

Генная сеть клеточного ответа на терагерцовое излучение, реконструированная на основе анализа метаболомных данных

Макарова А.А.^{1*}, Бутикова Е.А.³, Басов Н.В.^{2,3}, Рогачев А.Д.^{2,3},
Иванисенко Т.В.^{1,4}, Деменков П.С.^{1,3,4}, Гайслер Е.В.³, Покровский А.Г.³,
Колчанов Н.А.^{1,3,4}, Иванисенко В.А.^{1,3,4}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁴ Курчатowski геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

* MakarovaAA@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: генные сети; ТГц; терагерцовое излучение; метаболомный скрининг

Мотивация и цель: В связи с развитием технологий применения терагерцового (ТГц) излучения необходимо исследовать его воздействие на живые организмы. Известно, что в культурах клеток, подвергшихся ТГц излучению, наблюдаются нарушения ряда биологических процессов, ассоциированные с изменением экспрессионных [1–3] и протеомных [4] профилей. В частности, описана дисрегуляция биологических процессов, протекающих в митохондриях [1]. Мы предположили, что воздействие ТГц излучения на мембраны митохондрий может приводить к повреждению супрамолекулярных мембранных структур, в частности липидных рафтов, нарушая регуляцию функций белков транспорта и превращения метаболитов. В рамках исследования этой гипотезы целью работы являлась интерпретация метаболомных данных с применением подхода генных сетей.

Методы и алгоритмы: Для анализа были взяты данные LC-MS/MS метаболомного скрининга клеток меланомы человека, проведенного через трое суток после облучения лазером с частотой 2.3 ТГц и для контрольной группы клеток – термостатирования в течение трех суток. Статистический анализ данных проводился с применением критерия Манна–Уитни с поправкой на множественное тестирование Benjamini–Hochberg.

Для построения генной сети из баз данных KEGG и HMDB были извлечены ферменты биосинтеза и деградации выявленных метаболитов; митохондриальные мембранные белки человека экстрагированы из базы данных MitoProteome. Реконструкция генной сети производилась в программе ANDVisio – графическом интерфейсе программно-информационной системы ANDSystem [5]. Для анализа перепредставленности биологических процессов и клеточных компонентов Gene Ontology был использован веб-инструмент DAVID.

Результаты: Сравнительный статистический анализ метаболомных профилей группы клеток, подвергшихся ТГц излучению, и контрольной группы показал значимые различия для 40 метаболитов, среди которых оказались пурины, пиримидины и другие связанные с энергетическими процессами метаболиты. На основа-

нии нашей гипотезы о влиянии ТГц излучения на структуры в митохондриальной мембране была реконструирована генная сеть регуляции ферментов превращения значимых метаболитов митохондриальными белками-транспортерами (рис. 1).

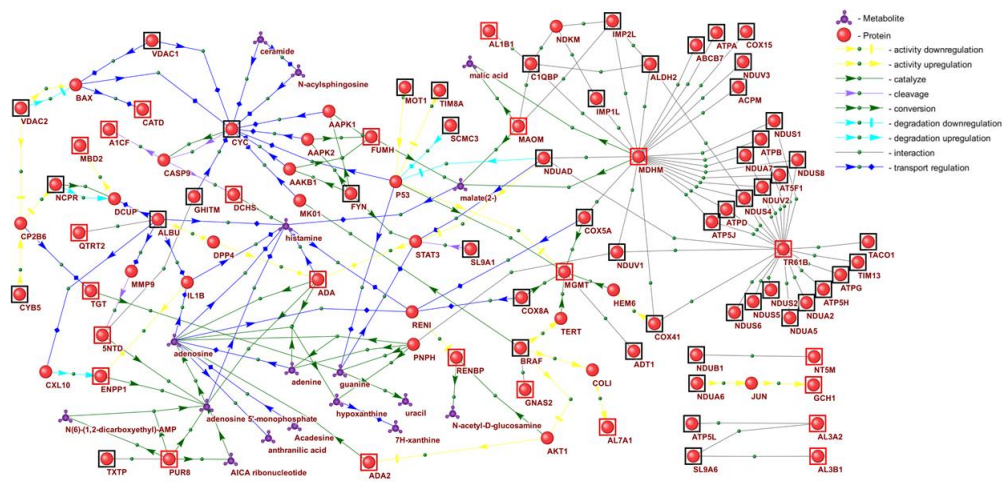


Рис. 1. Генная сеть регуляции ферментов биосинтеза и деградации значимых метаболитов. Черными рамками отмечены митохондриальные мембранные белки, красными рамками – ферменты превращения метаболитов, белки без рамок – промежуточные участники регуляторных путей

В генной сети выявлены регуляторные пути, потенциально нарушенные в клетке вследствие ТГц излучения. В качестве важных участников генной сети мы отметили ферменты MDHM, TR61B, MGMT, митохондриальные АТФ-синтазы и NADH-дегидрогеназы. Перепредставленные биологические процессы Gene Ontology включали метаболические процессы в митохондриях, цепь переноса электронов, регуляцию апоптоза и ответ клетки на внешний стимул. Анализ перепредставленности клеточных компонентов Gene Ontology идентифицировал в генной сети 8 белков липидных рафтов, указывая на роль рафтоподобных структур в регуляции превращения значимых метаболитов и их транспорта между цитоплазмой и митохондрией.

Выводы: Анализ метаболомных профилей клеток меланомы человека, подвергшихся ТГц излучению, идентифицировал 40 значимо измененных метаболитов. Реконструирована генная сеть регуляции ферментов биосинтеза и деградации метаболитов митохондриальными мембранными белками. Среди участников генной сети идентифицированы белки липидных рафтов. Из анализа генной сети выявлены механизмы, потенциально нарушенные в клетках, подвергшихся ТГц излучению. Согласно нашей гипотезе, структура липидных рафтов нарушается вследствие воздействия ТГц излучения, что способствует изменению транспорта и реакций превращения метаболитов.

Финансирование: Биоинформатический анализ был проведен при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0020.

The gene network of cellular response to Terahertz radiation based on the metabolomic data analysis

Makarova A.A.^{1*}, Butikova E.A.³, Basov N.V.^{2,3}, Rogachev A.D.^{2,3},
Ivanisenko T.V.^{1,4}, Demenkov P.S.^{1,3,4}, Gaisler E.V.³, Pokrovsky A.G.³,
Kolchanov N.A.^{1,3,4}, Ivanisenko V.A.^{1,3,4}

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴ Kurchatov Genomic Center of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

* MakarovaAA@bionet.nsc.ru

Key words: gene networks; THz; terahertz irradiation; metabolomic screening

Motivation and Aim: In connection with the development of terahertz (THz) radiation applicative technologies, it is necessary to investigate its effects on living organisms. Studies based on transcriptomic [1–3] and proteomic [4] analysis reported that THz radiation may disturb a number of biological processes, in particular, the metabolic processes in mitochondria [1]. We hypothesized that THz radiation acts upon lipid raft-like microdomains on mitochondrial membranes, leading to the disrupted regulation of transport and conversion of metabolites. In the course of our hypothesis, we aimed to analyze the metabolomic profiles of the cells exposed to THz radiation with the usage of gene networks approach.

Methods and Algorithms: The data taken into analysis included the results of LC-MS/MS metabolomic screening performed on human melanoma cells three days after irradiation with 2.3 THz laser, and the cells in control group were thermostated for three days. Statistical analysis of the data was performed using the Mann–Whitney U test with Benjamini–Hochberg correction. For the gene network reconstruction, the enzymes of biosynthesis and degradation of significantly altered metabolites were extracted from KEGG and HMDB databases; the mitochondrial membrane proteins were extracted from Mito-Proteome database. The gene network reconstruction was performed with ANDVisio program – the user interface of the ANDSystem software and information system [5]. The web tool DAVID was used for overrepresentation analysis of Gene Ontology biological processes and cellular components.

Results: The comparative statistical analysis of metabolomic profiles of the group of THz irradiated cells and the control group revealed significant differences for 40 metabolites, including purines, pyrimidines, and other energy-related metabolites. Based on our hypothesis about the effect of THz radiation on the mitochondrial membrane structures, we reconstructed the gene network of regulation of the enzymes involved in biosynthesis and degradation of significant metabolites (Fig. 1). Regulatory pathways to the enzymes started from mitochondrial membrane proteins implementing the transport function.

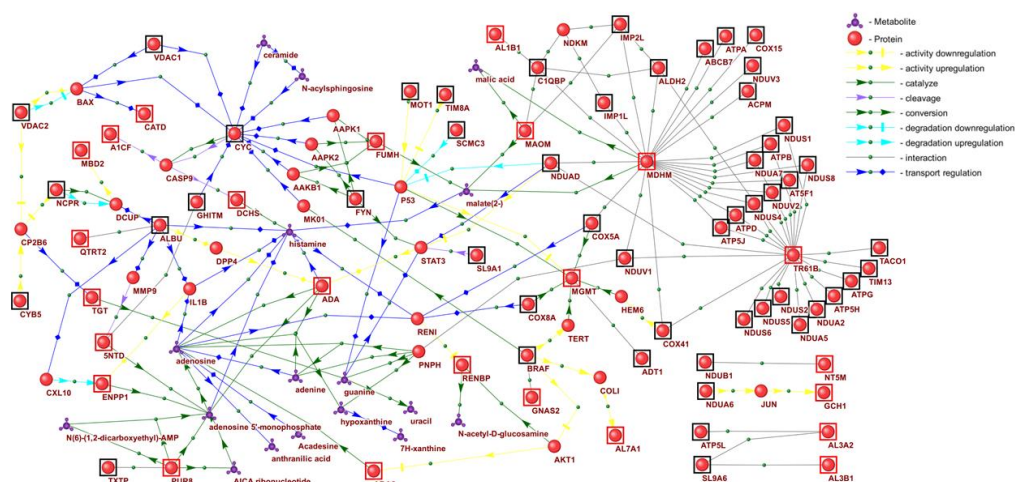


Fig. 1. Gene network of regulation of the enzymes involved in conversion of significant metabolites. Red-framed spheres represent enzymes of significant metabolites conversion. Black-framed spheres – mitochondrial membrane proteins. Red-spheres without frames – intermediate proteins

The gene network identified regulatory pathways potentially disrupted in the cell subsequent to THz-irradiation. We noted the following gene network participants: the enzymes MDHM, TR61B, MGMT, mitochondrial ATP synthases, and NADH dehydrogenases as the important components of the pathways. Overrepresented Gene Ontology biological processes included mitochondrial metabolic processes, electron transport chain, regulation of apoptosis and cell response to external stimulus. The analysis of overrepresented Gene Ontology cellular components identified 8 proteins in the gene network annotated in membrane rafts, indicating the role of raft-like structures in regulating conversion and transport of significant metabolites.

Conclusion: The analysis of metabolic profiles of THz-irradiated human melanoma cells identified 40 significantly altered metabolites. We reconstructed the gene network of regulation of the enzymes involved in biosynthesis and degradation of significant metabolites. Lipid raft proteins were identified among the participants of the gene network. The gene network analysis revealed the mechanisms potentially disrupted in THz-irradiated cells. According to our hypothesis, the structure of lipid rafts is disturbed due to THz exposure, resulting in alterations in catalytic reactions and transport of metabolites.

Funding: Bioinformatic analysis was supported by the budget project (No. FWNR-2022-0020).

Список литературы/References

1. Tachizaki T. et al. Terahertz pulse-altered gene networks in human induced pluripotent stem cells. *Optics Lett.* 2020;45(21):6078-6081
2. Bogomazova A.N. et al. No DNA damage response and negligible genome-wide transcriptional changes in human embryonic stem cells exposed to terahertz radiation. *Sci Rep.* 2015;5(1):7749
3. Alexandrov B.S. et al. Specificity and heterogeneity of terahertz radiation effect on gene expression in mouse mesenchymal stem cells. *Sci Rep.* 2013;3(1):1184
4. Bannikova S. et al. Specific Features of the Proteomic Response of Thermophilic Bacterium *Geobacillus icigianus* to Terahertz Irradiation. *Int J Mol Sci.* 2022;23(23):15216
5. Ivanisenko V.A. et al. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. *BMC Syst Biol.* 2015;9:1-10