



# Анализ циркадного ритма биологических процессов в печени и почках мыши

Н.Л. Подкольный<sup>1, 2</sup>✉, Н.Н. Твердохлеб<sup>1, 3</sup>, О.А. Подкольная<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Институт вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

В статье представлены результаты исследования тканеспецифичности циркадных фазовых характеристик биологических процессов в печени и почках мыши. Основываясь на экспериментальных данных по суточной динамике уровня трансляции генов мыши из базы данных GEO (GSE67305 и GSE81283), полученных методом профилирования рибосом в печени и почках, мы провели сравнительный анализ транслятомонов в этих двух органах. Были выявлены гены, демонстрирующие выраженную суточную динамику трансляции (3358 генов в печени и 2938 в почках). Далее для двенадцати временных точек (ZT0–ZT22) в каждой ткани (печень, почки) были выделены группы генов, находящиеся в фазе с повышенным уровнем трансляции. В работе было принято, что ген находится в фазе с повышенным уровнем трансляции, если в данной временной точке его показатель профилирования рибосом для обеих реплик превышал среднесуточное значение показателя для этого гена. Наибольшее количество ритмичных генов в печени имеет повышенный уровень трансляции в начале темной фазы суток, соответствующей повышенной активности животных. В почках различия в распределении по времени суток числа генов, находящихся в фазе повышенного уровня трансляции, были менее выражены, а максимальное число таких генов наблюдалось с середины светлой фазы суток до середины темной. Был проведен анализ обогащения терминами GO категории Biological Process этих двенадцати групп генов в печени и почках. Среди процессов, ритмичность которых характерна как для печени, так и для почек, выявлены процессы, циркадные фазовые характеристики которых в этих тканях совпадают, и процессы, имеющие существенно различные временные фазовые паттерны. Также выявлены процессы со строгой тканеспецифичностью ритмической трансляции. Подход, использованный в нашей работе, позволяет проводить анализ органа/тканеспецифичности фазовых характеристик биологических процессов, а полученные результаты подчеркивают необходимость учитывать фазовые циркадные характеристики при сравнении особенностей протекания биологических процессов в различных органах.

Ключевые слова: циркадный ритм; трансляция; анализ обогащения терминами GO; тканеспецифичность; биологические процессы; фазовые характеристики.

## КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Подкольный Н.Л., Твердохлеб Н.Н., Подкольная О.А. Анализ циркадного ритма биологических процессов в печени и почках мыши. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(8):903-910. DOI 10.18699/VJ17.311

## HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Podkolodny N.L., Tverdokhle N.N., Podkolodnaya O.A. Analysis of the circadian rhythm of biological processes in mouse liver and kidney. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(8):903-910. DOI 10.18699/VJ17.311 (in Russian)

## Analysis of the circadian rhythm of biological processes in mouse liver and kidney

N.L. Podkolodny<sup>1, 2</sup>✉, N.N. Tverdokhle<sup>1, 3</sup>, O.A. Podkolodnaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Institute of Computational Mathematics and Mathematical Geophysics SB RAS, Novosibirsk

<sup>3</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

The paper presents the results of a study of the tissue-specificity of the circadian phase characteristics of biological processes in the mouse liver and kidneys. We performed a comparative analysis of the translatoemes in these two organs based on experimental data on the daily dynamics of the level of translation of mouse genes from the GEO database (GSE67305 and GSE81283) obtained by ribosome profiling. Genes with a pronounced daily dynamics of translation were revealed (3358 genes in the liver and 2938 in the kidneys). Further, for each of the 12 time points (ZT0–ZT22), for each tissue (liver, kidneys), groups of genes that were in a phase with an increased level of translation were identified. It was assumed that the gene is in a phase with an increased level of translation if at a given time point its ribosome profiling rate for both replicas exceeded the daily average value for this gene. The greatest number of rhythmic genes in the liver has an increased level of translation at the beginning of the dark phase of the day corresponding to increased animal activity. In the kidneys, the differences in the distribution of the number of genes in the phase of an elevated translation level by the time of day were less pronounced, and the maximum number of such genes was observed from the middle of the light phase of the day to the middle of the dark one. A statistical analysis of enrichment of Gene Ontology terms in these twelve gene groups in the liver and kidneys was performed. Analyzing the processes, the rhythmicity of which is typical of both liver and kidneys, we have identified the processes, the circadian phase characteristics of which in these tissues coincide and the processes having essentially different temporal phase patterns for these tissues. Processes with strict tissue-specific rhythmic translation have also been identified. The approach used in our work allows us to analyze the organo/tissue-specificity of the phase characteristics of biological processes, and the results emphasize the need to take into account the phase circadian characteristics when comparing the features of the course of biological processes in various organs.

Key words: circadian rhythm; translation; GO enrichment analysis; tissue specificity; biological processes; phase characteristics.

Циркадные часы являются одним из фундаментальных эволюционно консервативных механизмов, который координирует большую часть процессов, протекающих в живых организмах. В основе их лежит ритмичная экспрессия генов, формирование которой осуществляется как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне. Автономные клеточные циркадные осцилляторы обеспечивают ритмичность биологических процессов в каждой клетке. Синхронизация ритмических процессов на уровне организма осуществляется главным водителем циркадного ритма, локализованным в супрахиазматических ядрах (СХЯ) гипоталамуса. Предполагается, что автономный клеточный механизм циркадных часов, основанный на транскрипционно-трансляционных взаимосвязанных петлях обратных связей, синхронизирует ритмическую экспрессию мРНК широкого спектра генов в клетке (Takahashi, 2017). Это находит отражение в ритмических изменениях трансляции белков, их уровней активности и, в конечном счете, синхронизирует ритмику разнообразных клеточных функций и биологических процессов. Нарушение нормальных циркадных ритмов может привести к развитию серьезных патологий, включая рак, сердечно-сосудистые, нейродегенеративные, воспалительные заболевания и др. (Oishi et al., 2005; Cao et al., 2009; McCarthy, Welsh, 2012; Kettner et al., 2014; Fang et al., 2015; Labrecque, Cermakian, 2015; Sundar et al., 2015).

Известно, что суммарно не менее сорока процентов от всех белок-кодирующих генов организма млекопитающих проявляют циркадные осцилляции по меньшей мере в одном органе на уровне мРНК (Zhang et al., 2014). Отмечают также наличие органо/тканеспецифичности циркадной ритмики экспрессии генов (Zhang et al., 2014; Laing et al., 2015). В то же время показано координирование фаз ритмов экспрессии генов, участвующих в одном биологическом пути в различных органах. Примером могут служить гены, экспрессирующиеся в печени и мышцах, продукты которых участвуют в регуляции уровня глюкозы в крови. Фазы экспрессии этих генов координируются таким образом, чтобы облегчить регуляцию уровня глюкозы в крови (Harfmann et al., 2015).

Циркадная синхронизация функционирования генетических и метаболических сетей, путей передачи сигналов и т. д. может осуществляться не только на уровне транскрипции, но и на уровне трансляции, посттранскрипционной и посттрансляционной модификации (Kojima et al., 2012; Menet et al., 2012; Morf et al., 2012; Beckwith, Yanovsky, 2014; Lück et al., 2014; Nolte, Staiger, 2015). Оказалось, что только у относительно небольшой части генов ритмический характер экспрессии наблюдается на уровне транскрипции и не всегда ему соответствует ритмический характер экспрессии кодируемых ими белков (Koike et al., 2012; Menet et al., 2012), и наоборот. Например, в печени, по разным оценкам, от 20 до 50 % белков, демонстрирующих суточный ритм, кодируются неритмичными мРНК (Reddy et al., 2006; Mauvoisin et al., 2014; Robles et al., 2014). Появление методов исследования транслятома (всей совокупности фрагментов мРНК, транслируемых в определенный момент) позволяет не только лучше понять роль трансляционной и посттрансляционной регуляции

в функционировании циркадных часов организма, но и выявить их связь с суточной динамикой биологических процессов, физиологических характеристик и поведения. Поскольку корреляция данных протеома и транслятома выше, чем протеома и транскриптома, можно рассматривать транслятом как более точную оценку уровня экспрессии генов (Smircich et al., 2015). Это кажется тем более верным, что именно белки являются функциональными единицами в клетке, в отличие от мРНК, которые в данном случае можно рассматривать как промежуточные звенья (Robles, Mann, 2013).

В настоящей работе мы провели сравнительный анализ транслятомов печени и почек мыши, представленных в исследованиях (Janich et al., 2015; Castelo-Szekely et al., 2017), выявили гены, имеющие выраженную суточную динамику трансляции, определили периоды времени, когда она достигает максимального уровня. Это позволило провести исследование тканеспецифичности фазовых характеристик биологических процессов в течение суток на основе функционального анализа ГО.

## Материалы и методы

В исследовании мы использовали данные, полученные методом профилирования рибосом при изучении транслятома печени и почек мыши, представленные в работах группы David Gatfield (Janich et al., 2015; Castelo-Szekely et al., 2017) (GSE67305 и GSE81283 в базе данных GEO). В настоящее время метод профилирования рибосом находит все более широкое применение для решения широкого круга задач, связанных с изучением механизмов регуляции трансляции в живой клетке. В частности, этот подход обеспечивает информацию о транслируемых мРНК и их трансляционной активности в определенный момент времени *in vivo* (Ingolia, 2014). Мыши (самцы линии C57BL/6 возраста 12 недель) содержались в течение двух недель в условиях свето-темнового режима (12 ч свет/12 ч темнота). Затем мышей забивали через каждые 2 ч в течение 24-часового суточного цикла (12 временных точек (ZT0–ZT22), где ZT0 – включение света, ZT12 – выключение света). Для дальнейших исследований у животных забивали печень и почки с целью проведения экспериментов по профилированию рибосом в каждой ткани (Janich et al., 2015; Castelo-Szekely et al., 2017). Таким образом, для каждой временной точки в двух независимых репликах эксперимента были получены значения показателя профилирования рибосом анализируемых генов, которые мы использовали в нашем исследовании.

Идентификация генов, демонстрирующих циркадную ритмику трансляции, была осуществлена методом, основанным на комбинации критерия, используемого в программе eJTK\_CYCLE (empP < 0.05) (Hughes et al., 2010; Hutchison et al., 2015), с последующим анализом разброса измерений в каждой временной точке суточного ритма для выявления устойчивых паттернов экспрессии, воспроизводимых в каждом суточном цикле наблюдения для нескольких реплик (в нашем случае две реплики). Показатель empP в программе eJTK\_CYCLE соответствует эмпирической оценке уровня значимости (*p-value*) с учетом множественности выбора, полученной путем имитационного моделирования (Hutchison et al., 2015).

Ритмичный ген должен также удовлетворять дополнительным условиям: 1) амплитуда колебаний уровня показателя профилирования рибосом гена должна быть не менее 20 % от его среднего значения за сутки; 2) хотя бы для одной временной точки показатель профилирования рибосом в обеих репликах должен превышать его среднесуточное значение. В нашем исследовании принимается, что ген находится в фазе с повышенным уровнем трансляции, если в данной временной точке показатель профилирования рибосом этого гена для обеих реплик превышал его среднесуточное значение для этого гена.

Анализ обогащения терминами GO групп генов проведен с использованием биоинформационного ресурса DAVID (Huang et al., 2009). Для оценки достоверности использовали критерий Бенджамини с поправкой на множественность выбора ( $p < 0.05$ ).

## Результаты и обсуждение

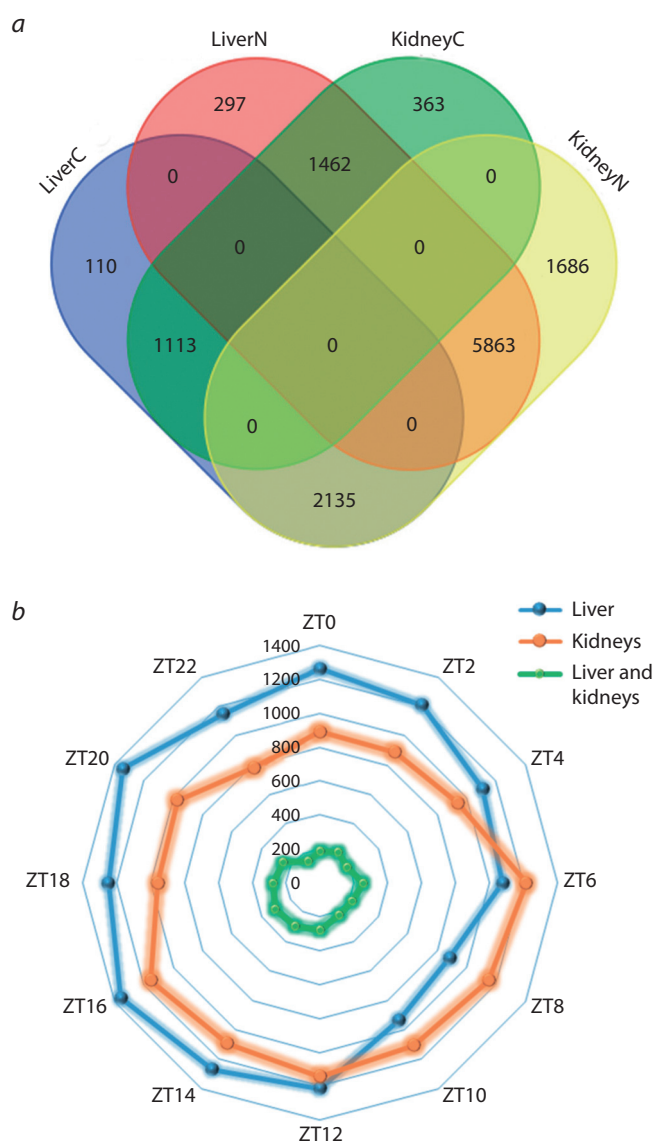
### Выделение групп ритмичных генов

Анализ экспериментальных данных по экспрессии генов (уровень трансляции), полученных методом профилирования рибосом, показал, что из общего числа генов, экспрессирующихся в почках и печени, 10573 оказались общими для двух органов, 407 уникальны для печени, 2049 – для почек (рис. 1).

На первом этапе работы мы выявили гены, демонстрирующие циркадный ритм трансляции, оцениваемый по величине показателя профилирования рибосом, в печени и почках. В дальнейшем будем называть такие гены ритмичными. Количество выявленных генов с ритмичным характером трансляции составляет: 3358 из 10980, экспрессирующихся в печени, и 2938 из 12622 в почках (см. рис. 1, а). Так же, как и в исследовании (Castelo-Szekely et al., 2017), в печени количество ритмичных генов оказалось выше, чем в почках.

Согласно нашим результатам, процентное содержание ритмичных генов составляло 30 % в печени и 23 % в почках и оказалось выше, чем в исследованиях (Janich et al., 2015; Castelo-Szekely et al., 2017) – 17 и 8 % соответственно. Это можно объяснить различием подходов и критериев, использованных для выявления ритмичных генов, что определяется особенностями задач, поставленных в наших исследованиях. Отметим, кроме того, что в литературе упоминаются существенные различия числа ритмичных генов, выявленных разными экспериментальными и математическими методами. Например, с использованием микрочипов одними исследователями выявлено 335 ритмичных генов в печени (Panda et al., 2002), а другими – 2828 (Eckel-Mahan et al., 2012). Методом RNA-seq в этом же органе выявлено 1160 (Vollmers et al., 2009) и 4544 (Atger et al., 2015) ритмичных гена.

Исходной посылкой для нашего исследования является то, что ритмичные гены с высокой вариабельностью уровня экспрессии в определенной ткани в течение суток можно рассматривать для этой ткани как время-специфические гены, экспрессия которых в определенные периоды суток увеличивается для выполнения специфических функций в конкретных биологических процессах и динамика активности которых может иметь циркадный характер.



**Fig. 1.** (a) A Venn diagram illustrating overlaps of the sets of cyclic and noncyclic genes expressed in the liver (LiverC and LiverN, respectively) and in kidneys (KidneyC and KidneyN). (b) A circle diagram of the distribution of genes in the elevated translation state at certain timepoints of the circadian cycle in the liver, kidneys, and both.

Для наших целей важно выделить группу генов, которые воспроизводят цикличность экспрессии (трансляции) с периодом 24 ч. При отборе ритмичных генов мы использовали не только критерии циркадности, но и дополнительные критерии отбора, которые и позволили выявить гены с высокой относительной амплитудой уровня трансляции (см. раздел Материалы и методы).

На диаграмме Венна (см. рис. 1, а) представлены пересечения множеств выделенных нами ритмичных и неритмичных генов в печени и почках. Общее число анализируемых генов в печени ( $\text{LiverC} \cup \text{LiverN}$ ) – 10980, в почках ( $\text{KidneyC} \cup \text{KidneyN}$ ) – 12622. Из них в печени ритмичны 3358 генов (LiverC), неритмичны – 7622 гена (LiverN); в почках ритмичны 2938 генов (KidneyC), не-



ритмичны – 9684 гена (KidneyN); 1113 генов ритмичны в обоих органах (LiverC  $\cap$  KidneyN).

Для конкретных ритмичных генов были выявлены временные интервалы, соответствующие их фазам повышенной экспрессии (трансляции). Это позволило сформировать группы генов, находящихся в фазе повышенной экспрессии, для каждой из 12 исследованных временных точек суточного цикла.

На следующем этапе работы мы задались вопросом, как распределено по времени суток число генов, входящих в эти группы в печени и почках. Фазовые гистограммы, описывающие это распределение, представлены на рис. 1, б. В печени максимальное количество генов находится в фазе повышенной экспрессии (трансляции) в период, соответствующий ZT14–ZT20, минимальное – в период времени ZT8–ZT10.

В целом этот результат не противоречит данным (Janich et al., 2015), показавшим при более жестких условиях отбора ритмичных генов, что акрофаза (максимальное значение) ритма трансляции в печени приходится на ZT15–ZT16. Таким образом, наибольшее количество ритмичных генов в фазе повышенной экспрессии наблюдается в печени в начале темной фазы суток, соответствующей повышенной активности животных, а минимальное – в конце светлой, в период покоя, предшествующий переходу к активной фазе. В почках различия на протяжении суток были менее выражены, а максимум числа генов в фазе повышенной трансляции наблюдался с середины светлой фазы суток до середины темной (ZT6–ZT16), что соответствует результатам работы (Castelo-Szekely et al., 2017), в которой исследовались циркадные ритмы эффективности трансляции.

Максимальные числа генов в фазе с повышенной экспрессией (трансляцией) одновременно и в почках, и в печени наблюдаются в период ZT14–ZT16, что совпадает с пересечением временных периодов с максимальным количеством таких генов для печени и почек. Таким образом, в этот период в печени и почках задействовано большое число одних и тех же генов, которые, по-видимому, участвуют в регуляции сходных биологических процессов в этих тканях.

#### **Функциональный анализ генов с ритмичным типом трансляции**

Анализ обогащения терминами GO категории Biological Process (BP\_DIRECT) был проведен в группах генов с ритмичной трансляцией в печени и почках. Каждая из групп демонстрирует обогащение как специфическими терминами GO, так и терминами, характерными для обеих групп. Среди общих можно отметить ожидаемые термины *rhythmic process*, *circadian regulation of gene expression*, *circadian rhythm*, что может служить подтверждением правильности формирования групп ритмичных генов (см. таблицу). Остальные термины из этого списка также не имеют органной специфичности и касаются процессов транспорта, транскрипции, процессинга мРНК, ответа на стресс эндоплазматического ретикулума и др.

Проведенный анализ позволил выявить общие термины GO, которыми обогащены группы ритмичных генов печени и почек. Однако остается неясным, насколько

такое функциональное сходство объясняется совпадением множеств генов в печени и почках, дающих вклад в обогащение термином GO.

Функциональный GO анализ обогащения терминами категории Biological Process показал, что термины, являющиеся «общими» для ритмичных генов печени и почек, также в значительной степени и с высокой достоверностью представлены в группе генов, соответствующих пересечению множеств ритмичных генов печени и почек (см. таблицу). Данное наблюдение может свидетельствовать о высоком вкладе в уровень обогащения указанными терминами GO группы генов, имеющих повышенную трансляцию как в печени, так и в почках.

Таким образом, можно отметить, что биологические процессы из рассмотренного выше списка не являются тканеспецифичными ни для печени, ни для почек и, вероятно, ритмичны в обоих органах. В то же время орган/тканеспецифичность их фазовых характеристик требует дальнейшей проверки. На это же указывают результаты работы (Castelo-Szekely et al., 2017), свидетельствующие о существенном различии фазовых характеристик эффективности трансляции в печени и почках.

#### **Фазовые характеристики обогащения терминами GO категории Biological Process в группах ритмичных генов печени и почек**

На следующем этапе работы мы задались вопросом о сходстве или различии фазовых характеристик обогащения терминами категории Biological Process групп ритмичных генов, выявленных в печени и почках.

Для каждой из 12 временных точек (ZT0–ZT22) были выявлены группы генов, находящихся в фазе, характеризующейся повышенным уровнем экспрессии (трансляции). Формирование групп генов было осуществлено так, что для каждого гена, входящего в конкретную временную группу, его показатель профилирования рибосом для обеих реплик в указанной временной точке превышал среднесуточное значение. GO анализ обогащения этих 12 групп генов терминами категории Biological Process был проведен для каждой ткани (печень и почки).

Сначала мы сосредоточились на биологических процессах, которые оказались «общими» для печени и почек (см. таблицу). При этом мы предполагали, что наличие циркадной динамики обогащения терминами определенных биологических процессов можно рассматривать как свидетельство ритмичности этих процессов.

Оказалось, что фазы обогащения некоторыми терминами этой категории совпадают или частично перекрываются для генов печени и почек. Примером таких совпадений могут служить термины *rhythmic process*, *response to unfolded protein*, *lipid metabolic process* (рис. 2). Фазовые характеристики других могут существенно различаться, как в случае термина *fatty acid metabolic process*. Также можно отметить термины, обогащение которыми в группах генов одного органа проявляет циркадную динамику, а другого – нет. Примером таких терминов является *cell-cell adhesion*, *cellular response to insulin stimulus* (см. рис. 2).

Дальнейший анализ касался терминов категории Biological Process, обогащение которыми не является «об-

## GO terms of the Biological Process category overrepresented in groups of cyclic genes in the liver and kidneys

Terms	Liver, <i>p</i> -value	Kidneys, <i>p</i> -value
*GO:0048511~rhythmic process	8.07E-05	11.04E-08
*GO:0032922~circadian regulation of gene expression	9.90E-04	1.35E-07
*GO:0006457~protein folding	1.10E-05	2.71E-07
*GO:0006629~lipid metabolic process	1.34E-09	3.13E-08
*GO:0007623~circadian rhythm	7.41E-04	8.68E-07
*GO:0034976~response to endoplasmic reticulum stress	0.00258	3.74E-05
*GO:0006397~mRNA processing	1.22E-05	4.59E-09
*GO:0016310~phosphorylation	3.69E-06	2.54E-05
*GO:0008380~RNA splicing	1.23E-04	9.21E-07
*GO:0006986~response to unfolded protein	5.66E-05	0.0127
*GO:0006631~fatty acid metabolic process	3.73E-06	1.03E-05
*GO:0006810~transport	4.09E-12	1.05E-15
*GO:0055114~oxidation-reduction process	2.94E-13	0.0288
GO:0098609~cell-cell adhesion	5.63E-07	0.0019
GO:0015031~protein transport	1.65E-05	4.79E-05
GO:0006914~autophagy	1.30E-04	0.0178
GO:0006915~apoptotic process	4.32E-04	0.018
GO:0045944~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	0.01428	0.0188
GO:0032869~cellular response to insulin stimulus	0.00129	0.0296

*p*-value calculated with the Benjamini correction for multiple choice.

\* GO terms found to be overrepresented in the group of cyclic genes shared by both organs.

щим» для ритмичных генов печени и почек, а также не выявлено в группах генов печени и почек по отдельности, но обнаружено при анализе циркадной динамики обогащения в одной или нескольких временных точках. Так, известно, что один из процессов – метаболизм фруктозы, осуществляется преимущественно в печени. Обогащение термином *fructose metabolic process* не наблюдается в группе ритмичных генов почек и группе общих генов, но выявлено в группе ритмичных генов печени в период ZT14–ZT16 при анализе циркадной динамики обогащения этим термином (см. рис. 2). Для терминов *cholesterol metabolic process* и *cholesterol biosynthetic process* обогащение выявлено только в группах ритмичных генов печени в период ZT20–ZT22 (см. рис. 2).

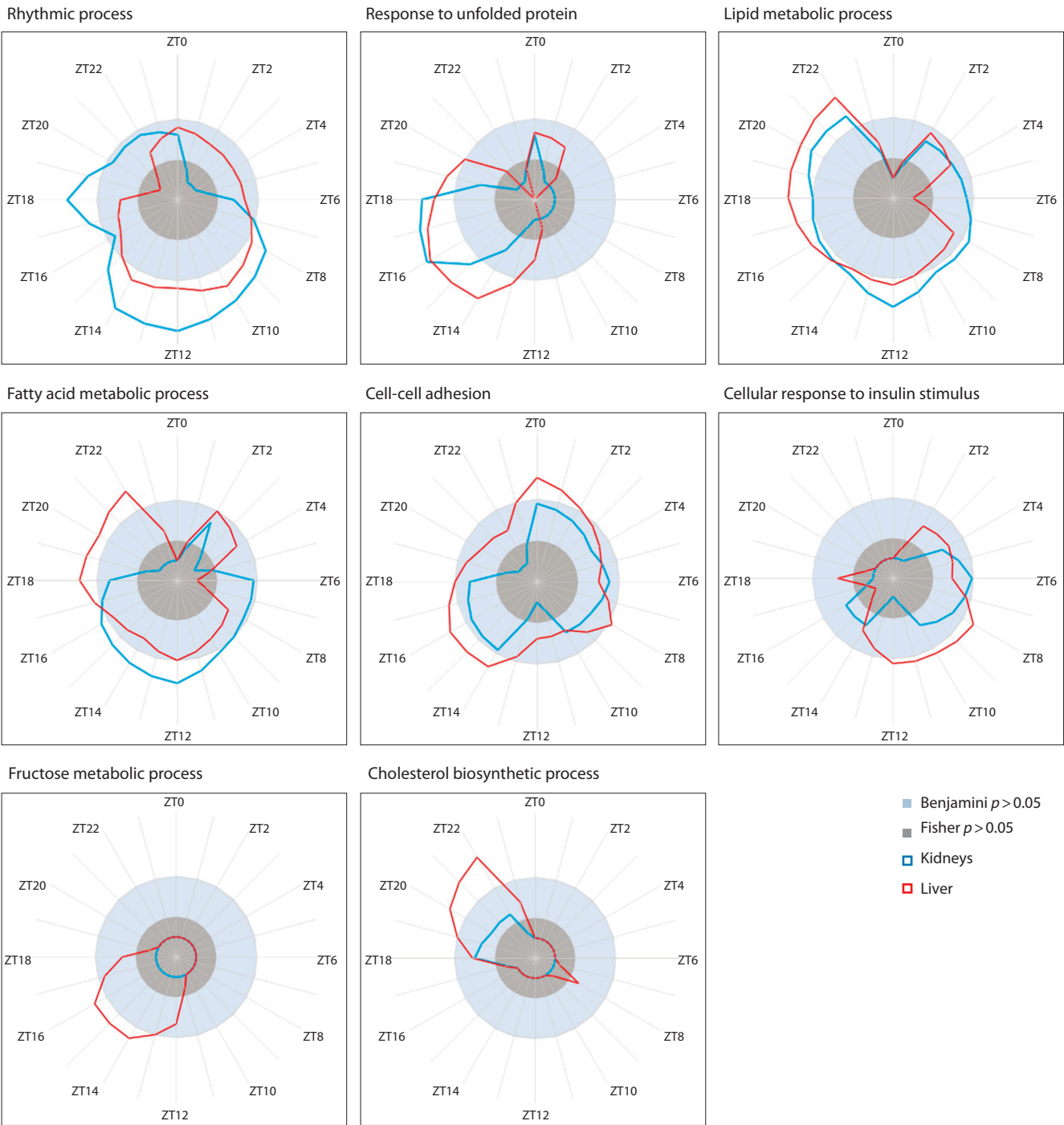
Можно предполагать, что сходство фазовых характеристик биологических процессов в двух органах является отражением существования некоторого единого координирующего воздействия. Ранее было отмечено, что для большинства генов именно ритмическая транскрипция преимущественно управляет ритмическим накоплением мРНК и их трансляцией, во всяком случае в печени (Atger et al., 2015), тогда как эффективность трансляции скорее модулирует экспрессию в направлении большего ее межорганного сходства на уровне биосинтеза белка (Castelo-Szekely et al., 2017).

С этой точки зрения в качестве источника координирующего воздействия можно рассматривать синхронизирующие сигналы центральных циркадных часов организма

(супрахиазматических ядер гипоталамуса (СХЯ)), которые через различного рода посредников передаются к периферическим органам. Показано также координирующее воздействие циркадных часов на процессы трансляции в печени за счет их влияния на процессы биогенеза рибосом, максимум которого приходится на начало темной фазы суток (Jouffe et al., 2013).

В то же время различие фаз биологических процессов в различных органах может определяться специфическими для данной ткани или органа синхронизирующими сигналами, важными для выполнения основных функций данного органа, исходящими из других источников. Влияние таких сигналов может проявляться на различных уровнях регуляции экспрессии гена. Это находит подтверждение в исследовании (Atger et al., 2015), показавшем, что режим питания является синхронизирующим сигналом, определяющим ритм трансляции генов в печени, уровень мРНК которых не демонстрирует циркадного ритма. Отмечено также, что, хотя механизмы автономных клеточных циркадных осцилляторов в различных органах имеют практически одинаковый молекулярный состав, наличие органоспецифических особенностей регуляции эффективности трансляции их компонентов может позволить осуществлять настройку специфических для данного органа процессов в соответствии с его основными функциями (Castelo-Szekely et al., 2017).

В настоящее время помимо циркадных часов СХЯ, датчиком времени (*Zeitgeber*) для которых служит свет,



**Fig. 2.** Circadian variation of the enrichment of the Biological Process category with GO terms in groups of cyclic genes in the liver and kidneys.

описаны и другие, хотя их изучение затруднительно и находится в самом начале пути. К ним, например, относятся осцилляции, обусловленные пищей (food entrainable oscillator – FEO), физической активностью и другими сигналами-синхронизаторами (Blum et al., 2012; Pendergast, Yamazaki, 2014; Flóres et al., 2016). Эти неканонические осцилляторы могут участвовать в регуляции циркадных ритмов, конкурируя в определенных ситуациях за влияние на синхронизацию определенных процессов с центральным циркадным осциллятором СХЯ.

**Заключение**

Изучение тканеспецифических особенностей циркадных ритмов экспрессии генов – одна из важных проблем современной хронобиологии. Такого рода знания позволяют по-новому взглянуть на некоторые задачи в области физиологии, медицины, хронотерапии, хронофармакологии и т. д. Использование данных профилирования рибосом предоставляет дополнительные возможности в исследовании циркадной регуляции трансляции и ее роли в формировании тканеспецифической циркадной ритмики



биологических процессов. В настоящей работе мы провели сравнительный анализ циркадных транслятомов печени и почек мыши, представленных в исследованиях (Janich et al., 2015; Castelo-Szekely et al., 2017), выявили группы генов, имеющих выраженную суточную динамику трансляции, определили периоды времени, когда эти гены находятся в фазе с повышенным уровнем экспрессии (трансляции) в каждом из органов.

В результате были получены распределения ритмично транслируемых генов по времени их повышенной экспрессии в течение 24-часового цикла. В печени максимальное число генов транслируется на высоком уровне в начале темной фазы суток. В почках эти различия выражены меньше, и максимум приходится на период с середины светлой до середины темной фазы суток.

Анализ фазовых характеристик обогащения терминами GO категории Biological Process в группах ритмичных генов печени и почек показал, что некоторые процессы, например *response to unfolded protein* и *lipid metabolic process*, не только ритмичны в обоих органах, но и имеют близкие фазовые характеристики. В то время как ряд других биологических процессов (такие как *cell-cell adhesion* и *cellular response to insulin stimulus*) проявляет строгую тканеспецифичность ритмичности, т.е. процессы, проявляющие ритмичность в одном органе, оказываются неритмичными в другом.

Таким образом, ритмичные гены с высокой амплитудой экспрессии можно рассматривать для определенной ткани как времяспецифические гены, которые имеют повышенную экспрессию в определенные периоды суток для выполнения специфических функций в конкретных биологических процессах. Этот подход позволяет проводить анализ органа/тканеспецифичности фазовых характеристик биологических процессов, а полученные результаты подчеркивают необходимость учитывать фазовые циркадные характеристики при сравнении особенностей протекания биологических процессов в различных органах.

## Acknowledgments

This work was supported by State Budgeted Project 0324-2016-0008.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

Atger F., Gobet C., Marquis J., Martin E., Wang J., Weger B., Lefebvre G., Descombes P., Naef F., Gachon F. Circadian and feeding rhythms differentially affect rhythmic mRNA transcription and translation in mouse liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015;112(47):E6579-E6588. Epub 2015; Nov 9. DOI 10.1073/pnas.1515308112.

Beckwith E.J., Yanovsky M.J. Circadian regulation of gene expression: at the crossroads of transcriptional and post-transcriptional regulatory networks. *Curr. Opin. Gene Dev.* 2014;27:35-42. DOI 10.1016/j.gde.2014.03.007.

Blum I.D., Lamont E.W., Abizaid A. Competing clocks: metabolic status moderates signals from the master circadian pacemaker. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2012;36(1):254-270. Epub 2011; Jun 12. DOI 10.1016/j.neubiorev.2011.06.003.

Cao Q., Gery S., Dashti A., Yin D., Zhou Y., Gu J., Koeffler H.P. A role for the clock gene *Per1* in prostate cancer. *Cancer Res.* 2009;69(19):7619-7625.

Castelo-Szekely V., Arpat A.B., Janich P., Gatfield D. Translational contributions to tissue specificity in rhythmic and constitutive gene expression. *Genome Biol.* 2017;18(1):116. PMID: 28622766Ko.

Eckel-Mahan K.L., Patel V.R., Mohny R.P., Vignola K.S., Baldi P., Sassone-Corsi P. Coordination of the transcriptome and metabolome by the circadian clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012;109(14):5541-5546. Epub 2012; Mar 19. DOI 10.1073/pnas.1118726109.

Fang L., Yang Z., Zhou J., Tung J.Y., Hsiao C.D., Wang L., Deng Y., Wang P., Wang J., Lee M.H. Circadian clock gene *CRY2* degradation is involved in chemoresistance of colorectal cancer. *Mol. Cancer Ther.* 2015;14(6):1476-1487.

Flóres D.E., Bettilyon C.N., Yamazaki S. Period-independent novel circadian oscillators revealed by timed exercise and palatable meals. *Sci. Rep.* 2016;6:21945. DOI 10.1038/srep21945.

Harfmann B.D., Schröder E.A., Esser K.A. Circadian rhythms, the molecular clock, and skeletal muscle. *J. Biol. Rhythms.* 2015;30(2):84-94. Epub 2014; Dec 15. DOI 10.1177/0748730414561638.

Huang D.W., Sherman B.T., Lempicki R.A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat. Protoc.* 2009;4:44-57.

Hughes M.E., Hogenesch J.B., Kornacker K. JTK\_CYCLE: an efficient nonparametric algorithm for detecting rhythmic components in genome-scale data sets. *J. Biol. Rhythms.* 2010;25(5):372-380. DOI 10.1177/0748730410379711.

Hutchison A.L., Maienschein-Cline M., Chiang A.H., Ali Tabei S.M., Gudjonson H., Bahroos N., Allada R., Dinner A.R. Improved statistical methods enable greater sensitivity in rhythm detection for genome-wide data. *PLoS Comput. Biol.* 2015;11(3):e1004094. DOI 10.1371/journal.pcbi.1004094.

Ingolia N.T. Ribosome profiling: new views of translation, from single codons to genome scale. *Nat. Rev. Genet.* 2014;15(3):205-213. Epub 2014; Jan 28. DOI 10.1038/nrg3645.

Janich P., Arpat A.B., Castelo-Szekely V., Lopes M., Gatfield D. Ribosome profiling reveals the rhythmic liver transcriptome and circadian clock regulation by upstream open reading frames. *Genome Res.* 2015;25(12):1848-1859. PMID: 26486724.

Jouffe C., Cretenet G., Symul L., Martin E., Atger F., Naef F., Gachon F. The circadian clock coordinates ribosome biogenesis. *PLoS Biol.* 2013;11(1):e1001455. Epub 2013; Jan 3. DOI 10.1371/journal.pbio.1001455.

Kettner N.M., Katchy C.A., Fu L. Circadian gene variants in cancer. *Ann. Med.* 2014;46(4):208-220.

Koike N., Yoo S.H., Huang H.C., Kumar V., Lee C., Kim T.K., Takahashi J.S. Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals. *Science.* 2012;338(6105):349-354.

Kojima S., Sher-Chen E.L., Green C.B. Circadian control of mRNA polyadenylation dynamics regulates rhythmic protein expression. *Genes Dev.* 2012;26:2724-2736.

Labrecque N., Cermakian N. Circadian clocks in the immune system. *J. Biol. Rhythms.* 2015;30(4):277-290.

Laing E.E., Johnston J.D., Möller-Levet C.S., Bucca G., Smith C.P., Dijk D.J., Archer S.N. Exploiting human and mouse transcriptomic data: Identification of circadian genes and pathways influencing health. *Bioessays.* 2015;37(5):544-556. Epub 2015; Mar 14. DOI 10.1002/bies.201400193.

Lück S., Thurley K., Thaben P.F., Westermarck P.O. Rhythmic degradation explains and unifies circadian transcriptome and proteome data. *Cell. Rep.* 2014;9(2):741-751.

Mauvoisin D., Wang J., Jouffe C., Martin E., Atger F., Waridel P., Quadroni M., Gachon F., Naef F. Circadian clock-dependent and -independent rhythmic proteomes implement distinct diurnal functions in mouse liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014;111(1):167-172.

McCarthy M.J., Welsh D.K. Cellular circadian clocks in mood disorders. *J. Biol. Rhythms.* 2012;27(5):339-352.

Menet J.S., Rodriguez J., Abruzzi K.C., Rosbash M. Nascent-Seq reveals novel features of mouse circadian transcriptional regulation. *eLIFE.* 2012;1:e00011. DOI 10.7554/eLife.00011.

- Morf J., Rey G., Schneider K., Stratmann M., Fujita J., Naef F., Schibler U. Cold-inducible RNA-binding protein modulates circadian gene expression posttranscriptionally. *Science*. 2012;338(6105):379-383.
- Nolte C., Staiger D. RNA around the clock – regulation at the RNA level in biological timing. *Front. Plant Sci.* 2015;6:311. DOI 10.3389/fpls.2015.00311.
- Oishi K., Ohkura N., Amagai N., Ishida N. Involvement of circadian clock gene *Clock* in diabetes-induced circadian augmentation of plasminogen activator inhibitor-1 (*PAI-1*) expression in the mouse heart. *FEBS Lett.* 2005;579(17):3555-3559. DOI 10.1016/j.febslet.2005.05.027.
- Panda S., Antoch M.P., Miller B.H., Su A.I., Schook A.B., Straume M., Schultz P.G., Kay S.A., Takahashi J.S., Hogenesch J.B. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*. 2002;109(3):307-320.
- Pendergast J.S., Yamazaki S. Effects of light, food, and methamphetamine on the circadian activity rhythm in mice. *Physiol. Behav.* 2014;128:92-98. Epub 2014; Feb 11. DOI 10.1016/j.physbeh.2014.01.021.
- Reddy A.B., Karp N.A., Maywood E.S., Sage E.A., Deery M., O'Neill J.S., Wong G.K., Chesham J., Odell M., Lilley K.S., Kyriacou C.P., Hastings M.H. Circadian orchestration of the hepatic proteome. *Curr. Biol.* 2006;16(11):1107-1115.
- Robles M.S., Cox J., Mann M. In-vivo quantitative proteomics reveals a key contribution of post-transcriptional mechanisms to the circadian regulation of liver metabolism. *PLoS Genet.* 2014;10(1):e1004047. DOI 10.1371/journal.pgen.1004047.
- Robles M.S., Mann M. Proteomic approaches in circadian biology. In: *Circadian Clocks: Handb. Exp. Pharmacol.* A. Kramer, M. Meroow (Eds.) Springer, 2013;(217):389-407. DOI 10.1007/978-3-642-25950-0\_17.
- Smircich P., Eastman G., Bispo S., Duhagon M.A., Guerra-Slompo E.P., Garat B., Goldenberg S., Munroe D.J., Dallagiovanna B., Holecz F., Sotelo-Silveira J.R. Ribosome profiling reveals translation control as a key mechanism generating differential gene expression in *Trypanosoma cruzi*. *BMC Genomics*. 2015;16:443. DOI 10.1186/s12864-015-1563-8.
- Sundar I.K., Yao H., Sellix M.T., Rahman I. Circadian molecular clock in lung pathophysiology. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2015;309(10):L1056-L1075. DOI 10.1152/ajplung.00152.2015.
- Takahashi J.S. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat. Rev. Genet.* 2017;18(3):164-179. Epub 2016; Dec 19. DOI 10.1038/nrg.2016.150.
- Vollmers C., Gill S., DiTacchio L., Pulivarthy S.R., Le H.D., Panda S. Time of feeding and the intrinsic circadian clock drive rhythms in hepatic gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009;106(50):21453-21458. Epub 2009; Nov 25. DOI 10.1073/pnas.0909591106.
- Zhang R., Lahens N.F., Balance H.I., Hughes M.E., Hogenesch J.B. A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014;111(45):16219-16224. PMID: 25349387. DOI 10.1073/pnas.1408886111.