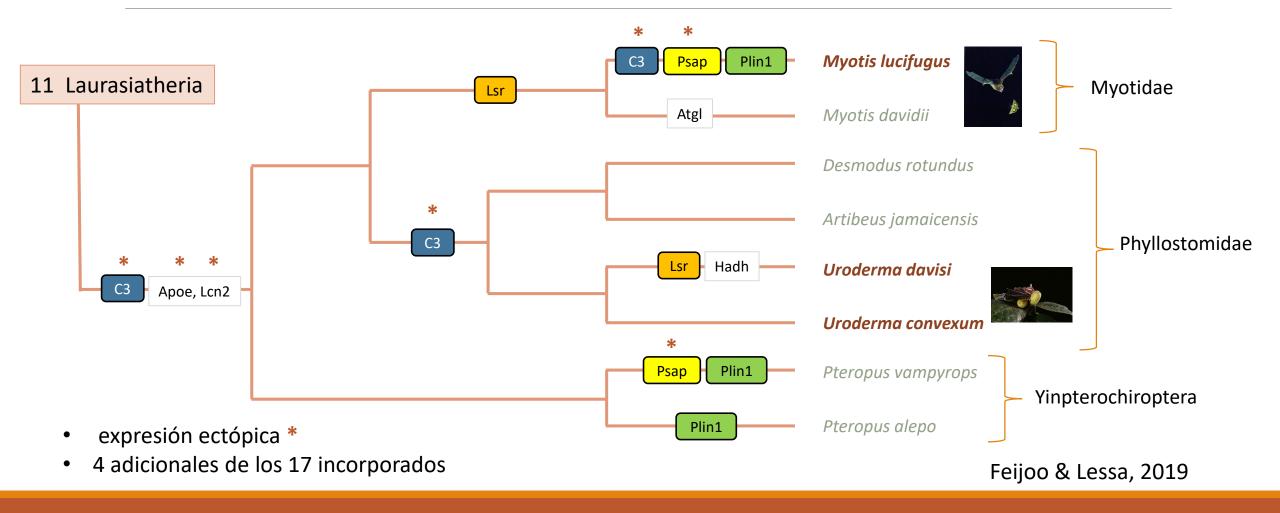
Órgano: glándula submandibular (GSM).

Obtener 2 transcriptomas adicionales (2 especies de *Uroderma*, filostómidos primariamente frugívoros).



Feijoo & Lessa, 2019

## Selección positiva



## Divergencia adaptativa en murciélagos: comentarios y conclusiones

#### Enfoque minimalista:

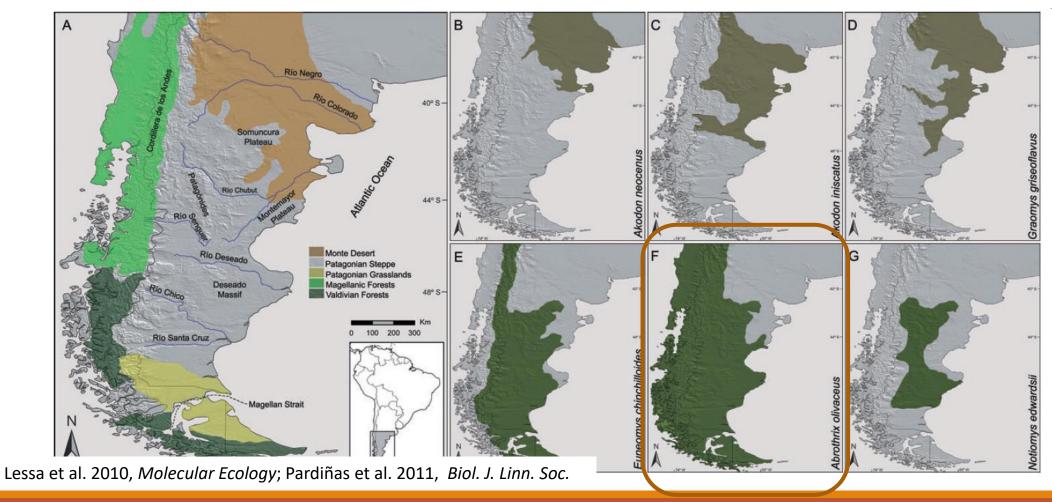
- 1 + 2 transcriptomas.
- Usamos las secuencias; de la expresión solamente usamos la localización (ectópica), no el nivel.

Combinación de datos propios y otros disponibles en bases de datos ómicas.

El metabolismo lipídico se confirma como de gran importancia adaptativa en murciélagos.

Los principales fenómenos no están restringidos a insectívoros especialistas... ¿tal vez tampoco a murciélagos?

## Ejemplo 2: expresión diferencial renal y divergencia genética en un roedor patagónico



#### Northern Patagonia

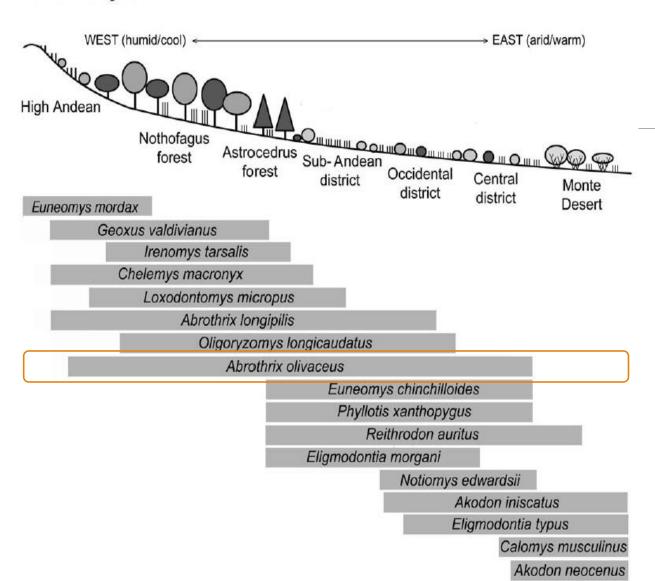




Foto: KD Rudloff, Mammal Images Library, American Society of Mammalogists

Pardiñas et al. 2011, Biol. J. Linn. Soc.

Graomys griseoflavus

## Adaptabilidad a gran variedad de condiciones ambientales

Problema biológico

¿Cómo persiste el ratón oliváceo (Abrothrix olivacea) en ambientes tan divergentes (bosque lluvioso/estepa árida?

Taxón y órgano de interés

Diseño de muestreo

Qué hacer

Resultados

Perspectivas

La especie más ampliamente distribuida del ensamble.

Riñón.

Fenton, R. A., & Knepper, M. A. (2007). Mouse models and the urinary concentrating mechanism in the new millennium. *Physiological Reviews*, 87, 1083–1112. https://doi.org/10.1152/physrev.00053.

Obtener datos fenotípicos (anatomía, concentración de orina) y transcriptómicos.

40 individuos.

4 puntos: 2 en estepa y 2 en bosque, a dos latitudes diferentes.

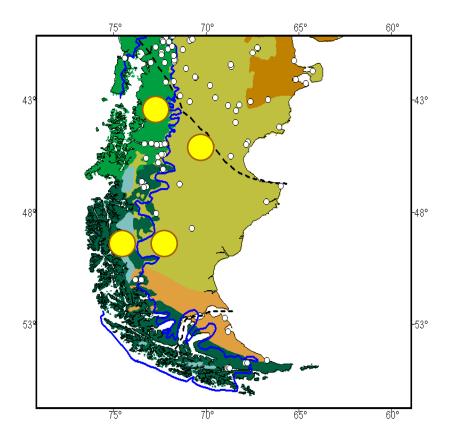
### Primeros pasos

Transcriptoma de referencia de  $\sim$  15.000 genes ( $\sim$  50% con > 99% de los CDS).

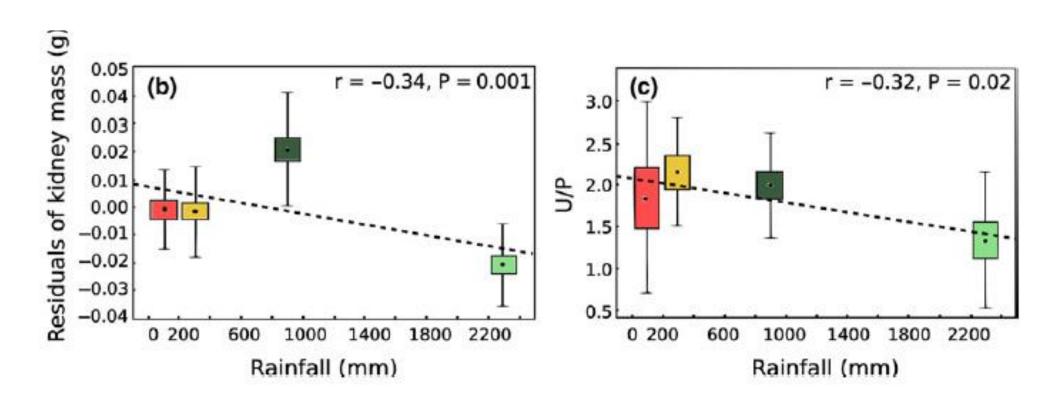
Giorello et al. 2014, BMC Genomics

Muestras replicadas (2 en estepa, 2 en bosque):

- Concentración de plasma y orina.
- Muestras para RNA-seq (10/localidad).
- Referencia mejorada de ~ 17.000 genes.
- Expresión diferencial.
- Divergencia genética (SNPs genotipados en transcriptos).

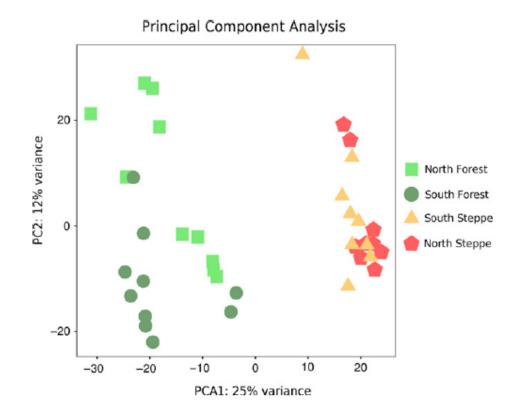


## Variación fenotípica



Giorello et al. 2018, Molecular Ecology

## Expresión diferencial



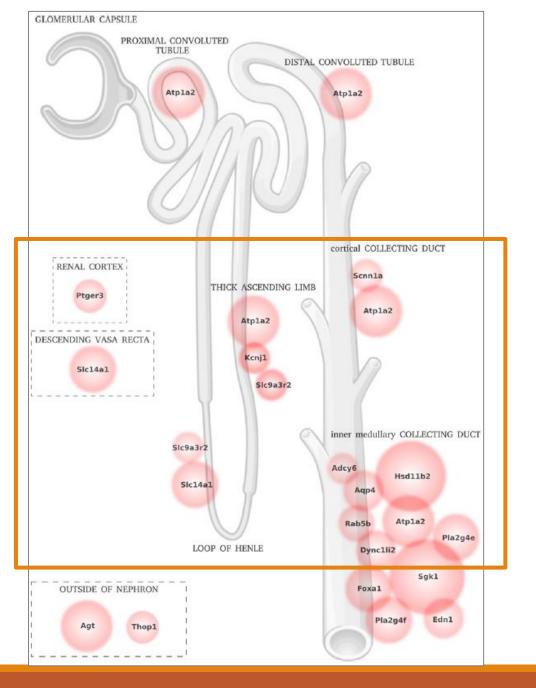
**FIGURE 3** Principal component analysis of expression values for 38 individuals

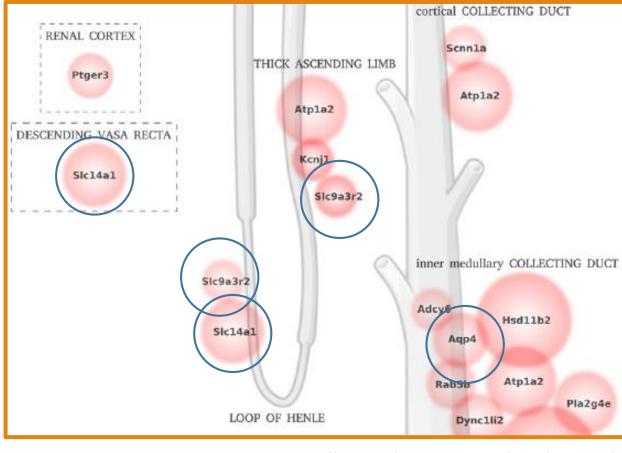
Casi 3.000 genes mostraron expresión diferencial entre estepa y bosque.

3 clases claramente representadas:

- Transportadores de solutos y otros genes vinculados a la regulación osmótica.
- Genes del sistema inmune.
- Genes de desintoxicación (detox).

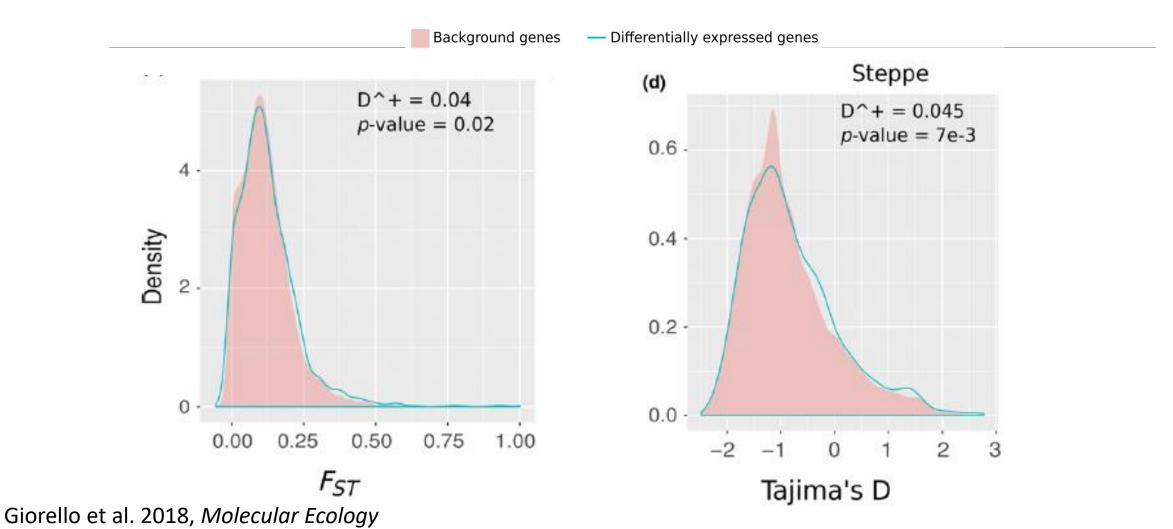
Giorello et al. 2018, Molecular Ecology





Giorello et al. 2018, Molecular Ecology

## Divergencia genética (secuencias)



### Conclusiones

Al igual que otras variables fenotípicas (pigmentación de la piel, tamaño del riñón, tamaño del tracto digestivo), la expresión diferencial en el riñón está fuertemente asociada a los biomas en los que se encuentra la especie.

La señal de expresión diferencial en genes vinculados a la **regulación osmótica** es contundente.

Pero los datos apuntan también a otros sistemas relevantes para la supervivencia en biomas muy diferentes (sistema inmune, sistema de desintoxicación).

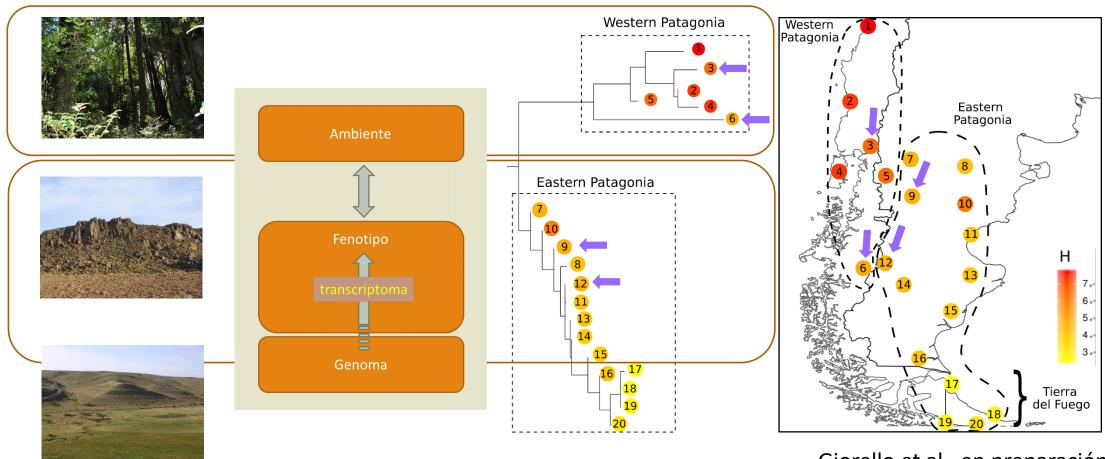
Existe una asociación (débil, pero significativa) entre expresión diferencial y divergencia genética entre biomas, así como con el patrón de polimorfismos locales.

Esto sugiere que la expresión diferencial no refleja solamente plasticidad fenotípica sino divergencia genética.



Foto: KD Rudloff, Mammal Images Library, American Society of Mammalogists

## Variación espacial y temporal

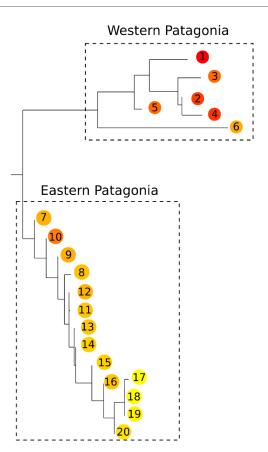


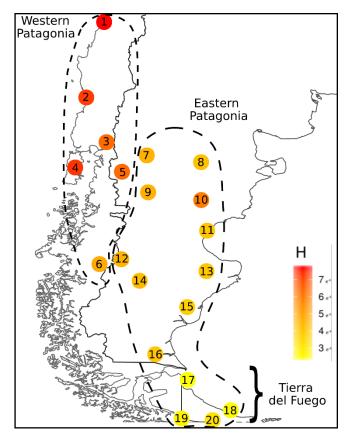
Giorello et al., en preparación

### Perspectivas

Con un sistema de captura de exones (diseñado en base al transcriptoma de referencia), muestreamos > 8.000 genes y genotipamos > 160.000 SNPs en toda la distribución patagónico-fueguina de la especie.

Con esos datos, estamos reconstruyendo la historia biogeográfica de la especie, tanto en términos demográficos como adaptativos.





## Síntesis - Transcriptómica evolutiva:

explorando la interfase entre el genoma, el fenotipo, y el ambiente

Problema biológico

Taxón y órgano de interés

Diseño de muestreo

Qué hacer

Resultados

Perspectivas

