

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

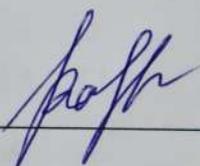
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.04.01 – биология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ
ЭЛЕМЕНТОВ СЕРДЦА И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
В ДИАГНОСТИКЕ

Работа завершена:

«05» 06 2019 г.



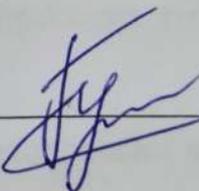
(К. А. Зарипова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

(доцент, к.б.н., PhD)

«05» 06 2019 г.



(О. А. Гусев)

Научный руководитель

(доцент, к.б.н.)

«05» 06 2019 г.

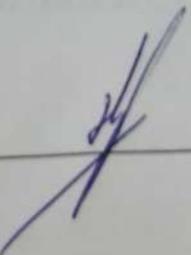


(А. Р. Каюмов)

Зав. кафедрой

д.б.н., профессор

«05» 06 2019 г.



(В. М. Чернов)

Казань – 2019

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|------|
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ | стр. |
| ВВЕДЕНИЕ | 3 |
| 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ | 4 |
| 1.1 Проект FANTOM | 6 |
| 1.1.1 FANTOM1, FANTOM2 | 6 |
| 1.1.2 FANTOM3, 4 и CAGE | 6 |
| 1.1.3 FANTOM5 | 7 |
| 1.2 Результаты предыдущих анализов некодирующих участков сердца (RNA-seq, DNase-seq, Hi-C, ChIP-seq, GWAS, CAGE) | 8 |
| 1.3 Половые и возрастные различия в геноме и транскриптоме сердца | 10 |
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ | 18 |
| 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ | 21 |
| 2.1 Объект исследования | 21 |
| 2.2 Биоинформатическая обработка чтений, полученных на платформе Illumina | 21 |
| 2.3 Нормализация, анализ экспрессии и свойств промоторных областей | 24 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ | 25 |
| ВЫВОДЫ | 40 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ | 41 |

ВВЕДЕНИЕ

Сердце позвоночных развивается в результате сложного процесса, который включает взаимодействие между несколькими факторами на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях. Сердечная мышца или миокард составляют большую часть сердечной ткани и в основном отвечают за ее сократительную функцию. Клетки сердечной мышцы или кардиомиоциты (КМ) дифференцируют в начале развития из пула мезодермальных предшественников, расположенных в передней части мезодермы эмбриональной латеральной пластинки. Каждый из процессов морфогенеза сердца управляется широким спектром регуляторных белков, включая транскрипционные факторы (TF - transcription factor) и сигнальные белки. В дополнение к этому эпигенетические факторы, такие как модификации гистонов и ДНК, ремоделирование хроматина, а также проксимальные и дистальные энхансеры транскрипции, способствуют регуляции развития сердца.

Сердечная недостаточность - главная причина для трансплантации сердца [Cupel *et al.*, 2015], врожденный порок сердца (ВПС) встречается почти у 1% новорожденных. Современные знания все еще недостаточны для диагностики и лечения большинства сердечных заболеваний [Vecoli *et al.*, 2014]. Одной из основных причин этого является отсутствие всестороннего знания факторов, участвующих в морфогенезе сердца, и характера их взаимосвязи. Во время ремоделирования тканей после инфаркта миокарда, вызванного ишемией, большая часть потерянных КМ заменяется богатой коллагеном рубцовой тканью, которая стабилизирует область раны, но одновременно ослабляет сердечный выброс из-за недостаточной сократимости [Kukichi, Poss, 2012]. Ограниченная способность человеческого сердца активировать процессы эндогенной регенерации является основной причиной смертности и заболеваемости во

всем мире, что делает сердечную недостаточность серьезной проблемой общественного здравоохранения [Benjamin *et al.*, 2018; Timmis *et al.*, 2018].

Настоящий проект направлен на анализ транскрипционной активности регуляторных элементов в сердце человека. Впервые проведен анализ CAGE предсердий и желудочков. Идентифицированы тысячи новых промоторов для известных генов, а также вероятно еще неизвестных некодирующих РНК. Идентифицированы тысячи новых энхансеров. Исследование проводилось на донорских сердцах разных полов - мы увидели, что CAGE анализ обладает сильным потенциалом для диагностических и межгендерных исследований.

Целью работы была идентификация тканеспецифичных регуляторных элементов сердца человека и определение перспективности использования их в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний.

В связи с поставленной целью решались следующие **задачи**:

1. Анализ дифференциальной экспрессии образцов донорских сердец.
2. Определение промоторных областей генов в сердечных клетках.
3. Определение энхансеров.
4. Аннотация активности транскрипта на различных уровнях: промоторном, энхансерном, генном.
5. Определение наиболее встречаемых однонуклеотидных полиморфизмов в тканях сердца.