



Генные сети индивидуального развития

Константин Владимирович Гунбин, асп. ЛТГ ИЦиГ



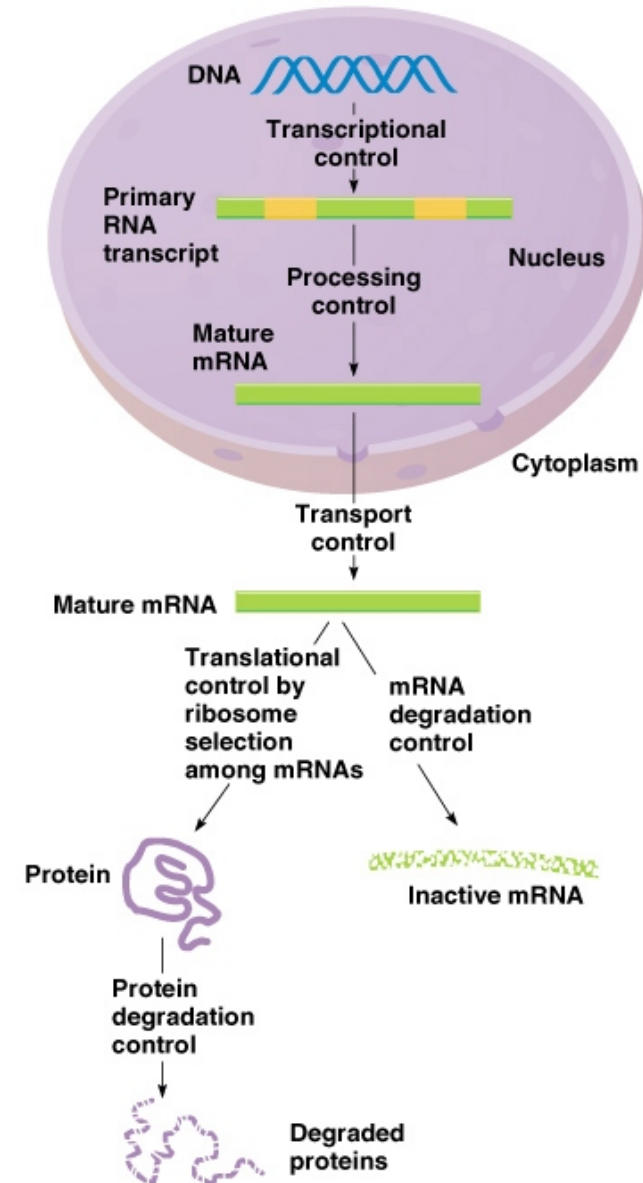


Мощность регуляции экспрессии генов эукариот: шесть основных уровней



Эукариоты:

- Транскрипция
- Процессинг гРНК
- Транспорт мРНК
- Трансляция мРНК
- Дegrадация мРНК
- Дegrадация белка



Прокариоты:

- Транскрипция
- Трансляция мРНК
- Дegrадация мРНК
- Дegrадация белка



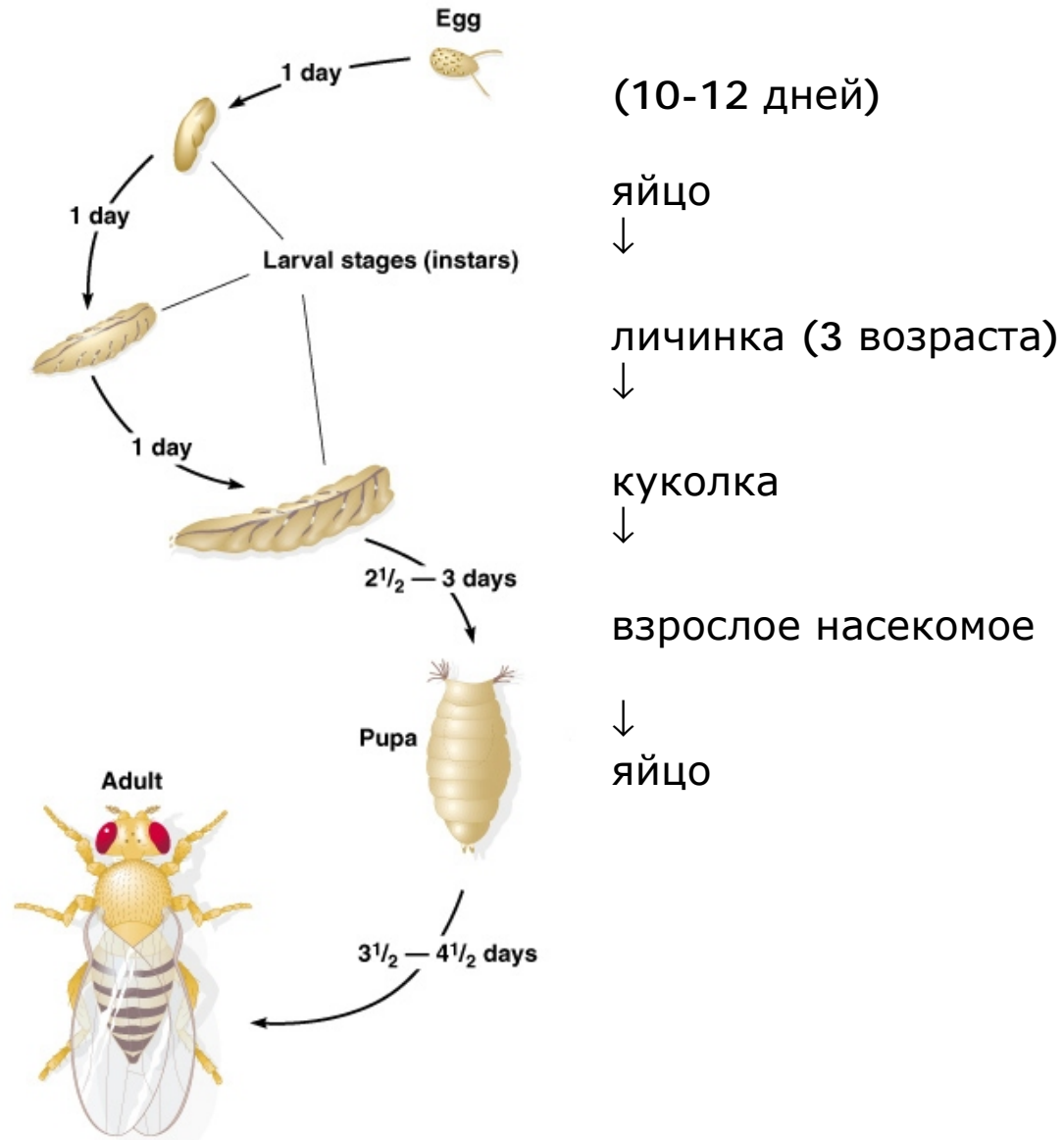
Онтогенез (индивидуальное развитие организма) - совокупность последовательных морфологических, физиологических и биохимических преобразований, претерпеваемых организмом от момента его зарождения до конца жизни.

Жизненный цикл - совокупность фаз развития от момента его зарождения до стадии репродуктивной зрелости.

Эмбриогенез (эмбриональное развитие) – сжатый во времени этап онтогенеза, отмеченный резкими изменениями в организации тела – от одной клетки зиготы до тела личинки или взрослой особи.

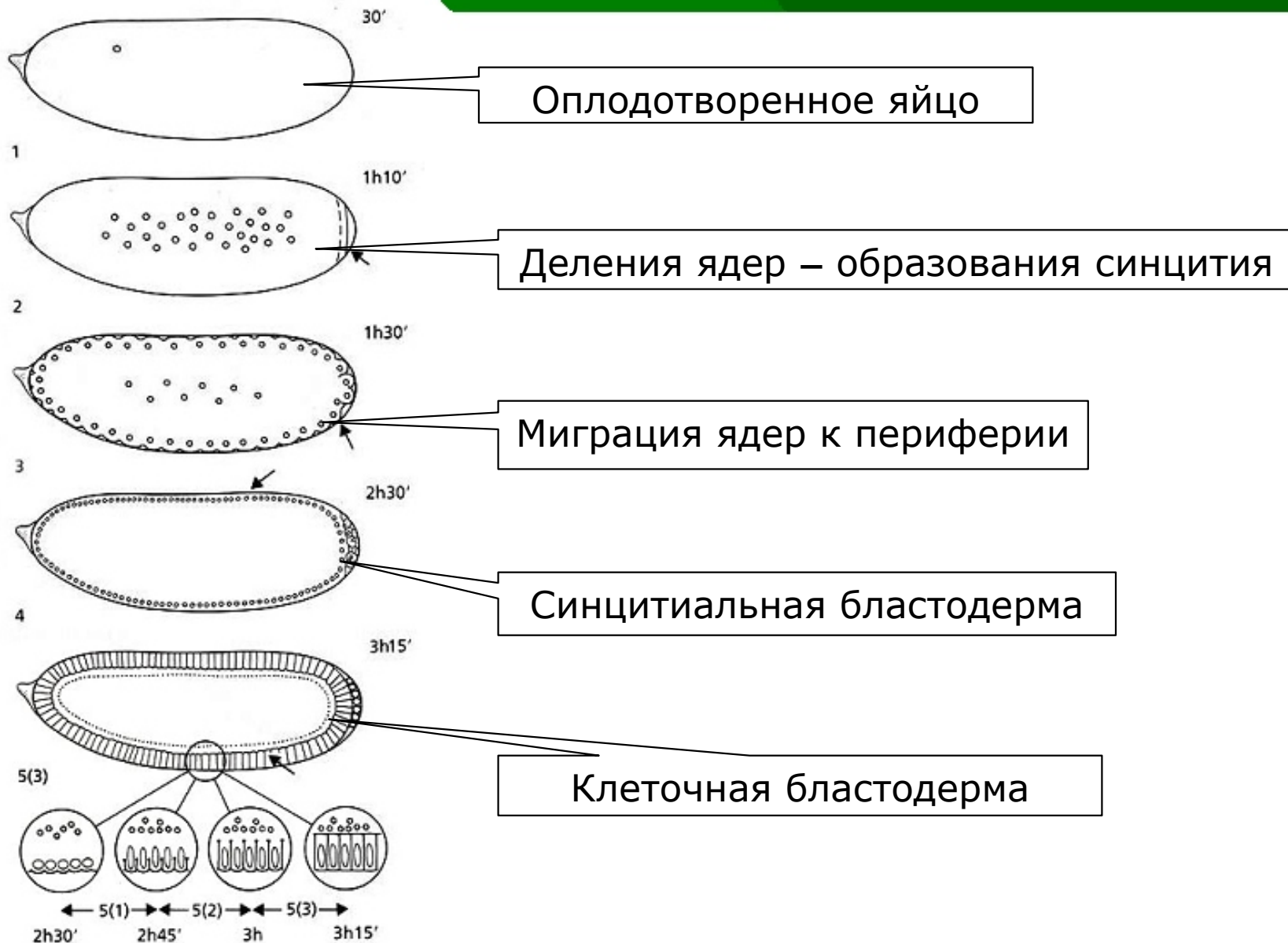


Жизненный цикл *Drosophila melanogaster*



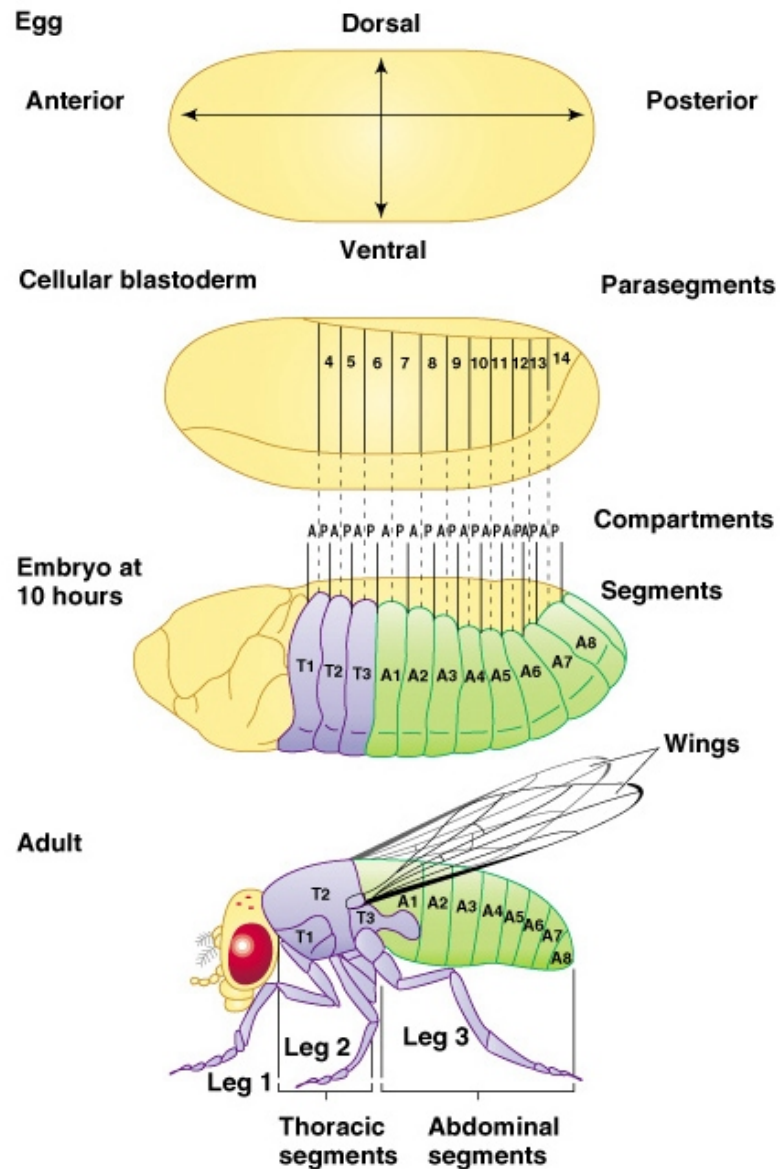


Раннее эмбриональное развитие *D. Melanogaster*: особенности





Установление плана строения тела и классы основных генов контролирующих эмбриональное развитие

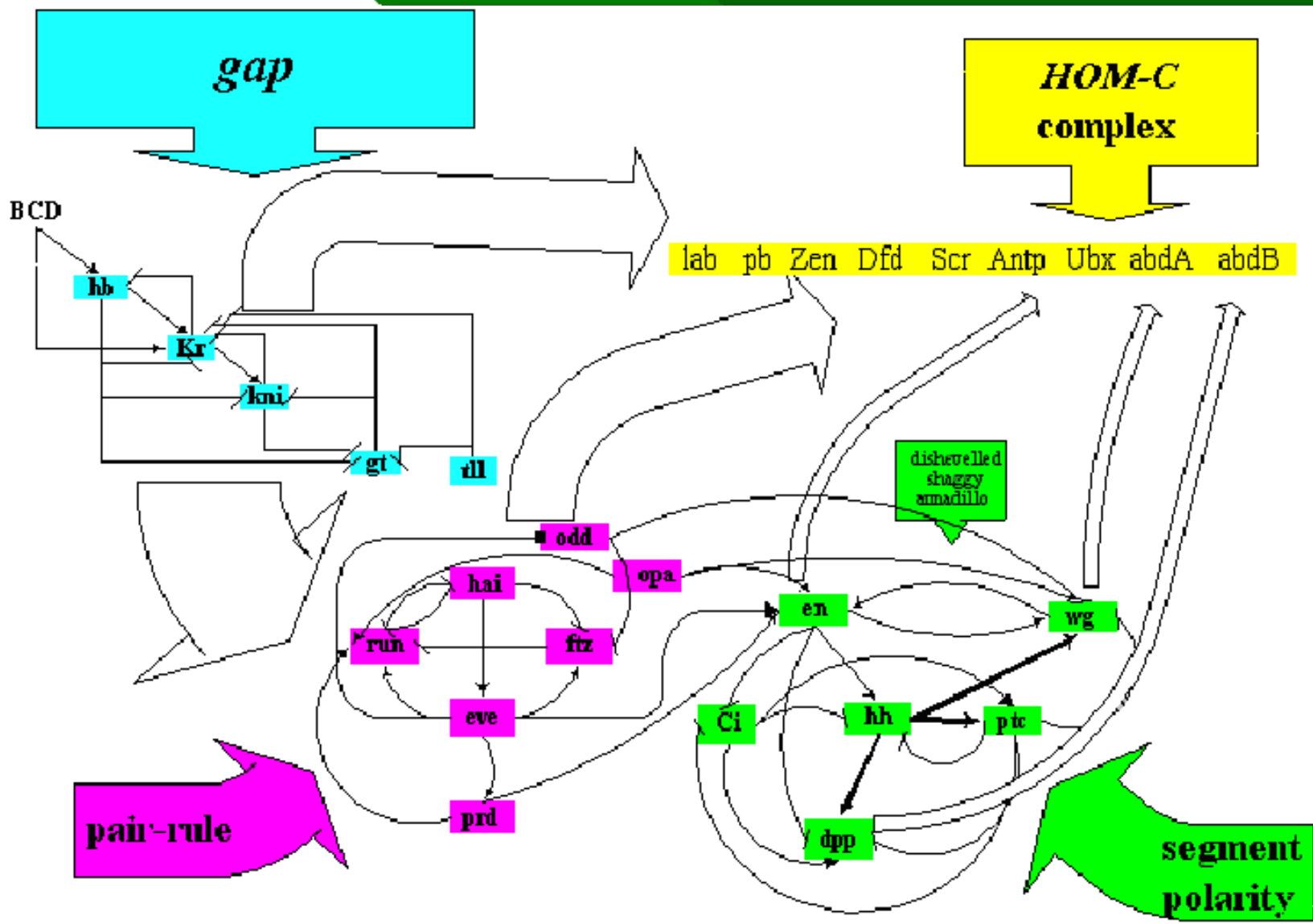


1. Образование передне-задней и спинно-брюшной осей тела.
2. Формирование
 - (1) парасегментов и
 - (2) сегментов эмбриона, которые уже дают начало
 - (3) сегментам тела насекомого.

1. Гены материнского эффекта (maternal effect genes)
2. Гены сегментации (segmentation genes)
3. Гомеозисные гены (homeotic genes)

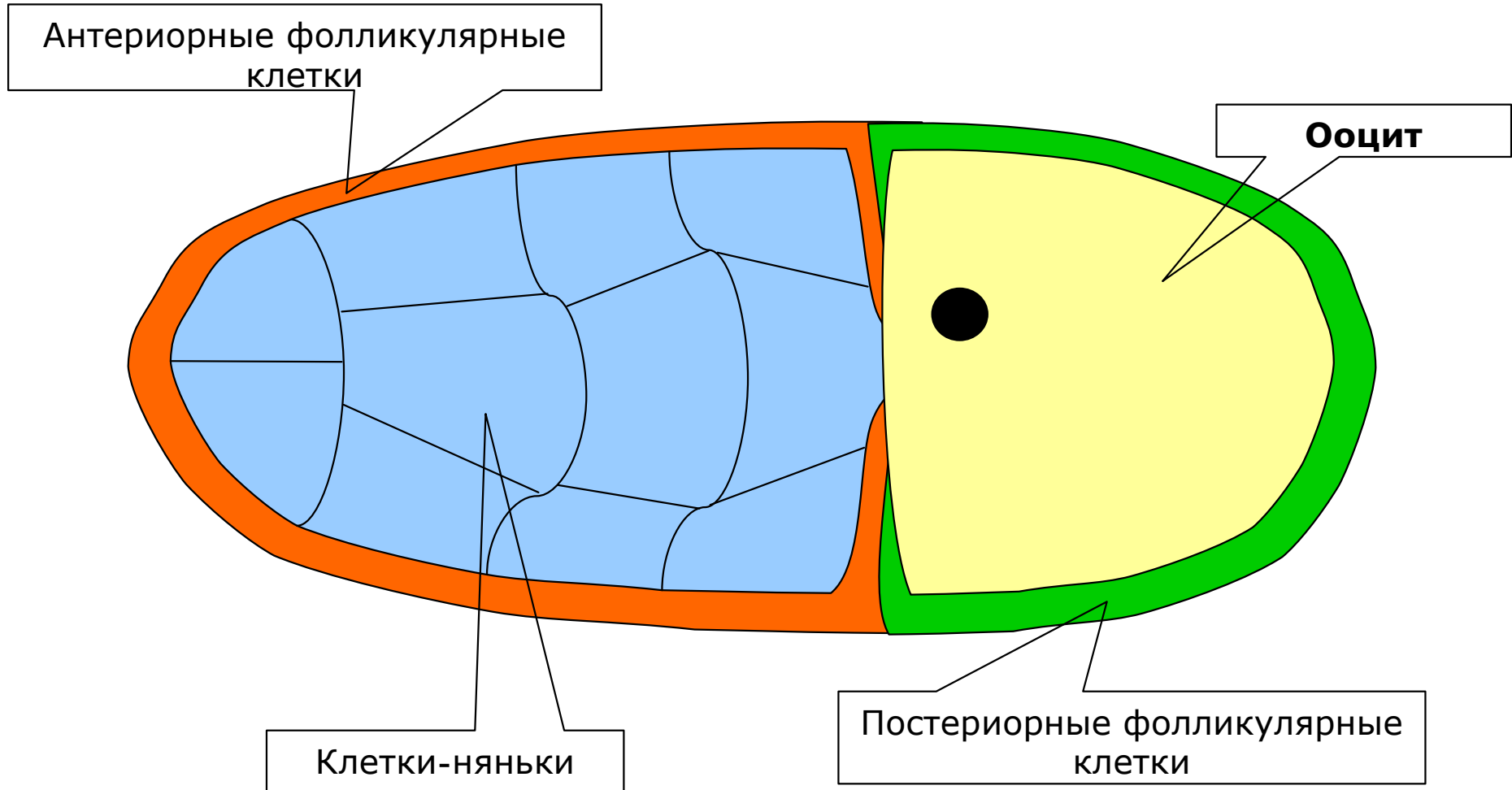


Генная сеть установления плана строения тела: особенности графа





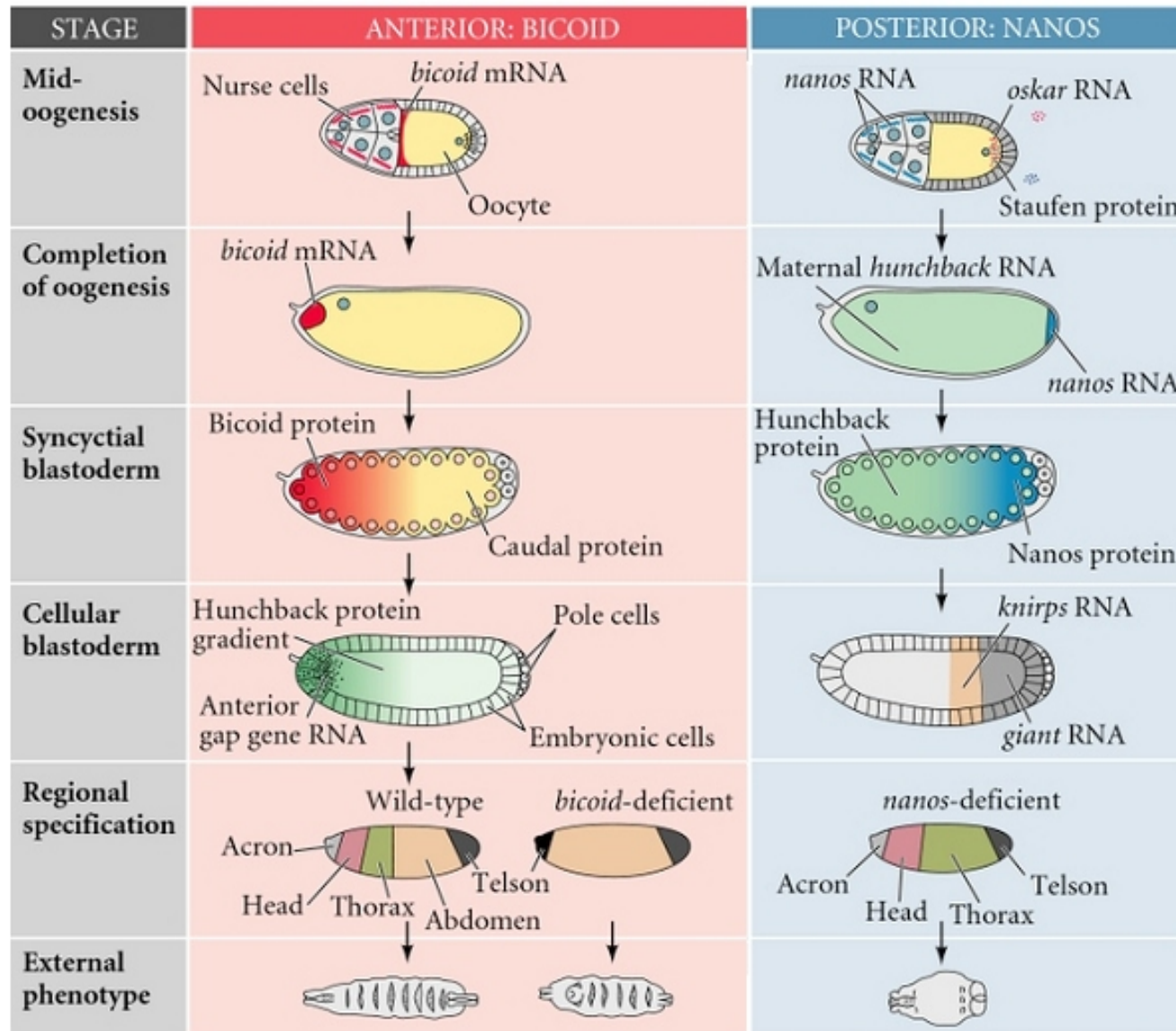
Ооцит *D. melanogaster* и окружающие его клетки



Контакт между материнскими клетками и ооцитом критически важен



Гены материнского эффекта: антерио-постериорная система



bicoid

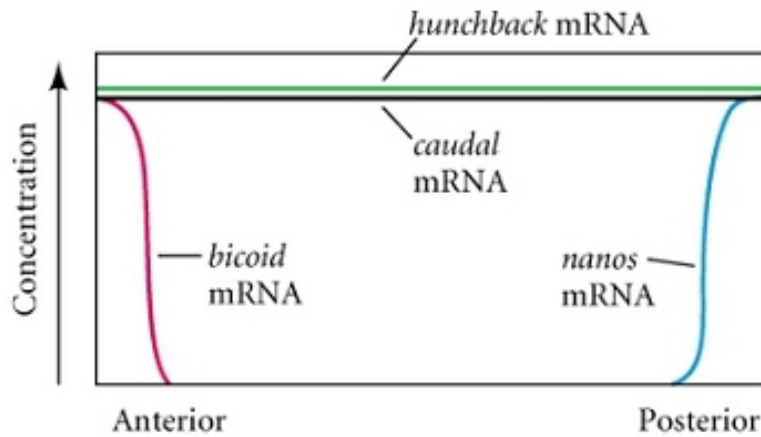
- Отвечает за формирование передних структур (мутанты имеют лишь задние структуры на обоих концах передне-задней оси).
- Белковый продукт образует градиент по передне-задней оси.

nanos

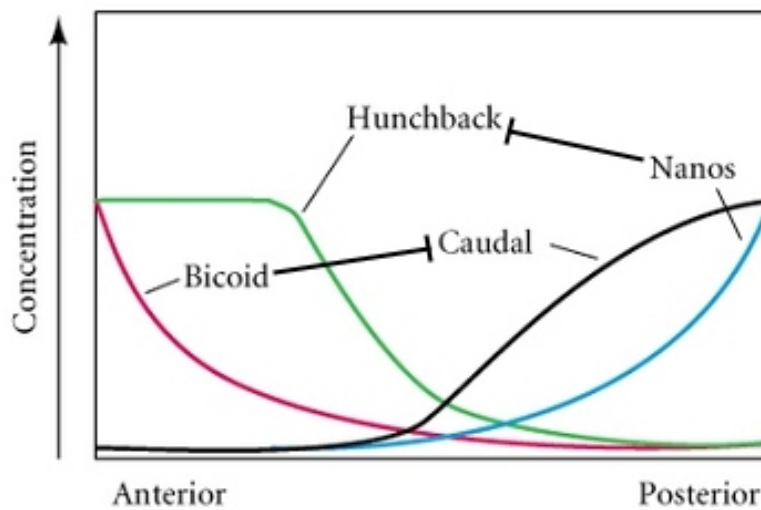
- Отвечает за формирования структур брюшка (мРНК запасается на заднем полюсе яйца).
- Белковый продукт также образует градиент по передне-задней оси.



Гены материнского эффекта: антерио-постериорная система



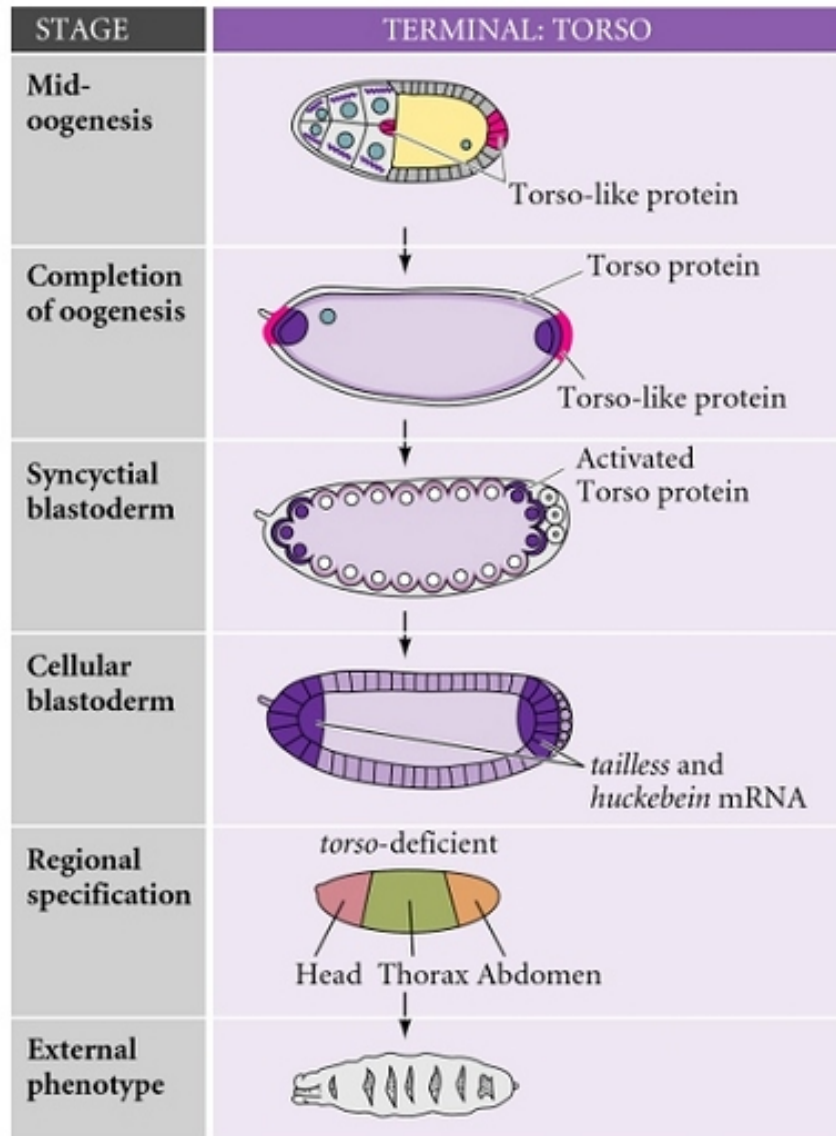
распределение мРНК вдоль антерио-постериорной оси *ОВОЦИТА*



распределение белков вдоль антерио-постериорной оси *ЭМБРИОНА* на ранних стадиях дробления



Гены материнского эффекта: терминальная система

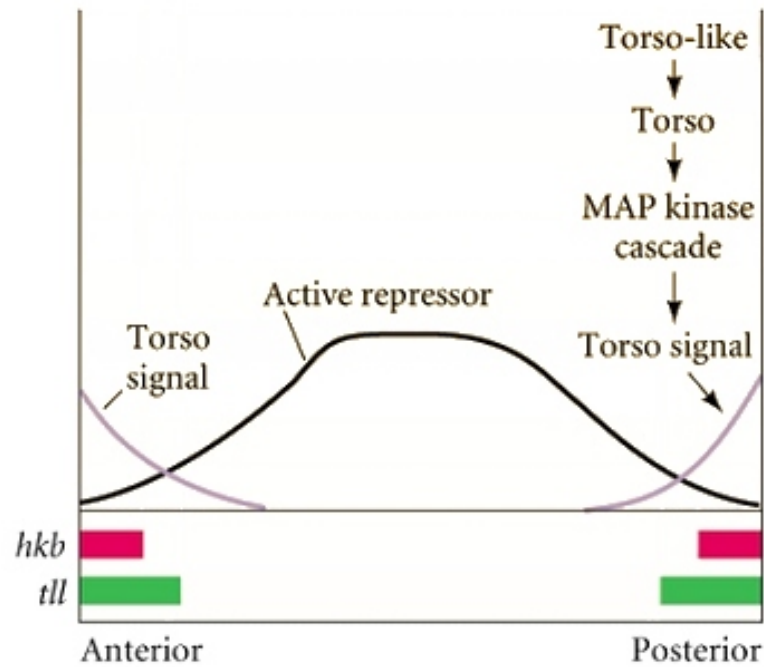


torso

- Транскрибируется и образует белковый продукт во время формирования яйца.
- Присутствует в яйце повсюду, но активен только на полюсах передне-задней оси.



Гены материнского эффекта: терминальная система



распределение активности
Torso-каскада вдоль
антерио-постериорной оси
ОВОЦИТА



Гены сегментации

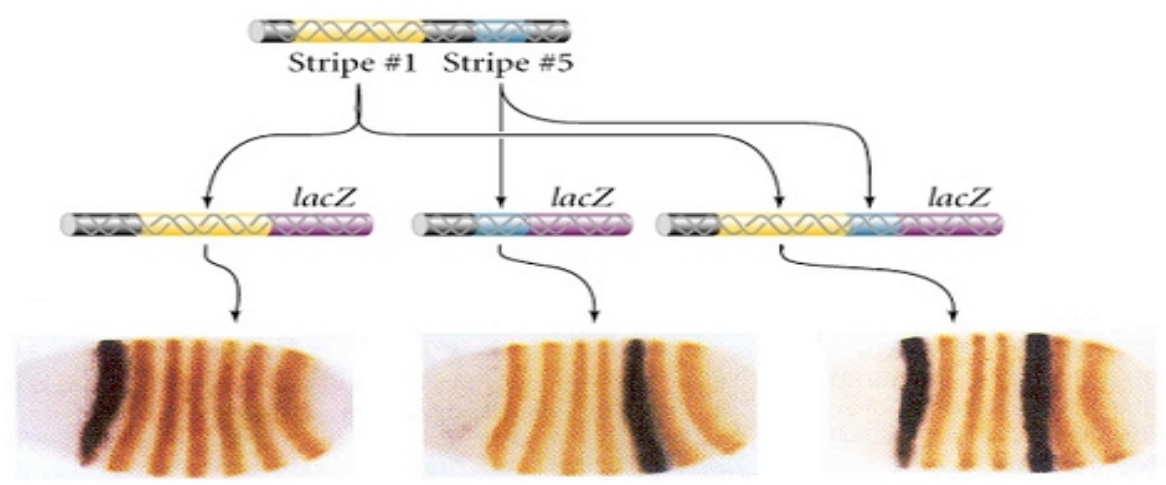


Ген	Нормальная личинка (цветом обозначены структуры отсутствующие или замененные у мутанта)	Мутантная личинка	Время начала экспрессии гена (номер деления)
-----	---	-------------------	--

Gap (<i>Krüppel</i>)			< 11
------------------------	--	--	------

Pair-rule (<i>even-skipped</i>)			11-12
-----------------------------------	--	--	-------

Segment polarity (<i>gooseberry</i>)			13
--	--	--	----

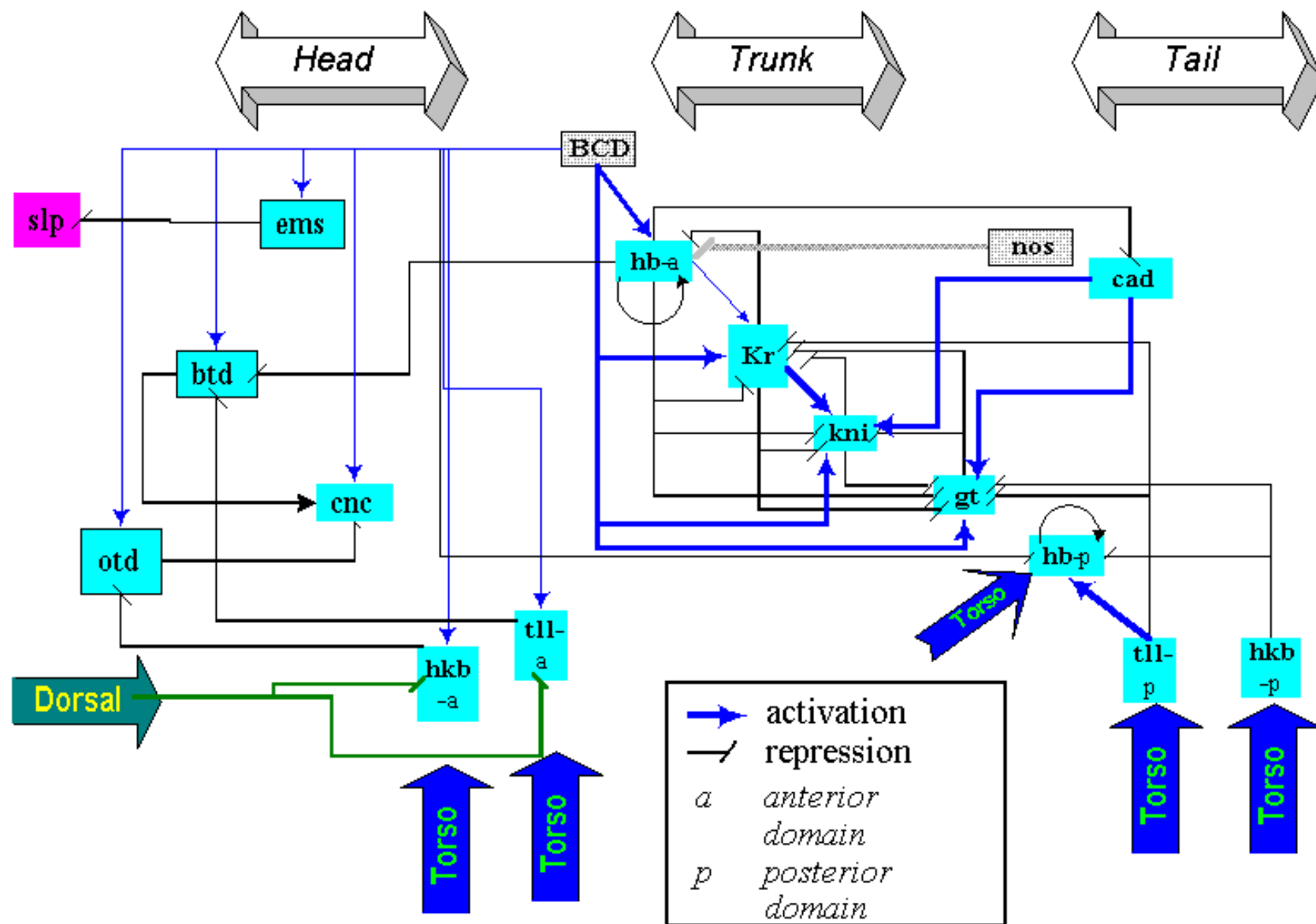


~25 генов разделяющихся на 3 группы:

1. Гар-гены – их мутации приводят к делециям сразу нескольких смежных сегментов.
2. Гены парного правила (pair-rule) - их мутации приводят к делециям каждого второго сегмента.
3. Гены сегментной полярности (segment polarity) – мутанты по этим генам характеризуются сегментами одна половина которых заменяется зеркальным отображением другой половины сегмента.

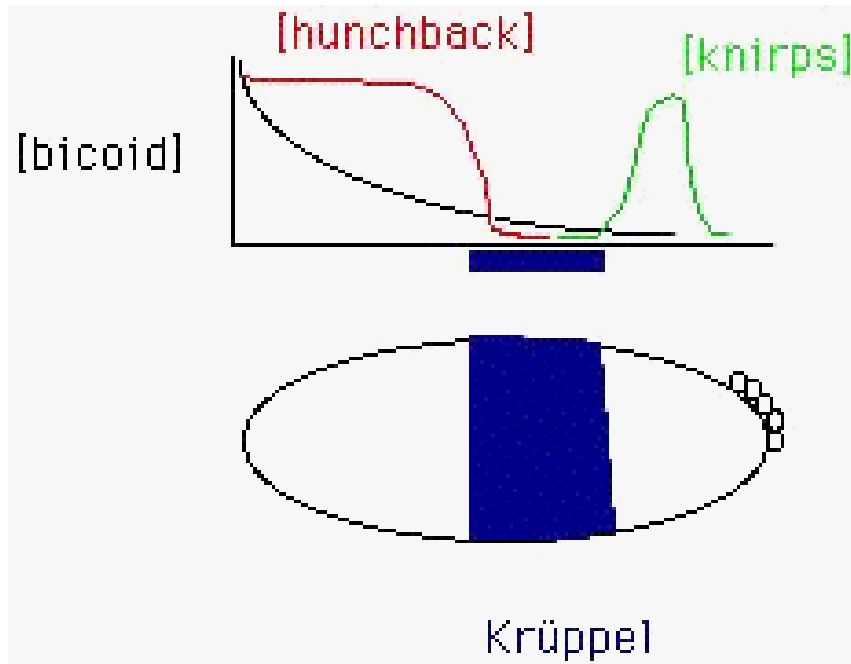


Генная сеть сегментации: иерархичность (Gap-гены)





Особенности регуляции в генной сети сегментации: иерархичность (Gap-гены)

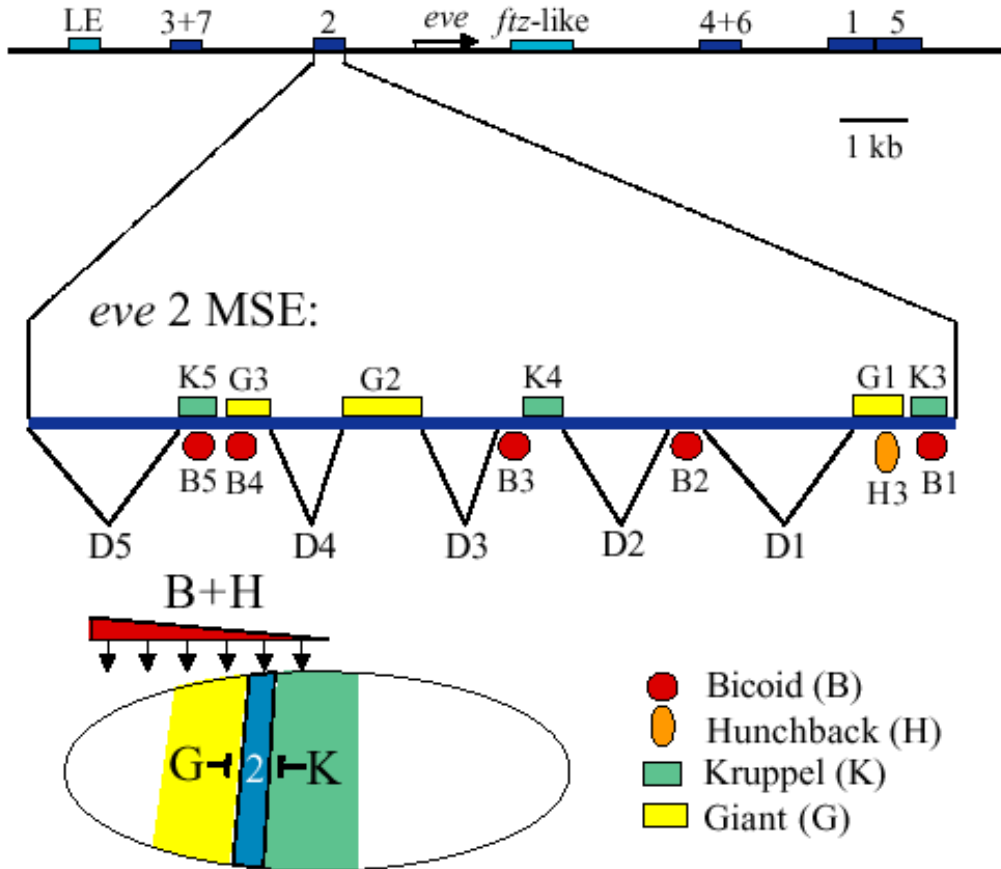


Регуляция паттерна экспрессии гена *Krüppel* осуществляется на уровне транскрипции в общей цитоплазме яйца (до формирования клеток):

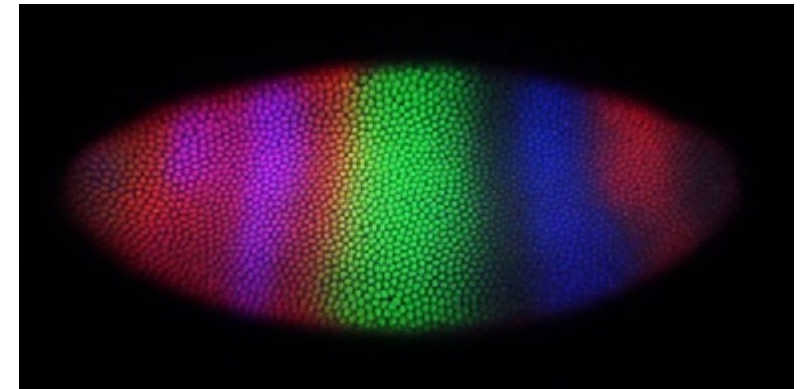
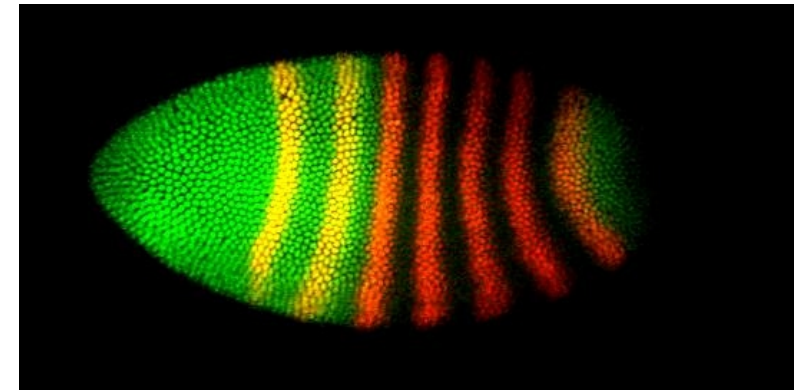
- *bicoid* активирет *Krüppel*;
- *hunchback* активирет *Krüppel* при низких концентрациях и репрессирует *Krüppel* при высоких концентрациях
- *knirps* репрессирует *Krüppel*



Особенности регуляции в генной сети сегментации: блочность и иерархичность (гены парного правила)



Hunchback, Even-skipped

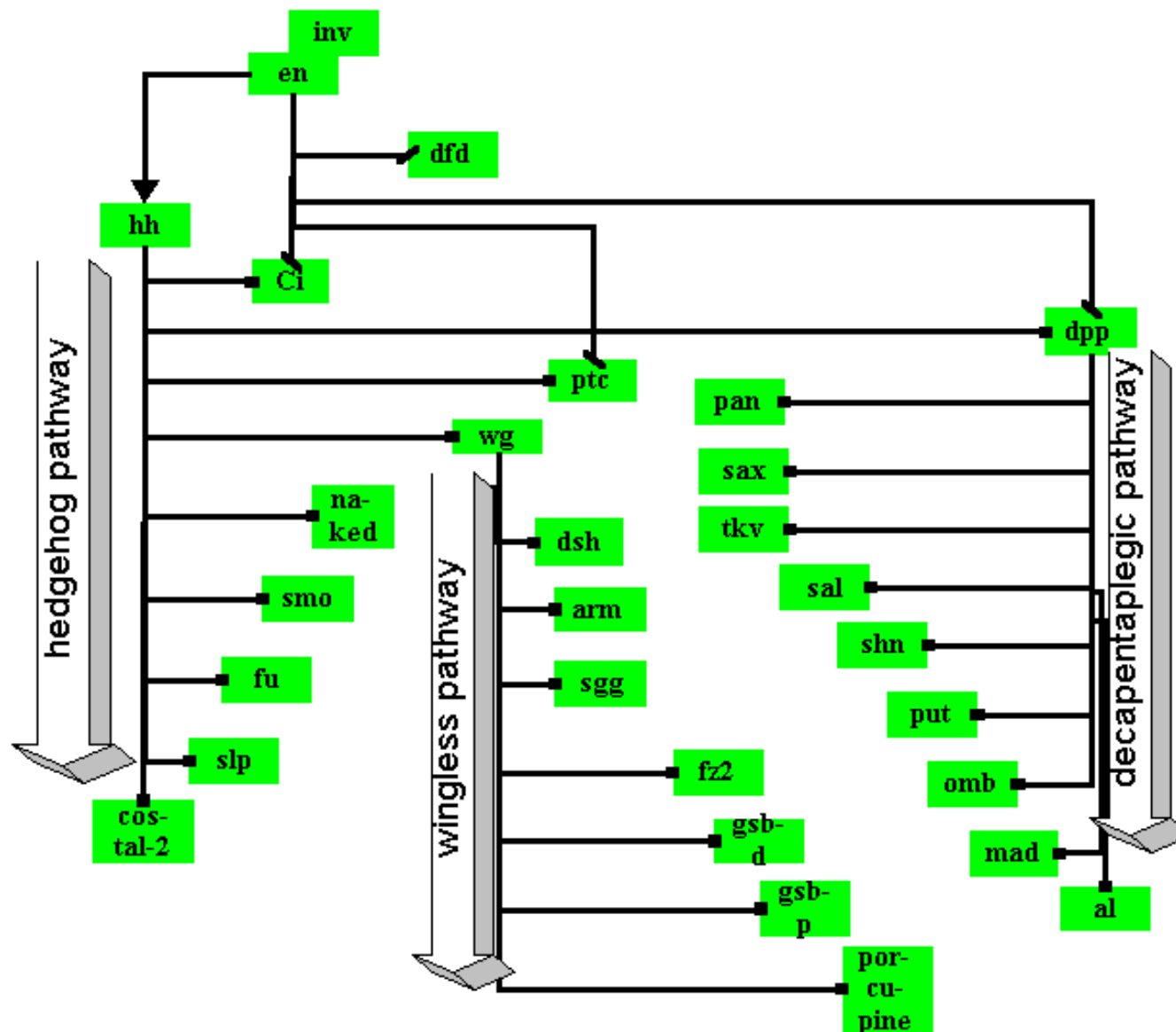


Hunchback, Krüppel, Giant

Регуляция паттерна экспрессии гена *Even-skipped* осуществляется на уровне транскрипции также в общей цитоплазме яйца (до формирования клеток)



Генная сеть сегментации: большая роль сигнальных каскадов (гены сегментной полярности)





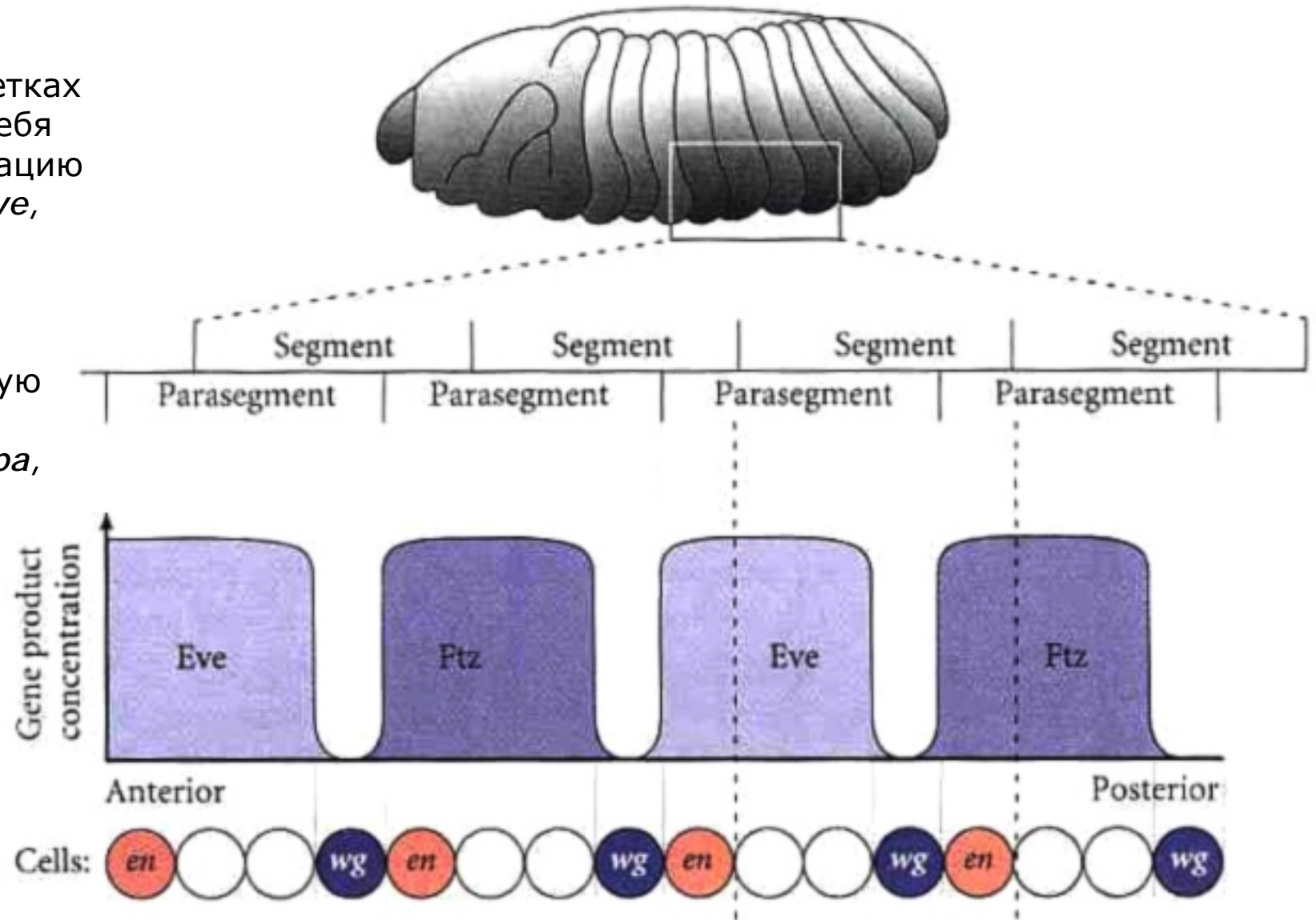
Особенности регуляции в генной сети сегментации: большая роль сигнальных каскадов (гены сегментной полярности)



Ген *en*:

активируется в клетках имеющих внутри себя высокую концентрацию продуктов генов *eve*, *ftz*, *prd*

репрессирован в клетках имеющих внутри себя высокую концентрацию продуктов генов *opa*, *odd*, *slp*

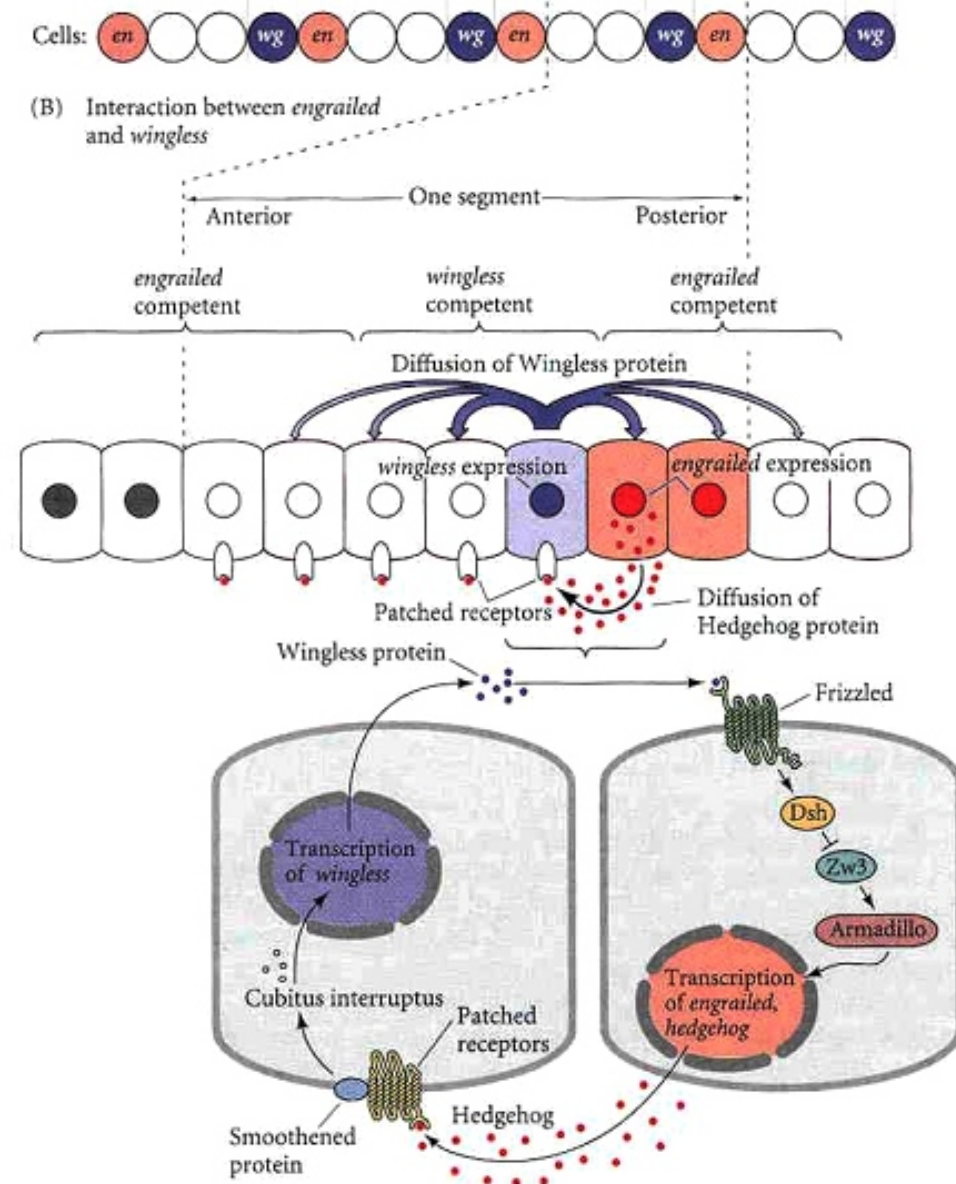




Особенности регуляции в генной сети сегментации: большая роль сигнальных каскадов (гены сегментной полярности)

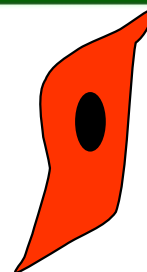
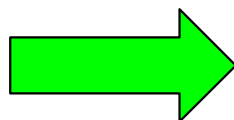
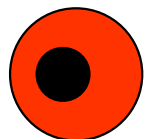
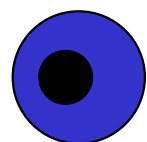


Наследование паттернов экспрессии генов за счет установления контуров положительных обратных связей на уровне межклеточных взаимодействий.

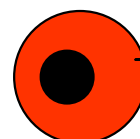
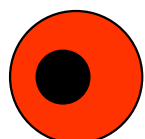




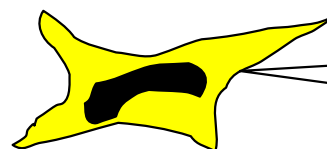
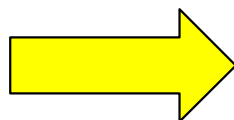
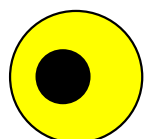
Общие характеристики регуляции в генных сетях развития многоклеточных структур: инструктивные межклеточные взаимодействия



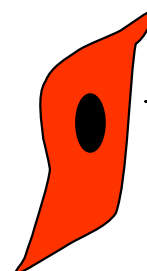
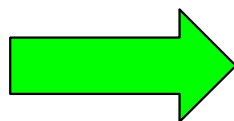
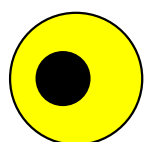
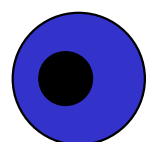
В присутствии клеток А, клетки В специфическим образом дифференцируются



Но в отсутствии клеток А этого не наблюдается



Клетки С специфически дифференцируются



Но клетки А могут индуцировать аналогичную дифференцировку кл. В

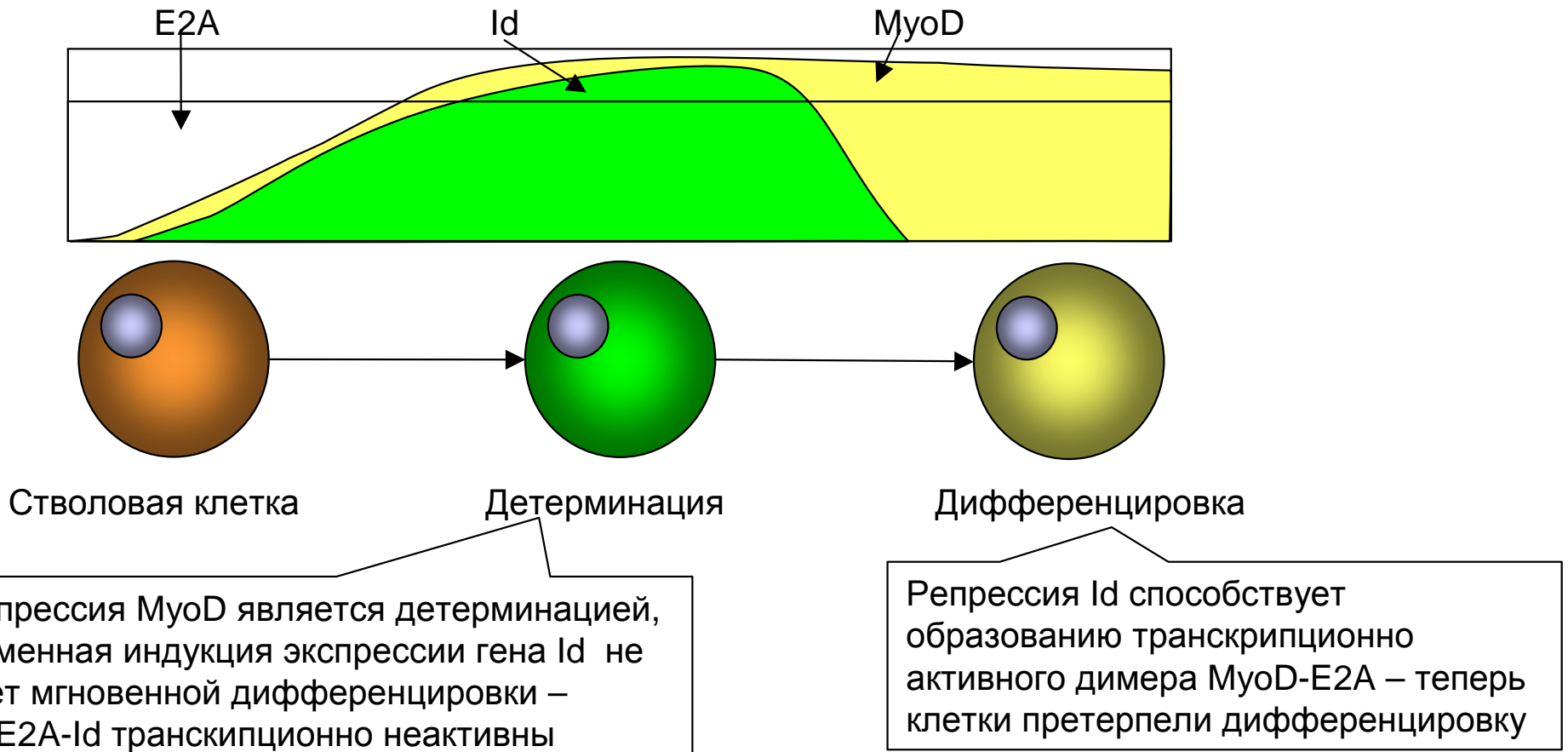


Общие характеристики регуляции в генных сетях развития многоклеточных структур: дифференцировка и детерминация



Детерминация – наследуемые (в клеточной терминологии) изменения
Дифференцировка – экспрессия ранее детерминированного фенотипа

Дифференцировка проходит **гораздо позднее** детерминации

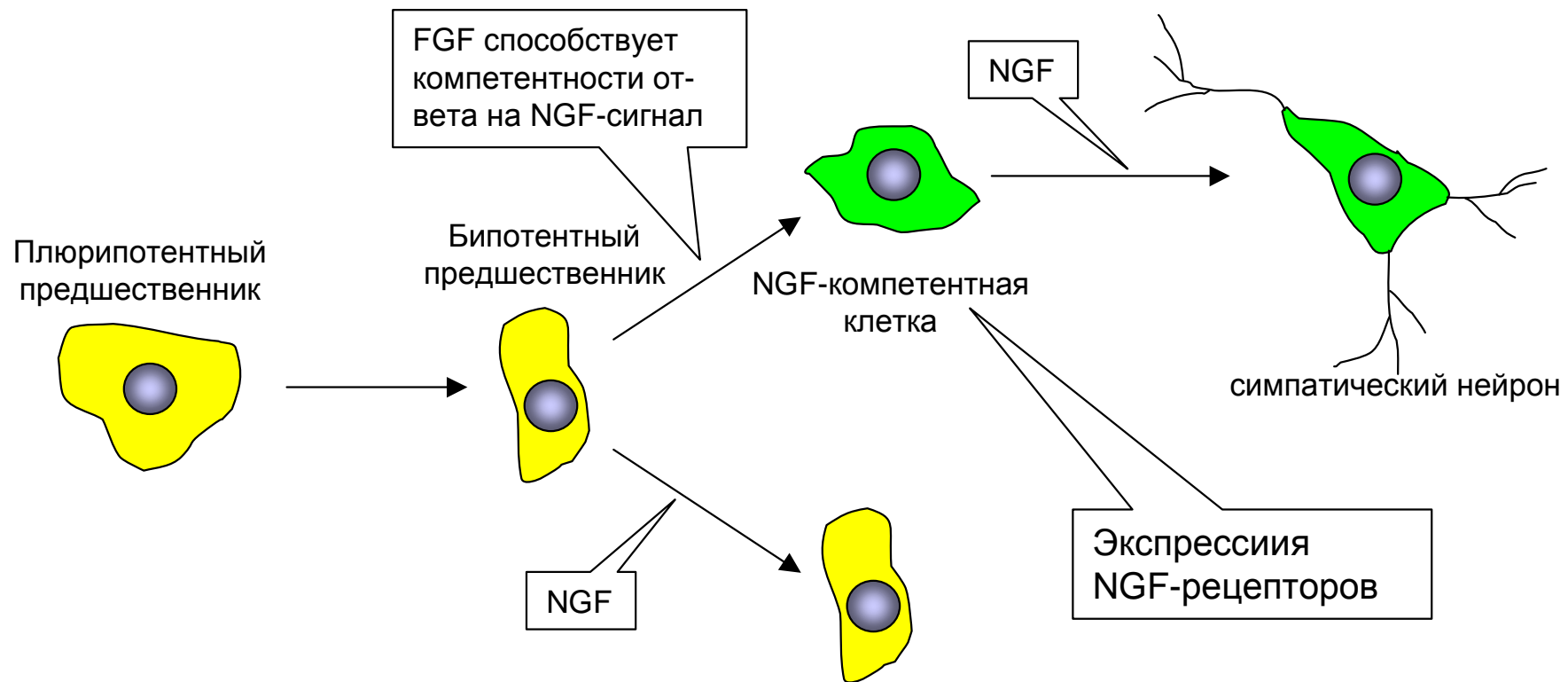




Общие характеристики регуляции в генных сетях развития многоклеточных структур: компетентность

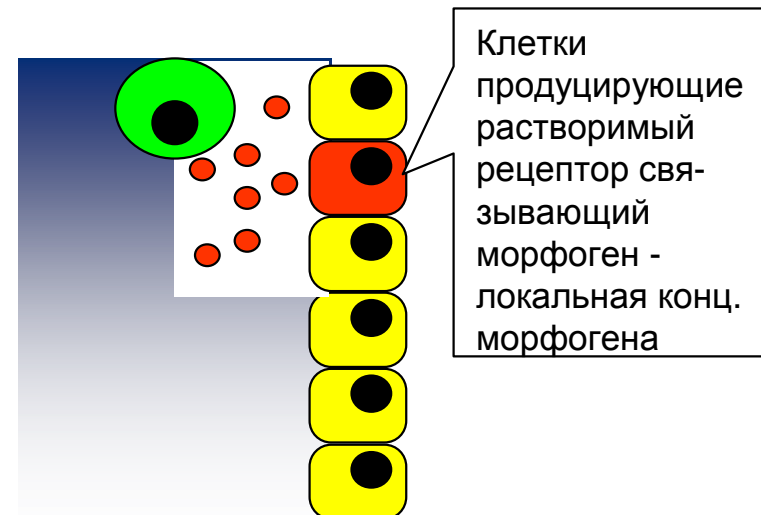
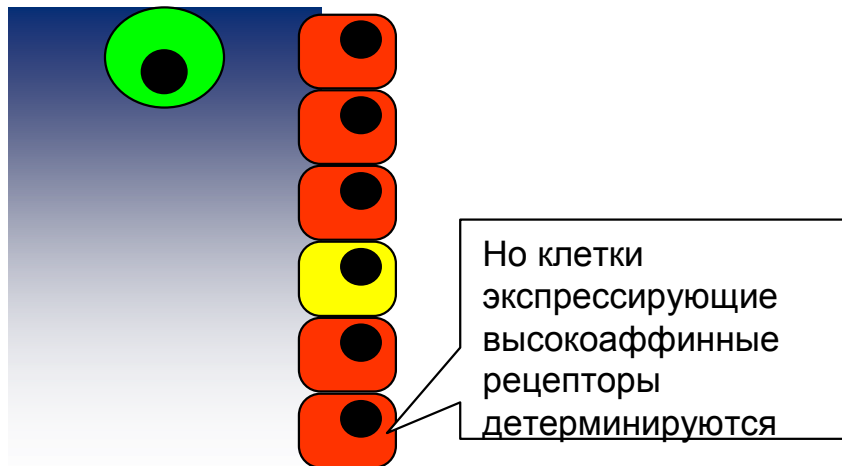
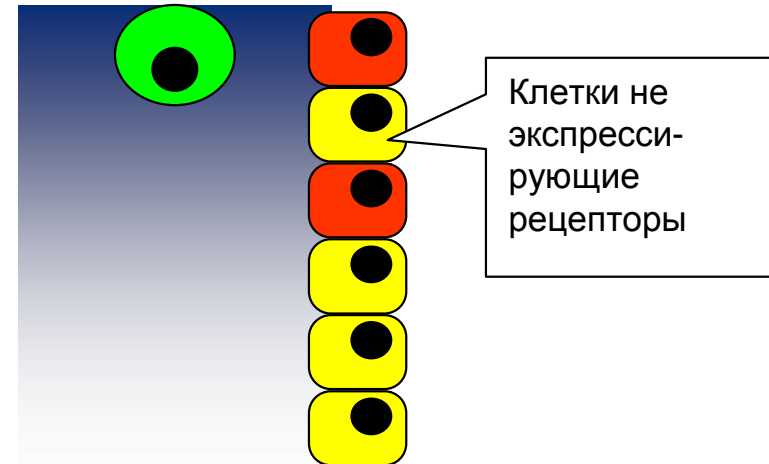
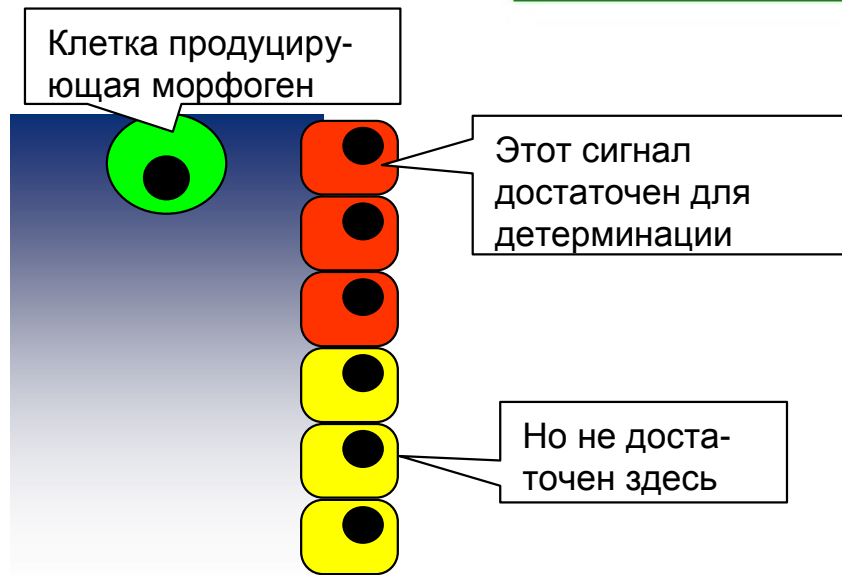


Компетентность – способность определенной группы клеток отвечать на специфический индуктивный сигнал



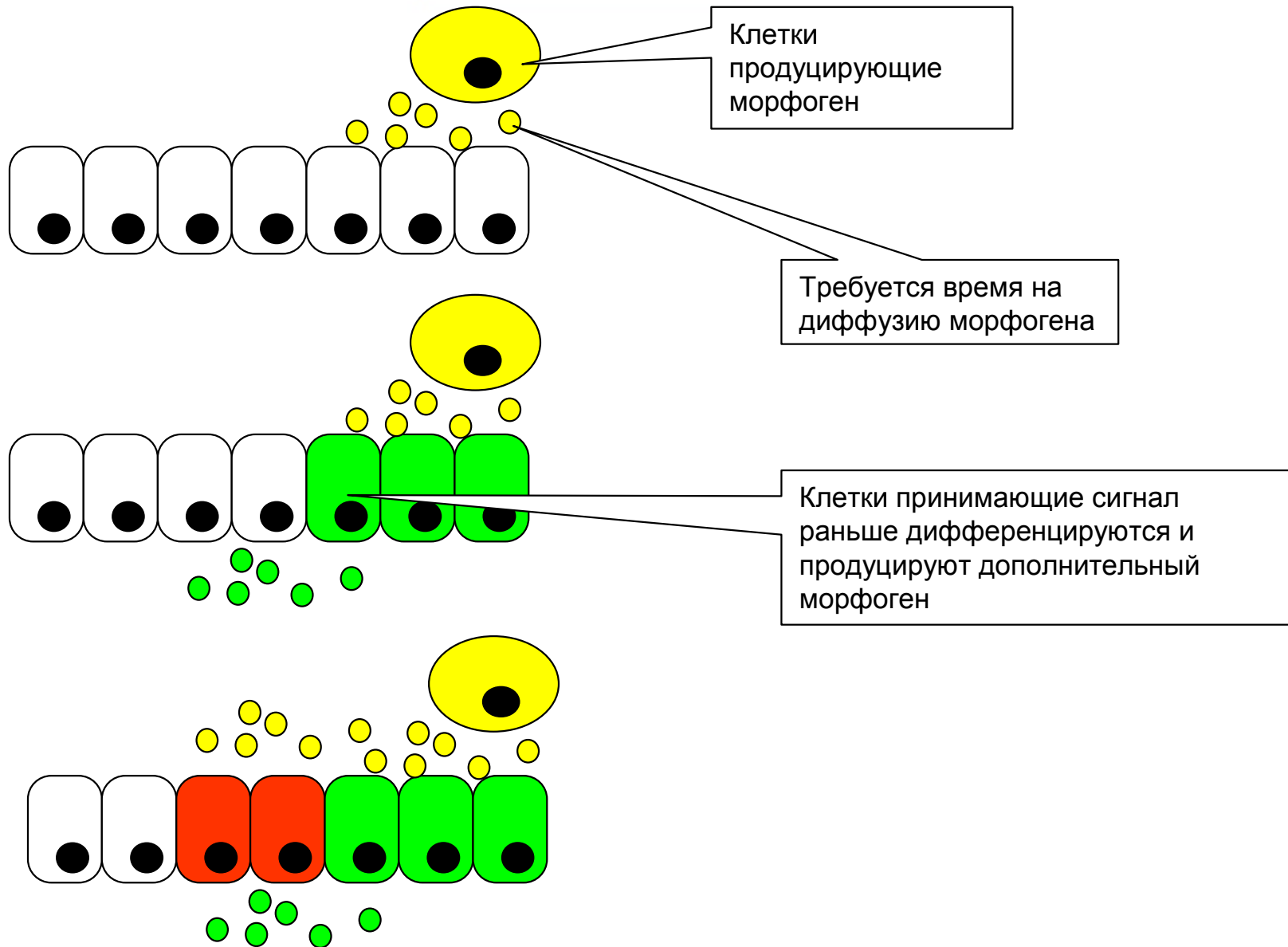


Общие характеристики регуляции в генных сетях развития многоклеточных структур: градиенты морфогенов (сигнальные градиенты)



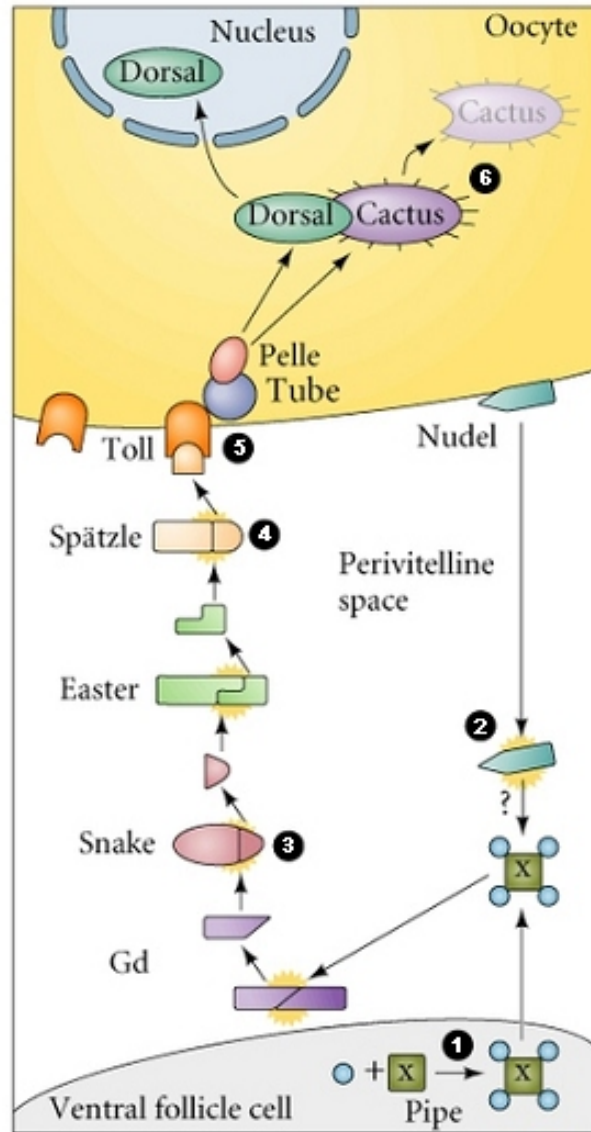


Общие характеристики регуляции в генных сетях развития многоклеточных структур: ответ клетки на морфоген





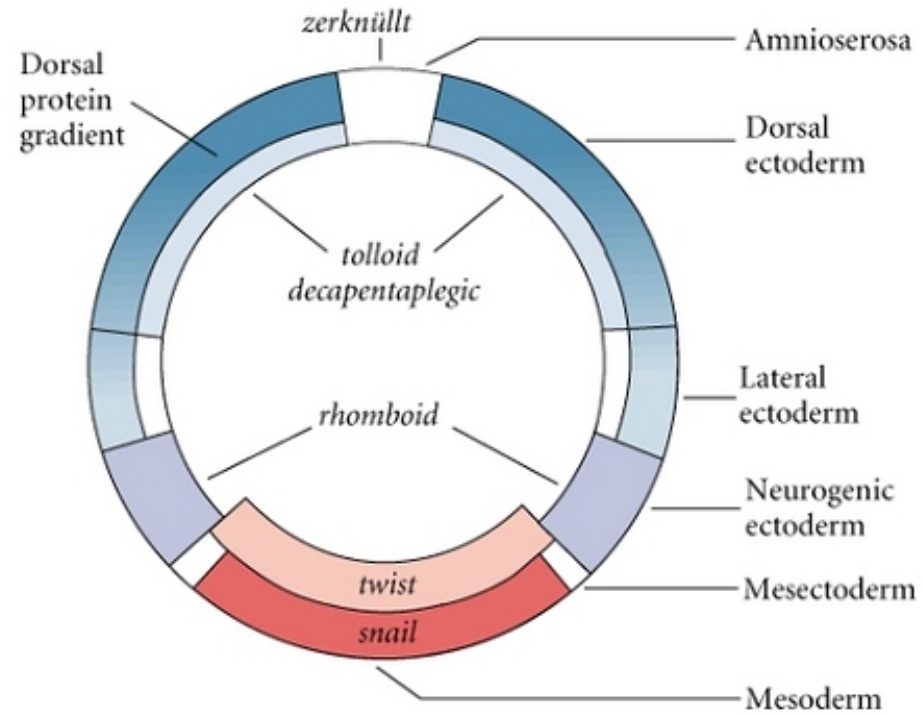
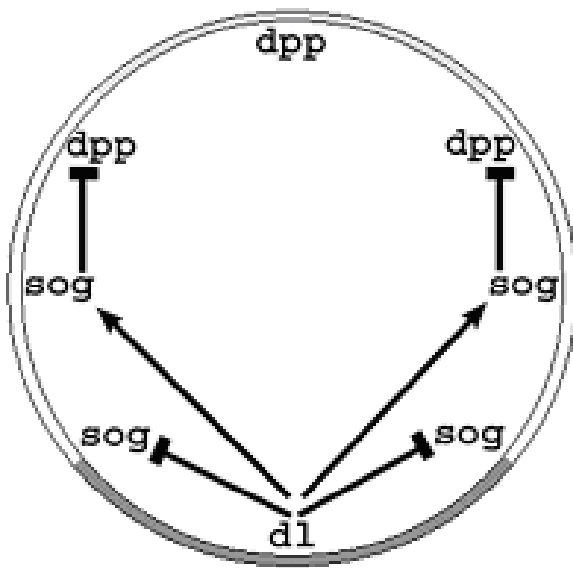
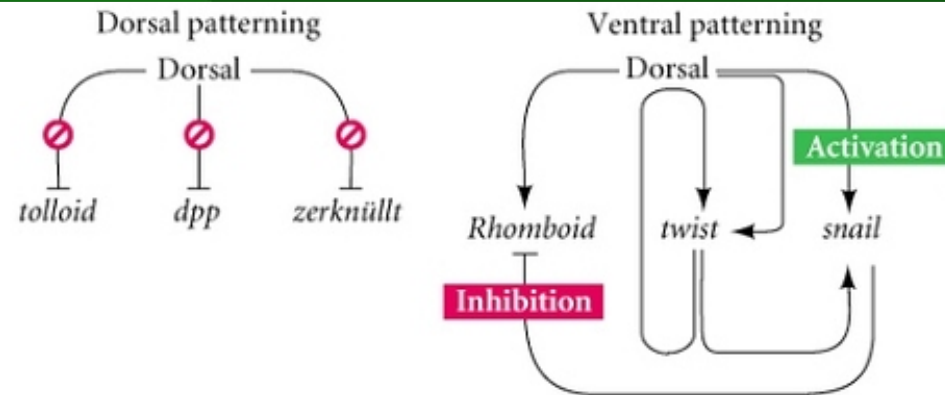
Установление дорсо-вентральной полярности тела



1. Pipe модифицирует X
2. Nudel и X активируют Gd
3. Gd активирует Snake, который в свою очередь активирует Easter
4. Easter активирует Spätzle, который связывается с Toll
5. Toll активирует Tube и Pelle для фосфорилирования Cactus
6. Cactus деградирует и Dorsal проникает внутрь ядра

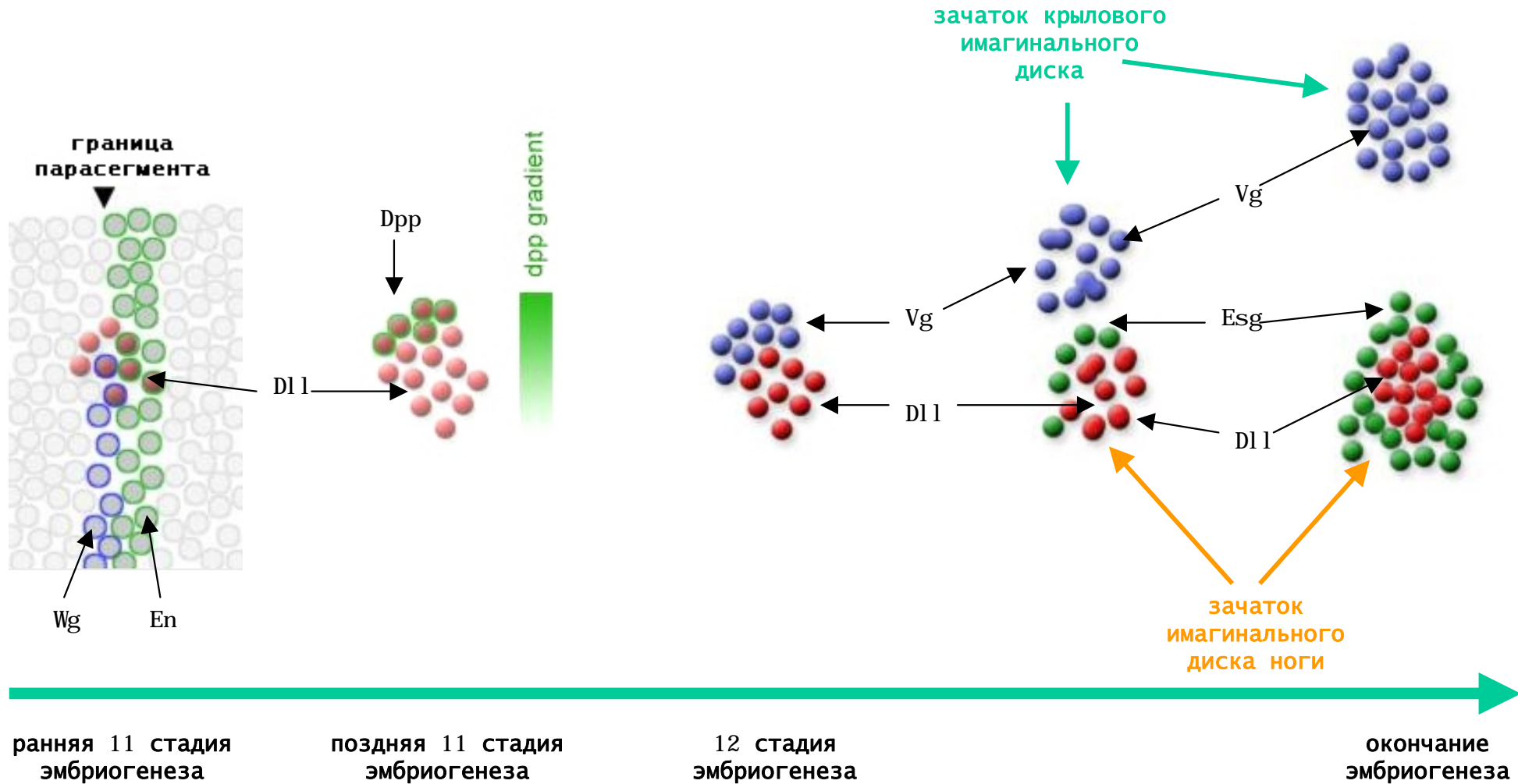


Установление дорсо-вентральной полярности тела: распределение в пространстве, роль межклеточных взаимодействий



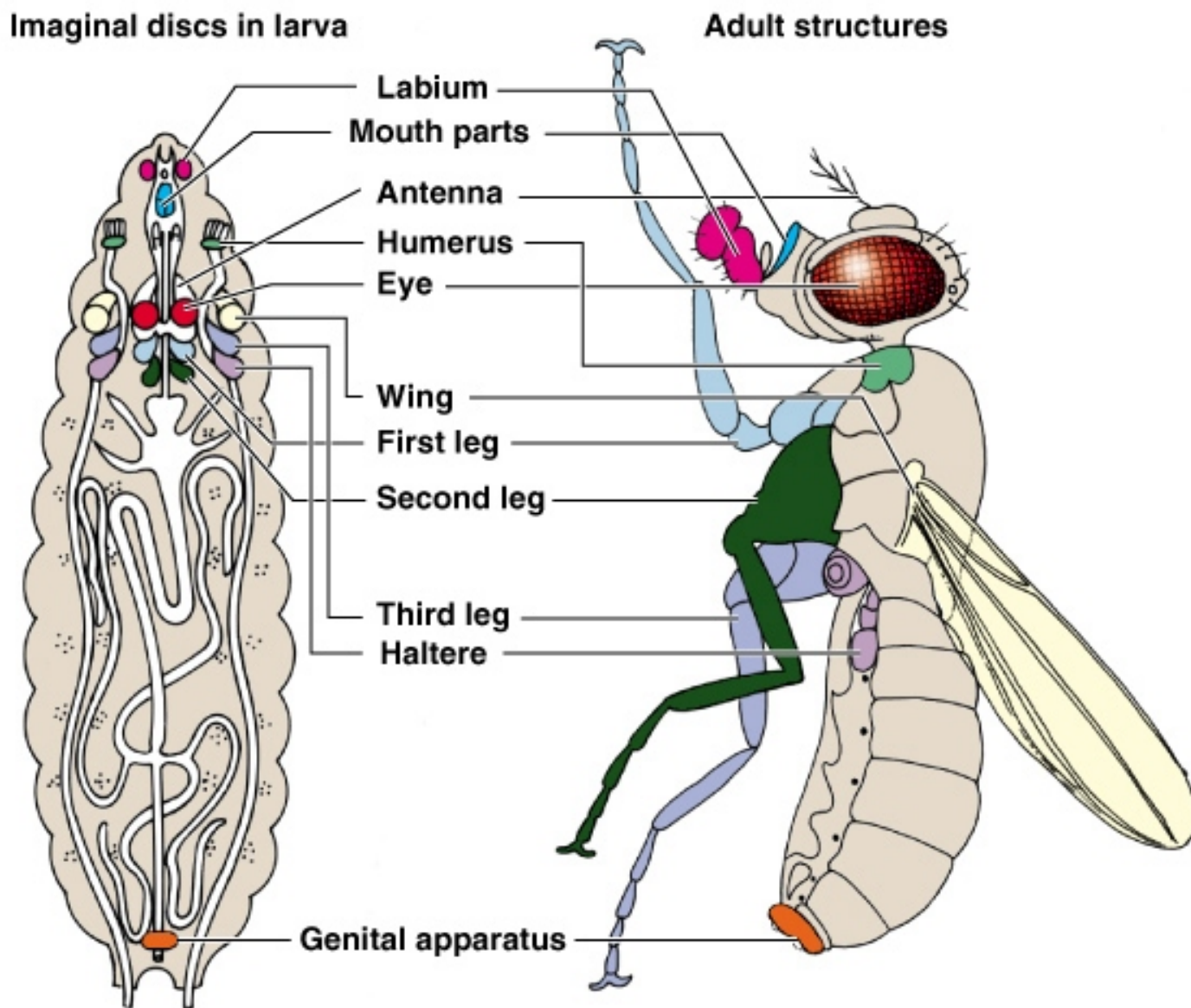


Образование имагинальных дисков





Преобразование имагинальных дисков в структуры взрослого насекомого





Ключевые каскады передачи сигналов



Удивительно мало ключевых паракринных путей передачи сигналов принимающих участие в морфогенезе большинства тканей

Высоко консервативные пути передачи сигналов в развитии крыловой пластинки:

1. Hh-каскад (Shh);
2. Dpp-каскад (TGF β);
3. Wg-каскад (Wnt);
4. Notch-каскад;
5. EGFR-каскад.

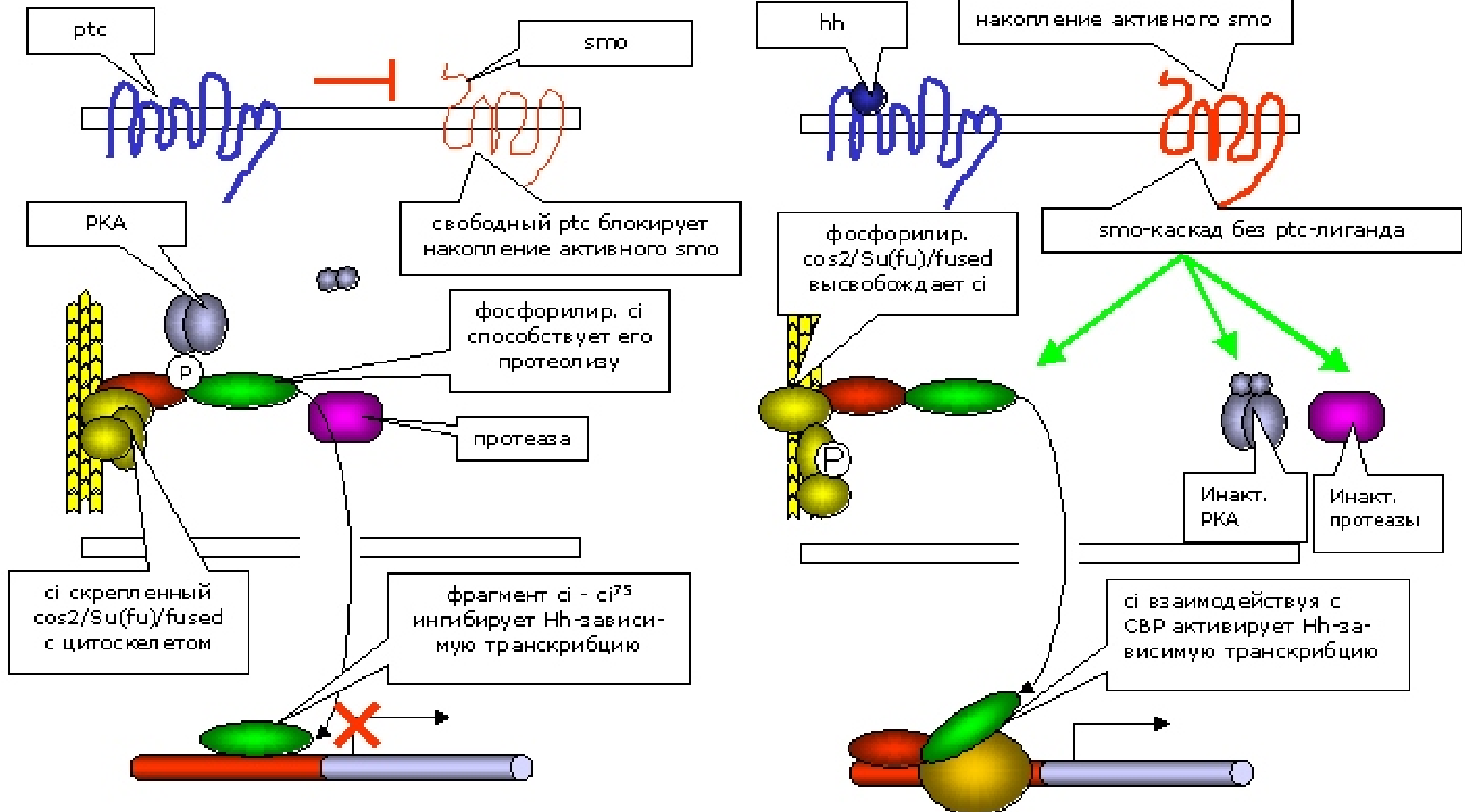


Hedgehog-каскад



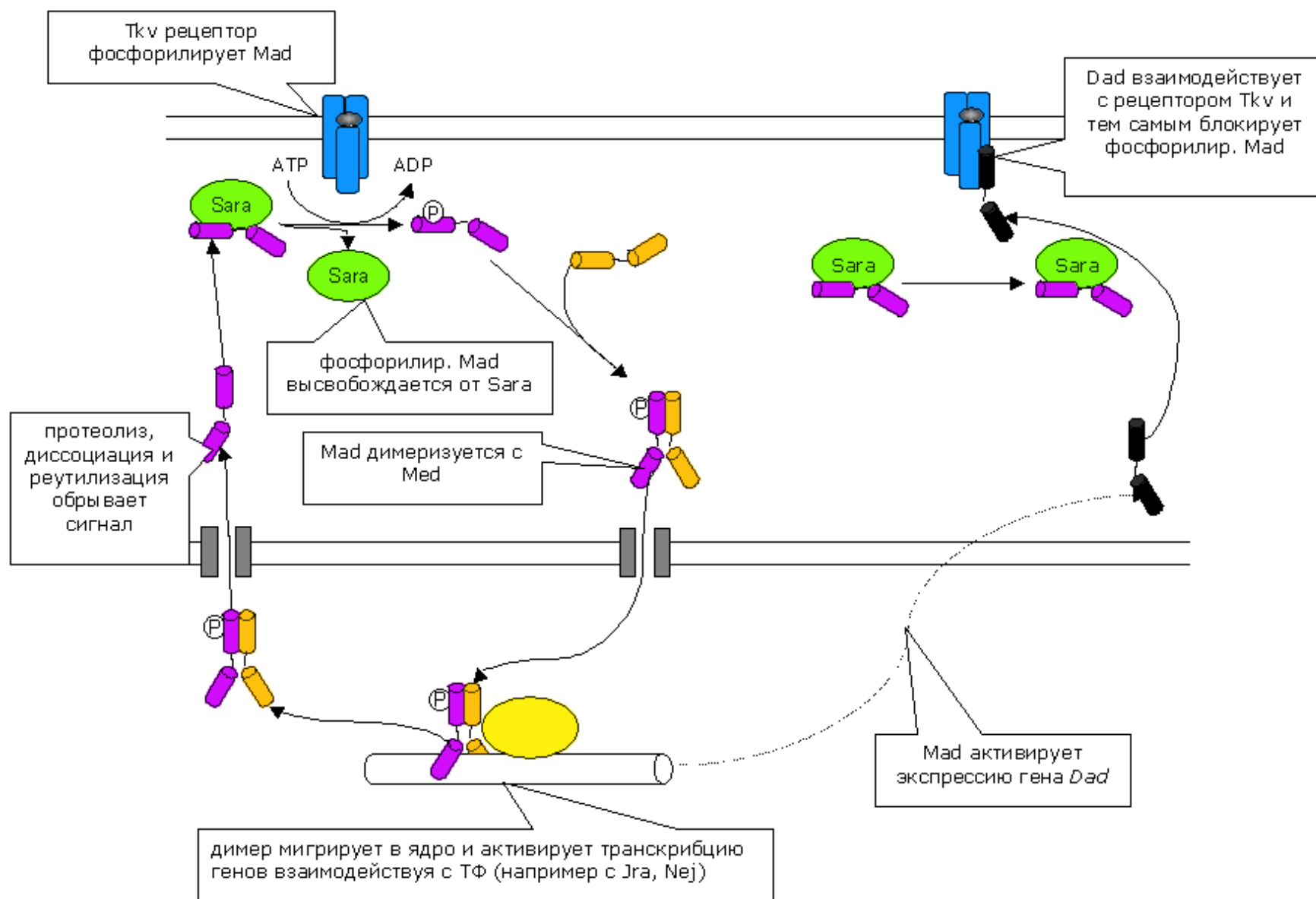
При отсутствии Hh

При наличии Hedgehog



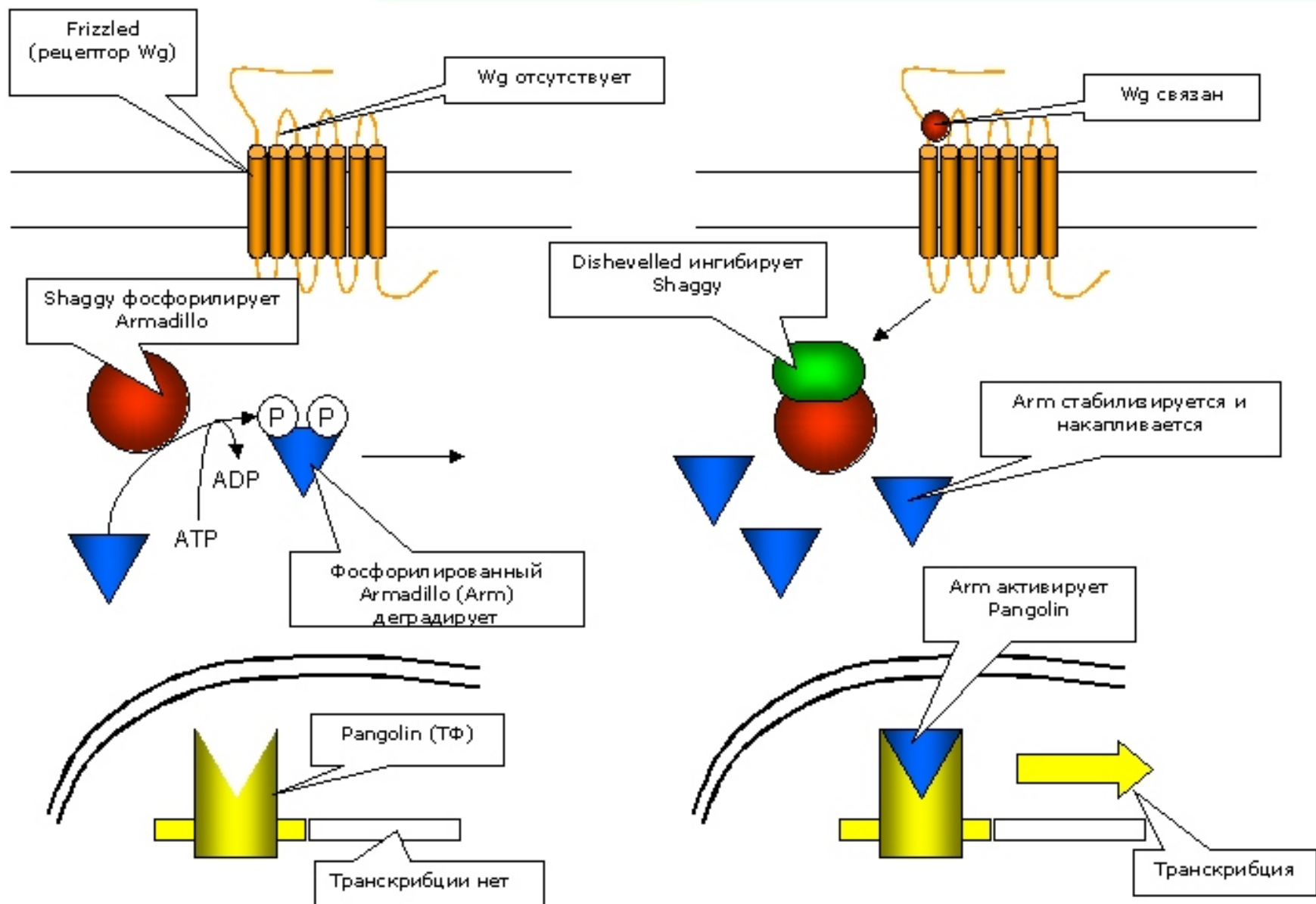


Decapentaplegic-каскад



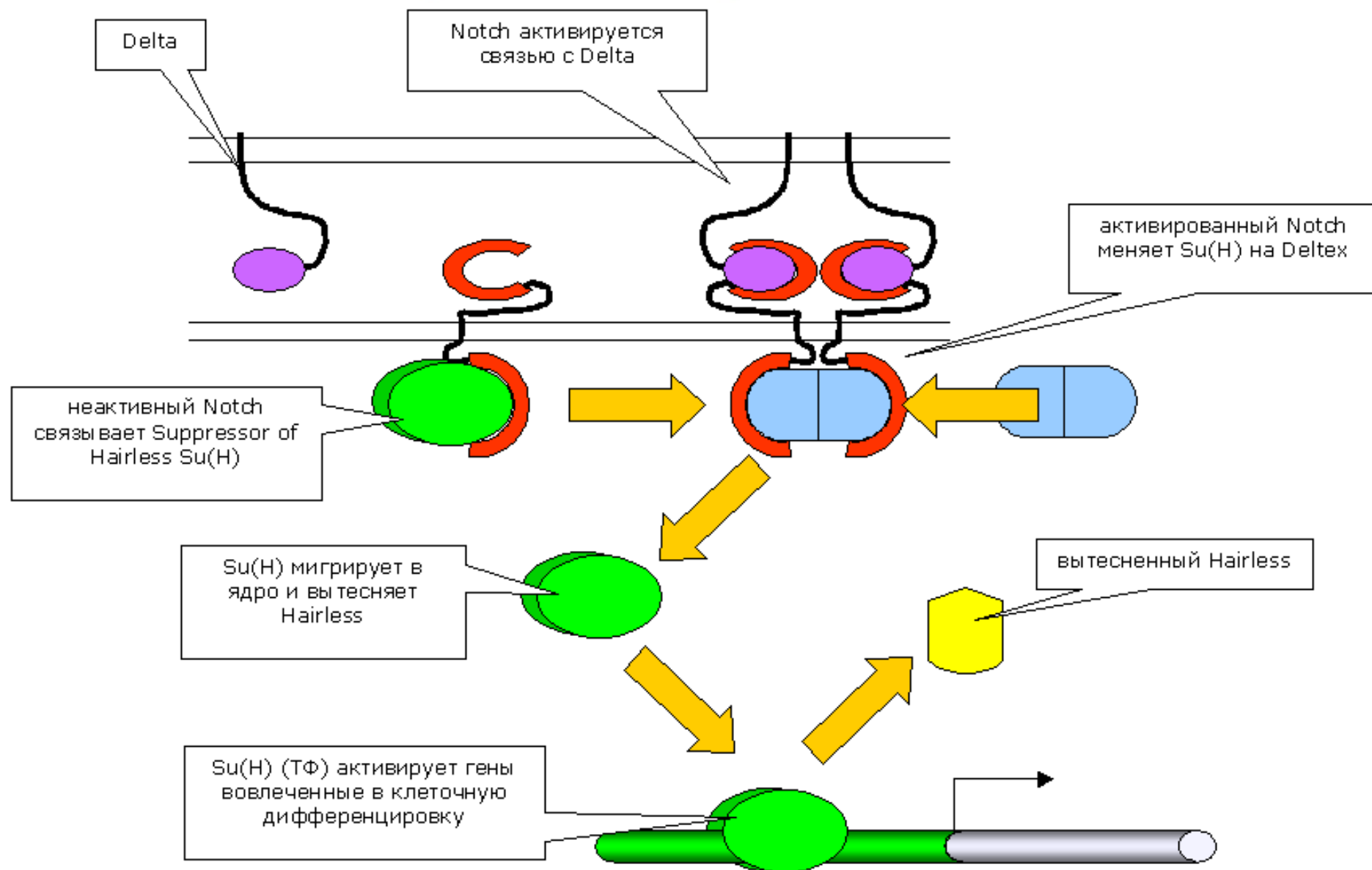


Wingless-каскад



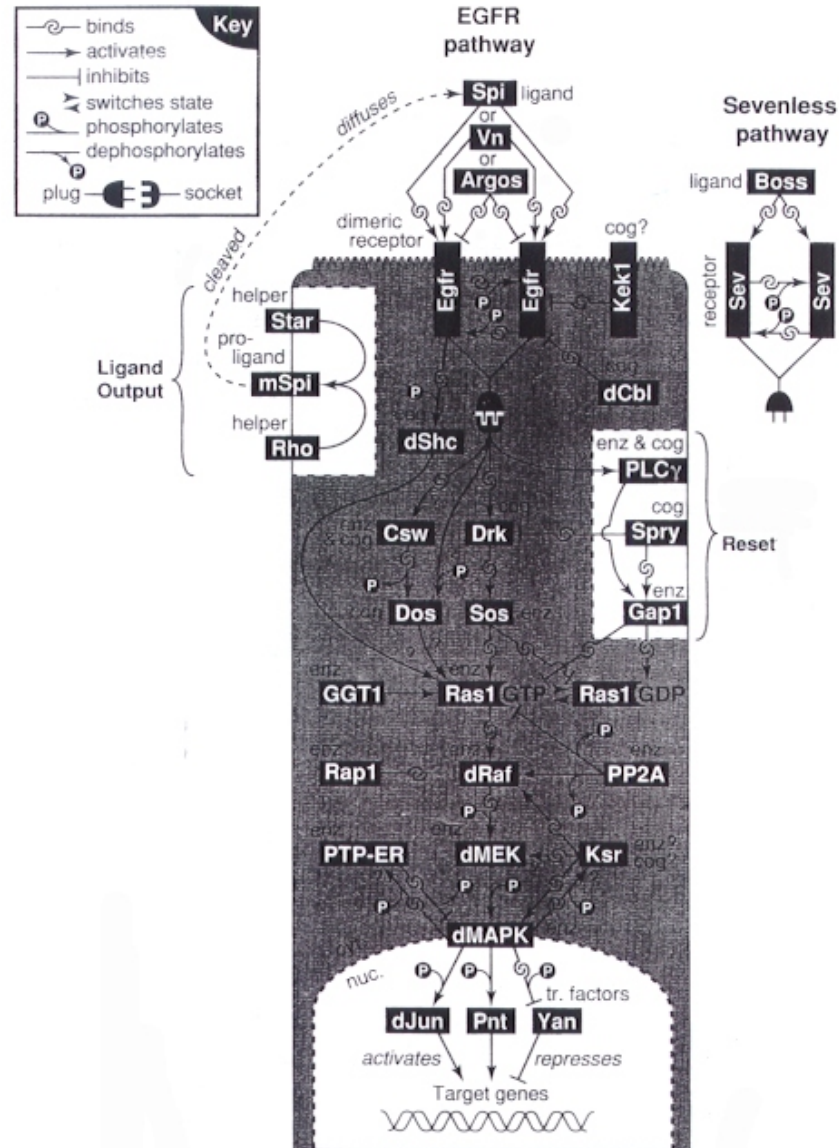


Notch-каскад



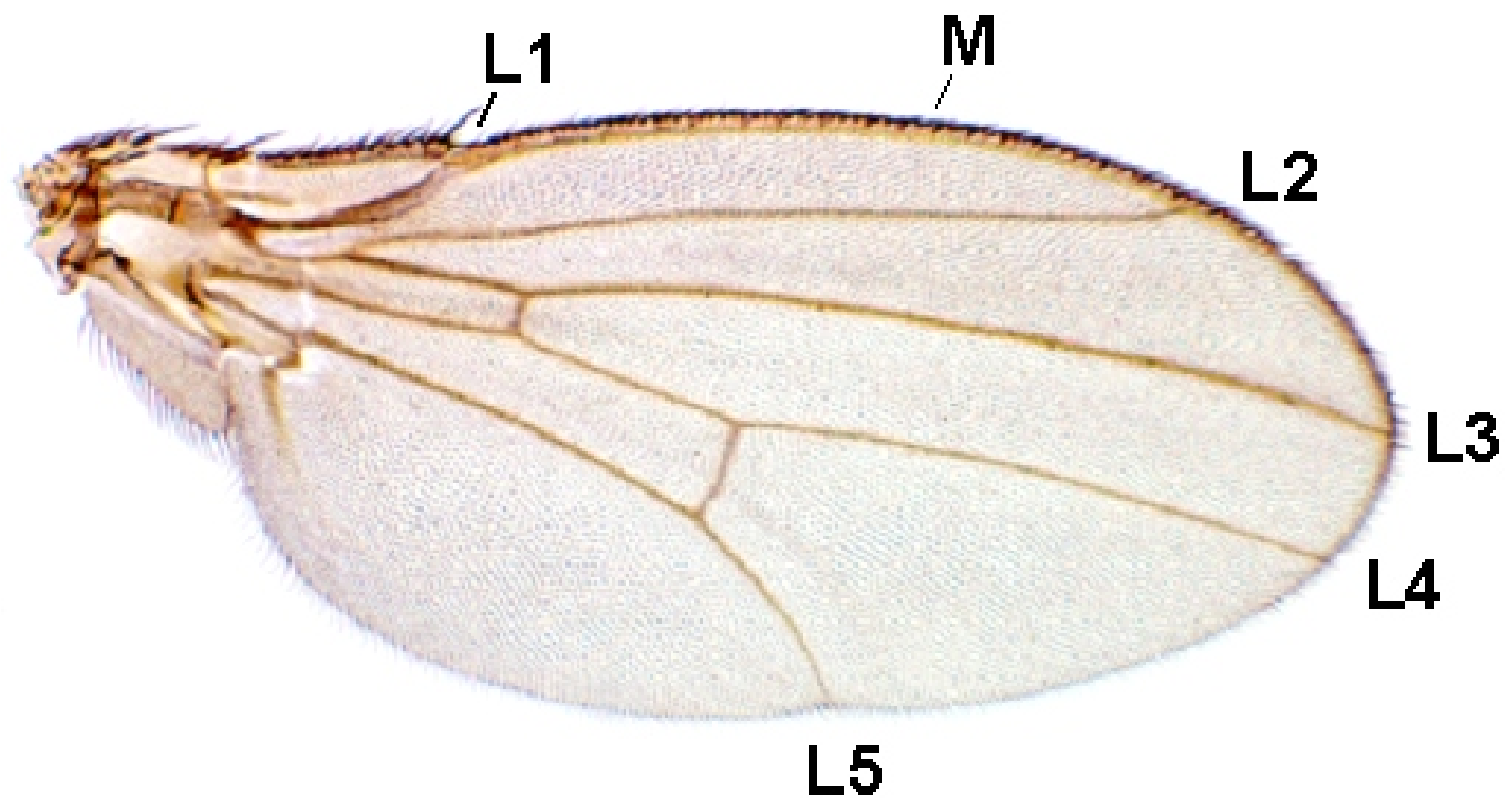


EGFR-каскад





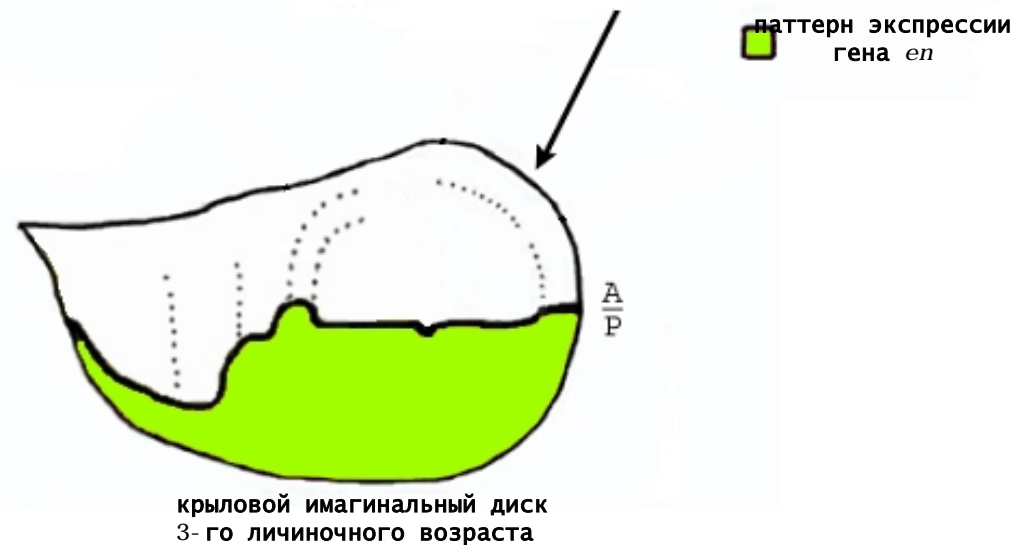
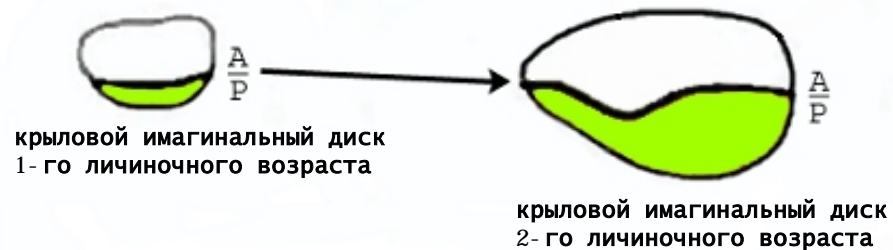
Морфогенез крыла



Наследование крыловым имагинальным диском экспрессии гена *en* паттерн экспрессии которого детерминируется на ранних этапах эмбриогенеза



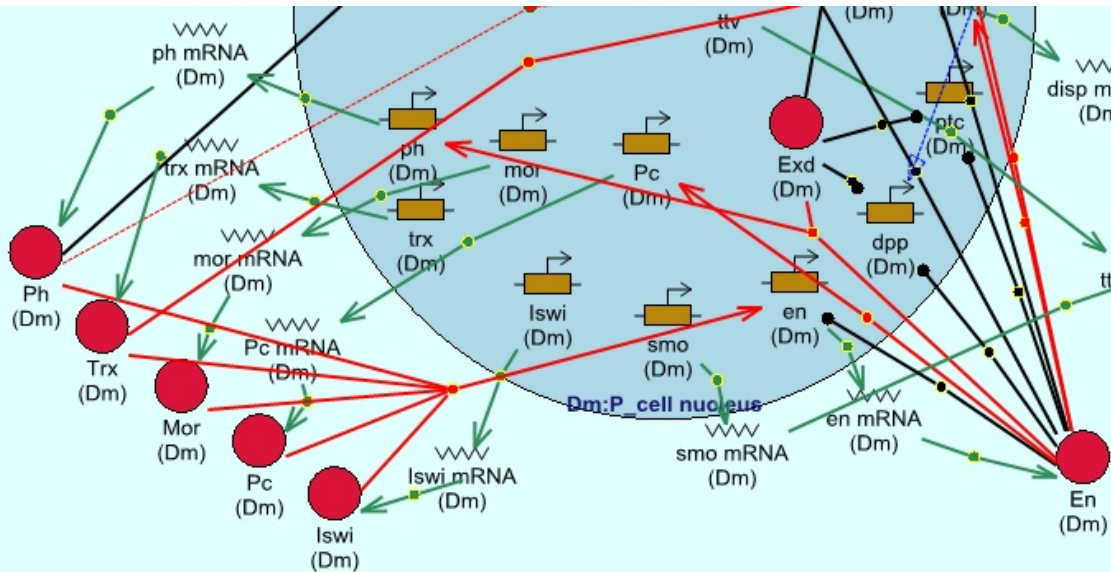
Обозначения: Ant. (A) –
антериорная часть; Post.
(P) – постериорная часть;
bcd – *bi coid*; *hb* –
hunchback; *eve* – *even
skipped*; *en* – *engrailed*.



Sturtevant M. A., Bier E. Analysis of the genetic hierarchy guiding wing vein development in *Drosophila*. *Development*. 1995. Vol. 121. P. 785-801.

Sturtevant M. A., Biels B., Marin E., Bier E. The spalt gene links the A/P compartment boundary to a linear adult structure in the *Drosophila* wing. *Development*. 1997. Vol. 124. P. 21-32.

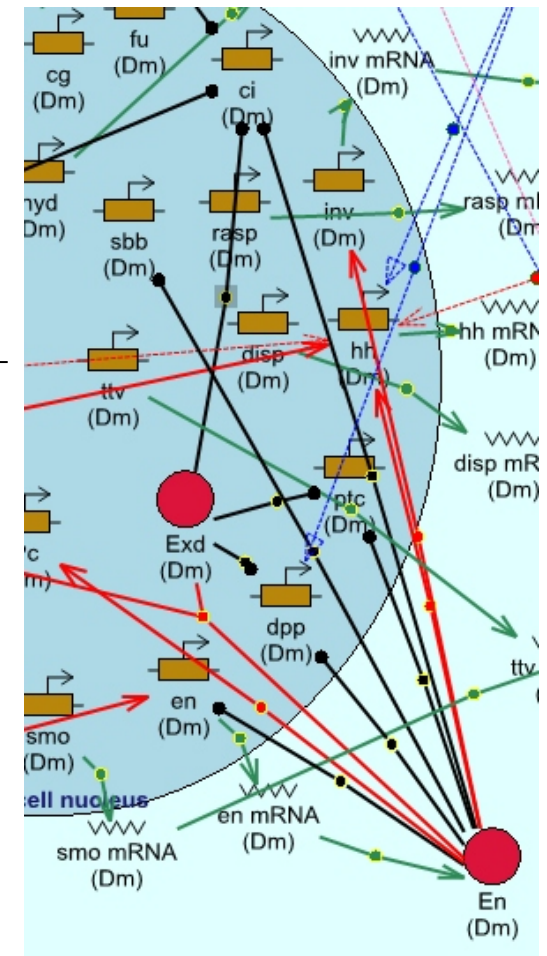
Фрагменты генной сети формирования антериопостериорной границы крыла: постериорный компартмент



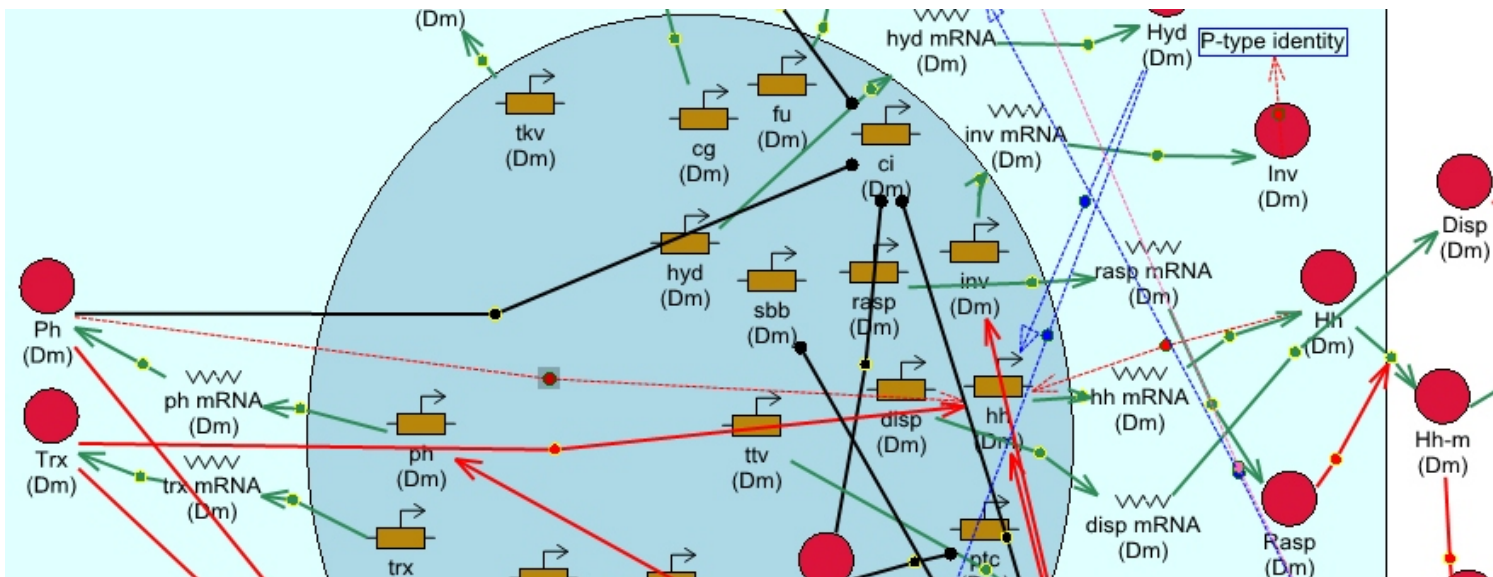
Поддержание экспрессии селекторного гена *en*: участие белков ремоделинга хроматина (Pc, trx, Ph) в установлении контура положительной обратной связи поддержания экспрессии *en*.

Спецификация клеток постериорного компартмента за счет активации белком *Inv* процессов клеточной дифференцировки (экспрессия гена *inv* активируется белком *En*).

Поддержание экспрессии гена *hh* за счет установления контура положительной обратной связи при помощи белков ремоделинга хроматина и косвенной автоактивации экспрессии белком *Hh*.

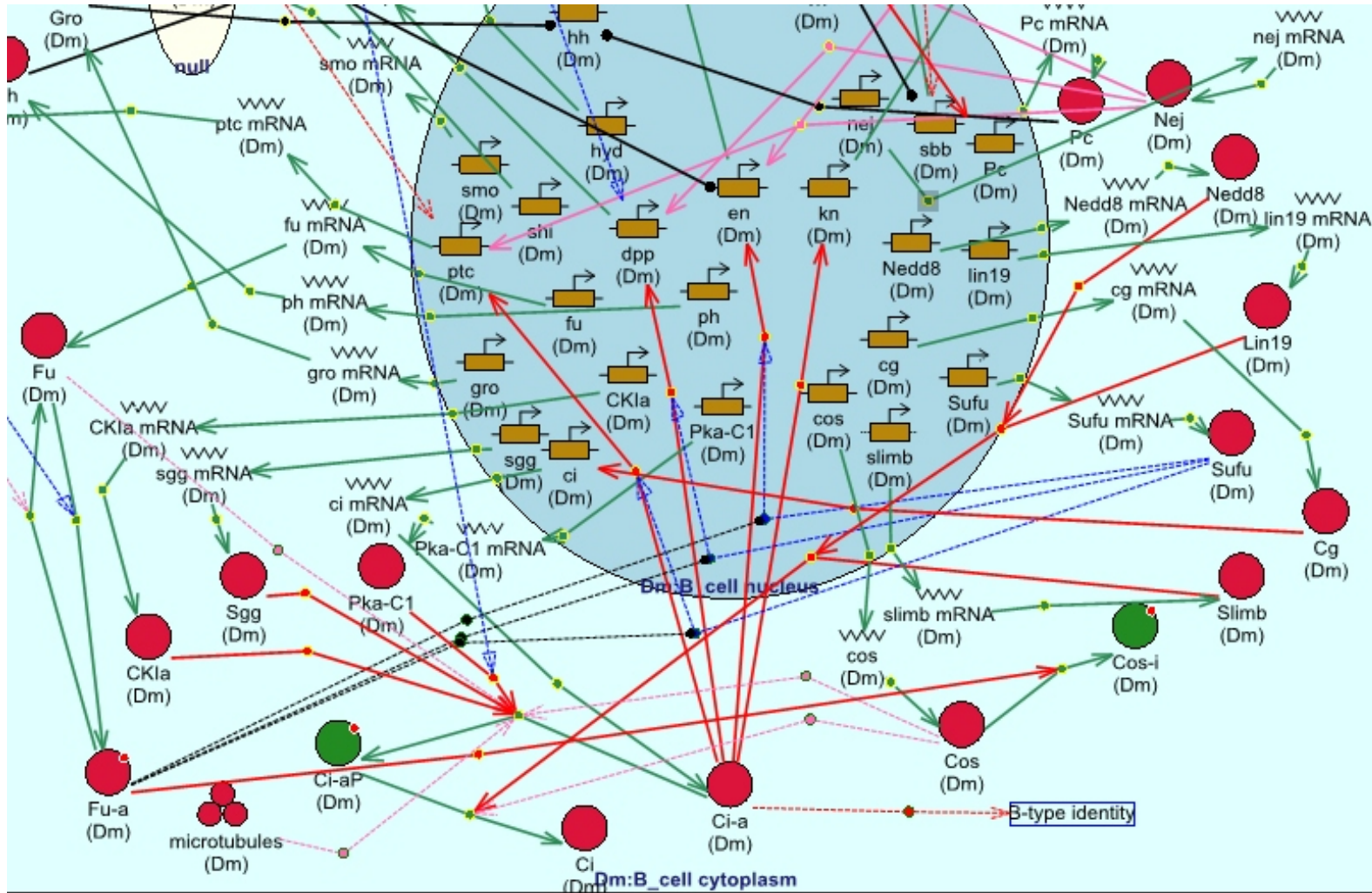


Регуляторные эффекты белка *En*: активация экспрессии генов *hh*, *inv*, *Pc*, *ph* (совместно с *Exd*); ингибирование экспрессии *ci*, *sbb*, *ptc*, *dpp*, *en*.





Фрагменты генной сети формирования антериопостериорной границы крыла: антериопостериорная граница



Каскад реакций приводящих к образованию транскрипционного фактора Ci активаторной формы: в каскаде участвуют минимум 10 специфических белков, микротрубочки цитоскелета, система транспортировки белков в ядро и компоненты Smo-каскада.

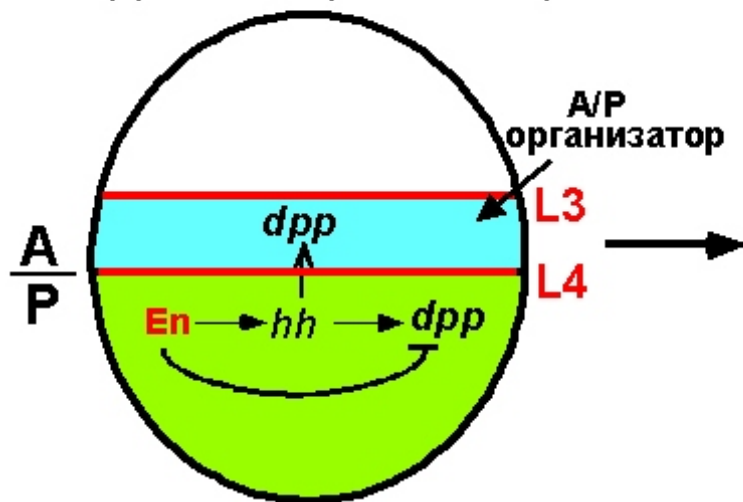
Для активирования экспрессии целевых генов белком Ci активаторной формы требуется транскрипционный фактор Nej.



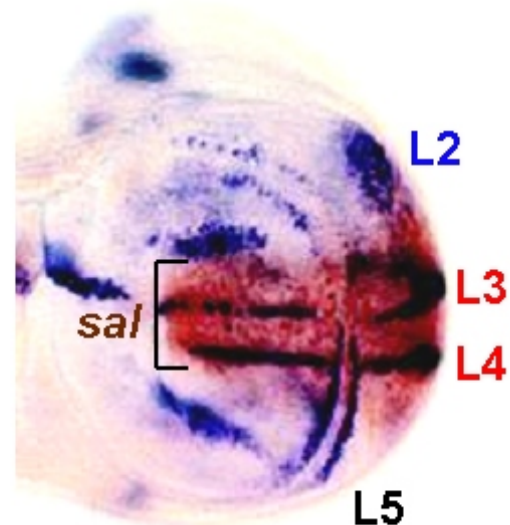
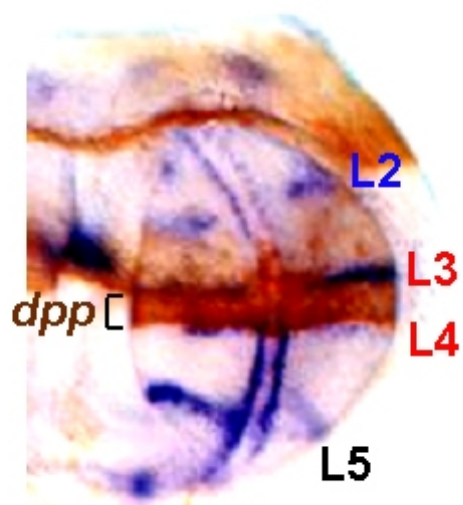
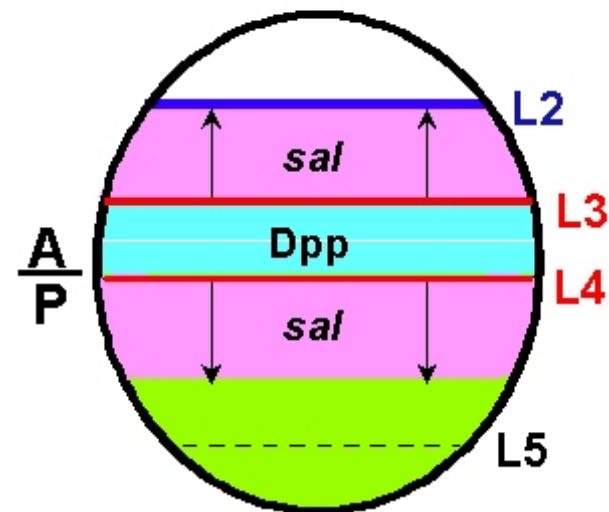
Определение положения жилок на крыле



En -> Hh -> диффузия ->
dpp в A/P организаторе



Dpp -> диффузия ->
sal -> жилка L2

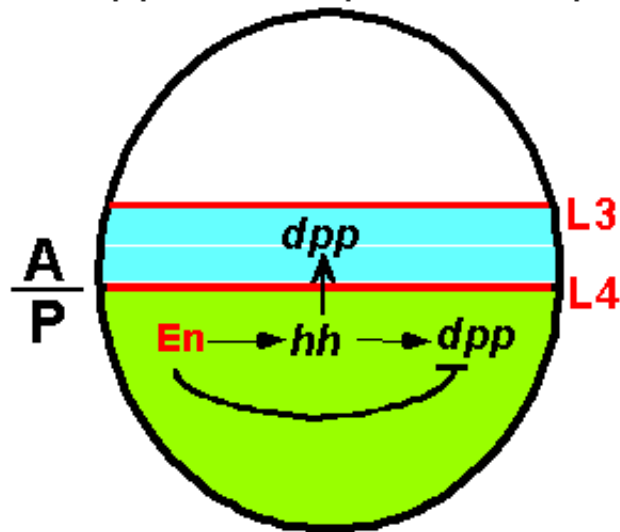




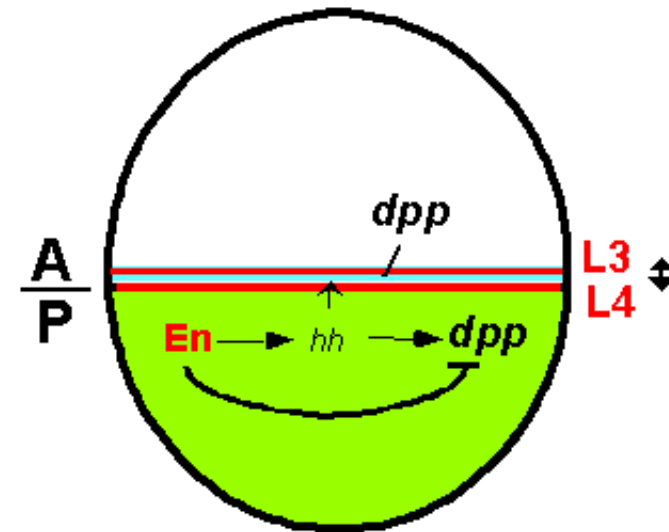
Hh определяет положение жилок L3 и L4



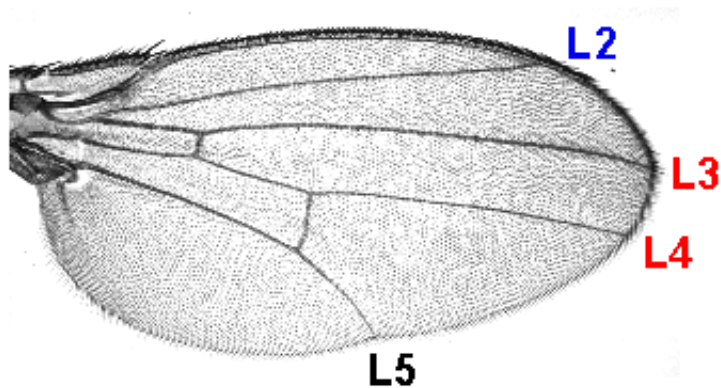
En -> Hh -> диффузия -> dpp в A/P организаторе



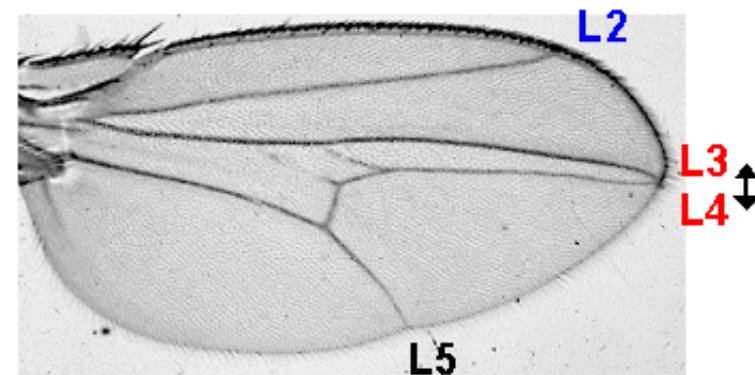
мутант с редуцированной активностью гена *hh*



норма



hh- мутант

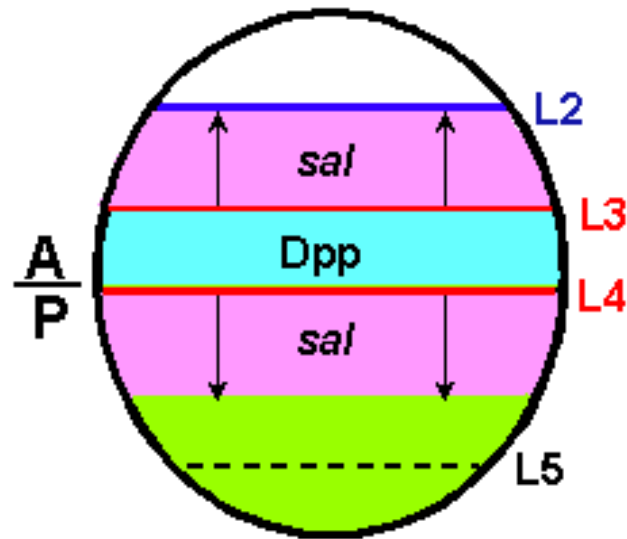




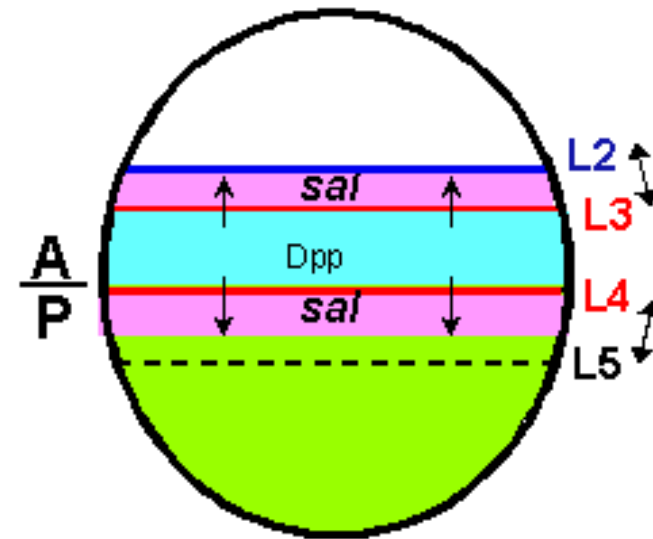
Dpp определяет положение жилок L2 и L5



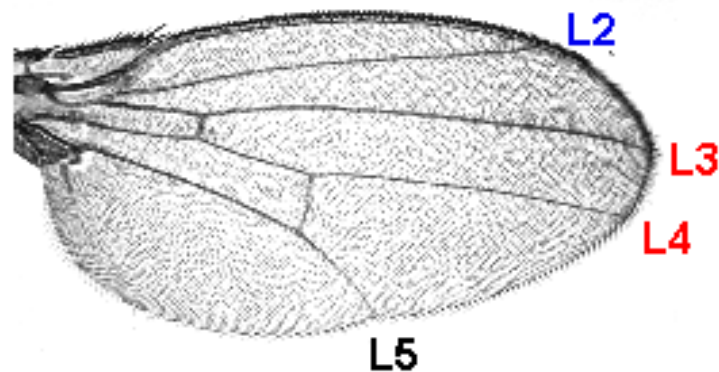
Dpp -> диффузия ->
sal -> жилка L2



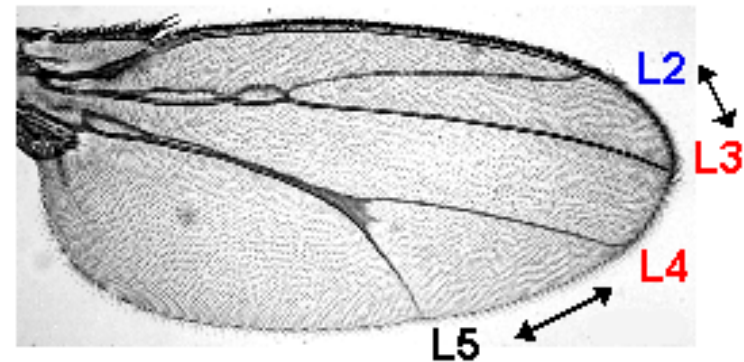
мутант с редуцированной
активностью гена *dpp*



норма



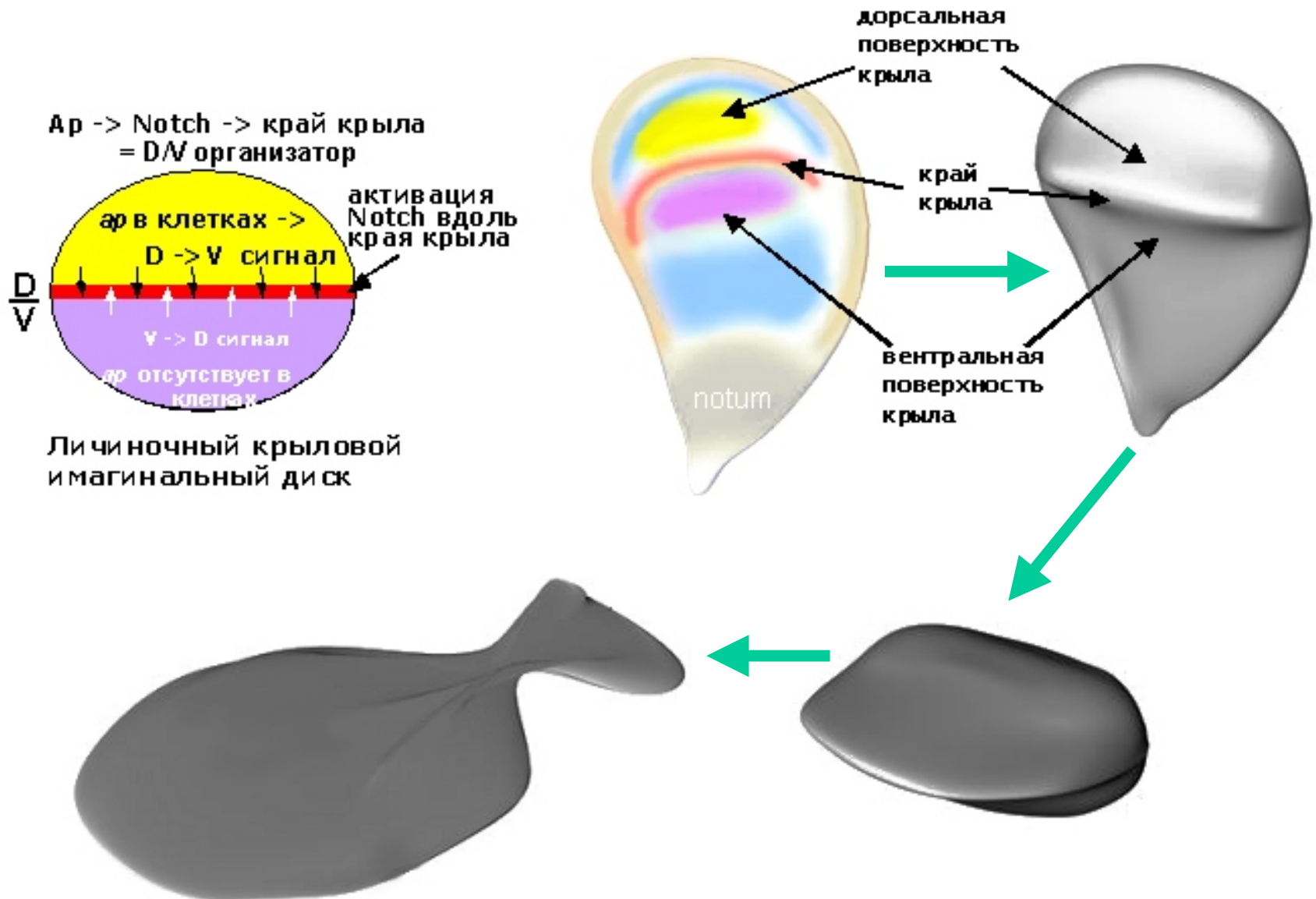
dpp- мутант





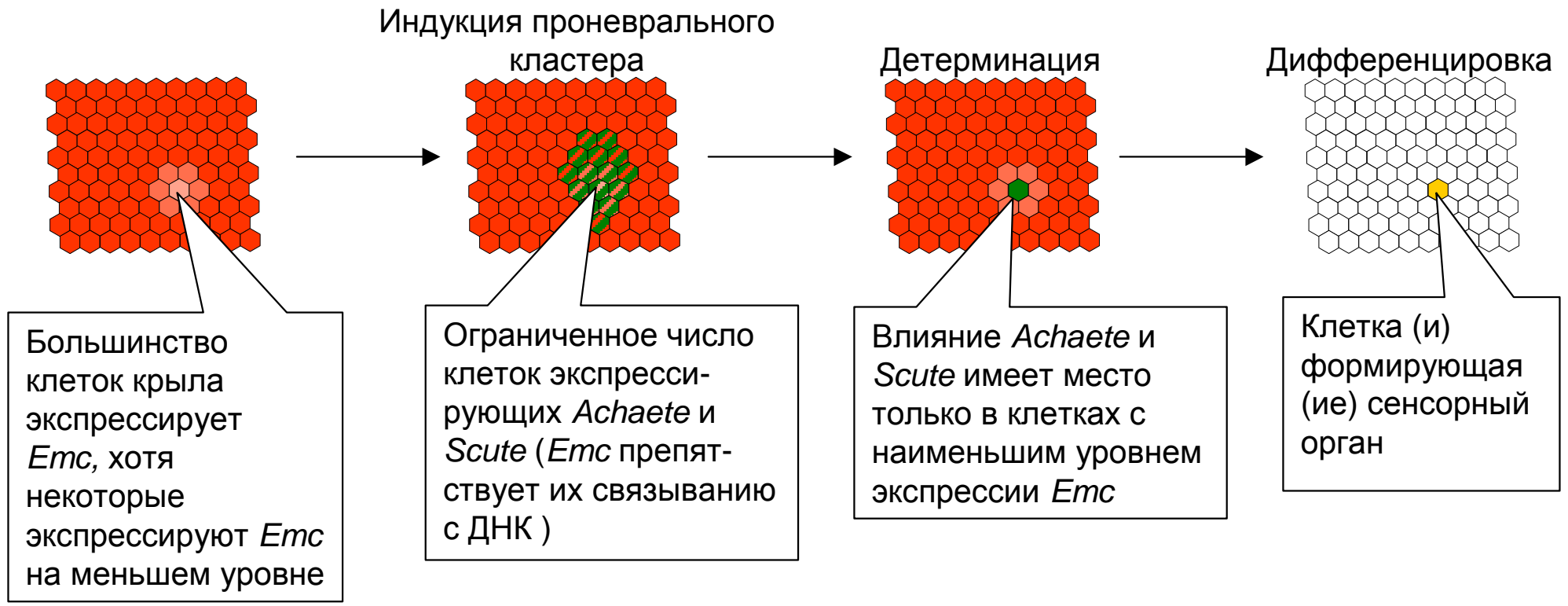
Определение дорсо-вентральной (D/V) оси крыла

- Ген *ap* активирует экспрессию *fng* и *Ser*.
- Дорсальные клетки экспрессирующие *Ser* взаимодействуют с вентральными через Notch формируя край крыла.
- D/V граница является организатором и экспрессирует белок *Wg*, который функционирует аналогично *Dpp*, но вдоль D/V оси.





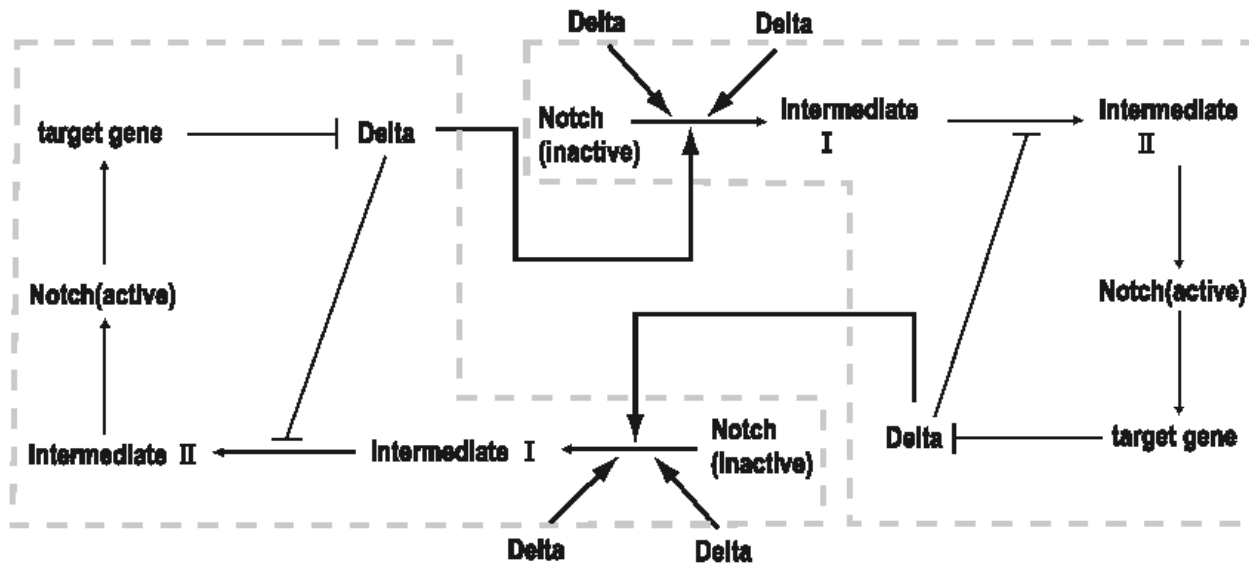
Латеральное ингибирование: выбор единственной клетки из группы



Образование сенсорных щетинок у *D. melanogaster*

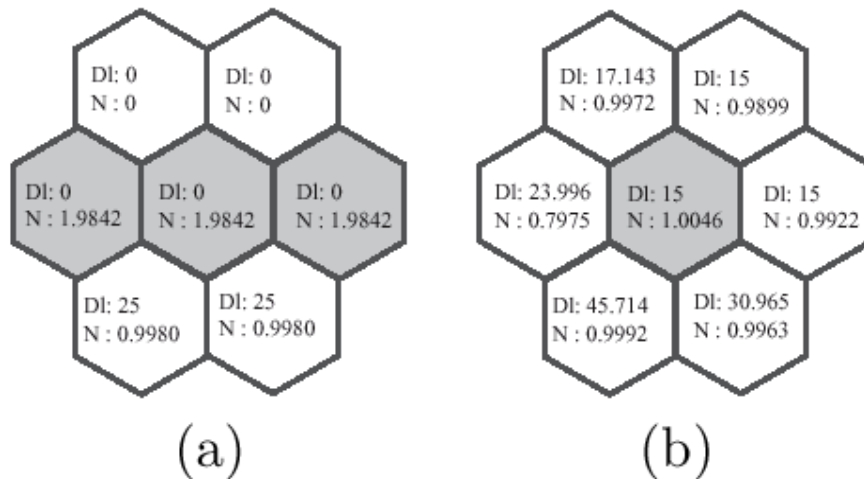


Механизм латерального ингибирования



Notch – рецептор.
Лиганды Notch – трансмембранные белки Delta, Serrate.

Сигналы Delta, воспринимаются рецепторами окружающих клеток. Молекула рецептора вследствие контакта с лигандом, подвергается расщеплению. Внутриклеточный домен рецептора транспортируется в ядро и образует транскрипционный фактор - репрессор дифференцировки по нейральному пути.



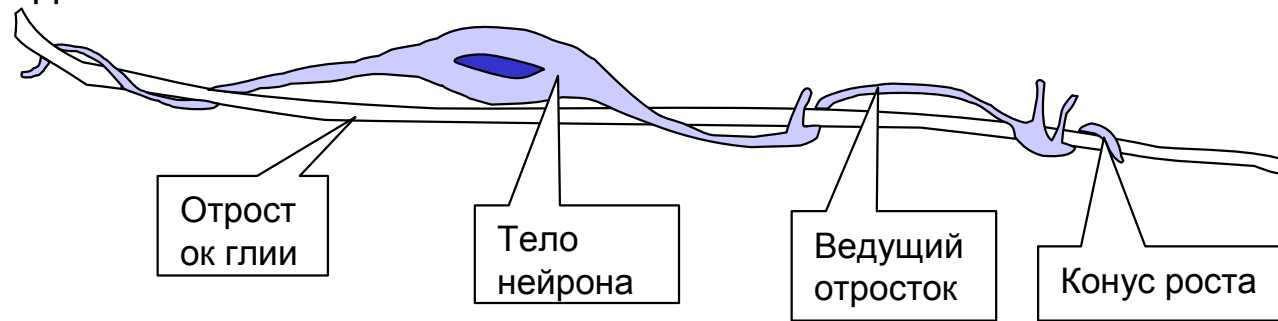
Каждая клетка пронеурального кластера синтезирует рецептор Notch и лиганд Delta и способна ингибировать и быть ингибируемой. Флюктуации концентраций этих белков внутри клеток усиливаются по контуру с положительными обратными связями. В итоге клетки с высокой активностью Delta окружаются клетками с высокой активностью Notch.



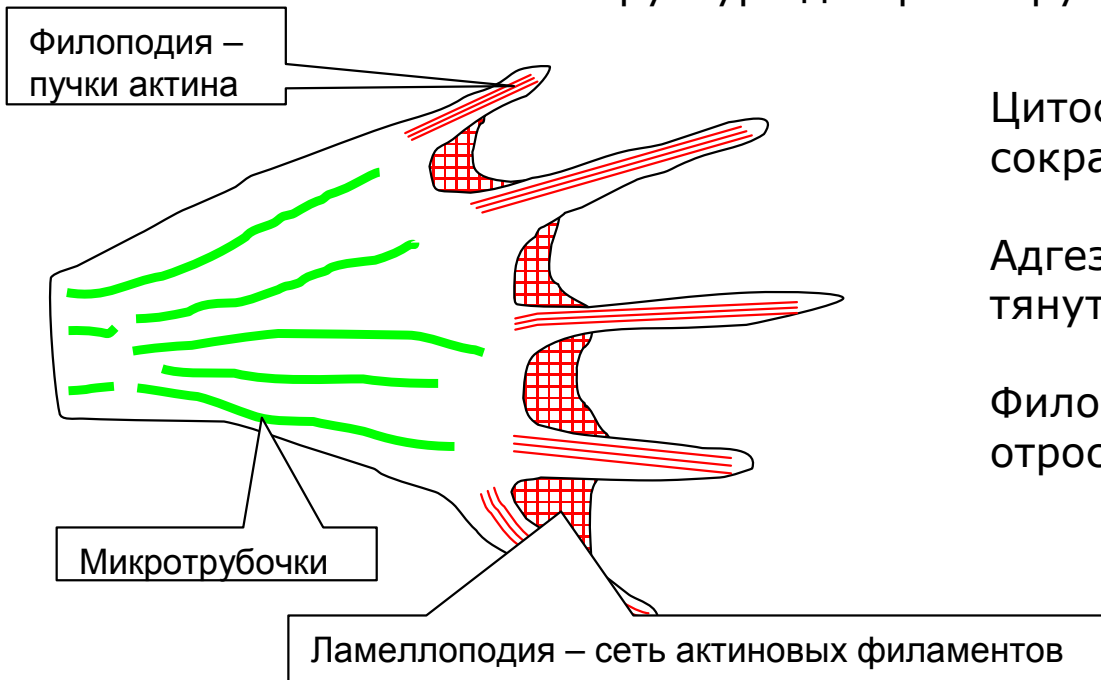
Миграция клеток в нервной системе млекопитающих: миграция нейронов и рост их отростков



Нейроны используют отростки глиальных клеток как направление для миграции, также важны белки адгезии



Ключевая структура детерминирующая рост аксона и передвижение нейрона



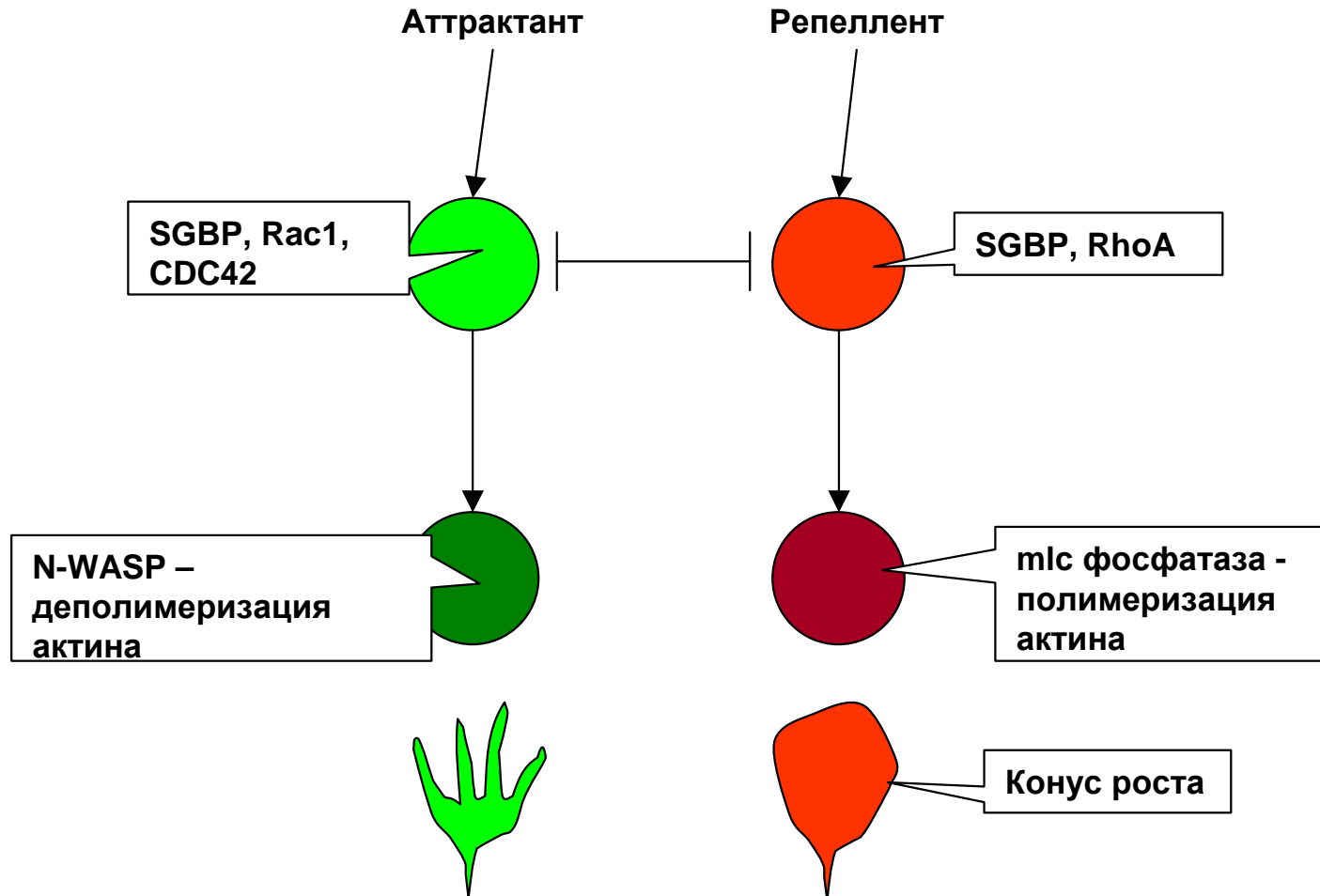
Цитоскелет-зависимое растяжение и сокращение филоподий

Адгезия филоподий позволяет конусу роста тянуть клетку в определенном направлении

Филоподии определяют путь миграции (роста отростка)



Направление миграции аксонов





Направление миграции аксонов

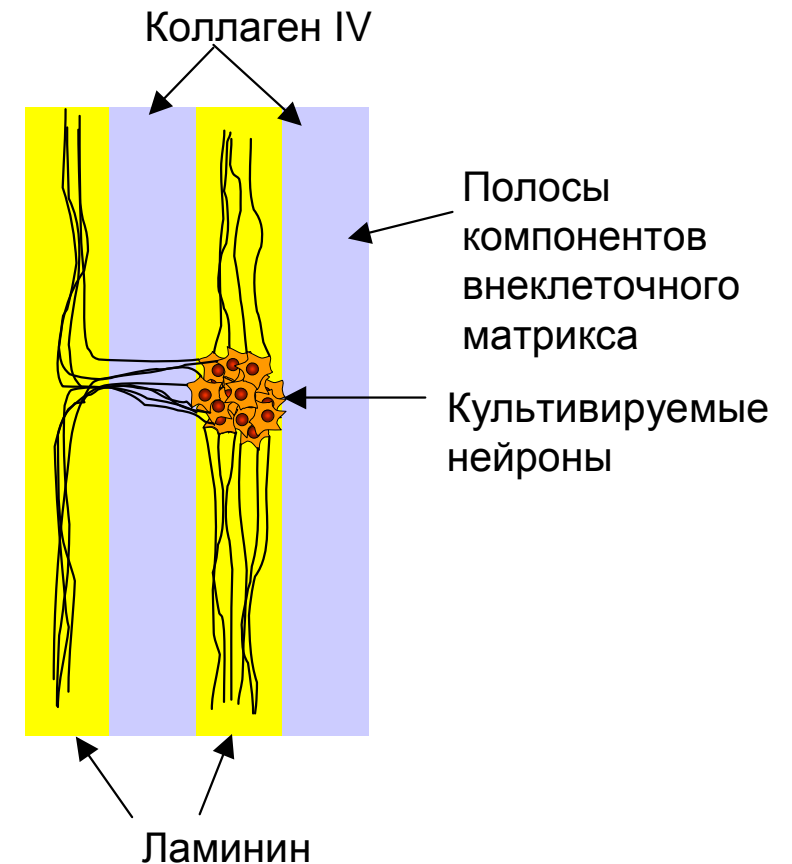


Физические сигналы (**Стереотропизм**):

- (i) желобки
- (ii) отверстия
- (iii) полые трубки и т.д.

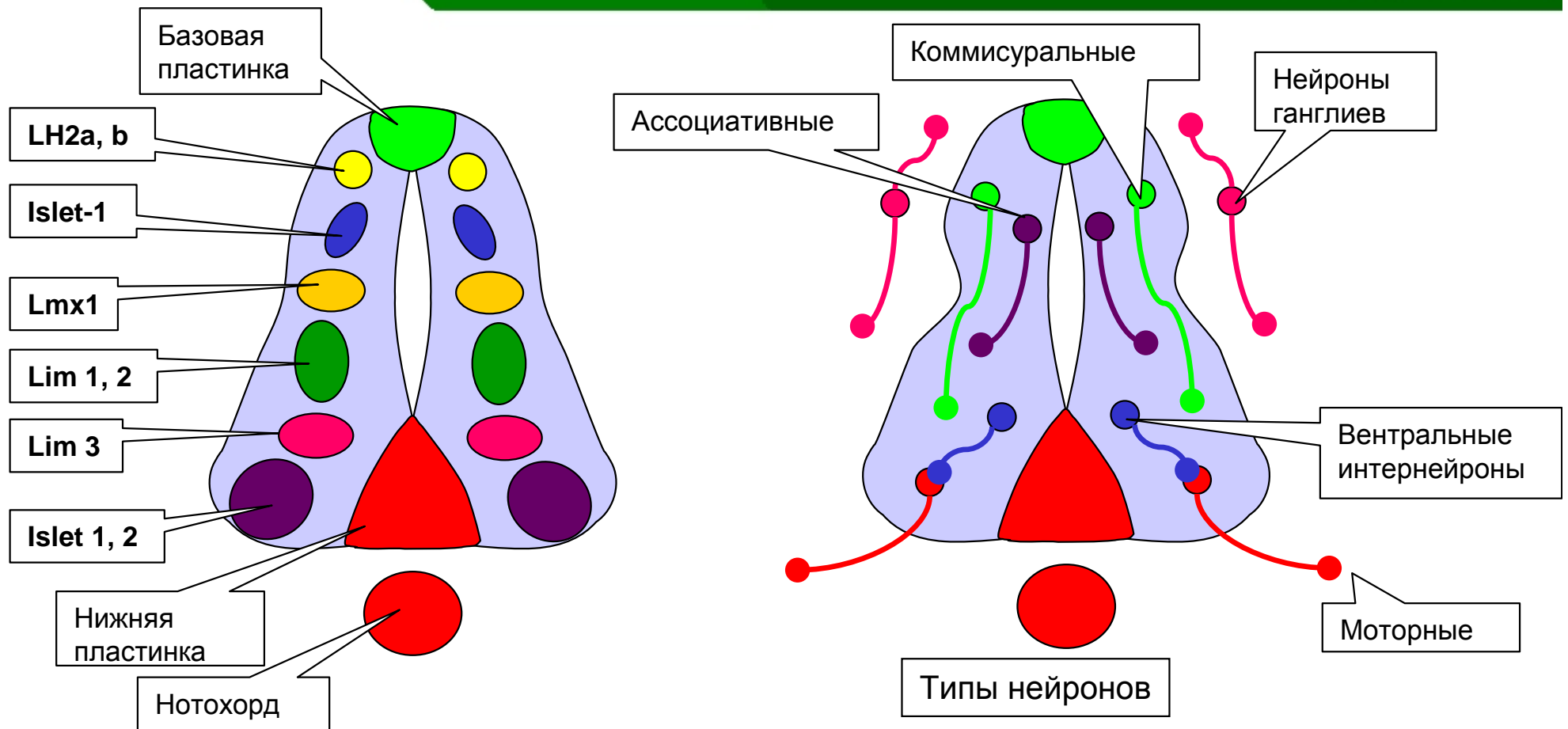
Адгезивные градиенты (**Гаптотаксис**):

- (i) неровное распределение ламинина фибронектина (стимулируют рост) или GAG (ингибируют рост)
- (ii) дифференциальная адгезивность различных нейронов к различным компонентам внеклеточного матрикса





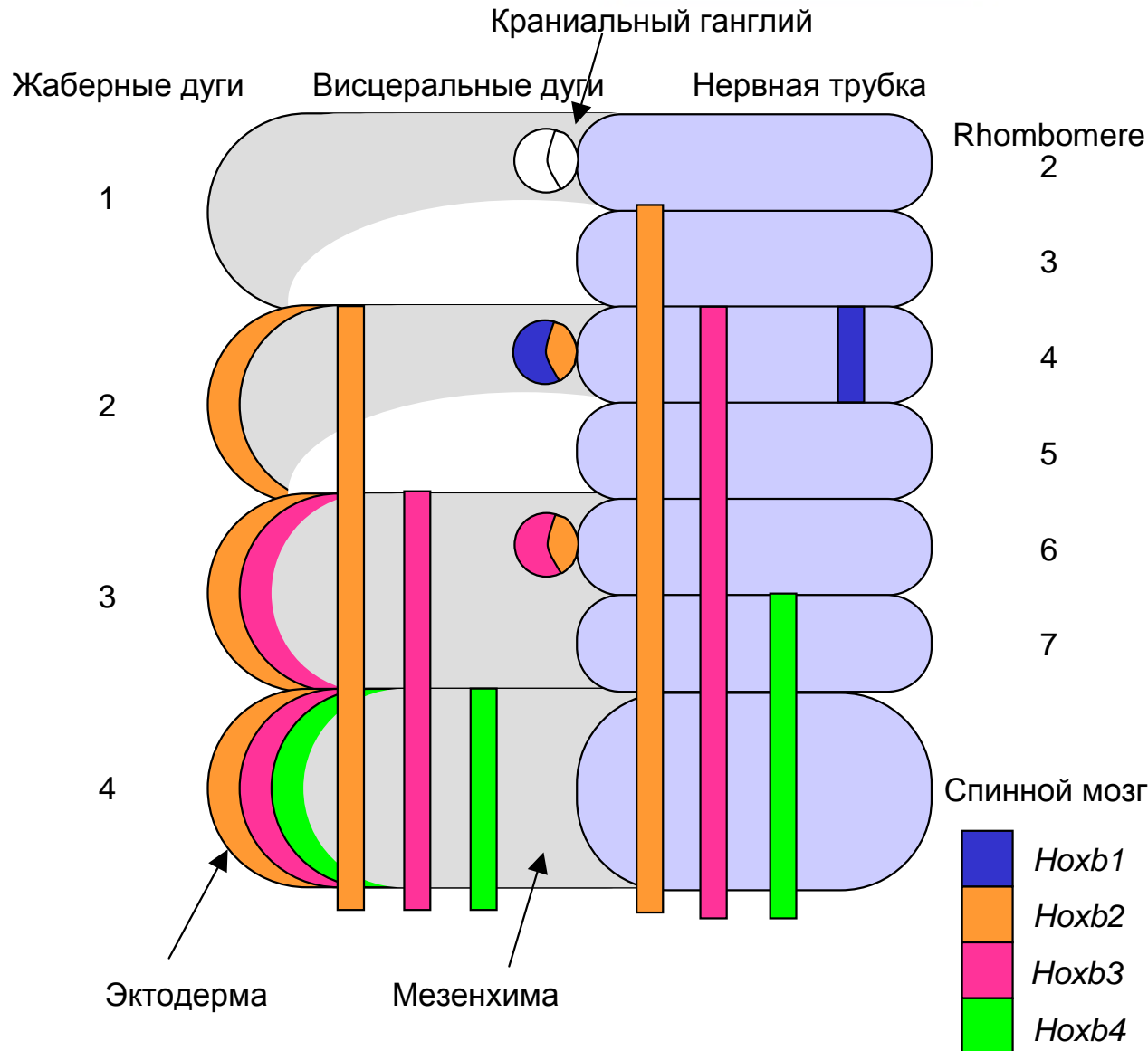
Типы нейронов и нервная трубка



Домены экспрессии определенных генов в нервной трубке детерминируют группы аксонов



Специфика иннервации и Нох-гены



Краниальные нейроны образуются из мигрирующих клеток нервного гребня.

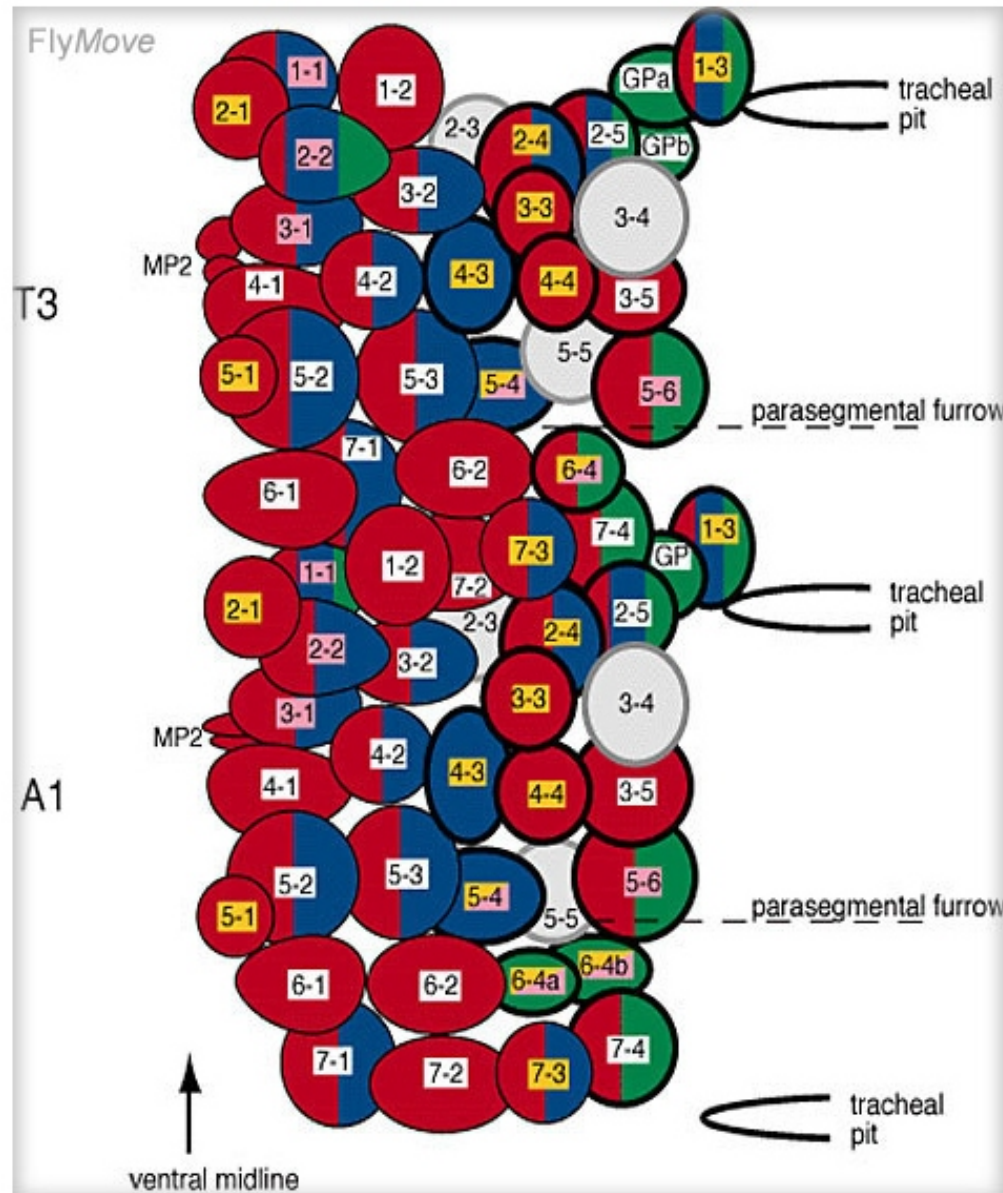
Клетки нервного гребня наследуют паттерн экспрессии *Hoxb* нервной трубки.

Паттерн экспрессии *Hoxb* устанавливает границы иннервируемых дуг.

Мигрирующие клетки нервного гребня индуцируют сходный паттерн экспрессии *Hoxb* в эктодерме.



Карта нейробластов вентрального нервного тяжа *D. melanogaster*



- neurons, interneuronal projections
- neurons, motoneuronal projections
- glial cells
- division prior to delamination
- segment-specific progeny

Каждый из 32 нейробластов в каждом сегменте дают начало характерной линии клеток. На картине показаны все нейробласты 3-го торакального и 1-го абдоминального сегментов. Различным цветом показан клеточный тип их потомков.

Изображено:

7 нейробластов дающих начало и нейронам и клеткам глии (1-1a, 1-3, 2-2t, 2-5, 5-6, 6-4t, 7-4);
2 нейроבלаста продуцирующих только клетки глии.

Названия нейробластов отражают их положение в сегменте на 11 стадии. Первое число – anterioposteriorная позиция в сегменте (клетки обозначенные 1-N anteriorнее клеток 7-N). Второе число – медио-латеральное положение в сегменте (клетки обозначенные N-1 расположены медиально)



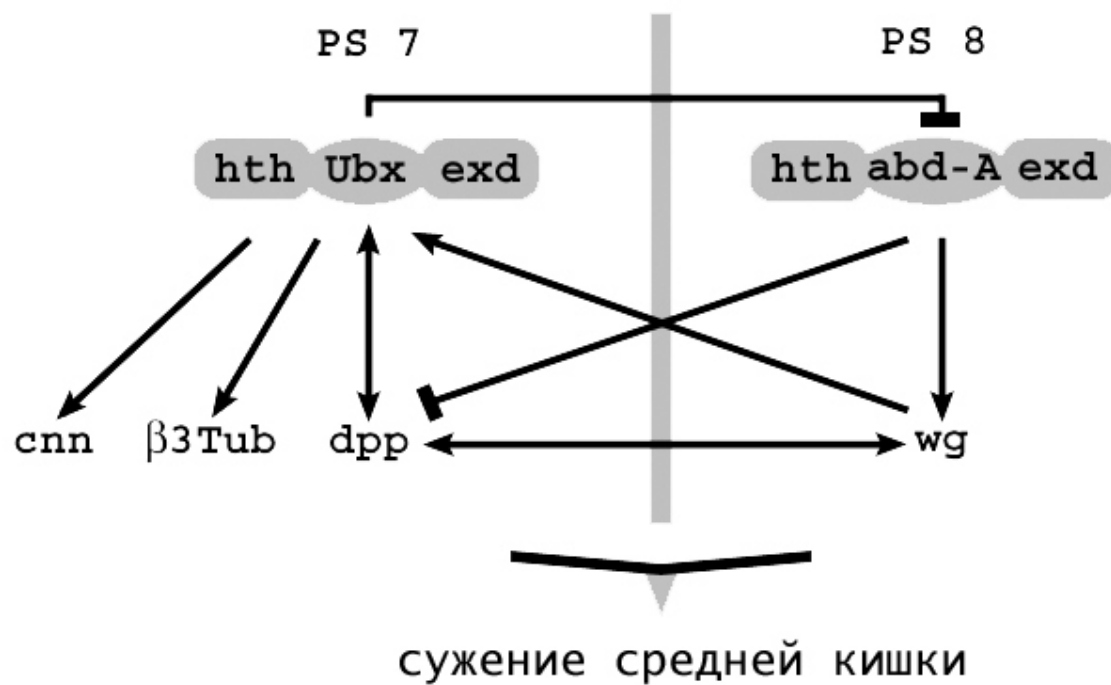
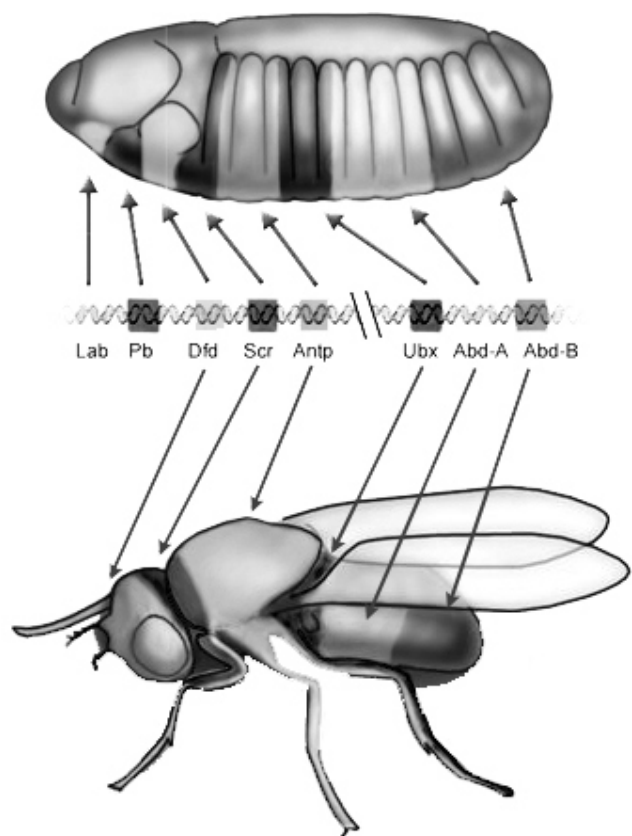
Гомеозисные гены



- Гомеозисные гены определяют морфологию частей тела которые разовьются на каждом сегменте (специфицируют сегменты тела).
- Взрослые части тела развиваются из недифференцированных личиночных тканей называющихся имагинальными дисками.
- Гомеозисные мутанты имеют аномальное строение и/или части тела на определенных сегментах.
- Практически все группы гомеозисных генов имеют консервативный домен ~180 н.п. называемый *гомеобоксом*.
- Продукты гомеозисных генов являются регуляторами транскрипции.
- Одна из наиболее известных групп гомеозисных генов - Нох-генов организована в кластер.
- Порядок экспрессии генов Нох-кластера совпадает с порядком расположении генов в кластере.
- *Гомеобокс*-содержащие гены найдены у растений и животных.

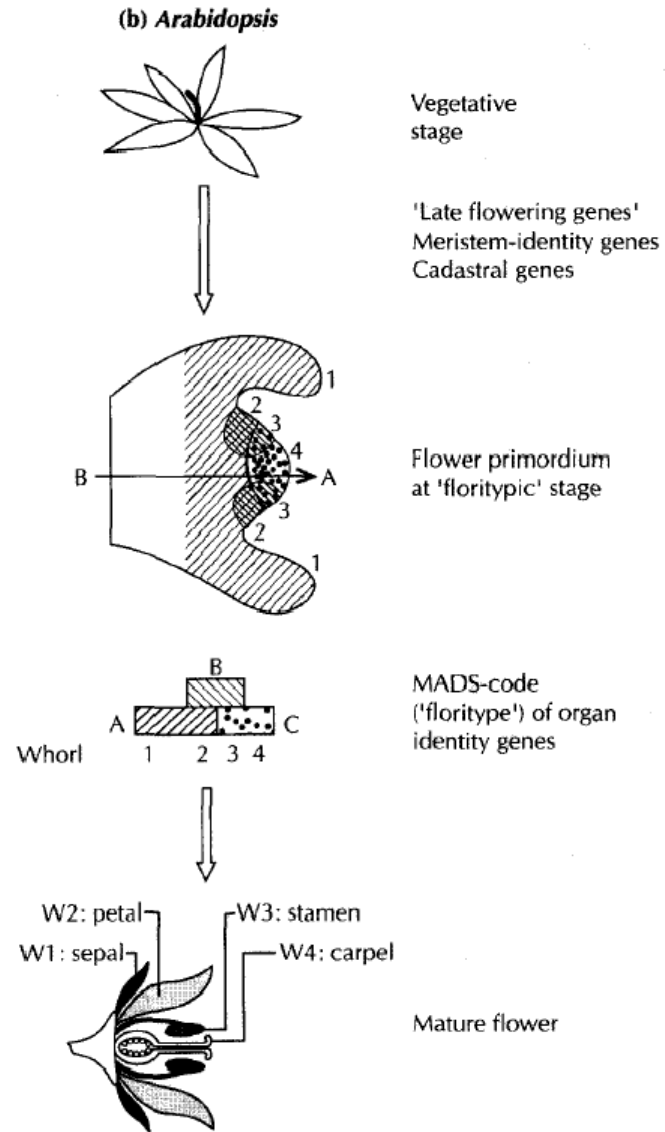
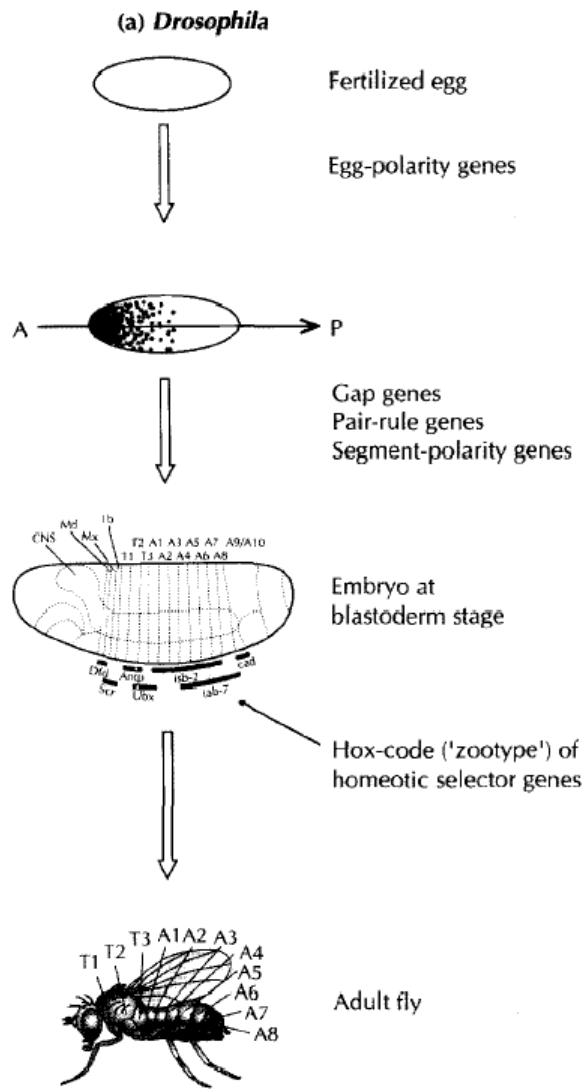


Генные сети и Нох-гены





Аналогия развития *D. melanogaster* и *Arabidopsis thaliana*



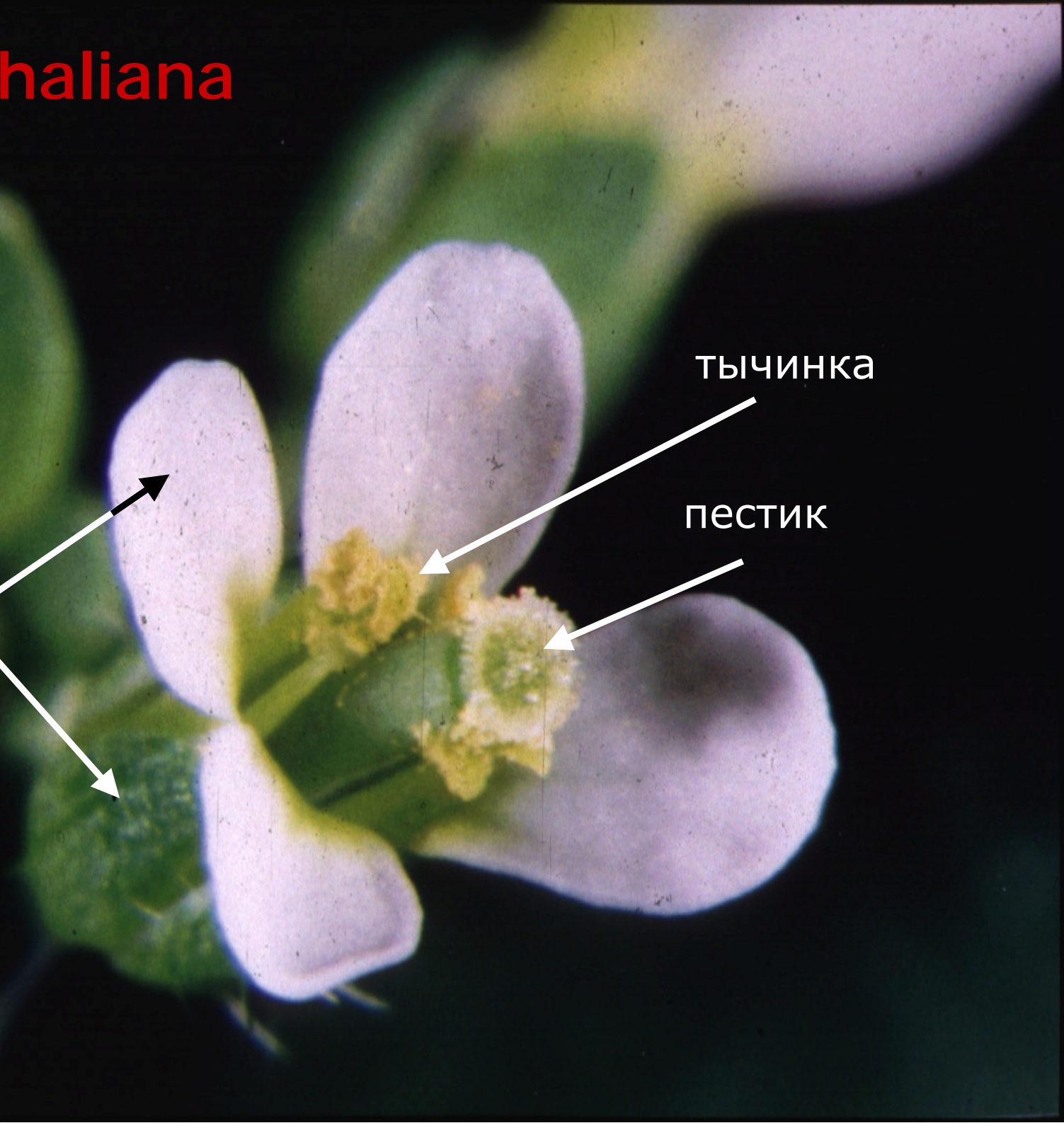
Цветок *A. thaliana*

чашелистик

лепесток

тычинка

пестик





A = чашелистики

A + B = лепестки

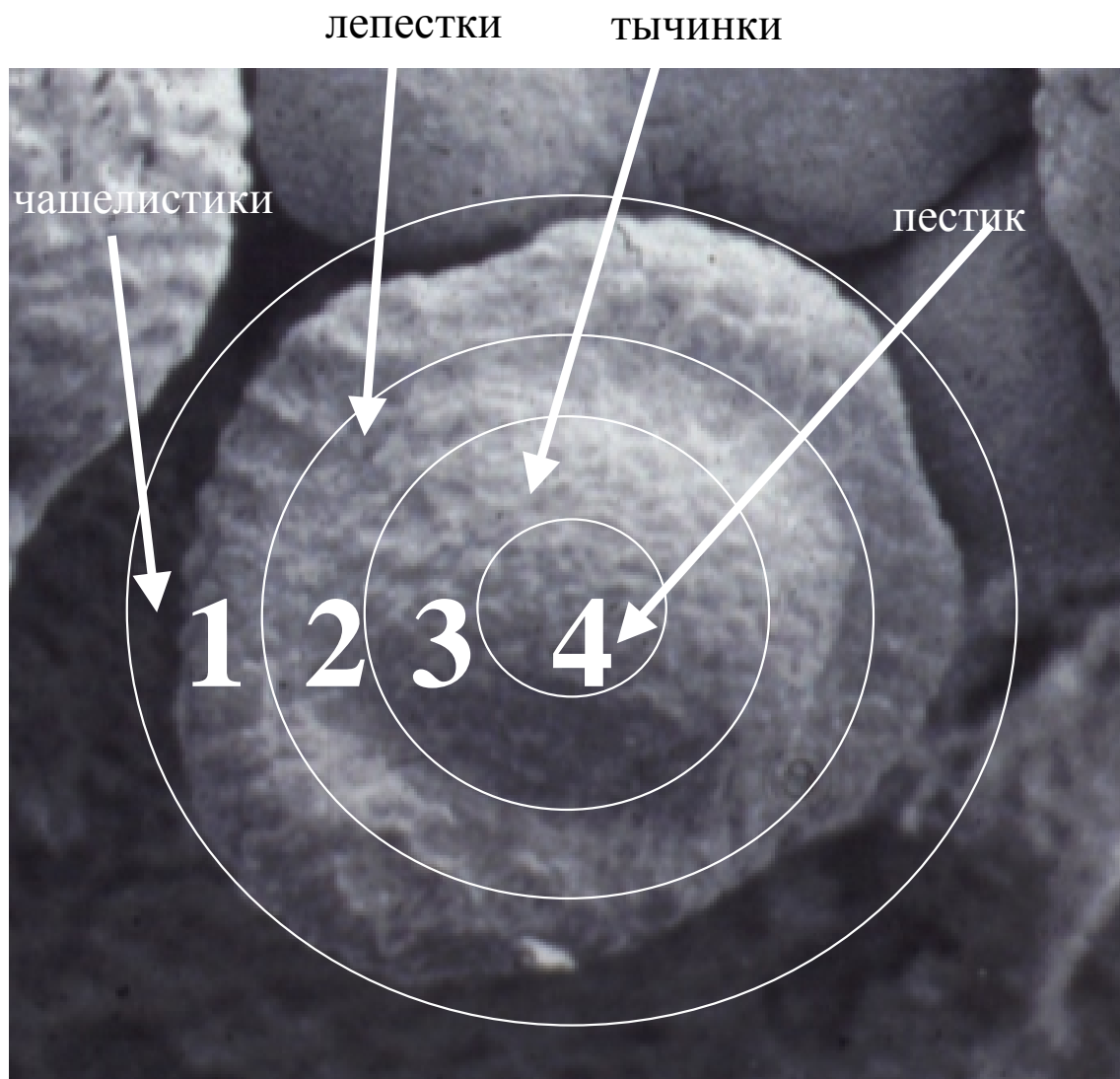
B + C = тычинки

C = пестики

Bowman and Meyerowitz, 1991

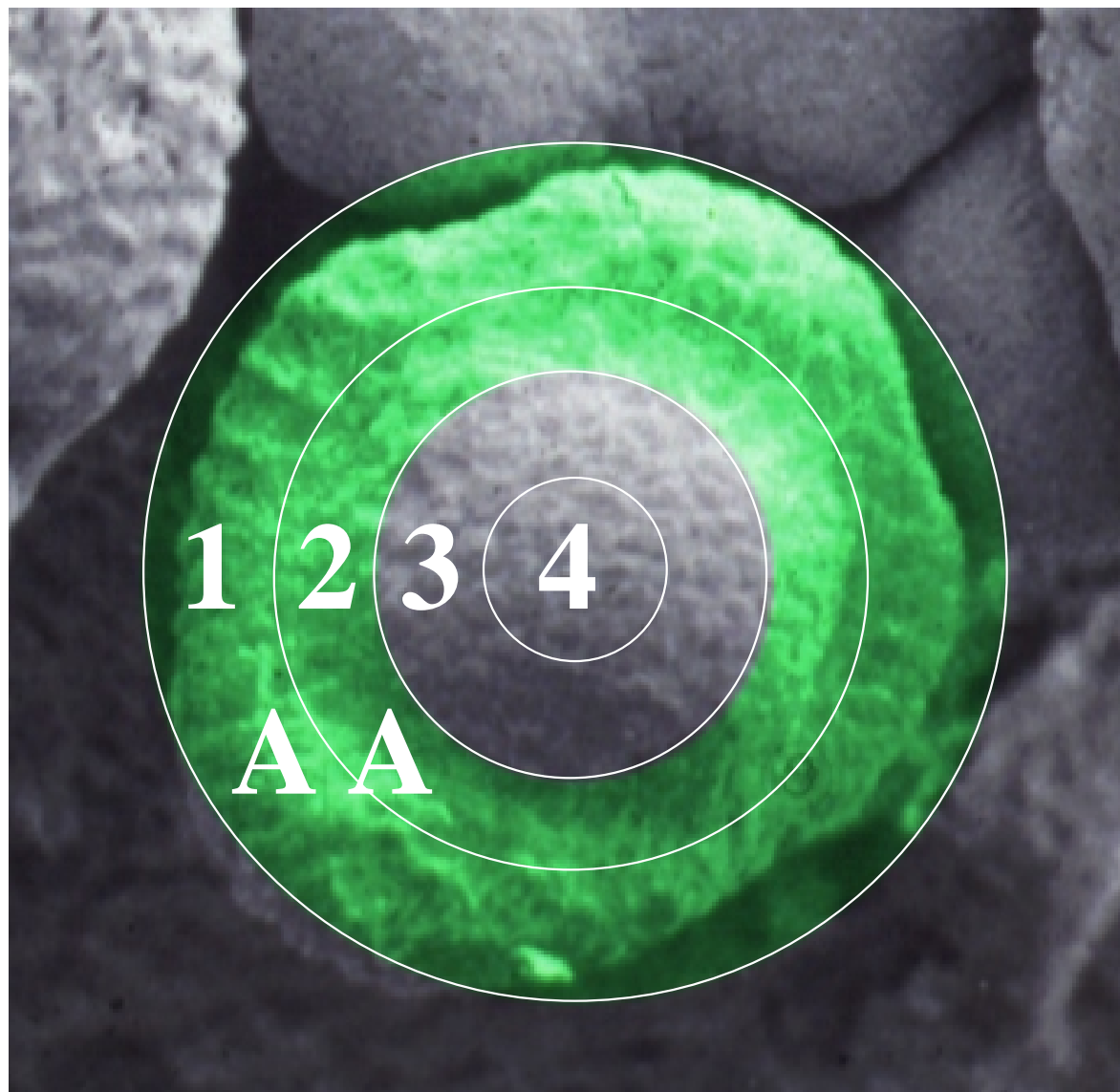


Генная сеть развития цветка *Arabidopsis thaliana*



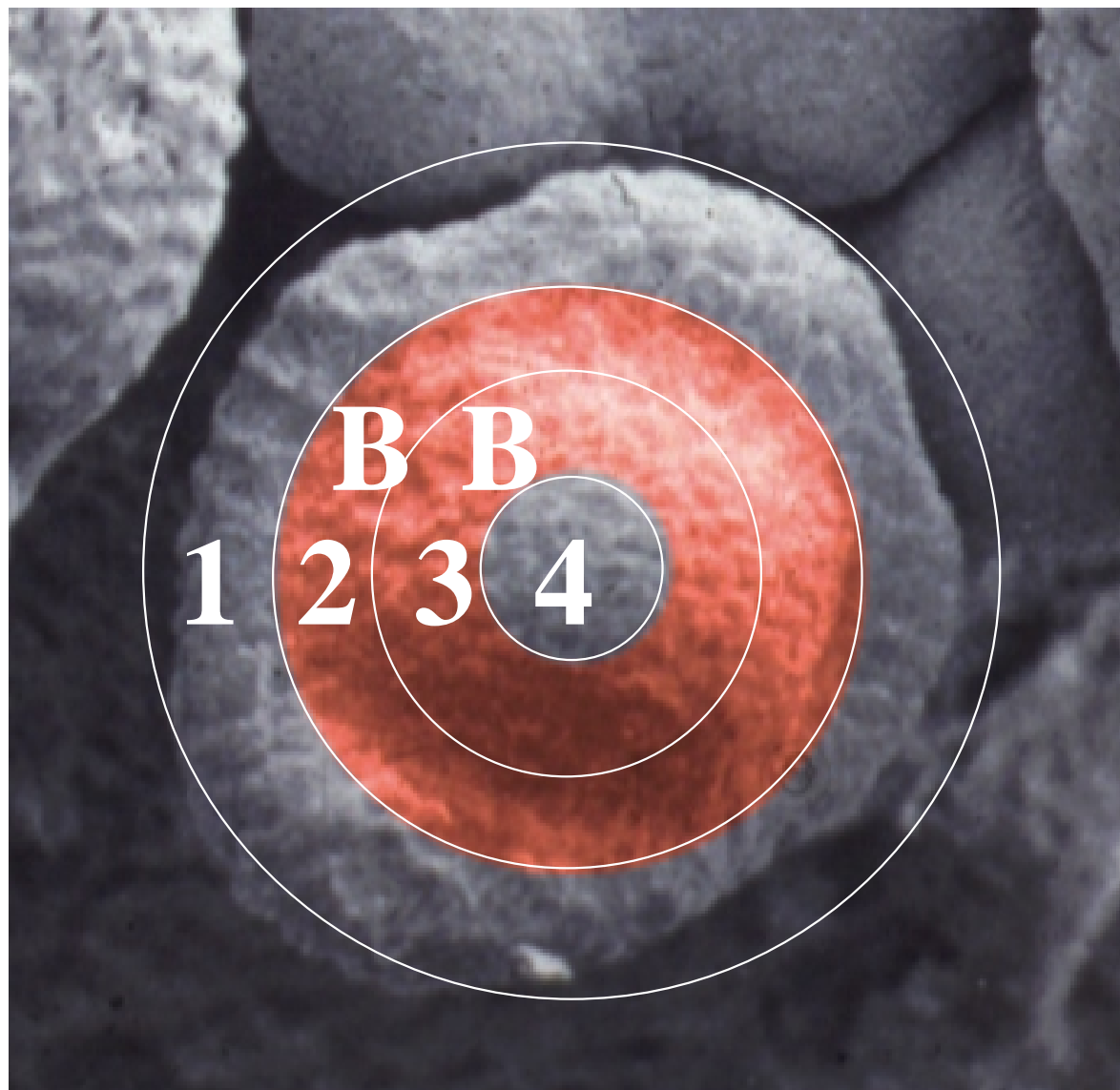


Генная сеть развития цветка *Arabidopsis thaliana*





Генная сеть развития цветка *Arabidopsis thaliana*



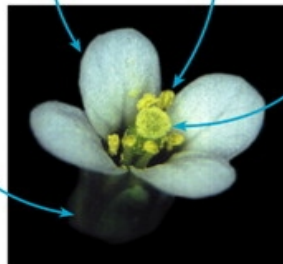
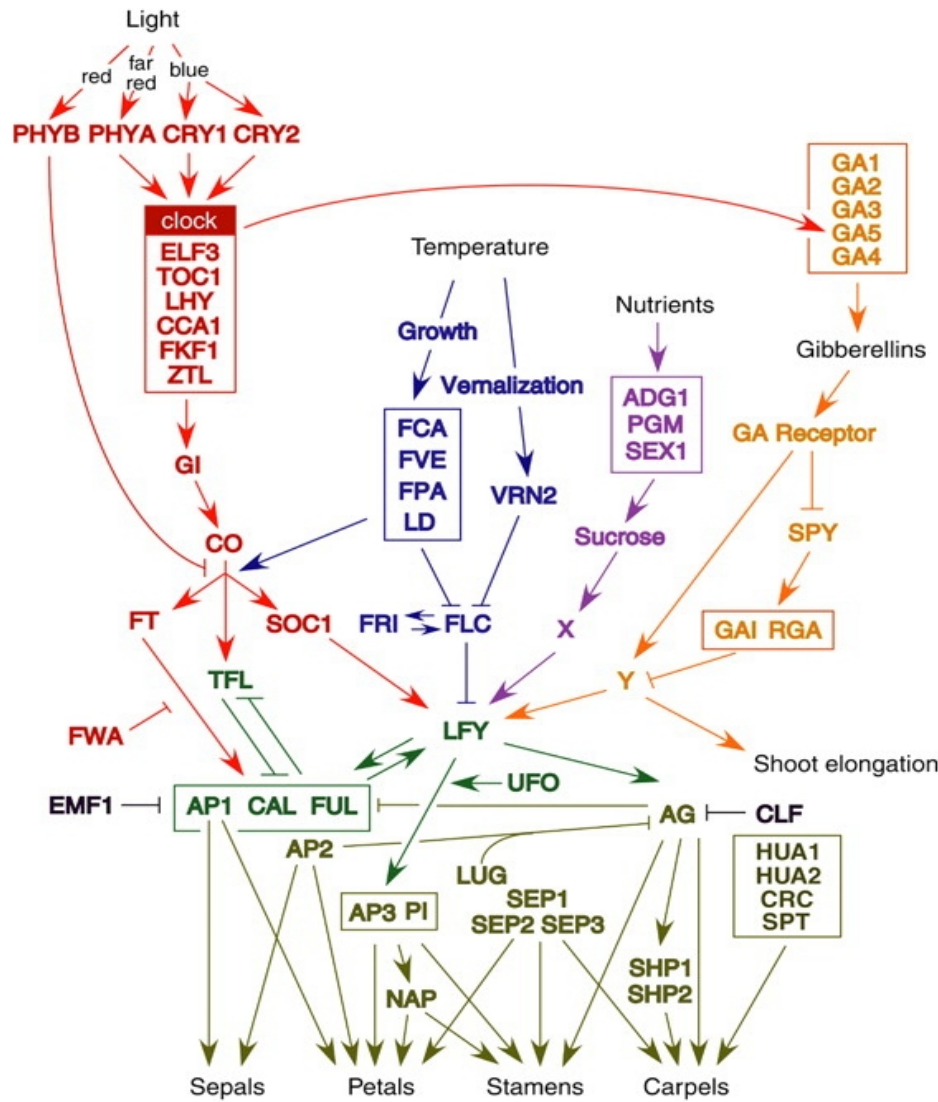


Генная сеть развития цветка *Arabidopsis thaliana*



Генная сеть
развития
цветка
Arabidopsis
thaliana

Flower
Development
Pathways
Miguel A. Blázquez



Abbreviation	Name	Protein	Reference
ADG1	ADP GLUCOSE PYROPHOSPHORYLASE	ADP glucose pyrophosphorylase	[1]
AG	AGAMOUS	MADS-box transcription factor	[2]
AP1	APETALA1	MADS-box transcription factor	[3]
AP2	APETALA2	Transcription factor	[4]
AP3	APETALA3	MADS-box transcription factor	[5]
CAL	CAULIFLOWER	MADS-box transcription factor	[6]
CCA1	CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1	Myb transcription factor	[7]
CLF	CURLY LEAF	Polycomb-type transcription factor	[8]
CO	CONSTANS	Zn-finger transcription factor	[9]
CRC	CRABSCLAW	YABBI-family transcription factor	[10]
CRY1 and CRY2	CRYPTOCHROME 1 and CRYPTOCHROME 2	Blue-light photoreceptors	[11, 12]
ELF3	EARLY FLOWERING 3		[13]
EMF1	EMBRYONIC FLOWER 1		[14]
FCA	FCA	RNA-binding protein	[15]
FKF1	FKF1	F-box, kelch repeats, PAS domain	[16]
FLC	FLC	MADS-box transcription factor	[17, 18]
FPA	FPA		[19]
FRI	FRIGIDA		[20]
FT	FT	Putative small lipid-binding protein	[21]
FUL	FRUITFULL	MADS-box transcription factor	[22]
FVE	FVE		[19]
FWA	FWA		[19]
GA1-GAS	GA1-GAS	Gibberellin biosynthetic enzymes	[23, 24]
GAI	GIBBERELIC ACID INSENSITIVE	GRAS family, nuclear localized	[25]
GI	GIGANTEA	Transmembrane protein	[26, 27]
HUA1			[28]
HUA2		Nuclear localized	[28]
LD	LUMINIDEPENDENS	Homeodomain protein	[29]
LFY	LEAFY	Transcription factor	[30]
LHY	LATE ELONGATED HYPOCOTYL	MYB transcription factor	[31]
LUG	LEUNIG		[32]
NAP	NAC-LIKE, ACTIVATED BY AP3/PI		[33]
PGM	PHOSPHOGLUCOMUTASE		[34]
PHYA	PHYTOCHROME A	Far-red light photoreceptor	[35]
PHYB	PHYTOCHROME B	Red light photoreceptor	[36]
PI	PISTILLATA	MADS-box transcription factor	[37]
RGA	REPRESSOR OF ga1	GRAS family, nuclear localized	[38]
SEP1-SEP3	SEPALATA1-SEPALATA3	MADS-box transcription factors	[39]
SEX1	STARCH EXCESS 1		[40]
SHP1 and SHP2	SHATTERPROOF 1 and SHATTERPROOF 2	MADS-box transcription factors	[41]
SOC1	SUPPRESSOR OF CONSTANS OVEREXPRESSION	MADS-box transcription factor	[42]
SPT	SPATULA	Myc transcription factor	[43]
SPY	SPINDLY	N-acetylglucosamine-O-transferase	[44]
TFL1	TERMINAL FLOWER 1	Putative small lipid-binding protein	[45]
TOC1	TIMING OF CAB1		[46]
UFO	UNUSUAL FLORAL ORGANS	F-box protein	[47]
VRN2	VERNALIZATION 2		[48]
ZTL	ZEITLUPE	F-box, kelch repeats, PAS domain	[49]



Генные сети эмбриогенеза и онтогенеза являются генными сетями-интеграторами

Генные сети онтогенеза и эмбриогенеза характеризуются:
Блочностью
Иерархичностью
Разнесенностью во времени и в пространстве