

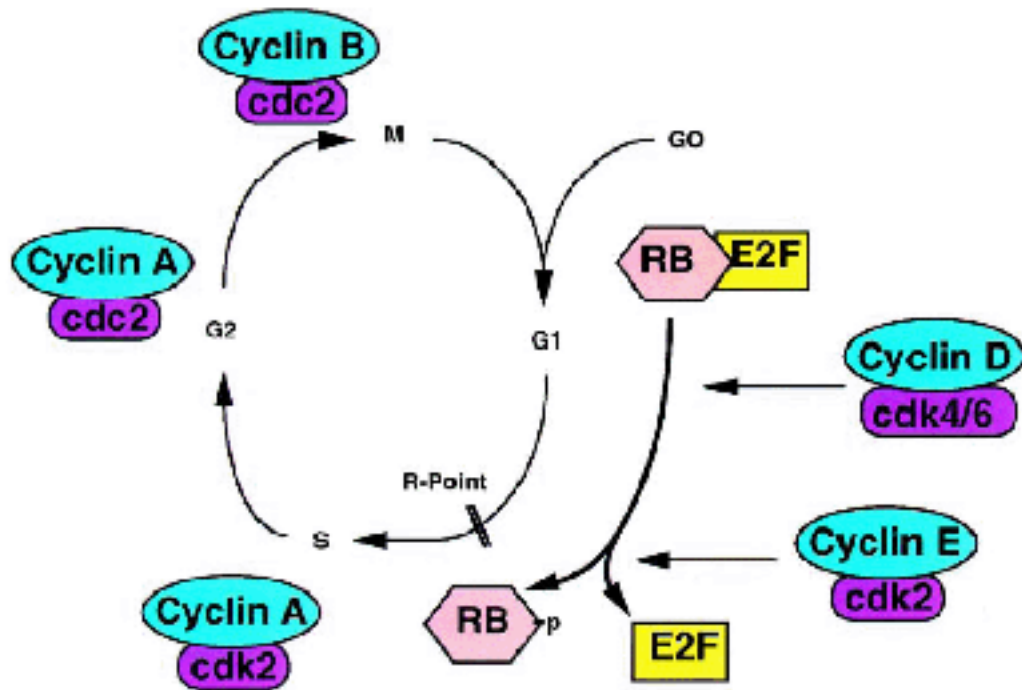
**Анализ регуляторных последовательностей и
динамики молекулярно-генетической системы,
контролирующей G1/S переход клеточного цикла
эукариот**

Дейнеко Игорь Владимирович

Научные руководители:
профессор, д.б.н. Ратнер В.А.
профессор, д.б.н Васильева Л.А.

Специальность 03.00.15 Генетика
Новосибирск 2005

Клеточный цикл: регуляция и динамика.



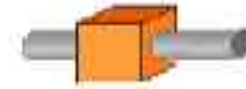
Комплексное изучение регуляции клеточного цикла

Задачи работы:

- Проанализировать регуляторные районы генов кодирующих факторы AP 1 и машины клеточного цикла как мишеней факторов группы E2F. Для этого разработать методы распознавания композиционных элементов и кластеров.
- Построить молекулярно-генетическую систему, контролирующую G1 фазу и G1/S переход клеточного цикла эукариот, исследовать динамику этой системы и влияние на неё предсказанных регуляторных связей к генам кодирующим факторы группы AP-1.

Анализ топологии МГС – дополнение регуляторными связями

Одиночные сайты связывания



Композиционные регуляторные элементы

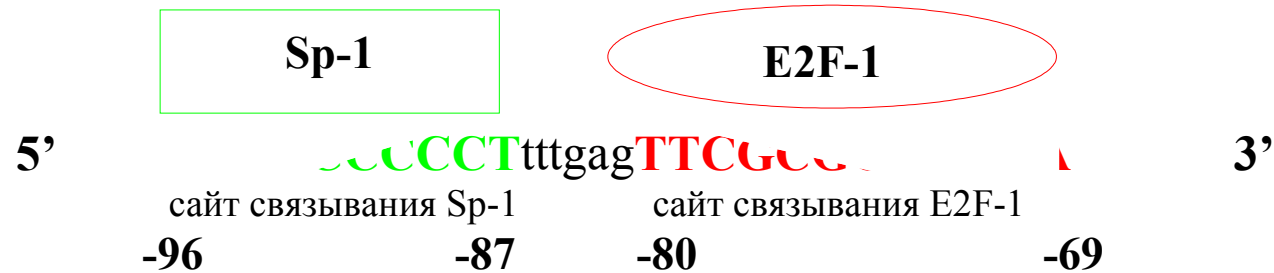


Цис-регуляторные модули



Композиционные регуляторные элементы – новый метод распознавания

Поиск только на основе известных примеров



Известно КЭ	2	
Известно отдельных сайтов	235	39

Композиционные регуляторные элементы – новый метод распознавания

Матричная

КЭ

Первый сайт связывания:

- Весовая матрица
- Порог
- Ориентация

Вариабельная область

- длина пн

Второй сайт связывания:

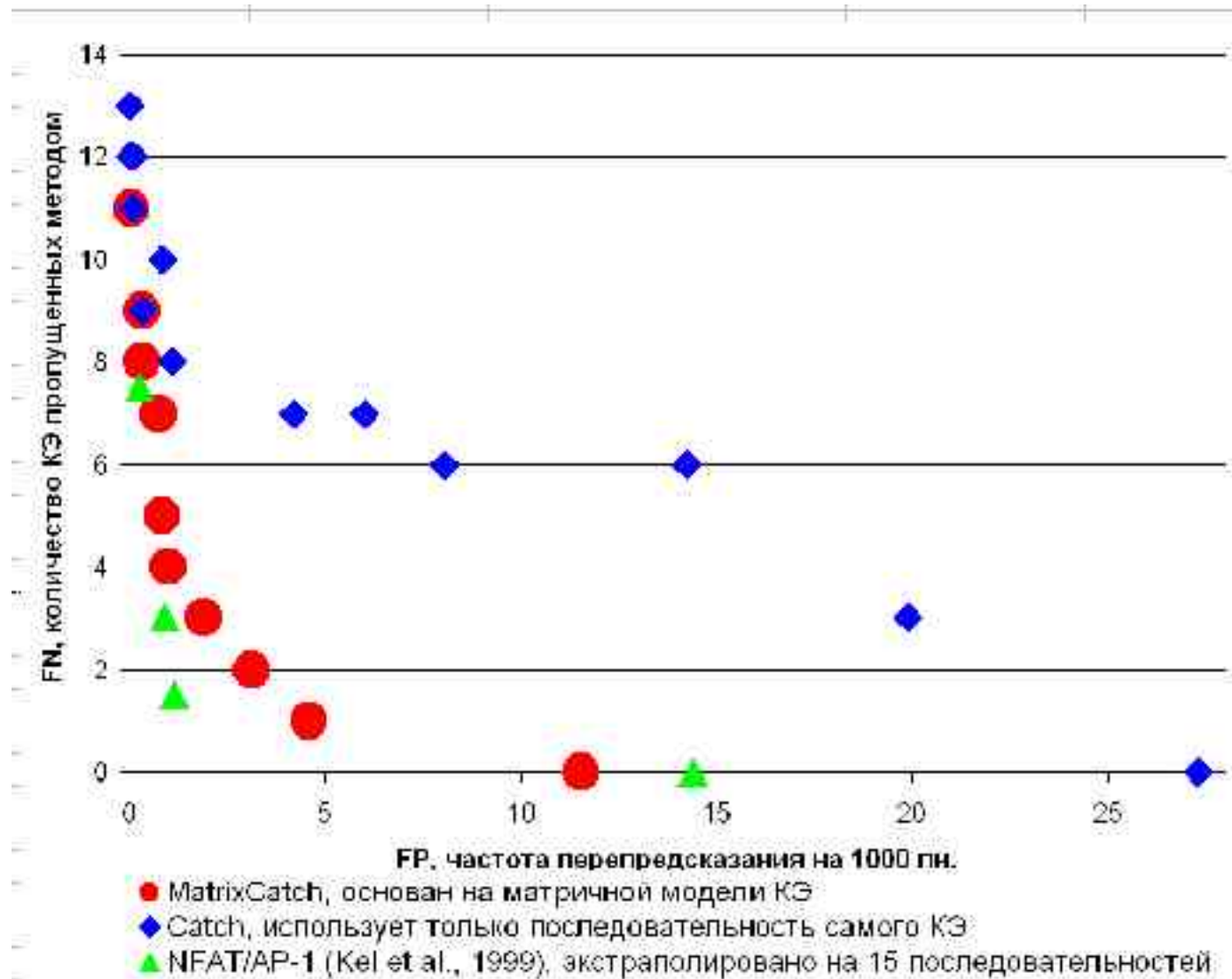
- Весовая матрица
- Порог
- Ориентация

Обучение модели:

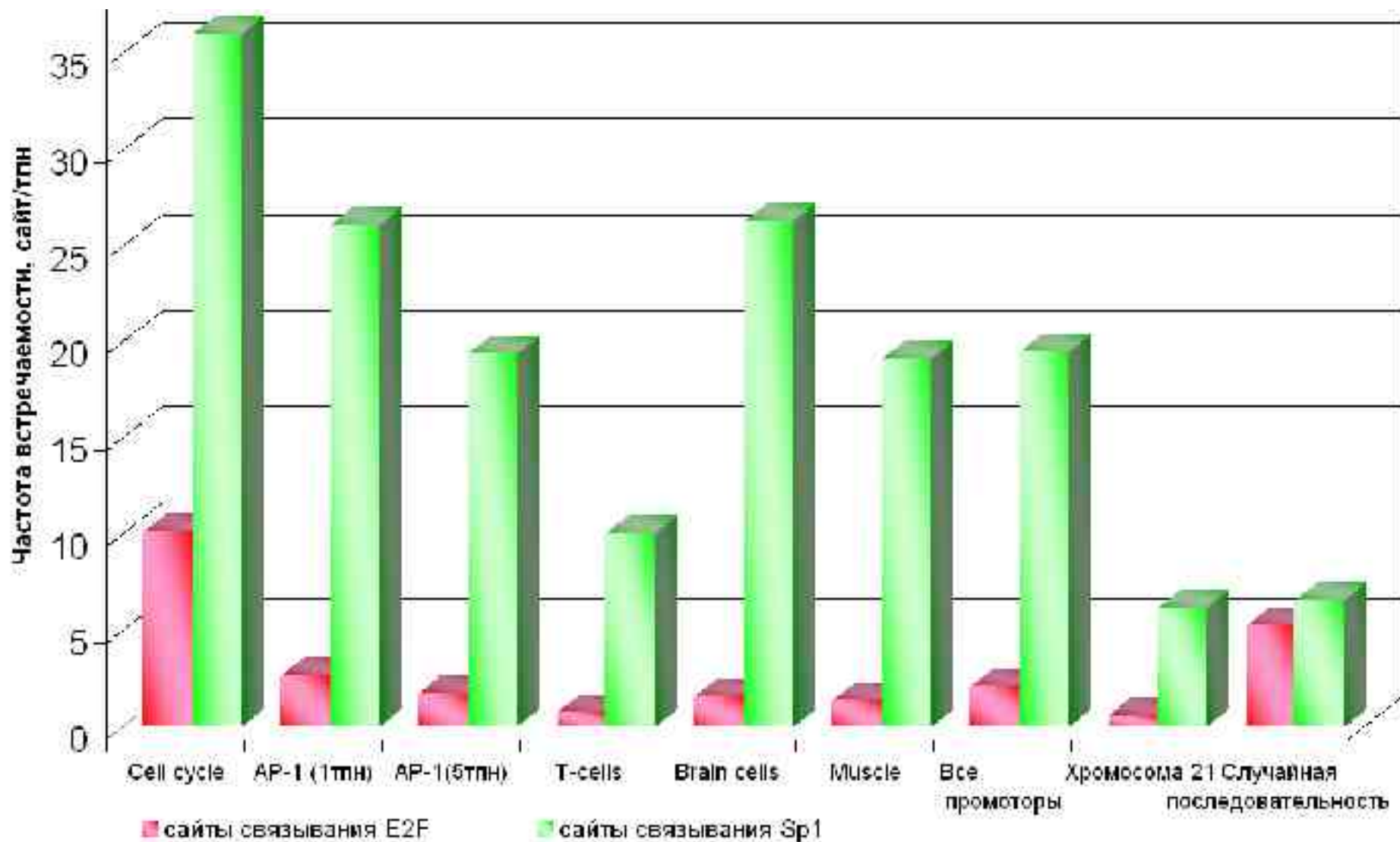
КЭ – расстояние, связывающиеся факторы

Одиночные сайты – распознавание связывающих последовательностей.

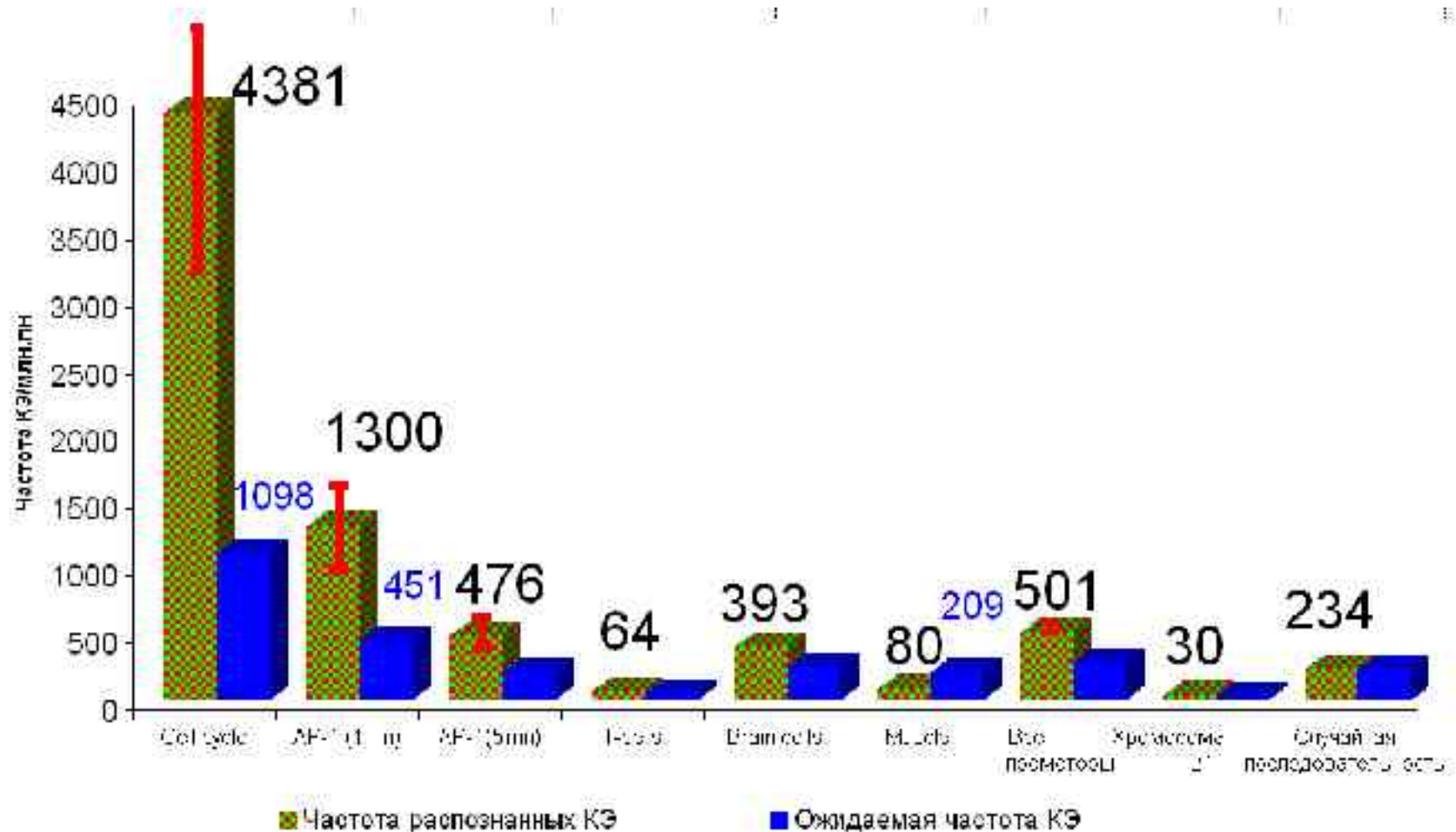
Композиционные регуляторные элементы - точность распознавания



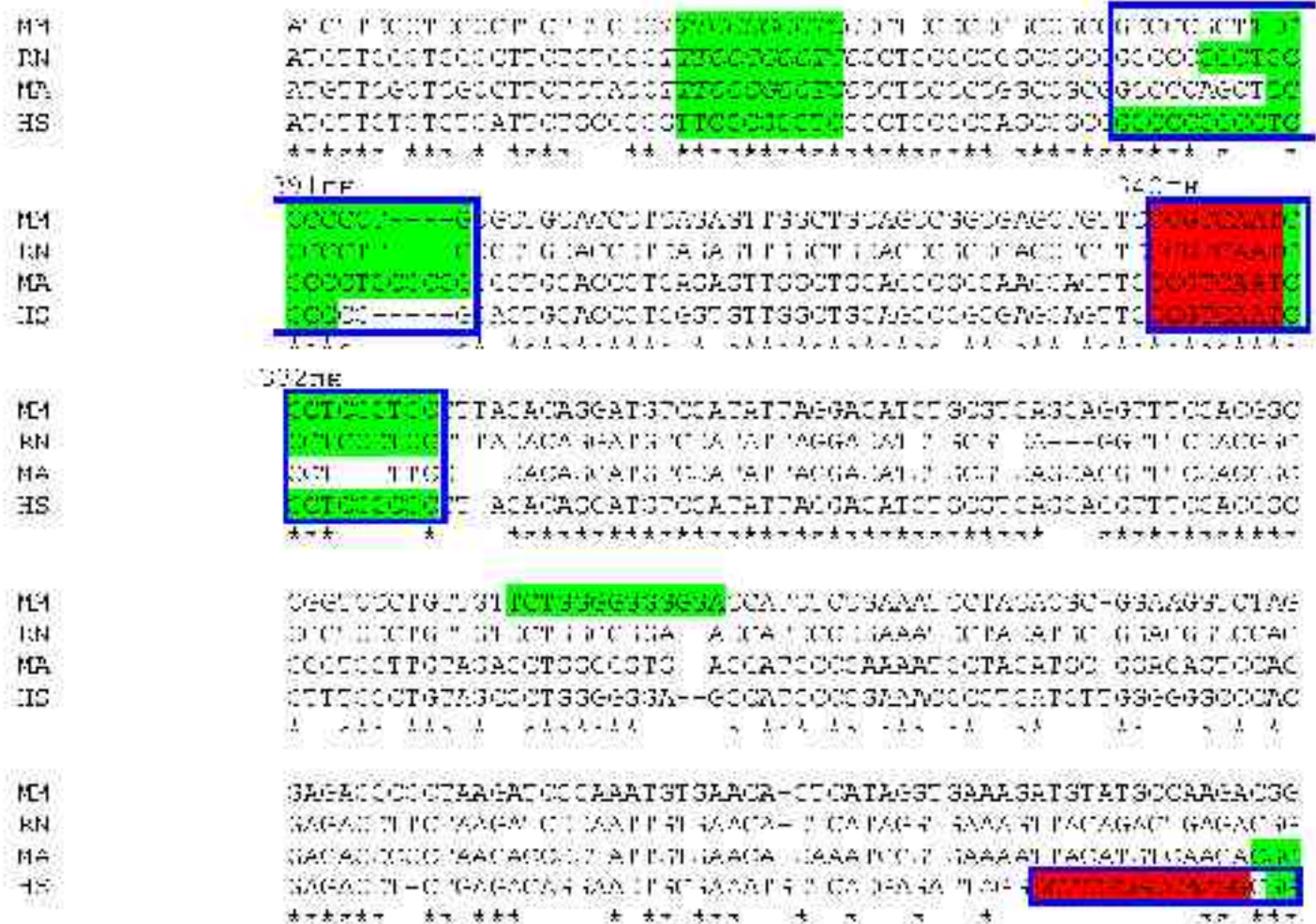
Композиционные регуляторные элементы – сайты связывания SP1 и E2F-1 в различных группах промоторов



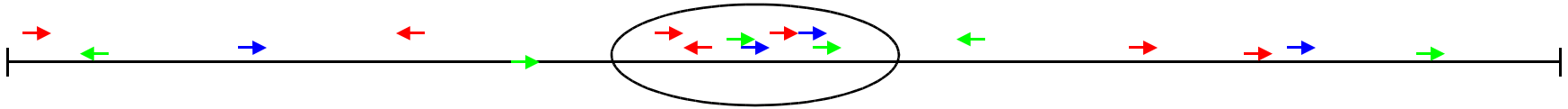
Композиционные регуляторные элементы – КЭ SP1/E2F-1 в различных группах промоторов



Композиционные регуляторные элементы – КЭ SP1/E2F-1 в промоторах генов *c-fos* человека, мыши, крысы и хомяка



Цис-регуляторные модули или кластеры – определение



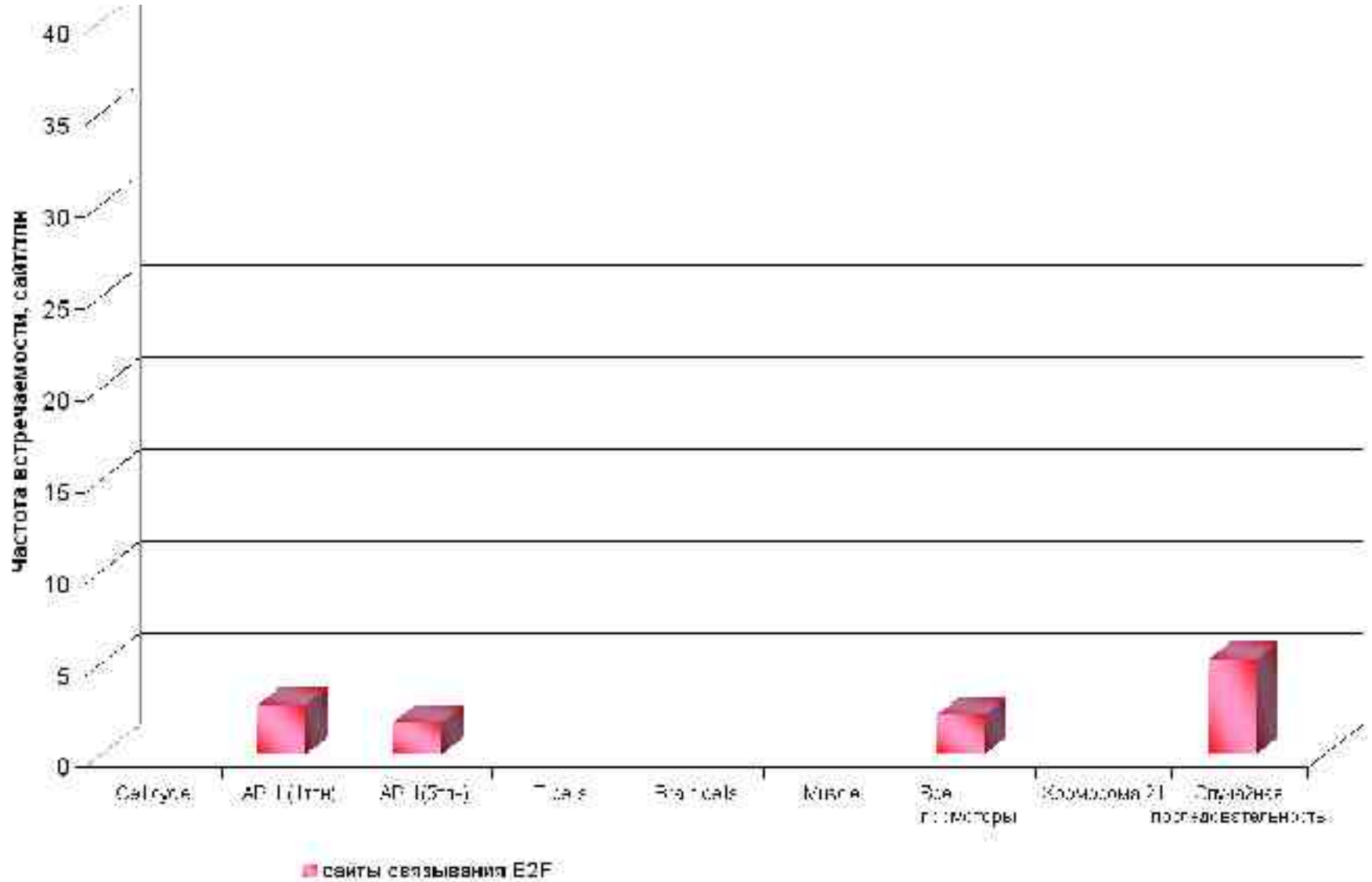
Кластер характеризуется:

- количеством сайтов и их составом;
- протяженностью;
- вероятностью выпадения данного набора по случайным причинам.

$$P(n) = \sum_{\{k_i\} \in \Omega} q(k_1) \cdot q(k_2) \cdot \dots \cdot q(k_m)$$

$$q(k_i) = e^{-L\lambda_i} \frac{(L\lambda_i)^{k_i}}{k_i!}$$

Цис-регуляторные модули или кластеры – частота сайтов связывания в промоторах генов AP-1



Цис-регуляторные модули или кластеры –

в промоторах генов AP-1

Кластеры, порог вероятности 10^{-6} .

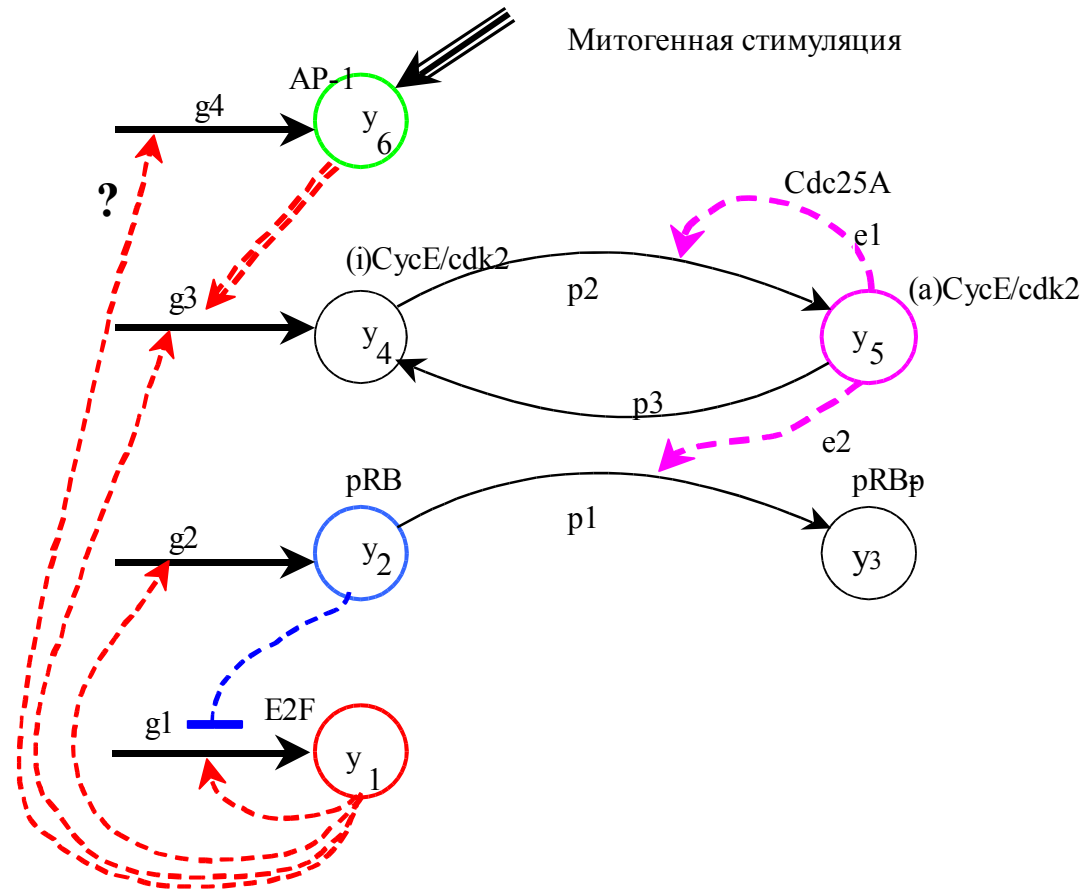
A 5к, 50 пн,
B 5к, 20пн,
B 15 5к, 50пн,
Г 2к, 20пн.

Семейство факторов	Фактор		Организм	Количество кластеров в поиске A	Обнаружены кластеры			
					A	B	B	Г
Jun	1	XBP-1	Человек					
	2	XBP-1	Мышь				+	
	3	v-Jun	Крыса	4	+	+		+
	4	JunB	Человек	2	+	+	+	+
	5	JunB	Крыса	2	+	+		
	6	JunB	Мышь	6	+	+		+
	7	JunD	Мышь	13	+	+	+	+
Fos	8	v-Fos	Человек	8	+	+	+	+
	9	c-Fos	Мышь	8	+	+		+
	10	FosB	Человек	20	+	+		+
	11	ATF3	Человек	15	+	+	+	+
	12	ATF3	Мышь				+	
	13	ATF	Крыса	1	+	+		+
Maf	14	MafG	Человек				+	
	15	MafK	Человек				+	+
	16	MafB	Человек	6	+	+		+
	17	MafF	Человек					
	18	MafA	Мышь	1	+	+	+	+
	19	MafG	Мышь	4	+	+		+
	20	MafB	Мышь	2	+	+	+	+
	21	Mafk	Мышь				+	
22	Maf	Крыса	7	+	+		+	

Динамический анализ –

топология МГС

МГС управления G1-фазой и G1/S переходом клеточного цикла эукариот



Динамический анализ –

Система дифференциальных уравнений описывающая динамику компонент МГС

$$\frac{d}{dt} y_1 = e_{\max} \cdot \frac{k_1 \cdot y_1}{k_1 \cdot y_1 + (k'_1 + k''_1 \cdot y_1) \cdot y_2} - \phi_1 \cdot y_1$$

$$\frac{d}{dt} y_2 = k_2 \cdot y_1 - k_3 \cdot y_2 \cdot y_5 - \phi_2 \cdot y_2$$

$$\frac{d}{dt} y_3 = k_3 \cdot y_2 \cdot y_5 - \phi_3 \cdot y_3$$

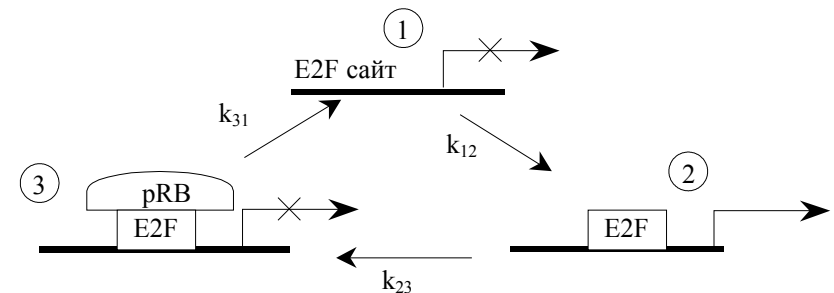
$$\frac{d}{dt} y_4 = k_4 \cdot y_1 + k''_4 \cdot y_6 - k_{4i} \cdot y_4 \cdot y_5 + k_{4a} \cdot y_5 - \phi_{4i} \cdot y_4$$

$$\frac{d}{dt} y_5 = k_{4i} \cdot y_4 \cdot y_5 - k_{4a} \cdot y_5 - \phi_{4a} \cdot y_5$$

$$\frac{d}{dt} y_6 = k_6 \cdot y_1 + F_6 \cdot t - \phi_6 \cdot y_6$$

$$F_6(t) = \begin{cases} F_m, & t \leq t_m \\ 0, & t > t_m \end{cases}$$

Активность E2F-
зависимого промотора

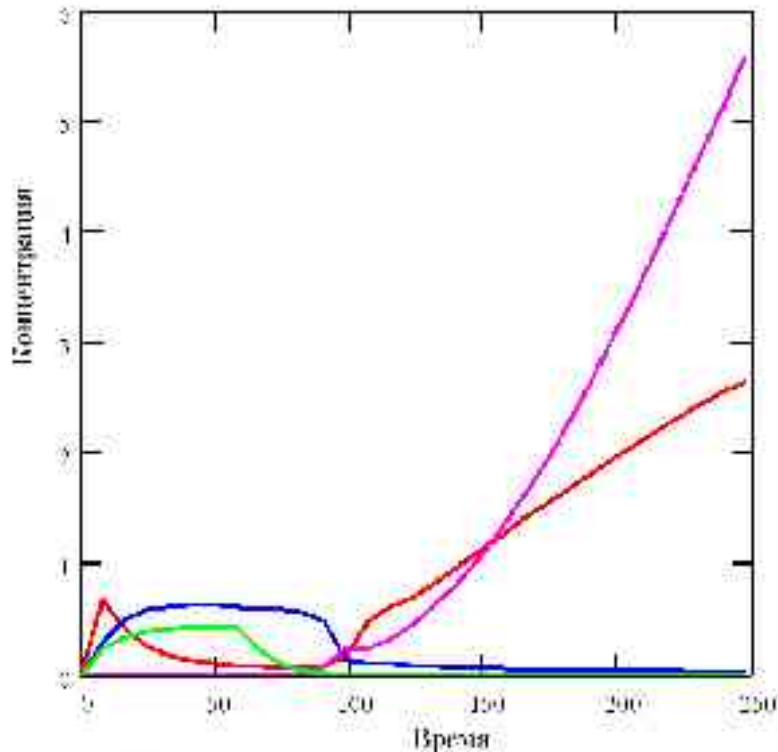


Динамический анализ –

без учета предсказанной регуляторной связи

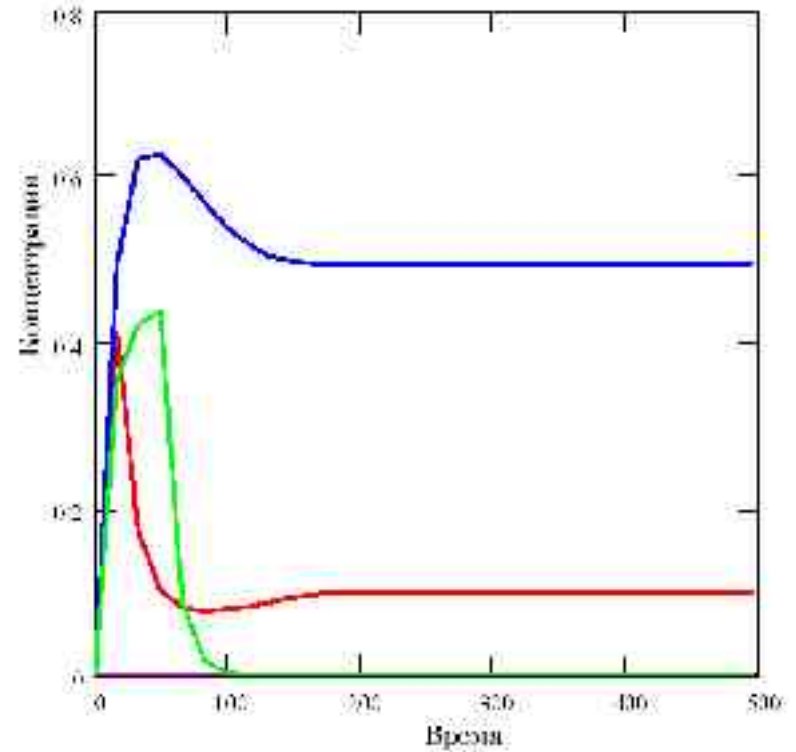
Два режима поведения МГС

$t_m = 60$



- F2F (y_1)
- pRb ($y_2^{*0.05}$)
- (a)Cyclin-Cdk2 ($y_5^{*0.5}$)
- AP-1 (y_6)

$t_m = 50$

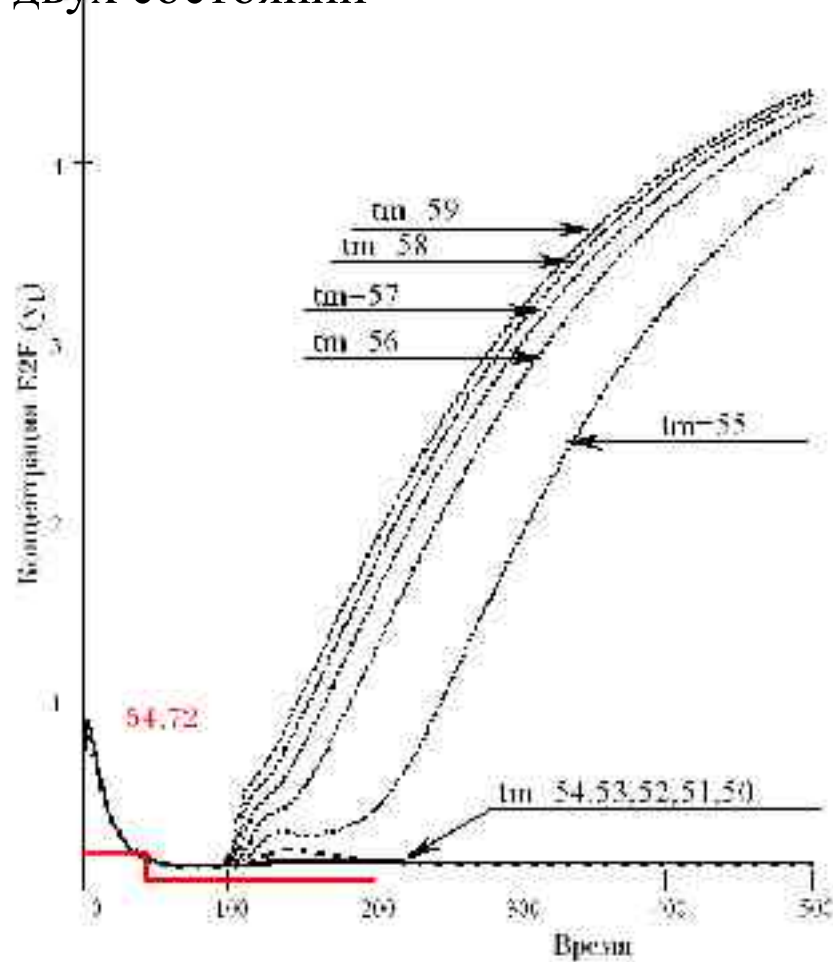


- F2F (y_1)
- pRb ($y_2^{*0.05}$)
- (a)Cyclin-Cdk2 ($y_5^{*0.5}$)
- AP-1 (y_6)

Динамический анализ –

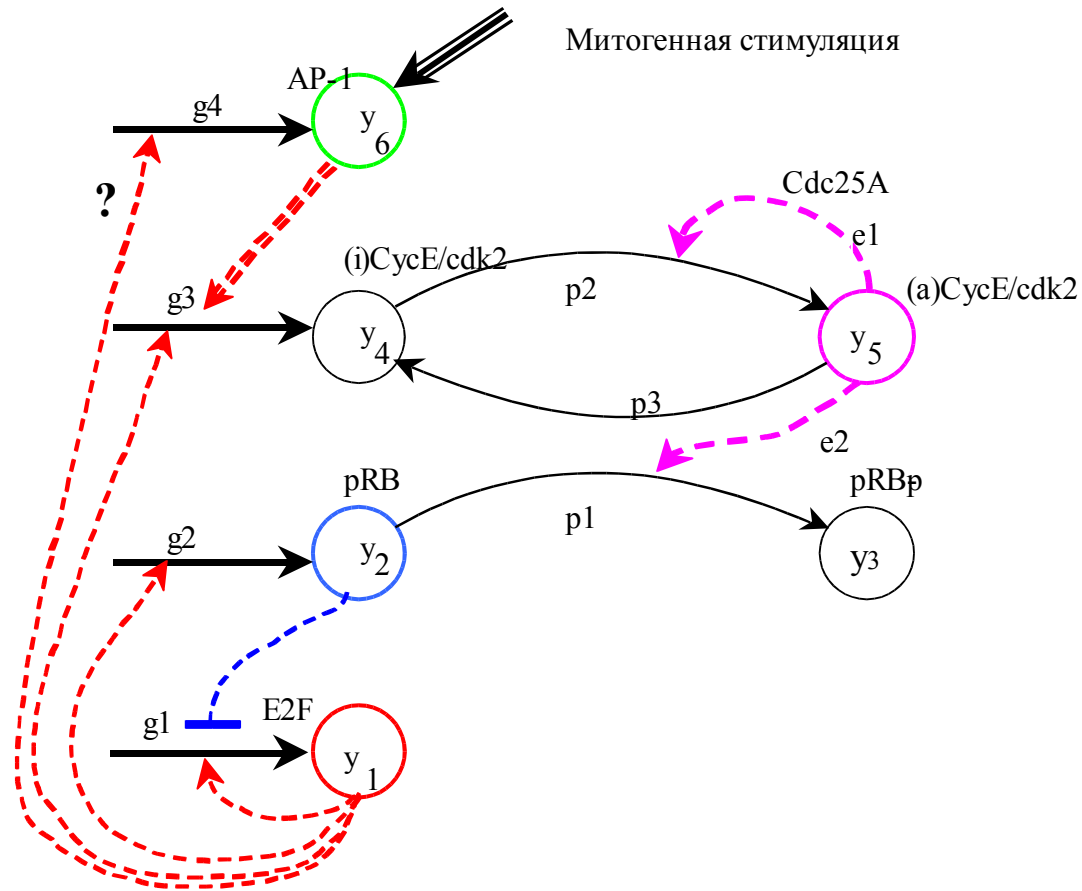
свойства МГС

Модель показывает наличие контрольной точки, после которой система переходит в одно из двух состояний



Динамический анализ

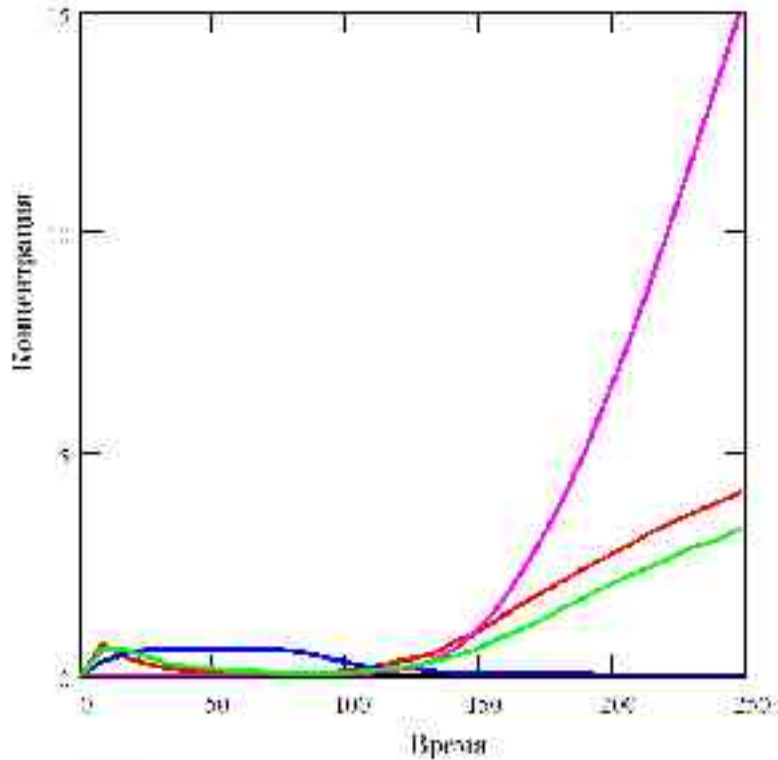
Влияние дополнительной регуляторной связи на динамику системы



Динамический анализ –

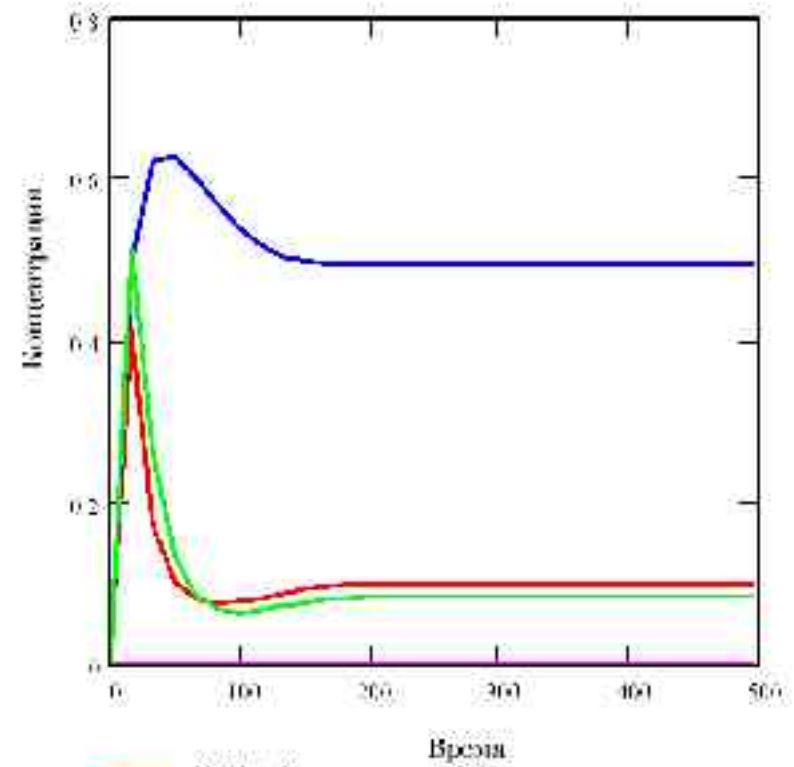
с учетом предсказанной регуляторной связи

$t_m = 12$ (60)



- E2F (y1)
- pRb (y2*0.05)
- (a)*Cyclin/Cdk2 (y5*0.5)
- AP-1 (y6)

$t_m = 8$ (50)

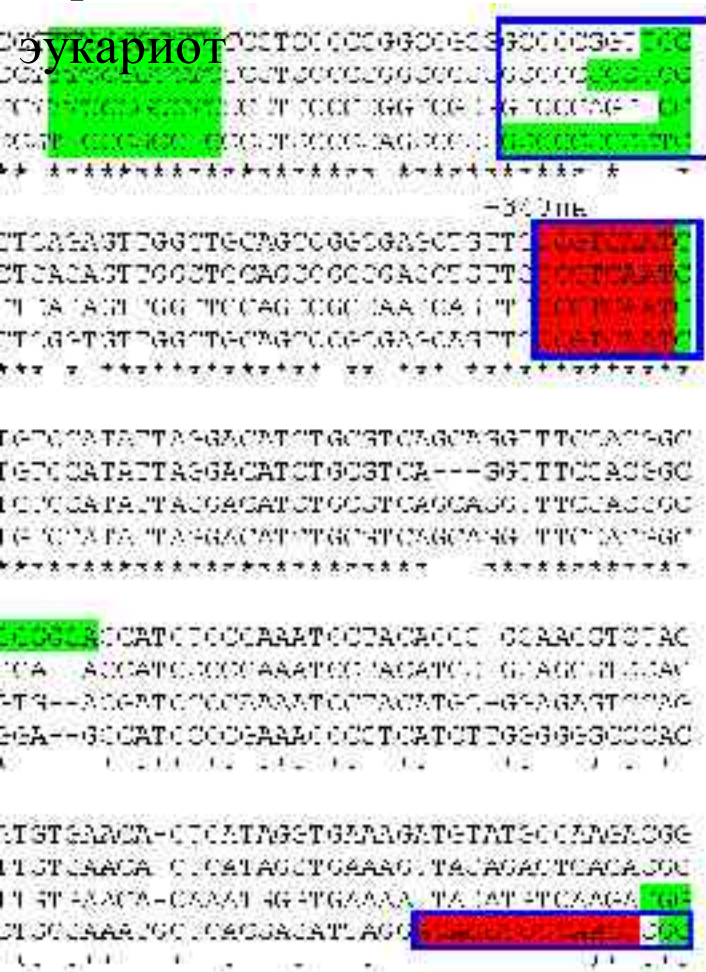


- E2F (y1)
- pRb (y2*0.05)
- (a)*Cyclin/Cdk2 (y5*0.5)
- AP-1 (y6)

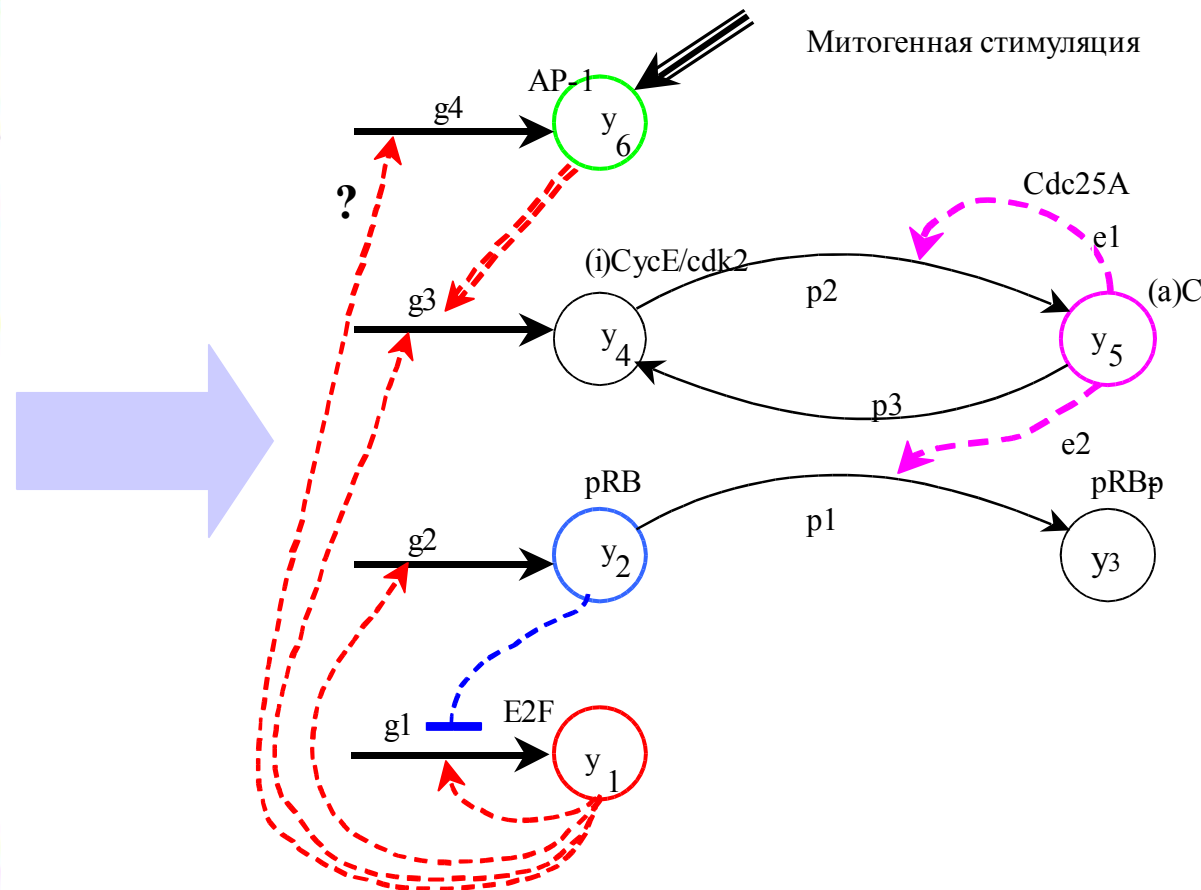
Комплексный анализ –

от последовательности к динамике

Анализ регуляции генов входящих в МГС управления G1-фазой и G1/S переходом клеточного цикла



Анализ динамики МГС управления G1-фазой и G1/S переходом клеточного цикла эукариот



Выводы

1. Разработан метод распознавания композиционных элементов, использующий матричные комбинаторные модели экспериментально выявленных композиционных элементов. Создано 265 таких комбинаторных моделей, охватывающих более 130 различных типов КЭ. Показана более высокая точность распознавания КЭ в сравнении с ранее предложенными методами. Метод распознавания реализован в виде пакета программ MatrixCatch, который свободно доступен по сети Internet (<http://compel.bionet.nsc.ru/cgi-bin/MatrixCatch/MatrixCatch.pl>)

2. Проведен сравнительный анализ частот одиночных сайтов связывания транскрипционных факторов E2F и Sp1, и частот КЭ E2F/Sp1 в 6 выборках промоторов, включающих промоторы генов клеточного цикла и генов, кодирующих факторы группы AP 1. Впервые показано, статистически значимое превышение частоты композиционных элементов E2F/Sp1 в промоторах генов группы AP 1.

3. Проанализированы промоторы генов *c-fos* четырех организмов: человека, мыши, крысы и хомячка. Показано наличие потенциального композиционного элемента E2F/Sp1, консервативного среди всех рассматриваемых последовательностей.

Выводы

Разработан пакет программ для выявления кластеров регуляторных сайтов. В качестве кластеров рассматривались группы сайтов связывания различных транскрипционных факторов, расположенных на близком расстоянии к друг другу. Построены статистические оценки достоверности кластеров сайтов. Показано наличие в большинстве (~90%) промоторов генов факторов AP-1 статистически значимых (10^{-6}) кластеров сайтов связывания факторов E2F, установлено их преимущественное расположение в областях близких к стартам транскрипции.

. Предложена модель молекулярно-генетической системы управления фазой G1 и G1/S-переходом клеточного цикла эукариот. Проанализирована динамика поведения этой системы и выявлены два устойчивых состояния, соответствующие дальнейшей пролиферации и выходу клетки из клеточного цикла, при этом установлено наличие в системе контрольной точки. Показана параметрическая устойчивость системы.

. Показано качественное влияние на динамические режимы поведения МГС дополнительной регуляторной связи от факторов группы E2F к генам

По теме диссертации опубликовано 11 работ

1. **И.В Дейнеко**, А.Э. Кель, О.В. Кель-Маргулис, Э. Вингендер, В.А. Ратнер, Моделирование динамики генных сетей, регулирующих клеточный цикл в клетках млекопитающих. Генетика, 2003, т 39, №9, с 1285-1292.
- 2 Olga V.Kel-Margoulis, Alexander E.Kel, Ingmar Reuter, **Igor V. Deineko** and Edgar Wingender, TRANSCompel: a database on composite regulatory elements in eukaryotic genes. Nucleic Acids Research, 2002, vol. 30, no.1, p 332-334.
3. **Deineko I.V.**, Kel-Margoulis O.V., Ratner V.A., Kel A.E., Modeling of cell cycle gene regulatory network. A role of positive feedback loop implying potential E2F target sites in the regulatory regions of AP-1. Proceedings of the second international conference on bioinformatics of genome regulation and structure, Novosibirsk, IC&G SB RAS, 2000, v.1. p 226-229.
4. Kel-Margoulis O.V., Romaschenko A.G., **Deineko I.V.**, Kolchanov N.A., Wingender E., Kel A.E., Database on composite regulatory elements in eukaryotic genes (compel). Proceedings of the second international conference on bioinformatics of genome regulation and structure, Novosibirsk, IC&G SB RAS, 2000, v.1. p 45-48.
5. Alexander Kel, **Igor Deineko**, Olga Kel-Margoulis, Edgar Wingender, Vadim Ratner, Modeling of gene regulatory network of cell cycle control. Role of E2F feedback loops. GCB 2000: Proceedings of the German Conference on Bioinformatics / E. Bomberg-Bauer, Berlin: Logos-Verl., 2000, p 107-114.
6. Olga V. Kel-Margoulis, Igor V. Deineko, Ingmar Reuter, Edgar Wingender, Alexander E. Kel. TRANSCompel - a professional database on composite regulatory elements in eukaryotic genes. Proceedings of the German Conference on Bioinformatics (GCB 2001).
7. Swat M., Kel A., Kel-Margoulis O., **Deineko I.**, Herzel H. Modeling the influence of feedback loops on the G1/S transition. Proceedings of the European Conference on Computational Biology, 2002 (ECCB 2002).
8. **Deineko I.**, Kel A., Genome-wide search for composite clusters of transcription factor binding sites. ISMB 2002. Abstract/ Edmonton, Canada 2002. p. 124.
9. **Igor Deineko**, A.Kel., Probabilistic approach for revealing composite clusters of transcription factor binding sites in genomic scale. MCCMB 2003: Proceedings of the international Moscow conference on computational molecular biology/ Moscow, Russia, 2003, p54-55.
- 10 Kolpakov F., **Deineko I.**, Kel A., Cyclonet a database on cell cycle regulation. Proceedings of the fifth international conference on Systems Biology (ICSB 2004), Heidelberg, Germany, 2004, p 385.
- 11 **Deineko I.V.**, Kel-Margoulis O.V., Kel A.E. Mathematical Model Of The Mitogen-Dependent G1/S Transition In Mammalian Cell Cycle. Proceedings of the fifth international conference on Systems Biology (ICSB 2004), Heidelberg, Germany, 2004, p 385.

