

网络药理学和表观遗传学修饰筛选靶点

2024-03-28

LiChuang Huang



@ 立效研究院

Contents

1 摘要	1
2 前言	1
3 材料和方法	1
3.1 材料	1
3.2 方法	1
4 结果与讨论	2
4.1 网络药理学成分靶点	2
4.2 复方靶点的表观遗传学修饰靶点	3
4.3 脓毒症肠损伤 RNA-seq 分析	4
4.4 分子对接筛选成分	5
5 结论	6
6 附：文件概要	7
7 附：分析流程	7
7.1 网络药理学分析	7
7.1.1 成分	7
7.1.2 成分靶点	9
7.1.3 疾病靶点	10
7.2 表观遗传学蛋白	10
7.3 筛选表观遗传学靶点	11
7.3.1 复方成分与表观遗传学靶点	11
7.4 脓毒症肠损伤的 GEO 数据分析	13
7.4.1 数据来源	13
7.4.2 fastp 质控	14
7.4.3 RNA 定量	14
7.4.4 差异分析	15
7.4.5 将小鼠基因 symbol 映射到人类 (hgnc_symbol)	16
7.4.6 富集分析 (GSEA)	17
7.5 复方成分表观遗传学靶点的通路调控	19
7.5.1 富集表观修饰蛋白的通路	19
7.5.2 表观修饰靶点	20
7.5.3 上下游	21
7.5.4 相关成分	23
7.6 分子对接	25
7.6.1 第一批对接	25
7.6.2 以口服利用度筛选其他成分	27

7.6.3 第二批对接	27
7.6.4 对接可视化 (Top 3)	29
Reference	32

List of Figures

1 Main fig 1	3
2 Main fig 2	4
3 Main fig 3	5
4 Main fig 4	6
5 Intersection of all compounds	9
6 Overall targets number of datasets	10
7 SLBJ network pharmacology of epigenetic target	12
8 SII model vs control DEGs	16
9 KEGG enrichment	18
10 KEGG enrichment with enriched genes	19
11 GSEA plot of the pathways	20
12 Hsa04920 visualization	21
13 Hsa04010 visualization	22
14 Hsa04657 visualization	23
15 SLBJ network pharmacology Target epigenetic related pathway	24
16 FIRST Overall combining Affinity	26
17 HOB 20 prediction	27
18 Overall combining Affinity	29
19 Docking 72326 into GADD45B	30
20 Docking 12313579 into GADD45B	31
21 Docking 5316891 into GADD45B	32

List of Tables

1 Herbs information	7
2 Components of Herbs	8
3 Tables of Herbs compounds and targets	9
4 All protein of epigenetic regulators	11
5 SLBJ Herbs compounds and targets of epigenetic target	12
6 SII metadata	14
7 Quantification	15
8 Mapped DEGs	17
9 KEGG enrichment data	18
10 SLBJ network pharmacology Target epigenetic related pathway data	24

1 摘要

以中药复方参苓白术散为研究对象，脓毒症肠损伤为疾病，结合网络药理学、RNA-seq 分析、分子对接等多种技术方法，联合表观遗传学蛋白数据库，筛选该复方中能有效作用于脓毒症肠损伤的成分，并挖掘作用于表观遗传学蛋白的成分极其具体靶点和下游靶点。最终筛选得成分：Betulin (CID: 72326) (见 Fig. 18) ，成功分子对接靶点 GADD45B (表观遗传学蛋白)，根据 KEGG (MARK) 通路图 (Fig. 13) ，其可作用于 MAP3K4 和 TAOK3，与脓毒症肠损伤有关。

2 前言

脓毒症是宿主对感染综合征的反应失调，导致危及生命的器官功能障碍。脓毒症引起的肠道功能障碍是多系统器官衰竭进展的关键因素¹。

核酸的表观遗传修饰是核酸领域最重要的研究领域之一，因为它使基因调控变得更加复杂，遗传也更加复杂，从而表明它对遗传、生长和疾病等方面产生了深远的影响²。

中药对表观遗传修饰调控作用而治疗疾病正成为研究焦点。例如，越来越多的研究表明，中药通过调节 DNA 甲基化修饰过程发挥着相当大的抗肿瘤作用。中药调控 DNA 甲基化修饰的研究主要集中在全基因组和活性成分或单一化合物以及中药配方 (CHF) 的异常甲基化状态。中医理论的平衡和整体观念与肿瘤环境中 DNA 甲基化修饰的平衡不谋而合³。

本研究以中药复方参苓白术散为研究对象，脓毒症肠损伤为疾病，结合网络药理学、RNA-seq 分析、分子对接等多种技术方法，从表观遗传学修饰调控的视角，探讨参苓白术散的脓毒症肠损伤的治疗作用。

3 材料和方法

3.1 材料

All used GEO expression data and their design:

- **GSE202261:** A total of 5 C57BL/6 mice were randomly divided into 2 groups: CLP group (n=3), Sham group (n=2). The disinfected abdomen was incised 1 cm at midline to expose the cecum. Silk thread was subsequentl...

3.2 方法

Mainly used method:

- R package **biomaRt** used for gene annotation⁴.
- The **biomart** was used for mapping genes between organism (e.g., mgm_symbol to hgnc_symbol)⁴.
- R package **ClusterProfiler** used for gene enrichment analysis⁵.
- Database **EpiFactors** used for screening epigenetic regulators⁶.
- **Fastp** used for Fastq data preprocessing⁷.
- GEO <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/> used for expression dataset acquisition.
- Databases of **DisGeNet**, **GeneCards**, **PharmGKB** used for collating disease related targets⁸⁻¹⁰.

- R package `ClusterProfiler` used for GSEA enrichment⁵.
- Website HERB <http://herb.ac.cn/> used for data source¹¹.
- Python tool of HOB was used for prediction of human oral bioavailability¹².
- `Kallisto` used for RNA-seq mapping and quantification¹³.
- R package `Limma` and `edgeR` used for differential expression analysis^{14,15}.
- The CLI tools of `AutoDock vina` and `ADFR` software used for auto molecular docking¹⁶⁻²⁰.
- R package `ChemmineR` used for similar chemical compounds clustering²¹.
- R version 4.3.2 (2023-10-31); Other R packages (eg., `dplyr` and `ggplot2`) used for statistic analysis or data visualization.

4 结果与讨论

4.1 网络药理学成分靶点

为了实现对参苓白术散的全面的网络药理学分析，本研究从 HERB 数据库挖掘其成分和靶点信息¹¹。该数据库记录的参苓白术散中各味中药的成分如 Fig. 1a 所示。随后，这些成分的靶点信息被挖掘，整理以备网络药理学分析 (所有数据整理于 Tab. 3)。

脓毒症肠损伤的靶基因信息被收集。如 Fig. 1b 所示，我们不仅仅收集了脓毒症肠损伤 (sepsis intestinal injury, SII) 的 (GeneCards)，还收集了来自 DisGeNet 和 PharmGKB 的脓毒症相关的靶点，因为考虑到中医用药辨证论治、治病求本的特性。由于 GeneCards 的数据来源有一定预测性成分，所以，我们随后还进行了脓毒症肠损伤的 RNA-seq 分析，以增强分析的可靠性 (见 4.3)。

Figure 1 (下方图) 为图 Main fig 1 概览。

(对应文件为 ./Figure+Table/fig1.pdf)

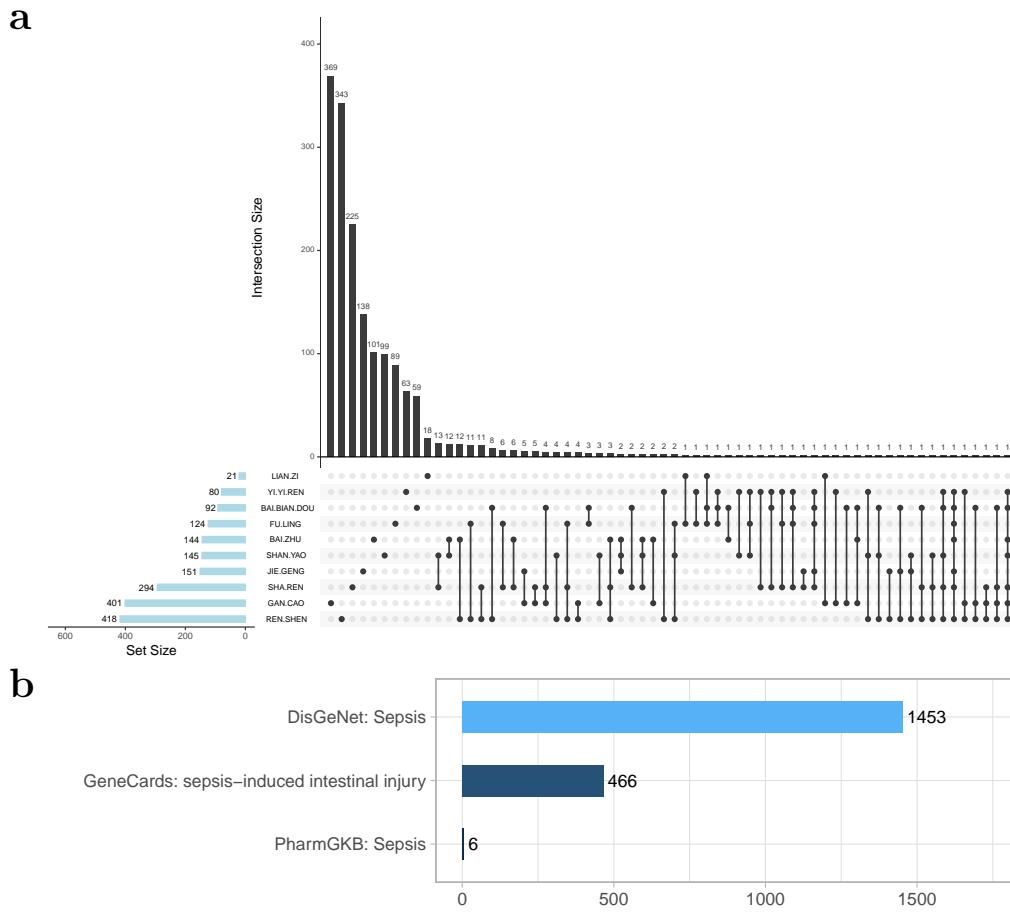


Figure 1: Main fig 1

4.2 复方靶点的表观遗传学修饰靶点

表观遗传修饰 (epigenetic modification, EM) 包括 DNA 和 RNA 的表观遗传修饰。为了尽可能囊括所有的 EM 相关蛋白，以全面探究参苓白术散的靶向 EM 作用，这里，我们收集了 EpiFactors 数据库的所有 EM 蛋白数据 (数据见 Tab. 4)。之后，我们联合了参苓白术散的成分靶点数据，疾病靶点数据，以及 EM 蛋白数据，构建了参苓白术散网络药理学靶向 EM 蛋白治疗 SII 的网络体系。见 Fig. 2，参苓白术散中各味药都具有多个成分可能通过 EM 对 SII 发挥治疗作用，其中以砂仁的成分为数量众多。

Figure 2 (下方图) 为图 Main fig 2 概览。

(对应文件为 ./Figure+Table/SLBJ-network-pharmacology-of-epigenetic-target.pdf)

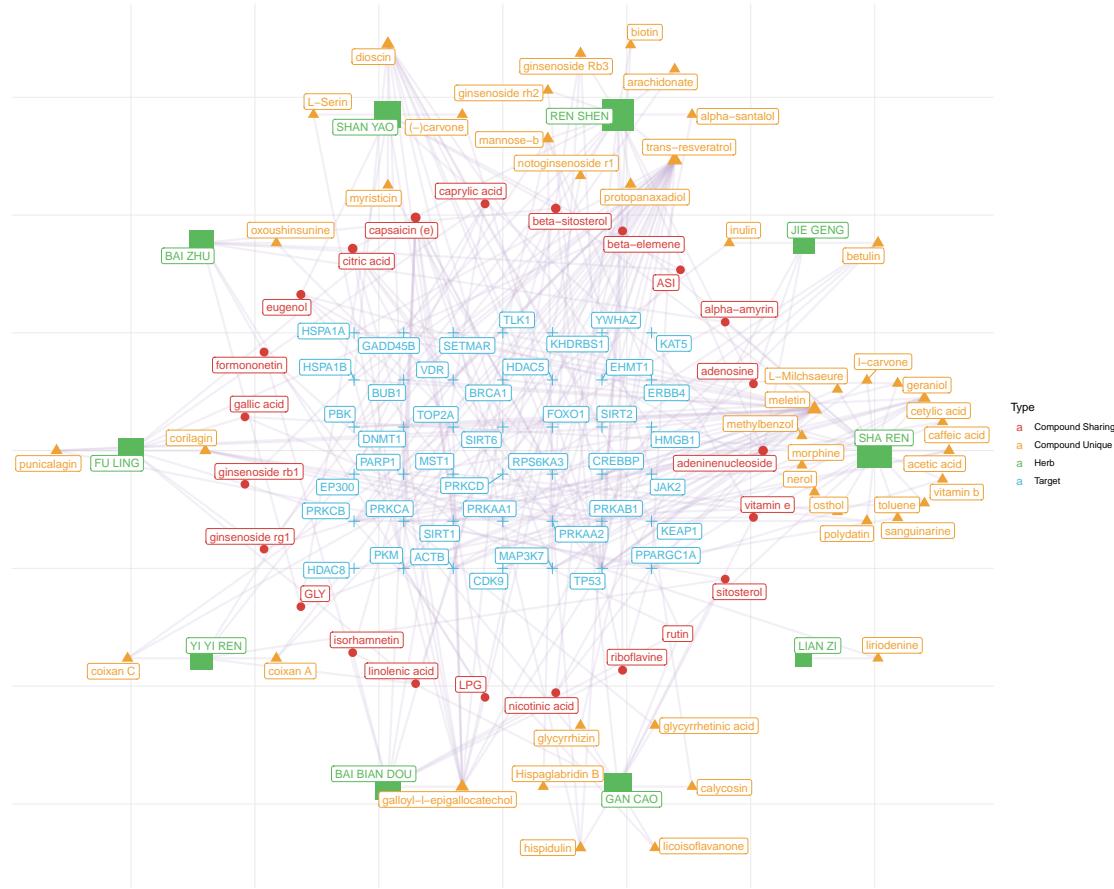


Figure 2: Main fig 2

4.3 脓毒症肠损伤 RNA-seq 分析

在 4.1 中，主要以既定的数据库为来源筛选了 SII 或者脓毒症的靶点信息。这里，我们从 GEO 数据库补充了 SII 为研究对象的 RNA-seq 数据以用于差异分析，筛选 SII 差异表达基因 (DEGs)，以补充、增强网络药理学分析的可靠性。差异分析结果见 Fig. 3a。由于这一批数据是以小鼠为来源的，为了对应到人类的药物网络药理学研究，这里使用 Biomart 将小鼠基因映射到人类基因 (MGI symbol 转化为 HGNC symbol)，然后以 KEGG 富集分析 (GSEA 算法)，富集见 Fig. 3b。在 Fig. 3b 中，我们着重了三条通路，这三条通路是通过 Fig. 2 中的 EM 相关靶基因为条件筛选出的通路。现在我们可以更加确信，参苓白术散可能通过 EM 调控治疗 SII，且涉及 Fig. 3 所示的三条信号通路。其中 MARK 通路的具体展示如 Fig. 3 所示 (将在后续的分子对接中，发现复方中的成分可能作用于其中的 EM 相关靶点)。随后，以 Fig. 3b 中三条的 EM 靶点为条件，我们简化了 Fig. 2 的网络体系，呈现 Fig. 3d。这将是 HERB 数据库所能提供的全部参苓白术散对 EM 的调控作用信息，且与 SII 疾病相关。

Figure 3 (下方图) 为图 Main fig 3 概览。

(对应文件为 ./Figure+Table/fig3.pdf)

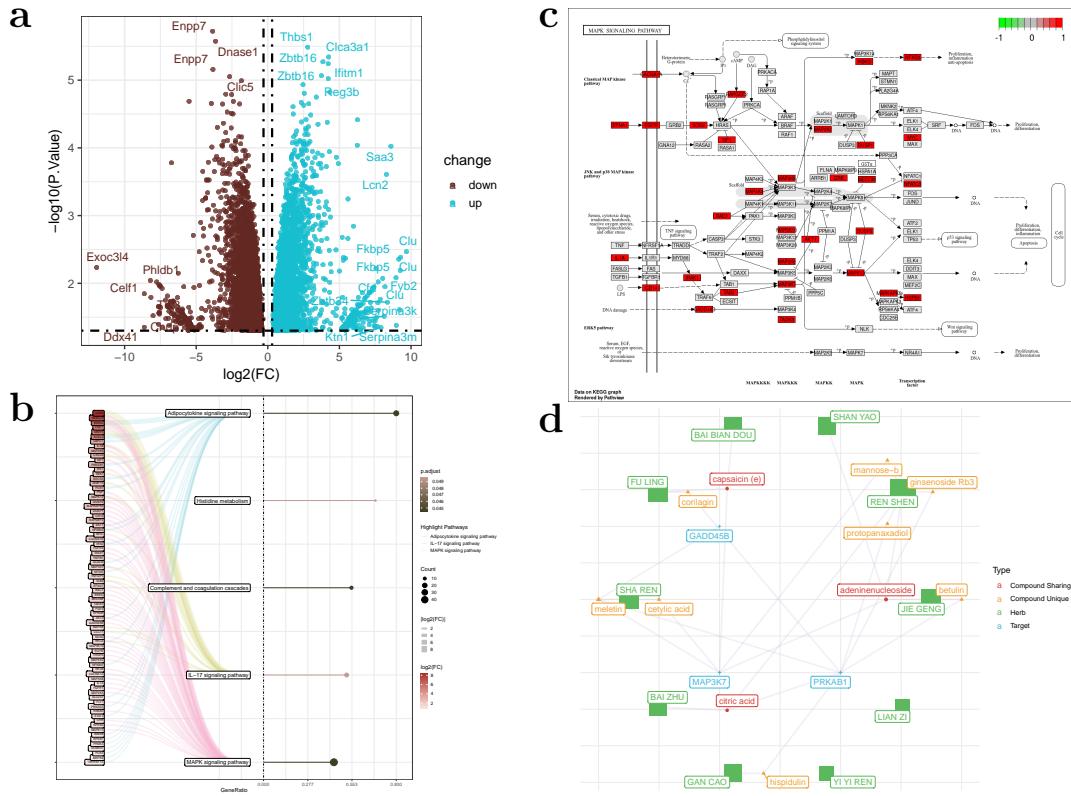


Figure 3: Main fig 3

4.4 分子对接筛选成分

Fig. 3d 所示，相关成分对三个靶点有调控作用，出于 HERB 数据库的性质，这调控作用可能是间接的（进入机体后代谢为其它成分作用于靶点；或者通过调控更上游的靶点，间接作用于下游），可能是直接的（进入机体后，该成分可直接与对应蛋白结合，发挥药理作用）。这里，我们尝试以分子对接的方式，筛选可直接作用的成分。我们联合了 AutoDock Vina 和 ADFR 工具组，实现对分子和蛋白的全自动批量对接。这一批的对接结果，总体所需能量均超过 1，对接能量过高，匹配性较差。可以推测，这些成分更有可能是通过间接的方式作用于这些蛋白。

为了挖掘可能直接作用于相关 EM 靶点的活性成分，以下尝试筛选参苓白术散中的其它成分。须知，受限于 HERB 数据库或其他数据库的成分靶点记录，可能忽略一部分药物对于机体疾病的靶向作用。这里，通过从头筛选、分子对接，将有助于挖掘直接作用于 EM 靶点的活性成分。我们以参苓白术散中的所有成分为研究对象，首先以 HOB 工具，预测这些成分的 20% 口服利用度 (HOB)，仅保留符合条件的成分以下一步研究。可以通过 AutoDock vina 和 ADFR 工具组，实现对余下所有成分的对 EM 相关靶点的对接 (Fig. 3d 靶点)，然而这将耗费大量计算的时间。为了减小计算负担，之后，我们以 ChemmineR 对余下成分按结构相似度聚类 (Binning clustering)，设定 Cut-off 为 0.4，然后将各个聚类团中随机抽取 3 个成分，以匹配 EM 相关靶点，尝试分子对接（实际对接的成分 CID 和靶点蛋白 PDB 可见 7.6.3）。

Fig. 4a 展示了三个 EM 靶点各自对应的对接能量最小前 5 的成分。可知，参苓白术散中的更多的成分可能

通过调控 GADD45B 发挥治疗 SII 的作用。这里筛选得出的直接对接能量的成分为 Betulin (CID: 72326), 该成分可作用于 EM 相关靶点 GADD45B。Fig. 4b 展示了其分子对接结果的可视化呈现 (此外, Fig. 4c、d 展示了对接能量其次的两个分子的可视化)。

联系 Fig. 3d, 该 GEO 的 SII 数据, GADD45B 呈上调, 而其下游 TAOK1 也呈上调趋势。如参苓白术散可对 EM 相关的 GADD45B 发挥调控作用治疗 SII, 将有可能通过下调 GADD45B, 随后间接调控 TAOK1, 以发挥治疗 SII 的作用。这推测需要进一步实验论证。

Figure 4 (下方图) 为图 Main fig 4 概览。

(对应文件为 ./Figure+Table/fig4.pdf)

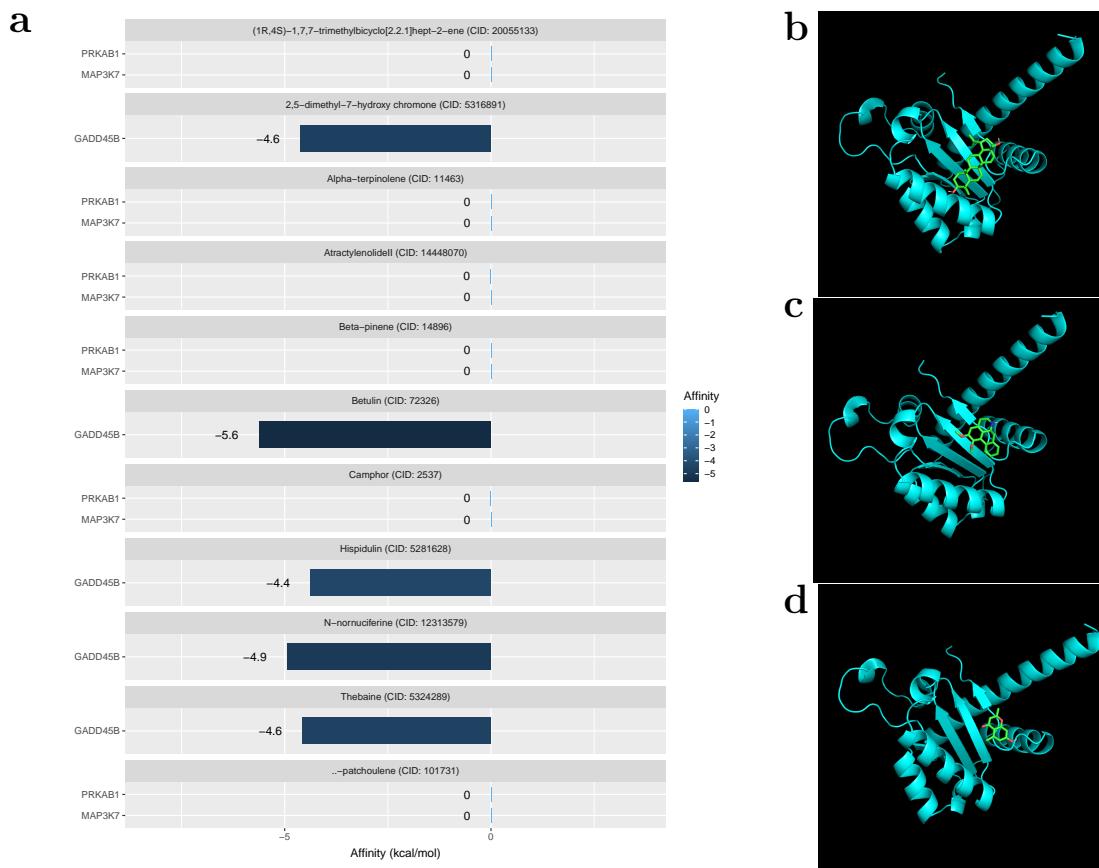


Figure 4: Main fig 4

5 结论

筛选得成分: Betulin (CID: 72326) (见 Fig. 18), 成功分子对接靶点 GADD45B (表观遗传学蛋白), 根据 KEGG (MARK) 通路图 (Fig. 13), 其可作用于 MAP3K4 和 TAOK3, 与脓毒症肠损伤有关。

6 附：文件概要

- 从 HERB 数据库获取复方的成分信息和靶点信息，整理如 Tab. 3。
- 从多个数据库获取脓毒症肠损伤 (SH) 相关靶点，见 Fig. 6
- 表观遗传学蛋白的获取通过 EpiFactors 数据库。
- 在复方中存在的表观遗传学相关靶点见 Fig. 7
- 为了进一步筛选与 SH 相关的通路和靶点，以 GEO 的 SH 数据集做了差异分析 (Fig. 8)。
- 该数据集源于小鼠，这里将其映射到人类基因，然后富集分析 Fig. 9
- 在富集的通路中筛选包含表观修饰相关靶点，见 Fig. 10
- 通路具体可见 7.5.2, 7.5.3，结果上述网络药理学，可发现相关化学成分为 Fig. 15
- 对 Fig. 15 所示的成分与靶点关系进行分子对接，对接结果见 Fig. 16。
- 由于 Fig. 16 所示对接能量均过高，这里随后尝试挖掘复方中其它可能作用于其相关靶点的化学成分。
- 复方中的成分复杂，为了减少过度的分子对接计算量，以计算 HOB 和化学结果相似聚类的方式，筛选了少数一批化学成分用以分子对接。
- 对接结果见 Fig. 18。其中，Betulin (CID: 72326) 对接 GADD45B 蛋白所需能量最少，对接可视化见 Fig. 19
- 联系 Fig. 13，可知 GADD45B 下游调控的靶点。其中，TAOK3 是 SH 中上调的基因，GADD45B-TAOK3 的作用，可能是最佳结果，对应成分为 Betulin (CID: 72326)。

7 附：分析流程

7.1 网络药理学分析

复方成分和靶点数据来源于 HERB 数据库。

7.1.1 成分

Table 1 (下方表格) 为表格 Herbs information 概览。

(对应文件为 Figure+Table/Herbs-information.xlsx)

注：表格共有 10 行 18 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 10 个唯一 ‘Herb_’。

Table 1: Herbs information

Herb_	Herb_p...	Herb_c...	Herb_e...	Herb_l...	Proper...	Meridians	UsePart	Function	Indica...
HERB00...	BAI BI...	白扁豆	White ...	Semen ...	Minor ...	Spleen...	NA	To inv...	Treatm...
HERB00...	BAI ZHU	白术	rhizom...	Rhizom...	Warm; ...	Spleen...	root	To inv...	Spleen...
HERB00...	FU LING	茯苓	Indian...	Poria	Mild; ...	Spleen...	sclero...	To cau...	Neuras...
HERB00...	GAN CAO	甘草	Root o...	Radix ...	Mild; ...	Lung; ...	root a...	To rei...	1. Its...
HERB00...	JIE GENG	桔梗	Platyc...	Radix ...	Mild; ...	Lung	root	To rel...	Cough ...
HERB00...	LIAN ZI	莲子	Hindu ...	Nelumb...	Mild; ...	Spleen...	seed	To sup...	Chroni...

Herb_	Herb_p...	Herb_c...	Herb_e...	Herb_l...	Proper...	Meridians	UsePart	Function	Indica...
HERB00...	REN SHEN	人参	Ginseng	Radix ...	Minor ...	Lung; ...	root	To rei...	Qi vac...
HERB00...	SHA REN	砂仁	Villou...	Fructu...	Warm; ...	Spleen...	ripe f...	To eli...	Abdomi...
HERB00...	SHAN YAO	山药	Common...	Rhizom...	Mild; ...	Lung; ...	rhizome	To rep...	Reduce...
HERB00...	YI YI REN	薏苡仁	seed o...	semen ...	Minor ...	Lung; ...	seed	1. To ...	Edema,...

Table 2 (下方表格) 为表格 Components of Herbs 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/Components-of-Herbs.xlsx](#))

注：表格共有 1870 行 4 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 10 个唯一 ‘herb_id’。

Table 2: Components of Herbs

herb_id	Ingredient.id	Ingredient.name	Ingredient.alias
HERB006568	HBIN000890	1,2linoleic acid...	NA
HERB006568	HBIN005609	2-ethyl-3-hydroxy...	NA
HERB006568	HBIN006106	2-Monoolein	2-monoolein; [2-h...
HERB006568	HBIN006366	[(2R)-2,3-dihydro...	(Z)-octadec-9-eno...
HERB006568	HBIN012837	(6Z,10E,14E,18E)-...	NA
HERB006568	HBIN015611	-monolinolein	NA
HERB006568	HBIN015675	-sitosterol	alpha-sitosterol
HERB006568	HBIN016562	Arabinose	arabinose
HERB006568	HBIN016720	arginine	AC1ODX8E; [(4S)-5...
HERB006568	HBIN018278	beta-sitosterol	24.alpha.-Ethylch...
HERB006568	HBIN019257	cadmium	NA
HERB006568	HBIN019351	calcium	NA
HERB006568	HBIN019475	campesterol	campesterol ; FT-...
HERB006568	HBIN019688	caprylic acid	Octanoic acid (mi...
HERB006568	HBIN021150	CLR	5-Cholesten-3b-ol...
...

Figure 5 (下方图) 为图 intersection of all compounds 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/intersection-of-all-compounds.pdf](#))

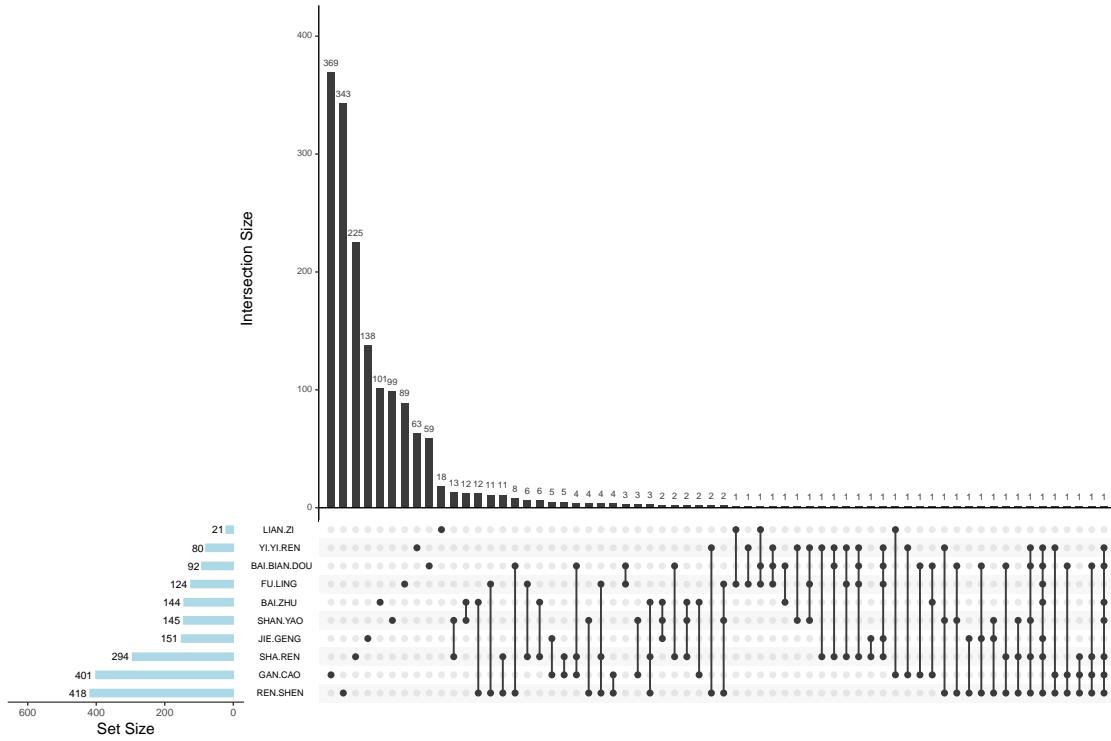


Figure 5: Intersection of all compounds

All_intersection :

(上述信息框内容已保存至 Figure+Table/intersection-of-all-compounds-content)

7.1.2 成分靶点

Table 3 (下方表格) 为表格 tables of Herbs compounds and targets 概览。

(对应文件为 Figure+Table/tables-of-Herbs-compounds-and-targets.tsv)

注：表格共有 56685 行 9 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 1661 个唯一‘Ingredient.id’。

Table 3: Tables of Herbs compounds and targets

Ingred.....1	Herb_p...	Ingred.....3	Ingred.....4	Target.id	Target...	Databa...	Paper.id	...
HBIN00...	FU LING	10-hyd...	NA	NA	NA	NA	NA	...
HBIN00...	BAI BL...	10-non...	(10R)-...	NA	NA	NA	NA	...
HBIN00...	GAN CAO	11-deo...	11-Deo...	HBTAR0...	NR3C1	NA	NA	...
HBIN00...	GAN CAO	11-deo...	11-Deo...	HBTAR0...	AR	NA	NA	...
HBIN00...	GAN CAO	11-deo...	11-Deo...	HBTAR0...	NR3C1	NA	NA	...

Ingred.....1	Herb_p...	Ingred.....3	Ingred.....4	Target.id	Target...	Databa...	Paper.id	...
HBIN00...	GAN CAO	11-deo...	11-Deo...	HBTAR0...	AR	NA	NA	...
HBIN00...	GAN CAO	11-deo...	11-Deo...	HBTAR0...	NR3C1	NA	NA	...
HBIN00...	GAN CAO	11-deo...	11-Deo...	HBTAR0...	AR	NA	NA	...
HBIN00...	FU LING	1,2,3,...	Pentag...	NA	NA	NA	NA	...
HBIN00...	BAI ZHU	12-(-...	12-(-...	NA	NA	NA	NA	...
HBIN00...	BAI ZHU	12-(-...	[(4E,6...	NA	NA	NA	NA	...
HBIN00...	YI YI REN	1,2lin...	NA	NA	NA	NA	NA	...
HBIN00...	GAN CAO	12-met...	12-met...	NA	NA	NA	NA	...
HBIN00...	REN SHEN	12-O-N...	12-o-n...	NA	NA	NA	NA	...
HBIN00...	BAI ZHU	12-Oxo...	(5aR,9...	HBTAR0...	NR3C1	NA	NA	...
...

7.1.3 疾病靶点

取以下基因集的合集：

Figure 6 (下方图) 为图 Overall targets number of datasets 概览。

(对应文件为 Figure+Table/Overall-targets-number-of-datasets.pdf)

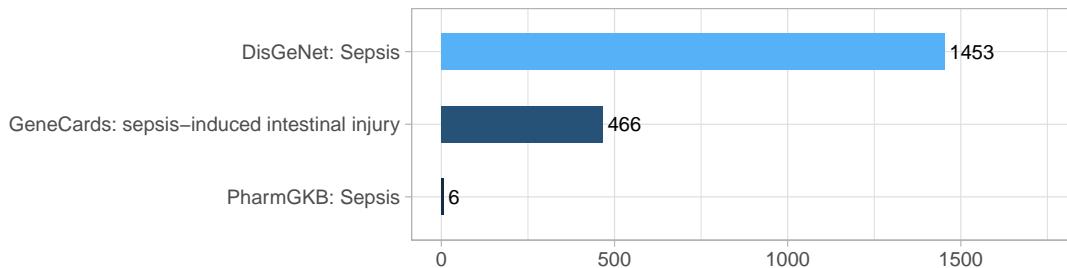


Figure 6: Overall targets number of datasets

7.2 表观遗传学蛋白

自数据库 <https://epifactors.autosome.org/> 获取相关蛋白。

Table 4 (下方表格) 为表格 All protein of epigenetic regulators 概览。

(对应文件为 Figure+Table/All-protein-of-epigenetic-regulators.xlsx)

注：表格共有 801 行 25 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 801 个唯一 ‘Id’。

Table 4: All protein of epigenetic regulators

Id	HGNC_s...	Status	HGNC_ID	HGNC_name	GeneID	UniPro.....7	UniPro.....8	Domain	MGI_sy...
1	A1CF	#	24086	APOBEC...	29974	Q9NQ94	A1CF_H...	DND1_D...	A1cf
2	ACINU	New	17066	Apopto...	22985	Q9UKV3	ACINU_...	PF1629...	Acin1
3	ACTB	#	132	actin,...	60	P60709	ACTB_H...	Actin ...	Actb
4	ACTL6A	#	24124	actin-...	86	O96019	ACL6A_...	Actin ...	Actl6a
5	ACTL6B	#	160	actin-...	51412	O94805	ACL6B_...	Actin ...	Actl6b
6	ACTR3B	#	17256	ARP3 a...	57180	Q9P1U1	ARP3B_...	Actin ...	Actr3b
7	ACTR5	#	14671	ARP5 a...	79913	Q9H9F9	ARP5_H...	Actin ...	Actr5
8	ACTR6	#	24025	ARP6 a...	64431	Q9GZN1	ARP6_H...	Actin ...	Actr6
9	ACTR8	#	14672	ARP8 a...	93973	Q9H981	ARP8_H...	Actin ...	Actr8
10	ADNP	#	15766	activi...	23394	Q9H2P0	ADNP_H...	Homeob...	Adnp
11	AEBP2	#	24051	AE bin...	121536	Q6ZN18	AEBP2_...	Pfam-B...	Aebp2
12	AICDA	#	13203	activa...	57379	Q9GZX7	AICDA_...	APOBEC...	Aicda
13	AIRE	#	360	autoim...	326	O43918	AIRE_H...	PHD PF...	Aire
14	ALKBH1	#	17911	alkB, ...	8846	Q13686	ALKB1_...	2OG-Fe...	Alkbh1
15	ALKBH1	New	17911	Nuclei...	8846	Q13686	ALKB1_...	PF13532	Alkbh1
...

7.3 筛选表观遗传学靶点

7.3.1 复方成分与表观遗传学靶点

Figure 7 (下方图) 为图 SLBJ network pharmacology of epigenetic target 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/SLBJ-network-pharmacology-of-epigenetic-target.pdf](#))

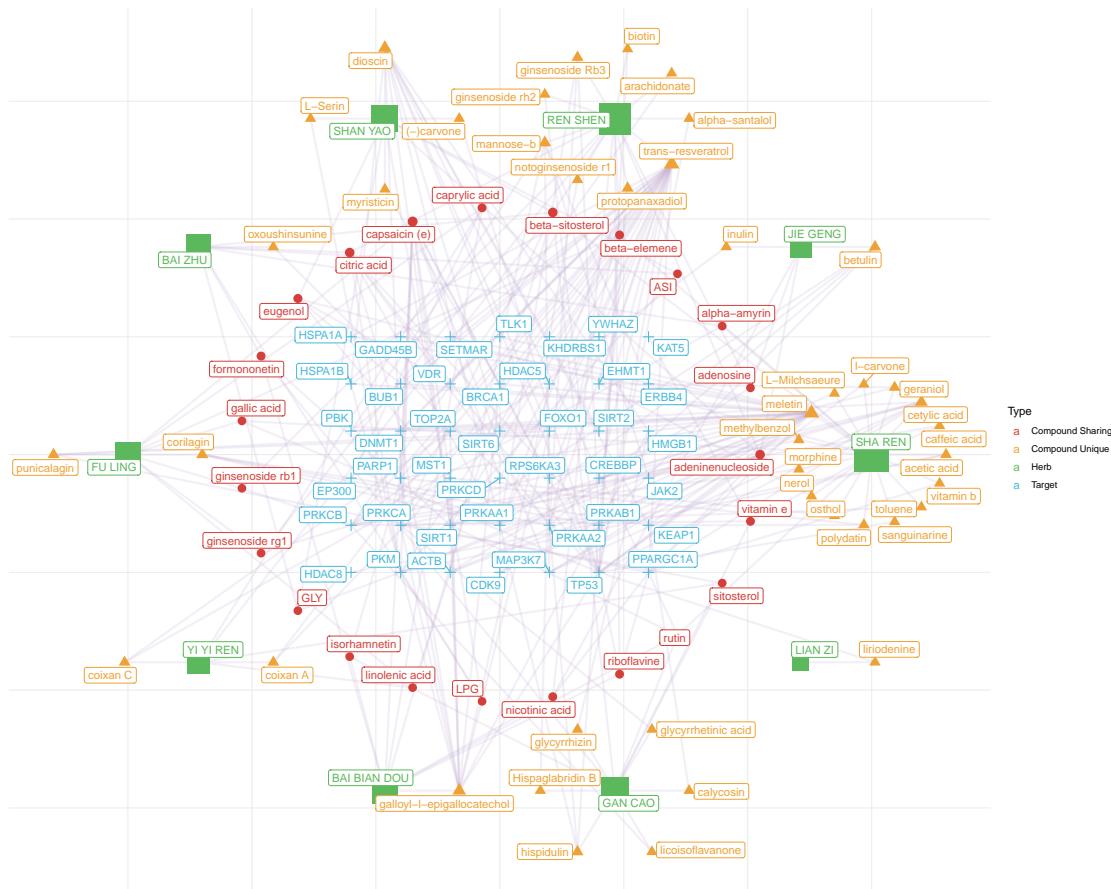


Figure 7: SLBJ network pharmacology of epigenetic target

Table 5 (下方表格) 为表格 SLBJ Herbs compounds and targets of epigenetic target 概览。

(对应文件为 Figure+Table/SLBJ-Herbs-compounds-and-targets-of-epigenetic-target.csv)

注：表格共有 583 行 3 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 10 个唯一 ‘Herb_pinyin_name’。

Table 5: SLBJ Herbs compounds and targets of epigenetic target

Herb_pinyin_name	Ingredient.name	Target.name
SHA REN	acetic acid	HDAC8
SHA REN	acetic acid	PKM
SHA REN	acetic acid	HDAC8
SHA REN	acetic acid	PKM
JIE GENG	adeninenucleoside	ACTB
JIE GENG	adeninenucleoside	CDK9
JIE GENG	adeninenucleoside	MAP3K7
JIE GENG	adeninenucleoside	TP53
JIE GENG	adeninenucleoside	PPARGC1A

Herb_pinyin_name	Ingredient.name	Target.name
JIE GENG	adeninenucleoside	ACTB
JIE GENG	adeninenucleoside	CDK9
JIE GENG	adeninenucleoside	MAP3K7
JIE GENG	adeninenucleoside	TP53
JIE GENG	adeninenucleoside	PPARGC1A
JIE GENG	adeninenucleoside	ACTB
...

7.4 脓毒症肠损伤的 GEO 数据分析

7.4.1 数据来源

注：由于该数据的原作者没有上传定量后的原始 Count，不利于差异分析；因此，这里下载了 SRA 原始数据，使用 Kallisto 重新定量。

Data Source ID :

GSE202261

data_processing :

Raw data (raw reads) of fastq format were firstly processed using fastp(version 0.20.0) softweware with default parameters in pair end mode.

data_processing.1 :

The clean data were obtained for downstream analyses by removing reads containing adapter, reads containing ploy-N and low-quality reads from raw data.

data_processing.2 :

The clean reads were mapped to reference of mouse mRNAs and lncRNAs using bowtie2(version 2.3.1) with parameters -q -L 16 –phred64 -p 6

data_processing.3 :

TPM value and read counts of each transcript were obtained by eXpress(version 1.5.1) with parameters –no-update-check –rf-stranded.

(Others) :

...

(上述信息框内容已保存至 `Figure+Table/SII-GSE202261-content`)

Table 6 (下方表格) 为表格 SII metadata 概览。

(对应文件为 `Figure+Table/SII-metadata.csv`)

注：表格共有 4 行 8 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 4 个唯一 ‘sample’。

1. sample: 样品名称
2. group: 分组名称

Table 6: SII metadata

sample	group	lib.size	norm.f...	file	directory	sample1	gsm
SRR211...	control	206657...	1	kallis...	kallis...	SRR211...	GSM646...
SRR211...	control	194806...	1	kallis...	kallis...	SRR211...	GSM646...
SRR211...	model	205782...	1	kallis...	kallis...	SRR211...	GSM646...
SRR211...	model	230056...	1	kallis...	kallis...	SRR211...	GSM646...

7.4.2 fastp 质控

‘Fastp QC’ 数据已全部提供。

(对应文件为 `./fastp_report/`)

注：文件夹 `./fastp_report/` 共包含 4 个文件。

1. SRR21101636.html
2. SRR21101637.html
3. SRR21101638.html
4. SRR21101639.html

7.4.3 RNA 定量

使用小鼠 cDNA 作为参考基因组 (`Mus_musculus.GRCm39.cdna.all.fa.gz`)，Kallisto 定量。

Table 7 (下方表格) 为表格 Quantification 概览。

(对应文件为 `Figure+Table/Quantification.csv`)

注：表格共有 116873 行 5 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 116873 个唯一 ‘target_id’。

Table 7: Quantification

target_id	SRR211016361	SRR211016371	SRR211016381	SRR211016391
ENSMUST00000196221	0	0	0	0
ENSMUST00000179664	0	0	0	0
ENSMUST00000177564	0	0	0	0
ENSMUST00000178537	0	0	0	0
ENSMUST00000178862	0	0	0	0
ENSMUST00000179520	0	0	0	0
ENSMUST00000179883	0	0	0	0
ENSMUST00000195858	0	0	0	0
ENSMUST00000179932	0	0	0	0
ENSMUST00000180001	0	0	0	0
ENSMUST00000178815	0	0	0	0
ENSMUST00000177965	0	0	0	0
ENSMUST00000178909	0	0	0	0
ENSMUST00000177646	0	0	0	0
ENSMUST00000178230	0	0	0	0
...

7.4.4 差异分析

使用 limma 差异分析

Figure 8 (下方图) 为图 SII model vs control DEGs 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/SII-model-vs-control-DEGs.pdf](#))

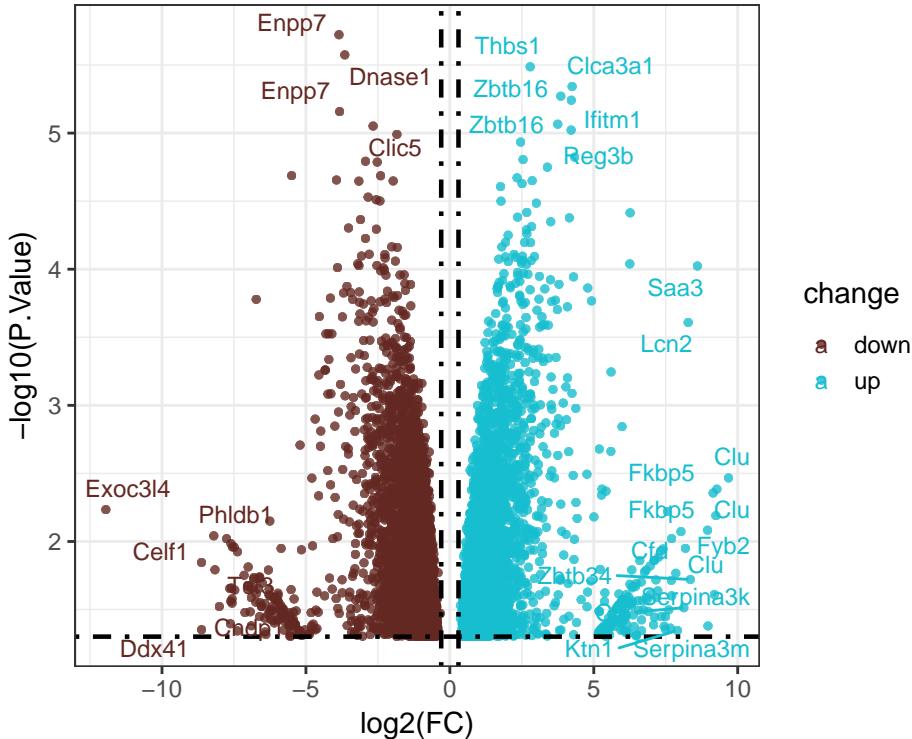


Figure 8: SII model vs control DEGs

7.4.5 将小鼠基因 symbol 映射到人类 (hgnc_symbol)

使用 biomart 将基因映射

Table 8 (下方表格) 为表格 Mapped DEGs 概览。

(对应文件为 Figure+Table/Mapped-DEGs.xlsx)

注：表格共有 4409 行 13 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 4338 个唯一 ‘hgnc_symbol’。

1. hgnc_symbol: 基因名 (Human)
2. mgf_symbol: 基因名 (Mice)
3. logFC: estimate of the log2-fold-change corresponding to the effect or contrast (for ‘topTableF’ there may be several columns of log-fold-changes)
4. AveExpr: average log2-expression for the probe over all arrays and channels, same as ‘Amean’ in the ‘MarrayLM’ object
5. t: moderated t-statistic (omitted for ‘topTableF’)
6. P.Value: raw p-value
7. B: log-odds that the gene is differentially expressed (omitted for ‘topTreat’)

Table 8: Mapped DEGs

hgnc_s...	mgi_sy...	logFC	P.Value	rownames	ensembl.....6	ensembl.....7	entrez...	descri...	...
ENPP7	Enpp7	-3.851...	1.8936...	43380	ENSMUS...	ENSMUS...	238011	ectonu...	...
THBS1	Thbs1	2.7918...	3.2577...	94883	ENSMUS...	ENSMUS...	21825	thromb...	...
DNASE1	Dnase1	-3.650...	2.6636...	26241	ENSMUS...	ENSMUS...	13419	deoxyr...	...
ANPEP	Anpep	-1.838...	1.0218...	50217	ENSMUS...	ENSMUS...	16790	alanyl...	...
CLIC5	Clic5	-2.664...	8.8784...	45278	ENSMUS...	ENSMUS...	224796	chlori...	...
ZBTB16	Zbtb16	3.8536...	5.3567...	5449	ENSMUS...	ENSMUS...	235320	zinc f...	...
CEP85	Cep85	2.4595...	1.1643...	45584	ENSMUS...	ENSMUS...	70012	centro...	...
REG1B	Reg3b	4.2139...	9.5036...	25543	ENSMUS...	ENSMUS...	18489	regene...	...
IGFBP5	Igfbp5	2.5428...	1.5655...	72899	ENSMUS...	ENSMUS...	16011	insuli...	...
PMAIP1	Pmaip1	3.3882...	1.7795...	14956	ENSMUS...	ENSMUS...	58801	phorbo...	...
CYP4F2	Cyp4f14	-1.967...	2.2471...	66083	ENSMUS...	ENSMUS...	64385	cytoch...	...
PRR15	Prr15	-2.404...	2.0582...	38200	ENSMUS...	ENSMUS...	78004	prolin...	...
FKBP5	Fkbp5	2.8596...	2.2370...	54319	ENSMUS...	ENSMUS...	14229	FK506
ERRFI1	Errfi1	2.3357...	2.1310...	90849	ENSMUS...	ENSMUS...	74155	ERBB r...	...
LGMD	Lgmd	2.5094...	2.3522...	59306	ENSMUS...	ENSMUS...	19141	leguma...	...
...

7.4.6 富集分析 (GSEA)

Figure 9 (下方图) 为图 KEGG enrichment 概览。

(对应文件为 `Figure+Table/KEGG-enrichment.pdf`)

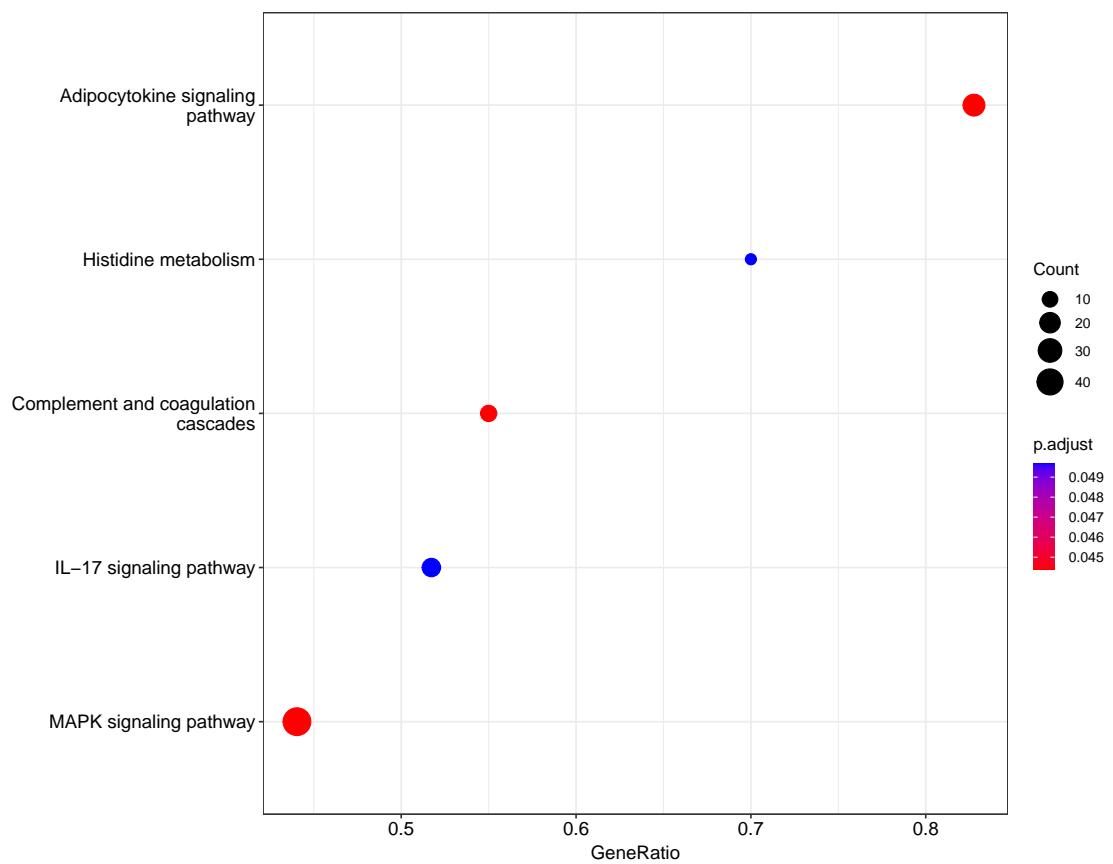


Figure 9: KEGG enrichment

Table 9 (下方表格) 为表格 KEGG enrichment data 概览。

(对应文件为 Figure+Table/KEGG-enrichment-data.xlsx)

注：表格共有 5 行 13 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 5 个唯一 ‘ID’。

1. pvalue: 显著性 P。

Table 9: KEGG enrichment data

ID	Descri...	setSize	enrich...	NES	pvalue	p.adjust	qvalue	rank	leadin...
hsa04610	Comple...	20	0.6129...	2.1798...	0.0002...	0.0444...	0.0415...	789	tags=5...
hsa04920	Adipoc...	29	0.5336...	2.1079...	0.0004...	0.0444...	0.0415...	1541	tags=8...
hsa04010	MAPK s...	109	0.3242...	1.7682...	0.0004...	0.0444...	0.0415...	1026	tags=4...
hsa00340	Histid...	10	-0.726...	-2.053...	0.0008...	0.0496...	0.0464...	536	tags=7...
hsa04657	IL-17 ...	29	0.5129...	2.0264...	0.0008...	0.0496...	0.0464...	704	tags=5...

7.5 复方成分表观遗传学靶点的通路调控

7.5.1 富集表观修饰蛋白的通路

以 Fig. 7 的靶点筛选，发现存在三条通路：

Figure 10 (下方图) 为图 KEGG enrichment with enriched genes 概览。

(对应文件为 Figure+Table/KEGG-enrichment-with-enriched-genes.pdf)

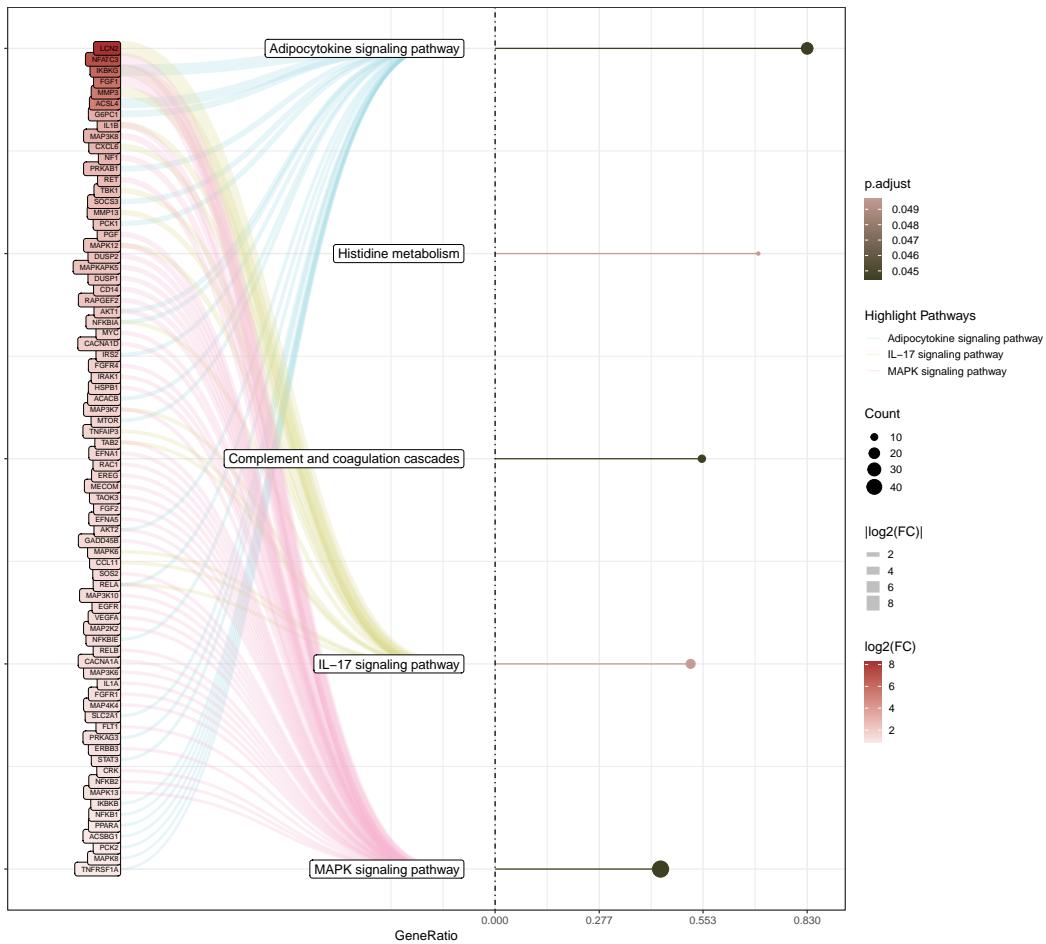


Figure 10: KEGG enrichment with enriched genes

Figure 11 (下方图) 为图 GSEA plot of the pathways 概览。

(对应文件为 Figure+Table/GSEA-plot-of-the-pathways.pdf)

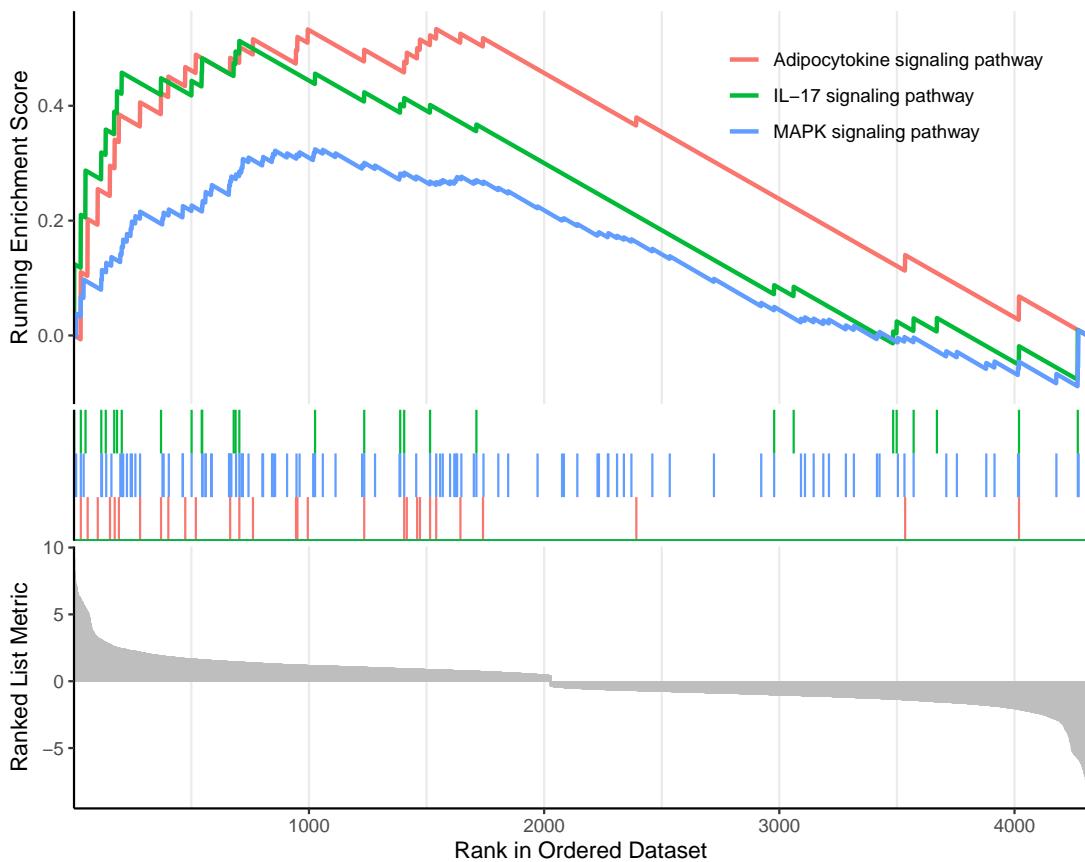


Figure 11: GSEA plot of the pathways

7.5.2 表观修饰靶点

这三条通路存在的表观遗传学修饰靶点为：

Adipocytokine signaling pathway :

PRKAB1

MAPK signaling pathway :

MAP3K7, GADD45B

IL-17 signaling pathway :

MAP3K7

(上述信息框内容已保存至 Figure+Table/unnamed-chunk-40-content)

7.5.3 上下游

Figure 12 (下方图) 为图 Hsa04920 visualization 概览。

(对应文件为 Figure+Table/hsa04920.pathview.png)

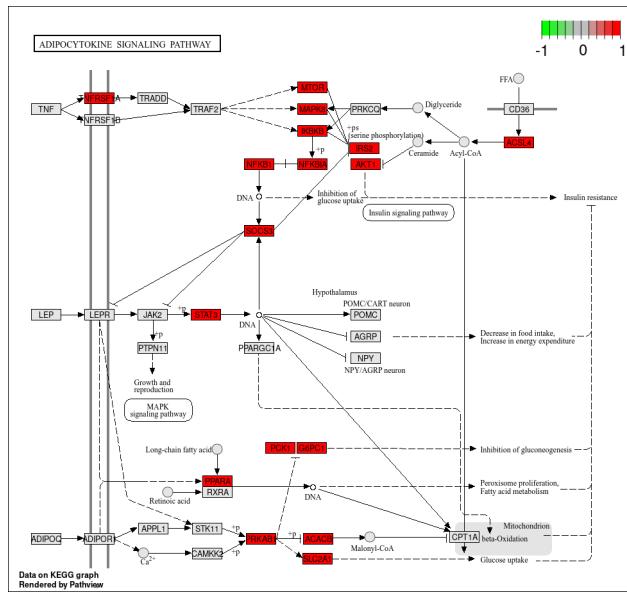


Figure 12: Hsa04920 visualization

Interactive figure :

<https://www.genome.jp/pathway/hsa04920>

Figure 13 (下方图) 为图 Hsa04010 visualization 概览。

(对应文件为 Figure+Table/hsa04010.pathview.png)

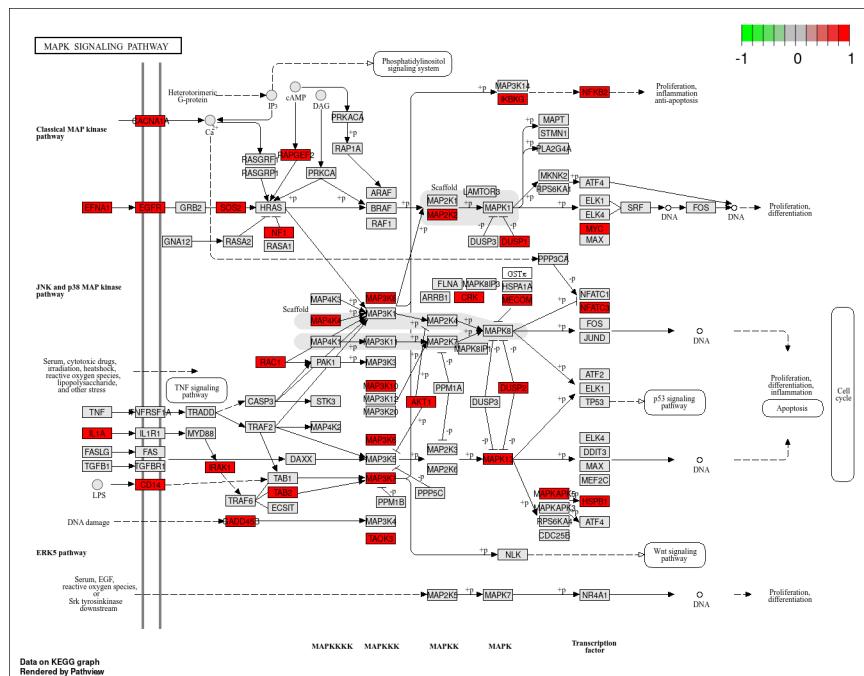


Figure 13: Hsa04010 visualization

Interactive figure :

<https://www.genome.jp/pathway/hsa04010>

Figure 14 (下方图) 为图 Hsa04657 visualization 概览。

(对应文件为 Figure+Table/hsa04657.pathview.png)

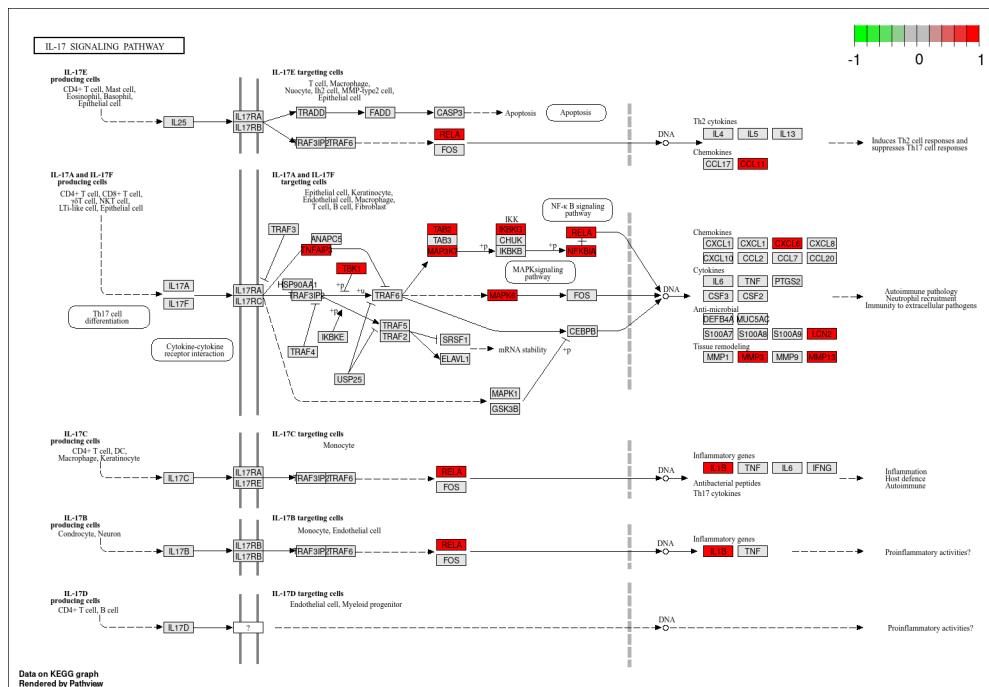


Figure 14: Hsa04657 visualization

Interactive figure :

<https://www.genome.jp/pathway/hsa04657>

7.5.4 相关成分

Figure 15 (下方图) 为图 SLBJ network pharmacology Target epigenetic related pathway 概览。

(对应文件为 Figure+Table/SLBJ-network-pharmacology-Target-epigenetic-related-pathway.pdf)

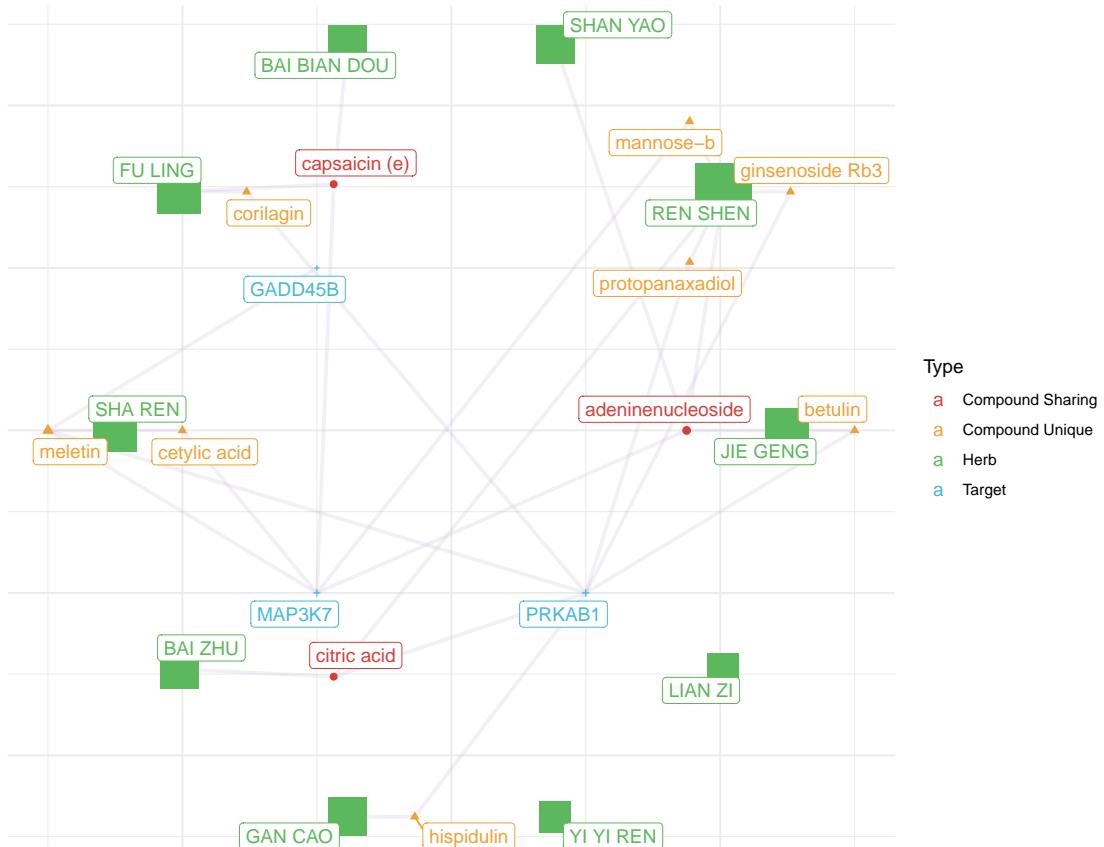


Figure 15: SLBJ network pharmacology Target epigenetic related pathway

Table 10 (下方表格) 为表格 SLBJ network pharmacology Target epigenetic related pathway data 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/SLBJ-network-pharmacology-Target-epigenetic-related-pathway-data.csv](#))

注：表格共有 42 行 3 列，以下预览的表格可能省略部分数据；表格含有 8 个唯一 ‘Herb_pinyin_name’。

Table 10: SLBJ network pharmacology Target epigenetic related pathway data

Herb_pinyin_name	Ingredient.name	Target.name
JIE GENG	adeninenucleoside	MAP3K7
REN SHEN	adeninenucleoside	MAP3K7
SHAN YAO	adeninenucleoside	MAP3K7

Herb_pinyin_name	Ingredient.name	Target.name
SHAN YAO	adeninenucleoside	MAP3K7
SHAN YAO	adeninenucleoside	MAP3K7
SHAN YAO	adeninenucleoside	MAP3K7
JIE GENG	betulin	PRKAB1
JIE GENG	betulin	PRKAB1
JIE GENG	betulin	PRKAB1
...

7.6 分子对接

7.6.1 第一批对接

根据 HERB 数据库记录的成分靶点信息，Fig. 15 中的成分能作用于其对应的靶点。以下尝试分子对接。

Figure 16 (下方图) 为图 FIRST Overall combining Affinity 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/FIRST-Overall-combining-Affinity.pdf](#))

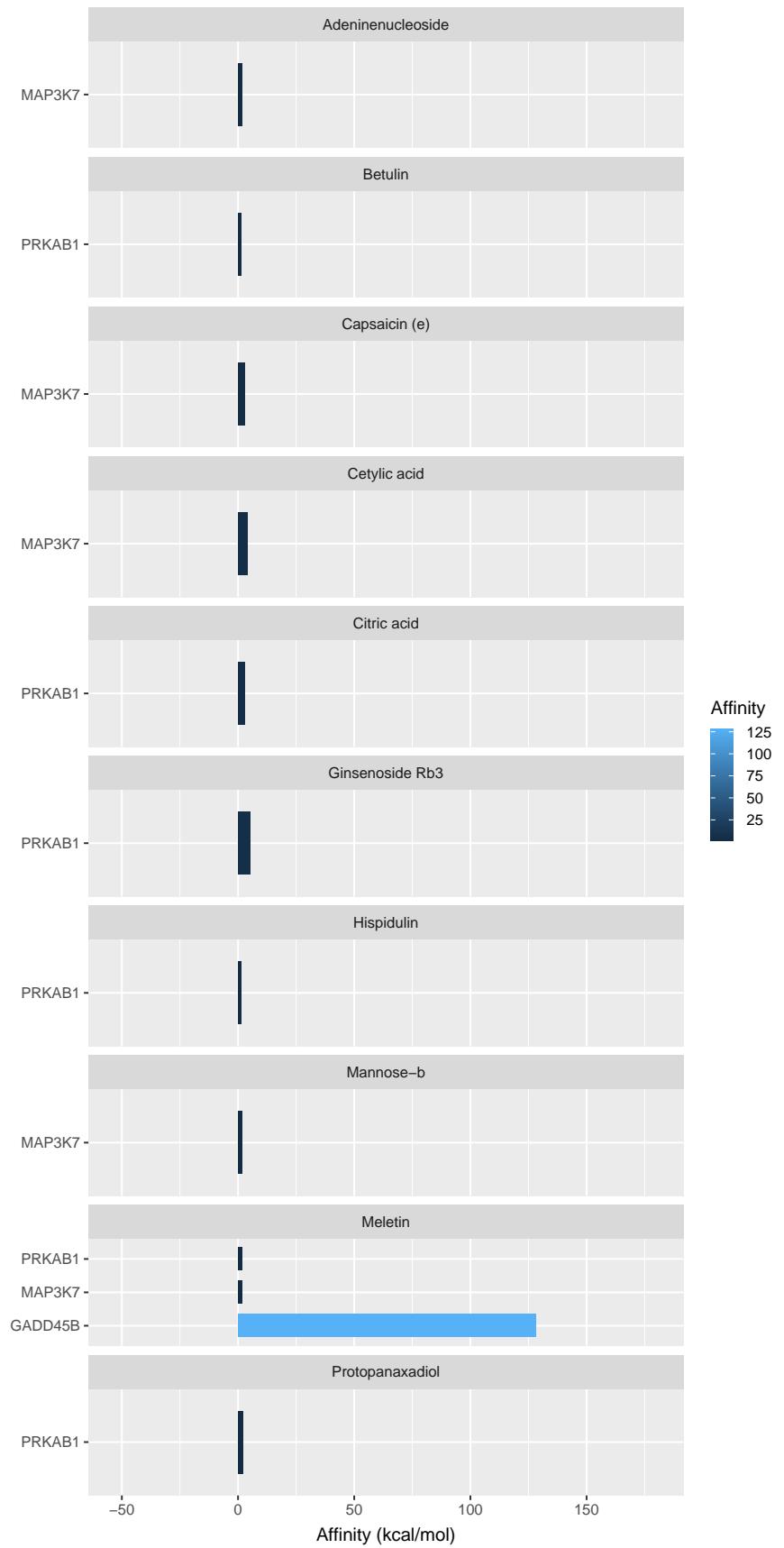


Figure 16: FIRST Overall combining Affinity

Fig. 16 显示，候选分子与对应靶点的对接能量均较大。

7.6.2 以口服利用度筛选其他成分

由于 Fig. 16 所示对接能量过大，以下尝试挖掘复方中其它能够作用于 Fig. 15 表观遗传修饰靶点的成分。

以下通过 HOB 筛选成分 (预测是否达到 20% HOB)。

Figure 17 (下方图) 为图 HOB 20 prediction 概览。

(对应文件为 Figure+Table/HOB-20-prediction.pdf)

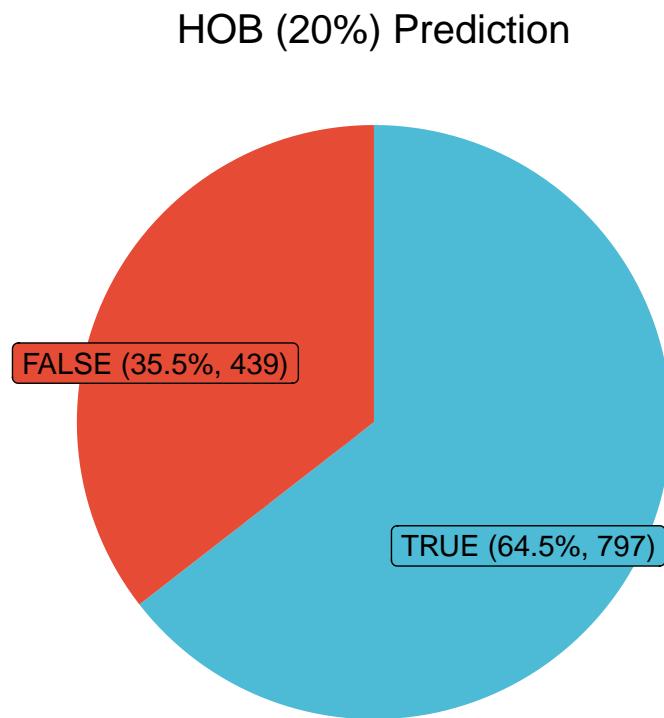


Figure 17: HOB 20 prediction

7.6.3 第二批对接

对于 Fig. 17 满足 HOB 条件的化合物，尝试分子对接；然而由于化合物数量过多，运算过于耗时，这里，以 ChemmineR 对化合物结构聚类 (0.4 cut-off)，每个聚类团随机抽取三个化合物，最后用于分子对接。

实际对接的有：

543854 :

7NTI, 7MYJ, gadd45b

480873 :

7NTI, 7MYJ, gadd45b

6992244 :

7NTI, 7MYJ, gadd45b

6553876 :

7NTI, 7MYJ, gadd45b

20055133 :

7NTI, 7MYJ, gadd45b

(Others) :

...

(上述信息框内容已保存至 Figure+Table/unnamed-chunk-51-content)

对每个靶点都选择了对接能量最小的 Top 5, 结果如下:

Figure 18 (下方图) 为图 Overall combining Affinity 概览。

(对应文件为 Figure+Table/Overall-combining-Affinity.pdf)

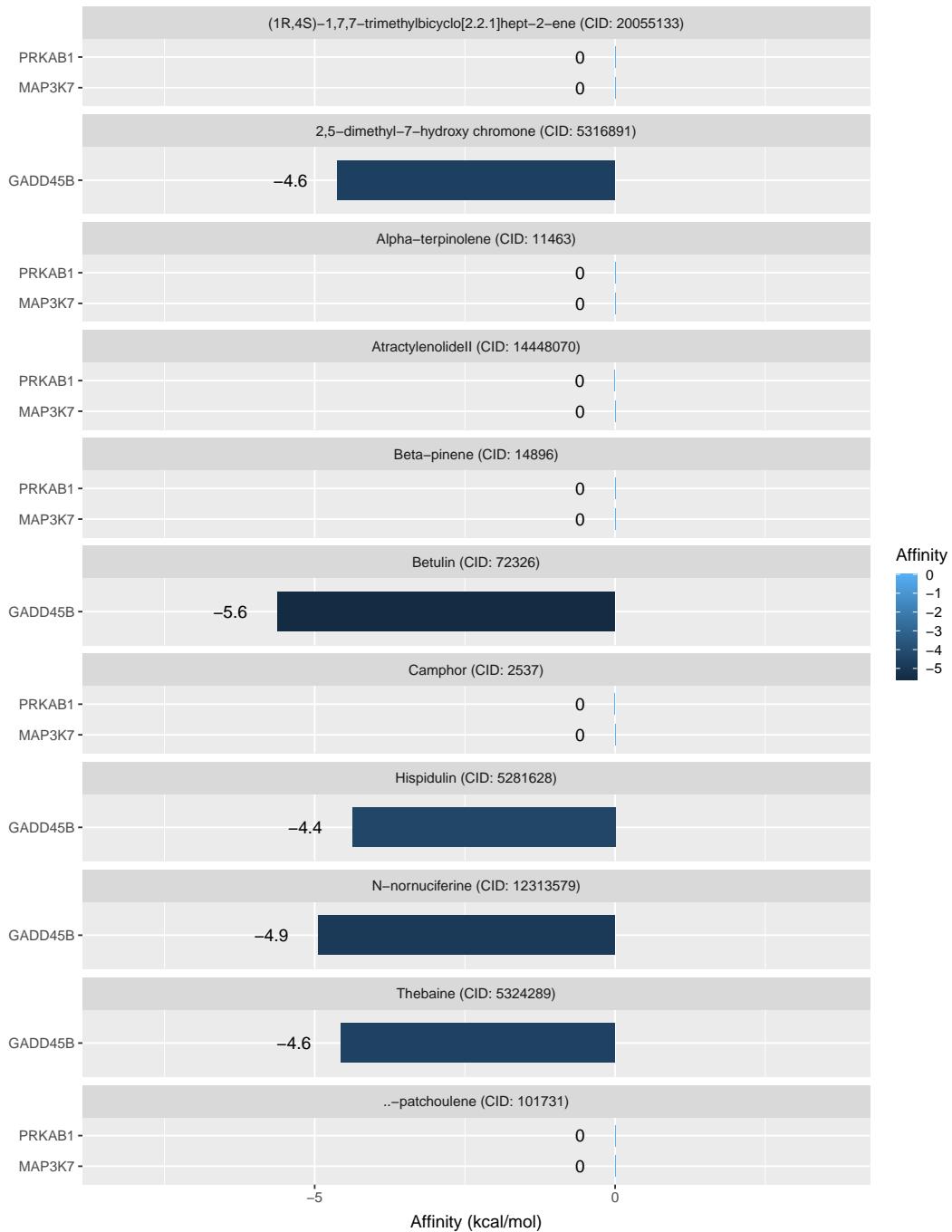


Figure 18: Overall combining Affinity

7.6.4 对接可视化 (Top 3)

Figure 19 (下方图) 为图 Docking 72326 into GADD45B 概览。

(对应文件为 Figure+Table/72326_into_GADD45B.png)



Figure 19: Docking 72326 into GADD45B

Figure 20 (下方图) 为图 Docking 12313579 into GADD45B 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/12313579_into_GADD45B.png](#))



Figure 20: Docking 12313579 into GADD45B

Figure 21 (下方图) 为图 Docking 5316891 into GADD45B 概览。

(对应文件为 [Figure+Table/5316891_into_GADD45B.png](#))

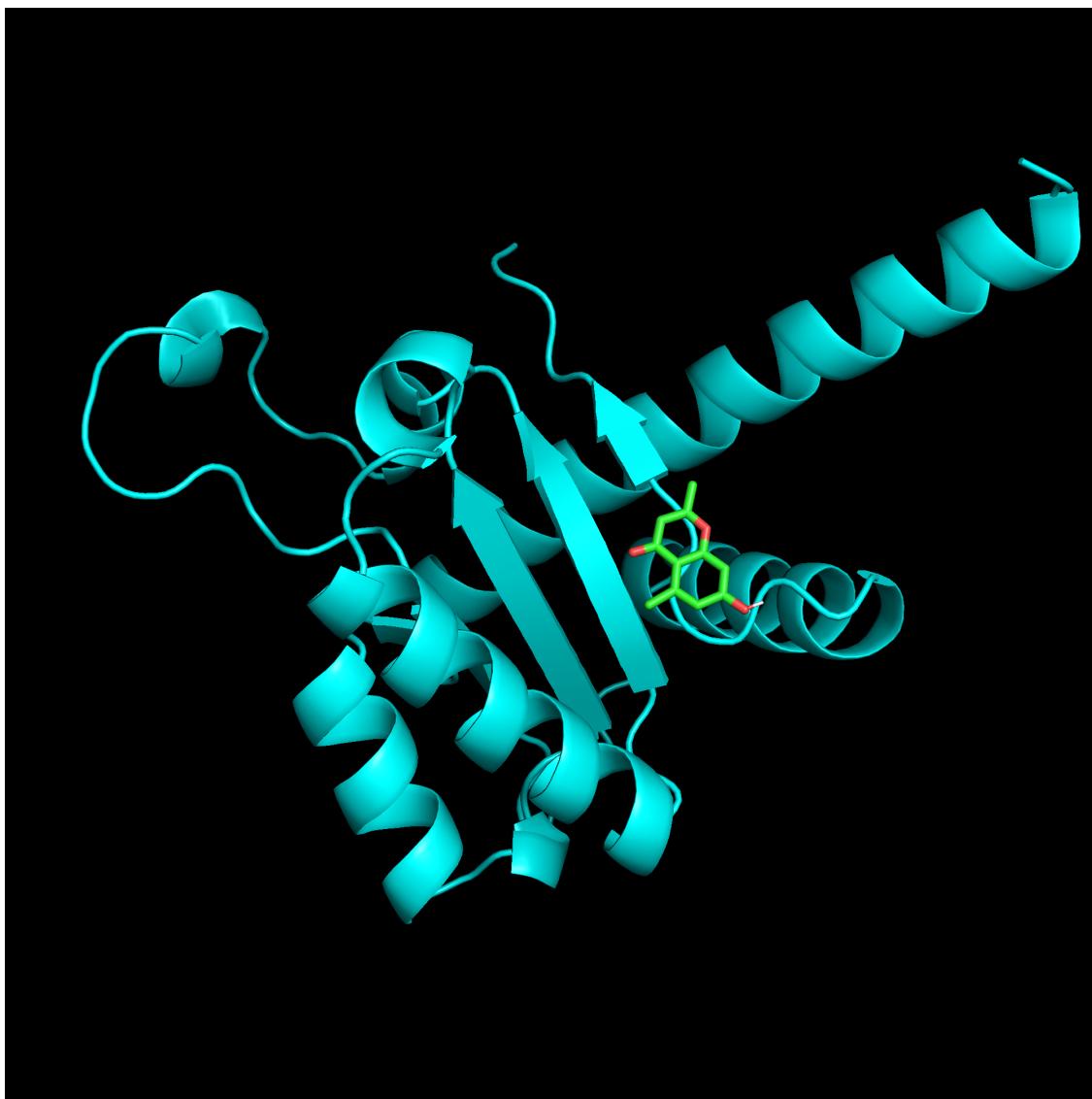


Figure 21: Docking 5316891 into GADD45B

Reference

1. Kobritz, M. *et al.* Targeting sting to reduce sepsis-induced acute intestinal injury. *Surgery* **174**, 1071–1077 (2023).
2. Chen, Y. *et al.* Epigenetic modification of nucleic acids: From basic studies to medical applications. *Chemical Society reviews* **46**, 2844–2872 (2017).
3. Zhu, D., Li, A., Lv, Y. & Fan, Q. Traditional chinese medicine: A class of potentially reliable epigenetic drugs. *Frontiers in pharmacology* **13**, (2022).
4. Durinck, S., Spellman, P. T., Birney, E. & Huber, W. Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the r/bioconductor package biomaRt. *Nature protocols* **4**, 1184–1191 (2009).

5. Wu, T. *et al.* ClusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data. *The Innovation* **2**, (2021).
6. Marakulina, D. *et al.* EpiFactors 2022: Expansion and enhancement of a curated database of human epigenetic factors and complexes. *Nucleic acids research* **51**, D564–D570 (2023).
7. Chen, S. Ultrafast one-pass fastq data preprocessing, quality control, and deduplication using fastp. *iMeta* **2**, (2023).
8. Piñero, J. *et al.* The disgenet knowledge platform for disease genomics: 2019 update. *Nucleic Acids Research* (2019) doi:10.1093/nar/gkz1021.
9. Stelzer, G. *et al.* The genecards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses. *Current protocols in bioinformatics* **54**, 1.30.1–1.30.33 (2016).
10. Barbarino, J. M., Whirl-Carrillo, M., Altman, R. B. & Klein, T. E. PharmGKB: A worldwide resource for pharmacogenomic information. *Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine* **10**, (2018).
11. Fang, S. *et al.* HERB: A high-throughput experiment- and reference-guided database of traditional chinese medicine. *Nucleic Acids Research* **49**, D1197–D1206 (2021).
12. Wei, M. *et al.* HobPre: Accurate prediction of human oral bioavailability for small molecules. *Journal of Cheminformatics* **14**, (2022).
13. Bray, N. L., Pimentel, H., Melsted, P. & Pachter, L. Near-optimal probabilistic rna-seq quantification. *Nature Biotechnology* **34**, (2016).
14. Ritchie, M. E. *et al.* Limma powers differential expression analyses for rna-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research* **43**, e47 (2015).
15. Chen, Y., McCarthy, D., Ritchie, M., Robinson, M. & Smyth, G. EdgeR: Differential analysis of sequence read count data user's guide. 119.
16. Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A. F. & Forli, S. AutoDock vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling* **61**, 3891–3898 (2021).
17. Zhang, Y., Forli, S., Omelchenko, A. & Sanner, M. F. AutoGridFR: Improvements on autodock affinity maps and associated software tools. *Journal of computational chemistry* **40**, 2882–2886 (2019).
18. Zhang, Y. & Sanner, M. F. AutoDock crankpep: Combining folding and docking to predict protein-peptide complexes. *Bioinformatics (Oxford, England)* **35**, 5121–5127 (2019).
19. Ravindranath, P. A. & Sanner, M. F. AutoSite: An automated approach for pseudo-ligands prediction-from ligand-binding sites identification to predicting key ligand atoms. *Bioinformatics (Oxford, England)* **32**, 3142–3149 (2016).
20. Ravindranath, P. A., Forli, S., Goodsell, D. S., Olson, A. J. & Sanner, M. F. AutoDockFR: Advances in protein-ligand docking with explicitly specified binding site flexibility. *PLoS computational biology* **11**, (2015).

21. Cao, Y., Charisi, A., Cheng, L.-C., Jiang, T. & Girke, T. ChemmineR: A compound mining framework for r. *Bioinformatics (Oxford, England)* **24**, 1733–1734 (2008).