

## تعیین مسیرهای بیولوژیک درگیر در بیماری‌های هاری و دستیابی به اهداف بالقوه دارویی با استفاده از رویکرد شبکه برهم‌کنش‌های پروتئینی

فاطمه زندی<sup>۱\*</sup>، علیرضا غلامی<sup>۲</sup>، آنا میفور<sup>۳</sup>، محی‌الدین جعفری<sup>۴</sup>، سامان رحمتی<sup>۱</sup>، حمید غلامی پور بدیع<sup>۵</sup>، بهروز وزیري<sup>۱</sup>

۱- دکتری تخصصی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۲- دکتری تخصصی، مرکز رفانس و تحقیقات هاری، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۳- دکتری تخصصی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دکتری تخصصی، بخش فارماکولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه هلسینکی، هلسینکی، فنلاند

۵- دکتری تخصصی، بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

فاطمه زندی: fa\_zandi2003@yahoo.com

### چکیده

هدف: ویروس هاری عامل انسفالومیلیت کشنده پس از تهاجم به سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد. هیچ داروی مؤثری برای هدف قرار دادن ویروس هاری وجود ندارد. مطالعه‌ی شبکه برهم‌کنش‌های پروتئینی ویروس-میزبان می‌تواند به درک زوایای ناشناخته‌ی بیماری‌زایی هاری جهت توسعه‌ی درمان‌های کارآمد و مفید کمک کند.

مواد و روش‌ها: از تکنیک فاروسترن بلات دو بعدی جهت شناسایی پارتنرهای میزبانی پروتئین‌های RABV دارای چند عملکرد استفاده شد. برای تأیید برهم‌کنش‌های انتخابی از کولوکالیزاسیون، کوایمونوپرسیپیتاسیون و شبیه‌سازی اتصال مولکولی استفاده شد. پس از الحاق پارتنرهای پروتئینی ویروس هاری موجود در متون و پایگاه داده VirHostNet به داده‌های این مطالعه، شبکه پروتئینی در سایتو اسکپ ساخته شد. با آنالیز توپولوژیکال شبکه، پروتئین‌های هاب-گلوگاه با استفاده از ابزار CytosHubba شناسایی شدند و با استفاده از ابزار ClusterMaker ماژول‌های شبکه با استفاده از الگوریتم خوشه‌بندی مارکوف تعیین شدند. سرور Enrichr جهت غنی‌سازی عملکردی ماژول‌ها و تعیین مسیرهای بیولوژیک درگیر استفاده شد.

یافته‌ها: ۲۷ پارتنر پروتئینی برای پروتئین‌های چند عملکردی ویروس هاری با استفاده از 2D-FWB شناسایی شد و برهم‌کنش‌های انتخابی با روش‌های ذکر شده تأیید شدند. شبکه پروتئینی حاصل، مشتمل بر ۸۰۳ برهم‌کنش میان ۱۶۰ پروتئین (۳ پروتئین ویروسی و ۱۵۷ پروتئین موش بزرگ آزمایشگاهی) بود. حدود ۷۳٪ پروتئین‌های هاب-گلوگاه، پارتنرهای ویروسی بودند. آنالیز عملکردی شبکه، مهم‌ترین مسیرهای زیستی درگیر در هاری شامل مسیرهای سیگنالینگ Jak-Stat، فولدینگ پروتئین‌ها، زنجیره انتقال الکترونی، متابولیسم، بیان ژنی مرتبط با YAP1 و ترجمه را مشخص کرد. توسط آنالیز توپولوژیکال شبکه، پروتئین‌های Atp5b، Atp5a1، Actb، Becn1، Jak1، Stat2، Stat1، Src، HSP90aa1، Akt1، Egfr به‌عنوان پروتئین‌های کلیدی و اهداف بالقوه دارویی معرفی شدند.

نتیجه‌گیری: با مطالعه‌ی شبکه برهم‌کنش‌های پروتئینی، مسیرهای زیستی درگیر در عفونت هاری همراه با پروتئین‌های کلیدی و اهداف دارویی بالقوه معرفی شدند. کاندیدهای درمانی بالقوه‌ی پیشنهاد شده می‌توانند به‌منظور طراحی دارو علیه هاری مورد مطالعه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: هاری، شبکه برهم‌کنش پروتئین، اهداف دارویی



## Protein network-based study of rabies elucidates the involved biological pathways and potential drug targets

Fatemeh Zandi<sup>\*1</sup>, Alireza Gholami<sup>2</sup>, Anna Meyfour<sup>3</sup>, Mohieddin Jafari<sup>4</sup>, Saman Rahmati<sup>1</sup>, Hamid Gholamipour Badie<sup>5</sup>, Behrouz Vaziri<sup>1</sup>

1- Ph.D, Biotechnology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

2- Ph.D, Center for Reference and Research on Rabies, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

3- Ph.D, Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Ph.D, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Helsinki, Finland

5- Ph.D, Department of Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Fatemeh Zandi: fa\_zandi2003@yahoo.com

**Introduction:** Rabies virus (RABV) is responsible for developing fatal encephalomyelitis after infecting the central nervous system. Currently, there are no effective drugs targeting RABV. A network-based study of RABV-host protein interactions could help unveil unknown features regarding rabies neuropathogenesis to develop efficient therapies.

**Methods and Materials:** A two-dimensional far western blot assay detected host partners for the multifunctional RABV proteins. Co-localization, co-immunoprecipitation, and molecular docking studies validated some selected interactions. A set of experimentally validated protein interactions between RABV and host, compiled from literature and VirHostNet database, was integrated into our data to construct the network in Cytoscape. Topological analysis of the RABV-rat PIN was performed, and hub-bottleneck proteins were determined using the Cytohubba plugin. Clustering analysis was performed based on the Markov clustering algorithm using the clusterMaker plugin, and Functional annotation and pathway enrichment analyses of detected modules were performed through the Enrichr server.

**Results:** Twenty-seven protein partners were identified for RABV multifunctional proteins through 2D-FWB. The selected interactions were validated through the mentioned methods. The PIN was constructed of 803 interactions among 160 proteins, of which 3 were viral proteins and 157 belonged to rats. About 73% of the hub-bottleneck proteins were viral partners. Functional analysis of the PIN showed important disturbed biological pathways such as Jak-STAT signaling, protein folding, electron transport chain, metabolism, YAP1, and WWTR1-stimulated gene expression and translation. By topological analysis, Egfr, Akt1, HSP90aa1, Src, Stat1, Stat2, Actb, Jak1, Becn1, Atp5a1 and Atp5b were identified as key proteins and potential drug targets.

**Conclusions:** This study provided a set of involved biological pathways in rabies, key pathogenic proteins, and potential therapeutic targets. The proposed potential drug targets could be used for drug design against rabies.

**Keywords:** Rabies Virus, PIN, Candidate drug targets

