

# Поиск эпигиномных ассоциаций с когнитивными характеристиками индивидов

Наумова Оксана Юрьевна;

Research Assistant Professor, Department of Psychology, University of Houston, TX;  
с.н.с. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

Меньшов Сергей Сергеевич;  
Институт точной механики и оптики, СПб

A dark grey arrow points to the right from the left edge of the slide. Below it, several thin, curved lines in shades of blue and grey sweep across the left side of the slide.

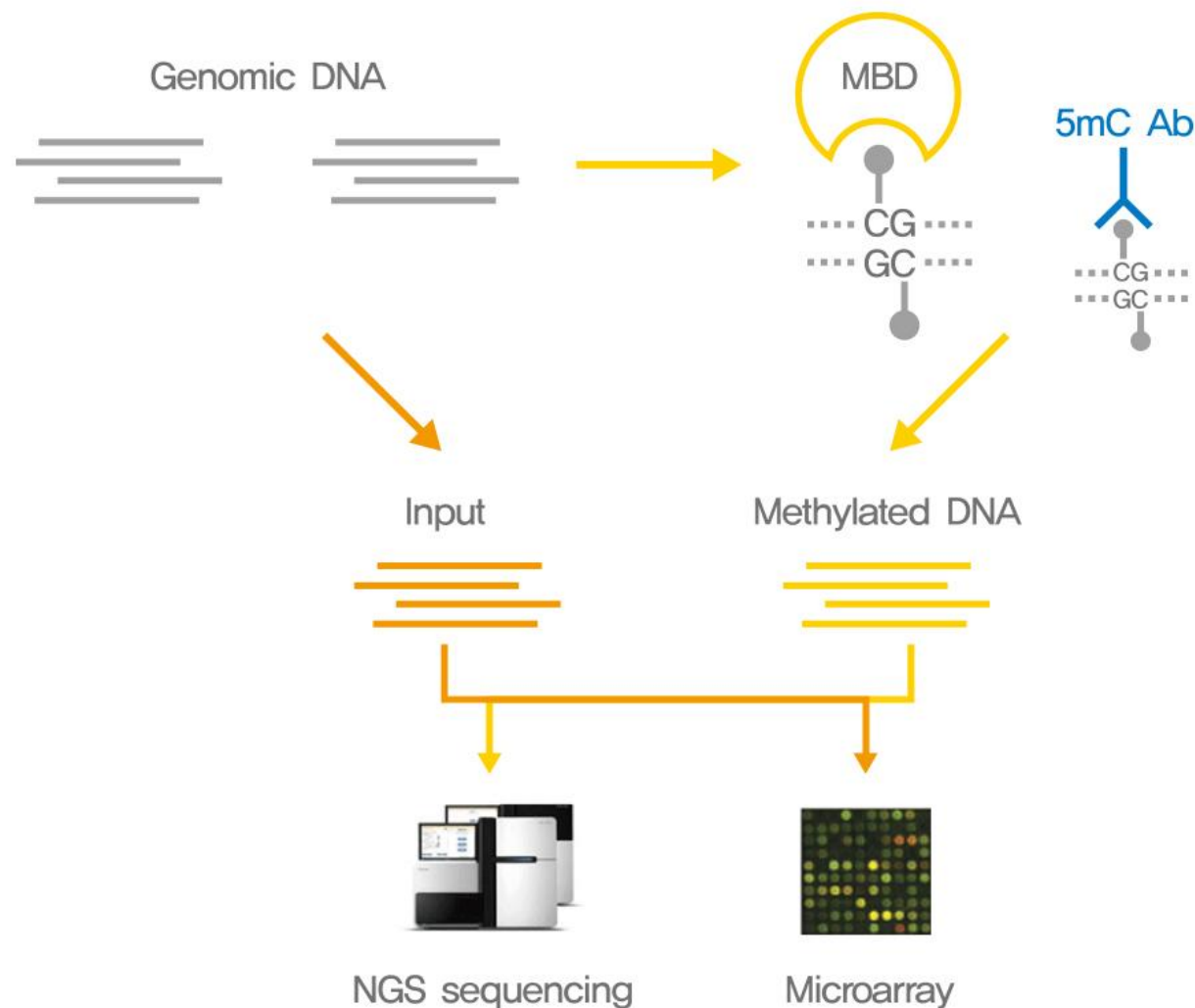
# Цель

- Поиск эпигеномных ассоциаций (Epigenome-Wide Association Study, EWAS) с когнитивными характеристиками индивидов.

# Задачи

- ▶ Провести преобразование аннотированных полногеномных данных в профили метилирования, согласно расположению островков метилирования (участки генома с наиболее плотным расположением объектов метилирования, CpG динуклеотидов)
- ▶ Провести количественную оценку ассоциаций эпигеномной модификации – метилирования – со шкалой IQ.
- ▶ Выявить гены, регуляция которых ассоциирована с исследуемой когнитивной характеристикой.

# Полногеномные профили метилирования ДНК, полученные на основе секвенирования метил-обогащенных участков генома -



- Фрагментирование ДНК
- Иммуно-преципитация фрагментов, обогащенных метилированными CG-динуклеотидами (используются специфические метил-CpG-связывающие белки, с MBD-доменом)
- Секвенирование обогащенной фракции ДНК, используя высокопропускные методы секвенирования
- Аннотирование фрагментов к референсному геному
- Подсчет фрагментов секвенирования (reads) в статичном или плавающем окне
- Нормализация значений на весь геном

# Используемые материалы

- ▶ Полногеномные профили метилирования ДНК, полученные на основе секвенирования метил-обогащенных участков генома (MBD-seq).

Секвенирование - 2x75 п.н. на платформе Illumina HiSeq2000

Уровни метилирования –  $\log_2$  от числа фрагментов в статичном окне 300 п.н., нормализованные методом квантильной нормализации на геном (свыше 1 млн 300 пн фрагментов)

- ▶ **группа из 70 человек в возрасте от 18 до 50 лет: мать – ребёнок.**
- ▶ количественная оценка уровня интеллекта человека (коэффициент умственного развития, IQ) – по оценкам композитной шкалы KBIT-2 (Kaufman Brief Intelligence Test-2)



# Задача 1 – уровни метилирования островков

- Как среднее на длину последовательности рассчитаны уровни метилирования по известным координатам для 26640 ЦГ-островков на геноме, исключая половые хромосомы (участков генома, богатых цитозином и гуанином, метилирование которых является модификацией не изменяющей последовательность, но экранирующей заряд ДНК, что приводит к подавлению считывания близлежащих генов).

# Задача 2 - Поиск ассоциаций

- Осуществлялся при помощи корреляционного теста
- Поправка уровня значимости на множественные сравнения осуществлялась методом Бенджамини-Хохберга.

Variable	P Value	Rank	(I/m)Q
Depression	0.001	1	0.01
Family History	0.008	2	0.02
Obesity	0.039	3	0.03
Other health	0.041	4	0.04
<b>Children</b>	<b>0.042</b>	<b>5</b>	<b>0.05</b>
Divorce	0.060	6	0.06
Death of Spouse	0.074	7	0.07
Limited income	0.205	8	0.08

$$\frac{i}{N} * Q, \text{ где:}$$

i – ранг уровня значимости,

N – общее число сравнений,

Q – ожидаемая доля ложных отклонений гипотез. (25%)



# Задача 3 – биологический СМЫСЛ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Оценка производилась при помощи UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Assembly; GeneCards
- Далее продемонстрирован пример оценки результатов для наиболее значимых участков на 1 и 2 хромосомах.



# Результаты UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Assembly

- Хромосома 1, участок (38059428, 38063740),  $p=0.0003$

GLN2 – Homo sapiens guanine nucleotide binding protein-like 2 (nucleolar)

Второй ядерный белок, подобный связывающему нуклеотид гуанин.

Предсказана трансляция белка:

ENST00000373062

ENST00000463351

ENST00000488496

- Хромосома 1, участок (54951893, 54957287),  $p=0.001$

# Результаты UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Assembly

- Хромосома 1, участок (113159591, 113164571), p= 0.002

CAPZA1 Gene – Capping Actin Protein Of Muscle Z-Line Alpha Subunit 1

Альфа-субъединица, семейства, кэпирующих F-актин, регулирующих тем самым удлинение актиновых филаментов.

Транслируется повсеместно, включая мозг.

Аутосомно-рецессивная первичная микроцефалия.

- ST7L Gene – Suppression Of Tumorigenicity 7 Like

Ген идентифицирован как подобный супрессору опухолей находящемуся на участке 7q31.

T-лимфоциты, моноядерные клетки периферической крови, сердце.

# Результаты UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Assembly

- Хромосома 2, участок (65213598, 65219212),  $p=0,0002$

- SLC1A4 Gene – Solute Carrier Family 1 Member 4

Транспортёр аланина, серина, цистеина, треонина.

Может быть вовлечён и в другой транспорт, включая транспорт сахаров.

Заболевания: спастическая тетраплегия, тонкое мозолистое тело (соединение правого и левого полушарий), прогрессирующая микроцефалия, микроцефалия.

- Хромосома 2, участок (38827103, 38832804),  $p=0,0003$

- HNRNPLL Gene – Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein L Like

РНК-связывающий белок. Основной регулятор альтернативного сплайсинга в Т-клетках.

Включая альтернативный сплайсинг CD45 (PTPRC; MIM 151460), тирозин-фосфатазы, необходимой для развития и активации Т-клеток.

Экспрессия во многих тканях, включая мозг.

# Результаты UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Assembly

- ▶ Хромосома 2, участок (201979062, 201983689),  $p=0,001$
- ▶ CFLAR Gene - CASP8 And FADD Like Apoptosis Regulator

Регулятор апоптоза, структурно подобен каспазе-8.

Белок обнаруживается в клетках плазме, CD4- CD8 Т-лимфоцитах.

Юношеский боковой амиотрофический склероз, себорейный кератоз (доброкачественное новообразование), андрогеннетическая алопеция (облысение), хориоидпапиллома, артериопатия церебральная аутосомно-доминантная с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией.



# Заключение



- В рамках проекта работа поставлена, но продолжается.
- Планируется продолжить оценку результатов по ЦГ-островкам,
- Провести анализ по промоторным участкам.