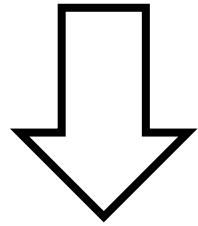


# Реконструкция и анализ генных сетей регуляции ответа на световой стресс у *Arabidopsis thaliana*.

Работу выполнила: Левина Алина Баратовна  
Руководитель: к.б.н., н.с. А. В. Дорошков  
Институт Цитологии и Генетики СО РАН

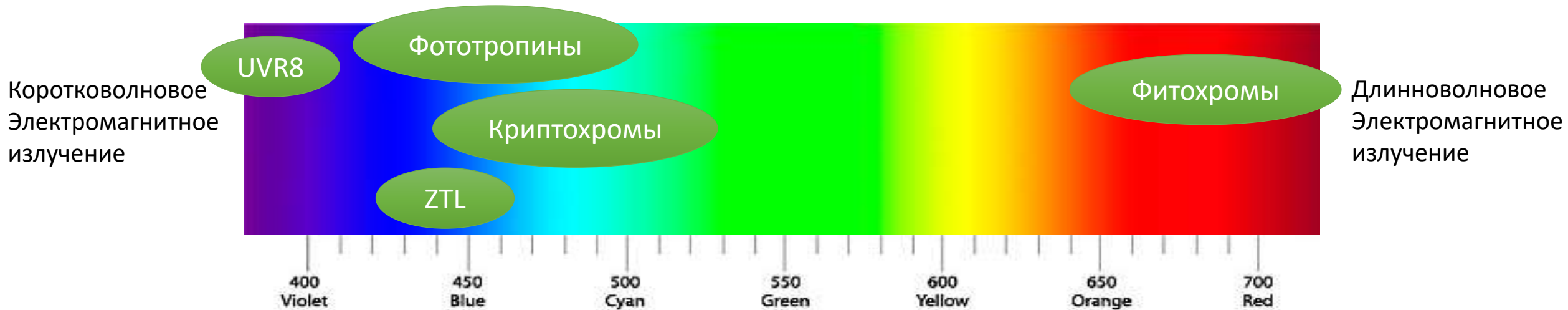
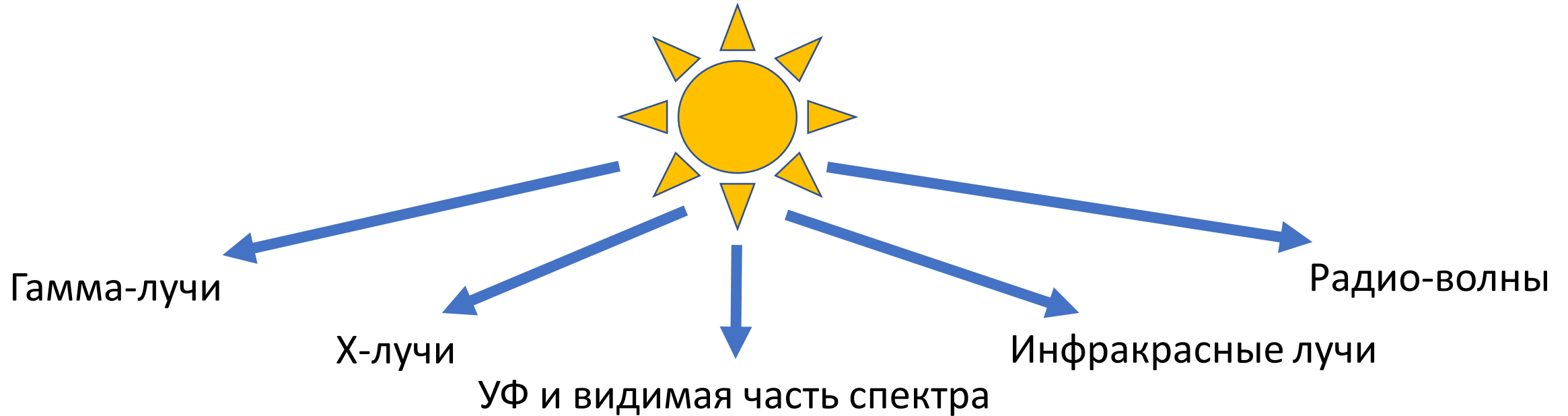
# Зачем изучать стрессовый ответ растений?

- 🔍 Увеличение необходимого уровня продовольствия.
- 🔍 Истощение пахотных земель.
- 🔍 Общее изменение климата.


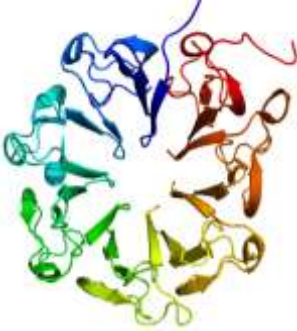

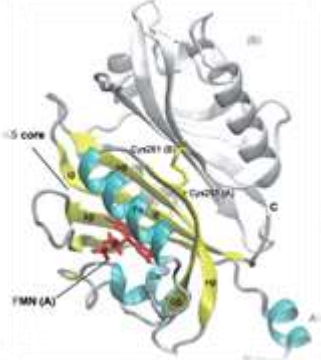



Потребность в более продуктивных и устойчивых к стрессам растениях.

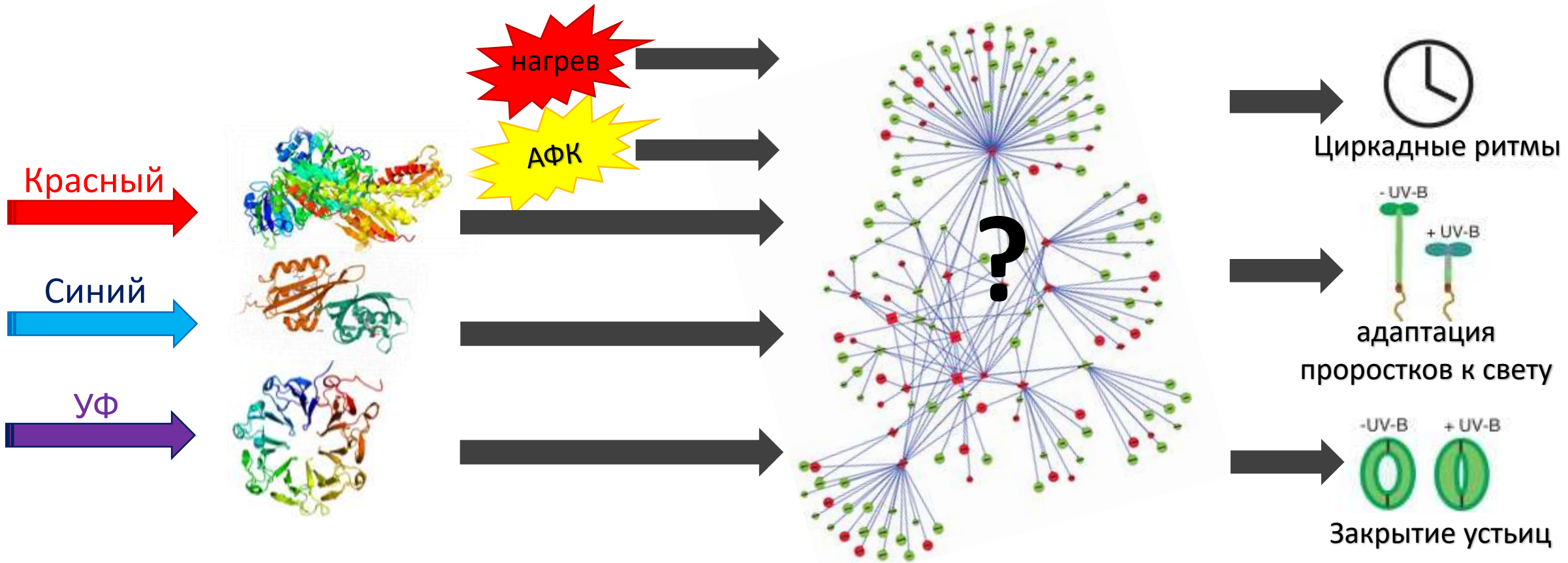
# Свет как часть электромагнитного спектра



# Основные типы фоторецепторов растений

Тип регулятора	Криптохромы	UVR8	Zeitlupe family members	Фототропины	Фитохромы
<b>Длина волны</b>	Синий и УФ-А свет (320–500 нм)	УФ-В (290–320 нм)	Синий и УФ-А свет (320–500 нм)	Синий свет ( $\lambda \sim 390\text{--}500$ нм)	Красный/дальний красный ( $\lambda \sim 660\text{ нм}$ )/( $\lambda \sim 730$ нм)
<b>Функция</b>	Регулируют деэтиоляцию и фотопериодический контроль цветения, циркадные часы.	Участвуют в контроле процессов роста листьев и морфогенеза в ответ на УФ-В.	Участвуют в регуляции циркадных ритмов и фотопериодического цветения.	Регулируют всхожесть семян, опосредуют реакции фототропизма у высших растений.	Участвуют в мониторинге продолжительности светового дня или фотопериода
<b>3D-структура</b>					

# Схема ответа на световые воздействия



Световой  
стимул

Рецепторы

Передача  
сигнала

Каскадное изменение  
экспрессии генов

Морфологические  
и физиологические  
эффекты

**Цель:** Реконструировать генную сеть регуляции ответа на световой стресс у *Arabidopsis thaliana* и проанализировать эволюцию ее узлов.

**Задачи:**

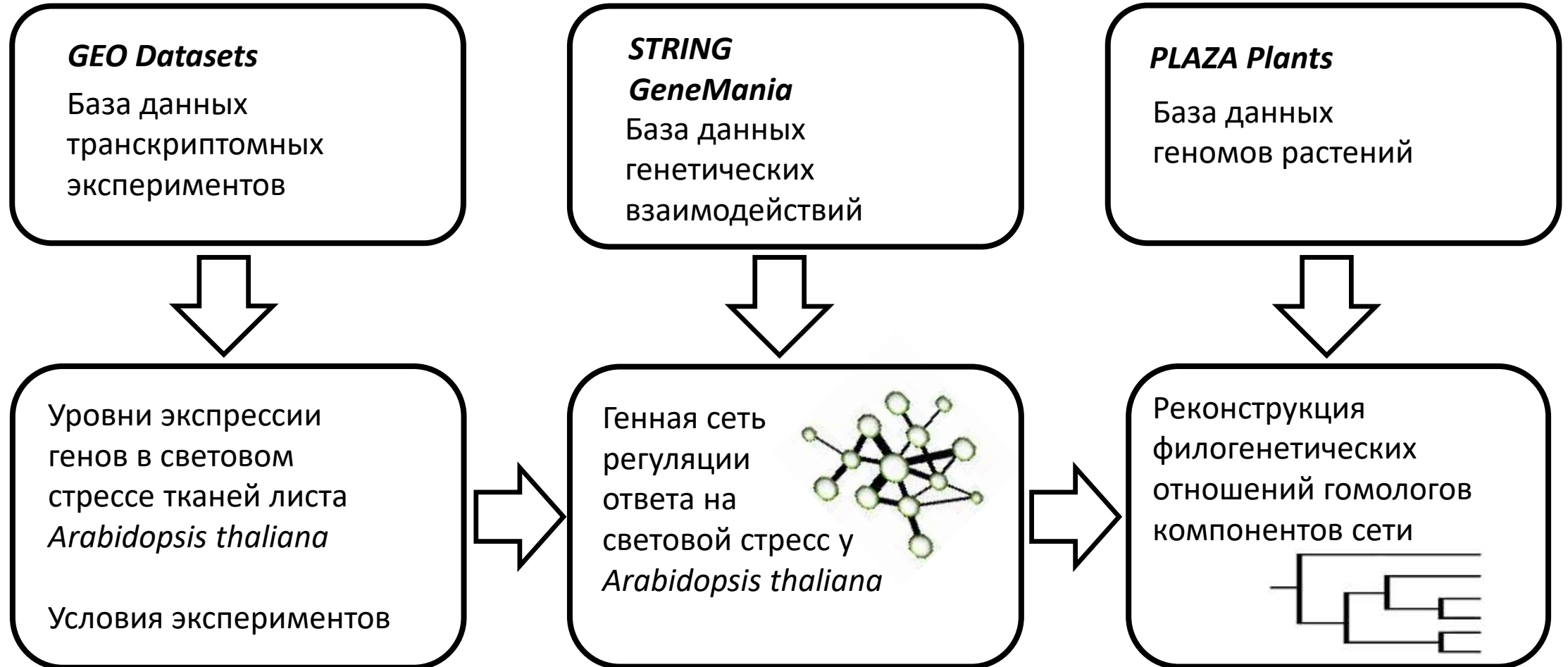
1) Провести мета-анализ транскриптомных данных, создать ранжированный список генов, демонстрирующих дифференциальную экспрессию в ответ на повышенную освещенность;

2) Реконструировать генную сеть ответа на повышенную освещенность, выделить и провести функциональную аннотацию кластеров и высокосвязных узлов;

3) Провести анализ характеристик узлов, оценить распределение направления изменения экспрессии генов и филостратиграфического индекса возраста (PAI) по кластерам сети;

4) Провести анализ эволюции фоторецепторов, сравнить состав фоторецепторов у представителей двудольных и однодольных растений

# Используемые базы данных



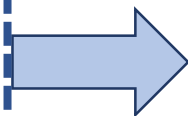
# Схема работы



GEO datasets

GSE111062  
GSE117296  
GSE117298  
GSE134391  
GSE132626

*Arabidopsis thaliana*  
«High light»



GEO идентификатор	Условия стресса	Генотип	Ткань	Число реплик
GSE111062	Повышенная освещенность (1200 $\mu\text{моль м}^2\cdot\text{с}^{-1}$ ) (0,5- 72 часа)	Col-0 (wild type)	7-ми дневное растение	24
GSE117296	Повышенная освещенность (2000 $\mu\text{моль м}^2\cdot\text{с}^{-1}$ ) (0, 2, 4, 8 минут)	Col-0 (wild type, rbohD mutant)	Листья 4-5 недельного растения	48
GSE117298	Повышенная освещенность 2000 $\mu\text{моль м}^2\cdot\text{с}^{-1}$ (0, 2, 4, 8 минут)	Col-0 (wild type)	Листья 4-5 недельного растения	24
GSE134391	Повышенная освещенность 600 $\mu\text{моль м}^2\cdot\text{с}^{-1}$ 7 часов	Col-0	Листья 30 дневного растения	6
GSE132626	Повышенная освещенность 120 $\mu\text{моль м}^2\cdot\text{с}^{-1}$ , 500 $\mu\text{моль м}^2\cdot\text{с}^{-1}$ (15-24 часов)	Col-0, WS	Полностью развернутый лист	36

1st method

2nd method

+ 151 GSE

Водоросли	Micromonas commoda Chlamydomonas reinhardtii
Мох	Physcomitrella patens
Двудольные	Amborella trichopoda Solanum lycopersicum Populus trichocarpa Arabidopsis thaliana Medicago truncatula
Однодольные	Zea mays Oryza sativa subsp. japonica

Пред  
компо  
соста  
цвет  
ра

# Подсчет весов генов

**1-й метод: Преимущественный отбор ДЭГ' по величине их изменений в отдельных экспериментах:**

$$\text{Вес}_I(\text{ген}_i) = \sum | \log_2 \Delta \text{экспрессии} | * \text{ранг}$$

ранг = 4, если  $P. \text{adj.} < 0.01$ ;

ранг = 2, если  $0.01 < P. \text{adj.} < 0.05$ ;

ранг = 1, если  $0.05 < P. \text{adj.} < 0.25$

**2-й метод: Преимущественный отбор ДЭГ' по частоте их встречаемости в разных экспериментах:**

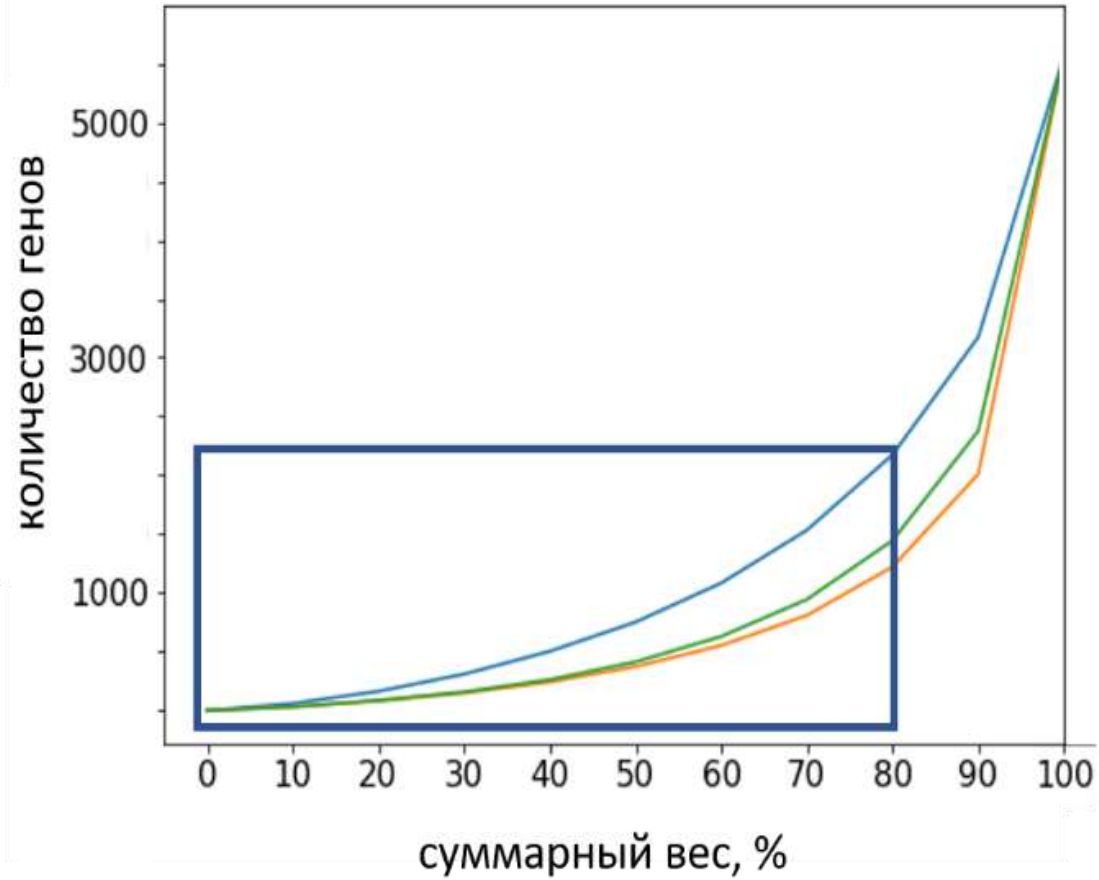
$\text{Вес}_{II}(\text{ген}_i) = N * \sum | \log_2 \Delta \text{экспрессии} | * \text{ранг}$ , где N – количество случаев, когда ген детектировался как дифференциальный.

**3-й метод: Преимущественный отбор ДЭГ' по комбинированному р-значению Фишера во всех экспериментах и их суммарному модулю изменения экспрессии в экспериментах:**

$$\text{Вес}_{III}(\text{ген}_i) = | \log_{10}(p_{\text{Fisher}}) | * \sum | \log_2 \Delta \text{экспрессии} |$$

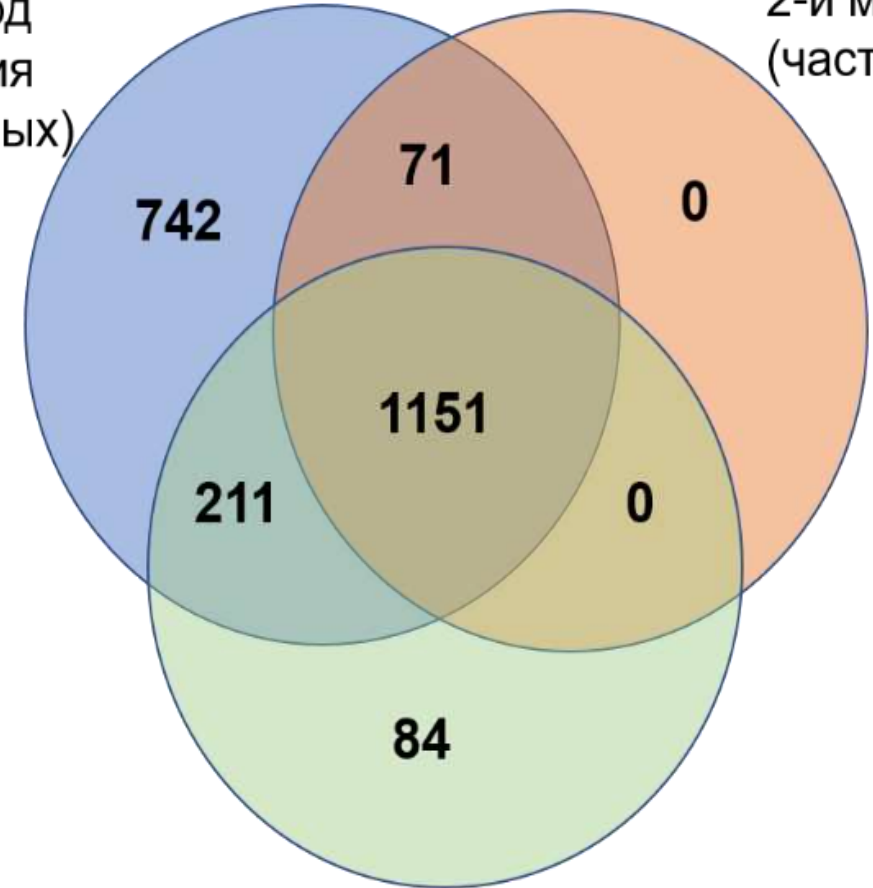
‘ДЭГ – дифференциально экспрессирующиеся гены

# Выбор наиболее значимых генов ответа на световой стимул



1-й метод  
(детекция  
одиночных)

2-й метод  
(частотный)



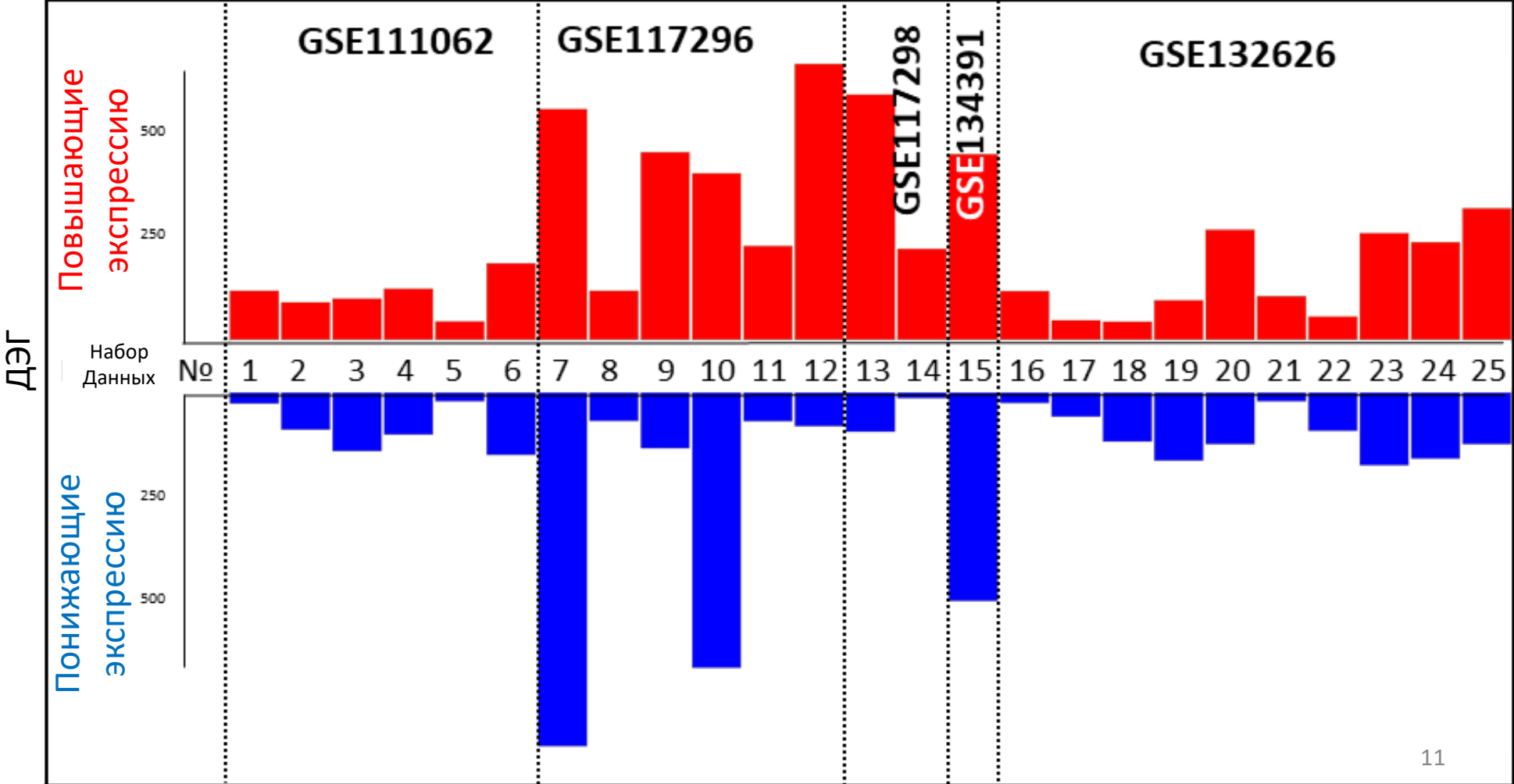
3-й метод  
(комбинированная вероятность)

# Число ДЭГ в зависимости от экспериментальных условий

Интенсивность  
светового  
воздействия

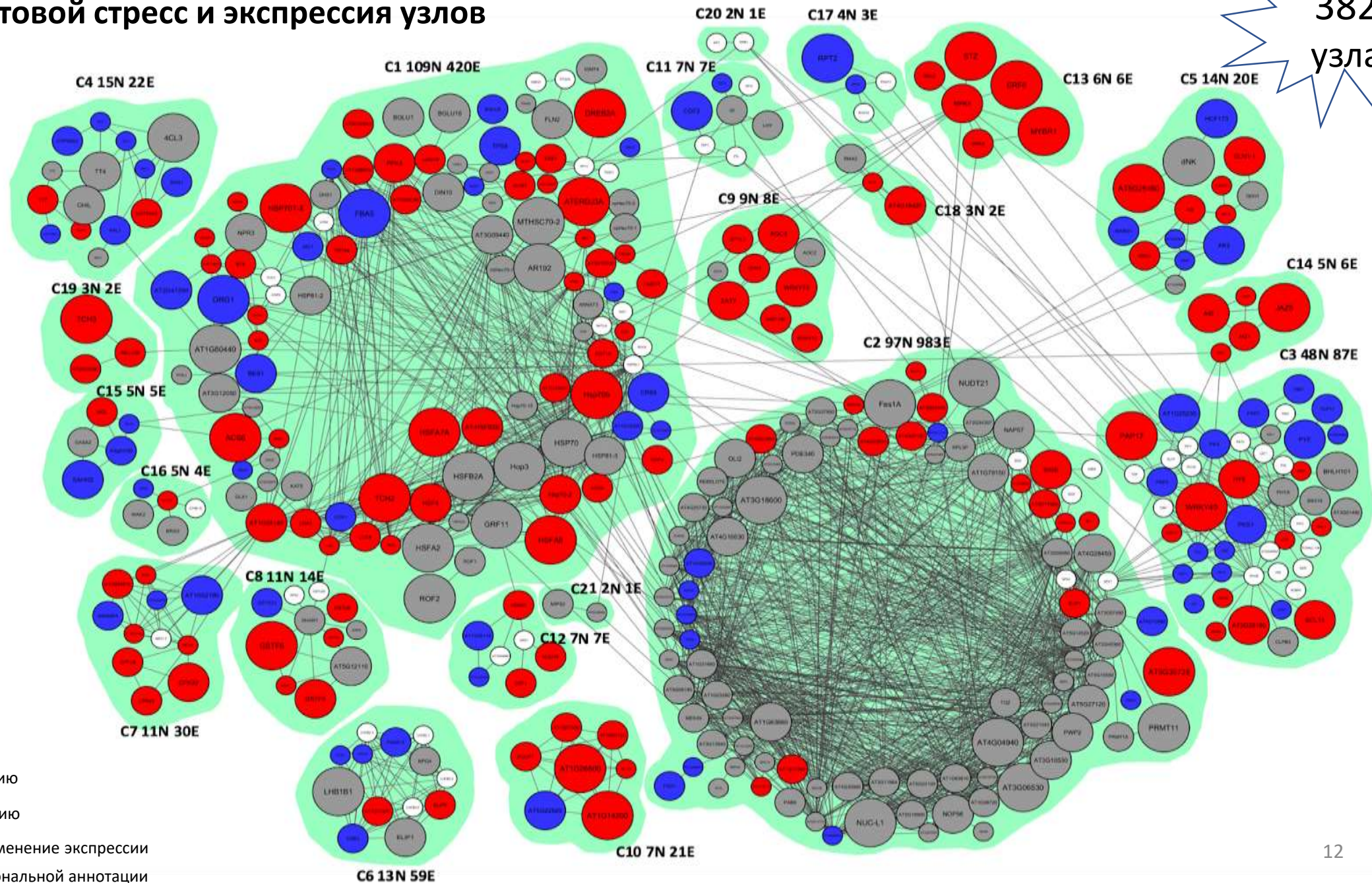


Набор Данных №	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
PPFD, ммоль/м2/с	1200						2000								600	120-500									
Продолжительность	30 мин	6 ч	12 ч	24 ч	48 ч	72 ч	2 мин	4 мин	8 мин	2 мин	4 мин	8 мин	8 мин	8 мин	7 ч	15 мин	30 мин	1 ч	2 ч	4 ч	15 мин	30 мин	1 ч	2 ч	4 ч

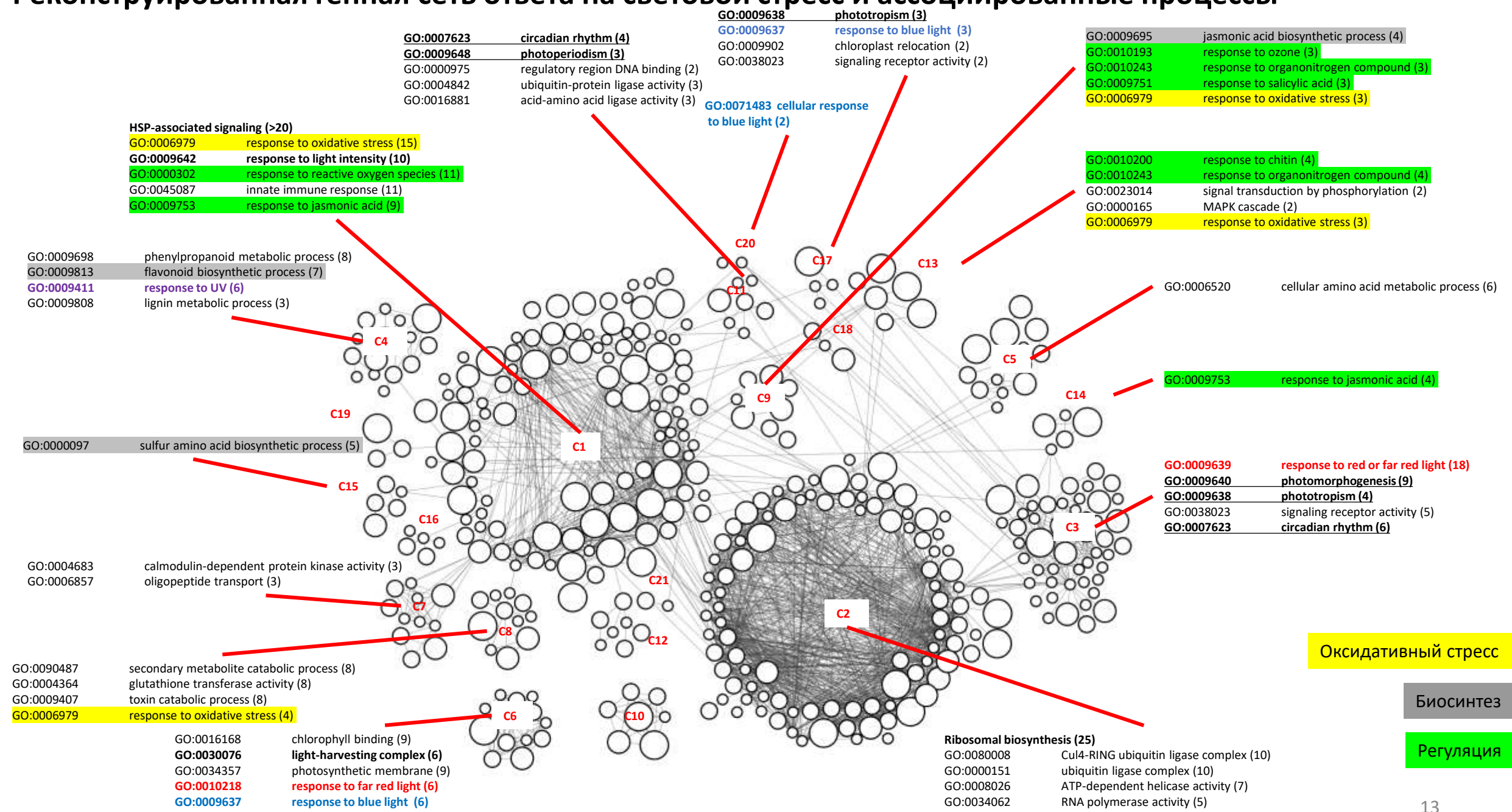


# Реконструированная генная сеть ответа на световой стресс и экспрессия узлов

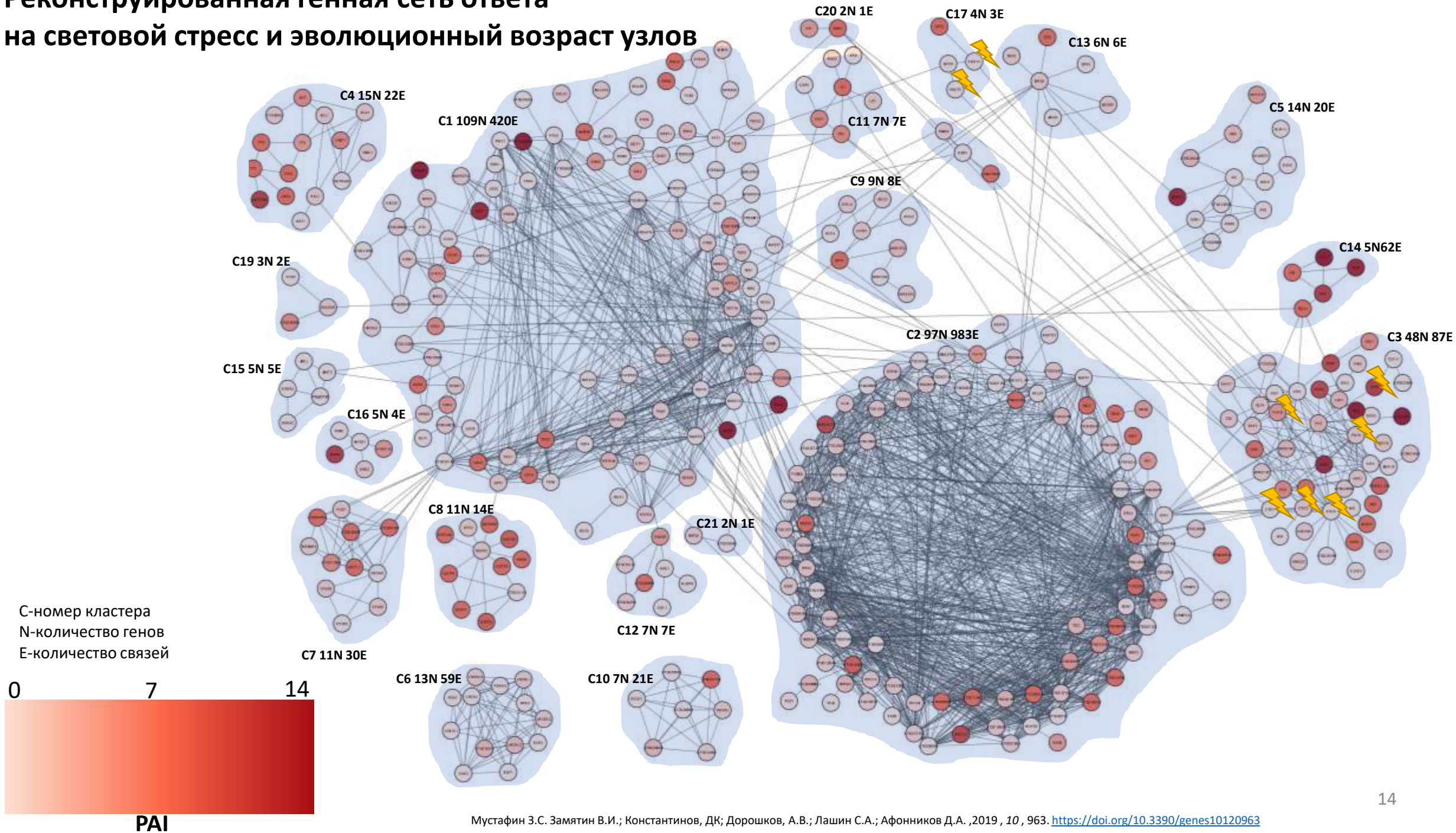
382  
узла



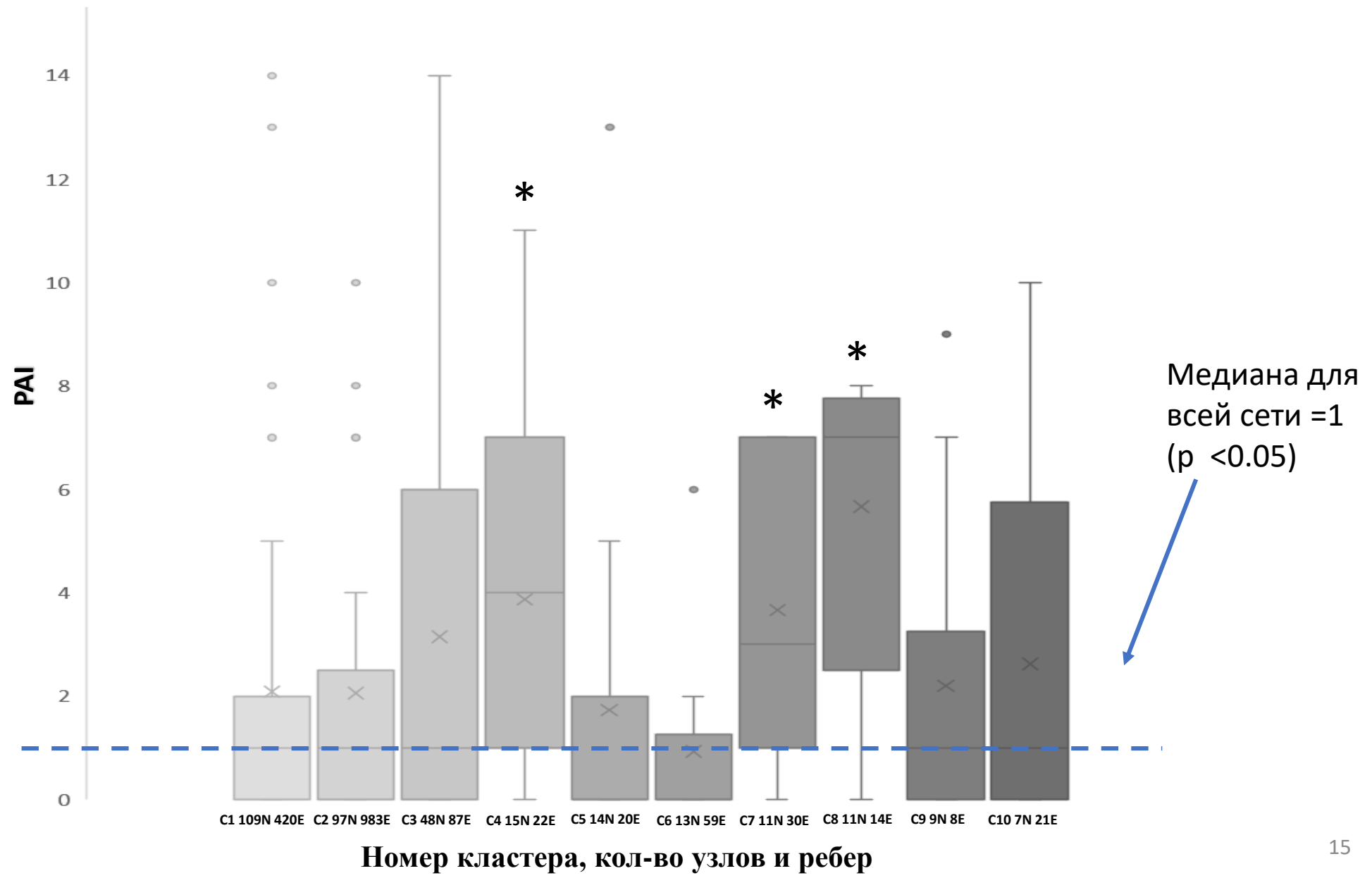
# Реконструированная генная сеть ответа на световой стресс и ассоциированные процессы



# Реконструированная генная сеть ответа на световой стресс и эволюционный возраст узлов

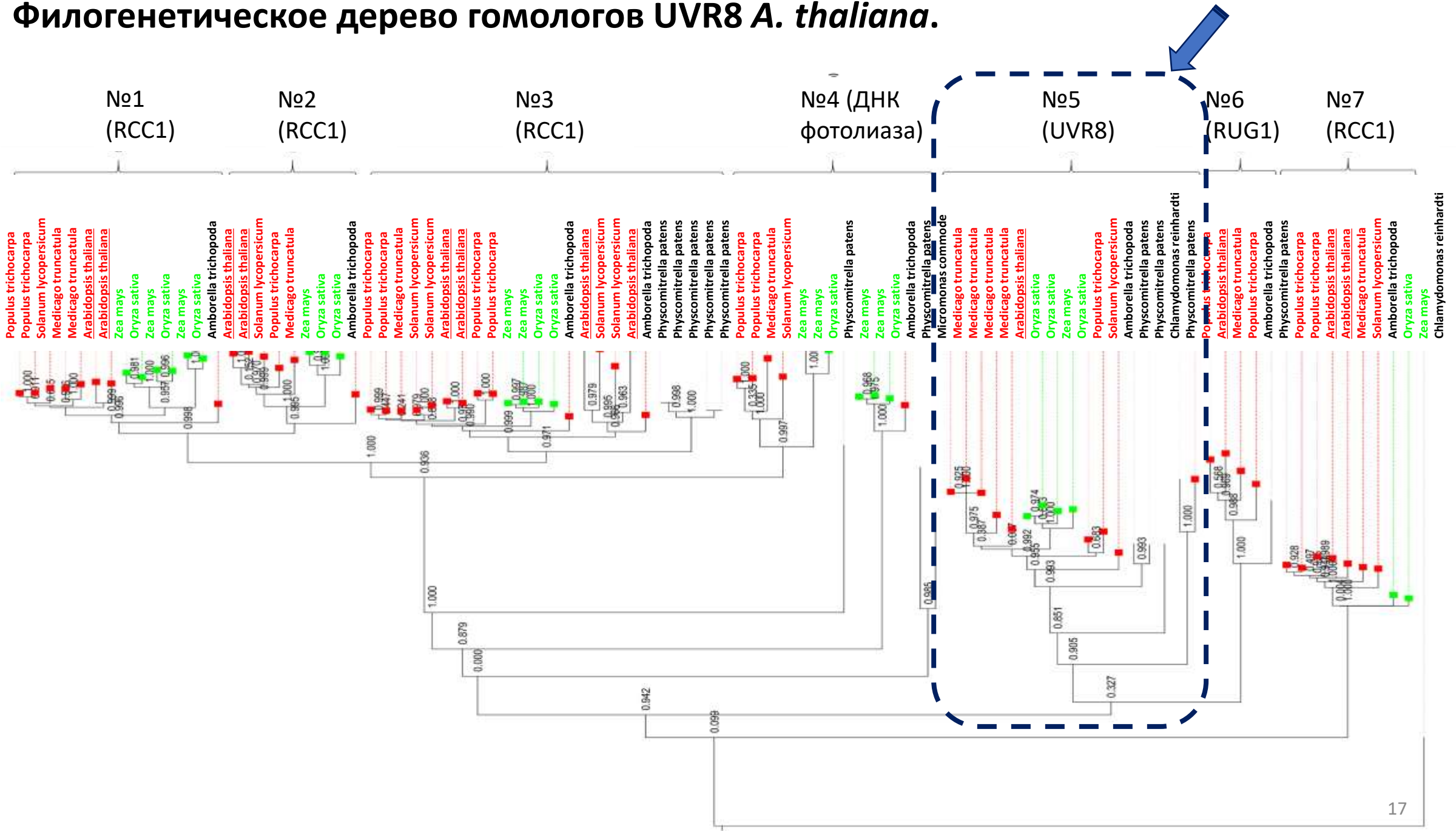


# Среднее значение индекса филостратиграфического возраста (PAI) для первых 10-ти кластеров генной сети





# Филогенетическое дерево гомологов UVR8 *A. thaliana*.

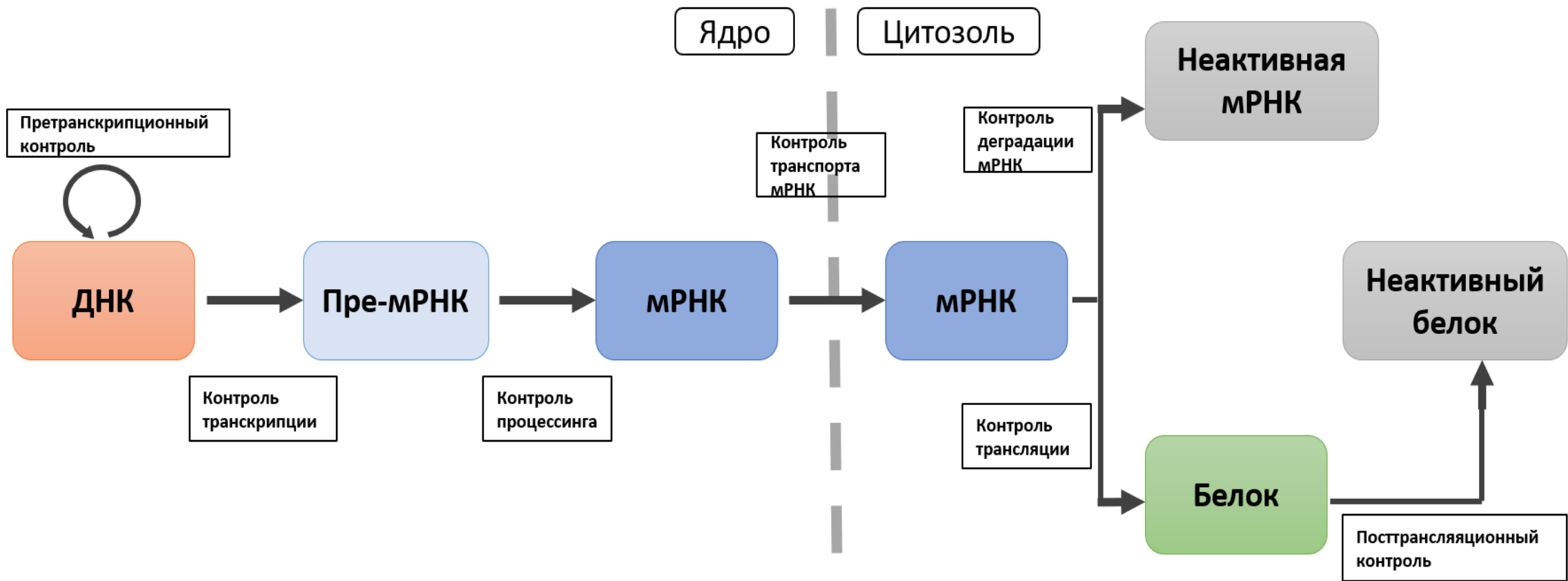


# Выводы

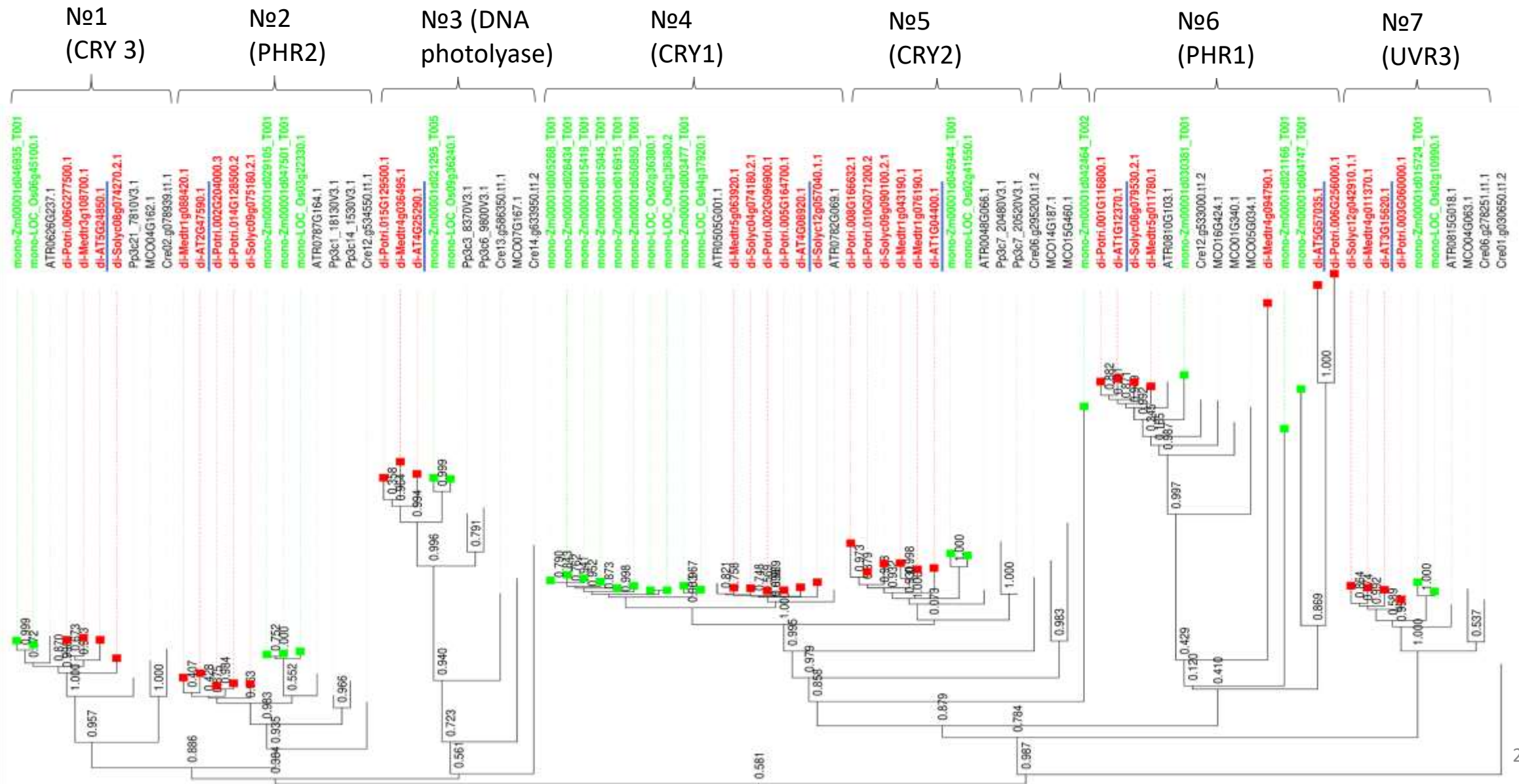
1. Мета-анализ транскриптомных данных *A. thaliana* позволил выявить более 5000 генов, меняющих уровень экспрессии в ответ на световой стресс. Среди данного множества генов выявлен 1151 ген, которые суммарно описывают 80% общего веса дифференциальной экспрессии, рассчитанный тремя методами.
2. Генную сеть, отражающую регуляцию ответа на световой стресс, образуют 354 гена, соединенные посредством регуляторных и белок-белковых взаимодействий. При анализе сети выявлены отдельные функциональные модули, наиболее крупные из которых соответствуют ответу на тепловой шок и окислительный стресс, опосредуют неспецифическую реакцию на световые стимулы, а также крупный модуль процессов синтеза и деградации белков.
3. При анализе филостратиграфического индекса было выявлено, что кластеры сети, по данным функциональной аннотации представляющие более специфический ответ имеют тенденцию содержать больше эволюционно молодых узлов, тогда как подсети неспецифического ответа — больше эволюционно древних.
4. Для каждого семейства фоторецепторов была проведена реконструкция филогении, которая позволила выявить события дупликаций генов данных семейств, включая как эволюционно древние, так и ряд относительно молодых дупликаций, произошедших после появления цветковых растений.

# Результаты

- ✓ Мета-анализ транскриптомных данных, создание ранжированного списка генов, выявляющих дифференциальную экспрессию в ответ на повышенную освещенность;
- ✓ Реконструкция генной сети ответа на повышенную освещенность, выделение и функциональная аннотация кластеров и высокосвязных узлов;
- ✓ Анализ характеристик узлов и связей: оценка распределения направления изменения экспрессии генов и филостратиграфического индекса возраста (PAI) по кластерам сети.
- ✓ Анализ эволюции фоторецепторов, сравнение состава фоторецепторов у представителей двудольных и однодольных растений



# Филогенетическое дерево гомологов *CRY A. thaliana*.



# Филогенетическое дерево гомологов UVR8 *A. thaliana*.

