PB051: Výpočetní metody v bioinformatice a systémové biologii

David Šafránek

6.4.2012

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Obsah

Systémové paradigma – sítě interakcí

Rekonstrukce genových interakčních sítí

Obsah

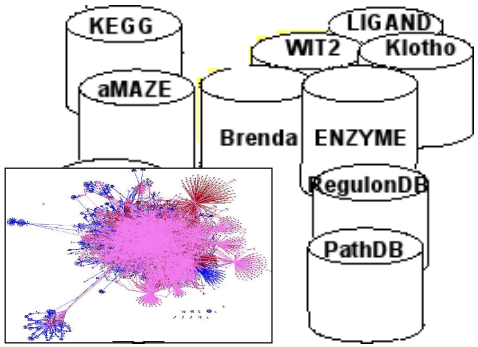
Systémové paradigma – sítě interakcí

Rekonstrukce genových interakčních sítí

Průběh výzkumu v systémové biologii

rekonstrukce sítí

databáze biol. znalostí + literatura

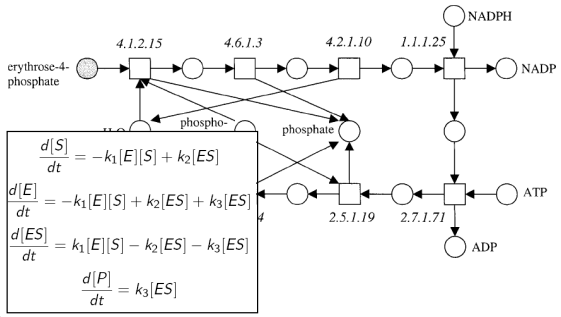


biologická síť

hypotézy

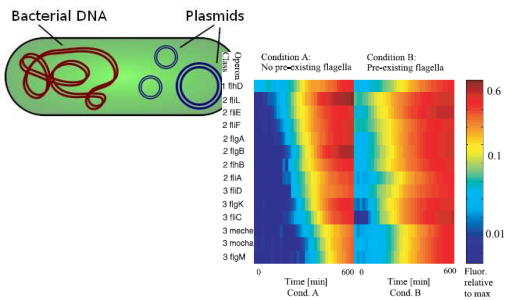
specifikace modelu

SBML, diferenciální rovnice,
boolovská síť, Petriho síť, ...



validace modelu

genové reportéry, DNA microarray,
hmotnostní spektrometrie, ...

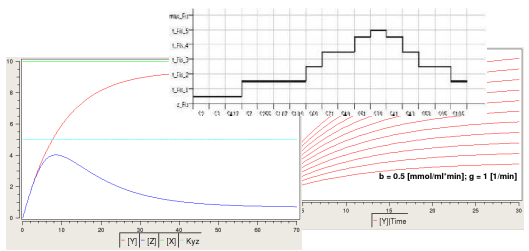


objevené vlastnosti

dotazy na model

analýza modelu

statická analýza, numerická simulace,
analytické metody, model checking



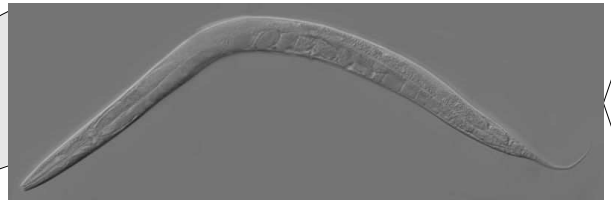
verifikace hypotéz, detekce vlastností
vyvození nových hypotéz

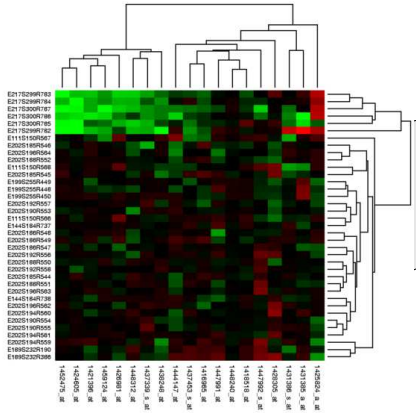
Metody systémového měření

komponentová biologie

high−througput tenchologie

genomika
proteomika



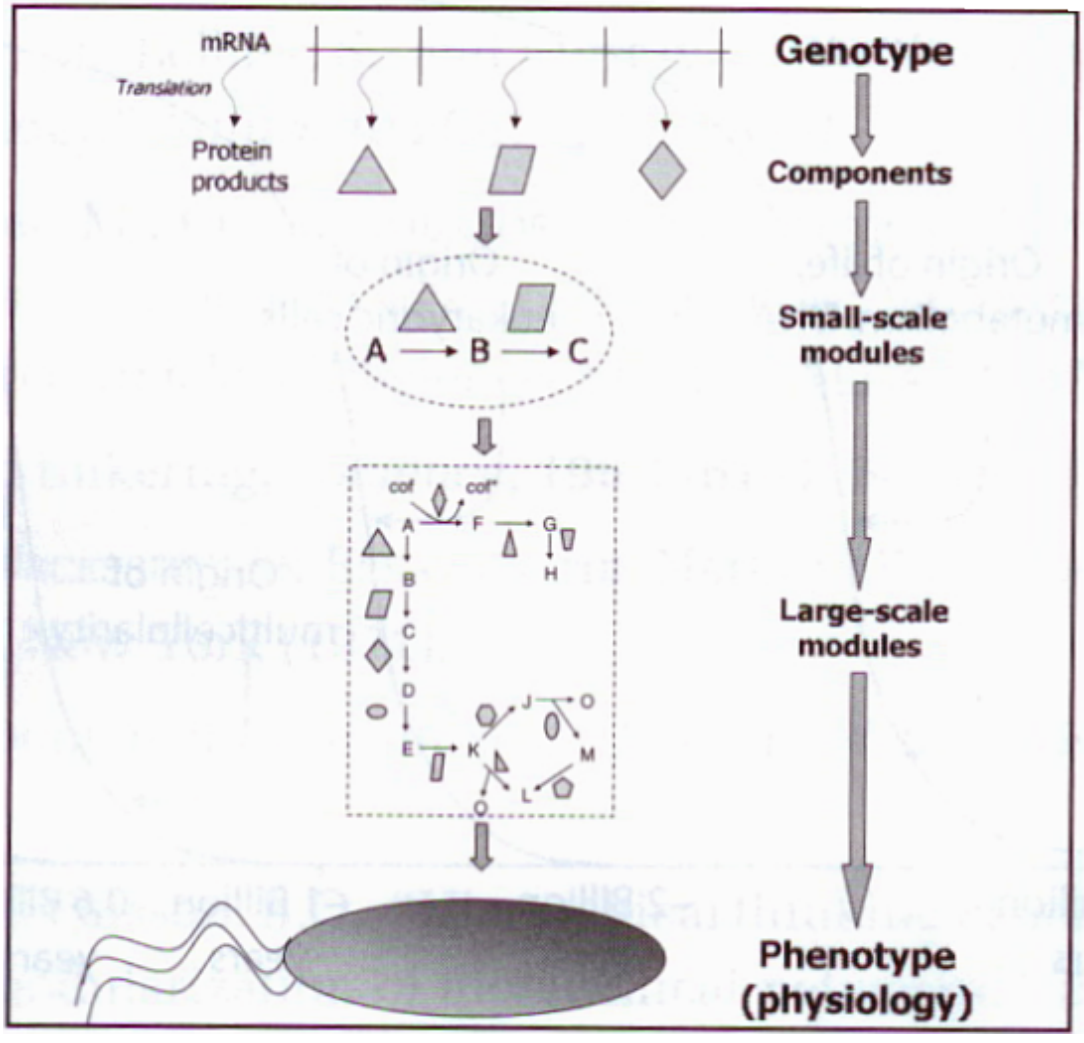


systémová biologie

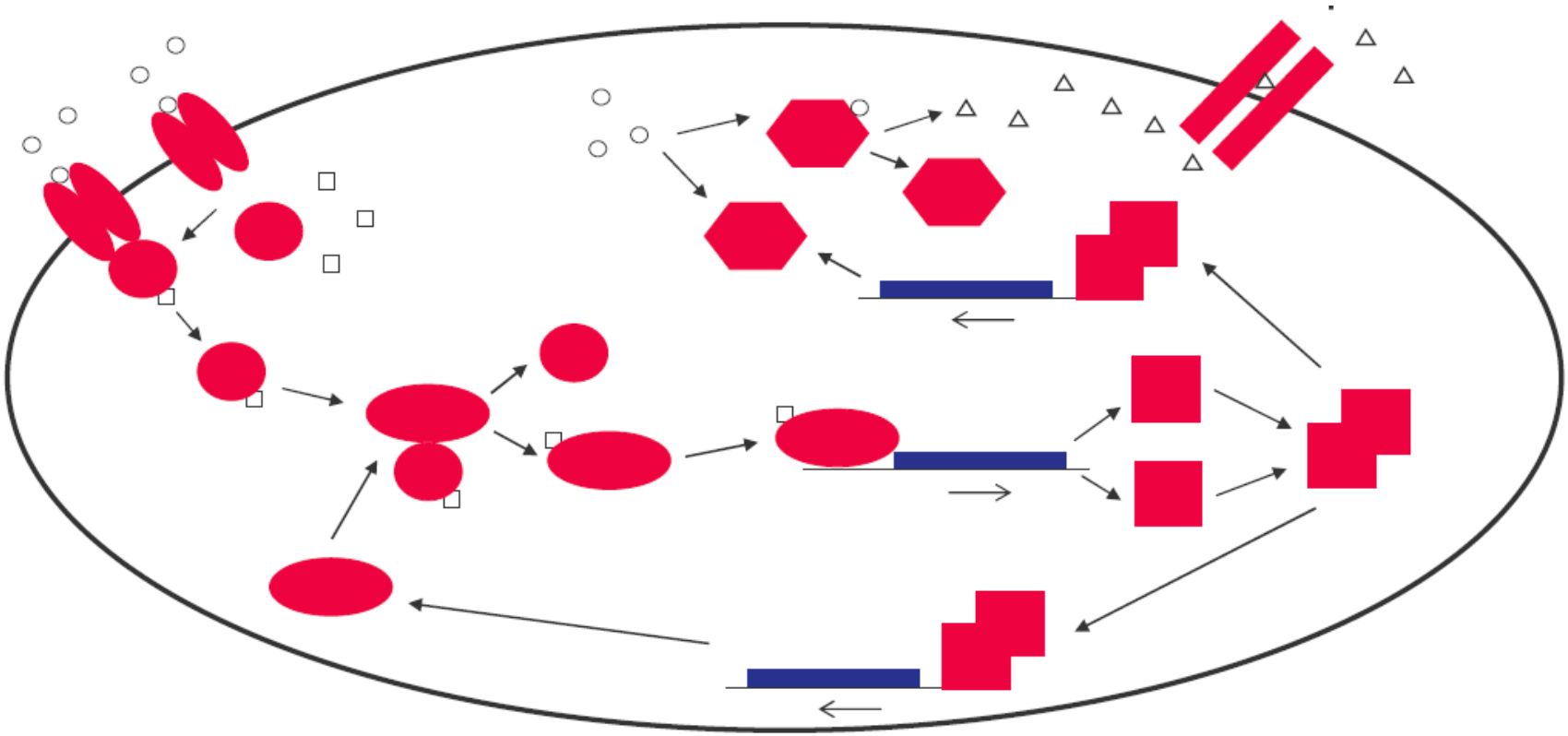
integrativní analýza

bionformatika
modely (in silico)
simulace

Koncept hierarchie

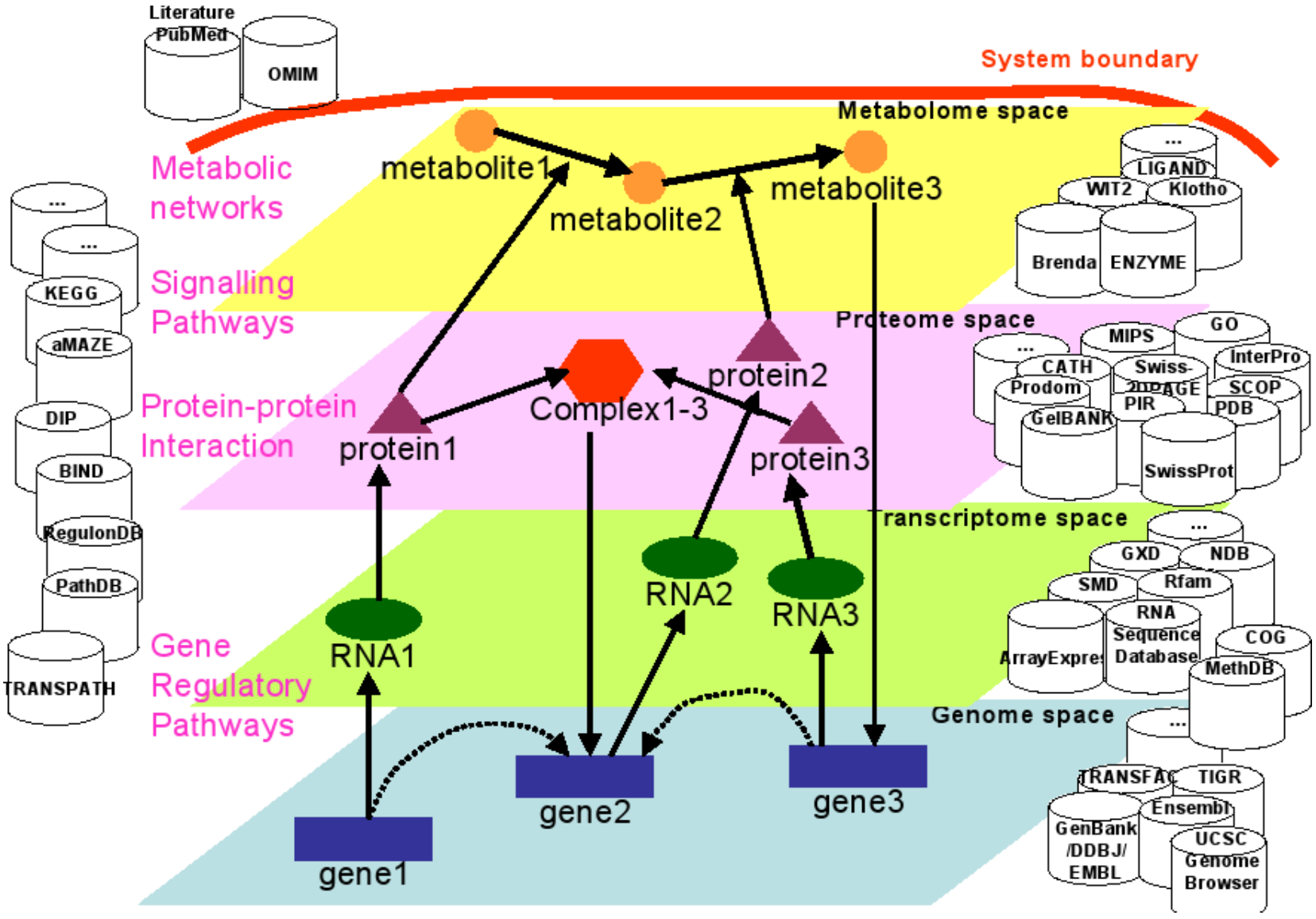


Biochemické procesy v buňce

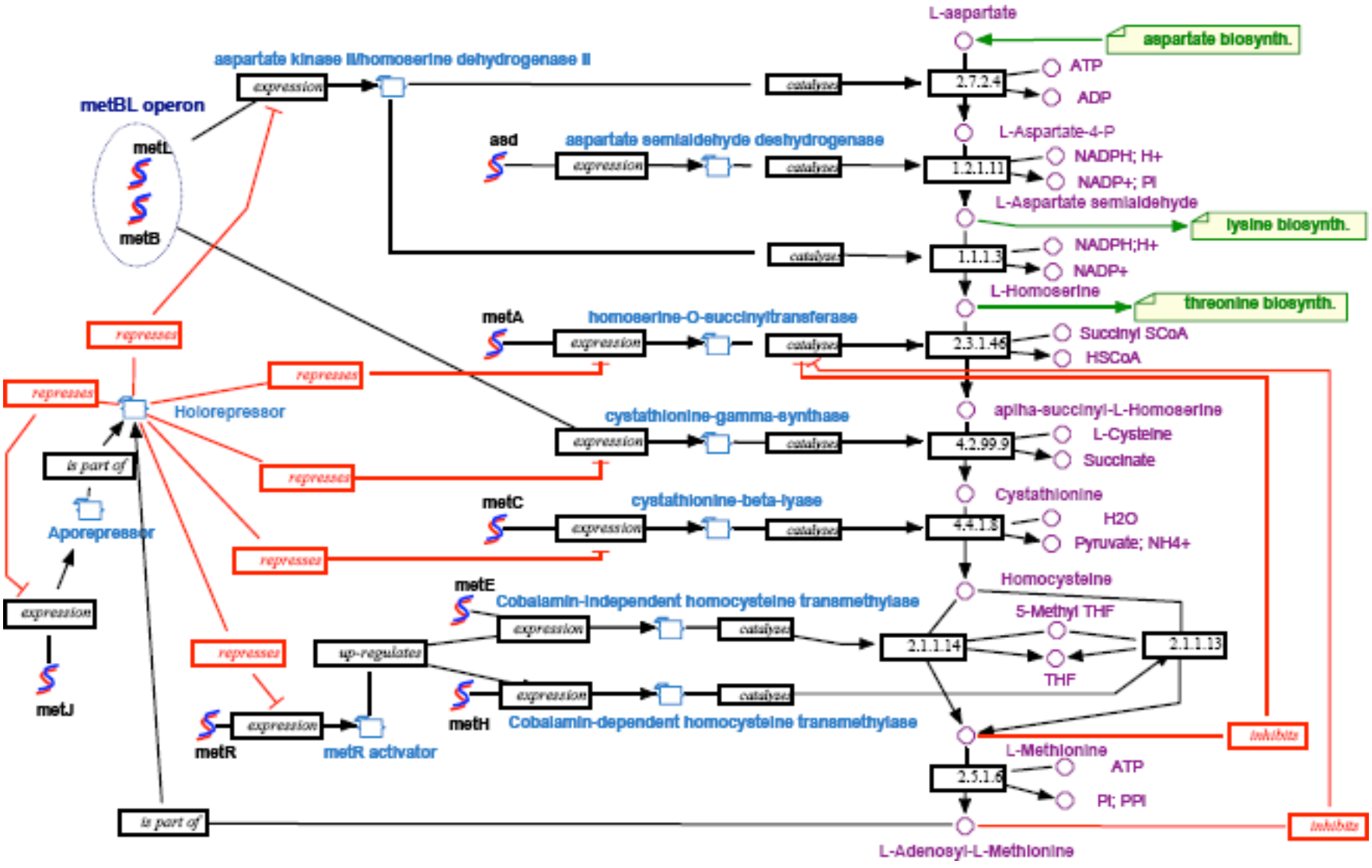


- molekulární komponenty – proteiny, DNA, RNA,. . .
- interakce na různých úrovních (transkripce, metabolismus,. . .)
- příjem signálů a živin (nutrientů) na membráně

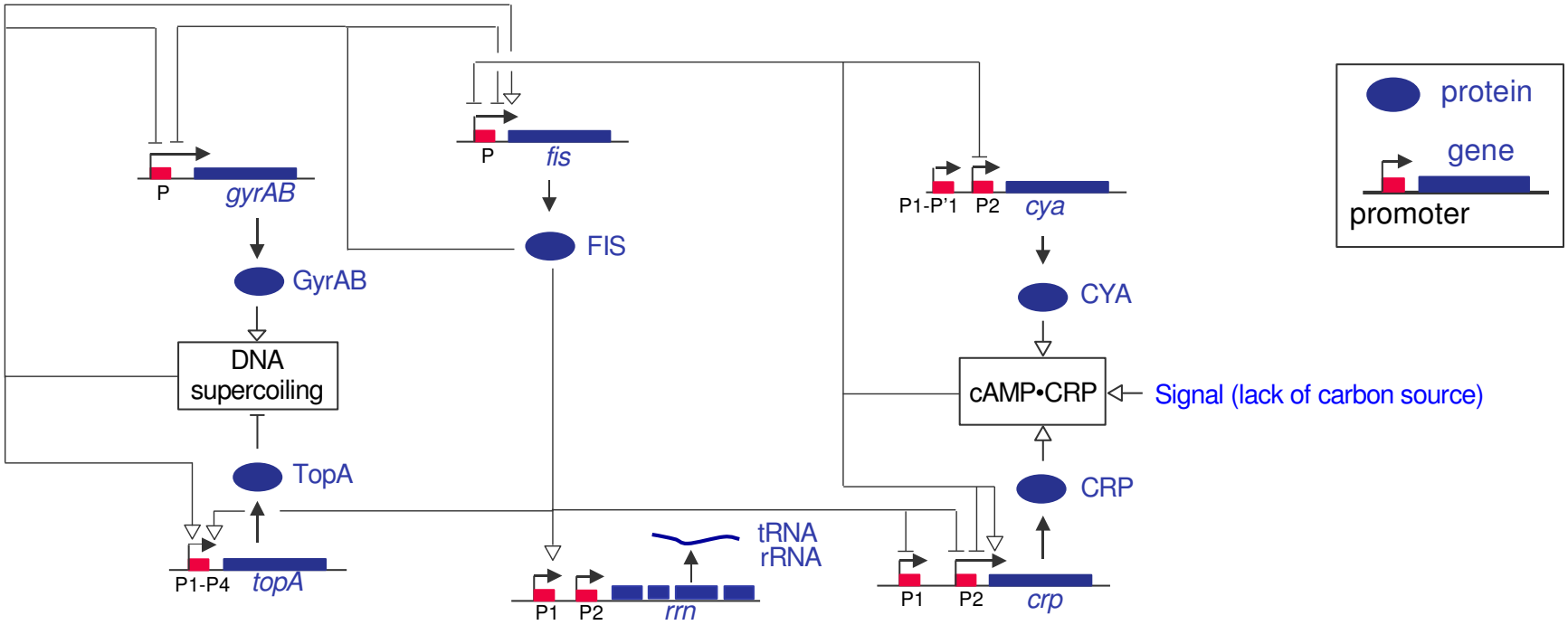
Funkční vsrtvy buňky



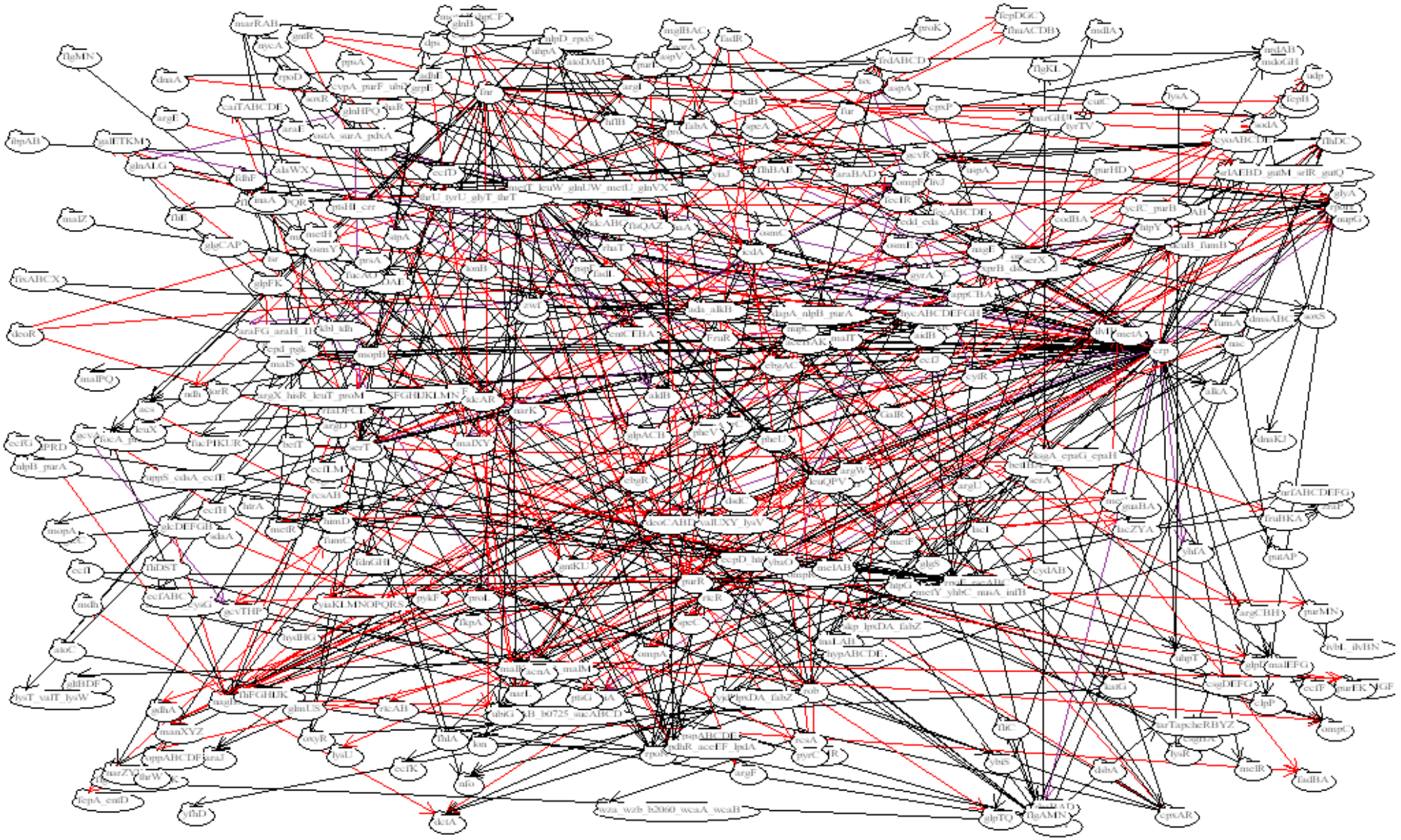
Příklad geneticky řízené metabolické dráhy



Příklad modulu genetické regulace v E. Coli



Kompletní transkripční síť E. Coli



Biologická síť jako obecný graf

Definition

Nechť V je konečná množina uzlů a $E \subseteq V \times V$ relace. *Biologickou sítí* nazveme graf G reprezentovaný uspořádanou dvojicí $G \equiv (V, E)$.

- Pokud $\forall \langle a, b \rangle \in E. \langle a, b \rangle \in E \rightarrow \langle b, a \rangle \in E$, G nazýváme *neorientovaný*.
- V ostatních případech hovoříme o *orientovaném* grafu.

typ sítě	V	E	G
genové	geny (resp. proteiny)	regulace exprese	or.
proteinové	proteiny	proteinové interakce	neor.
metabolické	metabolity, enzymy	enzymové reakce	or.
signální	molekuly	aktivace/deaktivace	or.

Obsah

Systémové paradigma – sítě interakcí

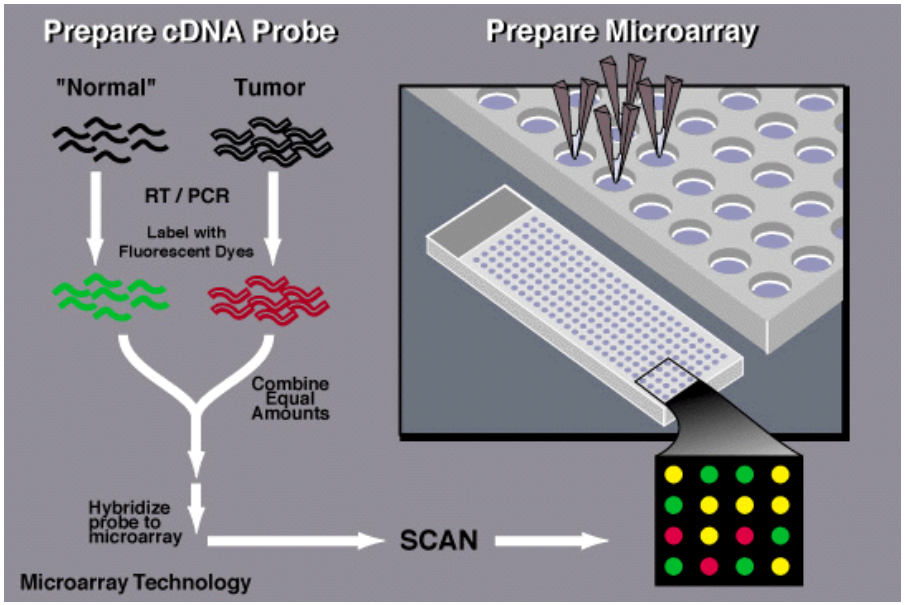
Rekonstrukce genových interakčních sítí

Detekce regulačních interakcí

- využití databází promotorových sekvencí
  - prohledávání promotorových sekvencí na přítomnost známých TFBSs
  - TRANSFAC, MATCH, PromoterScan, RegulonDB promoter analysis, ...
- využití DNA mikročipů
  - identifikace genů s podobnými profily exprese a jejich agregace do skupin (tzv. klastrů)
- analýza promotorů ortologických genů (napříč různými druhy)

Měření genové exprese

- nejpoužívanějším nástrojem je technologie DNA microarray
- umožňuje tzv. high-throughput analýzu
  - v daném okamžiku je paralelně nasamplována exprese všech genů v genomu příslušného organismu
  - postaveno na relativním srovnání minimálně dvou různých vzorků
    - exprese v přítomnosti vs. nepřítomnosti O_2
    - exprese při knock-outu určitého genu vs. normální stav
    - ...



Polymerase Chain Reaction (PCR)

- umožňuje replikaci určité části DNA (tzv. amplifikace)
- DNA je zahřátím rozdělena
- úsek DNA je označen párem oligonukleotidů (15-25 bazí)
  - při snížení teploty hybridizace oligonukleotidů s řetězcem DNA
  - doplnění zbývající sekvence DNA prostřednictvím RNA polymerázy
- `http://www.dnalc.org/resources/animations/pcr.html`
- lze využít i pro mRNA: RT-PCR (reverse transcription PCR)
  - reverzní transkripce mRNA do cDNA
  - amplifikace cDNA (PCR)

Validace a zpracování výsledků

- validace dat separátním měřením koncentrací mRNA nepřímo (pomocí RT-PCR)
  - RT-PCR spuštěna pro oba vzorky (shodný počet kroků PCR)
  - porovnání koncentrací příslušných cDNA
- klastrování dat
  - zjišťování podobnosti mezi datovými vektory
  - agregace do specifických skupin (klastrů)

Klastrování microarray dat

- existují dva hlavní přístupy ke klastrování
  - partitioning – cílem je najít jedno **nejvhodnější** rozdělení do klastrů (parametrem je počet požadovaných klastrů)
    $\Rightarrow$ Self-organizing maps, K-means
  - hierarchické metody – vytvořen celý strom hierarchie
    $\Rightarrow$ kořen – klastr obsahující všechny experimenty, v listech
    $\Rightarrow$ listy – jednoprvkový klastr pro každý experiment
- klastry mohou být identifikovány i pro vektory tvaru $\mathbf{x_j}' = (x_{1j}, ..., x_{nj})$

Algoritmus pro hierarchické klastrování

- nejpoužívanější metoda je tzv. aglomerativní (zdola-nahoru)
- parametrem je míra podobnosti hodnot $d(x_i, x_j)$
- postup (t značí aktuální úroveň):
  1. $t = n \Rightarrow$ inicializuj pro každý gen $i \leq n$: $C_i^n = \{x_i\}$
  2. spoj dva klastery C_k^t a C_l^t s minimální vzdáleností $D(C_k^t, C_l^t)$
  3. update D dle nového rozdělení
  4. $t := t - 1$
  5. iteruj (2-4) dokud $t > 1$

Algoritmus pro hierarchické klastrování

Při aglomeraci se používá míra podobnosti dvou klastrů na téže úrovni t:

- $D(C_k^t, C_l^t) = min_{x_i \in C_k^t, x_j \in C_l^t} d(x_i, x_j)$ (single linkage)
- $D(C_k^t, C_l^t) = max_{x_i \in C_k^t, x_j \in C_l^t} d(x_i, x_j)$ (complete linkage)
- $D(C_k^t, C_l^t) = \frac{1}{|C_k^t||C_l^t|} \sum_{x_i \in C_k^t, x_j \in C_l^t} d(x_i, x_j)$ (average linkage)

Algoritmus pro hierarchické klastrování

- update míry vzdálenosti (krok (3)):

$$D(C_m^{t-1}, C_k^t \cup C_l^t) = \alpha_k D(C_m^t, C_k^t) + \alpha_l D(C_m^t, C_l^t) \\ +\gamma |D(C_m^t, C_l^t) - D(C_m^t, C_k^t)|$$

- single linkage: $\alpha_k = \alpha_l = 0.5$, $\gamma = -0.5$
- complete linkage: $\alpha_k = \alpha_l = 0.5$, $\gamma = 0.5$
- average linkage: $\alpha_i = \frac{|C_i^t|}{|C_k^t| + C_l^t|}$, $i \in \{k, l\}$, $\gamma = 0$

Metoda K-means

- založeno na optimalizaci odchylky mezi expresními profily vzhledem ke středu (průměrnému profilu) klastru
- nejčastěji je tato optimalizace reprezentována minimalizací
- pevně dán počet požadovaných klastrů
- náhodně se inicializují střední profily
  - metoda je přesnější při větším počtu pokusů
- klastry jsou průběžně modifikovány při minimalizaci odchylek (Euklidovské vzdálenosti) od středových profilů

Metoda K-means

- algoritmus K-means má dvě základní fáze
  - výpočet vzdáleností jednotlivých vektorů od vektoru středových hodnot
  - update vzhledem k optimalizační funkci
- nejpoužívanější metrikou je Euklidovská vzdálenost
- vektor středových hodnot je vypočítán jako aritmetický průměr vektorů aktuálně přiřazených danému klasteru

Algoritmus K-means

- vstup: počet iterací (inicializací), počet klastrů K, práh přesnosti ϵ
- náhodně inicializuj rozdělení do klastrů $C_1^1, \ldots C_K^1$ se středy $c_1^1, \ldots, c_K^1$ a vypočítej hodnotu optimalizační funkce W^1
- v i-tém kroku proveď:
  - výpočet $C_1^{i+1}, \ldots, C_K^{i+1}$ – přiřaď každý datový vektor x ke klastru s nejmenší vzdáleností středového vektoru od x
  - přepočítej středové vektory $c_1^{i+1}, \ldots, c_K^{i+1}$ a minimalizuj W^{i+1}
- dokud $\exists k$, $|c_k^i - c_k^{i+1}| \geq \epsilon$, iteruj

Nástroje pro cluster-based analýzu

- klastrování lze využít pro detekci skupin shodně regulovaných genů
- kombinace klastrování dle genů a experimentů
  - odhady regulátorů jednotlivých klastrů
  - odhady programů regulace
- nástroje

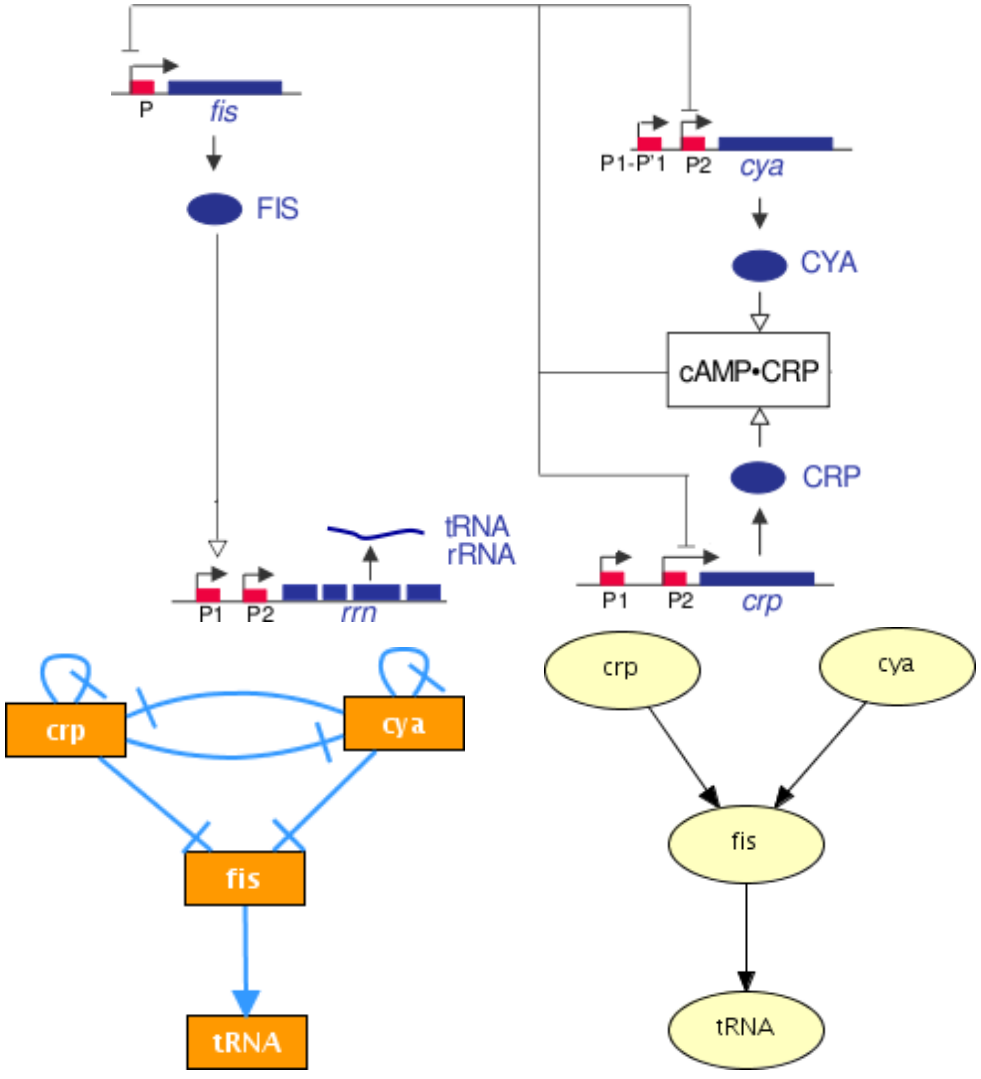
  balíky R a Python (BioPython)

  - STEM - příklad kombinované techniky
    `http://www.cs.cmu.edu/~jernst/stem/`

Předpověď (reinženýring) regulačních sítí

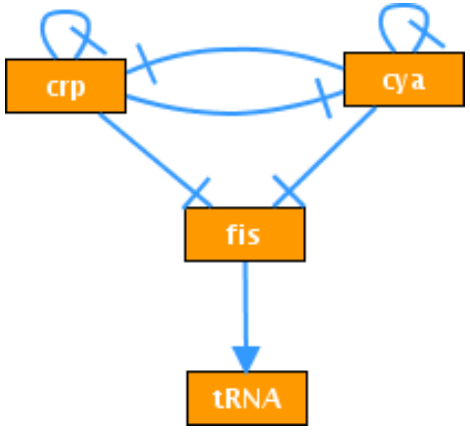
- regulační sítě lze předpovídat z microarray dat
- předpověď struktury sítě
  - detekce podmíněných závislostí proměnných
  - charakter korelace proměnných
- předpověď dynamiky proměnných
  - fitování naměřených dat na (spojitý) model
  - pravděpodobnostní rozložení diskrétních hodnot

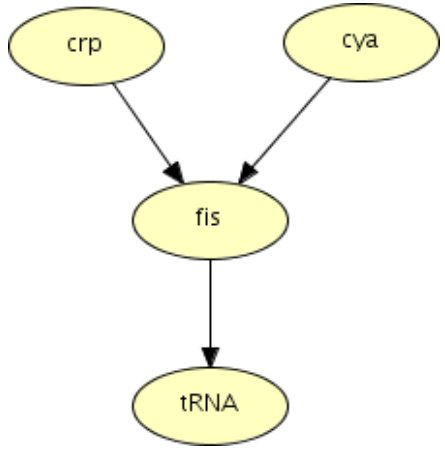
Předpověď (reinženýring) regulačních sítí



Předpověď (reinženýring) regulačních sítí

Boolovské vs. Bayesovské sítě





$$crp(t+1) = \neg crp(t) \wedge \neg cya(t)$$
$$cya(t+1) = \neg cya(t) \wedge \neg crp(t)$$
$$fis(t+1) = \neg crp(t) \wedge \neg cya(t)$$
$$tRNA(t+1) = fis(t)$$

$$P(X_{crp})$$
$$P(X_{cya})$$
$$P(X_{fis}|X_{crp}, X_{cya})$$
$$P(X_{tRNA}|X_{fis})$$

Předpověď (reinženýring) regulačních sítí

Bayesovské sítě

$$P(V|W) = \frac{P(V,W)}{P(W)}$$

$$P(W|V) = \frac{P(W,V)}{P(V)}$$

$$P(V,W) = P(W,V) = P(V|W) \cdot P(W) = P(W|V) \cdot P(V)$$

Bayesův vzorec:

$$P(V|W) = \frac{P(W|V) \cdot P(V)}{P(W)}$$

Obecně pro pravděpodobnost současných jevů platí řetězové pravidlo:

$$\begin{aligned} P(V,W,Y) &= P(V|W,Y) \cdot P(W,Y) \\ &= P(V|W,Y) \cdot P(W|Y) \cdot P(Y) \end{aligned}$$

Předpověď (reinženýring) regulačních sítí

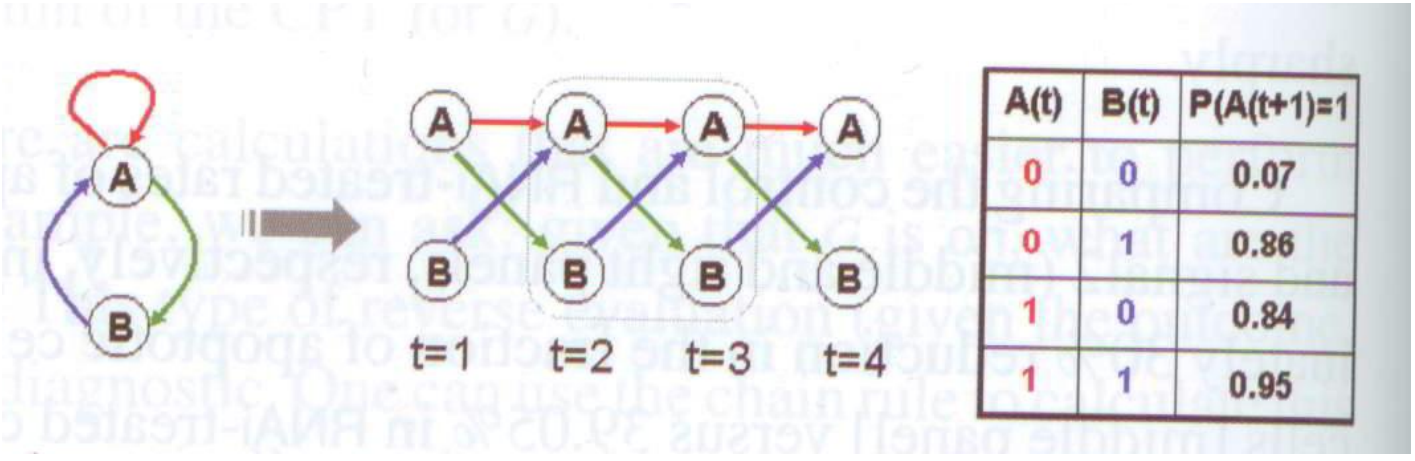
Algoritmy pro bayesovské sítě

- strojové učení z experimentálních dat:
  - algoritmy učení struktury
  - algoritmy učení pravděpodobnostního rozložení
    např. Expectation Maximization (EM) – iterativní metoda maximalizující $P(data|model)$
  - kombinované algoritmy
- pro úspěšný výsledek vyžadována rozsáhlá sada dat
- nástroje:
  - Hugin (`http://www.hugin.com/`)
  - Genomica (`http://genomica.weizmann.ac.il/`)

Předpověď (reinženýring) regulačních sítí

Algoritmy pro bayesovské sítě

- problémem jsou zpětné vazby (cykly v síti)
- řešením je unfolding v diskrétním čase:



A(t)	B(t)	P(A(t+1)=1
0	0	0.07
0	1	0.86
1	0	0.84
1	1	0.95

- původní síť s n uzly je nahrazena sítí s $2n$ uzly
- tabulka podmíněných pravděpodobností charakterizuje pravděpodobnost přechodů mezi jednotlivými konfiguracemi