

Реконструкция генных сетей дифференциально экспрессирующихся генов в структурах мозга ручных и агрессивных крыс с использованием веб-сервиса ANDSystem

Яцык И.В.^{1, 3*}, Чадаева И.В.¹, Ощепков Д.Ю.¹, Иванисенко В.А.^{1, 2}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

* woikin88@mail.ru

Ключевые слова: агрессивное поведение; ANDSystem; ассоциативные генные сети; дифференциально экспрессирующиеся гены

Мотивация и цель: Агрессивное поведение животных изучается уже давно и занимает ведущее место в научных исследованиях основ поведения. Выявление генетических детерминант агрессивного поведения имеет большое значение, поскольку в человеческом обществе повышенная агрессивность – одна из основных проблем социальных отношений. Также важно то, что повышенная агрессивность наблюдается при многих психиатрических и нейродегенеративных заболеваниях, поэтому задача уменьшения проявлений агрессии весьма актуальна.

В проявлении агрессивного поведения велика роль наследственных факторов. Современные исследования говорят о том, что агрессивный тип поведения имеет полигенную детерминацию. В настоящей работе были продолжены исследования, направленные на изучение генетических детерминант агрессивного поведения. Целью работы является реконструкция и анализ генных сетей дифференциально экспрессирующихся генов и компьютерный анализ топологии полученных генных сетей с помощью веб-сервиса ANDSystem. Также были выявлены общие и тканеспецифичные биологические процессы по данным анализа генных сетей для анализируемых структур мозга.

Методы и алгоритмы: Работу проводили на данных секвенирования тканей мозга взрослых самцов серых крыс (*Rattus norvegicus*), которые были селекционированы в Институте цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Селекция проводилась в течение 90 поколений на высокий уровень агрессии по отношению к человеку. Для построения списка дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) у крыс с агрессивным поведением использованы данные РНК-секвенирования четырех отделов мозга (гипоталамус, гиппокамп, покрышка среднего мозга и серое вещество периакведуктума). Библиотеки чтений транскриптов от анализируемых крыс доступны на сайте NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>) под индексом PRJNA668014.

Реконструкция генных сетей ДЭГ была произведена с использованием метода автоматического извлечения знаний из текстов научных публикаций (textmining) и баз данных о молекулярно-генетических взаимодействиях. Автоматическая реконструкция генных сетей проведена с помощью системы ANDSystem [1]. Расширение списка ДЭГ новыми генами, связанными с ними функционально, также осуществлено с помощью системы ANDSystem.

Чтобы построить генные сети, описывающие регуляторные пути, в которых участвуют белки, кодируемые дифференциально экспрессирующимися генами, был использован «Мастер путей», имеющийся в программе ANDVisio. С его помощью были составлены 5 шаблонов для построения регуляторных молекулярно-генетических путей 5 типов. С помощью этих шаблонов были описаны различные типы регуляторных путей молекулярно-генетических взаимодействий.

Схемы шаблонов указаны ниже:

1. Белки, кодируемые дифференциально экспрессирующимися генами, – белок-белковые взаимодействия – все белки крысы.
2. Белки, кодируемые дифференциально экспрессирующимися генами, – регуляция активности/стабильности/протеолиза/посттрансляционных модификаций/транспорта – все белки крысы.
3. Белки, кодируемые дифференциально экспрессирующимися генами, – регуляция экспрессии генов – все гены крысы – экспрессия – все белки крысы.
4. Белки, кодируемые дифференциально экспрессирующимися генами, – регуляция экспрессии генов – все гены крысы – экспрессия – все белки крысы – регуляция экспрессии генов – все гены крысы – экспрессия – все белки крысы.
5. Белки, кодируемые дифференциально экспрессирующимися генами, – регуляция экспрессии генов – все гены крысы – экспрессия – все белки крысы – регуляция активности/стабильности/протеолиза/посттрансляционных модификаций/транспорта – все белки крысы.

После построения генных сетей по перечисленным шаблонам были рассмотрены их статистические параметры. Проанализированы топологические свойства полученных генных сетей по центральности, а также по посредничеству и степени вершин.

Результаты: С помощью шаблонов, указанных в разделе «Методы и алгоритмы», были построены регуляторные молекулярно-генетические пути, в которых участвуют белки, кодируемые дифференциально-экспрессирующимися генами. Были найдены дополнительные гены, участвующие в молекулярно-генетических путях. В их числе оказались гены, ассоциированные с агрессией, например, BDNF, NPY, гены серотониновой системы и др. Из полученных молекулярно-генетических путей были построены как общая генная сеть, так и тканеспецифичные генные сети взаимодействия дифференциально-экспрессирующихся генов.

Был проведен статистический анализ реконструированных генных сетей. В ходе этого анализа были выявлены наиболее важные участники полученных сетей. Многие из них, такие как нейротрофический фактор BDNF, уже давно изучаются в исследованиях, связанных с агрессивным поведением. Роль других, таких как белок теплового шока HSP74 или транскрипционный фактор P53, в проявлении агрессивного поведения изучена недостаточно хорошо.

Анализ полученных генных сетей с помощью веб-инструмента DAVID показал высокую представленность биологических процессов, связанных с работой нервной системы: нейроактивное лиганд-рецепторное взаимодействие, сигнальный путь цАМФ, кальциевый сигнальный путь и т. д.

Выводы: С помощью ANDSystem были реконструированы как общая генная сеть, так и тканеспецифичные генные сети взаимодействия дифференциально экспрессирующихся в четырех структурах мозга агрессивных и ручных серых крыс генов. Был проведен статистический анализ реконструированных генных сетей, с помощью которого выявлены наиболее важные участники полученных сетей. Анализ

представленности биологических процессов показал высокую представленность процессов, связанных с работой нервной системы.

Финансирование: Исследование поддержано бюджетным проектом № FWNR-2022-0020.

Reconstruction of gene networks of differentially expressed genes in brain structures of tame and aggressive rats using the ANDSystem web service

Yatsyk I.V.^{1*}, Chadaeva I.V.^{1, 2}, Oshchepkov D.Y.^{1, 2}, Ivanisenko V.A.^{1, 2}

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

² Kurchatov Genomic Center of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

* woikin88@mail.ru

Key words: aggressive behavior; ANDSystem; associative gene networks; differentially expressed genes

Motivation and Aim: Aggressive behavior in animals has been studied for a long time and occupies a leading position in scientific research on the foundations of behavior. Identifying the genetic determinants of aggressive behavior is of great importance since increased aggressiveness is one of the major problems in social relations in human society. Additionally, heightened aggression is observed in many psychiatric and neurodegenerative diseases, making the task of reducing manifestations of aggression highly relevant.

Hereditary factors play a significant role in the manifestation of aggressive behavior. Modern studies suggest that the aggressive behavior type has a polygenic determination. My work continues the research aimed at studying the genetic determinants of aggressive behavior. The goal of this work is the reconstruction and analysis of gene networks of differentially expressed genes and the computer analysis of the topology of the resulting gene networks using the ANDSystem web service. Common and tissue-specific biological processes were also identified based on gene network analysis for the analyzed brain structures.

Methods and Algorithms: The work was carried out on sequencing data from the brain tissues of adult male gray rats (*Rattus norvegicus*) selected at the Institute of Cytology and Genetics SB RAS in Novosibirsk. Selection was conducted over 90 generations for a high level of aggression towards humans.

To compile the list of differentially expressed genes (DEGs) in aggressive rats, RNA sequencing data from four brain regions (hypothalamus, hippocampus, midbrain tegmentum, and periaqueductal gray matter) were used. Transcript libraries from the analyzed rats are available on the NCBI website (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>) under the accession number PRJNA668014.

The reconstruction of gene networks of DEGs was performed using the method of automatic knowledge extraction from scientific publications (text mining) and molecular-genetic interaction databases. The automatic reconstruction of gene networks was carried out using the ANDSystem [1]. The expansion of the DEG list with new functionally related genes was also accomplished using the ANDSystem.

To construct gene networks describing regulatory pathways involving proteins encoded by differentially expressed genes, the “Pathway Master” available in the ANDVisio program was used. Five templates for constructing regulatory molecular-genetic pathways of five types were created using this tool. These templates described various types of regulatory pathways of molecular-genetic interactions.

The template schemes are listed below:

1. Proteins encoded by differentially expressed genes – protein-protein interactions – all rat proteins.
2. Proteins encoded by differentially expressed genes – regulation of activity/stability/proteolysis/post-translational modifications/transport – all rat proteins.
3. Proteins encoded by differentially expressed genes – gene expression regulation – all rat genes – expression – all rat proteins.
4. Proteins encoded by differentially expressed genes – gene expression regulation – all rat genes – expression – all rat proteins – gene expression regulation – all rat genes – expression – all rat proteins.
5. Proteins encoded by differentially expressed genes – gene expression regulation – all rat genes – expression – all rat proteins – regulation of activity/stability/proteolysis/post-translational modifications/transport – all rat proteins.

After constructing gene networks using the templates listed above, their statistical parameters were examined. The topological properties of the resulting gene networks were analyzed for centrality, betweenness, and degree of vertices.

Results: Using the templates specified in the “Methods and Algorithms” section, regulatory molecular-genetic pathways involving proteins encoded by differentially expressed genes were constructed. Additional genes involved in molecular-genetic pathways were identified. Among them were genes associated with aggression, such as BDNF, NPY, serotonin system genes, and others. From the obtained molecular-genetic pathways, both a general gene network and tissue-specific gene networks of interactions of differentially expressed genes were constructed.

A statistical analysis of the reconstructed gene networks was conducted. This analysis identified the most important participants in the resulting networks. Many of them, such as the neurotrophic factor BDNF, have long been studied in research related to aggressive behavior. The roles of others, such as the heat shock protein HP74 or the transcription factor P53, in the manifestation of aggressive behavior are not yet well understood. An analysis of the obtained gene networks using the DAVID web tool showed a high representation of biological processes related to the functioning of the nervous system: neuroactive ligand-receptor interaction, cAMP signaling pathway, calcium signaling pathway, etc.

Conclusion: Using ANDSystem, both a general gene network and tissue-specific gene networks of interactions of differentially expressed genes in 4 brain structures of aggressive and tame gray rats were reconstructed. A statistical analysis of the reconstructed gene networks was conducted, identifying the most important participants in the resulting networks. An analysis of the representation of biological processes showed a high representation of processes related to the functioning of the nervous system.

Funding: The study is supported by budgetary project No. FWNR-2022-0020.

Список литературы/References

1. Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Mishchenko E.L., Saik O.V. A new version of the ANDSystem tool for automatic extraction of knowledge from scientific publications with expanded functionality for reconstruction of associative gene networks by considering tissue-specific gene expression. BMC Bioinformatics. 2019;20(Suppl. 1):34. doi 10.1186/s12859-018-2567-6