

PAULINA GĄSIENICA, KAMILA STEFANIA ZAJĄC, MARTA LABOCHA

*Instytut Nauk o Środowisku
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków
E-mail: gasienicapaulina03@gmail.com
kamila.zajac12@gmail.com
marta.labocha@uj.edu.pl*

GENY NIEZBĘDNE I ESENTIALOMY*

CO TO SĄ GENY NIEZBĘDNE I ESENTIALOMY?

Geny niezbędne (ang. essential genes) to geny, które uważane są za kluczowe dla przeżycia i rozmnażania organizmu. Geny te są odpowiedzialne za funkcje życiowe najważniejsze dla dostosowania, wpływające na podstawowe procesy biologiczne. Natomiast esentialom to kompletny zestaw genów niezbędnych dla danego organizmu.

Badania esentialomów mają stosunkowo krótką historię, sięgającą końca lat 90. ubiegłego wieku. Badanie zestawów genów niezbędnych dla różnych organizmów musiało zostać poprzedzone poznaniem pełnych genomów, czyli wszystkich genów organizmu oraz rozwojem metod pozwalających na przyporządkowanie efektu mutacji do konkretnego genu organizmu. Pierwsze kompletne sekwencje genomu organizmów wolnożyjących zostały opracowane w 1995 r. dla dwóch gatunków bakterii: *Haemophilus influenzae* i *Mycoplasma genitalium* (FLEISCHMANN i współaut. 1995, FRASER i współaut. 1995), jednak dopiero cztery lata później udało się ustalić kompletny zestaw genów niezbędnych dla *M. genitalium* (HUTCHISON i współaut. 1999).

Podstawą badania genów niezbędnych są badania eksperymentalne. Metody te możemy podzielić na takie, gdzie mutujemy z góry wybrany gen i obserwujemy uzyskany fenotyp, lub na takie, gdzie mutacje są losowe i dopiero po zaobserwowaniu interesu-

jącego nas efektu fenotypowego sprawdzamy, który z genów został zmutowany.

Obecnie, gdy znamy już kilkadziesiąt esentialomów, do określenia, czy dany gen (dotychczas niebadany) będzie niezbędny, można użyć metod predykcyjnych. Metody te biorą pod uwagę cechy genów niezbędnych poznanych u gatunków pokrewnych lub niepełny zestaw genów niezbędnych już poznanych dla danego gatunku, aby przewidzieć czy nowy, niebadany gen będzie niezbędny. Jednak wyniki uzyskane metodami predykcyjnymi trzeba traktować z dużą ostrożnością. Nawet u gatunków blisko spokrewnionych geny homologiczne (geny o wysokim stopniu podobieństwa, pochodzące od wspólnego przodka) nie muszą zachowywać tych samych właściwości. Przykładowo, spośród genów homologicznych dla bakterii pałeczki okrężnicy (*Escherichia coli*) i laseczki siennej (*Bacillus subtilis*) 67 jest niezbędnych u *E. coli*, ale nie u *B. subtilis* (BABA i współaut. 2006).

Do tej pory ustalono esentialomy dla ponad 30 gatunków, z czego najwięcej dla organizmów prokariotycznych (Tabela 1). Najpełniejsze zestawienie dotychczas opublikowanych esentialomów można znaleźć w pracy LUO i współaut. (2014).

Można zaobserwować, że im więcej genów ma dany organizm, tym więcej ma on też genów niezbędnych, wyrażonych w wartościach absolutnych (Ryc. 1). Jednak, gdy popatrzymy na udział procentowy genów niezbędnych w genomie, to zależność ta jest

Słowa kluczowe: biologia syntetyczna, esentialom, gen niezbędny, minimalny genom

*Artykuł został napisany w ramach działalności związanej z realizacją projektu Narodowego Centrum Nauki 2018/29/B/NZ8/01964.

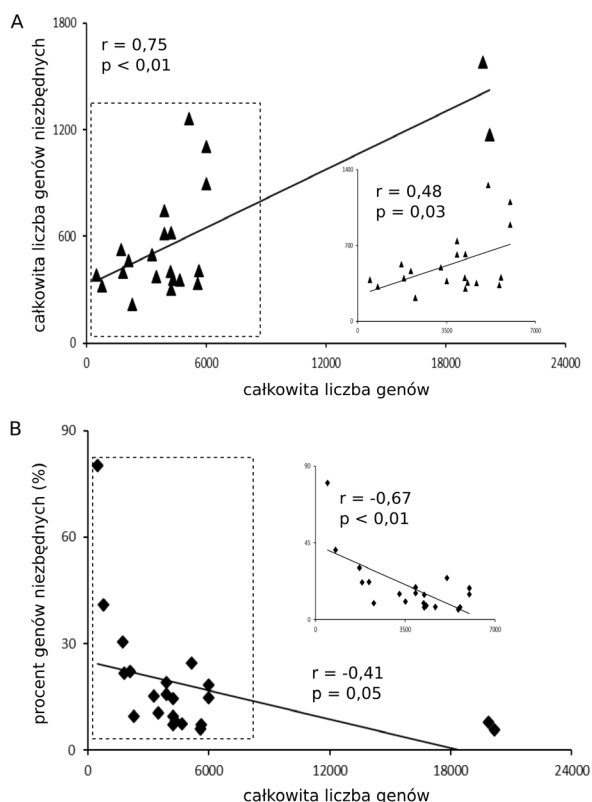
Tabela 1. Geny niezbędne u bakterii, Archaea i organizmów eukariotycznych.

Gatunek	Liczba genów kodujących białka*	Liczba genów niezbędnych	Źródło
Bakterie			
<i>Acinetobacter baylyi</i>	3277	499**	DE BERARDINIS i współaut. 2008
<i>Bacillus subtilis</i>	4174	261	COMMICHAU i współaut. 2013
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	5071	325	GOODMAN i współaut. 2009
<i>Burkholderia thailandensis</i>	5634	406**	BAUGH i współaut. 2013
<i>Campylobacter jejuni</i>	1838	233	METRIS i współaut. 2011
<i>Caulobacter crescentus</i>	3767	480	CHRISTEN i współaut. 2011
<i>Escherichia coli</i>	4240	620**	GERDES i współaut. 2003
<i>Escherichia coli</i>	4240	303**	BABA i współaut. 2006
<i>Francisella novicida</i>	1818	396**	GALLAGHER i współaut. 2007
<i>Haemophilus influenzae</i>	1610	667	AKERLEY i współaut. 2002
<i>Helicobacter pylori</i>	1445	344	SALAMA i współaut. 2004
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	3906	614**	SASSETTI i współaut. 2003
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	3906	774	GRIFFIN i współaut. 2011
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	3906	742**	ZHANG i współaut. 2012
<i>Mycoplasma genitalium</i>	476	382**	GLASS i współaut. 2006
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	782	321**	FRENCH i współaut. 2008
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2090	463**	KLEIN i współaut. 2012
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5572	117	GALLAGHER i współaut. 2011
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5572	335**	LIBERATI i współaut. 2006
<i>Salmonella enterica</i> sv. Typhimurium SL1344	4672	353**	BARQUIST i współaut. 2013
<i>Salmonella enterica</i> sv. Typhi Ty2	4322	358**	BARQUIST i współaut. 2013
<i>Salmonella enterica</i> sv. Typhimurium 14028S	5413	490	KNUTH i współaut. 2004
<i>Shewanella oneidensis</i>	4214	403**	DEUTSCHBAUER i współaut. 2011
<i>Sphingomonas wittichii</i>	5345	579	ROGGO i współaut. 2013
<i>Staphylococcus aureus</i>	2515	351	CHAUDHURI i współaut. 2009
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2125	113	THANASSI i współaut. 2002
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2125	133	SONG i współaut. 2005
<i>Streptococcus sanguinis</i>	2270	218**	XU i współaut. 2011
<i>Vibrio cholerae</i>	3504	372**	CAMERON i współaut. 2008
Archaea			
<i>Methanococcus maripaludis</i>	1722	526**	SARMIENTO i współaut. 2013
Organizmy eukariotyczne			
<i>Arabidopsis thaliana</i>	27636	358	MEINKE i współaut. 2008
<i>Aspergillus fumigatus</i>	9630	35	HU i współaut. 2007
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6002	894**	DOWELL i współaut. 2010
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6002	1105**	GIAEVER i współaut. 2002
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	5130	1260**	KIM i współaut. 2010
<i>Caenorhabditis elegans</i>	20185	1170**	KAMATH i współaut. 2003
<i>Drosophila melanogaster</i>	13933	706	SPRADLING i współaut. 1999
<i>Danio rerio</i>	26582	315	AMSTERDAM i współaut. 2004
<i>Mus musculus</i>	22130	2136	LIAO i ZHANG 2007
<i>Homo sapiens</i>	19857	2472	GEORGI i współaut. 2013
<i>Homo sapiens</i>	19857	1580**	HART i współaut. 2015

*) na podstawie KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (<https://www.genome.jp/kegg/>). **) w tych badaniach przetestowano przynajmniej 75% genów danego organizmu, w pozostałych mniejsze zestawy

odwrotna, im więcej genów ma dany organizm, tym mniejszy ich procent jest niezbędny (Ryc. 1). Do tej pory nie jest jasne dlaczego tak wygląda ta zależność. Natomiast śmiało można powiedzieć, że procentowo najwięcej genów niezbędnych mają drobnoustroje patogenne żyjące wewnątrz organi-

zmu gospodarza, np. *Mycoplasma genitalium* (GLASS i współaut. 2006). Prawdopodobną przyczyną jest to, że w toku ewolucji organizmy te zachowały tylko te geny, bez których absolutnie nie mogą się obejść, podczas gdy zostały utracone wszystkie te, których funkcje mogą spełniać geny gospodarza.



Ryc. 1. Zależność liczby genów niezbędnych od całkowitej liczby genów dla dotychczas poznanych esentialomów.

A – wyrażona w wartościach absolutnych, B – wyrażona jako procent całkowitej liczby genów. Podano wartości korelacji (r) oraz prawdopodobieństwo istotności statystycznej (p). Mniejsze panele stanowią fragmenty większych paneli (zaznaczone linią przerywaną) i dotyczą danych dla organizmów jednokomórkowych. Większe panele obejmują dane dla organizmów jednokomórkowych i wielokomórkowych.

JAK ZMIENIA SIĘ NIEZBĘDNOŚĆ GENÓW W ZALEŻNOŚCI OD TŁA GENETYCZNEGO?

Określenie funkcji i właściwości genów niezbędnych pociągnęło za sobą kolejne rozważania, które miały na celu zobrazowanie, co tak naprawdę definiuje ich niezbędność.

Pojawiło się pytanie, czy niezbędność genów zależy od tła genetycznego, wskutek czego może być ona odmienna u różnych osobników tego samego gatunku. Aby uzyskać odpowiedzi na powyższe pytania, przeprowadzono eksperymenty m.in. na drożdżach (*Saccharomyces cerevisiae*) (DOWELL i współaut. 2010). DOWELL i współaut. (2010) zbadali geny niezbędne u dwóch szczepów *S. cerevisiae* $\Sigma 1278b$ i $S288c$, których genomy są prawie identyczne. Badacze wykazali, że 894 geny były niezbędne u obu

szczepów, 44 geny były niezbędne tylko u szczepu $\Sigma 1278b$, a 13 genów tylko u szczepu $S288c$. Pokazano więc, że różnice w tle genetycznym sprawiają, że ta sama mutacja daje odmienny efekt, nawet u przedstawicieli tego samego gatunku.

W czasie wieloletnich badań zaobserwowano także, że niektóre geny zbędne mogą stać się niezbędnymi po utracie innego genu. Zjawisko to można wyjaśnić na prostym przykładzie, który w swoim artykule przedstawili CHEN i współaut. (2016). Zakładali oni, że kiedy 10 genów koduje kompleks białkowy, który nie spełnia żadnej funkcji w organizmie, geny te są zbędne. Zmienia się to w chwili, gdy chociaż jeden z nich ulega inaktywacji, co może prowadzić do zachwiania równowagi, a w konsekwencji do wytworzenia toksycznego białka, który doprowadzi do śmierci komórki. Na podstawie tego przykładu możemy wyciągnąć wnioski, że geny te razem są zbędne, ale każdy osobno pełni już istotną rolę w zachowaniu równowagi wewnątrzkomórkowej.

NIJMAN (2011) zaobserwował, że w wyniku śmiertelności syntetycznej (ang. synthetic lethality), gen staje się niezbędny, gdy zostanie utracona funkcja drugiego genu. Dwa geny są syntetycznie śmiertelne tylko wtedy, gdy ich równoczesna dezaktywacja prowadzi do śmierci organizmu. W przypadku, gdy tylko jeden z dwóch genów ulega mutacji, nie wpływa to na żywotność komórki, ponieważ drugi, aktywny gen, będzie pełnił funkcje niezbędne do jej przeżycia. Dzięki istnieniu takich interakcji genetycznych, komórki potrafią zachować równowagę wewnątrzkomórkową i zapobiegać negatywnym skutkom utraty funkcji przez geny.

Ciekawym zagadnieniem jest również spojrzenie na ideę genów niezbędnych przez pryzmat ewolucji. Istotność genów może się zmieniać w trakcie ewolucji w wyniku modyfikowania ich tła genetycznego. KIM i współaut. (2010) badali niezbędność genów homologicznych dwóch gatunków drożdży. Wykazali oni, że ~27% genów niezbędnych *S. pombe* nie jest niezbędnych u *S. cerevisiae*. Z kolei ~17% genów niezbędnych *S. cerevisiae* nie jest niezbędnych u *S. pombe*. Takie różnice w niezbędności genów homologicznych dwóch gatunków mogą być spowodowane np. zastąpieniem w toku ewolucji ich funkcji przez inne geny (KOO i współaut. 2017).

Ponadto, KIM i współaut. (2010) wykazali, że *S. pombe* ma aż o 227 genów niezbędnych więcej niż *S. cerevisiae*, mimo iż ma on w genomie mniej genów. Analizując różnice w liczbie genów niezbędnych zauważyli, że aż 89 genów niezbędnych u *S. pombe* odpowiada za funkcję mitochondriów,

a u *S. cerevisiae* jest ich tylko 6. Różnice te są spowodowane faktem, że utrata mitochondrialnego DNA (mtDNA) u *S. pombe* jest śmiertelna, a w przypadku *S. cerevisiae* translacja mitochondrialna nie jest niezbędna i mutanty pozbawione mtDNA mogą przeżyć. Inne przykłady różnej niezbędności obejmują procesy związane z obróbką RNA, transportem Golgiego oraz procesami związanymi z glikozylacją. Różnice te odzwierciedlają zróżnicowanie tych dwóch gatunków pod względem liczby intronów, struktury centromeru czy organizacji sieci Golgiego (PREUSS i współaut. 1992).

Temat ewolucyjnej natury genów niezbędnych podjęli również LIU i współaut. (2015), którzy zauważyli, że pewne procesy ewolucyjne, takie jak np. pozyskiwanie dodatkowych chromosomów, pozwalają na przezwycięzenie skutków utraty genu niezbędnego. Testowali oni geny niezbędne u *S. cerevisiae* i wykazali, że na 1100 niezbędnych genów występujących w tym genomie, tylko 88 (9%) to tak zwane ewoluujące geny niezbędne. Terminem tym określono geny niezbędne, które można usunąć i nie zawsze prowadzi to do śmierci komórki. Dzieje się tak dlatego, że komórki z usuniętymi genami niezbędnymi mogą podlegać krótkotrwałej ewolucji adaptacyjnej i spontanicznie nabywać mutacje, które zapobiegają jej śmierci.

JAK ZMIENIA SIĘ NIEZBEDNOŚĆ GENÓW W ZALEŻNOŚCI OD ŚRODOWISKA?

Poza modyfikującym wpływem tła genetycznego, zaczęto również badać wpływ różnych warunków środowiskowych na niezbędność genów. Klasyczne przykłady opisujące to zagadnienie obejmują koncepcję aukstotrofii, w której geny metaboliczne wymagane do syntezy niektórych życiowo ważnych elementów budulcowych (np. aminokwasów lub nukleotydów) są niezbędne tylko wtedy, gdy elementy te nie występują w pożywce wzrostowej lub w środowisku naturalnym. Zagadnienie to zobrazował PAPP i współaut. (2004) na przykładzie *S. cerevisiae*. Udowodnili oni, że większość genów, które są niezbędne do wzrostu drożdży w pełnych pożywkach, jest istotna dla ich przetrwania w zmienionych warunkach wzrostu.

Innym przykładem, mającym na celu pokazanie relacji między genotypem a środowiskiem, było zbadanie wpływu stresu środowiskowego (m.in. leków i braku witamin lub aminokwasów) na wzrost kolonii *S. cerevisiae* (HILLENMEYER i współaut. 2008). Autorzy określali gen jako niezbędny, jeśli w warunkach stresowych występowały zaburzenia wzrostu, których nie obserwowali w próbie

kontrolnej. Przeprowadzili łącznie 1144 testy i wykazali, że 97% badanych genów doprowadziło do zaburzeń wzrostu w przynajmniej jednym z badanych środowisk. Wykazali oni również, że istnieją geny, które są niezbędne nawet w kilku badanych warunkach. Jednym z nich był gen *IRS4*, który okazał się niezbędny aż w 55% przypadków. Gen ten reguluje fosfoinozytydy - drugie przekaźniki komórkowe, które regulują ruch pęcherzykowy, transportery błonowe i skład lipidowy błony komórkowej. Często genami niezbędnymi w różnych środowiskach były też geny odpowiedzialne za syntezę aminokwasów aromatycznych. Wykryto aż 9 takich genów.

Wpływ środowiska na niezbędność genów badano również na przykładzie *Escherichia coli* (NICHOLS i współaut. 2011). Dzięki przebadaniu prawie 4000 genów w ponad 300 różnych warunkach (badano m. in. wpływ metali, środków chemicznych i antybiotyków) poznano zestaw genów niezbędnych, które warunkują wzrost kolonii bakterii. W tym eksperymencie 49% przebadanych genotypów wykazało zaburzenia wzrostu. Jest to ponad sześć razy więcej genów niż w pełnej pożywce, gdzie tylko 8% genów jest niezbędnych (BABA i współaut. 2006).

JAKIE WŁAŚCIWOŚCI MAJĄ GENY NIEZBEDNE?

Od kiedy zaczęto badać geny niezbędne, zastanawiano się, jakie cechy wyróżniają je spośród pozostałych. Gdy poznano esentialomy różnych organizmów, zaczęto prowadzić badania porównawcze pozwalające na określenie cech wspólnych genów niezbędnych. Ustalenie cech wspólnych genów niezbędnych pozwala na przewidywanie niezbędności genów niescharakteryzowanych do tej pory, ale co ważniejsze, pozwala na określenie funkcji biologicznych, które są najbardziej podstawowe dla życia, czy też np. wskazanie genów, które są najlepszym celem terapii antybiotykowych.

Jak można się domyślić, geny niezbędne kodują najbardziej fundamentalne funkcje pozwalające na przeżycie komórki. Esentialomy są wzbogacone w geny odpowiadające za syntezę DNA, RNA i białek (KIM i współaut. 2010). Co ciekawe jednak, patrząc na bardziej od siebie odległe organizmy wydaje się, że zachowane są funkcje niezbędne do przeżycia komórki, a niekoniecznie kodujące je geny. Tak więc, jedne geny mogą zostać zastąpione innymi, ale proces, za jaki były odpowiedzialne, pozostaje nienaruszony (KOONIN 2003). Czasami nawet u blisko spokrewnionych organizmów może brakować homologów genów niezbędnych, zwłaszcza w przypadku genów, których funkcje mogą być

łatwo przejęte przez inne, co zostało pokazane w badaniach BERGMILLER i współaut. (2012) na przykładzie 26 genów niezbędnych *E. coli*.

Kolejną cechą charakterystyczną genów niezbędnych jest ich wzbogacenie w interakcje z innymi genami. Geny niezbędne mają około pięć razy więcej interakcji niż pozostałe geny, co czyni je „centrami sieci komórkowych” (ZHAN i BOUTROS 2016). Dodatkowo, geny niezbędne charakteryzują się wyższą ekspresją (HART i współaut. 2015), a ich translacja jest bardziej efektywna i mniej podatna na błędy niż translacja pozostałych genów (COHEN i współaut. 2016).

Wydaje się, że geny niezbędne powinny być rzadziej tracone w procesie ewolucji, bardziej konserwatywne niż pozostałe geny, ich ewolucja powinna być spowolniona, a wskaźnik substytucji niesynonimicznych (zmieniających kodowany aminokwas) do synonimicznych (niezmieniających kodowanego aminokwasu) (Ka/Ks ratio) niższy. Jednak odpowiedź na pytanie czy tak jest, nie jest tak prosta jakby się wydawało. Faktycznie, niezbędne geny wydają się być zachowane pomiędzy różnymi organizmami (liczone jako ilość organizmów, u których występuje homolog danego genu), jednak konserwatywność genów na poziomie nukleotydowym (niski wskaźnik Ka/Ks) nie jest już tak wyraźnie widoczny, zwłaszcza u organizmów eukariotycznych (np. HURST i SMITH 1999). Przyczyną tego może być fakt, że wiele genów jest niezbędnych w zależności od kontekstu środowiskowego czy genetycznego (RANCATI i współaut. 2017). W związku z tym, różnice pomiędzy różnymi grupami genów w tempie ewolucji mogą być zatarte, gdyż samo przyporządkowanie ich do genów niezbędnych lub nie, jest zależne od kontekstu w jakim tę niezbędność określamy. Niemniej, przynajmniej u bakterii, geny niezbędne wydają się być bardziej konserwatywne (LUO i współaut. 2015).

DLACZEGO BADAMY NIEZBĘDNOŚĆ GENÓW?

Badania genów niezbędnych pozwalają przede wszystkim na poznanie najważniejszych procesów biologicznych oraz szlaków metabolicznych, i tym samym znajdują się w centrum zainteresowania wielu dyscyplin biologicznych. Ponadto, identyfikacja esentialomów szerokiej gamy organizmów i idące za tym badania filogenetyczne mogą rzucić światło na początki życia i jego ewolucję (KOONIN 2003).

Badanie genów niezbędnych ma swoje zastosowanie nie tylko w szeroko pojętych naukach podstawowych, ale także w opra-

cowywaniu terapii antybakteryjnych, których celem są geny niezbędne określonych drobnoustrojów (ROEMER i współaut. 2003, XU i współaut. 2011). W tego typu badaniach należy pamiętać, że niezbędność genów jest zależna od podłoża genetycznego i środowiskowego, a w przypadku organizmów wielokomórkowych nawet od typu tkanki, w której występują, co jest tylko częściowo zależne od czynników genetycznych, ale może też zależeć od czynników epigenetycznych, czyli takich, które zmieniają ekspresję genów bez zmiany sekwencji nukleotydowej (HART i współaut. 2015). Zrozumienie, od czego tak naprawdę zależy niezbędność genu, jest kluczowe do opracowania terapii przeciwnowotworowych (HART i współaut. 2015, ZHAN i BOUTROS 2016) i może znaleźć zastosowanie w medycynie spersonalizowanej, która jest nastawiona na dostosowanie terapii do konkretnego pacjenta, biorąc pod uwagę jego specyficzny genotyp.

Badanie esentialomów jest także niezwykle istotne w biologii syntetycznej, której „Świętym Graalem” jest poznanie minimalnego zestawu genów niezbędnych do budowy funkcjonalnej komórki. I tak, HUTCHISON i współaut. (2016) opublikowali pracę opisującą stworzenie syntetycznej, minimalnej komórki *Mycoplasma mycoides* (JCV-syn3.0), która była w pełni żywotna w warunkach laboratoryjnych i zawierała jedynie 473 geny. Komórka taka stanowi świetny obiekt badania podstawowych funkcji życiowych organizmów. Potencjalnie, taka „minimalna” komórka może być następnie modyfikowana w kierunku procesu pożądanego przez człowieka, np. produkcji konkretnego metabolitu (JUHAS i współaut. 2012).

GENY NIEZBĘDNE CZY NIE?

Jak widać prosta definicja genu niezbędnego jako tego, który w razie utraty powoduje śmierć organizmu lub zapobiega jego rozmnażaniu, jest dużym uproszczeniem. Niektóre geny stają się niezbędnymi w określonych warunkach środowiska, podczas gdy inne status ten tracą. Tak samo niezbędność genu może zależeć od tła genetycznego, na jakim go badamy. Wszystkie te niuanse powodują, że tak prosta definicja genów niezbędnych nie sprawdza się, dlatego zaproponowano kilka alternatywnych definicji/grup genów niezbędnych. Przykładowo, ZHANG i REN (2015) zaproponowali podział genów niezbędnych *S. cerevisiae* na cztery kategorie: (i) warunkowo niezbędne (niezbędne w określonym środowisku/stresie), (ii) niezbędne (niezbędne do przeżycia w optymalnych warunkach wzrostu), (iii) zamiennie niezbędne (pary genów odpowie-

działne za te same funkcje, niezbędne tylko w przypadku równoczesnego usunięcia), (iv) absolutnie niezbędne (niezbędne w warunkach idealnych dla danego organizmu przy braku jakiegokolwiek stresu). Podział taki wydaje się bardziej zgodny z rzeczywistością, niż tradycyjny zero/jedynkowy podział na geny niezbędne i zbędne, choć jest on poniekąd zbyt dokładny. Przykładowo, geny zamiennie niezbędne (kategoria druga) mogą być równie dobrze zakwalifikowane jako warunkowo niezbędne, gdzie jako środowisko rozumiemy nie środowisko abiotyczne, lecz środowisko genetyczne danego genu (tło genetyczne). Tak więc prostszym i możliwe, że dokładniejszym podziałem, jest podział na (i) geny niezbędne warunkowo, czyli niezbędne w konkretnym kontekście środowiskowym/genetycznym (ang. conditionally or context-dependent essential genes) oraz (ii) geny niezbędne w każdych warunkach (ang. core essential genes). Oczywiście pierwsze nasuwające się pytanie to takie, czy istnieją jakiegokolwiek geny, które nie są warunkowo niezbędne, jak również czy istnieją geny, które są niezbędne w każdych warunkach. Pytanie to pozostaje otwarte.

Streszczenie

Geny niezbędne to geny, które umożliwiają organizmowi przeżycie i rozmnażanie, natomiast esentialomy to zestawy genów niezbędnych danego gatunku. W artykule opisujemy, jak badane są geny niezbędne, dla których organizmów poznaliśmy zestawy genów niezbędnych oraz dlaczego ich badania są ważne. Opisujemy cechy charakterystyczne genów niezbędnych oraz to, jak konieczność genu może się zmieniać w zależności od kontekstu w jakim jest badany. Podkreślamy też, jak ta zależność niezbędności genów od różnych czynników komplikuje definicję genów niezbędnych.

LITERATURA

- AKERLEY B. J., RUBIN E. J., NOVICK V. L., AMAYA K., JUDSON N., MEKALANOS J. J., 2002. A genome-scale analysis for identification of genes required for growth or survival of *Haemophilus influenzae*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 966-971.
- AMSTERDAM A., NISSEN R. M., SUN Z., SWINDELL E. C., FARRINGTON S., HOPKINS N., 2004. Identification of 315 genes essential for early zebrafish development. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 12792-12797.
- BABA T., ARA T., HASEGAWA M., TAKAI Y., OKUMURA Y., BABA M., DATSENKO K. A., TOMITA M., WANNER B. L., MORI H., 2006. Construction of *Escherichia coli* K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: the Keio collection. Mol. Syst. Biol. 2, 2006.0008.
- BARQUIST L., LANGRIDGE G. C., TURNER D. J., PHAN M. D., TURNER A. K., BATEMAN A., PARKHILL J., WAIN J., GARDNER P. P., 2013. A comparison of dense transposon insertion libraries in the *Salmonella* serovars *Typhi* and *Typhimurium*. Nucleic Acids Res. 41, 4549-4564.
- BAUGH L., GALLAGHER L. A., PATRAPUVICH R., CLIFTON M. C., GARDBERG A. S., EDWARDS T. E., ARMOUR B., BEGLEY D. W., DIETERICH S. H., DRANOW D. M., ABENDROTH J., FAIRMAN J. W., FOX III D., STAKER B. L., PHAN I., GILLESPIE A., CHOI R., NAKAZAWA-HEWITT S., NGUYEN M. T., NAPULI A., BARRETT L., BUCHKO G. W., STACY R., MYLER P. J., STEWART L. J., MANOIL C., VAN VOORHIS W. C., 2013. Combining functional and structural genomics to sample the essential *Burkholderia* structome. PLoS One 8, e53851.
- BERGMILLER T., ACKERMANN M., SILANDER O. K., 2012. Patterns of evolutionary conservation of essential genes correlate with their compensability. PLoS Genet. 8, e1002803.
- CAMERON D. E., URBACH J. M., MEKALANOS J. J., 2008. A defined transposon mutant library and its use in identifying motility genes in *Vibrio cholerae*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 8736-8741.
- CHAUDHURI R. R., ALLEN A. G., OWEN P. J., SHALOM G., STONE K., HARRISON M., BURGIS T. A., LOCKYER M., GARCIA-LARA J., FOSTER S. J., PLEASANCE S. J., PETERS S. E., MASKELL D. J., CHARLES I. G., 2009. Comprehensive identification of essential *Staphylococcus aureus* genes using Transposon-Mediated Differential Hybridisation (TMDH). BMC Genomics 10, 291.
- CHEN P., WANG D., CHEN H., ZHOU Z., HE X., 2016. The nonessentiality of essential genes in yeast provides therapeutic insights into a human disease. Genome Res. 26, 1355-1362.
- CHRISTEN B., ABELIUK E., COLLIER J. M., KALOGERAKI V. S., PASSARELLI B., COLLIER J. A., FEROMAKI J., MCADAMS H. H., SHAPIRO L., 2011. The essential genome of a bacterium. Mol. Syst. Biol. 7, 528.
- COHEN O., OBERHARDT M., YIZHAK K., RUPPIN E., 2016. Essential genes embody increased mutational robustness to compensate for the lack of backup genetic redundancy. PLoS One 11, e0168444.
- COMMICHAU F. M., PIETACK N., STULKE J., 2013. Essential genes in *Bacillus subtilis*: a re-evaluation after ten years. Mol. Biosyst. 9, 1068-1075.
- DE BERARDINIS V., VALLENET D., CASTELLI V., BESNARD M., PINET A., CRUAUD C., SAMAIR S., LECHAPLAIN C., GYAPAY G., RICHEL C., DUROT M., KREIMEYER A., LE FVRE F., SCHÄCHTER V., PEZO V., DÖRING V., SCARPELLI C., MÉDIGUE C., COHEN G. N., MARLIÈRE P., SALANOUBAT M., WEISSENBACH J., 2008. A complete collection of single-gene deletion mutants of *Acinetobacter baylyi* ADP1. Mol. Syst. Biol. 4, 174.
- DEUTSCHBAUER A., PRICE M. N., WETMORE K. M., SHAO W., BAUMOHL J. K., XU Z., NGUYEN M., TAMSE R., DAVIS R. W., ARKIN A. P., 2011. Evidence-based annotation of gene function in *Shewanella oneidensis* MR-1 using genome-wide fitness profiling across 121 conditions. PLoS Genet. 7, e1002385.
- DOWELL R. D., RYAN O., JANSEN A., CHEUNG D., AGARWALA S., DANFORD T., BERNSTEIN D. A., ROLFE P. A., HEISLER L. E., CHIN B., NISLOW C., GAEVER G., PHILLIPS P. C., FINK G. R., GIFFORD D. K., BOONE C., 2010. Genotype to phenotype: a complex problem. Science 328, 469.
- FLEISCHMANN R. D., ADAMS M. D., WHITE O., CLAYTON R. A., KIRKNESS E. F., KERLAVAGE A. R., BULT C. J., TOMB J. F., DOUGHERTY B. A., MERRICK J. M., MCKENNEY K., SUTTON G., FITZHUGH W., FIELDS C., GOCAYNE J. D., SCOTT J., SHIRLEY R., LIU L.-I., GLODEK A.,

- KELLEY J. M., WEIDMAN J. F., PHILLIPS C. A., SPRIGGS T., HEDBLUM E., COTTON M. D., UTTERBACK T. R., HANNA M. C., NGUYEN D. T., SAUDEK D. M., BRANDON R. C., FINE L. D., FRITCHMAN J. L., FUHRMANN J. L., GEOGHAGEN N. S. M., GNEHM C. L., McDONALD L. A., SMALL K. V., FRASER C. M., SMITH H. O., VENTER J. C., 1995. *Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd*. Science. 1995, 269, 496-512.
- FRASER C. M., GOCAYNE J. D., WHITE O., ADAMS M. D., CLAYTON R. A., FLEISCHMANN R. D., BULT C. J., KERLAVAGE A. R., SUTTON G., KELLEY J. M., FRITCHMAN R. D., WEIDMAN J. F., SMALL K. V., SANDUSKY M., FUHRMANN J., NGUYEN D., UTTERBACK T. R., SAUDEK D. M., PHILLIPS C. A., MERRICK J. M., TOMB J. F., DOUGHERTY B. A., BOTT K. F., HU P. C., LUCIER T. S., PETERSON S. N., SMITH H. O., HUTCHISON C. A. 3RD, VENTER J. C., 1995. *The minimal gene complement of Mycoplasma genitalium*. Science. 270, 397-403.
- FRENCH C. T., LAO P., LORAINÉ A. E., MATTHEWS B. T., YU H., DYBVIK K., 2008. *Large-scale transposon mutagenesis of Mycoplasma pulmonis*. Mol. Microbiol. 69, 67-76.
- GALLAGHER L. A., RAMAGE E., JACOBS M. A., KAUL R., BRITTNACHER M., MANOIL C., 2007. *A comprehensive transposon mutant library of Francisella novicida, a bioweapon surrogate*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104, 1009-1014.
- GALLAGHER L. A., SHENDURE J., MANOIL C., 2011. *Genome-scale identification of resistance functions in Pseudomonas aeruginosa using Tn-seq*. MBio 2, e00315-10.
- GEORGI B., VOIGHT B. F., BUCAN M., 2013. *From mouse to human: evolutionary genomics analysis of human orthologs of essential genes*. PLoS Genet. 9, e1003484.
- GERDES S. Y., SCHILLE M. D., CAMPBELL J. W., BALAZSI G., RAVASZ E., DAUGHERTY M. D., SOMERA A. L., KYRPIDES N. C., ANDERSON I., GELFAND M. S., BHATTACHARYA A., KAPATRAL V., D'SOUZA M., BAEV M. V., GRECHKIN Y., MSEEH F., FONSTEIN M. Y., OVERBEEK R., BARABASI A. L., OLTVAI Z. N., OSTERMAN A. L., 2003. *Experimental determination and system level analysis of essential genes in Escherichia coli MG1655*. J. Bacteriol. 185, 5673-5684.
- GIAEVER G., CHU A. M., NI L., CONNELLY C., RILES L., VÉRONNEAU S., DOW S., LUCAU-DANILA A., ANDERSON K., ANDRÉ B., ARKIN A. P., ASTROMOFF A., EL BAKKOURY M., BANGHAM R., BENITO R., BRACHAT S., CAMPANARO S., CURTISS M., DAVIS K., DEUTSCHBAUER A., ENTIAN K.-D., FLAHERTY P., FOURY F., GARFINKEL D. J., GERSTEIN M., GOTTE D., GÜLDENER U., HEGEMANN J. H., HEMPEL S., HERMAN Z., JARAMILLO D. F., KELLY D. E., KELLY S. L., KÖTTER P., LABONTE D., LAMB D. C., LAN N., LIANG H., LIAO H., LIU L., LUO C., LUSSIER M., MAO R., MENARD P., OOI S. L., REVUELTA J. L., ROBERTS C. J., ROSE M., ROSS-MACDONALD P., SCHERENS B., SCHIMMACK G., SHAFER B., SHOEMAKER D. D., SOOKHAI-MAHADEO S., STORMS R. K., STRATHERN J. N., VALLE G., VOET M., VOLCKAERT G., WANG C.-Y., WARD T. R., WILHELMY J., WINZELER E. A., YANG Y., YEN G., YOUNGMAN E., YU K., BUSSEY H., BOEKE J. D., SNYDER M., PHILIPPSEN P., DAVIS R. W., JOHNSTON M., 2002. *Functional profiling of the Saccharomyces cerevisiae genome*. Nature 418, 387-391.
- GLASS J. I., ASSAD-GARCIA N., ALPEROVICH N., YOOSEPH S., LEWIS M. R., MARUF M., HUTCHISON C. A. 3RD, SMITH H. O., VENTER J. C., 2006. *Essential genes of a minimal bacterium*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 425-430.
- GOODMAN A. L., MCNULTY N. P., ZHAO Y., LEIP D., MITRA R. D., LOZUPONE C. A., KNIGHT R., GORDON J. I., 2009. *Identifying genetic determinants needed to establish a human gut symbiont in its habitat*. Cell Host Microbe 6, 279-289.
- GRIFFIN J. E., GAWRONSKI J. D., DEJESUS M. A., IOERGER T. R., AKERLEY B. J., SASSETTI C. M., 2011. *High-resolution phenotypic profiling defines genes essential for mycobacterial growth and cholesterol catabolism*. PLoS Pathog. 7, e1002251.
- HART T., CHANDRASHEKHAR M., AREGGER M., STEINHART Z., BROWN K. R., MACLEOD G., MIS M., ZIMMERMANN M., FRADET-TURCOTTE A., SUN S., MERO P., DIRKS P., SIDHU S., ROTH F. P., RISSLAND O. S., DUROCHER D., ANGERS S., MOFFAT J., 2015. *High-resolution CRISPR screens reveal fitness genes and genotype-specific cancer liabilities*. Cell 163, 1515-1526.
- HILLENMEYER M. E., FUNG E., WILDENHAIN J., PIERCE S. E., HOON S., LEE W., PROCTOR M., ST. ONGE R. P., TYERS M., KOLLER D., ALTMAN R. B., DAVIS R. W., NISLOW C., GIAEVER G., 2008. *The chemical genomic portrait of yeast: uncovering a phenotype for all genes*. Science 320, 362-365.
- HU W., SILLAOTS S., LEMIEUX S., DAVISON J., KAUFFMAN S., BRETON A., LINTEAU A., XIN C., BOWMAN J., BECKER, J., JIANG B., ROEMER T., 2007. *Essential gene identification and drug target prioritization in Aspergillus fumigatus*. PLoS Pathog. 3, e24.
- HURST L. D., SMITH N. G. C., 1999. *Do essential genes evolve slowly?* Curr. Biol. 9, 747-750.
- HUTCHISON C. A., PETERSON S. N., GILL S. R., CLINE R. T., WHITE O., FRASER C. M., SMITH H. O., VENTER J. C., 1999. *Global transposon mutagenesis and a minimal Mycoplasma genome*. Science 286, 2165-2169.
- HUTCHISON C. A. III, CHUANG R. Y., NOSKOV V. N., ASSAD-GARCIA N., DEERINCK T. J., ELLISMAN M. H., GILL J., KANNAN K., KARAS B. J., MA L., PELLETIER J. F., QI Z.-Q., RICHTER R. A., STRYCHALSKI E. A., SUN L., SUZUKI Y., TSVE-TANOVA B., WISE K. S., SMITH H. O., GLASS J. I., MERRYMAN C., GIBSON D. G., VENTER J. C., 2016. *Design and synthesis of a minimal bacterial genome*. Science 351, aad6253.
- JUHAS M., EBERL L., CHURCH G. M., 2012. *Essential genes as antimicrobial targets and cornerstones of synthetic biology*. Trends Biotechnol. 30, 601-607.
- KAMATH R. S., FRASER A. G., DONG Y., POULIN G., DURBIN R., GOTTA M., KANAPIN A., LE BOT N., MORENO S., SOHRMANN M., WELCHMAN D. P., ZIPPERLEN P., AHRINGER J., 2003. *Systematic functional analysis of the Caenorhabditis elegans genome using RNAi*. Nature 421, 231-237.
- KIM D. U., HAYLES J., KIM D., WOOD V., PARK H. O., WON M., YOO H. S., DUHIG T., NAM M., PALMER G., HAN S., JEFFERY L., BAEK S. T., LEE H., SHIM Y. S., LEE M., KIM L., HEO K. S., NOH E. J., LEE A. R., JANG Y. J., CHUNG K. S., CHOI S. J., PARK J. Y., PARK Y., KIM H. M., PARK S. K., PARK H. J., KANG E. J., KIM H. B., KANG H. S., PARK H. M., KIM K., SONG K., SONG K. B., NURSE P., HOE K. L., 2010. *Analysis of a genome-wide set of gene deletions in the fission yeast Schizosaccharomyces pombe*. Nat. Biotechnol. 28, 617-623.
- KLEIN B. A., TENORIO E. L., LAZINSKI D. W., CAMILLI A., DUNCAN M. J., HU L. T., 2012. *Iden-*

- tification of essential genes of the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *BMC Genomics* 13, 578.
- KNUTH K., NIESALLA H., HUECK C. J., FUCHS T. M., 2004. Large-scale identification of essential *Salmonella* genes by trapping lethal insertions. *Mol. Microbiol.* 51, 1729-1744.
- KOO B. M., KRITIKOS G., FARELLI J. D., TODOR H., TONG K., KIMSEY H., WAPINSKI I., GALARDINI M., CABAL A., PETERS J. M., HACHMANN A. B., RUDNER D. Z., ALLEN K. N., TYPAS A., GROSS C. A., 2017. Construction and analysis of two genome-scale deletion libraries for *Bacillus subtilis*. *Cell Syst.* 4, 291-305 e7.
- KOONIN E. V., 2003. Comparative genomics, minimal gene-sets and the last universal common ancestor. *Nat. Rev. Microbiol.* 1, 127-136.
- LIAO B. Y., ZHANG J., 2007. Mouse duplicate genes are as essential as singletons. *Trends Genet.* 23, 378-381.
- LIBERATI N. T., URBACH J. M., MIYATA S., LEE D. G., DRENKARD E., WU G., VILLANUEVA J., WEI T., AUSUBEL F. M., 2006. An ordered, non-redundant library of *Pseudomonas aeruginosa* strain PA14 transposon insertion mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 2833-2838.
- LIU G., YONG M. Y., YURIEVA M., SRINIVASAN K. G., LIU J., LIM J. S., POIDINGER M., WRIGHT G. D., ZOLEZZI F., CHOI H., PAVELKA N., RANCATI G., 2015. Gene essentiality is a quantitative property linked to cellular evolvability. *Cell* 163, 1388-1399.
- LUO H., LIN Y., GAO F., ZHANG C.-T., ZHANG R., 2014. *DEG 10*, an update of the database of essential genes that includes both protein-coding genes and noncoding genomic elements. *Nucleic Acids Res.* 42, D574-D580.
- LUO H., GAO F., LIN Y., 2015. Evolutionary conservation analysis between the essential and nonessential genes in bacterial genomes. *Sci. Rep.* 5, 13210.
- MEINKE D., MURALLA R., SWEENEY C., DICKERMAN A., 2008. Identifying essential genes in *Arabidopsis thaliana*. *Trends Plant Sci.* 13, 483-491.
- METRIS A., REUTER M., GASKIN D. J., BARANYI J., VAN VLIET A. H., 2011. *In vivo* and *in silico* determination of essential genes of *Campylobacter jejuni*. *BMC Genomics* 12, 535.
- NICHOLS R. J., SEN S., CHOO Y. J., BELTRAO P., ZIETEK M., CHABA R., LEE S., KAZMIERCZAK K. M., LEE K. J., WONG A., SHALES M., LOVETT S., WINKLER M. E., KROGAN N. J., TYPAS A., GROSS C. A., 2011. Phenotypic landscape of a bacterial cell. *Cell* 144, 143-156.
- NIJMAN S. M. B., 2011. Synthetic lethality: general principles, utility and detection using genetic screens in human cells. *FEBS Lett.* 585, 1-6.
- PAPP B., PAL C., HURST L. D., 2004. Metabolic network analysis of the causes and evolution of enzyme dispensability in yeast. *Nature* 429, 661-664.
- PREUSS D., MULHOLLAND J., FRANZUSOFF A., SEGEV N., BOTSTEIN, D., 1992. Characterization of the *Saccharomyces* Golgi complex through the cell cycle by immunoelectron microscopy. *Mol. Biol. Cell* 3, 789-803.
- RANCATI G., MOFFAT J., TYPAS A., PAVELKA N., 2017. Emerging and evolving concepts in gene essentiality. *Nat. Rev. Genet.* 19.1, 34-49.
- ROEMER T., JIANG B., DAVISON J., KETELA T., VEILLETTE K., BRETON A., TANDIA F., LINTEAU A., SILLAOTS S., MARTA C., MARTEL N., VERONNEAU S., LEMIEUX S., KAUFFMAN S., BECKER J., STORMS R., BOONE C., BUSSEY H., 2003. Large-scale essential gene identification in *Candida albicans* and applications to antifungal drug discovery. *Mol. Microbiol.* 50, 167-181.
- ROGGO C., CORONADO E., MORENO-FORERO S. K., HARSHMAN K., WEBER J., VAN DER MEER J. R., 2013. Genome-wide transposon insertion scanning of environmental survival functions in the polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacterium *Sphingomonas wittichii* RW1. *Environ. Microbiol.* 15, 2681-2695.
- SALAMA N. R., SHEPHERD B., FALKOW S., 2004. Global transposon mutagenesis and essential gene analysis of *Helicobacter pylori*. *J. Bacteriol.* 186, 7926-7935.
- SARMIENTO F., MRAZEK J., WHITMAN W. B., 2013. Genome-scale analysis of gene function in the hydrogenotrophic methanogenic archaeon *Methanococcus maripaludis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 4726-4731.
- SASSETTI C. M., BOYD D. H., RUBIN E. J., 2003. Genes required for mycobacterial growth defined by high density mutagenesis. *Mol. Microbiol.* 48, 77-84.
- SONG J. H., KO K. S., LEE J. Y., BAEK J. Y., OH W. S., YOON H. S., JEONG J. Y., CHUN J., 2005. Identification of essential genes in *Streptococcus pneumoniae* by allelic replacement mutagenesis. *Mol. Cells* 19, 365-374.
- SPRADLING A. C., STERN D., BEATON A., RHEM E. J., LAVERTY T., MOZDEN N., MISRA S., RUBIN G. M., 1999. The Berkeley *Drosophila* Genome Project gene disruption project: single P-element insertions mutating 25% of vital *Drosophila* genes. *Genetics* 153, 135-177.
- THANASSI J. A., HARTMAN-NEUMANN S. L., DOUGHERTY T. J., DOUGHERTY B. A., PUCCI M. J., 2002. Identification of 113 conserved essential genes using a high-throughput gene disruption system in *Streptococcus pneumoniae*. *Nucleic Acids Res.* 30, 3152-3162.
- XU P., GE X., CHEN L., WANG X., DOU Y., XU J. Z., PATEL J. R., STONE V., TRINH M., EVANS K., KITTEN T., BONCHEV D., BUCK G. A., 2011. Genome-wide essential gene identification in *Streptococcus sanguinis*. *Sci. Rep.* 1, 125.
- ZHAN T., BOUTROS M., 2016. Towards a compendium of essential genes - From model organisms to synthetic lethality in cancer cells. *Crit. Rev. Biochem. Mol.* 51, 74-85.
- ZHANG Z., REN Q., 2015. Why are essential genes essential? - The essentiality of *Saccharomyces* genes. *Microb. Cell* 8, 280-287.
- ZHANG Y. J., IOERGER T. R., HUTTENHOWER C., LONG J. E., SASSETTI C. M., SACCHETTINI J. C., RUBIN E. J., 2012. Global assessment of genomic regions required for growth in *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog.* 8, e1002946.

KOSMOS Vol. 69, 2, 313-321, 2020

PAULINA GAŚIENICA, KAMILA STEFANIA ZAJĄC, MARTA LABOCHA

Institut Nauk o Środowisku, Uniwersytet Jagielloński, Institute of Environmental Sciences, Jagiellonian University, 7 Gronostajowa Str., 30-387 Kraków, E-mail: gasienicapaulina03@gmail.com, kamila.zajac12@gmail.com, marta.labocha@uj.edu.pl

ESSENTIAL GENES AND ESSENTIALOMES

Summary

Essential genes are genes that are crucial for organism survival and reproduction, while essentialomes are sets of essential genes of a given species. In the article we describe how essential genes are tested, for which organisms we know the sets of essential genes, and why researchers study them. We describe the characteristics of essential genes and how gene essentiality can change depending on the context in which it is tested. We also emphasize how the relationship between gene essentiality and various factors complicates the definition of essential genes.

Keywords: essential gene, essentialome, synthetic biology, minimal genome