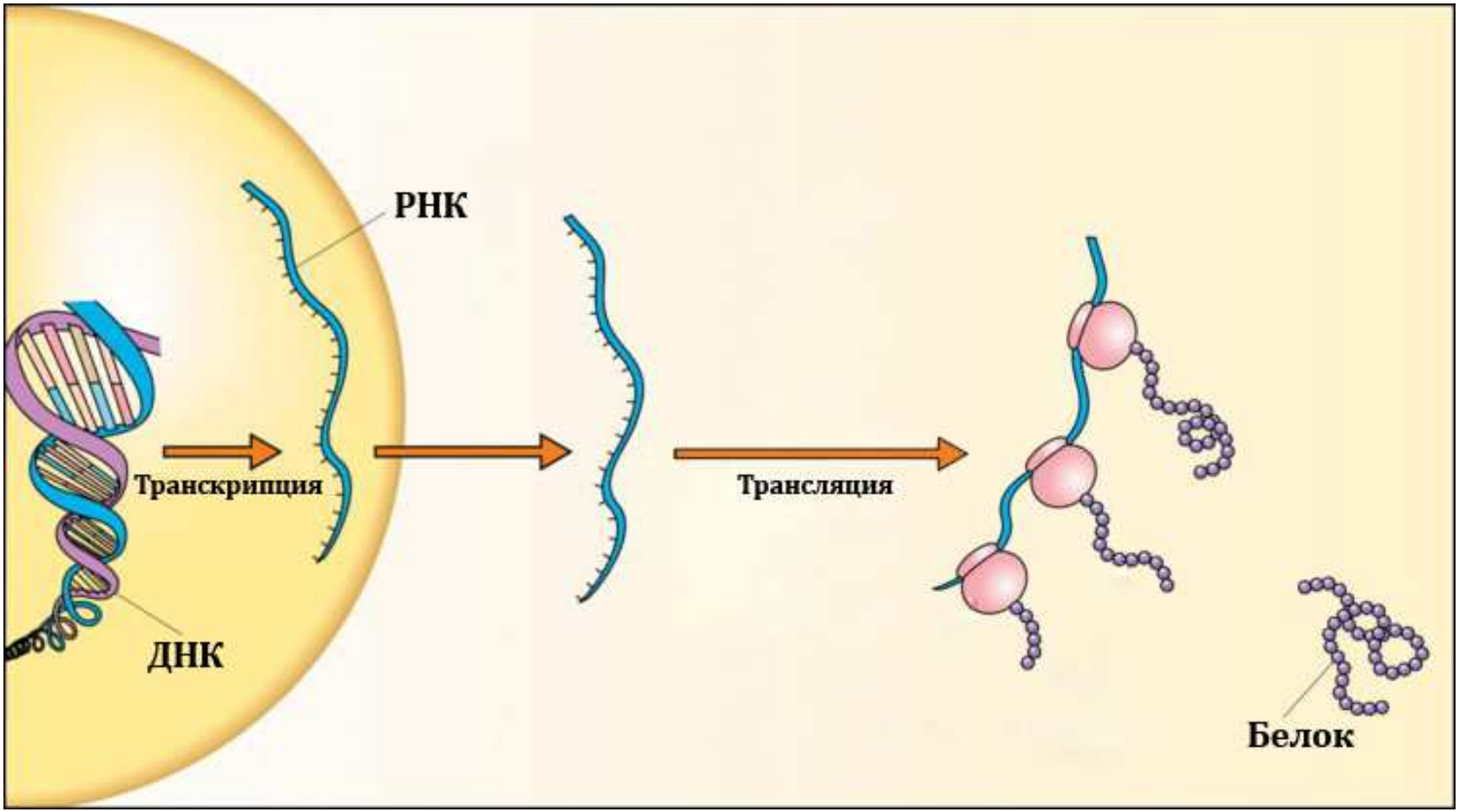
Задачи анализа данных ДНК-микрочипов

чл.-корр. РАН, д.б.н. Тоневицкий Александр Григорьевич
чл.-корр. РАН, д.ф.-м.н. Рудаков Константин Владимирович
д.ф.-м.н. Воронцов Константин Вячеславович

Семинар «Время, хаос и математические проблемы»
МГУ • 19 октября 2011 г.

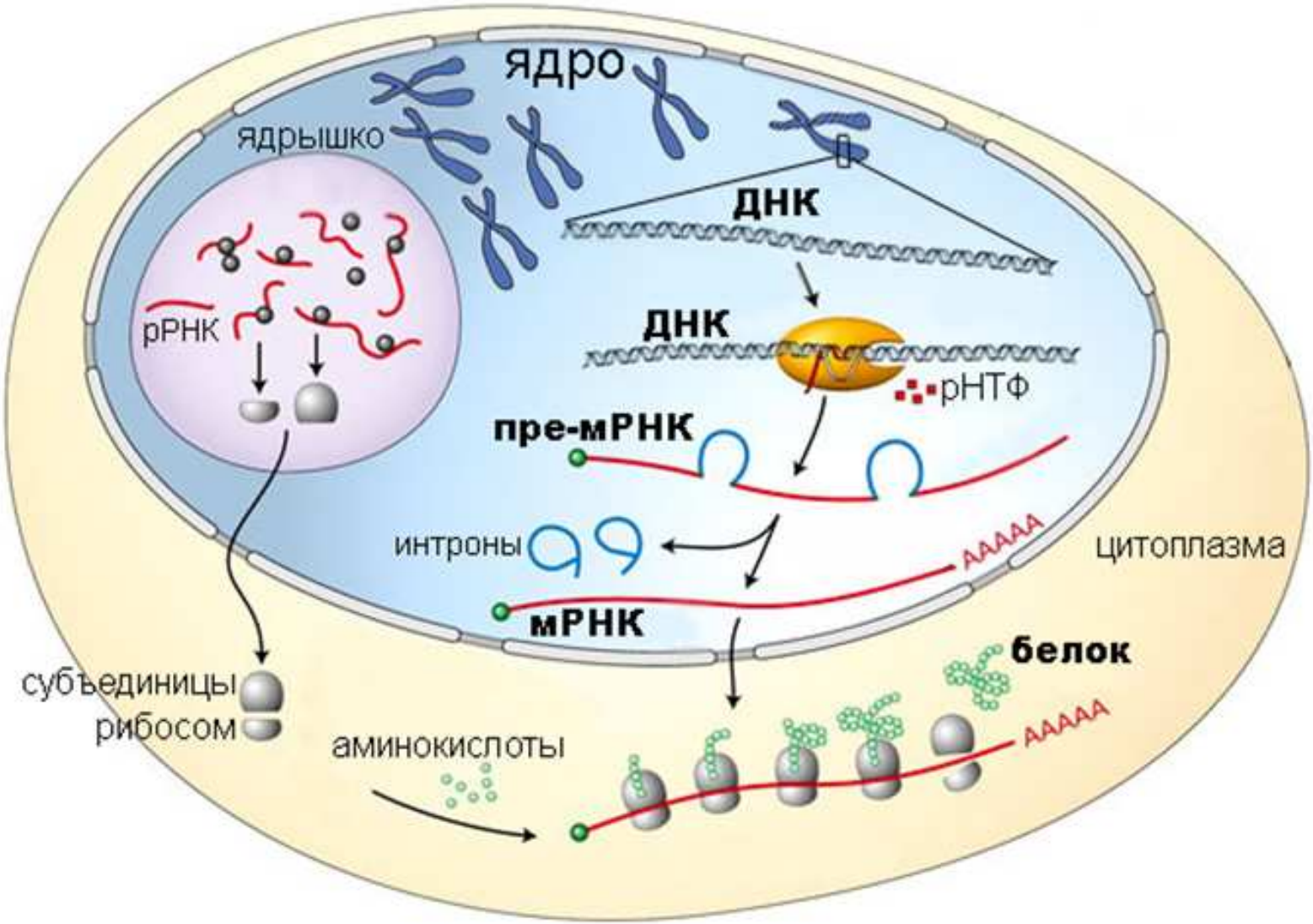
Центральная догма молекулярной биологии

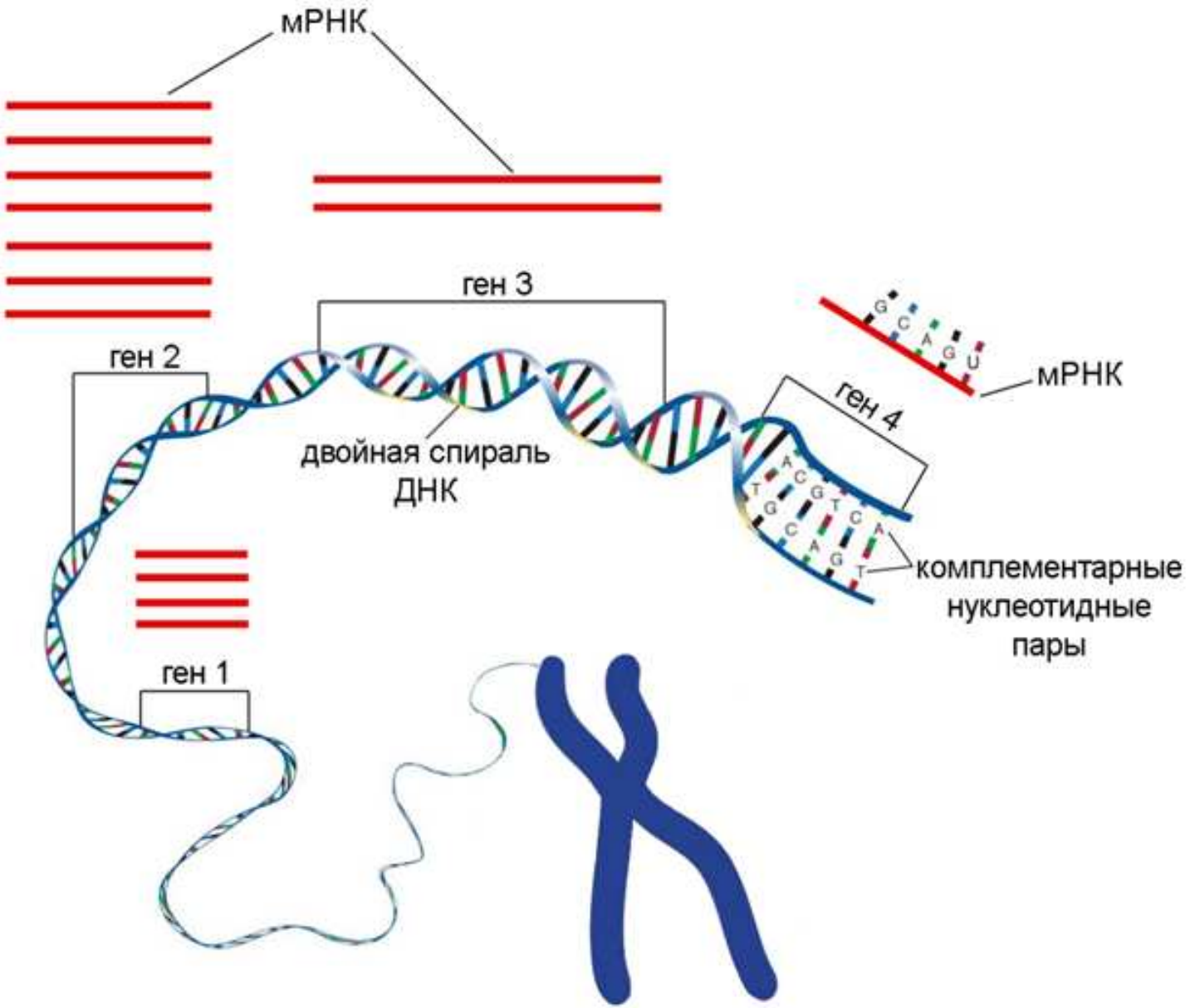


Базовые понятия

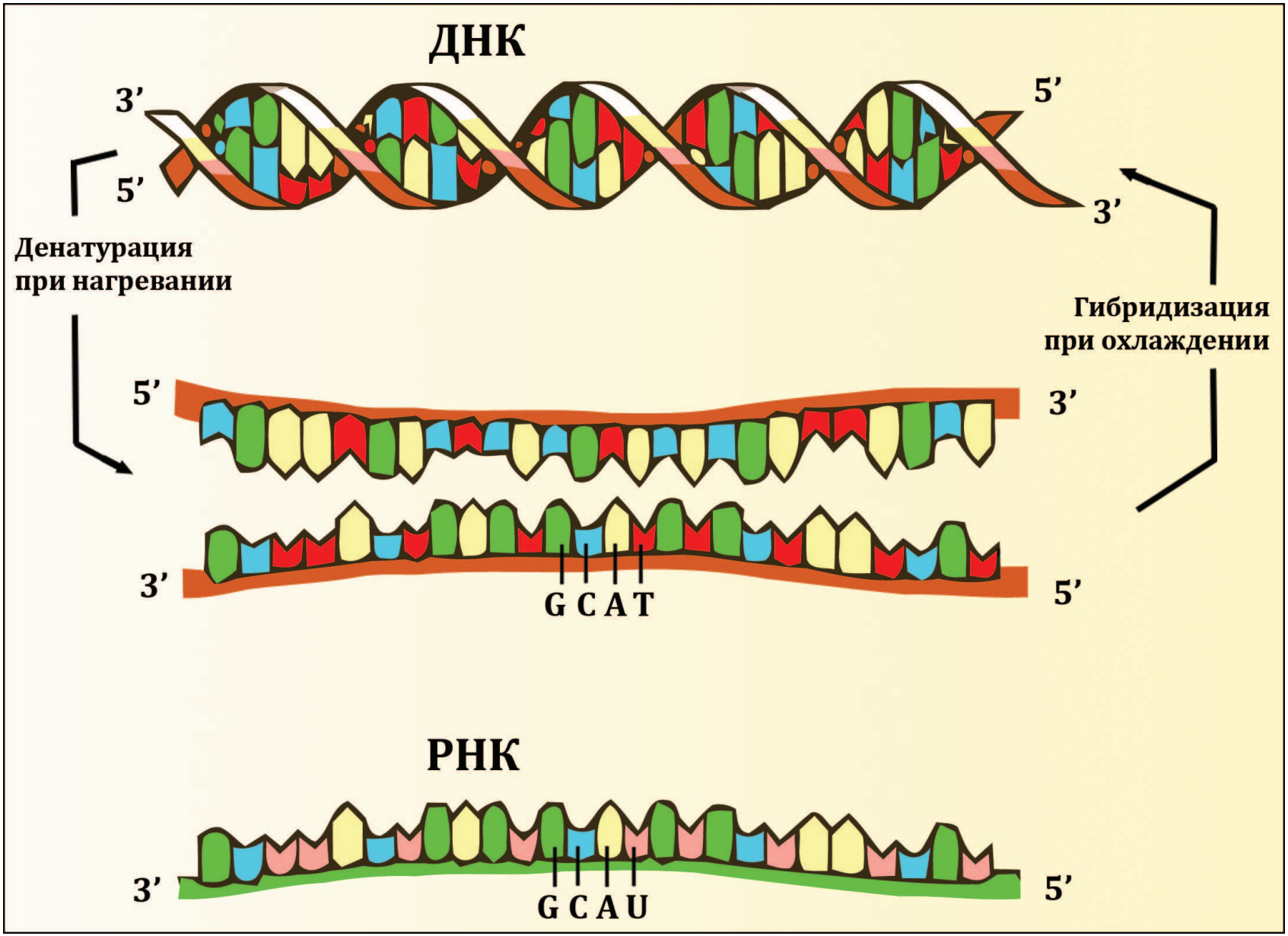
ДНК — молекула, содержащая информацию, необходимую для функционирования клетки.
Ген — участок ДНК, несущий какую-либо целостную функциональную информацию.
РНК — молекула-посредник, передающий информацию о гене структурам клетки, отвечающим за синтез белка.

Количество молекул РНК в клетке служит мерой активности гена (оценкой экспрессии).

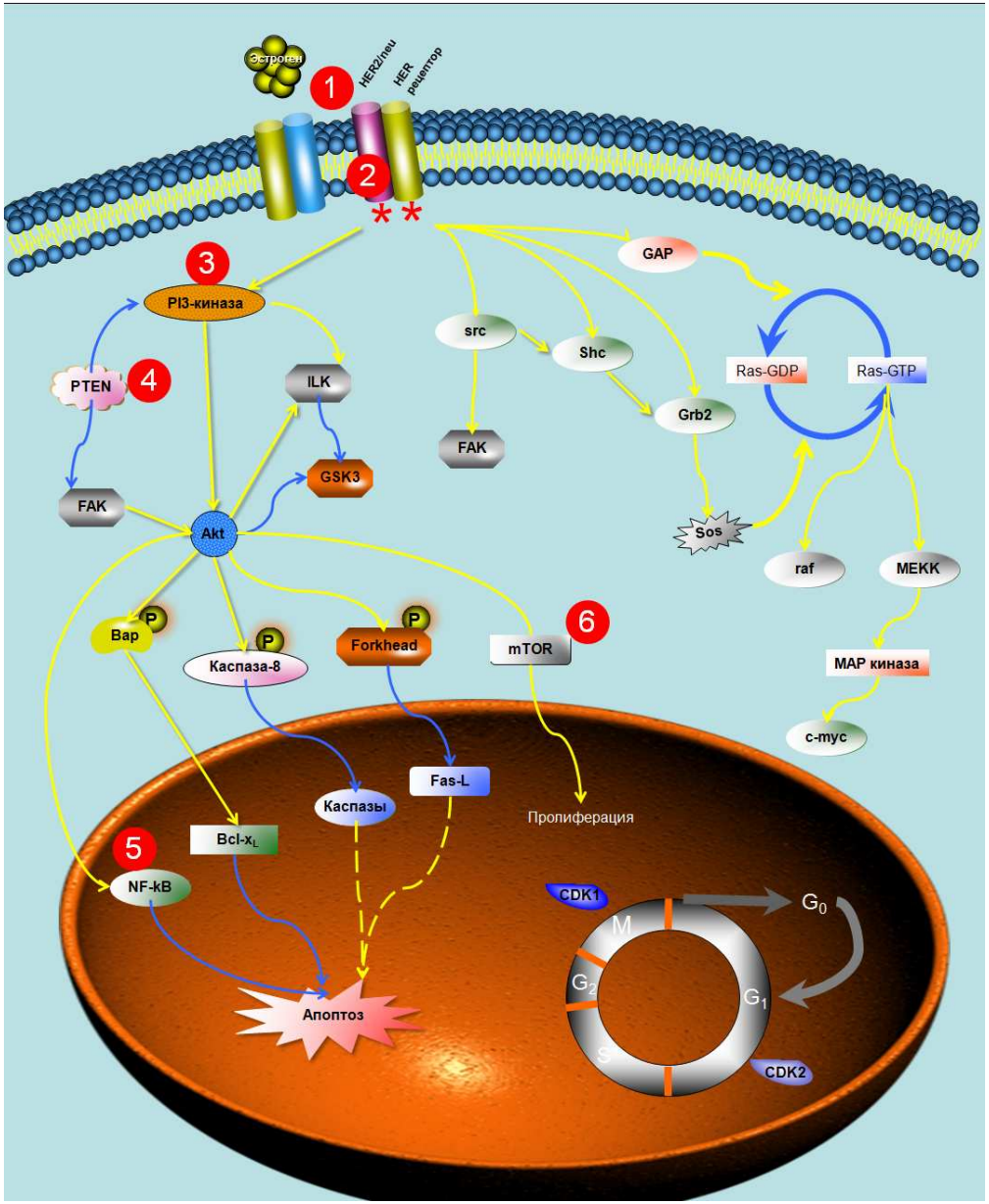

ядро
ядрышко
ДНК
ДНК
рРНК
рНТФ
пре-мРНК
интроны
цитоплазма
AAAAA
мРНК
белок
субъединицы
рибосом
аминокислоты
AAAAA


мРНК
ген 3
ген 2
мРНК
ген 4
двойная спираль ДНК
комплементарные нуклеотидные пары
ген 1

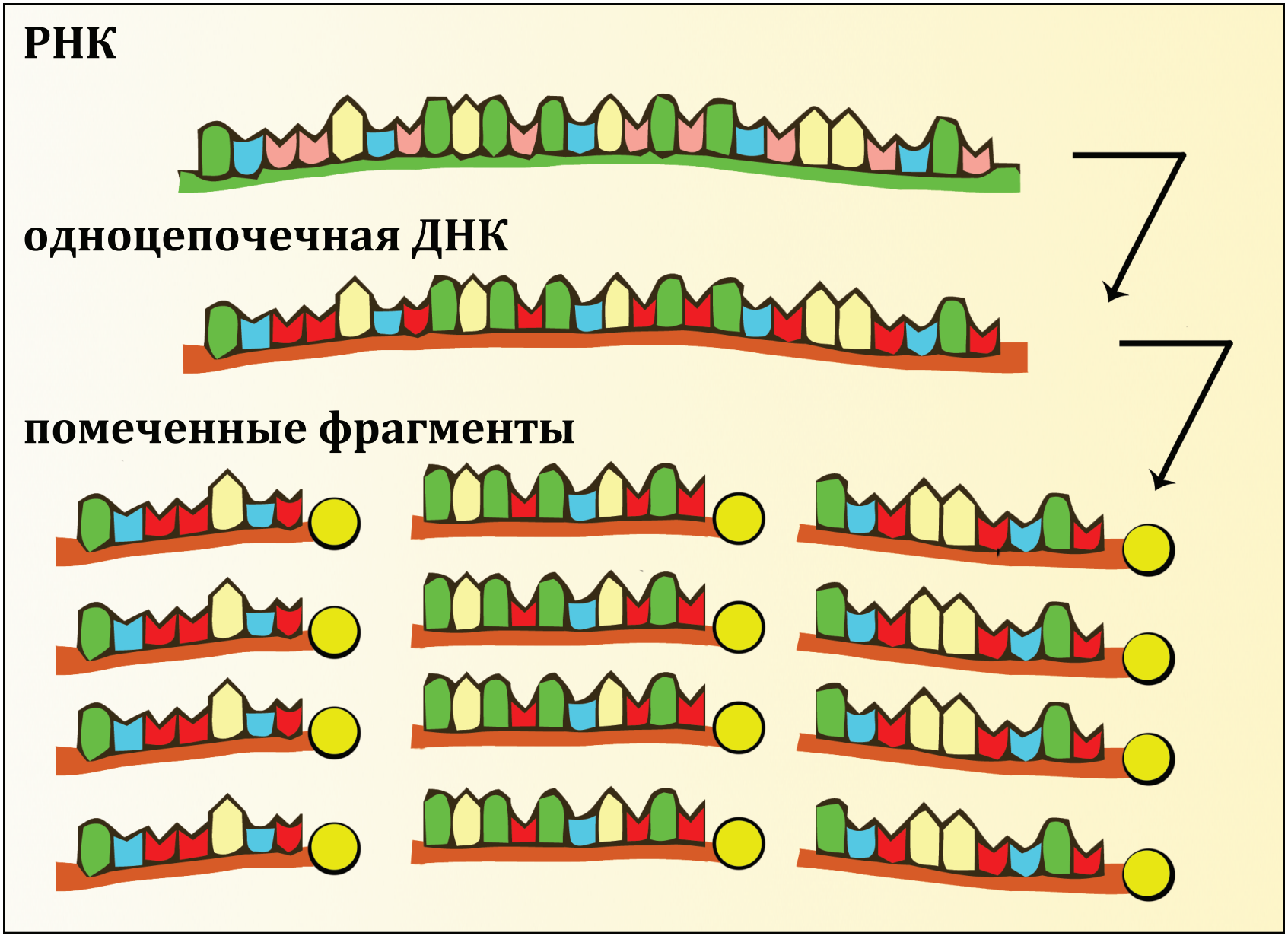
ДНК и РНК


ДНК
3'
5'
5'
3'
Денатурация
при нагревании
Гибридизация
при охлаждении
5'
3'
3'
5'
G C A T
РНК
3'
5'
G C A U

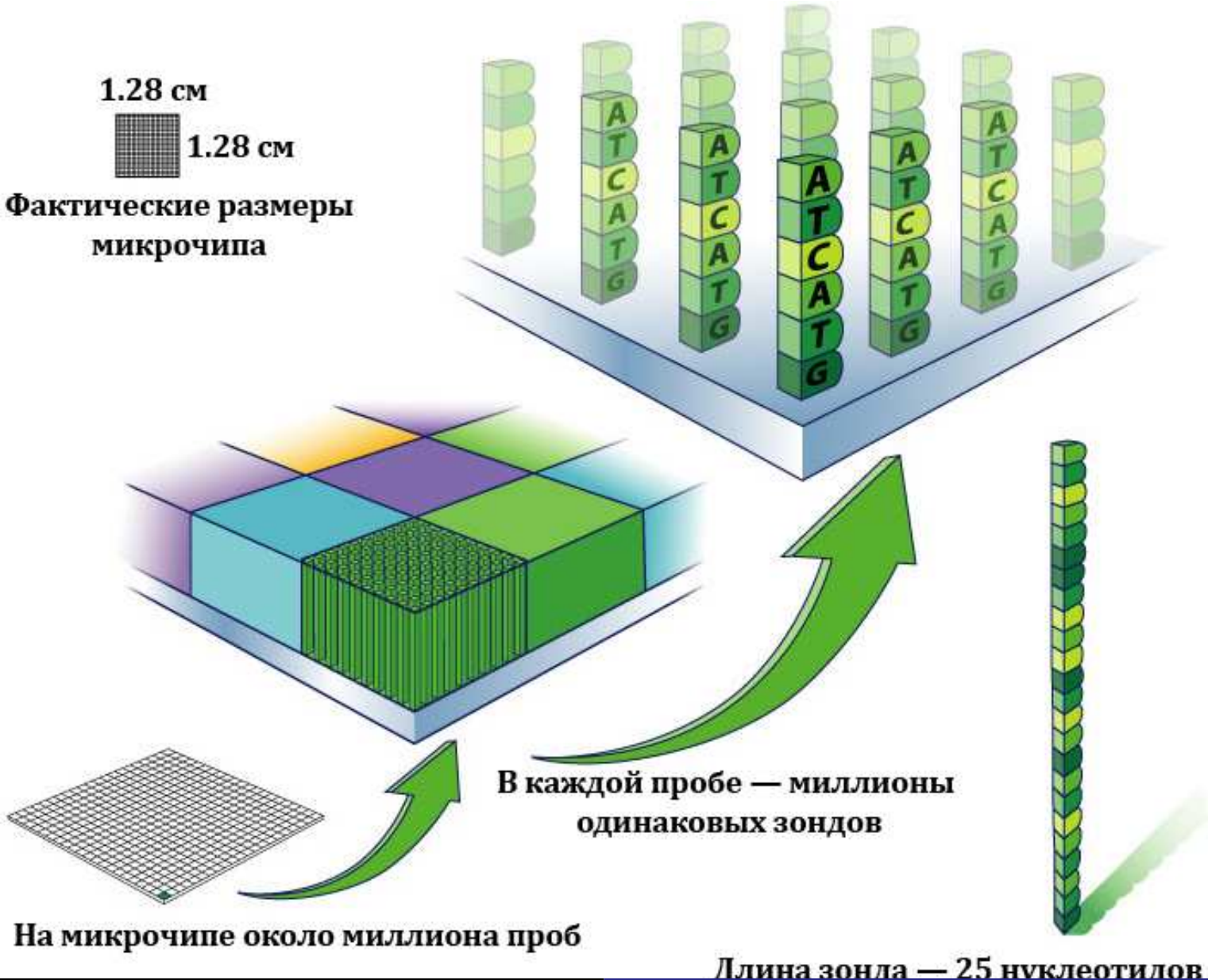
Сети в клетке



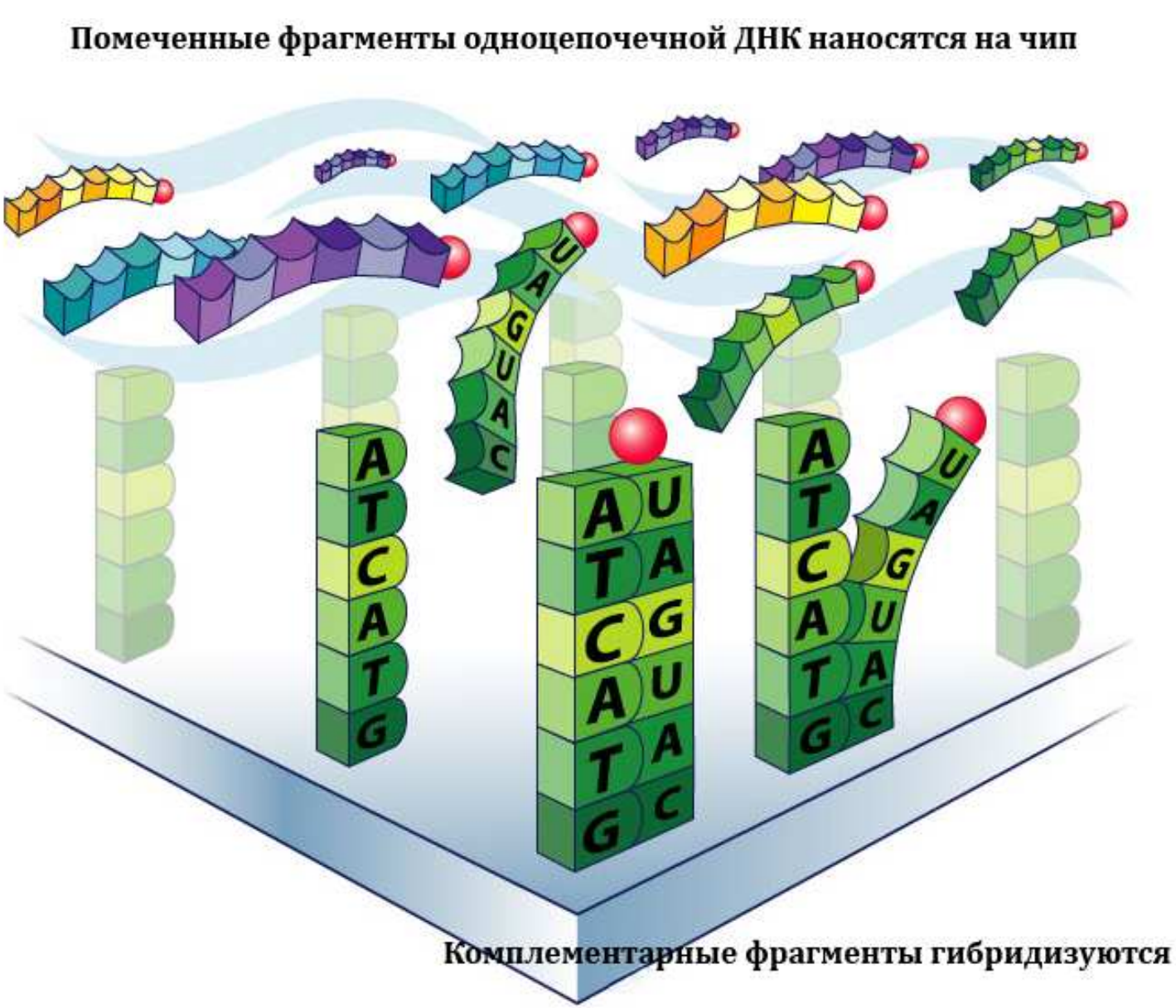
Ход эксперимента



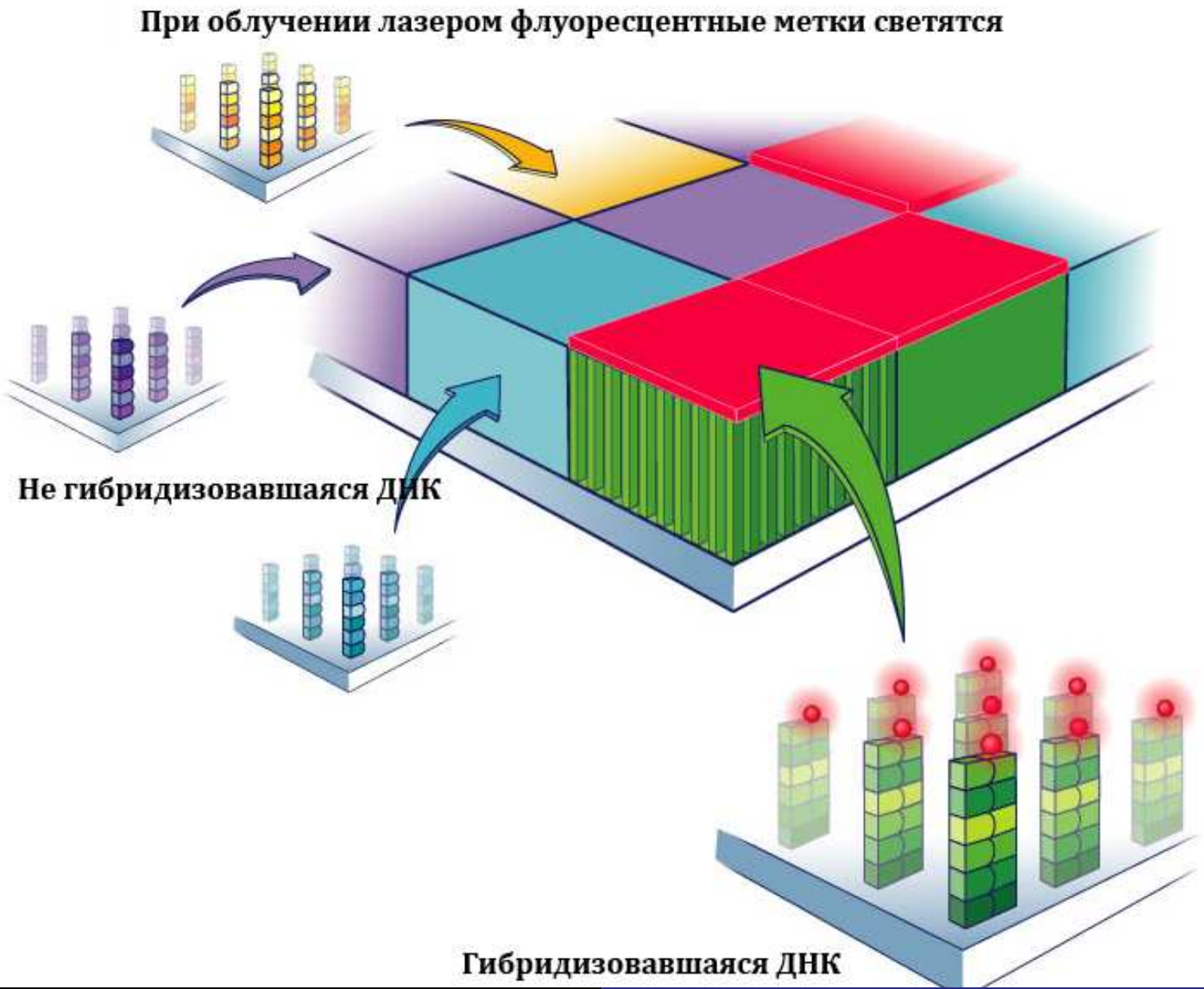
Микрочип ДНК



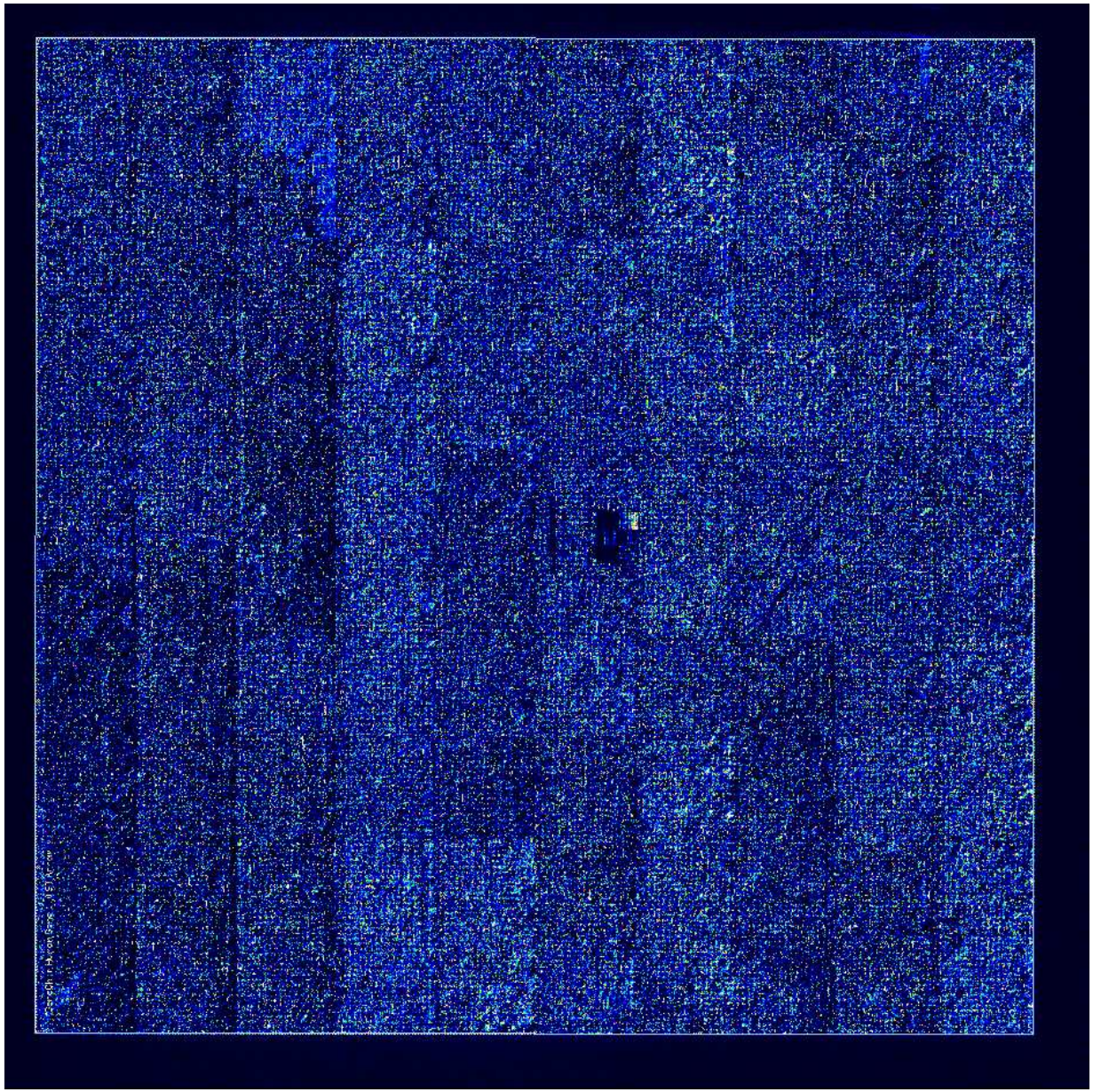
Гибридизация



Сканирование



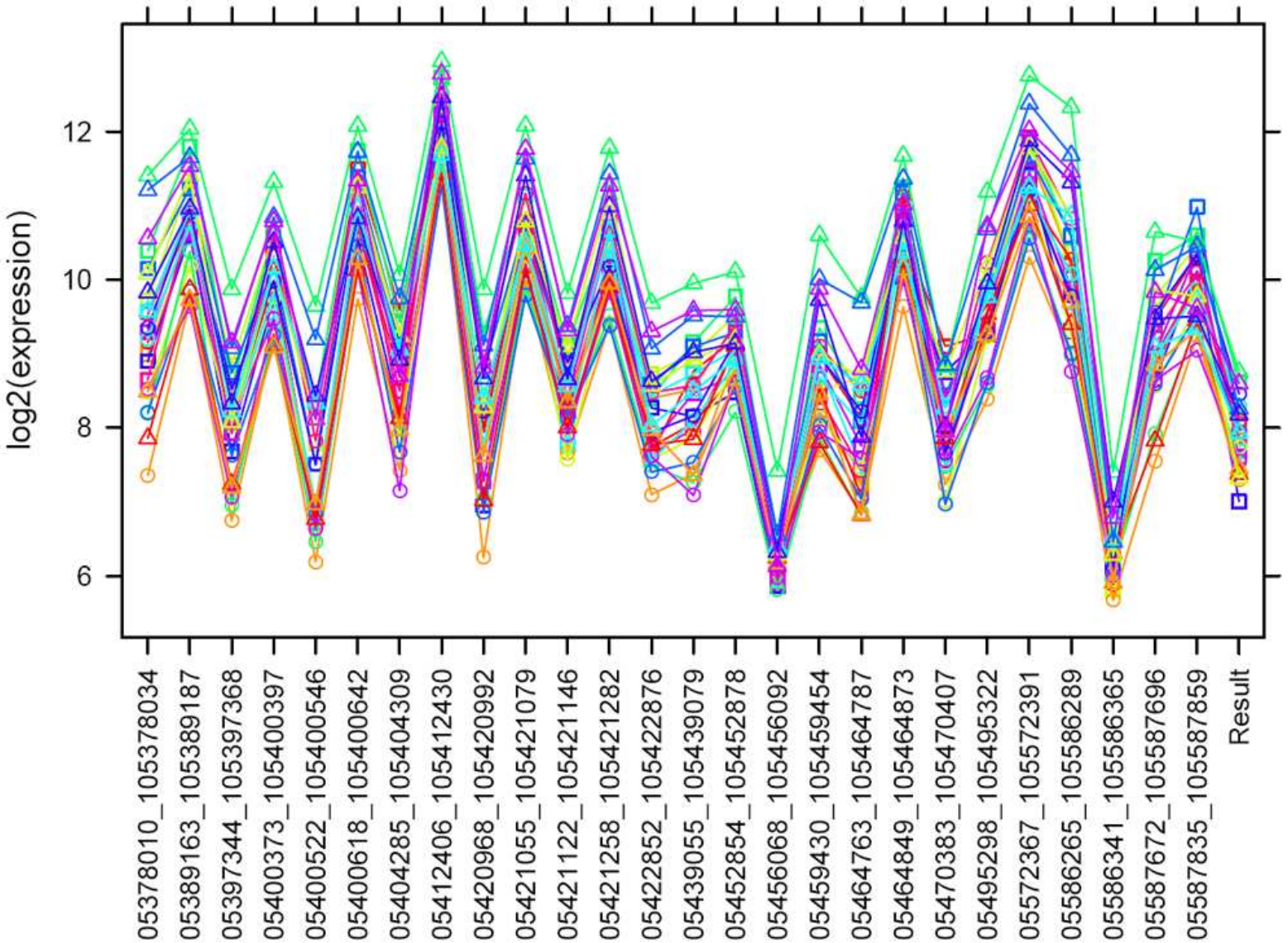
Результат сканирования



Получение оценок экспрессии

1. Изображение со сканера оцифровывается, получаем вектор значений интенсивности флуоресценции проб.
2. Проводится предобработка интенсивностей:
   - фоновая поправка;
   - нормализация.
3. Значения предобработанных интенсивностей всех проб каждого гена **усредняются** (median polish), давая оценку экспрессии.

Пример получения оценки экспрессии



Модель №1, учитывающая степени сродства проб с геном

Известные данные:

I_p^k — интенсивность свечения пробы p на микрочипе k;

$g(p)$ — номер гена, для которого проба p *специфична* (определён конструкцией микрочипа).

Неизвестные параметры:

C_g^k — концентрация РНК гена g на микрочипе k;

a_p — коэффициент *сродства* (affinity) пробы p гену g;

N^k, B^k — нормировочные константы.

$$I_p^k = N^k a_p C_{g(p)}^k + B^k.$$

- ограничений $=$ $\underset{861\,493}{\text{проб}}$ $\times$ чипов.
- неизвестных $=$ $\underset{861\,493}{\text{проб}}$ $+$ $\big(\underset{28\,869}{\text{генов}} + 2\big)$ $\times$ чипов.

Необходимо иметь хотя бы два микрочипа.

Две стадии анализа данных ДНК-микрочипов

1. **Калибровка** параметров модели a_p по базе микрочипов

$$\sum_k \sum_p \left(I_p^k - N^k a_p C_{g(p)}^k - B^k\right)^2 \to \min_{\{a_p\},\{C_g^k\}},$$

при ограничениях $a_p \geqslant 0$, $C_g^k \geqslant 0$ и нормировке $\sum_g C_g^k = 1$.

Данная задача декомпозируется по пробам.

2. **Восстановление концентраций** C_g^k для нового микрочипа

$$\sum_p \left(I_p - N a_p C_{g(p)} - B\right)^2 \to \min_{\{C_g^k\}},$$

при известных $\{a_p\}$ и ограничениях $C_g^k \geqslant 0$, $\sum_g C_g^k = 1$.

Замечание. Вместо функции потерь $(I - \hat{I})^2$ могут использоваться $|I - \hat{I}|$, $|\log I - \log \hat{I}|$, в общем случае — $\mathscr{L}(I, \hat{I})$.

Модель №2 — уточнение

Одна проба может быть специфична нескольким генам.
$S(p)$ — множество генов, для которых проба p специфична.

$$I_p^k = N^k a_p \sum_{g \in S(p)} C_g^k + B^k.$$

$\lvert S(p)\rvert$	проб	$\lvert S(p)\rvert$	проб	$\lvert S(p)\rvert$	проб	$\lvert S(p)\rvert$	проб
1	721605	11	14	22	8	33	6
2	15352	12	872	23	2	34	1
3	1783	13	17	24	124	35	43
4	14416	14	83	25	569	36	423
5	222	15	206	26	3	38	3
6	2310	16	1170	27	6	39	8
7	44	17	1	28	66	40	53
8	634	18	143	30	134	42	176
9	5171	20	459	31	1	...	...
10	240	21	53	32	55	2220	1

Модель №3, учитывающая эффект насыщения

Одна из простейших моделей насыщения — кривая Ленгмюра:

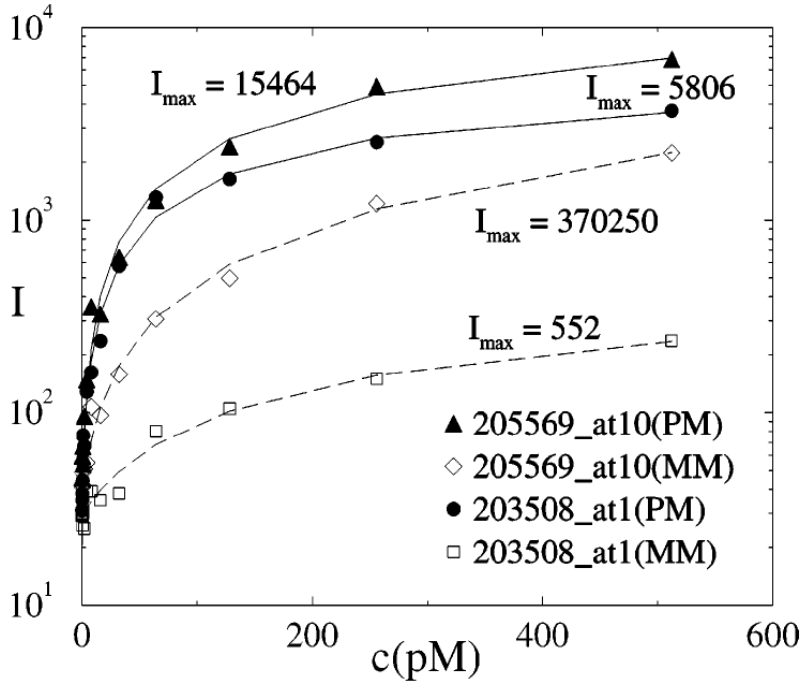
$$\sigma(C; a, b) = \frac{aC}{1 + bC}.$$

Модель с учётом насыщения:

$$I_p^k = N^k \sigma\left(\sum_{g \in S(p)} C_g^k; a_p, b_p \right) + B^k,$$

$a_p \geqslant 0$ — коэффициенты сродства,

$b_p = \frac{a_p}{I_{\max}}$, где $I_{\max}$ — уровень горизонтальной асимптоты.

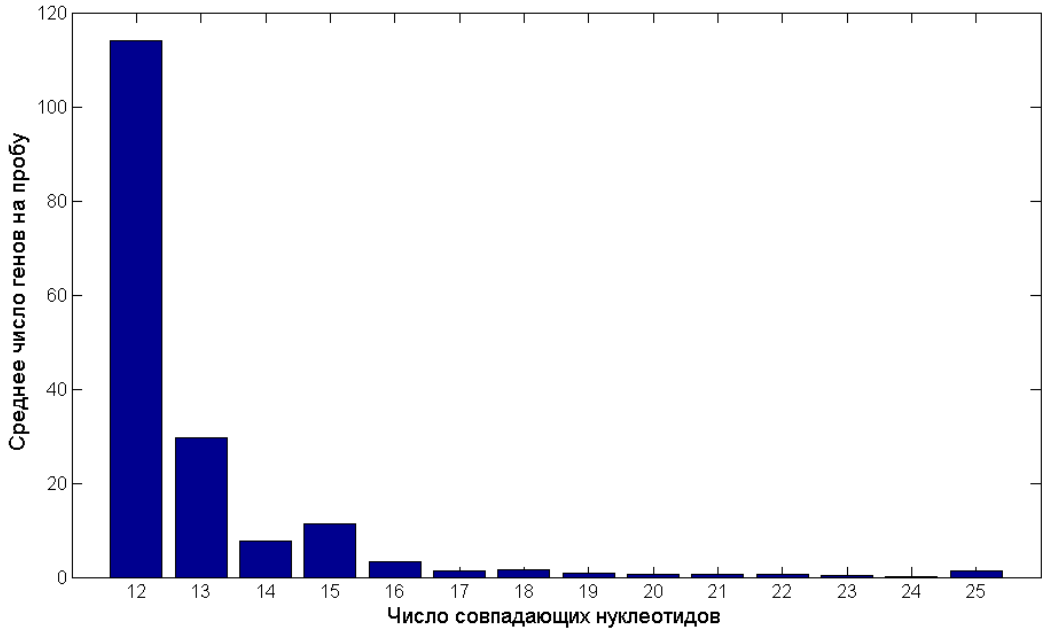


Эффект кросс-гибридизации

Свечение пробы p может быть вызвано присутствием не только гена $g(p)$, но и других генов, для которых проба p НЕ специфична.

Проба 432:309		C	T	G	C	C	A	C	A	T	T	G	C	T	G	A	G	G	C	T	C	A	G	A	G	C	
Ген GRIA1	...	G	A	C	G	G	T	G	T	A	A	C	G	A	C	T	C	C	G	A	G	T	C	T	C	G	...
Ген GRIA3	...	G	A	C	G	G	T	G	T	A	A	C	G	A	G	T	C	C	G	A	G	T	C	T	C	G	...
Ген SNRPN	...	G	A	C	G	G	T	G	T	G	A	C	G	A	C	T	C	C	T	A	G	T	C	C	A	C	...
Ген DNAJC22	...	G	A	C	G	G	T	G	T	A	T	C	G	A	C	T	C	C	A	C	C	C	A	G	A	T	...

Распределение среднего числа комплементарных генов:



Модель №4, учитывающая эффект кросс-гибридизации

Гипотеза 1. Свечение пробы p вызвано присутствием не только гена $g(p)$, но и других генов, для которых проба p НЕ специфична.

$\Gamma(p)$ — множество генов, которые могут гибридизироваться на пробе p, $\Gamma(p) \cap S(p) = \varnothing$, $|\Gamma(p)| \lesssim 150$.

$$I_p^k = N^k \sum_{g \in \Gamma(p)} a_{pg} C_g^k + B^k,$$

a_{pg} — неизвестные коэффициенты сродства, матрица $\|a_{pg}\|$ сильно разрежена.

Гипотеза 2. При неспецифической гибридизации насыщения нет:

$$I_p^k = N^k \left(\sigma \left(\sum_{g \in S(p)} C_g^k; a_p, b_p \right) + \sum_{g \in \Gamma(p)} a_{pg} C_g^k \right) + B^k.$$

Открытая проблема

Решение оптимизационной задачи на стадии калибровки

$$\sum_k \sum_p \mathscr{L}\left(I_p^k, N^k\left(\sigma\left(\sum_{g\in S(p)} C_g^k; a_p, b_p\right) + \sum_{g\in\Gamma(p)} a_{pg} C_g^k\right) + B^k\right) \to \min_{\{a_p\},\{C_g^k\}},$$

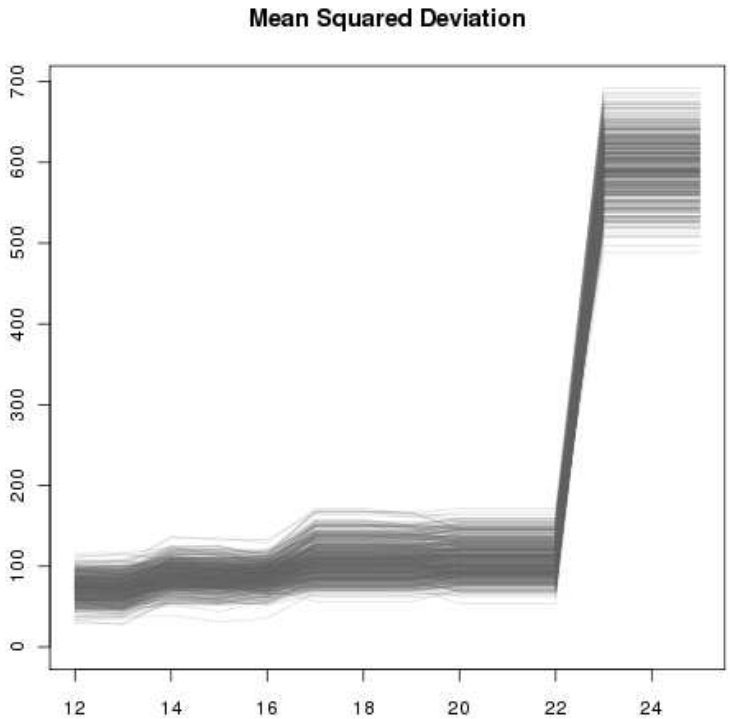
- ограничений $=$ $\underset{861\,493}{\text{проб}}$ $\times$ чипов.
- неизвестных $=$ $\underset{861\,493}{\text{проб}}$ $\left(\overline{|\Gamma(p)|} + 2\right)$ $+$ $\left(\underset{28\,869}{\text{генов}} + 2\right)$ $\times$ чипов.

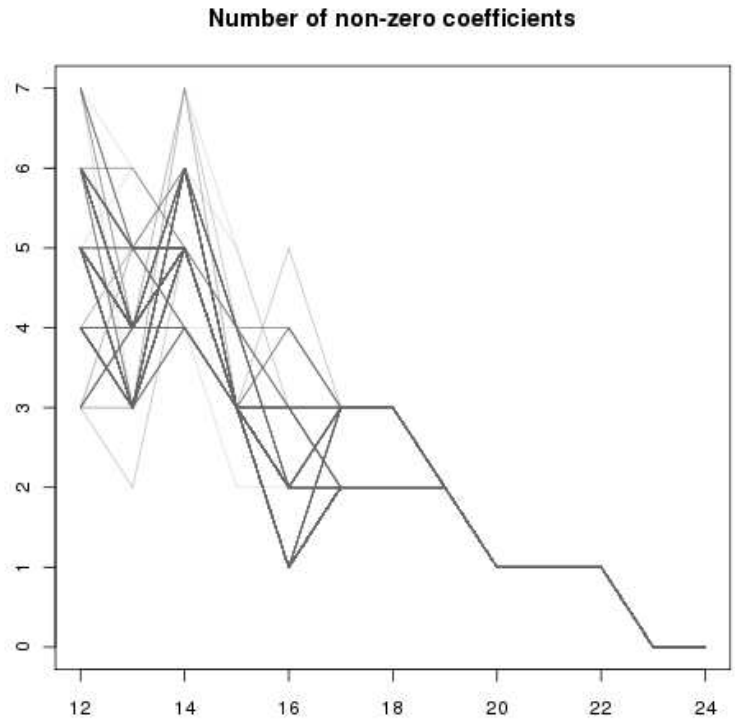
С чем связаны надежды:

- Достаточно иметь сотни микрочипов (в базе более 3000).
- Задача «почти декомпозируется» по пробам.
- Стандартные методы, не учитывающие кросс-гибридизацию, дают неплохое начальное приближение.
- Технологии параллельных вычислений.

Эксперимент по идентификации параметров a_{pg}

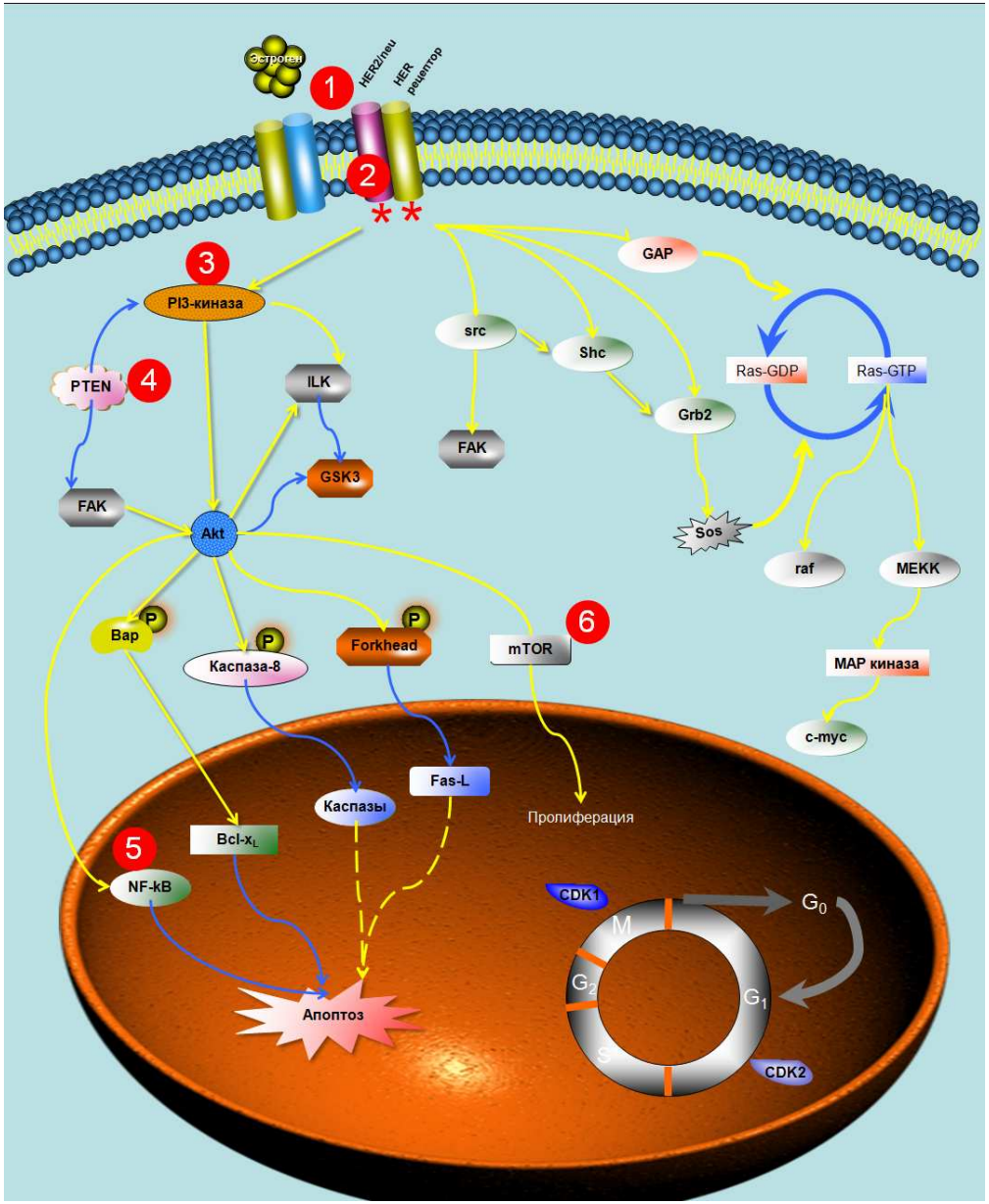
При уменьшении числа совпадающих нуклеотидов увеличивается число ненулевых коэффициентов a_{pg}, уменьшается невязка модели.





Планируемый следующий шаг — контроль переобучения по большой выборке чипов.

Сети в клетке



Задача следующего уровня

Выявление активных метаболических путей.

Дано:
1. Граф $\langle V, E \rangle$,
V — множество генов ($\Leftrightarrow$ белков), $V \approx 3 \cdot 10^4$,
$(x, y) \in E$ — белки x и y выполняют совместную функцию.

2. Множество метаболических путей
$\mathscr{P} = \{P = (x_1, \ldots, x_n) \colon (x_i, x_{i+1}) \in E\}$,

Найти по данным микрочипа ДНК:
Подмножество путей $P = (x_1, \ldots, x_n)$, в которых все гены $x_i \in P$ экспрессированы.

Основная проблема:
Граф $\langle V, E \rangle$ и множество путей $\mathscr{P}$ известны неполно и неточно.