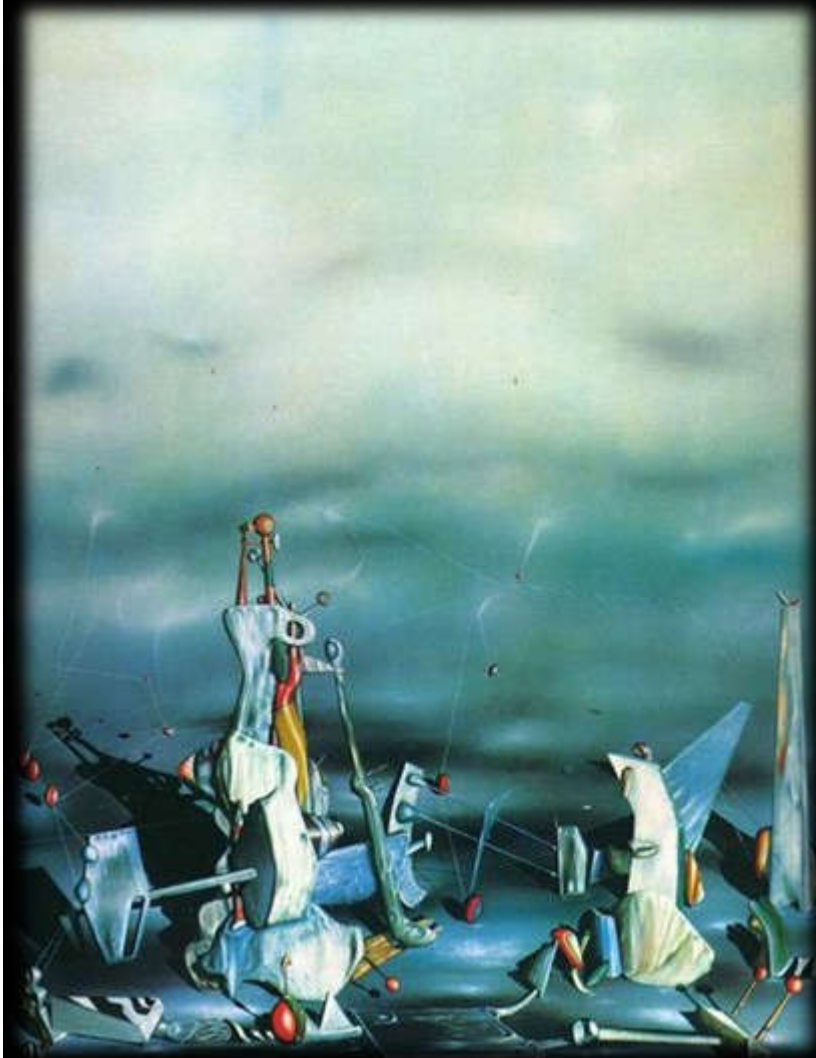




Среда 06.02. 16:00
Конференц-зал ИЦИГ

Федор Колпаков

Регуляция транскрипции:
эхо минувшей войны



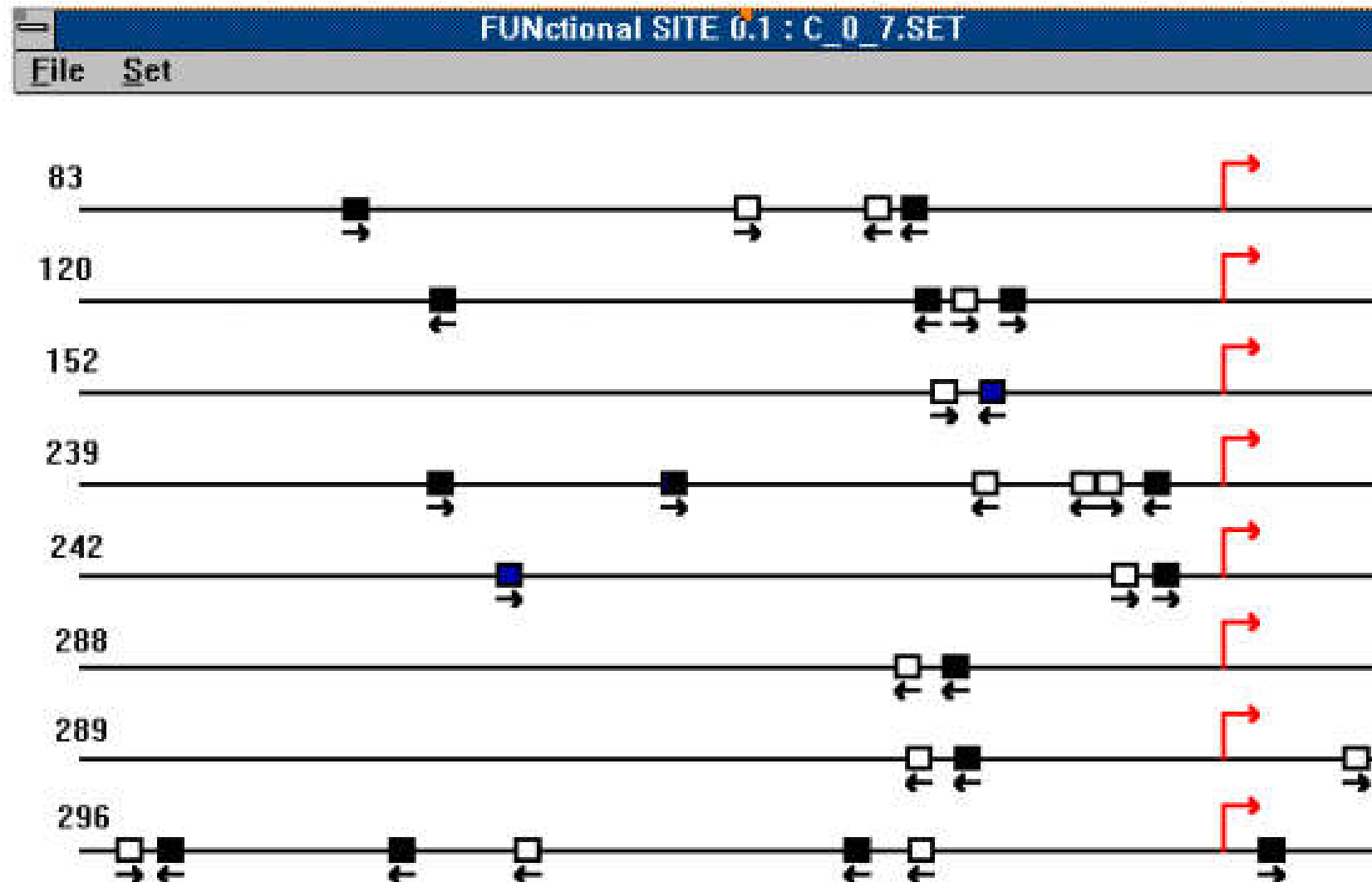
11.04 16.00
Конференц-зал ИЦИГ

Кирилл Устьянцев

Что нас не убивает, делает нас сильнее?
Мобильные элементы и эволюция геномов.

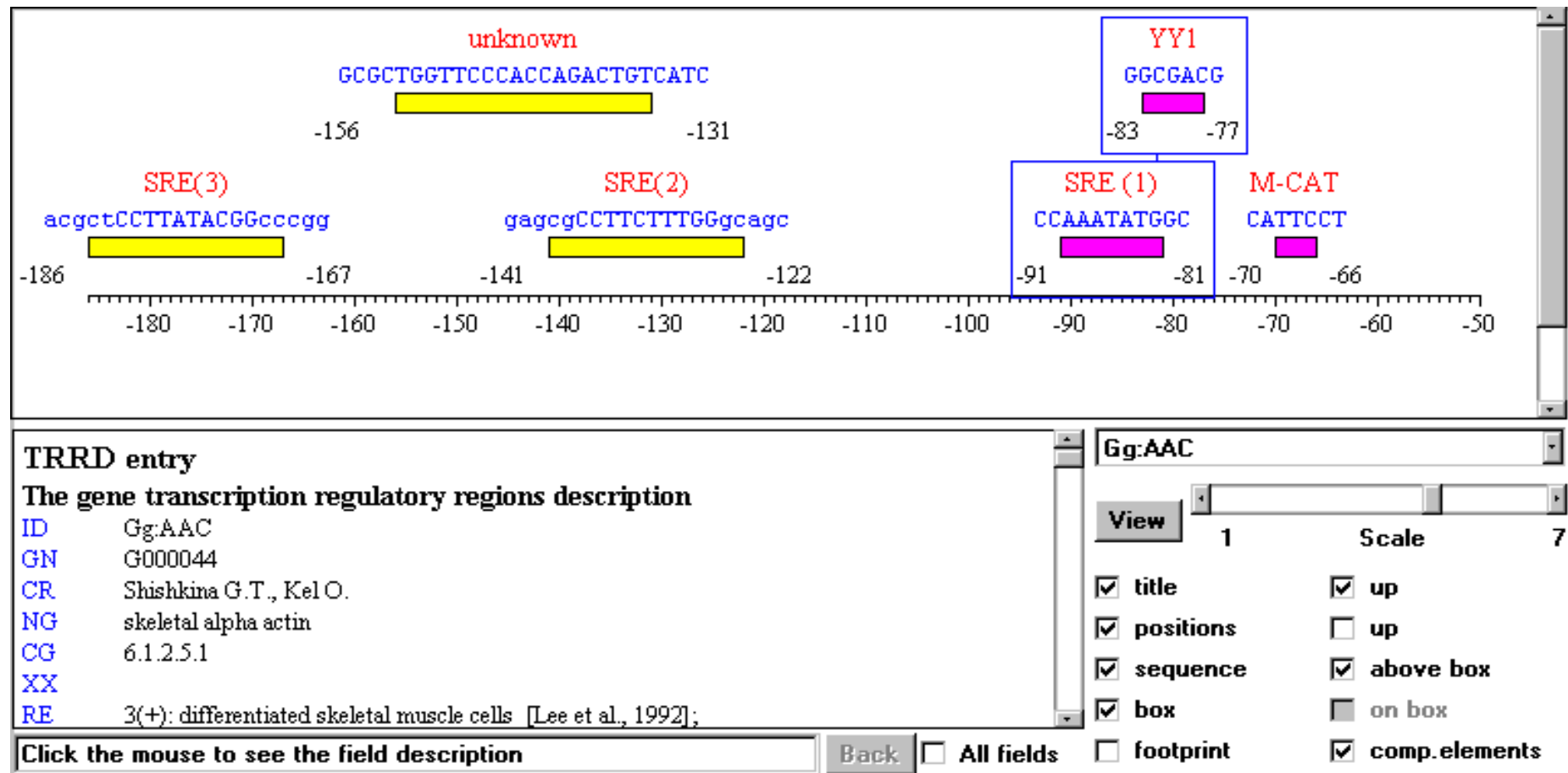


1994 – FunSite (C++, Windows 3.1)



Локализация потенциальных композиционных элементов, образованных сайтами связывания AP-1 (белый) и RAR (черный) в промоторных последовательностях (от -500 до +100). Гены (номер из EPD): 83 - ген островного амилоидного полипептида человека; 120 -...

1996 – TRRD/TRANSFAC viewer (Java 1.0)



GTRD

Gene Transcription Regulation Database

The most complete collection of uniformly processed ChIP-seq data to identify transcription factor binding sites for human and mouse. Convenient web interface with advanced search, browsing and genome browser based on the BioUML platform. For support or any questions contact *ivan@dote.ru*

[Start »](#)[Documentation »](#)[Download »](#)

GTRD: a database of transcription factor binding sites identified by ChIP-seq experiments. I.S. Yevshin, R.N. Sharipov, T.F. Valeev, A.E. Kel, F.A. Kolpakov. Nucleic Acids Res. 2017 Jan 4;45(D1):D61-D67.

GTRD: a database on gene transcription regulation—2019 update. I.S. Yevshin, R.N. Sharipov. S.K. Kolmykov, Y.V. Kondrakhin, F.A. Kolpakov. Nucleic Acids Res. 2018 Nov 16; gky1128

gtrd.biouml.org

NAR Top Articles - Database

[View all categories](#)

February 2018

UniProt: the universal protein knowledgebase

Bateman, Alex; Martin, Maria Jesus; O'Donovan, Claire; Magrane, Michele; Alpi, Emanuele; Antunes, Ricardo; Bely, Benoit; and et. al

Nucleic Acids Res. 2017, 45, D158-D169

[Free Full Text](#)

The Pfam protein families database: towards a more sustainable future

Finn, Robert D.; Coggill, Penelope; Eberhardt, Ruth Y.; Eddy, Sean R.; Mistry, Jaina; Mitchell, Alex L.; and et. al

Nucleic Acids Res. 2016, 44, D279-D285

[Free Full Text](#)

GTRD: a database of transcription factor binding sites identified by ChIP-seq experiments

Yevshin, Ivan; Sharipov, Ruslan; Valeev, Tagir; Kel, Alexander; Kolpakov, Fedor

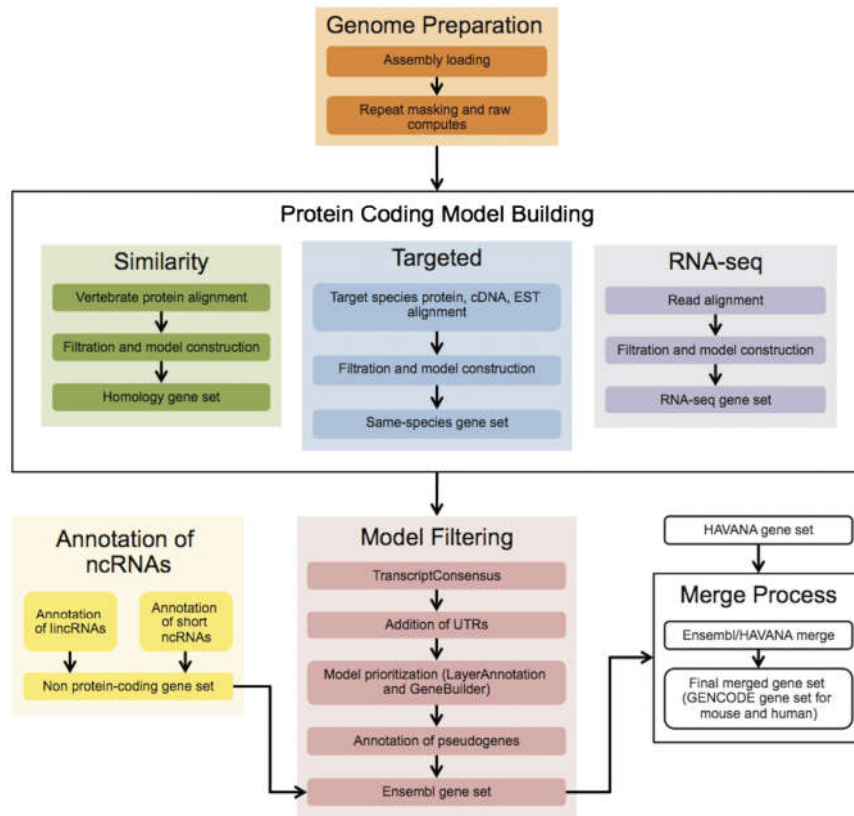
Nucleic Acids Res. 2017, 45, D61-D67

[Free Full Text](#)

COSMIC: somatic cancer genetics at high-resolution

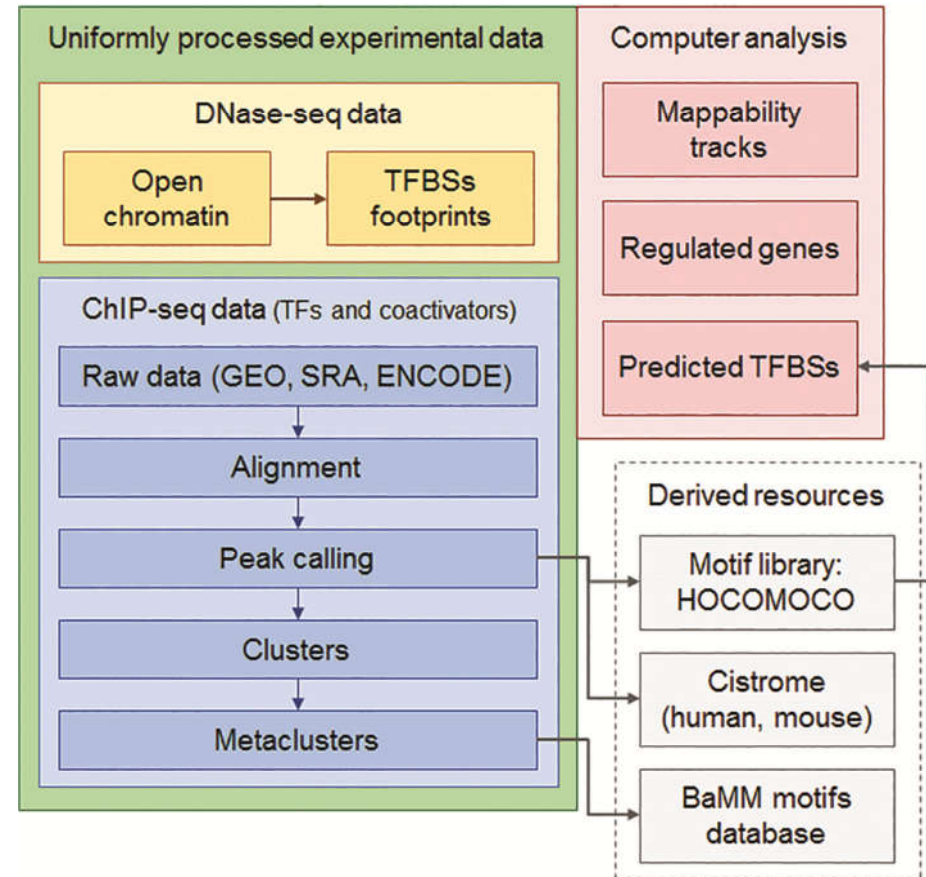
The Ensembl gene annotation process

gene structure



The GTRD annotation process

gene regulation



The goal of GTRD is to be Ensembl for gene regulation

GTRD

В ПОИСКЕ ОТВЕТОВ НА ОСНОВНЫЕ
ВОПРОСЫ В РЕГУЛЯЦИИ
ТРАНСКРИПЦИИ

1. Идентификация сайтов связывания ТФ

1.1. Из экспериментальных данных (ChIP-seq)

- повторы – “черные дыры”
(10-15% от генома, для длины ридов 30 и 60 п.о.)
- не всегда хорошее качество экспериментов
- несовершенство методов анализа (peak callers)

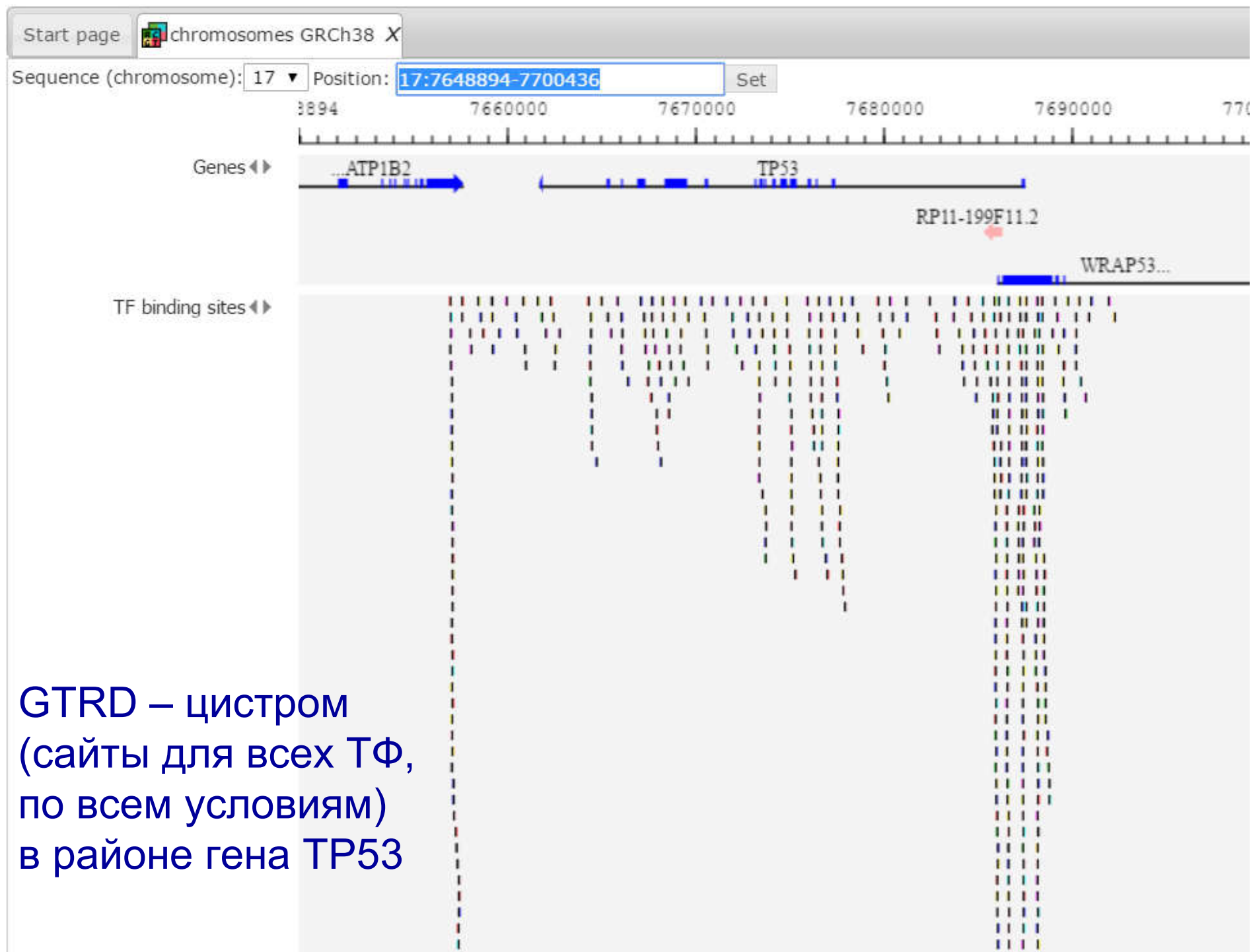
1.2. Компьютерное предсказание

- большая ошибка перепредсказания
- не прямое ДНК-связывание,
слабо выраженный мотив

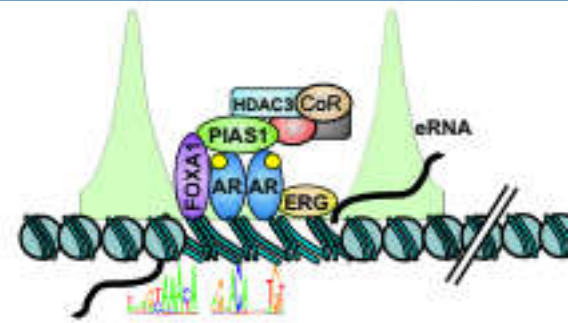
3. Идентификация функциональных сайтов

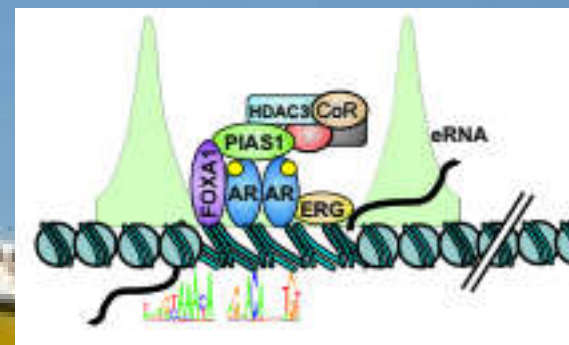
Как предсказать влияние вариации (SNV, делеция) в сайте связывания ТФ на экспрессию указанного гена?

В каких условиях (клеточная линия или ткань, стадия развития, лечение и т. Д.) заданный сайт связывания транскрипционного фактора является функциональным?



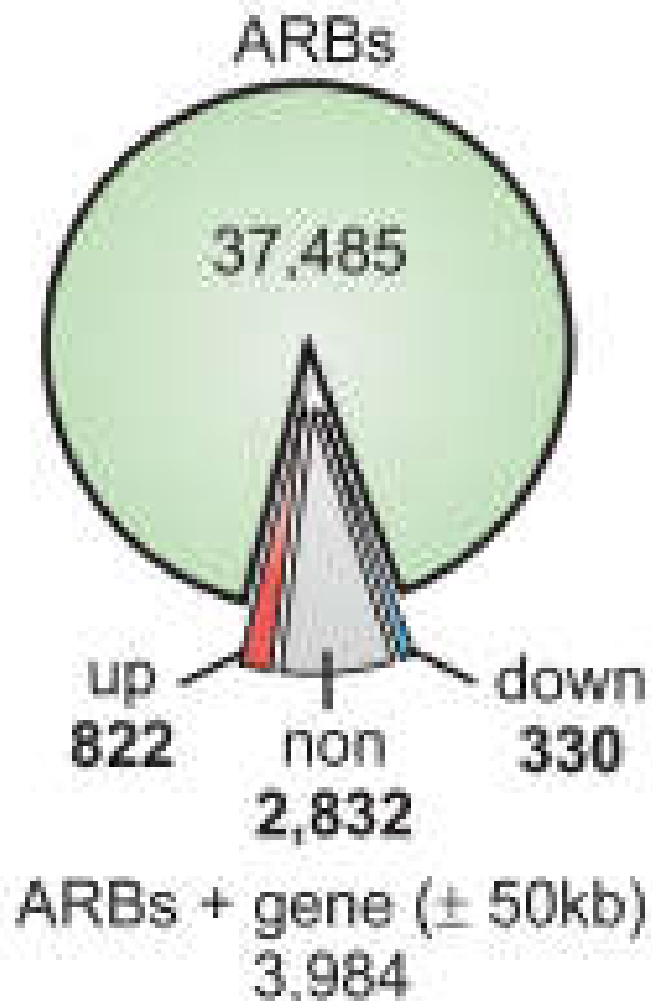






Global analysis of transcription in castration-resistant prostate cancer cells uncovers active enhancers and direct androgen receptor targets

Toropainen et al., Scientific Reports, 2016, 6:33510



AR (Androgene Receptor) играет важную роль в развитии рака предстательной железы, и считается, что изменения в передаче сигналов андрогенов вносят критический вклад в развитие кастраторезистентного рака предстательной железы (CRPC).

Однако наше понимание генных программ, которые непосредственно нацелены AR в клетках CRPC, все еще ограничено. Одной из проблем при расшифровке этих генных программ является идентификация функционально активных AR-связывающих сайтов из огромного количества AR-связывающих сайтов на хроматине.

Согласно нашим строгим анализам, <3% межгенных и внутригенных сайтов AR квалифицируются как андроген-регулируемые энхансеры, продуцирующие eRNA.

Cusanovich DA, Pavlovic B, Pritchard JK, Gilad Y

The functional consequences of variation in transcription factor binding.

PLoS Genet. 2014 Mar 6;10(3):e1004226. doi: 10.1371/journal.pgen.1004226.

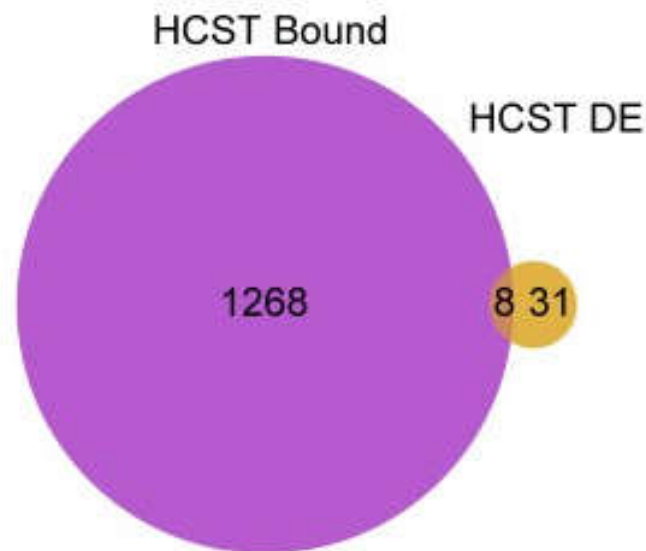
- knocked down 59 TFs and chromatin modifiers in one HapMap lymphoblastoid cell line (GM19238)
- identified genes whose expression was affected by the knockdowns
- intersected the gene expression data with transcription factor binding data (based on ChIP-seq and DNase-seq) within 10 kb of the transcription start sites of expressed genes. This combination of data allowed to infer functional TF binding.
- 46.4% - 99.1% (median=88.9%) of the binding was apparently not functional, namely it was not associated with changes in gene expression levels. It is also consistent with our previous findings that most DNase-I sensitive QTLs are not also classified as eQTLs.

Cusanovich DA, Pavlovic B, Pritchard JK, Gilad Y

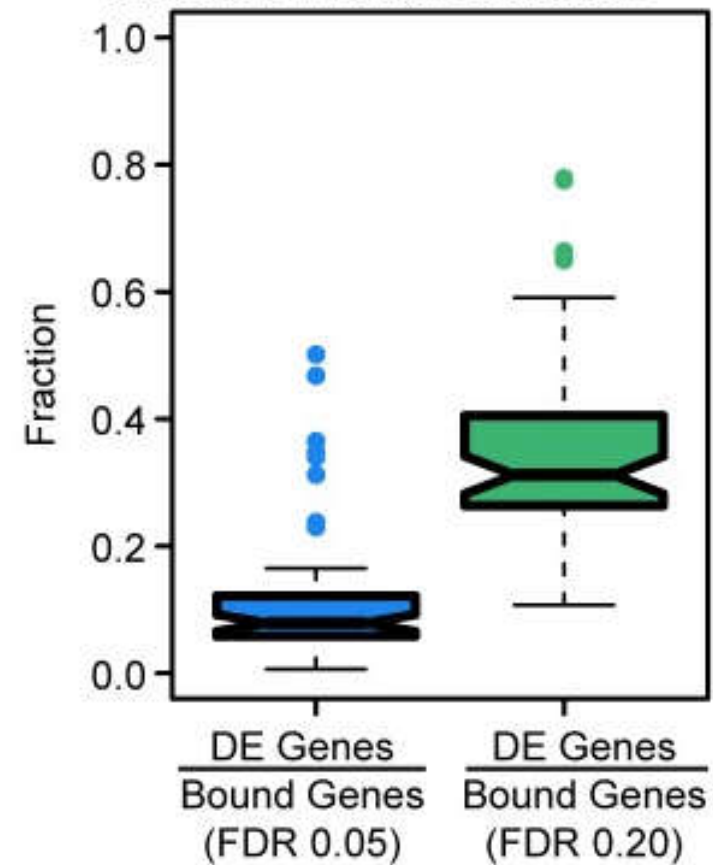
The functional consequences of variation in transcription factor binding.

PLoS Genet. 2014 Mar 6;10(3):e1004226. doi: 10.1371/journal.pgen.1004226.

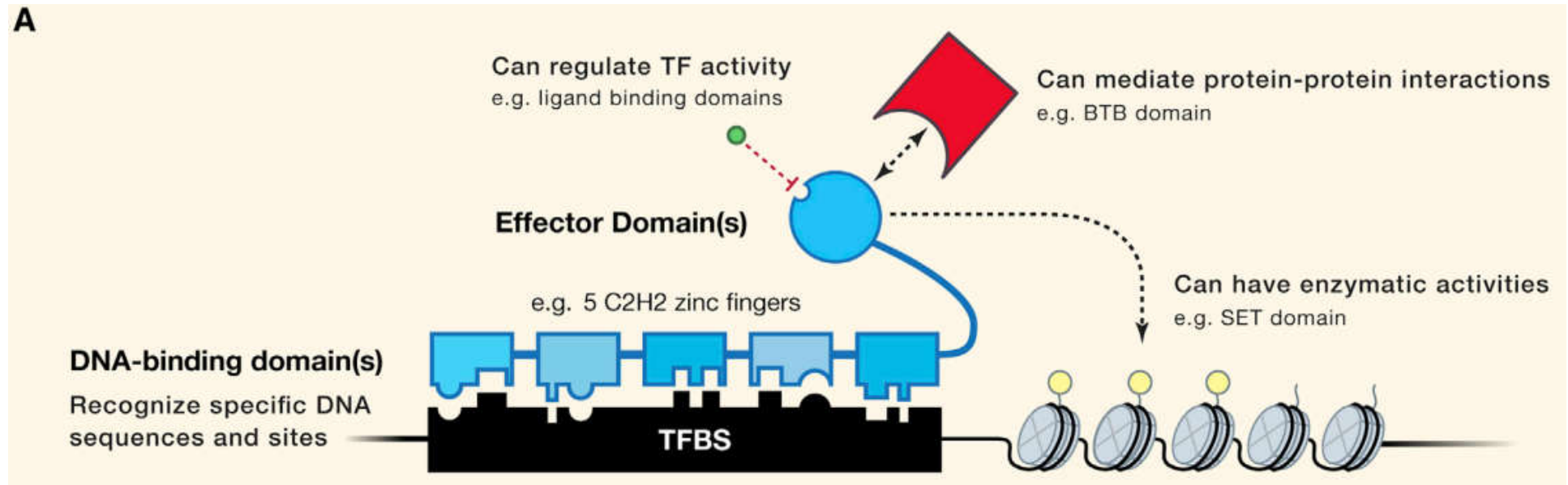
A Examples of Binding
and DE Overlap for Individual Factors



C Distribution of Fraction of Bound
Genes DE in Each Knockdown

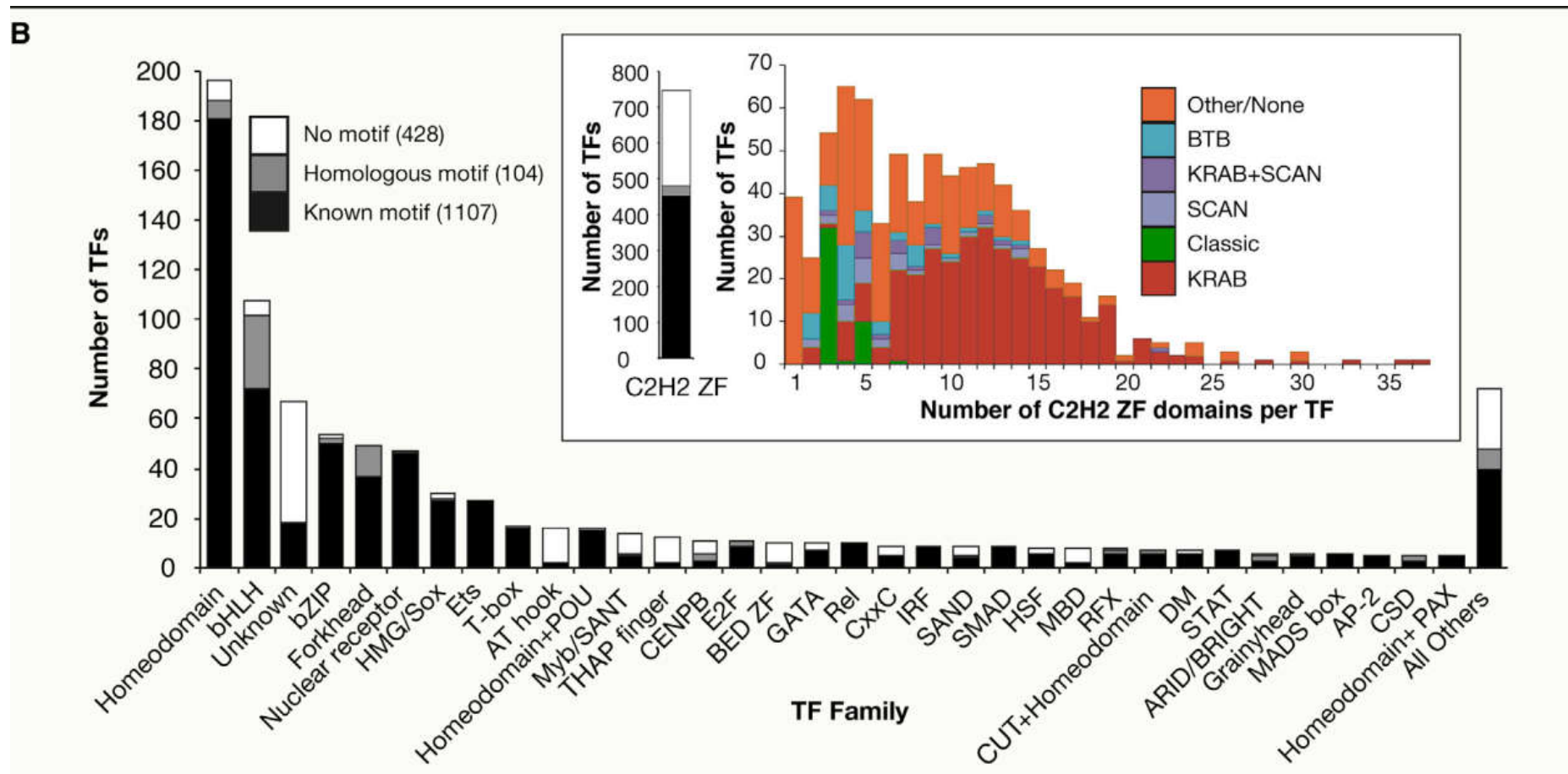


Транскрипционные факторы (ТФ) – классификация на основе ДНК связывающего домена



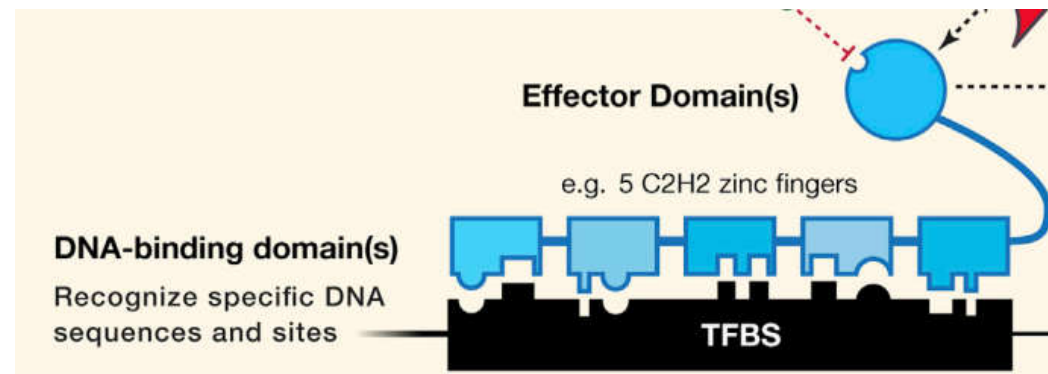
Lambert et al., 2018, Cell, 172(4), 650–665.
The Human Transcription Factors.

Семейство C2H2 – самое большое

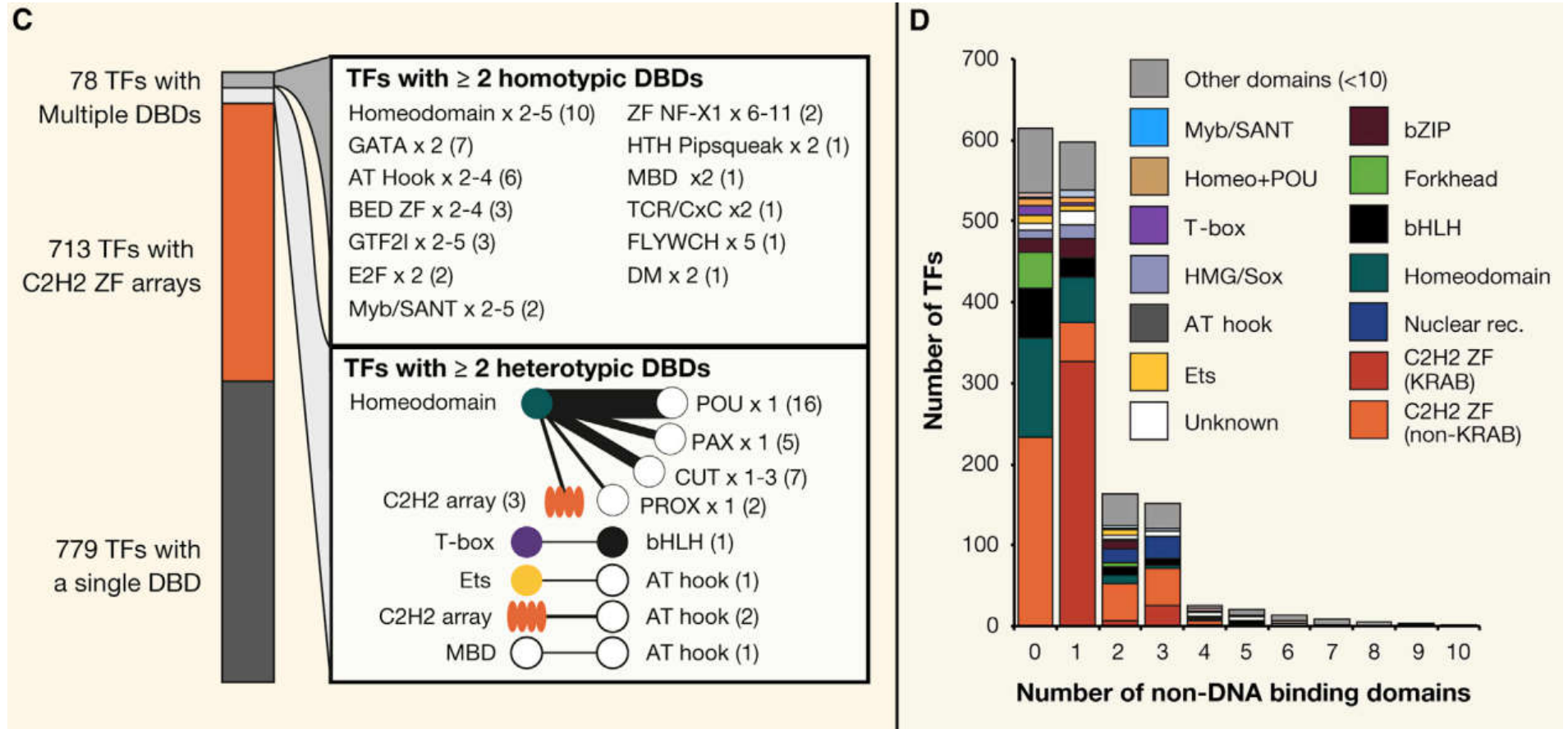


всего – 1639 TF

Lambert et al., 2018, Cell, 172(4), 650–665.
The Human Transcription Factors.

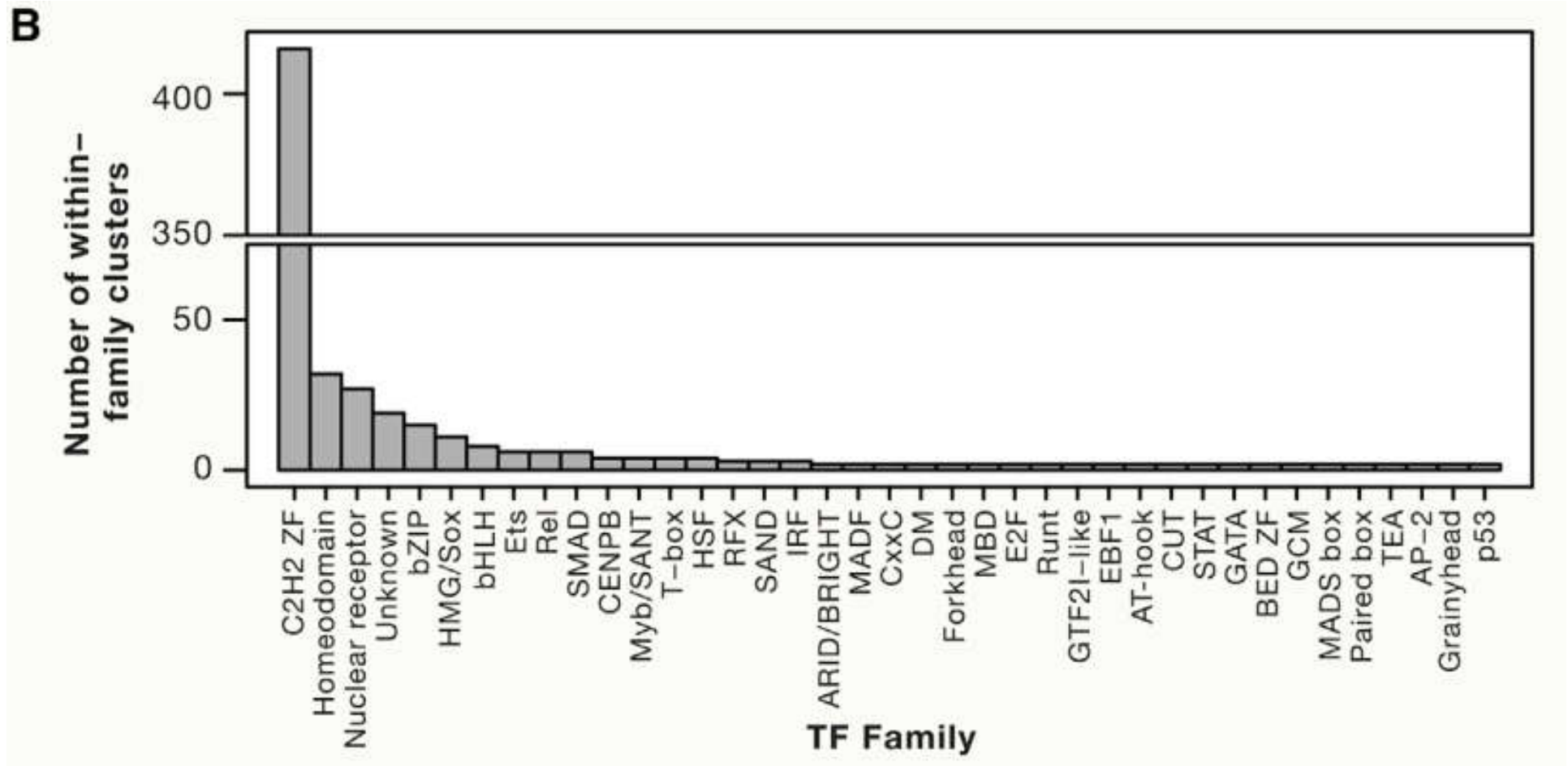


Домен KRAB – самый представленный эффекторный домен

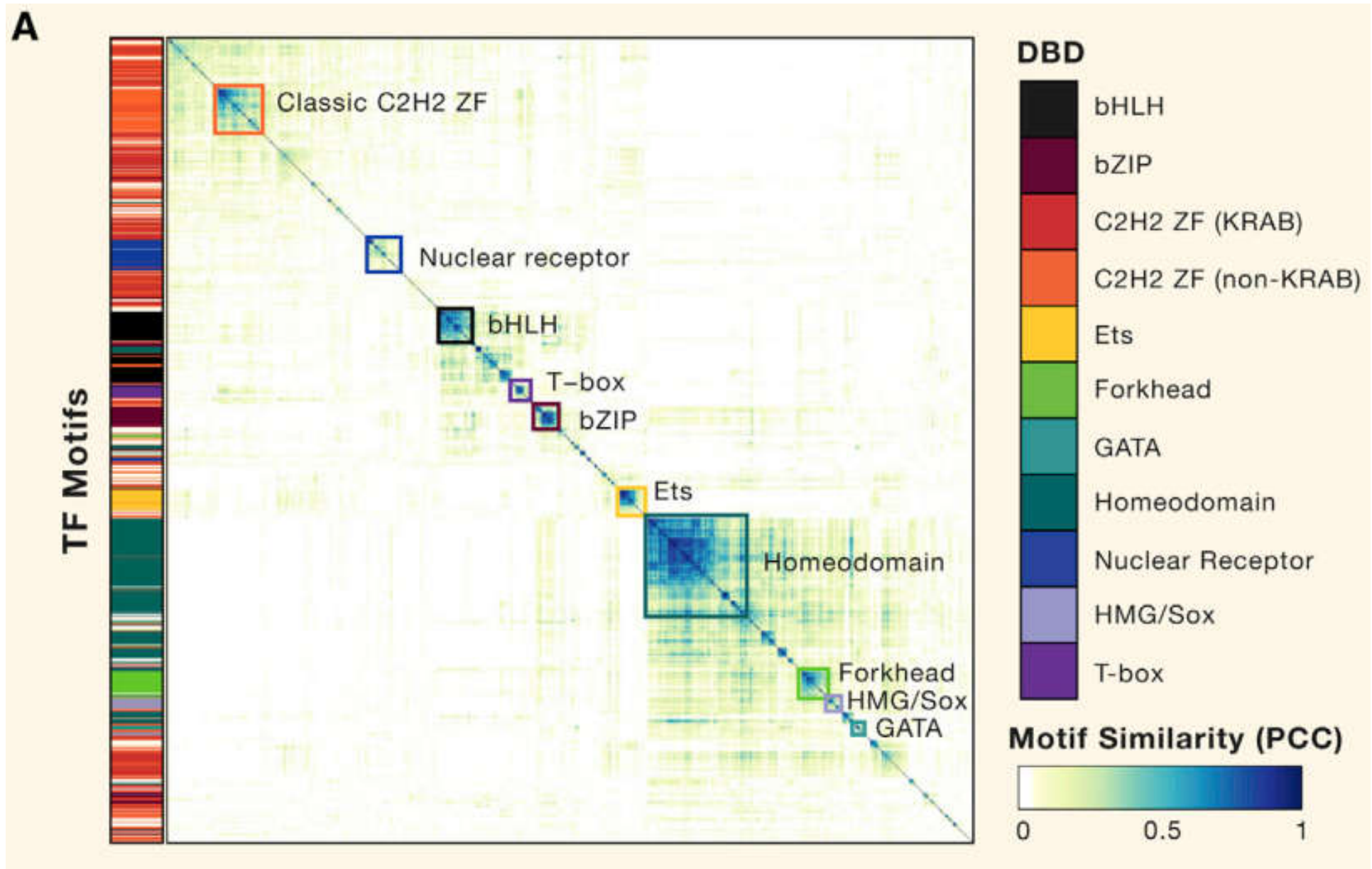


Lambert et al., 2018, Cell, 172(4), 650–665.
The Human Transcription Factors.

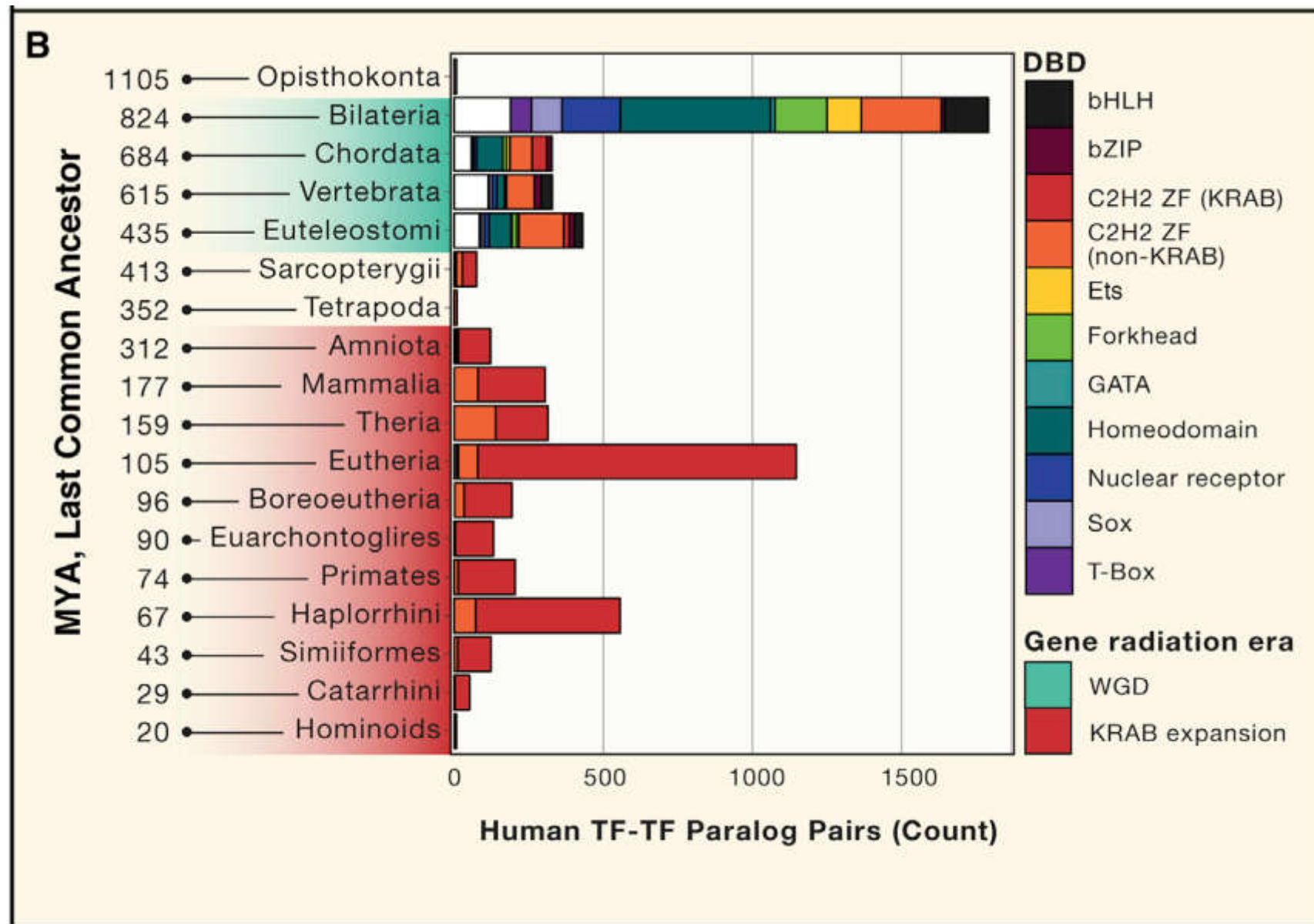
Семейство C2H2 – распознает более 400 разных мотивов ДНК, самое разнообразное



Семейство C2H2 KRAB – распознает разные мотивы



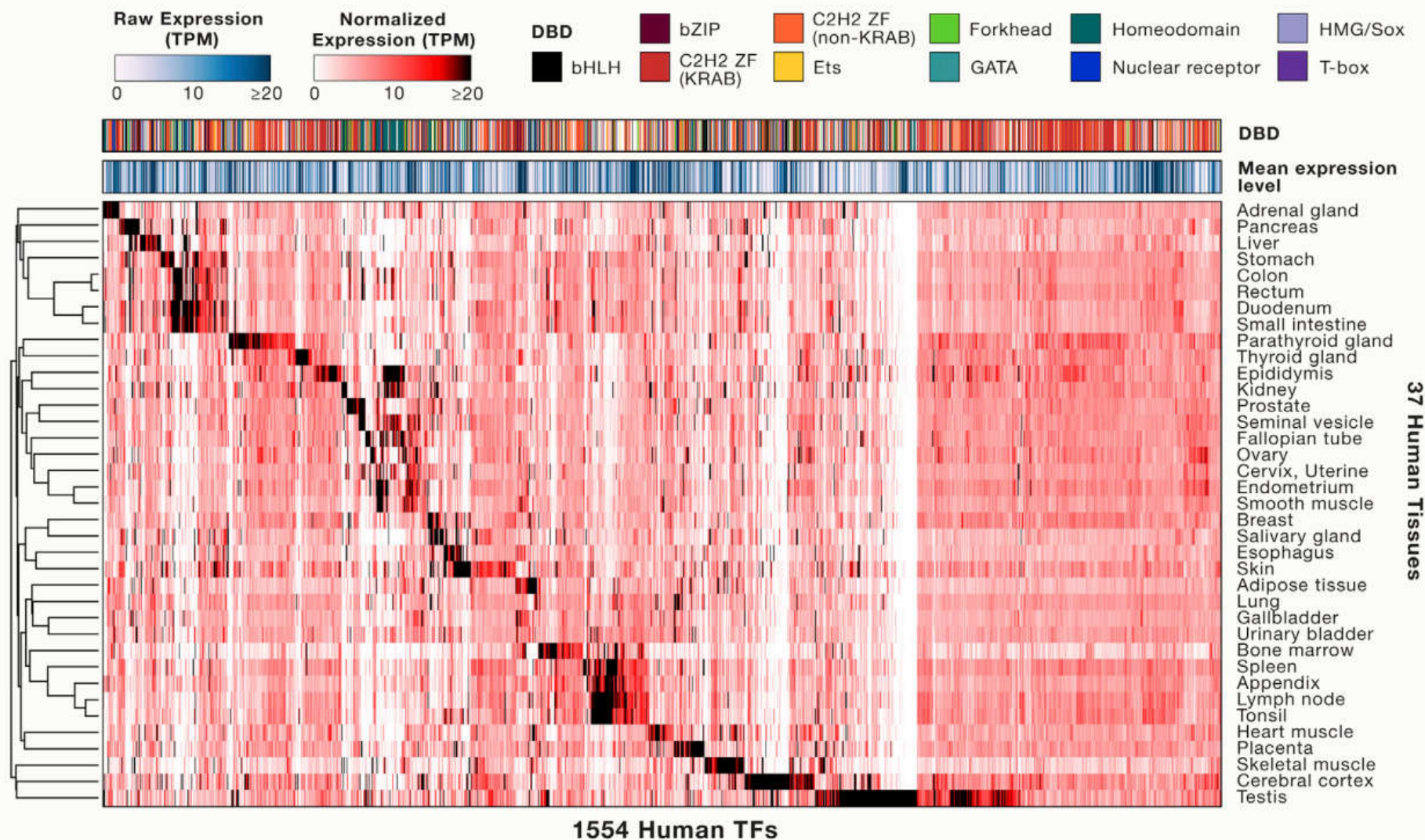
Lambert et al., 2018, Cell, 172(4), 650–665.
The Human Transcription Factors.



Lambert et al., 2018, Cell, 172(4), 650–665.
The Human Transcription Factors.

C2H2 KRAB не тканеспецифичны

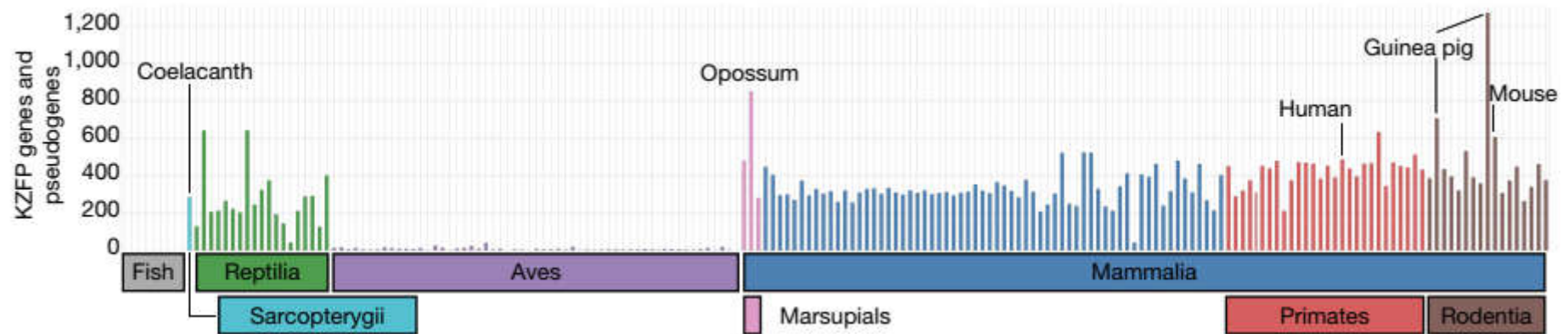
A



Степень тканеспецифичности: C2H2 – 19%
 C2H2 CRAB – 12% (41/339), 26/41 – testis specific
 другие ТФ – 49%

Lambert et al., 2018, Cell, 172(4), 650–665.
 The Human Transcription Factors.

KRAB - Krüppel-associated box ZFP – zinc-finger proteins



- KRAB-ZFP – возникли 400+ млн. лет назад
- за исключением птиц – сотни генов у всех тетрапод
- несмотря на их количество, их функция долгое время оставалась неизвестной.
- отдельные работы показали участие этих ТФ в разные процессы:
дифференцировка клеток, метаболический контроль, определение пола и т.п.

Imbeault, M., et al., 2017, Nature, 543(7646), 550–554.

KRAB zinc-finger proteins contribute to the evolution of gene regulatory networks.

TRIM28 Mediates Primer Binding Site-Targeted Silencing of Murine Leukemia Virus in Embryonic Cells

Daniel Wolf¹ and Stephen P. Goff^{1,*}

Репликация вируса мышиного лейкоза Молони (M-MLV) ограничена в клетках эмбриональной карциномы (ЕС) и эмбриональных стволовых клеток (ES), которые могут защищать зародышевую линию от инсерционного мутагенеза. Провирусные ДНК эффективно подавляются на уровне транскрипции в этих клетках. Это молчание в значительной степени обусловлено неопознанным транс-действующим фактором, который, как полагают, связывается с сайтом связывания праймера (PBS) M-MLV и репрессирует транскрипцию с вирусного промотора. Мы частично очистили большой PBS-опосредованный репрессорный комплекс и определили TRIM28 (Кар-1), известный транскрипционный репрессор, как неотъемлемый компонент комплекса. Мы показываем, что RNAi-опосредованный нокдаун TRIM28 в клетках ЕС и ES снимает ограничение и что TRIM28 связывается с PBS *in vivo*, когда имеет место ограничение. Идентификация TRIM28 в качестве ретровирусного репрессора добавляет все больше доказательств того, что многие белки семейства TRIM участвуют в подавлении ретровирусов.



Published in final edited form as:

Nature. 2009 April 30; 458(7242): 1201–1204. doi:10.1038/nature07844.

Embryonic stem cells use ZFP809 to silence retroviral DNAs

Здесь мы идентифицируем новый белок цинкового пальца ZFP809 как распознающую молекулу, которая связывает интегрированную провирусную ДНК и TRIM28. Мы показываем, что экспрессия ZFP809 достаточна для того, чтобы сделать даже дифференцированные клетки высоко устойчивыми к инфекции MLV. Далее мы демонстрируем, что ZFP809 способен эффективно блокировать транскрипцию с ДНК-конструкций человеческого Т-клеточного лимфотропного вируса-1 (HTLV-1), который использует ту же самую праймерную тРНК. Эти результаты идентифицируют ZFP809 как ДНК-связывающий фактор, который специфически распознает большое подмножество ретровирусов и ретроэлементов млекопитающих и направляет их на транскрипционное молчание. Мы предполагаем, что ZFP809 эволюционировал в качестве специфического ретровирусного фактора рестрикции для стволовых клеток и, следовательно, представляет собой новый компонент внутренней иммунной системы стволовых клеток.



Published in final edited form as:

Nature. 2014 December 11; 516(7530): 242–245. doi:10.1038/nature13760.

An evolutionary arms race between KRAB zinc finger genes 91/93 and SVA/L1 retrotransposons

Frank MJ Jacobs^{1,§,*}, David Greenberg^{1,2,¶,*}, Ngan Nguyen^{1,3}, Maximilian Haeussler¹, Adam D Ewing^{1,*}, Sol Katzman¹, Benedict Paten¹, Sofie R Salama^{1,4}, and David Haussler^{1,4,#}

На протяжении всей эволюции геномы приматов были модифицированы волнами ретротранспозонных вставок. Для каждой волны хозяин в конце концов находит способ подавить ретротранспозонную транскрипцию и предотвратить дальнейшие вставки. В эмбриональных стволовых клетках мыши (mESCs) для транскрипционного молчания ретротранспозонов требуется TRIM28 (KAP1) и его репрессивный комплекс, который может быть рекрутирован на сайты-мишени белками KRAB ZFP, такими как специфичные для мышей мыши ZFP809, которые связываются с интегрированными элементами ДНК вируса лейкоза мыши и рекрутерами KAP1, чтобы подавить их. Гены KZNF являются одним из наиболее быстро растущих семейств генов у приматов, и это расширение предположительно позволяет приматам реагировать на недавно появившиеся ретротранспозоны.

KRAB zinc–finger proteins contribute to the evolution of gene regulatory networks

Michaël Imbeault¹, Pierre-Yves Helleboid¹ & Didier Trono¹

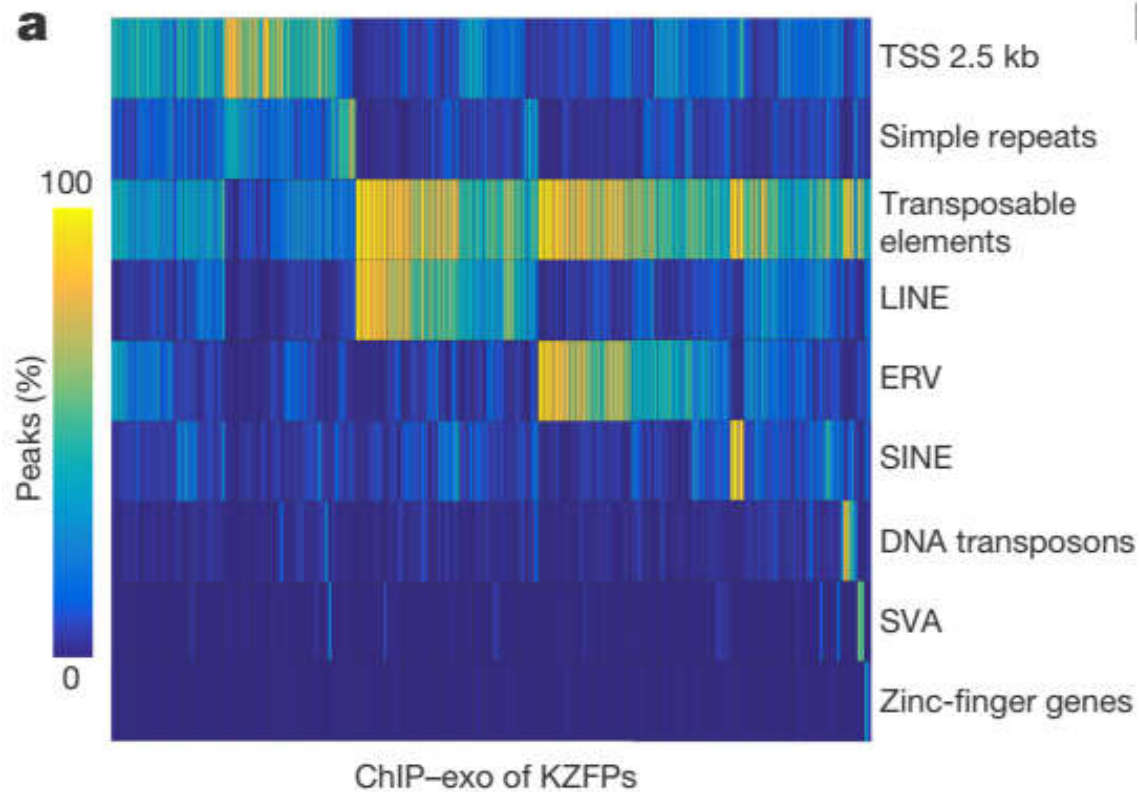
Во-первых, мы неожиданно назначили происхождение семейства KRAB ZFP от общего предка кистеперых рыб и тетрапод.

Во-вторых, хотя мы подтвердили, что большинство KZFP связываются с транспозонами и точно указывают случаи продолжающейся коэволюции, мы обнаружили, что большинство их мишеней для переносимых элементов утратили весь потенциал переноса.

В-третьих, изучая взаимодействие между человеческими KZFP и другими модуляторами транскрипции, мы получили доказательства того, что KZFP используют эволюционно консервативные фрагменты транспозонов в качестве регулирующих платформ спустя долгое время после окончания гонки вооружений против этих генетических захватчиков.

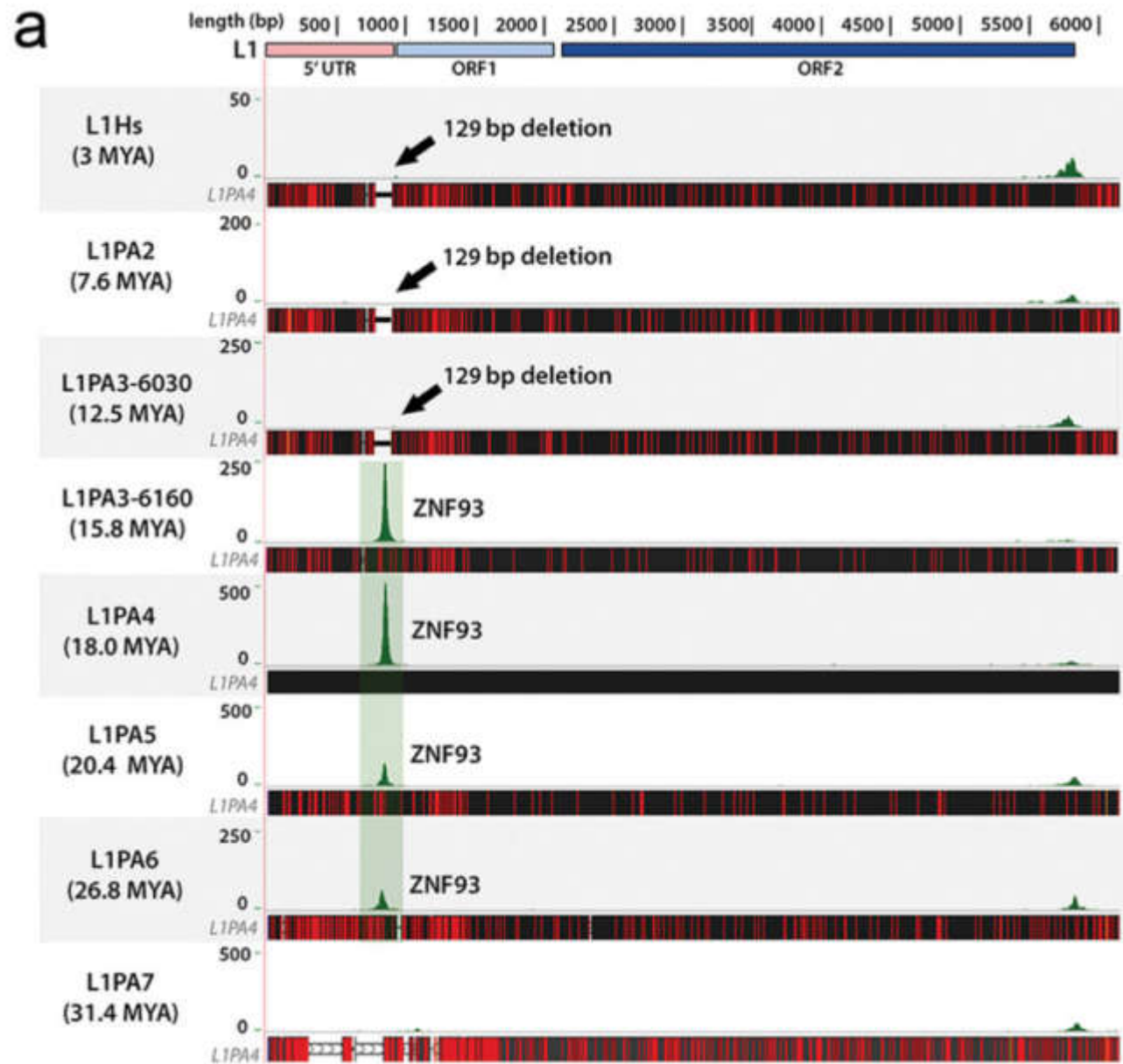
Локализация KRAB ZFP

- Определили сайты связывания для 222 KRAB ZFP ChIP-exo, HEK293T
- количество сильных сайтов связывания для конкретного KRAB ZFP варьировало от 15 до 10 000
- KRAB ZFP-связывающих сайтов
 - 2/3 - преимущественно расположены внутри ретротранспозонов
 - 1/3 – преимущественно в повторах или других простых повторах



Imbeault, M., et al., 2017, Nature, 543(7646), 550–554.

KRAB zinc-finger proteins contribute to the evolution of gene regulatory networks.

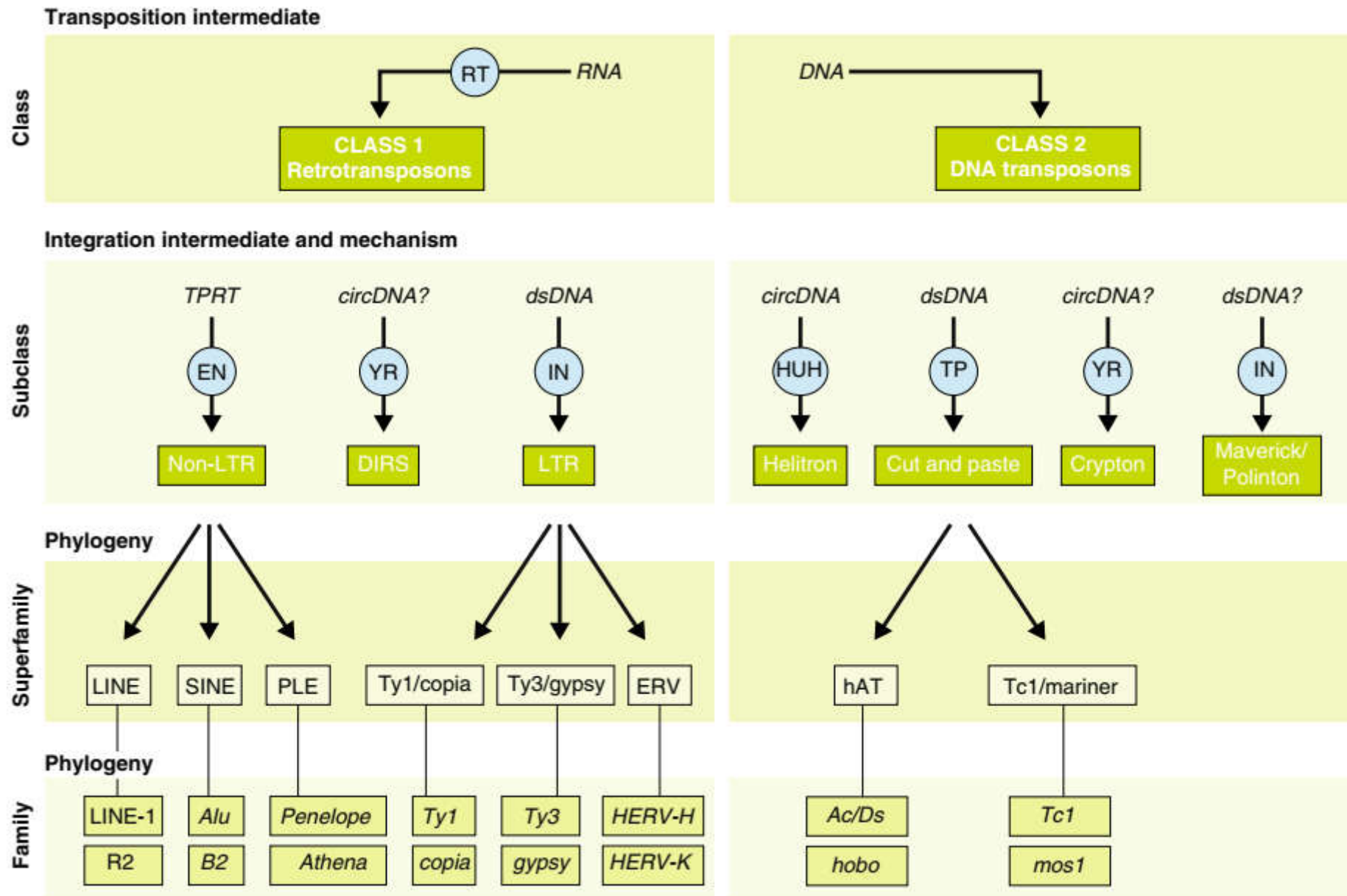


Jacobs et al., (2014). An evolutionary arms race between KRAB zinc-finger genes ZNF91/93 and SVA/L1 retrotransposons. *Nature*, 516(7530), 242-5.

1) Основная роль KRAB-ZFP – подавление транскрипции мобильных элементов (ретротранспозонов)

2) Их эволюционный отбор – это «гонка вооружений» между KRAB-ZFP и ретротранспозонами.

Классификация транспозонов



Bourque et al., (2018).
Ten things you should know about transposable elements.

Транспозоны в геноме человека

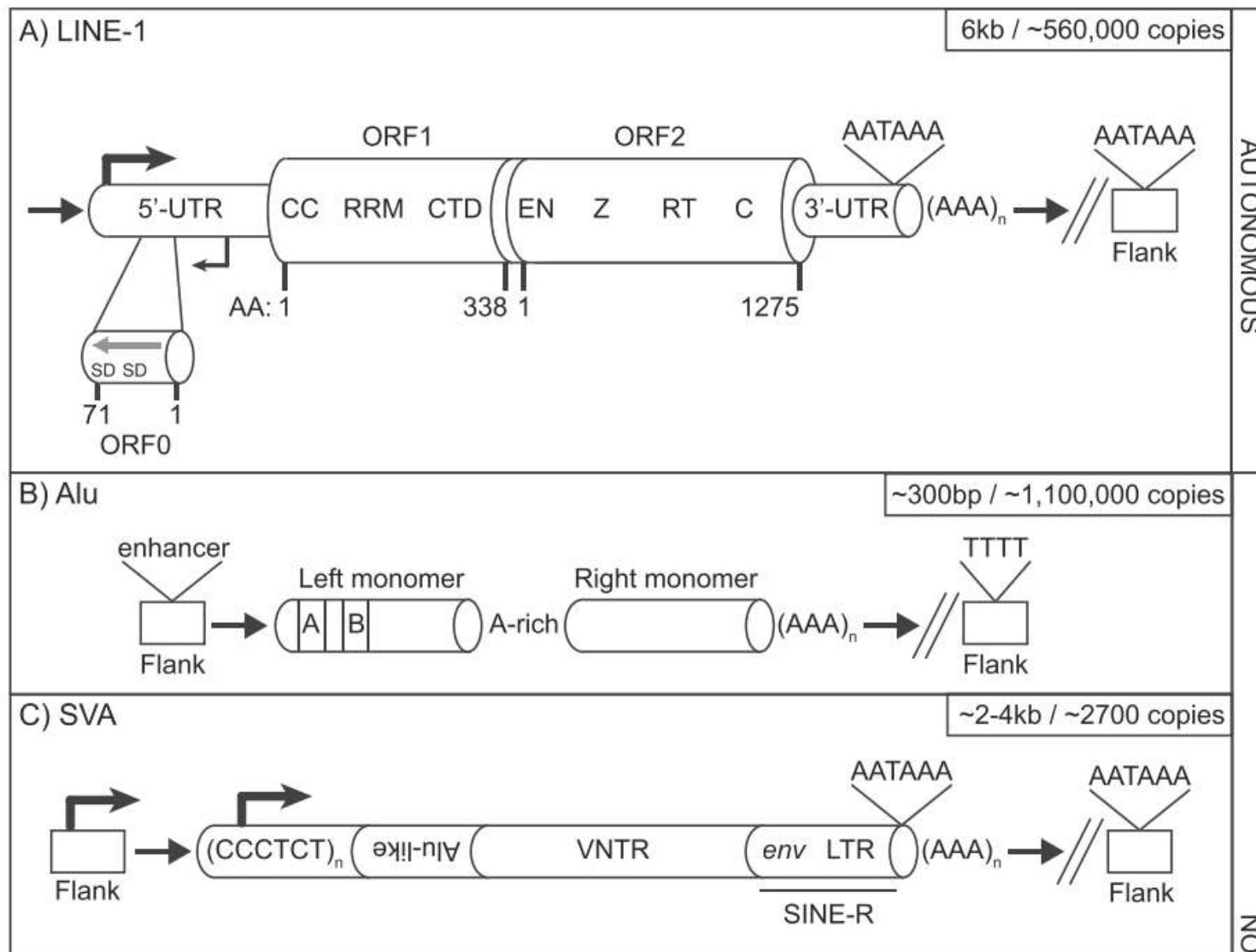
- 4,5 млн. последовательностей
- 50% процентов от всего генома

Это нижняя оценка, поскольку в ходе эволюции происходят замены, и через какое-то время мы уже не можем их идентифицировать.

Repetitive elements may comprise over two-thirds of the human genome.
de Koning AP1, Gu W, Castoe TA, Batzer MA, Pollock DD., PLoS Genet.
2011;7(12):e1002384.

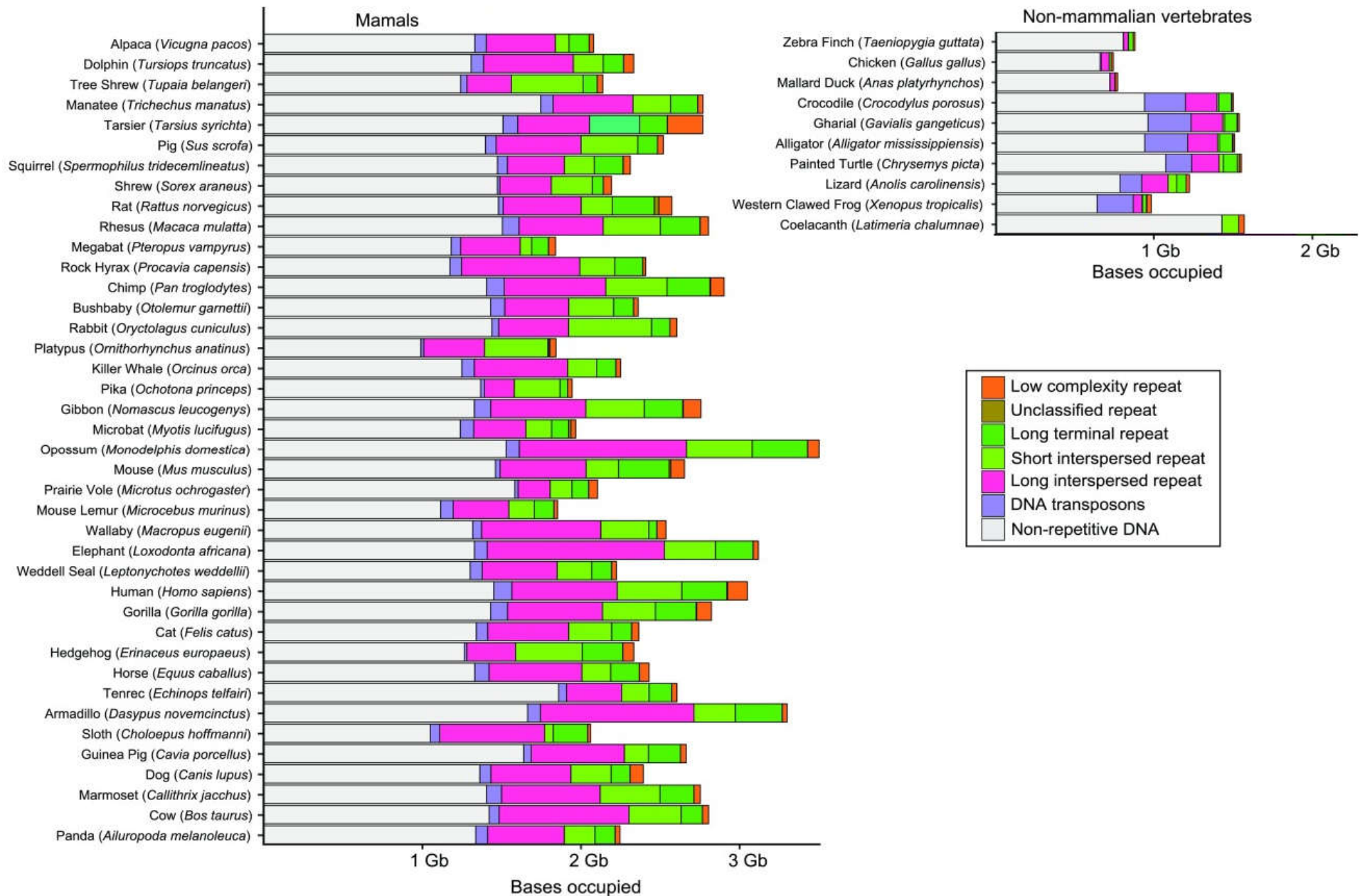
‘endovirome’ - сумма всех транспозонов в организме, поскольку большинство из них произошли от вирусов.

Структура некоторых транспозонов в геноме человека



Hancks, D. C., & Kazazian, H. H. (2016).
 Roles for retrotransposon insertions in human disease.

Повторы в геномах позвоночных

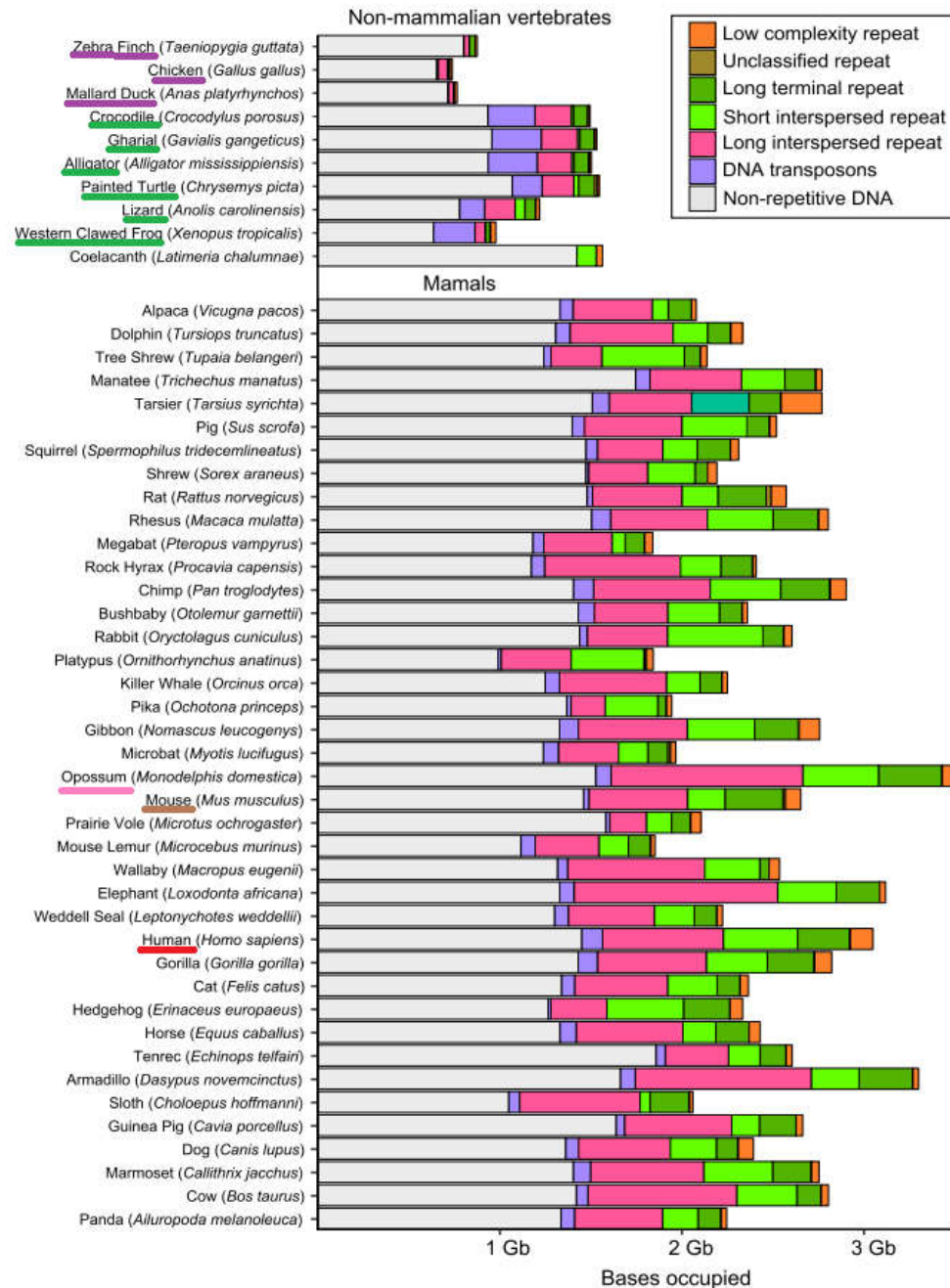
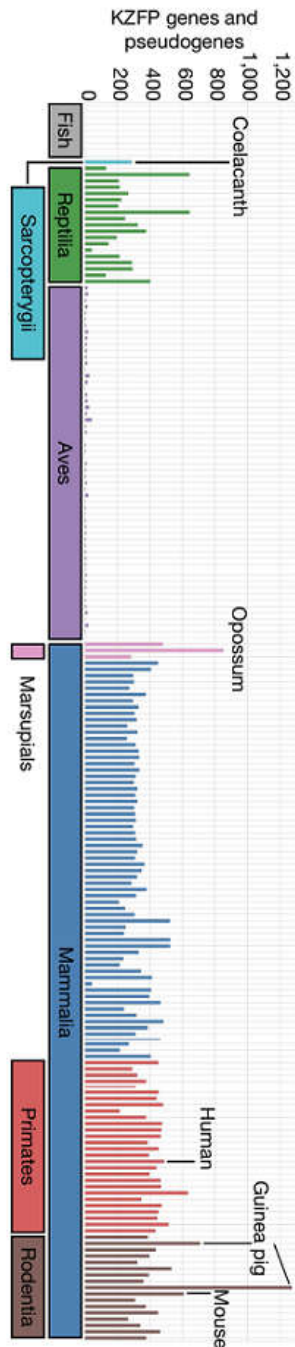


Platt et al., 2018. Mammalian transposable elements and their impacts on genome evolution.

Корреляция между количеством транспозонов и количеством генов KRAB ZFP

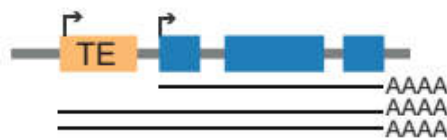
Imbeault, M., et al., 2017,
KRAB zinc-finger proteins
contribute to the evolution of
gene regulatory networks.

Platt et al., 2018.
Mammalian transposable
elements and their impacts
on genome evolution.



Как транспозоны влияют на геном хозяина

Alternative promoter



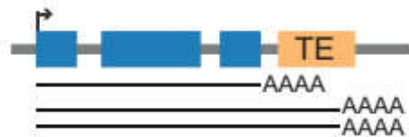
Disruption of exon



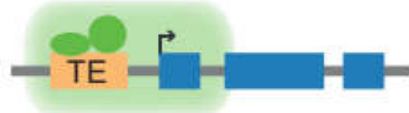
Alteration of splicing



New polyA site



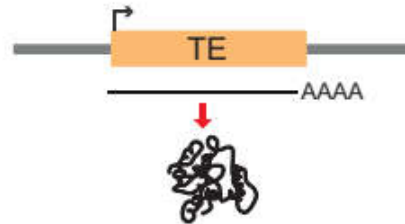
Novel binding sites
(enhancers/silencers)



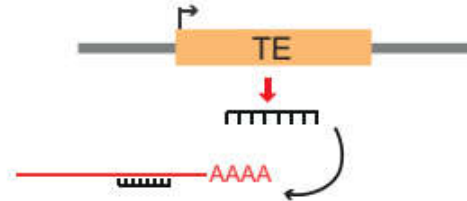
Insulator



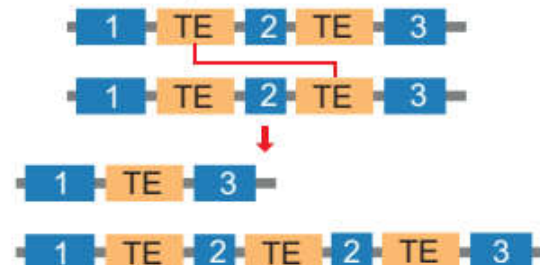
Production of new protein



Production of regulatory RNAs



Deletion/duplication



Для человека

< 1/10,000 транспозонов
могут перемещаться.

Большинство болезней,
связанных с транспозонами,
вызваны non-LTR
ретротранспозонами.

Примеры:

- рак груди - вставка Alu в гены BRCA1, BRCA2
- гемофилия А и В - вставка LINE-1 или Alu элементов в гены, кодирующие факторы сворачиваемости крови.

LTR ретротранспозоны - чаще
связаны с раком.

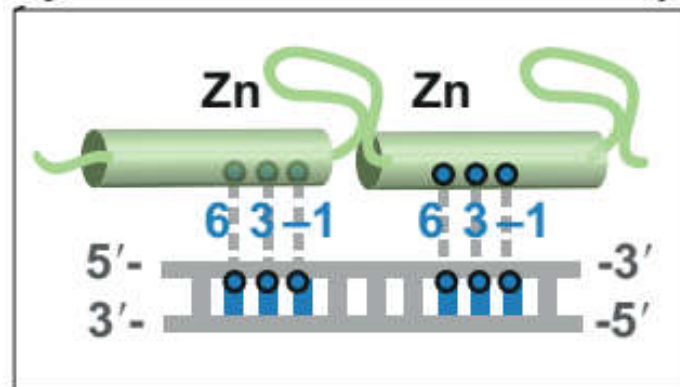
Структура KRAB ZFP

N — KRAB-A KRAB-B — ZF — ZF — ZF — ZF — ZF — ZF — C

N — KRAB-A — ZF — ZF — ZF — ZF — ZF — ZF — ZF — ZF — C

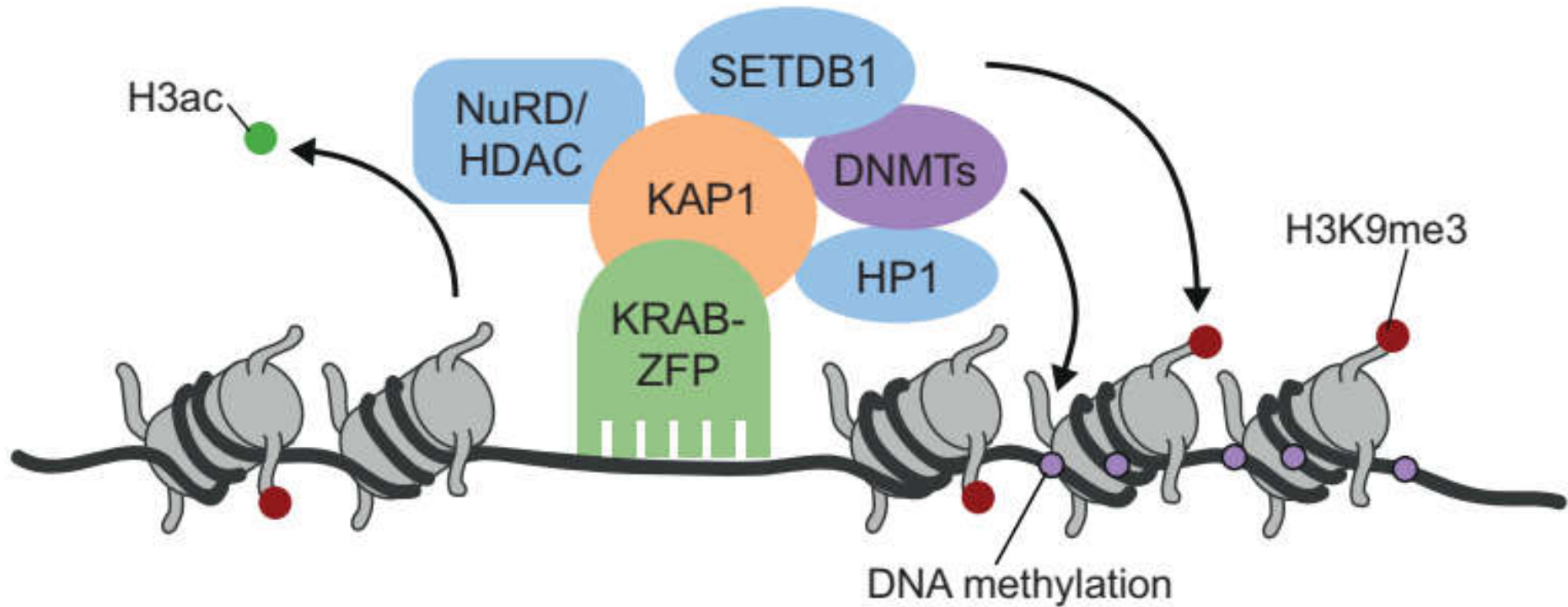
N — SCAN — KRAB-A KRAB-B — ZF — ZF — ZF — ZF — C

N — DUF3669 — KRAB-A KRAB-B — ZF — ZF — ZF — ZF — C



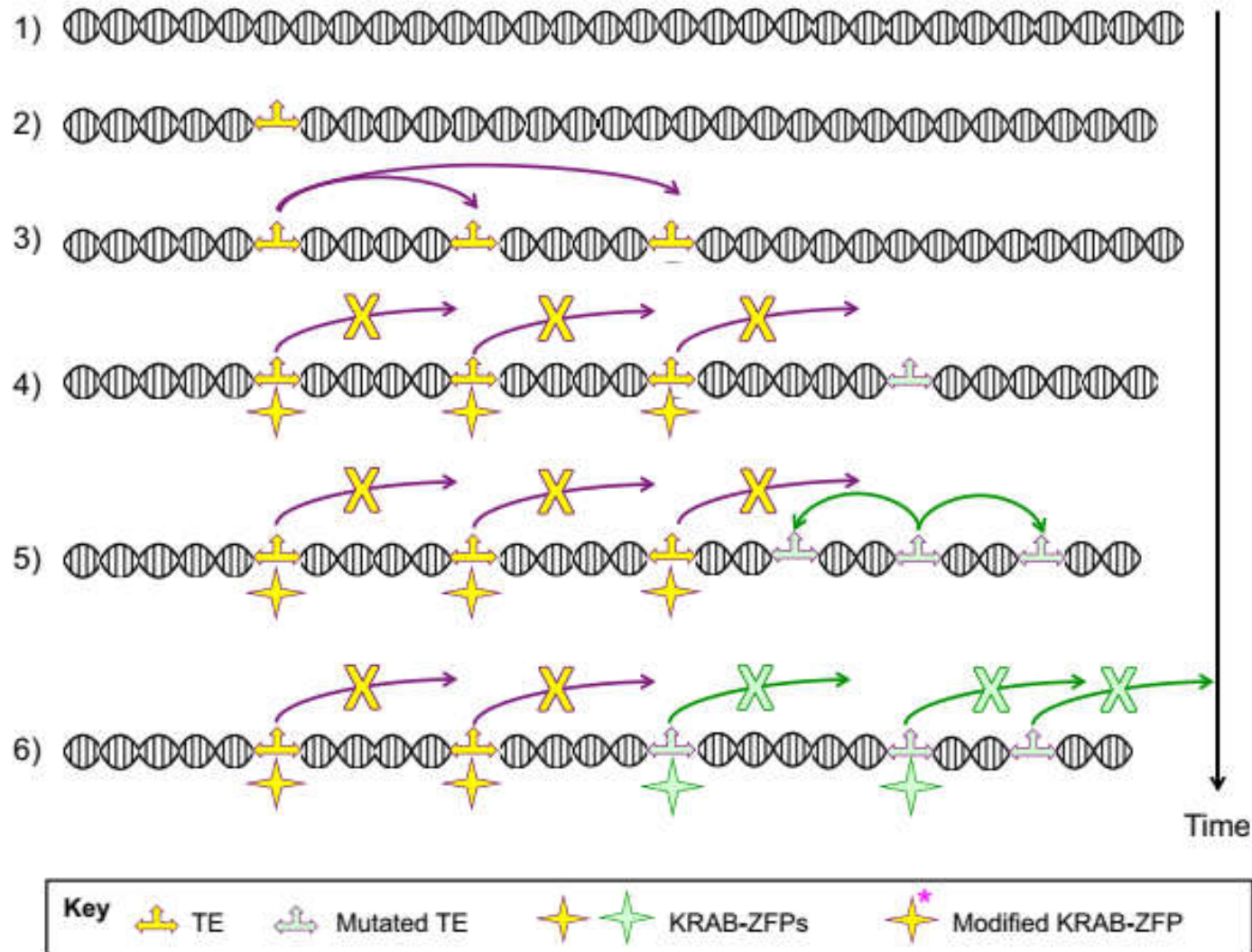
Ecco G, Imbeault M, Trono D. (2017)
KRAB zinc finger proteins.

KRAB ZFP/KAP1 репрессорный комплекс, приводящий к формированию гетерохроматина



«Гонка вооружений» между транспозонами и KRAB ZFP

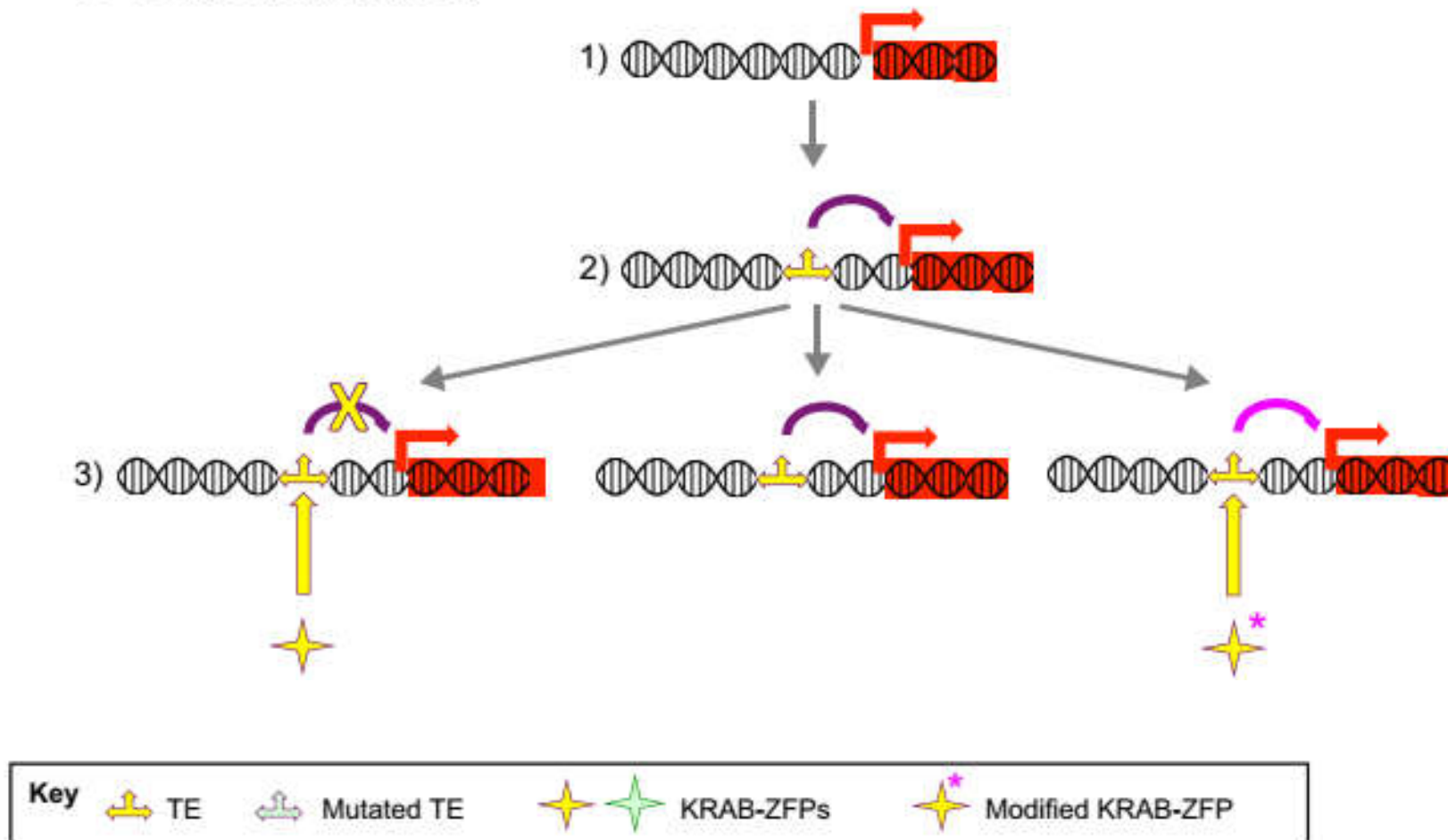
A Arms race model



Ecco G, Imbeault M, Trono D. (2017)
KRAB zinc finger proteins.

«Одомашнивание» транспозонов при помощи KRAB ZFP

B Domestication model



Ecco G, Imbeault M, Trono D. (2017)
KRAB zinc finger proteins.

Партия (ипотеческая) между
транспозонами и KRAB ZFP



L1PA2

L1PA3

L1PA4

...

FOXA2

YY1

ZNF141

ZNF649

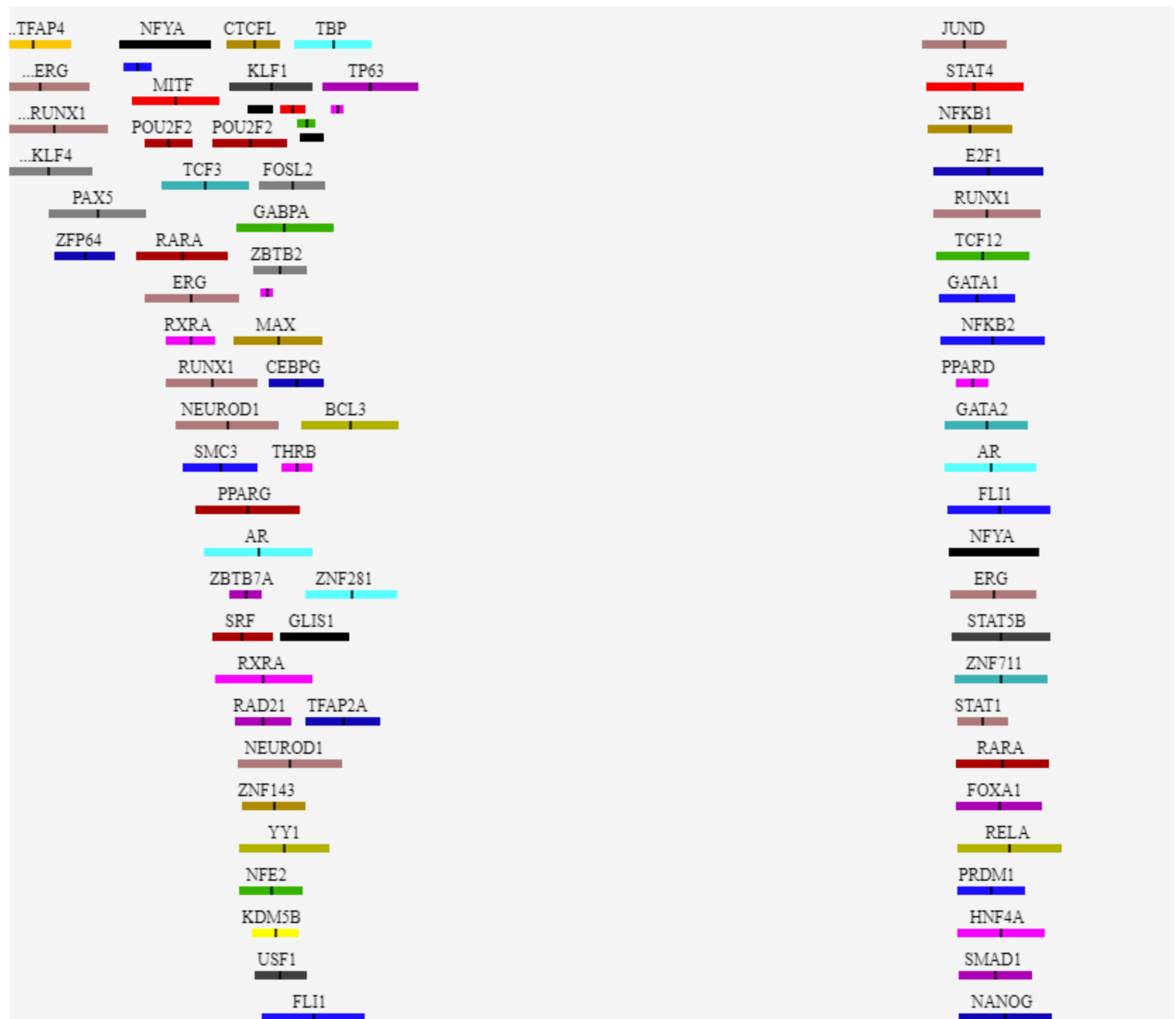
ZNF382

...

ZNF711

ZNF263

Поль Сезанн
«Игроки в карты»



Регуляция транскрипции как пасьянс

miRNA

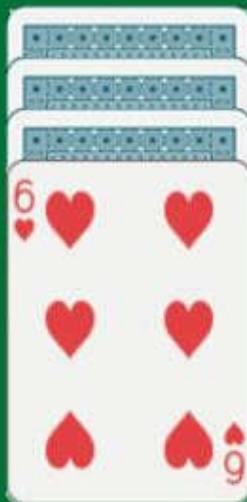
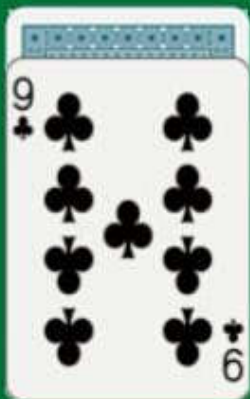
enhancers

ТФ

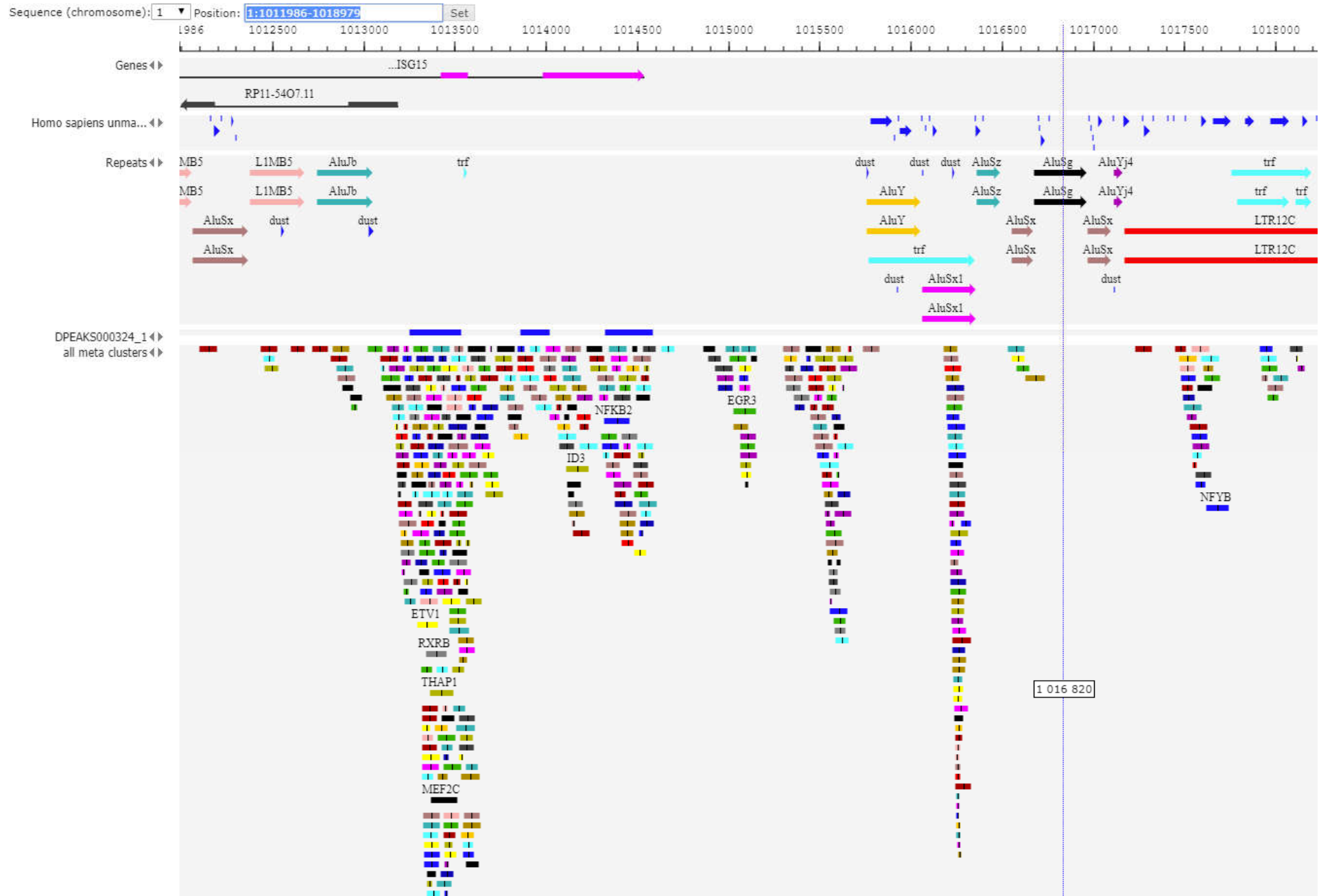
Хроматин

Эпигеном

Транс-
позоны



GTRD – взгляд с учетом транспозонов



Заключение

На протяжении всей эволюции геномы тетрапод (за исключением птиц) были модифицированы волнами ретротранспозонных вставок.

Для каждой волны хозяин в конце концов находит способ подавить ретротранспозонную транскрипцию и предотвратить дальнейшие вставки.

Основным оружием являются KRAB-ZFP - самое большое семейство ТФ у высших позвоночных. Они состоят из эффекторного домена KRAB (связывается с KAP1) и С-массивом ДНК-связывающих цинковых пальцев. Вместе со своим кофактором KAP1 (TRIM28) они формируют репрессорный комплекс, приводящий к формированию гетерохроматина и тем самым инактивации ретротранспозонов.

KRAB-ZFP – самое быстро растущее семейство ТФ. Их эволюция объясняется 2 моделями: «гонка вооружений» с транспозонами и «одомашнивание» транспозонов.

Сейчас у человека:

- большинство ретротраспозонов неактивно (активны $< 1/10\ 000$)
- в белках KRAB-ZFP наблюдается большое количество SNP, приводящих к несинонимичным заменам, идет их превращение в псевдогены.

Былая война между транспозонами и KRAB-ZFP оставила значительный вклад в геноме (до 50%) – без учета эха этой войны невозможно понять регуляцию транскрипцию у тетрапод.

Использованная литература

1. Lambert, S. A., Jolma, A., Campitelli, L. F., Das, P. K., Yin, Y., Albu, M., ... Weirauch, M. T. (2018). The Human Transcription Factors. *Cell*, 172(4), 650–665.
2. Imbeault, M., Helleboid, P.-Y., & Trono, D. (2017). KRAB zinc-finger proteins contribute to the evolution of gene regulatory networks. *Nature*, 543(7646), 550–554.
3. Ecco G, Imbeault M, Trono D. (2017) KRAB zinc finger proteins. *Development*. 144(15), 2719-2729.
4. Bourque G, Burns K, Gehring M, Gorbunova V, Seluanov A, Hammell M, Imbeault M, Izsvák Z, Levin HL, Macfarlan TS, Mager DL, Feschotte C. (2018). Ten things you should know about transposable elements. *Genome Biol*. 19:199.
5. Platt RN, Vandewege MW, Ray DA. (2018). Mammalian transposable elements and their impacts on genome evolution. *Chromosome Res*. 26(1-2):25-43.
6. Hancks, D. C., & Kazazian, H. H. (2016). Roles for retrotransposon insertions in human disease. *Mobile DNA*, 7, 9. doi:10.1186/s13100-016-0065-9
7. Jacobs, F. M., Greenberg, D., Nguyen, N., Haeussler, M., Ewing, A. D., Katzman, S., Paten, B., Salama, S. R., ... Haussler, D. (2014). An evolutionary arms race between KRAB zinc-finger genes ZNF91/93 and SVA/L1 retrotransposons. *Nature*, 516(7530), 242-5.

СЕМИНАР

ИНФОРМАЦИОННО-ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ

Руководитель: академик Ю.И. Шокин.

Заместители руководителя: к.ф.-м.н. А.В. Юрченко, к.б.н. Ф.А. Колпаков.

Заседания семинара проходят раз в две недели по четвергам

с 16.00 в кабинете 303

ИВТ СО РАН

ул. Академика Ржанова 6

Предыдущие семинары

29.11.2018 Колмыков Семён Константинович

[Mocap: large-scale inference of transcription factor binding sites from chromatin accessibility](#)

20.09.2018 Левицкий Виктор Георгиевич

[Предсказание композиционных элементов с перекрыванием мотивов по данным эксперимента ChIP-seq](#)

21.06.2018 Колпаков Федор Анатольевич

[Поиск значимых регуляторных мутаций \(SNV\), связанных с регуляцией генной экспрессии \(eQTL\)](#)

Подать заявку

Секретарь семинара к.ф.-м.н. [Киселев Илья Николаевич](#)