

Nature, Nurture, or Chance: Stochastic Gene Expression and Its Consequences

Arjun Raj and Alexander van Oudenaarden
Cell 135, October 17, 2008, 216-226

Lauris Kaplinski
Bioinformatics Journal Club 05/05/2009



Juhus molekulaarbioloogias

- Dihhotoomia kaose ja korrastatuse, juhuslikkuse ja determinismi vahel
- Molekulaarbioloogia üldiselt on laenanud biokeemialt (ja see omakorda keemialt) lootuse, et suurte arvude seadus silub asjad ära
- Mis aga juhtub siis, kui mingi oluline funktsioon sõltub ainult väikesest arvust molekulidest?
- Äärmislik juhtum – DNA-d on üldjuhul rakus üks (või mõni) koopia

Probleemid

- Mil määral on eluprotsessid rakus stohhastilised?
- Mil viisil see stohhastika avaldub?
- Kas stohhastiline müra mõjutab organismide fenotüüpe?
- Kas stohhastiline müra rakus on valiku surve all? Mispidise?
- Millised mehhanismid on välja kujunenud, et müra vähendada või suurendada?

Geeniekspressioon on diskreetne protsess

- Õigupoolest on praktiliselt kõik keemilised reaktsioonid diskreetsed – et vaheühendid on ebastabiilsed, siis reaktsioon kas toimub või ei toimu
- DNA ja mRNA molekulide arv on nii väike, et fluktuatsioonid geeniekspressiooni (keskmises) tasemes ei ühtlustu mõistliku aja jooksul

Sisemine ja välimine müra (extrinsic and intrinsic noise)

- Elowitz & al. 2002
- 2 koopiat sama *E.coli* promootorit, ühe taga CFP, teise taga YFP
- Välised fluktuatsioonid mõjutavad mõlema valgus taset ühtemoodi (RNA polümeraasi hulk, ribosoomide hulk)
- Sisemised fluktuatsioonid mõjutavad valkude taset eraldi
- Ajaskaala on erinev – sisemistel fluktuatsioonidel ca. 9 min, välimistel ca. 40 min (üks rakutsükkel)

Intrinsic and extrinsic noise

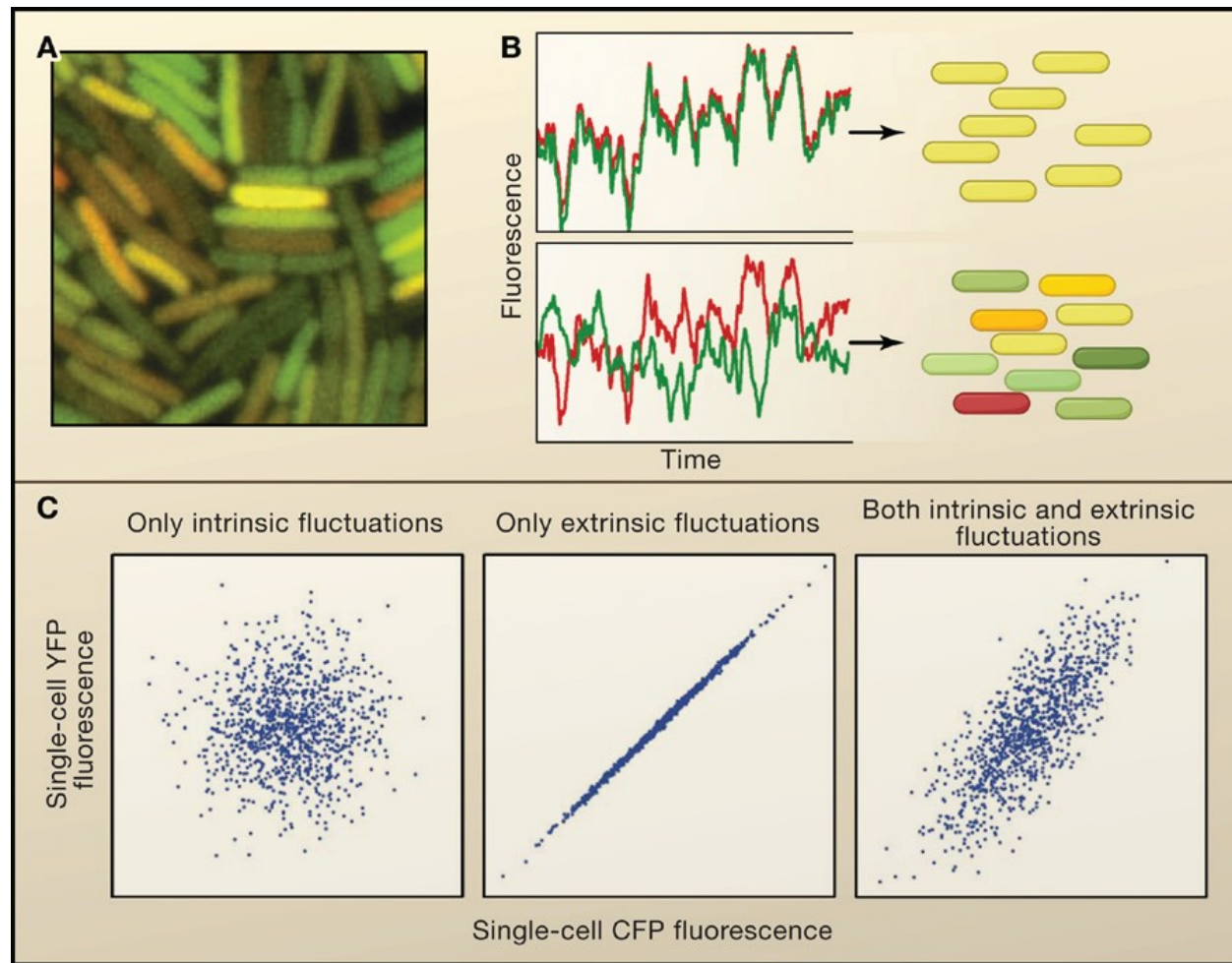


Figure 1. Intrinsic and Extrinsic Contributions to Noise in Gene Expression

(A) A fluorescence image of individual *E. coli* displaying marked cell-to-cell variability in the expression of two identically regulated fluorescent proteins.

(B) Schematic depiction of the temporal behaviors of extrinsic noise (upper) and intrinsic noise (lower).

(C) Expected cell-to-cell variations when fluctuations are intrinsic, extrinsic or both.

(A) and (B) are adapted from Elowitz et al., 2002.

Translational & transcriptional bursts

- Valgu ekspressioonitaseme müra peaks olema pöördvõrdeline transkriptsiooni kiirusega ja sõltumatu translatsiooni kiirusest
- Valke toodetakse „valangutena“
- On näidatud, et ka transkriptsioon ei ole ühtlane, vaid toimub „valangutena“
- Põhjus võib olla, et DNA esineb eri seisundites (transkriptsiooniliselt aktiivne ja mitte)

The origin of noise

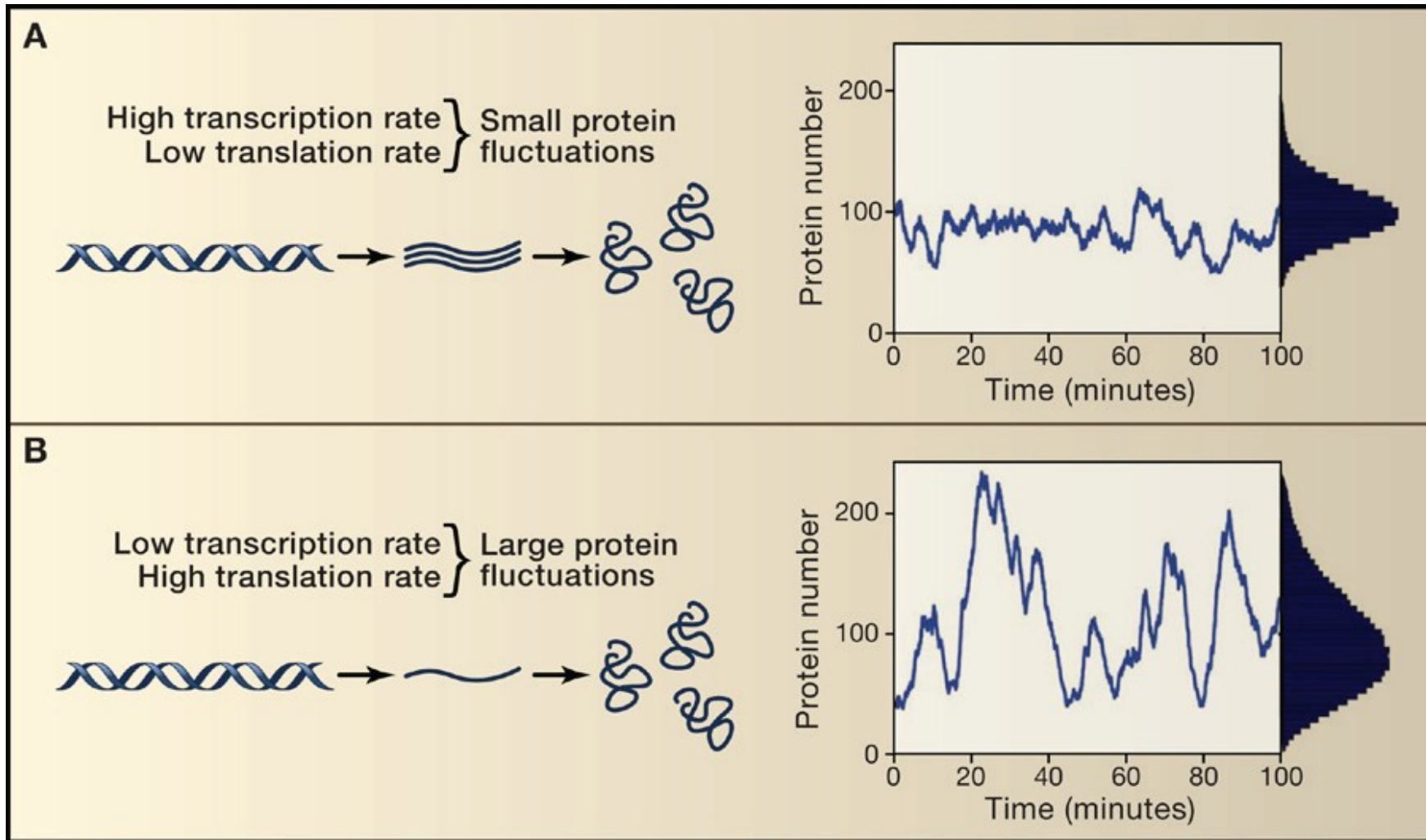


Figure 2. Noise in Prokaryotic Gene Expression Depends on the Rates of Transcription and Translation. When the transcription rate is high, variability in protein levels is low (A), but when the transcription rate is lowered and the translation rate is raised, gene expression is far noisier (B), even at the same mean, as shown in Ozbudak et al. (2002).

Eukarüoodid

- Olulised on muutused kromatiini struktuuris (kondenseeritud vs. vaba)
- Transkriptsioonilised „valangud“ tekivad geeniklastrile korruga
- Pärimi ekspresioonitaseme müra on põhiliselt välist tüüpi
- Põhiline roll näib mängivat raku suurus ja tsütoskeleti kuju
- Eukarüootsed rakud on suuremad

Eukarüoodid II

- Preinitsiatsioonikompleksid – harvad, kuid suhteliselt püsivad
- Transkriptsioonivabrikud – paarsada sellist toodab enamiku raku valkudest
- Geenid konkureerivad „vabrikute“ pärast
- Valkude tase on üldjuhul palju vähem varieeruv, kui mRNA-de tase (valgud on tavaliselt püsivamad ka)
- Geeniekspressiooni fluktuatsioonid kestavad mitmeid rakutsükleid

The distribution of mRNA synthesis

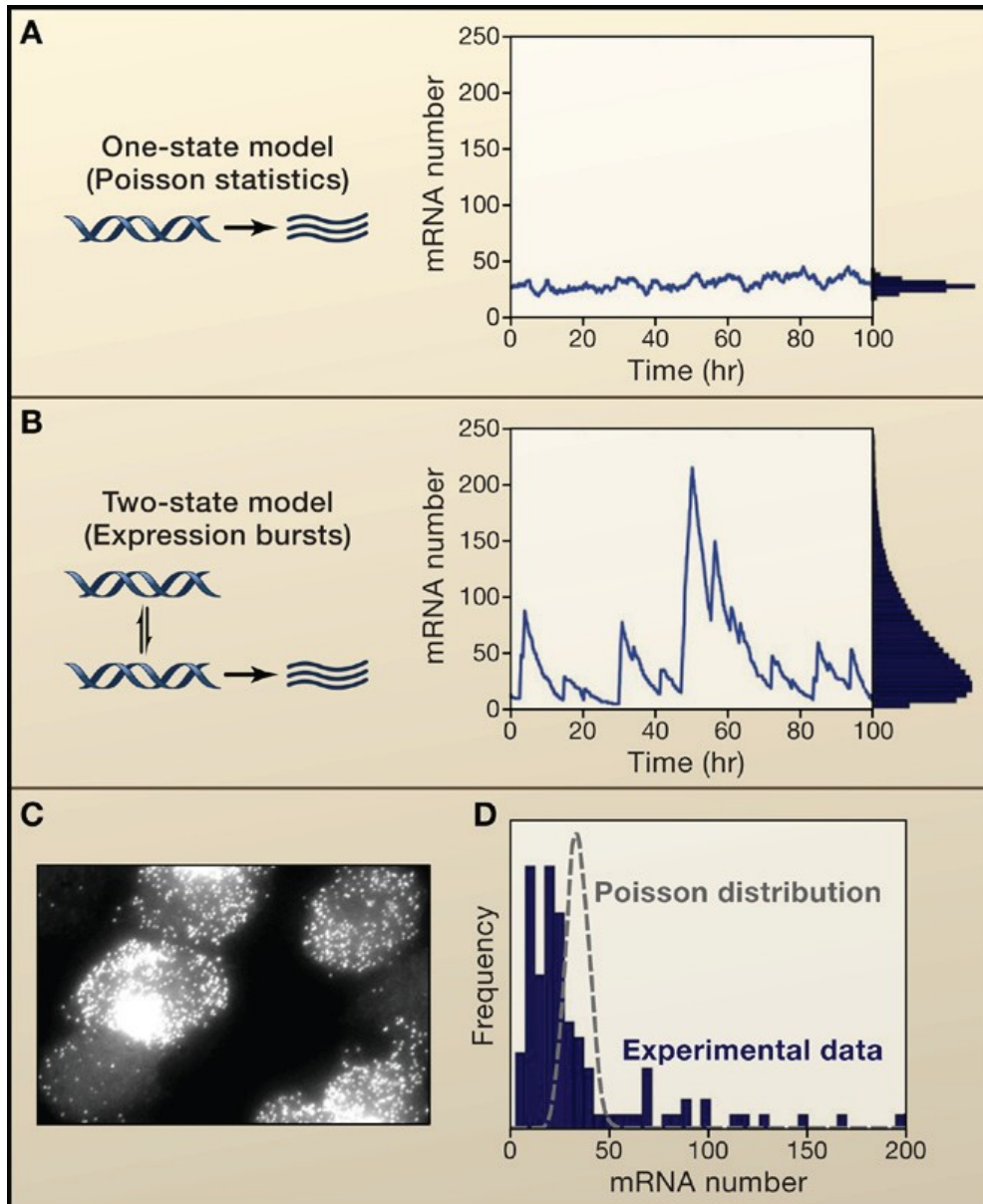


Figure 3. The Contribution of Transcriptional Bursts to Cell-to-Cell Variability

(A) Transcription without bursts with a relatively small amount of noise.

(B) Bursts in transcription can cause significantly higher variability, even when producing the same mean number of transcripts.

(C) In situ detection of individual mRNA molecules reveals large cell-to-cell variability in mammalian cells.

(D) Experimental histogram of mRNA numbers. The gray dashed line depicts the theoretical distribution one would expect in the absence of transcriptional bursts.

(C) and (D) are adapted from Raj et al., 2006.

Regulatsioonivõrgud

- Transkriptsioonilised kaskaadid
- Upstream geeni müra liitub downstream geeni mürale
- Geneetilist müra saab alla suruda, kuid sellega muutub signaali ajastus ebatäpsemaks

Tagasiside

- Negatiivne tagasiside vähendab müra
- Positiivne tagasiside võimendab müra
- Tugev positiivne tagasiside tekitab on/off tüüpi regulatsiooni, tavaliselt hüstereesi

Müra roll looduses

- Juhuslik müra võib tekitada heterogeensust geneetiliselt identses populatsioonis
- On/off tüüpi fenotüübi seisund püsib bakteritel palju põlvkondi (epigeneetiline päritavus)
- E.coli laktoosi omastamine on jah/ei tüüpi regulatsiooniga
- Ka laktoosivabas söötmes esineb subpopulatsioon, kellel on laktoosi ainevahetusrada sisse lülitatud

Müra roll II

- Heterogeensed alampopulatsioonid vs. reageerimine stiimulitele
- Heterogeenne populatsioon reageerib kiiremini, samuti pole vaja signalisatsiooniparaati üleval pidada
- Stabiilses keskkonnas on eelistatud homogeenne populatsioon

B. subtilis kompetents

- Competence – ability to take DNA from environment (in stationary phase)
- 10-20% B.subtilis populatsioonist on kompetentne
- Sisse- ja väljalülitamine toimub transkriptsioonifaktor ComK positiivselt tagasisidestatud ekspressiooniga
- Eksperimentaalselt vähendati ComK ekspressiooni määra (kiirendati transkriptsiooni, aeglustati translatsiooni)
- Mutantsete kompetentsete rakkude hulk langes oluliselt
- Samad tulemused, kui rakujagunemine blokeeriti (suurte rakkude määratase on väiksem)

Ontogenees

- Hiire ninas on tuhandeid eri lõhnaretseptoreid
- Nende individuaalne regulatsioon oleks lootusetult kompleksne
- Nina neuronite arengus lülitub juhuslikult sisse üks paljudest lõhnaretseptoritest
- Positiivne tagasiside tagab, et see jääb ainukeseks ekspresseerituks

Regulatsioon

- 2500 pärmi geeni
- Müra geeniekspressioon on potentsiaalselt organismile koormav
- Negatiivne tagsiside ei ole samuti „tasuta“
- Põhiline müraallikas on mRNA süntees ja lagundamine
- Kõrgelt ekspresseeritud geenide ekspressioonitase on stabiilsem
- Stressigeenide ekspressioon on eriti mürarohke

Kokkuvõte

- Raku paljud elutegevusprotsessid on juhitud väga väikese arvu molekulide poolt
- Stohhastiline müra geeniekspressioonis on nähtav fenotüübilise varieeruvusena
- Mõnel juhul võib see varieeruvus olla populatsioonile kasulik
- Müra silumine on ainevahetuslikult kulukas

Täna tähelepanu eest!

