

Почему выживают нокауты.

История одного растения (*A. thaliana*).



vserisunki.ru

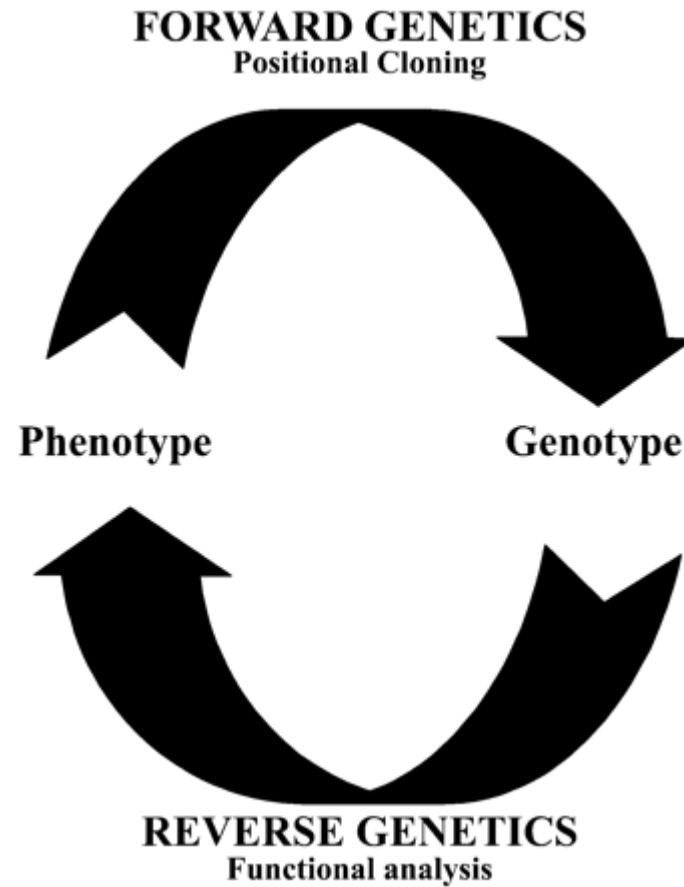
Дикий тип



<http://www.instapics.ru/>

Нокдаун

Прямая и обратная задачи поиска функции гена



Решение обратной задачи генетики. Миссия невыполнима?

Nature **415**, 8-9 (3 January 2002) | doi:10.1038/415008a

Surviving a knockout blow

Helen Pearson¹

Disabling a gene in one mouse strain can be fatal — but in another strain it can produce animals that seem normal. Making sense of such results requires stamina and skill, says Helen Pearson.

▲ Top

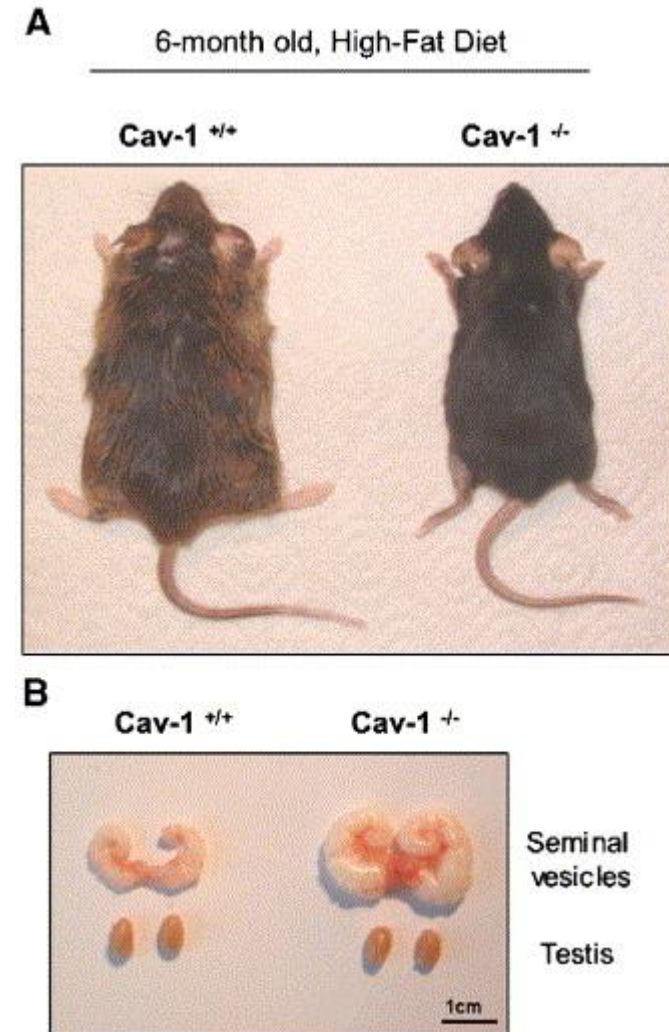
Some mice should, by rights, be dead. At the very least, Teyumuras Kurzchalia expected his to be critically ill. But the most prominent symptom of his genetically engineered mice was a persistent erection.

The mice lacked a gene called *caveolin-1*, which is needed to make the flask-shaped pits that pockmark the surface of many mammalian cells and are thought to help assemble molecules that pass signals to the cellular interior. Disrupting the gene should have caused serious problems, reasoned Kurzchalia, who works at the Max Planck Institute of Molecular Cell Biology and Genetics in Dresden¹.



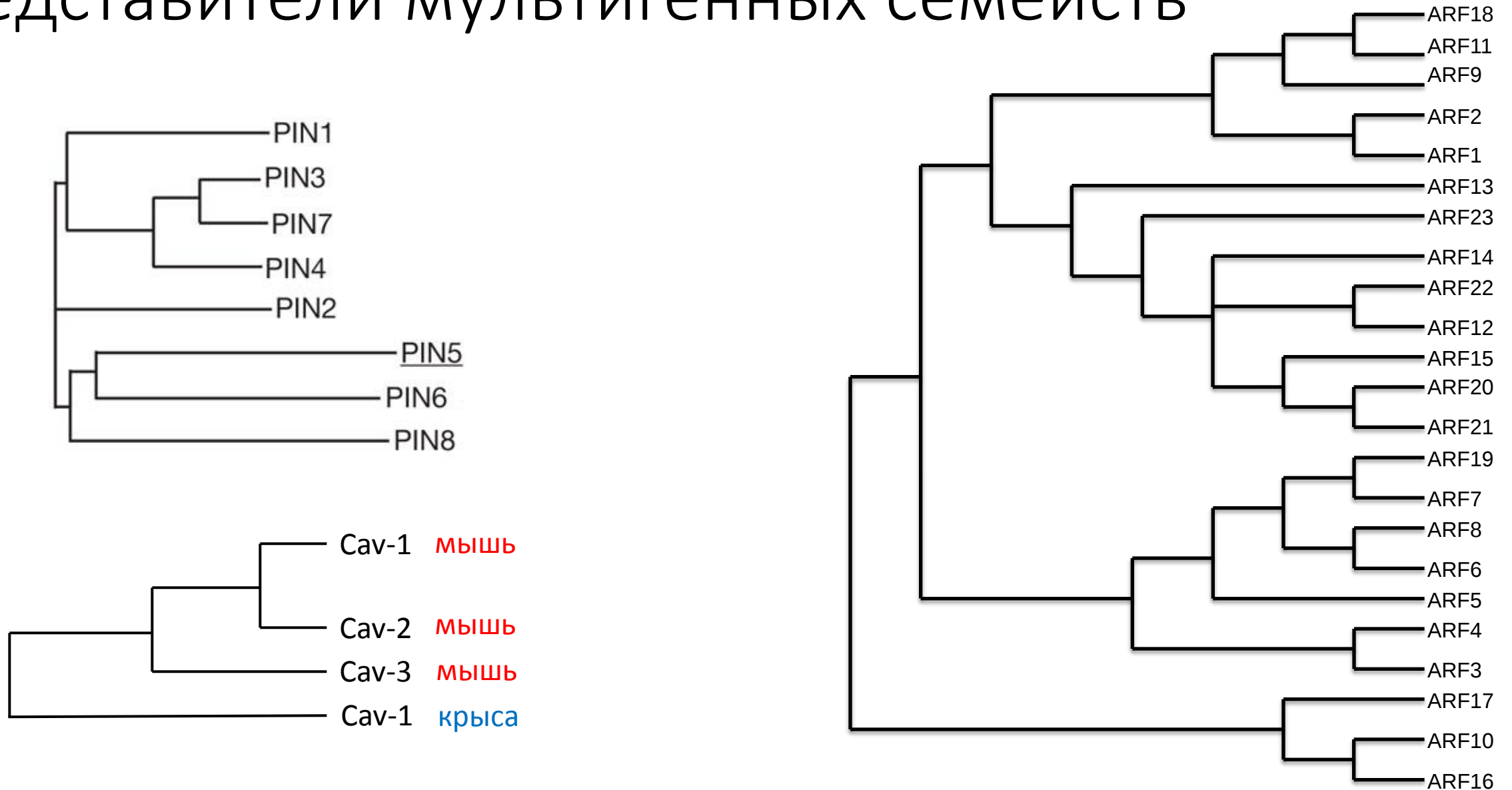
JACKSON LAB

Spot the difference: some mutant mice show clear attributes, but often the genetic effects are hidden.

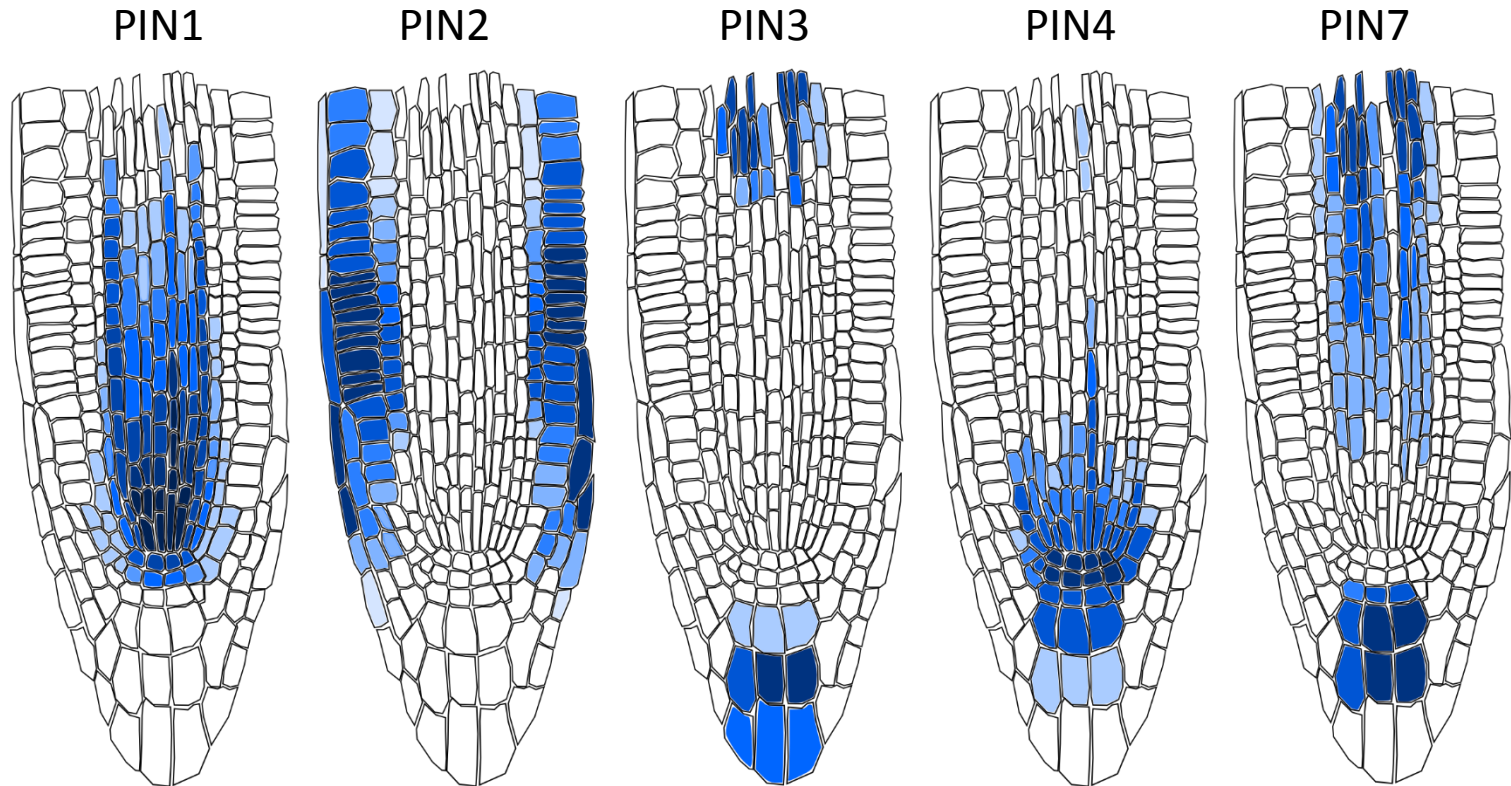
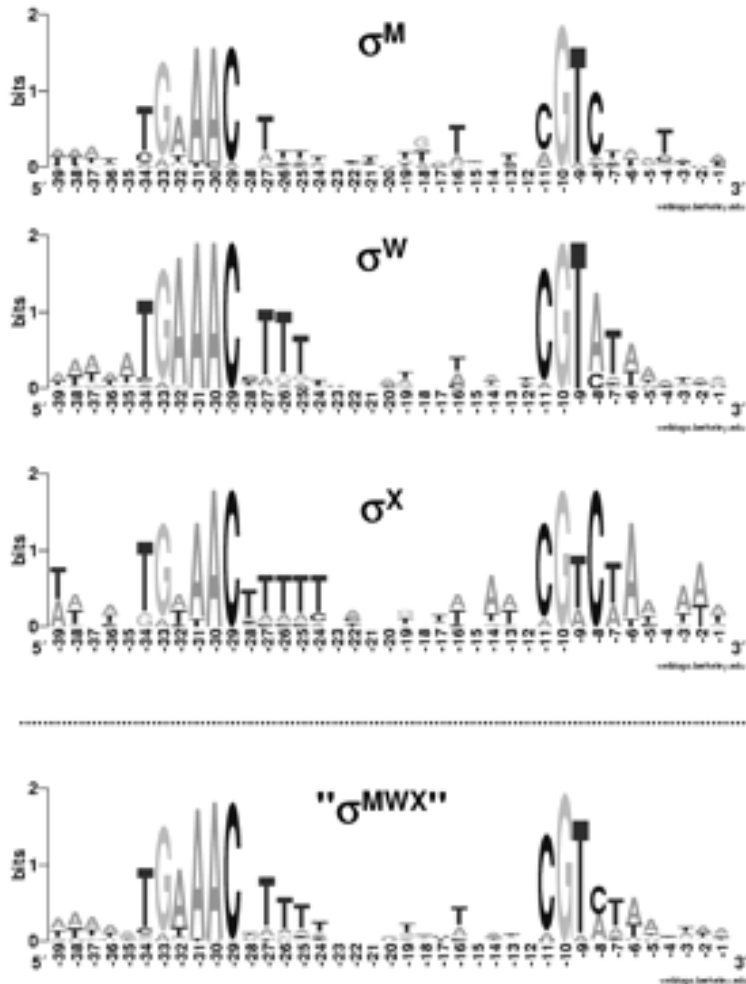


Le Lay and Kurzchalia, 2005

Ключевые в развитии гены – часто представители мультигенных семейств



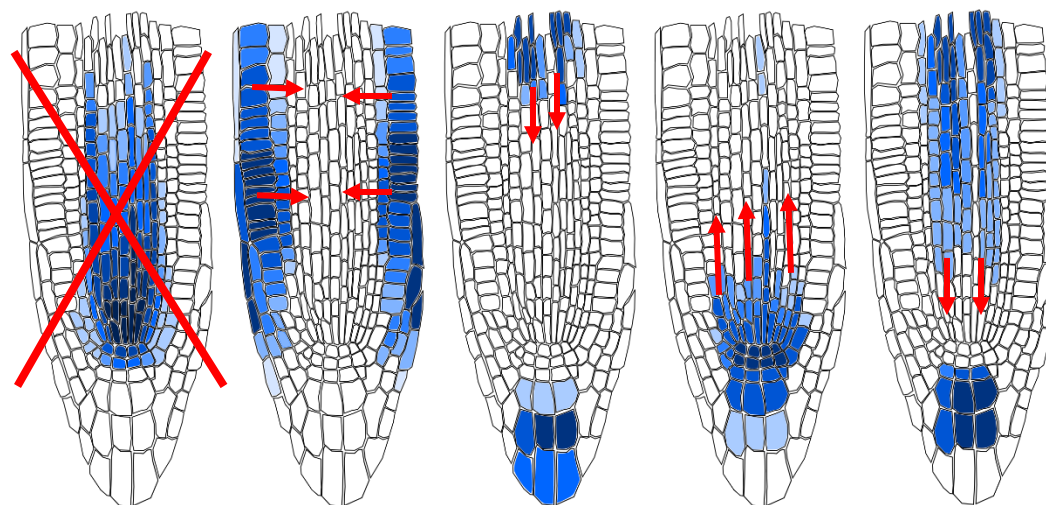
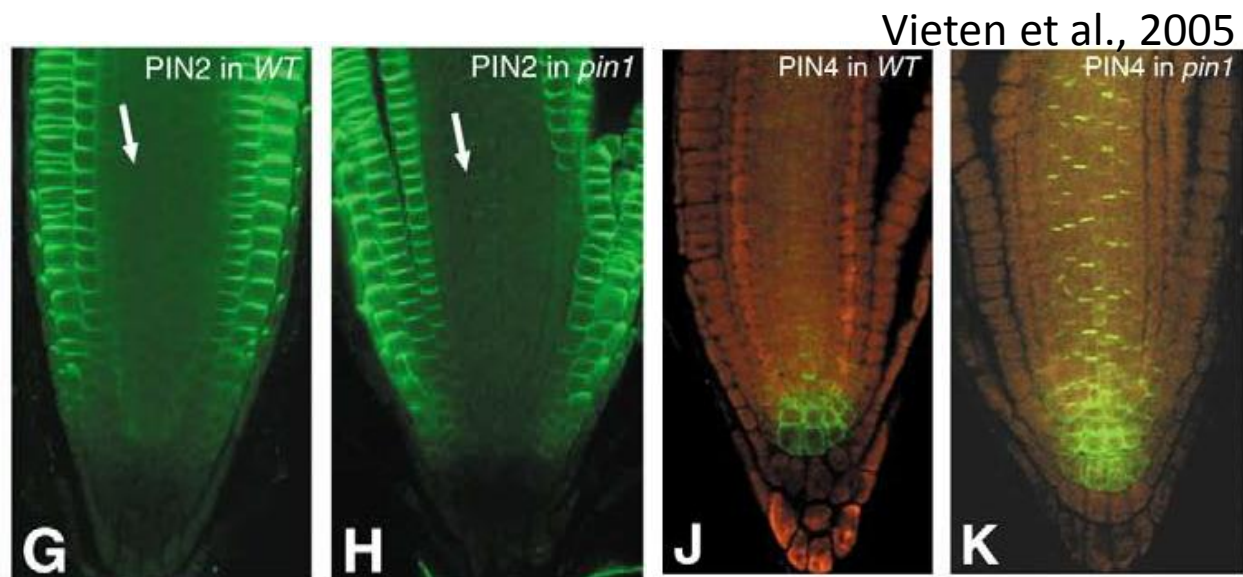
Функциональная избыточность



Тканеспецифичная экспрессия PIN транспортеров в корне

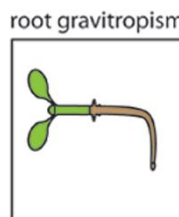
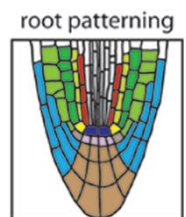
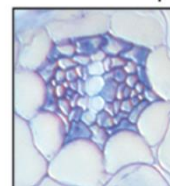
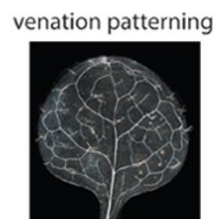
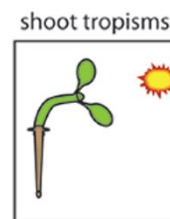
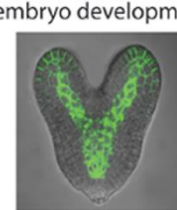
Сайты связывания TF паралогов
(Mascher et al., 2007)

Двойные, тройные, тетра-, пента- ...

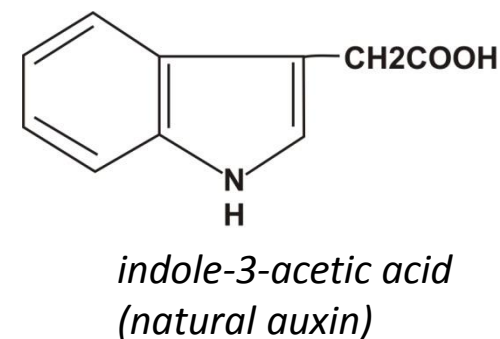


Как нокаутированному гену находится дублер?

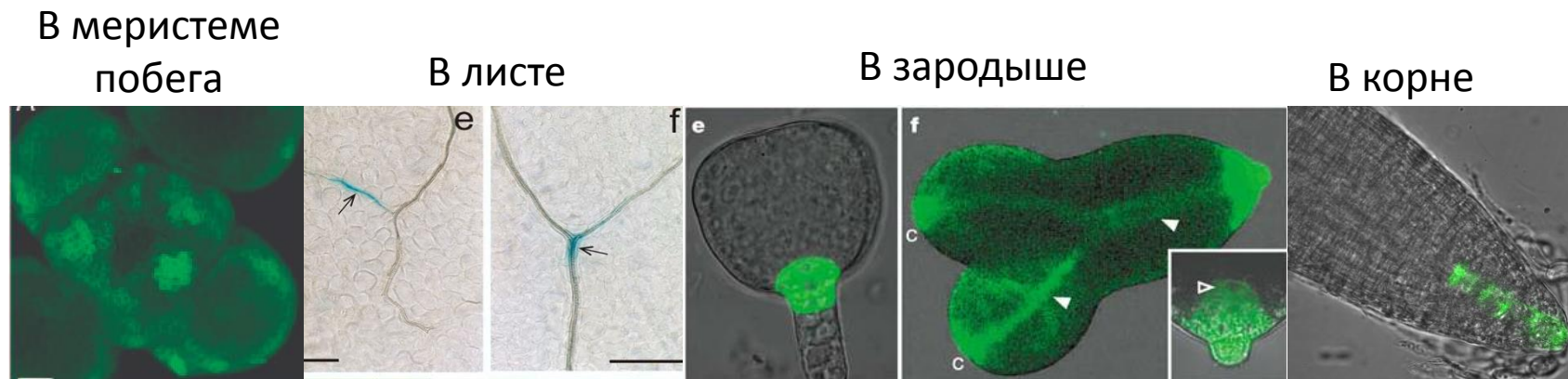




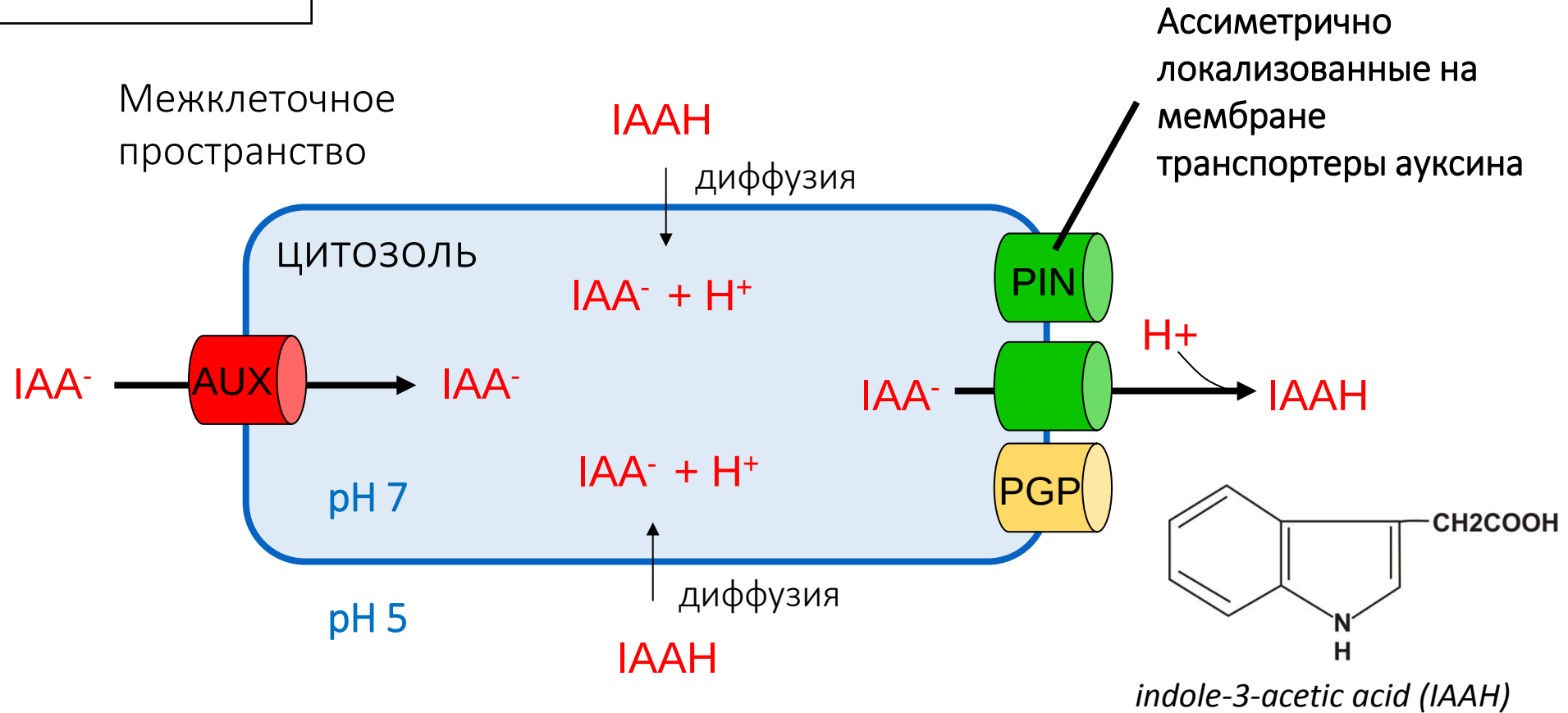
Фитогормон ауксин
– морфоген растений.



Неравномерное распределение ауксина в ткани

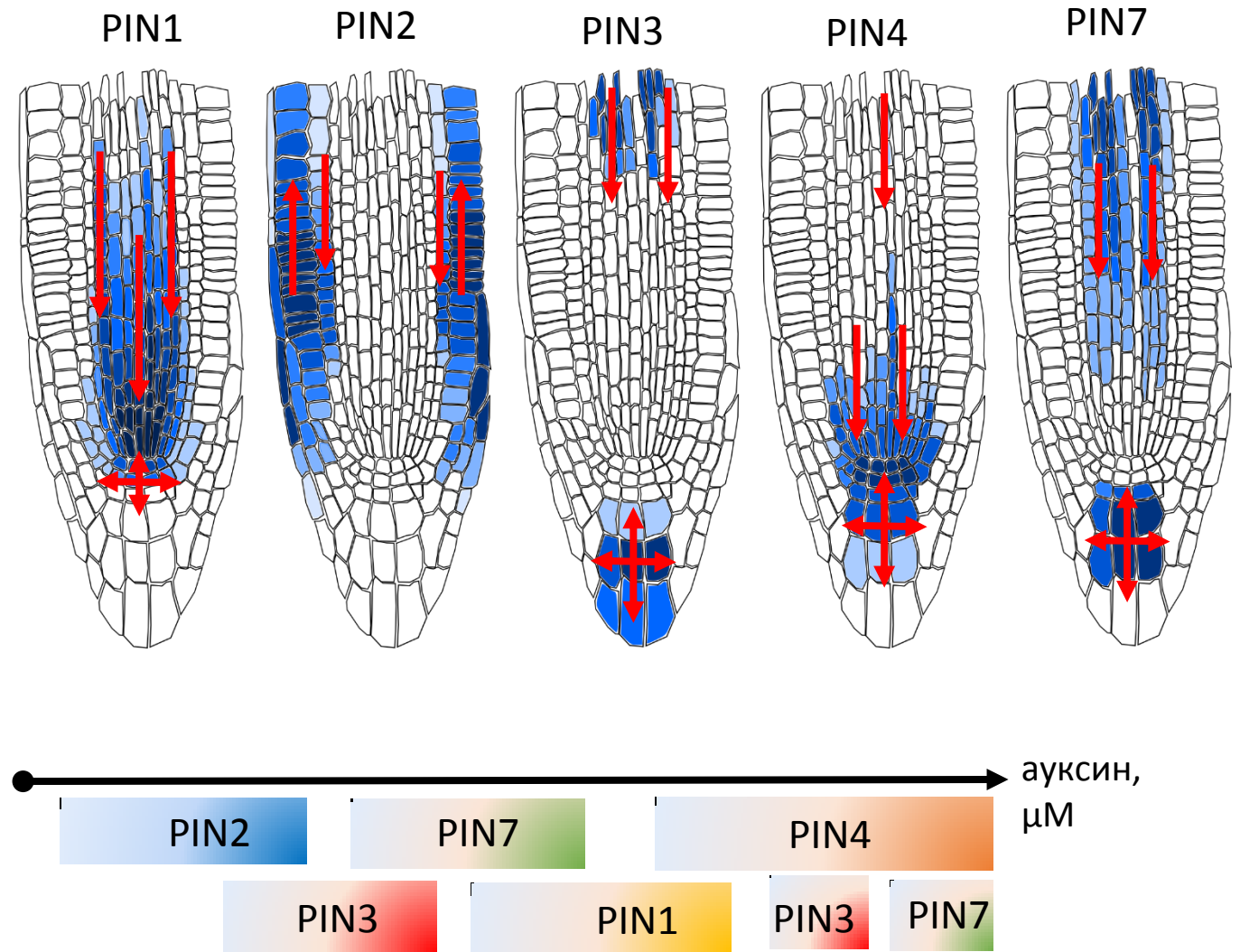
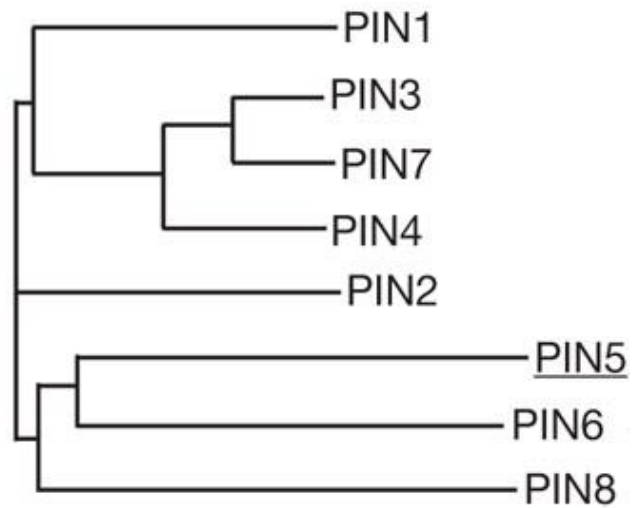


Почему так важен активный транспорт ауксина?

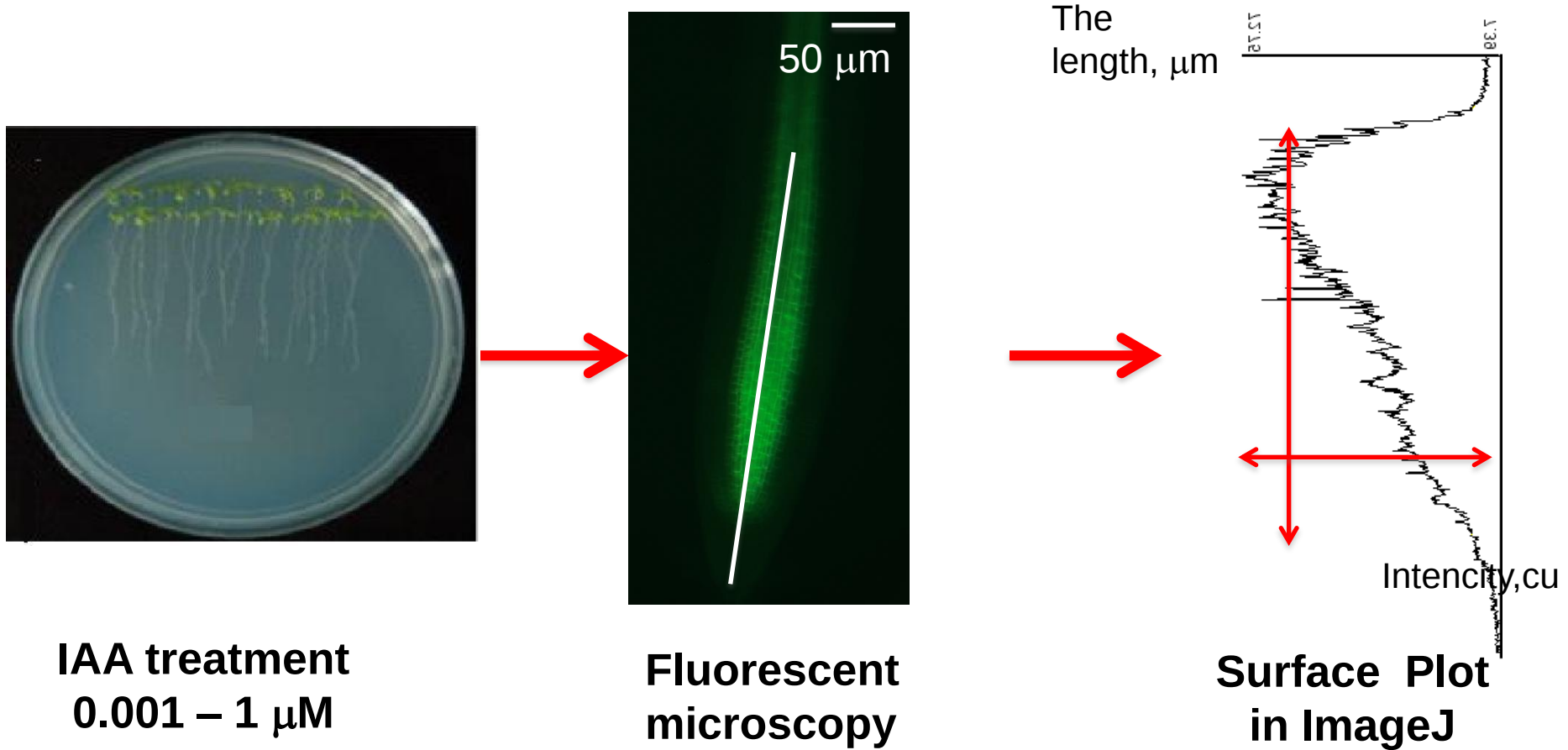


Семейство транспортеров ауксина PIN

Паралоги PIN Арабидопсиса



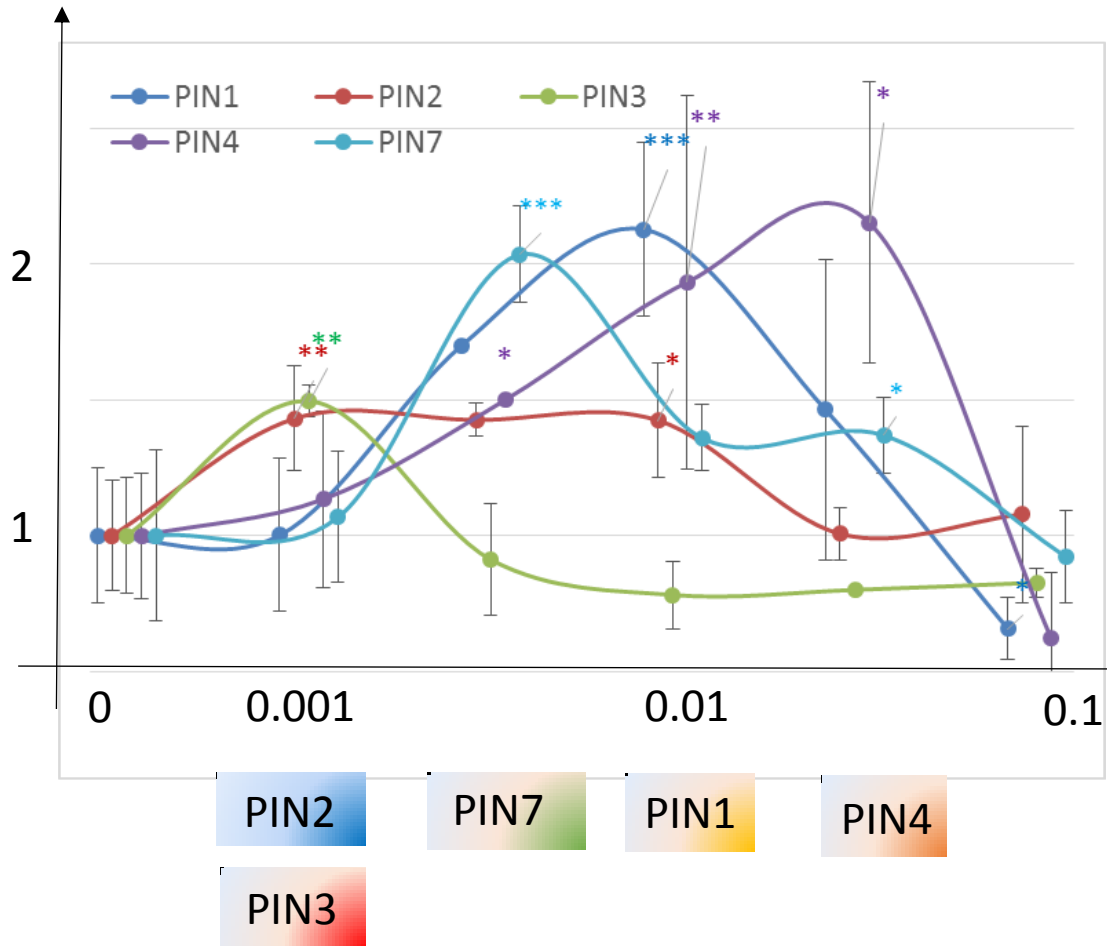
Экспериментальная проверка



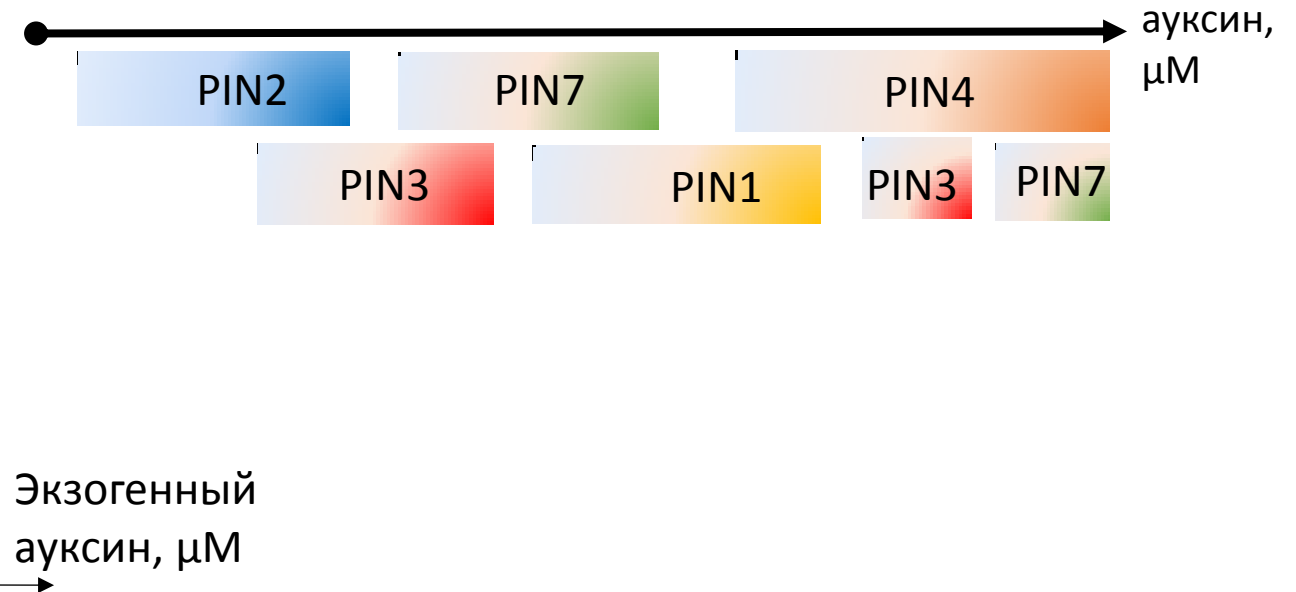
PIN1::PIN1-GFP, PIN2::PIN2-GFP
and PIN7::PIN7-GFP lines were used

Экспериментальная проверка: результаты

Результат



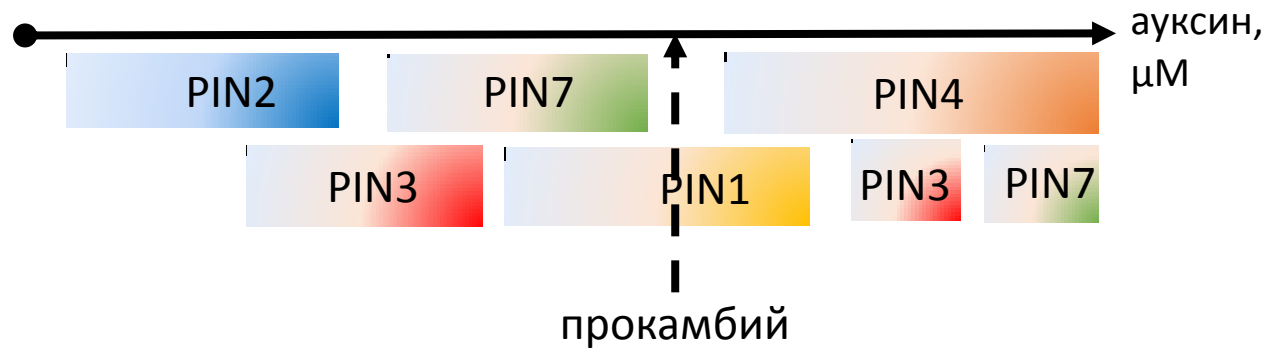
Гипотеза



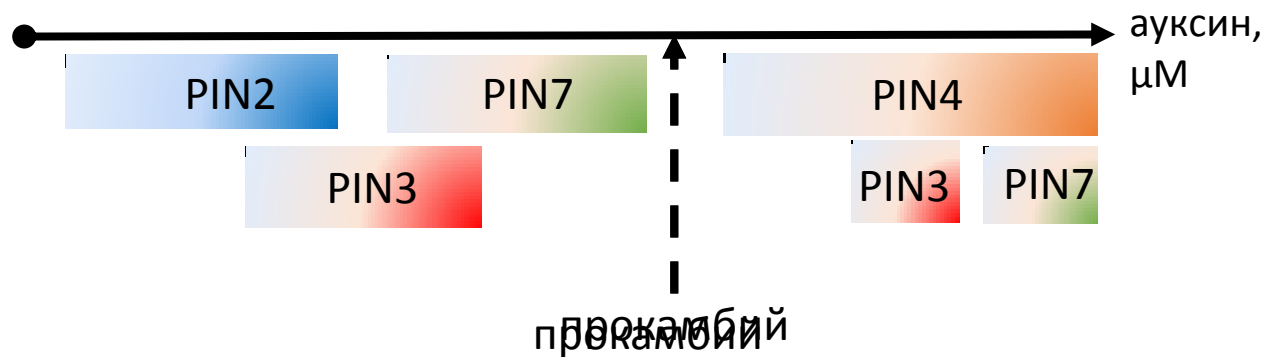
Что дозо-зависимая экспрессия значит для функциональной избыточности?



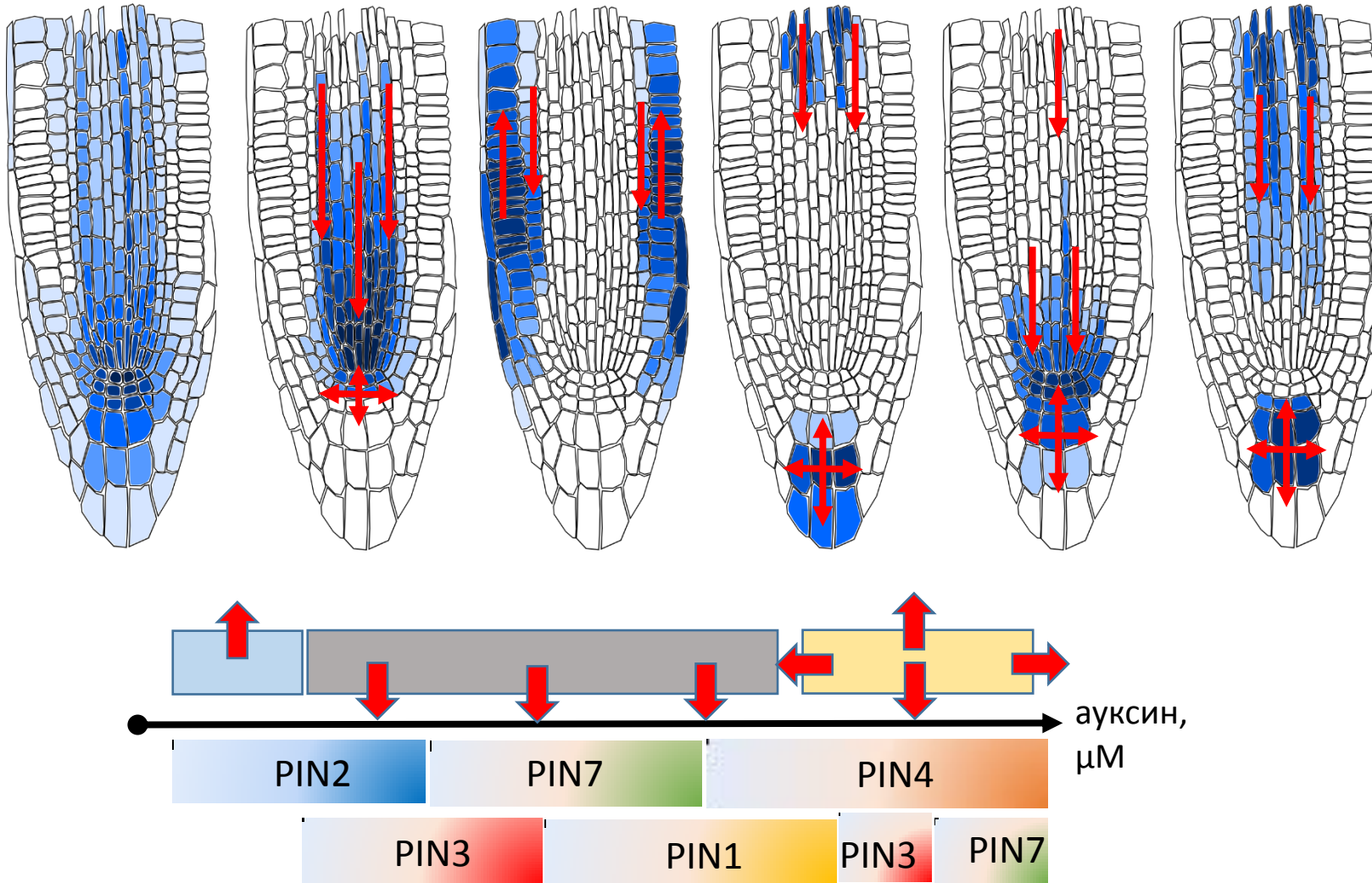
Дикий тип



pin1 мутант

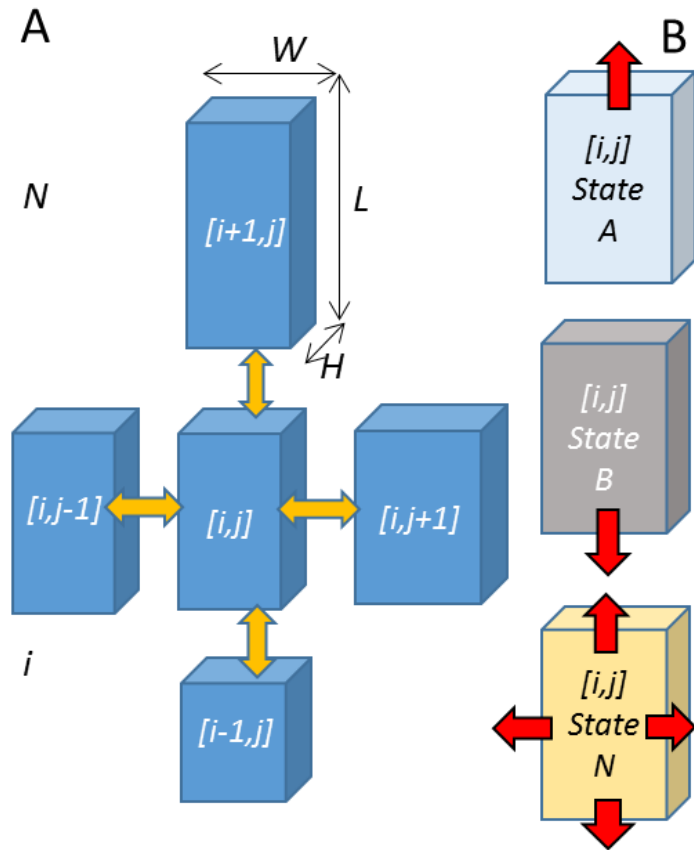
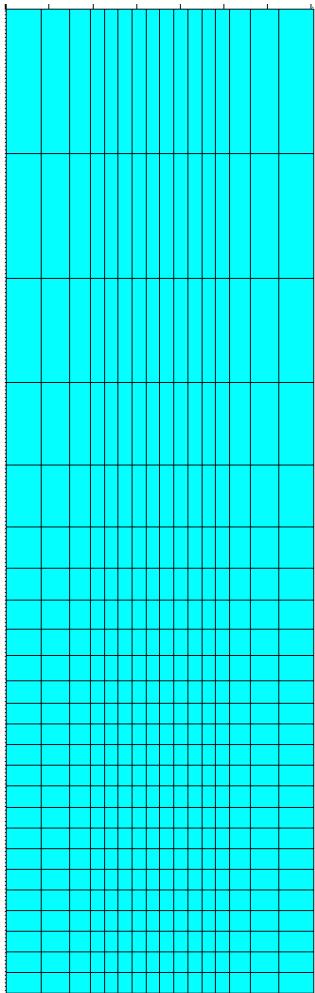


Регуляция полярности



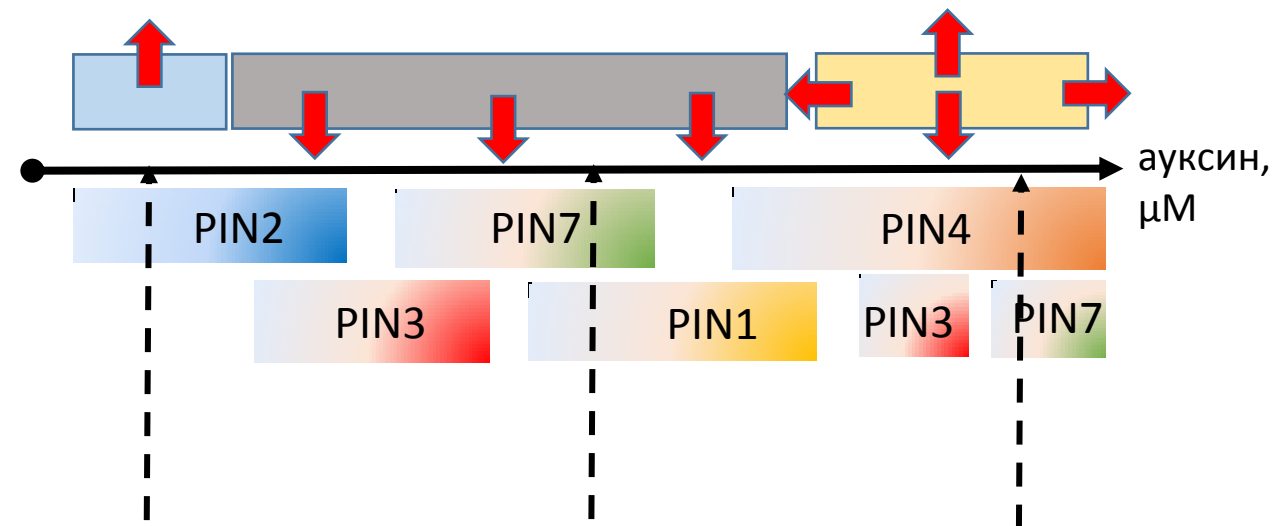
2. Математическая модель

Клеточный ансамбль

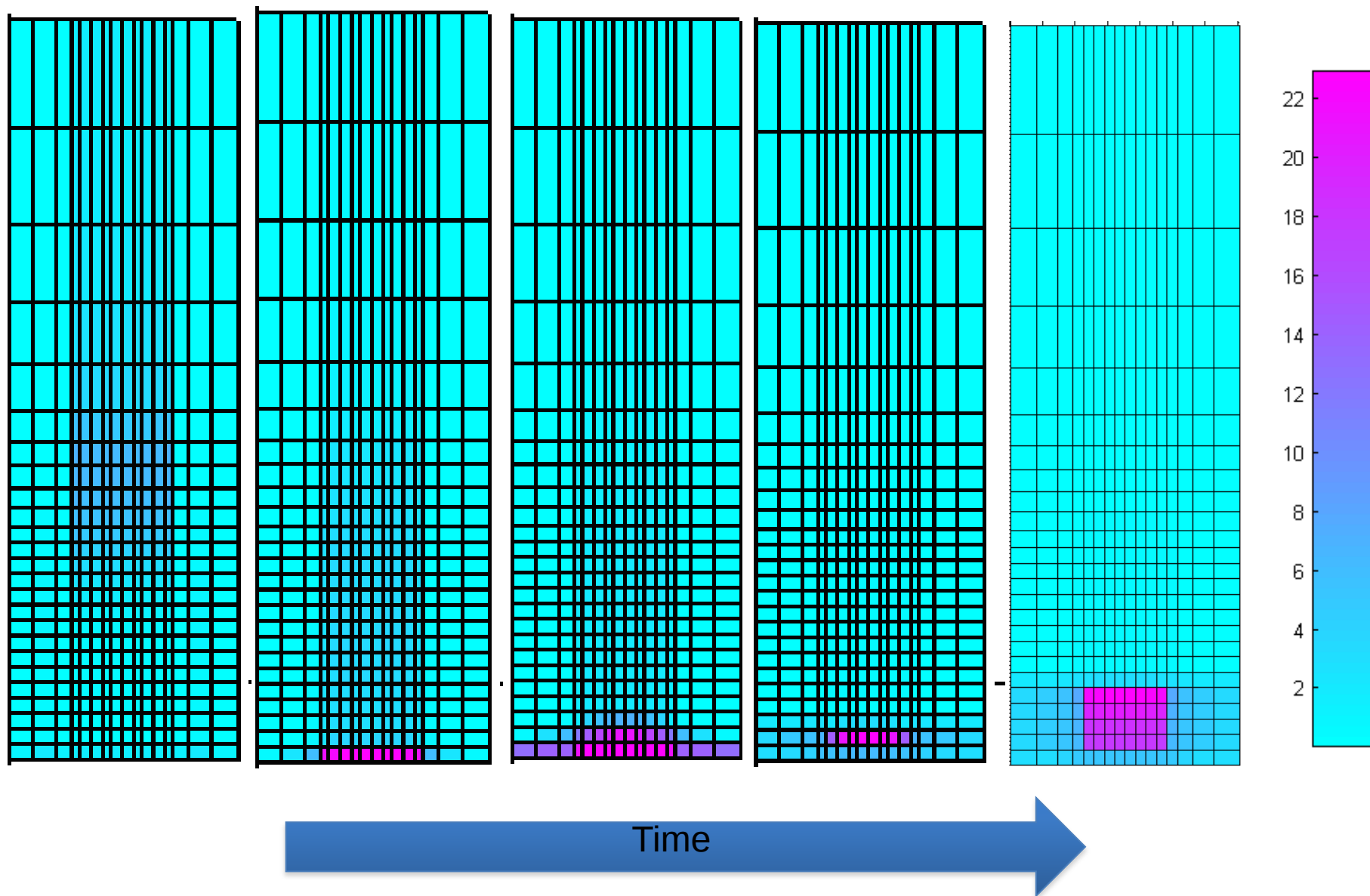


Какая концентрация ауксина в клетке?

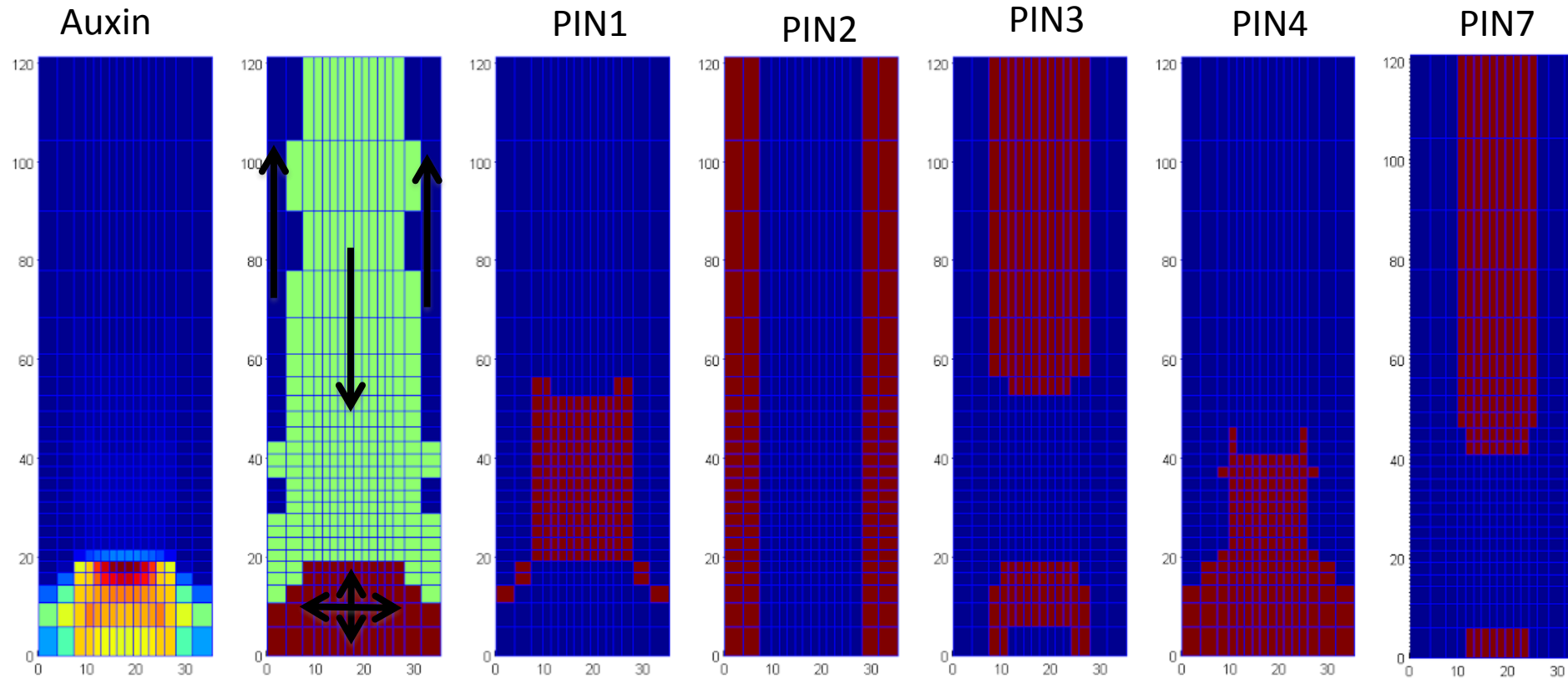
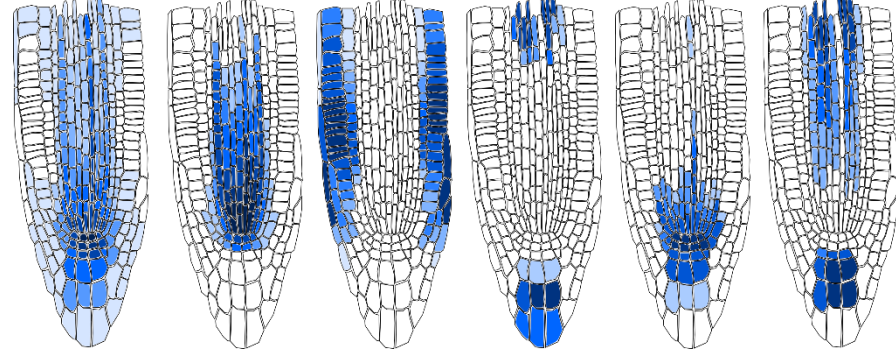
- Направление транспорта
- Набор PIN транспортеров



Формирование стационарного решения



Стационарное решение



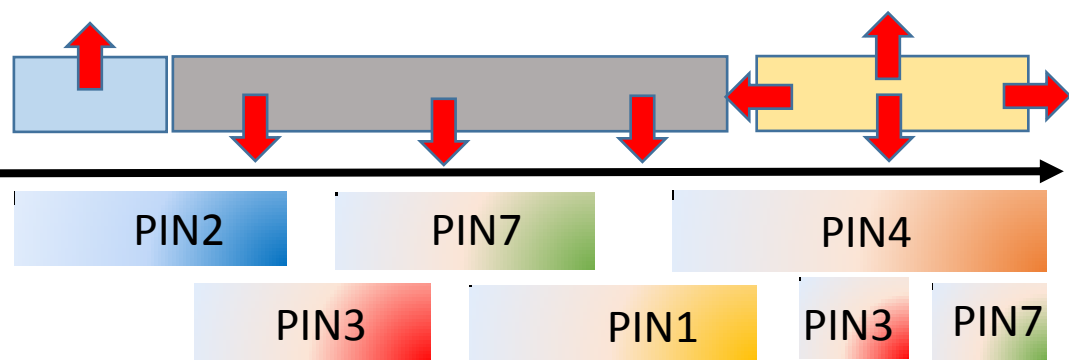
Формирование структуры меристемы может быть объяснено простыми морфогенетическими правилами регуляции ауксином экспрессии и полярности своих транспортеров



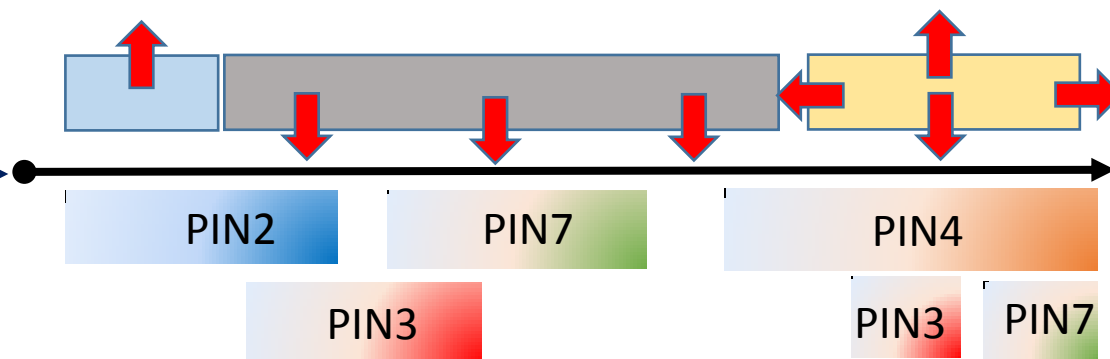
Vieten A et al. 2005

Modeling *pin* mutants

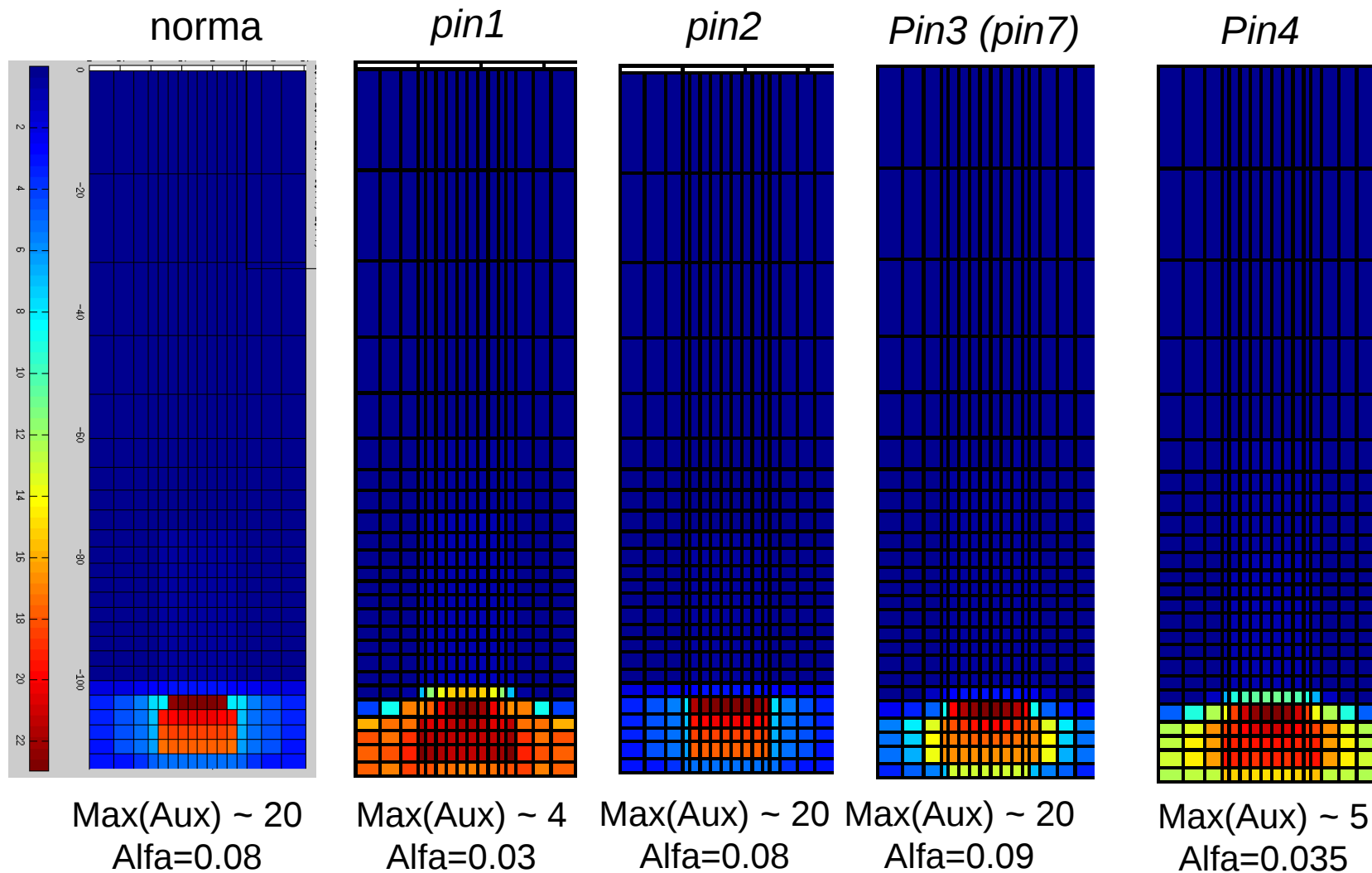
Дикий тип



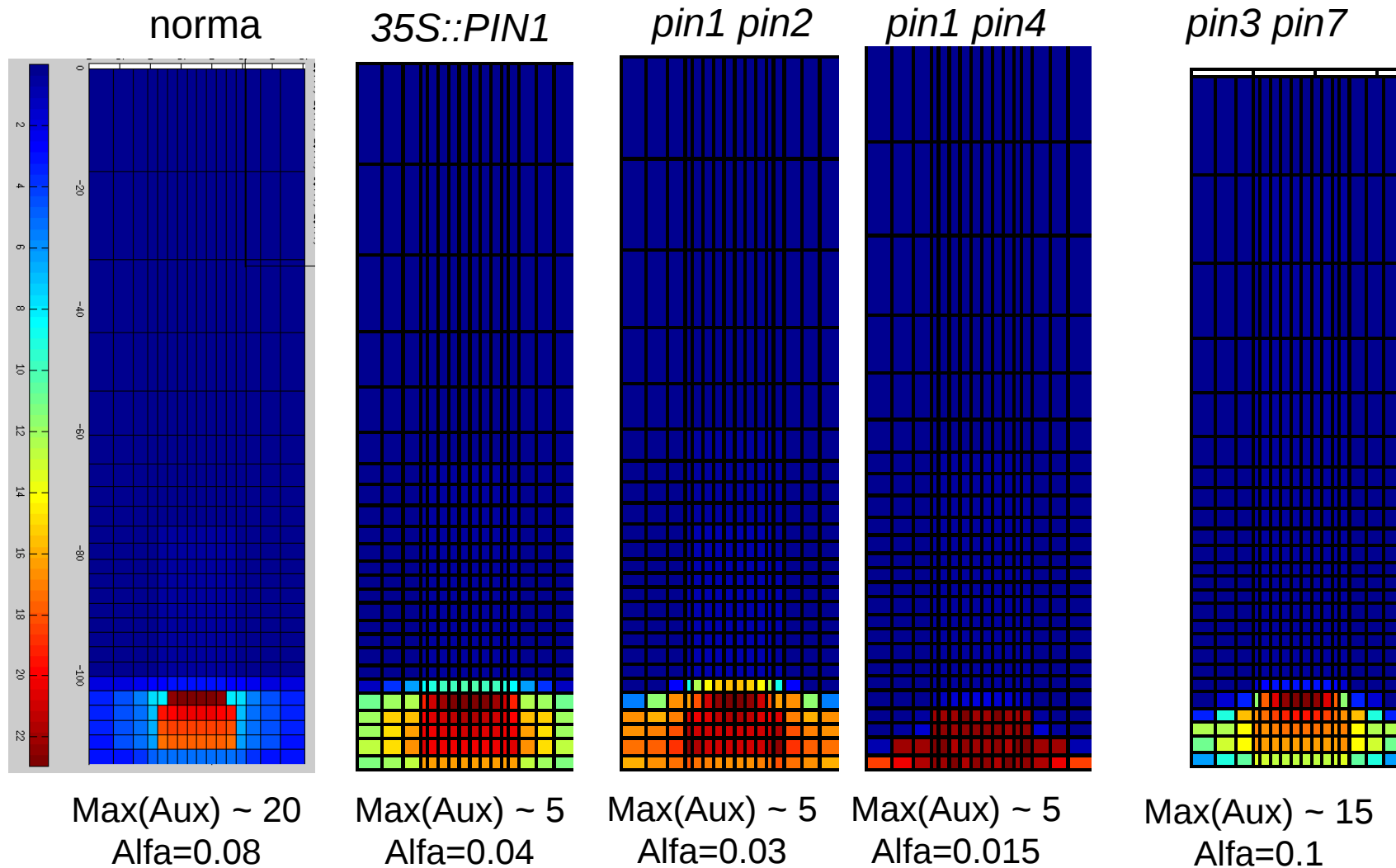
pin1 мутант



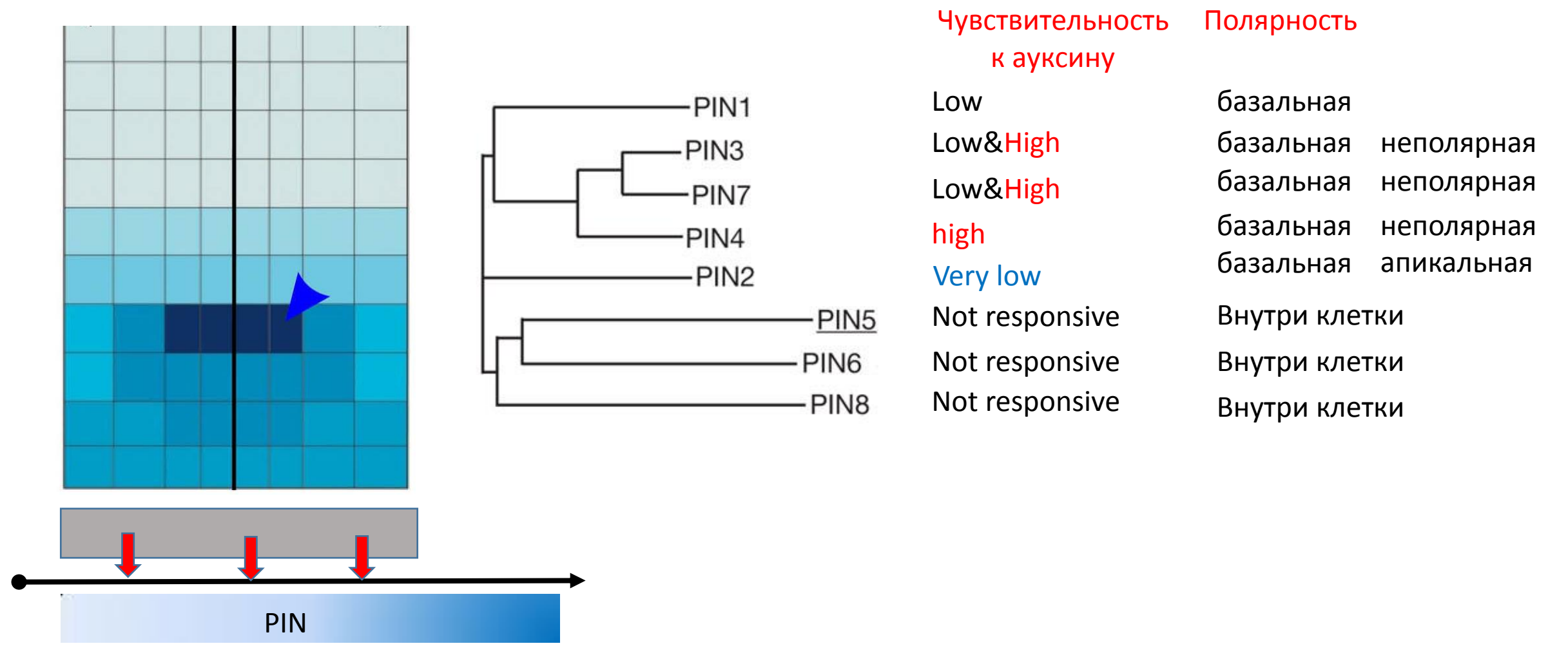
Формирование распределения ауксина в «мутантах»



Формирование распределения ауксина в «двойных мутантах»

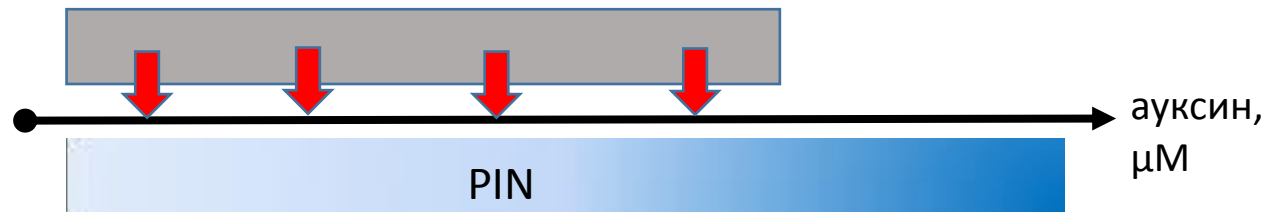


Эволюция PIN белков с точки зрения чувствительности к ауксину

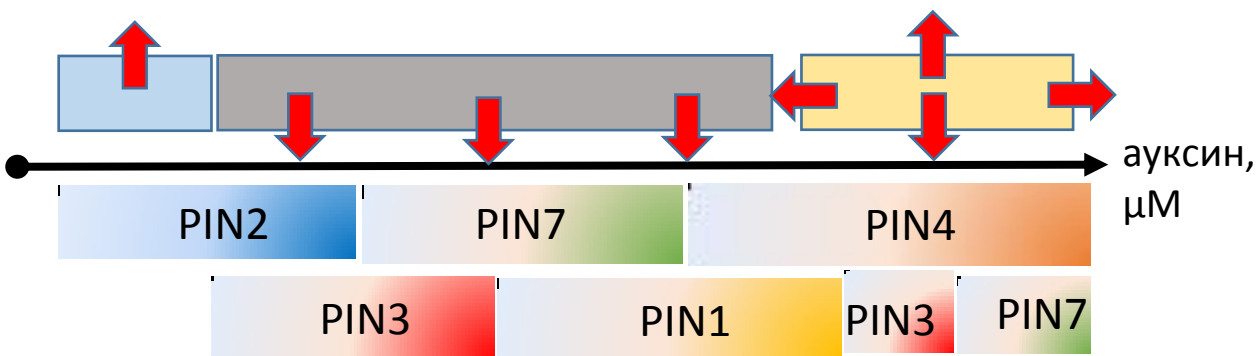


Эволюция PIN белков с точки зрения чувствительности к ауксину

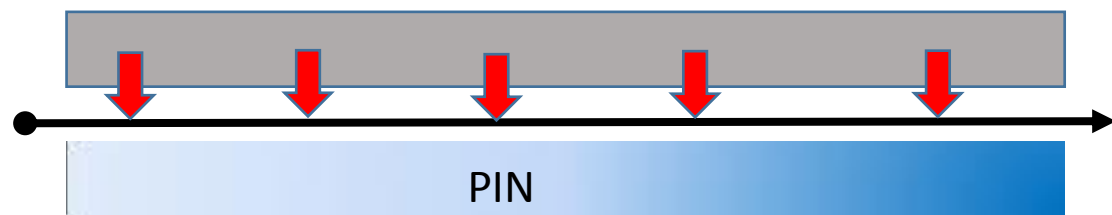
Предок сосудистых растений



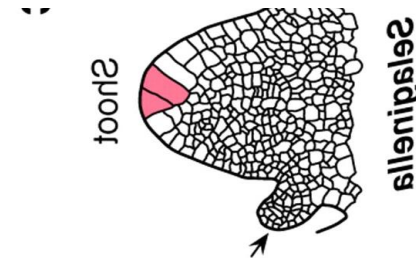
Арабидопсис



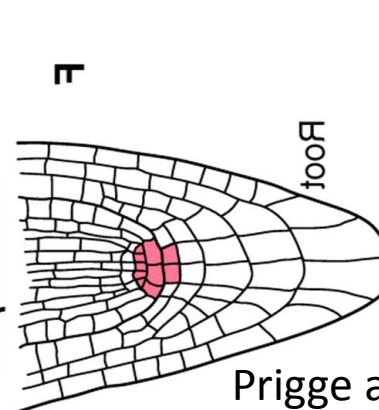
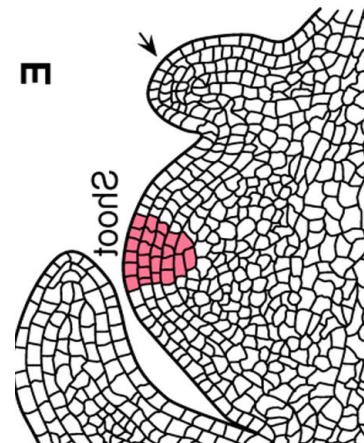
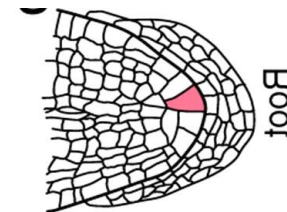
Предок наземных растений



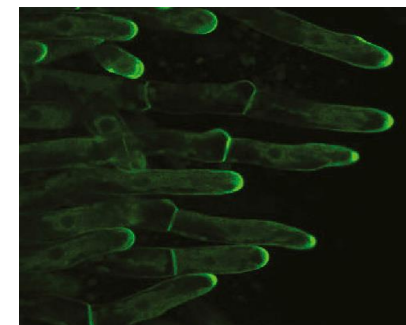
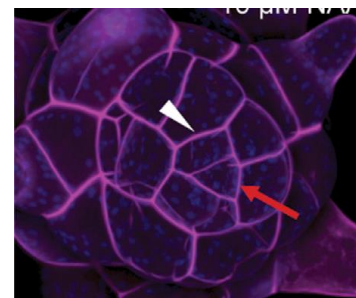
Меристема побега



Меристема корня

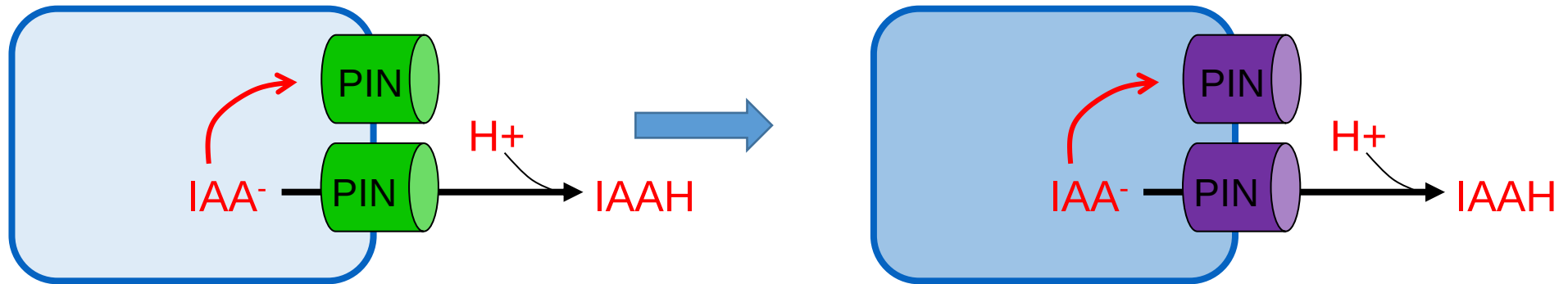


Prigge and Bezanilla, 2010



Почему выживают *pin* мутанты?

1. Для формирования максимума ауксина достаточно одного транспортера
2. Между экспрессией PIN транспортеров и ауксином существует обратная связь:



3. Если один из транспортеров нокаутирован, концентрация ауксина в клетке увеличивается и вызывает экспрессию другого транспортера

Если нокаут выжил?

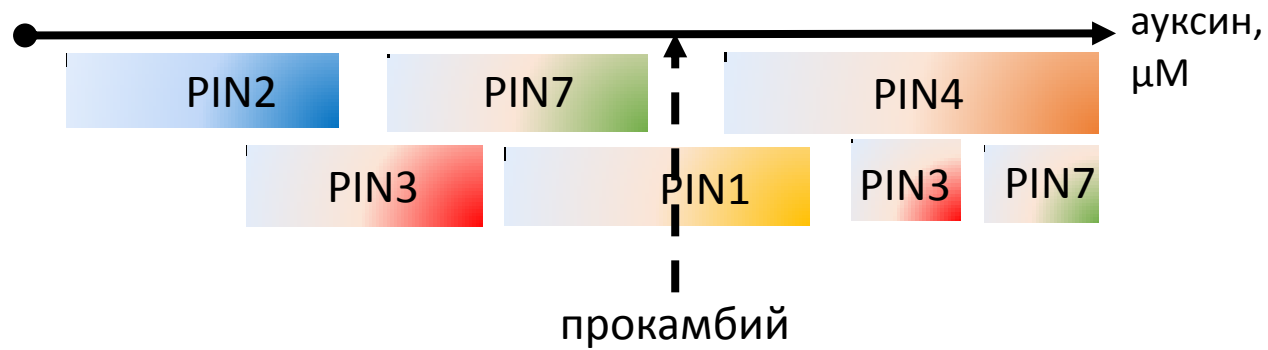


1. Ген не так важен
2. Есть паралог-дублер, который экспрессируется там же
3. Есть паралог-дублер, который экспрессируется эктопически

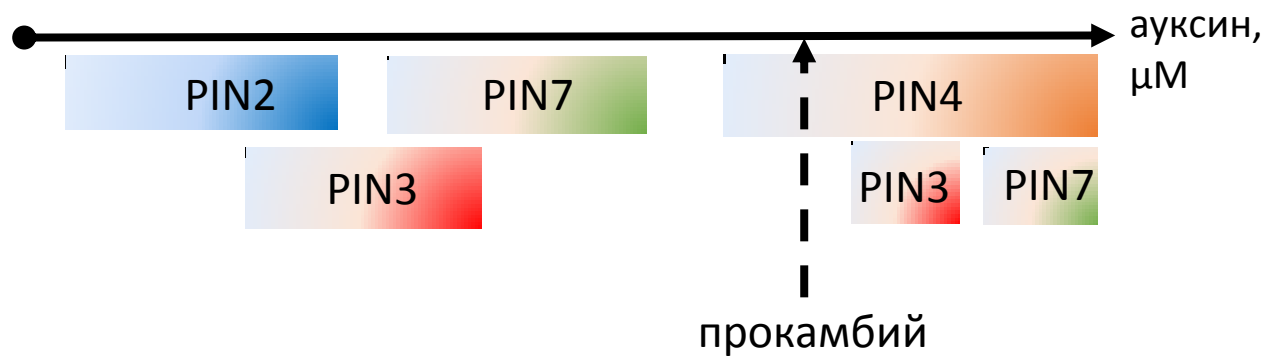
Спасибо за внимание!



Дикий тип

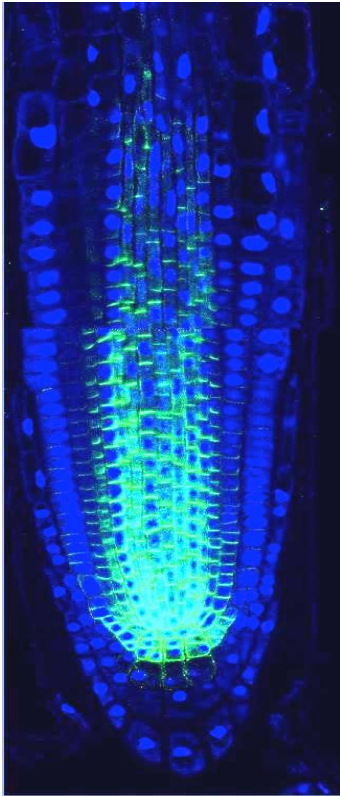


pin1 мутант

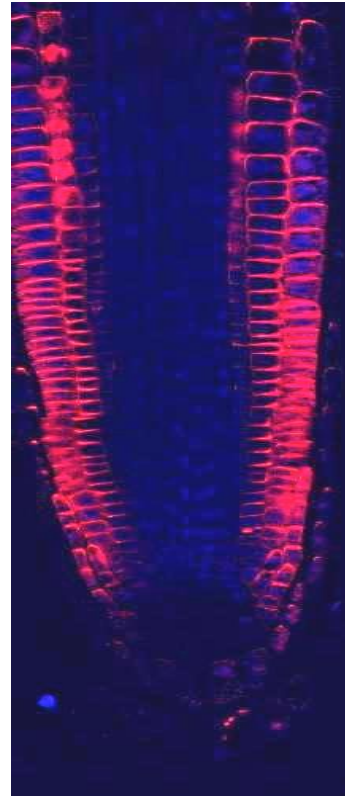


Study of PINs expression pattern in *pin* mutants

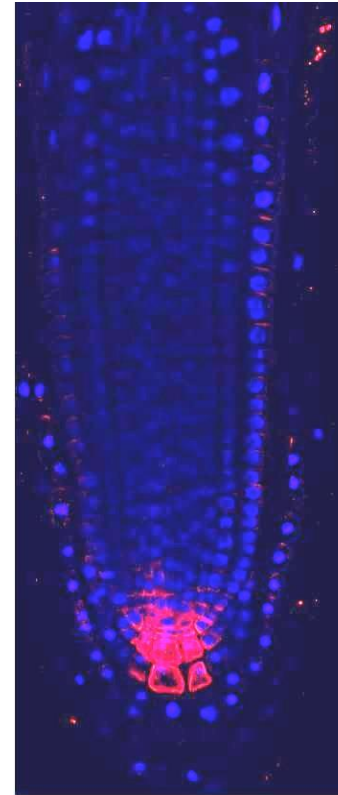
Immunolabeling of PIN1, PIN2, PIN4 and PIN7 in different *pin* mutants has been done in University of Freiburg by Taras Pasternak



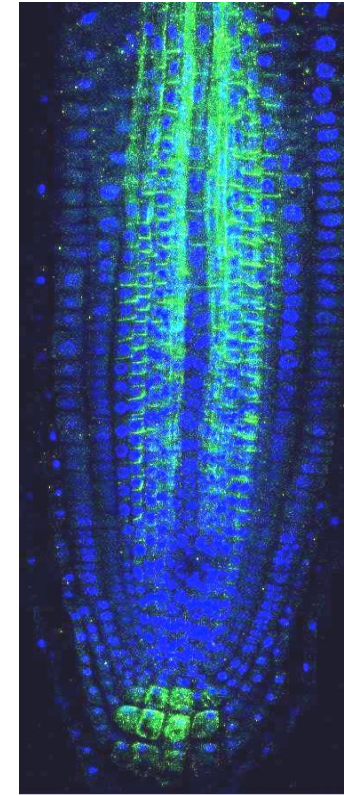
PIN1 in *pin2*



PIN2 in *pin3*



PIN4 in *pin7*



PIN7 in *pin3*

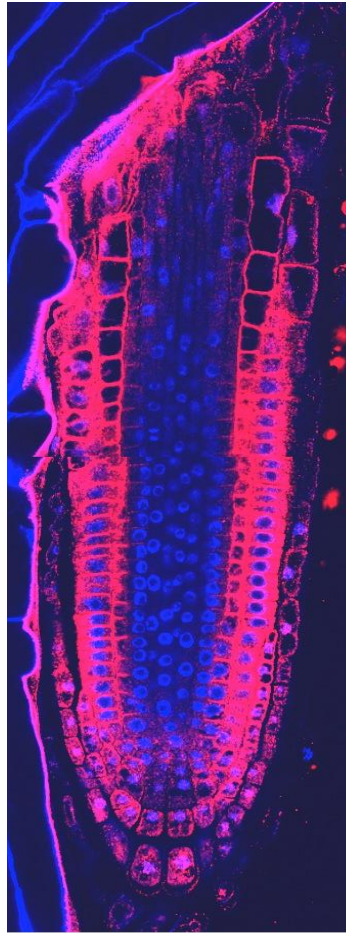
Changes observed in 35S::PIN1

PIN1



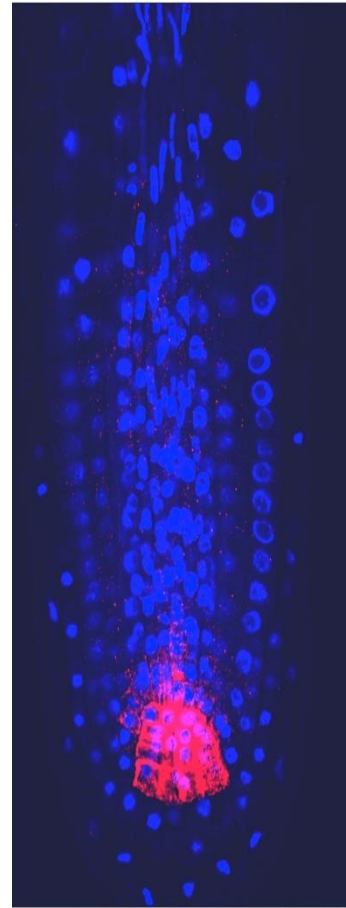
Everywhere,
but polarly

PIN2



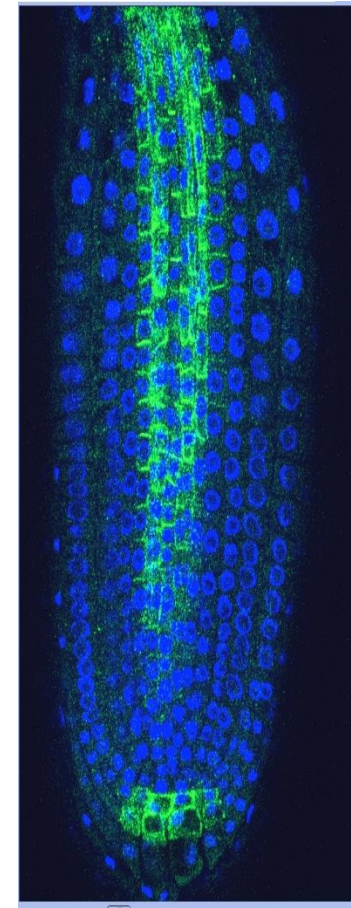
Enlarged domain

PIN4



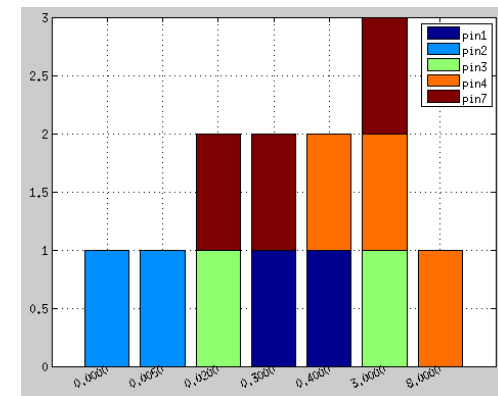
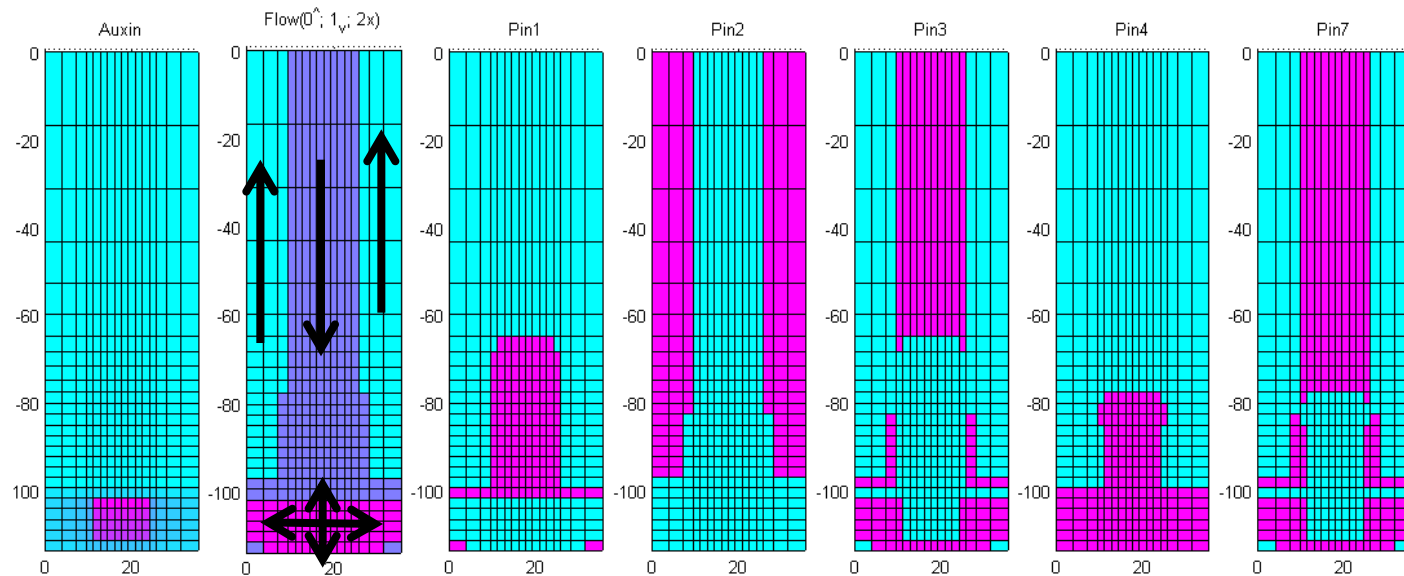
Wider in
columella, shorter
in vasculature

PIN7



Domain starts
closer to QC

“wild type”



“35S::PIN1”

