

Epistaza opisuje zjawisko, gdy mutacje różnych genów nie oddziałują niezależnie od siebie na dane cechy organizmu. Zrozumienie epistazy, jest kluczowe dla zrozumienia wielu procesów ewolucyjnych, takich jak ewolucja płci czy różnicowanie się gatunków. Epistaza może być pozytywna, gdy kombinacja mutacji powoduje, że dana cecha ma wartość wyższą niż suma wartości z działania pojedynczych mutacji, lub negatywna, gdy kombinacja mutacji powoduje, że dana cecha ma wartość niższą od wartości spodziewanej. Musimy pamiętać, że oddziaływania epistatyczne mogą się zmieniać, na skutek oddziaływania czynników środowiskowych. Zrozumienie dynamiki oddziaływań epistatycznych genów w obliczu stresu środowiskowego pozostaje bardzo ważnym zagadnieniem biologii ewolucyjnej. Głównym celem projektu, jest poszerzenie naszej wiedzy o tym, jak epistatyczne interakcje genetyczne zmieniają się w zależności od warunków środowiskowych w organizmie wielokomórkowym.

Dynamika zmian genetycznych interakcji epistatycznych, będzie badana przy użyciu modelowego organizmu wielokomórkowego, nicienia *Caenorhabditis elegans*. *C. elegans* jest wolno żyjącym, glebowym nicieniem, o długości dochodzącej do 1 mm. Przemiana pokoleń zachodzi u niego w zaledwie 3 dni, a długość życia to około 3 tygodnie. Był on pierwszym organizmem, dla którego zsekwencjonowano cały genom. Ze względu na łatwą hodowlę, niewielkie rozmiary, oraz to, że jest on przezroczysty, co umożliwia łatwą obserwację budowy wewnętrznej pod mikroskopem, jest jednym z modelowych organizmów stosowanych w badaniach biologicznych. Istnieje wiele szczepów *C. elegans*, u których pojedyncze geny są zmutowane. Ponadto poprzez karmienie go transgenicznymi bakteriami *Escherichia coli*, produkującymi odpowiednie RNA, możemy selektywnie wyłączyć u niego działanie wybranych genów (metoda interferencji RNA).

W niniejszym projekcie zbadane zostaną epistatyczne interakcje genetyczne pomiędzy genami odpowiedzialnymi za naprawę DNA oraz genami odpowiadającymi za odpowiedź na stres oksydacyjny, dla których dostępne są szczepy *C. elegans* z pojedynczymi mutacjami (około 100 szczepów). Aby zidentyfikować interakcje pomiędzy parami genów, ekspresja każdego z tych genów zostanie wyłączona albo poprzez mutację albo poprzez zastosowanie metody interferencji RNA. Takie podejście pozwala na wysokowydajną konstrukcję podwójnych mutantów. Dane dotyczące fenotypu pojedynczych mutantów zostaną użyte do kalkulacji spodziewanego fenotypu mutantów podwójnych. Następnie oba geny będą wyłączone równocześnie poprzez zastosowanie metody interferencji RNA u mutantów. Wystąpienie interakcji genetycznej pomiędzy dwoma genami zostanie oszacowane na podstawie różnicy pomiędzy obserwowanym fenotypem podwójnego mutantu a jego fenotypem oszacowanym na podstawie danych uzyskanych dla pojedynczych mutantów. Równocześnie ten sam zestaw interakcji genetycznych zostanie zbadany w standardowych warunkach laboratoryjnych jak i w sześciu środowiskach niesprzyjających (przy zastosowaniu trzech różnych koncentracji czynnika genotoksycznego (powodującego uszkodzenia genów) oraz trzech różnych koncentracji czynnika wywołującego stres oksydacyjny). Dostosowanie (wzrost populacji) zostanie zmierzone w celu oszacowania ilościowego epistazy. W sumie zostanie wygenerowanych siedem „statycznych” map interakcji genetycznych, każda szacująca interakcje pomiędzy 10 000 par genów. Na podstawie różnic pomiędzy statycznymi mapami interakcji zostanie oszacowana dynamika epistazy.

Niniejszy projekt, jest pierwszym wielkoskalowym projektem badającym dynamikę epistatycznych interakcji genetycznych w wielu środowiskach w organizmie wielokomórkowym. Badania te poszerzą naszą wiedzę na temat tego, jak interakcje genetyczne zmieniają się na skutek perturbacji środowiskowych i jak może to wpłynąć na procesy ewolucyjne. Pozwoli nam to też porównać dynamikę interakcji epistatycznych pomiędzy organizmami jednokomórkowymi i organizmami wielokomórkowymi.