

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>


Молекулярно-генетические пути регуляции вирусом гепатита С экспрессии клеточных факторов PREB и PLA2G4C, играющих важную роль для репликации вируса

Е.Л. Мищенко^{1,2}, А.А. Макарова¹, Е.А. Антропова¹, А.С. Вензель^{1,2}, Т.В. Иванисенко^{1,2},
П.С. Деменков^{1,2,3}, В.А. Иванисенко^{1,2,3} 

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

² Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

 salix@bionet.nsc.ru

Аннотация. В репликации генома вируса гепатита С (ВГС) участвуют как вирусные, так и хозяйские белки. Терапевтические подходы, основанные на подавлении активности неструктурных вирусных белков NS3, NS5A, NS5B, проходят клинические испытания разных уровней. Однако быстрые мутационные процессы вирусного генома и приобретение лекарственной устойчивости остаются одними из главных препятствий в борьбе с ВГС. Идентификация и исследование клеточных факторов, участвующих в репликации РНК ВГС, а также регуляция вирусом их экспрессии важны для понимания механизмов репликации вируса и разработки эффективных подходов противовирусной терапии. Известно, что белок PREB, связывающий регуляторный элемент пролактина, и цитозольная фосфолипаза A2 гамма (PLA2G4C) играют важную роль в формировании платформ репликации РНК ВГС, а также в функционировании вирусной репликазы. Экспрессия генов *PREB* и *PLA2G4C* значительно увеличена в присутствии ВГС, но механизмы ее регуляции вирусными белками до сих пор не изучены. В данной работе с применением технологии текст-майнинга, реализованной в программно-информационной системе ANDSystem, реконструированы генные сети регуляции экспрессии генов человека *PREB* и *PLA2G4C* белками ВГС. На основании анализа генных сетей мы выдвинули гипотезы о регуляторных эффектах белков ВГС на функции хозяйских факторов в результате белок-белковых взаимодействий. Среди вирусных белков наибольшее количество регуляторных связей выявлено у вирусной протеазы NS3. Предположительно NS3 в результате белок-белкового взаимодействия подавляет активность транскрипционного фактора NOTCH1, что обуславливает активацию экспрессии *PREB* и *PLA2G4C*. Анализ генных сетей и данных о дифференциальной экспрессии генов в присутствии ВГС позволил нам также выдвинуть гипотезы о регуляции вирусом экспрессии транскрипционных факторов, сайты связывания которых находятся в районах генов *PREB* и *PLA2G4C*, и действию этих транскрипционных факторов на регуляцию транскрипции *PREB* и *PLA2G4C*. Полученные результаты могут быть использованы при планировании исследований по изучению молекулярно-генетических механизмов взаимодействия вирус-хозяин и поиска потенциальных мишеней для разработки лекарств против ВГС.
Ключевые слова: вирус гепатита С; репликация генома ВГС; репликаза ВГС; хозяйские факторы; генные сети; фосфолипаза PLA2G4C; белок PREB.

Для цитирования: Мищенко Е.Л., Макарова А.А., Антропова Е.А., Вензель А.С., Иванисенко Т.В., Деменков П.С., Иванисенко В.А. Молекулярно-генетические пути регуляции вирусом гепатита С экспрессии клеточных факторов PREB и PLA2G4C, играющих важную роль для репликации вируса. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(7):776-783. DOI 10.18699/VJGB-23-90


Molecular-genetic pathways of hepatitis C virus regulation of the expression of cellular factors PREB and PLA2G4C, which play an important role in virus replication

E.L. Mishchenko^{1,2}, A.A. Makarova¹, E.A. Antropova¹, A.S. Venzel^{1,2}, T.V. Ivanisenko^{1,2},
P.S. Demenkov^{1,2,3}, V.A. Ivanisenko^{1,2,3} 

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

 salix@bionet.nsc.ru

Abstract. The participants of Hepatitis C virus (HCV) replication are both viral and host proteins. Therapeutic approaches based on activity inhibition of viral non-structural proteins NS3, NS5A, and NS5B are undergoing clinical trials. However, rapid mutation processes in the viral genome and acquisition of drug resistance to the existing drugs remain the main obstacles to fighting HCV. Identifying the host factors, exploring their role in HCV RNA replication,

and studying viral effects on their expression is essential for understanding the mechanisms of viral replication and developing novel, effective curative approaches. It is known that the host factors *PREB* (prolactin regulatory element binding) and *PLA2G4C* (cytosolic phospholipase A2 gamma) are important for the functioning of the viral replicase complex and the formation of the platforms of HCV genome replication. The expression of *PREB* and *PLA2G4C* was significantly elevated in the presence of the HCV genome. However, the mechanisms of its regulation by HCV remain unknown. In this paper, using a text-mining technology provided by ANDSystem, we reconstructed and analyzed gene networks describing regulatory effects on the expression of *PREB* and *PLA2G4C* by HCV proteins. On the basis of the gene network analysis performed, we put forward hypotheses about the modulation of the host factors functions resulting from protein-protein interaction with HCV proteins. Among the viral proteins, NS3 showed the greatest number of regulatory linkages. We assumed that NS3 could inhibit the function of host transcription factor (TF) NOTCH1 by protein-protein interaction, leading to upregulation of *PREB* and *PLA2G4C*. Analysis of the gene networks and data on differential gene expression in HCV-infected cells allowed us to hypothesize further how HCV could regulate the expression of TFs, the binding sites of which are localized within *PREB* and *PLA2G4C* gene regions. The results obtained can be used for planning studies of the molecular-genetic mechanisms of viral-host interaction and searching for potential targets for anti-HCV therapy.

Key words: hepatitis C virus; HCV gene replication; replicase HCV; host factors; gene networks; phospholipase PLA2G4C; PREB protein.

For citation: Mishchenko E.L., Makarova A.A., Antropova E.A., Venzel A.S., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A. Molecular-genetic pathways of hepatitis C virus regulation of the expression of cellular factors PREB and PLA2G4C, which play an important role in virus replication. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(7):776-783. DOI 10.18699/VJGB-23-90

Введение

Вирус гепатита С (ВГС) вызывает опасное заболевание печени, которое, начинаясь бессимптомно, переходит в хроническую форму и может привести к циррозу и гепатоцеллюлярной карциноме (Yamane et al., 2013). Геном ВГС представлен плюс-цепью РНК (~9600 нуклеотидов), кодирующей структурные (Core, E1, E2) и неструктурные (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) белки, а также содержит 5'- и 3'-нетранслируемые районы (UTR), которые необходимы для трансляции вирусного полипротеина и репликации вирусного генома (Bartenschlager et al., 2013). Структурные гликопротеины E1 и E2 локализованы на двуслойной липидной оболочке вируса, окружающей нуклеокапсид, состоящий из множества копий корового (Core) белка и РНК-генома. Белок p7 имеет свойства мембранного катионного канала, белки NS2 и NS3/NS4A – протеазы, осуществляющие процессинг вирусного полипротеина, NS3 обладает также хеликазной активностью, NS4B и NS5A способны модифицировать мембраны эндоплазматического ретикулума (ЭР) с образованием везикулярных мембранных структур – платформ репликации генома ВГС, NS5B является РНК-зависимой РНК полимеразой. Комплекс неструктурных белков NS3–NS5B, включающий также хозяйские факторы, выполняет роль вирусной репликазы в хозяйской клетке (Moradpour et al., 2007). Геном вируса высокогетерогенен из-за высокой частоты ошибок функционирования РНК-зависимой РНК полимеразы NS5B. Это свойство NS5B считается основной причиной быстрого приобретения вирусом лекарственной устойчивости (Powdrill et al., 2011).

В настоящее время большое внимание исследователей направлено на идентификацию и изучение свойств клеточных факторов, участвующих в модификации мембран ЭР с образованием кластеров везикул, в которых реплицируется РНК-геном ВГС, а также входящих в состав вирусной репликазы. Так, установлено, что рецептор активированной С киназы 1 (RACK1) ассоциирует с NS5A и комплексом инициации формирования аутофагосом ATG14L–Beclin1–Vps34–Vps15 и стимулирует формирование мем-

бранных везикулярных структур (Lee et al., 2019). Белок ранних эндосом (ЕЕ) Rab5, регулирующий эндоцитоз и слияние ЕЕ, а также белок поздних эндосом (LE) Rab7, усиливающий транспорт LE к лизосомам, ассоциированы с NS4B и вовлечены в биогенез этих мембранных структур (Manna et al., 2010). Малая ГТФаза Rab18-GTP на мембранах липидных капель (ЛК) взаимодействует с вирусным белком NS5A на мембране ЭР. Ассоциация мембран ЛК и ЭР в результате прямого взаимодействия Rab18-GTP и NS5A приводит к локализации репликационных комплексов ВГС вблизи ЛК и стимуляции репликации РНК ВГС (Salloum et al., 2013).

Важную роль в формировании мембранных везикулярных структур и репликационных комплексов играет фосфатидилинозитол 4-киназа IIIα (PI4KIIIα). Через белок-белковое взаимодействие NS5A стимулирует активность PI4KIIIα с образованием фосфатидилинозитол-4-фосфата (PI4P), который рекрутирует и координирует на мембране вирусные и хозяйские белки, содержащие аффинные к PI4P липид-связывающие домены (Berger et al., 2011; Reiss et al., 2011). Более того, ВГС способен регулировать экспрессию клеточных факторов, играющих важную роль для репликации вируса. Так, у цитозольной фосфолипазы A2 гамма (PLA2G4C), гидролизующей фосфолипиды мембран с образованием свободной жирной кислоты и лизофосфатида и оказывающей прямой эффект на структуру мембран, их форму, слияние и взаимодействие с белками (Brown et al., 2003), экспрессия в присутствии РНК ВГС на уровне как РНК, так и белка увеличена в несколько раз (Xu et al., 2012).

Экспрессия гена *PREB*, связывающего регуляторный элемент пролактина, также значительно увеличена в присутствии ВГС (Kong et al., 2016). Белок PREB функционирует в качестве регуляторного фактора отпочковывания СОPII везикул от мембран ЭР (LaPointe et al., 2004), ассоциирует с NS4B, вовлечен в формирование мембранных везикулярных структур и локализован в активном репликационном комплексе ВГС через взаимодействие с NS4B (Kong et al., 2016). Несмотря на накопленные факты о

повышении экспрессии *PREB* и *PLA2G4C* в присутствии ВГС, молекулярные механизмы регуляции экспрессии этих хозяйских факторов слабо изучены.

Технология текст-майнинга – полезный инструмент для исследования молекулярно-генетических взаимодействий. Ранее нами была разработана программно-информационная система ANDSystem (Ivanisenko V.A. et al., 2015, 2019; Ivanisenko T.V. et al., 2020, 2022), реализующая полный цикл инженерии знаний, который включает автоматическую экстракцию информации из научных публикаций и фактографических баз данных, интеграции и представление информации в виде семантических сетей в базе знаний, а также предоставление пользовательского доступа к базе знаний для реконструкции и анализа генных сетей. ANDSystem применялась для решения широкого круга задач, включающих анализ интерактома белков вируса гепатита С с белками человека, интерпретацию результатов метаболомного анализа, задачи приоритизации генов, поиск новых потенциальных мишеней для действия лекарств и др. В частности, анализ белок-белковых взаимодействий белков ВГС и человека позволил реконструировать потенциальные пути регуляции внешнего пути апоптоза вирусными белками (Saik et al., 2016), а также изучить особенности регуляции белками ВГС генов, подверженных aberrантному метилированию при гепатоцеллюлярной карциноме (Antropova et al., 2022). На основе данных метаболомного анализа плазмы крови пациентов с Covid-19 были реконструированы регуляторные пути, описывающие контроль метаболических путей человека белками SARS-Cov-2, и показано, что ряд неструктурных вирусных белков оказывал наибольшее регуляторное воздействие (Ivanisenko V.A. et al., 2022). С помощью реконструкции и анализа генных сетей предложены новые методы приоритизации генов, которые были применены для поиска генов-кандидатов, ассоциированных с лимфедемой, а также с большим депрессивным расстройством (Yankina et al., 2018; Saik et al., 2019). С использованием ANDSystem были предложены новые потенциальные фармакологические мишени для терапии коморбидного состояния астмы и гипертонии (Saik et al., 2018a, b).

В нашей работе с применением программно-информационной системы ANDSystem реконструированы и проанализированы пути регуляции белками ВГС экспрессии генов клеточных факторов *PLA2G4C* и *PREB*, играющих важную роль в формировании мембранных везикулярных структур – платформ репликации вирусной РНК, и в функционировании вирусной репликазы. С помощью компьютерного анализа были найдены 28 транскрипционных факторов (ТФ) человека, находящихся под контролем ВГС, которые могут участвовать в регуляции экспрессии *PLA2G4C* и *PREB*. Оказалось, что из этих ТФ 16 белков участвуют в регуляции *PLA2G4C*, 23 – в регуляции *PREB*, а 11 являются общими. На основе анализа генных сетей и данных о дифференциальной экспрессии генов выдвинуты гипотезы о регуляторных эффектах вирусных белков на функции ТФ, с которыми они образуют комплексы в результате белок-белковых взаимодействий, а также регуляторные эффекты этих ТФ на экспрессию *PLA2G4C* и *PREB*.

Материалы и методы

Получение списка дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) человеческих белков в присутствии белков ВГС. С использованием результатов РНК-секвенирования, доступных на ресурсе NCBI GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) (Edgar et al., 2002), по идентификатору GSE66842 был получен список человеческих генов, дифференциально экспрессирующихся в гепатоцитах линии Huh7.5.1 в условиях инфекции ВГС. Анализ данных РНК-секвенирования проведен с помощью инструмента GEO2R, который позволяет получить результаты статистической обработки и визуализацию данных о дифференциальной экспрессии генов в экспериментальных условиях. Нами были взяты статистически значимые ДЭГ в контрольной точке «10 дней после заражения ВГС» (GSE66842). В работе использованы также результаты транскриптомного анализа дифференциальной экспрессии генов в гепатоцитах Huh.7.5 в контрольной точке «72 часа после заражения ВГС» (Papic et al., 2012). Для реконструкции генных сетей эти результаты объединены в конечный список ДЭГ.

Идентификация транскрипционных факторов. Транскрипционные факторы, сайты связывания которых локализованы в генах *PREB* и *PLA2G4C*, а также во фланкирующих районах этих генов в диапазоне ± 2000 п. н., были извлечены из базы данных GTRD (<http://gtrd20-06.biouml.org/>) (Yevshin et al., 2017; Kolmykov et al., 2021), которая интегрирует исследования организации геномов. Для построения генных сетей были отобраны те гены ТФ, которые являются дифференциально экспрессирующимися в условиях инфекции вируса гепатита С.

Реконструкция и анализ молекулярно-генетических путей регуляции экспрессии генов *PREB* и *PLA2G4C* белками ВГС с помощью ANDSystem. Молекулярно-генетические пути регуляции экспрессии хозяйских факторов *PREB* и *PLA2G4C* белками ВГС были реконструированы с помощью системы ANDSystem и ее графического пользовательского интерфейса ANDVisio. Программа ANDVisio обращается к базе знаний ANDSystem, содержащей более 40 млн фактов о межмолекулярных взаимосвязях, включающих белок-белковые взаимодействия, регуляцию экспрессии генов, регуляцию активности, деградации и транспорта белков.

Построение регуляторных молекулярно-генетических путей, описывающих взаимодействия между белками ВГС и человеческими белками и генами, осуществляли в модуле «Мастер путей» программы ANDVisio. Взаимосвязи между участниками данных путей, включающие белок-белковые взаимодействия и регуляцию экспрессии генов, расположены согласно схеме (рис. 1).

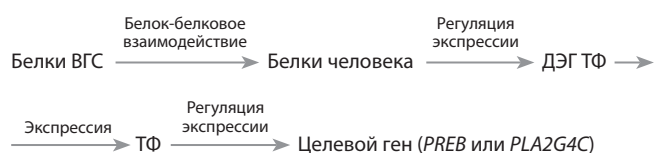


Рис. 1. Схема построения регуляторных молекулярно-генетических путей модуляции экспрессии генов хозяйских факторов белками ВГС.

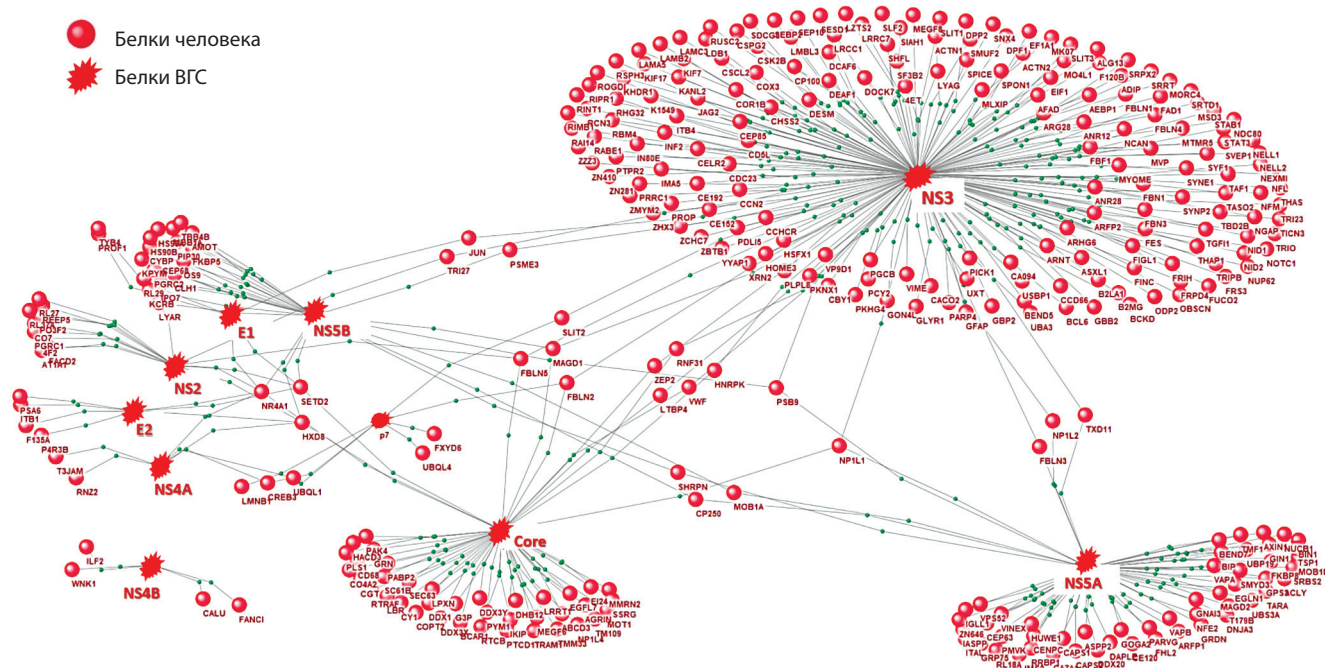


Рис. 2. Граф взаимодействий человеческих белков и белков ВГС, реконструированный с помощью программно-информационной системы ANDSystem.

Белок-белковые взаимодействия обозначены черными линиями.

Результаты и обсуждение

Реконструкция интерактома человеческих белков и белков ВГС

С применением программно-информационной системы ANDSystem был реконструирован интерактом 10 белков ВГС с 333 белками человека (рис. 2). Оказалось, что 195 человеческих белков взаимодействуют с NS3, 59 – с NS5A, 50 – с Core, 26 – с NS5B, 15 – с NS2, 7 – с E2 и p7, 6 – с NS4A, 5 – с E1, 4 белка – с NS4B. Генная сеть иллюстрирует, что лишь небольшое количество человеческих белков взаимодействует более чем с одним белком ВГС. Среди них оказались транскрипционные факторы, потенциально регулирующие экспрессию целевых генов *PREB* и *PLA2G4C*.

Реконструкция молекулярно-генетических путей регуляции экспрессии генов *PREB* и *PLA2G4C* белками ВГС

Опубликованные научные результаты свидетельствуют о том, что в присутствии белков ВГС многократно усиливается экспрессия клеточных факторов *PLA2G4C* (Xu et al., 2012) и *PREB* (Kong et al., 2016). Эти хозяйские факторы играют важную роль в репликации ВГС и вовлечены как в формирование мембранных везикулярных структур – компарментов репликации вирусной РНК, так и в функционирование репликазного комплекса ВГС (Xu et al., 2012; Kong et al., 2016). Однако молекулярно-генетические механизмы повышения экспрессии *PREB* и *PLA2G4C* в условиях инфекции ВГС до сих пор не изучены. С помощью информации о дифференциальной экспрессии генов выявлены ТФ, регулируемые вирусными белками. Следует отметить, что в нашей работе мы не рассматривали ТФ, экспрессия которых не изменялась в

условиях заражения ВГС. Из базы данных GTRD были извлечены списки, содержащие 432 и 693 ТФ, сайты связывания которых находятся в районах генов *PREB* и *PLA2G4C* соответственно. Среди множества транскрипционных факторов были отобраны 92 ТФ, гены которых дифференциально экспрессируются в присутствии белков ВГС (69 и 63 ТФ для *PREB* и *PLA2G4C* соответственно, 40 ТФ – общие для обоих целевых генов).

С помощью ANDSystem были реконструированы и проанализированы молекулярно-генетические пути регуляции экспрессии *PREB* и *PLA2G4C* белками ВГС (рис. 3 и 4). В составе регуляторных путей, первым звеном которых являлись белки ВГС, а конечным – гены *PREB* и *PLA2G4C*, оказались 28 из 92 ТФ, что свидетельствует о регуляции этих ТФ вирусными белками.

Генная сеть на рис. 3 иллюстрирует регуляторные молекулярно-генетические пути экспрессии *PREB* белками ВГС. Эти пути включают 24 белка, представленных в звене 2, 23 ТФ – участника звена 4 и кодирующих их генов звена 3. Как следует из графа генной сети, только 23 из 69 ТФ вошли в состав регуляторных путей, что может свидетельствовать о том, что именно эти ТФ регулируют транскрипцию гена *PREB* в условиях инфекции вируса гепатита С.

Приведенная на рис. 4 генная сеть иллюстрирует пути регуляции экспрессии *PLA2G4C* белками ВГС. В базе данных GTRD в регуляторных районах гена *PLA2G4C* найдены сайты связывания 63 ТФ, являющихся ДЭГ. Только 16 из 63 ТФ вошли в состав регуляторных путей. Это может свидетельствовать в пользу того, что именно эти ТФ предположительно регулируют транскрипцию гена *PLA2G4C* в условиях инфекции ВГС. Ранее было показано, что белок NS3 вируса гепатита С стимулирует

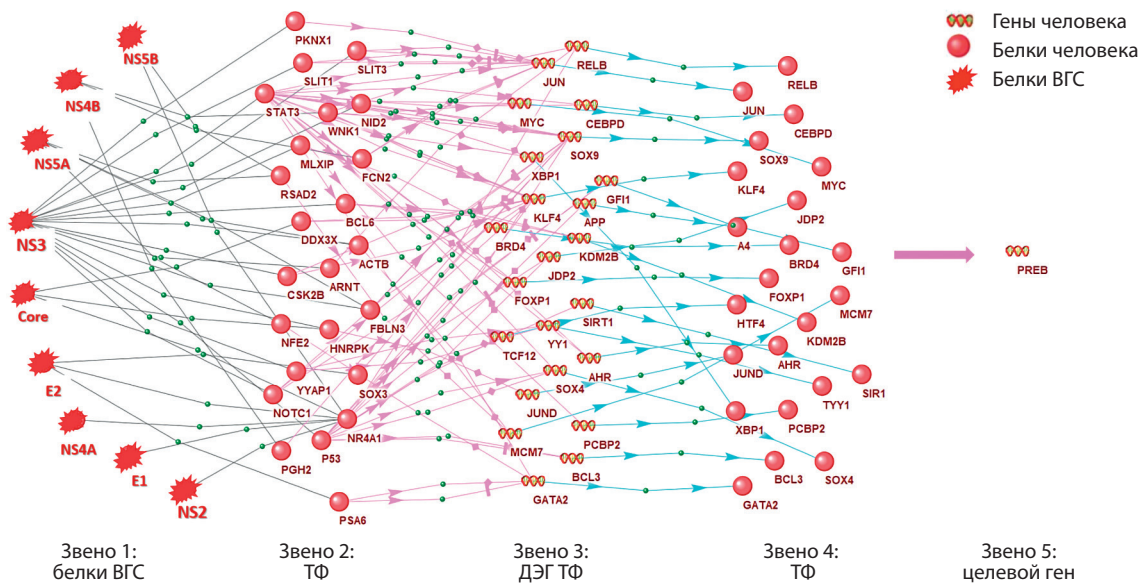


Рис. 3. Генная сеть молекулярно-генетических путей регуляции экспрессии гена *PREB* в условиях инфекции ВГС.

Здесь и на рис. 4: черные линии – белок-белковые взаимодействия; розовые стрелки – регуляция экспрессии; голубые стрелки – экспрессия.

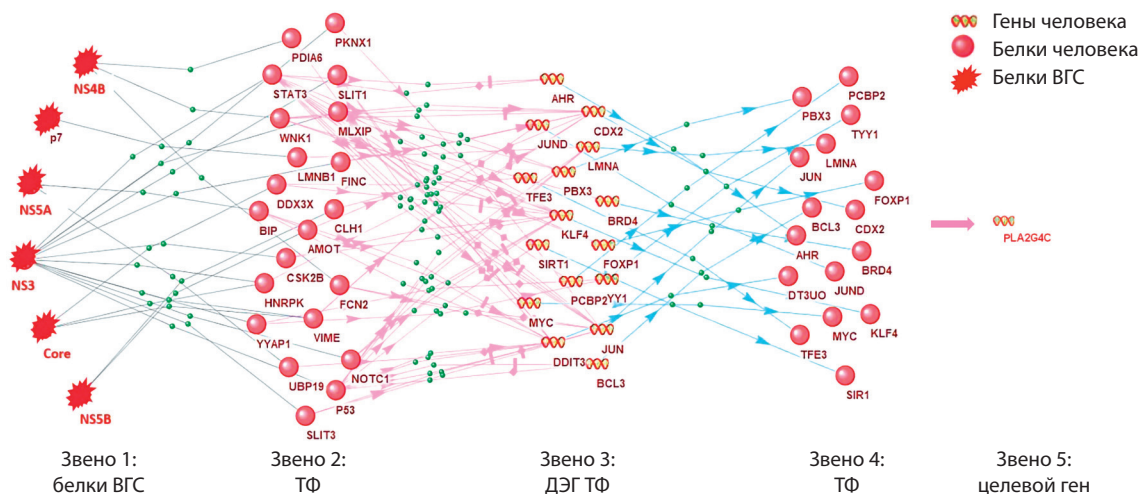


Рис. 4. Генная сеть молекулярно-генетических путей регуляции экспрессии гена *PLA2G4C* в условиях инфекции ВГС.

активность ТФ STAT3 (Machida et al., 2006). При этом STAT3 значительно усиливает транскрипцию гена *MYC* (Kiuchi et al., 1999; Paric et al., 2012). Более того, согласно (Xiong et al., 2017), изменение экспрессии *MYC* усиливало экспрессию *PLA2G4C*, что согласуется с выявленным нами путем регуляции. Аналогично положительная регуляция экспрессии *XBP1* со стороны STAT3 (Diehl et al., 2008) и повышенная экспрессия *XBP1* (Paric et al., 2012) в присутствии ВГС могут обуславливать активирующий эффект *XBP1* на транскрипцию *PLA2G4C*.

Применение ANDSystem позволило нам выдвинуть гипотезы о регуляции белками ВГС экспрессии ТФ, взаимодействующих с сайтами регуляторных районов генов *PREB* и *PLA2G4C* (см. рис. 3 и 4). Следует отметить, что 11 ТФ были одновременно представлены в числе регуляторов как *PREB*, так и *PLA2G4C*. На основании данных о

дифференциальной экспрессии генов и характере связей регуляторных молекулярно-генетических путей можно предположить, какой эффект эти ТФ (звено 4) оказывают на транскрипцию *PREB* и *PLA2G4C* (см. таблицу). Например, повышенная экспрессия гена ТФ звена 3 и положительная регуляция со стороны ТФ звена 2 могут обуславливать активацию транскрипции *PREB* и *PLA2G4C*. В частности, из путей регуляции следует, что ТФ *CEBPD* положительно регулирует экспрессию *PREB*, так как экспрессия *CEBPD* положительно регулируется STAT3 (звено 2) и повышена в присутствии ВГС (Paric et al., 2012). В свою очередь, сниженная в присутствии ВГС экспрессия ТФ из звена 4 и отрицательный знак регуляции экспрессии между участниками звеньев 2 и 3 объясняют подавляющий эффект ТФ на транскрипцию *PREB* и *PLA2G4C*.

Ожидаемый эффект транскрипционных факторов звена 4 на экспрессию PREB и PLA2G4C

ТФ	Предполагаемый эффект*		ТФ	Предполагаемый эффект		ТФ	Предполагаемый эффект	
	PREB	PLA2G4C		PREB	PLA2G4C		PREB	PLA2G4C
AHR	↑	↑	JDP2	↑	-	RELB	↑	-
APP	↑	-	JUN	↑	↑	SIRT1	↑	↑
BCL3	↑	↑	JUND	↑	↑	SOX4	↑	-
BRD4	↑	↑	KDM2B	↑	-	SOX9	↓	-
CDX2	-	↑	KLF4	↑	↑	TCF12	↑	-
CEBPD	↑	-	LMNA	-	↑	TFE3	-	↑
DDIT3	↑	↑	MCM7	↑	-	XBP1	↑	-
FOXP1	↓	↓	MYC	↑	↑	YY1	↑	↑
GATA2	↑	-	PBX3	-	↑			
GFI1	↑	-	PCBP2	↑	↑			

* «↑» – положительная регуляция, «↓» – отрицательная регуляция, «-» – нет регуляции.

Из публикаций следует, что белок Core ВГС увеличивает экспрессию *NR4A1* (Tan, Li, 2015), при этом транскрипционный фактор NR4A1 ингибирует экспрессию гена *SOX9* (Hu et al., 2014). В реконструированных нами регуляторных путях NR4A1 является транскрипционным фактором звена 2, связывается с шестью белками ВГС (Core, E1, E2, NS2, NS4A, NS5B) и оказывает отрицательный эффект на *SOX9*. Таким образом, транскрипционный фактор *SOX9*, ингибируемый на уровне РНК в условиях инфекции ВГС, предположительно снижает экспрессию гена *PREB*. Гипотезы, предложенные нами на основе анализа генных сетей, в дальнейшем следует экспериментально подтвердить.

Анализ реконструированных генных сетей позволил также выдвинуть гипотезы о том, какой эффект могут оказывать вирусные белки на функцию ТФ, с которыми они образуют комплексы в результате белок-белковых взаимодействий. Эти гипотезы строились на основе структуры регуляторных молекулярно-генетических путей и данных о дифференциальной экспрессии генов аналогично гипотезам о регуляции *PREB* и *PLA2G4C* ТФ. Вирусный белок оказывает отрицательный эффект на функцию белка из звена 2 регуляторного пути в результате физического взаимодействия с ним в следующих случаях: 1) участник звена 2 связан с участником из звена 3 по типу положительной регуляции экспрессии, и экспрессия участника звена 3 снижена в присутствии ВГС; 2) участник звена 2 связан с участником из звена 3 по типу отрицательной регуляции экспрессии, и экспрессия участника звена 3 повышена в присутствии ВГС. Вирусный белок оказывает положительный эффект на функцию белка из звена 2 в следующих случаях: 1) участник звена 2 связан с участником звена 3 по типу положительной регуляции экспрессии, и экспрессия участника звена 3 повышена в присутствии ВГС; 2) участник звена 2 связан с участником из звена 3 по типу отрицательной регуляции экспрессии, и экспрессия участника звена 3 снижена в присутствии ВГС.

Согласно реконструированным регуляторным молекулярно-генетическим путям, среди белков ВГС наибольшее число регуляторных связей выявлено у вирусной протеа-

зы NS3. Одним из белков, непосредственно взаимодействующих с NS3, является ТФ NOTCH1. Опубликовано множество научных исследований этого ТФ, но информации об эффекте NS3 на функцию NOTCH1 в результате белок-белковых взаимодействий мы не обнаружили. Из анализа регуляторных путей и данных дифференциальной экспрессии генов мы предположили, что NS3 подавляет активность NOTCH1 в результате белок-белкового взаимодействия. Ранее было показано, что NOTCH1 активирует транскрипцию *SOX9* (Zong et al., 2009) и подавляет *KLF4* (Xue et al., 2016), что привело бы к отрицательному эффекту на транскрипцию *PREB* и *PLA2G4C*. Однако реальное изменение экспрессии целевых генов, а также их ТФ *SOX9* и *KLF4* согласуется с гипотезой о подавлении активности NOTCH1 вирусным белком NS3.

Заключение

С помощью программно-информационной системы ANDSystem реконструированы и проанализированы молекулярно-генетические пути регуляции экспрессии генов *PLA2G4C* и *PREB* белками вируса гепатита С. Белковые продукты этих генов важны для репликации ВГС, так как они участвуют в модификации мембран с образованием кластеров мембранных везикул, которые являются компартментами репликации генома ВГС, а также вовлечены в состав и функционирование репликазы ВГС. Теоретические данные, полученные в нашей работе, могут быть полезны для планирования исследований по изучению механизмов, посредством которых ВГС использует белки человека для репликации своего генома, а также для поиска потенциальных мишеней противовирусной терапии.

Список литературы / References

Antropova E.A., Khlebodarova T.M., Demenkov P.S., Venzel A.S., Ivanisenco N.V., Gavrilenko A.D., Ivanisenco T.V., Adamovskaya A.V., Revva P.M., Lavrik I.N., Ivanisenco V.A. Computer analysis of regulation of hepatocarcinoma marker genes hypermethylated by HCV proteins. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(8):733-742. DOI 10.18699/VJGB-22-89

- Bartenschlager R., Lohmann V., Penin F. The molecular and structural basis of advanced antiviral therapy for hepatitis C virus infection. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013;11(7):482-496. DOI 10.1038/nrmicro3046
- Berger K.L., Kelly S.M., Jordan T.X., Tartell M.A., Randall G. Hepatitis C virus stimulates the phosphatidylinositol 4-kinase III alpha-dependent phosphatidylinositol 4-phosphate production that is essential for its replication. *J. Virol.* 2011;85(17):8870-8883. DOI 10.1128/JVI.00059-11
- Brown W.J., Chambers K., Doody A. Phospholipase A2 (PLA2) enzymes in membrane trafficking: mediators of membrane shape and function. *Traffic.* 2003;4(4):214-221. DOI 10.1034/j.1600-0854.2003.00078.x
- Diehl S.A., Schmidlin H., Nagasawa M., van Haren S.D., Kwakkenbos M.J., Yasuda E., Beaumont T., Scheeren F.A., Spits H. STAT3-mediated up-regulation of BLIMP1 is coordinated with BCL6 down-regulation to control human plasma cell differentiation. *J. Immunol.* 2008;180(7):4805-4815. DOI 10.4049/jimmunol.180.7.4805
- Edgar R., Domrachev M., Lash A.E. Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(1):207-210. DOI 10.1093/nar/30.1.207
- Hu Y.W., Zhang P., Yang J.Y., Huang J.L., Ma X., Li S.F., Zhao J.Y., Hu Y.R., Wang Y.C., Gao J.J., Sha Y.H., Zheng L., Wang Q. Nur77 decreases atherosclerosis progression in apoE^{-/-} mice fed a high-fat/high-cholesterol diet. *PLoS One.* 2014;9(1):e87313. DOI 10.1371/journal.pone.0087313
- 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. The new version of the ANDDigest tool with improved AI-based short names recognition. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(23):14934. DOI 10.3390/ijms232314934
- Ivanisenko V.A., Saik O.V., Ivanisenko N.V., Tiys E.S., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Kolchanov N.A. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. *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., Mishchenko E.L., Saik O.V. A new version of the ANDSystem tool for automatic extraction of knowledge from scientific publications with expanded functionality for reconstruction of associative gene networks by considering tissue-specific gene expression. *BMC Bioinformatics.* 2019;20(Suppl.1):34. DOI 10.1186/s12859-018-2567-6
- Ivanisenko V.A., Gaisler E.V., Basov N.V., Rogachev A.D., Cherezis S.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Mishchenko E.L., Khripko O.P., Khripko Y.I., Voevoda S.M. Plasma metabolomics and gene regulatory networks analysis reveal the role of nonstructural SARS-CoV-2 viral proteins in metabolic dysregulation in COVID-19 patients. *Sci. Rep.* 2022;12(1):19977. DOI 10.1038/s41598-022-24170-0
- Kiuchi N., Nakajima K., Ichiba M., Fukada T., Narimatsu M., Mizuno K., Hibi M., Hirano T. STAT3 is required for the gp130-mediated full activation of the *c-myc* gene. *J. Exp. Med.* 1999;189(1):63-73. DOI 10.1084/jem.189.1.63
- Kolmykov S., Yevshin I., Kulyashov M., Sharipov R., Kondrakhin Y., Makeev V.J., Kulakovskiy I.V., Kel A., Kolpakov F. GTRD: an integrated view of transcription regulation. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D104-D111. DOI 10.1093/nar/gkaa1057
- Kong L., Fujimoto A., Nakamura M., Aoyagi H., Matsuda M., Wataishi K., Suzuki R., Arita M., Yamagoe S., Dohmae N., Suzuki T., Sakamaki Y., Ichinose S., Suzuki T., Wakita T., Aizaki H. Prolactin regulatory element binding protein is involved in hepatitis C virus replication by interaction with NS4B. *J. Virol.* 2016;90(6):3093-3111. DOI 10.1128/JVI.01540-15
- LaPointe P., Gurkan C., Balch W.E. Mise en place – this bud's for the Golgi. *Mol. Cell.* 2004;14(4):413-414. DOI 10.1016/s1097-2765(04)00267-9
- Lee J.S., Tabata K., Twu W.-I., Rahman M.S., Kim H.S., Yu J.B., Jee M.H., Bartenschlager R., Jang S.K. RACK1 mediates rewiring of intracellular networks induced by hepatitis C virus infection. *PLoS Pathog.* 2019;15(9):e1008021. DOI 10.1371/journal.ppat.1008021
- Machida K., Cheng K.T., Lai C.K., Jeng K.S., Sung V.M., Lai M.M. Hepatitis C virus triggers mitochondrial permeability transition with production of reactive oxygen species, leading to DNA damage and STAT3 activation. *J. Virol.* 2006;80(14):7199-7207. DOI 10.1128/jvi.00321-06
- Manna D., Aligo J., Xu C., Park W.S., Koc H., Heo W.D., Konan K.V. Endocytic Rab proteins are required for hepatitis C virus replication complex formation. *Virology.* 2010;398(1):21-37. DOI 10.1016/j.virology.2009.11.034
- Moradpour D., Penin F., Rice C.M. Replication of hepatitis C virus. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007;5(6):453-463. DOI 10.1038/nrmicro1645
- Papic N., Maxwell C.I., Delker D.A., Liu S., Bret S.E., Heale B.S.E., Hagedorn C.H. RNA-sequencing analysis of 5' capped RNAs identifies many new differentially expressed genes in acute hepatitis C virus infection. *Viruses.* 2012;4(4):581-612. DOI 10.3390/v4040581
- Powdrill M.H., Tchesnokov E.P., Kozak R.A., Russell R.S., Martin R., Svarovskaia E.S., Mo H., Kouyou R.D., Gotte M. Contribution of a mutational bias in hepatitis C virus replication to the genetic barrier in the development of drug resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011;108(51):20509-20513. DOI 10.1073/pnas.1105797108
- Reiss S., Rebhan I., Backes P., Romero-Brey I., Erfle H., Matula P., Kaderali L., Poenisch M., Blankenburg H., Hiet M.S., Longeric T., Diehl S., Ramirez F., Balla T., Rohr K., Kaul A., Buhler S., Pepperkok R., Lengauer T., Albrecht M., Eils R., Schirmacher P., Lohmann V., Bartenschlager R. Recruitment and activation of a lipid kinase by hepatitis C virus NS5A is essential for integrity of the membranous replication compartment. *Cell Host Microbe.* 2011;9(1):32-45. DOI 10.1016/j.chom.2010.12.002
- Saik O.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A. Interactome of the hepatitis C virus: literature mining with ANDSystem. *Virus Res.* 2016;218:40-48. DOI 10.1016/j.virusres.2015.12.003
- Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Y., Freidin M.B., Dosenko V.E., Zolotareva O.I., Choynzonov E.L., Hofstaedt R., Ivanisenko V.A. Search for new candidate genes involved in the comorbidity of asthma and hypertension based on automatic analysis of scientific literature. *J. Integr. Bioinform.* 2018a;15(4):20180054. DOI 10.1515/jib-2018-0054
- Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Y., Freidin M.B., Goncharova I.A., Dosenko V.E., Zolotareva O.I., Hofstaedt R., Lavrik I.N., Rogaev E.I. Novel candidate genes important for asthma and hypertension comorbidity revealed from associative gene networks. *BMC Med. Genomics.* 2018b;11(1):61-76. DOI 10.1186/s12920-018-0331-4
- 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):117-131. DOI 10.1186/s12920-019-0492-9
- Salloum S., Wang H., Ferguson C., Parton R.G., Tai A.W. Rab18 binds to hepatitis C virus NS5A and promotes interaction between sites of viral replication and lipid droplets. *PLoS Pathog.* 2013;9(8):e1003513. DOI 10.1371/journal.ppat.1003513
- Tan Y., Li Y. HCV core protein promotes hepatocyte proliferation and chemoresistance by inhibiting NR4A1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015;466(3):592-598. DOI 10.1016/j.bbrc.2015.09.091
- Xiong J., Wang L., Fei X.C., Jiang X., Zheng Z., Zhao Y., Wang C., Li B., Chen S., Janin A., Gale R.P., Zhao W. MYC is a positive regulator of choline metabolism and impedes mitophagy-dependent

- necroptosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Cancer J.* 2017;7(7):e582. DOI 10.1038/bcj.2017.61
- Xu S., Pei R., Guo M., Han Q., Lai J., Wang Y., Wu C., Zhou Y., Lu M., Chen X. Cytosolic phospholipase A2 gamma is involved in hepatitis C virus replication and assembly. *J. Virol.* 2012;86(23):13025-13037. DOI 10.1128/JVI.01785-12
- Xue Y.K., Tan J., Dou D.W., Chen D., Chen L.J., Ren H.P., Chen L.B., Xiong X.G., Zheng H. Effect of Kruppel-like factor 4 on Notch pathway in hepatic stellate cells. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2016;36(6):811-816. DOI 10.1007/s11596-016-1667-7
- Yamane D., McGivern D.R., Masaki T., Lemon S.M. Liver injury and disease pathogenesis in chronic hepatitis C. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2013;369:263-288. DOI 10.1007/978-3-642-27340-7_11
- Yankina M.A., Saik O.V., Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Khusnutdinova E.K. Evaluation of prioritization methods of extrinsic apoptotic signaling pathway genes for retrieval of the new candidates associated with major depressive disorder. *Russ. J. Genet.* 2018; 54(11):1366-1374. DOI 10.1134/S1022795418110170
- Yevshin I., Sharipov R., Valeev T., Kel A., Kolpakov F. GTRD: a database of transcription factor binding sites identified by ChIP-seq experiments. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(D1):D61-D67. DOI 10.1093/nar/gkw951
- Zong Y., Panikkar A., Xu J., Antoniou A., Raynaud P., Lemaigre F., Stanger B.Z. Notch signaling controls liver development by regulating biliary differentiation. *Development.* 2009;136(10):1727-1739. DOI 10.1242/dev.029140

ORCID ID

A.A. Makarova orcid.org/0009-0005-1844-7921
E.A. Antropova orcid.org/0000-0003-2158-3252
T.V. Ivanisenko orcid.org/0000-0002-0005-9155
P.S. Demenkov orcid.org/0000-0001-9433-8341
V.A. Ivanisenko orcid.org/0000-0002-1859-4631

Благодарности. Работа поддержана бюджетным проектом № FWNR-2022-0020.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 19.07.2023. После доработки 27.08.2023. Принята к публикации 30.08.2023.