

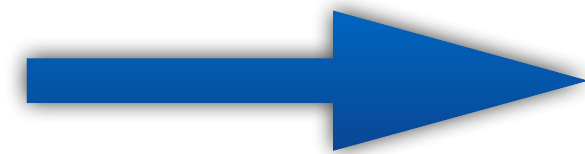
Biologia systemów i biologia syntetyczna

Od części do systemów

Biologia systemów

- Postęp biologii molekularnej - genomika
- Ogromne zbiory danych
- Ujawnienie złożoności interakcji genetycznych leżących u podstaw fenotypu
- Narzędzia teoretyczne do systemowego opisu życia

Biologia systemów - wyzwanie





*“I think the next century
will be the century
of complexity.”*

Stephen Hawking
January 23, 2000`

A w biotechnologii?

- Współczesna biotechnologia molekularna bardzo sprawnie manipuluje pojedynczymi genami
 - ekspresja heterologiczna
 - transgeneza roślin
- A co z bardziej złożonymi, wieloczynnikowymi cechami?

Inżynieria ewolucyjna



Inżynieria ewolucyjna



Brassica oleracea var. *silvestris* (brzoskiew)



Brassica oleracea odmiany uprawne

A visual guide to identifying genetically modified corn



NON GM



GM

Biologia syntetyczna

- Współczesna inżynieria genetyczna ograniczona jest do prostych systemów, gdzie za pożądaną funkcję odpowiada jeden lub kilka genów

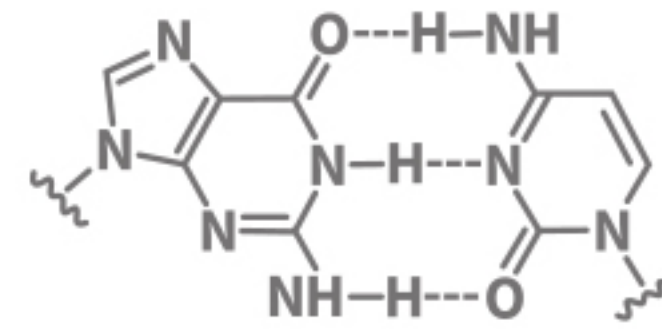
- Biologia syntetyczna - projektowanie nowych systemowych właściwości organizmów żywych

Biologia syntetyczna

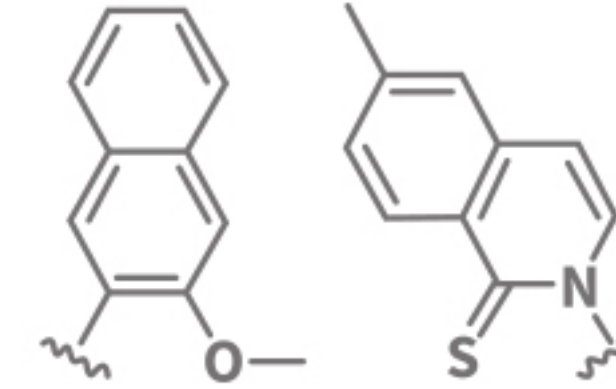
- Dwa oblicza biologii syntetycznej:
 - Odtworzenie właściwości układów żywych za pomocą cząsteczek niewystępujących w naturze
 - E. Kool, R. Rawls, 2000 – podejście chemików
 - Wykorzystanie elementów układów biologicznych do konstrukcji nowych systemów o zaprojektowanych właściwościach
 - W. Szybalski, B. Hobom, 1980 – inżynieria genetyczna

Nowe zasady DNA

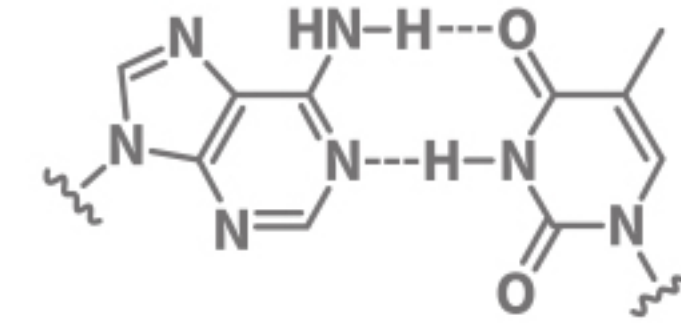
- Dodatkowa para zasad w DNA
- Utrzymuje się w genomie



GC



XY



AT

synthorx.com

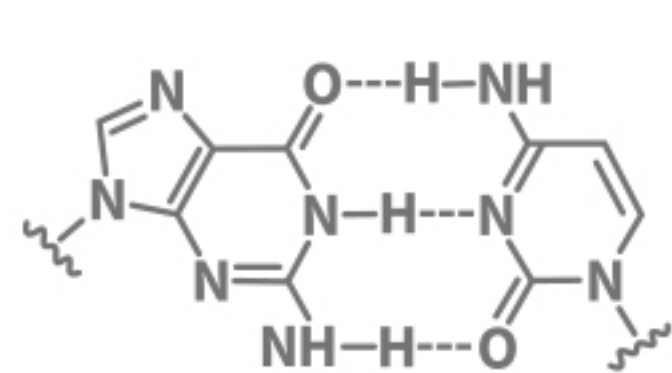
doi:10.1038/nature13314

A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet

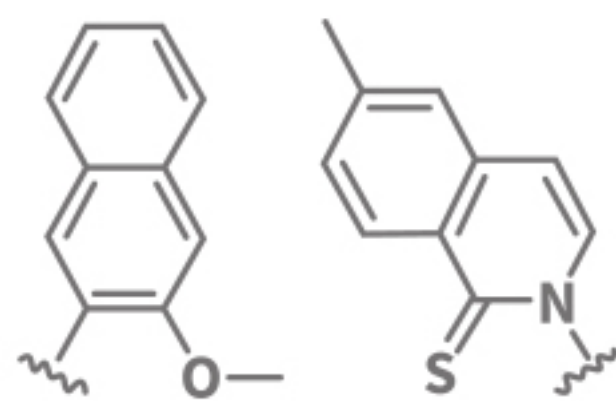
Denis A. Malyshev¹, Kirandeep Dhani¹, Thomas Lavergne¹, Tingjian Chen¹, Nan Dai², Jeremy M. Foster², Ivan R. Corrêa Jr² & Floyd E. Romesberg¹

Syntetyczna biochemia

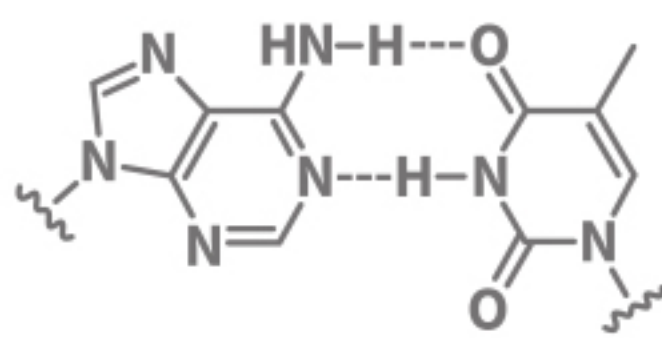
- Analogi cząsteczek biologicznych o nowych, rozszerzonych możliwościach
- DNA z dodatkowymi parami zasad
- Białka z nowymi aminokwasami



GC



XY

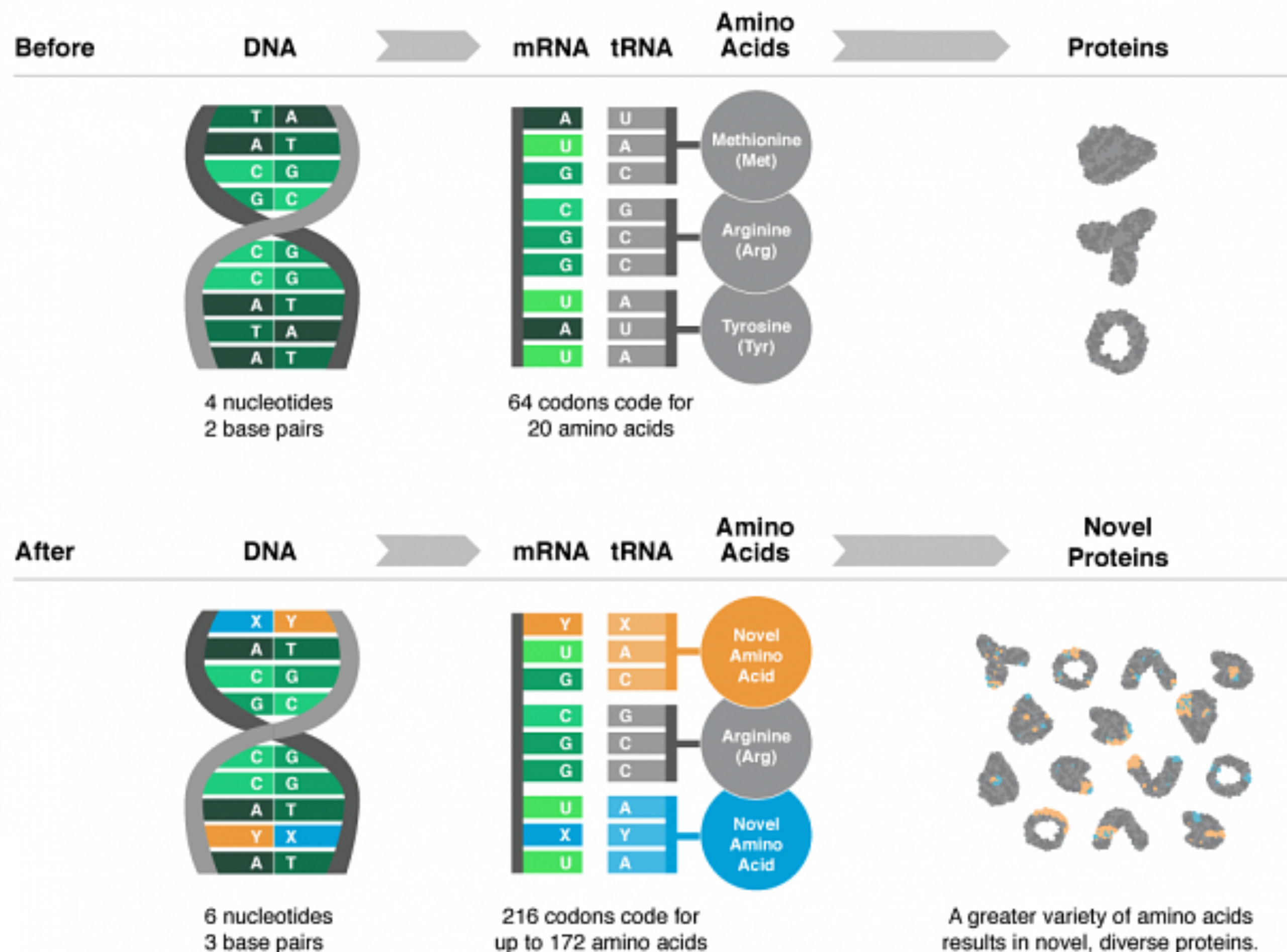


AT

©2015 Synthorx Inc.

Expanded Genetic Alphabet - In Action

By adding a synthetic base pair—nicknamed X and Y—to DNA, the number of possible amino acids a cell can use to construct proteins increases from 20 to 172. This opens new possibilities to add multiple novel amino acids to create novel and diverse proteins for improved enzymes, drugs, diagnostics, and vaccines.



<https://synthorx.com/>

Biologia syntetyczna

- Wykorzystanie elementów układów biologicznych do konstrukcji nowych systemów o zaprojektowanych właściwościach

Biologia syntetyczna a inżynieria genetyczna

- Inżynieria genetyczna - manipulacje pojedynczymi genami - zmiany pojedynczych cech
 - bakterie wytwarzające insulinę
 - rośliny broniące się przed szkodliwymi owadami (wytwarzaniem jednego białka pochodzenia bakteryjnego)
- Biologia syntetyczna - konstrukcje organizmów o nowych właściwościach (*“biokonstruktorystwo”* - S. Lem)

Biologia syntetyczna

- Współczesna inżynieria genetyczna ograniczona jest do prostych układów, gdzie za pożądaną funkcję odpowiada jeden lub kilka genów
 - np. rośliny GMO odporne na herbicyd albo toksyczne dla owadów
 - nadal taka sama roślina, tylko 1-2 białka więcej
 - znacznie mniejsze różnice, niż między współczesnymi roślinami uprawnymi a ich dzikimi przodkami
- Granica jest płynna (np. komórki drożdży z wprowadzonymi genami odtwarzającymi niewystępujący w tym gatunku cały szlak metaboliczny - 3-5 genów)

Sztuczne życie?

- Możliwe są coraz bardziej zaawansowane manipulacje poszczególnymi składnikami życia
 - syntetyczne peptydy i białka, lipidy, DNA, RNA
 - syntetyczne geny i genomy
 - proste syntetyczne replikatory
- Nie udało się jeszcze stworzyć układu żywego w całości, bez udziału elementów uzyskanych z istniejących układów żywych

Podjęcia biologii syntetycznej

- “od góry” (top-down) - głęboka modyfikacja istniejących systemów
 - minimalne genomy
 - syntetyczne genomy
 - przeprojektowane genomy
- Przykład - ortogonalny kod genetyczny

Manipulacje DNA

- DNA można manipulować w probówce, amplifikować, zmieniać itp.
- Ponownie wprowadzony do komórki funkcjonuje równie dobrze, jak “naturalny”



Synteza chemiczna DNA

- DNA można “skopiować” z istniejącego DNA lub RNA
- nie więcej niż 10-20 tys. nukleotydów na raz

- DNA można syntetyzować chemicznie
- Ograniczenie – nie więcej niż ~100 nukleotydów na raz

- Większe cząsteczki trzeba składać z tych małych fragmentów



Syntetyczne geny

- 1972, Khorana i wsp., gen kodujący tRNA drożdży, 77 par nukleotydów z 15 fragmentów (po 5-20 nt)
 - 1979 – pierwszy, który działał (207 pz)
- 1981, Edge i wsp., gen kodujący białko – interferon człowieka (514 pz), wprowadzony do bakterii

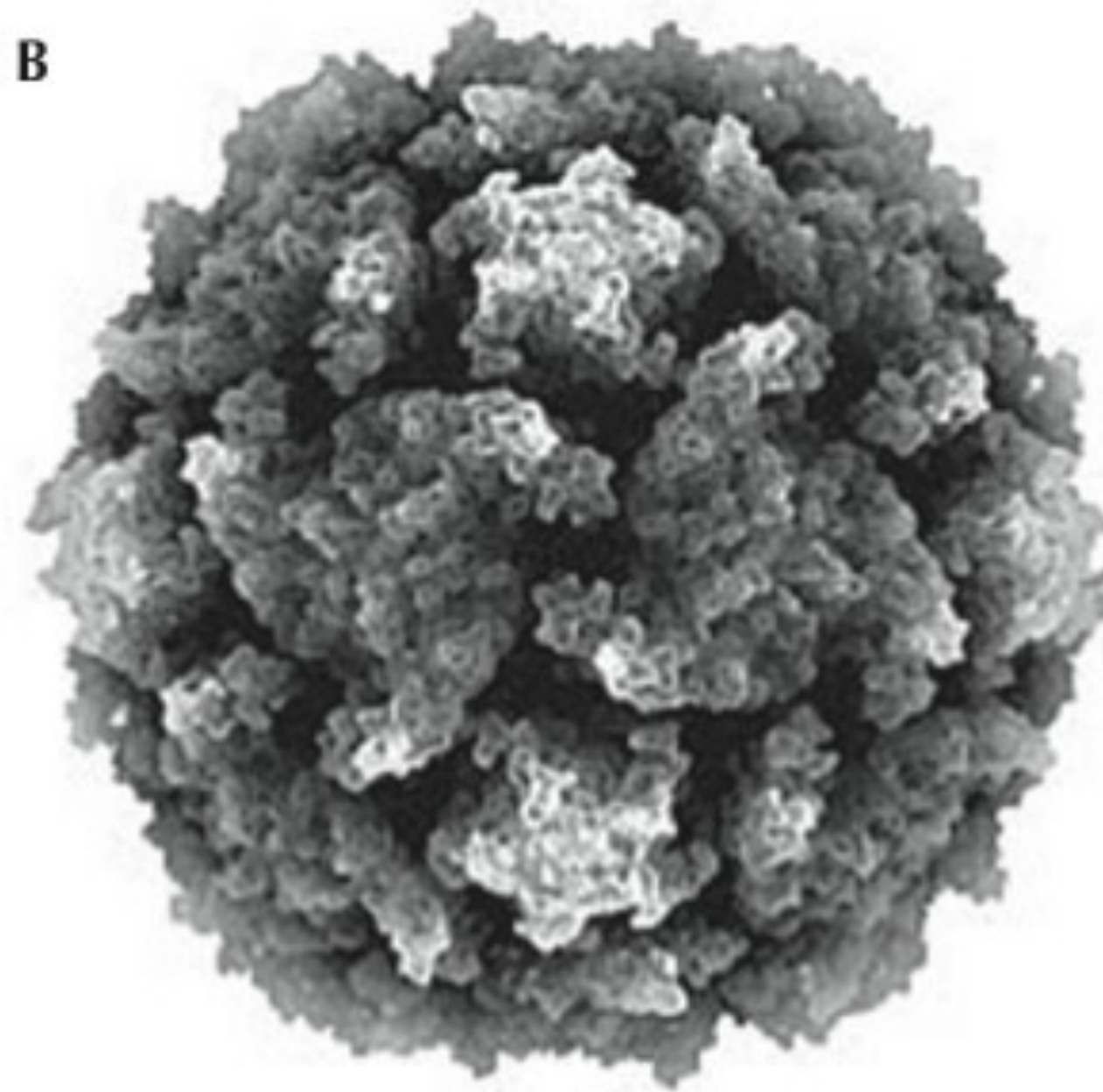
Pierwszy syntetyczny wirus

- 2002, Cello, Paul & Wimmer
- Matryca DNA wirusa polio złożona z syntetycznych fragmentów i przepisana na RNA
- Genom wprowadzony do komórek w hodowli namnaża się i produkuje cząstki wirusowe

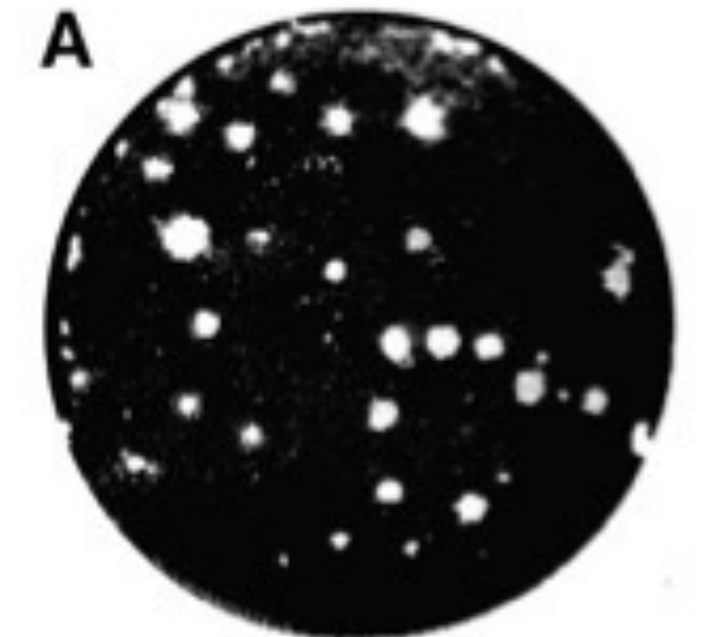
A

$C_{332,652} H_{492,388} N_{98,245} O_{131,196} P_{7,501} S_{2,340}$

B



A



B

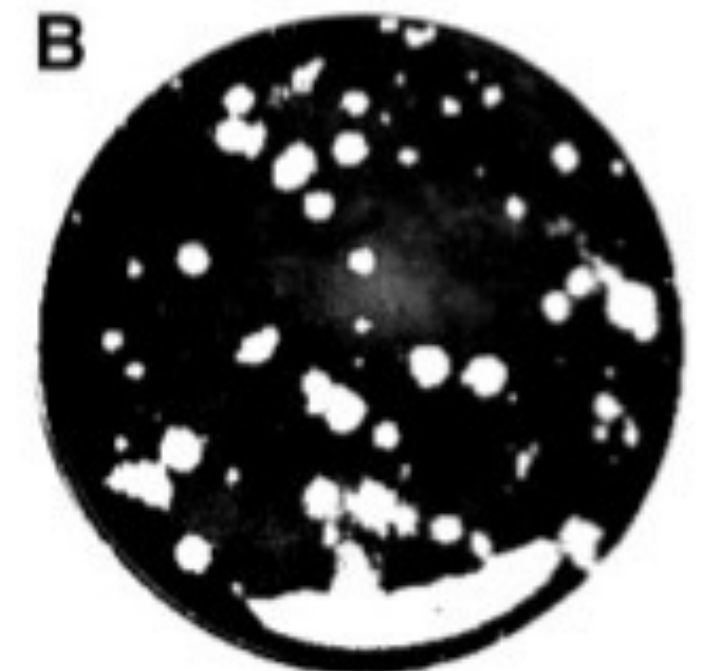
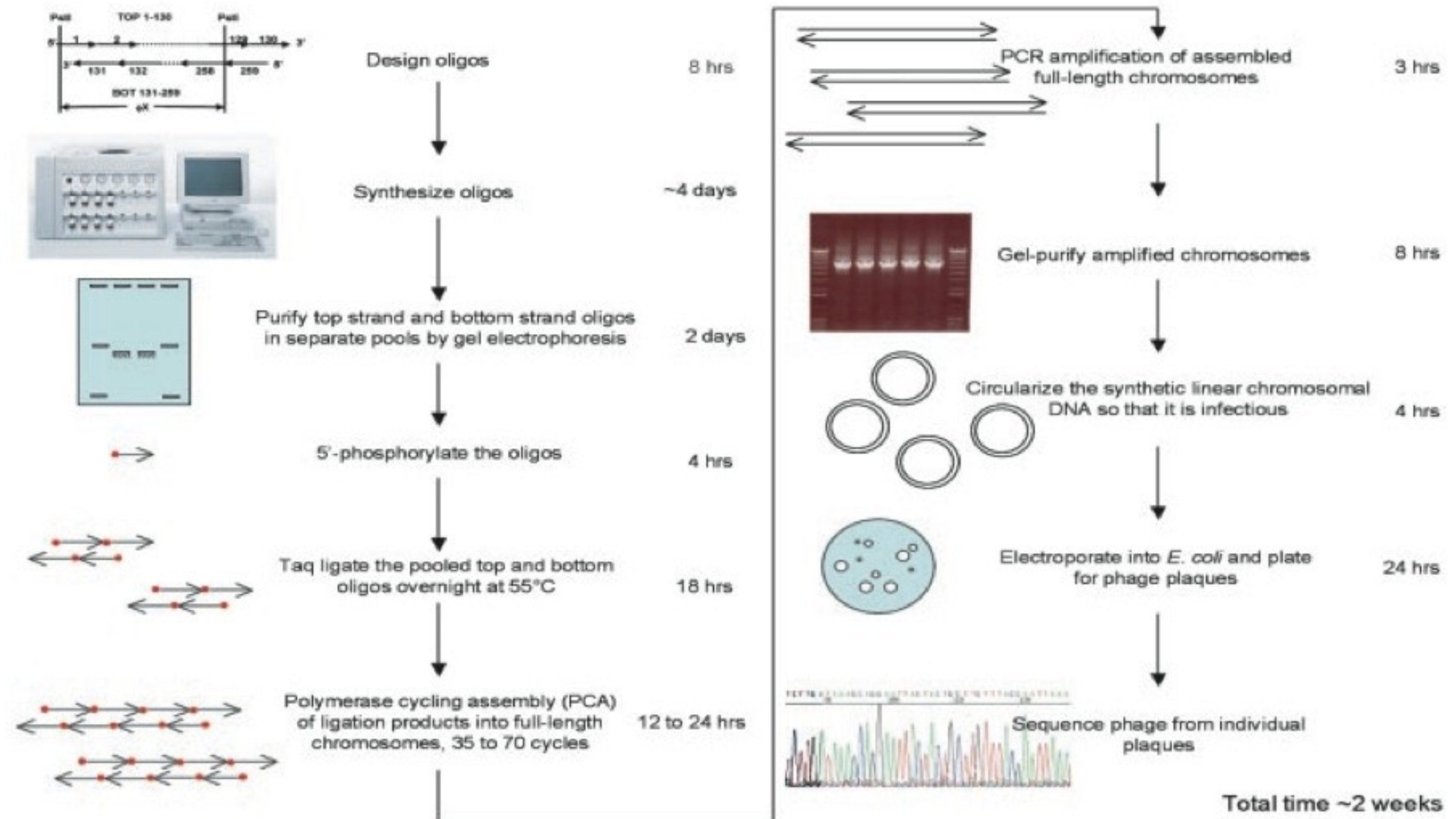


Fig 1 | Poliovirus and its empirical formula.

Nowe metody i fag Φ X174

- Składanie całego genomu faga w jednym etapie
- Cały projekt ~2 tygodnie (Smith i wsp. 2003)



Sukces



Fig. 4. Plaques of $\text{syn}\phi\text{X-A}$. There appear to be several plaque morphologies:


Smith i wsp. 2003

Syntetyczne wirusy

- Synteza genomów wirusowych stała się powszechnym narzędziem
- Odtwarzanie wirusów nieistniejących już w naturze

Grypa 1918

- Na podstawie sekwencji z tkanek ciał ofiar odtworzono sekwencję wirusa grypy epidemii 1918 (hiszpanki)
 - ~50 milionów ofiar śmiertelnych
- Odtworzono genom i uzyskano zdolne do infekcji wirusy (2005)

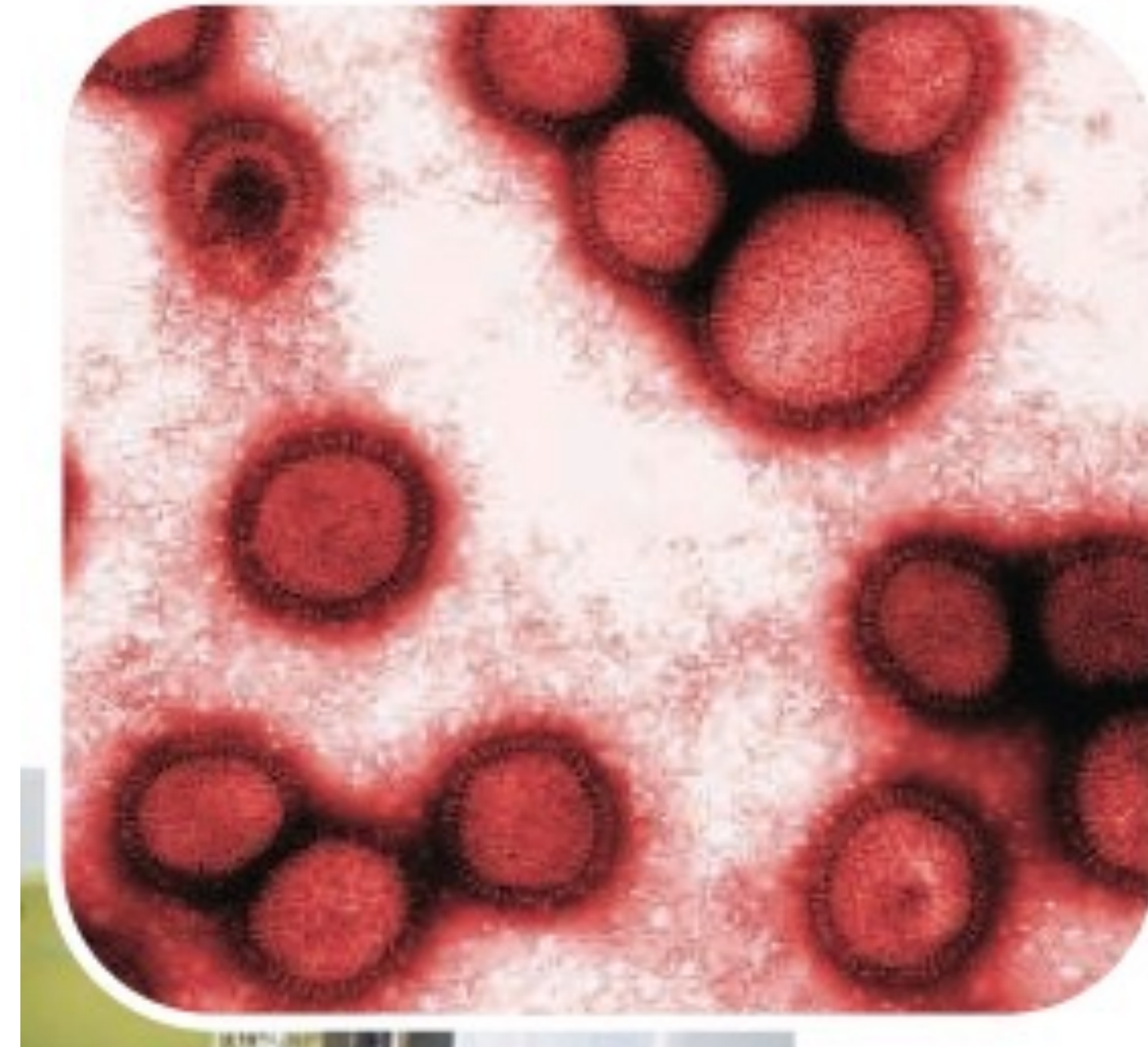


Characterization of the Reconstructed 1918 Spanish Influenza Pandemic Virus

Terrence M. Tumpey,^{1*} Christopher F. Basler,²
Patricia V. Aguilar,² Hui Zeng,¹ Alicia Solórzano,²
David E. Swayne,⁴ Nancy J. Cox,¹ Jacqueline M. Katz,¹
Jeffery K. Taubenberger,³ Peter Palese,² Adolfo García-Sastre²

1918 – tajemnice zabójcy

- Odtworzony wirus jest bardzo zjadliwy
- Infekuje i zabija myszy silniej niż współczesne wirusy grypy
- Wiadomo, który gen (i która cząsteczka) wirusa odpowiada za taką wirulencję – hemaglutynina (HA)
- Wiadomo, dlaczego ten wirus dobrze namnaża się nie tylko w komórkach płuc
- Wiadomo, że może infekować ptaki i prawdopodobnie pochodzi od ptasiego wirusa



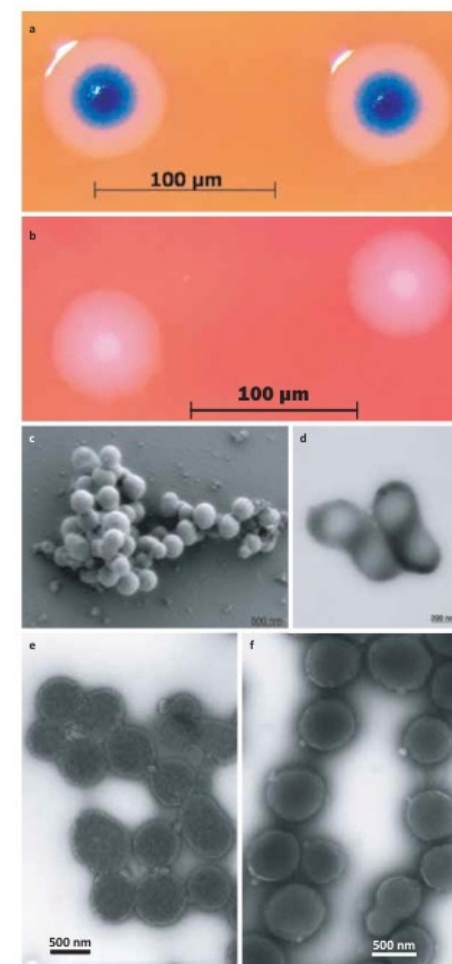
Grypa 1918 - bezpieczeństwo

- Projekt wzbudził wiele kontrowersji
- Zagrożenie, ale i korzyści
 - Lepiej rozumiemy, dlaczego pewne szczepy wirusa są bardziej niebezpieczne od innych
 - Wielu ludzi wciąż ma częściową odporność na wirusa 1918
 - Wiadomo, które leki na niego działają
 - W razie problemu łatwo będzie można stworzyć szczepionkę



Pierwszy syntetyczny funkcjonujący genom

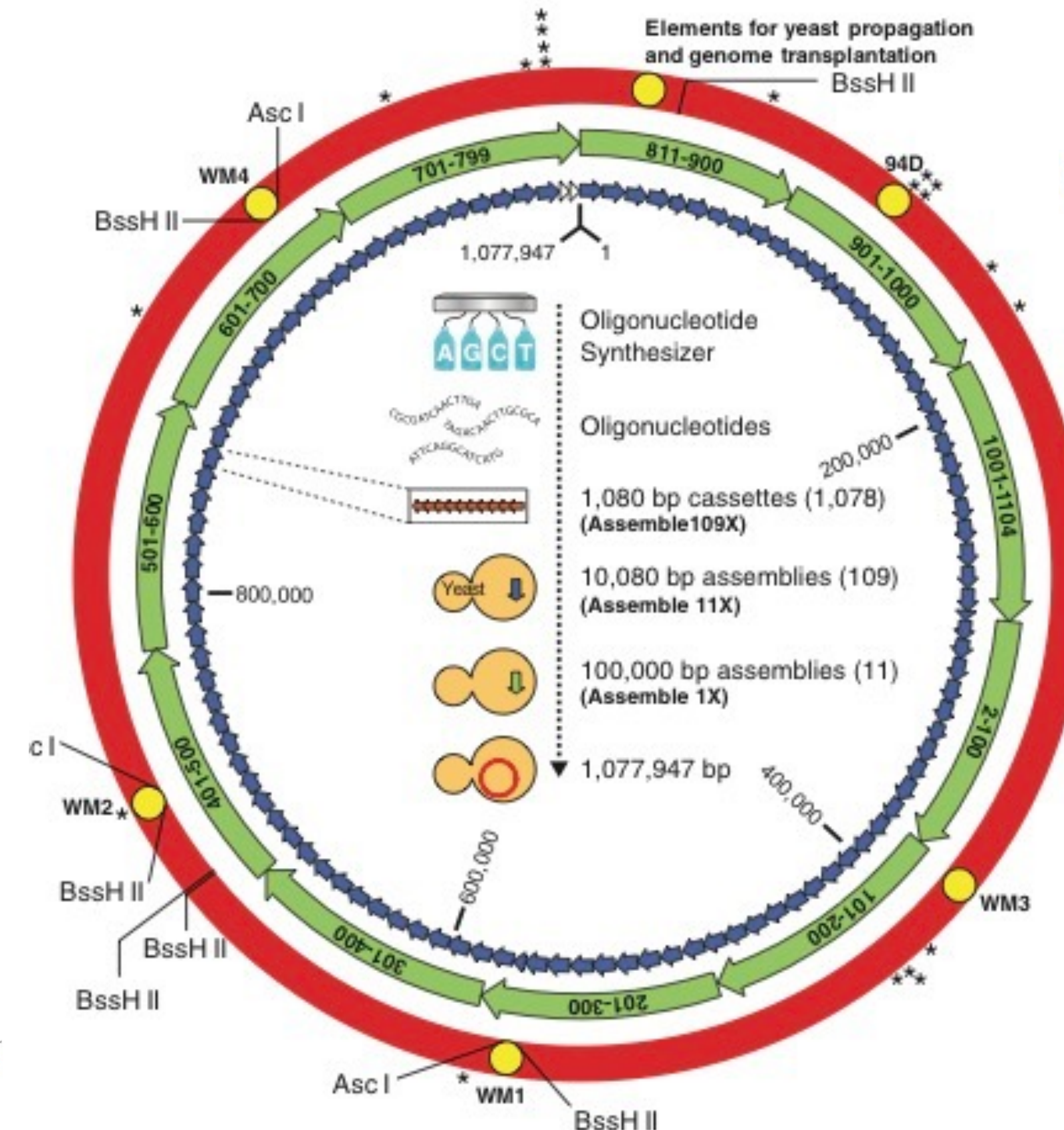
- 2010
- Syntetyczny genom *M. mycoides* JCVI-syn1.0 (~1 mln par zasad)
- Złożony z 1000 kaset po 1080 pz
- Składanie z pomocą drożdży



Gibson, D. G., J. I. Glass, C. Lartigue, V. N. Noskov, R.-Y. Chuang, M. A. Algire, G. A. Benders, M. G. Montague, L. Ma, M. M. Moodie, C. Merryman, S. Vashee, R. Krishnakumar, N. Assad-Garcia, C. Andrews-Pfannkoch, E. A. Denisova, L. Young, Z.-Q. Qi, T. H. Segall-Shapiro, C. H. Calvey, P. P. Parmar, C. A. Hutchison III, H. O. Smith, and J. C. Venter. 2010. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. Science, Published online May 20 2010.

Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome

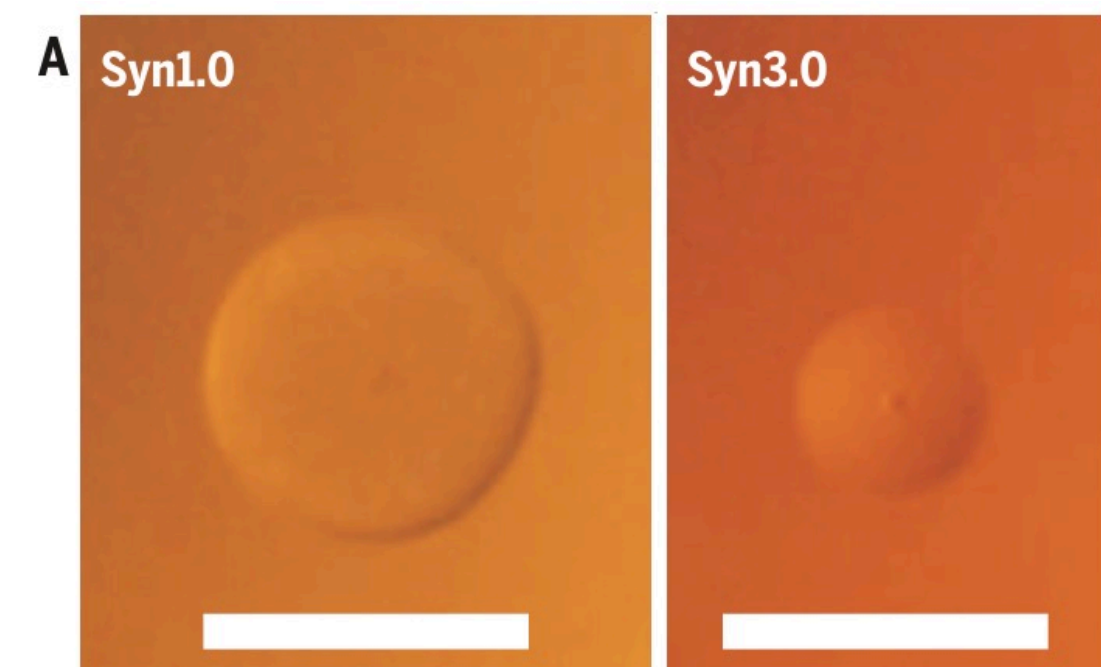
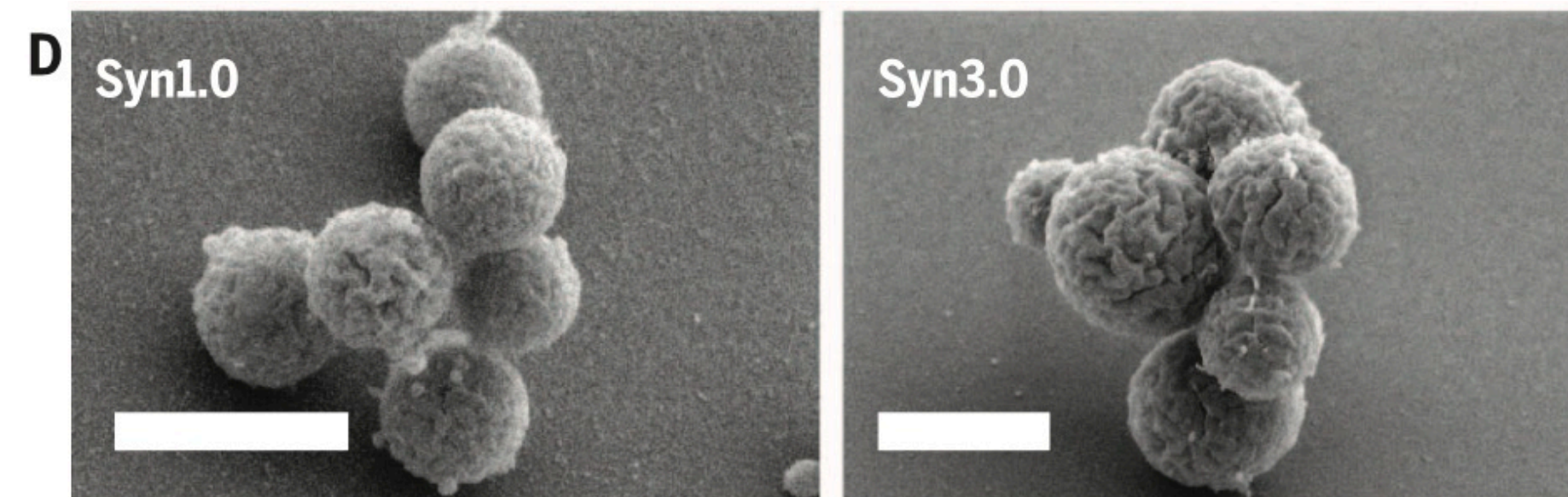
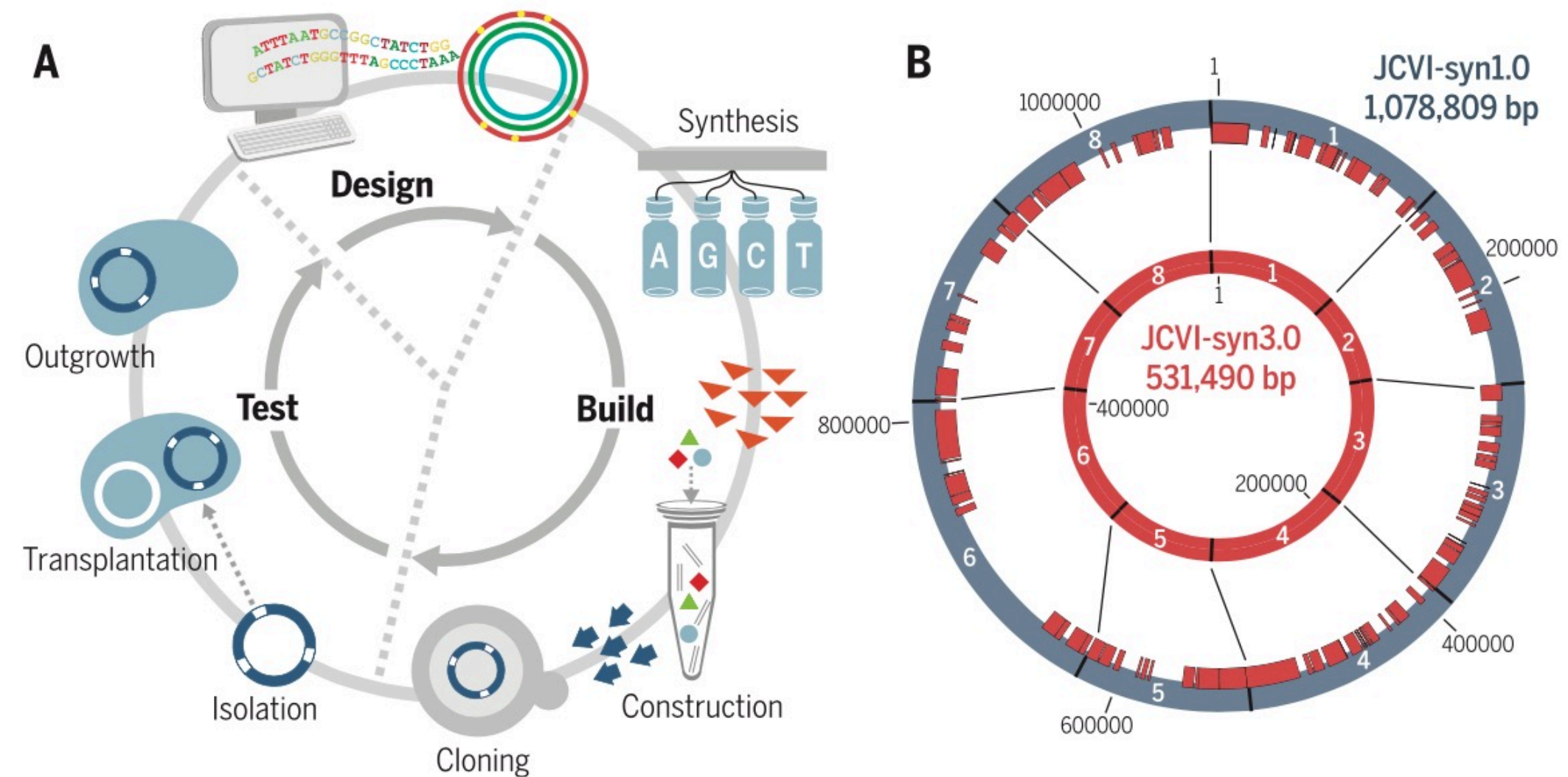
Daniel G. Gibson,¹ John I. Glass,¹ Carole Lartigue,¹ Vladimir N. Noskov,¹ Ray-Yuan Chuang,¹ Mikkel A. Algire,¹ Gwynedd A. Benders,² Michael G. Montague,¹ Li Ma,¹ Monzia M. Moodie,¹ Chuck Merryman,¹ Sanjay Vashee,¹ Radha Krishnakumar,¹ Nacyra Assad-Garcia,¹ Cynthia Andrews-Pfannkoch,¹ Evgeniya A. Denisova,¹ Lei Young,¹ Zhi-Qing Qi,¹ Thomas H. Segall-Shapiro,¹ Christopher H. Calvey,¹ Prashanth P. Parmar,¹ Clyde A. Hutchison III,² Hamilton O. Smith,² J. Craig Venter^{1,2*}



● “znaki wodne”

Kolejny krok - syntetyczny genom minimalny

- Na podstawie JCVI-syn1.0
- Usunięte geny, które nie są niezbędne do życia (w warunkach laboratorium)
- 531 kb, 473 geny

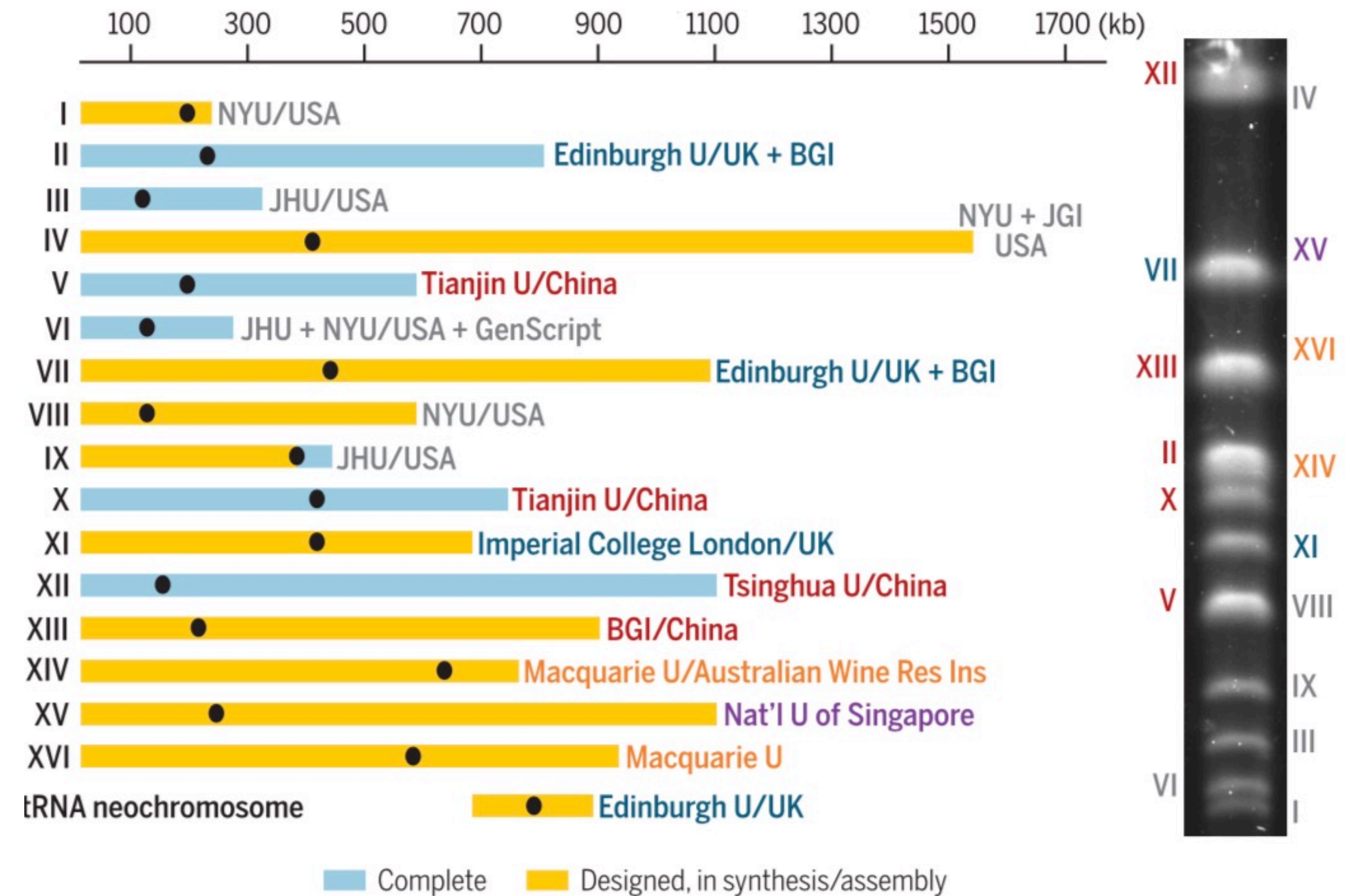
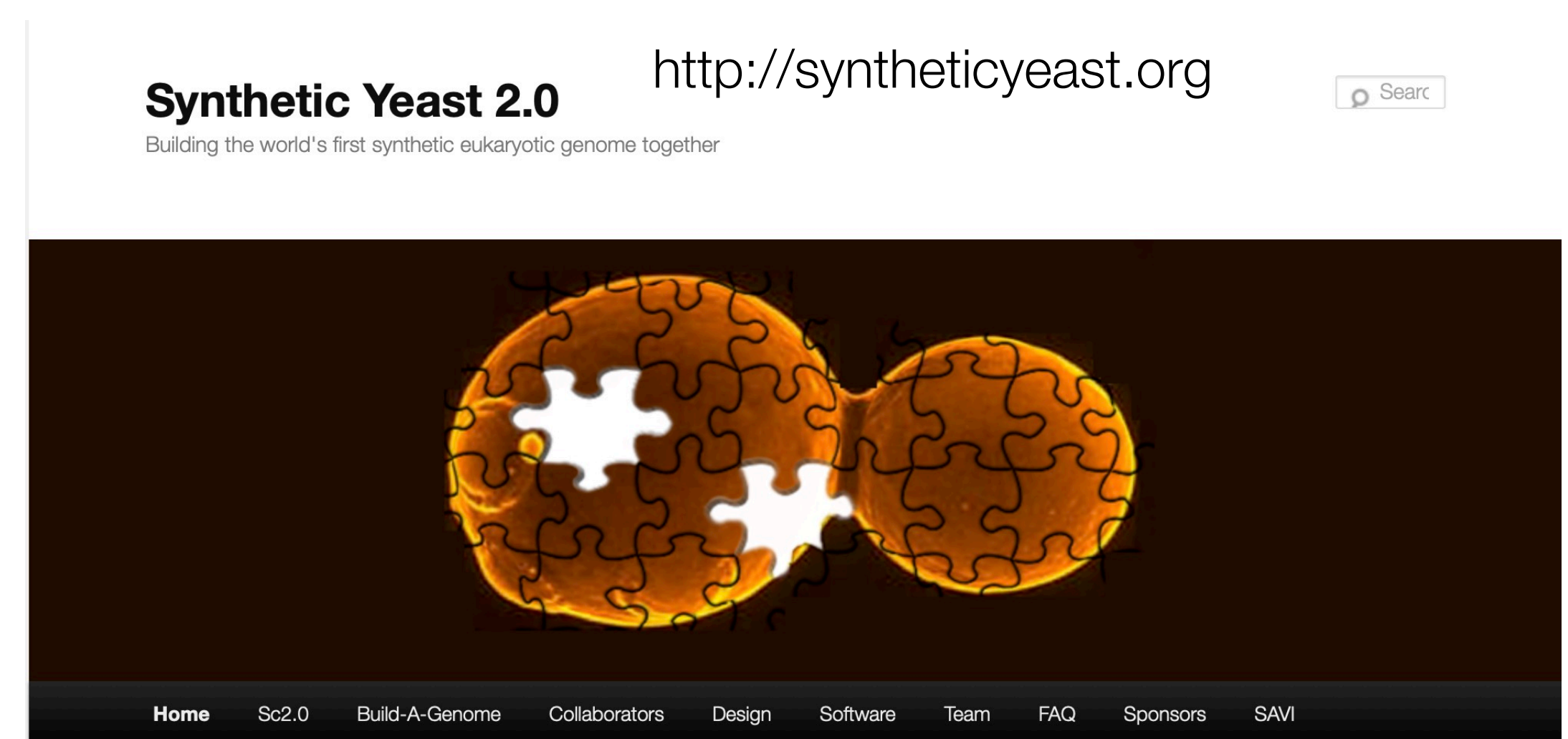


Design and synthesis of a minimal bacterial genome

Clyde A. Hutchison III,^{*,†} Ray-Yuan Chuang,[†] Vladimir N. Noskov, Nacyra Assad-Garcia, Thomas J. Deerinck, Mark H. Ellisman, John Gill, Krishna Kannan, Bogumil J. Karas, Li Ma, James F. Pelletier, Zhi-Qing Qi, R. Alexander Richter, Elizabeth A. Strychalski, Lijie Sun, Yo Suzuki, Billyana Tsvetanova, Kim S. Wise, Hamilton O. Smith, John I. Glass, Chuck Merryman, Daniel G. Gibson, J. Craig Venter*

Drożdże 2.0 - syntetyczny genom eukariotyczny

- Projekt stworzenia syntetycznego genomu *S. cerevisiae*



Design of a synthetic yeast genome

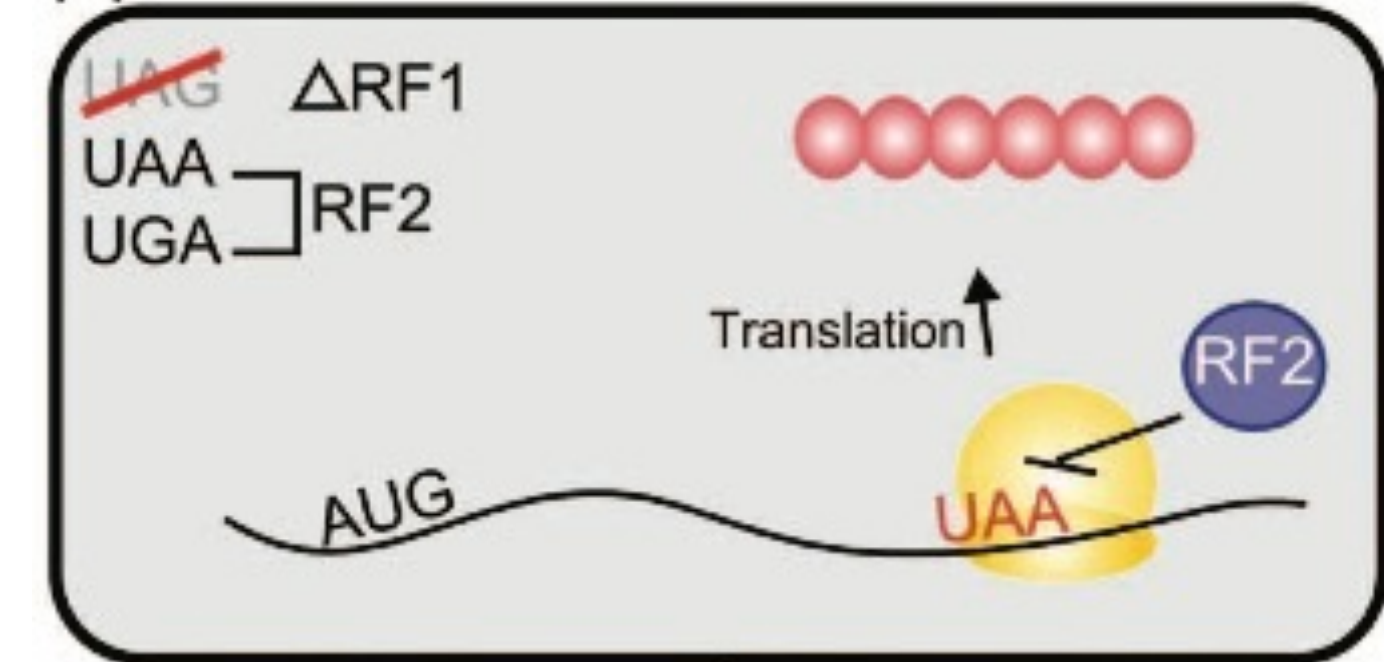
Sarah M. Richardson,^{1,2*} Leslie A. Mitchell,^{2,3} Giovanni Stracquadanio,^{1,2,4} Kun Yang,^{1,2} Jessica S. Dymond,^{2,†} James E. DiCarlo,^{2,‡} Dongwon Lee,^{1,§} Cheng Lai Victor Huang,² Srinivasan Chandrasegaran,⁵ Yizhi Cai,^{2,6} Jef D. Boeke,^{2,3,#} Joel S. Bader^{1,2,#}

Richardson *et al.*, *Science* **355**, 1040–1044 (2017)

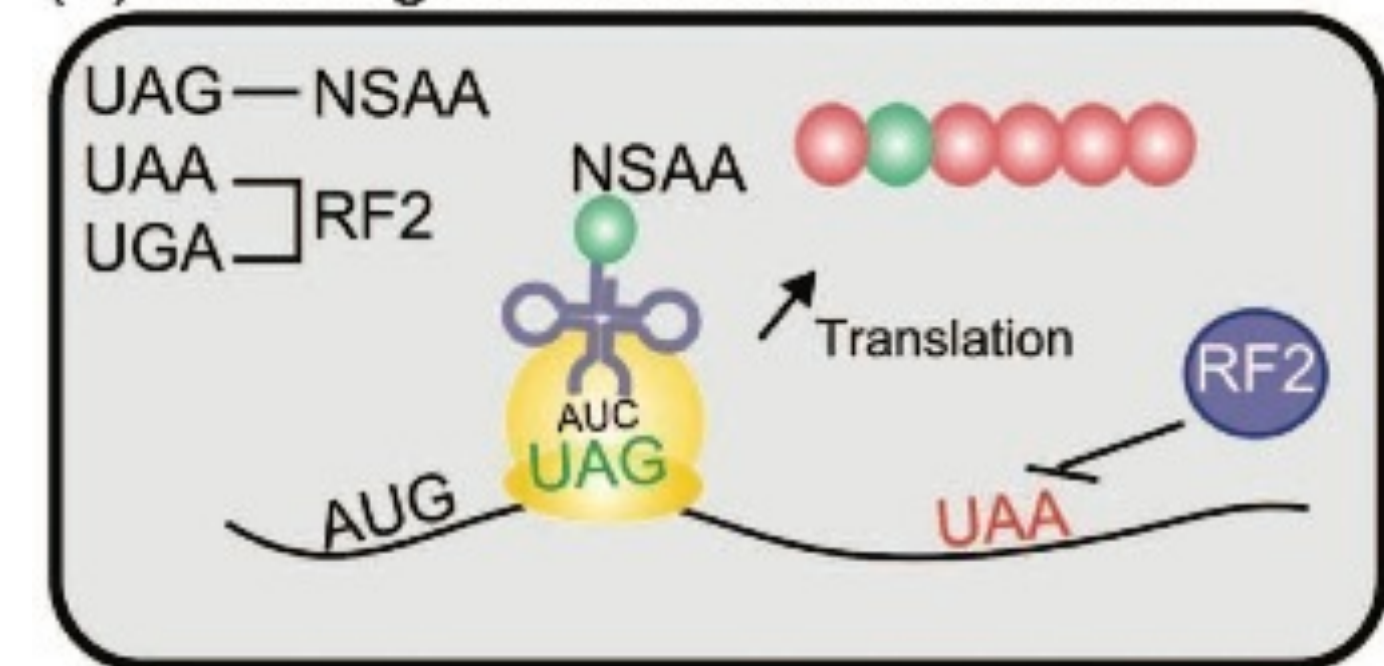
Inżynieria kodu genetycznego

- Zmiana kodonu stop na sensowny (może kodować niestandardowy aminokwas)
- Wprowadzenie równoległego kodu, np. czwórkowego, kodującego niestandardowe aminokwasy

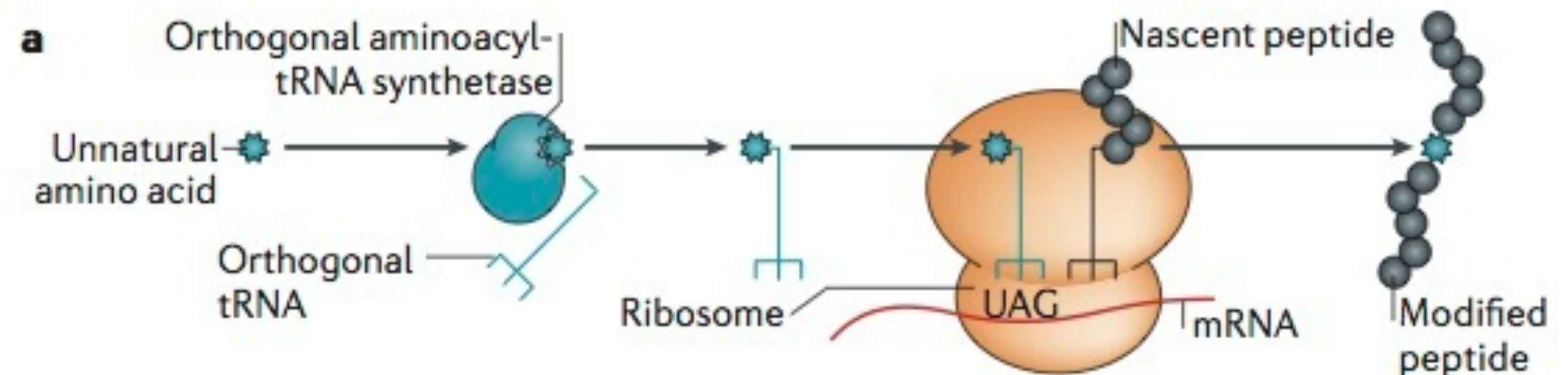
(2) Eliminate UAG termination: Δ RF1



(3) Reassign UAG as sense codon



Lajoie et al., 2013, Science 342: 357-342



Davis, L., and Chin, J.W. (2012). Nat Rev Mol Cell Biol 13, 168–182.

Podójście “od dołu” (bottom-up)

- Repertuar elementów i podstawowych obwodów
- Matematyczny model elementów
- Projektowanie i skłádanie systemów z elementów (cegiełek)

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial [mRNA_{cl}]}{\partial t} = \frac{p_{cl} \max \text{transcription rate} \times K_{mLacI}^n}{K_{mcl}^n + [LacProtein]^n} - \text{degradation rate}[clmRNA] \\ \frac{\partial [Protein_{cl}]}{\partial t} = \max \text{translation rate}[clmRNA] - \text{degradation function} \\ \text{degradation function}[clProtein] \begin{cases} \text{degradation rate}[clProtein] & \text{if } T < 40C \\ \text{current } cl \text{ protein concentration} & \text{if } T \geq 42C \end{cases} \end{array} \right.$$

When LacI dependent promoter is active:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial [mRNALacI]}{\partial t} = \frac{p_{Lac} \max \text{transcription rate}_{Lac} \times K_{mcl}^n}{K_{mcl}^n + [clProtein]^n} - \text{degradation rate}[LacImRNA] \\ \frac{\partial [LacIProtein]}{\partial t} = \max \text{translation rate}[LacImRNA] - \text{degradation rate}[LacIProtein] \\ \frac{\partial [IPTG]}{\partial t} = -kb[LacI][IPTG] + kd[IPTGLacIcomplex] \\ \frac{\partial [IPTGLacIcomplex]}{\partial t} = kb[LacI][IPTG] - kd[IPTGLacIcomplex] \end{array} \right.$$



Obwody biologiczne

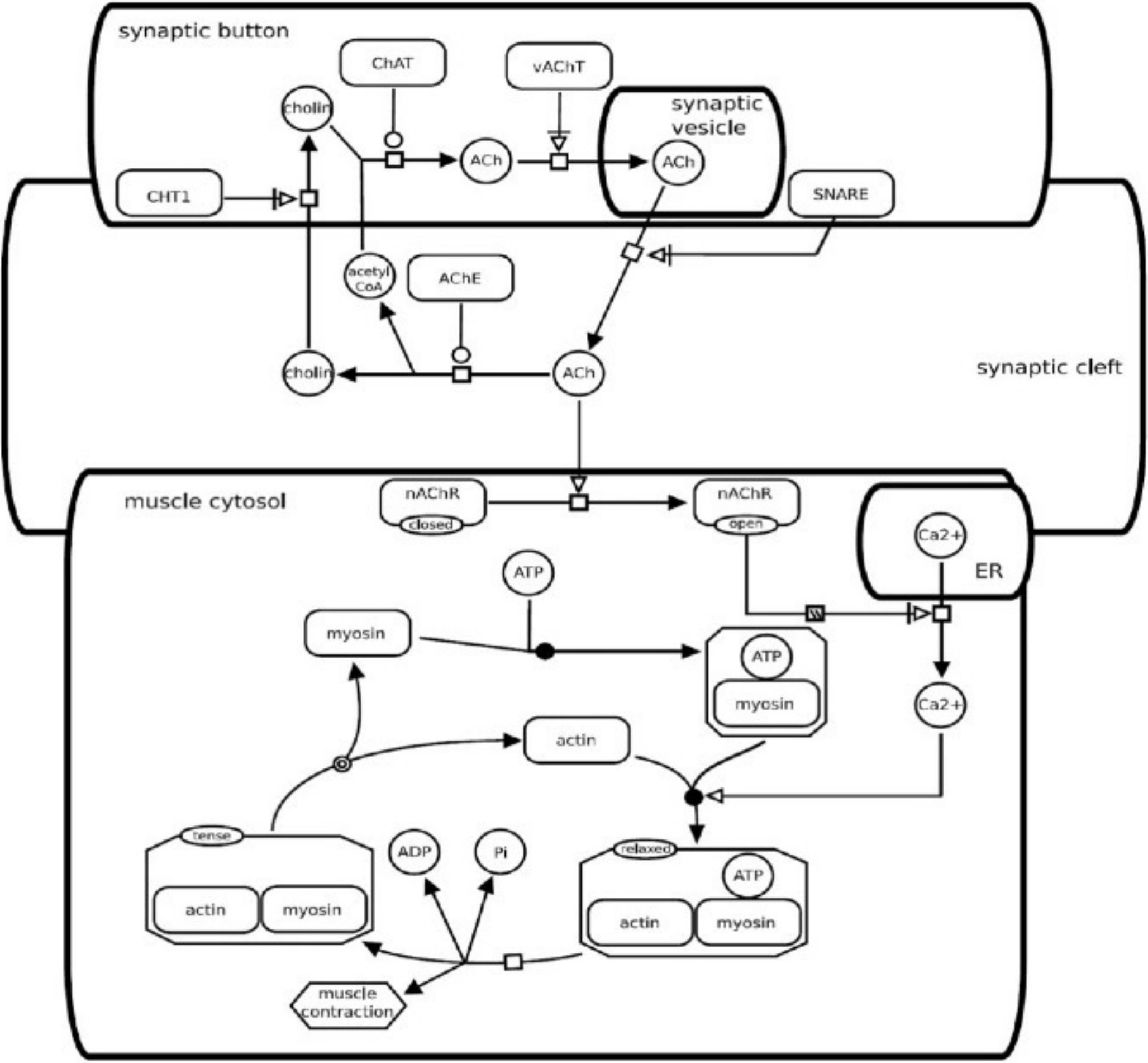
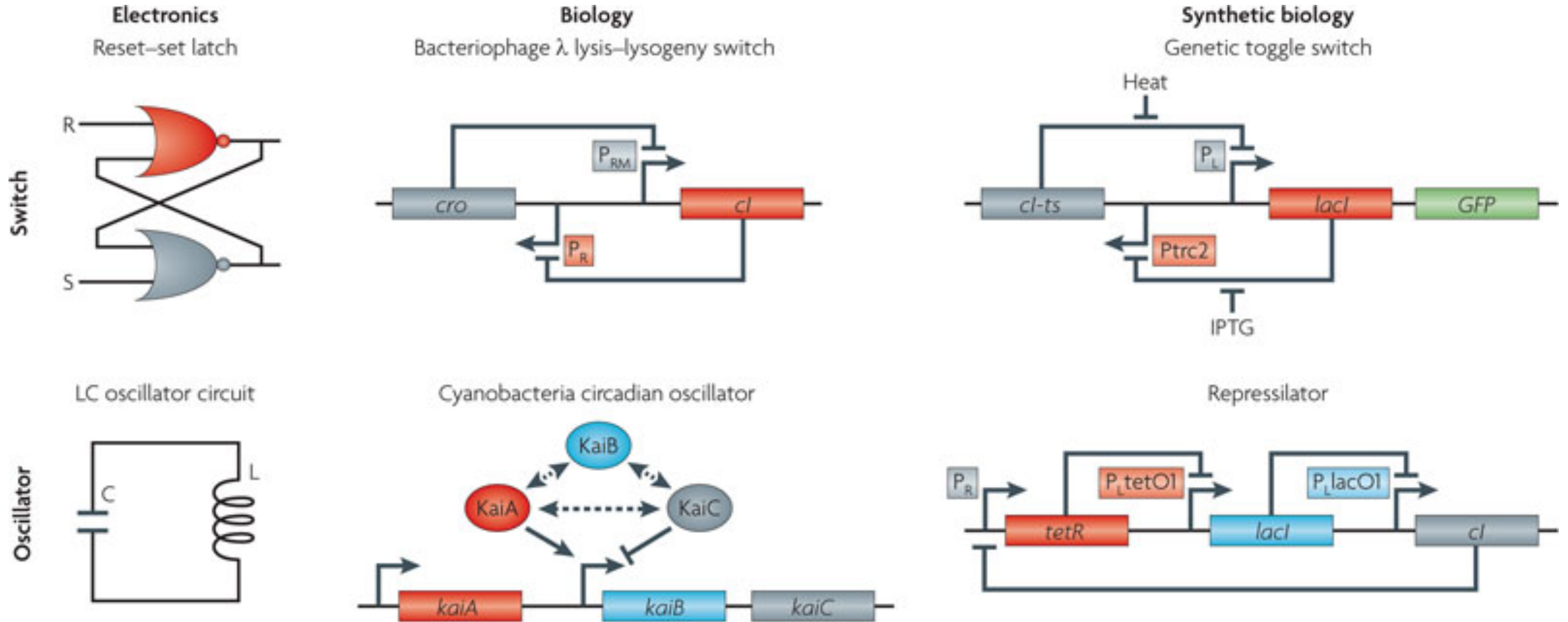


Figure 3: SBGN network example. of inter-cellular signaling near the neuromuscular junction [22, 23]. Biological

Alterovitz G, Muso T, Ramoni MF. The challenges of informatics in synthetic biology: from biomolecular networks to artificial organisms. *Brief Bioinform.* 2010 Jan;11(1):80-95

Metafora obwodu



Biologia syntetyczna *open source*

- Etos otwartości i wymiany informacji w biologii syntetycznej silniejszy, niż w tradycyjnej biologii molekularnej
- OpenWetware



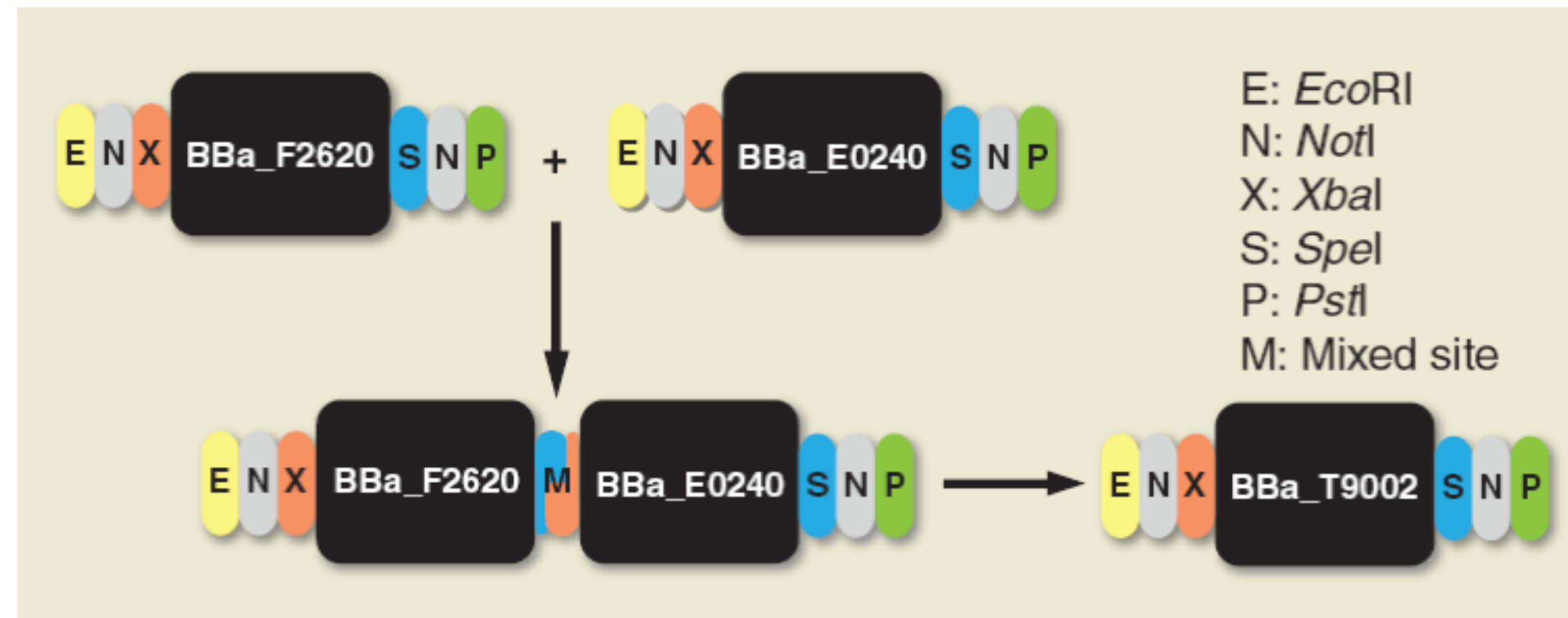
OpenWetWare is an effort to promote the sharing of information, know-how, and wisdom among researchers and groups who are working in biology & biological engineering. **Learn more about us.** **If you would like edit access, would be interested in helping out, or want your lab website hosted on OpenWetWare, please join us.** OpenWetWare is managed by the **BioBricks Foundation** [↗](#).

Format BioBrick



BBa standard:

- prefix: EcoRI/NotI/XbaI
- suffix: BcuI/NotI/PstI



http://partsregistry.org/Main_Page

iGEM

- International Genetically Engineered Machine competition (iGEM)
- Studenci i doktoranci



Synthetic Biology
based on standard parts

“What I cannot build I cannot understand”

– Richard Feynman

Mutacje i interakcje genetyczne

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

Mutacje w ujęciu funkcjonalnym

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

- Rearanżacje genomu
- Zmienność liczby kopii fragmentów
- Zmienność na poziomie genów
 - obszary kodujące (białka i funkcjonalne RNA)
 - obszary regulatorowe

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 - insercje lub delecje (indele)
 - zmienia sekwencję i/lub długość kodowanego białka poniżej miejsca wystąpienia
- Delecje lub insercje w kodowanym białku
 - indele 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 – deficyjencja (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, obróbka RNA, stabilność, translacja
 - obniżona aktywność (np. katalityczna)
- Często recesywne

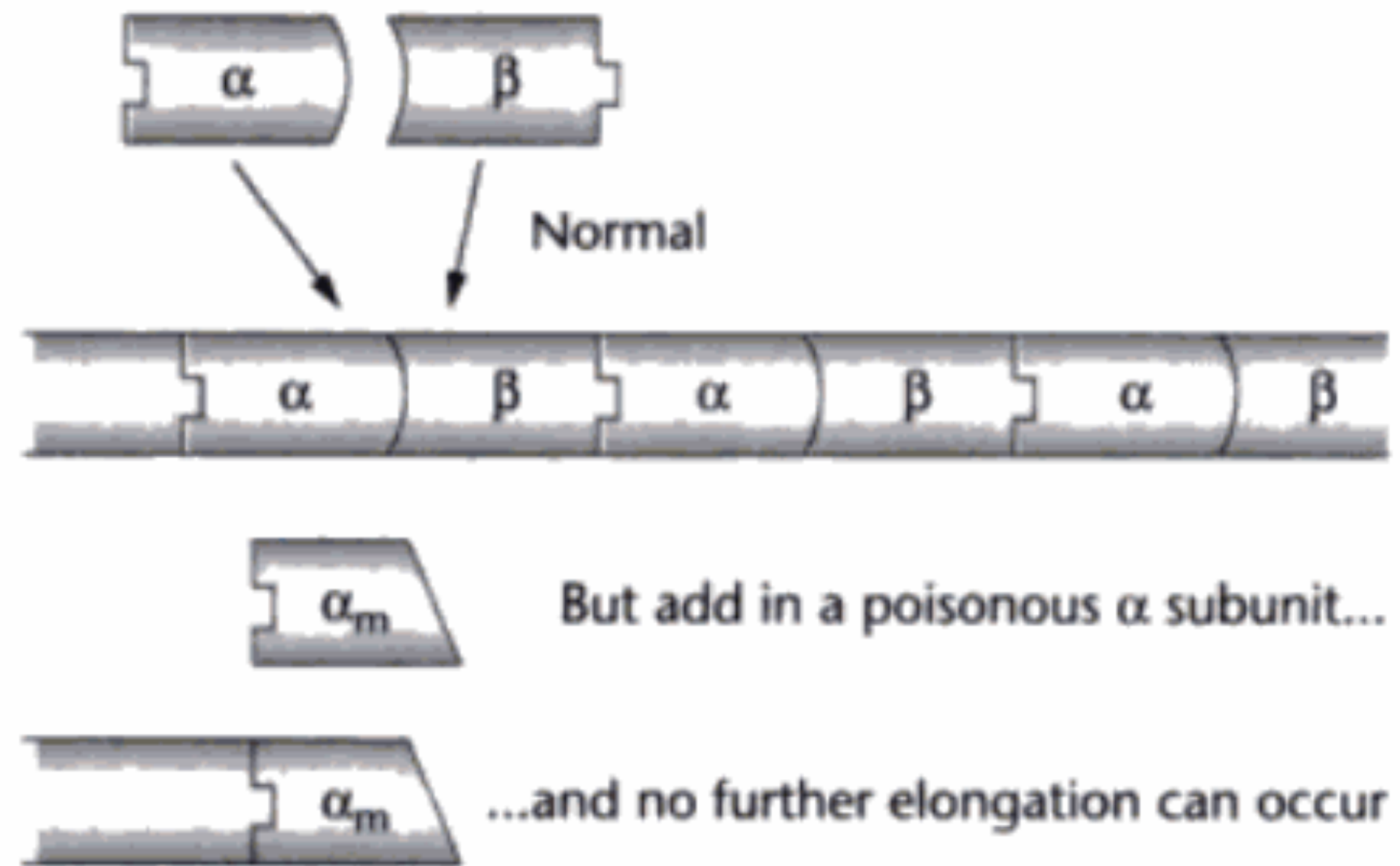
Hipermorfy

- Zwiększona aktywność (typu dzikiego) produktu
- Fenotyp wynika z:
 - nadmiaru produktu genu (nadekspresja)
 - nadmiernie wysokiej aktywności produktu

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*)

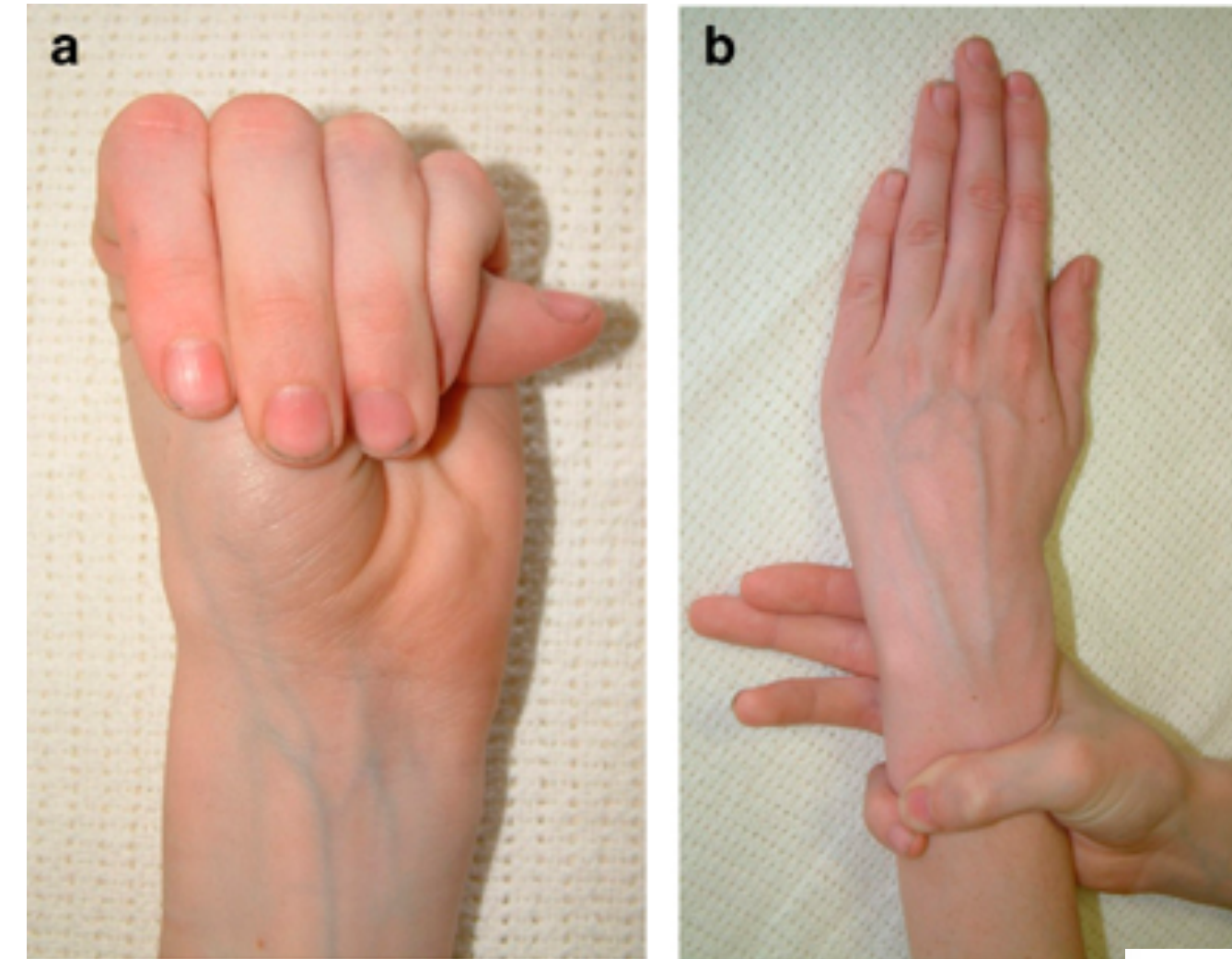
Antymorfy



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 urodzeń



Sławni muzycy chorzy na zespół Marfana

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



Neomorfy

- Zmieniona (nowa) funkcja genu
- Aktywność genu w niewłaściwym miejscu lub czasie (heterochronia)
 - przykład: chłoniak Burkitta: translokacja fragmentu chromosomu 8 na 14 przenosi gen *c-myc* pod kontrolę silnego promotora IGHα aktywnego w limfocytach
- Zmieniona funkcja, ale nie antagonistyczna dla produktu dzikiego
 - Wiele mutantów regulatorowych
 - Np. białko pozbawione domeny odpowiadającej za regulację aktywności, konstytutywnie aktywne

Neomorf - przykład heterochronii

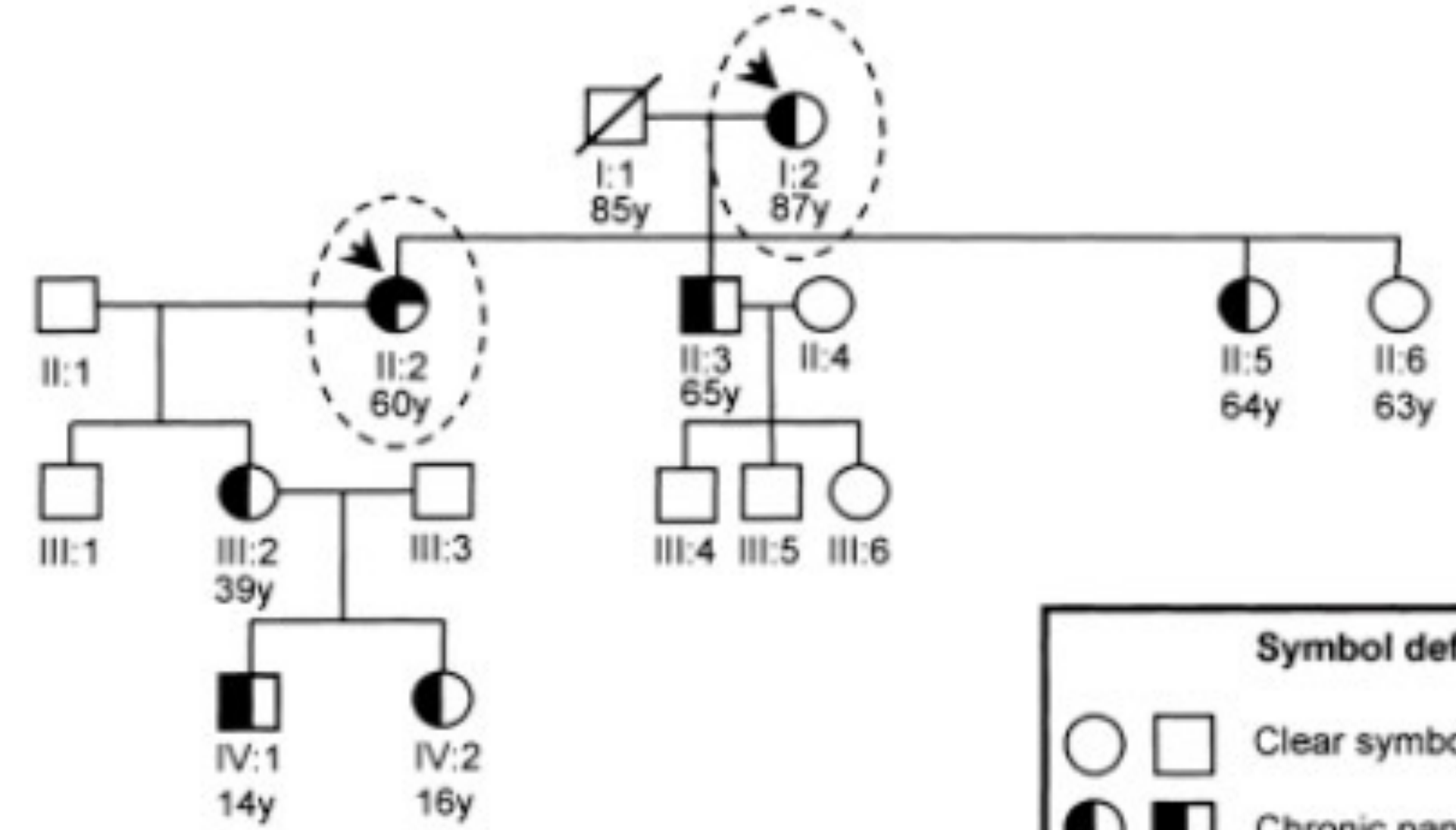
- *Antennapedia* (*Antp73b*)
- Sekwencja genu *Antp* przeniesiona w pobliże promotora genu ulegającego ekspresji w głowie
- Rozwój odnóży na segmencie głowowym



Dziedziczne zapalenie trzustki

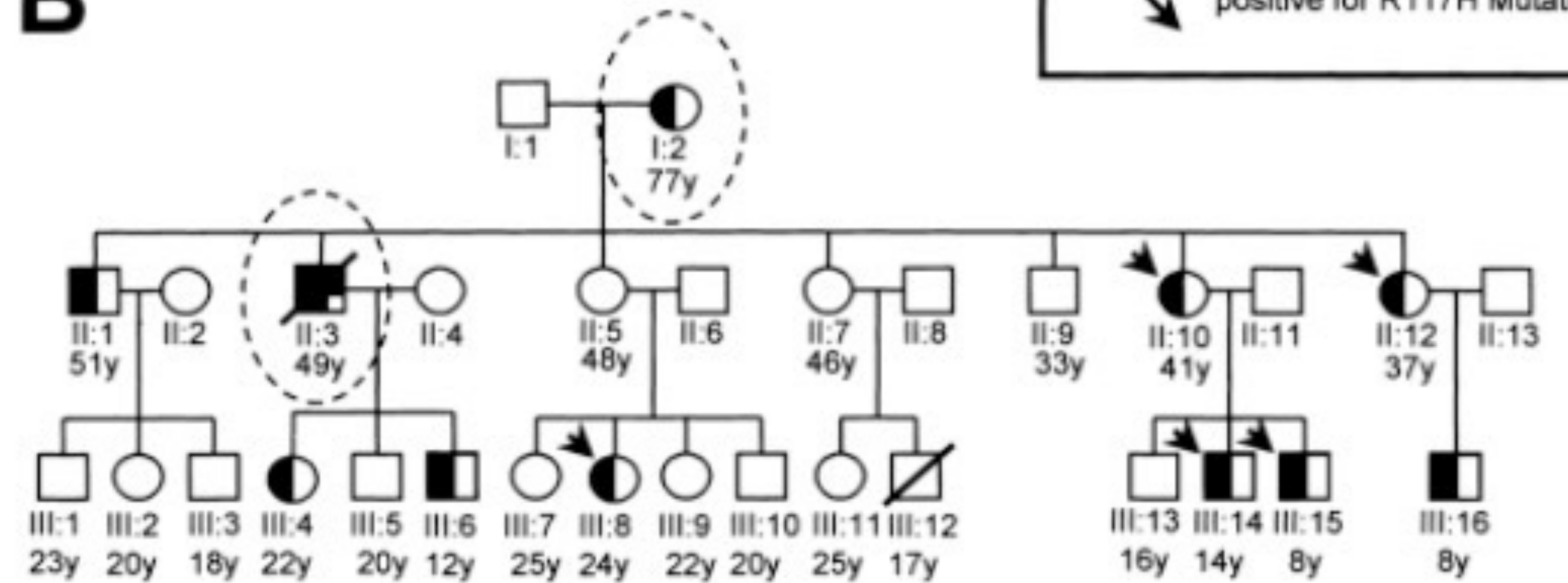
- Choroba dominująca autosomalna
- Przewlekłe zapalenie trzustki. Niekiedy z rozwojem raka trzustki
- Najczęściej mutacje w genie kodującym trypsynę

A



Symbol definitions	
○ □	Clear symbol
◐ ◑	Chronic pancreatitis
◑ ◐	Chronic pancreatitis + Pancreatic cancer
↘	positive for R117H Mutation

B



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

Mutacje utraty funkcji

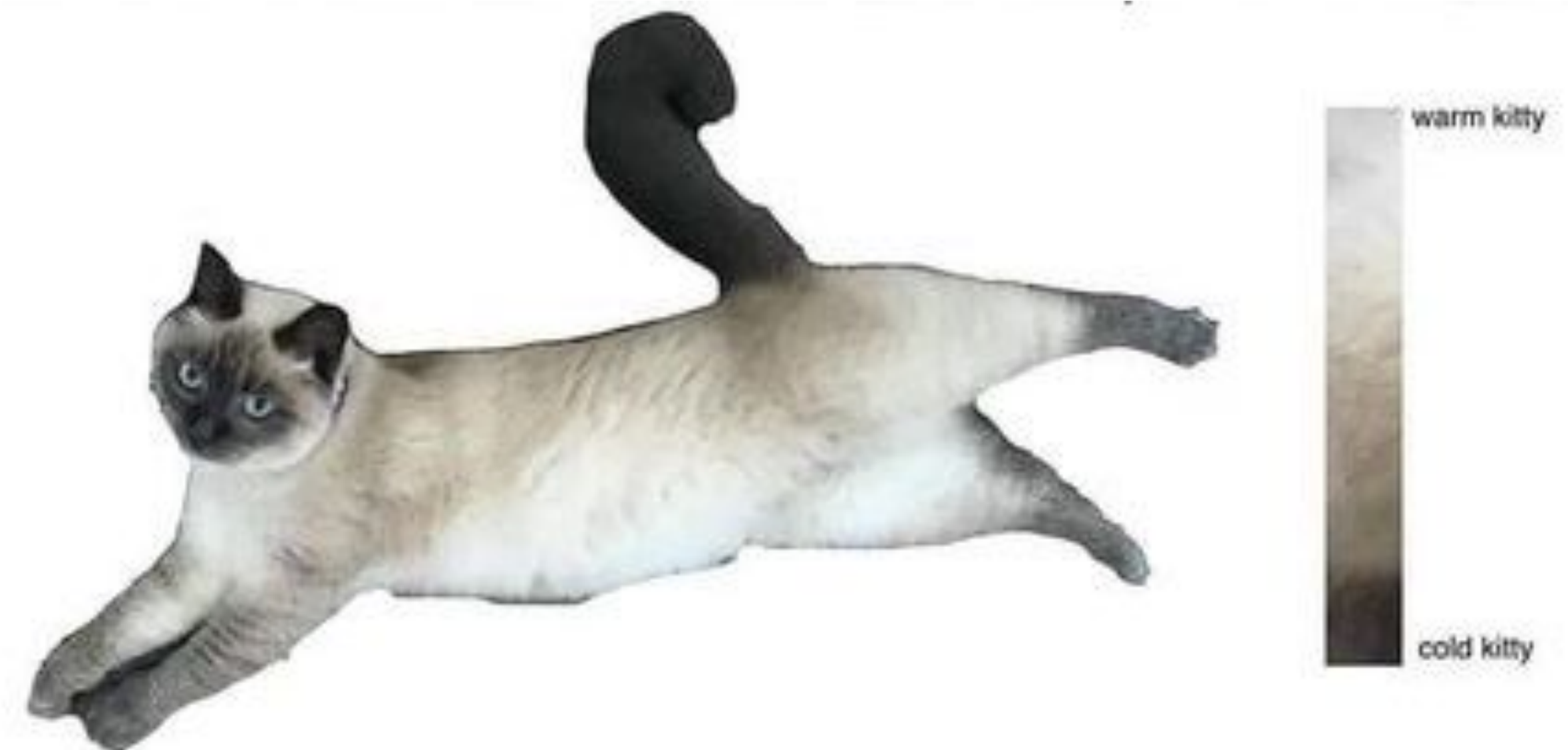
- *Null* – całkowita utrata funkcji. Np. deficyjencja.
- Częściowa utrata funkcji (hipomorf). Dotyczy poziomu produktu lub jego aktywności.

Mutacje utraty funkcji warunkowe

- W optymalnych warunkach (permissywnych) funkcja utrzymana, ale tracona w warunkach suboptymalnych (restryktywnych)
- Np. temperaturo-wrażliwe – utrata aktywności tylko w warunkach restrykcyjnych - np. podwyższona (*ts*) lub obniżona (*cs*) temperatura.
- Najczęściej *ts* - mutacja obniża stabilność białka, w wyższej temperaturze traci właściwą konformację
- Ważne narzędzie do badania genów, w których mutacje *null* są letalne
- Mutanty *ts* często są hipomorficzne w temperaturze permissywnej

Allele warunkowe

- U kotów syjamskich barwa zależy od ekspresji allelu c^s
- Gen *TYR* (tyrozynaza) - szlak wytwarzania melaniny
- Produkt allelu c^s - aktywność zależna od temperatury
- Wysoka temperatura obniża aktywność
- Chłodniejsze części ciała są ciemniejsze
 - koty niewychodzące są jaśniejsze
 - kocięta są białe, ciemnieją później
- Inny allel tego samego genu - albinizm (nie warunkowy)



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 już 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%
- Ssaki: >40% na poziomie organizmu, ~10% na poziomie komórek

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

- 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)

Dominacja i recesywność

- Mutacje nullomorficzne i hipomorficzne (utrata 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
 - U drożdży stwierdzono dla około 3% (~200) genów
 - Zdarza się haploinsuficjencja warunkowa – heterozygota objawia fenotyp tylko w konkretnych warunkach środowiska

Choroby dominujące

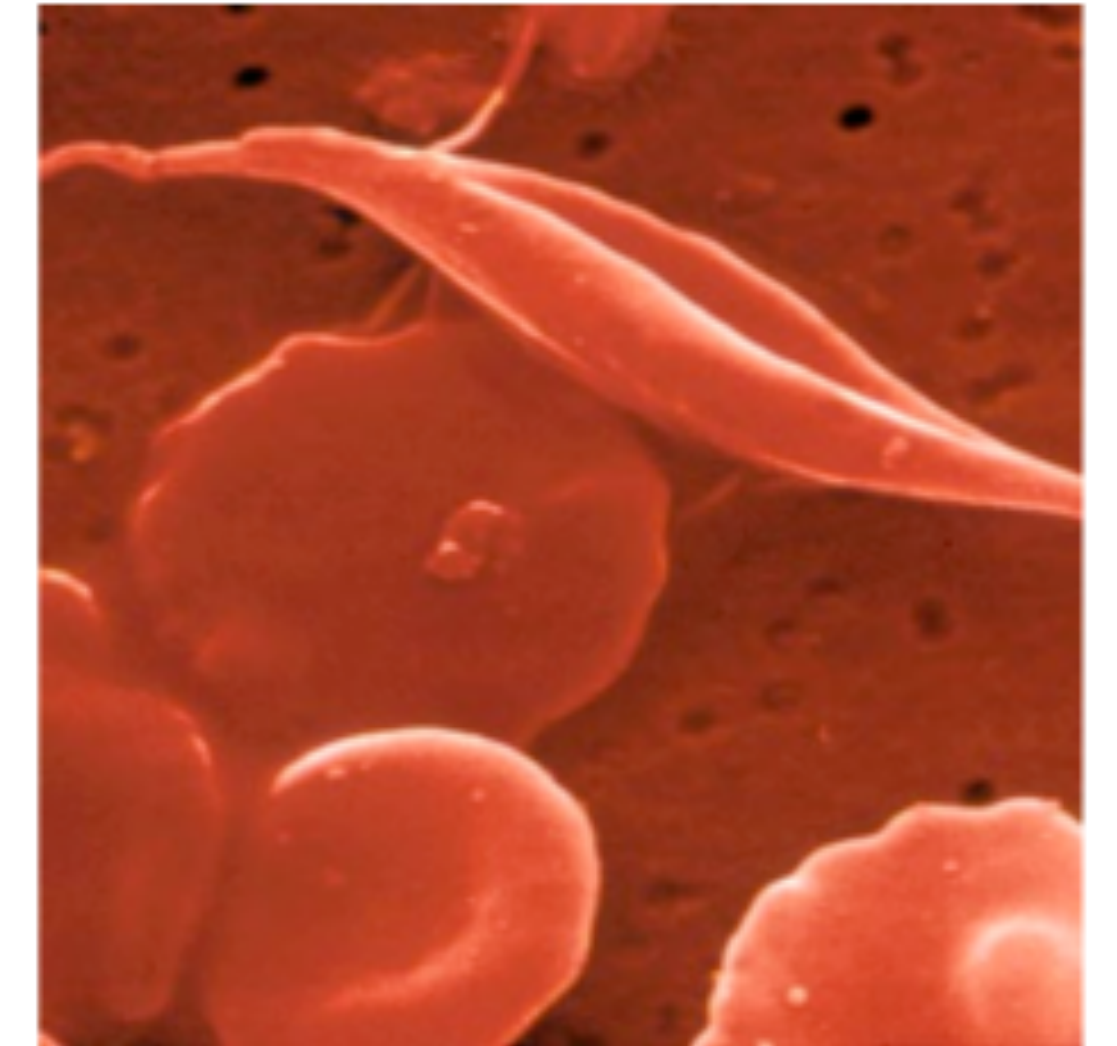
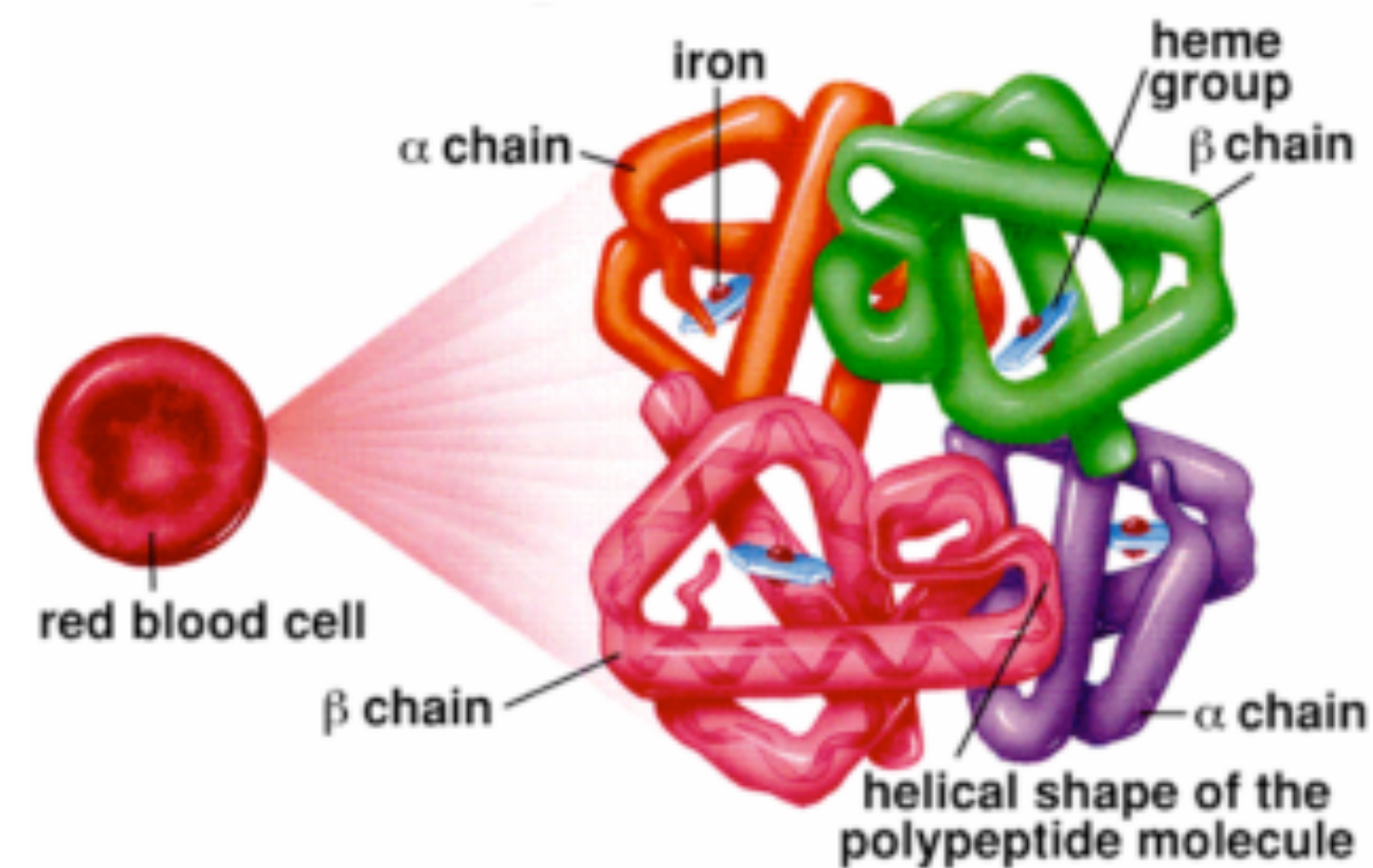
- Jednym z mechanizmów jest haploinsuficjencja
- Chorzy są heterozygotami, u homozygot zwykle dużo cięższe objawy albo letalność

Rodzinna hipercholesterolemia

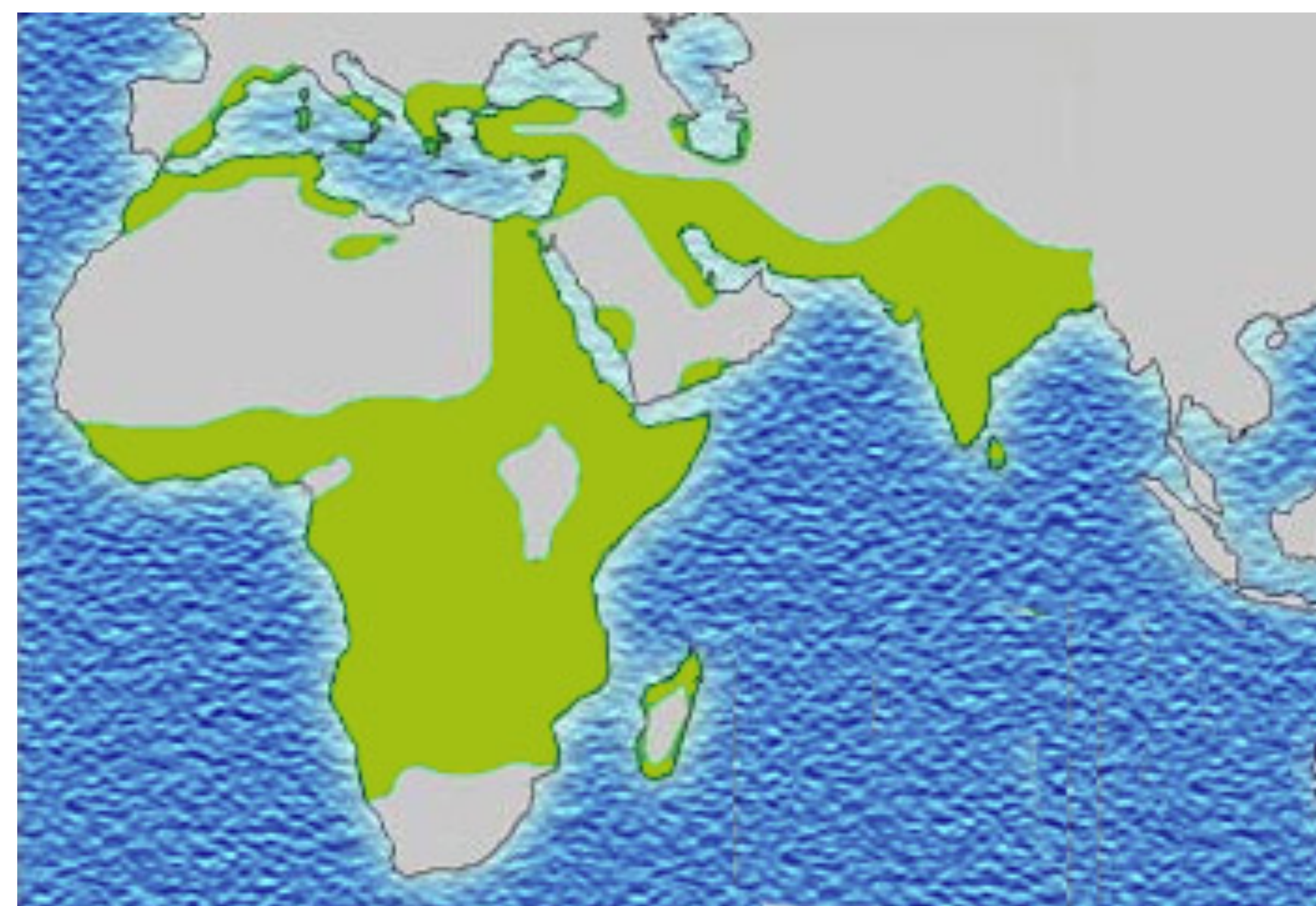
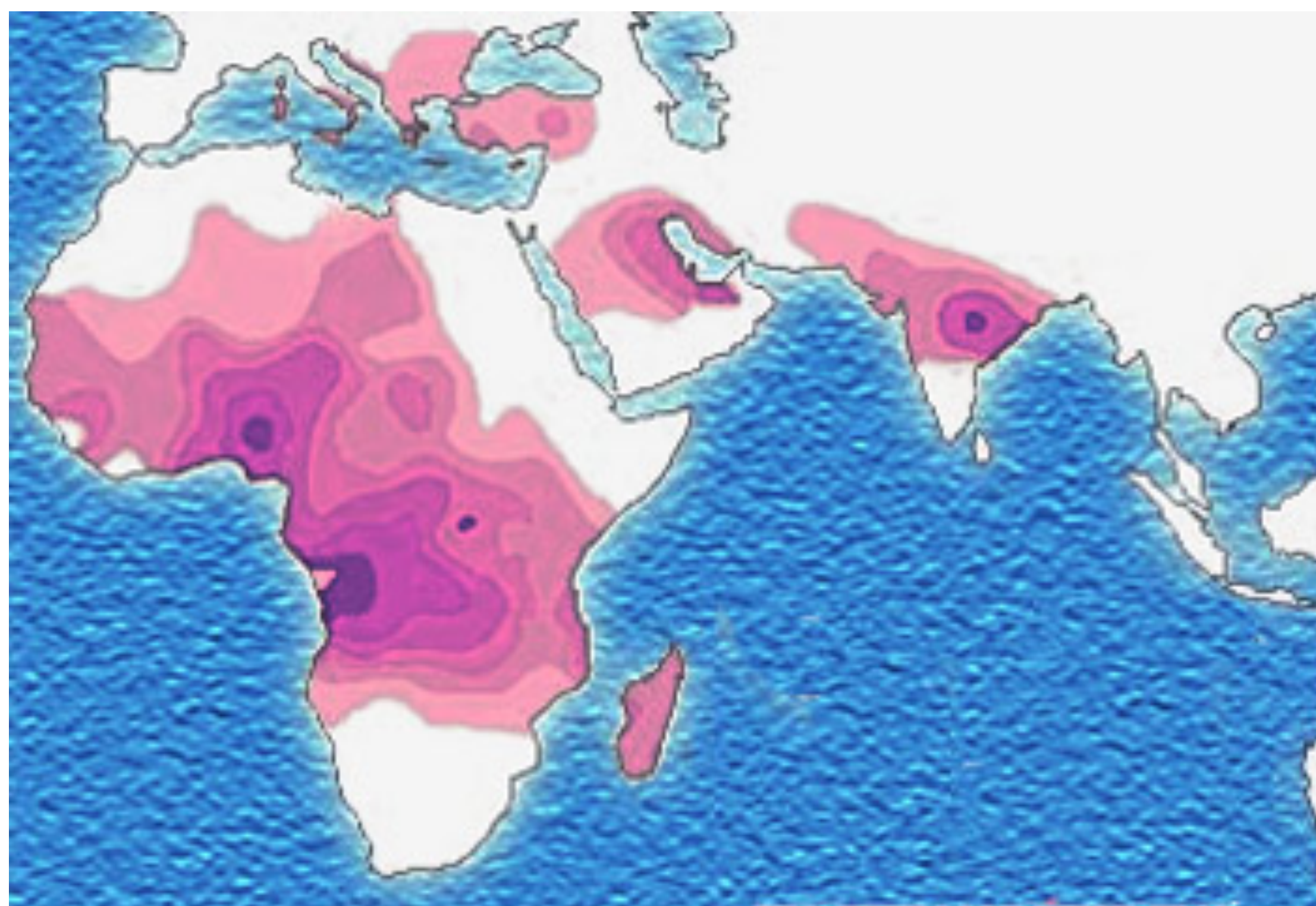
- Mutacje w genach LDLR (receptor LDL – *low density lipoprotein*) i ApoB (apolipoproteina B – część kompleksu LDL odpowiedzialna za oddziaływanie z receptorem)
- Heterozygoty: podwyższony poziom LDL we krwi, miażdżyca, choroby serca ok. 40 r. życia
 - leczenie: statyny, dieta
- Homozygoty: ciężkie schorzenia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

Dominacja warunkowa

- Anemia sierpowata
 - Mutacje w genie β -globiny (HbS)
 - Choroba recesywna, ale w warunkach niskiego ciśnienia (wysoko w górach) nosiciele (heterozygoty) chorują – warunkowa dominacja
 - Dodatkowy fenotyp – odporność na malarię, fenotyp dominujący
 - W rejonach występowania malarii heterozygoty mają przewagę selekcyjną nad obiema homozygotami – naddominacja



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

Mutacje dominujące

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

Interakcje genetyczne

Od ujęcia klasycznego do biologii systemów

Interakcje genetyczne

- Oddziaływania funkcjonalne między różnymi mutacjami
 - w obrębie tego samego genu
 - pomiędzy genami

W obrębie jednego genu - rewersja i pseudorewersja

- Rewersja: mutacja powrotna, w tej samej pozycji przywraca dziki allel
- Pseudorewersja: mutacja w innej pozycji tego samego genu przywraca dziki fenotyp

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

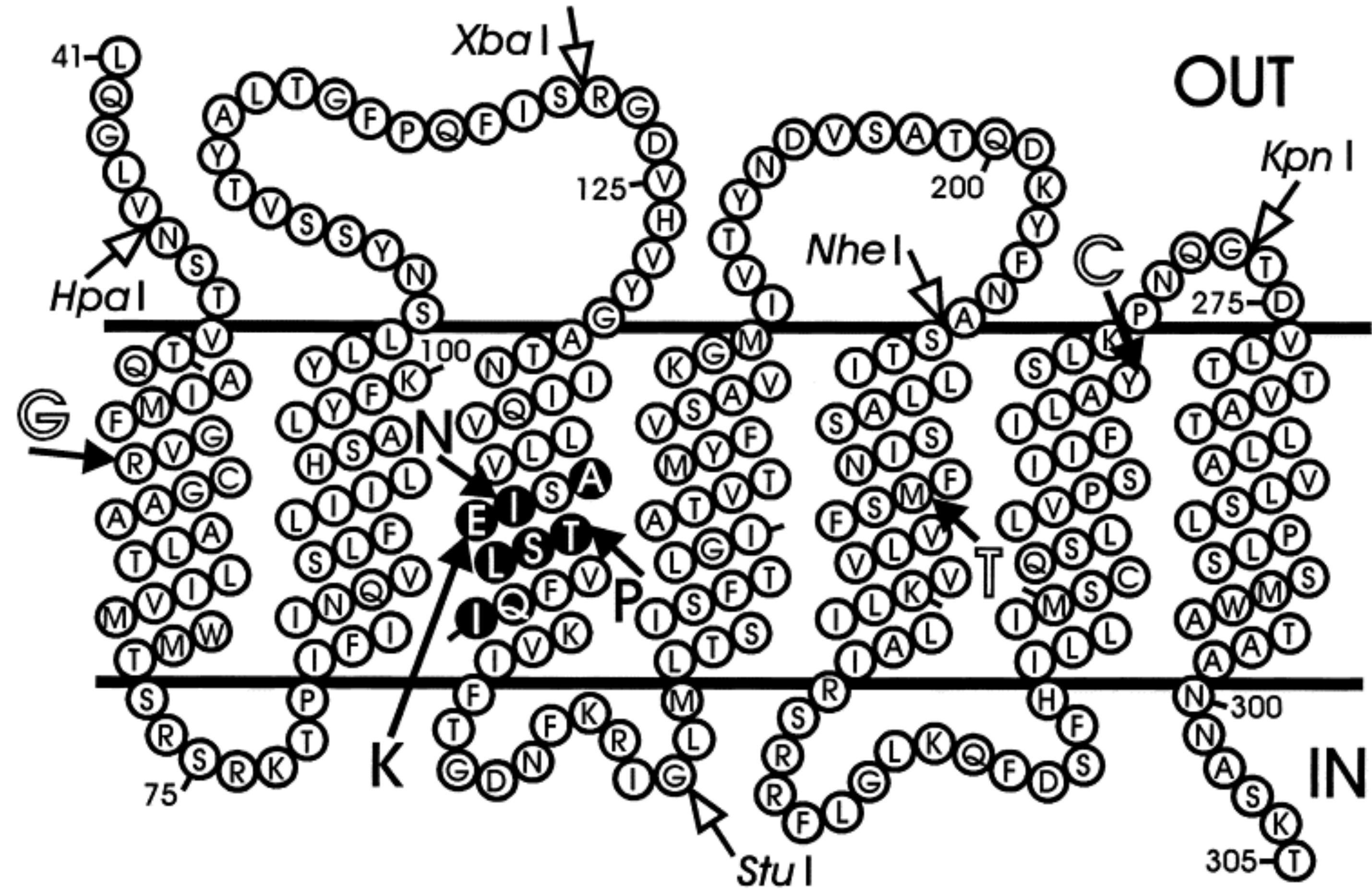
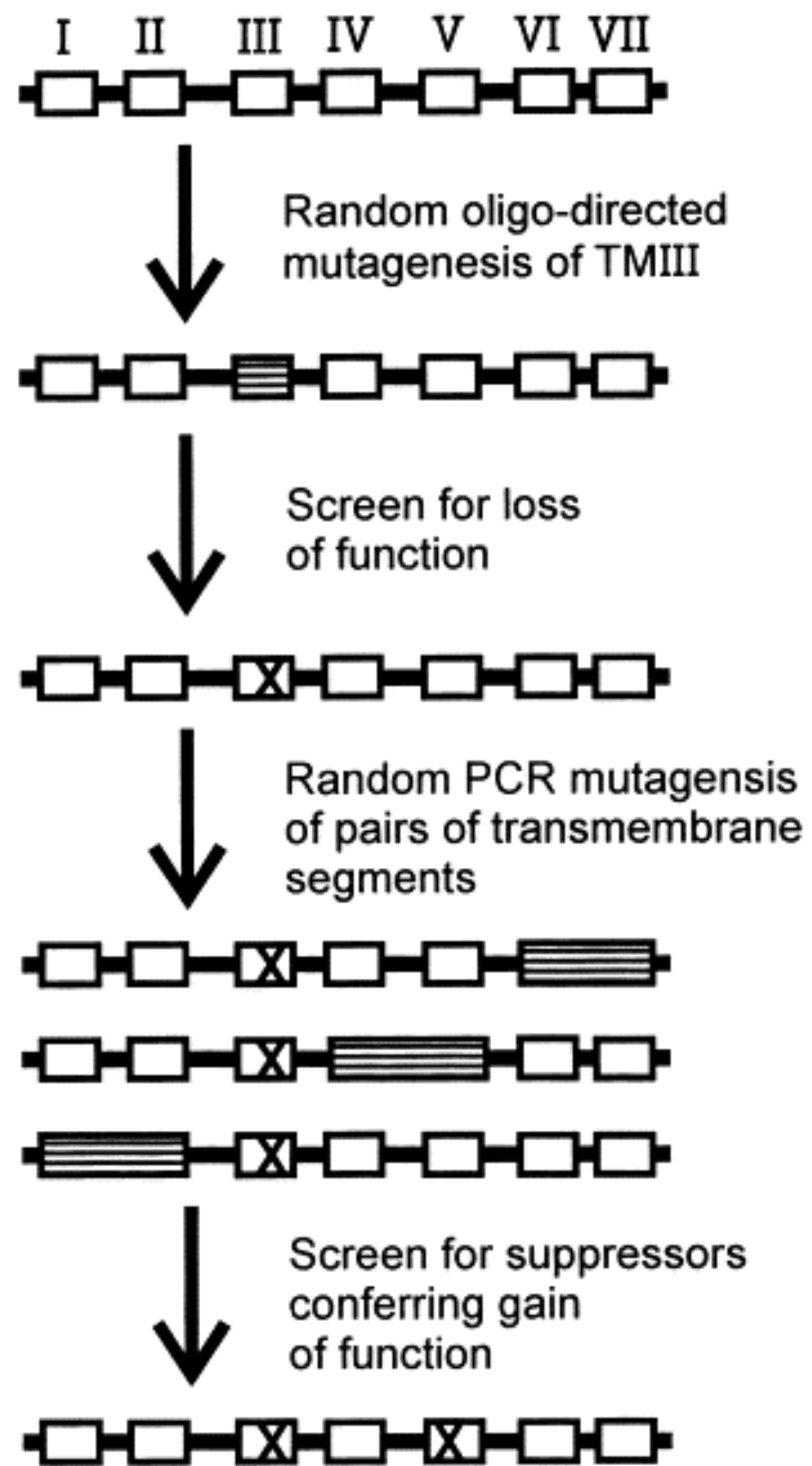
Rewersja - aspekt praktyczny

- Mutacje punktowe często ulegają rewersji - problemy z utrzymaniem szczepów mutantów
- Rozległe delecje nie ulegają rewersji
 - mutacje markerowe w szczepach laboratoryjnych powinny być delecjami
- Na podstawie rewersji można tworzyć bardzo czułe testy oznaczające częstość mutacji

Pseudorewersja

- “Supresja wewnątrzgenowa”
- Kolejna mutacja w innej pozycji tego samego genu odwraca efekt pierwszej mutacji
- Narzędzie do badania oddziaływań między aminokwasami wewnątrz białka

Pseudorewersja – badanie struktury białka



Interakcje między różnymi genami: od genetyki do biologii systemów

Interakcje genetyczne między różnymi genami

- Fenotyp podwójnego mutantu AB nie jest prostym połączeniem fenotypów mutacji A i B
- Gdy nie ma interakcji:
 - mutacja w (białe oczy) i mutacja y (żółte ciało) u *Drosophila*: mutant wy ma białe oczy i żółte ciało
 - mutacja $leu2$ i mutacja $ura3$ u drożdży: podwójny mutant $leu2, ura3$ wymaga leucyny i uracylu
- Ujęcie jakościowe wymaga dobrze zdefiniowanych, dyskretnych (0,1) fenotypów – np. letalność

Interakcje genetyczne między różnymi genami

- Dla ujęcia ilościowego wymagana jest liczbową miara fenotypu (fitness)
 - np. czas podziału (czas generacji) – czas wymagany do podwojenia liczby komórek w hodowli
 - np. mutant *m1* rośnie w tempie 0,5 dzikiego, mutant *m2* w tempie 0,9 dzikiego, przy braku interakcji wzrost podwójnego mutantu w tempie $0,5 \cdot 0,9 = 0,45$ dzikiego - model multiplikatywny

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 mutantu lżejszy (bliższy dzikiemu), niż przewidywany dla sumowania fenotypów mutantów pojedynczych
- **Syntetyczne, pogarszające, negatywne** (*negative, synthetic, aggravating interactions*)
 - Fenotyp podwójnego mutantu cięższy, niż przewidywany dla sumowania fenotypów pojedynczych mutantów