

Key Pathway Advisor Quick Guide

<https://apps.clarivate.com/kpa>

- [Key Pathway Advisor \(KPA\) 解析の基本ステップ（データのアップロード）](#)
- [解析結果の確認：KEY HUBS](#)
- [解析結果の確認：Pathway Maps](#)
- [解析結果の確認：Drug Targets](#)
- [解析結果の確認：Putative Biomarkers](#)

KPA でできること

□ 遺伝子の発現変動を共通して調節している上流因子の予測

Causal reasoningアルゴリズムに基づき、発現変動遺伝子上流因子（Key Hubs）を探索することが可能です。

□ 相乗的エンリッチメント解析

Key Hubsをエンリッチメント解析へ取り込むことで、実験データの生物学的意義をより深く解釈することが可能です。

□ 発現変動遺伝子が分子プロセスにどのように影響するかを予測

Signaling pathway impact analysis (SPIA)アルゴリズムに基づき、パスウェイの各因子への影響を予測することができます。

□ バイオマーカー解析・Drug Target解析

指定した疾患において、発現変動遺伝子／Key Hubsが医薬品開発の標的分子として適しているか、それらについて医薬品開発が行われているか、を簡便に評価することが可能です。

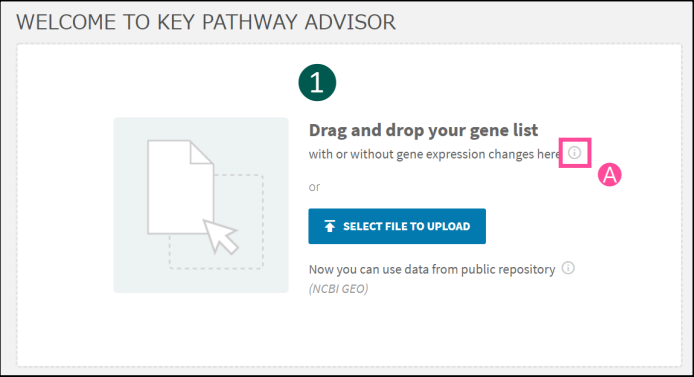
□ レポート作成（HTMLレポート、PDFレポート、XLSレポート）

□ MetaCoreへのリンク

Key Pathway Advisor (KPA) 解析の基本ステップ

この資料では解析ワークフローを、使用の際の注意点も含めてご案内します。
解析アルゴリズムの詳細等については、KPA画面から入手可能なヘルプ資料をご参照ください。

File Upload（データのアップロード）の手順



1 ログインするとアップロード画面を表示します。発現変動遺伝子などのデータを Drug & Drop します。

A クリックするとアップロード可能な ID、データ形式などを確認できます。詳しくは本資料下部の [アップロード可能なデータ形式] をご覧ください。

	A	B	C	D
1	ID	logFC		
2	NM_014080	3.88179518		
3	NM_002422	3.43235419		
4	NM_002909	3.08160905		
5	NM_007231	3.06872578		
6	NM_001511	2.71880379		
7	NM_002416	2.68122783		
8	NM_002421	2.611158		
9	XM_940819	2.61011234		
10	NM_006507	2.58014072		

2 ここではこのデータを使用します。アップロードするデータには発現値 (Fold Change, Intensity 等) は必須ではありませんが、発現値を付与することで Causal Reasoning 機能での解析（上流解析）が可能になります。

アップロード可能なデータ形式

< ファイルの形式 >

- Excel 及び Text 形式（.TXT、.XLS/XLSX の各ファイル形式）。
- 1,000 以上の遺伝子をアップロードした場合、発現変動値付きデータの場合は、自動的に変動値の大きい上位 1,000 遺伝子のみを対象として解析します。ID のみのデータの場合、自動的にリストの上から順に 1,000 遺伝子を選択します。推奨アップロード ID 数は 300 ~ 600 程度です。
- 現在 KPA は、発現変動値に付随する p-value 付きデータも受け付けますが、閾値の設定や p-value を考慮した計算はできません。
- 解析できるデータサイズは 10MB までです。

< 読み込み可能な ID >

(ヒトの遺伝子・タンパク質 ID)

EntrezGene (LocusLink) IDs

Gene symbol (e.g. TP53, etc.)

Affymetrix tag IDs (expression)

Illumina tag IDs (expression)

Agilent tag IDs (expression)

Codelink tag IDs (expression)

OMIM IDs

RefSeq IDs

Unigene IDs

ENSEMBL IDs

SwissProt IDs

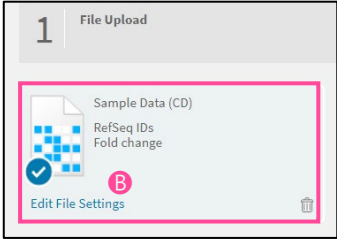
GeneBank IDs

Panther IDs

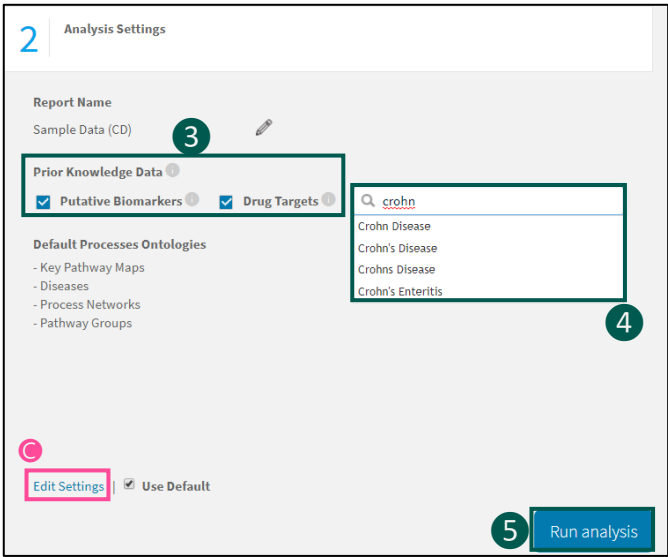
MetaCore gene IDs

Key Pathway Advisor Quick Guide

Analysis Settings（解析内容の設定）



B データをアップロードすると、基本的にはデータのIDを自動で認識します。もし変更が必要な場合はEdit File Settingsから変更が可能です。



3 データをDrug & Dropすると設定画面を表示。Putative Biomarkers解析やDrug Targets解析を行う場合はチェックボックスにチェックを入力。上記の2つの解析を行わない場合は、そのまま解析を進めることが可能です。

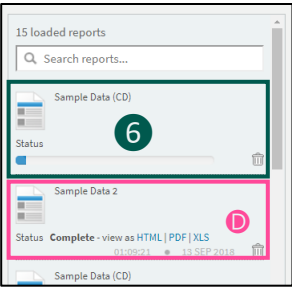
4 入力ボックスに、Putative Biomarkers 解析、Drug Targets解析を行いたい疾患名を入力。途中まで入力するとアシスト機能が候補疾患名をリスト表示します。

C エンリッチメント解析のOntologyの設定やP-value thresholdなどの追加の設定を行えます。詳しくは本資料下部の [Analysis Settingについて]をご覧ください。

5 Run analysisをクリックします。

6 解析のStatusを表示。解析が完了すると、データ名をクリックし解析結果を確認できます。解析が完了すると登録されたメールアドレス宛てにメールが送信されます。

D 過去の解析結果も併せて表示され、一度解析を行った結果についてはいつでも確認可能です。また、PDF、Excelの各形式でも解析レポートとして出力できます。



Analysis Settingについて

Analysis Settingでは以下の設定を変更できます。

・ Processes Ontologies

エンリッチメント解析を行うオントロジーを選択できます。GO termについてはデフォルトでは解析を行いませんが追加することも可能です。

・ Advanced Settings

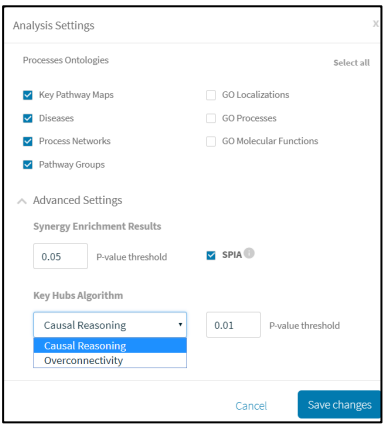
Synergy Enrichment及びKey Hub解析を行う際のP-valueのThresholdを設定できます。デフォルトでは0.05、0.01がそれぞれ設定されています。

またKey Hub解析に用いるアルゴリズムを選択できます。

・ Causal Reasoning：分子の相互作用を分析し上流の制御因子を予測

・ Overconnectivity：より多くの分子と相互作用するハブ分子を探索

なお、デフォルトではCausal Reasoningが適用されますが、実験値がないデータの場合はOverconnectivityが適用されます。



解析結果の確認：KEY HUBS

この資料では解析結果の見方についてご紹介します。KEY HUBSの機能ではアップロードした発現変動遺伝子を上流で制御している可能性のあるハブ分子を同定することが可能です。

解析結果の確認フロー

1

2

3

YOUR DATA

KEY HUBS

KEY PROCESSES

Pathway Maps

Pathological Pathway Maps

Physiological Pathway Maps

Diseases

Process Networks

Pathway Groups

DRUG TARGETS

Similar diseases

PUTATIVE BIOMARKERS

Similar diseases

ANALYSIS SETTINGS

Sample Data (CD)

496 IDENTIFIERS IN YOUR DATA

The list of identifiers uploaded into the system for this analysis. If the list contains fold change values KPA assumes that these are fold changes of gene expression or protein abundance change data.
Hover over each heading for more details or click to sort by that column (click twice to reverse sort order).
[Click here for more details](#)

#	Input ID	Fold change	p-value	Gene	Molecular Entity	Molecular Function
1	NM_000029	1.11	0.1229	AGT	Angiotensin III, Angiotensin (1-7), Angiotensinogen, Angiotensin IV, Angiotensin II, Angiotensin I, Angiotensin (2-10), Angiotensin (1-9)	Receptor ligand, Generic protein
2	NM_000089	1.05	0.1706	COL1A2	COL1A2(CP), NTX1a2, COL1A2, CO1A2(NP)	Generic binding protein
3	NM_000198	-2.72	0.1968	HSD3B2	HSD3B2	Generic enzyme
4	NM_00020	1.06	0.1998	CFI	Factor I	Generic protease

2

3

YOUR DATA

KEY HUBS

KEY PROCESSES

Pathway Maps

Pathological Pathway Maps

Physiological Pathway Maps

Diseases

Process Networks

Pathway Groups

DRUG TARGETS

Similar diseases

PUTATIVE BIOMARKERS

Similar diseases

ANALYSIS SETTINGS

Sample Data (CD)

496 IDENTIFIERS IN

The list of identifiers uploaded i
expression or protein abundanc
Hover over each heading for mo
[Click here for more details](#)

3

4

YOUR DATA

KEY HUBS

KEY PROCESSES

Pathway Maps

Pathological Pathway Maps

Physiological Pathway Maps

Diseases

Process Networks

Pathway Groups

DRUG TARGETS

Similar diseases

PUTATIVE BIOMARKERS

Similar diseases

ANALYSIS SETTINGS

Sample Data (CD)

1251 PREDICTED KEY HUBS (PROTEIN/RNA ACTIVITY)

This analysis utilises the direction of fold change found in your data to predict pote
chain reaction (also known as pathway or signal cascade). This is known as causal r
Hover over each heading for more details or click to sort by that column (click twice
[Click here for more details](#)

#	Molecular Entity	Gene	Molecular Funct
1	ALPHA-PIX	ARHGEF6	Regulators (GD
2	IL-2 receptor	IL2RG, IL2RA, IL2RB	Receptor
3	OSM receptor	OSMR, IL6ST	Receptor

1

2

3

解析結果を開くとまずアップロードしたデータを表示します。

タブを切り替えることで各種解析結果を確認することができます。

「KEY HUBS」をクリックします。

実験データを制御している可能性のある重要なハブ分子のリストを表示します。

予測されたKEY HUBSのトータル数が表示されます。

Key Pathway Advisor Quick Guide

1251 PREDICTED KEY HUBS (PROTEIN/RNA ACTIVITY)

This analysis utilises the direction of fold change found in your data to predict potential molecules that could be “causative” further upstream of the biological chain reaction (also known as pathway or signal cascade). This is known as causal reasoning analysis.
Hover over each heading for more details or click to sort by that column (click twice to reverse sort order).
[Click here for more details](#)

Download Report

1251 PREDICTED KEY HUBS (PROTEIN/RNA ACTIVITY)

#	Molecular Entity	Gene	Molecular Function	Predicted Activity	Supportive/total data	P-value	Path Length	
1	ALPHA-PIX	view ARHGEF6	Regulators (GDI GAP GEF etc.)	▲	75/80	2.126E-17	3	
2	IL-2 receptor	view IL2RG, IL2RA, IL2RB	Receptor	▲	68/71	2.529E-17	3	

C

D

E

F

G

1251 PREDICTED KEY HUBS (PROTEIN/RNA ACTIVITY)

This analysis utilises the direction of fold change found in your data to predict potential molecules that could be “causative” further upstream of the biological chain reaction (also known as pathway or signal cascade). This is known as causal reasoning analysis.
Hover over each heading for more details or click to sort by that column (click twice to reverse sort order).
[Click here for more details](#)

1251 PREDICTED KEY HUBS (PROTEIN/RNA ACTIVITY)

#	Molecular Entity	Gene	Molecular Function
1	ALPHA-PIX	view ARHGEF6	Regulators (GDI GAP GEF etc.)
2	IL-2 receptor	view IL2RG, IL2RA, IL2RB	Receptor
3	OSM receptor	view OSMR, IL6ST	Receptor

H

- C

予測されたハブ分子の発現変化の方向性（活性化／抑制）を示します。
- D

Supportive data＝実験データのうちPredicted Activityで予測されているハブ分子の方向性と活性化の方向性が一致する分子の数 / Total data＝実験データ中の各ハブ分子によって制御される分子の総数を示します。
- E

P-value：各ハブ分子毎のP-valueを示します。
- F

Path Length：実験データと各ハブ分子の間のステップ数を示します。（最大3ステップまで）
- G

実験データ中に存在する分子についてはここに発現の方向性を示す▲▼を表示します。

4

「view」をクリックします。

H

リンクをクリックすることで各分子のより詳細な情報を確認できます。詳しくは本資料下部の[各分子の詳細情報の確認]をご覧ください。

各分子の詳細情報の確認

Molecular Entity名やGene名をクリックすると、以下の情報が表示されます。

- Summary：各分子のFull name、シノニム、概要、局在などの情報の他、MetaCore、NCBI等へのリンクも提供しています。
- Interactions：選択した分子が関与する相互作用をまとめています。これらは相互作用の種類別に分類されています。内訳を円グラフで表示しており、相互作用の種類をクリックすると、相互作用の効果の内訳が表示されます（画面右：activates, inhibitsなど）。
- 各分子の周辺分子の情報などのより詳細な情報を確認するには、MetaCoreへのリンクが便利です。

ARHG6_HUMAN

(Molecular Entity: ALPHA-PIX)

Summary

NAME: Rho guanine nucleotide exchange factor 6

SYNONYMS: Rac/Cdc42 guanine nucleotide exchange factor 6 + CDOL2 + PAK-interacting exchange factor alpha + Alpha-Pix

DESCRIPTION: Acts as a RAC1 guanine nucleotide exchange factor (GEF).

LOCALIZATION: cell projection + cytosol + lamellipodium

METACORE MOLECULAR ENTITY

ALPHA-PIX

UNIPROT: ARHG6_HUMAN

RELATED ENTRY GENE: ARHG6

Interactions

BINDING: 86

PHOSPHORYLATION: 2

TRANSFORMATION: 2

ACTIVATES: 1

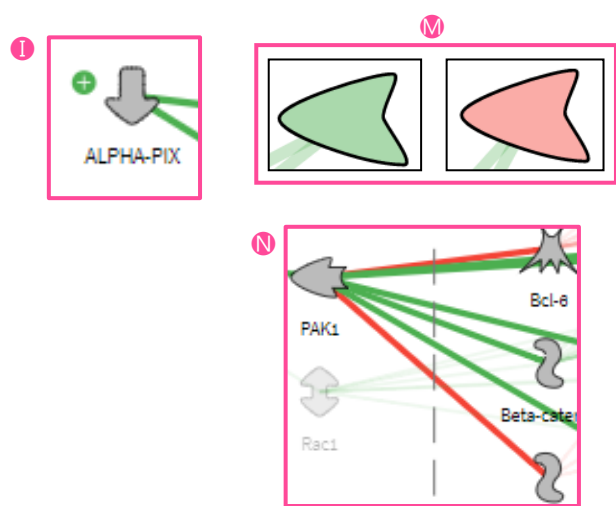
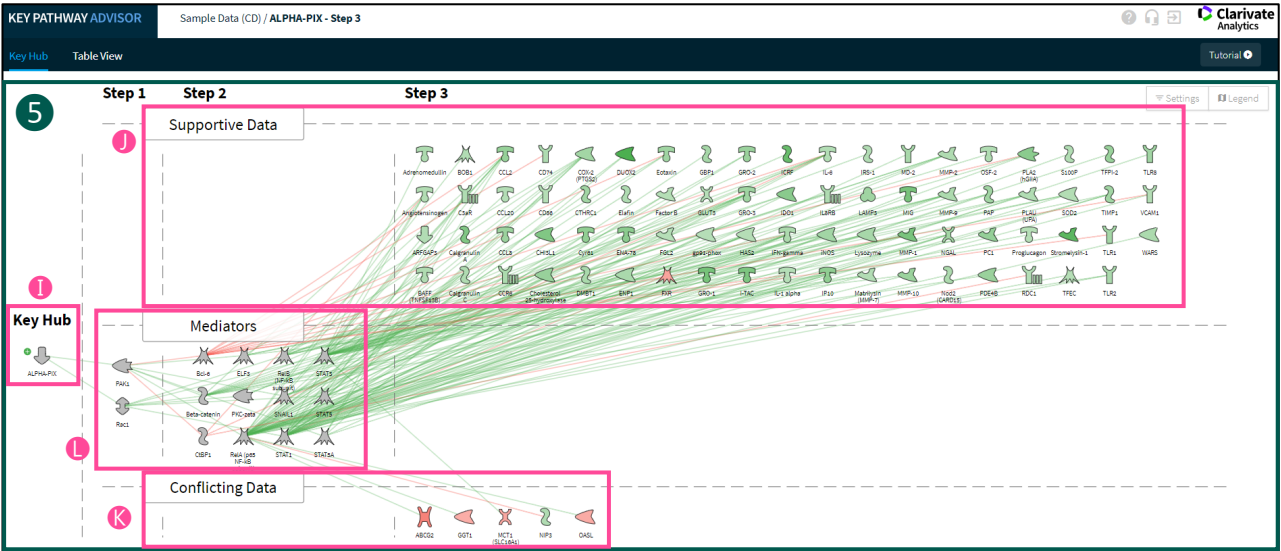
INHIBITS: 0

ACTIVATED BY: 3

INHIBITED BY: 0

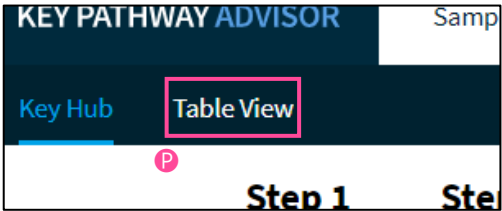
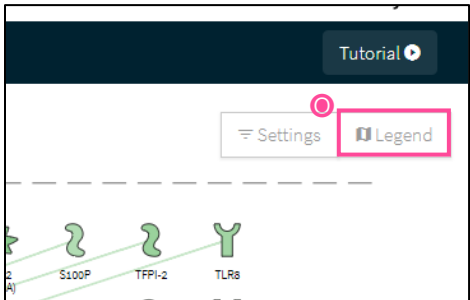
UNSPECIFIED: 82

Key Pathway Advisor Quick Guide

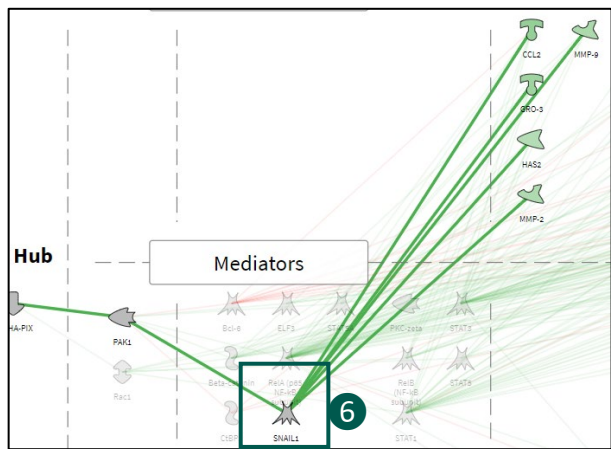


5 実験データとハブ分子との制御関係を表示します。

- I Key Hub : 実験データ内の分子を上流で制御するハブ分子 (Key Hub)。解析から予測された発現変化の方向性 (Predicted Activity) はアイコンの左横に+ (プラス) または- (マイナス) の記号で表示されます。
- J Supportive Data : 予測されたハブ分子の発現変化の方向性を支持する発現変化をしている実験データ内の分子になります。
- K Conflicting Data : 予測されたハブ分子の発現変化の方向性と相反する発現変化をしている実験データ内の分子になります。
- L Mediators : ハブ分子と実験データ内の分子を仲介する分子になります。
- M アイコンの色は、緑が実験データの中で活性化されていた分子、赤が抑制されていた分子を表します。また、灰色の分子は実験データの中には含まなかった分子です。
- N アイコンを結ぶ線は、緑が上流 (左側) の分子が下流 (右側) の分子を活性化する関係、赤は上流の分子が下流の分子を抑制する関係にあることを表します。
- O 各アイコンの意味は画面右上の「Legend」から確認できます。
- P 画面上部の「Table View」をクリックするとテーブル表示に切り替えることが可能です。



Key Pathway Advisor Quick Guide



6 分子のアイコンをクリックします。
関連する相互作用がハイライト表示され、ポップアップが立ち上がります。ポップアップには相互作用の一覧などが表示されます。

 **SNAIL1**
[View Path](#)

6 Interactions

6 INTERACTIONS

From	Mechanism	To
PAK1	Phosphorylation	SNAIL1
SNAIL1	Transcription regulation	CCL2

7 相互作用の一覧の Mechanism 名をクリックします。

8 各相互作用に関する出典文献の一覧を表示します。

Detailsの中には文献の概要の他、実験手法、使用した組織や細胞株の情報、リン酸化部位など、文献中に記載された情報をまとめてあります。

8

FROM

PAK1

Serine/threonine-protein kinase PAK 1

Phosphorylation

TO

SNAIL1

Zinc finger protein SNAIL1

References (2)

Cancer research 2014 Aug 14;
PAK1 tyrosine phosphorylation is required to induce epithelial-mesenchymal transition and radioresistance in lung cancer cells.
Kim E, Youn H, Kwon T, Son B, Kang J, Yang HJ, Seong KM, Kim W, Youn B

Details:

PROTEIN FROM PAK1_HUMAN	MECHANISM Phosphorylation	PROTEIN TO SNAIL1_(HUMAN)_Ph_S246*	EFFECT Activation	TISSUE / CELL LINE A549
DESCRIPTION IR-activated PAK1 directly interacts with Snail and regulates transcriptional repression activity of Snail by Ser phosphorylation in NSCLC cells.			METHODS USED IN STUDY site-directed mutagenesis • protein kinase assay • coimmunoprecipitation • mass spectrometry • luciferase reporter gene assay • inhibitor treatment	

解析結果の確認 : Pathway Maps

この資料では解析結果の見方についてご紹介します。Pathway Mapsの機能ではアップロードした発現変動遺伝子が関連する生体内の生物学的プロセスを知ることが可能です。

解析結果の確認フロー

KEY PATHWAY ADVISOR

YOUR DATA

KEY HUBS

KEY PROCESSES

Pathway Maps

Pathological Pathway Maps

Physiological Pathway Maps

Sample Data (CD)

204 KEY PATHWAY MAPS

Pathway maps are graphic images representing complete biochemical pathways or signaling cascades in a commonly accepted sense. To explore which changes in pathway activity that could be represented by changes in individual genes/proteins in your data an enrichment analysis was performed. Hover over each heading for more details or click to sort by that column (click twice to reverse sort order).

Click here for more details

1

1 「Pathway Maps」をクリックすると、Key Pathway Mapsの一覧が表示されます。

A 解析によって同定されたパスウェイマップの総数が表示されます。

KEY HUBS

KEY PROCESSES

Pathway Maps

Pathological Pathway Maps

Physiological Pathway Maps

Diseases

Process Networks

Pathway Groups

DRUG TARGETS

Similar diseases

PUTATIVE BIOMARKERS

Similar diseases

ANALYSIS SETTINGS

204 KEY PATHWAY MAPS

Pathway maps are graphic images representing complete biochemical pathways or signaling cascades in a commonly accepted sense. To explore which changes in pathway activity that could be represented by changes in individual genes/proteins in your data an enrichment analysis was performed. Hover over each heading for more details or click to sort by that column (click twice to reverse sort order).

Click here for more details

Download Report

View Pathway impact All

1 2 3 >

Name	Impact P-value	Path Activity
1 Immune response_IL-17 signaling pathways	2.4506E-9	▲
2 Immune response_MIF-mediated glucocorticoid regulation	8.5802E-7	▲
3 Cell adhesion_ECM remodeling	1.6449E-6	▲

B

C

2

B Impact P-value : 相乗的エンリッチメント解析によるパスウェイマップのP-valueを示す。

C Path Activity : そのパスウェイが活性化されている (▲) か、抑制されている (▼) かを表示。疾患関連マップや予測ができなかったものについてはNAと表示します。

2 マップ名をクリック。対応するパスウェイマップが表示されます。

D マップ内の各アイコンの意味は画面右上の「Legend」から確認できます。

KEY PATHWAY ADVISOR

Sample Data (CD) / Immune response_IL-17 signaling pathways

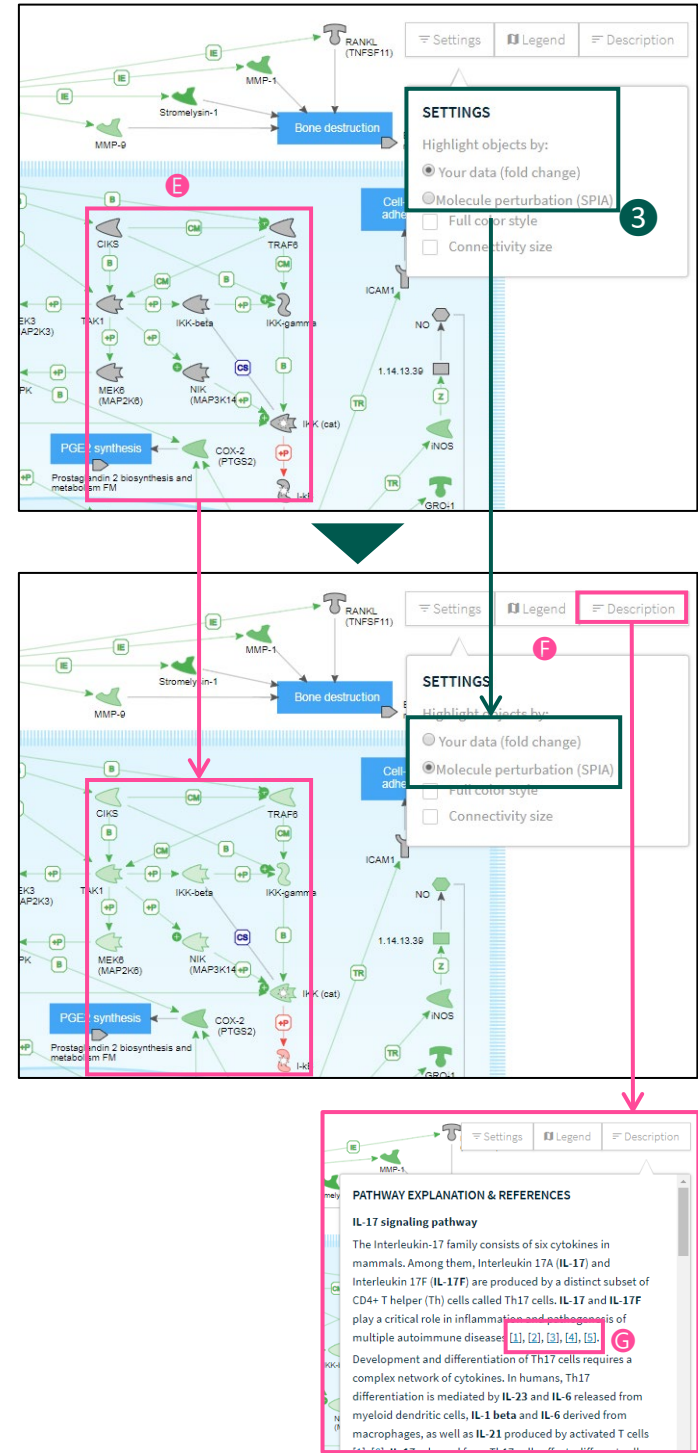
Clarivate Analytics

Pathway Map Table View

Tutorial

Settings Legend Description

Signaling Pathway Impact Analysis (SPIA)



3 画面右上の Settings の中から「Molecule perturbation (SPIA)」をクリック。デフォルトでは「Your data (fold change)」が選択されています。

E SPIAによって実験データに含まれる上流の分子の発現変化を分析し、その下流の分子の発現変化を予測します。

F 画面右上の「Description」をクリックすると、パスウェイマップの概要を確認できます。

G マップの構築の際に利用した情報の出典元の文献情報へのリンクを提供しています。

解析結果の確認：Drug Targets

この資料では解析結果の見方についてご紹介します。Drug Targetsの機能では実験データ中の発現変動遺伝子、もしくは推測された重要ハブ分子が、指定した疾患（もしくはその類似疾患）について、薬剤開発の標的となっているかの情報、およびその開発段階を確認することが可能です。

解析結果の確認フロー

YOUR DATA

KEY HUBS

KEY PROCESSES

Pathway Maps

Pathological Pathway Maps

Physiological Pathway Maps

Diseases

Process Networks

Pathway Groups

1 DRUG TARGETS

Similar diseases

26 DRUG TARGETS (PRIOR KNOWLEDGE)

A This tab shows existing drugs in preclinical to launched stages from dataset. Such context around your genes may give a clue about p

#	Gene	Molecular Function
1	ABCB1	Transporter
2	ABCG2	Generic channel
3	APP	Generic receptor
4	BCL2	Generic binding protein

1「DRUG TARGETS」をクリック。
医薬品開発のターゲットとなっている分子のリストが表示されます。

A 医薬品開発のターゲットとなっている分子の総数が表示されます。これらの結果は化合物データベース Cortellis Drug Discovery Intelligenceを情報源としています。

KEY HUBS

KEY PROCESSES

Pathway Maps

Pathological Pathway Maps

Physiological Pathway Maps

Diseases

Process Networks

Pathway Groups

DRUG TARGETS

Similar diseases

PUTATIVE BIOMARKERS

Similar diseases

26 DRUG TARGETS (PRIOR KNOWLEDGE)

This tab shows existing drugs in preclinical to launched stages from the Clarivate Analytics Integrity's database for genes in your dataset. Such context around your genes may give a clue about prospective targets and the competitive landscape.

Download Report

#	Gene	Molecular Function	Drug	Drug Phase	Selected disease
1	ABCB1	Transporter	Budesonide Rifabutin/clarithromycin/clofazimine * Siroliimus *	Launched Phase III Phase II/III	Crohn Disease
2	ABCG2	Generic channel	Budesonide	Launched	Crohn Disease
3	APP	Generic receptor	Semapimod hydrochloride	Phase II	Crohn Disease
4	BCL2	Generic binding protein	Cyclophosphamide *	Phase I/II	Crohn Disease
5	CCL11	Receptor ligand	Bertilimumab	Phase I	Crohn Disease
6	CD19	Generic binding protein	Siroliimus *	Phase II/III	Crohn Disease

B

C

D

E

F

- B 予測されたハブ分子の中の分子であれば発現の方向性を表す▲▼が表示されます。

C 実験データ中の分子であれば発現の方向性を表す▲▼が表示されます。

D 開発薬剤名です。過去12-18ヶ月の間で、以下のいずれかの情報があり、現在開発中であると考えられるものについてはUnder Active Development（UAD）の表示(*)が付与されます。
a) プレスリリース、アニュアルレポートでの言及、企業のホームページ上での言及(特に、企業が公表する開発品リストにその医薬品候補が含まれる場合)がある

b) バイオ系文献（学術雑誌や学会）において、開発の進捗を示す言及がある
- E 薬剤の開発段階です。Preclinicalから臨床のフェーズ、Launchedまでの各段階で表されます。

F 対象疾患名です。データアップロード時のSettingで指定した疾患及びそのカテゴリーに含まれる疾患名が表示されます。

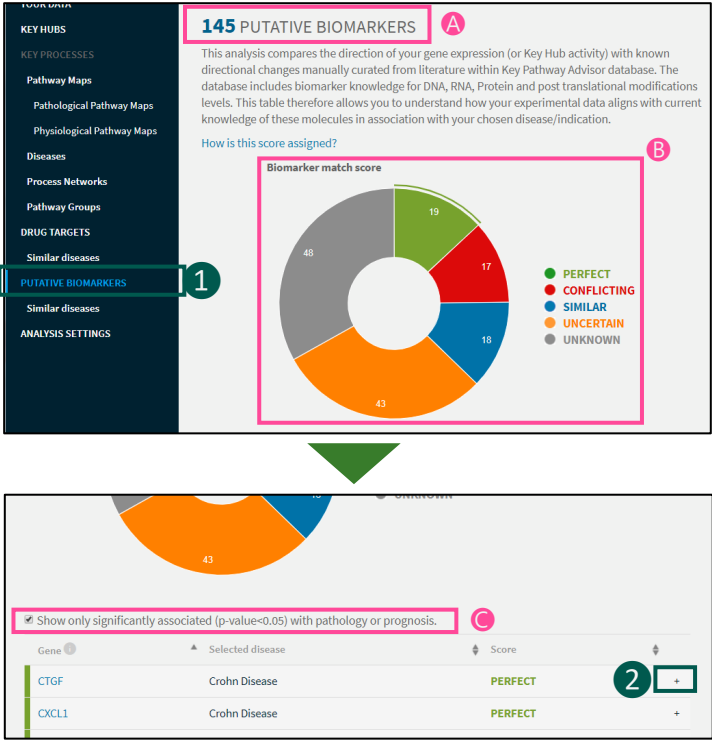
G Medical Subject Headings (MeSH)に準拠して、類似した病因を持つ疾患、若しくは類似組織・臓器に関連した疾患について、同様のDrug Targets解析を行います。

解析結果の確認：Putative Biomarkers

この資料では、実験データ中の遺伝子の発現変動、もしくは推測される重要ハブ分子の活性が、特定の疾患（もしくはその類似疾患）に関して論文で報告されるバイオマーカー情報と一致するかどうかを解析します。この一致の程度は‘Biomarker match score’として、Perfect、Similar、Uncertain、Conflicting、Unknownの5つのグレードで表されます。

この解析により、各遺伝子および重要ハブ分子が特定の疾患に関するバイオマーカーとして報告されているかを、簡単に確認することができます。

解析結果の確認フロー



- 「PUTATIVE BIOMARKERS」をクリック。
論文で報告されているバイオマーカーと一致する分子のリストが表示されます。
 - A 論文で報告されているバイオマーカーと一致する分子の総数が表示されます。
 - B Biomarker match score：論文で報告されているバイオマーカーとの一致の程度を表します。詳しくは本資料下部の [Biomarker match score]をご参照ください。
- リストの各分子の右の+（プラス）をクリック。
 - C チェックをはずすことで、疾患との関係について信頼性が低い情報も参照することが可能です。

Biomarker match score
Perfect
遺伝子、もしくはKey Hubの活性の向き（活性化／抑制）が既知の報告と一致する。（例：特定の遺伝子について、実験データで発現増加しており、文献でも対象疾患における発現増加の報告がある。）
Conflicting
遺伝子、もしくはKey Hubの活性の向き（活性化／抑制）が既知の報告と相反する。（例：特定の遺伝子について、実験データでは発現増加しているが、文献では対象疾患において発現減少の報告がある。）
Similar
遺伝子、もしくはKey Hubの活性の向き（活性化／抑制）が既知の報告と一致しているが、発現レベルの相違（Activity／Abundanceの違い等）があり追加の確認が必要と考えられる。
Uncertain
遺伝子、もしくはKey Hubの活性の向き（活性化／抑制）が既知の報告と相反しており、かつ発現レベルの相違（Activity／Abundanceの違い等）がある。
Unknown
実験データまたは既知の報告のいずれかが、発現の方向性に関する情報を欠いている。

