



Análisis transcriptómico en el cromosoma 4 de pupas de *Drosophila melanogaster* desarrolladas en hipergravedad

Alejandro Escobar*, Xeno Wingfield†, Senku Ishigami†, Thomas Hunt Morgan*

*Laboratorio de Bienestar y Salud Integral (LaSBI), Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina

†Houston Space Center, 1601 E NASA Pkwy, Houston, TX 77058, Estados Unidos

Autor de correspondencia: Alejandro Escobar alejandro.escobar@ingenieria.uner.edu.ar.

Resumen

La exposición a condiciones de hipergravedad representa una herramienta experimental valiosa para estudiar la respuesta transcriptómica al estrés físico. En este estudio, se analizó el perfil de expresión génica del cromosoma 4 en pupas de *Drosophila melanogaster* desarrolladas bajo una gravedad aumentada (3g), en comparación con controles mantenidos a 1g. Utilizando datos de RNA-Seq disponibles de manera online y un pipeline bioinformático basado en STAR, DESeq2 y g:Profiler, se evaluaron cambios de expresión específicos de esta región cromosómica. El control de calidad reveló lecturas de alta fidelidad y un alineamiento eficiente (>99.7% de mapeo total). El análisis de expresión diferencial identificó varios genes significativamente reprimidos bajo hipergravedad, incluyendo ND-49, Gat y ATPsynbeta, relacionados con la función mitocondrial y la neurotransmisión, y un único gen sobreexpresado (CaMKI). El enriquecimiento funcional reveló alteraciones en rutas vinculadas al transporte iónico, la fosforilación oxidativa y proyecciones gliales, indicando una reprogramación transcripcional inducida por la gravedad alterada. Estos resultados destacan la sensibilidad del cromosoma 4 a cambios físicos del entorno y ofrecen nuevas perspectivas sobre la adaptación molecular al estrés gravitacional durante el desarrollo.

Palabras clave

Hipergravedad - *Drosophila melanogaster* - RNA-Seq - Expresión génica diferencial - Transporte iónico

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la regulación transcriptómica bajo distintas condiciones gravitacionales se ha convertido en un área clave de investigación, con implicaciones relevantes para la biología del desarrollo y la exploración espacial, utilizando a *Drosophila melanogaster* como organismo modelo principal [1][2]. La manipulación de la gravedad, desde microgravedad hasta hipergravedad, permite explorar las adaptaciones moleculares asociadas al estrés físico [2][3]. Gracias al desarrollo del RNA-Seq, hoy es posible analizar con gran resolución los patrones de expresión génica durante etapas críticas como el desarrollo de la pupa [4].

La hipergravedad (aceleración >1 g) afecta el metabolismo energético, el transporte iónico y las respuestas al estrés, aunque los mecanismos moleculares implicados aún no se comprenden completamente. La etapa pupal de *Drosophila*, caracterizada por intensa reorganización celular, es ideal para estudiar estos efectos, dado que incluso cambios leves en la gravedad alteran el desarrollo y la homeostasis. Estudios previos han demostrado que exposiciones crónicas a 3g, 5g u 8g provocan respuestas transcriptómicas coordinadas relacionadas con disfunción mitocondrial, estrés oxidativo e inmunomodulación [2][4].

El cromosoma 4 de *D. melanogaster* alberga genes esenciales para la regulación metabólica y la adaptación al estrés, lo cual es relevante bajo hipergravedad, donde se ve comprometido el

equilibrio energético. Se ha observado que la hipergravedad reduce la expresión de genes mitocondriales y canales iónicos, afectando la señalización celular [3][5]. Dado que varios de estos genes se encuentran en el cromosoma 4, el análisis de sus cambios transcriptómicos específicos durante la pupación bajo hipergravedad, podría revelar redes génicas clave involucradas en la adaptación al estrés.

Aunque se han hecho estudios transcriptómicos globales ante gravedad alterada [6][7], la contribución de cromosomas individuales sigue sin aclararse [8]. La hipergravedad sirve como modelo experimental para estudiar principios fundamentales de mecanotransducción, con implicaciones que van desde la salud de astronautas hasta terapias contra el estrés mecánico en tejidos. Además, la hipergravedad puede afectar la organización nuclear y la estructura de la cromatina, modulando la expresión génica [9][10].

Este trabajo se propone caracterizar la respuesta específica del cromosoma 4 en pupas de *Drosophila* expuestas a hipergravedad, ofreciendo una visión centrada en esta región cromosómica. Considerando el carácter heterocromático del cromosoma 4, con este estudio se busca entender cómo la fuerza gravitacional influye en la regulación génica a través de alteraciones en la dinámica de la cromatina. Se analizaron datos de tecnologías de secuenciación de última generación y herramientas bioinformáticas para caracterizar el transcriptoma de este cromosoma bajo hipergravedad.



II. MÉTODOS

A. Adquisición de Datos

Se trabajó con un set de datos reducido que incluye sólo las lecturas que alinean contra el cromosoma 4 de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*). Los datos de RNA-Seq completos están disponibles en la base de datos GEO de NCBI, bajo el número de acceso [GSE80323](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE80323). El set de datos está compuesto por 12 muestras, dos tratamientos con tres réplicas biológicas cada uno.

B. Especificaciones Técnicas

Los análisis bioinformáticos se llevaron a cabo en una computadora Lenovo con procesador AMD Ryzen7 5700U de 4.3 GHz de 16 hilos y 8 GB de RAM. El sistema operativo fue Pop!-OS 22.04 LTS y las herramientas mencionadas se ejecutaron en sus respectivos *environments* de conda (v24.7.1).

C. Control de Calidad

Para el control de calidad se utilizaron datos de RNA-Seq correspondientes a pupas de *Drosophila melanogaster* desarrolladas bajo dos condiciones: gravedad normal (1g, condición control) e hipergravedad (3g). Se analizaron tres réplicas biológicas por condición, habiendo dos archivos para cada una, correspondientes a las secuencias de las lecturas *forward* y *reverse*, ya que las lecturas eran del tipo *paired-end* (lecturas apareadas).

El control de calidad inicial se realizó mediante comandos de *bash* con FastQC (v0.11.9) para generar los reportes, que posteriormente fueron agrupados mediante MultiQC (v1.27.1). Aunque se observó buena calidad general, con niveles de duplicación elevados en regiones altamente expresadas, se realizaron procedimientos de trimming con Trimmomatic (v0.39) y Skewer (v0.2.2). Finalmente, se decidió conservar las lecturas sin trimming adicional, ya que las mejoras eran mínimas y las lecturas quedaban truncadas.

D. Alineamiento

La primera etapa del alineamiento consiste en la creación de índices. Para ello primero calculamos el tamaño del genoma del cromosoma 4 para pasar como parámetro al software de alineamiento. Se empleó el comando de Bioawk (v20110810): `bioawk -c fastx '{print $name, length($seq)}' chr4.fa`. Obteniendo que el tamaño del cromosoma 4 es de 1351857 pb.

Para el alineamiento se utilizó el software STAR (v2.7.11b), debido a su capacidad "*splice-aware*" para mapear uniones de empalme descritas en la anotación o detectar nuevas. Se generó un índice personalizado del cromosoma 4 utilizando el archivo del cromosoma y la anotación GTF correspondiente, con los parámetros *overhang* de 99, *genomeSaiIndexNbases* en 9.18 y el

resto por defecto. Luego el alineamiento se realizó con el índice y la anotación con parámetros por defecto para librerías no direccionadas (*unstranded*), agregando el parámetro *--quantMode GeneCounts*, para obtener los archivos de conteo por gen generados automáticamente por muestra.

Posteriormente, se realizó un control de calidad de los alineamientos con Qualimap (v2.3), y los resultados se resumieron mediante MultiQC. Además, se generaron archivos de cobertura tipo *.bw* con bamCoverage (v3.5.6) de deeptools para visualización en navegadores genómicos. Hasta este paso los archivos BAM no están indexados, y bamCoverage requiere un archivo de índice *.bai* para poder procesarlos. Para ello primero se generaron los índices mediante samtools index (v1.13). Para ejecutar bamCoverage se empleó un valor de *binSize* igual a 5 pb dada las características de los datos reducidos. Y se controlaron los alineamientos mediante Jbrowse2 (v3.5.0).

E. Análisis de Expresión Diferencial

Se realizó un análisis de expresión diferencial con los archivos de salida del paso anterior mediante un script en R (v4.5.0), las etapas incluyeron el preprocesamiento de los datos, la anotación con la base de datos de *Ensembl*, el ajuste del modelo estadístico para "g3 vs g1" y la visualización de los resultados mediante gráficos informativos.

Los conteos por gen fueron obtenidos directamente desde los archivos generados por STAR. Se construyó una matriz de expresión que fue procesada en R mediante el paquete DESeq2 (v1.48.1). Teniendo en cuenta que el número total de genes analizados fue limitado (solo del cromosoma 4), el uso de un umbral estricto reducía excesivamente la cantidad de genes detectables, comprometiendo el poder del análisis funcional posterior. Por lo tanto se decidió relajar el umbral de significancia biológica de *log2FoldChange* de ± 0.5 a 0 para aumentar la sensibilidad de los efectos relevantes de la condición experimental sobre la expresión génica, manteniendo un *p-value* < 0.05 como umbral estadístico.

Para analizar los genes que se encuentran expresados diferencialmente se adoptó como criterio considerar como *upregulated* (regulados de manera positiva), a genes con un *log2FoldChange* mayor a 0 y un *p-value* menor a 0.05; y como genes *downregulated* (regulados de manera negativa), a genes que presenten un *log2FoldChange* menor a 0 y tengan un *p-value* menor a 0.05.

Los genes fueron anotados mediante biomaRt (v2.64.0) con información de *Ensembl*, como el nombre común y el ID de FlyBase. Posteriormente, se realizaron análisis exploratorios de expresión diferencial (PCA, heatmaps y volcano plots).

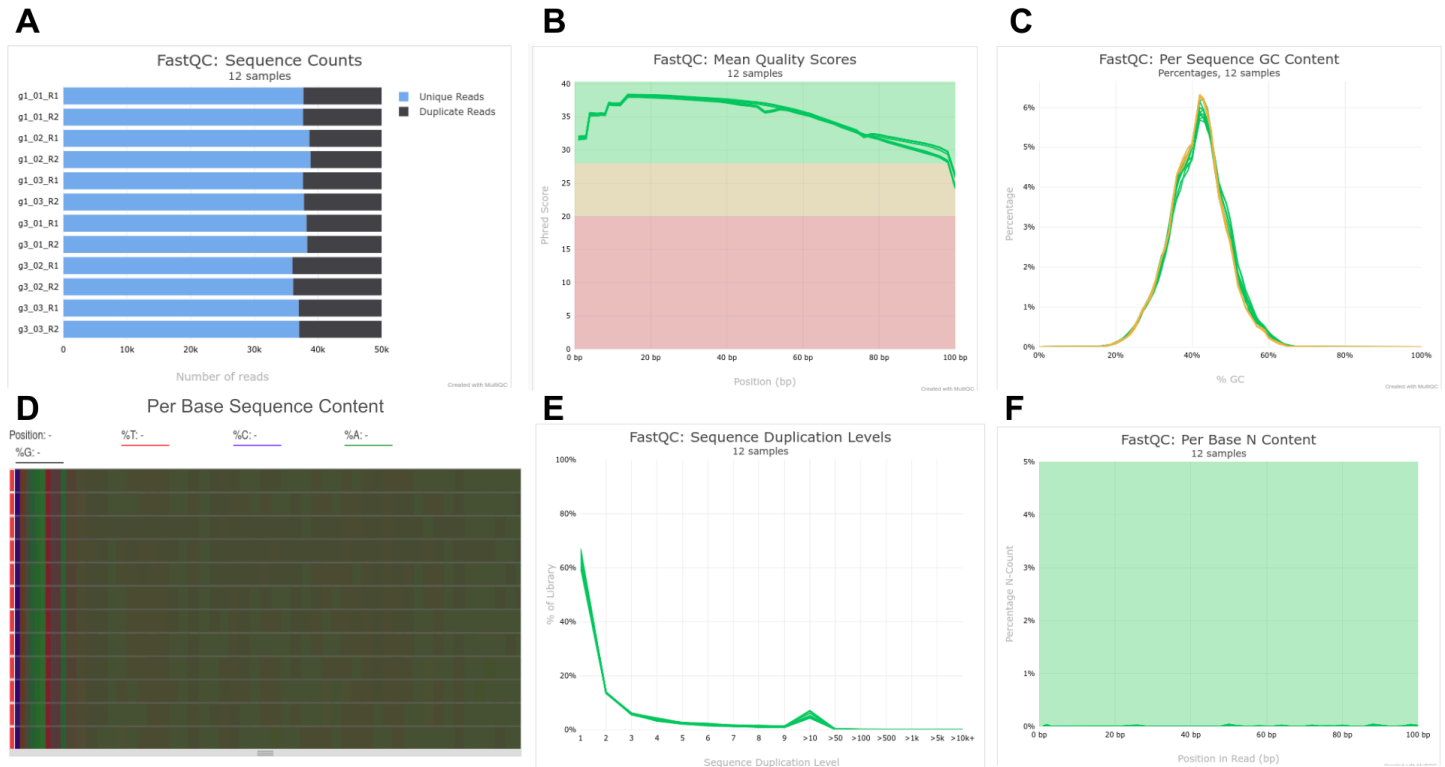


Fig. 1. Control de calidad de las secuencias de RNA-Seq evaluado con FastQC y resumido con MultiQC. (A) Número total de lecturas por muestra, diferenciando entre lecturas únicas (azul) y duplicadas (negro). (B) Calidad promedio por posición en las lecturas, con valores *Phred* altos (>30), y una leve disminución hacia el extremo 3'. (C) Distribución del contenido de GC por muestra, con una curva unimodal centrada alrededor del 42 %, típica de *Drosophila melanogaster*. (D) Composición de bases por posición, sin sesgos significativos entre nucleótidos. (E) Nivel de duplicación de secuencias, con la mayoría de las lecturas en baja duplicación; los niveles más altos corresponden probablemente a transcritos muy expresados. (F) Contenido de bases no determinadas "N" a lo largo de las lecturas, mostrando frecuencias casi nulas en todas las posiciones.

Finalmente, se realizó un enriquecimiento funcional con g:Profiler usando g:GOST, seleccionando como organismo de referencia a *Drosophila melanogaster* y configurando el análisis sobre todos los genes conocidos. Además para el script se emplearon los paquetes: tidyverse (v2.0.0) para la manipulación de datos; ggplot2 (v3.5.2) y ggrepel (v0.9.6) para visualizar los resultados, destacando genes significativos en volcano plots; pheatmap (v1.0.12) permitió generar mapas de calor para evaluar la similitud entre muestras; y enrichR (v3.4) se utilizó para realizar análisis funcionales de los genes expresados diferencialmente, identificando procesos biológicos enriquecidos.

III. RESULTADOS

A. Control de Calidad

En la Fig.1.A se puede apreciar que todas las muestras presentan un número uniforme de lecturas (50,000 lecturas por archivo), con una proporción considerable de lecturas duplicadas. Esta duplicación es esperable en datos de RNA-Seq, ya que refleja la sobreexpresión de determinados transcritos y no necesariamente implica una baja calidad técnica. Observando la calidad promedio por posición a lo largo de las lecturas (Fig.1.B), las puntuaciones de calidad (*Phred*) son altas (>30) en casi toda la longitud de las secuencias, disminuyendo levemente hacia el

extremo 3'. Este comportamiento es común en datos de Illumina y no afecta significativamente el análisis, por lo que luego de evaluar distintas herramientas de *trimming*, se decidió trabajar con los datos originales, ya que las mejoras eran mínimas y las lecturas quedaban truncadas. Las secuencias son de longitud homogénea de 100 pb cada una.

En la Fig.1.C se observa una distribución normal del contenido de GC entre las condiciones 3g y 1g, centrada en torno al 42 %, lo cual concuerda con el perfil genómico de *Drosophila melanogaster* reportado por el NCBI, y sugiere ausencia de contaminaciones o sesgos de composición nucleotídica. El contenido de bases por posición (Fig.1.D) muestra fluctuaciones anormales entre los cuatro nucleótidos, en las primeras bases secuenciadas por un artefacto inherente a la técnica utilizada en la secuenciación.

El panel de la Fig.1.E refleja los niveles de duplicación de secuencias. Aunque se observa un pico inicial de secuencias únicas, se registran niveles moderados de duplicación, lo cual es característico de experimentos transcriptómicos, donde genes altamente expresados se transcriben en mayor cantidad y generan esos duplicados. Finalmente, la Fig.1.F revela que el contenido de bases no determinadas "N" es prácticamente inexistente a lo



largo de todas las posiciones en las lecturas, lo que confirma una llamada de bases precisa por parte del secuenciador.

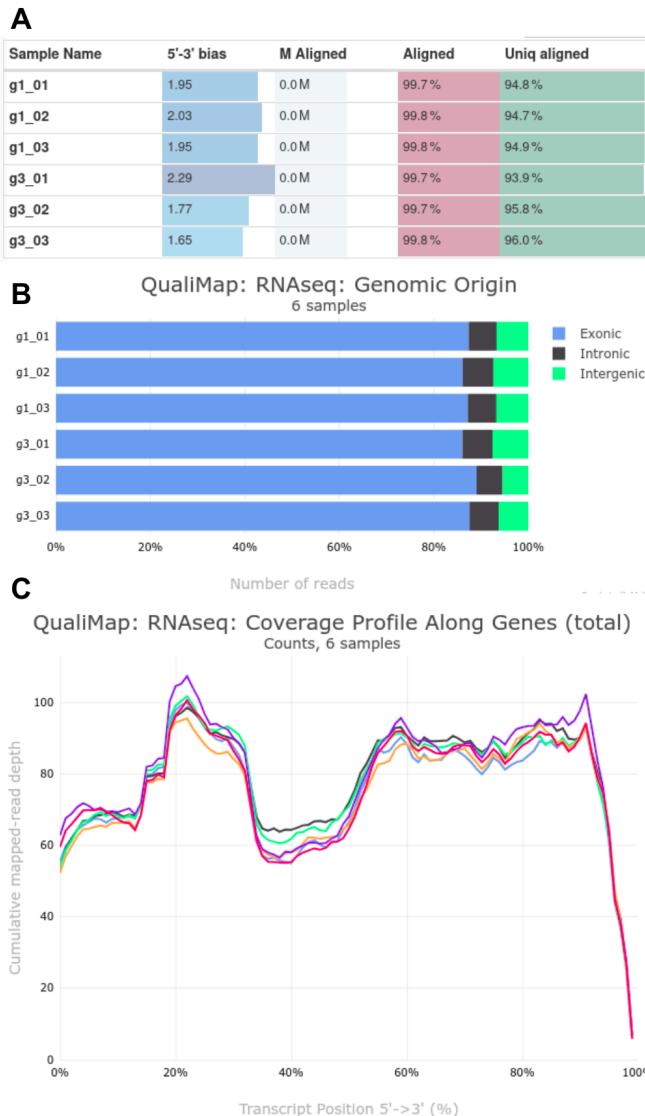


Fig. 2. Control de calidad de los alineamientos de RNA-Seq evaluado con Qualimap. (A) Estadísticas generales por muestra. Todas las muestras presentan tasas de alineamiento superiores al 99.7 % y más del 93.9 % de lecturas mapeadas de forma única. (B) Distribución del origen genómico de las lecturas. La mayoría corresponde a regiones exónicas (en azul), mientras que una fracción menor mapea a regiones intrónicas (negro) e intergénicas (verde). (C) Perfil de cobertura a lo largo de los transcritos. La cobertura no es uniforme, tiene un pico inicial y una leve caída hacia el final del transcrito.

B. Alineamiento

La Fig.2 resume el control de calidad de los alineamientos evaluados mediante Qualimap. Como se muestra en la Fig.2.A, las tasas de alineamiento total fueron consistentemente altas en todas las muestras, superando el 99.7 %. Además, entre el 93.9 % y el 96.0 % de las lecturas se alinearon de forma única, lo que indica una alta especificidad en el mapeo contra el cromosoma 4

de *Drosophila melanogaster*. Los valores del sesgo de cobertura 5' a 3', que oscilaron entre 1.65 y 2.29, reflejan una distribución aceptablemente uniforme a lo largo de los transcritos y no indican sesgos marcados. En cuanto al origen genómico de las lecturas, la Fig.2.B muestra que la gran mayoría de las lecturas alineadas (más del 86 %) corresponde a regiones exónicas, con una proporción menor mapeando a regiones intrónicas o intergénicas. Este perfil es consistente con la secuenciación de RNA mensajero maduro y respalda la calidad del protocolo de preparación de bibliotecas.

En el perfil de cobertura a lo largo del eje 5'→3' de los transcritos (Fig.2.C) se observa un patrón no muy uniforme, con un pico inicial en el extremo 5' (~20 %), una caída leve hacia la mitad del transcrito (~35 %) y una disminución en el extremo 3', esperable en secuencias sin normalización por longitud. Este patrón no representa un sesgo técnico grave, sino una distribución típica para datos de RNA-Seq obtenidos con técnicas convencionales de fragmentación.



Fig. 3. Estadísticas de alineamiento y asignación de lecturas obtenidas con STAR. (A) Porcentaje de lecturas alineadas por muestra. La mayoría de las lecturas se alinearon de forma única (azul oscuro), mientras que una proporción menor correspondió a lecturas alineadas en múltiples loci (azul claro) o no mapeadas (rojo). (B) Distribución de las lecturas según su asignación a genes. Los resultados indican una alta eficiencia y especificidad del alineamiento, con más del 80 % de las lecturas útiles para el análisis transcriptómico.

El alineamiento con STAR resultó eficiente. En la Fig.3.A se observa que más del 90 % de las lecturas en todas las muestras se alinearon de manera única al genoma de referencia (barra azul oscuro), lo cual significa una alta calidad del mapeo y especificidad de las secuencias.



TABLA I. GENES EXPRESADOS DIFERENCIALMENTE (ANALIZADOS MEDIANTE DESeq2)

external_gene_name	flybase_gene_id	log2FoldChange	pvalue	start_position	end_position	description
Gat	FBgn0039915	-1.6799036	6.696522e-10	629691	635350	GABA transporter
Nfl	FBgn0042696	-0.6129489	1.886833e-03	268175	276369	Nuclear factor I
Syt7	FBgn0039900	-0.4837116	2.742171e-02	278685	306481	Synaptotagmin 7
CG33521	FBgn0250819	-0.9229786	1.846608e-03	1185768	1192985	-
yellow-h	FBgn0039896	-0.8307496	1.898810e-05	227922	230428	yellow-h
bt	FBgn0005666	-1.1910176	4.890446e-04	724400	776474	bent
ND-49	FBgn0039909	-0.5490195	8.980769e-05	568296	571554	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 49 kDa subunit
ATPsynbeta	FBgn0010217	-0.6464196	1.162274e-04	1031484	1034917	ATP synthase, beta subunit
CaMKI ^a	FBgn0016126	0.3588008	1.886093e-03	445504	453947	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase I

a. Regulado de manera positiva

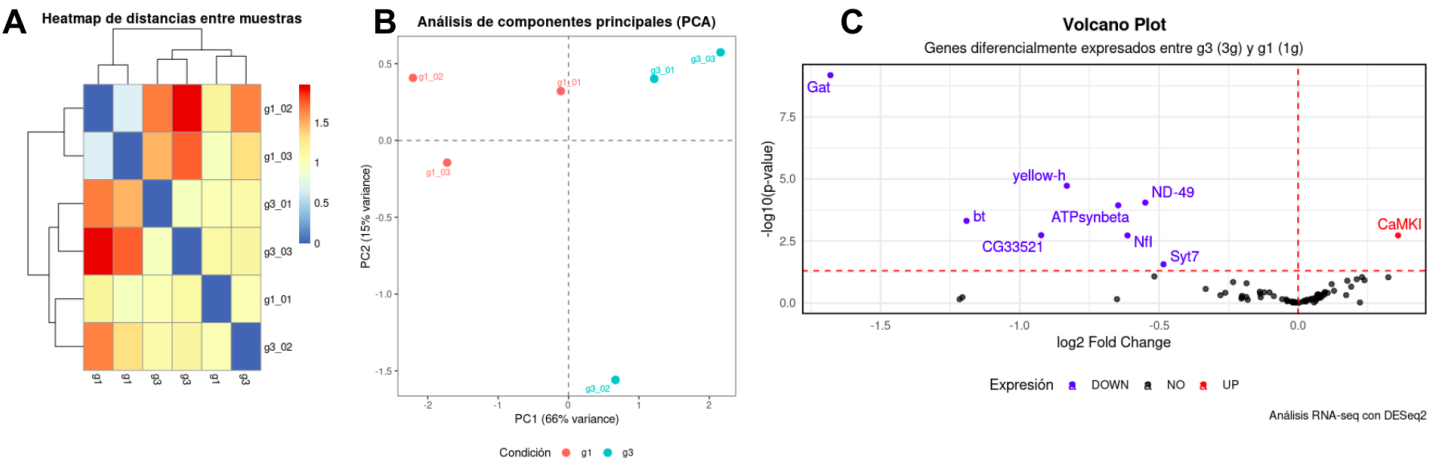


Fig. 4. Resultados del análisis de expresión diferencial entre condiciones de gravedad normal (g1) e hipergravedad (g3) en pupas de Drosophila melanogaster. (A) Heatmap de distancias entre muestras calculado sobre los recuentos transformados. Se observa una clara agrupación por condición, con alta similitud entre réplicas. (B) Análisis de componentes principales (PCA). Las muestras se separan a lo largo del primer componente (PC1), que explica el 66 % de la variabilidad total, reflejando un efecto dominante de la condición gravitacional sobre la expresión génica. (C) Volcano Plot. Se representan los genes según su log2 Fold Change y el valor de significancia (-log10 p-value). Genes significativamente reprimidos bajo hipergravedad se muestran en azul, mientras que los sobreexpresados aparecen en rojo. Se evidencia una expresión diferencial marcada entre condiciones.

La proporción de lecturas alineadas a múltiples loci es baja (azul claro), y las tasas de lecturas no mapeadas (por longitud insuficiente o por otras causas) son mínimas, indicando una eficiencia general muy alta en el alineamiento. En la Fig.3.B se muestra que entre el 80 % y el 90 % de las lecturas fueron correctamente asignadas a genes conocidos (azul claro), una pequeña fracción correspondió a lecturas sin característica anotada (No Feature) con asignación ambigua, multialineamientos o no mapeadas.

C. Análisis de Expresión Diferencial

Tras realizar el análisis de expresión diferencial con DESeq2 entre las condiciones de gravedad normal (1g) y gravedad aumentada (3g) en Drosophila melanogaster, se identificaron un conjunto de genes que mostraron cambios significativos en sus niveles de expresión, los cuales se pueden observar en la Tabla I.

Entre ellos se encuentran regulados de manera negativa: Gat, Nfl, Syt7, CG33521, yellow-h, bt, ND-49 y ATPsynbeta; y el único regulado de manera positiva fue CaMKI. Esto se aprecia bien en el volcano plot de la Fig.4.C.

El heatmap de distancias entre muestras (Fig.4.A) muestra una clara separación entre ambas condiciones experimentales, con agrupamientos por réplica biológica. En el análisis de componentes principales (Fig.4.B) se observa que las muestras g1 y g3 se separan marcadamente a lo largo del primer componente principal (PC1), que explica el 66 % de la varianza. Esto sugiere que la condición gravitacional es el principal factor que explica la variabilidad en la expresión génica.

La Fig.4.C muestra el Volcano Plot, donde se destacan los genes diferencialmente expresados (p-value < 0.05). Se identificaron varios genes significativamente reprimidos bajo



hipergravedad (en azul), como Gat, yellow-h, ND-49, ATPsynbeta, Syt7 y Nfl, relacionados con funciones mitocondriales, neurotransmisión y regulación transcripcional. Por otro lado, se observó la sobreexpresión de CaMKI bajo hipergravedad (en rojo), un gen vinculado a la señalización dependiente de calcio. Estos cambios transcriptómicos sugieren que la exposición a 3g induce una reprogramación de rutas asociadas al metabolismo energético y a la actividad neuronal durante el desarrollo pupal.

D. Análisis de Enriquecimiento Funcional

El análisis de enriquecimiento funcional de los genes diferencialmente expresados entre pupas desarrolladas en hipergravedad (3g) y en gravedad estándar (1g) reveló funciones moleculares y rutas relevantes afectadas por la condición experimental (Fig.5). Dentro de la categoría GO:MF (*Molecular Function*), se identificaron términos significativamente enriquecidos asociados al transporte iónico, incluyendo “*active monoatomic ion transmembrane transporter activity*”, “*inorganic cation transmembrane transporter activity*” y “*monoatomic cation transmembrane transporter activity*”. Estos resultados indican una posible alteración en los mecanismos de transporte de iones a través de membranas, lo que sugiere un ajuste funcional en la homeostasis celular ante la exposición a hipergravedad.

Asimismo, se detectaron términos relacionados con la unión de nucleótidos y moléculas pequeñas (“*adenyl nucleotide binding*”, “*small molecule binding*”), que podrían reflejar una modulación de procesos enzimáticos o de señalización celular vinculados al metabolismo energético y al control de funciones celulares esenciales.

En la categoría GO:CC (*Cellular Component*), el término “*glial cell projection*” apareció enriquecido. Las células gliales, también conocidas como neuroglia, son células no neuronales que desempeñan funciones de soporte y apoyo al sistema nervioso. La aparición de este término enriquecido podría estar relacionado con cambios en la morfología celular o en la extensión de proyecciones gliales, especialmente bajo condiciones de estrés físico como la hipergravedad.

El análisis también reveló un enriquecimiento significativo en la vía de fosforilación oxidativa según KEGG, vía metabólica principal que produce ATP como resultado de la transferencia de electrones desde el NADH o del FADH2 al O2 a través de una serie de transportadores de electrones; esto es coherente con la regulación negativa de genes mitocondriales detectada en el análisis de expresión (como ND-49 y ATPsynbeta), implicando una potencial disminución de la actividad energética.

Finalmente, se identificó la posible participación del factor de transcripción CF2-II, a través de dos motivos reguladores (RTATAT(R)TA y GTATATATA), sugiriendo un mecanismo de control transcripcional específico que podría estar regulando los genes afectados por la hipergravedad.



Fig. 5. Resultados del análisis de enriquecimiento funcional mediante g:Profiler. El gráfico de burbujas (parte superior) muestra la significancia de los términos funcionales agrupados por categorías: *GO Molecular Function* (GO:MF), *GO Cellular Component* (GO:CC), KEGG y factores de transcripción (TF). Las tablas inferiores detallan los términos enriquecidos y su asociación con los genes analizados. Destacan funciones de transporte iónico, unión de nucleótidos, proyecciones gliales, fosforilación oxidativa y posibles motivos reguladores de CF2-II.

IV. DISCUSIÓN

En este trabajo, se encontraron y analizaron las diferencias en los niveles de expresión de genes del cromosoma 4 de *Drosophila melanogaster* en condiciones de gravedad normal (1g) y gravedad aumentada (3g).

El análisis del transcriptoma reveló un grupo de genes diferencialmente expresados en respuesta a condiciones de hipergravedad (3g), con implicancias funcionales relevantes en el metabolismo celular, la señalización neuronal y la organización estructural. Si bien el cromosoma 4 contiene relativamente pocos genes activos, su expresión se mostró sensible a las condiciones físicas alteradas del entorno, lo cual coincide con estudios previos que demuestran la plasticidad del transcriptoma de *Drosophila* en escenarios de gravedad modificada [5][7].

Entre los genes más notables se encuentra ND-49, que codifica una subunidad del complejo I de la cadena de transporte electrónico mitocondrial. Su represión bajo hipergravedad, junto



con la disminución de ATPsynbeta, sugiere una alteración de la fosforilación oxidativa, posiblemente como resultado de un menor requerimiento metabólico o una reorganización energética ante la aceleración sostenida para alcanzar la condición de hipergravedad. Estos resultados son consistentes con los hallazgos de la publicación de los datos originales [1], quienes también observaron la represión de genes mitocondriales bajo condiciones de 3g, y con estudios que reportan disfunción mitocondrial inducida por ambientes espaciales [6].

Por otro lado, se encontró la represión del gen Gat (GABA transaminasa), implicado en la degradación del neurotransmisor GABA. Esta disminución podría hacer que se acumulen niveles más altos de GABA en las sinapsis, lo que aumentaría la señal inhibitoria en las neuronas. Esto sugiere que el sistema nervioso podría estar ajustándose para mantener el equilibrio en la comunicación neuronal frente al estrés físico causado por la gravedad aumentada. Este fenómeno coincide con observaciones de cambios similares en la actividad y estructura de las neuronas ya se han visto en experimentos bajo microgravedad y también bajo hipergravedad [4][9].

También se identificó la sobreexpresión de CaMKI (*Calcium/calmodulin-dependent protein kinase I*), una proteína quinas sensible al calcio, que participa en la plasticidad sináptica, la regulación del citoesqueleto y la señalización de estrés. Su inducción bajo hipergravedad puede reflejar una activación de vías de señalización dependientes del calcio, vinculadas a la percepción mecánica o a la reorganización de la arquitectura celular, como se ha propuesto en otros estudios sobre gravedad alterada [8][10].

V. CONCLUSIONES

Mediante este análisis se demuestra que la exposición a hipergravedad durante el desarrollo pupal de *Drosophila melanogaster* induce cambios transcriptómicos significativos. Se identificaron genes diferencialmente expresados relacionados con el metabolismo mitocondrial, el transporte iónico y la señalización neuronal, lo que sugiere una reprogramación funcional en respuesta al estrés gravitacional. Se refuerza el valor de *Drosophila* como modelo para estudiar la adaptación molecular a entornos físicos extremos. Estudios futuros podrían

profundizar en los mecanismos reguladores que median esta respuesta, con aplicaciones en biología espacial y fisiología del desarrollo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a STAR por alinear nuestras lecturas con más precisión que nuestras ideas durante la redacción del manuscrito. También agradecemos profundamente a las pupas de *Drosophila melanogaster*, que, aunque sometidas a 3g, mantuvieron una expresión admirable.

DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

Ninguna *Drosophila* fue aplastada en exceso durante este experimento.

DISPONIBILIDAD DE LOS DATOS

Los datos y scripts utilizados en este trabajo se encuentran en el repositorio de Github: https://github.com/alejandroescobar264/TP_Final_RNAseq_mosca_2025.git.

REFERENCIAS

- [1] S. L. Hateley, "Detection, Quantification, and Characterization of Diverse RNA Transcript Isoforms," 2016.
- [2] R. Herranz and A. Benguria, "Spaceflight-related suboptimal conditions can accentuate the altered gravity response of *Drosophila* transcriptome," 2010.
- [3] L. Ma, J. Ma, and K. Xu, "Effect of spaceflight on the circadian rhythm, lifespan and gene expression of *Drosophila melanogaster*," PLoS ONE, vol. 10, Mar. 2015.
- [4] A. Mathew, "Spaceflight-Induced Physiological Changes: A Computational Comparative Analysis of *Drosophila* and *C. elegans*," 2025.
- [5] J. Valdivia-Silva, L. Pérez-Tulich, A. Iza-Zurita, G. Travi-Antonio, A. Ubidia, and D. Laván-Quiroz, "Drosophila melanogaster: a promising system for space biology research," Int. J. Astrobiol., Dec. 2024.
- [6] R. Herranz et al., "Microgravity simulation by diamagnetic levitation: effects of a strong gradient magnetic field on the transcriptional profile of *Drosophila melanogaster*," BMC Genomics, Feb. 2012.
- [7] R. Herranz et al., "Suboptimal evolutionary novel environments promote singular altered gravity responses of transcriptome during *Drosophila* metamorphosis," BMC Evol. Biol., Jun. 2013.
- [8] I. V. Ogneva, S. N. Belyakin, and S. V. Sarantseva, "The development of *Drosophila melanogaster* under different duration space flight and subsequent adaptation to Earth gravity," PLoS ONE, Nov. 2016.
- [9] A. M. Paul, "Gravity as a continuum: Effects of altered gravity on *Drosophila melanogaster* immunity," 2019.
- [10] K. M. Seong, B. S. Coates, W. Sun, J. M. Clark, and B. R. Pittendrigh, "Changes in neuronal signaling and cell stress response pathways are associated with a multigenic response of *Drosophila melanogaster* to DDT selection," Genome Biol. Evol., Dec. 2017.