

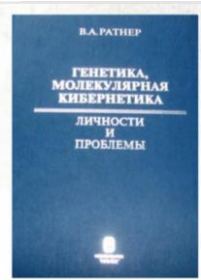
## Лекция №2

# ГЕННЫЕ СЕТИ

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

# Вывод по лекции 1:

## Определение понятия «Генные сети» в книге проф. В.А.Ратнера

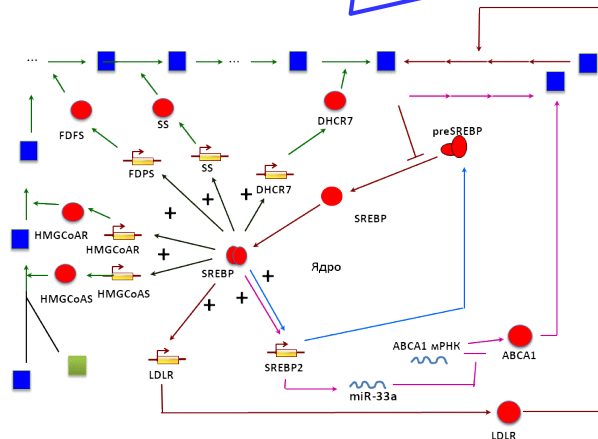


«Генетическая программа записана в архиве опосредованно, через взаимодействие молекулярных компонентов МГСУ. **Схему взаимодействия между этими компонентами обычно изображают в виде генетических сетей.**»



**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



Н.А.Колчанов,  
академик РАН, доктор  
биологических наук,  
профессор, зав.  
кафедрой  
информационной  
биологии ФЕН НГУ



О.В.Вишневский,  
к.б.н., старший  
преподаватель  
кафедры  
информационной  
биологии ФЕН НГУ



Д.П.Фурман,  
д.б.н.,  
заместитель  
заведующего  
кафедрой  
информационн  
ой биологии  
ФЕН НГУ

**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. Вишневского, 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

# 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: 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



# 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: 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

# Более развернутое 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.).

Вавиловский журнал генетики и селекции

ВАВИЛОВСКИЙ  
ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Журнал Свежий номер Авторам Online-first Архив Письма в Вавиловский журнал Контакты

Содержание номера 2013 Том 17 № 4/2

Обновленный журнал генетики и селекции на основе ВАК Минобрнауки России и Перечня российских научных изданий, в который должны быть включены основные научные журналы, диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, не содержащие ученой степени доктора наук. Российский индекс научного цитирования. Russian Science Citation Index на платформе Web of Science, свой индекс Ulrich's Periodicals Directory и Google Scholar.

[Содержание](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 185,6 КВ, количество скачиваний: 333

[УЧЕБНИК ВОСЕС](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 1,43,4 КВ, количество скачиваний: 74

[Написание ГЕНТИКА ИЗ ПЕРВЫХ РУК](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 1,48,3 КВ, количество скачиваний: 442

[В.А. Шолова](#)  
[УПАКОВКА ПОЛИСТОРИИ ГЕНЕТИКИ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 253,3 КВ, количество скачиваний: 834

[С.Г. Иван-Вельями](#)  
[ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО ФЕНОТИПИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 2,31 КВ, количество скачиваний: 1396

[В.Ф. Вавилов](#)  
[ПРИ ПРИКАСТОВИИ ЗАВТА](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 1,5 МВ, количество скачиваний: 3939

[В.А. Колчанов, С.В. Шолова, С.А. Пономарева, В.А. Лисиной, Ю.Г. Митченко](#)  
[ГЕНЕТИКА](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 3,0 МВ, количество скачиваний: 2227

[С.Д. Колчанов, М.А. Лазаркина](#)  
[СРЕДСТВЕННЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ РЕПРОДУКТИВНЫЙ КОЭФИЦИЕНТ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 1,3 МВ, количество скачиваний: 1599

[Н.М. Колчанов](#)  
[ПРИ ПРИКАСТОВИИ РЕГУЛЯЦИИ КОЭФИЦИЕНТА И РЕАКТИВНОСТИ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 864,8 КВ, количество скачиваний: 369

[С.В. Успенский](#)  
[КОЭФИЦИЕНТ КАК СВОБОДНОЕ РАЦИОНАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЧЕЛОВЕЧЕСТВА](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 3,3 МВ, количество скачиваний: 1529

[Н.Н. Голчанов](#)  
[ПРИ ПРИКАСТОВИИ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 5,1 МВ, количество скачиваний: 2913

[В.А. Соловьев](#)  
[ПОЛУЧЕНИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОПРАВИЛИИ ГЕНОМОВ И КОЭФИЦИЕНТОВ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 3,6 МВ, количество скачиваний: 3933

[А.В. Раковин](#)  
[ПОЛУЧЕНИЕ И КОЭФИЦИЕНТ РАЦИОНАЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ И РАСТЕНИЯ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 799,4 КВ, количество скачиваний: 1479

[С.А. Колчанов, Н.С. Шолова](#)  
[УПАКОВКА И РЕГУЛЯЦИЯ РАСТЕНИЙ, ПОЛУЧЕНИЕ И ОТНОШЕНИЯ В ПРОСТРАНСТВЕ И ВРЕМЕНИ: МЕХАНИЗМЫ И РЕГУЛЯТОРЫ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 2,3 МВ, количество скачиваний: 1723

[С.В. Колчанов](#)  
[УПАКОВКА РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 3,2 МВ, количество скачиваний: 2015

[А.С. Погодина](#)  
[УПАКОВКА РАСТЕНИЙ ЧЕЛОВЕКА](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 827,4 КВ, количество скачиваний: 1489

[Н.В. Раков, С.В. Шолова](#)  
[УПАКОВКА РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 1,4 МВ, количество скачиваний: 3913

[Н.А. Тихонова](#)  
[УПАКОВКА РАСТЕНИЙ И КОЭФИЦИЕНТ РАЦИОНАЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 3,9 МВ, количество скачиваний: 742

[Л.А. Лукин](#)  
[УПАКОВКА РАСТЕНИЙ И КОЭФИЦИЕНТ РАЦИОНАЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 2,5 МВ, количество скачиваний: 1999

[В.Н. Колчанов, Г.А. Савина](#)  
[УПАКОВКА РАСТЕНИЙ И КОЭФИЦИЕНТ РАЦИОНАЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 8,9 МВ, количество скачиваний: 2927

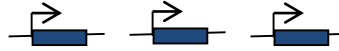
[В.В. Колчанов](#)  
[УПАКОВКА РАСТЕНИЙ И КОЭФИЦИЕНТ РАЦИОНАЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 1,9 МВ, количество скачиваний: 1061

[С.Д. Савин](#)  
[УПАКОВКА РАСТЕНИЙ И КОЭФИЦИЕНТ РАЦИОНАЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ](#)  
Дата установки счетчика: 12.02.2014, размер: 2,2 МВ, количество скачиваний: 1327

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;



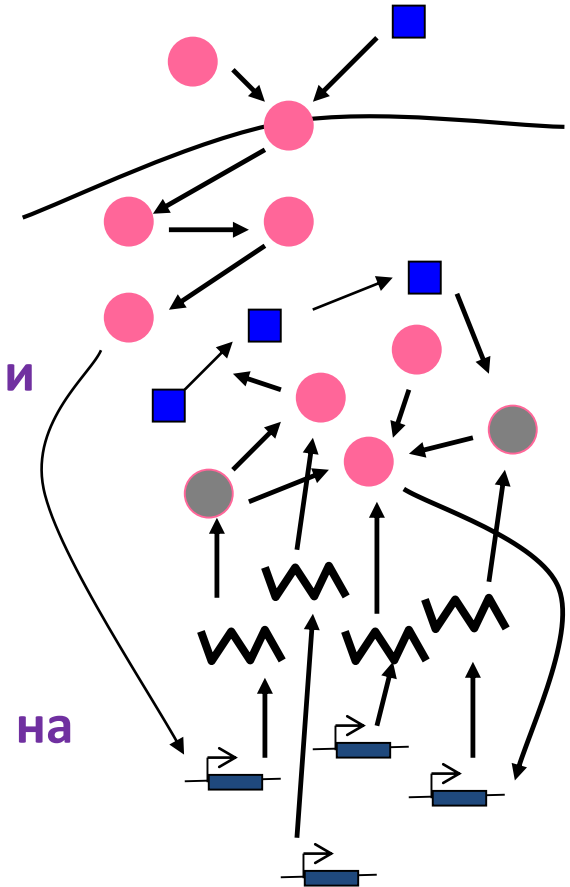
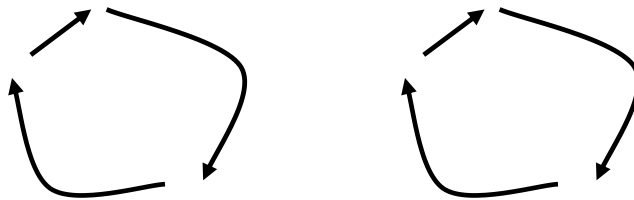
➤ РНК и белки, кодируемые этими генами;



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

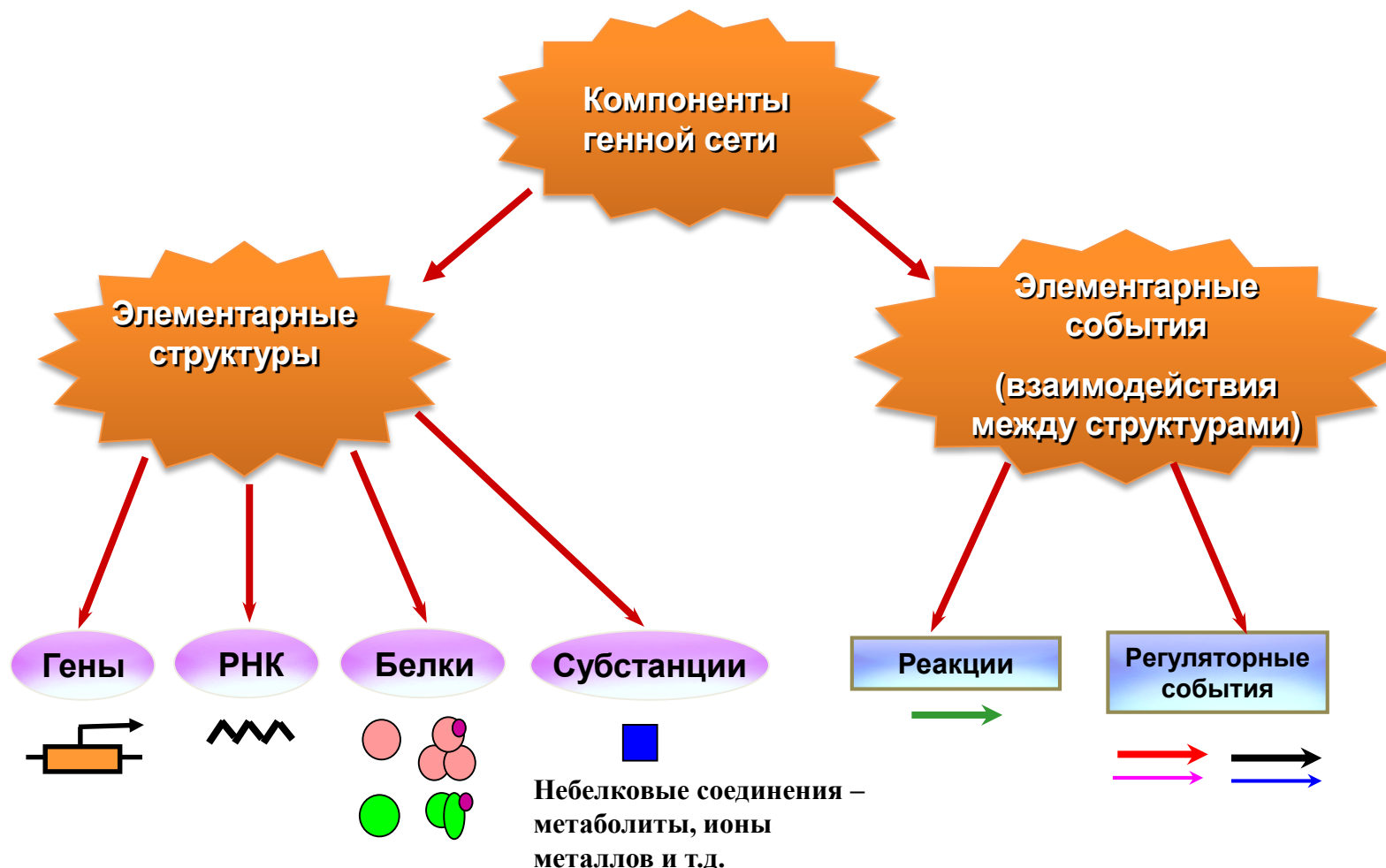


➤ отрицательные и положительные обратные связи, стабилизирующие параметры генной сети на определенном уровне, или, напротив, отклоняющие их от исходного значения, обеспечивая переход к новому функциональному состоянию.



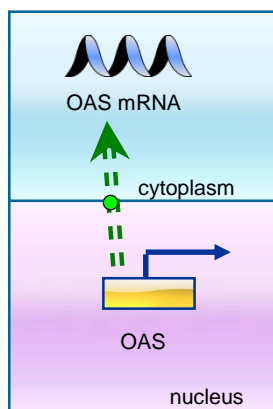
**Метод формализованного графического представления  
генных сетей, разработанный в рамках технологии  
GeneNet (разработка ИЦиГ СО РАН):**

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

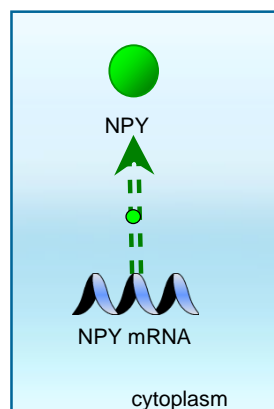


## Технология GeneNet:

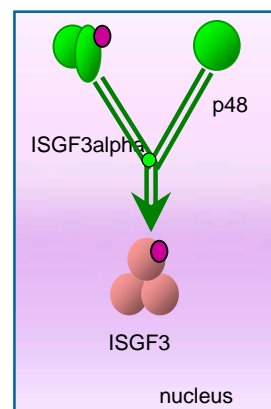
примеры графических образов, используемых для визуализации элементарных структур и событий, значимых для функционирования генных сетей



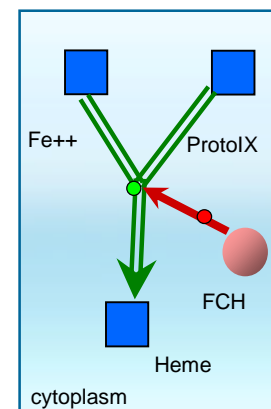
Транскрипция



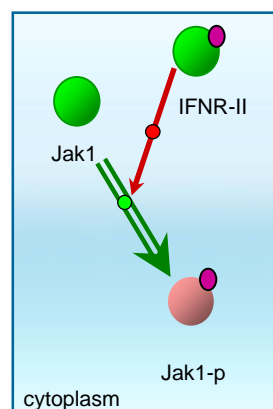
Трансляция



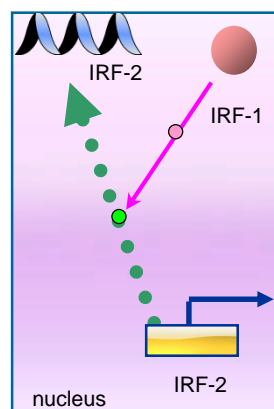
Мультимеризация



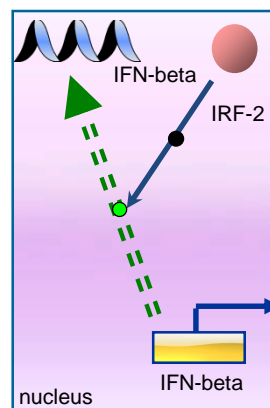
Ферментативный синтез



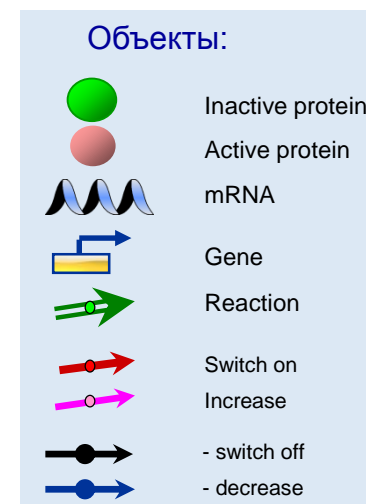
Фосфорилирование



Активация транскрипции



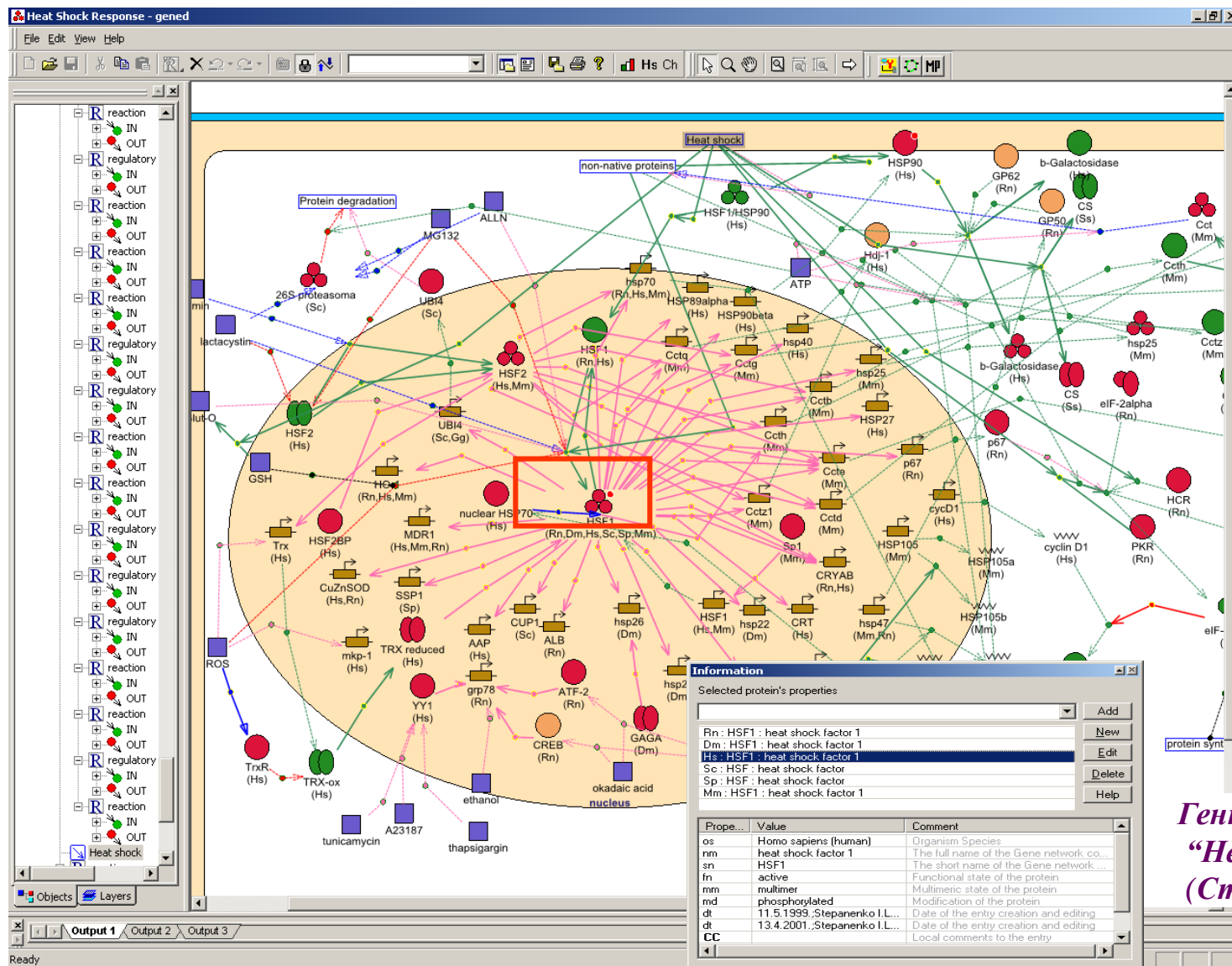
Подавление транскрипции



# Технология GeneNet:

## интерфейс для ввода и визуализации данных

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

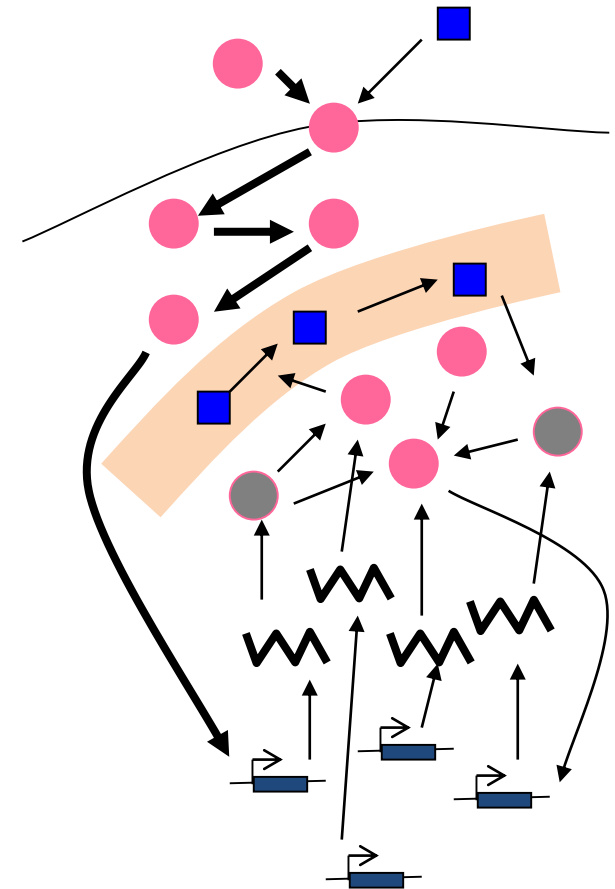


Генная сеть  
 "Heat shock Response"  
 (Степаненко И.Л.)



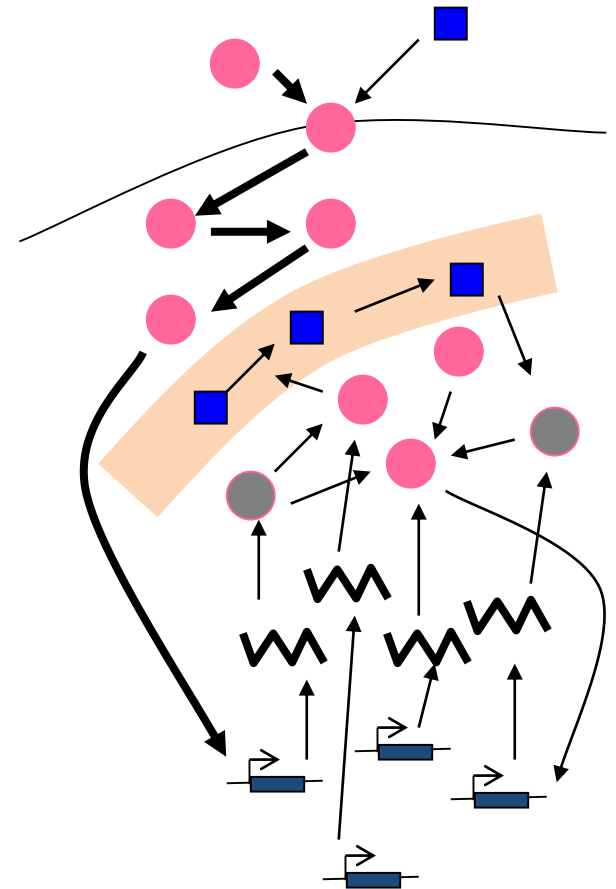
## Генные сети могут включать такие крупные функциональные модули как:

- 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;

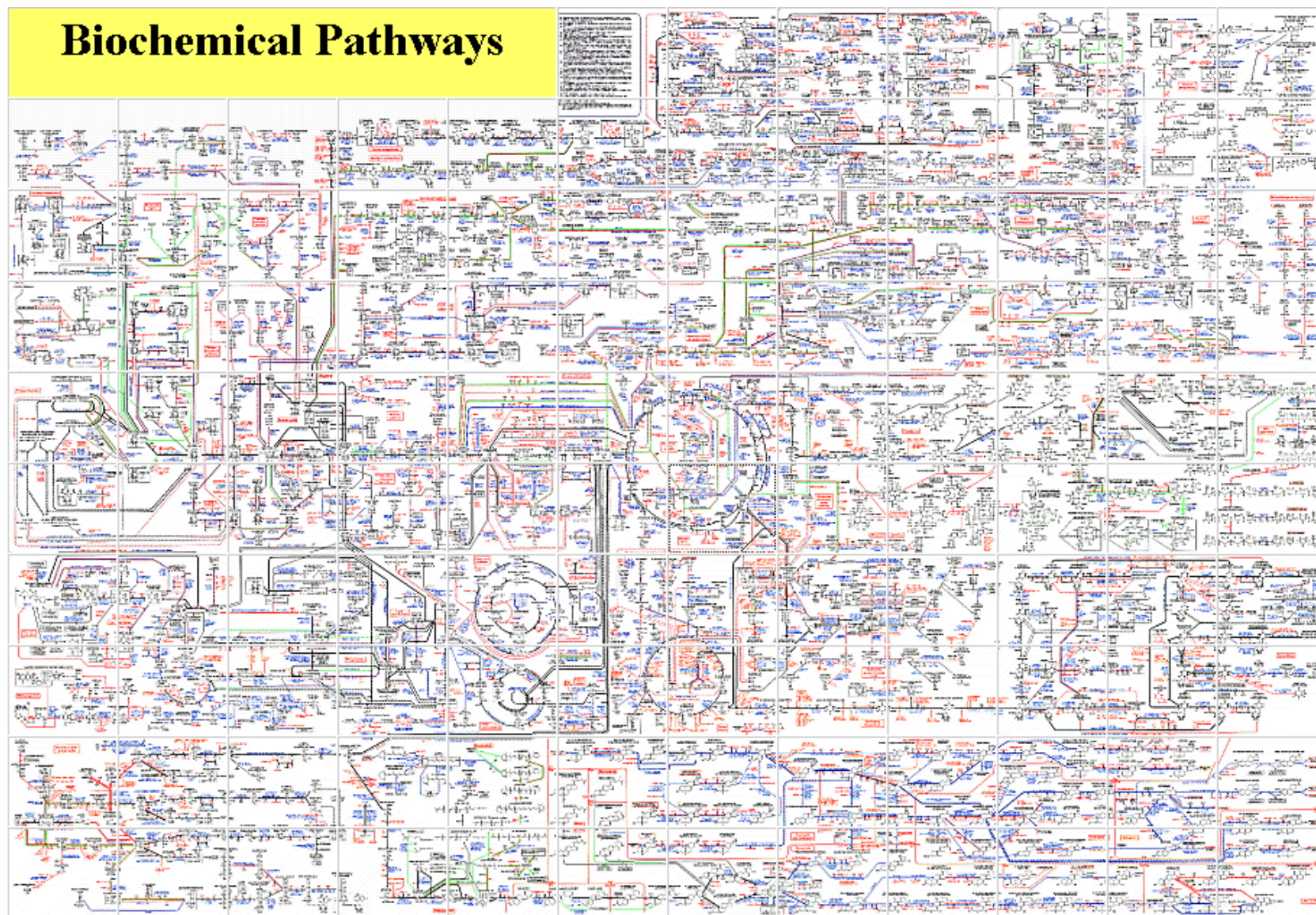


## Генные сети могут включать такие крупные функциональные модули как:

- **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;**

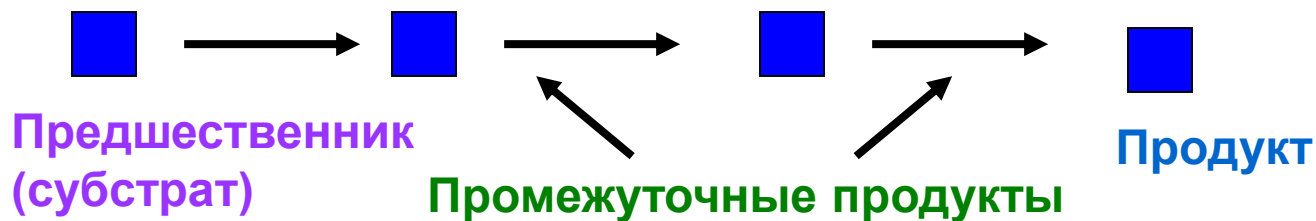


**Метаболические пути** — это сложная сеть разветвленных и взаимозависимых последовательностей биохимических превращений.

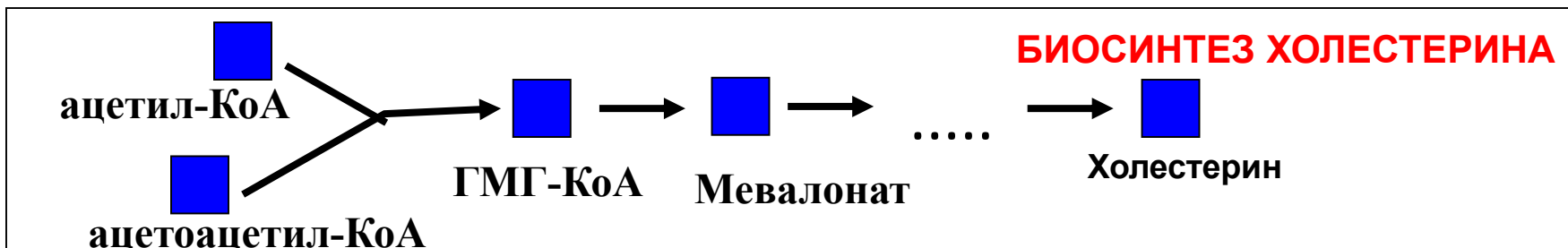
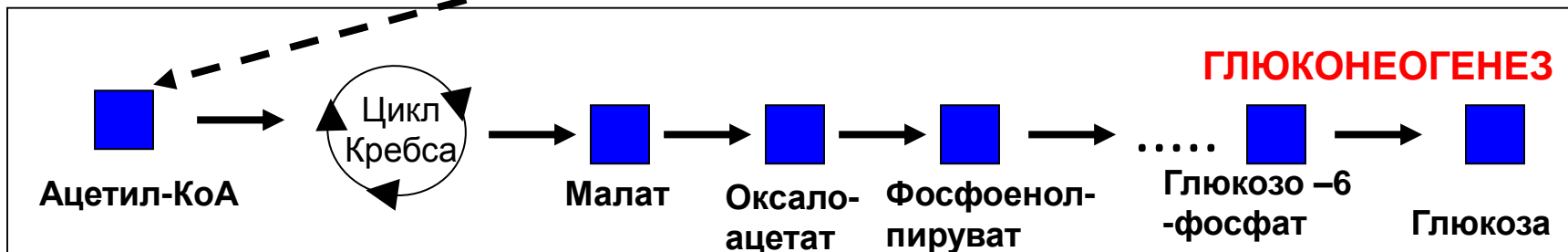
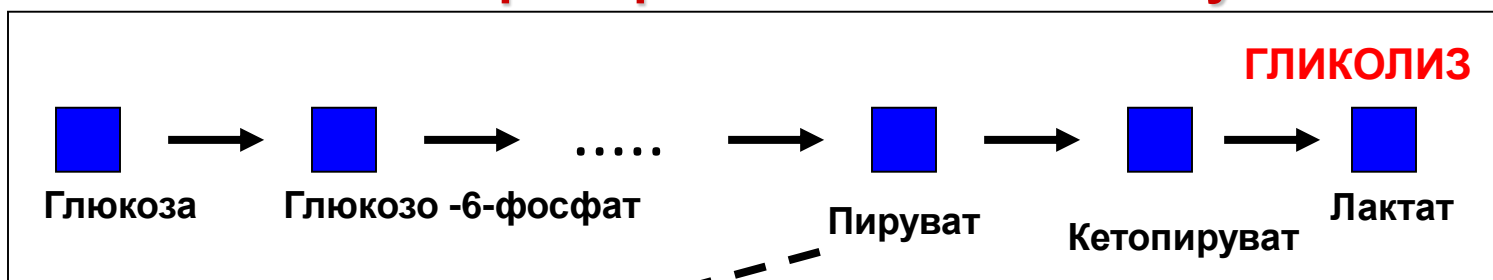


Пытаться запомнить все эти пути — задача совершенно неподъемная !!

## ОБОБЩЕННАЯ СХЕМА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПУТИ



## Примеры метаболических путей





## Классификация метаболических путей (по структуре):

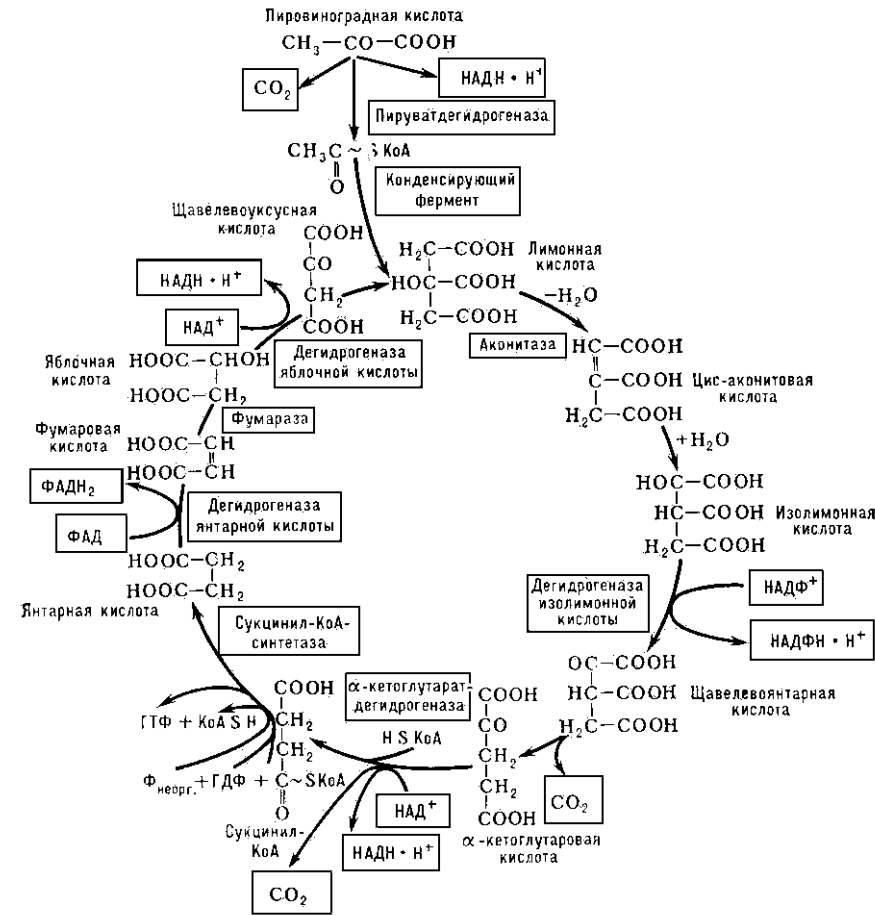
**Линейные** – превращение одного вещества в другое через серию промежуточных стадий (например, гликолиз, где глюкозы превращается в пируват)

### Разветвленные:

- Дивергентные – промежуточное вещество может превращаться в различные конечные продукты (биосинтез пуринов и некоторых аминокислот)

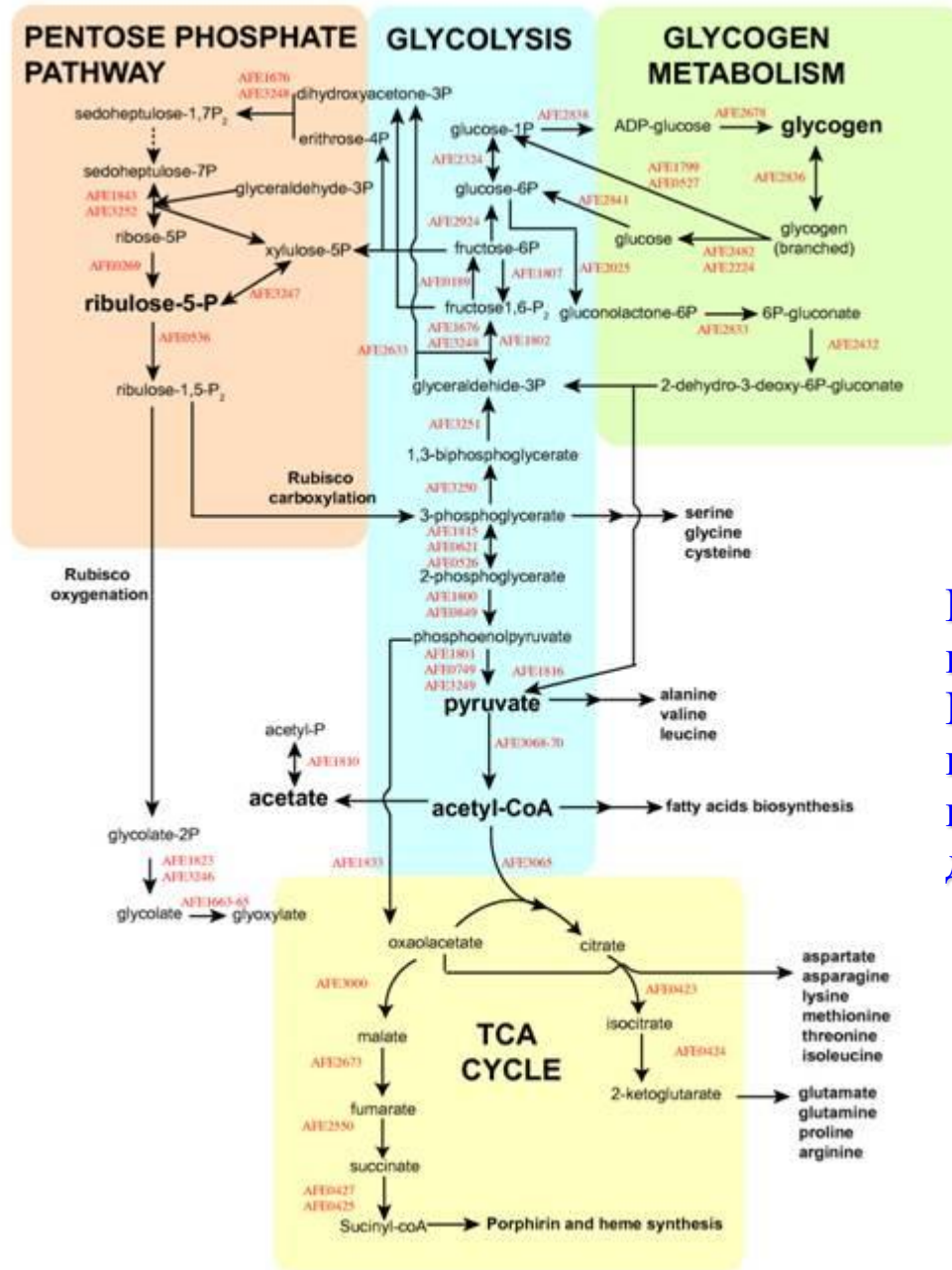
- Конвергентные – различные предшественники могут быть субстратом для синтеза одного и того же продукта (различные углеводы могут подвергаться гликолизу)

**Циклические** (например, цикл трикарбоновых кислот)



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

# Интеграция метаболических путей

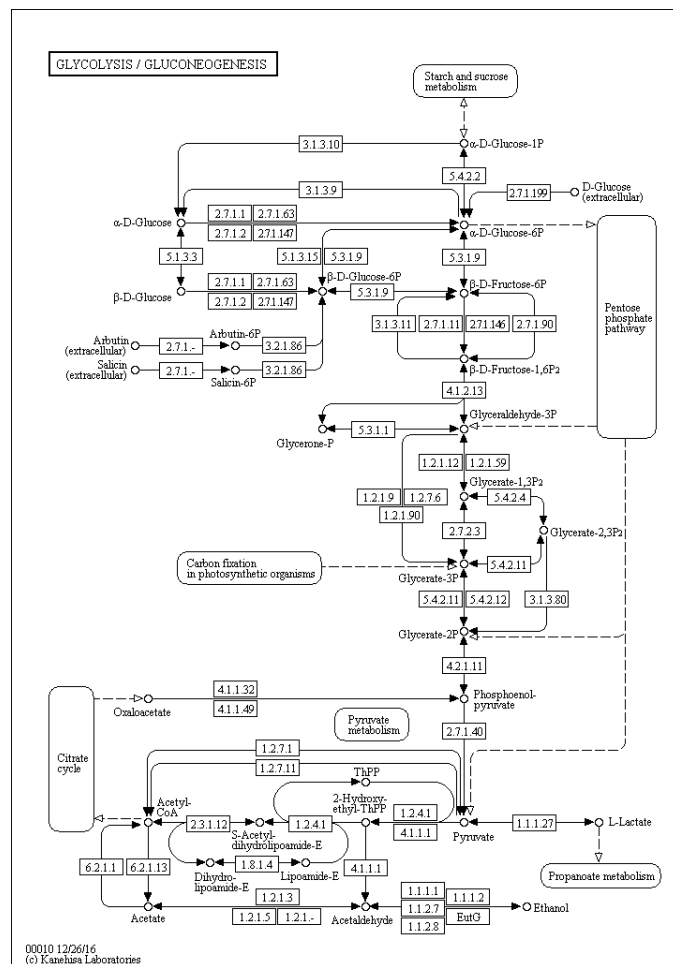
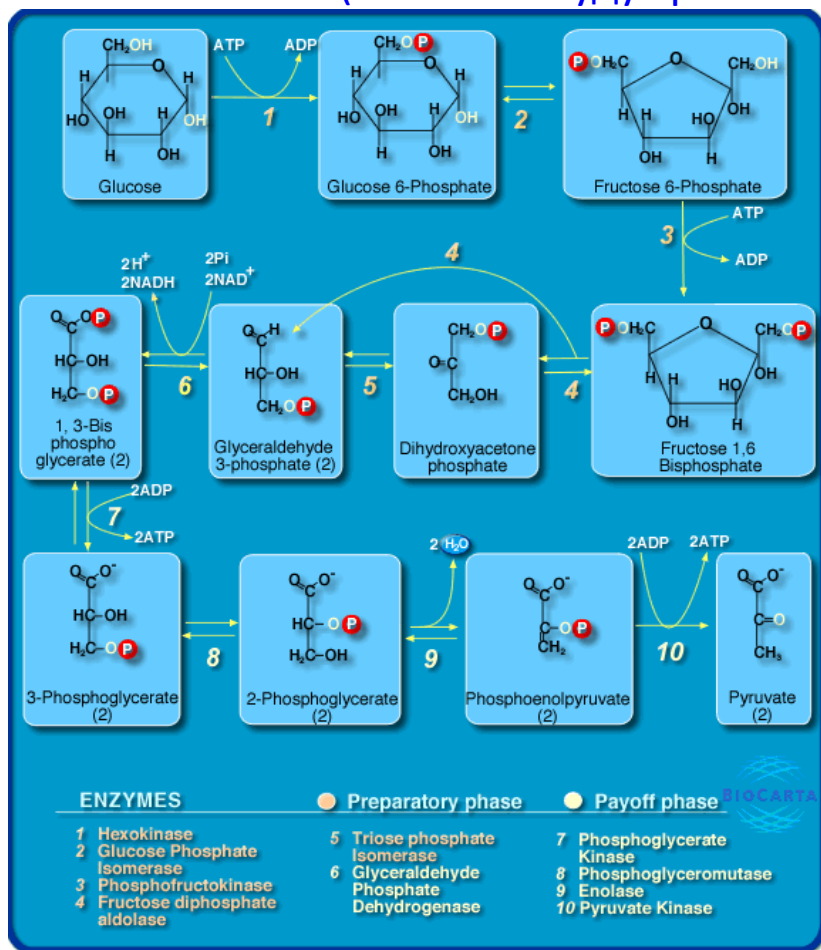


Метаболические пути составляют интегральную систему метаболизма. Промежуточные либо конечные продукты одного метаболического пути могут быть субстратами для другого

# Метаболические пути представлены в базах KEGG, Reactome, Biocarta

- функциональные модули

(Эти базы будут рассмотрены в четвертой лекции)



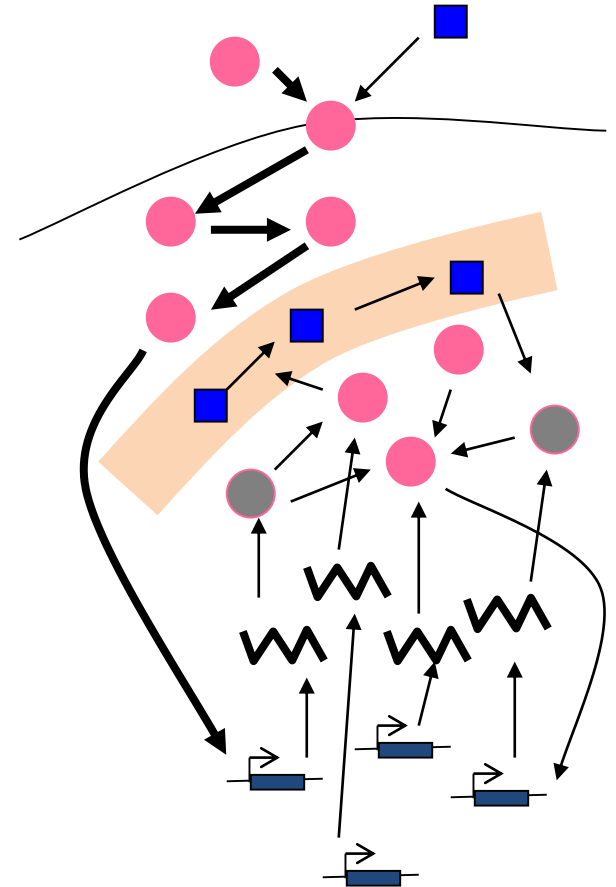
Гликолиз – представление в базе **Biocarta**  
[https://cgap.nci.nih.gov/Pathways/BioCarta/h\\_glycolysisPathway](https://cgap.nci.nih.gov/Pathways/BioCarta/h_glycolysisPathway)

Гликолиз – представление в базе **KEGG**  
[http://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?map=map00010&show\\_description=show](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map=map00010&show_description=show)



## Генные сети могут включать такие крупные функциональные модули как:

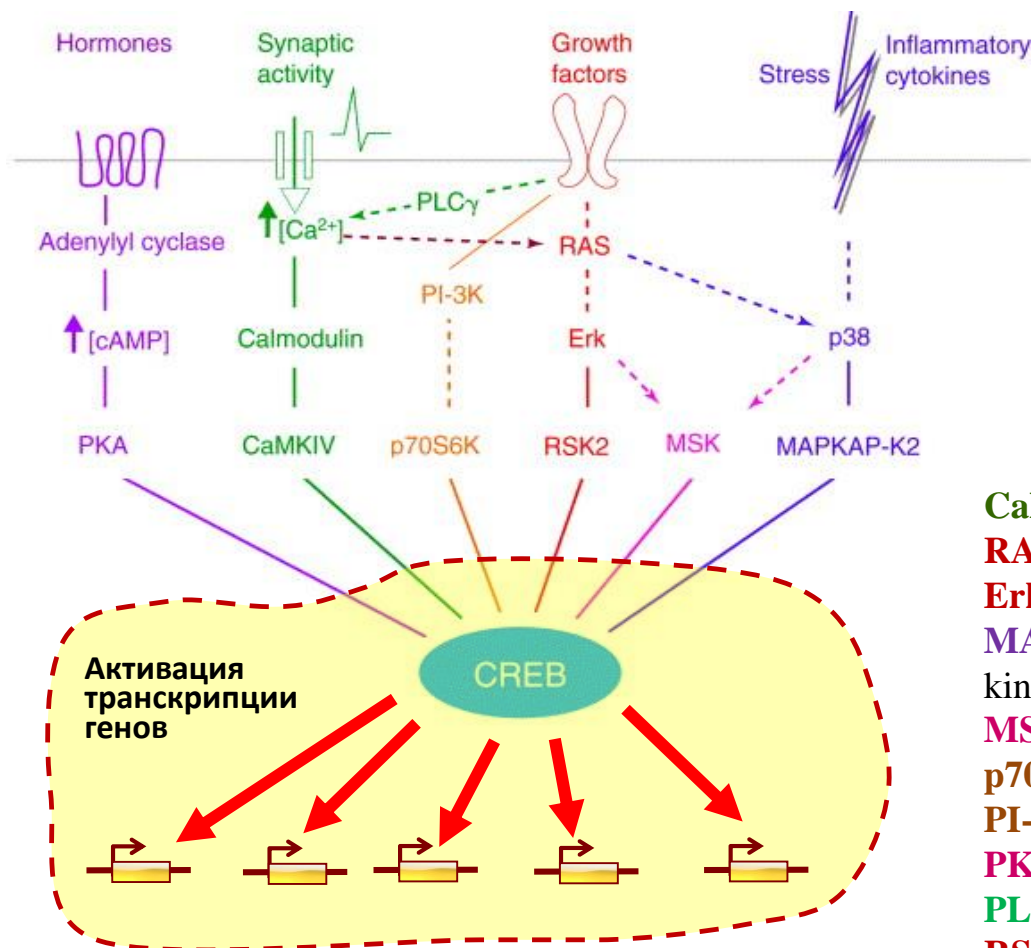
- метаболические пути;
- пути передачи сигналов от клеточных мембран в ядра клеток, обеспечивающие активацию или подавление транскрипции генов в ответ на внешние по отношению к клетке стимулы;



# 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)

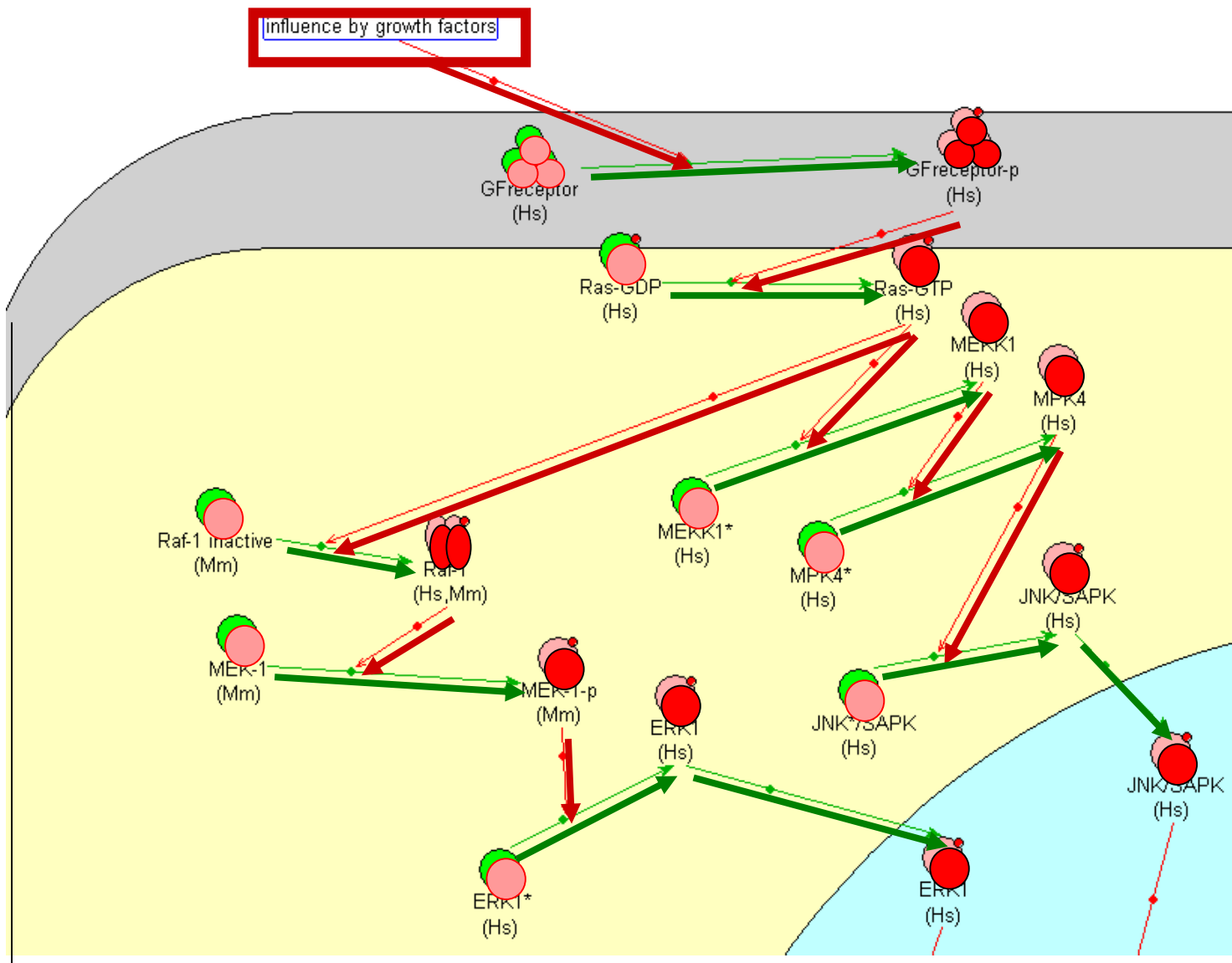


- 1) Множественность начальных индукторов (внешних сигналов)
- 2) Конвергенция сигнальных путей, приводящих к активации одного и того же ТФ
- 3) Интерференция сигналов

**CaMKIV**, Ca<sup>2+</sup>-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

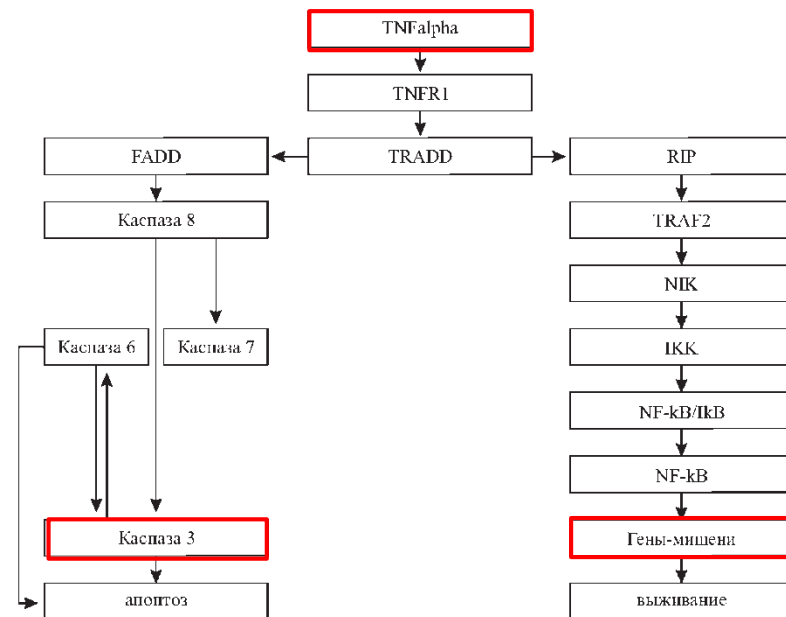
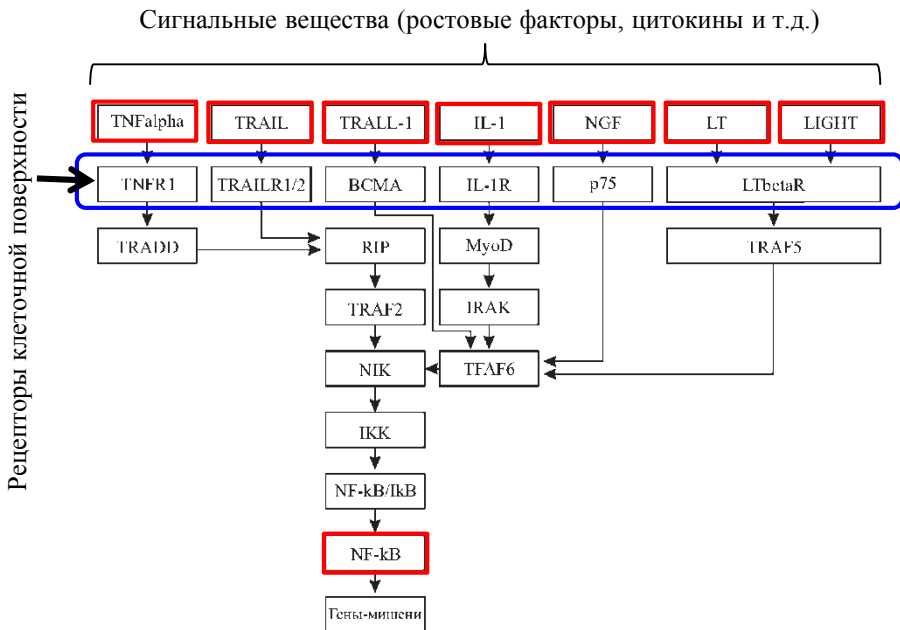
(= сходимость к одному конечному звену):

Транскрипционный фактор NF- $\kappa$ 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

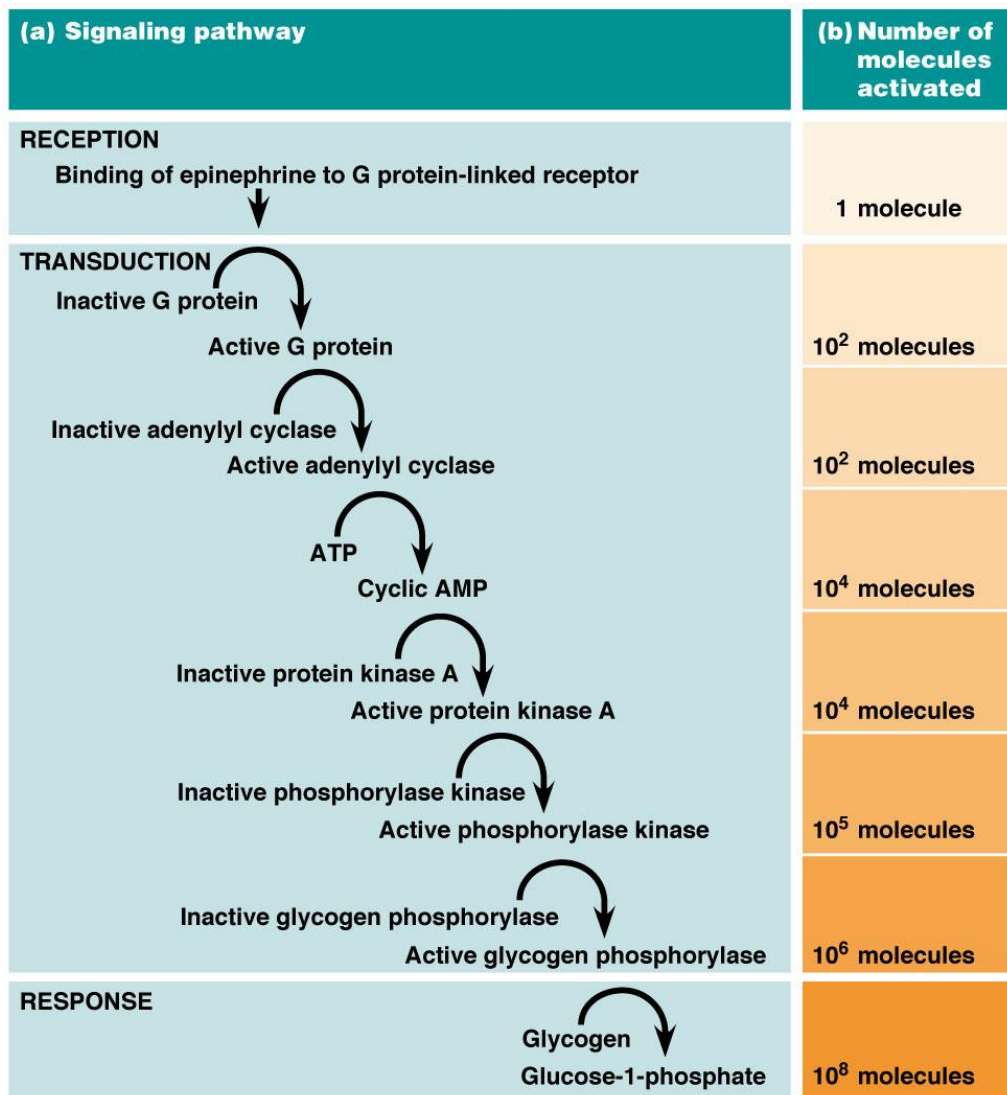
(= расхождение в разные стороны) :

TNF-alpha индуцирует два важных сигнальных пути: один из них приводит к апоптозу, тогда как второй активирует транскрипционный фактор NF- $\kappa$ 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)



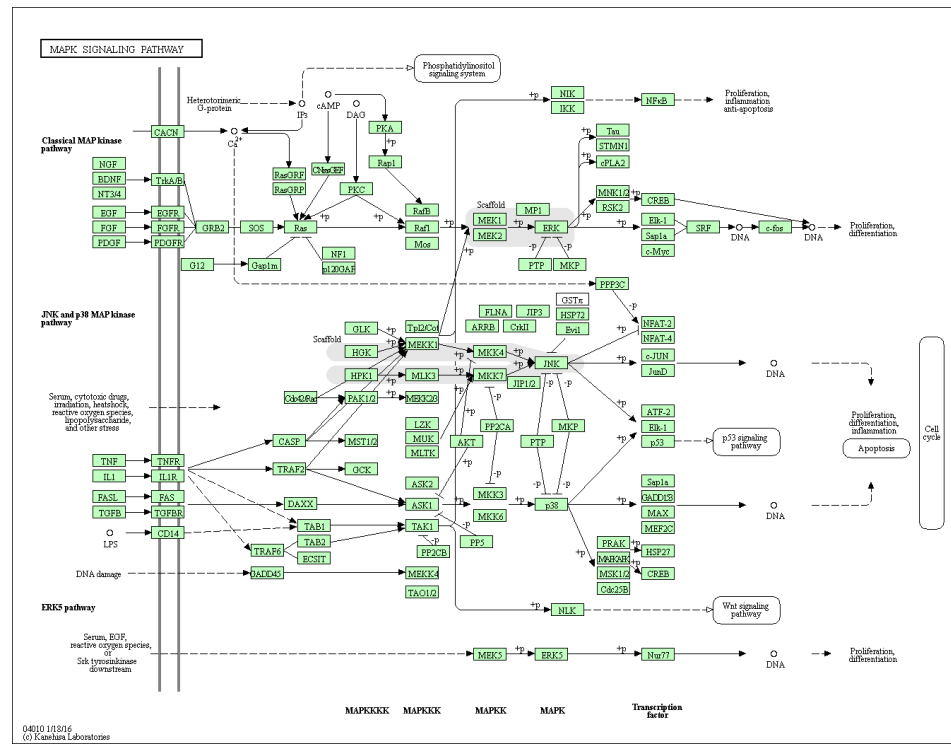
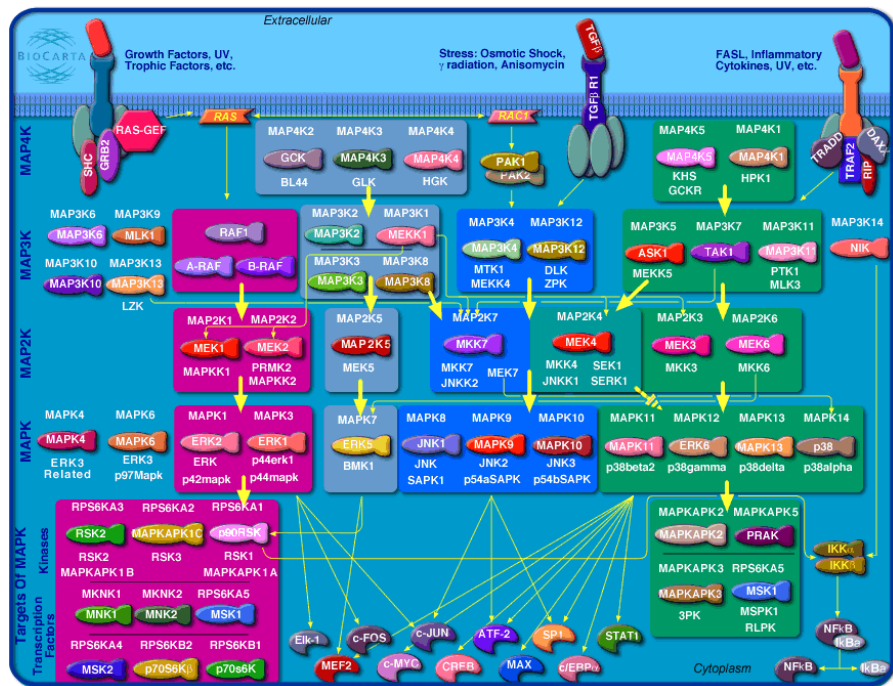
**Эпинефрин = адреналин** (L-1 (3,4-Диоксифенил)-2-метиламиноэтанол) - основной гормон мозгового вещества надпочечников, а также нейромедиатор. Участвует в реализации состояния, при котором организм мобилизуется для устранения угрозы. Оказывает множественные эффекты, включая сосудосуживающее действие.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

Один из эффектов – стимуляция распада гликогена

# Сигнальные пути представлены в базах KEGG, Reactome, Biocarta

## - функциональные модули

(Эти базы будут рассмотрены в четвертой лекции)



MAP-киназный сигнальный путь –  
 представление в базе **Biocarta**  
[https://cgap.nci.nih.gov/Pathways/BioCarta/h\\_mapkPathway](https://cgap.nci.nih.gov/Pathways/BioCarta/h_mapkPathway)

MAP-киназный сигнальный путь –  
 представление в базе **KEGG**  
[http://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?map=hsa04010&show\\_description=show](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. Компартаментализация ГС

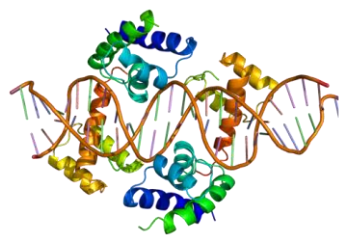
## Молекулярные механизмы, обеспечивающие функционирование ГС

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:

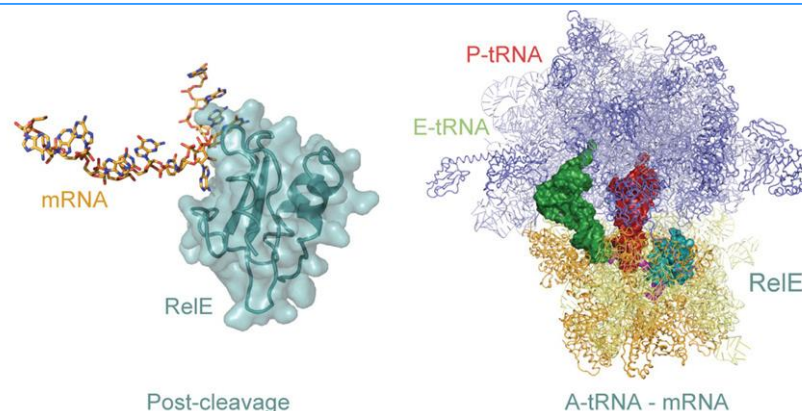
- ДНК-белковые (транскрипция)
- РНК-белковые (трансляция)
- Белок-белковые либо кофактор-белковые

Пример взаимодействия ДНК-белок:



Взаимодействие транскрипционного фактора POU1F1 с ДНК

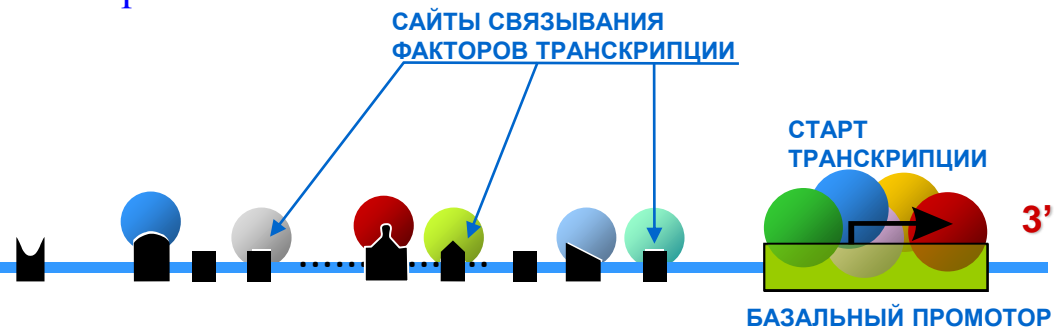
Пример взаимодействия РНК-белок:



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)

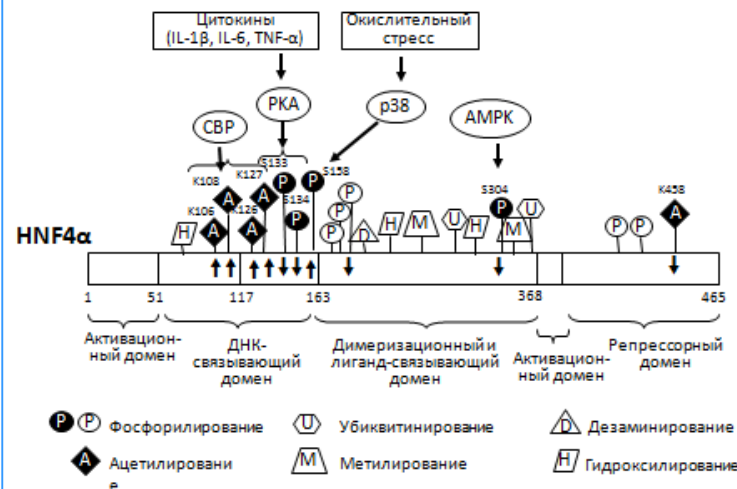
**Транскрипция** – уникальная комбинация транскрипционных факторов определяет паттерн экспрессии гена



Сайты связывания транскрипционных факторов в регуляторном районе гена

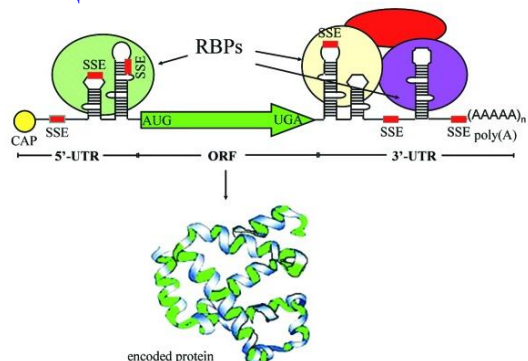
### Регуляция активности белков

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



Посттрансляционные модификации транскрипционного фактора HNF4 $\alpha$  человека. Эффект на активность белка показан стрелками:  $\uparrow$  - повышение активности,  $\downarrow$  - снижение активности.

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



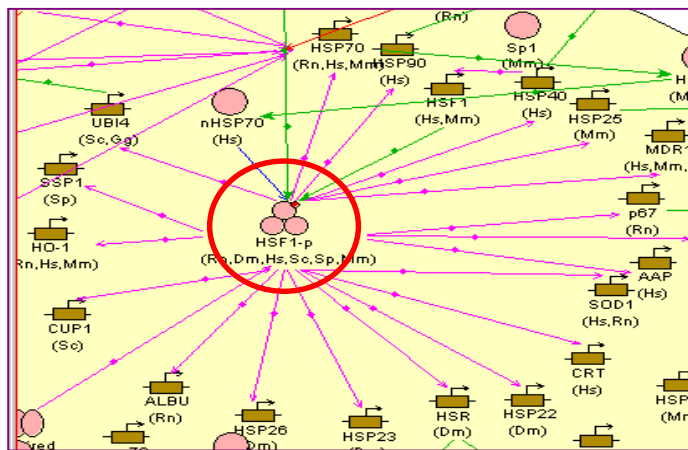
## Базовые принципы организации генных сетей

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

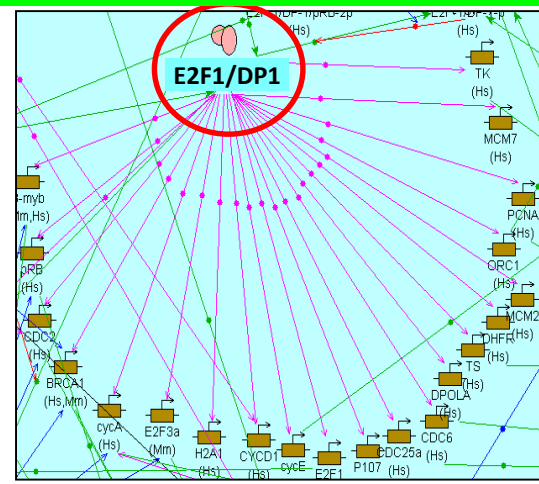
## Кассетный принцип регуляции: у эукариот каждый транскрипционный фактор может регулировать около 1000 генов

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

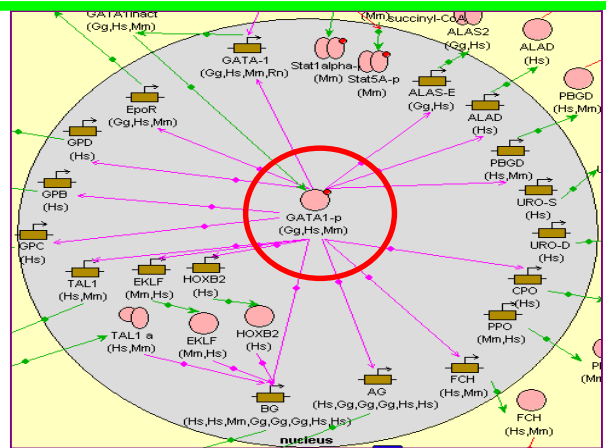
Таким образом рассматриваемый транскрипционный фактор является ключевым регулятором биологического процесса.



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



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

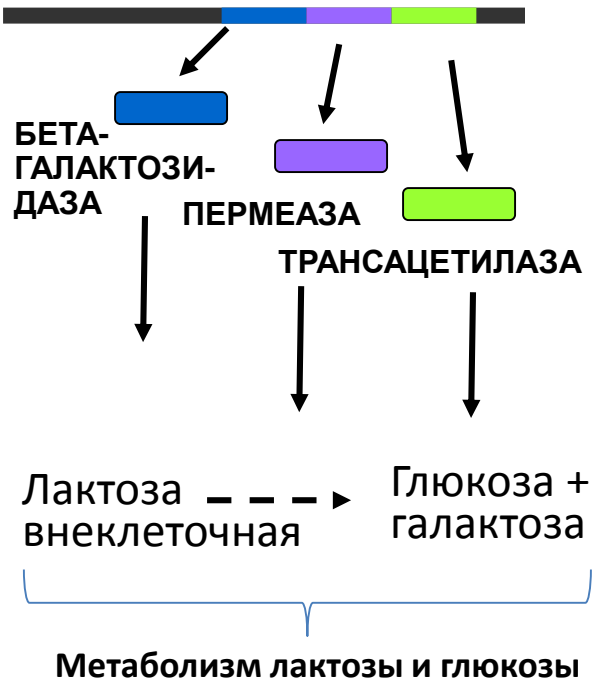


Генная сеть дифференцировки эритроцита – центральный регулятор – транскрипционный фактор GATA1 (GATA-binding factor 1)

# Кассетный принцип регуляции применительно к прокариотам: опероны

## Лактозный оперон *E.coli*

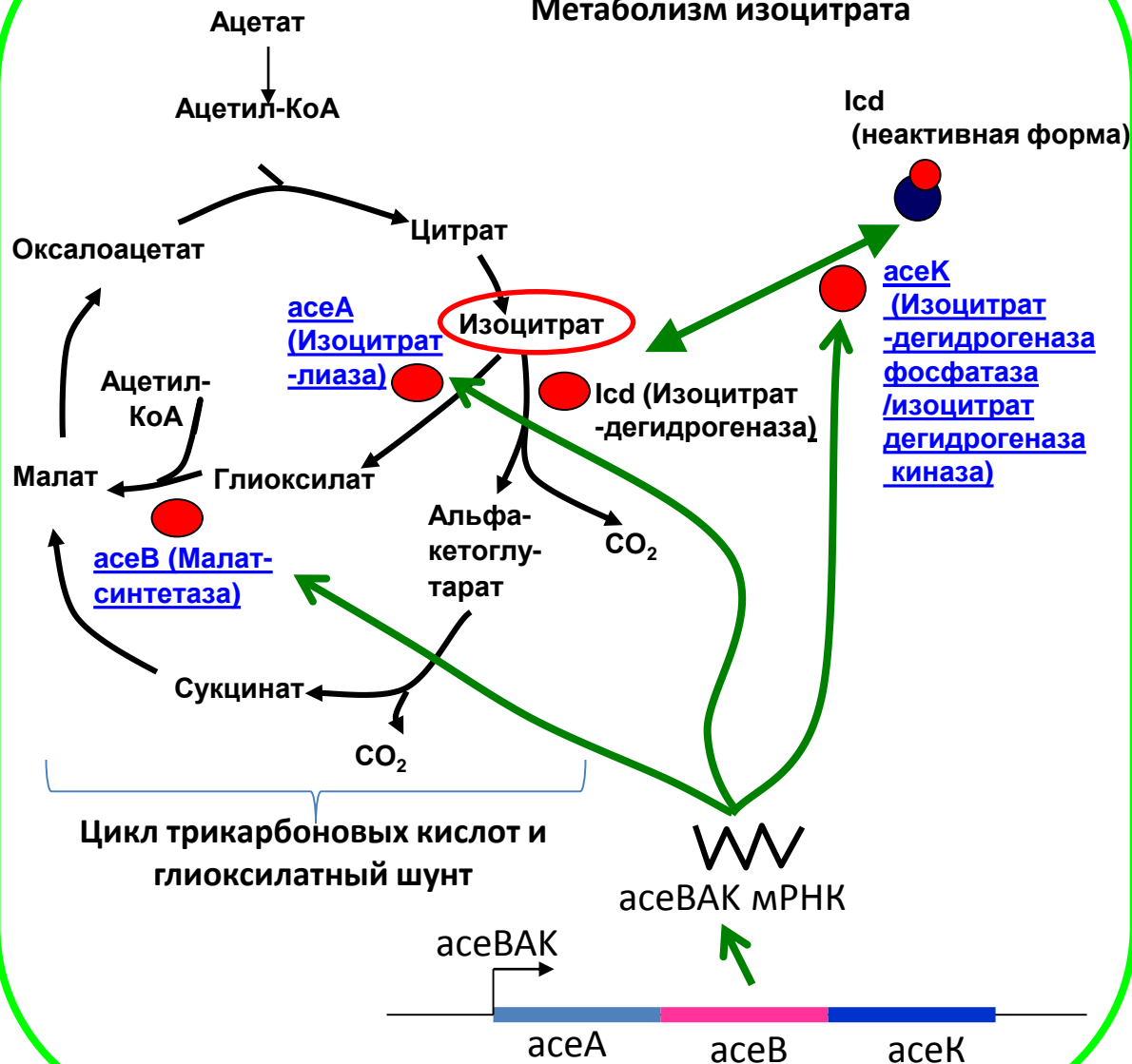
*lacZ lacY lacA*



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

## Гены оперона *aceBAK E.coli*

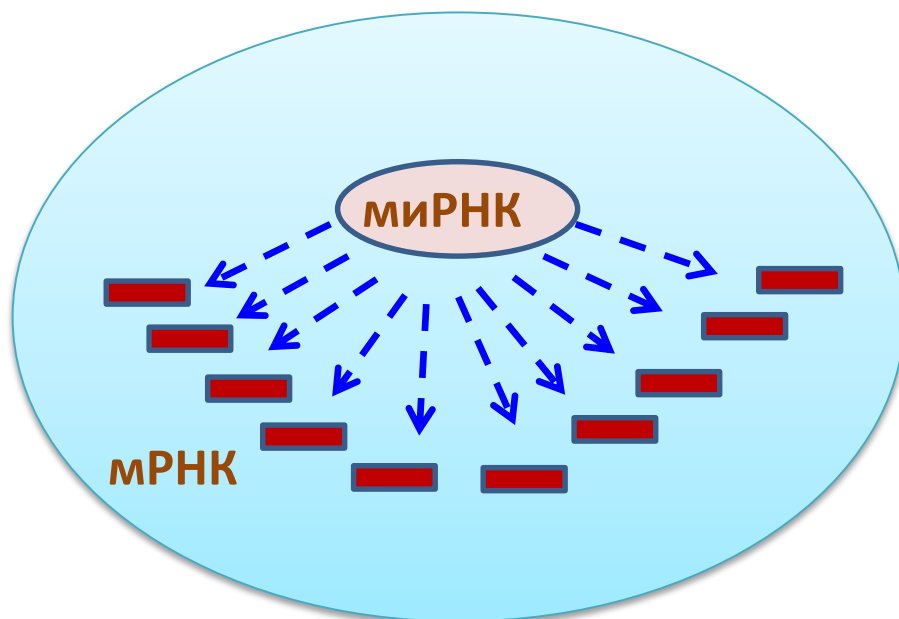
### Метаболизм изоцитрата



## Микро-РНК – каскадные регуляторы экспрессии генов

Согласно информации из базы данных **miRBase**, в геноме человека картировано 1523 экспериментально верифицированных человеческих пре-миРНК.

Согласно информации из базы данных **starBase**, каждая миРНК имеет в геноме человека от десятков до сотни мРНК-мишеней, являясь поэтому мощнейшим каскадным регулятором экспрессии генов.



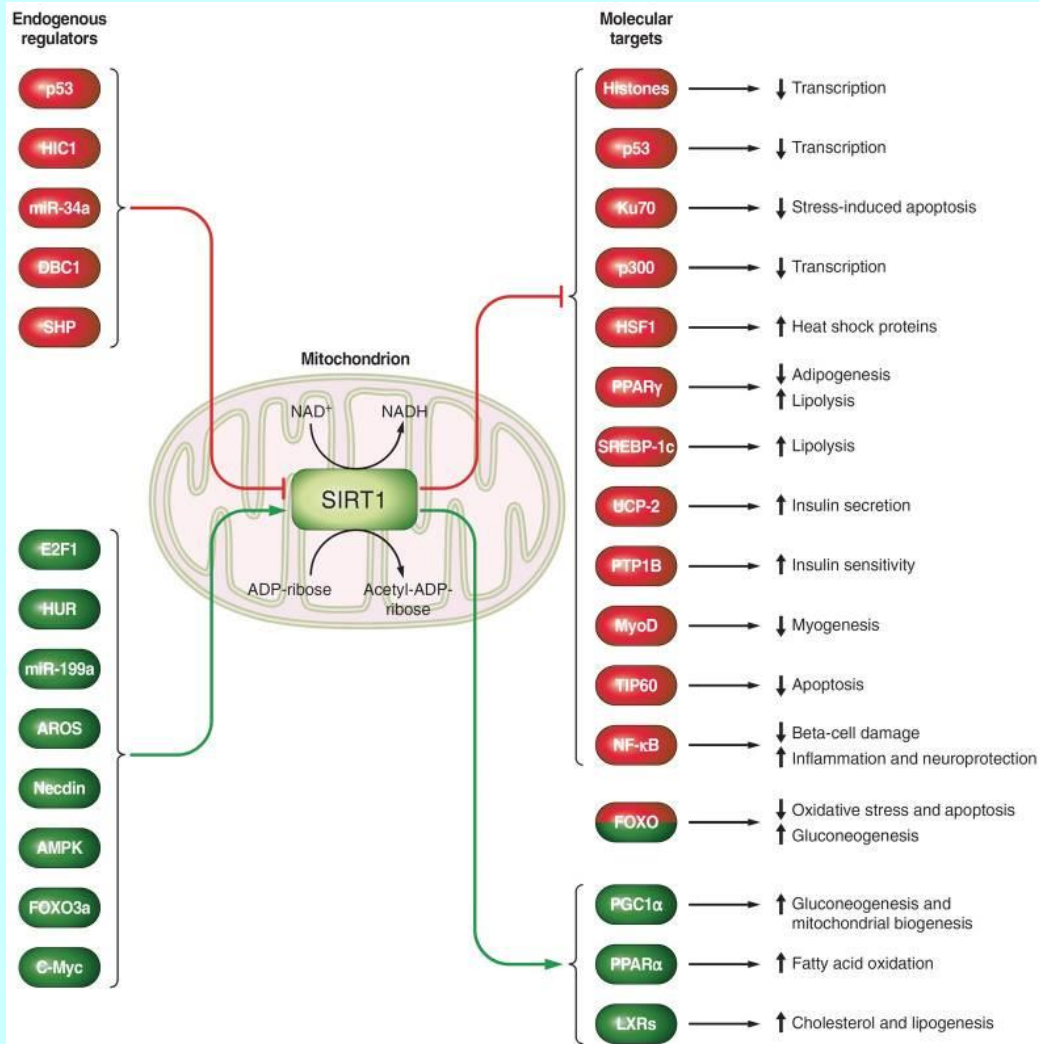
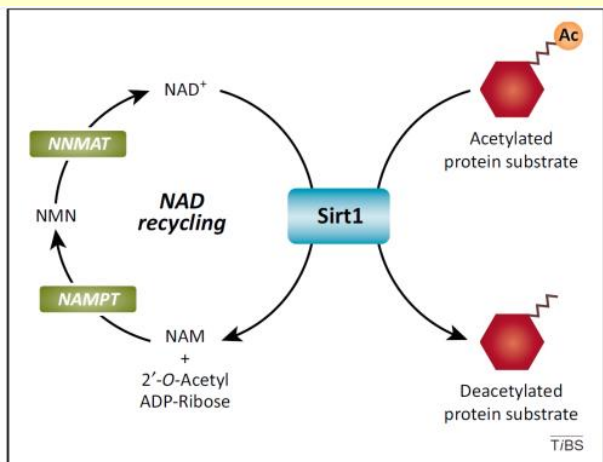


# Кассетный принцип на уровне белков: регуляторный белок может регулировать активность множества процессов

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. Компартаментализация 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:

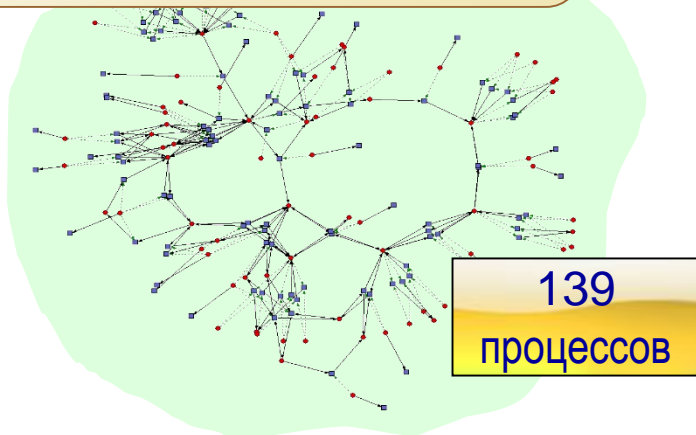
А) регуляция транскрипции гена (строение регуляторных районов генов) – ген аполипопротеина В (см. следующий слайд + 1).

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

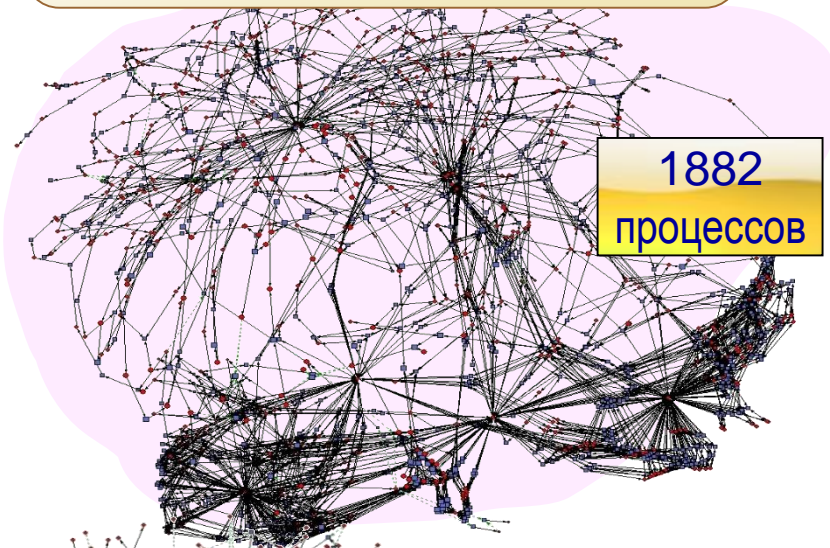
## «Молекулярная бюрократия» на уровне генных сетей: соотношение метаболической и регуляторной компонент цикла трикарбоновых кислот *E. coli* K-12

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

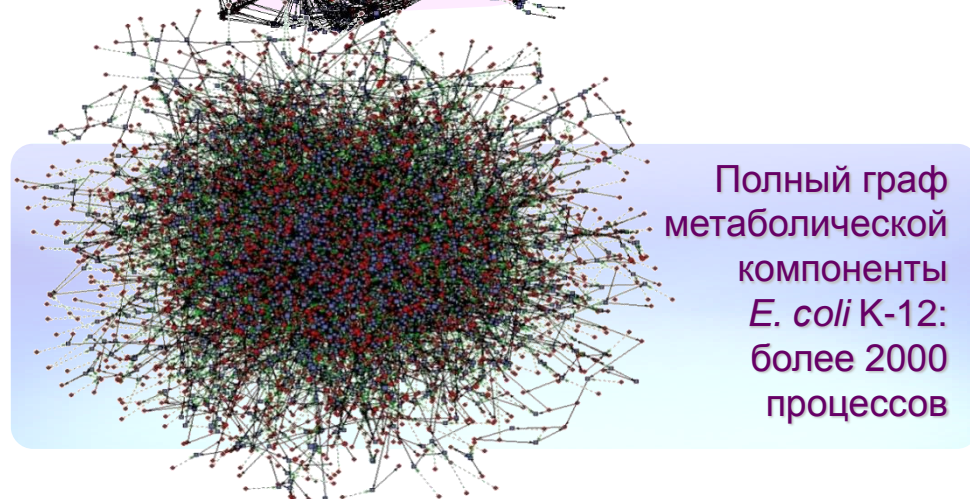
ИСПОЛНЯЮЩАЯ (РАБОЧАЯ)  
КОМПОНЕНТА (МЕТАБОЛИЗМ)



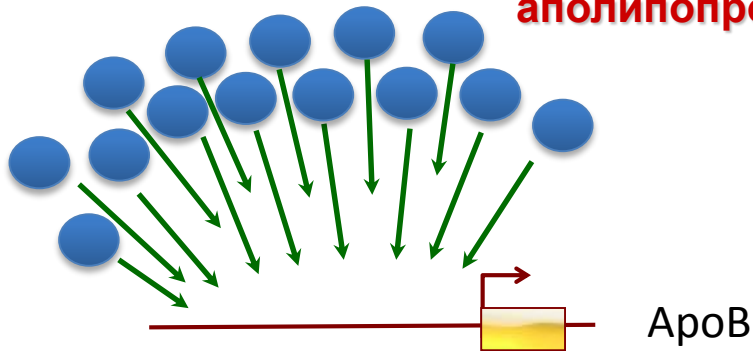
РЕГУЛЯТОРНАЯ КОМПОНЕНТА  
(УПРАВЛЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМОМ)



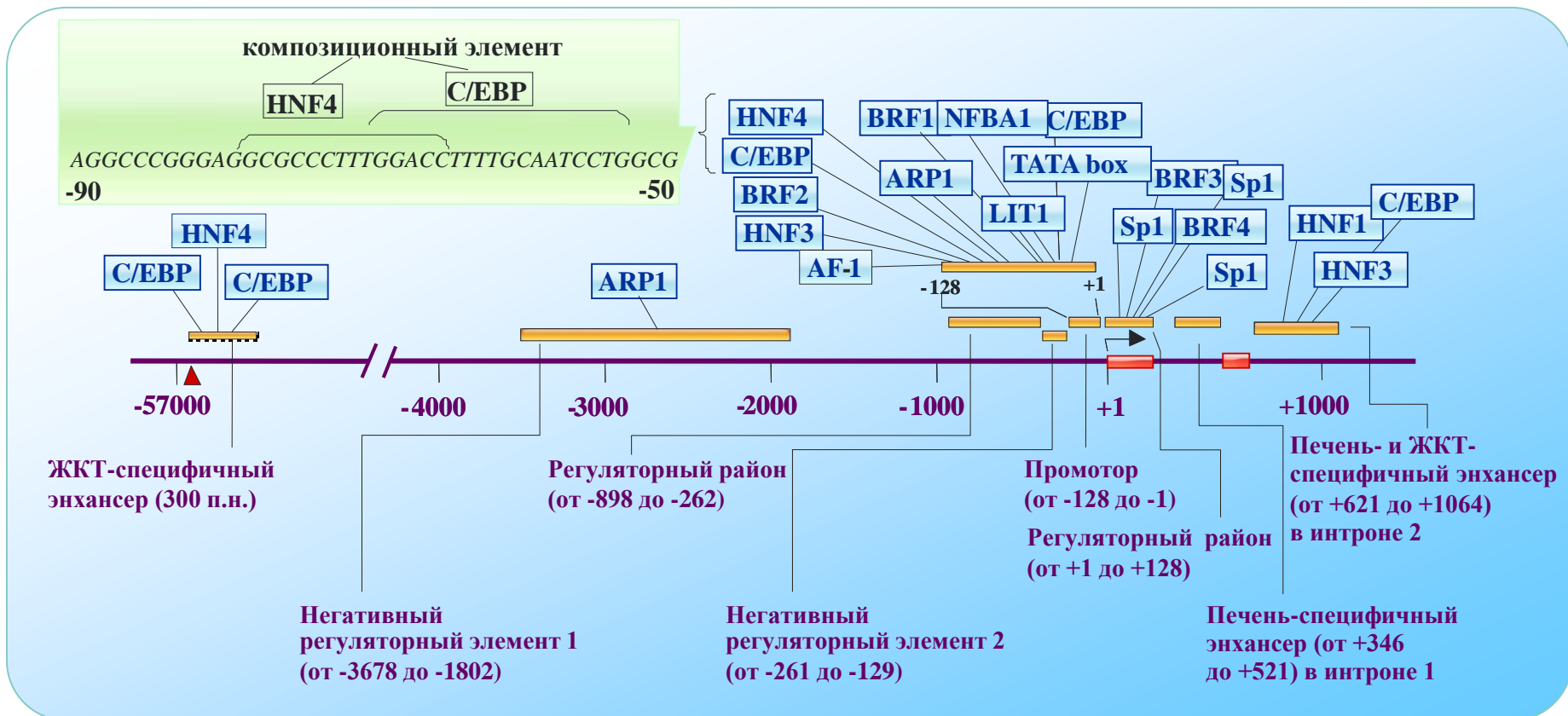
Типичный пример на уровне генных сетей - цикл трикарбоновых кислот, снабжающий клетку. Он включает 1882 регуляторных и только 139 метаболических процессов, то есть на один рабочий процесс приходится более 10 процессов контролирующих. Таким образом, характерное свойство живых систем состоит в том, что 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



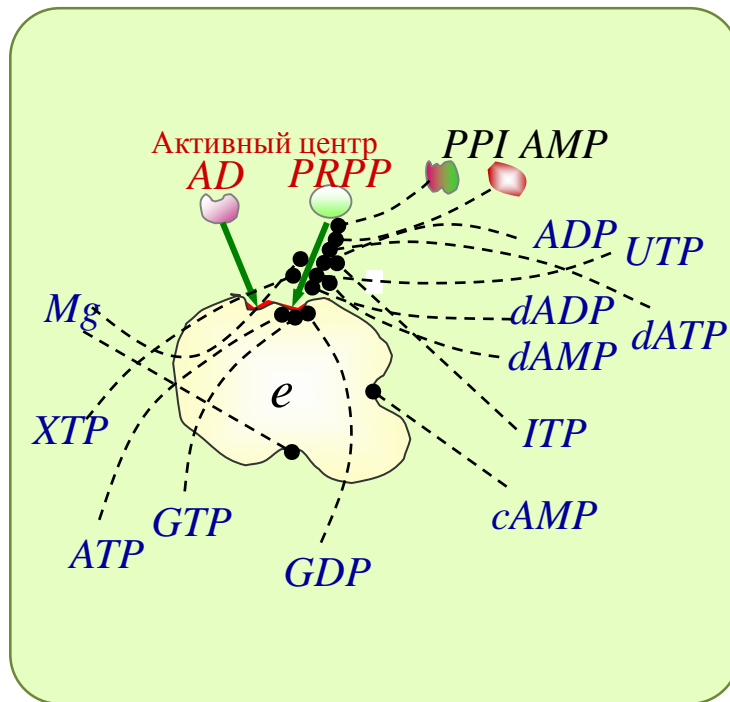
Пример «молекулярной бюрократии» на более низком иерархическом уровне:  
Регуляторные районы гена ApoB содержат сайты связывания как минимум 14 транскрипционных факторов





## «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*

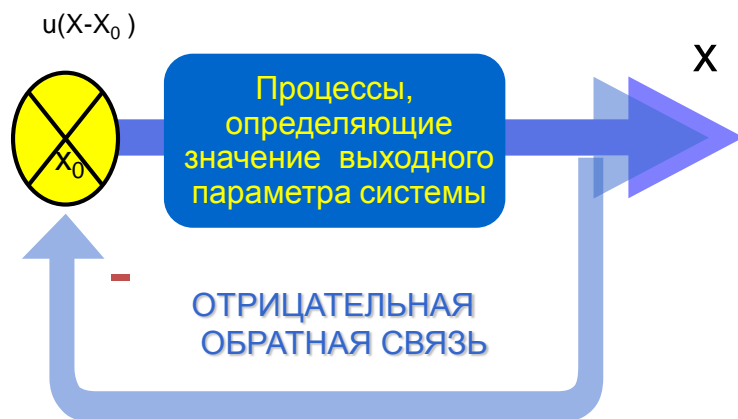


## Базовые принципы организации генных сетей

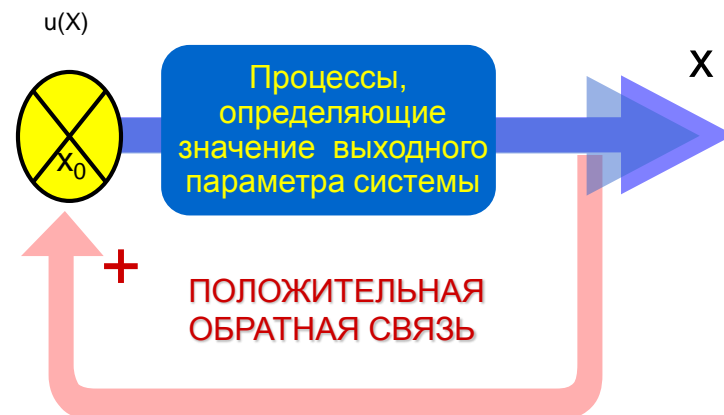
1. Существование большого разнообразия молекулярных механизмов, обеспечивающих функционирование обратных связей, в том числе за счет изменения интенсивности процессов транскрипции, сплайсинга, трансляции, посттрансляционных модификаций белков, ферментативных реакций, транспорта и т. д.;
2. Наличие в 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. Компартаментализация ГС

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

Регуляторный контур с отрицательной обратной связью

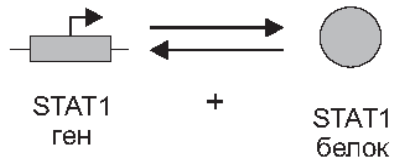


Регуляторный контур с положительной обратной связью

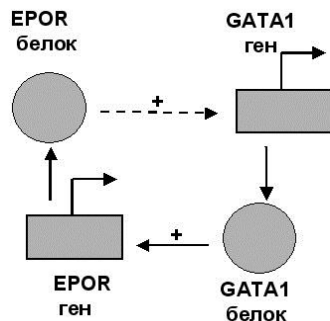


Положительные и отрицательные обратные связи – обязательные компоненты генных сетей

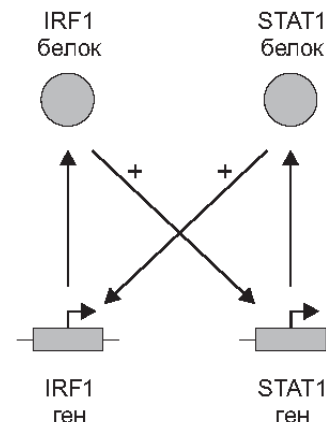
## Малые регуляторные контуры с положительными и отрицательными обратными связями



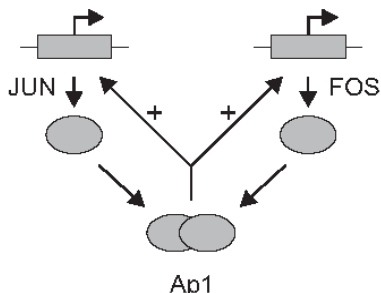
Пример прямой саморегуляции гена



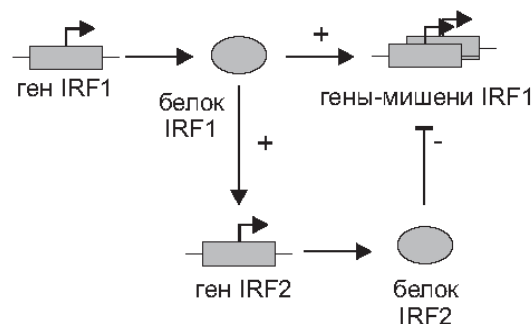
Пример опосредованной саморегуляции гена



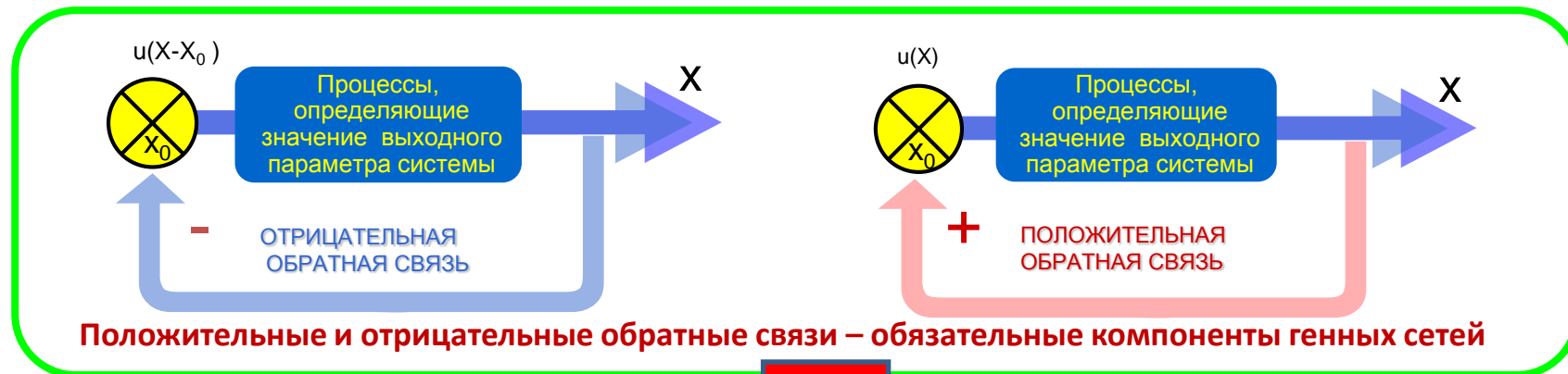
Пример взаимоактивации генов *IRF1* и *STAT1*



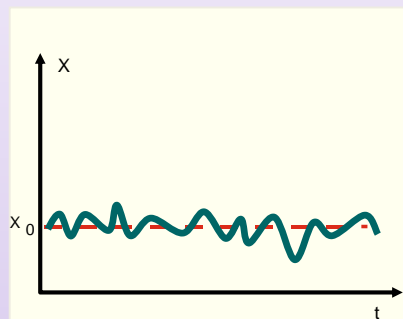
Пример совместной самоактивации генов *JUN* и *FOS*



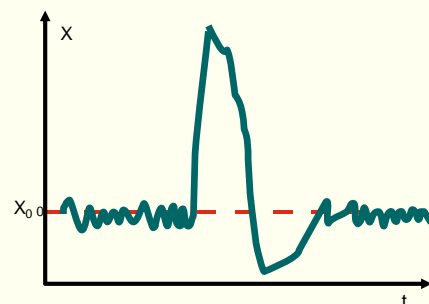
Пример механизма подавления сигнала для генов-мишеней *IRF1*



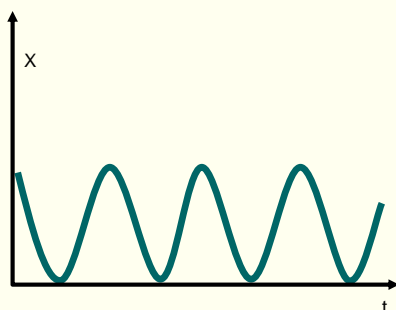
## Четыре характерных типа динамики критических переменных



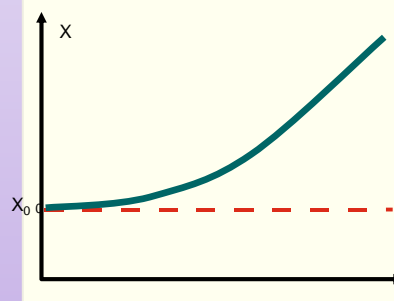
Генные сети гомеостаза: (постоянство контролируемых переменных)



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

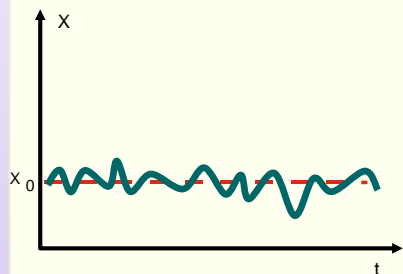


Генные сети циклических процессов (осциляция контролируемых переменных)

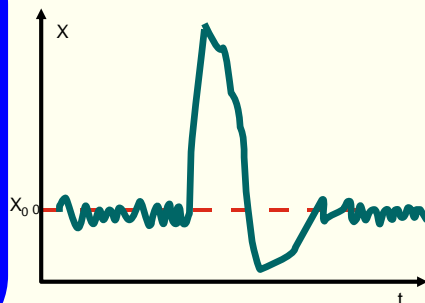


Генные сети дифференцировки и морфогенеза (монотонное отклонение переменных от текущего состояния)

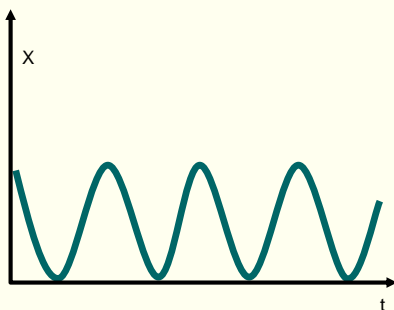
## Четыре характерных типа динамики критических переменных



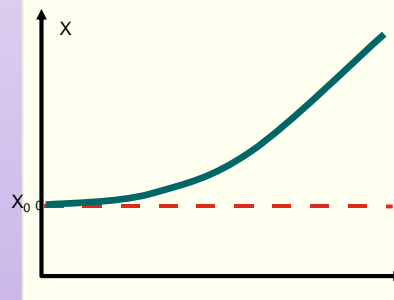
Генные сети гомеостаза: (постоянство контролируемых переменных)



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

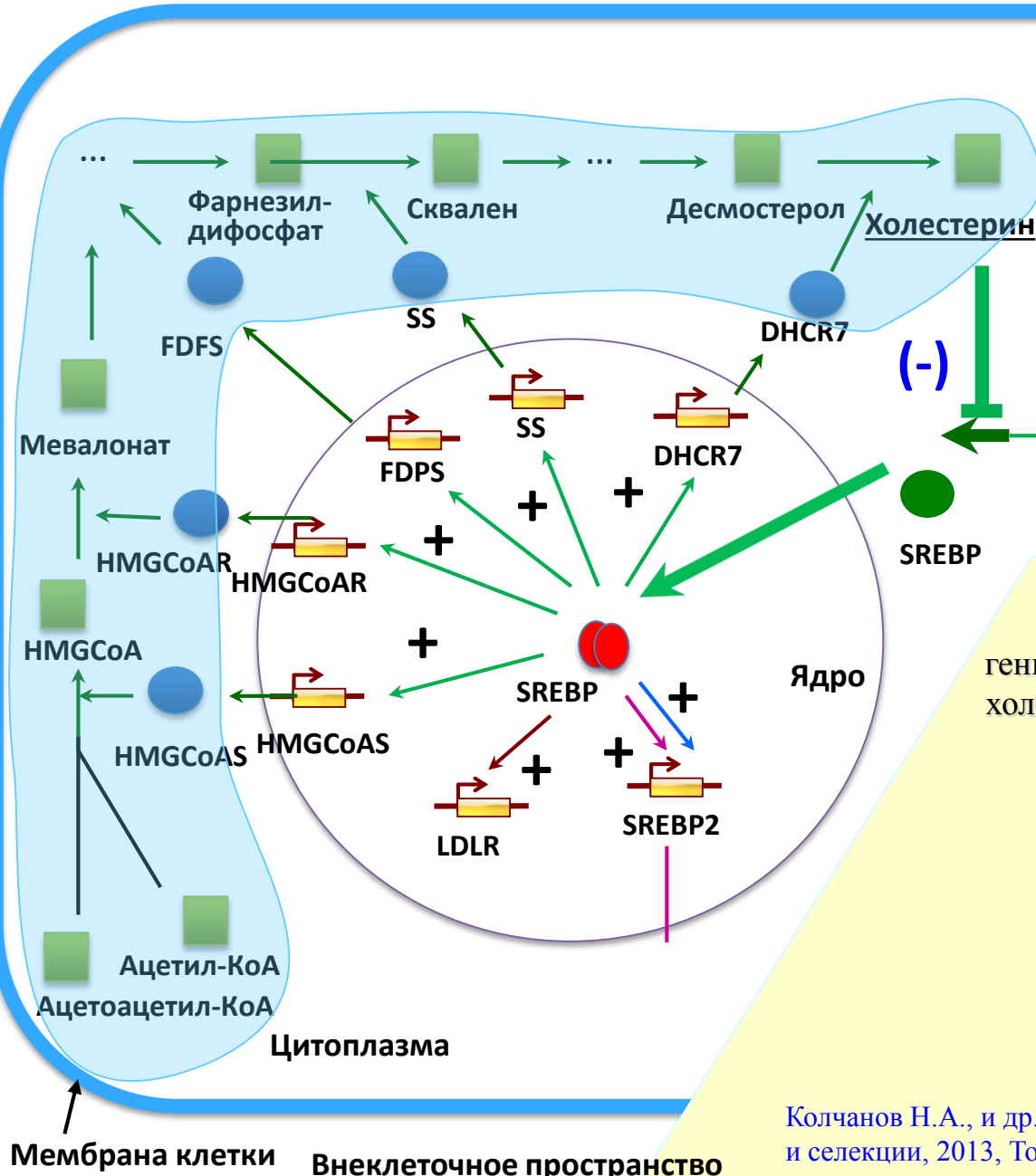


Генные сети циклических процессов (осциляция контролируемых переменных)



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

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

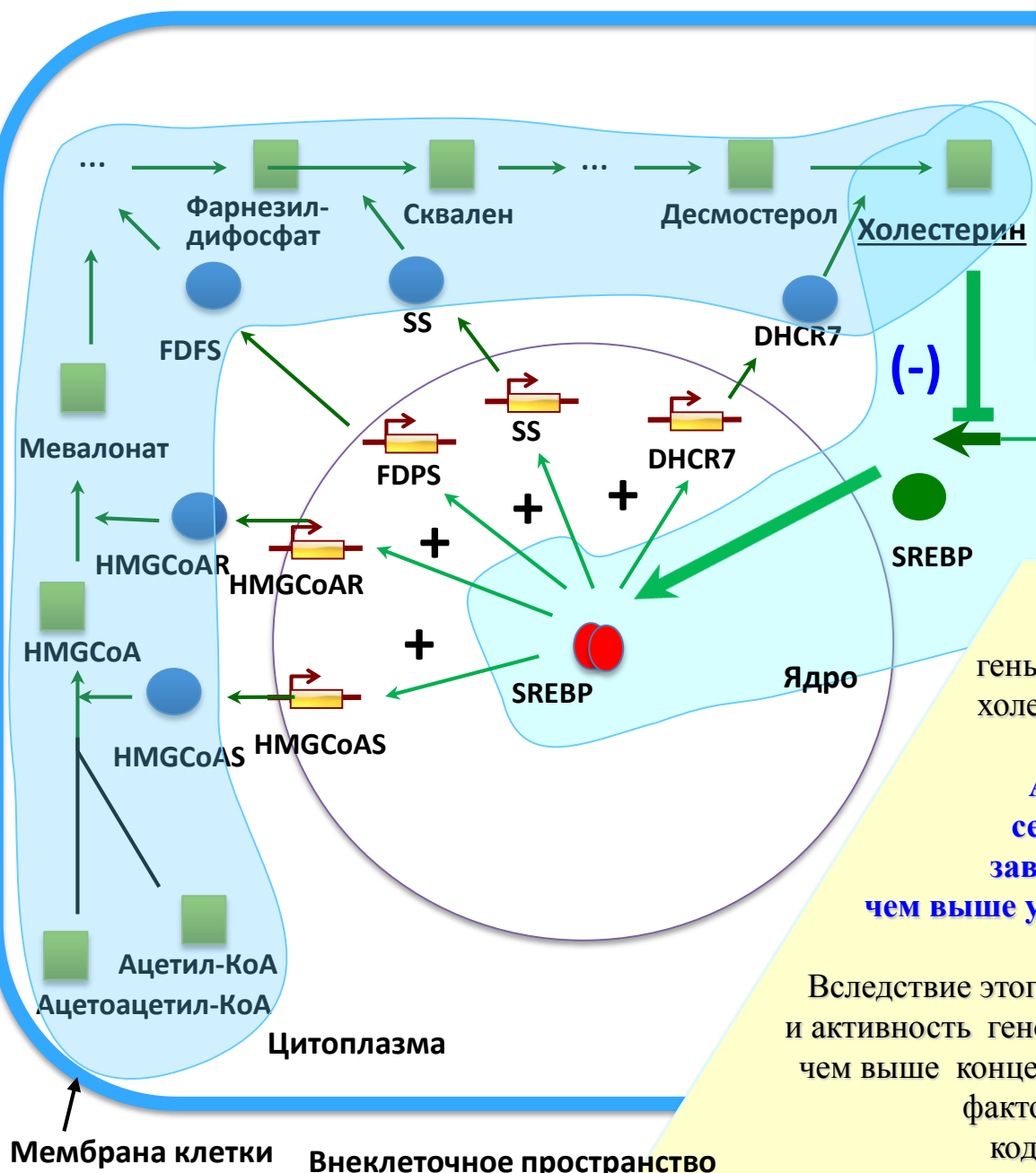


У человека и животных холестерин синтезируется в клетках многих тканей *de novo* из предшественника ацетил-СоА. Генная сеть регуляции внутриклеточного уровня холестерина включает несколько обратных связей. Все они реализуются с участием транскрипционных факторов семейства **SREBP** (Sterol regulatory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

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



# 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.).

**Активность транскрипционных факторов семейства SREBP регулируется в обратной зависимости от уровня холестерина в клетке: чем выше уровень холестерина, тем ниже активность факторов SREBP.**

Вследствие этого по механизму обратной связи регулируется и активность генов, контролирующей биосинтеза 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

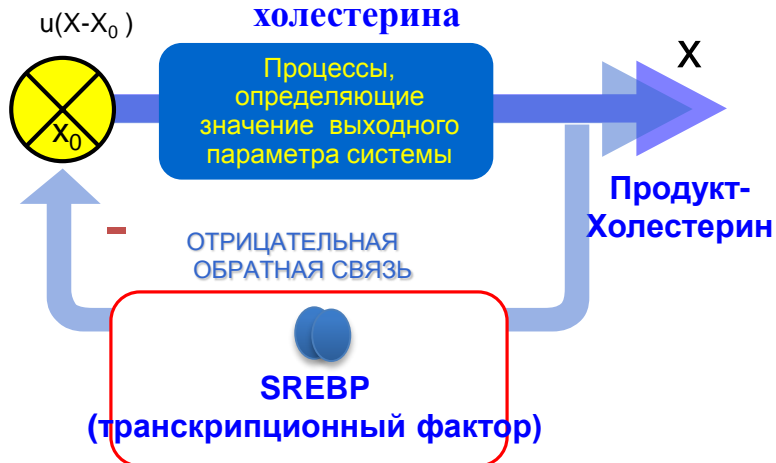


Мембрана клетки

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

Экспрессия ферментов  
биосинтеза  
холестерина

Биосинтез  
холестерина

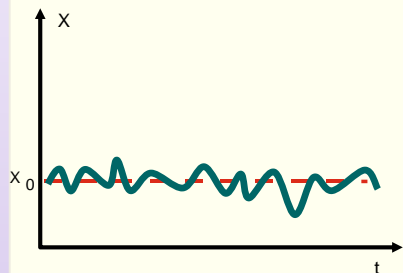


Экспрессия рецептора  
липопротеинов низкой  
плотности

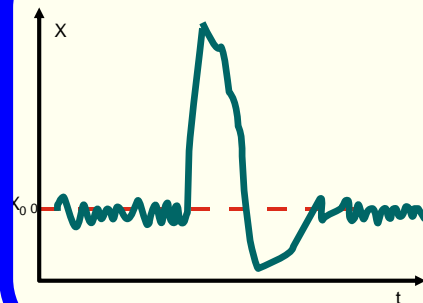
Поступление  
холестерина в клетку



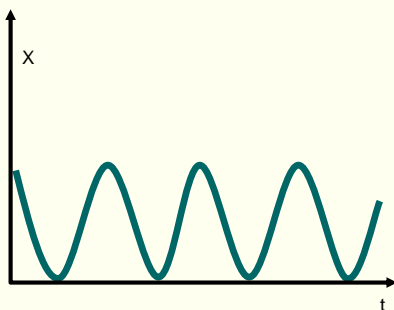
## Четыре характерных типа динамики критических переменных



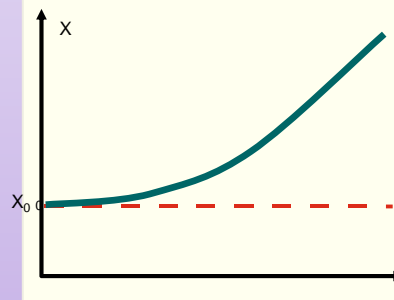
Генные сети гомеостаза:  
(постоянство контролируемых переменных)



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



Генные сети циклических процессов (осциляция контролируемых переменных)

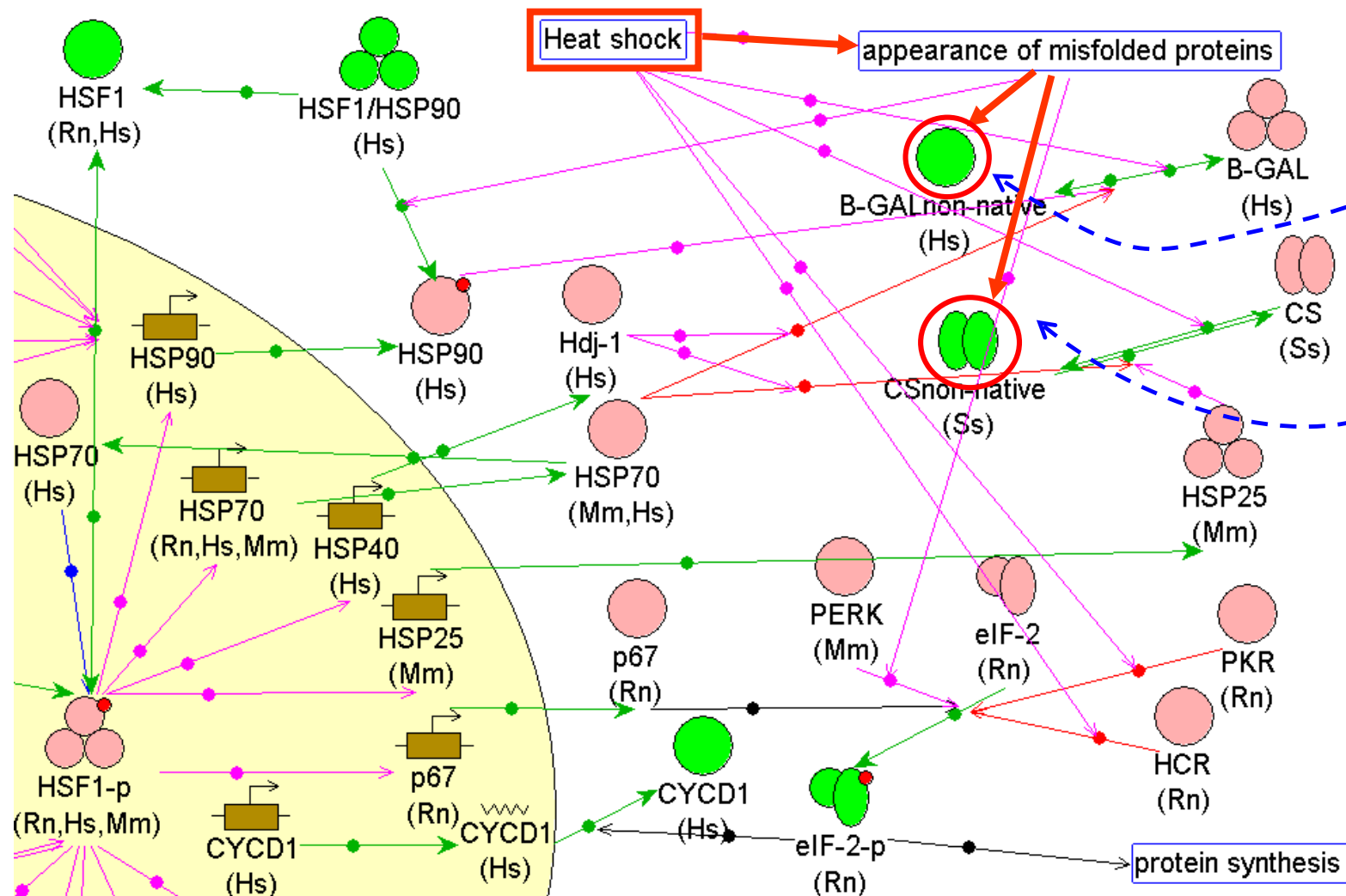


Генные сети дифференцировки и морфогенеза (монотонное отклонение переменных от текущего состояния)

## Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

При повышении температуры в клетке появляются частично денатурированные белки

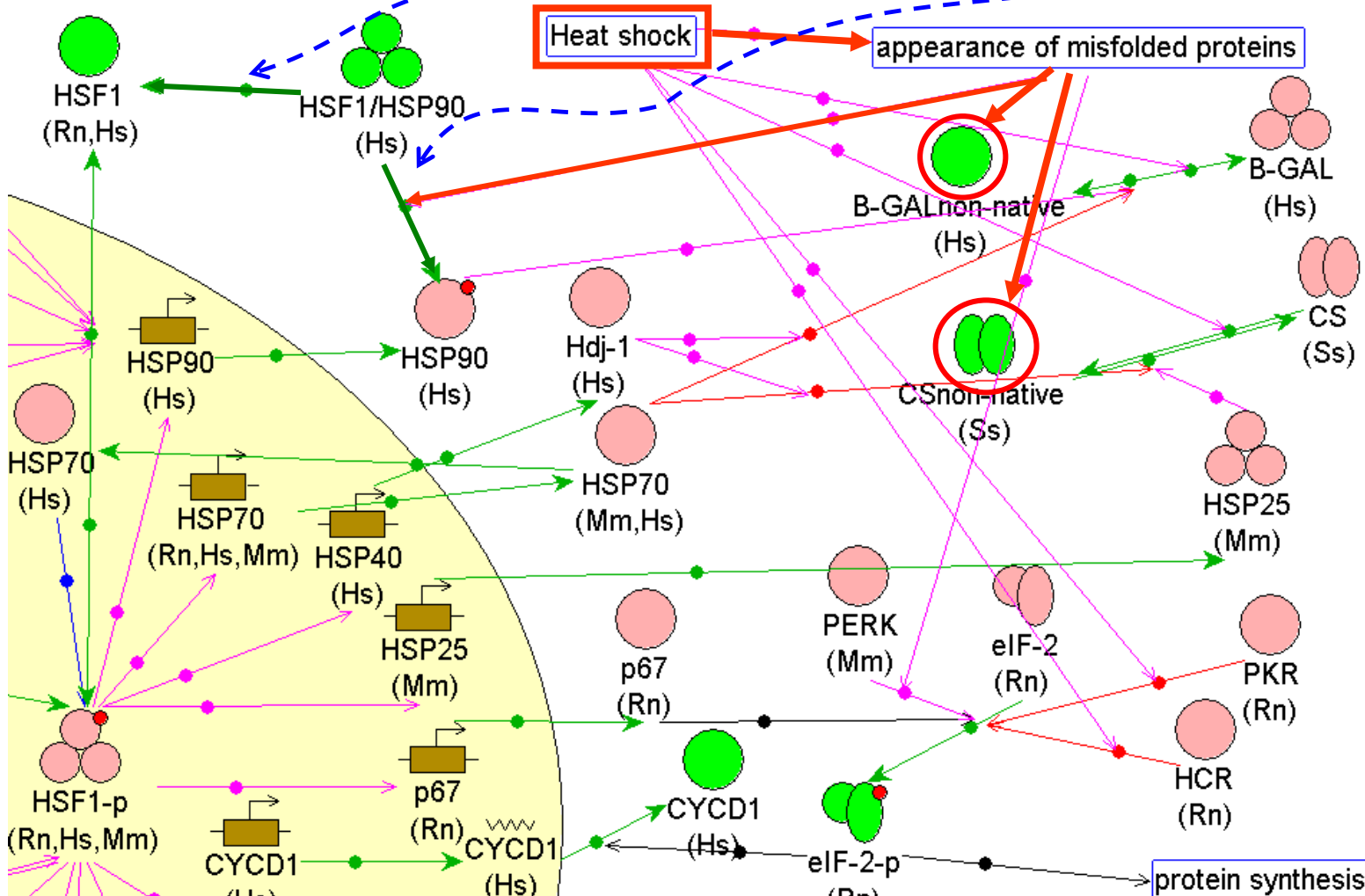
В клетке постоянно присутствуют белки –молекулярные шапероны , которые при повышении температуры препятствуют необратимой агрегации частично денатурированных белков, а также способствуют восстановлению их правильной укладки. Их обозначение - HSP =heat shock protein



## 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.

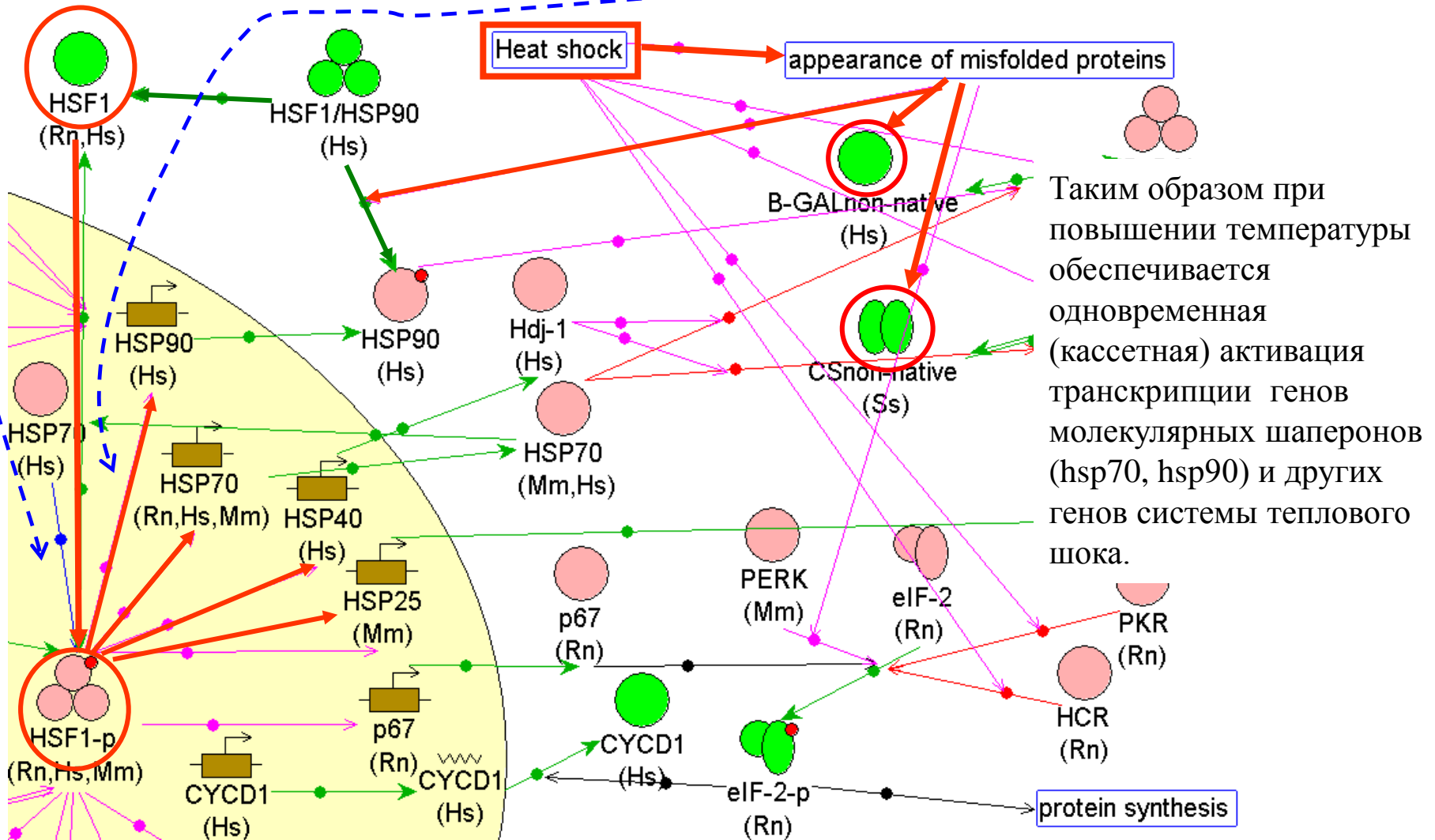




## Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

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

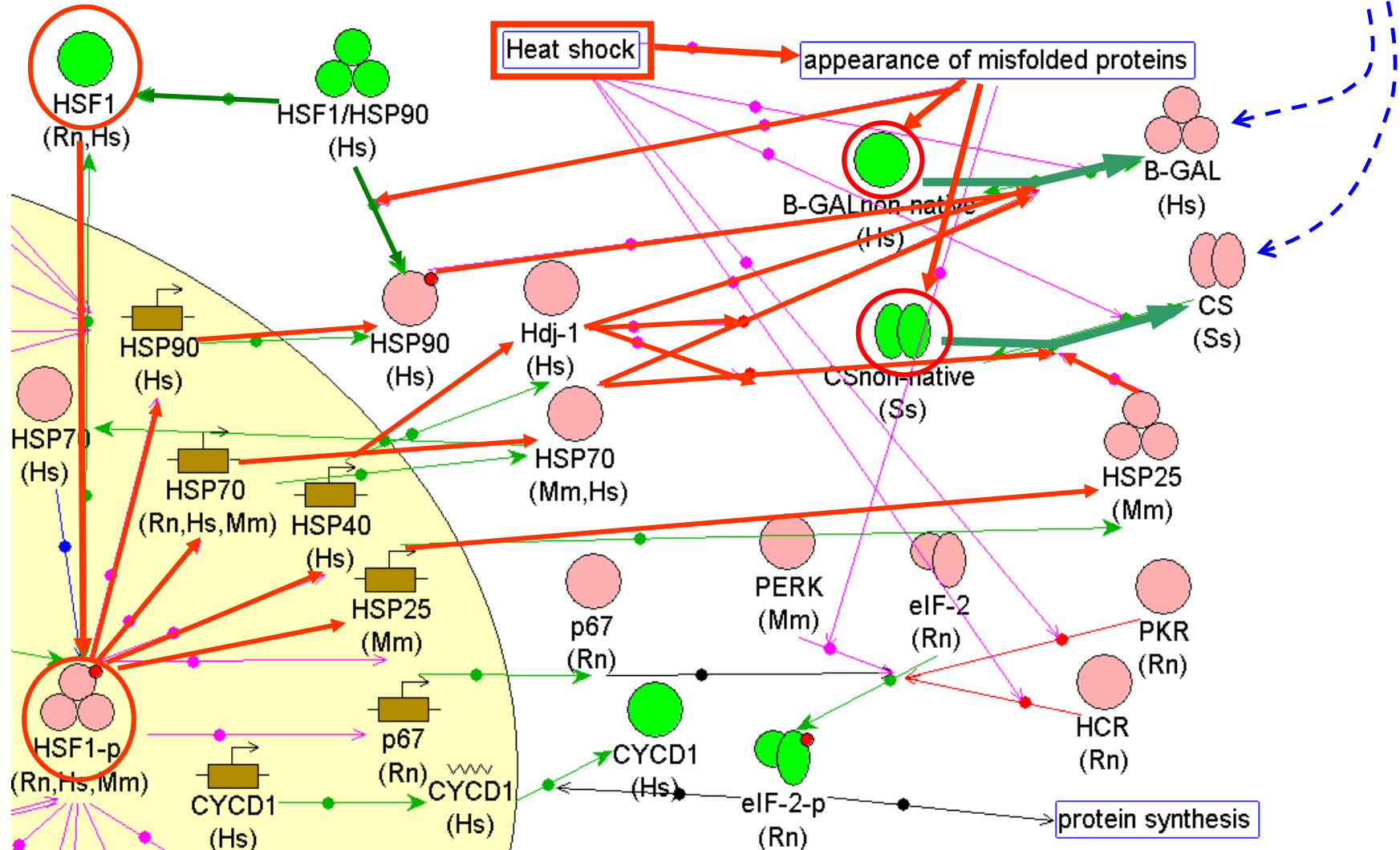
В ядре HSF1 активирует транскрипцию генов системы теплового шока, содержащих в своих регуляторных областях сайты связывания этого транскрипционного фактора.



Таким образом при повышении температуры обеспечивается одновременная (кассетная) активация транскрипции генов молекулярных шаперонов (hsp70, hsp90) и других генов системы теплового шока.

## Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

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

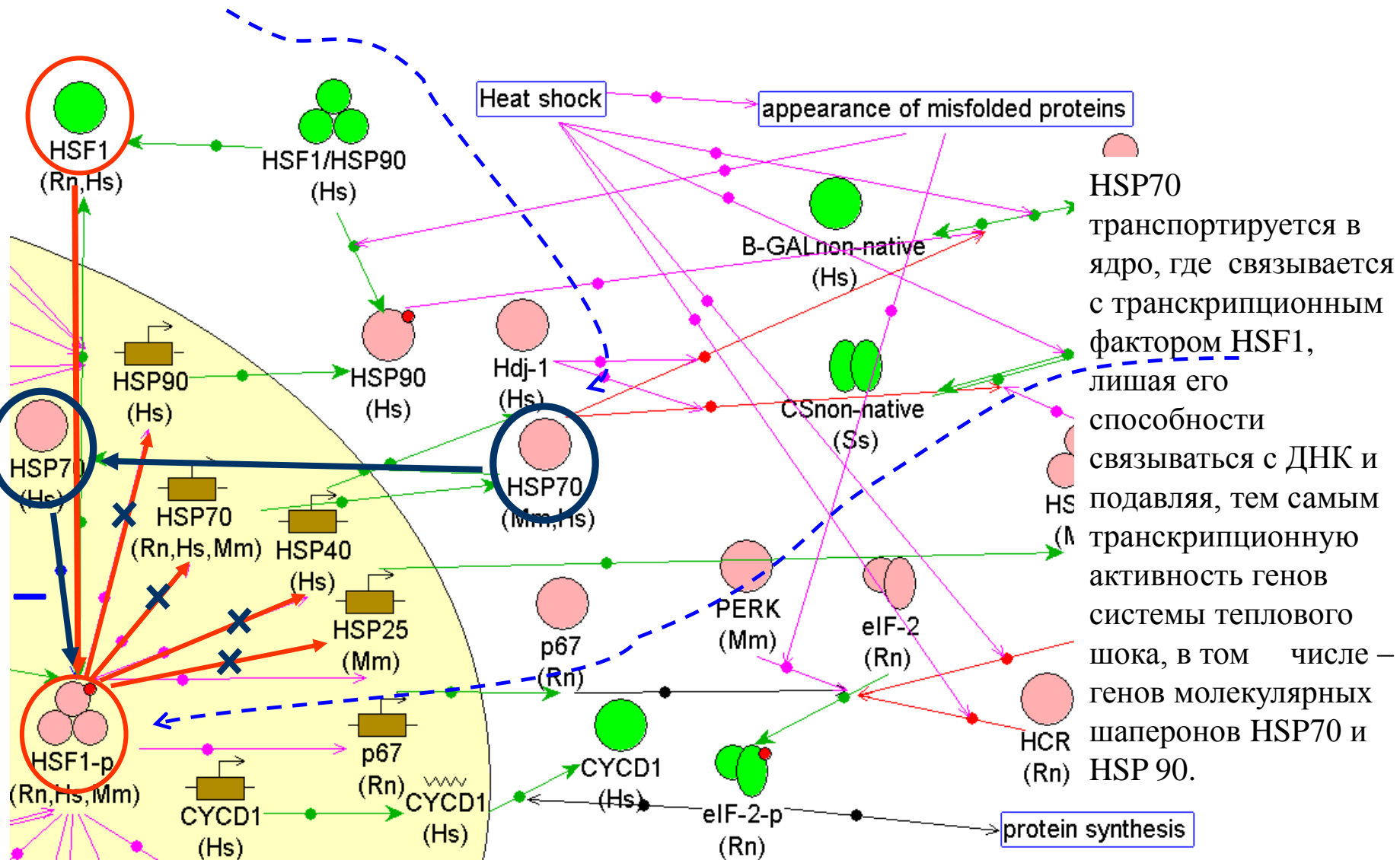


Степаненко И.Л., ИЦиГ СО РАН

## 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.



HSP70 транспортируется в ядро, где связывается с транскрипционным фактором HSF1, лишая его способности связываться с ДНК и подавляя, тем самым транскрипционную активность генов системы теплового шока, в том числе – генов молекулярных шаперонов HSP70 и HSP 90.

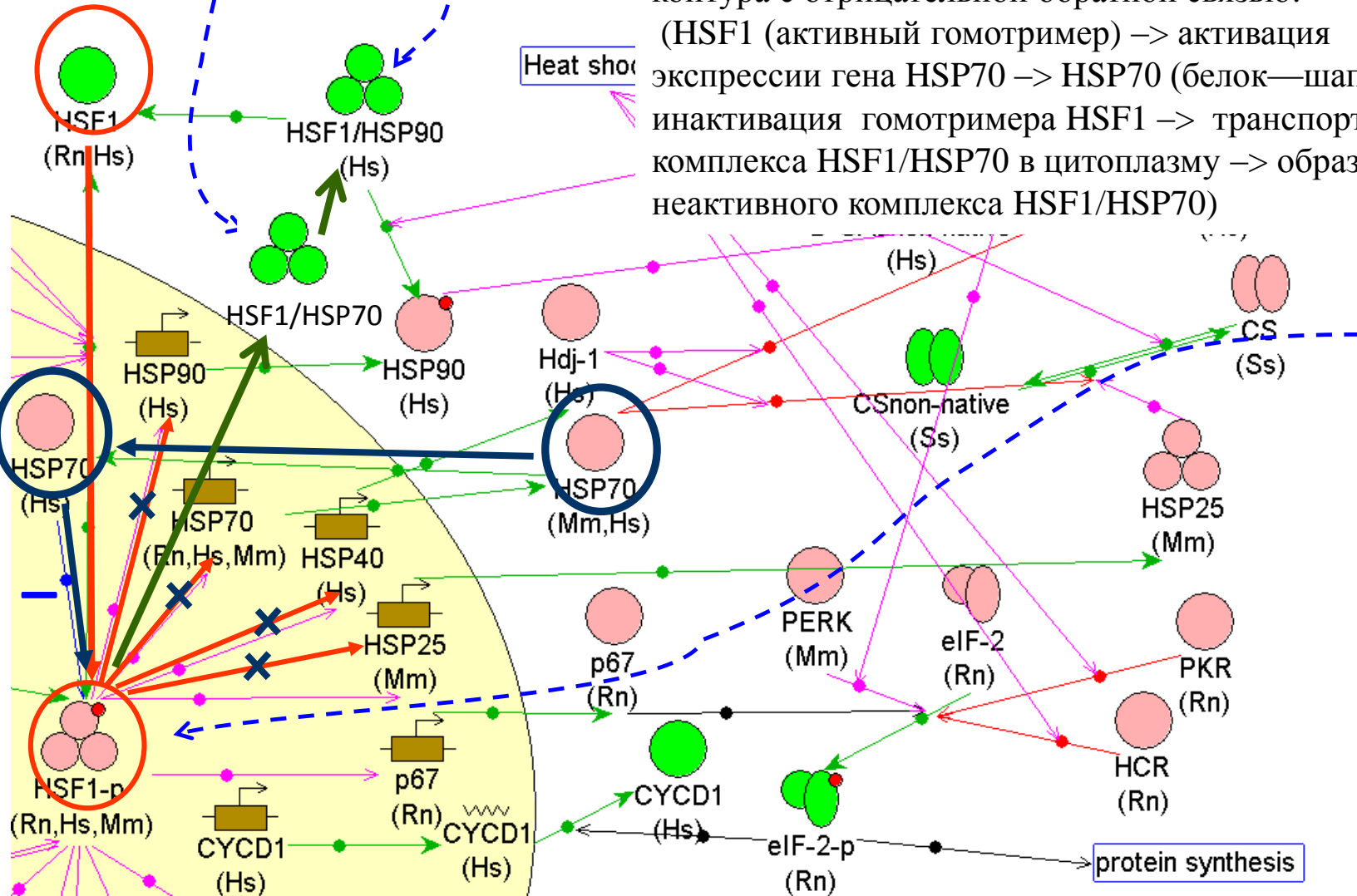
Степаненко И.Л., ИЦиГ СО РАН

## 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 геной 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)

Степаненко И.Л., ИЦиГ СО РАН

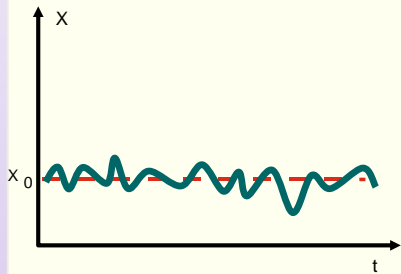


## Пример системы стрессового ответа: генная сеть ответа на тепловой шок

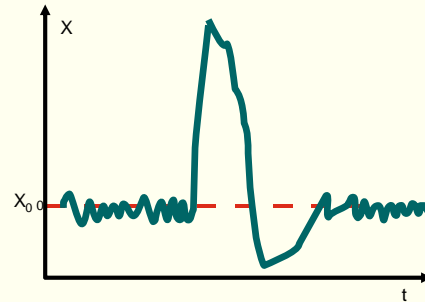
### ИТОГИ

- 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**.

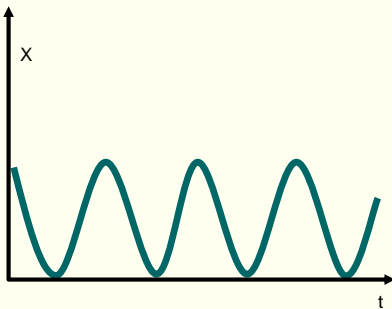
## Четыре характерных типа динамики критических переменных



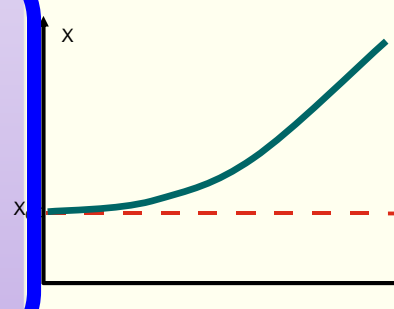
Генные сети гомеостаза: (постоянство контролируемых переменных)



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



Генные сети циклических процессов (осциляция контролируемых переменных)

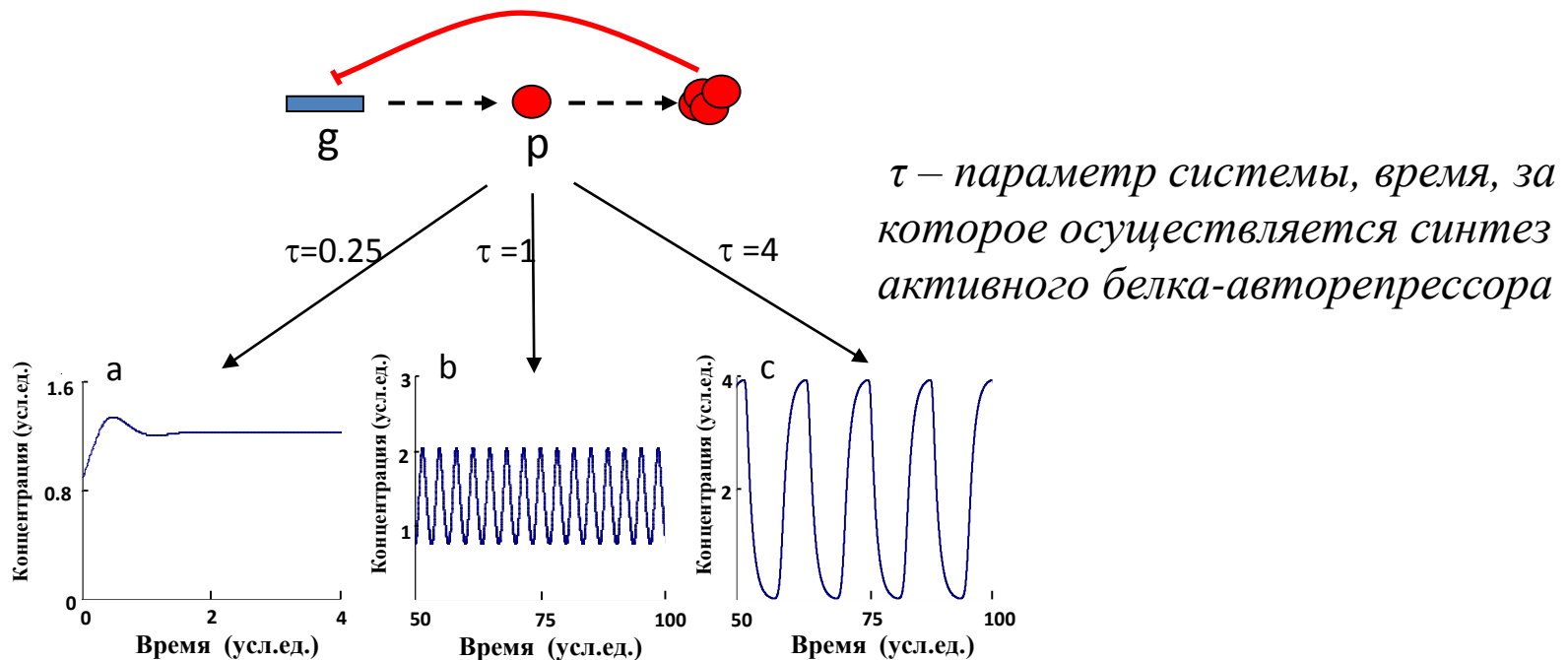


Генные сети дифференцировки и морфогенеза (монотонное отклонение переменных от текущего состояния)



## 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  $\tau$  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

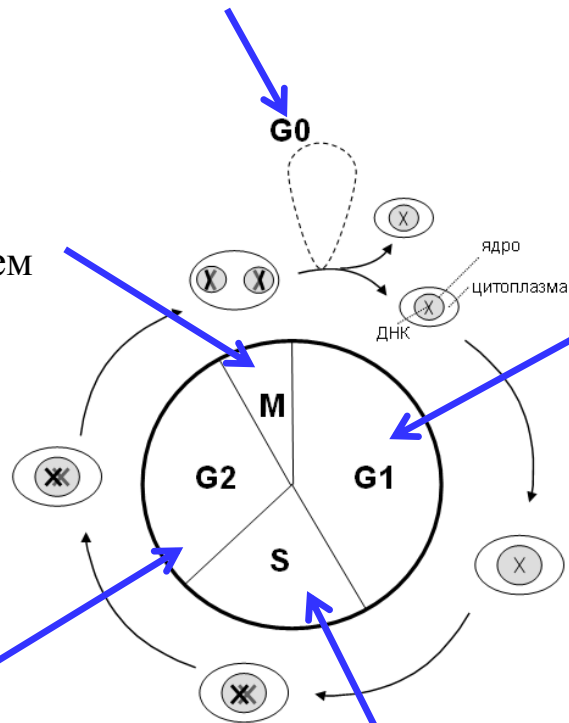
**G<sub>0</sub>** (неделяющаяся клетка, состояние покоя) - в определённых условиях, например при клеточной дифференцировке (созревание клеток) или неблагоприятных условиях, клетка может выходить из клеточного цикла в состояние покоя.

**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.

**G<sub>2</sub>** (postsynthetic phase) - клетка проверяет, завершено ли копирование ДНК и готовится к делению.

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

**G<sub>1</sub>** (presynthetic phase) - увеличивается объем и масса клетки. Когда она достигает определенного размера, происходит переход в следующую фазу.



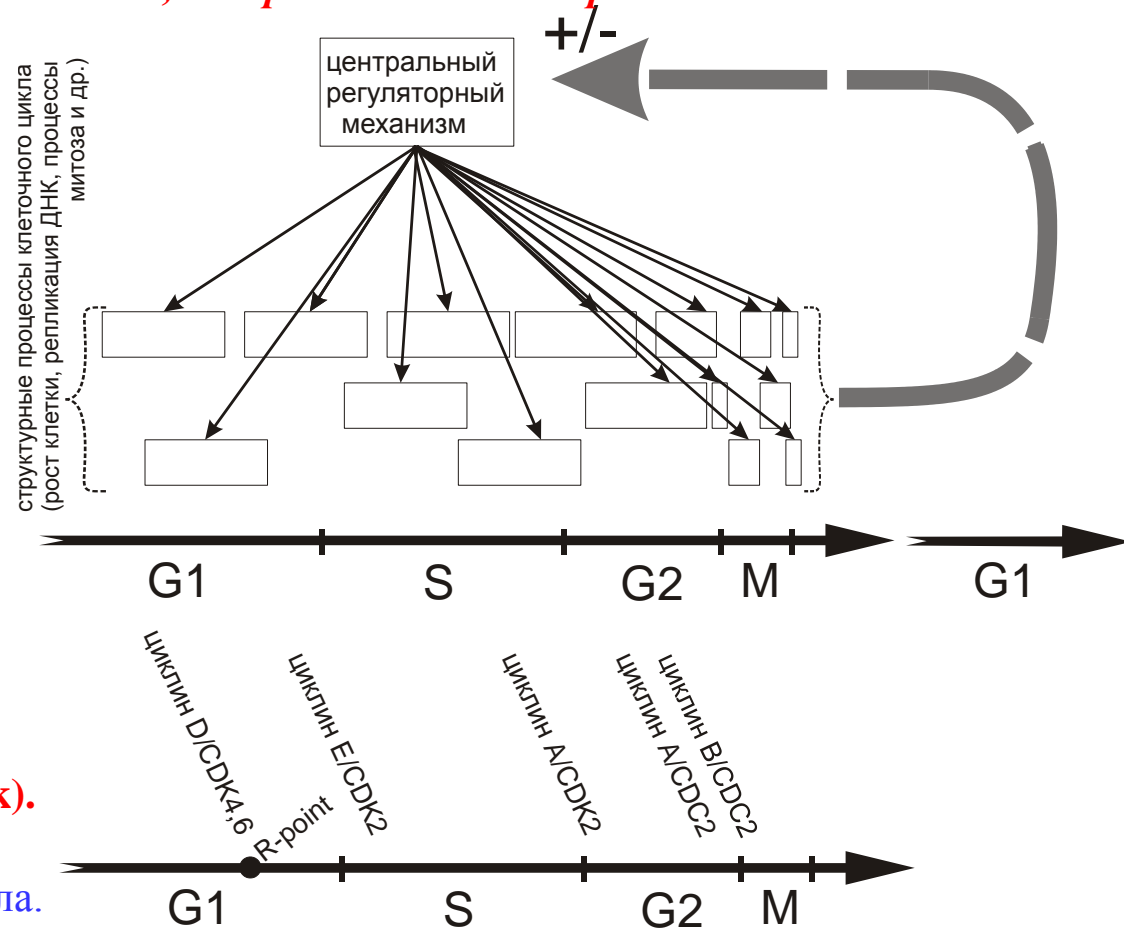
## Клеточный цикл: основная задача управления

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.

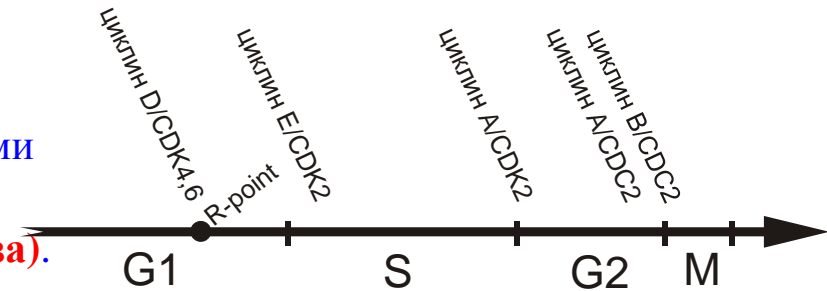
Центральными регуляторами клеточного цикла являются **белковые комплексы циклин/циклин-зависимая киназа (cdk)**. Каждый из этих комплексов регулирует свой, отдельный участок клеточного цикла.



## Клеточный цикл: белковые комплексы циклин/cdk

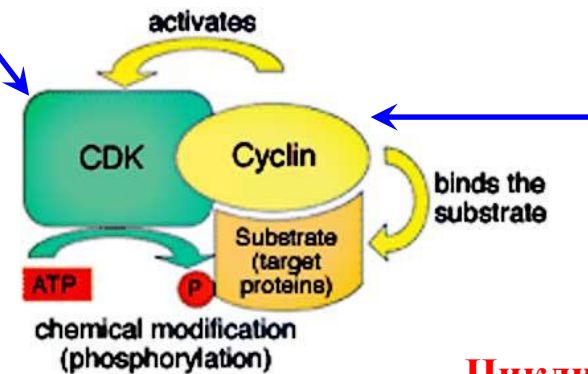
Переходы между временными фазами клеточного цикла регулируются белковыми комплексами:

**циклин / циклин-зависимая киназа**, состоящими из двух субъединиц: регуляторной – **циклина** и каталитической – **CDK (циклин-зависимая киназа)**.



### 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.



### Циклины

синтезируются и деградируют в ходе клеточного цикла

### Циклинзависимые киназы и соответствующие циклины

CDK1; циклин А, циклин В

CDK2; циклин А, циклин Е

CDK3

CDK4; циклин D1, циклин D2, циклин D3

CDK5; CDK5R1, CDK5R2

CDK6; циклин D1, циклин D2, циклин D3

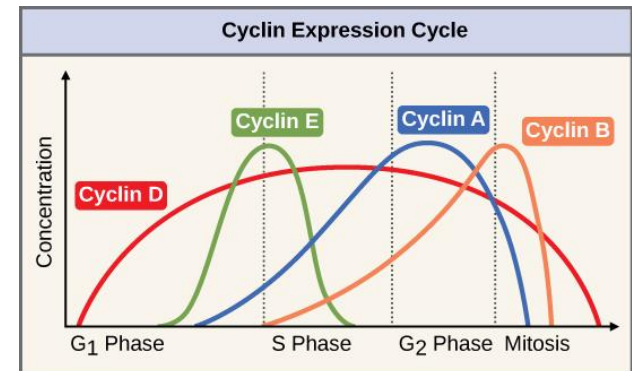
CDK7; циклин Н

CDK8; циклин С

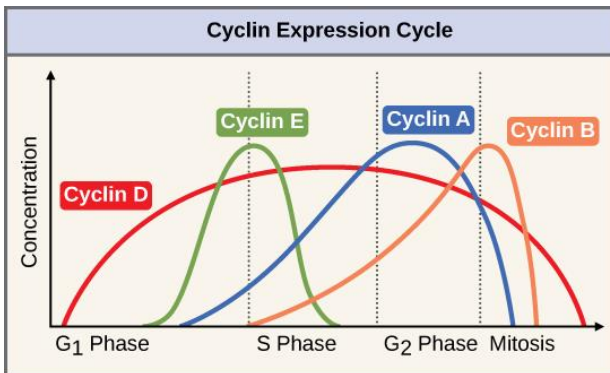
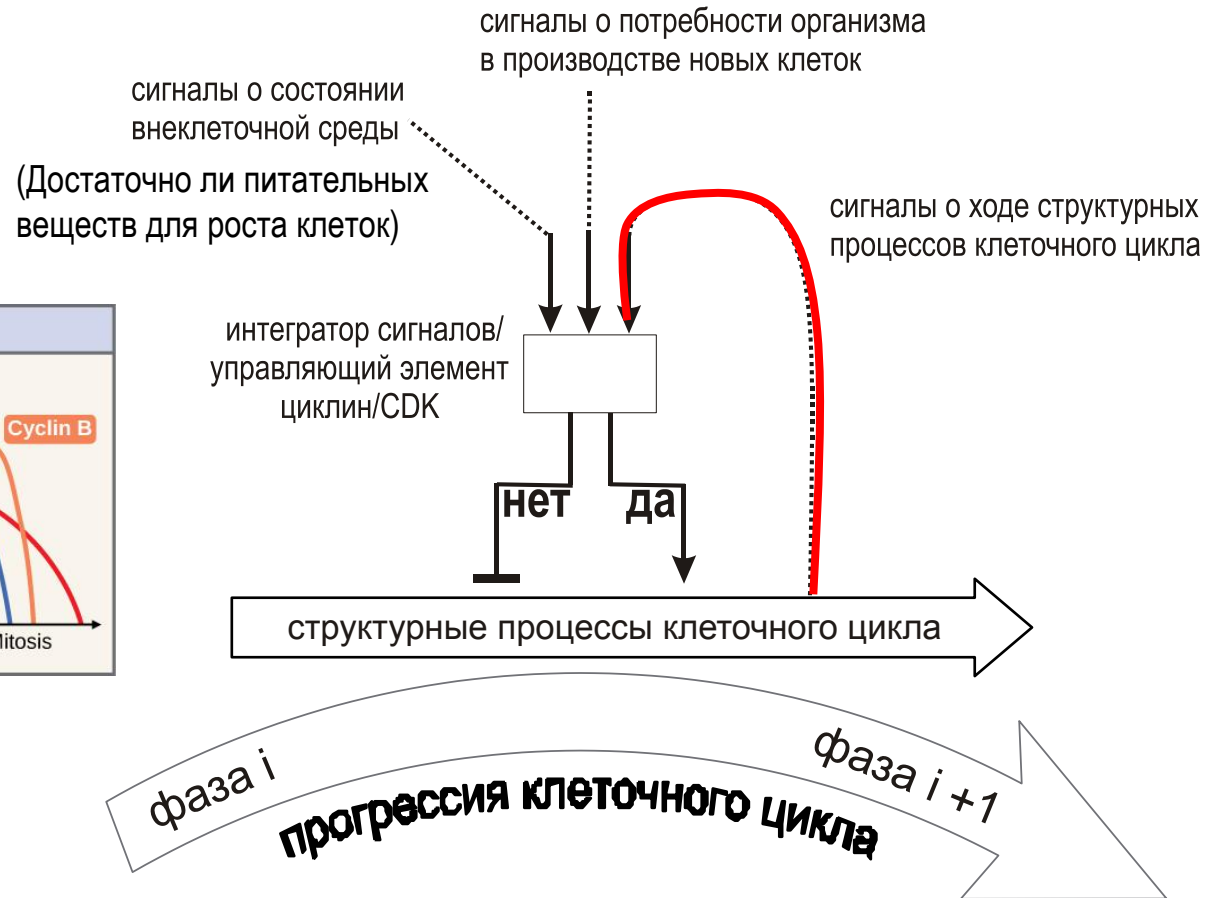
CDK9; циклин Т1, циклин Т2а, циклин Т2б, циклин К

CDK10

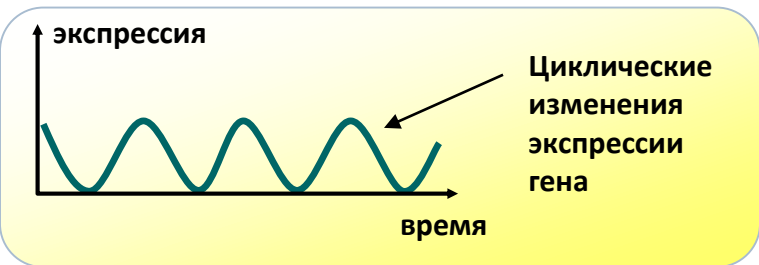
CDK11 (CDC2L2); циклин L



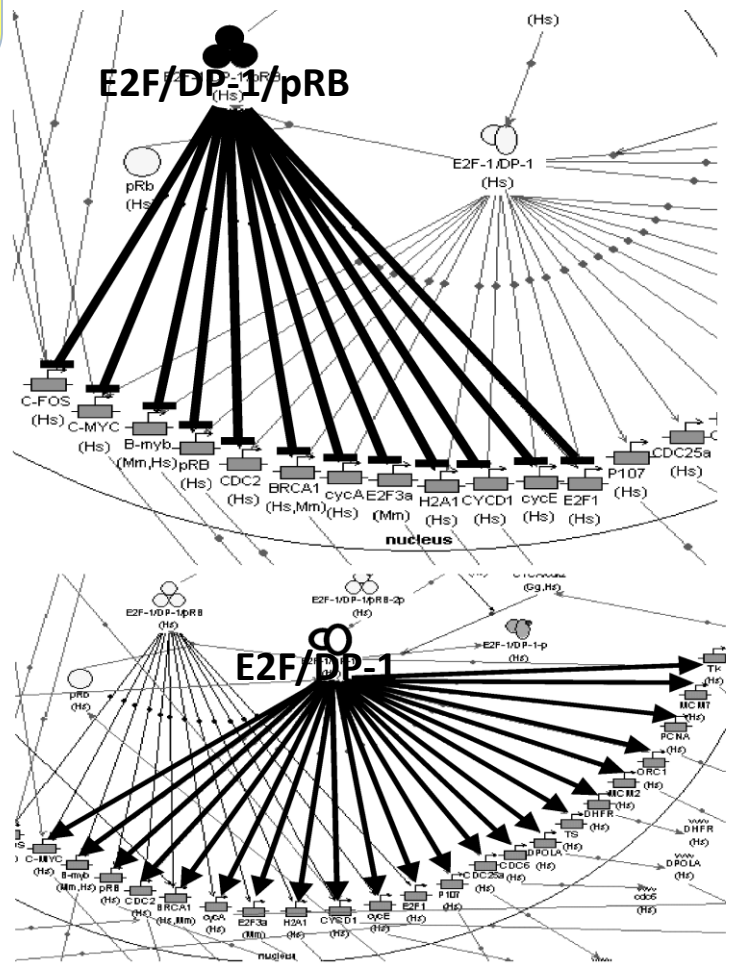
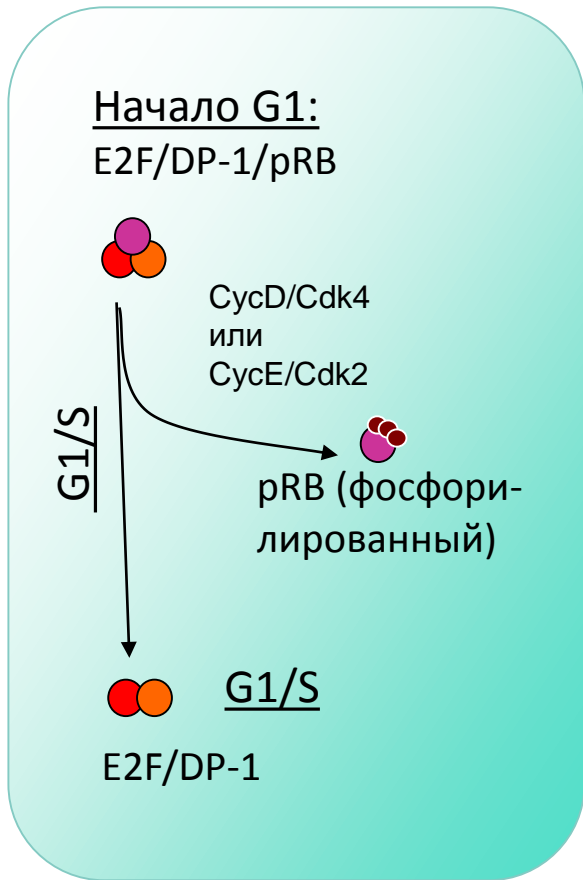
# Клеточный цикл: схема управления переходами между временными фазами клеточного цикла



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

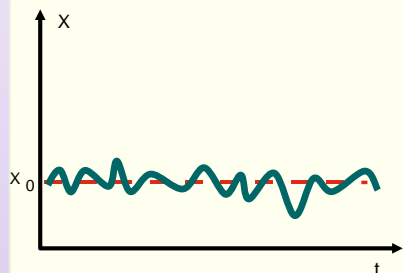


**G1:**  
Подавление транскрипции комплексом E2F-1/DP-1/pRB

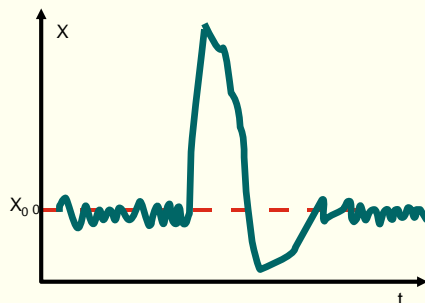
**G1/S:** Активация транскрипции комплексом E2F-1/DP-1

I.I. Turnaev, D.Yu. Oshchepkov, O.A. Podkolodnaya Extension of cell cycle gene network description based on prediction of potential binding sites for E2F transcription factor. In: Bioinformatics of Genome Regulation and Structure. Ed. By N.Kolchanov and R. Hofstaedt, Kluwer Academic Publishers, Boston/Dordrecht/London, 2004, pp.273-282.

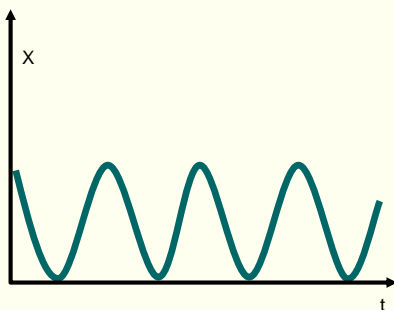
## Четыре характерных типа динамики критических переменных



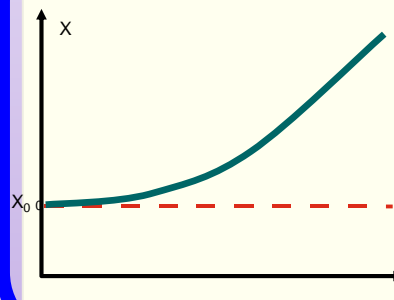
Генные сети гомеостаза:  
(постоянство контролируемых переменных)



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)

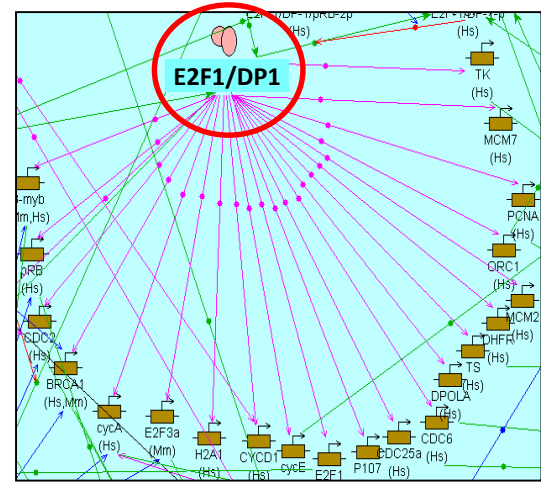


# ПОВТОРЕНИЕ: Кассетный принцип регуляции: у эукариот каждый транскрипционный фактор может регулировать около 1000 генов

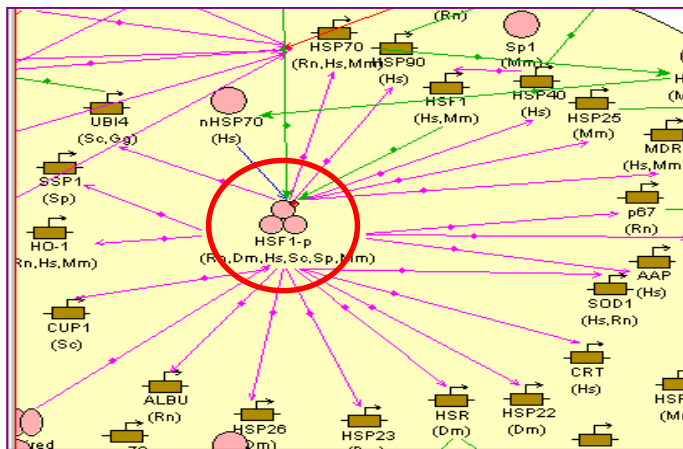
При этом определенная доля из множества регулируемых генов функционируют в составе сети, контролирующей важный биологический процесс .

Таким образом рассматриваемый транскрипционный фактор является ключевым регулятором биологического процесса.

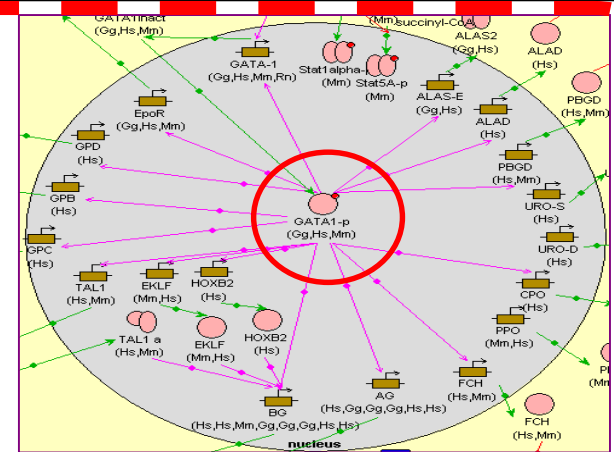
Рассмотрение темы «Генные сети дифференцировки и морфогенеза» будет осуществляться на примере процесса, регулируемого транскрипционным фактором GATA-1



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



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

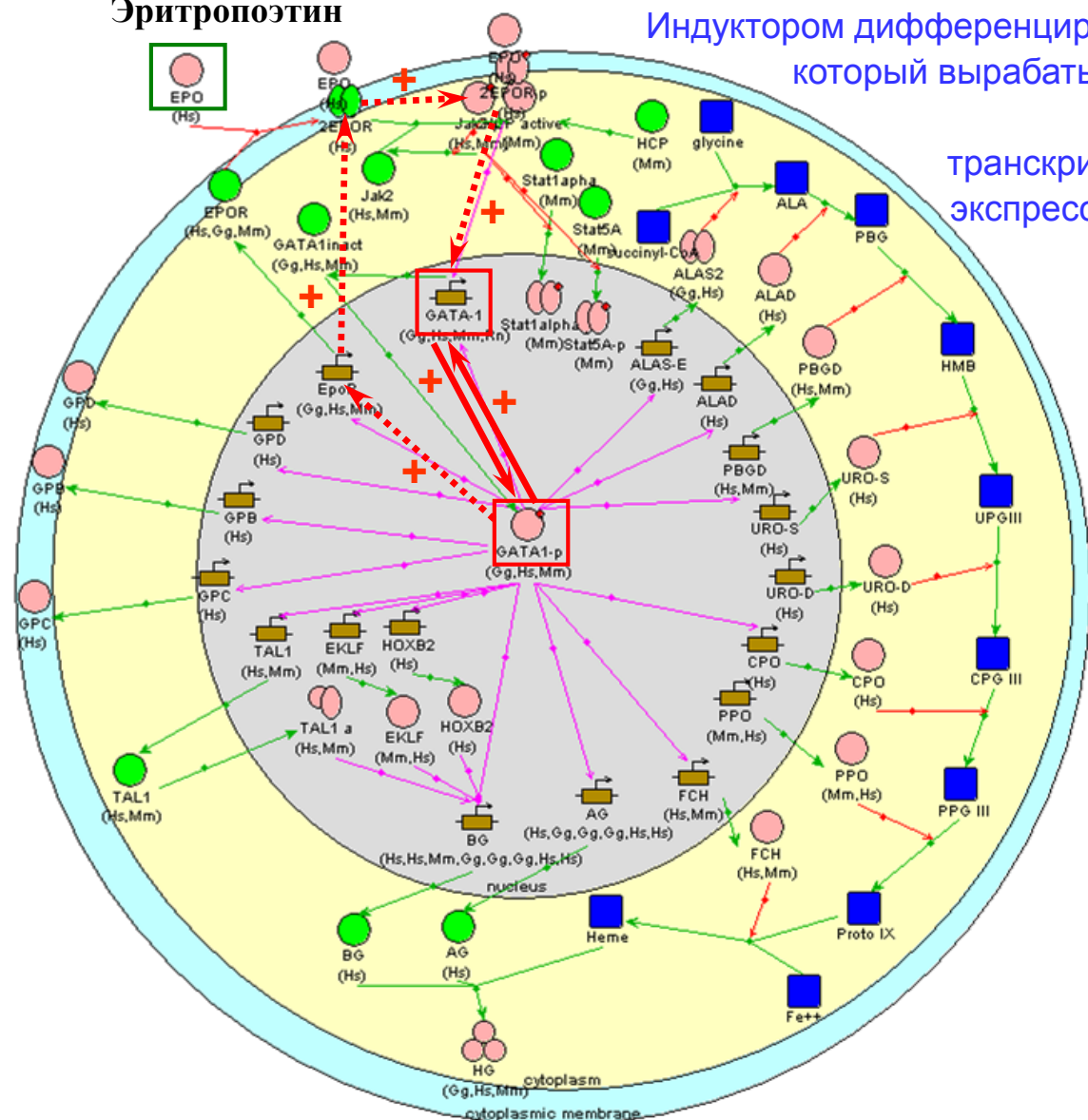


Генная сеть дифференцировки эритроцита – центральный регулятор – транскрипционный фактор GATA1 (GATA-binding factor 1 )

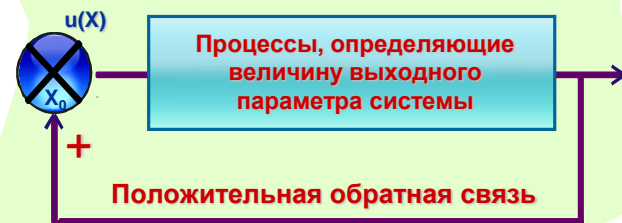
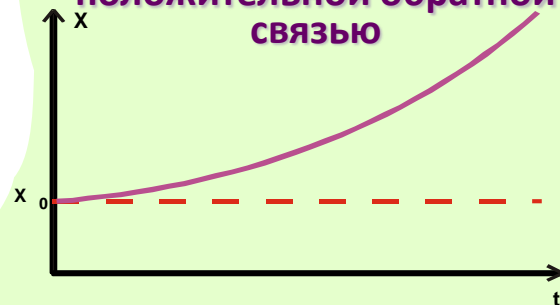
# Генная сеть дифференцировки и созревания эритроцитов: контур с положительной обратной связью

Эритропоэтин

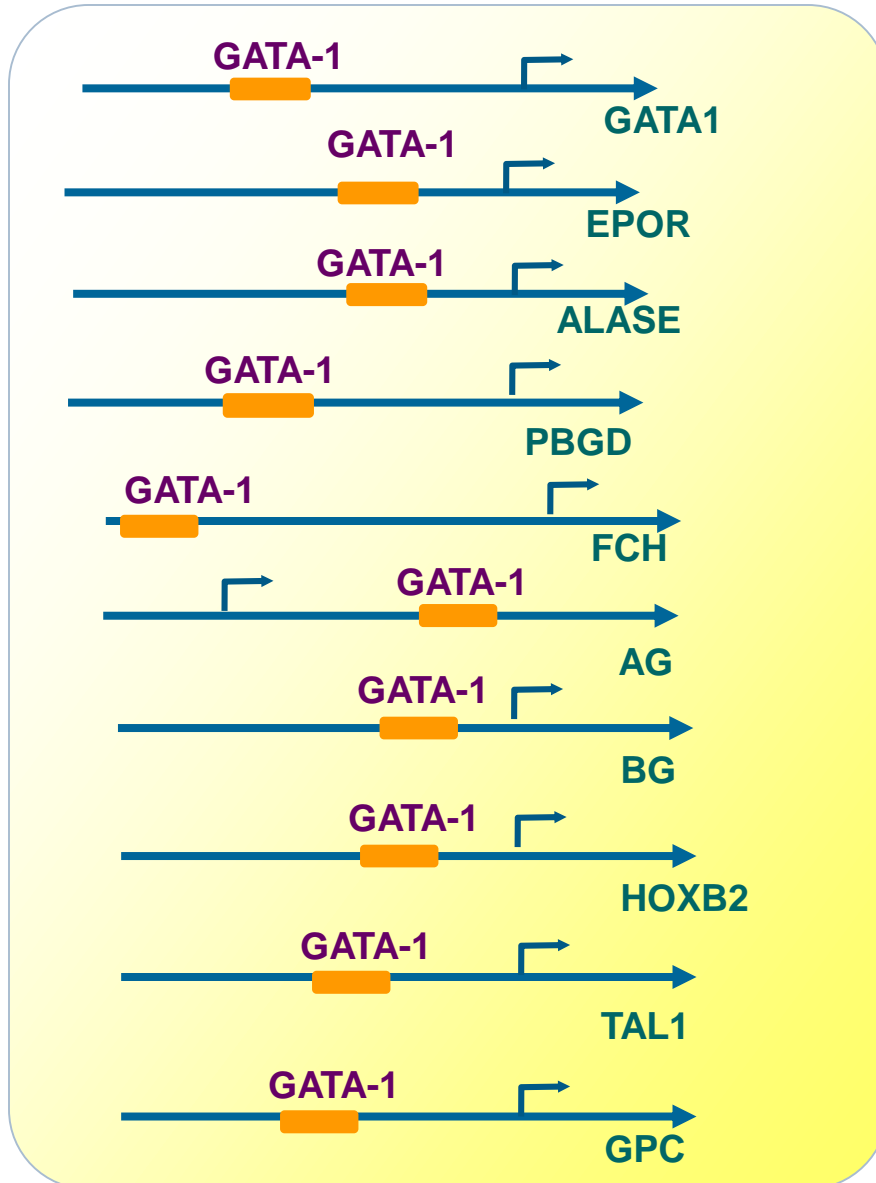
Индуктором дифференцировки является гормон эритропоэтин (ЕРО), который вырабатывается в почках. В ответ включается путь сигнальной трансдукции и активируется транскрипционный фактор GATA-1, активирующий экспрессию гена рецептора эритропоэтина (EpoR), а также генов, кодирующих ферменты биосинтеза гема.



Принципиальная схема регуляторного контура с положительной обратной связью



# Сайты связывания транскрипционного фактора GATA-1 в генах человека из генной сети дифференцировки и созревания эритроцитов



```
ctgttcgctcgAGATAAaagctgag
gcacacatgctGATAAcatccccg
gggtggccccAGATAAactttttaa
gaagggactgAGATACctttgggg
ggttgtaaacAGATAAacaaacct
ctggcagtgaAGATAAaacgtgtc
cgccccccccCGATAAagcgcctcg
tgcgcccgcgAGATAAaggagccgc
tgggcctggaAGATAAcagctagt
tccttgctagAGATAAaacccaaa
agaggagaagGGATAAATgccagg
tgcaatgactAGATAGgcagtagc
tgctgctttgAGATAGgactttca
gtcttccatcAGATAGcatttga
gcggggcgggAGATAAcaatccga
gcgggagtggAGATAAaggctcagg
tctgcgtcagAGATAGgagggtctc
```

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