

# Transcriptome

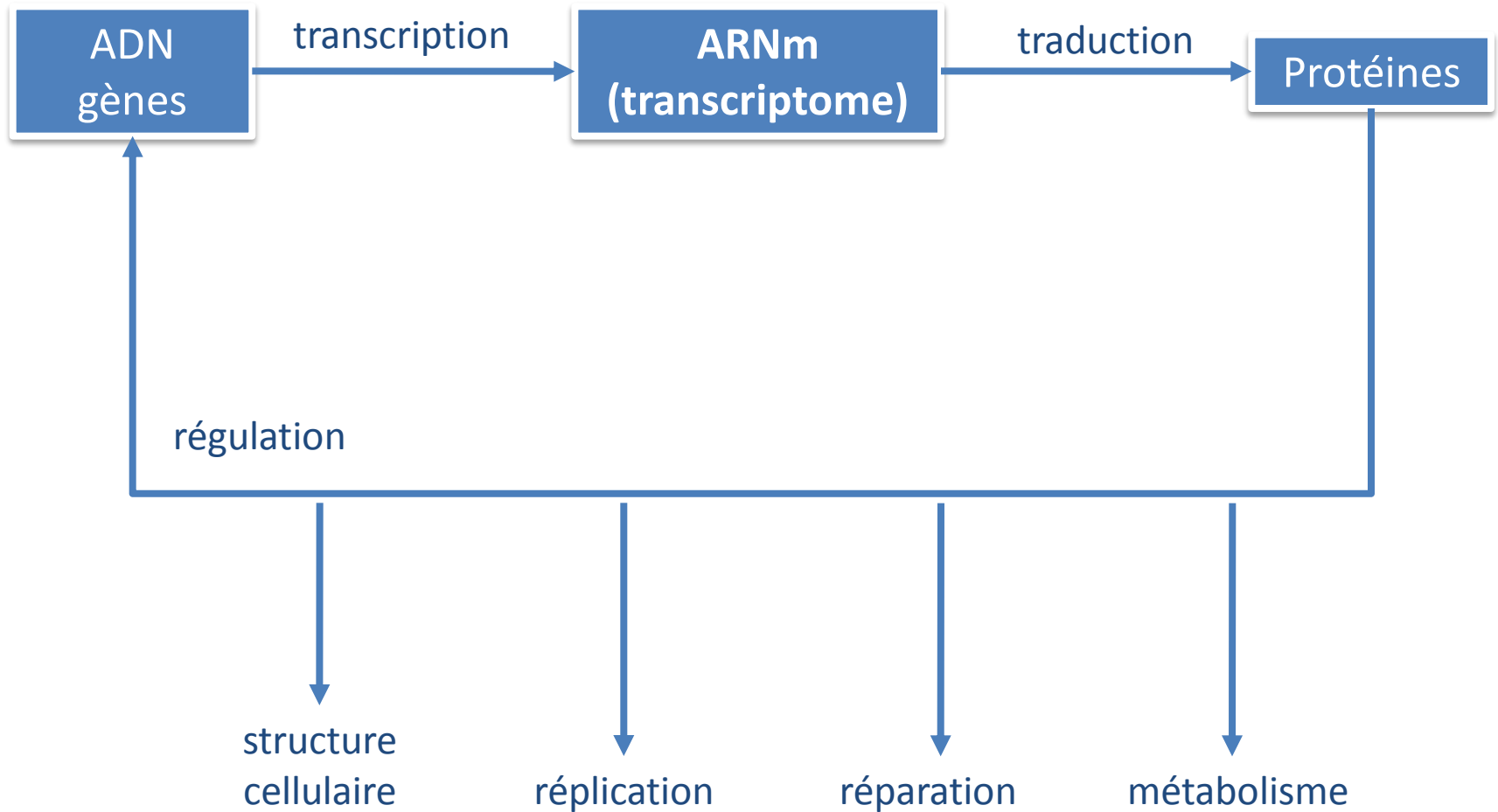
- Transcriptome : ensemble des ARNm ou transcrits présents dans une cellule ou une population de cellules dans des conditions données.
- Plan
  - Introduction
    - Acquisition des données
    - Description des données
    - Transformation, normalisation et filtrage
  - Analyse des données de transcriptome
    - Gènes différentiellement exprimés
    - Gènes co-exprimés
  - Interprétation
    - Caractérisation d'un ensemble de gènes

# Applications

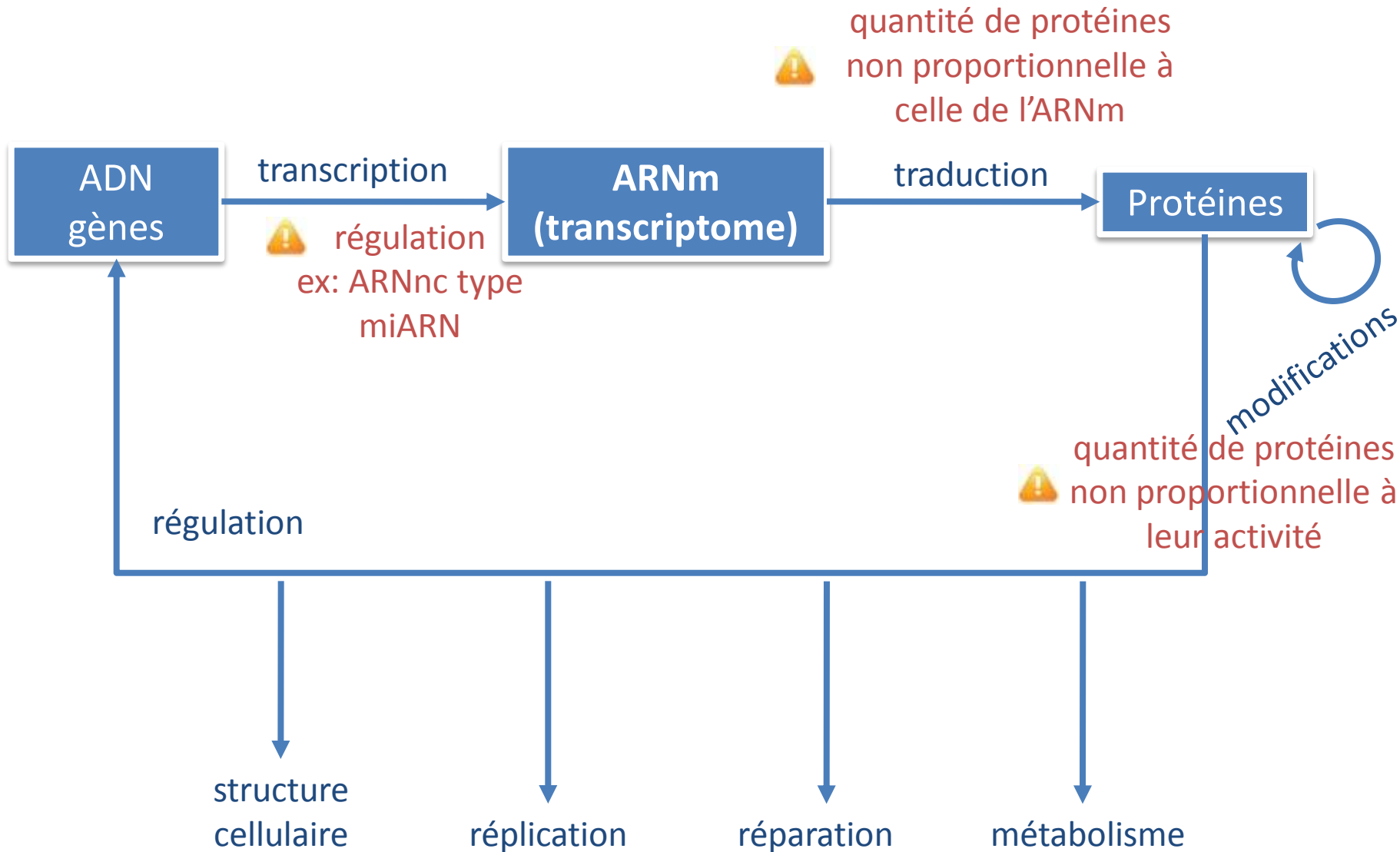
Accès au niveau d'expression de milliers de gènes simultanément

- Indication sur la **fonction** des gènes ou implication des gènes dans des **processus biologiques**
- **criblage** antérieur à des expérimentations plus ciblées, plus longues et plus coûteuses
- Reconstruction de réseaux de régulation (cinétique)
- Exemples
  - Traitement chimique, antibiotique, ... : gènes de résistance, processus biologique (ex: transformation et compétence) , toxicité
  - Tissus sain vs. tissus malade
    - cancer : oncogènes et gènes suppresseurs, diagnostique clinique et traitement adapté
  - Organes différents : gènes spécifiques et « gènes de ménage »
  - Différents stades de développement : gènes impliqués au cours des différentes phases

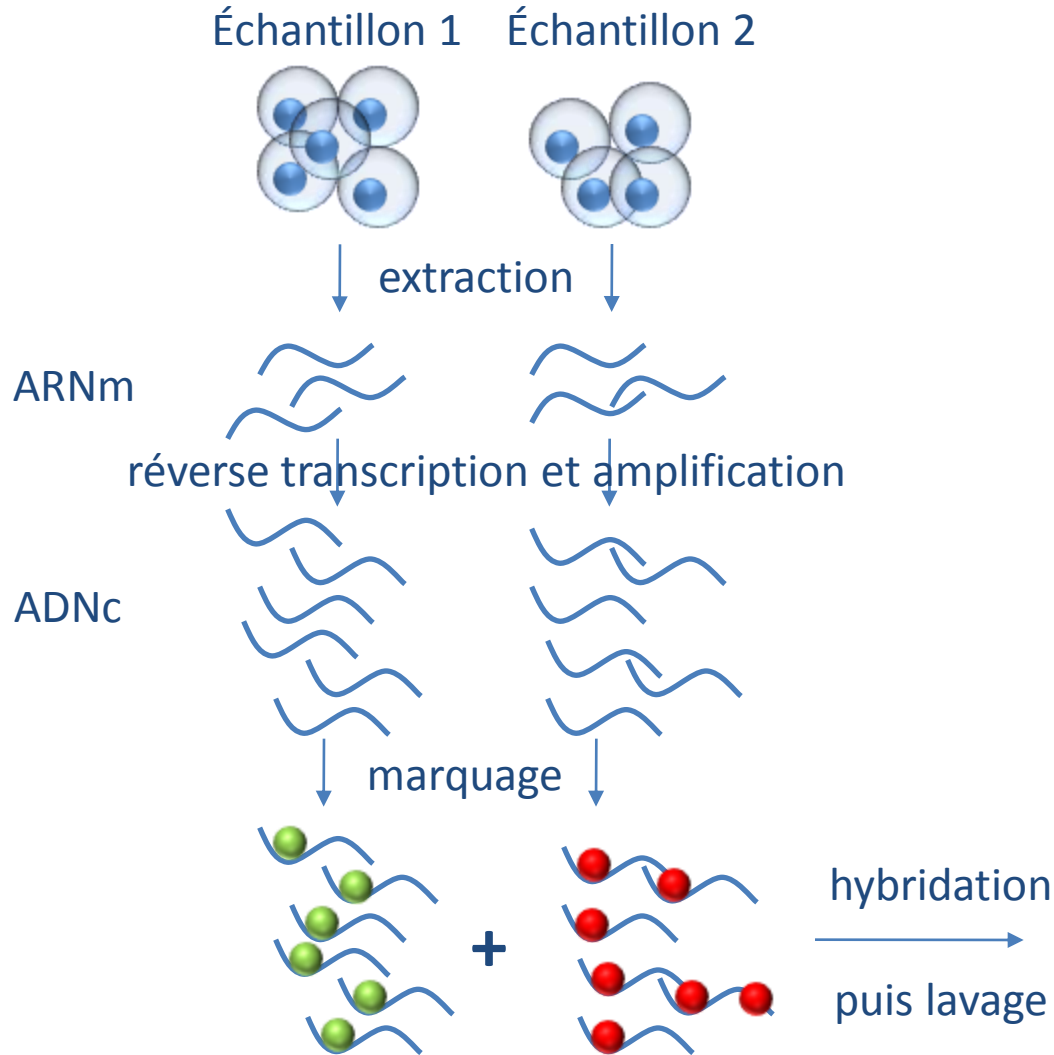
# Contexte



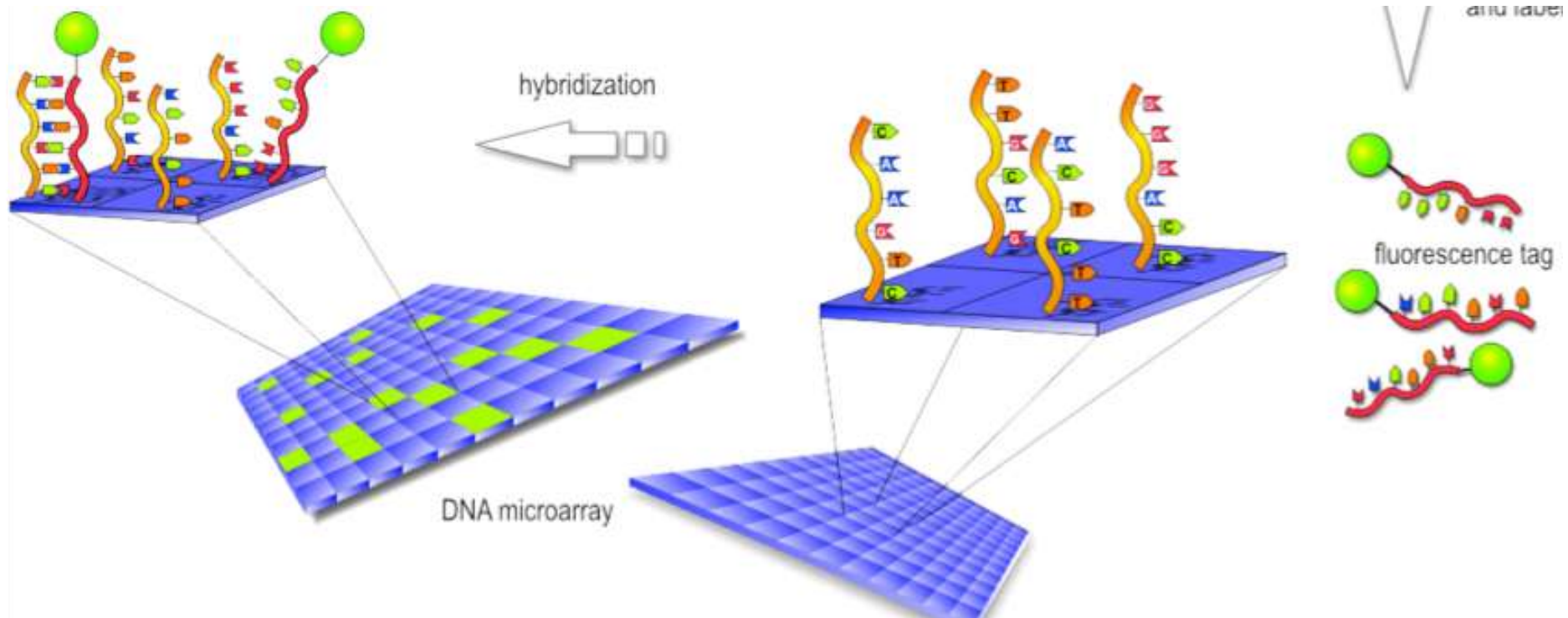
# Contexte



# Acquisition des données

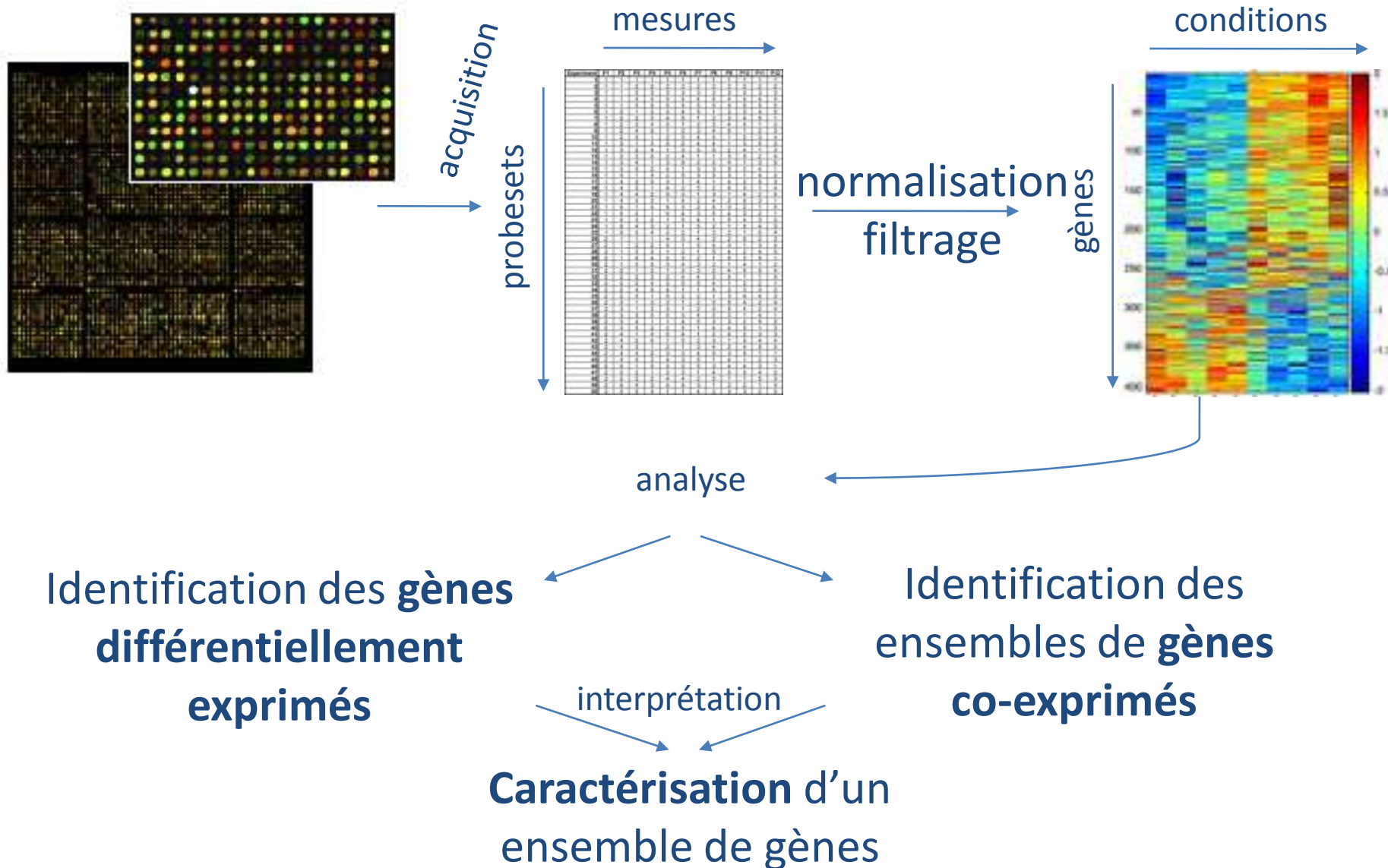


# Hybridization



# Analyse et interprétation des données

7





# Analyse d'image : segmentation

ImaGene 7.0 Standard Edition

File Edit Grid Selection Auto Measure Tools Help

Main Raw Data

Gene ID Gene101-g-11-a7 [Ensembl](#)  
 Field A [UCSC](#)  
 Metarow 1 Metacolumn 1 [google](#)  
 Row 3 Column 12  
 Diameter 27.0

Name	Original	Segmented	Composite	Histogram
SampleA.tif				
SampleB.tif				

SampleA.tif SampleB.tif

Col...	Ge...	Flag	Sign...	Backgroun...	Signal ...	I
	Gene10...0		549.0656	129.07239	518.0	96
	Gene10...2		279.90665	123.66366	253.0	96
	Gene10...0		495.18198	169.3056	460.0	13
	Gene10...0		1659.715	173.85075	1516.0	13
	Gene10...3		435.7344	120.29381	352.0	88
	Gene10...0		410.7131	126.89803	385.0	10
	Gene10...0		660.6724	122.44312	620.0	92
	Gene10...2		120.08343	117.65608	96.0	89
	Gene10...0		636.53723	133.79585	610.0	10
	Gene10...0		448.16446	140.77953	398.0	11
	Gene10...0		839.65326	157.10127	794.5	12

Selected rows: 1

Save Export XML Close

Right-click to "Freeze" relation

Composite SampleA.tif SampleB.tif SampleA.tif seg SampleB.tif seg Plots

Active tool: Adjust Spot

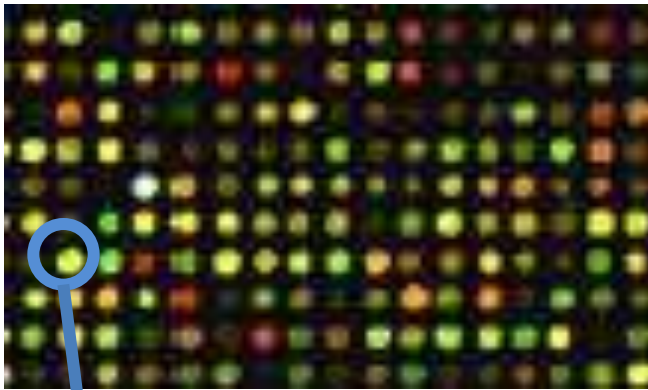


# Données de transcriptome

- Accès au niveau d'expression de milliers de gènes simultanément
  - Intensité de fluorescence par spot
    - proportionnelle à la quantité d'ADN hybridé
    - **abondance relative des transcrits** : ratio (quantification absolue encore difficile)

# Mesure du niveau d'expression

- ♦ échantillon 1 = fluorochrome vert (Cy3)
- ♦ échantillon 2 = fluorochrome rouge (Cy5)



2 canaux :

- intensité de vert
- intensité de rouge



1 spot = ensemble d'oligonucléotides

- ♦ tous les mêmes
- ♦ variations de séquence
- ♦ plusieurs séquences spécifiques d'un gène



des spots différents peuvent correspondre au même gène

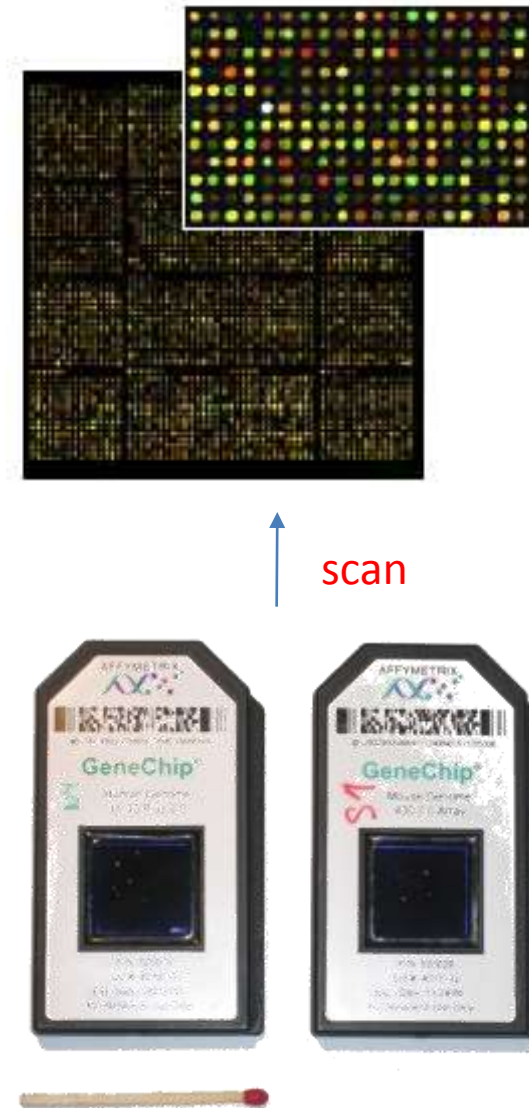
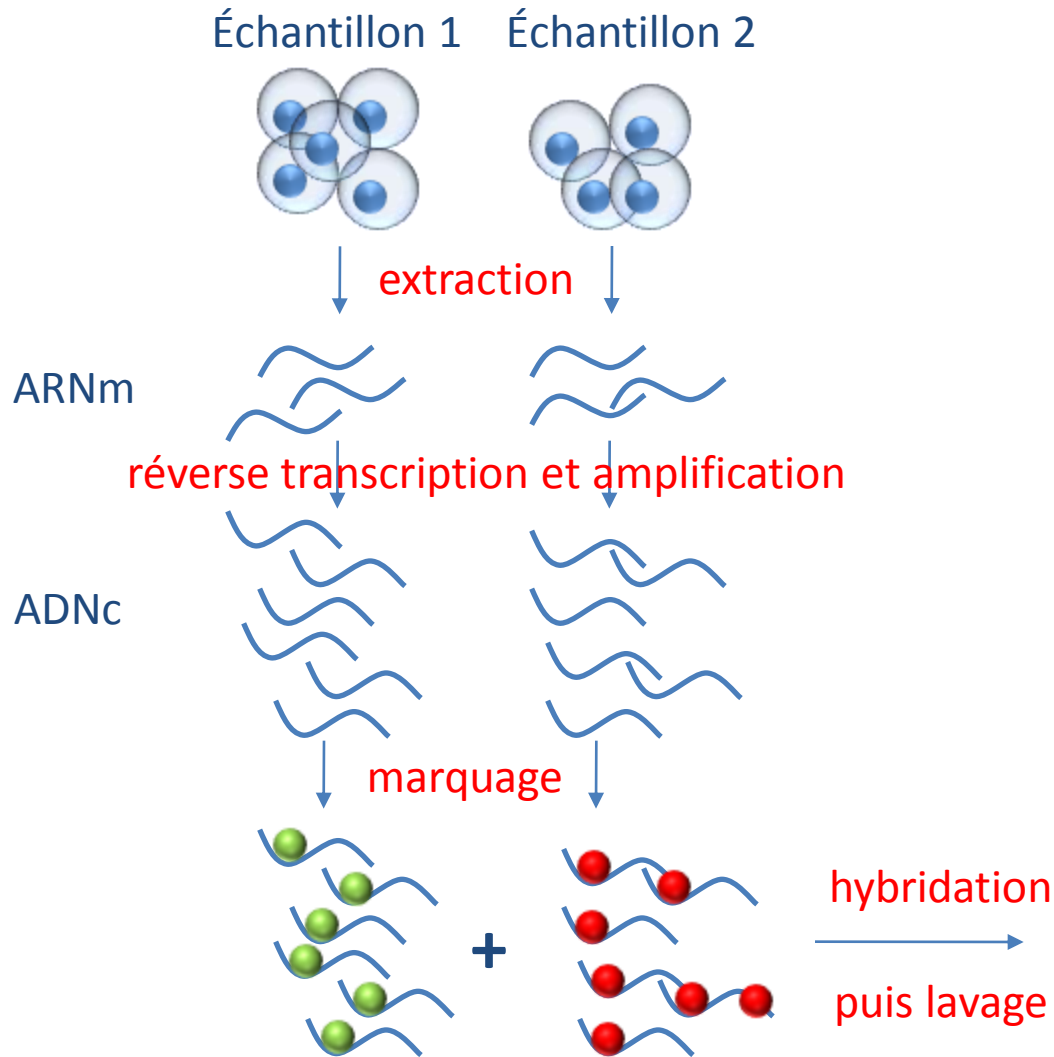


un spot peut correspondre à plusieurs gènes

# Données de transcriptome

- De **nombreuses sources d'erreur et de variabilité**
  - Variabilité biologique
    - Population de cellules ou patients/tissus différents
  - Variabilité technique
    - Étape d'amplification
    - Incorporation des fluorochromes
    - Bruit (artefacts, bruit de fond)
    - Données manquantes (mesures absentes pour certains réplicats)
  - Erreur, ex : Saturation
    - du scanner pour les fluorochromes
    - de la plaque pour la radioactivité
    - du spot sur la puce

# Acquisition des données



# Données de transcriptome

- Solution : répliquats & traitement statistique
  - 🚨 Nombre de répliquats augmente la fiabilité des résultats
- Répliquat biologique & répliquat technique

# Réplicats & validation

- Motivation
  - Variabilité des mesures
    - 2 expériences de puces avec les mêmes paramètres produisent des résultats (légèrement) différents
  - estimer l'erreur non systématique associée à une mesure
  - évaluer le niveau de variabilité des mesures

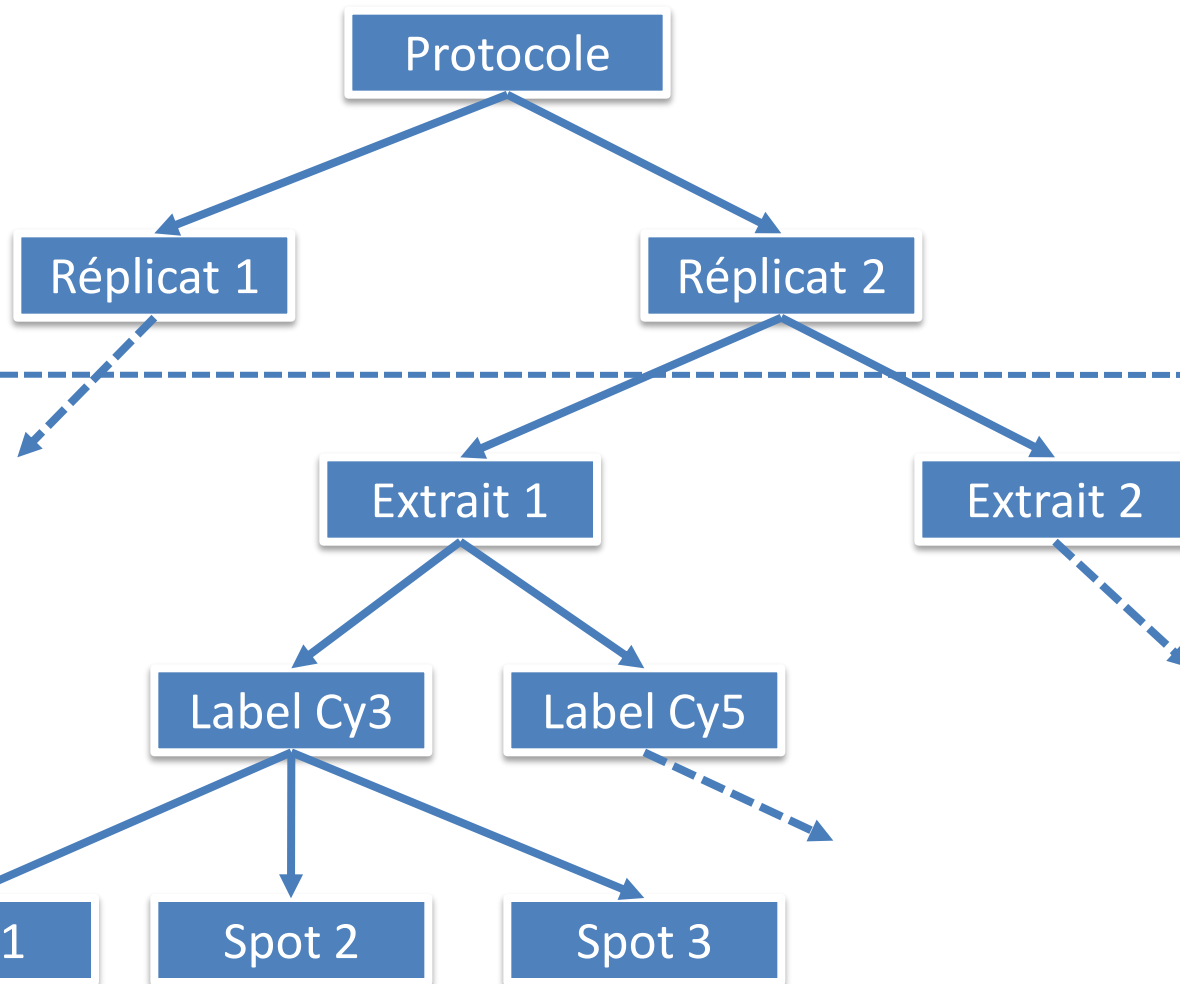


# Réplicats & validation

- Nombre et nature des réplicats dépendent des objectifs de l'étude
  - réplicat technique : plusieurs extraits d'un même échantillon
    - ex: dye swap
    - variabilité due au bruit expérimental
  - réplicat biologique : échantillons différents
    - provenant d'expériences menées en parallèle
    - ex: population de cellules, patient différent
    - variabilité « naturelle » d'un système

# Réplicats

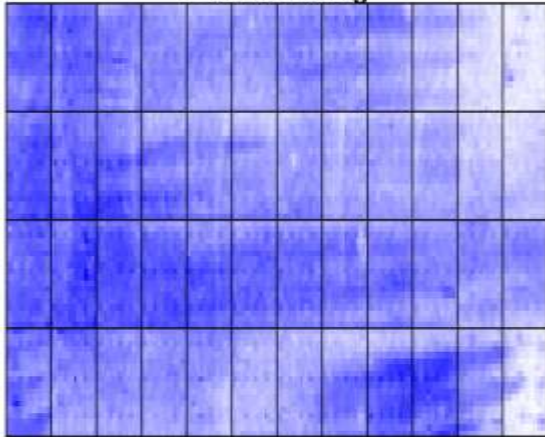
Réplicats  
biologiques



Réplicats  
techniques

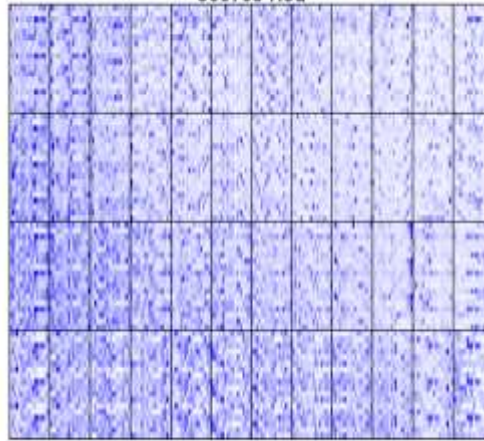
# Exemples d'hybridation

**300768 Red bg**



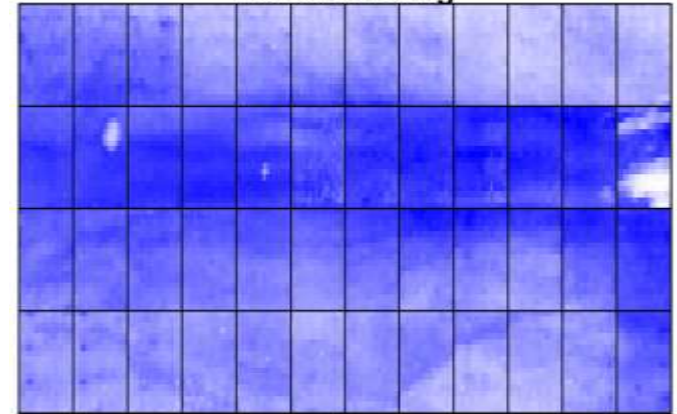
z-range 6.5 to 10.2 (saturation 6.5, 10.2)

**300768 Red**



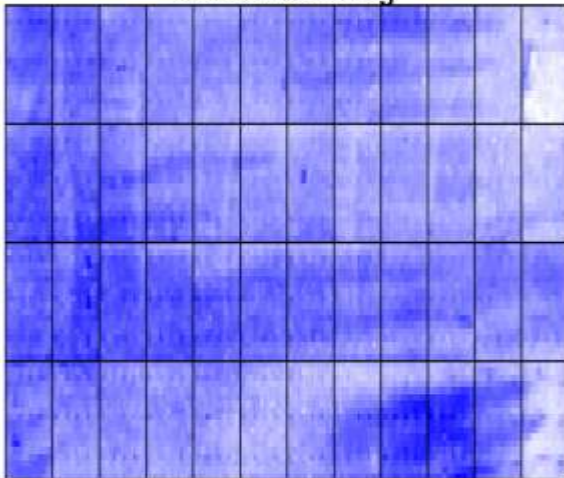
z-range 8.7 to 15.9 (saturation 6.7, 15.9)

**227839 Red bg**



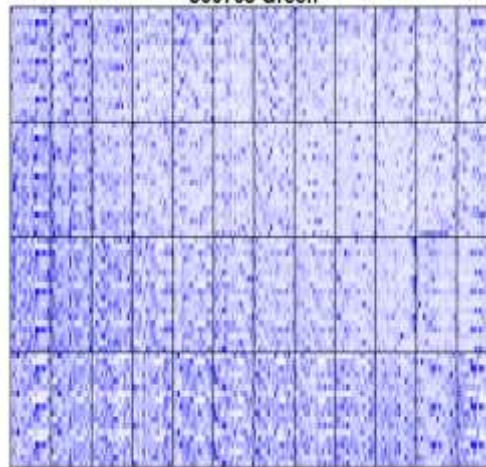
z-range 6.6 to 10.1 (saturation 6.6, 10.1)

**300768 Green bg**



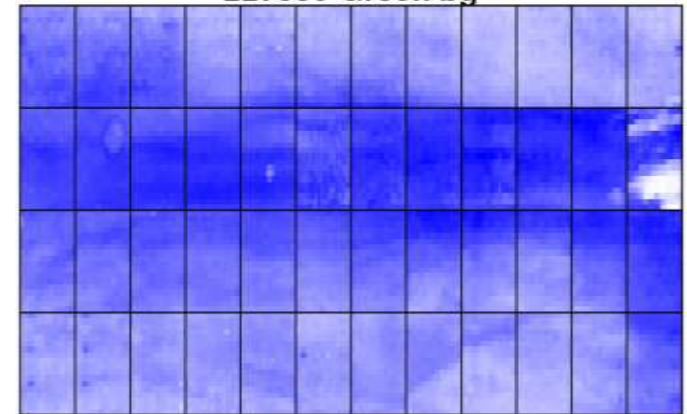
z-range 7.1 to 10.4 (saturation 7.1, 10.4)

**300768 Green**



z-range 7.2 to 15.9 (saturation 7.2, 15.9)

**227839 Green bg**

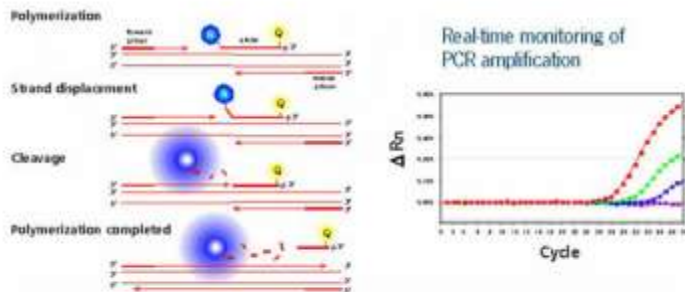


z-range 6.4 to 10.1 (saturation 6.4, 10.1)

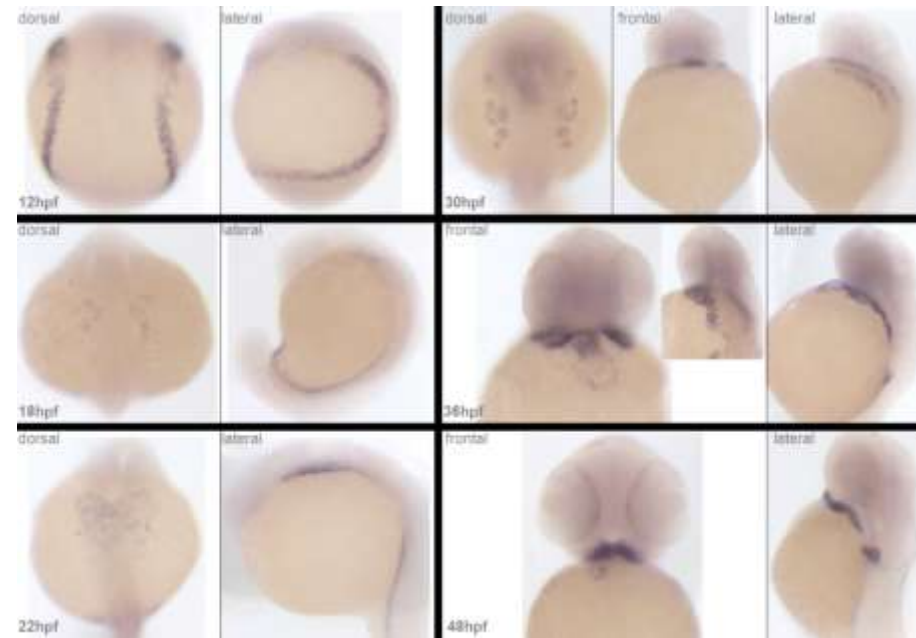
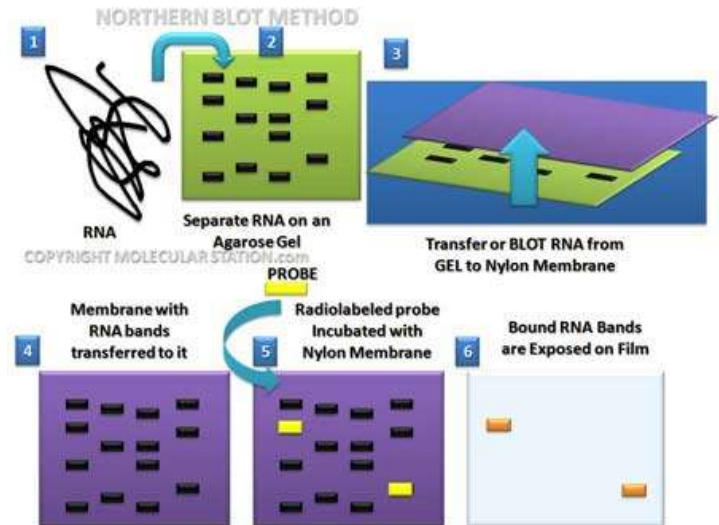
# Validation

- Validation
  - directe : Northern blot, qPCR, TaqMan
  - indirecte : hybridation *in situ*, Western blot


## TaqMan system

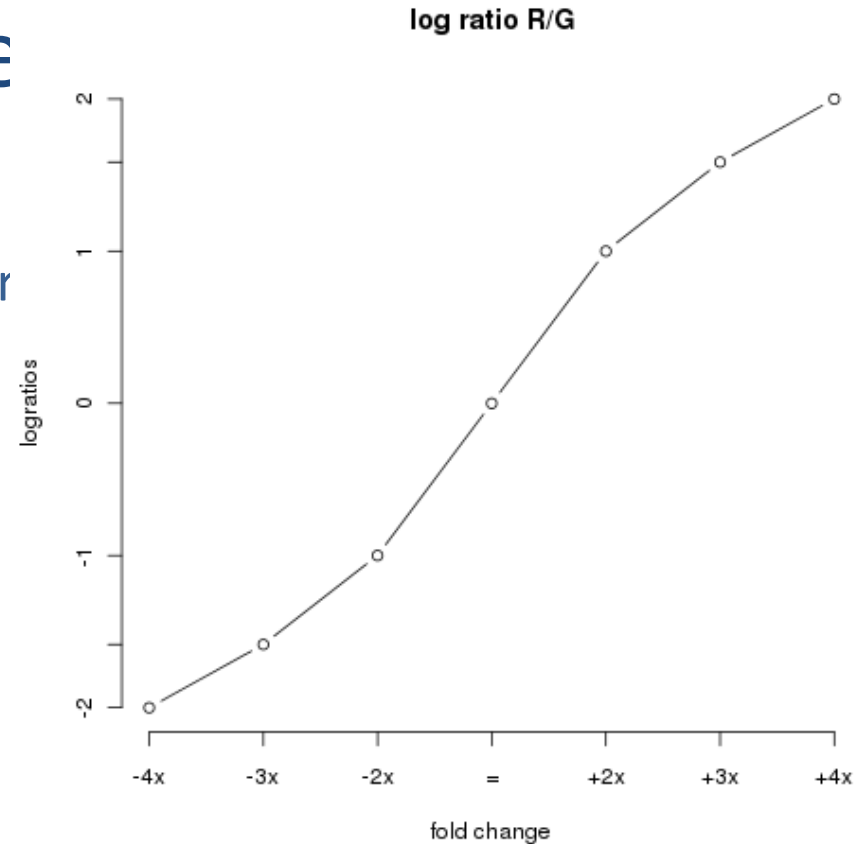


<http://documents.plant.wur.nl/>



# Transformation de

- Données initiales
  - valeurs des intensités pour
- Variations de l'expression
- ratios  $T = I_{\text{rouge}}/I_{\text{verte}}$ 
  -  effet multiplicatif :
    - 1: pas de changement
    - 2: 2x plus exprimé
    - 0.5: 2x moins exprimé
- fold change :
  - $-1/T$  lorsque  $T < 1$  (ex: 0.5 donne -2)
  - difficultés pour les analyses mathématiques dues à la discontinuité entre -1 et 1
- transformation logarithmique
  - mesure continue
  - $\log_2(0.5) = -1$  ;  $\log_2(1) = 0$  ;  $\log_2(2) = 1$



# Filtrage

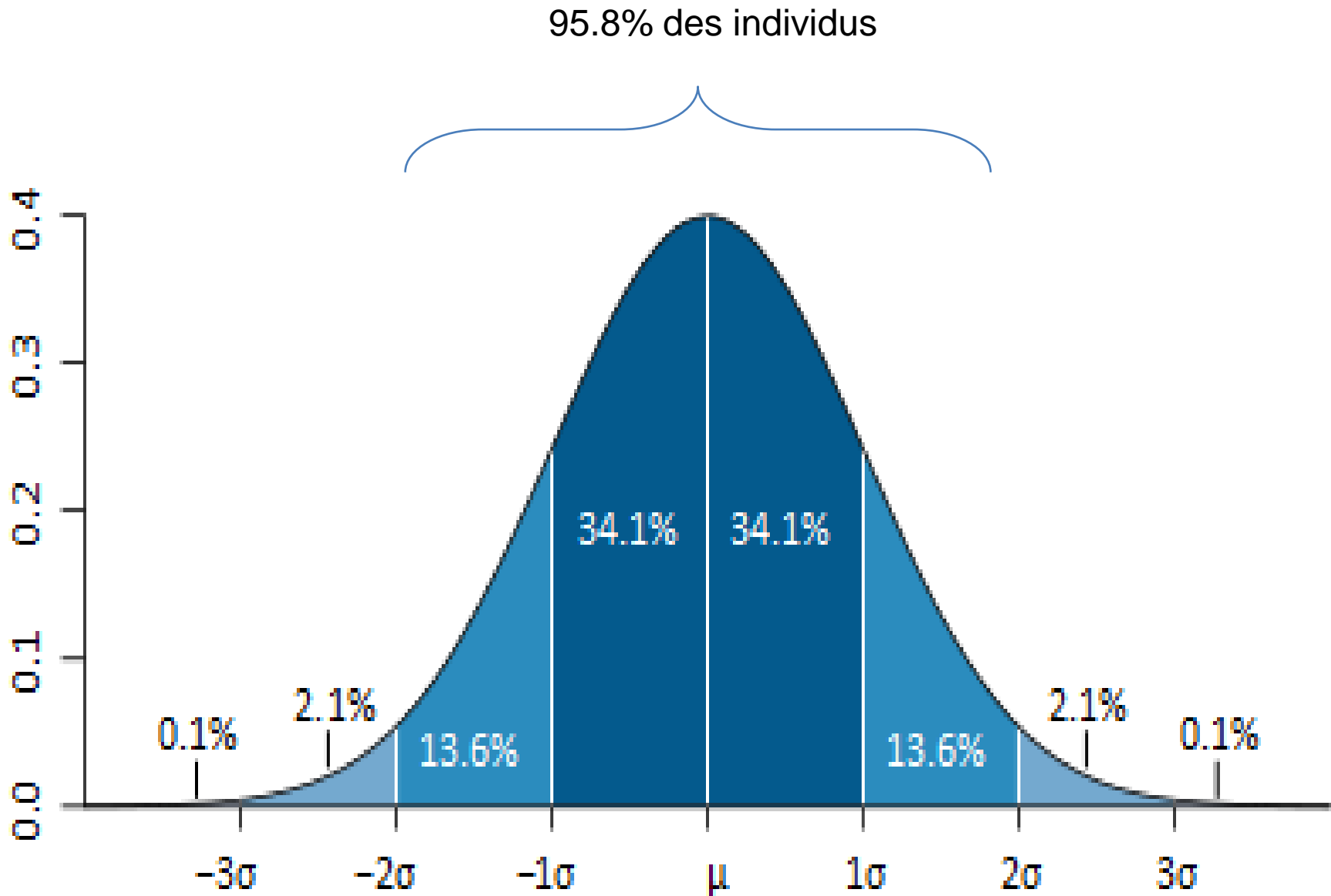
- Motivation
  - valeurs de (trop) faible intensité
    - non exprimé ?
    - valeur manquante (problème sur la puce) ?
  - outlier (valeurs aberrantes)
  - valeurs de trop forte intensité (saturation)



# Filtrage

- Valeurs de faible intensité
  - les valeurs dépassant légèrement le bruit de fond ont plus de chance d'être imprécises ou de mauvaise qualité
- Filtrage : on élimine les valeurs inférieures à
  - $I_{\text{médiane}} \text{ du bruit de fond} + 2 \times \sigma(\text{bruit de fond})$
  - $I_{\text{moyenne}} \text{ du bruit de fond} + 2 \times \sigma(\text{bruit de fond})$

# Distribution normale

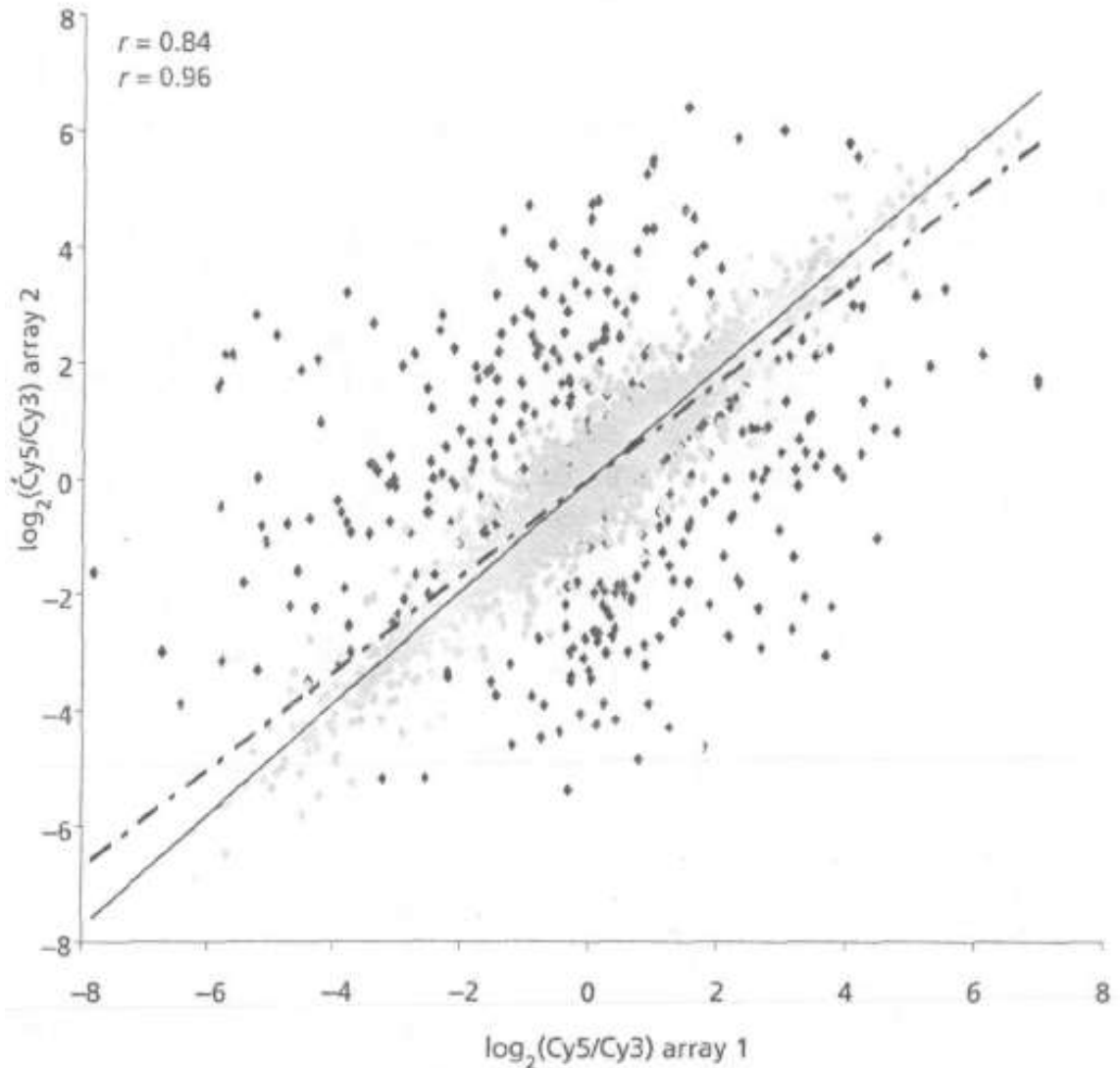


# Filtrage des outliers (dye swap)

- Variabilité des réplicats
- Exemple: 2 échantillons A et B
- 1<sup>ère</sup> expérience A rouge (Cy5) et B vert (Cy3)
- pour le i-ème gène on a 
$$T_{1i} = \frac{R_{1i}}{G_{1i}} = \frac{A_{1i}}{B_{1i}}$$
- 2<sup>ème</sup> expérience (dye swap) A vert et B rouge
- pour le i-ème gène on a 
$$T_{2i} = \frac{R_{2i}}{G_{2i}} = \frac{B_{2i}}{A_{2i}}$$
- on attend  $(T_{1i} * T_{2i}) = \left( \frac{A_{1i}}{B_{1i}} * \frac{B_{2i}}{A_{2i}} \right) = 1$  équivalent à  $\log_2 (T_{1i} * T_{2i}) = 0$

# Filtrage des outliers (2 réplicats)

- Moyenne et écart-type
  - Inspection manuelle afin d'identifier le spot aberrant
  - suppression des spots



# Normalisation

- Motivations
  - rendre comparables les intensités provenant
    - des différents canaux d'une même hybridation
    - de différentes hybridations
  - quantité d'ARN différentes dans les échantillons
  - efficacité de la détection de fluorescence
  - biais systématiques, artefacts
  - ex: pour un même échantillon marqué vert et rouge, le  $\log_2(\text{ratio})$  est rarement 0.
- Normalisation: transformation des données pour corriger ces effets.

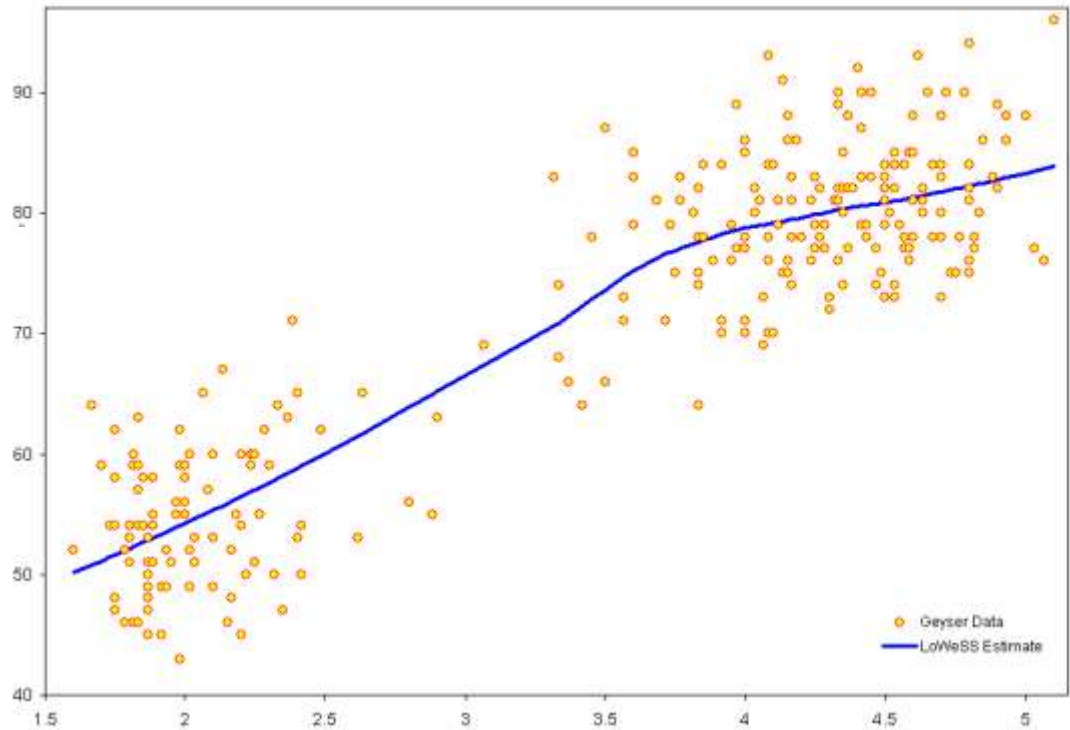
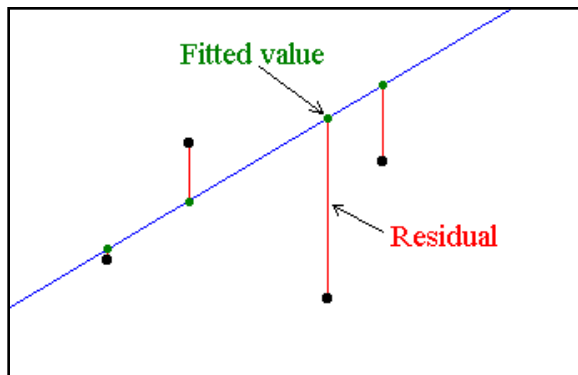
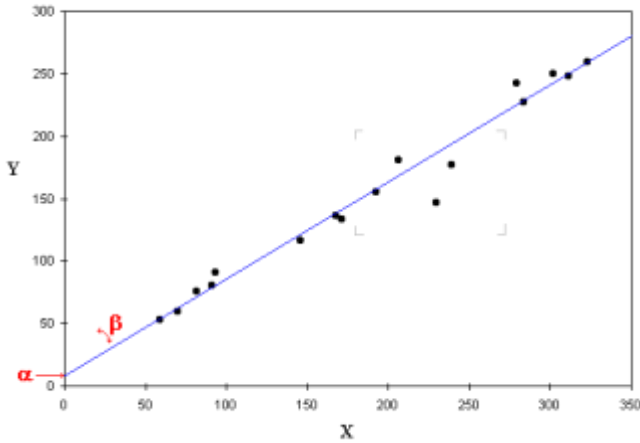
# Normalisation

- Approches:
  - ensemble de contrôle
    - soit gènes de ménage, soit exogène
  - (sous-)ensemble des intensités sur la puce
    - suppose que la plupart des gènes ont le même niveau d'expression
- Nombreuses méthodes:
  - intensité totale
  - centrage sur la moyenne des log
  - régression linéaire
  - lowess



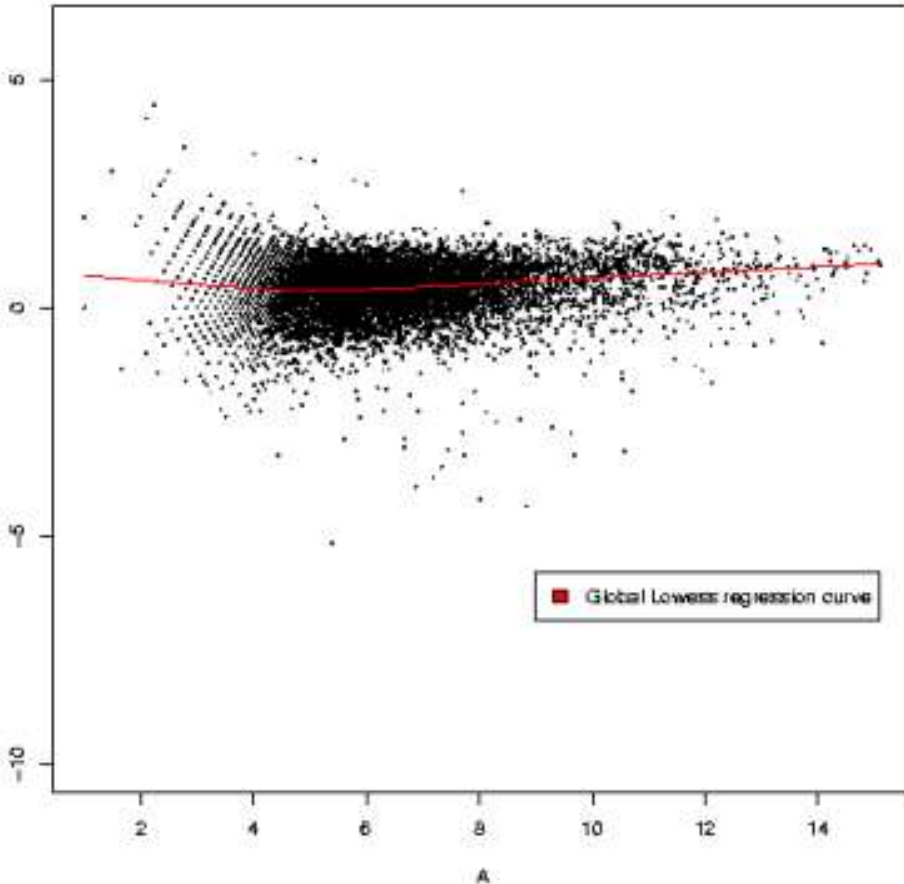
# Lowess

- Régression linéaire
- ◆ **Locally weighted scatter plot smoothing**

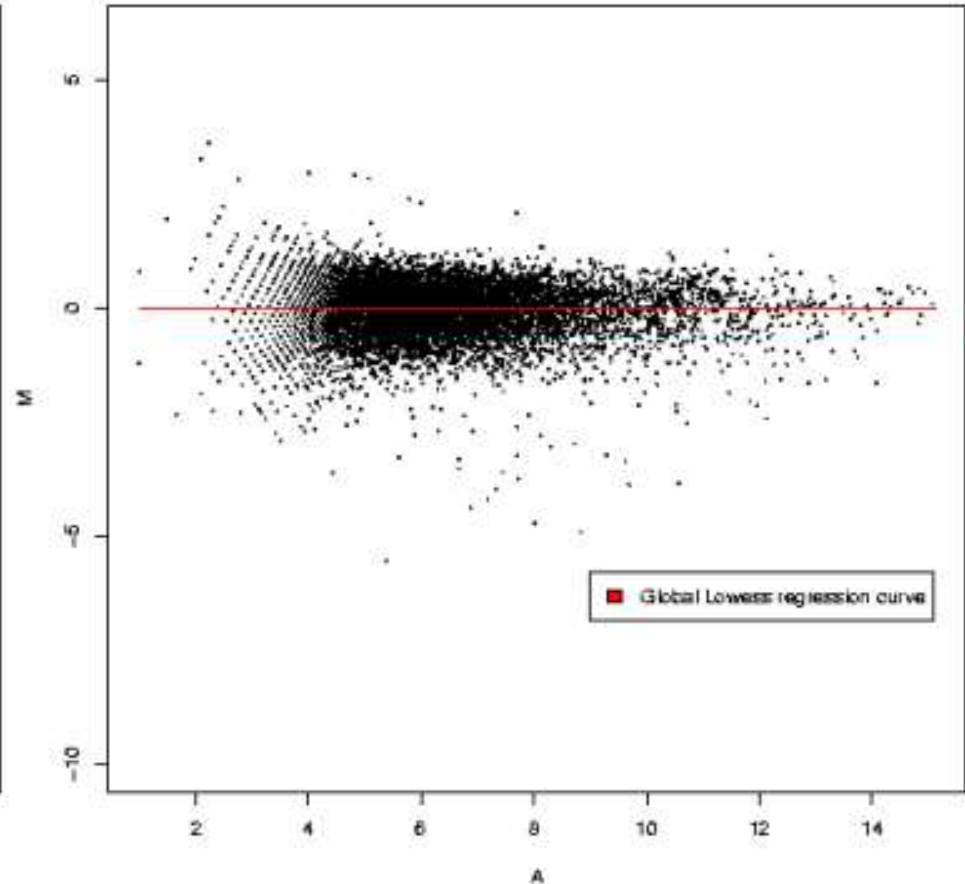


# Normalisation lowess

MA-plot before normalisation (excluding filtered spots)

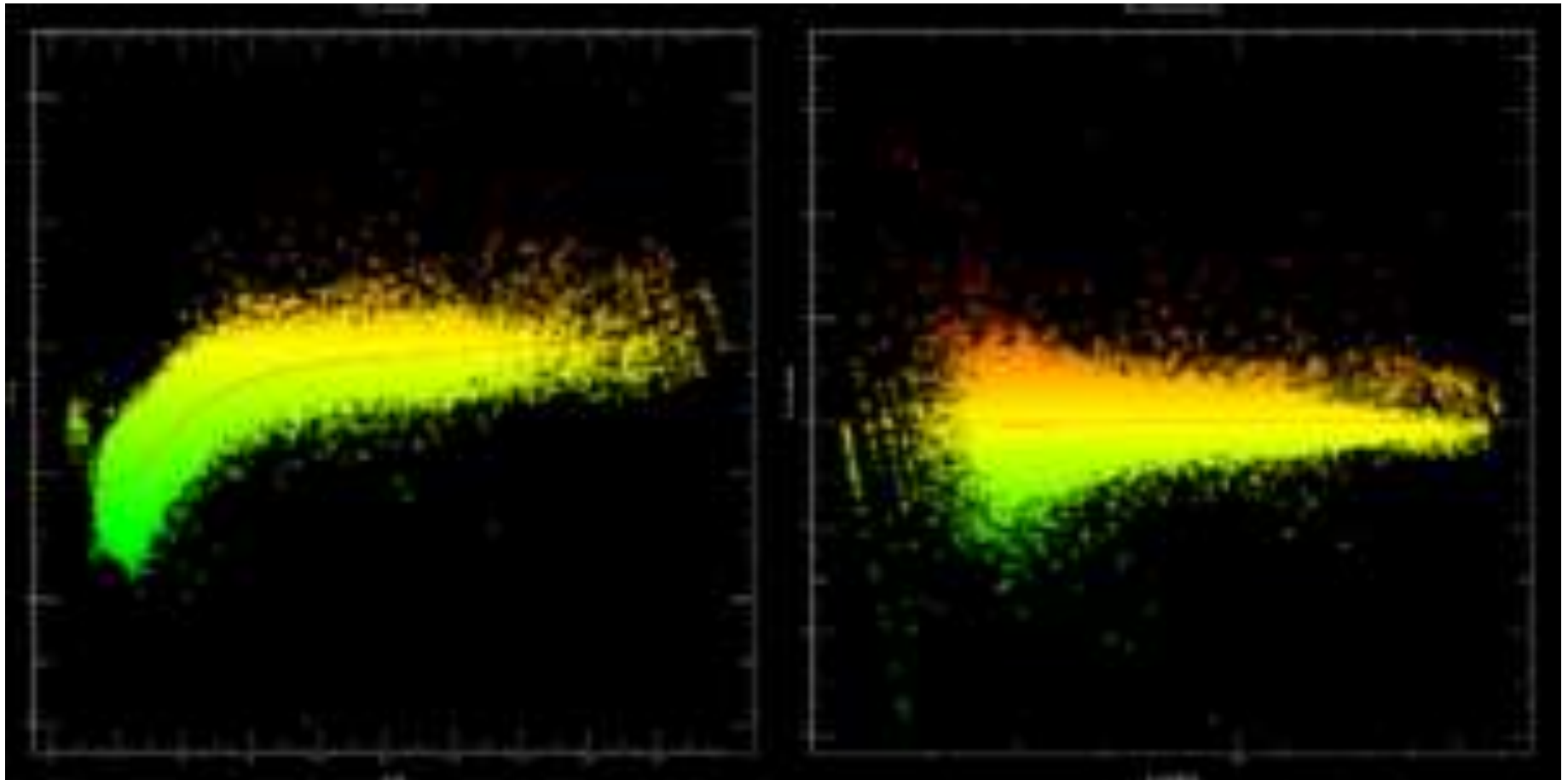


MA-plot after normalisation with lowess global curve (excluding filtered spots)

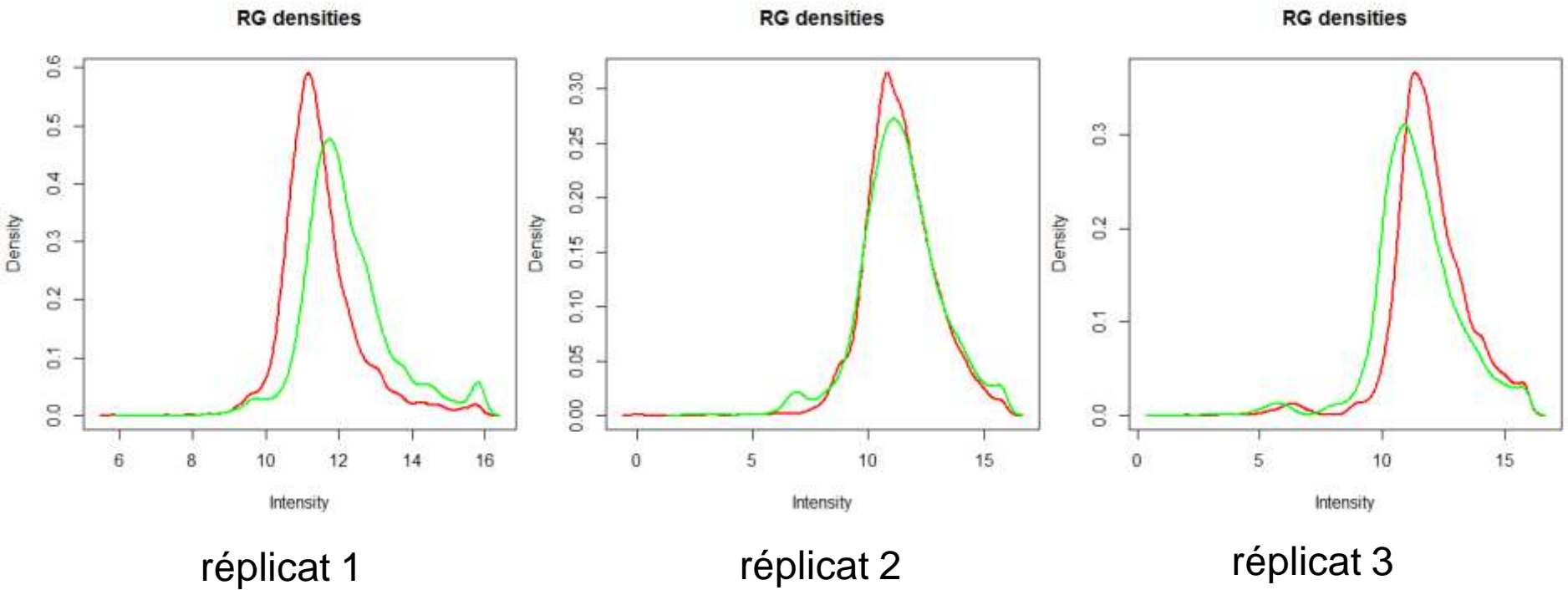


- M-A plot
  - M: ordonnées, ratios des intensités.  $\log_2 R - \log_2 G = \log_2 (R/G)$ 
    - variation de l'expression entre les 2 hybridations
  - A: abscisses, moyenne des intensités du spot.  $\frac{1}{2} (\log_2 R + \log_2 G)$ 
    - niveau (intensité) d'expression

# Normalisation

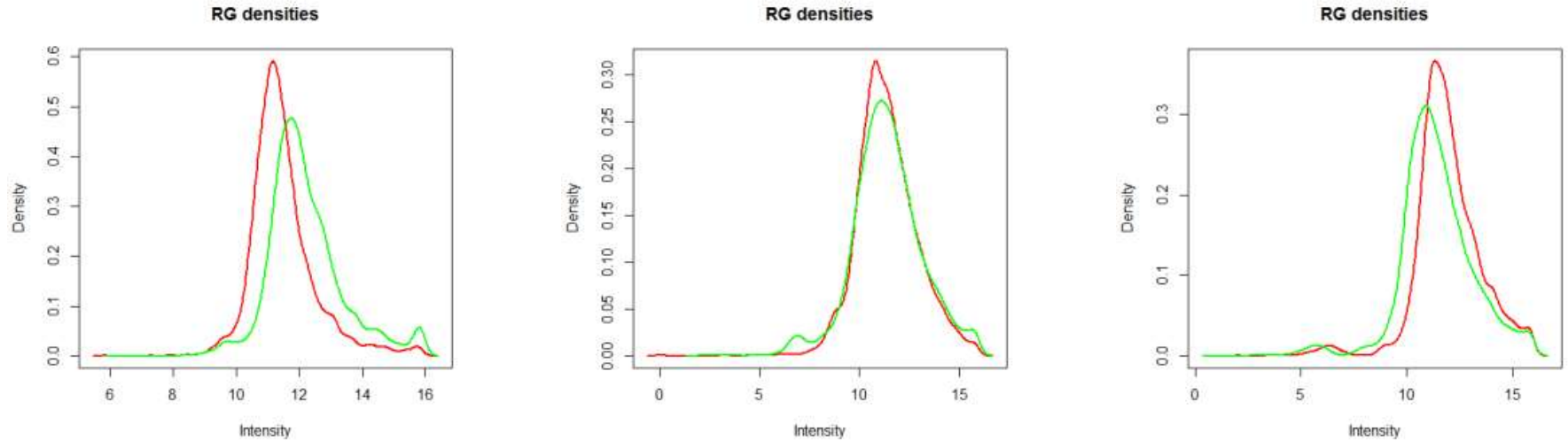


# Avant normalisation

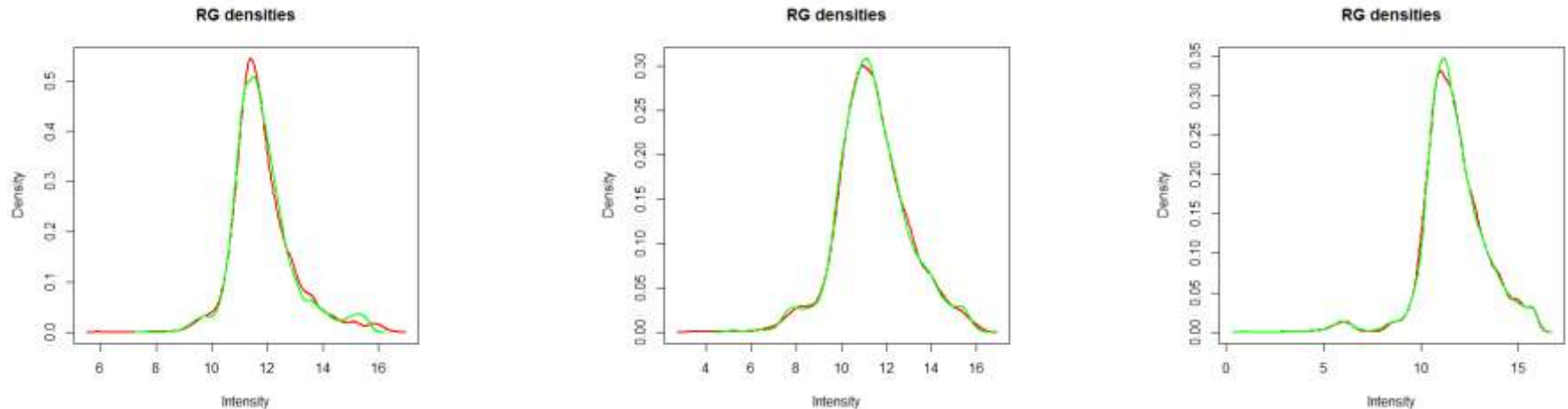


Distributions des intensités rouges et vertes

# Avant normalisation

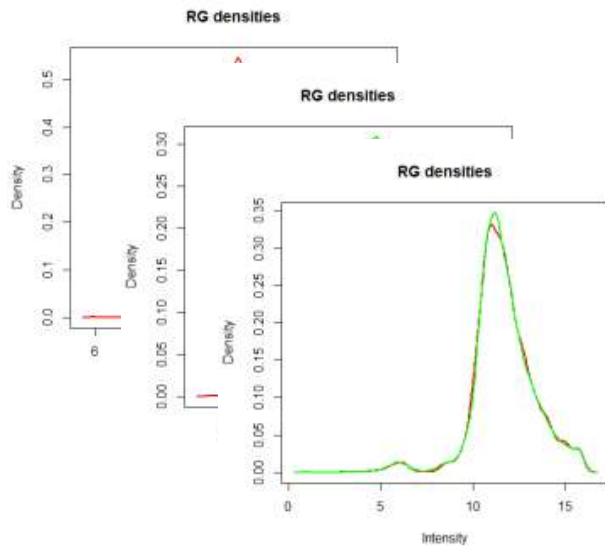


# Après normalisation intra-puces

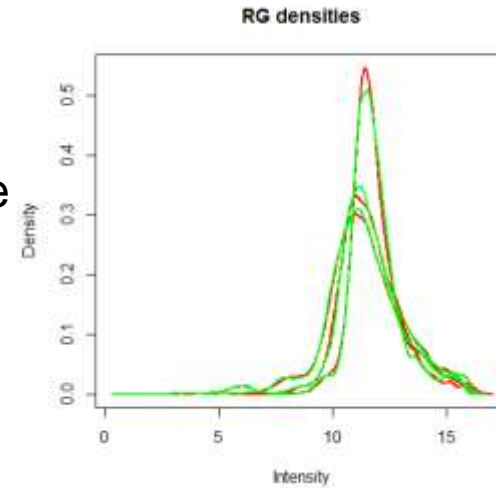


= rendre comparables les intensités de rouge et de vert au sein d'une même hybridation

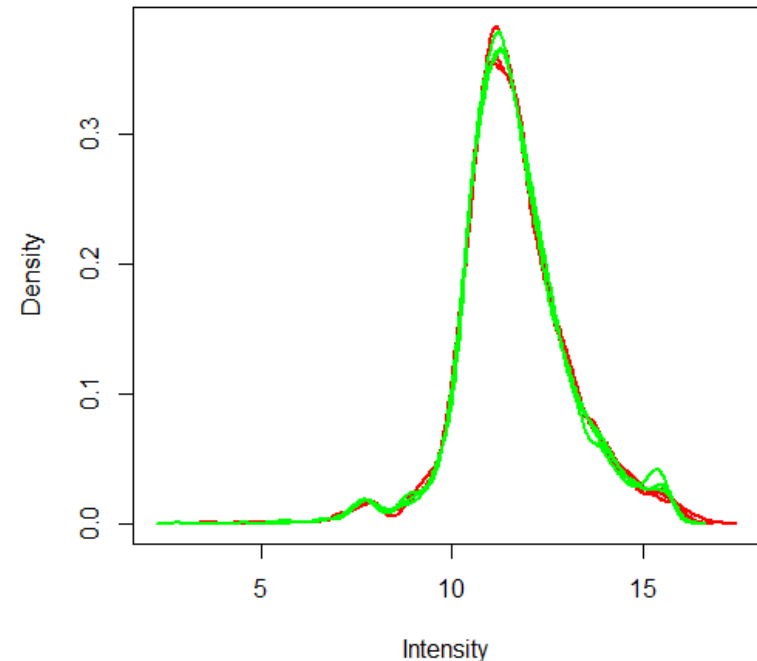
# Après normalisation intra-puces



réplicats sur le  
même graphique



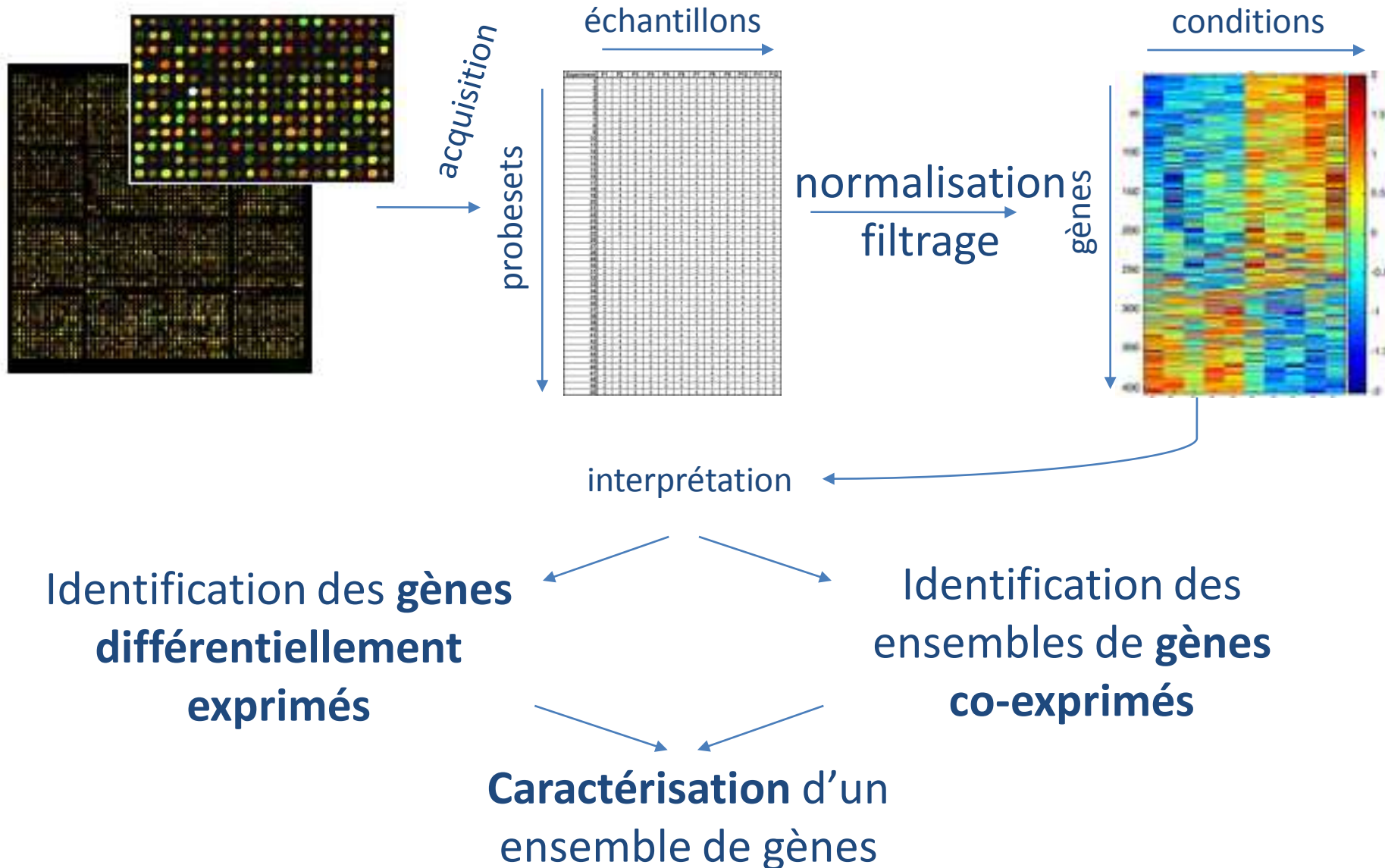
# Après normalisation inter-puces



= rendre comparables les niveaux d'expression provenant d'hybridations différentes

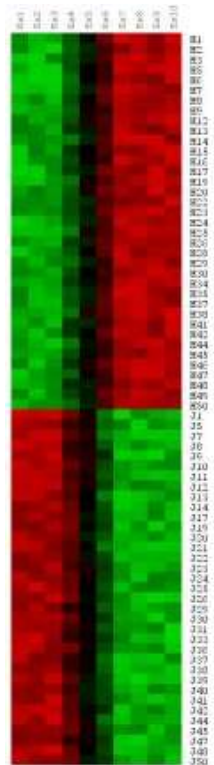


# Analyse et interprétation des données



# Gènes différentiellement exprimés

- Motivation
  - Gènes activés (induits) ou inactivés (réprimés) dans certaines conditions expérimentales/environnementales
- Identification des gènes différentiellement exprimés
  - Fold change
  - Modèles statistiques
  - Modèles probabilistes

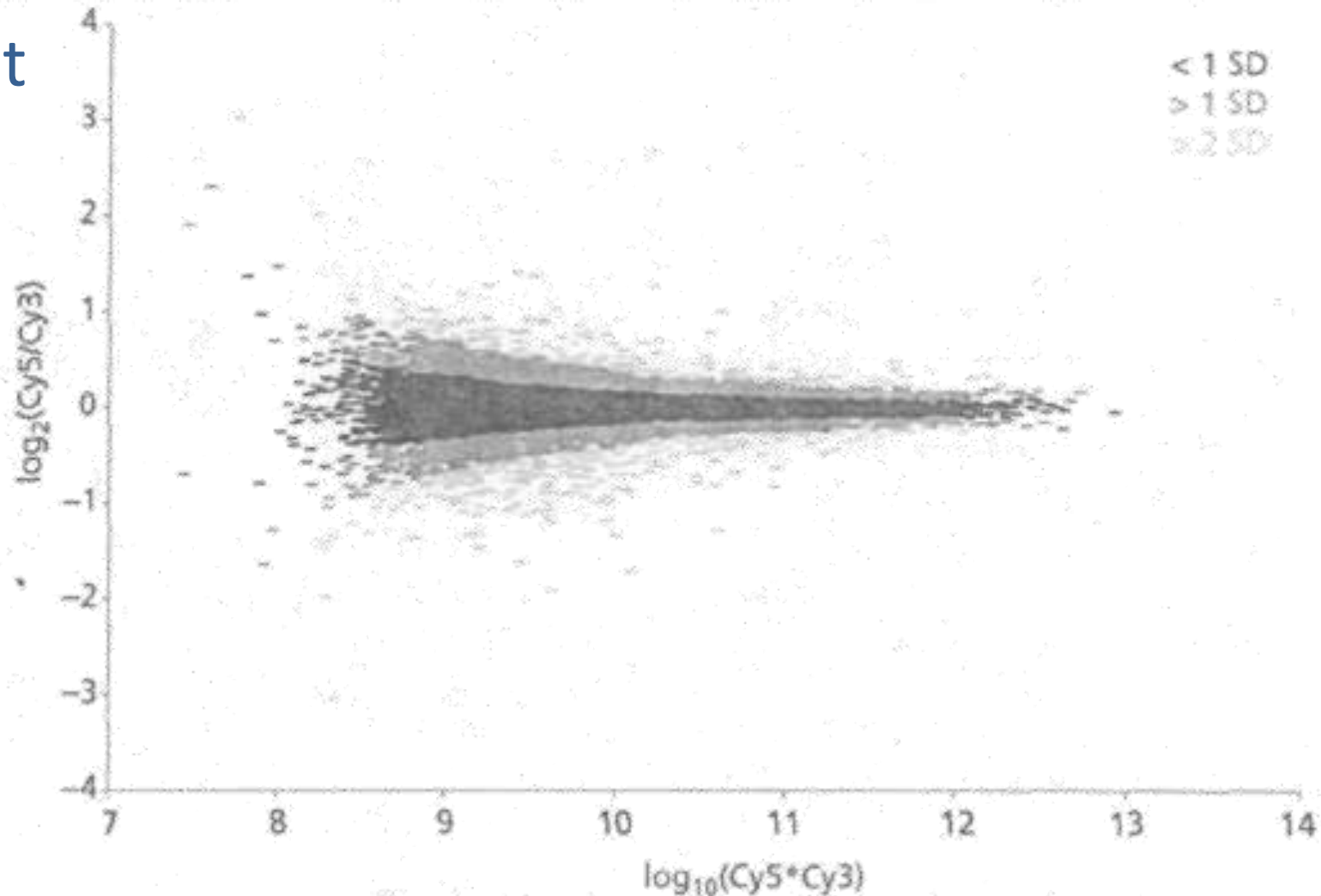


# Gènes différentiellement exprimés

- Fold-change
  - seuil au-delà duquel un gène est considéré comme différentiellement exprimé
  - Ex :
    - 2x plus ou 2x moins exprimé
    - s'écarte de plus de 2x l'écart type
- ⚠ Pas un test statistique, pas de niveau de confiance
- ⚠ Ne tient pas compte de la variance au sein des réplicats

# Fold change, seuil variable

- fenêtre dans laquelle on considère l'écart-type
- R-I plot



# Modèles statistiques

- $t$ -test
  - 2 conditions
- Analyse de variance (ANOVA)
  - $>2$  conditions
- Bayésiens, modèles de mélange (mixture models), ...

# *t*-test

- But : déterminer si un gène est différentiellement exprimé entre 2 conditions
- Motivation :
  - Le niveau d'expression du gène est mesuré dans les 2 conditions en faisant  $n$  réplicats
    - ex :  $R_1, R_2 \dots$  et  $G_1, G_2, \dots$
  - Si le gène n'est pas différentiellement exprimé, la moyenne des ratios d'expression du gène vaut 1
    - $\overline{R} = \overline{G} \text{ ?}$
    - two sample *t*-test permet de déterminer si les valeurs observées proviennent de distributions ayant la même moyenne

# t-test

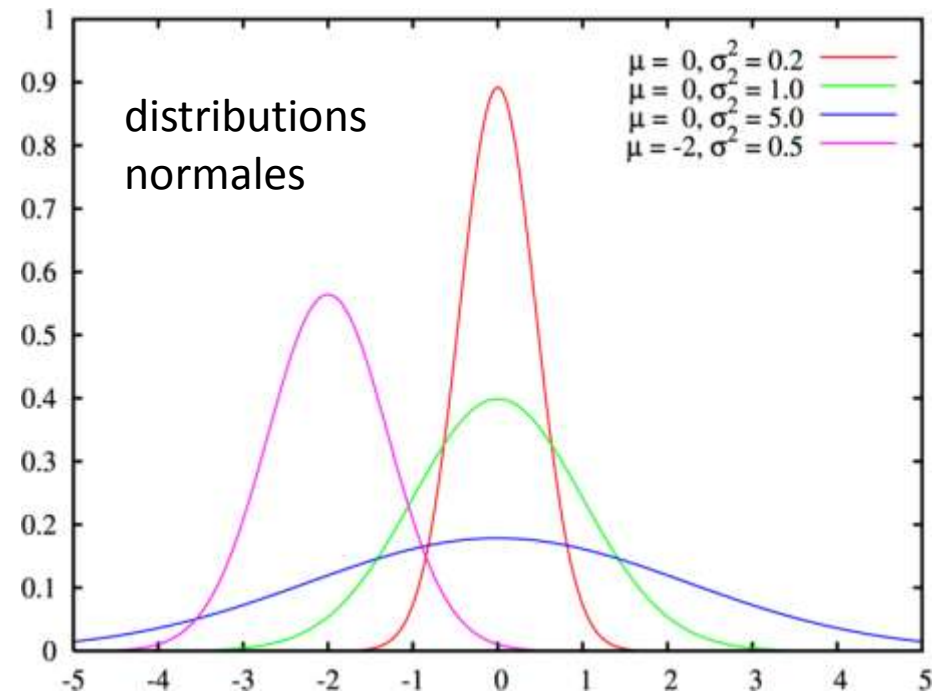
- Échantillons :  $R_1, R_2, R_3$  et  $G_1, G_2, G_3$
- On suppose que les mesures proviennent de distributions normales  $N_R(\mu_R, \sigma_R^2)$  et  $N_G(\mu_G, \sigma_G^2)$
- Erreur standard à la

moyenne :

$$ESM = \sigma / \sqrt{n}$$

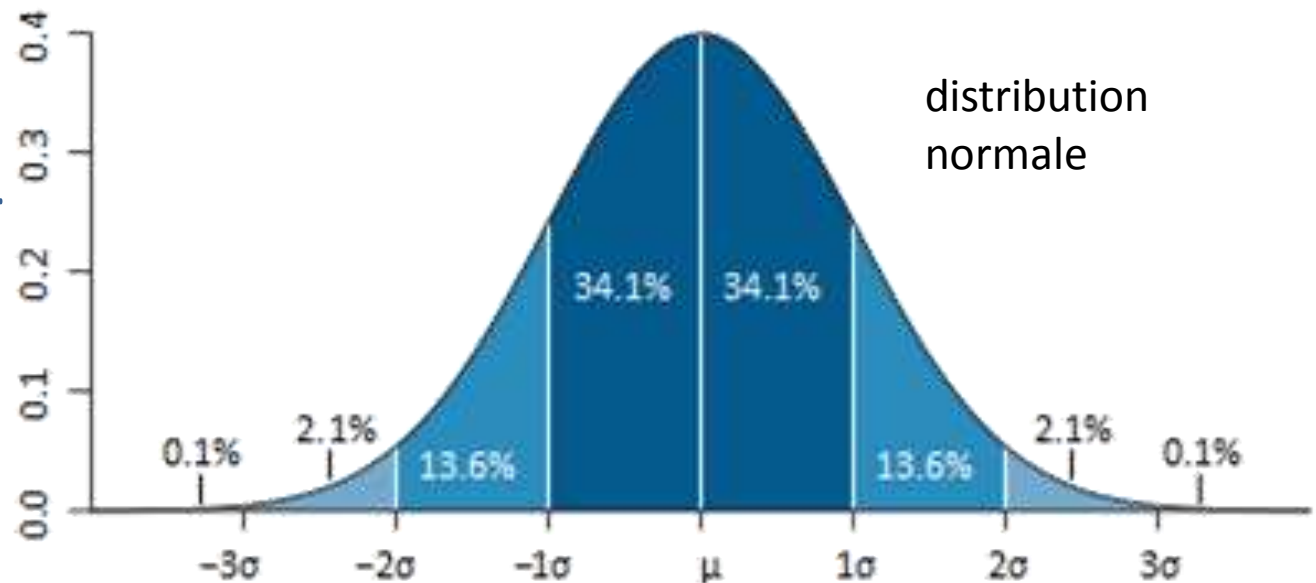
- Erreur standard de la différence des moyennes :

$$ESDM = \sqrt{ESM_R^2 + ESM_G^2}$$



# t-test

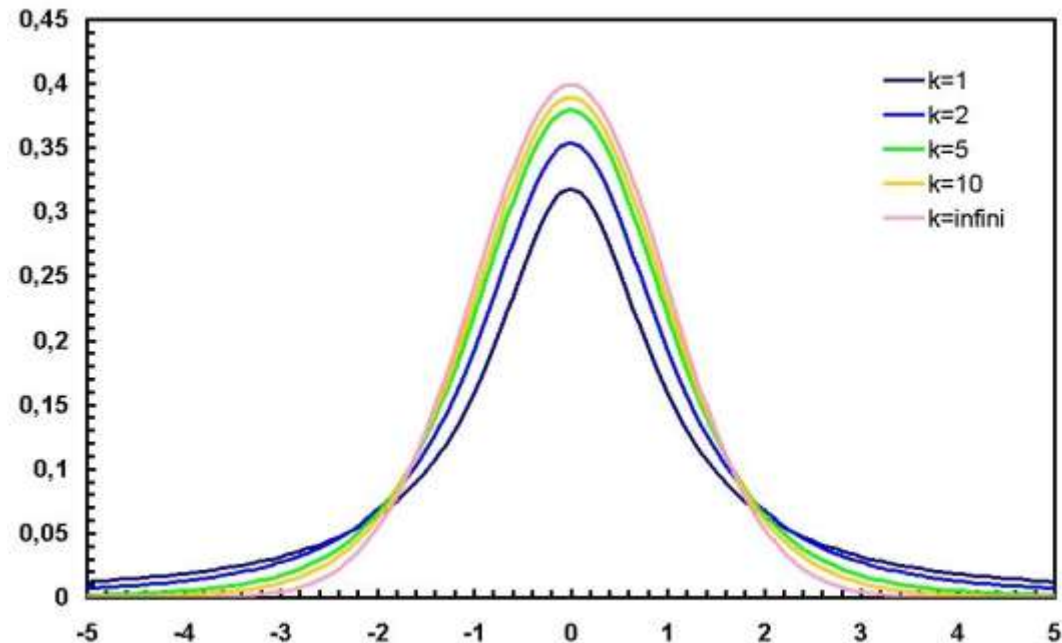
- Pour des mesures qui suivent une loi normale, on a ~95% de chances de rester à moins de  $2\sigma$  de la moyenne réelle
- Formule : 
$$t = \frac{\overline{R} - \overline{G}}{ESDM}$$
- d'où  $t$  doit être compris entre -2 et 2





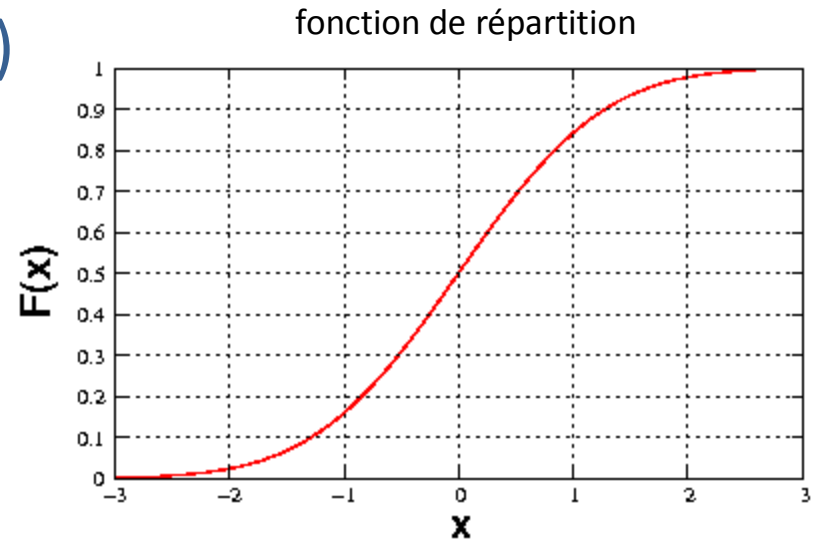
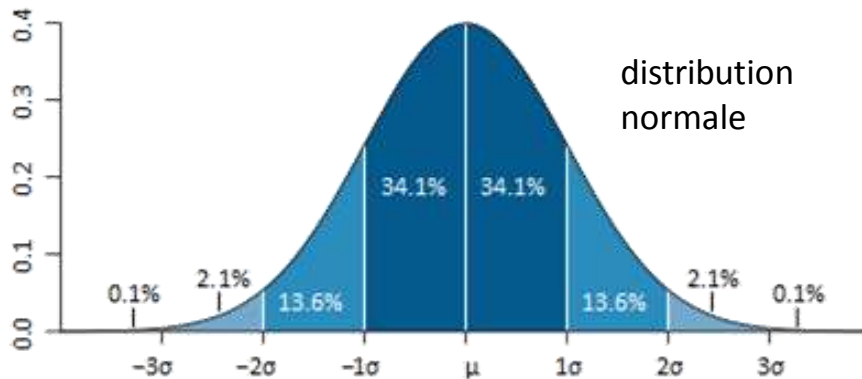
# *t*-test

- $H_0$ : les valeurs observées proviennent de distributions ayant la même moyenne (le gène n'est pas différentiellement exprimé)
- Calcul de  $t = \frac{\overline{R} - \overline{G}}{ESDM}$
- Probabilité donnée par la loi de probabilité de  $t$



# $p$ -valeur

- $p$ -valeur : probabilité d'obtenir un résultat au moins aussi extrême
- probabilité :  $p(X = x)$
- $p$ -valeurs :  $p(X \leq x)$  ou  $p(X > x)$



- exemple avec un dé à 6 faces
  - $p(3) = 1/6$
  - $p(\text{au moins } 3) = p(3) + p(4) + p(5) + p(6) = 4/6$
  - $p(\text{moins de } 3) = 2/6$

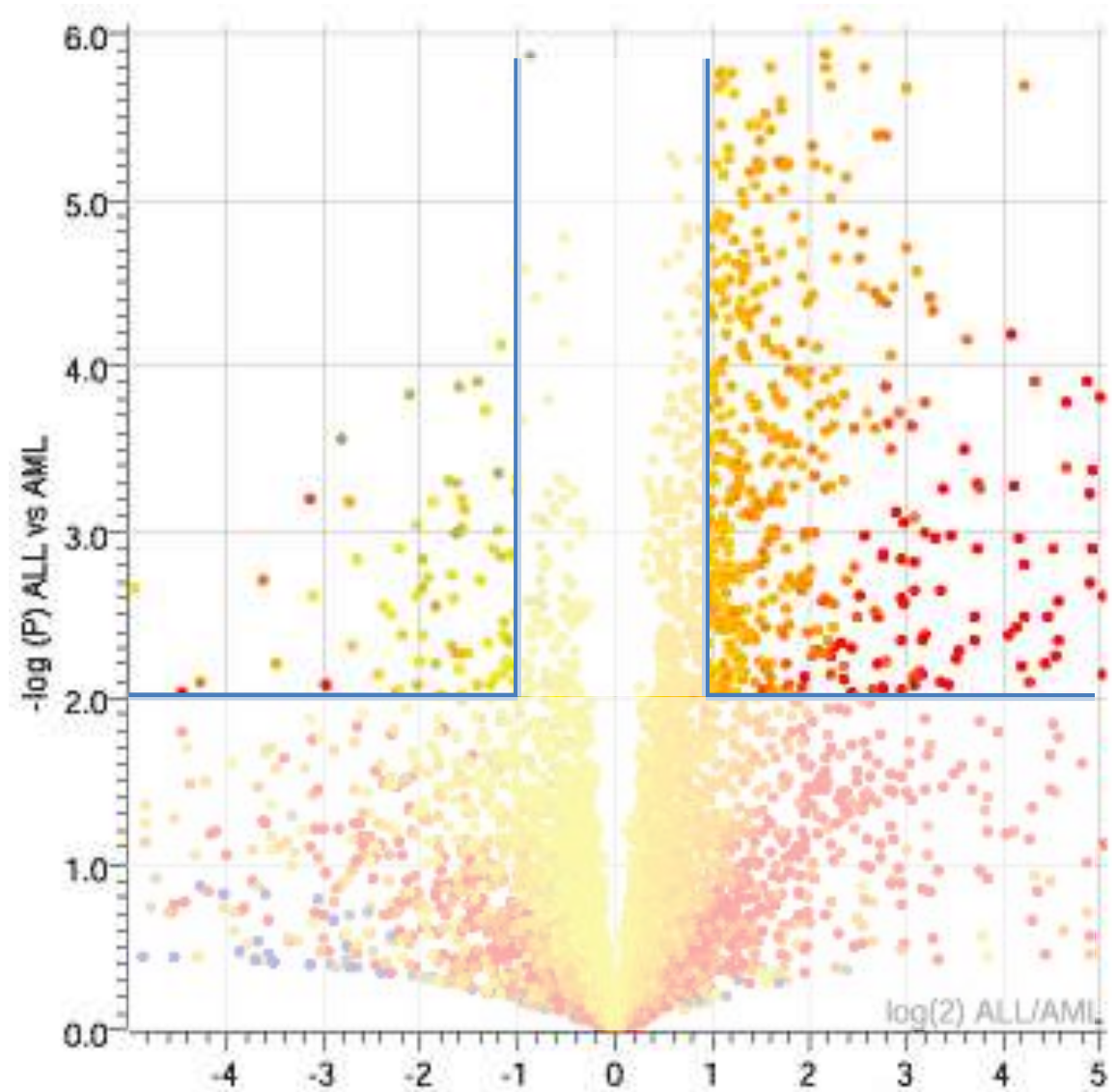
# *t*-test

- Application
  - *R* : contrôle
  - *G* : traitement

	$R_1$	$R_2$	$G_1$	$G_2$	<i>p</i> -value
267627_at	57	6	45.5	38.6	0.7504
267628_at	441.8	431.5	347.2	355.2	0.0072
267629_at	226.5	205.6	148.2	132.9	0.0343
267630_at	1142.6	1080.7	1019.8	1018.6	0.2055
267631_at	77.7	58	84.4	57.4	0.8734

# Volcano plot

fold change  
(variation  
d'expression  
en abscisses) vs.  
 $p$ -valeur  
(significativité :  
 $t$ -test  
ou autre en  
ordonnées)



# ANOVA

- Hypothèse testée : les moyennes des différentes conditions sont égales

- Variabilité inter-classes  
i.e. variabilité entre les conditions

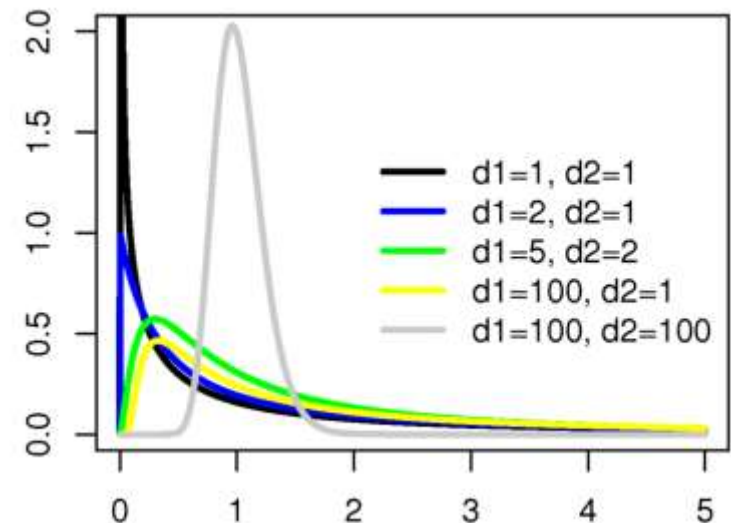
- Variabilité intra-classe  
i.e. variabilité observée à l'intérieur de chaque condition

$$F = \frac{S_{\text{int } er} / c - 1}{S_{\text{int } ra} / N - c}$$

- Remarque: pour 2 conditions, cela équivaut au *t*-test

$$S_{\text{int } er} = \sum_{i=1}^c r_i (\bar{T}_i - \bar{T})^2$$

$$S_{\text{int } ra} = \sum_{i=1}^c \sum_{j=1}^{r_i} (T_{ij} - \bar{T}_i)^2$$



# Tests multiples

- $H_0$  : le gène  $g$  a un niveau d'expression constant
- seuil  $\alpha$  typique de 5% *i.e.*  $g$  est considéré comme différentiellement exprimé si  $p\text{-valeur}(g) \leq 0.05$
- Idée : plus on augmente le nombre de tests, plus on a de chances de décider qu'un gène est différentiellement exprimé alors qu'il ne l'est pas
- combien de faux positifs et de faux négatifs ?

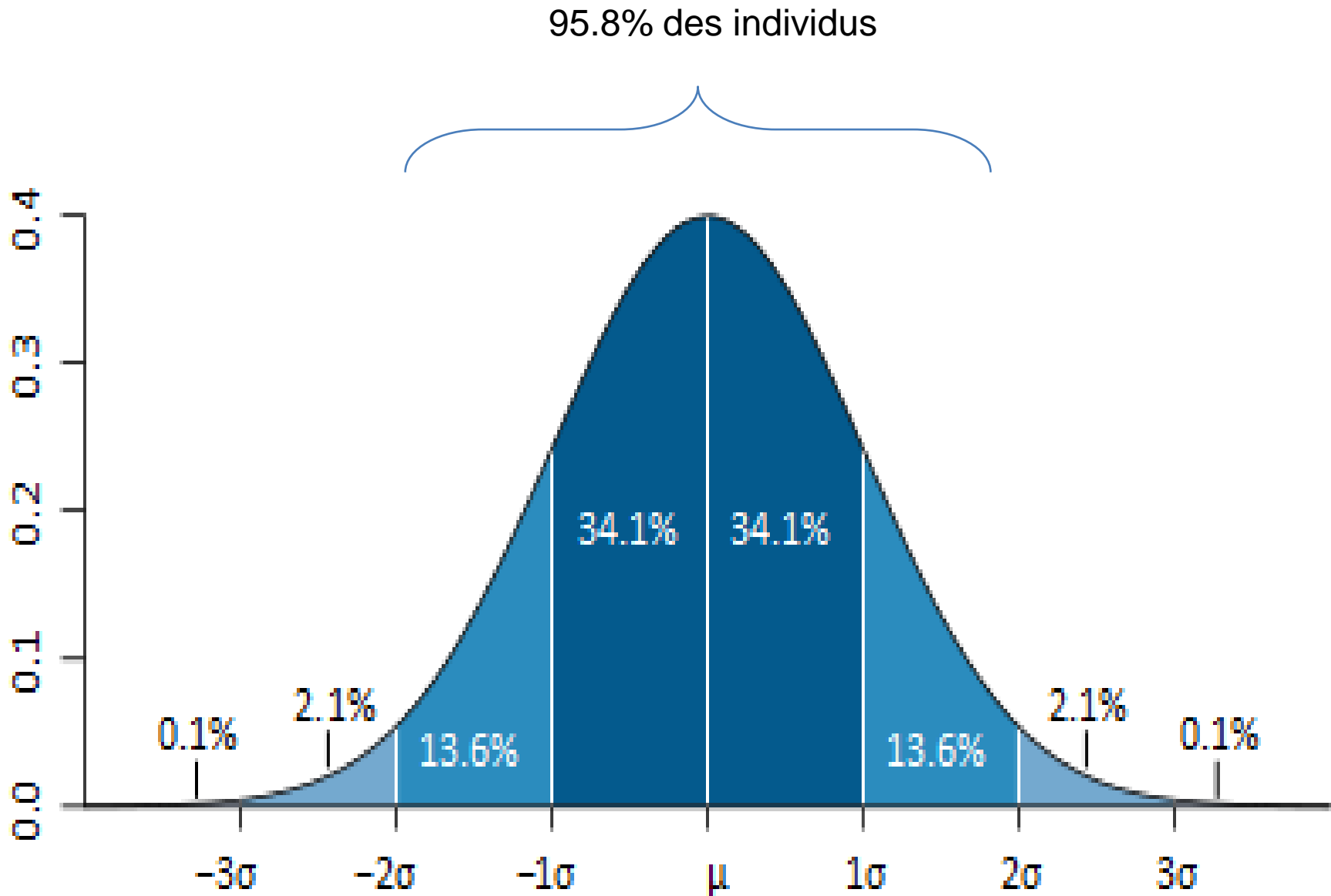
# Erreurs de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> espèce

- Erreur de 1<sup>ère</sup> espèce (Type 1 error) :
  - probabilité  $\alpha$  de rejeter  $H_0$  alors qu'elle est vraie
  - probabilité de décider qu'un gène est diff. exprimé alors qu'il ne l'est pas
  - faux positif
- Erreur de 2<sup>ème</sup> espèce (Type 2 error) :
  - probabilité  $\beta$  d'accepter  $H_0$  alors qu'elle est fausse
  - probabilité de décider qu'un gène n'est pas diff. exprimé alors qu'il l'est
  - faux négatif

Situation	Décision	
	accepter $H_0$	rejeter $H_0$
$H_0$ vraie	$1-\alpha$	$\alpha$
$H_0$ fausse (diff. expr.)	$\beta$	$1-\beta$

- Conséquence :
  - En testant les 20 000 gènes de la puce avec  $\alpha = 5\%$
  - 200 gènes ont une p-valeur comprise entre 0.01 et 0.05
  - on s'attend à obtenir au moins  $200 \times 0.01$  faux positifs soit  $>2$  gènes qui ne sont en réalité **pas** différentiellement exprimés

# Distribution normale





# Correction pour tests multiples

- False Discovery Rate (FDR) *Benjamini & Hochberg '95*
- Principe : ajuster le seuil  $\alpha$  en fonction des résultats observés ( $p$ -valeurs obtenues)
- $m$  tests ayant des  $p$ -valeurs  $P_1..P_m$  triées par ordre croissant
- Pour un seuil  $\alpha$  trouver le plus grand  $k$  tel que

$$P_k \leq \frac{k}{m} \alpha$$

et déclarer les gènes  $1..k$  différentiellement exprimés

# Application de la FDR

- gène  $g$  différentiellement exprimé si

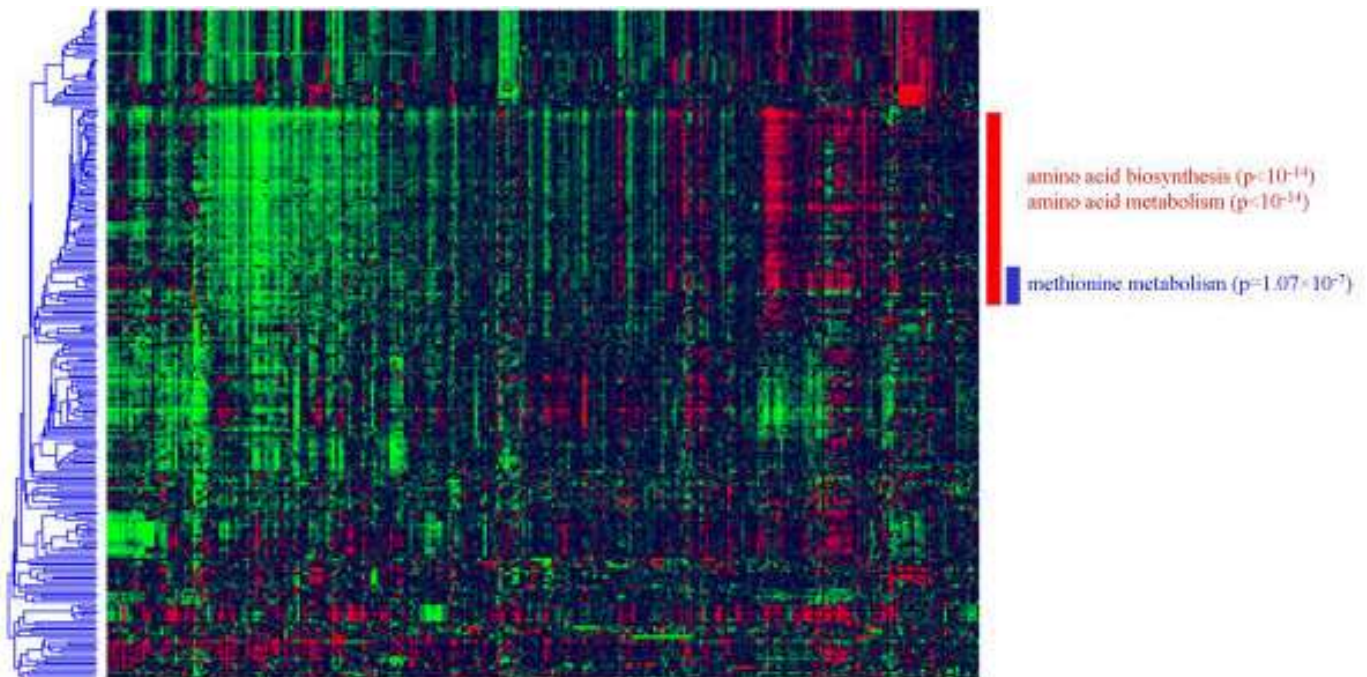
$$P_k \leq \frac{k}{m} \alpha$$

	$R_1$	$R_2$	$G_1$	$G_2$	$p$ -value	$\alpha * k/m$
267628_at	441.8	431.5	347.2	355.2	0.0072	0.01
267629_at	226.5	205.6	148.2	132.9	0.0343	<b>0.02</b>
267630_at	1142.6	1080.7	1019.8	1018.6	0.2055	0.03
267627_at	57	6	45.5	38.6	0.7504	0.04
267631_at	77.7	58	84.4	57.4	0.8734	0.05

un gène est déclaré différentiellement exprimé  
pour  $\alpha = 0.05$

# Gènes co-exprimés

- Motivation : les gènes ayant des profils d'expression similaires sont potentiellement co-régulés et participent à un même processus biologique
- But : regrouper les gènes impliqués dans un même processus biologique



# Qu'est-ce que le clustering ?

- analyse de clustering
  - regroupement des objets en clusters
- un cluster : une collection d'objets
  - similaires au sein d'un même cluster
  - dissimilaires aux objets appartenant à d'autres clusters
- classification non supervisée : pas de classes prédéfinies
- Applications typiques
  - afin de mieux comprendre les données
  - comme prétraitement avant d'autres analyses

# Principales approches

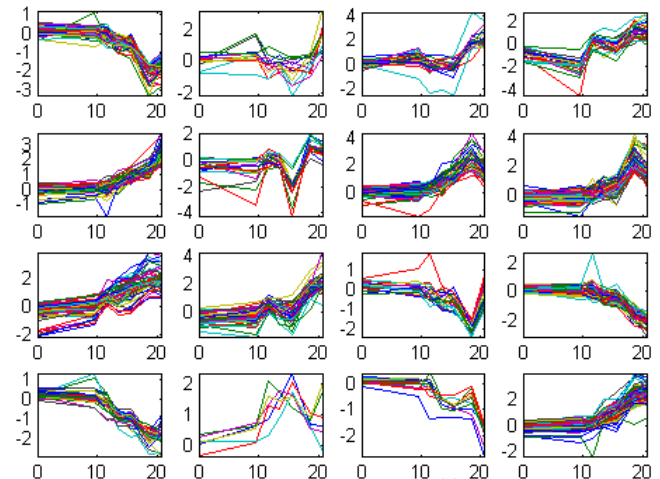
- partitionnement
  - partitionne les objets et évalue les partitions (les ensembles)
  - ex: *k*-means
- hiérarchique
  - décomposition hiérarchique d'ensembles d'objets
- densité
  - basée sur une fonction de densité ou de connectivité
- grille
  - basée sur une structure de granularité à plusieurs niveaux
- basée sur un modèle
  - construction d'un modèle pour chaque cluster
- ...

# Gènes co-exprimés

- Profil d'expression
  - d'un gène : niveau d'expression à travers différentes conditions (mutants, tissus, ...)
- Mesure de similarité entre 2 profils :  
Coefficient de corrélation de Pearson
  - -1 : corrélation négative
  - 0 : indépendance
  - 1 : corrélation positive
- Clustering des profils
  - Ensembles de gènes ayant des profils d'expression similaires

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{(n-1)\sigma_X \sigma_Y}$$

K-Means Clustering of Profiles



# Structures de données

- Matrice de données :  
les profils d'expression

conditions expérimentales

$$\begin{array}{c}
 \left[ \begin{array}{ccccc}
 x_{11} & \dots & x_{1f} & \dots & x_{1p} \\
 \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\
 x_{i1} & \dots & x_{if} & \dots & x_{ip} \\
 \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\
 x_{n1} & \dots & x_{nf} & \dots & x_{np}
 \end{array} \right]
 \end{array}$$

gènes

- Matrice de distance  
(ou dissimilarité) :  
pour chaque paire de  
gènes,  $1 - r$  (le  
coefficient de  
corrélation)

gènes

$$\begin{array}{c}
 \left[ \begin{array}{cccc}
 0 & & & \\
 d(2,1) & 0 & & \\
 d(3,1) & d(3,2) & 0 & \\
 \vdots & \vdots & \vdots & \\
 d(n,1) & d(n,2) & \dots & \dots & 0
 \end{array} \right]
 \end{array}$$

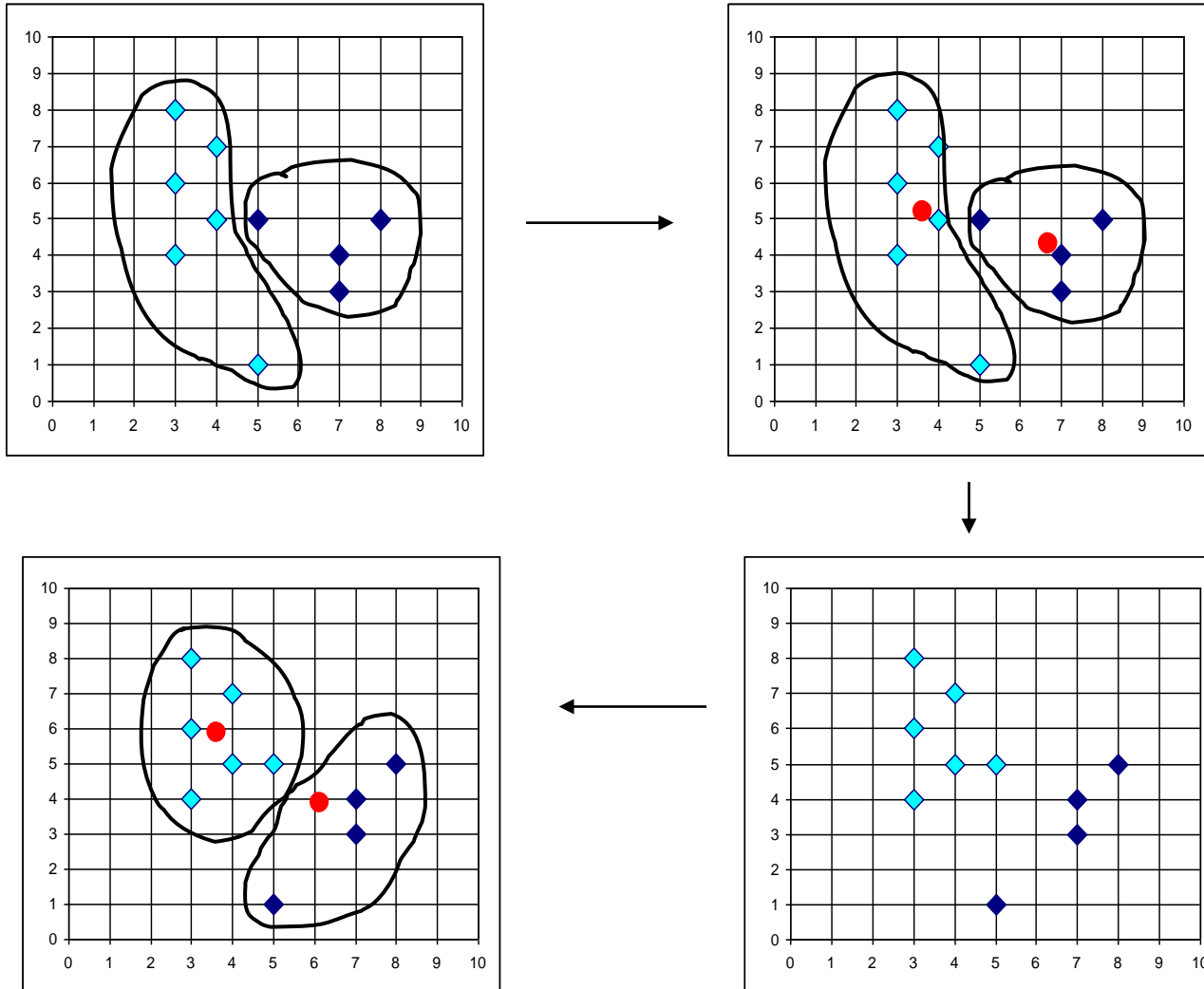
gènes

# *k-means*

- 4 étapes
  1. Partitionne les objets en  $k$  ensembles non vides
  2. Calcule le centroïde de chaque partition/cluster
  3. Assigne à chaque objet le cluster dont le centroïde est le plus proche
  4. refaire à partir de 2 jusqu'à ce les clusters soient stables.



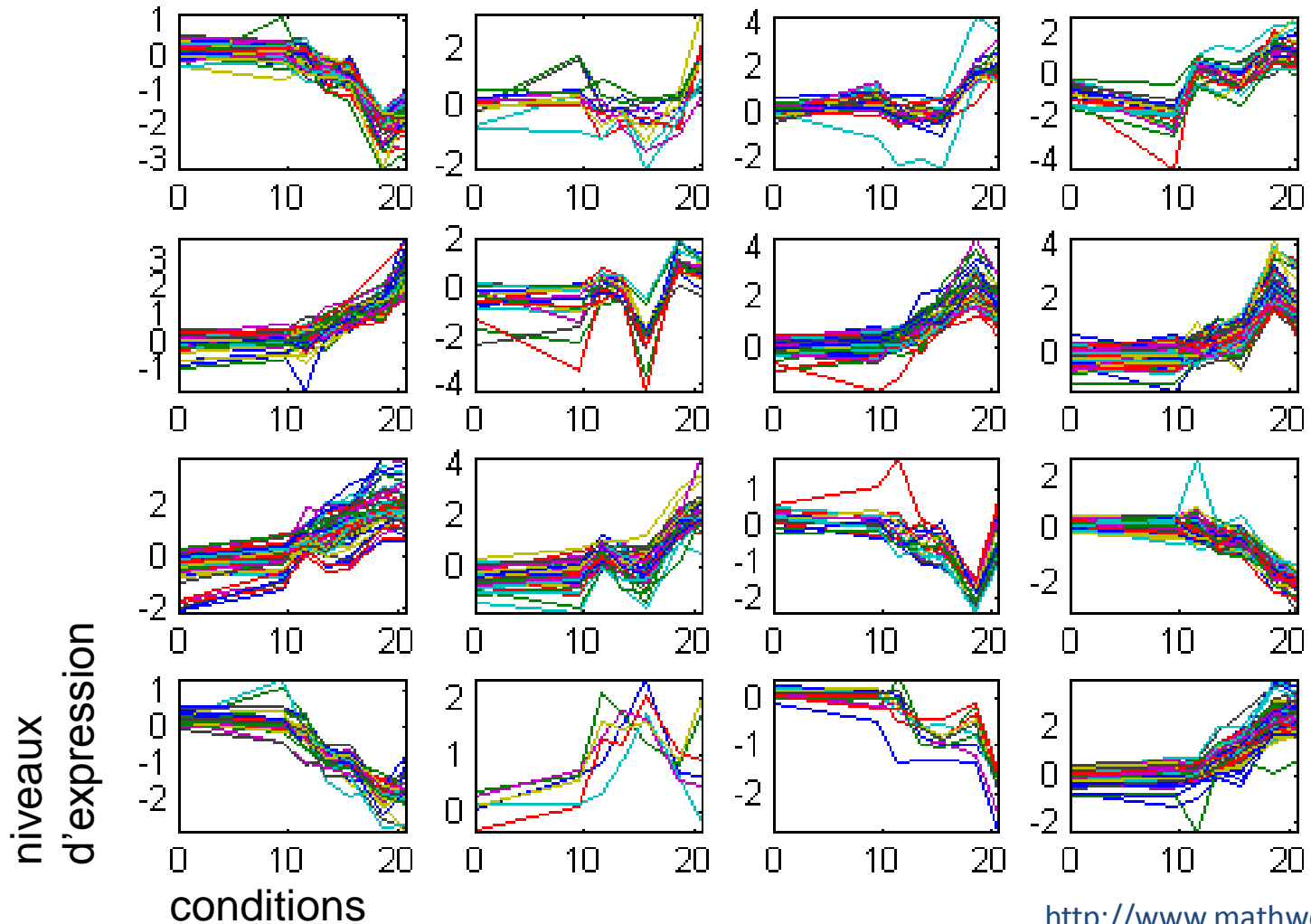
# *k-means*, exemple



# $k$ -means, application

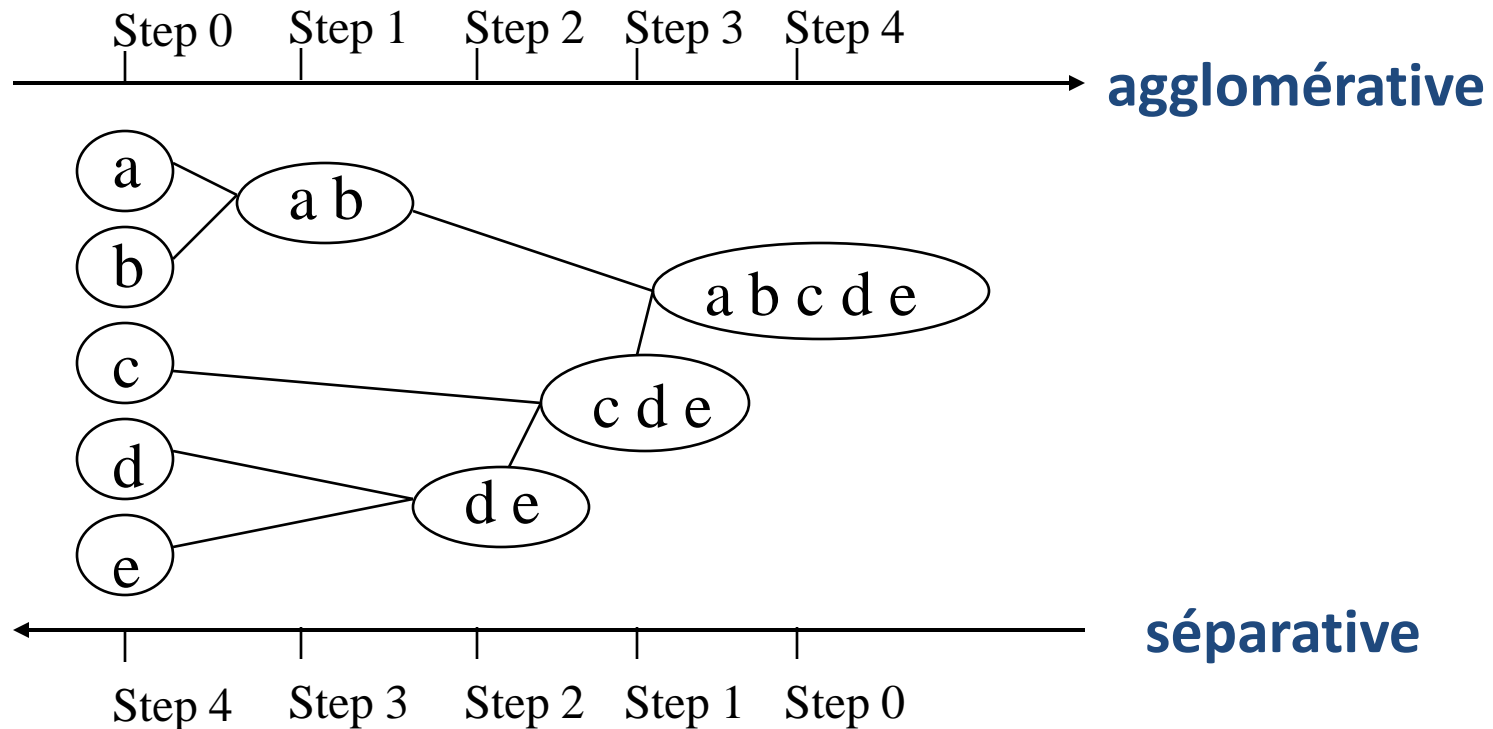
- $k = 16$  clusters

## K-Means Clustering of Profiles



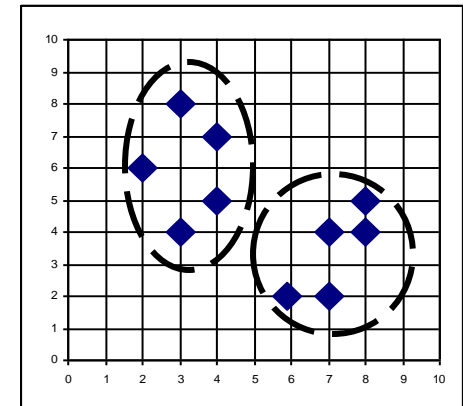
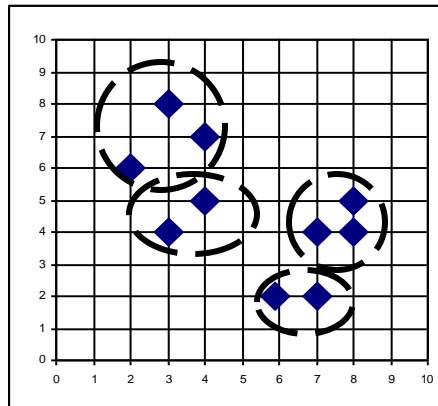
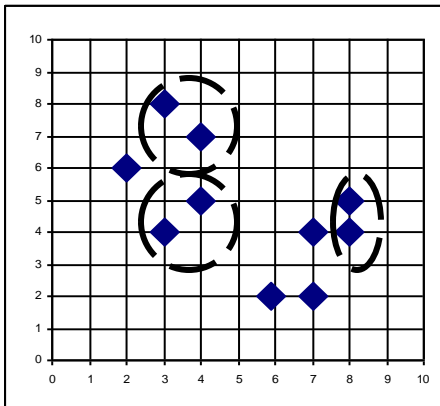
# Clustering hiérarchique

- Utilisation d'une matrice de distance : ne nécessite pas de spécifier le nombre de clusters



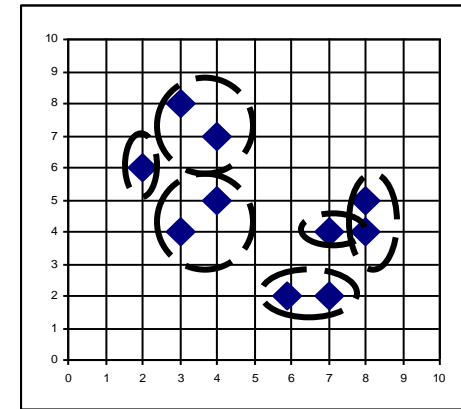
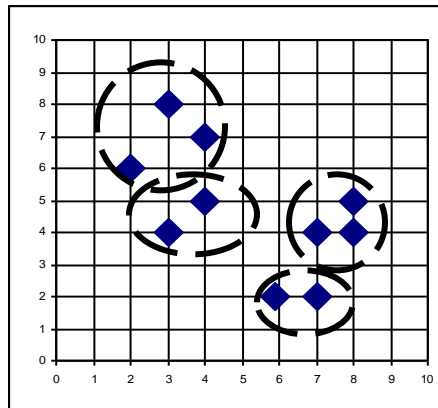
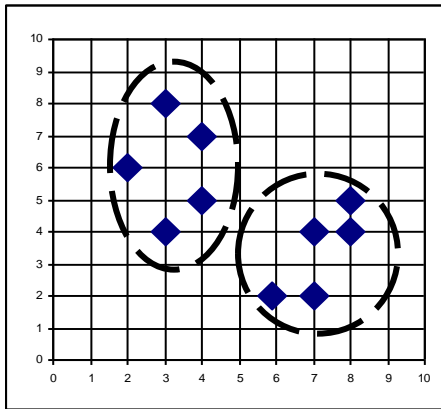
# AGNES (Agglomerative Nesting)

- Utilise une matrice de dissimilarité
- Fusionne les nœuds les moins dissimilaires



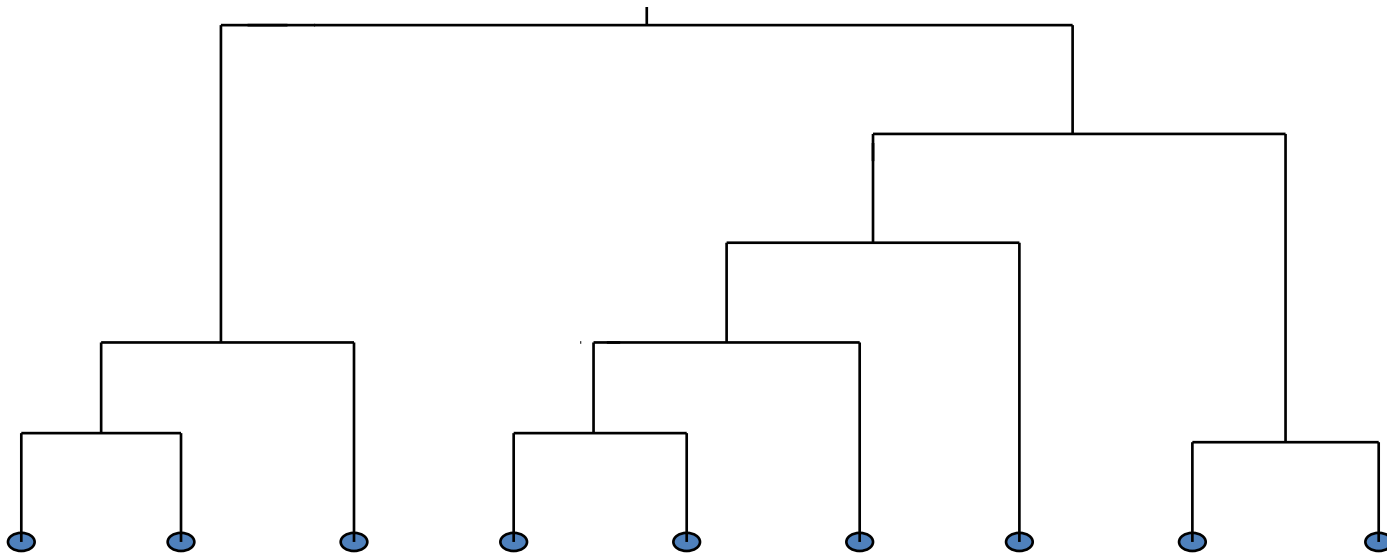
# DIANA (Divisive Analysis)

- Inverse d'AGNES



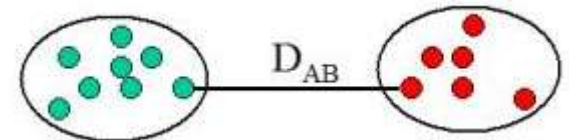
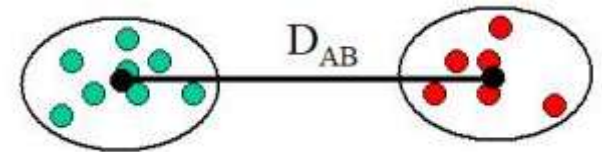
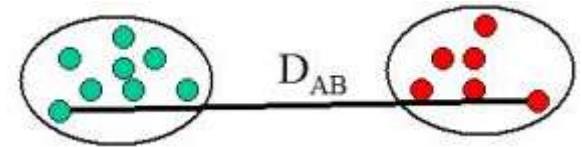
## Dendrogramme : clusters fusionnés hiérarchiquement

- Décompose les données en plusieurs niveaux imbriqués de partitionnement
- Un clustering est obtenu en coupant le dendrogramme au niveau choisi

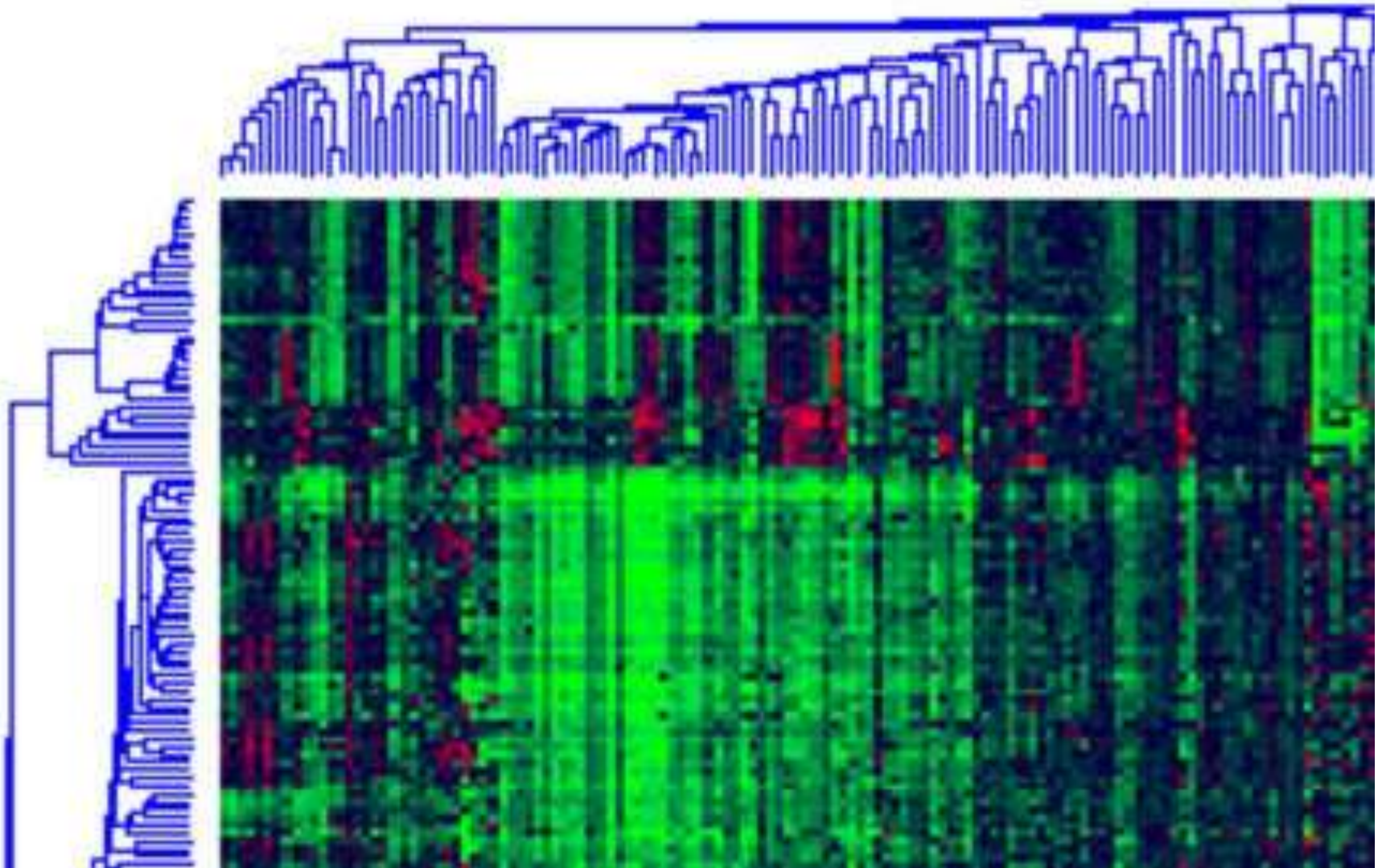


# Mesures de similarité entre 2 clusters

- complete linkage
  - plus petite similarité/plus grande distance entre toutes les paires de gènes entre 2 clusters
- average linkage
  - similarité moyenne entre les paires de gènes
- single linkage
  - plus grande similarité/plus petite distance entre 2 gènes de 2 clusters



# Clustering hiérarchique





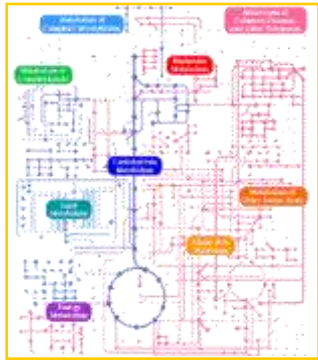
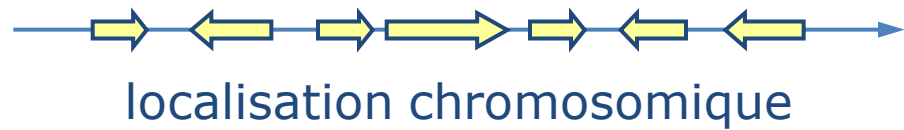
# Caractérisation d'une liste de gènes

- Motivation
  - jusqu'à plusieurs milliers de gènes co-exprimés ou différentiellement exprimés
  - analyse « manuelle » impossible
- Principe
  - Rechercher les caractéristiques communes aux gènes
  - Surreprésentation statistique

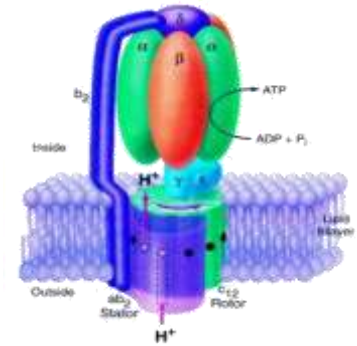
# Exemple

P07245	Amino-acid biosynthesis	ATP-binding	Complete proteome	Cytoplasm
Q03677	Amino-acid biosynthesis	Cell membrane	Complete proteome	Dioxygenase
P22768	Amino-acid biosynthesis	Arginine biosynthesis	ATP-binding	Complete proteome
P05150	Amino-acid biosynthesis	Arginine biosynthesis	Complete proteome	Cytoplasm
P04076	Amino-acid biosynthesis	Arginine biosynthesis	Complete proteome	Lyase
Q01217	Amino-acid biosynthesis	Arginine biosynthesis	Complete proteome	Kinase
P18544	Amino-acid biosynthesis	Aminotransferase	Arginine biosynthesis	Complete proteome
P08566	Amino-acid biosynthesis	Aromatic amino acid biosynthesis	ATP-binding	Complete proteome
P14843	Amino-acid biosynthesis	Aromatic amino acid biosynthesis	Complete proteome	Phosphoprotein
P49089	Amino-acid biosynthesis	Asparagine biosynthesis	Complete proteome	Glutamine amidotransferase
P49090	Amino-acid biosynthesis	Asparagine biosynthesis	Complete proteome	Glutamine amidotransferase
P28801	Amino-acid biosynthesis	Aminotransferase	Branched-chain amino acid biosynthesis	Complete proteome

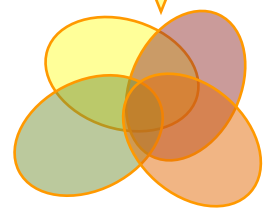
# Sources de données



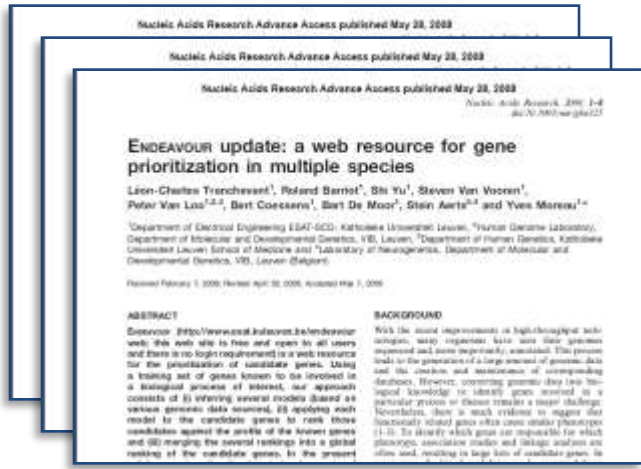
voies métaboliques



complexes protéiques



ensembles de gènes



co-citation



domaines protéiques

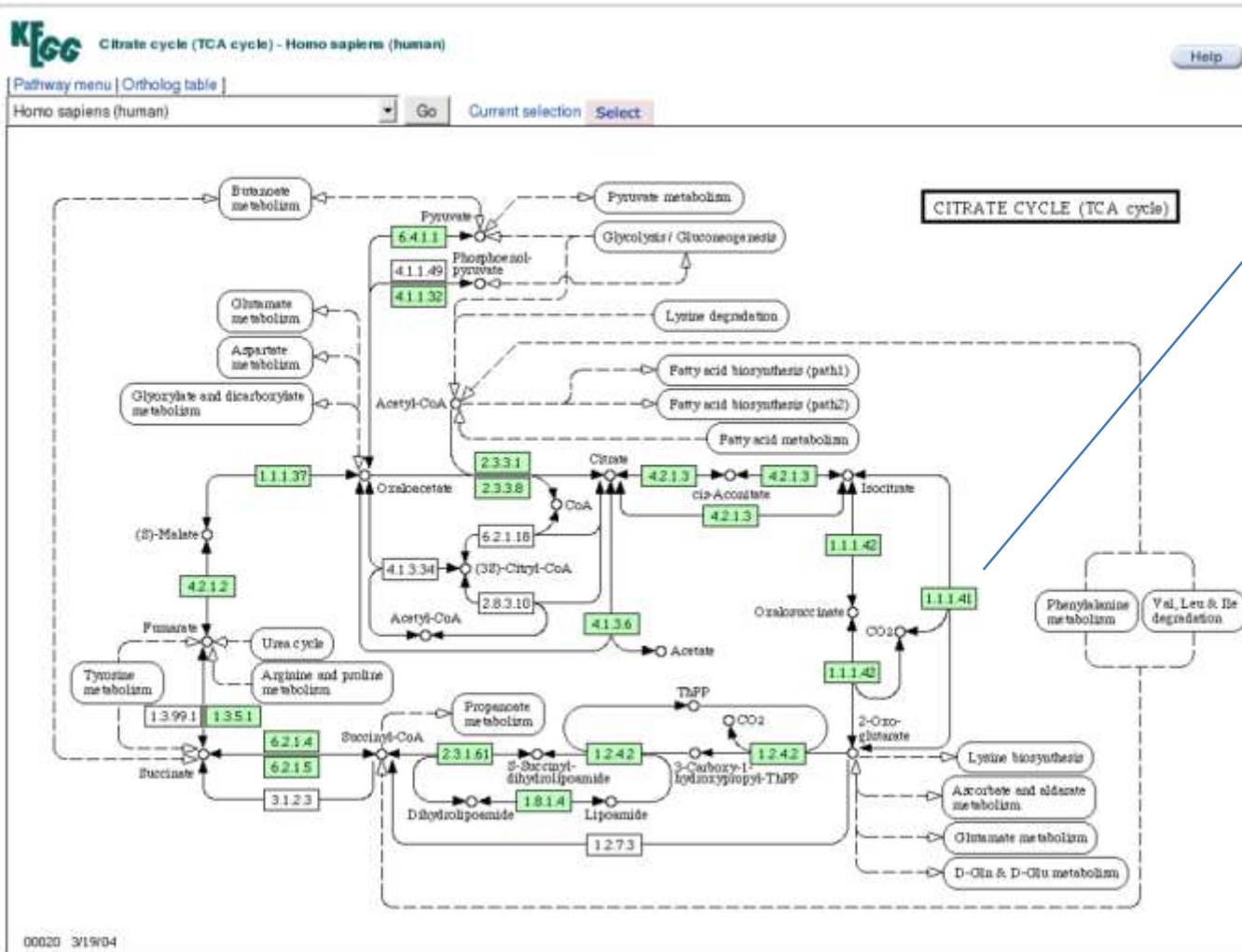


Gene Ontology

# KEGG Pathways

- Classification de processus biologiques
  1. Metabolism
    1. Carbohydrate Metabolism
      - Glycolysis / Gluconeogenesis
      - Citrate cycle (TCA cycle)
      - ...
    2. ...
  2. Genetic Information Processing
  3. Environmental Information Processing
  4. Cellular Processes
  5. Human Diseases
  6. Drug Development

# KEGG Pathways



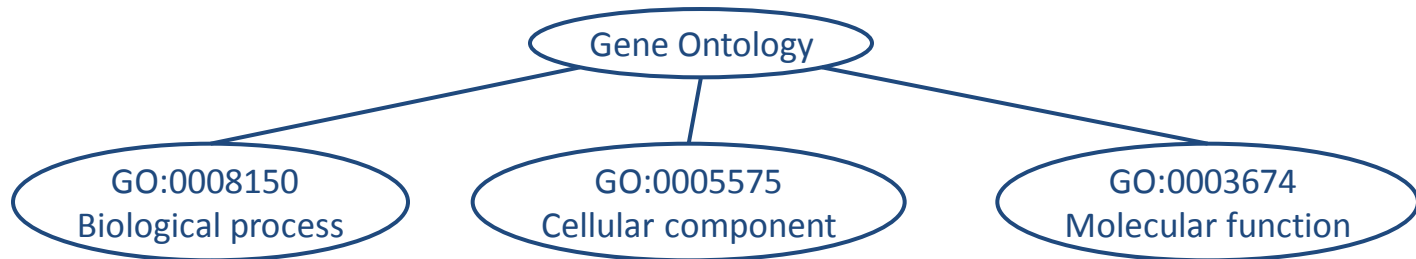
code d'enzyme  
(EC number)

Ensemble des gènes codant pour les enzymes impliquées dans un pathway

# Gene Ontology

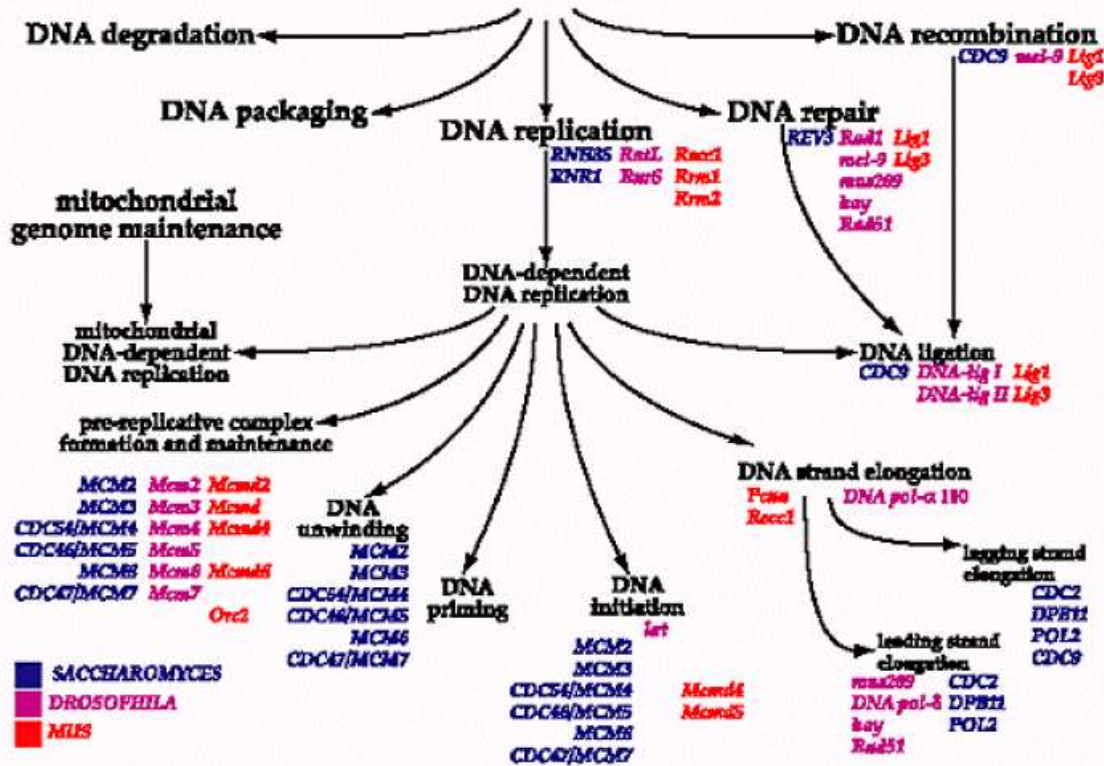
- Vocabulaire contrôlé : le même terme pour parler de la même chose
- Ensemble de termes (définitions) reliés par des relations de type est-un ou fait-parti-de
- Trois ontologies:
  - Biological process
  - Molecular function
  - Cellular component

# Gene Ontology



a

## DNA metabolism



- à chaque terme correspond un ensemble de gènes annotés avec ce terme ou un plus spécifique

# Mots-clés Uniprot/Swissprot

- à chaque mot-clé correspond un ensemble de protéines annotées avec ce mot-clé

```

DR EMBL; M73748; AAA39866.1; -; mRNA.
DR EMBL; M96646; AAA37724.1; -; mRNA.
DR EMBL; AJ250246; CAB88997.1; -; mRNA.
DR EMBL; AJ297944; CAC16152.1; -; mRNA.
DR EMBL; AY115493; AAM66761.1; -; Genomic_DNA.
DR EMBL; AK158855; BAE34695.1; -; mRNA.
DR EMBL; BC026551; AAH26551.1; -; mRNA.
DR Ensembl; ENSMUSG00000028583; Mus musculus.
DR KEGG; mmu:14726; -.
DR MGI; MGI:103098; Pdpn.
DR ArrayExpress; Q62011; -.
DR RSPD-ProtExp; IOM20239; -.
DR GO; GO:0030175; C:filopodium; IDA.
DR GO; GO:0030027; C:lamellipodium; IDA.
DR GO; GO:0005886; C:plasma membrane; IDA.
DR GO; GO:0001726; C:ruffle; IDA.
DR GO; GO:0000902; P:cellular morphogenesis; IDA.
DR GO; GO:0030324; P:lung development; IMP.
DR GO; GO:0001946; P:lymphangiogenesis; IMP.
DR GO; GO:0051272; P:positive regulation of cell motility; IDA.
DR InterPro; IPR008783; Podoplanin.
DR PANTHER; PTHR16861; Podoplanin; 1.
DR Pfam; PF05808; Podoplanin; 1.
KW Cell shape; Developmental protein; Direct protein sequencing;
KW Glycoprotein; Membrane; Sialic acid; Signal; Transmembrane.
FT SIGNAL 1 22 Potential.
FT CHAIN 23 172 Podoplanin.
FT /FTid=PRO_0000021352.
FT TOPO_DOM 23 141 Extracellular (Potential).
FT TRANSMEM 142 162 Potential.
FT TOPO_DOM 163 172 Cytoplasmic.
.....
FT CONFLICT 29 31 EDD -> KNN (in Ref. 2).
FT CONFLICT 38 39 GD -> EN (in Ref. 1).
SQ SEQUENCE 172 AA; 18233 MW; C035ED251918CE6F CRC64;
MNTVPLVLFVW LGSVWFWD SA QGGTIGVNED DIVTPGTGDG MVPPGIEDKI TTTGATGGLN
ESTGKAPLVP TQRERGTKPP LEELSTSAT S DHDHREH EST TTVKVVTSHS VDKKTSHPNR
DNAGDETQTT DKKDGLPVVT LVGIIVGVLL AIGFVGGIFI VVMKKISGRF SP


```



//



# Domaines protéiques

- InterPro intègre les principales banques de domaines (Pfam, ProSite, SMART)
- à un domaine correspond un ensemble de protéines

EMBL-EBI  All Databases

Databases Tools EBI Groups Training Industry About Us Help Site Index  

EBI > Databases > InterPro

Jump to: [InterProScan](#) [Databases](#) [Documentation](#) [FTP site](#) [Help](#) [Advanced search](#)

**InterPro: IPR000254 Cellulose-binding region, fungal**

**Protein matches**

**UniProtKB Matches: 504 proteins**

Overview: [sorted by AC](#), [sorted by name](#), [of known structure](#), [proteins with splice variants](#)  
 Detailed: [sorted by AC](#), [sorted by name](#), [of known structure](#), [proteins with splice variants](#)  
 Table: [For all matching proteins](#), [of known structure](#)  
[Architectures](#)  
[Accession List](#)

**Accession** IPR000254 CBD\_fun

**Type** Domain

Database	ID	Name	Proteins
<a href="#">Pfam</a>	<a href="#">PF00734</a>	CBM_1	487
<a href="#">PROSITE pattern</a>	<a href="#">PS00562</a>	CBM1_1	417
<a href="#">PROSITE profile</a>	<a href="#">PS51164</a>	CBM1_2	480
<a href="#">SMART</a>	<a href="#">SM00236</a>	fCBD	454
<a href="#">SuperFamily</a>	<a href="#">SSF57180</a>	CBD_fun	485

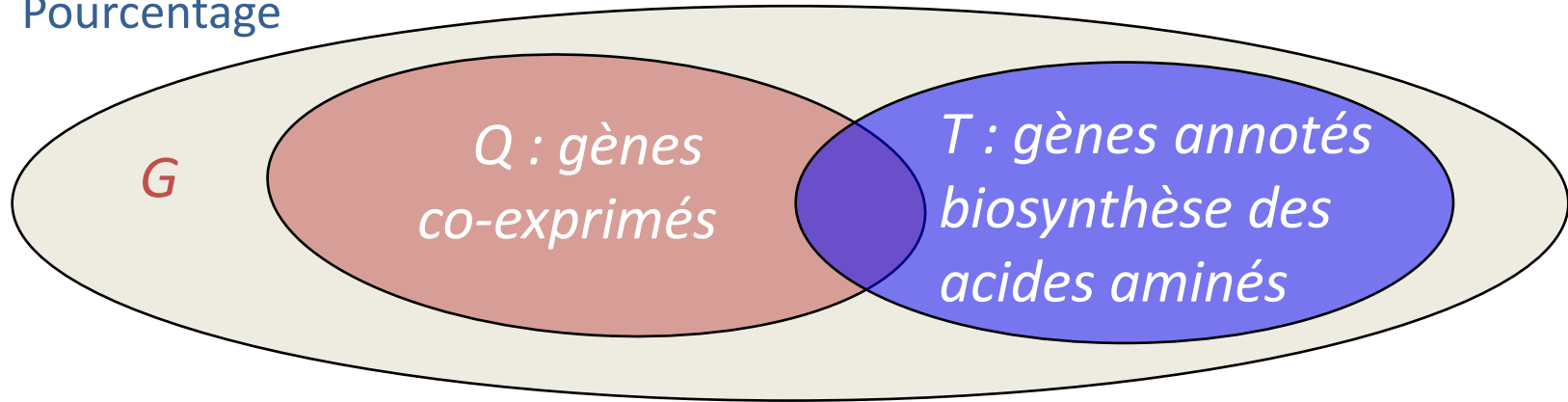
**Signatures**

**GO Term annotation**

<b>Process</b>	<a href="#">GO:0005975</a> carbohydrate metabolic process
<b>Function</b>	<a href="#">GO:0004553</a> hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds <a href="#">GO:0030248</a> cellulose binding
<b>Component</b>	<a href="#">GO:0005576</a> extracellular region

# Test de surreprésentation

- Loi binomiale
- $\chi^2$
- Pourcentage



- Loi hypergéométrique : probabilité d'avoir au moins le nombre d'éléments communs observé entre 2 échantillons issus d'une même population
  - test de surreprésentation

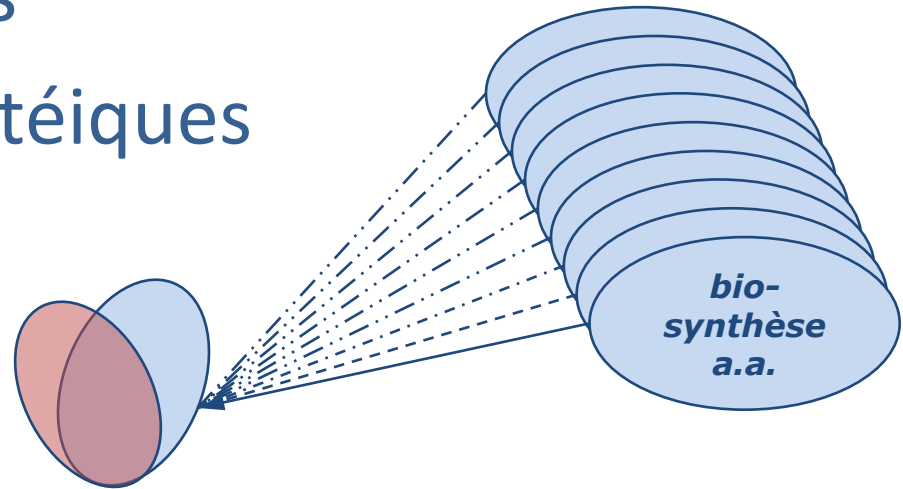
$$p - \text{valeur} (c, t, q, g) = \sum_{k=c}^{\min(q, t)} \frac{\binom{t}{k} \binom{g-t}{q-k}}{\binom{g}{q}}$$

avec

- $g = |G|$  : nombre total de gènes
- $q = |Q|$  : nombre de gènes co-exprimés
- $t = |T|$  : nombre de gènes annotés biosynthèse des a.a.
- $c = |Q \cap T|$  : nombre de gènes communs

# Recherche de caractéristiques communes

- Annotations Gene Ontology
- Domaines protéiques
- Complexes multi-protéiques
- Voies métaboliques
- ...

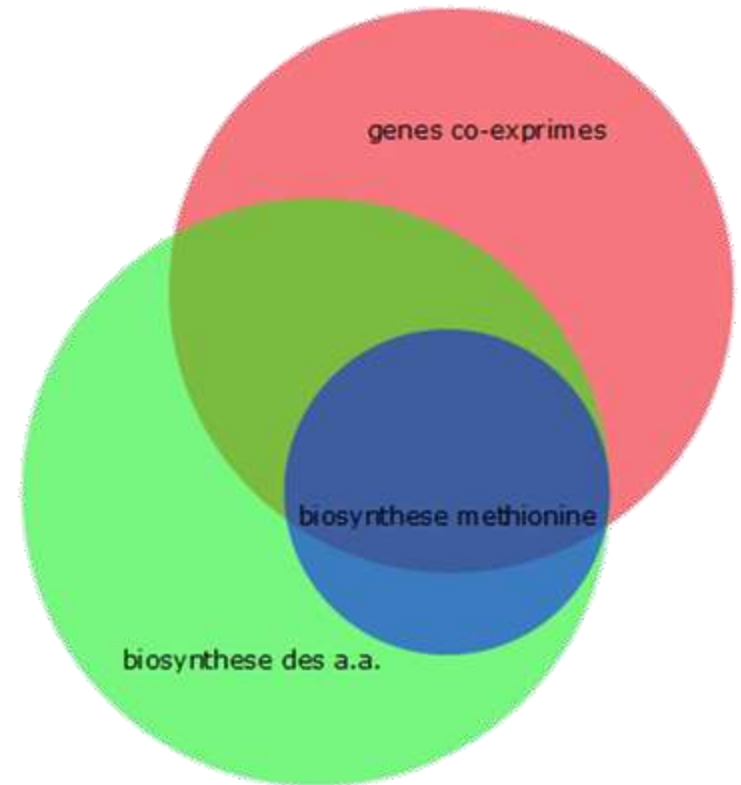


- Correction pour tests multiples (FDR ou autre)
- On conserve les caractéristiques statistiquement significatives

# Visualisation

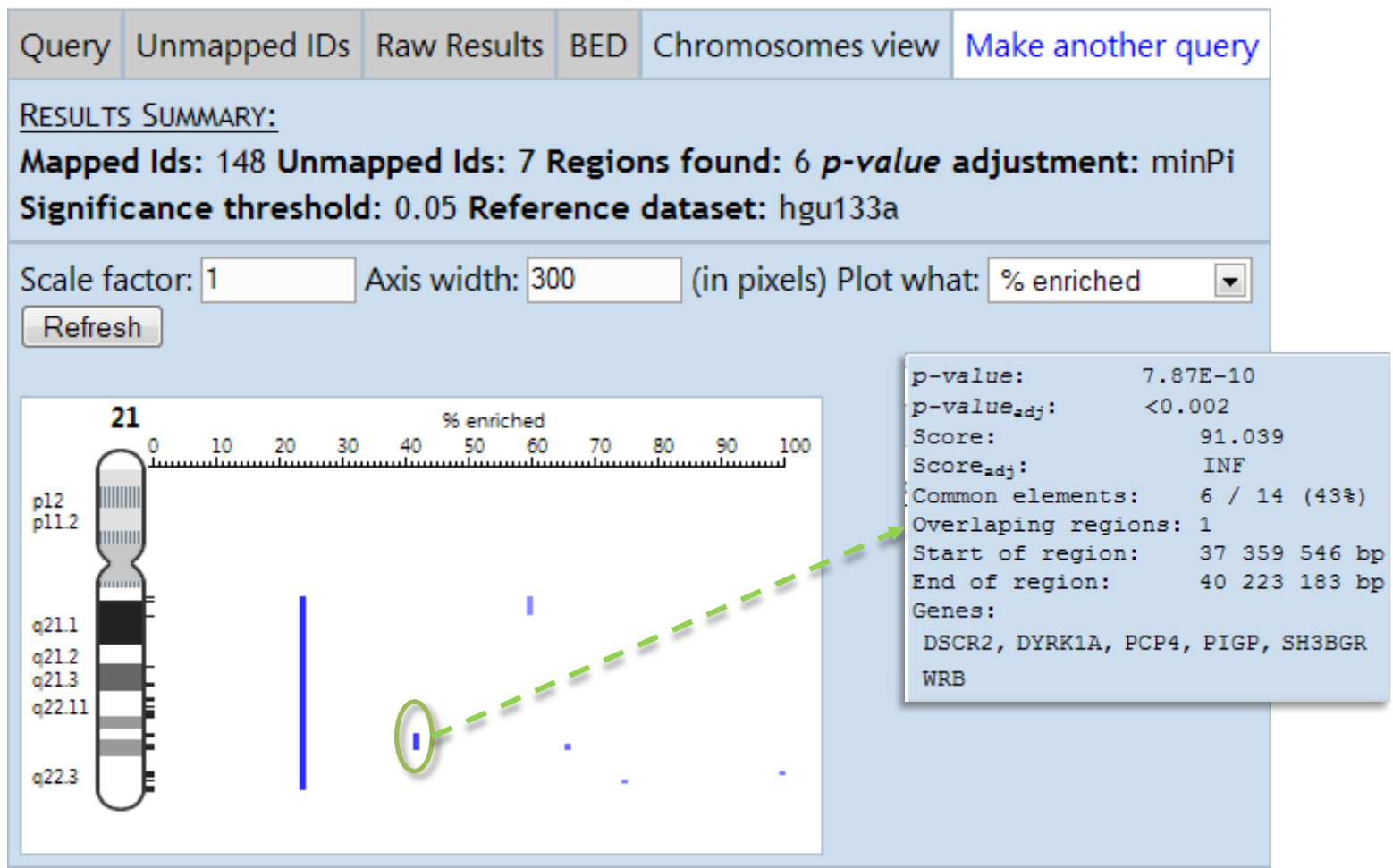
- Diagramme de Venn
  - Aire proportionnelle à la taille des ensembles
  - Chevauchement proportionnel aux gènes communs
  - possible pour un petit nombre d'ensembles

Diagramme de Venn



# Application

- Gènes différentiellement exprimés dans le cerveau des patients atteints du syndrome de Down (trisomie 21)



# Communauté, standards et banques de données

- Microarray Gene Expression Data (MGED) society
- MIAME (Minimum Information About a Microarray Experiment)
  - interprétation non ambiguë
  - reproductibilité
- MGED (MicroArray Gene Expression Data)
  - MAGE-ML (Markup Language): format d'échange
  - MAGE-OM (Object Model)
  - MGED Ontology: vocabulaire contrôlé
- Entrepôts
  - GEO (Gene Expression Omnibus) au NCBI
  - ArrayExpress
  - SMD (Stanford Microarray Database)