



В.В. Миронова*, Н.А. Омелянчук*,
Д.Ю. Ощепков*, В.Г. Левицкий*

Предсказание мишеней транскрипционных факторов семейства AtARF, опосредующих первичный ответ на фитогормон ауксин

Ключевым фактором, обеспечивающим регуляцию таких основополагающих процессов в растении, как филлотаксис, апикальное доминирование, поддержание ниш стволовых клеток в меристемах, удлинение побега и корня, развитие сосудистой системы, гравитропизм и многие другие, является фитогормон ауксин. Первичным ответом клетки на обработку ауксином (рис. 1) являются освобождение транскрипционных факторов ARF семейства от их белков-супрессоров и связывание ARF факторов с регуляторными районами их генов-мишеней, содержащими сайты (AuxRE), которые представляют собой последовательность TGTCnC. Связывание ARF факторов с AuxRE сайтами обеспечивает быстрое (в течении десятков минут) изменение экспрессии генов-мишеней.

В настоящий момент для *Arabidopsis thaliana* экспериментально подтверждены лишь 9 генов-мишеней ARF. Для всех остальных генов, относимых в публикациях к ARF мишеням, эта принадлежность определялась, в основном, по наличию последовательности TGTCnC в его промоторе. Проведенное нами полногеномное распознавание последовательности TGTCnC в промоторах генов арабидопсиса свидетельствует о том, что одного этого показателя недостаточно для распознавания мишени, так как по этому критерию более 95 % генов арабидопсиса потенциально могут быть мишенями ARF в первичном ответе на ауксин, что не подтверждается экспериментальными данными. Исходя из этого, нами была поставлена задача создания более точного метода распознавания сайтов AuxRE, а значит и предсказания потенциальных мишеней AtARF.

Для решения этой задачи мы использовали биоинформатические методы optimized PWM и Sitecon. Для адаптации их к задаче распознавания AuxRE на основе экспериментальных данных были созданы следующие выборки:

Выборка 1. Экспериментально подтвержденные сайты связывания ARF. Выборка содержит 12 сайтов, выровненных по последовательности TGTCnп так, что слева и справа от кора фланги составили 50 нт.

Выборка 2. Промоторы ауксин-регулируемых генов, для которых в литературе была найдена связь с экспрессией

транскрипционных факторов ARF. Выборка содержит промоторы генов, фазированные относительно стартов транскрипции (-2000;+1), выборка состоит из двух источников: а) набор 53 регулируемых ауксином генов, отобранных на основе литературных данных; б) 61 ген был выбран в результате обработки полногеномных данных по транскрипции генов *A. thaliana* (микрочип эксперимент).

Выборка 3. Выборка промоторов генов *A. thaliana*, для которых экспериментально показан старт транскрипции (ССТ). Для этого мы проанализировали данные геномной базы *A. thaliana* TAIR (<http://arabidopsis.org/>) о локализации кодирующих районов генов с данными из PPDB (<http://ppdb.gene.nagoya-u.ac.jp/>) о массовом определении ССТ. Выборка содержит промоторы 8688 генов, фазированные относительно ССТ (-2000;+1).

Для последовательностей **выборки 1** методами optimized PWM и Sitecon проведен анализ контекстных и физико-химических свойств соответственно. Оба метода обнаружили специфические особенности в окружении TGTCnC кора, которые можно использовать для улучшения метода распознавания AuxRE. С учетом этих особенностей было проведено распознавание AuxRE в **выборке 2** и **3**. Анализ предсказанных AuxRE привел к следующим результатам.

Нами было продемонстрировано, что наличие потенциального AuxRE сайта в промоторе гена коррелирует с изменением экспрессии гена в ответ на ауксин. Для этого мы использовали данные микрочип эксперимента, в котором растение обрабатывали 1 мкмоль ауксина в течение часа и затем сравнивали изменение экспрессии генов за это время с начальными данными. Нами была найдена значимая корреляция между наличием потенциального AuxRE и степенью репрессии или активации гена в ответ на ауксин. Это говорит о том, что предложенный нами метод является адекватным для распознавания AuxRE сайтов.

Впервые показано, что проксимальные части (-200; +1) промоторов ауксин-регулируемых генов (**выборка 2**) насыщены AuxRE мотивами (рис. 2, а).

Среди генов, в которых были предсказаны потенциаль-

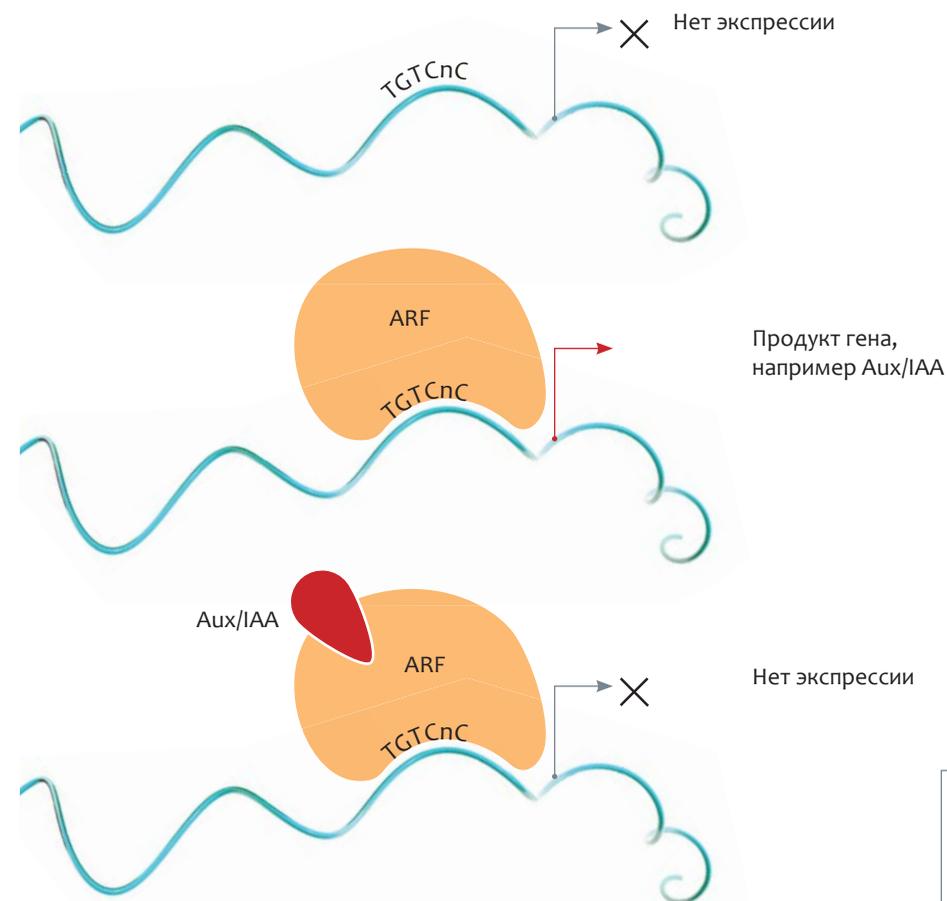


Рис. 1. Механизм регуляции экспрессии генов транскрипционными факторами семейства ARF (на примере ARF-активаторов).

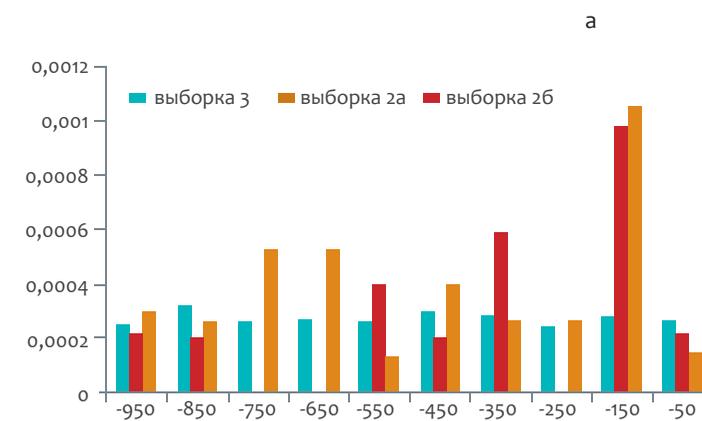


Рис. 2. а – анализ плотности потенциальных AuxRE для проксимальных районов промоторов, фазированных (-1000; +1) относительно ССТ. Ось Y – плотность потенциальных AuxRE для неперекрывающихся районов промоторов длины 50 п.о., локализация которых отмечена по оси X.

б – возможная схема регуляции ауксином роста и развития растения через семейство ARF транскрипционных факторов, полученная на основе анализа данных предсказания.

ные AuxRE, обнаружено большое количество ключевых генов морфогенеза, таких, как транспортеры ауксина, транскрипционные факторы, участвующие в развитии различных органов растения, гены, регулирующие полярность клеток и др. На рис. 2, б представлена возможная схема регуляции ауксином роста и развития растения через ARF сигнальный путь, полученная на основе анализа данных распознавания.

