



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Innate immunity, developmental speed and their trade-offs in two hexapod models

Cheng, S.

Citation

Cheng, S. (2023, November 28). *Innate immunity, developmental speed and their trade-offs in two hexapod models*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3665319>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3665319>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

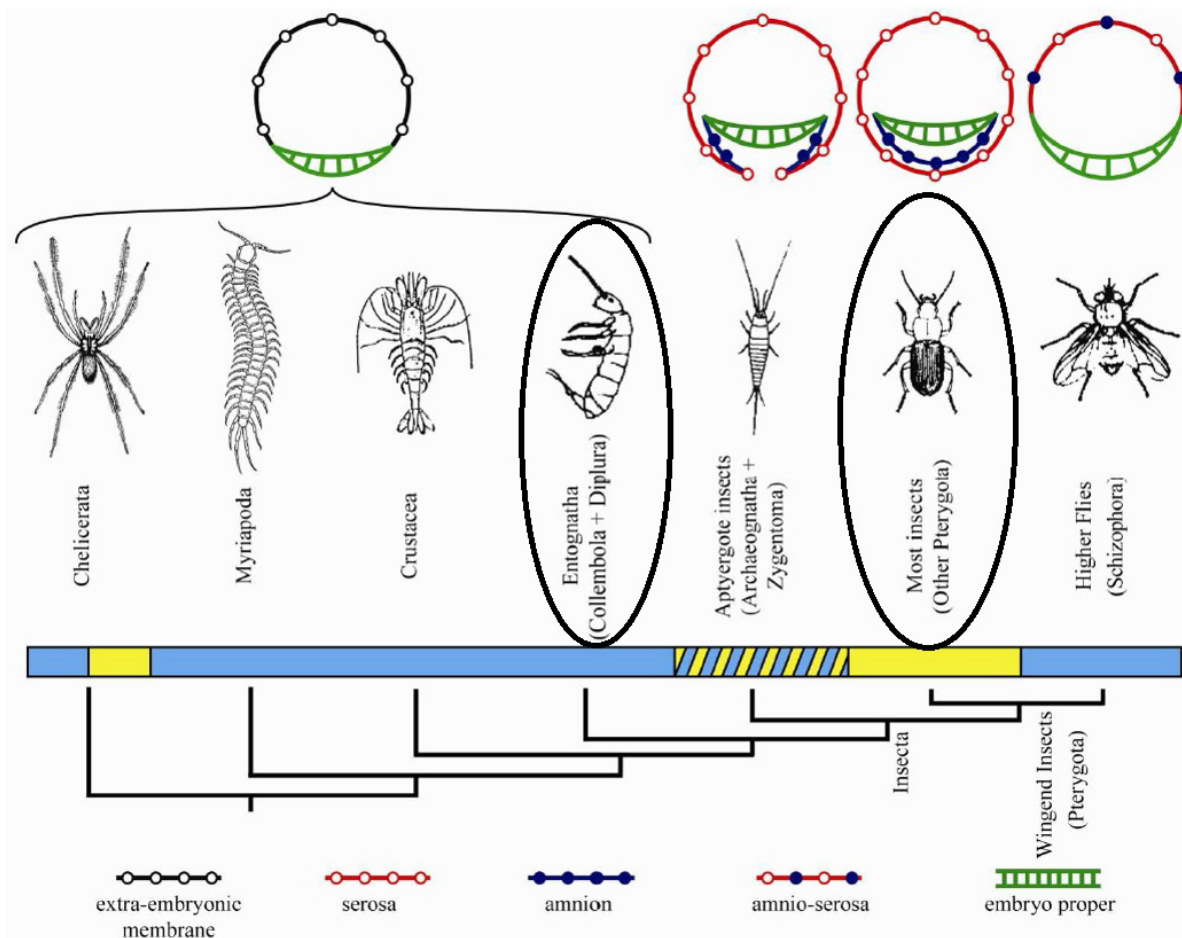
Dit proefschrift richt zich op kenmerken van de levensgeschiedenis van organismen en hun wederzijdse afhankelijkheid. In het bijzonder staat de balans tussen ontwikkelingssnelheid en de sterkte van het immuunantwoord centraal. Kort samengevat onderzoek ik de immuunafweer tijdens de embryonale ontwikkeling van een hexapode in hoofdstuk 2, onderzoek ik in hoofdstuk 3 de compromissen ('*trade-offs*') die samenhangen met verhoogde ontwikkelingssnelheid in selectielijnen van de rijstmeelkever *Tribolium castaneum* en onderzoek ik de genetische basis van deze compromissen in hoofdstuk 4.

Diverse evolutionaire innovaties hebben bijgedragen aan het buitengewone succes van de insecten (besproken in hoofdstuk 1). Een evolutionaire innovatie in het ei van insecten, de serosa, krijgt echter minder aandacht van evolutiebiologen.

De serosa en immunocompetentie in eieren van springstaarten

Gedurende de embryonale ontwikkeling van insecten wordt immunologische bescherming geboden door de serosa, een extraembryonaal membraan.

In **hoofdstuk 2** onderzoek ik de immuunafweer in de springstaart *Orchesella cincta*, een organisme dat geen insect is en dus geen serosa heeft, maar wel nauw verwant is aan de insecten (Figuur 5-1). Door een mix van Gram-positieve en Gram-negatieve bacteriën (*Micrococcus luteus* en *Escherichia coli*) te injecteren, laat ik zien dat infectie de transcriptie van immuogenen verhoogt in eieren van *O. cincta*. Ik concludeer dat de serosa dus niet strikt noodzakelijk is voor een immuunantwoord en dat andere weefsels antimicrobiële eiwitten produceren in *O. cincta* eieren. Een hier interessante andere publicatie toont aan dat eieren van de doodgraver *Nicrophorus vespilloides* geen immuunantwoord laten zien, hoewel ze wel degelijk een serosa bezitten. Dit ondersteunt dat de aanwezigheid of afwezigheid van een serosa in eieren van geleedpotigen niet noodzakelijkerwijze betekent dat immuunafweer aanwezig of afwezig is.

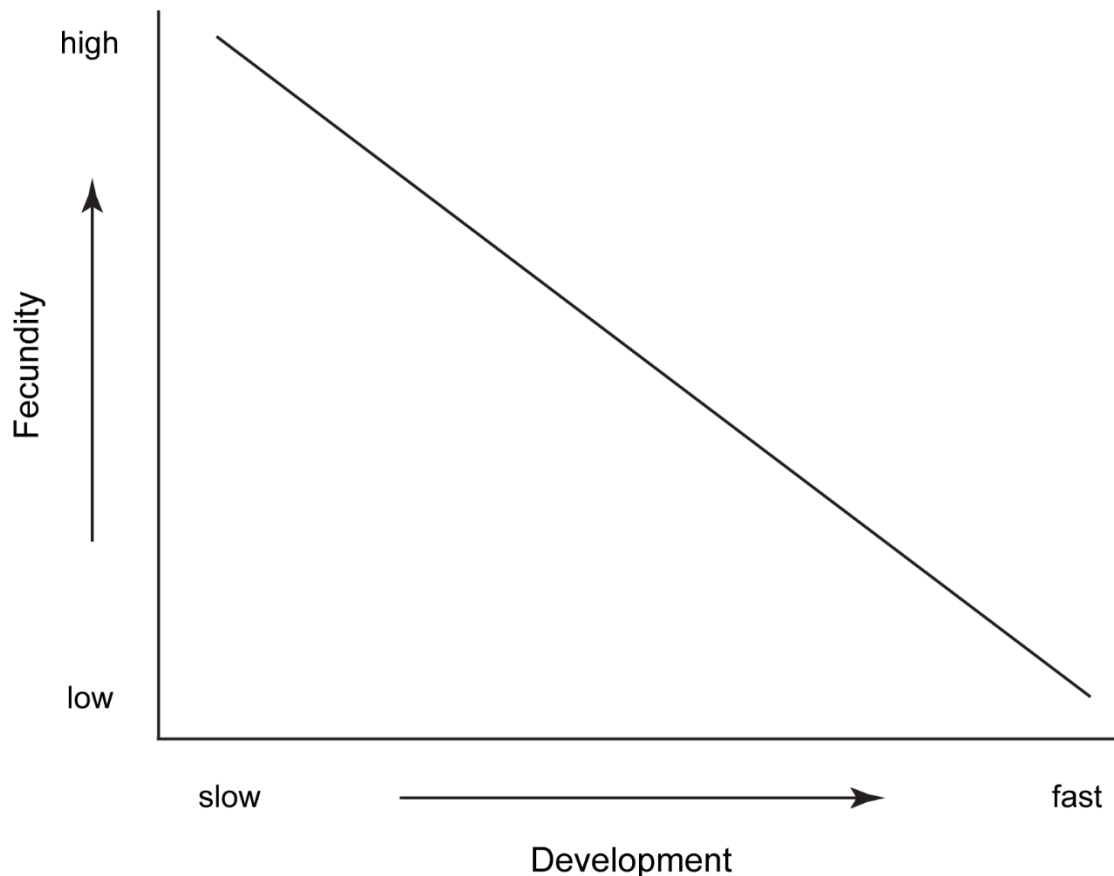


Figuur 5-1. Stamboom van de grote groepen geleedpotigen. De balk laat zien of eieren van deze groepen in aquatisch (blauw) terrestrisch (geel) of vochtig milieu ontwikkelen. De schematische tekeningen erboven laten de topologie van embryo, serosa en amnion zien in deze eieren. De springstaarten en insecten zijn omcirkeld in de stamboom.

Trade-offs met ontwikkelingssnelheid

De doodgraver *N. vespilloides* en de fruitvlieg *D. melanogaster* ontwikkelen beide extreem snel als embryo en beiden hebben dus immunocompetentie in het ei verloren. In *Drosophila* is zelfs de gehele serosa verloren gegaan tijdens de evolutie. Het lijkt er dus op dat er een trade-off is tussen ontwikkelingssnelheid en immuunafweer. Trade-offs tussen groei en immuunafweer zijn al aangetoond in meerdere organismen.

In **hoofdstuk 3** voerde ik kunstmatige selectie uit op uitgekruiste populaties van *Tribolium castaneum* voor langzame en snelle embryonale ontwikkeling. Hierdoor was ik in staat om de wederzijdse afhankelijkheid van ontwikkelingssnelheid en sterkte van het immuunantwoord te testen. Hoewel infectie in alle lijnen leidde tot verhoogde expressie van immuunogenen, vond ik geen trade-off tussen ontwikkelingssnelheid en immuunafweer in de selectielijnen. Ik kon echter duidelijk aantonen dat er een trade-off bestaat tussen ontwikkelingssnelheid en fecunditeit (Figuur 5-2).



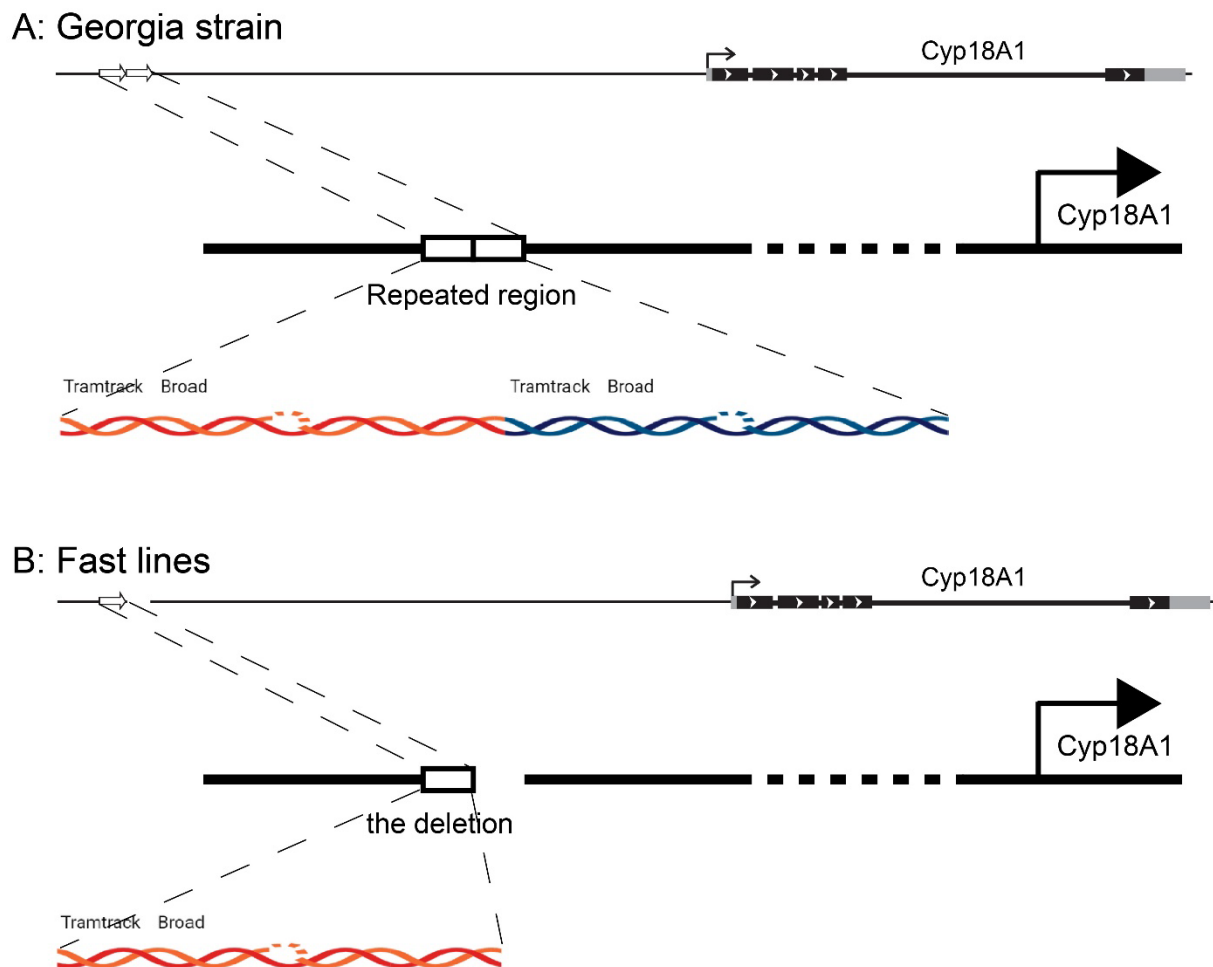
Figuur 5-2. De trade-off tussen ontwikkelingssnelheid en fecunditeit zoals gevonden in onze selectielijnen.

Een belangrijk allel dat levensgeschiedenis bepaalt in *Tribolium*

De meeste beslissingen in de fysiologie, ontwikkeling en gedrag van insecten worden gestuurd. Het stereoïde hormoon ecdysone (20E) is zo'n cruciaal hormoon in insecten.

In **hoofdstuk 4** laat ik zien dat de embryonale ontwikkeling van de selectielijnen begint te divergeren in timing rond het begin van de dorsale sluiting van het embryo. Ik laat ook zien dat een puls van ecdysone tijdens de embryonale ontwikkeling de dorsale sluiting induceert. Consistent hiermee vindt de piek van ecdysone vroeger plaats in de lijnen die geselecteerd waren voor snelle embryonale ontwikkeling dan in de lijnen die geselecteerd waren voor langzame embryonale ontwikkeling.

Door *pooled whole genome resequencing* te combineren met genexpressie studies en een RNAi screen, kon ik laten zien dat een enzym dat ecdysone afbreekt, *Cyp18a1*, onder selectie heeft gestaan. Om precies te zijn heeft een deletie van 222 basenparen, die een stuk vóór *Cyp18a1* ligt, onder positieve selectie gestaan in de snelle lijnen (dit allel noemen we het F allel). Deze deletie ligt in een regulator element van *Cyp18a1* dat bindingsplaatsen voor Tramtrack, Broad en de ecdysone receptor bevat die samen een ecdysone-gevoelige enhancer vormen (Figuur 5-3). Het alternatieve allel is het S-allel waarin geen deletie aanwezig is, maar een herhaalde sequentie (Figuur 5-3A)



Figuur 5-3. Schematische representatie van de regio met een herhaalde sequentie (het S allel) en een deletie (het F allel) een stuk vóór *Cyp18a1*. (A) De herhaalde sequentie in de Georgia lijn met dubbele bindingsplaatsen voor Tramtrack en Broad. (B) De deletie in dezelfde regio die alleen nog maar enkele bindingsplaatsen heeft voor Tramtrack en Broad (het F allel).

Het is interessant dat de Georgia lijn homozygoot is voor het S allel, zodat de herhaalde sequentie aanwezig is in alle individuen (Figuur 5-3A). Dit gaf mij de mogelijkheid om de deletie te reconstrueren in de homogene genetische achtergrond van de Georgia-lijn met behulp van CRISPR-Cas9 technologie. Ik laat zien dat deze deletie de embryonale ontwikkeling versnelt, de expressie van *Cyp18a1* vertraagt, maar de piek van ecdysone vervroegt en een trade-off met fecunditeit teweeg brengt. Omdat het S allel dubbele bindingsplaatsen voor Tramtrack en Broad bevat, neem ik aan dat de enhancer van het S allel makkelijker bindt met basale promotor van *Cyp18a1*. Een wiskundig model laat zien dat verminderde gevoeligheid voor ecdysone van het F allel leidt tot vertraging van *Cyp18a1* expressie, maar juist tot een eerdere piek van ecdysone als we veronderstellen dat ecdysone een positieve feedback heeft op de eigen synthese.

Samenvattend kon ik niet laten zien dat er een trade-off is tussen ontwikkelingssnelheid en sterkte van het immuunantwoord. Ik kon echter een duidelijke trade-off met fecunditeit aantonen. Deze trade-off wordt genetisch gestuurd door een eenvoudige deletie van 222 baseparen een stuk vóór het gen *Cyp18a1*.