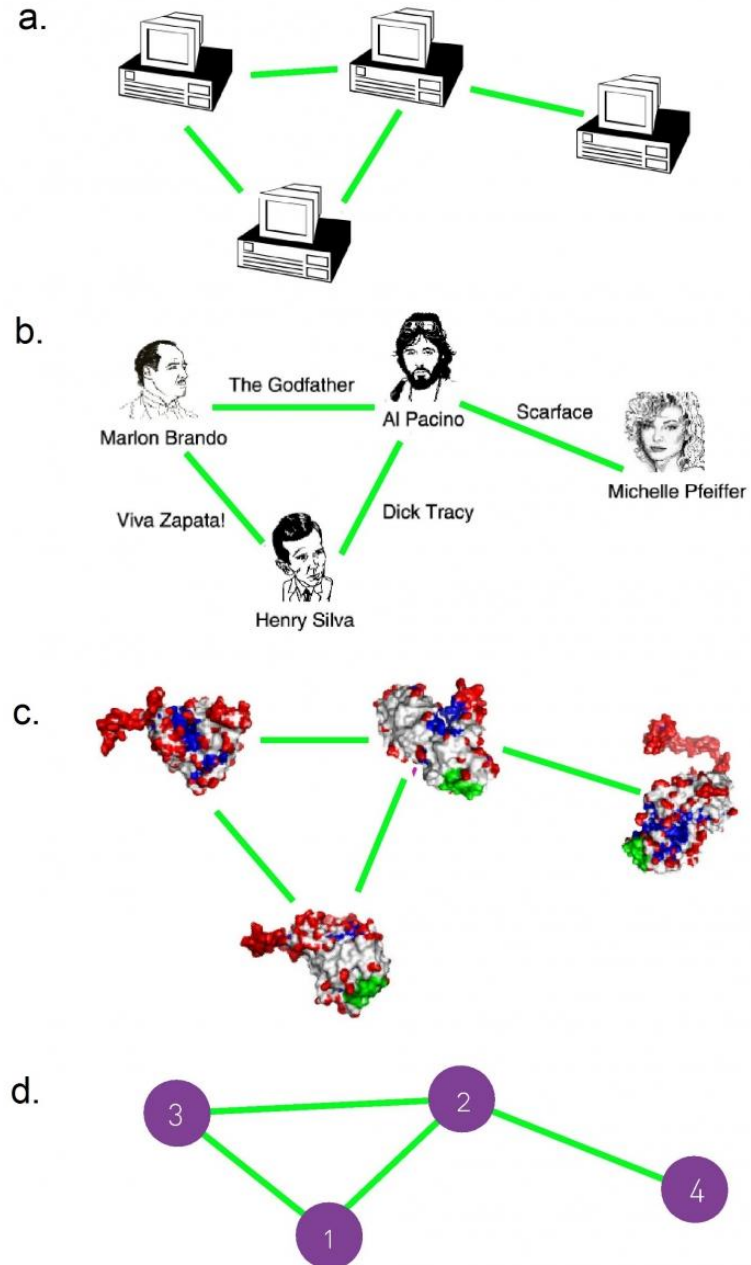


Molekuláris hálózatok

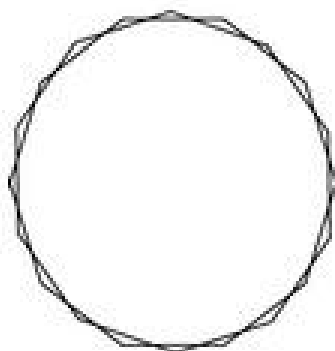
Hálózatok

- Gráf: absztrakt matematikai reprezentáció, adatszerkezet
- Hálózat: jelenségek, modellek megjelenítése gráfok segítségével



Hálózat topológia

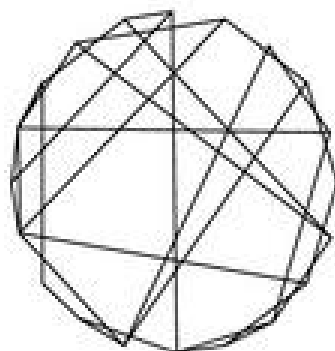
Regular



$$\rho = 0$$

(a)

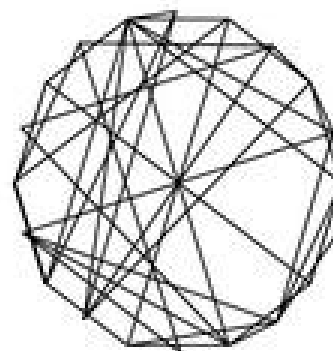
Small world



$$N = 20, k = 4$$

(b)

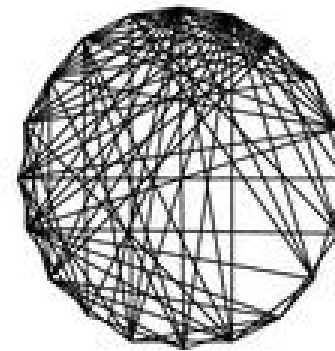
Random



$$\rho = 0$$

(c)

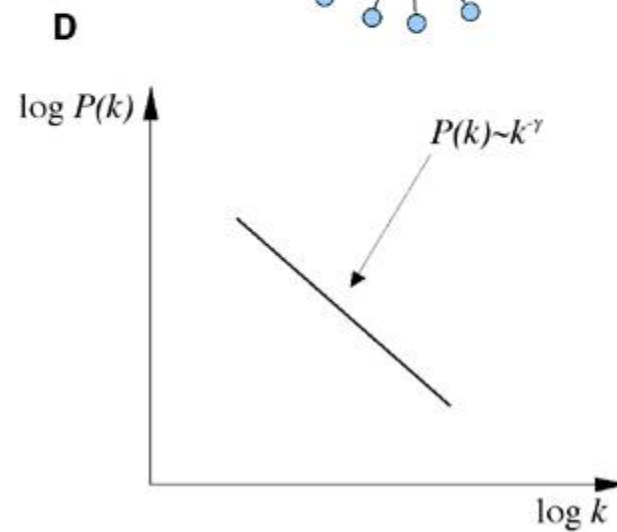
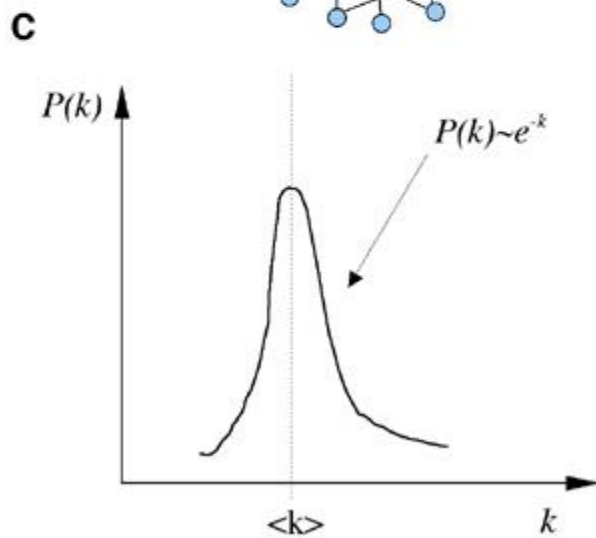
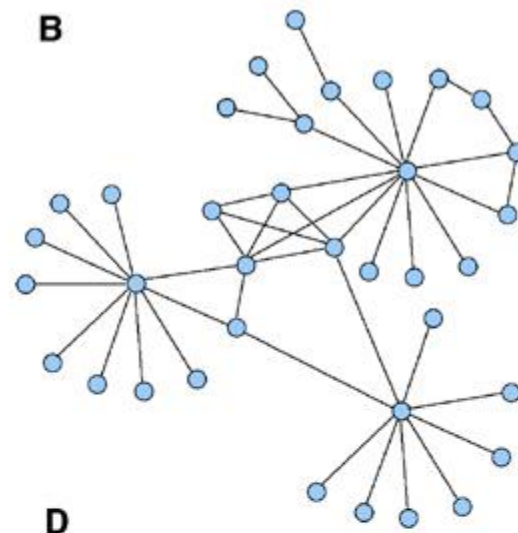
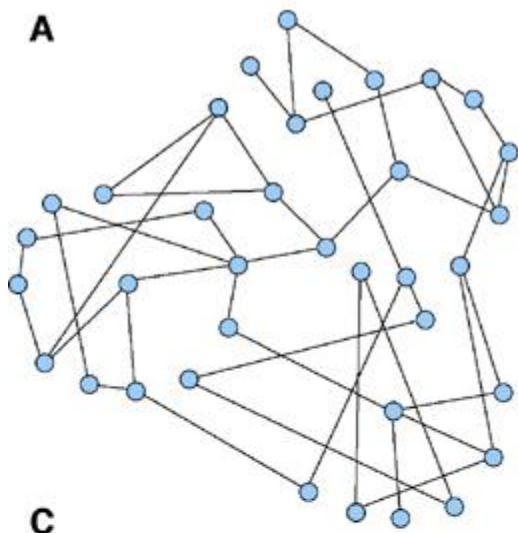
Free-scale



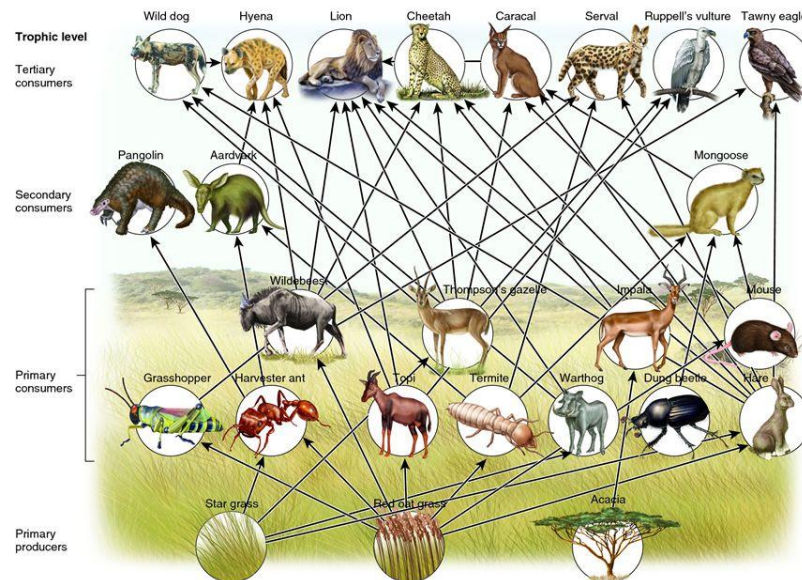
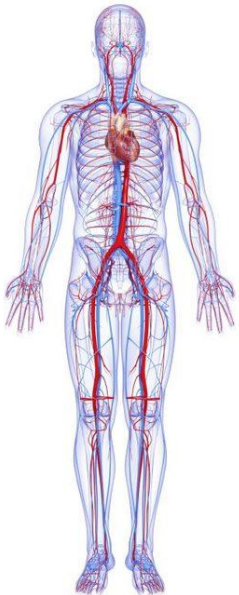
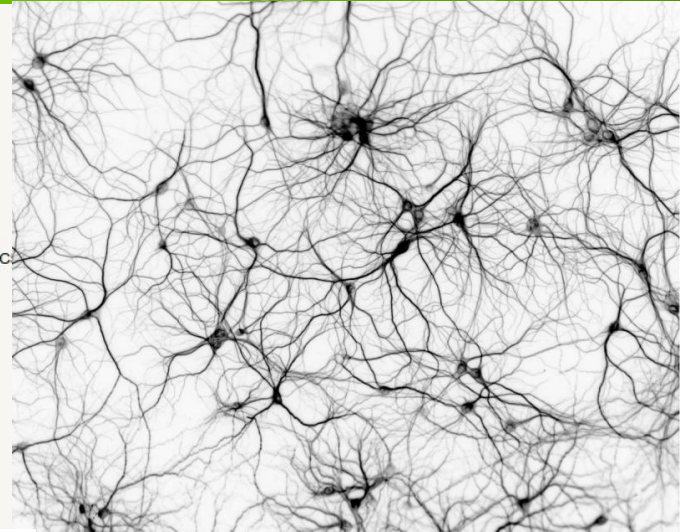
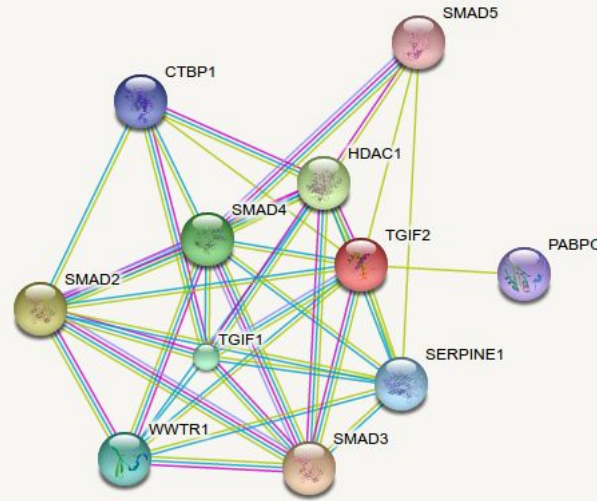
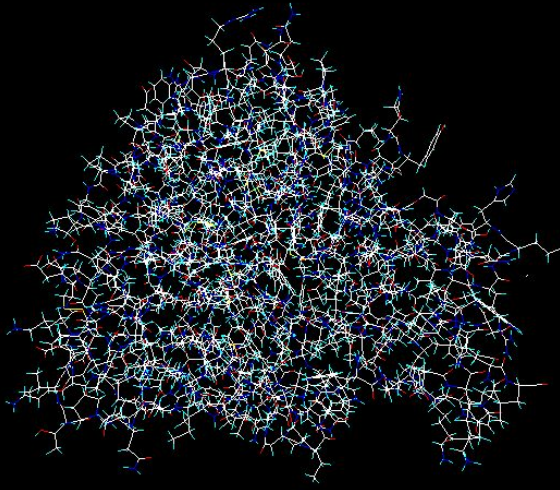
$$N = 30, m_0 = 6, k = 4$$

(d)

Hálózat topológia



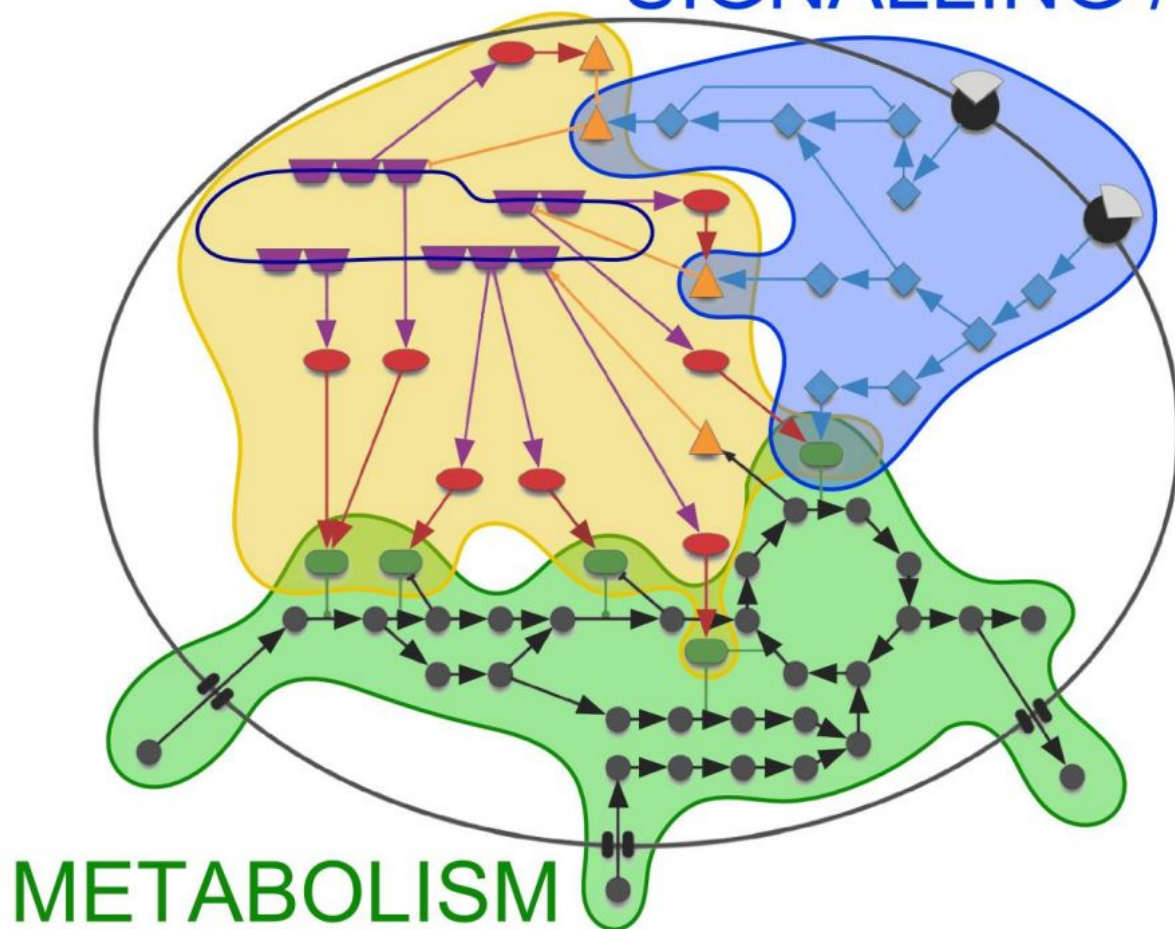
Hálózatok mindenhol vannak



Molekuláris hálózatok

REGULATION

SIGNALLING / PPI



Molekuláris hálózattípusok és a források eredete

→ Pontok:

- ◆ DNS → szekvencia-analízis ← genomika
- ◆ RNS → mRNS/miRNS
- ◆ expresszió/szekvencia vizsgálat ← transzkriptomika
- ◆ Fehérje → fehérje-analízis ← proteomika
- ◆ Domén és teljes fehérje

→ Kapcsolatok:

- ◆ DNS-DNS → hasonló szekvencia (pl. evolúciós rokonság)
- ◆ Gén-gén → génkölcshatások (szintetikus letális, episztatikus kapcsolatok)
- ◆ Fehérje-DNS → fizikai kapcsolat alapján
- ◆ DNS-mRNS → transzkripció
- ◆ mRNS-miRNS → mRNS/genkifejeződés szabályozás (szekvencia illesztés)
- ◆ mRNS/miRNS/fehérje → azonos időben/helyen bekövetkező expresszió
- ◆ Fehérje-fehérje → fizikai/funkcionális kapcsolat alapján

Fehérje-fehérje kapcsolatok eredete

→ Kis léptékű

- ◆ Kevés kapcsolat / publikáció
- ◆ A kapcsolat funkcionális vagy szerkezeti alapú
- ◆ Lehet irányított
- ◆ (Túl) precíz
- ◆ Egyéni hibák
- ◆ A vizsgált rendszer szubjektív
- ◆ Lokális adatok
- ◆ Az adatokat gyűjteni kell

→ Nagy léptékű

- ◆ Sok kapcsolat / publikáció
- ◆ Fizikai kapcsolatok
- ◆ Általában irányítatlan
- ◆ Nem precíz
- ◆ Rendszerszintű hibák
- ◆ A vizsgált rendszer objektív
- ◆ Globális adatok
- ◆ Nagy áteresztőképességű (High-throughput – HTP) vizsgálatok

A kapcsolatok gyűjtésének lehetőségei

→ Kézi gyűjtés / Irodalom-bányászat

- ◆ +: A precíz kis léptékű adatok összegyűjtése kézzel vagy algoritmussal egy egységes adatbázissá
- ◆ -: a gyűjtő / programozó tudásán múlik, és néha torzított lehet; a különböző gyűjtések ritkán vethetőek össze vagy használhatóak együttesen; időigényes

→ Predikciók

- ◆ +: Sok információt tudhatunk meg, ha megnézzük más rokon fehérjék vagy fajok fehérjéit / kapcsolatait
- ◆ -: Csak jóslás, kísérletes bizonyíték nélkül; (2) Nem mindig igaz (pl.: evolúciós divergencia)

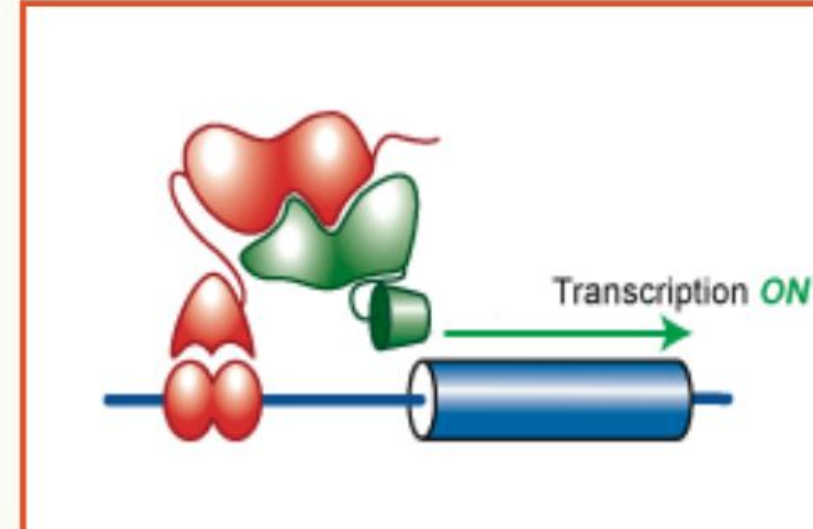
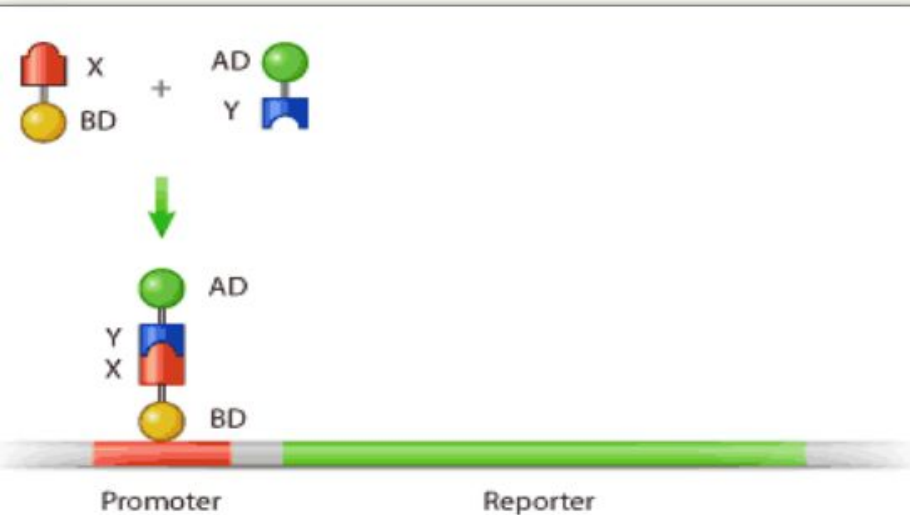
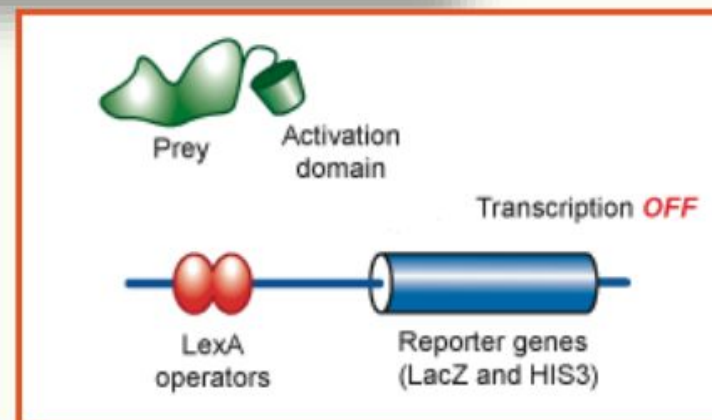
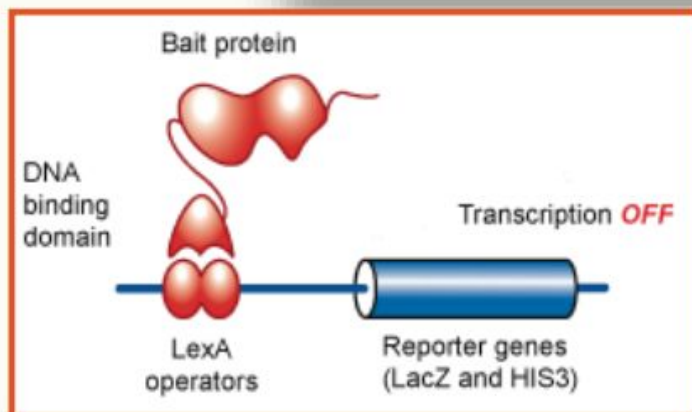
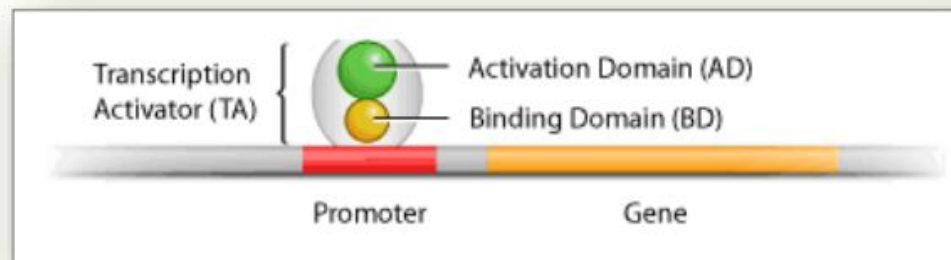
→ Számítógépes integráció

- ◆ +: Ugyanarról a rendszerről sok különböző adatot a számítógépen összerakunk, és így többlet-információhoz jutunk (pl.: az egyik kísérlet csak a kapcsolat közvetlen létét írja le (fizikai kapcsolat), a másik meg csak irányt ad meg)
- ◆ -: Nem mindig szabad a különböző eredetű, típusú adatokat összerakni

Leggyakrabban használt nagy áteresztőképességű módszerek

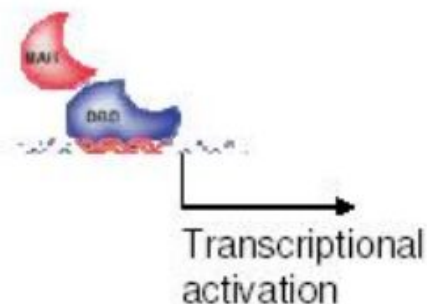
- Y2H: élesztő kettős-hibrid rendszer
- AP+MS: Tisztítás affinitás kromatográfiával + tömegspektrométer
- Immunprecipitáció
- Fluoreszensen jelölt molekulák kapcsolódásának detektálása:
 - ◆ FRET (Fluorescence Resonance EnergyTransfer)
 - ◆ biFC (Bimolecular Fluorescence Complementation):
- Fehérje-chip

Élesztő-kettős hibrid

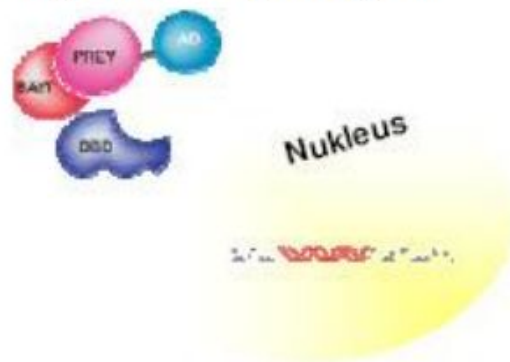


Az élesztő kettős-hibrid rendszer limitációi

Önaktiváló csali



A komplex nem tud bejutni a sejtmagba



Membránfehérjék



AY2H-vizsgálathoz a kapcsolatnak:

- A sejtmagban kell lezajlania
- A kapcsolódó partnerek nem rendelkezhetnek transzkripciós aktivitással

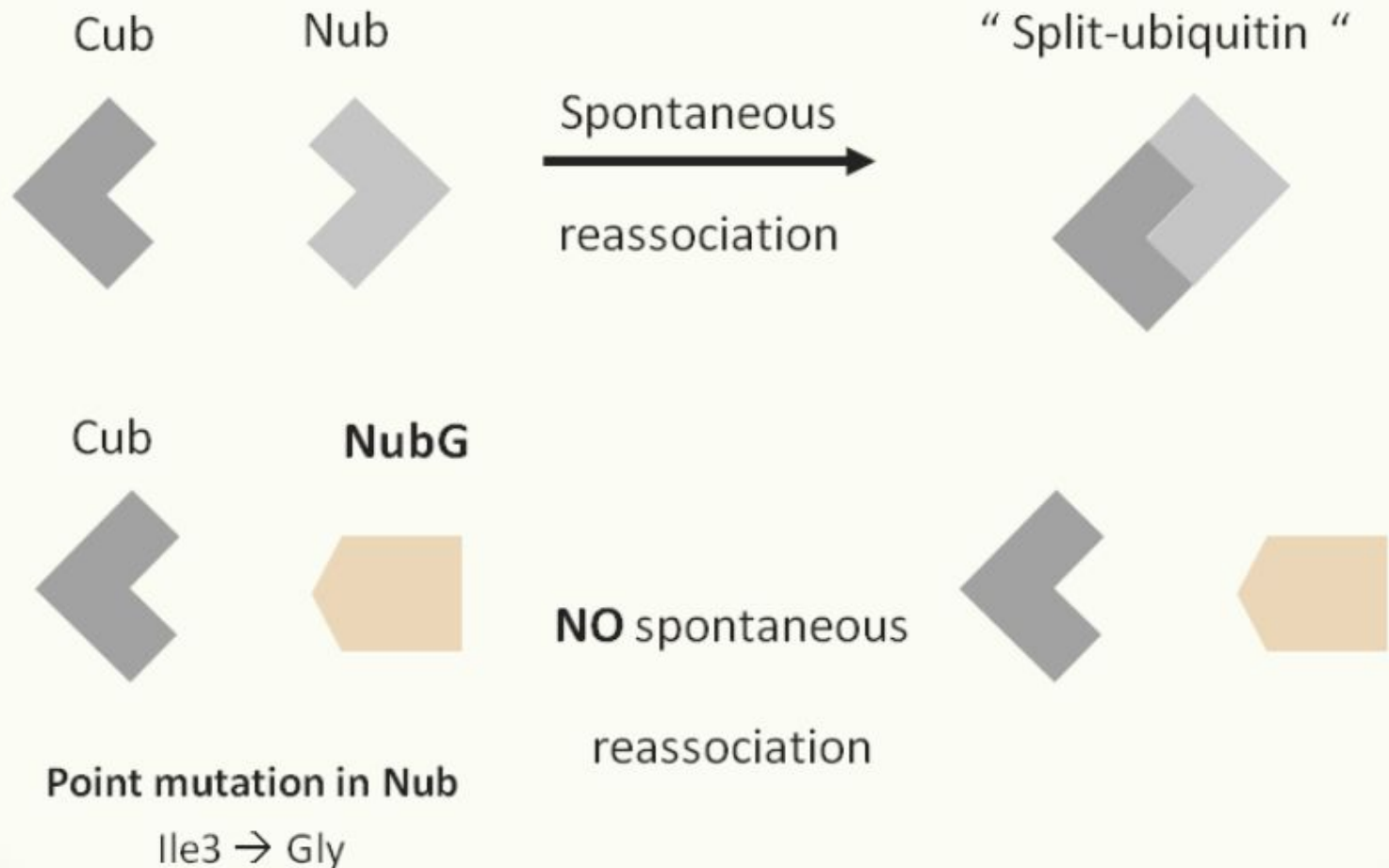


Kizárt fehérjetípusok:

- Extracelluláris fehérjék
- Integráns membránfehérjék
- Membránhoz kötődő fehérjék
- Transzkripciós faktorok
- Savas oldalláncú aminosavak

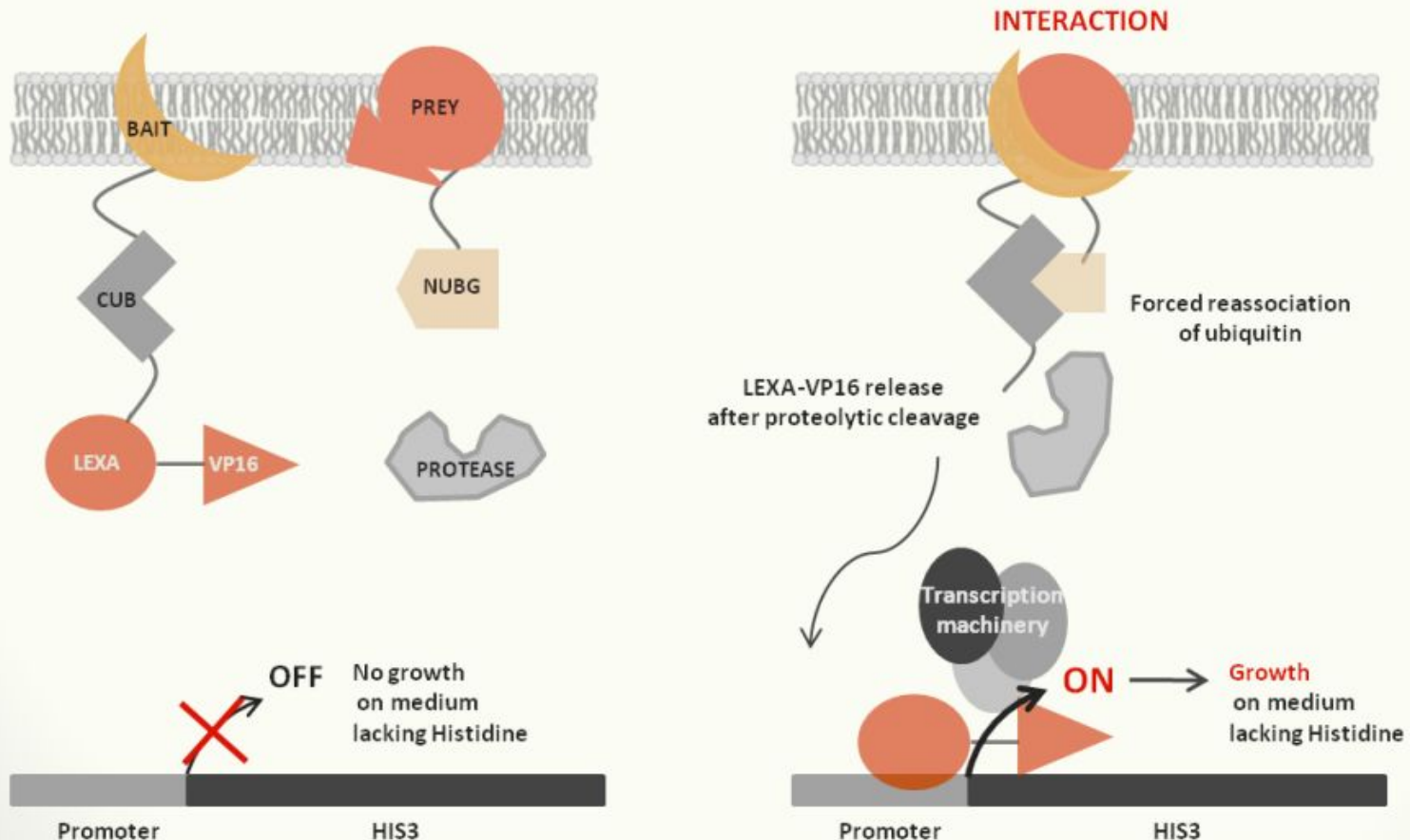
AzY2H módszer módosítása splitubiquitin rendszerrel

SPLIT-UBIQUITIN

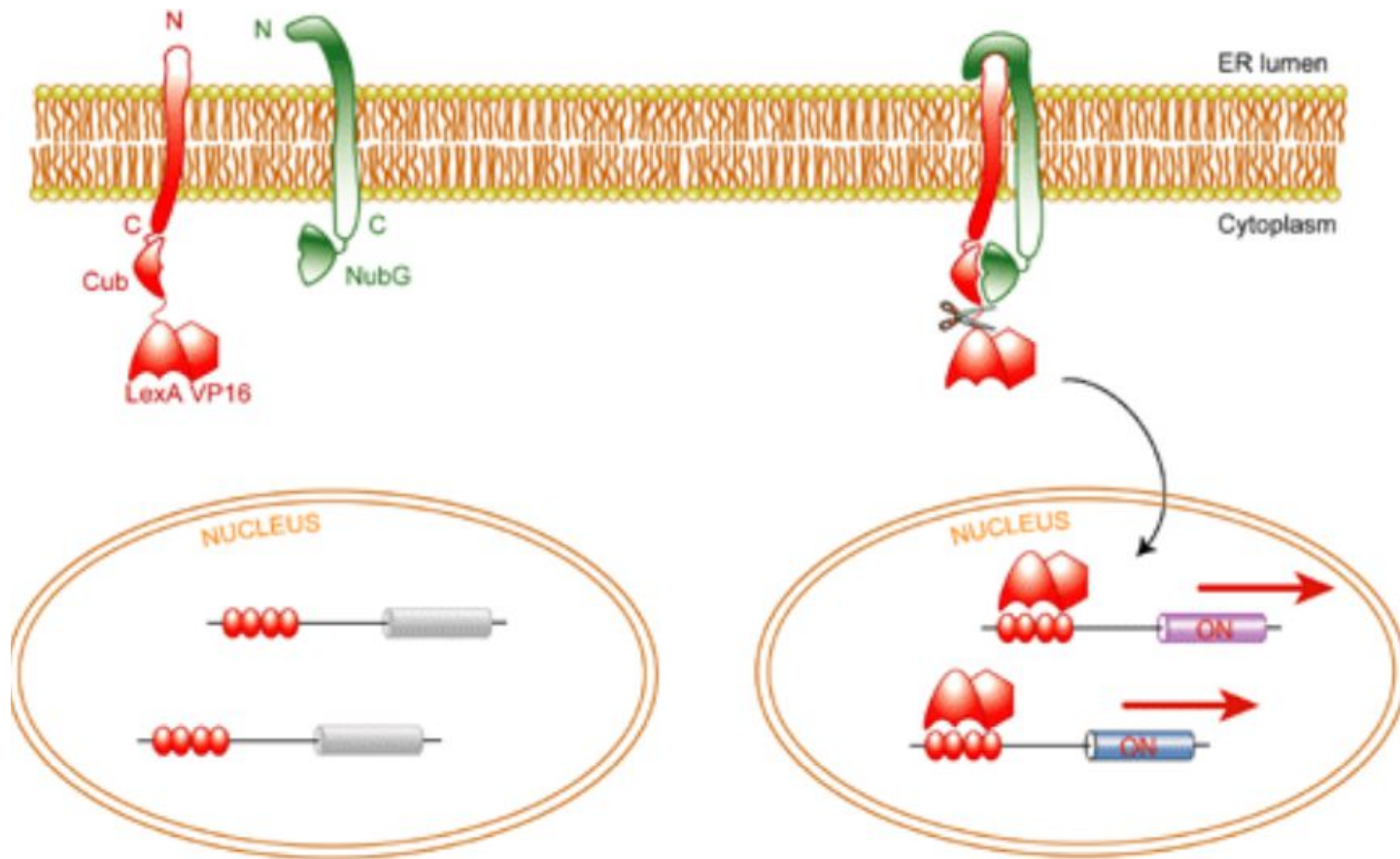


AzY2H módszer módosítása splitubiquitin rendszerrel

MBMATE Y2H PRINCIPLE



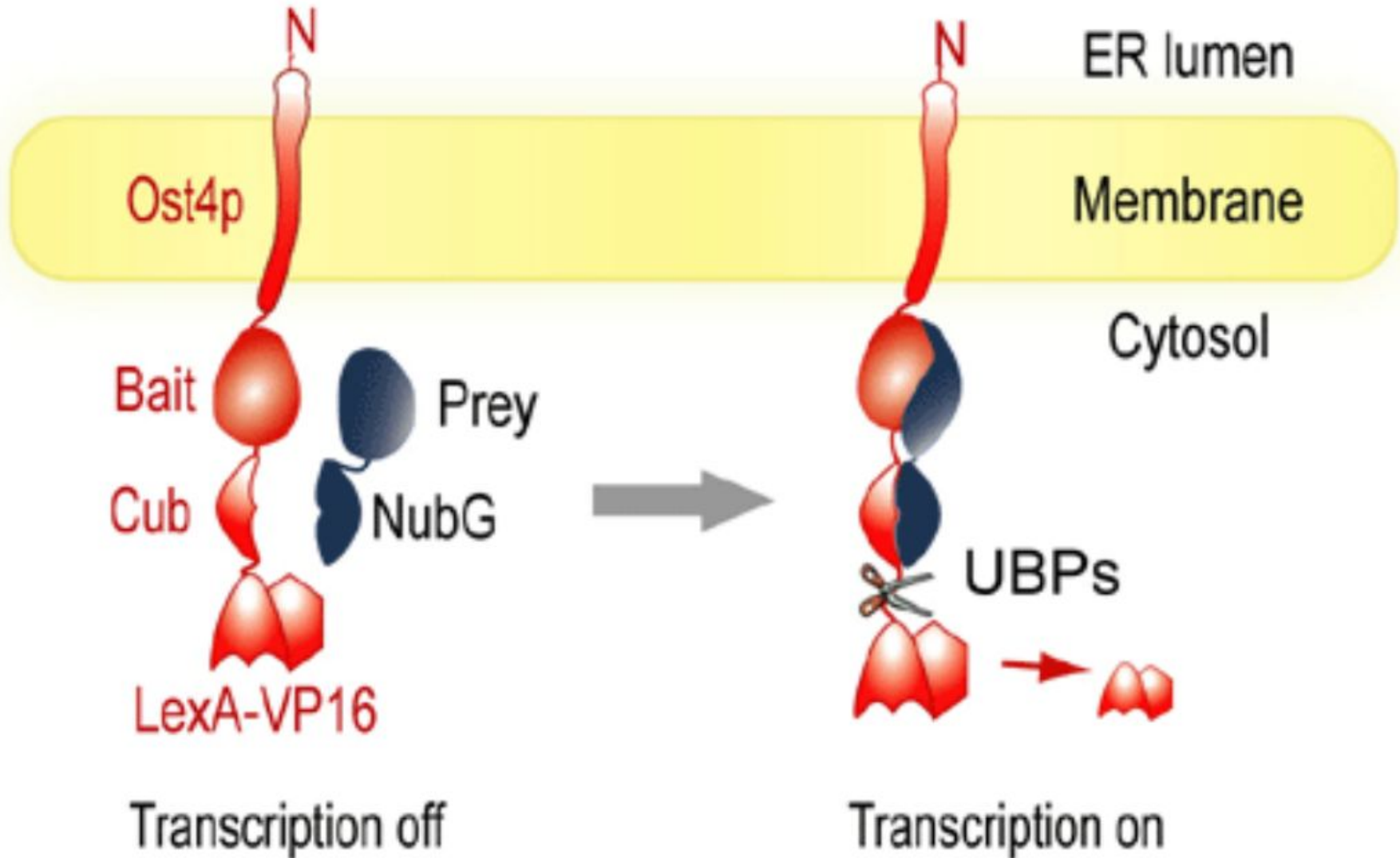
A split-ubiquitin-Y2H alkalmazása membránfehérjék interakciójának detektálására



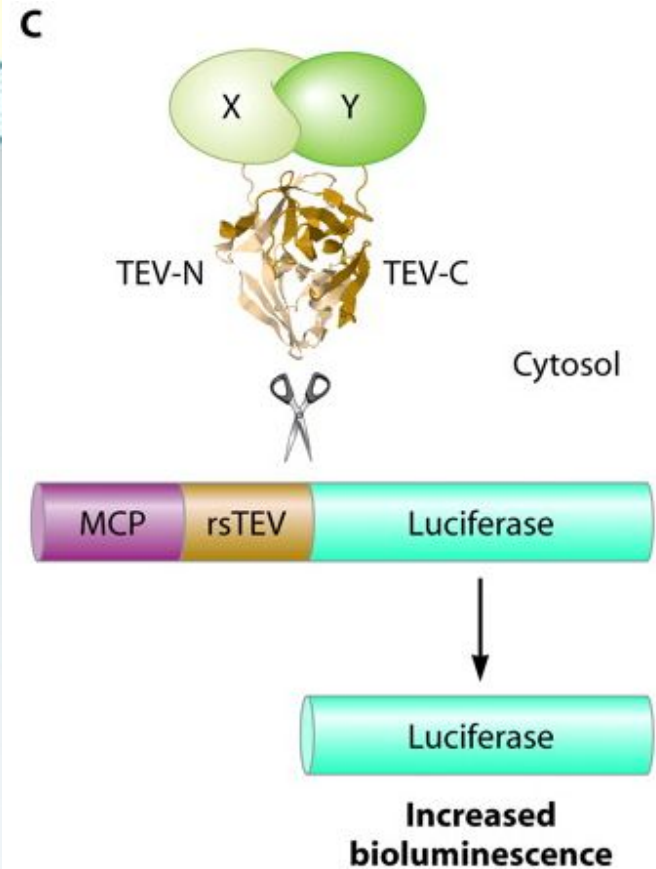
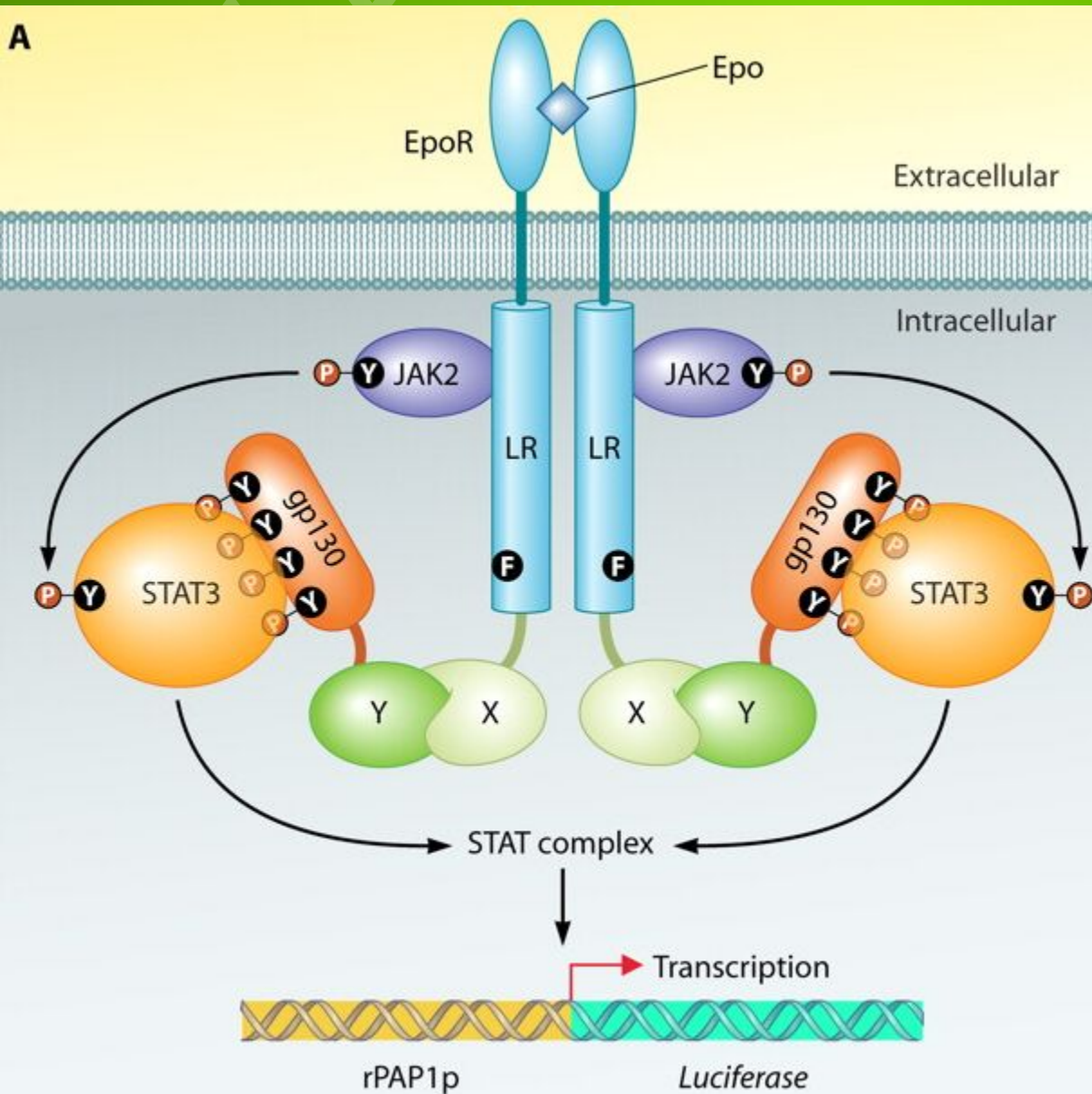
Growth on selective medium

Blue coloration

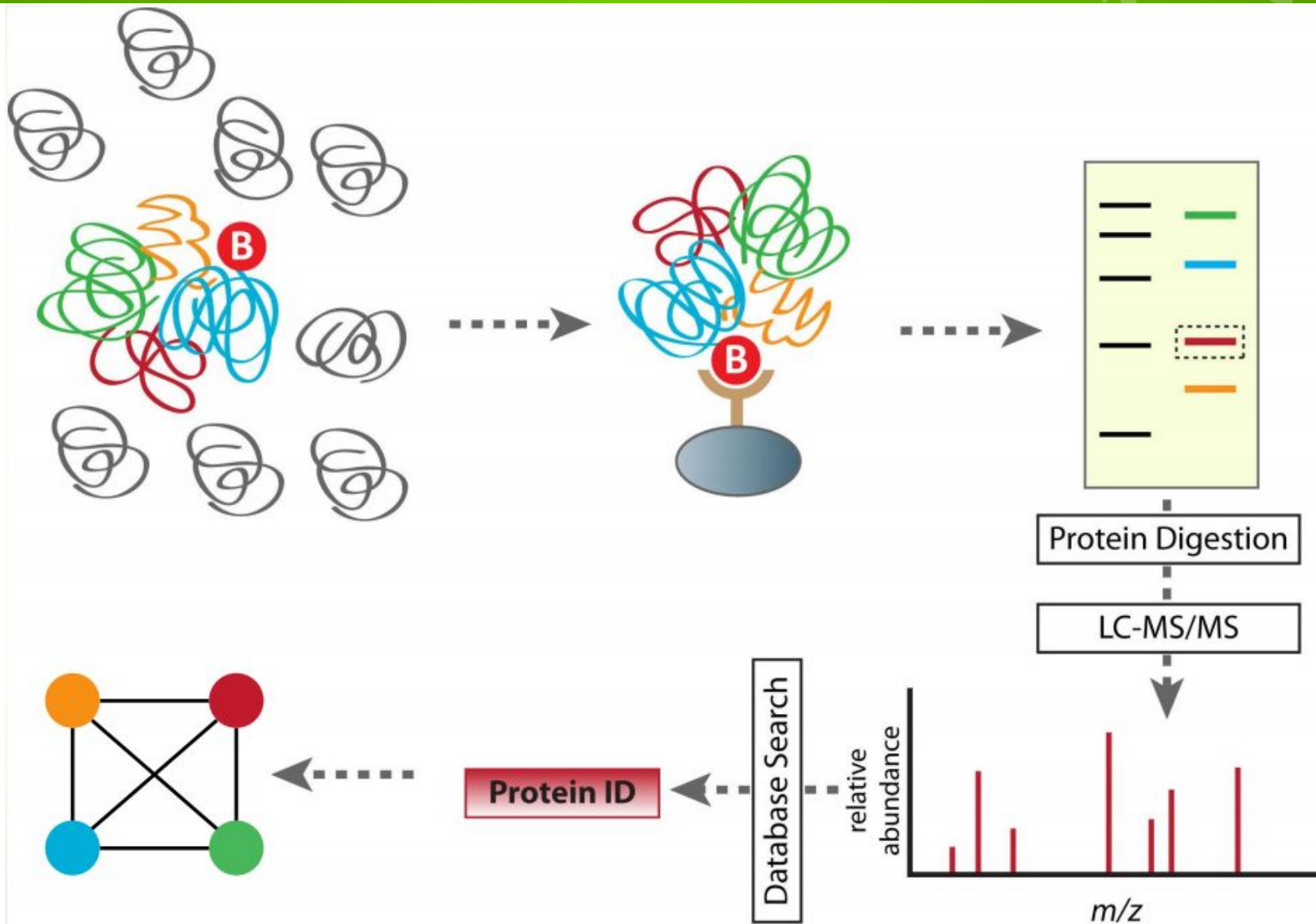
A split-ubiquitin-Y2H alkalmazása transzkripciós faktorok interakciójának detektálására



MAPPIT, kapcsolatok detektálás emlős sejtekben (mammalian protein protein interaction trap)

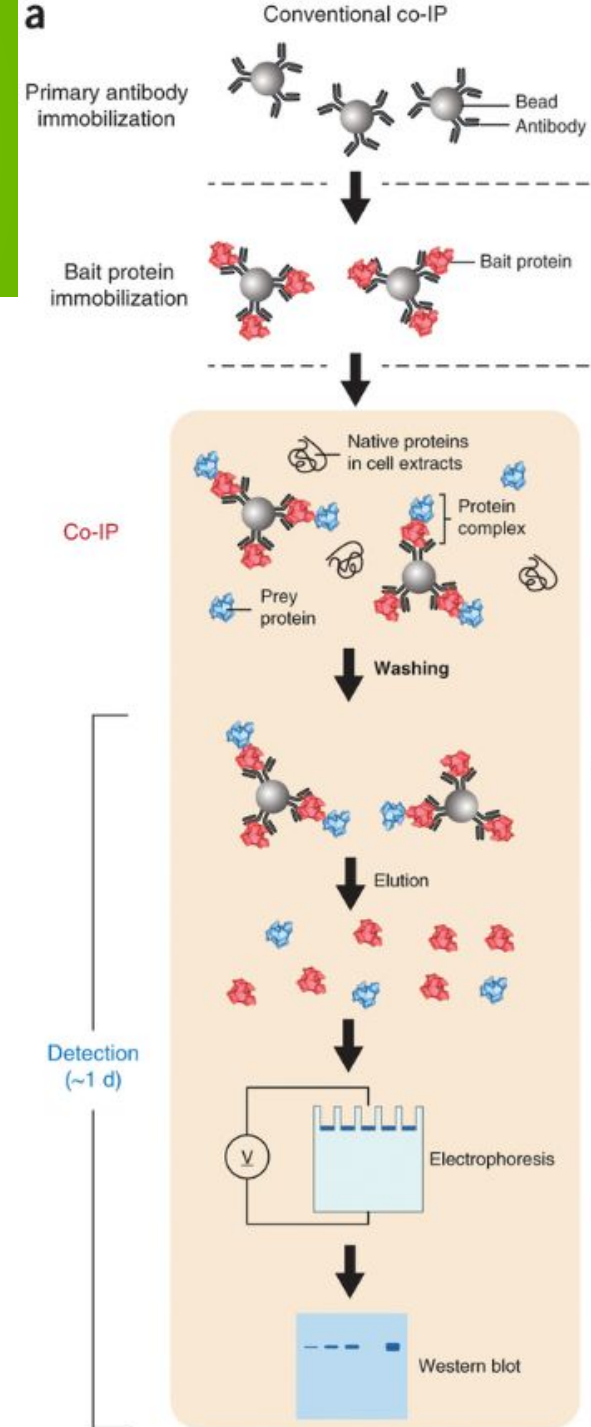


Affinity Purification - Mass Spectrometry



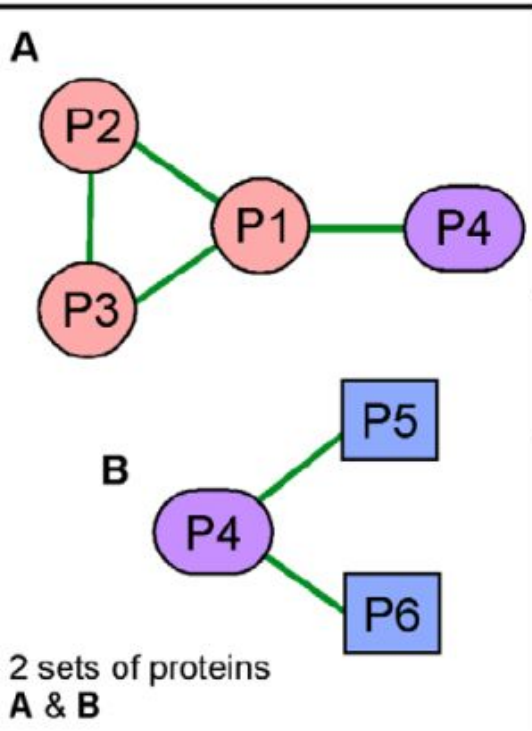
Ko-Immunprecipitáció (CoIP)

1. Az antigént tartalmazó mintában kialakítjuk az ellenanyaggal az immunkomplexet
2. Az immunkomplexet rögzített Protein A vagy Protein G-vel kifogjuk a mintából
3. Eltávolítjuk a nem kötődött fehérjéket
4. Eltávolítjuk a szilárd hordozóról az immunkomplexet
5. SDS gélen analizáljuk
6. Western blotton detektáljuk



Y2H vs. TAP-MS / CoIP

True interactions (PPIs) physical topology *in vivo*



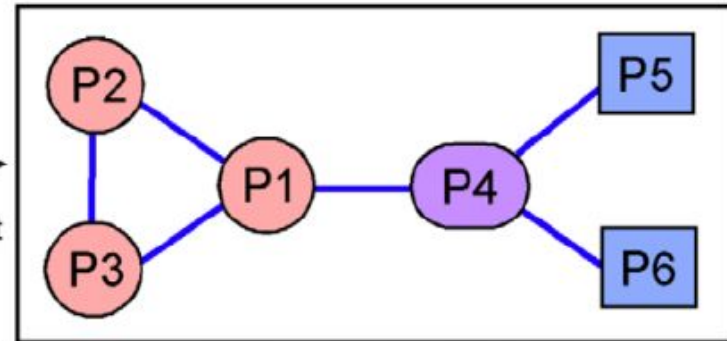
Binary methods measure physical direct PPIs

e.g.
Y2H

P1-P2 P2-P3
P1-P3 P4-P5
P1-P4 P4-P6

direct
assignment

Experimental interactions (PPIs) obtained from binary or co-complex methods

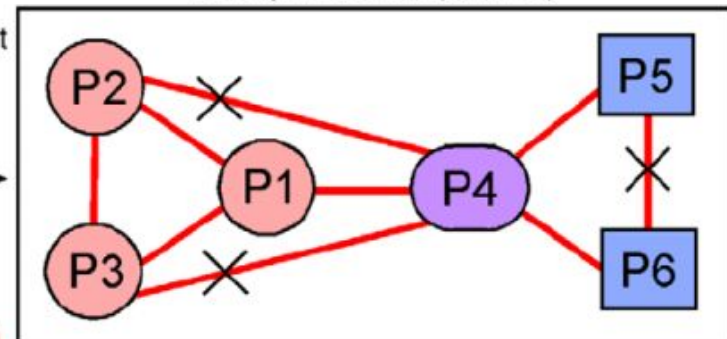


Two different PPI **networks** derived from
two types of experimental data
(the **X** below indicate interactions that do not occur,
i.e. they will be false positives)

e.g.
TAP-MS
CoIP

P1=P2,P3,P4
P2=P1,P3,P4
P3=P1,P2,P4
P4=P1,P2,P3,P5,P6
P5=P4,P6
P6=P4,P5

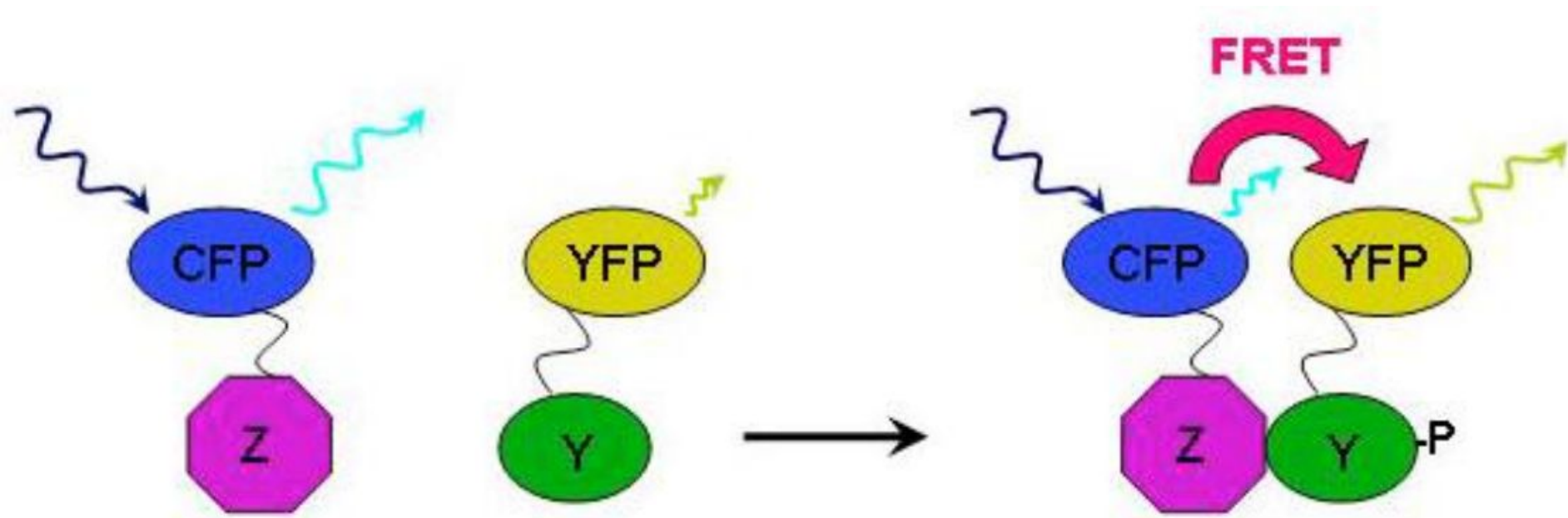
assignment
with
spoke
model



Co-complex methods measure physical PPIs (direct & indirect)

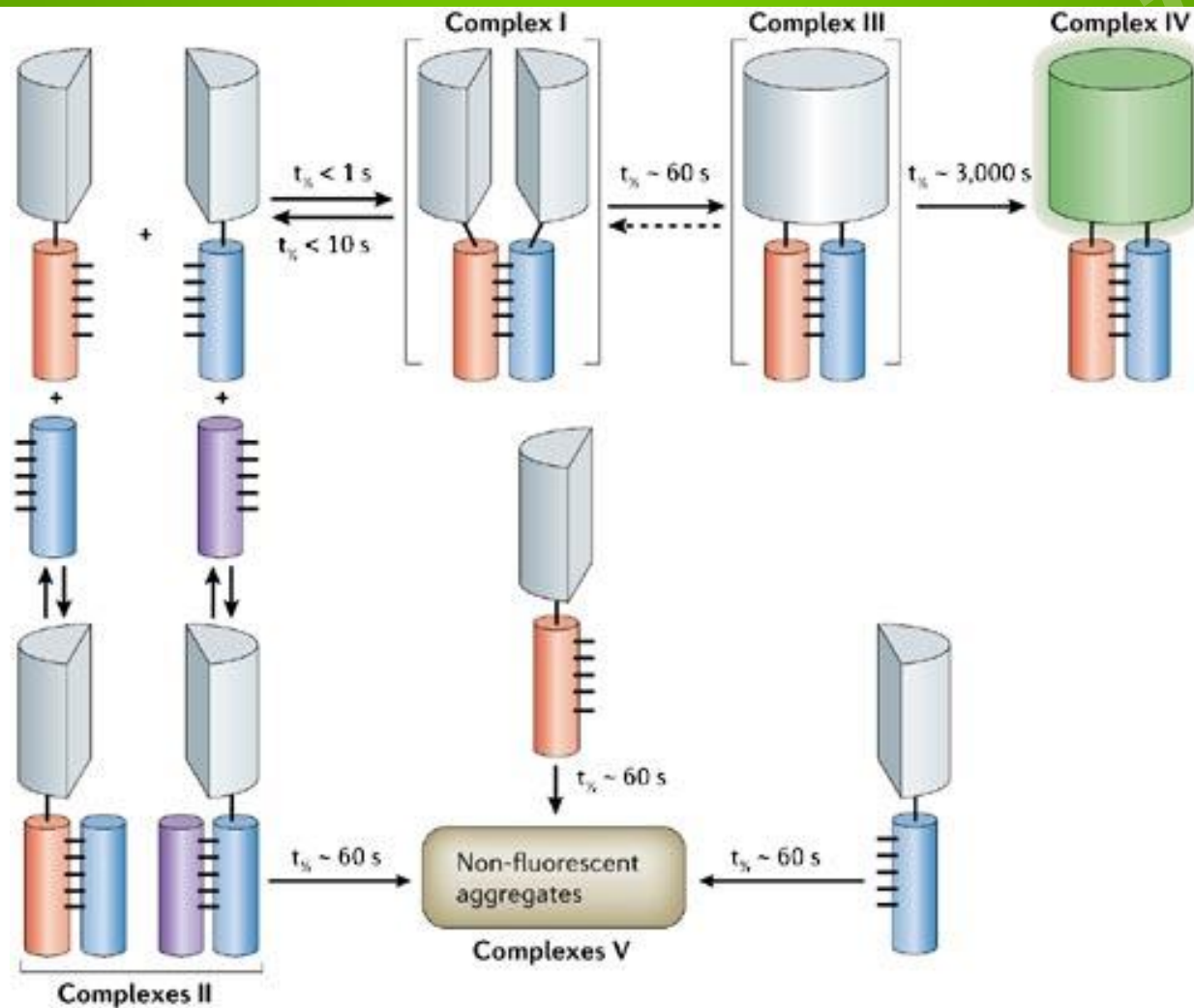
FRET

Fluorescence Resonance Energy Transfer



biFC

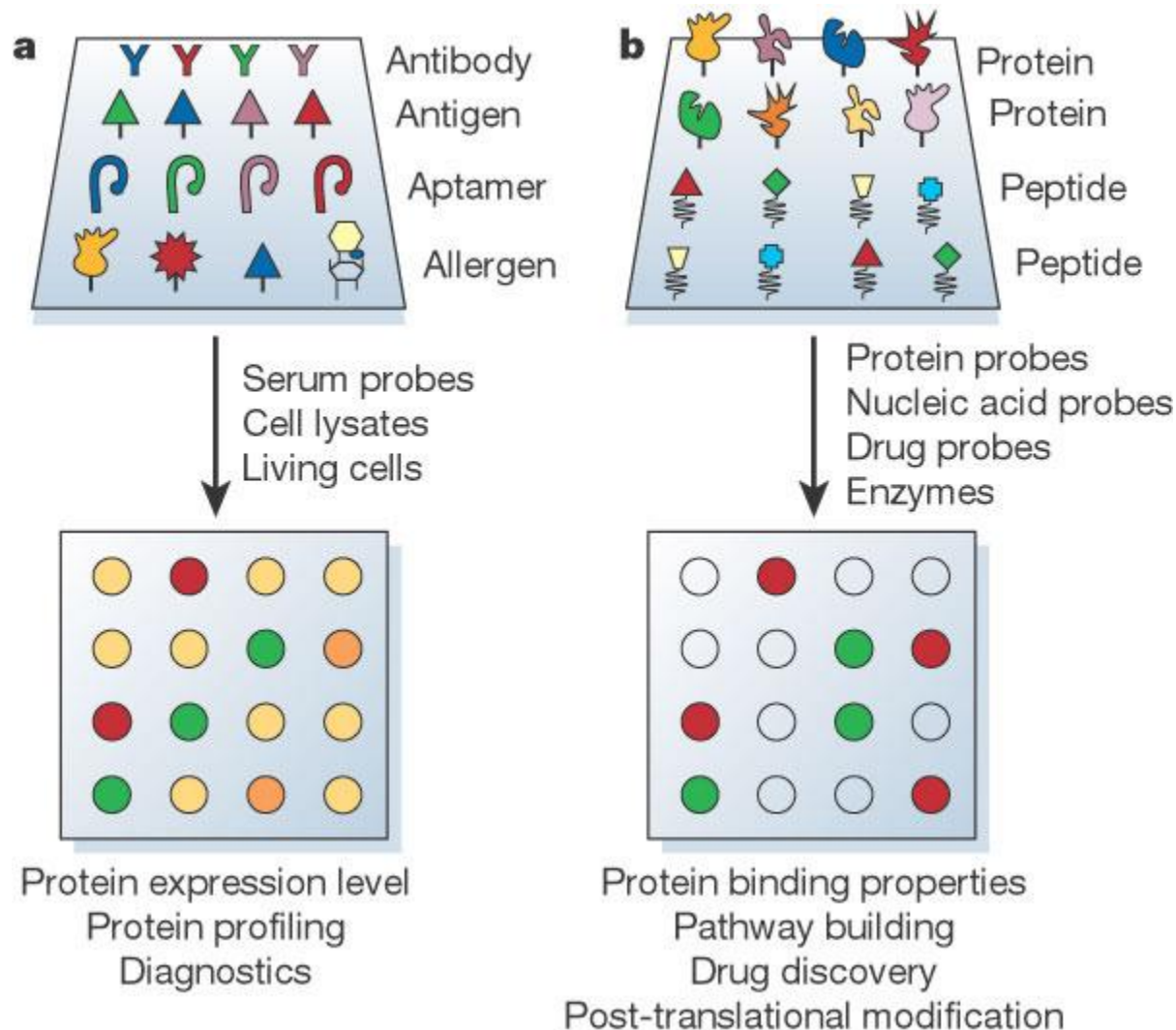
Bimolecular Fluorescence Complementation



Protein chip



Protein chip



PPI predikciók

- Homolog transzfer
 - Enzim kötő motívum keresése fehérje szekvencián
 - Domén-domén kapcsolatok alapján
 - 3D docking
-
- Literature mining
 - Co-expression

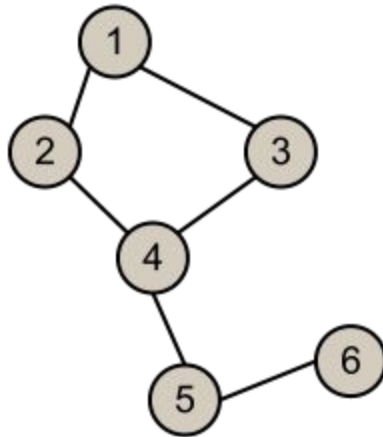
Hálózatok leírása - adatszerkezet

→ Adjacency list

→ Adjacency matrix

Adjacency matrix

Undirected Graph & Adjacency Matrix



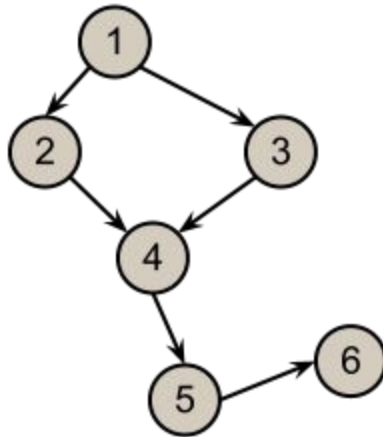
Undirected Graph

	①	②	③	④	⑤	⑥
①	0	1	1	0	0	0
②	1	0	0	1	0	0
③	1	0	0	1	0	0
④	0	1	1	0	1	0
⑤	0	0	0	1	0	1
⑥	0	0	0	0	1	0

Adjacency Matrix

Adjacency matrix

Directed Graph & Adjacency Matrix



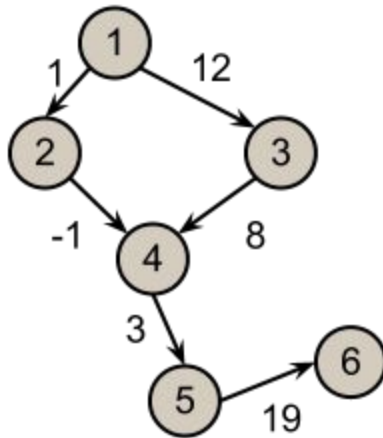
Undirected Graph

	①	②	③	④	⑤	⑥
①	0	1	1	0	0	0
②	-1	0	0	1	0	0
③	-1	0	0	1	0	0
④	0	-1	-1	0	1	0
⑤	0	0	0	-1	0	1
⑥	0	0	0	0	-1	0

Adjacency Matrix

Adjacency matrix

Weighted Directed Graph & Adjacency Matrix



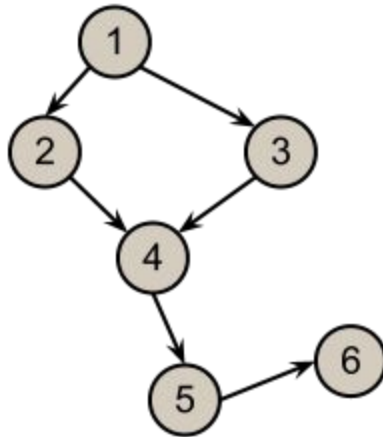
Weighted Directed Graph

	①	②	③	④	⑤	⑥
①	0	1	12	0	0	0
②	-1	0	0	-1	0	0
③	-12	0	0	8	0	0
④	0	1	-8	0	3	0
⑤	0	0	0	-3	0	19
⑥	0	0	0	0	-19	0

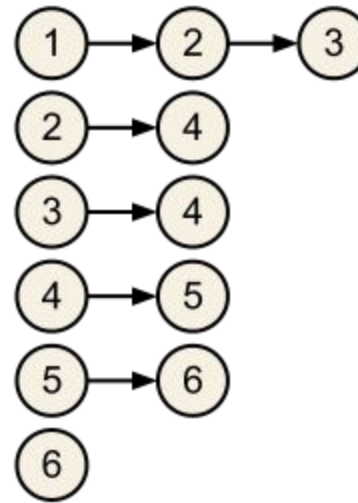
Adjacency Matrix

Adjacency list

Directed Graph & Adjacency List



Undirected Graph



Adjacency Matrix

Adjacency list - formátumok

- CSV, TSV
 - ◆ táblázat
- SQL
 - ◆ relációs adatbázis
- XML
 - ◆ összetett táblázat
- SBML
 - ◆ specializált XML
- BioPax
 - ◆ specializált XML
- PSI-MI
 - ◆ komplex ontológia és szintaxis

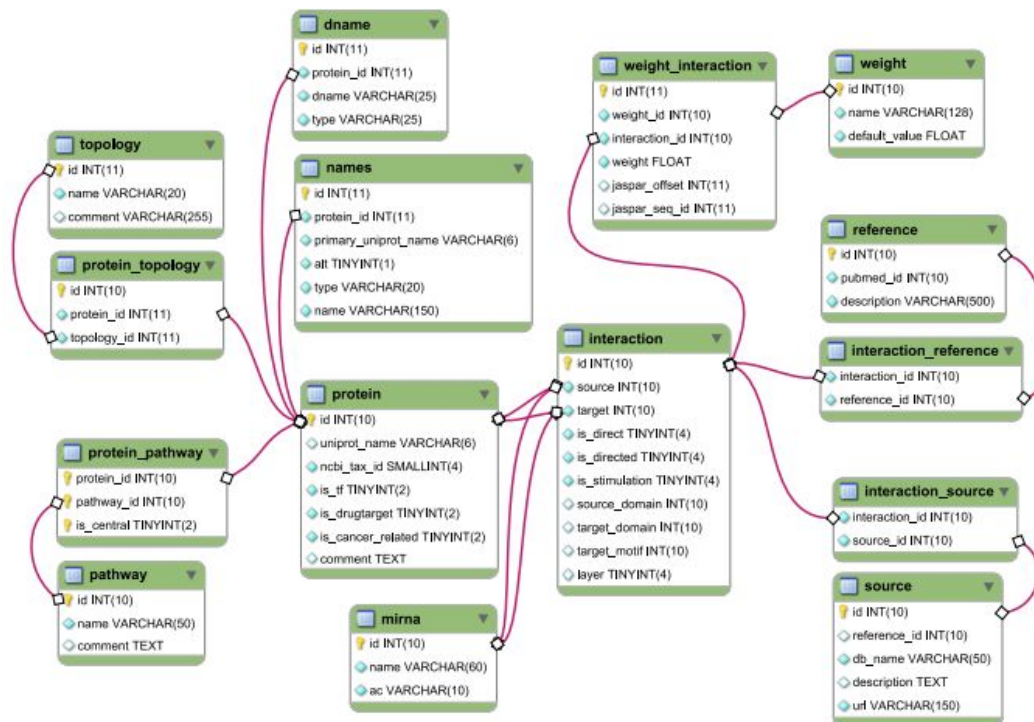
Formátumok - CSV, TSV

- Pontos vesszővel vagy tabbal tagolt szöveges formátum
- MS Excel-lel szerkeszthető
- Programmal és kézzel is könnyen átlátható

```
1 source_name;source_uniprotAC;source_speciesID;source_species;source_topology;source_pathways;target_name;ta
2 JAK2;060674;ENSG00000096968;H. sapiens;Mediator;JAK/STAT(core);PTPN11;Q06124;ENSG00000179295;H. sapiens;Co-
3 PTPN11;Q06124;ENSG00000179295;H. sapiens;Co-factor,Scaffold;RTK(non-core),JAK/STAT(non-core);JAK2;060674;ENS
4 IRS1;P35568;ENSG00000169047;H. sapiens;Mediator,Scaffold;RTK(core),JAK/STAT(core);JAK1;P23458;ENSG0000016243
5 JAK1;P23458;ENSG00000162434;H. sapiens;Mediator;RTK(core),JAK/STAT(core);IRS1;P35568;ENSG00000169047;H. sapi
6 GSK3B;P49841;ENSG00000082701;H. sapiens;Mediator,Co-factor;RTK(non-core),RTK(core),Hedgehog(core),TGF(core)
7 AXIN1;015169;ENSG00000103126;H. sapiens;Mediator,Scaffold;RTK(non-core),TGF(non-core),TGF(core),WNT/Wingless
8 MAP2K1;Q02750;ENSG00000169032;H. sapiens;;RTK(core),Hedgehog(core);MAPK3;P27361;ENSG00000102882;H. sapiens;M
9 MAPK3;P27361;ENSG00000102882;H. sapiens;Mediator;RTK(core),JAK/STAT(core),TGF(core);MAP2K1;Q02750;ENSG000001
10 SMAD3;P84022;ENSG00000166949;H. sapiens;Mediator,Transcription factor;RTK(core),NHR(core),TGF(core),WNT/Wing
11 ESR1;P03372;ENSG00000091831;H. sapiens;Receptor,Transcription factor;NHR(core),TGF(non-core);SMAD3;P84022;EN
12 PEA15;Q15121;ENSG00000162734;H. sapiens;Co-factor;RTK(non-core);MAPK3;P27361;ENSG00000102882;H. sapiens;Medi
13 MAPK3;P27361;ENSG00000102882;H. sapiens;Mediator;RTK(core),JAK/STAT(core),TGF(core);PEA15;Q15121;ENSG0000010
14 IL10RB;Q08334;ENSG00000243646;H. sapiens;Ligand ;JAK/STAT(core);IL28RA;Q8IU57;ENSG00000185436;H. sapiens;Re
15 IL10RB;Q08334;ENSG00000243646;H. sapiens;Ligand ;JAK/STAT(core);IL28RA;Q8IU57;ENSG00000185436;H. sapiens;Re
16 SMURF2;Q9HAU4;ENSG00000108854;H. sapiens;Co-factor,Endocytosis related ,Scaffold;TGF(non-core),WNT/Wingless
17 SMAD2;Q15796;ENSG00000175387;H. sapiens;Mediator,Transcription factor;RTK(core),TGF(core),WNT/Wingless(core)
18 SMAD3;P84022;ENSG00000166949;H. sapiens;Mediator,Transcription factor;RTK(core),NHR(core),TGF(core),WNT/Wing
19 NOTCH1;P46531;ENSG00000148400;H. sapiens;Receptor,Endocytosis related ;Notch(core),WNT/Wingless(core);SMAD3
20 MAP2K2;P36507;ENSG00000126934;H. sapiens;Mediator;RTK(core);MAPK1;P28482;ENSG00000100030;H. sapiens;Mediato
```

Formátumok - SQL

- Adatbázis kezelő nyelv
- Adatbázis szerver esetében távolról is használható
- Kézzel és programmal szerkeszthető



Formátumok - XML

- „hiányos” táblázatok esetében praktikus
- „tag-es” formátum
- Nehezen átlátható, kézzel nem kezelhető

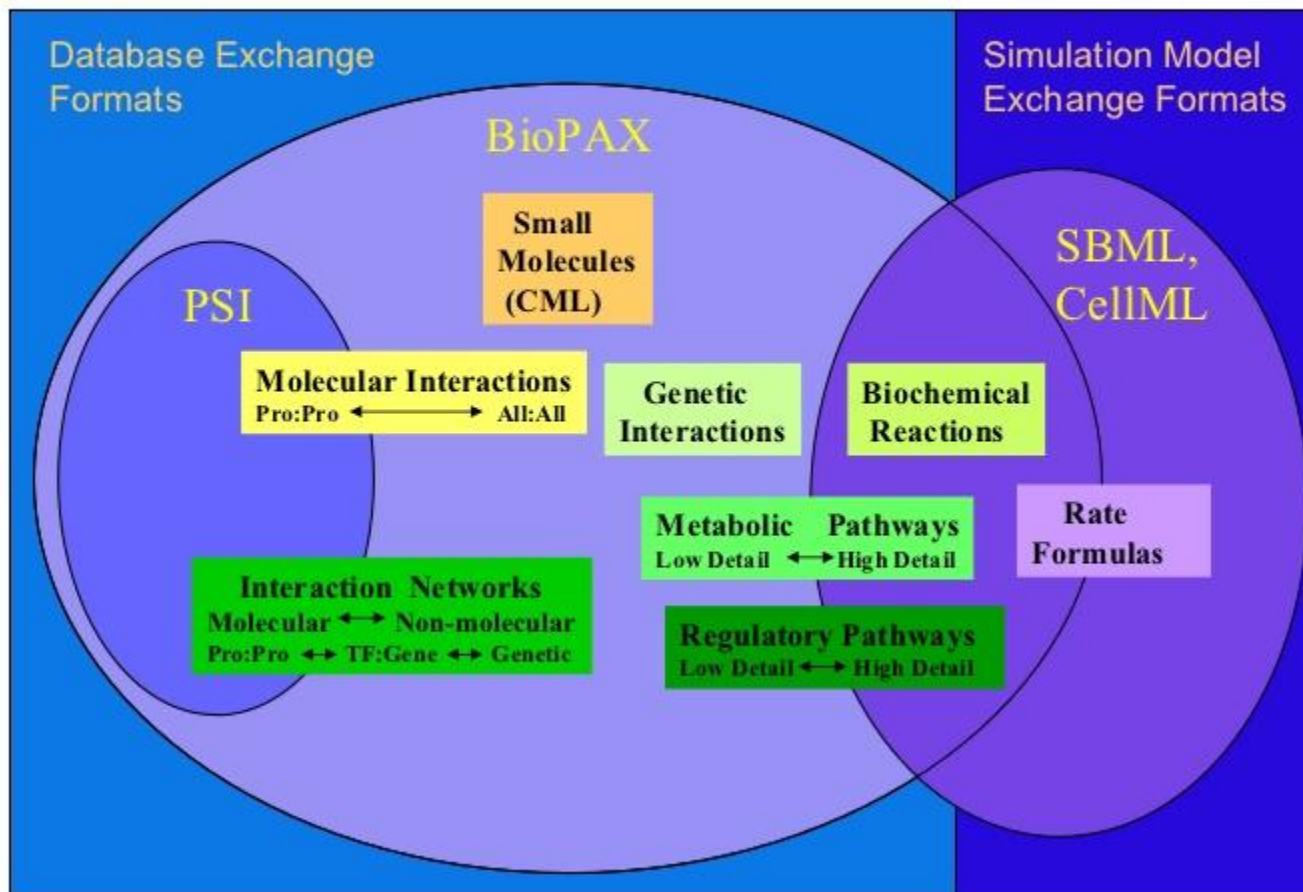
```
1  <?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
2  <sbml xmlns="http://www.sbml.org/sbml/level2" level="2" version="1">
3    <model id="Salmonella_consensus_build_1">
4      <listOfUnitDefinitions>
5        <unitDefinition id="mmol_per_gDW_per_hr">
6          <listOfUnits>
7            <unit kind="mole" scale="-3"/>
8            <unit kind="gram" exponent="-1"/>
9            <unit kind="second" exponent="-1" multiplier="0.0002777777777777778"/>
10         </listOfUnits>
11       </unitDefinition>
12     </listOfUnitDefinitions>
13     <listOfCompartments>
14       <compartment id="p" name="periplasm" size="1"/>
15       <compartment id="c" name="cytosol" size="1"/>
16       <compartment id="e" name="extracellular" size="1"/>
17     </listOfCompartments>
18     <listOfSpecies>
19       <species id="M_12dgr120_c" name="1-2-Diacyl-sn-glycerol-didodecanoyl-n-C120" compartment="c" charge="1">
20         <notes>
21           <html xmlns="http://www.w3.org/1999/xhtml">
22             <p>FORMULA: C27H52O5</p>
23             <p>KEGG ID: C00641</p>
24             <p>PubChem ID: 3914</p>
25             <p>ChEBI ID: 17815</p>
```

Formátumok - PSI-MI

- Proteomics Standards Initiative - Molecular Interaction
- Standard formátum kifejezetten molekuláris kapcsolati adatok leírására
- Két formátum:
 - ◆ XML
 - ◆ TSV
- MI ontológia

Formátumok - stb

Exchange Formats in the Pathway Data Space

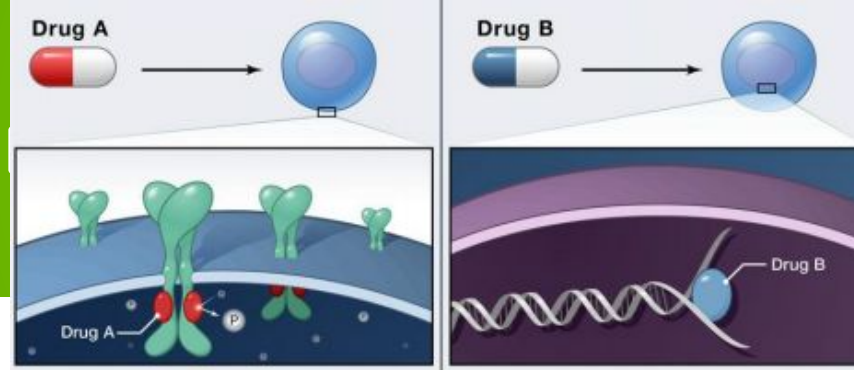


Hálózatbiológia alkalmazása:

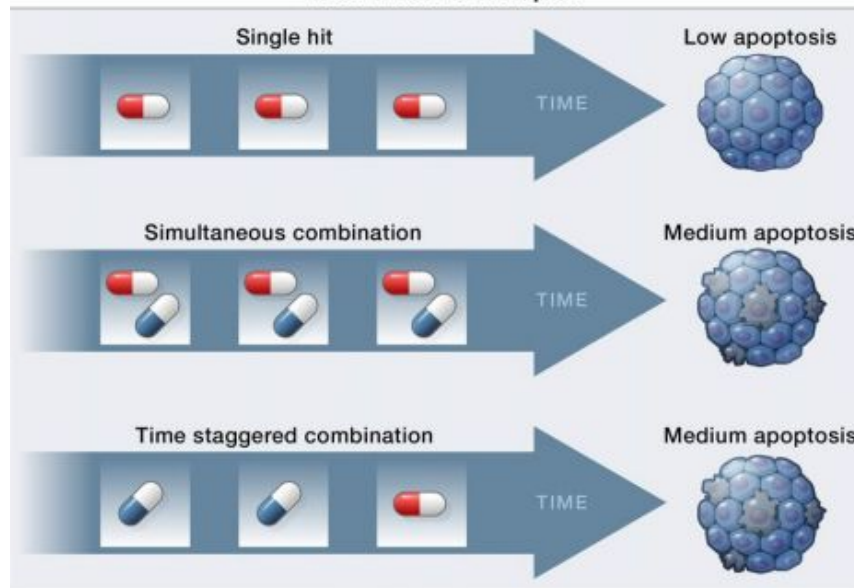
Áttörés a rendszerbiológia orvosi alkalmazásában, valamint bizonyos mellrák-típus gyógyításában

Michael J. Lee, Albert S. Ye, Alexandra K. Gardino, Anne Margriet Heijink, Peter K. Sorger, Gavin MacBeath, Michael B. Yaffe Sequential Application of Anticancer Drugs Enhances Cell Death by Rewiring Apoptotic Signaling Networks Cell, Volume 149, Issue 4, 11 May 2012, Pages 780-794

Preview: Janine T. Erler, Rune Linding Network Medicine Strikes a Blow against Breast Cancer Cell, Volume 149, Issue 4, 11 May 2012, Pages 731–733



Less Effective Therapies



Effective Therapy



Hálózatbiológia alkalmazása:

Liposzómális drug „kapszula”

Combination Erl-Dox Nanoparticles in vivo

