

doi 10.18699/vjgb-26-11

Рациональный биоинформатический подход к анализу функциональных свойств метаболитов пробиотических микроорганизмов на основе реконструкции генных сетей

В.А. Иванисенко  , Т.М. Хлебодарова, М.А. Клещев , А.Р. Волянская , И.В. Яцык ,
А.В. Адамовская , Т.В. Иванисенко , П.С. Деменков , Н.А. Колчанов 

Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

 salix@bionet.nsc.ru

Аннотация. Важное направление промышленной микробиологии – создание штаммов пробиотиков, обладающих ценными потребительскими свойствами. Индустрия пробиотиков является одним из наиболее динамично развивающихся сегментов пищевой и фармацевтической промышленности. Стеариновая (октадекановая) кислота C18:0 – один из основных метаболитов в клеточно-свободном супернатанте бактерии *Streptococcus thermophilus*, широко используемой в производстве различных ферментированных молочнокислых продуктов, включая йогурт и сыр. *S. thermophilus* влияет не только на текстуру и вкусовые свойства продуктов, но и обладает различными пробиотическими эффектами, в том числе антиоксидантной активностью, модуляцией кишечной микробиоты, ингибированием определенных патогенов и др. Предполагается, что ряд пробиотических эффектов, которыми обладает *S. thermophilus*, может быть опосредован именно через октадекановую кислоту, как основной метаболит. Октадекановая кислота C18:0, как и другие длинноцепочечные жирные кислоты, поступает в организм человека с использованием различных механизмов белок-опосредованного транспорта и пассивной диффузии через мембрану клеток. В клетке стеариновая кислота не только служит субстратом для синтеза триглицеридов и других сложных липидов, но и, как показано на клеточных и *in vivo* моделях, является модулятором сигнальных и стресс-ответов, связанных в том числе с апоптозом. Это один из важных аспектов влияния стеариновой кислоты на функционирование организма, определяющий противовоспалительный и потенциально противоопухолевый эффекты. Однако молекулярно-генетические механизмы влияния октадекановой кислоты как пробиотика на организм человека в этом отношении остаются недостаточно изученными. В настоящем исследовании с помощью разработанной нами ранее информационно-программной системы ANDSystem, использующей методы машинного обучения и искусственного интеллекта и предназначенной для автоматического извлечения знаний из научных текстов и баз данных, были реконструированы генные сети регуляции внутреннего (митохондриального) и внешнего (индуцируемого рецепторами смерти) пути апоптоза клеток человека под влиянием стеариновой кислоты. Для поиска метаболитов, продуцируемых пробиотическими микроорганизмами, обладающих полезными терапевтическими свойствами, разработан новый подход, включающий реконструкцию генных сетей и анализ дифференциально экспрессирующихся генов. На его основе было показано, что стеариновая кислота, продуцируемая *S. thermophilus*, контролирует как внешний, так и внутренний пути апоптоза через регуляцию экспрессии гена *PTGS2*, кодирующего фермент циклооксигеназу-2. Полученные данные позволяют рассматривать циклооксигеназу-2 как один из центральных регуляторов, опосредующих влияние стеариновой кислоты на экспрессию генов апоптоза. В работе предложен рациональный биоинформатический подход к поиску новых штаммов, обладающих пробиотическим потенциалом, на основе оценки действия продуцируемых ими метаболитов на целевые биологические процессы в клетках человека через реконструкцию генных сетей.

Ключевые слова: индустриальная микробиология; функциональные микроорганизмы; пробиотики; штаммы-продуценты; метаболиты; генные сети; ANDSystem

Для цитирования: Иванисенко В.А., Хлебодарова Т.М., Клещев М.А., Волянская А.Р., Яцык И.В., Адамовская А.В., Иванисенко Т.В., Деменков П.С., Колчанов Н.А. Рациональный биоинформатический подход к анализу функциональных свойств метаболитов пробиотических микроорганизмов на основе реконструкции генных сетей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(1):5-14. doi 10.18699/vjgb-26-11

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019–2030 годы), соглашение № 075-15-2025-516.

Rational bioinformatic approach to the analysis of functional properties of metabolites of probiotic microorganisms based on gene network reconstruction

V.A. Ivanisenko  , T.M. Khlebodarova, M.A. Kleshchev , A.R. Volyanskaya , I.V. Yatsyk ,
A.V. Adamovskaya , T.V. Ivanisenko , P.S. Demenkov , N.A. Kolchanov 

Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

 salix@bionet.nsc.ru

Abstract. An important direction in industrial microbiology is the development of probiotic strains with valuable consumer properties. The probiotic industry is currently one of the most rapidly developing segments of the food and pharmaceutical sectors. Stearic (octadecanoic) acid C18:0 is one of the major metabolites present in the cell-free supernatant of the bacterium *Streptococcus thermophilus*, which is widely used in the production of fermented dairy products, including yogurt and cheese. *S. thermophilus* affects not only the texture and sensory properties of products, but also exhibits various probiotic effects, including antioxidant activity, modulation of the gut microbiota, inhibition of certain pathogens, and others. It is assumed that a number of probiotic effects exerted by *S. thermophilus* may be mediated through octadecanoic acid as one of its main metabolites. Octadecanoic acid C18:0, like other long-chain fatty acids, enters the human body via several mechanisms, including protein-mediated transport and passive diffusion across cell membranes. Inside the cell, octadecanoic acid serves not only as a substrate for the synthesis of triglycerides and other complex lipids, but, as shown in cell-based and *in vivo* models, also acts as a modulator of signaling and stress responses, including those associated with apoptosis. This is an important aspect of the influence of stearic acid on organism functioning, underpinning its anti-inflammatory and potentially anti-tumor effects. However, the molecular genetic mechanisms by which octadecanoic acid acts as a probiotic on the human organism remain insufficiently understood. In the present study, using our previously developed information – software system ANDSystem (employing machine learning and artificial intelligence for automatic extraction of knowledge from scientific texts and databases), we reconstructed gene networks regulating the intrinsic (mitochondrial) and extrinsic (death receptor-mediated) apoptotic pathways in human cells under the influence of stearic (octadecanoic) acid. To search for metabolites produced by probiotic microorganisms that may have beneficial therapeutic properties, we propose an approach that combines gene network reconstruction with differential gene expression analysis. Using this approach, we show that octadecanoic acid produced by *S. thermophilus* can control the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways primarily via regulation of PTGS2 expression; the results indicate that cyclooxygenase-2 is a key regulator mediating the effect of octadecanoic acid on apoptosis-related genes.

Key words: industrial microbiology; functional microorganisms; probiotics; producer strains; metabolites; gene networks; ANDSystem

For citation: Ivanisenko V.A., Khlebodarova T.M., Kleshchev M.A., Volyanskaya A.R., Yatsyk I.V., Adamovskaya A.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Kolchanov N.A. Rational bioinformatic approach to the analysis of functional properties of metabolites of probiotic microorganisms based on gene network reconstruction. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(1):5-14. doi 10.18699/vjgb-26-11

Введение

Важное направление промышленной микробиологии – создание штаммов пробиотиков, обладающих ценными потребительскими свойствами. Индустрия пробиотиков является одним из наиболее динамично развивающихся сегментов пищевой промышленности с огромным объемом мирового рынка. Пробиотические микроорганизмы широко используются при производстве ферментированных продуктов, биологически активных добавок и специализированных пищевых продуктов; при этом к промышленным штаммам предъявляются требования не только по безопасности и технологичности, но и по выраженным функциональным эффектам (иммуномодулирующим, противовоспалительным, метаболически опосредованным и др.) (Terrou et al., 2019; Lau, Quek, 2024; Grujović et al., 2025).

Streptococcus thermophilus – особый вид стрептококка, применяемый в промышленной биотехнологии для ферментации пищевых продуктов, особенно при производстве йогурта и сыров. Он влияет на скорость подкисления молочных продуктов, текстуру и их вкусовые свойства, а также обладает различными пробиотическими эффектами, включая антиоксидантную активность, модуляцию кишечной микробиоты, ингибирование определенных патогенов и т. д., что делает его привлекательным для промышленного применения (Cui et al., 2016). В недавней работе (Sudheer et al., 2025) было проведено исследование штаммов *S. thermophilus*, выделенных из домашнего и коммерческого кисломолочного продукта дахи, с использованием геномного анализа и профилирования клеточно-свободного супернатанта (КСС) молочнокислых бактерий методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ–МС).

Показано, что среди основных компонентов КСС присутствует длинноцепочечная жирная октадекановая (стеариновая) кислота (C18:0), формирующая в метаболомном анализе один из крупнейших пиков (RT \approx 29.12 мин) (Sudheer et al., 2025).

Эти результаты позволяют предположить, что ряд пробиотических эффектов *S. thermophilus* может быть опосредован именно через стеариновую кислоту, как один из основных метаболитов, обнаруживаемых в КСС данной бактерии.

Стеариновая (октадекановая) кислота C18:0, как и другие длинноцепочечные жирные кислоты, поступает в организм человека путем белок-опосредованного транспорта и пассивной диффузии через мембрану клеток. В этих процессах участвуют такие белки, как транслоказа CD36 (SR-B2), играющая ключевую роль в гомеостазе жирных кислот (Chen et al., 2022; Glatz et al., 2022), и транспортеры семейства SLC27/FATP, обеспечивающие импорт кислот в сопряженном процессе их ацилирования при участии длинноцепочечных ацил-КоА-синтетаз (Mashek et al., 2007; Anderson, Stahl, 2013). Доставка кислот *in vivo* к мембране обеспечивается их обратимым связыванием с альбумином (Kamp, Hamilton, 1992; Richieri et al., 1993; Richieri, Kleinfeld, 1995).

В клетках человека стеариновая кислота не только служит субстратом для синтеза триглицеридов и других сложных липидов (Paton, Ntambi, 2009; Minville-Walz et al., 2010; Houten et al., 2016), но и, как показано на клеточных и *in vivo* моделях, является модулятором сигнальных путей и стресс-ответов, связанных с апоптозом, пролиферацией опухолевых клеток, лейкоцитоксичностью, а также с провоспалительными ответами макрофагов и микроглии (Evans et al., 2009; Yang et al., 2020; Hung et al., 2023). В обзоре (Shen X. et al., 2025) достаточно подробно обсуждались функции этой жизненно важной молекулы, в том числе ее роль в таких патологических процессах, как сердечно-сосудистые заболевания, развитие диабета и поражения печени. Согласно существующим данным, стеариновая кислота может влиять на функционирование клетки путем взаимодействия с рецептором CD36 на плазматической мембране с последующей модуляцией внутриклеточных сигнальных путей, связанных с этим рецептором (Chen et al., 2022; Glatz et al., 2022). Кроме того, стеариновая кислота, проникая в клетку, может оказывать регуляторное воздействие на экспрессию ряда генов, в частности за счет модуляции активности микроРНК (Shen X. et al., 2025), что можно охарактеризовать как внутриклеточный путь действия октадекановой кислоты. Однако молекулярно-генетические механизмы влияния стеариновой кислоты как пробиотика на организм человека остаются недостаточно изученными. Один из важных аспектов ее влияния – модуляция уровня программируемой клеточной гибели (Yang et al., 2020) как фактора, определяющего противоспалительный и потенциально противоопухолевый эффекты.

Среди возможных подходов для исследования механизмов потенциального влияния метаболитов, продуцируемых микроорганизмами, на функционирование клеток

человека могут быть реконструкция и анализ генных сетей. Генная сеть – это группа координированно функционирующих генов, контролирующих фенотипические признаки организма (Колчанов и др., 2013). Взаимодействия между генами в генной сети осуществляются через их первичные и вторичные продукты – РНК, белки и метаболиты. Реконструкция генных сетей позволяет выявлять конкретные молекулярные пути в клетках человека, функционирование которых изменяется под влиянием различных факторов, включая метаболиты, предсказывать молекулярно-генетические мишени их действия и влияние на профилактику/развитие заболеваний (Saik et al., 2019; Bragina et al., 2023; Ivanisenco V. et al., 2024).

В настоящем исследовании с помощью разработанной нами ранее информационно-программной системы ANDSystem, использующей методы машинного обучения и искусственного интеллекта (Ivanisenco V. et al., 2015, 2019), были реконструированы генные сети регуляции процесса апоптоза клеток человека под влиянием стеариновой (октадекановой) кислоты, присутствующей в клеточно-свободном супернатанте *S. thermophilus*. Анализ этих генных сетей показал, что стеариновая кислота контролирует апоптоз главным образом через регуляцию экспрессии гена *PTGS2*, кодирующего фермент циклооксигеназу-2. Проведенный дополнительный анализ дифференциальной экспрессии генов в клетках культуры HepG2 (Vendel Nielsen et al., 2013) при воздействии на эти клетки стеариновой кислоты показал, что дифференциально экспрессирующиеся гены вошли в состав реконструированных генных сетей.

Полученные результаты формируют рациональный биоинформатический подход к оценке функциональных эффектов метаболитов микроорганизмов на целевые биологические процессы в клетках человека через реконструкцию генных сетей, который может быть использован при поиске новых штаммов, обладающих пробиотическим потенциалом.

Материалы и методы

Реконструкция и анализ генных сетей регуляции экспрессии генов человека стеариновой кислотой осуществлялись с помощью информационно-программной системы ANDSystem (Ivanisenco V. et al., 2019, 2024; Ivanisenco T. et al., 2020). Система ANDSystem, предназначенная для реконструкции ассоциативных генных сетей, осуществляет в автоматическом режиме извлечение знаний и фактов из научных публикаций и биологических баз данных (Ivanisenco V. et al., 2015, 2019). Одним из ключевых модулей ANDSystem является постоянно пополняемая база знаний. В настоящее время она содержит информацию о более чем 150 млн взаимодействий между 12 различными типами молекулярно-генетических объектов (гены, РНК, белки, метаболиты, лекарственные вещества и др.), автоматически извлеченную из текстов более 30 млн научных статей и патентов, а также фактографических баз данных. В базе знаний представлены 49 типов взаимодействий между объектами, включая регуляцию экспрессии генов, физические взаимодействия

(белок–белок, белок–лиганд), химические взаимодействия (каталитические реакции, посттрансляционные модификации) и другие (Ivanisenko T. et al., 2022). Эффективность ANDSystem для изучения молекулярных механизмов заболеваний, действия лекарств и метаболитов, в том числе на основе анализа омических данных, таких как метаболом и транскриптом, была показана в целом ряде исследований: например, приоритизации генов апоптоза при лимфедеме (Saik et al., 2019), поиске генов апоптоза как основы для коморбидности болезни Хантингтона и рака (Bragina et al., 2023), идентификации метаболических маркеров постоперативного делирия (Ivanisenko V. et al., 2024).

Анализ дифференциальной экспрессии генов и их функциональная аннотация. Для изучения влияния стеариновой кислоты на экспрессию генов был проведен анализ доступных транскриптомных данных, полученных с использованием технологии микрочипов (DNA microarrays), в экспериментальном исследовании (Vendel Nielsen et al., 2013), посвященном влиянию жирных кислот (эллаидиновой, олеиновой и стеариновой) на метаболизм клеток культуры HepG2 (идентификатор исследования в GEO Onimbus Database – GSE34045). К настоящему времени это единственное экспериментальное исследование, включающее анализ транскриптомного профиля клеток при воздействии стеариновой кислоты. Выявление дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) проводили с использованием пакета Limma (Ritchie et al., 2015). Статистическую значимость различия в уровнях экспрессии генов человека в контроле и при добавлении стеариновой кислоты оценивали с помощью меры FDR (false discovery rate). Различия с FDR менее 0.05 считались статистически значимыми.

Анализ перепредставленности биологических процессов для сформированного списка ДЭГ, выявленных описанным выше методом, выполнялся с использованием веб-сервера DAVID, версия 2021 (<https://david.ncifcrf.gov/>; Sherman et al., 2022), с настройками по умолчанию. DAVID оценивал статистическую значимость пересечения списка изучаемых генов (в нашем случае ДЭГ) со списками генов, соответствующих биологическим процессам, описанным в онтологии генов (GO) (Sherman et al., 2022).

Результаты и обсуждение

Реконструкция генных сетей регуляции апоптоза октадекановой кислотой

Известно, что стеариновая кислота может влиять на функционирование клетки как через рецептор CD36 на плазматической мембране (Chen et al., 2022; Glatz et al., 2022), так и проникая в клетку и действуя на экспрессию генов внутри клетки (Shen X. et al., 2025). В связи с этим на основе информации, представленной в базе знаний программно-информационной системы ANDSystem, были реконструированы две генные сети регуляции апоптоза октадекановой кислотой: 1) внутриклеточный путь действия стеариновой кислоты, не включающий белок-рецептор CD36 по информации базы знаний ANDSystem (генная сеть ГС-ВПДО); 2) CD36-опосредованный путь (генная сеть ГС-CD36).

Прежде всего, был сформирован список белок-кодирующих генов человека, участвующих в процессе апоптоза (748 генов), полученный из базы данных онтологии генов (<https://geneontology.org/>) для термина GO:0006915 apoptotic process (табл. S1 Приложения)¹. Этот список был использован в качестве входных данных в системе ANDSystem для реконструкции генных сетей.

Генная сеть ГС-ВПДО регуляции экспрессии генов апоптоза стеариновой (октадекановой) кислотой, поступающей в клетку, приведена на рис. 1.

Анализ генной сети ГС-ВПДО показал, что эта сеть включала 33 гена апоптоза и дополнительно 11 генов, участвующих в регуляции их экспрессии, а также 48 регуляторных взаимодействий между генами апоптоза и белками-регуляторами и 2 регуляторных взаимодействия между стеариновой (октадекановой) кислотой и генами апоптоза (отмечены на рис. 1 бирюзовыми рамками).

Белок циклооксигеназа-2 имел наибольшее число (25) регуляторных связей с генами апоптоза (табл. 1) в генной сети ГС-ВПДО. Кроме того, к числу ключевых регуляторов генов апоптоза в этой сети можно отнести белки PROX1 и CD276, каждый из которых регулирует по 5 генов (см. табл. 1).

Несколько примеров путей регуляторного влияния октадекановой кислоты на экспрессию генов апоптоза из генной сети ГС-ВПДО приведено на рис. 2.

Ген *BIRC2*. На рис. 2 показано, что экспрессия гена *BIRC2* находится под регуляторным влиянием стеариновой кислоты. Подавление экспрессии этого гена, обладающего антиапоптотической активностью, стеариновой кислотой в преадипоцитах является одним из механизмов редукции жировой ткани при действии этого метаболита (Shen M.C. et al., 2014).

Ген *SCD*. Согласно данным ANDSystem, стеариновая кислота регулирует экспрессию гена *SCD*, экспрессирующего белок SCD, который, в свою очередь, регулирует ген *DDIT3*, непосредственно вовлеченный в апоптоз (см. рис. 2). По данным литературы (Aardema et al., 2017), стеариновая кислота активирует экспрессию гена *SCD*, продукт которого – белок SCD – подавляет (Minville-Walz et al., 2010) ген *DDIT3*, один из важнейших индукторов апоптоза (Bento et al., 2009).

Ген *BCL2*. Экспрессия гена *PTSG2*, кодирующего белок циклооксигеназу-2 (PHG2), находится под регуляторным влиянием стеариновой (октадекановой) кислоты (см. рис. 2). По данным литературы (Liu J. et al., 2014), стеариновая кислота индуцирует экспрессию гена *PTSG2* циклооксигеназы-2. Циклооксигеназа-2, согласно ANDSystem, в свою очередь, усиливает экспрессию гена *BCL2*, что подтверждается результатами экспериментальных исследований (Lin et al., 2019). Отметим, что, по информации из базы знаний ANDSystem и литературы (Shen M.C. et al., 2014), экспрессия гена *BCL2* может тоже подавляться стеариновой кислотой. Таким образом, по данным реконструкции генных сетей экспрессия гена *BCL2*, кодирующего ключевой ингибитор апоптоза (Newton et al., 2024), может как активироваться стеариновой кислотой при участии

¹ Табл. S1–S4 и рис. S1 Приложения доступны по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx1.zip>

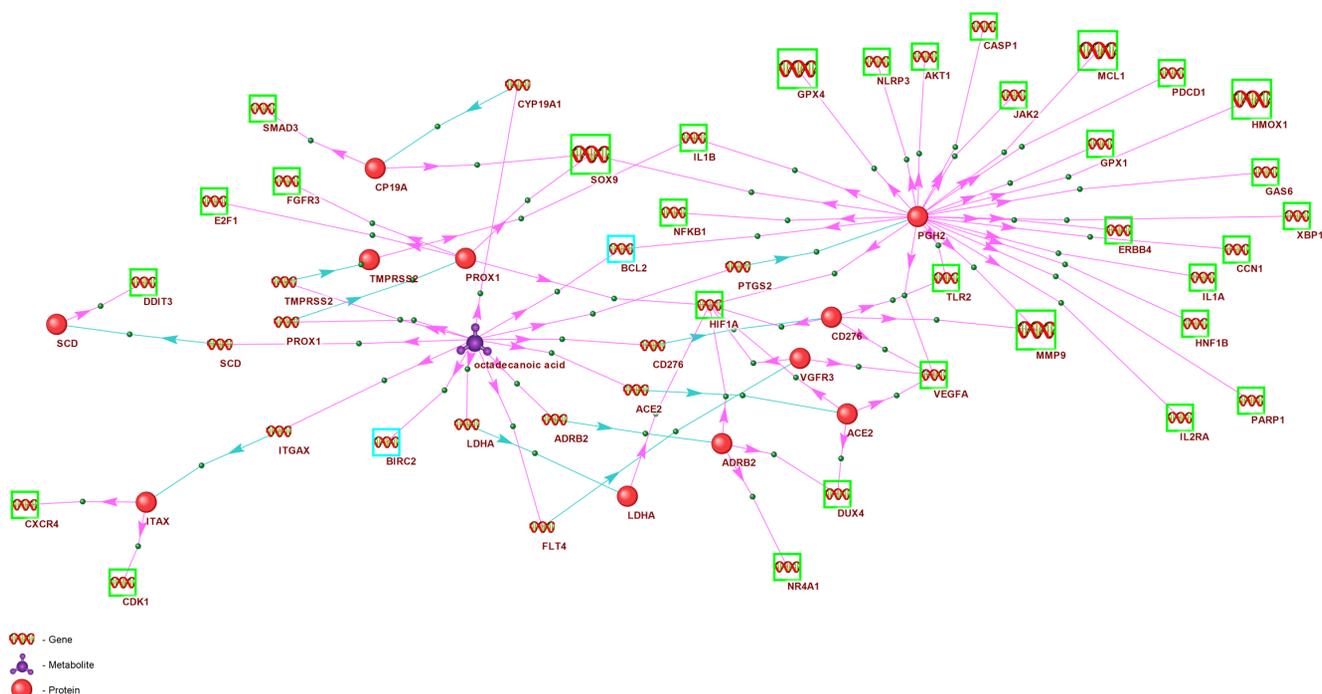


Рис. 1. Генная сеть ГС-ВПДО регуляции экспрессии генов апоптоза стеариновой (октадекановой) кислотой.

Зелеными рамками показаны гены, вовлеченные в процесс апоптоза по данным онтологии генов (GO:0006915 apoptotic process), бирюзовыми рамками отмечены гены апоптоза, находящиеся под регуляторным влиянием октадекановой кислоты без участия посредников. Гены, не имеющие рамок, – это гены-посредники, экспрессия которых регулируется октадекановой кислотой, их белковые продукты (красные шары на рисунке) регулируют экспрессию генов апоптоза. Крупными рамками маркированы гены, дифференциально экспрессирующиеся в культуре клеток НерG2 в ответ на октадекановую кислоту (Vendel Nielsen et al., 2013). Стеариновая (октадекановая) кислота обозначена как "octadecanoic acid". Синие стрелки – процессы экспрессии генов, ведущие к наработке кодируемых ими белков; красные – регуляторное влияние белков на экспрессию генов апоптоза.

Таблица 1. Список пяти белков-регуляторов с наибольшим числом регуляторных связей с генами апоптоза в генной сети ГС-ВПДО

№ п/п	Символ белка	Название белка	Число связанных генов апоптоза
1	PTSG2	Циклооксигеназа-2	25
2	PROX1	Проперго гомеобокс 1	5
3	CD276	Белок CD276	5
4	ADRB2	Адренорецептор бета 2	4
5	ACE2	Ангиотензин-превращающий фермент 2	4

циклооксигеназы-2, так и подавляться этим метаболитом, вероятно, без участия этого фермента. Следовательно, модуляция экспрессии или активности циклооксигеназы-2 может изменять баланс проапоптотических и антиапоптотических эффектов стеариновой кислоты. Имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о том, что циклооксигеназа-2 ингибирует апоптоз; при этом повышенная экспрессия гена циклооксигеназы-2 является одним из механизмов уклонения опухолевых клеток от апоптоза (Liu C.H. et al., 2001).

Гены *NFKB1*, *NLRP3*, *CASP1*, *MCL1*. По данным ANDSystem (см. рис. 2), экспрессия генов *NFKB1*, *MCL1*, кодирующих антиапоптотические белки *NFKB1*, *MCL1* (Newton et al., 2024), а также генов *NLRP3*, *CASP1*, кодирующих проапоптотические белки (Yu et al., 2023), регули-

руется стеариновой (октадекановой) кислотой при участии упомянутого выше белка циклооксигеназа-2. Показано, что этот белок активирует экспрессию антиапоптотических генов *NFKB1*, *MCL1* и *BCL2* (Lin et al., 2019), что может обуславливать подавление апоптоза циклооксигеназой-2.

Реконструированная нами генная сеть ГС-CD36 регуляции апоптоза содержала 187 молекулярно-генетических объектов, включая 98 генов, вовлеченных в процесс апоптоза, собственно белок-рецептор CD36 и 44 гена, кодирующих белки, оказывающие регуляторное влияние на экспрессию генов апоптоза. В связи с тем, что полная генная сеть ГС-CD36 содержит большое число регуляторных связей, она приведена в Приложении (рис. S1).

При анализе полной генной сети ГС-CD36 (см. рис. S1) был выявлен ряд белков – ключевых регуляторов апоптоза:

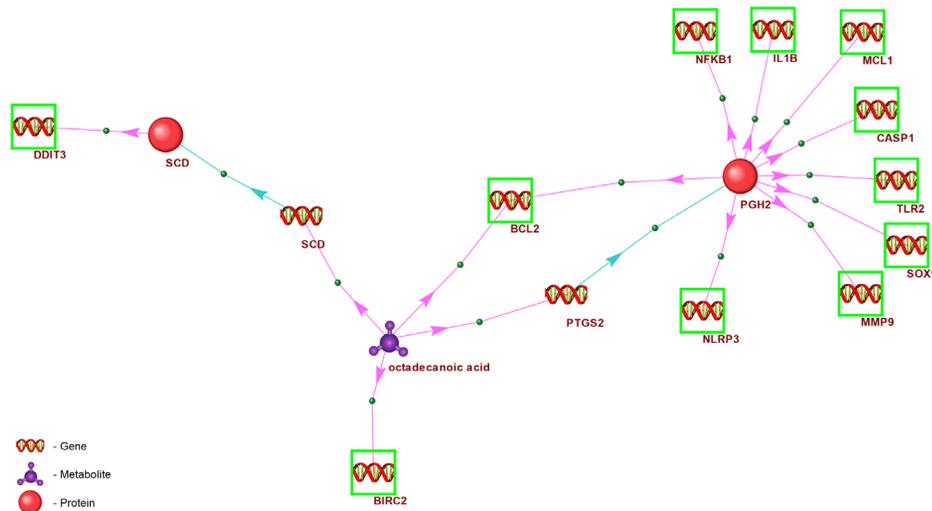


Рис. 2. Фрагменты генной сети регуляторных связей стеариновой (октадекановой) кислоты с генами *BIRC2*, *SCD*, *BCL2*, *NFKB1*, *NLRP3*, *CASP1*, *MCL1*, вовлеченными в процесс апоптоза.

Красными шарами показаны белки, кодируемые генами-посредниками, зелеными рамками – гены апоптоза. Гены, не имеющие рамок, – гены-посредники, экспрессия которых регулируется октадекановой кислотой и белковые продукты которых (красные шары на рисунке) регулируют экспрессию генов апоптоза. Стеариновая (октадекановая) кислота обозначена как "octadecanoic acid". Синие стрелки – процессы экспрессии генов, ведущие к наработке кодируемых ими белков; красные – регуляторное влияние белков на экспрессию генов апоптоза.

PPARG, регулирующий 32 гена апоптоза; циклооксигеназа-2, регулирующая 25 генов; SIR1, регулирующий 26 генов (табл. 2).

На рис. 3 показано несколько примеров путей регуляторного влияния рецептора CD36 на экспрессию генов апоптоза, которые описаны ниже.

Ген *NFKB1*. Выявлено два пути регуляции гена *NFKB1*, вовлеченного в процесс апоптоза. В первом случае CD36 регулирует экспрессию гена-посредника *SIRT1*, экспрессирующего белок SIR1, который оказывает регуляторное воздействие на ген *NFKB1*. Согласно (Yin et al., 2020), белок SIR1 обладает активирующим влиянием на регуляторный путь NF-κB. Второй путь включает регуляторное воздействие CD36 на ген-посредник *TRAF6* и его белковый продукт – транскрипционный фактор TRAF6, который, в свою очередь, регулирует экспрессию гена *NFKB1*. Белок TRAF6, экспрессия гена которого стимулируется при участии CD36 (Cao et al., 2019), активирует также экспрессию гена *NFKB1* (Saba et al., 2014).

Ген *MYD88*. CD36 регулирует экспрессию гена *MYD88*, вовлеченного в апоптоз (короткий путь регуляции). Кроме

того, экспрессия гена *MYD88* регулируется рецептором CD36 через более длинный путь, проходящий через ген-посредник *TRAF6* и кодируемый им белок, оказывающий регуляторное воздействие на экспрессию гена *MYD88*.

Ген *MMP9*. Как отмечено выше, белок-рецептор CD36 регулирует экспрессию гена *TRAF6*, кодирующего белок TRAF6. В свою очередь, TRAF6 регулирует экспрессию гена металлопротеиназы *MMP9* (Luo et al., 2016) и, помимо него, еще пяти генов апоптоза: *IFIT2*, *HIF1A*, *IRF3*, *MYD88*, *NFKB1*. Таким образом, транскрипционный фактор TRAF6 играет роль касетного активатора шести генов апоптоза.

Сравнение генных сетей ГС-ВПДО и ГС-CD36 показало, что 30 генов, вовлеченных в процесс апоптоза, были общими для этих сетей; среди них экспрессия 25 генов регулировалась циклооксигеназой-2 (табл. S2). Следовательно, этот белок может рассматриваться как важнейший регулятор генов апоптоза в каждой из двух реконструированных нами генных сетей. В список генов апоптоза, общих для генных сетей ГС-ВПДО и ГС-CD36 и регулируемых циклооксигеназой-2, вошли, в частности, такие гены, как *BCL2*, *MCL1* и *NFKB1*, белковые продукты

Таблица 2. Список пяти белков-регуляторов с наибольшим числом регуляторных связей с генами апоптоза в генной сети ГС-CD36

№ п/п	Символ белка	Название белка	Количество регулируемых генов апоптоза
1	PPARG	Гамма-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом	32
2	PTGS2	Циклооксигеназа-2	25
3	SIR1	Сиртуин 1	26
4	PPARA	Альфа-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом	19
5	GLI2	Белок GLI2 с доменом «цинковые пальцы»	19

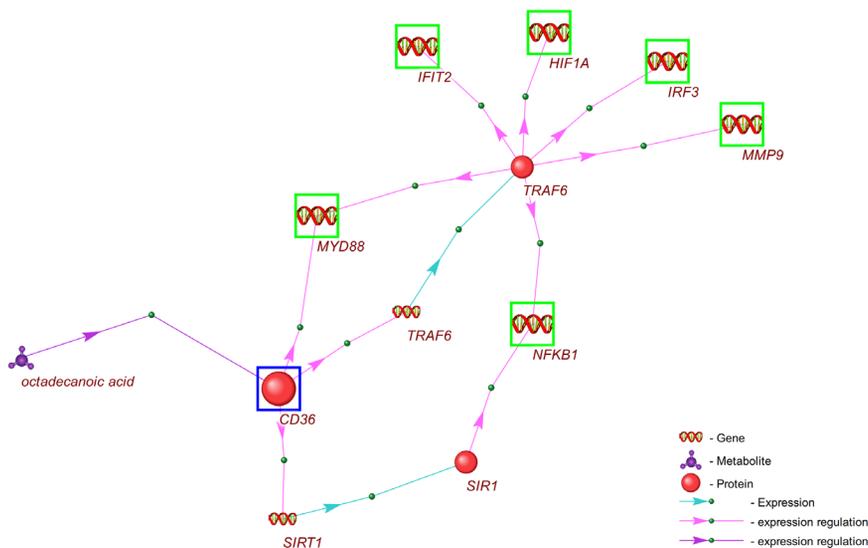


Рис. 3. Фрагменты генной сети регуляторных связей рецептора CD36 с генами *IRF3*, *IFIT2*, *MMP9*, *HIF1A* и *NFKB1*, вовлеченными в процесс апоптоза.

Синей рамкой выделен белок-рецептор CD36, зелеными рамками показаны гены апоптоза. Гены, не имеющие рамок, – гены-посредники, экспрессия которых регулируется октадекановой кислотой и белковые продукты которых (красные шары на рисунке) регулируют экспрессию генов апоптоза. Стеариновая (октадекановая) кислота обозначена как “octadecanoic acid”. Синие стрелки – процессы экспрессии генов, ведущие к наработке кодируемых ими белков; красные – регуляторное влияние белков на экспрессию генов апоптоза. Фиолетовой стрелкой показано взаимодействие октадекановой кислоты с рецептором CD36.

которых, как известно, являются важнейшими антиапоптотическими белками (Gupta et al., 2023; Newton et al., 2024). С другой стороны, в список генов, регулируемых циклооксигеназой-2 в генных сетях, вошли также гены *NLRP3* и *CASP1*, продукты которых участвуют в активации процессов программируемой клеточной гибели, включая апоптоз (Yu et al., 2023).

Анализ дифференциальной экспрессии генов при воздействии октадекановой кислоты

Для выяснения потенциала стеариновой кислоты, продуцируемой стрептококком *S. thermophilus*, в регуляции апоптоза нами был проведен анализ экспериментальных данных по дифференциальной экспрессии генов в клетках гепатоцитоподобной линии HepG2, обработанных стеариновой кислотой, приведенных в работе (Vendel Nielsen et al., 2013). Было выявлено 2500 ДЭГ с уровнем статистической значимости $FDR < 0.05$. Анализ перепредставленности терминов генной онтологии (GO) для этого набора генов выявил 40 статистически значимых ($FDR < 0.05$) биологических процессов (табл. S3), среди которых клеточное дыхание, а также процессы, связанные с функционированием электрон-транспортной цепи митохондрий, и апоптоз. Десять биологических процессов, наиболее статистически значимо перепредставленных для ДЭГ в клетках HepG2 при воздействии стеариновой кислоты, приведены в табл. 3.

Сопоставление реконструированной генной сети регуляции экспрессии генов апоптоза при участии рецептора CD36 с данными по дифференциальной экспрессии показало, что среди генов апоптоза, регулируемых стеариновой

кислотой, 16 генов (табл. S4) демонстрировали достоверные изменения экспрессии в клетках культуры HepG2 в ответ на ее воздействие. Среди них были представлены такие гены, как *MMP9*, *SOX9*, *HMOX1*, *GPX4*, *MCL1*, *BIRC1*, играющие важную роль в процессе апоптоза. Что касается генной сети ГС-ВПДО, то для нее количество генов апоптоза, изменивших свою экспрессию под действием октадекановой кислоты, оказалось существенно меньше: только пять (*GPX4*, *MCL1*, *HMOX1*, *MMP9*, *SOX9*). Эти же гены были представлены в генной сети ГС-CD36. Таким образом, анализ дифференциальной экспрессии генов свидетельствует о том, что путь регуляции через рецептор CD36 имеет большее значение для регуляции апоптоза стеариновой кислотой.

Заключение

В настоящей работе с использованием метода реконструкции генных сетей исследованы регуляторные механизмы влияния стеариновой (октадекановой) кислоты, одного из основных метаболитов в составе клеточно-свободного супернатанта стрептококка *S. thermophilus*, на апоптоз в клетках человека.

Показано, что: 1) генная сеть ГС-CD36 описывала регуляцию экспрессии 98 генов апоптоза, что существенно превышало число генов апоптоза, регулируемых в генной сети ГС-ВПДО (33 гена); 2) циклооксигеназа-2 выступала в качестве основного белка-регулятора экспрессии генов апоптоза под действием стеариновой кислоты как в генной сети ГС-CD36, так и в генной сети ГС-ВПДО.

Полученные результаты создают основу для формирования экспериментально-компьютерной платформы для

Таблица 3. Результаты анализа перепредставленности биологических процессов GO для генов, дифференциально экспрессирующихся в клетках культуры HepG2, при воздействии октадекановой кислоты

№ п/п	Термин геной онтологии	Число генов, вовлеченных в биологический процесс	FDR
1	Протон-зависимый митохондриальный синтез АТФ (proton motive force-driven mitochondrial ATP synthesis)	28	9.14E-07
2	Аэробное дыхание (aerobic respiration)	28	0.00000334
3	Сборка комплекса I митохондриальной дыхательной цепи (mitochondrial respiratory chain complex I assembly)	28	0.00000334
4	Митохондриальный перенос электронов, превращение NADH в убихинон (mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone)	20	0.000194
5	Переход G2/M в митотическом клеточном цикле (G2/M transition of mitotic cell cycle)	19	0.00373
7	Удаление активных форм кислорода (cellular oxidant detoxification)	23	0.00798
6	Высвобождение цитохрома С из митохондрий (release of cytochrome c from mitochondria)	12	0.0162
8	Бета-окисление жирных кислот (fatty acid beta-oxidation)	17	0.0171
9	Аутофагия (autophagy)	36	0.0392
10	Апоптоз (apoptotic process)	108	0.0396

Примечание. FDR (false discovery rate) – мера статистической значимости перепредставленности биологического процесса с учетом множественных сравнений.

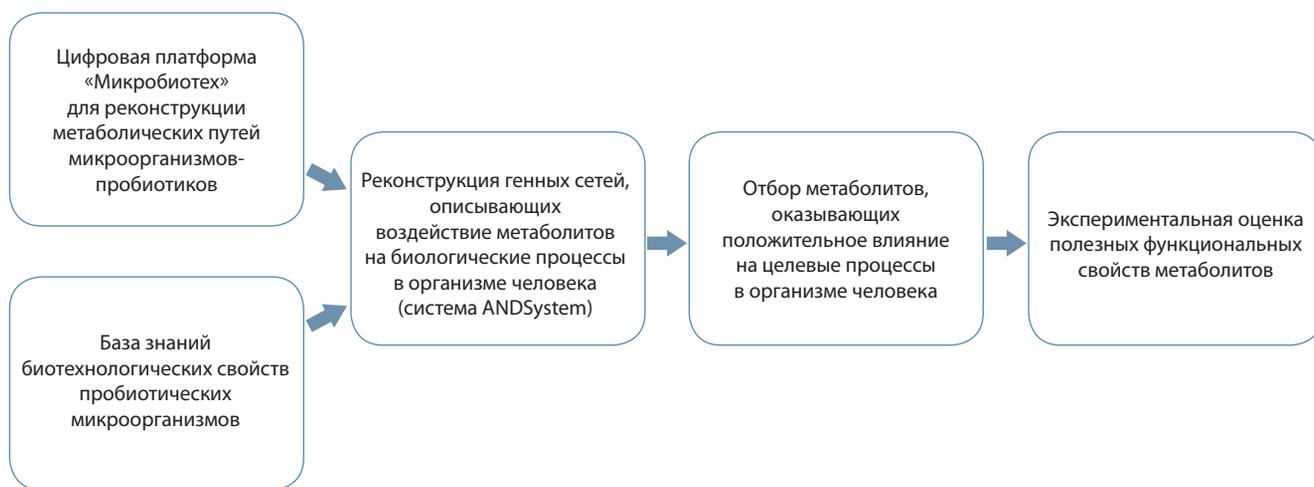


Рис. 4. Общая схема платформы для поиска продуцируемых микроорганизмами-пробиотиками функциональных метаболитов, оказывающих положительное влияние на целевые процессы в организме человека.

поиска функциональных метаболитов, продуцируемых микроорганизмами-пробиотиками, оказывающих положительное влияние на целевые процессы в организме человека. Принципиальные блоки этой платформы представлены на рис. 4.

Исходная информация для платформы поступает из двух источников. Первый – цифровая платформа «Микробиотех», разработанная в рамках Курчатовского геномного центра ИЦиГ СО РАН (Деменков и др., 2024). Она обеспечивает реконструкцию метаболических путей микроорганизмов на основе компьютерного анализа их геномов. Второй источник – База знаний биотехнологических

свойств микроорганизмов, разрабатываемая в рамках Курчатовского геномного центра ИЦиГ СО РАН с применением методов искусственного интеллекта. Эти методы позволяют автоматически извлекать знания и факты из научных публикаций и патентов.

Сформированные данные используются для реконструкции генных сетей, описывающих воздействие метаболитов на биологические процессы в организме человека, с применением системы ANDSystem (Ivanisenko V. et al., 2015, 2019). Анализ реконструированных генных сетей позволяет определить критерии отбора метаболитов, оказывающих положительное влияние на целевые процессы в

организме человека. На заключительном этапе проводится экспериментальная оценка полезных функциональных свойств отобранных метаболитов.

Список литературы / References

- Деменков П.С., Мухин А.М., Иванисенко В.А., Лашин С.А., Колчанов Н.А. Цифровая платформа «Микробиотек»: архитектура и назначение. *Проблемы информатики*. 2024;4:27-36. doi 10.24412/2073-0667-2024-4-27-36
[Demenkov P.S., Mukhin A.M., Ivanisenko V.A., Lashin S.A., Kolchanov N.A. The "Microbiotech" digital platform: architecture and purpose. *Problems of Informatics*. 2024;4:27-36. doi 10.24412/2073-0667-2024-4-27-36 (in Russian)]
- Колчанов Н.А., Игнатъева И.В., Подколотная О.А., Лихошвай В.А., Матушкин В.Г. Генные сети. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/2):833-850
[Kolchanov N.A., Ignatyeva I.V., Podkolodnaya O.A., Likhoshvai V.A., Matushkin V.G. Gene networks. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed*. 2013;17(4/2):833-850 (in Russian)]
- Aardema H., van Tol H.T.A., Wubbolts R.W., Brouwers J.F.H.M., Gadella B.M., Roelen B.A.J. Stearoyl-CoA desaturase activity in bovine cumulus cells protects the oocyte against saturated fatty acid stress. *Biol Reprod*. 2017;96(5):982-992. doi 10.1095/biolreprod.116.146159
- Anderson C.M., Stahl A. SLC27 fatty acid transport proteins. *Mol Aspects Med*. 2013;34(2-3):516-528. doi 10.1016/j.mam.2012.07.010
- Bento C., Andersson M.K., Aman P. DDIT3/CHOP and the sarcoma fusion oncoprotein FUS-DDIT3/TLS-CHOP bind cyclin-dependent kinase 2. *BMC Cell Biol*. 2009;10:89. doi 10.1186/1471-2121-10-89
- Bragina E.Y., Gomboeva D.E., Saik O.V., Ivanisenko V.A., Freidin M.B., Nazarenko M.S., Puzyrev V.P. Apoptosis genes as a key to identification of inverse comorbidity of Huntington's disease and cancer. *Int J Mol Sci*. 2023;24(11):9385. doi 10.3390/ijms24119385
- Cao D., Luo J., Chen D., Xu H., Shi H., Jing X., Zang W. CD36 regulates lipopolysaccharide-induced signaling pathways and mediates the internalization of *Escherichia coli* in cooperation with TLR4 in goat mammary gland epithelial cells. *Sci Rep*. 2016;6:23132. doi 10.1038/srep23132. Erratum in: *Sci Rep*. 2019;9(1):6457. doi 10.1038/s41598-019-42156-3
- Chen Y., Zhang J., Cui W., Silverstein R.L. CD36, a signaling receptor and fatty acid transporter that regulates immune cell metabolism and fate. *J Exp Med*. 2022;219(6):e20211314. doi 10.1084/jem.20211314
- Cui Y., Xu T., Qu X., Hu T., Jiang X., Zhao C. New insights into various production characteristics of *Streptococcus thermophilus* strains. *Int J Mol Sci*. 2016;17(10):1701. doi 10.3390/ijms17101701
- Evans L.M., Cowey S.L., Siegal G.P., Hardy R.W. Stearate preferentially induces apoptosis in human breast cancer cells. *Nutr Cancer*. 2009;61(5):746-753. doi 10.1080/01635580902825597
- Glatz J.F.C., Nabben M., Luiken J.J.F.P. CD36 (SR-B2) as master regulator of cellular fatty acid homeostasis. *Curr Opin Lipidol*. 2022;33(2):103-111. doi 10.1097/MOL.0000000000000819
- Grujović M.Ž., Semedo-Lemsaddek T., Marković K.G. Application of probiotics in foods: a comprehensive review of benefits, challenges, and future perspectives. *Foods*. 2025;14(17):3088. doi 10.3390/foods14173088
- Gupta R., Kadhim M.M., Turki J.A., Obayes A.M., Aminov Z., Alsaikhan F., Ramirez-Coronel A.A., Ramaiah P., Tayyib N.A., Luo X. Multifaceted role of NF-κB in hepatocellular carcinoma therapy: molecular landscape, therapeutic compounds and nanomaterial approaches. *Environ Res*. 2023;228:115767. doi 10.1016/j.envres.2023.115767
- Houten S.M., Violante S., Ventura F.V., Wanders R.J.A. The biochemistry and physiology of mitochondrial fatty acid β-oxidation and its genetic disorders. *Annu Rev Physiol*. 2016;78:23-44. doi 10.1146/annurev-physiol-021115-105045
- Hung T.-Y., Chen H.-H., Wu C.-Y., Hsu H.-T., Hsueh Y.-P., Kuan Y.-H. Stearic acid activates microglia and impairs memory via NF-κB signaling. *Neurobiol Dis*. 2023;182:106121. doi 10.1016/j.nbd.2023.106121
- Ivanisenko T.V., Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko N.V., Savostianov A.N., Ivanisenko V.A. ANDDigest: a new web-based module of ANDSystem for the search of knowledge in the scientific literature. *BMC Bioinformatics*. 2020;21(Suppl.11):228. doi 10.1186/s12859-020-03557-8
- Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. New ANDDigest with improved AI-based short-name recognition. *Int J Mol Sci*. 2022;23(23):14934. doi 10.3390/ijms232314934
- Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Likhoshvai V.A., Kolchanov N.A. ANDSystem: an Associative Network Discovery System. *BMC Syst Biol*. 2015;9(Suppl.2):S2. doi 10.1186/1752-0509-9-S2-S2
- Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Saik O.V., Kolchanov N.A. A new version of ANDSystem with tissue-specific functionality. *BMC Bioinformatics*. 2019;20(Suppl.1):34. doi 10.1186/s12859-018-2567-6
- Ivanisenko V.A., Rogachev A.D., Makarova A.A., Basov N.V., Gaisler E.V., Kuzmicheva I.N., Demenkov P.S., ... Kolchanov N.A., Plesko V.V., Moroz G.B., Lomivorotov V.V., Pokrovsky A.G. AI-assisted identification of primary and secondary metabolomic markers for postoperative delirium. *Int J Mol Sci*. 2024;25(21):11847. doi 10.3390/ijms252111847
- Kamp F., Hamilton J.A. pH gradients across phospholipid membranes caused by fast flip-flop of un-ionized fatty acids. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89(23):11367-11370. doi 10.1073/pnas.89.23.11367
- Lau L.Y.J., Quek S.Y. Probiotics: health benefits, food application, and colonization in the human gastrointestinal tract. *Food Bioeng*. 2024;3(1):41-64. doi 10.1002/fbe2.12078
- Lin X.M., Luo W., Wang H., Li R.Z., Huang Y.S., Chen L.K., Wu X.P. The role of prostaglandin-endoperoxide synthase-2 in chemoresistance of non-small cell lung cancer. *Front Pharmacol*. 2019;10:836. doi 10.3389/fphar.2019.00836
- Liu C.H., Chang S.H., Narko K., Trifan O.C., Wu M.T., Smith E., Haudenschild C., Lane T.F., Hla T. Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. *J Biol Chem*. 2001;276(21):18563-18569. doi 10.1074/jbc.M010787200
- Liu J., Hu S., Cui Y., Sun M.K., Xie F., Zhang Q., Jin J. Saturated fatty acids up-regulate COX-2 expression in prostate epithelial cells via toll-like receptor 4/NF-κB signaling. *Inflammation*. 2014;37(2):467-477. doi 10.1007/s10753-013-9760-6
- Luo Z., Zhang X., Zeng W., Su J., Yang K., Lu L., Lim C.B., Tang W., Wu L., Zhao S., Jia X., Peng C., Chen X. TRAF6 regulates melanoma invasion and metastasis through ubiquitination of Basigin. *Oncotarget*. 2016;7(6):7179-7192. doi 10.18632/oncotarget.6886
- Mashek D.G., Li L.O., Coleman R.A. Long-chain acyl-CoA synthetases and fatty acid channeling. *Future Lipidol*. 2007;2(4):465-476. doi 10.2217/17460875.2.4.465
- Minville-Walz M., Pierre A.S., Pichon L., Bellenger S., Fèvre C., Bellenger J., Tessier C., Narce M., Rialland M. Inhibition of stearoyl-CoA desaturase 1 expression induces CHOP-dependent cell death in human cancer cells. *PLoS One*. 2010;5(12):e14363. doi 10.1371/journal.pone.0014363
- Newton K., Strasser A., Kayagaki N., Dixit V.M. Cell death. *Cell*. 2024;187(2):235-256. doi 10.1016/j.cell.2023.11.044
- Paton C.M., Ntambi J.M. Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;297(1):E28-E37. doi 10.1152/ajpendo.90897.2008
- Richieri G.V., Kleinfeld A.M. Unbound free fatty acid levels in human serum. *J Lipid Res*. 1995;36(2):229-240. doi 10.1016/S0022-2275(20)39899-0
- Richieri G.V., Anel A., Kleinfeld A.M. Interactions of long-chain fatty acids and albumin: determination of free fatty acid levels using the fluorescent probe ADIFAB. *Biochemistry*. 1993;32(29):7574-7580. doi 10.1021/bi00080a032

- Ritchie M.E., Phipson B., Wu D., Hu Y., Law C.W., Shi W., Smyth G.K. *limma* powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(7):e47. doi 10.1093/nar/gkv007
- Saba R., Sorensen D.L., Booth S.A. MicroRNA-146a: a dominant, negative regulator of the innate immune response. *Front Immunol.* 2014;5:578. doi 10.3389/fimmu.2014.00578
- Saik O.V., Nimaev V.V., Usmonov D.B., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Prioritization of genes involved in endothelial cell apoptosis by their implication in lymphedema using an analysis of associative gene networks with ANDSystem. *BMC Med Genomics.* 2019;12(Suppl.2):47. doi 10.1186/s12920-019-0492-9
- Shen M.C., Zhao X., Siegal G.P., Desmond R., Hardy R.W. Dietary stearic acid leads to a reduction of visceral adipose tissue in athymic nude mice. *PLoS One.* 2014;9(9):e104083. doi 10.1371/journal.pone.0104083
- Shen X., Miao S., Zhang Y., Guo X., Li W., Mao X., Zhang Q. Stearic acid metabolism in human health and disease. *Clin Nutr.* 2025; 44:222-238. doi 10.1016/j.clnu.2024.12.012
- Sherman B.T., Hao M., Qiu J., Jiao X., Baseler M.W., Lane H.C., Imamichi T., Chang W. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic Acids Res.* 2022;50(W1):W216-W221. doi 10.1093/nar/gkac194
- Sudheer A., Dastidar D.G., Ghosh G., Taj Z., Nidhin I.K., Chattopadhyay I. Comprehensive genomics, probiotic, and antibiofilm potential analysis of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from homemade and commercial dahi. *Sci Rep.* 2025;15(1):7089. doi 10.1038/s41598-025-90999-w
- Terpou A., Papadaki A., Lappa I.K., Kachrimanidou V., Bosnea L.A., Kopsahelis N. Probiotics in food systems: significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients.* 2019;11(7):1591. doi 10.3390/nu11071591
- Vendel Nielsen L., Krogager T.P., Young C., Ferreri C., Chatgialioglou C., Jensen O.N., Enghild J.J. Effects of elaidic acid on lipid metabolism in HepG2; dataset GSE34045. *PLoS One.* 2013;8(9):e74283. doi 10.1371/journal.pone.0074283
- Yang Y., Huang J., Li J., Yang H., Yin Y. Effects of stearic acid on proliferation, differentiation, apoptosis, and autophagy in porcine intestinal epithelial cells. *Curr Mol Med.* 2020;20(2):157-166. doi 10.2174/1566524019666190917144127
- Yin Q., Shen L., Qi Y., Song D., Ye L., Peng Y., Wang Y., Jin Z., Ning G., Wang W., Lin D., Wang S. Decreased SIRT1 expression in the peripheral blood of patients with Graves' disease. *J Endocrinol.* 2020;246(2):161-173. doi 10.1530/JOE-19-0501
- Yu C., Chen P., Miao L., Di G. The role of the NLRP3 inflammasome and programmed cell death in acute liver injury. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):3067. doi 10.3390/ijms24043067

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 15.11.2025. После доработки 24.11.2025. Принята к публикации 08.12.2025.