

A kompenzáló evolúció rendszerszintű
vizsgálata élesztőben

Boross Gábor Zoltán

Ph.D. értekezés tézisei

Témavezető: Dr. Papp Balázs

Biológia Doktori Iskola

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet
Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar
Szeged, 2016

Bevezetés

A klasszikus darwini evolúciós nézet szerint az adaptáció előnyös változatok egymás utáni elterjedésével, a populációban történő fixálódásával történik. Ugyanakkor káros mutációk is elterjedhetnek a genomban különböző mechanizmusokon keresztül, például genetikai sodródás, vagy antagonisztikus pleiotrópia által. Miután egy káros mutáció fixálódott egy populációban, annak negatív hatása az organizmus rátermettségére enyhülhet kompenzáló evolúció segítségével. Kompenzáló evolúciónak nevezzük azt a jelenséget, amikor egy mutáció káros hatását a genom egyéb területein egy másik mutáció részben, vagy egészben kijavítja, ezért elterjed a populációban. Tehát a kompenzáló evolúció egy adaptív folyamat, ahol a kezdeti káros mutációra specifikus genetikai változások terjednek el a populációban a természetes szelekció által.

Doktori munkám során élesztő modellorganizmusban (*Saccharomyces cerevisiae*) rendszerszinten vizsgáltuk a génvesztésre mutatott kompenzáló evolúciót. Ehhez közel az összes ismert élesztő gént lefedő haploid géndelécións könyvtárban kerestük meg azokat az életképes törzseket, amelyekben a gén elvesztése szignifikáns fenotípusos hatást (fitneszcsökkenés) okozott. Összesen 187 ilyen genotípust azonosítottunk. Tudomásom szerint előttünk ilyen kiterjedt kísérletet senki sem folytatott a kompenzáció vizsgálatára, csupán egy, vagy néhány káros mutáció kompenzációját kutatták. A géndelécións törzsekkel laboratóriumi evolúciós kísérletet végeztünk négy független vonalban. Az evolált törzsek fitnessét különböző környezetekben becsültük folyadék kultúrában felvett növekedési görbe alapján számolt exponenciális növekedési rátával, illetve szilárd táptalajon a kolóniák méretével. Egy adott gén elvesztésének kompenzálhatóságát befolyásoló genomikai tényezők azonosítása céljából összeállítottunk egy adatbázist, amely a kompenzációs rátával potenciálisan korreláló génváltozókat tartalmazza. Emellett egyes vonalakon teljes genomszekvenálást és transzkriptomikai vizsgálatot is végeztünk.

Célkitűzések

1. Az élesztő genom kompenzációs potenciáljának felderítése. A kompenzálható génvesztések arányának és a kompenzáció mértékének meghatározása.
2. Olyan gén- és fehérjetulajdonságok azonosítása, amelyek meghatározzák, hogy egy gén elvesztését képes-e kompenzálni az organizmus.
3. A kísérletünk során megfigyelt kompenzációk környezetfüggésének meghatározása.
4. Annak megválaszolása, hogy a kompenzáció a kiütött gén funkciójának visszaállításán vagy a funkció helyettesítésén keresztül történik-e.

Módszerek

- Nagy skálájú fitnessmérések optimalizálása, szisztematikus hibák eliminálása.
- Klasszikus statisztikák és randomizációs tesztek R statisztikai környezetben.
- Pozitív szelekció azonosítása genomszekvenálási adatokból.
- Genomikai adatbázis összeállítása.
- Genetikai interakciós profilhasonlóság számolása.

Eredmények

1. **A kompenzáló evolúció génvesztés után gyakori, és gyorsan bekövetkezik**

Evolvált populációink vizsgálatakor azt találtuk, hogy a legtöbb gén elvesztését könnyen kompenzálni lehetett. Az ősi gendelációs törzseink 68%-a mutatott kompenzációt a belőle indított legalább egyik független evolvált vonalban. A kompenzáció mértéke is jelentős volt. A legtöbb esetben a génvesztés által okozott fitneszesés legalább fele kijavításra került a kompenzáló evolúció által, és a törzsek egy jelentős hányadában visszaállítódott a vad típusú növekedési ráta.

2. **Sem a paralógok megléte, sem a gének pleiotrópiája nem befolyásolja a kompenzációt**

Nyitott kérdés, hogy egy gén elvesztése esetén duplikátuma milyen gyakran pótolja annak funkcióját, ezáltal kompenzálva a gén elvesztését. A kísérletünkben kompenzációt mutató genotípusok között nem találtunk feldúsulást azon törzsekben, amelyekben egy a törzsfejlődés során génduplikáción átesett és a sörélesztő genomban legalább egy paralóg párral rendelkező gént inaktívtunk.

Másrészt, feltételezhetnénk, hogy ha egy sokféle funkcióval rendelkező fehérje hiányzik a sejtből, a mutációs célpontok száma, ami által a kompenzáció végbemehet, nagyobb lesz. Azaz egy pleiotróp gén elvesztése után a véletlen mutációk nagyobb aránya lesz előnyös. Nem találtuk jelét, hogy a pleiotróp hatással bíró gendelációk (a deláció sok környezetben csökkenti a fitneszt, az adott génből átíródó fehérje sok másik fehérjével van fizikai kapcsolatban, illetve a deletált génnek magas a genetikai interakciós fokszáma) káros hatását könnyebben kompenzálná az organizmus.

3. A génkiütés fitnessköltsége határozza meg a kompenzáció rátáját

Az egyetlen géntulajdonság, ami erős korrelációt mutatott a gén elvesztésének kompenzálhatóságával, a gendelációs törzs fitnessze. Minél alacsonyabb a rátermettsége a kiindulási genotípusnak, annál könnyebben kompenzálható a génvesztés. A jelenség egyik oka lehet, hogy ha a kiindulási törzs fitnessze alacsony, akkor egy adott fitnessnövekmény magasabb szelektív előnyt fog okozni egy adaptív mutánsnak, ezáltal az könnyebben el fog tudni terjedni a populációban.

4. A kompenzáló evolúció elősegíti a genomok diverzifikációját

A kompenzáló evolúció genetikai mechanizmusának kivizsgálása céljából néhány kiválasztott törzset genomszekvenálásnak vetettünk alá. Genomonként átlagosan 0.5 kisméretű inzerciót, illetve deléció, 0.34 szegmens, vagy teljes kromoszóma duplikáció és 6 pontmutációt találtunk. A pontmutációk további analízise során pozitív szelekció jelét találtuk (a neutrális evolúció alapján vártnál magasabb dN/dS arány) és a mutációk feldúsultak olyan génekben, amelyek funkcionális kapcsolatban vannak az ősből inaktivált génnel. Gyakrabban történt mutáció olyan génben, amely a deletált génnel ugyanazon funkcionális besorolásban van, hasonló a genetikai interakciós profiljuk, koexpresszáltak vagy éppen egy fehérje komplex tagjai. Ezek az eredmények mind azt mutatják, hogy a laborevolúció alatt felhalmozott genetikai változásoknak legalábbis egy része specifikus az ősi gendelációra. Mivel egy adott ősből több független evolúciós vonal genomját is megszekvenáltuk, így eredményeink között tudtunk parallel mutációkat keresni. Parallelnek tekintünk két mutációt, ha ugyanazon ősi genotípusból származó két független evolúciós vonalban ugyanazon gén szekvenciájában történt mutáció. Meglepően kevés esetben találtunk

ilyet, a mutációknak mindössze 5,3%-a volt parallel mutáció. Ez azt sugallja, hogy míg a kompenzáció alatt felhalmozódó mutációk specifikusak az elvesztett génre, addig a kompenzáló evolúció nem determinisztikus, az evolválódó vonalak divergenciáját okozza.

5. A kompenzáló evolúció nem állítja vissza a gének expresszióját a vad típus szintjére

Nyolc kiválasztott evolvált vonal és a hozzájuk tartozó kiindulási törzs transzkriptomikai analízise azt mutatta, hogy az evolvált vonalakban általában nem állt helyre a vad típusú génextpressziós állapot.

6. A kompenzáló evolúció diverzifikációs hatása változatos környezetekben felderíthető

Kísérletünkben kompenzációt mutató, összesen 237 vonal fitneszét becsültük meg 14 különböző környezetben. Míg az evolvált vonal - környezeti párosítások 52%-ában az evolvált vonal az új környezetben is jobban nőtt, mint az ősi genotípus, addig 40%-ban az evolvált vonal nem mutatott előnyösebb növekedést, sőt, a vonal - környezet párok 8%-ában az evolvált vonal szignifikánsan rosszabb fitneszt mutatott az új környezetben, mint a géndeléciós ősi genotípus. Eredményeink arra utalnak, hogy a kompenzáció során gyakran nem az elvesztett gén eredeti funkciója állt helyre, hanem a funkció helyettesítése történt, például az adott funkcióra való igény csökkentése által.

Publikációs lista

Szamecz, B.*, **Boross, G.***, Kalapis, D., Kovács, K., Fekete, G., Farkas, Z., Lázár, V., Hrtyan, M., Kemmeren, P., Groot Koerkamp, M.J.A., Rutkai, E., Holstege, F.C.P., Papp, B., Pál, C., 2014. The genomic landscape of compensatory evolution. *PLoS Biol.* 12, e1001935.

IF: 11,8

Boross, G.*, Orosz, K., Farkas, I.J., 2009. Human microRNAs co-silence in well-separated groups and have different predicted essentialities. *Bioinformatics* 25, 1063–1069.

IF: 4,9

Lázár, V.*, Ecsedi, S., Vízkeleti, L., Rákossy, Z., **Boross, G.**, Szappanos, B., Bégány, A., Emri, G., Adány, R., Balázs, M., 2012. Marked genetic differences between BRAF and NRAS mutated primary melanomas as revealed by array comparative genomic hybridization. *Melanoma Res.* 22, 202–214.

IF: 2,5

Gedeon, C.I.*, **Boross, G.**, Németh, A., Altbäcker, V., 2012. Release site manipulation to favour European ground squirrel *Spermophilus citellus* translocations: translocation and habitat manipulation. *Wildlife Biology* 18, 97–104.

IF: 1,1

*: első szerző