

Interakcje genetyczne

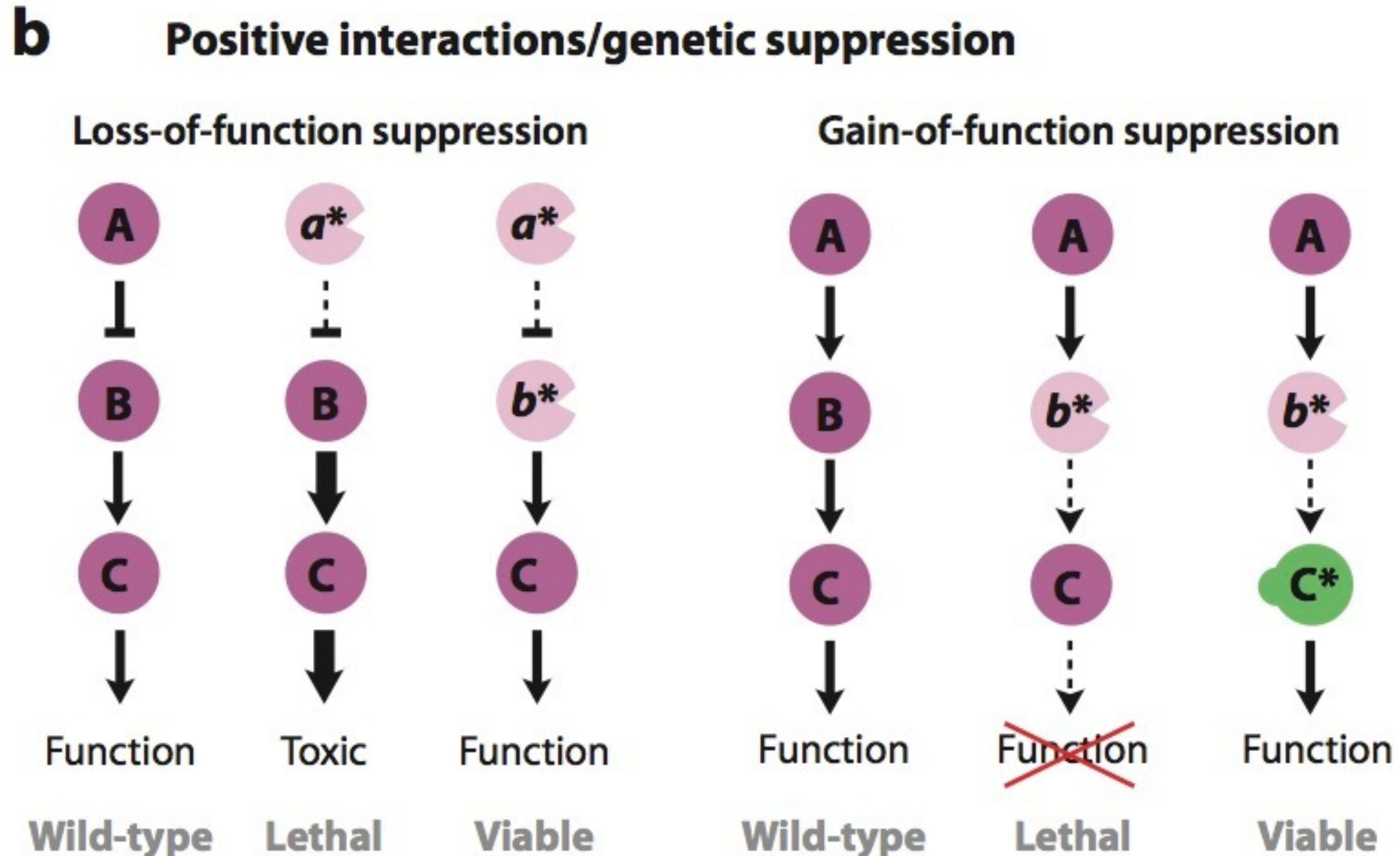
Ujęcie klasyczne i interaktomika.

Symbole stosowane w schematach szlaków regulacyjnych

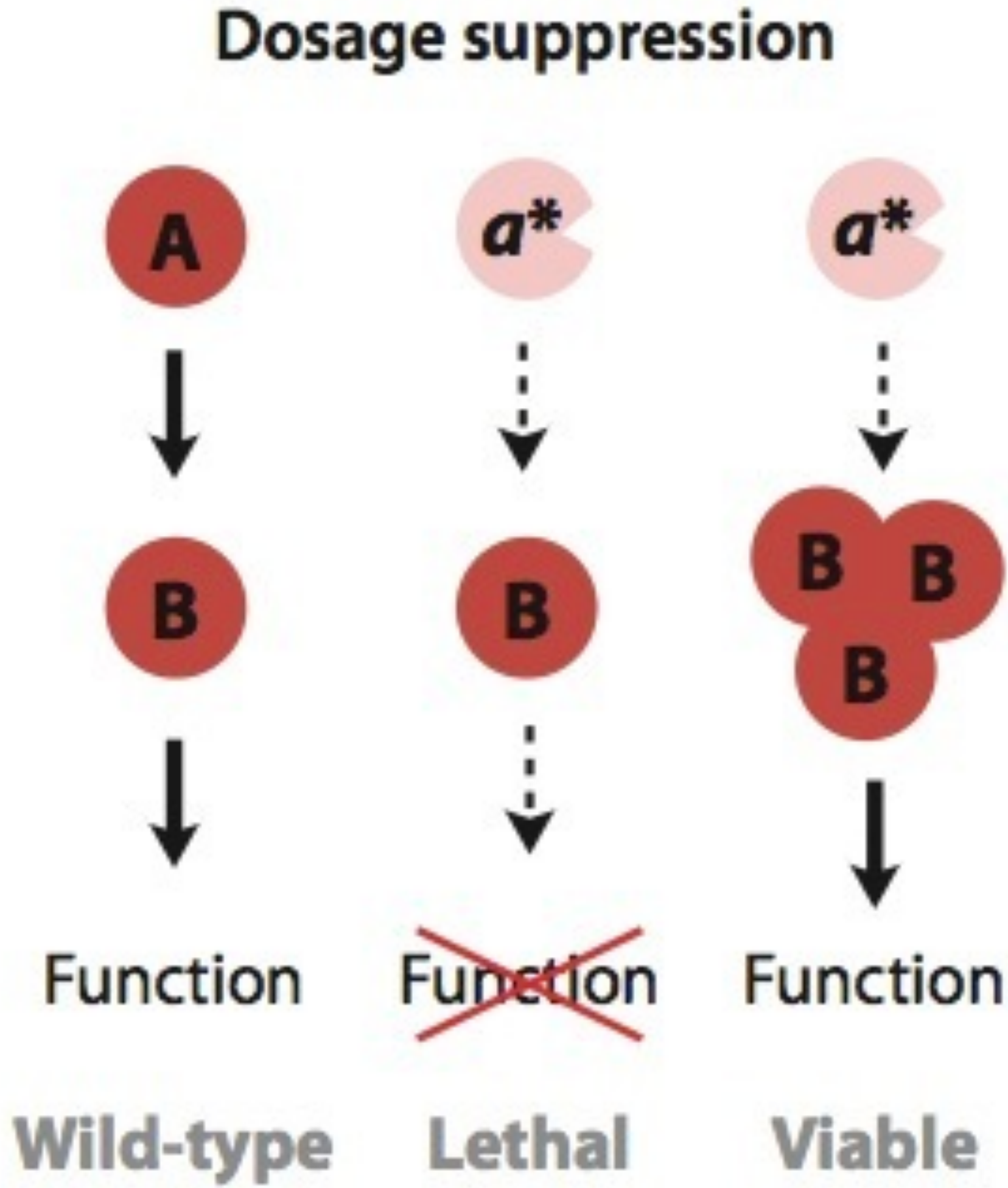
↓ Aktywacja, stymulacja

⊥ Hamowanie

Supresja przez zmianę szlaku



Supresja ilościowa

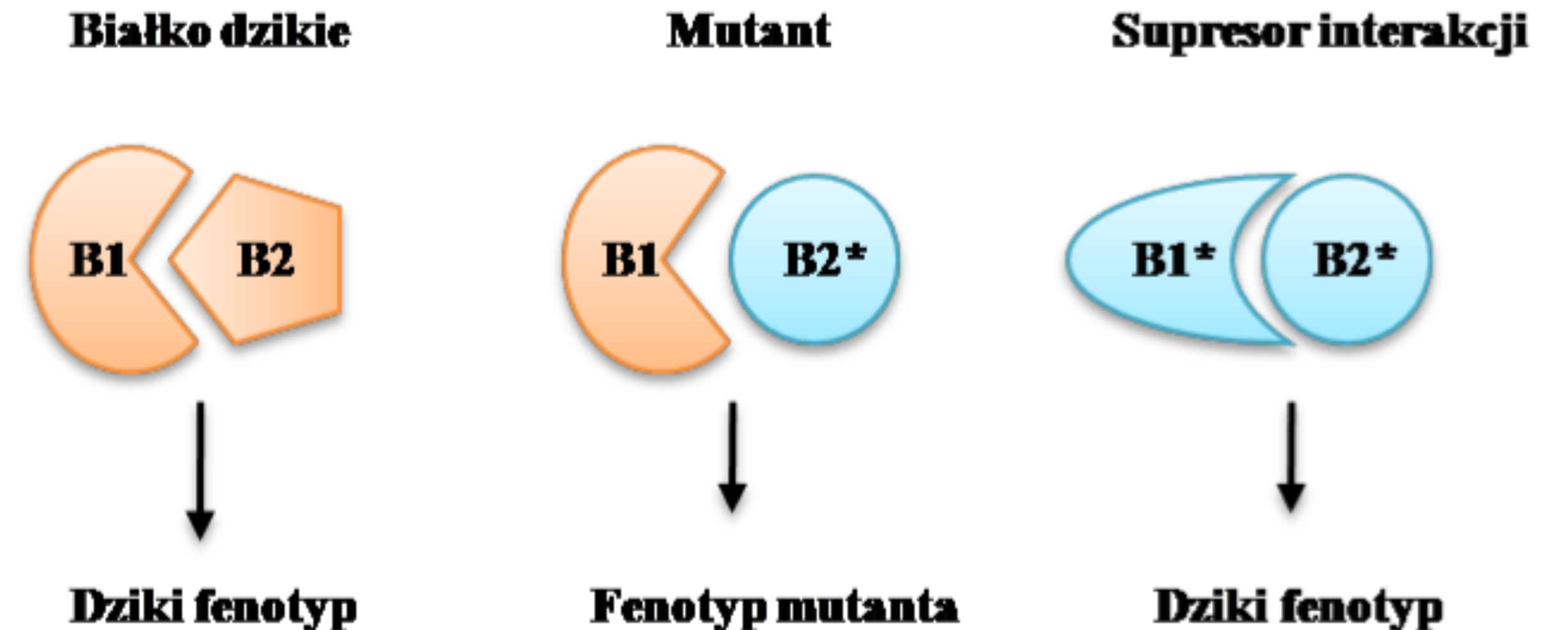


Supresja ilościowa

- 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 wielokopijnymi
- Często niezależna od konkretnego allelu

Supresja przez interakcję

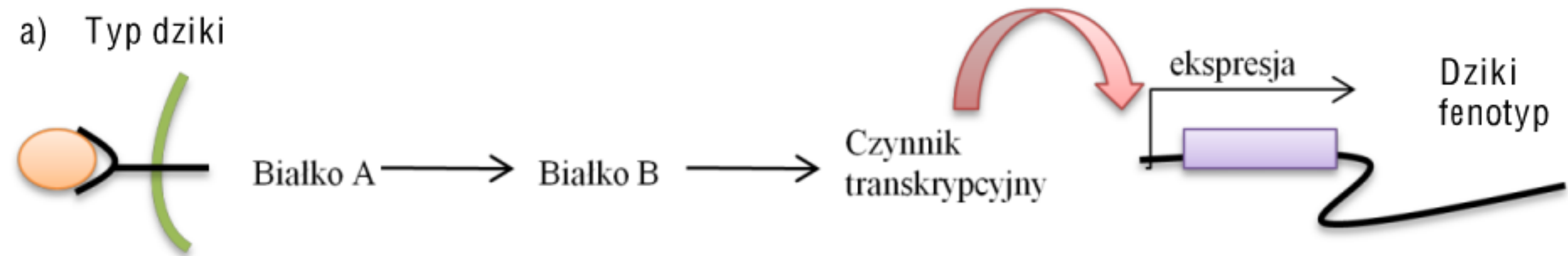
- Mechanizm “zamka i klucza” – mutacja supresorowa zmienia miejsca interakcji tak, by “pasowały” do zmutowanego białka
- Silnie specyficzna wobec allelu
- Rzadko spotykana
- Uogólniona zmiana (np. wzmocnienie) interakcji
- Mutacja supresorowa ogólnie wzmocnia siłę interakcji tak, że toleruje osłabienie wywołane mutacjami w drugim białku



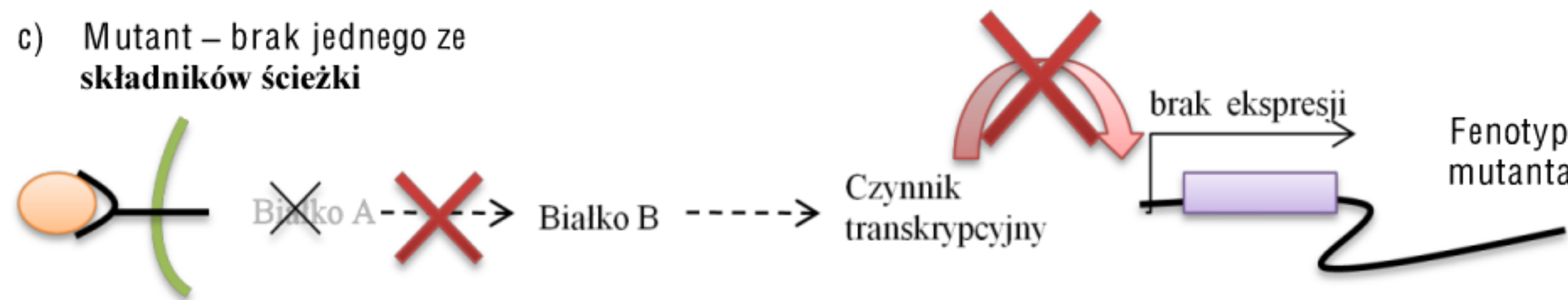
Supresja w obrębie tego samego szlaku

- 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).

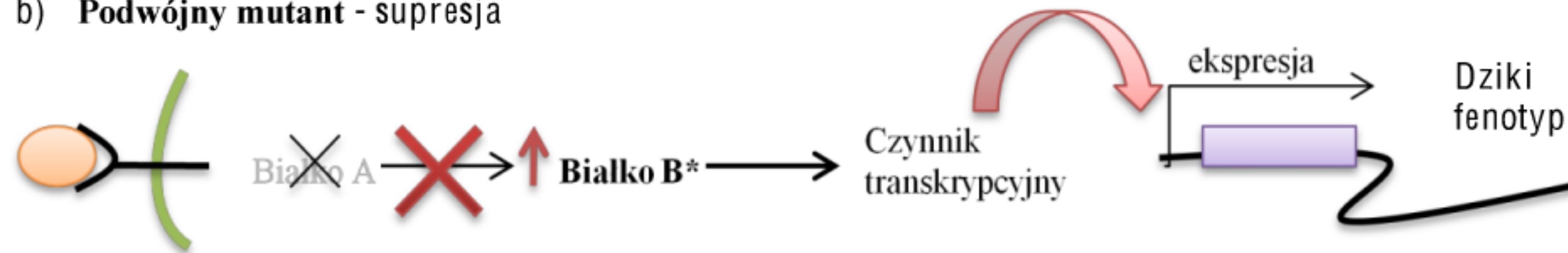
a) Typ dziki



c) Mutant – brak jednego ze składników ścieżki



b) Podwójny mutant - supresja



Mutant o podwyższonej aktywności B

Supresja w innym szlaku

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

Supresja w innym szlaku

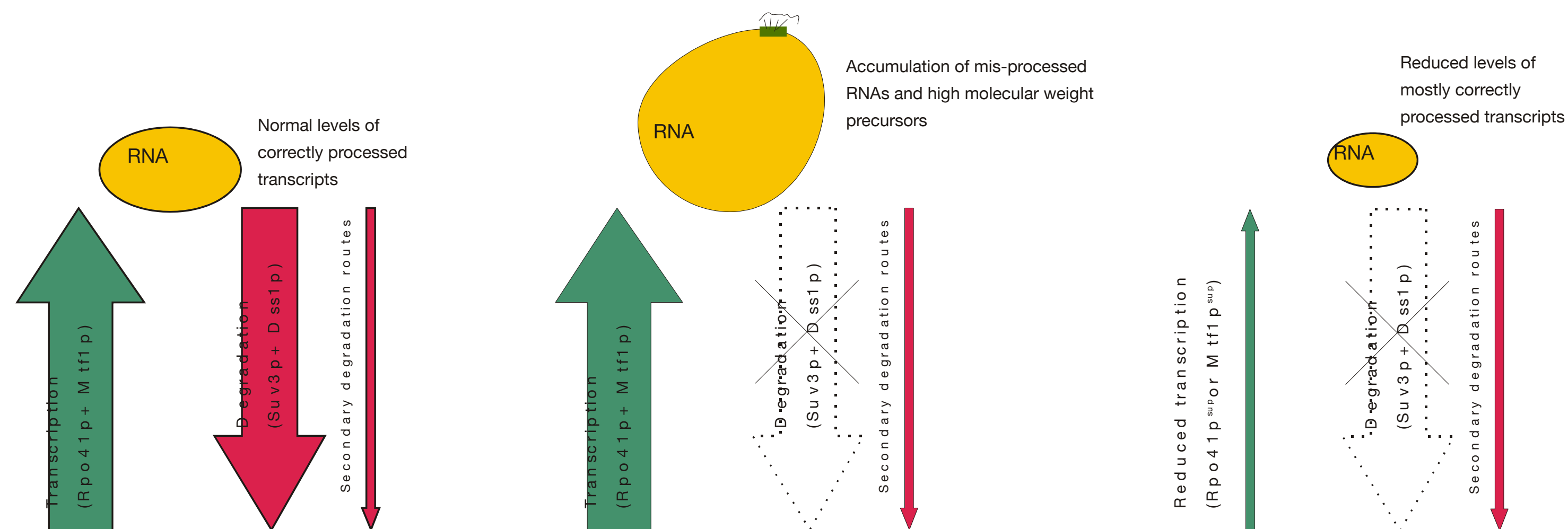
- Obejście (*bypass*)
 - Np. u *E. coli* mutanty permeazy maltozowej suprymowane przez mutacje genu permeazy laktozowej – zmutowane białko nabiera zdolności transportu maltozy
 - Mutacje odblokowujące (np. przez inaktywację represora) alternatywną drogę

Supresja w innym szlaku

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

Supresja w innym szlaku

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



Molecular Biology of the Cell
Vol. 17, 1184–1193, March 2006

Balance between Transcription and RNA Degradation Is Vital for *Saccharomyces cerevisiae* Mitochondria: Reduced Transcription Rescues the Phenotype of Deficient RNA Degradation

Agata T. Rogowska,^{**} Olga Puchta,^{*} Anna M. Czarnecka,^{*} Aneta Kaniak,[†] Piotr P. Stepień,^{**} and Paweł Golik^{**}

Interakcje łagodzące

- **Supresja**

- Fenotyp mutacji (a) znoszony przez mutację w innym genie (b)
 - Podwójny mutant ab ma fenotyp dziki lub bliski dzikiemu (nie cięższy, niż sam b)

- **Epistaza**

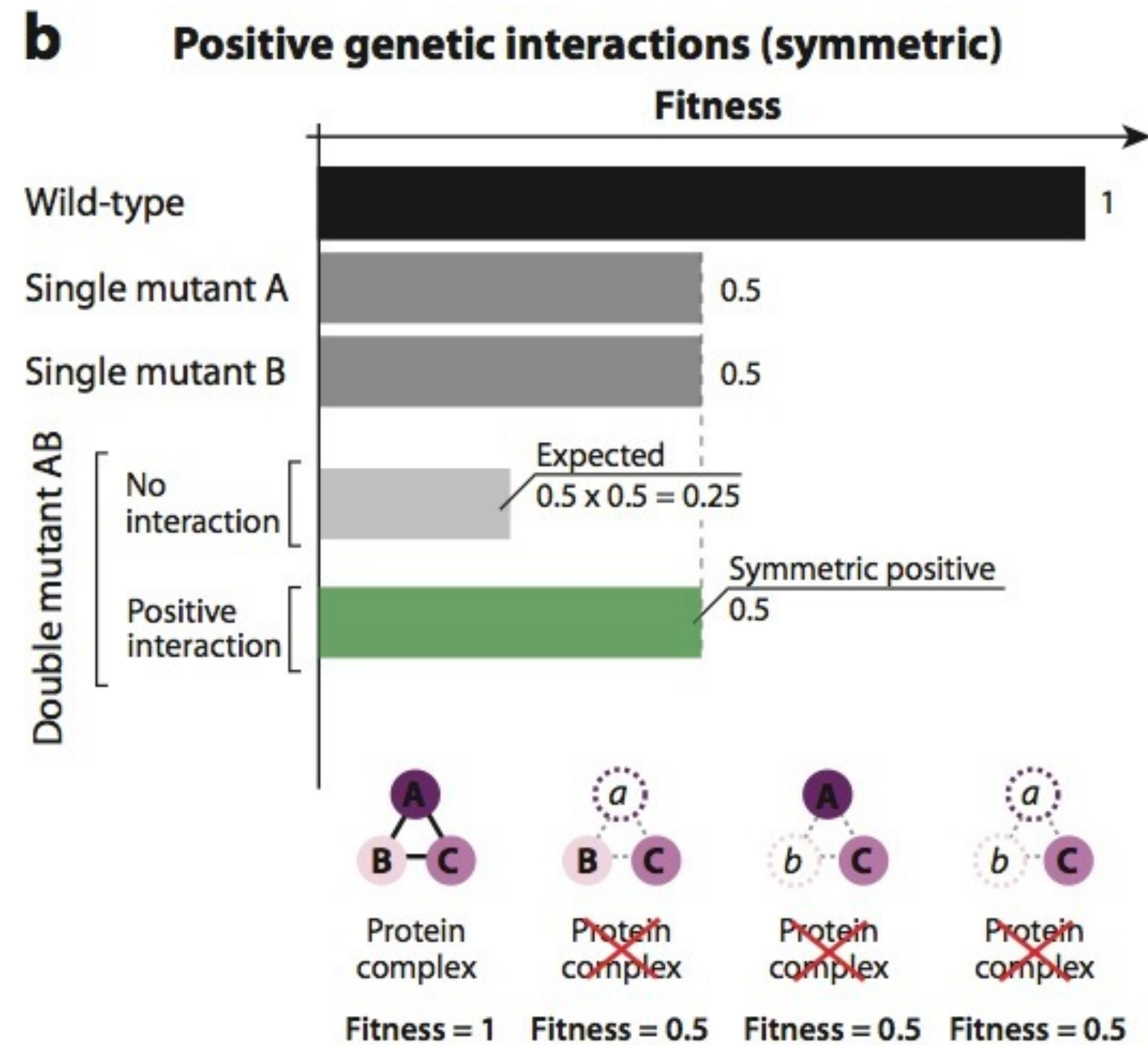
- Fenotyp mutacji (a) maskowany przez mutację w innym genie (b)
 - Podwójny mutant ab ma fenotyp taki sam, jak mutacja b (**epistatyczna**) – obecność mutacji b narzuca fenotyp niezależnie od allelu genu a (**hipostatycznego**) i maskuje allele genu a
 - epistaza symetryczna – pojedyncze mutanty a i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

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 symetryczna

Podwójny mutant nieodróżnialny od pojedynczych



Epistaza

- *D. melanogaster* – mutanty barwy oka
- Podwójny mutant *white, vermilion* ma oczy białe, nieodróżnialne od pojedynczego mutantu *white*
- Mutacje *white* epistatyczne względem *vermillion* (i wielu innych mutacji barwy oka)

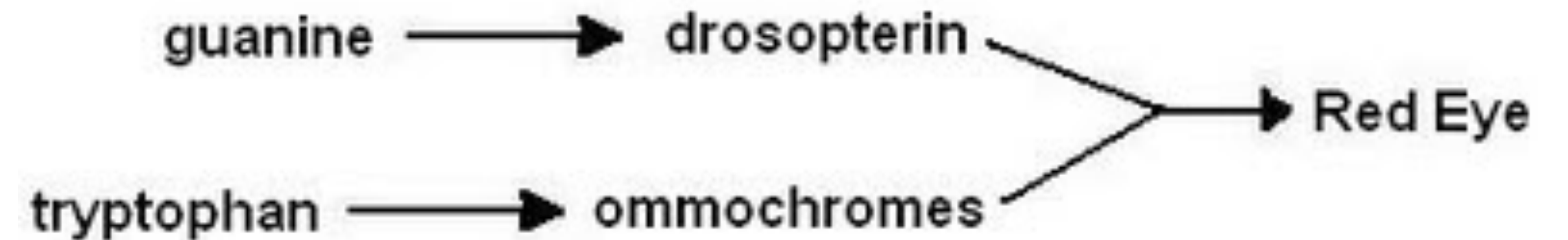
wt white

vermillion



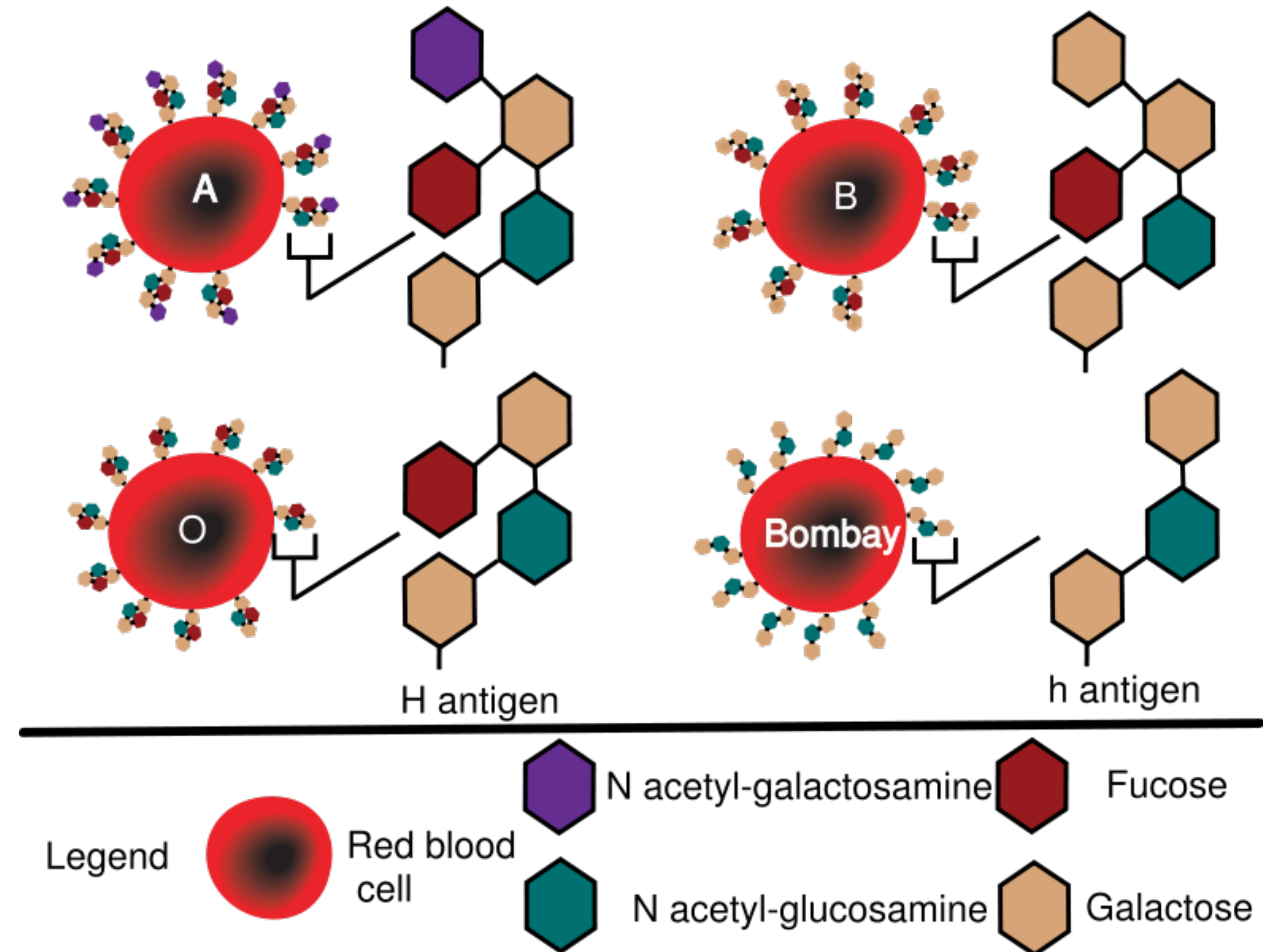
Epistaza

- 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



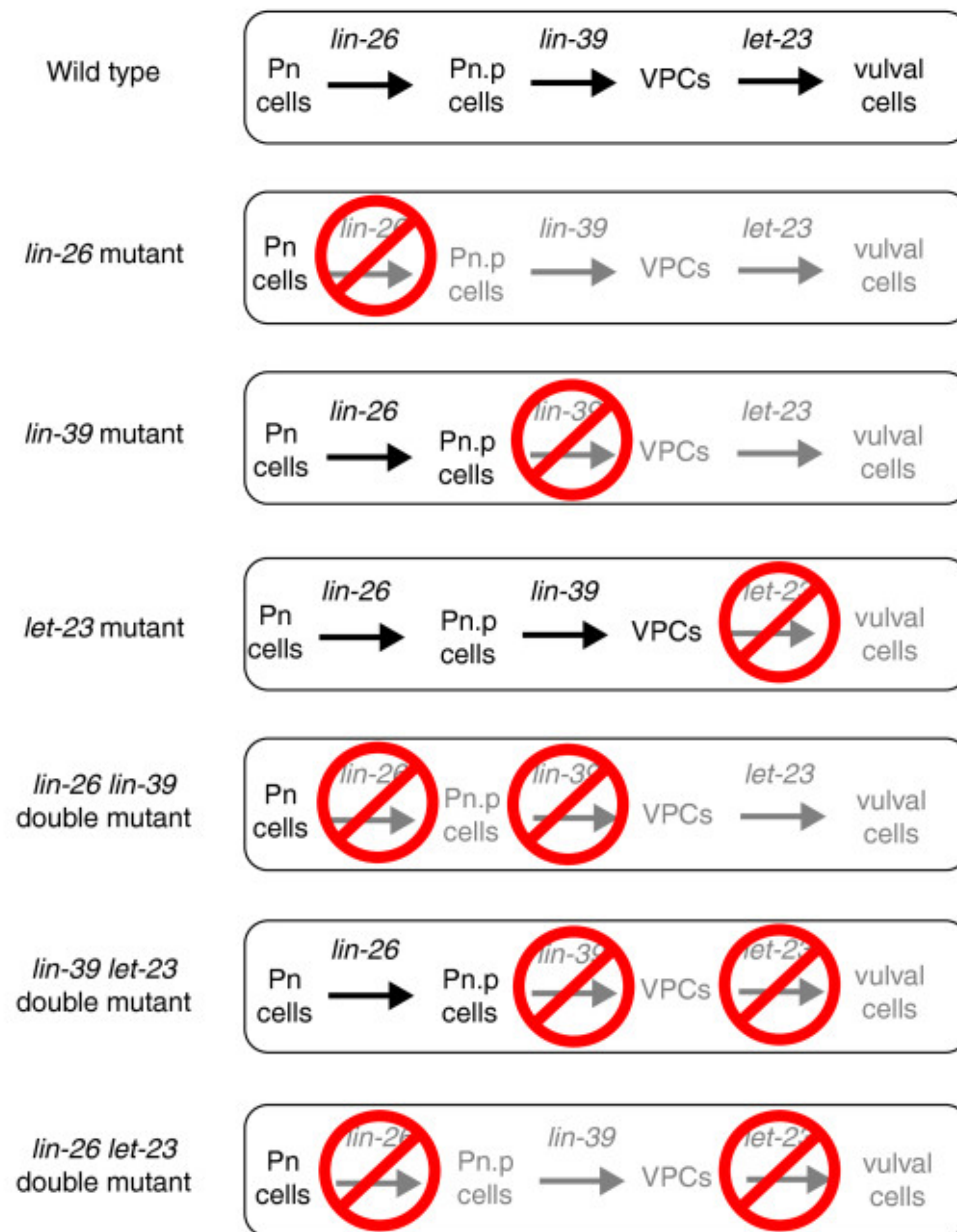
Grupa krwi Bombay

- Rzadki recesywny allel h genu innego niż I
- Homozygoty hh nie wytwarzają antygeny 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)



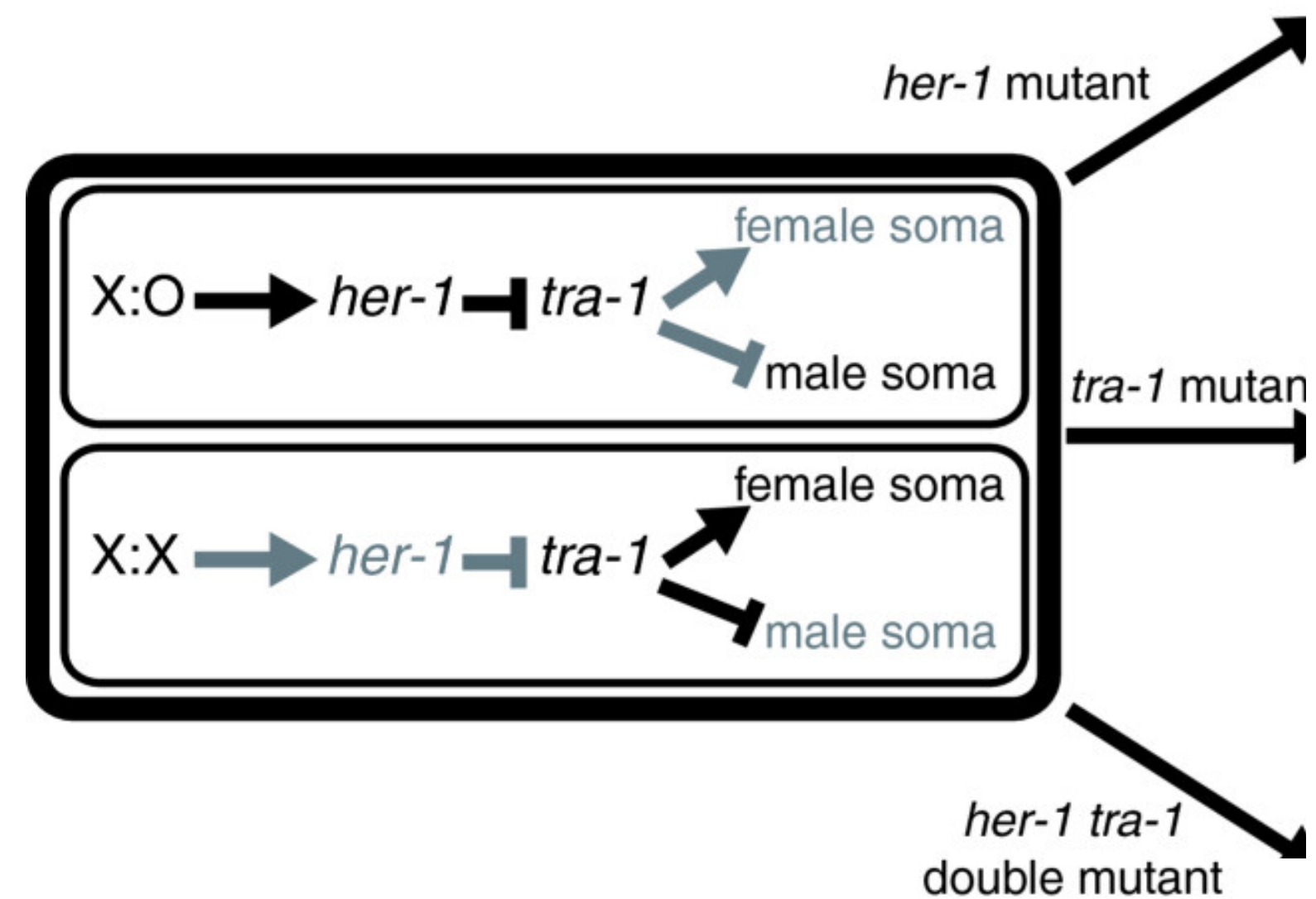
Epistaza

- Przy regulacji pozytywnej (i np. szlakach biosyntezy) mutacja elementu leżącego wyżej w szlaku będzie epistatyczna względem mutacji poniżej
- Fenotyp podwójnego mutantanta taki sam, jak mutantanta w genie, którego produkt działa na wcześniejszym etapie szlaku
- Wykorzystywane do mapowania kolejności etapów w szlakach regulatorowych, rozwojowych i metabolicznych



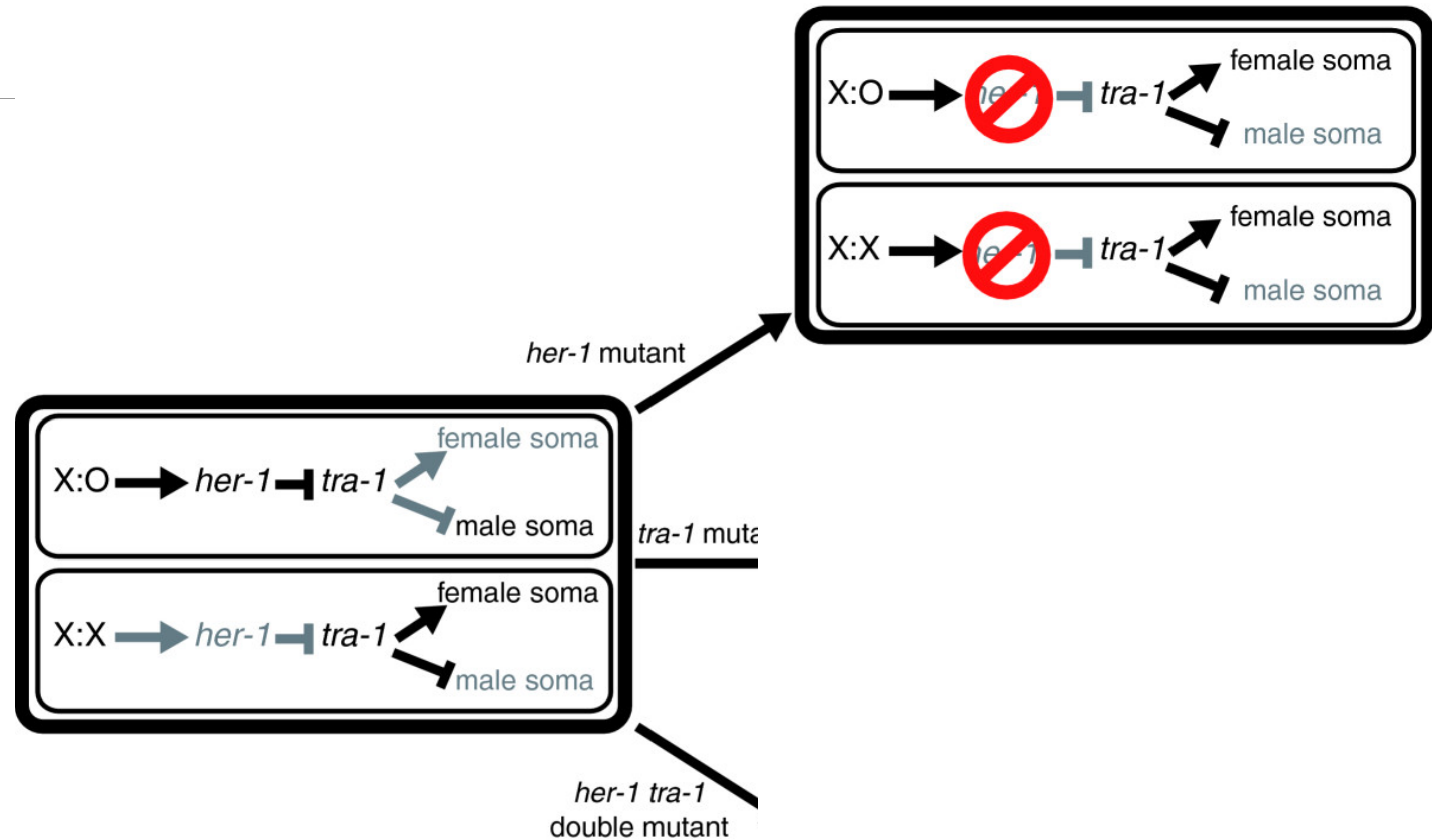
Epistaza i szlaki regulatorowe

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



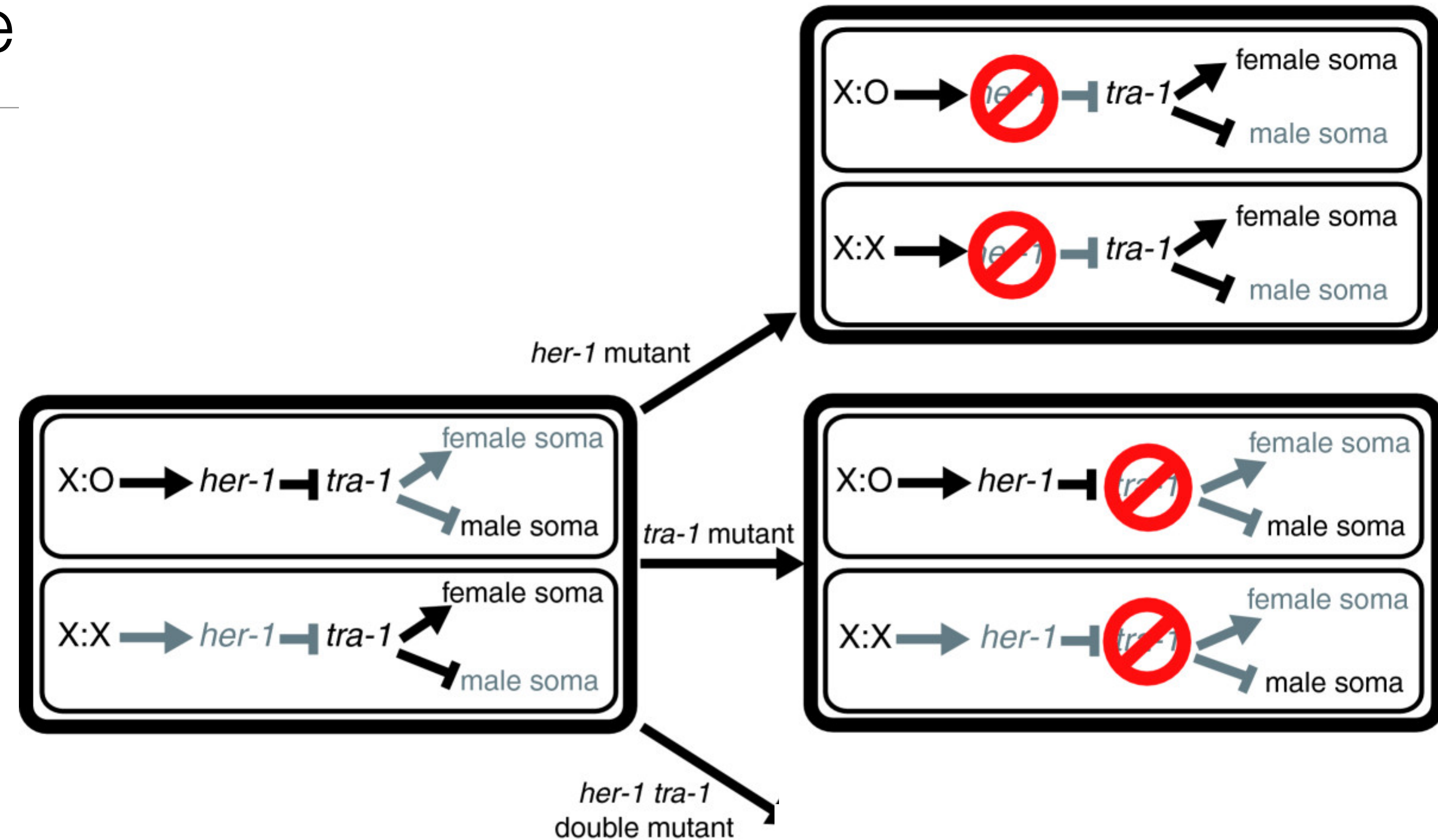
Epistaza i szlaki regulatorowe

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



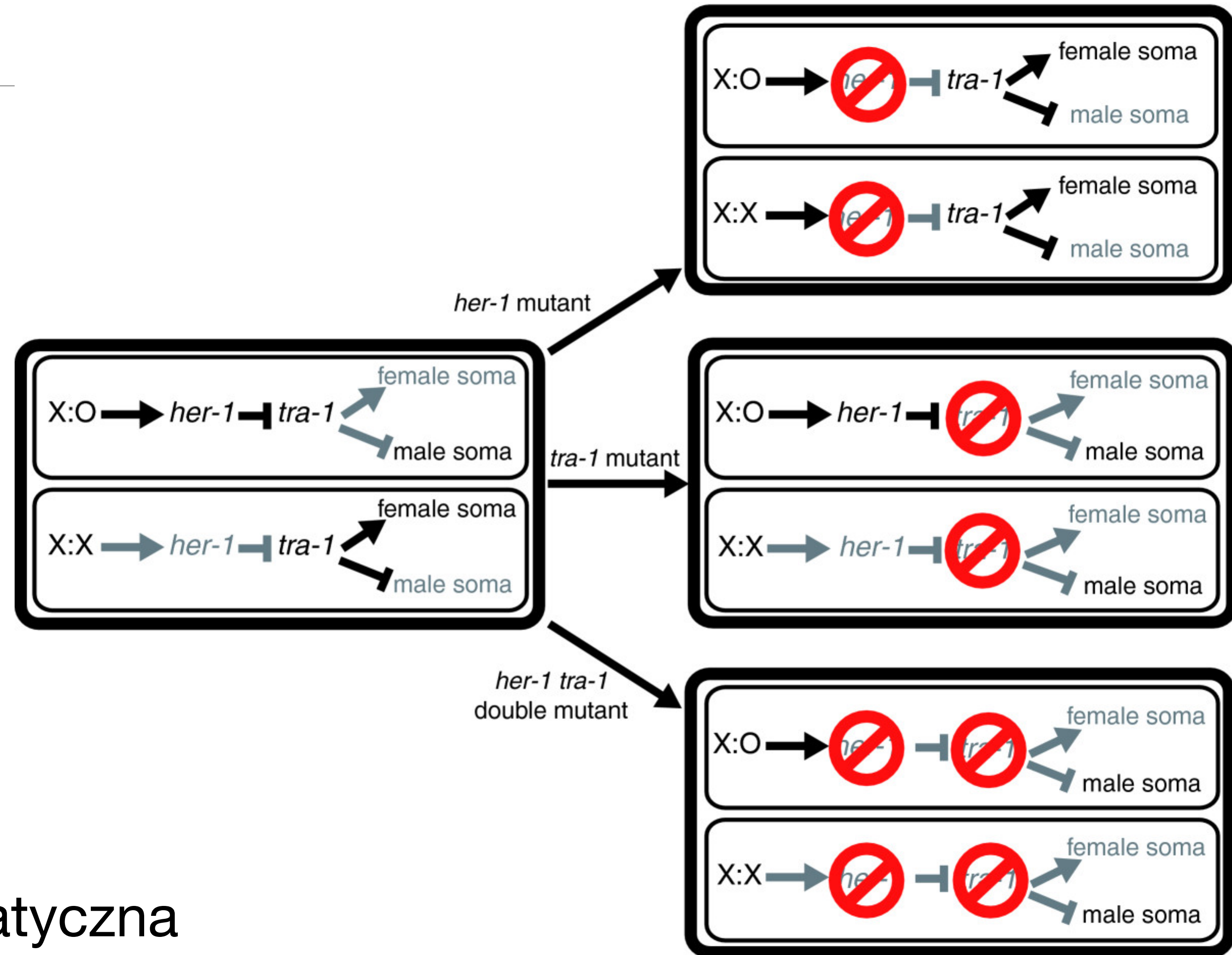
Epistaza i szlaki regulatorowe

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



Epistaza i szlaki regulacji

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



mutacja *tra* epistatyczna

Interakcje syntetyczne

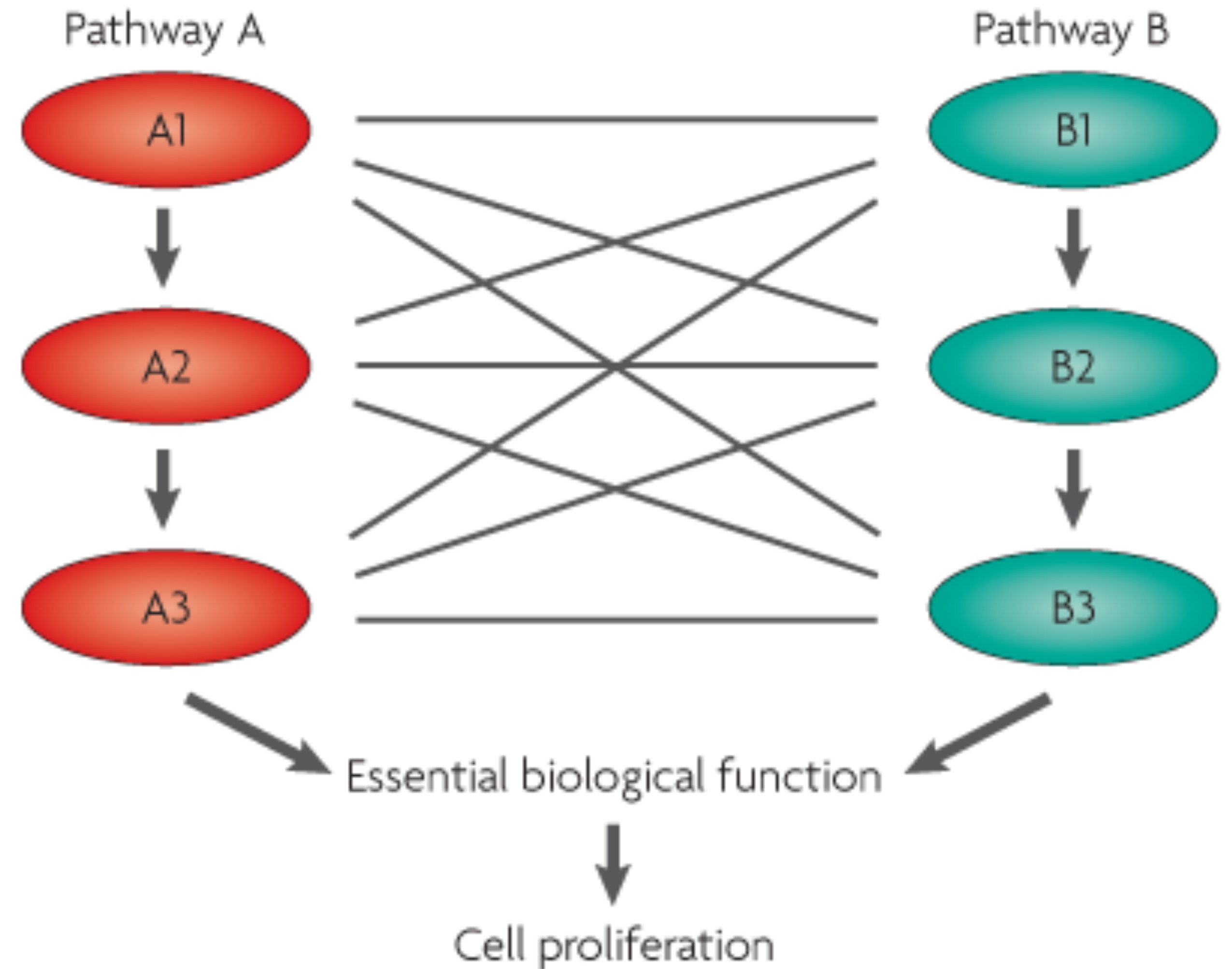
- **Syntetyczne wzmocnienie**
 - Fenotyp podwójnego mutantu silniejszy (lub nieoczekiwany) niż suma fenotypów pojedynczych mutacji
- **Syntetyczna letalność**
 - Pojedyncze mutacje nie są letalne, podwójny mutant letalny

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
 - Inny wariant: SDL (*synthetic dosage lethality*)
 - nadekspresja jednego genu ujawnia silny fenotyp dopiero w kontekście mutacji innego genu
- Łatwiejsza do badania w organizmach mających wegetatywną fazę haploidalną (np. drożdże)

Syntetyczna letalność

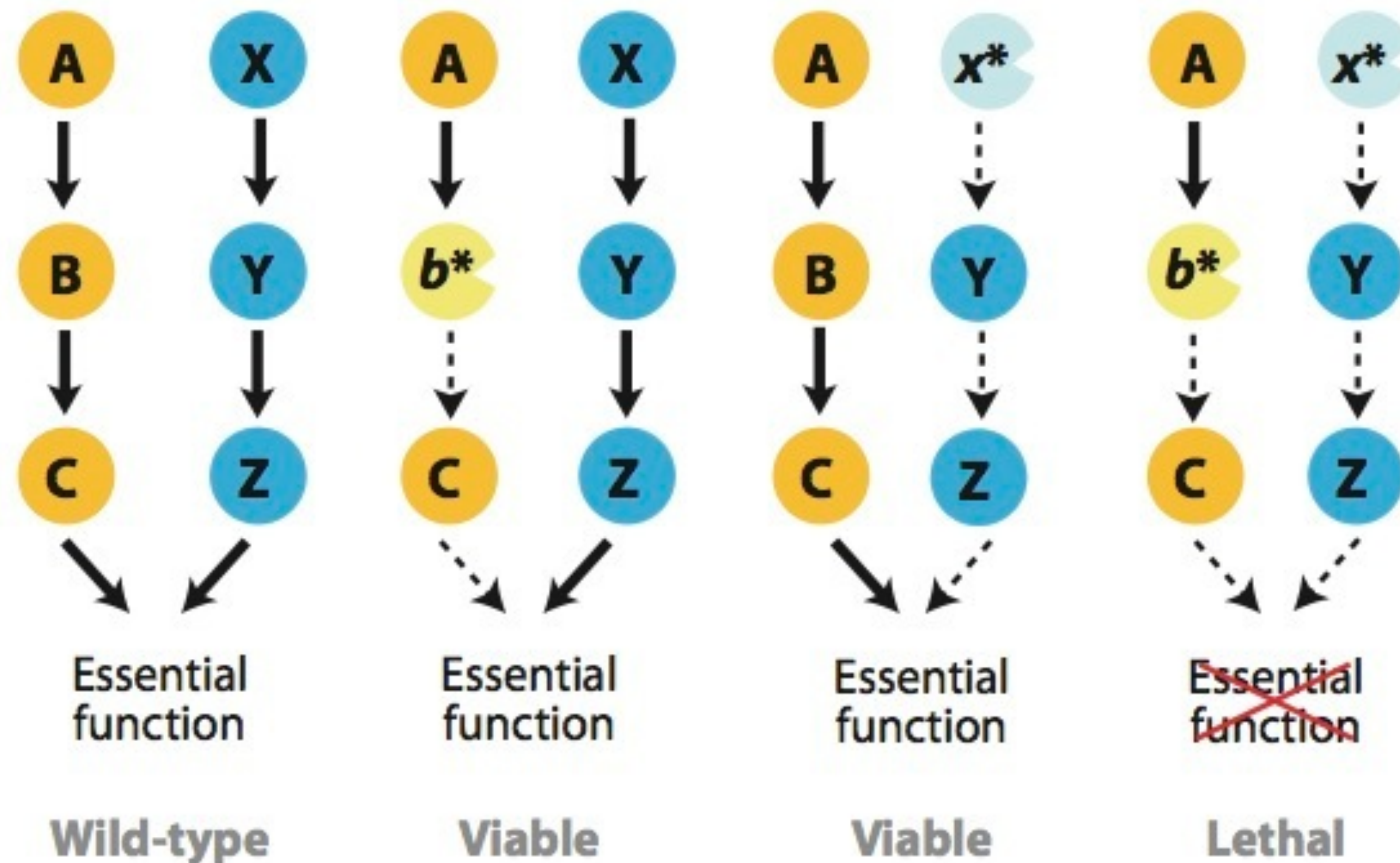
- W przypadku alleli null dotyczy szlaków działających równoległe
- Szlaki A i B wykazują redundancję, ale defekt obydwu jest letalny
- Interakcje syntetyczne wskazują na istnienie redundancji w systemach biologicznych
- Podobnie dla fenotypów nieletalnych (syntetyczne wzmocnienie)



Interakcje syntetyczne pomiędzy szlakami

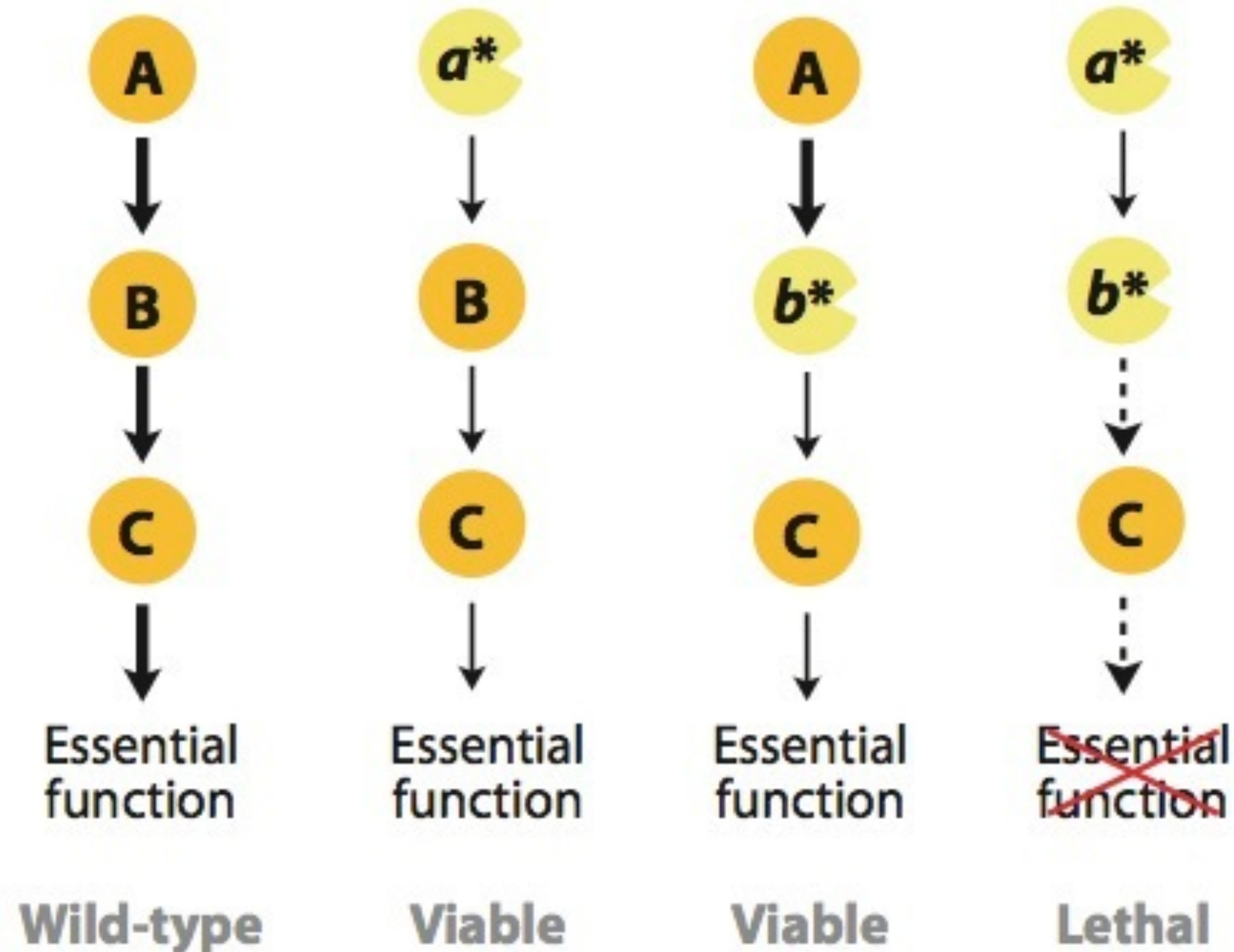
a Negative interactions

Between pathway genetic interactions (nonessential pathways)



Interakcja syntetyczna w tym samym szlaku

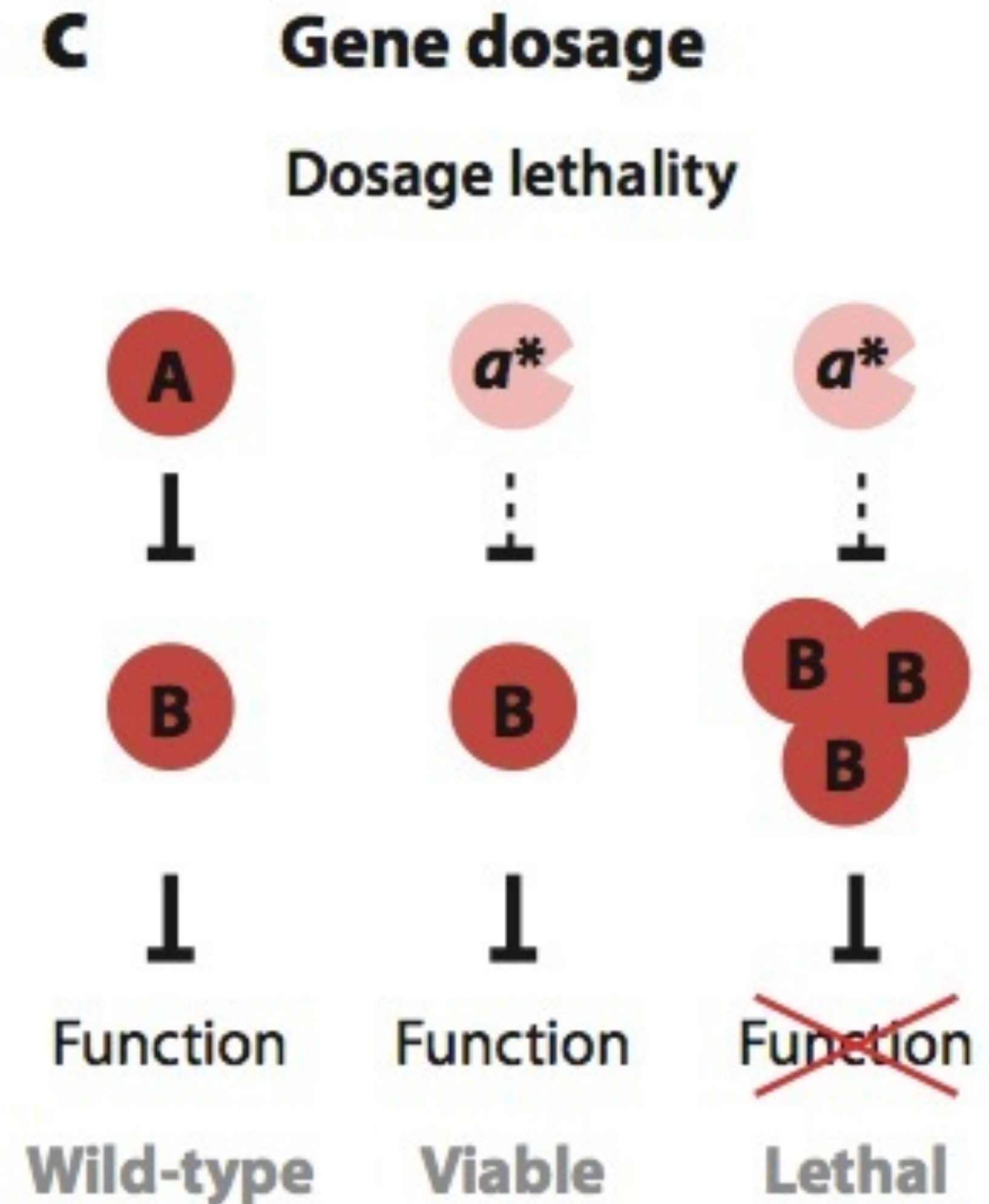
Within pathway genetic interactions (essential pathways)



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

Syntetyczna letalność dawki (nadekspresja)

- Syntetyczna letalność dawki (nadekspresji) – *synthetic dosage lethality*
- Nadekspresja genu B letalna tylko w kontekście mutacji genu A



Poszukiwanie interakcji

- Interakcje dające się selekcjonować pozytywnie (np. supresje) można wykrywać stosując bezpośrednią selekcję (np. po mutagenezie albo po transformacji plazmidem wysokokopiowym)
- Przy selekcji negatywnej - przeszukiwanie (*screening*)
- W niektórych organizmach modelowych (np. drożdże) możliwa jest systematyczna analiza interakcji dla **wszystkich** par genów
 - cel: stworzenie i opis kompletnej mapy interakcji - **interaktom**
- Poszukiwanie interakcji syntetycznych: np. metody SGA i dSLAM

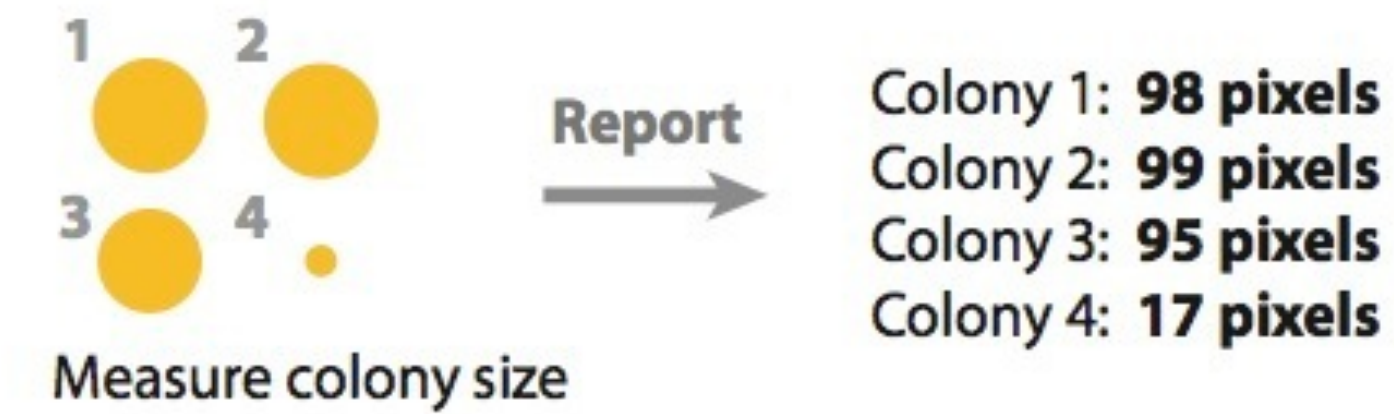
Mapowanie interakcji

Step 1: Generate double mutant

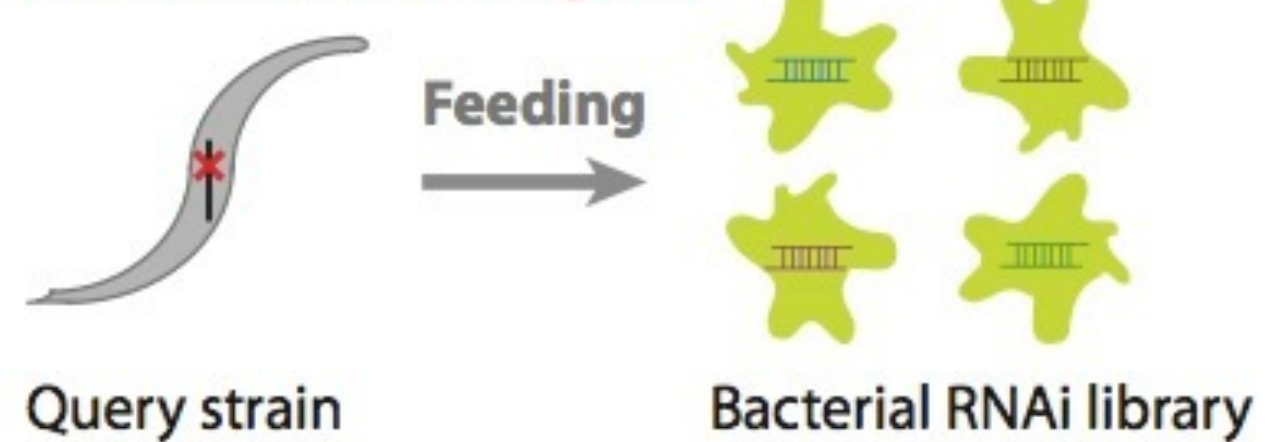
Saccharomyces cerevisiae



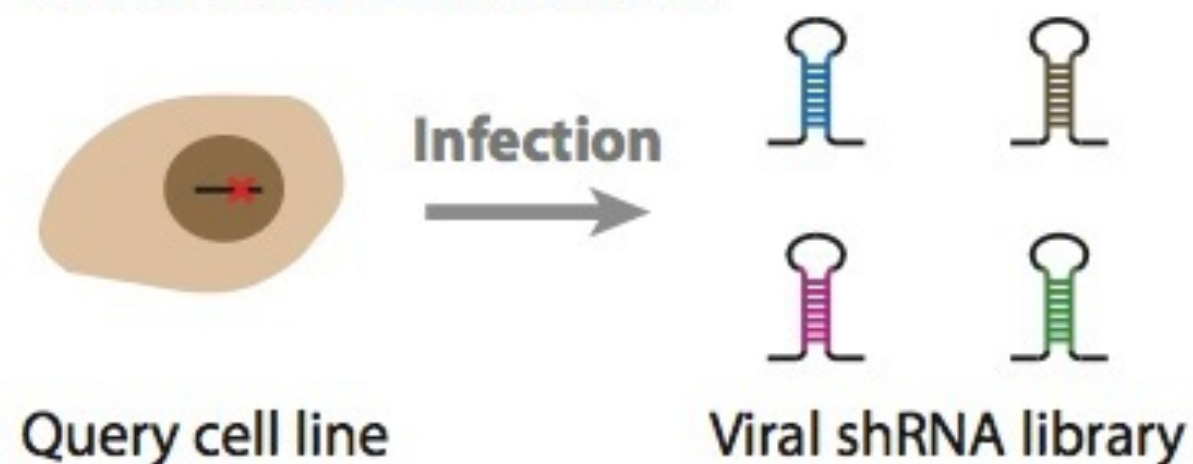
Step 2: Score phenotype and identify interactions



Caenorhabditis elegans

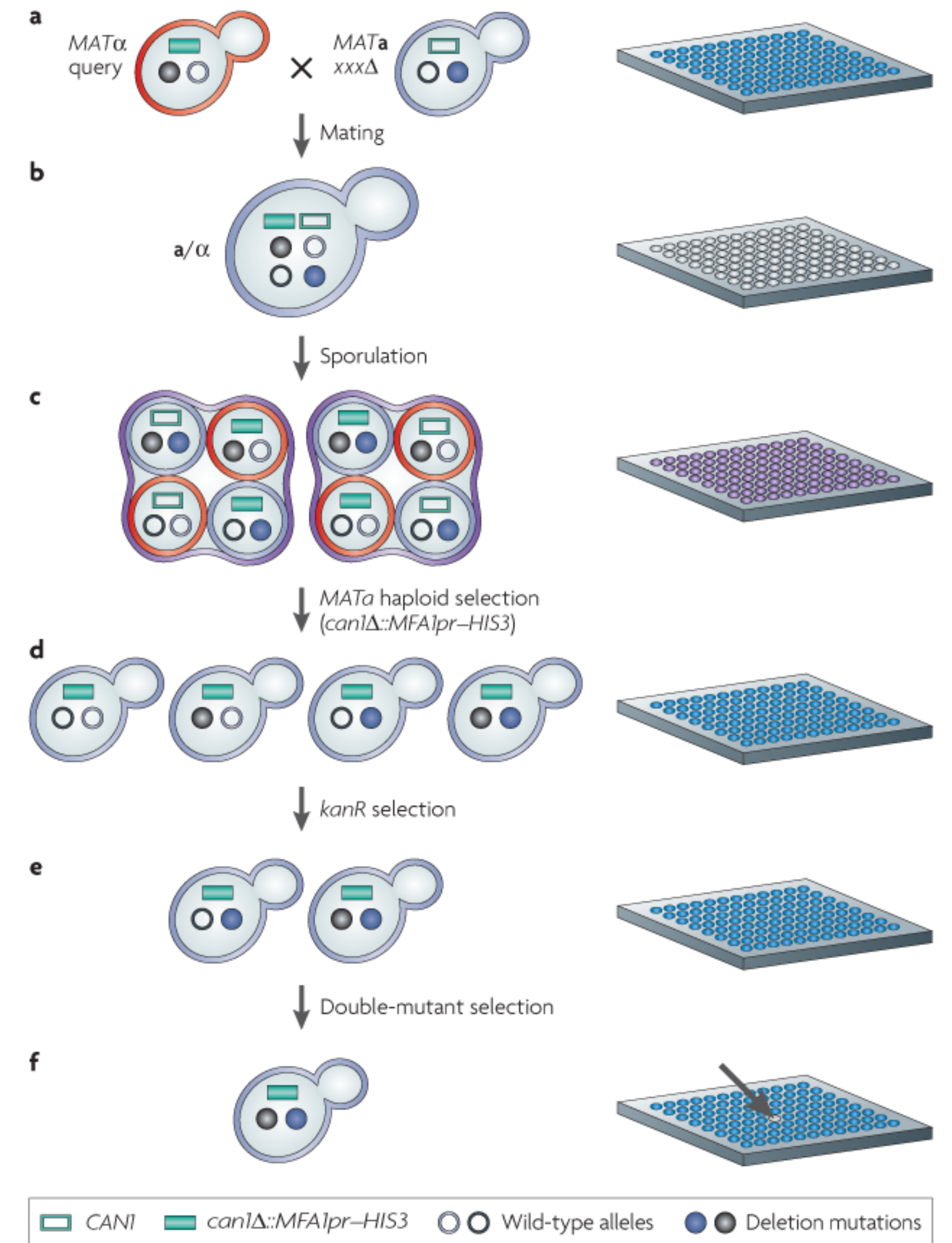
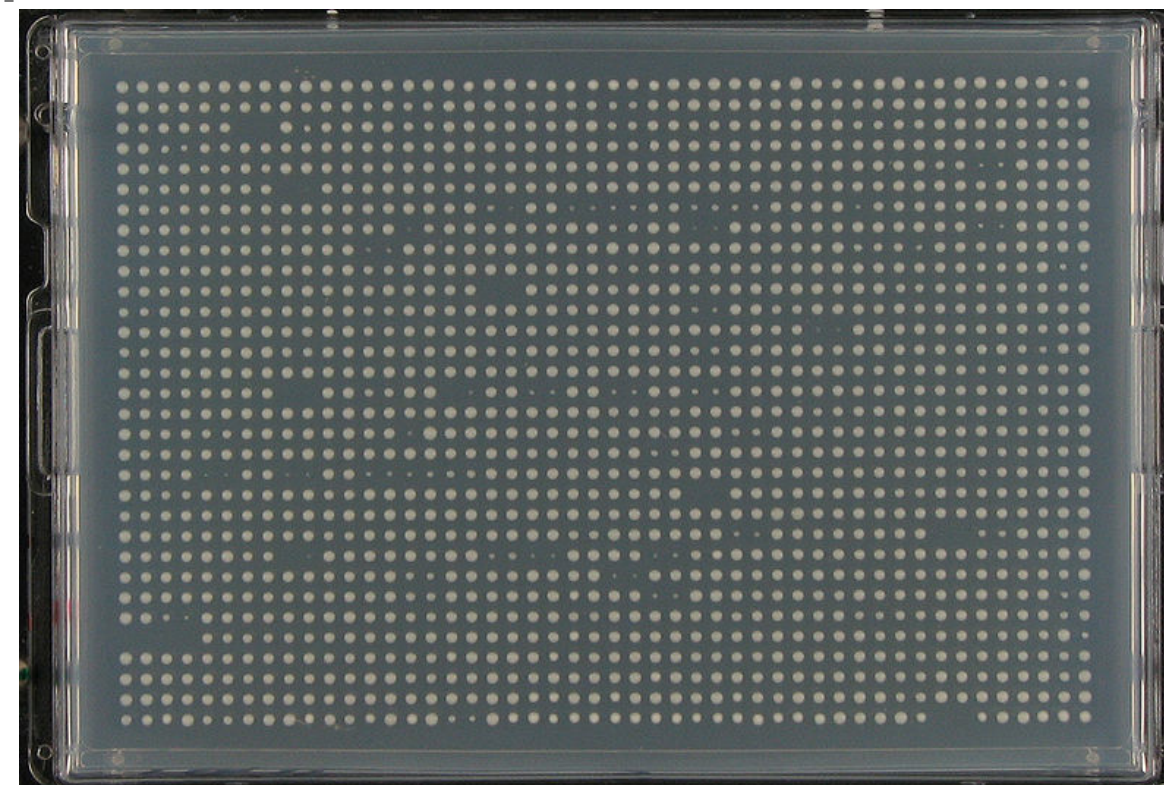
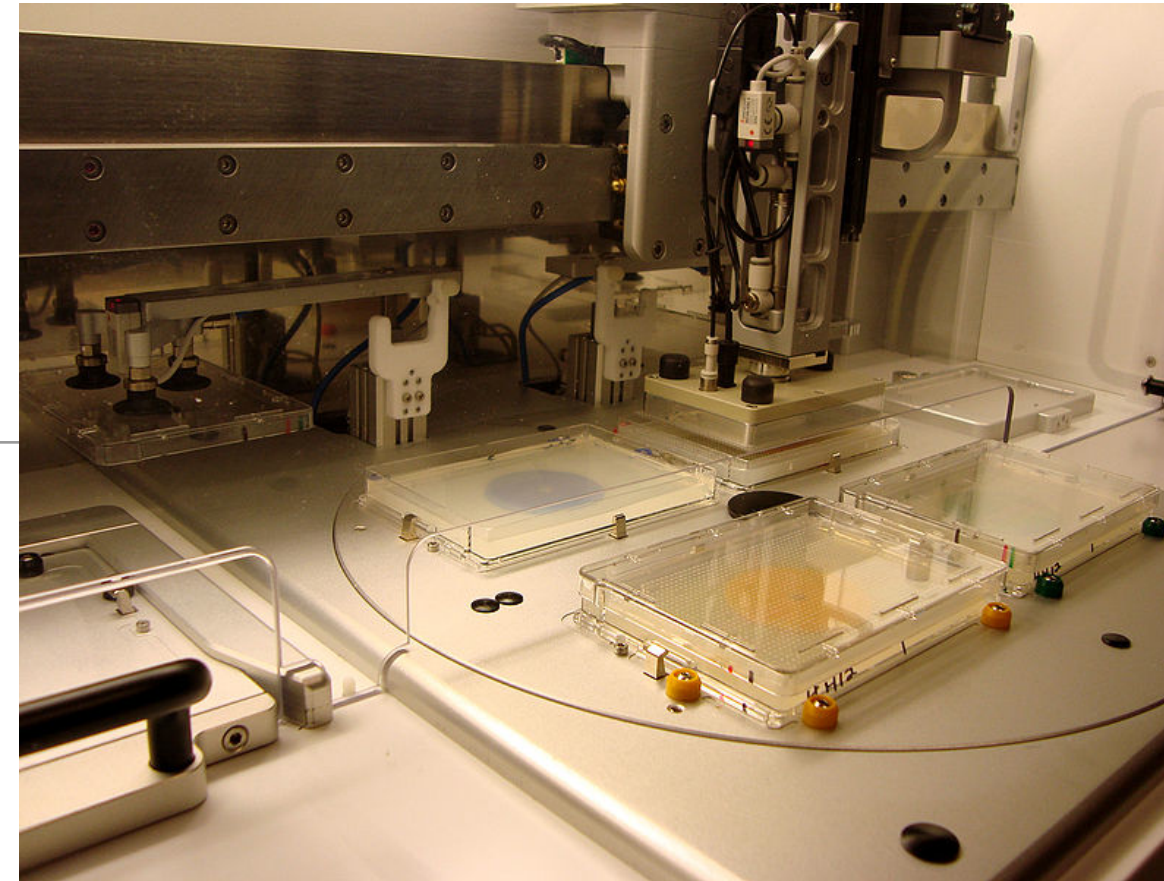


Mammalian cell culture



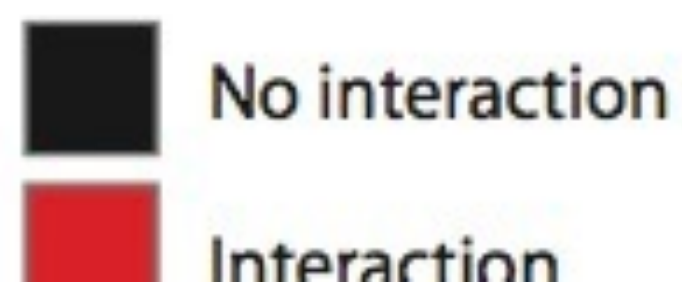
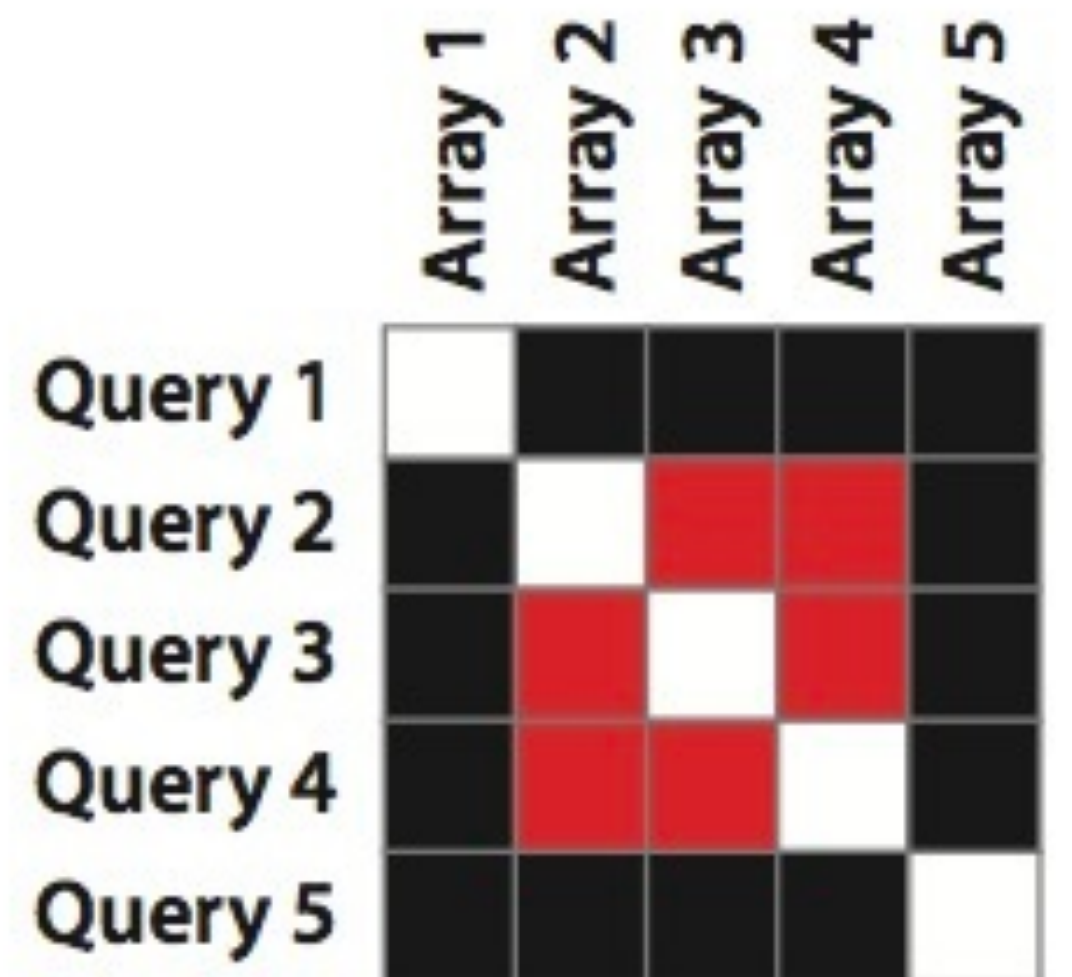
SGA w drożdżach *S. cerevisiae*

- *Synthetic Gene Array*
- Kolekcja mutantów delecyjnych
- Każdy mutant z kolekcji krzyżowany ze wszystkimi pozostałymi
- Sporulacja (mejoza)
- Selekcja haploidów
- Selekcja pojedynczych i podwójnych mutantów
- Test wzrostowy

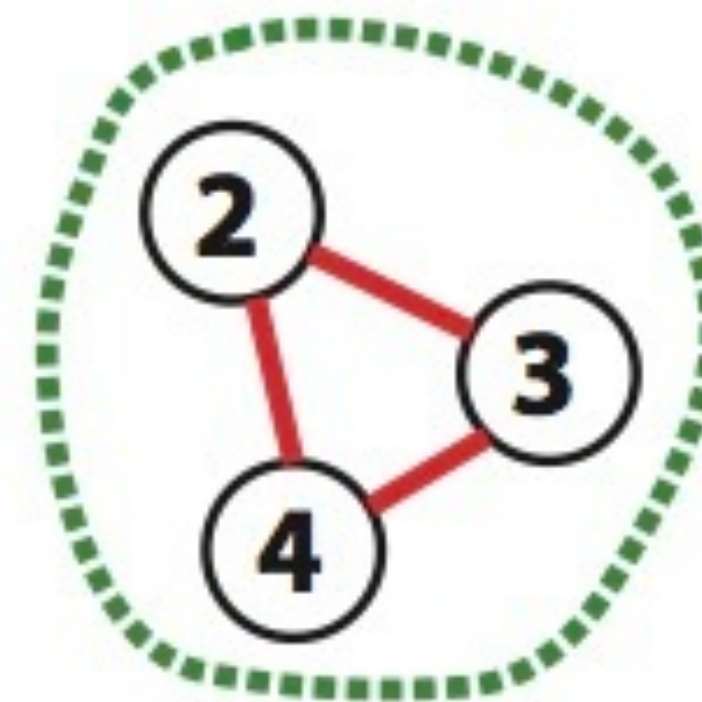


Rekonstrukcja sieci interakcji

Step 3: Build genetic interaction networks



Common biological process



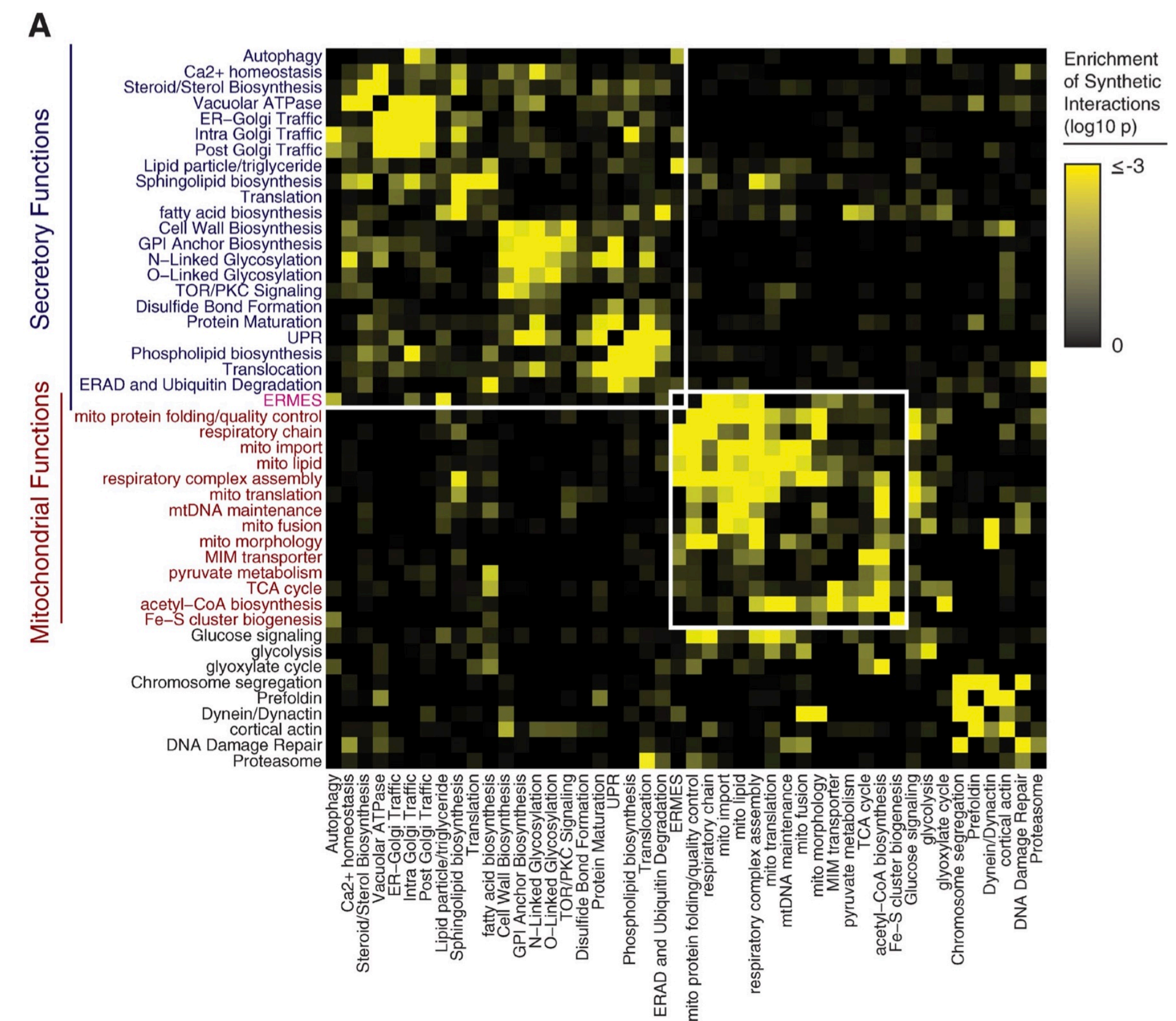
Explore function of gene cluster

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 interakcji odkrywają nowe funkcje

- Mapa interakcji genetycznych 1482 genów związanych z funkcjonowaniem mitochondriów u drożdży (Hoppins i wsp. 2011)
- W sumie 616 270 interakcji
- Wyraźna modularność
- Odkrycie nieznanego wcześniej modułu: 4 geny, z których tylko jeden miał wcześniej opisaną funkcję - kompleks MitOS zaangażowany w organizację struktury przestrzennej błony wewnętrznej



A mitochondrial-focused genetic interaction map reveals a scaffold-like complex required for inner membrane organization in mitochondria

Suzanne Hoppins,¹ Sean R. Collins,² Ann Cassidy-Stone,¹ Eric Hummel,³ Rachel M. DeVay,¹ Laura L. Lackner,¹ Benedikt Westermann,³ Maya Schuldiner,⁴ Jonathan S. Weissman,⁵ and Jodi Nunnari¹

Interaktomy - baza danych

BioGRID 3.5

home help wiki tools contribute stats downloads partners about us |

Welcome to the Biological General Repository for Interaction Datasets

BioGRID is an interaction repository with data compiled through comprehensive curation efforts. Our current index is version **3.5.170** and searches **68,754** publications for **1,670,339** protein and genetic interactions, **28,093** chemical associations and **726,378** post translational modifications from major model organism species. All data are **freely** provided via our search index and available for download in standardized formats.

[BioGRID Statistics](#) [Latest Downloads](#)

Search BioGRID: By Identifier

Enter search terms here...

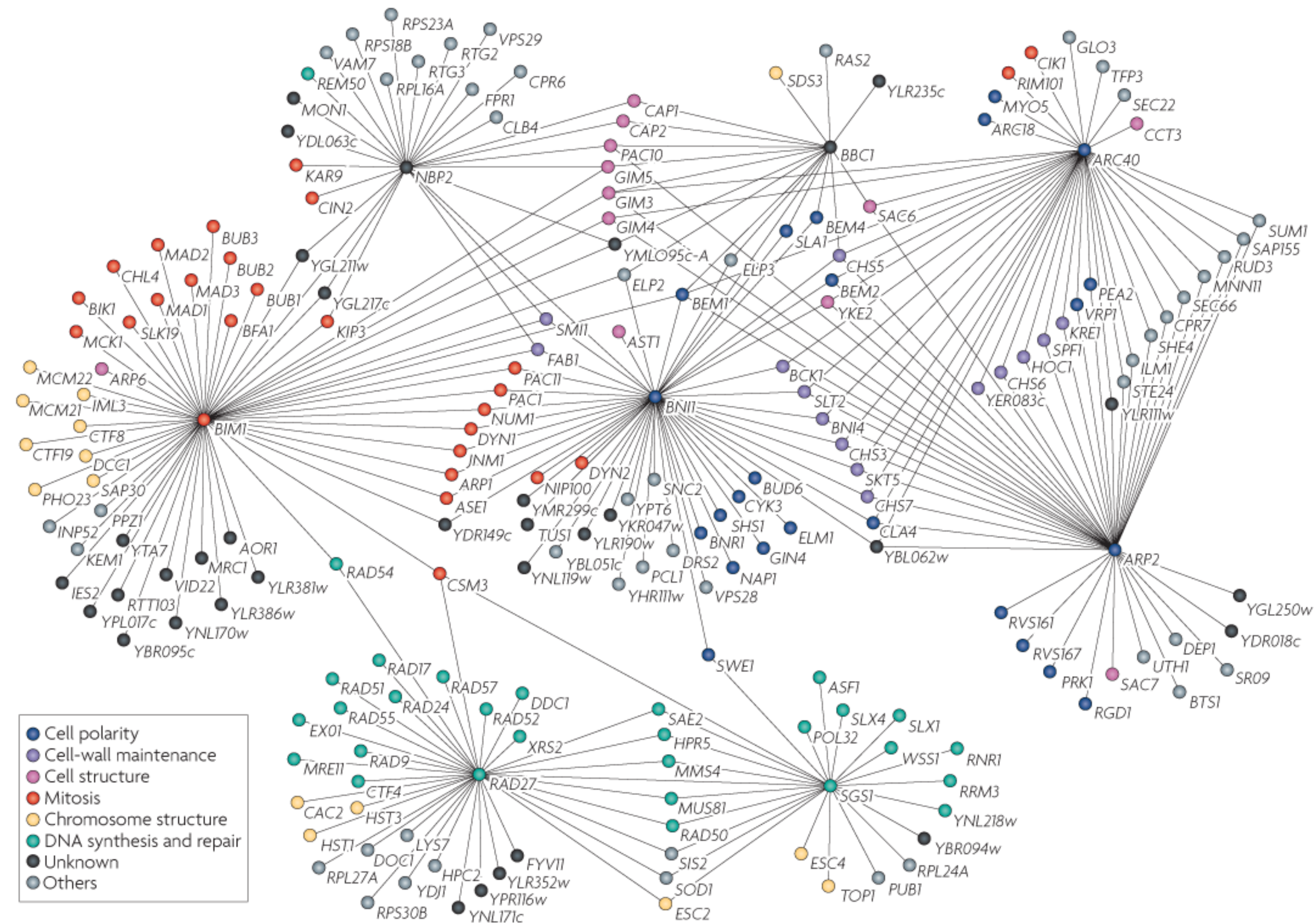
All Organisms

Submit Identifier Search

[Advanced Search](#) [Helpful Search Tips](#) [Featured Datasets](#)

<https://thebiogrid.org>

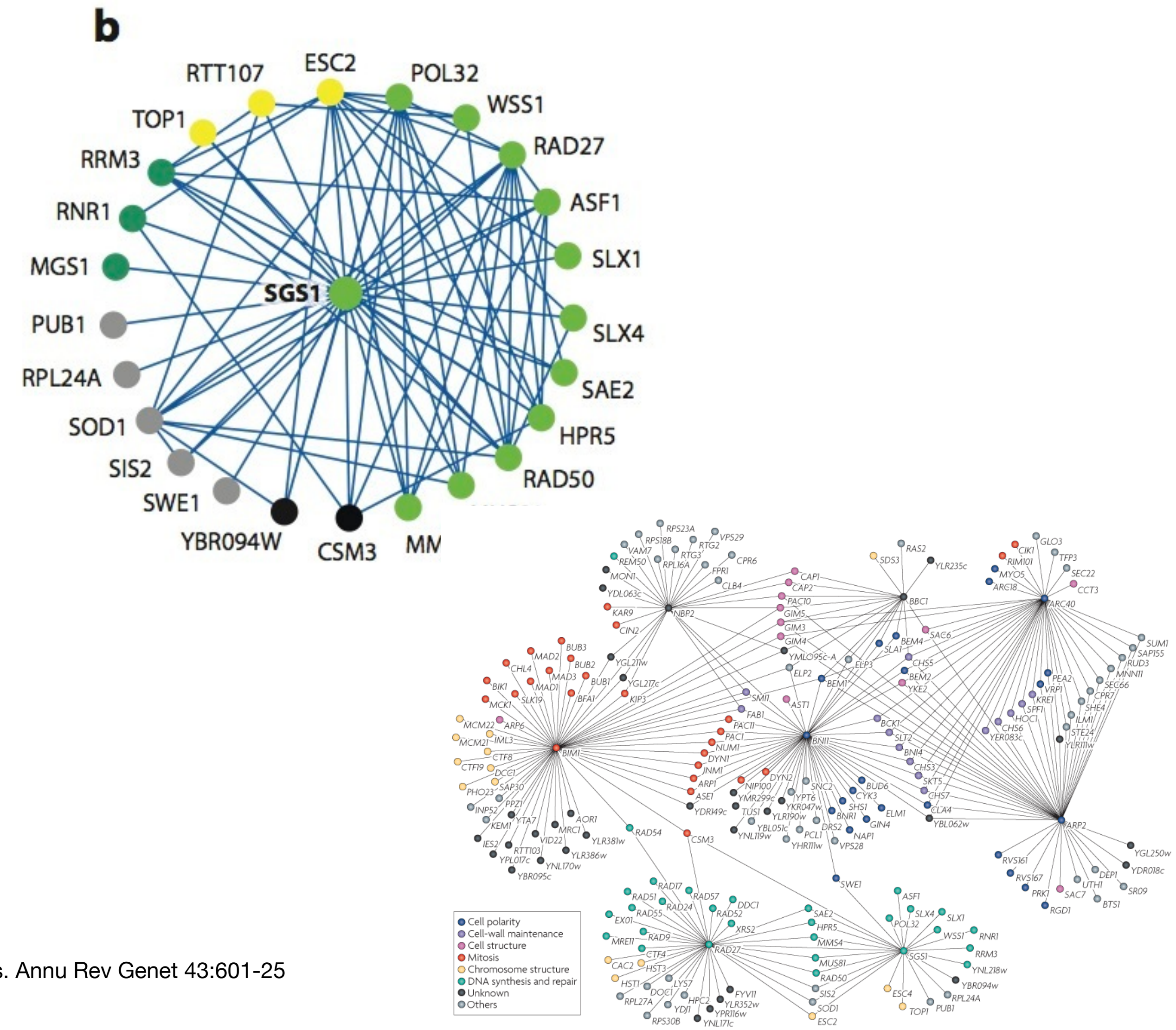
Sieci biologiczne



Przykładowa sieć dla 204 genów drożdżowych – interakcje syntetycznie letalne

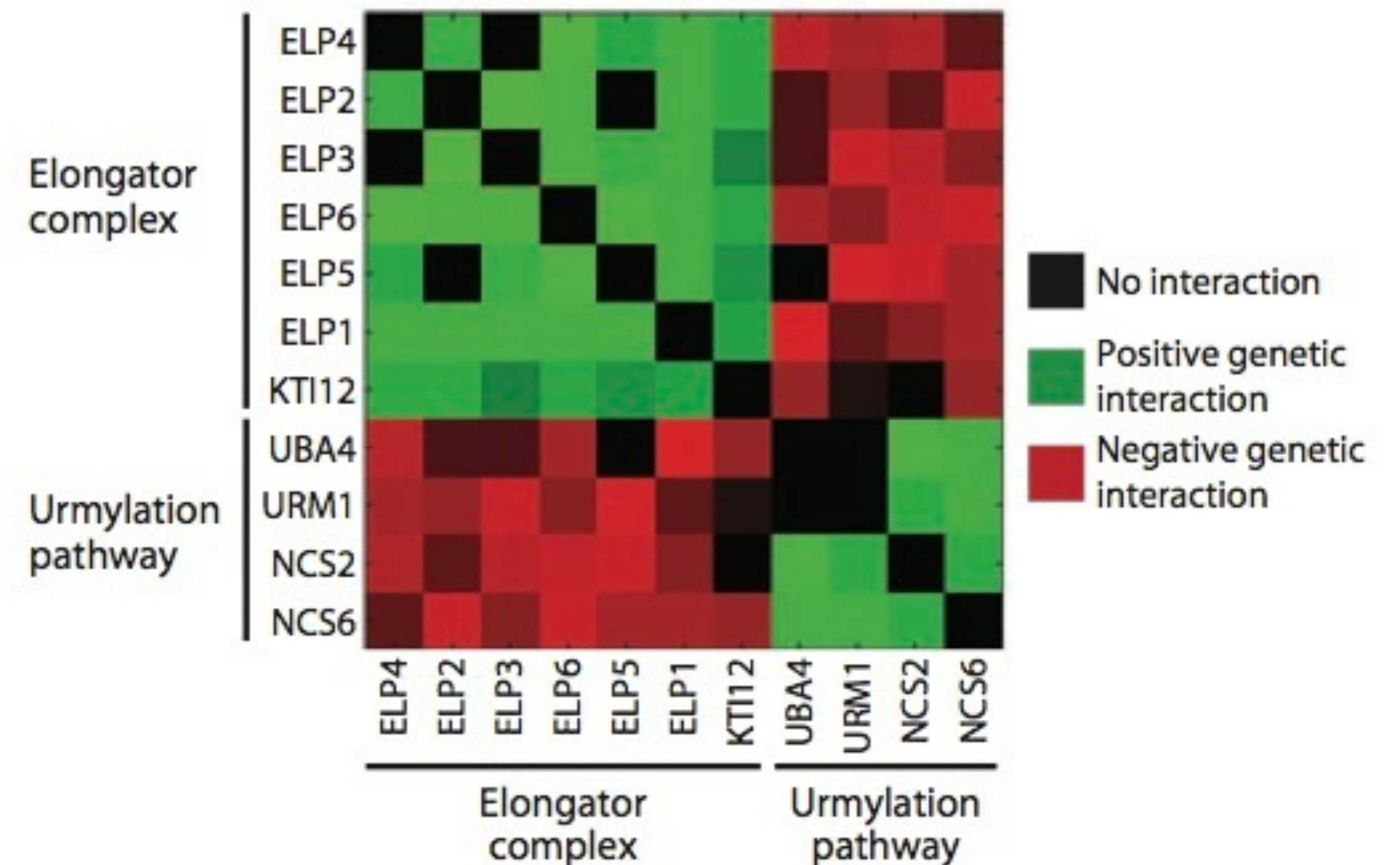
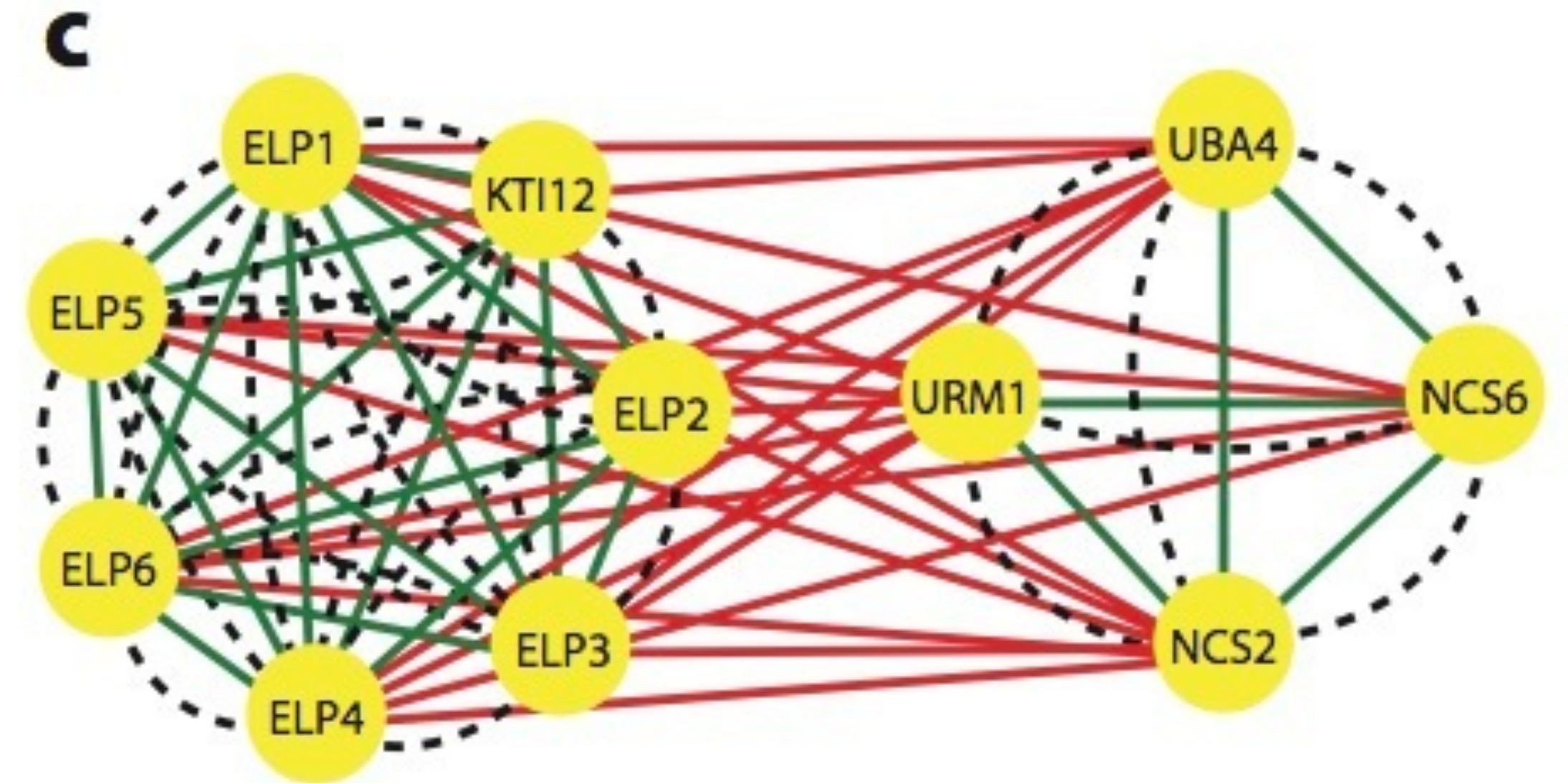
Sieci interakcji

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



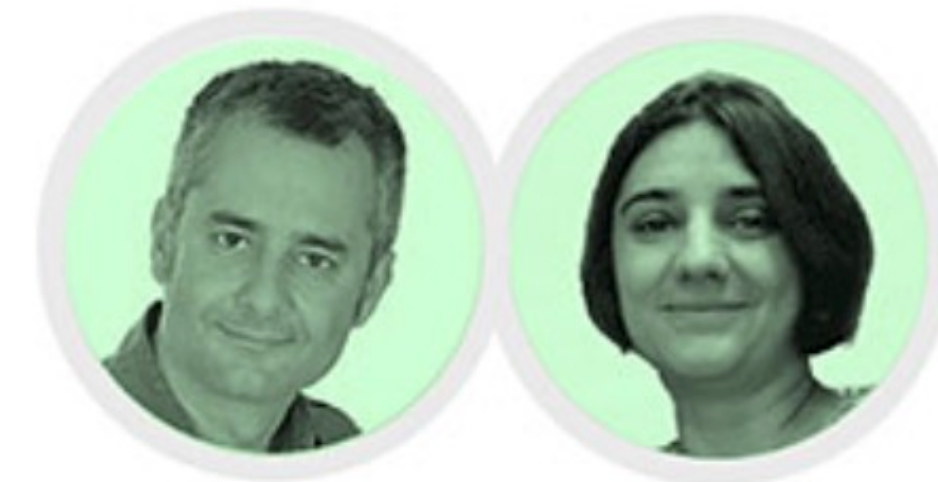
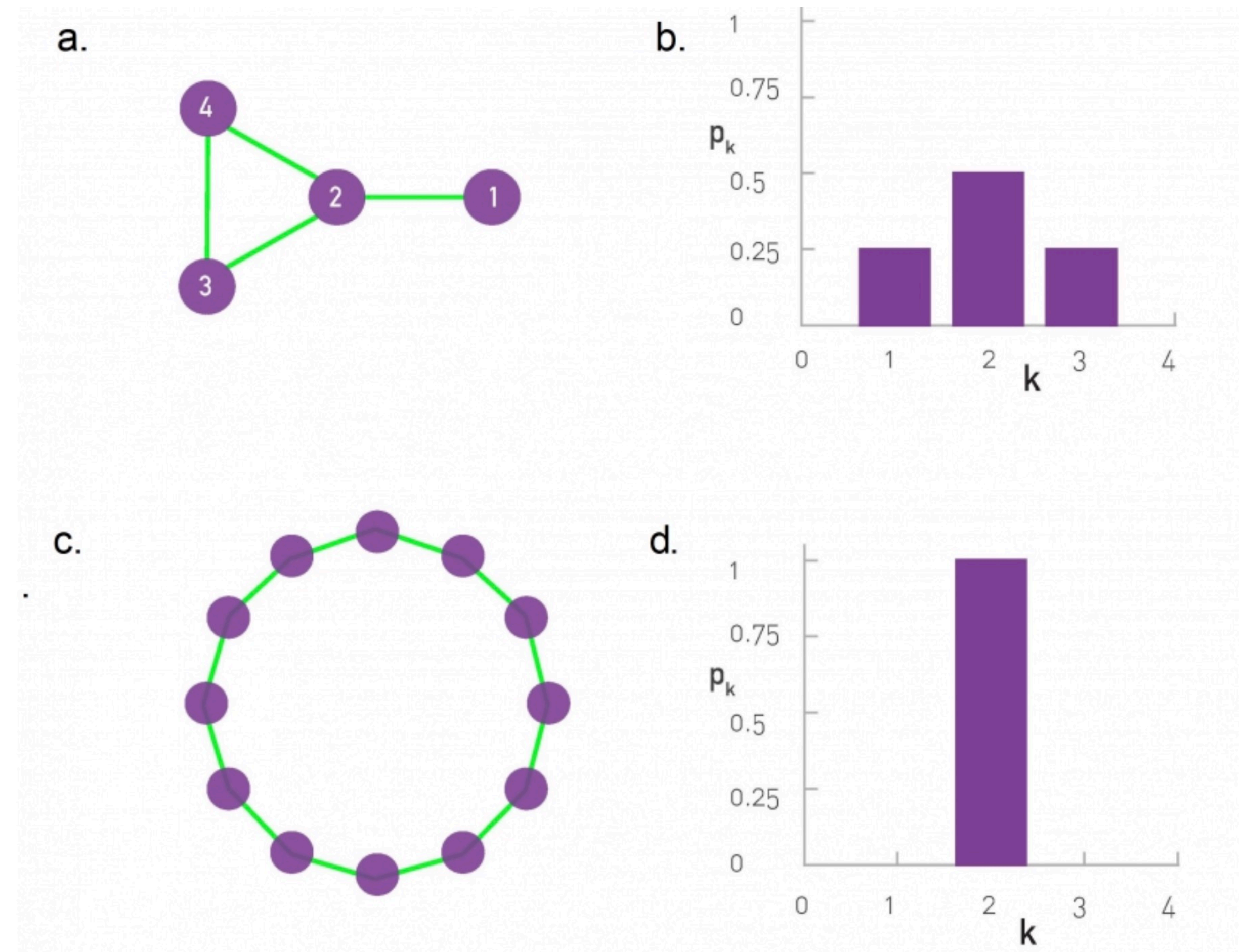
Interakcje genetyczne a fizyczne

- 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



Sieci biologiczne

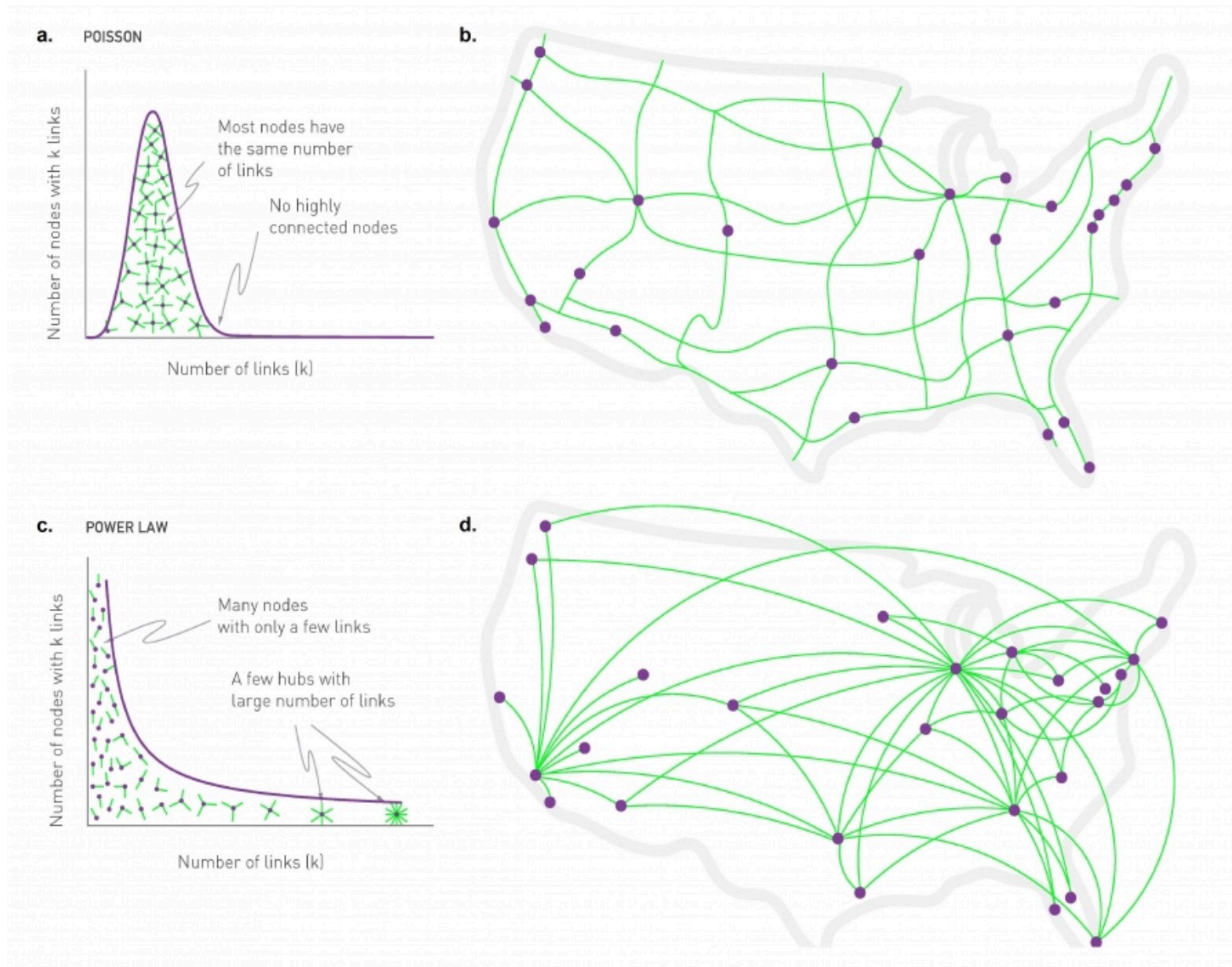
- Zastosowanie pojęć teorii grafów i sieci
 - N - liczba węzłów
 - k - stopień węzła (liczba połączeń)
 - L - całkowita liczba połączeń
 - $P(k)$ - rozkład prawdopodobieństwa znalezienia węzła o stopniu k
- Najważniejsze odkrycie - opisanie sieci bezskalowych: Barabási & Albert.
Emergence of scaling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



Albert-László Barabási & Réka Albert
PREFERENTIAL ATTACHMENT
NETWORK SCIENTISTS

<http://barabasi.com/networksciencebook/>

Sieci losowe i bezskalowe

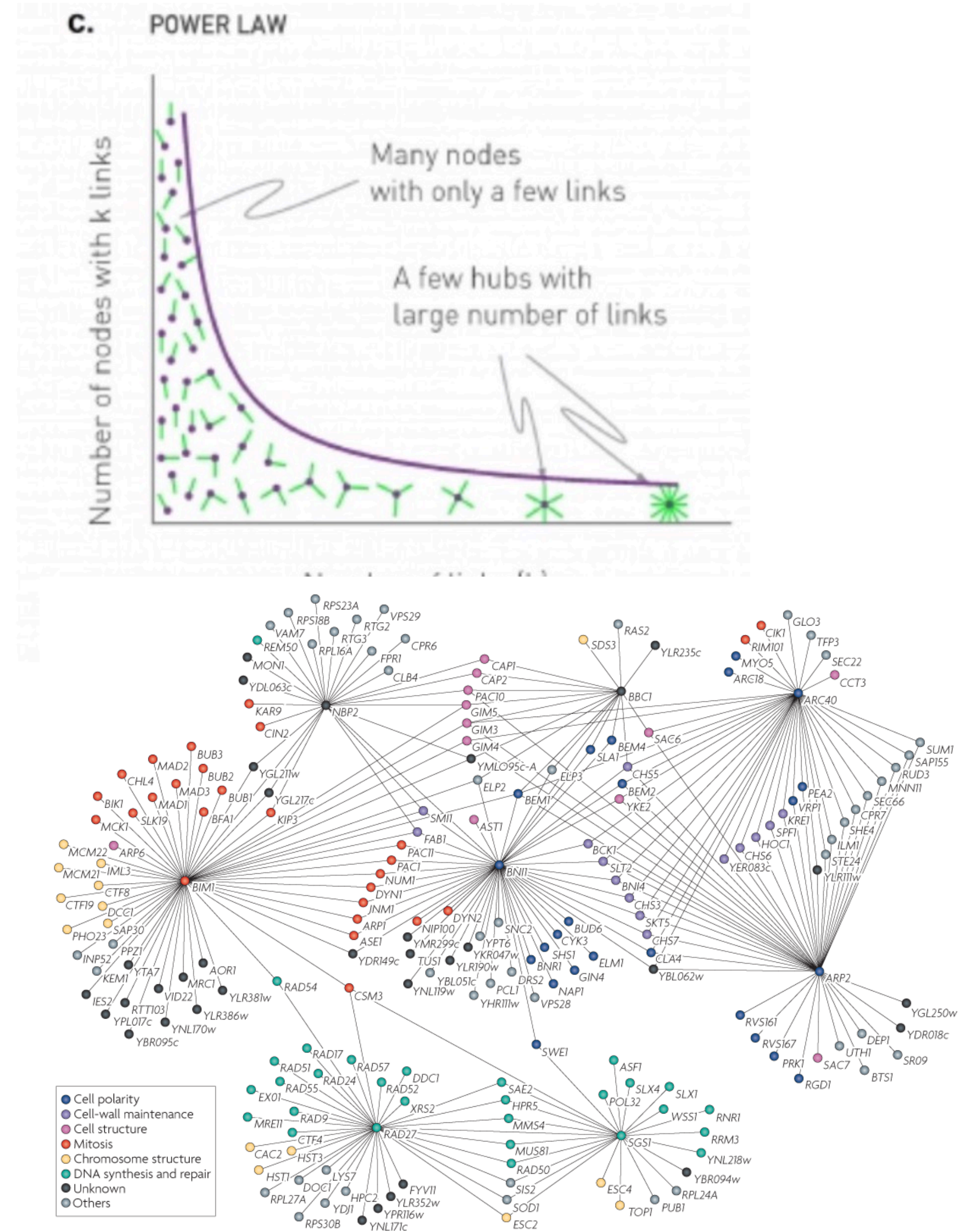


$$P(k) \sim \binom{n}{k} p^k (1-p)^{n-k}$$

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

Sieci interakcji

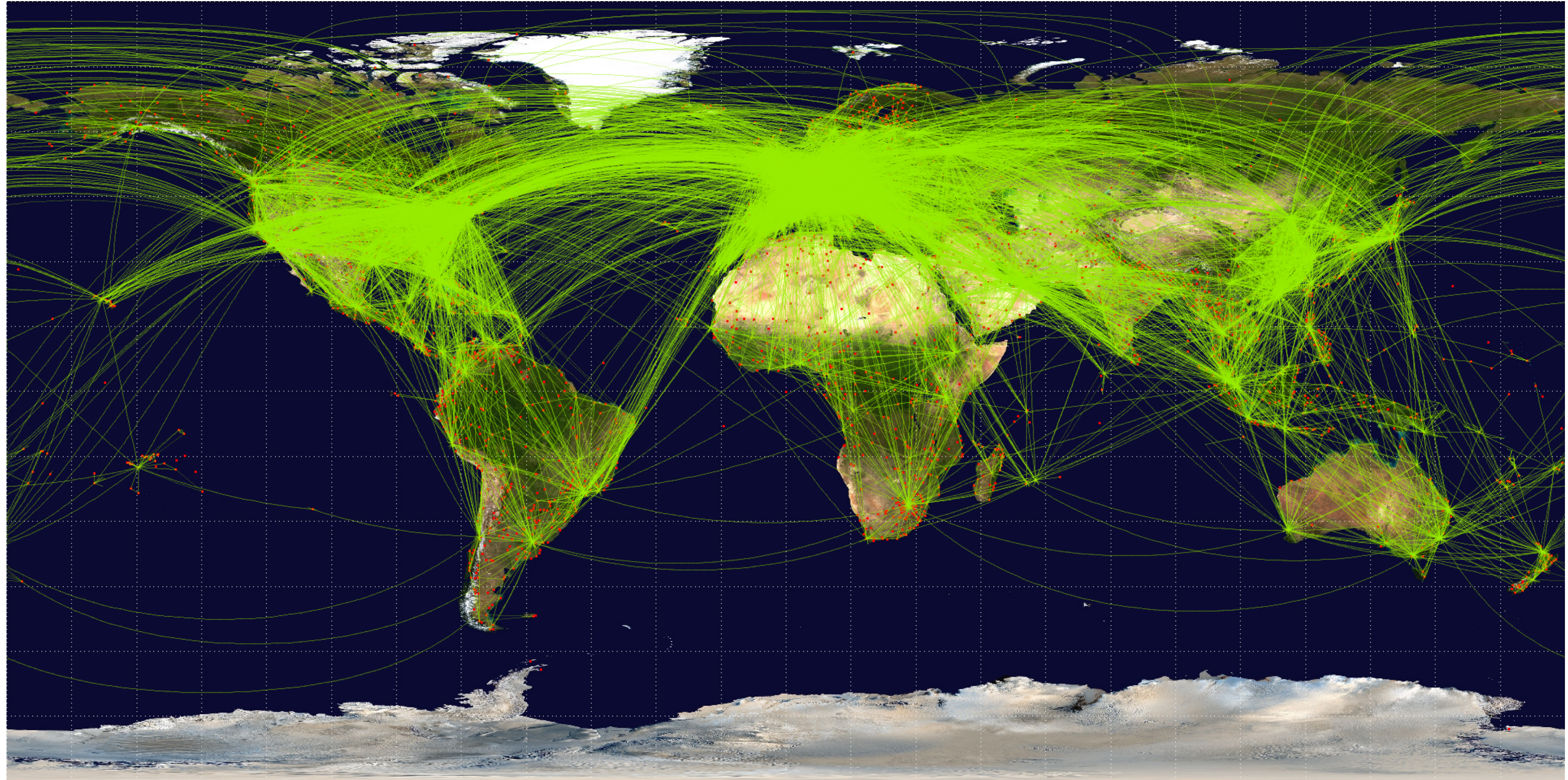
- Sieci interakcji biologicznych mają charakter bezskalowy
- węzły centralne (hubs) z dużą liczbą połączeń
- węzły peryferyjne, z małą liczbą połączeń
- węzły centralne częściej odpowiadają genom niezbywalnym (których defekt jest letalny)



Sieci biologiczne i inne

- Węzły centralne i peryferyjne
- “Mały świat” – długość najkrótszej ścieżki pomiędzy dwoma węzłami jest niewielka (~3,3 węzły u drożdży)
 - Niewielkie zwiększenie odległości przy zwiększaniu liczby węzłów (“ultra mały świat”)
- Podobne właściwości ma np. sieć połączeń lotniczych, Internet (WWW), sieci interakcji społecznych, liczba Erdősa wśród matematyków

Świat sieci

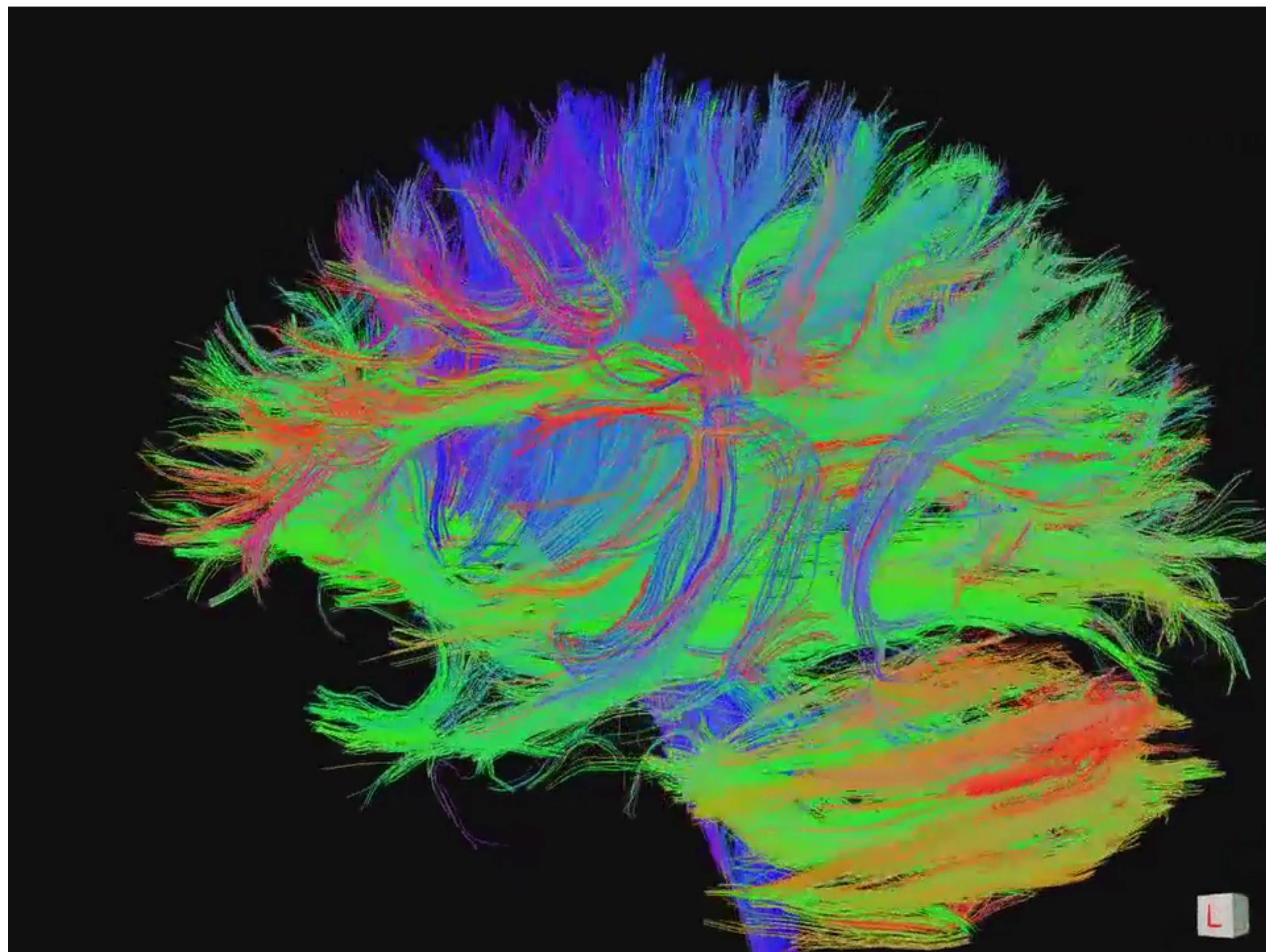
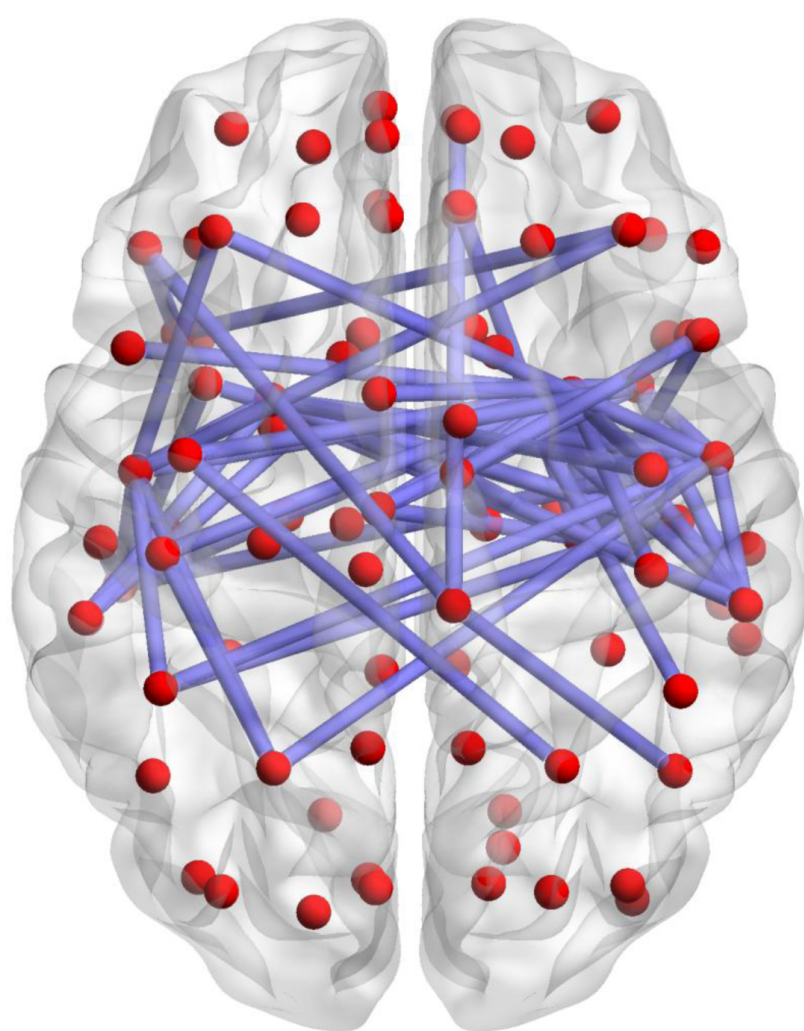
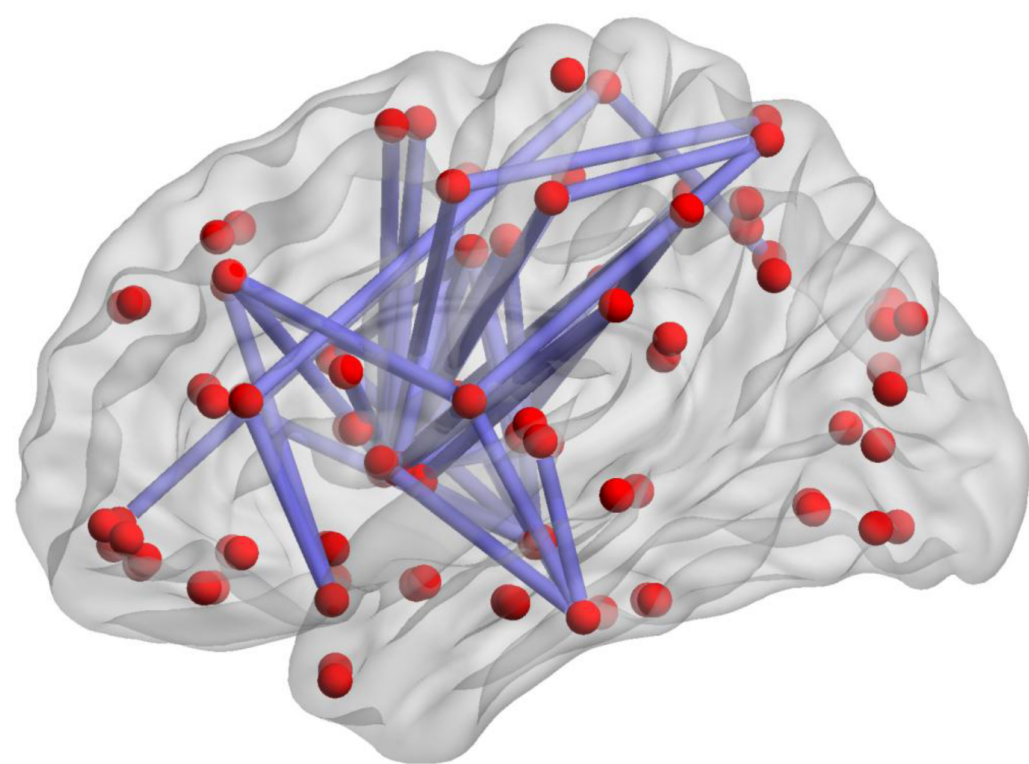


Połączenia lotnicze

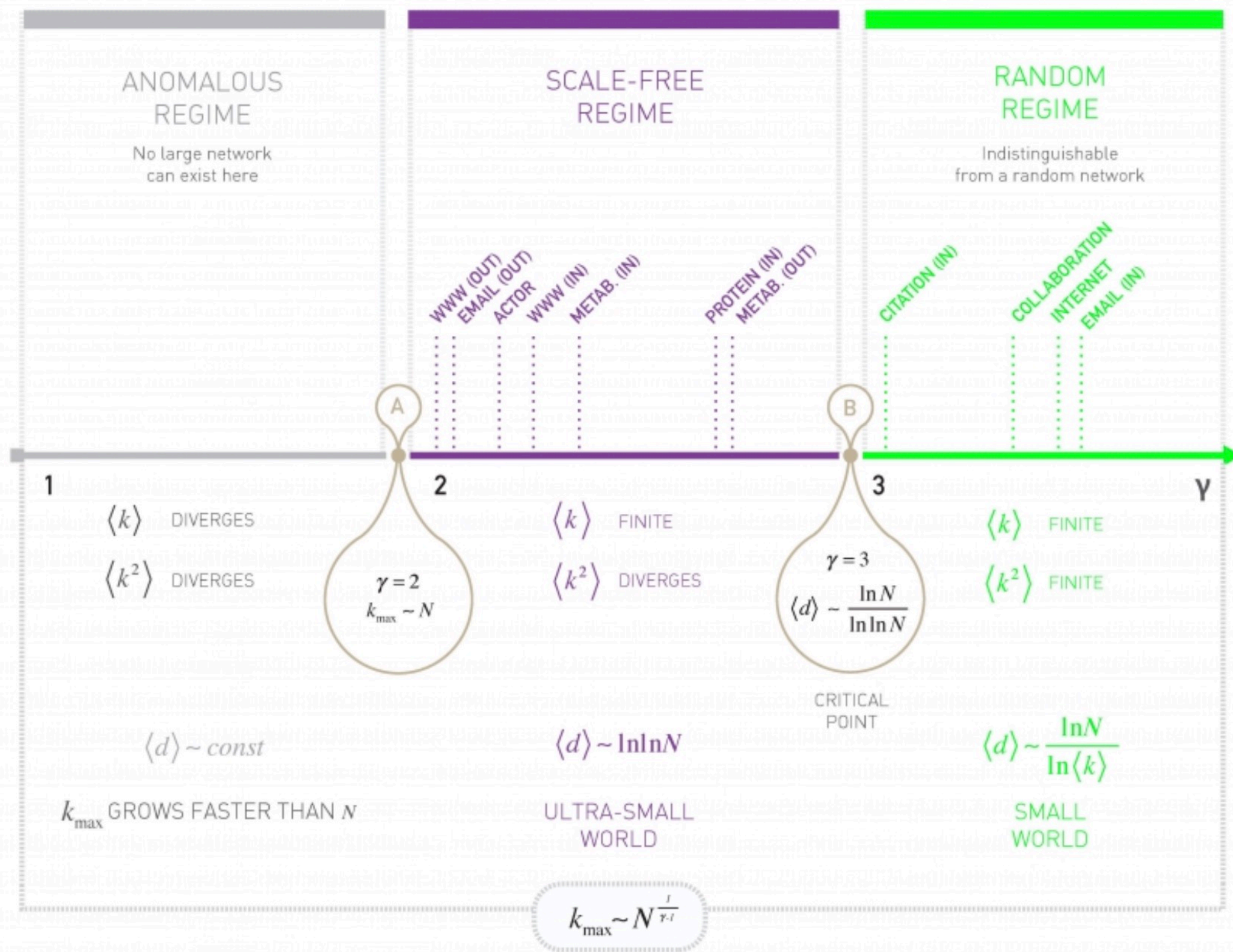


The "Social Graph" behind Facebook

Mózg jest siecią



The γ Dependent Properties of Scale-Free Networks



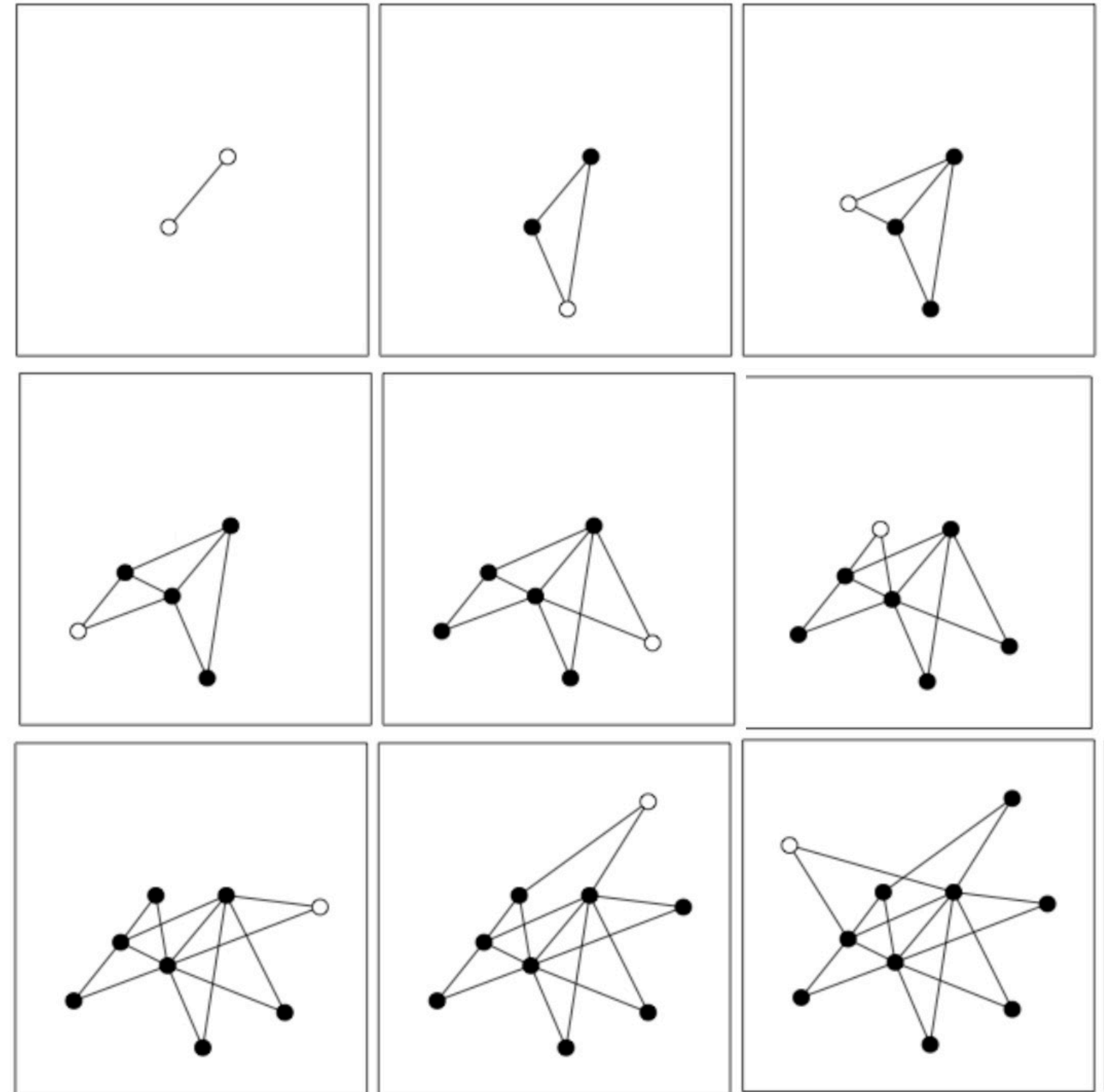
$$P(k) \sim k^{-\gamma}$$

$$2 < \gamma < 3$$

Ewolucja sieci bezskalowych

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

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

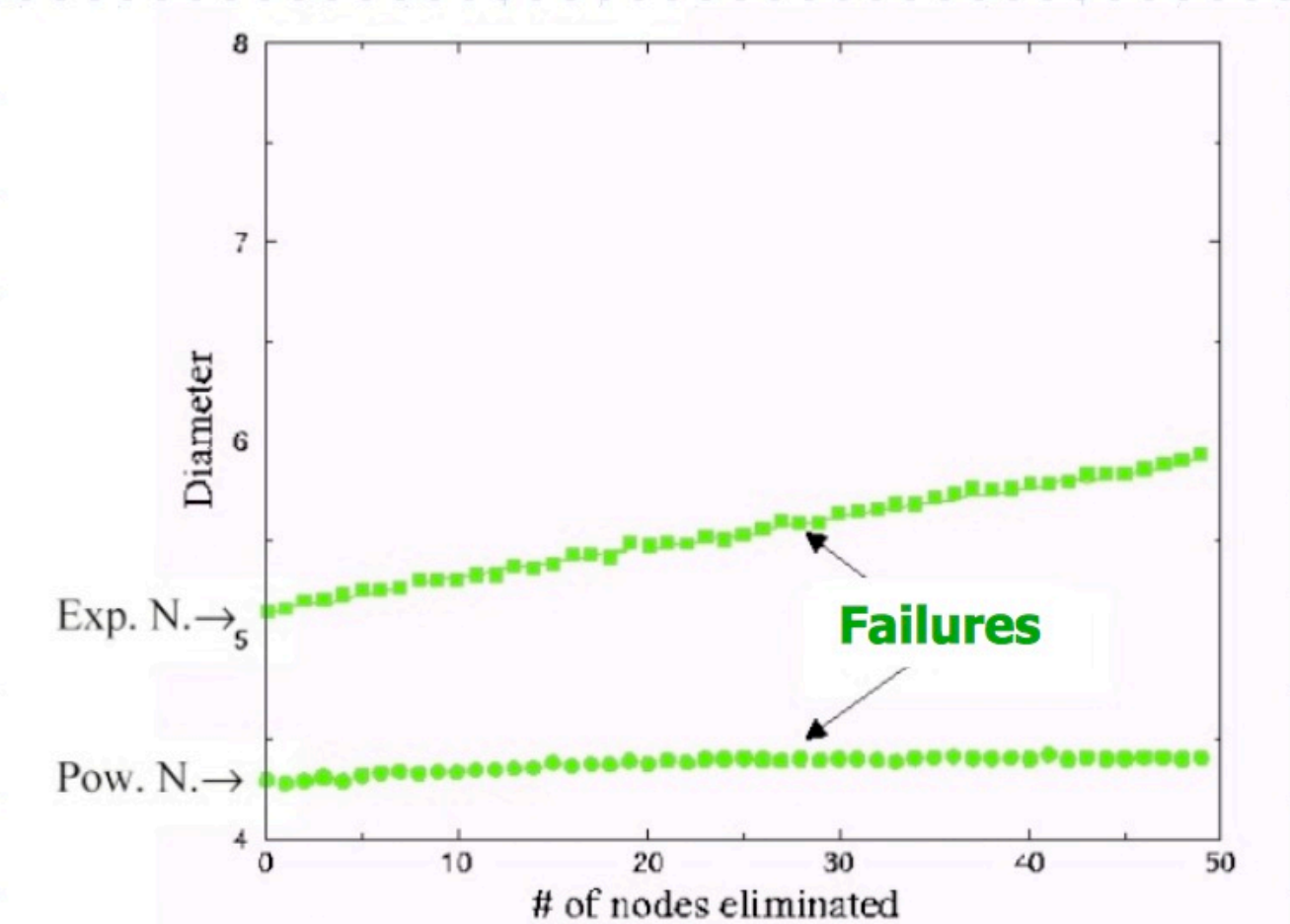
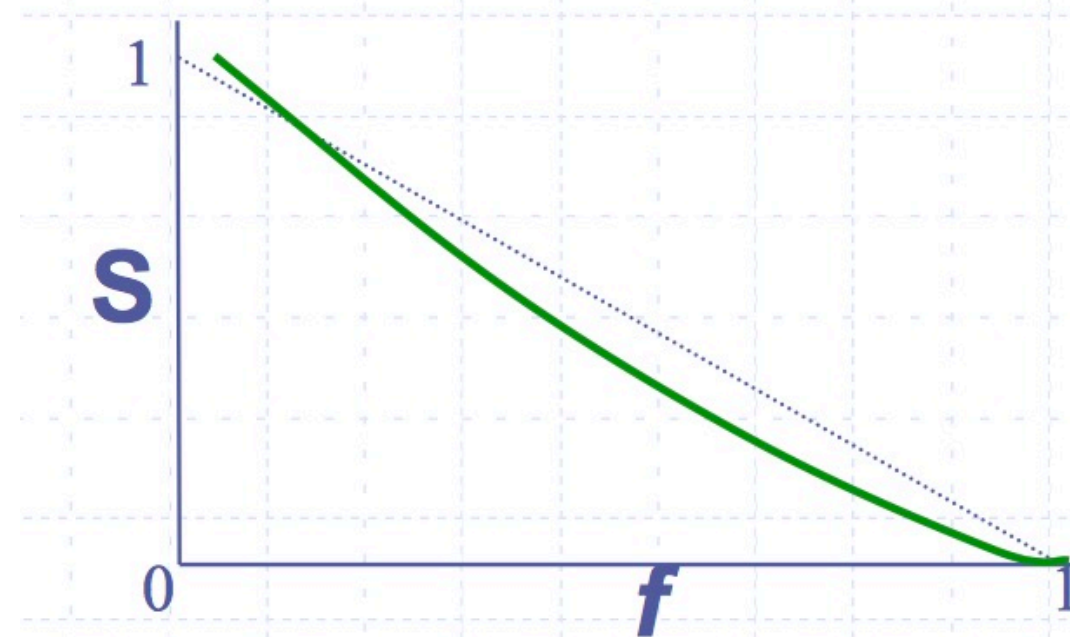
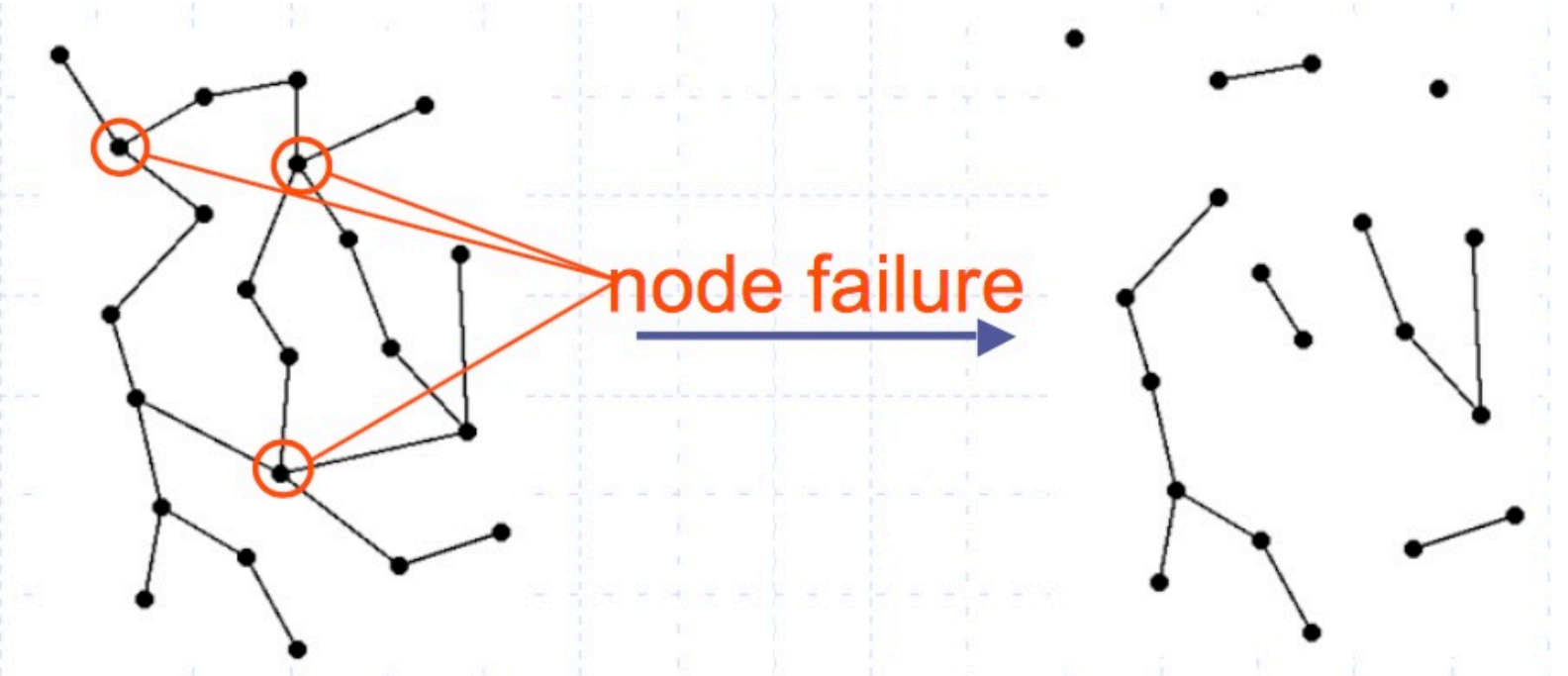
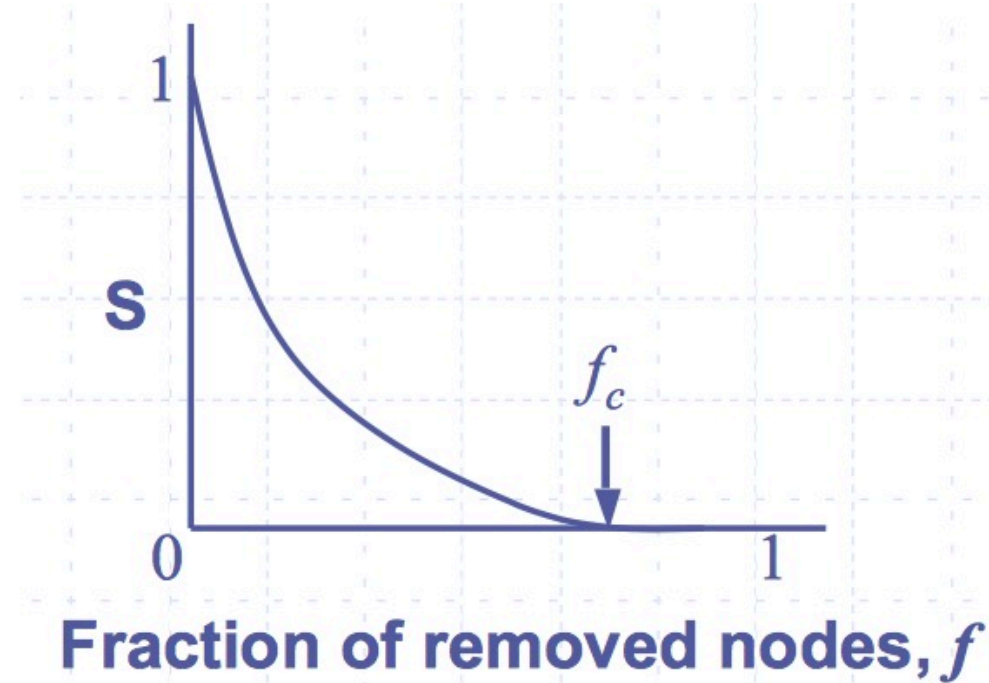


Sieci

- 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.

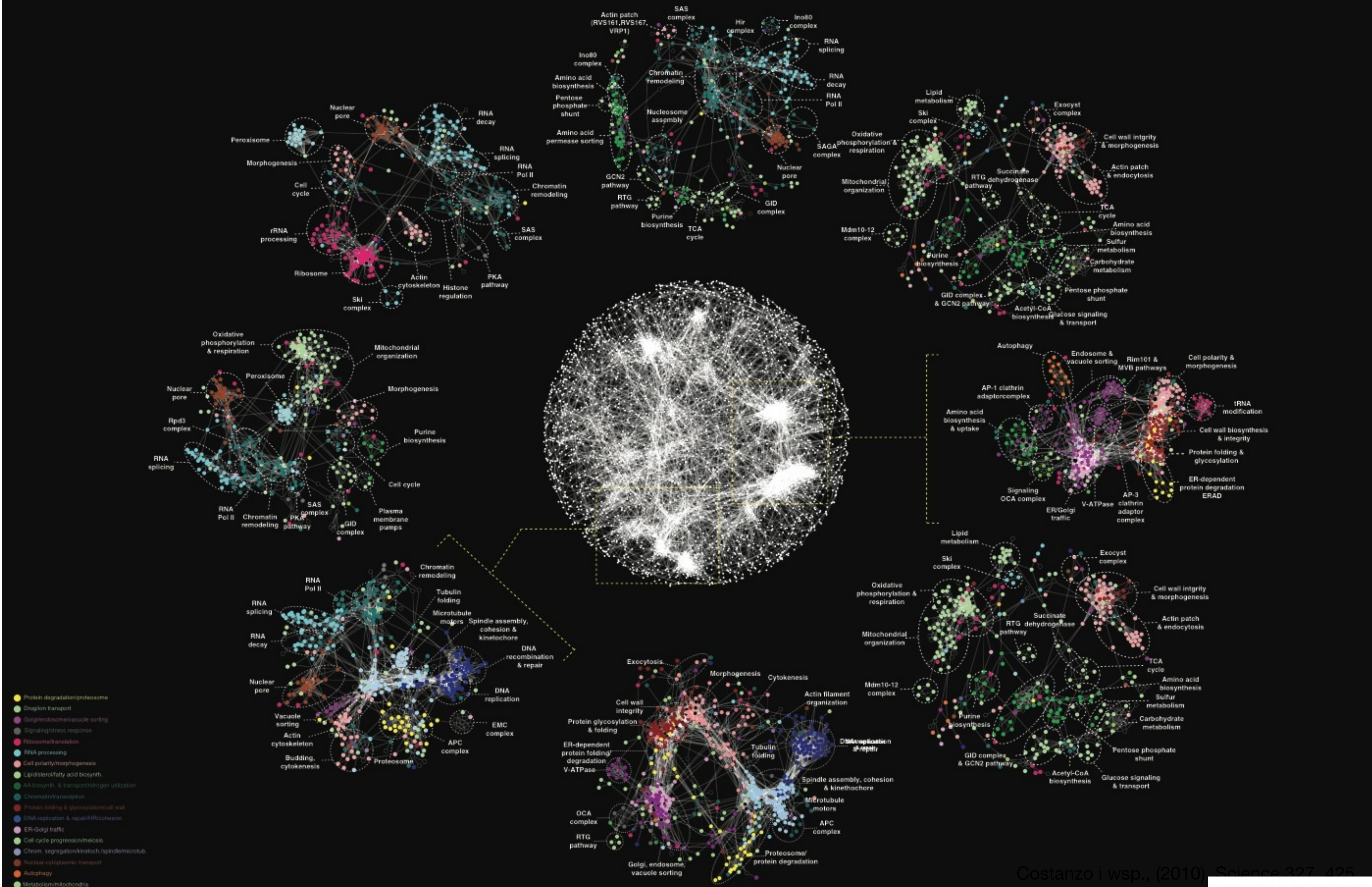


Error and attack tolerance of complex networks
Réka Albert, Hawoong Jeong and Albert-László Barabási
Nature **406**, 378-382(27 July 2000)
doi:10.1038/35019019

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

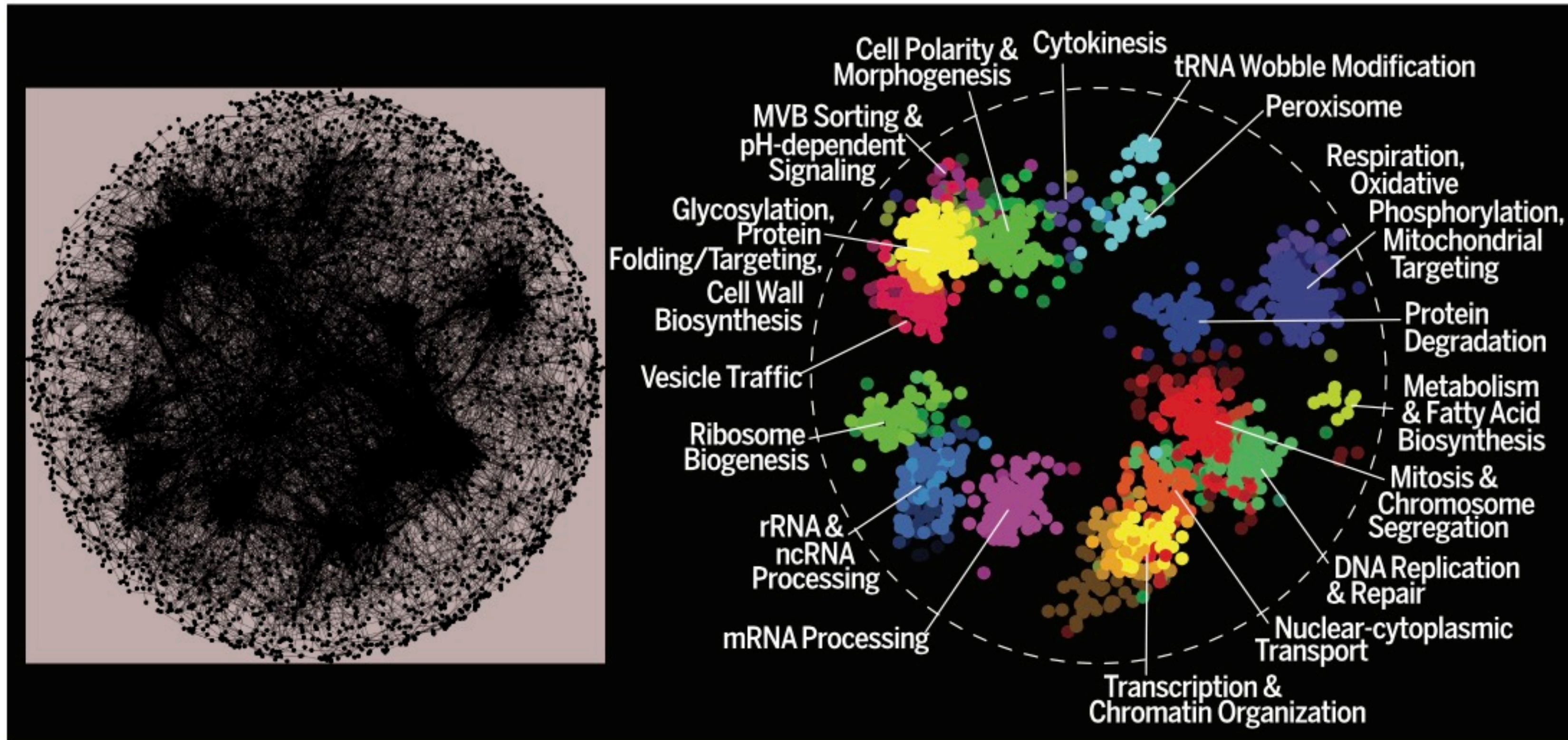
The Genetic Landscape of a Cell



Costanzo et al., (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 Stagljjar, 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†



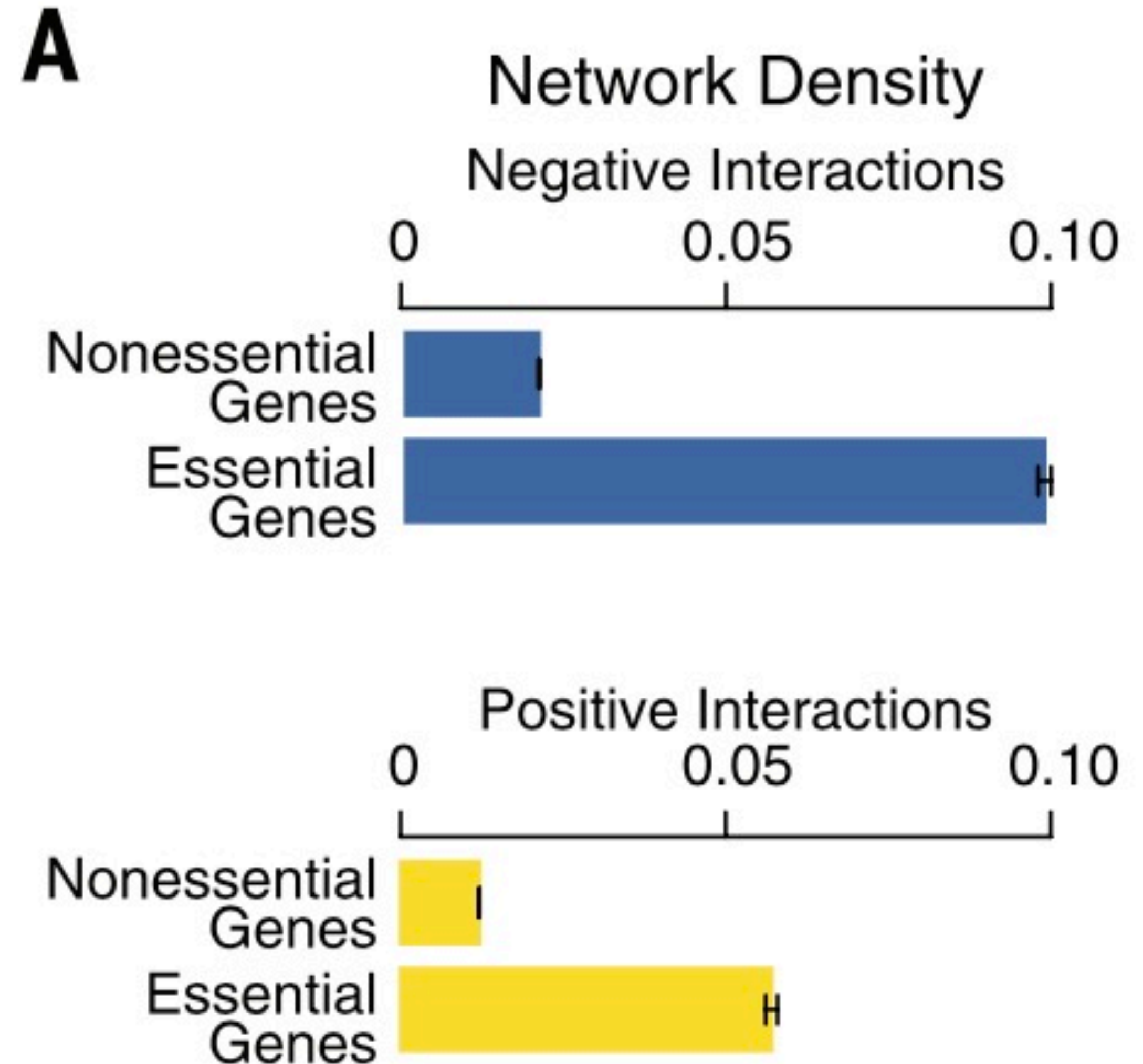
A global network of genetic interaction profile similarities. (Left) Genes with similar genetic interaction profiles are connected in a global network, such that genes exhibiting more similar profiles are located closer to each other, whereas genes with less similar profiles are positioned farther apart. (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)

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 Stagjjar, 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†



Interakcje genetyczne a fizyczne

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

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

Michael Costanzo,* Benjamin VanderSluis,* Elizabeth N. Koch,* Anastasia Baryshnikova,* Carles Pons,* Gulhong 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 Stagijar, 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†

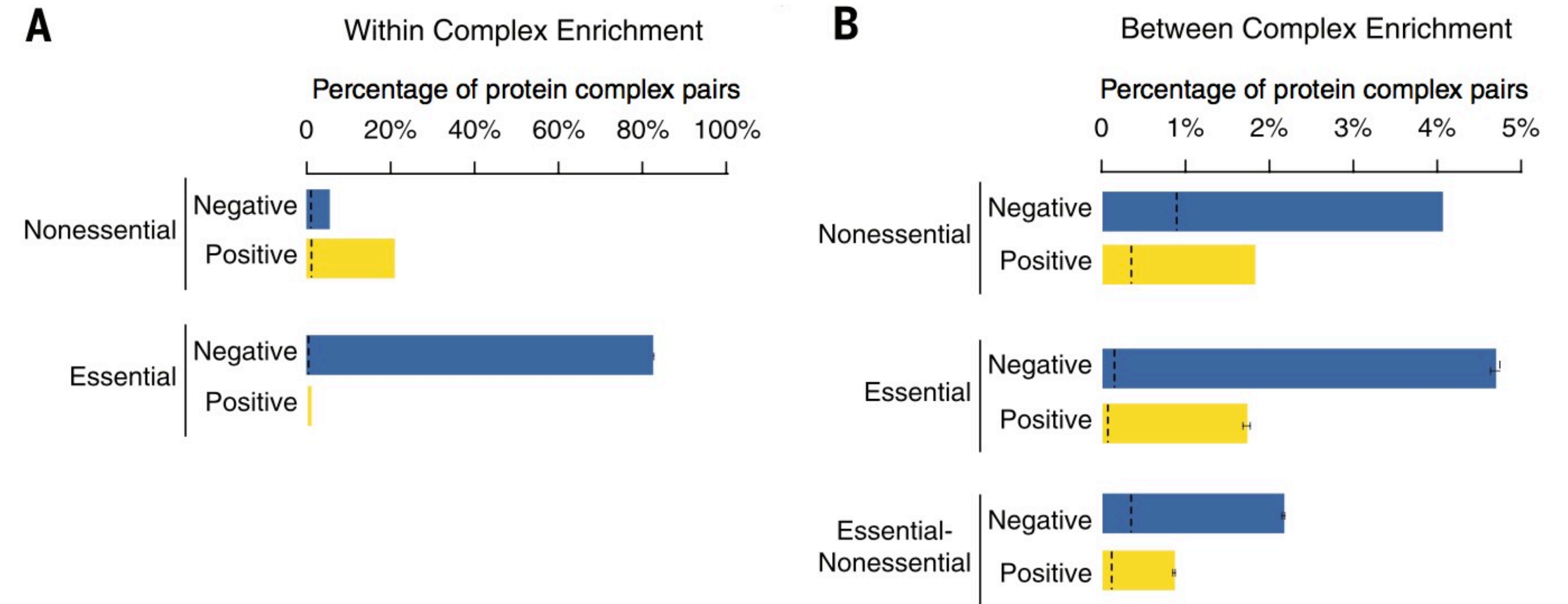


Fig. 8. Genetic interactions within and between protein complexes. (A) The percentage of nonessential and essential complexes whose members were enriched for genetic interactions with each other and biased (i.e., coherent) for either mostly negative (blue) or mostly positive (yellow) interactions. (B) 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.

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