

# Дифф. Зачет

14 мая

*Отправить по электронной почте на имя Колчанова Николая Александровича заявку на дифф. зачет на адрес kol@bionet.nsc.ru*

*Заявка включает следующую информацию:*

1. Фамилия, имя, отчество;
2. Курс, факультет, группа;
3. Статус (студент, магистрант, и т.д.);
4. 2 вопроса по курсу лекций, выбранных из списка, представленного на сайте кафедры;
5. Если уже распределены на кафедру, сообщить название кафедры;
6. В случае, если принято решение заниматься информационной биологией и выбрано направление, которое вам интересно, указать это направление;
7. Тем, кто уже выбрал направление деятельности рекомендуется выбирать вопросы, соответствующие этому направлению.

*Зачет будет приниматься одним или двумя лекторами (в зависимости от выбранных вопросов);*

*По электронной почте вам будет послано сообщение о месте и времени приема зачета;*

*Имеется возможность попросить у лектора дополнительные материалы для подготовки к зачету;*

*В случае заинтересованности в работе по определенному направлению, можно обсудить интересующие вас вопросы.*



# ***Генетические механизмы кодирования биологической сложности***

***Н. А. Колчанов***



# Древо эволюции жизни

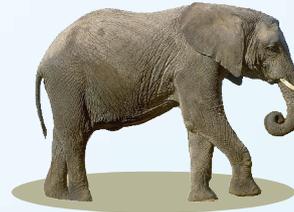
Время  
млн. лет назад



Человек



Приматы



Насекомые



Моллюски



Грибы



Животные

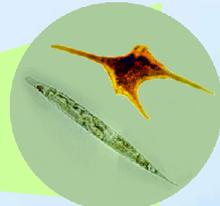


Покрытосемянные



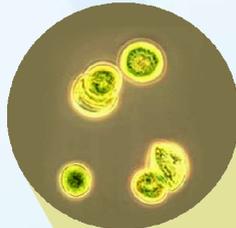
Голосемянные

Растения



Протисты

ЭУКАРИОТЫ



ЭУБАКТЕРИИ



АРХЕОБАКТЕРИИ

ПРЕКАРИОТЫ

ПРОГЕНОТ

~ 5-10

~ 130-140

~ 220-240

~ 270-300

~ 400

~ 550-590

~ 2500-2700

~ 3300 - 3800



# КОДИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛОЖНОСТИ

*Рост сложности организмов - глобальный тренд эволюции и признак эволюционного прогресса.*

*Самое простое определение – сложность определяется количеством элементов в системе*

*Следуя Колмогорову, сложность молекулярно-генетической системы можно определить как минимальное количество эволюционных событий, необходимых для ее формирования.*

*По Кауфману сложность определяется количеством конфликтующих параметров системы. Для молекулярно-генетических систем это может быть количество альтернативных путей регуляции системы или режимов ее функционирования.*

*Можно выделить ряд характеристик, связанных с ростом сложности биологической организации: (i) увеличение количества элементов; (ii) связей между ними; (iii) уровней иерархии; (iv) количества элементов и связей, работающих в единицу времени и/или в единице объема; (v) разнообразия режимов поведения.*

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМОВ ПРО- И ЭУКАРИОТ

Таксон	Вид	Гаплоидный геном млн.п.н.	Число генов в геноме.
<b>ПРОКАРИОТЫ</b>			
<b>МИКОПЛАЗМЫ</b>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	0,58	470
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0,82	~670
<b>РИККЕТСИИ</b>	<i>Rickettsia prowazekii</i>	1,1	834
<b>АРХЕОБАКТЕРИИ</b>	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2,18	2436
	<i>Methanopyrus kandleri</i>	1,69	1738
<b>ЦИАНОБАКТЕРИИ</b>	<i>Synechocystis sp.</i>	3,57	3168
<b>ЭУБАКТЕРИИ</b>	<i>Escherichia coli</i>	4,6 – 5,5	4288
	<i>Campylobacter jejuni</i>	1,64	1654
	<i>Aquifex aeolicus</i>	1,55	1512
	<i>Neisseria meningitidis</i>	2,27	2121
	<i>Bacillus subtilis</i>	4,2	4100
<b>НИЗШИЕ ЭУКАРИОТЫ</b>			
<b>ГРИБЫ</b>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11,4	6241
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	13,8	4824
	<i>Aspergillus nidulans</i>	31	
<b>ПРОТИСТЫ</b>	<i>Amoeba dubia</i>	670000	
	<i>Entamoeba histolytica</i>	20	
	<i>Dictyostelium discoideum</i> <sup>1</sup>	32	11000
<b>ВЫСШИЕ ЭУКАРИОТЫ</b>			
<b>ВЫСШИЕ РАСТЕНИЯ</b>	<i>Lilium longiflorum</i>	90000	
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	115,7	27540
	<i>Oryza sativa</i>	466	46022 - 55615
<b>ПЕРВИЧНОРОТЫЕ</b>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	97	19049
	<i>Drosophila melanogaster</i>	120	13600
<b>ВТОРИЧНОРОТЫЕ</b>	<i>Protopterus aethiopicus</i>	139000	
	<i>Fugu rubriceps</i>	365-400	30-40 тыс.
	<i>Homo sapiens</i>	3000	30000
	<i>Mus musculus</i>	2500	37000



# ВЗРЫВООБРАЗНАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ КРУПНЫХ ТАКСОНОВ ЖИВОТНЫХ

Предки плацентарных и основных семейств млекопитающих

Третичный период (~65 - 60 млн. л. назад)

Меловой период

Юрский период

Триасовый период

Пермский период

Кембрийский период (~550 - 530 млн. л. назад)

Протерозой

Вендобионты

Диплобласты

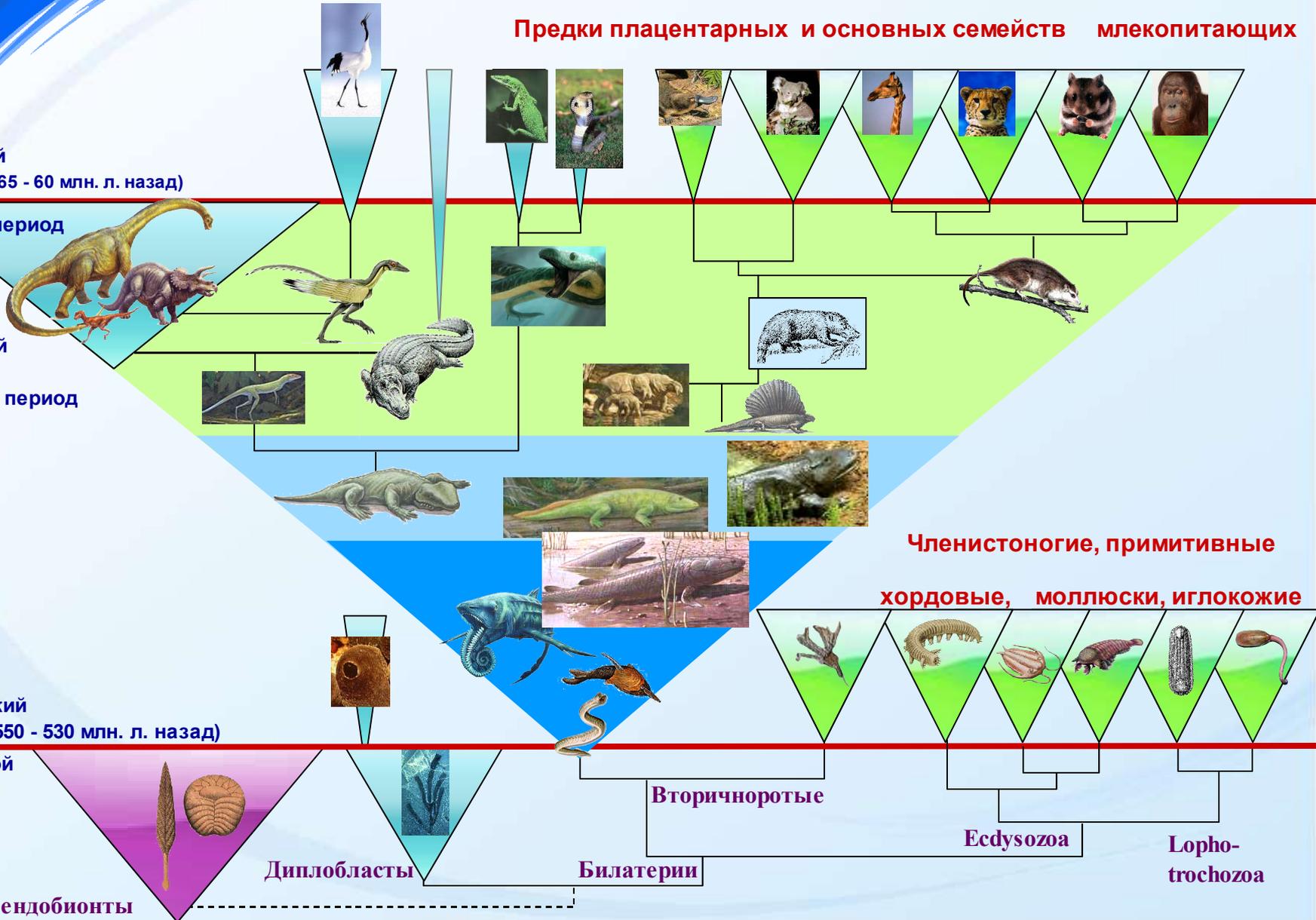
Билатерии

Вторичноротые

Ecdysozoa

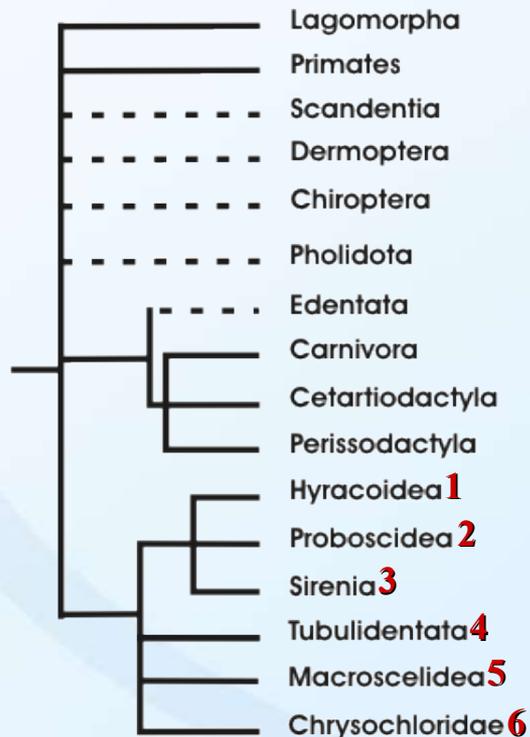
Lophotrochozoa

Членистоногие, примитивные  
хордовые, моллюски, иглокожие





# Быстрое изменение морфологии в ходе эволюции крупного таксона (на примере афротериев)



# **ТОЧКА ЗРЕНИЯ, ОБОСНОВЫВАЕМАЯ В ЛЕКЦИИ**

**В основе кодирования биологической сложности  
лежит комбинаторика молекулярно-генетических  
механизмов и способов их регуляции,  
позволяющая записывать в геномах  
огромное количество информации о генетических  
программах, выполняемых генными сетями  
организмов.**



## **ПРОКАРИОТЫ: магистральные направления эволюции**

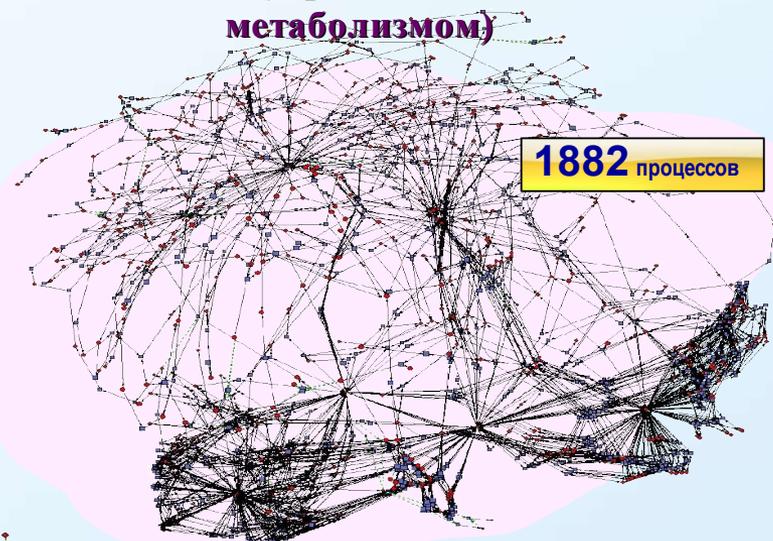
- 5. Эволюция метаболических систем и процессов, позволившая прокариотам сформировать и занять огромное разнообразие экологических ниш;**
- 7. Формирование сверхбольших бактериальных сообществ с распределением метаболических функций.**

# Соотношение метаболической и регуляторной компонент цикла трикарбоновых кислот *E. Coli* K-12

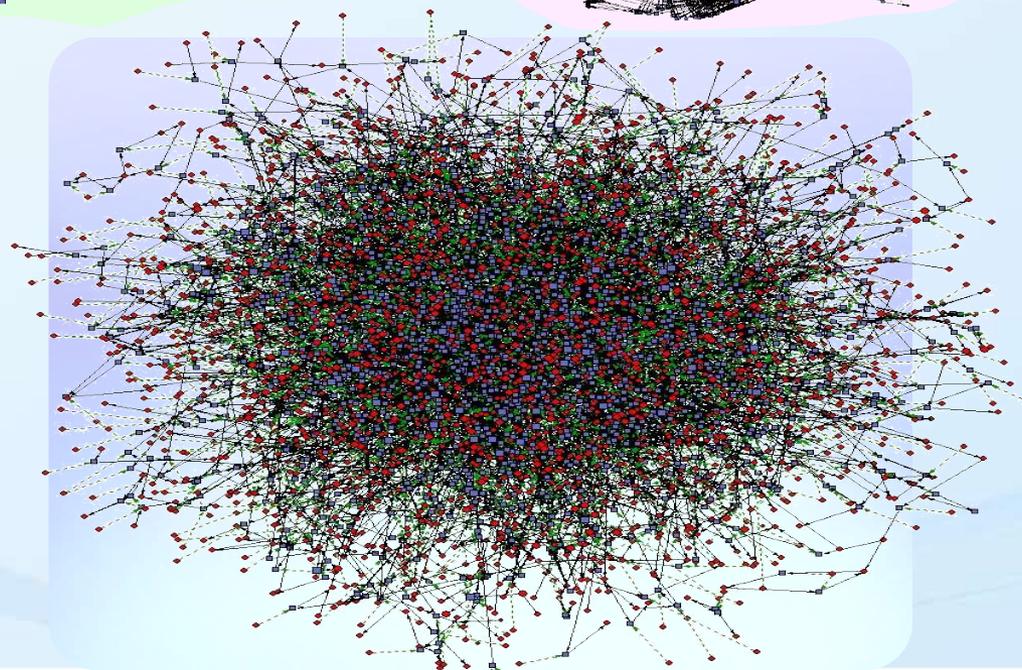
Исполняющая компонента  
(метаболизм)



Регуляторная компонента  
(управление метаболизмом)

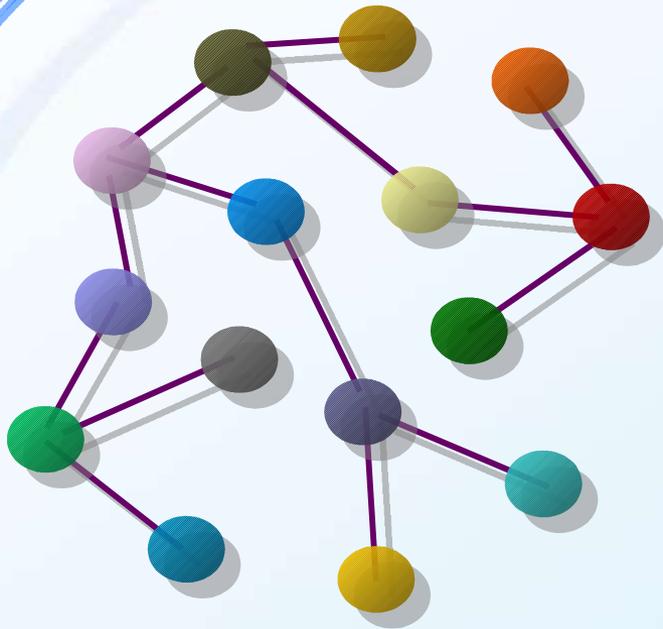


Полный граф  
метаболической  
компоненты  
*E. COLI* K-12:  
3973 процесса

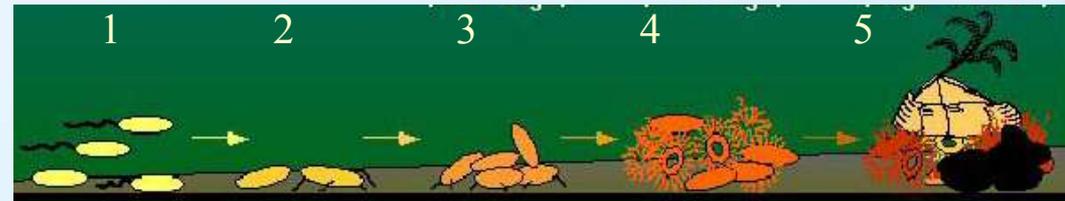




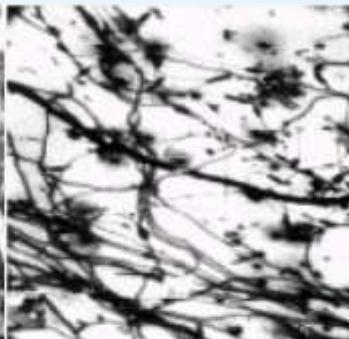
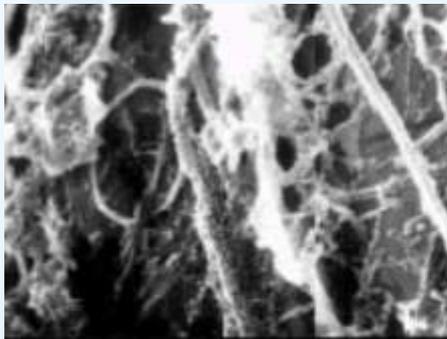
# Бактериальный мат: сообщество микроорганизмов, объединенных регуляторными и метаболическими сетями



*Listeria monocytogenes* – биопленка стадии 4 на лезвии бритвы



<http://www.eng.uc.edu/friendsalumni/research/labsresearch/biofilmreslab>



Минерализованный  
внеклеточный матрикс (стадия  
5)

Бактерии во  
внеклеточном  
матриксе (стадия 5)

- 1) Обратимая адсорбция бактерий на субстрат (секунды).
- 2) Необратимая адсорбция бактерий на субстрат (секунды-минуты).
- 3) Рост и деление адсорбированных бактерий (часы-сутки).
- 4) Продукция внеклеточного матрикса адсорбированными бактериями (часы-сутки).
- 5) Колонизация внеклеточного матрикса другими видами бактерий и установление симбиотических взаимоотношений в биопленке (дни-месяцы).

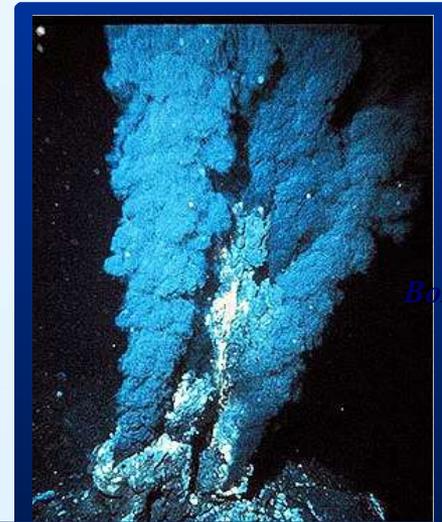
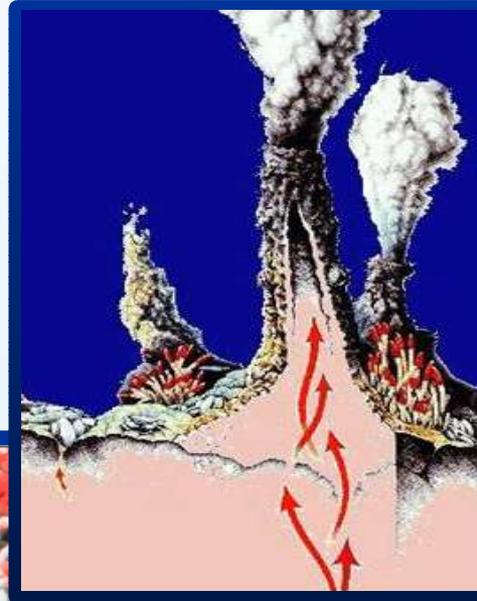
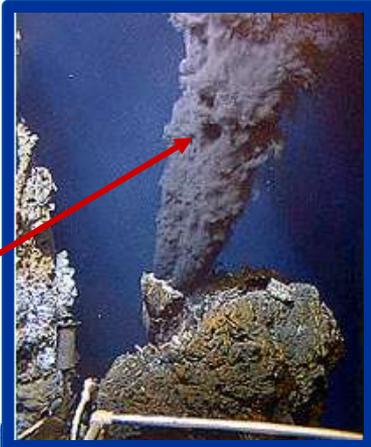


# Археобактерии – ключевые компоненты экстремофильных экосистем - черных курильщиков

$T = 400$

Сульфиды металлов

Биомасса  
10  
килограмм  
на кв. метр



BoAPI-B



**Вестиментиферы: симбиоз с хемосинтезирующими бактериями, находящимися в трофосомах. Бактерии окисляют сероводород, получают за счет этого энергию и используют ее для синтеза органических соединений из углекислого газа и воды.**



## **ЭУКАРИОТЫ:**

- 3. Широкое использование нетриплетных генетических кодов;**
- 5. Комбинаторные способы кодирования генетической информации;**
- 7. Наличие большого количества иерархических уровней в структурно-функциональной организации генных сетей;**
- 9. Использование сетевых способов контроля за динамическим состоянием генных сетей;**
- 11. Управление функцией генных сетей морфогенеза на основе использования позиционированной генетической**

# Сколько существует нетриплетных кодов для записи генетической информации?

## УРОВЕНЬ ДНК

- ☀ Коды конформации ДНК
- ☀ Коды активности функциональных сайтов
- ☀ Коды формирования хроматина
- ☀ Коды регуляции транскрипции
- ☀ Коды эволюционной модуляции (быстрой адаптации) геномов

## УРОВЕНЬ РНК

- ☀ Коды сплайсинга РНК
- ☀ Коды укладки РНК
- ☀ Коды стабильности РНК
- ☀ Коды регуляции трансляции мРНК

## УРОВЕНЬ БЕЛКА

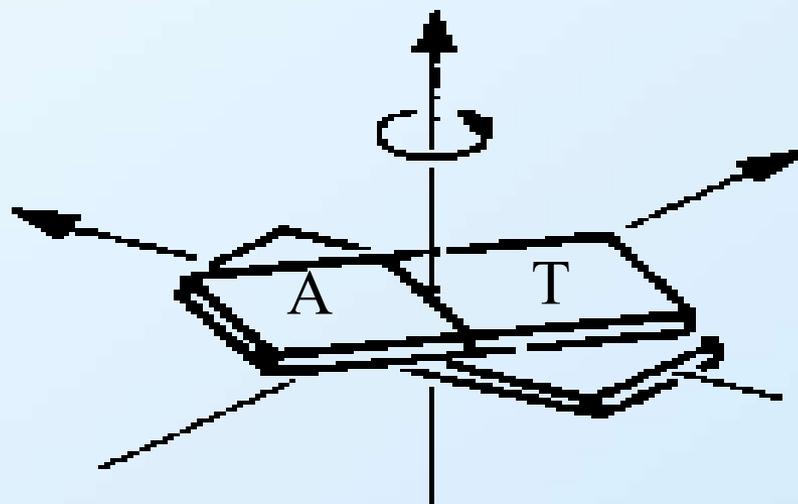
- ☀ Коды укладки белка
- ☀ Коды адресации белка
- ☀ Коды стабильности белка

# КОНФОРМАЦИОННЫЕ КОДЫ СТРУКТУРЫ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК

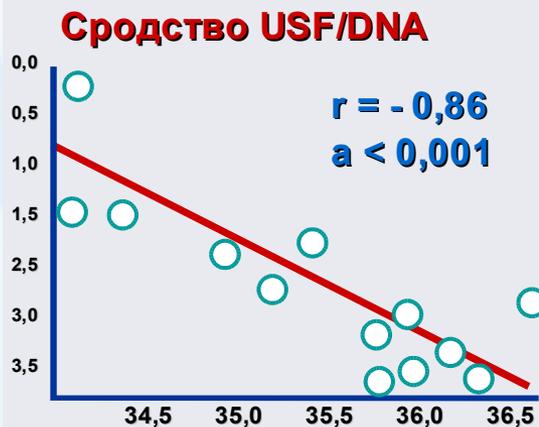
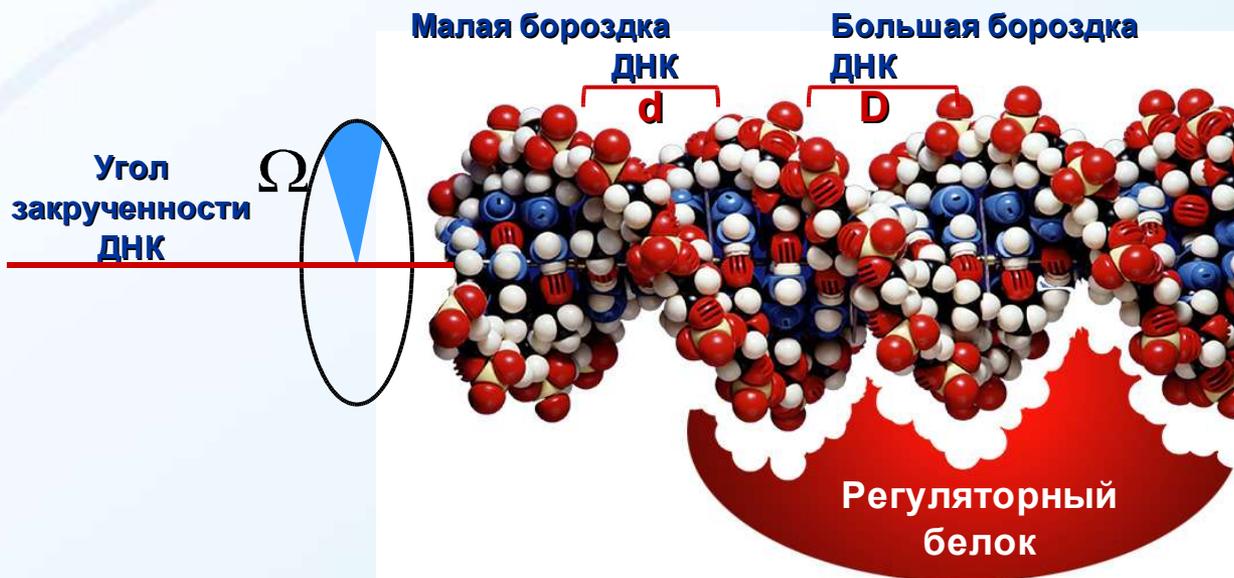
Динуклеотидный код угла спирального вращения ДНК (Helical Twist)

Угол спирального вращения TWIST (градусы)

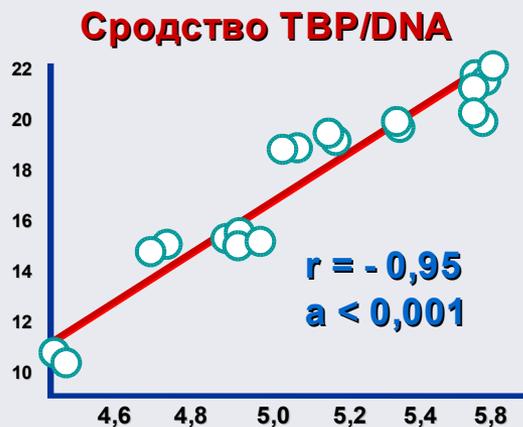
Динуклеотид	Кодируемый угол
AA	35.6
AT	29.3
AG	31.9
AC	31.1
TA	39.5
TT	35.6
TG	36.0
TC	35.9
GA	35.9
GT	31.1
GG	33.3
GC	34.6
CA	35.9
CT	31.9
CG	34.9
CC	33.3



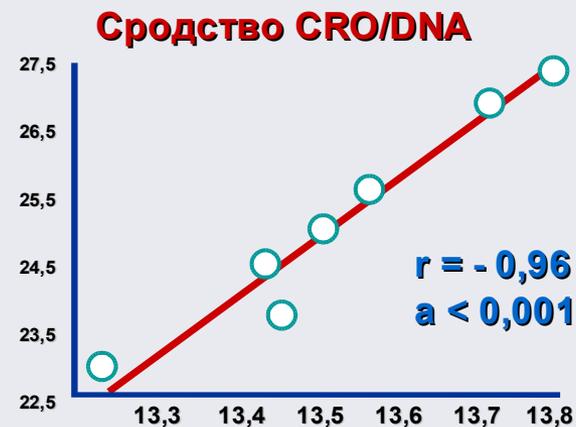
# КОНФОРМАЦИОННЫЕ КОДЫ СТРУКТУРЫ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК И АКТИВНОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ САЙТОВ



$\Omega$ , Угол закрученности ДНК (°)



$d$ , Ширина малой бороздки, Å

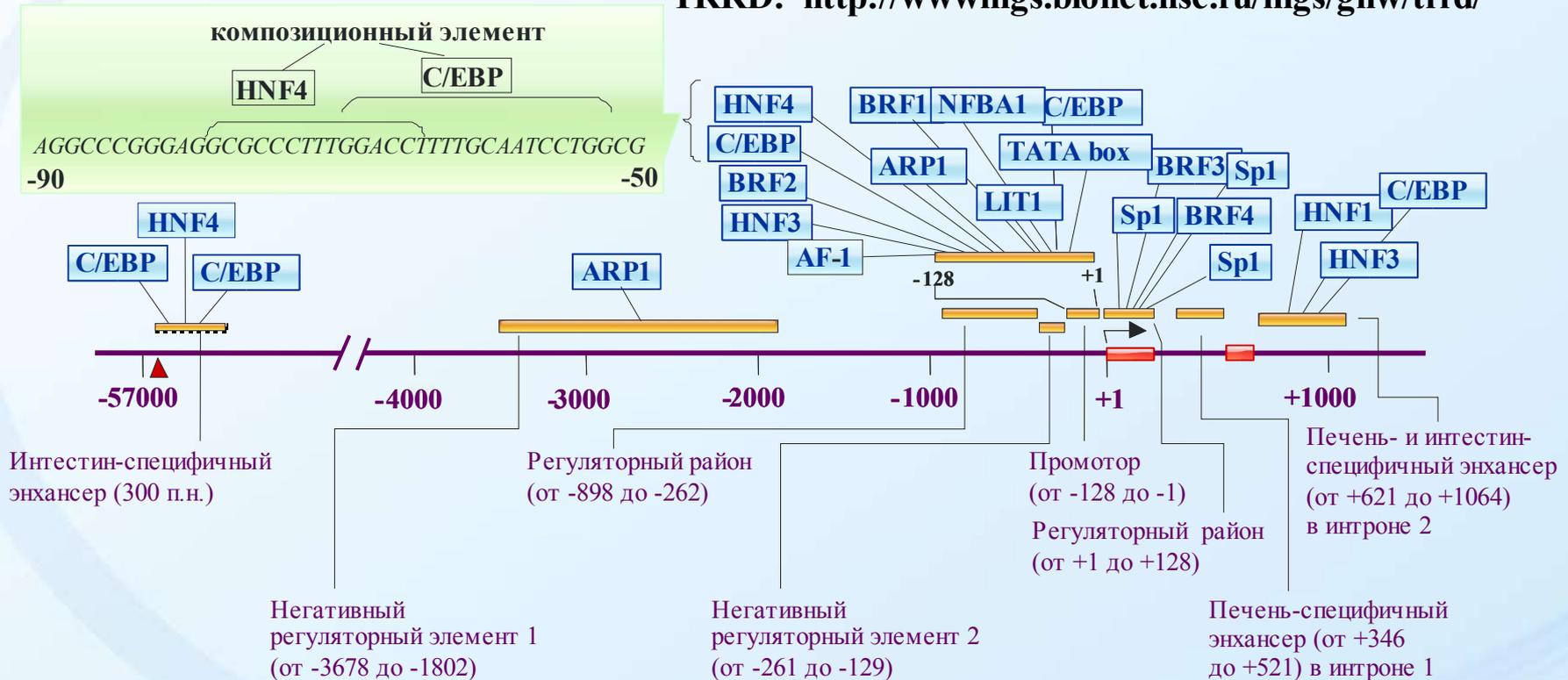


$D$ , Ширина большой бороздки, Å



*Регуляторные районы генов эукариот содержат большое количество сайтов связывания транскрипционных факторов, что обеспечивает большое разнообразие паттернов экспрессии*

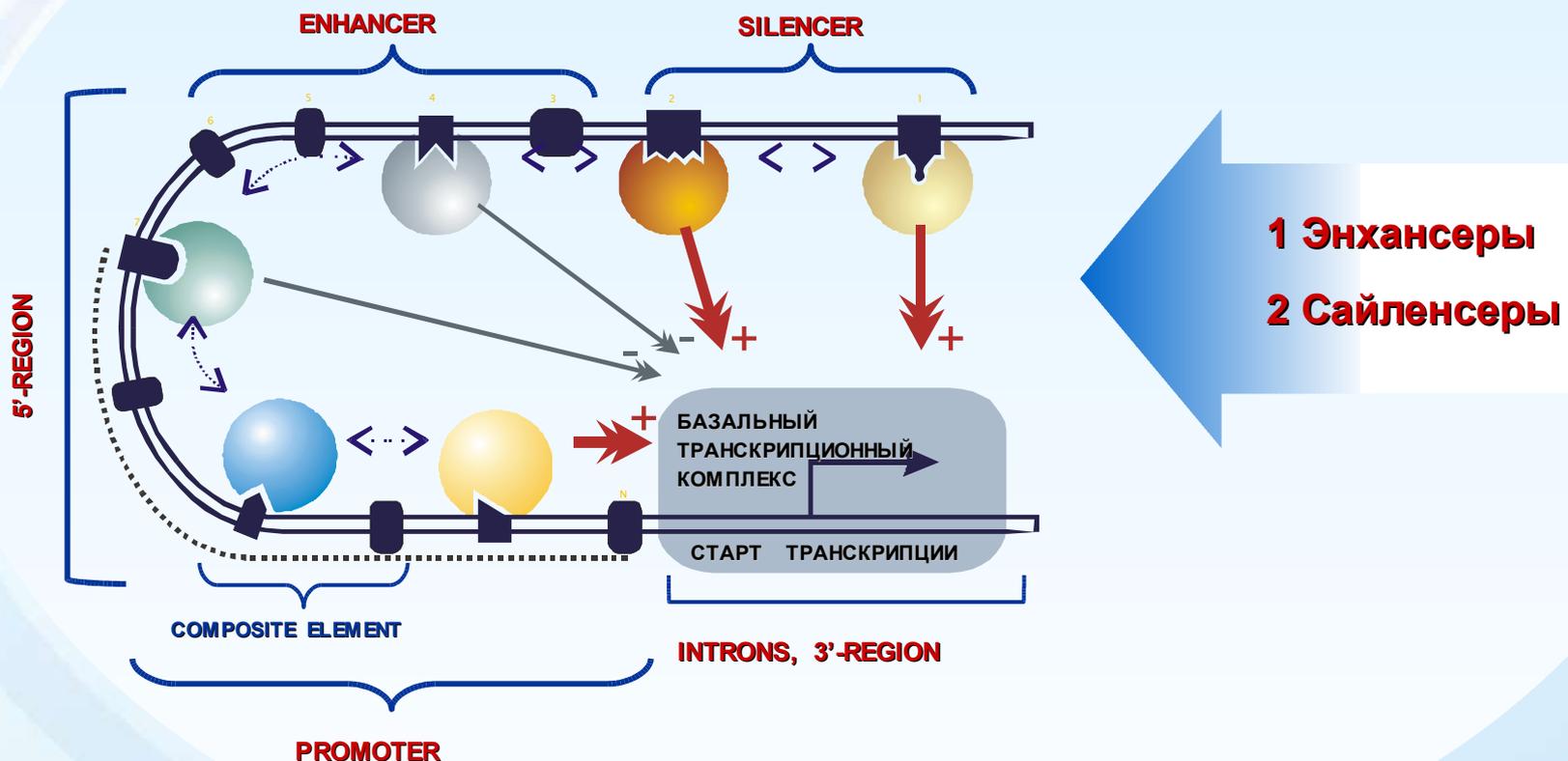
TRRD: <http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/trrd/>



*Организация регуляторных районов, контролирующей транскрипцию гена аполипопротеина В человека*

# Комбинаторный код регуляции транскрипции генов эукариот

Нижняя оценка количества сайтов связывания транскрипционных факторов в геноме человека ~ 450 000



Емкость кода регуляции транскрипции  $W = 2^N$ , где N – количество сайтов связываний транскрипционных факторов в промоторе гена. При  $N = 20$ ,  $W = 10^6$

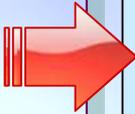
# Комбинаторное кодирование паттернов экспрессии генов эукариот

*Комбинаторика сайтов связывания транскрипционных факторов в промоторной области гена IL-8 человека обеспечивает множество паттернов его экспрессии*

## 365 EXPRESSION PATTERNS:

IL8 is expressed in  
12 cell types  
84 cell lines

IL8 is regulated  
by ~130  
inductors  
or repressors



IL8 promoter region includes  
16 transcription factor binding sites

PGA1, PGA2, PGD2,PGJ2, 3-O-C12-HSL, ATRA, Ad7, BSO, anaphylatoxin, CMV IE1, Cryptosporidium parvum, D2V NGC, DMSO, DTT, EBV LMP-1, EGCG, E. coli, FVIIa, H2O2, HCV NS5A, HIV, HPV, H. pylori, IFN-alpha, IFN-beta, IFN-gamma, IL-1, IL-15, IL-2, L-NAME, LPS, LiCl, MEKK1, MG132, MKK73E, Micrococcus luteus, NIK, Ox-PAPC, PD98059,PD98059, PD98059, PDTC, PDTC, PGPC, PHA, PMA, PNR, POVPC, PTX, Pseudomonas aeruginosa, R-59949, RSV, SIN-1, SN50, SNAP, SNOG, Shigella flexneri, TNF-alpha, Tcf4, U0126, U0126, UTI, actinomycin D, alpha-toxin, aminoguanidine, anoxia, beta-catenin, beta-mercaptoethanol, cadmium chloride, calcium ionophore A 23187, ceramide, ciglitazone, clarithromycin, cobalt chloride, curcumin, cycloheximide, dexamethasone, erythromycin, fibrin, forskolin, geldanamycin, hepatitis B virus X protein, hypoxia, invasin, isohelenin, lactacystin, mAb Apo-1, neuropeptide substance P, neurotensin, nickel subsulfide, nicotine, okadaic acid, acidosis, pRB, paclitaxel, parthenolide, peroxide, peroxyntirite, peroxisome proliferator Wy-14.643, proteasome inhibitor Nleu, respiratory syncytial virus, rotavirus, sPGN, sodium arsenite, sodium butyrate, sodium orthovanadate, t-BOH, titanium, trichostatin A, troglitazone, vanadyl sulfate, Wortmannin, SB 203580, rebamipide

**TRRD – transcription regulatory regions database:**

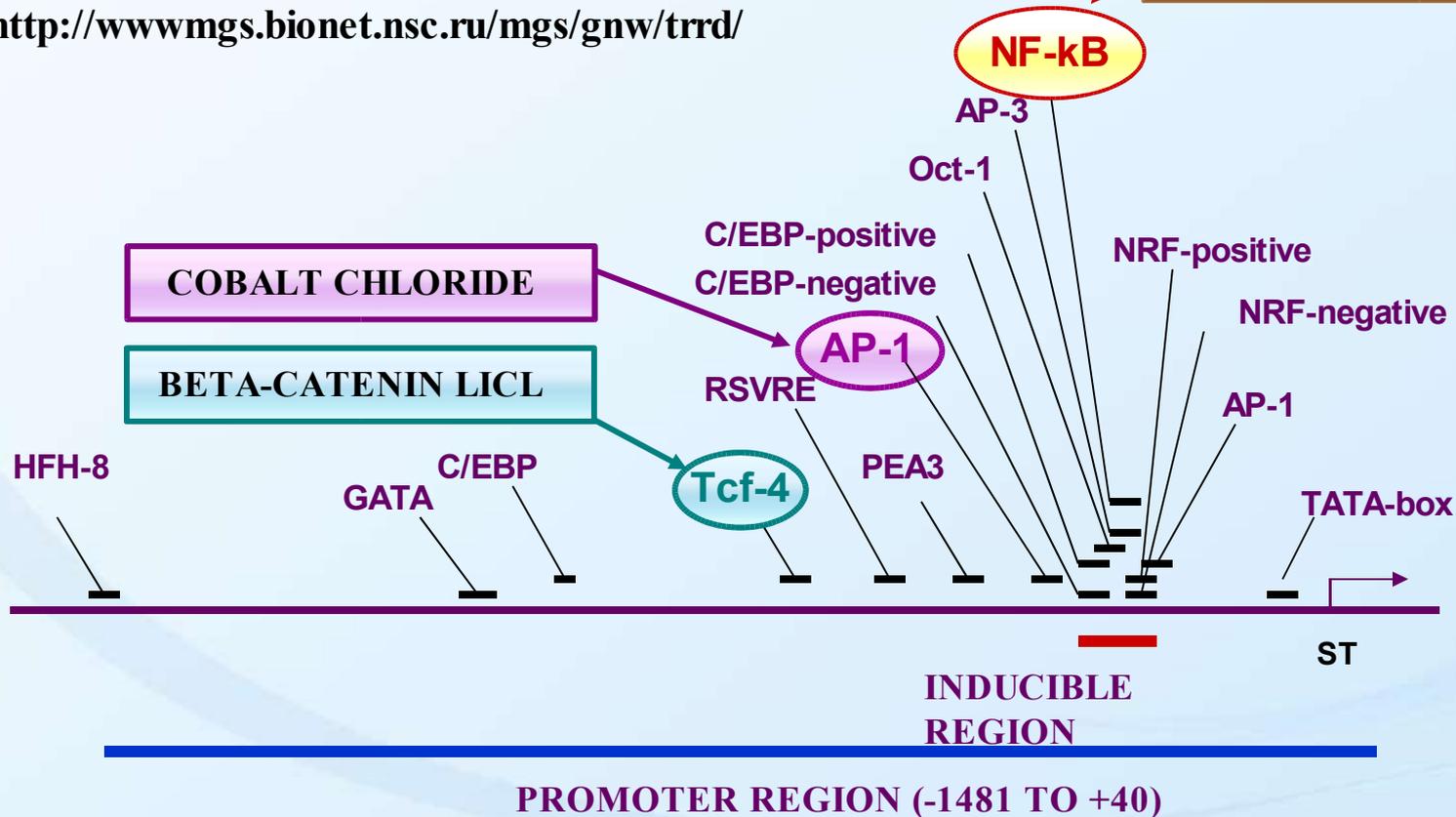
<http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/trrd/>

# Комбинаторное кодирование паттернов экспрессии генов эукариот

*Индукция экспрессии гена гена IL-8  
через пути передачи сигналов, ведущие  
к одиночным сайтам связывания  
транскрипционных факторов*

SHIGELLA FLEXNERI  
EBV LMP-1  
C5A (ANAPHYLATOXIN)  
ATRA  
D2V NGC  
SODIUM ORTHOVANADATE  
INVASIN  
PEROXIDE  
TITANIUM  
NEUROTENSIN

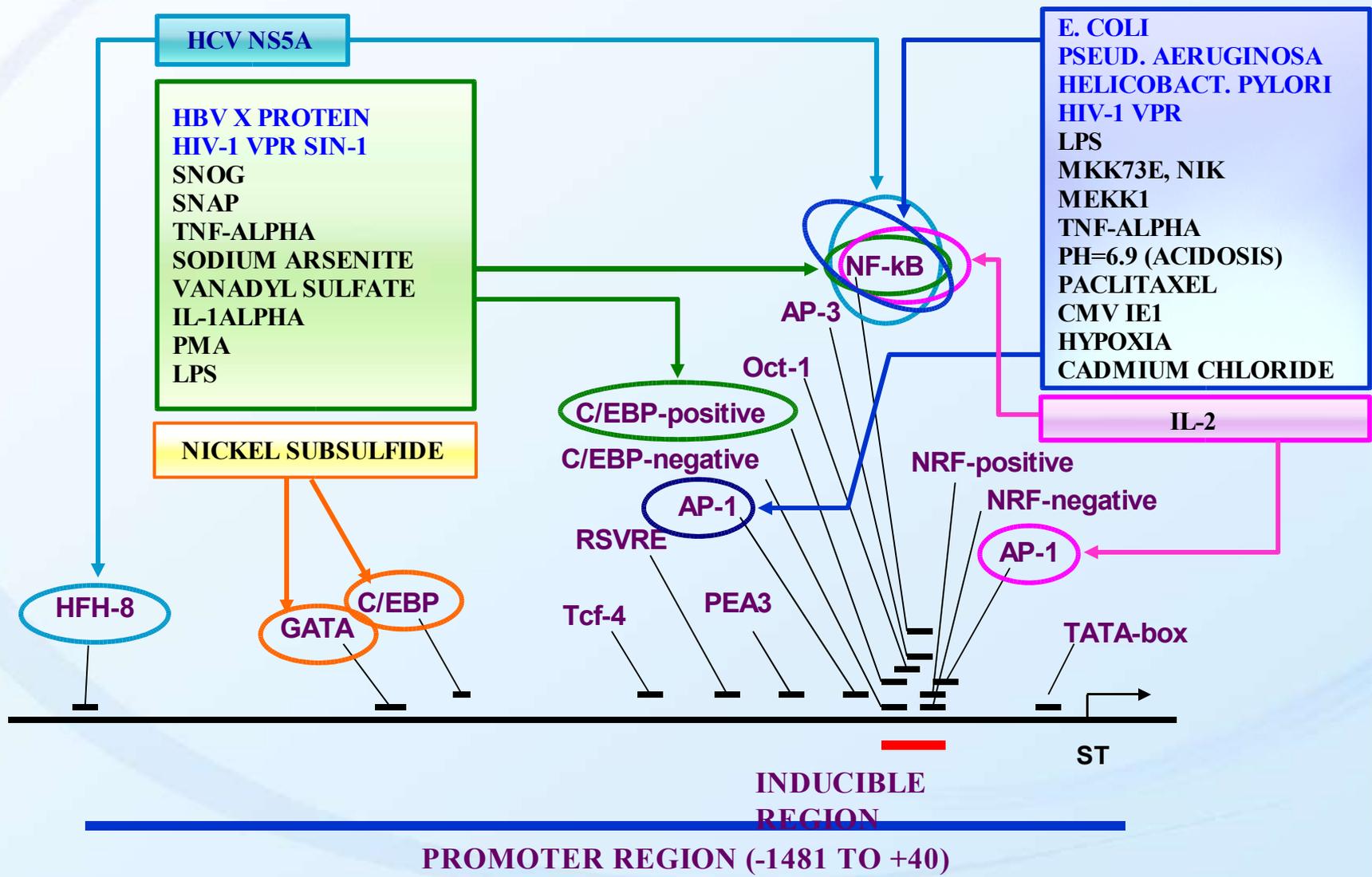
TRRD: <http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/trrd/>



# Комбинаторное кодирование паттернов экспрессии генов эукариот

*Индукция экспрессии гена гена IL-8 через пути передачи сигналов, ведущие к парам сайтов связывания транскрипционных факторов*

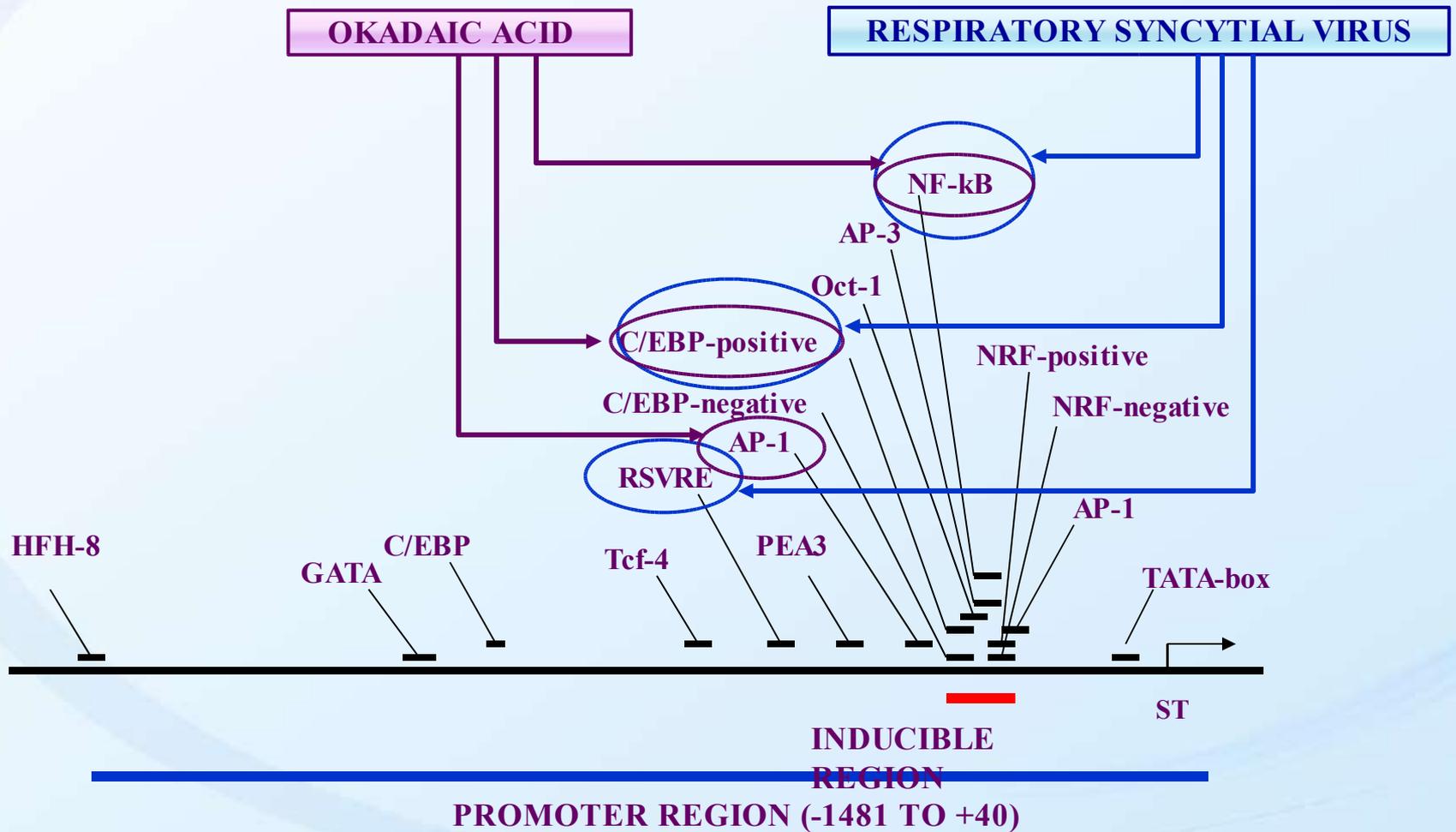
TRRD: <http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/trrd/>



# Комбинаторное кодирование паттернов экспрессии генов эукариот

*Индукция экспрессии гена гена IL-8 через пути передачи сигналов, ведущие к тройкам сайтов связывания транскрипционных факторов*

<http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/trrd/>

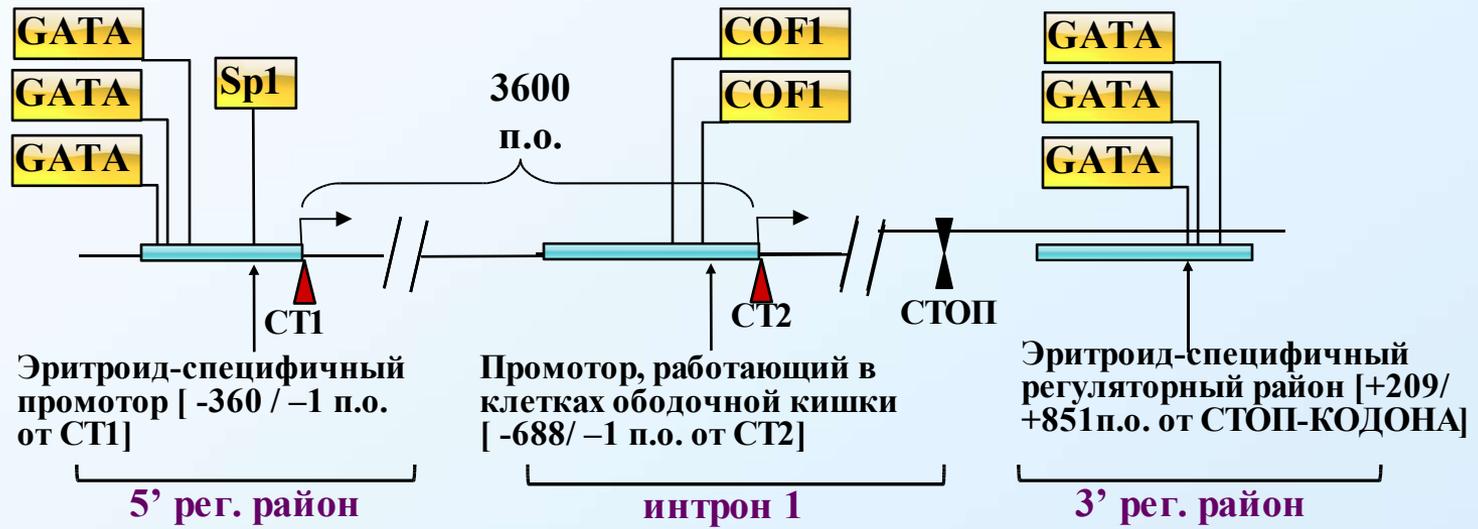


# Комбинаторное кодирование разнообразия транскриптов генов эукариот

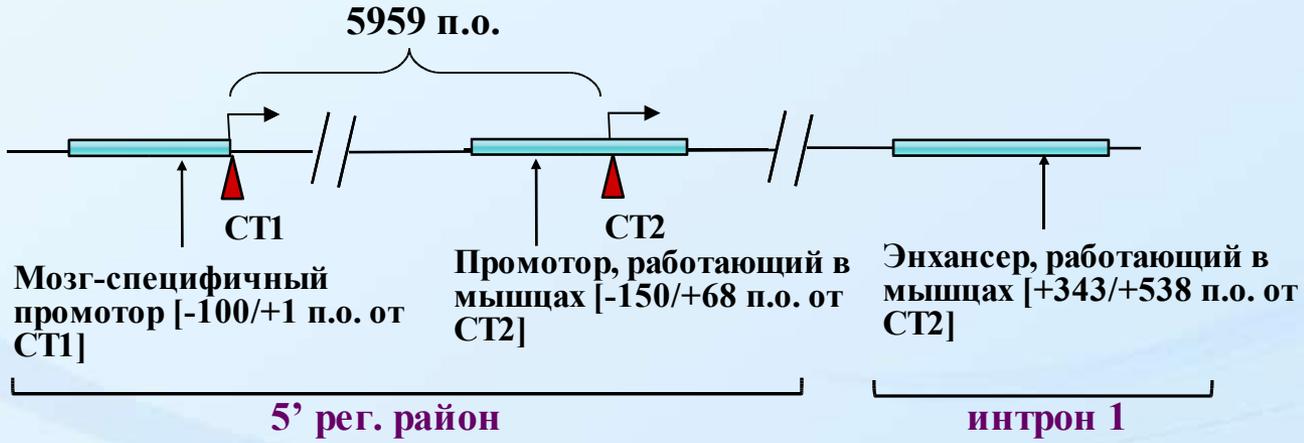
## Альтернативные промоторы обеспечивают разнообразие тканеспецифических вариантов транскриптов и мРНК

TRRD: <http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/trrd/>

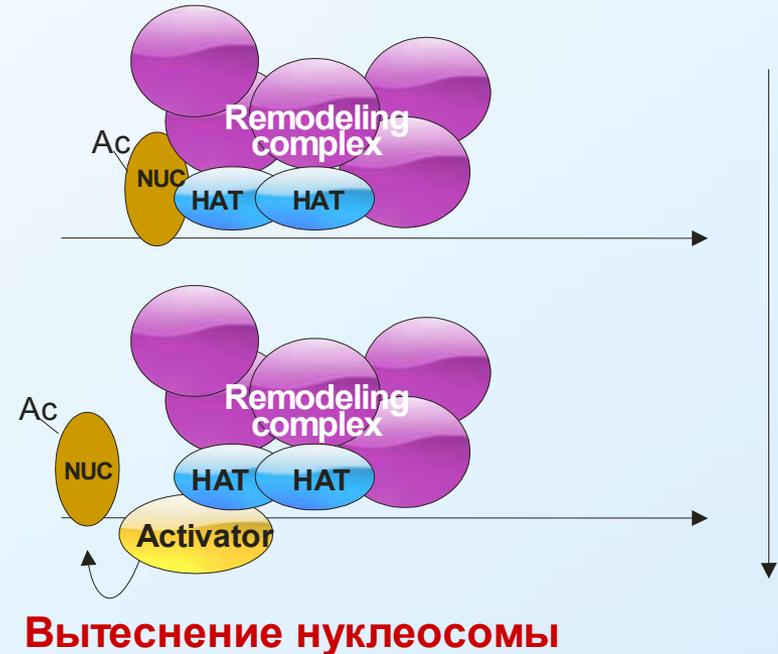
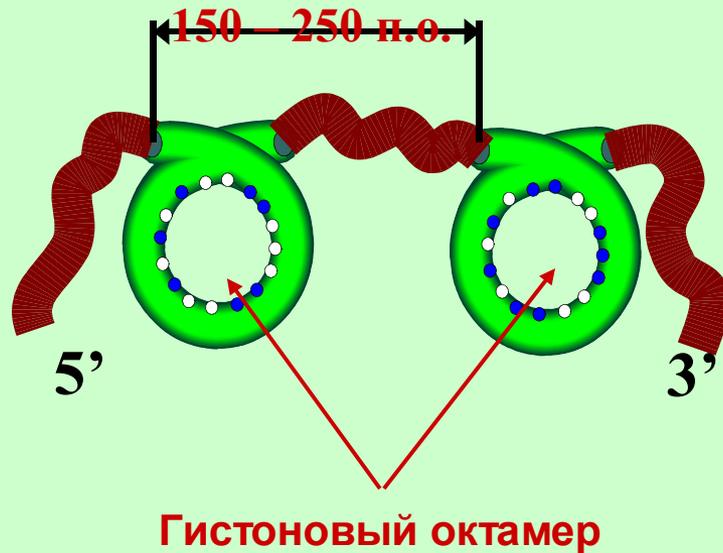
*Ген, кодирующий карбоангидразу 1 человека*



*Ген, кодирующий белок дистрофин человека*



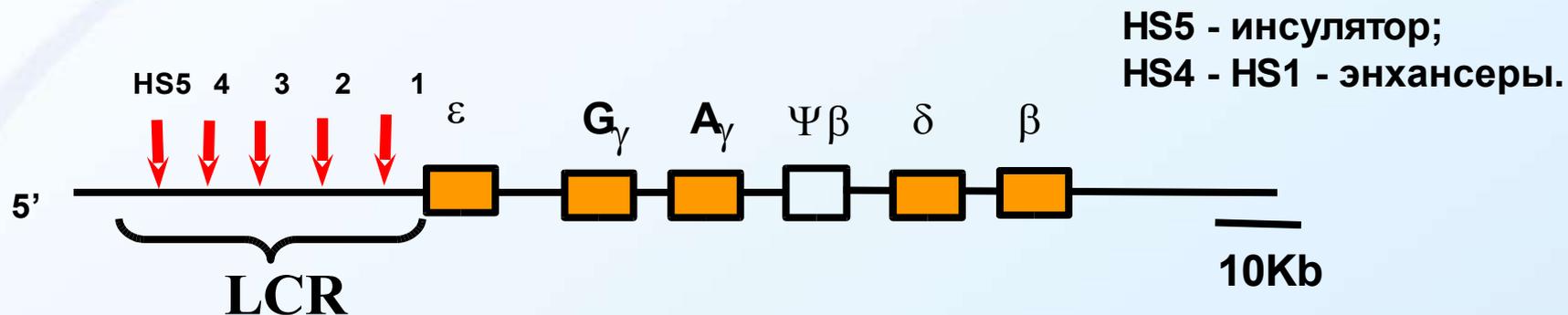
# КОМБИНАТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ ЭУКАРИОТ: НУКЛЕОСОМНАЯ УПАКОВКА ДНК



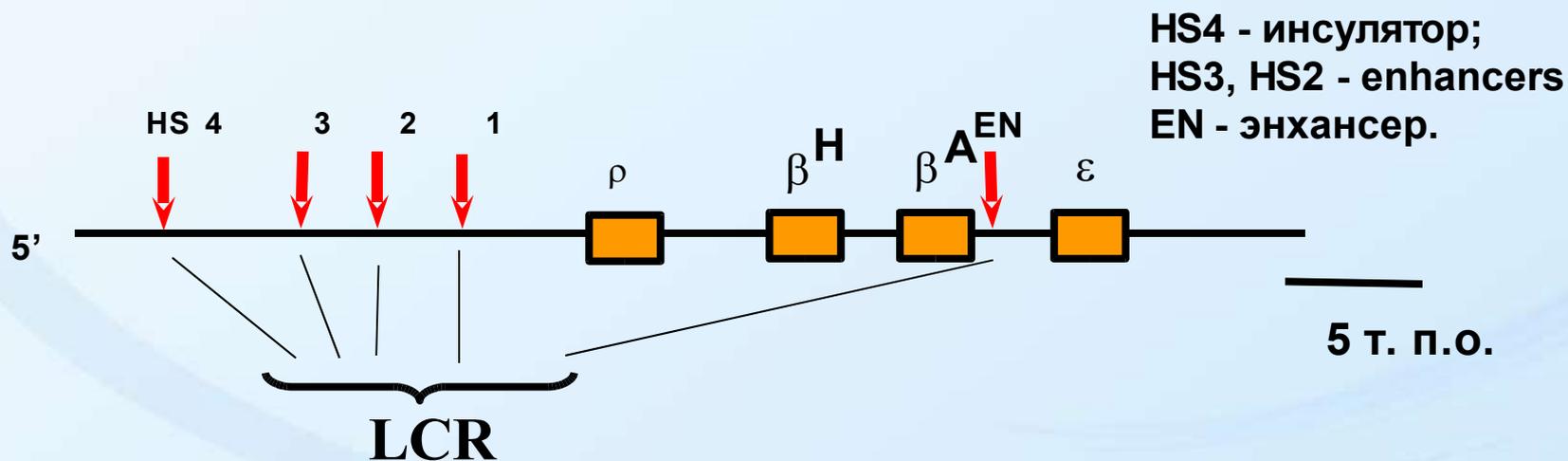
1. Один и тот же геномный локус в различных клетках и тканях многоклеточного организма может иметь различную нуклеосомную упаковку, определяемую в процессе дифференцировки клеток.
3. Разнообразие путей дифференцировки клеток задает большое разнообразие вариантов нуклеосомной упаковки ДНК.
5. В ходе функционирования клетки статус нуклеосомной упаковки отдельных локусов может меняться на основе механизмов ремоделинга хроматина.

# Локус-контролирующие районы (LCRs) контролируют ткане- и стадиеспецифичность экспрессии больших касет генов

## Кластер $\beta$ -глобиновых генов человека



## Кластер $\beta$ -глобиновых генов цыпленка



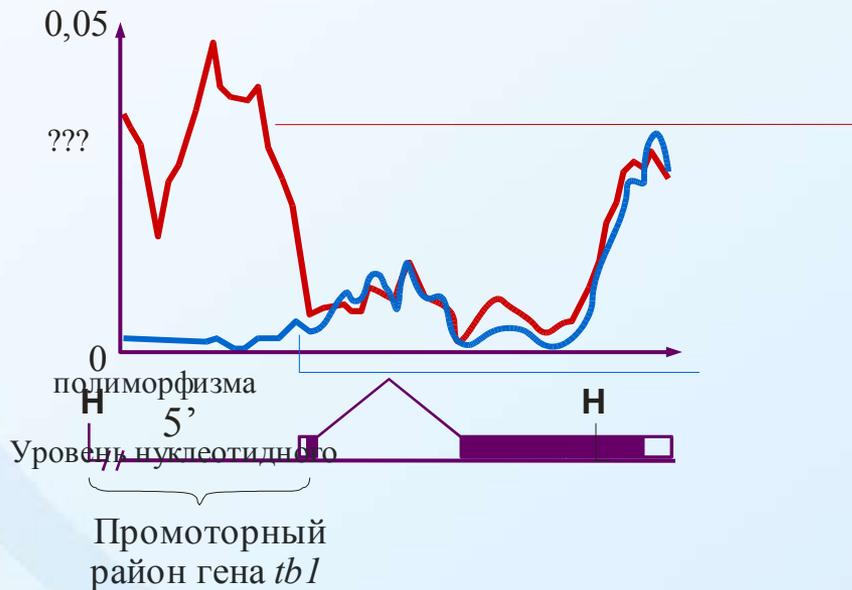
# ДВА ТИПА РЕГУЛЯТОРНЫХ МУТАЦИЙ, ВЛИЯЮЩИХ НА ТРАНСКРИПЦИЮ ГЕНОВ



# ЭВОЛЮЦИОННАЯ КОМБИНАТОРИКА РЕГУЛЯТОРНЫХ РАЙОНОВ ГЕНОВ КАК МЕХАНИЗМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ФЕНОТИПОВ С КАЧЕСТВЕННО НОВЫМИ СВОЙСТВАМИ

Кукуруза возникла из предковой формы – теосинта в результате селекции около 7 тысяч лет назад в Центральной Америке. Селекция привела к накоплению в промоторе гена *tb1* уникального комплекса полиморфизмов, присутствовавших в популяциях теосинтов и, как следствие этого – радикальному изменению свойств регуляторного района гена *tb1*, участвующего в формировании початка.

Початок



Rong-Lin Wang et al., Nature, v.398, p. 236-239



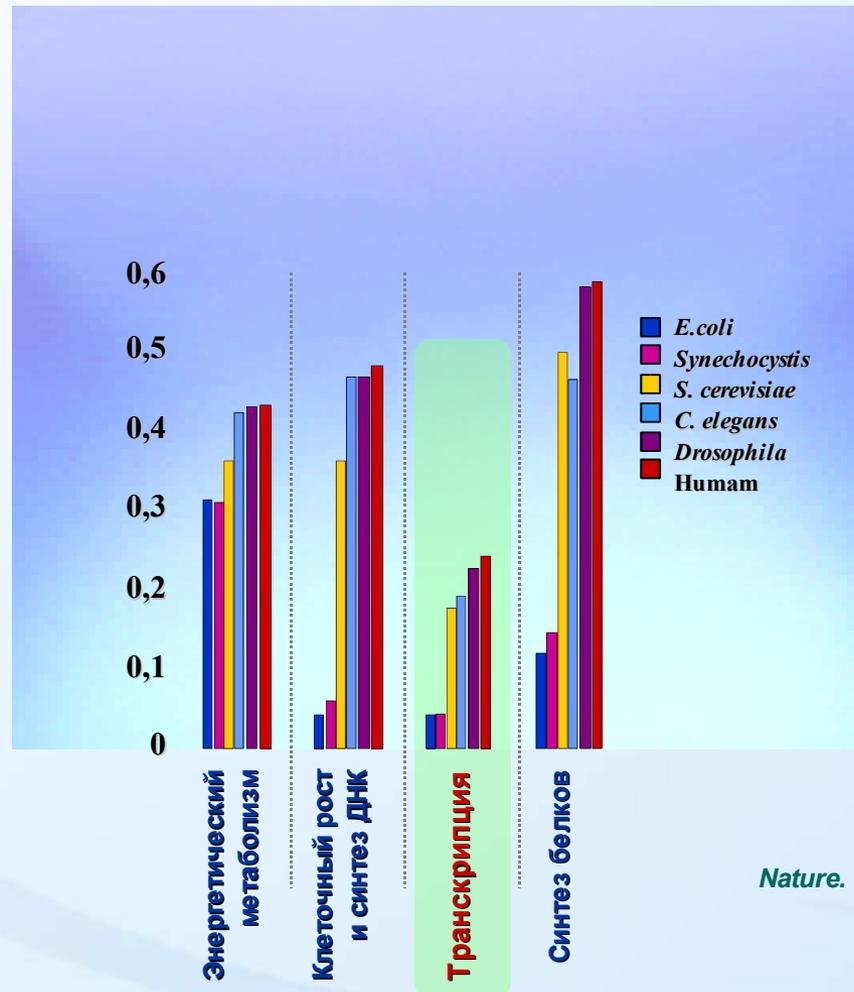
Теосинт

Гибрид  
теосинта и  
кукурузы

Кукуруза

J.Doebley <http://www.wisc.edu/teosinte/images.htm>

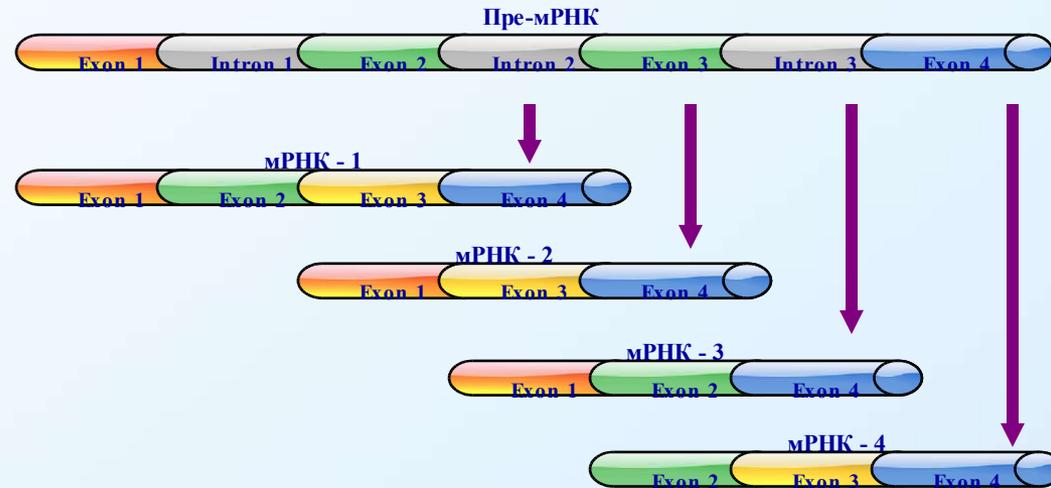
# Белки транскрипционной машины арабидопсиса обладают максимально высокой скоростью эволюции по сравнению с другими функциональными классами белков



Nature. 2000. 408 (6814): 796-815

# Комбинаторное кодирование разнообразия мРНК эукариот

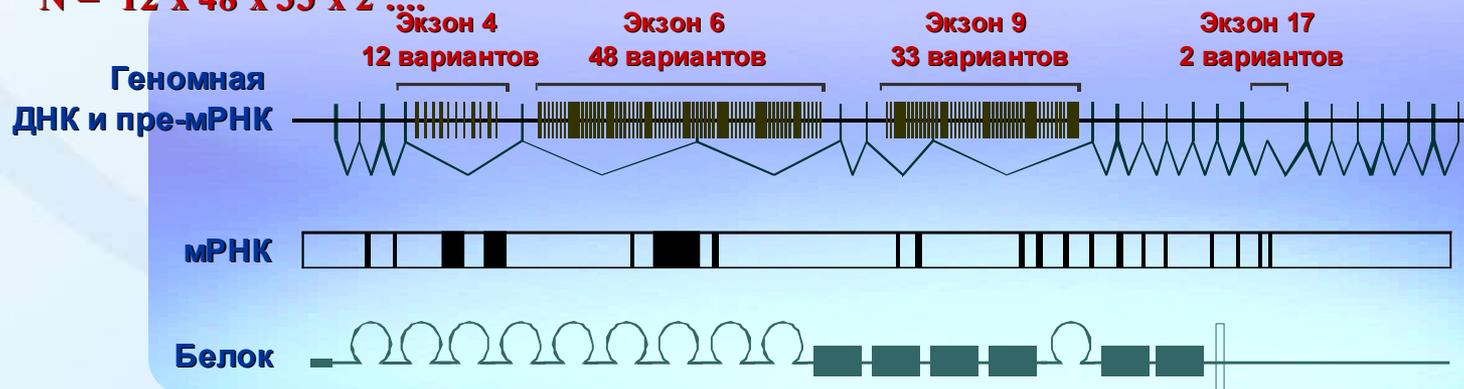
**Экзон-интронная структура и альтернативный сплайсинг обеспечивают огромную емкость кодирования генетической информации**



Cell. 2000. 103 (3):367-370

Альтернативный сплайсинг обеспечивает продукцию огромного количества (более 30 000) вариантов белка DSCAM, участвующего в формировании тонкой структуры нервной системы дрозофилы:

$N = 12 \times 48 \times 33 \times 2$



# Комбинаторное кодирование разнообразия белков:

## *трансляционный полиморфизм мРНК эукариот*



### 1. Различная локализация

#### Glutathione reductase

(S. cerevisiae; Outten & Culotta, 2004)

#### Protoporphyrinogen oxidase II

(Spinach; Watanabe et al., 2001)

### 2. Различные функции

#### Histone H4

(H. sapiens; Bab et al., 1999)

### 3. Различные свойства белка

#### Suppressor of cytokine signalling 3

(H. sapiens; Sasaki et al., 2003)

Форма 1

митохондрии

хлоропласты

гистон H4

нестабильная

Форма 2

цитоплазма

митохондрии

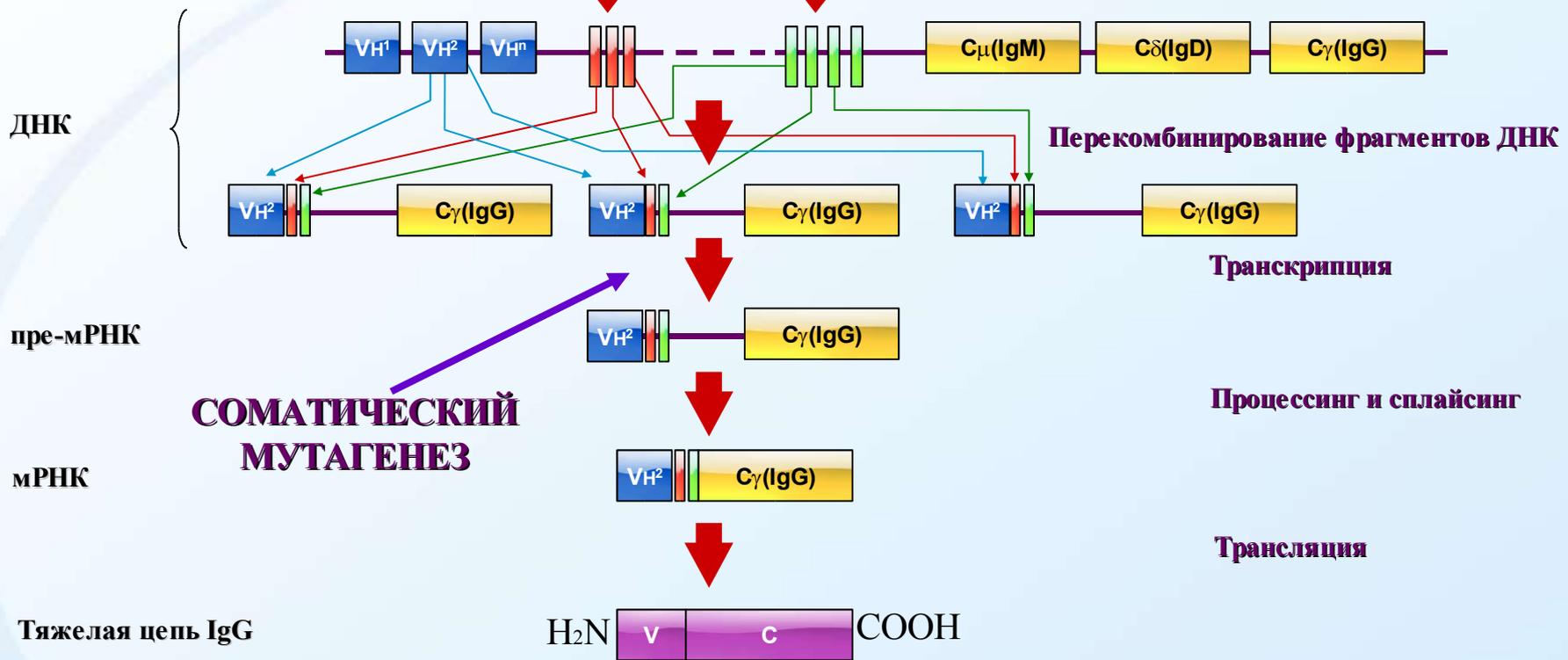
фактор роста

стабильная

# КОМБИНАТОРНОЕ КОДИРОВАНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ

## БЕЛКОВ:

### ТЯЖЕЛЫЕ ЦЕПИ ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА



1. Случайное объединение  $V$ ,  $D$ , и  $J$  сегментов обеспечивает минимум  $7.65 \times 10^3$  молекул тяжелых цепей.
2. За счет комбинаторики с легкими цепями разнообразие молекул антител достигает  $2.5 \times 10^7$ .
3. Кодирование такого количества белков без использования комбинаторики потребовало бы увеличения размеров генома до  $10^6 - 10^{11}$  п.н., то есть в 10 – 100 раз.
4. Соматический мутагенез иммуноглобулиновых генов еще на 3-4 порядка повышает указанное разнообразие молекул иммуноглобулинов.

# КОДИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛОЖНОСТИ

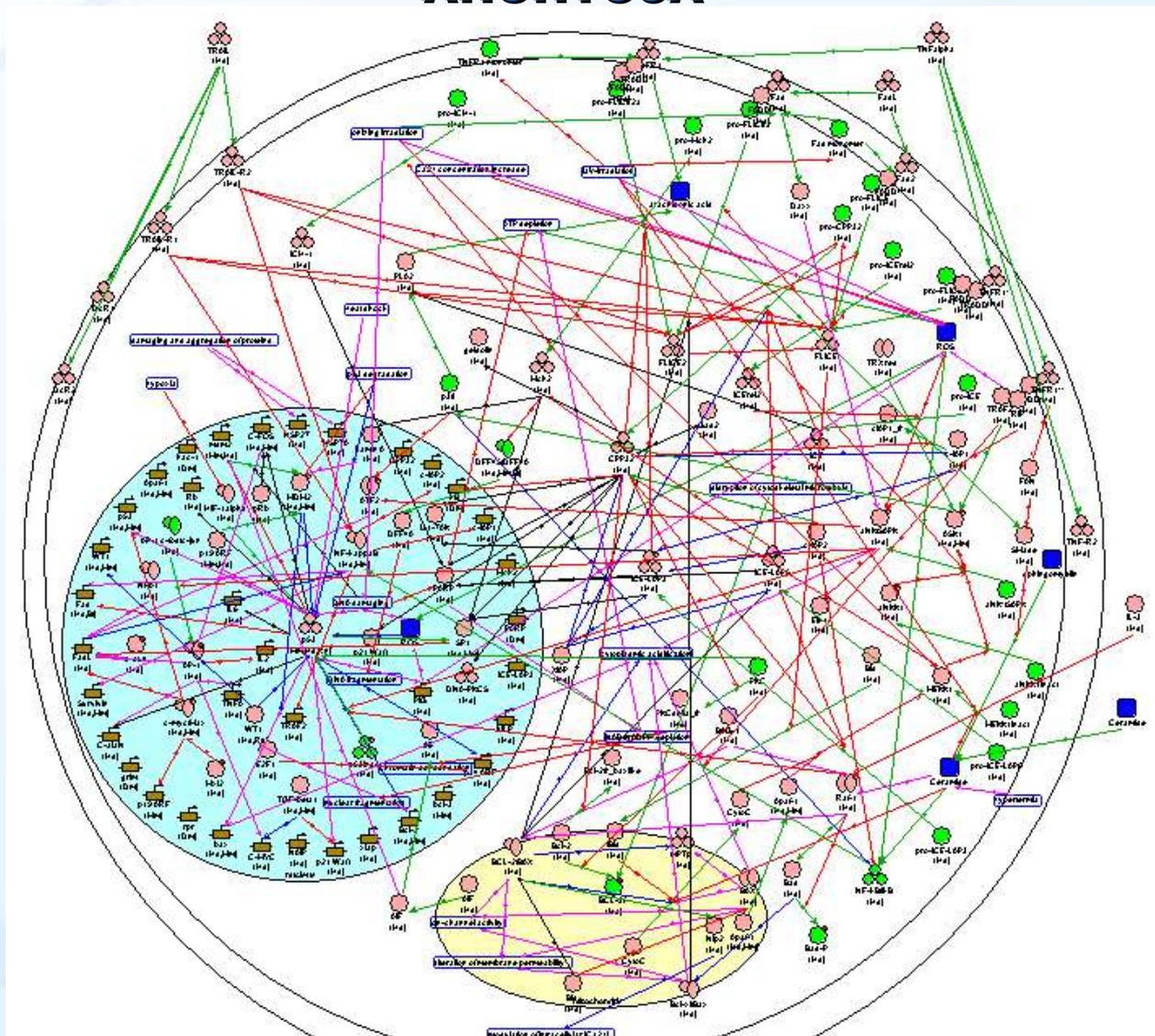
*Следуя Кауфману, сложность молекулярно-генетической системы можно определить как количество альтернативных режимов ее функционирования.*

# ***ГЕННАЯ СЕТЬ***

***группа координировано функционирующих генов, обеспечивающих формирование определенного фенотипического признака организма***

***(молекулярного, биохимического, физиологического, морфологического, поведенческого и т.д.)***

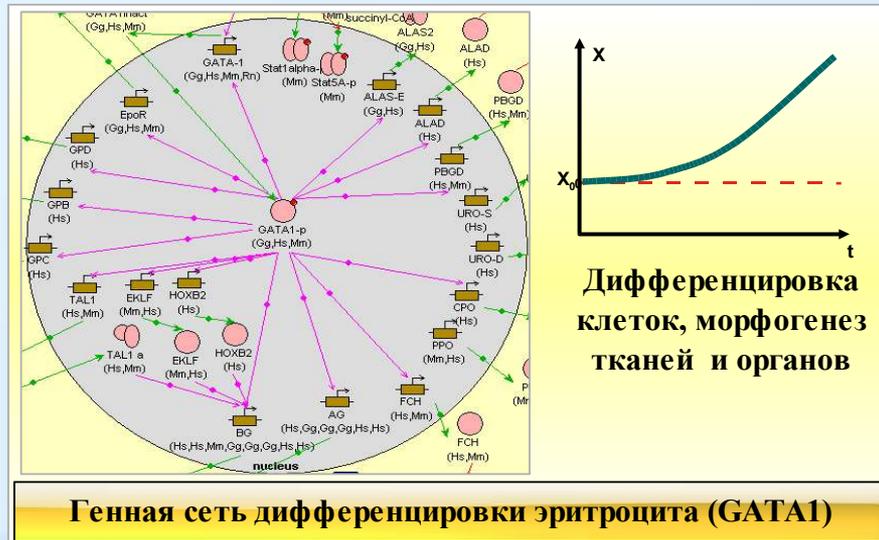
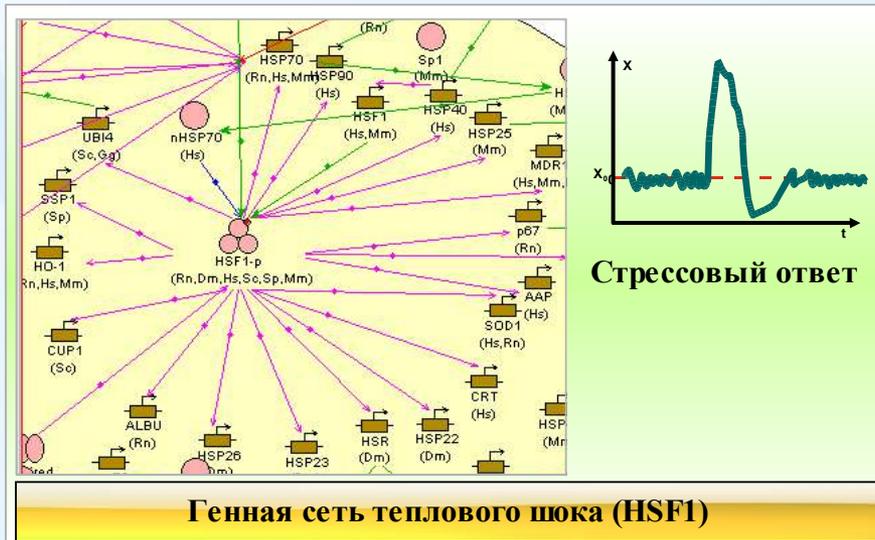
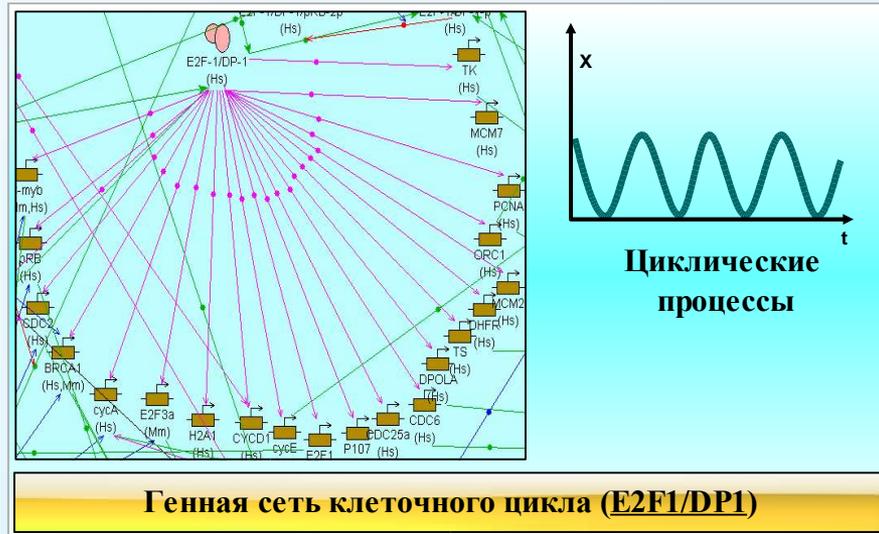
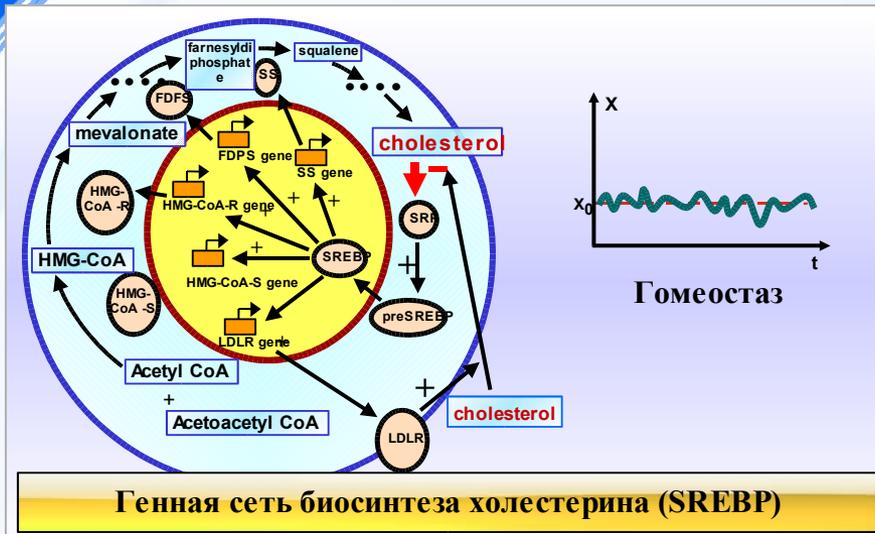
# БАЗА ДАННЫХ GENE2NET: ФРАГМЕНТ ГЕННОЙ СЕТИ, КОНТРОЛИРУЮЩЕЙ ПРОЦЕСС КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ - АПОПТОЗА





# ГЕННЫЕ СЕТИ. Транскрипционные факторы - центральные регуляторы генных сетей активируют большие каскеты генов

<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenet/>



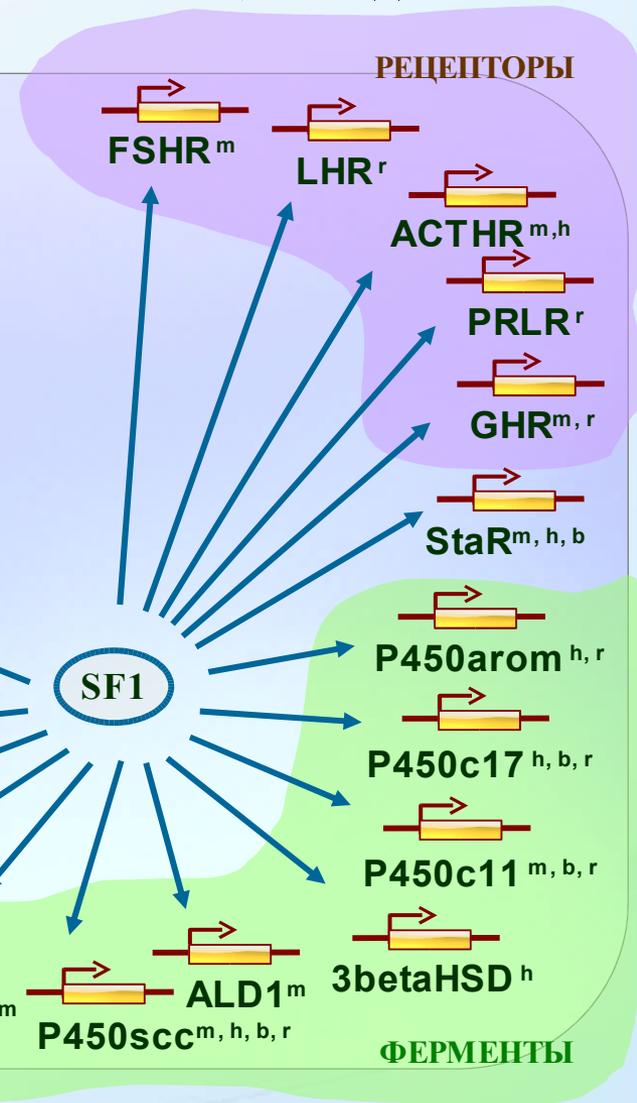
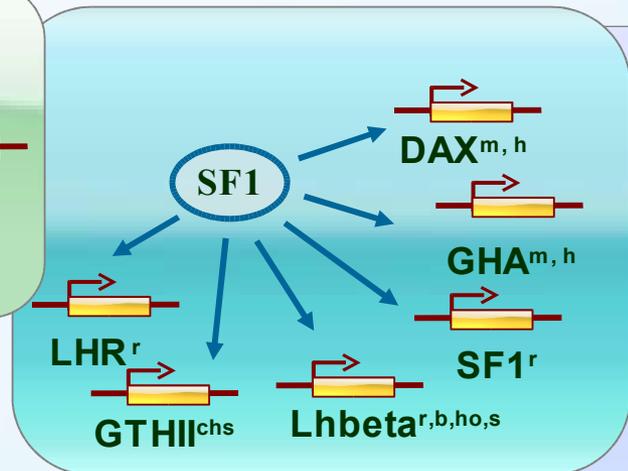
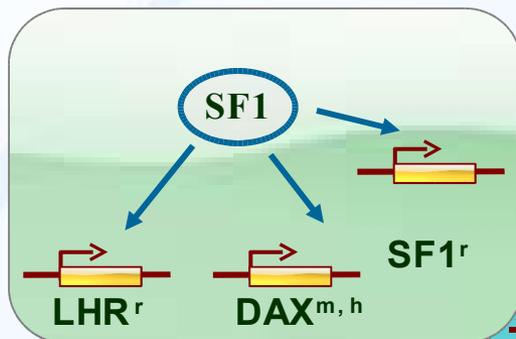


# Транскрипционный фактор SF1 - центральный регулятор генных сетей стероидогенеза

гипоталамус

гипофиз

надпочечники, гонады

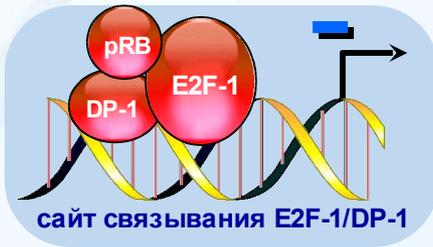




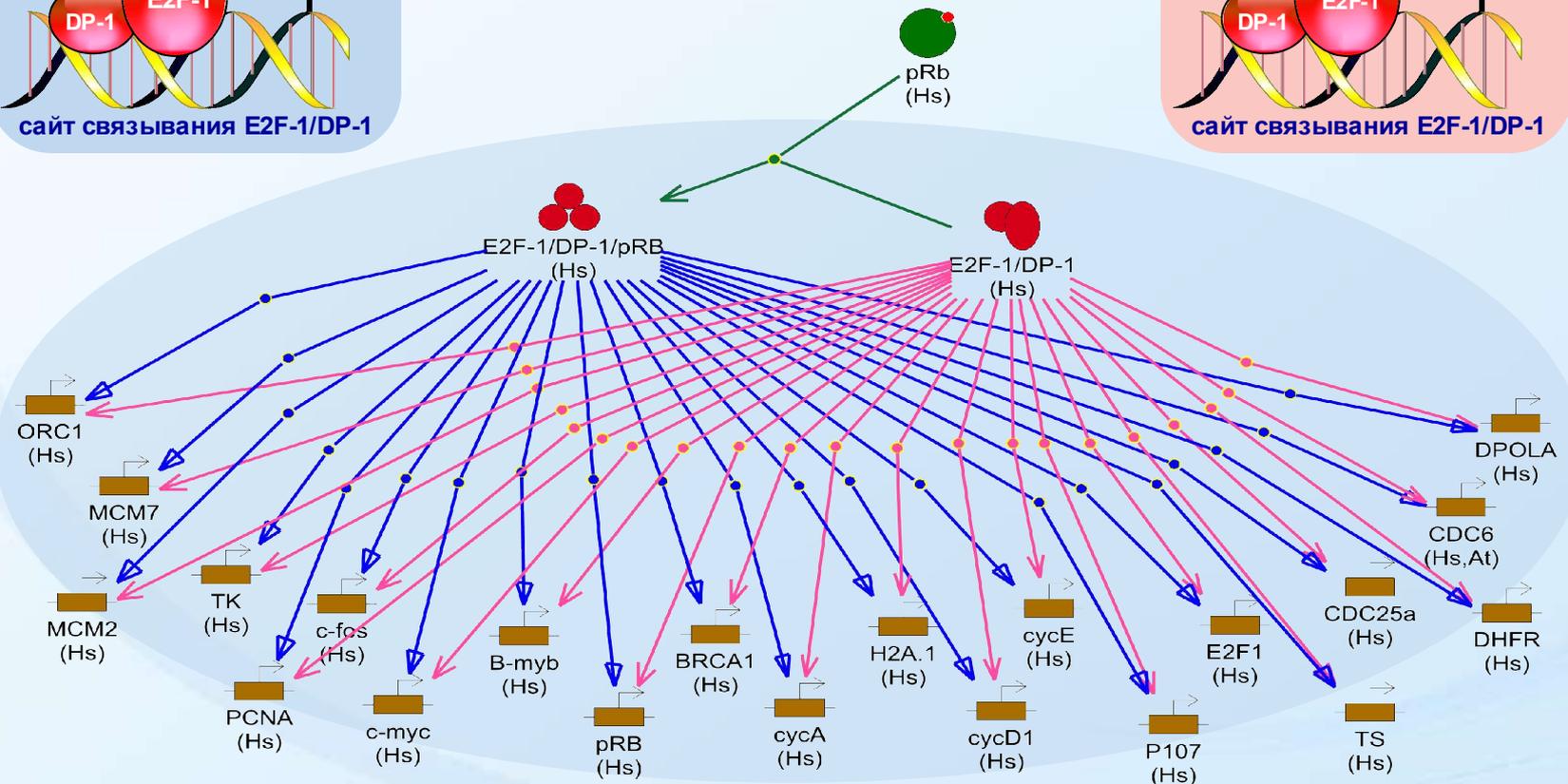
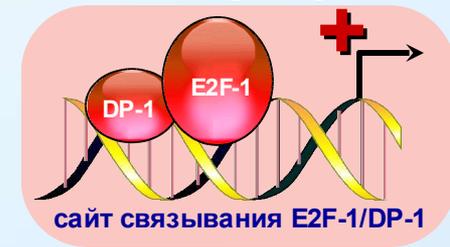
# Генная сеть машины клеточного цикла эукариотической клетки (реконструкция на основе базы данных GeneNet)

В зависимости от функционального состояния организма одна и та же генная сеть обеспечивает комбинаторную активацию различных каскадов генов под действием комбинаторно формирующихся факторов.  
Альтернативная репрессия и активация больших групп генов с участием транскрипционного фактора E2F-1

## Подавление транскрипции



## Усиление транскрипции





## ***СИСТЕМНЫЕ МУТАЦИИ С МНОЖЕСТВЕННЫМ ФЕНОТИПИЧЕСКИМ ПРОЯВЛЕНИЕМ***



**Мутационное изменение функции центрального регулятора генной сети может приводить к координированному изменению функций множества генов одновременно и, как следствие, изменению множества определяемых ими фенотипических признаков.**





**САМООРГАНИЗОВАННАЯ СВЕРХКРИТИЧНОСТЬ: СИСТЕМА ВОЗБУЖДАЕТСЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СВЕРХСЛАБОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**



## ***Мутации с гиперманифестацией количественного признака***

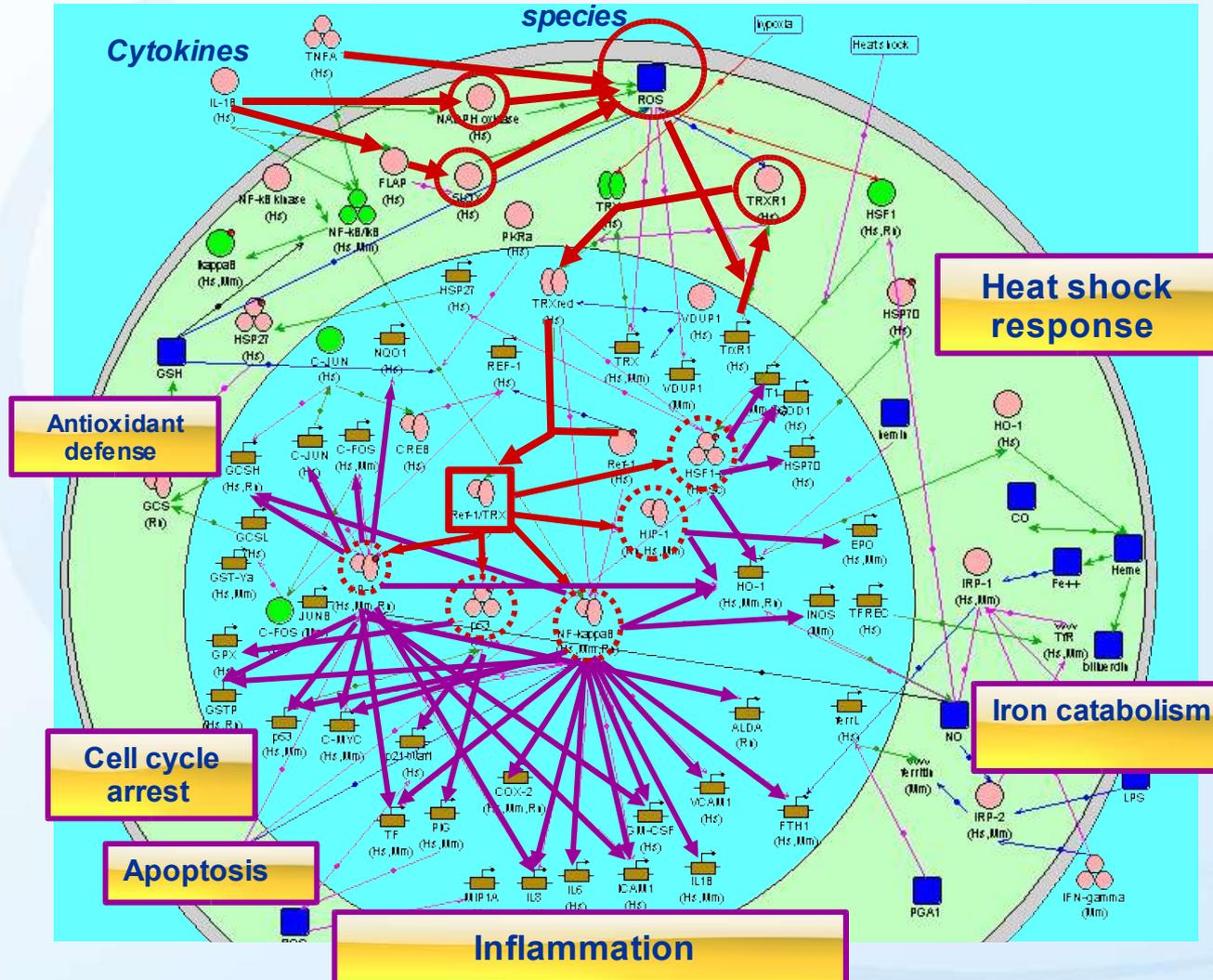
**Незначительные изменения в функции контуров с положительными обратными связями могут приводить к выраженному количественному изменению фенотипа организма.**

# Генные сети – интеграторы:

**генная сеть регуляции уровня свободных радикалов и активация связанных с ней генных сетей в ходе противовоспалительного ответа организма**

<http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenet/>

Reactive oxygen species



В зависимости от функционального состояния организма одна и та же генная сеть обеспечивает комбинаторную активацию различных каскадов генных сетей.

## МАКРОСИСТЕМНЫЕ МУТАЦИИ:

Мутационное изменение функции генной сети – интегратора может приводить к одновременному изменению функций множества связанных с ней генных сетей и, как следствие, координированному изменению определяемых ими фенотипических признаков.



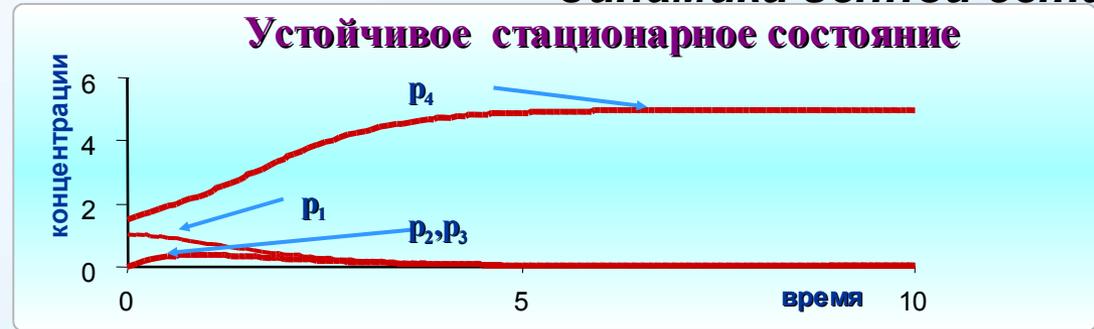
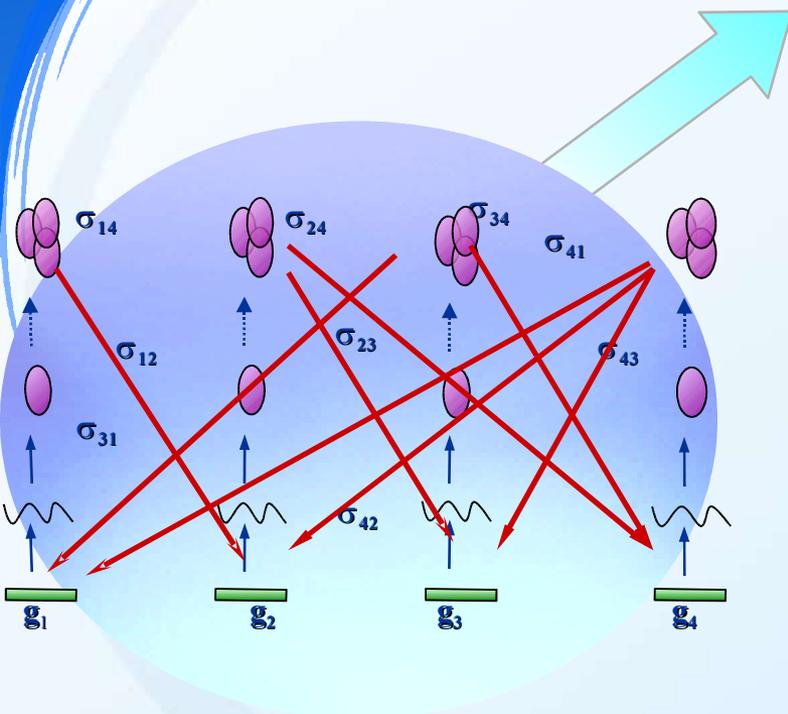
## **МАКРОСИСТЕМНЫЕ МУТАЦИИ**



**Мутационное изменение функции генной сети – интегратора может приводить к одновременному изменению функций множества связанных с ней генных сетей и, как следствие, координированного изменения определяемых ими фенотипических признаков.**



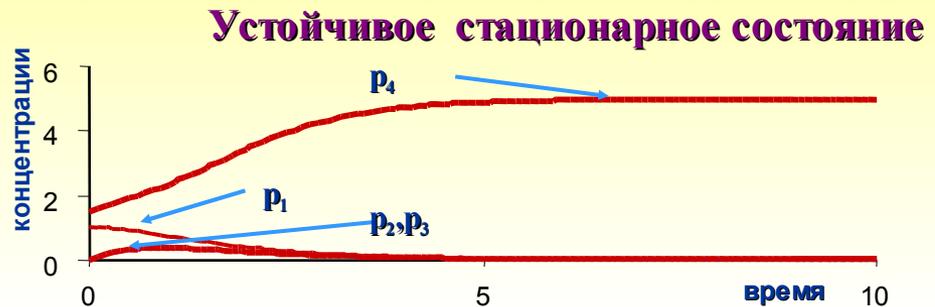
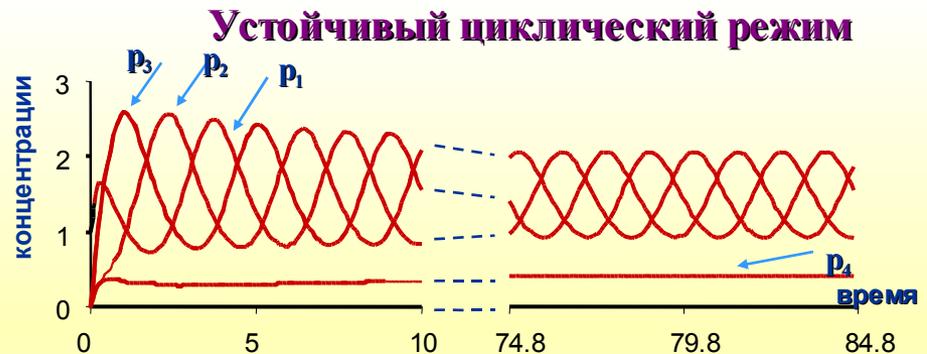
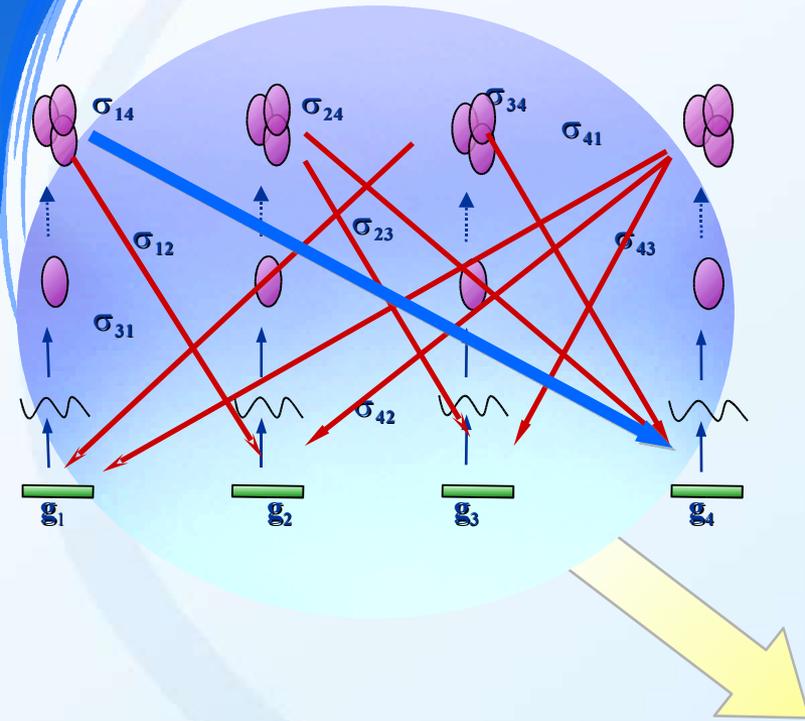
**Появление новой регуляторной связи (в результате мутации или изменения функционального состояния генов) может приводить к качественному усложнению динамики генной сети**





# Появление новой регуляторной связи может приводить к качественному усложнению динамики генной сети

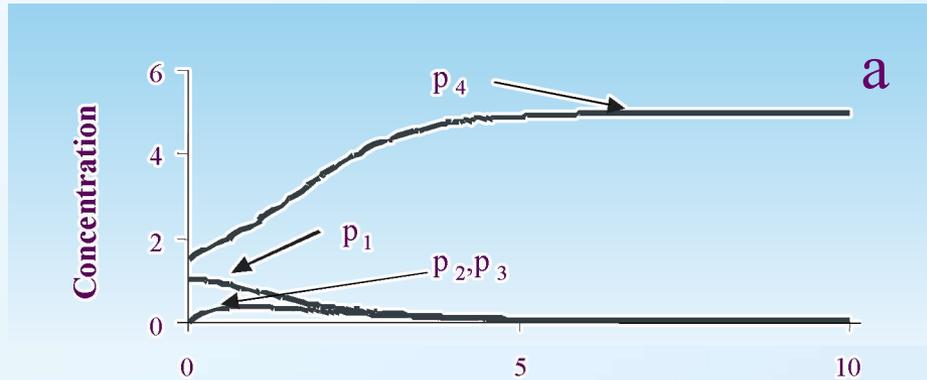
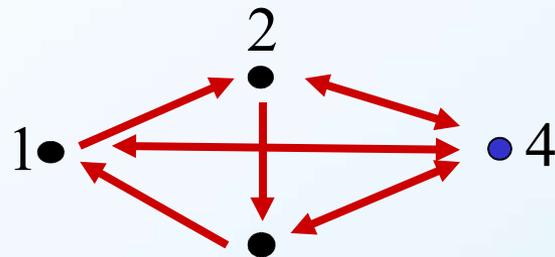
Мол. Биология. 2001. 35 (6). 1080-1087



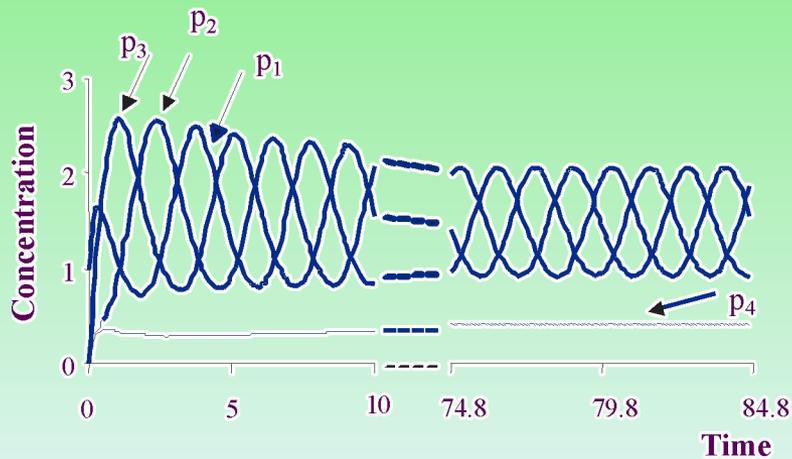


# КАЧЕСТВЕННЫЙ ХАРАКТЕР ДИНАМИКИ ГЕННОЙ СЕТИ МОЖЕТ ЗАВИСИТЬ ОТ НАЧАЛЬНЫХ ДАННЫХ ЕЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ

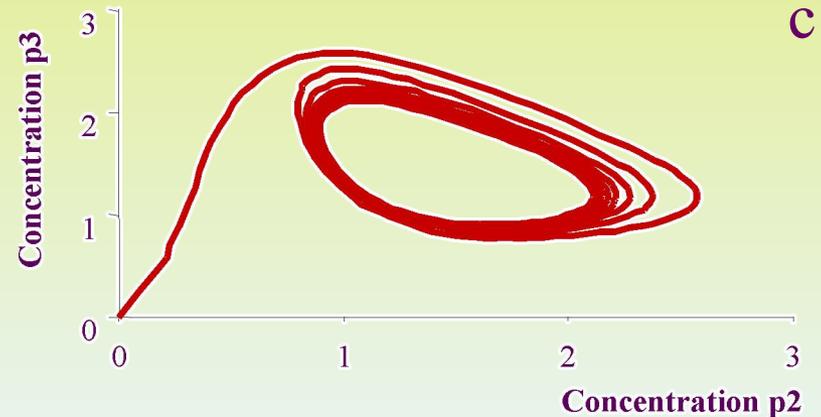
Структурный граф генной сети



При начальных данных  $p_1=1, p_2=p_3=0, p_4=1.5$  система выходит на стационарное состояние

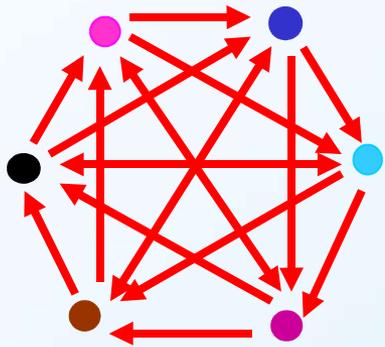


При начальных данных  $p_1=1, p_2=p_3=p_4=0$  система выходит на устойчивый предельный цикл

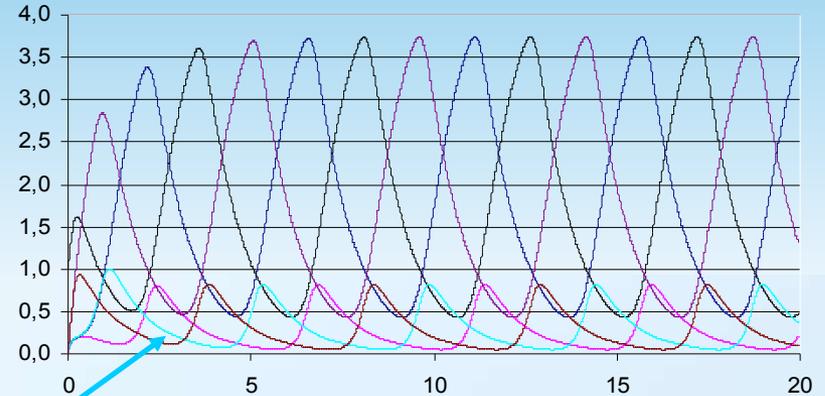


**ПРИМЕР ГЕННОЙ СЕТИ ИЗ ШЕСТИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ,  
ИМЕЮЩЕЙ ДВА УСТОЙЧИВЫХ ПРЕДЕЛЬНЫХ ЦИКЛА  
(ВЫБОР РЕЖИМА ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ НАЧАЛЬНЫМ СОСТОЯНИЕМ)**

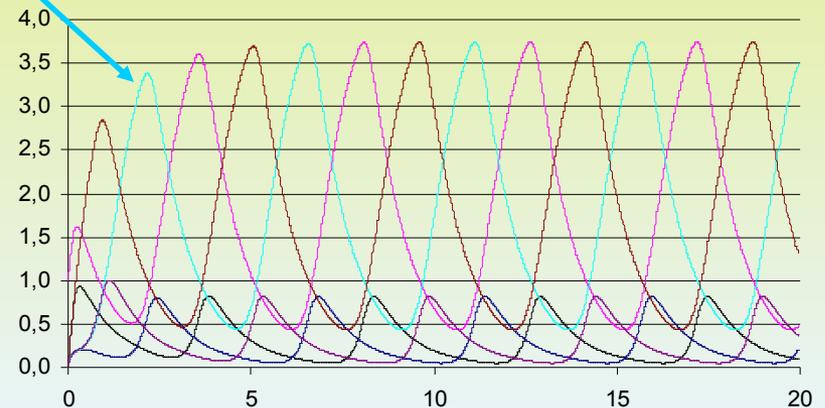
**Структурный граф генной сети**



**Первый предельный цикл**



**Второй предельный цикл**



**Математическая модель**

$$dp_1/dt = \alpha / (1 + p_4^\gamma + p_5^\gamma + p_6^\gamma) - p_1$$

$$dp_2/dt = \alpha / (1 + p_1^\gamma + p_5^\gamma + p_6^\gamma) - p_2$$

$$dp_3/dt = \alpha / (1 + p_2^\gamma + p_1^\gamma + p_6^\gamma) - p_3$$

$$dp_4/dt = \alpha / (1 + p_3^\gamma + p_2^\gamma + p_1^\gamma) - p_4$$

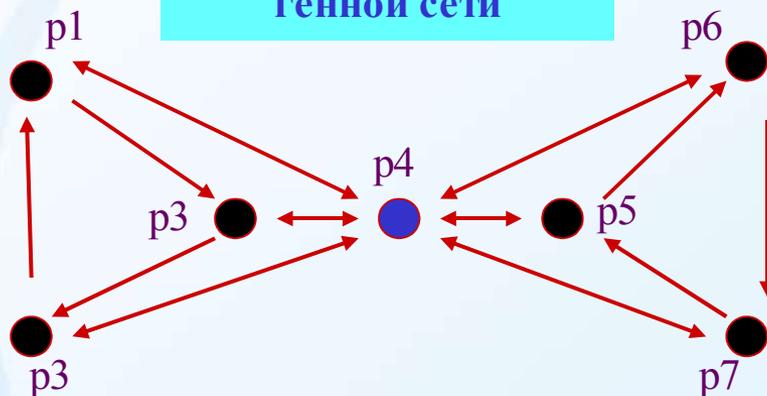
$$dp_5/dt = \alpha / (1 + p_4^\gamma + p_3^\gamma + p_2^\gamma) - p_5$$

$$dp_6/dt = \alpha / (1 + p_5^\gamma + p_4^\gamma + p_3^\gamma) - p_6$$

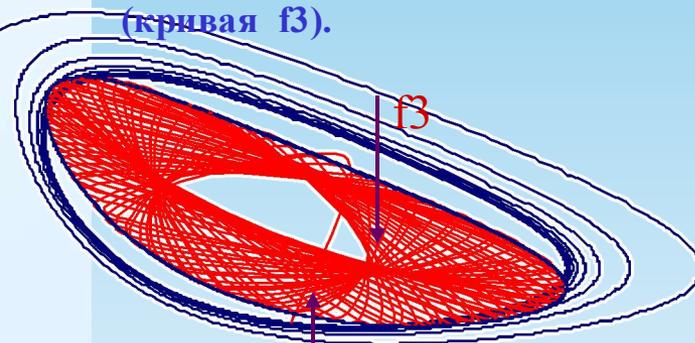


**ПРИМЕР ГЕННОЙ СЕТИ СОСТОЯЩЕЙ ИЗ СЕМИ  
ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ, КОТОРАЯ ИМЕЕТ ТРИ  
СТАБИЛЬНЫХ ЦИКЛА, ОДНО УСТОЙЧИВОЕ  
СТАЦИОНАРНОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЯТЬ НЕУСТОЙЧИВЫХ  
ЦИКЛОВ**

**Структурный граф  
генной сети**



После стимула А генная сеть притягивается к новому глобальному стабильному циклу (кривая f3).



В начальный момент генная сеть (кривая f1) стартует в гиперпространстве  $p1=p5, p2=p6, p3=p7$  и притягивается к устойчивому предельному циклу.

В точке А на генную сеть оказывается внешнее воздействие.



*Разнообразие графов гипотетических генных сетей стремительно растет при увеличении количества генетических элементов*

**Количество генетических элементов в генной сети**

**Количество различных графов**

5

9 390

6

1 531 336

7

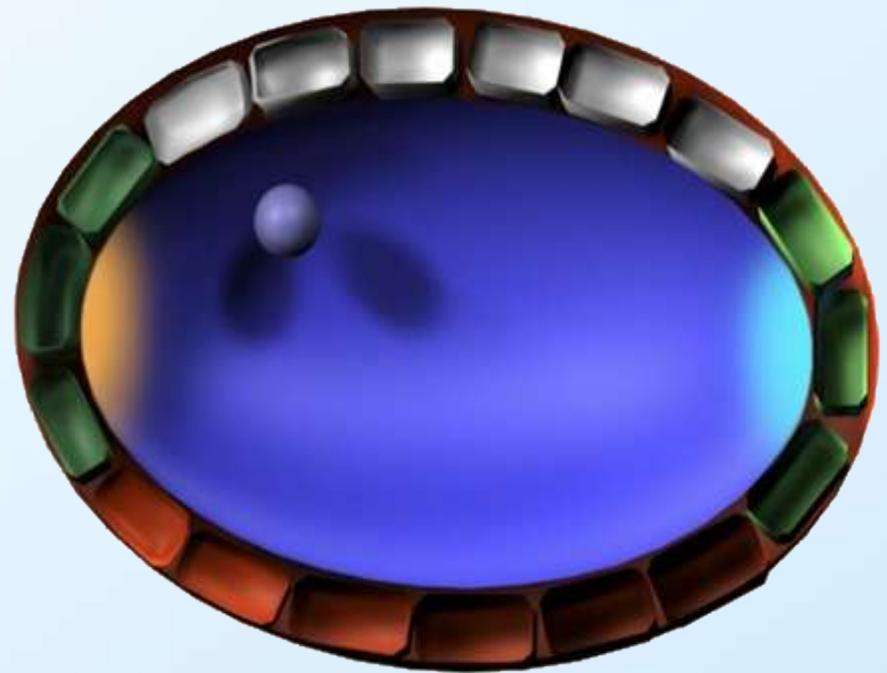
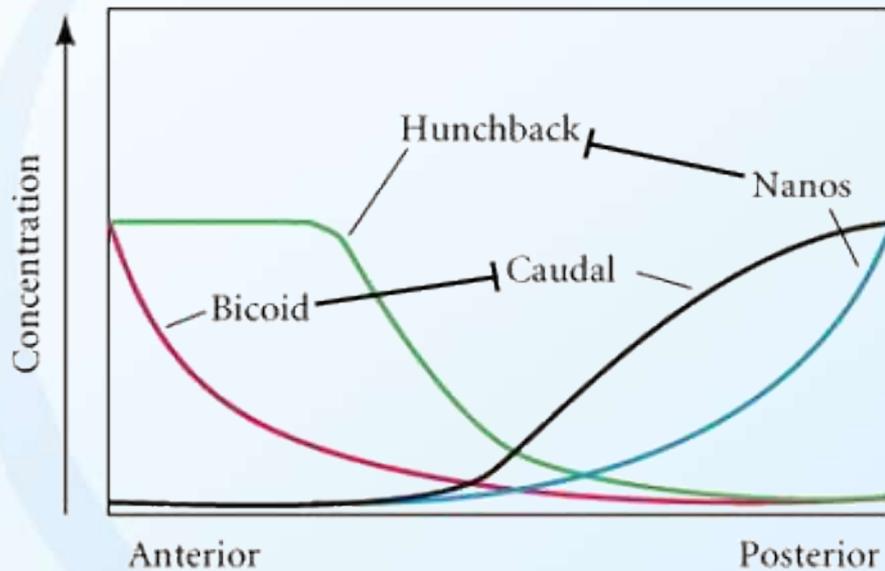
880 492 496

8

1 792 477 159 408



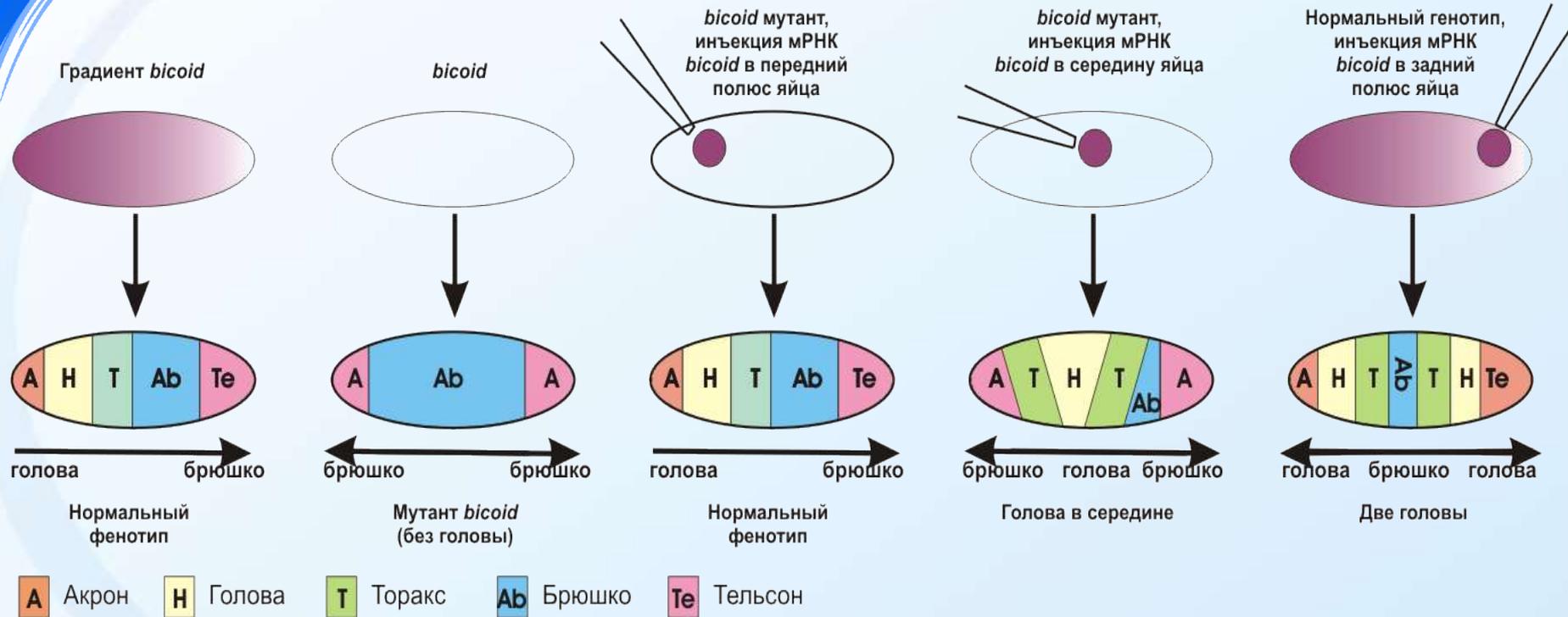
# Градиенты морфогенов в ооците *D. melanogaster*



Weigmann, K., Klapper, R., Strasser, T., Rickert, C., Technau, G. M., Jäckle, H., Janning, W. and Klämbt, C. (2003). FlyMove – a new way to look at development of *Drosophila*. *Trends in Genetics* 19, 310-311.



## Влияние начальных условий (градиента концентрации морфогена) на функционирование глобальной генной сети развития организма (*D. melanogaster*)



Схематическое изображение классических экспериментов (Driever W. et al. *Development* 1990 109(4):811-820), демонстрирующих, что ген *bicoid* кодирует морфоген, ответственный за формирование структур головы у дрозофилы.

При введении *bicoid*-дефицитному эмбриону мРНК *bicoid*, вокруг точки введения формируются структуры головы.

Головные структуры формируются также на обоих концах эмбриона дикого типа, если производится инъекция мРНК *bicoid* в задний полюс яйца на ранних стадиях эмбриогенеза.

# Метаболическая эпигенетика: пищевое программирование ожирения у крыс

(Srinivasan M. et al., Exp.Biol.Med. 2003, 228, 15-23)

Крысы, которых вскармливали искусственно на высокоуглеводной диете



Искусственное вскармливание (56% углеводов)

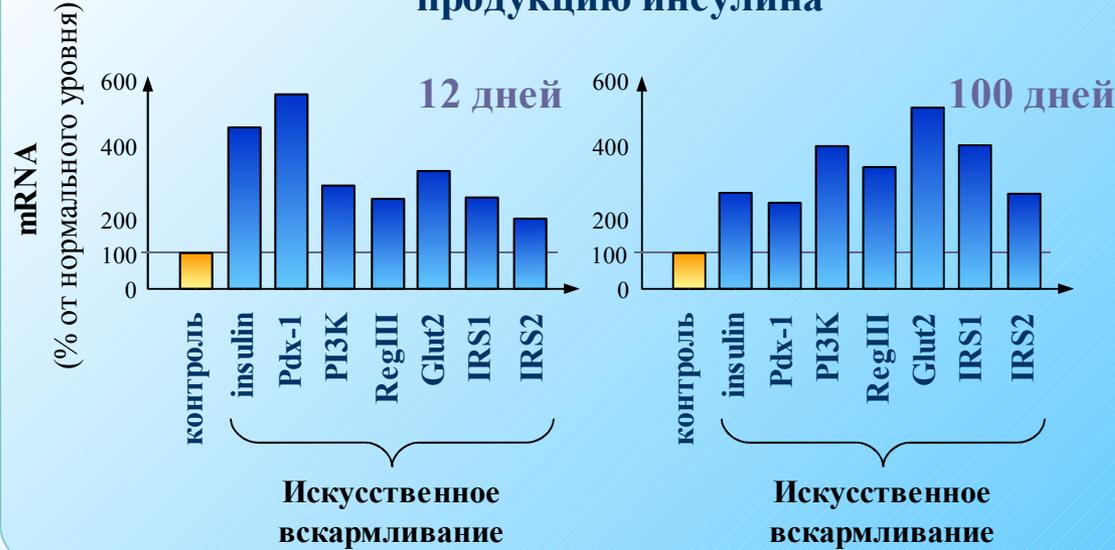
Ускоренный рост

Ожирение

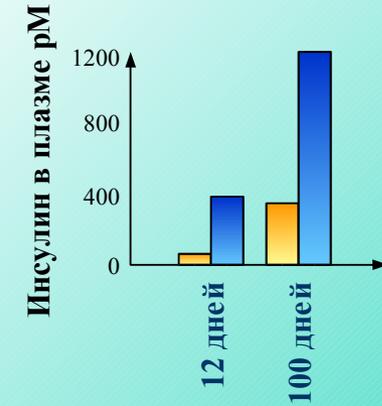
0 4 12 24 55 75 100 Возраст (дни)



Гиперэкспрессия генов, контролирующих продукцию инсулина



Гиперинсулинемия



Потомство крыс, которых вскармливали искусственно на высокоуглеводной диете

Ожирение

Гиперинсулинемия

Гиперинсулинемия у матери

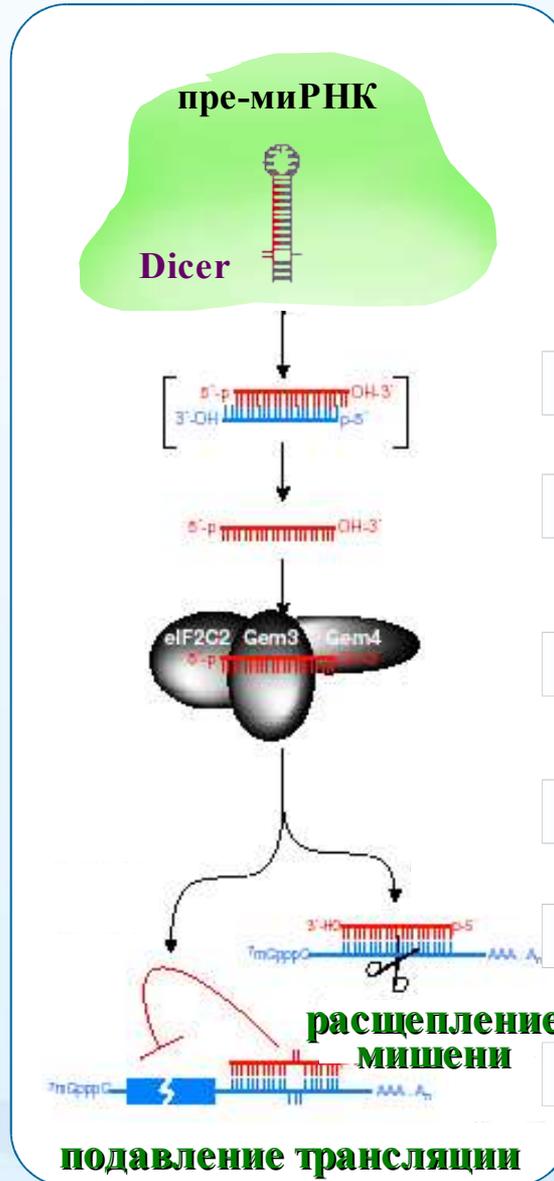


100 65 45 0 Возраст (дни)





# СЕТИ РНК-РНК ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ: СОЗРЕВАНИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИКРО- РНК



малый РНК-дуплекс

миРНК или интерфРНК

миРНК/RISC

миРНК

полная комплементарность

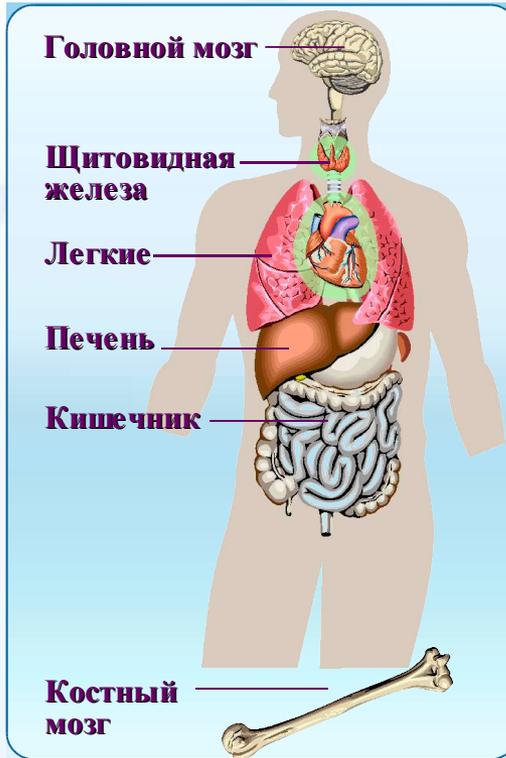
частичная комплементарность

Предварительные оценки.  
В геномах млекопитающих имеется до 200 микроРНК. Каждая микроРНК может иметь до 100 генов-мишеней. В целом сеть микроРНК-взаимодействий может включать до 20 000 генов.



# Функции микро-РНК

[Calin G. et al., PNAS (2003)]



*H. sapiens* - эффекты миРНК  
регуляция гемопоэза;  
•регуляция развития мозга.

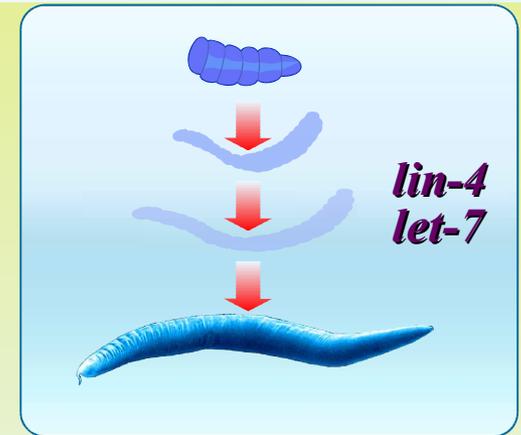
Список патологий,  
возникающих при нарушении  
функционирования миРНК:

- лейкемия;
- нейробластома;
- фолликулярная лимфома;
- пролимфоцитарная лейкемия;
- миелодиспластический синдром;
- рак: кожи; легких; носоглотки; шейки матки; молочной железы; толстого кишечника; эпителия мочевыводящих путей.



*D. melanogaster* [Chen C. et al., Science 303, 83 (2004)]:

- широкий спектр действия миРНК
- стимулирует пролиферации клеток (miR-bantam);
- предотвращает апоптоз (miR-14, miR-bantam);
- влияет на жировой метаболизм (miR-14).



*C. elegans*:

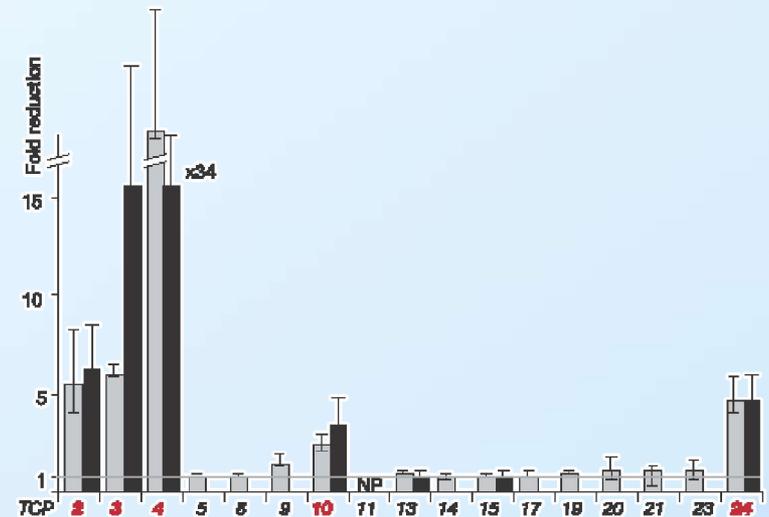
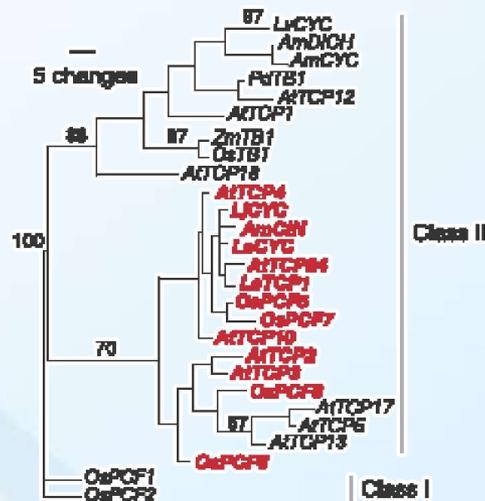
- миРНК контролируют переход между личиночными стадиями [Chen C. et al., Science 303, 83 (2004)];
- асимметричное расположение нейронов (Isy-6) [Miska E. et al., Genome biology (2004)].

# СЕТИ МИКРО-РНК-РЕГУЛЯЦИИ АРАБИДОПСИСА: продукт локуса *JAW* - микроРНК, управляющая расщеплением мРНК генов группы TCP, контролирующую развитие листьев.

(Nature. 2003 425(6955):257-263.)



Растения с измененным уровнем микроРНК **JAW** характеризуются плеiotропными аномалиями развития.



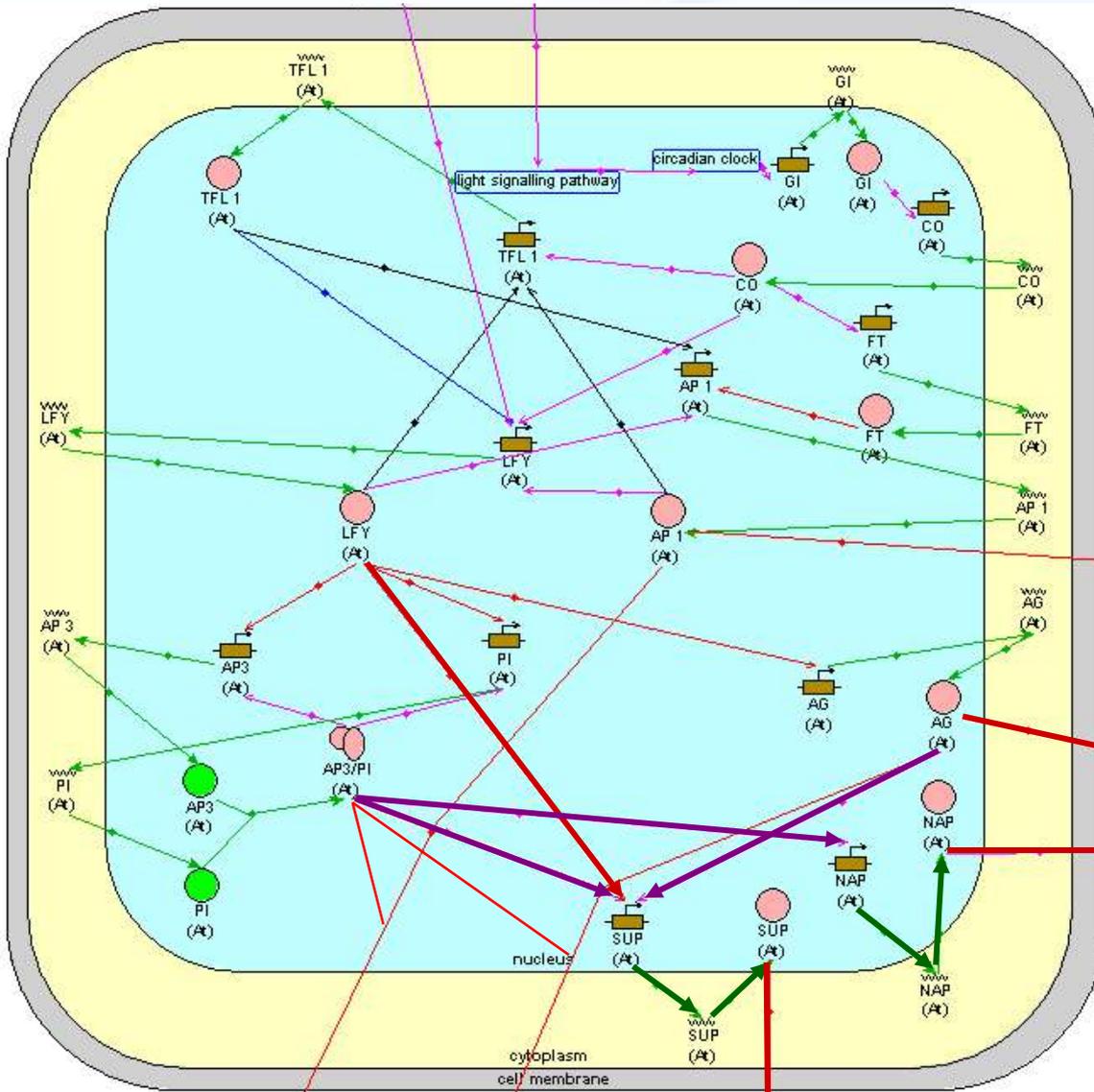
Гены TCP, содержащие последовательность связывающуюся с микроРНК, обнаружены у широкого спектра видов, что указывает на эволюционную консервативность контроля морфогенеза листа, опосредованную микроРНК

Повышение уровня микроРНК *JAW* в цитоплазме приводит к подавлению транскрипции 5-и генов семейства TCP арабидопсиса, сопровождающемуся выраженными фенотипическими изменениями.

Гиббереллины    Увеличение длины дня

# ФРАГМЕНТ ГЕННОЙ СЕТИ

## “РАЗВИТИЕ ЦВЕТКА” (*Arabidopsis thaliana*)



Чашелистики

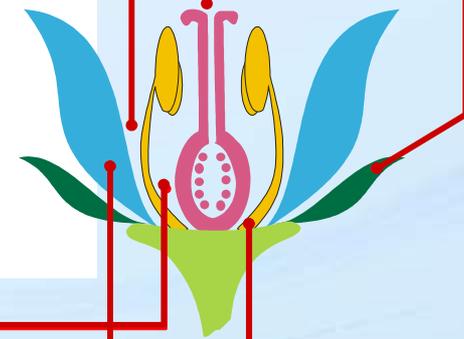
Пестик

Развитие  
лепестков  
и тычинок

Лепестки

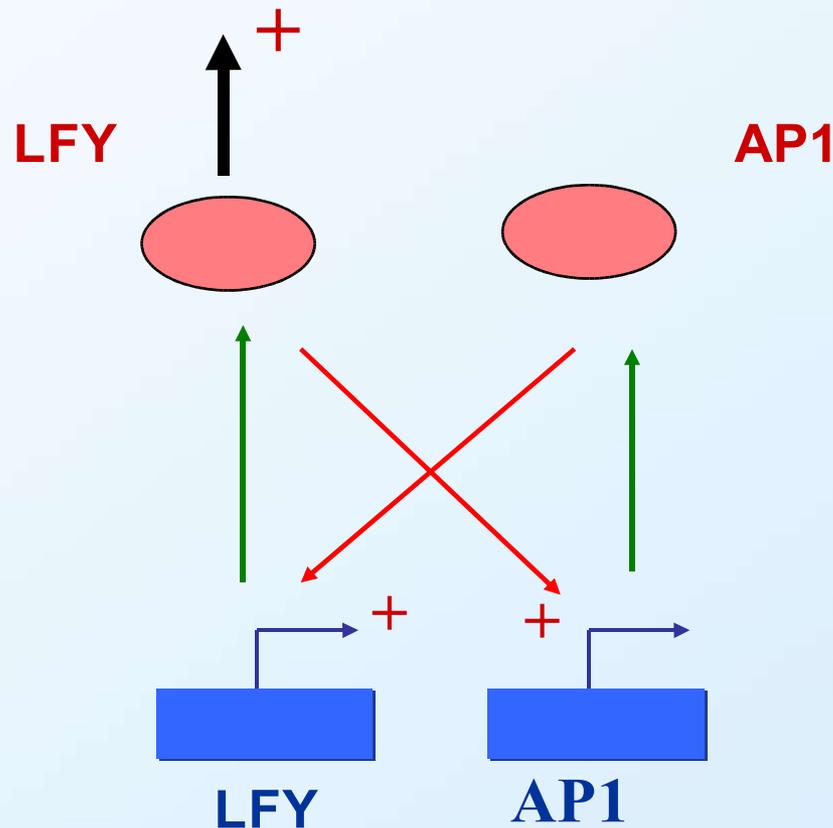
Тычинки

Граница между  
тычинками и пестиком



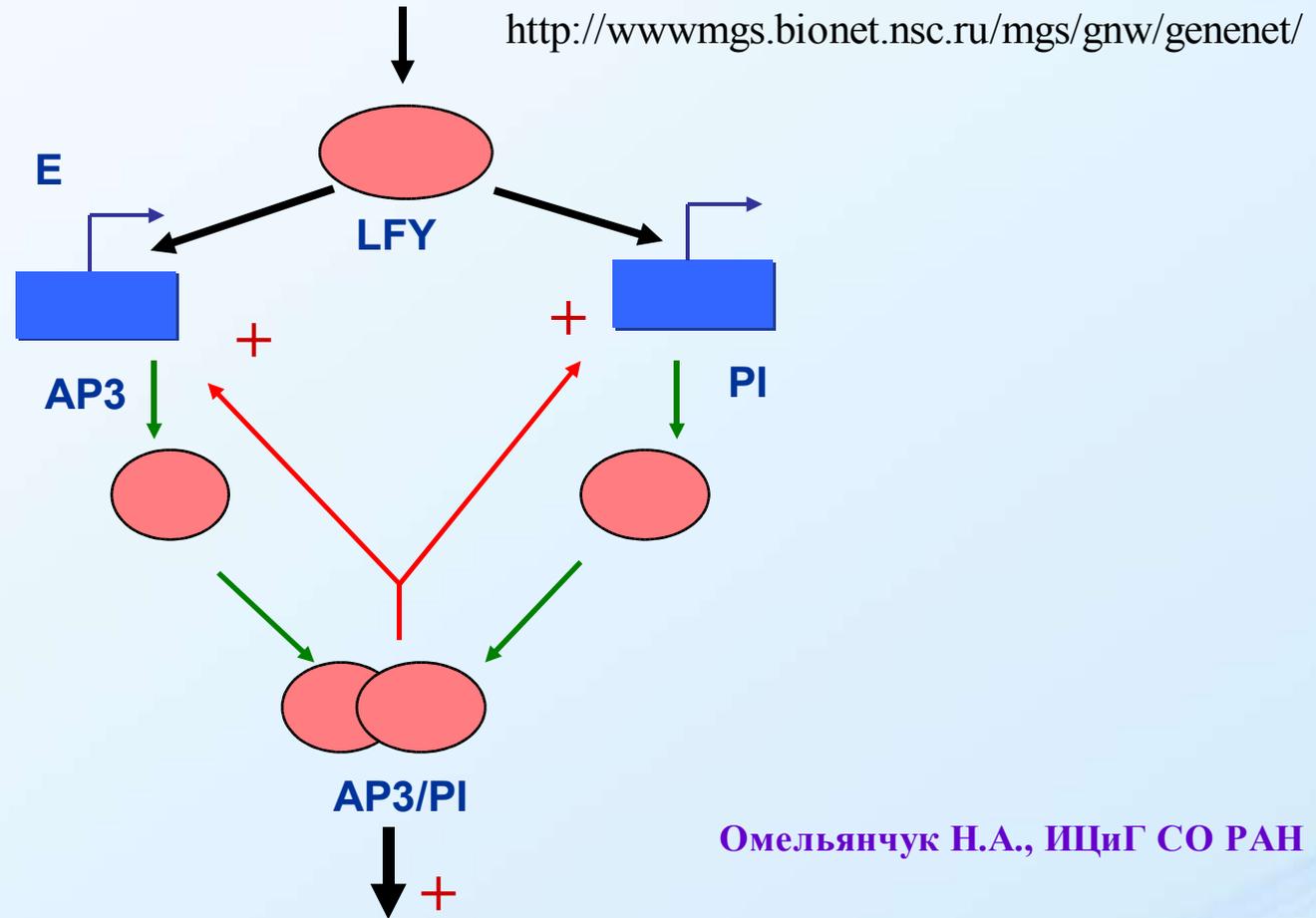


**Генная сеть развития цветка: взаимное усиление транскрипции генов по механизму положительной обратной связи.**



**Мутации с гиперманифестацией количественных признаков:**  
незначительные изменения функции контуров с положительными обратными связями могут приводить к выраженным количественным изменениям фенотипа организмов

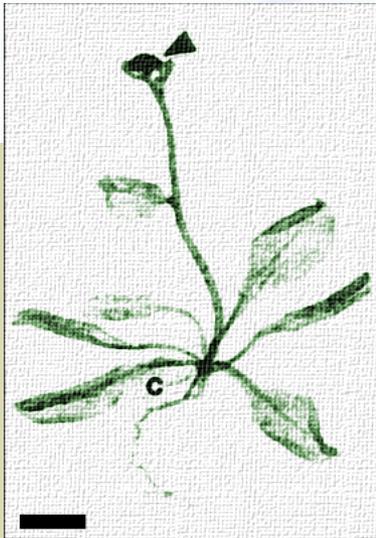
**Генная сеть развития цветка (*Arabidopsis thaliana*):  
взаимное усиление транскрипции генов по механизму  
положительной обратной связи (через формирование  
гетеродимера).**



**Мутации с гиперманифестацией количественных признаков:  
незначительные изменения функции контуров с положительными обратными связями  
могут приводить к выраженным количественным изменениям фенотипа организмов**

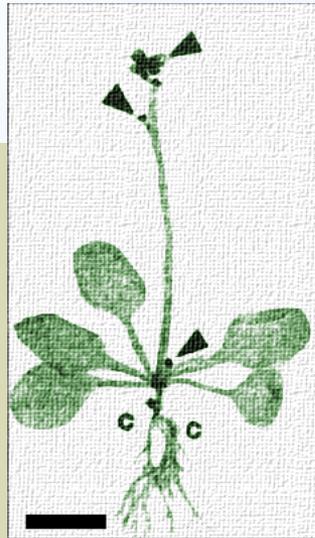


# ВЛИЯНИЕ ТРАНСГЕННЫХ MADS-БЕЛКОВ НА МОРФОЛОГИЮ ЦВЕТКА *Arabidopsis thaliana*



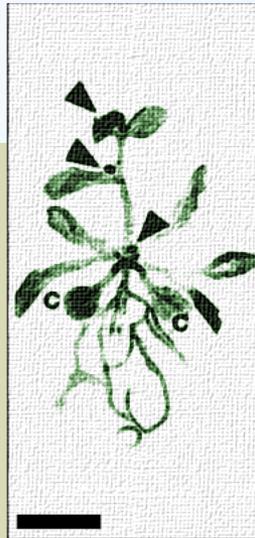
**SEP3**

Карлик, с ранним цветением, извитыми листьями и терминальным цветком



**PI, AP3**

Цветок из двух рядов лепестков и тычинок (чашелистики замещаются лепестками и пестик тычинками)



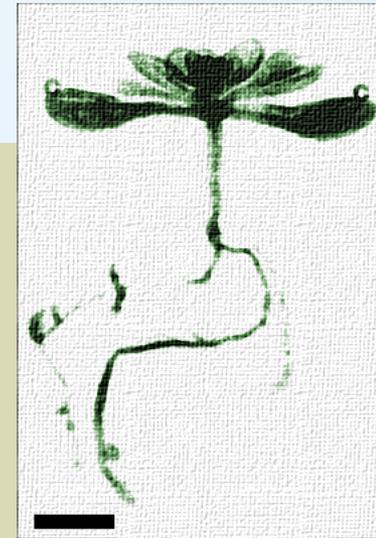
**PI, AP3, SEP3**

Первые истинные листья превращены в лепестки



**PI, AP3, AP1**

Стеблевые листочки превращены в лепестки



**PI, AP3, SEP3, SAG**

Стеблевые листочки превращены в подобие тычинок, все органы цветка в тычинки или т.п.структуры

# ТРАНСГЕНЕЗ ЦИТРУСОВЫХ ГЕНОМ AP1 *Arabidopsis thaliana*



## Форма листа

Дикий тип,  
плодоносящее  
растение

Дикий тип –  
ювенильное растение  
первого года жизни

Трансгенное  
растение первого  
года жизни

Цветущие трансгенные растения  
(справа) и для сравнения растение  
дикого типа (слева) того же возраста

Трансгенное  
растение,  
плодоносящее  
на первом году  
жизни (в норме  
плодоношение  
идет на 6 году  
жизни)

*Nat.  
Biotechnol.*  
2001. 19 (3)  
263-267.

# **КОДИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛОЖНОСТИ: ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

- 1. В основе кодирования биологической сложности лежит комбинаторика молекулярно-генетических механизмов, позволяющая очень экономно записывать в геномах огромное количество информации о генетических программах, выполняемых генными сетями.**
- 3. Комбинаторные механизмы функционируют на всех иерархических уровнях организации молекулярно-генетических систем организмов.**
- 5. Оперируя информационными и структурными модулями на уровне геномов, генов, РНК, белков и генных сетей, комбинаторные механизмы организуют их в новые структурно-функциональные ансамбли иерархически более высокого уровня с качественно новыми свойствами и существенно более высокой сложностью.**
- 7. Комбинаторика молекулярно-генетических механизмов позволяет наращивать сложность организации отдельной клетки и режимов ее функционирования без существенного увеличения размеров геномов.**

# КОДИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛОЖНОСТИ: ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С функциональной и эволюционной точек зрения, наличие генных сетей морфогенеза и дифференцировки, приводящих к возникновению различных типов клеток и тканей, эквивалентно увеличению на много порядков количества генов в геноме многоклеточного организма.

Формируемый таким образом мегагеном многоклеточного организма позволяет формировать огромное разнообразие генных сетей, функционирование которых разнесено во времени и пространстве организма с гигантским комбинаторным потенциалом.

Это означает, что у многоклеточных эукариот исчезает связь между количеством генов в геноме и сложностью закодированных в нем генетических программ функционирования организма.

Комбинаторные механизмы могут обеспечивать резкое ускорение эволюционного процесса и приводить к скачкообразному появлению новых морфотипов за счет преобразования регуляторных генетических систем организмов, контролирующих программы онтогенеза.

**БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ**