

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

Dipartimento di Bioscienze

DOTTORATO DI RICERCA IN BIOTECNOLOGIE

XXV CICLO

2010-2012

***FARMACO-TOSSICO-GENOMICA: ANALISI IN VIVO,
IN VITRO E DI SYSTEM BIOLOGY***

RELATORE:

CHIAR.MO PROF. NELSON MARMIROLI

DOCENTE GUIDA:

DOTT.SSA MARIOLINA GULLI'

COORDINATORE DEL DOTTORATO:

CHIAR.MO PROF. NELSON MARMIROLI

DOTTORANDA:

DOTT.SSA SARA GRAZIANO

Sommario

Riassunto	5
Introduzione	7
ANALISI TOSSICOLOGICHE	7
Analisi tossicologiche classiche	7
La tossicogenomica.....	7
La sperimentazione in numeri: tipologie di animali e finalità	14
Metodi di analisi tossicogenomiche	15
L'evoluzione della tossicogenomica	17
Analisi di profili di espressione in risposta a molecole tossiche.....	17
Phenotypic anchoring.....	18
Biomarcatori	18
Consorzi	18
Componenti tossicogenomiche: comparativa/predittiva e funzionale.....	19
Tossicogenomica comparativa/predittiva	19
Tossicogenomica funzionale.....	20
System Biology.....	21
Il lievito <i>Saccharomyces cerevisiae</i> come organismo modello	23
Tossicogenomica funzionale mediante la collezione di mutanti di lievito.....	27
Linee cellulari: strumento in vitro per studi di tossicogenomica	31
5-Fluorouracile	32
Nistatina	34
Scopo del lavoro	37
MATERIALI E METODI	38
Lievito	38

Screening della risposta fenotipica della collezione di mutanti per delezione di <i>Saccharomyces cerevisiae</i> in presenza molecole tossiche.....	38
Ceppi e terreni di crescita utilizzati	38
Terreni di crescita utilizzati.....	38
Determinazione della MIC ₉₉ e LD ₅₀	38
Screening della collezione in presenza di 5fluorouracile e nistatina.....	39
Determinazione del fenotipo.....	40
Test di validazione del fenotipo in presenza di 5fluorouracile e nistatina (spot assay).....	41
Software utilizzati per le analisi bioinformatiche	41
Estrazione di DNA da cellule di lievito	42
Estrazione di RNA da cellule di lievito	43
Quantificazione spettrofotometrica dell'RNA e del DNA estratti	43
Retrotrascrizione	44
Real-Time PCR: analisi di espressione mediante SYBR Green	44
Cellule umane HepG2.....	48
Colture cellulari HepG2	48
Estrazione di RNA totale da colture cellulari HepG2	48
Quantificazione spettrofotometrica dell'RNA estratto	49
Retrotrascrizione	49
Real-Time PCR: analisi di espressione mediante TaqMan custom array.....	50
Analisi dei dati di espressione	53
Risultati.....	54
Determinazione del valore della concentrazione LD ₅₀ e MIC ₉₉	54
Screening della collezione di mutanti in presenza di 5fluorouracile e nistatina.....	57
Acquisizione del fenotipo di crescita delle cellule mutanti di lievito	58
Analisi statistiche.....	60
Analisi bioinformatica.....	61

Identificazione di pathway	68
Analisi di interazione	72
Nistatina	76
Ricerca geni omologhi in altre specie	79
Analisi d'espressione in cellule di lievito	83
5fluorouracile	83
Nistatina	87
Analisi espressione genica in cellule umane HepG2	89
5fluorouracile	89
Conclusioni e Prospettive future	96
RINGRAZIAMENTI	98
Bibliografia.....	99

Riassunto

Riassunto

L'applicazione di analisi tossicologiche *in vitro* si inserisce in una normativa emanata dall'Unione Europea UE 86/609/CE nella quale viene richiesto di minimizzare l'utilizzo di animali in test tossicologici. In questo contesto diventa molto importante far riferimento ad approcci di tossicogenomica. Questa disciplina mette in relazione la capacità di alcune molecole di alterare i profili trascrizionali con l'attività biologica della molecola stessa all'interno di linee cellulari. Le analisi tossicogenomiche non hanno l'obiettivo di sostituirsi completamente alle analisi tossicologiche classiche, ma di integrarsi ad esse. Ciò è possibile poiché i principali vantaggi della tossicogenomica sono quelli di ridurre i tempi e i costi di valutazione del rischio relativi all'uso di nuove molecole e di applicare sistemi per le analisi che sono eticamente più accettabili come ad esempio l'utilizzo di sistemi cellulari.

Il lavoro di ricerca ha avuto come oggetto lo sviluppo di un sistema di analisi integrato (in vivo ed in vitro) basato su modelli eucariotici (*Saccharomyces cerevisiae* e cellule umane) che consenta di evidenziare i meccanismi molecolari di tossicità di molecole importanti dal punto di vista ambientale o farmacologico.

La ricerca è stata effettuata sfruttando un approccio di genomica funzionale, utilizzando la collezione di mutanti per delezione di lievito *S.cerevisiae*. La collezione si compone di circa 5000 ceppi ognuno delecto in una ORF non essenziale identificabile a livello genomico attraverso un sistema tipo "bar code". Di ogni singolo mutante è stato valutato il corrispondente fenotipo di crescita in presenza di condizioni letali di 5fluorouracile o nistatina. I mutanti che mostravano un fenotipo sensibile o resistente al trattamento rispetto ad un ceppo wt utilizzato come controllo sono stati successivamente analizzati. Ogni singolo mutante ha un gene delecto caratterizzato e perciò è possibile correlare il fenotipo del mutante sottoposto al trattamento con la funzione del gene assente nel ceppo.

Mediante un approccio di "system biology" si è cercato di comprendere i principali meccanismi molecolari e di identificare i geni e i pathway metabolici coinvolti nella risposta al 5fluorouracile e nistatina. Per il 5fluorouracile è stato dimostrato che i geni più significativamente correlati al fenotipo di sensibilità appartengono a pathway metabolici oggetto dell'azione della molecola, quali il pathway dei pentoso-fosfati, la biogenesi dei ribosomi e il pathway dell'endocitosi. Analogamente per quanto riguarda la nistatina i geni più significativamente correlati al fenotipo di sensibilità mettono in evidenza quali sono i bersagli molecolari della nistatina. Infatti i pathway più significativi risultano essere quelli della biogenesi degli sfingolipidi, i principali componenti della

parete del lievito e sono in generale i target principali dell'azione di molecole antifungine come la nistatina.

Le successive analisi hanno previsto l'utilizzo di linee cellulari umane, HepG2, trattate con il 5fluorouracile e la nistatina. Tali cellule sono state utilizzate per analizzare i profili trascrizionali di un gruppo di geni significativamente correlati al fenotipo di crescita di ceppi mutati di lievito, precedentemente identificati. Il fine ultimo della ricerca è quello di poter identificare un gruppo di geni che siano predittivi dell'effetto tossico di alcune molecole. L'analisi della collezione di mutanti ha permesso di identificare un sistema di analisi in vivo in grado di identificare gruppi di geni implicati nel meccanismo d'azione di una molecola tossica, mediante analisi fenotipiche; mentre le analisi dei profili trascrizionali in sistemi in vitro si sono rivelate utili per stabilire se le variazioni di espressione sono correlate con l'azione delle molecole utilizzate

Introduzione

ANALISI TOSSICOLOGICHE

Analisi tossicologiche classiche

La Tossicologia è una scienza che studia i meccanismi con cui le sostanze chimiche o agenti fisici producono effetti dannosi nei sistemi biologici. Esso valuta il grado di tossicità per poter definire il margine di sicurezza e l'entità del rischio derivante dall'esposizione; inoltre può fornire indicazioni per ottenere prodotti chimici alternativi più sicuri per l'uomo e per l'ambiente, determinando le relazioni tra strutture chimiche e tossicità. Lo studio della tossicologia è utile non solo per proteggere l'uomo e l'ambiente dagli agenti tossici ma anche per facilitare lo sviluppo di sostanze più selettive come gli antitumorali, farmaci, pesticidi ed altro. I tradizionali approcci tossicologici si basano sul dosaggio di farmaci su animali e si definiscono analisi "in vivo". La valutazione del rischio per gli esseri umani deriva da studi eseguiti su specie modello, specialmente roditori.

L'utilizzo di animali per la valutazione dei rischi è necessario per evidenziare i cambiamenti fisiologici e gli effetti della somministrazione cronica. Questo approccio però presenta uno svantaggio principale in quanto gli animali non possono essere completamente predittivi della risposta nell'uomo a causa della variabilità delle specie a livello fisiologico, anatomico, e metabolico. Inoltre, gli studi tossicologici richiedono un grande numero di animali per consentire di trarre conclusioni statisticamente significative. Pertanto, l'attuale approccio al test tossicologico è costoso, in termini di tempo, lavoro, sintesi dei composti e del gran numero di animali sacrificati (Suter et al. 2004). Perciò qualsiasi approccio che offre la possibilità di ridurre i tempi e i costi di un'analisi, è considerato importante per lo sviluppo di nuovi farmaci.

La tossicogenomica

Il rapido accumulo di dati ottenuti dai progetti di sequenziamento di genomi e dalle annotazioni di geni e proteine, ha permesso negli ultimi anni di focalizzare gli studi di analisi di espressione per comprendere il meccanismo d'azione delle molecole e altri composti considerati tossici. In seguito a questo tipo di studi è nata una nuova disciplina definita **tossicogenomica**, la quale ha tre principali scopi: stabilire le relazioni biologiche che intercorrono tra una sostanza tossica e la possibilità dell'insorgenza di una patologia umana; identificare biomarcatori della malattia in seguito

Introduzione

all'esposizione con la molecola tossica; capire i meccanismi molecolari che sono alla base della tossicità.

Lo sviluppo di questa nuova disciplina nasce in seguito ad una esigenza a livello europeo di voler diminuire l'utilizzo di animali da laboratorio per studi tossicologici. A tale proposito l'Unione Europea, al fine di ampliare le conoscenze tossicologiche, già nel 1986 aveva emanato una specifica direttiva 86/609/EC volta all'utilizzo di sistemi alternativi "che possono sostituire, ridurre o perfezionare l'utilizzo di animali per scopi biomedici, di analisi o educativi". In seguito, nell'ottica di sviluppare test sicuri, la definizione di metodi alternativi comprende oltre ai metodi *in vitro* ed *ex vivo* (testing methods) anche i metodi che non si avvalgono di veri e propri test ma che fanno riferimento a sistemi informatici (non-testing methods). A tale proposito, nel 2001 l'Unione Europea decide di compilare un documento nel quale vengono elencati tutti i metodi convenzionali ed alternativi che possono essere impiegati per analizzare sostanze chimiche con l'obiettivo di minimizzare i costi e il numero di animali impiegati.

Nei Paesi dell'Unione Europea, ma anche in USA e in Giappone, l'uso di metodi alternativi è recentemente aumentato anche grazie alla direttiva 2003/15/EC sui cosmetici dell'Unione Europea la quale mira a una graduale eliminazione delle prove sperimentali riguardanti la sicurezza dei cosmetici sugli animali stimata tra il 2008 e 2013. In riferimento a questa direttiva, anche il regolamento sulle sostanze chimiche sulla base della direttiva 1907/2006 CE mira a ridurre il numero di animali durante la sperimentazione e tiene conto dei metodi di analisi alternativi per quanto possibile. La disponibilità di un metodo alternativo, dipende in primis dal fatto che sia stato sviluppato, ma anche dal superamento del processo cosiddetto di validazione che ne garantisce la validità scientifica in termini di rilevanza e riproducibilità secondo i principi del Centro di Validazione dei Metodi Alternativi (ECVAM); solo un metodo validato può essere utilizzato in ambito regolatorio.

Per tale motivo, sono stati proposti dall'OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) diversi test *in vitro*. In Tab 1 vengono riassunti tutti i test *in vitro* proposti dall'OECD e corrispondenti test *in vivo*:

Introduzione

Tabella 1 Elenco dei metodi di analisi tossicologica in vitro ed in vivo accettati dai regolamenti europei.

Toxicological end point	In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)	In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)
1. Acute Toxicity	Acute Toxicity Oral [401, 420 (fixed dose procedure), 423 (acute toxic class method), 425 (up-and-down procedure)] ^f , dermal (402, 434 ^a) ^f or inhalation [403, 433 ^b (fixed concentration procedure), 436 ^c (acute toxic class (ATC) method)] ^f	
2. Dermal resorption	Skin absorption (427) ^f	Skin absorption (428) ^f
3. Phototoxicity		3T3 NRU Phototoxicity test (432) ^f
4. Skin irritation and corrosion	Acute dermal irritation/corrosion (404) ^f	Transcutaneous electrical resistance test (TER) (430) ^f Skin corrosion: human skin model test (431) ^f Membrane barrier test method for skin corrosion (435) ^f
5. Eye irritation and corrosion	Acute eye irritation/corrosion (405) ^f	Embryonated chicken egg (HET-CAM) ^g Isolated bovine cornea (BCOP) ^g Isolated chicken eye (CEET) ^g Isolated rabbit eye (IRE) ^g
6. Sensitisation	Skin Sensitisation (406) ^f Local lymph node assay (LLNA) (429) ^f	
7. Hepatotoxicity	Repeated dose toxicity study in rodents oral (28 day) (407) ^f , dermal (21/28-day) (410) ^f or inhalation (28-day or 14-day study) (412) ^f	
8. Nephrotoxicity		
9. Hematotoxicity	Combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (422) ^f	
10. Cardiotoxicity	Repeated dose 90-day toxicity study oral in rodents (408) ^f or non-rodents (409) ^f , dermal (411) ^f or inhalation (413) ^f Chronic toxicity studies (452) ^f	
11. Endocrine effects	Two-generation reproduction toxicity study (416) ^f Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents; updated with parameters for endocrine effects (May 2007 version) (407 ^a) ^f	
12. Neurotoxicity	Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances following acute exposure (418) ^f Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances, 28-day repeated dose study (419) ^f Neurotoxicity study in rodents (424) ^f	
13. Immunotoxicity		
14. Prenatal development	Prenatal developmental toxicity study (414) ^f	Whole embryo culture (WEC) ^g Micromass Test (MM) ^g Embryonic stem cell test (EST) ^g
Pre- and postnatal development	Two-generation reproduction toxicity study (416) ^f Developmental neurotoxicity study (426) ^f	
15. Fertility	Combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (422) ^f Reproduction/developmental toxicity screening test (421) ^f Repeated dose 28-day toxicity study (407, 410, 412) ^f Repeated dose 90-day toxicity study (408, 409, 411, 413) ^f One-generation reproduction toxicity study (415) ^f Two-generation reproduction toxicity study (416) ^f	
16. Genotoxicity, mutagenicity	Mammalian erythrocyte micronucleus test (474) ^f Mammalian bone marrow chromosomal aberration test (475) ^f Sex-linked recessive lethal test in <i>Drosophila melanogaster</i> (477) ^f Rodent dominant lethal test (478) ^f Mammalian spermatogonial chromosome aberration test (483) ^f Mouse spot test (484) ^f Mouse heritable translocation assay (485) ^f Unscheduled DNA synthesis (UDS) test with mammalian liver cells (486) ^f	Bacterial reverse mutation test (471) ^f <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , gene mutation assay (480) ^f <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , mitotic recombination assay (481) ^f Mammalian chromosome aberration test (473) ^f Mammalian cell gene mutation test (476) ^f Micronucleus test (487 ^h) ^f Sister chromatid exchange assay in mammalian cells (479) ^f DNA damage and repair, UDS in mammalian cells (482) ^f
16. Carcinogenicity	Carcinogenicity studies (451) ^f Combined chronic toxicity/carcinogenicity Studies (453) ^f	Cell transformation assays (SHE, Balb/c 3T3, C3H10T) ^g

^a Draft Test Guideline 434 Acute Dermal toxicity-Fixed Dose Procedure, May 2004 Version (http://www.oecd.org/search/Result/0,3400,en_2649_34377_1_1_1_1_1_1,00.html)

^b Draft Test Guideline 433: acute inhalation toxicity—fixed concentration procedure, June 2004 Version (http://www.oecd.org/search/Result/0,3400,en_2649_34377_1_1_1_1_1_1,00.html)

^c Draft New Test Guideline 436: acute inhalation toxicity—acute toxic class (ATC) Method, December 2004 Version (http://www.oecd.org/search/Result/0,3400,en_2649_34377_1_1_1_1_1_1,00.html)

^d Draft Updated Test Guideline 407: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents; Updated with parameters for endocrine effects, May 2007 version (http://www.oecd.org/document/55/0,3343,en_2649_34377_2349687_1_1_1_1_1_1,00.html)

^e Draft Proposal for a New Guideline 487: in vitro micronucleus test, December 2006 Version (http://www.oecd.org/document/55/0,3343,en_2649_34377_2349687_1_1_1_1_1_1,00.html)

^f OECD Guidelines for the testing of chemicals (<http://oberon.sourceoecd.org/vl=5003995/cl=13/nw=1/rpsv/cw/vhosts/oecdjournals/1607310x/v1n4/contpl-1.htm>);

^g Tests listed only in Annex V of Directive 67/548/EEC or accepted by regulatory authorities of some EU Member States

Nel 2010 è stata istituita dalla DG-Sanco una commissione di esperti tossicologi con il compito di valutare lo stato dell'arte per quanto riguarda la disponibilità di metodi alternativi e di individuare le criticità relative ai test tossicologici, nell'ottica di poter rispettare la scadenza del 2013 prevista dalla Direttiva Cosmetici. La commissione si è divisa in gruppi di lavoro focalizzati su specifici criteri di analisi: tossicocinetica, sensibilizzazione cutanea, tossicità per dosi ripetute, carcinogenicità, tossicità riproduttiva. Pur essendo l'attività di ciascun gruppo di lavoro specificamente indirizzato alle esigenze relative alla valutazione dei cosmetici, è ovvio che le conclusioni raggiunte, sono altrettanto valide anche per altre classi di sostanze chimiche che debbano essere valutate.

1) TOSSICOCINETICA E METABOLISMO

Gli studi di tossicocinetica forniscono le informazioni sull'ingresso ed il destino all'interno dell'organismo delle sostanze tossiche. Tali informazioni sono indispensabili in primis per la stima del valore soglia di esposizione al di sotto del quale poter assicurare un rischio sufficientemente basso da poter essere accettato, ma consentono anche la stima di dosi attese a livello di organi e tessuti bersaglio (dose interna) correlate ad effettive dosi di esposizione (dose esterna).

Questa area tossicologica costituisce un ruolo chiave nello sviluppo di sistemi sperimentali *in vitro*, poiché ne amplia in modo sostanziale lo spettro di applicabilità dai più semplici studi di effetti locali (individuazione del pericolo) a valutazioni di tossicità sistemica che implicano necessariamente la conoscenza dei vari aspetti tossicocinetici quali assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione (ADME) delle sostanze cui l'uomo è esposto. Negli studi *in vivo* questi fenomeni costituiscono parte integrante del modello animale: in un approccio totalmente *in vitro* considerazioni legate alla cinetica devono necessariamente essere poste come step iniziale della valutazione, soprattutto in un processo di valutazione del rischio che abbia come punto di partenza la valutazione della esposizione interna. Tale approccio si può applicare generalmente a sostanze per le quali non sono disponibili dati di tossicità. Analogamente alla situazione *in vivo* sono di estrema importanza gli studi di caratterizzazione dei modelli *in vitro* e lo studio dei parametri biocinetici in termini di corrispondenza tra concentrazioni nominali utilizzate sperimentalmente e dosi di esposizione delle cellule. Le informazioni sulla cinetica sono quindi indispensabili nel trasferimento delle informazioni fornite dal modello *in vitro* con la reale situazione di esposizione per l'uomo.

2) SENSIBILIZZAZIONE CUTANEA

Questo endpoint tossicologico è strettamente correlato al fenomeno dell'allergia cutanea. I meccanismi biologici implicati, nonostante siano ben conosciuti, sono molteplici e interconnessi fra loro, contribuendo alla complessità e difficoltà di valutazioni a scopo predittivo per la salute dell'uomo soprattutto con metodologie *in vitro*. Gli stessi modelli animali finora utilizzati sono per lo più in grado di discriminare tra sostanze sensibilizzanti e non solo un test (LLNA local lymph node assay) fornisce informazioni semi-quantitative sulla potenza di sensibilizzazione di una sostanza. Recentemente diversi metodi non-animale sono stati sviluppati per questo ambito tossicologico, ma, poiché singolarmente rappresentano solo parte dell'intero fenomeno, nessuno di questi è stato ancora formalmente validato.

3) TOSSICITA' A DOSI RIPETUTE

Con questo termine si indicano gli effetti tossici che si manifestano a seguito di esposizioni giornaliere ripetute nell'arco dell'intera vita (esposizione cronica) o per parte di essa (esposizione subcronica). Tale modalità di esposizione implica oltre all'intervento dei processi tossicocinetici, azioni combinate da parte di più tessuti ed organi sia in termini di effetti tossici che di distribuzione in un quadro generale di tossicità sistemica. Essendo al momento stati sviluppati test *in vitro* in grado di predire effetti tossici solo su specifici organi bersaglio, è necessario sviluppare una strategia di analisi con modelli *in vitro/in silico* che siano rappresentativi della interrelazione tra i vari fenomeni che realmente avvengono all'interno del corpo umano. In questo campo i metodi in corso di sviluppo sono potenzialmente utili nell'identificazione del pericolo in termini di meccanismi d'azione tessuto o organo-specifici, ma le estrapolazioni in grado di fornire informazioni quantitative sulle relazioni dose-risposta e dose esterna/dose interna come effetto risultante di una esposizione ripetuta, potranno essere fatte solo con lo sviluppo di specifici algoritmi matematici come i modelli PBPK e PBPD (*Physiologically Based Pharmacodynamic model*). Anche in questo caso quindi la complessità dei meccanismi coinvolti derivante da effetti di tipo sistemico rende ancora lontana una completa sostituzione dei modelli animali finora utilizzati con metodi esclusivamente *in vitro*.

Recentemente diversi gruppi di ricerca hanno impiegato l'intero profilo trascrizionale delle cellule per identificare le alterazioni a livello dell'mRNA di una popolazione di cellule trattate con specifiche sostanze chimiche per identificare un pattern di espressione (Hengstler et al. 2006). I dati

riportati riguardano esperimenti effettuati con array dai quali è possibile identificare specifici profili di espressione associati a particolari composti che provocano epatotossicità. Sono stati identificati cluster genici come lipidosi microvescicolare, necrosi epatocellulare, infiammazione, epatite e iperplasia del dotto biliare (Huang et al., 2004; Waring et al., 2001). Questi dati definiscono le potenzialità che le nuove tecnologie *in vitro* possono avere nel predire i valori di tossicità a breve termine *in vivo* e perciò contribuiscono a ridurre il numero di animali da impiegare per le analisi. In futuro la ricerca dovrà perciò concentrarsi per stabilire, standardizzare e validare questi metodi. La tossicogenomica e altre discipline come la proteomica e la metabolomica possono essere incorporate per la validazione di questi test.

4) CARCINOGENICITA'

La carcinogenesi è un processo molto complesso che avviene in tempi relativamente lunghi attraverso la sequenza di più stadi e articolate interazioni tra diversi sistemi biologici. Inoltre per una stessa sostanza i meccanismi d'azione possono differire in diversi organi o in diverse specie animali.

I meccanismi meglio studiati che determinano il complesso meccanismo della carcinogenicità negli animali sono: inattivazione metabolica, senescenza del DNA, arresto del ciclo cellulare, apoptosi e oncogeni che provocano senescenza (Hengstel et al., 2003; Trost et al., 2005; Spangenberg et al., 2006; Hengstel et al., 2006). In questo contesto la predizione delle caratteristiche della carcinogenesi sono estremamente difficili. Inoltre un elevato numero di sostanze che non sono genotossiche sono carcinogeniche; molte informazioni possono in tal caso essere recuperate da test *in vitro* (Sakai et al., 2002). L'impiego di test *in vitro* per lo studio della carcinogenesi non sostituisce però gli studi effettuati *in vivo*.

La tossicogenomica e altre discipline ad esse associate vengono proposte come strumento utile per la predizione di risultati di analisi carcinogenetiche condotte a lungo termine (Corvi et al., 2006). Infatti è stato definito che gli agenti carcinogenici genotossici inducono l'espressione di alcuni geni che sono coinvolti nella risposta al danno a livello del DNA, apoptosi e sopravvivenza cellulare. Le sostanze considerate non genotossiche invece determinano una diminuzione dei livelli di espressione di geni correlati al pathway della trasduzione del segnale nella progressione del ciclo cellulare e nella risposta al danno ossidativo a livello del DNA. Ovviamente identificare un singolo gene all'interno di un pathway non è sufficiente per identificare un meccanismo di carcinogenicità.

5) TOSSICITA' RIPRODUTTIVA

Questo tipo di analisi tossicologiche sono estremamente difficili da studiare con metodi alternativi sia per la complessità dei meccanismi e delle loro interconnessioni, ma anche per la complessità del processo stesso di sviluppo prenatale dell'uomo. Malgrado ciò, l'esigenza di trovare dei metodi di analisi sostitutivi è importante, in quanto il numero di animali impiegati per questi test è notevole; infatti per i test di seconda generazione vengono richiesti 2600 animali.

Ad oggi sono stati validati e vengono comunemente consigliati per studi tossicologici tre test *in vitro*: il test delle cellule embrionali staminali (EST), il test della micro massa (MM) e il test dell'impianto degli embrioni in ratto (WEC). Tali test ricoprono soltanto alcuni aspetti del meccanismo tossicologico ed inoltre si focalizzano principalmente sullo studio dell'embritossicità valutando soltanto in parte il processo della riproduzione. Il test EST, infatti, rappresenta in modo specifico i complessi pathway della differenziazione cellulare (principalmente la differenziazione dei cardiomiociti); il test MM si focalizza sul processo di sviluppo delle cellule indifferenziate della aorta in condrociti e il test WEC identifica un sistema molto complesso che riproduce il periodo dello sviluppo embrio-fetale (Spielmann et al., 2006). I sistemi di analisi precedentemente descritti, sono in grado di ricoprire solo specifici e parziali aspetti dell'intero sistema riproduttivo. Al momento solo determinati meccanismi possono essere rappresentati *in vitro*.

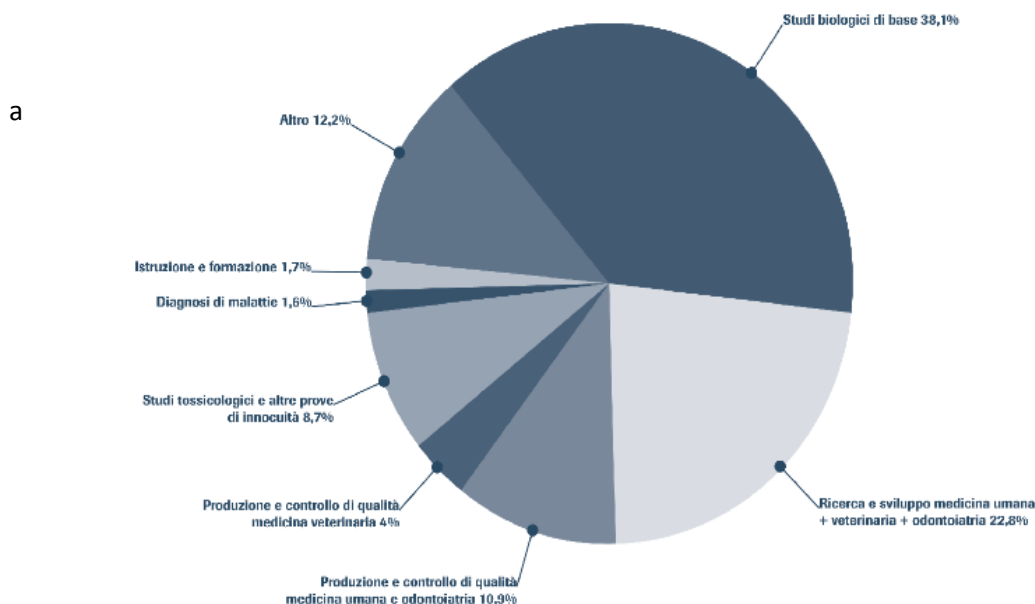
Una promettente strategia è quella di implementare i database che raccolgono informazioni tossicologiche provenienti da metodi classici animali e che possono identificare i meccanismi del sistema riproduttivo che vengono attivati dalle varie sostanze tossiche. L'obiettivo di questa idea è quello di ottenere una completa raccolta di dati che potrebbe portare all'identificazione di test *in vitro* che siano in grado di fornire informazioni più complete nel contesto generale della tossicità riproduttiva.

Da un punto di vista legislativo, i metodi alternativi possono essere utilizzati al momento solo a scopo di screening e di supporto e potranno essere accettati solo dopo il superamento del lungo processo di validazione che ne stabilisce la rilevanza per uno specifico ambito tossicologico e la loro affidabilità in termini di ripetibilità. Perciò la sperimentazione scientifica non può essere totalmente svincolata dal modello animale, poiché è l'unico in cui è possibile considerare le regolazioni omeostatiche dell'organismo in toto (Sitox , 2012).

La sperimentazione in numeri: tipologie di animali e finalità

Secondo l'ultima relazione della Commissione al Consiglio e al Parlamento europeo, nel 2008, gli animali utilizzati a fini sperimentali e ad altri fini scientifici, nei 27 Stati membri della UE, sono stati complessivamente poco più di 12 milioni. I roditori e i conigli rappresentano oltre l'80 % del numero totale di animali utilizzati. I topi sono di gran lunga la specie più utilizzata, con una percentuale del 59,3 % del totale, seguiti dai ratti con il 17,7 %. La seconda categoria di animali più utilizzata è costituita dagli animali a sangue freddo, in particolare rettili, anfibi e pesci, che rappresentano il 9,62 %. La terza categoria è costituita dagli uccelli, con una percentuale di poco superiore al 6,3 % del totale. Il gruppo degli artiodattili e dei perissodattili, che comprende cavalli, asini e ibridi (perissodattili) nonché suini, caprini, ovini e bovini (artiodattili), rappresenta l'1,39 % del totale degli animali utilizzati negli Stati membri. I carnivori costituiscono lo 0,26 % e i primati non umani lo 0,08 % del numero totale di animali utilizzati nel 2008 (Fig.1a).

Più del 60 % degli animali è stato utilizzato in attività di ricerca e sviluppo per la medicina umana, la medicina veterinaria, l'odontoiatria e per studi biologici di base. La produzione e il controllo di qualità di prodotti e dispositivi destinati alla medicina umana, veterinaria e all'odontoiatria hanno richiesto l'uso del 14,9 % del numero totale di animali. Gli studi tossicologici e altre prove di innocuità hanno rappresentato l'8,7 % del totale degli animali utilizzati a fini sperimentali (Fig.1b).



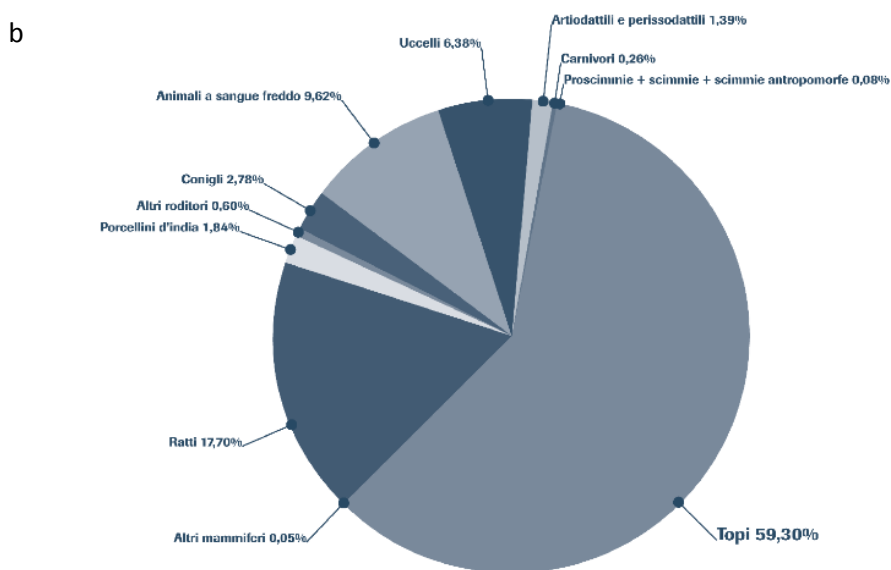


Figura 1 Sperimentazione su animali: a) Tipologie degli animali utilizzati; b) Finalità delle analisi condotte su animali (Sitox, 2012).

Metodi di analisi tossicogenomiche

La tossicogenomica applica concetti e tecnologie della genomica per studiare gli effetti delle sostanze chimiche (Suteret al., 2004) e i meccanismi cellulari per contrastarli. Questi studi utilizzano l'analisi d'espressione genica per rilevare i cambiamenti di espressione che influenzano, prevedono o contribuiscono alla definizione di tossicità da farmaco. Le tecniche utilizzate per esaminare i profili d'espressione genica di organismi o linee cellulari sottoposti a uno stress sono molteplici.

Un metodo standard utilizzato per studiare questi cambiamenti è il Northern Blot (HishamK.et al, 2002). Esso consiste nella separazione su gel d'agarosio dell'RNA e ad una sua successiva ibridazione con una sonda marcata complementare solo alla sequenza di RNA di interesse. Questa metodica richiede un intenso lavoro manuale e permette di analizzare i livelli di espressione di un limitato numero di geni.

Introduzione

La tecnologia dei DNA microarray invece, permette di effettuare un'analisi d'espressione di molteplici geni contemporaneamente. Esistono due tipi di analisi microarray usati per studiare l'espressione genica, microarray a cDNA e microarray di oligonucleotidi, differiscono e per il tipo di sonde che vengono fissate sulla matrice. L'RNA isolato viene marcato con un fluoroforo grazie ad un processo di retrotrascrizione utilizzando un nucleotide modificato coniugato con un fluoroforo oppure viene marcato con ribonucleotidibiotinilati. Una volta marcato il cDNA, viene avviata la reazione di ibridazione e grazie alla rilevazione della posizione in cui lega con la matrice si procede con la sua identificazione. Il limite di questa metodica è che fornisce una valutazione semiquantitativa, inoltre l'elaborazione dei dati è una procedura molto complessa.

Per ottenere una precisa analisi quantitativa si utilizza l'analisi Real-Time PCR. Questa metodica permette di monitorare la quantità di DNA che viene amplificato ad ogni ciclo in tempo reale grazie all'utilizzo di sonde fluorescenti (per esempio sonde Taqman®) o molecole intercalanti il DNA doppio filamento (per esempio SYBR® Green). È un metodo di amplificazione e quantificazione simultanea del DNA.

In un tipico studio di tossicogenomica vengono analizzati gli effetti provocati da diversi dosaggi di molecola tossica all'interno di un organismo (alte e basse concentrazioni). Lo studio comprende un'analisi temporale degli effetti: si analizzano le diverse risposte in funzione al tempo di esposizione della sostanza tossica. Ogni condizione di analisi identifica profili di espressione genica in relazione alla dose di sostanza tossica utilizzata e al tempo di esposizione (Waters and Fostel 2004). I dati di espressione ottenuti vengono analizzati mediante un sistema di analisi comparativa che permette di differenziare le risposte adattative dei sistemi biologici (biomarcatori) che sono associate con effetti avversi clinici e visibili. Mediante questo tipo di analisi è possibile ipotizzare il meccanismo biologico che viene messo in atto dalle cellule in seguito al trattamento con la molecola tossica (Waters and Fostel 2004).

Perciò la tossicogenomica è una disciplina che integra i dati scientifici ottenuti da analisi trascrittomiche, protomiche, metabolomiche con dati acquisiti da analisi tossicologiche classiche e valutazioni istopatologiche (Fig.2). Questa integrazione ha l'obiettivo principale di focalizzare lo studio verso una maggiore comprensione della relazione che intercorre tra i dati tossicologici e quelli genetico-molecolari.

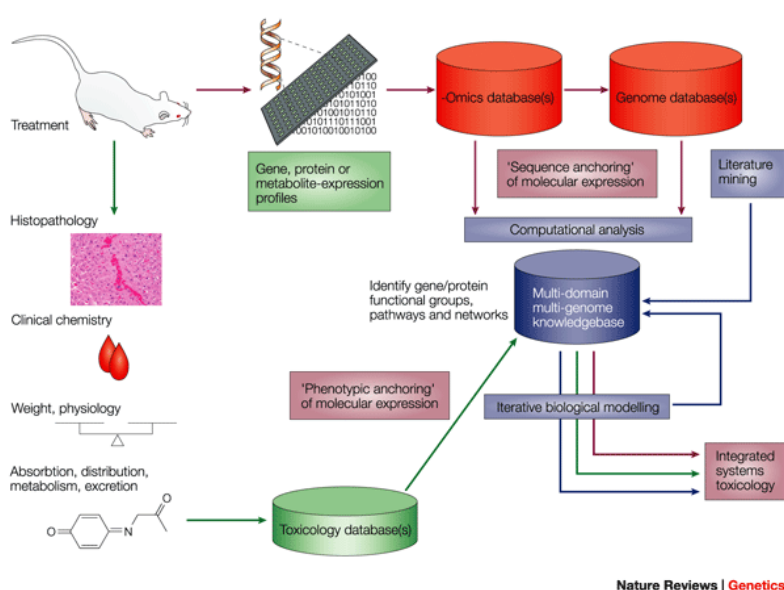


Figura 1 Schema di un'analisi tossicogenomica (Waters and Fostel 2002)

L'evoluzione verso una "tossicologia predittiva" richiederà numerosi studi di tossicogenomica che saranno effettuati tra genotipi e specie in modo da poter essere assimilati in un database genomico (Fig.2). La tossicologia perciò diventerà una scienza informativa in cui la salute pubblica e la valutazione del rischio sono i principali beneficiari (Waters and Fostel, 2004).

Un importante contributo alla tossicogenomica deriva dalla formazione di consorzi scientifici che raccolgono scienziati appartenenti a diverse realtà lavorative come, industria, università e istituzioni governative che hanno l'obiettivo di identificare e risolvere importanti problemi di natura tossicologica (Waters and Fostel, 2004).

L'evoluzione della tossicogenomica

Analisi di profili di espressione in risposta a molecole tossiche

Nuwaysir e collaboratori utilizzarono per la prima volta il termine "tossicogenomica" per descrivere l'uso di microarray al fine di misurare la risposta tossicologica di specifici geni e per identificare biomarcatori di tossicità selettivi e sensibili. Il primo studio di tossicogenomica pubblicato comparava i profili di espressione genica di cellule umane in risposta ad agenti antinfiammatori lipopolisaccaridici (LPS) (Heller et al., 1997). In seguito, numerosi studi sono stati condotti in altri tipi di tessuti con l'obiettivo principale di stabilire una specifica associazione tra profilo molecolare ed effetto della molecola tossica.

Phenotypic anchoring

Con questo termine si identifica il processo che mette in relazione il profilo di espressione con il fenotipo di un organismo osservato a seguito all'esposizione ad una specifica concentrazione di una sostanza tossica per un determinato periodo di tempo (Tennant, 2002).

Il phenotypic anchoring può essere un utile strumento per identificare i profili di espressione di cellule trattate con basse dosi di molecola tossica in modo da poter identificare il meccanismo di tossicità prima che si manifesti un cambiamento istopatologico evidente. Questo tipo di analisi è stata effettuata per identificare i profili trascrizionali di cellule di ratto trattate con l'acetaminofene, prima di poter osservare modificazioni istopatologiche (Heinloth et al. 2004).

Biomarcatori

Esiste la continua esigenza di identificare nuovi biomarcatori in grado di diminuire il rischio di insuccesso in studi clinici durante lo sviluppo e la validazione di nuovi farmaci. Un esempio di questo è rappresentato da una nuova classe di molecole, farmaci, destinati alla commercializzazione analizzati mediante un programma di ricerca basato sull'identificazione di inibitori della γ -secretasi, una proteina importante coinvolta nella malattia di Alzheimer. Sfortunatamente alcuni di questi inibitori hanno presentato effetti secondari indesiderati come l'inibizione della rottura della proteina Hes1 da parte di Notch1. Ma, mediante l'analisi di profili trascrizionali e analisi sequenziali di proteine, Searfoss e i suoi collaboratori hanno identificato l'adipsina come biomarcatore di tossicità (Waters and Fostel 2004).

La valutazione del potenziale carcinogenico di un farmaco in media necessita di almeno due anni di studi, in cui vengono utilizzati moltissimi animali e risorse umane. Per tale motivo, c'è un particolare interesse ad identificare biomarcatori di carcinogenicità che possono essere identificati in studi di tossicità acuta. Biomarcatori di rilevanza clinica sono stati identificati mediante approcci di tossicogenomica. Per esempio, Petricoin e i suoi collaboratori hanno identificato un set di marker proteici in grado di distinguere pazienti con alte concentrazioni di antigeni-prostata specifici (PSA), correlati con il cancro alla prostata, da pazienti considerati sani con basse concentrazioni di PSA.

Consorti

Per riuscire ad standardizzare le misure e gestire l'interpretazione di dati ottenuti da esperimenti di tossicogenomica, si sono creati tre consorzi:

Introduzione

- ILSI (International Life Science Institute) esso si occupa di catalogare i diversi meccanismi di tossicità ottenuti da svariate molecole ed inoltre è in collaborazione con EMBL- European Bioinformatics Institute per la formazione di un database che raccoglie dati tossicogenomici.
- NCT (National Center for Toxicogenomics): esso è coinvolto in un progetto di standardizzazione di analisi tossicogenomiche e di studio delle risposte agli stress ambientali.
- COMET (Consortium for Metabonomics Technology) ha riportato i risultati di metabonomica ottenuti da 80 diversi agenti.

La nascita di differenti consorzi ha permesso agli studiosi di avvicinarsi sempre di più all'obiettivo principale della tossicogenomica, ossia integrare i dati ottenuti da studi diversi per creare un modello biologico in grado di spiegare la risposta tossicologica di una cellula, di un organo o di un organismo (Waters and Fostel, 2004).

Componenti tossicogenomiche: comparativa/predittiva e funzionale

Tossicogenomica comparativa/predittiva

La genomica comparativa e gli studi di proteomica o metabolomica, rilevano il numero e il tipo di geni, proteine e metaboliti che sono presenti in condizioni normali e quando le cellule, tessuti o biofluidi sono esposti a molecole tossiche. Questo approccio è utile poiché definisce la composizione dei campioni in esame in termini di variabili genetiche, proteomiche e metaboliche. In tal caso, gli studi tossicogenomici mirano all'identificazione di un pattern di espressione piuttosto che allo studio di singoli geni. Ovviamente la necessità di strumenti in grado di analizzare i pattern di espressione deriva dall'enorme quantità e complessità di dati che vengono prodotti da strumenti di analisi genomica, proteomica e metabolomica. Perciò, sono molto ricercati metodi di classificazione automatici di tossicità e modelli di predizione.

L'obiettivo di base di questa analisi è quello di confrontare il profilo trascrizionale ottenuto da un campione di cellule trattate con una molecola a tossicità poco nota con i vari profili trascrizionali depositati nelle banche dati ottenute da linee cellulari trattate con sostanze tossiche definite. Questa procedura serve per raccogliere/predire alcune proprietà tossiche del campione in esame. Le previsioni si dividono in due categorie: la classificazione del campione in base alla classe di

Introduzione

composti a cui sono stati sottoposti gli animali o le linee cellulari, o la classificazione del campione in base ai risultati istopatologici degli animali trattati (Hamadeh et al. 2002).

Durante lo sviluppo di un modello predittivo, devono essere presi in considerazione numerosi problemi tra cui la rappresentatività delle variabili per l'entità da modellare e la qualità dei database che vengono consultati. A tale proposito, il Centro Nazionale di Tossicogenomica (NCT), presso l'Istituto di Scienze di Salute Ambientale, ha creato un database che comprende memorizza molte variabili (ad esempio la dose, il tempo, il sistema biologico) e le osservazioni (ad esempio istopatologiche, peso corporeo, ciclo cellulare) che accompagnano gli studi di valutazione di una sostanza (*in vitro* ed *in vivo*) (Tennant, 2002).

Tossicogenomica funzionale

La tossicogenomica funzionale è lo studio dell'effetto di una molecola tossica in un organismo sui geni, proteine e attività biologiche. I profili di espressione di geni e proteine vengono analizzati per acquisire informazioni sui pathway attivati dalle molecole. Questo tipo di studio è molto complesso, soprattutto quando la sequenza di eventi che si susseguono all'esposizione ad una molecola tossica è valutato in funzione della dose e del tempo. I pattern di espressione genica e proteica possono infatti essere dipendenti dalla concentrazione di molecola utilizzata, dall'organo che viene analizzato e dal tempo di esposizione.

Studi che identificano l'espressione di specifici geni e proteine in risposta a molecole tossiche potrebbero fornire informazioni per capire la sequenza di eventi che si manifestano. Specifici algoritmi possono classificare geni e proteine in base al loro profilo di espressione.

Un'altra area di studio che suscita particolare interesse è la possibilità di valutare la tossicità di alcune molecole che inducono alterazioni a livello patologico. La premessa è che le modificazioni a livello genico, proteico e metabolico provocate da una sostanza tossica si riflettono anche a livello fenotipico; perciò è possibile mettere in relazione il fenotipo osservato con le alterazioni a livello genico e ipotizzare il meccanismo biologico della molecola in esame. L'obiettivo finale di questo approccio è quello di identificare, mediante analisi di cluster, geni, proteine o metaboliti che sono coinvolti nella risposta biologica a sostanze che sono strutturalmente e farmacologicamente diverse tra loro e che provocano diverse alterazioni fenotipiche (Fig 3).

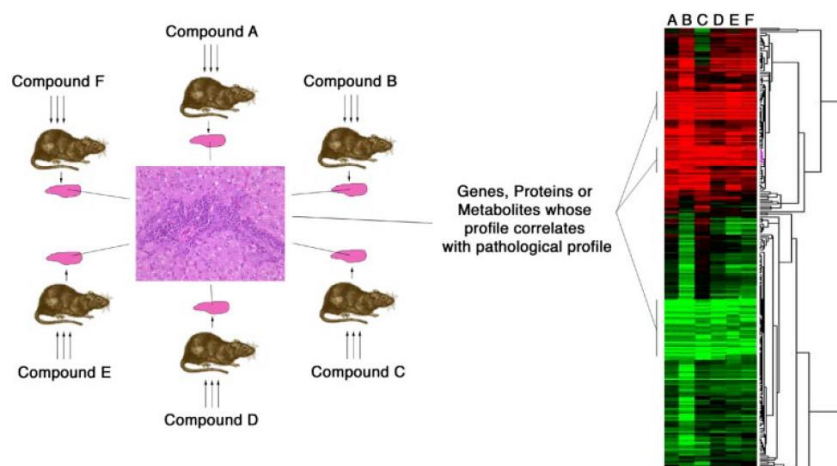


Figura 3: Schema di un'analisi istopatologia di cellule epatiche di ratto trattate con differenti composti A, B, C, D, E, F. I profili di espressione genica, proteica e metabolica correlano mediante analisi di cluster con profili patologici (Hamadeh et al. 2002).

Questi strumenti sono molto robusti e permettono perciò di formulare delle ipotesi valide e verificabili che possono guidare studi futuri per dimostrare o confutare il coinvolgimento di geni, proteine o metaboliti in processi cellulari (Hamadeh et al. 2002).

System Biology

Sin dalla sua nascita, la biologia molecolare ha affrontato i fenomeni biologici principalmente attraverso lo studio della funzione di ogni singolo gene e/o proteina. Questo approccio è definito riduzionistico ed è di tipo bottom > up, poiché propone di ricostruire la struttura ed il funzionamento di un sistema estremamente complesso, come può esserlo una cellula, attraverso lo studio dettagliato di ogni singola reazione biochimica. L'approccio riduzionistico si è dimostrato per oltre un secolo estremamente fruttuoso, portando alla scoperta di un enorme numero di principi biologici. Tuttavia, nonostante il suo evidente successo, molti aspetti critici della biologia e della biomedicina sono rimasti irrisolti, soprattutto quando ci si è trovati a dover spiegare in maniera razionale fenomeni biologici estremamente complessi e di grande rilievo in ambito medico, come la senescenza cellulare, la trasformazione tumorale, l'apoptosi, le malattie complesse. Questi limiti di conoscenza sono dovuti al fatto che all'interno della cellula, contrariamente a quanto assunto dalla visione *bottom > up*, le molecole solo raramente sono responsabili di una funzione biologica discreta, ma, al contrario, interagiscono dinamicamente tra loro, in maniera integrata, coordinata e gerarchica. Il risultato di queste complesse interazioni molecolari sono tutte quelle reazioni biochimiche che rendono possibile la vita di una cellula e di un organismo. Quindi l'approccio alla

Introduzione

biologia moderna deve essere necessariamente di tipo olistico, sistemico (Edwards and Preston 2008). Si passa da una visione bottom > up della natura ad una top > down, cioè lo studio inizia dal vertice del sistema e procede progressivamente verso la sua base, consentendo così il controllo della ricostruzione effettuata mediante l'approccio bottom > up.

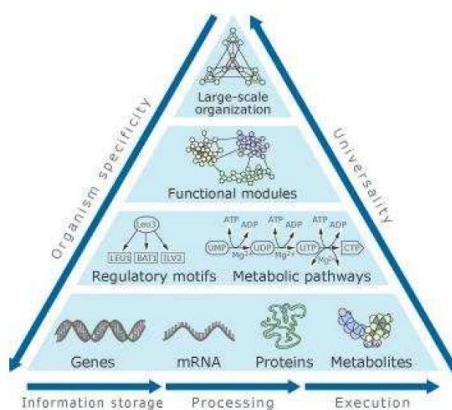


Figura 4: Struttura gerarchica dei sistemi biologici (Ideker et al., 2002)

Sotto quest'ottica nasce la *Systems Biology* (Biologia dei Sistemi). Ideker e i suoi collaboratori (2002) usarono per la prima volta questo termine per descrivere lo studio integrato di sistemi biologici a livello molecolare. Allo stesso modo è possibile usare il termine “systems biology” per descrivere le variazioni tossicogenomiche di un sistema biologico, considerando le modificazioni apportate da parte di una molecola tossica. Questa disciplina nasce per comprendere fenomeni di interazione di migliaia di prodotti genici diversi come la crescita, il differenziamento, la trasformazione a cellula tumorale e il funzionamento del cervello. Questi fenomeni complessi richiedono l'intervento di numerosi prodotti genici diversi. Quando un fenomeno deriva da un alto numero di interazioni geniche non è possibile pensare di ricavare la sua interpretazione solo da un'analisi puntuale di tutti i suoi componenti. Lo sviluppo della System Biology è stato guidato da una serie di progressi tecnologici che ci permettono di raccogliere dati completi sulle prestazioni del sistema come lo sviluppo delle tecniche di manipolazione genetica, la disponibilità di sequenze genomiche complete che ha stimolato lo sviluppo di diversi progetti di mutagenesi sistematica e la tecnologia per sopprimere i geni in trans (interruzione inducibile).

Per analizzare la biologia di un sistema è necessaria la comprensione del sistema di strutture (rete di interazioni geniche e percorsi biochimici), della dinamica del sistema (come un sistema si comporta nel tempo in condizioni diverse), dei meccanismi di controllo (meccanismi che controllano la cellula) e del metodo di progettazione (strategie di modificazione e costruzione di sistemi biologici)

(Hiroaki Kitano 2002). Graficamente si visualizzano nodi e linee di collegamento (o link); ogni nodo possiede un grado, cioè un numero di connessioni, che mediamente è 3. Si definisce “hub” un nodo il cui grado è superiore a quello che sarebbe predetto dalle connessioni casuali.

Occorre un approccio diviso in due parti per sviluppare modelli fisici e quantitativi dei processi biologici; una parte prevede un'analisi molecolare, combinata con approcci teorici (anche dati) e sperimentali (esperimenti mirati) per caratterizzare i componenti del sistema in esame e una parte prevede l'utilizzo di modelli matematici e computazionali per descrivere e prevedere il comportamento dinamico.

La System Biology con la sua combinazione di calcolo, indagine sperimentale e osservativa (Hiroaki Kitano 2002) può essere utilizzata in studi di tossicogenomica, in quanto può fornire un concreto aiuto nella rilevazione di nuovi bersagli di farmaci e sostanze tossiche, fornendo una comprensione della base genetica della malattia.

Il lievito *Saccharomyces cerevisiae* come organismo modello

Il lievito *S. cerevisiae* è stato utilizzato in numerosissimi studi come sistema per studiare la biologia di base, la fisiologia e la patologia degli eucarioti superiori, in particolare dell'uomo.

L'utilizzo di *S. cerevisiae* come sistema modello pone diversi vantaggi:

1. *S. cerevisiae* possiede una struttura molto simile a quella delle cellule di eucarioti superiori; in particolare possiede tutte le strutture intracellulari presenti anche negli eucarioti superiori, fra cui i mitocondri (Botstein, 1991).
2. E' in grado di crescere velocemente su terreni semplici, cosa che rende più veloce e più economico lo studio in questo sistema. In secondo luogo, il lievito esiste sia allo stato aploide che allo stato diploide, con l'evidente vantaggio di studiare l'effetto di mutazioni sia dominanti sia recessive. Inoltre sono stati sviluppati semplici tool di ingegneria genetica applicabili sul lievito, fra cui la trasformazione con plasmidi monocopia o multi copia ad alta efficienza, e metodi di distruzione genica.
3. Il lievito è il primo organismo eucariotico il cui genoma è stato completamente sequenziato e pubblicato (Goffeau et al., 1996). Il cosiddetto “progetto genoma” ha portato alla identificazione di circa 6300 geni in lievito, un numero circa cinque volte più piccolo rispetto alla stima dei geni umani (Venter et al., 2001). Il genoma si è dimostrato molto compatto, con poche sequenze intergeniche e la presenza di pochi introni. L'analisi comparativa delle sequenze aminoacidiche ricavate dal sequenziamento del genoma di *S. cerevisiae* ha suggerito che molte funzioni

Introduzione

biologiche di base della cellula eucariotica siano svolte da un set di proteine ortologhe; questi studi quindi indicano che l'analisi delle proteine di lievito può fornire conoscenze utili alla comprensione degli eucarioti superiori (Barrientos, 2003). In particolare, è interessante notare che il 46% delle proteine umane note ha omologhi in lievito, fra cui principalmente proteine coinvolte nei meccanismi di base della vita cellulare, quali replicazione, ricombinazione e riparazione del DNA, trascrizione, traduzione, e enzimi del metabolismo basale, del traffico tra i compartimenti cellulari e della biogenesi mitocondriale (Venter et al., 2001). La conoscenza completa del genoma, insieme all'efficacia dei sistemi di ingegneria genetica, ha permesso di portare a termine efficacemente l'analisi su larga scala del genoma e del proteoma (Foury and Kucej, 2001). Questo ha reso possibile l'ottenimento di una collezione di 5943 ceppi deletanti di lievito, in ciascuno dei quali un gene, nel contesto aploide o diploide, è stato distrutto (Winzeler et al., 1999). Un consorzio internazionale di laboratori ha infatti cooperato per eliminare ognuna delle ORF conosciute di *S. cerevisiae*, usando una tecnica di ricombinazione omologa basata su PCR, al fine di sostituirle con un marker di resistenza ad un antibiotico (geneticina) (Fig.5) (Giaever et al., 2002). Sul totale di circa 6000 ORF, circa 1100 geni sono risultati essenziali per la vitalità dei mutanti aploidi di *S. cerevisiae* (Desmoucelles et al., 2002).

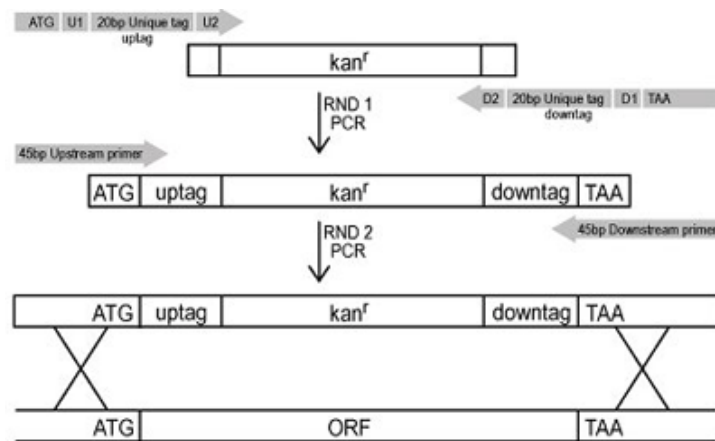


Figura 5: Strategia di realizzazione dei mutanti per delezione di *Saccharomyces cerevisiae*. Ogni gene viene deletato dal codone di start al codone di stop (non inclusi) e sostituito con la cassetta KanMX4 che conferisce resistenza alla geneticina. Il primo round di PCR incorpora due sequenze, da 20 bp ciascuna (uptag eowntag), a fianco della cassetta di delezione KanMX4. Il secondo round di PCR incorpora sequenze omologhe (yeast homology) corrispondenti all'estremità di ogni particolare gene di cui si vuole effettuare la delezione (yeast ORF), per permettere l'integrazione della cassetta mediante tecniche di ricombinazione omologa.

Introduzione

Grazie allo status eucariote della cellula di *S. cerevisiae*, lo studio dell'espressione genica in tale organismo serve come paradigma per l'espressione genica degli eucarioti superiori. Tramite analisi di espressione con microarray è stato possibile analizzare il pattern di espressione genica in differenti condizioni di crescita (DeRisi et al., 1997; Lashkari et al., 1997). Esistono diversi approcci per ottenere informazioni che riguardano il meccanismo di risposta da parte del lievito nei confronti della molecola tossica: lo studio del trascrittoma e del proteoma permette di identificare le variazioni di espressione genica; l'analisi metabolomica valuta la presenza di specifici metaboliti che vengono sintetizzati dalla cellula quando essa è esposta ad un determinato trattamento; la chemogenomica permette di identificare i bersagli molecolari che determinano la tossicità cellulare (Fig 6).

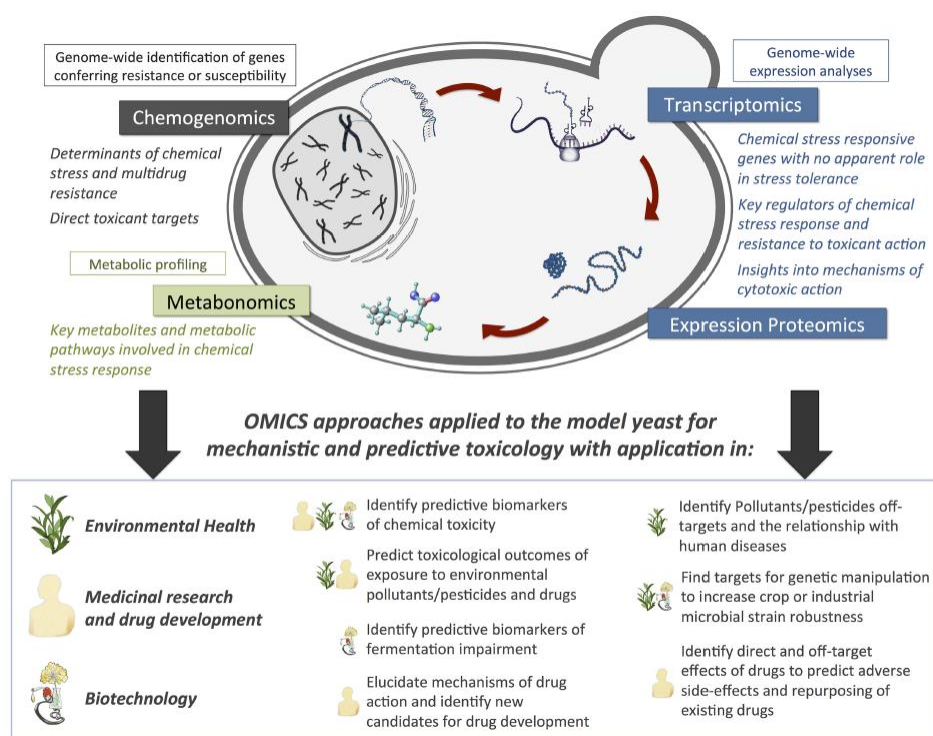


Figura 6: Contributo di diversi approcci “omici” applicati discipline in lievito *S.cerevisiae* al fine di ottenere informazioni tossicologiche (dos-Santos et al., 2012).

A seguito di un trattamento, le cellule di lievito riprogrammano l'espressione di specifici geni al fine di adattarsi alle nuove condizioni ambientali, generando un profilo trascrizionale (signature) caratteristico della molecola tossica utilizzata (Schwartz et al., 2004). Tale “signature” è condivisa tra composti tossici che hanno il medesimo meccanismo d'azione, ma può anche essere utilizzata per identificare il meccanismo d'azione di composti ancora non caratterizzati. Infatti, le variazioni a

Introduzione

livello del trascrittoma, che vengono rilevate a seguito del trattamento in tempi relativamente brevi, possono rappresentare biomarcatori più rapidi rispetto ai metodi tossicologici tradizionali (Hamadeh et al., 2002; Simmons et al., 2002). Malgrado ciò, la sola analisi d'espressione non è in grado di definire l'azione tossica delle molecole, poiché si possono identificare delle anomalie nella sintesi delle proteine. Perciò le analisi proteomiche vengono impiegate per identificare le alterazioni a livello proteico che si manifestano a seguito del trattamento con molecole tossiche. Infine, i metodi genomici e proteomici da soli non sono in grado di spiegare in modo in cui il metabolismo cellulare viene modificato in seguito ad un trattamento. La metabolomica è una disciplina che permette di studiare profili metabolici i quali possono fornire maggiori informazioni riguardo la tossicità di un determinato composto.

Un importante contributo in ambito tossicogenomico proviene dall'utilizzo di collezioni di mutanti per delezione, che hanno permesso l'inizio di studi fenotipici high throughput sull'intera cellula di lievito, dove l'attività di un putativo composto ha modo di operare all'interno di tale sistema cellulare, che ne favorisce la conformazione nativa e la sua associazione con specifici cofattori. Uno certo numero di gruppi di ricercatori ha saggiato la sensibilità di ogni singolo mutante della collezione di lievito a diversi composti, per scoprire i pathway e le funzioni cellulari influenzate dal trattamento stesso e fornire indicazioni sul meccanismo d'azione intracellulare (Bennett et al., 2001; Shoemaker et al., 1996; Fleming et al., 2002). Tali analisi sono state effettuate valutando il fenotipo di crescita dei mutanti in seguito al trattamento con diverse molecole tossiche. In tal caso è possibile inoltre valutare quali sono i mutanti che mostrano un fenotipo resistente alla molecola e da essi risalire al gene coinvolto. Per supportare i dati ottenuti da diversi screening sono disponibili molti software bioinformatici che fanno riferimento, ad esempio, alla Gene Ontology (GO). Essi permettono di identificare le funzioni geniche poiché fanno riferimento a database arricchiti, i quali creano un profilo funzionale comparabile con un profilo trascrizionale ottenuto da analisi di espressione genica. Questo viene utilizzato per identificare i pathway che sono comuni a differenti classi di molecole tossiche (Martin et al. 2004).

La cellula di lievito è divenuta utile anche nell'ambito biotecnologico e farmaceutico come strumento nella produzione di proteine eterologhe allo stato nativo, utilizzando tutte le modificazioni post-traduzionali permesse da questo organismo.

Tossicogenomica funzionale mediante la collezione di mutanti di lievito

Analisi Genome-wide in risposta ad inquinanti ambientali

I processi biologici che vengono alterati dalla presenza di inquinanti ambientali (ad es. ioni metallici o solventi organici come il benzene o i composti derivati dai fenoli) sono ancora poco conosciuti. Per aumentare il livello di informazioni in questo ambito sono stati applicati approcci di chemogenomica e trascrittomica genome-wide in lievito esposto a diversi tipi di ioni metallici come il nichel, cadmio, rame, cromo, arsenico, cobalto, manganese e zinco. Questi studi hanno permesso di identificare geni appartenenti a categorie funzionali importanti in quanto rappresentano geni-chiave del meccanismo di risposta cellulare. Le categorie funzionali che sono state identificate sono: metabolismo di amminoacidi e ferro, risposta a stress ossidativo, funzioni vacuolari, modificazioni proteiche, trasporto e degradazione, inattivazione enzimatica, trasporto di cationi, metabolismo del DNA e degradazione dell'mRNA (Momose and Iwahashi 2001; Jin et al., 2008; Ruotolo et al., 2008; Serero et al., 2008; Yasokawa et al., 2008; Takumi et al., 2010; Bleacley et al., 2011). Le analisi genomiche in lievito hanno permesso di selezionare un numero ristretto di geni coinvolti nel meccanismo di risposta e resistenza allo stress indotta dalla presenza di pesticidi di interesse agronomico (Cabrito et al. 2009, 2011). I pesticidi analizzati comprendono l'erbicida metil-sulfometurone (Jia et al. 2000), i fungicidi ditiocarbamato come mancozeb (Santos et al.2009; Dias et al.2010), tiuram, zineb e maneb (Kitagawa et al 2003), il fungicida benzimidazolico benomyl (Lucau-Denila et al. 2005), il pesticida lindane (Parveen et al.2003), l'erbicida 2,4-D (Teixeria et al.2005, 2006a, 2007) e gli erbicidi paraquat e cyperquat (1-metil-4-fenilpiridinium-MPP+) (Doostzadeh et al.2007). Approcci di tossicogenomica si sono rivelati molto utili per definire e predire i meccanismi tossicologici che si attivano nella cellula a seguito della sua esposizione ad un pesticida.

Analisi Genome-wide nello sviluppo di farmaci

L'utilizzo del lievito come modello eucariotico è particolarmente importante nel campo della medicina e nello specifico nella scoperta di nuovi farmaci. Approssimativamente il 17% di tutti i geni di lievito sono membri di famiglie geniche ortologhe associate a patologie umane, e per la maggior parte di tali geni il corrispondente gene omologo nell'uomo è funzionale in lievito (Foury et al., 1997; Heinicke et al., 2007). La medicina moderna si pone tra i suoi obiettivi anche quello di

Introduzione

sviluppare terapie più efficaci e più sicure per il trattamento di malattie umane; la tossicogenomica rappresenta un nuovo paradigma per lo sviluppo di nuovi farmaci e la valutazione del rischio di quest'ultimi, puntando l'attenzione verso la creazione di biomarcatori (Guerriero et al., 2003; Gomase and Tagore 2008).

Il principale vantaggio dell'utilizzo di cellule di lievito nella scoperta di nuovi farmaci, è la possibilità di identificare il meccanismo d'azione della molecola quando questo è ancora poco noto. Inoltre, il lievito è l'unico sistema *in vivo* in cui è possibile valutare tutti i target cellulari contemporaneamente (Smith et al., 2010). Questo approccio è importante non solo per identificare nuovi farmaci, ma anche per trovare nuovi impieghi a farmaci con meccanismo d'azione già caratterizzato. Il contributo della tossicogenomica in lievito permette di indirizzare la ricerca verso un approccio di farmacogenomica che identifica sia possibili farmaci sia gli effetti secondari nelle cellule (Swen et al., 2007; Wang and Weinshilboum, 2008, Ruderfer et al., 2009). Negli ultimi anni, le metodologie di screening basate sulla crescita di lievito vengono impiegate per identificare nuovi target molecolari e il meccanismo d'azione di differenti composti, tra cui farmaci antitumorali, antimalarici, antimicrobici e altri composti bioattivi (Fig 7). Queste tecniche vengono ulteriormente applicate per studiare geni coinvolti in patologie umane (Steinmetz et al., 2002; Outeiro and Lindquist 2003; Willingham et al., 2003; Gammie et al., 2007; Yuen et al., 2007).

La collezione di mutanti di lievito è stata ulteriormente utilizzata per identificare nuovi bersagli molecolari di 78 composti con diverse strutture chimiche e di rilevanza terapeutica (Lum et al. 2004). Da questo studio è emerso che il farmaco antifungineo molsidomina, ha come bersaglio cellulare l'enzima lanosterolo sintasi coinvolto nel pathway della biosintesi degli steroli. Dal medesimo studio è stato identificato il meccanismo di processamento dell'esosoma dell'rRNA come possibile target del 5fluorouracile. Uno studio simile ha permesso di analizzare 10 differenti molecole (farmaci antifunginei e agenti antineoplastici) e identificare una struttura chimica che è presente in tre composti in grado di inibire la crescita del mutante ERG24, suggerendo che la cellula ha la capacità di identificare molecole che hanno una conformazione chimica simile.

Analisi Genome-wide per determinare la resistenza a farmaci antitumorali

Gli agenti antitumorali sono stati oggetto di numerosi studi in lievito. Per esempio, sono stati effettuati almeno tre screening in lievito per determinare la suscettibilità al cisplatino (Wu et al., 2004, Huang et al., 2005, Liao et al., 2007). E' stato dimostrato come la pompa protonica H+

Introduzione

ATPasi vacuolare e la sua azione citoplasmatica nel mantenimento del pH sono importanti bersagli per questo tipo di farmaci in quanto determinano la sensibilità in specifici mutanti (Liao et al., 2007); inoltre, un importante risultato si ottiene quando la citotossicità determinata dal cisplatino è incrementata dal trattamento con inibitori della V-ATPasi in linee cellulari umane (Murakami et al., 2001). Una conferma che i risultati ottenuti dallo screening in lievito si possono estendere alle cellule umane è arrivata quando è stato identificato il gene SKY1 come responsabile della sensibilità al cisplatino poiché la sua assenza determina resistenza in cellule di lievito; in linee cellulari di carcinoma ovario umano, l'inattivazione del gene ortologo SRPK1, determina resistenza nelle cellule. Il farmaco antitumorale, Imatinib mesilato (Glivec, Novartis) è stato a lungo studiato in lievito. L'imatinib è un inibitore selettivo dell'enzima tirosina-chinasi, esso viene utilizzato nel trattamento di leucemie mieloidi croniche, ma lo svantaggio principale di questo farmaco è comparsa di fenomeni di resistenza (Quintas-Cardama et al., 2009, Volpe et al., 2009). Da uno screening della collezione di mutanti di lievito è emerso che esistono 51 geni che determinano resistenza all'imitinib, essi mostrano un'elevata omologia con gli i geni umani (dos Santos and Sa-Correia 2009). Questo farmaco, imitinib, è un potente inibitore della V-ATPasi in lievito, sia *in vitro* sia *in vivo*, suggerendo che la funzione vacuolare è un nuovo bersaglio del farmaco. Infatti, l'attività della V-ATPasi è quella di limitare gli effetti dannosi che determinate sostanze tossiche possono provocare alle cellule di lievito, come farmaci genotossici e cisplatino, mancozeb, tossine (Parson et al., 2004, Hellauer et al., 2005, Liao et al., 2007, Mira et al., 2009, Dias et al., 2010).

Analisi di aploinsufficienza indotta da farmaci

La collezione dei mutanti di lievito viene ampiamente utilizzata per identificare i bersagli genici di piccole molecole in lievito. La condizione di aploinsufficienza indotta da farmaci fa riferimento al concetto di aploinsufficienza, in cui ceppi diploidi eterozigoti deleti in un gene che codifica per un potenziale target del farmaco mostrano un fenotipo più sensibile rispetto al ceppo selvatico wt. Sono stati messi a punto due approcci per studiare il fenomeno di aploinsufficienza indotta da farmaci. Nel primo, un set di ceppi eterozigoti diploidi vengono raggruppati e incubati in presenza o assenza della molecola tossica utilizzando concentrazioni sub-letali. In seguito viene estratto il DNA genomico proveniente dai ceppi cresciuti nelle due diverse condizioni; mediante PCR il DNA viene marcato ed amplificato sfruttando coppie di primer universali. Gli amplificati ottenuti vengono ibridati su un array a DNA in cui sono stampate delle sonde omologhe ad ogni "codice a barre" specifico di ogni mutante (Fig.7). I ceppi che sono sensibili al trattamento vengono

Introduzione

identificati poiché mostrano un segnale di ibridazione più basso in condizioni di trattamento rispetto alla condizione controllo (Giavier et al., 1999).

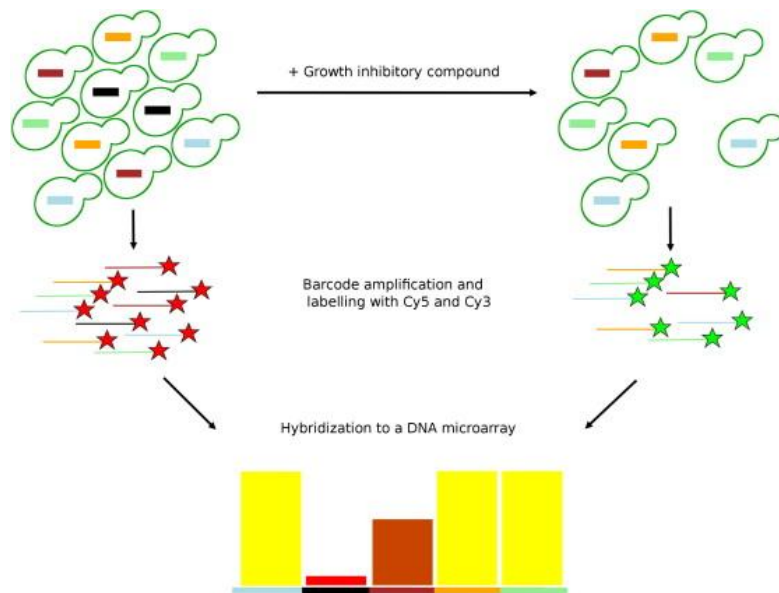


Figura 7: Analisi parallela di un pool di mutanti. Il pool di mutanti, ognuno contenente uno specifico “bar-code”, crescono in presenza o assenza di un inibitore di crescita. Di seguito, viene estratto il DNA genomico dal pool di mutanti e mediante PCR viene amplificata la regione contenente la sequenza “bar-code”. Ogni amplicone viene marcato con un fluoroforo in riferimento alla condizione di crescita Cy5 e Cy3 (Mattiuzzi et al.2012).

Il secondo approccio utilizzato prevede la crescita dei mutanti per delezione in terreno solido sia in presenza del composto da studiare e sia in sua assenza. Il tasso di crescita di ciascun mutante viene valutato in base alle dimensioni delle colonie (Baetz et al., 2004). Quando viene analizzato un composto estremamente costoso o raro, il principale svantaggio di questo metodo è la necessità di elevati quantitativi della molecola da utilizzare per analizzare il fenotipo della collezione di mutanti. I principali svantaggi, invece, del metodo di crescita competitiva risiedono nel costo degli array a DNA e la possibilità di commettere errori nella rilevazione dei “bar-code” dei ceppi.

Il vantaggio principale nell’uso del sistema di crescita su piastra è la valutazione più accurata del fenotipo di crescita di tutti i mutanti a crescita lenta che mostrano un debole segnale di ibridazione.

Il saggio di aploinsufficienza è basato sugli effetti che piccole molecole provocano a livello dei propri target, perciò i target di composti che esercitano i propri effetti mediante elementi non proteici non possono essere identificati. Inoltre, la presenza di geni ridondanti da un punto di vista funzionale, può mascherare la fitness del ceppo. Un’altra limitazione di questo approccio è che non

tutti i geni target possono determinare ipersensibilità ad una molecola quando il dosaggio è più basso del 50% (Mattiuzzi et al., 2012).

Linee cellulari: strumento *in vitro* per studi di tossicogenomica

Le nuove metodologie molecolari sono state impiegate per sviluppare sistemi cellulari *in vitro* in grado di identificare determinati meccanismi di tossicità importanti per definire la scoperta di biomarcatori da poter applicare in studi *in vivo*. Gli approcci trascrittomici, proteomici ed epigenetici riescono a fornire dei profili molecolari associati a molecole non caratterizzate: il confronto di quest'ultimi con quelli di molecole a tossicità nota permette di ipotizzare un meccanismo di tossicità della sostanza sconosciuta (caratterizzazione del rischio).

La correlazione tra i dati tossicogenomici e i dati fenotipici ottenuti ad esempio da approcci tossicologici classici o di analisi phenotypic anchor possono fornire uno strumento in grado di predire l'effetto di una sostanza tossica e valutarne il rischio ad essa associato. Ad oggi sono riportati ancora pochi studi di tossicogenomica umana che comprendono anche i dati ottenuti da analisi fenotipiche. Per incrementare le informazioni disponibili, sono stati sviluppati due database, Comparative Toxicogenomics Database (CTD) (Mattingly et al. 2006) e Chemical Effects in Biological Systems (CEBS) (Waters et al. 2008), in grado di raccogliere tutti i dati ottenuti da analisi trascrittomiche, proteomiche ed epigenetiche per classificare da un punto di vista tossicologico nuovi composti.

Di seguito vengono riportate le principali linee cellulari utilizzate per studi tossicologici.

Le colture primarie di epatociti umani sono uno strumento estremamente valido per analisi tossicologiche in quanto sono cellule in grado di compiere tutte le normali funzioni metaboliche. Esse, infatti, conservano la capacità di esprimere gli enzimi di fase I e II per diversi giorni quando si trovano in coltura e perciò sono in grado di creare un profilo metabolico di una determinata sostanza tossica che si avvicina molto alla condizione *in vivo* (Donato et al. 2008). Per tali ragioni questa linea cellulare viene utilizzata prevalentemente per studiare il metabolismo di xenobiotici e la tossicità di alcune molecole. Il principale svantaggio nell'uso di colture primarie di epatociti è rappresentato dalla loro elevata instabilità in coltura.

Per far fronte a questo problema, negli anni la ricerca si è concentrata a sviluppare diverse linee cellulari immortalizzate in grado di mantenere stabili le loro condizioni all'interno di una coltura ed essere perciò utilizzate per analisi tossicologiche *in vitro*. Linee cellulari derivate da epatocarcinoma umano sono state utilizzate come modello *in vitro* per lo studio delle funzioni

Introduzione

epatocellulari, nonché per studi di tossicità. La linea HepG2 è la quella più utilizzata per queste analisi: esse conservano molte funzioni fegato-specifiche, perciò vengono considerati ottimi sistemi *in vitro* per valutare il rischio di molecole tossiche e tossine. Tali cellule, però, mancano di una espressione di quasi tutti gli enzimi umani del citocromo P450 quindi non rappresentano un'alternativa alle colture primarie (Guo et al. 2010).

Un'altra linea cellulare utilizzata in studi di tossicità è BC2 che deriva da epatocarcinoma umano. Tali cellule hanno la capacità di crescere e subire una differenziazione spontanea *in vitro* dopo aver raggiunto la confluenza (Donato et al. 2008). In seguito, le cellule restano differenziate per alcune settimane, anche se in queste condizioni hanno un'attività degli enzimi del citocromo P450 più basse rispetto agli epatociti umani.

Una nuova linea cellulare umana, HepaRG, derivata da carcinoma epatocarcinoma umano, manifesta tutte le caratteristiche degli epatociti differenziati. Quando in coltura le cellule hanno una bassa densità, acquisiscono una morfologia indifferenziata allungata, sono attive per la divisione cellulare, e dopo aver raggiunto la confluenza, formano delle colonie di cellule simili agli epatociti umani. Le cellule HepaRG, non esprimono le proteine P450, ma hanno la capacità di produrre i recettori nucleari CAR e il recettore X (PXR) a livelli comparabili con quelli ritrovati all'interno di colture primarie di epatociti. Esse però esprimono marcatori specifici di epatociti adulti, inclusi gli enzimi di fase II e i trasportatori di molecole, e sono in grado di attivare delle risposte biologiche nei confronti degli induttori degli enzimi P450 (Donato et al., 2008).

5-Fluorouracile

Il 5-fluorouracile (5FU), analogo pirimidinico, è un importante agente antineoplastico utilizzato per il trattamento di svariati tumori solidi come il carcinoma al colonretto, al seno e al fegato (Tobias et al., 1992). Il suo meccanismo d'azione è ancora oggi oggetto di molti studi. Identificare il suo meccanismo d'azione è un importante traguardo che gli scienziati si pongono in quanto è fondamentale sviluppare nuovi farmaci antitumorali con effetti secondari e reazioni avverse minori rispetto a tutti i farmaci ad oggi in uso.

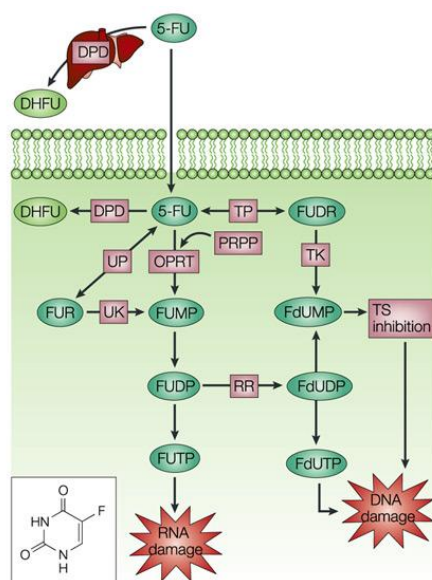
L'azione citotossica del 5FU è principalmente l'inibizione della timidilato sintasi (Santi et al., 1974) che è l'enzima chiave in grado di promuovere la sintesi *de novo* dell'acido timidilico che determina la formazione di dTTP, un substrato della DNA polimerasi. Una porzione significativa di 5FU all'interno della cellula è convertita in FdUMP (5-fluoro-2-deossiuridina 5-trifosfato) mediante un'azione sequenziale di pirimidina fosforibosil-transferasi, nucleoside monofosfato chinasi e

Introduzione

ribonucleotide reductasi. FdUMP forma un complesso ternario con l'enzima timidilato sintetasi ed il suo cofattore 5,10-metilene-tetraidrofolato. Il complesso che si forma non viene suddiviso perciò l'enzima risulta essere sequestrato, dunque inattivo. La sintesi *de novo* di dTTP è bloccata con la conseguente inibizione della sintesi del DNA.

FdUMP è convertito in FdUTP (5-fluoro-2-deossiridina 5-monofosfato) dall'enzima nucleoside monofosfato chinasi. In alcuni studi è stato dimostrato che il FdUTP viene utilizzato come substrato dalla DNA polimerasi di mammifero, provocando l'inserimento scorretto di FdUMP nel DNA (Weckbecker et al., 1991).

La presenza di 5FU all'interno del DNA provoca molti effetti dannosi alle cellule come inibizione della sintesi del DNA (Schuetz et al., 1986), la rottura di filamenti singoli e doppi del DNA (Lonn et al. 1989) e mutazioni causate dall'appaiamento del 5FU con la guanina (Herrington et al., 1973). Diversi studi più recentemente hanno dimostrato che il 5FU non provoca solo danni a livello della biogenesi del DNA, ma il suo meccanismo d'azione comprende anche la sintesi dell'RNA, come mostrato in Fig.8. Infatti quando il 5FU viene convertito in 5FUTP (5-fluorouridina trifosfato) esso è un analogo ribonucleotide che viene inserito all'interno degli RNA determinando un effetto diretto sulla biogenesi dell'RNA (Zhao et al., 2006).



Nature Reviews | Cancer

Figura 8 Meccanismo d'azione del 5FU sulla biogenesi del DNA e dell'RNA (Longley et al., 2003).

Esperimenti recenti dimostrano che quando le cellule in coltura sono trattate con il 5FU, esso viene subito incorporato nell'rRNA precursore dell'rRNA 18S, 5.8S, e 28S, provocando un serio danno a

Introduzione

livello del processamento del pre-rRNA (Zhao et al., 2006). In Fig.9 vengono riportati i vari siti implicati nel meccanismo di tossicità del 5FU.

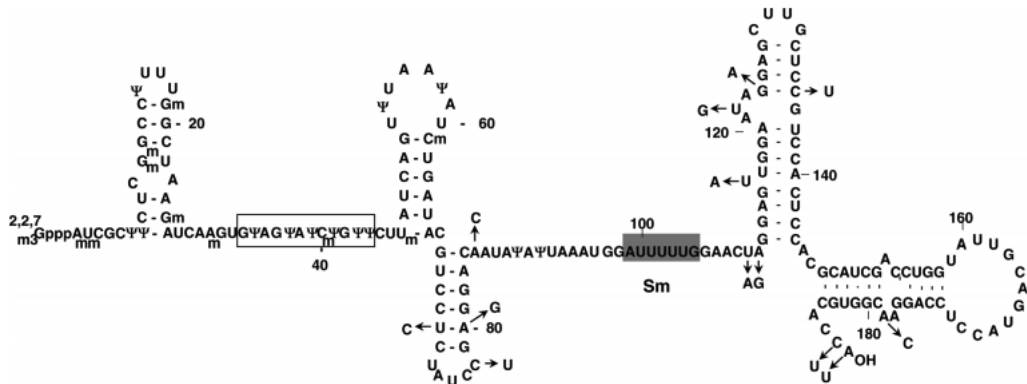


Figura 9: Struttura primaria e secondaria di U2 snRNP di *Xenopus* e uomo. In figura vengono indicati i siti di pseudouridinilazione e 2'-O-metilazione (m). In grigio sono evidenziati i siti Sm di legame, nel box sono indicati i siti di riconoscimento (Zhao et al., 2006).

Nistatina

La nistatina è un antibiotico polienico che deriva dalla fermentazione di microorganismi appartenenti al genere *Streptomyces*. Essa è un farmaco largamente utilizzato per il trattamento di infezioni pre-sistemiche e sistemiche provocate da funghi (Meyer et al., 1992). Il principale svantaggio che ne deriva dal suo utilizzo è rappresentato dalla sua elevata tossicità; infatti gli antibiotici polienici provocano tossicità a livello renale poiché i farmaci sono in grado di legarsi al colesterolo presente nelle membrane dei mammiferi, provocando la formazione di pori, l'alterazione della permeabilità delle membrane e di conseguenza la morte cellulare. In generale, questa classe di antibiotici ha un'affinità maggiore per gli steroli presenti nelle membrane dei funghi, gli ergosteroli, risultando meno tossici per le cellule animali.

Gli effetti della nistatina, sono stati a lungo studiati in cellule di lievito *S.cerevisiae* mediante l'isolamento e l'identificazione di mutanti nistatina-resistenti (Shah et al. 1999). I mutanti, ERG2, ERG3, ERG5 e ERG6, possiedono un basso contenuto di ergosterolo nelle membrane per tale motivo risultano resistenti al trattamento con la nistatina (Molzahn et al. 1972; Bard et al. 1977; Park 1978). Poca attenzione era stata rivolta verso i mutanti nistatina-sensibili, perciò Shah e i suoi collaboratori decisero di isolare mutanti sensibili al fine di ottenere maggiori informazioni riguardo il meccanismo d'azione della nistatina. Infatti, il mutante *nss1*, nistatina-sensibile, non è in grado di preservare le proteine vacuolari e la morfologia del vacuolo. Infatti questo mutante ha delle mutazioni a livello del gene VPS16, importante per il mantenimento delle proteine vacuolari in

Introduzione

S.cerevisiae. Tutti gli altri mutanti privi delle attività vacuolari (*vps11*, *vps16*, *vps18* e *vps33*) sono nistatina sensibili. In virtù di queste evidenze si è cercato di studiare il meccanismo d'azione della nistatina nelle cellule di lievito. In altri studi, era stato possibile identificare che un altro antibiotico polienico, anfotericina B, veniva assorbito da linee cellulari umane a 37°C mediante endocitosi. Perciò si pensò che lo stesso meccanismo si poteva verificare in cellule di lievito (Shah et al., 1999). I mutanti che mostrano un vacuolo alterato non accumulano la molecola tossica nel vacuolo, ma tendono a sequestrarlo all'interno del citoplasma dove può provocare danni intracellulari. Perciò tali mutanti mostrano un fenotipo sensibile al trattamento con la nistatina.

Di conseguenza è stato proposto un modello per spiegare gli effetti della nistatina nelle cellule di lievito. Il vacuolo è un importante sito di stoccaggio di ioni della cellula di lievito, il quale regola la concentrazione di ioni intracellulari (Klionsky et al. 1994). Quando perciò le cellule vengono trattate con la nistatina perdono ioni K⁺ all'interno del terreno di crescita, con la conseguente diminuzione dell'osmolarità citoplasmatica. Si determina uno squilibrio osmotico tra il citoplasma e il vacuolo. Per sopperire a questo sbilanciamento, il vacuolo assorbe acqua aumentando di conseguenza le proprie dimensioni (Shah et al. 1999).

Il meccanismo d'azione della nistatina è stato largamente studiato anche in linee cellulari umane poiché il farmaco presenta una modesta tossicità anche per le cellule di mammifero. La capacità della nistatina di fungere da immunostimolatore è stata studiata a lungo; infatti essa si è visto che è in grado di indurre mitosi non specifica e produzione di anticorpi policlonali da parte delle cellule B (Ishikawa et al., 1977), riesce a promuovere la sintesi di prostaglandine in monociti (Wiegand et al., 1988) e induce attività tumoricida ai macrofagi (Klein et al., 1980).

Successivamente è stato possibile associare un ruolo importante alla nistatina durante il processo di maturazione delle cellule dendritiche *in vitro* (Ogawa et al., 2005). Le cellule dendritiche (DC) e le cellule di Langerhans (LC) vengono identificate come cellule "immature" presentanti l'antigene specializzate in due importanti compiti. In primo luogo esse hanno la capacità di acquisire costantemente il materiale presente nel mezzo (antigeni compresi) mediante endocitosi, macropinocitosi e fagocitosi; in secondo luogo funzionano da biosensori in grado di identificare la presenza di prodotti microbici e mediatori infiammatori all'interno del tessuto epiteliale (Romani et al., 2003; Larrengina and Falo 2005). Le cellule DC immature si differenziano in cellule mature presentanti l'antigene in grado di attivare la risposta infiammatoria da parte delle cellule T mediante un processo di maturazione. La nistatina ha un'azione importante anche a livello del colesterolo presente nelle membrane dei mammiferi, di conseguenza essa inibisce il legame tra le cellule a

Introduzione

livello della superficie cellulare (Pucadyil et al., 2004) e quando è presente ad elevate concentrazioni blocca l'interazione tra DC-cellule T durante la presentazione dell'antigene poiché la formazione della zattera lipidica è inibita (Anderson et al., 2000; Meyerzum Bueschenfelde et al., 2004).

Koide e i suoi collaboratori, in modo inaspettato, sono riusciti ad identificare che la nistatina induce la formazione di ossido nitrico (NO) in macrofagi RAW 264.7 a concentrazioni non citotossiche senza alterare la struttura della zattera lipidica (Koide et al., 2009). Questa scoperta ha suscitato notevole interesse poiché NO ha un'azione citotossica nei confronti di microorganismi patogeni, perciò oltre ad avere un'azione fungicida, la nistatina mostra attività battericida al tempo stesso. Si pensa che la produzione di NO da parte della nistatina avvenga per attivazione della via Akt/NF-kB. La produzione di NO è accompagnata dall'attivazione della pompa Na-K che a sua volta determina l'attivazione di NF-kB. Malgrado ciò, il preciso ruolo dell'attivazione della pompa Na-K durante la formazione di NO da parte della nistatina resta ad oggi ancora poco chiaro (Koide et al.2009).

Scopo del lavoro

La tossicogenomica è una disciplina che si avvale dell'analisi dell'espressione genica come strumento predittivo per individuare i meccanismi biologici che sono alla base della risposta di un organismo al trattamento con molecole potenzialmente tossiche (es. farmaci).

Saccharomyces cerevisiae è considerato un sistema modello eucariotico per studi di tossicogenomica. Uno dei vantaggi principali dell'utilizzo di tale sistema è la presenza di collezioni di mutanti eterozigoti/omozigoti aploidi e diploidi. L'unione tra gli strumenti di analisi tossicologiche classiche e approcci bioinformatici permette di avere maggiori informazioni sui meccanismi molecolari e cellulari di svariate molecole tossiche.

In questo lavoro, per comprendere le basi molecolari del meccanismo d'azione di 5-fluorouracile e nistatina sono state sviluppate diverse fasi:

- Messa a punto di un metodo di screening high throughput in vivo basato sulla collezione di mutanti di lievito *S.cerevisiae* al fine di identificare un gruppo di mutanti, il cui fenotipo era influenzato dalla presenza delle molecole tossiche. Dato che ad ogni mutante è associato il corrispondente gene deletato, è stato possibile perciò identificare specifici geni;
- Utilizzo di un sistema di analisi in silico e di system biology per comprendere i principali meccanismi molecolari coinvolti nella risposta al 5FU e alla nistatina. Utilizzo di strumenti bioinformatici per identificare i geni ed i pathway metabolici più significativamente correlati all'effetto delle molecole utilizzate;
- Analisi in vitro effettuata su linee cellulari umane HepG2 cresciute in presenza o assenza sia di 5FU sia di nistatina. Lo studio prevede l'analisi di espressione genica di un gruppo di geni significativamente correlati al fenotipo di crescita alterato identificati a seguito dello screening dei ceppi mutanti.

Il fine ultimo di questa ricerca è stato lo sviluppo di uno strumento tossicogenomico in grado di integrare le informazioni ottenute da analisi in vivo, in vitro e di system biology per predire la tossicità di molecole tossiche come il 5FU (antitumorale) e la nistatina (antifungino).

MATERIALI E METODI

Lievito

Screening della risposta fenotipica della collezione di mutanti per delezione di *Saccharomyces cerevisiae* in presenza molecole tossiche.

Ceppi e terreni di crescita utilizzati

I ceppi di lievito *Saccharomyces cerevisiae* utilizzati sono : collezione di mutanti MAT α e ceppo wt BY4742 (Open Biosystem/Research Genetics; Hunstville, AL, USA).

Il ceppo aploide utilizzato ha il seguente genotipo: BY4742 MAT α his3 Δ 1 leu2 Δ 0 lys2 Δ 0 ura3 Δ 0.

La collezione di lieviti “knock out” è stata creata usando una strategia basata sulla PCR. Grazie all’uso di due reazioni di PCR sequenziali, la prima che incorpora un appropriato tag di sequenza e che conferisce un gene di resistenza ad un antibiotico, la seconda che incorpora siti di ricombinazione mitotica, ogni ORF (open reading frame) viene rimpiazzata con una cassetta KanMX usando la ricombinazione omologa (Fig.5). Questo metodo consente di avere più del 95% di ORF “knocked-out”.

Terreni di crescita utilizzati

Per la crescita del ceppo wt sono stati utilizzati i terreni massimi YPD liquido (1% Estratto di lievito , 2% Peptone, 2% Glucosio), YPD agar (1% Yeast Extract, 2% Peptone, 2% Glucosio; 1,5% agar) e YPG (1% Estratto di lievito; 2% Peptone; 3% Glicerolo 2% Agar). Per la crescita dei mutanti di lievito è stato utilizzato il terreno massimo YPD liquido e YPD agar con l’aggiunta dell’antibiotico G418 (gentamicina) e di determinate concentrazioni di 5fluorouracile e nistatina necessarie per gli screening.

I terreni per lo screening della collezione contenevano 5fluorouracile 750 μ M o nistatina 4 μ M.

Determinazione della MIC₉₉ e LD₅₀

Le concentrazioni sub-letale e letale di 5fluorouracile e nistatina sono definite come le concentrazioni che non permettono la crescita del 50% (sub-letale) e del 99% (letale) del ceppo wt a 30°C per 24 ore. Le concentrazioni sub-letale e letale per il 5fluorouracile sono state valutate rispettivamente 50 μ M e 750 μ M; mentre per la nistatina sono 0,5 μ M e 4 μ M (Hamilton et al.1977).

Screening della collezione in presenza di 5fluorouracile e nistatina

Per lo screening della collezione sono stati usati 4790 ceppi mutanti, in quanto non sono stati utilizzati i mutanti che mostrano un deficit di crescita anche in condizioni normali (slow growth). La lista completa dei mutanti con l'indicazione della loro posizione nella piastra è mostrata in Tab.1S.

La collezione di mutanti è organizzata in piastre a 96 pozzetti e per le attività di screening si è scelto di piastrare nel formato 384, quindi ogni 4 piastre di mutanti si ottiene una piastra che contiene 384 spot. Questo è possibile grazie al sistema del Nunc Replicator System, che comprende la piastra OmnyTray Copier e il 96 Pin Replicator (VP 384F; V&P Scientific Inc., San Diego, CA, USA) come è mostrato in Fig.10.

L'intero set di ceppi mutanti viene replicato in piastre mediante il PIN su terreno massimo solido (YPD agar) contenente l'antibiotico G418 (150µg/ml) e la molecola da saggiare, e fatto crescere a 30°C per 48 ore in termostato. Vengono effettuate 5 repliche indipendenti dell'intero set di mutanti, in presenza di ogni molecola tossica all'interno del terreno.

Il fenotipo di ogni mutante, cresciuto in presenza di una singola molecola per volta, viene rilevato dopo 48 ore di crescita a 30°C e confrontato con il fenotipo dello stesso mutante cresciuto in condizione di controllo (terreno senza molecola tossica).

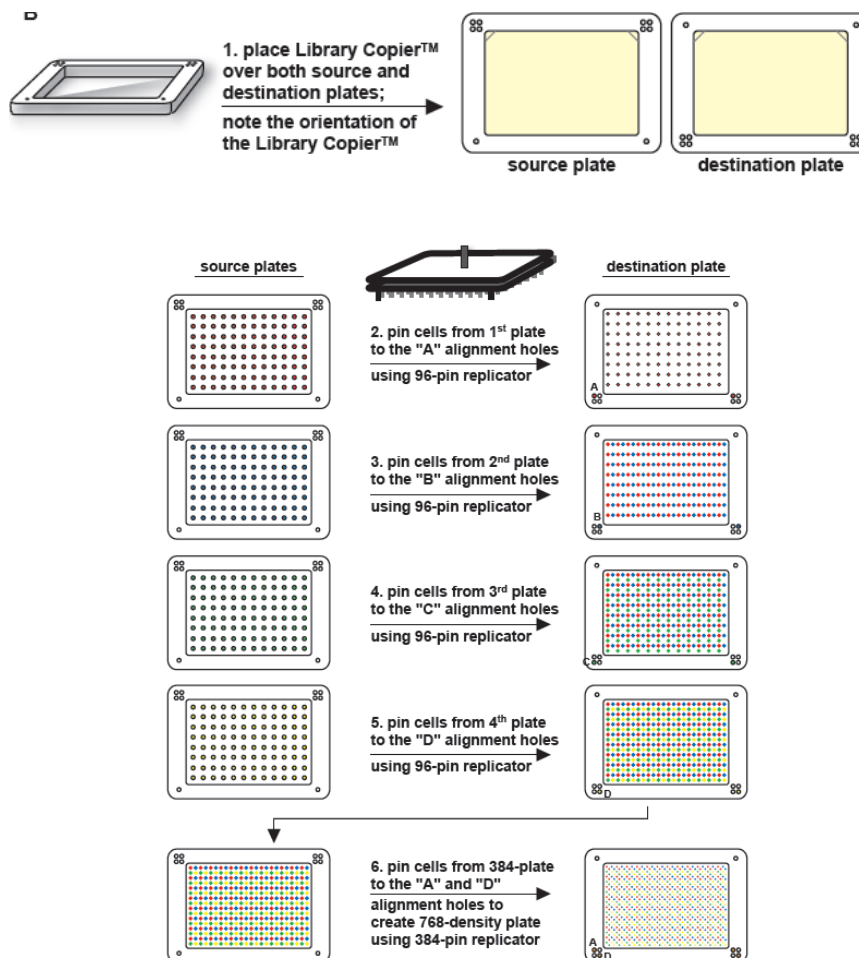


Figura 10: Schema di lavoro per ottenere le piastre da 384 pozzetti.

Determinazione del fenotipo

La crescita dei mutanti è stata valutata attraverso l'uso del programma Quantity One v.4.2.0 (Biorad) associato allo strumento di acquisizione delle immagini GelDoc (Biorad), che permette di quantificare l'intensità di crescita di ogni singolo mutante, trasformandola in un numero. Tali valori sono stati espressi come intensità della singola colonia rispetto al segnale di background. Sono state eseguite repliche della stessa piastra di mutanti ed è stata calcolata l'intensità media di crescita di ogni mutante. Questo valore di intensità è stata quindi rapportata al valore medio del ceppo wt presente in tutte le piastre di mutanti come controllo positivo.

I valori di intensità hanno permesso di catalogare i singoli mutanti in tre categorie:

- Mutanti con comportamento comparabile a quello del wt: in questa categoria rientrano tutti i mutanti con valori di intensità normalizzata che varia tra 0,5 e +1,5;

- Mutanti sensibili: in questa categoria rientrano tutti i mutanti con valori di intensità normalizzata al di sotto di 0,5;
- Mutanti resistenti: in questa categorie rientrano tutti i mutanti con valori di intensità normalizzata al di sopra di +1,5.

Successivamente ad ogni mutante sia sensibile, sia resistente è stato associato il corrispettivo gene deletato.

Test di validazione del fenotipo in presenza di 5fluorouracile e nistatina (spot assay)

Il fenotipo di ogni mutante che è risultato essere sensibile o resistente viene confermato mediante delle diluizioni seriali delle relative cellule.

Viene preparata una precoltura inoculando le cellule (provenienti dalle originali piastre cresciute su terreno massimo) e si fa crescere O/N a 30°C in agitazione. La precoltura viene diluita in modo seriale (diluizioni di 10 volte) partendo da OD₆₀₀ di 1. Un volume di 4 µl per ogni diluizione viene piastrato su terreno massimo con e senza l'aggiunta della appropriata concentrazione di molecole tossiche (750µM 5fluorouracile; 4µM nistatina). La crescita viene seguita per 48 h a 30°C e il fenotipo viene confermato come resistente o sensibile.

Software utilizzati per le analisi bioinformatiche

I processi biologici associati con la tossicità delle molecole tossiche vengono identificati e valutati mediante il loro significato statistico (*p-value*), con il programma DAVID v. 6.7 (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) disponibile online. Viene confrontata la rappresentazione di ogni termine di gene ontology all'interno del set di geni coinvolti nella risposta ad entrambe le molecole tossiche con la loro rappresentazione nel genoma di *S.cerevisiae* (Enrichment ratios).

Le interazioni tra i geni più rappresentativi ottenuti mediante DAVID v6.7, vengono identificate usando il *Network Visualization System Osprey* (<http://biodata.mshri.on.ca/osprey>) e visualizzati come specificato dal database BIOGRID (<http://www.thebiogrid.org/>).

I subnetwork vengono definiti come un minimo di tre prodotti genici interagenti, che mostrano almeno un'annotazione GO Biological Process, connessi da almeno due interazioni fisiche (*two-hybrid*, *affinity capture-western*, *affinity capture-MS*, *reconstituted complex*) o genetiche (*synthetic lethality*, *synthetic growth defect*, *synthetic rescue*, *dosage rescue*, *phenotypic suppression*, *phenotypic enhancement*).

L'identificazione di geni omologhi in *Homo sapiens*, al fine di identificare i geni candidati per l'array e l'analisi in Real-Time PCR, è stata effettuata mediante il software disponibile on-line "Panther Classification System" (<http://www.pantherdb.org>).

Estrazione di DNA da cellule di lievito

L'estrazione di DNA è stata effettuata secondo il protocollo descritto da Harju et al. (2004). Ad esso sono state apportate alcune modifiche:

1. Inoculare 10 μ l di coltura di lievito in 2 ml di YPD over-night a 30°C a 132 xg;
2. Risospendere 1.5 ml di coltura centrifugando a 2000 xg per 10';
3. Risospendere il pellet in 200 μ L di buffer di lisi (2% Triton X-100; 1% SDD; 10 mMNaCl; 10 mMTris-HCL pH = 8);
4. Immergere i campioni in azoto liquido per qualche minuto e successivamente porli a 95°C;
5. Ripetere il passaggio precedente per 2 volte ed agitare i tubi per 30 s;
6. Aggiungere 200 μ L di cloroformio:fenolo:alcolisomilico (24:25:1);
7. Agitare per 2 minuti;
8. Centrifugare a RT per 5 minuti a 2000 xg;
9. Recuperare la fase acquosa ed aggiungere RNasi 10 μ g/ μ L;
10. Incubare a 37 °C per 30';
11. Aggiungere 200 μ L di cloroformio;
12. Agitare per 2 minuti;
13. Centrifugare per 5 minuti a 20000 xg;
14. Recuperare la fase acquosa;
15. Aggiungere 400 μ L di etanolo 100% freddo;
16. Precipitazione over-night del DNA;
17. Centrifugare per 5 minuti a 20000 xg a 4 °C;
18. Rimuovere il surnatante;
19. Aggiungere 500 μ L di etanolo 70%;
20. Centrifugare per 5 minuti a 20000 xg a 4 °C;
21. Lasciare evaporare l'etanolo per 20 minuti a 60°C;
22. Risospendere il pellet in 20 μ L di TE (10 mM Tris-HCL; 1 mM EDTA pH 8).

Estrazione di RNA da cellule di lievito

L'estrazione di DNA è stata effettuata mediante l'utilizzo del kit RNeasy[®] Midikit (Qiagen) seguendo il protocollo indicato dal produttore:

1. Inoculare 10 µl di coltura di lievito in 2 ml di YPD over-night a 30°C a 132 xg,
2. Trasferire 10 ml di coltura di lievito avente una OD₆₀₀=1,
3. Centrifugare a 2000 xg a 4°C ed eliminare il surnatante,
4. Risospendere il pellet con 1ml di Buffer Y1 contenente 1M di sorbitolo, 0.1 M EDTA pH 7.4, 0,1% β-mercaptoetanolo, 100U liticasi, incubare i campioni per 30 minuti a 30°C in agitazione,
5. Centrifugare per 5 minuti a 2000 xg e rimuovere il surnatante,
6. Aggiungere 4ml di Buffer RLT contenente il β-mercaptoetanolo,
7. Mescolare i campioni per 10 secondi e passare il lisato attraverso una siringa con ago di diametro 19 G per 10 volte al fine di rimuovere definitivamente le pareti cellulari,
8. Centrifugare il lisato per 5 minuti. Recuperare il surnatante,
9. Aggiungere 4ml di etanolo al 70% e agitare vigorosamente,
10. Inserire 4ml di campione in una colonna RNeasy midi, centrifugare per 5 minuti a 4000 xg ed eliminare l'eluato,
11. Aggiungere 4ml di Buffer RW1 alla colonna, centrifugare per 5 minuti a 4000 xg e eliminare l'eluato,
12. Aggiungere 2,5ml di Buffer RPE alla colonna, centrifugare per 2 minuti a 4000 xg e eliminare l'eluato,
13. Aggiungere 2,5ml di Buffer RPE alla colonna, centrifugare per 5 minuti a 4000 xg,
14. Per eluire l'RNA, trasferire la colonna in una nuova falcon da 15ml e aggiungere 250µl di RNasi-free-water direttamente sulla membrana della colonna. Centrifugare per 3 minuti a 4000 xg.

Quantificazione spettrofotometrica dell'RNA e del DNA estratti

Al termine della procedura di estrazione, una aliquota di 4µl di soluzione di acido nucleico è stata valutata allo spettrofotometro alle lunghezze d'onda 260-280. La lettura è stata effettuata utilizzando lo spettrofotometro Cary 50 (Varian).

Retrotrascrizione

La retrotrascrizione è stata effettuata con il kit “Quantitect® Reverse Transcription” (Qiagen). Il protocollo prevede un passaggio iniziale necessario per eliminare il DNA genomico: si trattano 400ng di RNA totale con 2µl di tampone gDNA Wipeout Buffer 7% e H₂O (RNasi free) in un volume finale di 14µl. La miscela è incubata per 2 minuti a 42°C.

Successivamente la miscela viene sottoposta al passaggio di retrotrascrizione. La reazione viene condotta in un volume finale di 20µl e contiene 14µl di RNA ottenuto precedentemente, 1µl di trascrittasi inversa Quantiscript® reverse transcriptase, 4 µl di buffer Quantiscript RT buffer 5x e 1 µl di primer RT Primer mix.

La miscela preparata viene incubata inizialmente per 15 min a 42°C e successivamente per 3 min a 95°C.

Le reazioni sono state realizzate utilizzando lo strumento TC-512 Techne.

Real-Time PCR: analisi di espressione mediante SYBR Green

L'analisi di espressione è stata effettuata sulle cellule di lievito trattate sia con il 5fluorouracile sia con la nistatina. Le concentrazioni utilizzate per i diversi trattamenti sono rispettivamente 750µM di 5fluorouracile e 0,5 µM di nistatina per 24 ore.

Per l'analisi è stata sfruttata la chimica del Power SYBR Green (Applied Biosystems, Foster City, CA). Esso è un buffer di reazione che contiene: SYBR® Green 1 DYE, Amplitaq Gold® DNA Polymerase LD, dNTPs con dUTP/dTTP, il fluoroforo di riferimento ROX 1µM.

I campioni di cDNA ottenuti sono stati utilizzati per la reazione di Real-Time. La reazione avviene in un volume di 20µl e la miscela è così composta: 2,5ng/µL cDNA; 1X Power SYBR Green; 200 nM Primer Forward e Reverse e acqua deionizzata.

La reazione è stata condotta in una 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) secondo il seguente profilo termico: 50°C per 2 minuti; 95°C per 10 minuti; 95°C per 15 secondi e 60°C per un minuto ripetuti per 40 cicli. Al termine della reazione di amplificazione lo strumento effettua un ulteriore passaggio: protocollo di dissociazione. Questo prevede che la temperatura venga innalzata gradualmente (0,2 °C/sec) da 60°C a 95°C; in questo modo gli ampliconi vanno incontro a denaturazione termica, ma ciascuno secondo la propria temperatura di melting specifica.

I geni oggetto di analisi sono riportati in Tab.2 e 3:

Materiali e metodi

Tabella 2 Geni analizzati e selezionati a seguito dello screening con il 5fluorouracile

Nome del gene	Simbolo	Numero accessione(GenBank)	Sequenza primer for/rev 5' → 3'	Caratteristiche amplicone		
				bp	Tm attesa	Tm osservata
Alcool deidrogenasi IV	ADH4	NM_001181122.1	F-CCAGCTGTTGCTGTCAACGA R-CATCTAGACCAGTAGCAGCAGTCAA	76	80	79.1± 0.1
Alcool deidrogenasi V	ADH5	NM_001178497.2	F-AGATTTCTTCGCCAGAGGTTTG R-CACCCTTCTCCATCTTTGCAA	92	78	77.6± 0.1
Alcool deidrogenasi I	ADH1	NM_001183340.1	F-AGCCGCTCACATTCCTCAAG R-AGACGGTGATACCAGCACACAA	71	83	80.6± 0.1
Proteina dominio EH	IRS4	NM_001179809.1	F-TGCGTTGGGATAGCGTAGA R-CCATCGCCTTTAGCGTACTCA	70	81	78.5± 0.1
S ubunità 11 del complesso mediatore dell'RNAPol	MED11	NM_001182612.1	F-CAAGGAGATACAGTTGTTGGATGAGA R-GCCTAGGGCCTTCTGTTGA	76	80	78.4± 0.1
Proteina della fase S ciclo cellulare	MRC1	NM_001178704.1	F-CGAAACTTCTCAAGCGCTGAA R-TTGCACCGCTGCTATCTATACG	80	82	81.5± 0.1
Proteina coinvolta nel processo di riparazione dei mismatches	MSH2	NM_001183344.1	F-ACCATACATTAGACCCAAGTTGCA R-CAGTACTGGATGACGGGAGCTT	79	78	76.6± 0.1
Subunità del fattore I coinvolto nell'assemblaggio della cromatina	MSI1	NM_001178543.1	F-TGGTCATATGCTCGGTGTGAA R-TTGCCCACTGCACATTAACC	71	80	79.3± 0.1
Proteina del reticolo endoplasmatico	PER1	NM_001178758.1	F-CCATGTTTCTGTACCCCAAGA R-TGTGCAGGCAAAGATTGC	69	82	79.6± 0.1
Heat shock protein a basso peso molecolare	HSP26	NM_001178420.1	F-GGGTGAAGCGGCTTAAGAG R-CCTTGCCAGTAGAATCCTTTGC	77	82	80.3± 0.1
Heat shock protein ad alto peso molecolare	HSP82	NM_001184054.1	F-GGGTGACCAAGTGGAGAAAAGTT R-TGTTAGCAGACCAACCAAATTGA	92	78	77.7± 0.1

Materiali e metodi

Tabella 3 Geni analizzati e selezionati a seguito dello screening con la nistatina

Nome del gene	Simbolo	Numero accessione (GenBank)	Sequenza primer for/rev 5' → 3'	Caratteristiche amplicone		
				bp	Tm attesa	Tm osservata
sfingosina idrossilasi	SUR2	NM_001180605.1	F- CAGACCATTGTTGGCCTTATCTT R- TTCCACATGGCATTTCCTCAA	77	78	78.3± 0.1
fitoceramidasi	YPC1	NM_001178531.1	F- GCTGCTACTGCAGGAAGTTTGA R- GCCATTGAAGCCTTGAGATTC	77	79	79.6± 0.1
diidroceramidasi	YDC1	NM_001183901.1	F- TTGACGCTTCTAGTTGTGGTTCTT R- AGGAATCATGCCATAACCATAGT	108	75	75.2± 0.1
sfingosina-1-fosfato	LCB3	NM_001181567.1	F-CGGTTTAATATTAGAGAGAAGCTGTTAGTG R- GATCATTAACGCAGAACGGTACTT	97	75	78.8± 0.1
sfingosina-1-fosfato	YSR3	NM_001179843.3	F- TGGGTTCCACATGTTTATGTT R- AGATCATGTCCCGTGTAAATCG	81	79	79.1± 0.1
sfingosina N-aciltransferasi	LAG1	NM_001179083.1	F- TCGACCATTACGGTATACCTAAA R- TCCGCAATAAAAATATGGCATAACA	88	76	76± 0.1
sfinganina-1-fosfato aldolasi	DPL1	NM_001180602.1	F- GCATGTCTGAGCGCTAAAATGTA R- ACCCAGCATGTGCAGTTACG	88	79	79.2± 0.1
proteina che lega l'actina	ABP1	NM_001178794.1	F-CCTGATTCTGCGCCATTGA R-CAGATTATTAGCAACTGCAGCAAAA	69	80	80.1± 0.1
alcol deidrogenasi 2	ADH2	NM_001182812.1	F-CGCAGTCGTTAAGGCTACCAA R-CGATAGCGGCTTCGGAAAC	71	83	83.6± 0.1
G-protein	ASC1	NM_001182616.1	F-TGACGGTGCTTACGCTTTGT R-CGGACATAACATCGGACTTGTG	113	80	80.5± 0.1
z-finger inibitore della trascrizione di HO	ASH1	NM_001179751.1	F-CCGATGAGTCCACCAACCA R-TATTGCTGGATTTCCCTCAA	88	80	80.3± 0.1
E3 ubiquitina ligasi	BRE1	NM_001180133	F-AACACGTTCTGAGGTATCCAATTTAA R-GCTAACAGGGACTCATGGTCATATG	96	77	77.6± 0.1

Materiali e metodi

proteina modulatrice dell'attività dell'RNA polI e RNA polII	CDC73	NM_001182306.1	F-GCCCTCGCAAAGATCCAATT R-CAGCAGGAACTGTTTTATATTTGCA	83	76	76.2± 0.1
MAP chinasi inibitore di Ste12p	DIG1	NM_001183863.1	F-GCCGGTCTACGCAACAG R-TCAAAGTGGTATTCTTCAGCAGGTA	71	82	81.8± 0.1
fattore trascrizionale di elongazione	ELF1	NM_001179726.1	F-GCACTCTGGACAAAAAATAGTATAGG R-CGGCGTCAAACCAATCACT	123	76	76.1± 0.1
malato deidrogenasi mitocondriale	MDH1	NM_001179651.1	F-CCATCAACGCAAGCATCGT R-CAGCATTGGGAGCGGATT	63	84	84.2± 0.1
componente del complesso paf1 coinvolto nell'elongazione	PAF1	NM_001178627.1	F-CGCACCGAATATGTCTCCAA R-TCCAAGCGCCTTTTCCTTT	71	78	78.2± 0.1
proteina richiesta per la crescita e rottura della parete cellulare	PEF1	NM_001181187.2	F-TTCGTTTCGATAGCAGAGAAGATGTAC R-TTTTGGCCCTTACATCATGGTT	81	77	77.1± 0.1
proteina componente della subunità 40s	RPS12	NM_001183789.1	F-TTGTTTTGGTCAGCTCTGTTACTGA R-CAAACCAGCCATTCACCTAA	131	77	76.6± 0.1
componente del complesso istone deacetilasi	SIN3	NM_001183258.1	F-ATGCAACCACCCACTTCA R-TTCGCTATCCCTTGATGTACCA	77	80	80.2± 0.1
attivatore delle MAPchinasi, risposta ai feromoni	STE20	NM_001179087.1	F-GTCCACTCCC GTTATCTCTAAACC R-GCGAATGGGAAGCTGAATTG	71	80	80.2± 0.1
fattore di terminazione della traduzione	SUP35	NM_001180479.1	F-CGGCCCAACTCTGTTAGAATATCT R-GGCAATAGGCAACATGAATGG	82	79	79.2± 0.1

Cellule umane HepG2

Colture cellulari HepG2

Le cellule utilizzate per questo lavoro sono linee immortalizzate di epatocarcinoma umano. Le condizioni di crescita delle cellule prevedono:

- Terreno di crescita DMEM completo (Dulbecco/Vogt modified Eagle's minimal essential medium) con amminoacidi, sali, glucosio e vitamine;
- 10% FBS (Fetal-Bovin-Serum);
- 1% di penicillina e streptomicina.

Le linee cellulari vengono lasciate crescere in apposite fiasche in 30 ml di terreno DMEM a 37°C, 5% di CO₂. La quantità di cellule utilizzate per la procedura di estrazione è di 1X10⁶ cells.

Le cellule sono state trattate con 5FU e nistatina nelle condizioni indicate in tabella:

Campione	5fluorouracile	Tempi di raccolta
Controllo	0 mM	24h-48h
1	10 mM	24h-48h
2	20 mM	24h-48h

Campione	Nistatina	Tempi di raccolta
Controllo	0 µM	1h-2h
1	50 µM	1h-2h

Tab. 4: Condizioni dei diversi trattamenti e relativi tempi di raccolta delle cellule umane trattate con 5fluorouracile e nistatina.

Estrazione di RNA totale da colture cellulari HepG2

L'estrazione di RNA totale è stata effettuata con il kit commerciale RNeasy[®] Minikit (Qiagen). I passaggi della metodica sono i seguenti:

Materiali e Metodi

- 1) Aggiungere 300 µl di tampone PBS alla coltura di cellule;
- 2) Centrifugare per 5 minuti a 300 xg per far precipitare le cellule. Rimuovere il surnatante e conservare il pellet.
- 3) Aggiungere 350 µl di tampone RLT.
- 4) Omogeneizzazione del campione: far passare il lisato cinque volte attraverso una siringa, il cui foro dell'ago ha un diametro di 0,9mm (20G);
- 5) Aggiungere un volume di etanolo 70% per omogeneizzare il lisato. Mescolare, senza centrifugare.
- 6) Trasferire 700 µl di campione nella colonnina fornita dal kit, RNeasy column all'interno di una eppendorf.
- 7) Centrifugare per 15 secondi a 10000 xg, rimuovendo il precipitato.
- 8) Aggiungere 700 µl di buffer RW1 alla colonna. Centrifugare per 15 secondi a 10000 xg. Rimuovere il precipitato.
- 9) Aggiungere 500 µl di buffer RPE alla colonna. Centrifugare per 15 secondi a 10000 xg. Rimuovere il precipitato.
- 10) Aggiungere 500 µl di buffer RPE alla colonna. Centrifugare per 2 minuti a 10000 xg. Eliminare tutto l'etanolo presente.
- 11) Inserire la colonnina in una nuova eppendorf da 1,5 ml. Aggiungere 40 µl di acqua RNase-free. Centrifugare per 1 minuto a 10000 xg. Conservare l'eluito a -80°C.

Quantificazione spettrofotometrica dell'RNA estratto

Al termine della procedura di estrazione, una aliquota di 4µl di soluzione di acido nucleico è stata valutata allo spettrofotometro. La lettura è stata effettuata utilizzando lo spettrofotometro Cary 50, (Varian).

Retrotrascrizione

La procedura di retro-trascrizione è stata effettuata con il metodo "QuantiTect Reverse transcription" della ditta Qiagen. I passaggi della procedura sono i seguenti:

- 1) Eliminazione di tracce di DNA genomico: la reazione viene svolta in un volume finale di 14 µl partendo da una quantità di RNA estratto di 400ng, 2 µl di gDNA Wipeout buffer, 7x e acqua deionizzata.

La miscela preparata viene incubata per 2 min a 42°C.

Materiali e Metodi

2) Preparare la miscela di reazione di retro-trascrizione: la reazione viene condotta in un volume finale di 20µl e contiene 14µl di RNA ottenuto dalla precedente reazione, 1µl di trascrittasi inversa Quantiscript® reverse transcriptase, 4 µl di buffer Quantiscript RT buffer 5x e 1 µl di primer RT Primer mix.

La miscela preparata viene incubata inizialmente per 15 min a 42°C e successivamente per 3 min a 95°C.

Le reazioni sono state realizzate utilizzando lo strumento TC-512 Techne.

Real-Time PCR: analisi di espressione mediante TaqMan custom array

L'analisi di espressione è stata effettuata sulle linee cellulari HepG2 trattate rispettivamente con due diverse concentrazioni di 5fluorouracile 10mM e 20mM per 24 ore.

Per l'analisi sono state utilizzate delle micro-fluidic cards da 384 pozzetti che permettono di effettuare fino a 384 reazioni simultanee di Real-Time PCR sfruttando la tecnologia delle sonde TaqMan (Applied Biosystem, Foster City,CA) (Fig.11).

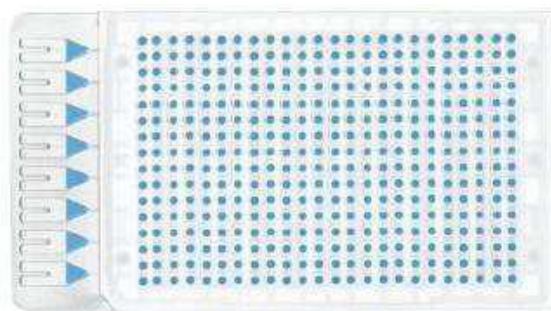


Fig. 11: Applied Biosystems 7900HT Micro Fluidic Card.

Il disegno sperimentale della card rappresentato in Fig12 prevede l'analisi in triplicato di 64 trascritti per due diversi campioni.

63 unique assays + 1 mandatory control																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	POR
A	1	1	1	2	2	2	3	3	3	CTL	CTL	CTL	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7	7	7	7
B	8	8	8	9	9	9	10	10	10	11	11	11	12	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15	15	15
C	16	16	16	17	17	17	18	18	18	19	19	19	20	20	20	21	21	21	22	22	22	23	23	23	23
D	24	24	24	25	25	25	26	26	26	27	27	27	28	28	28	29	29	29	30	30	30	31	31	31	31
E	32	32	32	33	33	33	34	34	34	35	35	35	36	36	36	37	37	37	38	38	38	39	39	39	39
F	40	40	40	41	41	41	42	42	42	43	43	43	44	44	44	45	45	45	46	46	46	47	47	47	47
G	48	48	48	49	49	49	50	50	50	51	51	51	52	52	52	53	53	53	54	54	54	55	55	55	55
H	56	56	56	57	57	57	58	58	58	59	59	59	60	60	60	61	61	61	62	62	62	63	63	63	63
I	1	1	1	2	2	2	3	3	3	CTL	CTL	CTL	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7	7	7	7
J	8	8	8	9	9	9	10	10	10	11	11	11	12	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15	15	15
K	16	16	16	17	17	17	18	18	18	19	19	19	20	20	20	21	21	21	22	22	22	23	23	23	23
L	24	24	24	25	25	25	26	26	26	27	27	27	28	28	28	29	29	29	30	30	30	31	31	31	31
M	32	32	32	33	33	33	34	34	34	35	35	35	36	36	36	37	37	37	38	38	38	39	39	39	39
N	40	40	40	41	41	41	42	42	42	43	43	43	44	44	44	45	45	45	46	46	46	47	47	47	47
O	48	48	48	49	49	49	50	50	50	51	51	51	52	52	52	53	53	53	54	54	54	55	55	55	55
P	56	56	56	57	57	57	58	58	58	59	59	59	60	60	60	61	61	61	62	62	62	63	63	63	63

Fig. 12: Disegno sperimentale della 7900HT Micro Fluidic Card.

Materiali e Metodi

I campioni di cDNA ottenuti sono stati utilizzati per la reazione di Real-Time. 50 µl di campione cDNA e 50 µl di TaqMan® Universal PCR Master Mix sono stati caricati in ciascuna delle otto porte presenti TaqMan® Custom Array (Applied Biosystems). In particolare, quattro porte sono caricate con un campione di controllo e quattro porte con un campione trattato. La reazione è stata condotta in una 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) alle seguenti condizioni di reazione: 50°C per 2 minuti, 94.5°C per 10 minuti; seguiti da 40 cicli a 97°C per 30 secondi e 59.7°C per 1 minuto. I geni analizzati e i corrispondenti saggi utilizzati per l'analisi di campioni trattati con il 5FU sono riassunti in Tab. 5.

Tabella 5 Geni e saggi TaqMan utilizzati per le analisi di Real-Time PCR di campioni trattati con 5FU.

Nome Gene	Saggio inventariato	Nome Gene	Saggio inventariato	Nome Gene	Saggio inventariato
1 ADH4	<i>Hs00923466_ml</i>	22 PLP1	<i>Hs00166914_ml</i>	44 MARK2	<i>Hs00245216_ml</i>
2 ADH5	<i>Hs00605185_ml</i>	23 GOLPH3	<i>Hs00223239_ml</i>	45 CAMK1	<i>Hs00269334_ml</i>
3 ADH7	<i>Hs00609447_ml</i>	24 RIF1	<i>Hs00871714_ml</i>	46 FOXG1	<i>Hs01850784_sl</i>
ctl 18S	<i>Hs99999901_sl</i>	25 RPL13A	<i>Hs01926559_gl</i>	47 MLL	<i>Hs00610538_ml</i>
4 ARF3	<i>Hs00155838_ml</i>	26 RPL23A	<i>Hs01921329_gl</i>	48 SNX1	<i>Hs00541723_ml</i>
5 CST6	<i>Hs00154599_ml</i>	27 RPL29	<i>Hs00988959_gH</i>	49 CRYAB	<i>Hs00157107_ml</i>
6 ENO1	<i>Hs00361415_ml</i>	28 RPL35A	<i>Hs02596935_gl</i>	50 HSPA4	<i>Hs00382884_ml</i>
7 FBP1	<i>Hs00983323_ml</i>	29 RPL36A	<i>Hs00979517_gl</i>	51 CRYAA	<i>Hs00166138_ml</i>
8 FPR1	<i>Hs00181830_ml</i>	30 RPL7A	<i>Hs00605223_gl</i>	52 HSP90AA1	<i>Hs00743767_sH</i>
9 GAD1	<i>Hs01065893_ml</i>	31 RPS27A	<i>Hs01923841_uH</i>	53 UBC	<i>Hs00824723_ml</i>
10 GGA1	<i>Hs00203483_ml</i>	32 RTN1	<i>Hs00382515_ml</i>	54 YWHAZ	<i>Hs00237047_ml</i>
11 GLDC	<i>Hs01580591_ml</i>	33 SAP30	<i>Hs00759736_sl</i>	55 HPRT1	<i>Hs99999909_ml</i>
12 GOT1	<i>Hs00157798_ml</i>	34 SCO1	<i>Hs01552201_ml</i>	56 VTA1	<i>Hs00212881_ml</i>
13 GSC2	<i>Hs00232019_ml</i>	35 SCO2	<i>Hs00192979_ml</i>	57 CHEK1	<i>Hs00967506_ml</i>
14 HAT1	<i>Hs00186320_ml</i>	36 SDC1	<i>Hs00896423_ml</i>	58 PGM1	<i>Hs00160062_ml</i>
15 IRS4	<i>Hs00269220_sl</i>	37 SHC1	<i>Hs00427539_ml</i>	59 PHGDH	<i>Hs00198333_ml</i>
16 MED1	<i>Hs01062349_ml</i>	38 SIP1	<i>Hs00186207_ml</i>	60 VPS24	<i>Hs00984915_ml</i>
17 MID2	<i>Hs00201978_ml</i>	39 SNF8	<i>Hs00273125_ml</i>	61 VPS25	<i>Hs00260613_ml</i>
18 MRC1	<i>Hs00267207_ml</i>	40 SOD1	<i>Hs00533490_ml</i>	62 PCK1	<i>Hs00159918_ml</i>
19 MSH2	<i>Hs00953523_ml</i>	41 TAL1	<i>Hs01097987_ml</i>	63 PER1	<i>Hs00242988_ml</i>
20 MSI1	<i>Hs00159291_ml</i>	42 TOP1	<i>Hs00243257_ml</i>	64 TPK1	<i>Hs01558699_ml</i>
21 NFU1	<i>Hs00416229_ml</i>	43			

Materiali e Metodi

Tabella 6 Geni e saggi inventariati utilizzati per le analisi di Real-Time PCR di campioni trattati con la nistatina.

	Nome Gene	Saggio inventariato		Nome Gene	Saggio inventariato
1	ABCB1	<i>Hs00184500_m1</i>	25	NCOA2	<i>Hs00896106_m1</i>
2	ABCC8	<i>Hs01093761_m1</i>	26	NUAK2	<i>Hs00388292_m1</i>
3	ABCC9	<i>Hs00245832_m1</i>	27	PEF1	<i>Hs01068611_m1</i>
4	ABP1	<i>Hs00175631_m1</i>	28	PTGR1	<i>Hs00400932_m1</i>
5	ACE2	<i>Hs01085333_m1</i>	29	RBPJL	<i>Hs00232656_m1</i>
6	ADH1A	<i>Hs00605167_g1</i>	30	RGS2	<i>Hs01009070_g1</i>
7	ADRM1	<i>Hs00199645_m1</i>	31	RNF40	<i>Hs00207448_m1</i>
8	ARID4B	<i>Hs00249610_m1</i>	32	ROM1	<i>Hs00275537_m1</i>
9	ARL13B	<i>Hs00376583_m1</i>	33	RPL29	<i>Hs00988959_gH</i>
10	ASCL1	<i>Hs00269932_m1</i>	34	SEPT12,	<i>Hs00332566_m1</i>
11	ATP2C1	<i>Hs00995930_m1</i>	35	SLC7A10	<i>Hs00219811_m1</i>
12	CALM3	<i>Hs00968732_g1</i>	36	SPATA21	<i>Hs00416956_m1</i>
13	CDC73	<i>Hs00363810_m1</i>	37	SPTLC1	<i>Hs00272311_m1</i>
14	COX8A	<i>Hs00187909_m1</i>	38	STK39	<i>Hs01085351_m1</i>
15	DCUN1D3	<i>Hs00708595_s1</i>	39	TNNI2	<i>Hs00268536_g1</i>
16	DUSP11	<i>Hs01061375_m1</i>	40	TSC1	<i>Hs01060648_m1</i>
17	EIF3B	<i>Hs00186732_m1</i>	41	TWF1	<i>Hs00702289_s1</i>
18	ELF1	<i>Hs00152844_m1</i>	42	UBAC1	<i>Hs00211792_m1</i>
19	GBP2	<i>Hs00894837_m1</i>	43	UPF3A	<i>Hs00425159_g1</i>
20	GPD1	<i>Hs00193386_m1</i>	44	UQCRC2	<i>Hs00996395_m1</i>
21	GSPT1	<i>Hs01093019_m1</i>	45	ZFP36	<i>Hs00185658_m1</i>
22	HSP90AA1	<i>Hs00743767_sH</i>	46	IDH2	<i>Hs00158033_m1</i>
23	ISYNA1	<i>Hs01126940_gH</i>	47	KCNA6	<i>Hs00266903_s1</i>
24	MDH1	<i>Hs00936497_g1</i>			

L'analisi di espressione è stata effettuata sulle linee cellulari HepG2 trattate con 50µM di nistatina a diversi tempi: 1 ora e 2 ore.

Per l'analisi è stato scelto di utilizzare il sistema Custom TaqMan® Array Plates (Applied Biosystem) in cui sono contenuti 96 saggi di espressione liofilizzati (Tab.6). E' stato scelto di inserire all'interno delle piastre 48 geni da analizzare in duplicato, in modo da poter testare sia un campione controllo sia un campione trattamento. 5 µl di campione cDNA e 5 µl di TaqMan® Universal PCR Master Mix sono stati caricati in ogni pozzetto della piastra da 96.

Lo strumento utilizzato per effettuare l'analisi è 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems); il profilo termico seguito è: 50°C per 2 minuti, 94.5°C per 10 minuti; seguiti da 40 cicli

a 97°C per 30 secondi e 59.7°C per 1 minuto. I geni analizzati e i rispettivi saggi sono riportati in Tab 6.

Analisi dei dati di espressione

I livelli di espressione sono stati analizzati con il metodo $2^{-\Delta\Delta Ct}$ mediante il software DataAssist v2.0 (Applied Biosystems). Il software utilizzato per le analisi è in grado di identificare il gene endogeno più idoneo per valutare i cambiamenti di espressione. La rielaborazione dei risultati ottenuti è affidata al tool geNorm. L'algoritmo riesce a comparare e calcolare il valore dell'M-value di tutti i geni candidati eliminando progressivamente i geni con valore di stabilità maggiore selezionandone così due. M-value descrive la variazione di ogni singolo gene comparato con gli altri geni candidati. Per la scelta dell'endogeno da utilizzare è stato preso in considerazione il valore di stabilità di ciascun gene fornito dal software al fine di confrontarli per stabilire il migliore. In tal caso il gene scelto è HPRT1. La valutazione dei livelli di espressione dei geni analizzati viene effettuata utilizzando un approccio di quantificazione relativa utilizzando il metodo del $\Delta\Delta Ct$ (Guide to performing relative quantification of gene expression using real-time quantitative PCR, Applied Biosystem).

Il calcolo del $2^{-\Delta\Delta Ct}$ viene effettuato secondo la seguente formula:

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{campione}} - \Delta Ct_{\text{calibratore}}$$

Il ΔCt del campione è la differenza tra valore di Ct del gene target e il valore di Ct del controllo endogeno nel campione in analisi. Il ΔCt del calibratore è invece valore Ct del gene target e il valore di Ct del controllo endogeno nel campione scelto come calibratore.

Risultati

Determinazione del valore della concentrazione LD₅₀ e MIC₉₉

Al fine di determinare le condizioni di trattamento da utilizzare per lo screening della collezione di mutanti di lievito, è stato necessario studiare i livelli di crescita del ceppo wild-type in presenza di 5fluorouracile o di nistatina. Lo scopo era quello di determinare le concentrazioni sub-letali (LD₅₀) e letali (MIC₉₉) in corrispondenza delle quali il ceppo wild-type mostrava una crescita stentata, nel caso della LD₅₀, o nessuna crescita nel caso della MIC₉₉.

Per determinare la concentrazione sub-letale sia di 5FU sia di nistatina è stata presa in considerazione la formula proposta da Sperman-Karber (Hamilton et al., 1977) di seguito riportata:

$$m = x_k + 1/2d - d(SP_i/100),$$

dove m= logaritmo della dose letale media;

x_k = logaritmo della più piccola dose che dà una percentuale di reazione del 100%;

d= logaritmo del rapporto tra due dosi successive;

P_i = percentuale di reazione a tutte le dosi, della più alta dose che non dà reazione in alcuna cellula o prova (x_0) a quella (x_k) che dà reazione nel 100% delle cellule;

S= sommatoria estesa a tutte le dosi.

Questa formula prevede la stima della concentrazione dell'LD₅₀, che come dice la simbologia, rappresenta la concentrazione di molecola tossica che provoca la morte del 50% delle cellule in condizioni di crescita standard. Perciò, la determinazione della LD₅₀ nel ceppo wt è stata condotta in terreno liquido YPD addizionato di differenti concentrazioni di 5FU o di nistatina. Le concentrazioni di 5fluorouracile utilizzate sono state: 100µM; 250 µM; 300 µM; 500 µM; 600 µM; 750 µM e 1mM. Mentre le concentrazioni di nistatina utilizzate sono state: 0,01 µM; 0,1 µM; 0,2 µM; 0,5 µM; 0,75 µM; 1 µM e 2 µM. In parallelo, alle medesime condizioni di crescita veniva inoculato il ceppo wild-type in terreno YPD senza l'aggiunta di nessuna molecola tale da poter essere considerato come controllo. Dopo circa 18 ore di crescita, a 30°C in agitazione, è stata valutata la crescita del ceppo wt nelle diverse colture misurando il valore dell' OD₆₀₀. Tale dato è stato utilizzato per la determinazione dell'LD₅₀. Dopo aver effettuato i calcoli, le rispettive concentrazioni di LD₅₀ identificate sono : 5FU 50 µM e nistatina 0,5 µM.

Di seguito sono riportate le curve dose-risposta del 5FU e della nistatina (Fig.13).

Risultati

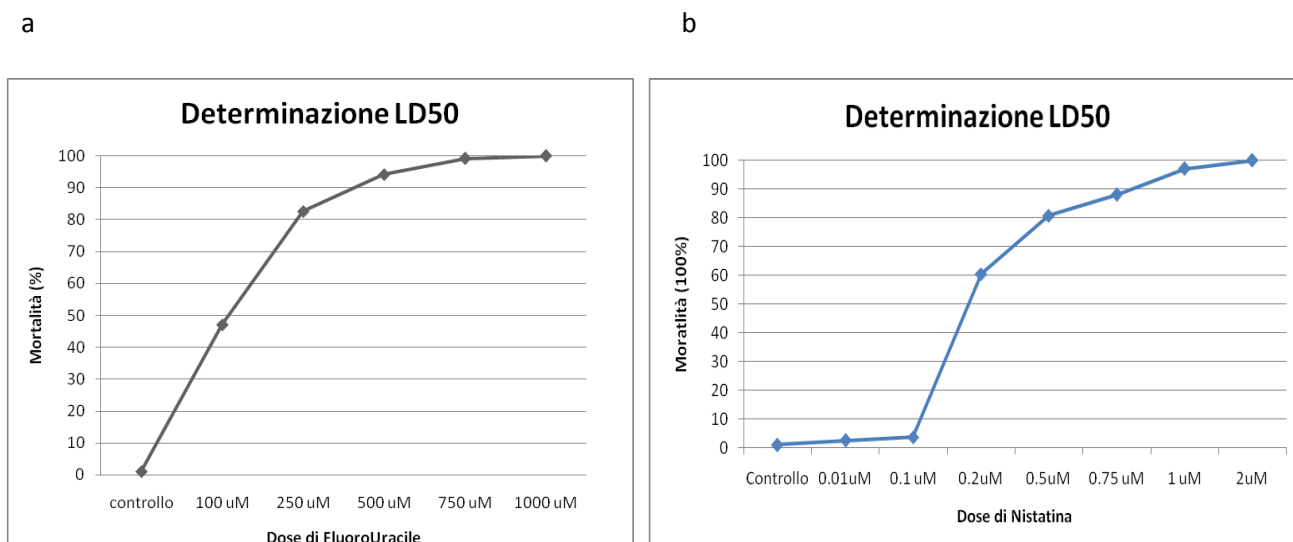


Figura 13 I grafici riportano la mortalità (%) misurata in presenza di diverse concentrazioni di molecola; a) 5fluorouracile; b) nistatina.

Il calcolo della MIC₉₉ identifica la minima concentrazione delle molecole da utilizzare che provoca la morte del 99% di cellule presenti nella coltura, in condizioni di crescita standard. La determinazione del valore di MIC₉₉ di 5Fluorouracile e nistatina rispetto al ceppo wt è stata effettuata in terreno solido YPD e YPG a 30 °C per circa 24 ore, utilizzando un ampio intervallo di concentrazioni di entrambe le molecole. L'esperimento prevedeva anche la crescita del ceppo wild-type sia in terreno YPD sia in terreno YPG in condizioni di controllo. Le concentrazioni di 5fluorouracile utilizzate sono state: 100µM; 250 µM; 300 µM; 500 µM; 600 µM; 750 µM e 1mM. Per quanto riguarda la nistatina, le concentrazioni utilizzate sono state: 0,01 µM; 0,1 µM; 1 µM; 2,5 µM; 3 µM; 4 µM e 5 µM. Di seguito vengono riportati i risultati che mostrano il fenotipo ottenuto alle diverse condizioni di crescita (Fig.14-15).

Risultati

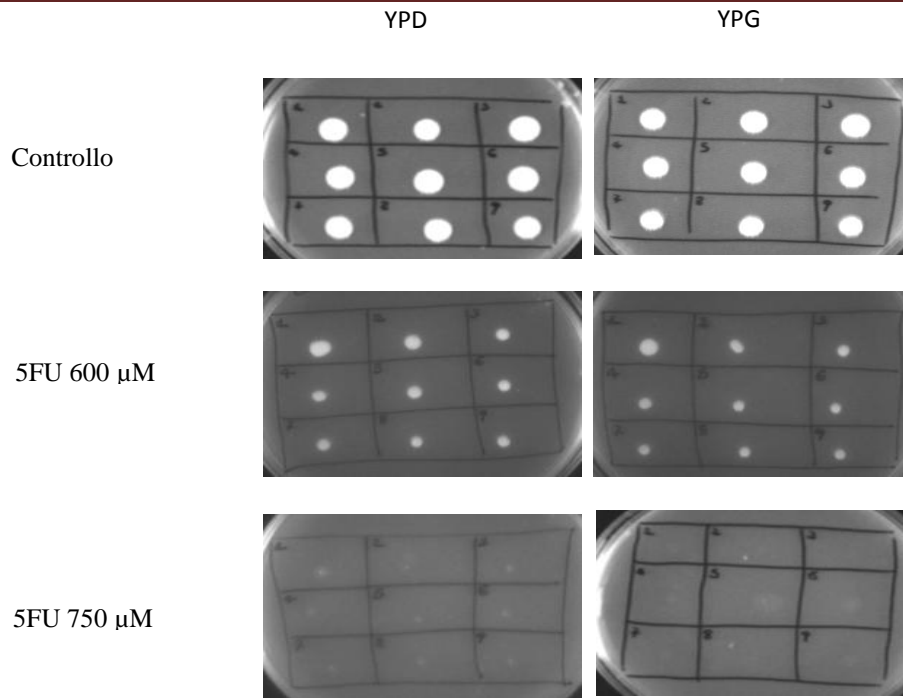


Figura 14 Crescita del ceppo wt in terreno YPD e YPG in condizioni di controllo e in presenza di 600 μ M e di 750 μ M di 5fluorouracile. L'assenza di crescita in entrambi i terreni alla medesima concentrazione definisce che il valore di MIC₉₉ stimato come 750 μ M resta tale al variare della fonte di carbonio.

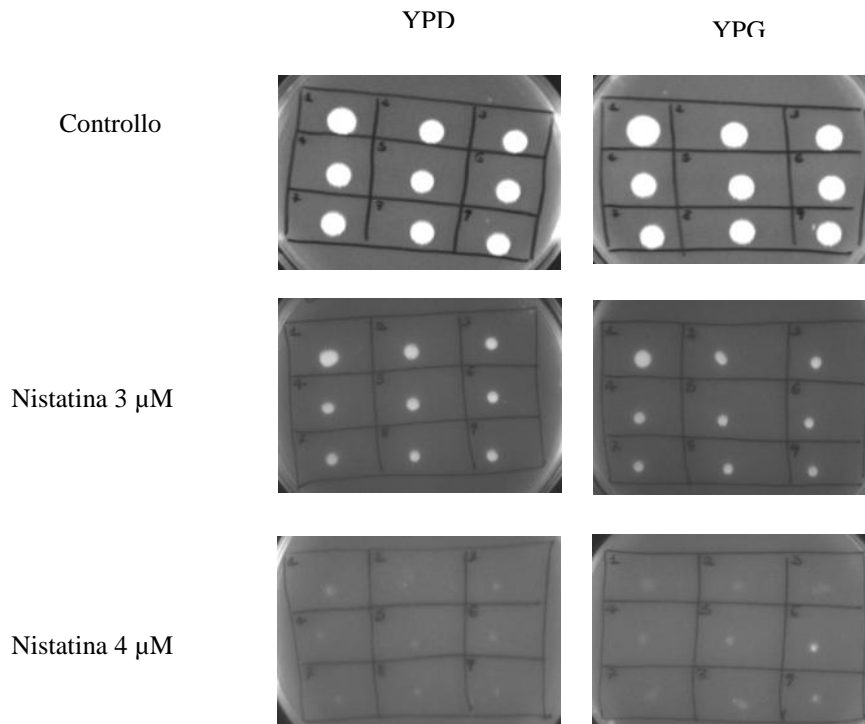


Figura 15 Crescita del ceppo wt in terreno YPD e YPG in condizioni di controllo e in presenza di 3 μ M e di 4 μ M di nistatina. L'assenza di crescita in entrambi i terreni alla medesima concentrazione definisce che il valore di MIC₉₉ stimato come 4 μ M resta tale al variare della fonte di carbonio.

Screening della collezione di mutanti in presenza di 5fluorouracile e nistatina

Dopo aver identificato LD50 e MIC99 di entrambe le molecole, è stato messo a punto un sistema di analisi high throughput per valutare la risposta fenotipica delle cellule di lievito *S.cerevisiae* alle concentrazioni stimate.

La collezione di mutanti per delezione è composta da 4790 ceppi la maggior parte dei quali ottenuti dal ceppo parentale BY4742 è organizzata in 55 piastre da 96 pozzetti (Tab 1S). Attraverso l'uso del replicatore da 96 pin, le piastre da 96 pozzetti sono state convertite in piastre da 384 pozzetti, permettendo di rendere più brevi i tempi di analisi come riportato in Fig 9 (Mat. e Met.). I mutanti contenuti nelle piastre da 384 pozzetti sono poi gestiti mediante l'uso del replicatore a 96 pin che permette di prelevare contemporaneamente circa 4µl di coltura dai corrispondenti pozzetti e di inocularli in terreno liquido o in piastre contenenti terreno solido.

Lo screening è stato effettuato su terreno solido YPD addizionato di 750 µM di 5FU e 4µM di nistatina. Per ogni condizione sono state effettuate cinque repliche. Le piastre sono state incubate a 30°C per 48 ore. Ogni piastra permetteva la crescita contemporanea di 382 mutanti, di un controllo positivo rappresentato dal ceppo wt e di un controllo negativo, in cui non veniva inoculato alcun mutante. Un esempio di piastra è riportato in Figura 16:

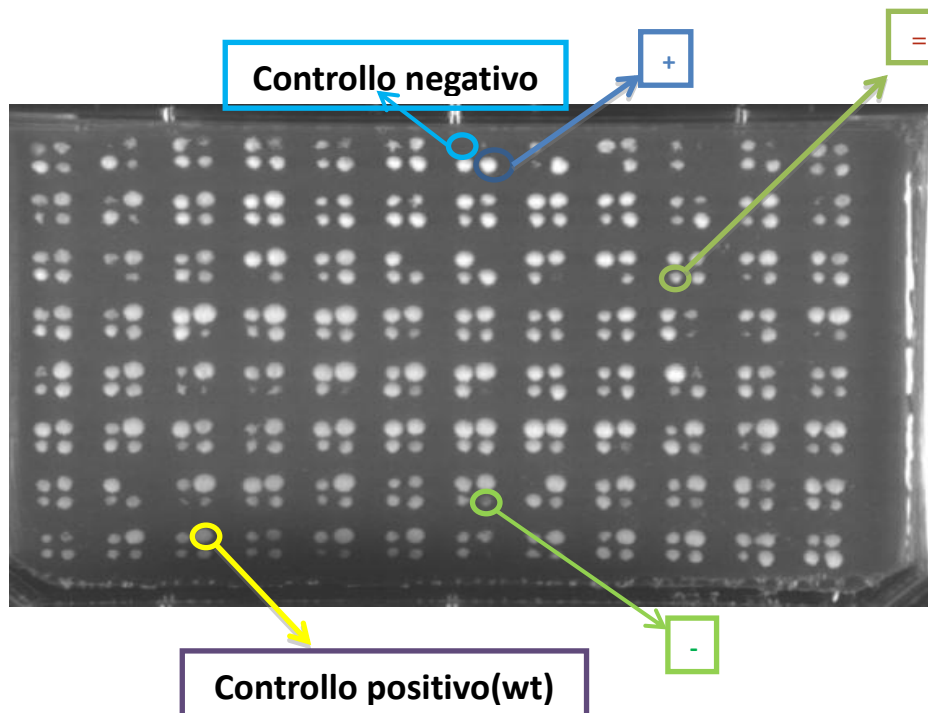


Figura 16 Esempio di una piastra a 384 con indicazione dei controlli e fenotipo assegnato in base alla crescita di un mutante rispetto al ceppo wt.

Risultati

Acquisizione del fenotipo di crescita delle cellule mutanti di lievito

Al termine dell'incubazione, la crescita è stata valutata attraverso l'uso del programma Quantity One v.4.2.0 (Biorad). Il software permette di acquisire l'immagine, mediante lo strumento Gel Doc (Biorad), e di quantificare l'intensità di crescita di ogni singolo mutante. La quantificazione prevede la normalizzazione rispetto al background, corrispondente al valore di intensità ottenuto dal pozzetto contenente il controllo negativo e rispetto al wt (controllo positivo).

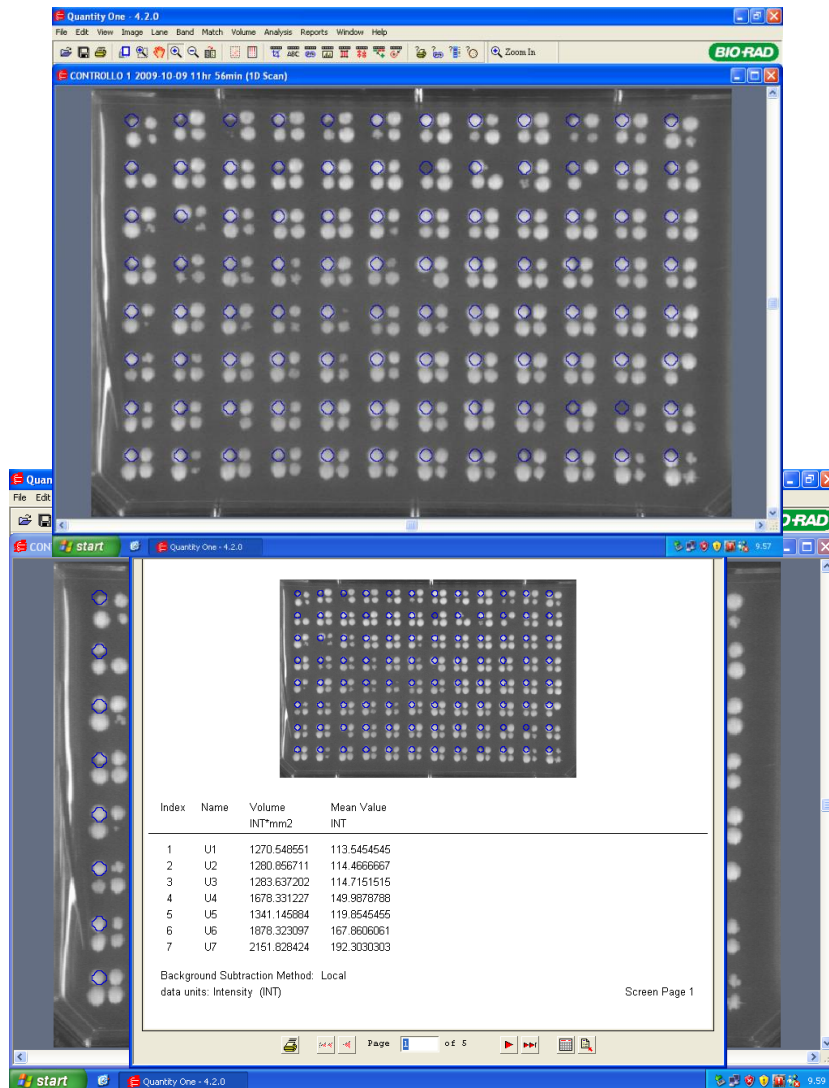


Figura 17 Immagine di una piastra di mutanti acquisita con GelDoc e analizzata con il software Quantity One (Biorad).

Risultati

Poiché sono state effettuate cinque repliche per ogni piastra, è stato necessario calcolare il valore medio di intensità. Tale valore è stato poi sottratto al valore medio di intensità corrispondente al ceppo wt presente in tutte le piastre analizzate. In Fig.18 è riportato un esempio di tale procedura.

Name	Volume	Mean Value	
	INT*mm2	INT	Normalizz
YLL047W	1433,241	128,0848	-16,8
	1621,229	144,8848	0
YLL051C	2342,258	209,3212	64,436364
YLL052C	2690,837	240,4727	95,587879
YLL053C	2613,865	233,5939	88,709091
YLL054C	2707,452	241,9576	97,072727
YLL055W	2746,853	245,4788	100,59394
YLL056C	2779,677	248,4121	103,52727
YLL057C	2797,58	250,0121	105,12727
YLL058W	2692,261	240,6	95,715152
YLL060C	2485,826	222,1515	77,266667
YLL061W	2031,386	181,5394	36,654545
YLL062C	1551,446	138,6485	-6,2363636
YLL063C	2069,906	184,9818	40,09697

Figura 18 Esempio di valori di intensità e della normalizzazione sul controllo negativo per alcuni mutanti della piastra 102.

A seguito della normalizzazione di tutti i dati ottenuti, è stato possibile suddividere i mutanti in tre categorie in base al fenotipo di crescita:

1. Mutanti con fenotipo simile al wt: mutanti con valori di crescita normalizzata compresa tra 0.5 e +1.5;
2. Mutanti con fenotipo sensibile: mutanti con valori di crescita normalizzata minore di 0.5;
3. Mutanti con fenotipo resistente: mutanti con valori di crescita normalizzata maggiore di 1.5.

Per il 5FU è stato possibile identificare 1976 mutanti con fenotipo sensibile; 378 mutanti con fenotipo resistente e 2436 mutanti con fenotipo comparabile a quello del ceppo wt.

Per la nistatina sono stati identificati 2141 mutanti con fenotipo sensibile; 541 mutanti con fenotipo resistente e 2108 mutanti con fenotipo simile a quello presentato dal ceppo parentale.

I mutanti risultati sensibili o resistenti in almeno tre repliche sperimentali sono stati analizzati mediante spot assay, al fine di riconfermare il loro fenotipo.

Risultati

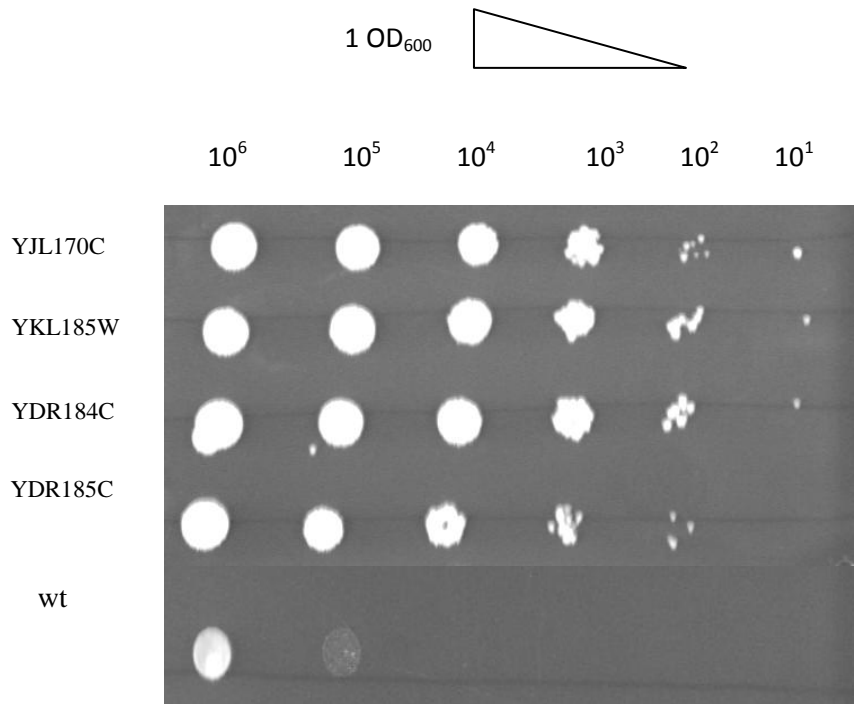


Figura 19 Esempio di spot assay condotto in terreno YPD addizionato di 4μM di nistatina. Si può notare come rispetto alla crescita del ceppo wt gli altri ceppi mutanti mostrano una crescita anche a diluizioni molto basse. Mediante questa analisi è stato possibile confermare il fenotipo di alcuni mutanti resistenti alla nistatina.

Analisi statistiche

A seguito dell'analisi dei risultati ottenuti dallo screening, è stato possibile effettuare delle analisi statistiche. La distribuzione dei dati ottenuti da entrambi i trattamenti non è perfettamente normale, ma presenta una asimmetria verso destra (Fig. 20).

Risultati

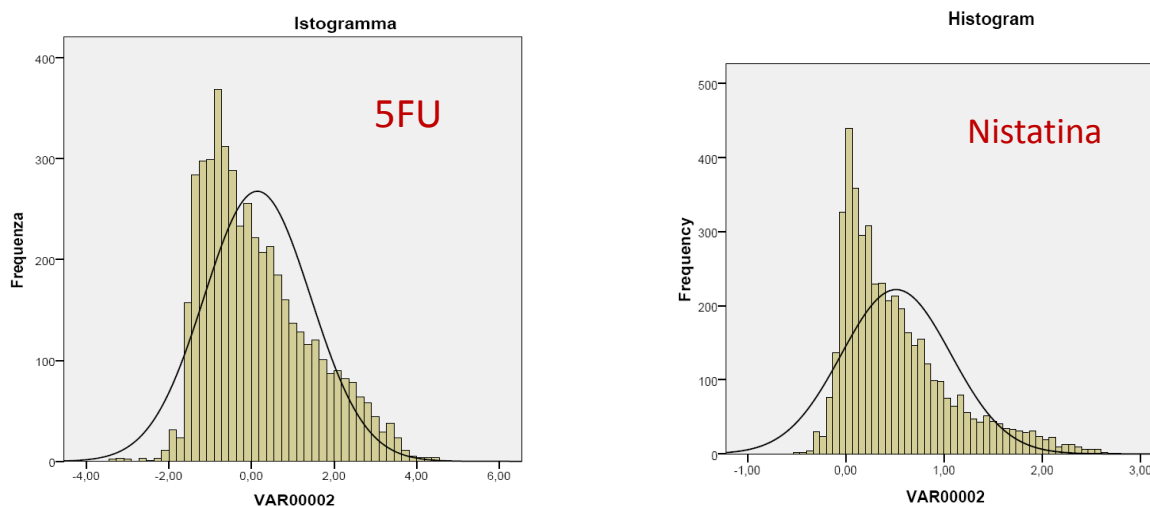


Figura 20 Distribuzione dei valori ottenuti dai 4790 mutanti analizzati a seguito del trattamento rispettivamente di 5FU e di nistatina.

Per tale motivo, per evidenziare l'esistenza di mutanti che diano una risposta significativamente diversa dagli altri sia al 5FU e sia alla nistatina, sono stati applicati due test: test parametrico t-test (t-Student) e un test non parametrico (Kolmogorov-Smirnov), i quali effettuano confronti tra le medie. Il pacchetto statistico utilizzato è PAWSPSS 18.

I risultati dei vari test sia parametrici sia non parametrici, indicano la presenza di mutanti la cui crescita è influenzata (sia in modo positivo, sia negativo) dal trattamento con il 5fluorouracile e la nistatina in modo altamente significativo ($p < 0,0001$).

Analisi bioinformatica

I mutanti sensibili o resistenti al trattamento con 5FU e nistatina sono stati associati al corrispondente gene delete, infatti per ciascun mutante è noto qual è il gene "delete". Quindi le liste di mutanti vengono convertite in liste di geni (<http://www.yeastgenome.org/>).

Le liste di geni corrispondenti ai soli mutanti con fenotipo sensibile o resistente sono state analizzate mediante un approccio bioinformatico di analisi funzionale. L'obiettivo dell'analisi bioinformatica è quello di poter identificare i geni e i pathway metabolici più significativamente correlati all'effetto tossico determinato dalla molecola utilizzata. Per questo tipo di analisi è stato utilizzato il software DAVID v.6.7 (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>). Il software consente di analizzare una lista di geni e di organizzarla in cluster in base alle classi di Gene Ontology (GO) assegnando un valore di significatività ad ognuno. Gene Ontology (GO; <http://www.geneontology.org/>) è un vocabolario dinamico e controllato che annota geni di ogni specie in relazione alla loro funzione molecolare, al processo

Risultati

biologico in cui essi intervengono e in base alla loro localizzazione cellulare. Utilizzando le liste di geni, il software consente di creare cluster genici in base alla loro similarità di annotazione funzionale. La similarità è identificata mediante analisi statistiche, definite dal valore di p-values (Fisher Exact test): l'alta similarità corrisponde ad un p-values basso. La media geometrica di tutti i p-values, di ogni cluster, produce un enrichment score (E-score), il quale identifica la significatività biologica di ogni raggruppamento. Perciò, utilizzando lo strumento Functional Annotation Clustering, presente in DAVID v.6.7, è stato possibile prendere in esame le classi funzionali che risultano significativamente arricchite (E-score >1.8) nel pool dei nostri dati rispetto alla normale distribuzione delle stesse classi nel genoma di lievito. In Fig 21 è mostrato un esempio di dati ottenuti analizzando la lista di geni di mutanti convertiti in sensibili al 5FU e resistenti alla nistatina: 5FU sensibili:

Functional Annotation Clustering

Current Gene List: List_1
 Current Background: Saccharomyces cerevisiae
 1874 DAVID IDs

Options: Classification Stringency: Custom

Rerun using options | Create Sublist

226 Cluster(s) [Download File](#)

Annotation Cluster	Enrichment Score	Count	P_Value	Benjamini
Annotation Cluster 1 Enrichment Score: 4.39				
SP_PIR_KEYWORDS	transcription regulation	196	2.7E-9	3.1E-7
SP_PIR_KEYWORDS	Transcription	203	1.3E-7	8.4E-6
GOTERM_BP_FAT	regulation of transcription, DNA-dependent	213	1.5E-5	1.6E-2
GOTERM_BP_FAT	regulation of RNA metabolic process	216	1.9E-5	1.5E-2
GOTERM_BP_FAT	regulation of transcription	287	8.7E-5	2.4E-2
GOTERM_MF_FAT	transcription regulator activity	159	2.3E-3	4.2E-1
GOTERM_BP_FAT	regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	120	2.9E-3	1.5E-1
GOTERM_BP_FAT	transcription	219	1.4E-1	8.0E-1
Annotation Cluster 2 Enrichment Score: 4.14				
SP_PIR_KEYWORDS	ribosomal protein	99	2.1E-10	4.8E-8
SP_PIR_KEYWORDS	ribosome	80	7.8E-9	7.2E-7
GOTERM_CC_FAT	cytosolic ribosome	78	5.5E-8	3.2E-5
GOTERM_CC_FAT	ribosomal subunit	102	7.6E-8	2.2E-5
KEGG_PATHWAY	Ribosome	69	2.0E-5	1.7E-3
GOTERM_CC_FAT	large ribosomal subunit	60	4.5E-5	4.4E-3
SP_PIR_KEYWORDS	cytosol	38	5.1E-5	1.5E-3
GOTERM_MF_FAT	structural constituent of ribosome	100	5.3E-5	6.1E-2
SP_PIR_KEYWORDS	protein biosynthesis	103	1.2E-4	2.7E-3
GOTERM_CC_FAT	cytosolic large ribosomal subunit	41	2.4E-4	1.4E-2
GOTERM_CC_FAT	cytosolic part	82	8.7E-4	3.9E-2
GOTERM_CC_FAT	small ribosomal subunit	42	1.4E-3	4.2E-2
SP_PIR_KEYWORDS	ribonucleoprotein	105	1.7E-3	1.9E-2
GOTERM_CC_FAT	cytosol	153	3.0E-2	2.8E-1
GOTERM_CC_FAT	ribosome	117	3.1E-2	2.9E-1

Risultati

Nistatina resistenti:

Annotation Cluster 1	Enrichment Score: 2.48		Count	P_Value	Benjamini
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	spore wall assembly	RT	14	1.4E-4	1.7E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	ascospore wall biogenesis	RT	14	1.4E-4	1.7E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	spore wall biogenesis	RT	14	1.4E-4	1.7E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	ascospore wall assembly	RT	14	1.4E-4	1.7E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_CC_FAT	spore wall	RT	7	1.7E-4	5.8E-2
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	cell wall assembly	RT	14	1.8E-4	1.1E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	fungal-type cell wall biogenesis	RT	15	2.9E-4	1.2E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_CC_FAT	ascospore wall	RT	6	1.1E-3	1.7E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	cell wall biogenesis	RT	18	3.6E-3	5.5E-1
<input type="checkbox"/> SP_PIR_KEYWORDS	sporulation	RT	16	5.0E-3	1.9E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	reproduction of a single-celled organism	RT	34	5.8E-3	6.3E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	sexual sporulation resulting in formation of a cellular spore	RT	20	9.0E-3	6.1E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	ascospore formation	RT	20	9.0E-3	6.1E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	sexual sporulation	RT	20	9.0E-3	6.1E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	reproductive cellular process	RT	35	1.2E-2	6.9E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	reproductive process in single-celled organism	RT	27	1.4E-2	6.7E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	sexual reproduction	RT	38	1.8E-2	7.1E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	cell wall organization	RT	33	4.8E-2	8.7E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	external encapsulating structure organization	RT	33	4.8E-2	8.7E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	reproductive developmental process	RT	22	4.8E-2	8.6E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	sporulation	RT	29	6.2E-2	8.9E-1
<input type="checkbox"/> GOTERM_BP_FAT	sporulation resulting in formation of a cellular spore	RT	29	6.2E-2	8.9E-1

Figura 21 Processi biologici associati con i geni ottenuti a seguito del trattamento con le molecole tossiche. L'analisi dei dati è condotta utilizzando il programma DAVID v.6. (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>). Per ogni categoria GO è rappresentato il relativo valore di E-score calcolato confrontando la rappresentazione di ogni GO term all'interno del set di geni trovati dall'analisi con la loro rappresentazione all'interno del genoma di lievito. Nel primo esempio sono riportate alcune categorie funzionali ottenute inserendo i geni corrispondenti a mutanti con fenotipo sensibile al 5FU: in tal caso le categorie hanno entrambe un valore di E-score alto e corrispondono alla classe "biogenesi ribosomale"; mentre nel secondo esempio sono rappresentati i geni corrispondenti a mutanti con fenotipo resistente al trattamento della nistatina: la categoria identificata rappresenta la "biogenesi della parete cellulare".

Dall'analisi dei processi di GO si evidenzia come differenti processi metabolici sono impiegati per modulare la risposta al trattamento con il 5fluorouracile e la nistatina.

Dai risultati fenotipici ottenuti a seguito del trattamento con il 5FU è stato possibile identificare specifiche categorie funzionali. Nel caso di mutanti con fenotipo resistente alla molecola, i corrispondenti geni sono stati classificati nelle seguenti categorie funzionali: crescita polarizzata (45%); apparato del Golgi (25%); lipoproteine e folding proteico (13%) e metabolismo di amminoacidi, glicina, serina e treonina (4%). Mentre, i geni corrispondenti a mutanti con fenotipo sensibile al 5FU sono stati classificati in altre categorie funzionali: regolazione della trascrizione (37%); ciclo cellulare (18%); biogenesi ribosomale (11%); metabolismo delle protein-chinasi (10%); processi di omeostasi ed organizzazione cellulare (9%); endocitosi e gluconeogenesi (2%); metabolismo del butanoato e citocromo P450 (1%).

Risultati

Dall'analisi di GO è emerso, infatti, che la maggior parte dei geni corrispondenti a mutanti con fenotipo sensibile ricadono nella categoria funzionale "biogenesi dell'RNA" e "regolazione della trascrizione" (Fig. 22). Appartenendo alla classe dei farmaci antimetaboliti, l'azione del 5FU si basa sull'esercitare un'azione tossica a livello cellulare, inibendo processi biosintetici essenziali come sintesi dell'RNA (Zhao et al. 2006) e del DNA (Schuetz et al. 1986). La biogenesi di entrambi gli acidi nucleici è un processo importante per la cellula, perciò un processo estremamente controllato. Molteplici geni sono coinvolti in esso, come ad esempio i geni appartenenti alla famiglia RPS i quali sono coinvolti nella biogenesi dell'RNA (Venema J and Tollervey D 1999), i geni codificanti per fattori di trascrizione in risposta a stress come YAP1, appartenente alla famiglia AP. Esso permette la trascrizione di un set di geni in risposta a meccanismi di stress ossidativo (Toone WM and Jones N 1999; Temple et al., 2005); infatti il corrispondente mutante nullo in YAP1 è sensibile a qualsiasi tipo di stress ossidativo, al perossido di idrogeno e a qualsiasi altra molecola che altera lo stato di ossidazione cellulare (Schnell, et al., 1992; Wemmie et al., 1994; Lopez-Mirabal et al., 2007). Un altro gene implicato in un meccanismo di risposta allo stress è CST6, il quale codifica per una proteina coinvolta nella regolazione della respirazione in condizioni di bassi livelli di CO₂ (Cottier F. et al. 2012). Tra i diversi geni identificati dal processo di screening è emersa una categoria che sono coinvolti in meccanismi di stress generalizzato tra cui: geni codificanti per proteine implicate nel riparo dei danni al DNA (MSH1, MSH2, membri della famiglia RAD), geni codificanti per proteine coinvolte nel meccanismo di degradazione proteica (proteine UBC) e prodotti genici codificati da geni coinvolti nel mantenimento degli istoni (NHP6, DOT1, GCN5, ASF1, HHP2, HHP1). Dopo aver analizzato i risultati ottenuti, è possibile mettere in relazione il meccanismo d'azione del 5FU all'interno di cellule con il fenotipo dei mutanti osservato: oltre ai geni coinvolti nella biogenesi di RNA e DNA, il 5FU esercita un'azione anche a livello di geni che sono implicati in pathway di risposta generalizzata ad uno stress.

Analizzando i geni assenti in mutanti con fenotipo resistente al 5FU, si può evidenziare che la maggior parte ricadono nella categoria "crescita polarizzata". Considerando i singoli geni, essi sono coinvolti principalmente nella regolazione sia delle dimensioni cellulari sia degli organelli in particolar modo del vacuolo. Il vacuolo svolge diverse funzioni tra cui quella di stoccaggio e riserva di molecole presenti nella cellula tra cui ioni e metaboliti secondari. La possibile spiegazione di un fenotipo resistente da parte di alcuni mutanti risiede nella funzione del vacuolo in condizioni di stress cioè quella di immagazzinare il 5FU nella cellula evitando che esso possa compromettere alcuni

Risultati

processi biosintetici. è importante evidenziare diversi processi di cui ad oggi non è stata ancora identificata un'associazione con il meccanismo del 5FU.

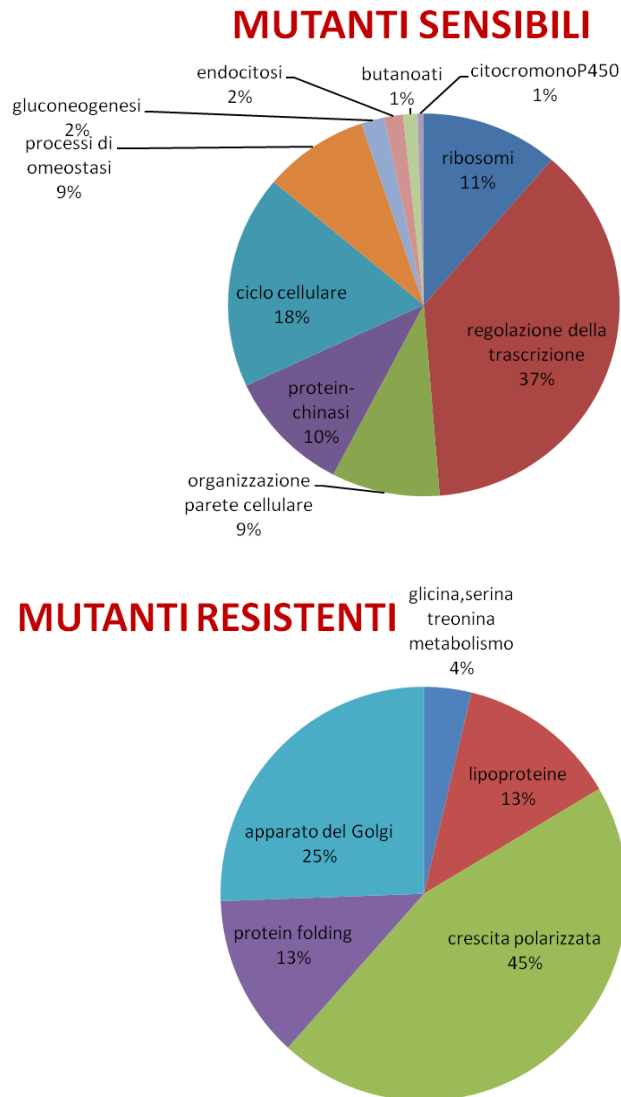


Figura 22 Mutanti sensibili: Rappresentazione delle diverse categorie funzionali dei geni corrispondenti ai mutanti con fenotipo sensibile al 5FU: regolazione della trascrizione (37%), ciclo cellulare (18%), biogenesi ribosomale (11%), processi di omeostasi e organizzazione della parete cellulare (9%); endocitosi e gluconeogenesi (2%), metabolismo dei butanoati e citocromo P450 (1%). Mutanti resistenti: Rappresentazione delle diverse categorie funzionali dei geni corrispondenti ai mutanti con fenotipo resistente al 5FU: crescita polarizzata (45%), apparato del Golgi (25%), lipoproteine e folding proteico (13%) e metabolismo della glicina, serina e treonina (4%).

Risultati

La nistatina è un farmaco fungicida molto studiato per la sua elevata tossicità in cellule fungine. Il suo meccanismo d'azione si svolge a livello della parete del fungo provocando la formazione di pori e alterando la permeabilità delle membrane. Questo determina un'alterazione del bilancio osmotico provocando infine la morte della cellula (Agatha et al. 2003).

A seguito dello screening effettuato sulla collezione di mutanti, è stato possibile identificare diverse categorie funzionali : biogenesi della parete cellulare (44%); biogenesi dei ribosomi (21%); trasduzione del segnale (16%); ciclo degli acidi tricarbossilici (13%); biogenesi degli sfingolipidi (6%) Altri processi, come la biogenesi dei ribosomi (21%); glicolisi (15%); endocitosi e metabolismo del piruvato (11%); metabolismo dei pentoso-fosfati (9%); metabolismo di serina, glicina e treonina (7%); metabolismo degli amminoacidi aromatici e degli acidi grassi (6%); metabolismo degli sfingolipidi (4%); metabolismo della vitamina B6 (3%); metabolismo dell'ubiquinone (2%), sono associati ad un fenotipo sensibile di diversi mutanti (Fig. 23).

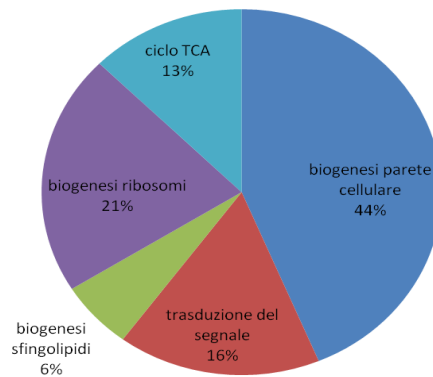
La presenza di 44% dei geni all'interno della categoria funzionale "biogenesi della parete cellulare" tende a mettere in risalto il meccanismo della nistatina; infatti l'identificazione di mutanti resistenti all'azione di un farmaco antifungino è un interessante risultato. L'assenza di uno specifico gene viene correlata non solo con il fenotipo del mutante, ma anche con l'identificazione di possibili target cellulari del farmaco. I geni come ad esempio GAS2 (1,3 beta-glucanosiltransferasi) coinvolto nel mantenimento della parete cellulare (Nuoffer C et al., 1991; Hamada K et al., 1999); CDC10 (gene codificante per la septina) implicato nel processo di citochinesi (Hartwell LH 1971); DCW1 (mannosidasi putativa) presente nel processo di biogenesi cellulare (Kitagaki H et al., 2002) rappresentano categorie metaboliche molto importanti essenziali durante il processo di crescita e divisione cellulare. Il fenotipo dei corrispondenti mutanti (resistente) può far supporre che i geni deleti potrebbero essere tra i target del farmaco: la loro assenza non permette alla nistatina di interagire a livello delle membrane cellulari e quindi evitare il suo ingresso all'interno della cellula.

Come mostra anche la Fig. 23b, i processi metabolici che vengono alterati dall'azione del farmaco sono molteplici ma è importante sottolineare come i mutanti per i geni coinvolti nel mantenimento del pH intracellulare (VMA1) (Hirata R et al. 1990), organizzazione del vacuolo (VMA10) (Supekova L et al. 1995) e biogenesi dei perossisomi (PEX1) (Brown LA and Baker A 2003) mostrano un fenotipo sensibile alla nistatina. Questo risultato è interessante in quanto la nistatina dopo aver agito a livello dei propri target sulla membrana, all'interno della cellula può agire bloccando diversi altri pathway metabolici. L'identificazione di svariate categorie funzionali

Risultati

potrebbe essere utile per identificare gli ulteriori possibili altri target della molecola considerati secondari.

MUTANTI RESISTENTI



MUTANTI SENSIBILI

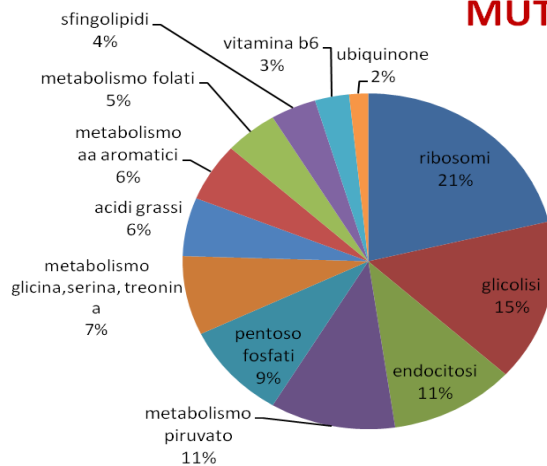


Figura 23 Mutanti resistenti: Rappresentazione delle diverse categorie funzionali dei geni corrispondenti ai mutanti con fenotipo resistente alla nistatina: biogenesi della parete cellulare (44%), biogenesi dei ribosomi (21%), trasduzione del segnale (16%), ciclo degli acidi tricarbossilici (13%); biogenesi degli sfingolipidi (6%). b) Mutanti sensibili alla nistatina: Rappresentazione delle diverse categorie funzionali dei geni corrispondenti ai mutanti con fenotipo sensibile: biogenesi dei ribosomi (21%), glicolisi (15%), endocitosi e metabolismo del piruvato (11%); metabolismo della glicina, serina e treonina (7%); metabolismo degli amminoacidi aromatici e degli acidi grassi (6%); metabolismo dei folati (5%); biogenesi degli sfingolipidi (4%); metabolismo della vitamina B6 (3%); metabolismo dell'ubiquinone (2%).

Identificazione di pathway

Dopo aver valutato le categorie funzionali mediante GO, DAVID v.6.7 ha permesso di identificare specifici pathway. Per effettuare questo tipo di analisi il software sfrutta le informazioni contenute in KEGG e in BioCarta, per stabilire i pathway più significativi che risultano essere coinvolti nella risposta ad entrambe le molecole tossiche

5fluorouracile

BIOGENESI RIBOSOMALE

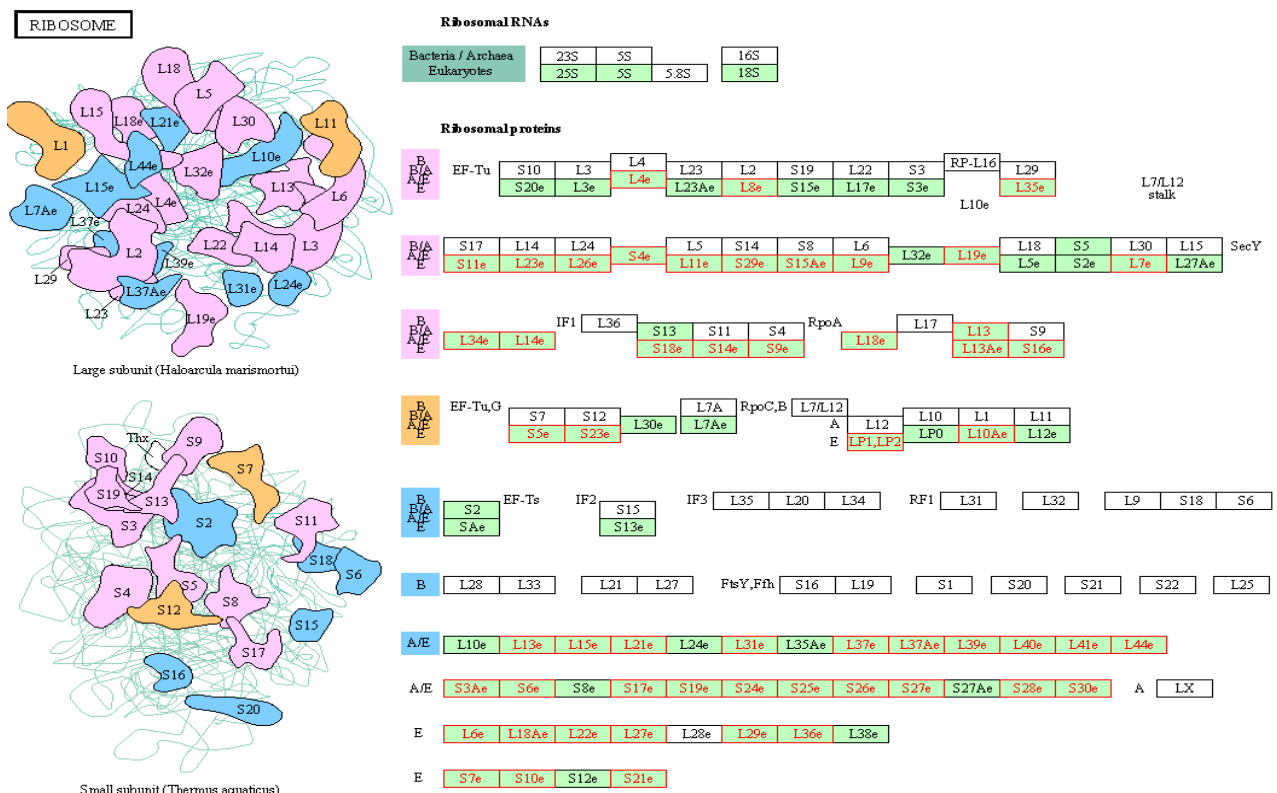


Figura 24 Identificazione di geni coinvolti nella biogenesi ribosomale. I geni identificati con il colore rosso, sono quelli che corrispondono a mutanti con fenotipo sensibile. Essi fanno parte sia della sub unità minore sia maggiore degli RNA eucarioti.

METABOLISMO DEI PENTOSO FOSFATI

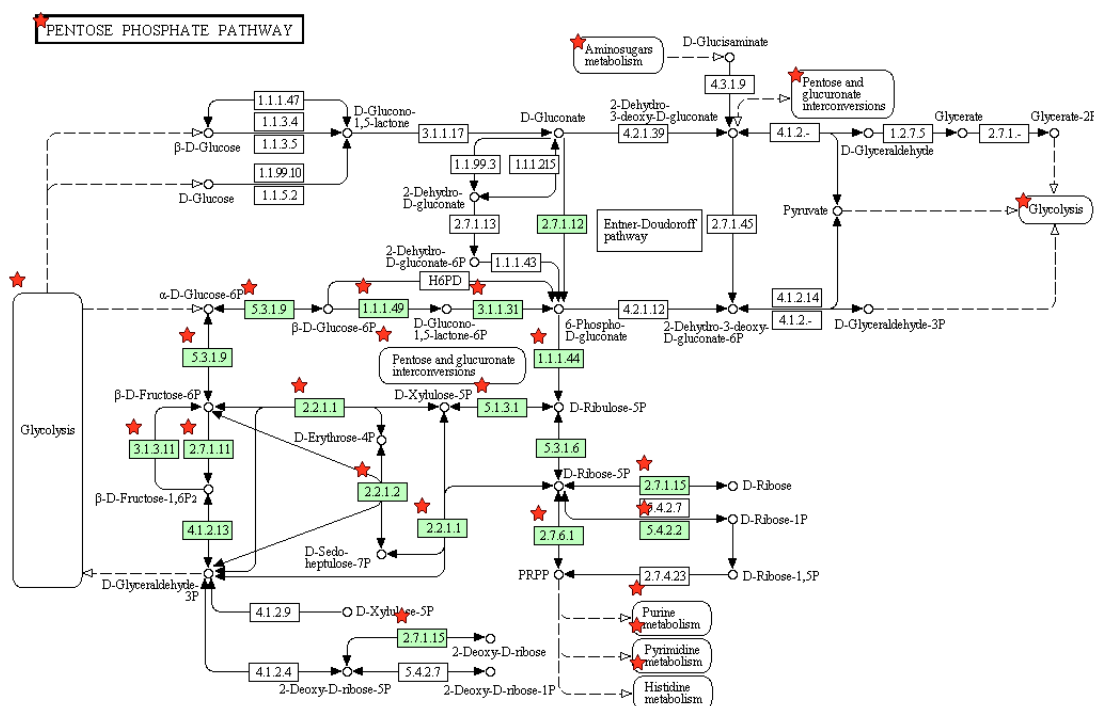


Figura 25 Identificazione dei geni implicati nel metabolismo dei pentoso fostati, corrispondenti a mutanti con fenotipo sensibile al trattamento. E' possibile evidenziare come i geni inseriti nel software vengono collocati in punti chiave del metabolismo dei pentoso fostati; essi sono coinvolti in diversi processi metabolici quali glicolisi, metabolismo di purine, pirimidine e istidina.

In Fig 24 ed 25, vengono indicati i geni che risultano coinvolti in pathway importanti per la sopravvivenza cellulare. In Fig.24 è indicato il pathway della biogenesi ribosomale: in rosso sono evidenziati i geni identificati a seguito dello screening. Sono geni che codificano per proteine presenti in entrambe le subunità. Un'evidenza dei bersagli molecolari del 5FU è stata riportata in uno studio condotto da Itahana e i suoi collaboratori; in tal caso viene messo in evidenza il legame tra la biogenesi degli rRNA e il controllo del ciclo cellulare mediato da proteine oncosoppressori, ARF (Itahana et al. 2003; Ruggero and Pandolfi 2003). Un'ulteriore conferma dei risultati ottenuti mediante questo tipo di approccio proviene da uno studio volto ad identificare l'azione citotossica del 5FU e di altre molecole tossiche in cellule di lievito; mediante uno screening di una collezione di ceppi eterozigoti (Giaever et al, 2004; Lum et al, 2004). Da questa analisi è emerso che sette geni coinvolti nella biogenesi ribosomale della subunità 60s e processamento dell'rRNA conferiscono sensibilità ai ceppi mutati. I geni identificati sintetizzano proteine che fanno parte dell'esosoma

Risultati

nucleare implicato nella biogenesi di rRNA e sn / snoRNA, nella degradazione di mRNA aberrante, rRNA, sn / snoRNA e tRNA (Butler et al. 2002;. Houseley et al 2006).

Nel secondo caso, diversi geni sono stati collocati all'interno del pathway dei pentoso fostati: i geni identificati a seguito dello screening e analisi di GO sono evidenziati con il colore rosso in Fig.25. Come si può notare, tutti i geni evidenziati codificano per proteine coinvolte in processi metabolici essenziali per la sopravvivenza cellulare come: glicolisi, metabolismo di purine, pirimidine, metabolismo degli amminozuccheri ed interconversione di pentosi e glucuronato. I mutanti mancanti di questi geni mostrano un fenotipo sensibile al 5FU. Ad oggi non ci sono evidenze sperimentali del coinvolgimento di questi pathway in risposta al trattamento con il 5FU ma il fenotipo dei mutanti può essere sfruttato per studiare i singoli geni ed eventualmente identificare nuovi target molecolari del farmaco.

Nistatina

METABOLISMO DEGLI SFINGOLIPIDI

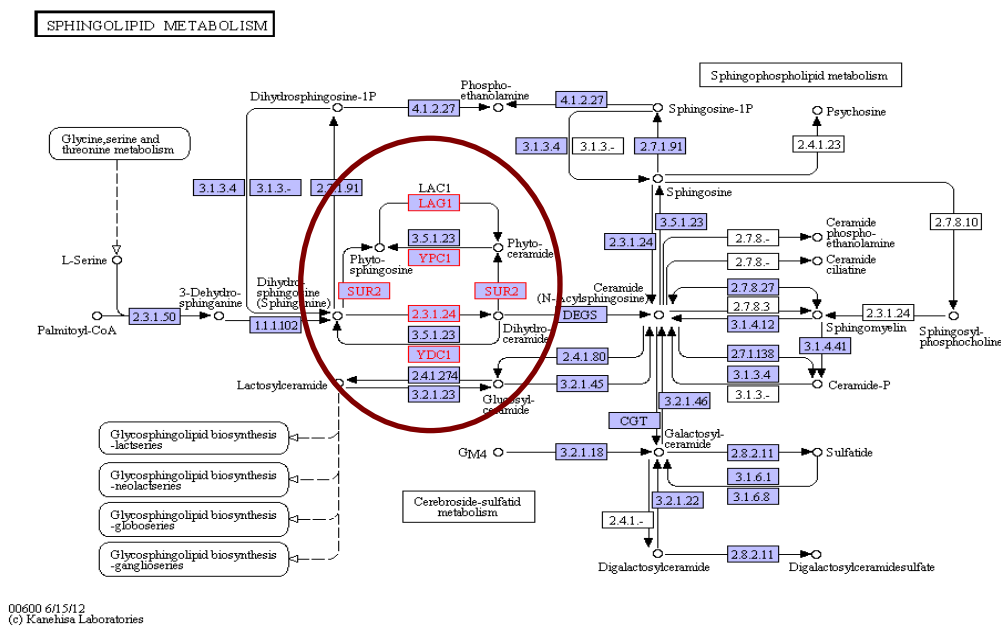


Figura 26 Identificazione dei geni implicati nel metabolismo degli sfingolipidi. All'interno del cerchio sono evidenziati in rosso i geni ottenuti dall'analisi di GO corrispondenti a mutanti con fenotipo resistente. Sono geni essenziali per la sintesi degli sfingolipidi nonché target preferenziali della molecola.

METABOLISMO DEL PIRUVATO

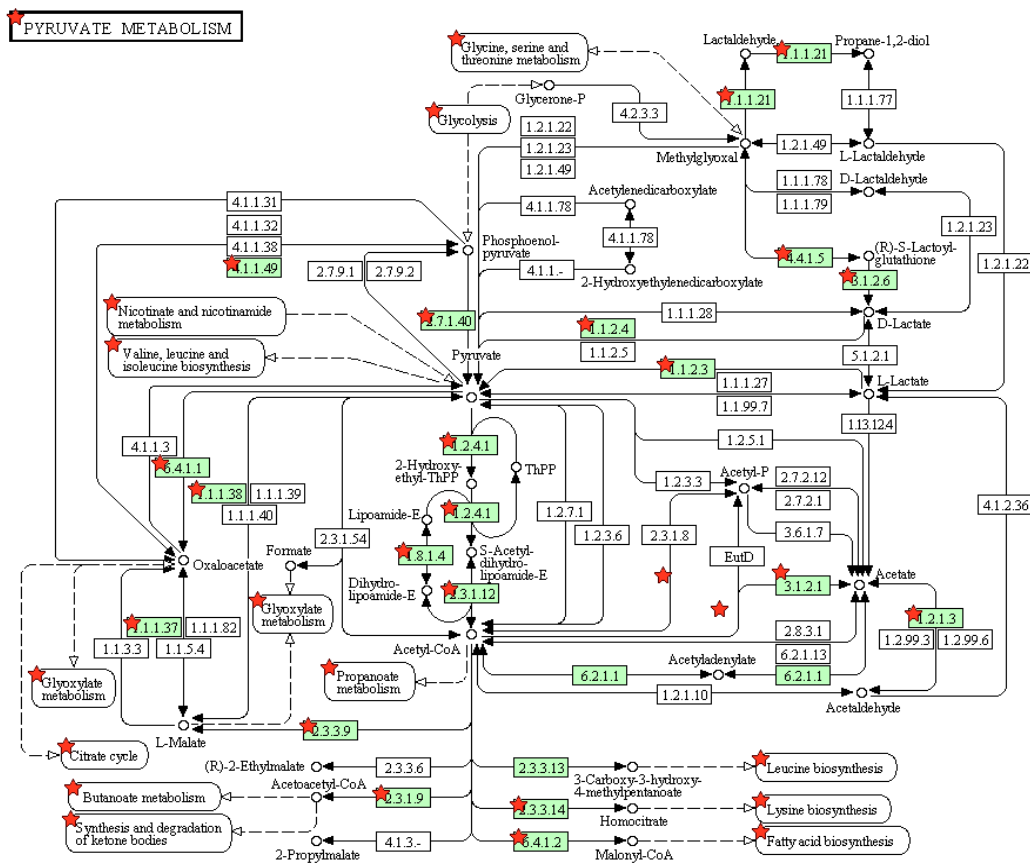


Figura 27 Identificazione dei geni implicati nel metabolismo del piruvato. I geni evidenziati in rosso appartengono a mutanti con fenotipo sensibile al trattamento. Tutti i geni identificati rivestono ruoli importanti nello svolgimento di differenti pathway biosintetici, quali metabolismo degli amminoacidi, biogenesi degli acidi grassi, metabolismo di nicotinammide e nicotinato, metabolismo del gliossilato, metabolismo dell'acido citrico, metabolismo del butanoato e sintesi e degradazione dei corpi chetonici.

Come si può evincere dalle Fig 26 e 27 vengono mostrati i pathway più significativi dell'effetto tossico della nistatina nelle cellule di lievito. In Fig. 26 viene mostrato il pathway della biogenesi degli sfingolipi: i geni evidenziati in rosso sono quelli identificati mediante le analisi effettuate. Il pathway mostra come le proteine codificate da tali geni sono enzimi che giocano un ruolo chiave all'interno del pathway, poiché permettono la sintesi di diverse glicoproteine e sfingolipidi (Dickson et al., 2002). Il risultato ottenuto viene perciò messo in relazione con il meccanismo d'azione della

Risultati

nistatina, infatti è noto che la molecola si lega sulle membrane cellulari a livello dell'ergosterolo presente in essa (Agathe et al., 2003). A supportare di questa ipotesi esiste uno studio di analisi di profili di espressione condotto su lievito *Saccharomyces cerevisiae* in presenza di nistatina e anfotericina B (Zhang et al. 2002). Lo studio dimostra che in presenza di entrambi gli antifungini un gruppo di geni coinvolti nella sintesi di ergosterolo vengono indotti indicando che la membrana cellulare e la parete cellulare sono interessate dalla presenza degli antibiotici polienici (Zhang et al., 2003). Il fenotipo dei mutanti identificati a seguito delle analisi è risultato essere resistente: la possibile spiegazione è riconducibile al meccanismo d'azione della nistatina e ai suo target preferenziali d'azione.

In Fig. 27, si possono osservare, evidenziati in rosso, alcuni geni corrispondenti a mutanti con fenotipo sensibile. Si tratta di geni implicati in differenti processi metabolici come metabolismo degli amminoacidi, biogenesi degli acidi grassi, metabolismo di nicotinammide e nicotinato, metabolismo del glicosilato, metabolismo dell'acido citrico, metabolismo del butanoato e sintesi e degradazione dei corpi chetonici. Questo risultato vuole mettere in evidenza l'azione citotossica della nistatina nella cellula di lievito. La nistatina è un farmaco polienico estremamente tossico per le cellule fungine; a seguito del suo ingresso nella cellula, la nistatina si pensa che possa interferire con molteplici pathway metabolici, essenziali per la sopravvivenza cellulare. Si può supporre che essa non solo agisca a livello delle membrane cellulari, ma provochi l'alterazione di svariati processi biosintetici. Dunque, il fenotipo sensibile dei mutanti può essere determinato dall'assenza di geni essenziali per la sopravvivenza cellulare in condizioni di stress.

Analisi di interazione

Utilizzando il Network Visualization System Osprey (disponibile al sito <http://biodata.mshri.on.ca/osprey/servlet/Index>), i geni ritrovati nelle diverse categorie funzionali ottenute mediante il trattamento con le molecole tossiche, sono stati organizzati in subnetwork di interazione funzionale.

Il software permette di identificare e rappresentare graficamente le interazioni biologiche (genetiche e fisiche; database BIOGRID <http://www.thebiogrid.org/index.php>) che caratterizzano i geni di interesse

I network funzionali sono stati definiti mediante un minimo di tre prodotti genici considerati interattori che condividono almeno un processo biologico annotato e connessi mediante interazioni o

Risultati

fisiche (two-hybrid, affinity capture-western, affinity capture-MS o reconstituted complex) o genetiche (synthetic lethality, synthetic growth defect, synthetic rescue, dosage rescue, phenotypic suppression, or phenotypic enhancement).

Il rationale di tale approccio computazionale è che le interazioni spesso avvengono tra geni correlati funzionalmente e simili pattern di interazione tendono a identificare componenti appartenenti allo stesso processo cellulare (Breitkreutz et al. 2002).

Sono state condotte analisi di interazione funzionale per i geni presenti nelle varie categorie identificate mediante GO.

5fluorouracile

Per ottenere più informazioni del meccanismo di tossicità del 5FU ed il modo con cui i diversi meccanismi interagiscono tra loro, si è scelto di analizzare i geni ottenuti dall'analisi funzionale mediante un approccio di interattomica (Fig. 28).

Di seguito vengono riportati alcuni esempi dei risultati ottenuti da tali analisi. I geni appartenenti alla categoria funzionale "metabolismo dei pentoso fosfati" (raffigurati in blu), corrispondenti a mutanti con fenotipo sensibile al 5fluorouracile, si comportano da interattori nei confronti di altri geni appartenenti ad altre diverse categorie funzionali, come biogenesi ed organizzazione cellulare, metabolismo dei carboidrati, fosforilazione amminoacidica e proteica, trasduzione del segnale, trasporto proteico, risposta allo stress e categoria funzionale ancora non nota (Fig. 28a).

Mediante questo tipo di analisi è possibile mettere in evidenza anche i geni che effettuano un elevato numero di interazioni con altri geni appartenenti ad altre categorie funzionali, come ad esempio: PFK1 (fosfofruttochinasi-2); SOL2 (proteina con possibile funzione nel trasporto di tRNA), HSP82 (proteina di risposta allo stress ad alto peso molecolare).

HSP82effettua interazioni con diversi geni appartenenti a svariate categorie funzionali come fosforilazione di proteine ed amminoacidi, trasporto proteico, trasporto, organizzazione e biogenesi cellulare e sintesi proteica. In *S. cerevisiae*, la HSP90 esiste in due isoforme, codificate dai geni HSC82 e HSP82 (Borkovich et al.1989). La proteina HSP90 è coinvolta principalmente nel folding proteico (Nathan et al 1997). HSP82 e HSC82 mostrano circa il 97% di identità di sequenza e, insieme, entrambe le proteine codificate comprendono 1-2% di tutte le proteine presenti nel citosol. Mentre HSC82 è espresso costitutivamente a livelli elevati e solo leggermente indotta da shock termico, la trascrizione di HSP82 è fortemente indotta dal calore e lo stress (Borkovich et al 1989). Perciò la complessa rete di interazioni di cui HSP82 fa parte si può interpretare considerando che la

Risultati

risposta ad uno stress, come può essere il trattamento con una molecola tossica, determina il coinvolgimento di molti pathway metabolici.

La maggior parte delle proteine destinate alla degradazione all'interno dei corpi multivescicolari (MVB) sono ubiquitinate; esse passano attraverso i complessi ESCRT coinvolti nel meccanismo di trasporto a livello endosomiale. Il complesso ESCRT II (composto da Snf8p, Vps25p, e Vps36p) è un complesso citoplasmatico di 155-kDa che si associa con gli endosomi e sembra regolare la formazione di ESCRT III (Did4p, Snf7p, Vps20p e Vps24p) (Babst et al 2002). La presenza di interazioni tra i geni coinvolti in questo processo, SNF8, VPS25, VPS24, con il gene HSP82 permette di ipotizzare il meccanismo di degradazione e di sopravvivenza al 5FU (Fig. 34).

Dall'analisi di interazione, Fig. 27, si evidenzia che il gene SOL2 è collegato a diverse categorie funzionali tra cui: trasporto proteico; fosforilazione amminoacidica e proteica e organizzazione cellule e biogenesi. Questo risultato si correla con l'attività che la proteina codificata da questo gene svolge all'interno della cellula. SOL2 in lievito, fa parte di una famiglia che si compone di diversi membri che hanno funzioni biochimiche distinte e che hanno diverse localizzazioni subcellulari (Stanford et al. 2004; Huh et al. 2003).

Il gene SOL2 codifica per una proteina che si pensa possa essere coinvolta nel trasporto dei tRNA, come è stato verificato in alcuni studi su mutanti di lievito *S.cerevisiae* (Stanford et al. 2004) ed ha una similarità con il dominio non catalitico dell'enzima 6- fosfogluconolattosasi. I mutanti deleti in tale gene sono vitali, mostrano una discreta attività dell'enzima 6-fosfogluconolattosasi ed hanno elevati livelli di tRNA, evidenziando un difetto nel trasporto di queste molecole dal nucleo (Stanford et al., 2004). Dall'analisi di interazione, Fig. 27, si evidenziano le principali categorie funzionali che interagiscono con il gene SOL2: trasporto proteico; fosforilazione amminoacidica e proteica e organizzazione cellule e biogenesi.

Questo tipo di analisi è importante anche per identificare nuovi interattori-genici che ancora non sono stati catalogati da un punto di vista funzionale. In Fig.27b, vengono rappresentate tutte le possibili interazioni che i geni appartenenti alla classe "metabolismo" (raffigurati in blu), corrispondenti a mutanti con fenotipo resistente al 5FU, possono effettuare. In tal caso si può notare come la maggior parte dei geni inseriti nel software effettuano interazioni tra loro, anche se si ritrovano poche altre categorie come: degradazione proteica, metabolismo dei carboidrati, trasporto proteico, fosforilazione proteica ed amminoacidica, sintesi di proteine, risposta allo stress e una categoria funzionale non ancora caratterizzata. A quest'ultima appartengono la maggior parte degli interattori dei geni identificati.

Risultati

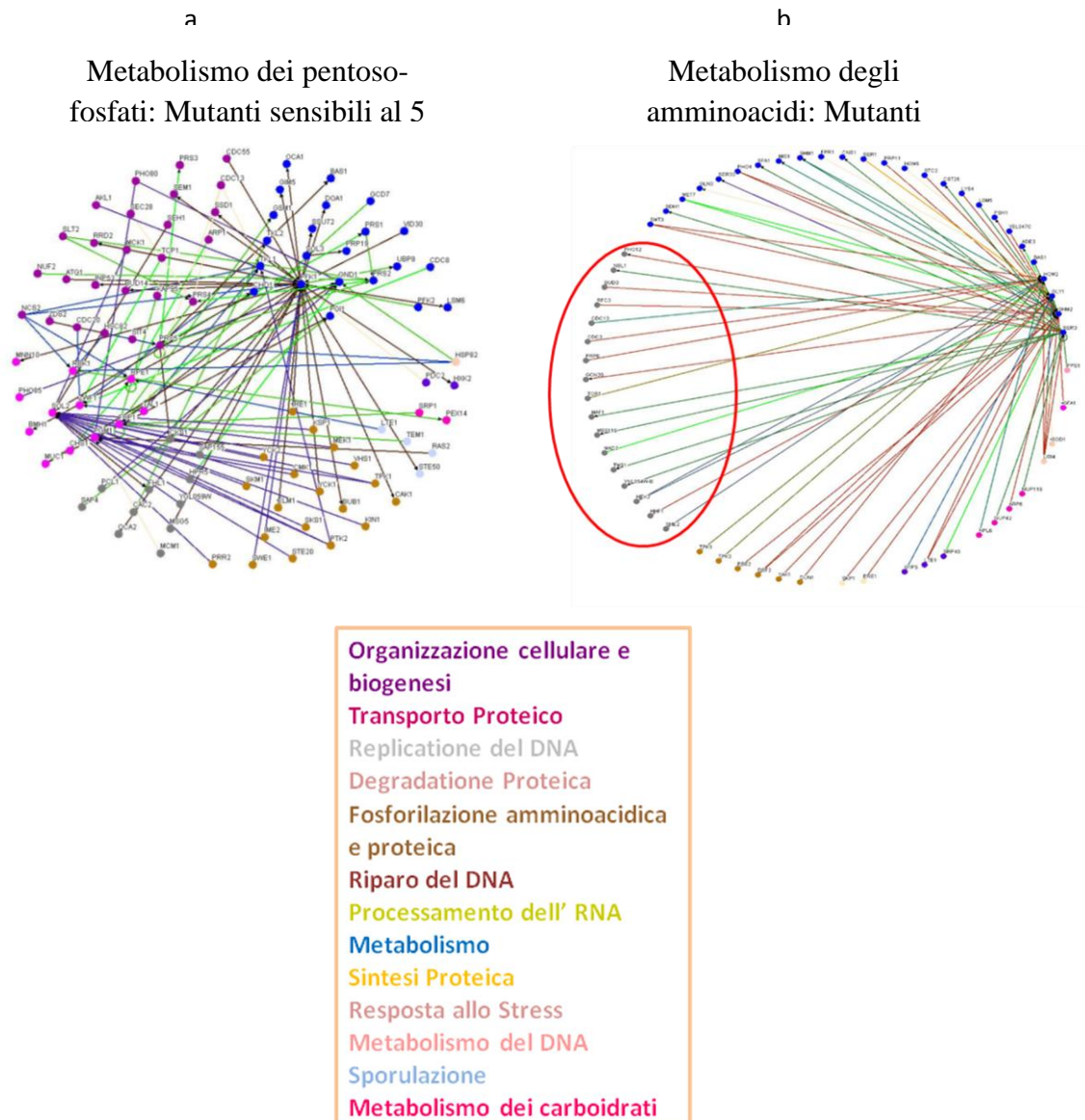


Figura 28 a) mappa di interazione dei geni corrispondenti a mutanti con fenotipo sensibile presenti nella categoria funzionale “metabolismo dei pentoso fosfati”. Nella mappa si mettono in risalto anche altre categorie funzionali coinvolte, come: biogenesi ed organizzazione cellulare, metabolismo dei carboidrati, fosforilazione amminoacidica e proteica, trasduzione del segnale, trasporto proteico, risposta allo stress e categoria funzionale ancora non nota. b) mappa di interazione dei geni corrispondenti a mutanti con fenotipo resistente appartenenti alla categoria funzionale “metabolismo degli amminoacidi”. Dalla mappa è possibile notare come la maggior parte delle interazioni i geni li effettuano tra loro, anche se sono presenti altre categorie funzionali come degradazione proteica, metabolismo dei carboidrati, trasporto proteico, fosforilazione proteica ed amminoacidica, sintesi di proteine, risposta allo stress e una categoria funzionale non ancora caratterizzata. Nel cerchio rosso si possono ritrovare diversi geni non ancora identificati da un punto di vista funzionale che mediano molte interazioni con i geni oggetto di studio: in tal caso questo tipo di studio può essere di supporto per la caratterizzazione di geni ancora non catalogati.

Risultati

Nistatina

In accordo con le analisi di GO effettuate, l'importante correlazione tra metabolismo, trasporto, biogenesi ed organizzazione cellulare viene sottolineato dalla presenza e dall'abbondanza dei geni interconnessi tra loro presenti nei subnetwork evidenziati in Fig.29. Questi gruppi funzionali comprendono al loro interno diversi componenti del metabolismo degli sfingolipidi, assemblaggio di ascospore, componenti strutturali della parete, cofattori di processi catabolici e regolatori di attività trascrizionali.

La presenza di diversi geni implicati in pathway di sintesi della parete cellulare è un risultato che conferma le analisi effettuate mediante GO. Gli sfingolipidi sono componenti essenziali della membrana plasmatica in tutte le cellule eucariotiche. Le cellule di *S. cerevisiae* sintetizzano tre complessi di sfingolipidi: inositolo-phosphoceramide (IPC), mannosio-inositolo-phosphoceramide (MIPC), e-mannosio (inositolo fosfato) 2-ceramide (M (IP) 2C) Il gene SUR 2 è coinvolto nella sintesi di acidi grassi, infatti il suo prodotto genico è una proteina in grado di convertire la diidrosfingosina in fitosfingosina. La formazione di questi complessi è regolata dall'attività di alcuni geni importanti come LAC1 e LAG1 i quali sintetizzano delle ceramide sintasi che convertono il fitosfingoside in ceramide che serve per completare la sintesi degli acidi grassi a lunga catena (Dickinson et al. 2002).

E' stato dimostrato che gli intermedi della biosintesi degli sfingolipidi svolgono un ruolo importante come molecole di segnalazione e regolatori di crescita (Dickinson et al. 2002). Gli sfingolipidi a lunga catena (LCBs), diidrosfingosina (DHS) e fitosfingosina (PHS), sono considerati come messaggeri secondari implicati in vie di segnalazione che regolano la risposta allo stress termico (Jenkins et al., 1997; Ferguson-Yankey et al., 2002). Altri intermedi, come la fitoceramide, si è dimostrato che fanno parte del complesso ceramide / LCB, che regola la crescita cellulare (Kobayashi et al., 2003).

Dalla mappa di interazione, è possibile ritrovare alcuni geni, come LCB4 e DPL1, che appartengono a due differenti categorie funzionali, ma che effettuano molteplici interazioni con geni presenti nella categoria "biogenesi della parete". Infatti, è noto che entrambi i geni codificano per proteine coinvolte nello stesso pathway metabolico (Dickinson et al., 2002).

Nel caso di geni catalogati come appartenenti alla categoria funzionale "metabolismo degli amminoacidi" (rappresentati in blu) è possibile identificare dalla mappa d'interazione che la maggior parte di interazioni vengono effettuate all'interno della stessa categoria. Sono presenti altri interattori appartenenti ad altre categorie funzionali principali come organizzazione e biogenesi cellulare,

Risultati

sintesi proteica, fosforilazione amminoacidica e proteica, trasporto proteico e degradazione proteica. La nistatina determina un fenotipo sensibile in mutanti deleti in geni coinvolti nel metabolismo degli amminoacidi: questo risultato sottolinea il meccanismo di risposta generalizzata da parte della cellula quando è sottoposta ad uno stress.

Risultati

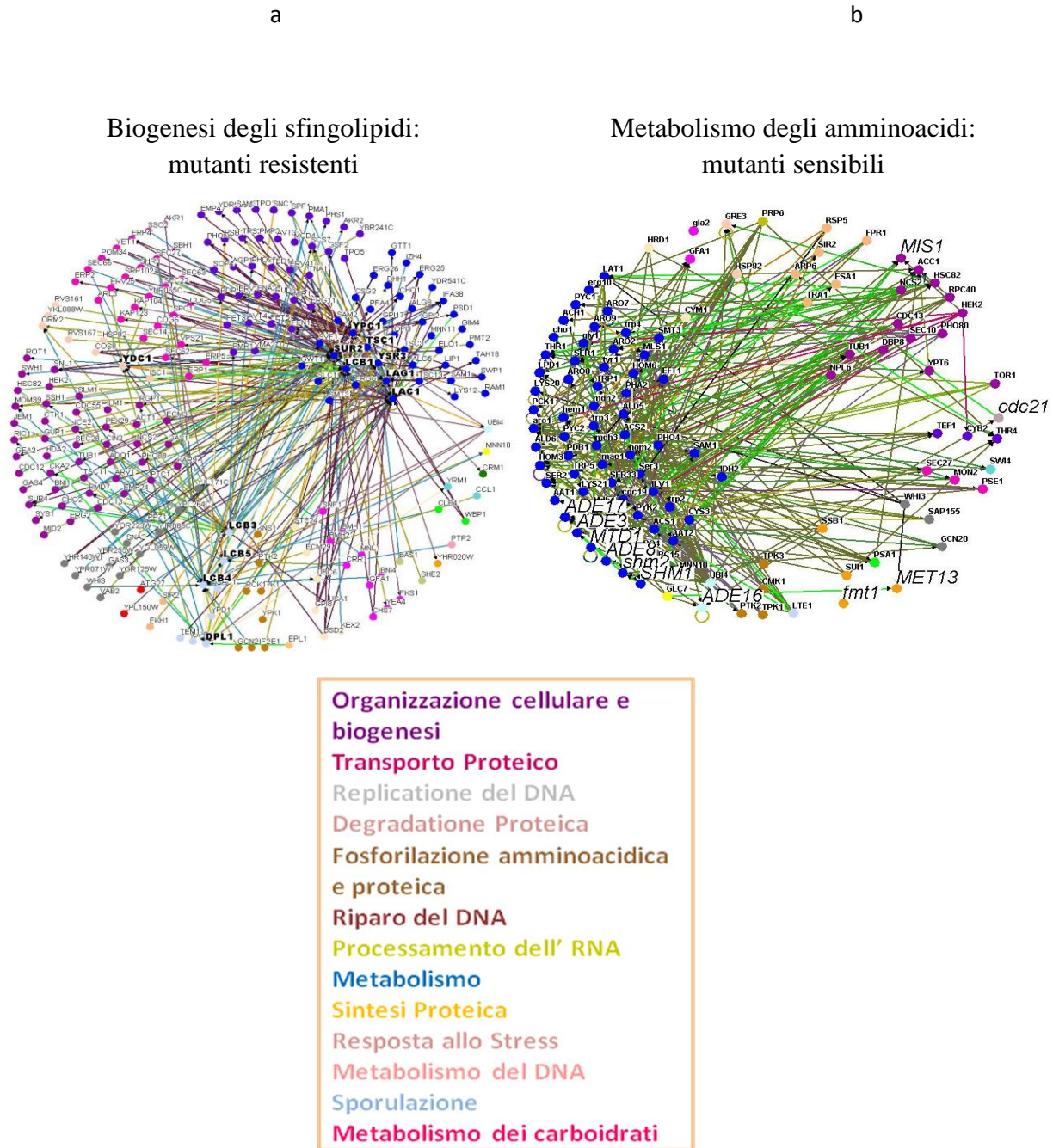


Figura 29 a) mappa di interazione dei geni corrispondenti a mutanti con fenotipo resistente presenti nella categoria funzionale “biogenesi degli sfingolipidi”. Nella mappa si mettono in risalto anche altre categorie funzionali coinvolte, come organizzazione e biogenesi cellulare, trasporto proteico, degradazione proteica, fosforilazione amminoacidica e proteica, sporulazione, risposta allo stress, metabolismo dei carboidrati e metabolismo del DNA. b) mappa di interazione dei geni corrispondenti a mutanti con fenotipo sensibile appartenenti alla categoria funzionale “metabolismo degli amminoacidi”. Dalla mappa è possibile notare come la maggior parte delle interazioni i geni li effettuano tra loro, anche se sono presenti altre categorie funzionali come organizzazione e biogenesi cellulare, sintesi proteica, fosforilazione amminoacidica e proteica, trasporto proteico e degradazione proteica.

Risultati

Ricerca geni omologhi in altre specie

Le analisi bioinformatiche precedentemente descritte, sono servite non solo per classificare da un punto di vista funzionale i geni ottenuti a seguito dello screening, ma anche per selezionare un set di geni che siano predittivi dell'effetto tossico di entrambe le molecole.

Le funzioni geniche interrotte per effetto della mutazione potrebbero quindi rappresentare i target diretti o indiretti dell'azione o del 5FU o della nistatina. E' stata quindi condotta un'analisi volta all'individuazione dei geni omologhi in uomo (*Homo sapiens*), al fine di individuare i geni candidati per l'analisi dei profili trascrizionali, mediante Real-Time PCR. Infatti, alcuni geni possono corrispondere a funzioni presenti solo in lievito, e quindi non è possibile trovare il gene corrispondente in altri organismi. A tale proposito è stato utilizzato il software disponibile on-line "Panther Classification System" (<http://www.pantherdb.org/>) (Mi et al.2012).

In tabella 7 e 8 sono mostrati i geni selezionati per le analisi in riferimento sia la trattamento di 5FU e di nistatina.

Tabella 7: Elenco dei geni umani ortologi a quelli di lievito e relative caratteristiche. Tali geni sono stati estrapolati dalle analisi di GO effettuate mediante approcci bioinformatici a seguito dello screening della collezione con il 5FU.

GENE LIEVITO	ORF	GENE UOMO	FUNZIONE IN LIEVITO	GENE ONTOLOGY	PATHWAY IN LIEVITO
ADH4	YGL256W	ADH4	alcool deidrogenasi 4	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	metabolismo carboidrati
ADH5	YBR145W	ADH5	alcool deidrogenasi 5	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	metabolismo carboidrati
ADH7	YCR105W	ADH7	alcool deidrogenasi 7	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	metabolismo carboidrati
ENO1	YGR254W	ENO1	enolasi 1	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	metabolismo carboidrati
FBP1	YLR377C	FBP1	fruttosio-1,6 bisfostato	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	metabolismo carboidrati
FPR1	YNL135C	FPR1	isomerasi	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	ciclo cellulare
PCK1	YKR097W	PCK1	fosenolpiruvato carbossichinasi	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	gluconeogenesi
PGM1	YKL127W	PGM1	fosfoglucomutasi	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	catabolismo del galattosio
	YDR183W	PHGDH	proteina putativa simile all'idrossiacido-deidrogenasi	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	
TAL1	YOL006C	TAL1	transaldolasi	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	shunt pentoso-fosfati
S ET1	YJL036W	MLL	istone-lisina-N acetiltransferasi	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	componente del complesso compass

Risultati

BMH2	YDR399W	YWHAZ	controllo del proteoma	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	controllo del proteoma
HPT1		HPRT1	ipoxantina-guanina fosforibosiltransferasi	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	biogenesi delle purine
ARF3	YOR094W	ARF3	fattore 3 di ribosilazione ADP dipendente	GO:0035556 segnale di trasduzione intracellulare	trasporto mediato da vescicole
CST6	YIL036W	CST6	fattore di trascrizione (ATF-CREB)	GO:0065003 assemblaggio di macromolecole	trasduzione del segnale
KSP1	YCL024W	CHEK1	serina-treonina-chinasi	GO:0065003 assemblaggio di macromolecole	fosforilazione proteica
KCC4	YBR109C	MARK2	serina-treonina-chinasi	GO:0065003 assemblaggio di macromolecole	fosforilazione proteica
CAMK1	YCR065W	CAMK1	proteina chinasi calcio-calmodulina dipendente	GO:0065003 assemblaggio di macromolecole	fosforilazione proteica
GAD1	YMR250W	GAD1	glutammato decarbossilasi	GO:0009628 risposta a stimoli abiotici	sintesi di amminoacidi
MID2	YLR332W	MID2	recettore transmembrana	GO:0009628 risposta a stimoli abiotici	morfogenesi cellulare e organizzazione della parete
HSP42	YBR169C	CRYAB	heat shock protein	GO:0009628 risposta a stimoli abiotici	riorganizzazione del citoscheletro
SSE2	YBR072W	HSPA4	heat shock protein	GO:0009628 risposta a stimoli abiotici	foolding proteico
HSP26	YPL240C	CRYAA	heat shock protein	GO:0009628 risposta a stimoli abiotici	legame con proteine non foldate
HSP82	YDR059C	HSP90AA1	heat shock protein	GO:0009628 risposta a stimoli abiotici	legame con proteine non foldate
UBC5	YDR099W	UBC	ubiquitina E2	GO:0009628 risposta a stimoli abiotici	poliubiquitinazione proteica
GGA1	YDR358W	GGA1	fattore di ribosilazione ADP-dipendente	GO:0015031 trasporto proteico	endocitosi
VPS74	YBR275C	GOLPH3	proteina vacuolare	GO:0015031 trasporto proteico	trasporto dal golgi al re mediato da vescicole
RTN1	YMR263W	RTN1	proteina del RE	GO:0015031 trasporto proteico	organizzazione del re
SNF8	YJR104C	SNF8	componente del complesso ESCRT-II	GO:0015031 trasporto proteico	trasporto di proteine ubuquitinilate
VPS25	YLR181C	VPS25	proteina vacuolare	GO:0015031 trasporto proteico	componente del complesso escrt-ii
VTA1	YHR082C	VTA1	proteina vacuolare	GO:0015031 trasporto proteico	trasporto di proteine nell'endosoma
AAT2	YLR027C	GOT1	aspartato aminotransferasi	GO:0005829 citosol	metabolismo amminoacidi
VPS24	YJR102C	VPS24	proteina vacuolare	GO:0005829 citosol	trasporto di proteine transmembrana
RPL13A	YBL087C	RPL13A	proteina ribosomale 60s	GO:0005829 citosol	componente strutturale del ribosoma
RPL23A	YFR032C-A	RPL23A	proteina ribosomale 60s	GO:0005829 citosol	componente del ribosoma
RPL29	YKL158C	RPL29	proteina ribosomale 60s	GO:0005829 citosol	componente del ribosoma
RPLP37A	YBR084C-A	RPL35A	proteina ribosomale 60s	GO:0005829 citosol	componente del ribosoma
RPL19A	YGL076C	RPL36A	proteina ribosomale 60s	GO:0005829 citosol	componente del ribosoma
RPL7A	YKL156W	RPL7A	proteina ribosomale 60s	GO:0005829 citosol	componente del ribosoma

Risultati

RPS27A	YDR233C	RPS27A	proteina ribosomale 40s	GO:0005829 citosol	componente del ribosoma
SOD1	YLR354C	SOD1	superossido dismutasi	GO:0005829 citosol	omeostasi del rame e dello zinco
SNX4	YDR171W	SNX1	nexina	GO:0005829 citosol	trasporto golgi
GSC2	YGR032W	GSC2	sintasi 1,3-beta glucano	GO:0000267 frazionamento cellulare	formazione di ascospore
HAT1	YPL001W	HAT1	istone acetil-transferasi	GO:0006342 silenziamento della cromatina	mantenimento della cromatina
IRS4	YKR019C	IRS4	coinvolta nel silenziamento del rDNA	GO:0006342 silenziamento della cromatina	autofagia
MRC1	YCL061C	MRC1	mediatore della replicazione	GO:0006342 silenziamento della cromatina	ciclo cellulare
MSH2	YOL090W	MSH2	riparo dei mismatch del DNA	GO:0006342 silenziamento della cromatina	riparo dei mismatch
MSI1	YBR195C	MSI1	fattore di p50	GO:0006342 silenziamento della cromatina	assemblaggio della cromatina
RIF1	YMR194W	RIF1	controllo dei telomeri	GO:0006342 silenziamento della cromatina	mantenimento dei telomeri
SAP30	YBR037C	SAP30	subunità del complesso dell'istone deacetilasi	GO:0006342 silenziamento della cromatina	deacetilazione degli istoni
SDC1	YER096W	SDC1	subunità del complesso COMPASS	GO:0006342 silenziamento della cromatina	silenziamento della cromatina nei telomeri
TOP1	YJL164C	TOP1	DNA-topoisomerasi I	GO:0006342 silenziamento della cromatina	replicazione del dna
MED11	YMR112C	MED1	subunità mediatore dell'RNA pol II	GO:0006351 trascrizione, DNA dipendente	controllo della trascrizione
HCM1	YHR119W	FOXG1	fattore di trascrizione	GO:0006351 trascrizione, DNA dipendente	regolazione della trascrizione
NFU1	YKL040C	NFU1	proteina mitocondriale	GO:0046872 legame a ioni metallici	omeostasi intracellulare
PER1	YCR044C	PER1	proteina del RE	GO:0046872 legame a ioni metallici	omeostasi cellulare del manganese
PLP1	YDR372C	PLP1	fosfoducina 1	GO:0010033 risposta a sostanze organiche	proteina g
SCO1	YBR024W	SCO1	proteina mitocondriale	GO:0005739 mitocondrio	assemblaggio proteico
SCO2	YDR469W	SCO2	proteina mitocondriale	GO:0005739 mitocondrio	trasporto di ioni rame
SHC1	YDR422C	SHC1	attivatore della sporulazione	GO:0016051 metabolismo carboidrati	formazione di ascospore
SIP1	YPL002C	SIP1	proteina del complesso SNF1	GO:0016310 fosforilazione	fosforilazione proteica
TPK1	YKL041W	TPK1	proteina chinasi cAMP-dipendente	GO:0035556 segnale di trasduzione intracellulare	fosforilazione proteica

Risultati

Tabella 8: Elenco dei geni umani ortologhi a quelli di lievito e relative caratteristiche. Tali geni sono stati estrapolati dalle analisi di GO effettuate mediante approcci bioinformatici a seguito dello screening della collezione con la nistatina.

GENE LIEVITO	ORF	GENE UOMO	FUNZIONE IN LIEVITO	GENE ONTOLOGY	PATHWAY IN LIEVITO
PMD1	YER132C	ABCB1	proteina coinvolta nella risposta a stress alcalino	GO:0030476 assemblaggio ascospore	sporulazione
SUR1	YPL057C	ABCC8	proteina con attività amnosil-transferasica	GO:0006665 metabolismo sfingolipidi	biosintesi sfingolipidi
ABP1	YCR088W	ABP1	proteina che lega l'actina	sh3 domain	assemblaggio actina
ACE2	YLR131C	ACE2	fattore di trascrizione	GO:0022626 ribosoma	ciclo cellulare
INO1	YJL153C	ISYNA1	inositolo 3-fosfato sintasi	GO:0022626 ribosoma	biosintesi dell'inositolo
TIF2	YJL138C	NCOA2	fattore traslazionale di inizio	GO:0022626 ribosoma	risposta a stress
RPL29	YFR032C-A	RPL29	proteina ribosomale 60s	GO:0022626 ribosoma	componente del ribosoma
RPS12	YOR369C	RPS12	proteina ribosomale 40s	GO:0022626 ribosoma	componente del ribosoma
SIN3	YOL004W	ARID4B	coattivatore trascrizionale	GO:0007035 acidificazione vacuolare	deacetilazione degli istoni
ADH1	YOL086C	ADH1A	alcol deidrogenasi 1	GO:0046496 metabolismo nicotinammide	metabolismo carboidrati
ADH2	YMR303C	ADH4	alcol deidrogenasi 2	GO:0046496 metabolismo nicotinammide	metabolismo carboidrati
GPD1	YDL022W	GPD1	glicerolo 3-fosfato deidrogenasi	GO:0046496 metabolismo nicotinammide	ossidazione del NADH
RPN13	YLR421C	ADRM1	proteina che lega l'ubiquitina	GO:0044445 citosol	processo catabolico ubiquitina-dipendente
RPL36A	YMR194W	RPL36A	proteina ribosomale 60s	GO:0005829 citosol	componente del ribosoma
ARF3	YOR094W	ARF3	fattore 3 di ribosilazione ADP dipendente	GO:0035556 segnale di trasduzione intracellulare	trasporto mediato da vescicole
ARL2	YOR094W	ARL13B	proteina ad attività GTP-asica	GO:0010526 regolazione negativa della trasposizione	endocitosi
PMR1	YGL167C	ATP2C1	proteina ATP-asi di membrana	GO:0010526 regolazione negativa della trasposizione	esocitosi
CDC73	YLR418C	CDC73	modulatore dell'attività dell'RNAPol I e II	GO:0010526 regolazione negativa della trasposizione	trascrizione
ELF1	YKL160W	ELF1	fattore di elongazione	GO:0010526 regolazione negativa della trasposizione	regolazione della trascrizione
BRE1	YDL074C	RNF40	E3 ubiquitina ligasi	GO:0010526 regolazione negativa della trasposizione	ubiquitinazione
ASC1	YMR116C	SLC7A10	proteina G	GO:0010526 regolazione negativa della trasposizione	trasduzione del segnale
SPT21	YMR179W	SPATA21	silenzamento della trascrizione	GO:0010526 regolazione negativa della trasposizione	silenzamento genico
TRP1	YDR007W	TNNI2	fosforibosilantranilato isomerasi	GO:0010526 regolazione negativa della trasposizione	biosintesi del triptofano
ASH1	YKL185W	ASCL1	zinc-finger	GO:0048610 riproduzione del processo cellulare	ciclo cellulare
CAM1	YPL048W	CALM3	proteina che lega il calcio e la membrana	sintesi proteica	biogenesi dei ribosomi
COX8	YLR395C	COX8A	subunità citocromo c ossidasi	GO:0005199 componenti strutturali della parete	trasporto degli elettroni
CWC15	YDR163W	CWC15	formazione del pre-mRNA	GO:0030529 complesso ribonucleoproteico	splicing
GBP2	YCL011C	GBP2	proteina che lega l'RNA	GO:0030529 complesso ribonucleoproteico	mantenimento dei telomeri
UPF3	YGR072W	UPF3A	proteina coinvolta nella degradazione di mRNA	GO:0030529 complesso ribonucleoproteico	ubiquitinazione
TIS11	YLR136C	ZFP36	proteina che lega gli mRNA	GO:0030529 complesso ribonucleoproteico	omeostasi degli ioni ferro

Risultati

DCN1	YLR128W	DCUN1D3	proteina che lega l'ubiquitina	GO:0043085 regolazione positiva di attività catalitica	ubiquitinazione
STE20	YHL007C	STK39	serina chinasi	GO:0043085 regolatore positiva ad attività catalitica	attivazione delle MAPKK
PIR1	YKL164C	DUSP11	proteina richiesta per l'integrità della parete	GO:0007047 organizzazione della parete cellulare	organizzazione parete cellulare
FBP1	YLR377C	FBP1	fruttosio-1,6 bisfostato	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	metabolismo carboidrati
PCK1	YKR097W	PCK1	fosfoenol piruvato carbossichinasi	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	gluconeogenesi
BMH2	YDR099W	YWHAZ	controllo del proteoma	GO:0005996 metabolismo monosaccaridi	controllo del proteoma
SUP35	YDR172W	GSPT1	fattore di terminazione		deadenilazione dell'mRNA
HSP82	YPL240C	Hsp90aa1	heat shock protein	GO:0009628 risposta a stimoli abiotici	legame a proteine non foldate
IDH2	YOR136W	IDH2	isocitrato deidrogenasi	GO:0051187 cofattore di processi catabolici	ciclo degli acidi tricarbossilici
RCK2	YLR248W	KCNA6	proteina chinasi	GO:0007166 recettore di superficie	risposta a stress ossidativo
MDH1	YKL085W	MDH1	malato deidrogenasi	GO:0005198 molecola con attività strutturale	ciclo degli acidi tricarbossilici
KIP1	YBL063W	UBAC1	chinesina	GO:0005198 molecola con attività strutturale	depolimerizzazione dei microtubuli
PEF1	YGR058W	PEF1	proteina richiesta durante la divisione cellulare	GO:0032505 riproduzione di singola cellula	divisione cellulare
TWF1	YGR080W	TWF1	proteina che lega monomeri di actina	GO:0032505 riproduzione di singola cellula	polimerizzazione e depolimerizzazione dell'actina
PLP1	YDR183W	PLP1	proteina simile alla fosfoducina	GO:0019236 risposta a feromoni	risposta ai feromoni
PPA1	YHR026W	PPA1	pirofosfatasi inorganica	GO:0009201 processo biosintetico ribonucleotide trifosfato	processi metabolici
DIG1	YPL049C	PTGR1	MAP chinasi	GO:0007186 G-protein accoppiata a proteina di segnalazione	regolazione negativa della crescita pseudoifale
RGS2	YOR107W	RGS2	regolatore negativo del glucosio	GO:0007186 G-protein accoppiata a proteina di segnalazione	modulazione dell'adenilato ciclasi
ROM1	YGR070W	ROM1	proteina che scambia GDP/GTP	GO:0045229 organizzazione esterna della cellula	trasduzione del segnale
CDC10	YCR002C	12-Sep	componente dell'anello di septina	GO:0005198 molecola con attività strutturale	ciclo cellulare
TRP2	YER090W	TRC2L	antranilato sintasi	GO:0009073 metabolismo amminoacidi aromatici	biosintesi del triptofano
QCR2	YPR191W	UQCRC2	ubiquitinolo citocromo c ossido riduttasi	GO:0015980 energia ricavata dall'ossidazione di composti	respirazione aerobica

Analisi d'espressione in cellule di lievito

5fluorouracile

Al fine di validare le analisi ottenute dallo screening della collezione di mutanti con il 5FU è stata condotta un'analisi dei profili trascrizionali di alcuni geni selezionati mediante approcci bioinformatici: i mutanti analizzati erano circa 5000, di cui 1976 sensibili e 378 resistenti; tramite approcci bioinformatici è stato possibile identificare tra i mutanti sensibili e resistenti, un set di geni rappresentativi dell'effetto biologico del 5-FU.

Risultati

I geni analizzati sono stati scelti a seguito delle analisi di GO in modo da poter rappresentare la maggior parte delle categorie funzionali ottenute. Perciò i geni oggetto di analisi appartengono alle seguenti categorie funzionali: “trascrizione DNA-dipendente” (MED11); “silenzamento della cromatina” (MSH2, MRC1, MSI1, TOP1, SAP30, IRS4), “citosol” (RPL37A, RPS27A), “metabolismo dei monosaccaridi” (ADH4, YWHAZ, ADH5, ADH1), “legame a ioni metallici” (PER1), “trasporto proteico” (VPS25, VTA1), “risposta a stress abiotici” (HSP82, HSP26), “risposta a sostanze organiche” (PLP1).

L'espressione di tali funzioni geniche è stata analizzata mediante Real-Time PCR in cellule di lievito wt in condizioni di controllo e in condizioni di trattamento con il 5FU.

Come precedentemente descritto, i dati ottenuti sono stati analizzati dal software DataAssist v.2.0 (Applied Biosystem) utilizzando il metodo del $\Delta\Delta Ct$. Il primo passaggio dell'analisi prevede l'identificazione del gene endogeno. L'algoritmo geNorm, calcola un coefficiente di stabilità (M, basato sulla deviazione standard dei valori di Ct) per ciascun gene candidato assegnando a ciascuno un valore M che descrive la variazione di ogni singolo gene comparato con gli altri geni candidati. Il gene endogeno migliore è considerato quello con il valore di M più basso. I geni endogeni candidati erano: ACTB (actina); GAPDH (gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi), HMB (porfobilinogeno deaminasi), PGK (3fosfoglicerato chinasi), POLR2A (sub unità dell'RNAPolimerasi), PPIA (peptidil-prolil-cis-isomerasi), TBP (TATA binding protein), TFRC (recettore transferrina), UBC (proteina E2 coniugata all'ubiquitina), YWHAZ (proteina controllo del proteoma). Il gene per l'ubiquitina avendo un valore di stabilità minore è stato scelto come endogeno ($s=0.61$). Tutti i dati ottenuti sono quindi stati normalizzati rispetto all'endogeno ottenendo il ΔCt .

In seguito, i risultati ottenuti dalle analisi di espressione genica vengono organizzati in heat-map mediante un'analisi di clustering gerarchico. Le distanze tra i campioni sono calcolate in base ai valori di ΔCt utilizzando la correlazione di Pearson. Per ogni saggio, il colore rosso identifica un incremento di espressione rispetto al valore medio; mentre il colore verde identifica una diminuzione del valore di espressione rispetto al valore medio (Fig.30).

Risultati

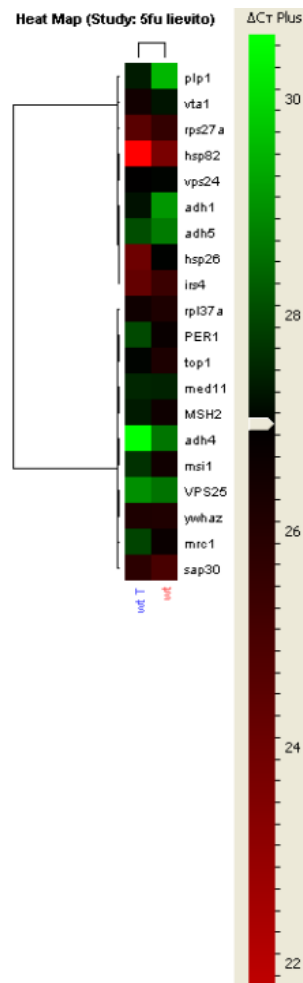


Figura 30 Analisi di espressione in cellule di lievito a seguito del trattamento con 5FU: variazione dei livelli di espressione dei geni oggetto di studio. Analisi effettuata mediante il metodo $\Delta\Delta Ct$. I geni vengono organizzati in cluster mediante analisi dei valori di ΔCt secondo la correlazione di Pearson: il colore rosso identifica un incremento dei livelli di espressione rispetto al valore medio, mentre il colore verde identifica una diminuzione dei livelli di espressione rispetto al valore medio.

La Fig. 30 rappresenta il profilo d'espressione dei geni oggetto di studio in cellule di lievito wt trattate con $750\mu M$ di 5FU rispetto a cellule non trattate. E' possibile notare che la maggior parte dei geni analizzati subisce una modesta variazione d'espressione (compresa in un range di $-1 < \log_2 < 1$). Nello specifico, i geni la cui espressione rimane stabile fanno parte delle seguenti categorie funzionali: trascrizione DNA-dipendente (MED11); metabolismo dei monosaccaridi (ADH5), silenziamento della cromatina (IRS4 , MSH2, TOP1, SAP30), trasporto proteico (VPS25, VTA1), citosol (RPL37A). I valori di Ct ottenuti dall'analisi dei profili trascrizionali di questo gruppo di geni in una condizione di controllo e trattamento sono pressoché identici: MED11 Ct=27; ADH5 Ct=29; IRS4 Ct=24; MSH2 Ct=27; TOP1 Ct= 26; SAP30 Ct=25; VPS25 Ct=29; VTA1 Ct=27; RPL37A

Risultati

Ct=25. La motivazione di questo risultato può essere messa in relazione al ruolo che ogni gene compie all'interno della cellula. E' possibile supporre che per il mantenimento dell'omeostasi cellulare, questi geni, essendo implicati in processi biologici importanti, vengono trascritti in modo basale indipendentemente dalle condizioni di crescita.

I geni che mostrano una variazione significativa, o di induzione o di repressione, di espressione appartengono alle seguenti categorie funzionali: "risposta a stress abiotici" (HSP82, HSP26), "risposta a sostanze organiche" (PLP1), "legame a ioni metallici" (PER1), "metabolismo monosaccaridi" (ADH1, ADH4), "silenzamento della cromatina" (MRC1).

Per riuscire a motivare i cambiamenti dei profili trascrizionali è importante risalire al ruolo funzionale del gene nella cellula. Per tale ragione, di seguito vengono presentati alcuni esempi.

Il gene MRC1 che codifica per una proteina coinvolta nel controllo della fase S del ciclo cellulare, potrebbe contribuire al blocco della divisione cellulare in caso di danni a carico del DNA; MSH2 codifica per una proteina che partecipa alla riparazione dei mismatch del DNA; PLP1 è un gene che codifica per una proteina simile alla fosfoducina coinvolta nel folding di actina e tubulina, contribuendo alla riorganizzazione del citoscheletro. Si può ipotizzare che le variazioni di espressione analizzate siano dovute al fatto che la cellula, in presenza di 5-FU, metta in atto una serie di meccanismi di sopravvivenza malgrado il DNA subisca molti danni. Infatti l'espressione dei geni implicati nel riparo e controllo del DNA è inibita (MRC1 e MSH2). Il fenotipo dei corrispondenti mutanti, YCL061C (MRC1) e YOL090W (MSH2), si era dimostrato sensibile al trattamento con il 5FU dimostrando che l'assenza di geni coinvolti in pathway di controllo del ciclo cellulare non è compatibile con la crescita in presenza di uno stress.

Come si può notare dalla Fig. 30, la variazione d'espressione dei geni HSP26 e HSP82 è significativamente indotta. I fenotipi di entrambi i mutanti di lievito, rispettivamente YBR072W e YPL240C erano resistenti al 5FU. L'assenza dei due geni nei mutanti coinvolti nella resistenza allo stress, permette di alterare il sistema di controllo del pathway (Fig.33) e fare in modo che esso si attivi in modo costitutivo determinando perciò la sintesi di proteine coinvolte nella resistenza allo xenobiotico.

La cellula wt in cui entrambi i geni controllano il pathway, in presenza del 5-FU per riuscire a sopravvivere inducono l'espressione di HSP26 e HSP82, i quali riusciranno ad attivare specifici pathway di risposta.

Nistatina

Al fine di validare i risultati fenotipici ottenuti a seguito dello screening di mutanti con la nistatina, è stata effettuata una analisi dei profili trascrizionali. I risultati dello screening hanno identificato 2141 mutanti sensibili, 541 resistenti e 2108 mutanti con fenotipo comparabile a quello del ceppo wt. Mediante analisi di GO e interattomiche è stato possibile identificare un set di geni che siano rappresentativi delle principali classi funzionali e al tempo stesso predittivi dell'effetto tossico della nistatina nelle cellule di lievito.

L'analisi di espressione è stata effettuata mediante il software DataAssist v.2.0 (Applied Biosystem) che permette di analizzare l'espressione genica utilizzando il metodo del $\Delta\Delta C_t$, descritto in precedenza. Mediante lo strumento geNorm è stato identificato il gene ACTB come endogeno da utilizzare per le successive analisi.

La valutazione dei profili trascrizionali prevede l'analisi tra una condizione controllo e trattamento delle cellule di lievito. Il trattamento in questo caso prevede l'utilizzo di 0.5 μ M (LD_{50}) di nistatina.

I geni analizzati fanno riferimento a differenti classi funzionali: “segnalazione accoppiata a proteina G” (DIG1), “riproduzione cellulare” (PEF1, ASH1), “acidificazione vacuolare” (SIN3), “regolazione negativa della trasposizione” (BRE1, ELF1, CDC73, ASC1), “ribosoma” (RPS12), “metabolismo sfingolipidi” (SUR2, LCB3, YDC1, YPC1), “complesso ribonucleoproteico” (UPF3), “metabolismo nicotinammide” (ADH2), “attività strutturale delle molecole” (MDH1), “regolatore positivo ad attività catalitica” (STE20).

Come rappresenta l'heat-map in Fig. 31, è possibile notare che la maggior parte dei geni ha un'espressione che viene modulata dalla presenza della nistatina nella cellula. Nello specifico, il trattamento con la nistatina, induce l'espressione di quasi tutti i geni analizzati. La nistatina, infatti, è un potente farmaco fungicida che effettua la sua azione citotossica anche a dosaggi molto bassi nelle cellule dei funghi, quindi in tal caso l'induzione dell'espressione di geni appartenenti a diverse categorie funzionali è possibile identificarla come un meccanismo di risposta allo stress generalizzato. Per valutare le singole variazioni dei profili di espressione è importante considerare il ruolo biologico dei geni analizzati. Il gene SUP35 codifica per una proteina coinvolta nel pathway di controllo dell'mRNA che determina la degradazione di mRNA anormali. Nelle cellule esistono tre meccanismi che portano alla degradazione dell'mRNA: nonsense-mediated mRNA decay (NMD), nonstop mRNA decay (NSD), and no-go decay (NGD). Il prodotto genico di SUP35 interviene nel pathway NGD: il pre-mRNA dopo essere stato sintetizzato nel nucleo, viene trasferito all'interno del citoplasma dove subisce una serie di controlli. I trascritti contenenti un codone di stop prematuro

Risultati

vengono identificati a livello del ribosoma da complessi proteici di cui fanno parte SUP35, UPF1, UPF2 e UPF3. Il compito principale di queste proteine è quello di sottrarre i pre-mRNA al ribosoma e inviarli verso la degradazione (Shoemaker and Green, 2012). Quando la cellula si trova in una condizione di stress, induce l'espressione del gene SUP35. La nistatina effettua la sua azione tossica dapprima a livello della parete cellulare alterandone la sua permeabilità, l'alterazione del bilancio osmotico cellulare molto probabilmente determina un'alterazione di diversi pathway metabolici che comprende anche la sintesi di pre-mRNA aberranti. Di conseguenza si osserva l'induzione dell'espressione di un set di geni implicati nel controllo della qualità degli mRNA. Il fenotipo del mutante a seguito del trattamento con la molecola era sensibile: quindi l'assenza del gene SUP35 fa sì che la cellula perda un pathway di controllo dei pre-mRNA aberranti, quindi l'accumulo di mRNA con codoni di stop prematuri e la presenza di proteine tronche di fatto non è compatibile con la sopravvivenza cellulare.

I geni appartenenti alla categoria funzionale "metabolismo degli sfingolipidi" sono tutti coinvolti nel medesimo pathway di sintesi di acidi grassi (SUR2, LCB3, YPC1 e YDC1). Gli sfingolipidi sono i componenti essenziali delle membrane cellulari di tutte le cellule eucariotiche. Nel lievito *S.cerevisiae*, gli sfingolipidi accoppiati con l'ergosterolo formano delle zattere lipidiche le quali sono implicate in diversi processi cellulari come recupero di proteine e lipidi di membrana e regolazione di cascate di segnalazione (Bagnat and Simons, 2002). Inoltre, gli sfingolipidi a catena corta (LCB) sono messaggeri secondari coinvolti nella risposta a stress termico (Jenkins GM et al., 1997; Ferguson-Yankey et al., 2002); mentre gli sfingolipidi a lunga catena (LCBP) regolano la crescita cellulare (Kobayashi and Nagiec 2003). Essendo molecole specifiche per le cellule fungine, gli sfingolipidi sono considerati bersagli principali dell'azione di diverse molecole antifungine tra cui la nistatina (Sugimoto et al., 2004). In presenza di nistatina la cellula di lievito induce l'espressione dei geni implicati in questo pathway; la spiegazione di questo risultato si può collegare con il meccanismo d'azione della nistatina: il fungicida agisce a livello dei target molecolari provocando lisi osmotica alle cellule, ma per cercare di evitare la morte l'apparato di sintesi molecolare cerca di sopperire al danno producendo una maggiore quantità di sfingolipidi. Il fenotipo dei ceppi mutati nei geni analizzati era resistente all'azione della nistatina. Questa evidenza può essere in linea con quanto affermato in precedenza, ovvero la nistatina perde i propri target molecolari e non riuscendo a penetrare la membrana cellulare non riesce a svolgere la sua azione citotossica.

I risultati ottenuti dalle analisi in vivo sui mutanti e quelli relativi ai profili trascrizionali mettono in evidenza che non sempre è possibile correlare il fenotipo ottenuto con la variazione dell'espressione

Risultati

genica (Winzeler et al. 1999). L'analisi in vivo fornisce, mediante la valutazione fenotipica, un valido modello per identificare i possibili target dell'azione di una molecola tossica. Mentre, l'analisi dei profili trascrizionali riesce a fornire una panoramica più ampia del meccanismo d'azione di una molecola identificando anche il coinvolgimento di svariati geni identificati come possibili target secondari dell'azione della molecola.

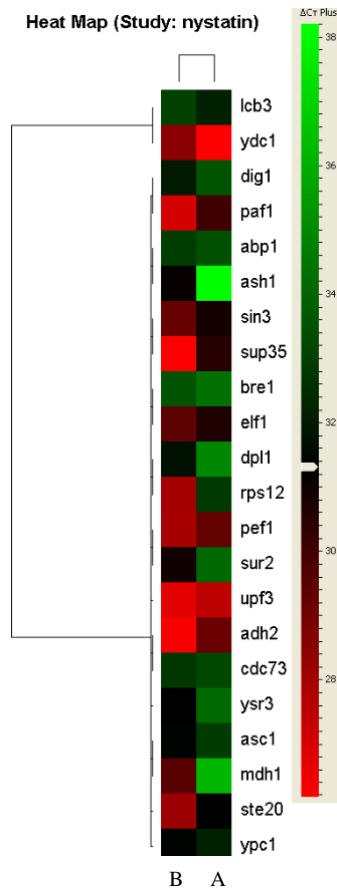


Figura 31 Analisi di espressione in cellule di lievito a seguito del trattamento con nistatina: variazione dei livelli di espressione dei geni oggetto di studio in una condizione controllo (A) e trattamento con $0.5\mu\text{M}$ di nistatina (B). Analisi effettuata mediante il metodo $\Delta\Delta\text{Ct}$. I geni vengono organizzati in cluster mediante analisi dei valori di ΔCt secondo la correlazione di Pearson: il colore rosso identifica un incremento dei livelli di espressione rispetto al valore medio, mentre il colore verde identifica una diminuzione dei livelli di espressione rispetto al valore medio.

Analisi espressione genica in cellule umane HepG2

5fluorouracile

Le cellule umane HepG2 sono state trattate con il 5FU a due differenti concentrazioni, 10mM e 20mM, e successivamente sono stati valutati i profili trascrizionali di un gruppo di geni. I geni oggetto di questa analisi fanno parte di diverse categorie funzionali ottenute a seguito dello screening

Risultati

della collezione di mutanti. Nello specifico le categorie funzionali selezionate sono: assemblaggio di macromolecole (CAMK1, CHEK1, MARK2, CST6), risposta a stimoli abiotici (CRYAA, MID2, HSP4A, HSP90AA1, GAD1, CRYAB, UBC), metabolismo monosaccaridi (YWHAZ, MLL, FBP1, ADH5, PCK1, ENO1, ADH4, PGM1, PHGDH, SHC1, ADH7, TAL1, FPR1) legame a ioni metallici (NFU1, PER1), trasporto proteico (VTA1, VPS25, GGA1, SNF8, RTN1, GOLPH3), citosol (SNX1, VPS24, RPS27A, GOT1, RPL35A, RPL7A, RPL23A, RPL29, SOD1, RPL13A, RPL36A), segnale di trasduzione intracellulare (ARF3, TPK1), silenziamento della cromatina (TOP1, MRC1, RIF1, HAT1, SAP30, SDC1, MSH2, MSI1, IRS4), trascrizione DNA-dipendente (MED1, FOXG1), mitocondrio (SCO1), fosforilazione (SIP1), risposta a sostanze inorganiche (PLP1), frazionamento cellulare (GSC2). I dati ottenuti dall'analisi di Real-Time PCR sono stati elaborati dal software DataAssist v.2.0 (Applied Biosystem). Esso permette di analizzare l'espressione genica utilizzando il metodo del $\Delta\Delta C_t$. Prima di analizzare i dati ottenuti, è necessario selezionare il gene endogeno più stabile da poter utilizzare per le analisi successive. Per effettuare questo, il software si serve di un'applicazione definita geNorm. I geni endogeni candidati sono: 18s (proteina coinvolta nel processo del pre-mRNA), HPRT1 (ipoxantina-fosforibosil-transferasi), PCK1 (fosfoenolpiruvato carbossilasi), UBC (enzima E2 coniugato all'ubiquitina), YWAHZ (gene per il controllo del proteoma). Tra questi, il gene che mostra un M-value (score) più basso è il gene HPRT1; questo verrà utilizzato per compiere tutte le successive analisi di espressione genica.

In seguito, i risultati ottenuti vengono organizzati in heat-map e raggruppati mediante un cluster gerarchico. Le distanze tra i campioni sono calcolate in base ai valori di ΔC_t sfruttando la correlazione di Pearson. Per ogni saggio, il colore rosso identifica un incremento di espressione rispetto al valore medio; mentre il colore verde identifica una diminuzione del valore di espressione rispetto al valore medio.

Lo studio dei profili trascrizionali ha messo in evidenza la variazione di espressione di alcuni geni tra una condizione di controllo e trattamento con il 5FU; inoltre è possibile notare come non è presente una notevole variazione di espressione tra le due condizioni di trattamento, 10mM e 20mM.

Lo studio condotto ha permesso di affermare che la maggior parte dei geni viene indotta dal trattamento, nello specifico i geni presenti nella categoria funzionale "citosol", "risposta a stimoli abiotici", "trasporto proteico" e "metabolismo di monosaccaridi". In questo caso i geni la cui espressione varia in modo significativo in condizioni di trattamento con 5FU sono: CRYAB, HSP90AA1 e VTA1 con un valore di fold change di 3.50; GAD1 con un fold change di 4.75; MRC1

Risultati

e RTN1 con fold change oltre 6.5, PER1 con fold change circa 3.0, e VPS24 con fold change di circa 4 (Fig. 31).

Pochi geni hanno una diminuzione della variazione di espressione, essi appartengono alle categorie funzionali “fosforilazione”, “metabolismo di carboidrati” nello specifico: PMG1 con fold change di -0.75; PHGDH con fold change di -1.75 e SIP1 con fold change di -1.50 (Fig. 31).

La modulazione dell'espressione risulta essere minima o assente per la maggior parte di geni che fanno parte della categoria “silenzamento della cromatina” come SAP30, SDC1, MSH2, SCO1, MSI1 con un valore di fold change pari allo 0 (Fig. 32).

Risultati

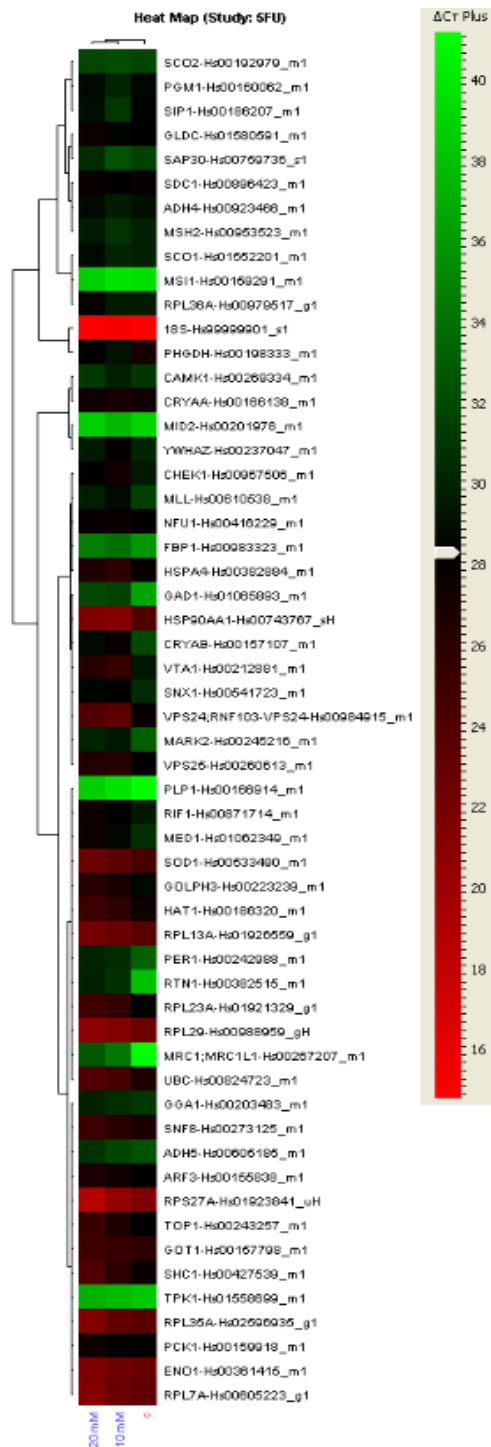


Figura 32 Analisi di espressione in cellule umane HepG2 trattate con il 5FU. Le variazioni di espressione vengono analizzate in tre differenti condizioni: controllo, trattamento 10mM, trattamento 20mM. I geni sono organizzati in cluster e le distanze tra i campioni vengono stabilite mediante il valore del ΔC_t utilizzando il coefficiente di correlazione di Pearson: il colore rosso identifica un incremento del valore di espressione rispetto al valore medio; mentre il colore verde identifica una diminuzione del valore di espressione rispetto al valore medio.

Risultati

A seguito delle analisi di espressione, per motivare i cambiamenti a livello trascrizionale dei geni è importante risalire al ruolo funzionale del gene nella cellula. Inoltre, per riuscire a validare il sistema messo in atto in questo studio che prevede l'utilizzo di una collezione di mutanti di lievito per identificare un set di geni che siano predittivi dell'effetto tossico di una molecola, è importante riuscire a motivare il fenotipo del mutante di lievito ottenuto e la variazione del profilo trascrizionale di cellule umane trattate con il 5FU.

Nello specifico, il gene HSP90AA1 è una proteina coinvolta nella resistenza allo stress e perciò implicata in processi di detossificazione da xenobiotici. Il pathway in cui interviene la proteina HSP90AA1 coinvolge il fattore di trascrizione AHR (aryl hydrocarbon receptor); in condizioni fisiologiche, AHR è inattivo associato ad un complesso proteico formato da ARA9, AIP, HSP90 e p23 (Hestermann EV et al., 2003). In seguito al legame con il ligando, AHR viene attivato mediante un cambiamento conformazionale che prevede l'esposizione del segnale di localizzazione nucleare (NLS). HSP90 è rilasciato dal complesso ed il recettore viene traslocato nel nucleo dove forma un eterodimero con ARNT (Fujii-Kuriyama et al 2005). L'eterodimero sul DNA lega le sequenze XRE (xenobiotic response element) e altera l'espressione dei geni sotto il controllo di XRE (Fig.33). Perciò, l'induzione di tale gene nelle cellule in presenza di 5FU rappresenta un meccanismo di resistenza alla molecola tossica da parte della cellula.

Il fenotipo del mutante YDR059C a seguito del trattamento con il 5FU è resistente: la possibile spiegazione di questo risultato è che la cellula in assenza del gene HSP82 non effettua nessun controllo sul recettore di risposta agli xenobiotici. Perciò l'attivazione trascrizionale di geni coinvolti nella risposta allo stress avviene in maniera costante.

Risultati

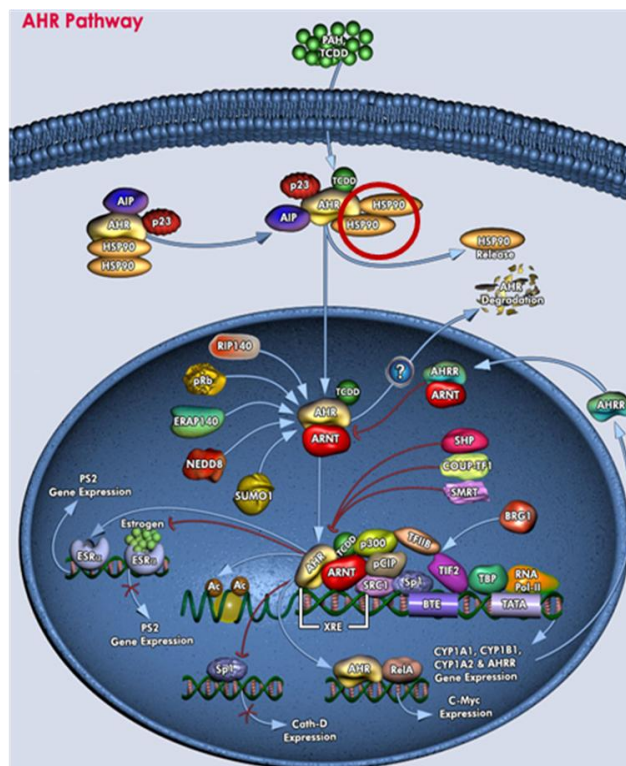


Figura 33 Pathway di attivazione del recettore AHR (aryl hydrocarbon receptor). Il pathway di segnalazione mette in evidenza l'azione svolta dalle proteine HSP90: a seguito della presenza dello xenobiotico, il gene legame tra AHR e HPS90 viene soppresso per permettere l'attivazione di AHR. HSP90 viene rilasciato e successivamente degradato. AHR trasloca nel nucleo dove insieme ad altre proteine ligando riconosce il proprio sito di legame a livello del DNA e induce la trascrizione dei geni contenenti l'elemento XRE di risposta allo stress.

La presenza del 5FU all'interno di una cellula riesce ad attivare il pathway di degradazione mediato dalla formazione di corpi multivescicolari (MVB). I corpi multivescicolari si formano durante la fase tardiva dell'endocitosi: le vescicole contenenti le molecole ubiquitinate prima di essere indirizzate al lisosoma, vengono inserite all'interno di corpi multivescicolari. La formazione di MVB è un processo finemente regolato nel quale intervengono le proteine appartenenti alla famiglia Vps (vacuolar protein sorting) implicate nella formazione di complessi transienti (ESCRT-I, II e III). Affinchè il processo di smaltimento venga effettuato, è necessario che i complessi ESCRT siano riciclati dopo aver trasportato la molecola da eliminare (Xiao et al., 2008) (Fig.34). Perciò, le proteine codificate dai geni VPS24 e VTA1 riescono a regolare il disassemblaggio del complesso ESCRT in modo ATP-dipendente (Babst et al., 1997). Dalle analisi dei profili trascrizionali, è emerso che i geni VPS24 e VTA1 mostrano una notevole variazione di espressione quando le cellule vengono trattate con il 5FU. Questo dato è in linea con quanto identificato in studi precedenti, ossia

Risultati

la cellula induce l'espressione di geni implicati in un meccanismo di degradazione della molecola tossica per evitare la morte cellulare. Il pathway MVB è conservato tra uomo e lievito, infatti l'ortologo di Vta1 di lievito in uomo contiene motivi di sequenze omologhe necessarie per effettuare il legame con la proteina codificata da Vps24 (Fujita et al. 2004; Haas et al. 2007; Yeo et al., 2003). Perciò, facendo riferimento al fenotipo dei mutanti YKL041W (VPS24) e YLR181C (VTA1) sono entrambi sensibili al trattamento. Questo dato spiega l'importanza di questi due geni nella sopravvivenza cellulare: la cellula riceve uno stress provocato dalla presenza del 5FU ma non avendo le proteine necessarie per la corretta eliminazione mantiene la molecola tossica al suo interno .

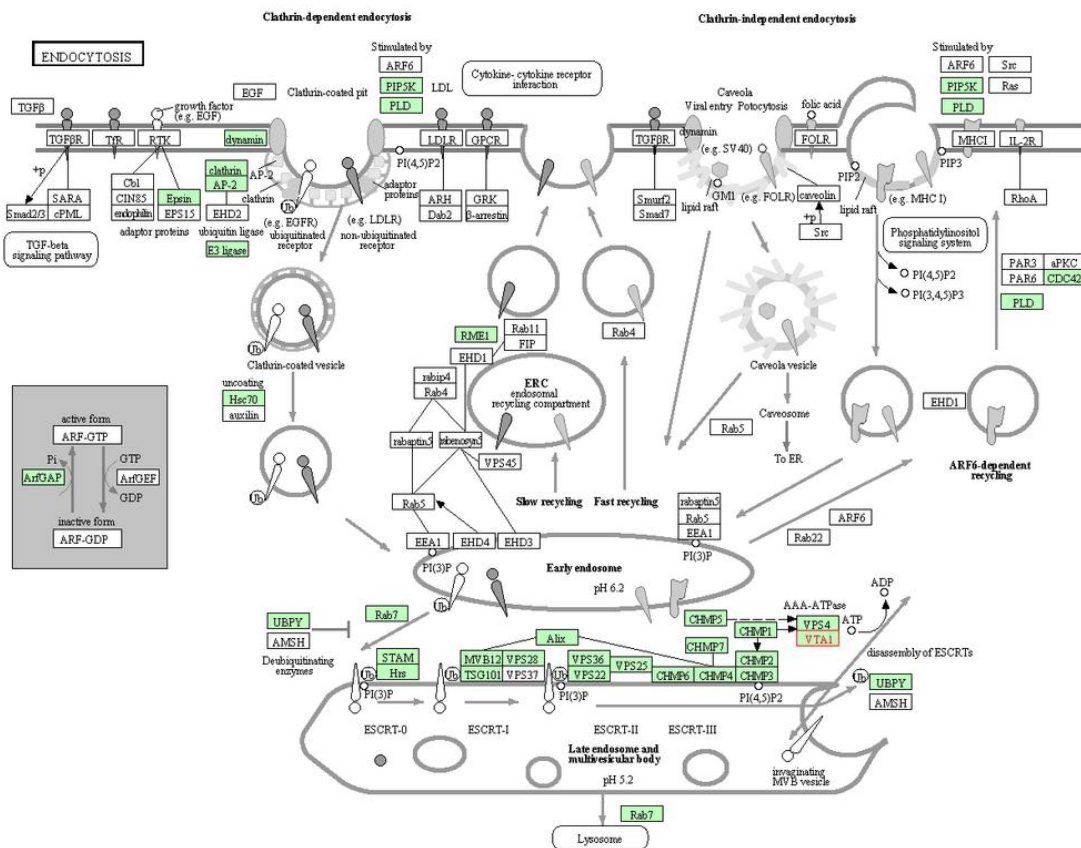


Figura 24 Pathway dell'endocitosi in cui sono coinvolti i geni VPS24 e VTA1. Entrambi i geni partecipano alla formazione dei corpimultivescicolari permettendo la degradazione della molecola tossica. La molecola viene trasportata a livello del lisosoma mediante via endocitica mediata da vescicole di clatrina. Le vescicole si fondono per formare dapprima l'endosoma precoce, poi i corpi multivescicolari e l'endosoma tardivo ed infine il lisosoma. Durante queste fasi all'interno della vescicola il pH viene abbassato ulteriormente per facilitare la degradazione della molecola trasportata.

Conclusioni

Conclusioni e Prospettive future

Il presente lavoro di tesi ha permesso di individuare i prodotti genici e i relativi pathway interessati nella risposta delle cellule di *Saccharomyces cerevisiae* alla tossicità di 5fluorouracile e nistatina. Lo studio è stato focalizzato principalmente sulla risposta fenotipica (sensibilità o resistenza) a 5fluorouracile e nistatina (due farmaci caratterizzati da differenti meccanismi d'azione) in mutanti knockout per delezione di *Saccharomyces cerevisiae*, mediante un sistema high throughput che ha consentito di analizzare in modo rapido ed efficace l'intera collezione di mutanti.

Le informazioni ottenute hanno permesso di identificare sia meccanismi di risposta specifici alle differenti molecole analizzate, permettendo di determinare i peculiari meccanismi di tossicità.

L'analisi dei dati è stata effettuata mettendo a punto un approccio di system biology: sono stati sviluppati sistemi bioinformatici per identificare i geni e i pathway metabolici più significativamente correlati all'effetto della molecola utilizzata. Dall'analisi dei dati emergono processi che sottolineano aspetti che erano stati in parte identificati poiché coinvolti nei sistemi di tolleranza del lievito come ad esempio la biogenesi ribosomale per il 5fluorouracile e di resistenza alla nistatina come ad esempio la biogenesi della parete cellulare.

Il sistema di analisi utilizzato, ha permesso di identificare ulteriori pathway metabolici che risultano essere correlati con l'effetto di entrambe le molecole tossiche. Nel caso del 5fluorouracile infatti, è stato dimostrato che i geni significativamente correlati al fenotipo di sensibilità appartengono a pathway metabolici come il pathway dei pentoso-fosfati, la biogenesi dei ribosomi, la progressione del ciclo cellulare e pathway coinvolti nel mantenimento dell'omeostasi. Analizzando il fenotipo dei mutanti resistenti al 5fluorouracile si è visto che i geni associati appartengono ad altri processi metabolici quali il pathway dell'endocitosi, il metabolismo di amminoacidi quali glicina, serina e treonina e tutti i processi che comportano la crescita polarizzata della cellula. Analogamente, per quanto riguarda la nistatina, è stato interessante scoprire che i geni più significativamente correlati al fenotipo di sensibilità e resistenza mettono in evidenza quali sono i target molecolari del farmaco. Infatti, i pathway più significativi risultano essere quelli della sintesi degli sfingolipidi, componenti principali della parete del lievito e principali bersagli di molecole antifungine, sono correlati a mutanti che mostrano un fenotipo resistente alla nistatina. I geni correlati al fenotipo di sensibilità sono implicati in svariati pathway metabolici come il metabolismo di amminoacidi, il pathway dell'endocitosi e la biogenesi ribosomale. Diversi aspetti nuovi, mai associati prima all'omeostasi di entrambe le molecole, emergono dai risultati ottenuti, confermando l'efficacia di tale metodologia di derivazione postgenomica nel rilevare le differenti risposte adottate dalle cellule di lievito alle

Conclusioni

differenti tipologie di xenobiotici. Al fine di validare le analisi ottenute dallo screening della collezione di mutanti sia con il 5FU sia con la nistatina è stata condotta un'analisi dei profili trascrizionali di alcuni geni selezionati mediante approcci bioinformatici: i geni analizzati sono stati scelti a seguito delle analisi di GO in modo da poter rappresentare la maggior parte delle categorie funzionali ottenute. Le analisi dei profili trascrizionali non sempre hanno una diretta correlazione con il fenotipo dei mutanti osservati: l'identificazione di un fenotipo sensibile o resistente ad una molecola tossica permette di identificare un possibile bersaglio molecolare del farmaco, invece la variazione dell'espressione genica riesce a fornire informazioni che riguardano la possibilità del coinvolgimento di ulteriori bersagli molecolari secondari.

L'approccio di analisi utilizzato ha fornito uno strumento in grado di identificare set di geni che siano significativamente correlati con l'effetto delle molecole tossiche in vivo. Perciò, considerando che la maggior parte dei geni di lievito sono omologhi a quelli in uomo, è stato possibile analizzare in sistemi cellulari in vitro la variazione di profili trascrizionali di geni coinvolti nel meccanismo di risposta al 5fluorouracile. L'analisi di espressione genica in cellule HepG2 ha permesso di studiare il meccanismo di risposta al farmaco da parte di un gruppo di geni e perciò di confermare che i target molecolari corrispondono a quelli identificati in cellule di lievito.

Il sistema utilizzato per identificare in vivo gruppi di geni coinvolti nel meccanismo di risposta ad uno xenobiotico, può essere ulteriormente validato studiando la risposta a diversi altri farmaci. L'analisi in lievito permetterà di selezionare un pannello di geni che sono strettamente correlati con i target molecolari del farmaco; mediante analisi bioinformatiche è possibile identificare quali sono i geni significativamente correlati con l'azione della molecola da studiare. Infine, le analisi dei profili trascrizionali riusciranno a confermare il coinvolgimento nella risposta al farmaco dei geni selezionati ed inoltre ad ipotizzare il meccanismo d'azione di molecole ancora poco studiate.

Ringraziamenti

RINGRAZIAMENTI

Vorrei ringraziare il Professore Nelson Marmiroli, coordinatore del mio Dottorato di Ricerca e mio Relatore, per l'opportunità che mi ha offerto e per avermi indirizzato e sostenuto durante questi anni. Vorrei ringraziare la Dott.ssa Simona Pafundo per avermi indirizzata verso la "strada della ricerca" e la Dott.ssa Mariolina Gullì che mi ha insegnato come è possibile raggiungere un risultato con pazienza ed intelligenza.

Il mio lavoro è stato realizzato grazie al contributo del progetto di ricerca ETB initiative Project TOXICHIP (ETB -2008-11).

Desidero ringraziare tutti i professori e i ricercatori che hanno apprezzato il lavoro da me svolto durante questi anni: Prof.ssa Elena Maestri, Prof. Annamaria Sanangelantoni, Dott.ssa Caterina Agrimonti, Dott.ssa Giovanna Visioli, Dott. Aliosha Malcevschi, Dott.ssa Marta Marmiroli. Un grande grazie va a tutti coloro che hanno lavorato e lavorano nei laboratori in cui ho svolto il mio dottorato: Giusy RomaUrbana Bonas, Laura Paesano, Laura Bortolazzi, Daniel Campioli, Davide Imperiale, Luca Pagano, Irene Della Ghezza, Andrea Pirondini, Veronica Pigoni, Alessia Comastri, Francesca Merangolo. In parte questo lavoro è stato realizzato anche con il contributo di alcuni piccoli ma fidati collaboratori: gli studenti Giulia Rizzatello, Roberta Morini, Fabio Codeluppi e Stefania Cadonici. Non in ultimo vorrei ringraziare il Dott. Michelangelo Vietina per la sua presenza, per la sua pazienza e per la sua signorilità mostratami durante il corso di questi anni di lavoro e di amicizia e la Dott.ssa Maria Luisa Savo Sardaro per i consigli utili nella vita e sul lavoro.

Ringrazio la mia famiglia per il grande sostegno, in ogni senso, che mi ha dato in questi anni e mi ha permesso di arrivare alla fine di questo percorso.

Desidero ringraziare tutti i miei amici che hanno reso e rendono la mia vita piena di colori e tutte le persone speciali che credono in me.

*«"O frati," dissi, "che per cento milia
perigli siete giunti a l'occidente,
a questa tanto picciola vigilia*

*d'i nostri sensi ch'è del rimanente
non vogliate negar l'esperienza,
di retro al sol, del mondo senza gente.*

*Considerate la vostra semenza:
fatti non foste a viver come bruti,
ma per seguir virtute e canoscenza".»*

Bibliografia

- Anderson HA, Hiltbold EM, Roche PA.: “Concentration of MHC class II molecules in lipid rafts facilitates antigen presentation.” *Nat Immunol.* 2000, 2: 156-62
- Babst M, Katzmann DJ, Snyder WB, Wendland B, Emr SD.:” Endosome-associated complex, ESCRT-II, recruits transport machinery for protein sorting at the multivesicular body.” *Dev Cell.*2002, 2: 283-9.
- Baetz K, McHardy L, Gable K, Tarling T, Rebérioux D, Bryan J, Andersen RJ, Dunn T, Hieter P, Roberge M.: Yeast genome-wide drug-induced haploinsufficiency screen to determine drug mode of action.” *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004, 13: 4525-30
- Bard M., Woods R., Barton D., Corrie J.: “Sterol mutants of *Saccharomyces cerevisiae*: chromatographic analysis” *Lipids* 1977, 12:645-654.
- Barrientos A.: “Yeast models of human mitochondrial diseases” *IUBMB Life.* 2003, 55, 83-95.
- Bennett, C.B., Lewis, L.K., Karthikeyan, G., Lobachev, K.S., Jin, Y.H., Sterling, J.F., Stipe, J.R., and Resnick, M.A.: “Genes required for ionizing radiation resistance in yeast.” *Nature Genetics* 2001,29, 426-434.
- Bleackley M.R., Young B.P., Loewen C.J., Macgillivray R.T.: “High density array screening to identify the genetic requirements for transition metal tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*” *Metallomics* 2011, 3: 195-205
- Breitkreutz BJ, Stark C, Tyers M.:” Osprey: a network visualization system.” *Genome Biol.*2002
- Borkovich KA, Farrelly FW, Finkelstein DB, Taulien J, Lindquist S.:” hsp82 is an essential protein that is required in higher concentrations for growth of cells at higher temperatures.” *Mol Cell Biol.*1989, 9: 3919-30.
- Botstein D. “Why yeast?” *Hosp Pract.* 1991: 26, 157-161.
- Bhuiyan MS, Ito Y, Nakamura A, Tanaka N, Fujita K, Fukui H, Takegawa K.: “Nystatin effects on vacuolar function in *Saccharomyces cerevisiae*.” *Biosci Biotechnol Biochem.*1999, 6:1075-82
- Brown LA, Baker A.: “Peroxisome biogenesis and the role of protein import.” *J Cell Mol Med.*2003, 4:388-400
- Cabrilo T.M., Teixeira M.C., Singh A., Prasad R., Sa-Correia I.: “The yeast ABC transporter Pdr18 (ORF YNR070w) controls plasma membrane sterol composition, playing a role in multidrug resistance” *Biochem.J.* 2011, 440:195-202.

Bibliografia

- Cottier F, Raymond M, Kurzai O, Bolstad M, Leewattanapasuk W, Jiménez-López C, Lorenz MC, Sanglard D, Váchová L, Pavelka N, Palková Z, Mühlischlegel FA.: "The bZIP transcription factor Rca1p is a central regulator of a novel CO₂ sensing pathway in yeast." *PLoS Pathog.* 2012, doi: 10.1371.
- Corvi R., Ahr HJ., Albertini S., Blakey DH., Clerici L.: "Validation of toxicogenomics-based test systems: ECVAM-ICC-VAM/NICEATM considerations for regulatory use" *Environ Health Perspect* 2006, 114:420-429.
- DeRisi JL, Iyer VR and Brown PO.: "Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale" *Science*; 1997, 278:680.
- Desmoucelles, C., Pinson, B., Saint-Marc, C. and Daignan-Fornier, B.: "Screening the Yeast "Disruptome" for Mutants Affecting Resistance to the Immunosuppressive Drug, Mycophenolic" *Acid. J. Biol. Chem.* 2002, 277: 27036-27044.
- Dias P.J., Teixeira M.C., Telo J.P. Sà-Correia I.: " Insights into the mechanisms of toxicity and tolerance to the agricultural fungicide mancozeb in yeast, as suggested by a chemogenomic approach" *OMICS* 2010, 14:211-227.
- Dickson RC, Lester RL.: " Sphingolipid functions in *Saccharomyces cerevisiae*." *Biochim Biophys Acta.*2002, 1:13-25
- Donato MT, Lahoz A, Castell JV, Gómez-Lechón MJ: "Cell lines: a tool for in vitro drug metabolism studies" *Curr Drug Metab.*2008, 9: 1-11
- Doostzadeh J., Davis R.W., Giaever G.N., Nislow C., Langston J.W.: "Chemical genomic profiling for identifying intracellular targets of toxicants producing Parkinson's disease" *Toxicol. Sci.* 2007, 95:182-187.
- dos Santos S.C., Sa-Correia I.: "Genome-wide identification of genes require for yeast growth under imatinib stress: vacuolar H⁺-ATPase function is an important target of this anticancer drug" *OMICS* 2009, 13: 185-198.
- Edwards SW, Preston RJ.: " Systems biology and mode of action based risk assessment" *Toxicol Sci.* 2008, 2:312-18.
- Ferguson-Yankey SR, Skrzypek MS, Lester RL, Dickson RC.: " Mutant analysis reveals complex regulation of sphingolipid long chain base phosphates and long chain bases during heat stress in yeast." *Yeast.*2002, 7: 573-86.
- EU (2006) Regulation (EC) 1907/2006 of the European Parliament and the European Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of

Bibliografia

- Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Regulation 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 93/793 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/677/EEC, 93/105/EEC and 2000/21/EC. Off j Eur Comm L 369, 30 December 2006, pp1-849.
- Fleming, J.A., Lightcap, E.S., Sadis, S., Thoroddsen, V., Bulawa, C.E., and Blackman, R.K.: “Complementary whole-genome technologies reveal the cellular response to proteasome inhibition by PS-341.” Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002,99: 1461-1466.
- Foury F.: “Human genetic diseases: a cross-talk between man and yeast” Gene 1997, 195:1-10.
- Foury F. and Kucej M.: “Yeast mitochondrial biogenesis: a model system for humans?” Curr Opin Chem Biol. 2001, 6, 106-111.
- Fujii-Kuriyama Y, Mimura J.:” Molecular mechanisms of AhR functions in the regulation of cytochrome P450 genes.” Biochem Biophys Res Commun.2005, 1: 311-7
- Guri G, Chu AM, Ni L, et al : “Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome” Nature 2002, 418: 25
- Gammie A.E., Erdeniz N., Beaver J., Devlin B., Nanji A., Rose M.D.: “Functional characterization of pathogenic human MSH2 missense mutations in *Saccharomyces cerevisiae*” Genetics 2007, 177:707-721.
- Giaever G., Shoemaker D.D., Jones T.W., Liang H., Winzeler E.A., Astromoff A., Davis R.W.: “Genomic profiling of drug sensitivities via induced haploinsufficiency” Nat.Genet. 1999, 21:278-283.
- Goffeau A., Barrell B. G., Bussey H., Davis R. W., Dujon B., Feldmann H., Galibert F., Hoheisel J. D., Jacq C., Johnston M., Louis E. J., Mewes H. W., Murakami Y., Philippsen P., Tettelin H. and Oliver S. G.: “Life with 6000 genes.” Science 1996: 274, 546,563- 567.
- Gomase V.S., Tagore S.: “Toxicogenomics” Curr.Drug Metab. 2008, 9:250-254.
- Guerriero N., Staedtler F., Grenet O., Kehren J., Chibout S.D.: “Toxicogenomics in drug development” Toxicol. Pathol. 2003, 31:471-479.
- Hamada K, Terashima H, Arisawa M, Yabuki N, Kitada K.: “Amino acid residues in the omega-minus region participate in cellular localization of yeast glycosylphosphatidylinositol-attached proteins.” J Bacteriol.1999, 13: 3886-9.
- Hamadeh HK. and Afshari C.A: “Gene chips and functional genomics” American Scientist 2000, 88:508-515.

Bibliografia

- Hamadeh HK., Amin R.P., Paules R.S., Afshari C.A.: “ An overview of Toxicogenomics” *Curr. Issues Mol.Biol.* 2002, 4:45-56.
- Hamilton M.A., Russo R. C., Thurston R. V: “Trimmed Spearman-Karber Method for Estimating Median Lethal Concentrations in Toxicity Bioassays” *Environ. Science Technol.*1977, 7: 714-719.
- Harju S., Fedosyuk H., Peterson K. R: “Rapid isolation of yeast genomic DNA: Bust n' Grab.” *BMC Biotechnol.* 2004, 4:8.
- Hartwell LH, Culotti J, Reid B.:” Genetic control of the cell-division cycle in yeast. I. Detection of mutants.” *Proc Natl Acad Sci U S A.*1970, 2: 352-9
- Heinicke S., Livstone M.S., Lu C., Oughtred R., Kang F., Angiuoli S.V., White O., Botstein D., Dolinski K.: “The Princeton protein orthology database (P-POD): a comparative genomics analysis tool for biologists” *PLoS ONE* 2007, 2.
- Heinloth AN, Irwin RD, Boorman GA, Nettesheim P, Fannin RD, Sieber SO, Snell ML, Tucker CJ, Li L, Travlos GS, Vansant G, Blackshear PE, Tennant RW, Cunningham ML, Nuoffer C, Jenö P, Conzelmann A, Riezman H.:” Determinants for glycopospholipid anchoring of the *Saccharomyces cerevisiae* GAS1 protein to the plasma membrane.” *Mol Cell Biol.*1991, 1: 27-37.
- Paules RS. :” Gene expression profiling of rat livers reveals indicators of potential adverse effects.” *Toxicol Sci* 2004, 80: 193-202.
- Heller RA, Schena M, Chai A, Shalon D, Bedilion T, Gilmore J, Woolley DE, Davis RW.: “Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays” *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997, 6:2150-5
- Hellauer K., Lesage G., Sdicu A.-M., Turcotte B.: “Large-scale analysis of genes that alter sensitivity to the anticancer drug tirapazamine in *Saccharomyces cerevisiae*” *Mol.Pharmacol.* 2005, 68:1365-1375.
- Hengstler JG, Foth H., Kramer PJ., Kahl R., Lilienblum W., Schulz T., Schweinfurth H.:” The REACH concept and its impact on toxicological sciences” *Toxicology* 2006, 220:232-239.
- Herrington MB, Takahashi I.: “Mutagenesis of bacteriophage PBS 2.” *Mutat Res.* 1973, 2: 275-8
- Hestermann EV, Brown M.:”Agonist and chemopreventative ligands induce differential transcriptional cofactor recruitment by aryl hydrocarbon receptor.” *Mol Cell Biol.*2003, 21: 7920-5

Bibliografia

- Hirata R, Ohsumk Y, Nakano A, Kawasaki H, Suzuki K, Anraku Y.:” Molecular structure of a gene, VMA1, encoding the catalytic subunit of H(+)-translocating adenosine triphosphatase from vacuolar membranes of *Saccharomyces cerevisiae*.” *J Biol Chem*.1990, 12: 6726-33.
- Huang Q., Jin X., Gaillard ET., Knight BL., Pack FD., Stoltz JH., Jayadev S., Blanchard KT.: “Gene expression profiling reveals multiple toxicity endpoints induced by hepatotoxicants” *Mutat Res* 2004, 549:147-167.
- Huang T.R., Eddy M., Vujcic M., Kowalski D.: “Genome-wide screen identifies genes whose inactivation confer resistance to cisplatin in *Saccharomyces cerevisiae*” *Cancer Res*. 2005, 65:5890-5897.
- Huh WK, Falvo JV, Gerke LC, Carroll AS, Howson RW, Weissman JS, O'Shea EK.:” Global analysis of protein localization in budding yeast.” *Nature*.2003, 425: 686-91.
- Ideker T., Galitski T., Hood L.: “ A new approach to decoding life: a systems biology” *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet*. 2001 2: 343-372
- Ishikawa H, Narimatsu H, Saito K.: “Mechanisms of the adjuvant effect of nystatin on in vitro antibody response of mouse spleen cells: indication of nystatin as a B-cell mitogen and as a stimulant for polyclonal antibody synthesis in B cells.” *Microbiol Immunol*. 1977, 3: 137-52
- Itahana K., Bhat K.P.,Itahana Y., Hawke D., Kobayashi R., Zhang Y.: “Tumor suppressor ARF degrades B23, a nucleolar protein involved in ribosome biogenesis and cell proliferation” *Mol. Cell* 2003, 12: 1151-1164.
- Ja M.H., Larossa R.A., Lee J.M., Rafalski A., Derosé E., Gonye G., Xue Z.: “Global expression profiling of yeast treated with an inhibition of amino acid biosynthesis, sulfometuron methyl” *Phisiol. Genomics* 2000, 3:83-92.
- Jin Y., Dunlap P.E., Mcbride S.J., Al-Refari H., Bushel P.R., Freedman J.H.: “Global transcriptome and deletome profiles of yeast exposed to transition metals” *Plos Genet*. 4 2008
- Kitagaki H, Wu H, Shimoi H, Ito K.: “Two homologous genes, DCW1 (YKL046c) and DFG5, are essential for cell growth and encode glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored membrane proteins required for cell wall biogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*.” *Mol Microbiol*.2002, 4: 1011-22.
- Kitagawa E., Momose Y., Iwahashi H.: “Correlation of the structures of agricultural fungicides to gene expression in *Saccharomyces cerevisiae* upon exposure to toxic doses” *Environ.Sci.Technol*. 2003, 37:21788-2793
- Kitano H.: “Computational systems biology” *Nature* 2002, 6912: 206-210.

Bibliografia

- Kitano H.: "Systems biology: a brief overview" *Science* 2002,5560:1662-4.
- Klein DL, Aszalos A, Pearson JW.: "Macrophage cytoxicity and T and B cell blastogenic transformation in mice treated with nystatin." *J Immunopharmacol.*1980, 3:367-80
- Klionsky D. J., Banta L. M., Emr S. D.: " Intracellular sorting and processing of a yeast vacuolar hydrolase: proteinase A propeptide contains vacuolar targeting information" *Cell. Biol.* 1988, 8:4936-4948.
- Kobayashi SD, Nagiec MM.: "Ceramide/long-chain base phosphate rheostat in *Saccharomyces cerevisiae*: regulation of ceramide synthesis by Elo3p and Cka2p." *Eukaryot Cell.*2003, 2: :284-94.
- Koide N, Naiki Y, Morikawa A, Tumurkhuu G, Dagvadorj J, Noman AS, Iftekar-E-Khuda I, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T.: "Nystatin-induced nitric oxide production in mouse macrophage-like cell line RAW264.7." *Microbiol Immunol.*2009, 5: 295-30
- Lashkari DA, DeRisi JL, McCusker JH, Namath AF, Gentile C, Hwang SY, Brown PO, Davis RW.: "Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA;* 1997, 94: 13057.
- Liao C., Hu B., Arno M. J., Panaretou B.: "Genomic screening in vivo reveals the role played by vacuolar H⁺-ATPase and cytosolic acidification in sensitivity to DNA-damaging agents such as cisplatin" *Mol. Pharmacol.* 2007, 71: 416-425.
- Lilienblum W., Dekant W.,Foth H., Gebel T., Hengstler J.G., Kahl R., Kramer P.-J., Schweinfurth H., Wollin K.-M. " Alternative methods to safety studies in experimental animals: role in the risk assessment of chemicals under the new European Chemicals Legislation (REACH)" *Arch Toxicol* 2008, 82:211-236
- Larregina AT., Falo LD.: "Changing paradigms in cutaneous immunology: adapting with dendritic cells" *J.Invest. Dermatol.* 2005, 124:1-12.
- Lönn U, Lönn S, Nylen U, Winblad G.: "5-Fluoropyrimidine-induced DNA damage in human colon adenocarcinoma and its augmentation by the nucleoside transport inhibitor dipyrindamole." *Cancer Res.*1989, 5:1085-9
- López-Mirabal HR, Thorsen M, Kielland-Brandt MC, Toledano MB, Winther JR.: "Cytoplasmic glutathione redox status determines survival upon exposure to the thiol-oxidant 4,4'-dipyridyl disulfide." *FEMS Yeast Res.*2007, 3: 391-403.
- Lucau-Danila A., Lelandais G., Kozovska Z., Tanty V., Delaveau T., Devaux F., Jacq C.: " Early expression of yeast genes affected by chemical stress" *Mol.Cell.Biol.* 2005, 25: 1860-1868.

Bibliografia

- Lum P.Y., Armour C.D., Stepaniants S.B., Cavet G., Wolf M.K., Butler J.S., Hinshaw J.C., Garnier P., Prestwich G.D., Leonardson A., Garrett-Engele P., Rush C.M., Bard M., Schimmack G., Phillips J. W., Roberts C.J., Shoemaker D.D.: “Discovering modes of action for therapeutic compounds using a genome-wide screen of yeast heterozygotes” *Cell* 2004, 116:121-137.
- Martine A. Collart: “Global control of gene expression in yeast by the Ccr4-Not complex.” *Gene* 2003, 313; 1-16.
- Mattingly CJ, Rosenstein MC, Colby GT, Forrest JN Jr, Boyer JL.: “The Comparative Toxicogenomics Database (CTD): a resource for comparative toxicological studies.” *J Exp Zool A Comp Exp Biol.* 2006, 9: 389-92.
- Mattiazzi M, Petrovič U, Križaj I.: “Yeast as a model eukaryote in toxinology: a functional genomics approach to studying the molecular basis of action of pharmacologically active molecules.” *Toxicon.* 2012, 4:558-71
- Mira NP, Lourenço AB, Fernandes AR, Becker JD, Sá-Correia I.: “The RIM101 pathway has a role in *Saccharomyces cerevisiae* adaptive response and resistance to propionic acid and other weak acids” *FEMS Yeast Res.* 2009, 9:202-216.
- Meyer M.D.: “Current role of therapy with amphotericin B.” *Clin. Infect. Dis.* 1992, s154-160.
- Meyer zum Bueschenfelde CO, Unternaehrer J, Mellman I, Bottomly K.: “Regulated recruitment of MHC class II and costimulatory molecules to lipid rafts in dendritic cells.” *J Immunol.* 2004, 10:6119-24.
- Huaiyu Mi, Betty Lazareva-Ulitsky, Rozina Loo, Anish Kejariwal, Jody Vandergriff, Steven Rabkin, Nan Guo, Anushya Muruganujan, Olivier Doremieux, Michael J. Campbell, Hiroaki Kitano Paul D. Thomas:” The PANTHER database of protein families, subfamilies, functions and pathways” *Nucleic Acids Research* 2005, 33.
- Molzahn S., Wood R.: “Polyene resistance and the isolation of sterol mutants in *Saccharomyces cerevisiae*” *J. Gen. Microbiol.* 1972, 72: 339-348.
- Momose Y. and Iwahashi H.: “Bioassay of cadmium using a DNA microarray: genome-wide expression patterns of *Saccharomyces cerevisiae* response to cadmium” *Environ. Toxicol. Chem* 2001, 20:2353-2360.
- Murakami T., Shibuya I., Ise T., Chen Z. S., Akiyama S., Nakagawa M., Izumi H., Nakamura T., Matsuo K., Yamada Y., Kohno K.: “Elevated expression of vacuolar proton pump genes and cellular PH in cisplatin resistance” *Int. J. Cancer* 2001, 93:869-874.

Bibliografia

- Ogawa Y, Mizumoto N, Tanaka H, Matsushima H, Takashima A.: "Identification of novel pharmacological activities of an antifungal agent, nystatin, to promote dendritic cell maturation." *J Invest Dermatol.* 2006, 2: 349-53.
- Nathan DF, Vos MH, Lindquist S.: "In vivo functions of the *Saccharomyces cerevisiae* Hsp90 chaperone." *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997, 24: 12949-56.
- Outeiro T.F., Lindquist S.: "Yeast cells provide insight into alpha-synuclein biology and pathobiology" *Science* 2003, 302:1772-1775.
- Parks L.: "Metabolism of sterols in yeast" *CRC Crit. Rev Microbiol.* 1978, 6:301-341.
- Parsons A. B., Lopez A., Givoni I.E., Williams D. E., Gray C. A., Porter J., Chua G., Sopko R., Brost R. L., Ho C.H., Wang J., Ketela T., Brenner C., Brill J. A., Fernandez G. E., Lorenz T.C., Payne G. S., Ishihara S., Ohya Y., Andrews B., Hughes T.R., Andersen R.J., Boone C.: "Exploring the mode-of-action of bioactive compounds by chemical-genetic profiling in yeast" *Cell* 2006, 126:611-625.
- Parveen M., Momose Y., Kitagawa E., Kurita S., Kodoma O., Iwahashi H.: "Bioassay of pesticide Lindane using yeast-DNA microarrays technology" *Chem-Bio Informatics J.* 2003, 3:12-29.
- Pucadyil TJ, Shrivastava S, Chattopadhyay A.: "The sterol-binding antibiotic nystatin differentially modulates ligand binding of the bovine hippocampal serotonin1A receptor." *Biochem Biophys Res Commun.* 2004, 2: 557-62
- Quintas-Cardama A., Kantarjian H. M., Cortes J. E.: "Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia" *Cancer Control* 2009, 16:122-131.
- Romani N., Holzmann S., Tripp CH., Koch F., Stoitzner P.: "Langerhans cells-dendritic cells of the epidermis" *Apmis* 2003, 111: 725-40.
- Ruderfer D.M., Roberts D.C., Schreiber S.L., Perlstein E.O., Kruglyak L.: "Using expression and genotype to predict drug response in yeast" *PLoS ONE* 2009,4.
- Ruggero D., Pandolfi P.P.: "Does the ribosome translate cancer?" *Nat Rev Cancer* 2003, 3: 179-192
- Ruotolo R., Marchini G., Ottonello S.: "Membrane transporters and protein traffic networks differentially affecting metal tolerance: a genomic phenotyping study in yeast" *Genome Biol.* 2008, 9:R67.
- Sakai A., Iwase Y., Nakamura Y., Sasaki K., Tanaka N., Umeda M.: "Use of a cell transformation assay with established cell lines, and a metabolic cooperation assay with V79 cells for the detection of tumor promoters: a review" *Altern Lab Anim* 2002, 30:33-59

Bibliografia

- Santi D.V., McHenry C.S., Sommer H.: “ Mechanism of interaction of thymidylate synthetase with 5fluorodeoxyuridylate” *Biochem.* 1992, 3: 471-481.
- Santos P.M., Simoes T., Sa-Correia I.: “ Insights into yeast adaptive response to the agricultural fungicide mancozeb: a toxico-proteomics approach” *Proteomics* 2009, 9:657-670
- Schnell N, Krems B, Entian KD.: “The PAR1 (YAP1/SNQ3) gene of *Saccharomyces cerevisiae*, a c-jun homologue, is involved in oxygen metabolism” *Curr Genet.*1992, 21:269-73
- Schuetz JD, Wallace HJ, Diasio RB.: “5-Fluorouracil incorporation into DNA of CF-1 mouse bone marrow cells as a possible mechanism of toxicity.” *Cancer Res.* 1984, 4:1358-1363.
- Schwartz D.A., Freedman J.H., Linney E.A.: “ Environmental genomics: a key to understanding biology, pathophysiology and disease” *Hum.Mol.Genet.* 2004, 13, R217-R224.
- Serero A., Lopez J., Nicolas A., Boiteux S.: “ Yeast genes involved in cadmium tolerance: identification of DNA replication as a target of cadmium toxicity” *DNA repair* 2008, 7: 1262-1275.
- Smith A.M., Ammar R., Nislow C., Giavier G.: “A survey of yeast genomic assays for drug and target discovery” *Pharmacol.Ther* 2010, 127:156-164.
- Shoemaker, D.D., Lashkari, D.A., Morris, D., Mittmann, M., and Davis, R.W.:“Quantitative Phenotypic Analysis of Yeast Deletion Mutants Using a Highly Parallel Molecular Bar-Coding Strategy.” *Nature Genetics* 1996, 14, 1996, 450-456.
- Shoemaker CJ,Green R.:” Translation drives mRNA quality control.” *Nat Struct Mol Biol.*2012, 6: 594-601
- Simmons P.T. and Portier C.J.: “ Toxicogenomics: the new frontier in risk analysis” *Carcinogenesis* 2002, 23:903-905.
- Sitox Informa: Periodico della Società Italiana di Tossicologia, 2012
- Spangenberg C., Lausch EU., Trost TM., Prawitt D., May A., Keppler R., Fees SA., Reutzel D., Bell C., Schmitt S., Schiffer IB., Weber A., Brenner W., Hermes M., Sahin U., Tureci O., Koelbl H., Hengstler JG., Zabel BU.: “ ERBB-2 mediated transcriptional up-regulation of the alpha-5-beta-1 integrin fibronectin receptor promotes tumor cell survival under adverse conditions” *Cancer Res* 2006, 66:3715-3725
- Spielmann H., Genschow E., Brown NA., Hareng L., Hartung T., Ahr H., Faustman E., Haas U., Moffat GJ., Nau H., Vanparys P., Sintes JR., Stuart J.: “ The practical application of three validated in vitro embryotoxicity tests “ *Altern Lab Anim* 2006, 34:527-538.

Bibliografia

- Stanford DR, Whitney ML, Hurto RL, Eisaman DM, Shen WC, Hopper AK.:” Division of labor among the yeast Sol proteins implicated in tRNA nuclear export and carbohydrate metabolism.” *Genetics*.2004, 1:117-27.
- Steinmetz L.M., Scharfe C., Deutschbauer A.M., Mokranjac D., Herman Z.S., Jones T., Chu A.M., Giaever G., Prokisch H., Oefner P. J., Davis R.W.: “ Systematic screen for human disease genes in yeast” *Nat.Genet.* 2002, 31:400-404.
- Supeková L, Supek F, Nelson N.:” The *Saccharomyces cerevisiae* VMA10 is an intron-containing gene encoding a novel 13-kDa subunit of vacuolar H(+)-ATPase.” *J Biol Chem*.1995, 23: 13726-32.
- Suter L., Babiss L. E., Wheeldon E. B: “Toxicogenomics in Predictive Toxicology in Drug Development” *Chem Biol.* 2004, 11(2):161-71.
- Swen J.J., Huizinga T.W., Gelderblom H., De Vries E.G. E., Assendelf W. J. J., Kircheiner J., Guchelaar H.-J.: “Translating pharmacogenomics: challenge on the road to the clinic” *PLoS Med.* 2007, 4.
- Takumi S., Kimura H., Matsusaki H., Kawazoe S., Tominaga N., Arizono K.: “ DNA microarray analysis of genomic responses of yeast *Saccharomyces cerevisiae* to nickel chloride” *J.Toxicol.Sci* 2010, 35: 125-129.
- Teixeira M. C., Santos P., Fernandes A.R., Sà-Correia I.: “A proteome analysis of the yeast response to the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid” *Proteomics* 2005, 5: 1889-1901.
- Teixeira M.C., Fernandes A.R., Mira N.P., Becker J.D., Sà-Correia I.: “Early transcriptional response of *Saccharomyces cerevisiae* to stress imposed by the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid” *FEMS Yeast Res.* 2006a, 6:230-248.
- Teixeira M.C., Duque P., Sà-Correia I.: “Environmental genomics: mechanistic insights into toxicity of and resistance to the herbicide 2,4D.” *Trends Biotechnol.* 2007, 25:363-370.
- Tennant R.W. “The National Center for Toxicogenomics: using new technologies to inform mechanistic toxicology” *Environ Health Perspect* 2002, 110 A8-A10.
- Temple MD, Perrone GG, Dawes IW.: “Complex cellular responses to reactive oxygen species.” *Trends Cell Biol.*2005, 6:319-26.
- Tobias JS.: “Current role of chemotherapy in head and neck cancer.” *Drugs*.1992, 3: 333-45
- Toone WM, Jones N.: “AP-1 transcription factors in yeast.” *Curr Opin Genet Dev.*1999, 1:55-61.
- Trost TM., Lausch EU., Fees SA., Schmitt S., Enklaar T., Reutzel D., Brixel LR., Schmidtke P., Maringer M., Schiffer IB., Heimerdinger CK., Hengstler JG., Fritz G., Bockamp EO.,

Bibliografia

- Prawitt D., Zabel BU., Spangenberg C.: “Premature senescence is a primary fail-safe mechanism of ERBB2-driven tumorigenesis in breast carcinoma cells” *Cancer Res* 2005, 65:840-849
- Venema J, Tollervey D.: “Ribosome synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*.” *Annu Rev Genet.*1999;33:261-311.
- Venter J. C., Adams M. D., Myers E. Wet al.: “The sequence of the human genome” *Science* 2001, 291, 1304-1351.
- Volpe G., Panuzzo C., Ulisciani S., Cilloni D.: “Imatinib resistance in CML” *Cancer Lett.* 2009, 274:1-9.
- Waring JF., Jolly RA., Ciurlionis R., Lum PY., Praestgaard JT., Morfitt DC., Buratto B., Roberts C., Schadt E., Ulrich RG.: “Clustering of hepatotoxins based on mechanism of toxicity using gene expression profiles” *Toxicol Appl Pharmacol* 2001, 175:28-42.
- Waters MD., Fostel JM.: “Toxicogenomics and systems toxicology: aims and prospects” *Nat. Rev. Genet.* 2004, 5: 936-48.
- Wang L., Weinshilboum R.M.: “Pharmacogenomics: candidate gene identification, functional validation and mechanisms” *Hum.Mol.Genet.* 2008, 17:R174-R179.
- Weckbecker G.: “Biochemical pharmacology and analysis of fluoropyrimidines alone and in combination with modulators” *Pharmacol.Ther* 1991, 50:367-424.
- Wemmie JA, Szczyпка MS, Thiele DJ, Moyer-Rowley WS.: “Cadmium tolerance mediated by the yeast AP-1 protein requires the presence of an ATP-binding cassette transporter-encoding gene, YCF1.” *J Biol Chem.*1994, 51: 32592-7.
- Wiegand R, Betz M, Hänsch GM.: “Nystatin stimulates prostaglandin E synthesis and formation of diacylglycerol in human monocytes.” *Agents Actions.*1988, 24: 343-50.
- Willingham S., Outiero T.F., Devit M.J., Lindquist S.L., Muchowski P.J.: “Yeast genes that enhance the toxicity of a mutant huntingtin fragment or alpha-synuclein” *Science* 2003, 302:1769-1772.
- Winzler E. A., Shoemaker D. D., Astromoff A., Liang H., Anderson K., Andre B., Bangham R., Benito R., Boeke J. D., Bussey H., Chu A. M., Connelly C., Davis K., Dietrich F., Dow S. W., El Bakkoury M., Foury F., Friend S. H., Gentalen E., Giaever G., Hegemann J. H., Jones T., Laub M., Liao H., Liebundguth N., Lockhart D. J., Lucau-Danila A., Lussier M., M’Rabet N., Menard P., Mittmann M., Pai C., Rebischung C., Revuelta J. L., Riles L., Roberts C. J., Ross-MacDonald P., Scherens B., Snyder M., Sookhai-Mahadeo S., Storms R.

Bibliografia

- K., Véronneau S., Voet M., Volckaert G., Ward T. R., Wysocki R., Yen G. S., Yu K., Zimmermann K., Philippsen P., Johnston M. and Davis R. W.: "Functional characterization of the *S. cerevisiae* genome by gene deletion and parallel analysis" *Science* 1999, 285, 901-906.
- Wu H.I., Brown J.A., Dorie M.J., Lazzeroni L., Brown J.M.: "Genome-wide identification of genes conferring resistance to the anticancer agents cisplatin, oxaliplatin, and mitomycin C" *Cancer Res.* 2004, 64:3940-3948.
- Xiao J, Xia H, Zhou J, Azmi IF, Davies BA, Katzmann DJ, Xu Z.: "Structural basis of Vta1 function in the multivesicular body sorting pathway." *Dev Cell.*2008, 1: 37-49.
- Yasokawa K., Tanaka T., Furusawa C., Nagahisa K., Hirasawa T., Shimizu H.: "Comprehensive phenotypic analysis for identification of genes affecting growth under ethanol stress in *Saccharomyces cerevisiae*" *FEMS Yeast Res* 2009, 9:32-44.
- Yeo SC, Xu L, Ren J, Boulton VJ, Wagle MD, Liu C, Ren G, Wong P, Zahn R, Sasajala P, Yang H, Piper RC, Munn AL.: "Vps20p and Vta1p interact with Vps4p and function in multivesicular body sorting and endosomal transport in *Saccharomyces cerevisiae*." *J Cell Sci.*2003, 116: 3957-70
- Yuen K.W.Y., Warren C.D., Chen O., Kwok T., Hieter P., Spencer F.A.: "Systematic genome instability screens in yeast and their potential relevance to cancer" *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2007, 104:3925-3930.
- Zhang L, Zhang Y, Zhou Y, An S, Zhou Y, Cheng J.: "Response of gene expression in *Saccharomyces cerevisiae* to amphotericin B and nystatin measured by microarrays." *J Antimicrob Chemother.*2002, 6: 905-15.
- Zhao X., Yu Y.-T.: "Incorporation of 5-fluorouracil into U2 snRNA blocks pseudouridylation and pre-mRNA splicing in vivo" *Nucleic Acids Research* 2007, 2:550-558.

Materiale Supplementare

NOME MUTANTE	NOME GENE	DATO 5FU	DATO NISTATINA
YAL012W	CYS3	-0.25560772	0.894801354
YAL016C-B		-1.367273891	0.222289487
YAL021C	CCR4	-1.389244558	0.2731641
YAL024C	LTE1	-1.127187367	0.634468374
YAL037C-A		-0.99479106	0.333274367
YAL044W-A		-0.451635432	0.123887591
YAL047C	SPC72	-0.835506868	-0.306938925
YAL049C	AIM2	-1.245295464	0.264695304
YAL054C	ACS1	-0.721613632	0.272210181
YAL058C-A		-0.466440619	1.027396323
YAL064C-A	TDA8	-0.69607729	0.395414832
YAL067W-A		0.021388663	0.294726106
YAR002C-A	ERP1	-0.874160944	0.197924719
YAR035C-A		0.359387731	0.395424841
YAR042W	SWH1	-1.325679975	0.045296857
YAR050W	FLO1	-0.950269518	0.825949943
YBL001C	ECM15	0.895692233	0.491630287
YBL002W	HTB2	0.807238339	0.349273129
YBL003C	HTA2	0.643071776	0.378852305
YBL005W	PDR3	0.980169097	0.987902993
YBL006C	LDB7	-0.133654442	0.425158488
YBL007C	SLA1	-0.918386813	0.170494741
YBL008W	HIR1	-0.70398285	0.287888324
YBL008W-A		0.599610057	0.266280849
YBL009W	ALK2	1.22782635	0.00292967
YBL010C		0.517545637	0.114474044
YBL011W	SCT1	1.496486058	0.764877414
YBL012C		0.844619549	1.510862749
YBL013W	FMT1	0.472172644	0.260207832
YBL015W	ACH1	0.64120541	0.472048103
YBL016W	FUS3	0.559773291	1.292104142
YBL017C	PEP1	0.688856124	1.737017639
YBL019W	APN2	-0.11675835	0.864169142
YBL021C	HAP3	0.084925942	0.689422327
YBL022C	PIM1	-0.345841758	0.265913417
YBL024W	NCL1	-0.287282054	0.183184812
YBL025W	RRN10	-0.882403132	0.037458772
YBL027W	RPL19B	-0.185646837	0.368309427
YBL028C		-0.280508169	0.861920042

Materiale Supplementare

YBL029C-A		0.553631708	0.221904133
YBL029W		-0.18069441	1.174862525
YBL031W	SHE1	-0.552453328	0.15156035
YBL032W	HEK2	-0.940030552	0.033198951
YBL036C		-0.381072785	0.26407552
YBL037W	APL3	-0.653872988	0.139978738
YBL038W	MRPL16	-0.670120611	0.097227968
YBL039C	URA7	-0.697052686	0.123148036
YBL039W-A		1.395355605	0.256998624
YBL042C	FUI1	-1.046990031	0.122190947
YBL043W	ECM13	-0.608316771	0.203836719
YBL044W		-0.858007447	0.040945651
YBL045C	COR1	-0.506965371	0.072161294
YBL046W	PSY4	-0.986801074	0.468207232
YBL047C	EDE1	-0.504120016	0.197563793
YBL048W	RRT1	0.712350062	0.109187409
YBL049W	MOH1	0.635692535	1.148407297
YBL051C	PIN4	-0.710401066	0.065877641
YBL052C	SAS3	-0.44081985	0.278350211
YBL053W		-1.099444078	0.419812854
YBL054W	TOD6	-0.26087989	0.194918985
YBL055C		-0.329277984	0.189022101
YBL056W	PTC3	0.022242269	0.967384577
YBL057C	PTH2	-0.911709929	0.682151192
YBL058W	SHP1	-1.088241571	-0.041199524
YBL059W		-1.050964187	1.489086888
YBL060W	YEL1	-1.105527102	2.488268155
YBL061C	SKT5	-0.45256664	0.522415657
YBL062W		0.836088154	1.081089851
YBL063W	KIP1	0.023018275	1.77153363
YBL064C	PRX1	0.107593218	2.235831457
YBL065W		-1.034386761	0.804246192
YBL066C	SEF1	-1.277363908	0.064595165
YBL067C	UBP13	-1.291914019	0.872670905
YBL068W	PRS4	-0.645472006	0.360754622
YBL069W	AST1	0.786452877	0.098580765
YBL070C		-0.810295658	0.81308824
YBL071C		-0.893182788	0.023135213
YBL071C-B		-0.605139099	0.515954222
YBL071W-A	KTI11	-0.524094983	0.234065388

Materiale Supplementare

YBL072C	RPS8A	0.677356148	0.219728806
YBL075C	SSA3	-0.423408218	0.09217971
YBL078C	AUT7	0.28558957	1.897421825
YBL079W	NUP170	-0.803806309	0.04205709
YBL080C	PET112	-1.025879797	0.201390361
YBL081W		0.085166647	1.806636628
YBL082C	RHK1	0.416598766	0.766078245
YBL083C		-0.867584294	0.7342601
YBL085W	BOI1	-0.400768246	0.118056275
YBL086C		-0.325243472	1.749811404
YBL087C	RPL23A	-0.815630699	0.631383758
YBL088C	TEL1	1.358485624	2.370209497
YBL089W	AVT5	-0.712373414	0.86423112
YBL090W	MRP21	1.234741784	1.193112771
YBL091C	MAP2	1.409808715	1.718337717
YBL091C-A	SCS22	-0.790071005	0.522809
YBL094C		0.210278198	1.856206211
YBL095W		0.823390758	0.304364926
YBL096C		-0.283581655	0.124436796
YBL098W	BNA4	-0.001164009	0.151138474
YBL099W	ATP1	-0.68152718	-0.134792276
YBL100C		-0.649662437	0.002161279
YBL101C	ECM21	2.533756257	0.576386192
YBL101W-C		-0.277179607	0.159542361
YBL102W	SFT2	0.722849494	0.33955179
YBL103C	RTG3	1.056338028	0.170749914
YBL104C	SEA4	0.263502503	0.144629259
YBL106C	SRO77	-0.211122105	0.338467818
YBL107C		0.364916773	0.229044469
YBR001C	NTH2	0.544465138	0.31169506
YBR003W	COQ1	-0.275579094	0.098357068
YBR005W	RCR1	-0.111599348	0.346382142
YBR006W	UGA2	-1.263677104	0.119662891
YBR007C	DSF2	-0.844924921	0.113588252
YBR008C	FLR1	-0.634675824	0.152618479
YBR009C	HHF1	-0.990135025	0.099373427
YBR010W	HHT1	-0.579530904	0.070488907
YBR012C		0.059509952	0.104331371
YBR013C		0.171982307	0.241704093
YBR014C	GRX7	-0.076242579	0.147440847

Materiale Supplementare

YBR015C	MNN2	0.104178792	0.098198818
YBR016W		0.359096729	0.291175995
YBR018C	GAL7	0.285036666	0.261009162
YBR019C	GAL10	-0.075078571	0.272238028
YBR020W	GAL1	-1.24734218	-0.036428001
YBR021W	FUR4	0.23163776	-0.00881263
YBR022W	POA1	-0.199482016	0.091240391
YBR023C	CHS3	0.20006402	0.013821447
YBR024W	SCO2	-0.640059364	0.061841516
YBR025C	OLA1	-0.383686416	0.010184389
YBR026C	ETR1	-0.51842044	0.036372525
YBR027C		0.482045164	0.068116393
YBR028C	YPK3	0.090356187	0.092438026
YBR030W	RKM3	0.2368758	0.106552299
YBR031W	RPL4A	-0.309626353	0.146878599
YBR032W		0.490629729	0.203929795
YBR033W	EDS1	-0.870969619	0.088644722
YBR034C	HMT1	-0.709899895	0.09028742
YBR035C	PDX3	0.298277267	0.054989277
YBR036C	CSG2	-0.718047957	0.637899992
YBR037C	SCO1	0.104178792	0.052001475
YBR040W	FIG1	-0.454836457	0.113556179
YBR041W	FAT1	-0.050634385	0.104878883
YBR042C	CST26	-0.189587941	0.12057783
YBR043C	AQR2	1.190053544	0.223371769
YBR044C	TCM62	0.870678617	0.218299187
YBR045C	GIP1	0.850744966	0.269435511
YBR046C	ZTA1	1.22235479	0.335688815
YBR047W	FMP23	-0.088464672	0.123521315
YBR048W	RPS11B	-0.683709696	0.152480436
YBR050C	REG2	0.246478873	0.222636264
YBR051W		0.845070423	0.236103935
YBR052C	RFS1	1.070888139	0.293791818
YBR053C		1.160225818	0.221901896
YBR054W	YRO2	0.387905948	0.337888451
YBR056W		1.479164242	0.19689823
YBR056W-A		-0.713973926	0.386547499
YBR057C	MUM2	0.893958794	0.265420136
YBR058C	UBP14	1.829676406	0.720333496
YBR058C-A	TSC3	-0.78556047	0.237879533

Materiale Supplementare

YBR059C	AKL1	1.147276219	0.243171094
YBR062C		-1.135354829	0.171221233
YBR074W		1.241706437	0.308124035
YBR075W		0.041613316	-0.09048854
YBR076W	ECM8	0.599610057	0.142849789
YBR077C	SLM4	-0.019497148	0.268180828
YBR078W	ECM33	0.437085322	0.015769214
YBR081C	SPT7	1.45530206	0.945451685
YBR083W	TEC1	1.049062973	0.192279961
YBR084C-A	RPL19A	0.777412408	0.092048711
YBR084W	MIS1	-0.205884065	0.41883148
YBR085C-A		1.845972529	0.325482466
YBR085W	AAC3	0.645588406	0.636128232
YBR090C		1.386625538	0.211277224
YBR090C-A	NHP6B	-0.47	0.352838673
YBR092C	PHO3	-0.079880107	0.306987345
YBR093C	PHO5	-0.217815155	-0.131207905
YBR094W	PBY1	-0.456873472	0.011614239
YBR095C	RXT2	-0.612967059	-0.120698401
YBR096W		-1.202227137	1.01322935
YBR098W	MMS4	-1.470337175	0.354385
YBR099C		-0.775617895	0.737833839
YBR100W		-0.105779304	0.503138448
YBR101C	FES1	-0.672729213	0.828288733
YBR103W	SIF2	-1.429150662	0.612287419
YBR104W	YMC2	-1.130165289	0.467958276
YBR105C	VID24	-1.03813099	0.075841557
YBR106W	PHO88	-1.571324642	-0.005431301
YBR107C	IML3	-1.177947852	-0.180040452
YBR108W	AIM3	-1.430489272	0.371429203
YBR111C	YSA1	-0.925959337	1.188309298
YBR111W-A	SUS1	-1.4736934	0.206158538
YBR112C	CYC8	-0.843819113	0.06663758
YBR113W		-1.410798122	0.347489314
YBR114W	RAD16	-0.563292981	0.86869982
YBR115C	LYS2	-1.096166531	1.129447728
YBR116C		-1.047850464	1.141047068
YBR117C	TKL2	-1.197609902	0.387832613
YBR119W	MUD1	-1.34341171	0.004379457
YBR120C	CBP6	-1.528440616	0.086449393

Materiale Supplementare

YBR122C	MRPL36	-1.39079657	0.108515853
YBR125C	PTC4	-1.286918481	-0.062267266
YBR126C	TPS1	-0.642823885	-0.008629296
YBR127C	VMA2	-1.343052807	-0.077528084
YBR128C	APG14	-1.115343577	0.002096984
YBR129C	OPY1	-0.791390215	0.027293574
YBR130C	SHE3	-1.039178598	0.041474851
YBR131W	CCZ1	-0.747836884	0.081047957
YBR132C	AGP2	-0.985711791	0.001588941
YBR133C	HSL7	-1.447774803	0.084347228
YBR134W		-1.178578357	-0.053532325
YBR137W		-0.929208862	0.142203106
YBR138C	HDR1	-1.506925853	0.770508804
YBR139W		-1.405472782	0.935231214
YBR141C		-1.577251387	0.462983618
YBR144C		-1.557706922	0.825820772
YBR145W	ADH5	-1.535978993	-0.034926896
YBR146W	MRPS9	-1.341088661	-0.096263131
YBR147W	RTC2	-1.284648663	0.160175343
YBR148W	YSW1	-1.706322934	0.411153463
YBR149W	ARA1	-1.745336394	0.658836748
YBR150C	TBS1	-1.576590363	0.362980452
YBR151W	APD1	-1.633618042	-0.04351224
YBR156C	SLI15	-1.51295504	-0.083500206
YBR157C	ICS2	-1.482396969	0.237443
YBR158W	AMN1	-1.135444968	0.034585717
YBR159W	IFA38	-1.373853617	0.270213017
YBR161W	CSH1	-1.573449195	0.542452995
YBR162C	TOS1	-1.48689662	1.093978521
YBR162W-A	YSY6	-1.519716228	-0.034321266
YBR163W	DEM1	-1.209245495	-0.03102494
YBR164C	ARL1	-1.317156449	0.496096603
YBR165W	UBS1	-1.228863539	-0.015563126
YBR166C	TYR1	-1.214603958	0.396825435
YBR168W	PEX32	-1.622659088	0.107666894
YBR169C	SSE2	-1.173448674	0.369419308
YBR170C	NPL4	-1.268737703	0.185712367
YBR171W	SEC66	-1.104556385	-0.036106124
YBR172C	SMY2	-1.041782476	0.149814079
YBR173C	UMP1	-0.950436172	0.543033298

Materiale Supplementare

YBR174C		-1.567437515	1.062786716
YBR175W	SWD3	-1.448510353	0.618330309
YBR176W	ECM31	-1.284266575	1.010228763
YBR177C	EHT1	-1.200175926	0.598664097
YBR178W		-0.39498298	0.233880434
YBR180W	DTR1	-1.118020797	0.303842986
YBR181C	RPS6B	-0.945146083	0.259716921
YBR182C	SMP1	-1.394946545	0.32663121
YBR182C-A		-1.457189553	0.247748418
YBR183W	YPC1	-1.102843967	0.348091964
YBR184W		1.901553952	0.569607267
YBR185C	MBA1	1.771912467	0.097003594
YBR186W	PCH2	1.458794087	1.28555574
YBR187W	GDT1	2.070626237	0.890609024
YBR188C	NTC20	1.840879991	1.135453372
YBR189W	RPS9B	-0.608194622	-0.036103686
YBR191W	RPL21A	0.609504132	0.018549559
YBR194W	SOY1	0.08817367	-0.040512398
YBR195C	MSI1	1.262222093	0.245016427
YBR196C-A		0.944011174	0.834743172
YBR196C-B		0.562652776	0.389788835
YBR197C		1.433622396	0.373780955
YBR199W	KTR4	1.720696077	0.079820241
YBR200W	BEM1	2.022610872	0.02657397
YBR200W-A		2.102490979	0.455375594
YBR201W	DER1	2.035851472	0.397227231
YBR203W	COS111	-1.570228534	0.24531142
YBR204C	LDH1	-1.392445583	0.725019513
YBR205W	KTR3	0.73550809	0.435434531
YBR206W		-0.004656035	0.608054713
YBR207W	FTH1	-0.952450239	0.383589478
YBR208C	DUR1,2	-0.534571063	0.387129397
YBR209W		-0.521912467	0.445955955
YBR210W	ERV15	0.152921662	0.712752713
YBR212W	NGR1	-0.429664765	0.231323827
YBR213W	MET8	1.145530206	0.920305005
YBR214W	SDS24	0.46574904	0.291305775
YBR215W	HPC2	0.498486788	0.064726422
YBR216C	YBP1	1.120213014	0.632784976
YBR217W	ATG12	1.251891514	0.368618574

Materiale Supplementare

YBR218C	PYC2	1.741939239	0.72312664
YBR219C		1.41048772	0.58465192
YBR220C		0.280817134	0.61380708
YBR221C	PDB1	0.714846933	-0.13198487
YBR221W-A		0.940519148	0.335596257
YBR222C	PCS60	-0.049470376	0.780355319
YBR223C	TDP1	1.054446514	-0.153853102
YBR224W		0.875625655	0.099210828
YBR225W		-0.363461762	0.215320446
YBR226C		0.282126644	0.190441942
YBR227C	MCX1	0.708008381	-0.090232159
YBR228W	SLX1	1.03291235	0.187511378
YBR229C	ROT2	1.018071237	0.492752602
YBR230C	OM14	0.464876033	-0.131592291
YBR230W-A		-0.659411012	0.134620335
YBR231C	AOR1	0.77901292	-0.197871152
YBR232C		-0.08424514	0.561279453
YBR233W	PBP2	0.042486323	0.048924174
YBR235W		0.629146782	-0.128483688
YBR238C		0.678617157	-0.092363411
YBR239C	ERT1	0.996391573	0.108092656
YBR240C	THI2	0.619107205	0.198452944
YBR241C		1.092858806	0.441633858
YBR242W		1.820800838	0.07993943
YBR244W	GPX2	2.086049354	0.48380522
YBR245C	ISW1	0.46835836	0.268341747
YBR246W	RRT2	0.239058317	0.230359139
YBR248C	HIS7	-1.063031079	-0.002838937
YBR249C	ARO4	-0.36448027	0.131999024
YBR250W	SPO23	-0.161651729	0.564803199
YBR255W	MTC4	-0.035938773	0.177453303
YBR258C	SHG1	0.283581655	-0.02481444
YBR259W		0.26452101	0.046305737
YBR260C	RGD1	1.050081481	0.365074186
YBR261C	TAE1	1.134763124	0.005852933
YBR262C	AIM5	1.966738447	0.014059107
YBR263W	SHM1	2.060295658	0.272815811
YBR264C	YPT10	0.55130369	0.369575067
YBR266C	SLM6	0.829501804	-0.005660741
YBR267W	RE1	0.706262368	-0.015212262

Materiale Supplementare

YBR269C	FMP21	-0.075224072	0.584229544
YBR270C	BIT2	-0.138662554	0.094617034
YBR271W		0.181003376	0.80457575
YBR272C	HSM3	0.46967757	0.199238035
YBR273C	UBX7	0.493976254	0.499733959
YBR274W	CHK1	-0.008730066	0.21875883
YBR275C	RIF1	1.120649517	0.098087741
YBR276C	PPS1	0.049761378	0.06637936
YBR277C		2.018536841	0.290704168
YBR278W	DPB3	-0.553486206	0.797570407
YBR279W	PAF1	0.0657665	-0.041344339
YBR280C	SAF1	-0.593644512	0.050130896
YBR281C		-1.061294766	0.497651724
YBR282W	MRPL27	-0.493248749	0.623784257
YBR283C	SSH1	-1.125169751	0.992546603
YBR284W		-0.520893959	1.053818774
YBR285W		-0.687347224	0.862769861
YBR286W	APE3	-1.270399255	1.123443126
YBR287W		-1.182574788	0.038241641
YBR288C	APM3	0.089337679	0.036579901
YBR289W	SNF5	-0.408276103	-0.036008537
YBR290W	BSD2	-0.720521476	0.640376581
YBR291C	CTP1	-1.181983083	0.772010885
YBR292C		-0.158596205	0.294353144
YBR293W	VBA2	-0.724886509	0.297149918
YBR294W	SUL1	-0.605575602	0.456318708
YBR295W	PCA1	-0.67890816	0.335010953
YBR296C	PHO89	-1.200966127	0.313565246
YBR296C-A		-0.341345594	0.374992093
YBR297W	MAL33	-1.283407054	0.685983124
YBR298C	MAL31	-1.53809219	1.213427372
YBR299W	MAL32	-1.516645327	0.644604816
YBR300C		-0.435339309	1.038093551
YBR301W	DAN3	-0.62099872	0.351073183
YCL001W	RER1	-0.348329647	0.826536418
YCL001W-A		-0.37364684	0.940738051
YCL001W-B		-1.600405463	0.718838724
YCL002C		0.107088814	0.581253793
YCL003W	PGS1	-0.733325573	1.061830763
YCL005W	LDB16	-0.447270399	0.983948648

Materiale Supplementare

YCL005W-A	VMA9	-0.558142242	0.179311164
YCL006C		-0.765335817	0.229040027
YCL007C	CWH36	-1.295881349	0.051395975
YCL008C	STP22	-0.907344896	0.035842053
YCL009C	ILV6	-1.610648741	1.154780291
YCL011C	GBP2	-1.217553253	1.615268173
YCL012C		-1.093004307	0.113836633
YCL012W	BUD3	0.158014201	1.082724626
YCL013W		-0.16179723	0.8464868
YCL014W	BUD3	-1.064195088	0.519838819
YCL016C	DCC1	0.185950413	0.199635174
YCL021W-A		-0.928743258	0.218984971
YCL022C		1.092276801	0.120227305
YCL023C		-1.037131882	-0.147854515
YCL024W	KCC4	-0.928006053	1.357393108
YCL025C	AGP1	-0.242986847	1.121773237
YCL026C		-0.016296124	1.187787952
YCL026C-A	FRM2	-0.648071625	-0.015858864
YCL026C-B	HBN1	-0.793854033	0.146563804
YCL027W	FUS1	-0.918693982	1.033311046
YCL028W	RNQ1	-0.767372832	1.77156872
YCL029C	BIK1	-1.25654755	0.857967001
YCL030C	HIS4	-0.186095914	1.097130668
YCL032W	STE50	-1.484959138	1.411060447
YCL033C	MXR2	-1.917057903	1.545877573
YCL034W	LSB5	0.38557793	0.987455473
YCL035C	GRX1	-1.073798161	0.014431573
YCL036W	GFD2	0.155686183	1.104809652
YCL037C	SRO9	-1.899594537	0.403399688
YCL038C	AUT4	0.502560819	0.277508085
YCL039W	GID7	-0.85263648	1.161717613
YCL040W	GLK1	0.897159818	1.262804533
YCL042W		-0.945757188	1.580537284
YCL044C	MGR1	1.022290769	1.001043818
YCL045C	EMC1	1.009486672	1.79138368
YCL046W		0.826737283	1.67748755
YCL047C	POF1	-0.37626586	1.698977627
YCL048W	SPS22	-1.584613743	1.358711854
YCL049C		-0.0526714	1.150759894
YCL050C	APA1	-0.807822139	1.814593934

Materiale Supplementare

YCL051W	LRE1	-1.916623196	0.856365559
YCL055W	KAR4	-0.446688395	1.28385498
YCL056C	PEX34	-0.598009545	1.270045348
YCL057C-A		-0.924514026	0.124985708
YCL057W	PRD1	-0.09341171	1.797705338
YCL058C	FYV5	-0.421953207	-0.128897721
YCL060C	MRC1	1.326679083	2.535082621
YCL061C	MRC1	0.077988593	0.580955309
YCL062W		-0.861366546	2.068301974
YCL063W	VAC17	-0.670469096	1.807474687
YCL064C	CHA1	0.586951461	1.612266648
YCL069W	VBA3	-0.738272611	1.320120954
YCL074W		-0.769991852	1.037293196
YCL075W		-0.826737283	0.735055688
YCL076W		-0.540536608	0.912618943
YCR001W		-1.033348853	1.914467752
YCR002C	CDC10	-0.838549817	1.790892509
YCR004C	YCP4	-0.844488418	1.044430161
YCR005C	CIT2	-0.917529973	1.158906966
YCR006C		0.369863811	1.239591411
YCR007C		-0.129495984	1.142039191
YCR008W	SAT4	1.042369922	1.614520927
YCR009C	RVS161	0.480735654	0.226133576
YCR010C	ADY2	-0.738132499	2.046995486
YCR011C	ADP1	-0.917666493	2.001953984
YCR014C	POL4	-0.988958442	1.89235981
YCR015C		0.630892795	1.922978878
YCR016W		1.477418228	1.414191144
YCR017C	CWH43	-0.063729484	0.720906944
YCR019W	MAK32	-0.778139914	1.612888514
YCR020C	PET18	-0.739145618	2.053733161
YCR020C-A	MAK31	-1.210278198	0.594102044
YCR020W-B	HTL1	-0.888429752	-0.106101005
YCR021C	HSP30	-0.862239553	1.119304023
YCR022C		1.295541846	2.019035223
YCR023C		-0.807822139	1.903974059
YCR024C	PMP1	1.42241881	0.190497663
YCR024C-A	PMP1	1.59731114	1.100948555
YCR025C		0.48422768	0.461603556
YCR026C	NPP1	-0.868059597	0.365116349

Materiale Supplementare

YCR027C	RHB1	-0.618961704	0.128553265
YCR028C	FEN2	-0.790362007	-0.095425231
YCR028C-A	RIM1	-0.713828425	-0.045988395
YCR030C	SYP1	-1.813816785	0.671491658
YCR031C	RPS14A	0.053835409	0.227994575
YCR032W	BPH1	-0.249388895	0.058834008
YCR033W	SNT1	-1.003375626	0.177215669
YCR034W	FEN1	-0.678035153	0.977248673
YCR036W	RBK1	-0.594226516	0.297630251
YCR037C	PHO87	-0.686474217	0.698722062
YCR043C		-0.783086951	0.839289595
YCR044C	PER1	-0.8025841	0.789582944
YCR045C	RRT12	-0.791235013	0.262134524
YCR046C	IMG1	-1.88145399	0.016075639
YCR047C	BUD23	-1.936726419	0.01451873
YCR048W	ARE1	-0.776684903	0.138273588
YCR049C		-1.966922749	0.487409799
YCR050C		-1.969270166	0.074267366
YCR051W		-0.651553952	0.586413685
YCR053W	THR4	-0.983587475	-0.008497443
YCR059C	YIH1	-1.062740077	-0.154152118
YCR060W	TAH1	-1.666569666	-0.003489263
YCR061W		-1.908974508	0.267731894
YCR062W		-0.735653591	0.508839415
YCR063W	BUD31	-1.992424242	0.631122138
YCR065W	HCM1	-1.905463082	0.798933931
YCR066W	RAD18	-1.557405036	0.219533336
YCR067C	SED4	-0.65388197	0.303396771
YCR068W	CVT17	-0.741182633	0.366308241
YCR069W	CPR4	-0.001164009	1.205028559
YCR071C	IMG2	-1.580985915	0.034856276
YCR073C	SSK22	-0.883773717	0.057843248
YCR073W-A	SOL2	-1.531796842	0.628592944
YCR075C	ERS1	0.77370698	1.447819873
YCR075W-A		-1.59080239	0.274498865
YCR076C		-0.795018042	0.416871862
YCR077C	PAT1	-0.6841462	-0.131441814
YCR079W	PTC6	-1.216098242	-0.097756572
YCR081W	SRB8	-1.607020913	-0.127201064
YCR082W	AHC2	-1.694214876	0.529754134

Materiale Supplementare

YCR083W	TRX3	-1.657276995	1.143461394
YCR084C	TUP1	-2.014608311	-0.039616245
YCR085W		-1.67637644	0.591247998
YCR086W	CSM1	-1.890932371	0.592520342
YCR087C-A	L U G 1	-1.693555271	0.374408337
YCR087W		0.571673845	0.188704462
YCR088W	ABP1	-0.842451403	0.34181889
YCR089W	FIG2	-0.865440577	0.66739453
YCR090C		-0.6841462	0.38249115
YCR091W	KIN82	-1.076417181	0.379359455
YCR092C	MSH3	-0.839250378	0.700723248
YCR095C	OCA4	-1.694195476	0.009690215
YCR095W-A		-1.676696543	0.116921594
YCR098C	GIT1	-1.005412641	0.748422157
YCR099C		-1.328134094	0.861785954
YCR100C		-1.726807124	1.455051229
YCR101C		-2.009370271	0.931453215
YCR102C		-1.5920828	0.008175185
YCR102W-A		-1.381455399	0.010534291
YCR105W	ADH7	0.699357352	0.22188613
YCR106W	RDS1	1.325306702	0.543273762
YCR107W	AAD3	1.905245369	0.397471441
YDL001W	RMD1	-1.814059287	0.120241757
YDL002C	NHP10	-0.559859155	0.021716266
YDL005C	MED2	-0.234267558	0.210066439
YDL006W	PTC1	0.847421792	0.016422777
YDL009C		-0.846521841	-0.037890236
YDL010W	GRX6	0.407850377	-0.002172968
YDL011C		-1.059055845	0.555262106
YDL012C		-1.965855741	-0.043222462
YDL013W	HEX3	-0.728175553	1.824502339
YDL018C	ERP3	1.759699355	0.46081214
YDL019C	OSH2	-1.367904396	2.059383217
YDL020C	RPN4	-1.414019966	0.82716463
YDL021W	GPM2	-1.338267595	0.545418571
YDL022W	GPD1	-1.32060731	0.196420769
YDL023C		-1.202653467	0.347685976
YDL024C	DIA3	-1.516275777	-0.042221273
YDL025C	RTK1	-1.442852607	-0.059319704
YDL026W		-1.248542623	0.198541963

Materiale Supplementare

YDL027C		-1.457608549	2.396173814
YDL032W		-1.04200889	0.344319627
YDL033C	SLM3	-1.350720361	0.578113649
YDL034W		-1.147447508	0.711100453
YDL035C	GPR1	-1.321989215	0.75812207
YDL036C	PUS9	-1.419857281	0.415821209
YDL037C	BSC1	-0.672259351	0.107220341
YDL038C	PRM7	-1.000007807	0.33740889
YDL039C	PRM7	-1.538831288	0.056189498
YDL040C	NAT1	-1.425025764	-0.068830255
YDL041W	KRE26	-1.247829549	-0.070702269
YDL042C	SIR2	-1.175548859	0.057111725
YDL044C	MTF2	-1.223699551	0.529891202
YDL045W-A	MRP10	-1.241370247	-0.008345477
YDL046W	NPC2	-1.120108679	1.710395844
YDL047W	SIT4	-1.090575976	0.131490682
YDL048C	STP4	-1.182827936	1.446652564
YDL049C	KNH1	-1.208238344	1.415653696
YDL050C		-1.144142386	0.628164906
YDL051W	LHP1	-1.122437879	0.439256779
YDL052C	SLC1	-1.470058711	0.262331634
YDL053C	PBP4	-1.426790231	0.02167902
YDL054C	MCH1	-1.393845705	0.087321709
YDL056W	MBP1	-1.389942017	-0.171957937
YDL057W		-1.485400206	-0.060256829
YDL059C	RAD59	-1.3529845	0.079351678
YDL061W		-1.472044388	0.734487156
YDL062W		-1.425025764	0.28668347
YDL063C		-1.14480341	1.446720353
YDL065C	PEX19	-1.176233305	0.718993011
YDL066W	IDP1	-1.237781456	0.827408968
YDL067C	COX9	-1.221630597	0.08334675
YDL068W		-1.247821742	0.25967595
YDL069C	CBS1	-1.515102068	0.072602964
YDL070W	BDF2	-1.453543508	-0.009743714
YDL071C		-1.419427875	-0.129208507
YDL072C	YET3	-1.390852878	0.260551245
YDL073W		-1.433845497	0.6188242
YDL074C	BRE1	-1.468086048	-0.042395587
YDL075W	RPL31A	-1.466339798	1.180608039

Materiale Supplementare

YDL076C	RXT3	-1.319943683	0.111185615
YDL077C	VAM6	-1.156423389	0.09317957
YDL078C	MDH3	-1.434964555	0.88118861
YDL079C	MRK1	-1.441548775	0.670249856
YDL080C	THI3	-1.376370195	-0.123249049
YDL081C	RPP1A	-1.213719122	-0.104134086
YDL082W	RPL13A	-1.395961504	-0.087851356
YDL083C	RPS16B	-1.471531703	0.035733508
YDL085C-A		-1.330098477	0.616498316
YDL085W	NDE2	-1.509459938	0.09429949
YDL086W		-1.429150662	0.086610001
YDL088C	ASM4	-1.469886949	0.250645881
YDL089W	NUR1	-1.475117891	0.094830478
YDL090C	RAM1	-1.330436797	0.028535675
YDL091C	UBX3	-1.392682406	0.07451528
YDL093W	PMT5	-1.47128447	0.316350697
YDL094C		-1.392364906	0.083227412
YDL095W	PMT1	-1.381588124	0.029204326
YDL096C	OPI6	-1.429984868	0.431221045
YDL099W		0.528751019	-0.180948823
YDL100C	ARR4	-1.43551391	-0.04590094
YDL101C	DUN1	-1.124869049	0.106944865
YDL104C	QRI7	-1.448900012	0.591835004
YDL106C	PHO2	-1.275171691	0.279928871
YDL107W	MSS2	-1.463595623	0.232375969
YDL109C		-1.334972646	0.900161887
YDL110C	TAM17	-1.452392038	0.294344205
YDL112W	TRM3	-1.389826563	1.184692652
YDL113C	CVT20	-1.48294727	0.830936818
YDL114W		-0.625363753	0.521941284
YDL115C	IWR1	-1.791409615	-0.066609462
YDL116W	NUP84	-0.477825631	-0.108026506
YDL117W	CYK3	-0.62769177	-0.088340627
YDL118W		0.208648586	-0.054219748
YDL119C		-0.437667326	0.702260789
YDL121C		-0.752240717	0.915717861
YDL122W	UBP1	-0.764171808	0.774101463
YDL123W	SNA4	-0.797637062	0.811408269
YDL124W		-0.800547084	1.004392814
YDL125C	HNT1	-0.422826213	0.71419818

Materiale Supplementare

YDL127W	PCL2	-1.009486672	0.85844985
YDL128W	VCX1	-1.920614597	0.439677517
YDL129W		-1.876382261	-0.231726984
YDL130W	RPP1B	-0.6052846	0.075360927
YDL130W-A	STF1	-0.681236177	1.241003574
YDL131W	LYS21	-0.644278897	0.810306961
YDL133C-A	RPL41B	0.594808521	0.076152871
YDL133W	SRF1	-0.889302759	0.377414288
YDL134C	PPH21	-0.891921779	0.577085345
YDL134C-A	RPL41B	-0.85001746	0.570280835
YDL135C	RDI1	-0.989407519	0.469373498
YDL136W	RPL35B	-1.297287859	0.643478479
YDL137W	ARF2	-1.821964847	1.045357535
YDL138W	RGT2	-2.00529624	0.778133037
YDL142C	CRD1	-1.895297404	-0.174753966
YDL144C		1.790285125	-0.059116635
YDL146W	LDB17	-0.817425212	-0.311886467
YDL149W	APG9	-1.946901796	-0.06736393
YDL151C	BUD30	-0.840414387	0.06238166
YDL154W	MSH5	-0.213595623	0.084898498
YDL155W	CLB3	-0.502851822	0.05514704
YDL156W		-0.332033523	0.116997821
YDL157C		-1.145675707	0.024362699
YDL158C		-1.427074846	0.160867561
YDL159W	STE7	-1.791700617	0.122684228
YDL159W-A		-1.640961471	0.282485146
YDL160C	DHH1	-1.518158538	0.061379875
YDL160C-A		-1.91974159	0.376796809
YDL161W	ENT1	-1.002066116	0.178219987
YDL162C		-1.073361658	0.176720641
YDL167C	NRP1	-0.9867885	0.244659876
YDL168W	SFA1	-0.520020952	-0.131851337
YDL169C	UGX2	0.295076243	0.017010353
YDL170W	UGA3	-0.397654522	0.014509222
YDL171C	GLT1	1.159934816	0.061479831
YDL172C		0.112035851	-0.010535401
YDL173W	PAR32	0.694185776	0.009526953
YDL174C	DLD1	-0.530788034	0.051242078
YDL175C	AIR2	0.536462577	0.095829283
YDL176W		-0.217960657	0.079854034

Materiale Supplementare

YDL177C		-0.212431614	0.160827578
YDL178W	DLD2	-0.264230008	0.142899848
YDL179W	PCL9	-0.539954604	0.125740671
YDL180W		-0.535444069	-0.118652654
YDL181W	INH1	-0.662903038	0.038094483
YDL182W	LYS20	0.378593877	0.070666932
YDL183C		-0.530060528	0.055606839
YDL184C	RPL41A	-0.762134792	0.068385706
YDL185W	TFP1	0.424717728	-0.03516243
YDL186W		1.224828309	0.172753484
YDL187C		0.027354208	0.119785493
YDL188C	PPH22	-0.069113025	0.131151643
YDL189W	RBS1	1.313729484	0.129492367
YDL190C	UFD2	0.090210686	0.092750627
YDL191W	RPL35A	-0.737545105	0.070856195
YDL192W	ARF1	-0.659847515	0.121254191
YDL194W	SNF3	-0.642241881	0.438822931
YDL197C	ASF2	-0.122075428	0.340733292
YDL198C	YHM1	0.648207426	0.099597597
YDL199C		-0.643842393	0.304283611
YDL200C	MGT1	1.80523222	0.940073186
YDL201W	TRM8	1.580869515	0.262291276
YDL202W	MRPL11	0.429810267	0.060650307
YDL203C	ACK1	0.584623443	0.155758671
YDL204W	RTN2	0.559015249	0.060045699
YDL206W		-0.440868351	1.534757232
YDL210W	UGA4	-1.212024211	0.997773927
YDL211C		1.079918907	0.995512166
YDL213C	NOP6	-1.630776394	0.55018489
YDL214C	PRR2	-0.441450355	0.549834846
YDL215C	GDH2	-0.131241997	0.457062376
YDL216C	RRI1	-0.474915609	0.574857141
YDL218W		-0.622162728	0.235401349
YDL219W	DTD1	-0.767954836	0.80958845
YDL222C	FMP45	0.297113258	0.426031432
YDL223C	HBT1	-0.215050634	0.526633979
YDL224C	WHI4	0.601210569	1.162212124
YDL225W	SHS1	-0.187114422	0.578574713
YDL226C	GCS1	-0.034338261	0.575079391
YDL227C	HO	-1.794028635	0.801870156

Materiale Supplementare

YDL229W	SSB1	-1.842044	0.543911953
YDL230W	PTP1	-0.158305203	0.388970929
YDL231C	BRE4	0.041613316	0.429330969
YDL232W	OST4	-0.739145618	0.314603475
YDL233W		0.043650332	0.542695061
YDL234C	GYP7	-0.815679199	0.628082905
YDL236W	PHO13	0.109416832	0.218734636
YDL237W	AIM6	-0.03026423	0.887928991
YDL238C	GUD1	-0.139099057	1.082770421
YDL239C	ADY3	-1.118030497	1.043012504
YDL240W	LRG1	-1.197765103	0.98680369
YDL241W		-1.649400535	0.312909037
YDL242W		-1.895588406	0.04182499
YDL243C	AAD4	-0.765626819	-0.103904349
YDR001C	NTH1	-0.791817018	0.767951898
YDR003W	RCR2	-0.924805029	0.787752199
YDR003W-A		-0.433593295	0.709079405
YDR004W	RAD57	-0.472005587	0.385641916
YDR005C	MAF1	-0.559888255	0.282308483
YDR006C	SOK1	-0.65388197	0.42056613
YDR007W	TRP1	-0.804330113	0.08127271
YDR008C		-1.514957514	0.476405659
YDR009W	GAL3	-1.537073682	0.349978729
YDR010C		-1.965428937	0.640595889
YDR011W	SNQ2	-0.645151903	-0.020695411
YDR014W	RAD61	-0.440577348	0.092330485
YDR015C		2.034687464	-0.031569039
YDR017C	KCS1	0.04335933	0.635428442
YDR018C		1.033639856	0.993901187
YDR019C	GCV1	-0.057036433	0.700833498
YDR020C	DAS2	2.91322314	0.576863653
YDR022C	CIS1	1.458386684	0.037789522
YDR024W	FYV1	0.979222442	0.336337529
YDR025W	RPS11A	-0.640204866	0.361934594
YDR026C		-0.116982889	0.742245179
YDR027C	LUV1	-0.750203702	0.248260905
YDR028C	REG1	-0.596845536	0.135406642
YDR029W		-0.816843208	0.924173141
YDR030C	RAD28	-0.482772669	0.095610571
YDR031W	MIC14	-0.494994762	0.706172577

Materiale Supplementare

YDR032C	PST2	-0.304679316	0.104235099
YDR033W	MRH1	-0.659411012	0.589498301
YDR034C	LYS14	-0.475497614	0.245125634
YDR034W-B		0.1842044	0.888635665
YDR035W	ARO3	-0.717320452	0.764265377
YDR036C	EHD3	-0.130368991	0.069936032
YDR042C		-0.537190083	1.234081067
YDR043C	NRG1	-0.763007799	0.580593082
YDR046C	BAP3	-0.132988011	1.547915085
YDR048C		-0.589570481	0.331425743
YDR049W	VMS1	-0.537190083	0.337460291
YDR051C	DET1	-0.540391107	0.392759595
YDR055W	PST1	-0.630019788	0.599037308
YDR056C		-0.399837039	0.326748164
YDR057W	YOS9	0.897741823	0.162010111
YDR058C	TGL2	-0.771155861	0.036681211
YDR059C	UBC5	-0.528751019	0.553479483
YDR061W		0.478407636	0.314120072
YDR063W	AIM7	-0.551158189	0.385827255
YDR065W	RRG1	-0.051798394	0.282482797
YDR066C	RTR2	1.216175843	0.50917687
YDR067C	OCA6	0.377284367	0.206501938
YDR068W	DOS2	0.123093936	0.465403158
YDR069C	DOA4	0.11319986	0.253863243
YDR070C	FMP16	0.262920498	0.448023142
YDR071C	PAA1	0.337126062	0.003240455
YDR072C	IPT1	-1.901747953	0.272140157
YDR073W	SNF11	0.263065999	0.269774252
YDR074W	TPS2	0.606448609	-0.0226154
YDR075W	PPH3	0.013531603	0.349688354
YDR076W	RAD55	-0.202537539	0.085862387
YDR078C	SHU2	0.935281108	0.273960772
YDR079C-A	TFB5	0.626527762	0.783296896
YDR079W	PET100	1.04207892	0.23761329
YDR080W	VPS41	-0.564980794	0.398514197
YDR083W	RRP8	1.297287859	0.353047254
YDR084C	TVP23	-1.492317542	0.617471402
YDR085C	AFR1	-0.351967175	0.760027607
YDR089W		0.113636364	0.542166941
YDR090C		-1.524541187	0.599893235

Materiale Supplementare

YDR092W	UBC13	0.367535793	0.342162676
YDR093W	DNF2	-0.433011291	0.0907186
YDR094W		0.086718659	0.28509155
YDR095C		-0.765481318	0.239331104
YDR096W	GIS1	-0.449016413	0.290866265
YDR097C	MSH6	-0.271505063	0.280110188
YDR098C	GRX3	-0.563525783	0.391107335
YDR099W	BMH2	1.47625422	0.042381433
YDR100W	TVP15	1.295105343	0.943695879
YDR101C	ARX1	1.052846002	0.363694571
YDR102C		0.825136771	0.742349618
YDR103W	STE5	-0.529352423	1.332180657
YDR104C	SPO71	-0.312681876	0.217905361
YDR105C	TMS1	-0.371929927	0.140005556
YDR107C	TNM2	0.106215807	0.225146103
YDR108W	GSG1	0.357787219	0.115363195
YDR109C		0.272814573	0.111815083
YDR110W	FOB1	0.201082528	0.310863973
YDR111C	ALT2	-0.041758817	0.360530099
YDR112W	IRC2	-0.1578687	0.720134247
YDR116C	MRPL1	0.615033174	0.421458112
YDR117C	TMA64	0.282272145	0.495190021
YDR119W	VBA4	-0.467349552	0.189507797
YDR120C	TRM1	-0.049470376	0.217904616
YDR121W	DPB4	2.514259108	0.183552063
YDR122W	KIN1	0.759952276	0.335957762
YDR123C	INO2	-0.067221511	0.247120116
YDR124W		0.396345012	0.732750421
YDR125C	ECM18	-0.058636946	0.262088786
YDR126W	SWF1	-0.107379816	0.428533479
YDR127W	ARO1	0.230910255	0.699418984
YDR128W	MTC5	0.171836806	0.661713677
YDR129C	SAC6	0.79079851	0.185778666
YDR130C	FIN1	0	0.585638211
YDR131C		0.324758468	0.47142817
YDR132C		0.111453847	0.604122216
YDR133C		-0.147101618	0.2046627
YDR134C		0.038557793	0.673345049
YDR135C	YCF1	-0.333052031	0.06449294
YDR136C	VPS61	-0.052380398	0.105515158

Materiale Supplementare

YDR137W	RGP1	0.252298917	0.143892954
YDR139C	RUB1	0.064602491	0.472789004
YDR140W	FYV9	-0.535444069	0.172418054
YDR142C	PEX7	2.168548481	0.50068115
YDR143C	SAN1	0.185077407	0.327453264
YDR144C	MKC7	-0.926987545	0.568058119
YDR146C	SWI5	0.19337097	-0.019147507
YDR147W	EKI1	0.810441159	0.934822991
YDR148C	KGD2	0.571819346	1.5262456
YDR149C		1.225555814	1.184868456
YDR150W	NUM1	0.220725178	1.229035492
YDR151C	CTH1	3.448279207	1.149901334
YDR152W	GIR2	2.56452489	0.462713207
YDR153C	ENT5	4.002813021	0.179628505
YDR154C		2.293621232	0.099414195
YDR155C	CPR1	2.773260777	1.531981579
YDR156W	RPA14	2.527868312	0.909475924
YDR157W		3.307240135	2.097049974
YDR158W	HOM2	3.911554728	-0.068346049
YDR159W	SAC3	2.626915765	0.815989901
YDR161W	TCI1	2.091723897	1.559448723
YDR162C	NBP2	-0.402058356	0.676011162
YDR163W	CWC15	1.854557095	1.759671626
YDR165W	TRM82	1.646490513	1.310005163
YDR169C	STB3	1.391281574	0.176913972
YDR169C-A		1.354615295	0.251700059
YDR171W	HSP42	-0.199045513	0.829349516
YDR173C	ARG82	0.919275986	-0.130188135
YDR174W	HMO1	1.967756955	0.019111103
YDR176W	NGG1	1.706145967	0.27156209
YDR178W	SDH4	0.269177046	1.26184082
YDR179C	CSN9	1.906937493	1.440255086
YDR179W-A		2.368175998	0.746612493
YDR181C	SAS4	1.340938191	1.491580921
YDR182W-A		0.875625655	0.202266732
YDR183W	PLP1	0.718193458	1.510967039
YDR184C	ATC1	2.194156676	2.128977772
YDR185C	UPS3	1.299033873	1.931236984
YDR186C		-0.398964032	1.519144906
YDR191W	HST4	0.734780584	1.115704472

Materiale Supplementare

YDR192C	NUP42	0.943720172	-0.418332694
YDR193W		-0.210976603	0.092810085
YDR194W-A		-2.04609475	0.185746113
YDR195W	REF2	0.092538703	-0.301381054
YDR198C	RKM2	0.687056222	0.235537623
YDR199W		0.576475381	-0.018444934
YDR200C	VPS64	0.64864393	-0.127456432
YDR202C	RAV2	1.437550925	0.024572608
YDR203W		0	0.546210963
YDR204W	COQ4	1.673844721	0.50460157
YDR205W	MSC2	1.83680596	0.281990803
YDR206W	EBS1	1.900826446	1.177808929
YDR207C	UME6	-0.493539751	-0.321665948
YDR209C		-0.719939472	0.406847151
YDR210W		0.030555232	-0.345490761
YDR213W	UPC2	0.959725294	0.654947573
YDR214W	AHA1	-0.067803515	1.185383162
YDR215C		-0.397800023	0.89728521
YDR216W	ADR1	3.047666162	0.996249211
YDR217C	RAD9	1.196310092	0.320826844
YDR218C	SPR28	-0.131533	1.017576268
YDR219C	MFB1	-2.041225313	0.892018101
YDR220C		2.702828541	1.02808106
YDR221W	GTB1	2.271854266	1.101584261
YDR222W		-1.979552245	0.82898533
YDR223W	CRF1	3.369805611	0.801014164
YDR225W	HTA1	0.029391223	0.618145802
YDR226W	ADK1	1.934873705	-0.212873958
YDR227W	SIR4	1.60924223	0.782272409
YDR229W	IVY1	0.559306251	1.033965936
YDR231C	COX20	2.163601443	0.721263468
YDR233C	RTN1	2.538412292	0.963850405
YDR234W	LYS4	3.28686998	0.857095769
YDR237W	MRPL7	2.808753347	0.861025173
YDR239C		3.521708765	0.860888277
YDR241W	BUD26	3.483296473	1.01467934
YDR242W	AMD2	3.356419509	-0.012245782
YDR244W	PEX5	3.379699686	-0.028620929
YDR245W	MNN10	1.433767897	-0.013484289
YDR246W-A		0.681236177	0.223501071

Materiale Supplementare

YDR247W	VHS1	1.977360028	-0.008125079
YDR248C		-0.251425911	0.006062897
YDR249C		1.10260738	-0.005022129
YDR250C		3.37766267	0.014807766
YDR251W	PAM1	2.545396345	0.015395604
YDR252W	BTT1	2.834652543	0.091951063
YDR253C	MET32	2.584972646	0.04042552
YDR254W	CHL4	2.510767082	0.013951655
YDR255C	RMD5	1.516412525	0.010208324
YDR256C	CTA1	1.933418694	0.007911422
YDR257C	RMS1	-1.376973965	0.014930274
YDR258C	HSP78	-0.542476623	0.035743285
YDR259C	YAP6	-0.130692327	0.014001374
YDR260C	SWM1	0.270341055	0.028499239
YDR261C	EXG2	0.186099507	0.043269145
YDR262W		-0.268907599	0.069380903
YDR263C	DIN7	-0.053267775	0.104424925
YDR264C	AKR1	0.410331081	0.058154299
YDR265W	PEX10	-0.898133418	0.030096428
YDR266C		1.125643259	0.015699916
YDR268W	MSW1	-0.227484692	0.613359707
YDR269C		0.325676383	0.062499386
YDR270W	CCC2	0.293870919	0.047783486
YDR271C		-0.195192428	0.090456073
YDR272W	GLO2	0.158953671	0.052720837
YDR273W	DON1	-0.110255708	0.042753042
YDR274C		0.11803373	0.046439917
YDR275W	BSC2	-0.512981213	0.069121641
YDR276C	PMP3	-0.33809607	0.112550576
YDR277C	MTH1	-0.818158107	0.085288632
YDR278C		0.44511842	0.08134314
YDR279W	RNH202	-0.547755978	0.038068641
YDR281C	PHM6	-0.316488257	0.019333625
YDR282C		-0.404022441	0.02269699
YDR283C	GCN2	-0.309863466	0.003533564
YDR284C	DPP1	-0.349639157	0.114617637
YDR285W	ZIP1	-0.510723252	0.034956205
YDR286C		0.503142824	0.02040831
YDR287W	INM2	-0.213902792	0.031181019
YDR289C	RTT103	-0.890279951	0.002821214

Materiale Supplementare

YDR290W	SWS1	0.416546314	0.147129113
YDR291W	HRQ1	-0.928959893	0.088611264
YDR293C	SSD1	-0.719670025	-0.519849037
YDR294C	DPL1	-0.535038103	0.069677782
YDR295C	PLO2	-0.21695113	0.014541078
YDR296W	MHR1	-0.732722013	-0.011764858
YDR297W	SUR2	0.090129852	-0.025769811
YDR298C	ATP5	-0.33122698	-0.019210375
YDR300C	PRO1	-1.010632718	-0.008539287
YDR304C	CPR5	-0.252013304	0.059308156
YDR305C	HNT2	0.001235861	0.061004142
YDR306C		-0.377187367	-0.029654031
YDR307W		-0.166128133	0.378435055
YDR309C	GIC2	-0.757854186	0.409994335
YDR310C	SUM1	-0.273105576	0.421337712
YDR312W	SSF2	-0.128861887	0.410970434
YDR313C	PIB1	-0.584425849	0.354588388
YDR314C	RAD34	0.124721392	0.33561724
YDR315C	IPK1	-0.226480555	0.27183314
YDR316W		-0.699104072	0.38771405
YDR317W	HIM1	-0.713970334	0.329731622
YDR318W	MCM21	-0.995344324	0.234049126
YDR319C	YFT2	-1.021498597	0.437240428
YDR320C	SWA2	-0.636116464	0.325533344
YDR321W	ASP1	-0.231698835	0.323772032
YDR322C-A	TIM11	-0.289620849	0.245966069
YDR322W	MRPL35	-0.234163372	0.322140232
YDR323C	PEP7	-0.767423129	0.405785236
YDR326C	YSP2	-0.681651125	0.045739439
YDR329C	PEX3	0.138333829	0.347943968
YDR330W	UBX5	-0.748533133	0.296166313
YDR332W	IRC3	-0.540965926	0.247471473
YDR333C		-0.824283165	0.264345443
YDR334W	SWR1	-0.63669308	0.266095431
YDR335W	MSN5	-0.73144304	0.277333453
YDR336W		0.576931285	0.260113087
YDR337W	MRPS28	-1.098635739	0.259424724
YDR338C		-0.939200656	-0.050232189
YDR340W		-1.048401931	0.203877059
YDR344C		0.498486788	0.204014859

Materiale Supplementare

YDR345C	HXT3	-0.739612658	0.143674428
YDR346C	SGI1	-1.166282975	0.472128284
YDR348C	PAL1	-1.292253521	0.985877804
YDR349C	YPS7	-0.747559533	1.202638643
YDR351W	SBE2	0.519237761	0.730776189
YDR352W		-1.050076092	0.512603929
YDR354W	TRP4	-0.56511911	0.068577063
YDR357C	CNL1	-0.59916098	0.259847999
YDR358W	GGA1	-0.8167498	0.101804329
YDR359C	VID21	-0.441082111	0.067004704
YDR360W	OPI7	-0.707232375	0.167383215
YDR363W	ESC2	3.494946262	0.147790944
YDR363W-A	SEM1	3.408576805	0.339970415
YDR364C	CDC40	1.549150274	0.139055559
YDR368W	YPR1	1.429296163	0.336537262
YDR369C	XRS2	2.105973305	0.151009189
YDR370C		2.940907151	0.129162758
YDR371W	CTS2	3.363519963	1.426230348
YDR372C	VPS74	1.892726885	0.385143618
YDR374C		3.742433942	1.018451548
YDR378C	LSM6	3.362220153	0.150678572
YDR379C-A	SDH6	2.937405424	0.455342099
YDR379W	RGA2	2.403775269	0.190843654
YDR380W	ARO10	1.541312614	0.140361059
YDR382W	RPP2B	3.155094479	0.211037514
YDR383C	NKP1	3.666598766	0.187338496
YDR384C	ATO3	-0.112833413	0.242785488
YDR385W	EFT2	2.728281535	0.739714675
YDR386W	MUS81	2.919411788	0.934888229
YDR387C		3.743821053	0.759647332
YDR388W	RVS167	3.593828813	0.187033074
YDR389W	SAC7	2.638061149	0.208500556
YDR391C		3.272271369	0.179788808
YDR392W	SPT3	4.147479921	0.491973017
YDR393W	SHE9	3.629476584	0.179976998
YDR395W	SXM1	1.11584798	0.173761604
YDR399W	HPT1	3.451848834	0.210193747
YDR400W	URH1	1.503259225	0.314466134
YDR401W		4.366633686	0.304201068
YDR402C	DIT2	3.057618438	0.604423419

Materiale Supplementare

YDR403W	DIT1	3.693982074	1.176365646
YDR405W	MRP20	3.151088348	0.215267664
YDR406W	PDR15	3.297598262	0.494457529
YDR408C	ADE8	3.203177744	0.372290689
YDR409W	SIZ1	3.674805029	0.374865182
YDR410C	STE14	4.420071393	0.525901623
YDR411C	DFM1	4.28289295	0.206709671
YDR414C	ERD1	2.325524774	0.172241691
YDR415C		2.588678074	0.2986829
YDR417C		1.066552206	-0.145295029
YDR418W	RPL12B	3.197299499	0.240862459
YDR419W	RAD30	3.237477205	0.289902782
YDR420W	HKR1	2.023949482	0.618854363
YDR421W	ARO80	2.590676289	0.373666631
YDR422C	SIP1	3.47503201	0.508478158
YDR423C	CAD1	2.443128468	0.537031024
YDR424C	DYN2	3.606933613	0.843012035
YDR425W	SNX41	4.143095488	0.730666155
YDR426C		2.391116672	0.457410428
YDR428C	BNA7	2.856409809	0.309989179
YDR430C	CYM1	1.7369049	0.253378087
YDR431W		0.417927676	0.142261978
YDR432W	NPL3	2.750756606	0.243415871
YDR433W	KRE22	-1.41715167	0.2112606
YDR435C	PPM1	2.078716098	0.224362974
YDR436W	PPZ2	2.069956932	0.758786597
YDR438W	THI74	2.600376363	0.187753332
YDR439W	LRS4	2.557017033	0.067494442
YDR440W	DOT1	3.161496527	-0.03333423
YDR441C	APT2	3.403164164	0.186730689
YDR442W		-0.950995228	0.01069842
YDR443C	SSN2	2.63421022	0.089264939
YDR444W		2.419033485	0.176052532
YDR445C		3.159294611	0.047631987
YDR446W	ECM11	0.096864936	0.619643029
YDR447C	RPS17B	0.290362007	0.401761059
YDR448W	ADA2	2.080539712	0.374421075
YDR450W	RPS18A	2.172797113	0.173967317
YDR451C	YHP1	1.328978	0.033983216
YDR452W	PPN1	2.160730222	0.427307469

Materiale Supplementare

YDR453C	TSA2	-1.372948434	0.430965385
YDR455C		-1.45137353	0.011052412
YDR456W	NHX1	-1.293795833	-0.046018938
YDR457W	TOM1	-1.204603655	0.101870982
YDR458C	HEH2	-1.484693284	0.408801563
YDR459C	PFA5	-1.336136655	0.123110491
YDR461W	MFA1	-1.146606914	1.200637779
YDR462W	MRPL28	-1.757740659	0.48675843
YDR463W	STP1	-1.229193342	0.407975582
YDR465C	RMT2	-1.47625422	0.55057529
YDR466W	PKH3	-1.504917937	0.370452448
YDR467C		-1.33162612	0.695751272
YDR469W	SDC1	-1.312274473	0.222110206
YDR470C	UGO1	-1.380368991	0.149679545
YDR471W	RPL27B	-1.222209289	0.141360737
YDR474C	JIP4	-1.158479804	-0.021062514
YDR475C	JIP4	-1.488330811	0.806340028
YDR476C		-1.441042952	0.096128448
YDR477W	SNF1	-1.504772436	1.927838305
YDR479C	PEX29	-1.281282738	0.132864933
YDR480W	DIG2	-1.218203158	0.265061214
YDR481C	PHO8	-1.345739728	0.905511097
YDR482C	CWC21	-1.146548714	1.184771317
YDR483W	KRE2	-0.916074962	0.546937041
YDR484W	SAC2	-1.089948784	0.414032776
YDR485C	VPS72	-1.138255151	0.235154194
YDR486C	VPS60	-1.320568036	0.341838109
YDR488C	PAC11	-1.134617623	0.035202521
YDR490C	PKH1	-0.936736119	-0.018879564
YDR491C		-1.450646025	0.050030845
YDR492W	IZH1	0.169537888	0.379695568
YDR493W	MZM1	-1.334099639	0.65356367
YDR494W	RSM28	-1.445369185	0.957370899
YDR495C	VPS3	-0.961616808	0.521174302
YDR496C	PUF6	-1.223518799	0.482235201
YDR497C	ITR1	-1.078308695	0.844408174
YDR500C	RPL37B	-1.187434525	0.902461642
YDR501W	PLM2	-1.092422302	0.481475594
YDR502C	SAM2	-0.970928879	0.867837784
YDR503C	LPP1	-1.351414271	0.233890267

Materiale Supplementare

YDR504C	SPG3	-0.935863113	0.20968116
YDR505C	PSP1	-0.804330113	0.052351458
YDR506C		-1.445698987	0.544411422
YDR507C	GIN4	-1.356943313	-0.047238243
YDR508C	GNP1	-1.132580608	0.145018652
YDR509W		-1.365983781	0.217724641
YDR511W	ACN9	-0.930916075	0.96079282
YDR512C	EMI1	-1.486730299	0.221693044
YDR513W	TTR1	-1.121522524	0.867968297
YDR514C		-1.023163776	1.415632987
YDR515W	SLF1	-1.373026035	0.584336218
YDR516C	EMI2	-0.905744384	0.758820816
YDR517W	GRH1	-1.418693982	0.128656363
YDR518W	EUG1	-1.19470958	0.200958524
YDR519W	FPR2	-1.13025259	0.146552617
YDR520C	URC2	-1.281137237	0.066019476
YDR521W		-1.384336321	-0.052823447
YDR522C	SPS2	-1.468979164	0.98364496
YDR523C	SPS1	-0.566872308	0.021888495
YDR524C	AGE1	-0.23818531	0.296350159
YDR524C-B		-1.207659178	0.740492253
YDR524W-A		-1.428820859	1.388558853
YDR525W	SNA2	-0.772756373	0.011504734
YDR525W-A	SNA2	-0.739291119	0.148625912
YDR528W	HLR1	-1.412185233	0.092824524
YDR529C	QCR7	-0.868787103	-0.02424844
YDR530C	APA2	-1.217698755	0.291335275
YDR533C	HSP31	-0.930043068	0.097760743
YDR534C	FIT1	-1.288557793	0.032272255
YDR535C		0.735071587	-0.012170406
YDR536W	STL1	-0.958706786	1.71033774
YDR537C		-1.464177628	-0.08740074
YDR538W	PAD1	-1.142765685	1.430421979
YDR539W	FDC1	-1.319986032	0.897468807
YDR540C	IRC4	0.711354906	1.189575236
YDR541C		-0.368990804	1.137891833
YEL001C	IRC22	-1.452246537	0.46334868
YEL003W	GIM4	1.969671821	0.251302347
YEL004W	YEA4	-0.921313002	1.157420952
YEL005C	VAB2	-1.33686416	0.606428203

Materiale Supplementare

YEL006W	YEA6	-1.160371319	0.868807504
YEL007W	TOS9	-1.37367594	0.221651194
YEL008W		-1.18292399	0.16584582
YEL009C	GCN4	1.80600104	0.127140492
YEL010W		1.039291047	0.134132296
YEL011W	GLC3	-1.484499282	0.65660229
YEL012W	UBC8	1.464048293	0.188306695
YEL013W	VAC8	-0.600138172	0.431796094
YEL014C		-0.699474112	0.43617587
YEL015W	EDC3	-0.380765616	0.525939158
YEL016C	NPP2	2.505073139	0.379303574
YEL017C-A	PMP2	2.330578512	0.496771334
YEL017W	GTT3	2.500873007	0.502916285
YEL018W	EA55	2.708784387	0.264520342
YEL020C		2.427026345	0.314831201
YEL022W	GEA2	2.103557987	0.257523096
YEL023C		1.774453886	0.324070481
YEL024W	RIP1	3.487622706	0.13611497
YEL025C	SRI1	0.346341132	0.220600727
YEL027W	CUP5	-0.927133046	0.138939355
YEL028W		-1.223082295	0.169467696
YEL029C	BUD16	1.65523028	-0.125547018
YEL030W	ECM10	0.683311993	0.669624384
YEL031W	SPF1	2.939403639	0.163428665
YEL033W	MTC7	2.65268886	0.577831117
YEL037C	RAD23	2.278169014	0.80189998
YEL038W	UTR4	2.502851822	0.654422686
YEL039C	CYC7	2.499932099	0.659087316
YEL040W	UTR2	2.11451907	0.090377218
YEL041W	YEF1	-0.696348892	0.251910098
YEL042W	GDA1	1.260767082	0.182795212
YEL043W		0.468911264	0.95887313
YEL045C		0.649099833	0.1790052
YEL046C	GLY1	4.228058433	0.161721077
YEL047C	FRD1	4.274356885	1.341164598
YEL048C	TCA17	-0.372773833	0.851086844
YEL049W	PAU2	3.81715361	1.368569302
YEL050C	RML2	3.962237613	0.103871328
YEL051W	VMA8	3.804465914	0.132858675
YEL052W	AFG1	3.044436038	0.786823228

Materiale Supplementare

YEL053C	MAK10	2.575330773	0.299202735
YEL054C	RPL12A	3.274550887	0.210782996
YEL056W	HAT2	1.466874248	0.2230693
YEL057C		1.590394987	0.816810139
YEL059C-A	SOM1	3.43024677	1.141627127
YEL059W	HHY1	2.929073061	0.205243747
YEL060C	PRB1	2.374849649	1.298891383
YEL061C	CIN8	3.563244481	0.340518035
YEL062W	NPR2	3.087931168	0.982029689
YEL063C	CAN1	3.557327436	0.243893543
YEL064C	AVT2	2.492812245	1.30942845
YEL065W	SIT1	2.787548985	1.151289143
YEL066W	HPA3	0.545328444	0.827680394
YEL067C		0.576155279	0.255638417
YEL068C		-0.248263687	0.253389399
YEL071W	DLD3	3.574195864	0.223527433
YEL072W	RMD6	2.553680208	0.789821919
YER001W	MNN1	2.521495363	0.902855914
YER002W	NOP16	-0.379466884	1.044002639
YER004W	FMP52	2.856244907	0.901439866
YER005W	YND1	3.12238583	1.06903338
YER007C-A	TAM20	3.057676638	0.733679757
YER007W	PAC2	2.698201606	0.287266278
YER010C		2.993888954	0.796652271
YER011W	TIR1	3.147790323	0.488911596
YER015W	FAA2	1.005917045	0.305771616
YER016W	BIM1	1.167976177	0.150058113
YER019C-A	SBH2	-0.996682575	0.273255727
YER019W	ISC1	2.677103946	0.220736984
YER020W	GPA2	2.382968611	0.260011508
YER024W	YAT2	2.626915765	0.80602318
YER026C	CHO1	2.473392698	0.26561306
YER027C	GAL83	2.227408528	0.066570875
YER028C	MIG3	2.7631727	0.851878165
YER030W	CHZ1	2.721520584	1.095022036
YER031C	YPT31	-0.229571645	0.282652181
YER032W	FIR1	2.061323866	0.821360286
YER033C	ZRG8	1.061479067	0.84542265
YER034W		-0.476758623	1.34632901
YER035W	EDC2	-0.761087184	1.256534871

Materiale Supplementare

YER037W	PHM8	3.116701587	0.029916481
YER038W-A	FMP49	2.345167423	0.747257164
YER039C	HVG1	-0.902873162	1.526515554
YER039C-A		1.758526365	0.153036508
YER040W	GLN3	1.45392465	1.036047777
YER041W	YEN1	-0.826669383	1.108599443
YER042W	MXR1	-1.113743064	0.546969588
YER044C	ERG28	2.761727389	0.163595259
YER044C-A	MEI4	-0.141912079	0.347889817
YER045C	ACA1	-1.400302642	0.964578973
YER046W	SPO73	1.647654522	0.350520335
YER046W-A		2.161312226	0.573291432
YER047C	SAP1	2.321305242	0.473668249
YER048C	CAJ1	2.836505257	0.282335097
YER049W	TPA1	-1.202944942	0.376460679
YER051W	JHD1	2.261688589	1.606173924
YER052C	HOM3	2.799150274	0.506823158
YER053C	PIC2	-0.961244972	1.058954446
YER053C-A		1.941624956	0.293798144
YER054C	GIP2	0.919508788	1.734867751
YER055C	HIS1	0.251387111	0.456176399
YER056C	FCY2	2.250116401	0.763874911
YER056C-A	RPL34A	-0.995780468	0.970909543
YER057C	HMF1	2.071955147	0.910675415
YER058W	PET117	-1.237050402	0.207117929
YER059W	PCL6	2.180081869	0.260552938
YER060W	FCY21	2.030855935	0.899065902
YER060W-A	FCY22	2.655928685	1.07477022
YER061C	CEM1	2.385034726	0.528820986
YER062C	HOR2	2.608679626	0.628392381
YER063W	THO1	1.291758817	0.364842973
YER064C	VHR2	1.802884802	0.47731388
YER065C	ICL1	-0.196862996	0.485288177
YER066C-A		2.526393901	1.557020299
YER066W	RRT13	1.601162069	0.437109207
YER067C-A		-0.416889768	0.382541359
YER067W	RGI1	-0.639254258	0.981863095
YER068C-A		0.939937144	1.256909707
YER069W	ARG5,6	-0.677123346	1.352534635
YER070W	RNR1	-0.459977496	0.03342541

Materiale Supplementare

YER071C	TDA2	1.534658363	0.555799067
YER072W	VTC1	0.884646723	0.526728423
YER073W	ALD5	1.033348853	0.684576191
YER074W	RPS24A	1.286355876	0.207201226
YER075C	PTP3	-0.790653009	0.608401107
YER076C		-0.960307298	0.235723397
YER077C		1.752269817	0.431105161
YER078C	ICP55	2.302991503	0.667899581
YER079W		0.151903154	1.603086574
YER080W	AIM9	1.736235595	0.43730912
YER081W	SER3	1.573769061	1.075988677
YER083C	RMD7	2.418082877	0.297037014
YER084W		1.312468475	0.745258037
YER085C		0.508749466	0.996273472
YER086W	ILV1	1.427094246	0.171050339
YER087C-A	SBH1	0.949035813	0.373711879
YER087C-B	SBH1	-0.085205448	0.196953747
YER087W	AIM10	-1.329181702	0.931843261
YER088C	DOT6	-0.387876848	0.980432053
YER089C	PTC2	-0.22503201	0.055113667
YER090W	TRP2	-1.227156326	0.052283845
YER091C	MET6	-1.253055523	0.631762021
YER091C-A		2.247119078	0.376932763
YER092W	IES5	-0.23021185	0.243256044
YER093C-A	AIM11	1.587271563	0.356924207
YER095W	RAD51	1.824816669	0.073330214
YER096W	SHC1	1.779527024	0.564138205
YER097W		1.237836108	0.749663892
YER098W	UBP9	0.780438831	0.692777611
YER099C	PRS2	0.097912544	0.131001153
YER101C	AST2	0.129641485	0.375700347
YER103W	SSA4	0.622890234	0.105261318
YER105C	NUP157	-1.083692236	0.255677289
YER106W	MAM1	-1.477486129	0.050584479
YER108C	FLO8	-1.287975789	0.168986998
YER109C	FLO8	-1.324060063	0.271691083
YER110C	KAP123	-0.798071769	0.067839495
YER111C	SWI4	-1.258875567	0.280091564
YER113C	TMN3	-1.149167734	0.54610808
YER114C	BOI2	-0.451635432	0.339212967

Materiale Supplementare

YER115C	SPR6	-0.907344896	0.598968476
YER116C	SLX8	-0.733034571	0.081400838
YER117W	RPL23B	-1.032766849	0.07997176
YER118C	SHO1	0.233383774	0.271259051
YER119C	AVT6	0.038906996	0.06055644
YER119C-A		-1.078279595	0.098055736
YER120W	SCS2	0.45658247	0.107704695
YER121W		-0.61320956	0.117534226
YER122C	GLO3	-1.236138595	0.276092768
YER123W	YCK3	0.058074341	0.434514838
YER124C	DSE1	-1.458134482	0.524982992
YER128W		0.538004889	0.668148849
YER129W	PAK1	0.239999224	0.452052928
YER130C	COM2	-0.104721996	0.972886349
YER131W	RPS26B	-0.134016219	0.053101754
YER132C	PMD1	0.060188957	0.133822618
YER134C		-1.005926745	0.011210337
YER135C		-0.255509642	0.171357075
YER137C		-0.680169169	0.048983172
YER139C	RTR1	-0.422108408	0.246100602
YER140W		-1.447047298	0.032030301
YER141W	COX15	-1.467465953	0.123537189
YER142C	M A G 1	-0.69611609	0.017234158
YER143W	DDI1	-1.561973771	0.016030347
YER144C	UBP5	-0.364548171	0.162413715
YER145C	FTR1	-0.540391107	0.109250579
YER149C	PEA2	-0.697697202	0.144510906
YER150W	SPI1	-0.074836069	-0.048763864
YER151C	UBP3	-1.110629341	-0.070584421
YER152C		-0.685940713	-0.032412898
YER153C	PET122	-0.920042292	-0.049585078
YER154W	OXA1	-0.933932798	-0.011766355
YER155C	BEM2	-1.492317542	0.075372148
YER156C		-0.989048617	0.451167949
YER158C		-0.425745936	0.050610104
YER161C	SPT2	-0.101220269	-0.014557169
YER162C	RAD4	-0.618932604	-0.015927248
YER163C		-0.243956854	0.039293689
YER164W	CHD1	-0.960664764	0.050962308
YER166W	DNF1	-0.928335855	0.15010207

Materiale Supplementare

YER167W	BCK2	-0.942614364	-0.023151304
YER169W	RPH1	-1.063680984	0.084436586
YER170W	ADK2	-1.202906142	0.044272816
YER173W	RAD24	-1.199753618	0.266851436
YER174C	GRX4	-1.068492221	0.274425907
YER175C	TMT1	-1.53416366	0.504244673
YER175W-A		-1.54216622	0.181301254
YER176W	ECM32	-1.117205991	0.191469651
YER177W	BMH1	-0.831723121	0.139024629
YER178W	PDA1	-1.461548908	0.162784394
YER179W	DMC1	-0.672186009	0.46147364
YER180C	ISC10	-0.755684243	0.176255153
YER180C-A	SLO1	-1.098067745	0.244030555
YER181C		-1.133870717	0.107712443
YER182W	FMP10	-1.378302875	0.936011009
YER183C	FAU1	-1.448958212	0.213013093
YER184C	RTC1	-1.486982501	0.057396736
YER185W	PUG1	-1.400661545	0.312441292
YER186C		-1.341122493	0.1571682
YER186W-A	KHS1	-1.329918907	0.132869782
YER187W	KHS1	0.108107322	0.252682228
YER188W		-1.507682458	0.830666855
YFL001W	DEG1	-1.510136577	-0.052265642
YFL003C	MSH4	-1.471404183	-0.235895038
YFL004W	VTC2	-1.475885617	-0.296093958
YFL006W	BLM10	-1.308258643	0.044527098
YFL007W	BLM3	1.598184146	-0.320240238
YFL010C	WWM1	-1.403435766	-0.307505253
YFL010W-A	AUA1	-1.288518993	-0.03593271
YFL011W	HXT10	-1.233354673	0.06065173
YFL012W		-1.206786172	-0.293000398
YFL013C	IES1	-1.14874093	-0.293189109
YFL013W-A		-1.309965856	-0.035002879
YFL014W	HSP12	0.392416482	-0.019559687
YFL015C		-1.459133589	-0.057885114
YFL018C	LPD1	0.035125045	0.012653943
YFL019C		-1.429897567	0.21495245
YFL020C	PAU5	-1.378196174	-0.003067186
YFL021W	GAT1	-1.318686222	-0.030715725
YFL023W	BUD27	-0.741619136	-0.031612652

Materiale Supplementare

YFL025C	BST1	-1.493045047	-0.022440579
YFL026W	STE2	-0.40399837	-0.014432966
YFL027C	GYP8	-1.49346215	-0.008346201
YFL028C	CAF16	-0.691857758	-0.022166843
YFL030W	AGX1	-0.722839794	-0.017101143
YFL031W	HAC1	-0.344216816	0.108534334
YFL032W		-1.449346215	0.01631634
YFL033C	RIM15	-1.029488224	-0.27551507
YFL034C-A	RPL22B	0.747875684	1.292472436
YFL034W		-0.066348504	-0.087395516
YFL035C-B	RPL22B	-0.315339697	-0.038921295
YFL036W	RPO41	-0.471714585	-0.062106907
YFL040W		-0.164125247	-0.052018411
YFL041W	FET5	-1.054592015	-0.061388869
YFL041W-A		-0.237748807	0.878264593
YFL042C		-0.529187522	0.046474785
YFL043C		-0.655627983	-0.055425271
YFL044C	OTU1	0.013240601	-0.065811919
YFL046W	FMP32	-0.442323362	-0.053966123
YFL047W	RGD2	-0.550430683	-0.068559139
YFL048C	EMP47	-0.068676522	-0.080218765
YFL049W	SWP82	-1.448279207	-0.070104011
YFL050C	ALR2	0.381153619	-0.047497702
YFL051C		-0.615615179	-0.111051836
YFL052W	ROP1	-1.057793039	-0.111420634
YFL053W	DAK2	-0.987370504	-0.135941043
YFL054C		-0.055435921	-0.143629753
YFL055W	AGP3	-0.431410779	-0.134093117
YFL056C	AAD6	0.913310441	-0.115952903
YFL063W		-0.781787142	-0.197086908
YFR001W	LOC1	-0.211558608	-0.14939636
YFR006W		-0.185659411	-0.144678328
YFR007W	YFH7	-0.352840182	-0.149766044
YFR008W	FAR7	-0.570364335	-0.148305702
YFR009W	GCN20	-0.930770574	-0.130790582
YFR010W	UBP6	-0.168635782	-0.177199449
YFR011C	AIM13	-0.999010592	0.313861431
YFR012W	DCV1	-0.337126062	-0.149740058
YFR012W-A		-0.715865441	1.259554742
YFR013W	IOC3	-0.335234548	0.029673335

Materiale Supplementare

YFR014C	CMK1	-0.739291119	-0.232967001
YFR015C	GSY1	-0.850744966	-0.16629123
YFR016C		-0.958706786	-0.131487531
YFR017C	IGD1	-0.314369689	-0.055881123
YFR018C		-1.026946805	-0.18456678
YFR019W	FAB1	-1.040478408	-0.011974787
YFR020W		-0.480590152	-0.19033922
YFR021W	AUT10	-0.947648702	-0.193817326
YFR022W	ROG3	-0.854964498	-0.183530256
YFR023W	PES4	0.613723664	-0.14323776
YFR024C	YSC85	1.439180538	0.555216665
YFR024C-A	LSB3	-0.257827959	0.043155859
YFR025C	HIS2	1.046152951	0.143929859
YFR026C	ULI1	-0.673175416	-0.006869649
YFR030W	MET10	-0.467495053	0.04648601
YFR031C-A	RPL2A	-0.804184612	-0.011771361
YFR032C	RPL29	-0.736526598	1.380173018
YFR032C-A	RPL29	-0.519147946	0.377911306
YFR032C-B		-0.264957514	0.315489936
YFR033C	QCR6	-1.622667132	0.722726165
YFR034C	PHO4	-0.360697241	1.890860461
YFR035C		-0.141427075	0.511465153
YFR036W	CDC26	-0.971510883	0.190303981
YFR038W	IRC5	-0.431992783	0.630217716
YFR039C		-0.465244636	0.045202492
YFR040W	SAP155	0.166889768	-0.006865892
YFR041C	ERJ5	-0.766946029	0.120595004
YFR043C	IRC6	-0.566581306	0.346506748
YFR044C	DUG1	-1.366255384	0.271953328
YFR045W		-0.811023164	0.221134816
YFR046C	CNN1	0.826401373	0.402161534
YFR047C	BNA6	-0.966558457	0.605685978
YFR048W	RMD8	-0.389797462	0.113779171
YFR049W	YMR31	0.467897426	0.638248458
YFR053C	HXK1	0.807660472	1.181072281
YFR054C		0.131908428	0.150307672
YFR055W	IRC7	-0.690264431	0.174950032
YFR056C		-1.21597789	0.057729869
YFR057W		-1.434340201	0.53547879
YGL002W	ERP6	-0.904181594	1.404473901

Materiale Supplementare

YGL003C	CDH1	0.125845882	0.384924993
YGL004C	RPN14	-0.81476847	1.827954802
YGL005C	COG7	0.756700955	0.021832476
YGL006W	PMC1	0.794300237	1.301620205
YGL006W-A		1.12968316	0.99149302
YGL007C-A		-0.515156545	1.156656513
YGL007W	BRP1	0.998547145	0.59797861
YGL010W		0.814872656	1.754760138
YGL012W	ERG4	0.99245945	1.354043773
YGL013C	PDR1	-0.196651032	0.607684184
YGL014W	PUF4	-0.54010729	2.317594034
YGL015C		-0.709677153	1.558360228
YGL016W	KAP122	1.262872357	0.871419419
YGL017W	ATE1	0.387508245	0.278776095
YGL019W	CKB1	-0.266994529	1.608385709
YGL020C	MDM39	0.752085516	0.073350206
YGL021W	ALK1	-0.640670469	0.216962426
YGL023C	PIB2	-0.335263648	0.420724909
YGL024W		0.067949016	0.126686762
YGL025C	PGD1	-0.855546502	0.021839627
YGL026C	TRP5	0.255499942	0.091386507
YGL027C	CWH41	-0.325689675	0.781208118
YGL028C	SCW11	-0.198482908	1.308750697
YGL031C	RPL24A	-0.673097816	0.788117514
YGL032C	AGA2	1.399225934	1.029696078
YGL033W	HOP2	0.728349435	0.834681861
YGL034C		0.207474877	1.21596193
YGL035C	MIG1	1.20795018	0.285167235
YGL036W	MTC2	-0.755596943	1.198527534
YGL037C	PNC1	0.339017577	0.16159727
YGL039W		-0.634375121	0.216299734
YGL041C		0.294639739	0.380840976
YGL041C-B		-1.021359562	0.540153315
YGL042C		-0.699452916	0.107769654
YGL043W	DST1	0.497448881	1.326639203
YGL045W	RIM8	1.376081558	0.168263035
YGL046W	RIM8	0.088610173	0.136665875
YGL049C	TIF4632	1.190296046	1.105791807
YGL050W	TYW3	0.330879215	1.845879065
YGL051W	MST27	1.474595507	0.212522792

Materiale Supplementare

YGL053W	PRM8	1.479028441	1.414945266
YGL054C	ERV14	0.011775889	2.454022128
YGL056C	SDS23	0.515326116	1.818243269
YGL057C	GEP7	-0.311624568	1.294816291
YGL058W	RAD6	0.419198386	0.209816439
YGL059W	PKP2	0.098523649	0.437250229
YGL060W	YBP2	0.390379467	0.90684244
YGL062W	PYC1	-0.826000078	1.464634038
YGL063W	PUS2	1.246149071	1.875443938
YGL064C	MRH4	-0.770447755	1.394311237
YGL066W	SGF73	-0.186590618	0.041216806
YGL067W	NPY1	0.16049742	0.261043944
YGL070C	RPB9	1.236332596	0.043542187
YGL071W	RCS1	-0.000436503	0.056466464
YGL072C		0.724605207	0.326854839
YGL076C	RPL7A	-0.416026462	0.145474551
YGL077C	HNM1	-0.03680208	0.727284554
YGL078C	DBP3	-1.038489893	0.147486464
YGL079W	KXD1	-1.021931867	0.301896031
YGL080W	FMP37	-0.125363753	2.559726829
YGL081W		-0.755664843	1.748099848
YGL082W		0.667675474	1.18058003
YGL083W	SCY1	0.190257246	2.108679261
YGL084C	GUP1	1.440916851	0.088662438
YGL085W	LCL3	0.449520816	0.910817994
YGL086W	MAD1	0.844876421	1.468314599
YGL087C	MMS2	-1.068511621	0.777189655
YGL088W		-1.074933069	0.146180638
YGL089C	MF(ALPHA)2	-1.095856129	0.395100172
YGL090W	LIF1	-1.131901602	0.049263863
YGL094C	PAN2	-0.870610717	0.225281667
YGL095C	VPS45	-0.925697435	-0.144918967
YGL096W	TOS8	-0.270050052	0.135647458
YGL100W	SEH1	0.133356614	0.188848126
YGL101W		-0.11189035	-0.098173734
YGL104C	VPS73	-0.958289683	0.064936717
YGL105W	ARC1	0.106904512	-0.084997371
YGL107C	RMD9	-1.08285803	0.281305506
YGL108C		-0.178190354	0.579248628
YGL109W		-0.726079618	0.058959306

Materiale Supplementare

YGL110C	CUE3	-1.178733558	0.135441207
YGL114W		-0.205447561	0.108282167
YGL115W	SNF4	-1.021602064	0.205413591
YGL117W		-0.005529042	-0.049853849
YGL118C		0.167035269	0.148676568
YGL119W	ABC1	-0.672651612	0.189500619
YGL121C	GPG1	0.332179025	-0.101123666
YGL124C	MON1	-0.693167268	-0.088006302
YGL126W	SCS3	-1.187871028	0.166670557
YGL127C	SOH1	-1.000902107	0.019542852
YGL129C	RSM23	0.305843324	0.104611737
YGL131C	SNT2	1.102170877	0.106272638
YGL132W		-1.283028751	0.055069567
YGL133W	ITC1	-1.199656617	0.079890711
YGL134W	PCL10	-1.379786986	0.178644246
YGL135W	RPL1B	-1.022872774	0.022982651
YGL136C	MRM2	-1.274153184	0.038807993
YGL138C		-1.322023047	0.149898257
YGL139W	FLC3	-1.287975789	0.088016433
YGL140C		-0.346292632	0.063144037
YGL141W	HUL5	-1.298597369	0.154763559
YGL143C	MRF1	-1.387353044	0.081879383
YGL144C	ROG1	-1.415531758	0.072973568
YGL146C	RRT6	-1.454535754	0.200169268
YGL147C	RPL9A	-1.08951228	0.190826625
YGL148W	ARO2	-0.544309937	0.051529053
YGL149W		-0.513250301	0.287242915
YGL151W	NUT1	0.141359174	1.008663362
YGL152C		0.094430218	0.179056099
YGL153W	PEX14	-1.503317425	0.046607136
YGL154C	LYS5	-1.40128235	0.379183651
YGL156W	AMS1	0.000620805	0.150419709
YGL157W	ARI1	-0.528372716	0.13692094
YGL158W	RCK1	-0.614286269	0.125013346
YGL159W		-0.729474644	0.09526969
YGL160W	AIM14	-1.083052031	0.183546551
YGL161C	YIP5	-0.956398169	0.256047534
YGL162W	SUT1	-0.641766577	0.651419457
YGL163C	RAD54	-0.639060257	0.173415472
YGL164C	YRB30	-0.450675125	0.268223899

Materiale Supplementare

YGL165C		-0.796667055	0.047744201
YGL166W	CUP2	-0.206330268	0.769195637
YGL167C	PMR1	0.061576068	0.010370649
YGL168W	HUR1	-1.004937338	-0.000995825
YGL170C	SPO74	-0.079084701	0.084901424
YGL173C	KEM1	0.11181275	0.088866848
YGL174W	BUD13	-0.358184922	0.067677993
YGL175C	SAE2	-1.328075893	0.234828286
YGL176C		-0.873986342	0.096445491
YGL177W		-1.052438599	0.619468417
YGL178W	MPT5	-0.154881077	0.32137639
YGL179C	TOS3	0.178374656	0.833842054
YGL180W	APG1	-1.514550111	0.216445741
YGL181W	GTS1	0.412728437	0.126832173
YGL184C	STR3	-0.420808598	0.324550004
YGL185C		-0.112918558	0.157681174
YGL186C	TPN1	-1.379224382	0.016425868
YGL188C-A		-1.279536724	0.432285104
YGL190C	CDC55	0.127555969	0.493792799
YGL191W	COX13	-1.422574012	1.390834584
YGL192W	IME4	-1.458600085	0.329247954
YGL194C	HOS2	0.089133977	0.861838228
YGL195W	GCN1	-0.870668917	1.344513254
YGL196W	DSD1	1.102995383	0.915804086
YGL197W	MDS3	1.073216156	0.877909077
YGL198W	YIP4	-1.031360338	0.458121055
YGL199C		-0.078667598	1.165708352
YGL200C	EMP24	1.228708338	0.771967924
YGL202W	ARO8	0.97500291	0.725873742
YGL203C	KEX1	1.056920033	0.692678626
YGL205W	POX1	-0.85265588	0.418546478
YGL208W	SIP2	-0.663630544	1.043363804
YGL209W	MIG2	-0.322575952	1.224023086
YGL210W	YPT32	0.464148528	1.276492358
YGL211W	NCS6	0.839250378	0.477752478
YGL212W	VAM7	2.099580957	0.981908421
YGL213C	SKI8	1.680828774	1.226635752
YGL214W		2.477301827	0.711832166
YGL215W	CLG1	2.323943662	0.715241469
YGL216W	KIP3	2.305610523	0.618761084

Materiale Supplementare

YGL217C		1.610697241	0.413603397
YGL218W		2.300663485	0.017261355
YGL219C	MDM34	2.301245489	0.033404864
YGL220W	FRA2	1.989873123	0.70382848
YGL221C	NIF3	2.133628216	0.581718147
YGL222C	EDC1	2.011116284	0.160769298
YGL224C	SDT1	2.456931673	0.497403016
YGL226C-A	OST5	1.865324176	0.909054599
YGL226W	MTC3	1.30659993	1.155533356
YGL227W	VID30	0.849726458	0.805024163
YGL228W	SHE10	0.989698522	1.388662063
YGL229C	SAP4	-0.997217875	1.414840028
YGL230C		2.167675474	1.017333641
YGL231C	EMC4	2.174659527	0.801310404
YGL232W	TAN1	-1.242392627	0.677745476
YGL234W	ADE5,7	-0.540245606	0.695640811
YGL235W		-1.467960657	0.468194067
YGL236C	MTO1	1.698870911	0.458151228
YGL237C	HAP2	1.729717146	0.340502855
YGL241W	KAP114	2.336456757	0.287879658
YGL243W	TAD1	-0.846816436	1.837112365
YGL244W	RTF1	0.751949715	-0.071104999
YGL246C	RAI1	2.12373414	0.52661783
YGL248W	PDE1	1.295541846	0.753648327
YGL249W	ZIP2	1.717495053	0.694312575
YGL250W	RMR1	1.572284949	-0.077680008
YGL251C	HFM1	1.52368758	-0.150853942
YGL252C	RTG2	1.432312886	-0.054643123
YGL253W	HXK2	0.677162146	0.975442158
YGL254W	FZF1	1.926434641	0.807795659
YGL255W	ZRT1	-1.524082768	1.009491816
YGL256W	ADH4	1.291176813	0.248505243
YGL257C	MNT2	0.401583052	0.759398288
YGL258W	VEL1	0.933826097	1.217161569
YGL259W	YPS5	2.318123618	1.358998466
YGL260W		0.682982191	1.176870863
YGL261C	PAU11	0.640495868	1.313284653
YGL262W		1.361308346	1.737421094
YGL263W	COS12	1.325806076	1.227075128
YGR001C	AML1	1.603713188	1.357160569

Materiale Supplementare

YGR003W	CUL3	1.360435339	0.71553429
YGR004W	PEX31	1.593528111	1.293681015
YGR006W	PRP18	1.118030497	0.086509882
YGR007W	MUQ1	-0.109416832	0.785752205
YGR008C	STF2	-0.405657083	0.755738584
YGR010W	NMA2	-0.465788559	0.850348562
YGR011W		-0.158450704	0.507038982
YGR012W		-0.50621631	0.227725804
YGR014W	MSB2	-0.08498522	0.331900116
YGR015C		-0.180403408	0.225889695
YGR016W		0.980264302	0.00774372
YGR017W		0.549469657	0.831364707
YGR018C		0.849200139	0.172066061
YGR019W	UGA1	1.043079464	1.411731926
YGR020C	VMA7	0.501434533	-0.010177563
YGR021W	HAH1	-0.073248131	1.916870517
YGR022C		-1.494522692	0.507402725
YGR023W	MTL1	1.034820031	0.249820496
YGR025W		0.439054078	0.307270821
YGR026W		0.542296992	0.621971389
YGR027C	RPS25A	-1.966614502	0.888588838
YGR028W	MSP1	0.378195097	0.02010789
YGR031W	IMO32	1.559728743	1.271291222
YGR032W	GSC2	1.989219266	-0.014260442
YGR033C	TIM21	-0.903973222	1.631330469
YGR034W	RPL26B	1.663189011	0.4989343
YGR035C		1.587853568	0.67631427
YGR035W-A		0.003912363	0.149958574
YGR036C	CAX4	-1.05025213	-0.167170842
YGR037C	ACB1	0.197139628	1.261708771
YGR038W	ORM1	-1.946617979	-0.007119115
YGR039W		0.950052165	2.042543564
YGR040W	KSS1	-0.161215225	-0.003509579
YGR041W	BUD9	0.128021214	2.081673332
YGR042W		-0.813060179	2.089239129
YGR043C	NQM1	-1.431973383	1.881532786
YGR044C	RME1	-0.278780119	2.064769599
YGR045C		-1.62759477	1.890644162
YGR049W	SCM4	-0.755150739	1.932047735
YGR050C		-0.802875102	0.087173061

Materiale Supplementare

YGR051C		-0.773774881	0.904133743
YGR052W	FMP48	-0.084099639	0.454347378
YGR053C		-1.115993482	0.074897864
YGR054W		-0.617797695	1.879239972
YGR055W	MUP1	-1.652562759	1.174357509
YGR056W	RSC1	-0.157432196	0.306311425
YGR057C	LST7	-1.539003996	1.435206133
YGR058W	PEF1	0.756023746	1.084906947
YGR059W	SPR3	0.433593295	1.193287518
YGR061C	ADE6	1.342393202	1.156980838
YGR062C	COX18	0.856710511	0.1738523
YGR063C	SPT4	0.613432662	0.161904331
YGR064W		0.268013037	0.156401661
YGR066C		-1.333352733	1.541094578
YGR067C		-0.493248749	1.019033395
YGR068C	ART5	-0.433884298	1.044585727
YGR069W		-1.499340395	1.523707087
YGR070W	ROM1	-1.38284251	1.669232675
YGR071C	ENV11	-1.084856245	1.222834577
YGR072W	UPF3	-1.16837388	2.776973337
YGR077C	PEX8	-1.00133861	1.530073091
YGR078C	PAC10	-0.932080084	0.583872893
YGR079W		-0.736235595	1.687061303
YGR080W	TWF1	-0.729251542	1.525745794
YGR081C	SLX9	-0.515442517	0.787465642
YGR084C	MRP13	-1.589250378	1.324388121
YGR085C	RPL11B	-1.01705273	1.241081313
YGR086C	PIL1	-0.293621232	0.066970768
YGR087C	PDC6	-0.973111396	1.310644143
YGR088W	CTT1	-0.971365382	1.909699499
YGR089W	NNF2	-0.957106274	0.04470271
YGR092W	DBF2	-1.333663136	-0.090749278
YGR093W	DRN1	-1.233849377	0.063677761
YGR096W	TPC1	-1.099697358	2.089576842
YGR097W	ASK10	-1.073798161	1.917312443
YGR100W	MDR1	-1.012105692	2.58460422
YGR101W	PCP1	-0.525840996	1.682571192
YGR104C	SRB5	1.239087417	0.077371413
YGR105W	VMA21	-0.879699686	1.621294929
YGR106C	VOA1	-0.855837504	0.064344137

Materiale Supplementare

YGR107W		-0.847980445	1.993053243
YGR108W	CLB1	-1.441945059	1.427887085
YGR109C	CLB6	-0.845361425	1.173909207
YGR110W	CLD1	-1.237632406	0.038771965
YGR111W		-1.383405114	1.388083182
YGR112W	SHY1	-1.503569627	1.182088524
YGR117C		-1.362782757	0.036348023
YGR118W	RPS23A	-1.169537888	2.122324961
YGR121C	MEP1	-1.040623909	2.126144739
YGR121W-A		-0.919857991	0.17625611
YGR122C-A		-0.957397276	-0.2738998
YGR122W		-0.913455942	1.351292889
YGR123C	PPT1	0.070131533	0.875950991
YGR124W	ASN2	-1.413999146	0.758210717
YGR125W		-0.109998836	-0.055100949
YGR126W		-0.287510185	0.003331879
YGR127W		-0.001746013	-0.026530087
YGR129W	SYF2	-1.240872231	-0.039232875
YGR130C		-0.795891049	0.176631236
YGR131W	FHN1	-0.533116052	0.302201426
YGR132C	PHB1	-1.264763512	-0.016034668
YGR133W	PEX4	-1.172156908	-0.044938718
YGR134W	CAF130	-1.12763357	0.669754327
YGR135W	PRE9	0.183185892	0.08425489
YGR136W	LSB1	-0.037539285	-0.096916031
YGR137W		-0.985042486	-0.092584588
YGR138C	TPO2	-0.212218213	-0.123196226
YGR139W		-0.45658247	0.011161795
YGR141W	VPS62	1.242773445	-0.012327952
YGR142W	BTN2	0.750533504	0.381083661
YGR143W	SKN1	2.390670469	0.035317917
YGR144W	THI4	1.642581384	-0.001082861
YGR146C	ECL1	0.706262368	0.070469241
YGR146C-A		2.124209444	0.291313211
YGR148C	RPL24B	2.155754084	0.078257508
YGR149W		1.497924184	0.326399197
YGR151C		-1.005121639	0.349305865
YGR152C	RSR1	0.844886121	0.1390643
YGR153W	TOS10	1.151777054	-0.039607712
YGR154C	GTO1	0.886926241	0.056933483

Materiale Supplementare

YGR155W	CYS4	1.241017732	-0.02233456
YGR157W	CHO2	1.523881581	0.018741819
YGR159C	NSR1	3.399633337	0.006538813
YGR160W	FYV13	1.412602336	0.031527905
YGR161C	RTS3	1.696824196	0.294787995
YGR161W-C		1.61309316	0.353520286
YGR162W	TIF4631	-0.278304815	-0.34705232
YGR163W	GTR2	0.775520894	0.023281505
YGR164W		1.812807977	1.159244004
YGR165W	MRPS35	1.790953711	0.879324519
YGR166W	KRE11	1.942400962	0.090918648
YGR168C		0.604266092	0.574290995
YGR169C	PUS6	0.262774997	0.48108168
YGR169C-A		2.735236488	0.501813399
YGR170W	PSD2	-1.560285958	0.01899171
YGR173W	GIR1	2.22451791	0.088419739
YGR174W-A		3.495101463	1.080777706
YGR176W		1.954399953	0.067387253
YGR177C	ATF2	2.606332208	0.332854713
YGR178C	PBP1	-0.27767431	0.689865549
YGR180C	RNR4	-1.389884763	0.678487182
YGR181W	TIM13	1.814088387	0.837467789
YGR182C		1.750485004	0.20653485
YGR183C	QCR9	2.61979591	0.128360639
YGR184C	UBR1	2.296502153	0.342225623
YGR187C	HGH1	2.522998875	1.112764292
YGR188C	BUB1	-0.520855159	0.016037444
YGR189C	CRH1	0.820189733	0.198288449
YGR192C	TDH3	-0.637275443	0.079007181
YGR193C	PDX1	2.417306872	0.132150651
YGR194C	XKS1	0.552904202	0.074384199
YGR196C	FYV8	2.85390719	0.191416449
YGR197C	SNG1	3.109610833	0.493534578
YGR199W	PMT6	3.006023746	0.597864039
YGR200C	ELP2	0.844488418	0.479082553
YGR201C		2.567337912	0.545213132
YGR202C	PCT1	2.687017421	1.091273672
YGR203W	YCH1	2.81443759	0.92638731
YGR204C-A		3.018876343	0.855858749
YGR204W	ADE3	2.655676483	-0.024671453

Materiale Supplementare

YGR205W	TDA10	-1.214643231	1.142501312
YGR206W	MVB12	2.623239437	0.810604514
YGR207C	CIR1	1.569132425	0.680619584
YGR208W	SER2	0.021737865	0.158514144
YGR209C	TRX2	2.42631824	0.082672248
YGR210C		2.315213596	0.954338998
YGR212W	SLI1	2.059325651	0.093834043
YGR213C	RTA1	2.938336631	0.180129709
YGR214W	RPS0A	3.377284367	0.306033087
YGR217W	CCH1	0.438831335	0.565461516
YGR219W		2.894589299	0.597946429
YGR220C	MRPL9	2.715341637	0.468942629
YGR221C	TOS2	0.674397625	0.836716301
YGR222W	PET54	0.195553486	0.202490477
YGR223C	HSV2	2.818715322	1.407653868
YGR224W	AZR1	2.70654367	1.259237729
YGR225W	AMA1	2.438753735	1.174556805
YGR226C		0.936939821	0.721199351
YGR227W	DIE2	0.589376479	0.509029522
YGR228W		-0.808695146	-0.029954026
YGR229C	SMI1	2.531874442	0.211069117
YGR230W	BNS1	2.379583285	0.874852067
YGR231C	PHB2	0.957513677	0.417070311
YGR232W	NAS6	2.17635704	0.58584992
YGR233C	PHO81	1.524066601	0.613014919
YGR234W	YHB1	1.800306738	1.141059285
YGR235C		1.760924439	0.48374652
YGR236C	SPG1	1.352238777	0.992217045
YGR237C		1.063819659	0.582038847
YGR238C	KEL2	1.619218936	0.067620484
YGR239C	PEX21	1.198266273	0.123029632
YGR240C	PFK1	0.426007478	0.186615076
YGR241C	YAP1802	-0.792927137	0.629089963
YGR242W		-0.730005992	0.073381791
YGR243W	FMP43	-0.67753039	0.08111836
YGR244C	LSC2	1.544864278	0.63627692
YGR247W	CPD1	1.192072597	1.224729485
YGR248W	SOL4	1.72874175	0.102746819
YGR249W	MGA1	1.459007848	0.743882242
YGR250C		1.026966564	0.205543616

Materiale Supplementare

YGR252W	GCN5	0.554253231	-0.36125291
YGR254W	ENO1	1.344209272	-0.292202821
YGR255C	COQ6	0.366283765	-0.251614959
YGR256W	GND2	-1.438588833	-0.044432774
YGR257C	MTM1	-1.271960967	-0.275960723
YGR258C	RAD2	-0.061306262	-0.141106463
YGR259C		-0.2836086	-0.048038709
YGR260W	TNA1	0.027711674	-0.039748998
YGR261C	APL6	-0.411268755	-0.021913571
YGR263C	SAY1	1.748643067	-0.027640167
YGR266W		1.282619192	-0.021065073
YGR268C	HUA1	-0.99335545	-0.022728001
YGR269W		1.276538683	-0.020294435
YGR270W	YTA7	-1.133201412	-0.008153071
YGR271C-A	EFG1	-1.320665037	1.224832321
YGR271W	SLH1	-0.907810499	-0.245616993
YGR272C		-1.364373569	-0.256667406
YGR273C	IBI1	-0.414241648	-0.268018521
YGR275W	RTT102	-1.44340007	0.066517784
YGR276C	RNH70	-0.425134831	-0.277613234
YGR279C	SCW4	-0.874752648	0.008445432
YGR281W	YOR1	-0.679344663	-0.008342641
YGR282C	BGL2	-0.318938424	-0.024494231
YGR283C		-0.525695495	-0.007684225
YGR284C	ERV29	-0.372482831	-0.026062118
YGR285C	ZUO1	-0.600192061	-0.015062126
YGR286C	BIO2	-1.024473286	-0.014091097
YGR287C	IMA1	-0.930625073	0.002916594
YGR288W	MAL13	-0.869223606	0.010719914
YGR289C	MAL11	-0.856429209	-0.2505616
YGR290W		-1.516461025	0.011091452
YGR291C		-1.501940015	-0.292122936
YGR292W	MAL12	-0.532097544	-0.29124201
YGR295C	COS6	-1.473829201	2.268887977
YHL001W	RPL14B	-0.816552206	0.230298055
YHL002W	HSE1	0.446397393	0.28956472
YHL003C	LAG1	0.093557211	1.481749149
YHL004W	MRP4	0.035793272	0.281233546
YHL005C		-0.59073449	1.00435403
YHL006C	SHU1	0.104906297	0.684076409

Materiale Supplementare

YHL007C	STE20	-0.729397043	1.249732802
YHL008C		-1.139855663	0.532809102
YHL009C	YAP3	-0.958852287	0.559797322
YHL010C	ETP1	-0.3157568	0.51744081
YHL011C	PRS3	-1.124723548	-0.051186547
YHL012W		-1.249146394	0.526062047
YHL013C	OTU2	-1.365372677	0.456009291
YHL014C	YLF2	-1.064340589	0.690740167
YHL015W-A		-0.654202072	1.349687798
YHL016C	DUR3	-0.526423001	1.136091518
YHL017W		0.892212781	0.031194717
YHL019C	APM2	-0.756130447	0.286916431
YHL020C	OPI1	1.201548132	0.329814373
YHL021C	AIM17	1.211655609	0.903004861
YHL022C	SPO11	2.309975556	0.504113294
YHL023C	RMD11	1.508245063	0.371254618
YHL024W	RIM4	1.85783572	0.968015251
YHL025W	SNF6	2.111502347	0.135476422
YHL026C		-1.246362472	0.725933139
YHL027W	RIM101	1.917966477	0.618271798
YHL028W	WSC4	1.937783727	0.643302539
YHL029C	OCA5	0.632347806	1.109056873
YHL030W	ECM29	0.971801886	0.93408625
YHL031C	GOS1	2.436270516	0.454343351
YHL032C	GUT1	-1.580413611	0.56479514
YHL033C	RPL8A	0.547055058	0.189542267
YHL034C	SBP1	0.330074109	0.05480941
YHL035C	VMR1	2.0131533	0.124404032
YHL036W	MUP3	1.010970783	0.21423982
YHL037C		0.018187638	0.298078226
YHL039W	EFM1	-0.977767431	0.335729014
YHL040C	ARN1	-1.249854499	0.781492221
YHL041W		1.109775734	0.84393019
YHL042W		1.760999884	1.411126062
YHL043W	ECM34	1.925872037	0.686283779
YHL044W		2.57362356	0.632473933
YHL045W		0.929461064	0.614814974
YHL046C	PAU13	1.311692469	0.298203171
YHL047C	ARN2	1.120009312	0.867371403
YHR001W	OSH7	0.894793	0.462876347

Materiale Supplementare

YHR001W-A	QCR10	1.780894735	0.129610104
YHR003C		0.79997478	0.19400643
YHR004C	NEM1	-0.489669421	0.0164195
YHR005C	GPA1	0.200927327	-0.012983222
YHR006W	STP2	0.493539751	-0.021670541
YHR007C-A		1.615139875	0.490243573
YHR008C	SOD2	1.848155046	0.241818893
YHR009C	TDA3	1.770457455	0.05842783
YHR012W	VPS29	2.09072479	0.41635993
YHR013C	ARD1	2.757168354	-0.034734839
YHR014W	SPO13	2.232743569	-0.06362223
YHR015W	MIP6	2.462160012	-0.052293841
YHR016C	YSC84	2.582450627	0.51660784
YHR017W	YSC83	-0.541079812	0.509941861
YHR018C	ARG4	0.524628487	0.169745353
YHR021C	RPS27B	-0.166453265	-0.086540004
YHR021W-A	ECM12	-1.345885229	0.017920379
YHR022C		-1.392736585	-0.051993972
YHR022C-A		-1.372075428	0.380461081
YHR025W	THR1	0.508526365	-0.024600373
YHR026W	PPA1	-1.30659993	-0.03961382
YHR028C	DAP2	-0.684437202	0.18047678
YHR029C	YHI9	0.004219532	-0.055434137
YHR030C	SLT2	0.822537151	-0.104418312
YHR031C	RRM3	1.692449463	0.26719726
YHR032W	ERC1	0.242356342	0.577807794
YHR033W		-1.164590851	-0.095061285
YHR034W		-1.349377255	-0.11124311
YHR035W		0.690208746	-0.182661937
YHR037W	PUT2	0.494286657	-0.01744794
YHR038W	RRF1	-1.198056105	-0.004667407
YHR039C	MSC7	-0.008710666	0.77859071
YHR039C-B	VMA10	-0.024589687	0.093376859
YHR041C	SRB2	-1.090385287	-0.026723891
YHR043C	DOG2	-1.316494005	0.581332366
YHR044C	DOG1	1.117826795	0.104307249
YHR045W		1.117516393	0.681895694
YHR046C	INM1	1.036035774	1.076119176
YHR047C	AAP1'	0.927753851	0.727624067
YHR048W	YHK8	-1.294668839	0.14907382

Materiale Supplementare

YHR049C-A		-0.001649013	0.299388765
YHR049W	FSH1	-0.379534784	0.423698394
YHR050W	SMF2	-1.936629418	-0.05277141
YHR050W-A		0.847262639	0.293424258
YHR057C	CPR2	-0.394550499	0.024064496
YHR059W	FYV4	-0.480056648	0.677024487
YHR060W	VMA22	-0.055726924	-0.02266233
YHR061C	GIC1	-1.192527063	0.043725359
YHR063C	PAN5	0.499427696	1.077575112
YHR064C	SSZ1	0.645035502	-0.046981715
YHR066W	SSF1	-1.198929112	1.147907285
YHR067W	RMD12	0.462489815	0.014977907
YHR071W	PCL5	0.317192411	1.521612122
YHR073W	OSH3	-0.078182594	0.285308799
YHR075C	PPE1	-2.091782098	-0.015993019
YHR076W	PTC7	0.39081597	1.19504782
YHR077C	NMD2	-3.268013037	0.923671828
YHR078W		0.019642649	1.218218262
YHR079C	IRE1	0.737370504	0.899773926
YHR079C-B	SAE3	-0.061983471	0.100724566
YHR080C		-0.327445389	0.767825964
YHR081W	LRP1	0.063642184	0.070238786
YHR082C	KSP1	-0.008002561	0.039777082
YHR086W	NAM8	-1.210860203	0.028165484
YHR086W-A		1.041108912	0.204198726
YHR087W	RTC3	-1.232394366	0.09875967
YHR090C	YNG2	-0.731288558	0.092025211
YHR091C	MSR1	0.997710783	0.292988781
YHR092C	HXT4	0.483635976	0.08638174
YHR093W	AHT1	0.548393668	1.069733074
YHR094C	HXT1	1.020525356	0.101222484
YHR095W		0.732336166	0.435459927
YHR096W		0.290604509	1.118050873
YHR097C		-0.738272611	0.951173713
YHR098C	SFB3	-2.248942692	0.245280878
YHR100C	GEP4	-3.156995693	0.033285471
YHR103W	SBE22	0.985731192	1.002776189
YHR104W	GRE3	0.526917705	0.484571823
YHR105W	YPT35	0.014986614	0.463236692
YHR106W	TRR2	0.738583013	0.274252514

Materiale Supplementare

YHR108W	GGA2	-0.708435184	0.453571466
YHR109W	CTM1	-0.319083925	0.723753535
YHR110W	ERP5	0.761242385	1.18512715
YHR111W	UBA4	0.008662166	0.258067912
YHR112C		0.754103131	0.741195921
YHR113W	APE4	-2.074574167	0.631938055
YHR114W	BZZ1	0.891155473	0.875726089
YHR115C	DMA1	0.51443371	0.95355323
YHR116W	COX23	-0.685329609	0.123651583
YHR117W	TOM71	0.554359213	0.522563574
YHR121W	LSM12	-1.851229969	0.556529304
YHR123W	EPT1	-3.106264308	0.032377534
YHR124W	NDT80	0.465225236	0.407994138
YHR125W		0.311673069	0.259278495
YHR126C	ANS1	-0.805756024	0.97007102
YHR127W	HSN1	0.509467272	0.409012582
YHR129C	ARP1	0.255402941	0.056128278
YHR130C		-2.129563885	0.094378249
YHR131C		0.432332286	0.501967564
YHR132C	ECM14	0.76837194	1.114610708
YHR132W-A	IGO2	0.115333877	0.730818066
YHR133C	YIG1	-0.012619796	1.026349233
YHR134W	WSS1	-1.882056804	0.335645162
YHR135C	YCK1	-3.281447639	0.125858953
YHR136C	SPL2	0.169431188	0.607892995
YHR137W	ARO9	0.104954798	0.59601207
YHR138C		-1.480696853	0.714018895
YHR139C	SPS100	0.08952198	0.022262505
YHR139C-A		0.427715051	0.562737705
YHR140W		-1.150331743	0.502911596
YHR141C	RPL42B	0.302904202	0.256714099
YHR142W	CHS7	-0.005674543	0.01570981
YHR143W	RPC10	-0.149284135	-0.016240134
YHR146W	CRP1	-2.262736197	-0.12780282
YHR149C	SHG6	-1.160157917	0.245998248
YHR150W	PEX28	0.371134521	-0.230174377
YHR151C	MTC6	-2.681381679	1.031846833
YHR152W	SPO12	-2.06710511	0.424964508
YHR153C	SPO16	-2.938065029	0.045327437
YHR154W	RTT107	-1.396859116	-0.007424537

Materiale Supplementare

YHR155W	YSP1	-1.282747449	0.150428784
YHR156C	LIN1	-0.741163233	0.435254461
YHR157W	REC104	-0.818249719	-0.019199953
YHR158C	KEL1	-0.84739844	0.223971683
YHR159W	TDA11	-0.867361192	0.384945865
YHR160C	PEX18	-0.499844799	0.291805963
YHR161C	YAP1801	-0.133831917	0.341514822
YHR162W		-1.597573042	0.359105477
YHR163W	SOL3	-0.693244869	0.169040105
YHR167W	THP2	0.165580258	-0.074256477
YHR168W	MTG2	-0.743694952	0.128677167
YHR171W	APG7	-0.576184379	0.013676957
YHR175W-A		-0.772184069	0.615604189
YHR176W	FMO	-1.336253056	1.498623162
YHR177W	GON3	-2.617564893	1.385638577
YHR178W	STB5	-2.98941722	-0.027329738
YHR179W	OYE2	-2.070500136	0.140027768
YHR180W		-3.339560781	0.116769032
YHR181W	SVP26	-0.133473014	0.742380404
YHR182W		0.022174369	0.303897908
YHR183W	GND1	0.165560858	0.123315619
YHR184W	SSP1	-0.952741241	0.7414699
YHR185C	PFS1	-0.890360067	0.252032213
YHR187W	IKI1	-0.916860668	0.142991245
YHR189W	PTH1	-1.344430218	0.929081707
YHR191C	CTF8	-1.391417375	-0.013240887
YHR192W		-0.063292981	0.128469534
YHR193C	EGD2	1.230939355	0.774688524
YHR194W	MDM31	1.862996159	-0.156322878
YHR195W	NVJ1	-0.828279595	1.119376997
YHR198C	AIM18	-2.275792496	1.386594425
YHR199C	AIM46	-1.368001397	1.190224179
YHR200W	RPN10	-0.648061925	0.591128179
YHR202W		-2.42241881	1.300340096
YHR203C	RPS4B	-2.615265976	1.471029709
YHR204W	MNL1	-1.325806076	1.448336847
YHR206W	SKN7	-0.903561867	0.265507283
YHR207C	S E T 5	-0.83291623	0.703960391
YHR209W	CRG1	-1.102316378	0.832141466
YHR210C		-0.983005471	0.751290168

Materiale Supplementare

YIL001W		-0.528760719	0.268764496
YIL002C	INP51	-1.102316378	0.467315417
YIL002W-A		-1.54871377	0.894149047
YIL005W	EPS1	-0.586369456	0.507301556
YIL006W		-0.577348388	0.204459645
YIL007C	NAS2	-0.967000349	0.288693988
YIL008W	URM1	-0.928588057	-0.157238034
YIL009C-A	EST3	-0.806949133	0.01554552
YIL009W	FAA3	-1.076417181	0.13852398
YIL010W	DOT5	-0.137935048	0.137764312
YIL011W	TIR3	-0.693332169	-0.001091904
YIL012W		-1.098242347	0.003385528
YIL013C	PDR11	-0.989989524	-0.013093715
YIL014W	MNT3	-0.998428588	-0.041009041
YIL015C-A		-1.119194506	0.168435369
YIL015W	BAR1	-0.640296477	-0.044853018
YIL016W	SNL1	-0.009155792	-0.05224718
YIL017C	VID28	0.587387964	-0.025129142
YIL018W	RPL2B	-0.494755853	0.102872875
YIL020C	HIS6	0.201810034	-0.022694709
YIL023C	YKE4	0.228145734	0.456090051
YIL024C		-0.669596089	-0.02605458
YIL025C		-1.078308695	-0.020687889
YIL027C	KRE27	-0.358078221	-0.01494962
YIL028W		0.235711791	-0.006977581
YIL029C		-0.666395065	0.023363475
YIL030C	SSM4	0.278634618	0.632207653
YIL032C		-0.466185543	0.023365631
YIL034C	CAP2	-0.432138284	-0.022890733
YIL035C	CKA1	-0.084390641	-0.030041092
YIL036W	CST6	-0.619834711	-0.024659859
YIL037C	PRM2	-0.155395181	0.010061544
YIL038C	NOT3	-0.448288907	0.057163938
YIL039W	TED1	-0.415696659	-0.018784968
YIL040W	APQ12	-0.629146782	-0.004563252
YIL041W	GVP36	-0.052380398	0.032945838
YIL042C	PKP1	-0.043650332	0.3488966
YIL043C	CBR1	-1.073216156	0.010148892
YIL044C	AGE2	-0.523803981	0.019176911
YIL045W	PIG2	0.933098592	0.000331483

Materiale Supplementare

YIL046W-A		-0.481026656	0.475434001
YIL047C	SYG1	-1.100618865	0.310686611
YIL049W	DFG10	0.674252124	0.052099036
YIL050W	PCL7	-0.838086369	0.025762271
YIL052C	RPL34B	-0.816115702	0.057199478
YIL053W	RHR2	-0.067803515	-0.004828431
YIL054W	FYV2	-0.26975905	0.23062378
YIL055C		0.036957281	0.176285276
YIL056W	VHR1	-0.743801653	0.148419119
YIL057C	RGI2	-0.391106972	-0.000558029
YIL058W		-0.668141078	0.794565648
YIL059C		0.900069841	0.235106268
YIL060W		-0.729833547	-0.076117887
YIL064W	SEE1	-0.416133163	0.012554143
YIL065C	FIS1	0.380630893	0.010757767
YIL066C	RNR3	0.811750669	0.096200232
YIL067C		1.448754511	0.092941654
YIL069C	RPS24B	-0.630892795	0.092590696
YIL070C	MAM33	-1.071179141	0.166536198
YIL071C	PCI8	-0.228000233	0.21239618
YIL072W	HOP1	-0.339890583	0.260040293
YIL073C	SPO22	0.897014317	0.138090374
YIL074C	SER33	0.18289489	0.964081412
YIL076W	SEC28	-0.321382843	0.041652277
YIL077C		0.26583052	0.063658636
YIL079C	AIR1	-1.118331199	0.005769056
YIL084C	SDS3	0.217524153	0.048485228
YIL085C	KTR7	-0.617215691	0.046163157
YIL086C		0.240949831	0.018157773
YIL087C	AIM19	0.184640903	-0.002233607
YIL088C	AVT7	-0.495140263	0.004888971
YIL089W		0.51056338	0.316168663
YIL090W	ICE2	0.054708416	0.049095776
YIL092W		-0.168053777	0.147772918
YIL093C	RSM25	0.946484693	0.089277881
YIL094C	LYS12	0.255936445	0.252059464
YIL095W	PRK1	-0.665667559	0.023427157
YIL096C		1.072197649	0.022081229
YIL097W	FYV10	-1.166918869	0.025825586
YIL098C	FMC1	-0.409585613	0.289191061

Materiale Supplementare

YIL099W	SGA1	0.692003259	0.829355178
YIL100W		0.449307415	0.734735665
YIL101C	XBP1	-1.22631242	0.500154697
YIL102C		-0.500232802	0.239398595
YIL103W	DPH1	-0.757187755	0.664216202
YIL105C	LIT2	-0.198463508	0.434458223
YIL107C	PFK26	0.187550925	0.117316706
YIL108W		-1.040623909	0.731940679
YIL110W	HPM1	0.064747992	-0.076513486
YIL111W	COX5B	-0.675416133	0.551426301
YIL112W	HOS4	-0.474042603	0.502170781
YIL113W	SDP1	-0.992851046	1.0141848
YIL114C	POR2	-0.314282389	1.021215173
YIL116W	HIS5	-0.682254685	0.459589855
YIL117C	PRM5	-0.699860319	0.975342838
YIL119C	RPI1	1.479940248	0.591724158
YIL120W	QDR1	0.787878788	0.514948456
YIL121W	QDR2	0.067861716	0.489021832
YIL122W	POG1	0.981754161	0.729614703
YIL123W	SIM1	-1.173902922	1.006553714
YIL124W	AYR1	0.095390525	0.752563385
YIL125W	KGD1	0.062419974	0.034097637
YIL127C	RRT14	0.337067862	0.064260095
YIL128W	MET18	1.047268459	-0.01296063
YIL130W	GIN1	-0.352859582	0.059298399
YIL131C	FKH1	-1.480580452	0.535653402
YIL132C	CSM2	-0.366410585	0.208630507
YIL133C	RPL16A	0.388497653	0.051484953
YIL134C-A		0.267605634	0.347944626
YIL134W	FLX1	0.235381989	0.125527052
YIL135C	VHS2	0.610221938	0.147240934
YIL136W	OM45	0.547481861	0.962836319
YIL137C	TMA108	0.683205292	0.097225584
YIL138C	TPM2	0.826504481	0.14645071
YIL139C	REV7	-0.459880495	0.133792821
YIL140W	AXL2	0.735061886	0.161474505
YIL141W		0.456786172	1.153124209
YIL145C	PAN6	-1.191848058	0.012758009
YIL146C	ECM37	-0.54215652	-0.005783654
YIL148W	RPL40A	-1.081199317	-0.011935603

Materiale Supplementare

YIL149C	MLP2	-1.099658557	0.072724463
YIL152W		-1.194835681	0.073094545
YIL153W	RRD1	-0.038732394	-0.049234661
YIL155C	GUT2	-0.981113956	0.03299037
YIL156W	UBP7	0.20661157	0.210107261
YIL157C	COA1	-0.48815621	0.028009454
YIL158W	AIM20	-0.11971831	0.128504397
YIL159W	BNR1	-1.230046948	0.156659858
YIL160C	POT1	0.295454545	0.135773149
YIL161W		0.418907384	0.394576336
YIL162W	SUC2	-0.293854033	0.053241801
YIL163C		0.26845924	0.030006469
YIL164C	NIT1	1.121318822	0.705493795
YIL165C		-0.972791293	0.010527979
YIL166C		-0.770059752	0.370936952
YIL167W	SDL1	-0.701131029	0.099824504
YIL168W	SDL1	-0.601152369	0.213948132
YIL170W	HXT12	-0.711160905	0.630878396
YIL173W	VTH1	-0.746905676	0.345256454
YIR001C	SGN1	-0.284571063	0.241594655
YIR002C	MPH1	-0.117477593	2.288819386
YIR003W	AIM21	-0.488903116	0.403394546
YIR004W	DJP1	-0.623772941	0.113931734
YIR005W	IST3	-0.162291933	0.017257996
YIR007W		0.408877507	0.057259668
YIR009W	MSL1	0.860435339	0.12004435
YIR013C	GAT4	-0.862676056	0.042141118
YIR014W		-0.676909945	0.545699857
YIR016W		-0.582159624	0.784271875
YIR017C	MET28	1.111502347	-0.003092055
YIR018C-A		-0.168587281	0.301222857
YIR018W	YAP5	-0.405142979	0.124874382
YIR019C	MUC1	0.562633376	0.003619972
YIR020C		1.115983781	0.08036543
YIR020W-B		0.847524541	0.018497206
YIR021W	MRS1	0.844857021	0.034111082
YIR021W-A		2.304310713	0.214837752
YIR023W	DAL81	1.483354673	-0.041323629
YIR024C	GIF1	-1.31967563	0.043308071
YIR025W	MND2	-0.789265898	0.06486129

Materiale Supplementare

YIR026C	YVH1	-0.612996159	0.082977966
YIR027C	DAL1	-0.502347418	0.039378191
YIR028W	DAL4	-0.248932992	0.012389787
YIR029W	DAL2	-0.04865557	-0.004700517
YIR030C	DCG1	0.29214682	0.111888086
YIR031C	DAL7	0.815533698	0.059526336
YIR032C	DAL3	0.158014201	-0.068425011
YIR033W	MGA2	-0.220288674	0.013826371
YIR034C	LYS1	-0.110435339	0.182059123
YIR035C		-0.179839367	0.020055224
YIR036C	IRC24	-0.397509021	0.024598996
YIR037W	HYR1	-0.899196834	0.030387077
YIR038C	GTT1	0.477389128	0.06400336
YIR039C	YPS6	-1.58952198	0.066471433
YIR042C		-0.838959376	0.060259908
YIR043C		-1.042224421	0.778957081
YIR044C		-0.320247934	0.076498588
YJL003W	COX16	-0.483645676	0.252537413
YJL004C	SYS1	-0.199773018	0.640403994
YJL006C	CTK2	-0.131533	-0.065763815
YJL007C		-1.461160905	0.582178894
YJL012C	VTCA	-0.34076359	0.329151804
YJL012C-A	PHM3	-1.432671788	0.432844629
YJL013C	MAD3	-0.0921022	0.319379294
YJL016W		0.164561751	0.665623817
YJL017W		-0.503142824	0.612248533
YJL020C	BBC1	-0.465603539	0.157120939
YJL021C	BBC1	-1.123559539	-0.062912214
YJL022W		-0.786287976	0.589514391
YJL023C	PET130	-1.129670585	-0.017109605
YJL024C	APS3	0.035938773	-0.131625961
YJL027C		-1.293640632	-0.142147385
YJL028W		-1.470443875	0.057838331
YJL029C	VPS53	-2.040507508	0.740904896
YJL030W	MAD2	-1.993656152	1.061792096
YJL036W	SNX4	-0.533698056	-0.022772282
YJL037W	IRC18	-0.607612618	0.44867527
YJL038C	LOH1	-0.655336981	0.412670985
YJL042W	MHP1	0.446833896	0.166863345
YJL043W		-0.021825166	0.420156607

Materiale Supplementare

YJL044C	GYP6	1.120746518	0.440227846
YJL045W		-0.032592248	0.196658605
YJL046W	AIM22	0.677870252	-0.066075603
YJL047C	RTT101	-0.67628914	0.100425055
YJL047C-A		0.278489117	0.491267703
YJL048C	UBX6	-0.73157956	0.365222807
YJL049W		-0.785123967	0.446289644
YJL051W	IRC8	-0.774356885	0.589951382
YJL052W	TDH1	-0.477243627	0.318552067
YJL053W	PEP8	-0.579967408	0.293047644
YJL055W		0.46182051	0.448275444
YJL056C	ZAP1	-0.329705506	-0.057130619
YJL057C	IKS1	0.289256198	0.297947727
YJL058C	BIT61	-0.052962403	0.353159184
YJL059W	YHC3	-0.884782524	0.158210584
YJL060W	BNA3	-0.235129787	0.038887471
YJL062W	LAS21	-0.852927482	0.02420499
YJL062W-A	COA3	-1.263531603	0.284852679
YJL063C	MRPL8	-1.43289489	0.003118639
YJL064W		-1.091840298	0.003283011
YJL065C	DLS1	-0.008002561	0.238533661
YJL066C	MPM1	-0.902106856	0.329198531
YJL067W		-0.067803515	0.620124878
YJL068C		0.500814806	0.369341009
YJL070C		-0.251425911	0.074483546
YJL071W	ARG2	-0.882027703	0.206652021
YJL073W	JEM1	0.774065883	0.188164535
YJL077C	ICS3	-1.214643231	0.028989569
YJL077W-B		-0.089919683	0.071680102
YJL078C	PRY3	-0.292457223	0.117985357
YJL080C	SCP160	-1.098824351	0.077226292
YJL082W	IML2	-1.038586893	0.180332398
YJL083W	TAX4	-1.095041322	0.218422439
YJL088W	ARG3	-0.895704807	0.683601616
YJL089W	SIP4	-1.154987778	0.550102109
YJL092W	HPR5	-0.726050518	0.653361482
YJL093C	TOK1	-0.229600745	0.749463979
YJL094C	KHA1	0.136771039	0.006303617
YJL095W	BCK1	0.27499709	0.59716379
YJL096W	MRPL49	0.909090909	0.028611108

Materiale Supplementare

YJL098W	SAP185	-0.594207116	0.758149077
YJL099W	CHS6	0.548539169	0.371046931
YJL100W	LSB6	-1.197183099	0.258291703
YJL101C	GSH1	-1.23821441	0.04819563
YJL103C	GSM1	-0.264230008	-0.233325723
YJL105W	S E T 4	-0.173417918	0.152328226
YJL106W	IME2	-1.479455244	0.463979701
YJL107C		-0.863694564	0.147682205
YJL108C	PRM10	0.287801187	0.063789934
YJL110C	GZF3	0.256663951	0.625102706
YJL112W	MDV1	0.005529042	0.712126943
YJL115W	ASF1	-0.973402398	-0.021348459
YJL116C	NCA3	0.730706553	0.763982086
YJL117W	PHO86	-1.355459201	0.20645433
YJL118W		0.07362356	0.527705218
YJL119C		-0.747962985	0.40032082
YJL120W		0.463857525	-0.004917853
YJL121C	RPE1	-0.001455011	0.002212368
YJL122W	ALB1	-1.205331161	0.230064024
YJL123C	MTC1	-0.217504753	-0.009977867
YJL126W	NIT2	-1.282116944	0.624438551
YJL127C-B		-1.06179917	0.104765733
YJL128C	PBS2	-1.579269002	0.400964279
YJL129C	TRK1	-1.066814108	0.592649852
YJL130C	URA2	-0.713246421	1.109160687
YJL131C	AIM23	0.440286346	1.016394567
YJL132W		-0.242404842	0.883638997
YJL133W	MRS3	-1.245489466	1.68546892
YJL134W	LCB3	-0.009894075	1.564527671
YJL135W		-1.334536142	1.538051288
YJL136C	RPS21B	0.073332557	0.093250964
YJL136W-A		-0.840705389	0.431679142
YJL137C	GLG2	-1.365382377	-0.068864386
YJL138C	TIF2	-1.264113607	1.208698225
YJL139C	YUR1	-1.436386917	0.029040102
YJL140W	RPB4	-1.173611919	-0.002537781
YJL141C	YAK1	-0.945466186	0.041345842
YJL142C	IRC9	-0.616924689	1.620089192
YJL144W		-0.139108757	2.004271636
YJL145W	SFH5	1.331917123	1.595889321

Materiale Supplementare

YJL146W	IDS2	0.567745315	2.211407511
YJL147C		1.431148877	1.810779941
YJL148W	RPA34	2.251775113	1.680681985
YJL149W	DAS1	1.27371668	1.886666194
YJL150W		2.271854266	1.81849446
YJL151C	SNA3	2.179606565	0.129601764
YJL152W		-1.352122376	0.859365818
YJL153C	INO1	0.621580724	1.055665908
YJL154C	VPS35	-1.541070112	0.804918717
YJL155C	FBP26	1.28157374	1.414508735
YJL157C	FAR1	-1.3816106	0.726289623
YJL158C	CIS3	-1.418713382	1.191462597
YJL159W	HSP150	-1.118612501	1.710596976
YJL160C		3.050576184	0.758400544
YJL161W	FMP33	4.42497963	0.122543733
YJL162C	JJ2	3.561576068	1.409753088
YJL163C		4.315271796	0.226720484
YJL164C	TPK1	4.367361192	1.627669623
YJL165C	HAL5	1.824001862	0.1301543
YJL166W	QCR8	3.511523688	1.710909848
YJL168C	S E T 2	3.777208707	0.44364592
YJL169W		-1.145782408	1.020037286
YJL170C	ASG7	0.875916657	1.530277174
YJL171C		0.92364102	0.269623776
YJL172W	CPS1	2.079210802	0.157906076
YJL175W		2.570422535	0.111826189
YJL176C	SWI3	1.319113025	0.422135255
YJL177W	RPL17B	2.603305785	-0.067703781
YJL178C	ETF1	3.87498545	1.690556807
YJL179W	PFD1	3.517343732	1.551025028
YJL181W		-1.347941644	2.12449179
YJL182C		-1.078638498	1.967162089
YJL183W	MNN11	3.952392038	0.042823178
YJL184W	GON7	-0.99214294	-0.32330157
YJL185C		2.435397509	2.367812007
YJL186W	MNN5	-1.322187949	0.382557002
YJL187C	SWE1	2.485449889	0.958088716
YJL188C	BUD19	0.023571179	-0.181764971
YJL189W	RPL39	2.781690141	0.231068586
YJL190C	RPS22A	-0.273833081	0.393619247

Materiale Supplementare

YJL191W	RPS14B	-0.093702712	0.065501965
YJL192C	SOP4	-0.75793466	1.73982067
YJL193W		-0.991347534	1.826352006
YJL196C	ELO1	-0.811314166	0.078937767
YJL197W	UBP12	-1.562274473	2.499772294
YJL198W	PHO90	1.285356769	2.634977506
YJL199C	MBB1	1.949132813	1.901378607
YJL200C	ACO2	1.605168199	0.093573045
YJL201W	ECM25	1.522523571	1.574267896
YJL204C	RCY1	-0.365207776	0.842279946
YJL206C		-0.446397393	0.186771254
YJL206C-A	NCE101	1.016761727	0.975102549
YJL207C	LAA1	0.541846118	1.620495925
YJL208C	NUC1	2.497089978	2.332265327
YJL210W	PEX2	-0.79734606	1.5349479
YJL211C		-1.275821596	2.071933837
YJL212C	OPT1	-0.743510651	1.228744968
YJL213W		-1.1183797	0.14641387
YJL214W	HXT8	1.01443371	0.938324172
YJL215C		1.000174601	1.299002513
YJL216C	IMA5	-0.789188298	1.250377802
YJL217W	REE1	2.053311605	1.965097136
YJL218W		1.597020137	1.565430529
YJR001W	AVT1	1.752706321	0.671345502
YJR003C		-1.000378303	0.032768827
YJR004C	SAG1	1.384006518	0.2714724
YJR005C-A		0.390524968	0.85699358
YJR005W	APL1	-0.978844139	0.129521677
YJR008W		0.201082528	0.457475439
YJR009C	TDH2	1.757071354	0.338730847
YJR010C-A	SPC1	1.737574206	0.913731573
YJR010W	MET3	0.073914562	0.087711309
YJR011C		1.154405773	0.390157993
YJR014W	TMA22	1.941857758	0.749499031
YJR015W		-0.95268304	-0.088556956
YJR018W		0.786578978	-0.130426322
YJR019C	TES1	1.051390991	0.026156063
YJR020W		1.752997323	0.410020868
YJR021C	REC107	1.747177279	0.339379832
YJR024C	MDE1	1.622919334	0.334168286

Materiale Supplementare

YJR025C	BNA1	-0.681818182	0.059116635
YJR026W		-1.410691421	1.263239505
YJR030C		1.505354441	0.451103586
YJR031C	GEA1	0.9473577	0.857938528
YJR032W	CPR7	-0.762716797	-0.167497133
YJR033C	RAV1	-0.747584682	0.11205808
YJR034W	PET191	2.859969736	0.032462958
YJR035W	RAD26	-0.446397393	0.201480349
YJR036C	HUL4	-0.755732744	0.003087595
YJR037W		-0.47637062	0.516729738
YJR038C		0.380048888	0.629751462
YJR039W		0.172273309	0.193526856
YJR040W	GEF1	-0.415260156	0.527093832
YJR043C	POL32	-0.549703178	0.037228141
YJR044C	VPS55	0.710336399	0.980820176
YJR047C	ANB1	1.156442789	0.990764129
YJR048W	CYC1	-0.279944128	1.104257842
YJR049C	UTR1	-0.543592131	0.522059282
YJR050W	ISY1	-0.71179141	0.452224561
YJR051W	OSM1	1.418926784	0.551499602
YJR052W	RAD7	0.988534513	0.316173701
YJR053W	BFA1	-0.692294261	0.026785382
YJR054W	ERM6	-0.241531836	0.563692654
YJR055W	HIT1	-1.29993598	0.410713134
YJR056C		0.289838203	1.269159035
YJR058C	APS2	-0.371318822	1.390833893
YJR059W	PTK2	1.820800838	0.406618613
YJR060W	CBF1	1.445698987	-0.002721574
YJR061W		-0.994878361	1.084591629
YJR062C	NTA1	-0.43941334	1.196118721
YJR063W	RPA12	-0.198754511	0.463886625
YJR066W	TOR1	-1.067648314	0.25172633
YJR069C	HAM1	-0.557560237	0.638927834
YJR070C	LIA1	-0.669596089	0.215264902
YJR073C	OPI3	-0.584914445	0.131198289
YJR074W	MOG1	-0.649516936	-0.218095813
YJR075W	HOC1	0.02240717	-0.013951688
YJR077C	MIR1	-0.449307415	-0.181299817
YJR078W	BNA2	-0.398382028	0.532423159
YJR079W		1.508555465	0.027883385

Materiale Supplementare

YJR080C	AIM24	1.238796415	0.22603972
YJR082C	EAF6	1.830112909	0.169654837
YJR083C	ACF4	0.049179374	0.398583801
YJR084W	CSN12	-0.70917239	0.408324456
YJR085C		-0.761552788	0.459263819
YJR086W	STE18	-0.796473053	1.149873904
YJR087W		-0.707135374	-0.122774046
YJR088C	EMC2	-0.95390525	0.266772446
YJR090C	GRR1	-1.247972685	0.70921963
YJR091C	JSN1	-0.341054592	0.02140108
YJR092W	BUD4	-0.494412758	0.176249736
YJR094C	IME1	0.980968455	0.053665073
YJR094W-A	RPL43B	-0.710627401	-0.054243801
YJR095W	SFC1	-0.726050518	0.417530803
YJR096W		-0.759515772	0.346103776
YJR097W	JJJ3	0.415551158	0.294898295
YJR098C		-1.361308346	0.506560625
YJR099W	YUH1	-0.315446397	0.316387763
YJR100C	AIM25	-1.211442207	0.021330749
YJR101W	RSM26	-0.742928646	0.756389515
YJR102C	VPS25	0.179257362	-0.025919797
YJR103W	URA8	1.281156637	0.101509026
YJR104C	SOD1	-0.141446475	-0.199695402
YJR105W	ADO1	0.797637062	-0.000515331
YJR106W	ECM27	0.157141194	0.307436639
YJR107W		0.224071703	0.141776286
YJR108W	ABM1	-0.481026656	0.441593916
YJR109C	CPA2	-0.843324409	0.348175308
YJR110W	YMR1	-0.664358049	0.529342282
YJR111C		-0.740018624	0.208966566
YJR112W-A		0.129495984	0.709182579
YJR113C	RSM7	-0.295658247	0.26703522
YJR114W		-0.618088697	0.146851318
YJR115W		0.179839367	0.449186158
YJR116W	TDA4	-0.766499825	0.198869348
YJR117W	STE24	0.972238389	-0.088907511
YJR118C	ILM1	-0.78419276	-0.024013689
YJR119C	JHD2	-0.142009079	0.116984649
YJR120W		0.42369922	0.355749798
YJR121W	ATP2	-0.663485042	-0.173272859

Materiale Supplementare

YJR122W	CAF17	-1.174193924	-0.234314955
YJR124C		0.23949482	1.291721884
YJR125C	ENT3	-0.475497614	0.565774129
YJR126C	VPS70	0.223780701	0.714324731
YJR127C	ZMS1	0.540391107	0.245770502
YJR128W		0.528751019	0.245190755
YJR129C		-0.976603422	0.620853449
YJR130C	STR2	-0.612734257	0.455327921
YJR131W	MNS1	-0.766790828	0.46445731
YJR133W	XPT1	-0.684980406	0.487195693
YJR134C	SGM1	-0.480444651	-0.011850757
YJR135C	MCM22	-0.900069841	0.552492177
YJR135W-A	TIM8	-0.242695844	0.603086192
YJR137C	ECM17	-0.578221394	0.642135271
YJR139C	HOM6	-0.027354208	0.003953567
YJR140C	HIR3	-0.708008381	0.255149955
YJR142W		-0.757187755	0.129742099
YJR143C	PMT4	-0.75398673	0.916642422
YJR144W	MGM101	0.854091491	0.259000366
YJR145C	RPS4A	-0.667268071	-0.107702928
YJR146W		0.52496799	0.503564644
YJR147W	HMS2	-1.33686416	0.521414631
YJR148W	BAT2	-1.101734373	0.21419642
YJR149W		-0.248224887	0.691271601
YJR150C	DAN1	-0.357059714	0.820437327
YJR151C	DAN4	0.646606914	0.977297175
YJR151W-A		-0.799092073	0.504761803
YJR152W	DAL5	-0.172855314	0.355433746
YJR153W	PGU1	0.402456059	0.640433067
YJR154W		0.631038296	0.494768484
YKL001C	MET14	0.404202072	1.544257037
YKL002W	DID4	-0.16441625	0.089616211
YKL005C	BYE1	-0.408858107	-0.028094903
YKL006W	RPL14A	-0.557269235	0.635187525
YKL007W	CAP1	0.061003764	0.648191132
YKL008C	LAC1	-0.74205564	1.74969724
YKL009W	MRT4	0.856710511	1.828889496
YKL010C	UFD4	0.4999418	1.489134616
YKL011C	CCE1	0.384995926	1.332161831
YKL015W	PUT3	-0.450471424	1.253911214

Materiale Supplementare

YKL017C	HCS1	1.258002561	1.57118593
YKL018C-A		-0.712955418	0.393836986
YKL020C	SPT23	0.577067086	1.345041958
YKL023W		0.382813409	1.226209489
YKL025C	PAN3	-0.206902572	1.820654616
YKL026C	GPX1	0.001164009	1.57887732
YKL027W		-0.549121173	0.994867202
YKL029C	MAE1	-0.46574904	1.331312017
YKL030W		0.010796182	0.513614946
YKL031W		-0.0657665	1.548068626
YKL032C	IXR1	-0.946339192	2.284470838
YKL033W-A		-0.736963101	-0.001457206
YKL034W	TUL1	1.319113025	1.5720742
YKL037W	AIM26	1.426638342	0.741039343
YKL038W	RGT1	1.417326272	2.585318491
YKL039W	PTM1	0.559015249	1.843131708
YKL040C	NFU1	0.912582936	1.506047706
YKL041W	VPS24	1.327988593	0.139859086
YKL043W	PHD1	0.493103248	2.574390218
YKL044W		-0.309480852	1.699755002
YKL046C	DCW1	0.207630078	1.504368474
YKL047W	ANR2	0.122802933	1.489837044
YKL048C	ELM1	-0.00392853	1.337827967
YKL050C		-0.977476429	1.296440093
YKL051W	SFK1	-0.938336631	1.114766618
YKL053C-A	MDM35	-0.53689908	0.252506721
YKL053W		0.944593179	0.708176663
YKL054C	DEF1	0.506489349	0.524641477
YKL055C	OAR1	0.714177628	0.260716297
YKL056C	TMA19	0.890321266	1.333171022
YKL057C	NUP120	1.145821208	0.021355094
YKL061W	BLI1	0.936299616	0.699604826
YKL062W	MSN4	0.822081248	1.289010505
YKL063C		0.283145152	1.376155222
YKL064W	MNR2	-0.770573856	1.458221377
YKL065C	YET1	-0.0921022	0.772365865
YKL066W		-0.782795949	1.520371215
YKL067W	YNK1	-0.913601443	1.298021725
YKL068W	NUP100	-0.932371086	0.765450121
YKL068W-A		0.201664533	0.683005201

Materiale Supplementare

YKL069W		0.601501571	1.609159998
YKL070W		0.320975439	1.393341884
YKL071W		-1.451771233	1.222509243
YKL072W	STB6	-0.048160866	1.115536086
YKL073W	LHS1	-0.807531137	0.449836176
YKL074C	MUD2	-0.827173787	0.736986349
YKL075C		-0.815679199	0.738380303
YKL076C	PSY1	-0.89599581	1.121103579
YKL077W		-0.904580375	0.995091722
YKL079W	SMY1	-0.852927482	1.47774536
YKL080W	VMA5	-0.825282272	0.18991716
YKL081W	TEF4	-0.908508905	1.945196137
YKL084W	HOT13	-0.244383657	1.533283169
YKL085W	MDH1	-0.871697125	1.517110002
YKL086W	SRX1	-0.734926085	1.920067554
YKL090W	CUE2	1.900535444	0.828403907
YKL091C	SFH1	-0.131241997	1.022598369
YKL092C	BUD2	-0.473169596	0.872302515
YKL093W	MBR1	-0.843615411	0.567363016
YKL094W	YJU3	-0.543883134	0.832147356
YKL096C-B		-0.609358631	0.343380096
YKL096W	CWP1	-0.987516005	0.951175971
YKL096W-A	CWP2	-0.969910371	0.270012698
YKL097C		-1.337446165	1.769281324
YKL098W	MTC2	-1.154114771	1.406133284
YKL100C		-1.056047026	1.726485357
YKL101W	HSL1	-0.892212781	0.636356554
YKL102C		-1.115120475	1.677783907
YKL103C	LAP4	-1.030438831	1.731730808
YKL105C	SEG2	-0.871260622	2.295978955
YKL106C-A		-0.914328949	0.297131675
YKL106W	AAT1	-0.921313002	0.712973167
YKL107W		-0.988534513	0.440808134
YKL109W	HAP4	-0.912000931	0.534361201
YKL110C	KTI12	-0.914328949	0.253465423
YKL113C	RAD27	-0.989407519	0.120632074
YKL115C		-1.200384123	0.290489871
YKL116C	PRR1	-0.451053428	1.784197614
YKL117W	SBA1	-1.030438831	1.721250294
YKL118W		-1.357719319	-0.025908213

Materiale Supplementare

YKL119C	VPH2	-1.001629612	-0.087690609
YKL120W	OAC1	-1.008031661	1.913771199
YKL121W	DGR2	-0.686183215	1.817273499
YKL123W		-0.979513444	2.176521261
YKL124W	SSH4	-0.930916075	1.214797054
YKL126W	YPK1	-0.906471889	-0.127840678
YKL127W	PGM1	-0.891921779	0.611708421
YKL128C	PMU1	0.030991736	2.124285803
YKL129C	MYO3	-0.866604586	1.235820368
YKL130C	SHE2	-1.042951926	2.501969373
YKL131W		-1.202712141	2.092346447
YKL132C	RMA1	-1.031893842	2.478013706
YKL133C		-0.990862531	2.356935812
YKL135C	APL2	-0.869136305	1.585883939
YKL136W		0.416133163	1.501076285
YKL137W	CMC1	-0.023280177	0.760050703
YKL139W	CTK1	-0.864567571	0.04433898
YKL140W	TGL1	-0.899196834	0.980471241
YKL142W	MRP8	-0.604120591	1.599182096
YKL143W	LTV1	-0.646897916	0.175502947
YKL146W	AVT3	-0.618961704	1.061364928
YKL147W		-0.63292981	2.046192522
YKL148C	SDH1	-1.126760563	1.950084796
YKL149C	DBR1	-1.138982656	1.953781985
YKL150W	MCR1	-0.034920265	2.055684446
YKL151C		0.836922361	2.15122829
YKL155C	RSM22	1.420090793	0.306871917
YKL156W	RPS27A	1.74863229	1.605431175
YKL157W	APE2	2.110057036	0.919977503
YKL158W	LAC1	1.758526365	2.473984085
YKL159C	RCN1	2.167384472	0.984945842
YKL160W	ELF1	-0.81189617	-0.078734118
YKL161C	KDX1	-0.79734606	1.817237841
YKL162C		-0.48023125	2.226628171
YKL162C-A		-1.347621542	0.002436636
YKL163W	PIR3	-0.82499127	2.014941807
YKL164C	PIR1	-0.764753812	2.024461741
YKL166C	TPK3	-1.175648935	1.899632184
YKL167C	MRP49	-0.928297055	2.040235354
YKL168C	KKQ8	0.848271447	2.259568738

Materiale Supplementare

YKL171W	NNK1	1.033348853	2.02290829
YKL174C	TPO5	1.242288441	2.382719768
YKL175W	ZRT3	1.805959725	1.765420783
YKL176C	LST4	1.615935281	0.084357452
YKL177W		-0.790071005	1.405956918
YKL178C	STE3	-0.554650215	1.215780621
YKL179C	COY1	-0.056454429	0.815901595
YKL183W	LOT5	-0.568909324	1.54840628
YKL184W	SPE1	-0.648061925	2.056956889
YKL185W	ASH1	-1.235886393	1.80726842
YKL187C		-1.143929694	1.933196554
YKL188C	PXA2	0.216505645	2.202485626
YKL190W	CNB1	-0.642241881	2.434186491
YKL191W	DPH2	0.597136538	-0.038211451
YKL194C	MST1	1.274589687	0.209033759
YKL197C	PEX1	1.12501455	-0.03868344
YKL198C	PTK1	0.702479339	0.512424439
YKL199C	YKT9	1.789663601	-0.018171581
YKL200C	MNN4	1.945058782	-0.0303253
YKL201C	MNN4	1.062449075	0.743698065
YKL202W		-0.787451985	-0.087964382
YKL204W	EAP1	-0.661739029	0.078399113
YKL205W	LOS1	1.175357933	-0.021357507
YKL206C	ADD66	1.024909789	-0.014965988
YKL207W	AIM27	-1.077290187	-0.008279476
YKL208W	CBT1	-0.889302759	0.085449694
YKL211C	TRP3	-0.856710511	-0.076285239
YKL212W	SAC1	1.046443953	-0.040453399
YKL213C	DOA1	0.153358166	-0.060434272
YKL214C	YRA2	0.489756722	-0.082047439
YKL215C	OMP1	1.550750786	0.028862402
YKL216W	URA1	-0.304388313	-0.076186908
YKL217W	JEN1	-1.211995111	-0.061771574
YKL218C	SRY1	0.607321616	-0.068654748
YKL220C	FRE2	0.851472471	0.008651779
YKL221W	MCH2	1.084856245	-0.073354973
YKL222C		0.385868933	-0.076934224
YKR001C	VPS1	-1.27234897	-0.078586186
YKR003W	OSH6	-1.484838785	-0.074554612
YKR004C-A	ECM9	-1.319142125	0.259545045

Materiale Supplementare

YKR005C		0.382813409	0.056796022
YKR006C	MRPL13	-0.586951461	-0.118311935
YKR007W	MEH1	-0.682400186	-0.098783386
YKR009C	FOX2	-0.241386335	-0.115263673
YKR010C	TOF2	-0.058054941	0.058543891
YKR011C	TOS5	-1.050517984	-0.135873863
YKR012C		-0.114218368	-0.137486493
YKR013W	PRY2	-0.504888837	-0.12950201
YKR014C	YPT52	-1.048199666	-0.129718339
YKR015C		0.465021534	-0.13256994
YKR016W	FCJ1	-0.281108136	-0.140869081
YKR017C		0.230473752	-0.140967412
YKR018C		-0.636635238	-0.138764797
YKR019C	IRS4	0.62230823	0.252867404
YKR020W	VPS67	-0.125567454	-0.125627767
YKR021W	ALY1	-0.269031545	-0.169011432
YKR023W		-0.309335351	0.218599029
YKR024C	DBP7	0.417879176	-0.166867815
YKR026C	GCN3	-0.340909091	-0.185570383
YKR027W	BCH2	-0.600628565	0.325385751
YKR028W	SAP190	-0.877953672	0.155390507
YKR029C	S T E 3	-0.159032709	0.153405263
YKR030W	GMH1	-1.161680829	-0.208560185
YKR031C	SPO14	-0.314136887	-0.20173601
YKR032W		-0.194534978	-0.184213414
YKR033C		-0.175474334	-0.197507774
YKR034W	DAL80	0.57763939	0.17339376
YKR035C	OPI8	0.288528693	-0.206514899
YKR035W-A	DID2	-0.201228029	-0.030529565
YKR036C	CAF4	0.316319404	0.128802113
YKR039W	GAP1	-0.061255966	-0.07536155
YKR040C		-0.60790362	0.017872754
YKR041W		0.256663951	-0.037975091
YKR042W	UTH1	-1.082964731	-0.201087025
YKR043C	SHB17	-1.215962441	-0.17400665
YKR044W	UIP5	-1.137964149	-0.162914906
YKR045C		-0.260592481	0.075788734
YKR046C	PET10	-0.70005432	0.050783389
YKR047W		-0.597078338	0.022975111
YKR048C	NAP1	-1.255121639	0.099699747

Materiale Supplementare

YKR049C	FMP46	-0.46574904	-0.019842563
YKR050W	TRK2	-0.425736236	-0.027855884
YKR051W		0.264230008	-0.017348378
YKR052C	MRS4	0.405511582	-0.01119845
YKR053C	YSR3	-1.331373918	0.058599422
YKR054C	DYN1	0.050488884	0.493741367
YKR056W	TRM2	-0.410895123	0.119864614
YKR057W	RPS21A	-1.207193575	-0.020243951
YKR058W	GLG1	-1.390136965	-0.025056753
YKR059W	TIF1	-1.286190975	-0.001118148
YKR060W	UTP30	-1.331247817	0.059667638
YKR061W	KTR2	-0.241531836	-0.009007371
YKR064W	OAF3	-0.74074613	-0.01459627
YKR065C	PAM17	0.151757653	-0.027932363
YKR066C	CCP1	0.113471103	-0.028491444
YKR067W	GPT2	-1.096622434	-0.012141072
YKR069W	MET1	0.037018355	0.040464439
YKR070W		-0.057736994	0.003863351
YKR072C	SIS2	0.998735757	-0.020279594
YKR073C		0.891057754	-0.014611484
YKR074W	AIM29	0.512244726	0.049200989
YKR075C		-0.512568062	0.034399935
YKR076W	ECM4	-1.284881465	0.022490398
YKR077W	MSA2	-0.38548093	-0.047102334
YKR078W		-0.123032861	-0.060100823
YKR080W	MTD1	-0.734732084	-0.0774299
YKR082W	NUP133	0.149569748	-0.067131385
YKR084C	HBS1	-0.247195601	-0.05716968
YKR085C	MRPL20	0.117670876	0.034288489
YKR087C	OMA1	-0.129109778	0.033010632
YKR088C	TVP38	0.651889862	0.106962743
YKR089C	TGL4	0.766878847	0.091503908
YKR090W	PXL1	-0.147683622	-0.025806243
YKR091W	SRL3	-0.189151438	0.08666736
YKR092C	SRP40	-0.135607031	0.436901601
YKR093W	PTR2	-0.199773018	-0.314779784
YKR094C	RPL40B	-1.055610523	0.475535727
YKR095W	MLP1	-0.743947154	0.126445553
YKR096W	ESL2	-1.141601676	-0.110071196
YKR097W	PCK1	-0.906908393	0.971509119

Materiale Supplementare

YKR098C	UBP11	0.425881737	-0.103804826
YKR099C-A	SKG1	0.058782447	0.247472537
YKR099W	BAS1	-0.035647771	0.016752633
YKR100C	SKG1	-0.631765801	0.308885298
YKR101W	SIR1	0.042195321	0.453701314
YKR102W	FLO10	-0.404347573	0.025360475
YKR103W	NFT1	-1.05660963	0.489844834
YKR104W	NFT1	-0.634237524	0.916946105
YKR105C	VBA5	-0.503825422	0.894673226
YKR106W	GEX2	-0.67988176	0.554986481
YLL006W-A		-0.748565467	0.201209397
YLL007C		0.1710123	-0.024038396
YLL018C-A	COX19	-0.675969397	0.101524737
YLL030C	RRT7	-0.727699531	0.746922866
YLL044W		-0.64867303	0.109094604
YLL047W		-1.139060257	0.14964796
YLL048C	YBT1	-1.600075661	0.618199052
YLL049W	LDB18	-0.73508955	0.070087186
YLL051C	FRE6	-0.767692575	0.55624929
YLL052C	AQY2	-0.097776743	0.474510551
YLL053C		-0.729438359	0.30765108
YLL054C		-0.772039645	0.682068356
YLL055W	YCT1	-0.600765084	0.413008941
YLL056C		-1.247953284	0.335437055
YLL057C	JLP1	-0.577725613	0.357591341
YLL058W		-0.652929925	0.213080435
YLL059C		-0.760302556	0.857827791
YLL060C	GTT2	-1.407703799	0.212550639
YLL061W	MMP1	0.186386917	-0.050614872
YLL062C	MHT1	-1.319404027	0.563987051
YLL063C	AYT1	-0.793340289	0.624802728
YLR001C		-1.212897218	0.522773821
YLR003C	CMS1	-1.37236643	0.386556693
YLR004C	THI73	-0.201412331	0.286912165
YLR006C	SSK1	-1.338610173	0.130519588
YLR011W	LOT6	-1.498370388	0.375939322
YLR012C		3.180605673	0.299765524
YLR013W	GAT3	3.355459201	0.101895415
YLR014C	PPR1	2.819307027	0.0982375
YLR015W	BRE2	2.761504287	0.182280762

Materiale Supplementare

YLR016C	PML1	2.790536608	0.397554277
YLR017W	MEU1	2.588493773	0.159783806
YLR018C	POM34	2.864887673	0.068387765
YLR019W	PSR2	3.429558065	0.412634091
YLR020C	YEH2	-0.737981609	0.12221836
YLR021W	IRC25	2.82236255	0.322568796
YLR023C	IZH3	1.108029721	0.763307692
YLR024C	UBR2	0.935387809	0.386416049
YLR025W	SNF7	1.382250805	-0.120735647
YLR027C	AAT2	1.287684786	1.068721032
YLR028C	ADE16	1.281767741	0.430221644
YLR030W		1.549887479	0.546952373
YLR031W		2.136247235	0.741192034
YLR032W	RAD5	1.740464828	0.302772288
YLR034C	SMF3	3.365886781	0.870246814
YLR035C	MLH2	2.783261553	0.611990651
YLR036C		3.029808327	0.839726803
YLR037C	DAN2	2.365004074	1.079888641
YLR038C	COX12	2.764608311	0.734477187
YLR039C	RIC1	1.585331549	0.225701484
YLR040C		1.468853063	-0.066999644
YLR041W		2.773939782	0.214197616
YLR042C		2.627332868	0.489424692
YLR043C	TRX1	2.199462616	0.483496818
YLR044C	PDC1	2.302564699	0.149625314
YLR046C		1.940460948	0.271115428
YLR047C	FRE8	1.305746324	0.076344834
YLR048W	RPS0B	3.928820859	0.053181015
YLR049C		2.871803826	0.357828528
YLR050C		-1.004248632	0.470670114
YLR052W	IES3	-0.944011174	0.148715088
YLR053C		-1.141019672	0.512861454
YLR054C	OSW2	-0.877371668	0.679306248
YLR055C	SPT8	-1.379641485	0.327759484
YLR056W	ERG3	-1.262658596	-0.006749683
YLR057W	MNL2	-1.134908625	0.562229011
YLR058C	SHM2	-1.327843092	0.48581326
YLR059C	REX2	-1.409614713	0.619392136
YLR061W	RPL22A	-1.344139215	0.021953453
YLR062C	BUD28	-1.144220696	0.049157188

Materiale Supplementare

YLR063W		2.473218096	0.522245217
YLR064W	PER33	2.485207388	0.123615853
YLR065C	ENV10	2.702372638	0.302051573
YLR068W	FYV7	1.467630854	0.804062641
YLR072W		0.469658169	0.600352262
YLR073C	RFU1	0.324486866	0.540696892
YLR074C	BUD20	1.569423428	0.090447892
YLR077W	FMP25	-1.031893842	0.521088486
YLR079W	SIC1	0.25520894	0.133324407
YLR080W	EMP46	2.977204827	0.531488337
YLR081W	GAL2	1.639302759	0.537537783
YLR082C	SRL2	2.438928336	0.275493842
YLR083C	EMP70	2.3420634	0.571272489
YLR084C	RAX2	2.068191518	0.436429612
YLR085C	ARP6	2.172709813	0.069581444
YLR087C	CSF1	1.828716098	0.068430077
YLR089C	ALT1	1.159401311	0.462455759
YLR090W	XDJ1	-0.194040275	0.512450251
YLR092W	SUL2	0.898110426	0.401045328
YLR093C	NYV1	0.5394308	0.58162824
YLR094C	GIS3	0.817716215	0.733547945
YLR095C	IOC2	1.49604237	0.401703848
YLR096W	KIN2	2.295774648	0.439148317
YLR097C	HRT3	2.001057308	0.373704525
YLR098C	CHA4	0.57504947	0.524211838
YLR099C	ICT1	1.964943934	0.535109304
YLR102C	APC9	1.570568036	0.597054894
YLR104W	LCL2	2.186406317	0.477264417
YLR107W	REX3	1.689568541	0.362346989
YLR108C		0.564621891	0.515342972
YLR109W	AHP1	0.638817755	0.528845317
YLR110C	CCW12	0.63683894	0.013621832
YLR111W		1.442362162	0.06936154
YLR112W		1.364237768	0.548771958
YLR113W	HOG1	1.456863772	-0.003072697
YLR114C	EFR4	1.773600279	-0.00374254
YLR118C	APT1	2.083954138	0.153606157
YLR119W	SRN2	1.507789159	0.04398855
YLR120C	YPS1	1.944428278	0.800989348
YLR121C	YPS3	1.608475924	0.543471616

Materiale Supplementare

YLR122C		1.340443487	0.497309055
YLR123C		0.243995654	0.521643312
YLR124W		-0.290051604	0.611941621
YLR125W		0.041477515	-0.071138502
YLR126C		0.944360377	2.033077333
YLR128W	DCN1	0.81713421	1.661651563
YLR130C	ZRT2	0.944835681	1.810000153
YLR131C	ACE2	0.596331432	1.297122699
YLR133W	CKI1	1.267954836	1.458860827
YLR134W	PDC5	-1.496187871	0.995360628
YLR135W	SLX4	1.054892717	0.825850106
YLR136C	TIS11	1.805552322	1.387616435
YLR137W	RKM5	0.168626082	1.629828897
YLR138W	NHA1	-0.409420712	1.912653297
YLR142W	PUT1	0.196707795	2.028641803
YLR143W		-0.51578202	1.860905926
YLR146C	SPE4	0.358252823	0.507087226
YLR149C		2.691692857	1.803234608
YLR150W	STM1	2.490513328	2.253553411
YLR151C	PCD1	2.243879253	1.486989413
YLR152C		2.298296667	1.714283271
YLR154C	RNH203	0.43811353	1.075391916
YLR164W		-0.369301207	0.780674963
YLR165C	PUS5	1.598475148	0.941344764
YLR168C	MSF1'	0.054999418	0.799433592
YLR169W		0.841287394	0.503003307
YLR170C	APS1	-0.859038529	0.848324236
YLR171W		-0.859329531	0.549755304
YLR172C	DPH5	-0.825282272	1.210889363
YLR173W		-0.804039111	0.999276528
YLR174W	IDP2	-0.337271563	1.193116444
YLR176C	RFX1	-0.777557909	1.29037398
YLR177W		0.642532883	1.002301543
YLR178C	TFS1	1.08020021	1.507718091
YLR179C		0.750494704	1.870048247
YLR180W	SAM1	-1.176230939	0.546118736
YLR181C	VTA1	1.194273076	0.861222932
YLR182W	SWI6	0.958852287	0.712063043
YLR183C	TOS4	-0.442905366	0.9760065
YLR184W		-0.820044232	1.18546731

Materiale Supplementare

YLR185W	RPL37A	-0.768536841	1.29312396
YLR187W	SKG3	-0.88551973	1.069652545
YLR188W	MDL1	-1.078599697	0.778578853
YLR189C	UGT51	-1.005412641	1.318710727
YLR190W	MMR1	-1.024327785	1.027713141
YLR191W	PEX13	-0.786433477	1.160556506
YLR192C	HCR1	-0.728378536	0.116802405
YLR193C	UPS1	0.27106856	1.054130347
YLR194C		0.040594809	0.959492428
YLR199C	PBA1	-0.113490863	1.480518695
YLR200W	YKE2	0.917238971	0.659055435
YLR204W	QRI5	-0.387178443	0.123881056
YLR205C	HMX1	-0.843033407	1.303853159
YLR206W	ENT2	-0.912146432	1.137799774
YLR207W	HRD3	-1.039896403	1.166464193
YLR209C	PNP1	-0.958997788	0.866333003
YLR210W	CLB4	-1.009632173	0.970321868
YLR211C		1.463450122	0.88525793
YLR213C	CRR1	-1.011960191	1.766870449
YLR214W	FRE1	-0.919566989	1.102697631
YLR216C	CPR6	0.784396461	0.982808963
YLR217W		0.436066814	1.103441
YLR218C	COA4	-0.362588756	1.071001765
YLR219W	MSC3	0.105779304	1.562903019
YLR220W	CCC1	-0.848125946	1.583461668
YLR221C	RSA3	-1.563700384	1.982972079
YLR224W		-0.973547899	1.073552231
YLR225C		0.133531215	1.07716884
YLR226W	BUR2	0.733471074	0.036124347
YLR227C	ADY4	-0.857438017	1.351422584
YLR228C	ECM22	-0.789052497	-0.081979412
YLR231C	BNA5	0.381794902	-0.434183552
YLR232W		2.364247468	0.473037482
YLR236C		2.322634152	-0.518801819
YLR237W	THI7	0.293184728	1.09514881
YLR238W	FAR10	0.813060179	0.971794019
YLR241W		1.058811547	1.859378632
YLR246W	ERF2	0.160633221	1.644295022
YLR247C	IRC20	-0.844342917	0.822564568
YLR248W	RCK2	-0.825718775	1.1994732

Materiale Supplementare

YLR250W	SSP120	0.355022698	1.277323621
YLR251W	SYM1	-0.13546153	0.466378986
YLR252W		1.080345711	1.362896137
YLR253W		-0.353567687	1.76105159
YLR254C	NDL1	-0.596991037	1.817992769
YLR255C		0.645297404	1.65736587
YLR257W		0.663776045	1.506929212
YLR258W	GSY2	-0.896577814	0.21114666
YLR260W	LCB5	0.116837388	1.604914893
YLR261C	VPS63	0.565126295	1.218392178
YLR262C	YPT6	0.377138866	0.805991545
YLR262C-A	TMA7	0.531370038	-0.053623207
YLR263W	RED1	-0.562798277	1.551624358
YLR264C-A		-1.550789586	0.318594271
YLR264W	RPS28B	0.230473752	0.452948565
YLR265C	NEJ1	0.682982191	1.788667928
YLR266C	PDR8	-1.191207853	1.455831829
YLR267W	BOP2	0.674543127	2.09132895
YLR268W	SEC22	0.783959958	0.195709143
YLR269C		0.760388779	1.211351398
YLR270W	DCS1	0.825282272	0.631792552
YLR271W		1.365964381	1.437018125
YLR273C	PIG1	1.369165406	1.674741129
YLR278C		0.303806309	1.964079823
YLR279W		-0.236293796	1.670538012
YLR280C		0.520020952	1.526704172
YLR281C		1.307472937	1.865749066
YLR282C		2.295134443	1.680925264
YLR283W		2.526772203	1.777270255
YLR284C	ECI1	1.866197183	1.743019952
YLR285C-A		-0.738132499	0.390651707
YLR285W	NNT1	2.412117332	1.471119552
YLR286C	CTS1	1.204458154	0.092806758
YLR287C	RPS30A	0.572110348	1.76177285
YLR287C-A	RPS30A	1.95262484	0.344435795
YLR288C	MEC3	0.56047026	0.590897398
YLR289W	GUF1	2.683913398	1.380715014
YLR290C		-0.367826795	1.707216264
YLR292C	SEC72	-0.467931556	1.183674267
YLR294C		-0.455709463	0.011336408

Materiale Supplementare

YLR295C	ATP14	3.728029333	1.004277512
YLR296W		2.782272145	1.451950815
YLR297W		3.056687231	1.501713072
YLR299W	ECM38	1.723897102	1.397146564
YLR300W	EXG1	2.529100221	1.137084335
YLR303W	MET17	2.384763124	1.400160671
YLR304C	ACO1	2.303282505	0.703326103
YLR306W	UBC12	1.968920964	0.171622014
YLR307C-A		2.565184495	0.907473343
YLR307W	CDA1	1.051827494	1.410008328
YLR308W	CDA2	1.537364684	1.392422384
YLR309C	IMH1	-0.165871261	1.348654646
YLR311C		0.273251077	0.911876639
YLR312C		0.755150739	1.730759049
YLR312C-B	SPH1	1.752706321	0.316248073
YLR312W-A	MRPL15	2.410371319	0.831152044
YLR313C	SPH1	2.22238389	1.415254642
YLR315W	NKP2	1.528343615	0.111195278
YLR318W	EST2	-0.196426493	0.706788214
YLR319C	BUD6	2.428413456	1.104943096
YLR320W	MMS22	2.043999534	0.095854713
YLR322W	VPS65	2.831451519	0.784042887
YLR324W	PEX30	2.303864509	1.962150184
YLR325C	RPL38	0.591025492	2.183560452
YLR326W		0.857292515	1.609186363
YLR327C	TMA10	4.010592481	2.230835345
YLR328W	NMA1	2.952217437	1.993160226
YLR329W	REC102	1.192963567	1.84611357
YLR330W	CHS5	2.514550111	1.058903384
YLR331C	JIP3	2.25526714	1.803716493
YLR332W	MID2	2.328017693	0.899059163
YLR333C	RPS25B	2.237807007	1.4871888
YLR334C		2.795367245	0.687214944
YLR335W	NUP2	-0.278343615	1.804985858
YLR341W	SPO77	2.443545571	1.798504947
YLR342W	FKS1	1.816144803	0.26451652
YLR342W-A		1.122977535	0.457739091
YLR343W	GAS2	1.244034455	1.063005585
YLR344W	RPL26A	0.225235712	1.923111262
YLR345W		-0.178675358	1.417153245

Materiale Supplementare

YLR346C		1.880456291	0.080419166
YLR348C	D I C 1	3.054650215	0.528663554
YLR349W		3.372133628	0.541075318
YLR350W	ORM2	3.225759516	0.367697391
YLR351C	NIT3	3.169596089	0.058198879
YLR352W		3.735304388	-0.012381967
YLR353W	BUD8	2.270108253	0.212240747
YLR354C	TAL1	1.356070306	0.383986378
YLR356W	ATG33	1.308927948	1.005784943
YLR357W	RSC2	2.1842626	0.122475213
YLR358C		1.807414736	0.037237676
YLR360W	VPS38	-1.33941528	0.393001251
YLR361C	DCR2	3.152717961	0.017508889
YLR361C-A		2.483412874	0.140608071
YLR362W	STE11	0.130659993	0.041732895
YLR363C	NMD4	1.023163776	0.830836103
YLR363W-A		0.009021069	1.228433248
YLR364W	GRX8	-1.405783184	0.18104477
YLR365W		-1.102326078	0.991340408
YLR366W		-1.058685446	0.988251621
YLR367W	RPS22B	-1.244131455	0.171562676
YLR368W	MDM30	-1.277422108	0.164305247
YLR370C	ARC18	-1.318608621	-0.006132283
YLR371W	ROM2	-0.986448997	0.497947118
YLR372W	SUR4	-1.536491677	1.306956304
YLR373C	VID22	-1.016538626	1.640513745
YLR374C		-1.116730687	0.48454032
YLR375W	STP3	-1.054524114	1.07032409
YLR376C	PSY3	-1.550682885	1.138769065
YLR377C	FBP1	-1.128254375	0.839426663
YLR380W	CSR1	-1.473858301	0.846575033
YLR381W	CTF3	-1.573516859	0.232877159
YLR382C	NAM2	0.956960773	0.01238003
YLR384C	IKI3	-1.537985489	0.07194139
YLR385C	SWC7	-1.039692702	0.017472536
YLR386W	VAC14	0.268740542	0.514149293
YLR387C	REH1	-1.225245412	0.526735669
YLR388W	RPS29A	-1.196649595	2.256957737
YLR389C	STE23	-1.077464789	1.203628831
YLR390W	ECM19	-1.181924883	1.391886333

Materiale Supplementare

YLR390W-A	CCW14	-1.137110542	0.105317038
YLR391W		-1.498292787	1.914531132
YLR392C	ART10	-1.364383269	1.719148799
YLR393W	ATP10	-1.497012377	1.402886302
YLR394W	CST9	-1.294280837	0.011121094
YLR395C	COX8	-1.218309859	1.258747861
YLR398C	SKI2	-1.24210414	1.768881969
YLR400W		-0.996158771	2.099415879
YLR401C	DUS3	-1.115343577	1.586239468
YLR402W		-1.261203585	1.204129425
YLR403W	SFP1	-1.239009816	0.131954328
YLR404W	FLD1	-1.472471191	1.151555083
YLR405W	DUS4	-1.160051216	1.262888195
YLR406C	RPL31B	-1.258109262	0.561856247
YLR406C-A		-0.883696116	0.081089605
YLR407W		-1.39874093	1.378239472
YLR408C	BLS1	-1.279022621	1.411423226
YLR410W	VIP1	-1.401835254	1.910694731
YLR412C-A		-1.488476312	0.061742495
YLR412W	BER1	-0.547200559	0.513763418
YLR413W		2.247701083	0.041720678
YLR414C	PUN1	2.134501222	0.115707354
YLR415C		2.569258526	1.456923691
YLR416C		-1.46574904	2.303421549
YLR417W	VPS36	0.307007333	0.210988665
YLR418C	CDC73	0.72896054	0.071470295
YLR419W		3.442265161	0.42286571
YLR420W	URA4	2.309102549	1.321918043
YLR421C	RPN13	2.967640554	1.913275176
YLR422W		0.51711093	0.681483733
YLR423C	APG17	2.612617856	-0.101611149
YLR425W	TUS1	2.496507973	0.825938024
YLR426W	TDA5	-1.353286385	0.64841589
YLR427W	M A G 2	0.646461413	0.755503782
YLR428C		3.466127343	-0.008150751
YLR429W	CRN1	2.083575835	-0.047085085
YLR431C	ATG23	1.516121523	0.087611786
YLR432W	IMD3	0.14608311	0.010400447
YLR433C	CNA1	1.15265976	0.63979613
YLR434C		0.364916773	0.320929349

Materiale Supplementare

YLR436C	ECM30	0.916074962	-0.205884985
YLR437C	DIF1	1.91974159	1.420272426
YLR438W	CAR2	2.188045629	0.176178276
YLR439W	MRPL4	1.844663019	0.006144947
YLR441C	RPS1A	0.760970783	0.84172165
YLR442C	SIR3	1.123511039	0.894940805
YLR443W	ECM7	1.136945641	0.528772016
YLR444C		1.29204982	0.333339921
YLR445W		-0.725525995	1.231446072
YLR446W		-0.765953747	0.370466155
YLR447C	VMA6	-0.742479569	-0.016757997
YLR448W	RPL6B	-0.741610155	0.357986453
YLR449W	FPR4	-0.761606677	0.962248716
YLR450W	HMG2	-0.870718136	0.019116751
YLR451W	LEU3	-0.532950791	1.652872958
YLR452C	SST2	-0.559467919	0.593410089
YLR453C	RIF2	-0.631629282	0.057052279
YLR454W	FMP27	-0.729873066	0.948161748
YLR455W		-0.774647887	0.490035089
YLR456W		-0.778125543	0.010508909
YLR460C		-0.622065728	0.129837528
YLR461W	PAU4	-0.741610155	0.858586917
YML001W	YPT7	-1.422738913	0.900837739
YML007C-A		-0.699443575	0.198471703
YML009C	MRPL39	-0.726108718	0.678508175
YML010C-B		-0.726830117	0.144780274
YML021C	UNG1	-0.949834811	0.697548645
YML022W	APT1	-0.509476613	2.563638319
YML027W	YOX1	-0.521648409	2.389582653
YML034W	SRC1	-0.585550339	0.898611463
YML035C	AMD1	-0.693792384	0.129365756
YML036W	CGI121	-0.652495218	0.023904877
YML038C	YMD8	-0.703355938	1.256431122
YML041C	VPS71	0.37626586	0.376937978
YML042W	CAT2	-0.727264824	0.443343478
YML047C	PRM6	-0.720744218	0.018121968
YML054C-A		-0.733785429	0.204735635
YML058W-A	HUG1	-0.508380864	0.16468645
YML066C	SMA2	-0.640323422	0.089058146
YML067C	ERV41	-0.860719875	0.592566748

Materiale Supplementare

YML068W	ITT1	-1.167623022	0.979103015
YML070W	DAK1	1.385752532	0.224315422
YML071C	COG8	0.079734606	0.357821593
YML072C	TCB3	-0.525560772	1.046300563
YML073C	RPL6A	-0.453399409	0.096505125
YML074C	FPR3	-0.605546861	0.188157871
YML075C	HMG1	-1.472151088	0.066184255
YML076C	WAR1	-1.389351259	0.027247389
YML081C-A	ATP18	-0.005451441	0.73370885
YML084W		-0.711063904	0.283032557
YML086C	ALO1	-1.432565087	1.19285413
YML087C	AIM33	-1.417413572	0.286598697
YML088W	UFO1	-1.034144259	0.384967305
YML089C		0.585894153	0.569615164
YML090W		-1.591549296	0.214630761
YML094W	GIM5	0.262338494	-0.04895863
YML095C	RAD10	0.591170993	0.176658446
YML096W		-0.645530206	0.25344493
YML097C	VPS9	0.468222558	0.235419464
YML099C	ARG81	-0.433011291	0.620558023
YML100W	TSL1	-0.334070539	0.201483166
YML100W-A		-0.692294261	0.398037373
YML101C	CUE4	-0.522057968	0.201592007
YML102C-A		-0.893318589	0.176236408
YML102W	CAC2	0.317483413	0.33538472
YML103C	NUP188	-1.380815194	0.260446318
YML104C	MDM1	-1.37238583	1.063669245
YML106W	URA5	-0.678577639	0.435389957
YML107C	PML39	-1.174077523	0.400989417
YML108W		-0.779449424	0.501338949
YML109W	ZDS2	0.392484383	0.518196036
YML110C	COQ5	0.590074885	0.361431128
YML111W	BUL2	1.042864626	0.65789728
YML112W	CTK3	0.539227098	0.01689929
YML113W	DAT1	-0.457746479	0.227962719
YML115C	VAN1	0.495576766	0.043331222
YML116W	ATR1	1.216098242	0.25530634
YML117W	NAB6	-1.158479804	0.308363181
YML117W-A		0.810732162	0.351093419
YML118W	NGL3	-1.066523106	0.295439933

Materiale Supplementare

YML119W		-0.008148062	0.333485549
YML120C	NDI1	-1.076417181	0.334591732
YML121W	GTR1	0.145792108	0.178153349
YML122C		-0.221161681	0.435789783
YML123C	PHO84	-0.272669072	0.42417041
YML124C	TUB3	0.637585846	0.029693706
YML128C	MSC1	0.410604121	0.203668879
YML129C	COX14	0.484809685	0.100298443
YML131W		0.541846118	0.001681488
YMR001C-A		0.247060878	0.383274372
YMR004W	MVP1	-0.557560237	0.16081203
YMR013W-A		0.305843324	0.198543893
YMR032W	HOF1	-1.335118147	0.046204426
YMR037C	MSN2	-1.174484926	0.082749315
YMR038C	LYS7	-1.260320878	1.456831319
YMR048W	CSM3	0.708590385	1.525710739
YMR052C-A		0.003492027	1.035870673
YMR052W	FAR3	0.267722035	0.339408438
YMR053C	STB2	-0.051216389	0.623550646
YMR054W	STV1	0.222034687	0.233735917
YMR055C	BUB2	-1.144511698	0.138426895
YMR056C	AAC1	-0.406239087	0.348564549
YMR057C		0.226981725	0.929198156
YMR058W	FET3	0.339890583	0.07768154
YMR060C	TOM37	-1.274880689	0.379871372
YMR062 C	ARG7	-1.146839716	-0.066238656
YMR063W	RIM9	-0.918111978	-0.068748985
YMR064W	AEP1	-1.392445583	-0.074543134
YMR065W	KAR5	0.835030846	-0.076064524
YMR066W	SOV1	0.608776627	-0.060625597
YMR067C	UBX4	1.055174019	-0.032980166
YMR068W	AVO2	-0.975856517	-0.053065875
YMR069W	NAT4	-0.858834827	-0.106069316
YMR070W	MOT3	2.322779653	-0.107319327
YMR071C	TVP18	-1.397780623	-0.133974502
YMR072W	ABF2	-1.475885617	-0.116373607
YMR073C	IRC21	-1.459133589	-0.133084332
YMR074C		-1.470870679	-0.32070551
YMR075C-A		-1.436726419	-0.147263232
YMR075W	RCO1	-1.420401195	-0.146283285

Materiale Supplementare

YMR077C	VPS20	-1.349445156	-0.144793039
YMR078C	CTF18	-1.261096884	-0.147813886
YMR080C	NAM7	-1.261203585	-0.137669191
YMR081C	ISF1	-0.741610155	-0.102923307
YMR082C		-0.391979979	-0.125555243
YMR083W	ADH3	-0.065620999	-0.15758931
YMR084W		-0.067658014	-0.166568508
YMR085W		-0.788761495	-0.183356728
YMR086C-A		-1.093149808	-0.174910199
YMR086W	SEG1	-0.879408684	-0.173895232
YMR087W		0.236439297	-0.186845543
YMR088C	VBA1	-0.275433593	-0.187703838
YMR089C	YTA12	-0.660284018	-0.158129509
YMR090W		-0.326504481	-0.163007242
YMR091C	NPL6	-0.209958096	-0.157081205
YMR092C	AIP1	-0.557996741	-0.005935187
YMR095C	SNO1	-1.049557677	0.25677903
YMR096W	SNZ1	-0.285327668	0.065029393
YMR097C	MTG1	-1.007595158	-0.031359645
YMR098C	ATP25	-1.224391805	0.030597756
YMR099C		-1.291322314	0.238033879
YMR100W	MUB1	-1.20256664	0.657175373
YMR101C	SRT1	-0.990571528	0.204528504
YMR102C		-0.129350483	0.132124551
YMR103C		-0.726923525	0.200101547
YMR104C	YPK2	-0.819462228	0.330964481
YMR105C	PGM2	-0.517401932	0.046963945
YMR105W-A		-0.480008148	0.894931595
YMR106C	YKU80	-0.436648819	0.057143946
YMR107W	SPG4	-0.855983005	0.099669829
YMR109W	MYO5	-0.913019439	0.077250725
YMR110C	HFD1	-0.979367943	0.246108132
YMR111C		-0.981695961	0.445345612
YMR114C		-1.022872774	0.475696808
YMR115W	MGR3	-1.624374345	0.424954512
YMR116C	ASC1	-0.061983471	0.145078897
YMR118C		0.37888488	-0.26313597
YMR119W	ASI1	-1.140146665	-0.098164943
YMR119W-A		-0.94342917	0.639929567
YMR120C	ADE17	-1.344430218	0.389721003

Materiale Supplementare

YMR121C	RPL15B	0.022989175	0.419865623
YMR122C		-0.849726458	0.258420536
YMR123W	PKR1	-1.18554301	-0.020486613
YMR124W	EPO1	-1.310382959	0.52238754
YMR125W	STO1	-0.951674233	0.00012439
YMR126C	DLT1	-1.393609591	0.742100526
YMR127C	SAS2	1.261203585	0.519713151
YMR129W	POM152	-1.300197882	0.769664051
YMR130W		-1.379059481	0.601124283
YMR132C	JLP2	-0.352403678	0.065349254
YMR133W	REC114	-0.187405424	0.785903629
YMR135C	GID8	-0.723140496	0.008109794
YMR135W-A		-0.591025492	1.228385911
YMR136W	GAT2	-0.683564195	0.233468504
YMR137C	PSO2	-1.402921662	1.118388463
YMR138W	CIN4	-0.832169324	1.192785596
YMR139W	RIM11	-1.53418306	0.893415929
YMR142C	RPL13B	-1.258875567	0.099467695
YMR143W	RPS16A	-1.3551973	1.748299675
YMR154C	RIM13	-1.30136189	0.02388513
YMR156C	TPP1	-1.429693866	0.145210294
YMR157C	AIM36	-1.631649401	0.88156249
YMR158C-B		-1.335700151	1.196683082
YMR158W	MRPS8	-1.316494005	0.34987173
YMR158W-A		-0.102432778	0.684611223
YMR159C	APG16	-0.795600047	0.483457362
YMR160W		0.546502153	0.411737377
YMR161W	HLJ1	1.050808986	0.541913603
YMR162C	DNF3	-0.149866139	0.886189223
YMR163C	INP2	0.703643348	0.494126527
YMR164C	MSS11	-0.503433826	-0.096792533
YMR166C		-1.01579172	0.140409146
YMR167W	MLH1	-0.210394599	0.02798882
YMR169C	ALD3	-1.356274008	0.532228171
YMR170C	ALD2	-1.107767819	0.735633915
YMR171C	EAR1	-0.795241144	0.517889503
YMR172C-A		-0.849435456	0.644100841
YMR172W	HOT1	-0.910749622	0.214460561
YMR173W	DDR48	-0.939064137	0.719044411
YMR173W-A		-0.422011407	0.662588295

Materiale Supplementare

YMR174C	PAI3	2.073992162	0.04852117
YMR175W	SIP18	-0.734654843	0.235369576
YMR175W-A		0.433302293	1.174281884
YMR176W	ECM5	2.001619912	0.63857221
YMR177W	MMT1	3.111240445	0.460520576
YMR178W		2.688705234	0.408364028
YMR179W	SPT21	-0.874839949	0.186856715
YMR180C	CTL1	2.537345284	0.872182413
YMR181C		1.816057502	0.376440133
YMR182C	RGM1	2.899225934	0.291854583
YMR182W-A		2.118078997	0.376327404
YMR183C	SSO2	1.089638381	0.153792803
YMR184W	ADD37	-0.069064525	0.733211304
YMR185W		0.696775695	0.636520034
YMR186W	HSC82	0.92764715	0.573513146
YMR187C		0.078861599	0.474714125
YMR188C	MRPS17	0.132173205	-0.038526804
YMR189W	GCV2	0.421953207	0.731077167
YMR190C	SGS1	-0.97897994	0.719790662
YMR191W	SPG5	1.41047802	0.740761423
YMR192W	APP2	0.766393125	0.871638787
YMR193C-A		0.587358864	1.030090322
YMR194C-A		-0.501396811	1.085251341
YMR194C-B	CMC4	1.475119311	0.254133518
YMR194W	RPL36A	1.834022039	0.630572988
YMR195W	ICY1	3.276326	0.449678884
YMR196W		0.312972879	0.643996323
YMR198W	CIK1	3.324360765	0.276579047
YMR199W	CLN1	0.708299383	0.554749397
YMR201C	RAD14	0.379922787	0.816878055
YMR202W	ERG2	0.389651961	1.460515176
YMR204C	INP1	1.249485896	0.421661048
YMR205C	PFK2	1.780400031	0.472533825
YMR206W		1.279779226	0.618544448
YMR207C	HFA1	1.958309083	0.752152989
YMR209C		0.723499399	0.521510145
YMR210W		0.187434525	0.657174402
YMR214W	SCJ1	2.107331316	1.011700045
YMR215W	GAS3	2.961510107	0.48601163
YMR216C	SKY1	-1.241037132	0.444530003

Materiale Supplementare

YMR219W	ESC1	2.331480619	0.899551581
YMR221C	FMP42	2.223024095	0.855362999
YMR222C	FSH2	-0.861154582	0.959088196
YMR223W	UBP8	0.423844721	0.802055812
YMR224C	MRE11	0.567473713	0.64136123
YMR225C	MRPL44	0.272436271	0.651183443
YMR226C		0.419402087	0.883819302
YMR230W	RPS10B	0.193070267	1.543486749
YMR230W-A		2.251076708	0.631302222
YMR232W	FUS2	1.841200093	1.325567072
YMR233W	TRI1	0.619213906	0.817723314
YMR234W	RNH1	1.196610794	0.490550958
YMR237W	BCH1	0.429887867	0.653577647
YMR238W	DFG5	2.688627634	0.897633548
YMR241W	YHM2	2.516732627	0.863734509
YMR242C	RPL20A	0.025317192	0.726426838
YMR242W-A		1.588639274	0.238207137
YMR243C	ZRC1	1.16317464	0.877060777
YMR244C-A		0.374626547	0.961967015
YMR244W		0.133327513	0.794943468
YMR245W		0.53820859	0.486676205
YMR246W	FAA4	1.212712917	1.215675798
YMR247C	RKR1	1.6052749	1.075311479
YMR247W-A		1.62636286	0.130590221
YMR250W	GAD1	0.813971986	0.645110775
YMR251W	HOR7	1.140893571	0.572903914
YMR251W-A	HOR7	2.578221394	0.532246367
YMR252C		1.492249641	0.525121152
YMR253C		1.015015714	0.767933971
YMR254C		2.11050324	0.821912838
YMR255W	GFD1	1.124335545	0.578288265
YMR258C	ROY1	0.476574322	0.967122656
YMR259C		0.526811004	0.947662966
YMR261C	TPS3	1.008506965	0.891663635
YMR262W		1.791031312	0.794604945
YMR263W	SAP30	1.20261514	0.481449789
YMR264W	CUE1	-0.40653009	0.713233529
YMR265C		1.375121251	0.734636913
YMR266W	RSN1	0.907587398	1.120267711
YMR269W	TMA23	0.529759826	-0.064939507

Materiale Supplementare

YMR271C	URA10	0.90133085	0.253436045
YMR272C	SCS7	1.17369922	1.453418495
YMR272W-B		1.992608544	0.072265679
YMR273C	ZDS1	0.415260156	0.835344259
YMR274C	RCE1	1.228349435	0.985570744
YMR275C	BUL1	-0.413533543	1.028277805
YMR276W	DSK2	-0.339842083	0.744315975
YMR278W	PGM3	0.061449967	0.65169894
YMR279C		0.483150972	0.184410618
YMR280C	CAT8	0.461762309	0.953290585
YMR283C	RIT1	0.512037791	0.678349913
YMR284W	YKU70	0.462674116	0.737160874
YMR285C	NGL2	1.332411826	0.739219517
YMR289W	ABZ2	0.405366081	0.242576178
YMR291W	TDA1	0.779080821	0.573585951
YMR292W	GOT1	0.415531758	0.428868847
YMR294W	JNM1	0.378196174	0.499516439
YMR294W-A		-0.557599038	0.426433217
YMR295C	IBI2	0.839832383	0.503645151
YMR297W	PRC1	-0.800925387	0.326566997
YMR299C	DYN3	-0.306716331	0.500110597
YMR300C	ADE4	0.762513095	0.11701039
YMR302C	PRP12	0.272523571	0.322150442
YMR303C	ADH2	1.837640166	0.017288985
YMR304C-A		2.042777325	0.704785811
YMR304W	UBP15	0.466738447	0.066757257
YMR305C	SCW10	0.885898033	0.673038584
YMR306C-A		0.2236546	0.396823052
YMR306W	FKS3	-0.158596205	0.161691646
YMR307W	GAS1	0.567822915	-0.009197828
YMR310C		1.410429519	0.470648226
YMR311C	GLC8	0.988292011	0.145109995
YMR312W	ELP6	-1.15006014	0.053061284
YMR313C	TGL3	-0.272116168	0.203300151
YMR315W		3.079763706	0.11391028
YMR315W-A		2.775792496	0.28906827
YMR316C-A		3.064301789	0.202298366
YMR316C-B		2.73292787	0.407435493
YMR316W	DIA1	2.831839522	0.559262555
YMR317W		2.406423389	0.627115161

Materiale Supplementare

YMR318C	ADH6	1.774017383	0.508871217
YMR319C	FET4	2.4473189	0.28766777
YMR320W		1.163940946	0.115580662
YMR322C	SNO4	-0.123035735	0.077257674
YMR326C		1.423893222	0.238983816
YNL001W	DOM34	-0.033824157	0.185205122
YNL003C	PET8	1.521194661	0.186927189
YNL004W	HRB1	1.585942653	0.482731949
YNL005C	MRP7	-0.788324991	0.20033402
YNL008C	ASI3	0.047889264	0.313362787
YNL009W	IDP3	2.337096962	0.22224749
YNL010W		-0.812769177	0.295344473
YNL011C		-0.911127925	-0.040356399
YNL012W	SPO1	0.251425911	0.139111095
YNL013C		-0.1711093	0.105917996
YNL014W	HEF3	0.078861599	-0.066187615
YNL015W	PBI2	0.083226633	0.375604075
YNL016W	PUB1	-0.394890001	0.150688752
YNL020C	ARK1	0.752240717	0.398729482
YNL021W	HDA1	0.306425329	0.307927978
YNL022C	RCM1	-0.277325108	0.376676832
YNL023C	FAP1	-0.488301711	0.205901129
YNL024C		0.57763939	0.179498832
YNL025C	SSN8	-1.259496372	0.010726808
YNL027W	CRZ1	-1.125021735	0.234125558
YNL028W		-0.536171575	0.37156665
YNL029C	KTR5	0.361570248	0.344925921
YNL030W	HHF2	1.165900361	0.805484621
YNL031C	HHT2	0.293621232	0.801988207
YNL032W	SIW14	0.657810499	0.229536666
YNL034W		1.062012571	0.692034954
YNL035C		0.720666977	0.635929579
YNL037C	IDH1	1.205913165	0.122424287
YNL040W		0.262774997	0.32184223
YNL041C	COG6	1.525288092	0.22936823
YNL042W	BOP3	-1.315232996	0.156383394
YNL042W-B		0.827173787	0.335764554
YNL043C		-0.415405657	-0.115764863
YNL044W	YIP3	1.088784775	0.059629745
YNL045W	LAP2	0.522930974	0.049946817

Materiale Supplementare

YNL046W		0.800692585	0.308485404
YNL047C	LIT1	-0.04335933	-0.27656822
YNL049C	SFB2	0.300896287	0.096493166
YNL050C		-0.318792923	0.209851004
YNL051W	COG5	1.467524153	-0.037065447
YNL052W	COX5A	-0.255499942	0.046995097
YNL053W	MSG5	0.195262484	-0.269331957
YNL054W	VAC7	0.134734024	0.917942527
YNL056W	OCA2	0.329996508	-0.03388846
YNL057W		0.498050285	0.217964211
YNL058C		0.154376673	0.572510269
YNL059C	ARP5	0.111017344	-0.286408258
YNL063W	MTQ1	0.082353626	-0.113269638
YNL064C	YDJ1	0.133570015	0.080627896
YNL065W	AQR1	0.278198114	0.0912405
YNL066W	SUN4	0.515364917	0.698889523
YNL067W	RPL9B	0.864276569	1.289671491
YNL067W-B		-0.972471191	0.173643651
YNL068C	FKH2	-0.144579599	0.463779354
YNL069C	RPL16B	-0.533930858	-0.293074096
YNL070W	TOM7	0.20785318	0.592035838
YNL071W	LAT1	-1.160633221	0.19055845
YNL072W	RNH35	0.276141699	0.090920477
YNL073W	MSK1	0.64607341	0.05831926
YNL074C	MLF3	-0.617370892	0.004930856
YNL076W	MKS1	-0.233034571	-0.069923517
YNL077W	APJ1	-1.195136383	0.350009122
YNL078W	NIS1	0.998186086	-0.014665631
YNL079C	TPM1	0.148207426	-0.081698215
YNL080C	EOS1	0.849765258	0.247101791
YNL081C	SWS2	0.127507469	0.688844856
YNL082W	PMS1	-1.080869515	1.661557189
YNL083W	SAL1	-0.658770807	0.631704973
YNL084C	END3	-0.101685873	0.395419599
YNL085W	MKT1	0.304310713	0.441793721
YNL086W	SNN1	0.182565087	-0.298860312
YNL087W	TCB2	-0.213935126	0.584239675
YNL089C		0.852781981	-0.226923669
YNL090W	RHO2	2.654716176	0.333595774
YNL091W	NST1	-1.061314166	0.036187619

Materiale Supplementare

YNL092W		0.813593683	0.601420197
YNL093W	YPT53	0.864916773	0.13571117
YNL094W	APP1	0.849018353	0.60511089
YNL095C		0.544814341	0.010894486
YNL096C	RPS7B	-0.659837815	-0.258899939
YNL097C	PHO23	-0.478339735	-0.053676246
YNL097C-A		0.690674349	0.458924685
YNL098C	RAS2	-0.021340162	1.175480521
YNL099C	OCA1	-0.397567222	0.053513553
YNL100W	AIM37	-0.369078105	0.239460573
YNL101W	AVT4	0.448356808	0.868091061
YNL104C	LEU4	0.543640632	0.355582408
YNL105W	RRT16	0.307405036	0.670984359
YNL106C	INP52	-0.245091763	0.538836945
YNL107W	YAF9	-0.122065728	0.022406372
YNL108C	HUF	-0.374034843	0.667660769
YNL109W		0.159837815	-0.210391026
YNL111C	CYB5	-1.410613821	-0.192711817
YNL115C		0.127507469	0.615784876
YNL116W	DMA2	-0.124306445	0.603489321
YNL117W	MLS1	0.586107554	0.217462424
YNL119W	NCS2	1.017392232	0.099656447
YNL120C		0.849871959	0.019603042
YNL121C	TOM70	-0.640098165	-0.062092342
YNL122C		-1.448492609	-0.114061054
YNL123W	NMA111	-0.636150235	0.784482244
YNL125C	ESBP6	0.65126295	0.043453255
YNL127W	FAR11	-0.080025608	0.589054321
YNL128W	TEP1	0.124199744	0.594658596
YNL129W	NRK1	0.63679044	0.431841425
YNL130C	CPT1	-0.213615023	0.050158662
YNL130C-A	DGR1	0.649381135	0.766823624
YNL133C	FYV6	-0.040973111	0.011379586
YNL134C		0.223538199	0.462129776
YNL135C	FPR1	-0.082693128	0.277704801
YNL136W	EAF7	0.677763551	0.664549932
YNL140C		-1.104848097	0.043147969
YNL141W	AAH1	-1.361376246	0.555908409
YNL142W	MEP2	0.197716603	-0.03185703
YNL143C		0.294280837	0.786854704

Materiale Supplementare

YNL144C		-0.301536492	0.148065127
YNL145W	MFA2	0.304630815	-0.070349618
YNL146C-A		0.551002988	0.521141972
YNL146W		-1.505655143	1.008472659
YNL147W	LSM7	-0.405463082	0.261497773
YNL148C	ALF1	1.315087495	-0.017247269
YNL154C	YCK2	-1.514685912	0.007237166
YNL155W		0.637644046	-0.03681515
YNL157W	IGO1	0.505441741	0.28850334
YNL159C	ASI2	1.016538626	0.034278209
YNL160W	YGP1	-1.472519691	0.017856921
YNL162W	RPL42A	1.098096846	0.004519504
YNL162W-A		-0.469483568	0.896750246
YNL167C	SKO1	-0.140204866	0.0086728
YNL168C	FMP41	1.871638924	0.000766982
YNL170W		0.377400768	0.008889128
YNL173C	MDG1	-1.194942382	-0.007001172
YNL175C	NOP13	1.509709774	-0.017011274
YNL176C	TDA7	-1.531690141	-0.02295047
YNL177C	MRPL22	0.624626547	0.006273522
YNL179C		0.217562953	0.0317806
YNL180C	RHO5	-0.062526675	-0.008613801
YNL183C	NPR1	0.308753347	0.036618488
YNL184C		0.576824584	0.020236533
YNL185C	MRPL19	-1.3947348	0.008063147
YNL187W	SWT21	-0.211704109	0.017817589
YNL190W		0.017023629	-0.019410552
YNL191W	DUG3	-0.83022931	-0.013766349
YNL193W		0.003783029	-0.02513342
YNL194C		-0.304533814	-0.021298508
YNL195C		-0.712664416	-0.025231751
YNL196C	SLZ1	-0.910895123	0.02066919
YNL197C	WHI3	-0.242986847	-0.003834911
YNL198C		-0.12367594	0.046156601
YNL199C	GCR2	0.113490863	-0.022714476
YNL200C		0.5658538	-0.007905817
YNL201C	PSY2	-0.343964614	-0.013097698
YNL202W	SPS19	0.472151088	0.071250689
YNL203C		0.785414969	-0.015496976
YNL204C	SPS18	1.02767431	-0.016971942

Materiale Supplementare

YNL205C		0.313409382	-0.05992295
YNL206C	RTT106	-0.052234897	-0.052095797
YNL209W	SSB2	0.20530206	0.157133499
YNL210W	MER1	-0.467786055	-0.026923045
YNL211C		-0.059800954	-0.010462425
YNL212W	VID27	-0.579385403	-0.015260981
YNL214W	PEX17	0.242986847	-0.033412895
YNL215W	IES2	0.070131533	-0.038860436
YNL217W		0.069113025	-0.015378978
YNL218W	MGS1	1.112355954	0.13760449
YNL224C	SQS1	0.798073565	0.007020838
YNL226W		-0.468077057	-0.010855749
YNL228W		-0.9736934	-0.052803781
YNL229C	URE2	-0.101559772	-0.041889033
YNL233W	BNI4	-0.702770341	-0.017070273
YNL235C		-0.529333023	0.028181683
YNL241C	ZWF1	0.076388081	0.013727016
YNL246W	VPS75	-0.227563729	0.8944712
YNL248C	RPA49	-0.652135956	-0.007224651
YNL249C	MPA43	-0.39998254	0.193177631
YNL250W	RAD50	0.053253405	-0.072799335
YNL252C	MRPL17	-0.449307415	0.016674944
YNL253W	TEX1	1.153105964	0.346122363
YNL254C	RTC4	-0.180421371	0.39853282
YNL255C	GIS2	0.450471424	0.430513658
YNL257C	SIP3	-0.879699686	0.049722741
YNL259C	ATX1	-0.549557677	0.566414935
YNL264C	PDR17	-0.876062158	0.101559302
YNL265C	IST1	-0.780467932	0.641111978
YNL266W		-0.279507624	0.634078029
YNL268W	LYP1	-0.701460831	0.197401046
YNL269W	BSC4	-0.086136655	0.449363425
YNL270C	ALP1	-0.6447154	0.62264898
YNL271C	BNI1	-0.745838668	0.090703553
YNL273W	TOF1	-0.34469212	0.528823267
YNL274C	GOR1	-0.432138284	0.58849424
YNL275W	BOR1	-0.744529158	0.432415917
YNL277W-A		0.048985372	0.201287141
YNL278W	CAF120	-0.010815582	0.447384288
YNL279W	PRM1	0.618825903	0.338738811

Materiale Supplementare

YNL280C	ERG24	-1.465487138	0.118692046
YNL281W	HCH1	-1.134617623	0.17155612
YNL283C	WSC2	1.212043612	0.701639813
YNL284C	MRPL10	2.56967563	-0.273200457
YNL285W		-0.203585147	0.857948659
YNL286W	CUS2	0.485740892	0.722802446
YNL288W	CAF40	1.407179995	0.596799829
YNL289W	PCL1	1.992821945	0.668899145
YNL291C	MID1	2.030807434	0.938295269
YNL292W	PUS4	2.56321538	0.800435118
YNL293W	MSB3	-1.44993792	0.87429605
YNL294C	RIM21	2.37897218	0.260108905
YNL295W		2.571858146	0.567664037
YNL296W	KRE25	1.098513949	0.075861521
YNL297C	MON2	2.54864587	0.520134377
YNL298W	CLA4	-0.974857409	0.064240578
YNL299W	TRF5	2.908819307	0.385343347
YNL300W	TOS6	0.613869165	0.365655951
YNL301C	RPL18B	2.877158266	0.534611689
YNL302C	RPS19B	-0.425736236	0.035070221
YNL303W		0.011271486	0.4895558
YNL304W	YPT11	0.336728359	0.296232758
YNL305C	BXI1	1.500135801	0.555303524
YNL307C	MCK1	-1.429267062	0.12473504
YNL311C	SKP2	1.736274396	0.578318357
YNL314W	DAL82	1.294610639	0.477145228
YNL315C	ATP11	0.85656501	-0.210711867
YNL316C	PHA2	2.200335623	0.311246367
YNL318C	HXT14	2.336708959	0.140522241
YNL319W		2.722859194	0.516385281
YNL320W		2.943700772	0.306244648
YNL321W	VNX1	1.731026656	0.161674147
YNL322C	KRE1	2.853460986	0.083249462
YNL323W	LEM3	-0.082605828	0.256745386
YNL324W		1.236633298	0.148216498
YNL325C	FIG4	1.180702673	0.104687422
YNL326C	PFA3	0.667947076	0.593073976
YNL327W	EGT2	0.249388895	0.398771794
YNL328C	MDJ2	1.8026132	0.460099389
YNL329C	PEX6	0.277199007	0.171866608

Materiale Supplementare

YNL330C	RPD3	2.749660497	0.67253348
YNL332W	THI12	1.686930121	0.41046604
YNL333W	SNZ2	2.948531409	0.044948023
YNL334C	SNO2	0.284726264	0.468160152
YNL335W	DDI3	3.215167035	0.429610204
YNL336W	COS1	3.094556319	0.264297808
YNL338W		-1.505868545	0.363819571
YNL339C	YRF1-6	0.726923525	0.36114437
YNR001C	CIT1	2.507081054	0.159119327
YNR002C	FUN34	1.213013619	0.170006661
YNR004W	SWM2	2.404425174	1.342071817
YNR005C		2.54215652	0.310620678
YNR006W	VPS27	1.257051954	0.08783169
YNR007C	AUT1	1.533746556	0.701746487
YNR008W	LRO1	1.56716331	-0.11335903
YNR009W	NRM1	0.932099484	0.026554155
YNR010W	CSE2	1.690111745	-0.02605356
YNR012W	URK1	2.662602336	0.33751631
YNR013C	PHO91	3.360318938	0.221856333
YNR014W		3.066688007	0.06687585
YNR015W	SMM1	1.601967175	0.360451881
YNR018W	AIM38	2.485236488	0.049212611
YNR019W	ARE2	-0.100997168	0.082391896
YNR020C	ATP23	1.383327513	0.234490385
YNR021W		1.344643619	0.688605286
YNR022C	MRPL50	1.179936368	0.533372122
YNR023W	SNF12	3.132464207	-0.142829743
YNR024W	MPP6	2.536540178	0.122592018
YNR025C		0.241037132	0.434170381
YNR027W	BUD17	0.73815621	0.440274059
YNR028W	CPR8	3.199530516	0.461620839
YNR029C		0.510883483	0.061665496
YNR030W	ECM39	-0.453691848	0.12863193
YNR031C	SSK2	-0.147247119	0.273009344
YNR032C-A	HUB1	-0.10136577	0.302700558
YNR032W	PPG1	-0.324690568	0.737723738
YNR033W	ABZ1	-0.845924029	-0.015987492
YNR034W	SOL1	-0.535638071	0.743369133
YNR036C	MRPS12	0.710200598	0.497043859
YNR037C	RSM19	1.501707213	-0.118956153

Materiale Supplementare

YNR039C	ZRG17	0.382415706	0.196088827
YNR040W		0.948463508	0.464490318
YNR041C	COQ2	0.586214255	0.414415969
YNR042W		0.518672642	0.503481862
YNR044W	AGA1	1.212974819	0.486492638
YNR045W	PET494	0.830985915	0.073357953
YNR047W	FPK1	-0.752987623	1.657883779
YNR048W	CRF1	-0.612996159	1.528949705
YNR049C	MSO1	-0.114810073	0.464571366
YNR050C	LYS9	0.618651302	0.672654795
YNR051C	BRE5	1.035424669	0.206602503
YNR052C	POP2	1.213721724	0.024555784
YNR055C	HOL1	2.318928724	0.348197745
YNR056C	BIO5	-0.16709347	0.763214725
YNR057C	BIO4	-1.698834985	0.685442005
YNR058W	BIO3	2.32629108	1.069808001
YNR059W	MNT4	0.989650021	0.276668452
YNR060W	FRE4	0.406103286	0.169150287
YNR061C		1.562313274	1.286562442
YNR062C		-0.567328212	1.171603893
YNR063W		-0.006935553	1.155366157
YNR064C		0.814660691	0.96462654
YNR065C	YSN1	-0.312526675	0.982328515
YNR066C		1.247865984	0.787706311
YNR067C	DSE4	1.846137431	0.621065552
YNR068C		-0.025181391	0.277095149
YNR069C	BSC5	-0.347951344	0.20234447
YNR070W	PDR18	1.030836534	0.226303443
YNR071C		0.805164319	0.321117614
YNR072W	HXT17	-0.625108677	0.564535809
YNR073C		-0.542949052	0.541323719
YNR074C	AIF1	-1.497574982	0.629314201
YNR075W	COS10	-0.82110154	0.70004555
YOL001W	PHO80	-0.650321683	0.54394286
YOL002C	PHO36	-0.750304295	0.722217078
YOL003C	PFA4	-0.778994957	0.262740601
YOL004W	SIN3	-0.742044862	-0.046559759
YOL006C	TOP1	-0.771170231	0.75894373
YOL007C	CSI2	-0.83376804	0.22149072
YOL008W	COQ10	-0.936358894	0.179134615

Materiale Supplementare

YOL011W	PLB3	-1.038949748	0.62882715
YOL012C	HTZ1	-1.682316119	0.148799482
YOL013C	HRD1	-1.89141019	0.862338843
YOL013W-A		-0.695531212	0.454834803
YOL013W-B		-0.588158581	0.189397886
YOL014W		-0.682924709	0.386637741
YOL015W	IRC10	-0.880378691	0.57558088
YOL016C	CMK2	-1.283610755	0.356899773
YOL017W	ESC8	-0.922186009	0.678631834
YOL018C	TLG2	-0.783668956	0.230783006
YOL019W	TOS7	-1.144802701	0.760320365
YOL019W-A		-0.328541497	0.502675033
YOL020W	TAT2	-1.12763357	0.486468353
YOL023W	IFM1	2.295088495	0.225178135
YOL024W		2.248737459	1.264070403
YOL025W	LAG2	2.007141807	0.966176446
YOL027C	MDM38	0.732490856	0.240616112
YOL028C	YAP7	0.81142393	0.81902401
YOL029C		-0.232587347	0.839550619
YOL030W	GAS5	-0.032627985	0.647215059
YOL031C	SIL1	-0.132331979	0.433222083
YOL032W	OPI10	-0.190121445	0.409843872
YOL035C		1.496152134	0.795252475
YOL036W		-0.405948085	0.540648769
YOL037C		0.226545222	1.085378278
YOL038C-A		0.880437402	0.142732144
YOL039W	RPP2A	1.892361856	0.998797776
YOL041C	NOP12	0.712082412	0.479978503
YOL042W	NGL1	2.25911909	0.743825329
YOL043C	NTG2	0.011346534	0.40618104
YOL044W	PEX15	2.582606338	0.112761147
YOL045W	PSK2	0.170818298	0.550285214
YOL046C		1.878010852	0.465425506
YOL047C		1.088072585	0.762876973
YOL048C	RRT8	2.621373449	0.154945173
YOL049W	GSH2	0.33801949	1.013031198
YOL050C		-0.402759824	0.656826921
YOL051W	GAL11	0.687811806	0.092406617
YOL052C	SPE2	0.845570742	0.162639579
YOL052C-A	DDR2	1.54959954	0.218210309

Materiale Supplementare

YOL053C-A	DDR2	0.585884453	0.487943319
YOL053W	AIM39	1.366758256	0.717693849
YOL054W	PSH1	1.52452485	0.492761541
YOL055C	THI20	2.009742958	0.297328553
YOL056W	GPM3	2.662294997	1.41913849
YOL057W		-0.439267838	0.501070516
YOL058W	ARG1	2.217255614	0.607194316
YOL059W	GPD2	-0.079737159	0.539149221
YOL060C	MAM3	0.417465646	0.227906822
YOL061W	PRS5	-0.343561295	0.254652871
YOL062C	APM4	0.330940989	0.363775769
YOL063C	MOR1	1.812882515	0.541017511
YOL064C	MET22	0.761813158	0.400354925
YOL065C	INP54	1.694271034	0.094766562
YOL067C	RTG1	0.189148885	0.091704146
YOL068C	HST1	0.304758448	0.624166854
YOL070C	NBA1	1.568642316	0.430471793
YOL071W	EMI5	-0.345422178	0.408970067
YOL072W	THP1	-0.018567983	0.041374285
YOL073C		0.378593877	-0.025078891
YOL075C		0.225146369	0.220634048
YOL076W	MDM20	-0.024454396	0.014261729
YOL077W-A	ATP19	-0.115711669	0.229174968
YOL079W		0.499015187	0.532469413
YOL080C	REX4	1.332795235	0.285640565
YOL081W	IRA2	0.907960085	0.080750661
YOL082W	CVT19	0.956764219	0.050405844
YOL084W	PHM7	0.787431563	0.210579697
YOL085C		0.663158303	0.658558888
YOL086C	ADH1	0.412957665	0.112535324
YOL086W-A		-0.031290396	0.220817505
YOL087C	DUF1	-0.14890379	-0.005304351
YOL088C	MPD2	-0.162945923	0.248489315
YOL089C	HAL9	-0.26342337	0.360411574
YOL090W	MSH2	-0.048015365	0.054236326
YOL091W	SPO21	-0.366410585	0.071222246
YOL092W		-0.470657277	0.578985058
YOL093W	TRM10	-0.273900982	0.559024881
YOL095C	HMI1	-0.444942382	0.102248703
YOL096C	COQ3	-0.116352384	0.039673794

Materiale Supplementare

YOL097W-A		0.535958173	0.333498876
YOL098C		-0.807084934	0.751334274
YOL099C		-0.40914911	0.487769317
YOL100W	PKH2	0.780089629	0.405365285
YOL101C	IZH4	-0.748826291	0.445474445
YOL103W	ITR2	-0.710734102	0.360651469
YOL104C	NDJ1	-0.503521127	0.275884024
YOL105C	WSC3	-0.001600512	0.277310069
YOL106W		1.41442595	0.422717711
YOL107W		-0.124839949	0.557996441
YOL108C	INO4	0.288965196	0.486425459
YOL109W	ZEO1	-1.175357933	0.204630681
YOL110W	SHR5	-1.09736934	0.255441836
YOL111C	MDY2	-1.345012222	0.182502562
YOL112W	MSB4	-1.489349319	0.928561361
YOL113W	SKM1	-1.33686416	0.235948123
YOL114C		-1.266441625	0.584122815
YOL115W	TRF4	-1.277208707	0.006346119
YOL116W	MSN1	-1.275171691	0.370520494
YOL117W	RRI2	-1.300488884	0.575248911
YOL118C		0.834448842	0.464068551
YOL119C	MCH4	-1.217553253	0.473213448
YOL121C	RPS19A	-1.247235479	0.580415544
YOL122C	SMF1	-1.262658596	0.583496422
YOL124C	TRM11	-1.164299849	0.521339108
YOL125W	TRM13	-1.218717262	0.575478824
YOL126C	MDH2	-1.374694448	0.558960465
YOL128C	YGK3	-1.346758235	0.748837586
YOL129W	VPS68	-1.18816203	0.297918851
YOL131W		-1.233267373	0.767911482
YOL132W	GAS4	-1.218717262	0.398486066
YOL136C	PFK27	-1.169246886	0.384287818
YOL137W	BSC6	-1.117739495	0.554047054
YOL138C	RTC1	-1.194855081	0.431542748
YOL140W	ARG8	-1.211151205	0.014314771
YOL141W	PPM2	-1.151786754	0.496336688
YOL145C	CTR9	-1.028692818	0.439954667
YOL147C	PEX11	-1.390699569	0.151716637
YOL148C	SPT20	-1.302816901	-0.293847889
YOL150C		-1.158770807	0.511974307

Materiale Supplementare

YOL151W	GRE2	-1.135781632	-0.012560893
YOL152W	FRE7	-1.104062391	-0.161814768
YOL153C		-1.146839716	-0.269299885
YOL154W	ZPS1	-0.585205448	0.259273177
YOL155C	HPF1	-1.088348271	0.180895635
YOL158C	ENB1	-0.949569317	0.443504193
YOL159C		-1.270515656	0.630533668
YOL159C-A		-1.253637528	0.66384635
YOL160W		-1.007449657	0.543984779
YOL162W		-1.152950762	0.280561982
YOL163W		-1.180595973	0.238813538
YOL164W		-1.196310092	-0.05963625
YOL164W-A		-1.131125597	0.77958472
YOR001W	RRP6	-1.182632988	-0.041048153
YOR002W	ALG6	0.304223412	0.478750706
YOR003W	YSP3	-1.159061809	0.881863966
YOR005C	DNL4	-0.890330967	0.912170791
YOR006C	TSR3	-0.623045435	0.361357719
YOR007C	SGT2	-1.363975866	0.137706397
YOR008C	SLG1	-1.052846002	-0.033098236
YOR008C-A	KIM1	-1.448997012	-0.160571647
YOR009W	TIR4	-1.446862996	0.820180592
YOR010C	TIR2	-1.302904202	0.67266731
YOR011W	AUS1	-0.024502386	0.608361178
YOR012W		-1.454332053	0.734869753
YOR013W	IRC11	-1.213479222	0.855137583
YOR014W	RTS1	-0.308753347	-0.08335852
YOR015W		0.543883134	0.916899026
YOR016C	ERP4	-1.068560121	0.304314379
YOR017W	PET127	-1.272843674	0.166732535
YOR018W	ROD1	-1.43289489	0.788423234
YOR019W		0.444408878	0.293376389
YOR020W-A		0.67628914	0.95300347
YOR021C		-0.009641873	0.620544695
YOR022C		0.517741435	0.579178307
YOR023C	AHC1	1.699724518	0.64566262
YOR024W		1.62764327	0.47491937
YOR025W	HST3	0.041332014	0.66789736
YOR026W	BUB3	-0.209356691	0.065604698
YOR027W	STI1	0.541933419	0.68600279

Materiale Supplementare

YOR028C	CIN5	-0.672057034	0.399809932
YOR029W		3.147538121	0.434090525
YOR030W	DFG16	3.133919218	0.069905043
YOR031W	CRS5	2.853082683	0.509004492
YOR032C	HMS1	3.181798782	0.657977245
YOR033C	EXO1	2.888778955	0.712195802
YOR034C	AKR2	-0.354945098	0.589147289
YOR034C-A		1.716592946	0.714340976
YOR035C	SHE4	0.434087999	0.019889096
YOR036W	PEP12	0.444020875	0.269577888
YOR037W	CYC2	-0.863054359	0.724803632
YOR038C	HIR2	-0.525773096	0.381924406
YOR039W	CKB2	0.496595274	0.197889179
YOR040W	GLO4	2.541991619	0.380922621
YOR041C		2.158072401	0.941971063
YOR042W	CUE5	2.142183681	0.385736075
YOR043W	WHI2	2.058229543	0.288929441
YOR044W	IRC23	2.294979242	0.619836116
YOR045W	TOM6	0.725856517	0.632712717
YOR047C	STD1	2.618302099	0.618565559
YOR049C	RSB1	2.943138168	0.892077285
YOR050C		2.259719474	0.611968439
YOR051C	ETT1	1.757643658	0.693992636
YOR052C		1.276510301	0.894813869
YOR053W		1.33418694	0.927506266
YOR054C	VHS3	1.106225507	1.045692457
YOR055W		1.018333139	0.988419678
YOR058C	ASE1	0.612268653	0.505143955
YOR059C		-0.004820937	0.486574283
YOR061W	CKA2	2.653406666	0.799057887
YOR062C		3.29733636	0.697266762
YOR064C	YNG1	3.227379428	0.98016106
YOR066W	MSA1	2.646189811	1.048160268
YOR067C	ALG8	2.905424281	0.463679831
YOR068C	VAM10	3.233597175	0.975543076
YOR069W	VPS5	2.795435145	0.950791657
YOR070C	GYP1	1.950122221	1.359373316
YOR071C	NRT1	2.635112327	0.561854757
YOR072W		2.113791565	1.144673697
YOR073W	SGO1	3.002201917	0.440003499

Materiale Supplementare

YOR076C	SKI7	3.074632367	0.592470283
YOR078W	BUD21	3.542408722	0.558311859
YOR079C	ATX2	3.451790634	0.826765793
YOR080W	DIA2	3.580821014	0.142986477
YOR081C	TGL5	3.502454119	1.089673259
YOR082C		3.469638769	1.085812722
YOR083W	WHI5	3.037015481	0.782491785
YOR084W	LPX1	2.929984868	0.472133919
YOR085W	OST3	2.461772009	1.103405043
YOR086C	TCB1	2.761504287	1.176071103
YOR087W	YVC1	2.937424824	0.44991901
YOR088W	YVC1	2.281117836	0.644758571
YOR089C	VPS21	3.29075971	0.159601447
YOR090C	PTC5	3.408159702	0.686662502
YOR091W	TMA46	3.347805843	0.648032697
YOR092W	ECM3	3.599144453	0.886946192
YOR093C	CMR2	3.606846312	0.780414914
YOR094W	ARF3	3.361056144	0.867423602
YOR096W	RPS7A	3.650855547	-0.035744398
YOR097C		0.949074613	1.627364112
YOR099W	KTR1	2.159818415	2.175711856
YOR100C	CRC1	0.958861987	2.113338306
YOR101W	RAS1	1.483247973	2.100397792
YOR104W	PIN2	0.533426454	1.972411834
YOR105W		3.184107399	1.591167022
YOR106W	VAM3	3.026131999	1.012056276
YOR107W	RGS2	2.589764482	1.489602438
YOR108W	LEU9	3.616604586	2.174098203
YOR109W	INP53	3.331024716	1.433175322
YOR111W		3.451858534	2.184493003
YOR112W	CEX1	3.147470221	2.091109856
YOR113W	AZF1	2.804727816	2.11857332
YOR114W		0.904066271	2.351769421
YOR115C	TRS33	3.064078687	1.493523399
YOR118W	RTC5	2.529342723	1.640649918
YOR120W	GCY1	2.569811431	1.585782208
YOR121C		2.783571955	1.545117744
YOR123C	LEO1	2.94212936	0.790239309
YOR124C	UBP2	0.141718077	1.471506818
YOR125C	CAT5	-0.971947387	0.080275096

Materiale Supplementare

YOR126C	IAH1	0.737399604	1.688072687
YOR128C	ADE2	-0.283436154	0.060821636
YOR129C	AFI1	-0.035211268	2.270681606
YOR130C	ORT1	-0.372191829	1.541067455
YOR131C		-0.157723199	2.40280105
YOR132W	VPS17	-0.82237225	2.224920449
YOR133W	EFT1	-0.348329647	2.250272537
YOR134W	BAG7	-0.602956582	1.668402015
YOR135C	IRC14	-1.213770225	1.508502327
YOR136W	IDH2	-1.043533931	1.585400069
YOR137C	SIA1	-0.94081015	1.653106161
YOR138C	RUP1	0.603538587	1.914011225
YOR139C		1.057502037	1.190087481
YOR140W	SFL1	0.129495984	1.400511644
YOR141C	ARP8	-0.36578978	0.059791842
YOR142W	LSC1	-0.329996508	2.437912404
YOR144C	ELG1	-0.679781166	2.350641502
YOR147W	MDM32	-0.602374578	0.593349899
YOR150W	MRPL23	-0.645442905	0.548311292
YOR152C		-0.100085361	1.499953812
YOR153W	PDR5	-0.586951461	2.639297054
YOR154W	SLP1	-0.322129748	1.515605412
YOR156C	NFI1	-1.265277616	1.334537934
YOR161C	PNS1	-1.081073216	2.186894109
YOR161C-C		-0.83284833	1.319254716
YOR162C	YRR1	-0.908508905	1.216149453
YOR163W	DDP1	-0.833430334	1.570693398
YOR164C	GET4	-0.819171226	0.920509106
YOR165W	SEY1	-0.74467466	1.165374728
YOR166C	SWT1	-0.633511815	1.975658514
YOR167C	RPS28A	-0.829938308	1.108866608
YOR170W		-0.764171808	2.294125632
YOR171C	LCB4	-0.696659295	2.362866137
YOR172W	YRM1	-0.732161564	2.075485672
YOR173W	DCS2	-0.448356808	2.089668228
YOR175C	ALE1	-1.079909207	2.309222704
YOR177C	MPC54	-0.94866721	1.691974858
YOR178C	GAC1	0.14212548	1.552581035
YOR179C	SYC1	-0.009069569	0.737623856
YOR180C	DCI1	-0.917238971	1.939776083

Materiale Supplementare

YOR182C	RPS30B	0.599464556	1.64598107
YOR183W	FYV12	0.147829124	-0.054524575
YOR184W	SER1	-0.537481085	0.247155128
YOR185C	GSP2	-0.85001746	1.718679492
YOR186W		0.564398789	1.734953283
YOR187W	TUF1	-0.87766267	0.306547984
YOR188W	MSB1	-0.885810732	1.404659241
YOR189W	IES4	-0.861948551	1.42722622
YOR190W	SPR1	-0.878244675	1.310605578
YOR191W	RIS1	-0.823827261	0.908284033
YOR192C	THI92	-1.012396694	1.118073356
YOR193W	PEX27	-1.018798743	0.303646324
YOR195W	SLK19	1.264404609	0.358170898
YOR196C	LIP5	0.026190199	0.000245828
YOR197W	MCA1	0.198463508	1.588587495
YOR198C	BFR1	-0.667268071	2.066820621
YOR199W		-0.980968455	2.229361869
YOR200W		-0.957397276	0.486984591
YOR201C	PET56	-0.928006053	1.688393524
YOR202W	HIS3	-0.967291351	1.93402452
YOR205C	GEP3	-0.98155046	1.177268656
YOR208W	PTP2	-0.148120126	0.815508674
YOR209C	NPT1	0.595681527	0.142481711
YOR212W	STE4	1.422709813	0.539896756
YOR213C	SAS5	3.414328949	0.849039567
YOR214C		0.026568502	0.522088781
YOR215C	AIM41	1.263240601	1.405052565
YOR216C	RUD3	2.870736818	1.573493676
YOR219C	STE13	3.047084158	2.028815665
YOR220W	RCN2	2.787219183	1.882892367
YOR221C	MCT1	2.534629263	0.829078361
YOR222W	ODC2	-0.145792108	2.271398399
YOR223W		1.066232103	2.057577502
YOR225W		-0.300896287	1.761650166
YOR226C	ISU2	2.330927715	1.848820654
YOR227W	HER1	1.552787801	1.353477922
YOR228C		3.362530555	1.44625328
YOR229W	WTM2	0.410604121	0.833503259
YOR230W	WTM1	2.417355372	0.892551062
YOR231W	MKK1	2.449365615	2.166626651

Materiale Supplementare

YOR233W	KIN4	2.491269934	2.141798057
YOR234C	RPL33B	2.919043185	1.954919871
YOR235W	IRC13	0.014550111	1.441779217
YOR237W	HES1	0.483354673	1.982403404
YOR238W		1.848446048	1.988450764
YOR239W	ABP140	1.186416017	1.363079791
YOR240W	ABP140	1.553078803	1.655993439
YOR242C	SSP2	2.306192527	1.394334479
YOR243C	PUS7	2.942323362	0.627991336
YOR245C	DGA1	2.218309859	1.086410754
YOR246C	ENV9	2.070189733	1.497041275
YOR247W	SRL1	2.600104761	2.489054208
YOR248W	TOS11	2.514259108	2.327889595
YOR251C	TUM1	2.790420207	1.988598261
YOR252W	TMA16	2.129845187	1.565479695
YOR253W	NAT5	1.921487603	1.570494579
YOR255W	OSW1	0.625363753	1.762436815
YOR258W	HNT3	1.417471773	1.19934398
YOR263C		0.553195204	1.584408424
YOR264W	DSE3	1.995984169	1.679002907
YOR265W	RBL2	2.75258992	0.214439936
YOR266W	PNT1	2.405424281	0.540663668
YOR267C	HRK1	2.243045047	0.164314187
YOR268C		1.810324758	0.332843945
YOR269W	PAC1	1.216389245	0.011348299
YOR270C	VPH1	2.188065029	0.014310149
YOR271C	FSF1	1.564718892	-0.132740976
YOR273C	TPO4	0.325922477	0.002086555
YOR274W	MOD5	0.939355139	-0.017390445
YOR275C	RIM20	1.46577814	-0.045186848
YOR276W	CAF20	0.608485624	-0.04274347
YOR277C		2.25526714	1.251115285
YOR279C	RFM1	2.56052846	0.671502832
YOR280C	FSH3	2.098416948	1.619807607
YOR283W		2.602723781	1.961655549
YOR284W	HUA2	1.998603189	2.330839527
YOR285W	RDL1	1.694505878	2.42036996
YOR286W	RDL2	2.009661273	2.252862993
YOR288C	MPD1	0.924514026	1.947250048
YOR289W		0.999883599	0.509468734

Materiale Supplementare

YOR291W	YPK9	-1.378361076	1.143134369
YOR292C		-1.393085787	1.063822321
YOR293C-A		-1.294814341	0.16945659
YOR293W	RPS10A	-1.317541613	0.610697882
YOR295W	UAF30	-1.340695689	0.13550974
YOR296W		-1.287131882	0.717375763
YOR297C	TIM18	-1.568676522	0.323600974
YOR298C-A	MBF1	-1.536656579	0.278689483
YOR298W	MUM3	-1.551963295	0.998608564
YOR299W	BUD7	-1.332363326	0.445989775
YOR300W		-1.616371784	1.022103728
YOR300W		1.183796997	0.260903529
YOR301W	RAX1	2.071935747	0.562343433
YOR302W		0.520311954	0.376895964
YOR303W	CPA1	0.725468514	0.49822197
YOR304C-A		1.894424398	0.567205755
YOR304W	ISW2	2.016936329	0.249102381
YOR305W	RRG7	1.685193807	0.75006661
YOR306C	MCH5	1.995402165	0.714658656
YOR307C	SLY41	2.879486284	0.756127737
YOR308C	SNU66	3.366653087	0.51784952
YOR309C		3.39600551	0.601975082
YOR311C	HSD1	0.088464672	0.71412607
YOR312C	RPL20B	3.35917433	0.100007459
YOR313C	SPS4	-0.595613627	1.294794837
YOR314W		0.654764676	1.051874203
YOR315W	SFG1	0.670042292	1.039461843
YOR316C	COT1	0.489329919	1.048209136
YOR316C-A		2.252851822	0.304786409
YOR317W	FAA1	2.694360377	0.489310866
YOR320C	GNT1	3.121871726	0.956558029
YOR321W	PMT3	3.00130951	0.653163791
YOR322C	LDB19	2.062274473	0.117282141
YOR323C	PRO2	2.801536492	0.101522353
YOR324C	FRT1	1.354343693	0.91260166
YOR325W		2.876440461	0.765426876
YOR327C	SNC2	0.00785706	0.591566233
YOR328W	PDR10	0.68152718	0.12834662
YOR331C		2.951742133	0.044670908
YOR332W	VMA4	0.698017305	0.019494133

Materiale Supplementare

YOR333C	SWF5	-0.29478524	0.307108769
YOR334W	MRS2	0.24739068	0.766834798
YOR337W	TEA1	0.488486012	0.504069614
YOR338W		1.388497653	0.348091964
YOR339C	UBC11	2.659013309	0.543328291
YOR342C		1.520923059	0.198800827
YOR343C		2.926104838	0.746013195
YOR344C	TYE7	0.200791526	0.485116301
YOR345C		0.89337679	0.053353839
YOR346W	REV1	2.834448842	0.262248946
YOR347C	PYK2	2.831238117	0.032277172
YOR348C	PUT4	-0.34610833	0.404804405
YOR349W	CIN1	-0.139351259	0.965807705
YOR350C	MNE1	0.14083537	0.652500354
YOR351C	MEK1	0.666559966	0.774824197
YOR352W		-1.010912583	0.119619739
YOR354C	MSC6	-0.540266027	0.751544318
YOR355W	GDS1	-0.210840802	0.728928173
YOR356W	CIR2	-0.470144705	0.656704007
YOR357C	GRD19	1.275501494	0.059047804
YOR358W	HAP5	1.464325682	0.496621036
YOR359W	VTS1	1.719281909	0.292657827
YOR360C	PDE2	0.350302847	0.030654709
YOR363C	PIP2	0.406346299	0.416948292
YOR364W		0.134963763	0.655798914
YOR365C		1.546625702	0.863150074
YOR366W		-0.231257415	1.211137152
YOR367W	SCP1	-0.640311566	0.884340419
YOR368W	RAD17	0.247625014	0.56776356
YOR369C	RPS12	0.599280765	1.210760436
YOR371C	GPB1	0.94749299	0.674157771
YOR374W	ALD4	0.858877712	0.269033789
YOR376W		2.302404393	0.804913502
YOR376W-A		2.515418012	0.09132958
YOR377W	ATF1	1.361573822	0.490893251
YOR378W		1.300649701	1.041842199
YOR379C		2.177857999	-0.140061712
YOR380W	RDR1	2.355782878	0.793384185
YOR381W	FRE3	1.183163939	0.68907951
YOR382W	FIT2	-0.283482102	0.556529236

Materiale Supplementare

YOR383C	FIT3	1.222898505	0.743014098
YOR384W	FRE5	-0.213317384	0.869934918
YOR385W		0.904559954	0.853120306
YOR386W	PHR1	1.687521825	0.528775293
YPL001W	HAT1	-1.446542894	1.170406638
YPL002C	SNF8	0.962737422	-0.135798774
YPL003W	ULA1	-0.44600939	0.322686793
YPL004C	LSP1	1.608251802	0.155098629
YPL005W	AEP3	1.864634961	0.057136307
YPL006W	NCR1	2.886159935	0.115124817
YPL008W	CHL1	2.192727191	0.135965639
YPL009C	TAE2	2.539387405	0.548879228
YPL013C	MRPS16	2.996745881	-0.010760398
YPL014W		-0.335816552	0.0601655
YPL015C	HST2	2.101832395	0.222330706
YPL017C	IRC15	2.810267069	0.041119071
YPL018W	CTF19	-0.488447212	0.681375271
YPL019C	VTC3	0.745095847	0.460787706
YPL021W	ECM23	0.153764037	0.056970634
YPL022W	RAD1	0.419027869	0.079065326
YPL023C	MET12	0.762328794	0.332015134
YPL024W	NCE4	1.071470143	0.030652474
YPL025C		2.112709241	0.113562843
YPL026C	SKS1	1.578472575	1.007094832
YPL027W	SMA1	-1.173134101	0.007514877
YPL029W	SUV3	-0.952412516	0.28685257
YPL030W	TRM44	-0.841468821	0.163276645
YPL031C	PHO85	-1.35922283	0.874912257
YPL032C	SVL3	-0.327334377	0.091974705
YPL033C	SRL4	-1.240219092	0.433296129
YPL034W		-0.316684055	0.083886081
YPL035C		-0.360154756	0.185959535
YPL036W	PMA2	-1.0793775	-0.131013478
YPL037C	EGD1	-0.113675882	-0.117896561
YPL038W	MET31	-0.096287602	0.92860519
YPL038W-A		-0.827464789	0.332218879
YPL039W		0.358850635	0.74491442
YPL040C	ISM1	1.15632064	0.982501935
YPL041C		0.887671709	1.007728323
YPL042C	SSN3	-0.62467397	0.018487432

Materiale Supplementare

YPL045W	VPS16	-0.012171796	0.009575658
YPL046C	ELC1	-1.117414363	0.087108807
YPL047W	SGF11	0.277560424	0.0762322
YPL048W	CAM1	-0.293644584	1.244395102
YPL049C	DIG1	-1.595972529	1.959160622
YPL050C	MNN9	-0.112806468	0.281102289
YPL051W	ARL3	0.685532951	0.18256324
YPL052W	OAZ1	-0.058685446	0.438455828
YPL053C	KTR6	-0.164101895	1.294454552
YPL054W	LEE1	-0.048252478	0.782149116
YPL055C	LGE1	-1.336941761	0.036184639
YPL056C	LCL1	0.659885237	2.672790269
YPL057C	SUR1	-1.559587553	1.772937678
YPL058C	PDR12	1.605590332	0.420261601
YPL059W	GRX5	-0.031516258	0.003840871
YPL060W	LPE10	-0.316319404	0.575236125
YPL061W	ALD6	0.24256651	0.036800251
YPL062W		-0.804860024	-0.022205538
YPL064C	CWC27	0.629455747	-0.113621842
YPL065W	VPS28	-0.92310033	0.088669589
YPL066W		-0.908537646	0.627171613
YPL067C		0.551643192	1.339940714
YPL068C		-0.474265345	1.969903738
YPL069C	BTS1	0.013258564	0.028158441
YPL070W	MUK1	0.897235263	0.076312057
YPL071C		0.076073726	0.06593366
YPL072W	UBP16	0.315379934	0.068121377
YPL073C		1.395409494	0.285844826
YPL074W	YTA6	1.463441141	0.159380351
YPL075W	GCR1	0.402321335	0.725340734
YPL077C		-0.526430186	-0.02860838
YPL078C	ATP4	0.428838463	-0.139719502
YPL079W	RPL21B	1.379542688	1.625795075
YPL080C		1.462571727	1.655056612
YPL081W	RPS9A	-0.797904712	1.305222698
YPL084W	BRO1	0.605764215	0.022486824
YPL086C	ELP3	1.184793949	0.022060127
YPL087W	YDC1	0.857242219	0.142744523
YPL088W		0.877021388	0.206928486
YPL089C	RLM1	-0.703355938	0.562068106

Materiale Supplementare

YPL090C	RPS6A	1.286732742	0.511222603
YPL091W	GLR1	0.359285342	1.404144939
YPL092W	SSU1	0.089766997	0.730747298
YPL095C	EEB1	-0.887889063	0.518106373
YPL096C-A	ERI1	1.738175969	0.166307964
YPL096W	PNG1	1.023082942	0.512698165
YPL097W	MSY1	-0.248652408	-0.00115539
YPL098C	MGR2	0.987654321	0.145603722
YPL099C	AIM43	1.112849939	0.473242825
YPL100W	MAI1	-0.944515578	0.63752945
YPL101W	ELP4	0.170839854	-0.05341835
YPL102C	KRE24	1.395409494	-0.017994585
YPL103C	FMP30	0.610111285	0.524325813
YPL105C	SYH1	-0.023039471	0.73468054
YPL106C	SSE1	0.866588419	0.356327191
YPL107W		0.385585116	0.601319035
YPL108W		-0.235393845	0.415719153
YPL109C		1.912276126	0.463532633
YPL110C	GDE1	0.474482699	0.419554065
YPL111W	CAR1	0.718788037	0.486714181
YPL112C	PEX25	0.022170057	0.224563566
YPL113C		0.648365502	0.415178332
YPL114W		2.158217902	0.611914208
YPL115C	BEM3	1.917268071	0.316257283
YPL116W	HOS3	-0.773483878	0.399125786
YPL118W	MRP51	1.778751019	-0.103714689
YPL119C	DBP1	-0.289401699	0.224858559
YPL119C-A		0.431701781	0.364307651
YPL120W	VPS30	0.9473577	0.024582766
YPL121C	MEI5	-0.701897334	0.369773964
YPL123C	RNY1	-0.329414504	-0.019444968
YPL125W	KAP120	-0.486701199	-0.067135534
YPL127C	HHO1	1.374112443	0.729223166
YPL129W	TAF14	1.984053079	-0.007768154
YPL130W	SPO19	1.891223373	0.076894892
YPL132W	COX11	1.715021534	0.298802909
YPL133C	RDS2	1.205040158	0.211878859
YPL134C	ODC1	1.693632872	0.347670468
YPL135W	ISU1	1.296705855	0.239903212
YPL136W		1.904172972	0.137442244

Materiale Supplementare

YPL137C	GIP3	0.436939821	0.017403108
YPL138C	SPP1	-0.541555116	0.045035627
YPL139C	UME1	1.727098126	0.529439028
YPL140C	MKK2	1.806687231	0.551194776
YPL141C	FRK1	2.112676056	0.772636331
YPL144W	POC4	-0.473751601	0.127289562
YPL145C	KES1	1.942585264	1.044300476
YPL147W	PXA1	0.372919334	0.363898683
YPL148C	PPT2	1.681265278	0.21527277
YPL149W	APG5	1.428238855	0.278571903
YPL150W		0.701024328	-0.047985559
YPL152W	RRD2	-0.442177861	-0.085621773
YPL152W-A		1.841025492	0.13714014
YPL154C	PEP4	-0.576766383	0.195727982
YPL155C	KIP2	-0.540391107	0.24130443
YPL156C	PRM4	-0.579094401	-0.172964341
YPL157W	TGS1	1.095914329	1.02451135
YPL158C	AIM44	0.225235712	-0.265552506
YPL159C	PET20	1.587271563	0.351582717
YPL161C	BEM4	1.753433826	-0.111753254
YPL162C		-1.351084468	0.229947192
YPL163C	SVS1	1.415580258	0.443055189
YPL164C	MLH3	2.137847748	0.140367593
YPL165C	S ET6	1.590618089	0.348247587
YPL166W	ATG29	2.143813293	0.405316174
YPL167C	REV3	0.965108835	0.829837447
YPL168W		1.635723431	0.878584327
YPL170W	DAP1	1.807560237	0.739286457
YPL171C	OYE3	-1.258429364	0.601859856
YPL174C	NIP100	1.727825631	0.143207275
YPL176C	TRE1	-0.43155628	0.736246388
YPL177C	CUP9	0.502706321	0.827249552
YPL178W	CBC2	0.913746944	0.253334341
YPL179W	PPQ1	1.748777791	1.47453836
YPL180W	BIT89	1.478582237	0.59483142
YPL181W	CTI6	0.259864975	0.323434705
YPL182C		2.330054708	0.879869335
YPL183C	RTT10	-1.432303186	0.819104462
YPL183W-A	GON5	1.811343266	0.101600699
YPL184C	MRN1	-0.018042137	0.204425066

Materiale Supplementare

YPL185W		1.550605285	0.852411875
YPL186C	UIP4	1.544348737	0.445054587
YPL187W	MF(ALPHA)1	1.596438133	0.73253141
YPL188W	POS5	0.086573158	0.242630409
YPL189C-A	COA2	0.012513095	0.262949115
YPL189W	GUP2	0.346670935	0.829735764
YPL191C		1.462334614	0.936272629
YPL192C	PRM3	1.958920188	1.004225353
YPL193W	RSA1	1.916346564	0.233333654
YPL194W	DDC1	1.56177977	0.123235758
YPL195W	APL5	0.495945369	0.580290342
YPL196W	OXR1	1.174349125	0.762936567
YPL197C		1.485168587	0.953143856
YPL198W	RPL7B	0.002240717	1.025915547
YPL199C		1.860008536	1.049328769
YPL200W	CSM4	-0.003841229	0.514089698
YPL201C	YIG1	0.286384977	0.758200288
YPL202C	AFT2	1.807191635	0.885968841
YPL203W	TPK2	-1.43822023	0.782692172
YPL205C		-1.475138711	0.477390608
YPL206C	PGC1	1.532650448	1.158378663
YPL207W	TYW1	1.568822023	0.430301203
YPL208W	RKM1	1.437259923	0.641175148
YPL212C	PUS1	1.941101152	0.648214013
YPL213W	LEA1	0.374519846	0.241289531
YPL214C	THI6	0.767809335	0.137019867
YPL216W		2.193982074	0.566618599
YPL219W	PCL8	-1.458066581	0.607767914
YPL220W	RPL1A	1.347951344	0.649223397
YPL221W	BOP1	1.851899274	0.773836417
YPL222W	FMP40	-0.774754588	0.746422908
YPL223C	GRE1	-0.13679044	0.795102744
YPL224C	MMT2	1.978019633	1.420153087
YPL225W		1.945369185	0.671876043
YPL226W	NEW1	1.986128895	0.349784451
YPL227C	ALG5	2.490717029	0.447035362
YPL229W		2.425416133	0.823804985
YPL230W	USV1	2.083333333	0.231704487
YPL232W	SSO1	1.182778489	0.535880458
YPL234C	TFP3	1.124839949	0.308255965

Materiale Supplementare

YPL236C	ENV7	1.784891165	0.545220419
YPL239W	YAR1	1.193235169	0.489244716
YPL240C	HSP82	1.372705933	0.738729247
YPL241C	CIN2	0.162185233	0.695763042
YPL244C	HUT1	1.331839522	0.80290293
YPL245W		0.497972685	0.733370949
YPL246C	RBD2	-0.376547162	0.302580326
YPL247C		1.779982928	0.439340212
YPL248C	GAL4	1.73815621	0.718940866
YPL249C	GYP5	2.242530943	0.688845601
YPL249C-A	RPL36B	2.111502347	0.00427453
YPL250C	ICY2	2.142765685	0.687169503
YPL253C	VIK1	1.863529663	0.383457625
YPL254W	HFI1	2.235808792	0.110621701
YPL256C	CLN2	-1.372492531	0.099454421
YPL257W		0.881348698	0.592855115
YPL258C	THI21	0.364810073	0.592436463
YPL259C	APM1	1.702198037	0.355042183
YPL260W		1.258002561	0.186240524
YPL261C		-0.367690994	0.853763928
YPL262W	FUM1	2.450704225	0.224789281
YPL263C	KEL3	1.654075971	0.671113977
YPL264C		2.072556551	0.580519036
YPL265W	DIP5	1.456999573	0.489792241
YPL267W	ACM1	2.185125907	0.511057079
YPL269W	KAR9	2.198783611	0.31573583
YPL270W	MDL2	2.351579172	0.512530555
YPL272C		0.781690141	0.455441178
YPL273W	SAM4	0.188860435	0.6631581
YPL274W	SAM3	0.596244131	0.562785177
YPL277C		1.597204439	0.578852002
YPR001W	CIT3	0.580559112	0.571414324
YPR002W	PDH1	-0.935950413	0.683670258
YPR003C		1.914212548	0.585405941
YPR004C	AIM45	2.012804097	0.757313073
YPR005C	HAL1	-0.620145113	1.032659717
YPR006C	ICL2	-0.620785318	0.127502125
YPR007C	SPO69	1.41837388	0.383106017
YPR008W	HAA1	2.011416987	1.015409767
YPR009W	SUT2	0.444195476	0.036792829

Materiale Supplementare

YPR011C		-0.134016219	0.495036935
YPR012W		0.651621852	0.412013494
YPR013C	CMR3	-0.050896287	0.573025017
YPR014C		1.579812207	0.710776421
YPR015C		0.066154503	0.687459932
YPR017C	DSS4	2.022300469	0.531221461
YPR018W	RLF2	1.933845497	0.308407606
YPR020W	ATP20	0.633269313	0.584873598
YPR021C	AGC1	0.172215109	0.437245119
YPR022C		1.237302604	0.627706772
YPR023C	EAF3	2.217242851	0.105802734
YPR024W	YME1	1.198997012	0.056605171
YPR026W	ATH1	-0.356749311	-0.138117897
YPR027C		-0.059734491	0.638654568
YPR028W	YOP1	-0.459794272	0.541057168
YPR029C	APL4	0.329075001	0.113157275
YPR030W	CSR2	-0.373954009	0.442093698
YPR031W	NTO1	-0.560190035	-0.016265597
YPR032W	SRO7	-1.032475847	0.08032716
YPR036W	VMA13	-0.284386761	-0.029809211
YPR037C	ERV2	-0.38421022	0.255951288
YPR038W	IRC16	-1.270224654	0.242936183
YPR039W		-0.083381834	0.303458655
YPR040W	TIP41	-1.466360144	0.349514108
YPR042C	PUF2	-0.376508361	0.492158512
YPR043W	RPL43A	-1.222500291	-0.084064865
YPR044C	OPI11	-1.281282738	0.593218845
YPR045C	THP3	-0.496449773	0.296359531
YPR046W	MCM16	-1.314165988	0.856026355
YPR047W	MSF1	0.004074031	0.54391592
YPR049C	CVT9	-0.422447911	0.670498446
YPR050C		-0.483131572	0.245344942
YPR051W	MAK3	-0.587533465	0.277669911
YPR052C	NHP6A	-1.269516548	0.232305268
YPR053C		-1.570616537	0.414905565
YPR054W	SMK1	0.541264114	0.571475002
YPR057W	BRR1	-0.388487953	0.332199443
YPR058W	YMC1	-0.554650215	0.418057523
YPR059C		0.513909906	0.715085651
YPR060C	ARO7	-1.159605013	0.366706604

Materiale Supplementare

YPR061C	JID1	-1.230648353	0.647906086
YPR062W	FCY1	-1.374403445	0.745270254
YPR063C		-0.963314321	0.546170492
YPR064W		-1.349377255	1.224095846
YPR065W	ROX1	-1.212024211	0.772898195
YPR066W	UBA3	-1.146257712	0.349522993
YPR068C	HOS1	-1.090385287	0.264357944
YPR069C	SPE3	-1.362617856	0.38484091
YPR070W	MED1	0.103596787	0.397912982
YPR071W		-0.446979397	0.463453264
YPR073C	LTP1	0.112035851	0.769517448
YPR074C	TKL1	-1.069433128	0.373419229
YPR075C	OPY2	1.178849959	0.950709471
YPR076W		-1.246255772	0.646613316
YPR077C		-1.038295891	0.838316307
YPR078C		-0.840705389	0.772240772
YPR079W	MRL1	-1.33162612	0.523093898
YPR083W	MDM36	-1.120649517	0.750458484
YPR084W		-1.179140961	0.503418042
YPR087W	VPS69	-0.413805145	0.54558186
YPR089W		-0.787742987	-0.009069243
YPR089W		0.763880805	0.270490823
YPR090W		-0.763880805	0.353434619
YPR091C	NVJ2	-1.211733209	0.145317886
YPR092W		0.371609824	0.409110317
YPR093C	ASR1	-0.58820277	0.41298196
YPR095C	SYT1	0.514200908	0.503229235
YPR096C		-0.63031079	0.600917707
YPR097W		-0.860784542	0.375500543
YPR098C		-1.256256548	-0.113756412
YPR099C		-1.194273076	0.158379758
YPR100W	MRPL51	-0.520893959	0.368834564
YPR101W	SNT309	-0.366953789	0.592421415
YPR106W	ISR1	-1.244325457	0.463531441
YPR108W-A		0.045396345	0.117101664
YPR109W		0.67890816	1.356043767
YPR111W	DBF20	0.205447561	0.427389114
YPR114W		-0.96187871	0.018315203
YPR115W	RGC1	0.268886044	0.188954759
YPR116W	RRG8	-0.907354596	0.028291933

Materiale Supplementare

YPR117W		0.074496566	0.958948964
YPR118W	MRI1	-1.316785008	-0.302427039
YPR119W	CLB2	-0.760097777	0.750365537
YPR120C	CLB5	-1.313001979	-0.072121365
YPR121W	THI22	-1.445233384	1.622212845
YPR122W	AXL1	-1.111919451	0.974054403
YPR123C		-0.92364102	0.387004844
YPR124W	CTR1	-0.379466884	0.351311264
YPR125W	YLH47	-0.496449773	2.401005594
YPR126C		-1.297578862	1.687357472
YPR127W		0.710336399	-0.044736462
YPR128C	ANT1	-0.608776627	0.240387269
YPR129W	SCD6	-1.238796415	0.164945293
YPR130C		0.577930392	0.163012641
YPR131C	NAT3	-0.5560208	-0.105397789
YPR132W	RPS23B	0.525695495	0.253334192
YPR133W-A	TOM5	-0.840444924	-0.355271805
YPR134W	MSS18	-0.64835652	0.25844562
YPR135W	CTF4	-1.232058456	-0.055184585
YPR138C	MEP3	-0.484538442	1.111368668
YPR139C	VPS66	-0.635647627	-0.043981399
YPR140W	TAZ1	0.833196814	0.810799808
YPR141C	KAR3	-1.302535599	-0.005013692
YPR145W	ASN1	0.337235637	0.537785101
YPR146C		-1.01228173	0.287329327
YPR147C		0.266441266	0.402506587
YPR148C		1.572938806	0.646890269
YPR149W	NCE102	-0.562735406	0.232594681
YPR150W		-0.986666351	1.434726496
YPR151C	SUE1	1.138547949	-0.260461071
YPR152C	URN1	1.351031657	0.083027174
YPR153W		1.507558513	1.260345592
YPR154W	PIN3	-0.462116901	1.682302064
YPR155C	NCA2	1.21616291	1.092724502
YPR156C	TPO3	1.892690959	1.156624199
YPR157W	TDA6	-0.884564093	0.80903998
YPR158W	CUR1	0.952823871	0.403057241
YPR159C-A		-1.35920343	0.120891677
YPR159W	KRE6	2.049641744	0.361453666
YPR160W	GPH1	-0.217935508	0.576314191

Materiale Supplementare

YPR163C	TIF3	2.172378214	-0.087320368
YPR164W	MMS1	-0.568535691	0.111630787
YPR166C	MRP2	2.198421115	0.101717824
YPR167C	MET16	-1.114163042	0.771705165
YPR170C		0.941738842	1.099141647
YPR171W	BSP1	-0.738231296	1.787743953
YPR172W		1.822782168	1.659949327
YPR173C	VPS4	1.794894456	0.283955677
YPR174C		1.680255751	2.224774874
YPR179C	PLO1	2.041921204	0.063409233
YPR184W	GDB1	-1.105827804	0.623600109
YPR185W	APG13	1.695380681	0.590041803
YPR188C	MLC2	1.176658461	1.329402604
YPR189W	SKI3	1.200423642	0.617642439
YPR191W	QCR2	0.411326237	1.348882286
YPR192W	AQY1	1.42606532	0.379748607
YPR193C	HPA2	0.349534971	1.883031521
YPR194C	OPT2	1.664399724	1.121528948
YPR195C		0.424717728	1.942844221
YPR196W		0.341085129	1.814122899
YPR197C		1.771301721	1.565805975
YPR198W	SGE1	-0.699380704	-0.092021785
YPR199C	ARR1	0.900033914	-0.106353686
YPR200C	ARR2	1.678994742	-0.000356972
YPR201W	ARR3	1.635570745	0.086594506