

Филогенетический анализ и анализ экспрессии эндогенных ретровирусов семейства HERV-K HML-10 в жировой ткани у пациентов с ожирением (МКБ10 E66)

В. Б. Виниченко

Группа 4731204/00101

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра
Великого (СПбПУ)

Научный руководитель: профессор ВШБСиТ, д.б.н. К.В. Воробьев

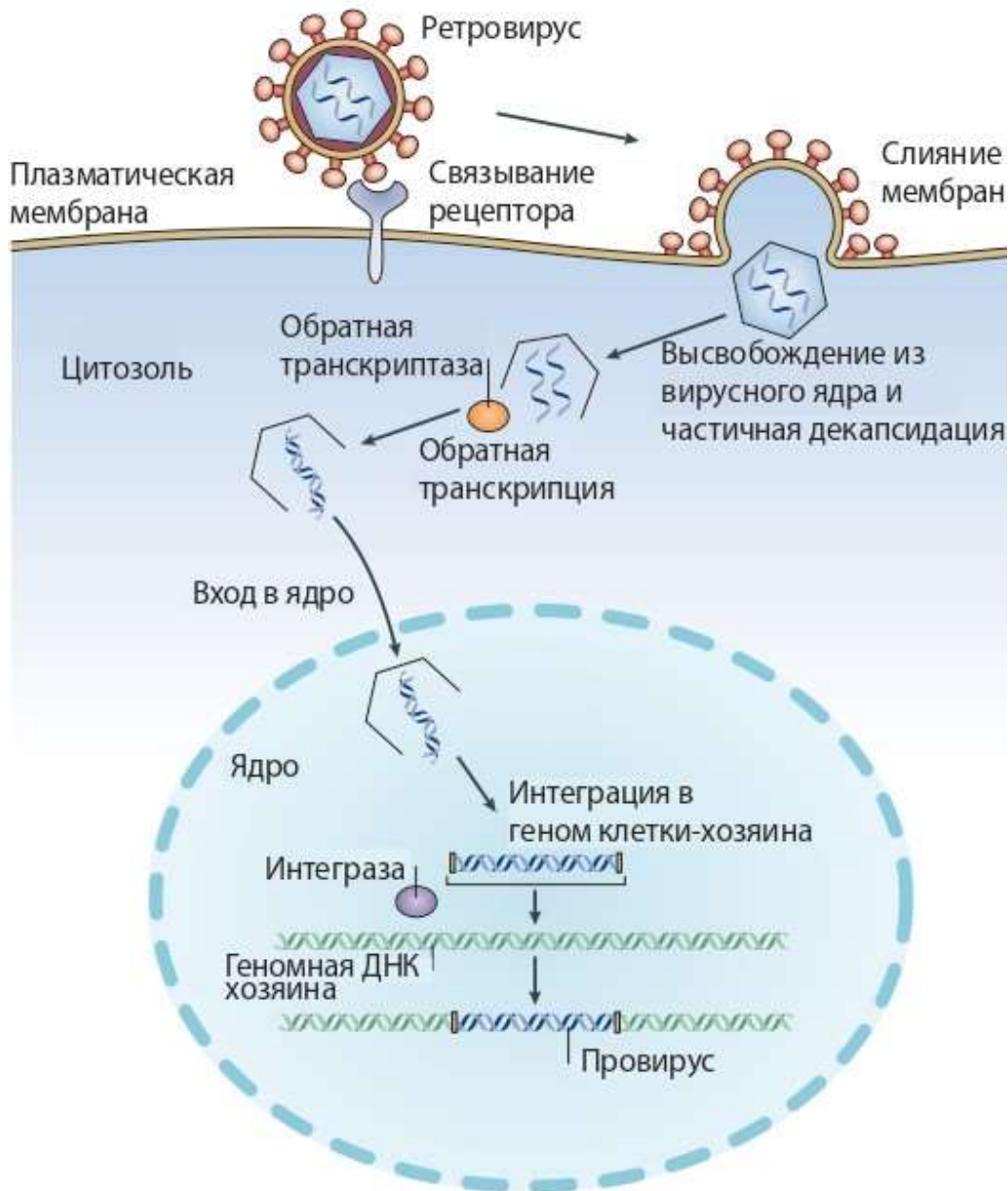
Консультант: ассистент ВШБСиТ А.А. Макашов

Работа выполнена в институте биомедицинских систем и биотехнологий

Введение

Работа направлена на исследование дестабилизации генома, что является ключевым фактором в возникновении ряда заболеваний, включая ожирение. Ретровирусы представляют особый интерес для исследования, поскольку они оказывают влияние на структуру генома не только человека, но и других млекопитающих.

Ретровирусы

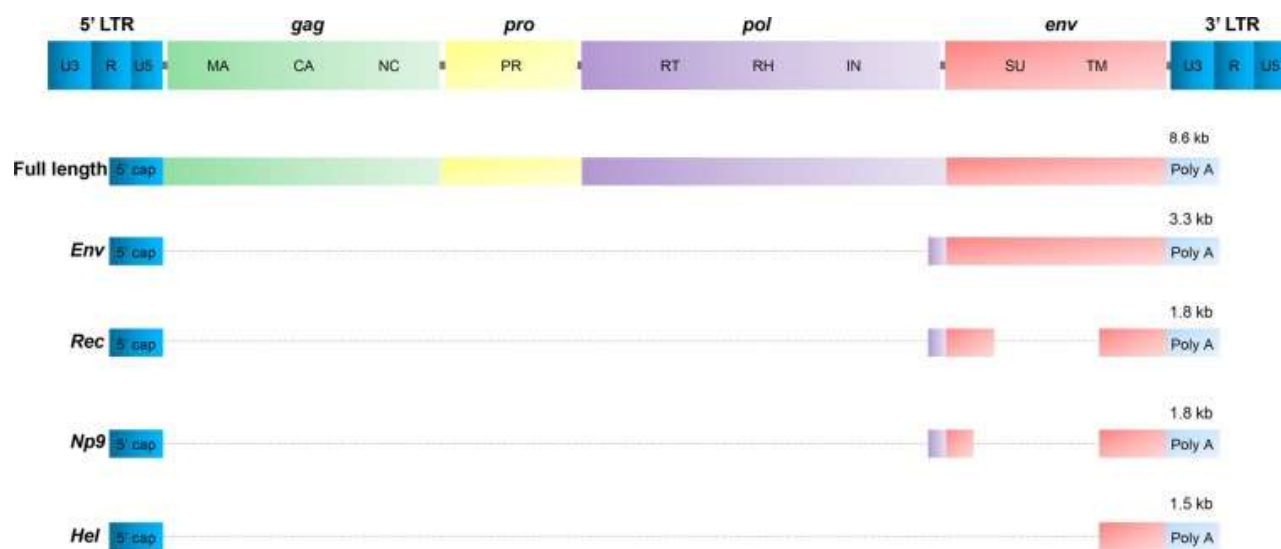


Эндогенные ретровирусы человека (HERV) представляют собой инсерции давних ретровирусных инфекций, которые составляют около 8% всего генома человека.

Жизненный цикл эндогенного ретровируса:
взаимодействие с рецептором на поверхности клетки; слияние мембран; высвобождение вирусного генетического материала и частичное удаление оболочки; обратная транскрипция; перемещение через цитоплазму и внедрение в ядро; интеграция в геном клетки с образованием провируса.

Геномные области gag, env и pol

Gag, env, и pol — это сокращенные наименования трех основных генов или геномных областей, заключенных между двумя длинными терминальными повторами (LTR), которые присутствуют в геноме ретровирусов, включая человеческие эндогенные ретровирусы.



- **gag (Group-specific antigen)** формирует оболочку вирусной частицы;
- **env (Envelope)** отвечает за прикрепление вируса к клеткам-хозяевам и слияние с их мембранами;
- **pol (Polymerase)** кодирует три фермента, необходимых для репликации вирусного генома: обратная транскриптаза, интеграз и РНК-зависимая РНК-полимераза.

Итак, на основании вышесказанного, данная работа важна для понимания эволюционной и функциональной роли ретровирусов в геноме человека и других млекопитающих.

Целью данной работы является определение уровней экспрессии эндогенных ретровирусов человека HERV-K HML10 в жировой ткани у пациентов с ожирением и без относительно эволюционной новизны ретровирусной вставки.

Задачи

1. Поиск последовательностей HERV-K HML-10 в геноме человека;
2. Поиск *env*, *gag* и *pol* в найденных последовательностях;
3. Филогенетический анализ обнаруженных элементов;
4. Анализ уровня экспрессии HERV-K HML-10 в жировой ткани у пациентов с ожирением (МКБ10 E66).

Базы данных и программы

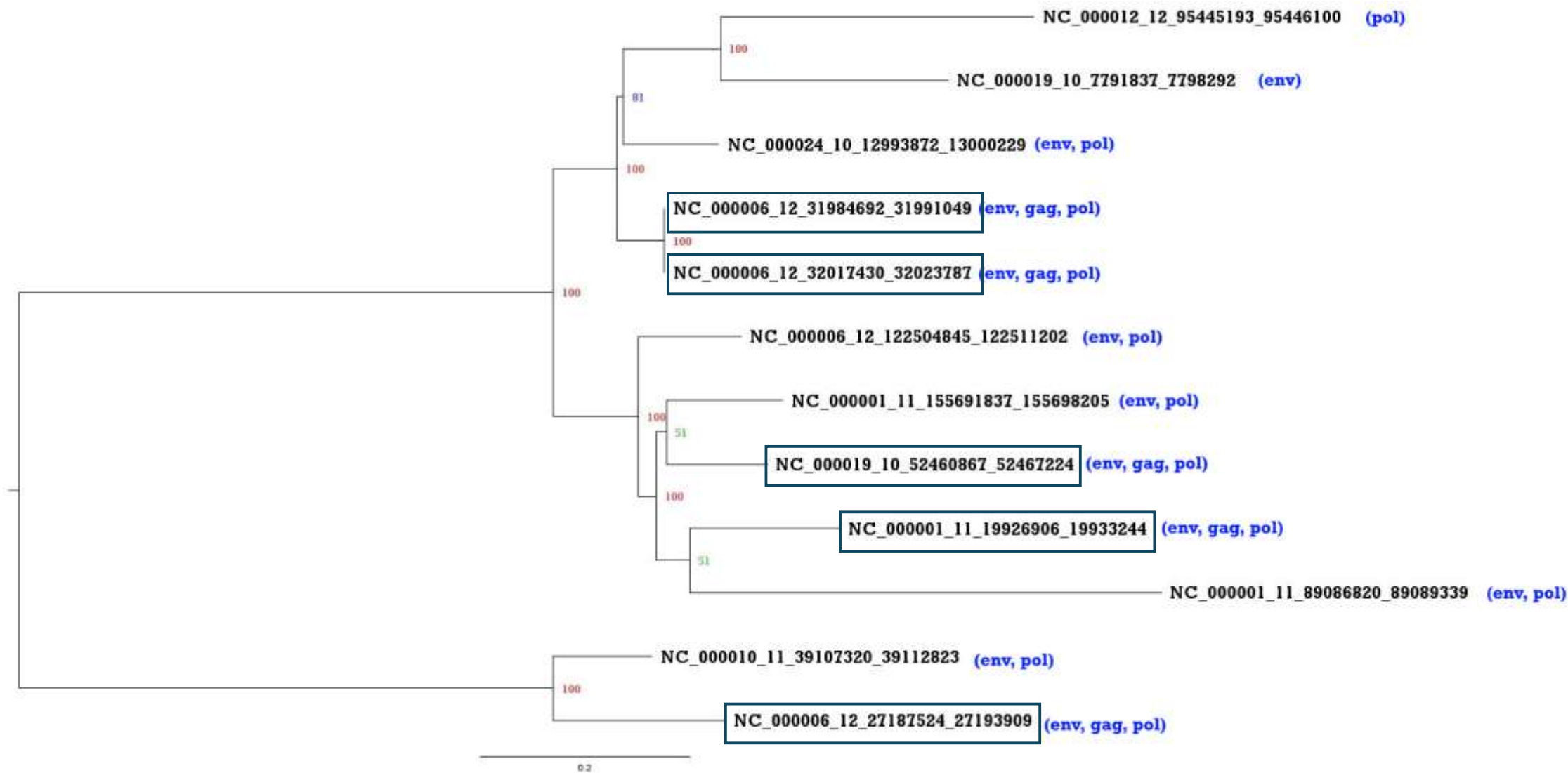
Базы данных:

- **Human Endogenous Retrovirus Database (HERVd)** – база ретровирусных элементов в геноме человека;
- **European Nucleotide Archive (Project: PRJNA238241)** – 7 транскриптомов жировой ткани сальника у людей с ожирением (МКБ10 E66) и без.

Программы:

- **HMMER** – это инструмент для парного выравнивания с использованием скрытых Марковских моделей;
- **Multiple Alignment using Fast Fourier Transform (MAFFT)** – программа для множественного выравнивания;
- **MrBayes** – программа для байесовской реконструкции филогенетических деревьев;
- **Situation – Task – Action – Result (STAR)** - программа для выравнивания ридов в геноме.

Филогенетическое дерево для ретровирусов семейства HERV-K (HML10)



Эволюционные отношения

В рамках следующего этапа исследования, целью было раскрыть эволюционную историю HML10 в геномах различных видов млекопитающих.

Обезьяны Старого Света:

Homo sapiens

Gorilla gorilla

Pongo abelii

Nomascus leucogenys

Macaca mulatta

Обезьяны Нового Света:

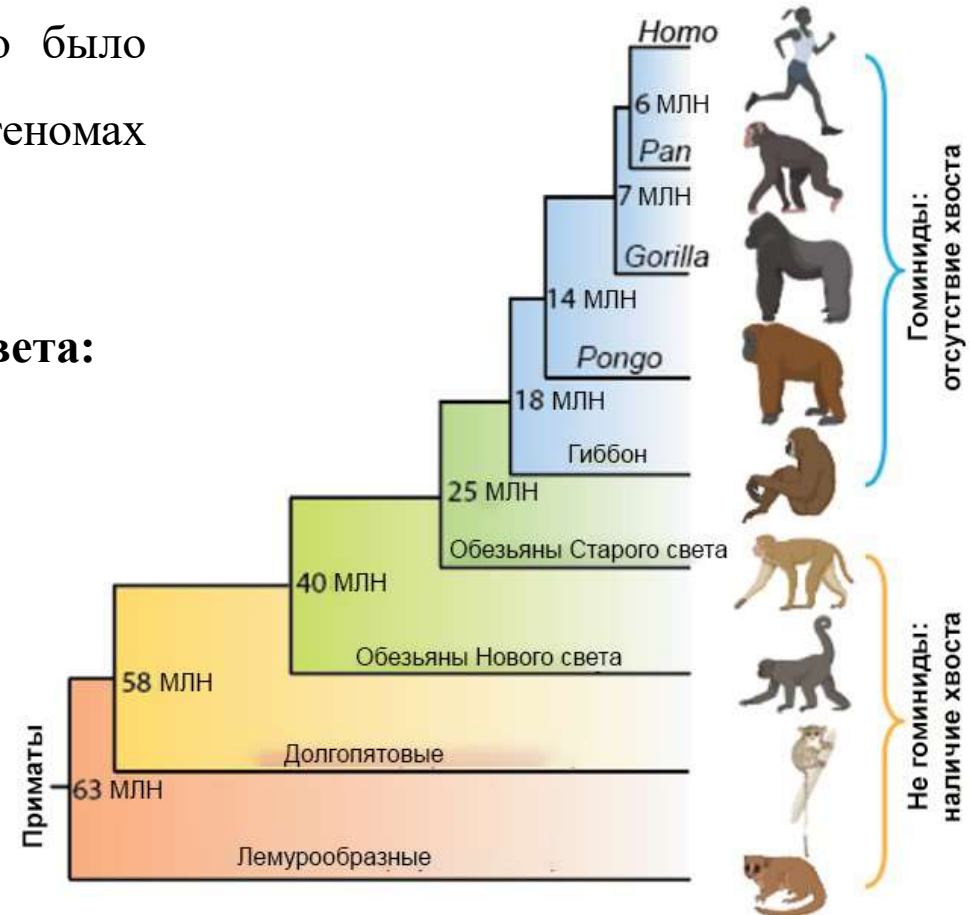
Callithrix jacchus

Грызуны:

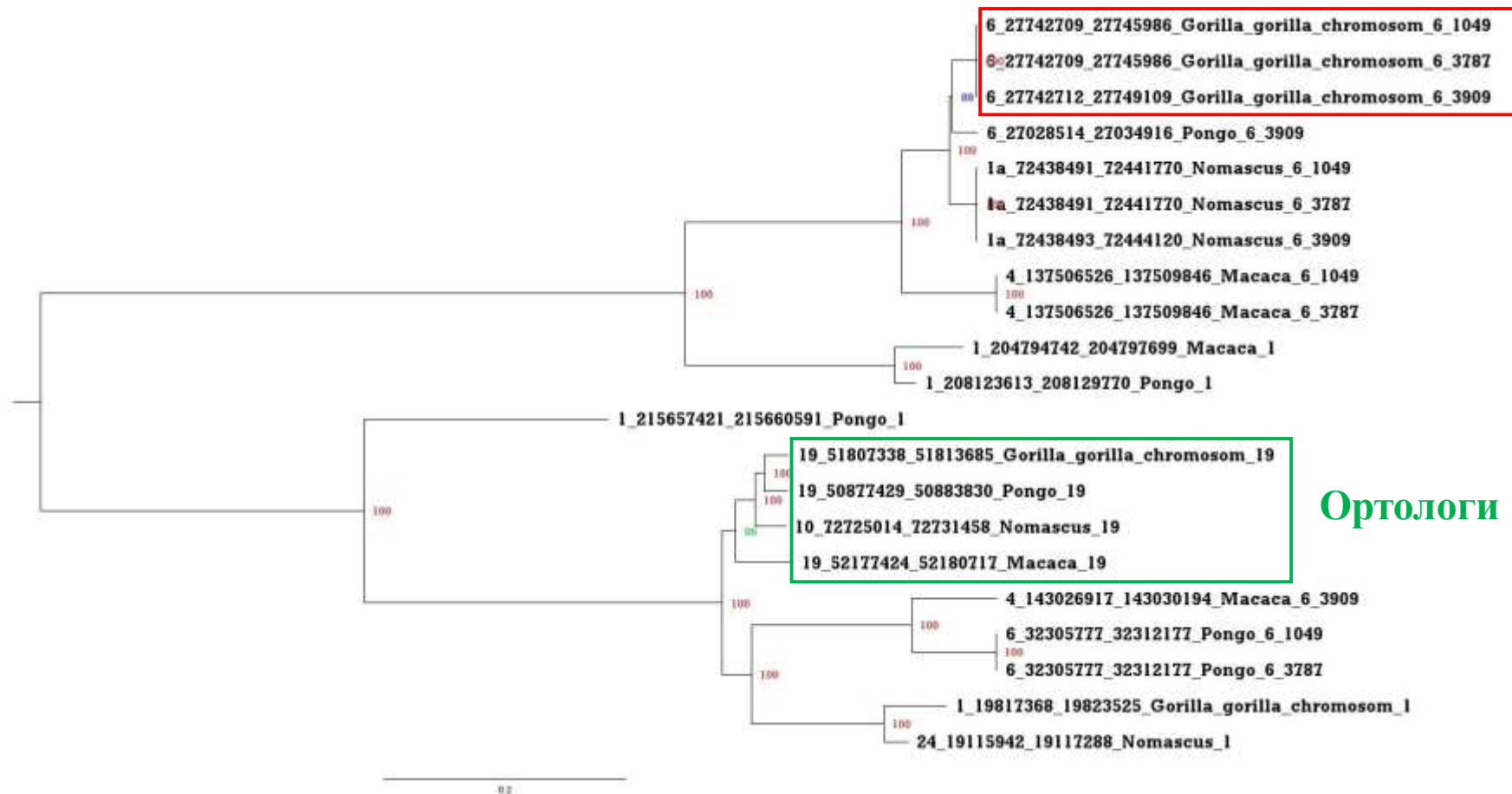
Mus musculus

Сумчатые:

Monodelphis domestica



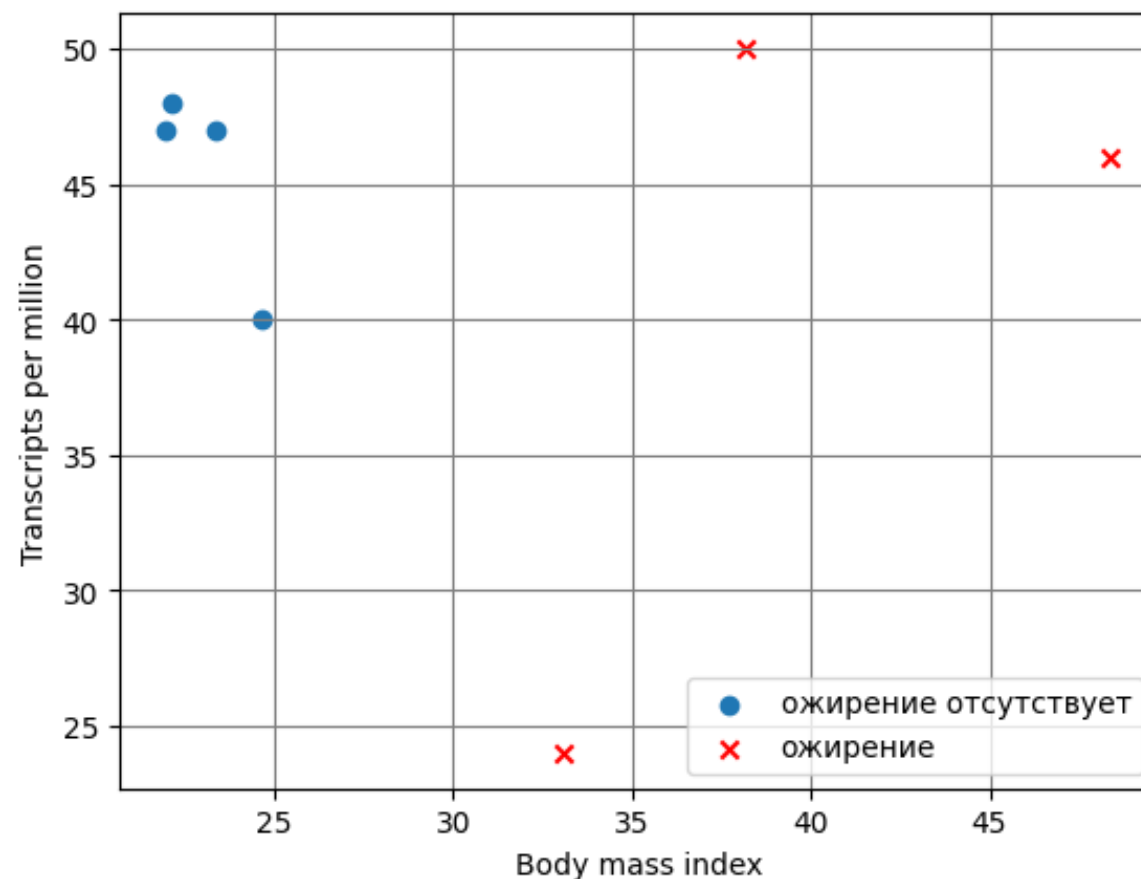
Филогенетическое дерево происхождения ретровируса HERV-K (HML10) в рамках эволюции приматов



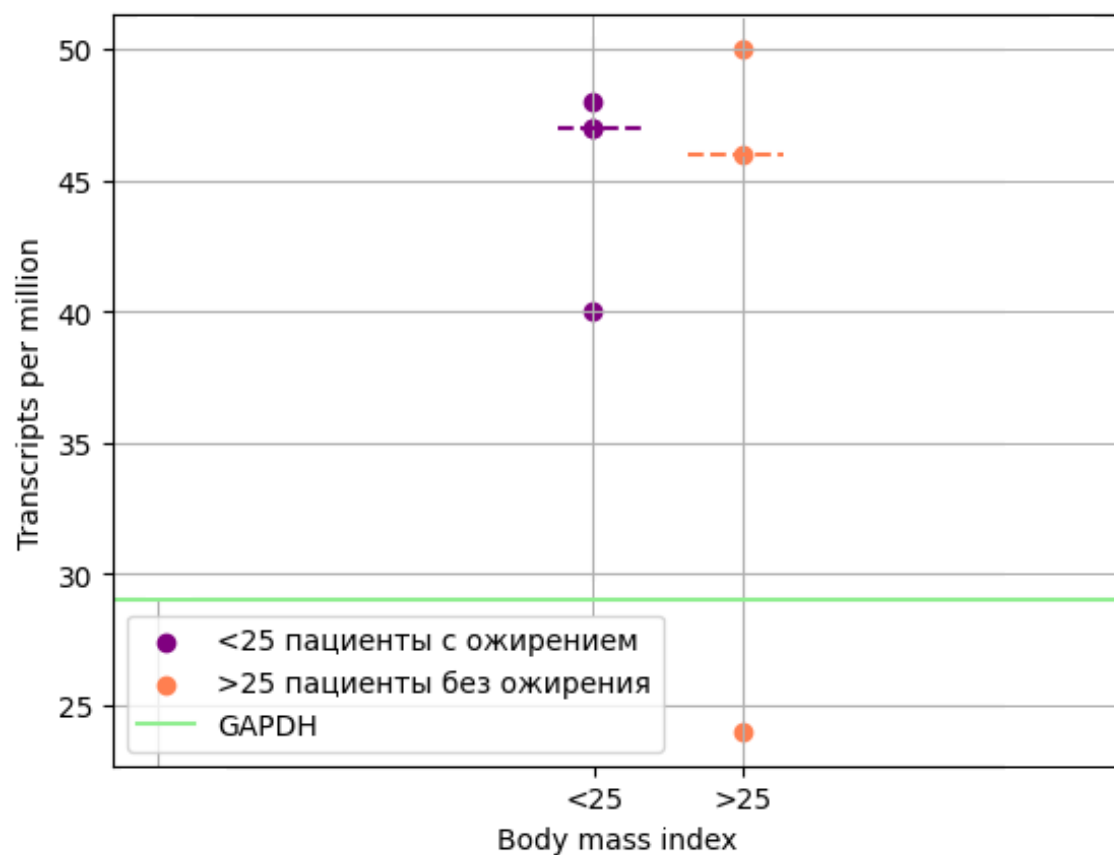
Соотношение между пациентами и уровнем экспрессии гена

Индекс массы тела	Пол	Возраст, годы	Уровень экспрессии гена HERV-K HML-10, Transcripts per million	GAPDH, Transcripts per million
24,67	Мужской	46	40	29
22,11	Женский	35	48	29
23,37	Женский	56	47	29
21,97	Женский	46	47	29
33,08	Женский	55	24	29
49,38	Мужской	26	46	29
38,19	Мужской	36	50	29

Диаграмма рассеивания для групп пациентов с ожирением и без



Медианные значения Transcripts per million для групп пациентов с ожирением и без



Для наглядного представления, что различий выраженности показателей в двух группах нет, используем **критерий Манна – Уитни**:

$$U_{ЭМП} = 5, Z=0.18, p=0.858$$

Вывод

1. Предок эндогенного ретровируса HERV-K (HML10) интегрировался в геном приматов порядка 25 миллионов назад.
2. Результаты исследования экспрессии ретровируса HERV-K (HML10) на имеющейся выборке не позволяют однозначно показать его роль в патогенезе ожирения (МКБ10 E66).