KATARZYNA TOCH, MATEUSZ BUCZEK, MARTA LABOCHA

Uniwersytet Jagielloński
Instytut Nauk o Środowisku
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków
E-mail: katarzyna.toch@gmail.com
mateusz.buczek@uj.edu.pl
marta.labocha@uj.edu.pl

EPISTAZA – TEORIA, SPOSÓB BADANIA, ZNACZENIE*

CZYM JEST EPISTAZA?

Z pojęciem epistazy spotykamy się już w szkole. Epistaza to zjawisko polegające na oddziaływaniu genu epistatycznego (supresora) na ujawnianie się innego genu (genu hipostatycznego) (BATESON 1907). Najczęściej przytaczany przykład dotyczy barwy sierści i albinizmu u myszy. Otóż, nasz gryzoń w *locus* genu odpowiedzialnego za barwę sierści może mieć allel A nadający mu czarny kolor futerka lub allel a nadający mu kolor brązowy. W zależności od posiadanego genotypu mysz będzie miała czarny (AA lub Aa) lub brązowy kolor futra (aa). Jednak, jeżeli w tym samym osobniku w genie odpowiedzialnym za produkcję barwnika (melaniny) dojdzie do mutacji, to mutacja ta zamaskuje efekty genu determinującego barwę sierści i osobnik ten będzie albinosem. Istnieje wiele tego typu epistatycznych związków zależnych od dominacji, recesywności i kodominacji alleli w genie epistatycznym i hipostatycznym. Zainteresowanych z czystym sumieniem odsyłamy do Wikipedii (najlepiej angielskiej wersji). My natomiast przejdziemy do cech ilościowych (np. dostosowanie, tempo wzrostu, masa) i bardziej statystycznej definicji epistazy.

We współczesnej nauce epistazę definiuje się najczęściej jako nieliniową interakcję pomiędzy genami. Nie oznacza to bynajmniej, że opisana wcześniej „szkolna” definicja jest zła czy uproszczona. Po prostu definicja w tej współczesnej formie jest bardziej ogólna i

umożliwia statystyczne badanie zjawiska. Nie jest też tak, że podana właśnie definicja jest jakimś nowym odkryciem, wręcz przeciwnie – znana jest od dawna (FISHER 1918). Nieliniowa zależność między genami oznacza, że patrząc na fenotypy pojedynczych mutantów, np. mutantu A i mutantu B, nie jesteśmy w stanie przewidzieć fenotypu podwójnego mutantu AB.

Zanim przejdziemy do opisu typów epistazy musimy jeszcze wspomnieć, jak efekt podwójnych lub wielokrotnych mutacji jest przewidywany na podstawie efektów pojedynczych mutacji. W celu obliczenia spodziewanego efektu podwójnej/wielokrotnej mutacji mnożymy przez siebie efekty pojedynczych mutacji (model multiplikatywny) lub dodajemy do siebie efekty pojedynczych mutacji (model addytywny). Wybór modelu będzie zależał od typu naszych danych (patrz MANI i współaut. 2008). Poniżej będziemy posługiwać się modelem addytywnym, który jest prościej zwizualizować na rysunkach. Dodatkowo, typy epistazy omówimy na przykładzie dostosowania (miary sukcesu ewolucyjnego), ponieważ chcemy spojrzeć na epistazę z punktu widzenia procesów ewolucyjnych. Powinniśmy jednak pamiętać, że epistaza może dotyczyć dowolnego fenotypu.

Ponieważ większość mutacji ma niekorzystny wpływ na dostosowanie, najpierw wyobraźmy sobie dwie mutacje niekorzystne: A i B, zmniejszające dostosowanie organizmu. Jeśli pomiędzy tymi mutacjami zachodzi epistaza, dostosowanie podwójnego mu-

Słowa kluczowe: genetyka, epistaza, interakcje genetyczne, krajobraz adaptacyjny

*Artykuł został napisany w ramach działalności związanej z realizacją projektu Narodowego Centrum Nauki 2015/17/B/NZ8/02366.

tanta AB nie będzie sumą działania dwóch pojedynczych mutacji i jego dostosowanie będzie wyższe lub niższe niż spodziewane. Jeśli jego dostosowanie będzie wyższe niż się spodziewaliśmy, będziemy mówić o epistazie osłabiającej (ang. *alleviating*, *supresing*) lub pozytywnej. Gdy dostosowanie podwójnego mutantu będzie niższe niż się spodziewaliśmy, będziemy mieć do czynienia z epistazą wzmacniającą (ang. *enhancing/synthetic*) lub negatywną (Ryc. 1).

Należy jednak pamiętać, że nazwy epistaza dodatnia i ujemna mogą nas wprowadzić w błąd, ponieważ będą oznaczać coś innego w przypadku mutacji szkodliwych (zmniejszających dostosowanie), niż w przypadku mutacji korzystnych (zwiększających dostosowanie). I tak, w przypadku mutacji korzystnych A i B, jeśli dostosowanie mutantu AB będzie wyższe niż spodziewane, mówimy o epistazie wzmacniającej (ang. *enhancing*) lub dodatniej (natomiast w przypadku mutacji niekorzystnych epistaza wzmacniająca jest negatywna). Gdy dostosowanie jest niższe niż spodziewane, mówimy o epistazie osłabiającej (ang. *supresing*) lub ujemnej (gdy mutacje są niekorzystne, epistaza osłabiająca jest pozytywna). Z tego powodu najlepiej mówić o epistazie wzmacniającej, która powoduje, że efekt działania dwóch mutacji jest większy niż przewidywany (bardziej niekorzystny w przypadku mutacji niekorzystnych lub bardziej korzystny w przypadku mutacji korzystnych) i o epistazie osłabiającej, która powoduje, że efekt dwóch mutacji jest mniejszy niż przewidywany. Ogólna nazwa tego typu epistazy to epistaza natężenia (ang. *magnitude epistasis*) (Ryc. 1).

Szczególnymi przypadkami epistazy jest epistaza znaku (ang. *sign epistasis*) i epistaza odwrotnego znaku (ang. *reciprocal sign epistasis*). W przypadku tej pierwszej, dostosowanie podwójnego mutantu jest niższe (korzystne mutacje)/wyższe (niekorzystne mutacje) od dostosowania przynajmniej jednego z pojedynczych mutantów (Ryc. 1). Ekstremalnym przykładem epistazy znaku jest epistaza odwrotnego znaku. W takim przypadku dwie pojedyncze niekorzystne mutacje w parze stają się korzystne, lub odwrotnie, dwie pojedyncze korzystne mutacje w parze stają się niekorzystne (Ryc. 1).

Powyższe definicje zostały podane na przykładzie interakcji pomiędzy dwoma genami, ale jak widać na Ryc. 2, mogą one dotyczyć także interakcji pomiędzy większą liczbą genów. W przypadku interakcji genetycznych zachodzących pomiędzy większą liczbą genów mówimy o epistazie wyższego rzędu lub interakcjach genetycznych wyższego rzędu (ang. *higher-order epistasis* lub *higher-order genetic interactions*, HGI).

Ryc. 1. Typy epistazy na przykładzie interakcji między dwoma genami.

JAK BADAMY EPISTAZĘ?

Pomimo faktu, że o epistazie wiadomo od ponad 100 lat, wielkoskalowe badania nad nią rozpoczęły się niewiele ponad dwadzieścia lat temu. Powody były dwa. Po pierwsze, w dziedzinie genetyki populacyjnej uznano, że epistaza nie odgrywa dużej roli w procesach populacyjnych, jako że odziedziczalność można dosyć dobrze szacować traktując efekty mutacji jako addytywne, a epistazę zawrzeć w błędzie modelu. Tak więc przez długi czas genetyka populacyjna uznawała epistazę za zjawisko marginalne i nie poświęcała jej uwagi.

Inaczej miała się sprawa w przypadku klasycznej genetyki czy biologii ewolucyjnej. Tutaj zjawisko epistazy było jak najbardziej doceniane. Pomimo tego, badania wielkoskalowe nad epistazą musiały poczekać na rozwój nowoczesnych technik molekularnych i genetycznych, aż do końca XX w. Wielkoskalowe badania nad epistazą możemy podzielić na kilka typów, w zależności od wykorzystanej metody badawczej.

BEZPOŚREDNI POMIAR EPISTAZY POMIĘDZY DWOMA GENAMI

Metoda ta wymaga wprowadzenia dwóch mutacji na to samo tło genetyczne. Mierzac fenotyp (najczęściej dostosowanie) dzikiego typu ($\omega(ab)$), dwóch pojedynczych mutantów ($\omega(Ab)$ i $\omega(aB)$) oraz podwójnego mutantu ($\omega(AB)$) obliczmy, czy między genami zachodzi interakcja:

$$\mathcal{E} = \omega(AB) * \omega(ab) - \omega(Ab) * \omega(aB)$$

gdzie $\omega(ab)$, $\omega(AB)$, $\omega(Ab)$ i $\omega(aB)$, oznaczają kolejno dostosowanie typu dzikiego, podwójnego mutantu oraz pojedynczych mutantów, A i B. $\mathcal{E}$ statystycznie różne od zera wskazuje na epistazę. Jest kilka plusów tej

Ryc. 2. Epistaza przy mutacjach wielokrotnych.

metody. Po pierwsze, możemy badać rozkład epistazy i odpowiedzieć na pytanie czy w danym organizmie/warunkach przeważa epistaza wzmacniająca czy osłabiająca. Po drugie, pozwala ona na wykrycie efektu letalnego podwójnego mutantu. Po trzecie, znamy dokładnie geny będące w epistazie, co z kolei umożliwia nam odpowiedź na pytanie, czy epistaza jest częstsza w konkretnych szlakach genetycznych lub procesach biologicznych. Możemy też dzięki temu budować mapy interakcji genetycznych. Wadą jest fakt, że w przypadku słabych efektów epistatycznych mogą być one niemożliwe do zarejestrowania, gdyż najczęściej badamy tysiące interakcji na raz. Powoduje to, że moc statystyczna testów wykrywających epistazę jest niska. Badania takie początkowo były prowadzone prawie wyłącznie na wirusach, bakteriach i jednokomórkowych grzybach, a więc organizmach, gdzie łatwo jest uzyskać podwójnego mutantu (np. ELENA i LENSKI 1997, SANJUÁN i współaut. 2004, JASNOS i KORONA 2007). Wraz z rozwojem metody interferencji RNA (RNAi) badania takie rozszerzono o organizmy wielokomórkowe lub linie komórkowe organizmów wielokomórkowych (np. BYRNE i współaut. 2007, BASSIK i współaut. 2013). Dla przykładu, z prawie 100 tysięcy podwójnych mutantów wygenerowanych przy użyciu RNAi w liniach komórkowych muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*), ponad 2300 wykazało interakcje epistatyczne, biorąc pod uwagę tyl-

ko jeden fenotyp – liczbę komórek. Badając różne rodzaje fenotypów (w sumie 21) wykazano, że ponad 12.300 podwójnych mutantów wykazuje istotną interakcję dla przynajmniej jednego z tych fenotypów (FISHER i współaut. 2015). Obecny rozwój metod opartych na technologii CRISPR/Cas9 zapewne pociągnie za sobą dalszy rozwój badań nad epistazą pomiędzy dokładnie zdefiniowanymi dwoma lub więcej mutacjami u organizmów wielokomórkowych.

BADANIE ZALEŻNOŚCI EFEKTU POJEDYNCZYCH MUTACJI OD TŁA GENETYCZNEGO

W tego typu badaniach znane pojedyncze mutacje są wprowadzane na różne tła genetyczne (np. ELENA i LENSKI 2001). W przypadku braku epistazy ta sama mutacja na różnych tłach genetycznych powinna mieć podobny efekt, natomiast zróżnicowane efekty wskazują na obecność epistazy. Dla przykładu, z 1400 mutacji indukowanych w dwóch różnych szczepach nicienia *Caenorhabditis elegans*, aż 20% wykazało zróżnicowany efekt fenotypowy (VU i współaut. 2015). Minusem takiej metody jest fakt, że nie wiemy jakie i ile mutacji w tle genetycznym jest odpowiedzialnych za interakcje z wprowadzoną mutacją.

BADANIE ZALEŻNOŚCI DOSTOSOWANIA OD LICZBY MUTACJI

W badaniach tego typu stosuje się różne techniki pozwalające na otrzymanie szczepów różniących się liczbą mutacji. Najczęściej stosuje się technikę akumulacji mutacji, gdzie nieliczne osobniki przechodzące do dalszej hodowli są wybierane losowo, bez względu na ich dostosowanie. W ten sposób akumulowane są niekorzystne mutacje, gdyż dobór naturalny nie ma możliwości eliminowania ich z populacji. Kolejnym sposobem pozwalającym na uzyskanie linii z różną liczbą mutacji jest poddanie populacji rodzicielskiej działaniu czynnika mutagennego o różnym natężeniu, gdzie wyższa dawka takiego czynnika wywołuje więcej mutacji. Czasami metody te są łączone. Dla przykładu, akumulując mutacje u bakteriofaga pokazano, że jego dostosowanie nie spada poniżej pewnej wartości dzięki temu, że proporcja interakcji osłabiających zwiększa się wraz ze spadkiem dostosowania (np. SILANDER i współaut. 2007). Jeśli zależność dostosowania od liczby mutacji jest nieliniowa oznacza to, że mamy do czynienia z epistazą (Ryc. 2). Wadą tego typu badań jest fakt, że w ten sposób badamy jedynie średni efekt epistazy, a nie możemy określić jej wariancji. Ponadto, nie znamy mutacji, pomiędzy którymi zachodzą interakcje, a liczba

mutacji w każdej populacji jest szacowana jedynie w przybliżeniu.

PORÓWNANIE DOSTOSOWANIA KRZYŻÓWEK LINII RODZICIELSKICH

W tych badaniach linie rodzicielskie z różną liczbą mutacji (linie różniące się dostosowaniem) są kojarzone i mierzone jest dostosowanie potomstwa. Jeśli średnie dostosowanie potomstwa jest różne od średniego dostosowania rodziców, wskazuje to na epistazę (np. VISSER DE i współaut. 1997). Głównym zarzutem wobec takiej metody jest jej mała dokładność (WEST i współaut. 1998).

BADANIA EPISTAZY GENÓW CECH ILOŚCIOWYCH

O ile w przypadku wcześniej wymienionych metod skupialiśmy się na epistazie mierzonej dzięki pomiarom fenotypów ze znanymi mutacjami (lub większą liczbą nieznanymi mutacjami, bez wnikania jakie dokładnie geny są odpowiedzialne za epistazę), w metodzie badania epistazy genów cech ilościowych (ang. quantitative trait loci, QTL) pomiar fenotypów ma nas doprowadzić do odnalezienia konkretnych genów będących w epistazie. W tego typu analizach bada się rodzicielskie szczepy wsobne, różniące się pomiędzy sobą jakąś cechą ilościową (np. rozrodzością), oraz szczepy będące wynikiem krzyżówki pomiędzy szczepami rodzicielskimi (rekombinowane linie wsobne, w pokoleniu F2). Badane są cechy ilościowe zarówno linii rodzicielskich, jak i linii potomnych. Bazując na dopasowaniu do linii potomnych markerów genetycznych opracowanych dla linii rodzicielskich, wyszukujemy geny odpowiedzialne za daną cechę ilościową. Następnie, korzystając z odpowiednich technik statystycznych, identyfikujemy epistatyczne interakcje pomiędzy nimi (patrz CARLBORG i HALEY 2004). Dla przykładu, krzyżując dwie rasy kurcząt wykazano, że interakcje epistatyczne znacząco wpływają na ich tempo wzrostu przed 46. dniem życia (CARLBORG i współaut. 2003).

CZY EPISTAZA JEST CZĘSTA?

Liczba interakcji epistatycznych znalezionych w różnych badaniach waha się od kilku do kilkudziesięciu procent. Ta zmienność liczby nie dziwi, jeśli uwzględnimy, że badania te: 1) obejmują różną liczbę interakcji, 2) stosują różne metody doboru genów, pomiędzy którymi są badane interakcje, 3) stosują różne metody klasyfikowania interakcji jako istotne, 4) dotyczą różnych organizmów, 5) używają różnych fenotypów do określania interakcji. Badania na mniejszą skalę czę-

sto wykazują większą liczbę interakcji genetycznych, a badania wielkoskalowe mniejszą. Przykładem mogą być badania (na niewielką skalę) bakterii *Escherichia coli* (ELENA i LENSKI 1997), gdzie 25% spośród 27 zbadanych par genów było w interakcji epistatycznej, i na drożdżach *Saccharomyces cerevisiae* (ST ONGE i współaut. 2007), gdzie na 623 zbadanych par genów, aż 18% było w interakcji epistatycznej. W przeciwieństwie do tych wyników, w badaniach wielkoskalowych zarówno *E. coli* (BABU i współaut. 2014), w których przebadano około 600 tys. podwójnych mutantów, jak i *S. cerevisiae* (CONSTANZO i współaut. 2016), z przebadanymi około 23 milionami podwójnych mutantów, procent genów będących w epistazie był znacznie niższy (~7% u *E. coli* i ~4% u *S. cerevisiae*). Różnice te prawdopodobnie wynikają nie tyle ze skali, co z faktu, że badania obejmujące mniejszą liczbę interakcji na ogół skupiają się na interakcjach pomiędzy genami związanymi z konkretną funkcją biologiczną, natomiast badania wielkoskalowe dotyczą najczęściej interakcji pomiędzy losowo wybranymi genami. Biorąc pod uwagę tylko badania wielkoskalowe, przeprowadzone na różnego rodzaju organizmach, możemy założyć, że w skali genomowej prawdopodobnie około 5% par genów pozostaje w interakcji epistatycznej.

EPISTAZA WYŻSZEGO RZĘDU

Pomimo znaczącej przewagi badań nad epistazą drugiego rzędu (biorącej pod uwagę interakcję między dwoma genami), występowanie interakcji wyższego rzędu jest zjawiskiem znanym, aczkolwiek nie ma jeszcze danych, które wskazywałyby na ich powszechność. Jest to głównie związane z ograniczeniami technologicznymi, jednak spodziewamy się, iż rozwój technologii CRISPR/Cas9 pozwoli wkrótce na przeprowadzanie wielkoskalowych badań nad epistazą wyższego rzędu. Obecnie informacje na ten temat są w większości niejako produktem ubocznym badań nad efektami wybranych mutacji lub zmiennością genetyczną (TAYLOR i EHRENREICH 2014). Dzięki nim odkryto, że wiele cech fenotypowych, w przeciwieństwie do tego co dotychczas sądzono, jest w istocie efektem działania wielu loci. Jednym z najbardziej spektakularnych przykładów wpływu HGI na istotne cechy fenotypowe jest kształt skrzydła muszki owocowej (CHANDLER i współaut. 2014). Badania na dwóch szczepach muszki początkowo pokazały, iż efekt mutacji *sd* powodującej deformację skrzydeł, różni się pomiędzy szczepami. Zależność między znaną mutacją a tłem genetycznym sugeruje interakcje drugiego

lub wyższego stopnia. Idąc dalej, autorzy odkryli, że obserwowany fenotyp może być modyfikowany przez szereg innych mutacji, co jest niezbitym dowodem na obecność epistazy wyższego rzędu – epistazy pomiędzy dwoma znanymi genami i jednym lub więcej niezidentyfikowanymi (jeszcze) *loci*.

Jedyną pracą badającą interakcje pomiędzy więcej niż dwoma genami na dużą skalę jest praca KUZMINA i współaut. (2018). Badacze ci skonstruowali około 200 tysięcy potrójnych mutantów drożdży i określili częstotliwość wzmacniających interakcji epistatycznych pomiędzy nimi. Oszacowali, że liczba potrójnych interakcji jest około 100 razy większa, niż liczba interakcji pomiędzy tylko dwoma genami.

Niewątpliwie w przyszłości nasza wiedza na temat epistazy wyższego rzędu znacząco się poszerzy. Kluczowym pytaniem jest to, czy poszukiwanie HGI są rzeczywiście istotne? Czy informacje na temat epistazy pomiędzy parami genów nie są wystarczające? Analizy krajobrazów adaptacyjnych (fitness landscape, patrz poniżej) pokazały, iż epistaza wyższego rzędu może w znaczący sposób kształtować trajektorie ewolucyjne (SAILER i HARMS 2017). Oznacza to, że nie jesteśmy w stanie przewidzieć ścieżek ewolucji

bez uwzględnienia epistazy wyższego rzędu (Ryc. 3).

EPISTAZA I ŚRODOWISKO

Wpływ środowiska na genotyp (interakcja gen x środowisko) jest zjawiskiem znanym od dawna i udokumentowanym u wielu organizmów (SALTZ i współaut. 2018). W taki sam sposób, jak efekt danego allelu może być różny w zależności od środowiska, tak efekt interakcji pomiędzy genami również może zależeć od tego w jakim środowisku organizm będzie przebywał. Przykładem może być eksperyment na modelowym organizmie - drożdżach piekarniczych, *S. cerevisiae* (BHATIA i współaut. 2014). Wyniki badań nad plastycznością fenotypową pokazały, że na wzrost kolonii wpływa nie tylko interakcja pomiędzy konkretnymi genami, ale efekt tej interakcji może być zależny od środowiska, w którym organizm przebywa. Co więcej, inne badania nad epistazą u drożdży pokazały, że w przypadku zastosowania stresora środowiskowego rozkład efektów epistatycznych między podwójnymi mutacjami niekorzystnymi przesunęła się w stronę epistazy pozytywnej (JASNOS i współaut. 2008). Może to nieść za sobą duże konsekwencje ewolu-

Ryc. 3. Trajektorie ewolucyjne na przykładzie czterech genów – „0” jest allelem dzikim (brakiem mutacji), „1” allelem zmutowanym.

W powyższym przykładzie osobnik dziki (0000) posiada niższe dostosowanie niż osobnik z czterema mutacjami (1111). Każda z pojedynczych mutacji jest korzystna, jednakże część kombinacji tych mutacji będzie dawała obniżone dostosowanie osobnika. Z tego powodu, osiągnięcie wysokiego dostosowania w toku ewolucji jest możliwe tylko poprzez konkretne formy przejściowe. Strzałki pokazują jedyne możliwe ścieżki, jakimi genotyp może mutować w kierunku najwyższego dostosowania, natomiast linie przerywane symbolizują w teorii możliwe, a w praktyce zablokowane ścieżki – kombinacja mutacji powodująca niższe dostosowanie zostanie wyparta przez dobór naturalny, dlatego ewolucja nie będzie podążać takimi ścieżkami.

Ryc. 4. Krajobraz adaptacyjny. Każdy możliwy genotypów (osie x i y) charakteryzują się określoną wartością dostosowania.

Genotypy o wyższym dostosowaniu (pagórki) będą faworyzowane przez dobór naturalny, a te o gorszym będą usuwane z populacji. Epistaza wpływa na stopień pofałdowania powierzchni. Gdy występuje, krajobraz zmienia się z monotonnego (łagodne szerokie pagórki) na bardziej urozmaicony (kręte doliny, poszarpane zbocza).

cyjne. Dobór naturalny, który w stresowych warunkach środowiskowych powinien działać silniej (niż w środowisku korzystnym), będzie słabiej wypierał mutacje niekorzystne.

EPISTAZA A EWOLUCJA

Jak epistaza wpływa na ewolucję i procesy z nią związane? Zaczniemy od szerokiego spojrzenia na ewolucję, jej przewidywalność i ograniczenia, czyli od pojęcia tzw. „krajobrazu adaptacyjnego” (ang. fitness landscape; adaptive landscape). Idea ta, niemal równie stara jak pojęcie epistazy, została przedstawiona przez Wrighta w latach trzydziestych ubiegłego wieku, w celu opisu ewolucji zachodzącej jednocześnie w wielu genach (WRIGHT 1931). Według twórcy tej idei, każdy genotyp charakteryzuje się określoną wartością dostosowania i gdy zestawimy razem wszystkie możliwe genotypy (osie x i y), otrzymamy pofałdowaną powierzchnię (Ryc. 4). Pagórki na tej powierzchni odpowiadają genotypom o najwyższym dostosowaniu, a doliny o najniższym. Teoria stworzona przez Wrighta zakładała, że ewolucja będzie zachodziła w kierunku gór i pagórków. Na każdą mutację, która prowadziłaby do obniżenia dostosowania (schodzenie do doliny) dobór naturalny powinien działać sil-

niej, co może skutkować usunięciem takiego allelu z populacji. Gdzie w tym wszystkim jest epistaza? Otóż okazało się, że jest ona odpowiedzialna za „chropowatość” (stopień pofałdowania) krajobrazu adaptacyjnego, a dokładnie jeden z jej wariantów – epistaza znaku (patrz Ryc. 1). W przypadku obecności epistazy znaku krajobraz adaptacyjny będzie bardziej pofałdowany. Jak to działa? Wyobraźmy sobie dwa *loci* (a i b) w sytuacji bez epistazy. Jeżeli genotyp ab ma najniższe dostosowanie (znajduje się w dolinie), a genotyp AB ma najwyższe dostosowanie (szczyt), to genotypy aB i Ab będą miały dostosowanie pośrednie, czyli będą znajdować się gdzieś na stoku. Występowanie epistazy pozytywnej lub negatywnej spowoduje, że szczyt będzie, odpowiednio, bardziej strzelisty lub bardziej spłaszczony. *De facto* modyfikujemy tylko wysokość. Dopiero epistaza znaku może wpłynąć na kształt krajobrazu. W tym przypadku genotyp AB będzie miał mniejsze dostosowanie od jednego z pośrednich genotypów (aB lub Ab). Spowoduje to powstanie trzech szczytów o różnej wysokości (aB, Ab, AB). Dodatkowo, jak wynika z badań, ogromne znaczenie w procesie kształtowania krajobrazu adaptacyjnego ma również epistaza wyższego rzędu (WEINREICH i współaut. 2013).

Z krajobrazami adaptacyjnymi oraz oddziaływaniami epistatycznymi związane są także niektóre teorie specjacji (powstawania gatunków). Model Batesona-Dobzhansky'ego-Mullera (ORR 1996) pokazuje jak z jednego rodzicielskiego gatunku, mogą powstać dwa nowe, których mieszańce (hybrydy) są sterylne. Gdy patrzymy na pojedynczy gen, sterylność hybryd wydaje się ewolucyjnie niemożliwa. Powiedzmy, że jeden gatunek ma allele AA danego genu, a drugi aa i oba gatunki są płodne, natomiast ich heterozygotyczne hybrydy Aa są sterylne. W takim układzie ewolucja potomka aa z przodka AA wydaje się niemożliwa, ponieważ musiałby on przejść przez etap heterozygoty Aa, która jest sterylna. DOBZHANSKY (1934) rozwiązał ten problem w bardzo elegancki sposób, proponując jako wyjaśnienie sterylności hybryd interakcje pomiędzy przynajmniej dwoma genami. Model ten zakłada, że z gatunku rodzicielskiego o genotypie AABB, ewoluują dwa gatunki potomne, gdzie w jednym gatunku potomnym A jest zastępowane przez a, natomiast w drugim B jest zastępowane przez b. Ponieważ w obu gatunkach allel a nigdy się nie spotyka z allelem b, możliwa jest ewolucja niekompatybilności dla tych dwóch alleli, która skutkuje prowadzącą do sterylności hybryd interakcją pomiędzy allelami a i b. Modele specjacji, w których epistaza odgrywa ważną rolę zostały opisane m.in. przez TEMPLETONA (1981) i GAVRILETSA (2004).

Kolejnym ważnym zagadnieniem ewolucyjnym, z którym związana jest epistaza, jest ewolucja płci i rekombinacji. Występowanie rozmnażania płciowego po dziś dzień jest problemem, z którym boryka się wielu biologów ewolucyjnych. Badacze nieprzerwanie próbują dociec dlaczego tak kosztowny i na pozór nieopłacalny system utrzymuje się u większości taksonów. Organizmy rozmnażające się płciowo muszą płacić cenę tego, że jedynie połowa osobników – samice – będzie zostawiać kolejne potomstwo. Tymczasem 100% potomstwa osobnika bezpłciowego będzie zdolne wydać na świat własne potomstwo (tzw. „twofold cost of sex”). Dodatkowo, w niektórych przypadkach znalezienie partnera seksualnego może być zadaniem trudnym, niejednokrotnie przyplacnym życiem. Ponadto, z genetycznego punktu widzenia, rozmnażanie płciowe jest czynnikiem powodującym tzw. „recombination load”, czyli rozrywanie korzystnych kombinacji genów na skutek rekombinacji. Uważa się, że zarówno istnienie rekombinacji, jak i rozmnażania płciowego można by wytłumaczyć, gdyby większość niekorzystnych mutacji oddziaływała ze sobą negatywnie. Umożliwiłoby to spotkanie się tych mutacji,

a w połączeniu ich wysoce szkodliwy efekt sprawiałby, że mutacje te byłyby efektywniej usuwane z populacji (KONDRASHOV 1988). Pomimo iż udało się wykazać taką zależność za pomocą symulacji (AZEVEDO i współaut. 2006, PECK i współaut. 2012), wciąż brak dowodów empirycznych.

PRAKTYCZNE ZNACZENIE EPISTAZY

Jakie wnioski i praktyczne zastosowania wpływają dla nas z obecnych, intensywnych badań nad epistazą? Jedną ze stwierdzonych konsekwencji „szorstkości” krajobrazu adaptacyjnego jest korelacja oporności drobnoustrojów na niektóre antybiotyki, z nadwrażliwością na inne. To zjawisko można wykorzystać do opracowania schematów leczenia, które utrudniają rozwój oporności na leki i podjęto już pierwsze kroki w tym kierunku. Zaprojektowano schematy dawkowania leków w oparciu o specyficzne, empiryczne krajobrazy adaptacyjne związane z niektórymi patogenami bakteryjnymi, malarią czy wirusem HIV (OBOLSKI i współaut. 2018). Dalsze badania z dodatkowymi lekami i zwiększoną rozdzielczością powierzchni krajobrazu adaptacyjnego będą konieczne, aby uczynić te zabiegi częścią standardowej praktyki. Podobny mechanizm stosuje tzw. pułapka ewolucyjna (ang. *evolutionary trap*) (OBOLSKI i współaut. 2018). Polega ona na wykorzystaniu leku premiującego dobór w kierunku specyficznego genotypu, po czym następuje kuracja drugim lekiem, na który ten sam genotyp ma niską odporność. Działanie takiej pułapki, z której ucieczka wydaje się być bardzo mało prawdopodobna, udało się wykazać u drożdży. CHEN i współaut. (2015) poddawali populację drożdży działaniu radicolu, który faworyzował posiadanie dodatkowego chromosomu i zwiększył jego częstość w populacji. Jednak chromosom ten jednocześnie zwiększał wrażliwość na higromycynę B, która w kolejnym kroku została użyta do zlikwidowania populacji. Podsumowując, wiedza na temat tego typu zależności może pomóc zaprojektować bardziej wydajne metody leczenia. Ponieważ eksperymentalna ewolucja nowotworów staje się głównym programem badawczym zarówno w zakresie biologii ewolucyjnej, jak i onkologii, spodziewamy się, że empiryczne krajobrazy adaptacyjne komórek nowotworowych zostaną opublikowane w następnej dekadzie.

Kolejnym zastosowaniem, jakie epistaza znalazła we współczesnym świecie jest medycyna spersonalizowana. Jest to dział medycyny zajmujący się diagnozowaniem (pod kątem genetycznym), a następnie leczeniem pacjenta specyficznym dla niego lekiem w

odpowiedniej dawce. Otóż od czasu zsekwencjonowania ludzkiego genomu (VENTER i współaut. 2001) i rozpowszechnieniu się stosunkowo tanich metod sekwencjonowania całych genomów, starano się znaleźć genetyczne podstawy wielu chorób u ludzi. Uważano, że testy genetyczne pozwolą lepiej przewidywać reakcje na podawane leki i minimalizować ich skutki uboczne. Takie podejście wiązało się z przekonaniem, że duża część zmienności osobniczej w podatności na chorobę lub w odpowiedzi terapeutycznej jest determinowana genetycznie. Rozpoczęła się era tzw. genome-wide association studies (GWAS), badań polegających na porównywaniu setek genomów ludzi o danych cechach (np. konkretna jednostka chorobowa) w celu znalezienia ich podłoża genetycznego. Przy użyciu tej metody wykryto ponad 6000 czynników genetycznych wpływających na ponad 500 cech ilościowych u ludzi (w tym chorób) (ROBINSON i współaut. 2014). Początkowy entuzjazm jednak szybko przygasł. Okazało się, że mimo możliwości porównania całych genomów u setek pacjentów cierpiących na to samo schorzenie, wykrywanie odpowiedzialnych za chorobę mutacji było bardzo trudne (ZHANG i NEBERT 2017). Jednak nawet w przypadku, gdy geny powiązane z daną jednostką chorobową były znane lub chociażby domniemane, to wpływ mutacji okazywał się nie do końca przewidywalny. Genetyczne czynniki ryzyka w przypadku złożonych chorób wyjaśniały od 10 do 50% zmienności (SACKTON i HARTL 2016). Ta część zmienności cechy (np. ryzyko wystąpienia choroby), której nie możemy wyjaśnić za pomocą tych czynników, została nazwana „brakującą odziedziczalnością” (ang. missing heritability). I tu znów wracamy do przedmiotu niniejszego artykułu. Według naszej najlepszej wiedzy, jedną z głównych przyczyn opisanego zjawiska jest właśnie epistaza. To czy dana mutacja wywoła objawy choroby nie zależy tylko od niej samej, ale również od tła genetycznego, na którym się pojawiła (interakcji między genami). Udało się już wykazać znaczący wpływ epistazy w rozwoju wielu zaburzeń neuropsychiatrycznych, takich jak schizofrenia i autyzm, oraz innych poważnych chorób, jak zespół Bardeta-Biedla (BBS) (WEBBER 2017). Niestety metody wykorzystywane w GWAS, które uwzględniają interakcje epistatyczne między genami, zwłaszcza te wyższego rzędu, są dopiero tworzone i wymagają ogromnej liczby danych (tysiący genomów). Dlatego na zwiększenie liczby tego typu badań trzeba będzie jeszcze trochę poczekać.

Streszczenie

Epistaza jest to zjawisko interakcji pomiędzy genami, w której fenotyp jednego genu jest zależny od obec-

ności innego genu/genów. Epistaza powoduje, że określenie fenotypu na podstawie pojedynczych mutacji staje się niemożliwe, na skutek nieliniowego współdziałania genów. W poniższym artykule opisujemy rodzaje epistazy, metody jej badania oraz jej znaczenie dla procesów ewolucyjnych. Przybliżamy czytelnikom pojęcie epistazy wyższego rzędu (pomiędzy więcej niż dwoma genami) oraz pokrótce wprowadzamy zagadnienie praktycznego znaczenia epistazy dla człowieka.

LITERATURA

- AZEVEDO R. B. R., LOHAUS R., SRINIVASAN S., DANG K. K. L., BURCH C. L., 2006. *Sexual reproduction selects for robustness and negative epistasis in artificial gene networks*. *Nature* 440, 87-90.
- BABU M., ARNOLD R., BUNDALOVIC-TORMA C., GAGARINOVA A., WONG K. S., ASHWANI KUMAR A., STEWART G., SAMANFAR B., AOKI H., WAGIH O., VLASBLOM J., PHANSE S., LAD K. i współaut., 2014. *Quantitative genome-wide genetic interaction screens reveal global epistatic relationships of protein complexes in Escherichia coli*. *PLoS Genet.* 10, e1004120.
- BASSIK M. C., KAMPMANN M., LEBBINK R. J., WANG S., HEIN M. Y., POSER I., WEIBEZAHN J., HORLBECK M. A., CHEN S., MANN M., HYMAN A. A., LEPROUST E. M., MCMANUS M. T., WEISSMAN J. S., 2013. *A systematic mammalian genetic interaction map reveals pathways underlying ricin susceptibility*. *Cell* 152, 909-22.
- BATESON W., 1907. *Facts limiting the theory of heredity*. *Science* 26, 649-60.
- BHATIA A., YADAV A., ZHU C., GAGNEUR J., RADHAKRISHNAN A., STEINMETZ L. M., BHANOT G., SINHA H., 2014. *Yeast growth plasticity is regulated by environment-specific multi-QTL interactions*. *G3 Gene Genome Genet.* 4, 769-777.
- BYRNE A. B., WEIRAUCH M. T., WONG V., KOEVA M., DIXON S. J., STUART J. M., ROY P. J., 2007. *A global analysis of genetic interactions in Caenorhabditis elegans*. *J. Biol.* 6, 8.
- CARLBORG Ö., HALEY C. S., 2004. *Epistasis: too often neglected in complex trait studies*. *Nat. Rev. Genet.* 5, 618-625.
- CARLBORG O., KERJE S., SCHUTZ K., JACOBSSON L., JENSEN P., ANDERSSON L., 2003. *A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken*. *Genome Res.* 13, 413-421.
- CHANDLER C. H., CHARI S., TACK D., DWORKIN I., 2014. *Causes and consequences of genetic background*. *Genetics* 196, 1321-1336.
- CHEN G., MULLA W. A., KUCHARAVY A., TSAI H., RUBINSTEIN B., CONKRIGHT J., MCCROSKEY S., BRADFORD W. D., WEEMS L., HAUG J. S., SEIDEL C. W., BERMAN J., LI R., 2015. *Targeting the adaptability of heterogeneous aneuploids*. *Cell* 160, 771-784.
- COSTANZO M., VANDERSLUIS B., KOCH E. N., BARYSHNIKOVA A., PONS C., TAN G., WANG W., i współaut., 2016. *A global genetic interaction network maps a wiring diagram of cellular function*. *Science* 353, aaf1420.
- DOBZHANSKY T., 1934. *Studies on hybrid sterility: I. Spermatogenesis in pure and hybrid Drosophila pseudoobscura*. *Z. Zellf* 21, 169-223.
- ELENA S. F., LENSKI R. E., 1997. *Test of synergistic interactions among deleterious mutations in bacteria*. *Nature* 390, 395-398.
- ELENA S. F., LENSKI R. E., 2001. *Epistasis between new mutations and genetic background*

- and a test of genetic canalization. *Evolution* 55, 1746-1752.
- FISHER R. A., 1918. *The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance*. *Earth Environ. Sci. Transact. Royal Soc. Edinburgh* 52, 399-433.
- FISHER B., SANDMANN T., HORN T., BILLMANN M., CHAUDHARY V., HUBER W., BOUTROS M. 2015. *A map of directional genetic interactions in a metazoan cell*. *Elife* 4, e05464
- GAVRILETS S., 2004. *Fitness landscapes and the origin of species (MPB-41)*. Princeton University Press, vol. 41.
- JASNOS L., KORONA R., 2007. *Epistatic buffering of fitness loss in yeast double deletion strains*. *Nat. Genet.* 39, 550-554.
- JASNOS L., TOMALA K., PACZESNIAK D., KORONA R., 2008. *Interaction between stressful environment and gene deletions alleviate the expected average loss of fitness in yeast*. *Genetics* 178, 2105-2111.
- KONDRASHOV A. S., 1988. *Deleterious mutations and the evolution of sexual reproduction*. *Nature* 336, 435-440.
- KUZMIN E., VANDERSLUIS B., WANG W., TAN G., DESHPANDE R., CHEN Y., USAJ M i współaut., 2018. *Systematic analysis of complex genetic interactions*. *Science* 360, eaao1729.
- MANI R., ONGE R. P. S., HARTMAN J. L., GIAEVER G., ROTH F. P., 2008. *Defining genetic interaction*. *Proce. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 3461-3466.
- OBOLSKI U., RAM Y., HADANY L., 2018. *Key issues review: evolution on rugged adaptive landscapes*. *Rep. Progr. Physics* 81, 012602.
- ORR H. A., 1996. *Dobzhansky, Bateson, and the genetics of speciation*. *Genetics* 144, 1331-1335.
- PECK J. R., WAXMAN D., WELCH J. J., 2012. *Hidden epistatic interactions can favour the evolution of sex and recombination*. *PLoS One* 7, 19-21.
- ROBINSON M. R., WRAY N. R., VISSCHER P. M., 2014. *Explaining additional genetic variation in complex traits*. *Trends Genet.* 30, 124-132.
- SACKTON T. B., HARTL D. L., 2016. *Genotypic context and epistasis in individuals and populations*. *Cell* 166, 279-287.
- SAILER Z. R., HARMS M. J., 2017. *High-order epistasis shapes evolutionary trajectories*. *PLoS Computat. Biol.* 13, 1-16.
- SALTZ J. B., BELL A. M., FLINT J., GOMULKIEWICZ R., HUGHES K. A., KEAGY J., 2018. *Why does the magnitude of genotype-by-environment interaction vary?* *Ecol. Evol.* 8, 6342-6353.
- SANJUAN R., MOYA A., ELENA A. F., 2004. *The contribution of epistasis to the architecture of fitness in an RNA virus*. *Proce. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 15376-15379.
- SILANDER O. K., TENAILLON O., CHAO L., 2007. *Understanding the evolutionary fate of finite populations: the dynamics of mutational effects*. *PLoS Biol.* 5, 922-931.
- ST ONGE R. P. S., MANI R., OH J., PROCTOR M., FUNG E., DAVIS R. W., NISLOW C., ROTH F. P., GIAEVER G., 2007. *Systematic pathway analysis using high-resolution fitness profiling of combinatorial gene deletions*. *Nat. Genet.* 39, 199-206.
- TAYLOR M. B., EHRENREICH I. M., 2014. *Genetic interactions involving five or more genes contribute to a complex trait in yeast*. *PLoS Genet.* 10, 1-8.
- TEMPLETON A. R., 1981. *Mechanisms of speciation - a population genetic approach*. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12, 23-48.
- VENTER J. C., ADAMS M. D., MYERS E. W., LI P. W., MURAL R. J., SUTTON G. G., SMITH H. O., i współaut., 2001. *The sequence of the human genome*. *Science* 291, 1304-1351.
- VISSER DE J. A. G. M., HOEKSTRA R. F., VAN DEN ENDE H., 1997. *An experimental test for synergistic epistasis and its application in Chlamydomonas*. *Genetics* 145, 815-819.
- VU V., VERSTER A. J., SCHERTZBERG M., CHULUUNBAATAR T., SPENSLEY M., PAJKIC D., HART G. T., MOFFAT J., FRASER A. G., 2015. *Natural variation in gene expression modulates the severity of mutant phenotypes*. *Cell* 162, 391-402.
- WEBBER C., 2017. *Epistasis in neuropsychiatric disorders*. *Trends Genet.* 33, 256-265.
- WEINREICH D. M., LAN Y., WYLIE C. S., HECKENDORN R. B., 2013. *Should evolutionary geneticists worry about higher-order epistasis?* *Curr. Opin. Genet. Develop.* 23, 700-707.
- WEST S. A., PETERS A. D., BARTON N. H., 1998. *Testing for epistasis between deleterious mutations*. *Genetics* 149, 435-444.
- WRIGHT S., 1931. *Evolution in Mendelian populations*. *Genetics* 16, 97.
- ZHANG G., NEBERT D. W., 2017. *Personalized medicine: genetic risk prediction of drug response*. *Pharmacol. Therapeut.* 175, 75-90.

KOSMOS Vol. 68, 4, 633–642, 2019

KATARZYNA TOCH, MATEUSZ BUCZEK, MARTA LABOCHA

Jagiellonian University, Institute of Environmental Sciences, 7 Gronostajowa Str., 30-387 Kraków, E-mail: katarzyna.toch@gmail.com, mateusz.buczek@uj.edu.pl, marta.labocha@uj.edu.pl

EPISTASIS – THEORY, EXAMPLES, AND IMPORTANCE

Summary

Epistasis is a phenomenon where the effect of one gene depends on the presence of another gene/genes. Due to epistasis the prediction of the phenotypic effect of multiple mutations from the effects of single gene mutations is impossible, as the effect of mutations is nonadditive. Here we present the more precise definition of epistasis, the methods used to its study, and its importance in the evolutionary processes. We describe the phenomenon of higher order epistasis (between more than two genes) and its practical implications.

Key words: genetics, epistasis, genetic interactions, fitness landscape