

АННОТАЦИЯ ПО ПРОЕКТУ

Государственный контракт № 14.740.11.0166 от «15» сентября 2010 г.

Тема: «Изучение механизмов устойчивости развития в морфогенетическом поле детерминации сегментов»

Исполнитель: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный политехнический университет»

Ключевые слова: системная биология, морфогенез, дрозофила

1. Цель проекта

1. Целью данного проекта является изучение молекулярных механизмов, обеспечивающих устойчивое формирование пространственного паттерна (картины) дифференцировки клеток в морфогенетических полях. В качестве модели исследования выбран хорошо изученный на молекулярно-генетическом уровне процесс формирования парасегментов у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*.

2. Выполнение НИР должно обеспечивать достижение научных результатов мирового уровня, подготовку и закрепление в сфере науки и образования научных и научно-педагогических кадров, формирование эффективных и жизнеспособных научных коллективов.

2. Основные результаты проекта (этапа проекта)

Получены *новые* количественные данные по экспрессии генов сегментации у эмбрионов, гомозиготных по мутациям в этих генах, данные по динамике образования мембран в эмбрионе и их влиянию на процессы диффузии регуляторных белков в ядре, а также данные по экспрессии микроРНК в бластодерме и влиянию микроРНК на экспрессию генов сегментации.

Анализ этих данных показал, что (1) у эмбрионов, мутантных по генам сегментации, динамические сдвиги постериорных областей и уменьшение уровней экспрессии генов сегментации в ходе цикла 14A в некоторых случаях значительно превосходят таковые у дикого типа; (2) мутации по генам сегментации влияют на точность формирования сегментного препаттерна, причем влияние мутации на увеличение вариабельности позиционирования области экспрессии зависит от положения этой области; (3) характер экспрессии генов сегментации и уровней вариабельности положения областей экспрессии этих генов у гетерозигот по мутациям в ранние времена сходен с таковым у нуль-мутантов, а в поздние приобретает черты дикого типа; (4) продемонстрирована возможность редактирования микроРНК, являющихся потенциальными регуляторами экспрессии генов сегментации.

Разработаны *новые* методы и программные комплексы: (1) для решения обратной задачи математического моделирования в нечеткой многокритериальной постановке задачи оптимизации; (2) для обнаружения случаев редактирования молекул РНК в данных, полученных с помощью методов секвенирования следующего поколения; (3) для анализа идентифицируемости параметров математических моделей.

Проведена модификация математических моделей, использованных для описания динамики процесса сегментации в предыдущих публикациях (Jaeger et al., 2004a, b), путем более корректного описания механизмов регуляции экспрессии генов на уровне транскрипции и процессов транспорта вещества в клетке. Для описания транспорта вещества в биологических средах предложены и обоснованы *новые модели* на основе следующих уравнений: телеграфного уравнения с реакцией и деградацией и уравнения (третьего порядка) типа Джеффриса с реакцией и деградацией. Телеграфное уравнение обобщает классическое уравнение диффузии с реакцией и деградацией, учитывая массу частиц вещества (молекул), и приводит к конечной скорости распространения вещества.

Уравнение типа Джеффриса обобщает в свою очередь телеграфное уравнение, учитывая нелокальность взаимодействия как во времени так и в пространстве. До сих пор такие уравнения, причем без источников (реакции) и поглощения (деградации) применялись лишь для описания теплообмена. Для описания транспорта вещества эти уравнения применяются впервые.

С использованием *новых модифицированных* моделей впервые выполнены реконструкция сети генов *gap* у эмбрионов мутантных по гену *Kr*, а также реконструкция сети генов *pair-rule* у эмбрионов дикого типа. Динамика экспрессии генов *gap* у гомозиготных мутантов по этим генам долгое время оставалась недоступной для моделирования. Мы показали, что прошлые неудачи в описании фенотипов мутантов были связаны с весьма упрощенным математическим описанием регуляции транскрипции и процессов транспорта вещества в модели. Полученное нами *новое* описание динамики экспрессии генов *gap* в гомозиготных мутантах по гену *Kr* является важным достижением. *Впервые* выявлены динамические механизмы, отвечающие за характеристические изменения картин экспрессии в мутантах *Kr*.

По результатам работы опубликовано 17 статей в высокорейтинговых зарубежных и российских журналах и 3 учебных пособия, 16 исполнителей НИР участвовали в этих публикациях. Сделано 39 докладов на Всероссийских и международных конференциях. Получено 2 авторских свидетельства на результаты интеллектуальной деятельности, защищена 1 докторская диссертация (Л.А.Мамон), 2 кандидатских диссертации, 1 кандидатская диссертация представлена к защите (К.Н.Козлов) и 1 кандидатская диссертация подготовлена (С.Ю.Суркова).

Результаты НИР внедрены в образовательный процесс СПбГПУ на кафедре прикладной математики путем модификации двух магистерских программ “Математическое моделирование” и “Системное программирование” и создания *новой* магистерской программы “Биоинформатика” по которой начата подготовка магистров с 01.09.2012.

Таким образом, исследования в рамках госконтракта выполнены на высоком научно-техническом уровне и соответствуют по своему уровню лучшим достижениям в области биологии развития и генетики, а характеристика выполненных работ полностью соответствует требованиям технического задания.

3. Назначение и область применения результатов проекта (этапа проекта)

Результаты проекта могут быть использованы для уточнения существующих представлений о ряде фундаментальных биологических процессов и механизмов, таких как принципы функционирования сетей генов и механизмы эмбрионального развития. Новые данные по вариативности экспрессии генов сегментации у мутантов, могут быть использованы биологами, как экспериментаторами, так и теоретиками, для исследования механизмов устойчивого формирования паттерна дифференцировки клеток в морфогенетических полях. Новый программный комплекс для обнаружения случаев редактирования молекул РНК может быть использован биологами для исследования механизмов регуляции экспрессии генов, а также в биомедицине для обнаружения случаев редактирования РНК в секвенированных данных. Новый метод решения обратной задачи с использованием критерия ШАОС универсален и может быть применен как в системной биологии, так и в технике для решения других задач.

Разработанные методы и модели, а также новые экспериментальные данные, являются важным результатом для совершенствования современного высшего образования в молекулярной биологии и генетике, математической биологии и прикладной математике.

В НОЦ впервые в Санкт-Петербурге начата и проводится подготовка бакалавров (В.Р.Гинанова), магистров (А.О.Никулина, М.А.Мережко, И.А.Гула, Д.И.Тодоров, В.В.Курц, М.А.Дук), и кандидатов наук (К.Н. Козлов, С.Ю.Суркова, В.Т.Бенкевич, А.Ю.Серов, С.В.Березин, И.А.Гула, Д.И.Тодоров, В.В.Курц, М.А.Дук, А.О.Никулина) по

системной биологии (математической биологии систем). Обучение нацелено на подготовку магистров, способных формулировать и решать широкий круг задач, возникающих в различных областях молекулярной биологии и медицины, разрабатывая и применяя для этого современное математическое и программное обеспечение компьютерных систем. Такие специалисты в настоящее время широко востребованы в академических и научно-исследовательских организациях других форм собственности, связанных с решением научных и прикладных задач в области молекулярной биологии, биотехнологии, медицины и фармакологии, а также учреждениях системы высшего образования.

На основе полученных РИД создана база данных FlyEx, хранящая данные, исключительно востребованные мировым сообществом, которое использует их как в теоретических исследованиях, так и для изучения механизмов сегментации, (ссылки на публикации, использующие данные FlyEx см. в <http://urchin.spbcas.ru/flyex/refs.jsp>). В 2009 году общее количество обращений к FlyEx составило более 22 миллионов. Другим продуктом является библиотека программ DEEP, которая в дальнейшем будет включена в состав инструментального комплекса для решения обратной задачи математического моделирования с применением технологий многоагентных систем и параллельных вычислений в облачной среде. Коммерциализация проектом не предусмотрена.

4. Достижения молодых исследователей – участников Проекта (этапа проекта)

Молодой специалист К.Н.Козлов (ст.н.с) показал, что неспособность предыдущих моделей правильно предсказывать экспрессию генов *gap* у мутантов кроется в недостаточно детальном и корректном описании молекулярных механизмов, ответственных за экспрессию этих генов. Этот новый результат позволил успешно выполнить моделирование экспрессии генов *gap* у мутантов по гену *Kr*. Работа К.Н.Козлова отмечена дипломом победителя конкурса грантов Санкт–Петербурга для студентов, аспирантов, молодых ученых и молодых кандидатов наук в 2010 году, представлена на многочисленных конференциях и оформлена как кандидатская диссертация «Реконструкция регуляторной сети генов сегментации в эмбрионе дрозофилы по экспериментальным данным – изображениям картин активности генов» (диссертация принята к защите в диссертационном совете Д 003.011.01 3.10.2012 г.).

Аспирант С.В.Березин разработал новую программу для предсказания случаев редактирования микроРНК и применил ее для предсказания таких случаев в бластодерме дрозофилы. Эта программа универсальна, что делает возможным ее использование для предсказания случаев редактирования микроРНК у человека.

Студентка М.А.Дук окончила СПбГПУ и защитила магистерскую диссертацию с отличием (красный диплом), она разработала модель функционирования регуляторных контуров с участием микроРНК и получила точные аналитические решения для уравнений этой модели, что позволило впервые корректно описать динамическую роль микроРНК в регуляции экспрессии генов на ранних этапах регуляции. Эта работа была доложена М.А.Дук на 2–х международных конференциях: Days on Diffraction- 2012, Annual Intern. conf., St.Petersburg, Russia, 28/05-1/06/2012 и 2012 International German/Russian Workshop on Integrative Biological Pathway Analysis and Simulation (IB-PAS 2012), 18-19 June 2012, Bielefeld, Germany).

Аспирант И.А.Гула разработал новую модель экспрессии генов *gap* на базе телеграфного уравнения, которая более корректно описывает процессы транспорта веществ в бластодерме дрозофилы и дает лучшее согласие с экспериментальными данными. Этот результат был представлен автором на международном симпозиуме «Systems biology and medicine», St.Petersburg – Tsarskoe Selo, 11-14/09/2012, а также на международной летней школе по биоинформатике 2012 International German/Russian Summer School on Integrative Biological Pathway Analysis and Simulation (IB-PAS 2012), 20-21 June 2012, Bielefeld, Germany.

Аспирантка А.О.Никулина и студентка В.Р.Гинанова непосредственно участвовали в получении уникальных данных по экспрессии генов сегментации у мутантов. Результаты анализа этих данных проливают свет на проблему взаимосвязи изменчивости и устойчивости биологических систем, находящуюся в центре биологических исследований в последнее десятилетие. Существуют две точки зрения на механизм, обеспечивающий устойчивость развития биологической системы. Одна точка зрения состоит в том, что устойчивость это результат работы специальных генов, другая – что устойчивость возникает в результате взаимодействий компонент системы как новое, эмергентное свойство. Данные, полученные А.О.Никулиной и В.П. Гинановой свидетельствуют в пользу справедливости второй точки зрения. Работа А.О. Никулиной отмечена дипломом победителя конкурса грантов Санкт–Петербурга для студентов, аспирантов, молодых ученых и молодых кандидатов наук в 2010 году, докладывалась на российских и международных конференциях, награждена дипломом за лучший доклад, победила на конкурсе магистерских диссертаций Санкт–Петербургского общества естествоиспытателей. А.О.Никулина – именной стипендиат этого общества (награждена именной стипендией Т.Ф.Андреевой за вклад в разработку проблем молекулярной биологии развития). Выступление В.Р.Гинановой на российской конференции также отмечено дипломом второй степени.

5. Опыт закрепления молодых исследователей – участников Проекта (этапа проекта) в области науки, образования и высоких технологий .

Обучение молодых исследователей в НОЦ происходит по схеме студент → аспирант → научный сотрудник, причем на каждом этапе этой «лестницы» молодой специалист работает под руководством доцента или профессора. Д.И.Тодоров, И.А.Гула, В.В.Курц, А.О.Никулина и М.А.Дук начинали работать в НОЦ в качестве студентов. За истекший период они успешно подготовили и защитили магистерские диссертации и поступили в аспирантуру (Д.И.Тодоров, И.А.Гула, В.В.Курц, А.О.Никулина) или стали стажерами–исследователями (М.А.Дук). К.Н.Козлов, будучи соискателем, подготовил кандидатскую диссертацию и в настоящее время работает в СПбГПУ в должности старшего научного сотрудника. В.Р. Гинанова будет защищать магистерскую диссертацию в 2013 году, однако уже сейчас она работает в должности лаборанта–исследователя ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России. Опыт еженедельного личного общения учителя и ученика оказался продуктивным и успешным, что позволило открыть на кафедре прикладной математики СПбГПУ новую магистерскую программу «Биоинформатика», прием на которую в 2012 году осуществлялся по конкурсу.

6. Перспективы развития исследований.

Сотрудники НОЦ участвуют в проекте 7 рамочной программы HEALTH-F5-2010-260429 "New Algorithms for Host Pathogen Systems Biology" (SysPatho), задача которого заключается в исследовании методами системной биологии механизмов инфицирования вирусом гепатита С клеток человека и в поиске эффективных лекарств для противодействия этой инфекции. Партнерами в этом проекте являются 10 организаций из Германии, Франции, Турции и Израиля и России (см. Официальный сайт проекта <http://syspatho.eu>). Помимо этого сотрудники НОЦ участвуют в грантах РФФИ 11-01-00573-а "Математическое моделирование механизмов переноса вещества в биологических системах» (2011 -2013 гг.), 11-04-01162-а "Механизм формирования сегментного препаттерна у плодовой мушки дрозофилы» (2011 -2013 гг.) и 10-01-00627-а "Математические модели регуляции экспрессии генов, контролирующей морфогенез" (2010 -2012 гг.), а также выполняют научно-исследовательскую работу по Госконтракту №11.519.11.6041 в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы» по лоту шифр «2012-1.9-11-519-0017» «Выполнение работ по проведению проблемно-ориентированных поисковых исследований и созданию научно-технического задела в научно-технической кооперации с реализуемыми проектами 7

Рамочной Программы ЕС по направлению исследований в области здравоохранения» по теме: «Изучение механизмов функционирования репликаона вируса гепатита С в клетке хозяина методами системной биологии» (2012 -2013 гг.).

7. Сведения в табличном формате:

<i>Сведения о результатах интеллектуальной деятельности, полученных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)</i>	<i>Приложение 1 к аннотации</i>
<i>Сведения о публикациях, выпущенных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)</i>	<i>Приложение 2 к аннотации</i>
<i>Сведения о диссертациях, подготовленных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)</i>	<i>Приложение 3 к аннотации</i>
<i>Сведения о выступлениях на конференциях, проведенных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)</i>	<i>Приложение 4 к аннотации</i>
<i>Сведения о внедрении результатов проекта в образовательный процесс, полученных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)</i>	<i>Приложение 5 к аннотации</i>
<i>Сведения об исполнителях Государственного контракта (этапа проекта)</i>	<i>Приложение 6 к аннотации</i>

Руководитель работ по проекту

академик РАН, профессор

_____ С.Г.Инге-Вечтомов

Руководитель организации-исполнителя:

Ректор ФГБОУ ВПО «СПбГПУ»

_____ А.И.Рудской

_____ 20__ г.

М.П.