



Н.И. Ершов*, В.Г. Левицкий*,
Д.Ю. Ощепков*, Л.О. Брызгалов*,
Е.В. Антонцева*, Т.И. Меркулова*

Выявление взаимосвязи между регуляторными сигналами в промоторах генов и их дифференциальной экспрессией

Ранее была обнаружена связь между гепатоканцерогенностью аминоазокрасителей и их способностью подавлять ДНК-связывающую активность транскрипционных факторов FoxA в печени крыс и мышей. Целью данной работы было изучение связи между наличием потенциальных сайтов связывания транскрипционных факторов (ССТФ) FoxA в промоторном районе гена и изменением экспрессии гена в результате воздействия двух типов аминоазокрасителей: гепатоканцерогенного для крыс 3'-МеДАБ и неканцерогенного для них ОАТ. В качестве контроля были выбраны СС SF-1 и SREBP. ТФ SF-1 отсутствует в печени, массовое изменение уровня экспрессии генов, содержащих его СС, в ответ на любое внешнее воздействие представляется маловероятным. Другой ТФ – SREBP участвует в регуляции экспрессии большого числа генов липидного метаболизма и биосинтеза холестерина и активен в клетках печени, однако пока нет данных, указывающих на возможность его участия в ответе на введение аминоазокрасителей.

Для 5934 генов крысы, имеющих подтвержденные в базе RefSeq транскрипты и уникальную хромосомную локализацию, было определено изменение экспрессии под действием 3'-МеДАБ и ОАТ. Распознавание потенциальных ССТФ проводилось с помощью метода SITECON. Для построения метода распознавания FoxA была сформирована выборка на основе данных базы SAMPLES (<http://srs6.bionet.nsc.ru/>), всего использовано 22 последовательности длиной 35 п.н., имеющих не более 2 несовпадений с консенсусом FoxA VAWTRTGTKRTY. На основе экспериментально исследованных потенциальных ССТФ FoxA нами был выбран порог 0,88 для метода распознавания.

Для выявления связи между наличием потенциальных ССТФ в промоторах генов и изменения их экспрессии при воздействии аминоазокрасителя были составлены полные списки генов, ранжированные по уровню изменения экс-

прессии. Затем эти списки были разбиты на 100 классов с равным числом последовательностей в каждом. 20 % генов из центральной части списка были объединены в группу с «отсутствием изменения экспрессии». Из оставшихся 40 % генов из верхней части списка (активируемых) либо 40 % генов из нижней части (репрессируемых) изымалось 20 возможных вариантов интервалов размером 20 % и шагом смещения 1 %, каждый из которых в итоге формировал соответствующую группу с «наличием изменения экспрессии». Выделенные группы были использованы для построения таблиц сопряженности размером 2 × 2 отдельно для каждого из двух аминоазокрасителей против каждого из трех типов сайтов. Для оценки значимости обогащения ССТФ использовался критерий χ^2 с учетом коррекций Бонферони и Йетса. На рис. 1 представлены результаты анализа связи между активацией генов под действием 3'-МеДАБ и наличием потенциальных ССТФ. Доля генов, содержащих потенциальные СС FoxA, среди генов, активирующихся под действием 3'-МеДАБ, достигает значения 33,3 % в интервале увеличения экспрессии от 1,123 до 1,718. В то же время, доля генов с наличием потенциальных FoxA сайтов среди генов, не реагирующих на введение 3'-МеДАБ, составляет 26,7 %. Вместе с этим, доли генов с наличием потенциальных SF-1 и SREBP сайтов (рис. 1) между группами генов, реагирующих и не реагирующих на введение аминоазокрасителя, практически не отличаются. Это позволяет говорить об отсутствии связи между наличием сайтов SF-1 или SREBP в регуляторной области генов и изменением их экспрессии под воздействием аминоазокрасителя. Анализ действия аминоазокрасителя ОАТ выявил сходный результат с действием 3'-МеДАБ.

Можно заключить, что группы генов, реагирующих на 3'-МеДАБ и ОАТ, демонстрируют заметное обогащение потенциальными генами-мишенями FoxA, в то время как для контрольных ССТФ SF-1 и SREBP подобного эффекта не наблюдается.

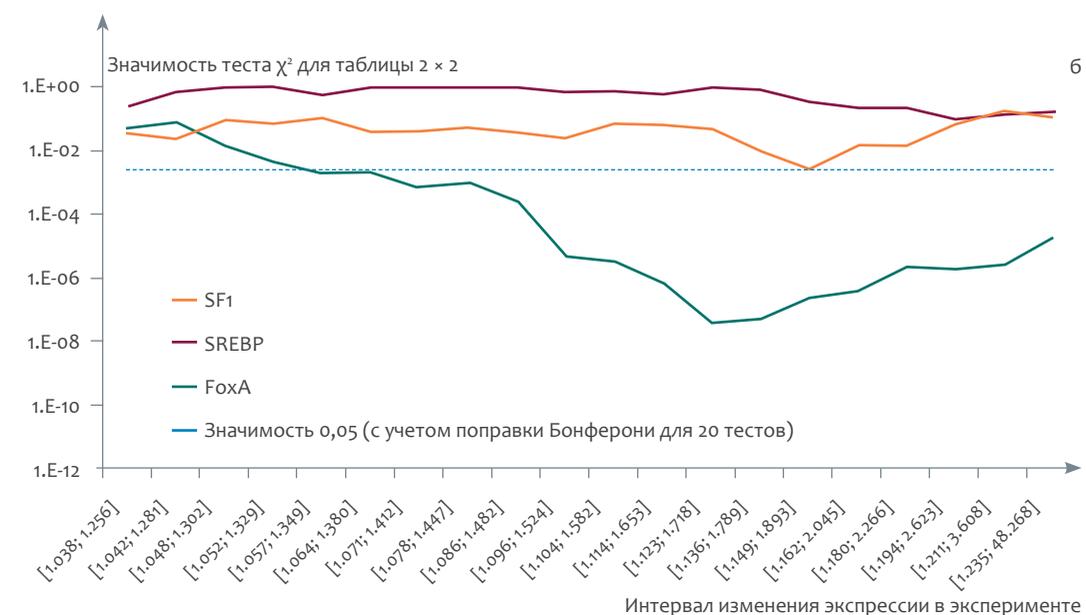
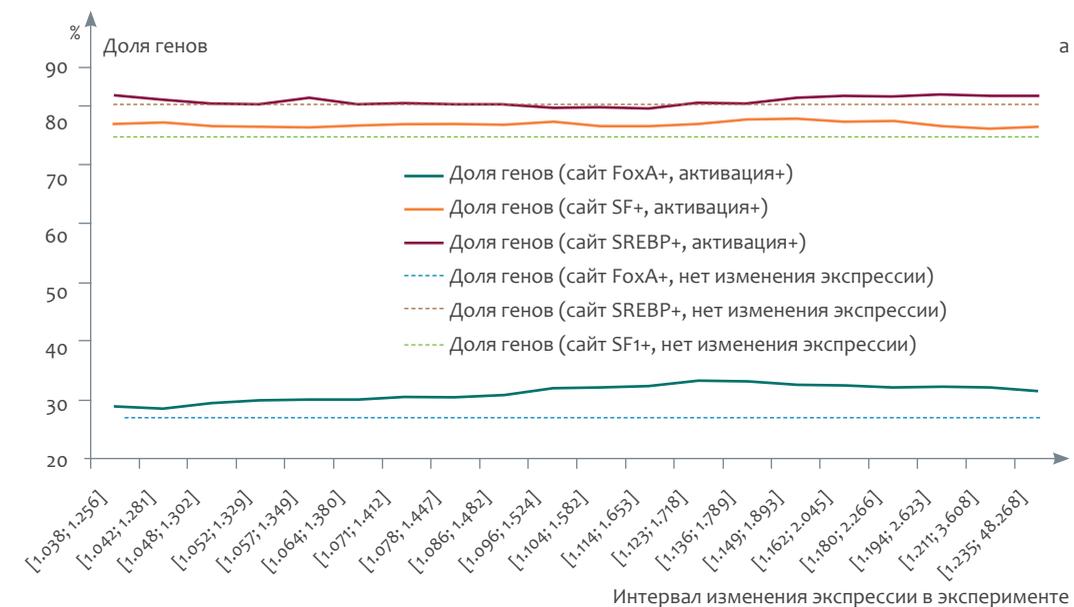


Рис. 1. Проверка гипотез о связи наличия потенциальных ССТФ FoxA, SREBP и SF-1 в регуляторных районах генов с их активацией при введении 3'-МеДАБ. а – значения доли генов с сайтами в промоторных областях в зависимости от значения интервала изменения экспрессии гена при воздействии 3'-МеДАБ. б – значимость теста χ^2 для проверки соответствующей гипотезы в зависимости от значения интервала изменения экспрессии генов.