

Presentación de Tesis

Titulada

**Simulación de los efectos de la
duplicación en la dinámica de redes
de genes**

Presentado por

L.B. Yuridia Selene Posadas García

Posgrado en Ciencias Interdisciplinarias

Instituto de Física

Facultad de Ciencias

Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Asesor: Dr. Carlos Espinosa Soto

Tutor: Dr. Edgardo Ugalde Saldaña

Tutor académico: Dra. Mónica Calera Medina

San Luis Potosí, S.L.P.

2016-2018

Índice

1. Introducción	2
2. Objetivo General	4
3. Objetivos específicos	4
4. Metodología	5
4.1. Simulación	5
4.2. Modelo	5
4.3. Diseño del experimento	6
4.3.1. Dinámica del modelo	6
4.3.2. Selección de la muestra	6
4.4. Modelo de la caminata	7
4.5. Perturbación de las redes	8
4.5.1. Adición de un gen	8
4.5.2. Mutaciones	8
5. Resultados	10
5.1. La tolerancia a duplicaciones está asociada a la robustez a mutaciones	10
5.2. La robustez a duplicaciones promueve la resis- tencia a mutaciones.	12
5.3. Efectos de duplicaciones no son iguales a los de añadir un nuevo gen.	14
5.4. Las redes de regulación genética toleran más fácil- mente el crecimiento por duplicación de genes que por inclusión de genes ajenos a la red	19
5.5. Perspectivas	19

Resumen

La duplicación de genes, un evento por el cual se generan copias de un mismo gen, es uno de los mecanismos por el cual se puede acceder a nuevas funciones. Una tercera parte del genoma de eucariotas corresponde a genes duplicados. Esto nos hace preguntarnos qué sucede con la variabilidad de una red de genes después de un evento de duplicación, y cómo esto podría influir en el fenotipo y en la robustez. En este proyecto trabajamos en una red de genes que incluyen factores de transcripción y genes estructurales, que generan un fenotipo a partir de una condición inicial. sometimos este sistema al aumento de un gen, ya sea por duplicación o por generación *de novo*, y observamos el cambio en el fenotipo debido a esta perturbación. Encontramos que las redes muestreadas toleran mejor los efectos de la duplicación y muestran una fuerte asociación entre los efectos de la duplicación y la robustez a mutaciones.

1. Introducción

En el 2,000, Rubin *et al* compararon el genoma de las especies eucariotas *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* y *Saccharomyces cerevisiae*; y observaron que al menos un tercio correspondía a familias de genes procedentes de duplicados que ya habían comenzado a divergir.

Los genes duplicados tienen dos posibles destinos: ser retenidos o acumular mutaciones deletéreas hasta perderse [8] [9]. En la gran mayoría de las veces, las copias se pierden [8] [10]. Se estima que cada millón de años la probabilidad de que un gen duplicado se fije es de 1 % [11].

La conservación de genes duplicados se asocia con el origen de la duplicación [8]. Copias del material genético pueden deberse a un evento de duplicación completa del genoma (WGD, whole-genome duplication), o de una duplicación a pequeña escala (SSDs, small-scale duplications) [1]. La duplicación de genes está fuertemente relacionada con la robustez al disminuir la susceptibilidad a mutaciones deletéreas [14] [15]. Principalmente por mantener funciones redundantes que brindan protección al organismo al tener una copia de respaldo funcional [12] [13]. Además, la duplicación contribuye a mantener las concentraciones de productos de genes que son altamente expresados [10], mantiene activas rutas metabólicas que no tienen vías alternas [15], permite resolver conflictos adaptativos al permitir el mejoramiento de funciones de forma independiente al separarlas entre las copias [10] y provee variación genética necesaria para generar robustez ante fluctuaciones en las condiciones ambientales [16] [17].

Por otro lado, de acuerdo con la tesis de Susumu Onho, la duplicación de genes también permite que la o las copias se liberen de la selección natural para acumular mutaciones sin que eso implique una disminución de la adecuación para el organismo, ya que con la conservación de una copia basta para cumplir la función ancestral del gen [10] [18].

Ya que los genes rara vez pueden ser creados de novo [19], los nuevos parálogos se convierten en la principal fuente de genes nuevos [18]. Las copias, liberadas de las restricciones que imponía la selección natural al gen ancestral, pueden evolucionar debido a mutaciones que se van acumulando en su secuencia codificante y/o en sus secuencias regulatorias, para finalmente repartir entre las copias las funciones del gen original (subfuncionalización) o generar nuevas funciones (neofuncionalización) [8] [18] [20] [21] [22]. A partir de un modelo matemático de Wagner (1994), predice que el efecto de los genes duplicados en un genoma dependen de la proporción de genes duplicados. Donde el efecto un evento de duplicación genética completa es mínimo al mantener la proporción de genes intacta, mientras que un evento a pequeña escala genera perturbaciones en la red al alterar las proporciones de los genes. La

existencia de una gran cantidad de genes duplicados en genomas eucariotas nos hace preguntar sobre el papel de la duplicación en la evolución. Hasta ahora la mayoría de los estudios se han basado en el análisis de los efectos de las duplicaciones de genes en los genes originales y en sus duplicados, y ha habido muy poco enfoque en lo que sucede con sus interacciones después del evento de duplicación y cómo esto influye en el fenotipo.

Por medio de herramientas computacionales pretendemos encontrar la relación que existe entre la duplicación y la robustez a mutaciones, así como evaluar cuál es el efecto de las duplicaciones en el acceso a nuevos fenotipos. Se espera contribuir al conocimiento del papel de la duplicación en la evolución. se subfuncionalizan y que desarrollan nuevas funciones [9].

2. Objetivo General

Explorar en un espacio neutral de genotipos el efecto en la robustez a mutaciones de agregar un gen por duplicación en comparación con la adición de un gen *de novo*.

3. Objetivos específicos

1. Sondear la capacidad de los genes duplicados de compensar perturbaciones en el genotipo y perturbaciones transitorias en el estado del sistema.
2. Corroborar que el efecto de la duplicación no sea exclusivamente debido al incremento en el tamaño del genotipo.
3. Determinar si existe una asociación entre la capacidad de tolerar perturbaciones estructurales del genotipo y la de compensar perturbaciones transitorias en el estado del sistema.
4. Contrastar las ventajas y desventajas de añadir un gen al comparar la capacidad de compensar perturbaciones transitorias con otros métodos de añadir un gen.

4. Metodología

4.1. Simulación

Se hizo uso de la metáfora de *boolean networks* para modelar redes de regulación con las que representamos segmentos de material genético y simulamos su dinámica para obtener, a partir de una condición inicial, un patrón de actividad genético estable. Al integrar una condición inicial procuramos imitar señales recibidas por una célula que permiten otorgar un estado inicial a los genes. Asimismo un patrón de actividad genética permite observar en la naturaleza el cambio en una parte de un organismo. Un ejemplo de ello es la diferenciación celular.

Una clara ventaja del modelo *in silico* es que nos permite establecer un genotipo original al cual se puede regresar para introducir diferentes formas de perturbaciones, lo que nos permite estudiar las consecuencias en el fenotipo de estos cambios.

El código se escribió en lenguaje de alto nivel c++ [23] con apoyo de la librería científica GSL [24]. Trabaja con dos elementos principales: vectores y matrices.

4.2. Modelo

Este modelo se compone de un conjunto de N_f factores de transcripción y N_s genes estructurales. Donde las interacciones entre estos genes se definen en una matriz M . De antemano se decide cuál es la probabilidad p de que un gen regule a otro. En función de p , se establecen las entradas m_{ij} en la matriz M , que indican la regulación que el gen j ejerce sobre el gen i . La intensidad y el signo de esta interacción se obtienen de una distribución normal con media en 0 y desviación estándar de 1.

El tipo de regulación queda definida por su signo, donde un valor positivo indica activación y uno negativo, inhibición.

El estado de actividad de cada gen también depende del signo el cual es calculado por la función escalón 2 a partir de un valor continuo obtenido a partir de la suma de las interacciones del gen con el resto de los genes (ecuación 1), y de su estado inmediato anterior.

$$s_i^{t+1} = \sigma_i \left[\sum_{j=1}^N g_{ij} m_j^t \right] \quad (1)$$

Donde σ_i es una función escalón que asigna valores de la siguiente forma:

$$\sigma_i(x) = \begin{cases} 1, & \text{if } x > 0 \\ s_i^t, & \text{if } x = 0 \\ -1, & \text{if } x < 0 \end{cases} \quad (2)$$

4.3. Diseño del experimento

4.3.1. Dinámica del modelo

La dinámica inicia con una condición inicial S^0 que actúa sobre los genes N_f y N_s . Posteriormente se produce un evento en cascada entre los genes N_f de la red. Estos eventos siguen una trayectoria que finaliza cuando se ha llegado a un estado estable del sistema S^∞ al cual le llamamos *attractor*.

Un attractor puede clasificarse como punto fijo si se llega a un estado que es igual al inmediato anterior, o ciclo límite si incluye una secuencia de estados que se repiten en el mismo orden indefinidamente.

Por medio de este attractor los genes N_f fijan el estado de los N_s . Estableciendo así el fenotipo, el cual es específico para esa condición inicial y fondo genético.

4.3.2. Selección de la muestra

Con la finalidad de contar con una muestra representativa se generó una muestra de 1,000 redes al azar con 12 genes N_f y 6 genes N_s con una densidad de conexiones de 0.25 y que compartían un mismo fenotipo.

Los criterios de inclusión para escoger una red son el número de relaciones posibles, un estado estacionario del tipo punto fijo y un fenotipo deseado en ausencia de perturbaciones.

Para asegurar un fenotipo único para todas las redes, primero se estableció arbitrariamente un fenotipo deseado y se procedió a buscar redes de 12 N_f que cumplieran como condición, además de la densidad de conexiones establecida, tener un attractor de punto fijo. Posteriormente se obtuvo, para cada red de N_f , una red de 6 genes N_s a la cual de ser necesario se le modificaban los signos para obtener el fenotipo deseado.

Para corroborar que dichas redes se comportan de forma esperada, se estudió el comportamiento de su robustez a mutaciones a diferentes densidades de conexiones y se comparó el resultado con la literatura.

Las redes generadas por el código utilizado en este estudio muestran una tendencia a disminuir la robustez a mutaciones conforme aumenta el número

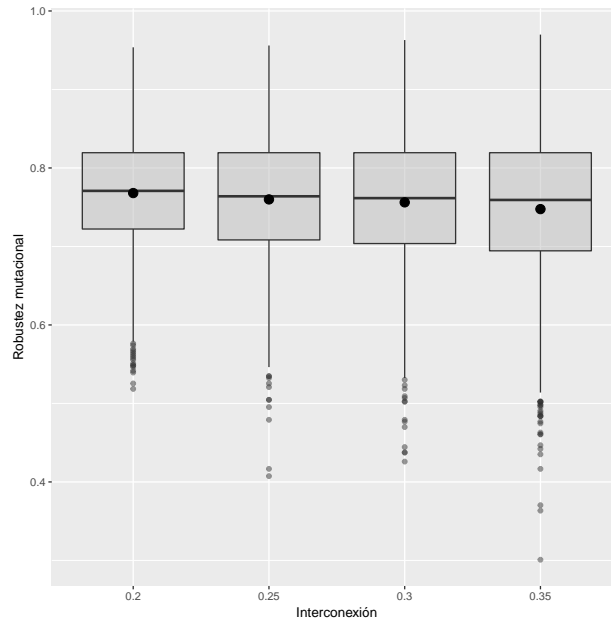


Figura 1: Las redes ancestrales tienden a una menor robustez a mutaciones conforme aumenta la interconexión de la red.

En el eje horizontal se encuentran las diferentes densidades de conexiones y en el eje vertical la robustez a mutaciones, que son la fracción de los vecinos (redes que difieren en un cambio en una interacción de regulación) de las redes ancestrales que conservaron el fenotipo ancestral.

de conexiones (Fig 1), resultado que también han sido observado y reportado por Wagner (1996) en redes que aún no han evolucionado.

4.4. Modelo de la caminata

Para muestrear el espacio de genotipos del mismo fenotipo una vez obtenida la red con los criterios correspondientes se realizó una caminata, como se ilustra en la Fig 2, de n pasos a partir de la red original. Donde cada paso que se da difiere en una mutación, que es un cambio en una interacción de regulación. El tipo de cambio puede ser de signo o de peso.

El número de pasos que se da en cada caminata equivale a veinte veces el número de interacciones de regulación de la red, 4,320 para una red de 12 N_f y 6 N_s , para asegurar que las redes fueran diferentes entre sí aunque mantuvieran el mismo fenotipo.

A partir de una de la red(0) original se realizaron 1,000 caminatas (una por cada red de la muestra). La la red(0) original no se tomó en cuenta en la

muestra, solo fue el punto de partida de la simulación.

Para cada paso de la caminata hay dos tipos de situaciones, que la siguiente red conserve el fenotipo o no. Si la red del siguiente paso no conserva el fenotipo original entonces se regresa a la red anterior que sí conservaba el fenotipo y procede a dar un paso en otra dirección.

Aunque las redes originales tenían que mantener el fenotipo original, se permitió una holgura en cuanto a la densidad de conexiones de $\pm 9,26^{-3}$ que representa ± 2 interacciones de regulación.

Para llegar a la red siguiente contaron todos los pasos, sin importar las veces que se regresó de una red a otra en busca de una que conservara el fenotipo original.

4.5. Perturbación de las redes

4.5.1. Adición de un gen

En esta investigación se estudió principalmente a la duplicación como una perturbación del tipo estructural. Una duplicación se refiere a hacer crecer a la red original en un gen que tiene las mismas interacciones de regulación que otro gen en la red. Por cada red original se forman 12 redes con un gen duplicado, uno por cada gen N_f . Lo que da un resultado de 1,200 redes con un gen duplicado a estudiar.

Como se espera diferenciar entre los efectos de la duplicación y los de añadir un gen se establecieron otros dos tipos de perturbaciones estructurales que sirvieron de controles para esta investigación. El primer control [CI] permite observar lo que pasa con una red después de la adición de un gen nuevo que mantiene la densidad de conexiones de la red. Mientras que el segundo control [CII] permite observar lo que pasa con una red después de la adición de un gen nuevo que mantiene la misma densidad de conexiones que un gen de la red original.

Para realizar una mejor comparación por cada red con un duplicado se generó un CI y un CII.

4.5.2. Mutaciones

La forma en que se estudiaron los efectos de la duplicación fue a través de la comparación de la robustez a mutaciones de la red original y de las perturbaciones estructurales. Las mutaciones son perturbaciones transitorias que generan un cambio en una interacción de regulación entre una red y otra. Dicho cambio puede ser de signo o de peso de la regulación. Se llama red vecina a aquella que contiene una perturbación transitoria en comparación

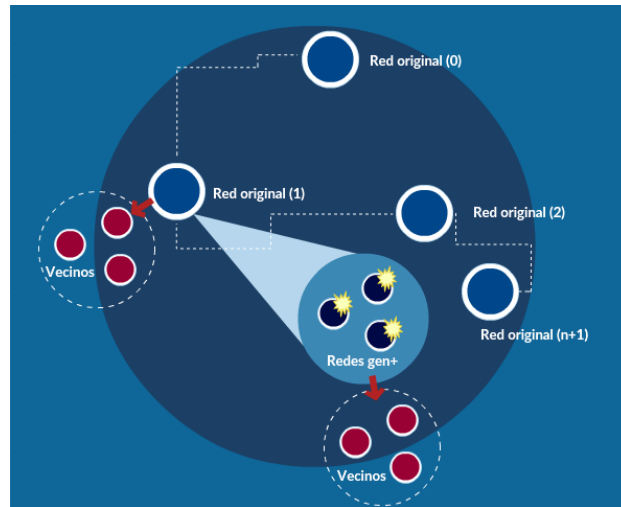


Figura 2: Ilustración de la obtención de la muestra descrita en la sección de metodología a partir de una caminata y la generación de redes vecinas y con perturbaciones estructurales.

con una red original.

A partir de la red(1) original se exploraron los fenotipos de 432 (dos veces el número de interacciones de regulación) vecinos de la red original. Así como para las redes con duplicación, CI y CII.

5. Resultados

5.1. La tolerancia a duplicaciones está asociada a la robustez a mutaciones

Uno de los objetivos más importantes de esta investigación ha sido estudiar la capacidad de los genes duplicados de compensar perturbaciones en el genotipo.

Para abordar este tema se utilizó el modelo dinámico de una red de regulación genética descrito en la metodología. Se generó una muestra de 1,000 redes elegidas al azar entre aquellas que producen un fenotipo predeterminado y tienen un número de conexiones en un intervalo elegido de antemano. Posteriormente a estas redes se les indujo mutaciones.

En este escrito se referirá a las redes en este conjunto como redes originales. A continuación se observó la capacidad de las redes originales de mantener su fenotipo ante mutaciones y ante la adición de un gen, ya sea por duplicación o por generación *de novo*. Finalmente se les sometió nuevamente a mutaciones una vez que tenían el gen extra.

En la Fig 3a se muestra el comportamiento de la robustez a duplicaciones en función de la robustez a mutaciones.

Observamos una correlación fuerte positiva (Pearson $r= 0.63$ con $p = 1,5^{-112}$), lo que indica que las redes robustas a mutaciones también lo son a cambios drásticos en la estructura que se generan por la duplicación de un gen.

La media de la robustez a mutaciones de las redes originales fue de 0,76 con una desviación estándar de 0,08; mientras que para la robustez a duplicaciones fue de 0,60 con una desviación estándar de 0,17.

En la Fig 3b se compara la robustez a mutaciones antes y después de la duplicación. Se observa una correlación Pearson $r= 0.75$ con $p = 4,9^{-180}$ y Wilcoxon $p = 9,9^{-91}$, esta correlación es un indicador de que la robustez a mutaciones de las redes originales y la robustez a mutaciones de redes con un duplicado también están fuertemente asociadas. La robustez a mutaciones media después de la duplicación fue de 0,89 con una desviación estándar de 0,03.

La correlación fuerte y positiva en los datos de la Fig 3a implica que aquellas redes que tienen una alta robustez a mutaciones, tienden a mantener esta condición incluso después de una duplicación de genes. Más adelante se describe detalladamente el cambio en la robustez a mutaciones después de la duplicación de un gen.

Anteriormente se ha estudiado la relación entre la robustez a mutaciones y otros tipos de robusteces como al medio ambiente [26] [27], a perturbaciones estocásticas [28] [29], y a la recombinación [30], por mencionar algunos ejem-

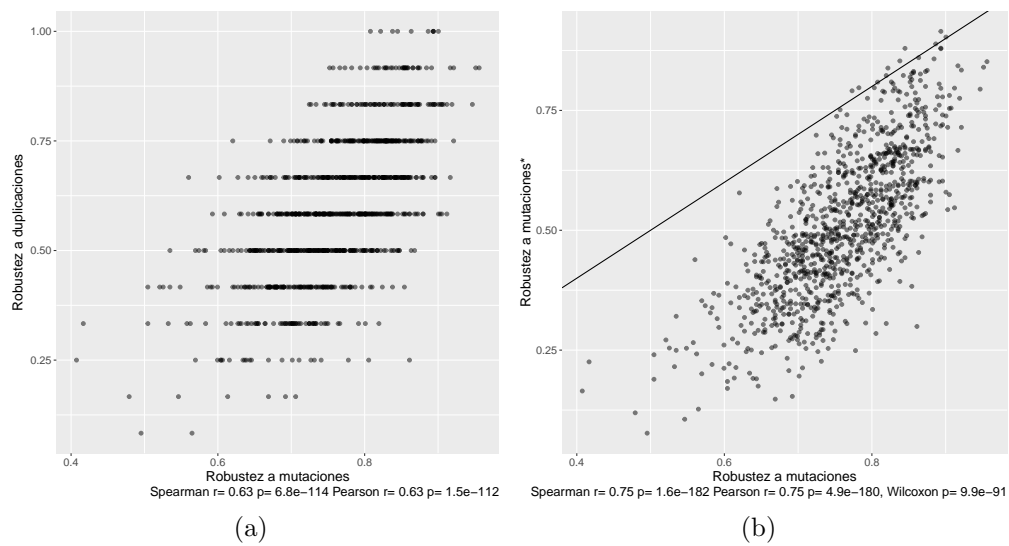


Figura 3: Asociación estadística entre la robustez a mutaciones de las redes originales con la robustez a duplicación y con la robustez a mutaciones después de la duplicación*.

El eje horizontal muestra en ambas gráficas la robustez a mutaciones de las redes originales. En el eje vertical de (a) se muestra la robustez a duplicación la cual tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r = 0.63$ con $p = 1,5^{-112}$. En el eje vertical de (b) se muestra la robustez a mutaciones de redes robustas a duplicados y la cual tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r = 0.75$ con $p = 4,9^{-180}$ y Wilcoxon $p = 9,9^{-91}$.

plos.

En resumen aquellas redes que tengan una alta resistencia a alguna de estas clases perturbaciones tenderán a tolerar también otras perturbaciones muy distintas.

En este trabajo de tesis de maestría se encuentran las bases necesarias que permiten añadir a la duplicación de genes en redes de regulación genética a la lista de perturbaciones asociadas a una robustez con alta correlación.

5.2. La robustez a duplicaciones promueve la resistencia a mutaciones.

Un punto vital en este trabajo de investigación es determinar si existe un efecto importante en la red después de agregar la duplicación.

Al evaluarse la robustez a mutaciones de todas las redes después de la duplicación (Fig 3b) sin fijarse en el fenotipo resultante de la duplicación, la prueba no paramétrica de los rangos con signo de Wilcoxon ($p\text{value} = 9,9^{-91}$) indicó que se trata de dos muestras no-identicas y que la robustez a mutaciones disminuye después de la duplicación.

Para entender este fenómeno se separaron las redes con un gen duplicado en dos grupos dependiendo de si mantuvieron el fenotipo original o expresaron un fenotipo nuevo.

Entendiendo que aquellas que conservaron el fenotipo original son por ende robustas a duplicaciones, y no así las que adquirieron un fenotipo nuevo.

La respuesta a mutaciones por parte de ambos grupos fue claramente contrastante.

Primero se tomó a al grupo de redes que son robustas a la duplicación, se les indujo mutaciones y se comparó la robustez a mutaciones de estas redes con la robustez a mutaciones antes de la duplicación.

Mientras que la media de la robustez a mutaciones de las redes que son robustas a duplicaciones es de de 0,89 con una desviación estándar de 0,03; para la las redes no robustas a duplicaciones encontramos una media de la robustez a mutaciones de 0,25 con una desviación estándar de $\pm 0,10$. En un principio esto indica un mejor desempeño y agrupamiento por parte de las redes robustas a duplicaciones sobre las no robustas.

De acuerdo con la línea de identidad de la Fig 4a las redes robustas a duplicaciones son significativamente más robustas a mutaciones que las originales. Además se observó una correlación positiva débil (Pearson $r = 0.36$ con $p = 3,1^{-31}$ y Wilcoxon $p = 9,2^{-165}$) entre la robustez a mutaciones antes y después de la duplicación.

Después se tomó al grupo de redes que no son robustas a la duplicación,

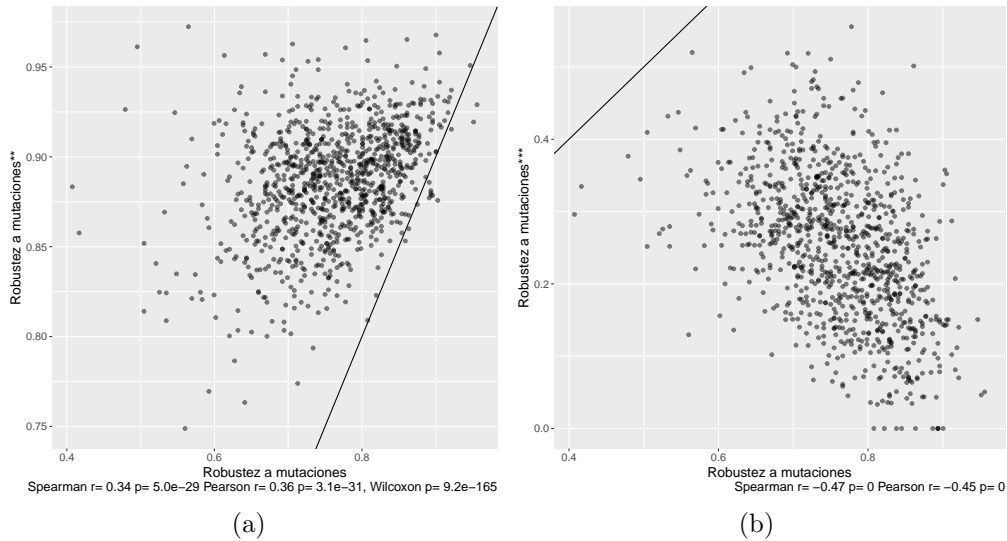


Figura 4: Correlación entre la robustez a mutaciones de las redes originales con la robustez a mutaciones de redes robustas** y no robustas*** a la duplicación.

En el eje horizontal en (a) y (b) se muestra la robustez a mutaciones de las redes originales. En el eje vertical en (a) se encuentra la robustez a mutaciones de redes robustas a la duplicación** que tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r = 0.36$ con $p = 3,1^{-31}$ y Wilcoxon $p = 9,2^{-165}$. En el eje vertical en (b) se encuentra la robustez a mutaciones de redes no robustas a la duplicación***, que muestra una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r = -0.45$ con $p = 0$

se les indujo mutaciones y se obtuvo su robustez a mutaciones con relación al fenotipo nuevo que apareció en la red después de la duplicación, y no al fenotipo original. Finalmente se comparó la robustez a mutaciones de estas redes con la robustez a mutaciones de las redes originales.

En contraste, como se observa en la línea de identidad de la Fig 4b las redes no robustas a la duplicación son significativamente menos robustas a mutaciones. Y al contrario de las redes robustas, mantienen una correlación negativa débil (Pearson $r = -0.45$ con $p = 0$) con la robustez a mutaciones antes de la duplicación.

Existe una gran ventaja de mantener el fenotipo original, ya que la robustez a mutaciones para esta fracción de redes se elevó.

5.3. Efectos de duplicaciones no son iguales a los de añadir un nuevo gen.

Para revisar si el efecto de la duplicación es diferente al del aumento de tamaño de la red se establecieron y compararon tres formas de agregar un gen: por duplicación, por la generación de un gen que mantiene la densidad de conexiones en la red [CI] y por la generación de un gen que conserva el número de conexiones que su gen par (el gen que se duplica) [CII].

Al comparar la robustez a mutaciones de las redes originales con la robustez a mutaciones después de agregar un gen *de novo* por CI y CII se encontró una robustez media a CI de 0,43 con desviación estándar $\pm 0,04$ y una correlación de Pearson $r = 0,41$ con $p = 5,7^{-41}$ (Fig 5a). Y para CII una robustez media de 0,32 con desviación estándar $\pm 0,03$ y una correlación de Pearson $r = 0,31$ con $p = 1,3^{-23}$. (Fig 5b). Se aprecia que la robustez a CI y a CII son mucho menores a la expresada por las redes con duplicación, además de que estas correlaciones a diferencia de las encontradas con en la duplicación son débiles. De nuevo se tomó únicamente a las redes de los controles CI y CII que son robustas a la generación de un gen *de novo*, que son aquellas con un gen nuevo que mantuvieron el fenotipo original. Se indujo mutaciones y se comparó la robustez a mutaciones de estas redes con la robustez a mutaciones de las redes originales.

Posteriormente se tomó únicamente a las redes de los controles CI y CII que no son robustas a la generación de un gen *de novo*, que son aquellas con un gen nuevo que no mantuvieron el fenotipo original. Se indujeron mutaciones y se obtuvo su robustez a mutaciones con relación al fenotipo nuevo de la red, y no al fenotipo original. Finalmente se comparó la robustez a mutaciones de estas redes con la robustez a mutaciones de las redes ancestrales.

Se preserva el mismo fenómeno que en el caso de la duplicación, donde se observa un aumento en la robustez a mutaciones en redes robustas a la adición de genes y una disminución a las que no son robustas (Fig 6).

A las redes robustas a CI y a CII parece irles considerablemente mejor en comparación con las robustas a duplicaciones. Esto se puede observar a partir sus respectivas medias ($0,91 \pm 0,04$ para CI y $0,93 \pm 0,03$ para CII) y en los resultados de la Fig 6. Sin embargo la asociación entre estos tipos de robustez a mutaciones no demuestran una dependencia (Fig 8b) o que la correlación es muy débil para mostrar una tendencia (Fig 7 y 8);

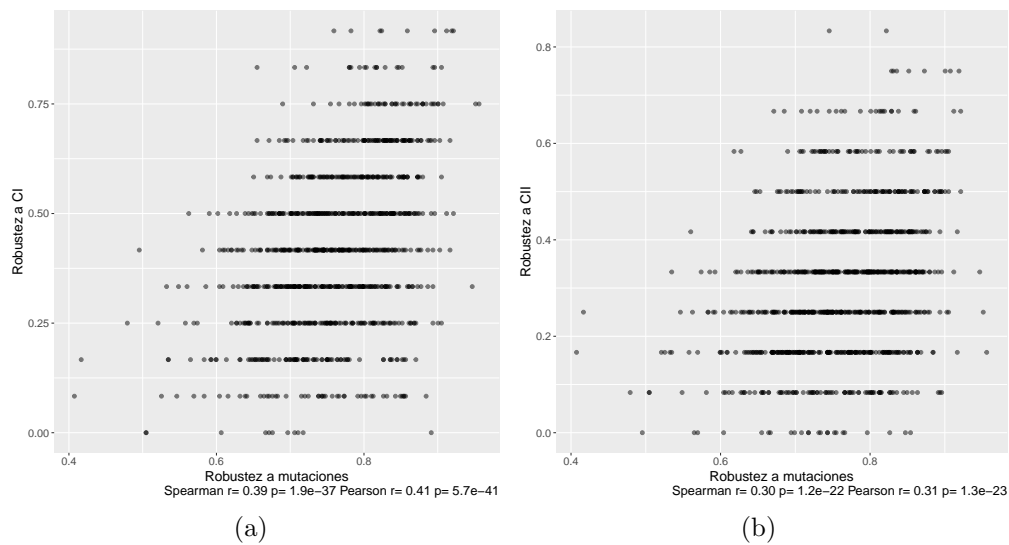


Figura 5: Asociación estadística entre la robustez a mutaciones de las redes originales y la robustez a CI y a CII.

El eje horizontal muestra en ambas gráficas la robustez a mutaciones de las redes ancestrales. En el eje vertical de (a) la robustez a CI, que tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r = 0.41$ con $p = 5,7^{-41}$. En el eje vertical de (b) la robustez a CII, que tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r = 0.31$ con $p = 1,3^{-23}$.

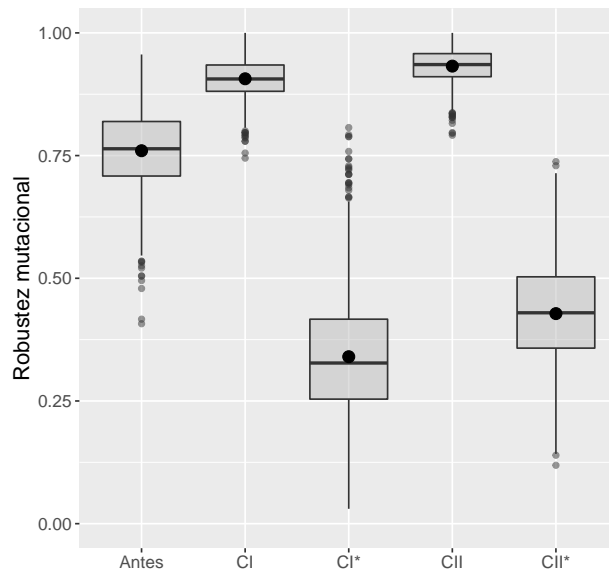


Figura 6: Para CI también se observa un aumento en la robustez a mutaciones con las redes robustas, así como una disminución cuando las redes no son robustas.

En el eje vertical se muestra la robustez a mutaciones. En el eje horizontal de izquierda a derecha se encuentran la robustez a mutaciones de las redes originales, la robustez a mutaciones de redes que fueron robustas a CI, la robustez a mutaciones de redes que no fueron robustas a CI, la robustez a mutaciones de redes que fueron robustas a CII, la robustez a mutaciones de redes que no fueron robustas a CII.

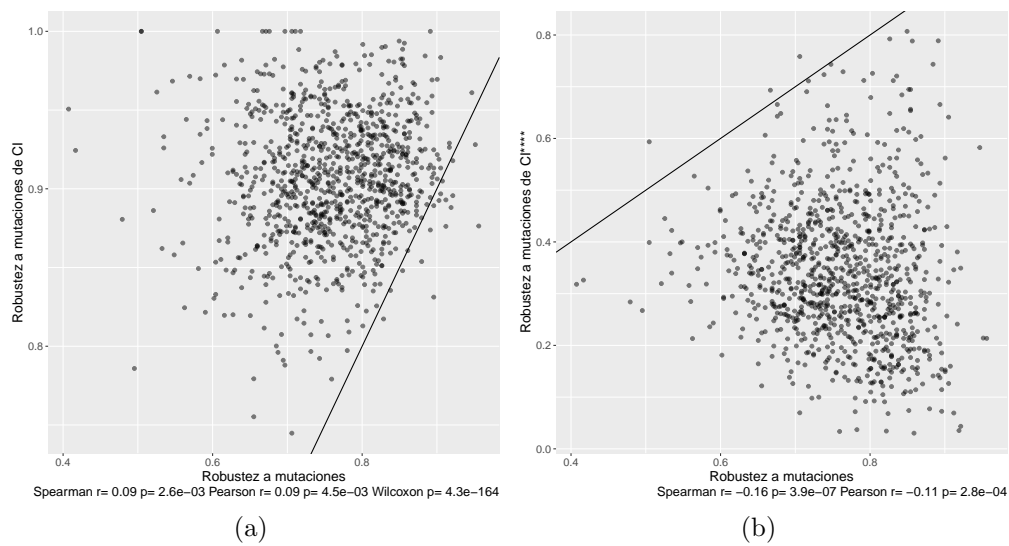


Figura 7: Correlación entre la robustez a mutaciones de las redes originales y la robustez a mutaciones de redes con un CI. En el eje horizontal de (a) y (b) se muestra a la robustez a mutaciones de las redes ancestrales. En el eje vertical en (a) se encuentra la robustez a mutaciones de redes robustas a CI, que tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r=0.09$ con $p=4,5^{-03}$. En el eje vertical en (b) se encuentra la robustez a mutaciones de redes no robustas a CI***, que tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r=-0.11$ con $p=2,8^{-04}$.

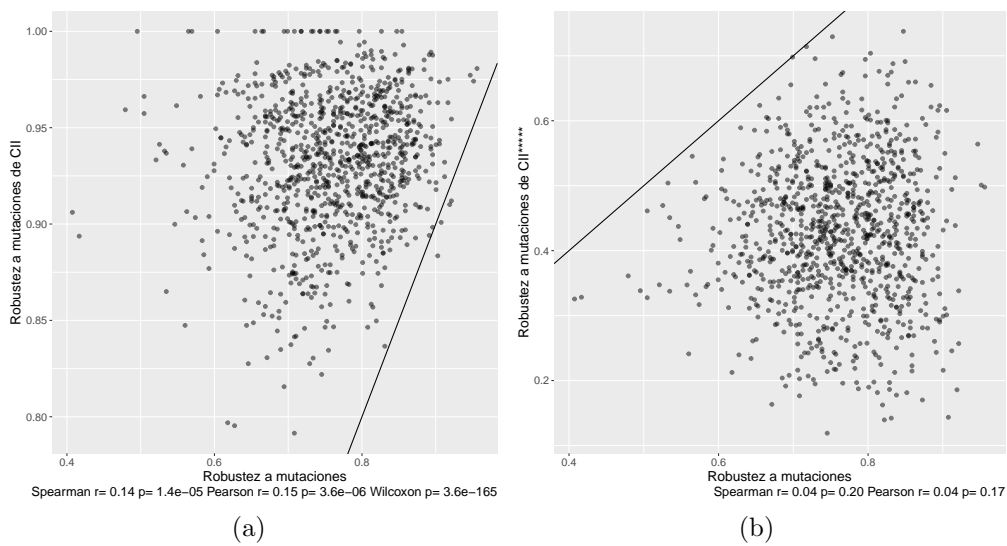


Figura 8: Correlación entre la robustez a mutaciones de las redes originales y la robustez a mutaciones de redes con un CI. En el eje horizontal de (a) y (b) se muestra a la robustez a mutaciones de las redes ancestrales. En el eje vertical en (a) se encuentra la robustez a mutaciones de redes robustas a CII, que tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r = 0.15$ con $p = 3,6^{-05}$. En el eje vertical en (b) se encuentra la robustez a mutaciones de redes no robustas a CII*****, que tiene una correlación con la robustez a mutaciones Pearson $r = 0.04$ con $p = 0,17$.

5.4. Las redes de regulación genética toleran más fácilmente el crecimiento por duplicación de genes que por inclusión de genes ajenos a la red

De cada una de las 1,000 muestras se obtuvieron 12 redes con un gen añadido por cada caso y se revisó si esto cambiaba el fenotipo. Resultaron haber más redes robustas a duplicaciones que a CI y a CII, como se muestra en la Fig 9a.

Mientras que todas las muestras tuvieron al menos una red robusta a duplicaciones, hubieron muestras sin redes robustas para CI y CII (Fig 9b). Además sólo para la duplicación se encontraron redes perfectamente robustas, es decir que se encontraron redes que no cambiaron fenotipo al duplicar un gen (Fig 9b y 10a).

Al someterlas a mutaciones se observó que la media de la robustez a mutaciones de estas redes, que son las redes que conservaron el fenotipo ancestral después de la mutación, disminuye conforme más robustas son las muestras a los cambios topológicos (Fig 10a). Es decir que conforme más redes robustas a cambios topológicos por muestra, menor es su robustez a mutaciones. Además la robustez a mutaciones de redes con duplicaciones tiende estabilizarse al final, mientras que las redes con un gen de CI y CII tienden a seguir disminuyendo.

Aunque la cantidad de redes robustas a CI y CII es mucho menor que la cantidad de redes robustas a duplicaciones, las redes robustas a CII y CI respectivamente resisten más las mutaciones que las redes robustas a duplicaciones (Fig 10b).

5.5. Perspectivas

El trabajo que queda pendiente en lo subsecuente es:

1. Comparar la magnitud de la diversidad fenotípica a la que un genotipo puede tener acceso a través de las mutaciones y de la adición de genes para ayudarnos a detectar si se producen cambios relevantes en la accesibilidad fenotípica y definir si existe una asociación con determinados cambios topológicos.
2. Al describir el espacio neutral de genotipos de las redes muestreadas podemos obtener características como la distancia genotípica por tipo de regulación (activadora o inhibidora) y por peso de la regulación. Esto permitirá identificar si existen características en la topología de las redes que pudieran explicar su tolerancia a las diferentes formas de agregar un gen (duplicación, CI y CII).

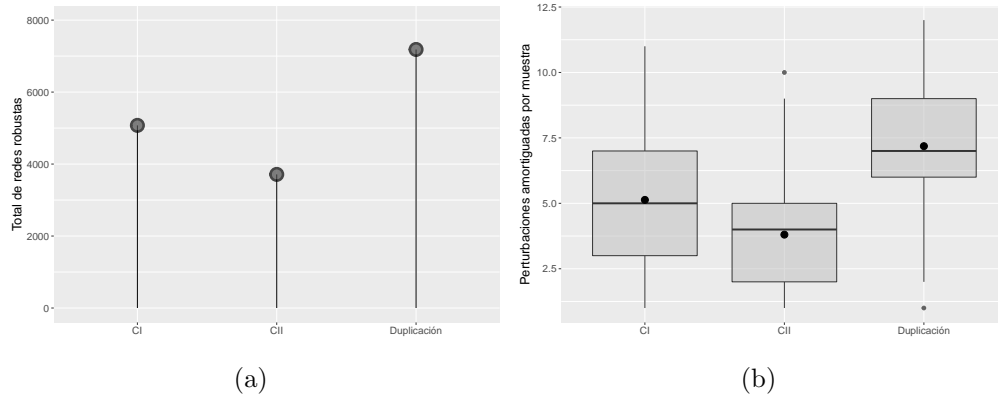


Figura 9: Más redes son robustas a duplicaciones que a CI y CII. En (a) se muestra la cantidad de redes robustas. Éstas se encuentran clasificadas dependiendo del tipo del gen añadido: CI, CII y duplicación. En (b) se encuentran las gráficas de caja para cada forma de adquirir un gen nuevo. En su eje vertical se observa la dispersión de número de redes por muestra (12 posibles) que son robustas para cada caso.

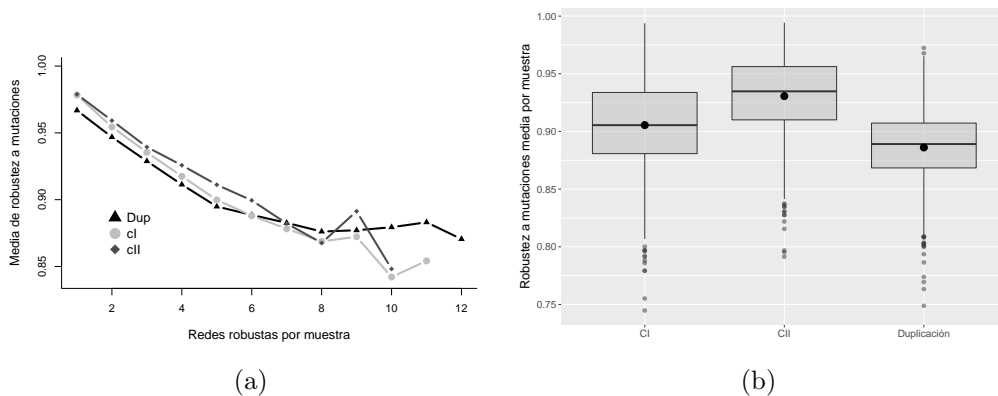


Figura 10: Aunque las redes con un gen *de novo* que conservaron el fenotipo son más robustas a mutaciones que las redes con un gen duplicado, la duplicación permite muestras con más redes robustas a mutaciones. En (a) observamos en el eje vertical la robustez a mutaciones después de agregar un gen, y en el eje horizontal la fracción de redes robustas a agregar un gen nuevo por muestra. En (b) se muestran las gráficas de caja de la robustez a mutaciones media por muestra de las diferentes formas de añadir un gen.

3. De la misma forma, comparando las características de las redes ancestrales con las del gen añadido, podremos detectar aspectos que esclarecer las diferencias en cambios en la robustez a mutaciones después de la adición.
4. Indagar si los efectos de la duplicación tienen algún tipo de relación con otros tipos de robustez como el cambio en la condición inicial.
- 5.

Referencias

- [1] CONANT, G. C. y WOLFE, K. H. , (2008). *Turning a hobby into a job: how duplicated genes find new functions. Nature reviews. Genetics*, 9(12), 938.
- [2] DITTMAR, K. y LIBERLES, D., (2011). *Evolution after gene duplication. John Wiley & Sons.*
- [3] REAMS, A. B. y ROTH, J. R., (2015). *Mechanisms of gene duplication and amplification. Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(2), a016592.
- [4] KONDRASHOV, F. A. y KONDRASHOV, A. S., (2006). *Role of selection in fixation of gene duplications. Journal of Theoretical Biology*, 239(2), 141-151.
- [5] COMAI, L., (2005). *The advantages and disadvantages of being polyploid. Nature reviews genetics*, 6(11).
- [6] RUBIN, G. M., YANDELL, M. D., WORTMAN, J. R., GABOR, G. L., NELSON, C. R., HARIHARAN, I. K.,... y CHERRY, J. M. , (2000). *Comparative genomics of the eukaryotes. Science*, 287(5461), 2204-2215.
- [7] JENSEN, R. A., (2001). *Orthologs and paralogs-we need to get it right. Genome biology*, 2(8), interactions1002-1.
- [8] AIROLDI, C. A. y DAVIES, B., (2012). *Gene duplication and the evolution of plant MADS-box transcription factors. Journal of Genetics and Genomics*, 39(4), 157-165.
- [9] SEOIGHE, C. y WOLFE, K. H., (1999). *Yeast genome evolution in the post-genome era. Current opinion in microbiology*, 2(5), 548-554.
- [10] INNAN, H. y KONDRASHOV, F., (2010). *The evolution of gene duplications: classifying and distinguishing between models. Nature Reviews Genetics*, 11(2).
- [11] LYNCH, M. y CONERY, J. S., (2000). *The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. Science*, 290(5494), 1151-1155.
- [12] CONANT, G. C. y WAGNER, A., (2004). *Duplicate genes and robustness to transient gene knock-downs in Caenorhabditis elegans. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 271(1534), 89-96.

- [13] WAGNER, A., (2001). *The yeast protein interaction network evolves rapidly and contains few redundant duplicate genes. Molecular biology and evolution*, 18(7), 1283-1292.
- [14] GU, Z., STEINMETZ, L. M., GU, X. y SCHARFE, C., (2003). *Role of duplicate genes in genetic robustness against null mutations. Nature*, 421(6918), 63.
- [15] BLANK, L. M., KUEPFER, L. y SAUER, U., (2005). *Large-scale 13 C-flux analysis reveals mechanistic principles of metabolic network robustness to null mutations in yeast. Genome biology*, 6(6), R49.
- [16] MAKINO, T. y KAWATA, M., (2012). *Habitat variability correlates with duplicate content of Drosophila genomes. Molecular biology and evolution*, 2012, vol. 29, no 10, p. 3169-3179.
- [17] TAMATE, S. C., KAWATA, M. y MAKINO, T., (2014). *Contribution of nonohnologous duplicated genes to high habitat variability in mammals. Molecular biology and evolution*, 2014, vol. 31, no 7, p. 1779-1786.
- [18] OHNO, S., *Evolution by Gene Duplication* (Springer, New York, 1970).
- [19] CARVUNIS, A. R., ROLLAND, T., WAPINSKI, I., CALDERWOOD, M. A., YILDIRIM, M. A., SIMONIS, N., ... y BRAR, G. A., (2012). *Protogenes and de novo gene birth. Nature*, 487(7407), 370-374.
- [20] HE, X. y ZHANG, J., (2005). *Rapid subfunctionalization accompanied by prolonged and substantial neofunctionalization in duplicate gene evolution. Genetics*, 169(2), 1157-1164.
- [21] FORCE, A., LYNCH, M., PICKETT, F. B., AMORES, A., YAN, Y. L. y POSTLETHWAIT, J., (1999). *Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. Genetics*, 151(4), 1531-1545.
- [22] SMITH, A. A., WYATT, K., VACHA, J., VIHTELIC, T. S., SAMUEL ZIGLER, J., WISTOW, G. J. y POSNER, M., (2006). *Gene duplication and separation of functions in α B-crystallin from zebrafish (Danio rerio). The FEBS journal*, 273(3), 481-490.
- [23] STROUSTRUP, B., (1995). *The C++ programming language. Pearson Education India*.
- [24] GSL, GNU SCIENTIFIC LIBRARY, [HTTP://WWW.GNU.ORG/SOFTWARE/GSL/](http://www.gnu.org/software/gsl/)

- [25] KITANO, H., (2004). *Biological robustness. Nature Reviews Genetics*, 5(11), 826.
- [26] WAGNER, G. P., BOOTH, G. y BAGHERI-CHAICHIAN, (1997). *A population genetic theory of canalization. Evolution*, 51(2), 329-347.
- [27] ANCEL, L. W. y FONTANA, W., (2000). *Plasticity, evolvability, and modularity in RNA. Journal of Experimental Zoology*, 288(3), 242-283.
- [28] LEHNER, B., (2010). *Genes confer similar robustness to environmental, stochastic, and genetic perturbations in yeast. PloS one*, 5(2), e9035.
- [29] CILIBERTI, S., MARTIN, O. C. y WAGNER, A., (2007). *Robustness can evolve gradually in complex regulatory gene networks with varying topology. PLoS computational biology*, 3(2), e15.
- [30] LEHNER, B., (2010). *Genes confer similar robustness to environmental, stochastic, and genetic perturbations in yeast. PloS one*, 5(2), e9035.