

BÖLÜM 1

BİYOMEDİKAL, BİYOTEKNOLOJİ VE SAĞLIK BİLİMLERİNDE BİYOİNFORMATİK ANALİZLER VE YAKLAŞIMLAR

Gizem AYNA DURAN¹

GİRİŞ

Biyoinformatik bilgisayar bilimleri ile biyolojik bilimlerin kesişim alanında kalan interdisipliner bir araştırma alanıdır ve geçtiğimiz son 10-15 yılda bilgisayar bazlı araçlar hücre ve moleküler biyologlar için temel alanlardan biri haline gelmiştir. Biyoinformatik, hali hazırda gelişmekte olan bir bilimsel disiplindir ve biyoinformatik araçlar ve analizler elde edilen veriyi ve laboratuvar bazlı çalışmalardan elde edilen bilgiyi organize etmek, analiz etmek ve düzenlemek için bilgi teknolojilerini kullanırlar. Biyoinformatik araçlar ve analizler, yalnızca temel araştırmalar için değil, aynı zamanda biyoteknoloji ve biyomedikal bilimlerde uygulamalı araştırmalar için de önemli ve yaygın kullanılan bir araç haline gelmiştir. Günümüzde biyoinformatik, protein yapı analizi, gen ve proteinlerin fonksiyonel analizi, hastalardan elde edilen verilerin analizi, klinik öncesi ve klinik denemelerinden elde edilen hasta veri analizi ve birçok türü kapsayacak şekilde metabolik yolların analizlerini ve hastalıklardaki farklılıkların analizini kapsayan geniş araçları bünyesinde bulundurmaktadır. Büyük gen listelerinin fonksiyonel analizi, yüksek verimli genomik, proteomik ve biyoinformatik tarama yaklaşımları günümüzde birçok araştırmada aktif kullanılmaktadır ve geliştirilmeye açık yanları ile dinamik bir sistem olarak araştırma ekosisteminde geniş kullanım alanı bulmaktadır. Bu kitap bölümünde geçmişten günümüze kullanılan biyoinformatik araçlar ve analizleri özetlenecektir.

BİYOİNFORMATİK ARAÇLARININ TARİHÇESİ

İlk kez “Biyoinformatik” kavramı 1970’lerin başında Hesper ve Paulien Hogeweg ve ekibi tarafından kullanılmıştır ve çalışmalarında biyoinformatik araçları “biyo-

¹ Dr. Öğr. Üyesi, İzmir Ekonomi Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, gizem.duran@ieu.edu.t

tik süreçlere uygulanan bilgi teknolojileri” olarak tanımlamışlardır (1). İlerleyen yıllarda, 1981’de Leory Hood ve ekibi 1988 yılında desteklenmeye başlayan İnsan Genom Projesi’nden (HUGO) de önce 579 adet insan geninin dizilimini otomatik bir DNA dizilimi aracı geliştirerek icat etmişlerdir (2). 1991 yılında fiilen İnsan Genom Projesi başlamıştır ve proje sonunda toplamda 1879 insan geninin dizisi haritalanmıştır (3). İlerleyen yıllarda, moleküler biyoloji ve uygulama alanlarında biyoinformatik analizler yerini bulmaya başlamıştır.

Biyolojik veri tabanlarının geliştirilmesi ilk protein sekanslarının elde edilmesinden sonra hızlanmıştır. İlk sekansı belirlenen protein 1956 yılında belirlenen sığır insülinidir (4,5). Daha sonra maya alanin tRNA ilk nükleik asit sekansı gerçekleştirilen nükleik asit olmuştur (6). Tüm bu veriler biyoinformatik alanında bilinen öncülerden biri olarak tarihe geçen ünlü Amerikan fizik ve kimya profesörü olan Margaret Oakley Dayhoff tarafından toplanıp ilk biyoinformatik veritabanı oluşturulmuştur. Ardından 1972 yılında “Protein DataBank” ve 1987 yılında da “theSWISSPROT protein sequence database” isimli protein sekanslama veri tabanı oluşturulmuştur. Söz konusu veri tabanları oluşturulduktan sonra bu biyoinformatik araçlar (örneğin Basic local alignment search tool (BLAST) algoritması) farklı nükleik asit ve protein dizilerinin aranabildiği ve karşılaştırmaların yapılabildiği platformlar haline gelmişlerdir (7). Anahtar kelime eşleşmeleri ve kısa dizilerin taranması şeklinde ve daha sonra da daha karmaşık dizilerin eşleştirildiği ve hizalandığı araçlar olarak kullanılmaya başlamışlardır. Günümüzde “NCBI Databases” kolayca veri toplanmasını sağlayan yeni bir kaynak haline gelmiştir ve gen, transkript, protein ve genom dizileri, dizilerin açıklamaları ve meta verileri NCBI veri tabanında elde edilebilmektedir. Günümüzde söz konusu edilen veri tabanlarının yanı sıra daha kompleks ve sistematik analizler gerçekleştirebilen hatta makine öğrenmesi ve yapay zekâ ile de desteklenmiş biyoinformatik araçlar mevcuttur.

BİYOİNFORMATİK UYGULAMALARI

Gen Tanımlama ve Dizi Analizlerinde Kullanılan Biyoinformatik Araçlar

Gen düzeyinde sekanslama ile tespit edilen gen dizisinin tanımlanması ve dizi analizlerinin yapılmasına olanak sağlayan gerek web tabanlı gerek ise yazılım düzeyinde biyoinformatik araçlar mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda sıralanmıştır:

Basic local alignment search tool (BLAST) protein, nükleotid, DNA ve RNA dizilerini karşılaştırmak için kullanılan bir arama aracıdır. (8). Ayrıca BLAT isminde BLAST’a benzeyen bir veri tabanı da mevcuttur ve mRNA/DNA ve prote-

in sekans çakışmalarının çok daha etkin olarak yapıldığı iddia edilmektedir (9). Bunun yanı sıra BLAST veri tabanı organizma spesifik olmamasına rağmen çok daha yeni geliştirilmiş bir yazılım olan VIRMOTIF isimli veri tabanı viral sekans analizlerine özeldir (10).

Gene production using multiple sources of evidence (JIGSAW) dizi hizalaması yoluyla gen modellerini tanımlamak için kullanılan bir araçtır ve Ensembl ve UCSC'S Known Gene gibi diğer algoritmalarla karşılaştırıldığında daha yüksek doğrulukta veri sağladığı düşünülmektedir. (11,12).

ORF Finder, çeşitli biyoinformatik analizleri, grafiksel görüntüleme ve veri yönetimi için kullanılmaktadır. Varsayılan genler, Açık Okuma Çerçevesini (ORF) bulmak için bu araca tabi tutulabilir (13).

GENSCAN genomik dizilerdeki ekzon-intron bölgelerini tahmin etmek için kullanılan bir veri tabanıdır. (12, 14).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Primer Tasarımında Kullanılan Biyoinformatik Araçlar

Optimal primer dizisi ve uygun primer konsantrasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sürecinin maksimum özgüllüğü ve etkinliği için esastır. Kötü tasarlanmış bir primer, spesifik olmayan amplifikasyon ve/veya ürün oluşumunu baskılayacak kadar rekabetçi hale gelebilen primer-dimer oluşumu nedeniyle önemli düzeylerde verim düşüklüğüne neden olabilir. PCR için primer tasarımı yapılırken dikkat edilmesi gereken birkaç husus aşağıda sıralanmıştır:

- Primer Uzunluğu
- Erime Sıcaklığı (T_m)
- GC içeriği
- 3'-ucu Sekansı
- Dimerler ve Yanlış Primerler
- Spesifiklik
- Dejenere Primer Varlığı
- Komplementer Primer Sekansları
- PCR Sırasında Kullanılan Primer Konsantrasyonları

PCR için primer tasarımı yapan birçok web tabanlı biyoinformatik araç mevcuttur ve bu araçlar ile elde edilen primer dizilerinin birden fazla araç ile desteklenerek sağlamlaştırılması önerilmektedir (15,16).

Web tabanlı primer tasarım araçlarının hangisinin kullanılacağına iyi tespit edilmesi önem arz etmektedir. Örneğin Consensus Degenerate Hybrid Oligonuc-

leotide Primers (CODEHOP) ve Gene Fisher primer bölgesi tam olarak bilinmediğinden dejenere primerlerin tasarlanması için kullanılmaktadır. DoPrimer DNA sekanslanması ve PCR primerlerinin tasarlanması için uygundur. Primer3 ise kapsamlı PCR primerleri ve hibridizasyon deneylerinde kullanıma uygun primerlerin tasarlanmasında kullanılmaktadır. PCR Designer dizi mutasyonlarının restriksiyon analizinde kullanıma uygundur. Primo Pro 3.4'ün özelliği çoğaltılması hedeflenen diziye hatalı primer yapışma olasılığını azaltarak PCR'dan kaynaklanan gürültüleri azaltmaktır. Primo Degenerate 3.4 tek peptid dizisi veya proteinlerin veya nükleotitlerin çoklu hizalanmasında uygun olabilecek primerlerin tasarımında kullanılmaktadır. PRIMO ise ileri (forward) ve geri (reverse) oligonükleotid primerlerinin tahmininde avantajlar sağlamaktadır. MethPrimer ise özellikle spesifik olarak metilasyon PCR çalışmaları için primer tasarlamaktadır (16).

Web tabanlı araçlara ek olarak kişisel bilgisayarlarda kullanılabilecek yazılımlar da mevcuttur. Örneğin PrimerSelect, DNASIS Max, NetPrimer, Primer, Premier 5, Beacon Designer 2.1, Fast PCR, GenomePRIDE 1.0, GPRIME, Sarani Gold, vb. sadece birkaç programdır (16).

Biyoinformatik yazılım sektöründe hizmet veren şirketler de mevcuttur. Bu şirketlerden bazıları Alkemi Biosystems, Molecular Biology Insights, PREMIER Biosoft International, IntelliGenetics Inc., Hitachi Inc., DNA Star, Advanced American Biotechnology and Imaging. Bunun yanı sıra yazılım ve bilgisayar programları geliştiren araştırmacılar da bu alanda ciddi katkı koymaya devam etmektedir (17, 18, 19).

Protein Yapısını, İşlevini ve Yapı-Fonksiyon Tahminlemesi Amacı ile Kullanılan Biyoinformatik Araçlar

Protein düzeyinde tespit edilen protein dizisinin tanımlanmasına olanak sağlayan gerek web tabanlı gerek ise yazılım düzeyinde biyoinformatik araçlar mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda sıralanmıştır:

HMMER homolog protein dizilerinin tanımlanması ve analizi için kullanılan başka bir ücretsiz yazılımdır (20). ProtParam bir proteinde bulunan çeşitli fizikokimyasal özellikleri hesaplamak için kullanılan bir hesaplama aracıdır (21). RaptorX (22), JPRED (23), APSSP2 (24) ve MODELLER 70 gibi araçlar protein yapılarının tahminlenmesinde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra Phyre ve Phyre2 gibi web tabanlı protein yapı tahminlemesinde kullanılan araçlar da mevcuttur. (12, 25).

Moleküler Düzeyde Dinamik Simülasyon Amacı ile Kullanılan Biyoinformatik Araçlar

Moleküler düzeyde tahminlemesi yapılmış ya da deneysel çalışmalar sonucunda keşfedilmiş moleküllerin dinamik simülasyonlarının gözlemlenebilir olması ve üç boyutlu ve kristal yapılarının her ayrıntısının belirlenebilmesi araştırma ve geliştirme süreçlerine çok büyük katkılarda bulunmaktadır. Bu amaçlar kullanılabilircek veri tabanlarından birkaçı aşağıda sıralanmıştır.

Abalone bu veri tabanları arasında daha genel kullanıma uygun moleküler modelleme programıdır. Proteinlerin, DNA/RNA moleküllerinin ve ligand etkileşimlerinin moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirilebilmektedir (12, 26).

Ascalaph veri tabanında ise Abalone ile yapılabilen analizlere ek olarak Model geliştirme için kuantum mekaniği hesaplamaları, DNA, proteinler ve hidrokarbonların gaz veya yoğun fazda moleküler mekanik ve dinamik simülasyonları da gerçekleştirilebilmektedir (12, 27).

Bunların yanısıra Discovery Studio daha kapsamlı modellemelerin ve simülasyon paketlerinin yapılabildiği bir veri tabanıdır ve bu yazılım sayesinde küçük molekül simülasyonları, farmakofor modellemeleri, protein-ligand etkileşimleri, protein homoloji modellemeleri, dizi analizleri, antikor modellemeleri de gerçekleştirilmektedir (12, 28).

SİNYALİZASYON VE METABOLİK YOL VERİ TABANLARI

Elde edilen verilerin hangi sinyal yolağı ile ve metabolik yol ile ilişkilendirilebileceği bilgisi biyoinformatik veri analizlerinin anlam kazandığı en önemli nokta olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle ilgili birkaç veri tabanı burada paylaşılmıştır. Örneğin KEGG veri tabanı genomdan ve gen verilerinden elde edilen bilginin kullanılabilirdiği ve fonksiyonel ve moleküler düzeyde hangi sinyal yolaqları ile etkileşimde bulunulabilirdiğini gösteren bir veri tabanıdır (29). The Signaling Gateway Molecule Pages (SGMP) veri tabanı ise verileri analiz edilen proteinler ile sinyal iletim yolaqları arasındaki etkileşimin belirlenebildiği veri tabanıdır (30). The Pathway Interaction Database (PID) KEGG ve SGMP veri tabanlarına benzer şekilde fakat kanser araştırmalarında özelleşmiş bir yazılımı bünyesinde bulundurmaktadır (12, 31).

The Human Metabolome Database (HMDB) ise diğer veri tabanları ile karşılaştırıldığında çok daha kapsamlıdır ve 2180'den fazla endojen metabolitin bilgilerini içermektedir. Bunun yanı sıra binlerce kitap, dergi ve elektronik veri taba-

nından deneysel olarak elde edilmiş ve bilgisi paylaşılmış metabolitlerin idrar, kan ve beyin omurilik sıvısından elde edilen örnekler kullanılarak gerçekleştirilmiş kütle spektroskopisi ve manyetik rezonans analizlerini de bünyesinde barındırmaktadır (12, 32).

Biyoinformatik Araçlar ile Gerçekleştirilen Gen Zenginleştirme Analizleri ve Biyolojik Anlamlılık Tespiti

Yüzlerce hatta binlerce gen yoğunluk verisinin kullanıldığı biyoinformatik araçlar aracılığıyla yapılan analizlerden elde edilen verilerin biyolojik açıdan anlamlandırılması ile yapılan araştırmaların bir sonuca varması sağlanabilmektedir. Bu amaçla gen zenginleştirme analizi (gene-annotation enrichment analysis) hizmeti veren biyoinformatik araçlar geliştirilmiştir. Bu araçlar sayesinde araştırmacıların çalışmalarına en uygun biyolojik süreçleri tanımlamaları mümkün olabilmektedir. Söz konusu araçların bir kısmı genel kullanıma açık veri tabanları olarak karşımıza çıkmaktadır. Örneğin; Onto-Express, MAPPFinder, GoMiner, DAVID, EASE, GeneMerge and FuncAssociate, GOrilla, ShinyGO v0.741, GENEONTOLOGY, PANTHER Classification System, yaklaşık 70 adet gen zenginleştirme analizleri yapabilen veri tabanlarından sadece birkaçıdır (33).

İlaç Tasarımlarında Kullanılan Biyoinformatik Araçlar

Biyoinformatik veri tabanları genel kullanıma sunulmadan önce farmakoloji, klinik bilimler ve kimya gibi çeşitli alanlarda araştırmalarını yürüten araştırmacılar daha kısıtlı imkanlar ile ilaç molekülleri geliştirme ve bu moleküllerin denemelerini gerçekleştirmeye çalışıyorlardı. Yazılım tasarımı ve bilgi teknolojisindeki gelişmeler ve son derece etkili ilaçlar tasarlamak için bilgisayar destekli ilaç tasarımları (CADD) sayesinde bu süreçler çok daha etkin ve hızlı ilerlemeye başladı. Bu veri tabanlarına ait birkaç örnek aşağıda sıralanmıştır.

Örneğin Potential Drug Target Database (PDTD) geniş aralıklı (1207 giriş ve 842 bilinen yapı) ilaç hedeflerinin taranabildiği bir yazılımı bünyesinde bulundurmaktadır (34). Drug Bank ise ilaç-hedef etkileşimlerinin yapılabildiği ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onaylı biyoteknolojik ilaçların, nutrasötiklerin, deneysel ilaçların bulunduğu bir veri tabanıdır (35). Bunun yanı sıra Therapeutic Target Database (TTD) terapötik proteinlerin DNA hedeflerinin, hangi hastalık ile etkileşimde bulunduğu belirlenebildiği bir yazılımdır (36). Bir diğer veri tabanı ise Manually Annotated Targets and Drugs Online Resource (MATADOR)'dur ve protein-kimyasal etkileşimlerinin belirlenebildiği bir yazılımdır ve her etkileşim PubMed ve OMIM ile bağlantılı olarak sunulmaktadır ve sonuçların güvenilirliği bu sayede sağlanmaya çalışılmaktadır (12, 37).

TB ise tüberküloz hastalığına spesifik verilerin bulunduğu daha özelleşmiş bir veri tabanıdır ve inhibitörlerin verilerini de paylaşmaktadır (12,38).

Üç boyutlu ilaç tasarımlarının gerçekleştirilebildiği yenice geliştirilmiş bir veri tabanı da MolAICal'dır yapay zeka ve algoritmaların kullanıldığı, derin öğrenme modellerinin ve klasik programlamanın kullanıldığı genel kullanıma açık bir araçtır (39, 40).

Biyomedikal, Biyoteknoloji ve Sağlık Bilimlerinde Daha Özel Amaçlar İçin Kullanılan Biyoinformatik Araçlar

Yukarıda bahsedilen araştırma alanları dışında çok daha özel amaçlar için oluşturulmuş veri tabanları ve yazılımlar da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Örneğin, deneysel araştırmadan elde edilen microRNA dizilerinin hastalıklar ile ilişkisini tespit etmek için tasarlanmış MiRscan ve miRseeker gibi biyoinformatik araçlar mevcuttur (41). Bunun yanı sıra glikobiyoloji ve glikoproteomik araştırmalarda kullanılmak üzere glikan yapısı, glikosilasyon bölgeleri, protein iskeleleri ve ilgili glikojenler bu verileri depolamak, analiz etmek ve entegre etmek için geliştirilmiş JCGGDB gibi veri tabanları mevcuttur (42). İlâveten, kodlamayan RNA (ncRNA) etkileşimlerinin gerçekleştirildiği (43), metabolomik veri analizlerinin yapılabildiği (44), ökaryotik rRNA'da nükleotid modifikasyonlarının tespit edilebildiği (45) ve enzim tasarımlarının yapılabildiği (46) yazılımlar ve arayüzler mevcuttur.

Spesifik amaçlar için kullanılan veri tabanları ve yazılımların yanında çok daha kompleks amaçlar ve analizler için kullanılabilecek araçlar da mevcuttur. Örneğin, oposSOM, biyobelirteç seçimi, fonksiyon madenciliği ve görselleştirme gibi işlevleri birleştiren makine öğrenimi tabanlı açık kaynaklı ve kapsamlı bir veri analizi yazılımıdır (47, 48).

SONUÇ

Biyolojik bilimlerde gerek biyoteknolojik buluşlar gerekse klinik uygulamaları için kaynakların verimli kullanılması gerekmektedir. Deneyimli araştırmacıların zaman ve ekonomik olarak çok daha verimli sonuçlara ulaşabilmesi için biyoinformatik analizlerin önemi büyüktür. Büyük veri analizleri ile elde edilen tahminlemeler sonucunda elde edilen bilgiler ile gerçekleştirilen uygulamalı projeler ve çalışmaların başarı oranı arttırılabilmektedir. Bu bağlamda yukarıda bahsi geçen ve sayısı ve uygulamak alanı çok daha fazla olup burada bahsedilememiş birçok biyoinformatik veri tabanı etkin bir şekilde kullanılmalıdır. Bu sayede ulusal ve küresel anlamda gelişme sağlanabilecektir.

KAYNAKÇA

1. Hogeweg P, Hesper B. Interactive instruction on population interactions. *Comput Biol Med* 1978; 8: 319–327. [https://doi.org/10.1016/0010-4825\(78\)90032-X](https://doi.org/10.1016/0010-4825(78)90032-X)
2. Hood L., Hunkapiller M., Hewick R. Microchemical instrumentation. *Journal of Supramolecular Structure and Cellular Biochemistry*. 1981; 17(1): 27-36 <https://doi.org/10.1002/js-sc.380170104>
3. Watson J. The Human Genome Project: Past, Present, and Future. *Science* 1990; 248 (4951): 44-49. DOI: 10.1126/science.2181665
4. Stretton A. The First Sequence: Fred Sanger and Insulin. *Genetics*, 2002; 162 (2); 527–532, <https://doi.org/10.1093/genetics/162.2.527>
5. Harris J, Sanger F, Naughton M.A. Species differences in insulin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1956; 65 (1); 427-438
6. Penswick J.R., Martin R., Dirheimer G. Evidence supporting a revised sequence for yeast alanine tRNA. *FEBS Lett*. 1975; 15;50(1):28-31. doi: 10.1016/0014-5793(75)81033-7.
7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
8. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
9. Kent W.J. BLAT-The BLAST-Like Alignment Tool. *Genome Res*. 2002. 12: 656-664. doi: 10.1101/gr.229202
10. Rajaei P., Jahanian K.H., Beheshti A. VIRMOTIF: A User-Friendly Tool for Viral Sequence Analysis. *Genes* 2021, 12(2), 186; <https://doi.org/10.3390/genes12020186>
11. Allen J.E., Salzberg S.L. JIGSAW: integration of multiple sources of evidence for gene prediction. *Bioinformatics* 2005; 21: 3596-3603.
12. Mehmood M. A., Sehar U., Ahmad N., Use of bioinformatics tools in different spheres of life sciences. *Journal of Data Mining in Genomics & Proteomics*, 2014; 5 (1). doi:10.4172/2153-0602.1000158
13. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf/>
14. Burge C., Karlin S. Prediction of complete gene structures in human genomic DNA. *J Mol Biol* 1997;268: 78-94.
15. Binas M Designing PCR primers on the web. *Biotechniques* 2000; 29: 988-990.
16. Abd-Elsalam K.A. Bioinformatic tools and guideline for PCR primer design. *African Journal of Biotechnology* 2003; 2 (5); 91-95
17. Rychlik W, Rhoads R.E. (1989). A computer program for choosing optimal oligonucleotides for filter hybridization, sequencing and in vitro amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*. 17: 8543-8551.
18. Lowe T, Sharefkin J, Yang S.Q., et al. (1990). A computer program for selection of oligonucleotide primers for polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res*. 18: 1757-1761.
19. O'Hara P.J., Venezia D. (1991). PRIMEGEN: a tool for designing primers from multiple alignments. *CABIOS* 7: 533-534.
20. Finn R.D., Clements J, Eddy S.R. HMMER web server: interactive sequence similarity searching. *Nucleic Acids Res* 2011; 39; 29-37
21. Gasteiger E., Hoogland C., Gattiker A., et al. In: *The proteomics protocols handbook; Protein identification and analysis tools on the ExPASy server*. Springer 2005; 571-607.
22. Källberg M., Wang H., Wang S., et al. Template-based protein structure modeling using the RaptorX web server. *Nat Protoc* 2012; 7: 1511- 1522.
23. Cuff J.A., Clamp M.E., Siddiqui A.S., JPred: a consensus secondary structure prediction server. *Bioinformatics* 1998; 14: 892-893.
24. <http://crdd.osdd.net/raghava/apssp2/>

25. Kelley L.A., Sternberg M.J. Protein structure prediction on the Web: a case study using the Phyre server. *Nat Protoc* 2009; 4: 363-371.
26. <http://www.biomolecular-modeling.com/Abalone/index.html>
27. <http://www.biomolecular-modeling.com/Products.html>
28. <https://www.accelrys.com/products/discovery-studio/>
29. Kanehisa M. The KEGG database. *Silico Simulation of Biological Processes* 2002; 247: 91-103.
30. Dinsarapu A.R., Saunders B., Ozerlat I., et al. Signaling gateway molecule pages--a data model perspective. *Bioinformatics* 2011; 27: 1736-1738.
31. Schaefer C.F., Anthony K., Krupa S., et al. PID: the Pathway Interaction Database. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: D674-679.
32. Wishart D.S., Tzur D., Knox C., et al. HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: D521-526.
33. Huang D.W., Sherman B.T., Lempicki A.R. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Res.* 2009; 37(1):1-13. doi: 10.1093/nar/gkn923.
34. Gao Z., Li H., Zhang H., et al. PDTD: a web-accessible protein database for drug target identification. *BMC Bioinformatics* 2008; 9: 104.
35. Law V., Knox C., Djoumbou Y., et al. DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: D1091-1097. 1
36. 36: Chen X., Ji Z.L., Chen Y.Z. TTD: Therapeutic Target Database. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 412-415.
37. Günther S., Kuhn M., Dunkel M., et al. SuperTarget and Matador: resources for exploring drug-target relationships. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: D919-922.
38. <http://www.bioinformatics.org/tbdtb/>
39. Bai Q., Tan S., Xu T., Liu H., Huang J., Yao X. MolAICal: a soft tool for 3D drug design of protein targets by artificial intelligence and classical algorithm. *Briefings in Bioinformatics*, 2021; 22 (3), 1-12, <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa161>
40. <https://molaical.github.io>
41. Akhtar M.M., Micolucci L., Islam M.S., Fabiola Olivieri F., Procopio A.D. Bioinformatic tools for microRNA dissection. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44 (1). doi: 10.1093/nar/gkv1221
42. Li X., Xu Z., Hong X., Zhang Y., Zou X. Databases and Bioinformatic Tools for Glycobiology and Glycoproteomics. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21, 6727; doi:10.3390/ijms21186727
43. Riveros A.A., Morales D., Josefa Antonia Rodríguez J.A., Villegas V.E, Kleine L.L. Bioinformatic Tools for the Analysis and Prediction of ncRNA Interactions. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 11397. <https://doi.org/10.3390/ijms222111397>
44. Ramell A.M., Rodriguez M.P., Alay A. Evaluation and comparison of bioinformatic tools for the enrichment analysis of metabolomics data. *BMC Bioinformatics* 2018; 19:1. DOI 10.1186/s12859-017-2006-0
45. Przybylska D.P., Decatur W.A., Fournier M.J. New bioinformatic tools for analysis of nucleotide modifications in eukaryotic rRNA. *Bioinformatics* 2007; 13:305-312.
46. Suplatov D., Voevodin V., Švedas V. Robust enzyme design: Bioinformatic tools for improved protein stability. *Biotechnol. J.* 2015; 10, 344-355.
47. www.izbi.uni-leipzig.de/opus-om-browser
48. Wirth H.L., Reikowski J., Hakobyan S., Wagner J., Binder H. oposSOMBrowser: an interactive tool to explore omics data landscapes in health science. *BMC Bioinformatics* 2020; 21:465 <https://doi.org/10.1186/s12859-020-03806-w>