

Proteomické data

2D gelová elektroforéza

Analýza proteomu

- Od hmotnostních spekter – přeš komplexní struktury proteinových shluků - po analýzu funkce proteinů
 - Analýza **struktury**: Proteínová sekvenace – Edmanova degradace, hmotnostní spektrometrie
 - Analýza **exprese**: **Hmotnostní spektrometrie**, proteínové mikročipy, **2D gelová elektroforéza**..
 - Analýza **funkce**: Modelování makromolekulárních systémů – odvozování vlastností z atomových interakcí

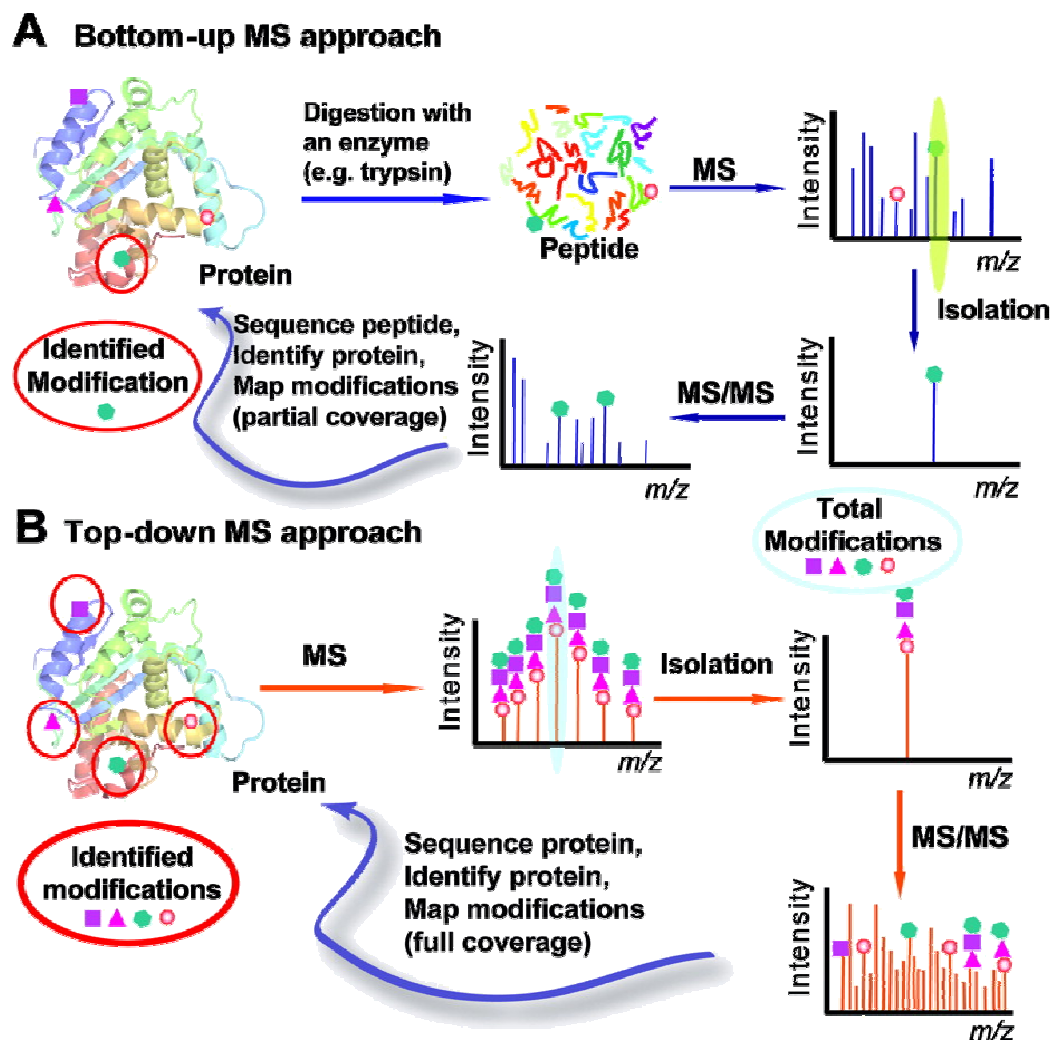
Dva hlavní přístupy

Bottom-up proteomika

- protein → peptidy
- analýza peptidů pomocí MS
- fragmentace peptidů v MS

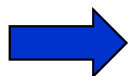
Top-down proteomika

- analýza intaktních proteinů v MS
- fragmentace proteinu v MS



Experiment

Biologický materiál



Izolace, štěpení

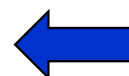


LC MS/MS systém



Identifikace proteinů

Identification and relative comparison summary											
Prot Group	Accession	Description	Identification summary	1				Identification threshold (pept			
			MW [kDa]	calc. pI	Sum(Coverage)	Line 1	Line 2	Line 3	Line 4		
6	1	Q09666	Neuroblast differentiation-ass	629	6.2	82%	Y	Y	Y	Y	
417	2	Q15149-4	Isoform 4 of Plectin OS=Hom	516	5.8	58%	Y	Y	Y	Y	
418	3	Q15149-3	Isoform 3 of Plectin OS=Hom	518	5.7	58%	Y	Y	Y	Y	
885	4	P09211;P0921	Glutathione S-transferase P	23	5.6	63%	Y	Y	Y	Y	
886	5	O75369-2	Isoform 2 of Filamin-B OS=Hc	276	5.8	47%	Y	Y	Y	Y	
951	5	O75369	Filamin-B OS=Homo sapiens	278	5.7	46%	Y	Y	Y	Y	
952	5	O75369-9	Isoform 9 of Filamin-B OS=Hc	277	5.7	46%	Y	Y	Y	Y	
Sequence	# PSMs	# Proteins	# Protein Groups								
· 975	8	6	1								
· 976	2	3	1								
· 977	4	3	1								
· 978	2	3	1								
· 979	2	9	2								
· 980	2	3	1								
· 981	2	3	1								
· 982	2	3	1								

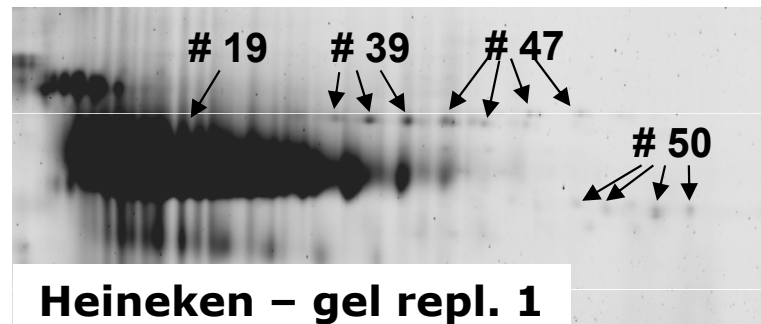


Zpracování dat

Statistická a bioinformatická analýza

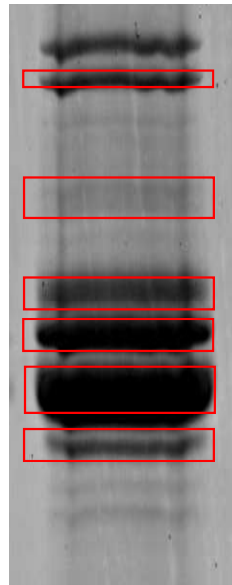
Typy experimentů I

- Podle komplexity vzorku (počtu očekávaných proteinů):
 - Identifikace proteinu(ů) z gelu 2D-SDS-PAGE (jednotky proteinů, desítky vzorků)



Typy experimentů I

- Podle komplexity vzorku (počtu očekávaných proteinů):
 - Identifikace proteinu(ů) z gelu 2D-SDS-PAGE (jednotky proteinů, desítky vzorků)
 - Identifikace proteinu v proužkách z gelu 1D-SDS-PAGE (jednotky až stovky proteinů, jednotky vzorků)



Typy experimentů I

- Podle komplexity vzorku (počtu očekávaných proteinů):
 - Identifikace proteinu(ů) z gelu 2D-SDS-PAGE (jednotky proteinů, desítky vzorků)
 - Identifikace proteinu v proužkách z gelu 1D-SDS-PAGE (jednotky až stovky proteinů, jednotky vzorků)
 - Relativní porovnání dvou bun. linií – wild-type vs. mutant (tisíce proteinů, jednotky vzorků)

Typy experimentů II

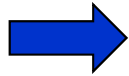
- Podle použitého značení:
 - *label-free* – bez značení
 - SILAC – stabilní izotopové značení aminokyselin v buněčných kulturách (2-3 vzorky)
 - iTRAQ – izobarické značky pro relativní a absolutní kvantifikaci (4 a nebo 8 vzorků)

Získané informace

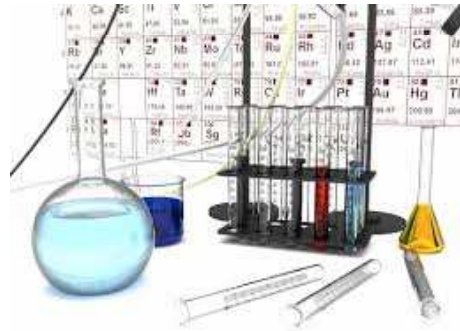
- Kvalitativní – primární cíl
 - Jaké proteiny se ve vzorku vyskytují?
- Kvantitativně
 - Hodnocení koncentrace proteinů (PSMs, AUC)
- Modifikace
 - Výskyt posttranslačních modifikací (fosforylace)

Experiment

Biologický materiál



Izolace, štěpení

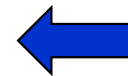


LC MS/MS systém



Identifikace proteinů

Identification and relative comparison summary															
Prot Group	Accession	Description	Identification summary	1				Identification threshold (pept							
			MW [kDa]	calc. pI	Sum(Coverage)	Presence of the protein group in individ									
						Line 1	Line 2	Line 3	Line 4						
6	1	Q09666	Neuroblast differentiation-ass	629	6.2	82%	Y	Y	Y	Y					
417	2	Q15149-4	Isoform 4 of Plectin OS=Hom	516	5.8	58%	Y	Y	Y	Y					
418	3	Q15149-3	Isoform 3 of Plectin OS=Hom	518	5.7	58%	Y	Y	Y	Y					
885	4	P09211;P0921	Glutathione S-transferase P	23	5.6	63%	Y	Y	Y	Y					
886	5	O75369-2	Isoform 2 of Filamin-B OS=Hc	276	5.8	47%	Y	Y	Y	Y					
951	5	O75369	Filamin-B OS=Homo sapiens	278	5.7	46%	Y	Y	Y	Y					
952	5	O75369-9	Isoform 9 of Filamin-B OS=Hc	277	5.7	46%	Y	Y	Y	Y					
974			Sequence	# PSMs	# Proteins	# Protein Groups									
975			AAGSGELGVTMK	8	6	1									
976			AAGSGELGVTMKGPK	2	3	1									
977			ADIEMPFDPSK	4	3	1									
978			AEVSIQNNKDGTYAVTYVPLTA	2	3	1									
979			AGGPGLER	2	9	2									
980			AGLAPLEVR	2	3	1									
981			AGDPTLVTEDEK	2	3	1									
982			AGDPTLVTEDEK	2	3	1									



Zpracování dat

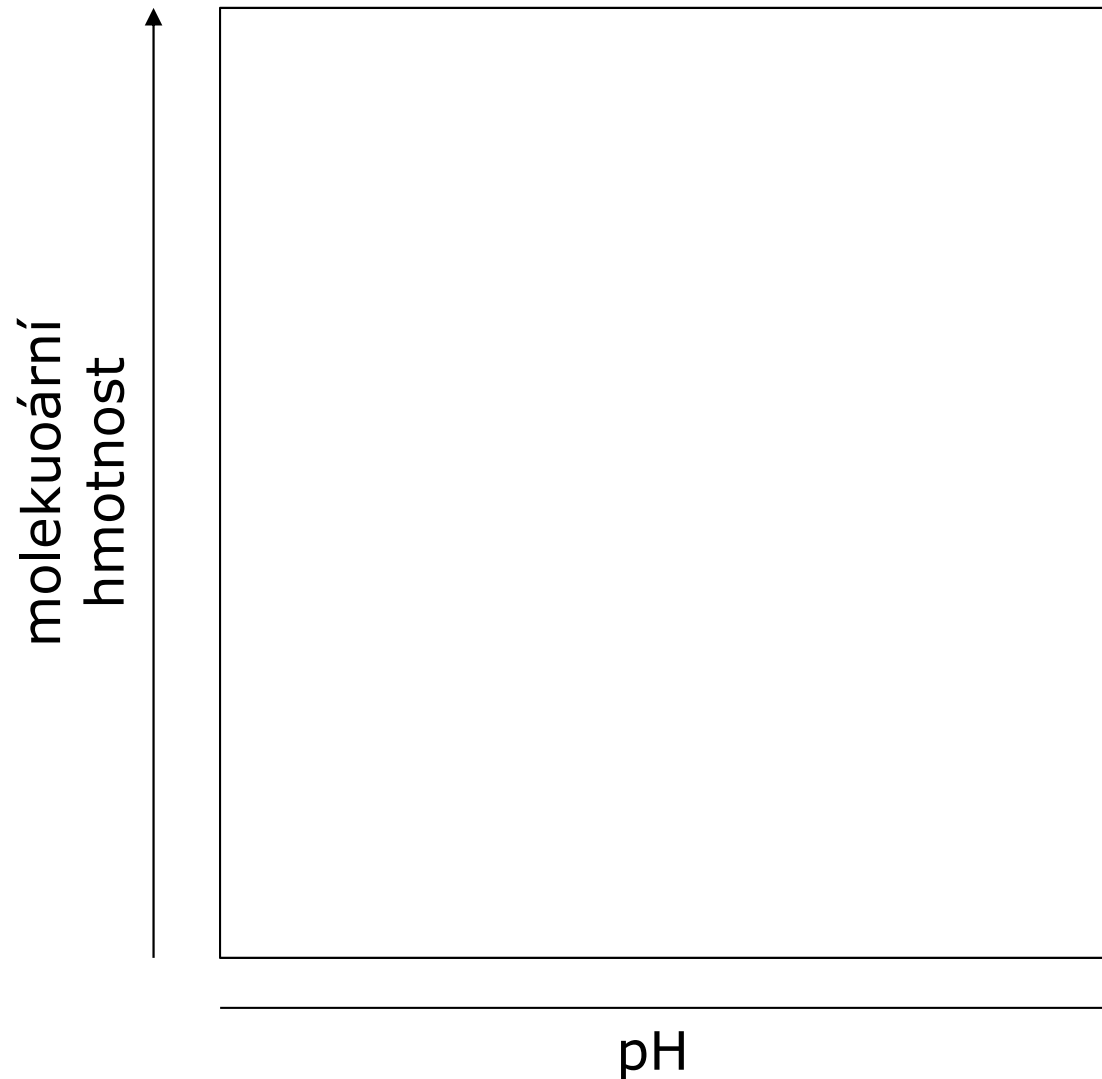


Statistická a bioinformatická analýza

2D gelová elektroforéza

Princip

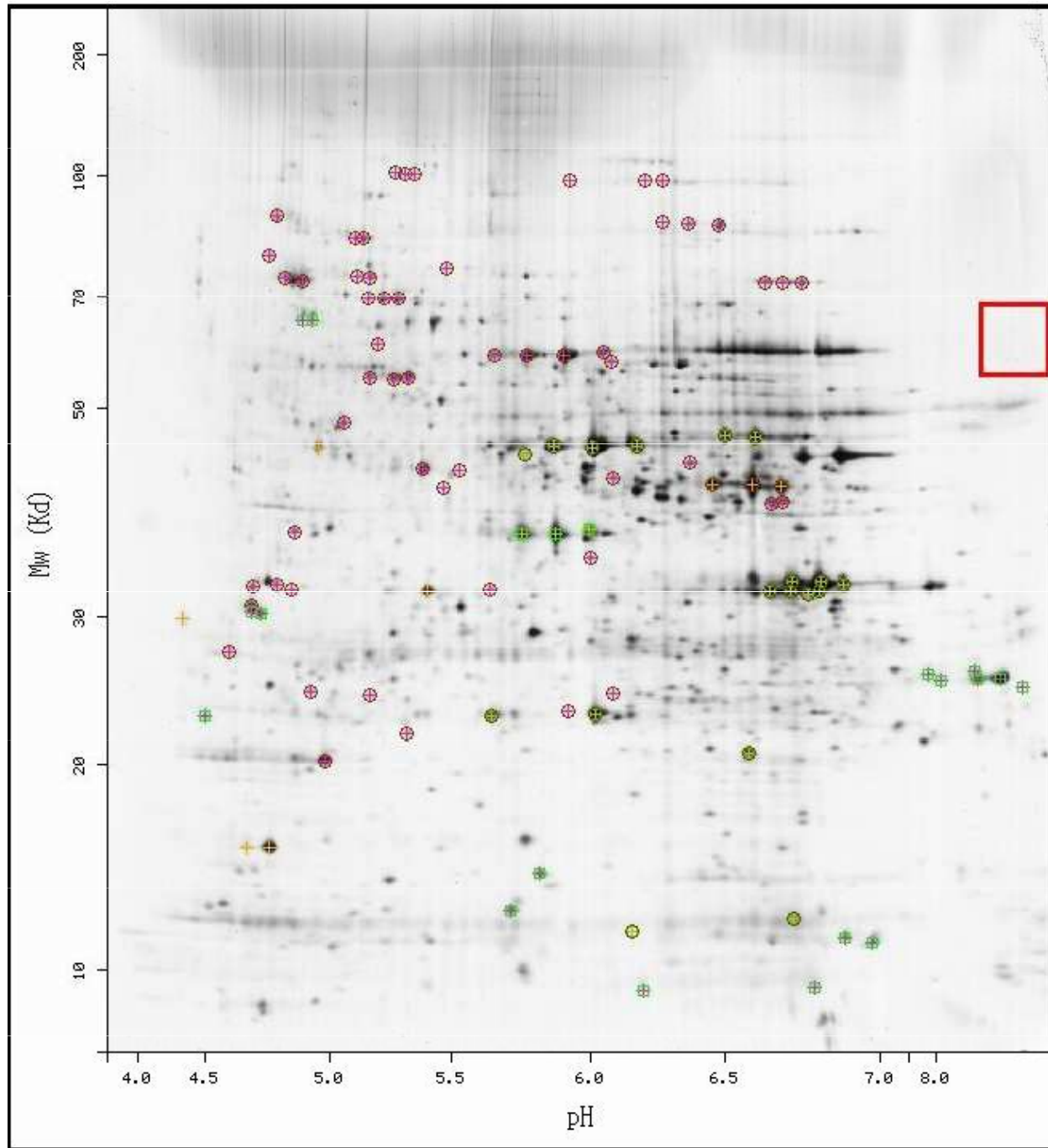
- Proteiny jsou separované na gelu ve dvou dimenzích – na základě hmotnosti a na základě pH



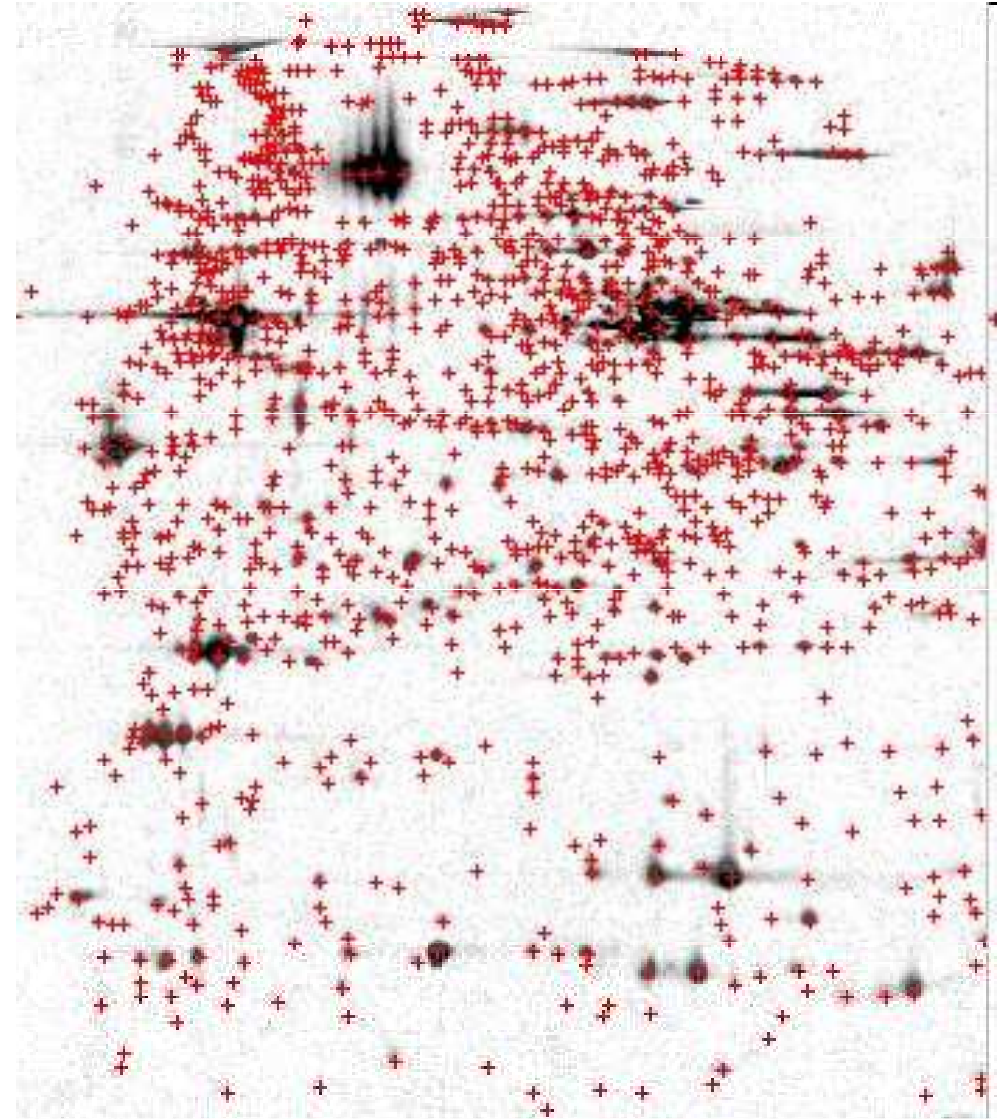
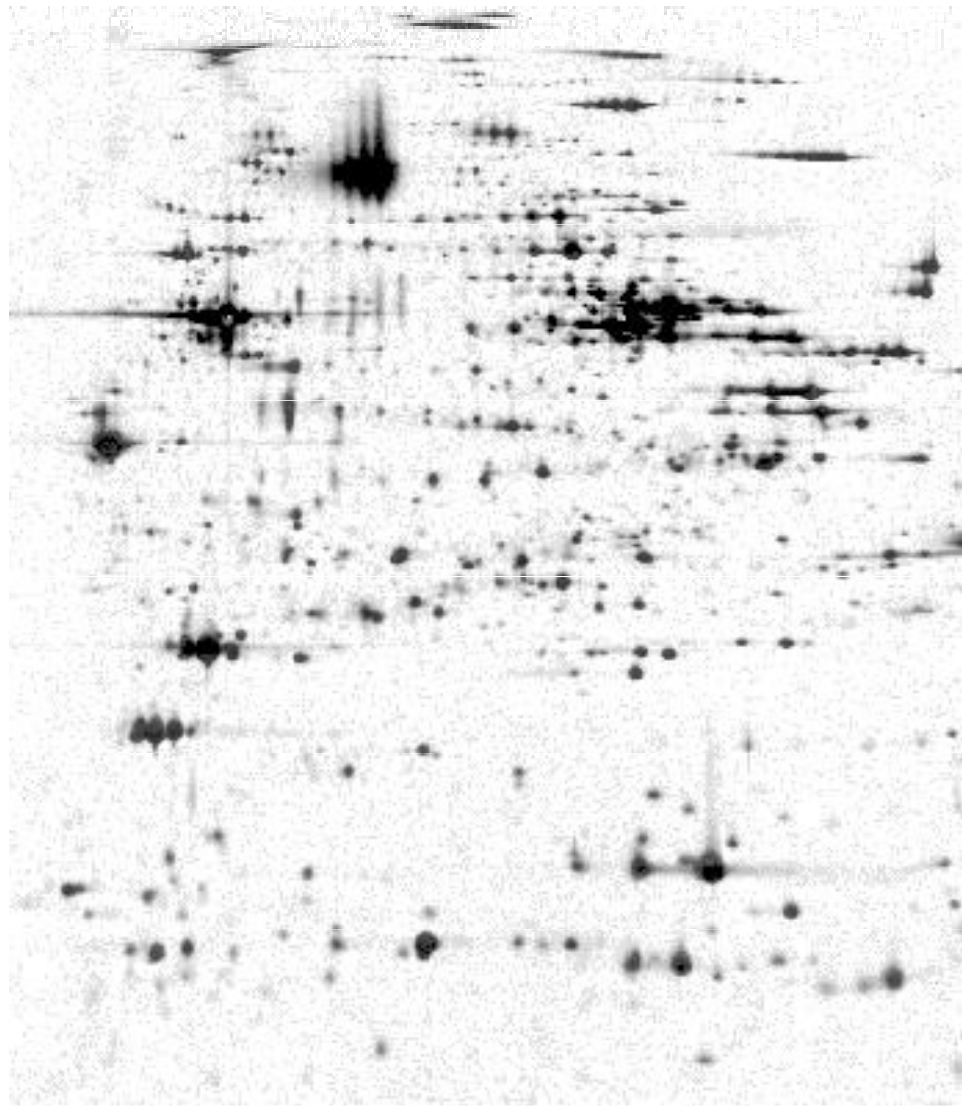
Postup experimentu

1. **Proteiny jsou extrahované ze vzorku**
2. **Vzorky se umístí na gel** a proteiny migrují až dosáhnou izoelektronický bod (kdy je jejich náboj nula) - pI
 - Důležitý je **výběr gelu**, který musí být dostatečně pórovitý, aby umožnil proteinům pohyb (agaróza nebo polyakrylamidový gel)
3. Takto se **proteiny oddělí** vzhledem ke svému izoelektrickému bodu a k hmotnosti
4. Následně proteiny necháme se pohybovat na základě **hmotnosti** ve druhé dimenzi
5. Nakonec je gel **zabarvený**, aby se detekovaly jednotlivé oblasti výskytu proteinů (spoty)
6. Zabarvený gel je pak digitalizován do obrazu (podobně jako mikročipy)
7. Intenzita pixelů koreluje s **množstvím proteinu**, používá se speciální SW pro analýzu spotů

Jak vypadá obrázek



2-D gelová elektroforéza



Jak vypadají data

← Vzorky →

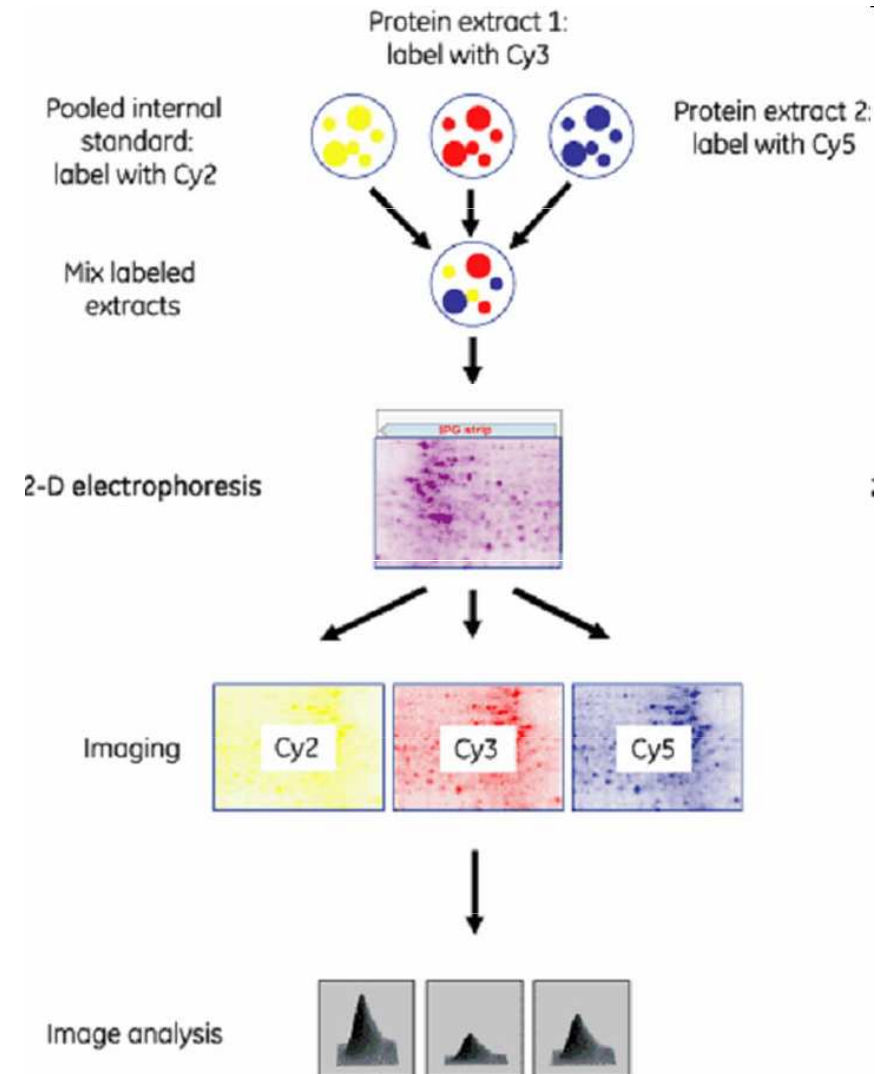
SSP	wt_A	wt_A	wt_A	wt_S
101	2338.84	2078.42	2625.1	2550.54
102	118.92	68.65	125.8	109.66
103	221.89	55.32	NA	NA
104	215.3	189.02	220.28	NA
105	106.56	NA	238.36	NA
202	328.32	226.46	522.52	1281.75
203	259.8	228.13	340.37	NA
205	1439.72	1213.28	1187.43	1353.14
206	1094.33	754.83	1291.89	1240.82
208	97.78	41.51	164.49	33.25
209	NA	NA	NA	22.42
301	212.63	92.12	307.19	317.67
302	1491.34	1703.79	1830.19	1976.66
304	71.25	72.72	127.87	199.31

Peptidy

DIGE

- Speciální typ 2-DE je 2-D Fluorescence Difference Gel Electrophoresis (DIGE).

- Proteiny se nejprve zabarví fluorescenčním barvivem
- Každé barvivo se skenuje pod jiným filtrem
- Takto se může porovnávat více vzorků

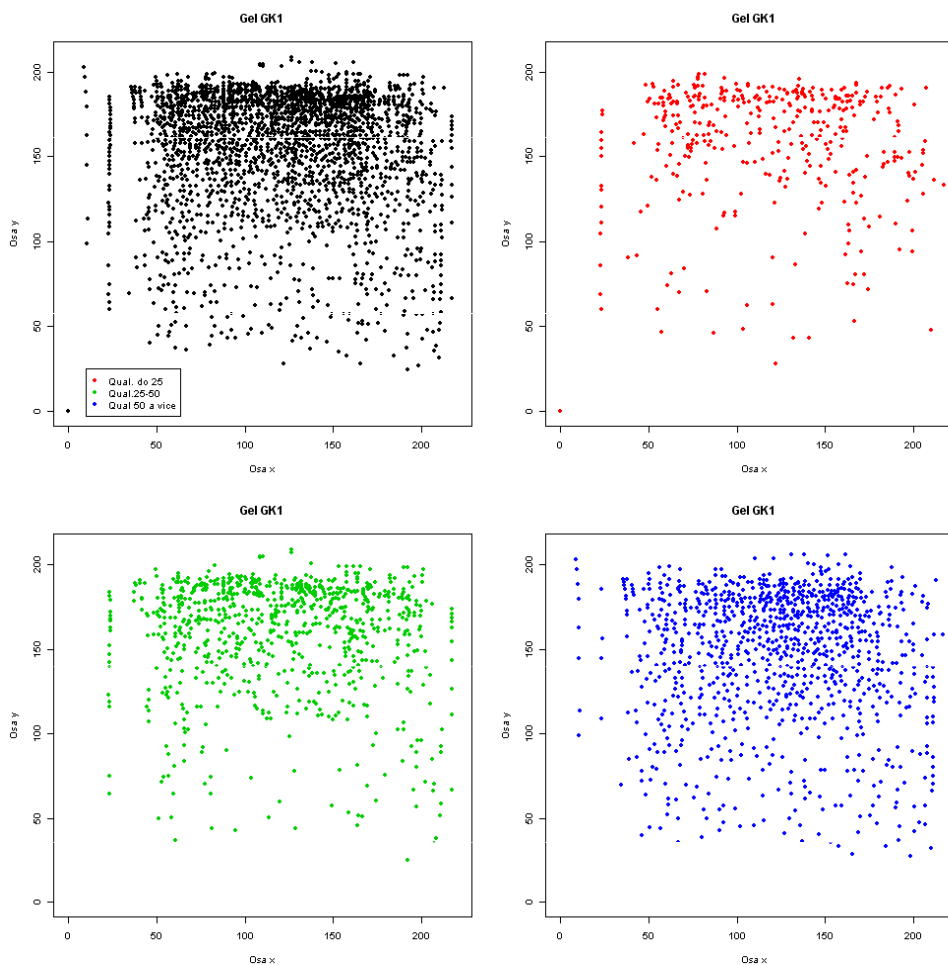


Nutnost úpravy dat

- Tak jako mikročipový experiment i 2-DE je vystavená experimentálním chybám, které jsou zdrojem šumu
- Je nutná úprava a normalizace dat
- Neexistuje tu ale taková automatická kvantifikace spotů tak jako u mikročipů, protože spoty nejsou fixně dané předem!
 - existující automatická kvantifikace vyžaduje manuální úpravu
 - proměnné kvality spotů
- Data z 2DE nejsou normálně rozložená – je nutná transformace (log)

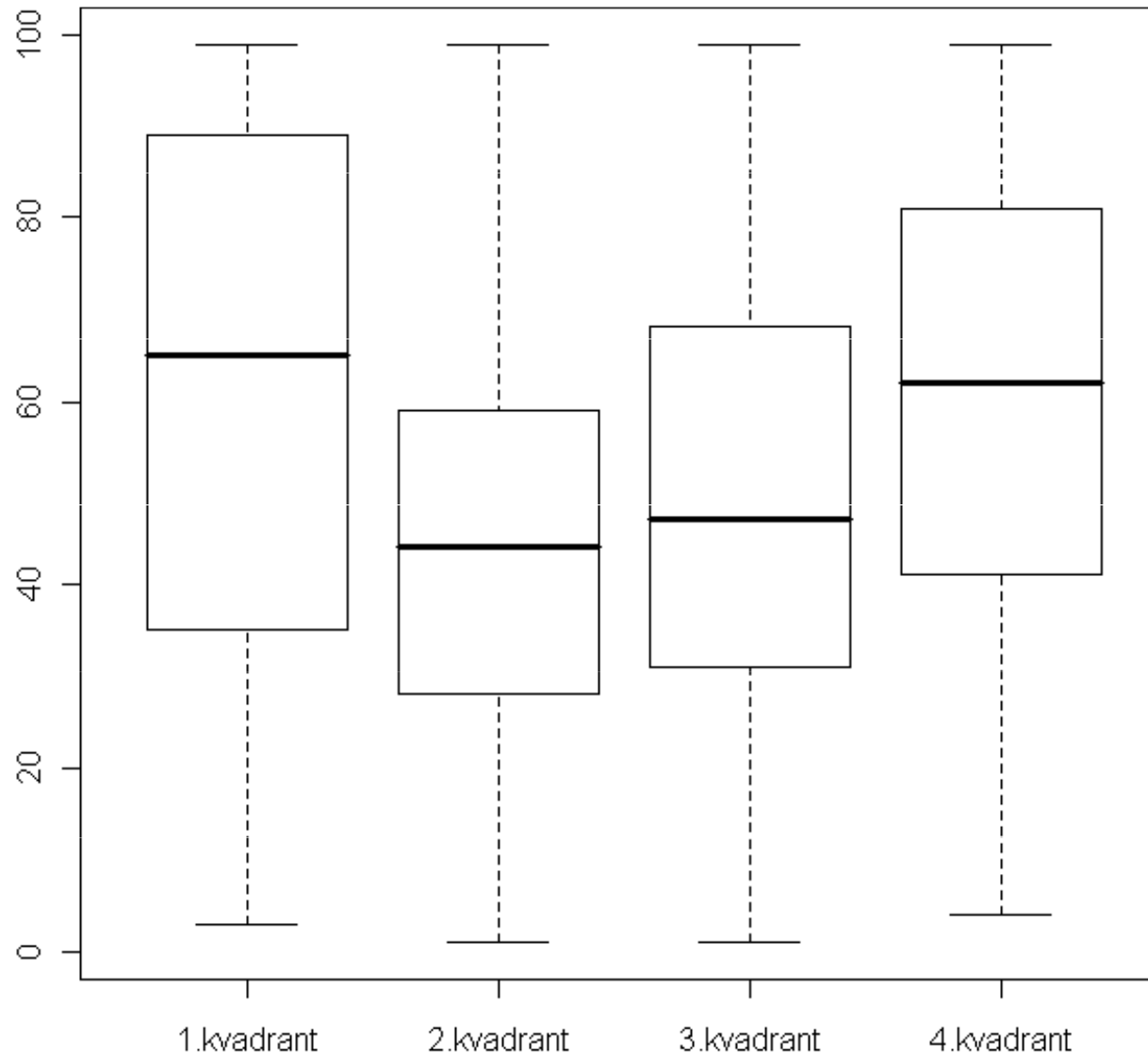
Normalizace a úpravy dat

- Důležitým krokem v úpravě dat je **kalibrace všech expresních hodnot a gelů navzájem**
- V tomto procesu se odstraňuje prostorový efekt, i efekt barviva
- Na každém gelu jsou kontrolní proteiny, podle kterých se každý gel kalibruje (posouvá)



Kontrola kvality spotů

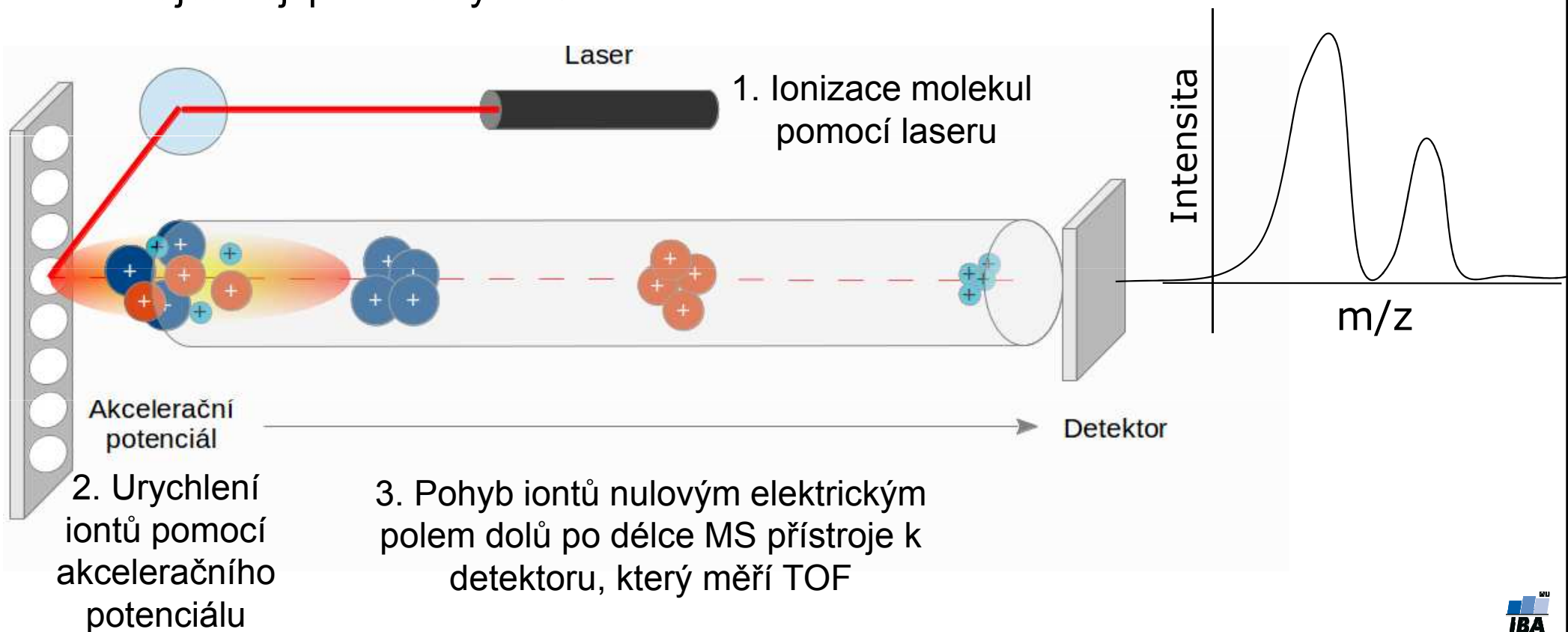
Spot quality (N1=53, N2=598, N3=1217, N4=105)



Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie

- Technika používaná pro charakterizaci proteomu v biologickém vzorku (plasma, sérum, . . .)
- Založená na rozdílné hmotnosti peptidů a proteinů
- Hmotnostní spektrometr je separuje na základě poměru **hmotnosti k náboji** (anglicky *mass to charge ratio* – m/z , jednotka Dalton), který je specifický pro každou molekulu.
- Nejčastěji používaný - TOF



Hmotnostní spektrometr TOF - princip

- TOF (time-of-flight) závisí na hmotnosti proteinů nebo přesněji na jejich m/z a představuje sumu těchto časů:

$$TOF = t_a + t_D + t_d$$

t_a je čas letu v akcelerační oblasti,

t_D je čas přeletu v oblasti s nulovým elektrickým polem

t_d je čas detekce

- TOF lze aproximovat pouze pomocí t_D
mass-to-charge ratio je vypočteno podle:

$$m / z = B (t_D - A)^2$$

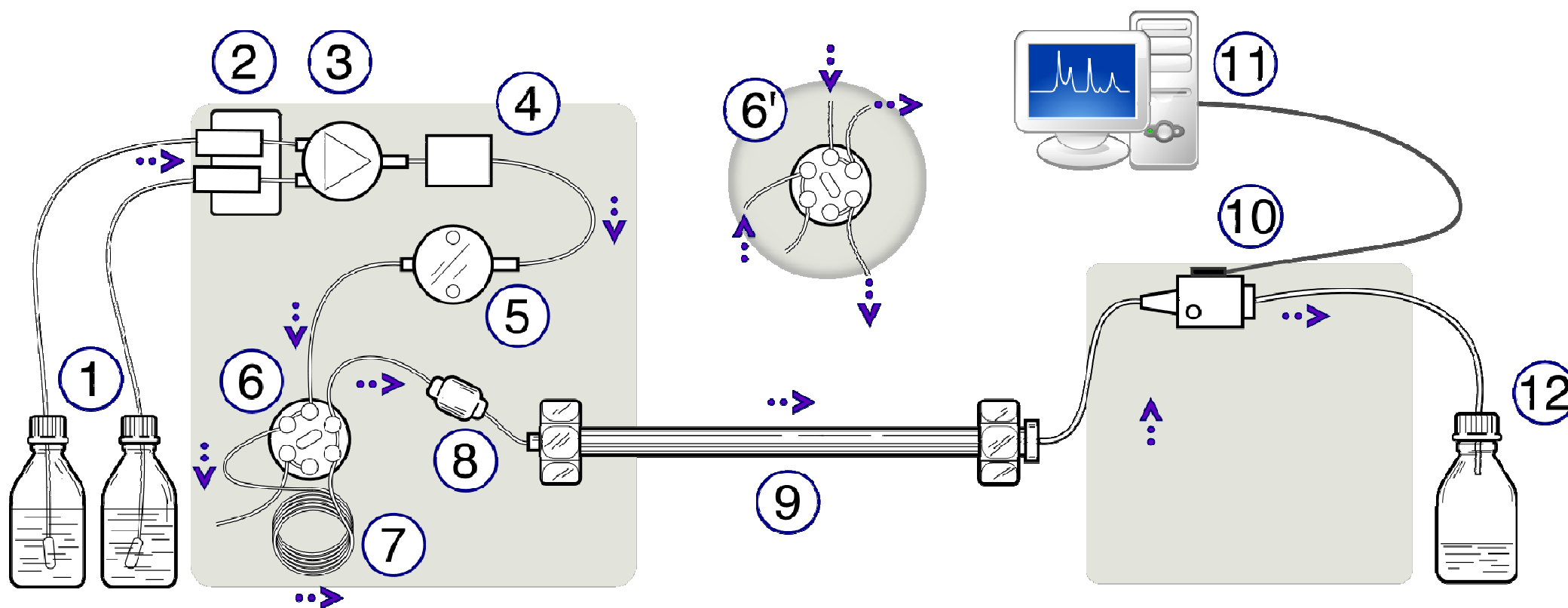
- A a B jsou stanoveny pomocí kalibrace

Hmotnostní spektrometr TOF - druhy

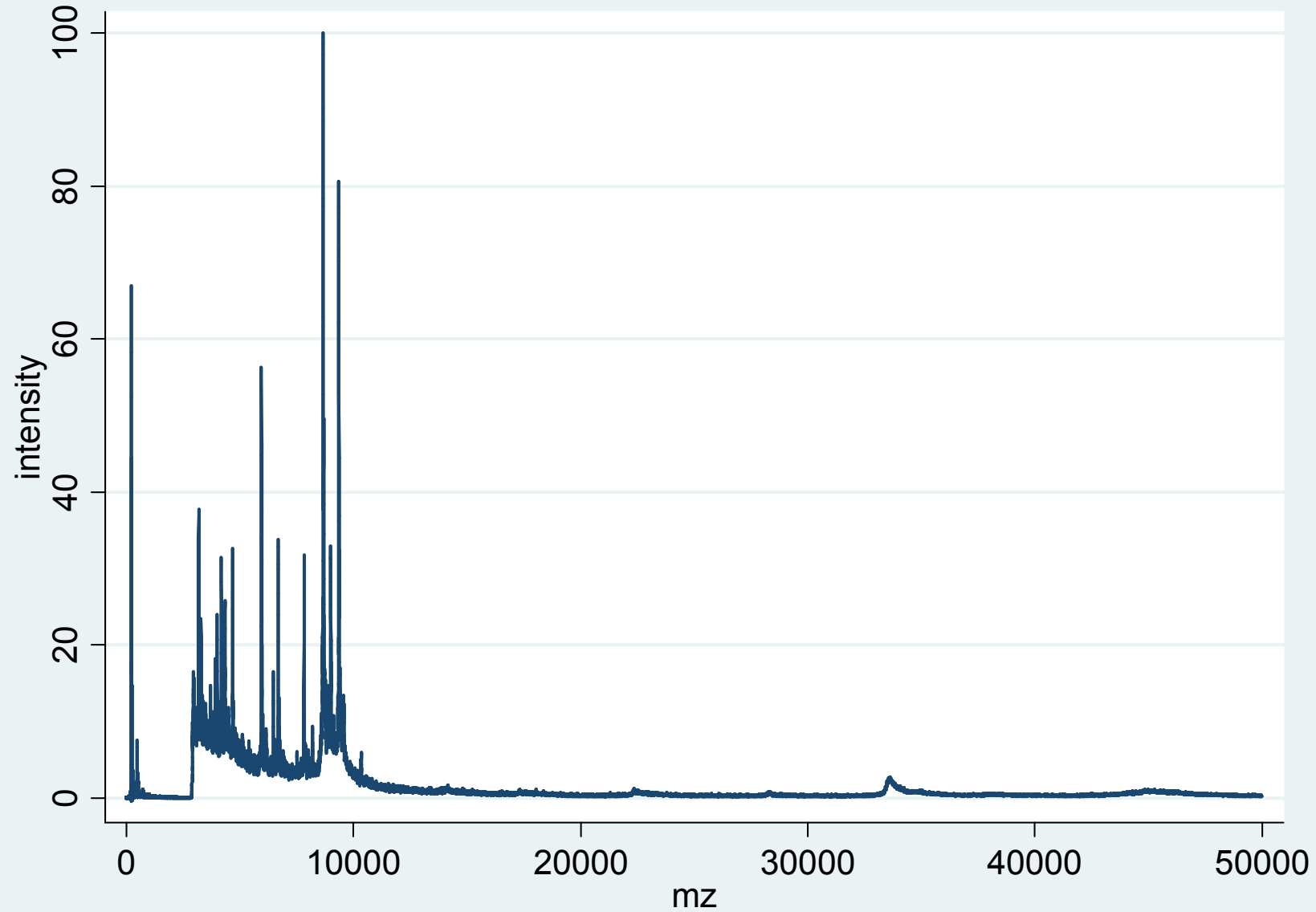
- **Nejpoužívanější:**
 - Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionisation (MALDI)-TOF
 - Surface-Enhanced Laser Desorption-Ionisation (SELDI)-TOF
- **Způsob uchycení proteinů a ionizace**
 - Proteiny vzorku jsou před samotnou analýzou upevněny na podklad, který se v závislosti od typu hmotnostní spektrometrie liší.
 - Jeho úkolem je také absorbovat energii v ionizátoru a předat ji vzorku a tak usnadnit jeho ionizaci.
 - u MALDI se jedná o energii-absorbující matrici (matrix), co je nejčastěji organická kyselina s aromatickým jádrem
 - SELDI využívá proteinový čip (s několika - obvykle osmi - spoty), opatřen speciálním chromatografickým povrchem, takže se na povrch váží různé proteiny v závislosti na svých chemických vlastnostech a vlastnostech čipu. A až potom dojde k nanesení matrice, která se vzorkem vytvoří krystaly.

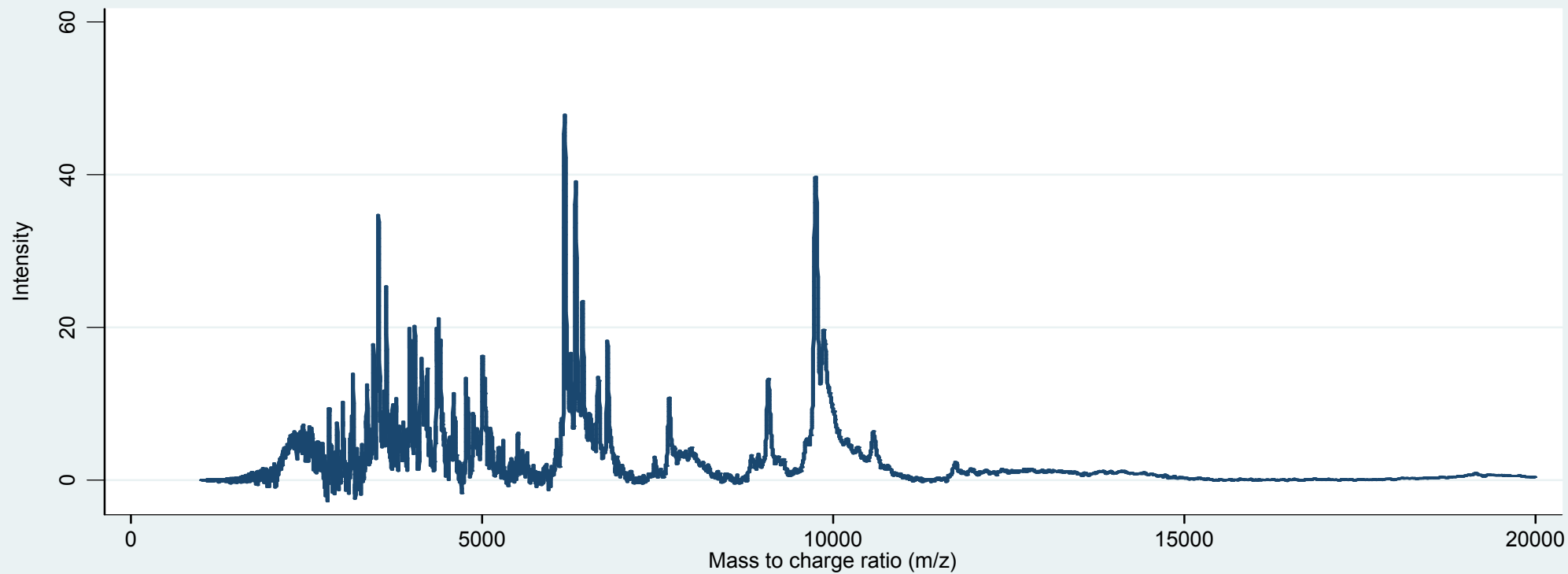
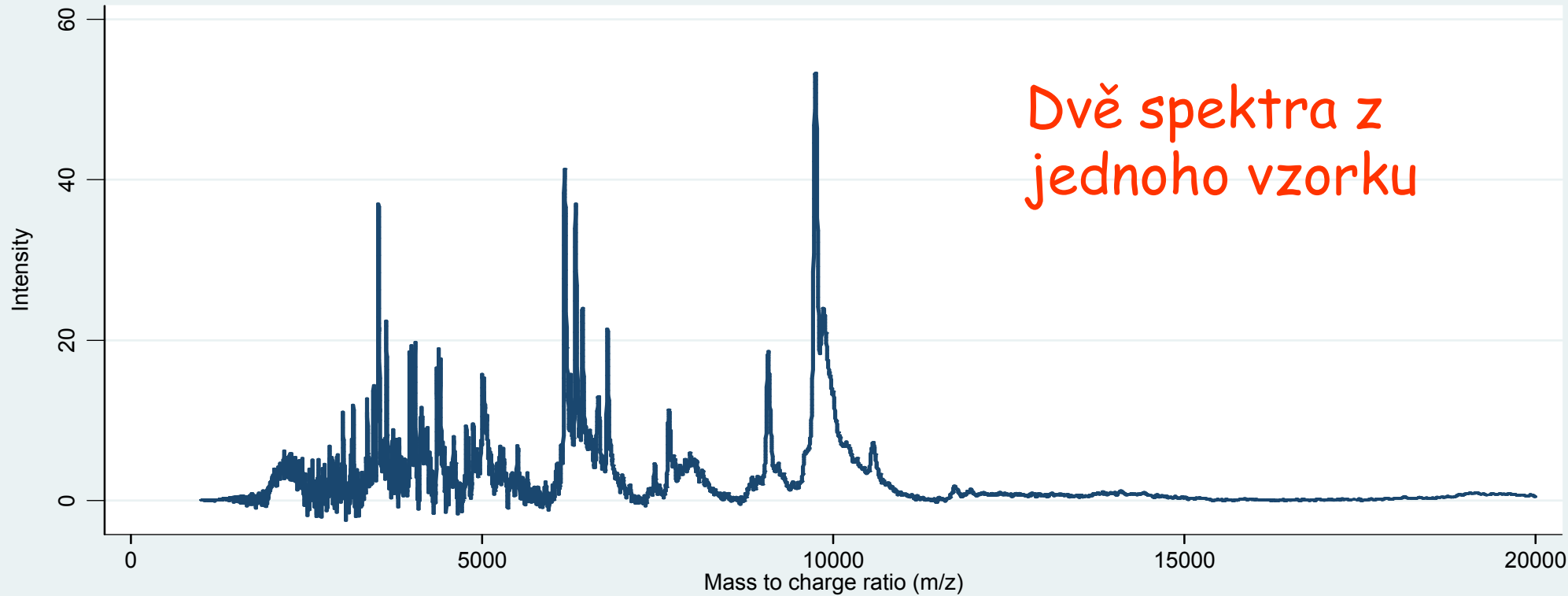
Kapalinová chromatografie – MS/MS

- Další druh hmotnostní spektrometrie
- Vzorok nejsou na matrici jako u MALDI nebo SELDI, ale v kapalině

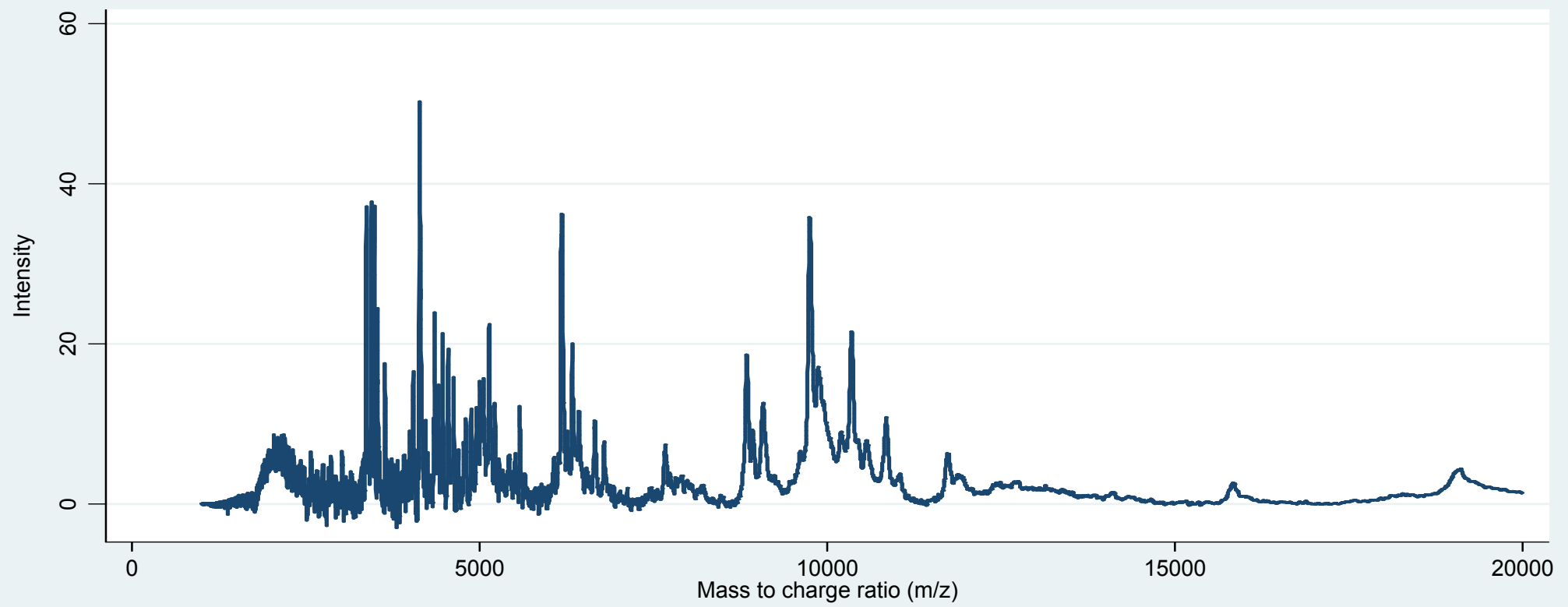
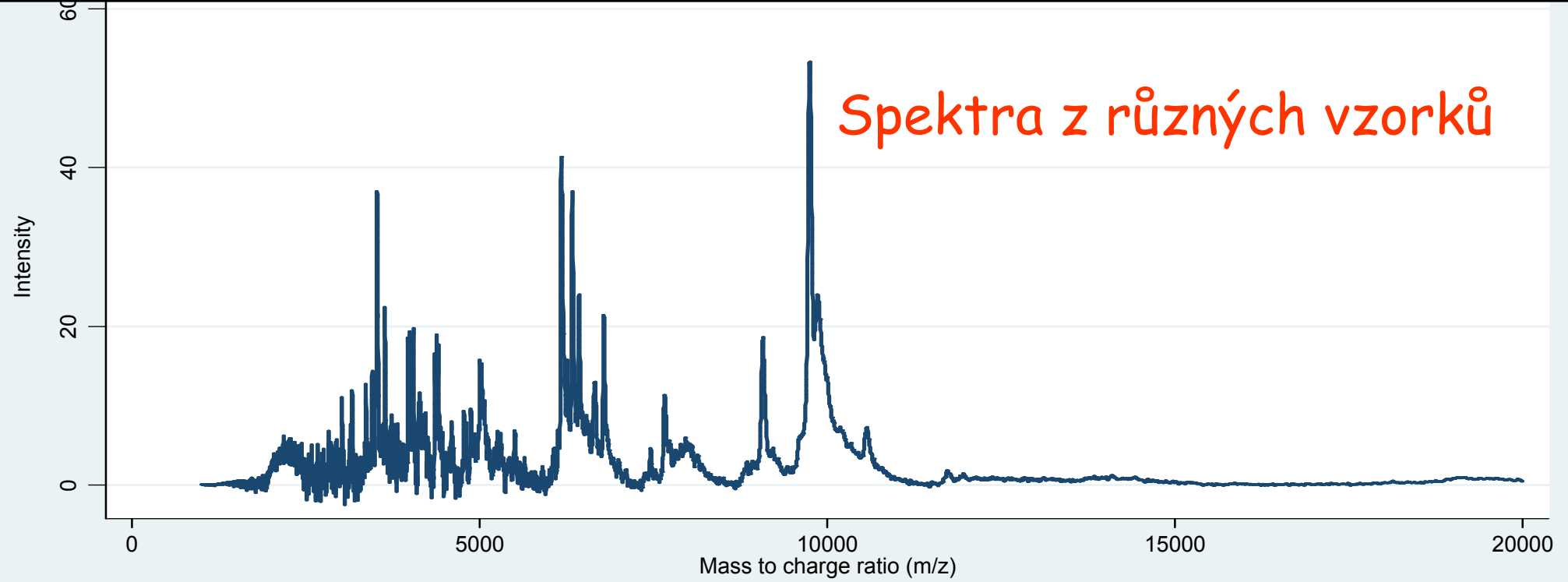


Jak vypadá TOF MS *profil*



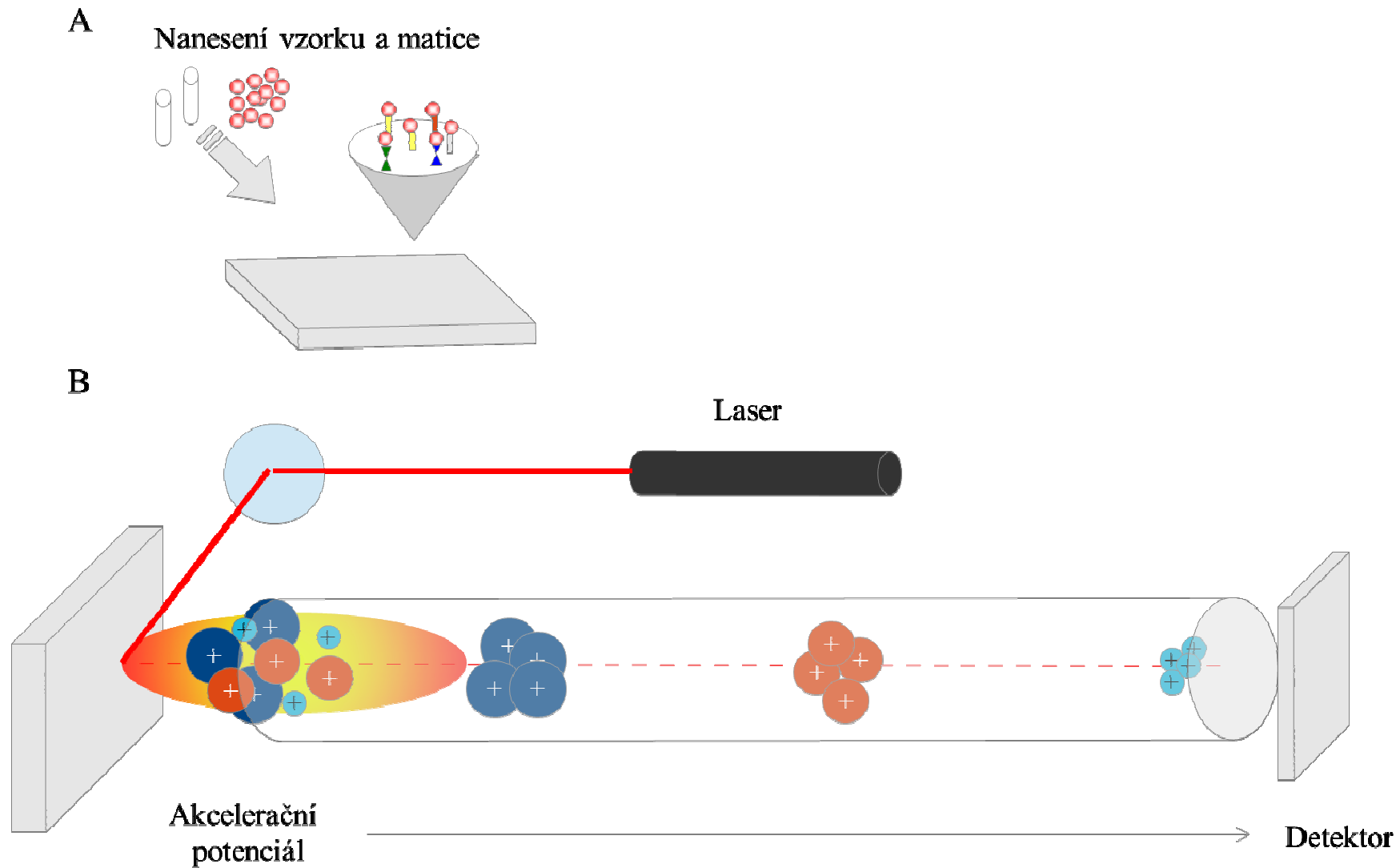


Spektra z různých vzorků



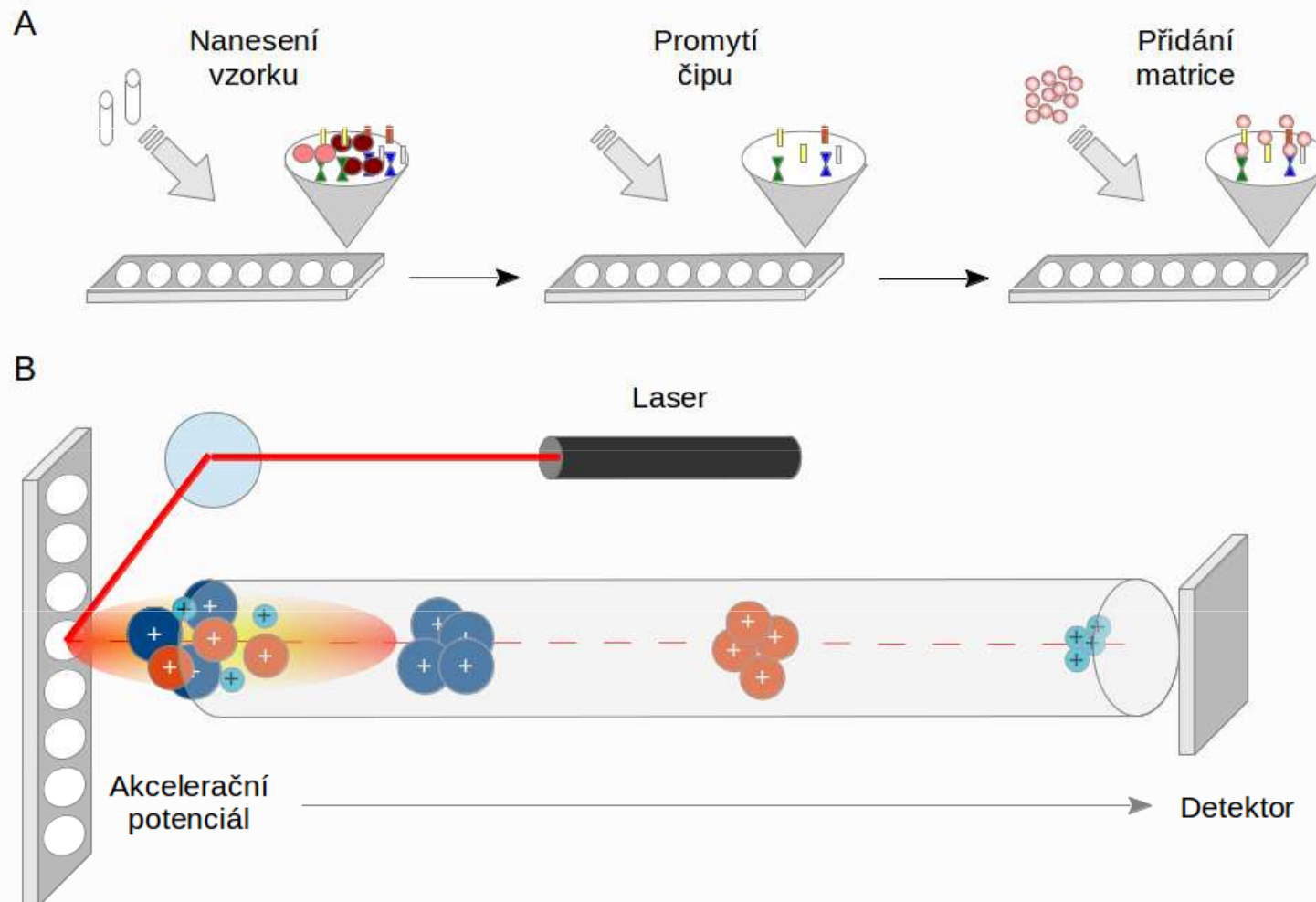
MALDI-TOF

- Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionisation - TOF



SELDI-TOF

- **Surface-Enhanced Laser Desorption-Ionisation – TOF**
- Existuje několik druhů čipů (IMAC30, H50, NP20...), které se liší svým aktivním povrchem (anionický, kationický, kovový, normální fáze, hydrofobický, ...) a proto také přednostně vážou jiné molekuly.



Výhoda SELDI:

Možnost odmyt látky, které by jinak ovlivňovali spektrum vzorku (např. močovina používaná k přípravě vzorku, nebo Na^+ ionty přítomné fyziologicky ve vzorcích).

Čipy pro SELDI hmotnostní spektrometrii

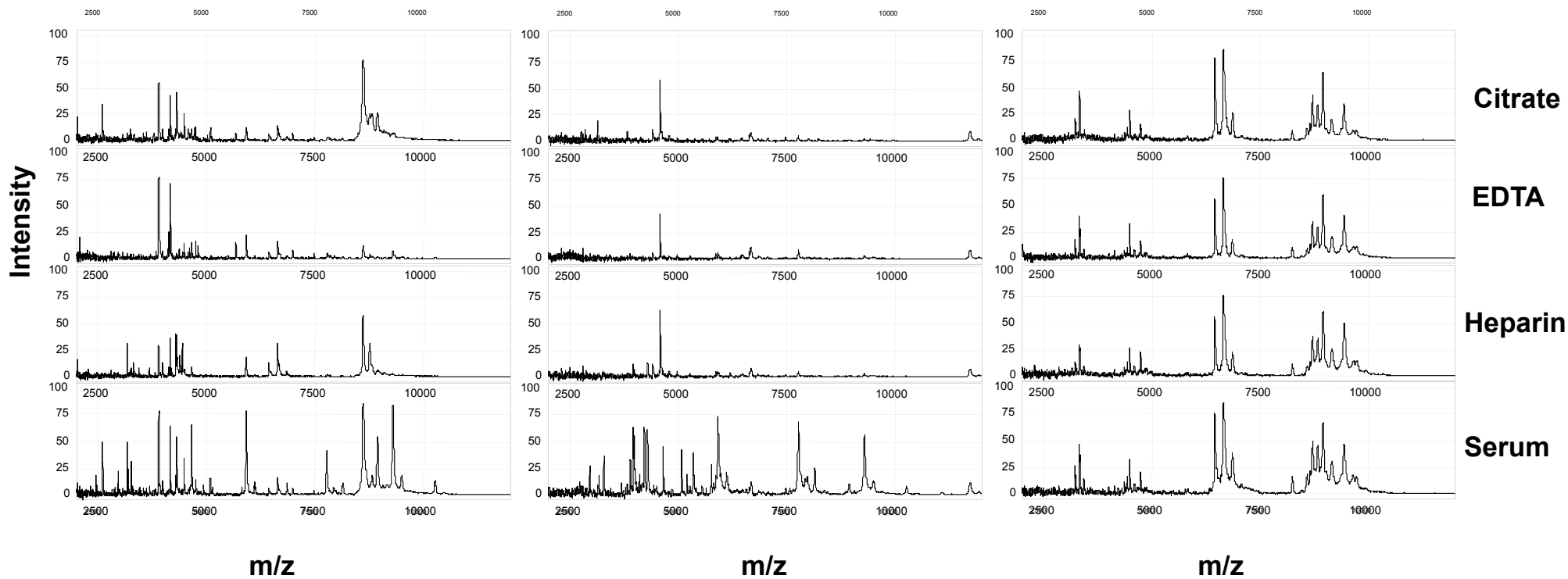
- Kvantitativní hodnoty proteomu jsou také ovlivněné různými zdroji variability (experimentální i biologické)
- Velmi velké rozdíly mezi typy použitého čipu!

	<u>H50</u>		<u>IMAC30</u>		<u>NP20acid</u>		<u>NP20alkaline</u>	
	<u>N</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>%</u>
<u>H50</u>	75	100.0	19	47.5	24	52.2	56	59.6
<u>IMAC30</u>	19	25.3	40	100.0	19	41.3	21	22.3
<u>NP20acid</u>	24	32.0	19	47.5	46	100.0	30	31.9
<u>NP20alkaline</u>	56	74.7	21	52.5	30	65.2	94	100.0
<u>separate M/Z</u>	15	20.0%	15	37.5%	12	30.0%	28	29.8%

CM10

IMAC-Cu

H50



Peaky profilů 3 odlišných SELDI čipů
Vzorky zpracované 4 různými způsoby
Banks et al, Clinical Chemistry 2005

Příklad

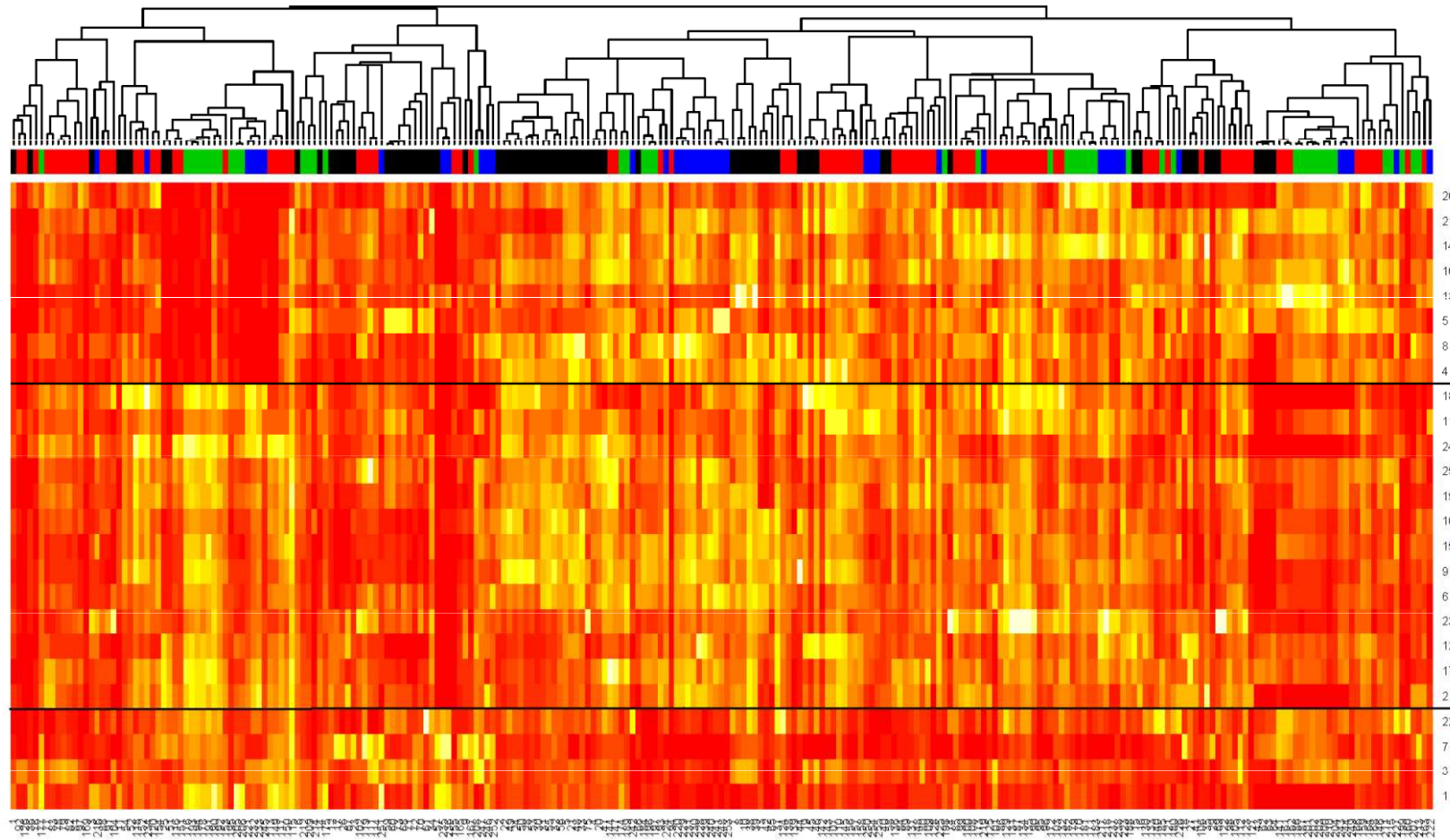
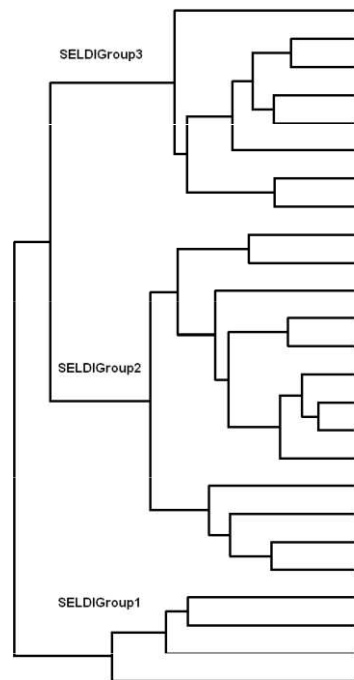
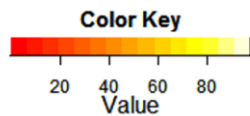
- Shlukování profilů stejných vzorků ze 4 typů SELDI sklíček:

IMAC30,

H50,

NP20zas,

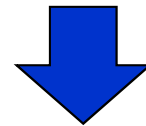
NP20kys



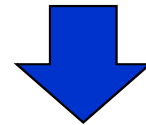
Úpravy dat

- **Kalibrace**

- *TOF* přeměněný na škálu m/z pomocí množství kalibračních proteinů ze známou m/z hodnotou. Toto se děje ještě v laboratoři



Základní data

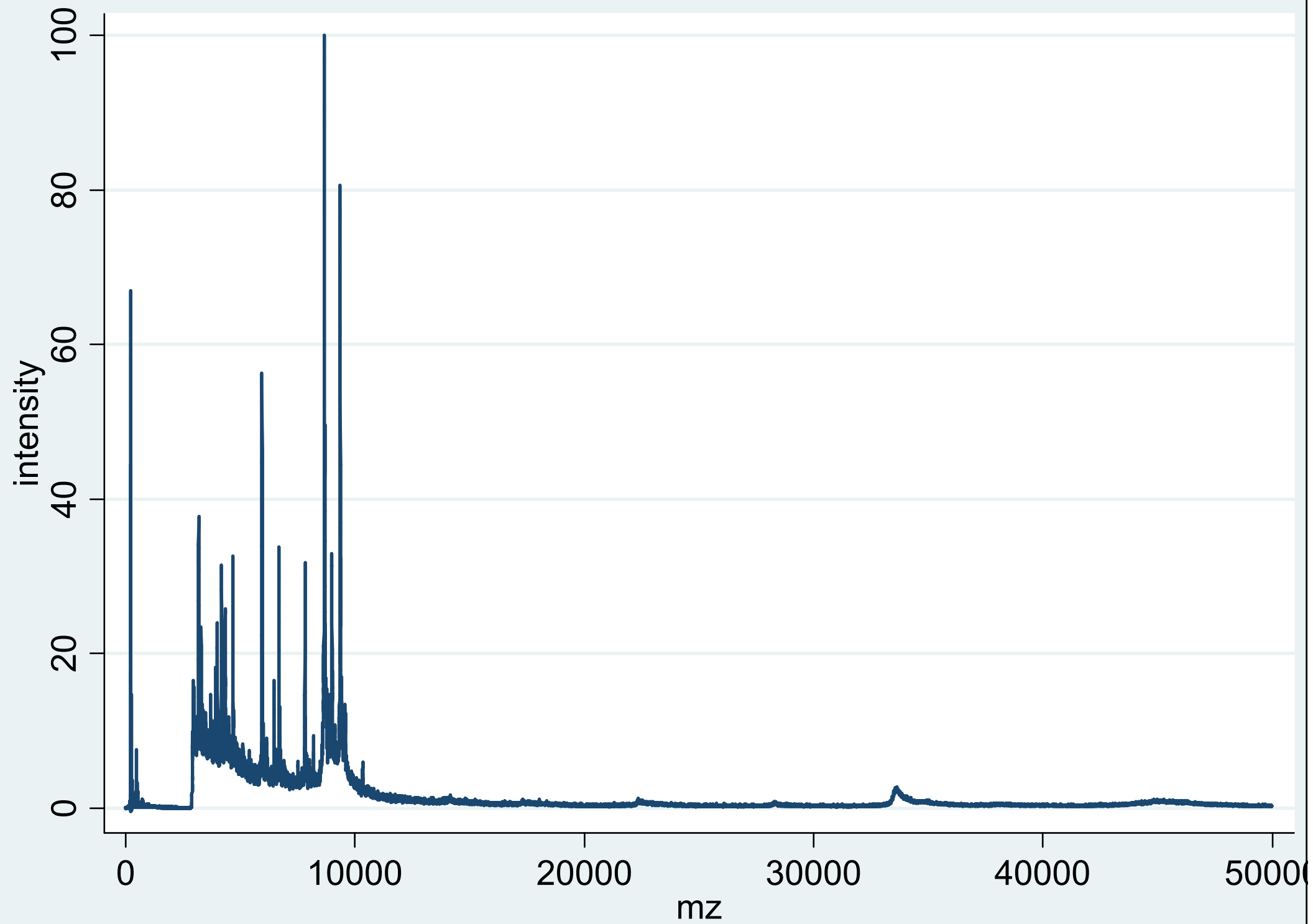


- **Odstranění baseline**

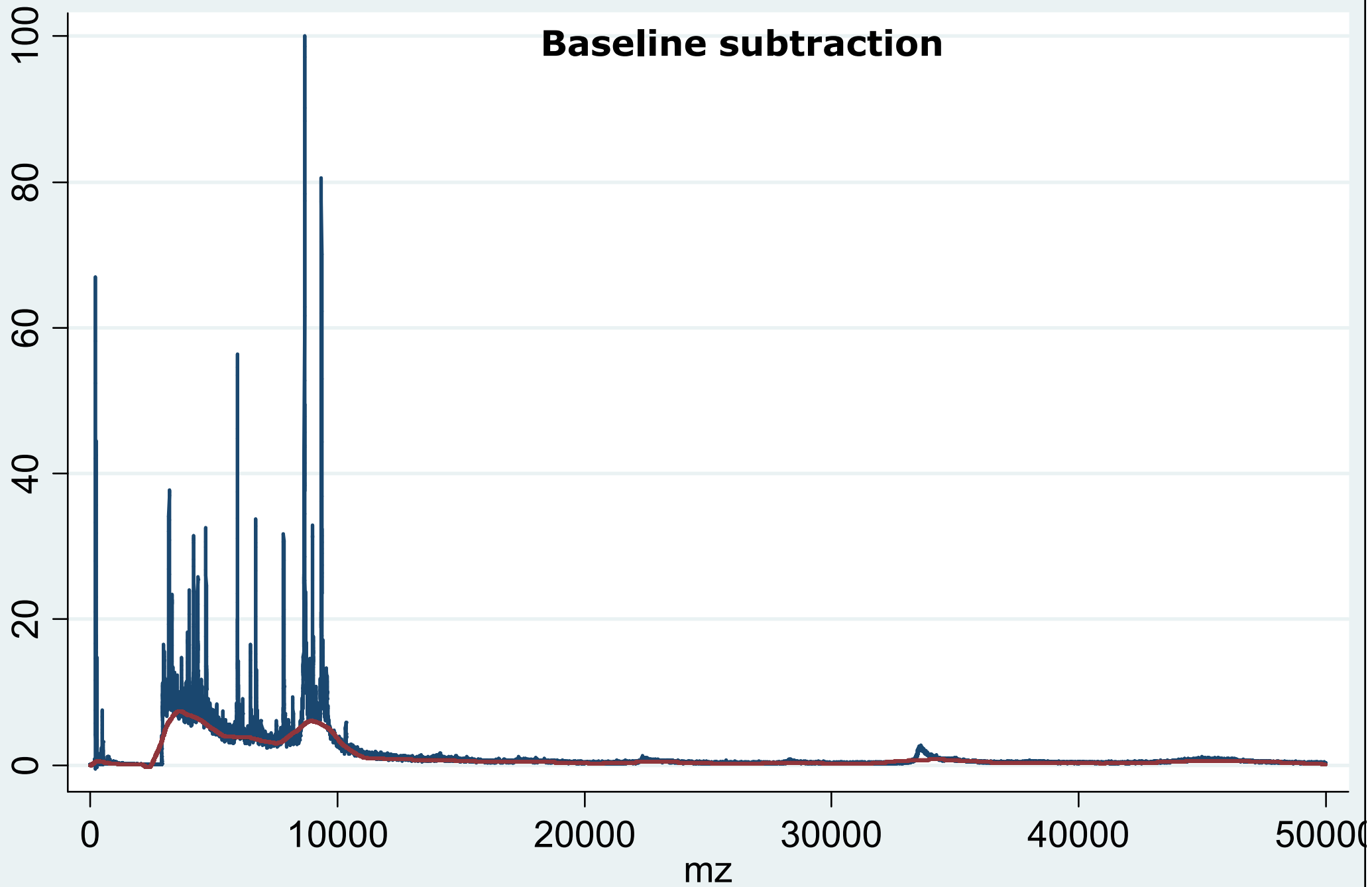
- Odstranění baseline šumu z profilu, například pomocí **loess**

- **Normalizace**

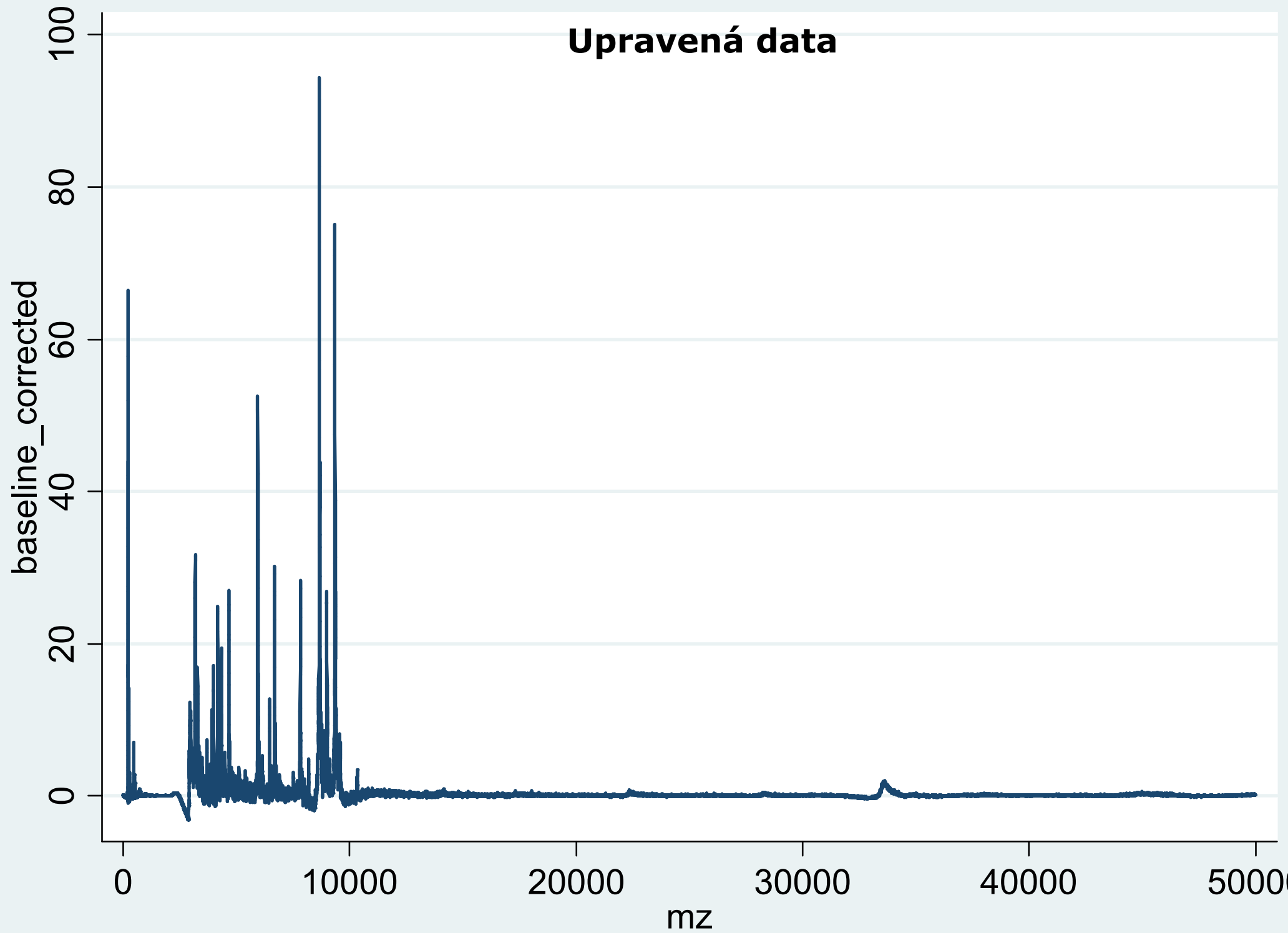
- Abychom mohli porovnat spektra mezi vzorky



Baseline subtraction

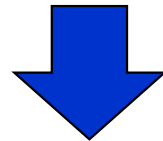


Upravená data



Normalizace

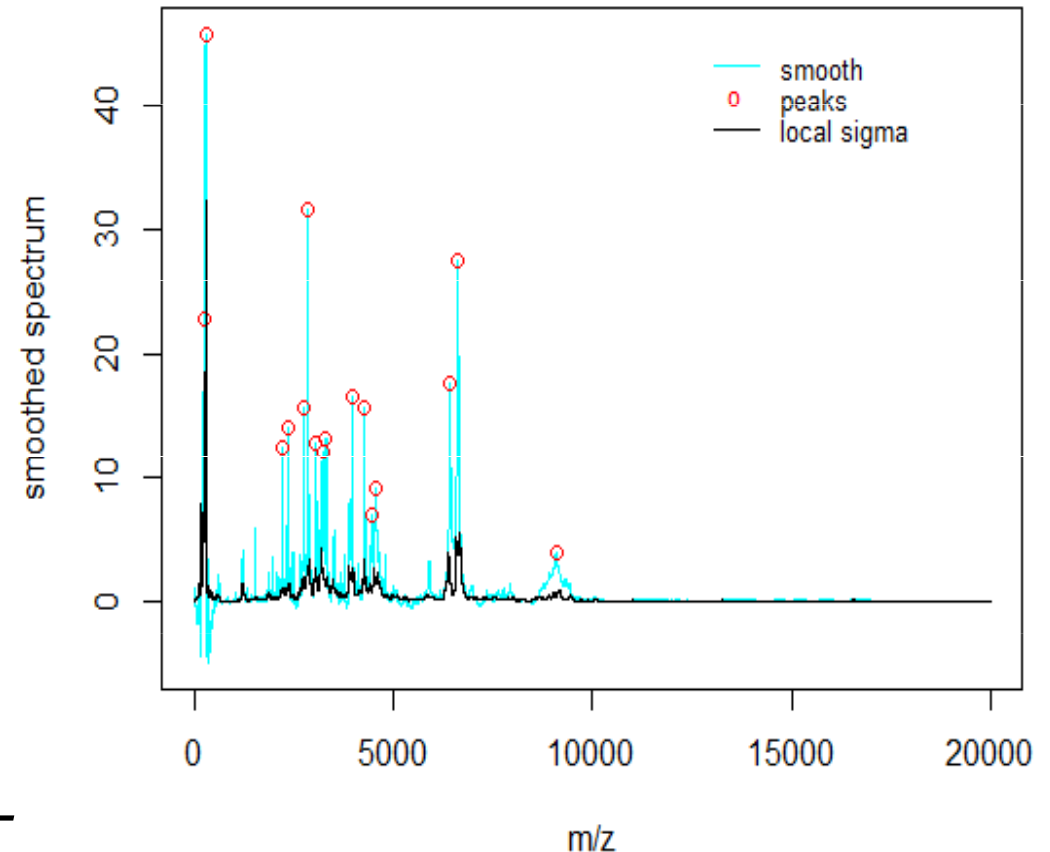
- Odstraňujeme technickou variabilitu (přístrojové chyby, odlišné množství vzorku)
- Koncentrace proteinu se odhaduje jako plocha pod píkem (Area Under Curve – AUC)



- Normalizace pomocí *průměrné AUC (TIC – total ion current)*
AUC celého spektra / průměrná AUC všech spekter

Detekce píků a jejich zarovnání

- Pík ~ peptid/proteín, definuje se jako lokální maximum na základě porovnání variability v okolí
- Existují nepřesnosti na x (m/z) a y (signál) osách
- Píky každého spektra mohou být definované jako body které jsou maximálně $\pm N$ bodů v okolí m/z
 - first, second, estimated..
- Důležité je brát do úvahy *signal-to-noise* ratio – píky musí překročit nějakou běžnou hranici šumu

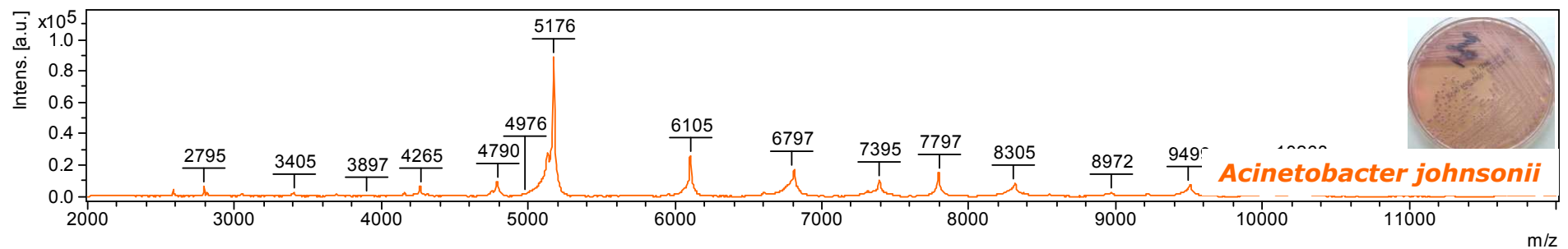
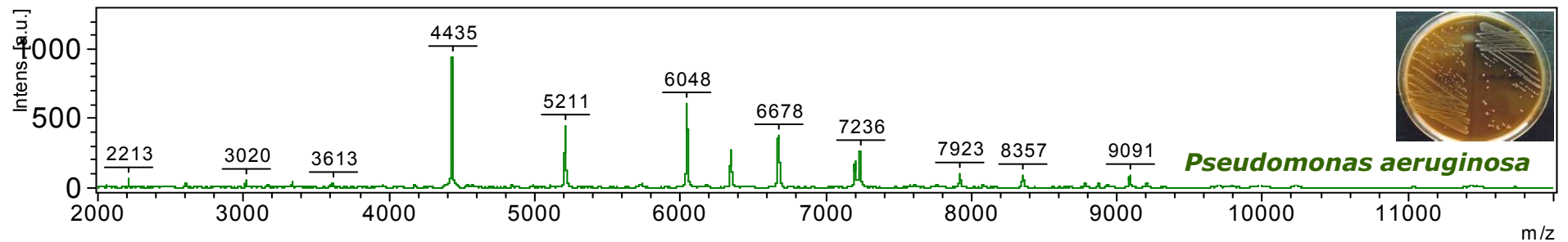
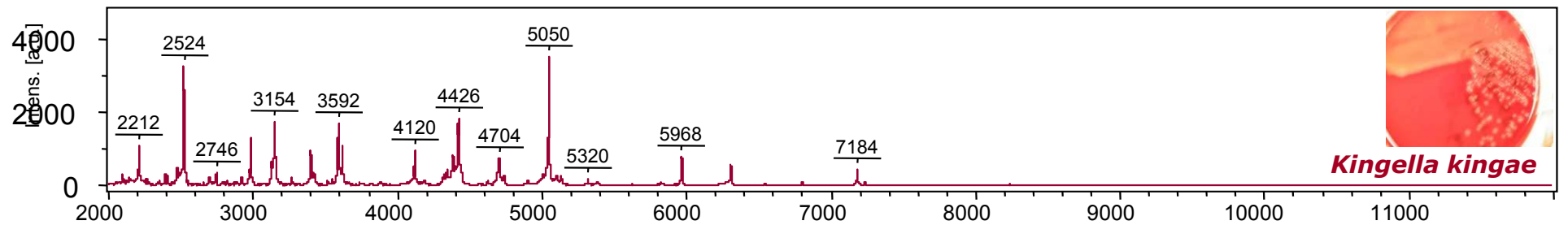
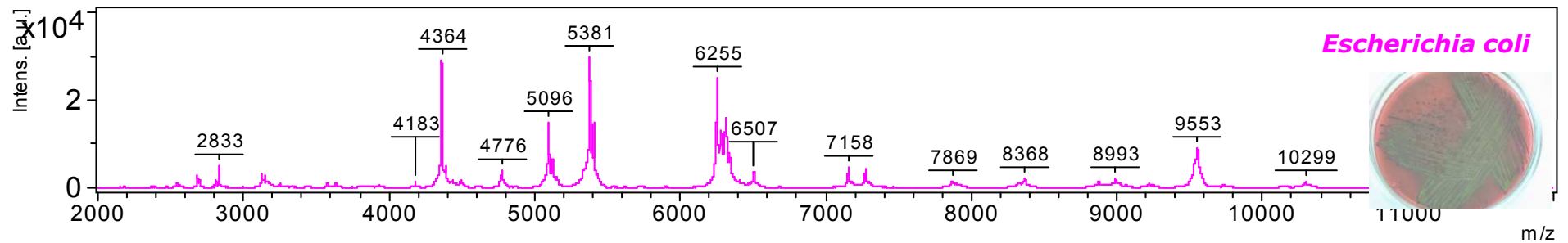


Jak vypadají data po zarovnání a detekci píků

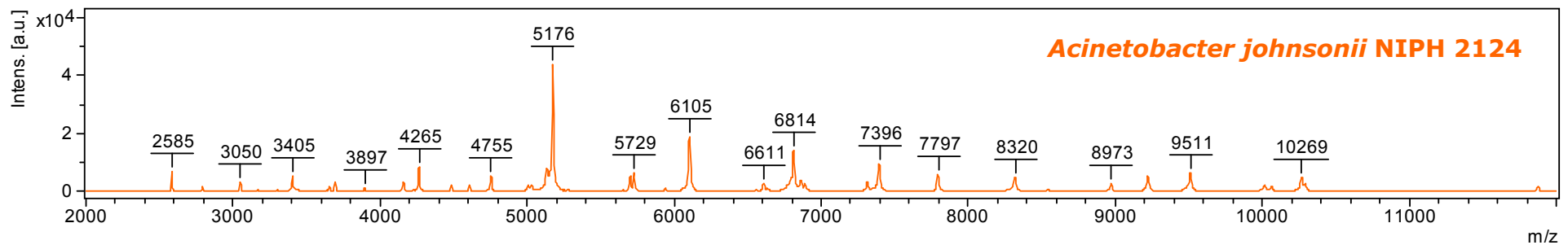
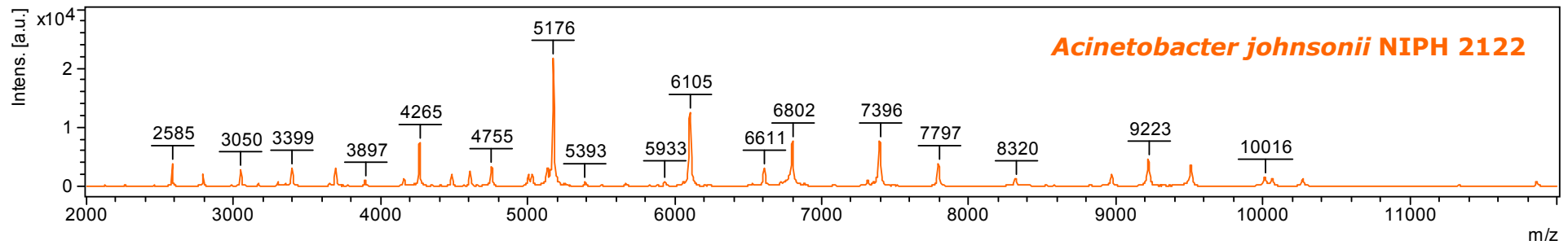
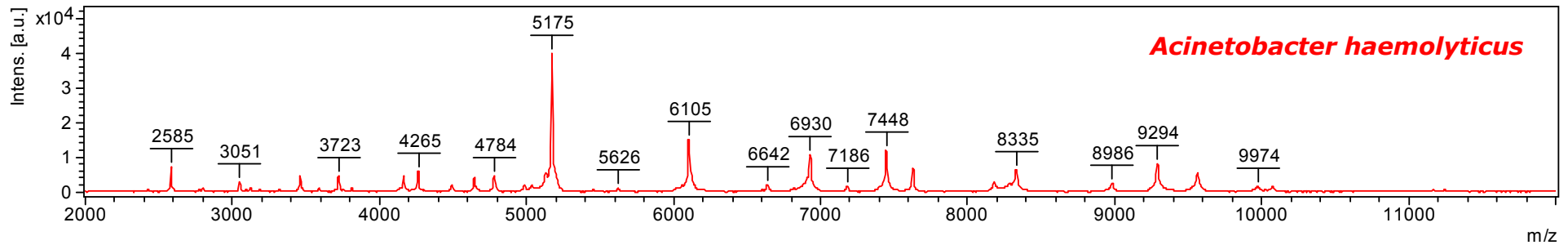
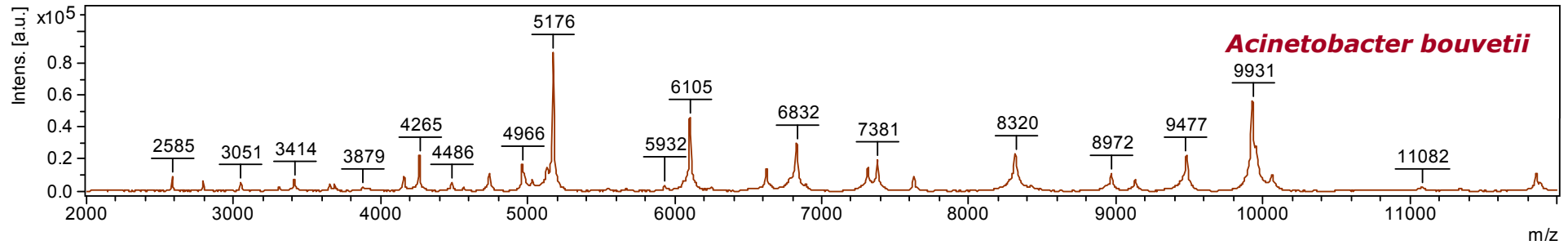
■ SELDI-TOF

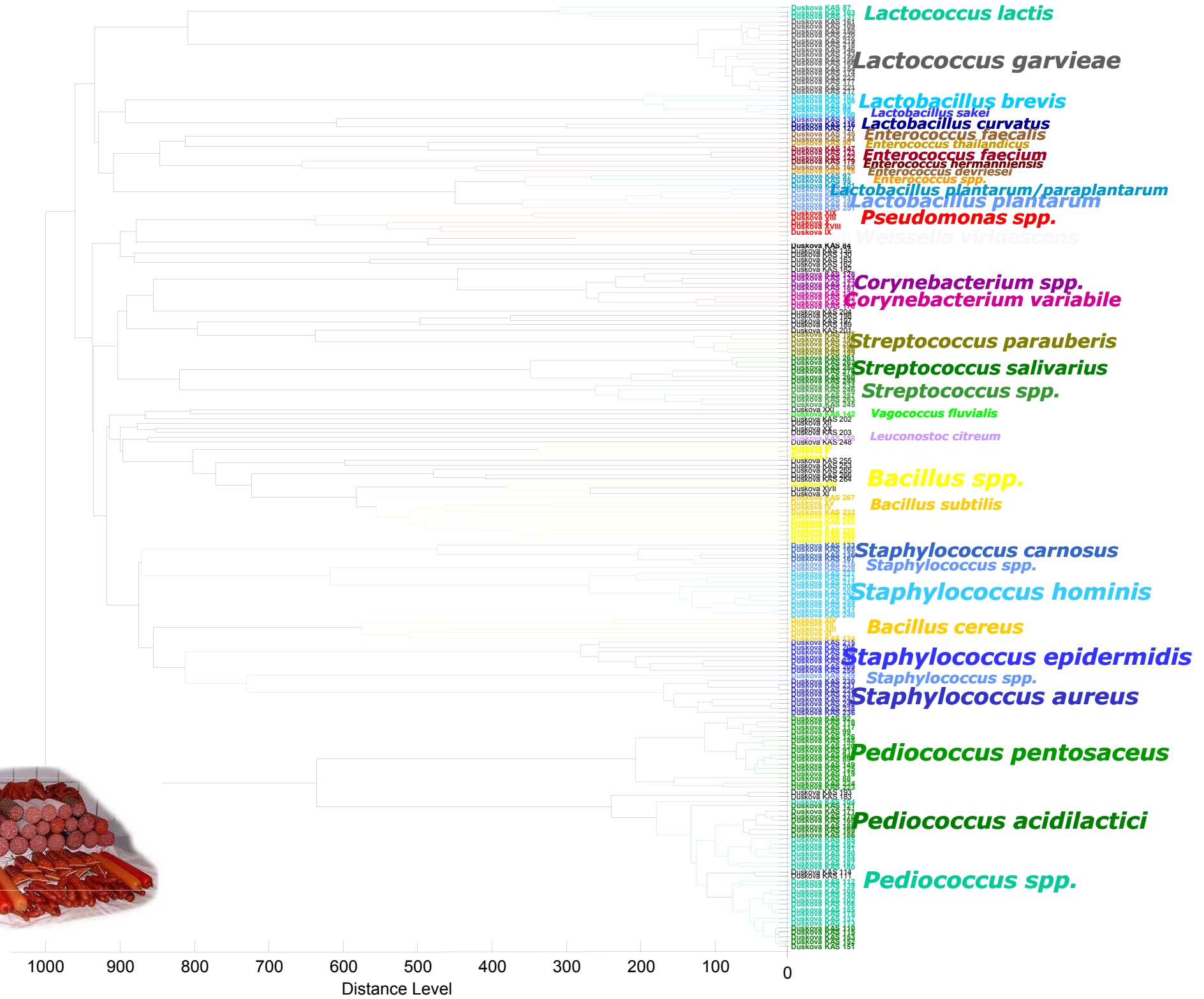
Cluster	Group	Norm. Log Intensity	M/Z	Intensity	Norm. Linear Intensity	Type	Mass Dev.
1	chemoresistentni	0.581550	2392.84	3.058176	30.578211	estimated	0.000007
1	chemoresistentni	-0.072123	2392.84	1.943959	12.984676	estimated	0.000007
1	chemoresistentni	0.023116	2392.84	2.076621	15.079403	estimated	0.000007
1	chemoresistentni	0.160910	2392.84	2.284742	18.365652	estimated	0.000007
1	chemoresistentni	0.199591	2392.84	2.346828	19.345988	estimated	0.000007
1	chemoresistentni	0.161331	2392.82	2.285410	18.376190	first	-0.000004

Aplikace I – identifikace bakterií



Aplikace I – identifikace bakterií





Lactococcus lactis

Lactococcus garvieae

Lactobacillus brevis

Lactobacillus sakei

Lactobacillus curvatus

Enterococcus faecalis

Enterococcus thailandicus

Enterococcus faecium

Enterococcus hermanniensis

Enterococcus devriesei

Lactobacillus plantarum/paraplantarum

Lactobacillus plantarum

Pseudomonas spp.

Weissella viridescens

Corynebacterium spp.

Corynebacterium variabile

Streptococcus parauberis

Streptococcus salivarius

Streptococcus spp.

Vagococcus fluvialis

Leuconostoc citreum

Bacillus spp.

Bacillus subtilis

Staphylococcus carnosus

Staphylococcus spp.

Staphylococcus hominis

Bacillus cereus

Staphylococcus epidermidis

Staphylococcus spp.

Staphylococcus aureus

Pediococcus pentosaceus

Pediococcus acidilactici

Pediococcus spp.

1000

900

800

700

600

500

400

300

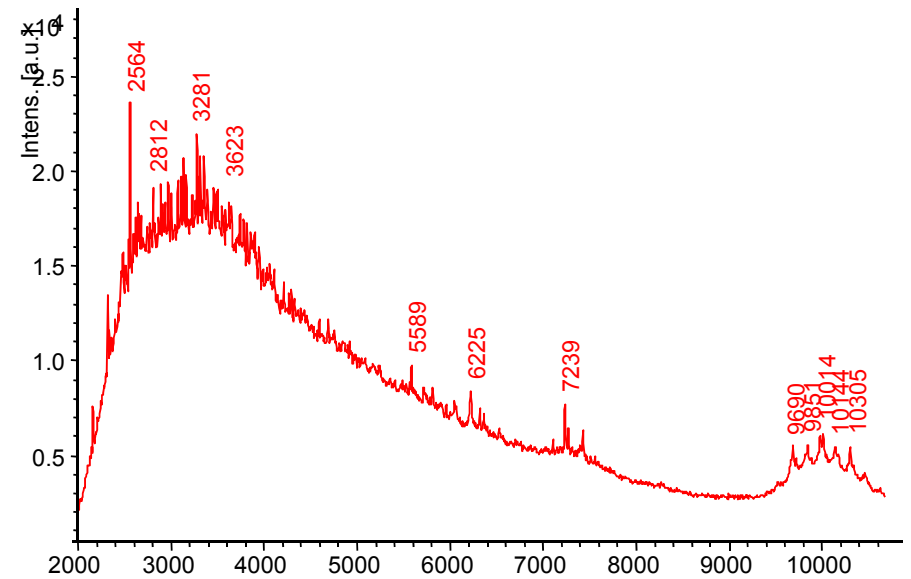
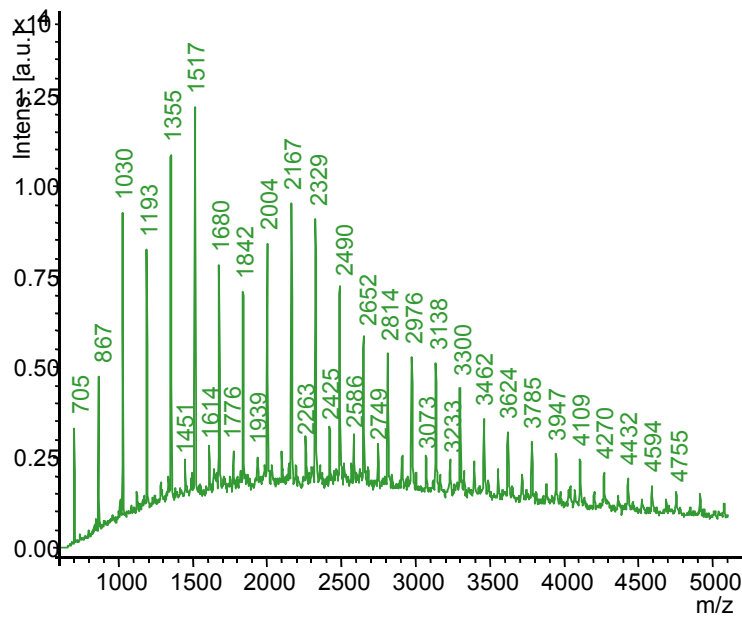
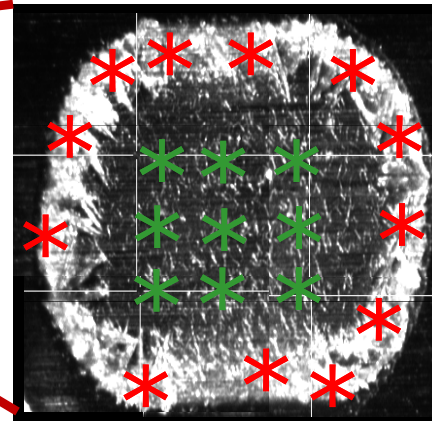
200

100

0

Distance Level

Aplikace II

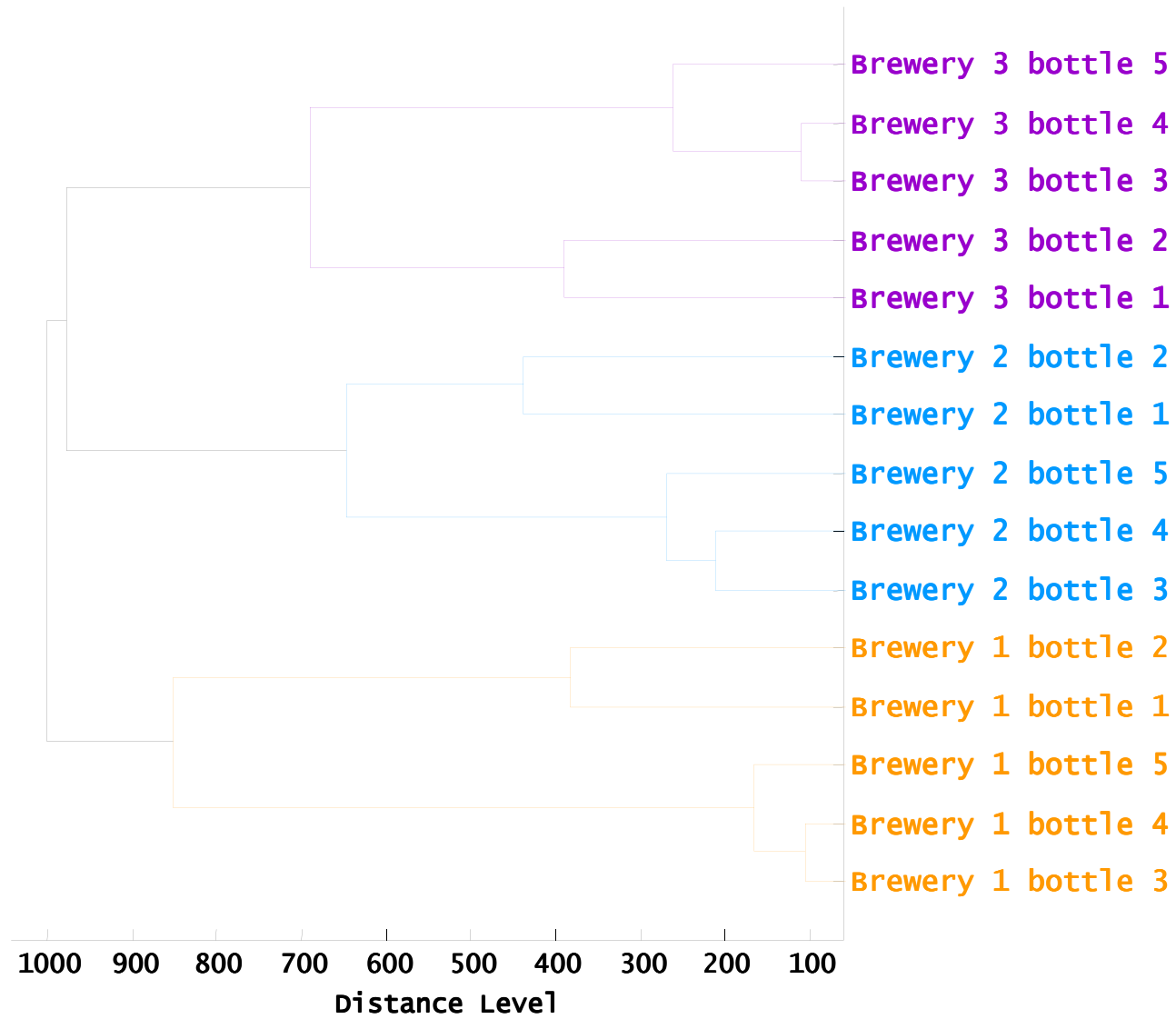


MALDI-TOF MS fingerprint containing maltooligosaccharides

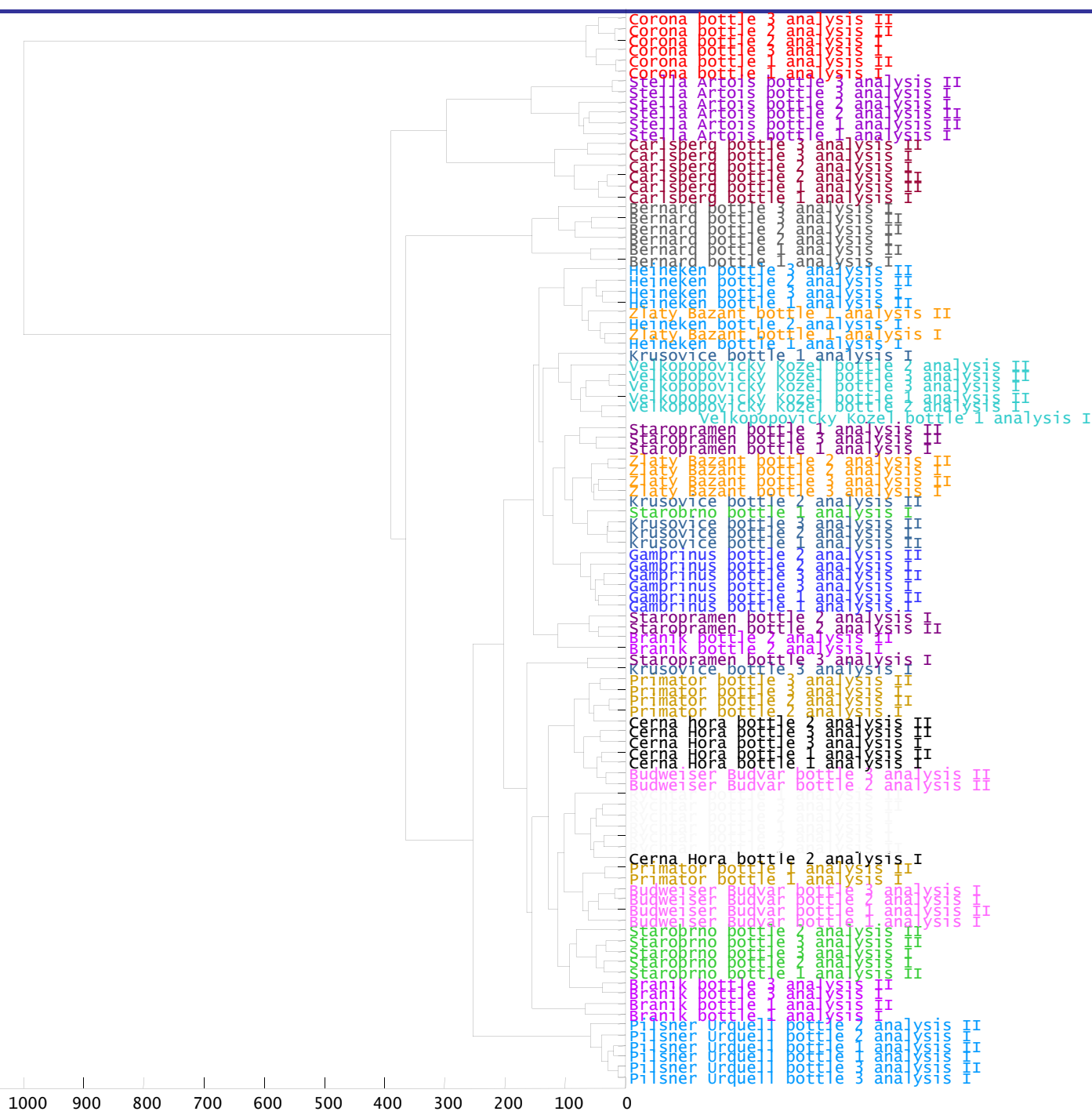
MALDI-TOF MS fingerprint containing proteins

Šedo et al., 2012

Aplikace II



Aplikace II



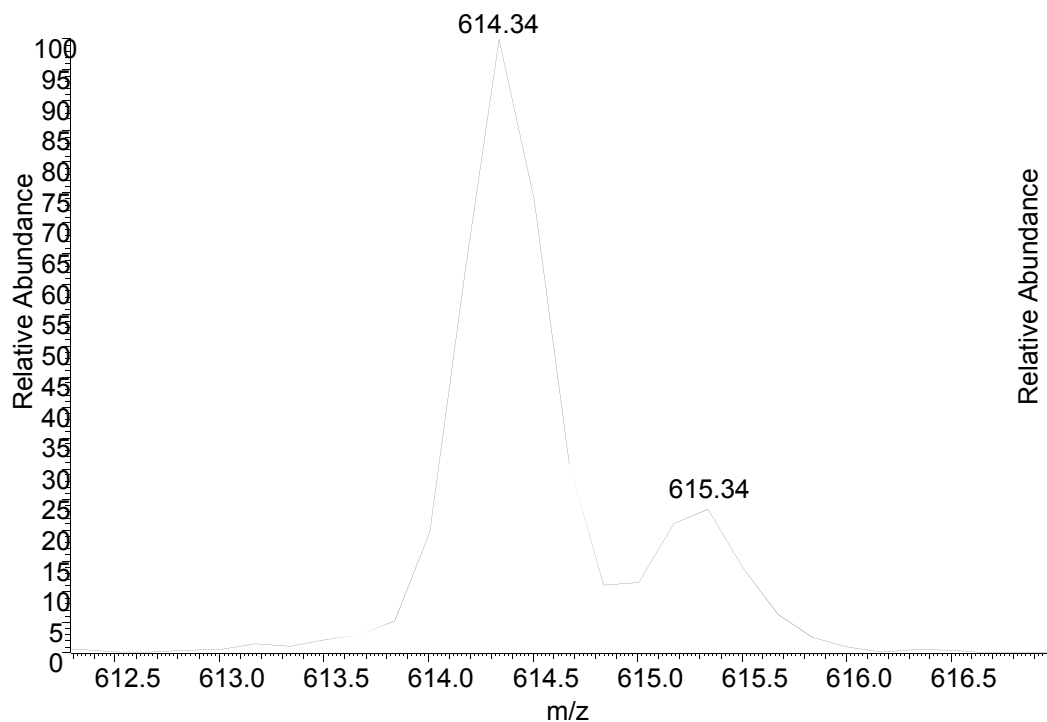
Zpracování dat

1. úprava hrubých dat (MS/MS i MS)
2. příprava dat pro databázové vyhledávání
3. příprava proteinové databáze, databázové vyhledávání
4. zpracování výsledků z pohledu FDR
5. výběr peptidových identifikací (PSMs)
6. rekonstrukce seznamu „identifikovaných“ proteinů
7. interpretace proteinového seznamu(ů)

Úprava hrubých dat

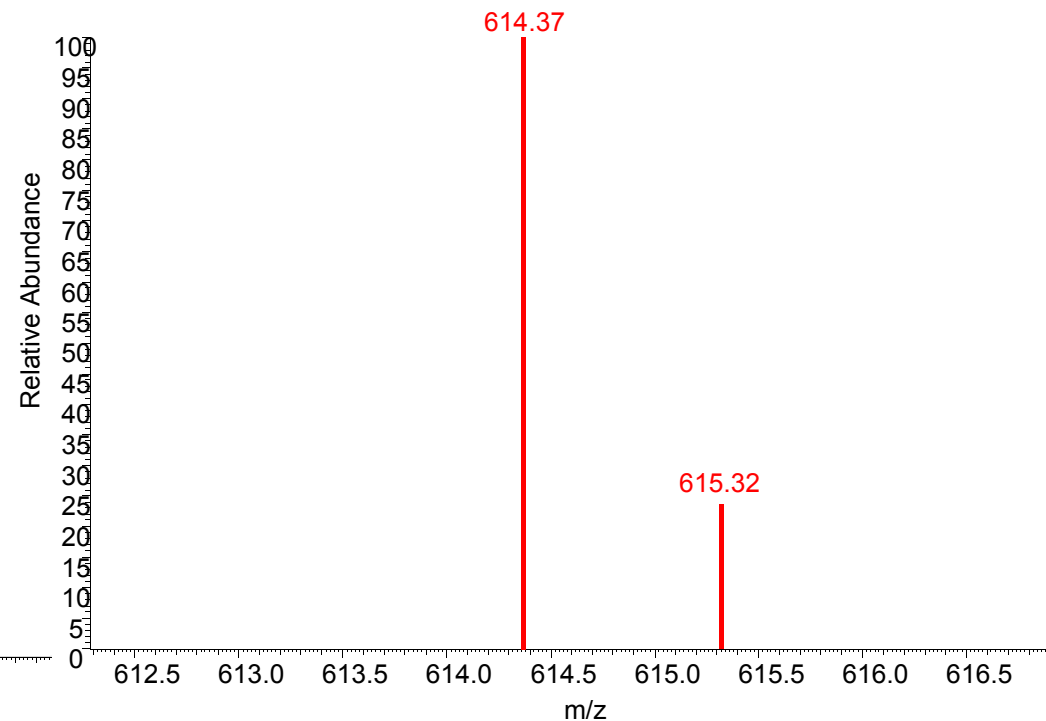
Profilové spektrum

- Získané z experimentu

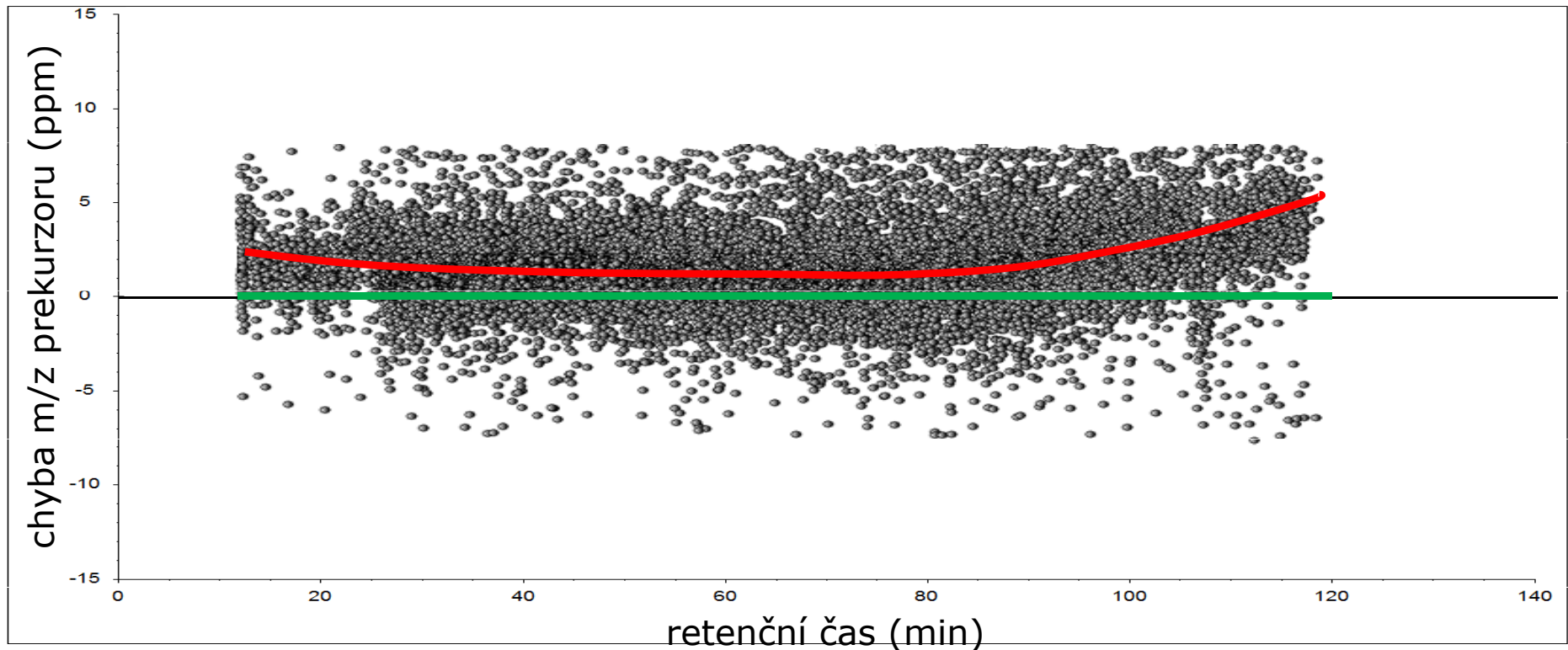


Čárové spektrum

- Vypočítané z profilového



Rekalibrace



- Interní rekalibrace – stejná na celý záznam
- lockmass – každé spektrum podle opakující se kontaminanty
- Podle identifikovaných peptidů – odhad závislosti z identifikovaných peptidů (polynom)

Databázové vyhledávání

1. Příprava dat

- Výběr „reprezentativních“ signálů MS/MS
- Odstranění „méně kvalitních“ spekter MS/MS
 - Top N (z okna), dekonvoluce signálu a šumu
- Získáme tabulku m/z hodnot a intenzit

2. Příprava databáze

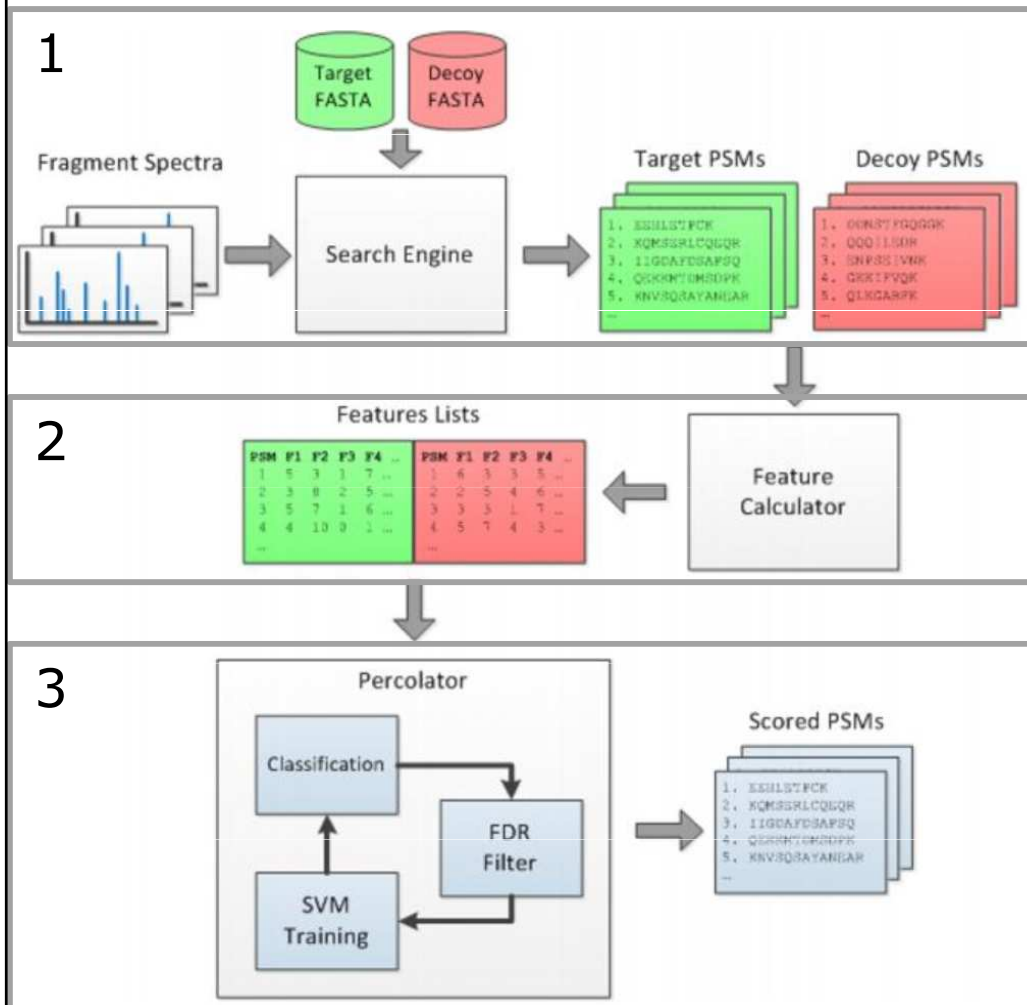
- *in silico* štěpení sekvencí z databáze
- Přiřadění jednoho a nebo více peptidů k jednomu spektru (*decoy* databáze, FDR, Percolator)

3. Výběr peptidových identifikací

Percolator



1. prohledání dat MS/MS
2. výpočet „vlastností“ peptidů
3. propočítání skóre peptidů

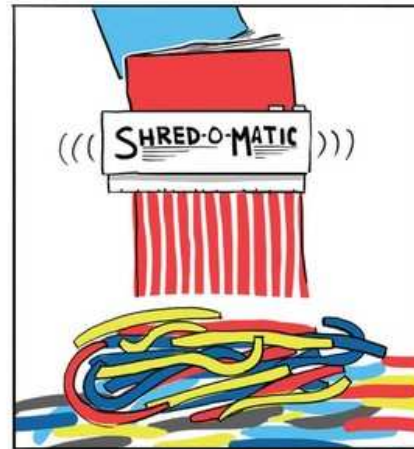


Propočítání skóre peptidů

- Použití *support vector machines* (SVM)
- sady identifikací
 - falešně pozitivní – *decoy* databáze
 - pozitivní – původní databáze (↑skóre)
- přiřazení vah vlastnostem v SVM
 - např. skóre; chyba hmotnosti
 - intenzita, modifikace, ...

⇒ víc identifikovaných peptidů

Rekonstrukce sady proteinů



Analogie puzzle, ALE:

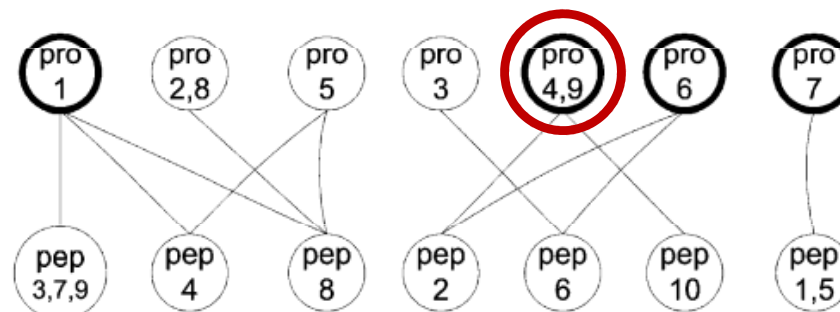
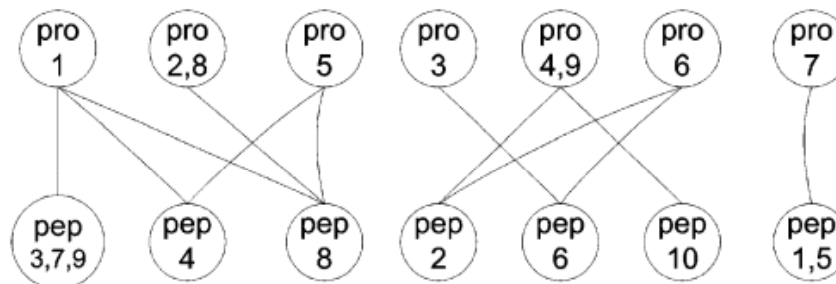
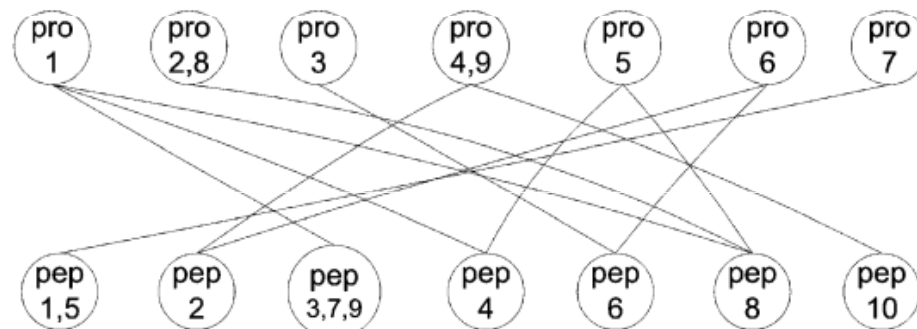
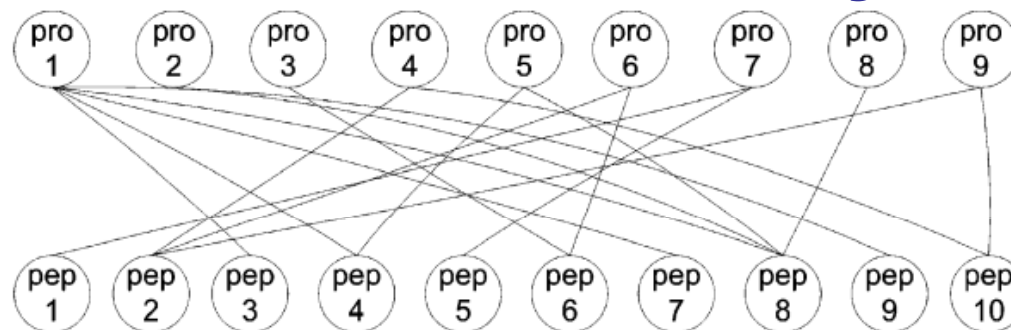
- Tisíce kousků:
 - Stejné
 - Poškozené
 - Chýbějící
 - Z jiných skládaček
- Pasují na stejná místa

Vybrané přístupy

- N – peptidové pravidlo
 - Proteiny, u kterých pozorujeme alespoň N peptidů
 - Vysoká falešná pozitivita
 - Používané na sekvenční homologické proteiny
- Pravděpodobnostní přístupy
 - *ProteinProphet, Nested mixtures, Fido*

Princip parsimonie a Occamové břitvy

- A. Vytvoření bipartitního grafu:
peptidy - možné proteiny
- B. Sloučení proteinů a peptidů do skupin (např. pep 3,7,9; pro 4,9)
- C. Rozdělení skupin
- D. Výběr minimální sady proteinů



Důsledek: falešná negativita výsledků

Co s identifikovanými proteiny?

- Závisí od původního experimentu
- Typicky doplnění anotace proteinů z databáze (GO, KEGG, TAIR) a použití metod analýzy genových sad

Identifikace proteinů

- NCBI Protein - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>
 - jen pro proteinové sekvence odvozené transkripcí nukleotidových sekvencí
- RefSeq - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq/>
- UniProt– administrovaná databáze; kompozit SwissProt, TrEMBL a PIR-PSD–<http://www.uniprot.org>

Databáze dat

Veřejně přístupné databáze

- Velké experimenty mají až stovky, a nebo tisíce vzorků, v každé se studují desetitisíce až stovky genů
- Pro publikaci výsledků je vyžadované vložit data ve standardizovaném formátu (MIAME – Minimal Information About a Microarray Experiment) do jedné z veřejně přístupných databází tak, aby kdokoliv byl schopný výsledky zreprodukovat
- Toto přináší velkou výhodu:
 - Můžeme data podrobit meta-analýze (simultánně porovnat data z různých experimentů)
 - Díky standardnímu formátu můžeme vyhledávat soubory s parametry, které potřebujeme
 - Data můžeme automaticky stahovat

GEO na NCBI

The screenshot shows a Netscape browser window titled "Netscape: GEO Database Design Brief". The address bar contains the URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/info/scheme.cgi>. The page features the NCBI logo and the text "Gene Expression Omnibus" with the "geo" logo. A navigation bar includes links for Entrez, ProbeSet, SAGEmap, Pubmed, UniGene, and LocusLink. The "Database Design Brief" section is highlighted in yellow. Below this, there is a search bar with the text "Query:" and a "go" button. The main content area contains the text: "Please fill out our [feedback suggestionnaire](#) **NEW**". Below this text is a diagram illustrating the basic level of organization of GEO, showing four entities: Submitter, Platform, Series, and Sample. The diagram shows Submitter at the top, connected to Platform and Series. Platform and Series are both connected to Sample at the bottom. A vertical line also connects Submitter directly to Sample.

NCBI Gene Expression Omnibus **geo**

Entrez ProbeSet SAGEmap Pubmed UniGene LocusLink

Database Design Brief Query: go

Paper | FAQ | News

Feedback **NEW**

Retrieval tools
...by GEO accession
...by attribute

Deposit tools
...via web
...via direct deposit
New account

Brief info
Current holdings
Retrieving data
Depositing data
...via web
...via direct deposit
Database design

Ad nauseam
SOFT guide
...examples
Web deposit guide
...entry fields
...data tables
SQL implementation

Please fill out our [feedback suggestionnaire](#) **NEW**

At the most basic level of organization of GEO there are four entities.

```
graph TD; Submitter[Submitter] --- Platform[Platform]; Submitter --- Series[Series]; Platform --- Sample[Sample]; Series --- Sample; Submitter --- Sample;
```

Array Express na EBI

<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>

[Training](#)

[Industry](#)

[About Us](#)

[Help](#)

[Site Index](#)



The **ArrayExpress Archive** is a database of functional genomics experiments including gene expression where you can query and download data collected to **MIAME** and **MINSEQE** standards. **Gene Expression Atlas** contains a subset of curated and re-annotated Archive data which can be queried for individual gene expression under different biological conditions across experiments.

Experiments Archive

15786 experiments, 442596 assays



Experiment, citation, sample and factor annotations

[Browse experiments](#)

[Advanced query syntax](#) ^{NEW}

[Submitter/reviewer login](#)

[ArrayExpress Query Help](#)

Gene Expression Atlas

5670 experiments, 138915 assays, 18346 conditions

Genes

up/down in

Conditions

Any species

[Gene Expression Atlas Home](#)

News



- **20 Oct 2010 - Internship for a student project in human gene expression - Filled now**
This student project is now taken.
- **17 Sep 2010 - New Atlas Data Release 10.8**
A new release of Gene Expression Atlas has been made with 93

Links

- [ArrayExpress User Survey](#)
- [Old ArrayExpress Interface](#)
- [Help](#) | [Training](#) | [FAQ](#) | [Citing](#)
- [Submit Data](#) (array based and re-sequencing)
- [Programmatic Access](#) | [FTP Access](#)
- [Software Downloads](#) and [Statistics](#)

- E-learningová skripta analýzy dat IBA
- <http://portal.matematickabiologie.cz/index.php?pg=analiza-genomickych-a-proteomickych-dat--analiza-genomickych-a-proteomickych-dat>