

И.Л. Степаненко

Институт цитологии и генетики
РАН, г. Новосибирск

✿ В базе данных GeneNet (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenet/>) накапливается информация о путях передачи сигнала активными формами кислорода (АФК) и регуляции транскрипционных факторов в зависимости от окислительно-восстановительного (редокс) потенциала клетки. Генная сеть редокс-регуляции, обеспечивающая адаптацию организма к окислительному стрессу, объединяет через ключевые транскрипционные факторы локальные генные сети. В интегрированной генной сети происходит пересечение путей передачи сигнала и интерференция генных сетей.

✿ **Ключевые слова:** базы данных, активные формы кислорода, воспаление, экспрессия генов, регуляция транскрипции, генные сети, редокс-регуляция.

РЕГУЛЯЦИЯ ГЕННЫХ СЕТЕЙ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА

Регуляция экспрессии генов, обеспечивающих выполнение определенных физиологических функций в организме, осуществляется в рамках генных сетей (1–3). Генные сети представляют собой комплексную сеть взаимодействий, в которой белки регулируют транскрипцию генов и трансляцию мРНК, метаболические реакции и пути передачи сигнала. В настоящее время мало известно о принципах построения регуляторных сетей, контролирующих экспрессию генов в клетке.

Свободные радикалы и другие активные формы кислорода (АФК) образуются в процессе жизнедеятельности клеток и в высоких концентрациях приводят к окислительному стрессу [4]. Некоторые окислительные реакции обратимы и определяют динамику регуляторных процессов и экспрессию генов через модификацию путей передачи сигнала при изменении окислительно-восстановительного (редокс) статуса клетки [5]. АФК регулируют экспрессию генов через цистеиновые остатки в ДНК-связывающих доменах транскрипционных факторов, инактивируют цистеины в каталитических центрах протеин фосфатаз и изменяют активность киназ [6, 7].

АФК участвуют в регуляции нормальных физиологических функций организма, тогда как окислительный стресс связан со многими патологиями, включая ишемию, образование опухолей, атеросклероз, патологии нервной системы, диабет [8]. Развитие современных методов изучения экспрессии генов дает информацию о координированной экспрессии десятков и сотен генов стрессового ответа [9, 10]. Для накопления и систематизации экспериментальных данных и для анализа архитектуры природных генных сетей нами развивается база данных GeneNet [11].

Для описания структурно-функциональной организации генных сетей мы использовали химико-кинетический подход, выделяя в генной сети элементарные структуры (гены, мРНК, белки, сигнальные молекулы и метаболиты) и элементарные события: регуляторные воздействия и метаболические реакции [1]. База данных GeneNet содержит информацию о 25 генных сетях, регулирующих ответ клетки на стресс, морфогенез и эндокринную регуляцию [11]. В базе данных генных сетей в формализованном виде представлены основные генетические процессы, такие как транскрипция, трансляция, посттрансляционная модификация белков, формирование и деградация комплексов белков, транспорт макромолекул в различные компартменты клетки и регуляция этих процессов. Раздел базы REDOX REGULATION доступен по адресу (http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenet/applet_genenet_viewer.shtml).

ГЕННАЯ СЕТЬ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ

Регуляция экспрессии генов происходит главным образом на уровне транскрипции и определяется составом и активностью белков-активаторов и репрессоров, связывающихся с *cis*-регуляторными последовательностями ДНК и определяющими скорость инициации транскрипции при взаимодействии с базаль-

ным транскрипционным комплексом. Гены, экспрессия которых зависит от окислительно-восстановительного потенциала клетки, называют редокс-чувствительными генами.

В базе данных TRRD [12], в разделе Redox-sensitive Genes (ROS-TRRD database) <http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/papers/stepanenko/ros-trrd/> накапливается информация о регуляции транскрипции редокс-чувствительных генов, регуляторных районах этих генов и сайтах связывания транскрипционных факторов, а также данные о паттернах экспрессии генов при действии индуктора или

репрессора в зависимости от типа клетки, возраста и т. д. В таблице приведены данные о транскрипционных факторах, регулирующих экспрессию редокс-чувствительных генов. Информация о совокупности редокс-чувствительных генов, в регуляторных областях которых выявлены сайты связывания редокс-регулируемых транскрипционных факторов, позволило построить генную сеть редокс-регуляции.

Регуляция генной сети осуществляется редокс-активными белками тиоредоксином и редокс-фактором

Таблица

Информация о регуляции транскрипции некоторых редокс-чувствительных генов, содержащихся в базе данных TRRD (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/papers/stepanenko/ros-trrd/>)

Название гена в базе данных TRRD	Вид организма	Транскрипционные факторы	TRRD номер
aldolase A	Homo sapiens	RSRFC4; TR2; USF; HIF-1 α ; HIF-1 β	A00924
apurinic/apyrimidinic endonuclease	Homo sapiens	Ref-1; c-Jun; ATF-2; Sp1; USF	A01007
c-fos protooncogene	Mus musculus	Sp1; RXR α ; CTF/ NF-1; p53	A00107
c-myc protooncogene	Homo sapiens	AP-1; Oct; E2F	A00191
Cu/Zn superoxide dismutase	Homo sapiens	SP1; Egr-1	A00564
cytochrome c oxidase VIIa liver isoform	Bos taurus	Sp1; NRF-2; NRF-1	A01010
cyclooxygenase 2	Mus musculus	NF- κ B; NF-IL6; C/EBP β ; C/EBP δ ; AP-1; CREB; p53; TBP	A00883
endothelial leukocyte adhesion molecule 1	Homo sapiens	HFH-8; ATF3; ATF2; ATFa; HMG-I(Y); NF- κ B; STAT6	A00198
gamma-glutamylcysteine synthetase light subunit	Homo sapiens	c-Fos; Nrf1; Nf-E2; p45; Nrf2; JunD; Maf; MafG; MafK	A01086
glutathione transferase P	Rattus norvegicus	AP-1; c-jun; SF-A; SF-B; C/EBP α ; C/EBP β ; BTEB2; LKLF; MZFP; TFIIIA; NF1-A; NF1-B; NF1-C	A00262
granulocyte/macrophage colony stimulating factor	Homo sapiens	NFATp; AP-1; CBF; NF- κ B; HMG I(Y)	A00450
growth arrest and DNA damage-inducible	Cricetulus longicaudatus	C/EBP β ; ATF4; ATF3; AP-1; Sp1	A00960
heat shock protein 27	Homo sapiens	AP2; Sp1	A00516
heat shock protein 70	Homo sapiens	Sp1; c-myc; HSF1; HSF2; CTF; HSF3; HSF4; TFIID	A00102
heme oxygenase 1	Mus musculus	Nrf2; ATF4; MafK; ATF2; ATF3; FosB; JunB; MafG; HIF-1; AP-1	A00725
inducible nitric oxide synthase	Rattus norvegicus	C/EBP δ ; CREB; NF- κ B; C/EBP β	A01053
interleukin 6	Homo sapiens	NF-IL6; GR	A00115
interleukin-8	Homo sapiens	HFH-8; Tcf4; IRF-1; PEA3; JunD; Fra-2; c-Fos; c-jun; C/EBP- α ; C/EBP- β ; C/EBP- δ ; Oct-1; NF- κ B; NRF	A00038
manganese-containing superoxide dismutase	Homo sapiens	CREB-1; ATF-1; AP-2	A01087
multidrug resistance	Homo sapiens	HSF1; NF-IL6; NF-R1; NF- κ B; c-Fos; NF-Y; YB-1; Sp1; WT1	A00171
NAD(P)H:quinone oxidoreductase	Homo sapiens	ER; hPMC2; AP-1; jun-D/c-fos	A01011
p21 Waf1 kinase inhibitor	Homo sapiens	STAT 1; STAT 5; RXR α /RAR β ; VDR/RXR; AR; Sp-1; AP-2; Sp-3; E47	A00359
p53 tumor suppressor	Mus musculus	NF- κ B	A00308
transferrin	Homo sapiens	Tf-LF2; NF-1; Sp1; YY1; CREB; C/EBP- α ; C/EBP- β ; LPII; COUP-TF; HNF4; Tf-LF1	A00087
transferrin receptor	Homo sapiens	HIF-1 α /HIF-1 β ; PIF; CREB1/ATF-1; TRAC; Sp1	A00505
tumor necrosis factor alpha	Homo sapiens	NF- κ B; Sp1; Egr-1; NFATp; Ets-1; Elk-1; ATF-2/c-Jun; CREB; C/EBP- β	A00266
tyrosine phosphatase	Homo sapiens	Egr-1; Sp1	A00666
vascular cell adhesion molecule	Homo sapiens	NF- κ B; IRF-2; IRF-1	A00301

Примечание: Редокс-регулируемые транскрипционные факторы выделены шрифтом.

Ref-1. Тиоредоксин (TRX) — небольшой многофункциональный белок с редокс-чувствительными аминокислотными остатками в активном центре Cys-Gly-Pro-Cys. Тиоредоксин защищает клетку от окислительного стресса, модулирует экспрессию генов, участвует в путях передачи сигналов, регулирует пролиферацию клеток и апоптоз [13]. Ref-1 или ДНК репарирующая эндонуклеаза (APE) — белок, обладающий ДНК репарирующей и редокс-регулирующей активностью [14]. Ref-1 образует комплекс с тиоредоксином и регулирует активность транскрипционных факторов через восстановление тиоловых групп цистеиновых остатков в ДНК-связывающих и трансактивационных доменах транскрипционных факторов.

Тиоредоксин, один из основных факторов тиол-редуцирующей системы, существует в клетке в восстановленной или окисленной форме и участвует в редокс-регуляции через обратимое окисление цистеинов в его активном центре. Экспрессия гена тиоредоксина Tx индуцируется оксидантами [15]. Редуцирующая активность тиоредоксина зависит от редокс-статуса сенсора АФК тиоредоксинредуктазы TRXR1 [16]. Образование АФК приводит к стабилизации мРНК TRXR1 и увеличению уровня фермента [17]. Тиоредоксинредуктаза восстанавливает окисленный тиоредоксин TRX, который транспортируется в ядро и образует гетеродимер с ядерным белком Ref-1.

Редокс-регуляция транскрипционного фактора AP-1 опосредована консервативными цистеиновыми остатками в ДНК-связывающих доменах Fos и Jun белков [18]. Тиоредоксин и Ref-1 восстанавливают ДНК-связывающую и транскрипционную активность NF-κB, взаимодействуя с цистеином 61 его p50 субъединицы [19]. К транскрипционным факторам, регулируемым тиоредоксином и Ref-1 белками, относятся широко экспрессирующийся фактор Sp1 [20], HSF1, фактор теплового шока [21], и продукт гена супрессора опухолей p53 [22, 23], NIF-1, фактор, индуцируемый гипоксией [24, 25]. ДНК, связывающий домен Myb, содержащий цистеин 43 в R2, служит молекулярным сенсором редокс-механизма [26]. ДНК-связывающая активность фактора роста раннего ответа Egr-1 [27], транскрипционного фактора AP-2, играющего значительную роль в развитии позвоночных и дифференцировке клеток [28], NF-Υ, который подавляет экспрессию гена CYP1A1 и образование АФК [29] и USF [30], HNF-4α, экспрессирующегося в клетках печени, модифицируется изменением редокс-статуса клетки [31]. АФК определяют не только ДНК-связывающую активность транскрипционных факторов, но и трансактивационную активность, регулируют транспорт в ядро [32].

Тиоредоксин регулирует активность различных транскрипционных факторов и через модификацию редокс-чувствительных цистеиновых остатков в ДНК-

связывающих доменах транскрипционных факторов регулирует экспрессию многих генов. Редокс-регуляция представляет собой консервативную в эволюционном плане систему, контролирующую один из жизненно важных параметров, — уровень АФК в клетках как прокариот, так и эукариот. Любая специализированная генная сеть, возникшая в ходе эволюции многоклеточных организмов, должна удовлетворять тем ограничениям, которые накладываются системой редокс-регуляции. В клетках щитовидной железы образование АФК происходит после действия тиротропина и играет ключевую роль при синтезе тиреоидного гормона. Ref-1 контролирует ДНК-связывающую активность транскрипционного фактора Pax-8, необходимого для развития щитовидной железы [33], и активность ДНК-связывающего и трансактивационного домена тиреоидного транскрипционного фактора TTF-1, регулирующего экспрессию генов щитовидной железы [34].

Таким образом, если какая-то генная сеть продуцирует в ходе своего функционирования повышенный уровень АФК, тогда она интегрируется с генной сетью редокс-регуляции через свои ключевые управляющие звенья, в качестве которых выступают транскрипционные факторы.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЕННОЙ СЕТИ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Активные формы кислорода образуются в результате неполного восстановления кислорода, главным образом, в митохондриях, а также оксидазами (НАДФН оксидазами, ксантинооксидазами, моноаминооксидазами) в других компартментах клетки. НАДФН оксидазы продуцируют АФК при передаче сигнала через мембранные рецепторы при действии различных физиологических стимулов [35]. Активация ГТФ-связывающего белка Rac1, входящего в состав активного НАДФН оксидазного комплекса, модулирует активность транскрипционных факторов и экспрессию генов [36–38]. Ref-1, экспрессия которого усиливается при действии окислительного стресса, подавляет активность Ras-регулируемого белка Rac1 и контролирует образование АФК [39].

Цитокины, вызывающие воспаление, такие как TNF-α и IL-β, стимулируют транслокацию восстановленного тиоредоксина в ядро и активацию стресс-индуцируемых транскрипционных факторов AP-1, HSF1, NF-κB, NIF1-α, p53 и координированную экспрессию генов, регулирующих различные физиологические функции в организме.

АКТИВАЦИЯ ГЕННОЙ СЕТИ ИММУННОГО ОТВЕТА

Фактор некроза опухолей TNF-α и интерлейкин IL-β индуцирует NF-κB - IκB путь передачи сигнала.

NF-κB находится в цитоплазме в латентной форме в комплексе с IκB ингибиторами. TNF-α, связываясь со своим рецептором, присоединяет адапторный белок TRADD, TRAF-2 и RIP киназу, действие IL-β опосредованно IL-1R рецептором, адапторным белком MyD88 и IRAK киназой и TLR-6. Пути передачи сигнала сходятся на NF-κB киназе, которая в свою очередь активирует IκB киназный комплекс (IKK). При активации NF-κB и фосфорилировании его ингибитора IκB, происходит деградация IκB 26S протеасомой, NF-κB транспортируется в ядро, где активирует транскрипцию генов иммунного ответа TNF-α, IL-2, IL-6, IL-8, GM-CSF, iNOS. Сигнал от TNF-α передается через IκB киназный комплекс и посттрансляционную модификацию NF-κB PKA, PI-3K, MAPK киназами и усиливается редокс-регуляцией [40].

При стимуляции клетки цитокинами TNF-α и IL-1β происходит активация НАДФН оксигеназы, фосфолипазы PLA2 и 5-липоксигеназы в зависимости от типа клеток [41, 42], что приводит к образованию активных форм кислорода и усилению сигнала в данной генной сети. Тиоредоксин перемещается в ядро и индуцирует NF-κB-зависимую экспрессию генов, восстанавливая ДНК-связывающую активность транскрипционного фактора [19]. Различные антиоксиданты, в том числе природный антиоксидант восстановленный глутатион (GSH), являются ингибиторами NF-κB. Глутатион действует как буфер при передаче редокс-сигнала от АФК к генам и подавляет фосфорилирование ингибитора IκB и экспрессию NF-κB, индуцируемую TNF-α [43]. Тиоредоксин в цитоплазме блокирует деградацию IκB [44].

Фактор некроза опухолей TNF-α модулирует активность транскрипционных факторов. При воспалении индуцируется экспрессия гена нитритсинтетазы iNOS и образуется окись азота NO, которая ингибирует ДНК-связывающую активность редокс-регулируемого фактора AP-1 (45). NO ингибирует активацию фактора NF-κB цитокином TNF-α, образуя негативную регуляторную петлю [46] и индуцирует или ингибирует апоптоз в зависимости от концентрации [47].

АКТИВАЦИЯ ГЕННОЙ СЕТИ ОТВЕТА НА ТЕПЛОШОК

Клетки всех организмов отвечают на действие факторов внешней среды, химический и физиологический стресс экспрессией консервативной группы белков, известных как белки теплового шока (HSP). Образование активных форм кислорода вызывает активизацию транскрипционного фактора теплового шока HSF1 [21]. HSF1 при действии стресса образует тример, транспортируется в ядро и активирует каскад генов теплового шока, молекулярных шаперонов. Активация HSF1 и индукция белков теплового шока является адаптивным

ответом и имеет противовоспалительное действие через ингибирование NF-κB сигнального пути [48–50].

АКТИВАЦИЯ ГЕННОЙ СЕТИ ОТВЕТА НА ГИПОКСИЮ

Низкая концентрация кислорода (гипоксия) активирует экспрессию ряда генов, таких как гены эритропоэтина, фактора роста VEGF, гемоксигеназы, ферментов гликолиза. В условиях нормоксии TNF-α и IL-β регулируют активацию индуцируемого гипоксией фактора HIF-α через образование АФК [51, 52]. HIF1-α постоянно экспрессируется в клетке и быстро разрушается протеасомой после убиквитинизации [53]. Провоспалительные цитокины стимулируют стабилизацию транскрипционного фактора HIF1-α, его транслокацию в ядро и активацию транскрипции генов. Сигнал к индукции передается через тиоредоксин и редокс-фактор 1. АФК регулируют взаимодействие HIF1-α с коактиватором CBP/p300 и его трансактивационную активность [25]. По-видимому, АФК играют основную роль в активации HIF1-α и служат сенсором кислорода в клетке, хотя существуют противоположные мнения [54, 55].

АКТИВАЦИЯ ГЕННОЙ СЕТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ

Редокс-регуляция представляет собой динамический процесс, поддерживающий баланс между образованием АФК, окислителей и антиоксидантов и обеспечивающий поддержание гомеостаза. TNF-α индуцирует экспрессию гена MnSOD митохондриальной супероксиддисмутазы, обеспечивающую антиоксидантную защиту клетки [56]. При повышении уровня АФК подавляется экспрессия генов эндогенной системы образования АФК [57]. NRF2 (*nuclear respiratory factor 2*) регулирует экспрессию ядерных генов, кодирующих митохондриальные белки, участвующие в окислительном фосфорилировании, включая субъединицы IV and Vb цитохром с оксидазы, и митохондриальный транскрипционный фактор 1. ДНК-связывающая активность и экспрессия генов ингибируется в условиях окислительного стресса и восстанавливается тиоредоксином, что служит механизмом регуляции образования АФК в митохондриях [58].

Глутатион и тиоредоксин — два основных антиоксиданта, вовлеченных в редокс-регуляцию в клетке. Глутатион-тиольный трипептид-антиоксидант γ-Glu-Cys-Gly, может быть в окисленной (GSSG) или в восстановленной форме (GSH). Соотношение между этими двумя формами определяет главным образом окислительно-восстановительный потенциал клетки. Транскрипционный фактор Nrf2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) определяет уровень глутатиона [59] и тиоредоксина [60]

в клетке. Механизм активации Nrf2 осуществляется на нескольких уровнях. Nrf2 усиливает экспрессию своего гена [61], но в цитоплазме Nrf2 быстро разрушается через убиквитинзависимый путь. Фосфорилирование Nrf2 протеинкиназой С в ответ на действие индукторов, вызывающих окислительный стресс, приводит к повышению стабильности белка и его активности [62, 63]. Цитоплазматический Keap1, негативный регулятор Nrf2, служит сенсором окислительного стресса. Редокс-зависимое освобождение Nrf2 от его ингибитора и транспорт транскрипционного фактора в ядро [64, 65] обеспечивает координированную экспрессию генов ферментов фазы 2 и биосинтеза глутатиона, защищающих клетку от токсического и канцерогенного действия оксидантов и электрофилов [59, 66].

АКТИВАЦИЯ ГЕННОЙ СЕТИ КАТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА

Экспрессия гена гемоксигеназы при действии медиаторов воспаления возрастает при переходе восстановленного тиоредоксина в ядро и активации транскрипционного фактора AP-1 [67]. Стрессовый белок гемоксигеназы является ключевым ферментом распада гема до биливердина, окиси углерода и железа. Биливердин и его продукт билирубин являются антиоксидантами, тогда как железо усиливает окислительный стресс. Экспрессия гена гемоксигеназы защищает клетку от окислительного стресса и индуцируется оксидантами, включая ее субстрат гем. Механизм активации гемом обеспечивается стабилизацией Nrf2, его накоплением в ядре, где он, образуя димер с MafG, связывается со стресс-регулируемыми элементами StREs и активирует транскрипцию гена [68]. Освобождающееся железо захватывается ферритином, экспрессия которого также регулируется транскрипционным фактором Nrf2 [69]. Редокс-статус клетки модулирует экспрессию гена на уровне транскрипции и трансляции. Редокс-регулируемые белки IRP-1 и IRP-2 контролируют синтез ферритина и рецептора трансферрина, связываясь с IRE элементами, локализованными в 5', 3'-нетранслируемых областях их мРНК [70]. При воспалении происходит обратимое ингибирование РНК-связывающей активности IRP-2 окисью азота NO и восстановление ее тиоредоксином [71], что является еще одним примером координированной экспрессии генов при редокс-регуляции.

АКТИВАЦИЯ ГЕННОЙ СЕТИ АПОПТОЗА ИЛИ АРЕСТА КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Образование АФК регулируется генной сетью антиоксидантной защиты, однако высокие дозы вызывают АФК-индуцируемый апоптоз в различных клетках при воспалении [72]. Плейотропный цитокин TNF- α

вызывает апоптоз, связываясь со своим рецептором и активируя прокаспазу-8, и через образование АФК митохондриями [42]. Окислительный стресс стабилизирует транскрипционный фактор p53 и модулирует экспрессию p53-регулируемых генов. Редокс-регулируемая активация p53 вызывает арест клеточного цикла в G1 фазе и подавление пролиферации клеток через ингибитор циклин-зависимых киназ p21 [73]. Арест клеточного цикла дает время для синтеза ферментов антиоксидантной защиты и репарации ДНК, тогда как значительные повреждения ДНК вызывают апоптоз.

p53 активирует транскрипцию генов многих проапоптотических белков, в том числе функционирующих в митохондриях Bax, Puma, NOXA [74]. p53 индуцирует транслокацию проапоптотического белка bax, формирующего поры, в митохондрию, высвобождение цитохрома с [75]. Цитохром с и фактор, активирующий апоптотические протеазы Araf-1, в составе апоптосомы активируют прокаспазу 9 и каспазный каскад, осуществляющий апоптоз.

Редокс-регулируемый p53 активирует транскрипцию генов PIG1-PIG12 (p53-induced genes), связанных с образованием АФК в клетке [76]. Экспрессия гена PIG3 приводит к увеличению продукции АФК митохондрией [77]. Образование высоких доз АФК вызывает изменение $\Delta\psi$ потенциала митохондриальной мембраны и апоптоз [78].

Активация каскада редокс-регулируемых генных сетей, объединенных общим путем передачи сигнала, инициируется при воспалении. При активации общего пути передачи сигнала через АФК происходит обмен информацией между различными генными сетями, что приводит к усилению или подавлению ответа на действие сигнала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сложные регуляторные сети исследуются во многих областях науки, в биохимии, нейробиологии, экологии, инженерном деле. Особенностью реальных генных сетей является свойство «малого мира», лежащее в основе даже больших метаболических сетей [79]. Высокая кластеризация и наличие близких связей между узлами генной сети характерно и для генной сети редокс-регуляции. Связь между транскрипционными факторами, узлами генных сетей со многими связями осуществляется через тиоредоксин и Ref-1. Белок-белковые взаимодействия обеспечивают быстрый ответ генных сетей и усиление сигнала при действии внешнего фактора через образование АФК.

В генной сети редокс-регуляции происходит активация ряда генных сетей (рис.). Генная сеть редокс-регуляции, получая через входную систему рецепции возбуждающий ее сигнал, перерабатывает его и рас-

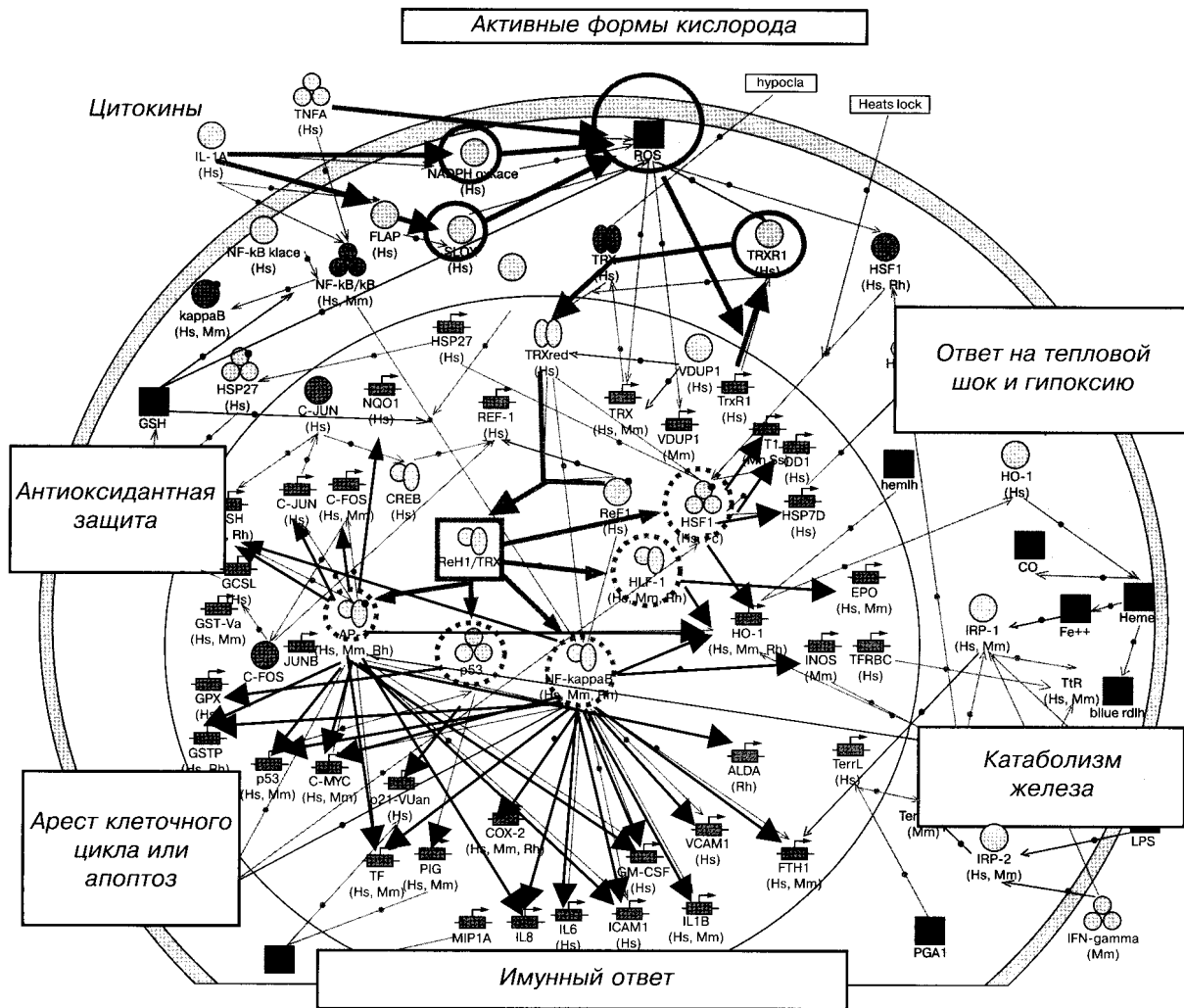


Рис. 1. Генная сеть редокс-регуляции, обеспечивающая адаптацию организма к окислительному стрессу, объединяет через ключевые транскрипционные факторы локальные генные сети.

1) антиоксидантной защиты, 2) регуляции ареста клеточного цикла, 3) иммунного ответа, 4) катаболизма железа, 5) ответа на тепловой шок и гипоксию, 6) апоптоза. Генная сеть редокс-регуляции, получая сигнал, распределяет его между связанными с ней генными сетями. Каждая локальная генная сеть может передать сигнал на одну или несколько других генных сетей

пределяет по своим выходам, возбуждая связанные с ней генные сети, каждая из которых может передавать возбуждающий сигнал на одну или несколько других генных сетей.

Изучение генных сетей, описанных в базе данных GeneNet, позволило нам сформулировать концепцию интерференции генных сетей. Интерференция генных сетей — это прохождение возбуждения по определенному домену глобальной генной сети организма, приводящее к последовательному возбуждению ряда генных сетей. Интерференция генных сетей может приводить к координированной экспрессии генных сетей либо к подавлению одной генной сетью функционирование другой [80]. Для организации интерференции генных сетей в глобальной генной сети организма существуют генные сети — интеграторы. Таким образом, генные сети-интеграторы могут рассматриваться как

ключевые элементы, обеспечивающие передачу сигнала в глобальной генной сети всего организма.

Автор благодарит Н.А. Колчанова за плодотворную дискуссию, О.Г. Смирнову за помощь в наполнении базы данных, Ю.М. Константинова за информацию о редокс-регулируемых генах.

Работа частично поддержана РФФИ (гранты 01-07-90376-в, 01-07-90084, 02-07-90359, 03-07-90181-в, 03-04-48506-а, 03-04-48469-а, 03-07-96833-р2003югра_в), Министерством промышленности, науки и технологий Российской Федерации (№ 43.073.1.1.1501), проектом РАН (физ.-хим. биология 10.4), СО РАН (Интеграционные проекты № 119, 145), INTAS Project No. 21-2382.

Литература

1. Колчанов Н.А., Ананько Е.А., Колпаков Ф.А. и др. Генные сети // Молекулярная биология. — 2000. — Т. 34. 4. — С. 533–544.

2. Lee T.I., Rinaldi N.J., Robert F. et al. Transcriptional regulatory networks in *Saccharomyces cerevisiae* // Science. — 2002 — Vol. 298. 5594. — P. 799–804.
3. Vogelstein B., Lane D., Levine A.J. Surfing the p53 network // Nature. — 2000. — Vol. 408. 6810. — P. 307–310.
4. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. — М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001.
5. Allen R.G., Tresini M. Oxidative stress and gene regulation // Free Radic. Biol. Med. — 2000 — Vol. 28, N 3. — P. 463–499.
6. Gabbita S.P., Robinson K.A., Stewart C.A. et al. Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction // Arch. Biochem. Biophys. — 2000. — Vol. 376. — P. 1–13.
7. Турнаев К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов // 2002. — Т. 67. 3. — С. 339–352.
8. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function // Physiol. Rev. — 2002. — Vol. 82, N 1. — P. 47–95.
9. Thimmulappa R.K., Mai K.H., Srisuma S. et al. Identification of Nrf2-regulated genes induced by the chemopreventive agent sulforaphane by oligonucleotide microarray // Cancer Res. — 2002. — Vol. 62. 18. — P. 5196–5203
10. Mirza A., Wu Q., Wang L. et al. Global transcriptional program of p53 target genes during the process of apoptosis and cell cycle progression // Oncogene. — 2003. — Vol. 22. 23. — P. 3645–3654.
11. Ananko E.A., Podkolodny N.L., Stepanenko I.L. et al. GeneNct: a database on structure and functional organisation of gene networks // Nucleic Acids Res. — 2002. — Vol. 30. — P. 398–401.
12. Kolchanov N.A., Ignatieva E.V., Ananko E.A. et al. Transcription Regulatory Regions Databases (TRRD): its status in 2002 // Nucleic Acids Res. — 2002. — Vol. 30. — P. 312–317.
13. Liu H., Nishitoh H., Ichijo H., et al. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) by tumor necrosis factor receptor-associated factor 2 requires prior dissociation of the ASK1 inhibitor thioredoxin // Mol. Cell Biol. — 2000. — Vol. 20. 6. — P. 2198–208.
14. Flaherty D.M., Monick M.M., Hunninghake G.W. AP endonucleases and the many functions of Ref-1 // Am J. Respir. Cell. Mol. Biol. — 2001. 6. — P. 664–667.
15. Kim Y.C., Yamaguchi Y., Kondo N. et al. Thioredoxin-dependent redox regulation of the antioxidant responsive element (ARE) in electrophile response // Oncogene. — 2003. — Vol. 22. 12. — P. 1860–1865.
16. Mustacich D., Powis G. Thioredoxin reductase // Biochem J. — 2000. — Vol. 346. — P. 1–8.
17. Sun Q.A., Wu Y., Zappacosta F., et al. Redox regulation of cell signaling by selenocysteine in mammalian thioredoxin reductases // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274. 35. — P. 24522–24530.
18. Hirota K., Matsui M., Iwata S., et al. AP-1 Transcriptional Activity is Regulated by a Direct Association between Thioredoxin and Ref-1 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 94. 8. — P. 3633–8
19. Mitomo K., Nakayama K., Fujimoto K., et al. Two different cellular redox systems regulate the DNA-binding activity of the p50 subunit of NF-kappa B in vitro // Gene. — 1994. — Vol. 145. 2. — P. 197–203.
20. Wu X., Bishopric N.H., Discher D.J. et al. Physical and functional sensitivity of zinc finger transcription factors to redox change // Mol. Cell Biol. — 1996. — V. 16. 3. — P. 1035–1046.
21. Jacquier-Sarlin M.R., Polla B.S. Dual regulation of heat-shock transcription factor (HSF) activation and DNA-binding activity by H2O2: role of thioredoxin // Biochem J. — 1996. — Vol. 318. — P. 187–193.
22. Jayaraman L., Murthy K.G., Zhu C. et al. Identification of redox/repair protein Ref-1 as a potent activator of p53 // Genes Dev. — 1997. — Vol. 11. 5. — P. 558–570.
23. Parks D., Bolinger R., Mann K. Redox state regulates binding of p53 to sequence-specific DNA, but not to non-specific or mismatched DNA // Nucleic Acids Res. — 1997. — Vol. 25. 6. — P. 1289–95.
24. Lando D., Pongratz I., Poellinger L., et al. A redox mechanism controls differential DNA binding activities of hypoxia-inducible factor (HIF) 1alpha and the HIF-like factor // J. Biol. Chem. — 2000. — Vol. 275. 7. — P. 4618–4627.
25. Ema M., Hirota K., Mimura J. et al. Molecular mechanisms of transcription activation by HLF and HIF1alpha in response to hypoxia: their stabilization and redox signal-induced interaction with CBP/p300 // EMBO J. — 1999. — Vol. 18. 7. — P. 1905–1914.
26. Myrset A.H., Bostad A., Jamin N., et al. DNA and redox state induced conformational changes in the DNA-binding domain of the Myb oncoprotein // EMBO J. — 1993. — Vol. 12. 12. — P. 4625–4633.
27. Huang R.P., Adamson E.D. Characterization of the DNA-binding properties of the early growth response-1 (Egr-1) transcription factor: evidence for modulation by a redox mechanism // DNA Cell Biol. — 1993. — Vol. 12. 3. — P. 265–273.
28. Huang Y., Domann F.E. Redox modulation of AP-2 DNA binding activity in vitro // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1998. — Vol. 249. 2. — P. 307–312.
29. Nakshatri H., Bhat-Nakshatri P., Currie R.A. Subunit association and DNA binding activity of the heterotrimeric transcription factor NF-Y is regulated by cellular redox // J. Biol. Chem. — 1996. — Vol. 271. 46. — P. 28784–28791.
30. Pognonec P., Kato H., Roeder R.G. The helix-loop-helix/leucine repeat transcription factor USF can be functionally regulated in a redox-dependent manner // J. Biol. Chem. — 1992. — Vol. 267. 34. — P. 24563–24567.
31. Guo H., Cai C.Q., Kuo P.C. Hepatocyte nuclear factor-4alpha mediates redox sensitivity of inducible nitric-oxide synthase gene transcription // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277. 7. — P. 5054–5060.
32. Okamoto K., Tanaka H., Ogawa H. et al. Redox-dependent regulation of nuclear import of the glucocorticoid receptor // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274. 15. — P. 10363–10371.
33. Tell G., Pellizzari L., Cimarosti D. et al. Ref-1 controls pax-8 DNA-binding activity // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1998. — Vol. 252. 1. — P. 178–183.
34. Tell G., Pines A., Paron I. et al. Redox effector factor-1 regulates the activity of thyroid transcription factor 1 by controlling the redox state of the N transcriptional activation domain // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277. 17. — P. 14564–14574.
35. Babior B.M. The NADPH oxidase of endothelial cells // IUBMB Life. — 2000. — Vol. 50. 4–5. — P. 267–269.
36. Ozaki M., Deshpande S.S., Angkeow P. et al. Rac1 regulates stress-induced, redox-dependent heat shock factor activation // J. Biol. Chem. — 2000. — Vol. 275. 45. — P. 35377–35383.
37. Sanlioglu S., Williams C.M., Samavati L. et al. Lipopolysaccharide induces Rac1-dependent reactive oxygen species formation and coordinates tumor necrosis factor-alpha secretion through IKK regulation of NF-kappa B // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276. 32. — P. 30188–30198.
38. Hirota K., Semenza G.L. Rac1 activity is required for the activation of hypoxia-inducible factor 1 // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276. 24. — P. 21166–21172.
39. Ozaki M., Suzuki S., Irani K. Redox factor-1/APE suppresses oxidative stress by inhibiting the rac1 GTPase // FASEB J. — 2002. — Vol. 16. 8. P. 889–890.
40. Janssen-Heininger Y.M., Poynter M.E., Baeuerle P.A. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor kappaB // Free Radic. Biol. Med. — 2000. — Vol. 28. 9. — P. 1317–13127.
41. Bonizzi G., Piette J., Merville M.P. et al. Distinct signal transduction pathways mediate nuclear factor-kappaB induction by IL-1beta in

- epithelial and lymphoid cells // *J. Immunol.* — 1997. — Vol. 159. 11. — P. 5264–52672.
42. *Woo C.H., Eom Y.W., Yoo M.H. et al.* Tumor necrosis factor-alpha generates reactive oxygen species via a cytosolic phospholipase A2-linked cascade // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275. 41. — P. 32357–32362.
 43. *Cho S., Urata Y., Iida T. et al.* Glutathione downregulates the phosphorylation of I kappa B: autoloop regulation of the NF-kappa B-mediated expression of NF-kappa B subunits by TNF-alpha in mouse vascular endothelial cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1998. — Vol. 253. 1. — P. 104–108.
 44. *Hirota K., Murata M., Sachi Y. et al.* Distinct roles of thioredoxin in the cytoplasm and in the nucleus. A two-step mechanism of redox regulation of transcription factor NF-kappaB // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. 39. — P. 27891–27897.
 45. *Nikitovic D., Holmgren A., Spyrou G.* Inhibition of AP-1 DNA binding by nitric oxide involving conserved cysteine residues in Jun and Fos // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1998. — Vol. 242. 1. — P. 0109–112.
 46. *Peng H.B., Spiecker M., Liao J.K.* Inducible nitric oxide: an autoregulatory feedback inhibitor of vascular inflammation // *J. Immunol.* — 1998. — Vol. 161. 4. — P. 1970–1976.
 47. *Shen Y.H., Wang X.L., Wilcken D.E.* Nitric oxide induces and inhibits apoptosis through different pathways // *FEBS Lett.* — 1998. — Vol. 433. 1–2. — P. 125–131.
 48. *Yoo C.G., Lee S., Lee C.T. et al.* Anti-inflammatory effect of heat shock protein induction is related to stabilization of I kappa B alpha through preventing I kappa B kinase activation in respiratory epithelial cells // *J. Immunol.* — 2000. — Vol. 164. 10. — P. 5416–5423.
 49. *Wong H.R., Ryan M., Wispe J.R.* Stress response decreases NF-kappaB nuclear translocation and increases I-kappaBalpha expression in A549 cells // *J. Clin. Invest.* — 1997. — Vol. 99. 10. — P. 2423–2428.
 50. *Ianaro A., Ialenti A., Maffia P. et al.* HSF1/hsp72 pathway as an endogenous anti-inflammatory system // *FEBS Lett.* — 2001. — Vol. 499. 3. — P. 239–244.
 51. *Haddad J.J., Land S.C.* A non-hypoxic, ROS-sensitive pathway mediates TNF-alpha-dependent regulation of HIF-1alpha // *FEBS Lett.* — 2001. — Vol. 505. 2. — P. 269–274.
 52. *Haddad J.J.* Recombinant human interleukin (IL)-1 beta-mediated regulation of hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 alpha) stabilization, nuclear translocation and activation requires an antioxidant/reactive oxygen species (ROS)-sensitive mechanism // *Eur. Cytokine Netw.* — 2002. — Vol. 13. 2. — P. 250–260.
 53. *Kallio P.J., Wilson W.J., O'Brien S. et al.* Regulation of the hypoxia-inducible transcription factor 1alpha by the ubiquitin-proteasome pathway // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. 10. — P. 6519–6525.
 54. *Chandel N.S., McClintock D.S., Feliciano C.E. et al.* Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O2 sensing // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275. 33. — P. 25130–25138.
 55. *Srinivas V., Leshchinsky I., Sang N. et al.* Oxygen sensing and HIF-1 activation does not require an active mitochondrial respiratory chain electron-transfer pathway // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. 25. — P. 21995–21998.
 56. *Rogers R.J., Monnier J.M., Nick H.S.* Tumor necrosis factor-alpha selectively induces MnSOD expression via mitochondria-to-nucleus signaling, whereas interleukin-1beta utilizes an alternative pathway // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. 23. — P. 20419–20427.
 57. *Morel Y. and Barouki R.* Down-regulation of Cytochrome P450 1A1 Gene Promoter by Oxidative Stress. Critical contribution of nuclear factor 1 // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273. 41. — P. 26969–26976.
 58. *Martin M.E., Chinenov Y., Yu M. et al.* Redox regulation of GA-binding protein-alpha DNA binding activity // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271. 41. — P. 25617–2523.
 59. *Wild A.C., Moinova H.R., Mulcahy R.T.* Regulation of gamma-glutamylcysteine synthetase subunit gene expression by the transcription factor Nrf2 // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. 47. — P. 33627–33636.
 60. *Kim Y.C., Masutani H., Yamaguchi Y. et al.* Hemin-induced activation of the thioredoxin gene by Nrf2. A differential regulation of the antioxidant responsive element by a switch of its binding factors // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. 21. — P. 18399–18406.
 61. *Kwak M.K., Itoh K., Yamamoto M. et al.* Enhanced expression of the transcription factor Nrf2 by cancer chemopreventive agents: role of antioxidant response element-like sequences in the nrf2 promoter // *Mol. Cell Biol.* — 2002. — Vol. 22. 9. — P. 2883–2892.
 62. *Nguyen T., Sherratt P.J., Huang H.C. et al.* Increased protein stability as a mechanism that enhances Nrf2-mediated transcriptional activation of the antioxidant response element. Degradation of Nrf2 by the 26 S proteasome // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278. 7. — P. 4536–45341.
 63. *Huang H.C., Nguyen T., Pickett C.B.* Phosphorylation of Nrf2 at Ser-40 by protein kinase C regulates antioxidant response element-mediated transcription // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277. 45. — P. 42769–42774.
 64. *Sekhar K.R., Spitz D.R., Harris S. et al.* Redox-sensitive interaction between KIAA0132 and Nrf2 mediates indomethacin-induced expression of gamma-glutamylcysteine synthetase // *Free Radic. Biol. Med.* — 2002. — Vol. 32. 7. — P. 650–662.
 65. *Itoh K., Wakabayashi N., Katoh Y. et al.* Keap1 regulates both cytoplasmic-nuclear shuttling and degradation of Nrf2 in response to electrophiles // *Genes Cells.* — 2003 Apr; 8(4):379–91.
 66. *Dhakshinamoorthy S., Jaiswal A.K.* Small maf (MafG and MafK) proteins negatively regulate antioxidant response element-mediated expression and antioxidant induction of the NAD(P)H:Quinone oxidoreductase1 gene // *J. Biol. Chem.* — 2000. 275. 51. 40134–4014.
 67. *Wiesel P., Foster L.C., Pellacani A. et al.* Thioredoxin facilitates the induction of heme oxygenase-1 in response to inflammatory mediators // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275. 32. — P. 24840–24846.
 68. *Alam J., Killeen E., Gong P. et al.* Heme activates the heme oxygenase-1 gene in renal epithelial cells by stabilizing Nrf2 // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* — 2003. — Vol. 284. 4 — P. F743–752.
 69. *Pietsch E.C., Chan J.Y., Torti F.M. et al.* Nrf2 mediates the induction of ferritin H in response to xenobiotics and cancer chemopreventive dithiolethiones // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278. 4. — P. 2361–2369.
 70. *Cairo G., Pietrangelo A.* Iron regulatory proteins in pathobiology // *Biochem J.* — 2000. — Vol. 352. — P. 241–250.
 71. *Oliveira L., Bouton C., Drapier J.C.* Thioredoxin activation of iron regulatory proteins. Redox regulation of RNA binding after exposure to nitric oxide // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. 1. — P. 516–521.
 72. *Simon H.U., Haj-Yehia A., Levi-Schaffer F.* Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction // *Apoptosis.* — 2000. — Vol. 5. 5. — P. 415–418.
 73. *Ueno M., Masutani H., Arai R.J. et al.* Thioredoxin-dependent redox regulation of p53-mediated p21 activation // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. 50. — P. 35809–35815.
 74. *Villunger A., Michalak E.M., Coultas L. et al.* p53- and drug-induced apoptotic responses mediated by BH3-only proteins puma and noxa // *Science.* — 2003. — Vol. 302. 5647. — P. 1036–1038.
 75. *Schuler M., Bossy-Wetzel E., Goldstein J.C. et al.* p53 induces apoptosis by caspase activation through mitochondrial cytochrome c release // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275. 10. — P. 7337–7342.
 76. *Polyak K., Xia Y., Zweier J.L. et al.* A model for p53-induced apoptosis // *Nature.* — 1997. — Vol. 389. 6648. — P. 300–305.

77. *Deng Y., Wu X.* Peg3/Pw1 promotes p53-mediated apoptosis by inducing Bax translocation from cytosol to mitochondria // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97. 22. — P. 12050–12055.
78. *Li P.F., Dietz R., von Harsdorf R.* p53 regulates mitochondrial membrane potential through reactive oxygen species and induces cytochrome c-independent apoptosis blocked by Bcl-2 // *J. EMBO* — 1999. — Vol. 18. 21. — P. 6027–6036.
79. *Wagner A, Fell DA.* The small world inside large metabolic networks // *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* — 2001. — Vol. 268. 1478. — P. 1803–1810.
80. *Степаненко И.Л.* Интерференция генных сетей апоптоза и ответа на тепловой шок // *Молекулярная биология.* — 2001. — Т. 35. 6. — С. 1063–1071.

Reactive oxygen species regulate gene networks of stress response*I.L. Stepanenko*

Institute of cytology and genetics CO RAS; Novosibirsk State University

☼ THE SUMMARY: The GeneNet (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenet/>) accumulate information on reactive oxygen species (ROS) signals and reduction/oxidation (redox) regulation of transcription factors. Redox-regulation gene network is the adaptation to oxidative stress and integrative system of local gene networks via key transcription factors. The cross-talk of signals and the interference of gene networks occur in the integrative gene network.

☼ KEY WORDS: databases, reactive oxygen species, inflammation, gene expression, transcription regulation, gene networks, redox regulation.