



ПРИВЕТ!

Вступление

Сырые данные для биоинформатики

Теломеры и теломераза

Регуляция теломеразы

Что и как дальше!

Стандартная олимпийская дистанция — плавание на 1500 м,
велогонка 40 км, бег 10 км
КРОСС УЖЕ ПРОБЕЖАЛИ!!! А теперь вплавь



Коллеги, студенты, вы поступили на фбб и все
находитесь в равном положении, на старте

Стартовые условия различны



От чего зависит ваш успех на фбб?



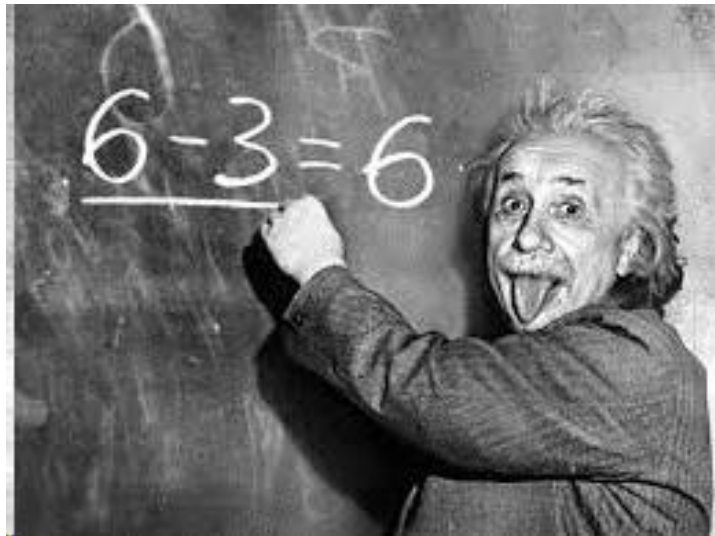
Нобелевский лауреат 2009 г. Кэрол Грейдер

Greider initially had difficulty getting into graduate school because of her low [GRE](#) scores, a result of her dyslexia. Greider applied to thirteen grad schools and was accepted to only two, [California Institute of Technology](#) and the [University of California, Berkeley](#).^[6] She chose Berkeley, where she would be able to work with [Elizabeth Blackburn](#) and where the two would make their telomerase discovery.



Greider has worked significantly to overcome her dyslexia to become successful in her professional life and credits her dyslexia as helping her appreciate differences and making unusual decisions such as the one to work with [Tetrahymena](#), an unusual organism.

Успех на фбб **НЕ** определяется тем, сколько у вас баллов при поступлении



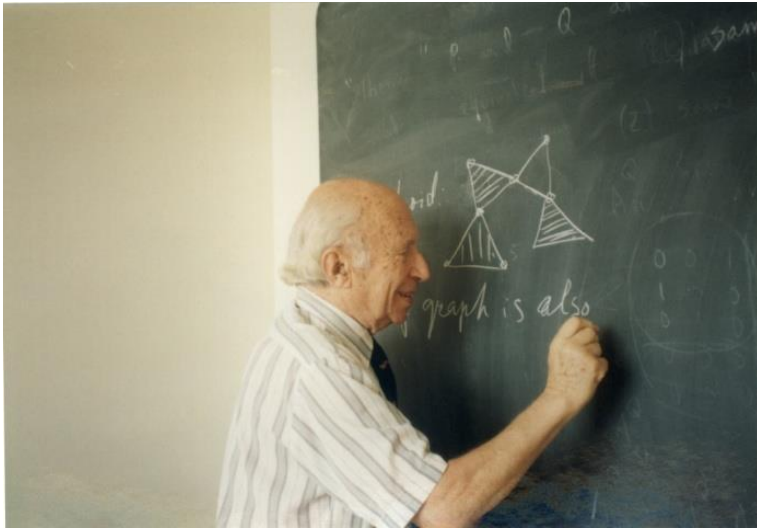
Альберт Эйнштейн, физик
(1879-1955)



Первая попытка поступить в Цюрихский Политехникум, у него провалилась.

(По олимпиадам тогда не брали(:)

Но это не про вас – вы поступили)))



Израиль Моисеевич
Гельфанд, математик,
биолог (1913 -2009)

Не имея высшего образования, был
принят в аспирантуру
А.Н.Колмогоровым, другим
выдающимся математиком XX века

**В нашем веке так не
получится (:**

Одна из последних его работ
была по биоинформатике:



*Chiang YS, Gelfand TI, Kister AE,
Gelfand IM, New classification of
supersecondary structures of
sandwich-like proteins uncovers strict
patterns of strand assemblage,
Proteins, **2007***

Простота гениальных открытий - нужны свежие мозги

Альберт Эйнштейн и Израиль Гельфанд стремились к простоте в науке. Даже если эта простота не казалась очевидной на первый взгляд

В биологии – Джеймс Уотсон и Франсис Крик,
строение ДНК

Альберт Эйнштейн, Израиль Гельфанд, Джеймс Уотсон
и Франсис Крик **умели отдыхать!**

Это вы умеете:)

Сырые данные для биоинформатиков

1. Последовательности ДНК (геномов)

Задача 1. *Прочитать геном* «Иванова» (геном “человека” известен!)

Задача 2. Найти гены в геноме

Задача 3. Определить последовательности белков

Задача 4. Задачи 1, 2, 3 для экзотической зверюшки (ранее геном не был прочтен)

2. Пространственная структура белка

Задача 5. Определить области в *3D структуре белка*, отвечающие за его функции.

3. Последовательности РНК

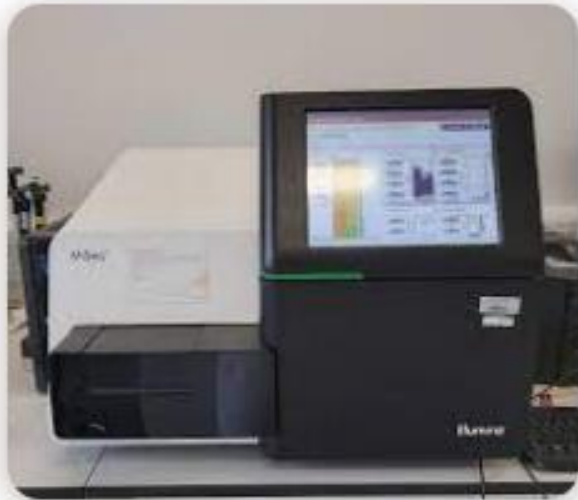
Задача 6. Какие белки *экспрессируются* в исследуемой ткани в определённых условиях

4. **Короткие последовательности ДНК, с которыми связывается исследуемый белок (сайты).**

Задача 6. Найти сайты связывания исследуемого *ДНК-связывающего белка*.
Например, фактора транскрипции (TF)

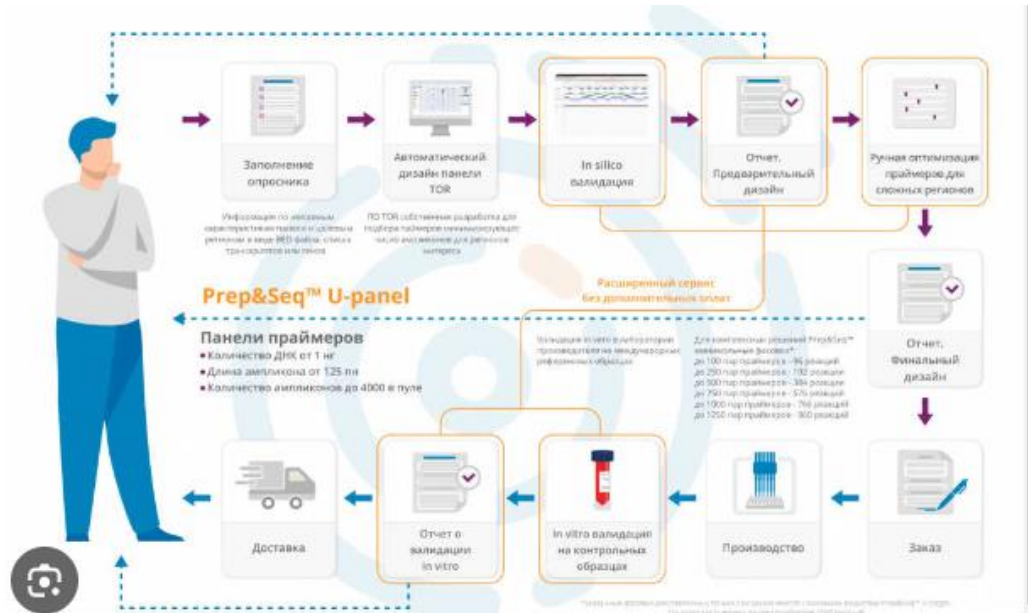
Задача 7. Определить экспрессию каких генов регулирует исследуемый TF.

1м. Последовательности ДНК генома митохондрии человека, полученные из секвенатора



genolab.ru

ДНК секвенатор Miseq, Illu...



>ERR576109.1.1 1 length=150

AGGAAAAGGGCATACAGGACTAGGAAGCAGATAAGGAAAATGATTATGAGGGCGTGATTATGAAAGGTGATAAGCTCTTCTATG
 ATAGGGGAAGTAGCGTCTTGTAGACCTACTTGCCTGCATGCGCCATTAAGATATATAGGCTTTAG

>ERR576109.1.2 1 length=150

TGCATACACTACATGAAACATCCTATCATCTGTAGGCTCATTCAATTTCTCTAACAGCAGTTATATTTATAATTTTATGATTTGAGAAG
 CCTTCGCTTCGTAGCGAAAAGGCCTAATAGTAGTAGAAGCCTCCATAAACCTGGAGTGACT

1м. Последовательности ДНК генома митохондрии человека, полученные из секвенатора

Homo sapiens (human) sex female, ENA first public 2014-08-08
sample name HG00452_mt-sc-1771296 [Illumina ...](#)

>ERR576109.1.1 1 length=150

AGGAAAAGGGCATACAGGACTAGGAAGCAGATAAGGAAAATGATTATGAGGGCGTGATTATGAAAGGTGATAAGCTCTTCTATG
ATAGGGGAAGTAGCGTCTTGTAGACCTACTTGCGCTGCATGCGCCATTAAGATATATAGGCTTTAG

>ERR576109.1.2 1 length=150

TGCATACACTACATGAAACATCCTATCATCTGTAGGCTCATTCAATTTCTCTAACAGCAGTTATATTTATAATTTTTATGATTTGAGAAG
CCTTCGCTTCGTAGCGAAAAGGCCTAATAGTAGTAGAAGCCTCCATAAACCTGGAGTGACT

>ERR576109.2.1 2 length=150

GATTTGAGAAGCCTTCGCTTCGAAGCGAAAAGTCCTAATAGTAGAAGAACCCTCCATAAACCTGGAGTGACTATATGGATGCCCC
CCACCCTACCACACATTCGAAGAACCCGTATACATAAACTAAACAAAAAAGAAAGGAATCAAC

>ERR576109.2.2 2 length=150

GTTAGGAAAAGGGCATACAGGACTAGGAACAGATAAGGAAAGTGATTATGAGTGCGTGATCATGAAAGGTGATAAGCTCTTCT
ATGATAGTGGAAGTAACGTCTTGTAGACCTACTTGCGCTGCATGTGCCATTAAGATATATAGGATT

>ERR576109.3.1 3 length=150

GAGTGTTAGGAAAAGGGCATACAGGACTAGGAAGCAGATAAGGAAAATGATTATGAGGGCGTGATCATGAAAGGTGATAAGCT
CTTCTATGATAGGGGAAGTAGCGTCTTGTAGACCTACTTGCGCTGCATGTGCCATTAAGATATATAG

..... ТАКИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ВСЕГО 85 068

Референсный митохондриальный геном человека состоит из 16 569 пн (bp)

1.И. Последовательности ДНК полного генома человека «И.И.Иванова», сырые данные выглядят так же, но последовательностей здорово больше

- Задача 1. *Прочитать полный геном* «Иванова» (геном “человека” известен!)

Задача 2. Найти гены в геноме

Задача 3. Определить последовательности белков

1.X. Последовательности ДНК полного генома экзотической зверюшки «XXXXX», данные выглядят так же, но
НЕ ИЗВЕСТЕН ГЕНОМ РОДСТВЕННИКА!!!

- Вопрос 1. *КАК Прочитать геном* «XXXXX» имея прочтения из автомата!

- Задача 2. Найти гены в геноме

Задача 3. Определить последовательности белков

2. Последовательности РНК из митохондрий человека, полученные из секвенатора

Homo sapiens mitochondria, publication 2011-07-20

Sample name: GSM763529

>SRR314794.1.1 HWI-EAS157_0001:4:1:1047:9307 length=35
CNATAACGAACGAGACTCTGGCATGATCTCGTATG

>SRR314794.2.1 HWI-EAS157_0001:4:1:1048:1275 length=35
TNGGCAAATCTTACCCCGCCTGTTTACCAAAAACA

>SRR314794.3.1 HWI-EAS157_0001:4:1:1048:6338 length=35
CNTGGGAATGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCC

>SRR314794.4.1 HWI-EAS157_0001:4:1:1049:6309 length=35
ANCTAAGGCTAAATACCGGCACGAGACCGATAGTC

>SRR314794.5.1 HWI-EAS157_0001:4:1:1049:15527 length=35
GTGCCCGGATGACTTGTGGATAGCGGTGAAATTCC

..... ТАКИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ 23 217 113

Какую информацию можно извлечь из транскриптома митохондрии?

Как найти матричные РНК из митохондрии?

3. Сайты связывания TF ХХХХ человека, полученные из секвенатора. Chip-seq

@SRR1524143.1

1/1CACTGTGGTGAAGCCTGAACCGGGGTCATCGGTCAA

+

IIIIIIIIIIIIIIIIIIIIHGIIIIHHIGI

@SRR1524143.2

2/1TGACCGATGACCCCGGTTTCAGGCTTCACCACAGTGT

+

IIIIIDIIGIIIIIGIIIIHGIBIGIBBGEGIIFFIH

@SRR1524143.3

3/1TGACCGATGACCCCGGTTTCAGGCTTCACCACAGTGT

+

GGGGGBGGBGHHH@HGEGEGGGGEGEEEG<?>?:A:

@SRR1524143.4

4/1CACTGTGGTGAAGCCTGAACCGGGGTCATCGGTCAA

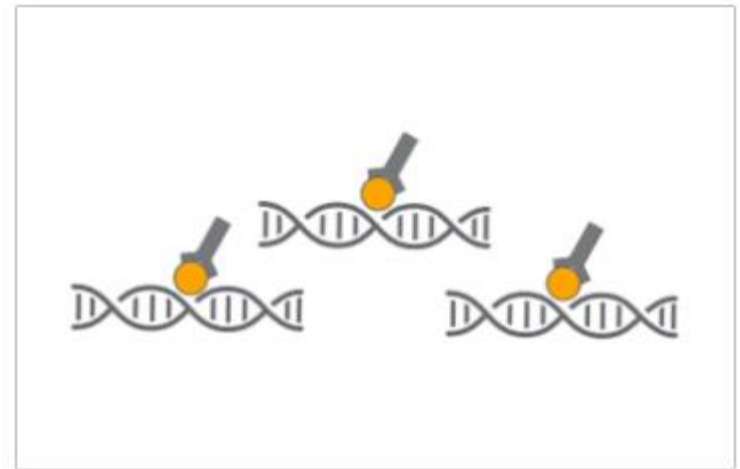
+

FC@@CD@DA?GGGDBGDDEGEFGGEEDBEBEBDEB@D

@SRR1524143.5

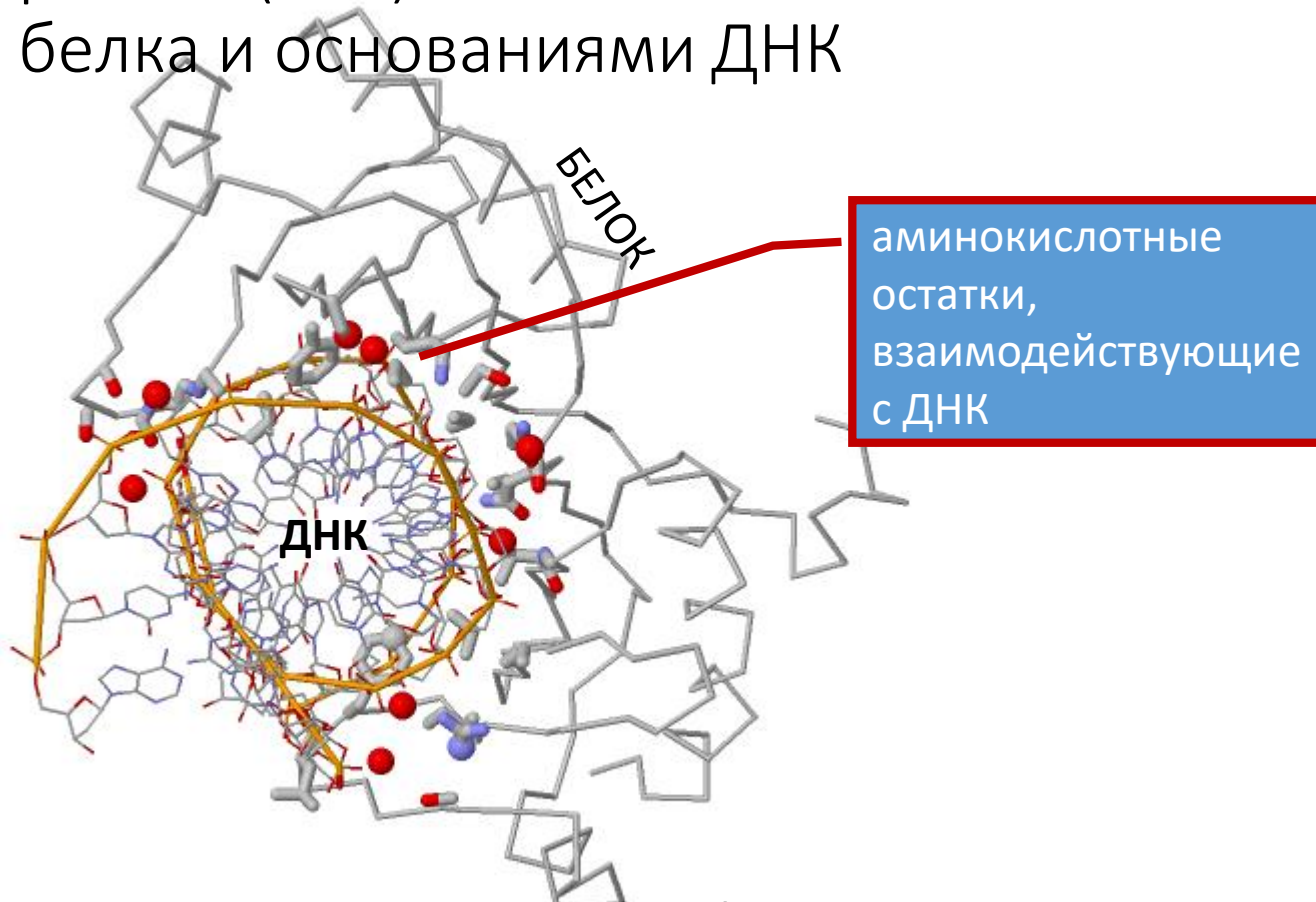
5/1CACTGTGGTGAAGCCTGAACCGGGGTCATCGGTCAA

+IIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIHGIIIIHGIIH

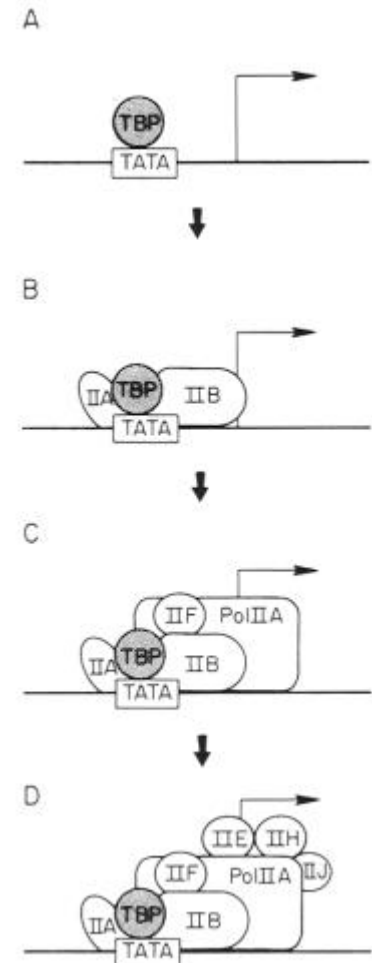


Загадочная картинка

4. Пространственная структура белка TATA-box binding protein (ТВР). Позволяет найти связи между остатками белка и основаниями ДНК



The **TATA-binding protein (TBP)** is a [general transcription factor](#) that binds specifically to a [DNA](#) sequence called the [TATA box](#). This DNA sequence is found about 30 [base pairs](#) upstream of the [transcription start site](#) in some [eukaryotic gene promoters](#).^[5]



Теломеры и теломераза

Теломеры и число делений клетки.

TERT

Регуляция экспрессии TERT. Промоторы

G-квадруплексы.

Консервативное значит важное.

Нужны экспериментальные доказательства.

1. Предел Хеффлика

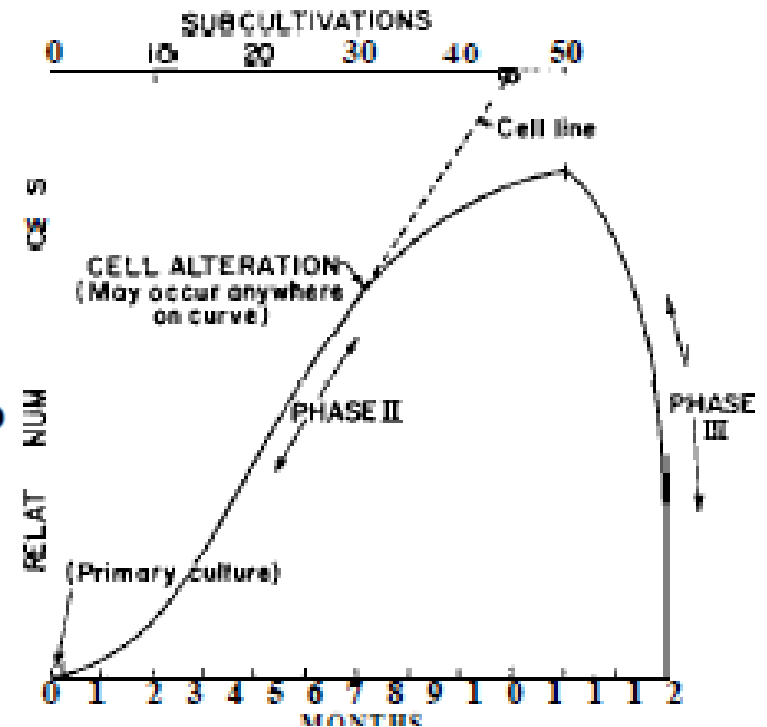
Experimental Cell Research 25, 585-621 (1961)

THE SERIAL CULTIVATION OF HUMAN DIPLOID CELL STRAINS¹

L. HAYFLICK and P. S. MOORHEAD

Wistar Institute of Anatomy and Biology, Philadelphia, Pa., U.S.A.

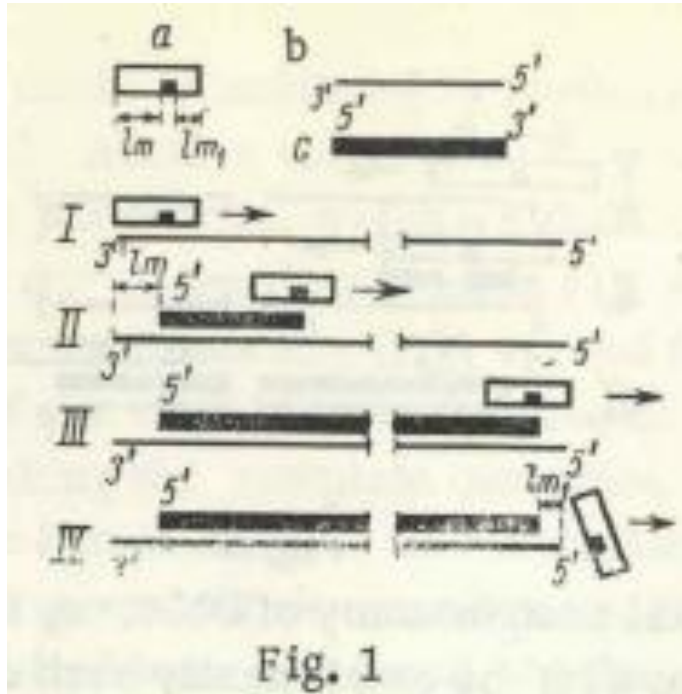
Received May 15, 1961



Text-Fig. 1.—Diagrammatic representation of the history of cell strains and the phenomenon of cell alteration. Phase I, or the primary culture, terminates with the formation of the first confluent sheet. Phase II is characterized by luxuriant growth necessitating many subcultivations. Cells in this phase are termed "cell strains". An alteration may occur at any time giving rise to a "cell line" whose potential life is infinite. Conversely, cell strains characteristically enter Phase III and are lost after a finite period of time.

«После 50-100 делений
нормальные клетки умирают»
wiki

Гипотеза Оловникова объясняющая эксперимент Хеффлика



А.М.Оловников, 1972, ДАН



Алексей Матвеевич
Оловников (1936 - 2022)

4. Prediction

It seems quite expedient to search for cellular factors controlling the mechanisms of marginotomy and antimarginotomy in template synthesis of polynucleotides, which might repress or derepress, correspondingly, genes determining monosegment DNA-polymerase and tandem-DNA-polymerase or other means of antimarginotomy. Such factors ("marginotomites" and "antimarginotomites") would, probably, regulate the duration of life of different cell clones and of the organisms which are composed of them.

J. theor. Biol. (1973) **41**, 181–190

2. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009

Elizabeth H. Blackburn,

Carol W. Greider,

Jack W. Szostak

Prize motivation: “for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase”

Abstract

We have found a novel activity in *Tetrahymena* cell free extracts that adds tandem TTGGGG repeats onto synthetic telomere primers. The single-stranded DNA oligonucleotides (TTGGGG)₄ and TGTGTGGGTGTGTGGGTGTGTGGG, consisting of the *Tetrahymena* and yeast telomeric sequences respectively, each functioned as primers for elongation, while (CCCCAA)₄ and two nontelomeric sequence DNA oligomers did not. Efficient synthesis of the TTGGGG repeats depended only on addition of micromolar concentrations of oligomer primer, dGTP, and dTTP to the extract. The activity was sensitive to heat and proteinase K treatment. The repeat addition was independent of both endogenous *Tetrahymena* DNA and the endogenous α -type DNA polymerase; and a greater elongation activity was present during macronuclear development, when a large number of telomeres are formed and replicated, than during vegetative cell growth. We propose that the novel telomere terminal transferase is involved in the addition of telomeric repeats necessary for the replication of chromosome ends in eukaryotes.

Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell*. 1985

3. Линейная ДНК при репликации укорачивается на 50 – 100 п.н.

Полимераза может присоединить нуклеотид только к 3' концу ДНК !

Против законов природы – химии – не погрешь!



DNA synthesis By DNA polymerase



Removal of RNA primers and Gap fill-in with DNA nucleotides in 5' to 3'



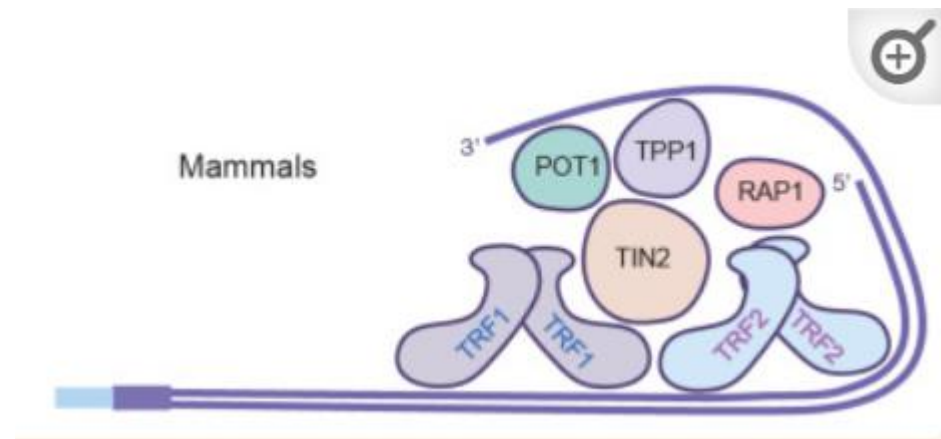
Gap remains unfilled in 5' end



Вопрос: а синяя ДНК не укорачивается?

Одноцепочечная ДНК (ssDNA) не может долго существовать в клетке без ЗАЩИТЫ!
Её съедают нуклеазы – белки, расщепляющие нуклеиновые кислоты. Они считают, что это ДНК вируса

Рис. Бригада белков, защищающая 3' концевой одноцепочечный участок ДНК



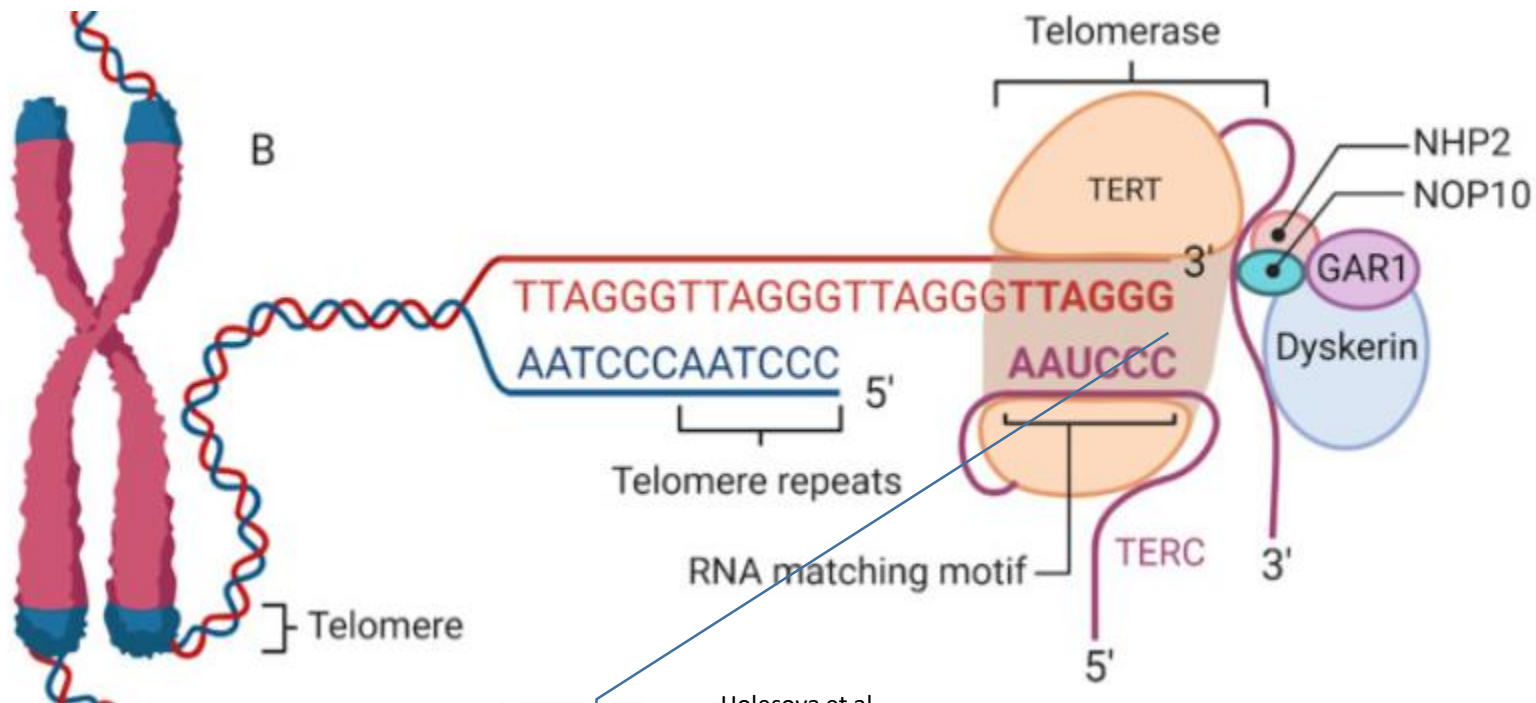
Зачем защищать?

Lister-Shimauchi et al.,
Genetic and Epigenetic Inheritance at Telomeres.
Epigenomes. 2022

4. Концы ДНК состоят из повторов, называемых теломерами. TTAGGG повторы у животных (не всех)

- У всех ли такие
- Сколько повторов ~10 kb [[16](#)] in humans Robinson
- Что происходит, когда повторы съедаются из-за множественной репликации клеток.
“telomere length becomes critically short (longest telomere <12.8 repeats in length [[53](#)]; so-called telomere crisis), which induces genome instability”
Robinson
- А можно ли продлить жизнь потомков клеток?

5. Белок TERT умеет достраивать теломеры



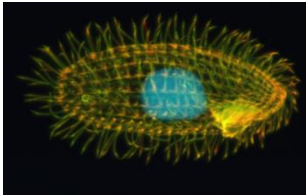
Ерунда

Holesova et al.
Telomere Length Changes in Cancer: Insights on Carcinogenesis
and Potential for Non-Invasive Diagnostic Strategies.
Genes (Basel), 2023.
Займствовано из Robinson NJ, Schieman WP БЕЗ ССЫЛКИ?

Robinson NJ, Schieman WP.
Telomerase in Cancer: Function, Regulation, and Clinical Translation.
Cancers (Basel). 2022

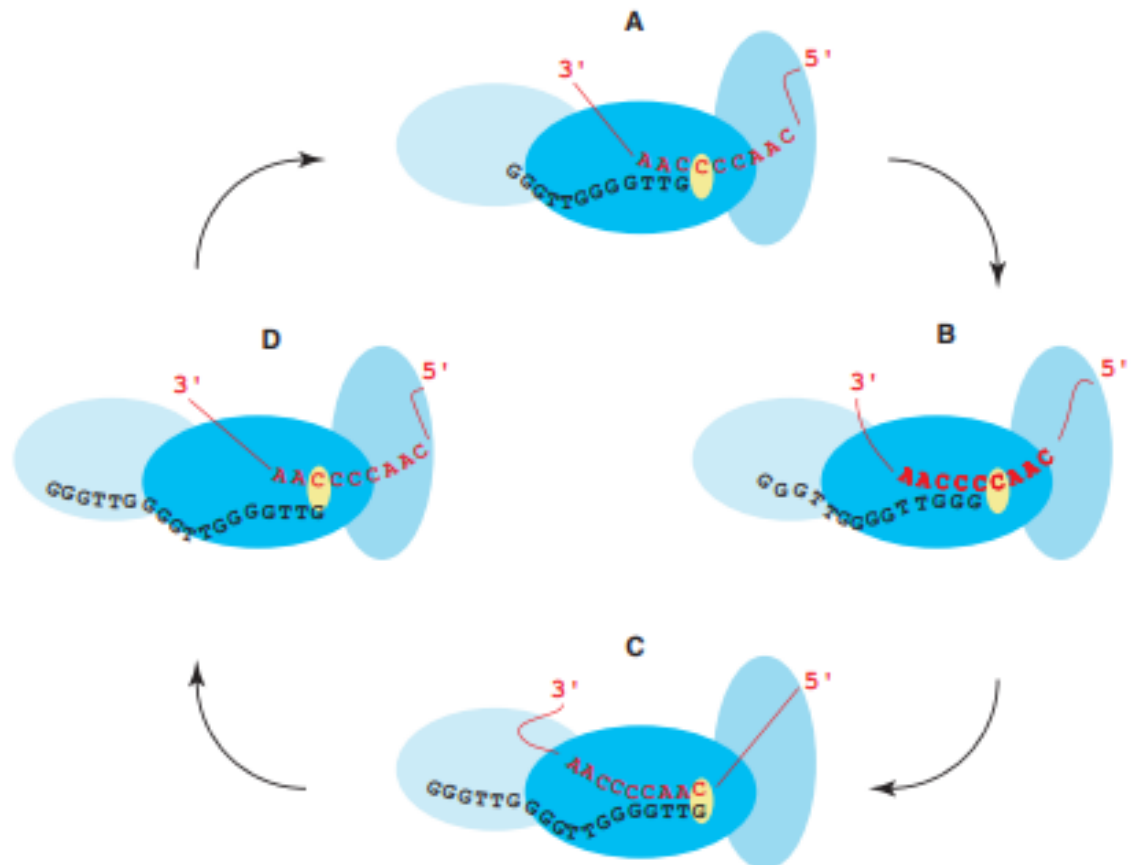
Предыдущий рисунок неправильный.

Правильно так, как показано экспериментально для инфузорий!!!



Tetrahymena thermophila — вид инфузорий

		alig	47	45	43	
		AACCCCAAC				— template
Primer	A	TG ₈	TTGGGGTT			
	B	TG ₈	TTGGGGTTG			
	C	TG ₈	TTGG			
	D	TG ₈	TTGGG			
	E	TG ₈	TTGGGG			
	F	TG ₈	TTGGGGT			
						Cy3 labeling site



Berman et al., The RNA accordion model for template positioning by telomerase RNA during telomeric DNA synthesis Nat Struct Mol Biol. 2011

Blackburn EH, Collins K.
Telomerase: an RNP enzyme synthesizes DNA.
Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011

Восстановление и рост числа теломер возможен. Это делается ферментом теломераза (TERT, у человека hTERT). Значит, возрастает число делений родительской клетки и её потомков. Значит, рост и продолжительности жизни ТКАНИ.

1. Рост ткани зависит от активности TERT.
2. Ввиду важности этого процесса **экспрессия TERT находится под жестким контролем регуляторных белков**

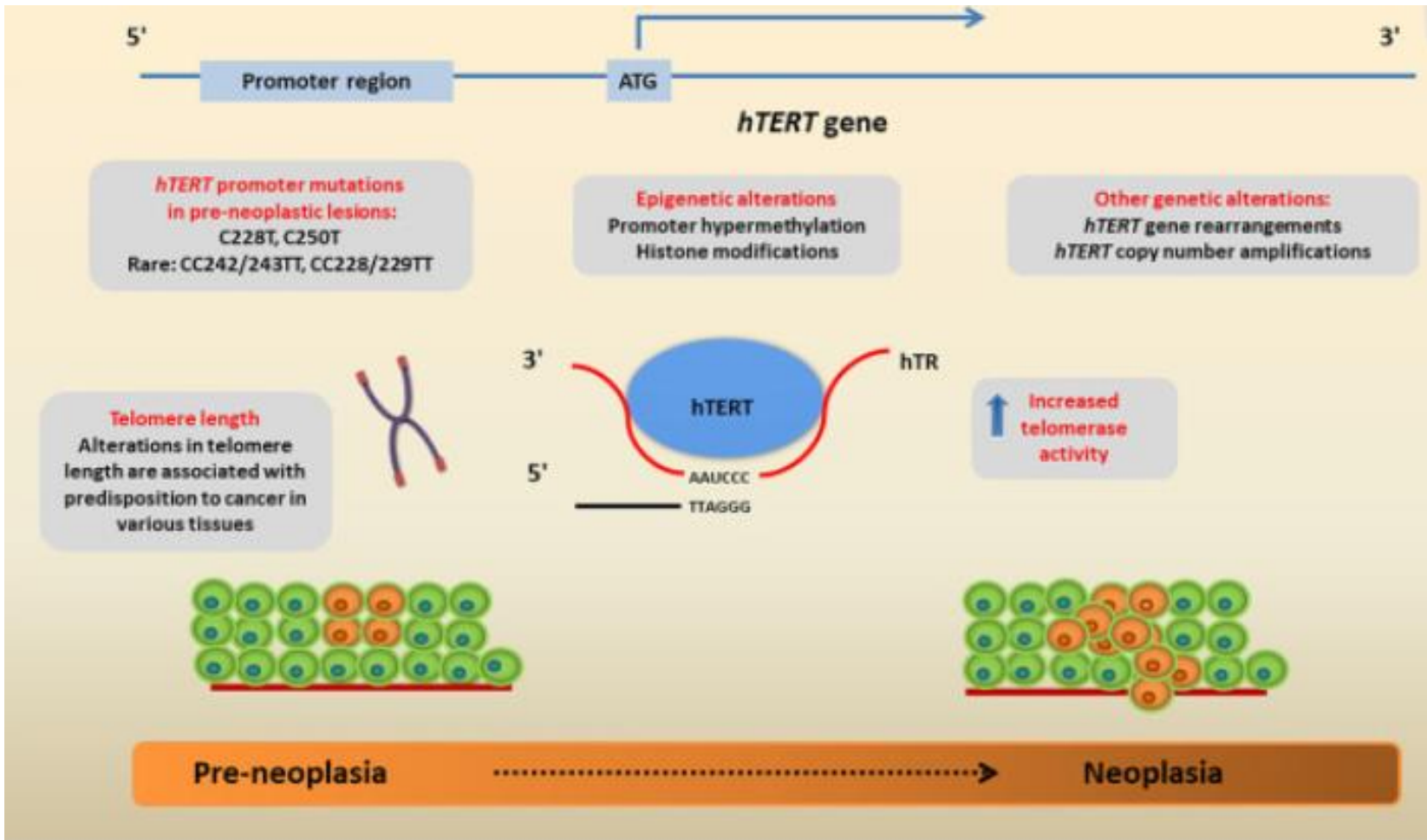
5. Белок hTERT – теломераза, обратная транскриптаза

- Кто расшифрует сокращение hTERT?
- Транскрипция – что такое?
- Обратная транскрипция – догадались :)
- Зачем обратная транскрипция нужна? Есть у
 - вирусов (например, HIV) - встроить свою РНК в ДНК хозяина – человека
 - бактерий (например, ...) - защита от вирусов бактерий = бактериофагов = фагов **ТА**
 - человека и родственников (hTERT) – далее обсудим
 - человека и родственников (...)

5. Сколько живут клетки в разных тканях?

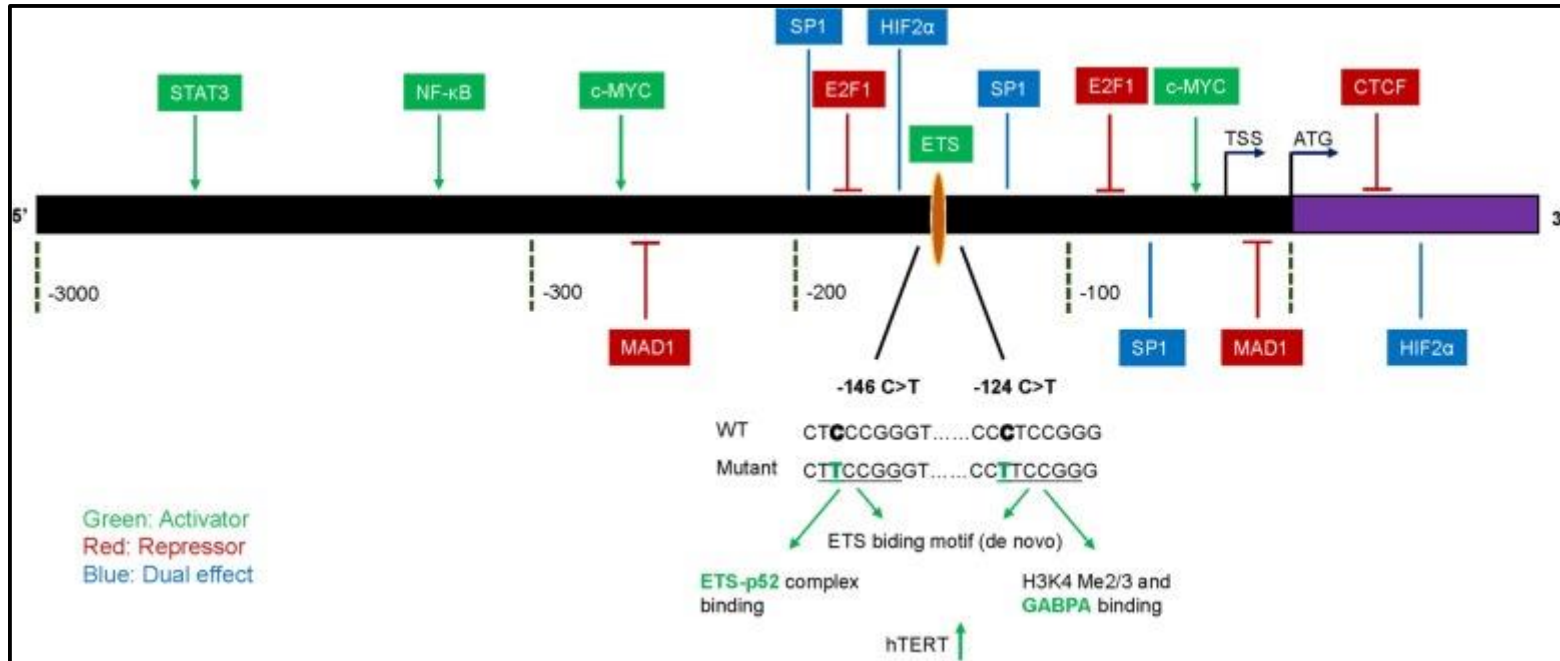
- **Неограниченное деление**
Догадались какие клетки?

6. Промотор hTERT



Karaviti et al.,
 An overview of the role of telomeres and telomerase in pre-neoplastic lesions
 (Review).
 Mol Clin Oncol. 2023

6. Регуляция hTERT



Jie MM, Chang X, Zeng S, Liu C, Liao GB, Wu YR, Liu CH, Hu CJ, Yang SM, Li XZ. Diverse regulatory manners of human telomerase reverse transcriptase. *Cell Commun Signal*. 2019 Jun 11;17(1):63. doi: 10.1186/s12964-019-0372-0. PMID: 31186051; PMCID: PMC6560729.

Особые формы ДНК могут
влиять на транскрипцию.

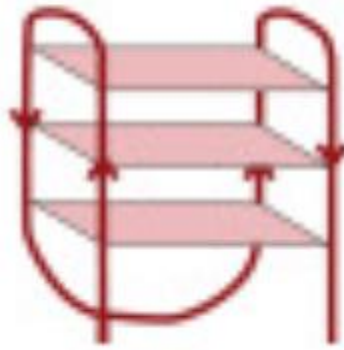
G-квадруплексы могут регулировать транскрипцию hTERT

7. G-квадруплекс

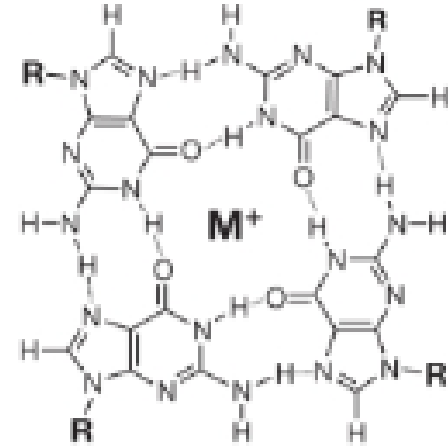
G-Quadruplex



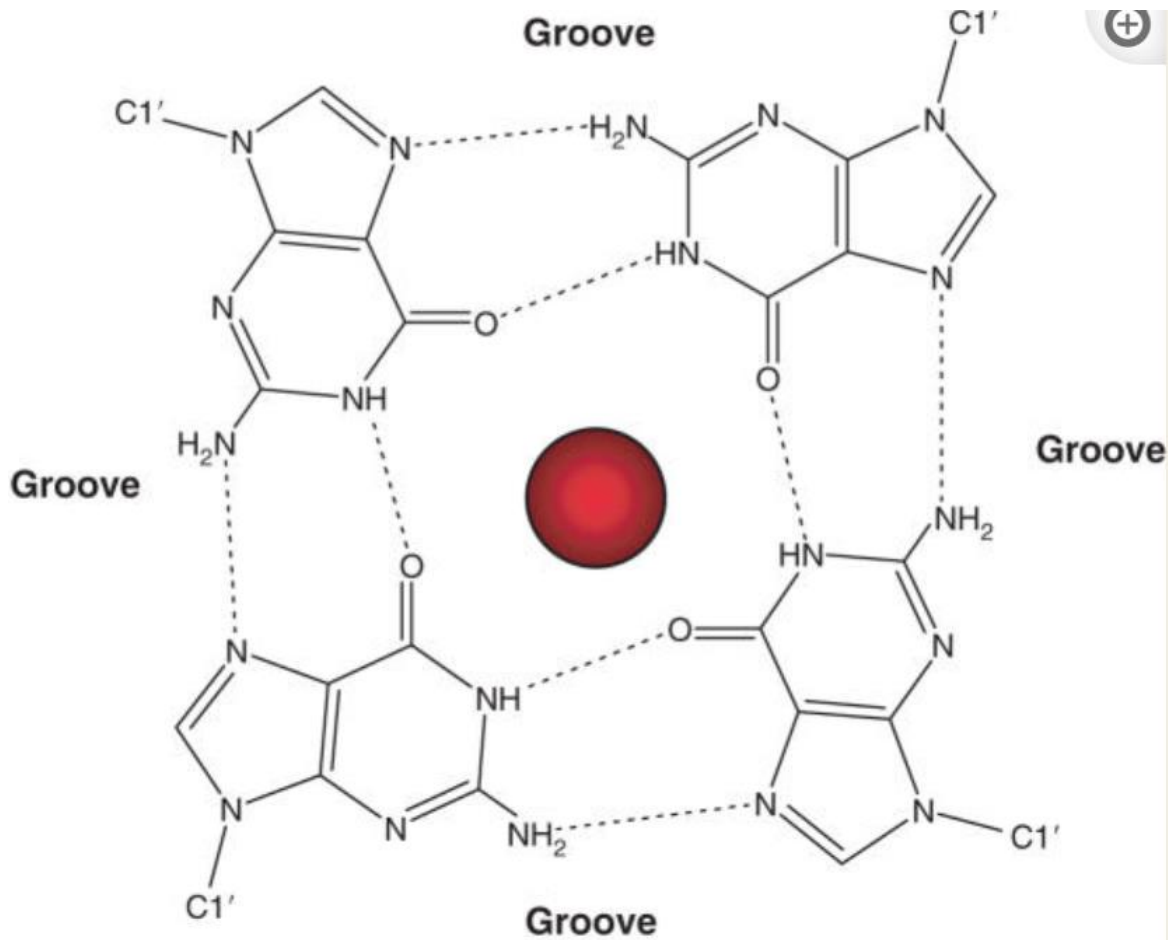
parallel



anti-parallel

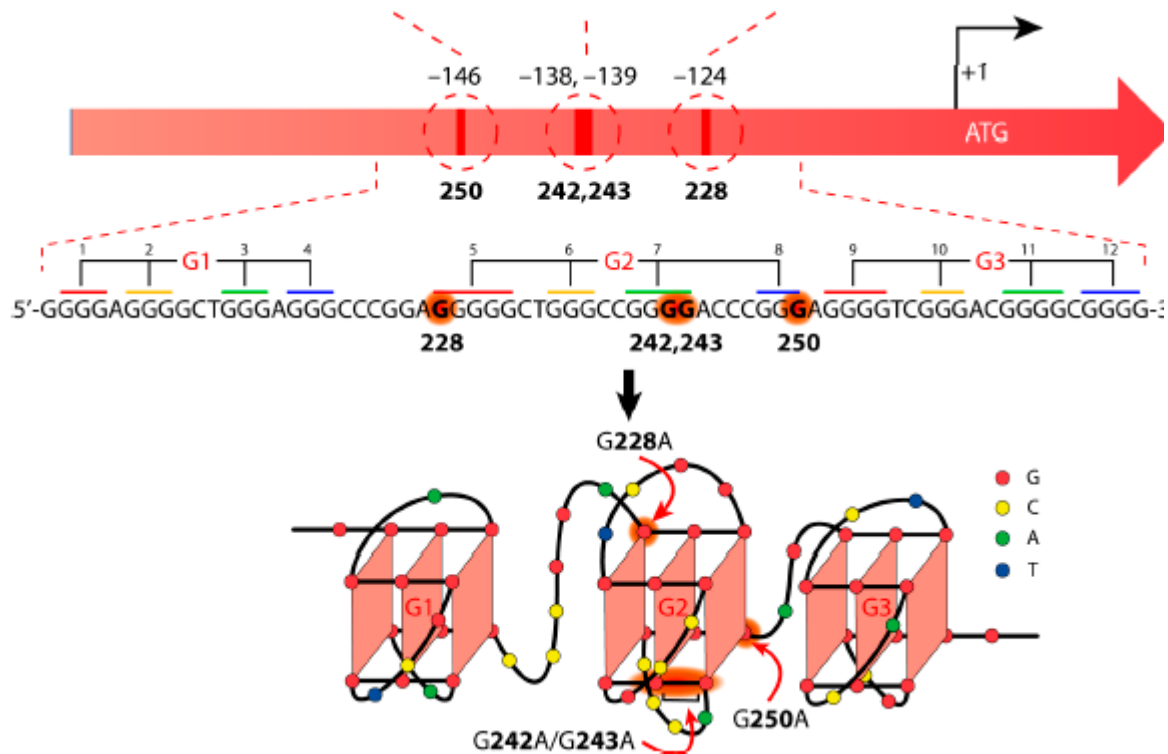


Есть проблема: что с комплементарной цепочкой?

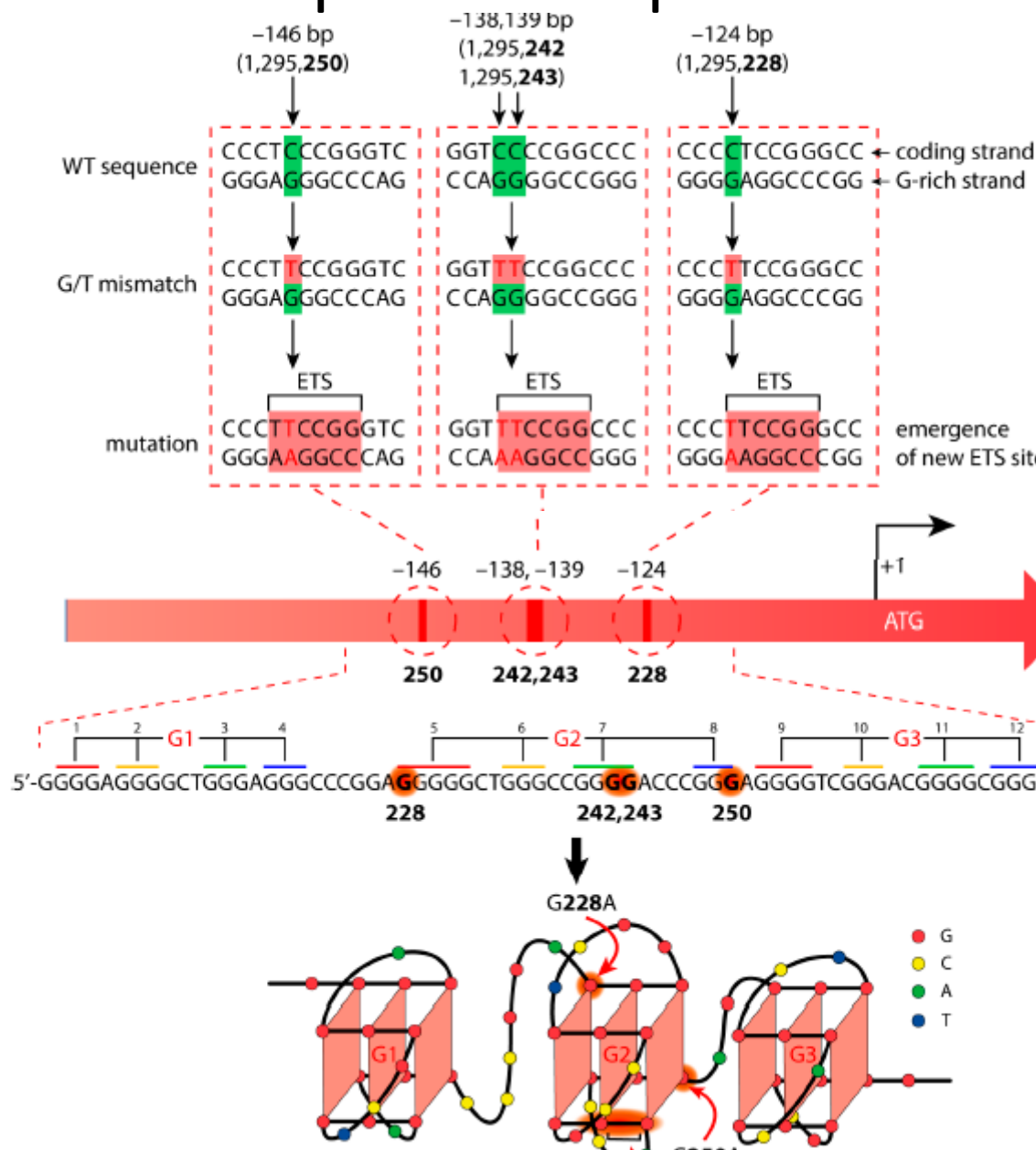


Burge S, Parkinson GN, Hazel P, Todd AK, Neidle S. Quadruplex DNA: sequence, topology and structure. *Nucleic Acids Res.* 2006

8. G-квадруплексы в промоторе h-TERT



G-квадруплексы в промоторе h-TERT



Словарик

- ds DNA, ssDNA
- Транскрипция
- Обратная транскрипция
- Экспрессия гена
- Полимераза может присоединить нуклеотид только к 3' концу ДНК
- Одноцепочечная ДНК (ssDNA) не может долго существовать в клетке БЕЗ ЗАЩИТЫ!
- Консервативное в эволюции => важное.

Задание не обязательное

1. Напишите мне (aba@belozersky.msu.ru) письмо с соображениями по лекции, предложениями что делать дальше по теме, вопросами

Требование одно – чтобы в письме была одна мысль! Пустые письма не оцениваю.

Конец презентации

Начало вашей работы, в том числе, в биоинформатике.

Успехов!