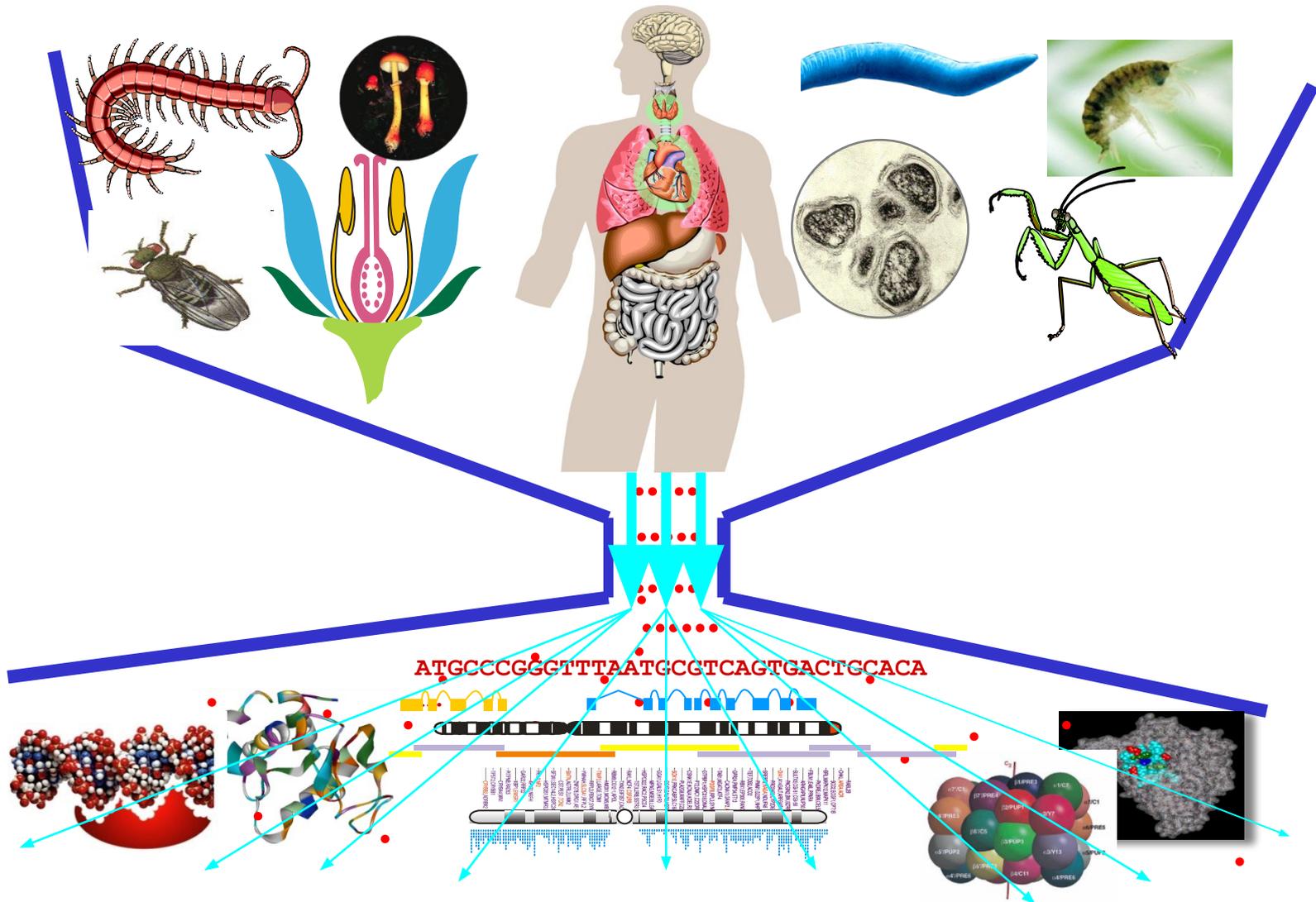


Системная биология:

предмет, инструменты, экспериментальные методы



Системная биология – это междисциплинарная быстроразвивающаяся область современной биологии, изучающая биологические объекты как системы, интегрируя данные о геноме, его транскрипционной и протеомной активности, метаболизме.

Цель системной биологии – построение модели взаимодействий компонентов в сложной биологической системе.

Задачи системной биологии:

исследование и моделирование свойств сложных биологических систем, которые нельзя объяснить суммой свойств ее составляющих.

Экспериментальные методы системной биологии

Геномика	высокопроизводительные методы секвенирования ДНК, включая изучение вариабельности в разных клетках одного организма
Эпигеномика, эпигенетика	изучение факторов транскрипции, не кодируемых в ДНК (метилование ДНК, и т. д.)
Транскриптомика	измерение экспрессии генов, используя ДНК-микрочипы и другие методы
Интерферомика	измерение взаимодействия транскрибированных РНК
Метаболомика	измерение концентраций малых молекул, метаболитов
Протеомика, транслатомика	измерение уровня белков или пептидов с использованием двумерного гель-электрофореза, масс-спектрометрии или многомерных методик измерения белков
Гликомика	измерение уровня углеводов
Липидомика	измерение уровня липидов
Интерактомика	измерение взаимодействий между молекулами

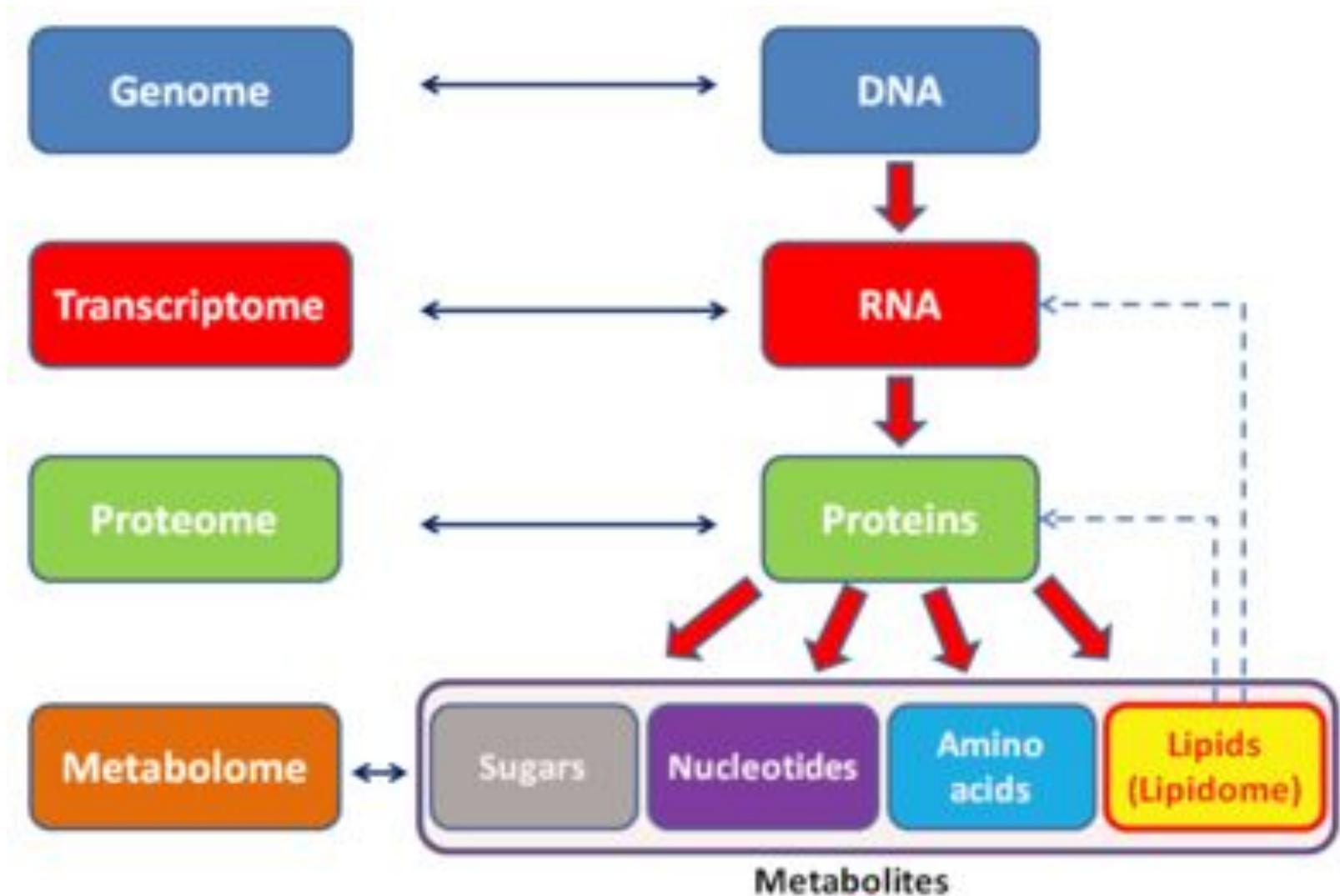
и другие высокопроизводительные технологии

Инструменты системной биологии:

- Современные компьютерные и информационные технологии;
- программные средства для моделирования;
- универсальные языки для хранения и аннотаций моделей (например, SBGN, расширение *.xml).



Центральная догма молекулярной биологии



1 ГЕНОМ

Это совокупность генов, характерных для гаплоидного (одинарного) набора хромосом данного вида организмов.

Термин «геном» впервые был предложен в 1920 г. немецким генетиком Г. Винклером.



СЕКВЕНИРОВАНИЕ

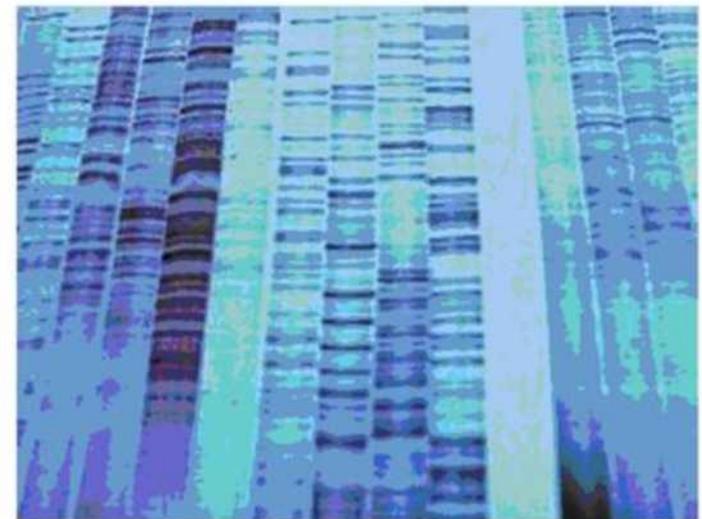
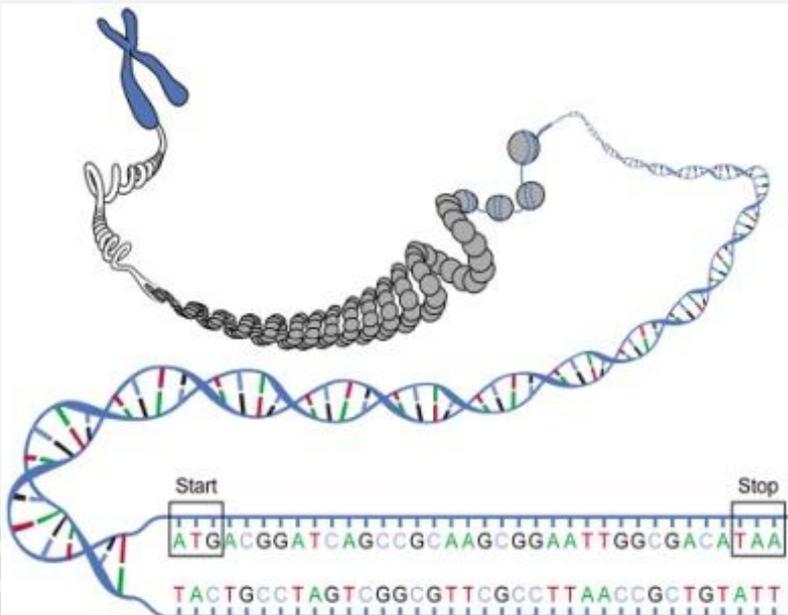


Фредерик Сенгер
(1918)

общее название методов, которые позволяют установить последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК или аминокислот в структуре белка

1977 г.

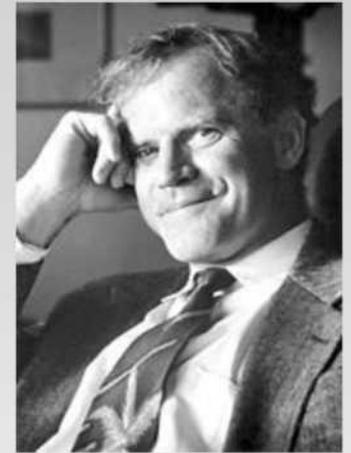
Разработал метод секвенирования ДНК, также известного как метод обрыва цепи



A, G, T, C

МЕТОД ПЦР

1983 г.
разработан метод ПЦР



Кэри Мюллис
(1940 -)

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – экспериментальный метод молекулярной биологии. Предназначен для увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе)



ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ПЦР

1

- **Образец для анализа** (ДНК)

2

- **Праймеры** (затравки из 15-30 нукл. для репликации ДНК, комплементарные концам требуемого фрагмента на противоположных цепях ДНК)

3

- **ДНК-полимераза** (фермент, катализирующий реакцию полимеризации ДНК)

4

- **Дезоксинуклеотидтрифосфаты** (строительный материал для ДНК – АТФ, ГТФ, ТТФ, ЦТФ)

5

- **Компоненты раствора** (ионы Mg^{2+} , K^+ , DMSO, буфер и др.)

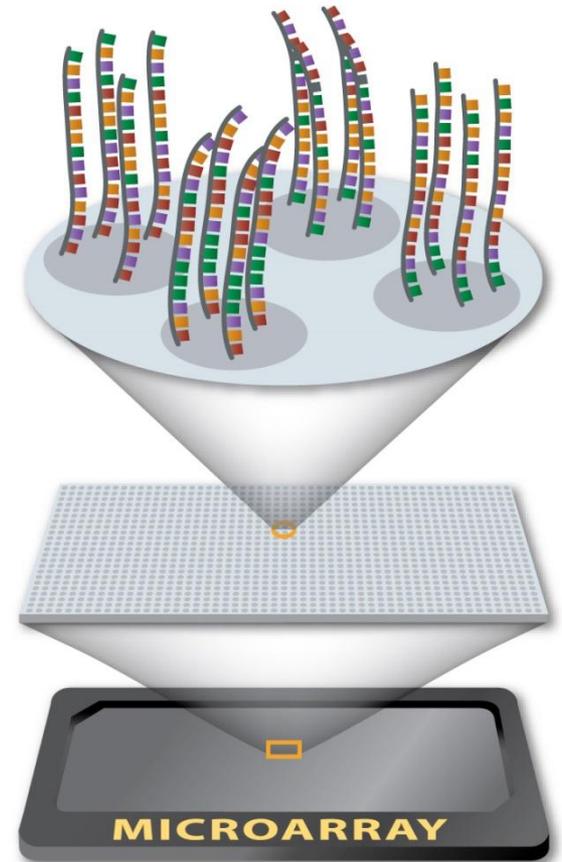
Сравнение различных методов секвенирования нового поколения (СНП)

метод	принцип	длина одного прочтения, пар оснований	время работы за цикл	количество прочтений за цикл	преимущества	недостатки
454 Life Sciences	Пиросеквенирование	400	7 часов	1 млн.	длина прочтённых геномных участков; скорость	Высокая стоимость; погрешность
Illumina-SOLEXA	SBS (sequencing-by-synthesis)	300	9 дней	до 3 млрд.	эффективность, низкая стоимость	скорость
Ion-Torrent	ионный полупроводник	600	1,5 часа	до 5 млн.	низкая стоимость; скорость	погрешность
SOLiD	секвенирование на основе лигирования	35—50	9 дней	1,3 млрд.	низкая стоимость	скорость
Helicos	HeliScope	2900	1 час	35 000-75 000	длина прочтённых геномных участков; скорость	низкая производительность при желаемой малой погрешности; высокая стоимость

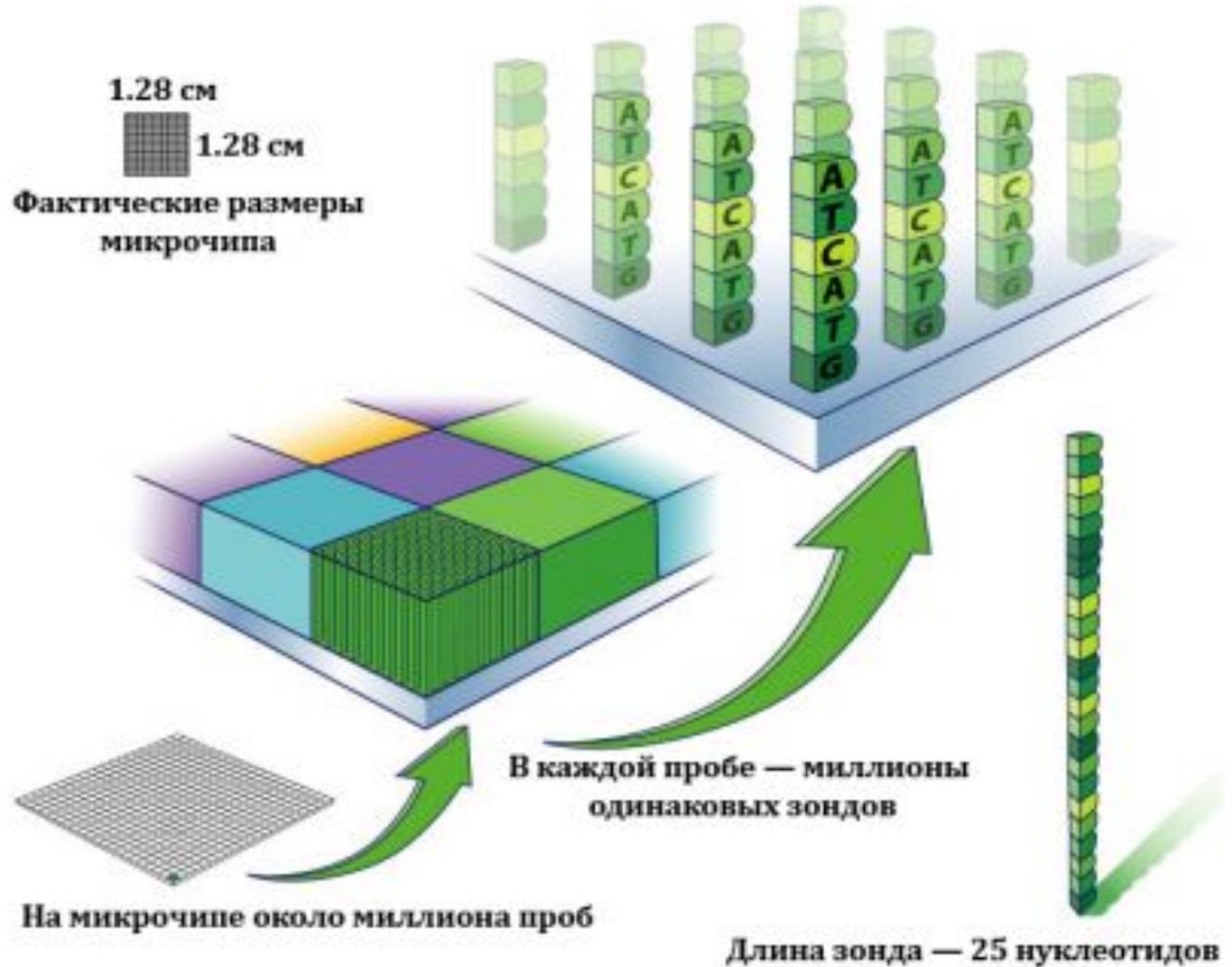
Метод ДНК-биочипов или ДНК-микроматриц

является средством общегеномного и высокопродуктивного исследования транскриптома.

ДНК-биочипы — это миниатюризированные матрицы или подложки, на которых в определенном порядке распределены фрагменты ДНК, соответствующие отдельным генам или их частям. Они позволяют проводить эксперименты по одновременному анализу структуры и экспрессии тысяч генов с помощью параллельной гибридизации.



Структура ДНК-микрочипа



ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА

Подсчитано, что геном человека состоит из 3,3 млрд. нуклеотидов

Проект по расшифровке генома человека
(*The Human Genome Project, HGP*)



размер - 3.3 миллиарда нуклеотидов: **ATGCCCGGGTTTAATGCGTCAGTGACTGCACA...**

количество генов - 35000:
цитогенетическая карта:



физическая карта:



Локализация генов



Локализация мутаций



Размеры некоторых геномов с известной последовательностью

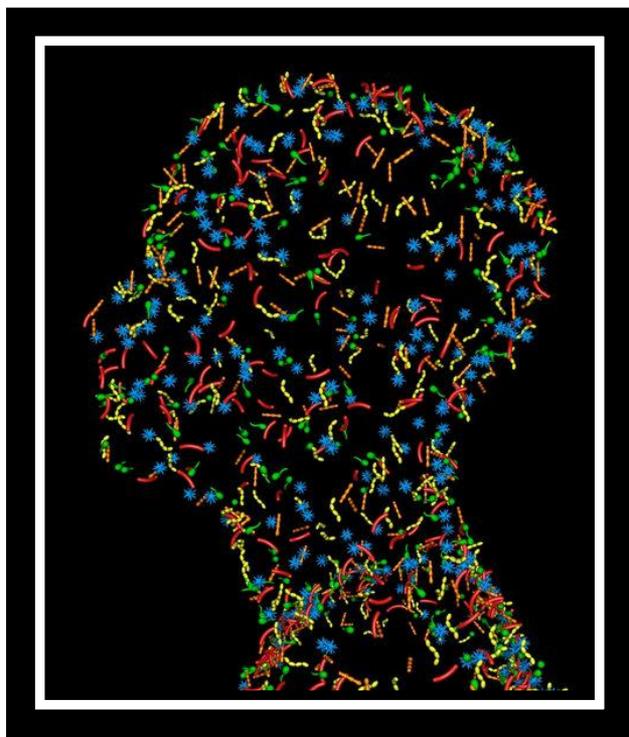
Организм	Размер генома (пар оснований)		Число генов	Примечание
Porcine circovirus тип 1	1 759	1.8 kb		Наименьший известный вирусный геном из способных самостоятельно размножаться в клетках эукариот
Бактериофаг MS2	3 547	3.5 kb	4	Первый расшифрованный РНК-геном, 1976 год
SV40	5 224	5.2 kb		Вирус расшифрован в 1978 году
фаг Ф-Х174	5 386	5.4 kb	9	Первый расшифрованный ДНК-геном, 1977 год
ВИЧ тип 2	10 359	10.3 kb	9	
Митохондрия человека	16 569	16.6 kb		
лямбда (λ) фаг	48 502	48.5 kb		Часто используется как вектор клонирования рекомбинантной ДНК
<i>Nasuia deltocephalinicola</i>	112 091	112 kb	137	Наименьший известный невирусный геном. Расшифрован в 2013 году
<i>Carsonella ruddii</i>	159 662	160 kb		облигатная эндосимбиотическая гамма-протеобактерия
<i>Buchnera aphidicola</i>	$6 \cdot 10^5$	600 kb		эндосимбионтом тли
<i>Wigglesworthia glossinidia</i>	$7 \cdot 10^5$	700 kb		бактериальный эндосимбионт мухи цеце
Мегавирус	1 259 197	1.3 Мб	1 120	До 2013 года — самый длинный из известных вирусных геномов

Организм	Размер генома (пар оснований)		Число генов	Примечание
<i>Prochlorococcus</i> spp.	1,7*10 ⁶	1.7 Mb	1 884	Наименьший из известных геномов цианобактерий (способных к фотосинтезу)
<i>Haemophilus influenzae</i> Гемофильная палочка	1,83*10 ⁶	1.8 Mb		Первый расшифрованный геном живого организма, июль 1995
<i>Pandoravirus salinus</i>	2,47*10 ⁶	2.47 Mb		Самый длинный из известных вирусных геномов
<i>Escherichia coli</i>	4,6*10 ⁶	4.6 Mb	4 288	Наиболее хорошо изученная бактерия
<i>Nostoc punctiforme</i>	9*10 ⁶	9 Mb	7 432	Многоклеточная цианобактерия
<i>Solibacter usitatus</i>	9,97*10 ⁶	10 Mb		Штамм Ellin 6076
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,21*10 ⁷	12.1 Mb	6 294	Первый из расшифрованных геномов эукариот, 1996
<i>Pratylenchus coffeae</i>	2*10 ⁷	20 Mb		Самый маленький из известных геном животного
<i>Aspergillus nidulans</i>	3*10 ⁷	30 Mb	9 541	
<i>Genlisea tuberosa</i>	6,1*10 ⁷	61 Mb		Наименьший известный на 2014 год геном цветочного растения
<i>Caenorhabditis elegans</i>	1,003*10 ⁸	100 Mb	19 000	Первый из расшифрованных геномов многоклеточного организма, декабрь 1998
<i>Arabidopsis thaliana</i>	1,35*10 ⁸	135 Mb	27 655	Первый расшифрованный геном растения, декабрь 2000
<i>Drosophila melanogaster</i>	1,75*10 ⁸	175 Mb	13 600	Фруктовая мушка - стандартный <i>u w</i> штамм 175Mb

Организм	Размер генома (пар оснований)		Число генов	Примечание
<i>Apis mellifera</i>	2,36*10 ⁸	236 Mb	10 157	Медовая пчела
<i>Tetraodon nigroviridis</i>	3,85*10 ⁸	390 Mb		Наименьший из известных геномов позвоночных
<i>Bombyx mori</i>	4,32*10 ⁸	432 Mb	14 623	Тутовый шелкопряд
<i>Solenopsis invicta</i>	4,8*10 ⁸	480 Mb	16 569	Огненный муравей
<i>Populus trichocarpa</i>	4,8*10 ⁸	480 Mb	73 013	Первый расшифрованный геном дерева, сентябрь 2006
<i>Physcomitrella patens</i>	4,8*10 ⁸	480 Mb		Первый из расшифрованных геномов мохообразных, январь 2008
<i>Mus musculus</i>	2,7*10 ⁹	2.7 Gb	20 210	Домо́вая мышь
<i>Pan paniscus</i>	3 286,64*10 ⁶	3.3 Gb	20 000	(Бонобо́ или Карликовый шимпанзе)
<i>Homo sapiens</i> (человек)	3 289*10 ⁶	3.3 Gb	20 000-30 000	Проекты: Генома Человека и Celera Genomics Крейга Вентера, 2003 год
<i>Fritillaria assyrica</i>	1,3*10 ¹¹	130 Gb		
<i>Protopterus aethiopicus</i>	1,3*10 ¹¹	130 Gb		Наибольший из известных геномов позвоночных
<i>Paris japonica</i>	1,5*10 ¹¹	150 Gb		Наибольший из известных геном растений
<i>Polychaos dubium</i>	6,7*10 ¹¹	670 Gb		Пресноводный амебоид. Возможно наибольший

2 МЕТАГЕНОМ

Это набор генов всех микроорганизмов, находящихся в образце среды.



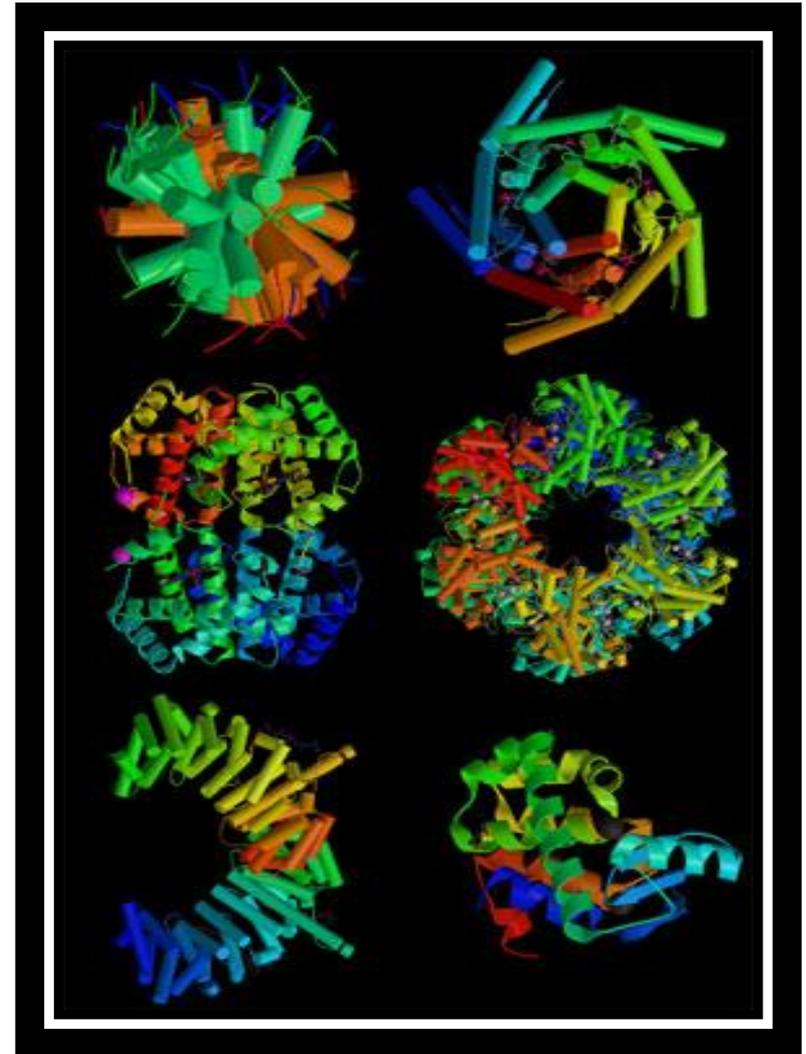
3 ТРАНСКРИПТОМ

Это совокупность всех транскриптов, синтезируемых одной клеткой или группой клеток, включая белоккодирующие мРНК и некодирующие РНК: тРНК, рРНК и различные виды малых регуляторных РНК (малые ядерные, малые ядрышковые, антисмысловые, микроРНК, piРНК, длинные некодирующие РНК (Xist, Evf, Air, CTN, PINK TUG1)).

Анализ транскриптома отражает синтез кодируемых ими белков, а так же синтез рибосомальных, транспортных и других РНК.

4 ПРОТЕОМ

Это совокупность экспрессированных белков в определенном типе клеток или в организме в определенный период времени при определенных условиях.



5 МЕТАБОЛОМ

Это совокупность небольших молекул-метаболитов, находящихся в клетке, ткани или целом организме (не более 1,5 кДа: небольшие пептиды, антибиотики, липиды и другие вторичные метаболиты).



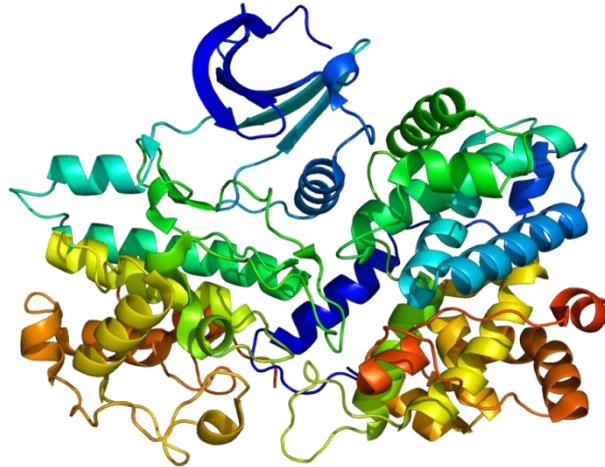
6 ИНТЕРАКТОМ

Интерактом (от англ. «*to interact*» – взаимодействовать) - совокупность всех взаимодействий белок-белок, белок-ДНК, белок-РНК и РНК-РНК в клетке, определяющих ее метаболизм. Термин указывает не только на физическое взаимодействие между молекулами, он может также подразумевать косвенные взаимодействия между генами, то есть генетические взаимодействия.

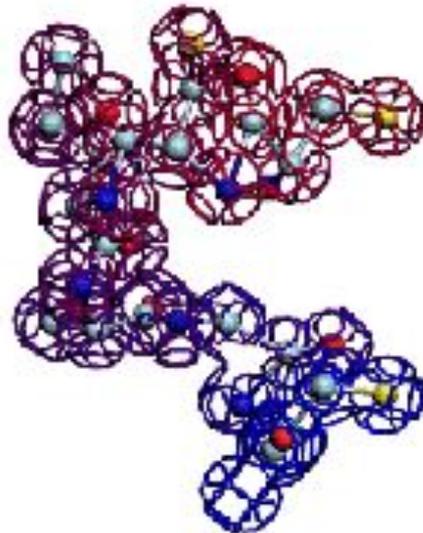
Чаще всего выделяют тип интерактома **белок-белковых взаимодействий** (**PPI**) и их сетей (**PIN**). Другой широко изученный тип интерактома - это интерактом **белок-ДНК**, также называется **ген-регуляторной сетью**.

Молекулярные сети взаимодействий

- интерактом белок-белковых взаимодействий (PPI) и их сетей (PIN)

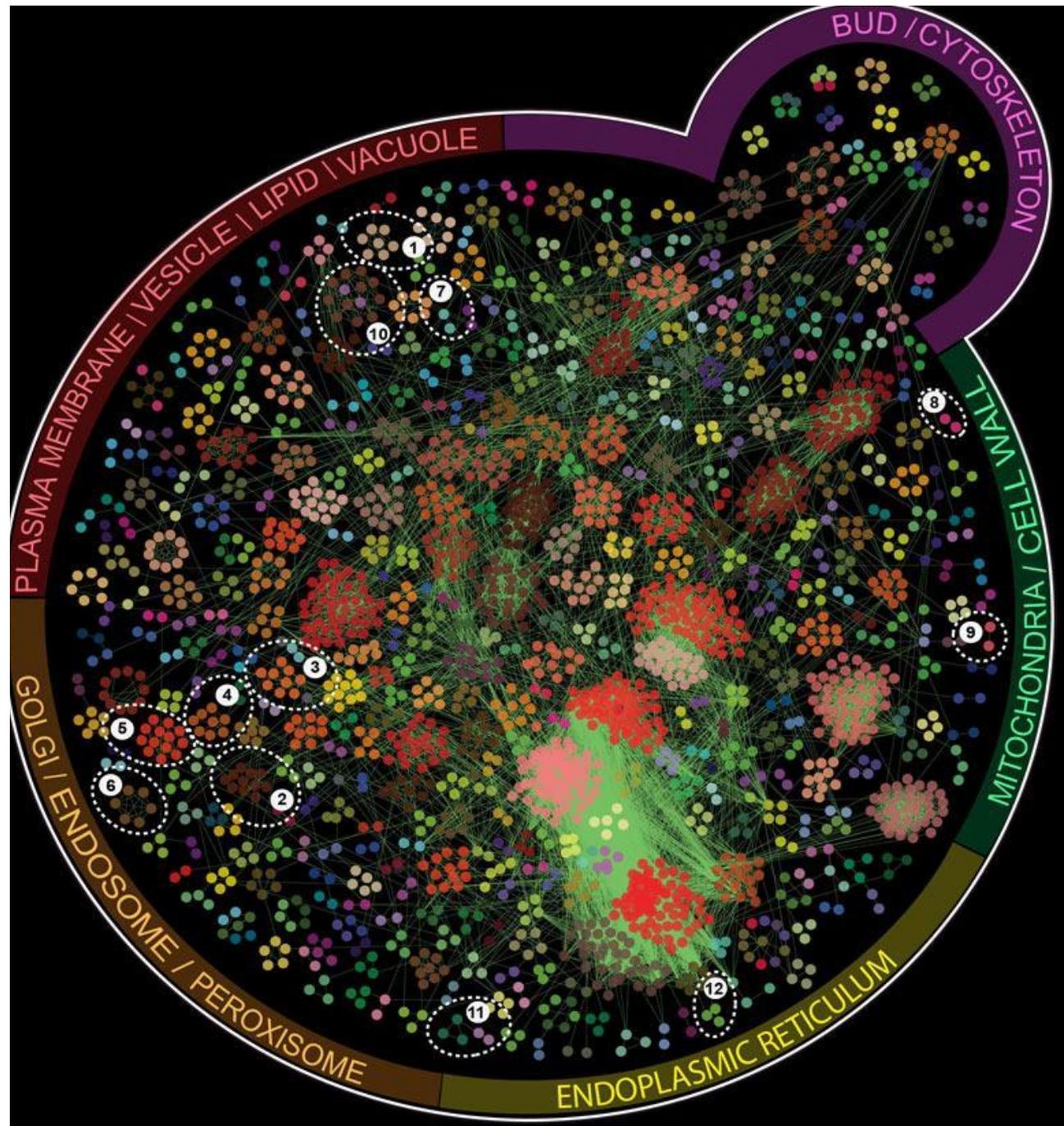


- интерактом белок-ДНК (ген-регуляторной сети)



Интерактом мембранных белков дрожжей.

Белки, обозначенные кружками, объединены в несколько групп (белки ЭПС, пероксисом, плазматической мембраны и др.). Линии, соединяющие кружки, показывают взаимодействующую пару белков.



Сети РНК-РНК взаимодействий: микро-РНК

Головной мозг

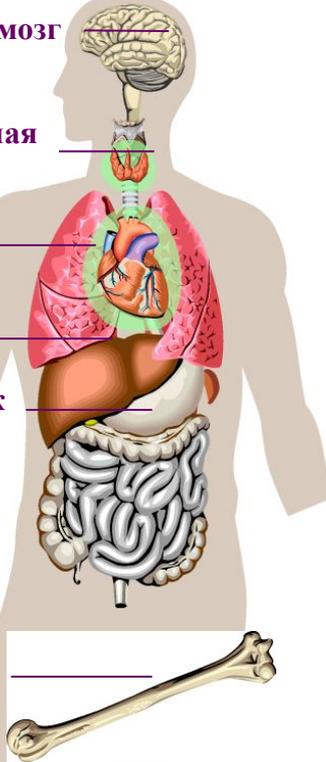
Щитовидная железа

Легкие

Печень

Кишечник

Костный мозг

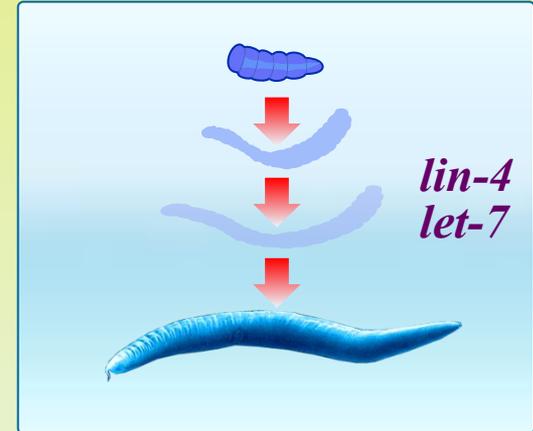


[Calin G. et al., PNAS (2003)]

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

Список патологий, возникающих при нарушении функционирования миРНК:

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



C. elegans:

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



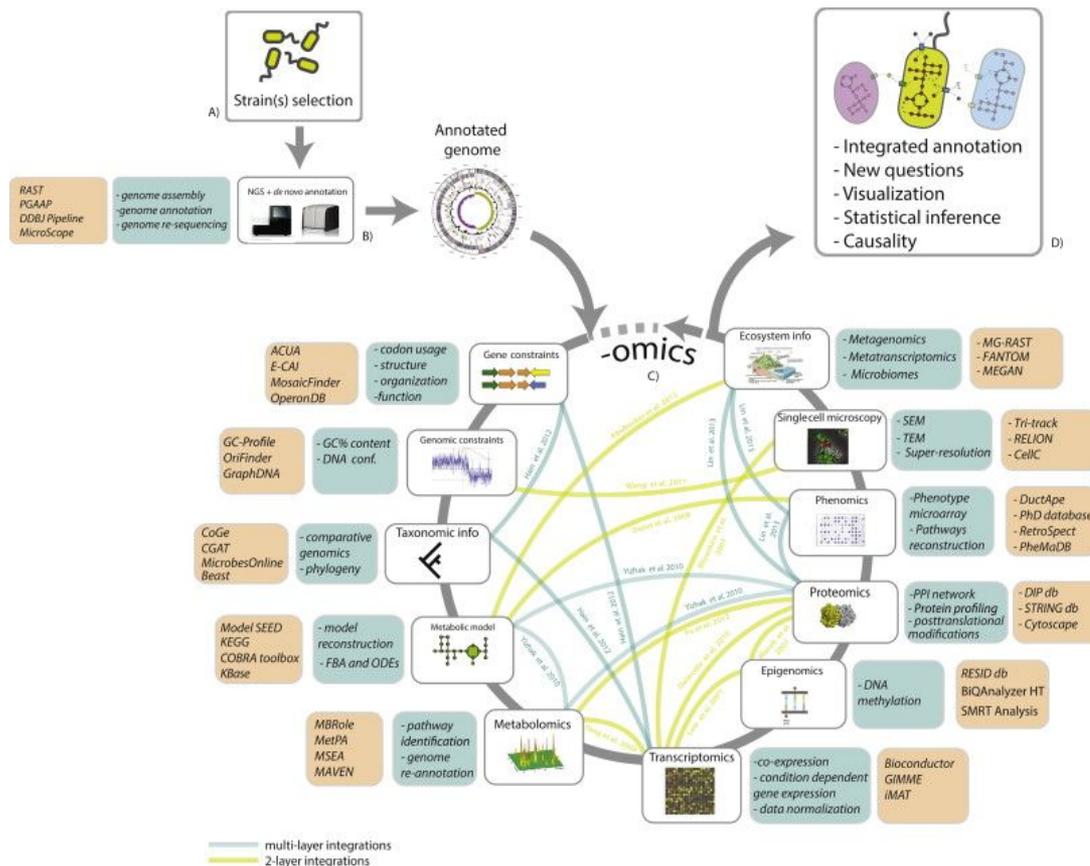
D. melanogaster [Chen C. et al., Science 303, 83 (2004)]:

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

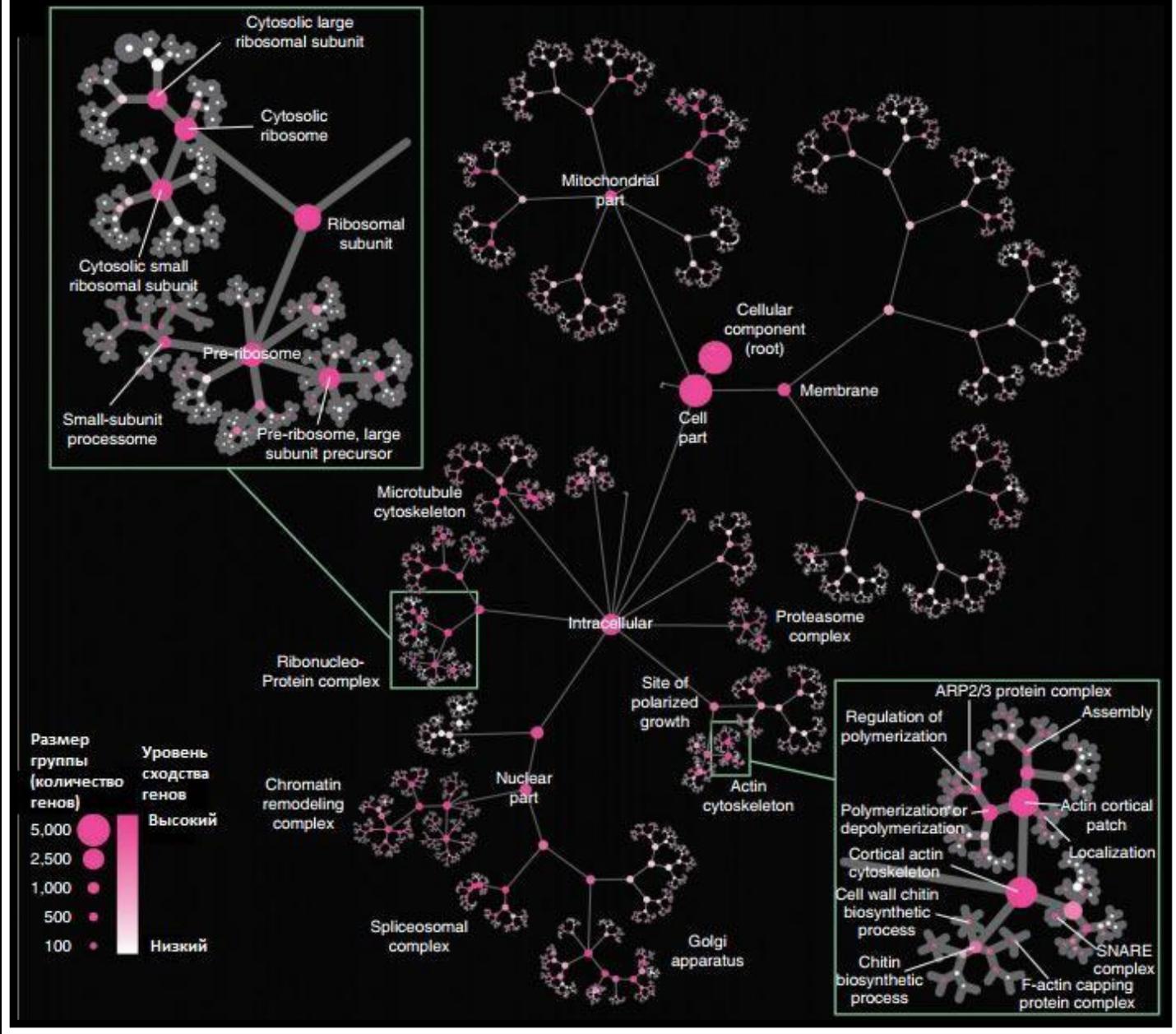
Минимальные оценки! в геномах млекопитающих имеется до **200** микро-РНК. Каждая микро-РНК может иметь до **100** генов-мишеней. В целом сеть микроРНК-взаимодействий может включать до **20 000** генов.

7 ИНТЕГРОМ

Это информация по всем «-омам» в одном месте, которая благодаря обобщающему анализу может открыть много нового и интересного.



Визуализация
для
компьютерного
создания
интеграла



Спасибо за внимание.

