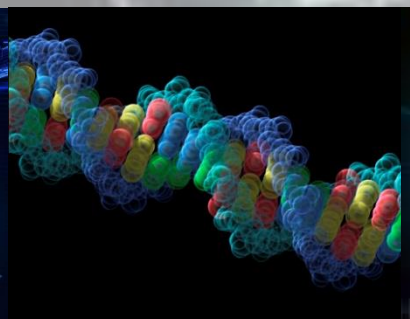
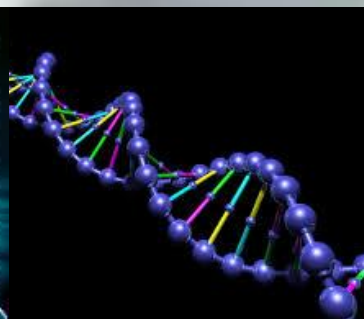
TEORIA WĘZŁÓW ZASTOSOWANIE W BIOTECHNOLOGII

MAGDA BILUT
GR. 10B2



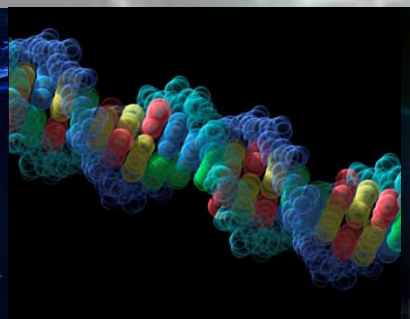


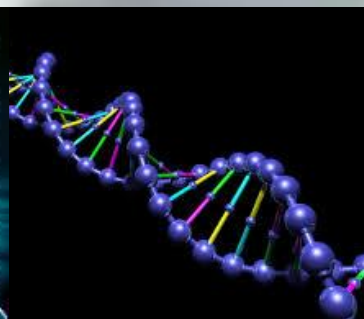
Teoria węzłów nie ma stałego miejsca w programie studiów. Stanowi raczej pewien przerywnik między poważniejszymi kawałkami matematyki, niż niezbędną cegiełkę w wykształceniu matematyka czy biologa.

Nie jest jednak kompletnie pozbawiona znaczenia!

Poprzez swoje związki z topologią trójwymiarowych rozmaitości plasuje się w bezpośredniej bliskości frontu badań.

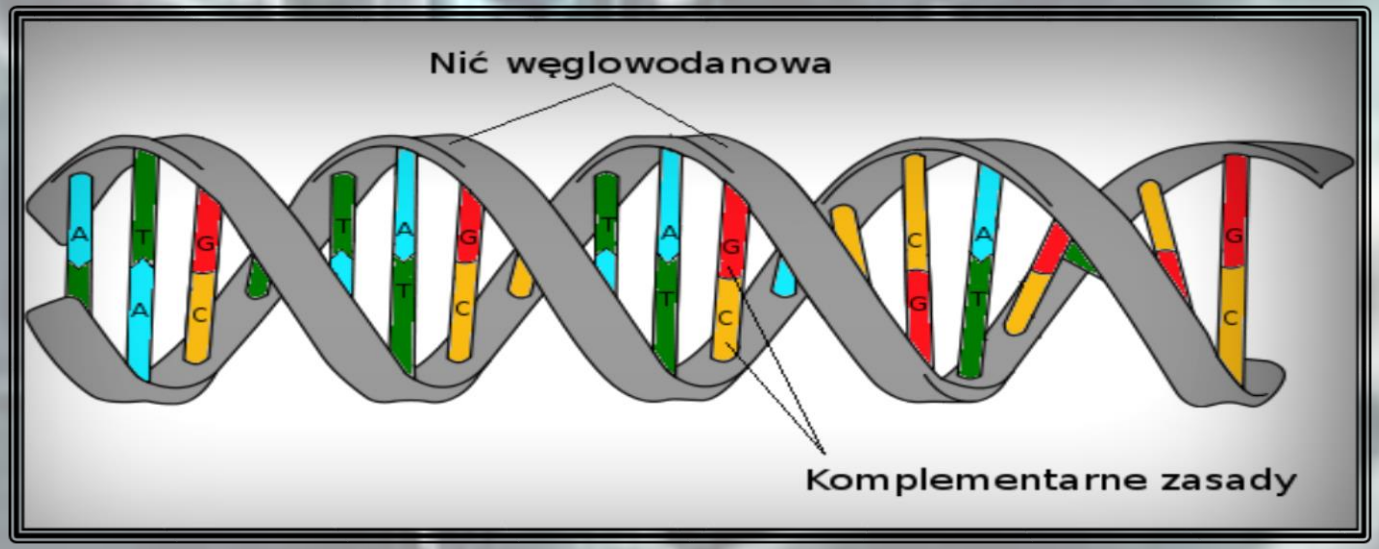
Ma nieoczekiwane zastosowania pozamatematyczne, choćby w **biologii molekularnej**; z uwagi na namacalny wręcz przedmiot badań może budzić zainteresowanie laika.

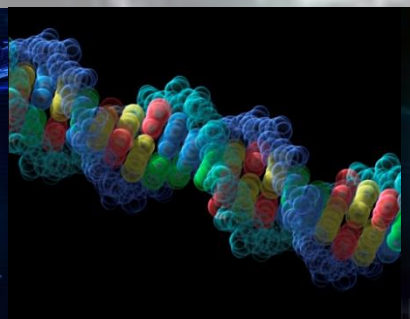


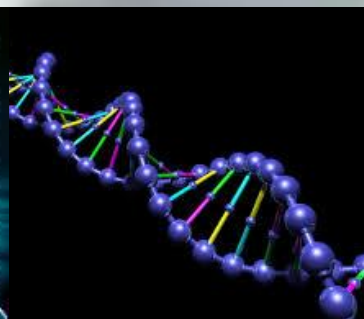


Topologia węzłów pozwala zrozumieć, w jaki sposób dwie nici helisy cząsteczki DNA rozplątują się, gdy plan genetyczny steruje rozwojem żywej istoty.

Helisa DNA przypomina sznurek skręcony z dwóch nici owijających się wielokrotnie wokół siebie.







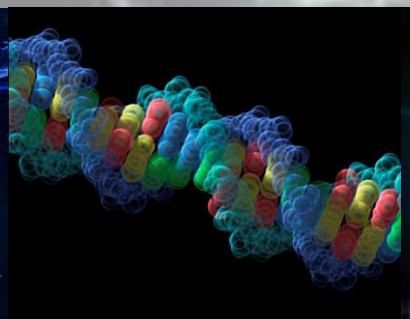
„Gdy komórka dzieli się, informacja genetyczna zostaje przekazana do nowej komórki w wyniku rozdzielenia nici, skopiowania ich i połączenia w pary starych nici z nowymi. Aktualne techniki badania węzłów umożliwiają wykorzystanie najnowszych metod badawczych w genetyce molekularnej. Topologia węzłów przestała już być tylko zajęciem matematyków, teoretyków, i zaczyna teraz odgrywać ważną, praktyczną rolę w biologii.„

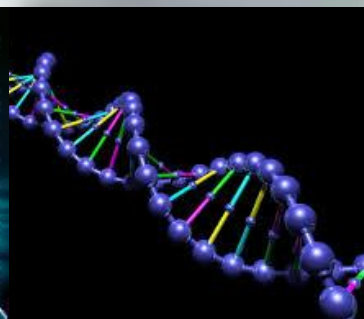
Ian Stewart

SUPŁY WYMIERNE

Supły wymierne ze względu na swą prostotę opisu (a także klasyfikacji) chętnie są wykorzystywane do modelowania różnych sytuacji w matematyce i w innych dziedzinach.

W teorii węzłów są ściśle związane z tak zwanymi węzłami z dwoma mostami, a w **biologii molekularnej** służą do opisu pewnych ważnych zjawisk dotyczących mechanizmów rekombinacji DNA.

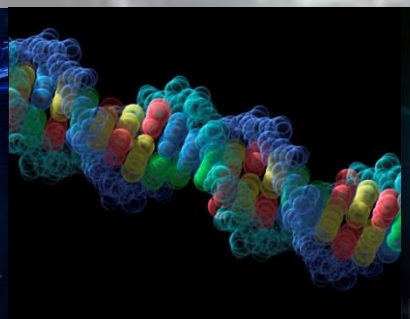


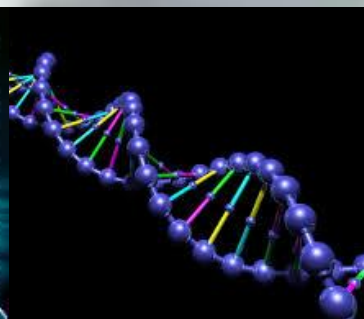


PODSTAWOWE INFORMACJE O DNA

DNA wyobrażamy sobie podobnie, jak rysunki poniżej. W rzeczywistości podwójna helisa DNA zbudowana jest z dwóch długich krzywych które przeplatają się **miliony razy**.

Nici DNA są szerokie jedynie na kilka molekuł, jednak długie na kilka centymetrów, które są ciasno skręcone w zwój i upakowane w każdej komórce naszego ciała



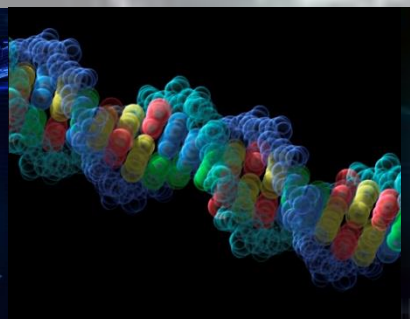


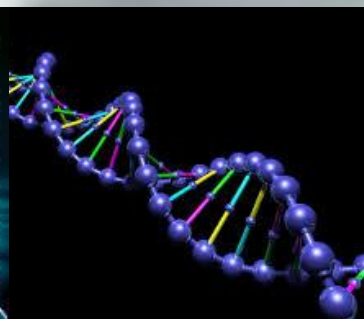
BUDOWA DNA

DNA stanowi nośnik informacji genetycznej organizmów, przekazywany (dziedziczony) z pokolenia na pokolenie.
Ma postać heliksu (inaczej "podwójnej helisy").

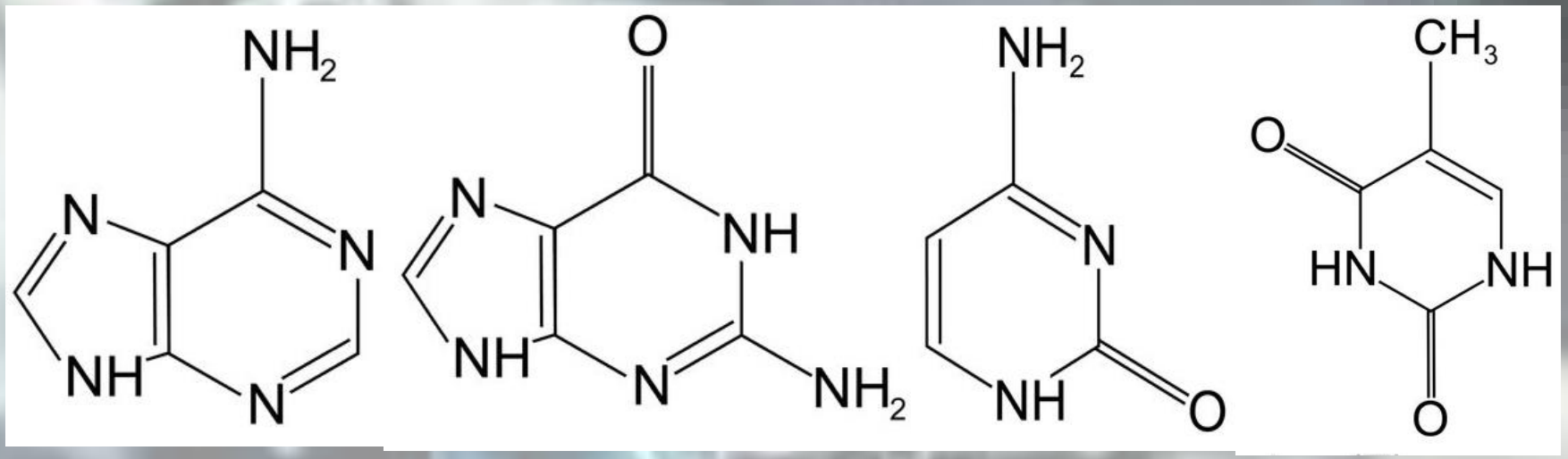
Podstawową jednostką, monomerem budującym DNA są nukleotydy złożone z następujących elementów:

- **zasada azotowa**: adenina lub guanina (dwupierścieniowa puryna), cytozyna lub tymina (jednopierścieniowa pirymidyna)
- **2-deoksyryboza (pentoza),**
- **reszta fosforanowa.**

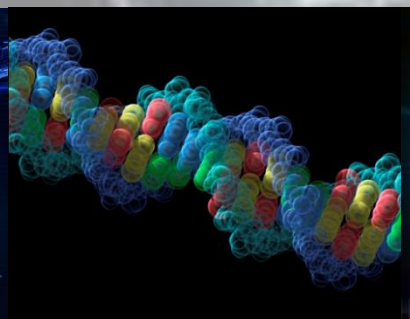


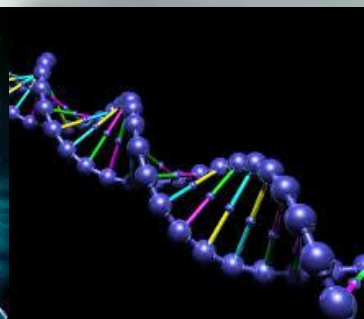


BUDOWA DNA

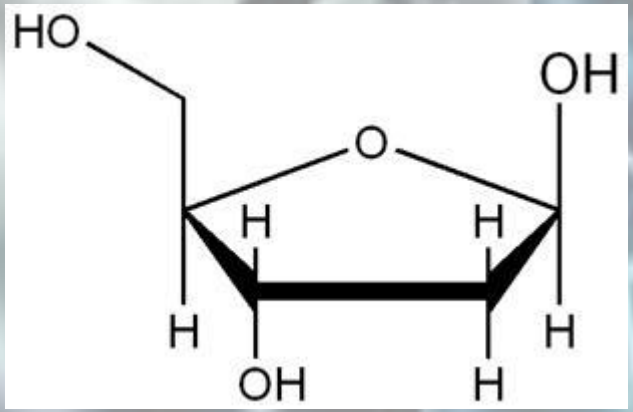


ADENINA **GUANINA** **CYTOZYNA** **TYMINA**

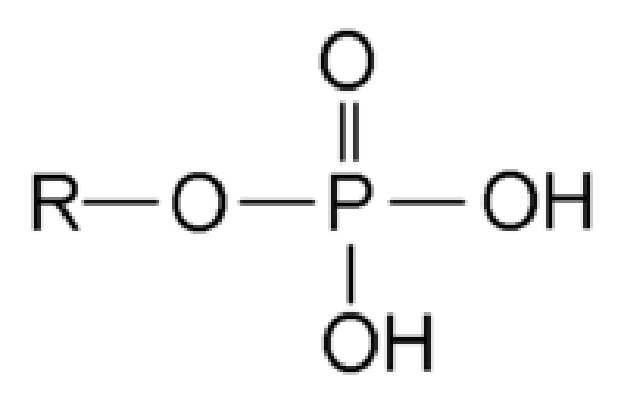




BUDOWA DNA



2-deoksyryboza



reszta fosforanowa

SKĄD SIĘ WZIĄŁ HELIKS?

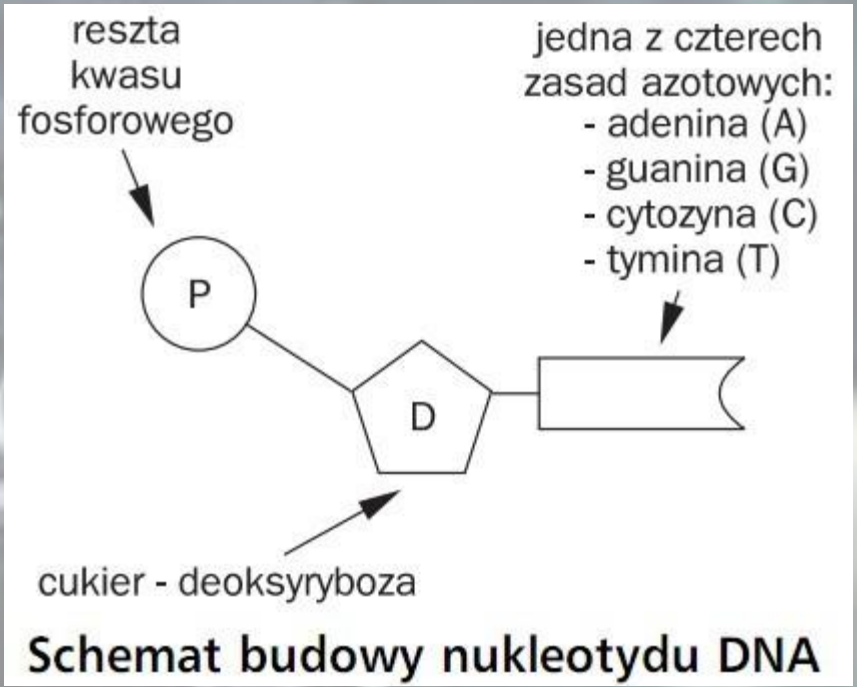
- Zasady azotowe są nierozpuszczalne w wodzie o obojętnym pH, w przeciwieństwie do deoksyrybozy, która rozpuszcza się dobrze.

- W związku z tym cząsteczki DNA tworzą strukturę wewnątrz której znajdują się elementy nierozpuszczalne w wodzie, a na zewnątrz elementy rozpuszczalne (cukier i reszta fosforanowa).

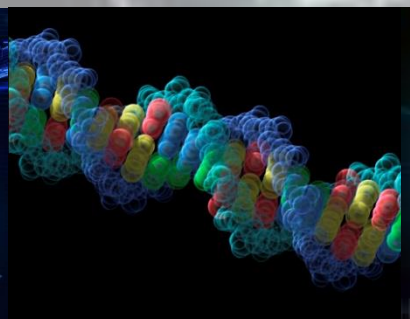
- W warunkach fizjologicznych DNA ma postać regularnego heliksu. Podwójną helisę tworzą dwa polinukleotydy skierowane w przeciwnych kierunkach i razem zwinięte.

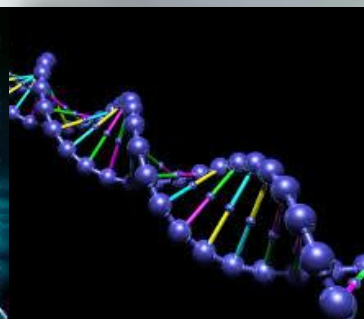
BUDOWA DNA

Zasada azotowa połączona jest z pierścieniem pentozowym cukru wiązaniem **N-glikozydowym.** Natomiast deoksyrybonukletydy połączone są ze sobą wiązaniami **fosfodiestrowymi.** Wiązanie te występuje pomiędzy atomem 5' węgla w reszcie cukrowej jednego deoksyrybonukleotydu, a atomem 3' reszty cukrowej drugiego.



Schemat budowy nukleotydu DNA





Oddziaływania w obrębie heliksu:

- wiązania wodorowe pomiędzy adenina i tyminą lub pomiędzy cytozyną i guaniną. Warto zauważyć, że w warunkach fizjologicznych tylko puryna i pirymidyna tworzą pary
- oddziaływania hydrofobowe między zasadami.

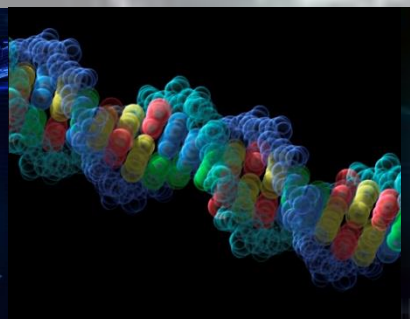
Opisana helisa to forma B, w komórce DNA występuje głównie w tej formie. Wiadomo jednak, że helisa jest na swój sposób elastyczna i może przyjmować różne kształty.

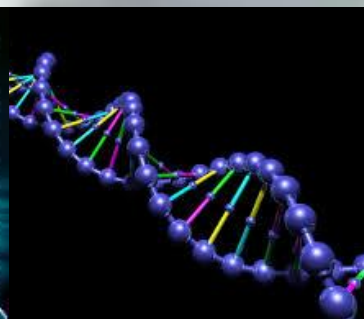
Najważniejsze zmiany konformacji powoduje rotacja wokół wiązania **β-N-glikozydowego** oraz obrót wokół wiązania między atomami węgla 3' i 4' reszty cukrowej.

Poza helisą typu B rozróżniamy również helisy: A, B', C, C', C'', D, E, T. Warto wiedzieć, że wszystkie te formy DNA są prawoskrętne. Znana jest jednak również forma lewoskrętna - jest to helisa Z.

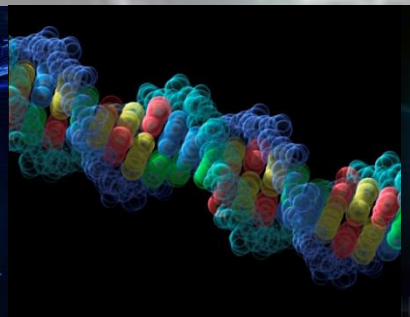
Na powierzchnii helisy B rozróżniamy dwa rowki: większy i mniejszy. Również helisa A posiada rowki, mają one nieco inne wymiary niż w przypadku formy B. Forma Z charakteryzuje sie obecnością tylko jednego rowka.

Na dnie rowka białka wiążące DNA rozpoznają **sekwencję nukleotydową DNA**, ponieważ "wystają tam" grupy chemiczne zasad azotowych. Zmiany konformacji w obrębie DNA mogą zatem być mechanizmem regulującym ekspresję genów.

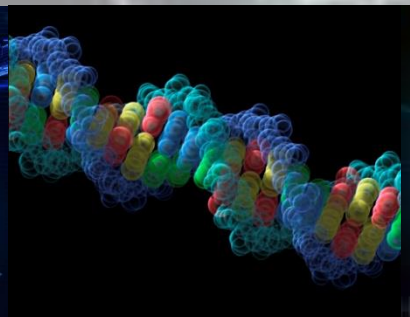




WĘZŁY
A
BIOLOGIA
MOLEKULARNA



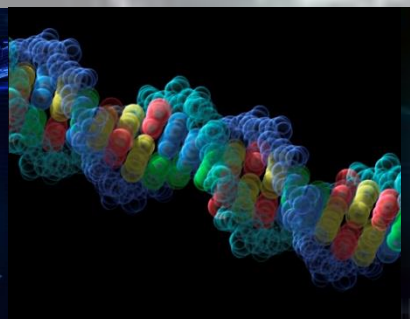
Genetycy odkryli, że DNA formuje węzły i sploty które mogą zostać opisane matematycznie – dzięki poznaniu ich natury możemy przybliżyć się do zrozumienia udziału tych „węzłów i splotów” w życiu i reprodukcji komórek.

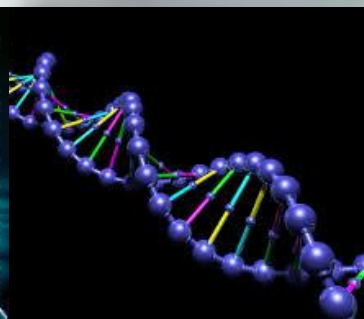


- Węzły stanowią splątane struktury cykliczne, a sploty to co najmniej dwie struktury cykliczne przeplecione wzajemnie tak jak ogniwa łańcucha, które w żadnym rzucie na płaszczyznę nie mogą być przedstawione jako zamknięte krzywe bez samoprzecięć (skrzyżowań)

- Występują węzły i sploty powstające w procesach replikacji i rekombinacji DNA oraz występują metody ich badania

- Obecne są prace modelowe wykonywane metodami mechaniki molekularnej, zmierzające do określenia prawdopodobieństwa powstawania struktur topologicznych DNA, a także koncepcję węzłów i splotów idealnych pozwalającą na uzyskanie korelacji pomiędzy elektroforetyczną ruchliwością oraz współczynnikiem sedymentacji rzeczywistych węzłów i splotów DNA a parametrami węzłów i splotów idealnych.



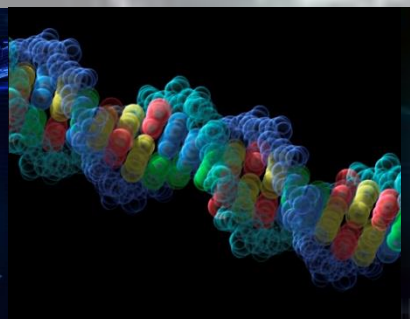


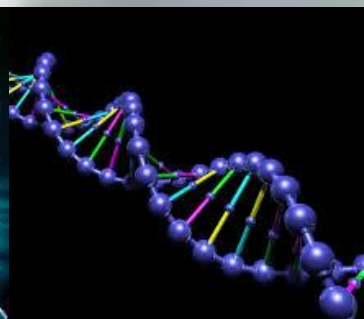
Struktura i rozwój sieci, oraz informacje o interakcjach makromolekuł komórkowych są porządkowane i prezentowane w postaci sieci.

Graficznie każdy rodzaj sieci (biologiczny, ekonomiczny, społeczny) jest przedstawiany jako **zbór „węzłów”** – punktów ilustrujących jednostki składowe sieci oraz linii łączących te punkty („łączniki”).

<u>Sieć może mieć łączniki :</u>

- nieukierunkowane
  - sieć symetryczna
  - graf niezorientowany
- ukierunkowane
  - sieć asymetryczna
  - graf zorientowany





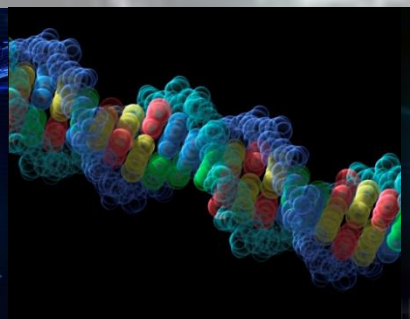
Podstawową jednostką obrazu sieci graficznej jest **węzeł**, oznaczany symbolem N (ang. node; w teorii grafów „wierzchołek”, ang. mat. vertex).

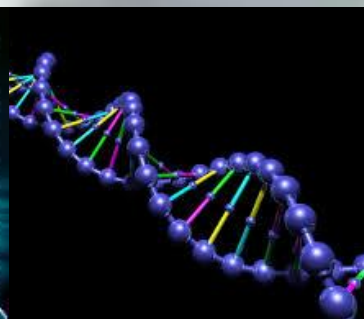
W sieciach biologicznych każdy węzeł przedstawia jedną cząsteczkę, najczęściej jest to

cząsteczka białka

„gen” strukturalny (DNA)

Nie spotyka się jeszcze modeli ilustrujących oddziaływanie różnych izoform białka.



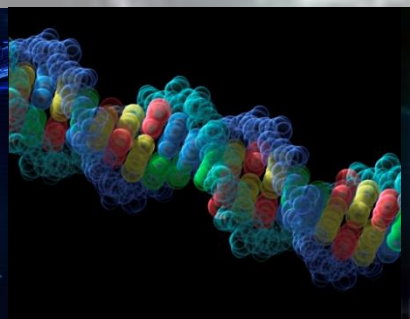


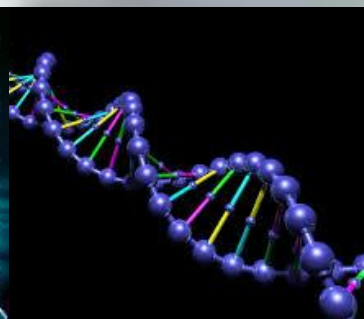
Dwa węzły powiązane łącznikiem o symbolu L, (od ang. link; w terminologii grafów „krawędź”, ang. edge) przedstawiają oddziaływanie między węzłami.

W sieciach biologicznych jest to najczęściej oddziaływanie

- białko-białko
- białko-gen
- gen-gen

Łączniki reprezentują oddziaływania funkcjonalne między makrocząsteczkami znajdowane w kompleksach żywej komórki,.



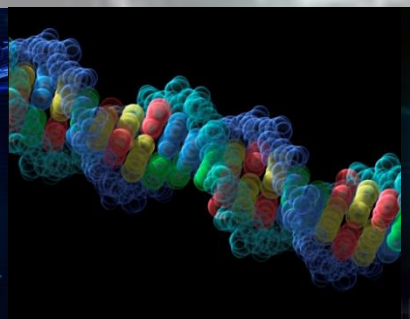


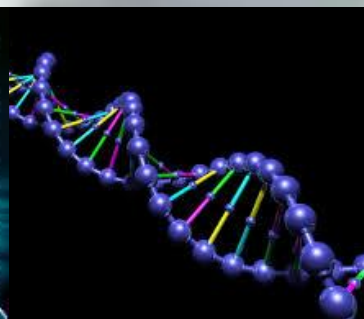
Interakcje międzycząsteczkowe oparte są zwykle na niekowalencyjnych, np. słabych wiązaniach wodorowych. Interakcje są labilne i dynamiczne.

W sieciach metabolicznych

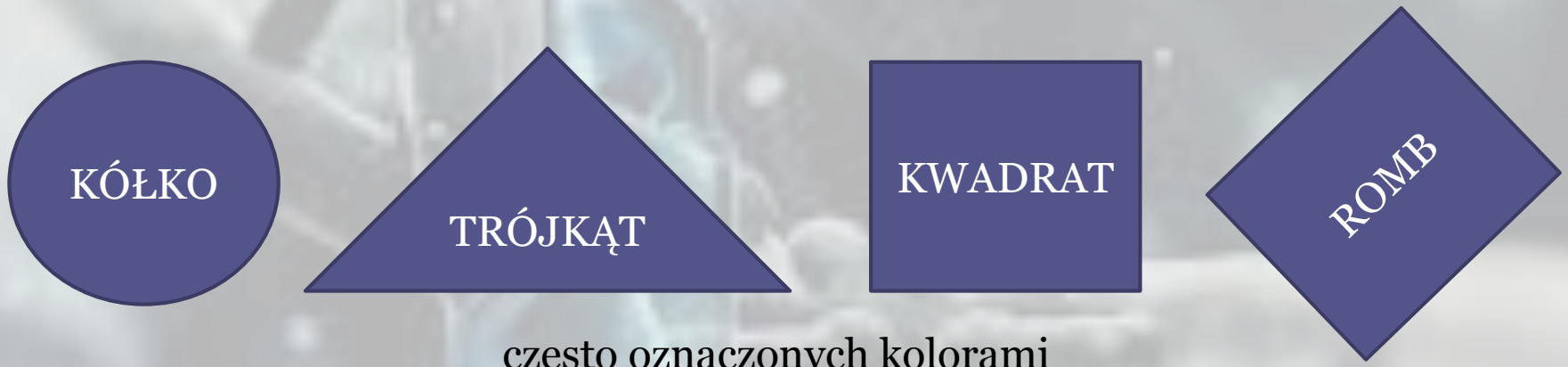
WĘZEŁ → PRZEDSTAWIA → SUBSTRAT LUB METABOLIT

ŁĄCZNIK → PRZEDSTAWIA → AKTYWNY ENZYM PROWADZĄCY REAKCJĘ





Gdy struktura lub funkcja cząsteczki stanowiącej węzeł jest znana lub przynajmniej znany jest „obszar” jej funkcjonowania, węzły na diagramach przedstawiane są w postaci znaków



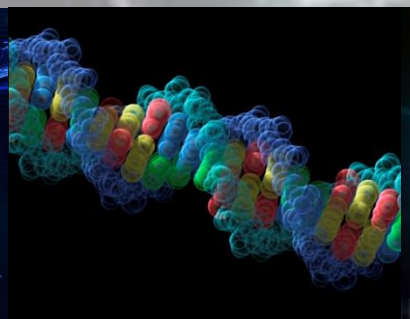
często oznaczonych kolorami

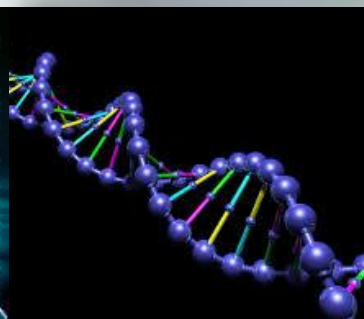
Kolor zwykle ilustruje funkcjonalny moduł lub podsieć. Węzły mogą też być **„etykietowane”,** czyli posiadać pełną nazwę identyfikującą lub akronim, np. symbol genu lub białka.

SIECI BEZSKALOWE

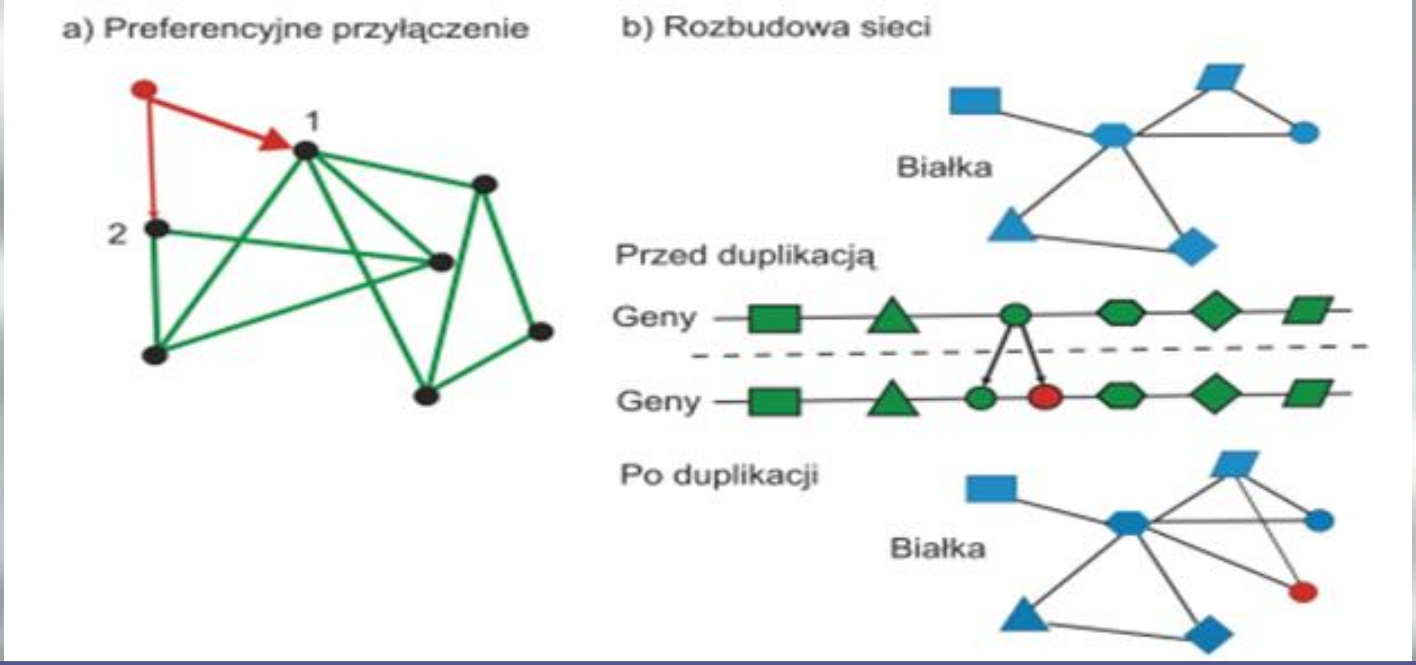
W biologii jest dużo przykładów obecności **sieci bezskalowych**, inaczej tzw. sieci „małego świata” (ang. small-world network), tworzących podsieci, cechujących się obecnością połączeń prawie wszystkich węzłów przez małą liczbę kroków (czyli sieci „nasyconych” węzłami typu piasty.

Sieci bezskalowe stale się zmieniają, bo stale dochodzą nowe, nieprzypadkowe połączenia





POWSTAWANIE TOPOLOGII BEZSKALOWEJ W SIECI W TRAKCIE EWOLUCJI



Przykład działania prawa wzrostu i przyłączania.

a) Preferencyjne przyłączenie: nowy węzeł (kolor czerwony: preferuje przyłączenie do węzła 1, gdy ten posiada najwyższy stopień

b) Rozbudowa sieci w trakcie duplikacji genu. Sieć białek (kolor niebieski) przed duplikacją genu (kolor zielony). Po duplikacji powstał nowy gen (kolor czerwony), kodujący nowe białko (kolor czerwony), które dołącza się do istniejącej już sieci (niebieski) do węzła o najwyższym stopniu stosownie do reguły wzrostu i przyłączania.

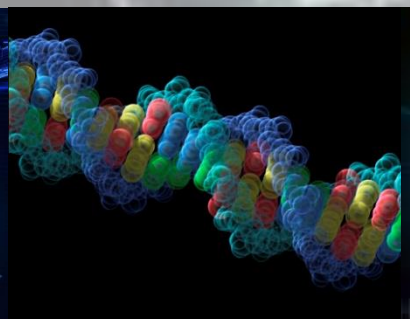
PIASTY

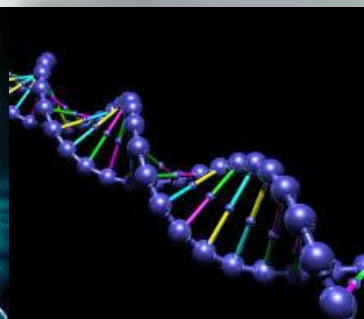
Proces taki zachodzi zapewne w ewolucji, gdy pojawiają się nowe geny w wyniku **duplikacji** .

Jeśli w układzie dodawany jest nowy węzeł (np. nowe białko kodowane przez gen zduplikowany), to ów nowy węzeł ma tendencję do interakcji z węzłem, który już ma dużo połączeń; w ten sposób w sieci wzrasta liczba węzłów typu **„piasty”.**

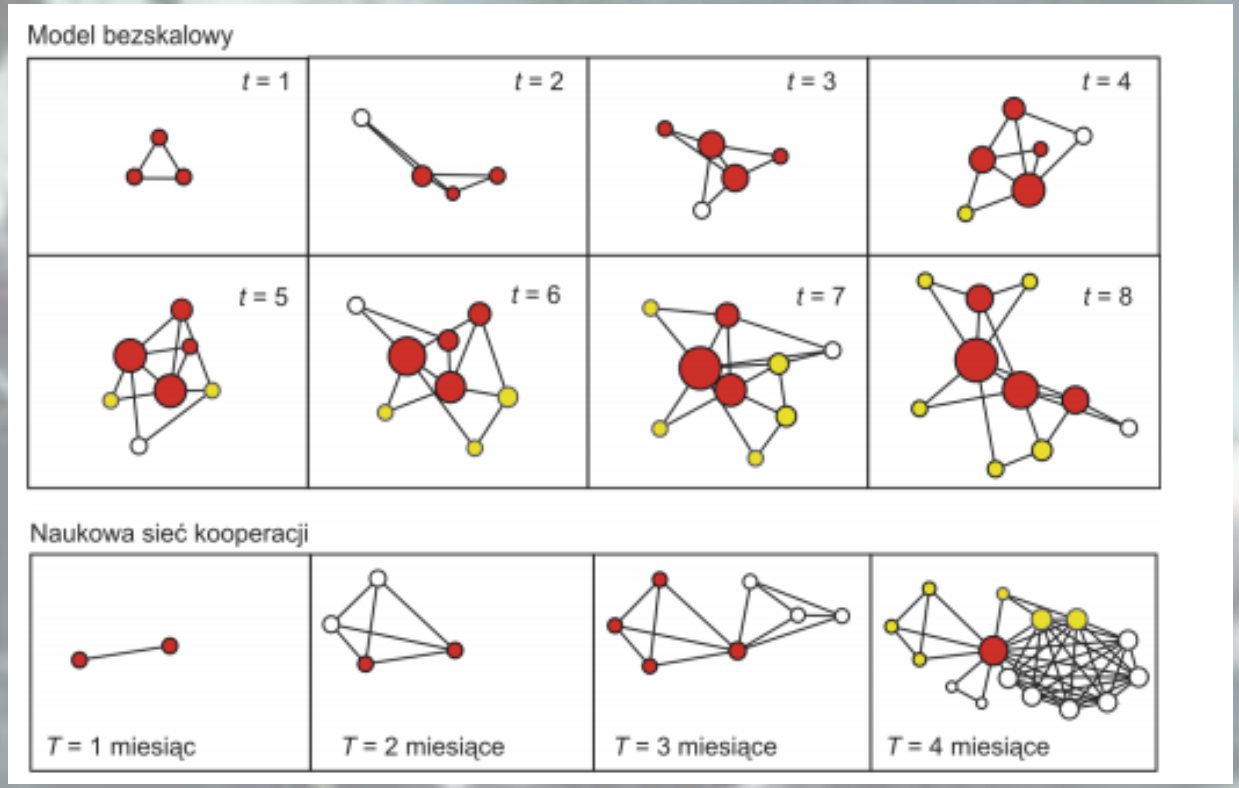
Jest to ważny element zjawiska samoorganizacji sieci.

Stąd też wynika wniosek, że ewolucja i struktura są procesami nierozłącznymi: w ewolucji stale przyrasta liczba węzłów i ich połączeń





Inne, niebiologiczne sieci rozwijają się i nabywają nowe funkcje w czasie według podobnych reguł



Ryc. **Powstawanie sieci**. Część górna: model bezskalowy – rozwój w czasie. Począwszy od trzech połączonych węzłów początkowych, każdy nowy węzeł (oznaczony kółkiem pustym) przyłącza się do węzła o dużym stopniu (posiadających wiele połączeń) według **reguły wzrostu i przyłączania.**

Obecnie rozwijane są teoretyczne **metody bioinformatyczne** pozwalające na przewidywanie, które białka mają wysoki potencjał wzajemnej interakcji w sieciach oraz oszacowanie „współczynnika klikowości”

Reguła wzrostu i preferencyjnego łączenia ma swój wyraz w strukturze sieci. W trakcie rozwoju sieci powstają struktury zwane **węzłami „centralnymi”**, powiązanymi licznymi łącznikami z wieloma innymi węzłami .

Węzeł centralny nazywany jest też **„piastą”** (ang. hub), gdyż ta struktura podobna jest do koła wozu/roweru z centralną piastą i szprychami.

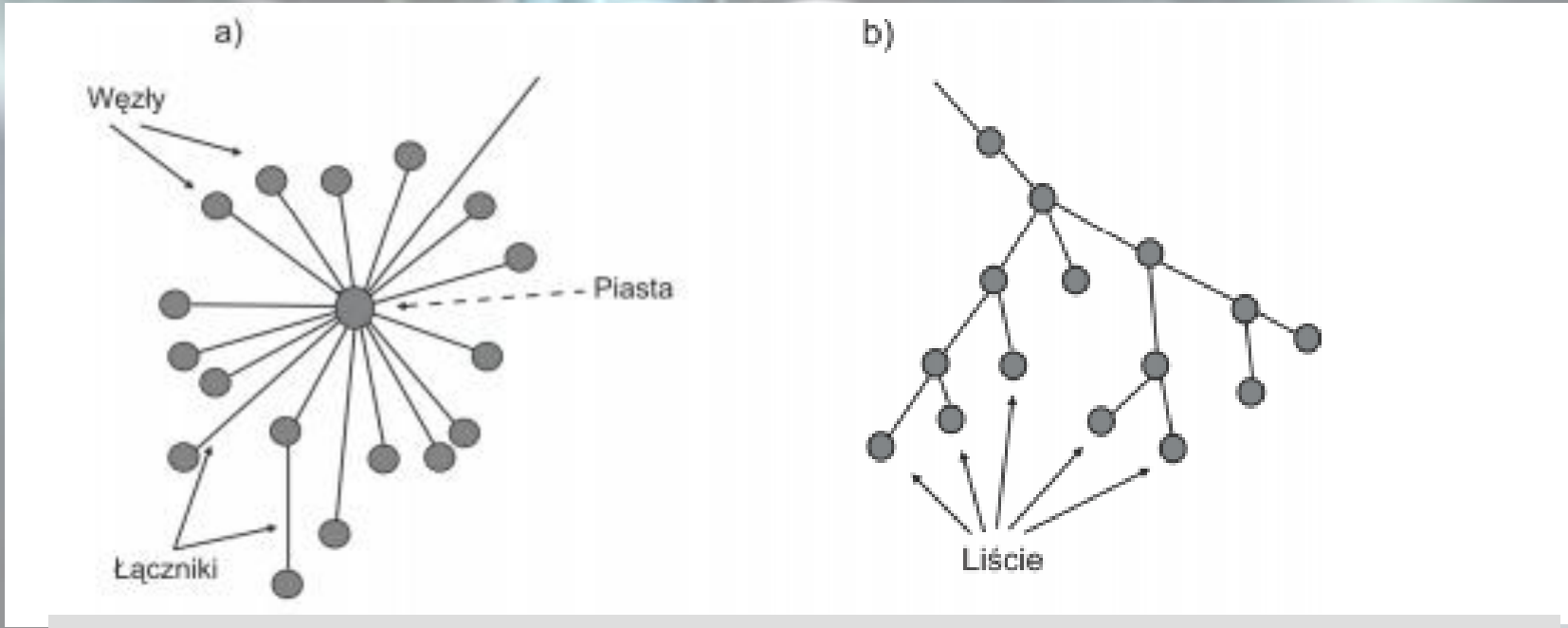
W sieci wykrywamy również połączenia między węzłami centralnymi (piastami). Mają one układ hierarchiczny: można wyróżnić węzły typu piasty o wielkim stopniu (takich jest niewiele) i węzły o małym stopniu (te są liczne). Taki układ nadaje sieci **oporność.** Prawdopodobieństwo, że czynnik uszkadzający zniszczy najpierw węzły o małym stopniu, jest duże, a zatem wzrasta szansa, że węzły o dużym stopniu utrzymają integralność sieci, a zatem **życie komórki.**

Sieci bezskalowe są bardziej oporne na uraz niż sieci losowe. Ale gdy w sieci bezskalowej węzły o dużym stopniu zostaną wybiórczo usunięte, sieć taka rozpada się. Białka znajdujące się w piaście są przedmiotem zainteresowania **w terapii lekowej jako tzw. białka docelowe** (ang. target proteins).

Rodzaje, funkcje, modele i oporność sieci

Wspomniano wyżej, że w sieci powstają **węzły centralne** lub typu piasty mające dużo połączeń z innymi węzłami (ryc. a).

W sieciach biologicznych znane są też inne rodzaje podsieci. Niektóre fragmenty sieci **(grafy)** przypominają drzewa (ryc. 5b).

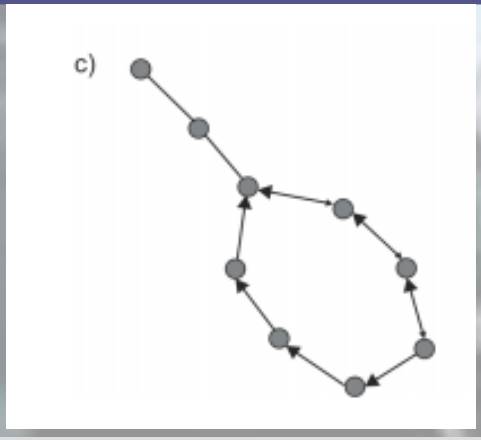


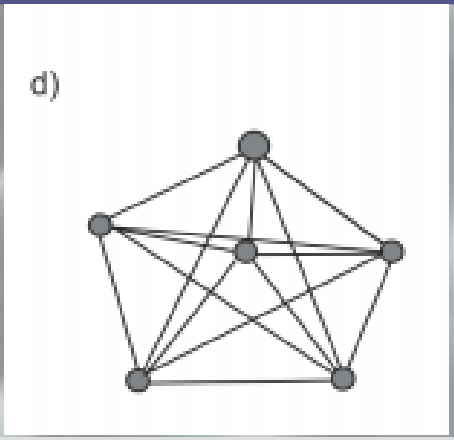
Ryc. 5. Niektóre rodzaje podsieci (grafy) występujące w sieciach biologicznych: a) piasta lub węzeł centralny, b) drzewo,

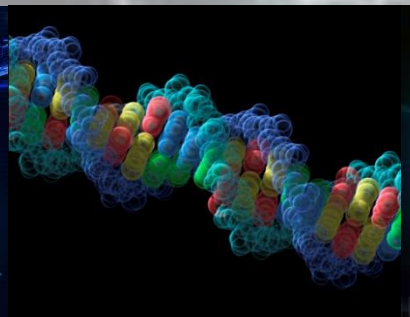
Rodzaje, funkcje, modele i oporność sieci

Skupiska drzew tworzą las. Grafy w postaci **drzew binarnych** używane są między innymi w biologii dla ilustracji proliferacji i powstawania komórek potomnych z komórki wyjściowej, używane są w grafach rodowodów, w ekologii dla ilustracji łańcuchów pokarmowych. Te grafy są zwykle acykliczne, ukierunkowane. W innych fragmentach występują cykle, to jest taki układ, gdy ukierunkowane łączniki tworzą pętlę prowadzącą do początkowej ścieżki. Mówiąc inaczej: ostatni wierzchołek pętli jest jednocześnie jej pierwszym wierzchołkiem (ryc. c).

Mamy liczne przykłady takich sieci cyklowych w sieciach biologicznych (regulacje zwrotne). Takie substruktury grafu, gdzie wszystkie węzły łączą się ze sobą, nazywamy **„kliką”** (termin często używany również w sieciach społecznych) (ryc. d).





Ryc. 5. Niektóre rodzaje podsieci (grafy) występujące w sieciach biologicznych: c) cykl lub pętla, d) klika

DZIĘKUJE
ZA UWAGĘ