

Лекция №2

ГЕННЫЕ СЕТИ

*к.б.н., с.н.с. лаб. эволюционной биоинформатики
и теоретической генетики Игнатьева Е.В.*

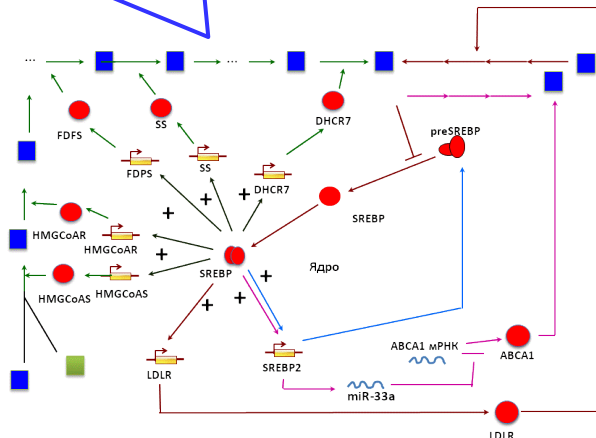
Вывод по предыдущей лекции:

Что такое «Генные сети» ???



Генетические сети - графические изображения схем взаимодействий между молекулярными компонентами МГСУ, обеспечивающих реализацию генетической программы (онтогенеза)

Ратнер В.А. Генетика, молекулярная кибернетика, ред.Васильева Л.А., Новосибирск, Наука, 2002, Стр. 172



Современное определение понятия «Генные сети» и теория генных сетей

Введение в информационную биологию и биоинформатику : учебное пособие : [для студентов вузов : в 5 т.] / М-во образования и науки РФ, Новосиб. гос. ун-т, Сиб. отд-ние Рос. акад. наук, Ин-т цитологии и генетики ; **под ред. Н.А. Колчанова, О.В. Вишневого, Д.П. Фурман** .— Новосибирск : Редакционно-издательский центр НГУ, 2012- .— ; 24 см .— ISBN 978-5-4437-0032-8, 500 экз..**Т.3: Гл.3: Теория генных сетей**; Гл.4: Картирование генов, контролирующих сложные признаки человека / [Е.А. Ананько, Т.И. Аксенович, К.В. Гунбин и др.] .— , 2015 .— 297 с



ВВЕДЕНИЕ В ИНФОРМАЦИОННУЮ
БИОЛОГИЮ И БИОИНФОРМАТИКУ

Том III

ТЕОРИЯ ГЕННЫХ СЕТЕЙ

**КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОВ,
КОНТРОЛИРУЮЩИХ СЛОЖНЫЕ
ПРИЗНАКИ ЧЕЛОВЕКА**

НОВОСИБИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

50 лет

Современное определение понятия «Генные сети»

Генные сети – это молекулярно-генетические системы, обеспечивающие формирование фенотипических характеристик организмов (молекулярных, биохимических, структурных, морфологических, поведенческих и т.д.) на основе информации, закодированных в их геномах.

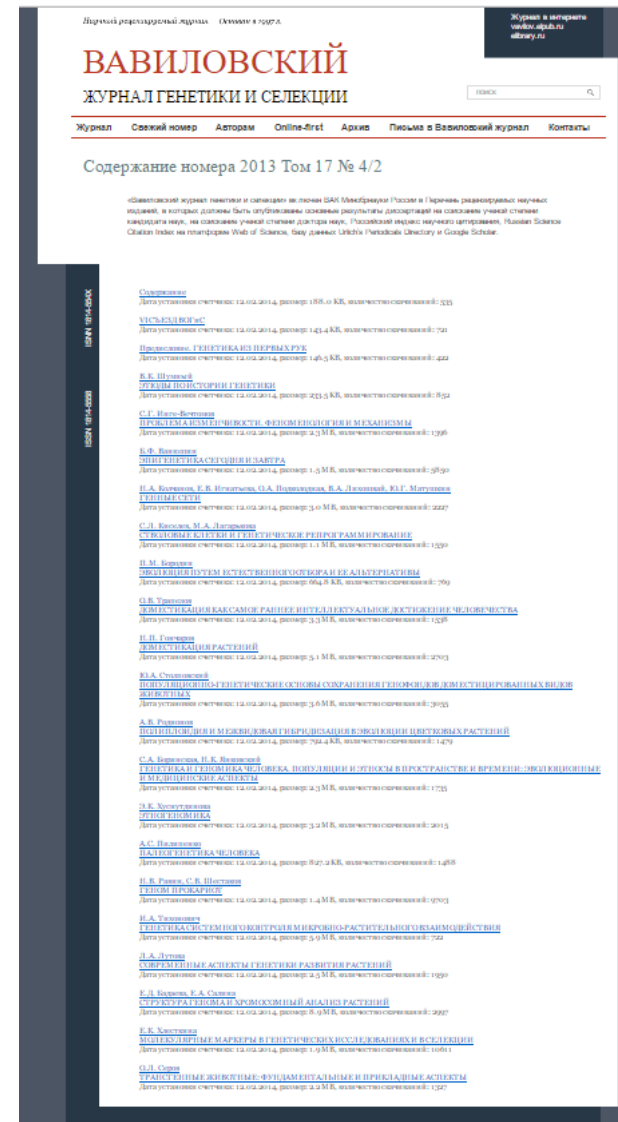


Введение в информационную биологию и биоинформатику : учебное пособие : под ред. Н.А. Колчанова, О.В. Вишневого, Д.П. Фурман .— Новосибирск : Т.3: Теория генных сетей; Гл.4: Картирование генов, контролирующих сложные признаки человека / [Е.А. Ананько, Т.И. Аксенович, К.В. Гунбин и др.] .— , 2015 .— 297 с

Более развернутое современное определение понятия «Генные сети»

Генные сети – группы координированно функционирующих генов, взаимодействующих друг с другом как через свои первичные продукты (РНК и белки), так и через разнообразные метаболиты и другие вторичные продукты функционирования генных сетей.

Координированное функционирование генов в составе генных сетей обеспечивает формирование фенотипических характеристик организмов (молекулярных, биохимических, клеточных, физиологических, морфологических, поведенческих и т.д.).



Колчанов Н.А., и др. ГЕННЫЕ СЕТИ. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013, Том 17, № 4/2, стр.833-850

Обязательные типы структурных и функциональных компонентов генных сетей:

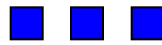
➤ группа координировано экспрессирующихся генов, составляющая ядро сети;



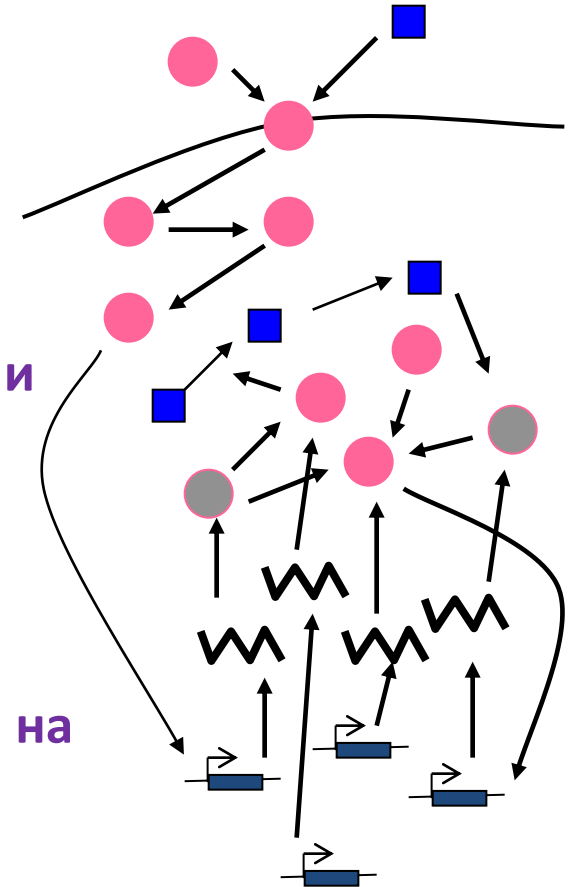
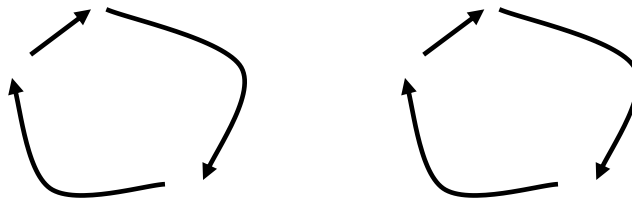
➤ РНК и белки, кодируемые этими генами;



➤ низкомолекулярные компоненты (гормоны, и др. сигнальные молекулы, энергетические компоненты, метаболиты);

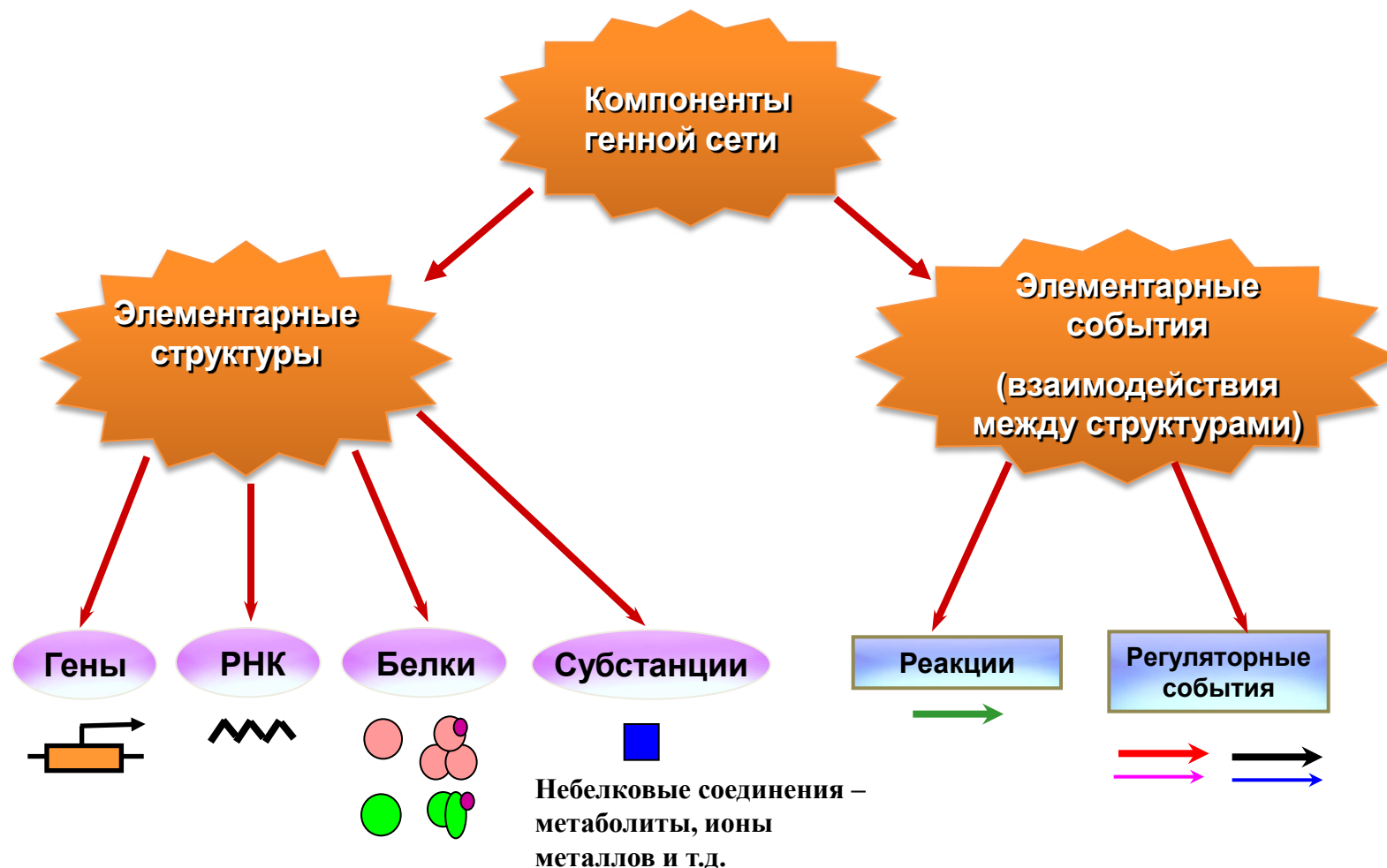


➤ отрицательные и положительные обратные связи, стабилизирующие параметры генной сети на определенном уровне, или, напротив, отклоняющие их от исходного значения, обеспечивая переход к новому функциональному состоянию.



**Метод формализованного графического представления
генных сетей, разработанный в рамках технологии
GeneNet (разработка ИЦиГ СО РАН):**

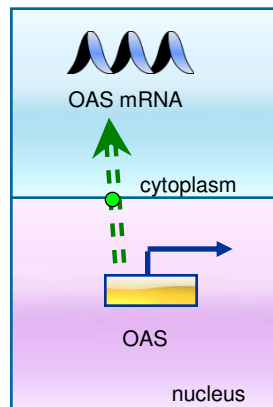
Метод формализованного графического представления ГС, разработанный в рамках технологии GeneNet (разработка ИЦиГ СО РАН):
классы элементарных структур и событий, значимых для функционирования генных сетей



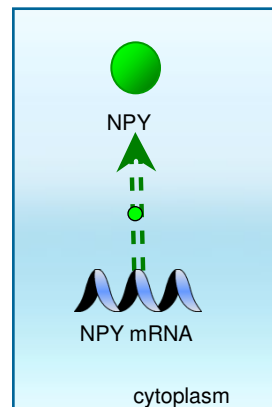
Ananko E.A., et al., GeneNet: a database on structure and functional organisation of gene networks. Nucleic Acids Res. 2002 , 30(1):398-401.

Технология GeneNet:

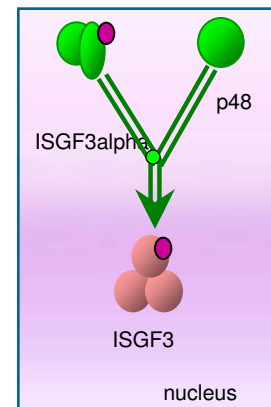
примеры графических образов, используемых для визуализации
элементарных структур и событий, значимых для функционирования
генных сетей



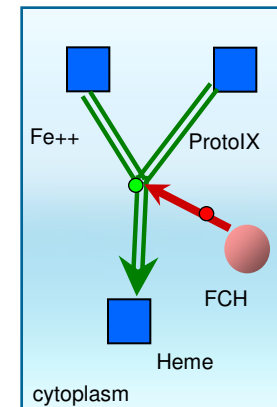
Транскрипция



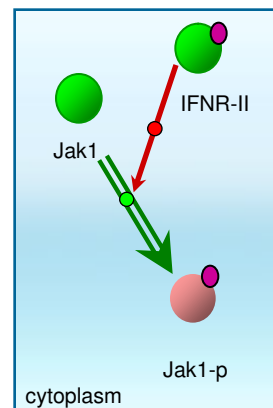
Трансляция



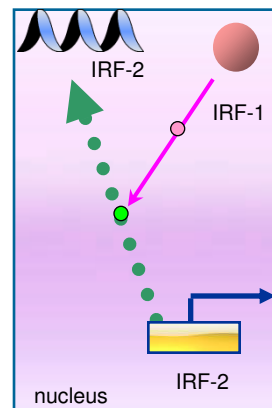
Мультимеризация



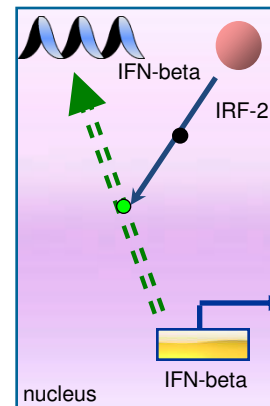
Ферментативный синтез



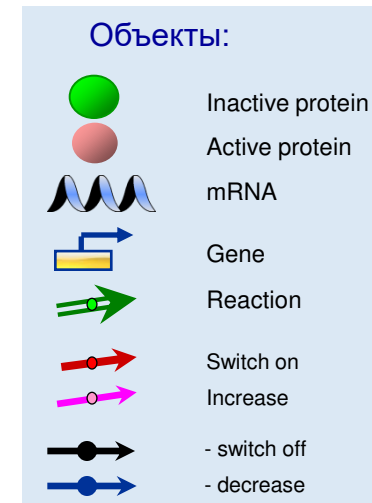
Фосфорилирование



Активация
транскрипции



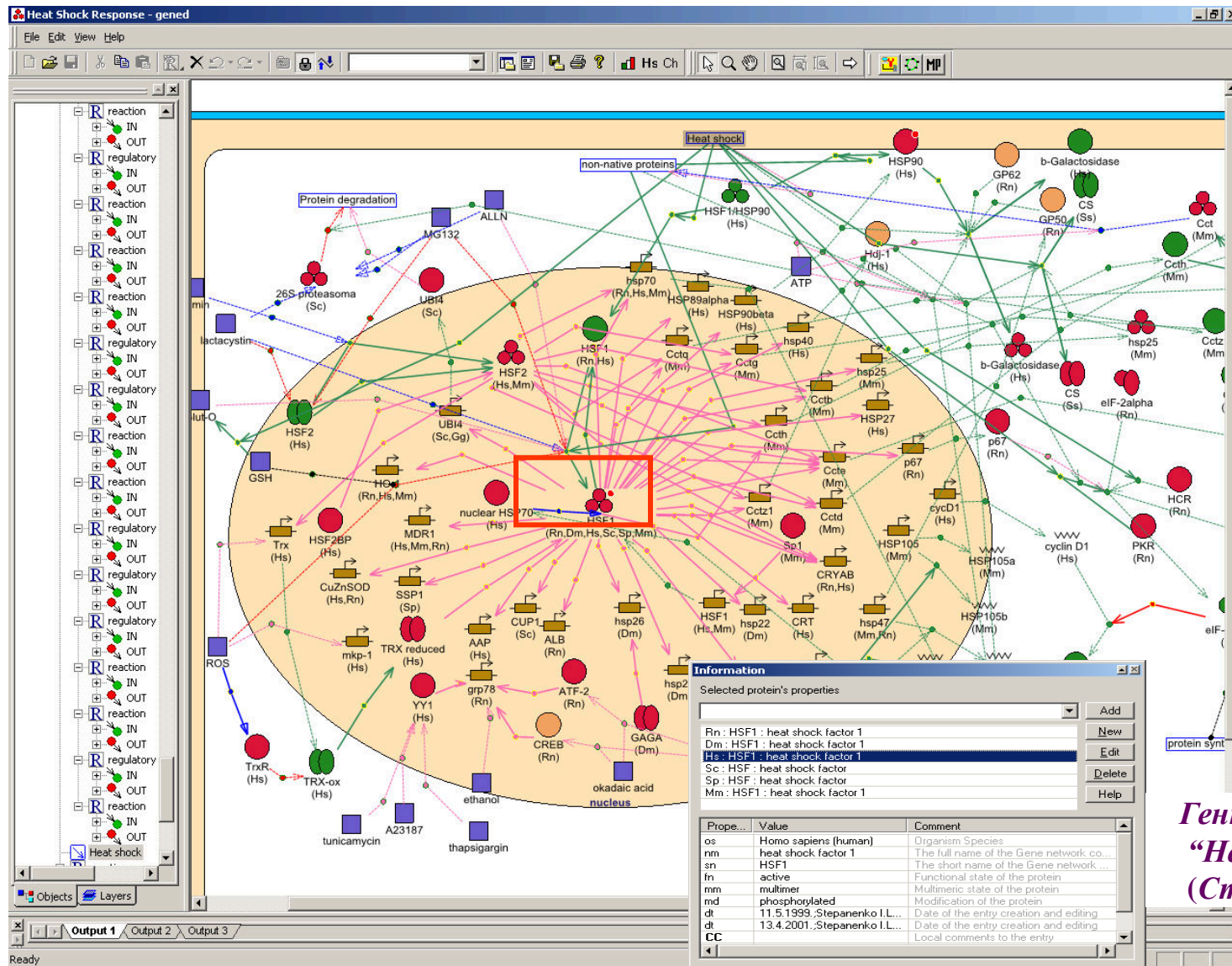
Подавление
транскрипции



Технология GeneNet:

интерфейс для ввода и визуализации данных

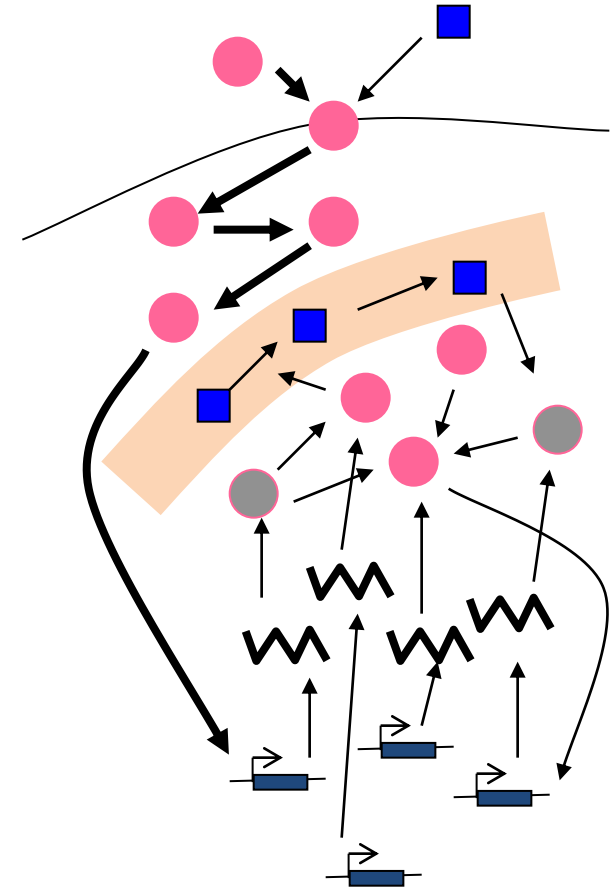
Ananko E.A., et al., GeneNet in 2005. Nucleic Acids Res. 2005, 33:D425-7



*Генная сеть
“Heat shock Response”
(Степаненко И.Л.)*

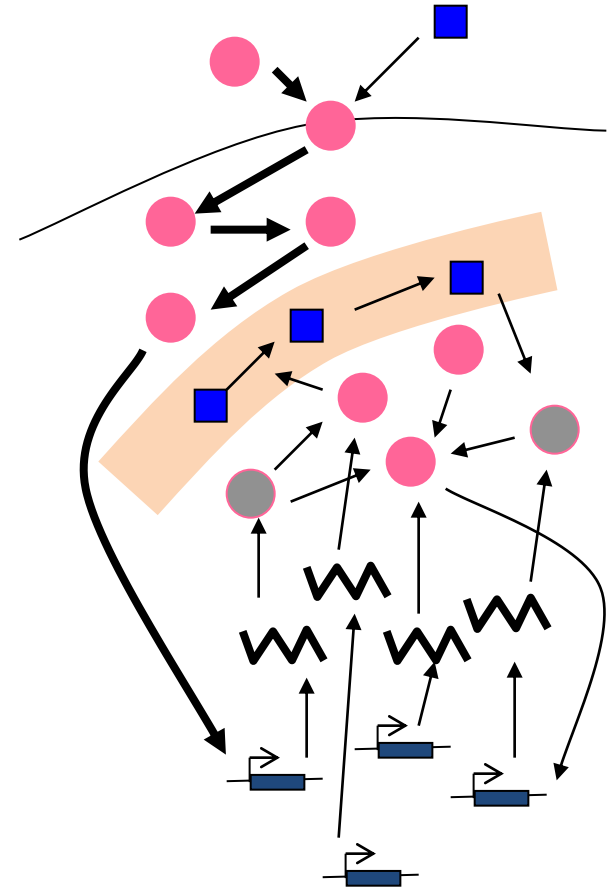
Генные сети могут включать такие крупные функциональные модули как:

- метаболические пути;
- пути передачи сигналов от клеточных мембран в ядра клеток, обеспечивающие активацию или подавление транскрипции генов в ответ на внешние по отношению к клетке стимулы;



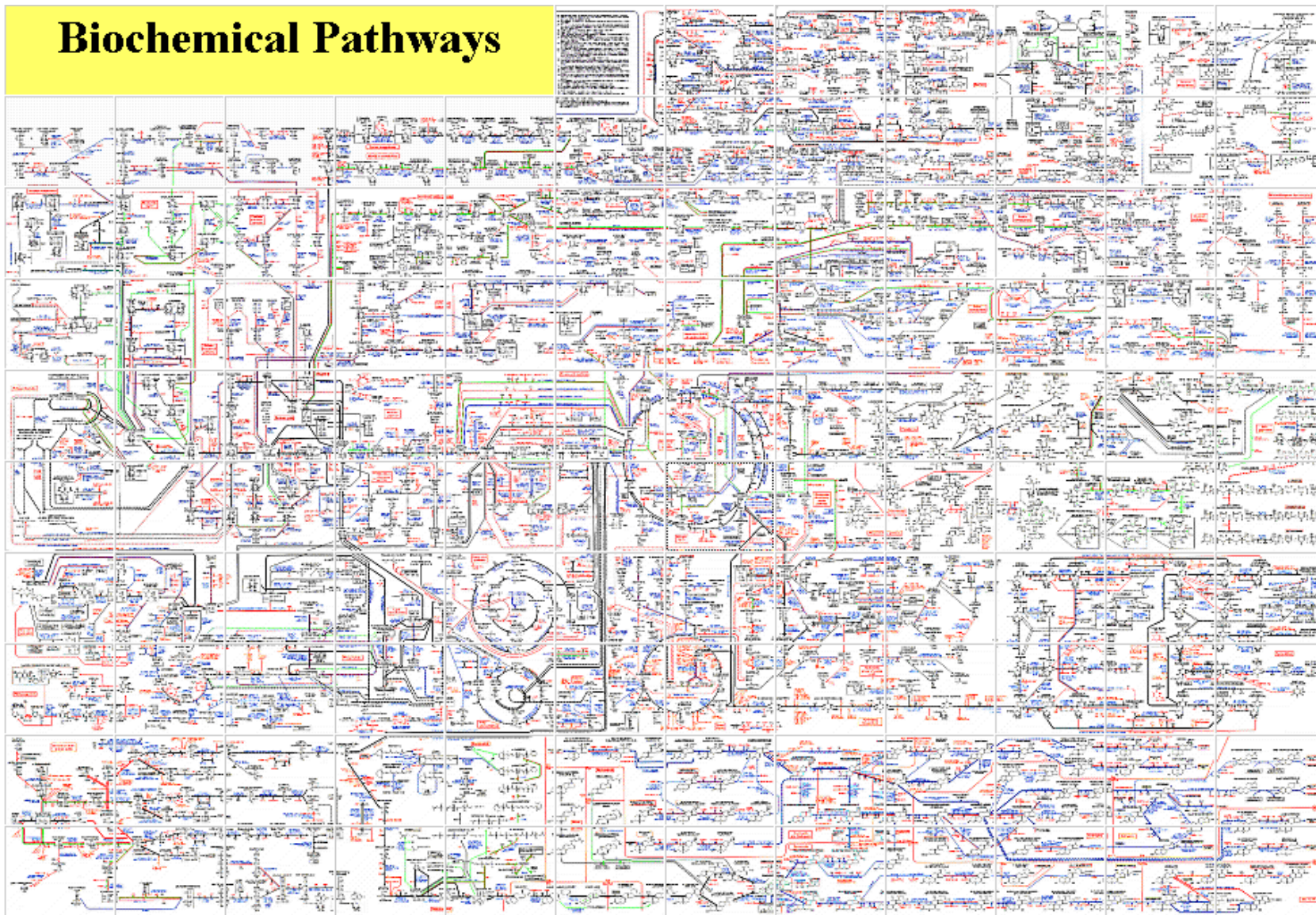
Генные сети могут включать такие крупные функциональные модули как:

- метаболические пути;
- пути передачи сигналов от клеточных мембран в ядра клеток, обеспечивающие активацию или подавление транскрипции генов в ответ на внешние по отношению к клетке стимулы;



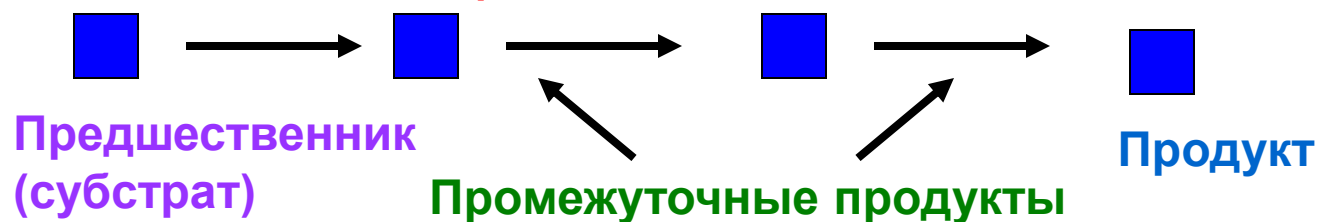
Метаболические пути — это сложная сеть разветвленных и взаимозависимых последовательностей биохимических превращений.

Biochemical Pathways

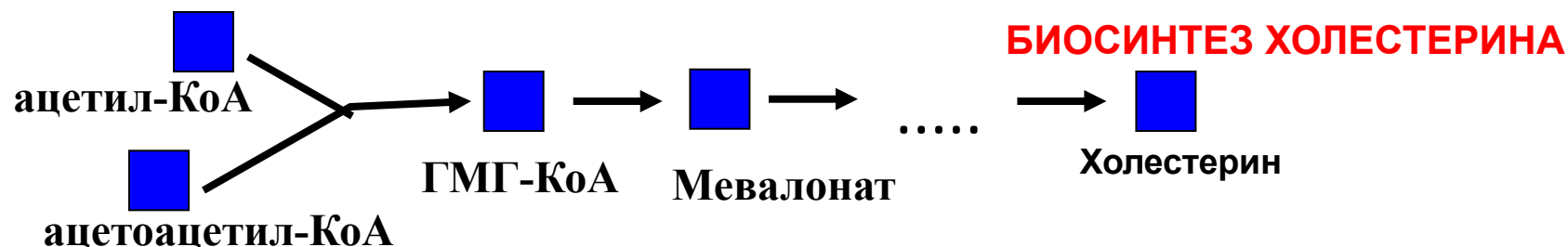
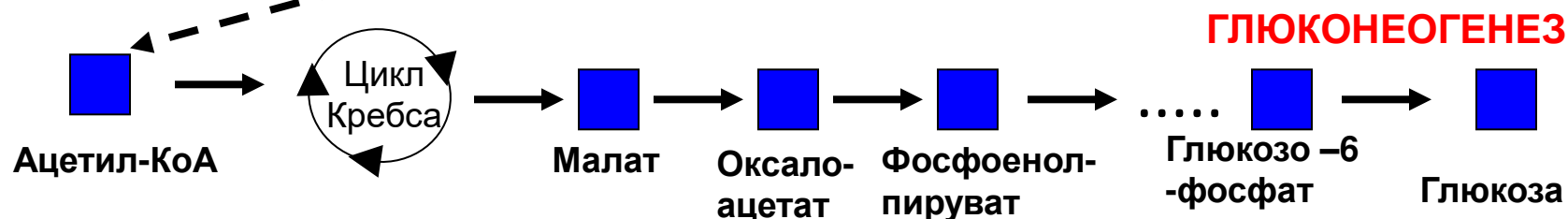


Пытаться запомнить все эти пути — задача совершенно неподъемная !!

ОБОБЩЕННАЯ СХЕМА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПУТИ



Примеры метаболических путей



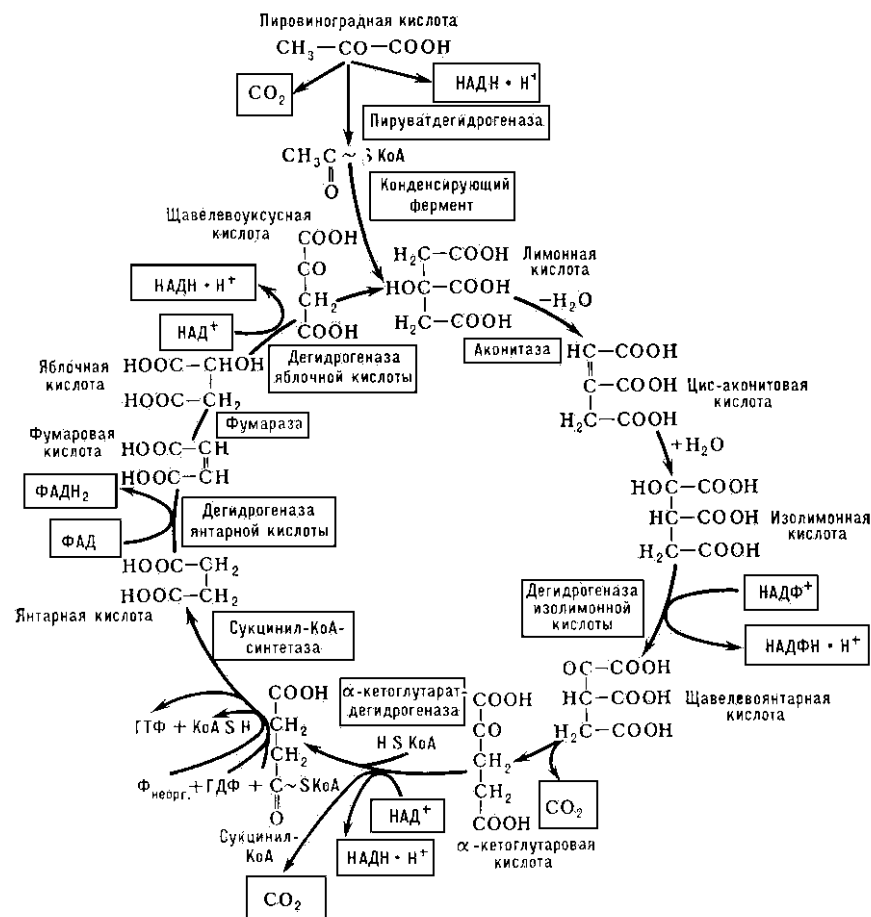
Классификация метаболических путей (по структуре):

Линейные – превращение одного вещества в другое через серию промежуточных стадий (например, гликолиз, где глюкозы превращается в пируват)

Разветвленные:

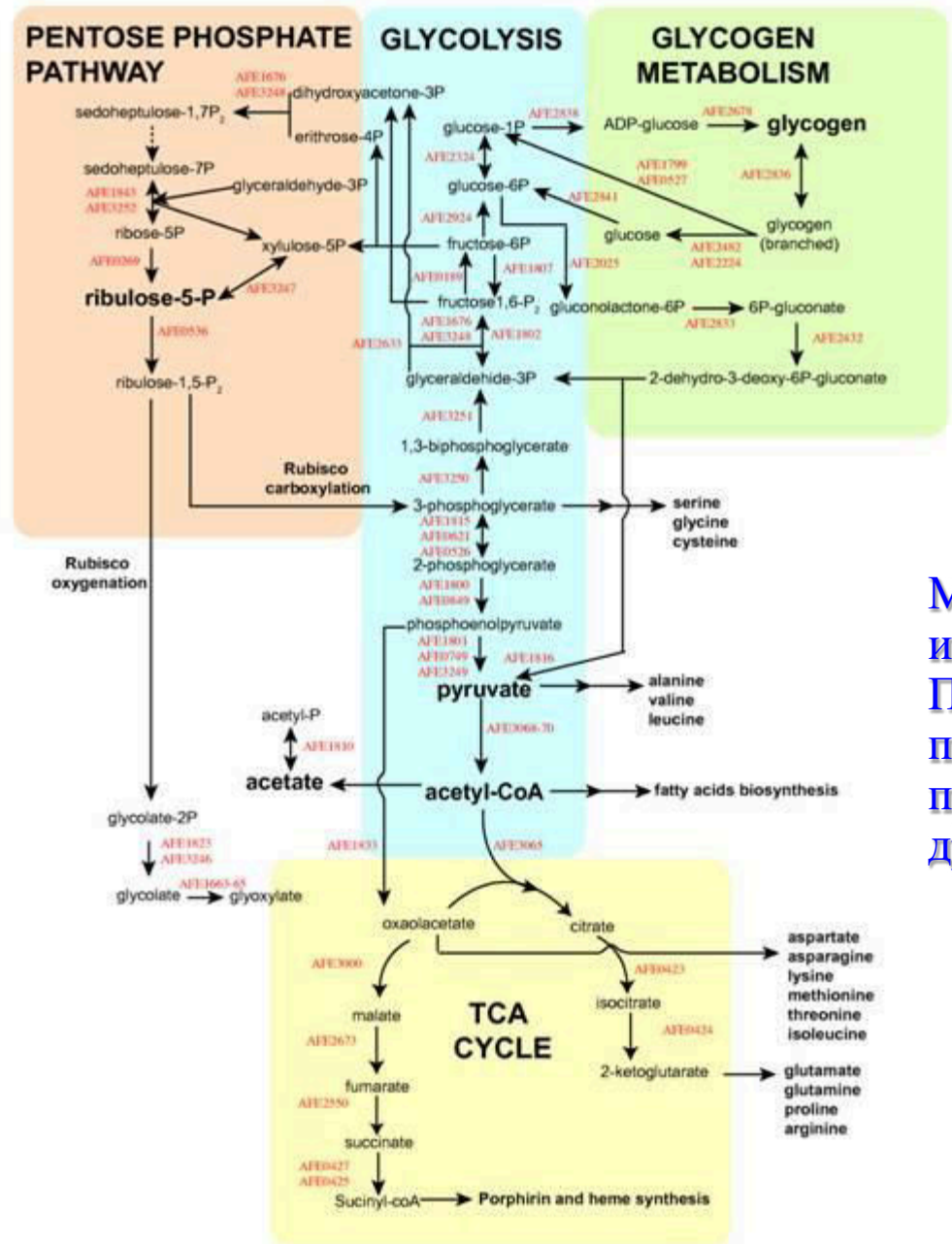
- Дивергентные – промежуточное вещество может превращаться в различные конечные продукты (биосинтез пуринов и некоторых аминокислот)
- Конвергентные – различные предшественники могут быть субстратом для синтеза одного и того же продукта (различные углеводы могут подвергаться гликолизу)

Циклические (например, цикл трикарбоновых кислот)



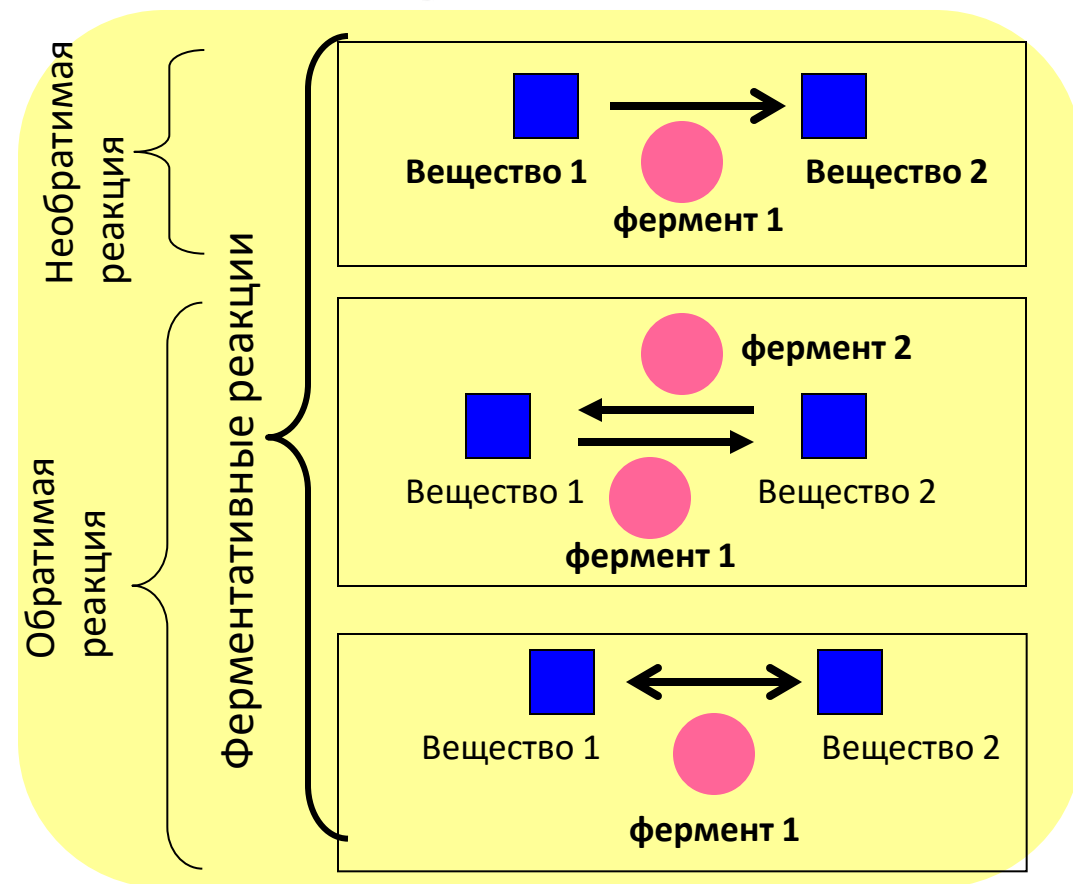
Цикл трикарбоновых кислот (Цикл Кребса) – пример циклического метаболического пути

Интеграция метаболических путей

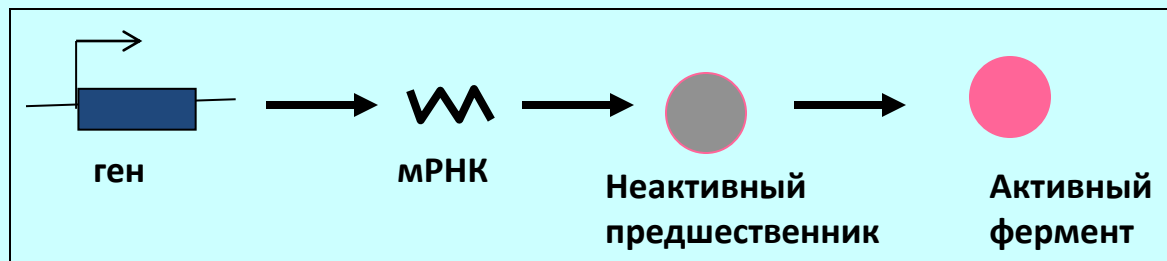


Метаболические пути составляют интегральную систему метаболизма. Промежуточные либо конечные продукты одного метаболического пути могут быть субстратами для другого

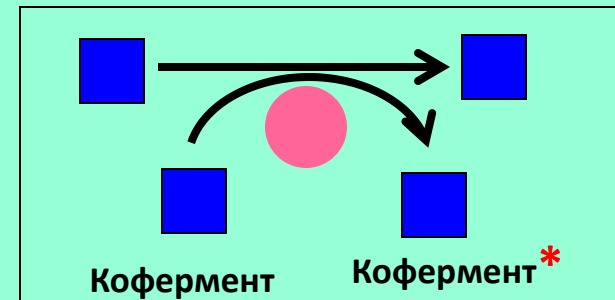
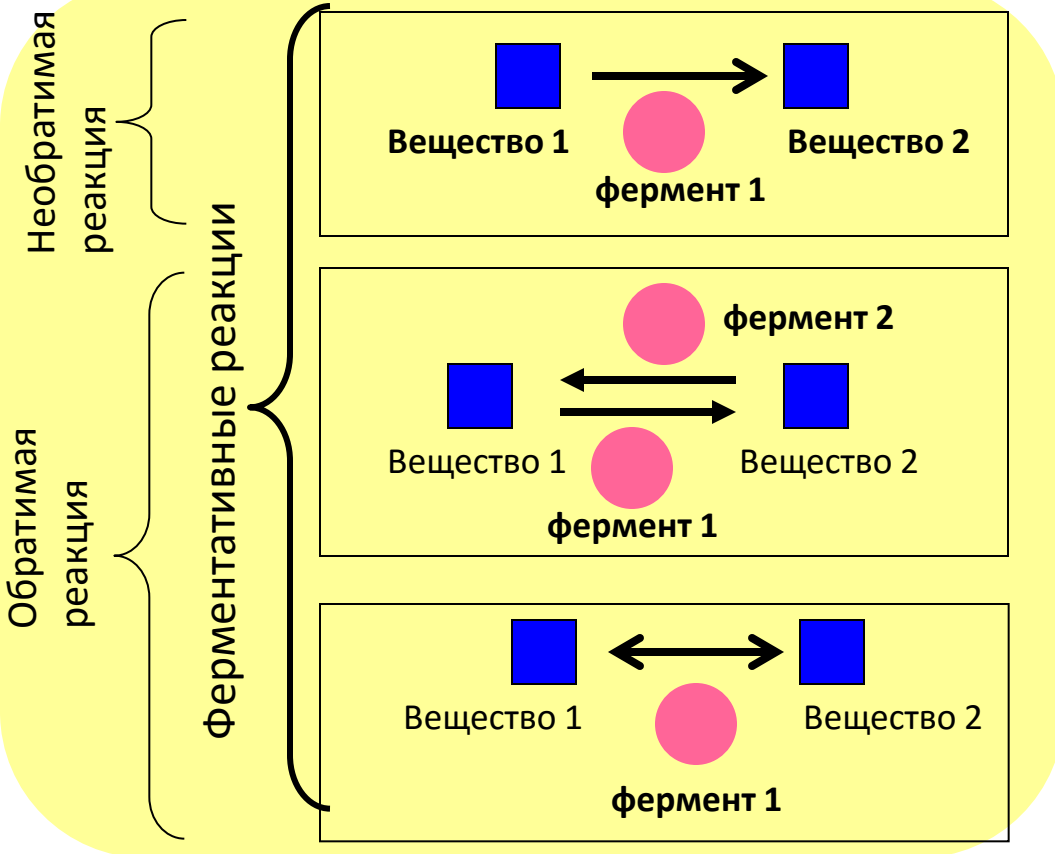
Элементарные события в метаболических генных сетях



Экспрессия активного фермента



Элементарные события в метаболических генных сетях



Одна из реакций гликолиза

ATP + D-Fructose



ADP + beta-D-Fructose 6-phosphate

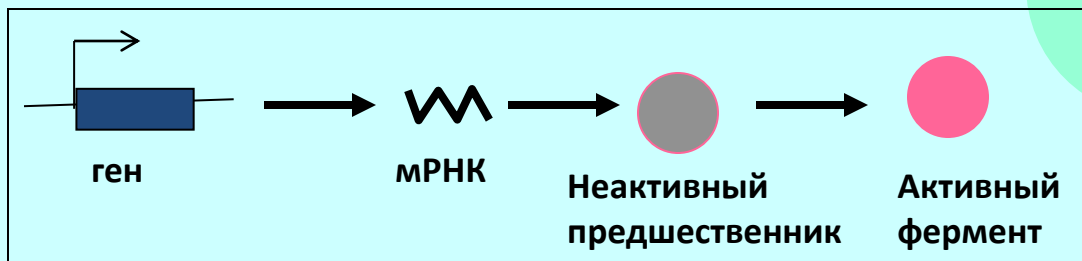
Примеры коферментов:

Ионы металлов (Mg^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+})

Витамины (B1, B2, B6 и т.д.)

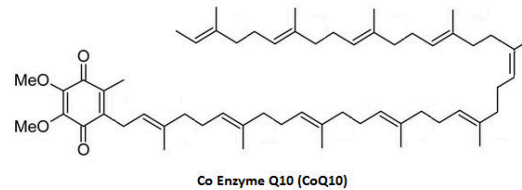
АТФ, НАД, ФАД, Глутатион, кофермент Q10 и т.д.

Экспрессия активного фермента

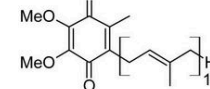


Примеры важных коферментов

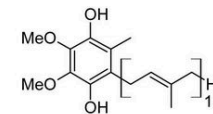
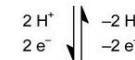
Кофермент Q10 - убихинон



Окисленная форма (убихинон)



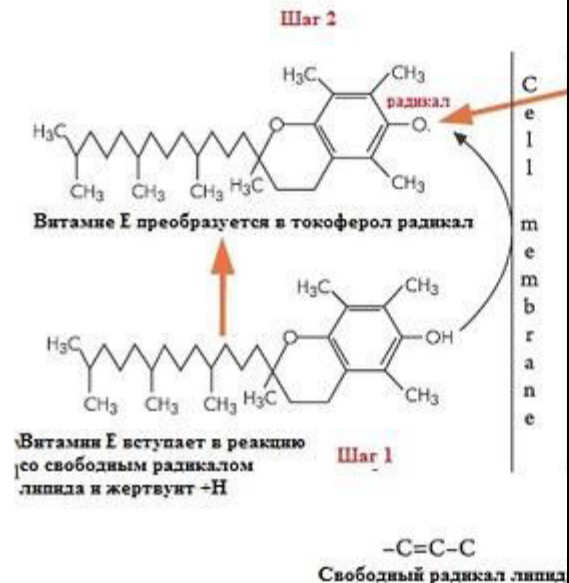
Oxidized form of CoQ10 (Ubiquinone)



Reduced form of CoQ10 (Ubiquinol)

Восстановленная форма (Убихинол)

Витамин Е (токоферол)

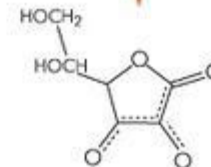


Витамин С (аскорбиновая кислота)



Шар 3

Аскорбиновая кислота жертвует H-токоферолу

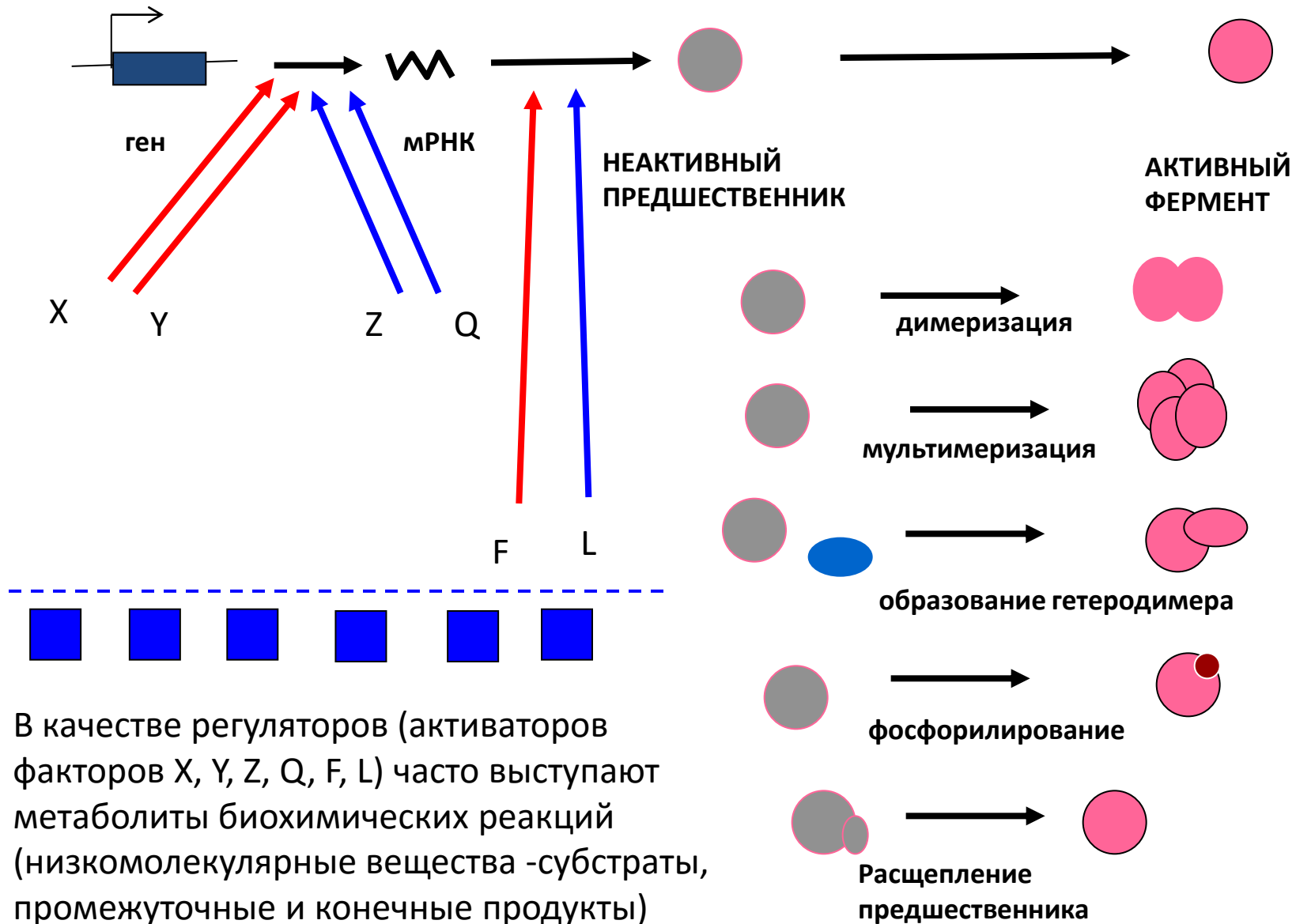


Шар 4

Аскорбиновая кислота окислена до дегидроаскорбиновой кислоты

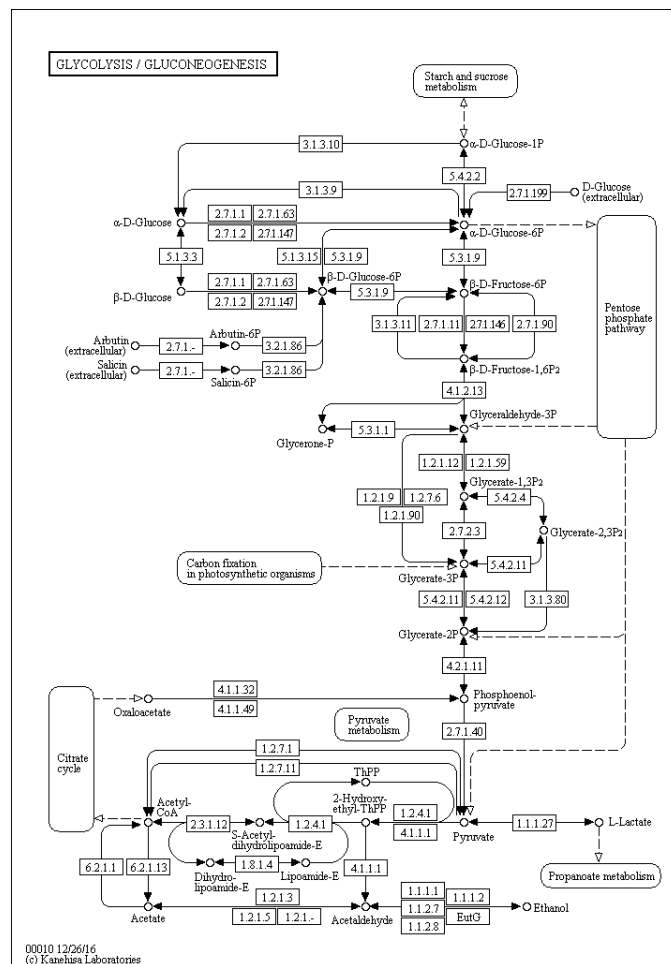
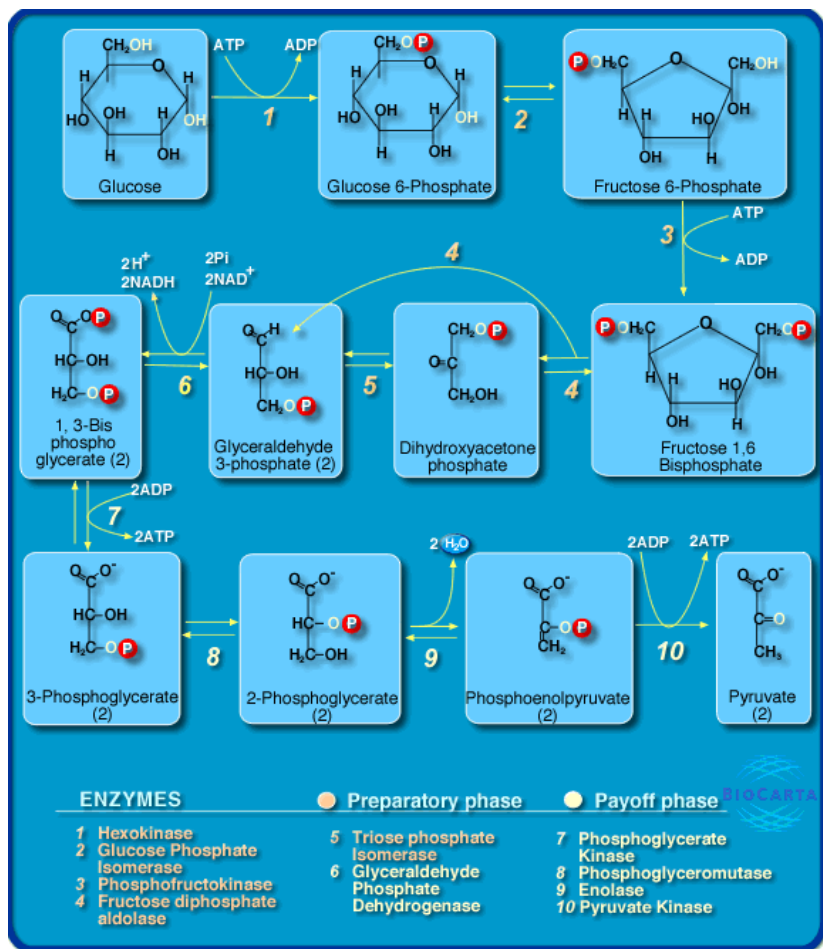


Регуляторные события, предшествующие образованию активного фермента



Метаболические пути представлены в базах KEGG, Reactome, Biocarta

(Эти базы будут рассмотрены в четвертой лекции)

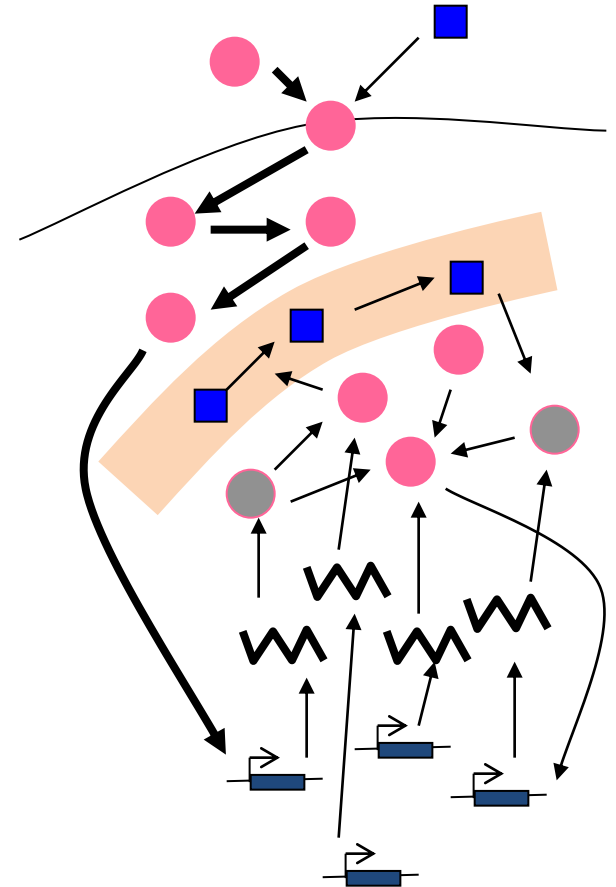


Гликолиз – представление в базе **Boicarta**
https://cgap.nci.nih.gov/Pathways/BioCarta/h_glycolysisPathway

Гликолиз – представление в базе **KEGG**
http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map=map00010&show_description=show

Генные сети могут включать такие крупные функциональные модули как:

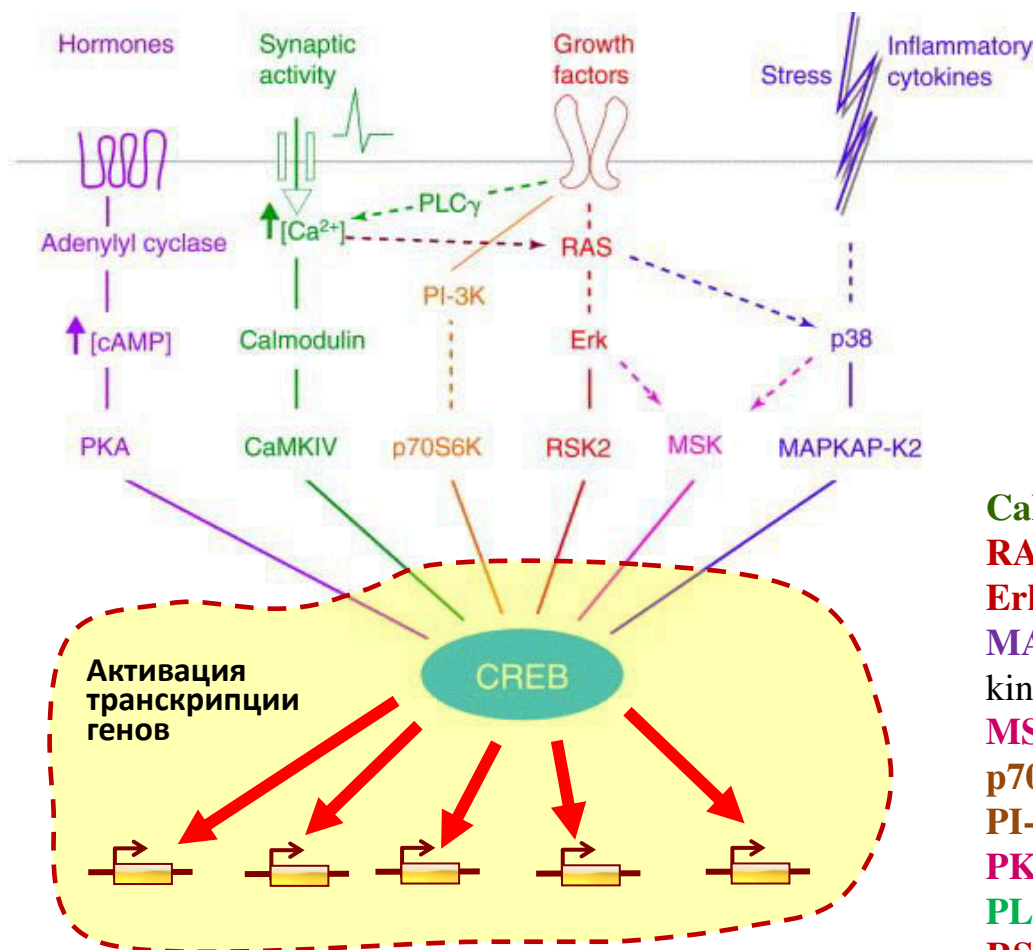
- метаболические пути;
- пути передачи сигналов от клеточных мембран в ядра клеток, обеспечивающие активацию или подавление транскрипции генов в ответ на внешние по отношению к клетке стимулы;



Пути передачи сигналов от клеточных мембран в ядра клеток

Пример 1- путь сигнальной трансдукции, приводящий к фосфорилированию факторов семейства CREB (Camp Response Element-Binding Protein)

(Повторение – слайд был представлен на лекциях в первом семестре)

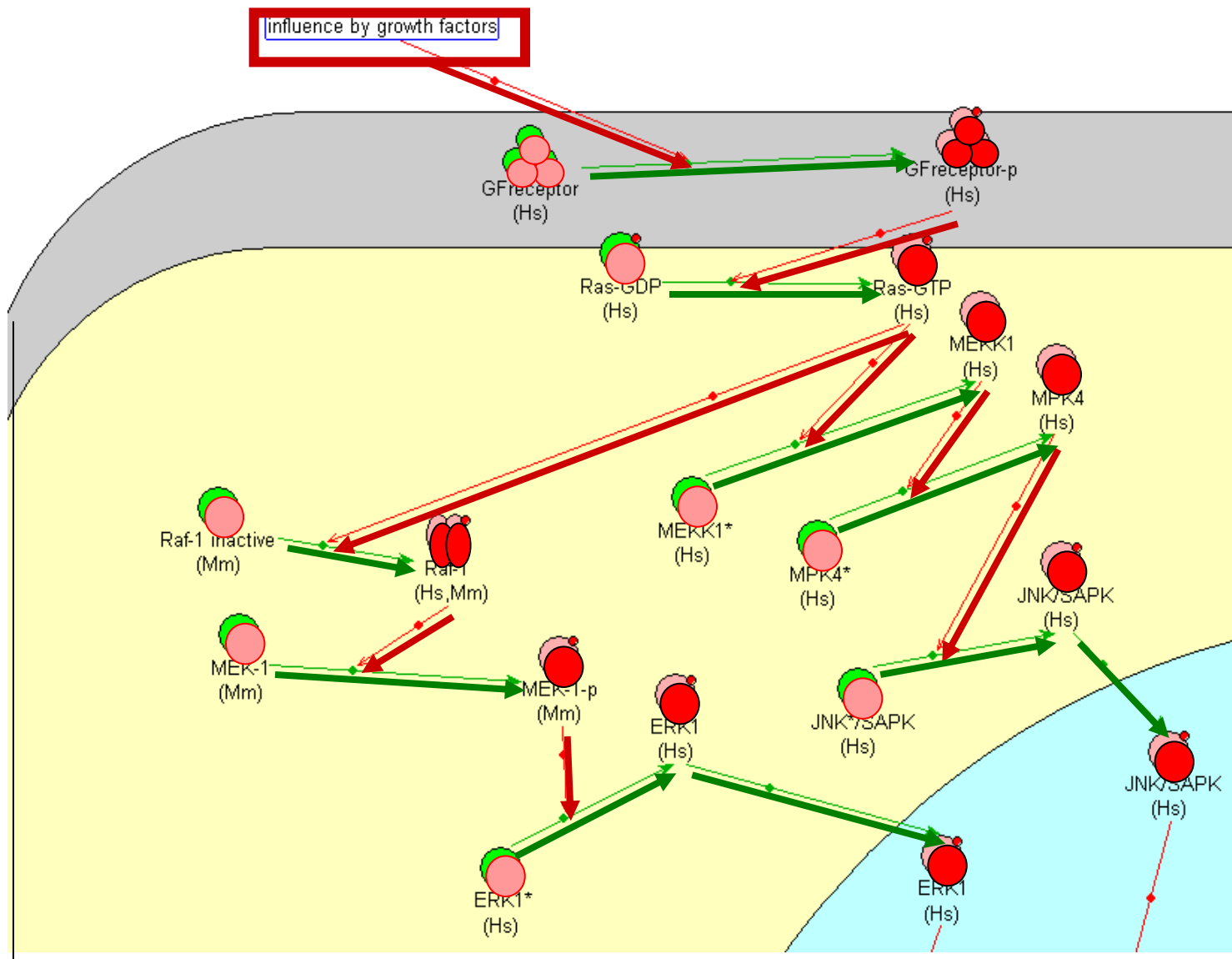


- 1) Множественность начальных индукторов (внешних сигналов)
- 2) Конвергенция сигнальных путей, приводящих к активации одного и того же ТФ
- 3) Интерференция сигналов

CaMKIV, Ca²⁺–calmodulin-dependent kinase IV;
RAS, Ras proto-oncogene, small GTPases;
Erk, extracellular regulated kinase;
MAPKAP-K2, MAP-kinase-activated protein kinase 2;
MSK, mitogen- and stress-activated kinase;
p70S6K, p70 S6 kinase;
PI-3K, phosphoinositide 3-kinase;
PKA, cyclic-AMP-dependent protein kinase;
PLCγ, phospholipase C;
RSK2, ribosomal S6 kinase 2.

Пути передачи сигналов от клеточных мембран в ядра клеток

Пример2 - MAP-киназный путь передачи сигнала в ядро клетки, активируемый ростовыми факторами, контролирующий процесс клеточного деления

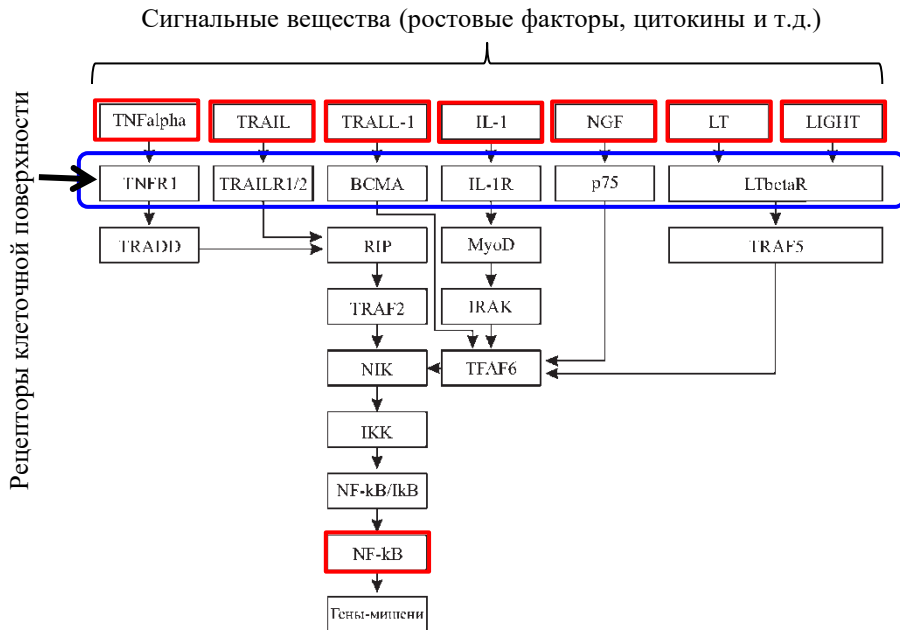


Конвергентность и дивергентность путей передачи сигналов

Конвергентность

(= сходимость к одному конечному звену):

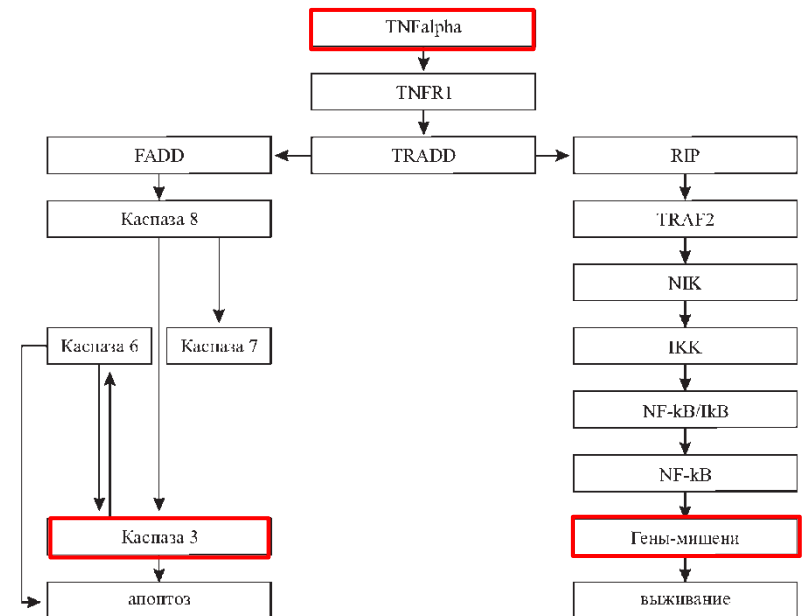
Транскрипционный фактор NF- κ B – индуцирует экспрессию многих генов, включая гены цитокинов, хемокинов, антиапоптозных белков, а также стрессового ответа. На начальных этапах передача сигналов может осуществляться через различные рецепторы. Конечные этапы представляют собой последовательную активацию белков TRAF, IKK и NIK



Дивергентность

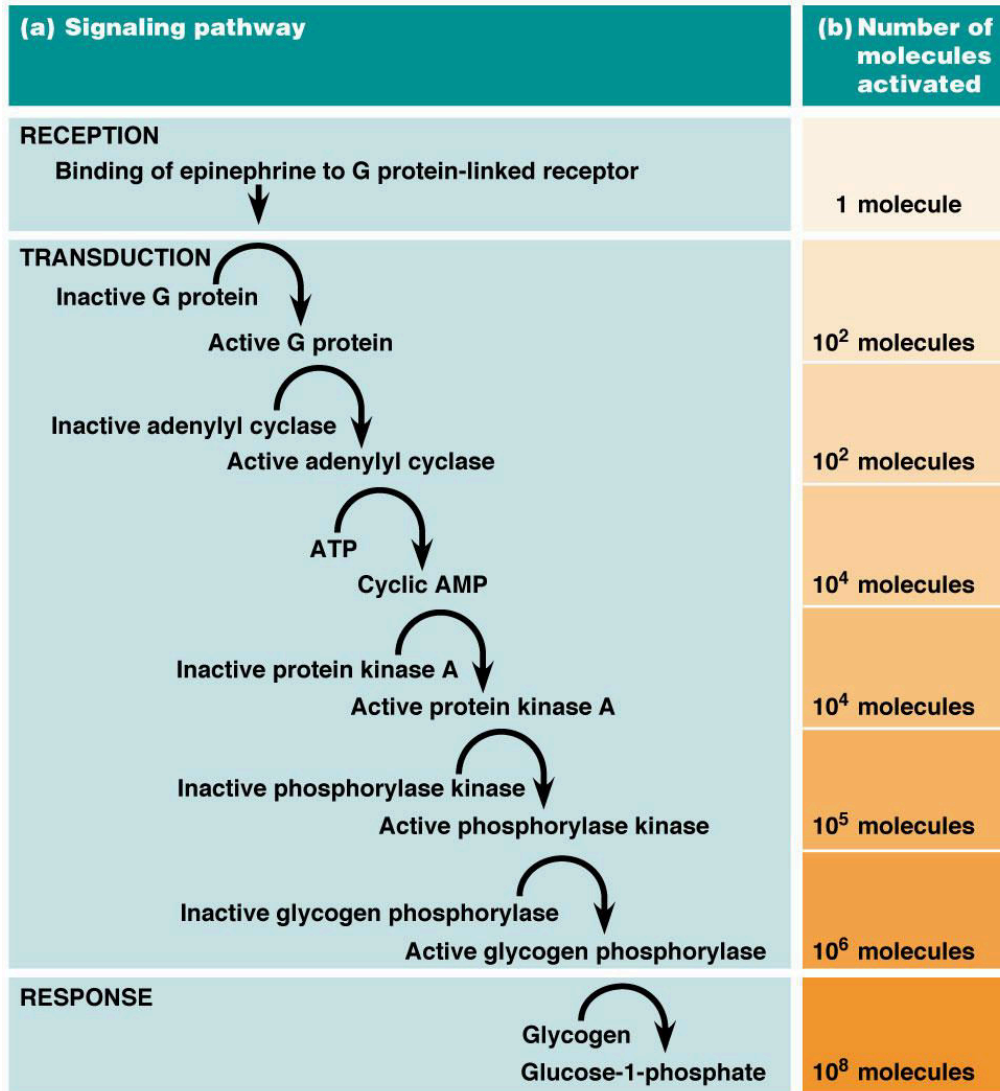
(= расхождение в разные стороны) :

TNF-alpha индуцирует два важных сигнальных пути: один из них приводит к апоптозу, тогда как второй активирует транскрипционный фактор NF- κ B, который необходим для выживания клеток. При активации первого пути (апоптоз) адапторный белок TRADD связывается с белком FADD, привлекая в свою очередь каспазу 8. Далее активируется каскад, приводящий к апоптозу. Второй путь (выживание) активируется при участии комплекса адапторных белков TRADD и TRAF2 и киназы RIP.



Амплификация сигнала в пути сигнальной трансдукции, активируемом эпинефрином

На каждом этапе сигнального каскада генерируется больше сигнальных молекул, чем на предыдущем. Таким образом сигнал многократно усиливается (амплифицируется)

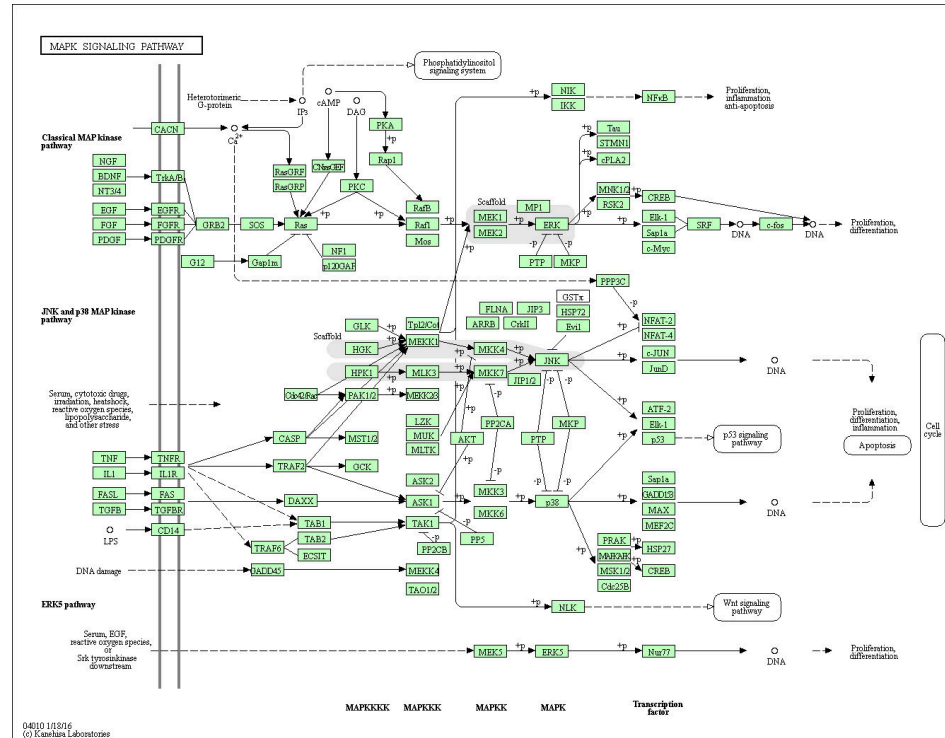
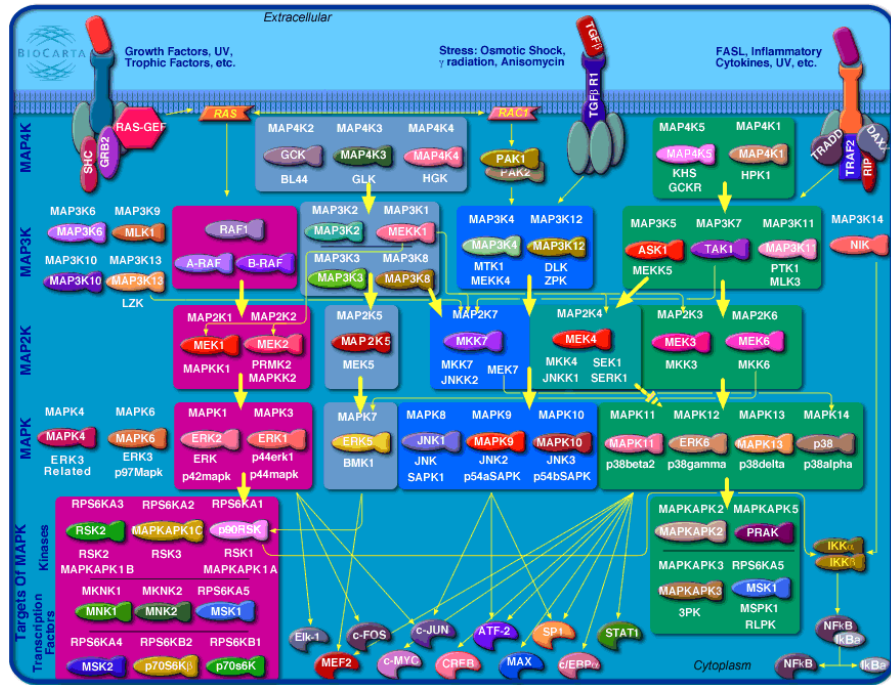


Эпинефрин = адреналин (L-1 (3,4-Диоксифенил)-2-метиламиноэтанол) - основной гормон мозгового вещества надпочечников, а также нейромедиатор. Участвует в реализации состояния, при котором организм мобилизуется для устранения угрозы. Оказывает множественные эффекты, включая суживающее действие. Синтетический адреналин используется в качестве лекарственного средства под наименованием «Эпинефрин»

Один из эффектов – стимуляция распада гликогена

Сигнальные пути представлены в базах KEGG, Reactome, Biocarta

(Эти базы будут рассмотрены в четвертой лекции)



МАР-киназный сигнальный путь –
представление в базе **Boicarta**
https://cgap.nci.nih.gov/Pathways/BioCarta/h_mapkPathway

МАР-киназный сигнальный путь –
представление в базе **KEGG**
http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map=hsa04010&show_description=show

Базовые принципы организации генных сетей

1. Существование большого разнообразия молекулярных механизмов, обеспечивающих функционирование обратных связей, в том числе за счет изменения интенсивности процессов транскрипции, сплайсинга, трансляции, посттрансляционных модификаций белков, ферментативных реакций, транспорта и т. д.;
2. Наличие в каждой сети «центральных» генов и белков (ключевых регуляторов), обеспечивающих координацию функций остальных генов этой сети;
3. Кассетный механизм регуляции экспрессии генов либо активности белков;
4. Молекулярная бюрократия;
5. Авторегуляция генной сети, осуществляемая благодаря функционированию регуляторных контуров с положительными и отрицательными обратными связями и направленная на поддержание определенного, характерного для каждой генной сети типа динамики;
6. Иерархическая организация;
7. Компартиментализация ГС

Базовые принципы организации генных сетей

1. Существование большого разнообразия молекулярных механизмов, обеспечивающих функционирование обратных связей, в том числе за счет изменения интенсивности процессов транскрипции, сплайсинга, трансляции, посттрансляционных модификаций белков, ферментативных реакций, транспорта и т. д.;
2. Наличие в каждой сети «центральных» генов и белков (ключевых регуляторов), обеспечивающих координацию функций остальных генов этой сети;
3. Кассетный механизм регуляции экспрессии генов либо активности белков;
4. Молекулярная бюрократия;
5. Авторегуляция генной сети, осуществляемая благодаря функционированию регуляторных контуров с положительными и отрицательными обратными связями и направленная на поддержание определенного, характерного для каждой генной сети типа динамики;
6. Иерархическая организация;
7. Компартиментализация ГС

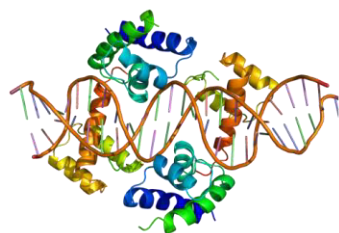
Молекулярные механизмы, обеспечивающие функционирование ГС

Молекулярная основа работы регуляторных контуров, управляющих функционированием генных сетей и определяющих тип их динамики, – наличие сайтов-мишеней в ДНК, РНК и белках, с которыми могут взаимодействовать различные молекулярные компоненты генной сети и внешние регуляторные факторы

Таким образом для функционирования генных сетей важны следующие типы взаимодействий:

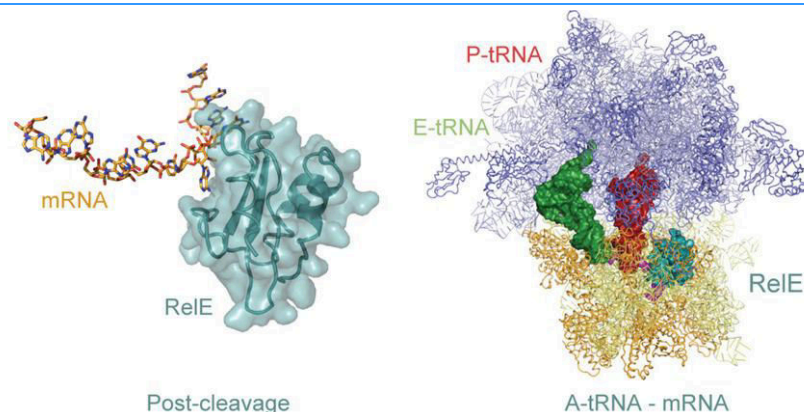
- ДНК-белковые (транскрипция)
- РНК-белковые (трансляция)
- Белок-белковые либо кофактор-белок

Пример взаимодействия ДНК-белок:



Взаимодействие
транскрипционного
фактора POU1F1 с ДНК

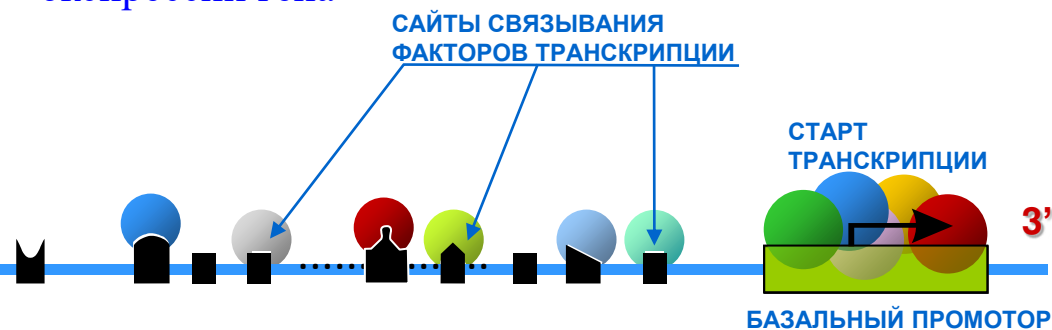
Пример взаимодействия РНК-белок:



Взаимодействие рибосом-зависимого интерферазного белка RelE (E.Coli) с мРНК. RelE – эндорибонуклеаза, расщепляющая мРНК по определенным сайтам. Ингибирует трансляцию при недостатке аминокислот.

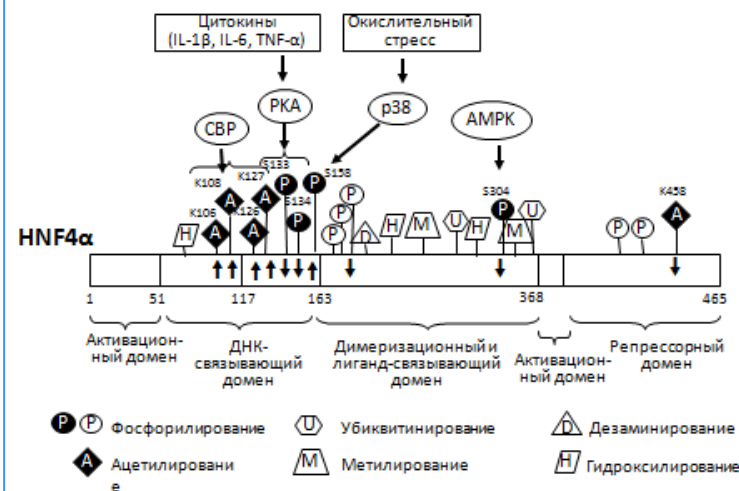
Молекулярные механизмы, обеспечивающие функционирование ГС (продолжение)

Транскрипция – уникальная комбинация транскрипционных факторов определяет паттерн экспрессии гена



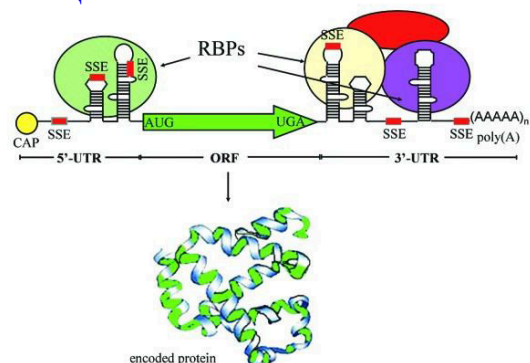
Сайты связывания транскрипционных факторов в регуляторном районе гена

Регуляция активности белков осуществляется благодаря посттрансляционным модификациям, а также взаимодействием с метаболитами и ионами.



Посттрансляционные модификации транскрипционного фактора HNF4α человека. Эффект на активность белка показан стрелками: ↑ - повышение активности, ↓ - снижение активности.

Трансляция - РНК - белковые регуляторные взаимодействия, влияют на интенсивность трансляции и стабильность мРНК



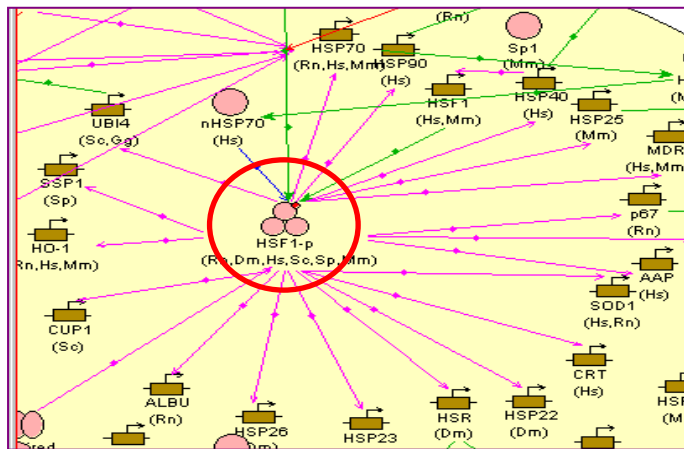
Базовые принципы организации генных сетей

1. Существование большого разнообразия молекулярных механизмов, обеспечивающих функционирование обратных связей, в том числе за счет изменения интенсивности процессов транскрипции, сплайсинга, трансляции, посттрансляционных модификаций белков, ферментативных реакций, транспорта и т. д.;
2. Наличие в каждой сети «центральных» генов и белков (ключевых регуляторов), обеспечивающих координацию функций остальных генов этой сети;
3. Кассетный механизм регуляции экспрессии генов либо активности белков;
4. Молекулярная бюрократия;
5. Авторегуляция генной сети, осуществляемая благодаря функционированию регуляторных контуров с положительными и отрицательными обратными связями и направленная на поддержание определенного, характерного для каждой генной сети типа динамики;
6. Иерархическая организация;
7. Компартиментализация ГС

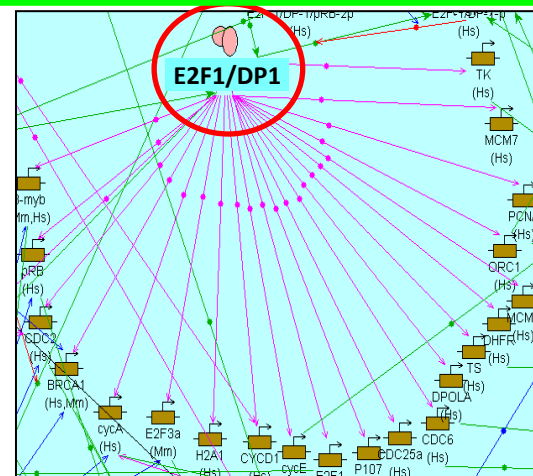
Кассетный принцип регуляции: у эукариот каждый транскрипционный фактор может регулировать около 1000 генов

При этом определенная доля из множества регулируемых генов функционируют в составе сети, контролирующей важный биологический процесс .

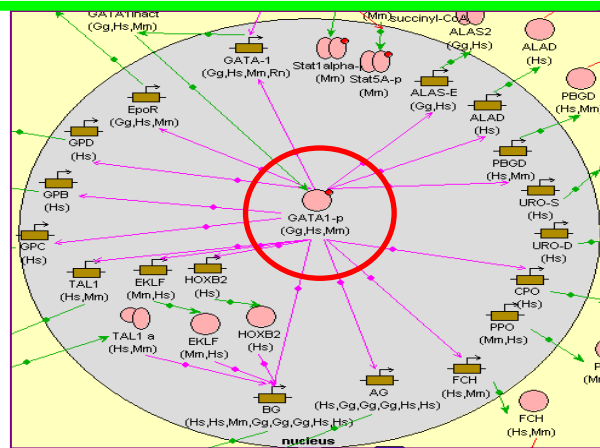
Таким образом рассматриваемый транскрипционный фактор является ключевым регулятором биологического процесса.



Генная сеть теплового шока – цыентральный регулятор – транскрипционный фактор HSF1 (Heat shock factor protein 1)



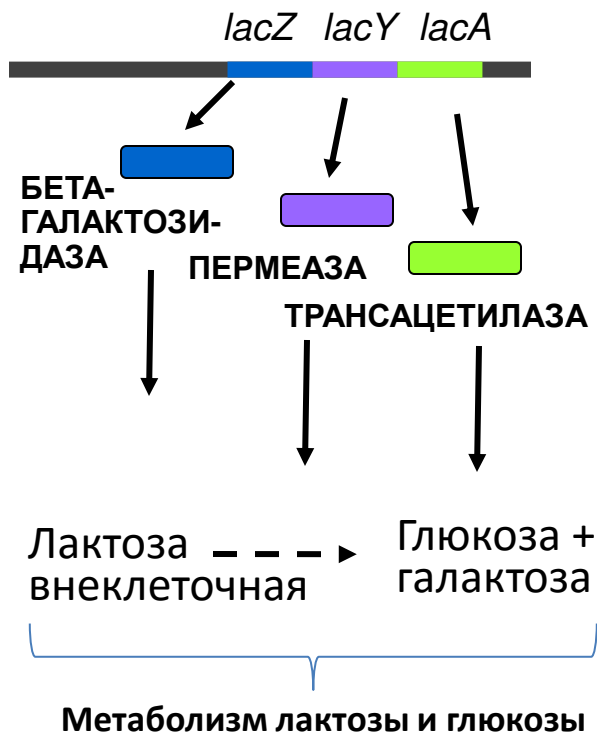
Генная сеть клеточного цикла на стадии G1/S – центральный регулятор – транскрипционный фактор E2F1/DP1



Генная сеть дифференцировки эритроцита – центральный регулятор – транскрипционный фактор GATA1 (GATA-binding factor 1)

Кассетный принцип регуляции применительно к прокариотам: опероны

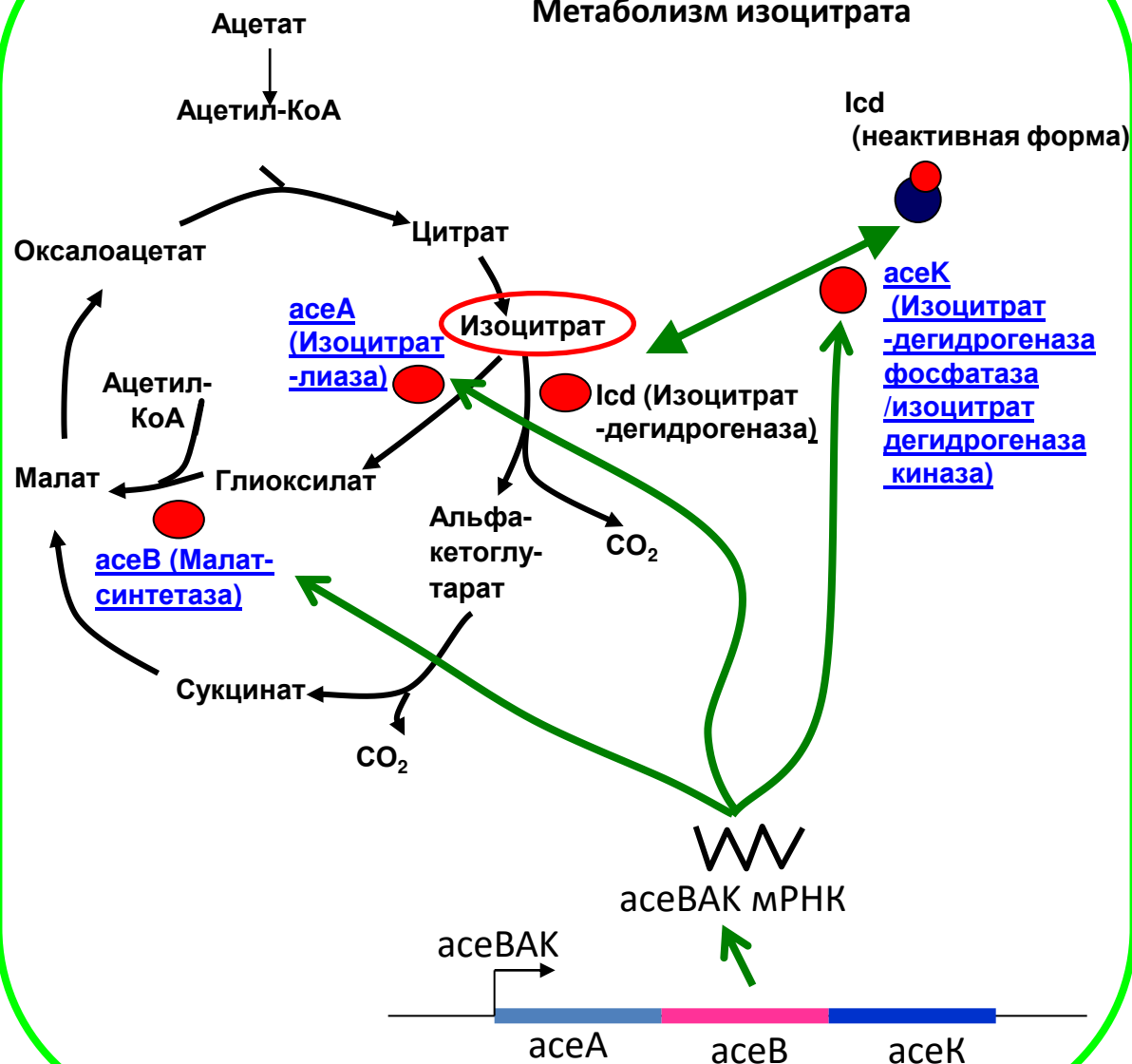
Лактозный оперон *E.coli*

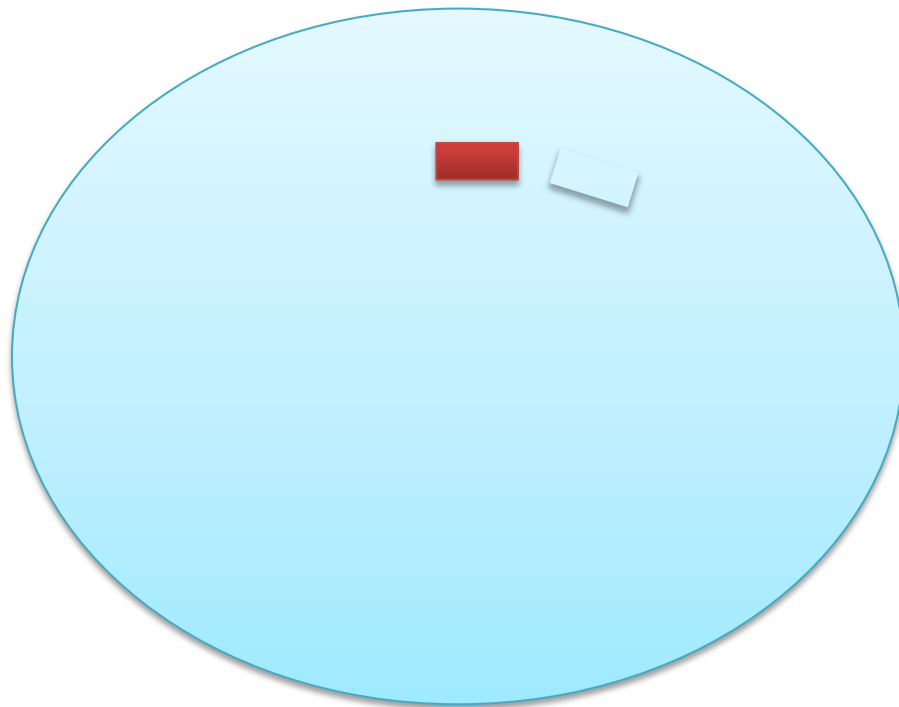


Гены, экспрессирующиеся в составе оперонов, как правило, кодируют ферменты (или регуляторы ферментов) одного метаболического пути

Гены оперона *aceBAK E.coli*

Метаболизм изоцитрата



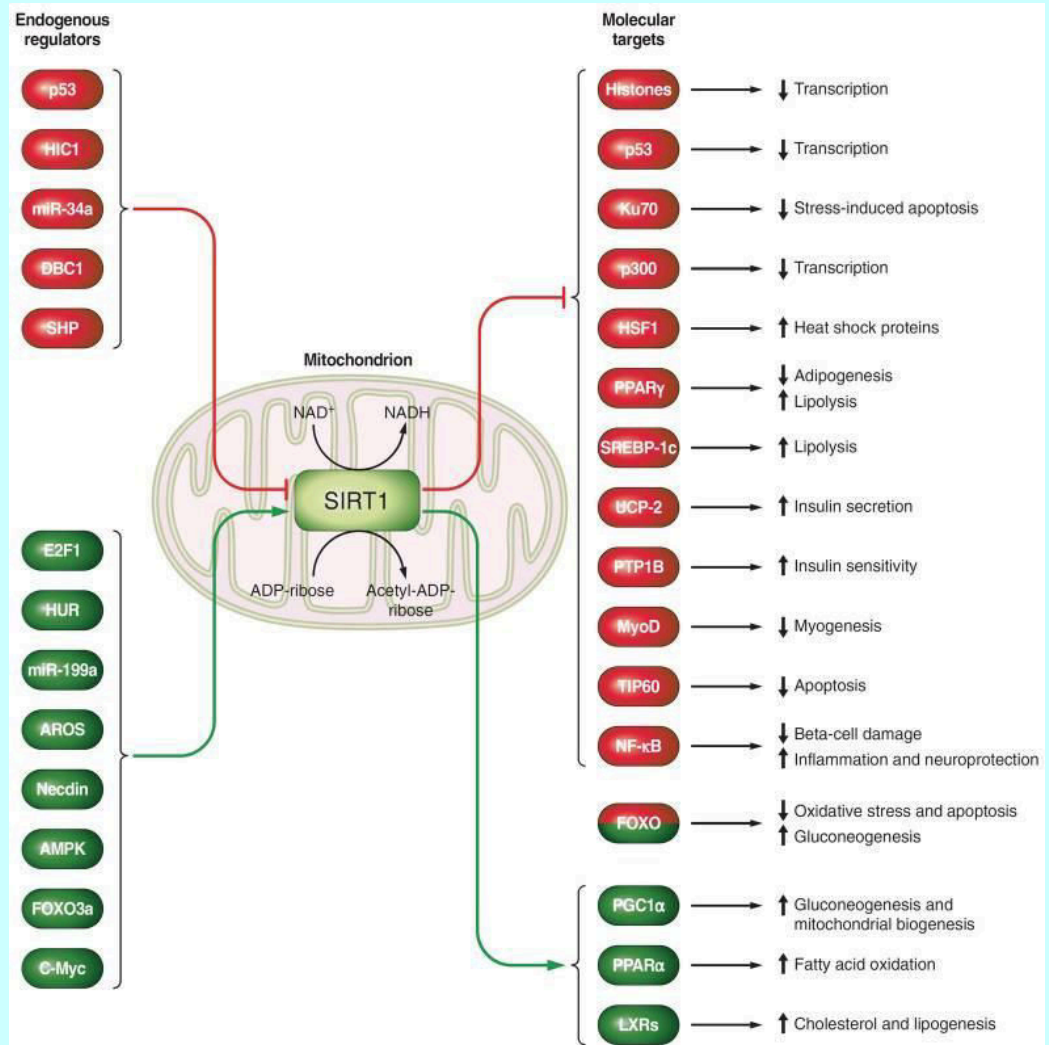
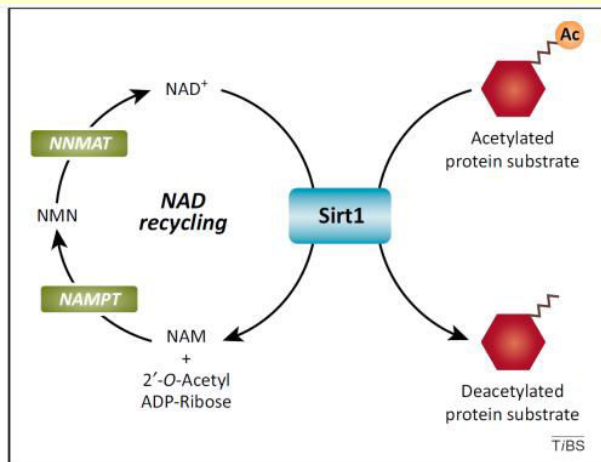


Кассетный принцип на уровне белков: регуляторный белок может регулировать активность множества процессов

Мишенями белка SIRT1 являются белки, участвующие в процессах транскрипции, изменениях структуры хроматина, репарации, выживании клеток при стрессе, метаболизме

SIRT 1 - СИРТУИН-1 = NAD-зависимая деацетилаза.

Биохимическая реакция, осуществляемая белком Sirt1: Sirt1 деацетилирует белки, потребляя NAD⁺. При этом образуется никотинамид (NAM) и 2'-O-ацетил_АДФ-рибоза



Базовые принципы организации генных сетей

1. Существование большого разнообразия молекулярных механизмов, обеспечивающих функционирование обратных связей, в том числе за счет изменения интенсивности процессов транскрипции, сплайсинга, трансляции, посттрансляционных модификаций белков, ферментативных реакций, транспорта и т. д.;
2. Наличие в каждой сети «центральных» генов и белков (ключевых регуляторов), обеспечивающих координацию функций остальных генов этой сети;
3. Кассетный механизм регуляции экспрессии генов либо активности белков;
4. Молекулярная бюрократия;
5. Авторегуляция генной сети, осуществляемая благодаря функционированию регуляторных контуров с положительными и отрицательными обратными связями и направленная на поддержание определенного, характерного для каждой генной сети типа динамики;
6. Иерархическая организация;
7. Компартиментализация ГС

Молекулярная бюрократия

Особенность генных сетей и молекулярно-генетических систем: молекулярная бюрократия. Этот термин был впервые введен [Meléndez-Hevia E. et al., 1996]

Суть понятия молекулярная бюрократия состоит в том, что **каждый рабочий процесс, непосредственно ведущий к формированию того или иного фенотипического признака, обеспечивается исключительно большим количеством регуляторных процессов.**

Meléndez-Hevia E., Sicilia J., Ramos M.T. et al. Molecular bureaucracy: who controls the delays? Transient times in branched pathways and their control // Theor Biol. 1996. 182. № 3. P. 333-339.

Пример на уровне генных сетей - цикл трикарбоновых кислот, снабжающий клетку энергией (см. следующий слайд).

Примеры на более низких иерархических уровнях:

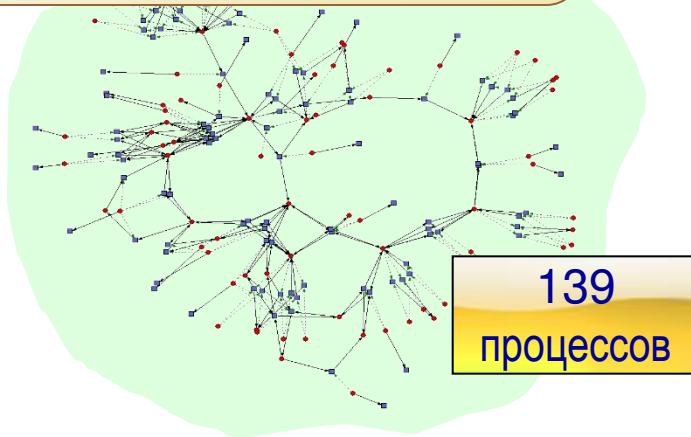
А) регуляция транскрипции гена (строение регуляторных районов генов) – ген аполипопротеина В (см. следующий слайд + 1).

Б) регуляция активности белка (каталитический центр фермента аденин-фосфорибозил_трансферазы (Apt) E. Coli) (см. следующий слайд + 2).

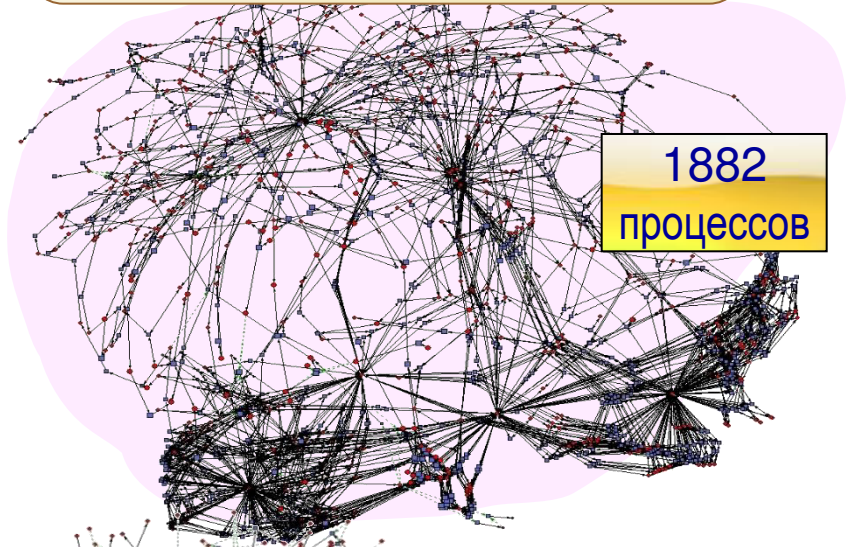
«Молекулярная бюрократия» на уровне генных сетей: соотношение метаболической и регуляторной компонент цикла трикарбоновых кислот *E. coli* K-12

На один рабочий процесс приходится более 10 контролирующих процессов !!!!

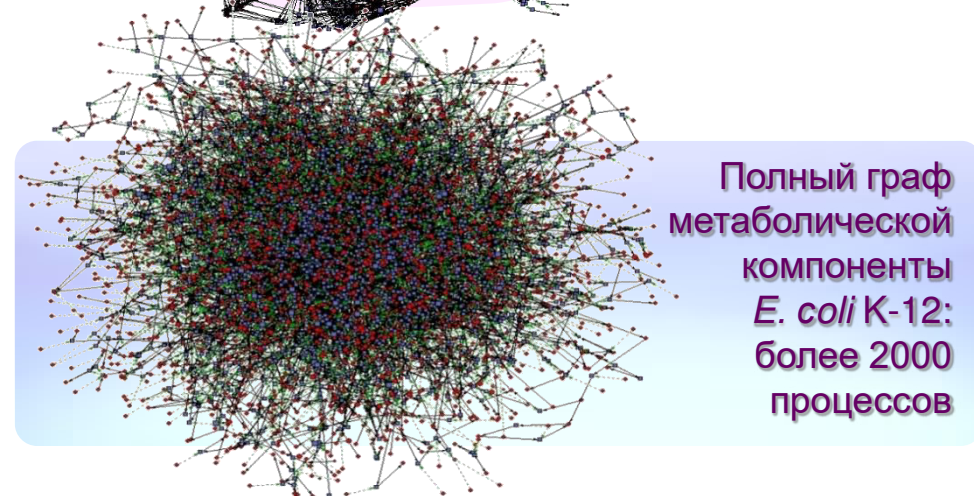
ИСПОЛНЯЮЩАЯ (РАБОЧАЯ)
КОМПОНЕНТА (МЕТАБОЛИЗМ)



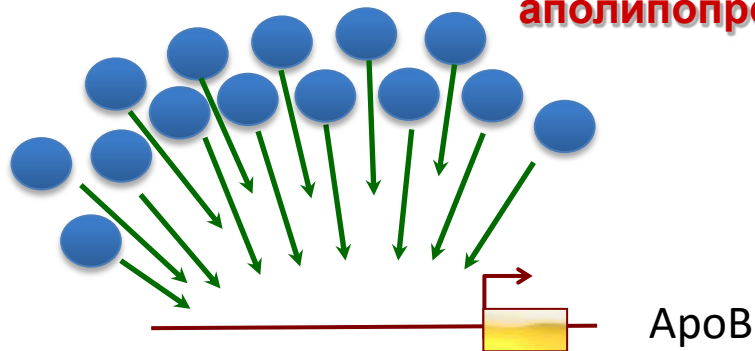
РЕГУЛЯТОРНАЯ КОМПОНЕНТА
(УПРАВЛЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМОМ)



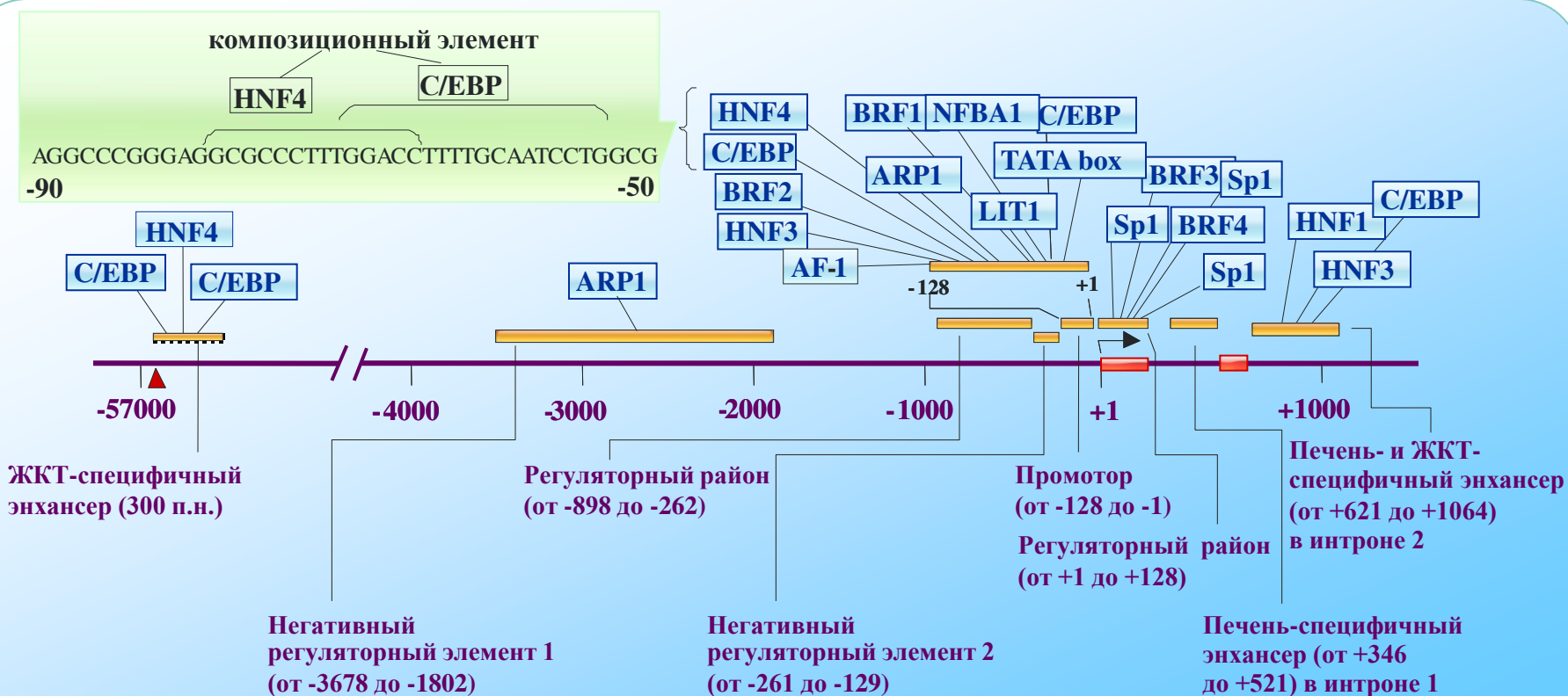
Типичный пример на уровне генных сетей - цикл трикарбоновых кислот, снабжающий клетку. Он включает 1882 регуляторных и только 139 метаболических процессов, то есть на один рабочий процесс приходится более 10 процессов контролирующих. Таким образом, характерное свойство живых систем состоит в том, что в них регуляторная компонента на порядки больше, чем рабочая. И это свойство проявляется на каждом иерархическом уровне организации генных сетей



«Молекулярная бюрократия» на уровне регуляции транскрипции гена: организация регуляторных районов, контролирующих транскрипцию гена аполипопротеина В человека

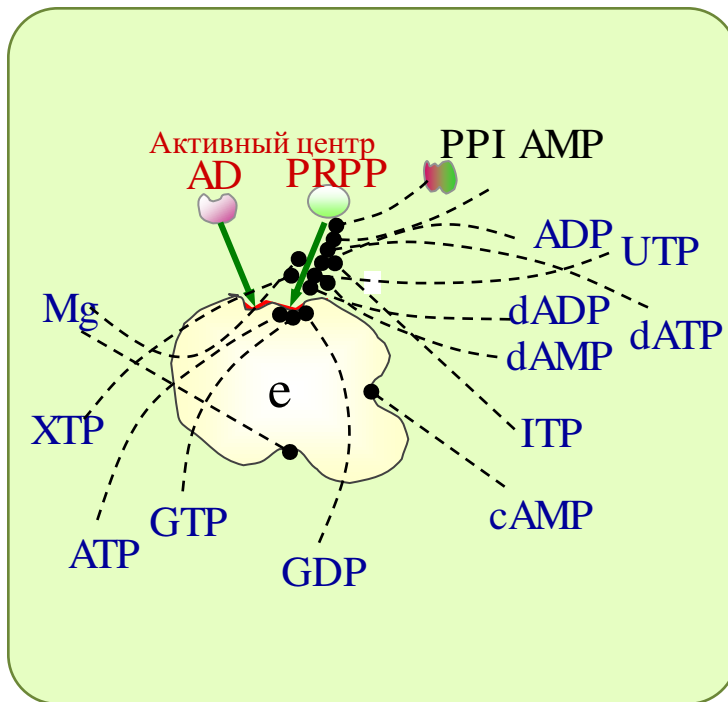


Пример «молекулярной бюрократии» на более низком иерархическом уровне:
Регуляторные районы гена АпоВ содержат сайты связывания как минимум 14 транскрипционных факторов



«Молекулярная бюрократия» на уровне регуляции активности белка

Каталитическая активность фермента аденин-фосфорибозил-трансферазы (Apt) у *E. Coli* контролируется 12 метаболитами и ионами, включая два аллостерических регулятора - *Mg* и *cAMP*



СУБСТРАТЫ:

AD - adenine

PRPP – phosphoribosylpyro-phosphate

ПРОДУКТЫ:

PPI - pyrophosphate

AMP - adenosine-5'-phosphate

12 регуляторов:

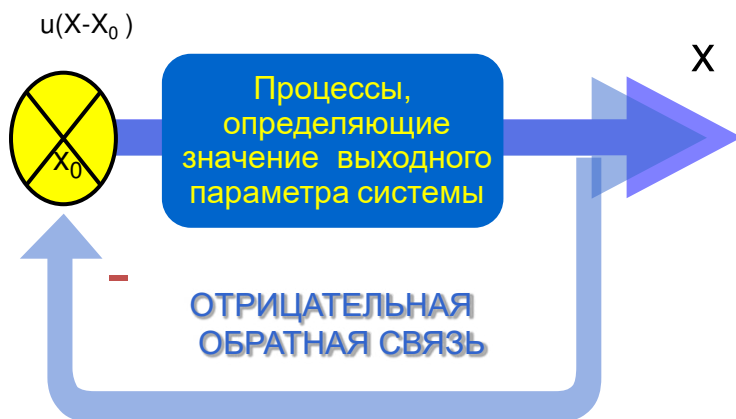
*ADP; dADP; ATP; dATP;
dAMP; GTP; ITP; XTP;
UTP; GDP; Mg; cAMP*

Базовые принципы организации генных сетей

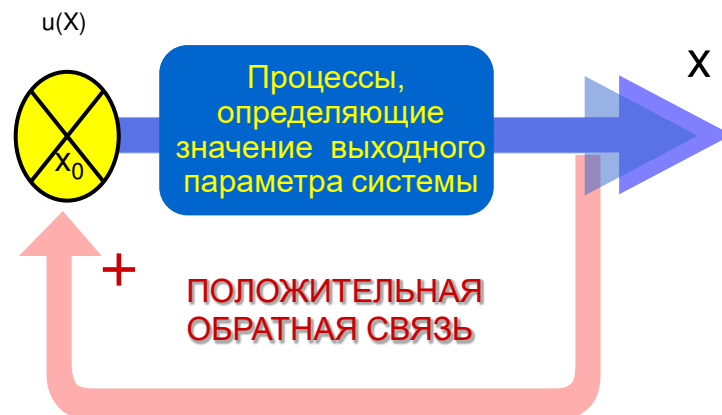
1. Существование большого разнообразия молекулярных механизмов, обеспечивающих функционирование обратных связей, в том числе за счет изменения интенсивности процессов транскрипции, сплайсинга, трансляции, посттрансляционных модификаций белков, ферментативных реакций, транспорта и т. д.;
2. Наличие в каждой сети «центральных» генов и белков (ключевых регуляторов), обеспечивающих координацию функций остальных генов этой сети;
3. Кассетный механизм регуляции экспрессии генов либо активности белков;
4. Молекулярная бюрократия;
5. Авторегуляция генной сети, осуществляемая благодаря функционированию регуляторных контуров с положительными и отрицательными обратными связями и направленная на поддержание определенного, характерного для каждой генной сети типа динамики;
6. Иерархическая организация;
7. Компартиментализация ГС

Авторегуляция генной сети осуществляется благодаря функционированию регуляторных контуров с положительными и отрицательными обратными связями

Регуляторный контур с отрицательной обратной связью

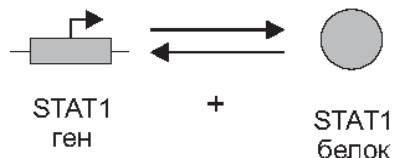


Регуляторный контур с положительной обратной связью

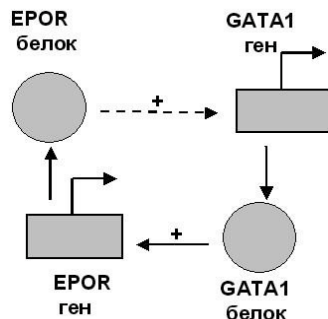


Положительные и отрицательные обратные связи – обязательные компоненты генных сетей

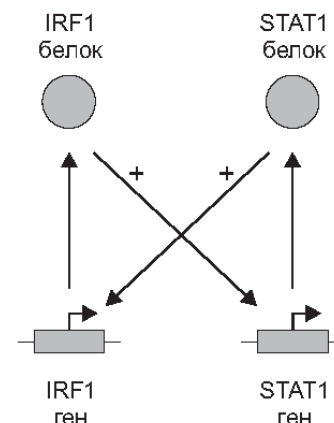
Малые регуляторные контуры с положительными и отрицательными обратными связями



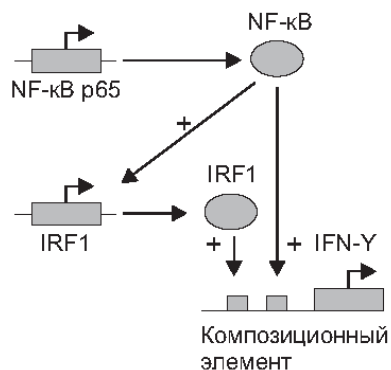
Пример прямой саморегуляции гена



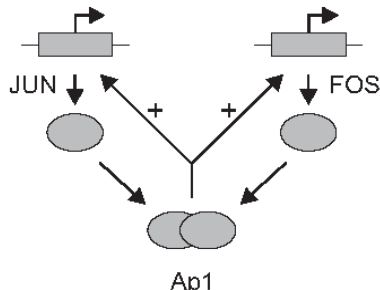
Пример опосредованной саморегуляции гена



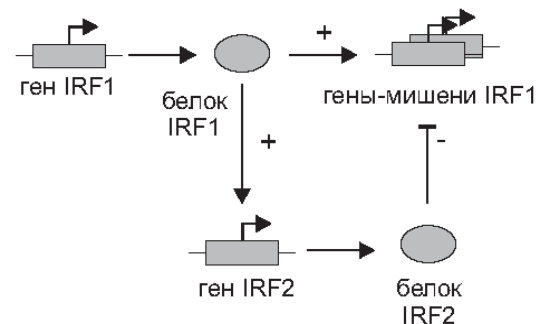
Пример взаимоактивации генов *IRF1* и *STAT1*



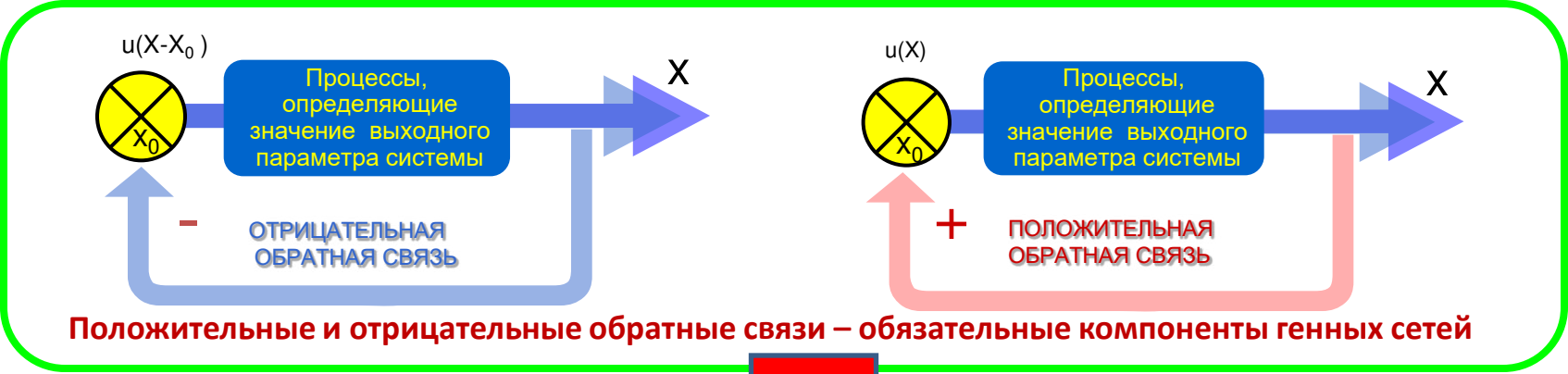
Пример совместной активации гена-мишени *IFNG* транскрипционными факторами в составе композиционного элемента



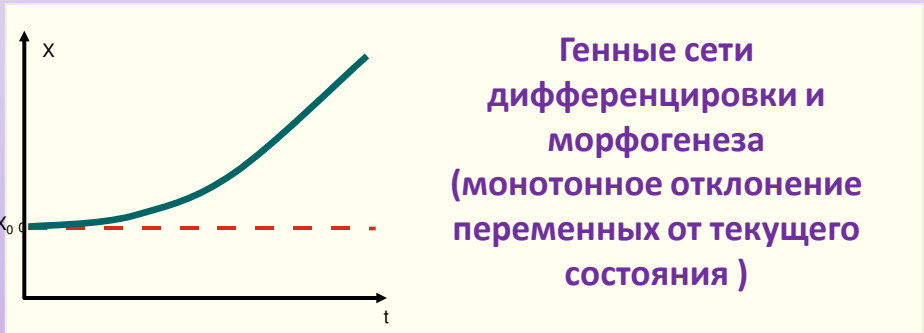
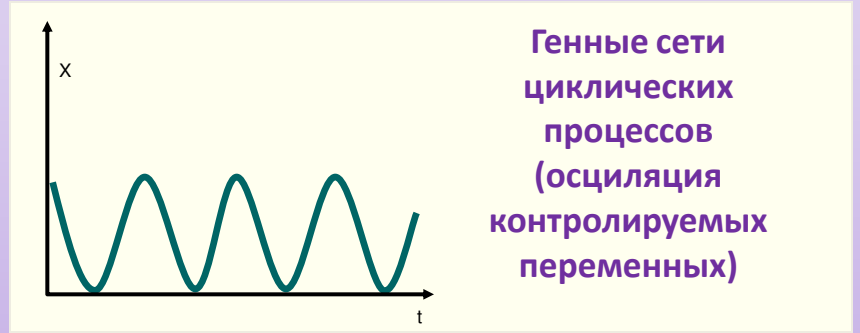
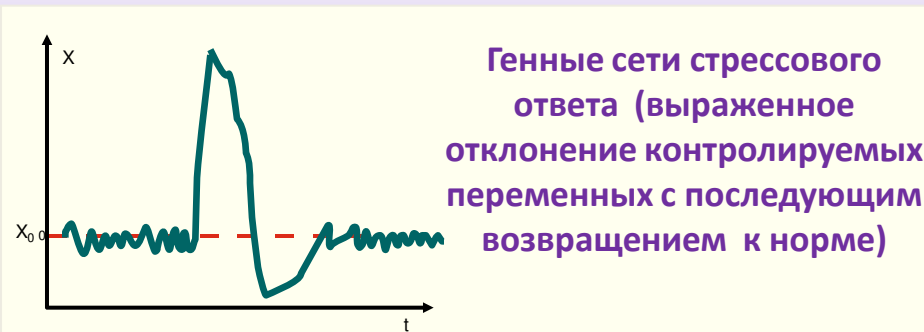
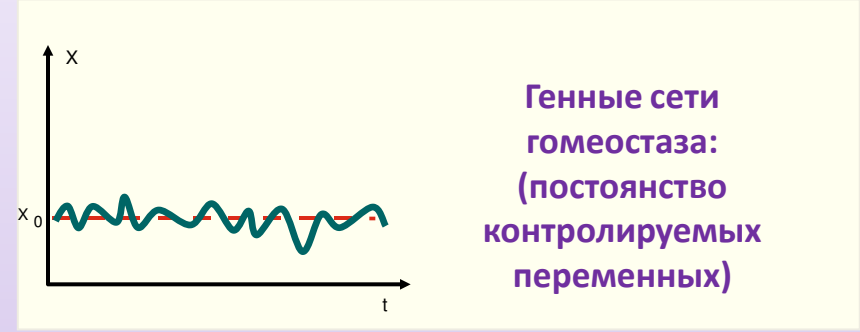
Пример совместной самоактивации генов *JUN* и *FOS*



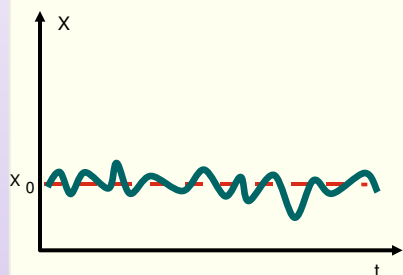
Пример механизма подавления сигнала для генов-мишеней *IRF1*



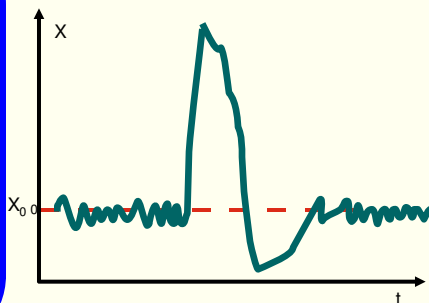
Четыре характерных типа динамики критических переменных



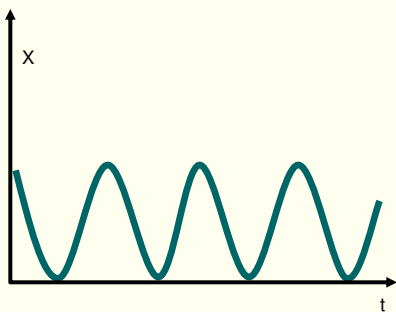
Четыре характерных типа динамики критических переменных



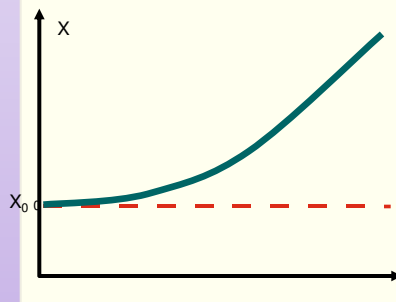
Генные сети
гомеостаза:
(постоянство
контролируемых
переменных)



Генные сети стрессового
ответа (выраженное
отклонение контролируемых
переменных с последующим
возвращением к норме)

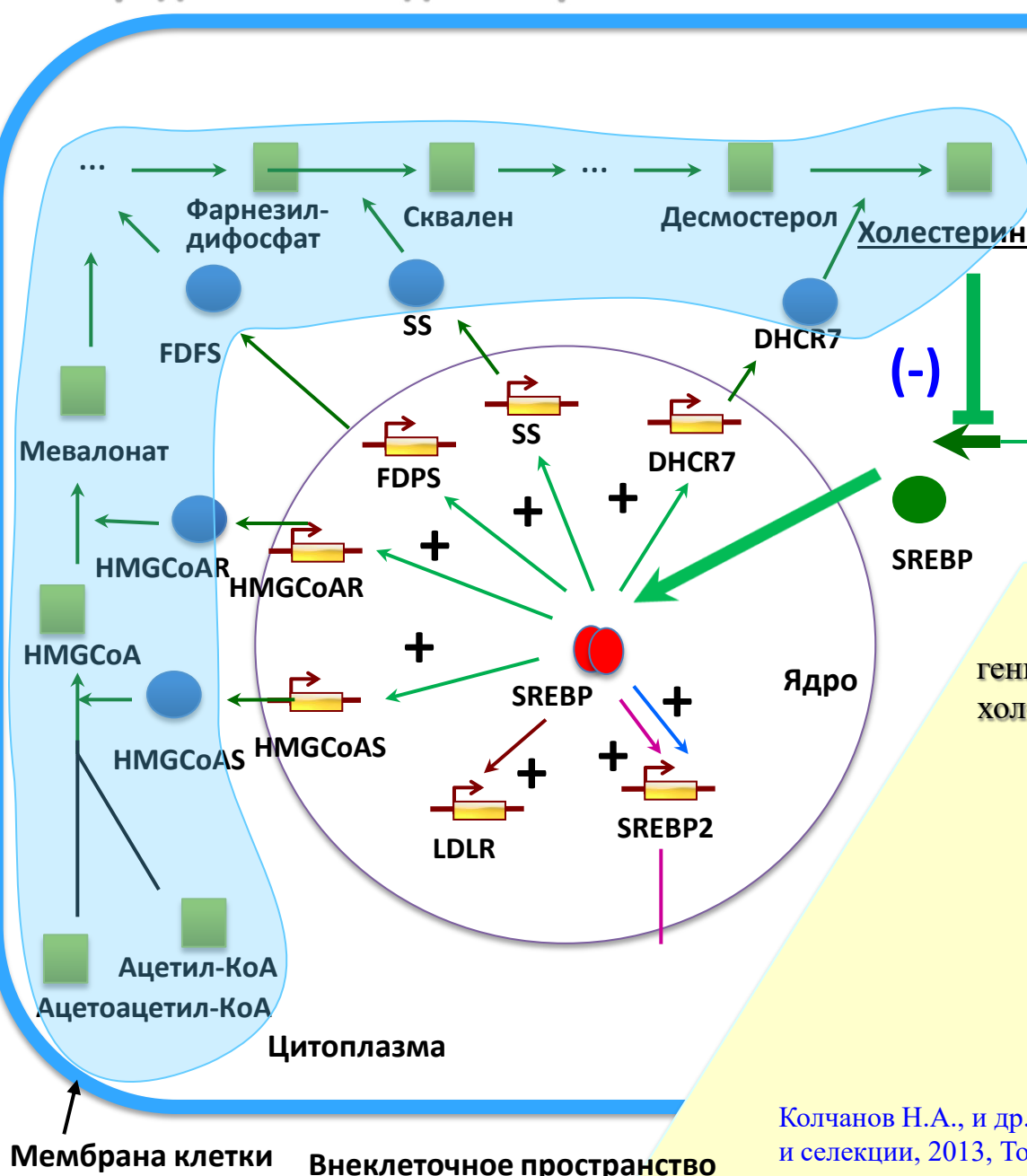


Генные сети
циклических
процессов
(осциляция
контролируемых
переменных)



Генные сети
дифференцировки и
морфогенеза
(монотонное отклонение
переменных от текущего
состояния)

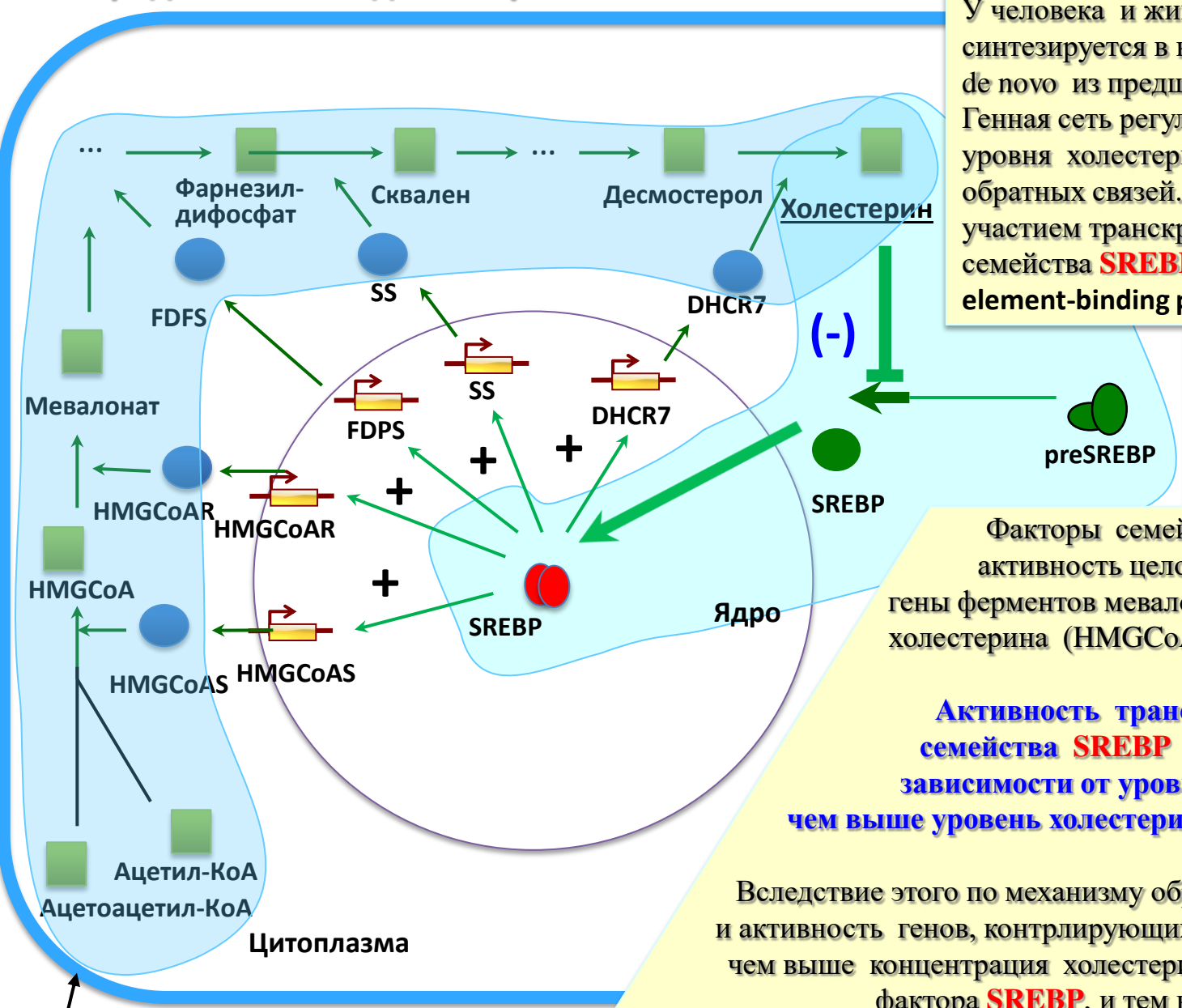
Генная сеть регуляции уровня холестерина в клетке: схематическое представление одной обратной связи.



У человека и животных холестерин синтезируется в клетках многих тканей de novo из предшественника ацетил-СоА. Генная сеть регуляции внутриклеточного уровня холестерина включает несколько обратных связей. Все они реализуются с участием транскрипционных факторов семейства **SREBP** (Sterol regulatory element-binding proteins).

Факторы семейства **SREBP** регулируют активность целой кассеты генов, включая гены ферментов мевалонатного пути биосинтеза холестерина (HMGCoAS, HMGCoAR, FDFS, SS, DHCR7 и др.).

Мембрана клетки **Внеклеточное пространство**

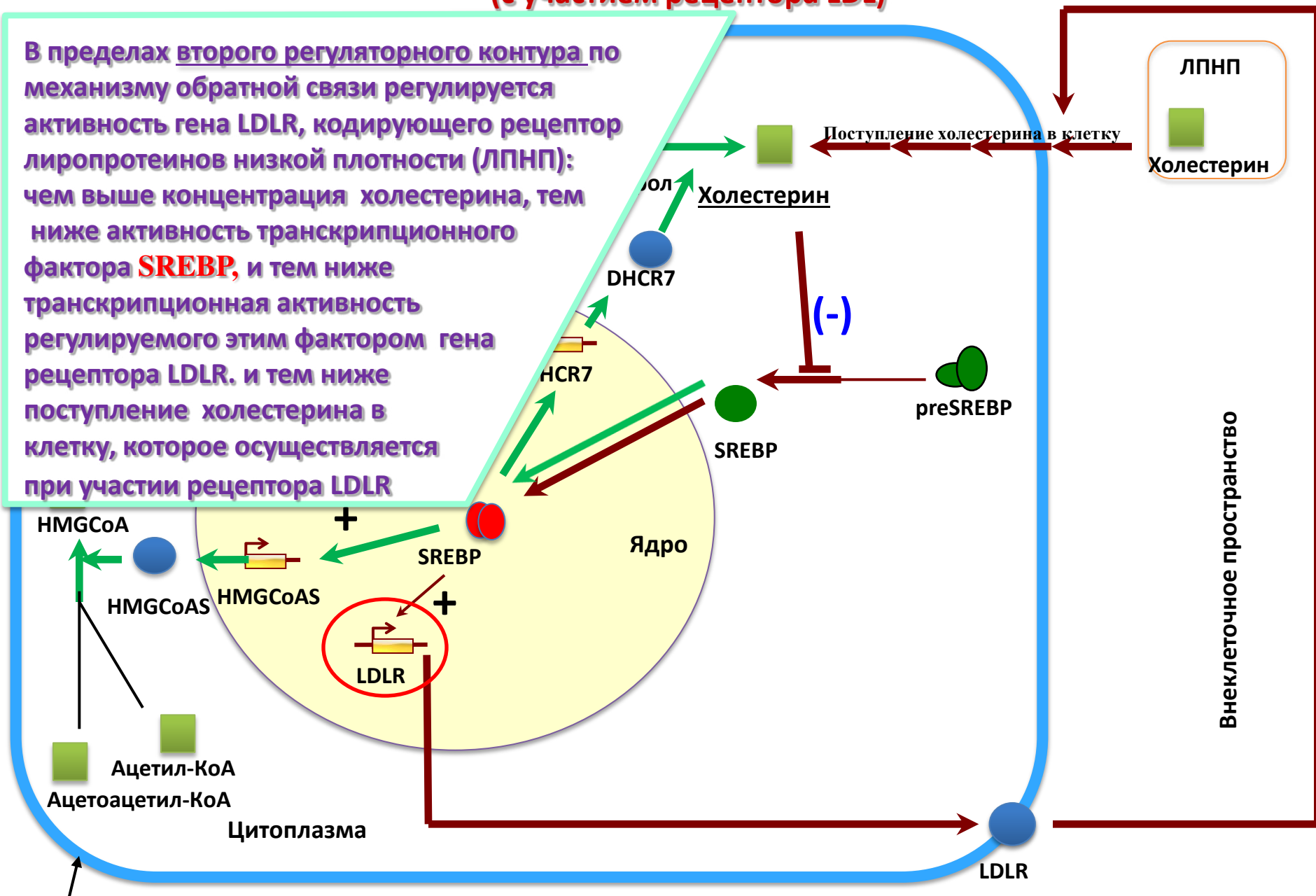


Факторы семейства **SREBP** регулируют активность целой кассеты генов, включая гены ферментов мевалонатного пути биосинтеза холестерина (HMGCoAS, HMGCoAR, FDFS, SS, DHCR7 и др.).

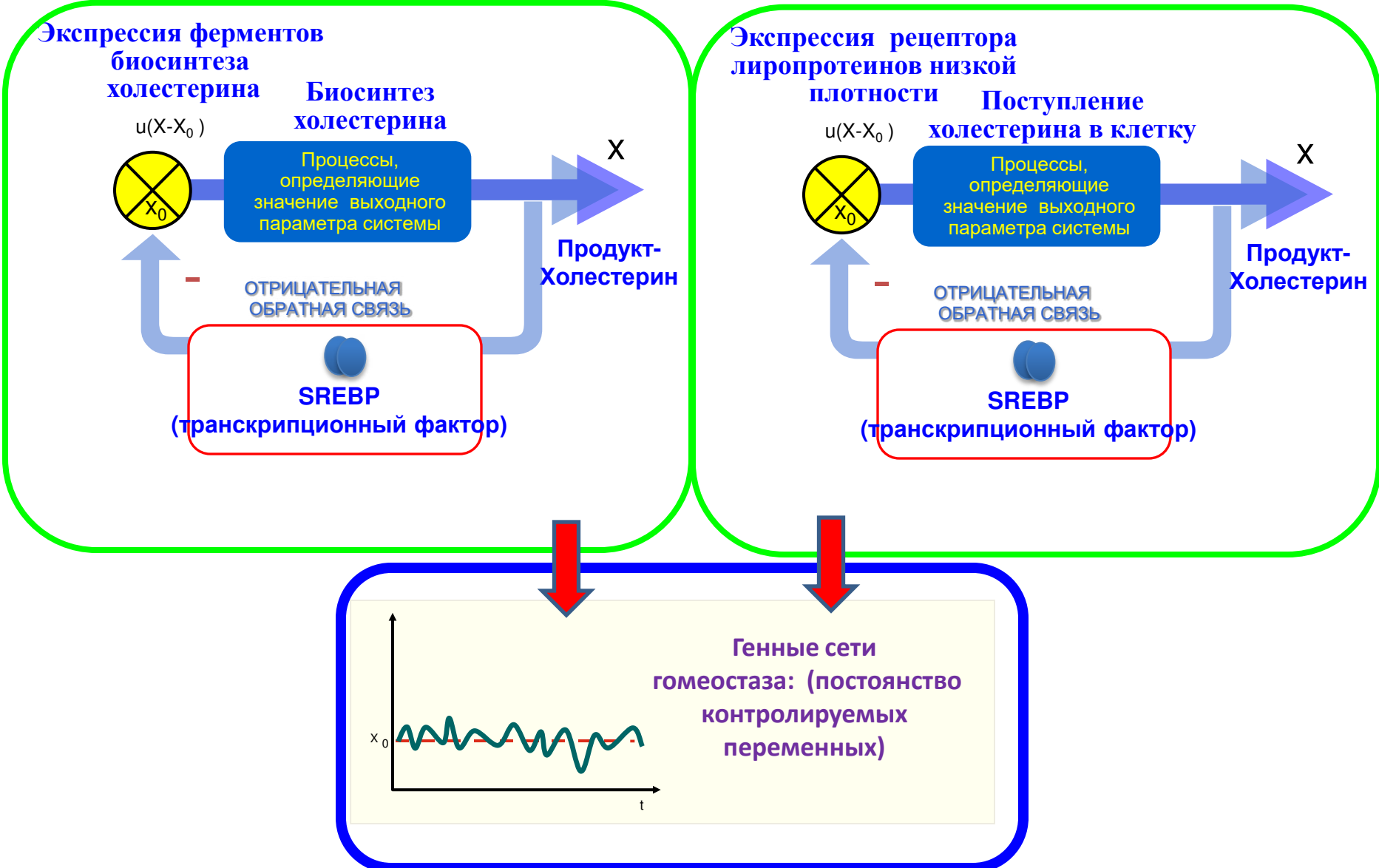
Вследствие этого по механизму обратной связи регулируется и активность генов, контролирующих биосинтез холестерина: чем выше концентрация холестерина, тем ниже активность фактора **SREBP**, и тем ниже транскрипция генов, кодирующих ферменты биосинтеза холестерина

Генная сеть регуляции уровня холестерина в клетке: второй регуляторный контур (с участием рецептора LDL)

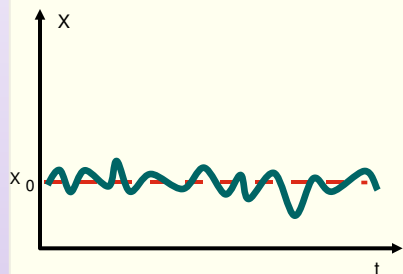
В пределах второго регуляторного контура по механизму обратной связи регулируется активность гена LDLR, кодирующего рецептор липопротеинов низкой плотности (ЛПНП): чем выше концентрация холестерина, тем ниже активность транскрипционного фактора **SREBP**, и тем ниже транскрипционная активность регулируемого этим фактором гена рецептора LDLR. и тем ниже поступление холестерина в клетку, которое осуществляется при участии рецептора LDLR



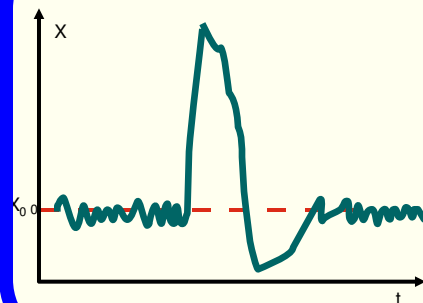
**Вывод по двум предыдущим слайдам:
уровень холестерина в клетке регулируется как минимум
двумя отрицательными обратными связями**



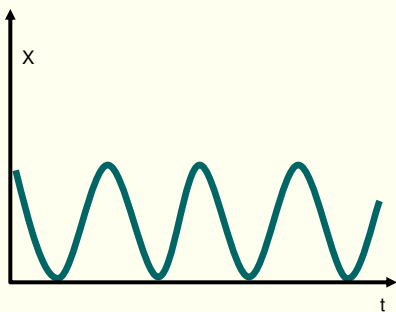
Четыре характерных типа динамики критических переменных



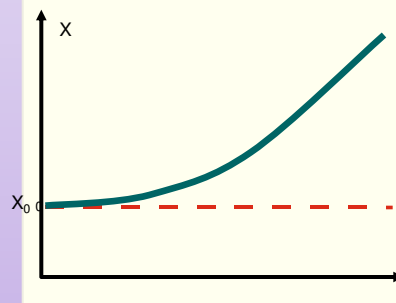
Генные сети
гомеостаза:
(постоянство
контролируемых
переменных)



Генные сети стрессового
ответа (выраженное
отклонение контролируемых
переменных с последующим
возвращением к норме)



Генные сети
циклических
процессов
(осциляция
контролируемых
переменных)

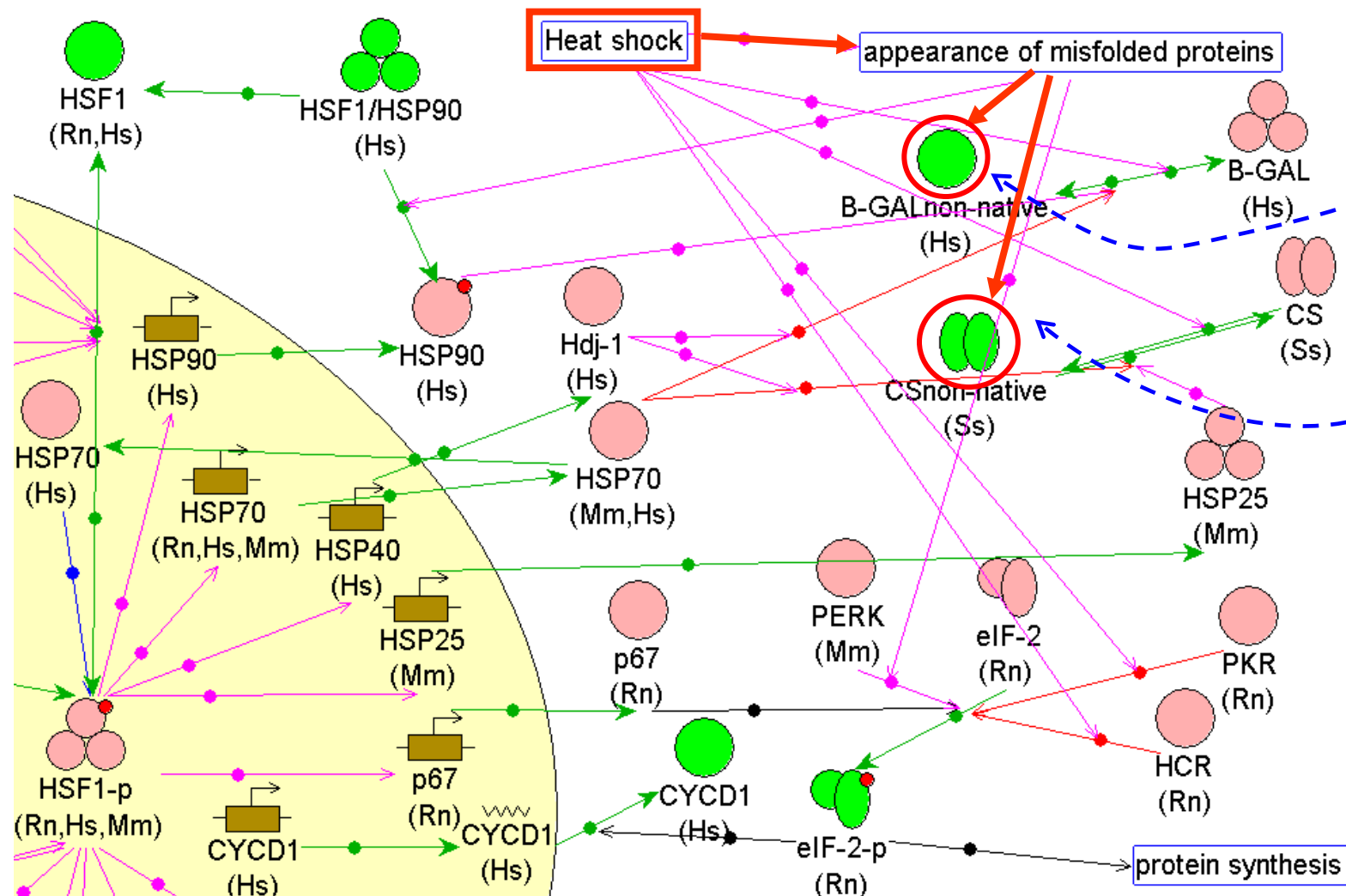


Генные сети
дифференцировки и
морфогенеза
(монотонное отклонение
переменных от текущего
состояния)

Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

При повышении температуры в клетке появляются частично денатурированные белки

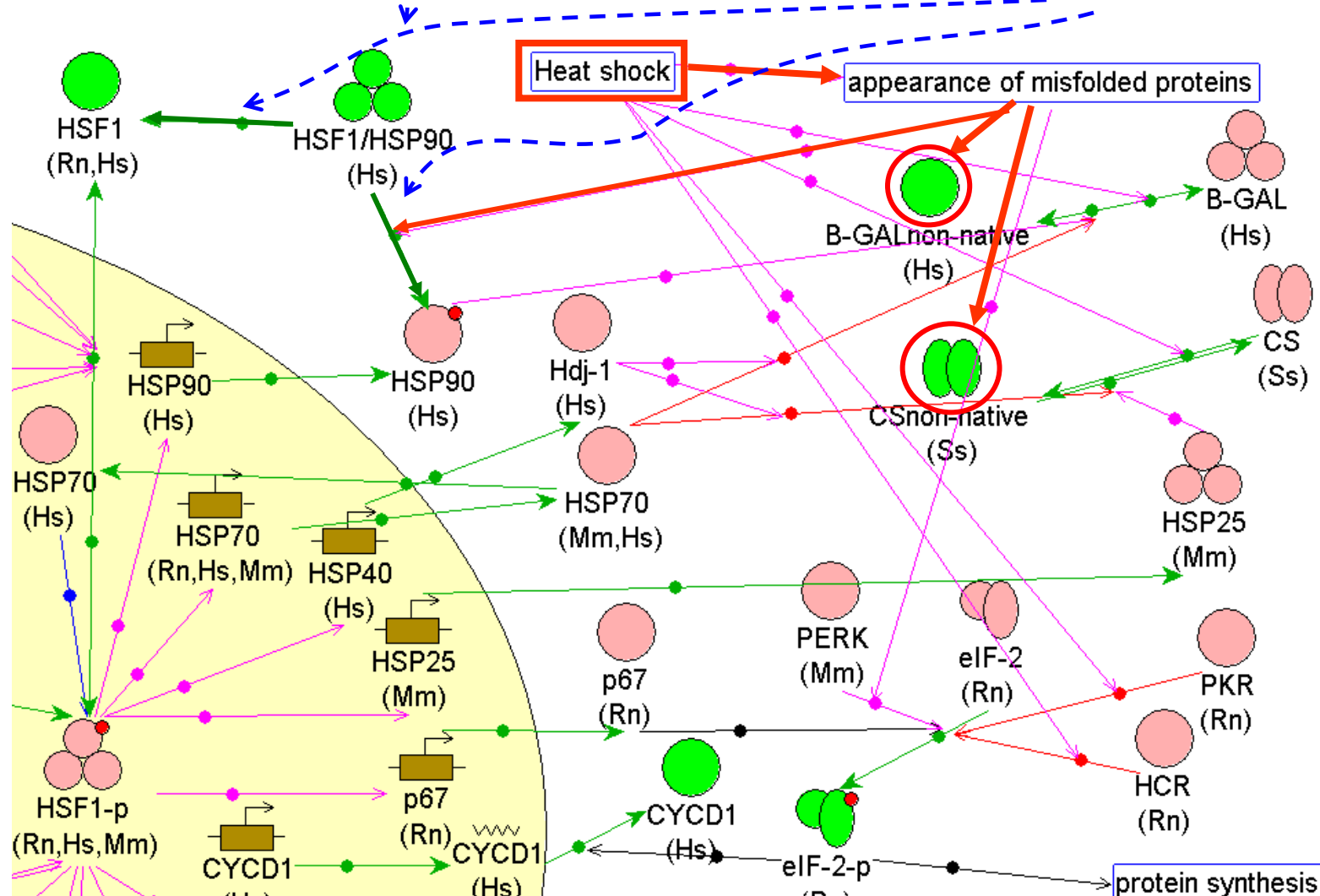
В клетке постоянно присутствуют белки –молекулярные шапероны , которые при повышении температуры препятствуют необратимой агрегации частично денатурированных белков, а также способствуют восстановлению их правильной укладки. Их обозначение - HSP =heat shock protein



Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

В клетках млекопитающих имеется сенсор теплового шока. Это транскрипционный фактор HSF1 (Heat shock factor protein 1). HSF1 находится в цитоплазме в неактивном состоянии в комплексе с молекулярным шапероном HSP90 (heat shock protein 90).

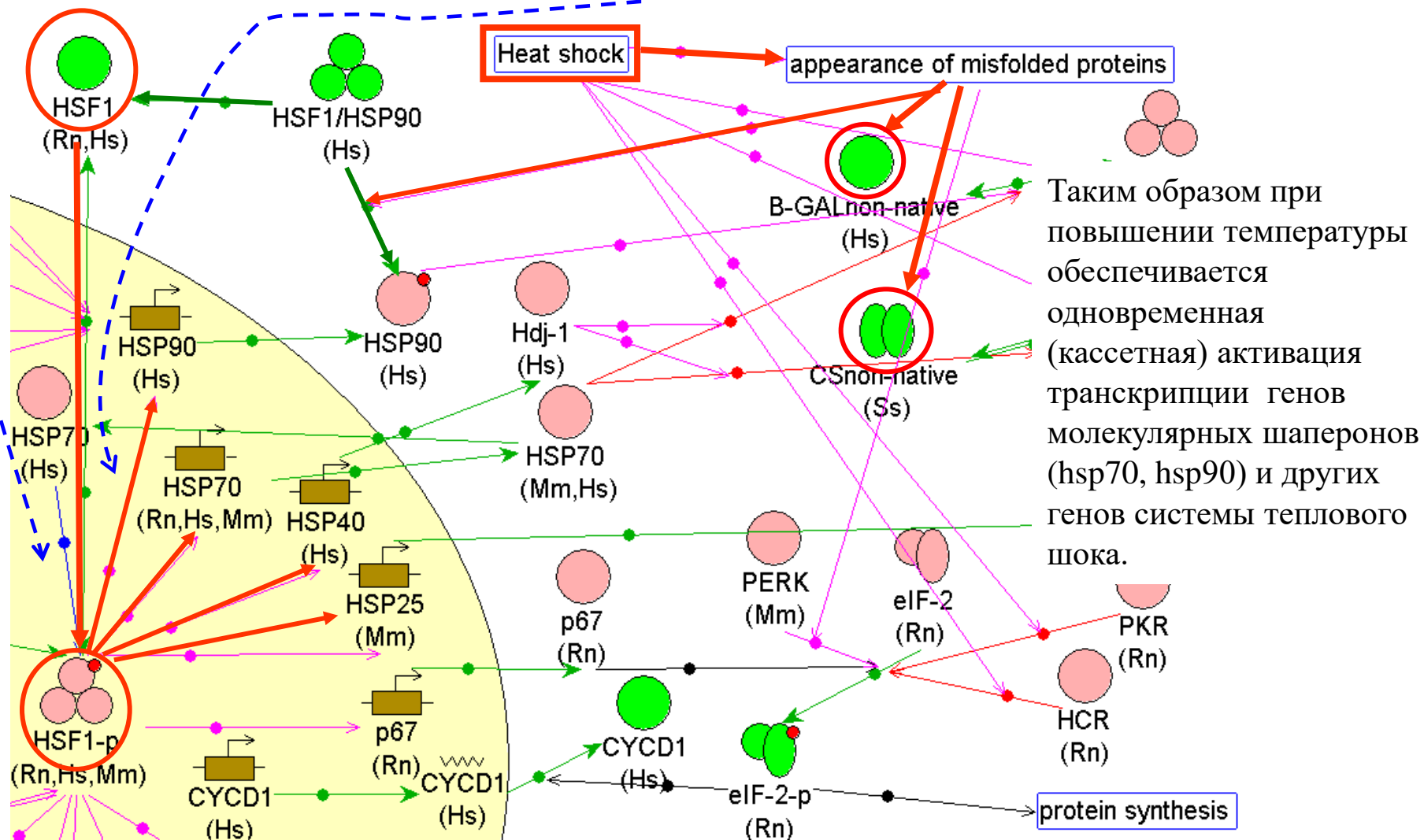
Частично денатурированные белки конкурируют с HSF1 за связывание с HSP90. В результате этого комплексы HSF1/HSP90 распадаются.



Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

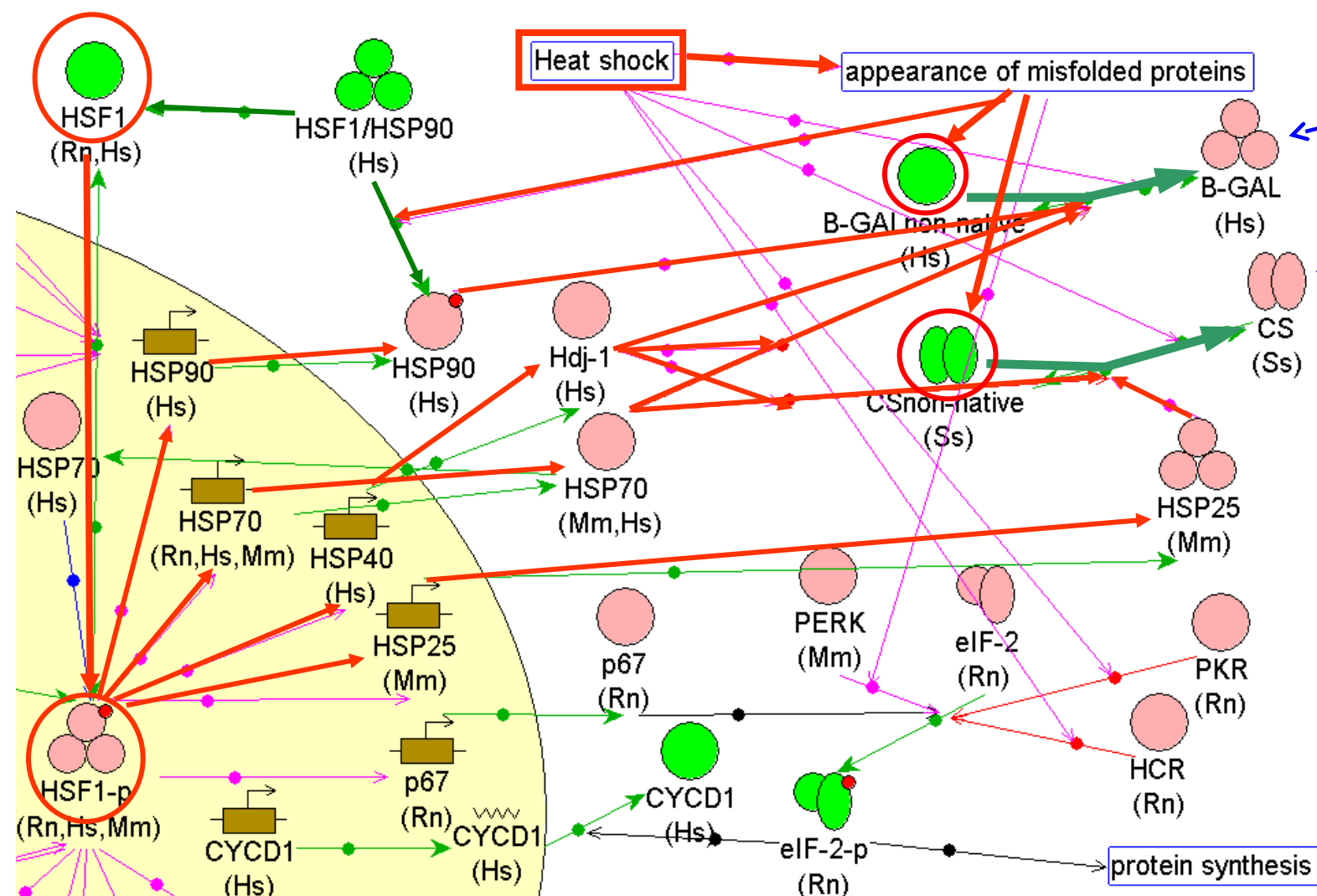
HSF1, освободившийся от комплекса с HSP90, формирует тример, фосфорилируется и транспортируется в ядро.

В ядре HSF1 активирует транскрипцию генов системы теплового шока, содержащих в своих регуляторных областях сайты связывания этого транскрипционного фактора.



Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

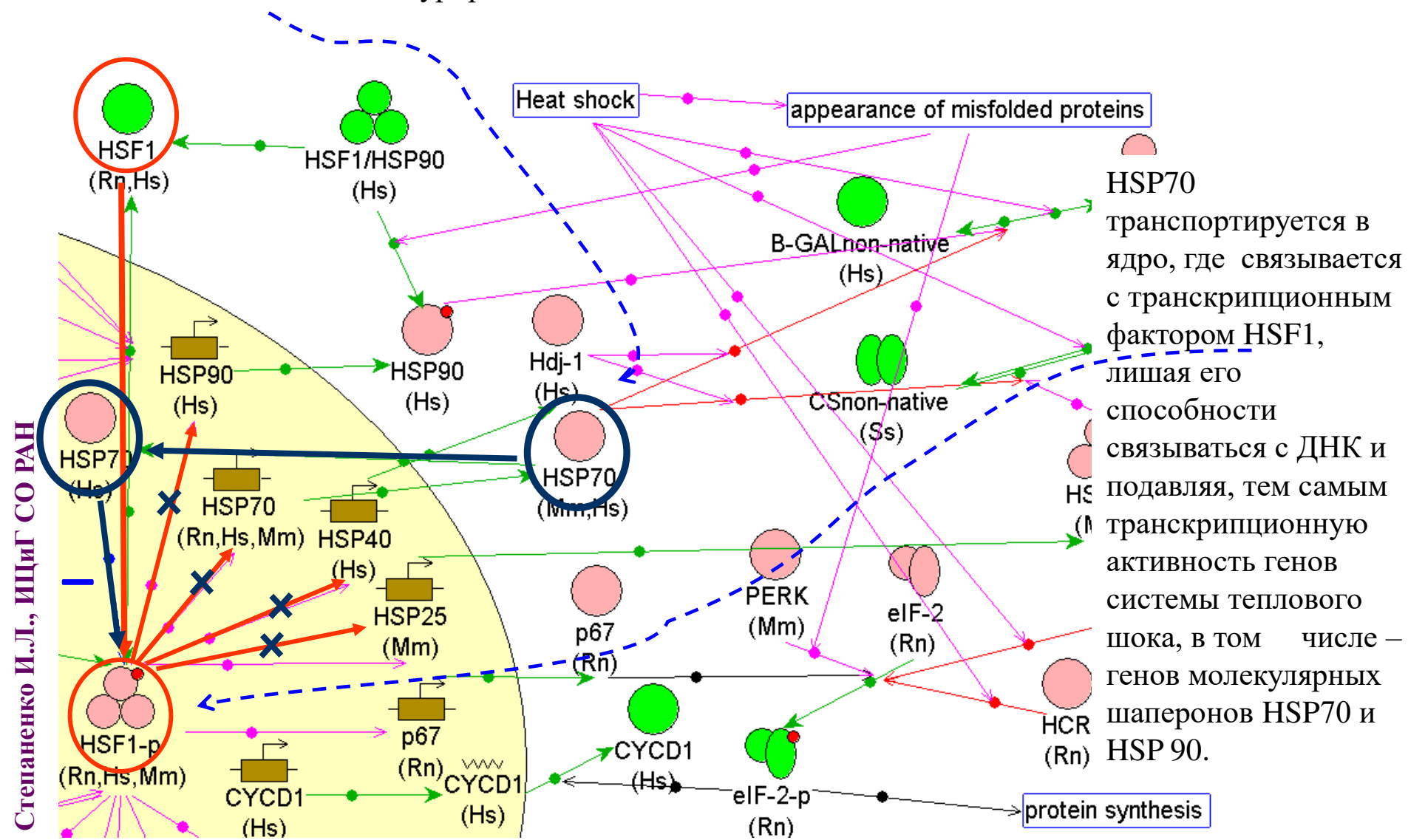
Происходит повышение уровня HSP70 и HSP90 в цитоплазме. Связываясь с денатурированными белками, подвергшимися тепловому шоку, HSP70 и HSP90 способствуют их переходу в нативное (неденатурированное) состояние.



Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

Выключения системы ответа на тепловой шок осуществляется следующим образом.

Когда содержание денатурированных белков в клетке снижается, появляется избыток свободного HSP70, не связанного с денатурированными белками.

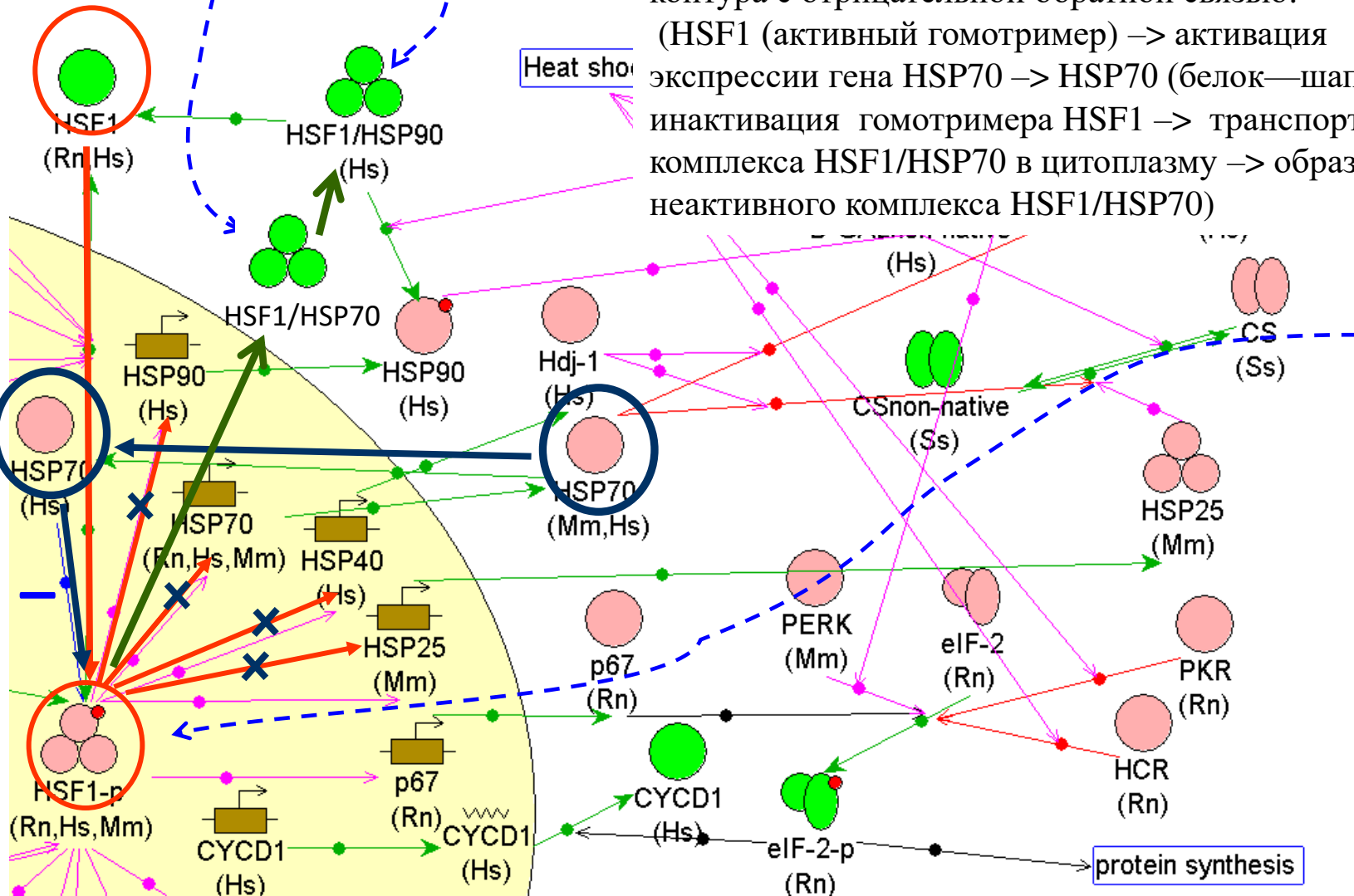


Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

Неактивный HSF1 вместе с HSP70 транспортируется из ядра обратно в цитоплазму, где вновь образуется комплекс HSF1/ HSP90.

Таким образом, работа генной сети ответа на тепловой шок выключается при замыкании регуляторного контура с отрицательной обратной связью:

(HSF1 (активный гомотример) → активация экспрессии гена HSP70 → HSP70 (белок—шаперон) → инактивация гомотримера HSF1 → транспорт комплекса HSF1/HSP70 в цитоплазму → образование неактивного комплекса HSF1/HSP70)

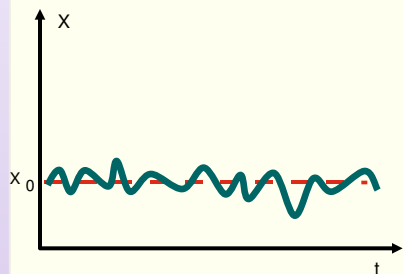


Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

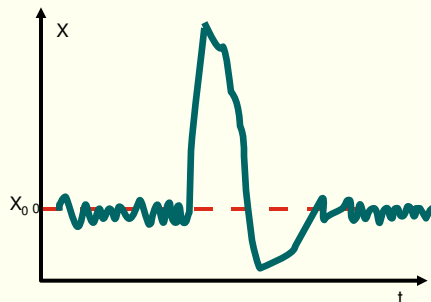
ИТОГИ

- Во всех генных сетях стрессовых ответов на начальных этапах работают механизмы, обеспечивающие быстрое и эффективное их развитие на внешний стимул.
- В случае генной сети, регулирующей ответ клетки на тепловой шок, быстрый ответ обеспечивается присутствием в цитоплазме при нормальных условиях необходимого количества уже наработанного, но неактивного транскрипционного фактора **HSF1**, депонированного в комплексе с **HSP90** и высвобождающегося из этого комплекса при появлении денатурированных белков.
- Таким образом, клетка заранее наработывает и хранит ключевой регулятор, необходимый для быстрого и эффективного ответа на тепловой шок.
- По мере работы в генных сетях стрессового ответа происходит накопление ингибиторов процесса, синтез которых также стимулируется на начальных этапах функционирования сети. Синтезированные в достаточном количестве ингибиторы приводят к возвращению клетки в исходное состояние. При ответе на тепловой шок таким ингибитором является **HSP70**, синтез которого активируется в начале ответа, а наработанный в достаточном количестве белок **HSP70** уменьшает количество активного ключевого регулятора генной сети – транскрипционного фактора **HSF1**.

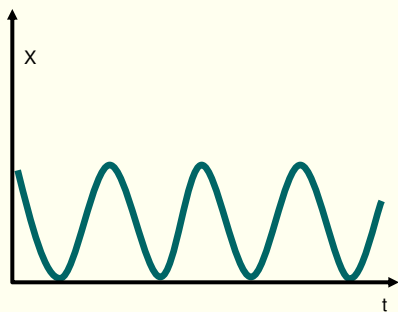
Четыре характерных типа динамики критических переменных



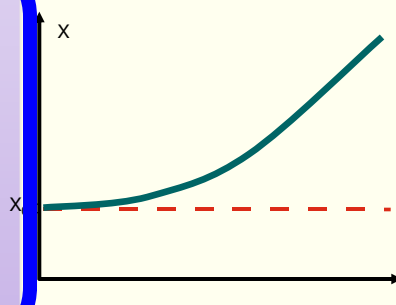
Генные сети
гомеостаза:
(постоянство
контролируемых
переменных)



Генные сети стрессового
ответа (выраженное
отклонение контролируемых
переменных с последующим
возвращением к норме)



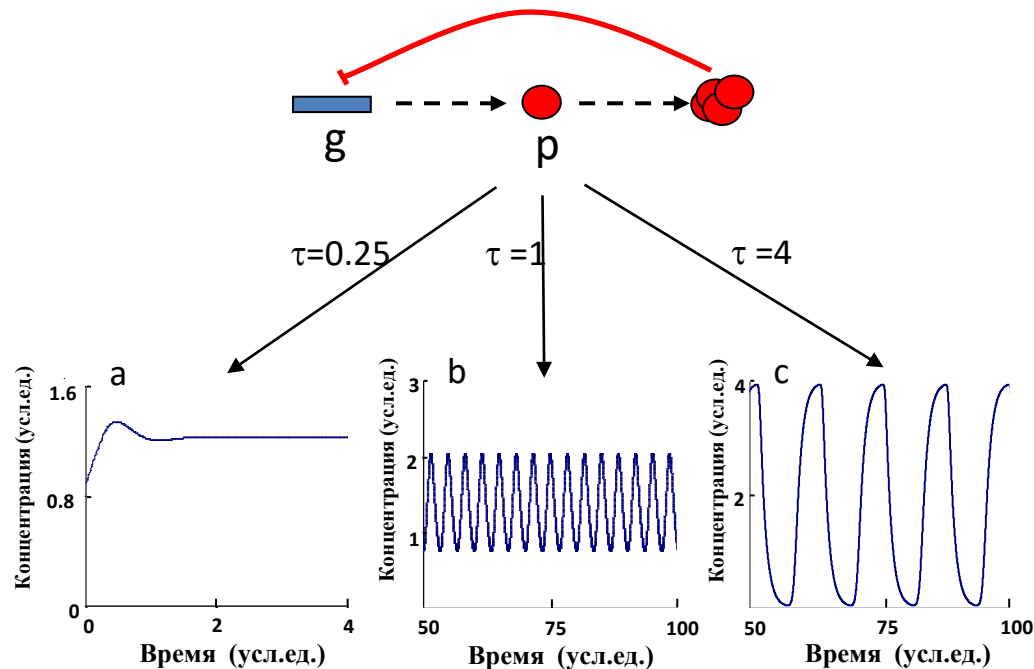
Генные сети
циклических
процессов
(осциляция
контролируемых
переменных)



Генные сети
дифференцировки и
морфогенеза
(монотонное отклонение
переменных от текущего
состояния)

Простейшая генная сеть с циклической динамикой - авторепрессилятор

Авторепрессилятор – сверхмалая генная сеть, состоящая всего из одного генетического элемента, обеспечивающего по механизму отрицательной обратной связи регуляцию экспрессии гена g , кодирующего белок-авторепрессор p .



Модели таких систем изучаются уже давно и различными математическими методами. Если предполагать, что процессы синтеза белков протекают быстро, то τ мало и с течением времени в системе устанавливается постоянный уровень репрессора. Если же последовательность процессов транскрипции, трансляции, транспорта и модификации молекул занимает достаточно времени, то в системе устанавливается устойчивая циклическая динамика изменения уровня белка авторепрессора p . В этом случае период и амплитуда цикла зависят от параметров модели.

Клеточный цикл: основные фазы

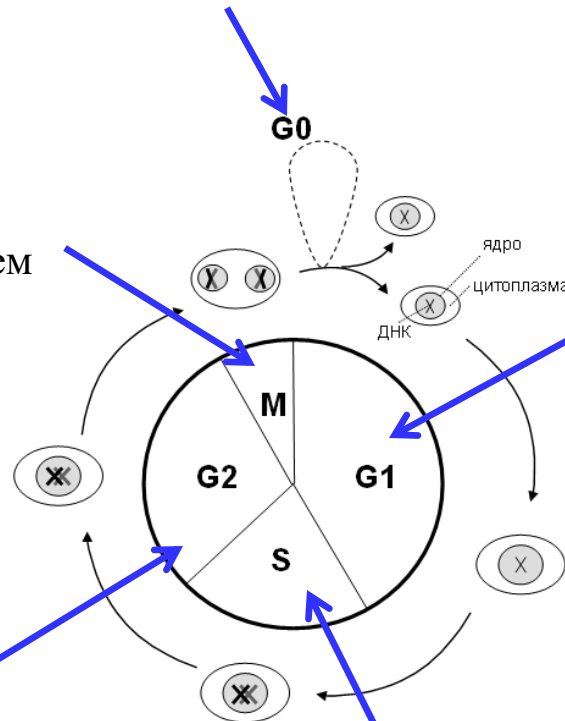
G0 (неделяющаяся клетка, состояние покоя) - в определённых условиях, например при клеточной дифференцировке (созревание клеток) или неблагоприятных условиях, клетка может выходить из клеточного цикла в состояние покоя.

M (mitosis) удвоенные в фазе **S** хромосомы разделяются на два идентичных набора, что необходимо для следующего за этим деления клетки. Завершается клеточный цикл разделением клетки на две новые дочерние клетки вдвое меньшего размера, несущие по одному набору хромосом. После завершения деления обе клетки способны начинать новый клеточный цикл.

G2 (postsynthetic phase) - клетка проверяет, завершено ли копирование ДНК и готовится к делению.

G1 (presynthetic phase) - увеличивается объем и масса клетки. Когда она достигает определенного размера, происходит переход в следующую фазу.

S (synthetic phase) - удвоение хромосомного набора клетки, в котором записана наследуемая информация о клеточной структуре и функциях.



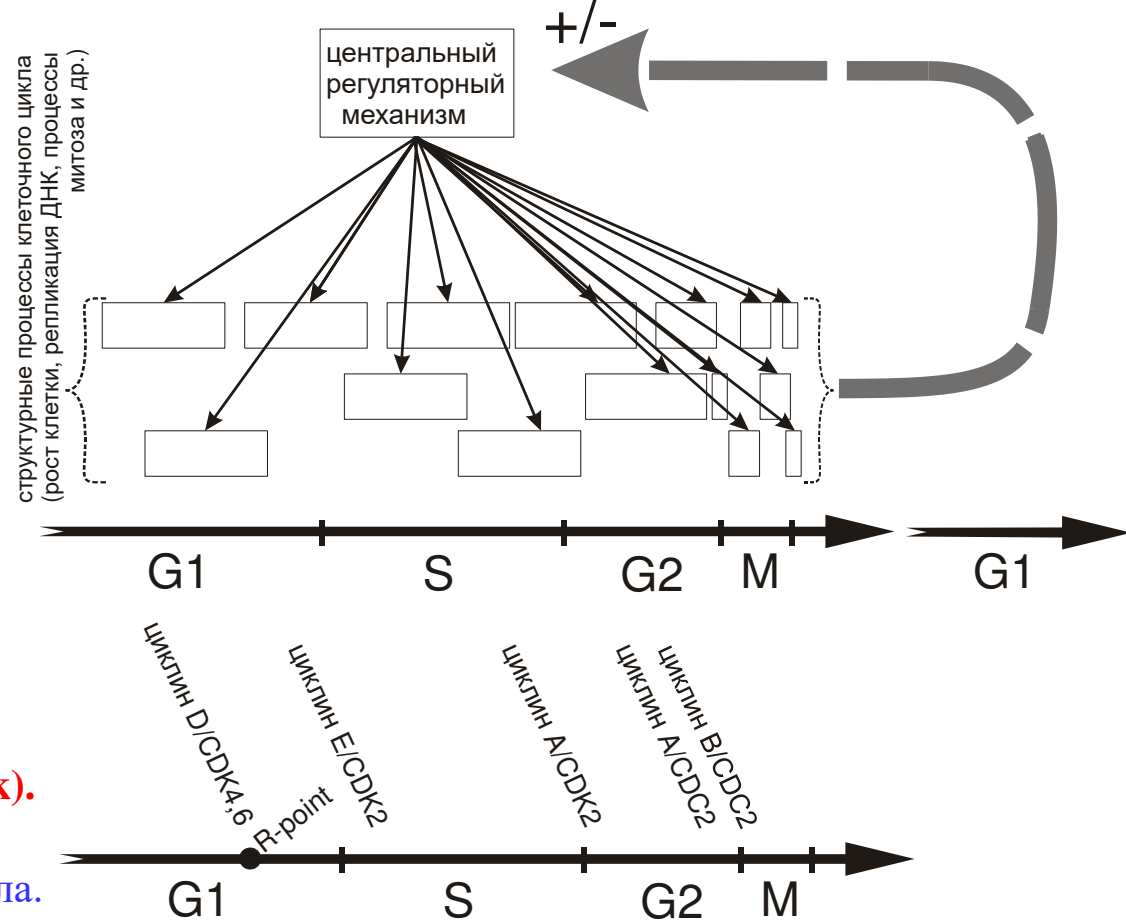
Клеточный цикл: основная задача управления

Для того чтобы клетка могла поделиться, ей нужно вырасти вдвое, удвоить все свои структуры и разделить их на два равных набора для двух новых клеток. Это осуществляется в ходе большого количества структурных (обеспечивающих построение новых структур клетки) процессов. В связи с этим, основную задачу управления клеточного цикла можно сформулировать следующим образом: *как заставить большое количество структурных процессов, необходимых для самовоспроизведения клетки, идти согласованно, в строго заданном порядке?*

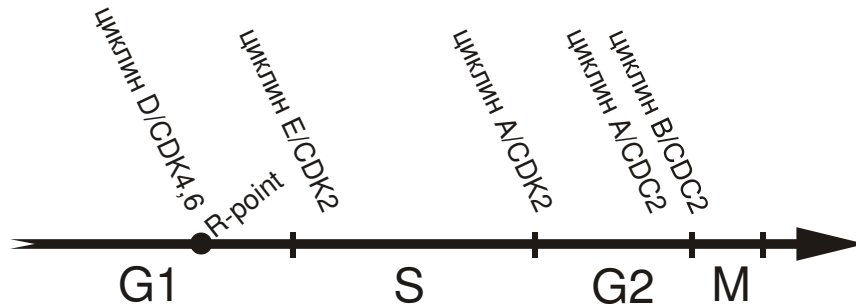
Эта задача решается за счёт контролирующего действия **центрального механизма управления клеточного цикла**

Механизм управления централизованно контролирует прохождение структурных процессов клеточного цикла. При этом большим количеством процессов управляет малое число регуляторов.

Центральными регуляторами клеточного цикла являются **белковые комплексы циклин/циклин-зависимая киназа (cdk)**. Каждый из этих комплексов регулирует свой, отдельный участок клеточного цикла.



Клеточный цикл: белковые комплексы циклин/cdk



Переходы между временными фазами клеточного цикла регулируются белковыми комплексами: **циклин/циклин-зависимая киназа (CDK)**, состоящими из двух субъединиц: регуляторной – циклина и каталитической – CDK.

CDK (циклин-зависимая киназа) является ферментом-киназой. Ее действие заключается в модификации белков за счет присоединения к ним фосфатной группы. В виде одиночной молекулы CDK имеет слабую активность, но, при связывании с ней второй субъединицы комплекса циклина, её активность резко возрастает. Таким образом, активность CDK напрямую зависит от её партнёра – циклина.

Циклинзависимые киназы и соответствующие циклины

[CDK1](#); циклин A, циклин B

[CDK2](#); циклин A, циклин E

[CDK3](#)

[CDK4](#); циклин D1, циклин D2, циклин D3

[CDK5](#); [CDK5R1](#), [CDK5R2](#)

[CDK6](#); циклин D1, циклин D2, циклин D3

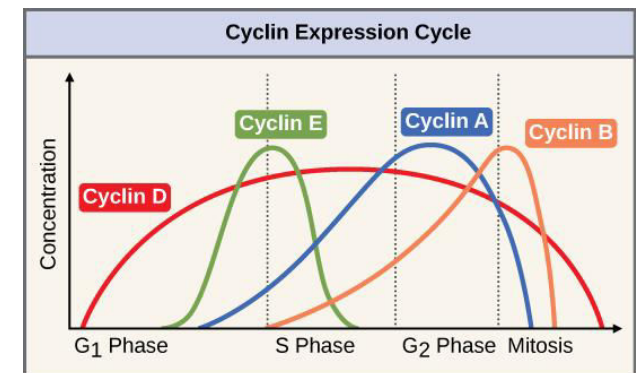
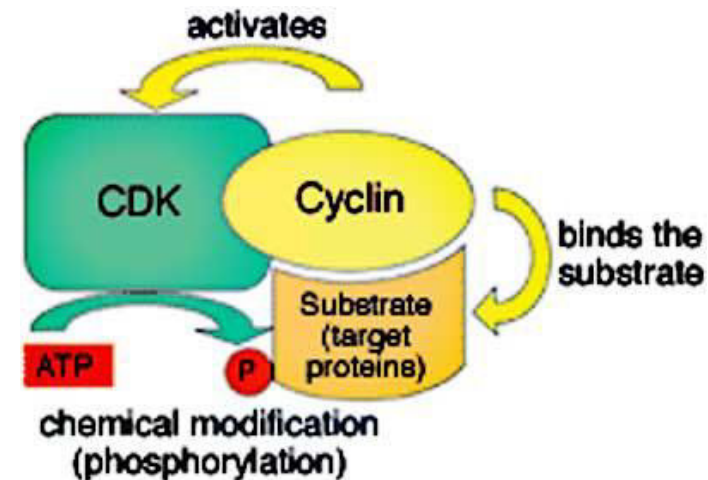
[CDK7](#); циклин H

[CDK8](#); циклин C

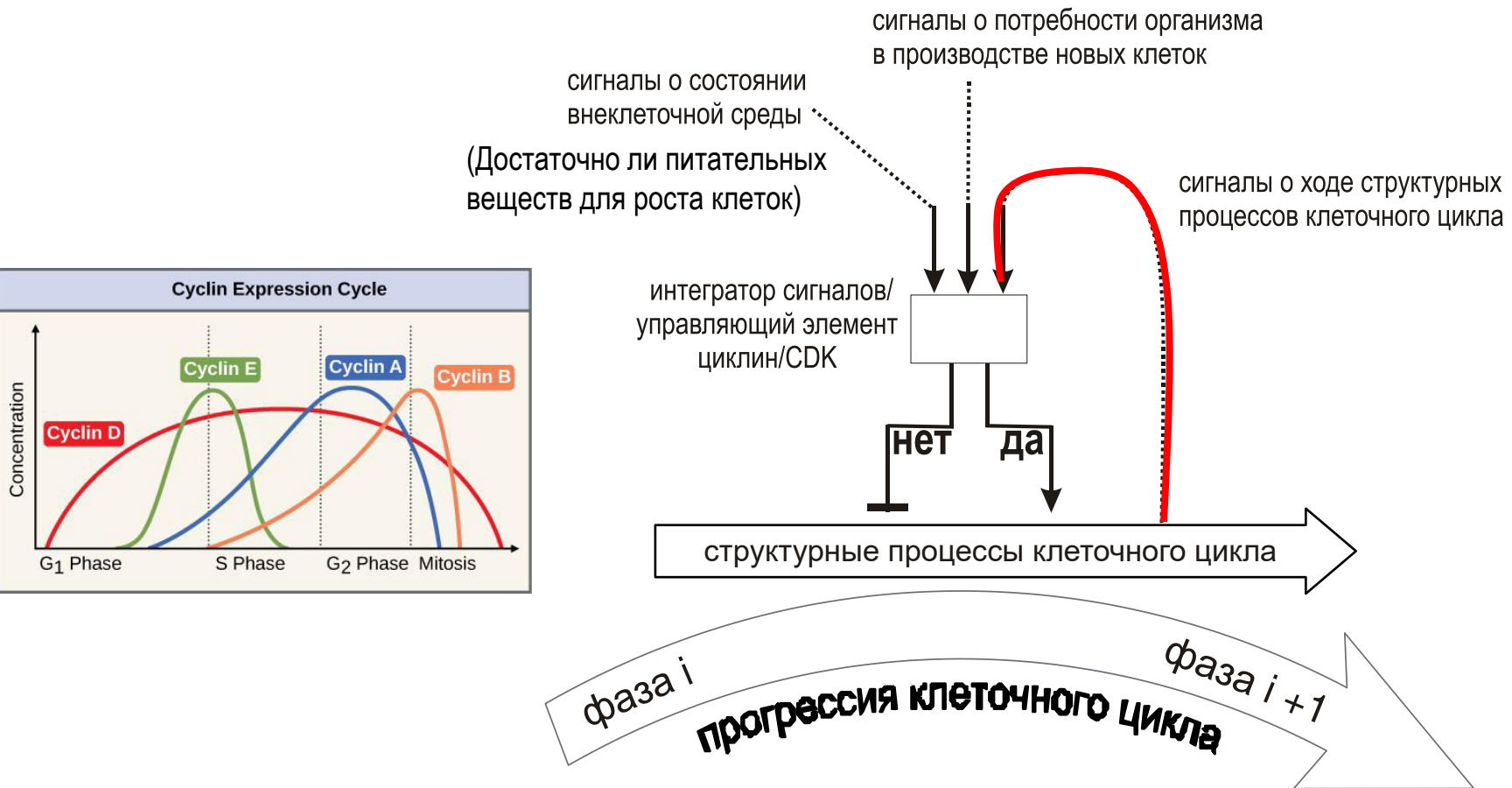
[CDK9](#); циклин T1, циклин T2a, циклин T2b, циклин K

[CDK10](#)

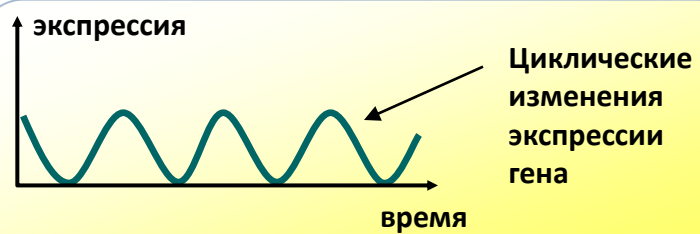
[CDK11](#) (CDC2L2); циклин L



Клеточный цикл: схема управления переходами между временными фазами клеточного цикла

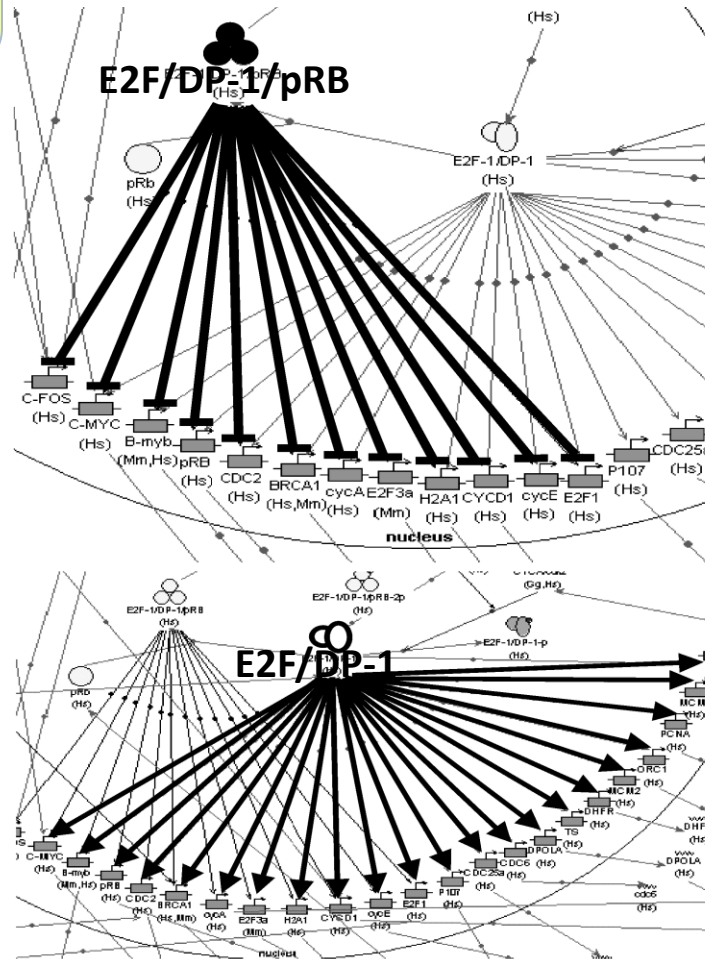
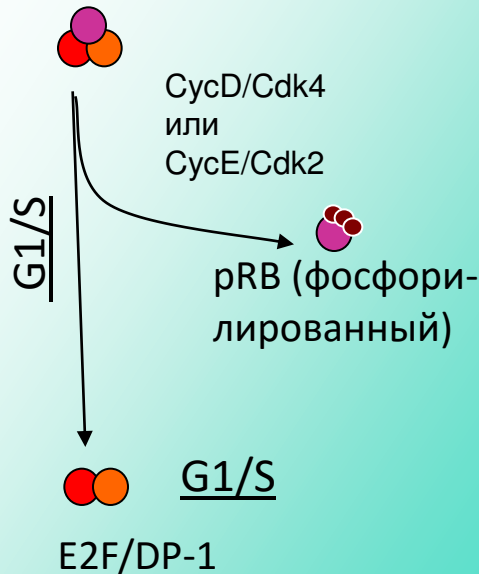


Комплексы циклин/циклин-зависимая киназа (CDK) не только управляют процессами, но сами являются объектами регуляции. Сигналы от многих процессов, которыми управляют циклин/CDK, возвращаются обратно на циклин/CDK и, в свою очередь, регулируют его активность.



Клеточный цикл: управление переходом от фазы G1 к G1/S фазе

Начало G1:
E2F/DP-1/pRB



G1:
Подавление транскрипции комплексом E2F-1/DP-1/pRB

G1/S: Активация транскрипции комплексом E2F-1/DP-1

Конец 2-ой лекции.
Спасибо за внимание !!!!