



# Генные сети

## Структурно-функциональная организация и интеграция

*Ирина Лембитовна Степаненко, к.б.н.*

Кафедра информационной биологии ФЕН НГУ  
Институт цитологии и генетики СО РАН



# *Системная компьютерная биология*

Использование математических концепций для выявления принципов, лежащих в основе биологии на генетическом, молекулярном, клеточном уровне.

- Развитие эффективных информационных технологий
- Теория функциональных сетей
- Математическое моделирование



***Фрагмент одной из карт метаболических путей***

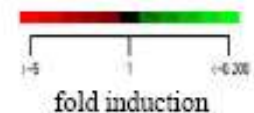
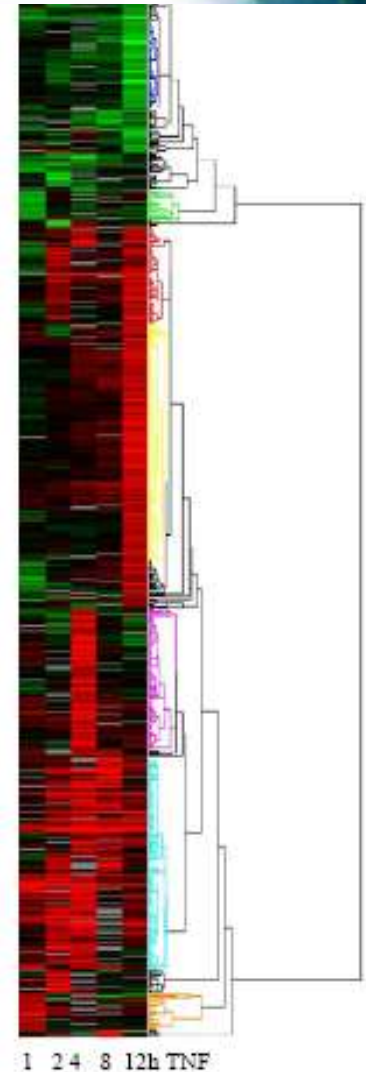


# Системная компьютерная биология



В постгеномную эру развития биологии становится актуальными исследования регуляции экспрессии не только отдельного гена при действии какого-либо сигнала, но и регуляции экспрессии генов всего генома при действии какого-либо сигнала или комплекса сигналов

*Иерархическая кластеризация генов, экспрессия которых изменяется при действии цитокина TNF-alpha (по данным микроэрей анализа)*





## **Определение генной сети**

*Генная сеть – это группа генов, координированное функционирование которых обеспечивает формирование определенного фенотипического признака организма*



# *Основные подходы к описанию генных сетей и моделированию их динамики*



- **Логическое описание**
- **Описание генной сети с использованием системы нелинейных дифференциальных уравнений**
- **Стохастические модели генных сетей**
- **Концепция молекулярно-генетических управляющих систем**



*База данных GeneNet:*

*компьютерная технология*

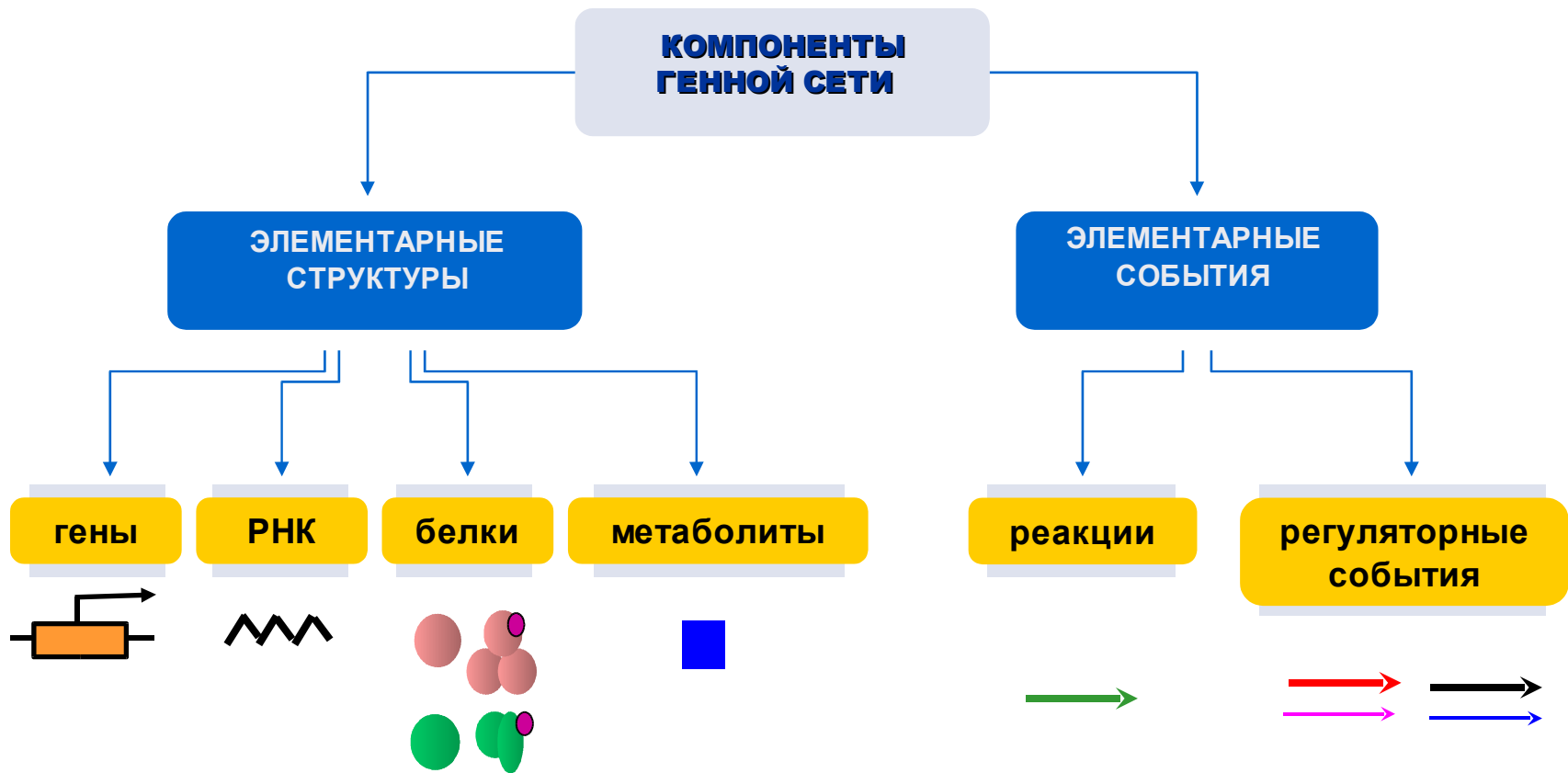
*реконструкции и описания генных сетей*

*на основе экспериментальных данных*

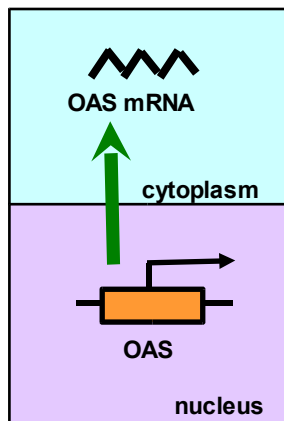
<http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenetworks.shtml>



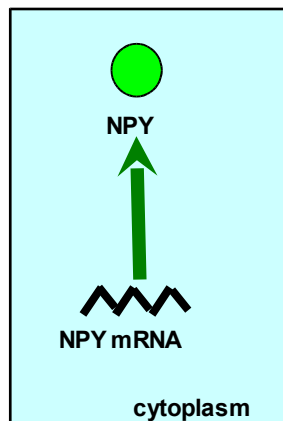
# КЛАССЫ ЭЛЕМЕНТАРНЫХ СТРУКТУР И СОБЫТИЯ, ЗНАЧИМЫХ ДЛЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЕННЫХ СЕТЕЙ



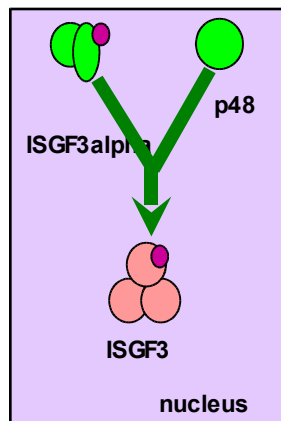
# ПРИМЕРЫ ЭЛЕМЕНТАРНЫХ СТРУКТУР И СОБЫТИЙ В ГЕННЫХ СЕТЯХ



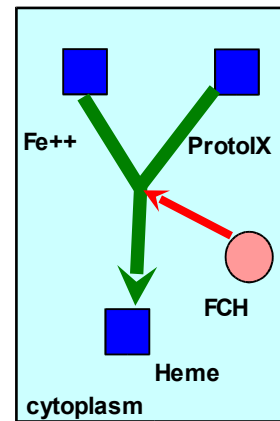
Транскрипция



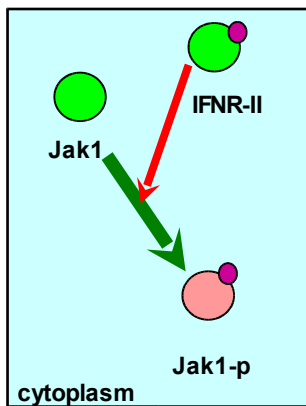
Трансляция



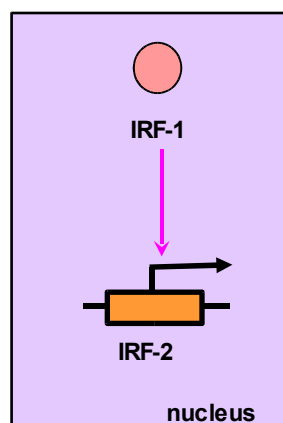
Мультимеризация



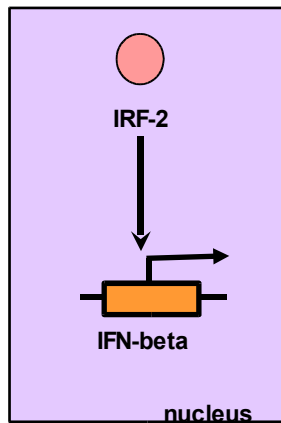
Ферментативная реакция



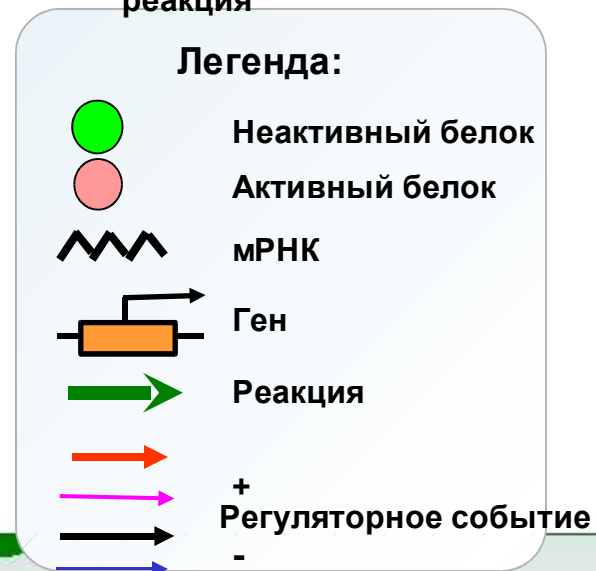
Фосфорилирование



Активация экспрессии гена

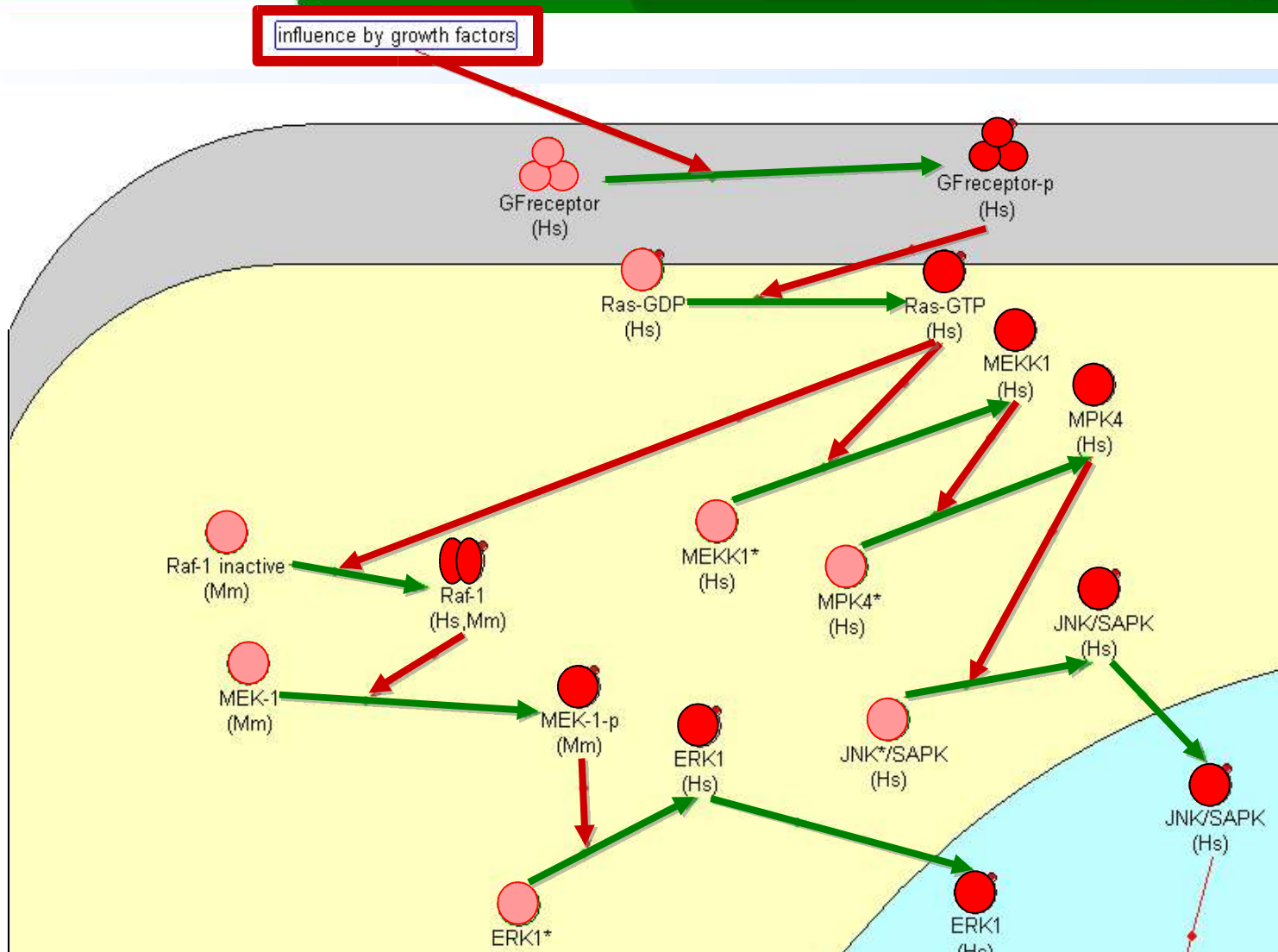


Подавление экспрессии гена





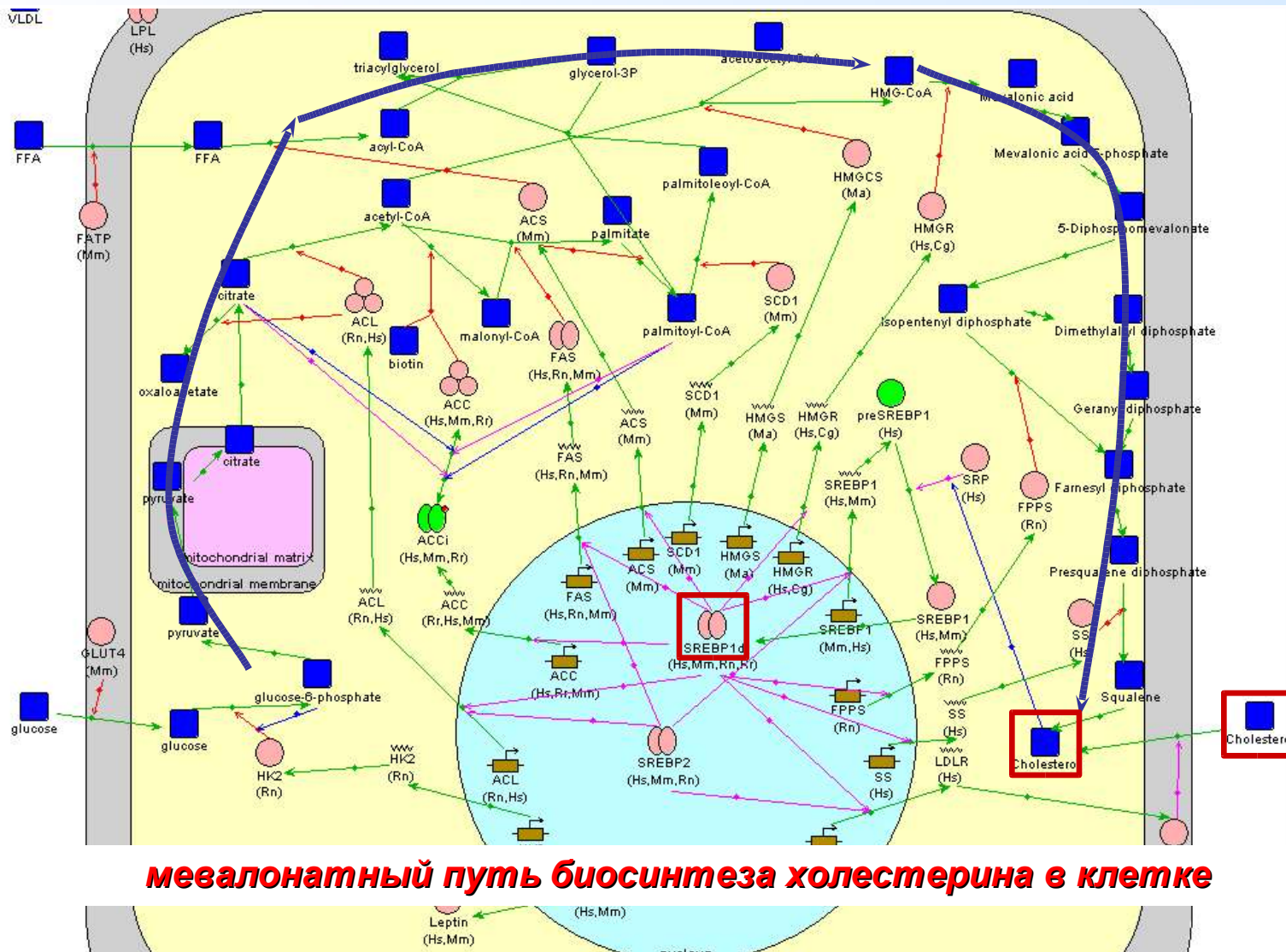
# Пути передачи сигналов – необходимые элементы генных сетей



**МАР-киназный каскад в генной сети регуляции клеточного цикла**



# МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ – ОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ГЕННЫХ СЕТЕЙ

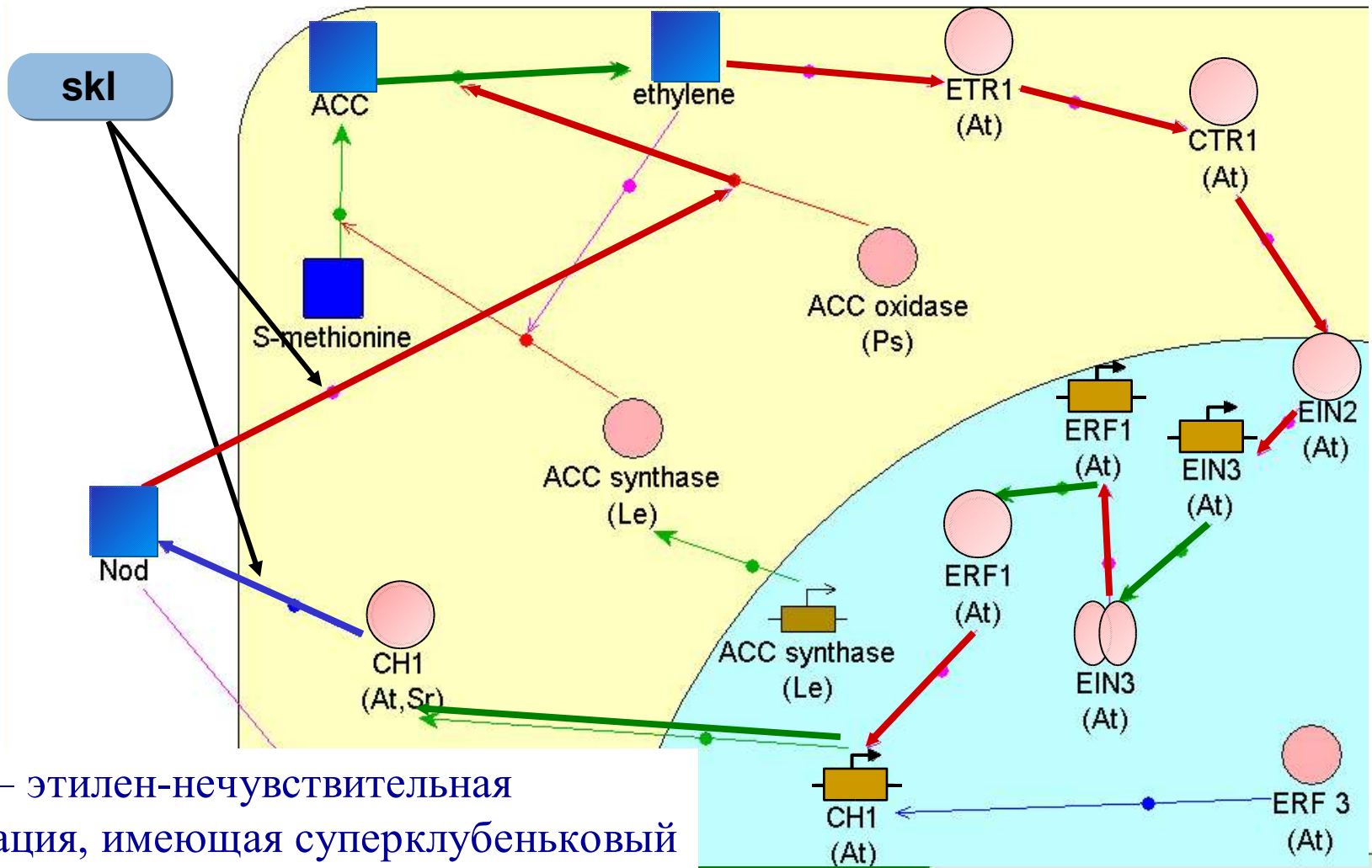


**мевалонатный путь биосинтеза холестерина в клетке**





# Реконструкция этилен-зависимого пути передачи сигнала при образовании клубеньков у бобовых по данным, полученным на арабидопсисе



*Skl* – этилен-нечувствительная мутация, имеющая суперклубеньковый фенотип у *Medicago truncatula*

# Редактор для формализованного описания, конструирования и визуализации генных сетей

Редактировать свойства компонента генной сети

The screenshot shows a software interface for editing gene networks. The main window displays a complex network of nodes and edges. A central node, HSF1, is highlighted in cyan. A red box highlights the left sidebar, which contains a list of components. A red arrow points to the 'Information' dialog box, which displays the properties of the selected protein, HSF1.

**Information**  
Selected protein's properties

Rn: HSF1 : heat shock factor 1  
Dm: HSF1 : heat shock factor 1  
Hs: HSF1 : heat shock factor 1  
Sc: HSF : heat shock factor  
Sp: HSF : heat shock factor  
Mm: HSF1 : heat shock factor 1

Prop...	Value	Comment
os	Homo sapiens (human)	Organism Species
nm	heat shock factor 1	The full name of the Gene network co...
sn	HSF1	The short name of the Gene network ...
fn	active	Functional state of the protein
mm	multimer	Multimeric state of the protein
md	phosphorylated	Modification of the protein
dt	11.5.1999..Stepanenko I.L...	Date of the entry creation and editing
dt	13.4.2001..Stepanenko I.L...	Date of the entry creation and editing
CC		Local comments to the entry



***Технология реконструкции генной сети на основе экспериментальных данных на примере генной сети ответа на тепловой шок.***

***Экспрессия генов теплового шока регулируется, главным образом, на уровне транскрипции. Промоторы генов теплового шока содержат сайты связывания транскрипционного фактора теплового шока HSF1.***



# TRRD содержит

## ДАННЫЕ О ПАТТЕРНАХ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Query Form - Microsoft Internet Explorer

Address: http://srs6gsk.bionet.nsc.ru/srs6bin/cgi-bin/wgetz

TOP PAGE QUERY RESULTS SESSIONS

Reset search TRRD\_SITES4

append wildcards to words

combine searches with AND

Number of entries to display per page 100

Extended query form

SiteName: HSE  
 ExperimentCodes: 3.6  
 ExperimentCodes: 6.5  
 SiteAC: [ ]

Use predefined view \*Name  
 Create your own view

Select fields to display  
 SiteAC  
 SiteName  
 GeneID  
 PreferredName  
 RegUnitAC  
 SiteNameSynonym  
 PredictionProgram

SRS 6.0.7.3

Entry Page - Microsoft Internet Explorer

Address: http://srs6gsk.bionet.nsc.ru/srs6bin/cgi-bin/wgetz?id=uuCO1N2q18+e+(TRRD\_SITES4:'S8389')

TOP PAGE QUERY RESULTS SESSIONS

Reset View \*Complete entries\*

This entry is from: [TRRD\\_SITES4:S8389](#)

[Save](#) [Link](#) [Printer Friendly](#)

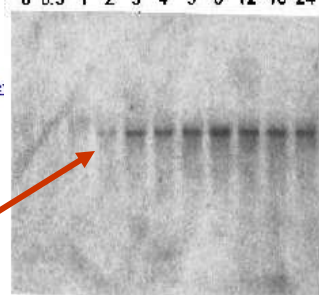
SiteAC: S8389  
 GeneID: [Hs:CRYAB](#)  
 RegUnitAC: REGULATORY UNIT: P02729  
 SiteName: HSE; heat shock element  
 PreferredName: HSF  
 FactorName: HSF1; heat shock factor 1  
 HSF2; heat shock factor 2  
 Sequence: tagGAAGaTTCcaGtcctgcccc  
 SequencePosition: -420 to -397  
 DNA\_BankLink: M28638:532  
 ImportantPos: -----TC-GA-----C-----; HSF2; [Sadamitsu C. et al., 2001]  
 ExperimentCodes: U-251MG: 3.1, 3.2.1, 3.3, 3.4, 3.6(HSF1, HSF2) [Sadamitsu C. et al., 2001]  
 HeLa: 6.1.1, 6.2, 6.5(heat shock), 6.5 (potassium) [Sadamitsu C. et al., 2001]

http://srs6gsk.bionet.nsc.ru/srs6bin/cgi-bin/wgetz?2=uuCO1N2q18+e+(TRRD\_SITES4:'S8389')

ExpressionPatternAC: A01915.001  
 GeneID: [Hs:CRYAB](#)  
 ExpressionDetectionDevice: mRNA  
 Cells: HeLa  
 ExpressionLevel: none  
 Reference: [Sadamitsu C. et al., 2001]

TRRDEXP4-A01915.001

ExpressionPatternAC: A01915.002  
 GeneID: [Hs:CRYAB](#)  
 ExpressionDetectionDevice: mRNA  
 Cells: HeLa  
 ExpressionLevel: low  
 IndReprName: heat shock  
 Influence: induction  
 InductionTime: 1 h  
 Reference: [Sadamitsu C. et al., 2001]



0 0.5 1 2 3 4 5 6 12 18 24

Done

## ДАННЫЕ О ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРАХ



# TRRD – основа для реконструкции генных семей (<http://www.bionet.nsc.ru/trrd/>)

Экспрессия сотен генов усиливается при действии теплового шока. SRS версия TRRD позволяет получить информацию о генах, регулируемых транскрипционным HSF1, в разделе сайты

(**Experiment Codes 3.5, 3.6 OR 6.2&6.6 OR 6.3&6.6**), данные о экспрессии плазмидных конструкций, содержащих промотор гена при действии теплового шока (**6.5**)

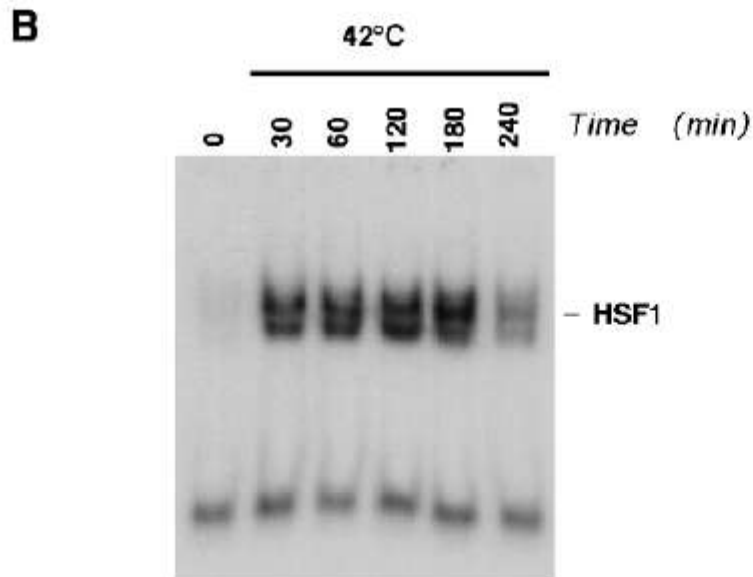
Кроме того, можно получить данные о экспрессии генов, выбрав **индуктор** – тепловой шок в разделе паттерны экспрессии.



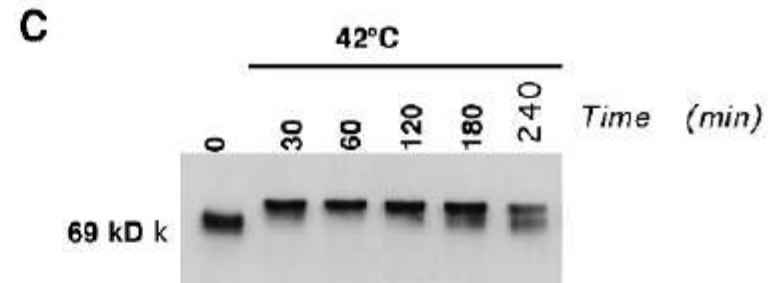


# Генная сеть ответа на тепловой шок

Активация транскрипционного фактора HSF1 при действии теплового шока через 30 мин, диссоциация HSF1 от ДНК происходит через 4 часа – экспериментальные данные



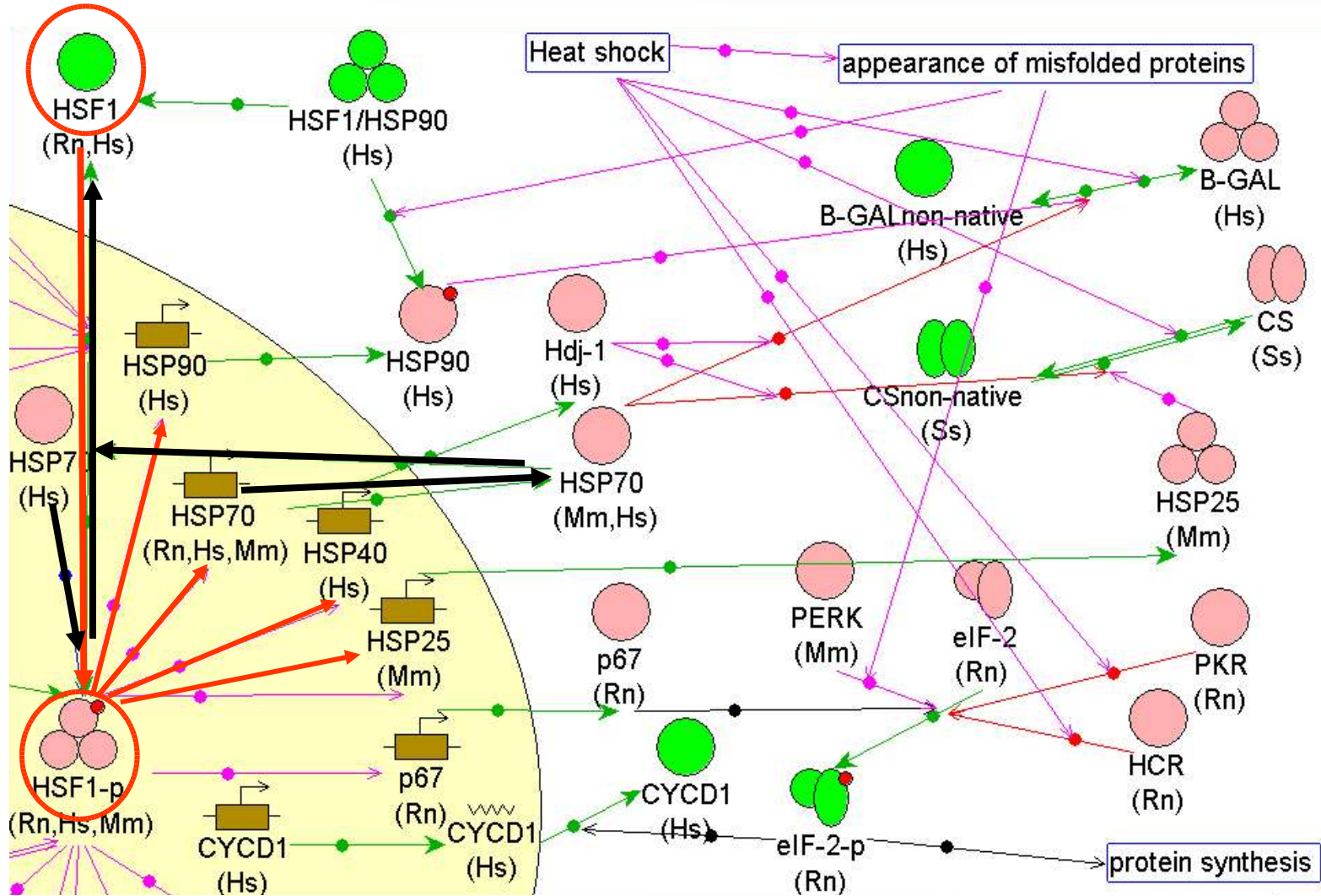
ДНК-связывающая активность HSF1  
Gel-shift analysis



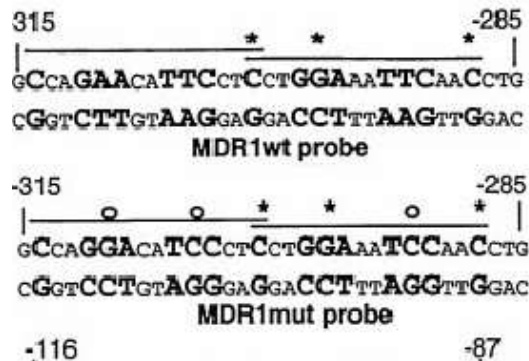
Замедление подвижности при индуцибельном фосфорилировании HSF1



# Генная сеть ответа на тепловой шок: контур с отрицательной обратной связью



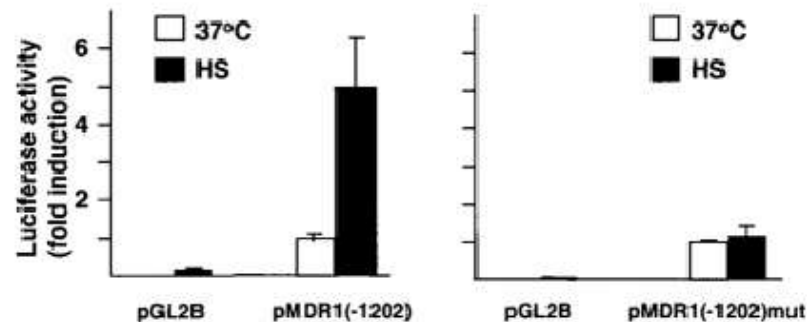
# Транскрипционный фактор HSF1 усиливает транскрипцию гена multidrug resistance 1 (mdr1) при действии теплового шока



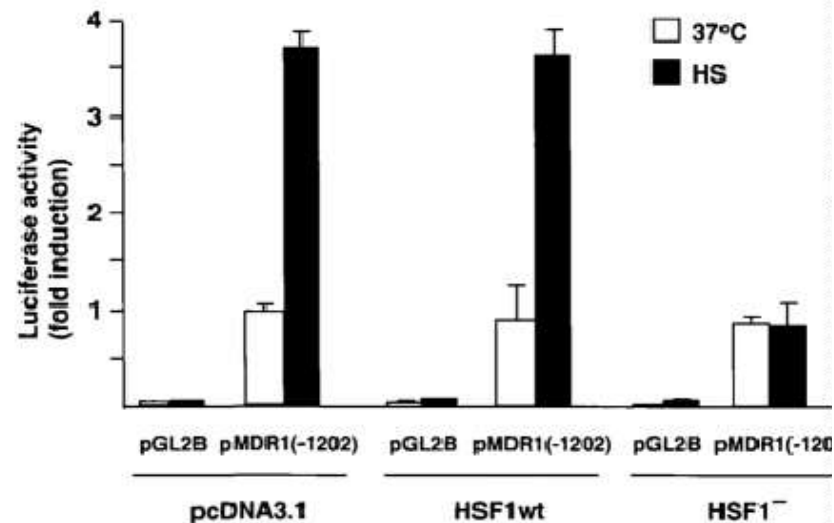
А- Эксперименты по изучению экспрессии плазмидной конструкции, содержащей промотор гена дикого типа и с мутацией в HSE сайте при действии теплового шока

В- Эксперименты по изучению экспрессии плазмидной конструкции, содержащей промотор, при действии теплового шока в клетках, экспрессирующих HSF1 и не экспрессирующих (HSF1<sup>-</sup>).

**A**

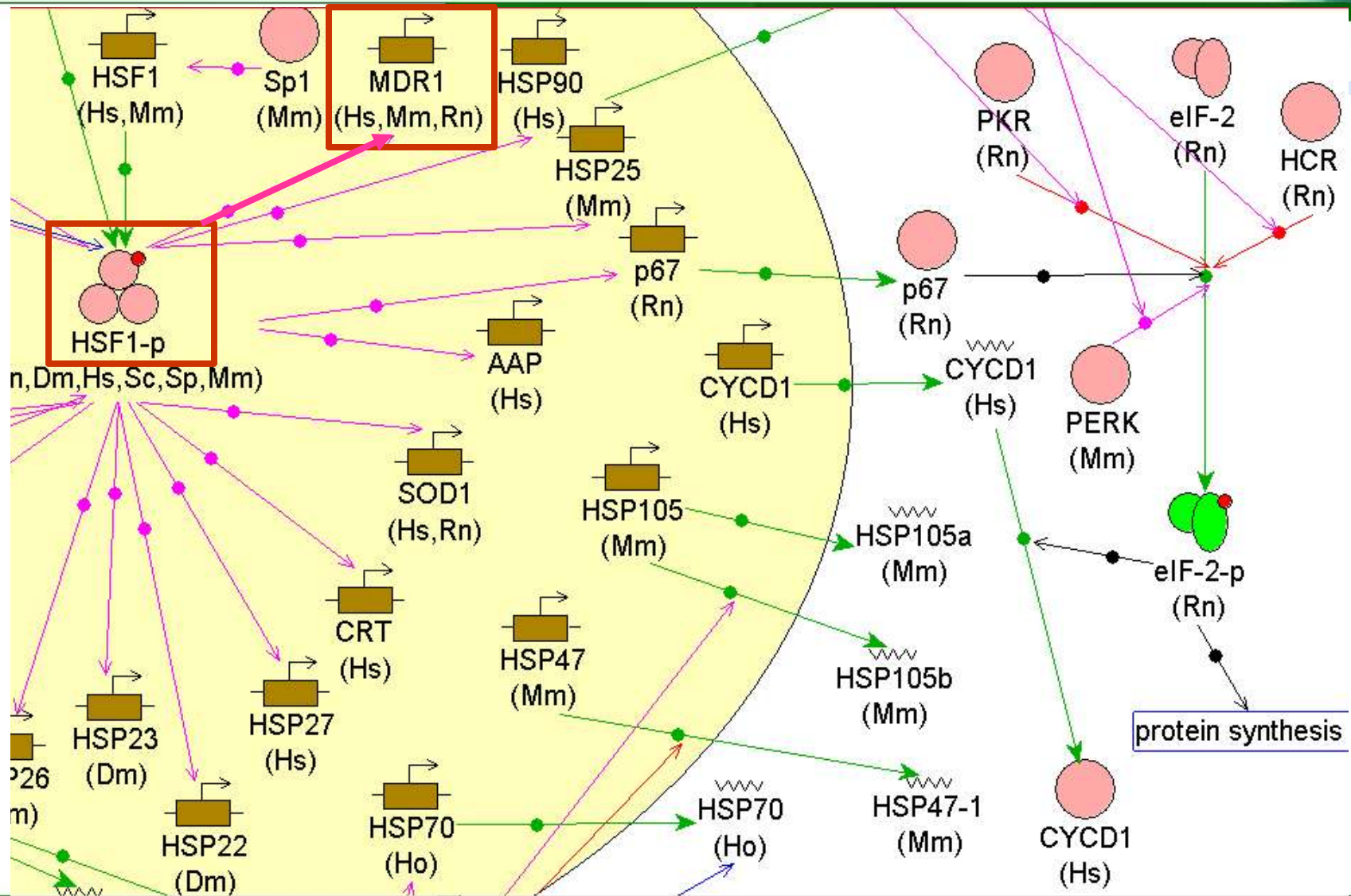


**B**





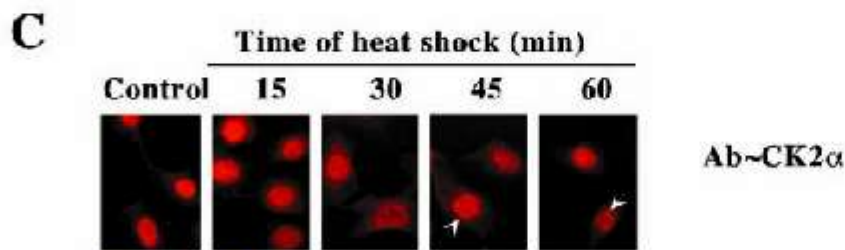
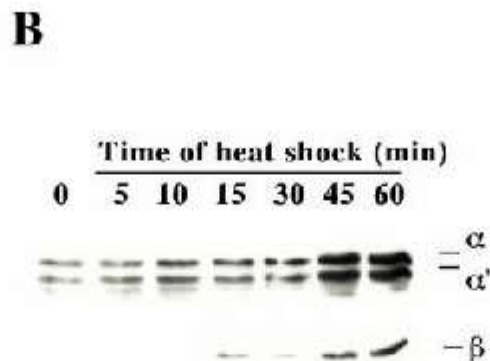
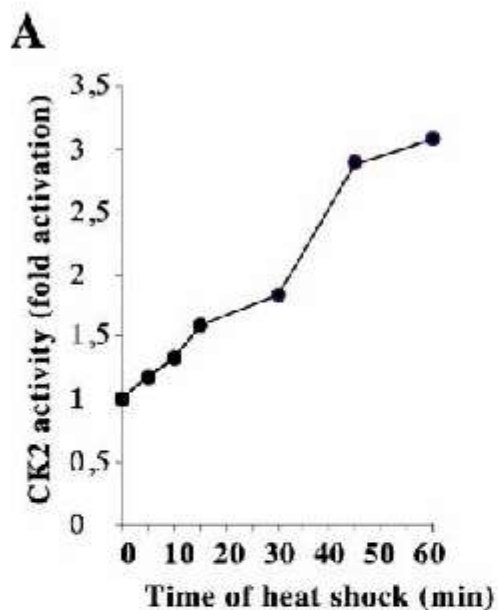
# Фрагмент генной сети ответа на тепловой шок



protein synthesis



## Генная сеть ответа на тепловой шок



Появление данных, например, о усилении активности киназы 2 при действии теплового шока позволяет пополнить базу генных сетей и построить более точную модель.

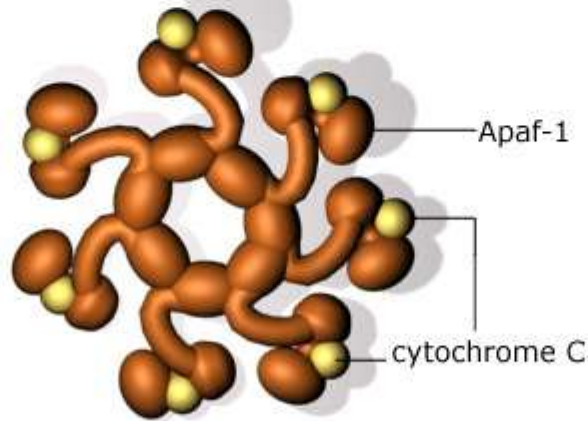
По-видимому, именно эта киназа гиперфосфорилирует и активирует HSF1

J. Biol. Chem., 2000, 275, P. 23919-23926

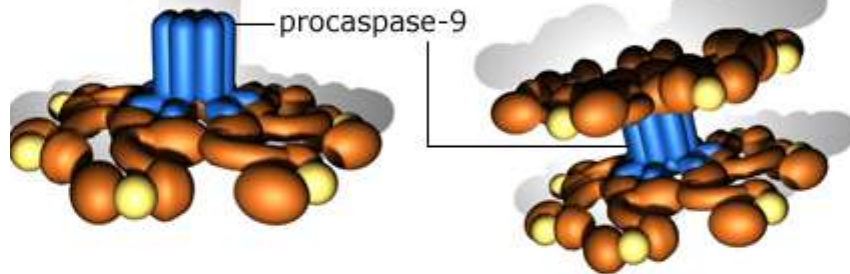


# Генная сеть термоустойчивости: ингибирование митохондриального пути активации апоптоза

First stage of apoptosome formation



Recruitment of procaspase-9



Caspase Activation

Каспаза 9 - инициаторная каспаза в митохондриальном пути активации апоптоза. Активация каспазы 9 при действии различного стресса происходит при ее связывании с регуляторными белками Apaf-1 и цитохомом с, в составе комплекса, называемого апоптосомой. Белки теплового шока препятствуют активации прокаспазы 9 в составе апоптосомы, обеспечивая термоустойчивость клеток к действию теплового шока. Клетки становятся устойчивыми к летальному тепловому шоку, если предварительно подвергаются действию умеренного теплового шока благодаря синтезу белков теплового шока.



# Генная сеть термостойчивости: использование данных анализа *in vitro*

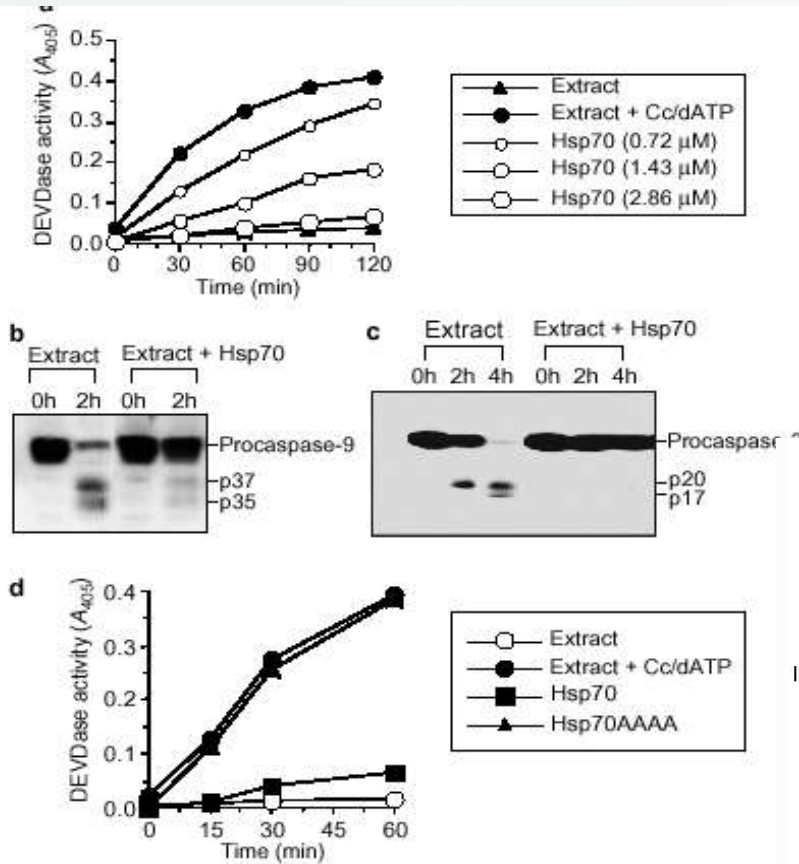
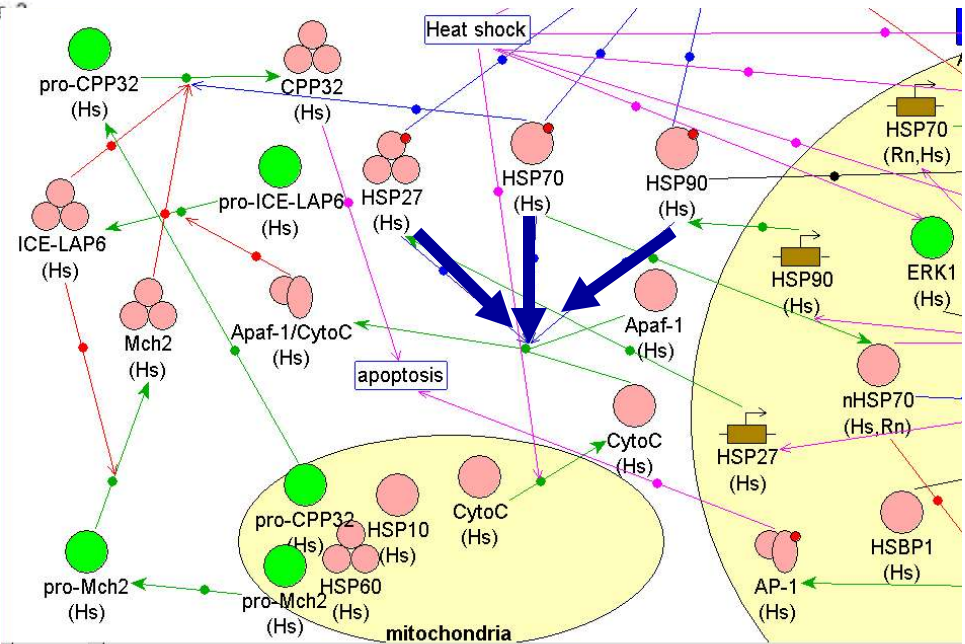


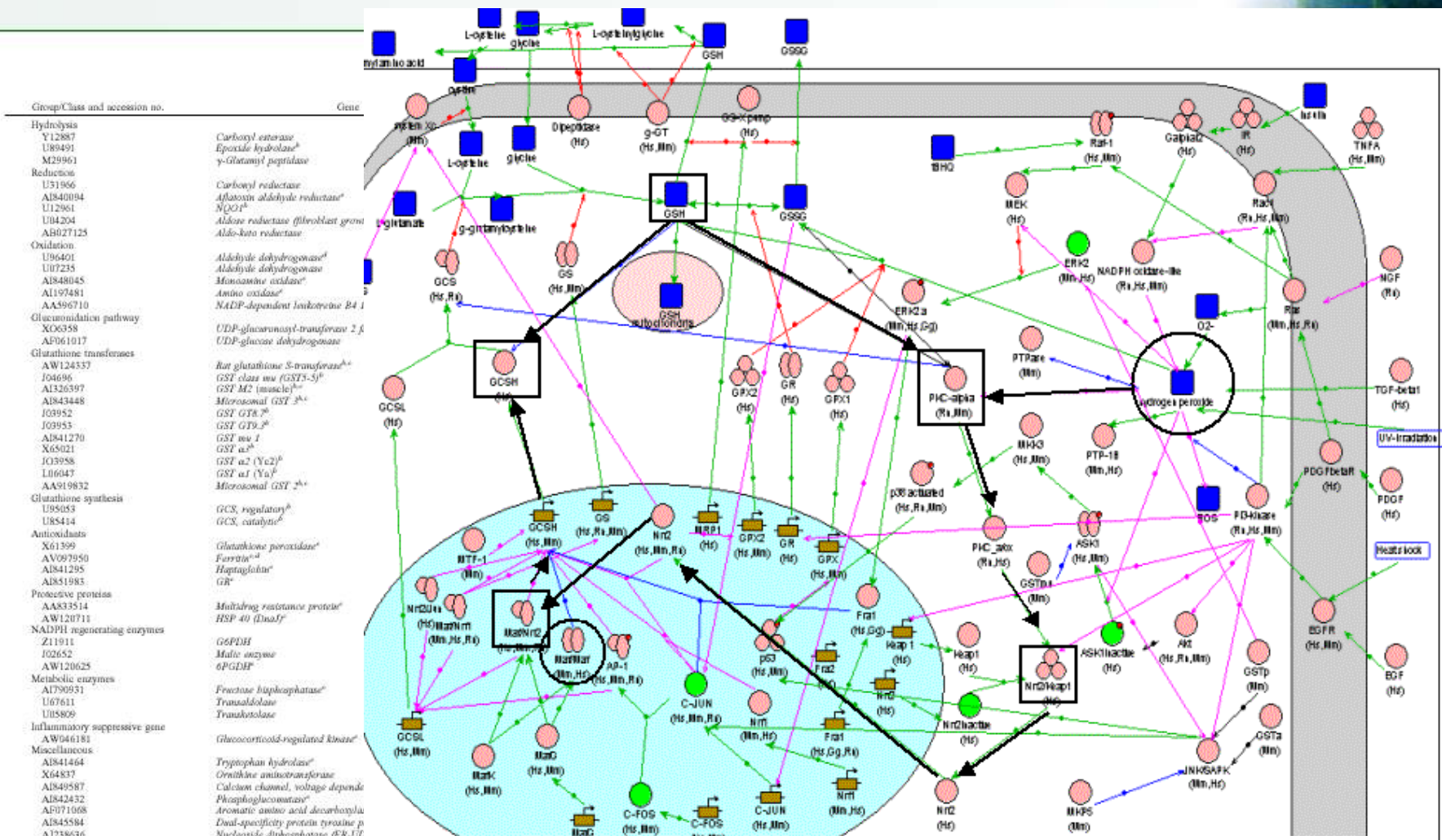
Figure 1 **Recombinant Hsp70, but not Hsp70AAAAA, inhibits caspase processing *in vitro*.** **a**, Cytosolic extracts prepared from Jurkat T cells were incubated with cytochrome c (Cc; 10 μM) and dATP (1 mM) in the presence or absence of recombinant human Hsp70 (0–2.86 μM). Caspase activity was then assessed by spectrophotometric quantification of DEVD-pNA cleavage. **b**, **c**,

Подавление процессинга прокаспазы 9 (ICE-LAP6) в составе апптосомы (Apaf-1 CytoC) белками теплового шока HSP70, HSP27, HSP90



Nature Cell Biology, V.2, 2000, P. 469-475

# Использование данных microarray анализа для реконструкции генных сетей



Nrf2 – ключевой транскрипционный фактор, регулирующий синтез антиоксиданта глутатиона в клетке. По данным микроэрей анализа сотни генов детоксификации регулируются этим фактором, что позволяет построить более полную генную сеть

UV-irradiation

Heat shock

EGFR

EGF



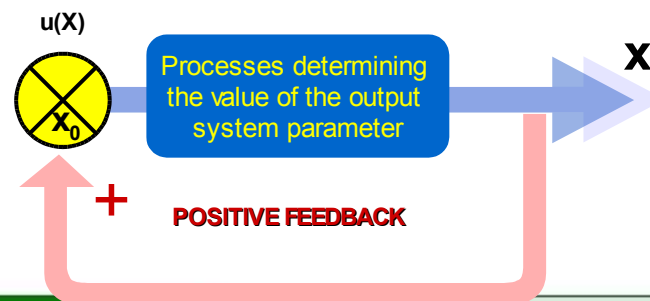
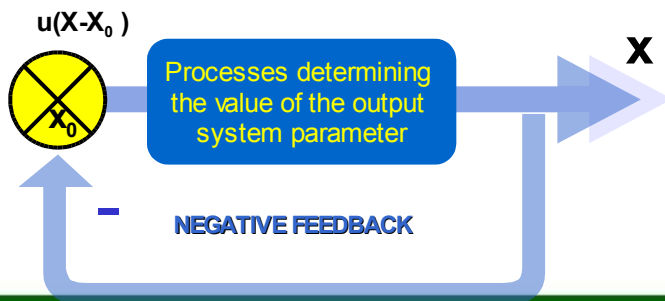
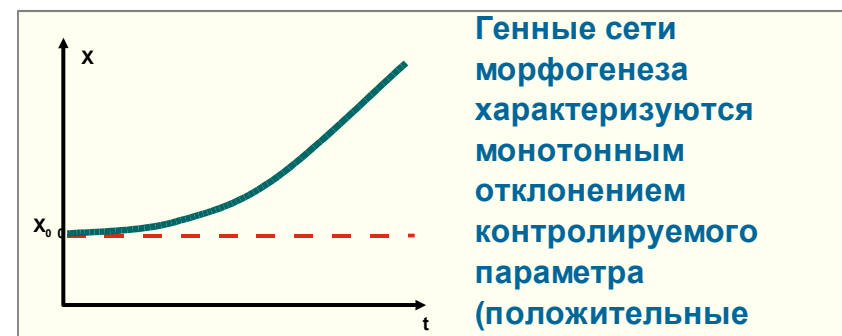
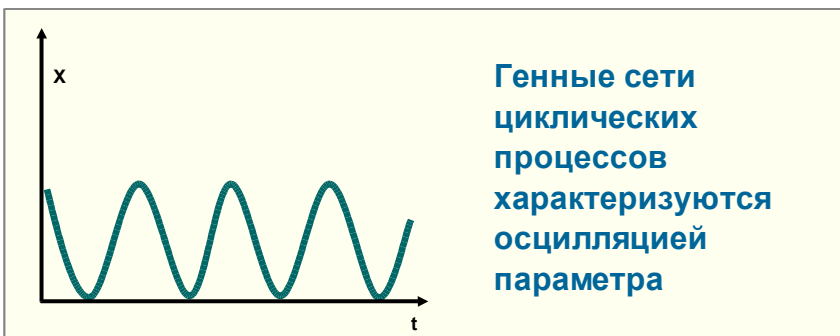
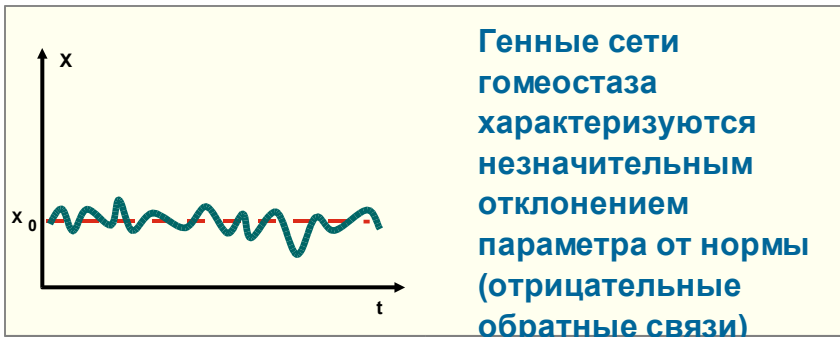


**Феноменология генных сетей:  
качественные особенности  
структурно-функциональной  
организации**

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

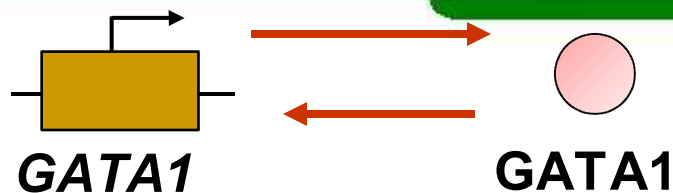


# ГЕННЫЕ СЕТИ: ЧЕТЫРЕ ХАРАКТЕРНЫХ ТИПА ДИНАМИКИ КРИТИЧЕСКИХ ПЕРЕМЕННЫХ

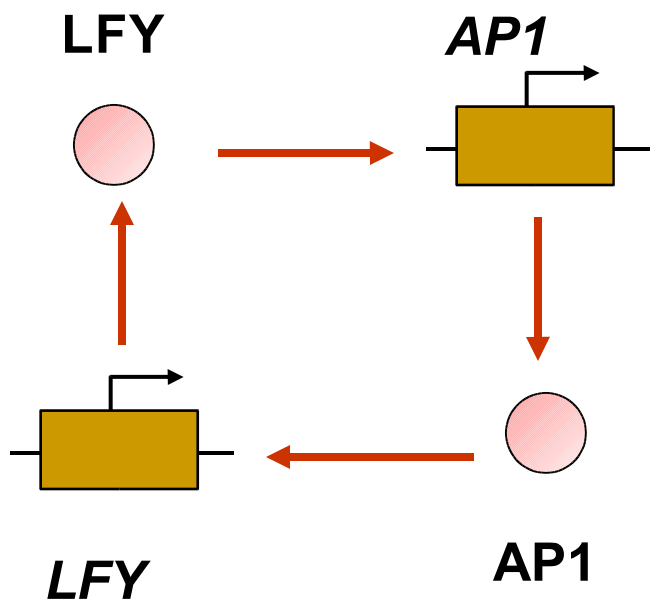




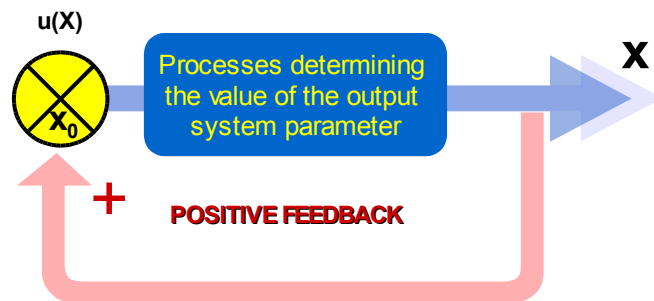
## Положительные обратные связи – обязательные компоненты генных сетей



*Транскрипционный фактор усиливает транскрипцию своего гена*

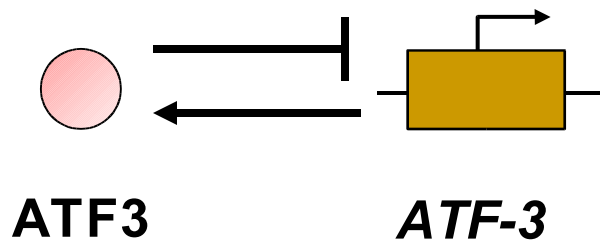


*Взаимное усиление транскрипции генов транскрипционных факторов по механизму положительной обратной связи*

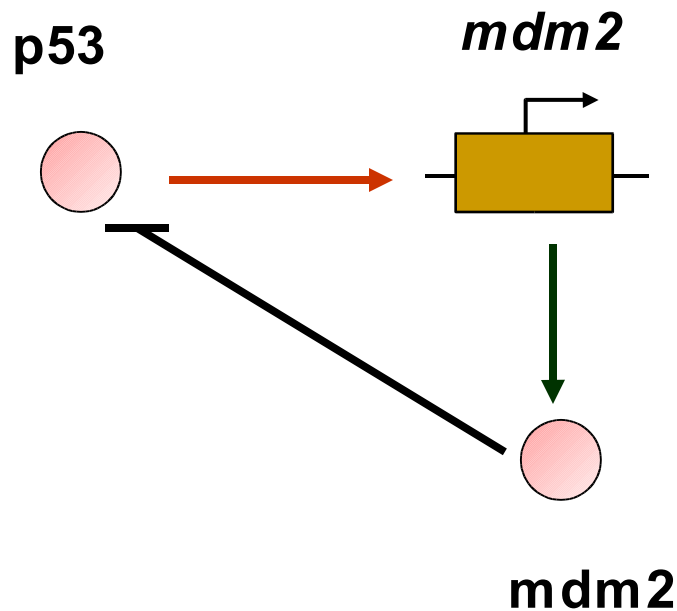




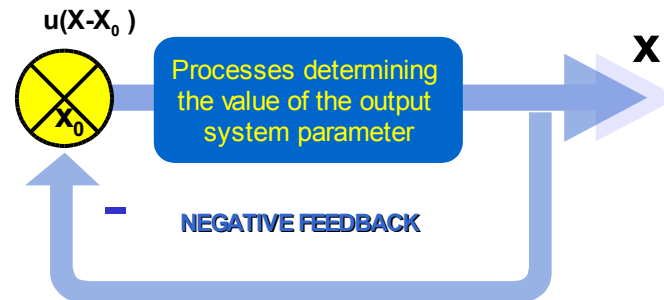
# Отрицательные обратные связи – обязательные компоненты генных сетей



Транскрипционный фактор ингибирует транскрипцию своего гена

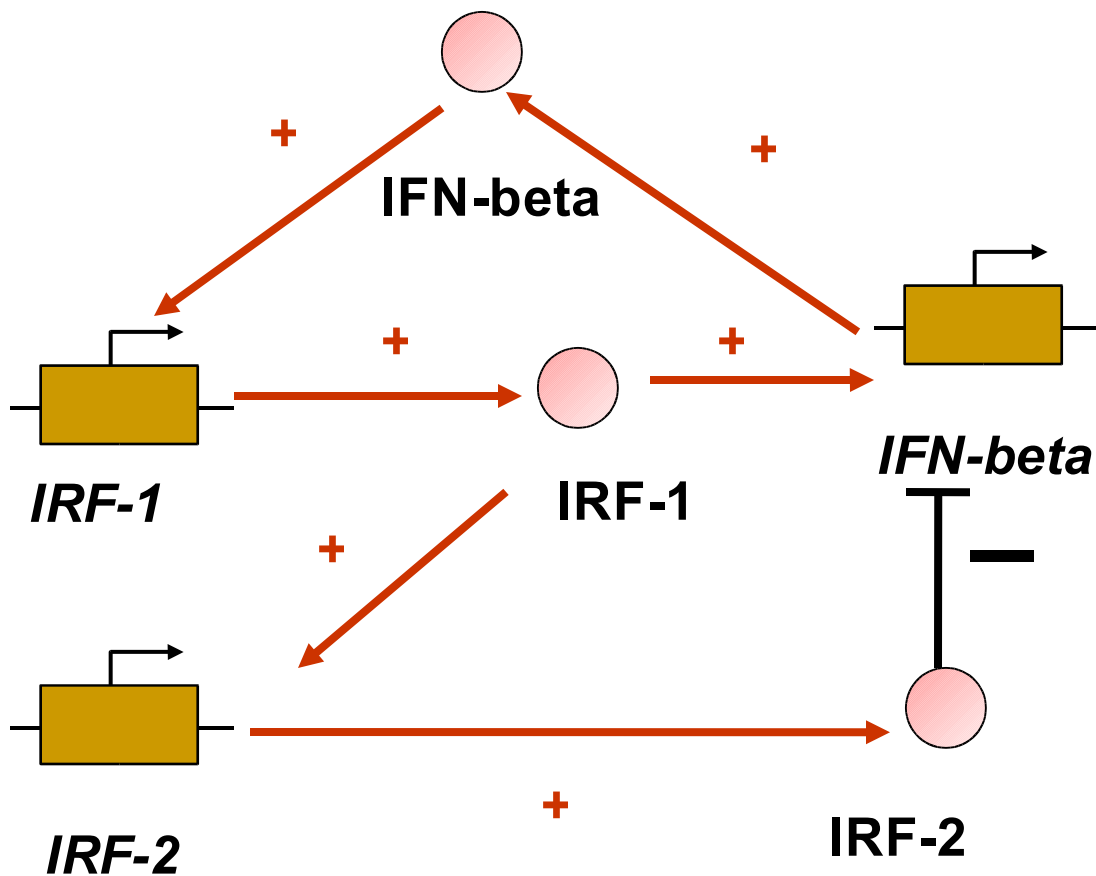


Транскрипционный фактор активирует транскрипцию гена своего ингибитора





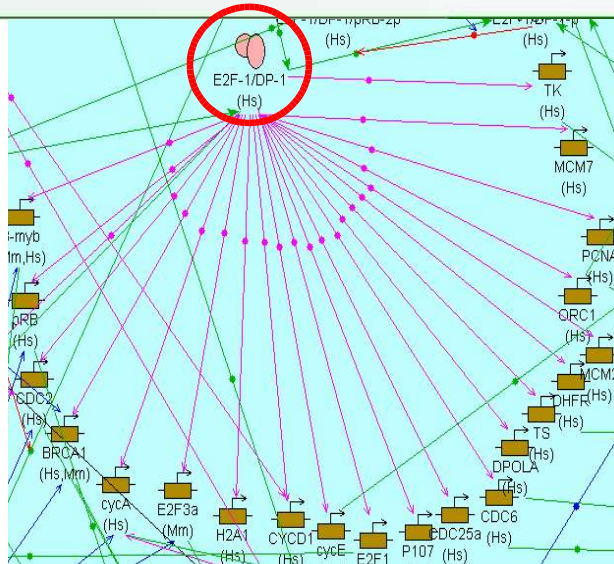
# Генная сеть antiviral response: комбинация положительных и отрицательных обратных связей



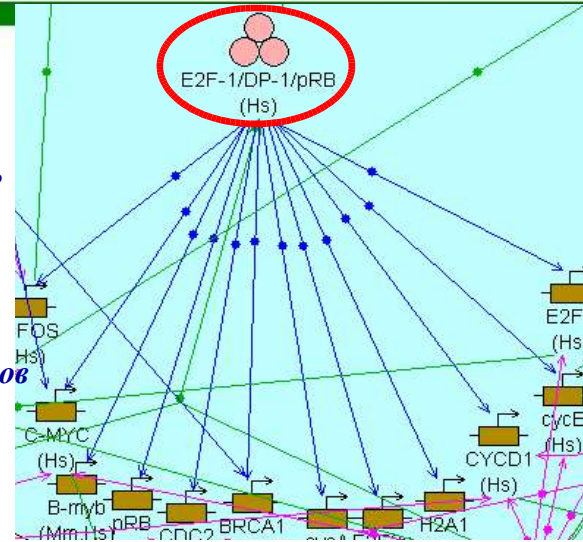
Транскрипционный фактор IRF-1 активирует транскрипцию гена интерферона бета, а позднее усиливает транскрипцию другого транскрипционного фактора IRF-2, подавляющего транскрипцию *IFN-beta*



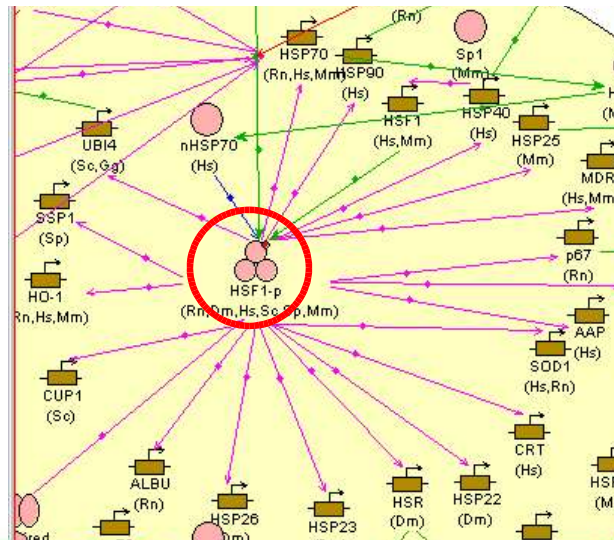
# Функциональные элементы генных сетей: кассетная активация и репрессия групп генов



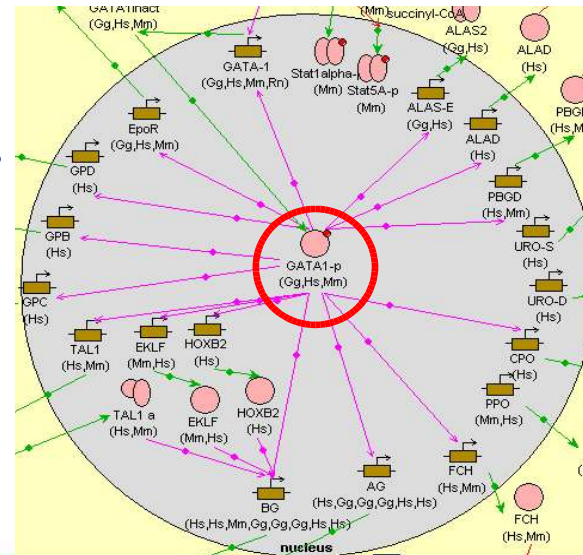
*E2F1/DP1*  
Генная сеть  
регуляции  
клеточного  
цикла.  
Активация  
кассеты генов



*E2F1/DP1/pRB*  
Генная сеть  
регуляции  
клеточного  
цикла. Репрессия  
кассеты генов



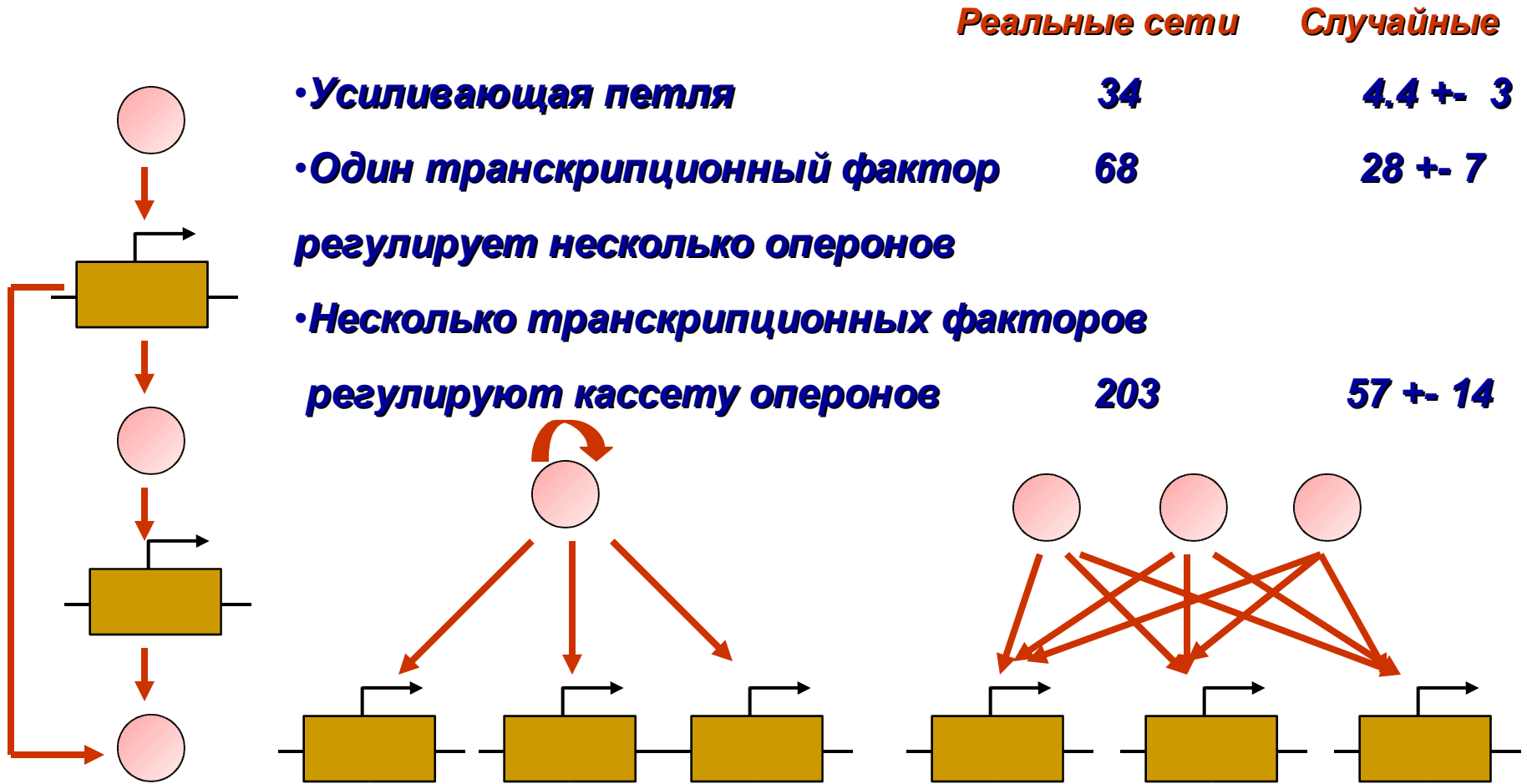
*HSF1*  
Генная сеть  
регуляции  
ответа на  
тепловой  
шок



*GATA1*  
Генная сеть  
регуляции  
дифференцировки  
эритроцита



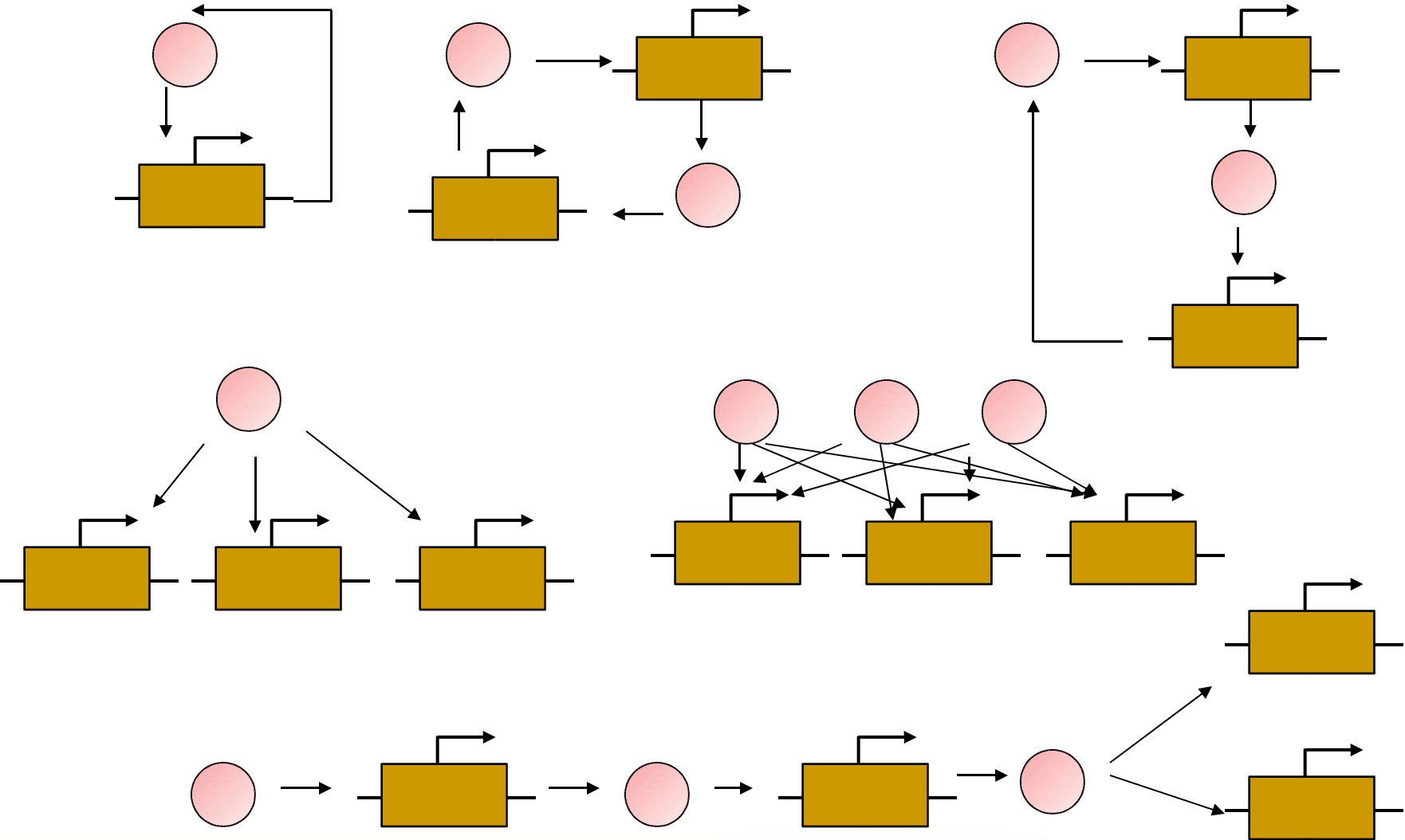
# Три основных мотива в транскрипционных регуляторных сетях, выявленных при анализе 150 транскрипционных факторов *E.coli*



Shen-Orr S.S. et al., 2002



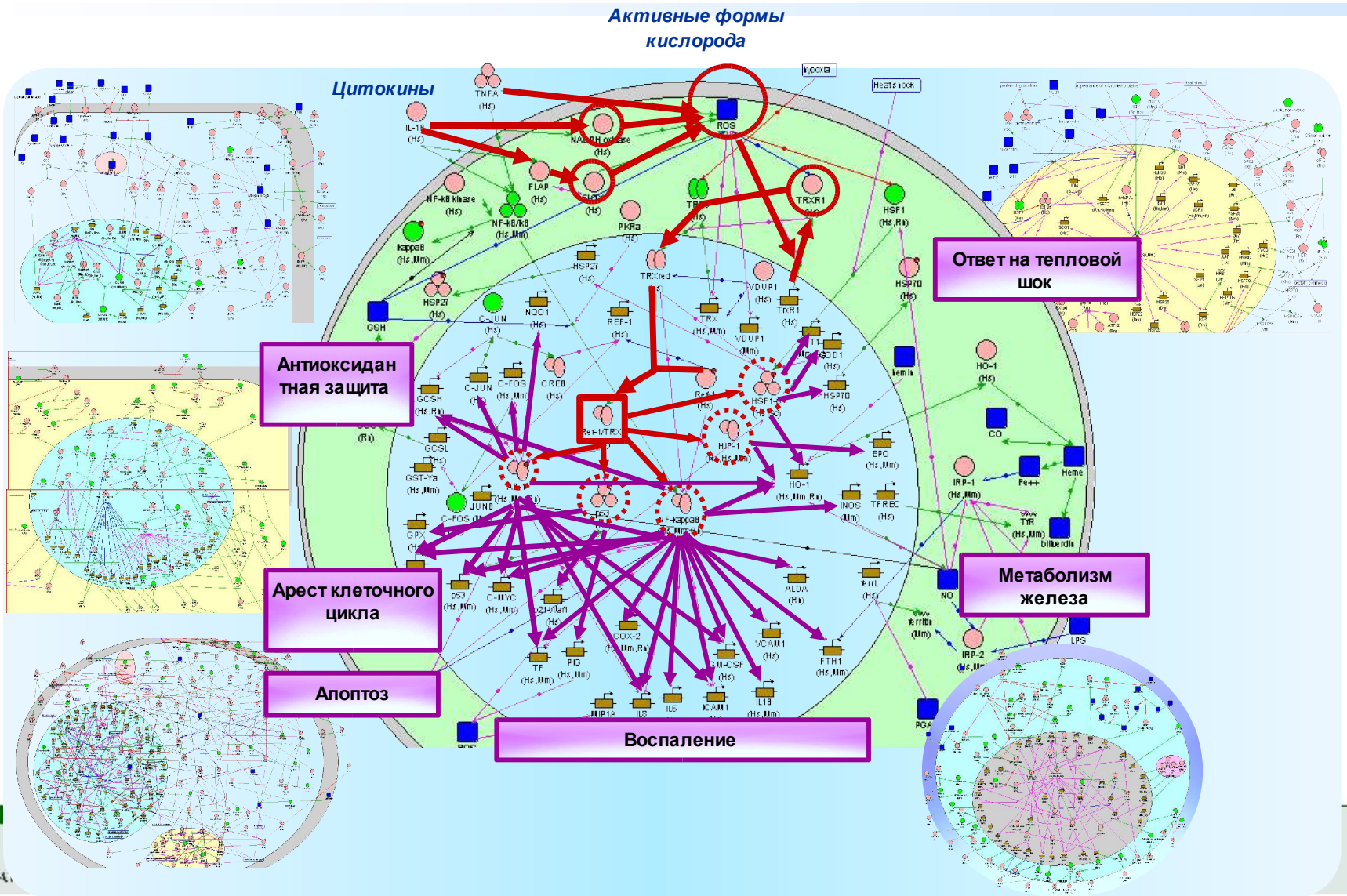
# Шесть основных мотивов в транскрипционных регуляторных сетях дрожжей, выявленные при анализе 4000 взаимодействий



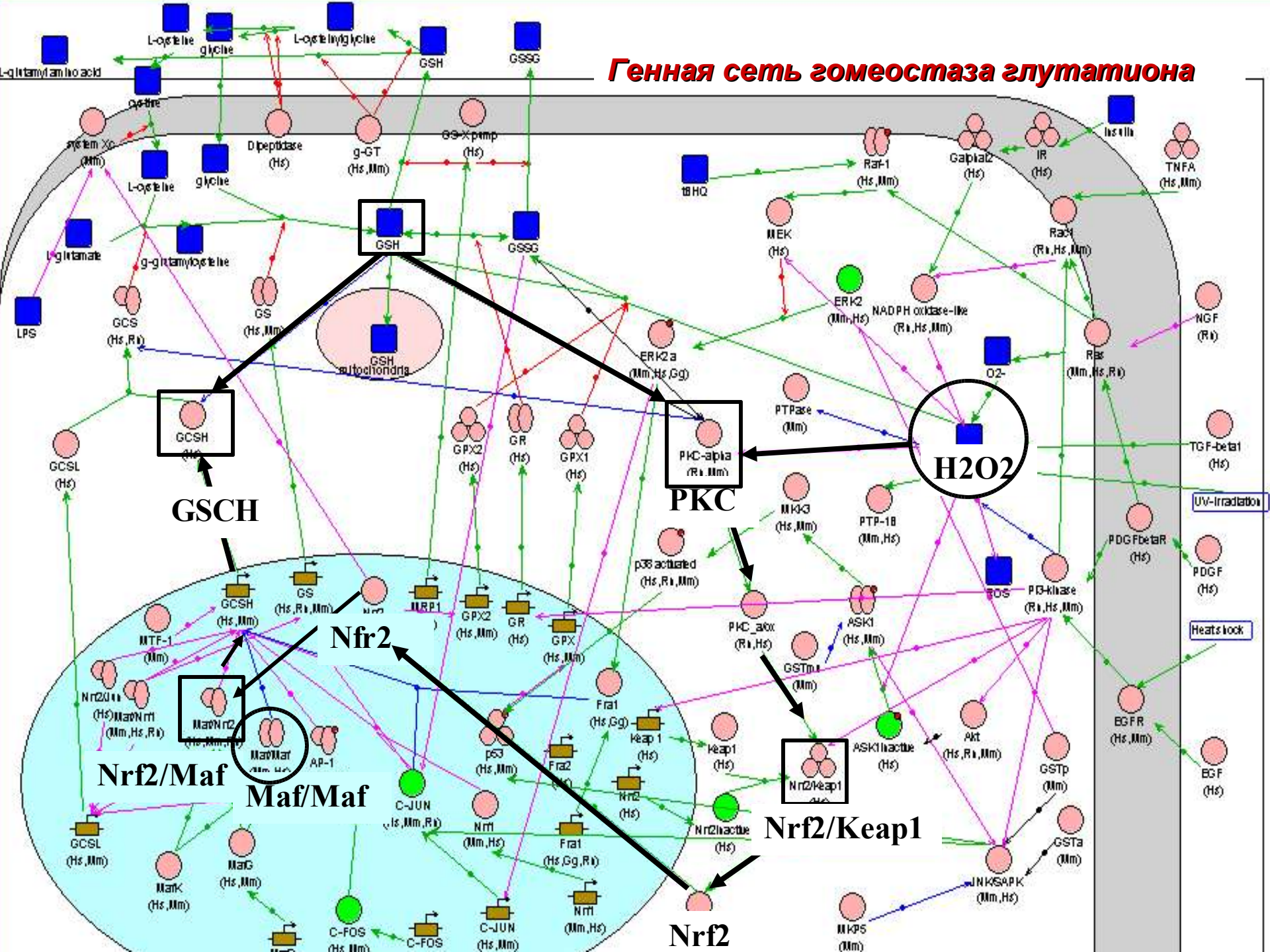


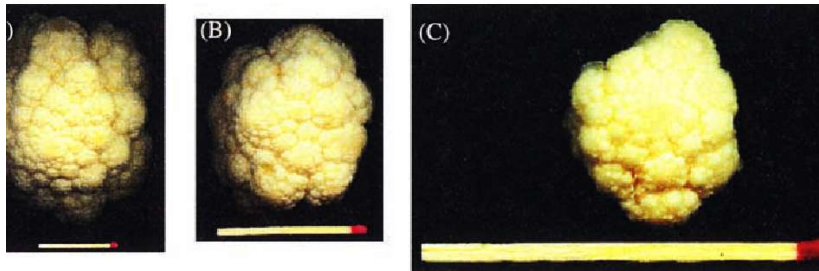


# Генная сеть регуляции уровня активных форм кислорода и каскадная активация взаимодействующих с ней генных сетей



# Генная сеть гомеостаза глутатиона



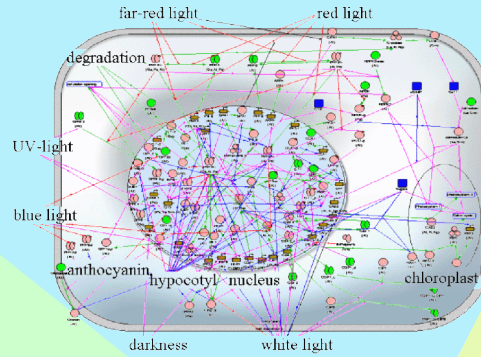


Peitgen et al, 1992

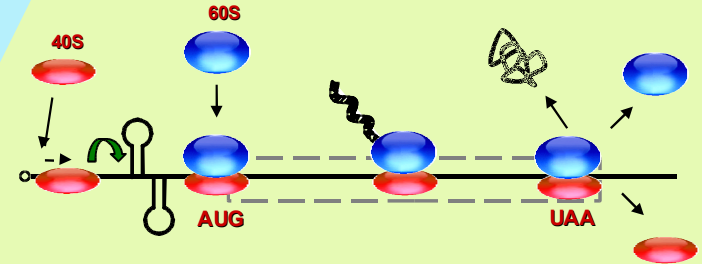
Сложные регуляторные сети исследуются во многих областях науки, в биохимии, нейробиологии, экологии, инженерном деле.

Особенность реальных генных сетей является свойство «малого мира», лежащее в основе даже больших метаболических сетей. Высокая кластеризация и наличие близких связей между узлами генной сети характерно и для генной сети редокс-регуляции.

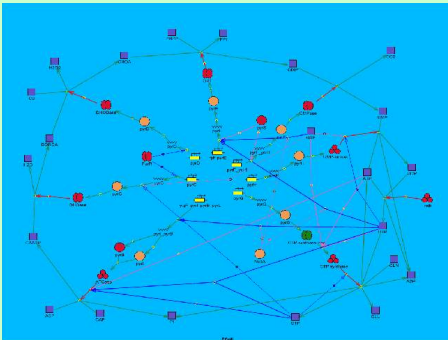
**Трансгенез: конструирование трансгенов и трансгеномов**



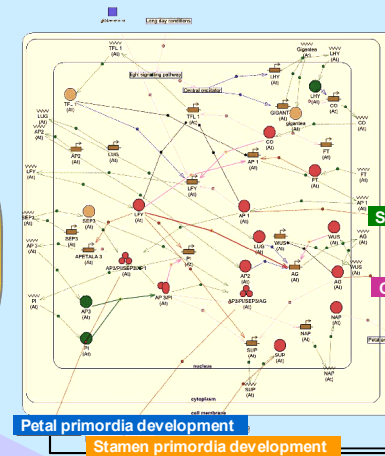
**Моделирование молекулярно-генетических систем и процессов**



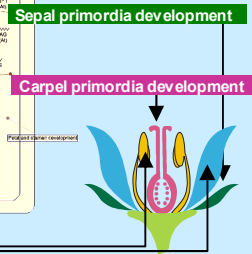
**Биотехнологии: конструирование суперпродуцентов**



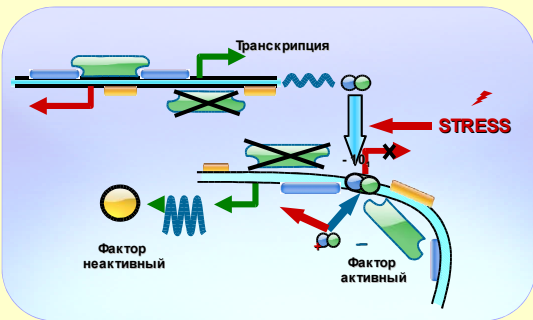
**Системная компьютерная биология: фундаментальные и прикладные аспекты**



**Моделирование морфогенеза**

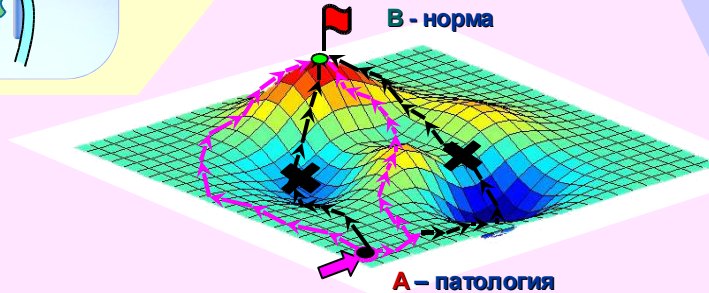


**Компьютерный дизайн геносенсоров**



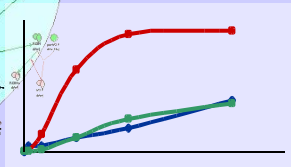
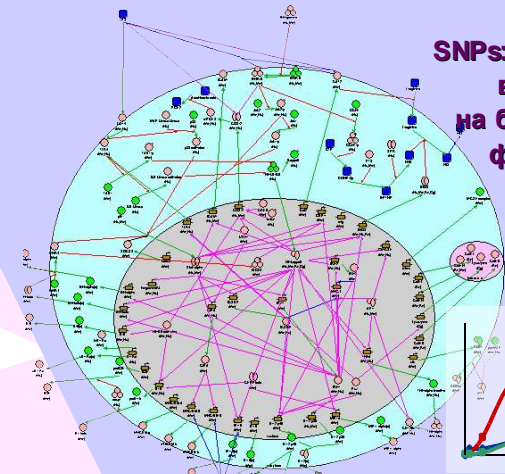
**Моделирование оптимального фармакологического управления геномными сетями**

**В - норма**



**А - патология**

**SNPs: моделирование влияния мутаций на биохимические и физиологические процессы**





## *Основные принципы организации генных сетей*



1. Наличие в каждой локальной генной сети «центральных» генов, обеспечивающих координацию функций остальных генов этой сети;
2. Наличие в каждой генной сети регуляторных контуров типа положительной и отрицательной обратных связей, обеспечивающих ее авторегуляцию;
3. Существование небольшого разнообразия мотивов, обеспечивающих функционирование транскрипционных регуляторных сетей;
4. Иерархическая организация локальных генных сетей и их интеграция в глобальную генную сеть организма.