

Determinación de nuevos elementos reguladores de la respuesta inmunitaria a nematodos gastrointestinales en ganado ovino a través de un análisis de redes de co-expresión lncRNA-mRNA

A. Suárez-Vega¹, N. A. Karrow¹, E.A. Borkowski², A.S. Peregrine², P. Menzies³, A. Cánovas¹

¹Centre for Genetic Improvement of Livestock, Department of Animal Biosciences, University of Guelph, Guelph, ON, Canada

acanovas@uoguelph.ca (Corresponding Author)

²Department of Pathobiology, Ontario Veterinary College, University of Guelph, Guelph, ON, Canada

³Department of Population Medicine, Ontario Veterinary College, University of Guelph, Guelph, ON, Canada

Resumen

Durante los últimos años, el desarrollo de las tecnologías de secuenciación, así como de los programas bioinformáticos para el análisis de datos de RNA-Seq ha dado lugar a un número creciente de estudios destinados a anotar y dilucidar la función potencial de los elementos no codificantes del transcriptoma. En especies ganaderas, se han aplicado diferentes algoritmos bioinformáticos para el ensamblado *de novo*, sin embargo, se sabe poco sobre la influencia de este paso en la detección de ARN no codificantes largos (lncRNA). Los lncRNAs han adquirido una importancia creciente como reguladores de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa. En el ganado ovino, los nematodos gastrointestinales (NG) son uno de los problemas sanitarios más relevantes que afectan a las ovejas de pastoreo, causando pérdida de peso, diarrea, anorexia, anemia y muerte. En este sentido, identificar aquellos elementos reguladores clave en la defensa del hospedador frente a los parásitos puede constituir una herramienta fundamental para acelerar la ganancia genética en este carácter complejo. El objetivo de este estudio fue evaluar tres estrategias diferentes de reconstrucción de transcritos para determinar el enfoque más optimizado para el descubrimiento de lncRNAs en el transcriptoma del hígado de ovejas infectadas de forma natural por NG. Además, teniendo en cuenta que las diferencias en la respuesta individual al estrés pueden tener un efecto sobre el estado de inmunidad, nuestro segundo objetivo fue determinar los lncRNAs expresados diferencialmente entre animales con niveles altos y moderados de respuesta al estrés. Después de mapear los datos de secuencias frente al genoma ovino usando RNA-Seq, utilizamos los software *StringTie*, *Cufflinks* y *CLC Genomics Workbench* (CLC) para realizar la reconstrucción de los transcritos. CLC reconstruyó el mayor número de transcritos, mostrando una mayor sensibilidad que los otros enfoques cuando se compara con los transcritos anotados en el genoma de referencia. Sin embargo, cuando se compara con los lncRNAs anotados, la sensibilidad, la especificidad y el número de lncRNAs coincidentes fueron mayores para la estrategia *StringTie*. Tras la identificación de los lncRNAs, se realizó un análisis de co-expresión lncRNA-mRNA en la que se evidenciaron módulos de genes en el que los lncRNAs poseían un papel regulador clave en base al número de interacciones dentro de la red de co-expresión (*hub gene*). En los animales parasitados con respuesta moderada al estrés, se identificaron módulos vinculados a la "vía de señalización del TCR", la "señalización del interferón" y la "señalización de citoquinas en el sistema inmunitario" (FDR<0.05). Estos resultados sugieren el papel regulador clave de los lncRNAs

en la respuesta del sistema inmunitario contra los parásitos. Además, la identificación de un enriquecimiento significativo en QTLs previamente relacionados con infecciones parasitarias en ovejas que se solapan con regiones genómicas en las que existen lncRNAs diferencialmente expresados subraya la relevancia funcional de estos elementos, e incita a la necesidad de seguir investigando para entender mejor la biología de los lncRNAs en respuesta a la infección parasitaria gastrointestinal en ovinos.

Keywords: ovino, parásitos gastrointestinales, RNA-Seq, lncRNA