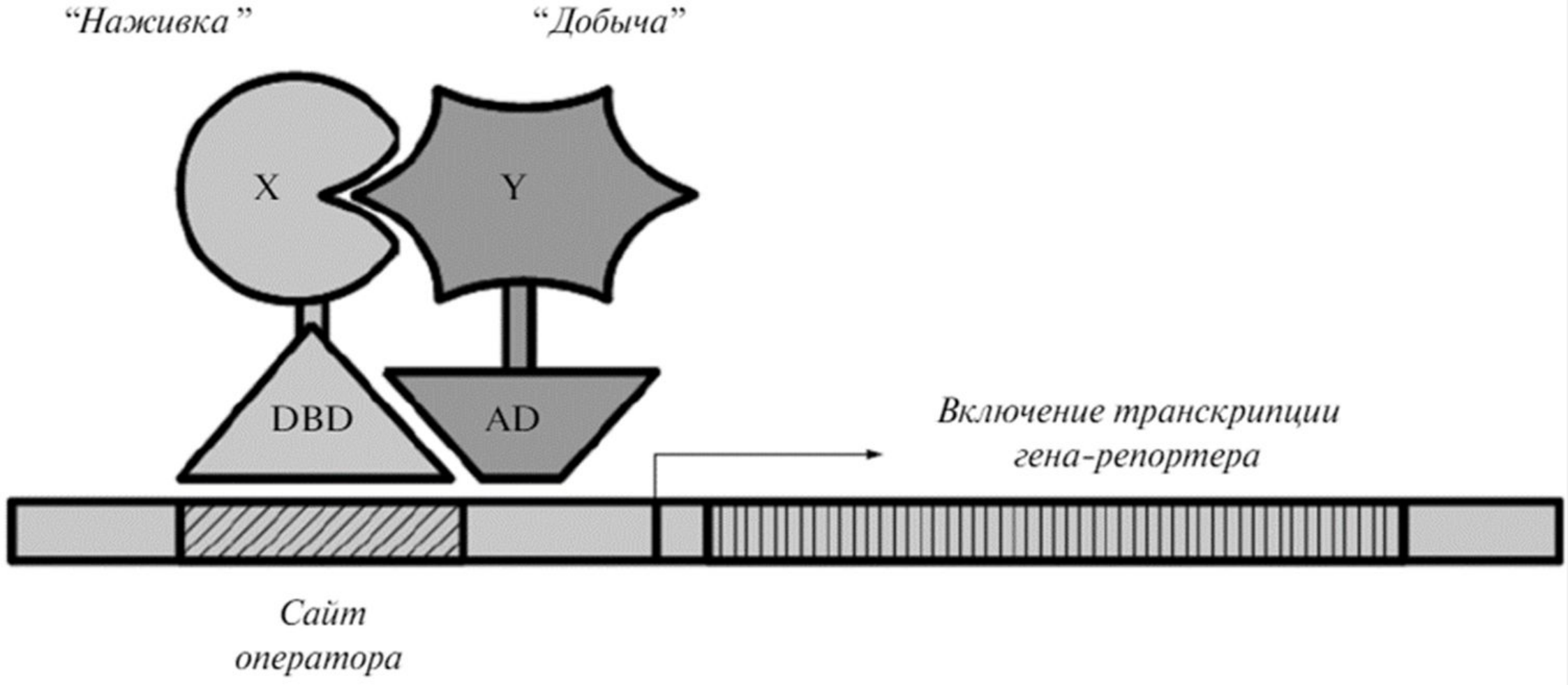
ТЕХНОЛОГИИ БЕЛКОВОЙ ИНТЕРАКТОМИКИ

Геномные подходы

Апяравичюте Дария
Альвидовна гр 3.4.11а

1.ДРОЖЖЕВАЯ ДВУГИБРИДНАЯ СИСТЕМА (YEAST TWO HYBRID SYSTEM)

- Основной подход
- Основана на том, что активация экспрессии отдельных генов осуществляется транскрипционными факторами эукариот, обладающими двумя пространственно разделенными функциональными доменами: ДНК-связывающим и активирующим.
- Только при физическом присоединении друг к другу двух рекомбинантных белков, один из которых «слит» с ДНК-связывающим доменом («приманка»), а другой — с активирующим доменом («добыча») воссоздается функциональный транскрипционный фактор, который в свою очередь активирует экспрессию репортерных генов.

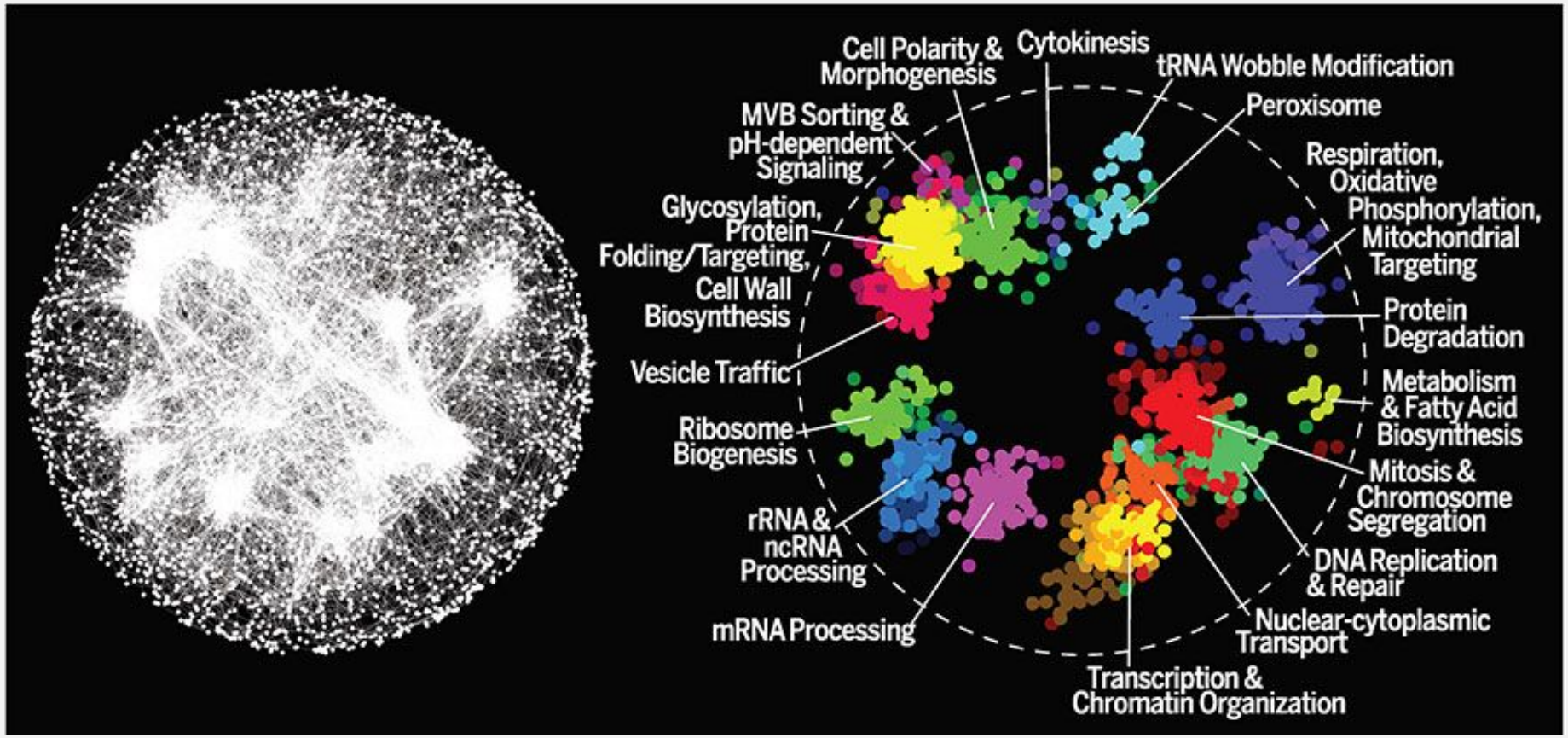

“Наживка”
“Добыча”
X
Y
DBD
AD
Включение транскрипции
гена-репортера
Сайт
оператора

- Причины ложно –
- 1) «неправильные» конструкции белков слияния;
- 2) по сравнению со свободными белками-партнерами, экспрессия и фолдинг белков слияния происходят иначе;
- 3) возникновение мутаций при выполнении ПЦР при амплификации дрожжевых ORFs;
- 4) использование объединенных образцов, содержащих смеси белков-слияния

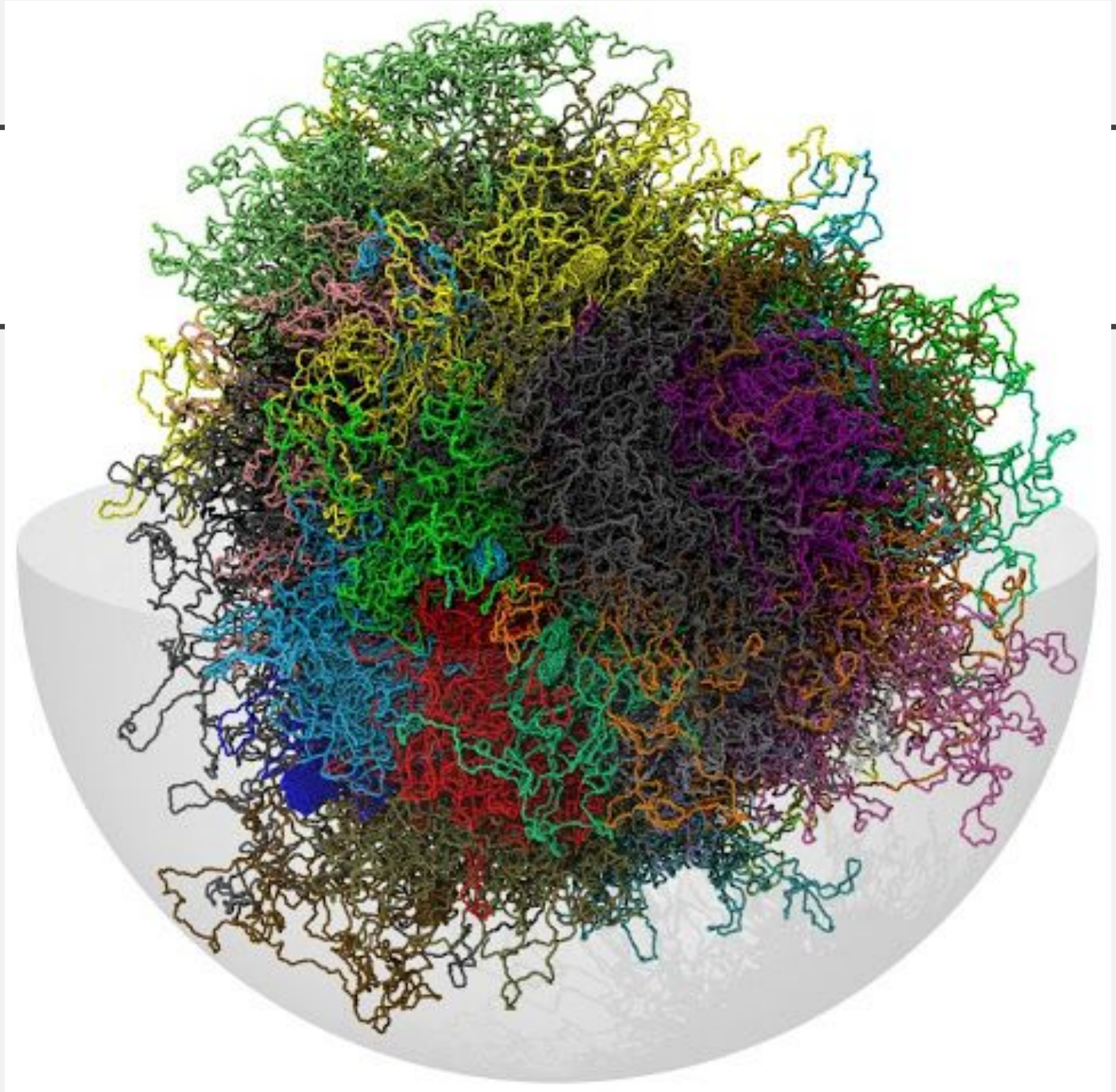
- Ложно +
- 1) экспериментальные ошибки (плохая воспроизводимость анализа из-за чрезмерной экспрессии белка наживки; регистрация не специфических взаимодействий белков слияния как позитивный результат);
- 2) биологическое несоответствие (ряд ББВ не являются биологически значимыми)

2.СИНТЕТИЧЕСКИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАТРИЦЫ (SYNTHETIC GENETIC ARRAY (SGA) ANALYSIS)

- Это геномный подход к широкомасштабному анализу генетических взаимосвязей путем систематического конструирования двойных мутантов.
- среди примерно 6200 генов более 80% не являются жизненно важными
- В плане анализа ББВ с помощью данной технологии, предполагается, что полученные позитивные результаты анализа функциональной взаимосвязи генов (белков) частично обусловлены нарушением прямых ББВ.



- ученые проанализировали совместную работу почти всех из 6200 генов дрожжей, для чего за 15 лет работы им пришлось создать более 23 миллионов двойных мутантов.
- удалось выявить около миллиона генетических взаимодействий, охватывающих до 90 процентов всего дрожжевого генома.



3.КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ мРНК (CORRELATED MRNA EXPRESSION PROFILE)

- Основан на анализе корреляций транскриптомных и интерактомных данных.
- гены со сходными профилями экспрессии чаще кодируют взаимодействующие белки.
- анализ корреляции транскриптомных и интерактомных данных может быть использован для улучшения качества гипотез, основанных на информации от обоих подходов.

Спасибо за внимание!