

Влияние однонуклеотидных полиморфных замен в районах позиционирования РНК-полимеразы II на сродство к ним ТВР в генах циркадных часов человека

О.А. Подколотная¹, Д.А. Рассказов¹, Н.А. Подколотный^{1,2,3}, Н.Н. Подколотная^{1,3}, В.В. Суслов¹, Л.К. Савинкова¹, П.М. Пономаренко⁴, М.П. Пономаренко^{1,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

⁴ Детский госпиталь Лос-Анджелеса, Университет Южной Калифорнии, США

Генетическая вариабельность в системе циркадных часов проявляется в фенотипической изменчивости физиологических функций и поведения, а также в нарушениях функционирования не только самих часов, но и других систем, приводящих к развитию серьезных патологических состояний. В данной работе был проведен анализ влияния однонуклеотидных полиморфных замен (ОНП), локализованных в области [–70, –20] от старта транскрипции, на сродство ТАТА-связывающего белка (TATA-binding protein, TBP) к промотору в двух группах генов, являющихся компонентами системы циркадных часов человека. Первую группу составляют гены ядра циркадного осциллятора (11 генов), вторую – гены ближайшего регуляторного окружения циркадного осциллятора (21 ген), для сравнения взята группа функционально отличающихся генов (31 ген). Для оценки *in silico* изменения константы диссоциации и, следовательно, сродства TBP/промотор при мутациях был использован Web-сервис SNP_TATA_Comparator. В результате показано, что в первой группе генов количество ОНП-маркеров снижения сродства TBP/промотор значимо ниже количества ОНП-маркеров увеличения сродства ($\alpha < 10^{-3}$), в то время как в группе сравнения наблюдается противоположная картина: ОНП-маркеров уменьшения сродства TBP/промотор значимо больше, чем ОНП-маркеров увеличения сродства ($\alpha < 10^{-6}$). Наблюдаемая особенность может быть специфической характеристикой генов циркадного осциллятора, влияющей на его устойчивость при генетической вариабельности анализируемой области промоторов. Полученные предсказания могут играть важную роль для отбора кандидатных ОНП-маркеров различных патологий, связанных с нарушением системы циркадных часов, для дальнейшей проверки их в экспериментальных исследованиях, а также при верификации математических моделей циркадного осциллятора.

Ключевые слова: циркадный ритм; промотор; ОНП; ТАТА-связывающий белок (TBP); сродство TBP/промотор.

The effects of SNPs in the regions of positioning RNA polymerase II on the TBP/promoter affinity in the genes of human circadian clock

O.A. Podkolodnaya¹, D.A. Rasskazov¹, N.L. Podkolodnyy^{1,2,3}, N.N. Podkolodnaya^{1,3}, V.V. Suslov¹, L.K. Savinkova¹, P.M. Ponomarenko⁴, M.P. Ponomarenko^{1,3}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Institute of Computational Mathematics and Mathematical Geophysics SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴ Children's Hospital Los Angeles, University of Southern California, USA

Genetic variability in the genes of circadian clock is manifested as the phenotypic variability of physiological functions and behavior as well as disorders of the function of not only the clock but also other systems, leading to the development of a pathologies. We analyzed the influence of SNPs localized in the [–70, –20] region from the transcription start site of the gene on TBP / promoter affinity in two groups of genes that are components of the system of human circadian clock. The first group comprises the genes of the circadian oscillator core (11 genes); the second, the genes of the nearest regulatory environment of the circadian oscillator (21 genes). A group for comparison included genes with another function (31 genes). The SNP_TATA_Comparator web service was used for prediction of the effect of SNPs in the regions of positioning of RNA polymerase II on the dissociation constant for TBP / promoter. It was shown that the number of SNP markers reducing the TBP / promoter affinity in the first group of genes significantly lower than the number of SNP markers increasing affinity ($\alpha < 10^{-3}$). The reverse was true of the comparison group: SNP markers reduced TBP / promoter affinity to a significantly greater extent than the SNP marker increased affinity ($\alpha < 10^{-6}$). This property may be a characteristic feature of genes

of the circadian oscillator. These predictions are important for identification of candidate SNP markers of various pathologies associated with the dysfunction of circadian clock genes for further testing them in experimental and clinical studies, as well as for verification of mathematical models of the circadian oscillator.

Key words: circadian rhythm; the promoter; SNP; TATA-binding protein (TBP); the affinity of TBP/promoter; gene expression.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Подколотная О.А., Рассказов Д.А., Подколотный Н.Л., Подколотная Н.Н., Сулов В.В., Савинкова Л.К., Пономаренко П.М., Пономаренко М.П. Влияние однонуклеотидных полиморфных замен в районах позиционирования РНК-полимеразы II на сродство к ним ТБП в генах циркадных часов человека. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(6):682-690. DOI 10.18699/VJ15.089

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Podkolodnaya O.A., Rasskazov D.A., Podkolodny N.L., Podkolodnaya N.N., Suslov V.V., Savinkova L.K., Ponomarenko P.M., Ponomarenko M.P. The effects of SNPs in the regions of positioning RNA polymerase II on the TBP/promoter affinity in the genes of human circadian clock. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(6):682-690. DOI 10.18699/VJ15.089

Циркадные часы (ЦЧ) млекопитающих представляют собой систему самоподдерживающихся осцилляторов, функционирующих под управлением центрального циркадного пейсмейкера, локализованного в супрахиазматических ядрах гипоталамуса. Они синхронизируют все процессы в живых организмах – от транскрипции генов до поведения, обеспечивая их временную адаптацию к 24-часовым земным суткам. Минимальный набор из семи групп генов: Clock (ген *CLOCK*), Bmal (ген *BMAL1*, *BMAL2*), Per (гены *PER1*, *PER2*), Cry (гены *CRY1*, *CRY2*), CKI (гены *CKIε*, *CKIδ*), Rev-erb (ген *REV-ERBA*) и Ror (гены *RORA* и *RORC*) формирует ядро молекулярно-генетического механизма циркадных часов, функционирование которого обеспечивается обратными связями между его компонентами (Reppert, Weaver, 2001; Brown et al., 2012; Kim, Forger, 2012). Кроме того, компоненты ядра циркадного осциллятора (ЦО) связаны обратными связями с рядом генов, не входящих в его ядро. Наличие таких связей дополнительно способствует устойчивости функционирования часов. Кроме того, эти гены могут служить точками входа внешних сигналов, модулирующих параметры циркадных часов в ответ на внешние сигналы, такие как свет, пища и др. (Reppert, Weaver, 2001; Brown et al., 2012; Chen, Yang, 2014).

Система циркадных часов связана с широким спектром физиологических систем организма. Поэтому можно ожидать, что генетическая вариабельность в системе циркадных часов может проявляться в фенотипической изменчивости физиологических функций и поведения, а также в нарушениях функционирования не только самих часов, но и других систем, приводящих к развитию патологических состояний. Это подтверждено, прежде всего, экспериментами на генетических моделях животных, которые продемонстрировали, что помимо изменения параметров ЦЧ (амплитуды, фазового ответа на внешние сигналы, периода свободнотекущего ритма) у мутантных животных проявляются такие расстройства, как метаболический синдром, нарушение в системе глюконеогенеза и липогенеза, нарушение функции почек и термогенеза, развитие опухолей и др. (см. обзоры Ко, Takahashi, 2006;

Sahar, Sassone-Corsi, 2012). Кроме того, исследования в области генетической эпидемиологии выявили ассоциации однонуклеотидных полиморфных замен (ОНП) генов циркадных часов с широким спектром патологических состояний (Подколотная, 2014; Kettner et al., 2014). Значительная часть таких ОНП локализована в некодирующих областях генов, обеспечивающих регуляцию экспрессии. Функциональная аннотация регуляторных ОНП, а также анализ их проявления на уровне экспрессии генов представляются важной задачей, поскольку многие из таких ОНП могут быть маркерами патологических состояний. В данной работе мы сосредоточили внимание на области проксимального промотора [–70, –20 от старта транскрипции], соответствующей месту связывания ТБП (TATA – Binding Protein). Используя созданный нами ранее Web-сервис SNP_TATA_Comparator (Рассказов и др., 2013), который предоставляет возможность в автоматическом режиме предсказывать изменения величин константы диссоциации ТБП/промотор, мы проанализировали влияние ОНП, локализованных в этой области, что позволило оценить их потенциальное влияние на экспрессию соответствующих генов. Такой подход существенно облегчает отбор кандидатных ОНП-маркеров ряда патологий для дальнейшей проверки их в экспериментальных исследованиях.

Материалы и методы

Источником данных о генах, участвующих в регуляции циркадного ритма, послужила генная сеть «Circadian Rhythm» (Подколотная и др., 2014). На ее основе было составлено два списка генов, один из которых содержал гены ядра циркадного осциллятора (I группа), второй – гены его ближайшего окружения (II группа). Список генов ядра циркадного осциллятора совпадает с описанным в литературе (Дополнительные материалы 1¹). Список генов ближайшего окружения (Доп. материалы 2) включал гены, являющиеся дополнительными регуляторами осциллятора. Некоторые из них связаны с генами ядра отрицательными обратными связями, другие участвуют

¹ Дополнительные материалы 1–3 см. в Приложении 2 по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2015-12/appx2.pdf>

в регуляции на различных уровнях экспрессии генов ядра или деградации их продуктов, являются точками входа регуляторных сигналов, а также выполняют другие регуляторные функции. Для прогноза влияния ОНП в области проксимальных промоторов [–70, –20 от старта транскрипции] на средство к ним ТВР в этих двух группах генов человека мы использовали Web-сервис SNP_TATA_Comparator (Рассказов и др., 2013). При работе Web-сервиса основные варианты последовательностей извлекаются из базы данных Ensembl (Zerbino et al., 2015) на основе использования границ транскриптов, взятых из базы данных GENCODE (Frankish et al., 2015) референсного генома человека hg19. Минорные варианты создаются автоматически путем внесения в основные варианты последовательностей соответствующих замен, делеций и/или вставок нуклеотидов из базы данных dbSNP (вып. 142). SNP_TATA_Comparator позволяет оценивать средство ТВР/промотор, выраженное как $-\ln(K_D) \pm \delta$ в логарифмических единицах и в nM (здесь $\ln(K_D)$ – логарифм константы диссоциации комплекса ТВР/промотор и δ – стандартное отклонение $\ln(K_D)$), а также проводить сравнение значений, полученных для анцестральных и минорных вариантов последовательности (Рассказов и др., 2013).

Для оценки значимости повышения или понижения количества ОНП использовался метод сравнения наблюдаемого количества с ожидаемым по случайным причинам количеством, соответствующим 5 %-му уровню, на основе биномиального распределения. Значимость различия количества ОНП, увеличивающих и уменьшающих средство, рассчитывалась на основе оценки вероятности реализации по случайным причинам наблюдаемого количества ОНП при условии выполнения нулевой гипотезы об их равенстве в генеральной совокупности. Эти расчеты также выполнялись с использованием биномиального распределения. Для оценки значимости взаимосвязи между двумя переменными в таблице сопряженности размером 2×2 использовался точный критерий Фишера.

В соответствии с экспериментальными данными значимый рост средства ТВР/промотор можно рассматривать как предсказание суперэкспрессии гена, снижение – как признак дефицитной экспрессии (Mogno et al., 2010).

Результаты и обсуждение

Основные результаты, полученные нами, представлены в табл. 1. Первая часть ее содержит информацию о генах группы ядра циркадного осциллятора человека, вторая – о генах его ближайшего регуляторного окружения. Из I группы пять генов кодируют транскрипционные факторы, два – ферменты и четыре – регуляторные белки. Отметим, что в таблице представлены только те ОНП, которые значимо изменяют константу диссоциации ТВР/промотор. В графе K_D представлены полученные нами оценки константы диссоциации комплекса ТВР для основного и минорного типов последовательности, а в графах Z и α – статистические оценки достоверности изменения константы диссоциации ТВР/промотор для каждого ОНП. В графе Δ этой таблицы отмечено предполагаемое влияние данного ОНП на уровень экспрессии гена. Кроме того, в таблице содержатся данные из научных публикаций, свидетельствующие о состояниях организма, при которых

выявлены такие изменения экспрессии соответствующих генов. Рассмотрим более подробно данные, представленные в табл. 1, на примере гена *PER1*, кодирующего белок PERIOD 1 (PER1), субъединицу гетеродимерного комплекса PER/CRY, который является основным негативным компонентом циркадного осциллятора, подавляющим активность транскрипционного фактора CLOCK/BMAL1 за счет белок-белковых взаимодействий. Из 54 ОНП, выявленных в исследуемом районе различных транскриптов этого гена, только два (rs2518024 и rs3027175), согласно прогнозу SNP_TATA_Comparator, могут оказывать влияние на средство ТВР/промотор. Эти ОНП локализованы в области [–70; –20] относительно старта транскрипции мРНК № 5 (референсный геном человека hg19). При этом первый ОНП увеличивает средство ТВР/промотор, а второй – уменьшает его. Как отмечалось выше, увеличение средства ТВР/промотор можно рассматривать как предсказание увеличения экспрессии гена, а снижение его – как предсказание уменьшения экспрессии. Как известно, высокий уровень экспрессии гена *PER1* ингибирует рост раковых клеток (Gery et al., 2006; Cao et al., 2009; Kettner et al., 2014). Сниженный уровень экспрессии *PER1* выявлен в тканях раковых опухолей желудка и простаты человека (Cao et al., 2009; Zhao et al., 2014). В то же время у пациентов с высокой экспрессией этого гена, страдающих раком желудка, отмечается более длительное время выживания (Zhao et al., 2014). Этот ген рассматривают как супрессор опухолей, один из механизмов действия которого определяется влиянием на чувствительность клеток к индуцированному разрушением ДНК апоптозу (Gery et al., 2006; Kettner et al., 2014). Отметим также, что в исследованиях на генетических моделях мыши (*Per^{-/-}*) наблюдается снижение 3D обучаемости и увеличение проявлений гепатотоксичности этанола (Jilg et al., 2010; Wang et al., 2013). Следовательно, можно предположить, что данные ОНП гена *PER1* могут рассматриваться как кандидатные ОНП-маркеры ряда патологий.

Аналогичная информация представлена в табл. 1 для остальных генов ядра циркадного осциллятора, в анализируемой области промоторов которых выявлены ОНП, влияющие на средство ТВР/промотор. В целом в данной группе генов выявлено 282 ОНП, из них только для 14 предсказаны статистически значимые изменения средства ТВР/промотор (два ОНП значимо снижали этот показатель, что в согласии с нашими предположениями может уменьшать экспрессию соответствующих генов, а 12 – увеличивали).

Данные, представленные в табл. 1 в графе «Патология», свидетельствуют о том, что дисрегуляция экспрессии генов ядра циркадного осциллятора может служить маркером широкого круга патологических состояний, таких как различные формы рака, заболевания легких, сердечно-сосудистой системы, нейродегенеративные заболевания и др. Такое разнообразие может быть следствием того, что циркадные часы осуществляют регуляцию большого количества процессов, протекающих в организме, и, кроме того, являются интеграторами различных сигналов, получаемых ими за счет обратных связей как локально, на клеточном уровне, так и на уровне организма, благодаря их иерархической системе организации.

Таблица 1. Кандидатные ОНП-маркеры патологий, значимые для сродства ТВР к промоторам генов-регуляторов циркадного ритма

Ген (N _{SNP})	PHK (др.)	dbSNP rel.142	5'-фланк	hg19 min	фланк-3'	K _D , nM hg19 min	Z	α	Патология	Литературный источник	
I группа: гены ядра циркадного осциллятора											
CLOCK (38)	№ 1	rs192518038	aggacctaag	$\frac{g}{t}$	ctagcgctct	$\frac{63}{29}$	↑	14	10 ⁻⁷	Повышенный риск сердечных приступов при диабете (CLOCK-мутантные мыши)	Oishi et al., 2005
		rs537333415	gcctccagga	$\frac{c}{t}$	ctaaggctag	$\frac{63}{45}$	↑	7	10 ⁻⁷		
CRY2 (13)	№1	rs575588903	ctaaggttg	$\frac{a}{g}$	gttgcgcgct	$\frac{27}{25}$	↑	2	0,05	Устойчивость к химиотерапии и плохой прогноз при колоректальном раке, диффузная субкортикальная глиома	Luo et al., 2012; Fang et al., 2015
	№ 2	rs529410313	agctgtcagt	$\frac{c}{a}$	ttgcaagtca	$\frac{22}{18}$	↑	3	10 ⁻²		
PER1 (54)	№ 5	rs2518024	gtgctctgga	$\frac{g}{a}$	ttaaaccagc	$\frac{17}{8}$	↑	12	10 ⁻⁷	Более длительное время выживания лиц с раком желудка Рак простаты, дефект гиппокампа и сниженные 3D-обучаемость и этанол-гепатотоксичность (PER1 ^{-/-} мыши)	Zhao et al., 2014 Cao et al., 2009; Jilg et al., 2010; Wang et al., 2013
	№ 5	rs3027175	ccagcaggtg	$\frac{c}{t}$	tctggagtta	$\frac{17}{19}$	↓	2	0,05		
PER2 (11)	№5	rs181985043	gcagctccac	$\frac{c}{a}$	ctagtgcag	$\frac{29}{12}$	↑	16	10 ⁻⁷	Риск развития лихорадки Ку у мужчин, супрессия роста опухоли (клеточная линия S-180)	Miyazaki et al., 2010; Mehraj et al., 2012
RORA (21)	№ 2	rs374778785	attatcccc	$\frac{a}{t}$	tactcctccc	$\frac{34}{28}$	↑	4	10 ⁻³	Риск эмфиземы с ее развитием до рака легких у курильщиков (мышь, курительная машина TE-10)	Shi et al., 2012
RORC (20)	№1	rs568650510	actccttttc	$\frac{c}{t}$	ctgcctgctg	$\frac{55}{25}$	↑	14	10 ⁻⁷	Риск астмы (30 пациентов-детей) и неврологических проявлений болезни Бехчета (18 пациентов)	Hamzaoui et al., 2011a, b
CSNK1E (36)	№ 1	rs369188273	ccctcccctc	$\frac{c}{t}$	gcgcccgtc	$\frac{288}{195}$	↑	7	10 ⁻⁷	Риск с-МУС-зависимого канцерогенеза, рак яичников, увеличение продукции бета-амилоида в мозге	Flajolet et al., 2007; Rodriguez et al., 2012; Toyoshima et al., 2012
	№ 6	rs558609213	tctttcttg	$\frac{c}{t}$	atccctgcag	$\frac{30}{9}$	↑	21	10 ⁻⁷		
CSNK1D (51)	№ 1	rs2899302	cgagaaaact	$\frac{g}{c}$	cgcgaggcct	$\frac{288}{335}$	↓	3	10 ⁻²	Восприимчивость к опиоидам (CSNK1E ^{-/-} мыши) Риск рака молочной железы (27 образцов из банка замороженных хирургически удаленных опухолей)	Bryant et al., 2012 Abba et al., 2007
	№ 2	rs540139460	gcagggtcgg	$\frac{g}{a}$	aggaggcctg	$\frac{253}{145}$	↑	10	10 ⁻⁷		
CSNK1D (51)	№ 2	rs4313857	gccccgccgg	$\frac{g}{a}$	ttgctagggg	$\frac{57}{32}$	↑	8	10 ⁻⁷		
	II группа: гены ближайшего окружения циркадного осциллятора										
BHLHE40 (8)	№1	rs527901110	gcgccccca	$\frac{c}{g}$	ccaactgggc	$\frac{79}{94}$	↓	3	10 ⁻³	Плоскоклеточный рак пищевода	Wong et al., 2011
BHLHE41 (8)	№ 1	rs532670734	ctgccgttcg	$\frac{c}{t}$	ctgccgttcg	$\frac{86}{55}$	↑	9	10 ⁻⁷	Риск рака поджелудочной железы (клеточная линия VxPC-3 рака поджелудочной железы человека)	Sato et al., 2012
NGFR (10)	№ 2	rs532346435	tgctgactaa	$\frac{c}{t}$	gccgctggtt	$\frac{24}{13}$	↑	6	10 ⁻⁷	Риск рака молочной железы (клеточная линия MCF-7 рака молочной железы человека)	Wilmet et al., 2011
ID2 (17)	№ 201	rs377457836	gccccctcgt	$\frac{c}{t}$	ttgatagacg	$\frac{7}{6}$	↑	4	10 ⁻³	Повышенная миграция опухолевых клеток, метастазирование (клеточная линия U87MG)	Coma et al., 2010
FBXL3 (19)	№ 1	rs558539957	ggcgccattt	$\frac{t}{c}$	agactcgctc	$\frac{22}{51}$	↓	13	10 ⁻⁷	Снижение амплитуды и удлинение периода циркадного ритма (FBXL3 ^{-/-} мыши, FBXL3 ^{-/-} клетки человека с использованием CRISPR/Cas9)	Hirano et al., 2013; Korge et al., 2015
		rs368477256	cgagccctgg	$\frac{g}{c}$	cgccatttta	$\frac{22}{63}$	↓	12	10 ⁻⁷		

Окончание таблицы 1

Ген (N_{SNP})	PHK (др.)	dbSNP rel.142	5'-фланк	hg19 <i>min</i>	фланк-3'	K_D , nM hg19 <i>min</i>	Z	α	Патология	Литератур- ный источник	
SIRT1 (13)	№ 1	rs561608453	gggggtttaa	$\frac{t}{a}$	ctccccgagc	$\frac{7}{5}$	↑	3	10^{-2}	Снижение риска бокового амио- трофического склероза (мышь- суперпродуценты SIRT1)	Watanabe et al., 2014
		rs200894138	tgggggttaa	$\frac{a}{c}$	tctccccgag	$\frac{7}{10}$	↓	7	10^{-7}	Риск тяжелых повреждений легких при воспалениях (SIRT1 ^{-/-} мышь)	Gao et al., 2015
HLF (29)	№ 1	rs568118114	tcactcttgt	$\frac{c}{g}$	agggccgagg	$\frac{34}{29}$	↑	3	10^{-3}	Острый лимфобластный лейкоз (трансгенные мышь-суперпроду- центы HLF)	Yamasaki et al., 2010
		rs546257513	tccaagtaa	$\frac{a}{g}$	taggaagatg	$\frac{6}{9}$	↓	5	10^{-7}	Гипертрофия сердца и свя- занная с низким давлением дисфункция левого желудочка (DBP ^{-/-} TEF ^{-/-} HLF ^{-/-} мышь)	Wang et al., 2010
	rs571526277	caaagtaaat	$\frac{a}{t}$	ggaagatgtt	$\frac{6}{10}$	↓	10	10^{-7}			
PPARA (20)	№ 1	rs140255482	agagaacaac	$\frac{c}{t}$	gtaatcactt	$\frac{36}{23}$	↑	8	10^{-7}	Риск сердечно-сосудистых заболеваний при высокожиро- вой диете (модель спонтанной гипертензии (мышь))	Burgueno et al., 2013
		rs79623011	ctgggtgatt	$\frac{t}{a}$	ataaacaaca	$\frac{3}{4}$	↓	6	10^{-7}	Снижение продолжительности жизни и увеличение риска возраст-зависимых патологий (PPARA ^{-/-} мышь)	Howroyd et al., 2004
PPARG (22)	№ 1	rs569533856	ccggggggct	$\frac{g}{a}$	gaaaggcgaa	$\frac{79}{15}$	↑	11	10^{-7}	Риск жирового гепатоза (транс- фектные мышь-суперпродуценты PPARG)	Yu et al., 2003
		rs374622342	ccgcttcttc	$\frac{c}{t}$	tcagtaccgc	$\frac{26}{16}$	↑	8	10^{-7}	Лучшая восприимчивость химио- терапии при колоректальном раке (пациенты, а также клеточ- ная линия HCT116 с FBXW7 ^{-/-} в ней)	Fang et al., 2015
rs371186818	ttagcgacac	$\frac{g}{a}$	agcaccgctt	$\frac{26}{23}$	↑	2	0,05				
rs570804767	ttagcgaca	$\frac{c}{a}$	gagcaccgct	$\frac{26}{18}$	↑	6	10^{-7}				
FBXW7 (37)	№ 13	rs527901110	atttacattt	$\frac{[12 \text{ н.о.}] -}{-}$	attttatctt	$\frac{3}{2}$	↑	6	10^{-7}	Плохой прогноз при раке мо- лочной железы (406 пациентов, Япония)	Yumimoto et al., 2015
		rs549308580	ttcagtagtt	$\frac{t}{g}$	ataattcctg	$\frac{2}{8}$	↓	18	10^{-7}		
		rs35003923	agattccttt	$\frac{a}{g}$	tattgaacat	$\frac{3}{5}$	↓	8	10^{-7}		
NAMPT (19)	№ 1	rs564443257	gcgtgcatca	$\frac{c}{a}$	gtcctcctcc	$\frac{53}{36}$	↑	12	10^{-7}	Риск рака щитовидной железы (линии клеток мышь)	Sawicka-Gutaj et al., 2015
		rs556790067	gcagtgactt	$\frac{a}{c}$	agcaacggag	$\frac{15}{24}$	↓	3	10^{-3}	Снижение риска воспалитель- ных повреждений сосудов при атеросклерозе миокарда (APOE ^{-/-} модель атеросклероза (мышь), FK866-ингибитор NAMPT)	Nencioni et al., 2014
		rs114947395	caaaaatata	$\frac{t}{c}$	actgacttca	$\frac{2}{4}$	↓	11	10^{-7}		
RBM4 (25)	№ 2	rs552014762	tcacctcccc	$\frac{c}{t}$	tttactcag	$\frac{10}{9}$	↑	2	0,05	Снижение апоптоза клеток рака молочной железы (клетки MCF-7)	Lin et al., 2014b
		rs368067876	ctcggcattg	$\frac{c}{a}$	gcggaagacc	$\frac{63}{33}$	↑	8	10^{-7}		
		rs11551411	ggaacgccgg	$\frac{c}{t}$	ctttactttt	$\frac{10}{13}$	↓	5	10^{-3}		
PER3 (27)	№ 1	rs532828969	ctgtctgttc	$\frac{c}{t}$	attgtccctt	$\frac{19}{11}$	↑	10	10^{-7}	Риск колоректального рака и ме- тастазирования при раке печени (202 пациента)	Oshima et al., 2011
		rs373227456	gctgctgacc	$\frac{g}{a}$	gcacgaggcg	$\frac{166}{131}$	↑	4	10^{-3}		
		rs172933	gtctgttcca	$\frac{t}{c}$	ttgtcccttg	$\frac{19}{24}$	↓	4	10^{-3}		

N_{SNP} – число проверенных SNPs; PHK – нумерация согласно ENSEMBL, белок-кодирующие транскрипты с прочитанным 5'-концом и индексом TSL < 3; hg19 и *min* – основной и минорный аллели; K_D – оценка (Рассказов и др., 2013) для константы диссоциации K_D комплекса TBP с промотором для условий *in vitro* эксперимента (Savinkova et al., 2013); Δ – изменение: избыток (↑), дефицит (↓); Z – Z-тест; α – уровень значимости.

Таблица 2. Кандидатные ОНП-маркеры, влияющие на средство ТВР/промотор генов циркадного осциллятора, его ближайшего окружения и группы сравнения

Группа генов	Кол-во генов	Кол-во ОНП	ОНП, увеличивающие средство		ОНП, снижающие средство	
			Кол-во ОНП $n(i, 1)$	Значимость различия со случайным 5%-м уровнем	Кол-во ОНП $n(i, 2)$	Значимость различия со случайным 5%-м уровнем
I. Гены ядра циркадного осциллятора	11	282	$n(1, 1) = 12$	$> 0,3$	$n(1, 2) = 2$	$< 10^{-4} (-)$
Значимость различия количества ОНП, увеличивающих и снижающих средство				$< 10^{-3} (*)$		
II. Гены ближайшего окружения ядра циркадного осциллятора	21	341	$n(2, 1) = 16$	$> 0,4$	$n(2, 2) = 13$	$> 0,1$
Значимость различия количества ОНП, увеличивающих и снижающих средство				$> 0,2$		
III. Группа сравнения	31	202	$n(3, 1) = 13$	$> 0,2$	$n(3, 2) = 37$	$< 10^{-12} (+)$
Значимость различия количества ОНП, увеличивающих и снижающих средство				$< 10^{-6} (*)$		

ОНП – однонуклеотидные замены; $n(i, 1)$ и $n(i, 2)$ – количество ОНП-маркеров, увеличивающих и снижающих средство для i -й группы генов соответственно; значимо увеличенное (+) и сниженное (-) количество ОНП по сравнению с ожидаемым по случайным причинам; (*) значимое различие количества ОНП, увеличивающих и снижающих средство для определенной группы генов.

По такой же схеме был проведен анализ генов II группы, которая была охарактеризована нами как ближайшее регуляторное окружение ядра циркадного осциллятора. Группа включает 21 ген, среди которых гены, кодирующие транскрипционные факторы (9), регуляторные белки (3), ферменты (3), компоненты убиквитинлигазного комплекса (4), РНК-связывающий белок (1) и рецептор ростового фактора (1). Из 341 проанализированных ОНП 29 потенциально способны оказывать влияние на исследуемый показатель (табл. 1). Оказалось, что в этой группе количество ОНП, предположительно увеличивающих экспрессию гена, несколько превышает количество понижающих ее (16 против 13). Патологии, при которых наблюдается изменение экспрессии анализируемых генов, так же как и в предыдущей группе, весьма разнообразны. Помимо состояний, связанных с нарушениями циркадного ритма, это различные формы рака, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые, обменные и другие заболевания. Аналогично предыдущей группе генов патологические последствия может иметь как увеличение, так и уменьшение экспрессии генов этой группы (табл. 1).

Выявленные в этом исследовании ОНП промоторов потенциально способны влиять на средство ТВР/промотор в генах обеих групп и оказывать негативное воздействие на их регуляцию и функцию, что может приводить к формированию патологических состояний. Можно рекомендовать эти ОНП для дальнейших исследований в качестве кандидатных ОНП-маркеров.

Результаты сравнения достоверности влияния ОНП на средство ТВР/промотор в исследованных группах представлены в табл. 2. Как можно видеть, в группе генов ядра циркадного осциллятора доля ОНП-маркеров дефицитной экспрессии гена (снижения средства ТВР/промотор) значимо ниже 5 %-го порога ожидаемой по случайной причине ($\alpha < 10^{-4}$), тогда как доля ОНП-маркеров суперэкспрессии (увеличения средства ТВР/промотор) тех же

генов не отличается от ожидаемого по случайным причинам значения ($\alpha > 0,3$). При этом доли ОНП-маркеров дефицитной экспрессии и суперэкспрессии в группе генов ядра циркадного осциллятора достоверно различаются ($\alpha < 10^{-3}$). Одной из причин, объясняющих низкую частоту ОНП-маркеров дефицитной экспрессии в группе генов ядра циркадного осциллятора, может быть предположение о наличии отрицательного эволюционного отбора по данному показателю в связи с меньшей приспособленностью организмов с ОНП, уменьшающими уровень экспрессии генов циркадного осциллятора.

В группе генов регуляторного окружения ядра циркадного осциллятора доли ОНП-маркеров обоих типов изменения средства ТВР/промотор не отличаются от ожидаемого по случайной причине значения, а также не различаются между собой.

Уровень значимости различий количеств кандидатных ОНП-маркеров генов ядра циркадного осциллятора и генов его ближайшего окружения по точному критерию Фишера $\alpha(1,2) < 0,086$, что может рассматриваться как тенденция: количество ОНП-маркеров снижения средства ТВР/промотор генов I группы ниже количества ОНП-маркеров снижения средства ТВР/промотор II группы.

Необходимо отметить, что мы выбрали для сравнения кандидатные ОНП-маркеры, которые изменяют константу K_D с уровнем значимости $< 0,05$ (см. табл. 1). Выбор уровня значимости достаточно условный. Если принять в рассмотрение только ОНП-маркеры, которые меняют K_D с уровнем значимости $< 0,01$, то для этих более достоверных ОНП-маркеров получится измененная 2×2 таблица сопряженности со значениями: $n(1, 1) = 11$, $n(1, 2) = 1$; $n(2, 1) = 14$; $n(2, 2) = 13$ и уровнем значимости различий между I и II группами по точному критерию Фишера $\alpha(1,2) < 0,0028$. Это подкрепляет указанную тенденцию.

Для того чтобы проверить, является ли наблюдаемое в исследованной от начала транскрипта области $[-70, -20]$

снижение доли ОНП-маркеров, потенциально снижающих экспрессию, характеристической особенностью промоторов генов циркадного осциллятора, мы провели сравнение полученных результатов с результатами аналогичного исследования, проведенного нами ранее в группе генов, отличных по функциональной принадлежности от исследуемой группы. Эта группа из 31 гена была представлена в обзоре Ronomatenko с коллегами (2015) и сформирована на основе поиска в научных публикациях ОНП-маркеров в области, соответствующей сайту связывания ТВР в промоторах генов человека, ассоциированных с различными патологиями. Полный список генов этой группы можно найти в Доп. материалах 3. С помощью нашего Web-сервиса в этих генах были выявлены соседние с этими маркерами кандидатные ОНП-маркеры.

Полученная суммарная выборка содержала 203 ОНП, локализованные в промоторах 31 гена человека. Из них только 50 оказались способны потенциально воздействовать на сродство ТВР/промотор соответствующих генов (13 – увеличивали, 37 – понижали) (табл. 2). Как можно видеть, в этой группе генов, в отличие от рассмотренных выше, наблюдается другая картина: доля ОНП-маркеров суперэкспрессии также недостоверно превышала 5 %-й порог *a priori* ожидаемой их доли ($\alpha > 0,2$), тогда как доля ОНП-маркеров дефицитной экспрессии тех же генов оказалась достоверно высокой ($\alpha < 10^{-12}$). Данный результат в определенной степени соответствует таковому, полученным при сопоставлении информации из проектов «1 000 Genomes Project» и «ENCODE», свидетельствующим, что в целом по геному количество ОНП, повреждающих сайты связывания транскрипционных факторов, значительно выше, чем улучшающих его (1 000 Genomes Project Consortium et al., 2012). Кроме того, исследования Kasowski с коллегами (2010) свидетельствуют о том, что ОНП, попадающие в сайт связывания транскрипционного фактора NF-κB или Pol II, значимо чаще способствуют снижению, чем повышению связывания их с мутированным ДНК мотивом (при сравнении с референсным геномом) (Kasowski et al., 2010). То есть, возвращаясь к нашим результатам, можно отметить, что ожидаемым было бы преобладание в исследуемой нами области промоторов доли ОНП, уменьшающих сродство ТВР/промотор, как это показано в группе сравнения, в то время как в группах генов циркадного осциллятора наблюдается обратная картина.

Количество ОНП-маркеров увеличения и уменьшения сродства в I группе генов значимо отличается от такового в контрольной группе по точному критерию Фишера ($\alpha(1,3) < 10^{-4}$). Различия II группы генов от контрольной также оказались статистически значимыми ($\alpha(2,3) < 0,00021$).

Таким образом, полученные закономерности (уменьшение доли ОНП-маркеров снижения сродства ТВР/промотор) могут быть специфической характеристикой генов циркадного осциллятора, влияющей на робастность циркадного осциллятора при генетической вариативности анализируемой области промоторов.

Особенности распределения количества кандидатных ОНП-маркеров в группе ближайшего регуляторного окружения циркадного осциллятора могут быть объяснены большей функциональной гетерогенностью ее генов. В эту

группу входят гены, находящиеся под непосредственным контролем ядра циркадного осциллятора, имеющие с ним обратные связи и демонстрирующие ритмический характер экспрессии мРНК (например, *PPARα/γ*, *PER3*, *ID2* и др.), и гены, продукты которых участвуют в процессах, обеспечивающих деградацию компонент осциллятора, передачу к нему различных внешних сигналов (*FBXW7*, *FBXL3*, *SIRT1* и др.). По этому признаку данная группа занимает промежуточное положение между группами ядра циркадного осциллятора и сравнения.

Полученные предсказания могут играть важную роль для отбора кандидатных ОНП-маркеров различных патологий, связанных с нарушением генов циркадного ритма, для дальнейшей проверки их в экспериментальных исследованиях, а также при верификации математических моделей циркадного осциллятора.

Выявленные в данной работе особенности генов ЦО требуют дальнейшего анализа. В частности, полезным может оказаться проведение аналогичных исследований в специально сформированных группах генов, схожих и контрастных по функциональным характеристикам с генами циркадных часов. Кроме того, изучение структурных характеристик промоторов, таких как их нуклеотидный контекст, в частности GC-состав, наличие множественных стартов транскрипции и т. д., возможно, прольет свет на природу наблюдаемых особенностей.

Благодарности

Создание Web-сервиса, сбор и подготовка данных, интерпретация результатов были поддержаны грантом РФФИ 14-24-00123 для ДАР, НЛП, ОАП и ННП; анализ данных – грантом РФФИ 14-04-00485 для МПП.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Подколотная О.А. Молекулярно-генетические аспекты взаимодействия циркадных часов и метаболизма энергетических субстратов млекопитающих. *Генетика*. 2014;50(2):125-137.
- Подколотная О.А., Подколотная Н.Н., Подколотный Н.Л. Циркадные часы млекопитающих: геновая сеть и компьютерный анализ. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(4/2):928-938.
- Рассказов Д.А., Гунбин К.В., Пономаренко П.М., Вишневецкий О.В., Пономаренко М.П., Афонников Д.А. SNP_TATA_Comparator: Web-сервис для сравнения SNPs внутри промоторов генов, ассоциированных с заболеваниями человека, с использованием уравнения равновесного связывания комплекса ТВР/ТАТА. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/1):599-606.
- 1000 Genomes Project Consortium; Abecasis G.R., Auton A., Brooks L.D., DePristo M.A., Durbin R.M., Handsaker R.E., Kang H.M., Marth G.T., McVean G.A. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*. 2012;491:56-65. DOI 10.1038/nature11632
- Abba M.C., Sun H., Hawkins K.A., Drake J.A., Hu Y., Nunez M.I., Gaddis S., Shi T., Horvath S., Sahin A., Aldaz C.M. Breast cancer molecular signatures as determined by SAGE: correlation with lymph node status. *Mol. Cancer Res*. 2007;5(9):881-890.
- Brown S.A., Kowalska E., Dallmann R. (Re)inventing the circadian feedback loop. *Dev. Cell*. 2012;22(3):477-87. DOI 10.1016/j.devcel.2012.02.007
- Bryant C.D., Parker C.C., Zhou L., Olker C., Chandrasekaran R.Y., Wager T.T., Bolivar V.J., Loudon A.S., Vitaterna M.H., Turek F.W.,

- Palmer A.A. Csnk1e is a genetic regulator of sensitivity to psychostimulants and opioids. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37(4):1026-1035. DOI 10.1038/npp.2011.287
- Burgueno A.L., Gianotti T.F., Mansilla N.G., Pirola C.J., Sookoian S. Cardiovascular disease is associated with high-fat-diet-induced liver damage and up-regulation of the hepatic expression of hypoxia-inducible factor 1 α in a rat model. *Clin. Sci. (Lond)*. 2013;124(1):53-63. DOI 10.1042/CS20120151
- Cao Q., Gery S., Dashti A., Yin D., Zhou Y., Gu J., Koeffler H.P. A role for the clock gene per1 in prostate cancer. *Cancer Res*. 2009;69(19):7619-7625. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-08-4199
- Chen L., Yang G. PPARs integrate the mammalian clock and energy metabolism. *PPAR Res*. 2014;2014:653017. DOI 10.1155/2014/653017
- Climent J., Perez-Losada J., Quigley D.A., Kim I.J., Delrosario R., Jen K.Y., Bosch A., Lluch A., Mao J.H., Balmain A. Deletion of the PER3 gene on chromosome 1p36 in recurrent ER-positive breast cancer. *J. Clin. Oncol*. 2010;28(23):3770-3778. DOI 10.1200/JCO.2009.27.0215
- Coma S., Amin D.N., Shimizu A., Lasorella A., Iavarone A., Klagsbrun M. Id2 promotes tumor cell migration and invasion through transcriptional repression of semaphorin 3F. *Cancer Res*. 2010;70(9):3823-3832. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-09-3048
- Fang L., Yang Z., Zhou J., Tung J.Y., Hsiao C.D., Wang L., Deng Y., Wang P., Wang J., Lee M.H. Circadian clock gene CRY2 degradation is involved in chemoresistance of colorectal cancer. *Mol. Cancer Ther*. 2015;14(6):1476-1487. DOI 10.1158/1535-7163.MCT-15-0030
- Flajolet M., He G., Heiman M., Lin A., Nairn A.C., Greengard P. Regulation of Alzheimer's disease amyloid-beta formation by casein kinase I. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2007;104:4159-4164.
- Frankish A., Uszczyńska B., Ritchie G.R., Gonzalez J.M., Pervouchine D., Petryszak R., Mudge J., Fonseca N., Brazma A., Guigo R., Harrow J. Comparison of GENCODE and RefSeq gene annotation and the impact of reference geneset on variant effect prediction. *BMC Genomics*. 2015;16(Suppl.8):S2. DOI 10.1186/1471-2164-16-S8-S2
- Gao R., Ma Z., Hu Y., Chen J., Shetty S., Fu J. Sirt1 restrains lung inflammasome activation in a murine model of sepsis. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol*. 2015;308(8):L847-L853. DOI 10.1152/ajplung.00274.2014
- Gery S., Komatsu N., Baldjyan L., Yu A., Koo D., Koeffler H.P. The circadian gene per1 plays an important role in cell growth and DNA damage control in human cancer cells. *Mol. Cell*. 2006;22(3):375-382.
- Hamzaoui A., Maalmi H., Berraies A., Abid H., Ammar J., Hamzaoui K. Transcriptional characteristics of CD4 T cells in young asthmatic children: RORC and FOXP3 axis. *J. Inflamm. Res*. 2011a;4:139-146.
- Hamzaoui K., Borhani Haghighi A., Ghorbel I.B., Houman H. RORC and Foxp3 axis in cerebrospinal fluid of patients with neuro-Behçet's disease. *J. Neuroimmunol*. 2011b;233(1/2):249-253. DOI 10.1016/j.jneuroim.2011.01.012
- Hasan S., van der Veen D.R., Winsky-Sommerer R., Dijk D.J., Archer S.N. Altered sleep and behavioral activity phenotypes in PER3-deficient mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2011;301(6):R1821-R1830. DOI 10.1152/ajpregu.00260.2011
- Hirano A., Yumimoto K., Tsunematsu R., Matsumoto M., Oyama M., Kozuka-Hata H., Nakagawa T., Lanjakornsiripan D., Nakayama K.I., Fukada Y. FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through ubiquitination and stabilization of cryptochromes. *Cell*. 2013;152(5):1106-1118. DOI 10.1016/j.cell.2013.01.054
- Howroyd P., Swanson C., Dunn C., Cattley R.C., Corton J.C. Decreased longevity and enhancement of age-dependent lesions in mice lacking the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha). *Toxicol. Pathol*. 2004;32(5):591-599. DOI 10.1080/01926230490515283
- Jilg A., Lesny S., Peruzki N., Schwegler H., Selbach O., Dehghani F., Stehle J.H. Temporal dynamics of mouse hippocampal clock gene expression support memory processing. *Hippocampus*. 2010;20(3):377-388. DOI 10.1002/hipo.20637
- Kasowski M., Grubert F., Heffelfinger C., Hariharan M., Asabere A., Waszak S.M., Habegger L., Rozowsky J., Shi M., Urban A.E., Hong M.Y., Karczewski K.J., Huber W., Weissman S.M., Gerstein M.B., Korbel J.O., Snyder M. Variation in transcription factor binding among humans. *Science*. 2010;328(5975):232-235. DOI 10.1126/science.1183621
- Kettner N.M., Katchy C.A., Fu L. Circadian gene variants in cancer. *Ann. Med*. 2014;46(4):208-220. DOI 10.3109/07853890.2014.914808
- Kim J.K., Forger D.B. A mechanism for robust circadian timekeeping via stoichiometric balance. *Mol. Syst. Biol*. 2012;8:630. DOI 10.1038/msb.2012.62
- Ko C.H., Takahashi J.S. Molecular components of the mammalian circadian clock. *Hum. Mol. Genet*. 2006;15(Spec No 2):R271-277.
- Korge S., Grudziecki A., Kramer A. Highly efficient genome editing via CRISPR/Cas9 to create clock gene knockout cells. *J. Biol. Rhythms*. 2015;30(5):389-395. DOI 10.1177/0748730415597519
- Lin J.C., Lin C.Y., Tarn W.Y., Li F.Y. Elevated SRPK1 lessens apoptosis in breast cancer cells through RBM4-regulated splicing events. *RNA*. 2014b;20(10):1621-1631. DOI 10.1261/rna.045583.114
- Lin J.C., Tarn W.Y., Hsieh W.K. Emerging role for RNA binding motif protein 4 in the development of brown adipocytes. *Biochim. Biophys. Acta*. 2014a;1843(4):769-779. DOI 10.1016/j.bbamer.2013.12.018
- Luo Y., Wang F., Chen L.A., Chen X.W., Chen Z.J., Liu P.F., Li F.F., Li C.Y., Liang W. Deregulated expression of cry1 and cry2 in human gliomas. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2012;13(11):5725-5728.
- Mehraj V., Textoris J., Capo C., Raoult D., Leone M., Mege J.L. Overexpression of the Per2 gene in male patients with acute Q fever. *J. Infect. Dis*. 2012;206(11):1768-1770. DOI 10.1093/infdis/jis600
- Miyazaki K., Wakabayashi M., Hara Y., Ishida N. Tumor growth suppression in vivo by overexpression of the circadian component, PER2. *Genes Cells*. 2010;15(4):351-358. DOI 10.1111/j.1365-2443.2010.01384.x
- Mogno I., Vallania F., Mitra R., Cohen B. TATA is a modular component of synthetic promoters. *Genome Res*. 2010;20(10):1391-1397. DOI 10.1101/gr.106732.110
- Nencioni A., da Silva R.F., Fraga-Silva R.A., Steffens S., Fabre M., Bauer I., Caffà I., Magnone M., Sociali G., Quercioli A., Pelli G., Lenglet S., Galan K., Burger F., Vazquez Calvo S., Bertolotto M., Bruzzone S., Ballestrero A., Patrone F., Dallegri F., Santos R.A., Stergiopoulos N., Mach F., Vuilleumier N., Montecucco F. Nicotinamide phosphoribosyltransferase inhibition reduces intraplaque CXCL1 production and associated neutrophil infiltration in atherosclerotic mice. *Thromb. Haemost.* 2014;111(2):308-322. DOI 10.1160/TH13-07-0531
- Oishi K., Ohkura N., Amagai N., Ishida N. Involvement of circadian clock gene Clock in diabetes-induced circadian augmentation of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression in the mouse heart. *FEBS Lett*. 2005;579(17):3555-3559.
- Oshima T., Takenoshita S., Akaike M., Kunisaki C., Fujii S., Nozaki A., Numata K., Shiozawa M., Rino Y., Tanaka K., Masuda M., Imada T. Expression of circadian genes correlates with liver metastasis and outcomes in colorectal cancer. *Oncol. Rep*. 2011;25(5):1439-1446. DOI 10.3892/or.2011.1207
- Pereira D.S., van der Veen D.R., Gonçalves B.S., Tufik S., von Schantz M., Archer S.N., Pedrazzoli M. The effect of different photoperiods in circadian rhythms of per3 knockout mice. *Biomed. Res. Int*. 2014;2014:170795. DOI 10.1155/2014/170795
- Ponomarenko M., Rasskazov D., Arkova O., Ponomarenko P., Suslov V., Savinkova L., Kolchanov N. How to use SNP_TATA_Comparator to find a significant change in gene expression caused by the regulatory SNP of this gene's promoter via a change in affinity of the TATA-binding protein for this promoter. *Biomed. Res. Int*. 2015;2015:359835 (in press).
- Reppert M., Weaver D.R. Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annu. Rev. Physiol*. 2001;63:647-676.

- Rodriguez N., Yang J., Hasselblatt K., Liu S., Zhou Y., Rauh-Hain J.A., Ng S.K., Choi P.W., Fong W.P., Agar N.Y., Welch W.R., Berkowitz R.S., Ng S.W. Casein kinase I epsilon interacts with mitochondrial proteins for the growth and survival of human ovarian cancer cells. *EMBO Mol. Med.* 2012;4:952-963. DOI 10.1002/emmm.201101094
- Sahar S., Sassone-Corsi P. Regulation of metabolism: the circadian clock dictates the time. *Trends Endocrinol. Metab.* 2012;23(1):1-8. DOI 10.1016/j.tem.2011.10.005
- Sato F., Kawamura H., Wu Y., Sato H., Jin D., Bhawal U.K., Kawamoto T., Fujimoto K., Noshiro M., Seino H., Morohashi S., Kato Y., Kijima H. The basic helix-loop-helix transcription factor DEC2 inhibits TGF- β -induced tumor progression in human pancreatic cancer BxPC-3 cells. *Int. J. Mol. Med.* 2012;30(3):495-501. DOI 10.3892/ijmm.2012.1037
- Savinkova L.K., Drachkova I.A., Arshinova T.V., Ponomarenko P.M., Ponomarenko M.P., Kolchanov N.A. An experimental verification of the predicted effects of promoter TATA-box polymorphisms associated with human diseases on interactions between the TATA boxes and TATA-binding protein. *PLoS One.* 2013; 8(2):e54626. DOI 10.1371/journal.pone.0054626
- Sawicka-Gutaj N., Waligorska-Stachura J., Andrusiewicz M., Biczysko M., Sowinski J., Skrobisz J., Ruchala M. Nicotinamide phosphorybosyltransferase overexpression in thyroid malignancies and its correlation with tumor stage and with survivin/survivin DEX3 expression. *Tumour Biol.* 2015;36(10):7859-7863. DOI 10.1007/s13277-015-3506-z
- Shi Y., Cao J., Gao J., Zheng L., Goodwin A., An C.H., Patel A., Lee J.S., Duncan S.R., Kaminski N., Pandit K.V., Rosas I.O., Choi A.M., Morse D. Retinoic acid-related orphan receptor- α is induced in the setting of DNA damage and promotes pulmonary emphysema. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012;186(5):412-419. DOI 10.1164/rccm.201111-2023OC
- Toyoshima M., Howie H.L., Imakura M., Walsh R.M., Annis J.E., Chang A.N., Frazier J., Chau B.N., Loboda A., Linsley P.S., Cleary M.A., Park J.R., Grandori C. Functional genomics identifies therapeutic targets for MYC-driven cancer. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012;109(24):9545-9550. DOI 10.1073/pnas.1121119109
- Wang Q., Maillard M., Schibler U., Burnier M., Gachon F. Cardiac hypertrophy, low blood pressure, and low aldosterone levels in mice devoid of the three circadian PAR bZip transcription factors DBP, HLF, and TEF. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2010; 299(4):R1013-R1019. DOI 10.1152/ajpregu.00241.2010
- Wang T., Yang P., Zhan Y., Xia L., Hua Z., Zhang J. Deletion of circadian gene *Per1* alleviates acute ethanol-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicology.* 2013;314(2/3):193-201. DOI 10.1016/j.tox.2013.09.009
- Watanabe S., Ageta-Ishihara N., Nagatsu S., Takao K., Komine O., Endo F., Miyakawa T., Misawa H., Takahashi R., Kinoshita M., Yamanaka K. SIRT1 overexpression ameliorates a mouse model of SOD1-linked amyotrophic lateral sclerosis via HSF1/HSP70i chaperone system. *Mol. Brain.* 2014;7:62. DOI 10.1186/s13041-014-0062-1
- Wilmet J.P., Tastet C., Desruelles E., Ziental-Gelus N., Blanckaert V., Hondermarck H., Le Bourhis X. Proteome changes induced by overexpression of the p75 neurotrophin receptor (p75NTR) in breast cancer cells. *Int. J. Dev. Biol.* 2011;55(7-9):801-809. DOI 10.1387/ijdb.113345jw
- Wong V.C., Ko J.M., Qi R.Z., Li P.J., Wang L.D., Li J.L., Chan Y.P., Chan K.W., Stanbridge E.J., Lung M.L. Abrogated expression of DEC1 during oesophageal squamous cell carcinoma progression is age- and family history-related and significantly associated with lymph node metastasis. *Br. J. Cancer.* 2011;104(5):841-849. DOI 10.1038/bjc.2011.25
- Yamasaki N., Miyazaki K., Nagamachi A., Koller R., Oda H., Miyazaki M., Sasaki T., Honda Z.I., Wolff L., Inaba T., Honda H. Identification of Zfp521/ZNF521 as a cooperative gene for E2A-HLF to develop acute B-lineage leukemia. *Oncogene.* 2010;29(13):1963-1975. DOI 10.1038/onc.2009.475
- Yu S., Matsusue K., Kashireddy P., Cao W.Q., Yeldandi V., Yeldandi A.V., Rao M.S., Gonzalez F.J., Reddy J.K. Adipocyte-specific gene expression and adipogenic steatosis in the mouse liver due to peroxisome proliferator-activated receptor gamma1 (PPARgamma1) overexpression. *J. Biol. Chem.* 2003;278(1):498-505. DOI 10.1074/jbc.M210062200
- Yumimoto K., Akiyoshi S., Ueo H., Sagara Y., Onoyama I., Ueo H., Ohno S., Mori M., Mimori K., Nakayama K.I. F-box protein FBXW7 inhibits cancer metastasis in a non-cell-autonomous manner. *J. Clin. Invest.* 2015;125(2):621-635. DOI 10.1172/JCI178782
- Zerbino D.R., Wilder S.P., Johnson N., Juettemann T., Flicek P.R. The Ensembl regulatory build. *Genome Biol.* 2015;16:56. DOI 10.1186/s13059-015-0621-5
- Zhao H., Zeng Z.L., Yang J., Jin Y., Qiu M.Z., Hu X.Y., Han J., Liu K.Y., Liao J.W., Xu R.H., Zou Q.F. Prognostic relevance of Period1 (Per1) and Period2 (Per2) expression in human gastric cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2014;7(2):619-630.