

**A K83314-es OTKA-NKFI pályázat
(„Sejthálózatok integritása és dinamikája”)
kutatói záró beszámolója, 2011-2015**

A kutatásokat végző LINK-csoportunk (www.linkgroup.hu) 2004 és 2010 között az OTKA akkori támogatásával a hálózatok csoportjai (moduljai) meghatározásának új elvi alapokon nyugvó módszercsaládját, a ModuLand módszercsaládot fejlesztette ki (www.modules.linkgroup.hu). A beszámolóban összefoglalt kutatások során elkészítettük e program a Bioinformatics újságban közölt Cytoscape plug-injét, amelynek 2015-ben felújított, a Cytoscape program 3.0-ás változatával kompatibilis változata (<http://apps.cytoscape.org/apps/moduland20>) a sok száz Cytoscape plug-inből fél év alatt 554 letöltéssel az első 75 leggyakrabban letöltött plug-in közé került (<http://apps.cytoscape.org/apps/all#downloads>).

E munka folytatásaként Kovács Istvánnal egy igen új, nagyon általános, hipergráfokon alapuló modularizálási eljárást alkottunk meg, amelyet jelenleg készítünk elő közlésre. A modulok egyik gyakran előforduló formájáról, a maggal rendelkező hálózatokról széles körben elismert összefoglaló cikket jelentettünk meg az Oxford University Press Journal of Complex Networks-ben.

Kovács Istvánnal az eddigiekben részletezett munka egyik "mellékvágányaként" egy teljesen új elvi alapokon nyugvó hálózatábrázolási és adat-tömörítési, valamint adat-sorbarendezési eljárást fedeztünk fel, amely a hálózatos nódusokat kiterjedt objektumokként kezeli, és a Kulback-Leibler divergencián alapuló minimális információs diszkrimináció mennyiségét használja fel a hálózatok ábrázolására, adat-tömörítésére, illetve egymáshoz kapcsolódó mennyiségek fontossági sorrendbe rendezésére. Az igen hatékonyan bizonyuló, nagy hálózatokat is torzításmentesen ábrázolni és egyszerűsíteni tudó módszert a Scientific Reports-ban közzeltük. A módszerre EntOpt néven Cytoscape plug-in programot készítettünk (<http://apps.cytoscape.org/apps/entoptlayout>), amely a sok száz Cytoscape plug-inből fél év alatt 513 letöltéssel az első 75 leggyakrabban letöltött plug-in közé került (<http://apps.cytoscape.org/apps/all#downloads>).

A ModuLand módszerrel a normál állapotú és stresszelt élesztő sejtek fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózatának összehasonlító elemzése során azt kaptuk, hogy a stresszes hálózat moduljai sokkal kisebb átfedést mutatnak egymással. Eredményeinket – mint a krízishez és az új helyzetekhez való alkalmazkodás egy rendszerszintű új modelljét – a szakmai közvélemény igen nagy érdeklődéssel fogadta. E munkánkat a PLoS Computational Biology lapban közzeltük, az általánosítással kapcsolatos gondolatmenetünket a Current Protein and Peptide Science lapban jelentettük meg. A ModuLand programot sikerrel alkalmaztuk a kromatin-hálók moduljainak a vizsgálatára is. E munkánkat a Cell Reports-ban közzeltük.

A hálózatok dinamikájának vizsgálatára Turbine néven igen gyors és hatékony hálózatos perturbáció elemző programot dolgoztunk ki (www.turbine.linkgroup.hu), amelynek alapprogramját egy új hálózatos centralitás fogalom (perturbation centrality) értelmezésével a Science Signaling és a PLoS ONE újságokban közzeltük. A Turbine programhoz egy gazdag programcsomagot fejlesztettünk ki, amely képes megtalálni egy akár egymillió nódusból álló bonyolult hálózat állapotterének attraktorait, valamint a hálózat azon nódusait, amelyek serkentésével vagy gátlásával a hálózat egy kiválasztott kezdeti (pl. beteg) állapotból egy kiválasztott végállapotba (pl. egészséges) átvihető. A programcsomagról magyar és PCT szabadalmi bejelentést nyújtottunk be, közlését most készítjük elő.

A Turbine program tetszőleges zajmintázatot is képes modellezni. Kiderült, hogy az élő sejtre jellemző 10-15%-is zajszint képes "kiemelni" egy rákos sejtet a rákos állapotra jellemző, osztódást leíró attraktorból, és bevinni az egészséges szervezetben fellépő apoptotikus attraktorba. Ezt a nagy figyelmet keltő eredményünket a Molecular Informatics-ban közöltük. A Turbine programot hálózatok tanulási mintázatának és öregedésének vizsgálatára is alkalmazzuk.

NetworGame néven hálózatos játékelméleti programot fejlesztettünk ki (www.linkgroup.hu/NetworGame.php), amely segítségével egy újfajta centralitás (game-centrality) fogalmát definiáltuk. A game-centrality segítségével megtalálhatóak azok a hálózatos nódusok (agent-ek), amelyek a legjobban a.) megbontják a kialakult együttműködést; b.) elősegítik az együttműködés kialakulását. Ezek az elemzések igen fontosak társadalmi hálózatok együttműködési viszonyainak a feltárásában, és az együttműködést meghatározó nódusok (személyek) azonosításában. Eredményeinket a Science Signaling és a PLoS ONE újságokban közöltük.

Mind a Turbine, mind a NetworGame programokat fehérjék szerkezetét leíró aminosav hálózatok elemzésére is sikerrel alkalmaztuk. A fehérjék hálózatos rendezetlenségét (entrópiáját), illetve a rendezetlen fehérjék hálózatos szerkezetét egy Curr. Prot. Pept. Res. cikkben foglaltuk össze. Ruth Nussinovval közösen a Structure újságban közölt, új elméletet írtunk le a fehérjék allosztérikus kapcsolódásának "barcode" jellegéről.

Megalkottuk az élesztő, a *C. elegans*, a *Drosophila* és az ember fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózatban résztvevő fehérjéinek új, a sejten belüli lokalizációkat is megadó, 791 ezer kölcsönhatást, és 195 ezer egyedi szubcelluláris lokalizációt tartalmazó adatbázisát (www.comppi.linkgroup.hu), amelyet a Nucleic Acid Research 2015-ös Database issue-jában közöltünk.

A hálózatok merevségi és rugalmassági viszonyai változásain alapuló, új, átfogó és igen nagyhatású elméletet dolgoztunk ki a hálózatok (és általában a komplex rendszerek) adaptációs mechanizmusára és adaptációs képességének (tanulóképességének), illetve információ-örző képességének (memória-tároló képességének) a jellemzésére. Az elmélet számszerű bizonyításának első lépéseként új hálózatos merevségi fogalmakat azonosítottunk, ezek tesztelése jelenleg is folyik. (E munkánkról egy kezdeti összefoglalást a Briefings in Funct. Genomics újságban közöltünk.) Az elmélet kiegészítéseként leírtuk, hogy a hálózatok merev, csomópontokból és az azokat összekötő befolyásos nódusokból álló magjai számos komplex rendszerben, így fehérje szerkezetekben, az emberi agy idegsejt hálózatában és a szociális hálózatokban ismert helyzetekre adott gyors válaszokra képesek. Ismeretlen helyzetekben e válaszok ellentmondásosak lesznek, és a fentieknél lassabban kialakuló, új válaszhoz a hálózat perifériás részének többségi nódusai is szükségesek. Ezen új elméleteinknek a részeit a Pharmacology & Therapeutics, a Seminars in Cancer Biology és Current Protein and Peptide Science c. folyóiratokban megjelent cikkeinkben közöltük, valamint jelenleg készítjük elő közzésre. A Pharmacology & Therapeutics cikkünk 2 Faculty 1000 háromcsillagos (legmagasabb) ajánlást kapott. A megjelenése óta eltelt 2 évben a Web-of-Science/Google Scholar adatai szerint eddig 122-szer, illetve 207-szer (!) idézték.

A tanulási folyamatok molekuláris háttereként a csoportban korábban dolgozó Steták Attilával (University of Basel) együttműködésben a RasGAP fehérjéknek *C. elegans* tanulási és emlékezési folyamataiban betöltött szerepét derítettük fel. E munkánk a Scientific Reports-

ban áll közlés alatt. A folyamatok bioinformatikai és gyógyszertervezési háttéréről egy összefoglaló közleményt jelentettünk meg a Mini-Reviews in Medicinal Chemistry folyóiratban. Az együttműködés keretében Fenyves Bánk diákkörös hallgatónk egy új felejtési mechanizmust leíró Cell cikk társszerzője lett.

Sóti Csabával együttműködésben tovább dolgoztunk a mesterségesen, valamint az öregedés során „elrontott” szerkezetű fehérjék sejtes hatásain. Az elrontott fehérjéknek a stresszválaszra való hatását a FASEB Journal-ban közölt cikkünkben írtuk le. Az oxidatív stressz és a hősokk mikro-RNS-ek által mediált összefüggéseit tártuk fel. Ezen eredményeinket az Antiox. Redox Signaling folyóiratban közöltük. Az NRF fehérje új hatását fedeztük fel az immunválaszban, amelyet a PLoS Pathogens újságban közöltünk. A Felfedeztük, hogy Hsp90 chaperon a PPAR-gamma dajkafehérjéjeként az adipocita differenciáció egyik szükséges faktora. Ezen, a Cell & Differentiation-ben leírt, eredményünk a Hsp90 inhibitorok új, az elhízásban és a diabetes-ben való alkalmazásai felé nyitotta meg az utat.

Korcsmáros Tamással együttműködésben az előző OTKA pályázat támogatásával korábban megalkotott Signalink jelátviteli hálózat nagymértékben kiterjesztett 2.0 változatát (<http://signalink.org/>) a BMC Systems Biology újságban közöltük. A cikk Highly Accessed cikk lett és több méltatás jelent meg róla a Science Signaling-ban és a PLoS Computational Biology-ban. A jelátviteli hálózat nagymértékben kiterjesztett 3.0 változatát jelenleg készítjük elő közlésre. Ezzel kapcsolatos bioinformatikai tanulási módszereket foglaltunk össze a Briefings in Bioinformatics újságban megjelent cikkünkben. Az NRF2-nek megalkottuk a fehérje-fehérje kölcsönhatási és regulációs hálózatát, amelyet a FEBS Lettersben tettünk közzé. Az NRF2 kiterjesztett hálózatát (NRF2-ome, <http://nrf2.elte.hu/>) az Oxidative Medicine and Cellular Longevity újságban közöltük. Az autofágiával kapcsolatos regulációs hálózatot (<http://arn.elte.hu/>) írtunk le az Autophagy c. lapban. Az autofágia molekuláris mechanizmusait elemeztük egy Seminars in Cancer Biology és egy Scientific Reports cikkünkben is.

A hálózatos kutatásaink számos elemükben kapcsolódnak a gyógyszerkutatáshoz. A gyógyszerfejlesztéssel kapcsolatos elképzeléseinket a Science Signaling lapban foglaltuk össze. A Ruth Nussinovval kialakult együttműködésben „allo-network drugs” néven a Trends in Pharmacology nagy nemzetközi figyelmet keltő címlapsztorijaként a hálózatos gyógyszerhatás új fajtáját írtuk le. Az eredmények alapján a Current Topics in Medicinal Chemistry és a Seminars in Cancer Biology újságok speciális számok szerkesztésére kértek fel bennünket. Az ABC fehérjék hálózatos szerkezetének a gyógyszerkutatásban való lehetséges alkalmazásait a Current Pharmacological Design újságban megjelent cikkünkben foglaltuk össze. A Pharmacology & Therapeutics-ban megjelent, említett cikkünkben a hálózatos módszereknek a gyógyszerkutatásban való alkalmazását leíró eddigi legátfogóbb összefoglalását jelentettük meg. Klein Györggyel együttműködésben a rákos sejteket körülvevő fibroblasztok interkatómját és jelátviteli hálózatát elemeztük. Az elemzés számos új, rákos sejtekhez kötődő fibroblaszt marker fehérjét tárt fel, amelyből az Intl. J. Cancer-ben és a J. Exp. Clin. Cancer Res-ben közölt cikkeink születtek. Csoportunk 17 éves tagja, Perez-Lopez Áron Ricardo a Scientific Reportsban közölte első elsőszerzős nemzetközi közleményét gyógyszertergetek mellékhatásainak hálózatos előrejelzéséről.

A Turbine módszer hasznosítására a kutatócsoport két tagja, Szalay Kristóf és Csermely Péter Turbine Kft. néven start-up céget hozott létre. A hálózatos módszerek gyógyszerkutatási alkalmazására Barabási László csoportjával közösen a hálózatkutató csoport 4 tagja, Csermely

Péter, Korcsmáros Tamás, Szalay-Bekő Máté és Szalay Kristóf egy bostoni részvénytársaságot, a DZZOM Co-t (www.dzzom.com) alapította meg. A DZZOM cég megkapta első megrendeléseit és kockázati tőke befektetés előtt áll. A kutatócsoport vezetőjét, Csermely Pétert a CX-Ray szociális hálózatelemző cég (www.cx-ray.com) tanácsadó testülete tagjának hívták meg. A CX-Ray cégek belső együttműködését és munkatársi kapcsolatrendszerét elemző első két terméke számos megrendelést kapott már. A cég jelenleg áll kockázati tőke befektetés előtt.

A kutatások eredményeiből a csoport tagjai közül Csermely Pétert 2013-ban az MTA levelező tagjának választották, Söti Csaba 2014-ben az MTA doktora lett, Korcsmáros Tamás, Szalay-Bekő Máté, Türei Dénes és Szalay Kristóf PhD fokozatot szereztek. Gyurkó Dávid doktori szigorlatot tett, értekezése elkészült, védésére ősszel kerül sor. A kutatásokból 2011-15 között 10 szakdolgozat született. A kutatásokat végző TDK-s hallgatók Semmelweis TDK I. és III. díjat, két OTDK I. díjat és 3 különdíjat, valamint két középiskolás országos kutatási első díjat nyertek. Eredményeinket előadás formájában és 19 nemzetközi tudományos konferencián (köztük kétszer a Harvard Egyetemen, Oxfordban és Cambridge-ben), 44 poszteren, valamint 29 külföldi szemináriumon (köztük két-két alkalommal Cambridge-ben és a Karolinska Intézetben, valamint a Harvardon, kétszer a Novartisban és a Sanofiban) mutattuk be. A hálózatokkal kapcsolatosan az OTKA kutatás alatt 53 magyar nyelvű tudományos és tudományos ismeretterjesztő előadást tartottunk.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy az OTKA által támogatott kutatásaink eredeti terveit jelentősen túlteljesítettük. A kutatások összesen 22 eleméből két, eredetileg tervezett elem, a kétszintű hierarchikus rendszer evolúciója és az öregedéssel kapcsolatos vizsgálatok a kutatások közben megnyíló új utak miatt a tervezettnél lassabb ütemben valósultak meg. Ezen kutatásokat jelenleg folytatjuk, közlésre véglegesítjük. Ugyanakkor a kutatásaink négy olyan, a kutatások elkezdésekor még körvonalaiiban sem ismert elképzelésekhez vezettek, mint 1.) a komplex rendszerek adaptációjának általános mechanizmusa (és ennek kinetikai jellemzése); 2.) a relatív entrópia minimalizáción alapuló hálózatábrázoló, adat-tömörítő, illetve adat-rendező eljárás felfedezése, 3.) a Turbine programcsomagnak a komplex rendszerek attraktor-szerkezetét feltáró, multi-target gyógyszerfejlesztésre való alkalmazása; 4.) az allonetwork gyógyszerek fogalmának meghatározása, és kezdeti vizsgálata. Ezek az elképzelések az eredeti célokban is megfogalmazott "befolyásos nódusoknak" sokkal precízebb, "high-tech" vizsgálatát teszik lehetővé, mint a kutatásunk kiindulásakor tervezett, "low-tech" eljárások. A befolyásos nódusok vizsgálata a közben elfogadott, 2015-2019-es K115378-as NKFI-pályázatunk (A biológiai hálózatok adaptációja és befolyásos nódusai) központi célja lett.

A jelen beszámolóban összefoglalt kutatásokból született 40 közleményt közlő folyóiratok összesített impaktja 180, amely az előző, kiválóra minősített OTKA pályázatunk során megvalósult érték több, mint kétszerese. Ennél sokkal fontosabb azonban az, hogy kutatások során 8 olyan eredményt értünk el (ModuLand modul analizáló, Turbine hálózatdinamikai és EntOpt hálózatábrázoló programcsomagok létrehozása; Signalink és ComPPI adatbázisok megalkotása; hálózatos modulok stressz-adaptáció hatására történő szétválásának felfedezése; hálózatos adaptáció általános mechanizmusának leírása, valamint az allonetwork gyógyszerek fogalmának definiálása), amelyek nagy nemzetközi figyelmet keltettek. A kutatások eredményeit közlő cikkek eddig 501 Web-of-Science (illetve 810 Google Scholar) hivatkozást kaptunk. A Turbine programcsomag magyar és nemzetközi szabadalmi védettsége, illetve gazdasági hasznosítása az erre alakult Turbine Kft. és a részben ezt az IP-t tartalmazó DZZOM Co. révén folyamatban van.