



酿酒酵母中的转录调控网络

小组成员：

生信1301

唐聪，包健宇，杨帆



摘要：

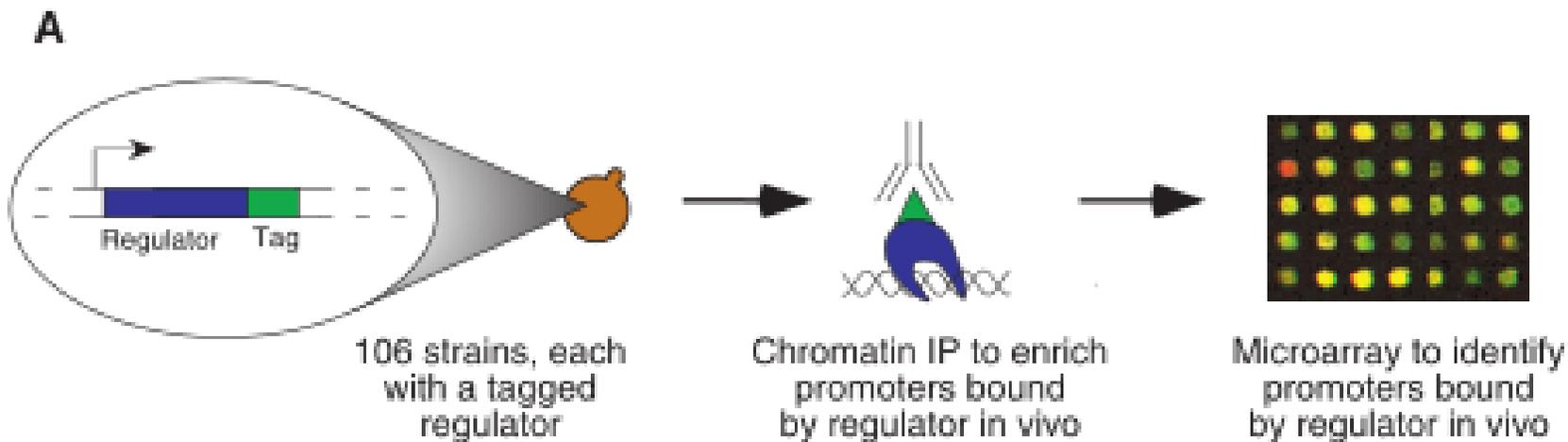
我们已经确定转录因子如何在真核生物酿酒酵母中编码通过活细胞中的整个基因组基因。正如代谢网络图描述，可以由一个细胞来完成代谢过程的潜在途径，这网络调节基因的相互作用描述了酵母细胞可以通过潜在途径调节全局基因表达程序。我们使用此信息来确定网络结构，最简单的网络结构单元，并且展示了一个可使用基序的转录调控网络的结构组装的自动过程。我们的研究表明，真核细胞的功能高度相关联的通过可调节其他转录元件的转录调控元件网络。

实验设计：

第一步：标记并筛选

用全基因组定位分析来研究酵母转录调控因子如何在基因组中绑定到启动子序列。选定酵母蛋白质组数据库中的且反映出与DNA结合并拥有转录活性的所有141转录因子用以研究。

RESEARCH ARTICLES



方法：酵母转录调节器通过引入了原癌基因的表位标签的编码序列被标记，然后进入每个调节器正常的基因组位点。以这种方式构建106株酵母菌株，其表达可以在合适的生长条件进行检测。对106株的进行ChIP（染色体免疫共沉淀）。通过ChIP程序富集的启动子区通过与含有全基因组组酵母启动子区域的芯片杂交被鉴定。

为什么只有106株呢？

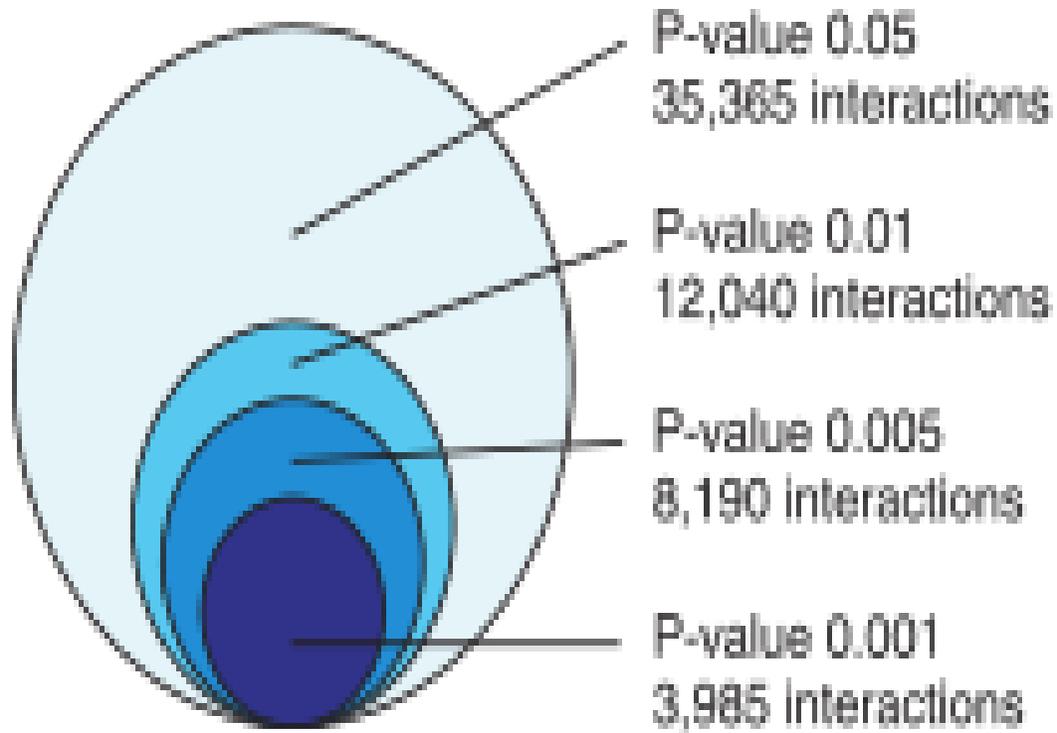
- 通过聚合酶链反应和免疫印迹分析证实标记的适当插入和标记蛋白的表达。但标记的导入可能会影响某些转录调节的功能。在141转录因子其中有17个，尽管尝试标记每个调节器三次，也无法获得可行的标记细胞。在酵母细胞在培养基中生长时，在可检测水平上检测，不是所有的转录调节器都按预期可检测出表达，通过免疫印迹分析表明，124株标记的调节蛋白只有106株可检测出。

第二步：全基因组位置分析实验

- 将106株被标记的酵母菌株每个在三个独立（酵母提取物，蛋白胨，葡萄糖）的全培养基上培养。
- 全基因组的位置数据进行质量控制的过滤和规范，以及用免疫沉淀比例增长来控制的DNA测定每个矩阵点。我们通过错误模型计算来自每个矩阵的每个点的P值。
- 每个实验中的三个样品的数据通过一个加权平均法结合得到最终P值。

为什么实验选定P阈值=0.001?

B

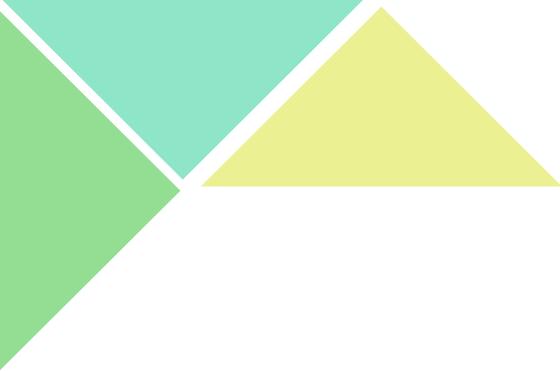


P值的阈值的影响。所有调节启动子区相互作用的总和与P值的取值相干。P值越小，显示相互作用的调节启动子区总和越少。

为了接下来的结果分析处于较高置信度区间内，实验选定阈值为0.001。

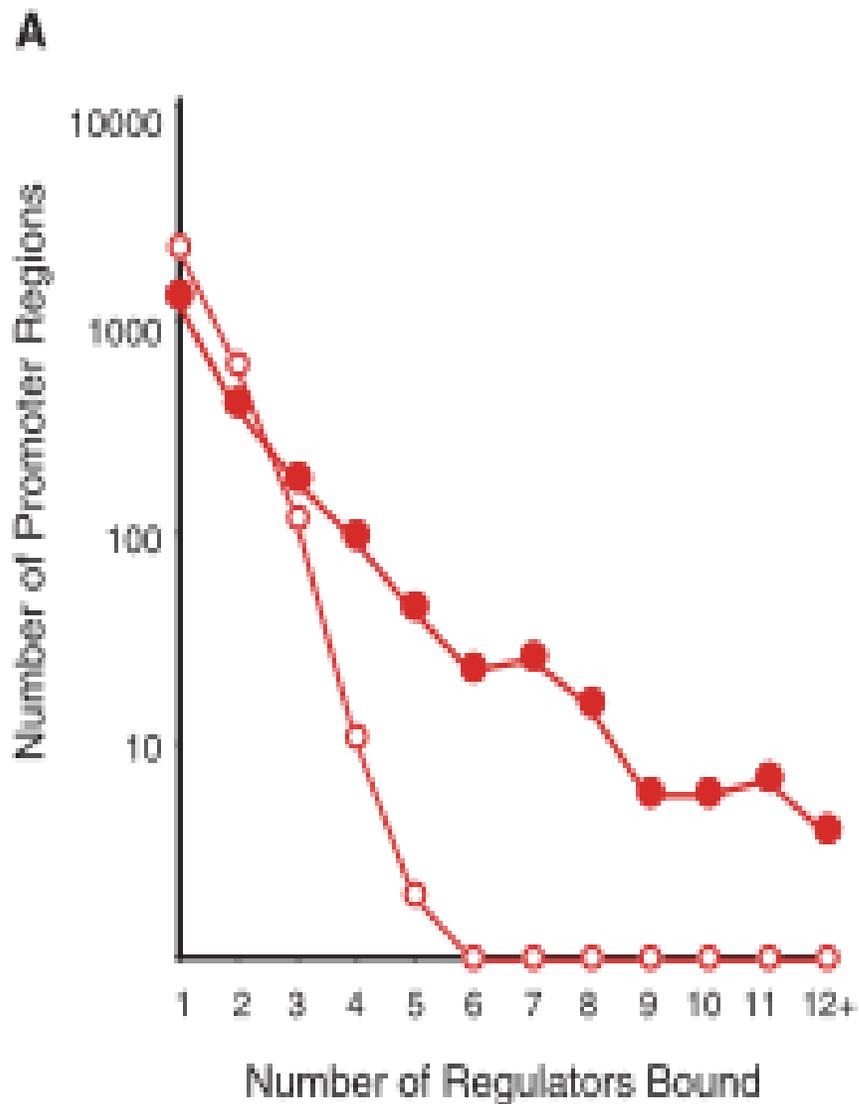
分析表明，选该阈值，调节器与DNA相互作用的误报率会大大减少，仅为6%至10%。

估计，在细胞中的三分之一的调节器-DNA相互作用不在这P值=0.001的范围内。



调节器的密度

- 在P阈值为0.001下，可观察到调节器与启动区存在将近4000的相互作用。启动子区内的6270个酵母基因中有2343个（37%）被实验106个转录调节器约束。许多酵母启动子是由多个转录调节器约束。



实际位置数据（红色圆圈）

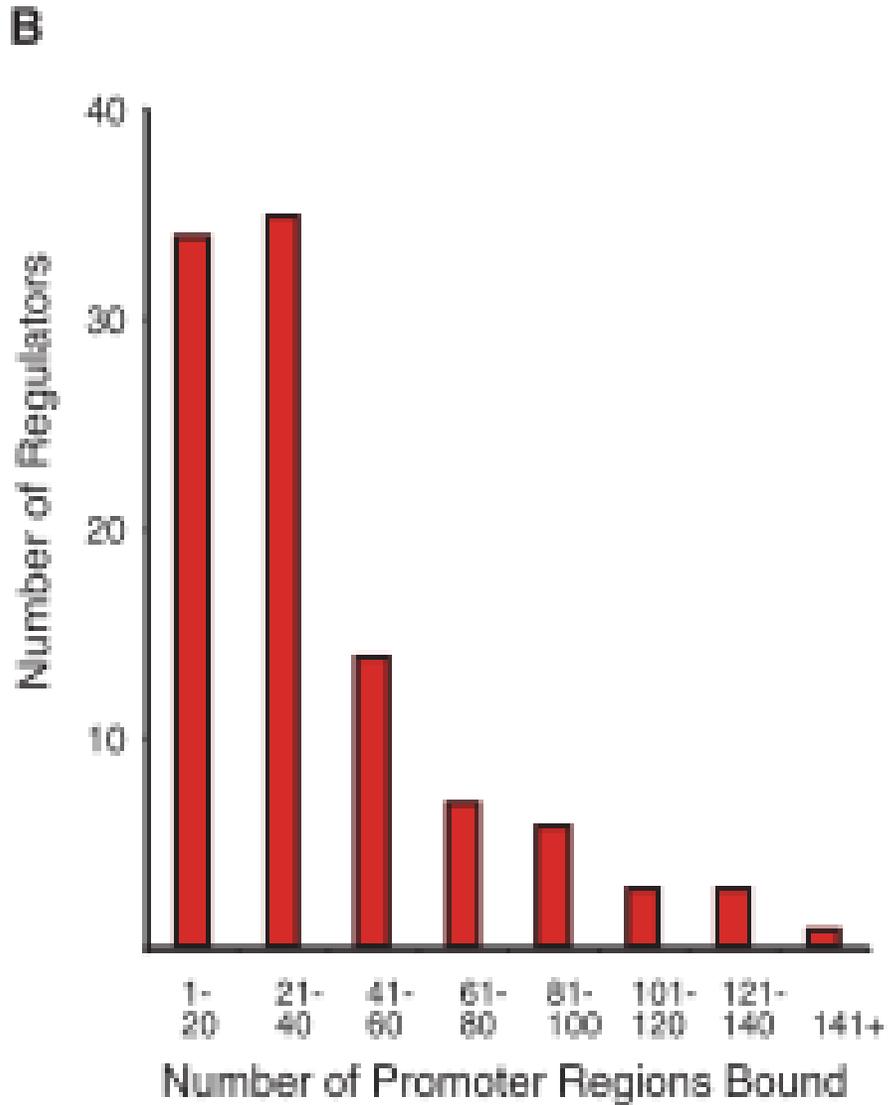
相同数据下，P的阈值随机时，调节器与基因间区（白色圆圈）

结论：

调节器与启动子区的相互作用并不是随机的，而是存在一定的联系。

多于三分之一的启动子区域被两个或更多的调节器约束。表明，酵母基因也经常通过调节器组合调节。

相对于从随机化数据的预期分布，不成比例的大量启动子区是由四个或更多的调节器的约束。原因在于，P阈值选择的严格控制，将导致调节器密度的值变低。



不同的启动子区域被调节器约束的数量范围从0到181，平均每调节器约束38启动子区域。

调节器Abf1约束181个启动子区域。

网络图案 (Network motifs) :

最简单常用的转录调控网络体系结构，或网络图案，提供直观的解释，如正面和负面反馈循环。我们所用的全基因组的位置数据，以确定网络图案：自动调节，多元循环，前馈循环，单输入，多输入和调节器链。

一个自动调节基序由一个稳压器结合的启动子区域及其自己的基因。我们确定了10个自动调节图案与106全基因组位置数据监管者（P值阈值=0.001），这表明ENCOD-ING调节酵母基因的大约10%被调节。这个百分比基本上不改变P值阈值。与此相反，研究大肠杆菌的基因调控网络表明大多数（52%至74%）的原核编码转录调节基因被调节。

自动调节被认为是提供了多种选择生长优势，包括减少响应时间对环境刺激，降低监管成本的生物合成，和增加的基因表达的稳定性。例如，在于配合信息素的浓度。信息素响应转录STE12迅速增加，因为STE12结合并转录其自己的基因。随之增加STE12蛋白导致的其它的结合所需的基因。

多组分环图案涉及两个或多个因素。我们观察到3个在位置的多组分环基序对于监管106（P值阈值数据=0.001）。闭环结构提供了反馈控制能力和提供潜在在生产双稳系统，可以两种替代状态之间进行切换。该多组分循环尚未确定在细菌基因网络。

原则上，一个前馈回路可提供一些功能。前馈回路可充当一个开关被设计为敏感于持续而不是短暂的输入。前馈回路具有提供的电位一个过程的暂时控制，因为表达最终的目标基因的可能依赖于足够的积累主服务器和辅助监管的水平。前馈回路可提供一个多步高敏电位，作为形式在的水平或活性的小变化主调节器在循环的顶部可能在最终目标被放大因共同作用的基因主调节器和第二调节器，其是主调节器的控制之下。



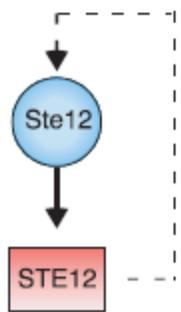
单输入基序包含一个单一的调节器—一组特定基因的结合条件。单输入图案是潜在的用于协调生物的离散单元功能，如一组基因生物合成装置的亚基编码代谢途径的酶。对于亮氨酸生物合成的几个基因通路是由LEU3控制转录调控因子进行转录调节。

多输入基序由一组调节器组成—一组基因的结合。我们发现了295个组合的2个或更多可能与一组共同的启动区。这个发现提供了潜在的用于协调基因表达在各种各样的生长条件。例如，每一个监管部门—一组基因可以负责调节这些基因在响应于一个独特的输入。以这种方式，两种不同的调节器响应到两个不同的输入将允许坐标组基因的表达这两种不同的条件下进行。

上述的调节基序对基因调控机制的模式可以预测实验数据。一个监管的主题引起我们注意的是核糖体蛋白基因；核糖体是重要的蛋白质生物合成器，但转录对核糖体蛋白基因的调控不是很好的理解。FHL1，蛋白质的功能以前不知道，形成一个单一的基本组成的输入调节基序所有核糖体蛋白基因，这里没有其他监管机构展现出这种行为。如果没有其他监管机构能够代替它，这预示着损失FHL1功能应该对核糖体的生物合成有严重影响，事实上，许多核糖体蛋白基因也是组成一种多输入主题涉及的人和其他监管机构的部分，这表明这些基因的表达可能是多个监管机构在不同的协调下生长条件。这种模式和其他建议的监管图案可以与未来的实验讨论

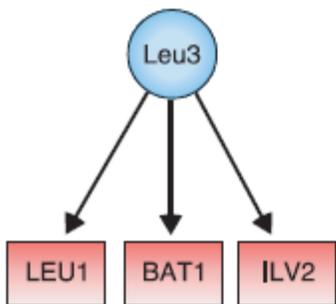
自动调节

Autoregulation



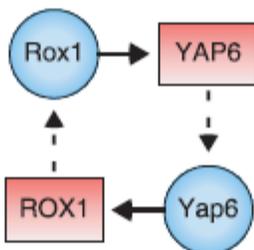
单输入图

Single Input Motif



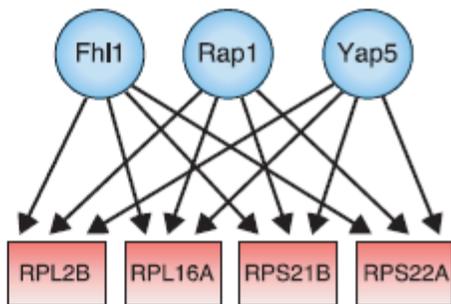
多组分环

Multi-Component Loop



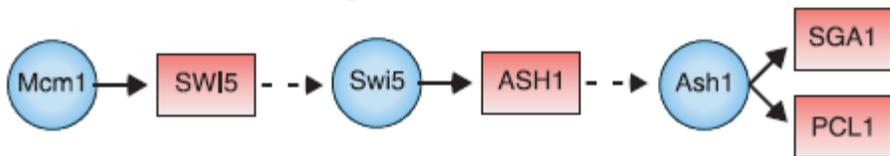
多输入图

Multi-Input Motif



Regulator Chain

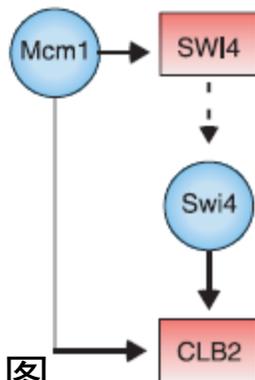
调节链



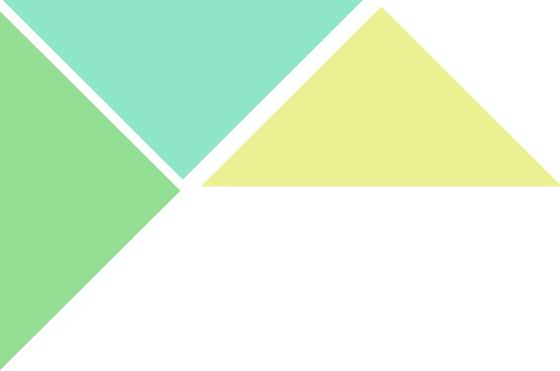
RESEARCH ARTICLES

前馈环

Feedforward Loop

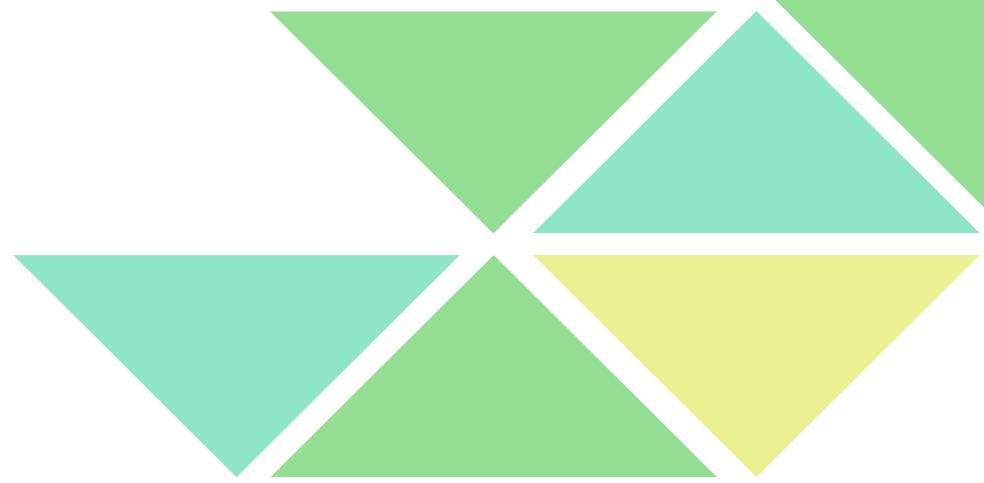


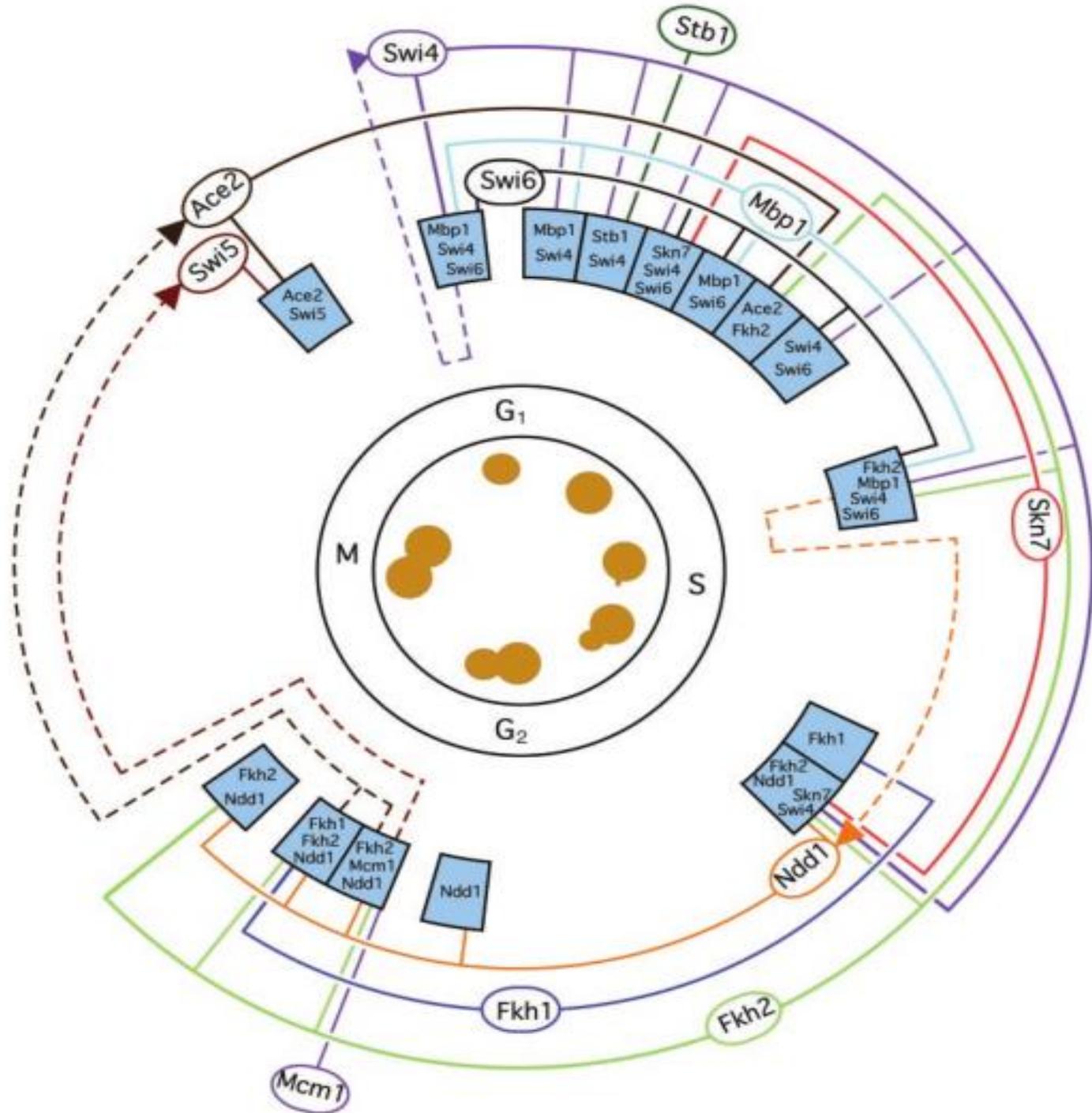
酵母调控网络中网络图的实例。监管机构由蓝色圆圈表示;基因启动子由红色矩形表示。一个调节器结合于启动子用实箭头表示。监管机构编码基因被链接到各自的监管机构用虚线箭头表示。例如,在自动调节图中,该STE12蛋白结合至STE12基因,该基因被转录和翻译成STE12蛋白质。这些网络图被揭露通过各种算法搜索数据绑定。



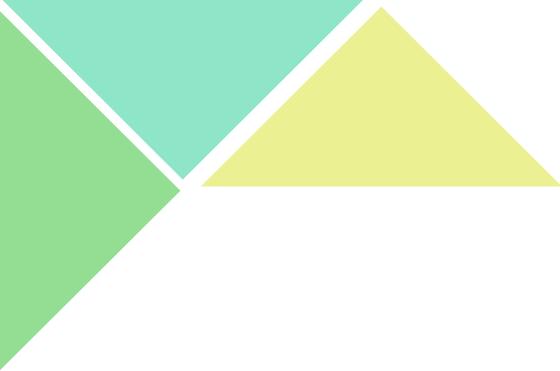
装配成图案网络结构

- 假定调控网络图案形成可以被组合成更大的网络结构积木。算法被开发一起探索所有的全基因组的位置数据与来自超过500个表达实验的表达数据，以确定是既协同结合，协调表达的基因组。简言之，该算法首先定义一组基因， G ，即由一组调节， S 的结合。





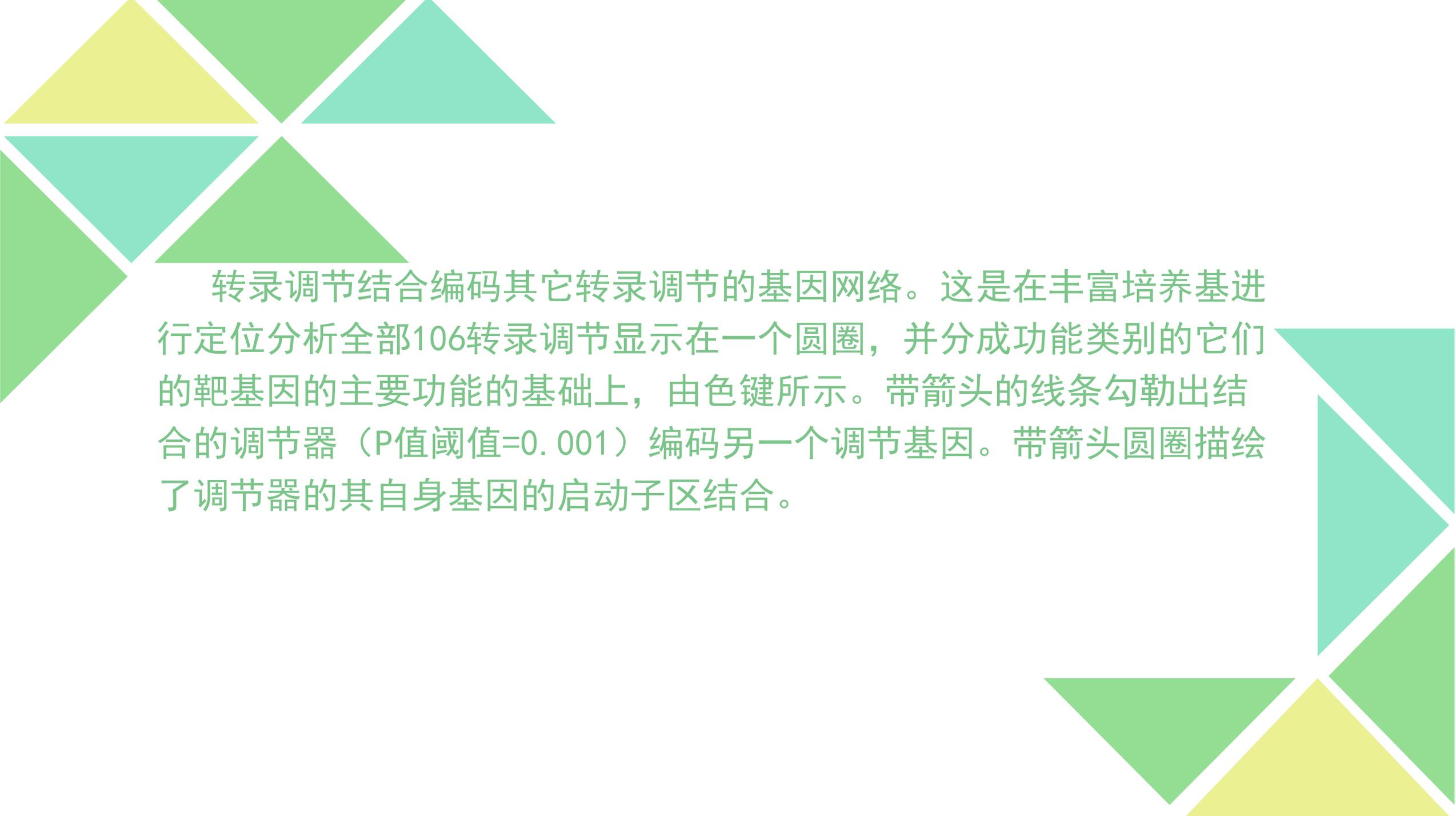
模型为酵母细胞周期转录调控网络。对于酵母细胞周期的转录调控网络从绑定和表达数据（见正文）的组合而得。酵母细胞形态是在细胞周期的不同阶段示出。每个蓝色方块代表一组由一组共同的监管约束，共表达在整个细胞周期的基因。每一个蓝盒子内的文本列出了常见的集绑定到一组由框表示基因的调节。各框根据由框表示的基因峰表达水平的时间定位在细胞周期。调节器，由椭圆表示的，被连接到套基因它们由实线调节。与每个调节器相关联的电弧有效地限定活动的调节器的期间。虚线表示，在框中基因编码的外圈发现了一个调节器。

- 
- 由此产生的网络模型的三个特征是显著的。首先，计算方法正确分配的所有调节细胞周期，在那里他们被示出在以前的研究发挥作用的阶段。第二，有牵连细胞周期调控，但其功能的两个监管机构不明确，可以在网络中直接绑定数据的基础上进行分配。第三，最重要的是，调节体系结构的重建是自动和所需的细胞周期中控制转录的调节器的先验知识。这种方法应该代表建设等调控网络的一般方法。

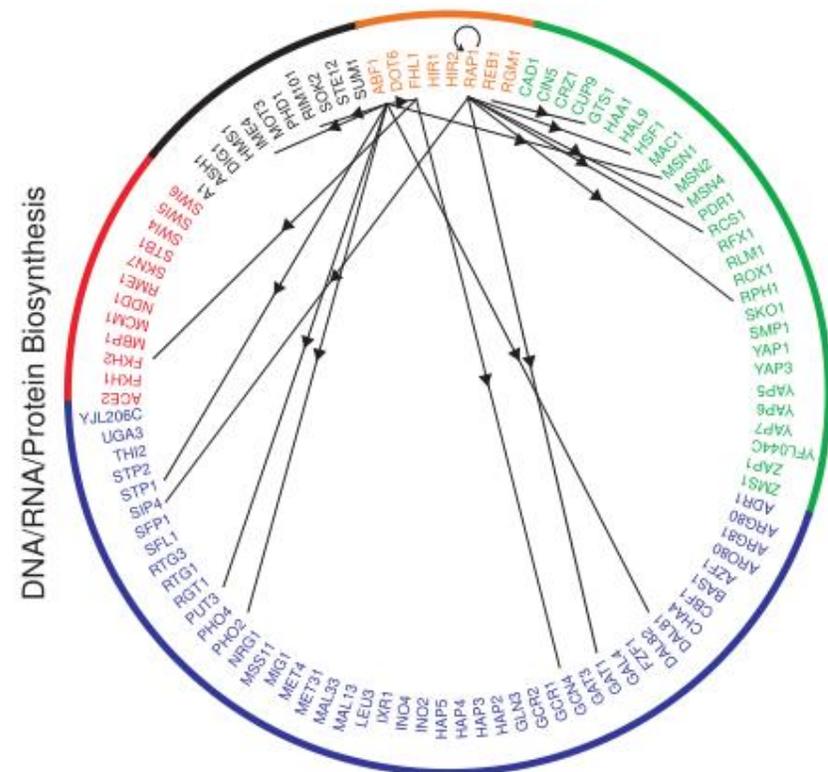
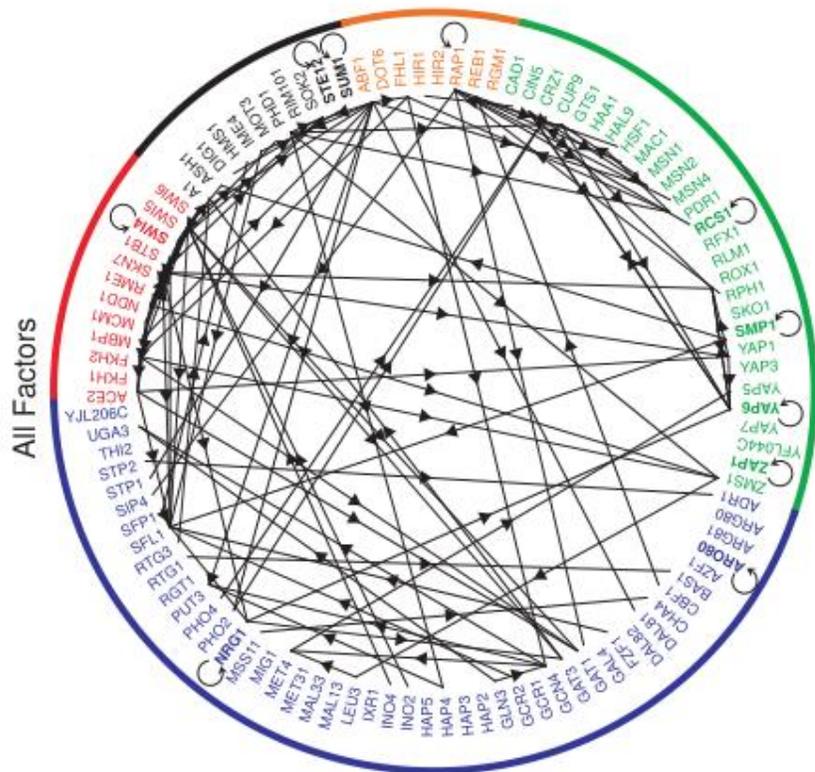


细胞过程的协调

- 转录调节往往会编码其他转录调节基因。
- 细胞周期调节结合到其他细胞周期调控，而这种现象也很明显落入代谢和环境响应的类别的转录调节中。
- 每个类别内的多个转录调节能够结合到编码负责其他细胞过程的控制调节基因。



转录调节结合编码其它转录调节的基因网络。这是在丰富培养基进行定位分析全部106转录调节显示在一个圆圈，并分成功能类别的它们的靶基因的主要功能的基础上，由色键所示。带箭头的线条勾勒出结合的调节器（P值阈值=0.001）编码另一个调节基因。带箭头圆圈描绘了调节器的其自身基因的启动子区结合。

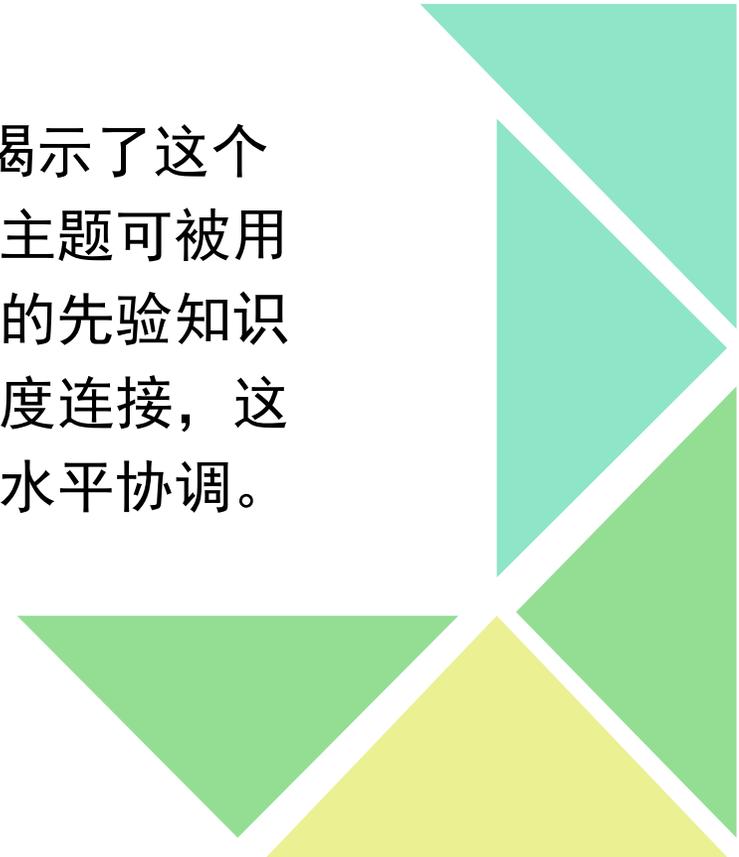


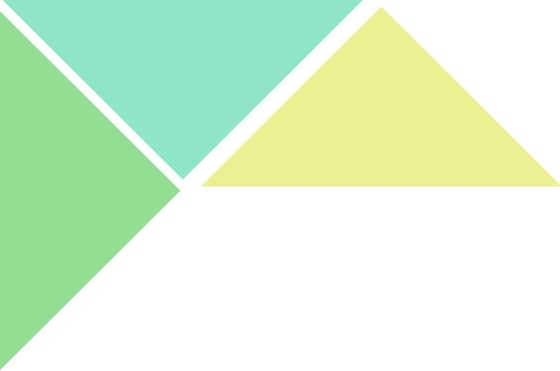
- Cell Cycle
- Developmental Processes
- DNA/RNA/Protein Biosynthesis
- Environmental Response
- Metabolism



监管网络信息的意义

本研究确定的网络主题，对酵母提供具体的监管能力，揭示了这个真核生物发展中被选中的监管战略。通过自动化的方法这些主题可被用作构建块，结合全基因组的位置和表达数据在没有调节功能的先验知识下来构造大网络结构。转录调节控制其它转录调节网络是高度连接，这表明对细胞功能如细胞周期和发展的网络子结构本身在转录水平协调。



- 
- 有可能设想映射控制在相当大的深度的基因表达方案在酵母和其它活细胞的调控网络。在酵母转录调控网络的更完整的理解下将需要各种生长条件和模型实验测试，从调节器结合，基因表达的计算分析和其他信息出现下调节结合位点的知识。
 - 此处所描述的方法也可用于在高等真核生物中发现的转录调控网络。这些网络的知识将有助于理解人类的健康和设计，以消除疾病的新策略非常重要。

感谢聆听 (。 ■ ■)

