Mutacje i interakcje genetyczne

Mutacje w ujęciu genetycznym. Interakcje genetyczne. Genetyczne podstawy biologii systemów - interaktomika.

Mutacja

- Trwała, przekazywana przy replikacji zmiana sekwencji nukleotydowej w materiale genetycznym

  - Nie każde uszkodzenie DNA jest mutacją – staje się nią dopiero po utrwaleniu i przekazaniu do cząsteczki (lub cząsteczek) potomnych

Mutacje – poziom kodu genetycznego

- Podstawienia
  - Niesynonimiczne
    - Zmiany sensu (missense)
    - Nonsens (nonsense)
  - Synonimiczne (ciche)
    - Mogą niekiedy wpłynąć na fenotyp - efekt częstości wykorzystywania kodonów synonimicznych

Mutacje – poziom kodu genetycznego

- Zmiany fazy odczytu
  - zmienia sekwencję i/lub długość kodowanego białka poniżej miejsca wystąpienia
- Delecje lub insercje w białku
  - delecje lub insercje wielokrotności 3 nukleotydów
  - delecje lub insercje eksonów
  - **Deficjencja** – rozległa delecja, np. obejmująca cały gen

Mutacje – efekty fenotypowe

- Klasyfikacja Müllera
  - nullomorfy
  - hipomorfy
  - hipermorfy
  - antymorfy
  - neomorfy

Nullomorfy

- Brak jakiejkolwiek funkcji genu
- Tzw. allele *null*, inna nazwa: amorfy
- Nullomorfy:
  - transkrypcyjne (brak transkryptu)
  - translacyjne (brak białka wykrywalnego przeciwciałem)
  - inaktywacyjne (obecne białko, ale całkowicie nieaktywne)
  - najpewniejszy sposób na uzyskanie nullomorfa – deficjencja (pełna delecja)
- Często recesywne
  - Dominacja (lub kodominacja) w przypadku efektu ilości białka - haploinsuficjencja

Hipomorfy

- Obniżona aktywność produktu, niewystarczająca do uzyskania dzikiego fenotypu homozygoty
- Obniżenie ilości produktu lub produkt o obniżonej aktywności
  - Np.
    - obniżona transkrypcja, splicing, stabilność, translacja
    - obniżona aktywność katalityczna
- Często recesywne

Hipomorfy vs. nullomorfy

- Df – deficjencja, czyli całkowita delecja, m – badana mutacja
- **Deficjencja jest zawsze nullomorfem**
- Jeżeli genotyp *m*/Df daje cięższy fenotyp niż *m*/*m*, to m jest hipomorfem, jeżeli taki sam, to nullomorfem
- Efekt dawki: wprowadzenie kolejnych kopii allelu *m* daje fenotyp coraz lżejszy, przy nullomorfach – bez różnicy

Hipomorfy vs. nullomorfy

- Uzyskanie hipomorfa zamiast nullomorfa może utrudnić analizę fenotypu, ale...
- Hipomorfy mogą być jedynym sposobem na badanie ważnych genów

Hipermorfy

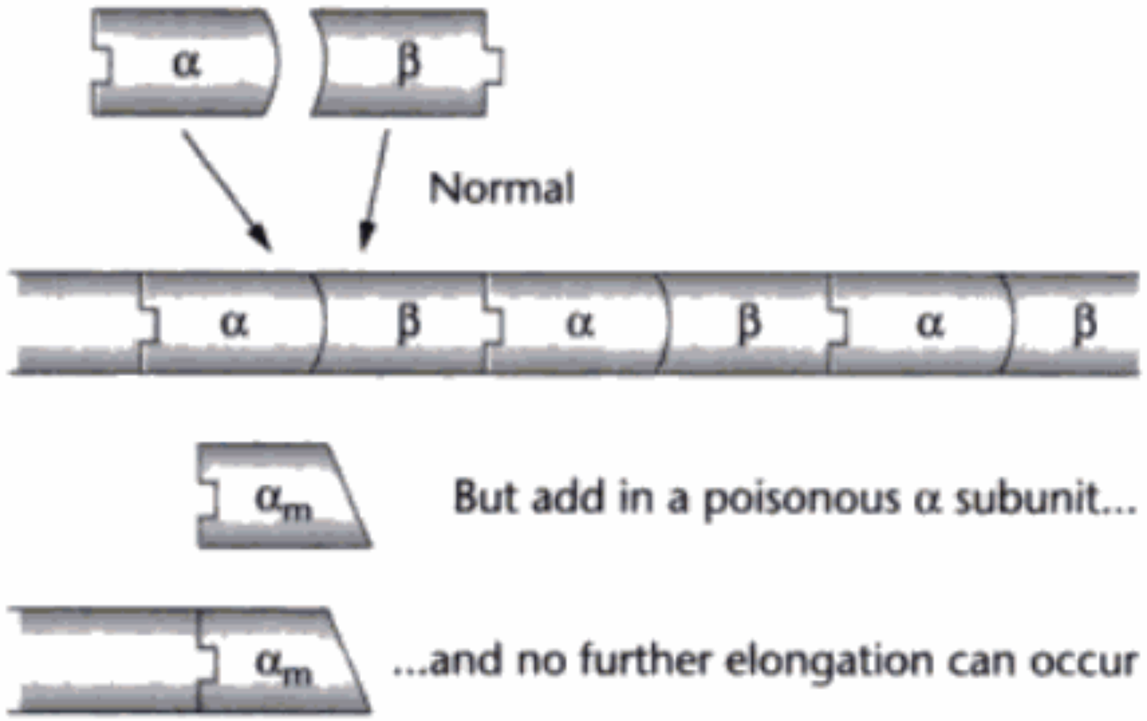
- Fenotyp wynika z:
  - nadmiaru produktu genu (np. nadekspresja)
  - nadmiernie wysokiej aktywności produktu

- Df – deficjencja, czyli całkowita delecja, *m* – badana mutacja
- Efekt dawki: - fenotyp *m*/+ cięższy niż *m*/Df; zwykle też *m*/*m* cięższy od m/+

Antymorfy

- Zmutowany produkt ma działanie antagonistyczne wobec dzikiego
- Fenotyp podobny do fenotypu nullomorfa lub hipomorfa, ale z definicji dominujący
- Zwiększenie dawki allelu dzikiego może osłabić (odwrócić) fenotyp
- Inny termin – mutacje dominujące negatywne (*dominant negative*)

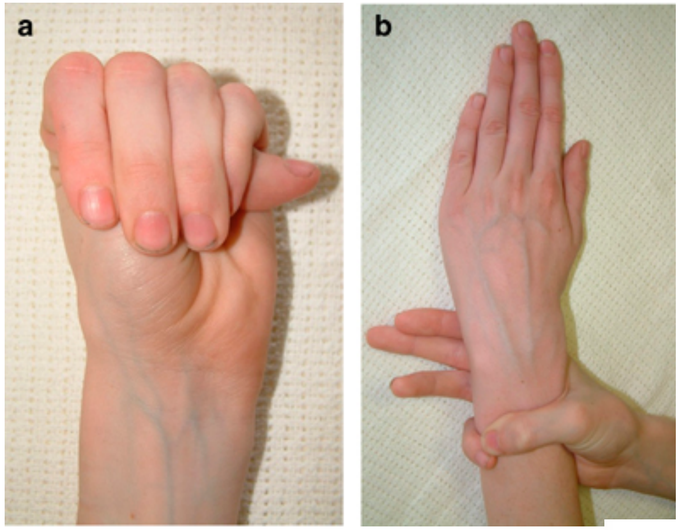
Antymorfy

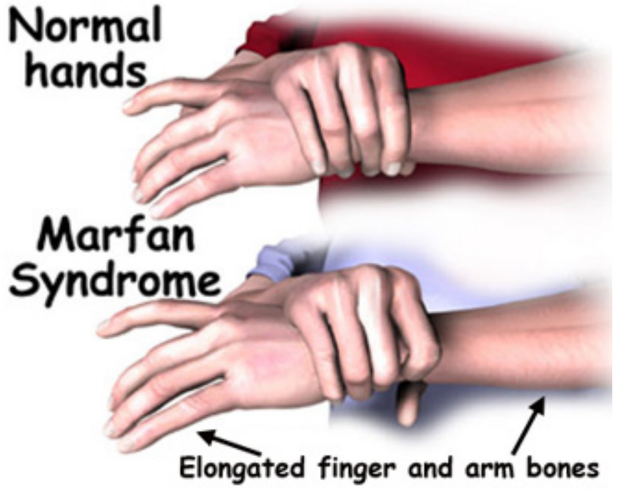


Mutacje w genach podjednostek tubuliny blokujące polimeryzację

Antymorf – zespół Marfana

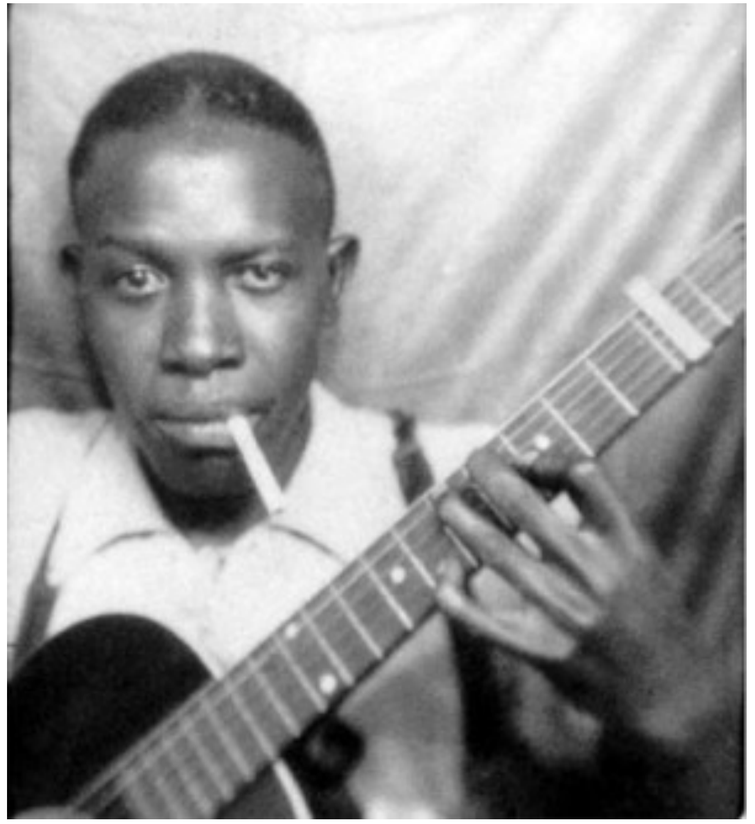
- Dominująca mutacja w genie *FBN1* kodującym fibrylinę – białko tkanki łącznej
- Zmutowane białko blokuje polimeryzację białka prawidłowego
- Defekty tkanki łącznej, aorty i zastawek serca, wysoki wzrost, arachnodaktylia
- Ok. 1:5 000 osób





Sławni muzycy chorzy na zespół Marfana

- Niccolò Paganini (1782-1840)
- Robert Johnson (1911-1938)



Sławni sportowcy chorzy na zespół Marfana

- Flo Hyman (1954-1986)
- Michael Phelps

Neomorfy

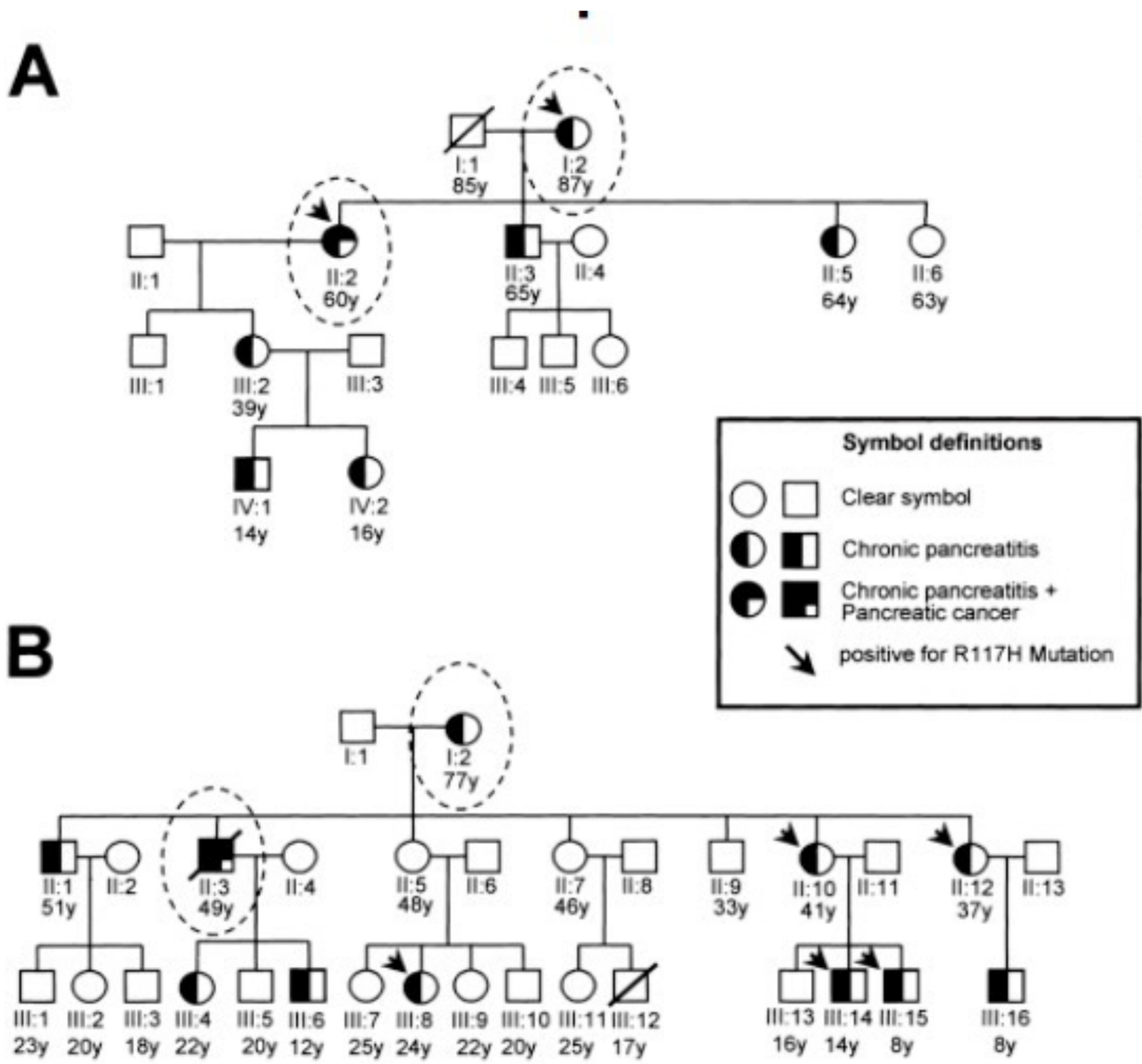
- Aktywność genu w niewłaściwym miejscu lub czasie
  - np. mutacje heterochroniczne (ekspresja w niewłaściwym czasie)
  - przykład: chłoniak Burkitta: translokacja fragmentu chromosomu 8 na 14 przenosi gen c-myc pod kontrolę silnego promotora IGHα aktywnego w limfocytach
- Niewłaściwa aktywność, ale nie toksyczna dla produktu dzikiego
  - Wiele mutantów regulatorowych
  - Np. białko pozbawione domeny odpowiadającej za regulację aktywności, konstytutywnie aktywne

Neomorf

- *Antennapedia* (Antp73b)
- Sekwencja genu *Antp* przeniesiona w pobliże promotora genu ulegającego ekspresji w głowie
- Rozwój odnóży na segmencie głowowym

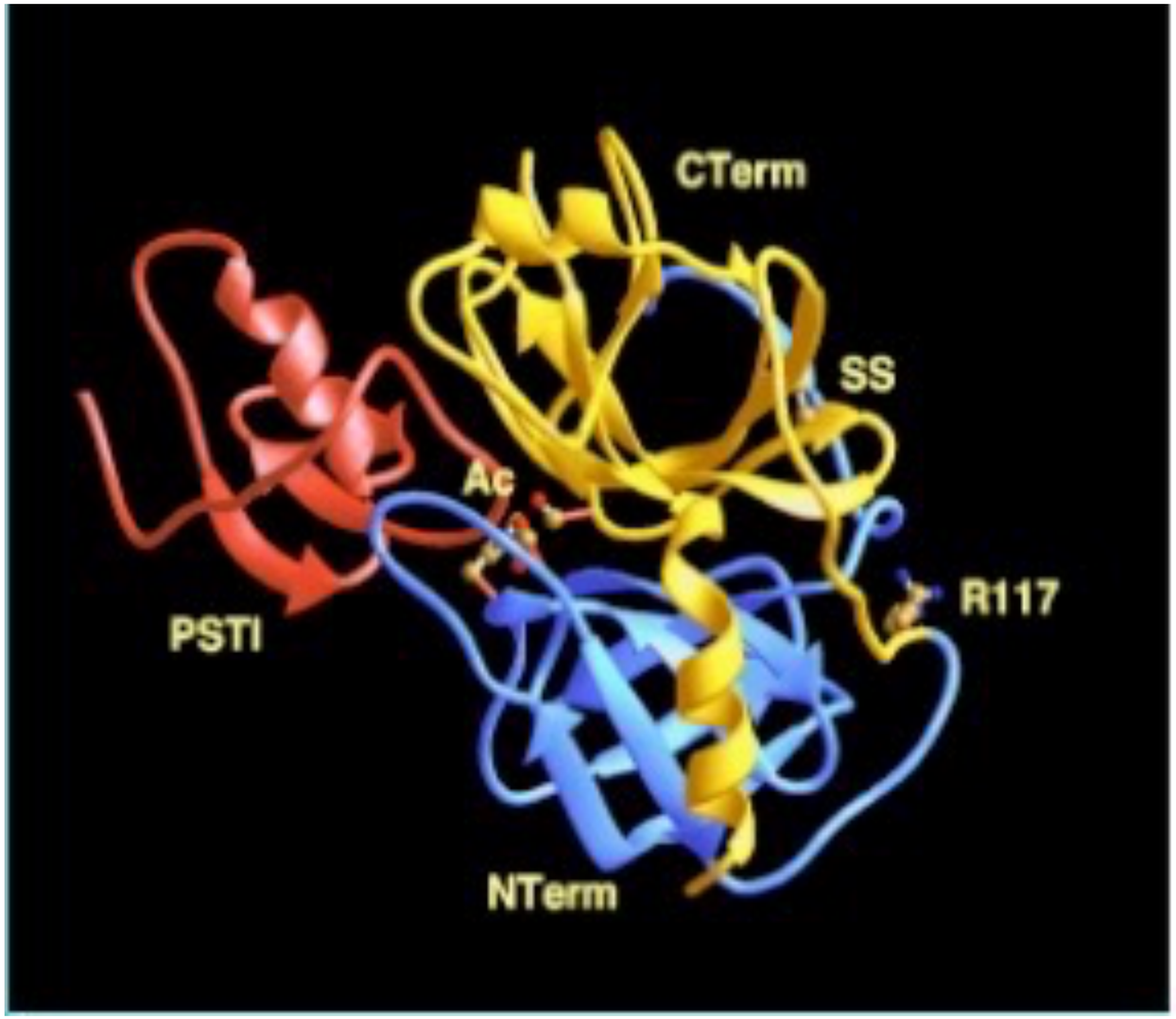
Dziedziczne zapalenie trzustki

- Choroba dominująca autosomalna
- Przewlekłe zapalenie trzustki. niekiedy z rozwojem raka trzustki
- Najczęściej mutacje w genie kodującym trypsynę



Dziedziczne zapalenie trzustki

- Trypsyna w trzustce ulega autoinaktywacji przez proteolizę
- Mutacja R117H - “supertrypsyna” oporna na proteolizę - aktywna w komórkach trzustki



Inne terminologie

- Mutacje utraty funkcji (*loss-of-function*)
  - nullomorfy i hipomorfy w klasyfikacji Mullera
- Mutacje nabycia funkcji (*gain-of-function*)
  - neomorfy i hipermorfy w klasyfikacji Mullera
- Mutacje dominujące negatywne (*dominant negative*)
  - antymorfy
  - niekiedy zaliczane do “nabycia funkcji” albo “utraty funkcji” – częste niejednoznaczności

Mutacje utraty funkcji

- Null – całkowita utrata funkcji. Np. deficjencja.
- Częściowa utrata funkcji (hipomorf). Dotyczy poziomu produktu lub jego aktywności.
- Warunkowe
  - np. temperaturo-wrażliwe – utrata aktywności tylko w warunkach restrykcyjnych - np. podwyższona (ts) lub obniżona (cs) temperatura.
  - Ważne narzędzie do badania genów, w których mutacje null są letalne
  - Mutanty ts często są hipomorficzne w temperaturze permisywnej

Letalność

- Mutacja powoduje niezdolność do przeżycia
  - U organizmów wielokomórkowych często śmierć na wczesnych etapach rozwoju - embrioletalność
  - Problem definicji - czy mutacja prowadząca do przedwczesnej śmierci, ale po urodzeniu jest letalna?
    - ujęcie ewolucyjne - tak, jeżeli śmierć przed osiągnięciem wieku reprodukcyjnego

Niezbywalność

- Geny, których mutacje nullomorficzne są letalne to geny niezbywalne (niezbędne): ang. ***essential***
- U drożdży *S. cerevisiae*, w warunkach laboratoryjnych: ~20% genów
- *E. coli:* ~14%
- *Mycoplasma*: ~55%
- Mysz: ~40%??

Mutacje letalne

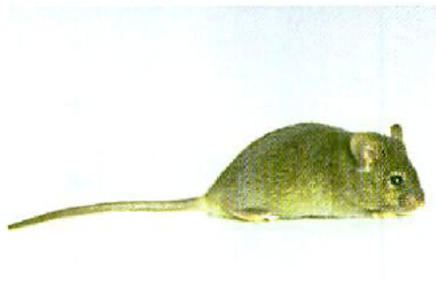
- Badane za pomocą alleli warunkowych
  - uzyskiwanych naturalnie (poszukiwanie mutantów np. ts)
  - konstruowanych, przykłady dla drożdży:
    - reprymowalne promotory (np. tet-off)
    - fuzje z sekwencją peptydową powodującą degradację białka w podwyższonej temperaturze (degron)
    - uszkodzenia w sekwencji 3’ UTR mRNA: DAmP (decreased abundance by mRNA perturbation)

Dominacja i recesywność

- Dominacja i recesywność to pojęcia względne
  - dany allel może być dominujący względem jednego, a recesywny względem innego allelu
- Dominację i recesywność należy rozpatrywać pod kątem
  - konkretnego fenotypu
  - poziomu organizacji (komórka vs. organizm)

Dominacja i recesywność

- Dominację i recesywność należy rozpatrywać pod kątem
  - konkretnego fenotypu
    - np. u myszy allel A^Y – dominujący pod względem koloru, recesywny letalny



wt (agouti)

mutant *yellow*

wt × wt ➔ same wt

wt × *yellow* ➔ ½ yellow i ½ wt

yellow × *yellow* ➔ 2/3 yellow i 1/3 wt

$AA \times AA \rightarrow AA$

$AA \times AA^Y \rightarrow A\ A^Y;\ AA$

$AA^Y \times AA^Y \rightarrow 1\ A\ A^Y;\ 2\ A\ A^Y;\ 1\ AA$

Dominacja i recesywność

- Poziomu organizacji (komórka vs. organizm)
    - np. supresory nowotworów (p53, Rb)
        - Na poziomie komórkowym recesywne – komórka z jednym allelem dzikim funkcjonuje prawidłowo
        - Na poziomie organizmu (rodowody) dominujące – u heterozygot rozwija się zespół chorobowy częstego występowania rzadkich nowotworów (zespół Li-Fraumeni, retinoblastoma)
            - u heterozygot prawdopodobieństwo zmutowania jedynej pozostającej kopii w jednej z bardzo wielu komórek i rozwinięcia się nowotworu jest wysokie

Dominacja i recesywność

- Mutacje nullomorficzne i hipomorficzne (utraty funkcji) z reguły są recesywne
  - Jeden allel pozostaje aktywny i wytwarza produkt. Ilość produktu (enzymu) nie jest limitująca (limituje zwykle substrat)
  - Ponieważ są to najczęstsze mutacje, to większość izolowanych mutacji jest recesywna

Haploinsuficjencja

- Wyjątek: haploinsuficjencja
  - Jedna kopia (allel) nie wystarcza do zapewnienia odpowiedniej ilości produktu
  - Np. białka rybosomalne
  - Mutant *Minute* u *Drosophila*: heterozygota – opóźniony rozwój, anomalie rozwojowe; homozygota – letalna
  - U drożdży stwierdzono dla około 3% (~200) genów
  - Zdarza się haploinsuficjencja warunkowa – heterozygota objawia fenotyp tylko w konkretnych warunkach środowiska

Choroby dominujące

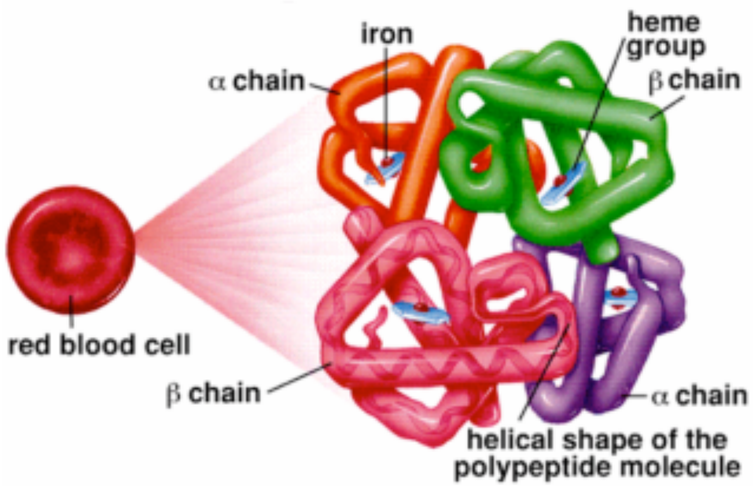
- Jednym z mechanizmów jest haploinsuficjencja
- Chorzy są heterozygotami, u homozygot zwykle dużo cięższe objawy albo letalność

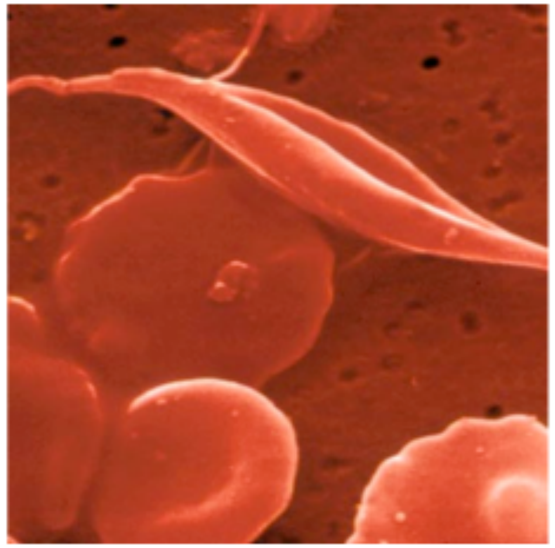
Rodzinna hipercholesterolemia

- Mutacje w genach LDLR (receptor LDL – *low density lipoprotein*) i ApoB (apolipoproteina B – część kompleksu LDL odpowiedzialna za oddziaływanie z receptorem)
- Heterozygoty: podwyższony poziom LDL we krwi, miażdżyca, choroby serca ok. 40 r. życia
  - leczenie: statyny, dieta
- Homozygoty: ciężkie schorzenia serca i naczyń już w dzieciństwie
  - leczenie: trudne, wysokie dawki statyn, przeszczep wątroby

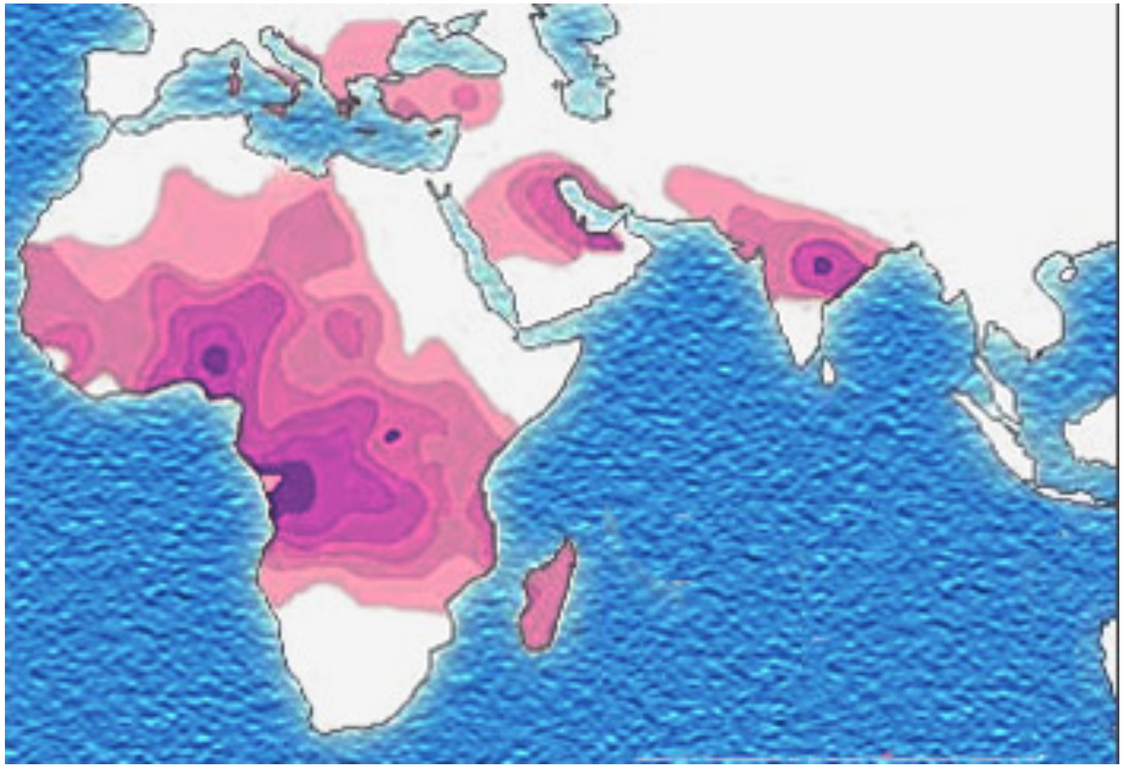
Haploinsuficjencja warunkowa

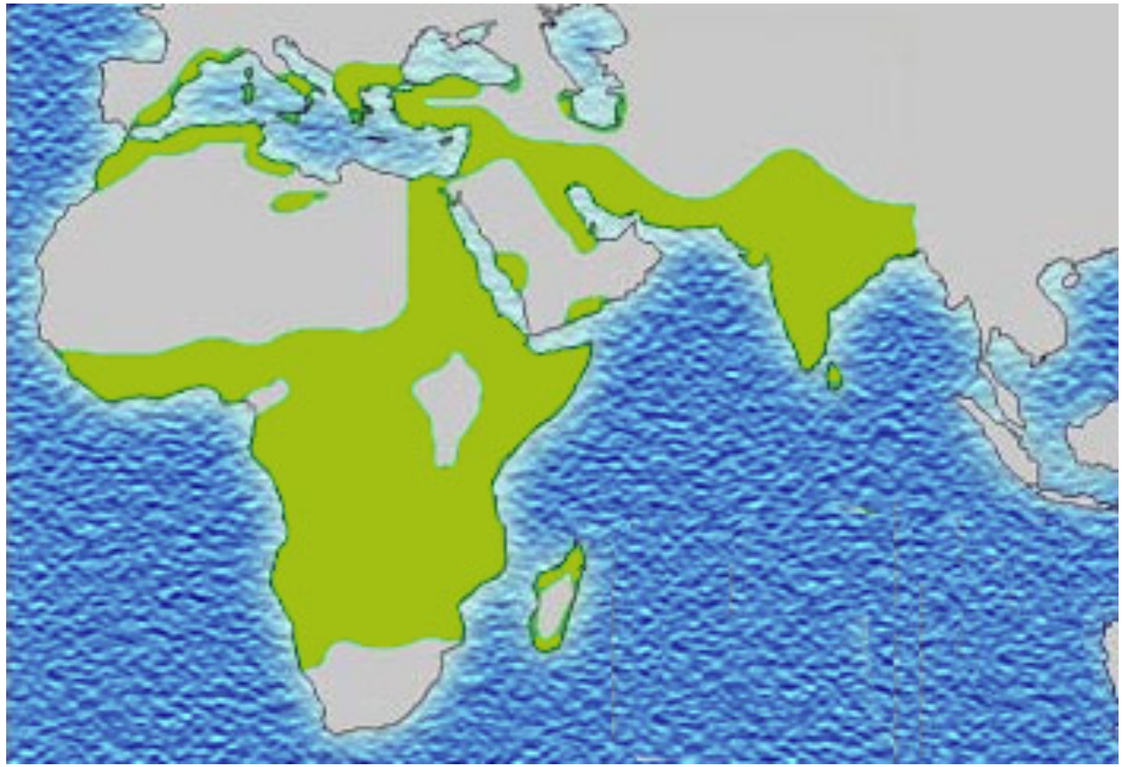
- Anemia sierpowata
  - Mutacje w genie β-globiny
  - Choroba recesywna, ale w warunkach niskiego ciśnienia (wysoko w górach) heterozygoty chorują – warunkowa haploinsuficjencja
  - Dodatkowy fenotyp – odporność na malarię, fenotyp dominujący





Anemia sierpowata





Znani nosiciele allelu *HbS*

Lassana Diarra
(ex. Real Madryt, ex. rep. Francji)

Ryan Clark
(Pittsburgh Steelers)

HbS i sport

- W latach 2004 - 2008 5 przypadków śmierci u zawodników akademickiej ligi futbolu amerykańskiego powiązanych z nosicielstwem anemii sierpowatej
  - ~2% wszystkich (reszta to inne choroby, urazy i przyczyny niezwiązane z uprawianym sportem)
  - ryzyko u nosicieli 37 x wyższe, niż u homozygot dominujących

Źródło: Br J Sports Med. 2012 Apr;46(5):325-30.

Mutacje dominujące

- Haploinsuficjencja nullomorfów i hipomorfów
- Hipermorfy
- Antymorfy – więcej kopii allelu dzikiego może odwrócić fenotyp
- Neomorfy

Rewersja i pseudorewersja

- Rewersja: mutacja powrotna, w tej samej pozycji przywraca dziki allel
- Pseudorewersja: mutacja w innej pozycji tego samego genu przywraca dziki fenotyp
  - Np. mutacja blokująca (całkowicie lub częściowo) ekspresję dominującego allelu antymorficznego lub neomorficznego może przywrócić dziki fenotyp heterozgoty

Rewersja

UAU -> UAA -> UAC

tyr stop tyr

UGG -> UGA -> CGA

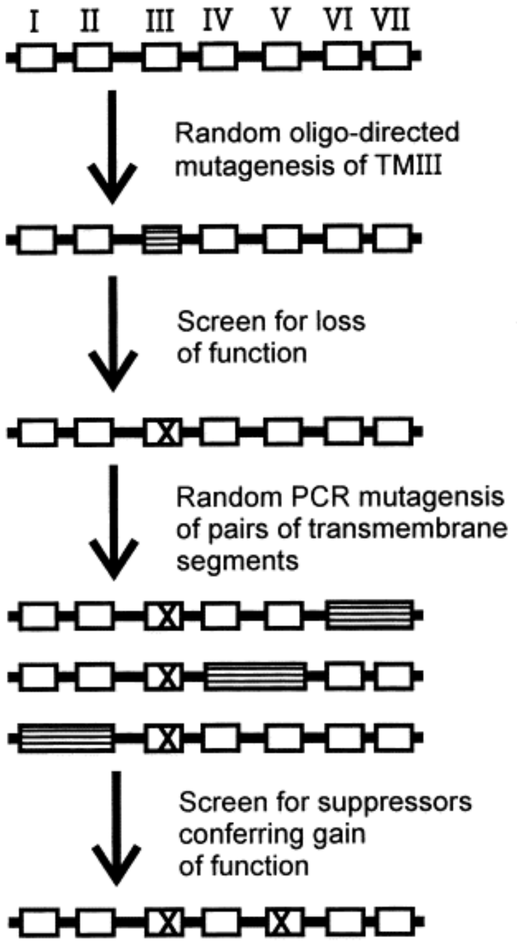
trp stop arg

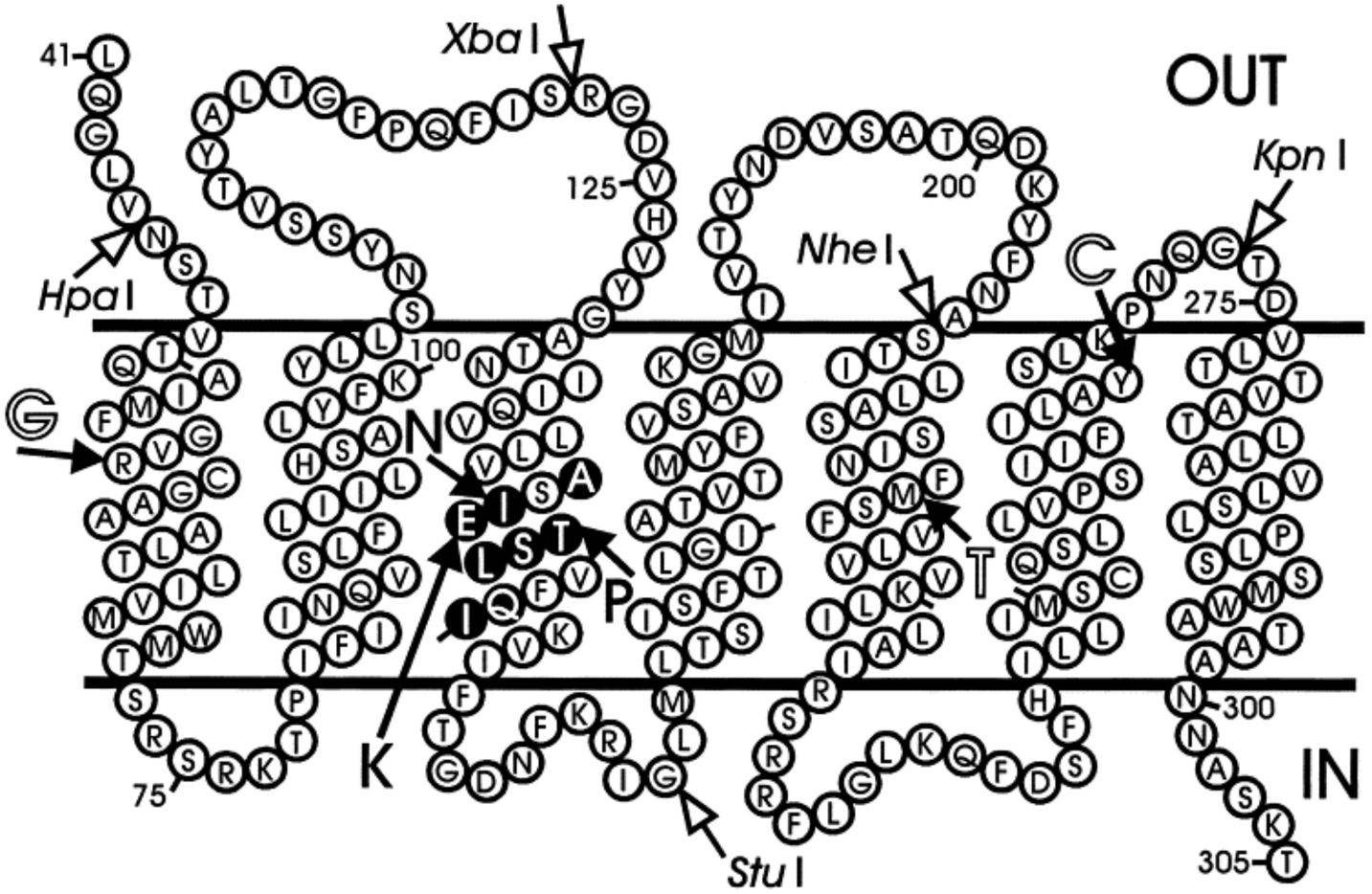
- Dotyczy tego samego kodonu, ale nie musi przywracać tego samego aminokwasu, może dotyczyć tego samego lub innego nukleotydu
- Podstawienia często rewertują, ale rozległe delecje – nigdy (albo bardzo rzadko)

Pseudorewersja

- “Supresja wewnątrzgenowa”
- Specyficzna względem allelu
  - Narzędzie do badania oddziaływań między aminokwasami wewnątrz białka

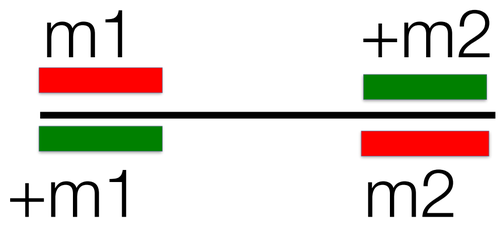
Pseudorewersja – badanie struktury białka



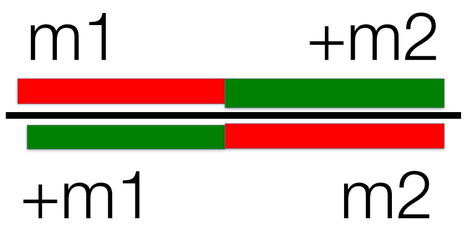


Sommers & Dumont,1997, J Mol Biol 266:559-575

Komplementacja



Jest funkcjonalny allel jednego i drugiego genu



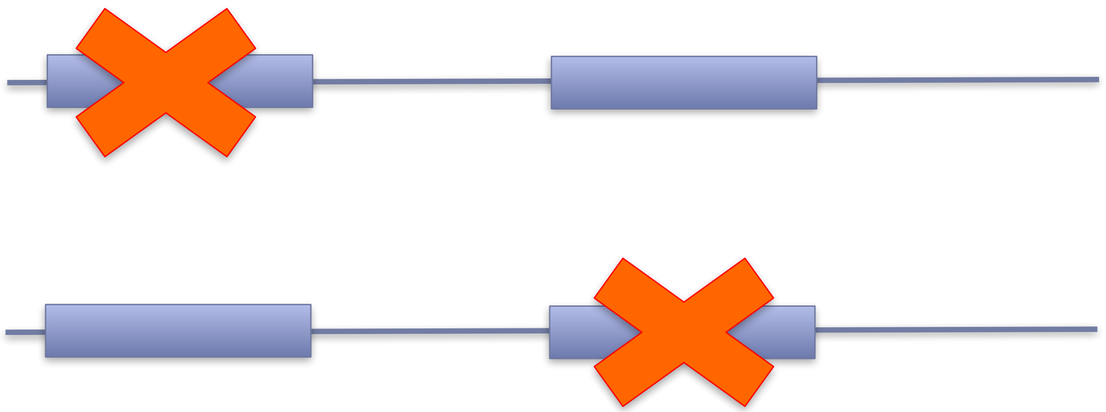
Oba allele niefunkcjonalne

W układzie *trans* mutacje w różnych genach komplementują, w tym samym genie - nie

Warunek m1 i m2 recesywne.

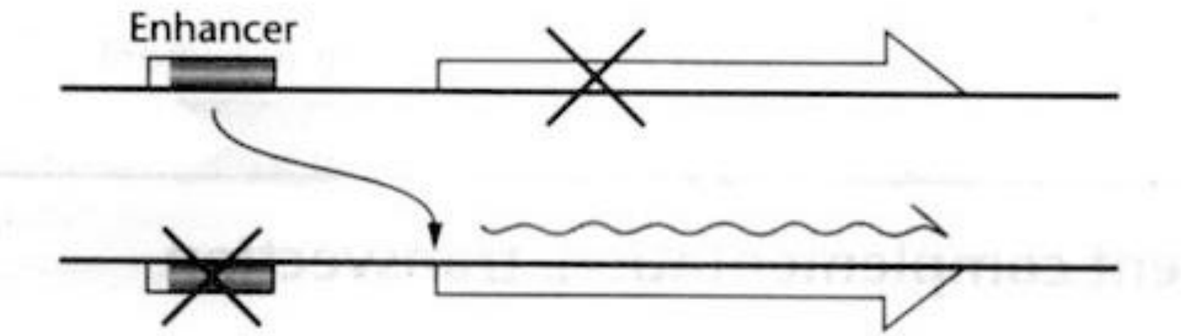
Komplementacja wewnątrzgenowa

- Dwie mutacje w tym samym genie w układzie trans komplementują
  - Mutacje w dwóch niezależnych domenach białka



Komplementacja wewnątrzgenowa

- Dwie mutacje w tym samym genie w układzie trans komplementują
  - Transwekcja – jedna z mutacji w elemencie regulatorowym, który może działać w układzie cis (np. enhancer)
    - Wymaga parowania chromosomów homologicznych w komórkach somatycznych w interfazie – nie u wszystkich organizmów. Obserwowane głównie u *Drosophila*



Interakcje genetyczne

- Fenotyp podwójnego mutanta AB nie jest sumą fenotypów mutacji A i B
- Dla ujęcia ilościowego wymagana jest liczbowa miara fenotypu (fitness)
  - Np. czas podziału (czas generacji) – czas wymagany do podwojenia liczby komórek w hodowli
- Ujęcie jakościowe wymaga dobrze zdefinowanych, dyskretnych (0,1) fenotypów – np. letalność

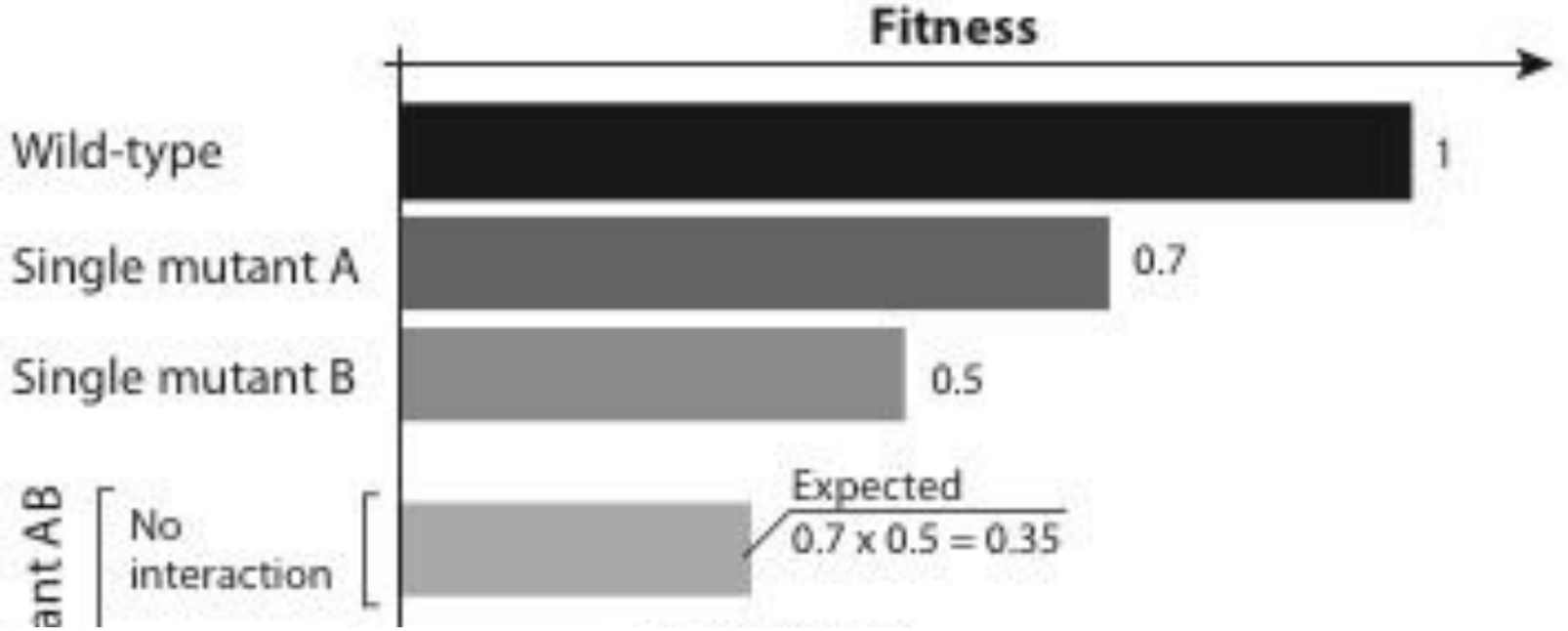
Problem terminu “epistaza”

- Epistaza (“epistasis”), Bateson 1909 – jeden z rodzajów interakcji
  - w tym znaczeniu stosowane w genetyce klasycznej
- Epistaza (“epistacy”), Fisher 1918 - wszelkie interakcje genetyczne
  - w tym znaczeniu używane w genetyce populacji i genetyce ewolucyjnej

Interakcje

- **Łagodzące, pozytywne** (positive, *alleviating interactions*)
  - Fenotyp podwójnego mutanta lżejszy, niż przewidywany dla sumowania fenotypów mutantów pojedynczych
- **Syntetyczne, pogarszające, negatywne** (*negative*, *synthetic, aggravating interactions*)
  - Fenotyp podwójnego mutanta cięższy, niż przewidywany dla sumowania fenotypów pojedynczych mutantów

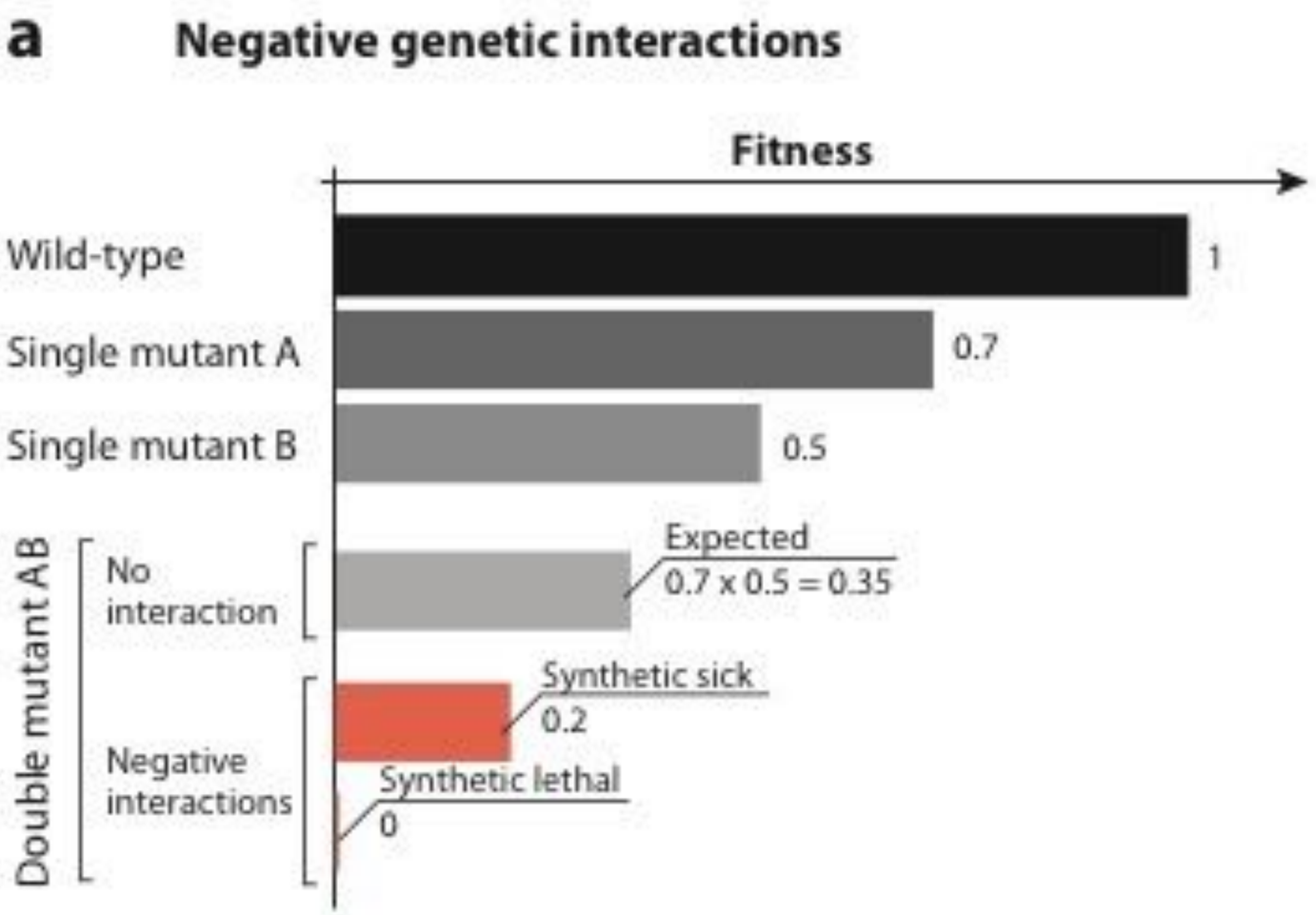
Ujęcie ilościowe



U mikroorganizmów typową miarą dostosowania (fenotypu) jest tempo podziałów
Przy braku interakcji oczekiwane tempo podziałów podwójnego mutanta to iloczyn wartości mutantów pojedynczych

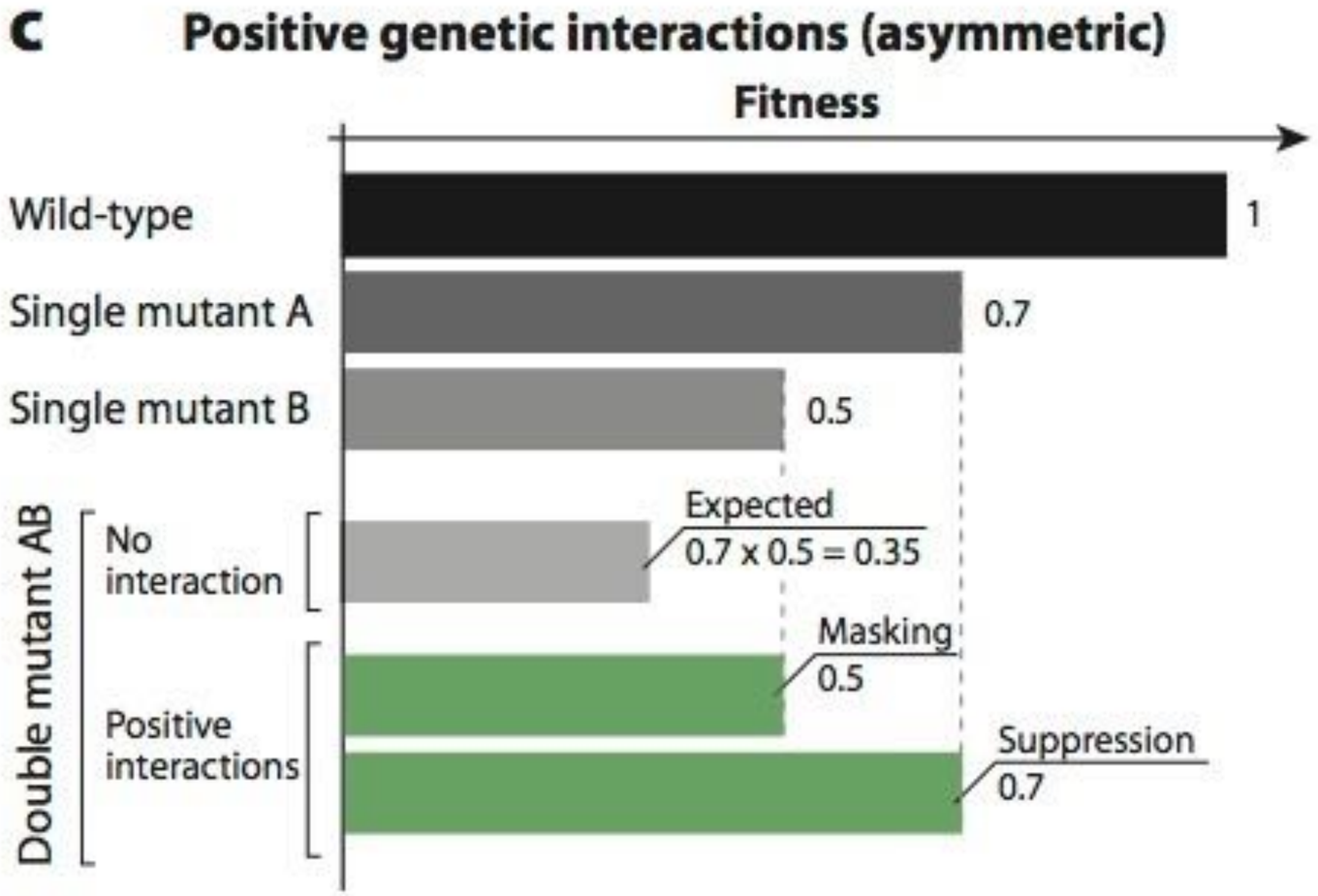
Dixon et al. 2009, Annu Rev Genet 43:601-25

Ujęcie ilościowe - interakcje syntetyczne



Dixon et al. 2009, Annu Rev Genet 43:601-25

Ujęcie ilościowe – interakcje łagodzące



Dixon et al. 2009, Annu Rev Genet 43:601-25

Miary dostosowania

- Najczęściej stosowaną miarą jest tempo podziałów
- Inne miary:
  - efektywność metaboliczna: przyrost biomasy przy stałym dopływie substancji pokarmowych
  - przeżywalność w warunkach stresowych (np. w fazie stacjonarnej hodowli)

Interakcje łagodzące

- **Supresja**
  - Fenotyp mutacji (a) znoszony przez mutację w innym genie (b)
    - Podwójny mutant *ab* ma fenotyp dziki lub bliski dzikiemu
- **Epistaza**
  - Fenotyp mutacji (a) maskowany przez mutację w innym genie (b)
    - Podwójny mutant *ab* ma fenotyp taki sam, jak mutacja *b* (epistatyczna) – obecność mutacji b narzuca fenotyp niezależnie od allelu genu *a* (hipostatycznego)
    - epistaza symetryczna – pojedyncze mutanty *a* i *b* mają taki sam fenotyp, jak podwójny *ab*

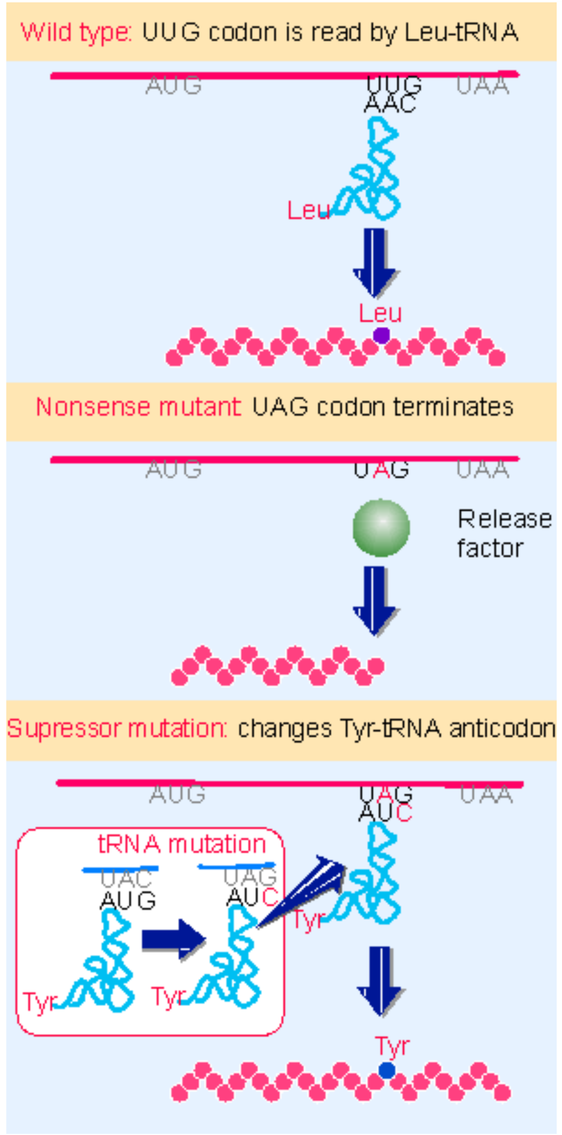
Supresja

- Fenotyp mutacji (a) znoszony przez mutację w innym genie (b)
- Różne grupy mechanizmów
  - Informacyjne
    - np. translacyjna supresja mutacji nonsens
  - Ilościowe
  - Interakcyjne (“zamka i klucza”)
  - Zmieniające ten sam szlak
  - Zmieniające inny szlak
    - obejście
    - zmiana środowiska komórki
    - obniżenie/podwyższenie aktywności szlaku antagonistycznego

Supresja informacyjna

- Supresory związane z przekazywaniem informacji genetycznej (*informational suppressors*)
- Najbardziej znana supresja translacyjna nonsens
- Też zmiana transkrypcji, obróbki RNA, stabilizacja RNA
- Z reguły supresja jest specyficzna wobec konkretnego allelu
- Wiele supresorów informacyjnych może działać na mutacje w różnych genach (np. supresory nonsens)
- Przydatne w badaniu ekspresji genu, ale nie w badaniu funkcji konkretnych genów

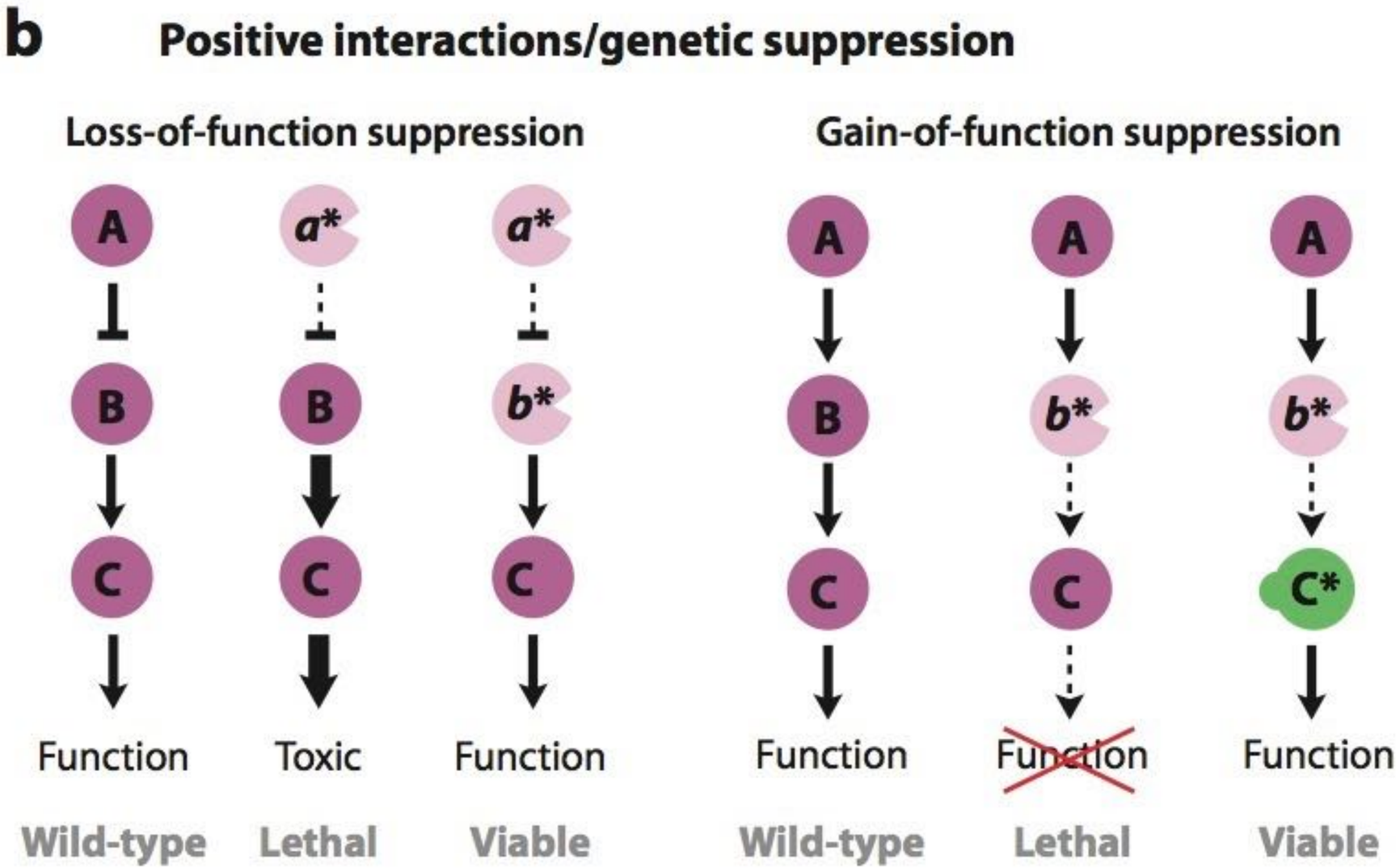
Supresja nonsens



Locus	tRNA	Wild Type		Suppressor	
		Codon/Anti		Anti/Codon	
supD (su1)	Ser	UCG	CGA	CUA	UAG
supE (su2)	Gln	CAG	CUG	CUA	UAG
supF (su3)	Tyr	UAC	GUA	CUA	UAG
supC (su4)	Tyr	UAC	GUA	UUA	UAG
supG (su5)	Lys	AAG	UUU	UUA	UAG
supU (su7)	Trp	UGG	CCA	UCA	UGG

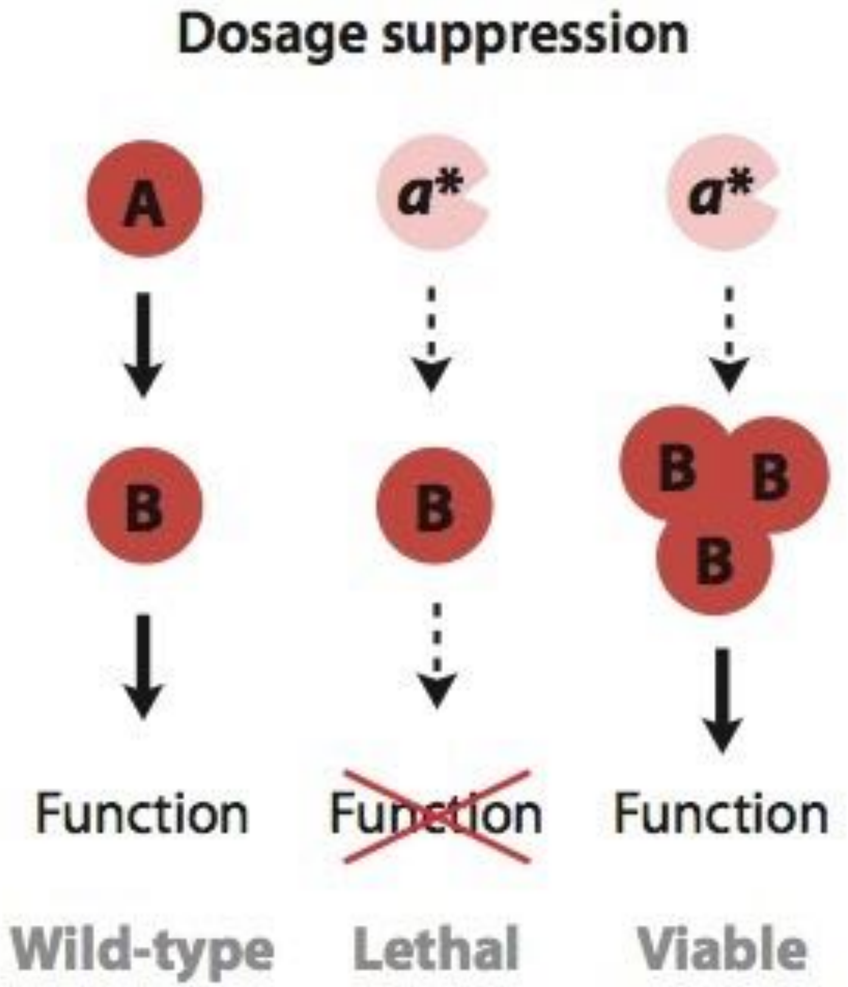
Zmodyfikowane supresorowe tRNA mogą być stosowane do syntezy białek z nietypowymi aminokwasami

Supresja



Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

Supresja ilościowa



Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

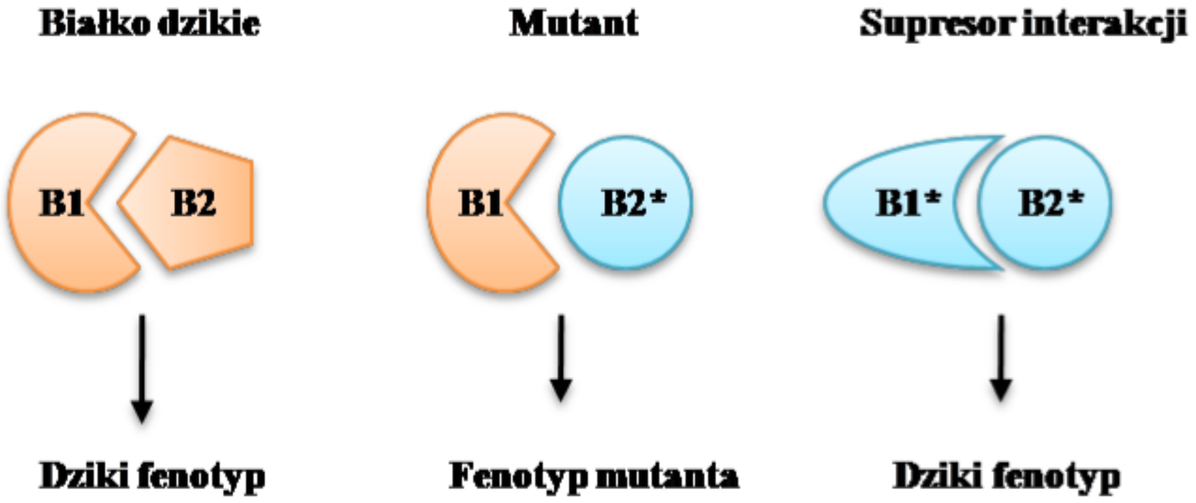
Supresja ilościowa

- Mutacja regulatorowa zwiększa ekspresję genu, kompensując efekt mutacji hipomorficznej, albo
- Zwiększenie ilości produktu innego genu kompensuje brak (lub obniżoną aktywność) produktu genu
- Różne mechanizmy
  - Aktywacja ekspresji (mutacje elementów regulatorowych)
  - Duplikacja genu
  - Supresja plazmidami wielokopiowymi
- Często niezależna od konkretnego allelu

Supresja przez interakcję

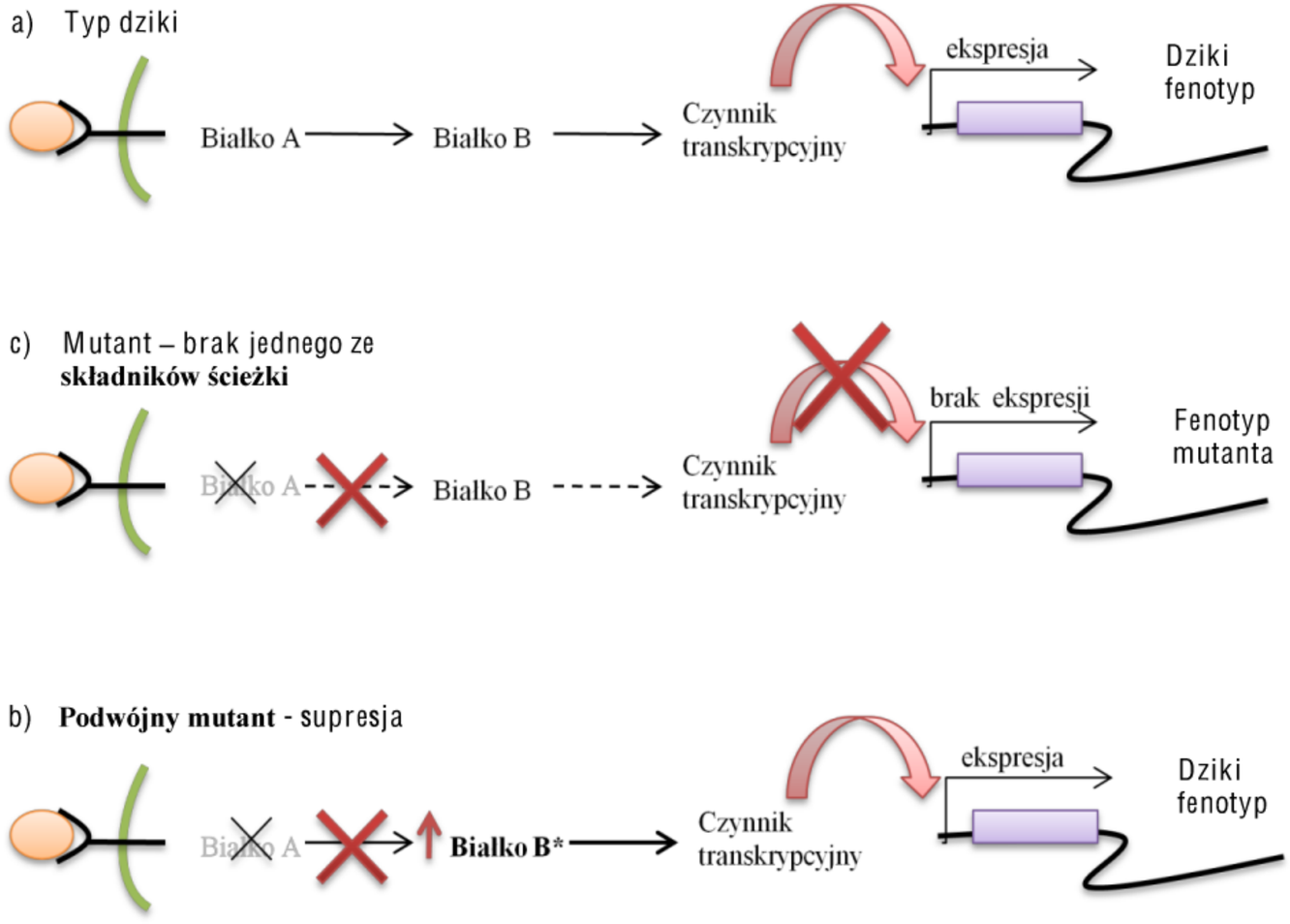
- Mechanizm “zamka i klucza” – mutacja supresorowa zmienia miejsca interakcji tak, by “pasowały” do zmutowanego białka
  - Silnie specyficzna wobec allelu
  - Rzadko spotykana

- Uogólniona zmiana (np. wzmocnienie) interakcji
  - Mutacja supresorowa ogólnie wzmacnia siłę interakcji tak, że toleruje osłabienie wywołane mutacjami w drugim białku
  - Często wzajemne (mutacja a supresorem b, a b supresorem a)



Supresja w obrębie tego samego szlaku

- Jeżeli mutacja jest nullomorfem, to supresja możliwa tylko przez mutację genu kodującego białko leżące poniżej w szlaku.
- Dla hipomorfów możliwa też supresja w elemencie leżącym powyżej (silniejszy sygnał powyżej kompensuje defekt).



Mutant o podwyższonej aktywności B

Supresja w innym szlaku

- Obejście (bypass)
- Zmiana środowiska komórkowego
- Przywrócenie równowagi

Supresja w innym szlaku

- Obejście (bypass)
  - Np. u *E. coli* mutanty permeazy maltozowej suprymowane przez mutacje genu permeazy laktozowej – zmutowane białko nabiera zdolności transportu maltozy
  - Mutacje odblokowujące (np. przez inaktywację represora) alternatywną drogę

Supresja w innym szlaku

- Zmiana środowiska komórkowego
  - Np. defekty genów zaangażowanych w wycinanie intronów w mitochondriach drożdży suprymowane przez mutacje w genach kodujących mitochondrialne trasportery jonów Mg^{2+}
    - Mg^{2+} to kofaktor w reakcji splicingu, wzrost stężenia kompensuje defekty czynników wspomagających reakcję

Supresja w innym szlaku

- Przywrócenie równowagi
  - np.: mutacje osłabiające transkrypcję suprymują defekty szlaku degradacji RNA

Epistaza (sensu stricte)

- Mutacje w jednym genie (epistatyczne) maskują fenotyp alleli innego genu (hipostatycznego)
- Z reguły wskazuje na funkcję w tym samym szlaku lub kompleksie,
  - może posłużyć do ustalenia kolejności etapów
- Zauważona jako czynnik zmieniający typowy rozkład 9:3:3:1 w krzyżówkach dwugenowych

Epistaza

- *D. melanogaster* – mutanty barwy oka

- Podwójny mutant *white*, *vermillion* ma oczy białe, nieodróżnialne od pojedynczego mutanta *white*

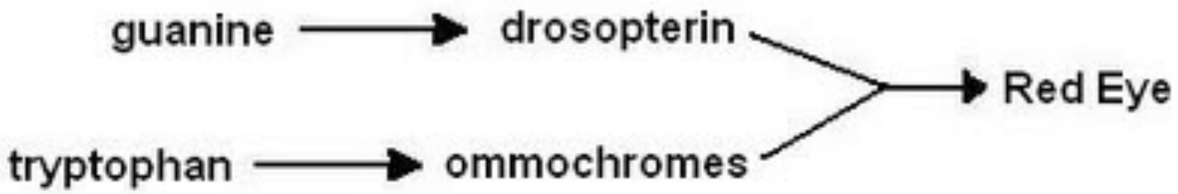
- Mutacje *white* epistatyczne względem *vermillion* (i wielu innych mutacji barwy oka

wt white vermillion

Epistaza

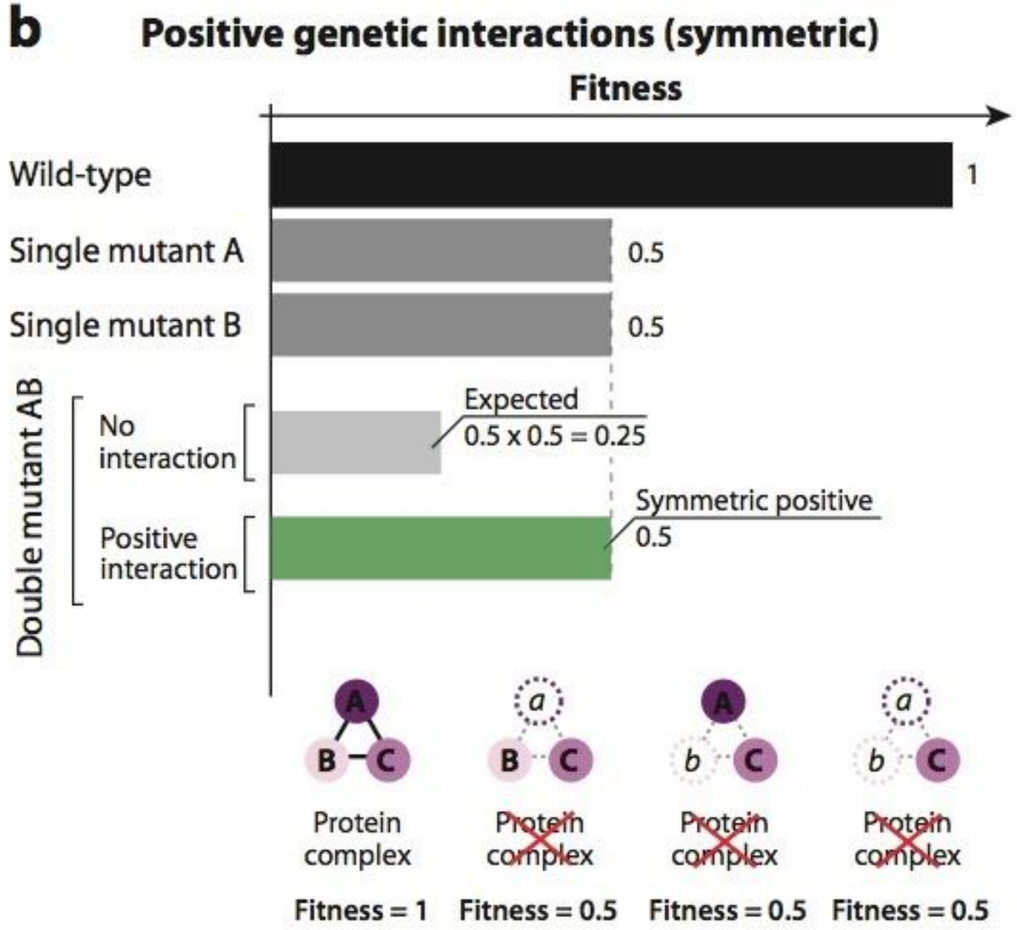
- Drozopteryna – jasnoczerwona, ommochromy – brunatne
  - Defekty szlaku drozopteryny – oczy ciemnobrązowe
  - Defekty szlaku ommochromów – oczy jaskrawoczerwone (np. *vermillion*)
- Produkt genu *white* – transport prekursorów barwników (guaniny i tryptofanu) do komórek zawiązka oka w zarodku

wt white vermillion



Epistaza symetryczna

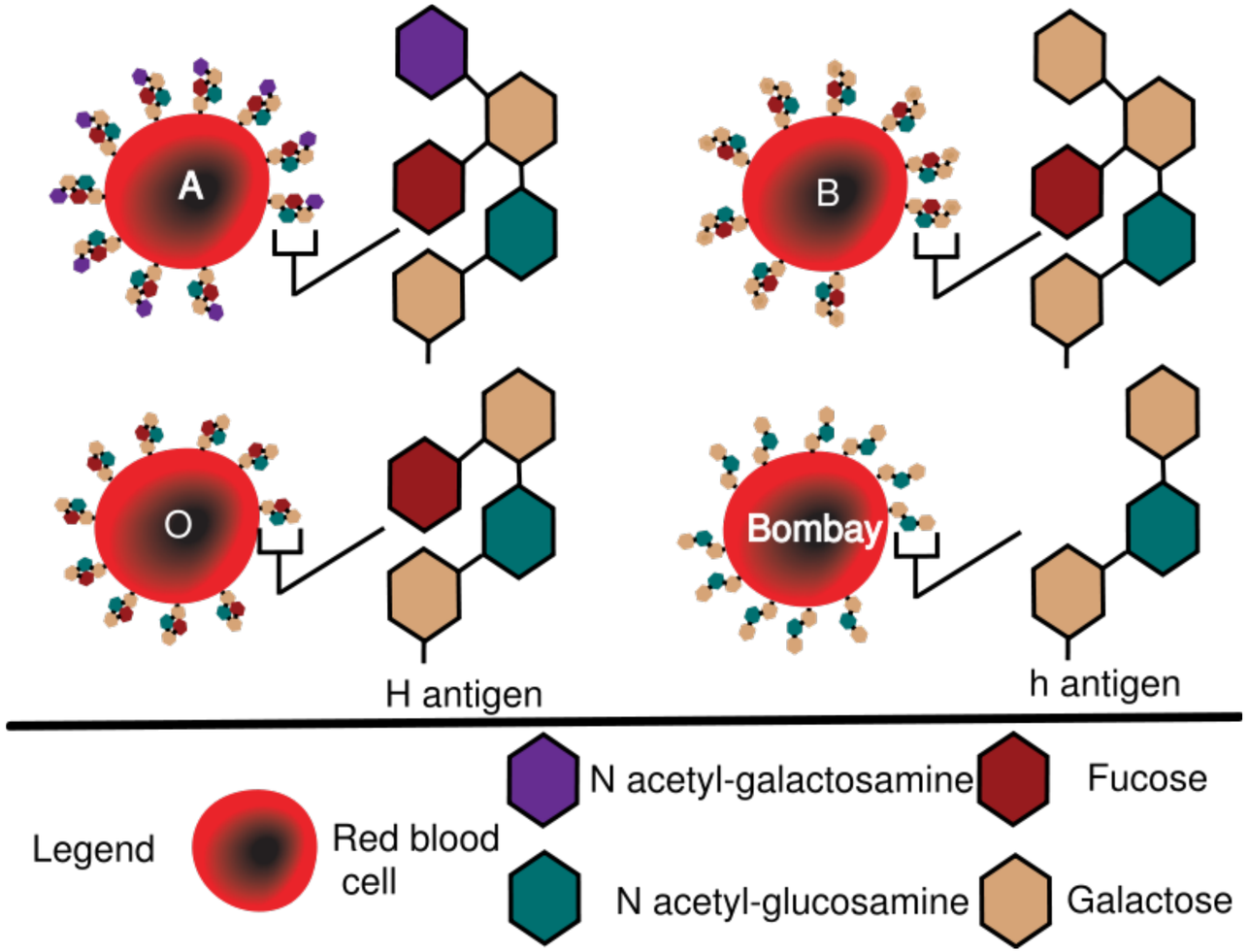
Podwójny mutant nieodróżnialny od pojedynczych



Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

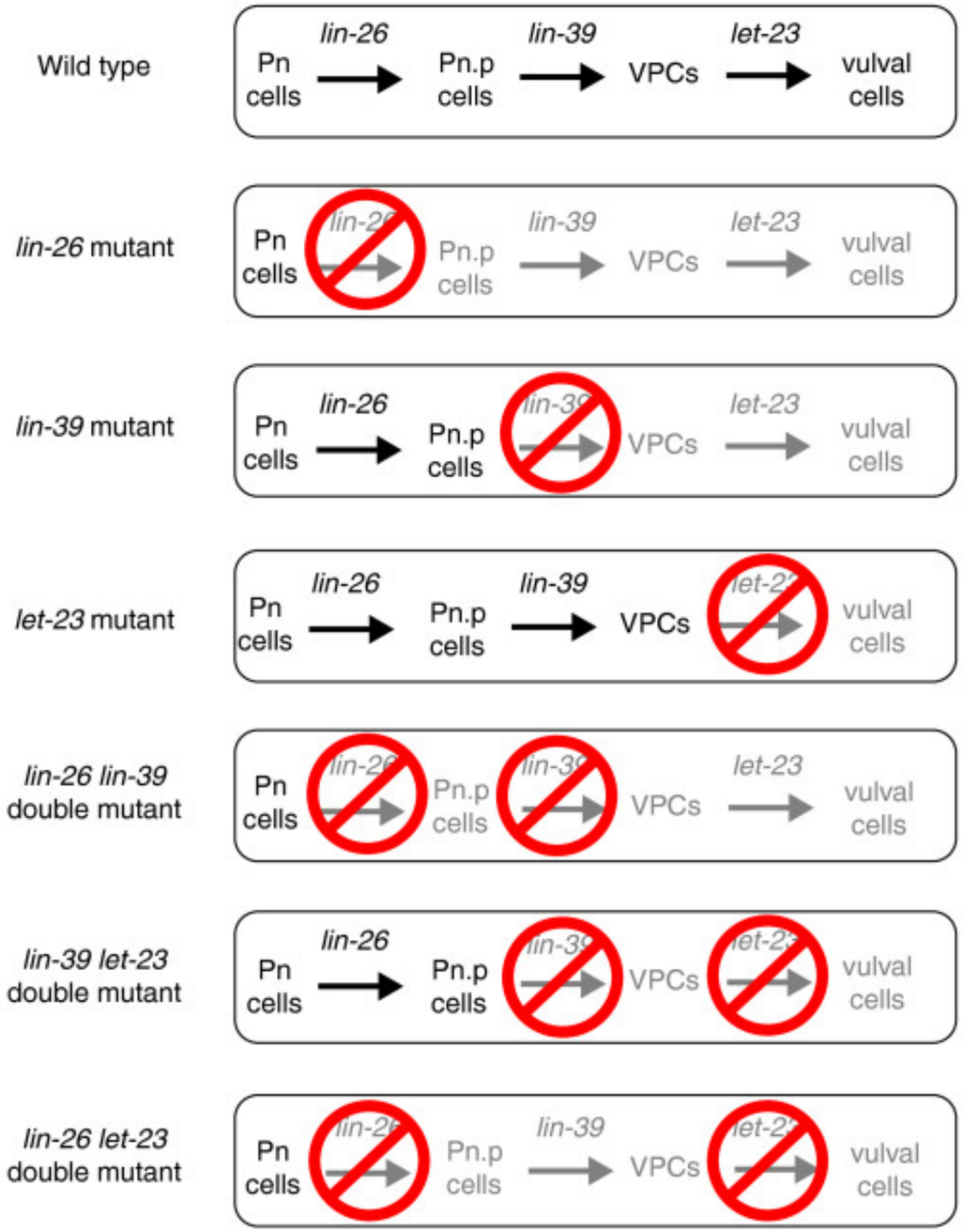
Grupa krwi Bombay

- Rzadki recesywny allel *h* genu innego niż *I*
- Homozygoty *hh* nie wytwarzają antygenu H, który jest prekursorem antygenów A i B
- Homozygoty *hh* w testach dają grupę 0, niezależnie od genotypu I^A lub I^B
- Uniwersalny donor, biorca tylko od innej osoby *hh*
- Ok. 4 osoby na milion (w Bombaju 1: 10 000, wyspa Reunion 1:1000)



Epistaza

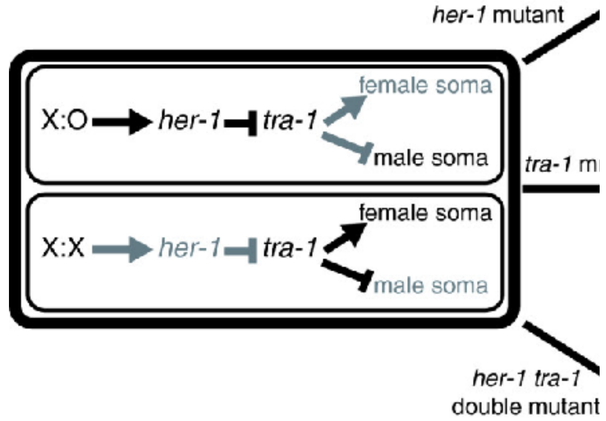
- Przy regulacji pozytywnej (i np. szlakach biosyntezy) mutacja elementu leżącego wyżej w szlaku będzie epistatyczna



Roth et al. Journal of Biology 2009, 8:35

Epistaza i szlaki regulatorowe

- Obecność mutantów o przeciwstawnym efekcie sugeruje regulację negatywną jednego z etapów szlaku



mutacja *tra* epistatyczna

Roth et al. Journal of Biology 2009, 8:35

Interakcje syntetyczne

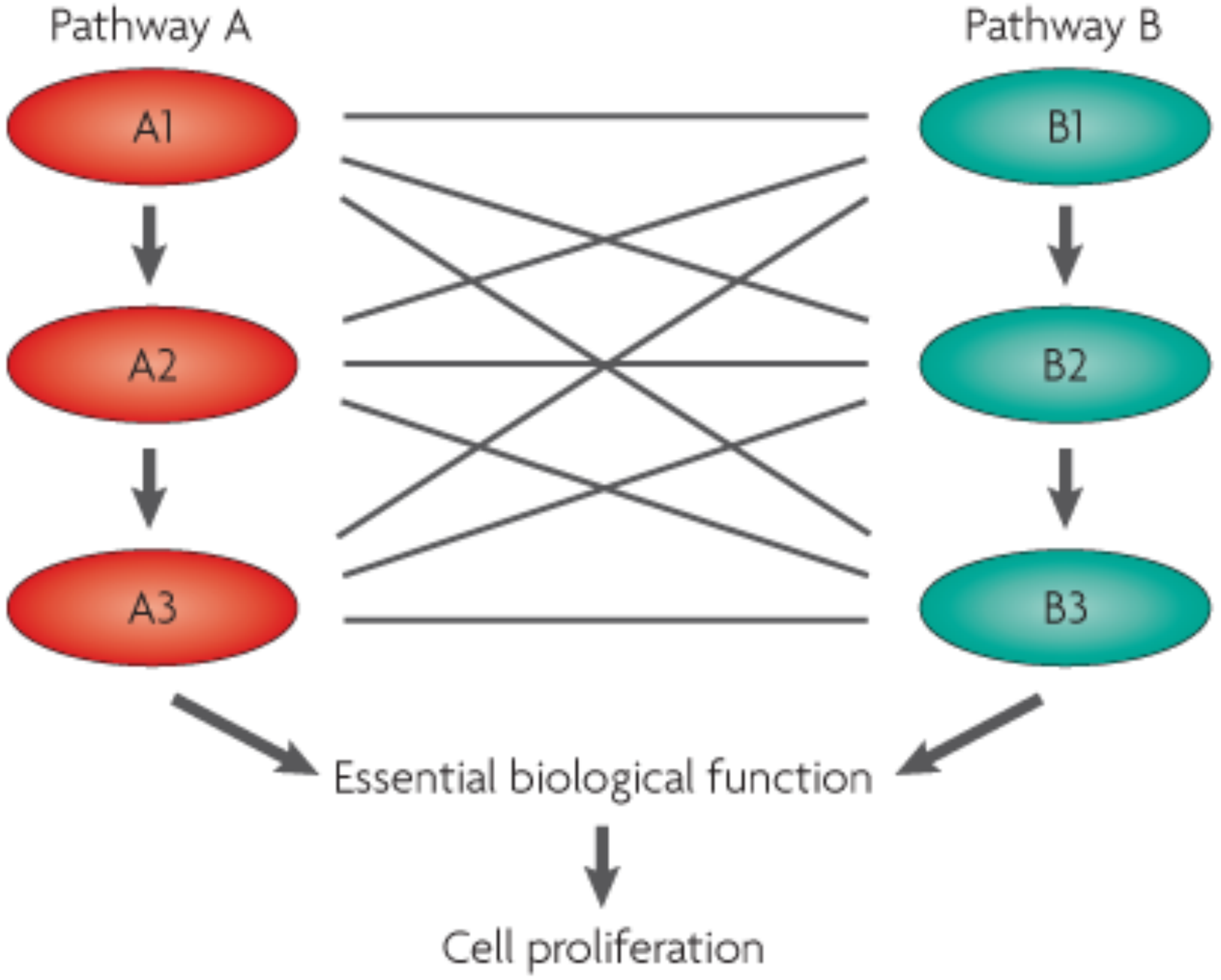
- **Syntetyczne wzmocnienie**
  - Fenotyp podwójnego mutanta silniejszy (lub nieoczekiwany) niż suma fenotypów pojedynczych mutacji
- **Syntetyczna letalność**
  - Pojedyncze mutacje nie są letalne, podwójny mutant letalny
- **Niekomplementacja niealleliczna** (SSNC – second-site non-complementation)
  - Dwie recesywne mutacje *a* i *b* w podwójnej heterozygocie dają fenotyp zmutowany

Syntetyczne wzmocnienie

- Nieoczekiwanie silny (synergistyczny) efekt połączenia dwóch mutacji
    - np. mutacja *a* obniża tempo wzrostu o 10%, mutacja *b* o 20%, a w podwójnym mutancie obniżenie o 90%
- Skrajny przypadek: syntetyczna letalność
- Zwykle dotyczy alleli nullomorficznych lub hipomorficznych
- Łatwiejsza do badania w organizmach mających wegetatywną fazę haploidalną (np. drożdże)
- Inny wariant: SDL (*synthetic dosage lethality*)
    - nadekspresja jednego genu ujawnia silny fenotyp dopiero w kontekście mutacji innego genu

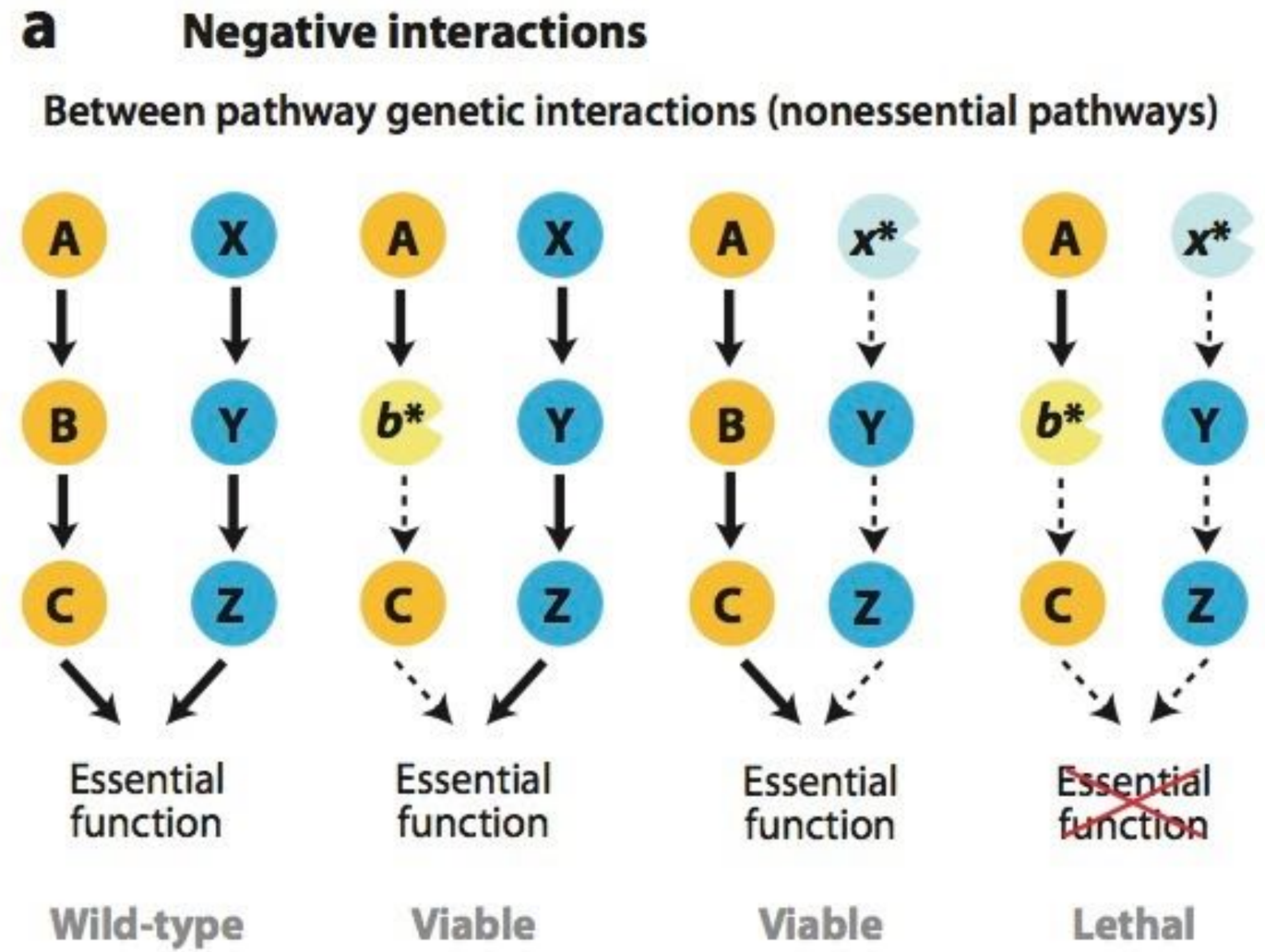
Syntetyczne wzmocnienie

- W przypadku alleli null dotyczy szlaków działających równolegle
- Szlaki A i B wykazują redundację, ale defekt obydwu jest letalny
- Interakcje syntetyczne wskazują na istnienie redundancji w systemach biologicznych



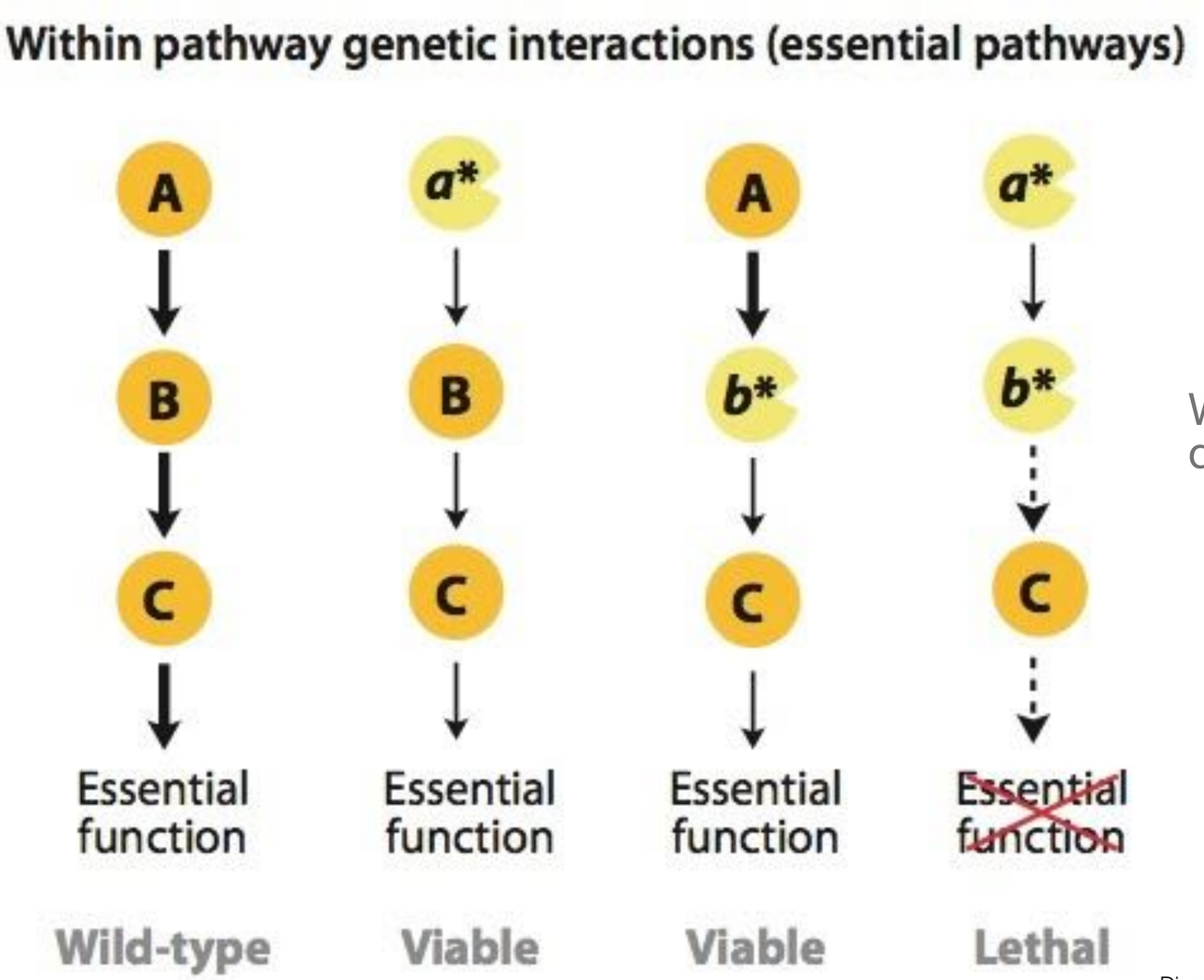
Boone et al. Nature Reviews Genetics, 2007 vol. 8 (6) pp. 437

Syntetyczne wzmocnienie pomiędzy szlakami



Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

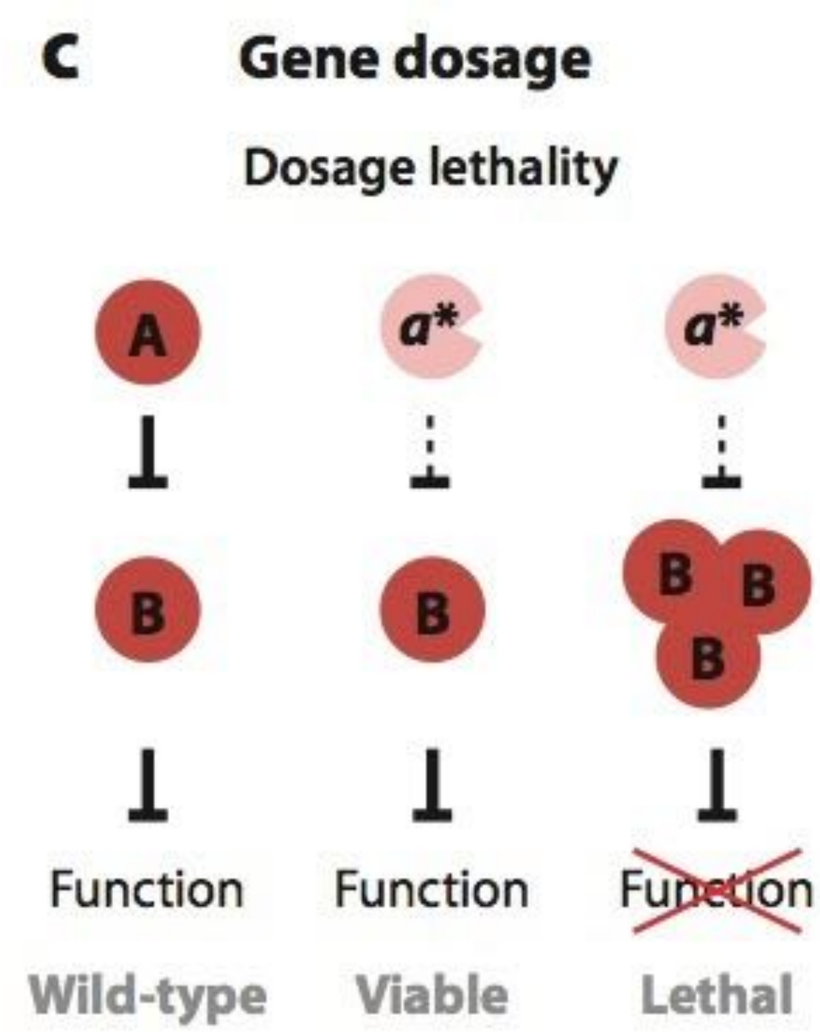
Syntetyczne wzmocnienie w tym samym szlaku



W przypadku alleli **hipomorficznych** może dotyczyć elementów tego samego szlaku

Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

Syntetyczna letalność dawki



Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

SDL

- Syntetyczna letalność dawki (nadekspresji) – *synthetic dosage lethality*

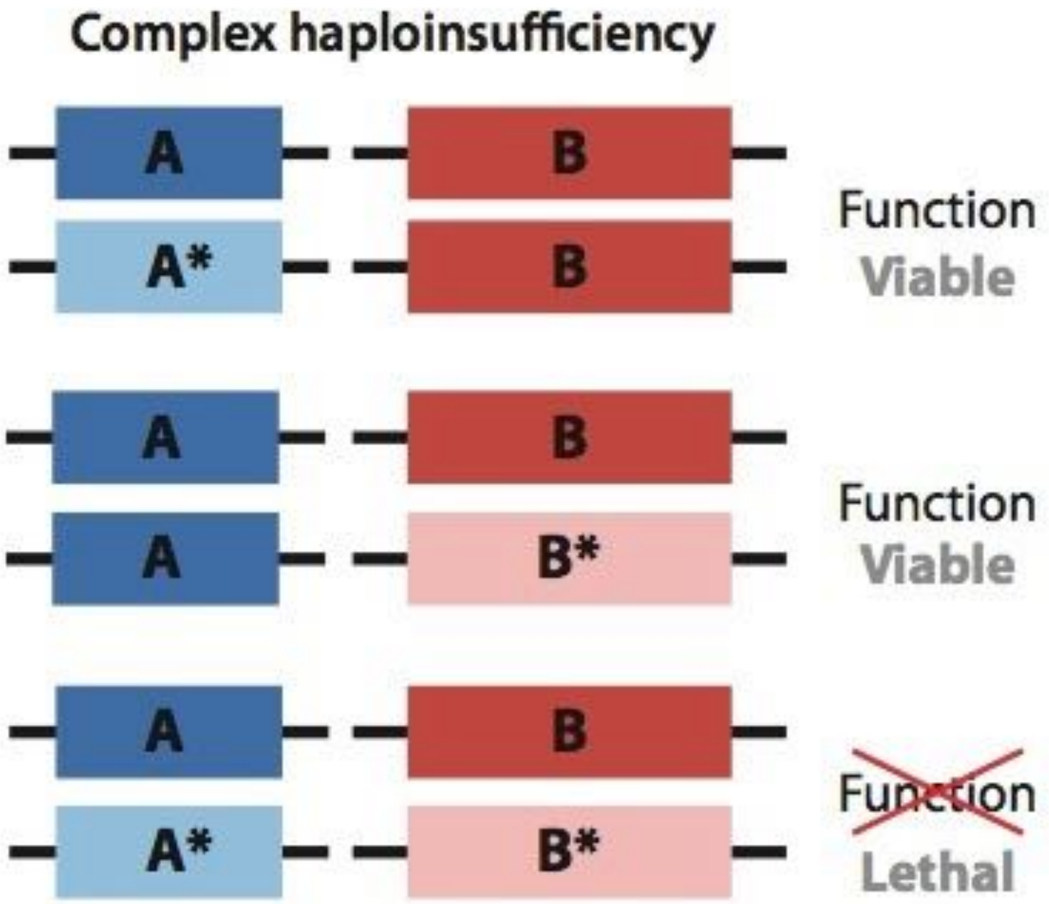
- Np. nadekspresja genu *PHO4* jest letalna w kontekście delecji genu *PHO85*

  - *PHO85* koduje kinazę białkową, ktorej substratem jest, m. in., produkt *PHO4*. Fosforylacja hamuje aktywność białka. Letalny efekt nadmiaru aktywnego białka Pho4p.

Niekomplementacja niealleliczna

- *Second-site non-complementation* (SSNC)
- Mutacja *a* jest recesywna, mutacja *b* w innym genie też, ale podwójna heterozygota *a*/+ *b*/+ ma fenotyp mutanta
- Różne mechanizmy
  - SSNC typ I – interakcja toksyczna
  - SSNC typ II – sekwestracja
  - SSNC typ III – efekt dawki (złożona haploinsuficjencja)

SSNC typ III – złożona haploinsuficjencja



Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

SSNC typu III

- Złożona haploinsuficjencja
- Nie wymaga interakcji fizycznej produktów genów
- Obniżenie aktywności genów A i B w heterozygotach pojedynczo nie daje efektu
- W podwójnej heterozygocie efekty obniżenia aktywności obu genów się sumują i pojawia się defekt
- Nie jest specyficzna wobec alleli, występuje też dla alleli null

Złożona haploinsuficjencja (SSNC typu III)

- Geny *nod* i *ncd* u *Drosophila* – w podwójnej heterozygocie defekt mejozy
- Systematyczne analizy u drożdży:
  - Dla szczepu heterozygotycznego pod względem delecji genu aktyny znaleziono 208 innych heterozygotycznych delecji, które w połączeniu dawały defekty morfologii aktyny

Poszukiwanie interakcji

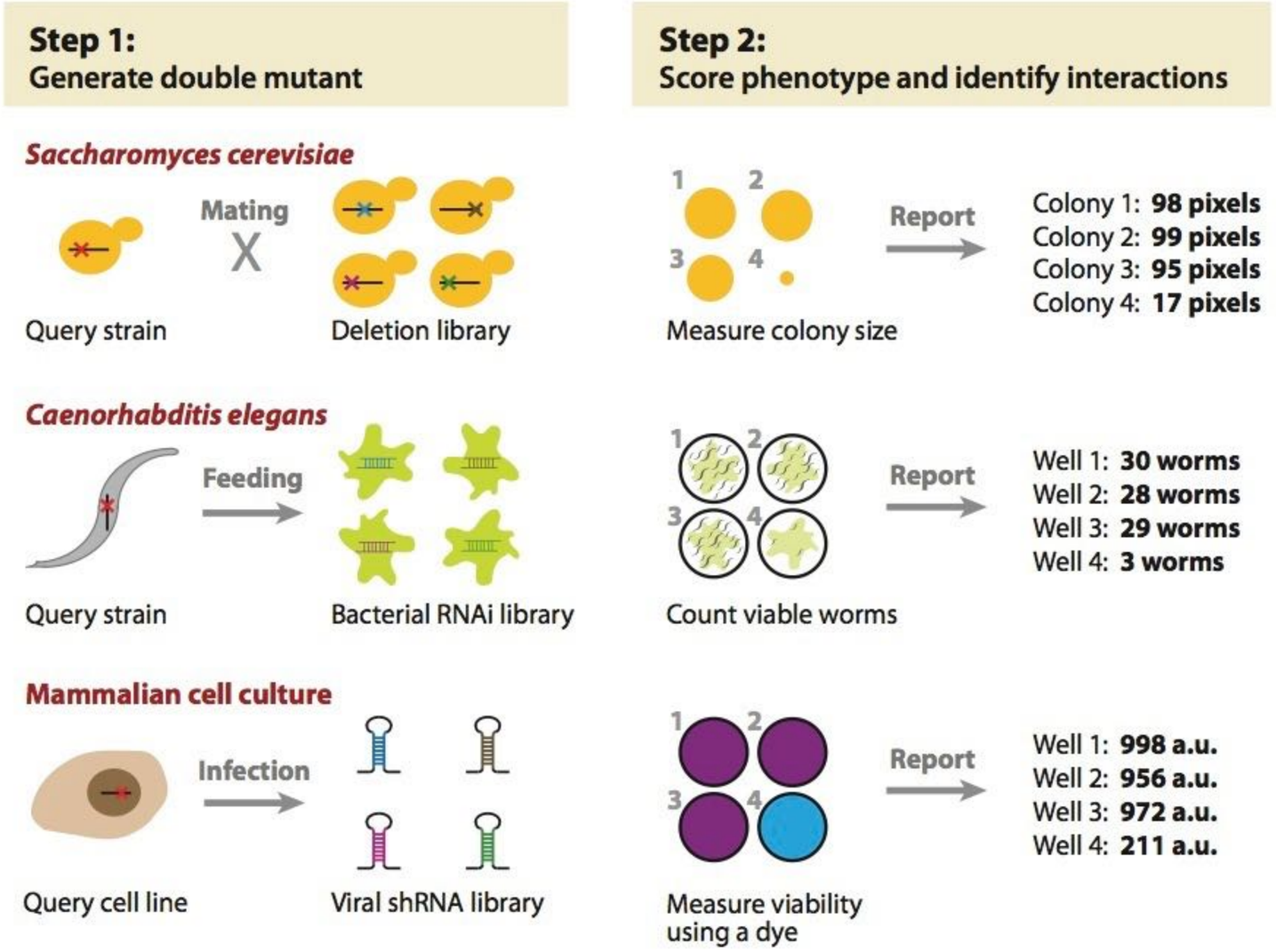
- Interakcje dające się selekcjonować pozytywnie (np. supresje) można wykrywać stosując bezpośrednią selekcję (np. po mutagenezie albo po transformacji plazmidem wysokokopiowym)

- W niektórych organizmach modelowych (drożdże) możliwa systematyczna analiza interakcji dla wszystkich par genów

  - cel: stworzenie kompletnej mapy interakcji

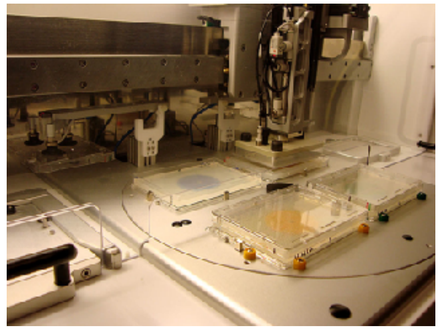
- Poszukiwanie interakcji syntetycznych: metody SGA i dSLAM

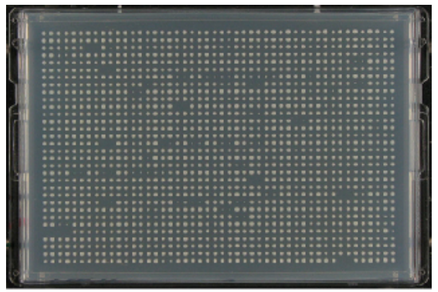
Mapowanie interakcji

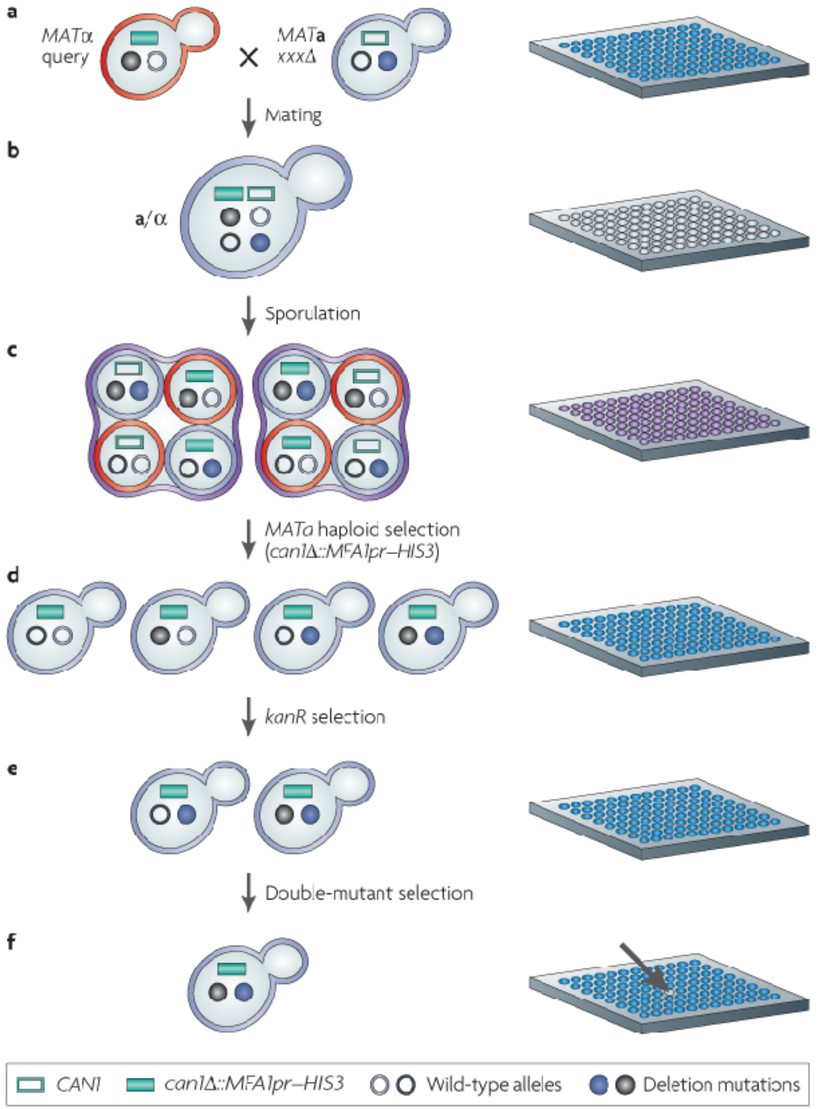


SGA

- Synthetic Gene Array
- Kolekcja delecji, krzyżowana z badanym genem
- Sporulacja,
- Selekcja haploidów *MATa*
- Selekcja pojedynczych i podwójnych mutantów

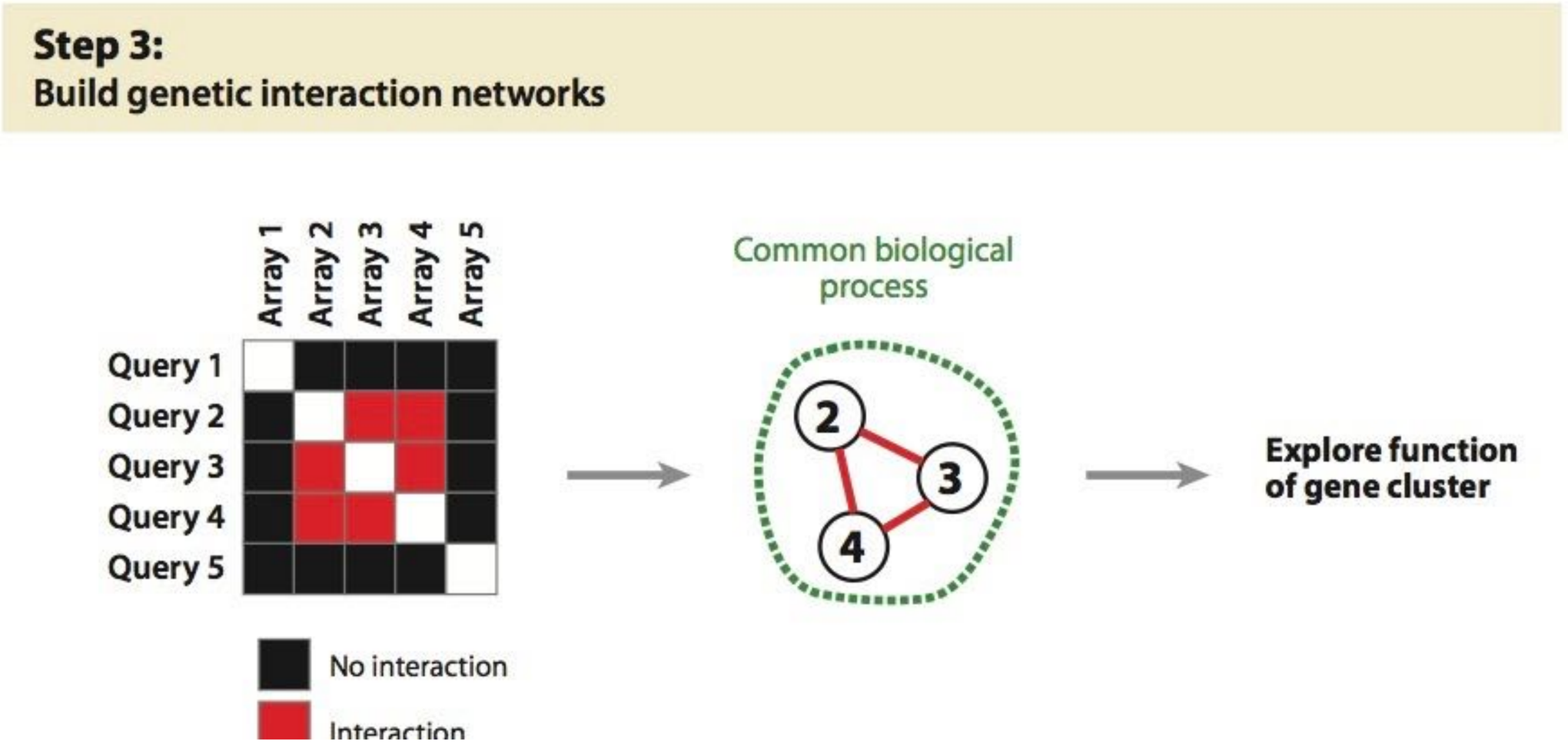






Boone et al. Nature Reviews Genetics, 2007 vol. 8 (6) pp. 437

Rekonstrukcja sieci interakcji

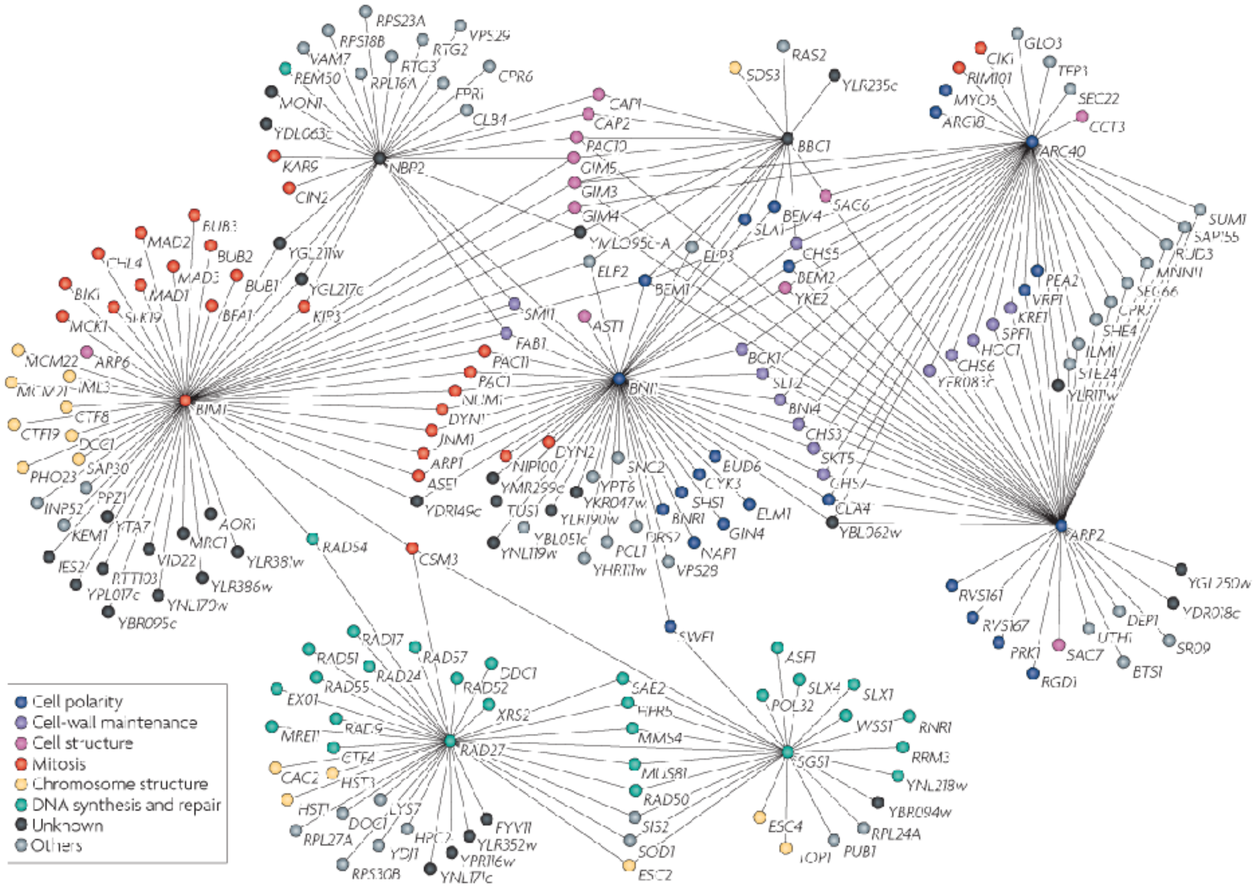


Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

Interakcje genetyczne – ujęcie systemowe

- Interakcje genetyczne wskazują na związki funkcji
  - Mogą wiązać elementy tego samego szlaku/kompleksu, ale też różnych szlaków, powiązanych funkcją
  - Zestaw interakcji (pozycja na mapie interaktomu genetycznego) może wskazywać na funkcję genu

Sieci biologiczne

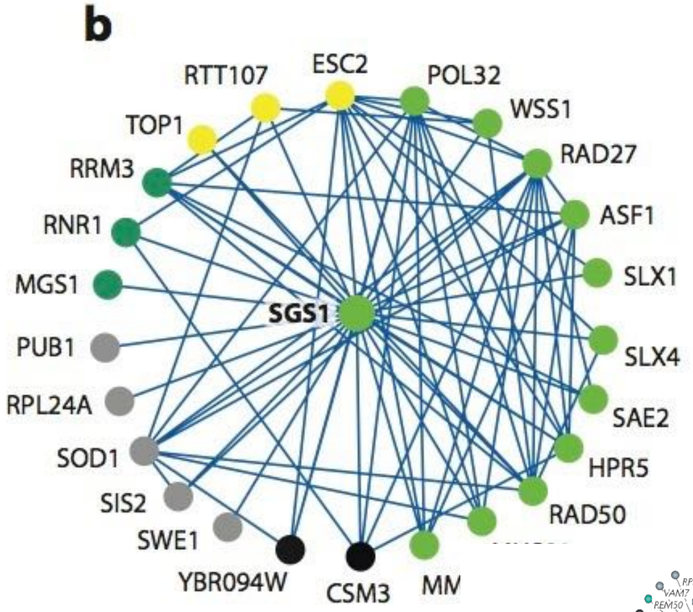


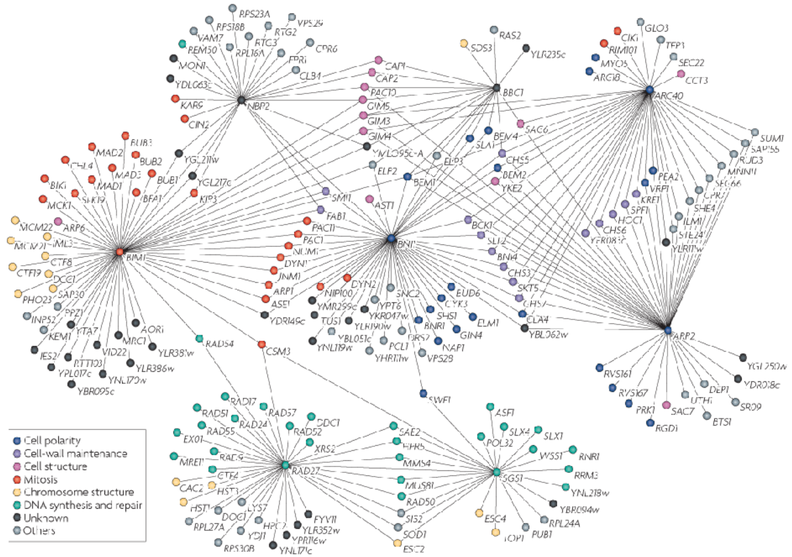
Przykładowa sieć dla 204 genów drożdżowych – interakcje syntetycznie letalne

Boone et al. Nature Reviews Genetics, 2007 vol. 8 (6) pp. 437

Sieci interakcji

- Sieć interakcji syntetycznych letalnych jest rzadka – około 1%
- Interakcje syntetyczne są jednak częste pomiędzy genami o powiązanej funkcji (18%-25%)

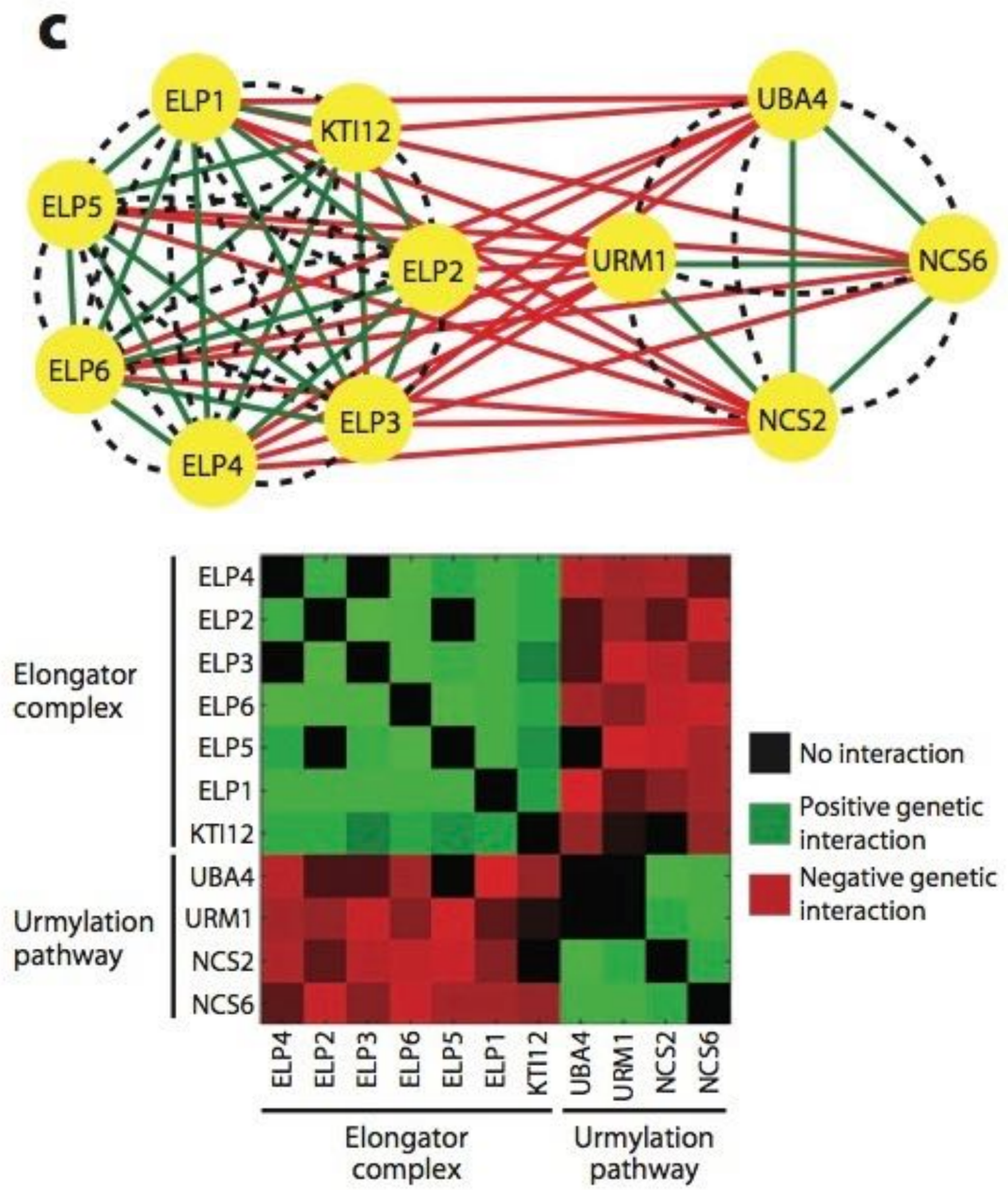




Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

Interakcje genetyczne a fizyczne

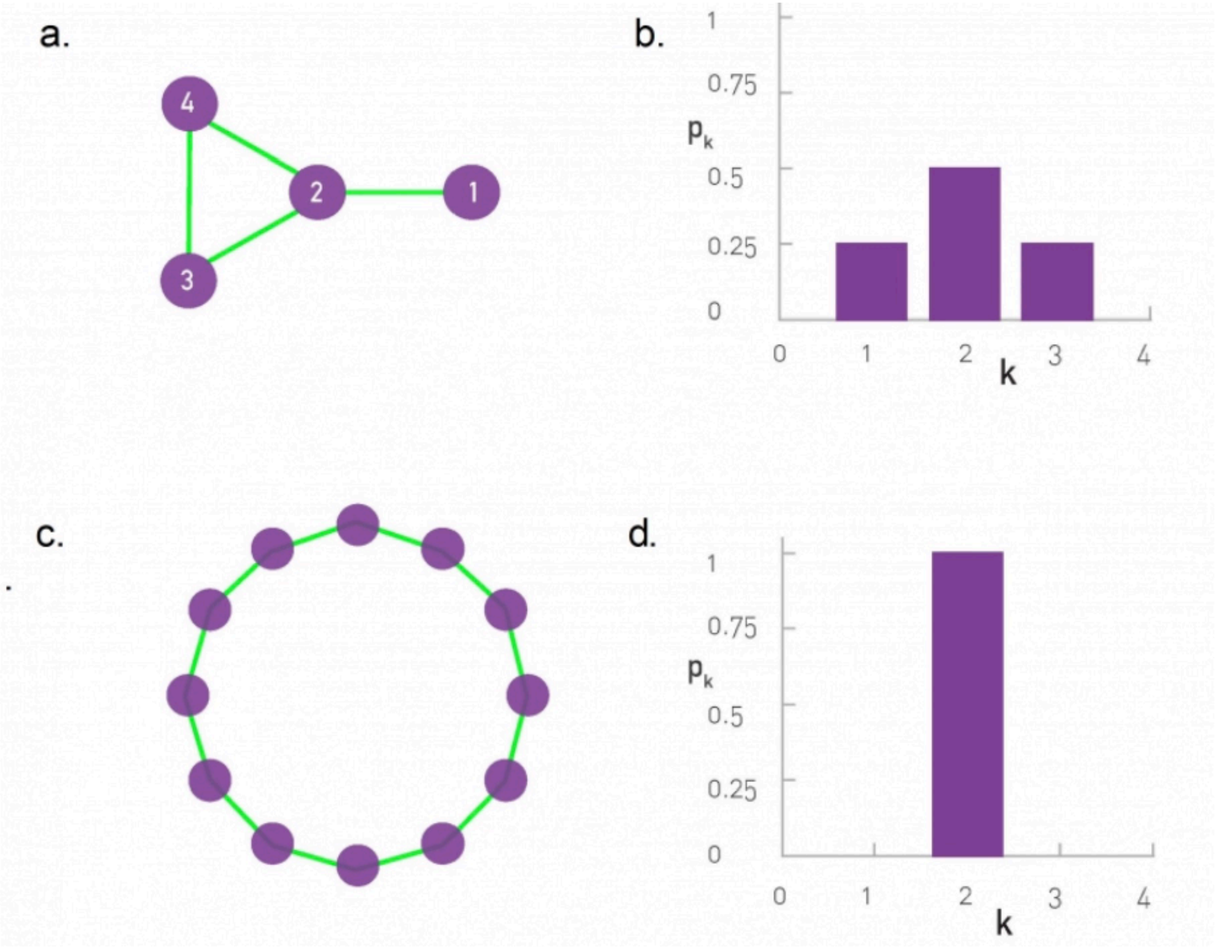
- Interakcje fizyczne i genetyczne rzadko się nakładają, choć częściej, niż przewidywano by dla pełnej losowości
  - Nakładanie się interakcji genetycznych i fizycznych częste dla interakcji pozytywnych (epistaza)
  - Interakcje negatywne z reguły pomiędzy różnymi kompleksami fizycznymi

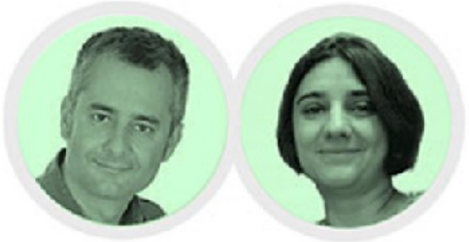


Dixon et al. 2009, Systematic mapping of genetic interaction networks. Annu Rev Genet 43:601-25

Sieci biologiczne

- Zastosowanie pojęć teorii grafów i sieci
  - N - liczba węzłów
  - *k* - stopień węzła (liczba połączeń)
  - L - całkowita liczba połączeń
  - *P(k)* - rozkład prawdopodobieństwa znalezienia węzła o stopniu *k*
- Najważniejsze odkrycie - opisanie sieci bezskalowych: Barabási & Albert. Emergence of scaling in random networks. Science, 286: 509, 1999.





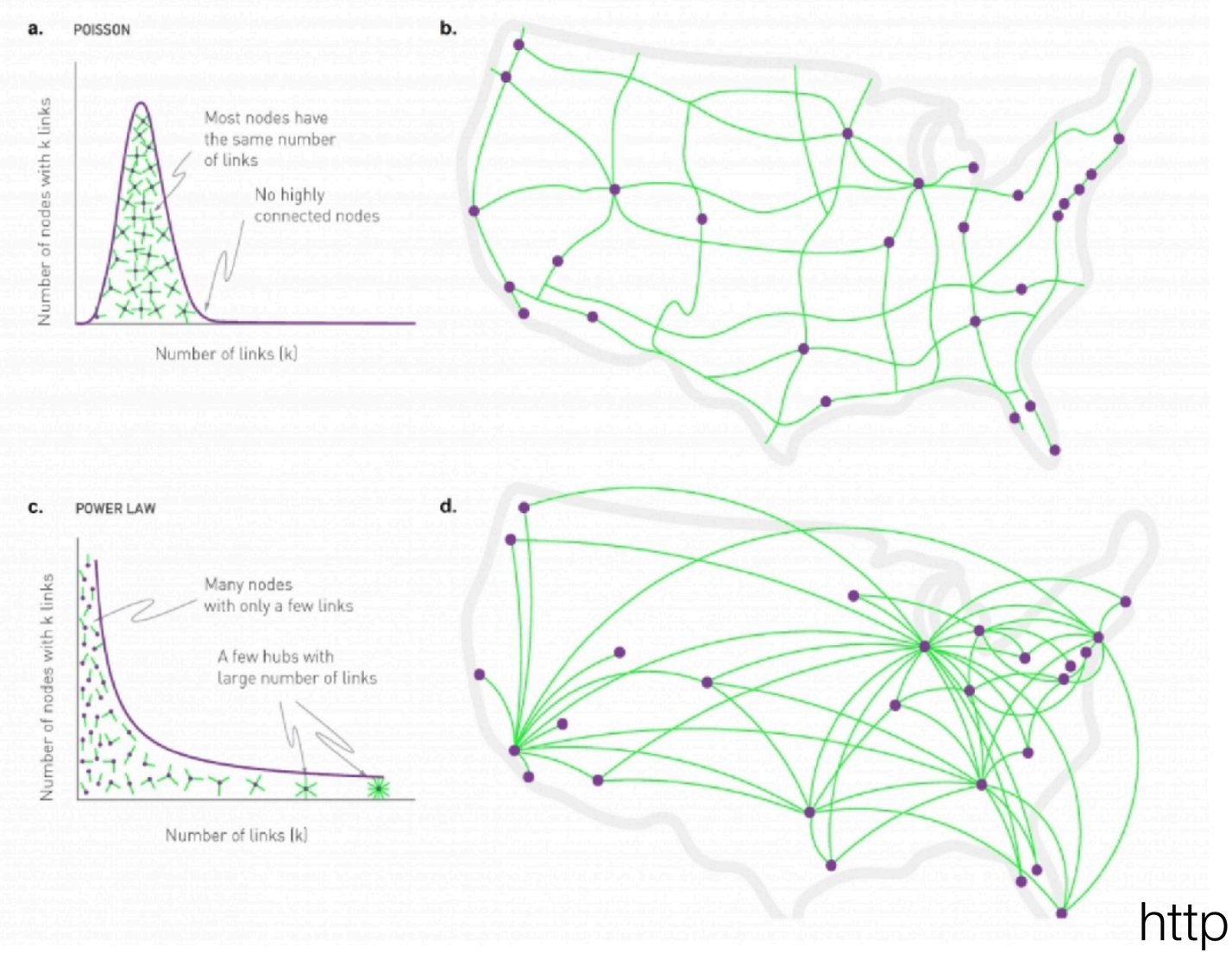
Albert-László Barabási & Réka Albert
PREFERENTIAL ATTACHMENT
NETWORK SCIENTISTS

http://barabasi.com/networksciencebook/

Sieci biologiczne

- Sieci interakcji biologicznych mają charakter bezskalowy
  - węzły centralne (hubs) z dużą liczbą połączeń
  - węzły peryferyjne, z małą liczbą połączeń
  - węzły centralne częściej odpowiadają genom niezbywalnym (których defekt jest letalny)
- “Mały świat” – długość ścieżki pomiędzy dwoma węzłami jest niewielka (3,3 u drożdży)
  - Niewielkie zwiększenie odległości przy zwiększaniu liczby węzłów (“ultra mały świat”)
- Podobne właściwości ma np. Internet, sieci interakcji społecznych, liczba Erdősa wśród matematyków

Sieci losowe i bezskalowe

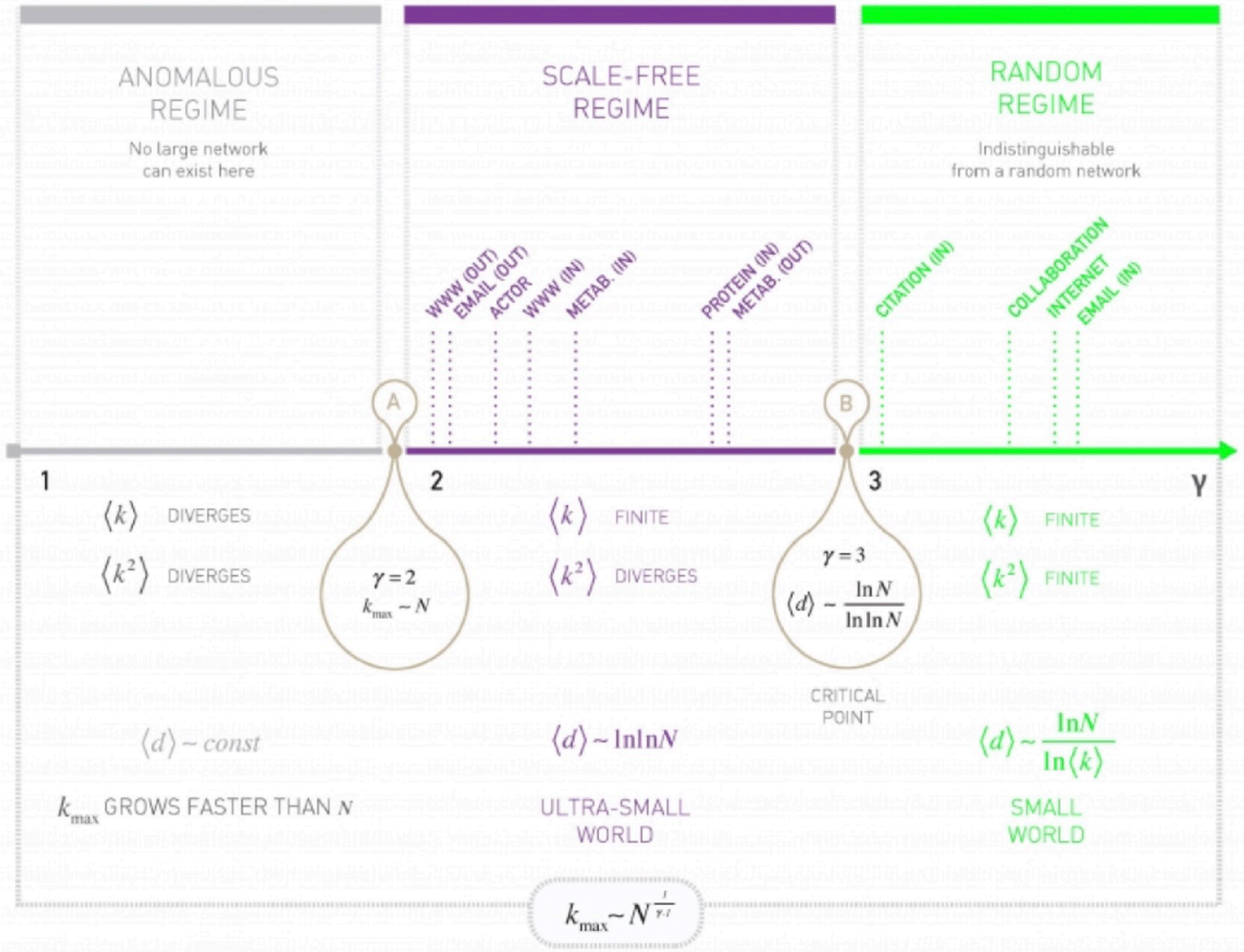


$$P(k) \sim \binom{n}{k} p^k (1-p)^{n-k}$$

$$P(k) \sim k^{-\gamma}$$

http://barabasi.com/networksciencebook/

The γ Dependent Properties of Scale-Free Networks



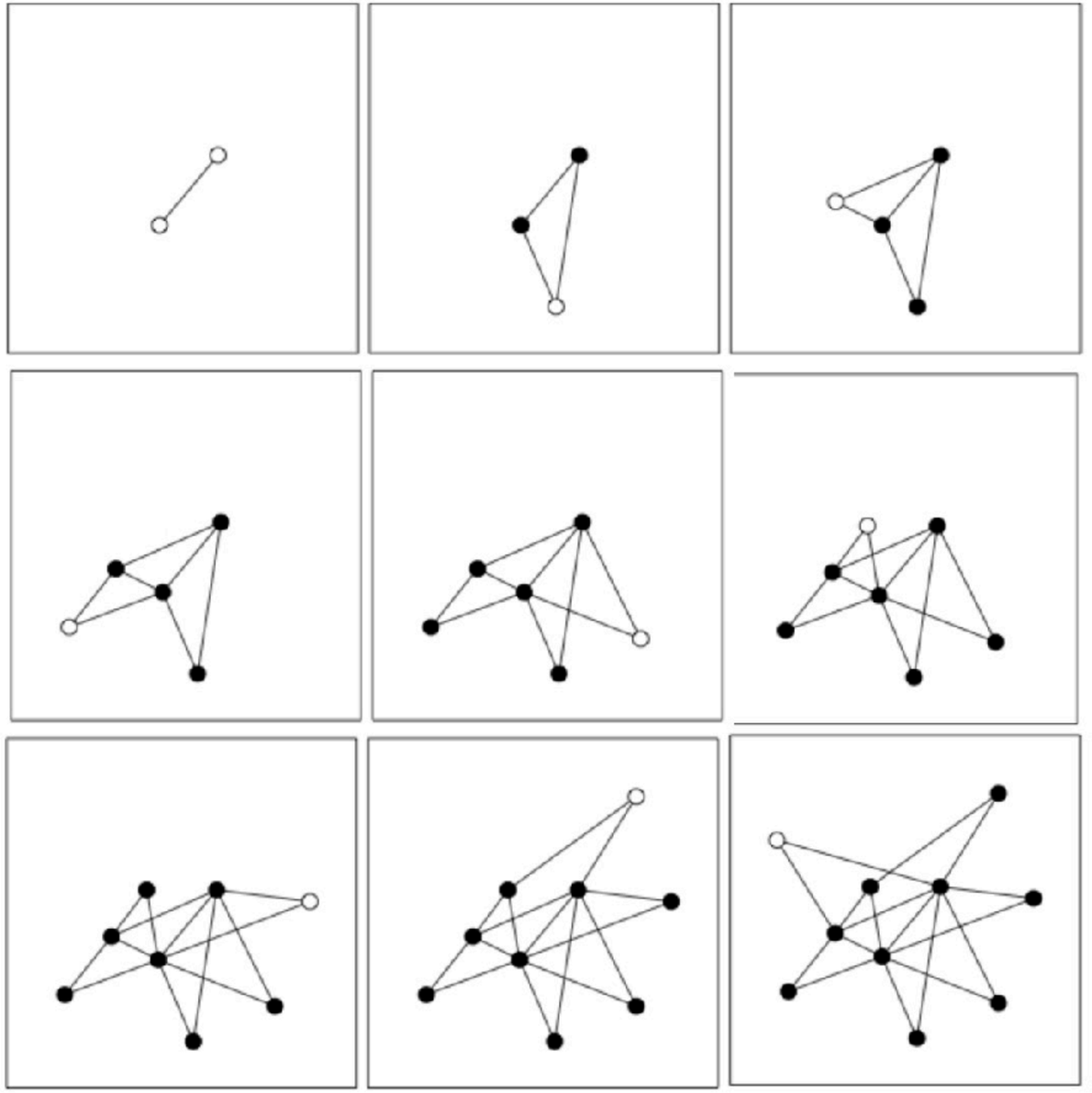
$2 < \gamma < 3$

http://barabasi.com/networksciencebook/

Ewolucja sieci bezskalowych

- Preferencyjne przyłączanie: model Barabásiego-Albert
- Nowy węzeł dołącza do istniejących z prawdopodobieństwem proporcjonalnym do stopnia węzła

$$\Pi(k_i) = \frac{k_i}{\sum k_j}$$



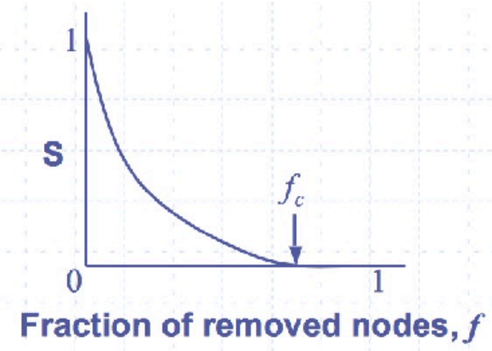
http://barabasi.com/networksciencebook/

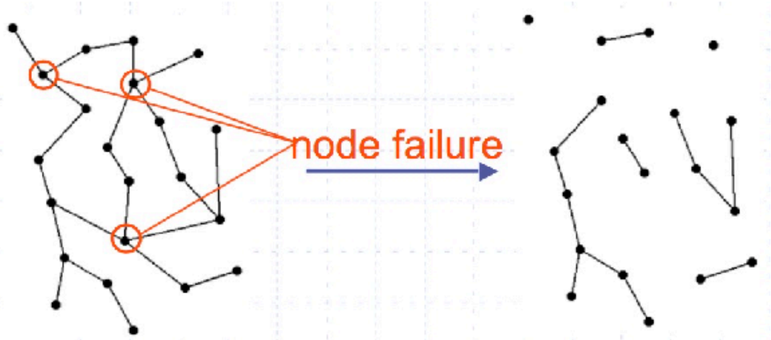
Sieci

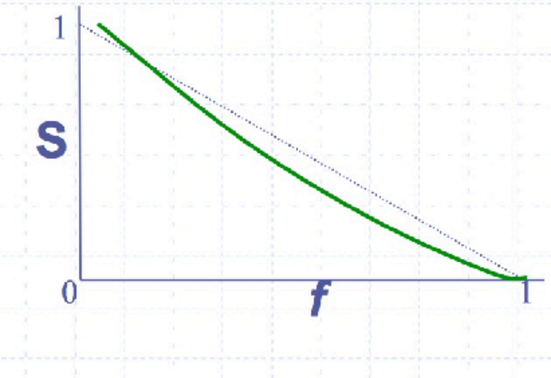
- Dwie własności sieci
  - *robustness* (krzepkość) – odporność na zaburzenie np. mutację jednego z elementów)
  - *evolvability* – potencjał zmienności
  - Zależą od topologii sieci

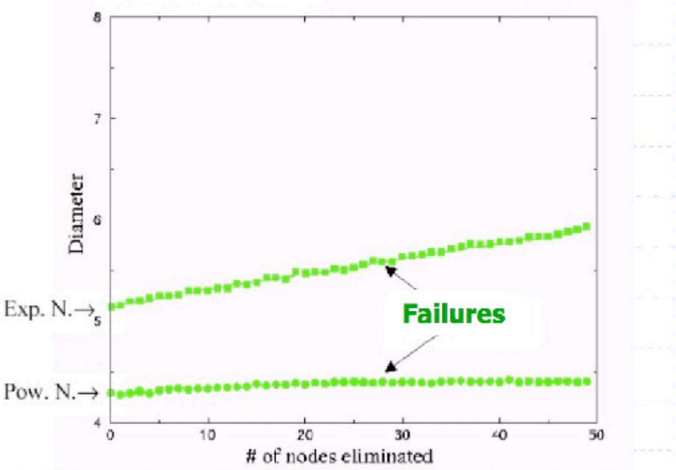
Krzepkość sieci

- Sieci bezskalowe są bardziej odporne na przypadkowe zaburzenia niż sieci losowe (wykładnicze)
- Są wrażliwe jeżeli atak skierowany jest na węzły centralne
  - wykorzystanie znajomości sieci w projektowaniu leków itp.







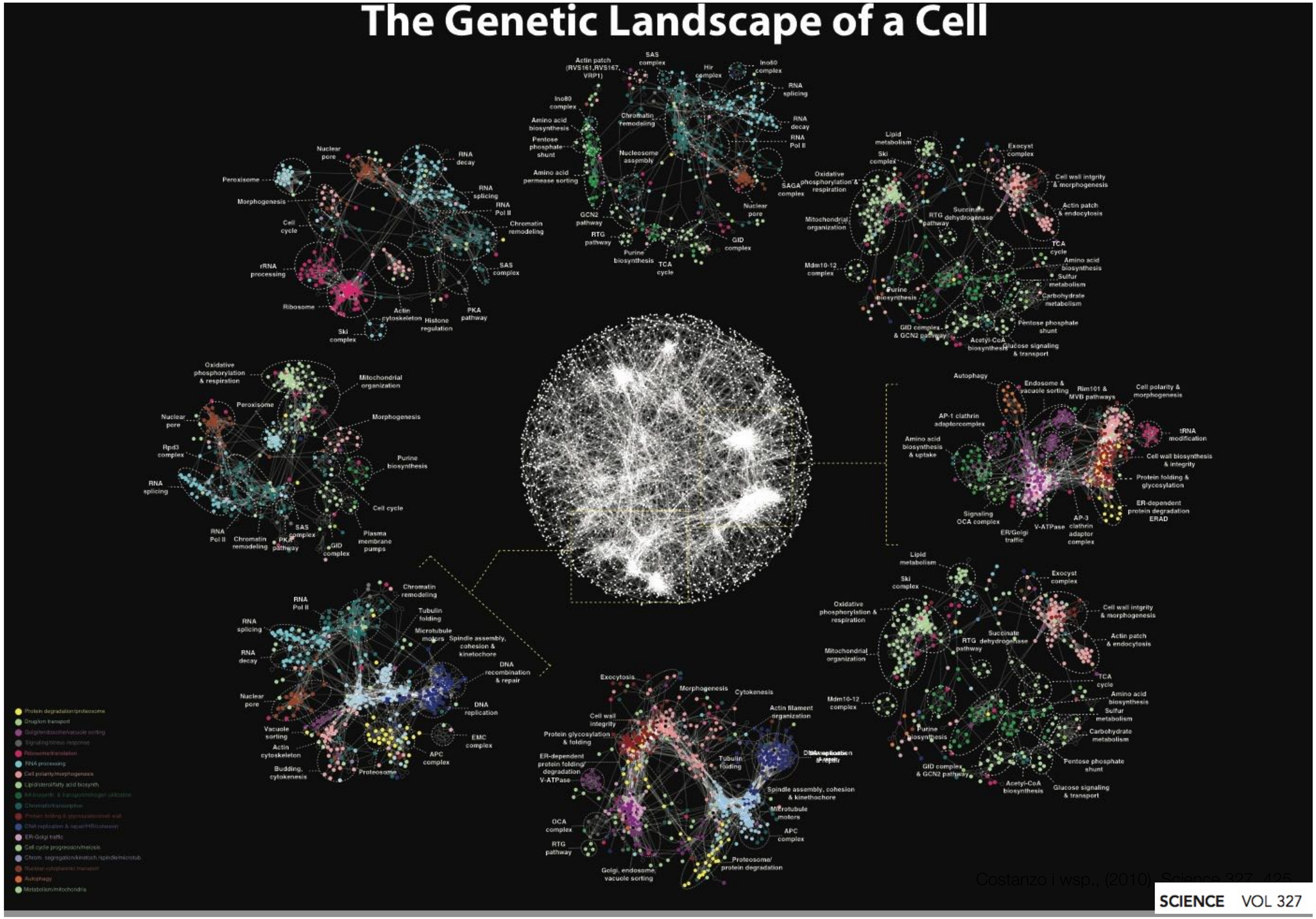


Error and attack tolerance of complex networks
Réka Albert, Hawoong Jeong and Albert-László Barabási
Nature **406**, 378-382(27 July 2000)
doi:10.1038/35019019

wg. Yechiam Yemini
Columbia University

Interakcje genetyczne a biologia systemów

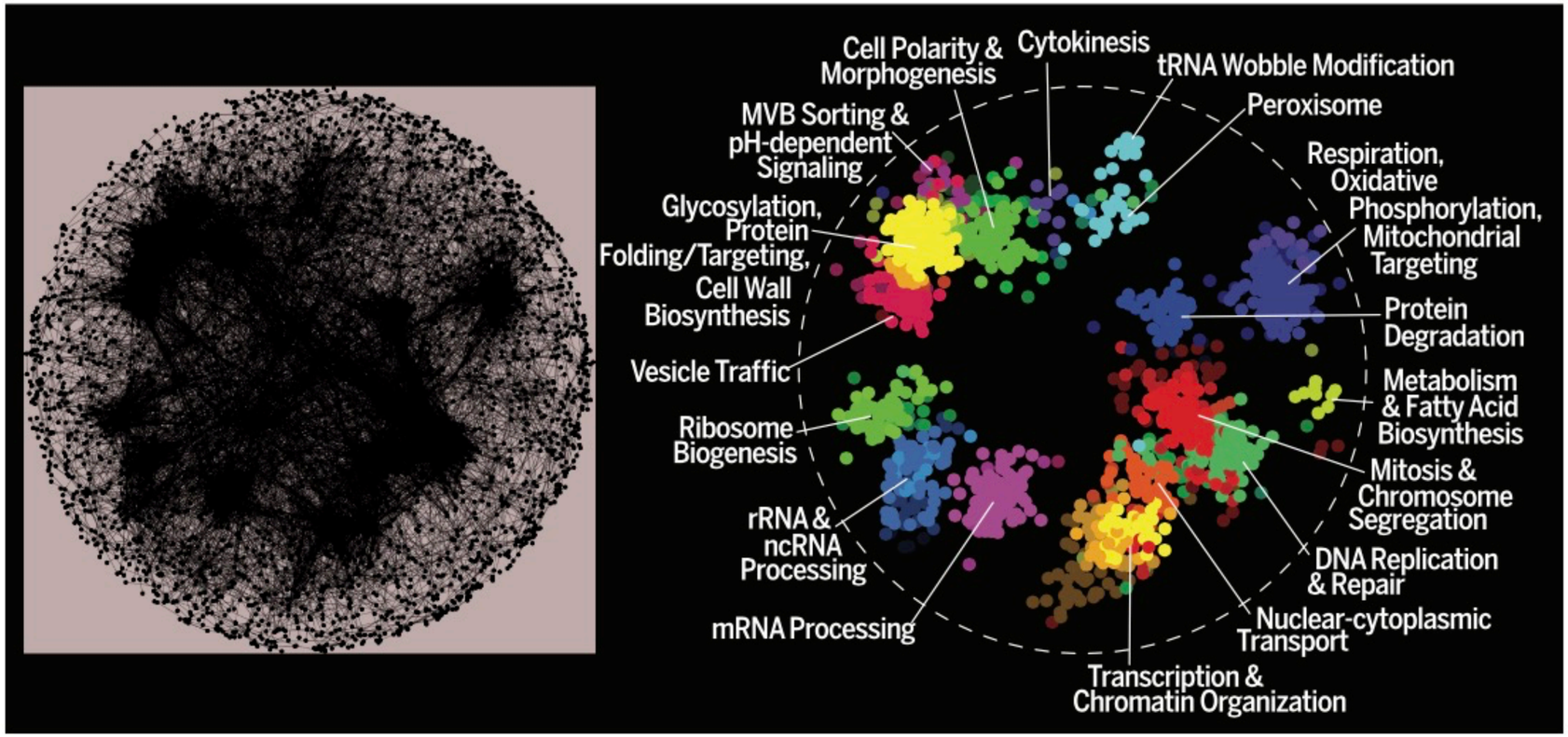
- Badanie sieci interakcji funkcjonalnych na skalę całego organizmu to podstawa biologii systemów
- Interakcje genetyczne są ważnym elementem takiej sieci
  - Może nawet bardziej, niż interakcje fizyczne
  - Interakcje fizyczne identyfikują kompleksy, interakcje genetyczne mogą pokazać, w jakim kontekście te kompleksy funkcjonują
- Wszystkie dotychczasowe wyniki są bardzo niekompletne, nawet u drożdży
- Nie ma biologii systemów bez genetyki



Costanzo i wsp., (2010) Science 327, 425

A global genetic interaction network maps a wiring diagram of cellular function

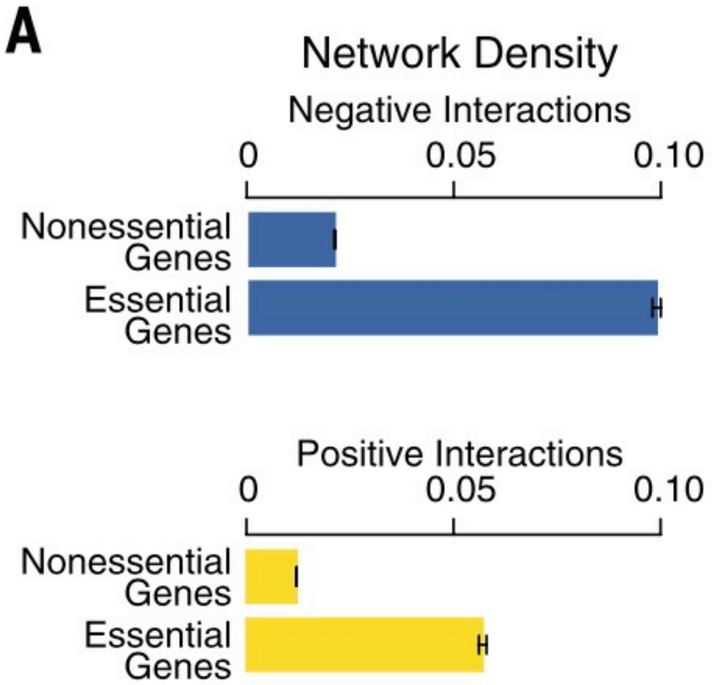
Michael Costanzo,* Benjamin VanderSluis,* Elizabeth N. Koch,* Anastasia Baryshnikova,* Carles Pons,* Guihong Tan,* Wen Wang, Matej Usaj, Julia Hanchard, Susan D. Lee, Vicent Pelechano, Erin B. Styles, Maximilian Billmann, Jolanda van Leeuwen, Nydia van Dyk, Zhen-Yuan Lin, Elena Kuzmin, Justin Nelson, Jeff S. Piotrowski, Tharan Srikumar, Sondra Bahr, Yiqun Chen, Raamesh Deshpande, Christoph F. Kurat, Sheena C. Li, Zhijian Li, Mojca Mattiazzi Usaj, Hiroki Okada, Natasha Pascoe, Bryan-Joseph San Luis, Sara Sharifpoor, Emira Shuteriqi, Scott W. Simpkins, Jamie Snider, Harsha Garadi Suresh, Yizhao Tan, Hongwei Zhu, Noel Malod-Dognin, Vuk Janjic, Natasa Przulj, Olga G. Troyanskaya, Igor Stagljar, Tian Xia, Yoshikazu Ohya, Anne-Claude Gingras, Brian Raught, Michael Boutros, Lars M. Steinmetz, Claire L. Moore, Adam P. Rosebrock, Amy A. Caudy, Chad L. Myers,† Brenda Andrews,† Charles Boone†



A global network of genetic interaction profile similarities. (**Left**) Genes with similar genetic interaction profiles are connected in a global network, such that genes exhibiting more similar profiles are located closer to each other, whereas genes with less similar profiles are positioned farther apart. (**Right**) Spatial analysis of functional enrichment was used to identify and color network regions enriched for similar Gene Ontology bioprocess terms.

Niezbywalność a interakcje

- Węzły odpowiadające genom niezbywalnym (*essential*) mają więcej interakcji (wyższy stopień)



Interakcje genetyczne a fizyczne

- Produkty w różnych kompleksach - częstsze interakcje negatywne
- Produkty w tym samym kompleksie - pozytywne częstsze dla genów nie będących niezbywalnymi

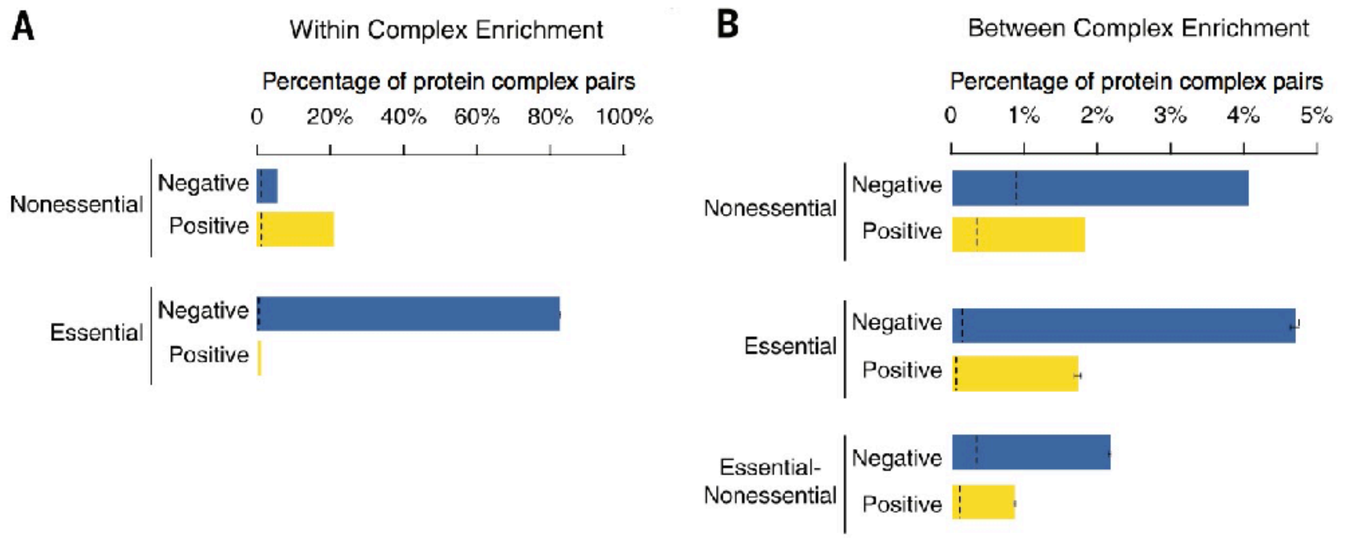
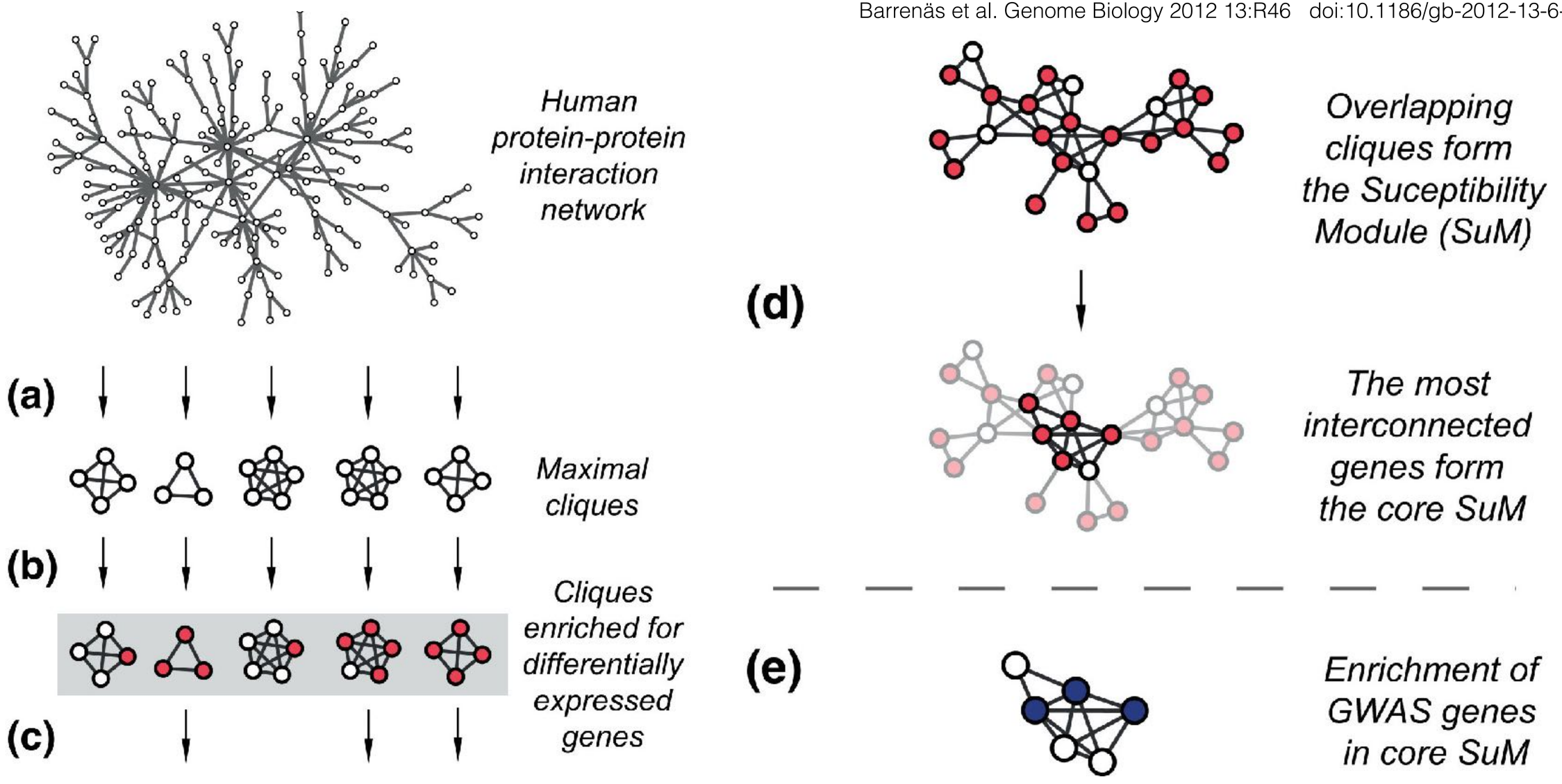


Fig. 8. Genetic interactions within and between protein complexes. (**A**) The percentage of nonessential and essential complexes whose members were enriched for genetic interactions with each other and biased (i.e., coherent) for either mostly negative (blue) or mostly positive (yellow) interactions. (**B**) The percentage of nonessential-nonessential, essential-essential, or essential-nonessential complex-complex pairs found to be enriched for genetic interactions and biased (i.e., coherent) for either mostly negative (blue) or mostly positive (yellow) interactions. Black dashed lines indicate the background rate of coherent genetic interaction enrichment within individual complexes or between pairs of protein complexes. Error bars indicate the standard deviation across multiple samplings of different alleles for the same essential genes, where each gene is represented by a single, randomly selected allele in each sampling.

Sieci a choroby wieloczynnikowe

Barrenäs et al. Genome Biology 2012 13:R46 doi:10.1186/gb-2012-13-6-r46



Przyszłość

- Systematyczne badania interakcji genetycznych są obecnie w fazie początkowej
- Zagadnienia na przyszłość:
  - Oddziaływania wyższego rzędu niż podwójne (3 i więcej genów)
  - Wpływ środowiska i tła genetycznego
  - Allele inne, niż delecja (null) i nadekspresja – mniej ekstremalne formy zmienności genetycznej
  - Systematyczne analizy w innych, bardziej złożonych organizmach