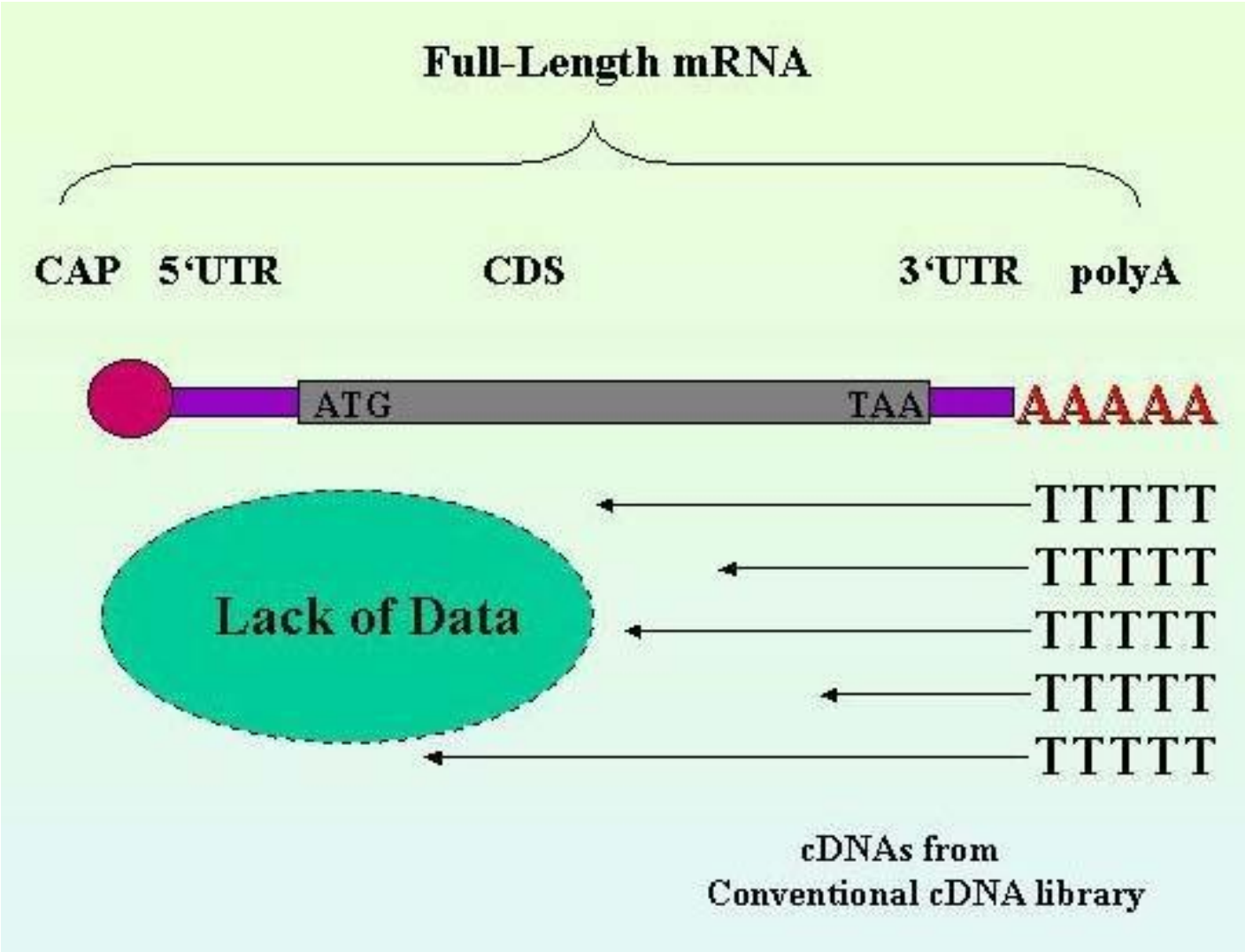
АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ СТАРТЫ ТРАНСКРИПЦИИ И ИХ СВЯЗЬ С CpG-ОСТРОВАМИ

Охота за альтернативными промоторами

- Что используют? Методы клонирования кДНК только 5’-кэп-содержащих мРНК.
- Что ищут? Полноразмерные кДНК


Full-Length mRNA
CAP
5'UTR
CDS
3'UTR
polyA
ATG
TAA
AAAAA
TTTTT
TTTTT
TTTTT
TTTTT
TTTTT
Lack of Data
cDNAs from
Conventional cDNA library

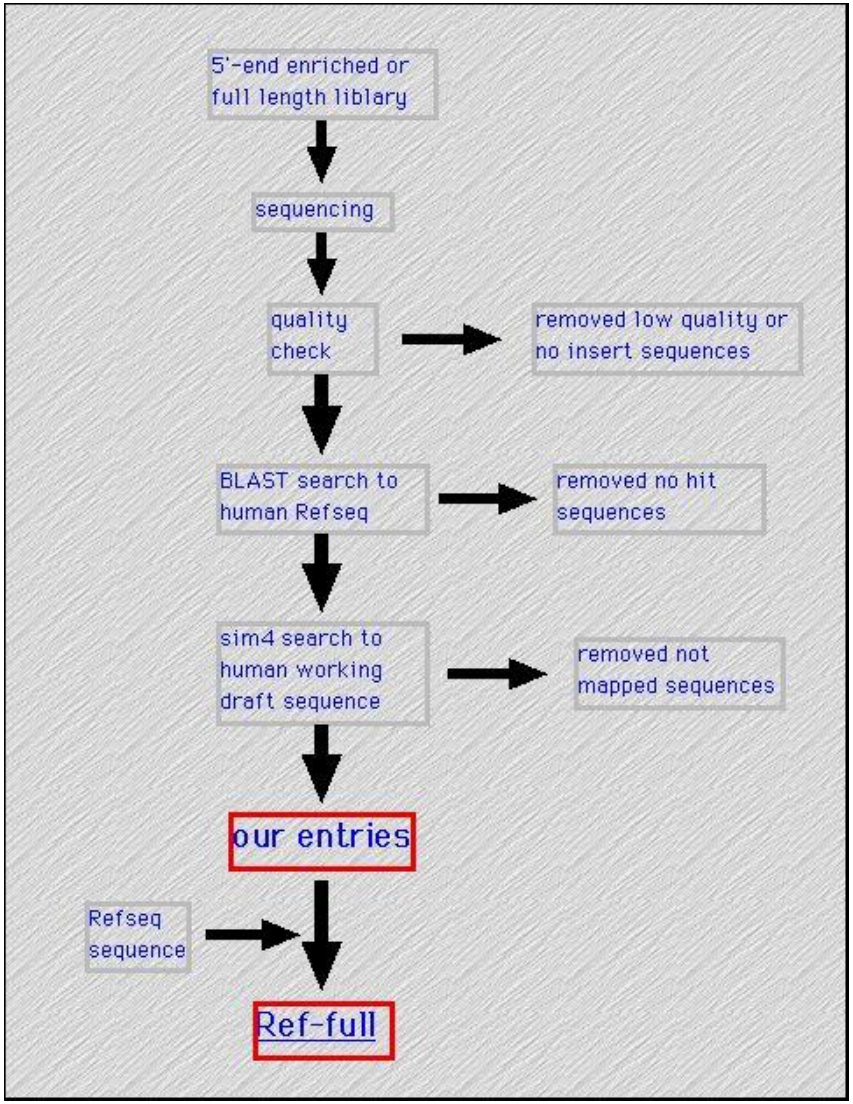
БАЗЫ ДАННЫХ

- RIKEN Mouse Encyclopedia Index (mouse full-length cDNA collection, 1,126,212 clones)
- HUNT (2001, около 9000 кДНК человека)
- NEDO human cDNA project (~1.4 млн клонов)
- …
- **DBTSS: База сайтов стартов транскрипции**

DBTSS

	#covered locus	*#promoter*	*#total TSSs*	*#allocated clones*
human	15,262	30,964	425,117	1,359,000
mouse	14,162	19,023	149,876	364,487
zebrafish	3,061	3,382	15,198	32,263
malaria	1,527	N.A.	6,908	10,236
schyzon	3,635	N.A.	14,029	22,923

DBTSS: анализ данных



Учитывают только >95% гомологии с RefSeq

Оказалось, что более 50% RefSeq можно «удлинить» на 150 н.п. и более

«Вероятные альтернативные старты» Должны отличаться не менее чем на 500 н.п.

	human	*mouse*
Total cDNAs	1,780,295	580,209
Mapped cDNAs	1,548,357	457,007
Possible truncated cDNAs	181,237	28,081
RefSeq hit cDNAs	1,359,000	364,487
***Covered RefSeq**	14,628	13,704
Promoters	30,964	19,023

Какая доля генов содержит альтернативные старты (PAPs)?

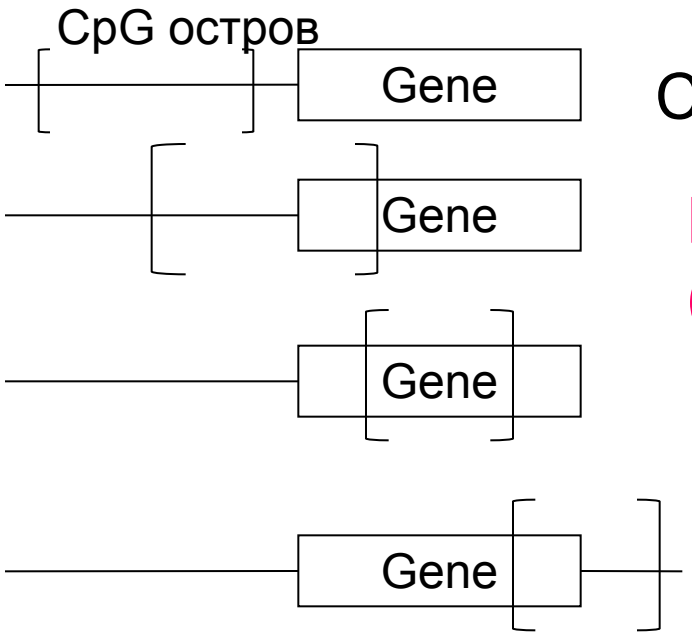
#PAPs	*#Locus*	*#included TSS positions*
1(PAP-less)	6954 (48%)	70175
2	3724 (26%)	67846
3	1821 (12%)	44455
4	1003 (6.9%)	32582
5	490 (3.3%)	19962
6	294 (2.0%)	13937
7	147 (1.0%)	7948
8	85 (0.6%)	4912
9	42 (0.3%)	2167
10	25 (0.2%)	1650
>10	43 (0.3%)	4140
total	14628 (100%)	269774

Альтернатива есть. И что?

- Альтернативные старты транскрипции (PAPs) найдены для 8308 генов человека и у 4276 мышиных генов.
- Для ~1500 генов человека с PAP изоформы отличаются только 5’-UTR
- Функция?
- Для 523 ортологов человек мышь показана высокая консервативность PAPs.

CpG-острова: «маркер» старта транскрипции?

Возможное расположение CpG островов, связанных с генами



CpG в промоторной зоне

Перекрытие с 5’ концом (~70% случаев)

CpG внутри гена

Перекрытие с 3’ концом

Какими бывают CpG острова

- **Определение Gardiner-Garden & Frommer(1987) (это определение используется в нашей работе)**
  - **Длина острова больше 200 н**
  - **Состав G+C по меньшей мере > 50%**
  - **Отношение наблюдаемых CpG к ожидаемым CpG : >= 0.6**

- Определение Takai & Jones
  - Длина острова больше 200 н
  - G+C content: > 55%
  - CpG наблюдаемое /CpG ожидаемое >= 0.65
  - При этих параметрах выявленные CpG острова по большей частки ассоциированы с генами, и не выявляются в большинстве Alu повторов

- В человеческом геноме находятся примерно 29000 таких участков

<u>Гены, не имеющие PAPs:</u>
7041 генов человека и 9887 мышиных генов
<u>Гены, имеющие PAPs:</u>
8308 генов человека и у 4276 мышиных генов

Нет разницы в частоте перекрытия (+-100 н.п.) CpG-островов и стартов транскрипции (ТС) на ген между генами с PAPs и без них (~58% - человек, 55% - мышь)

PAPs-гены:

~30% - нет перекрытия CpG-острова с ТС

~5% - CpG-остров при каждом ТС

~60% - CpG-остров только при одном ТС

При этом >50% генов с PAPs содержат два альтернативных ТС

Переключение тканеспецифики?

Для ~200 генов с PAPs с известными экспериментальными данными по экспрессии: В 67% случаев изоформа с CpG, перекрывающим ТС – house-keeping или widely expressed

Гены, содержащие CpG-острова, перекрывающие каждый из PAPs

- **Выделена группа таких генов (источники: DBTSS, known genes, NEDO human cDNA project).**
- **Предварительные данные: из 79 импринтированных генов для 48 показаны PAPs, из них для 37 CpG-острова перекрывают каждый TC**