

Transcriptome

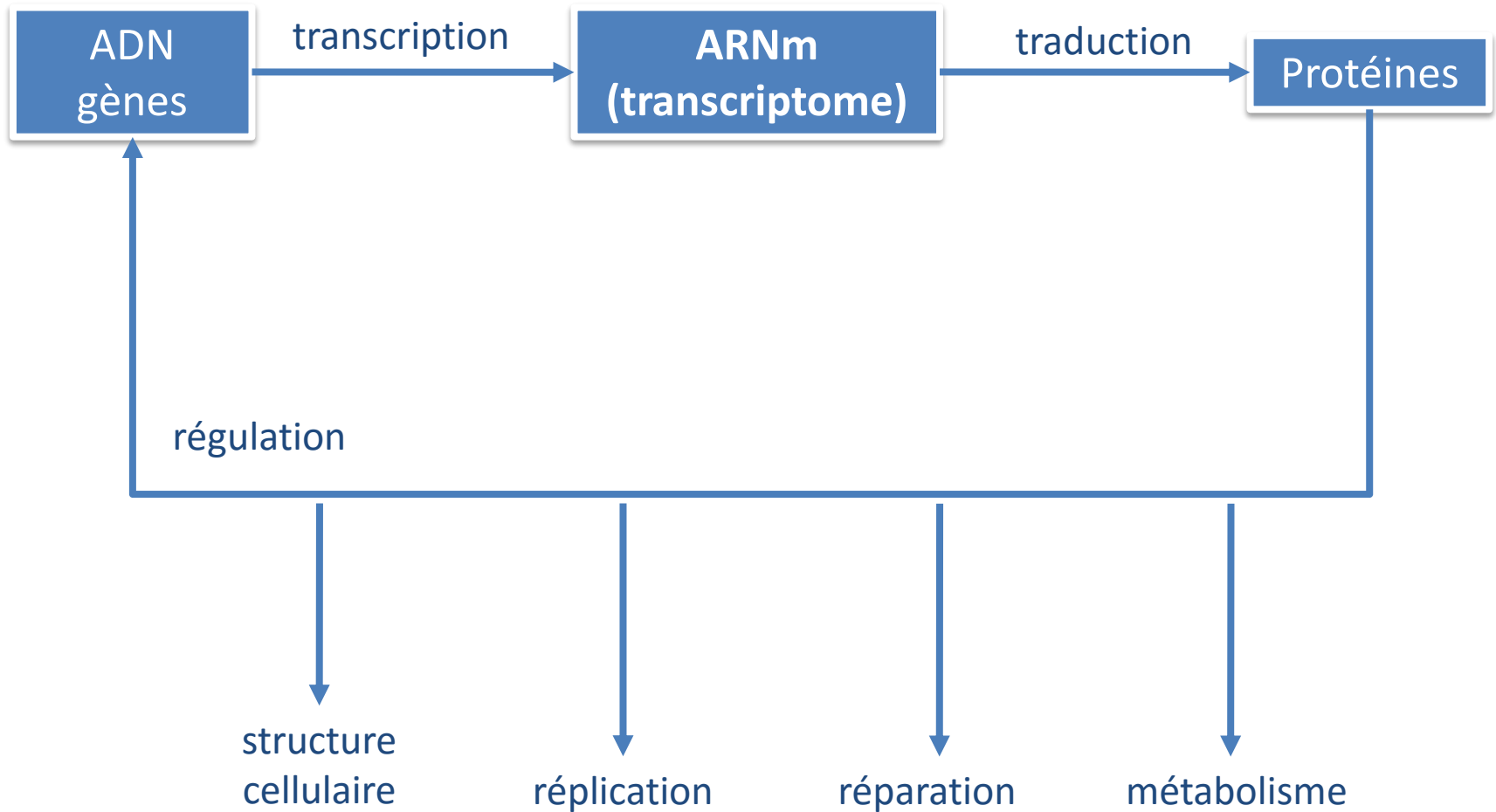
- Transcriptome : ensemble des ARNm ou transcrits présents dans une cellule ou une population de cellules dans des conditions données.
- Plan
 - Introduction
 - Acquisition des données
 - Description des données
 - Transformation, normalisation et filtrage
 - Analyse des données de transcriptome
 - Gènes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

Applications

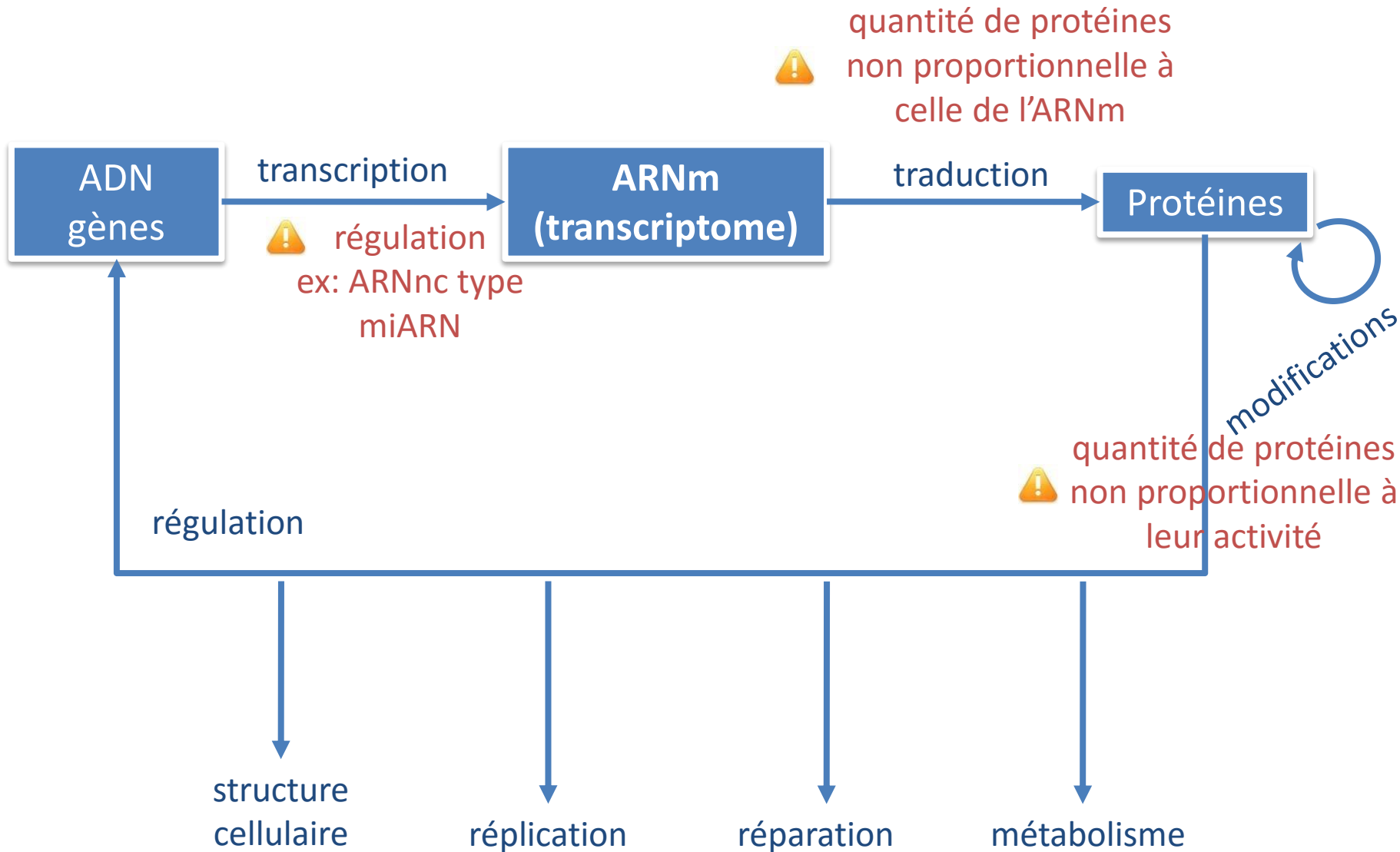
Accès au niveau d'expression de milliers de gènes simultanément

- 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



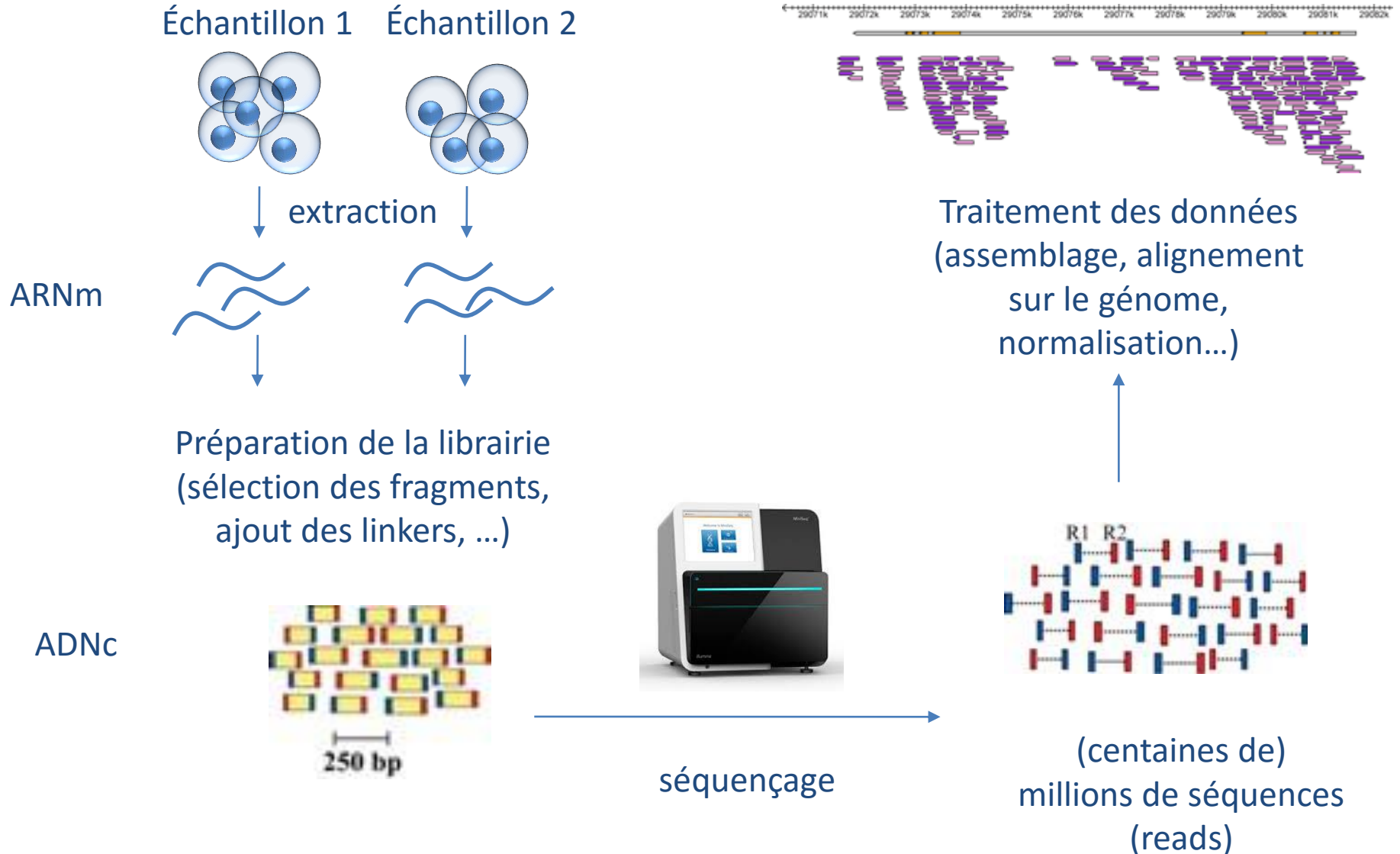
Contexte



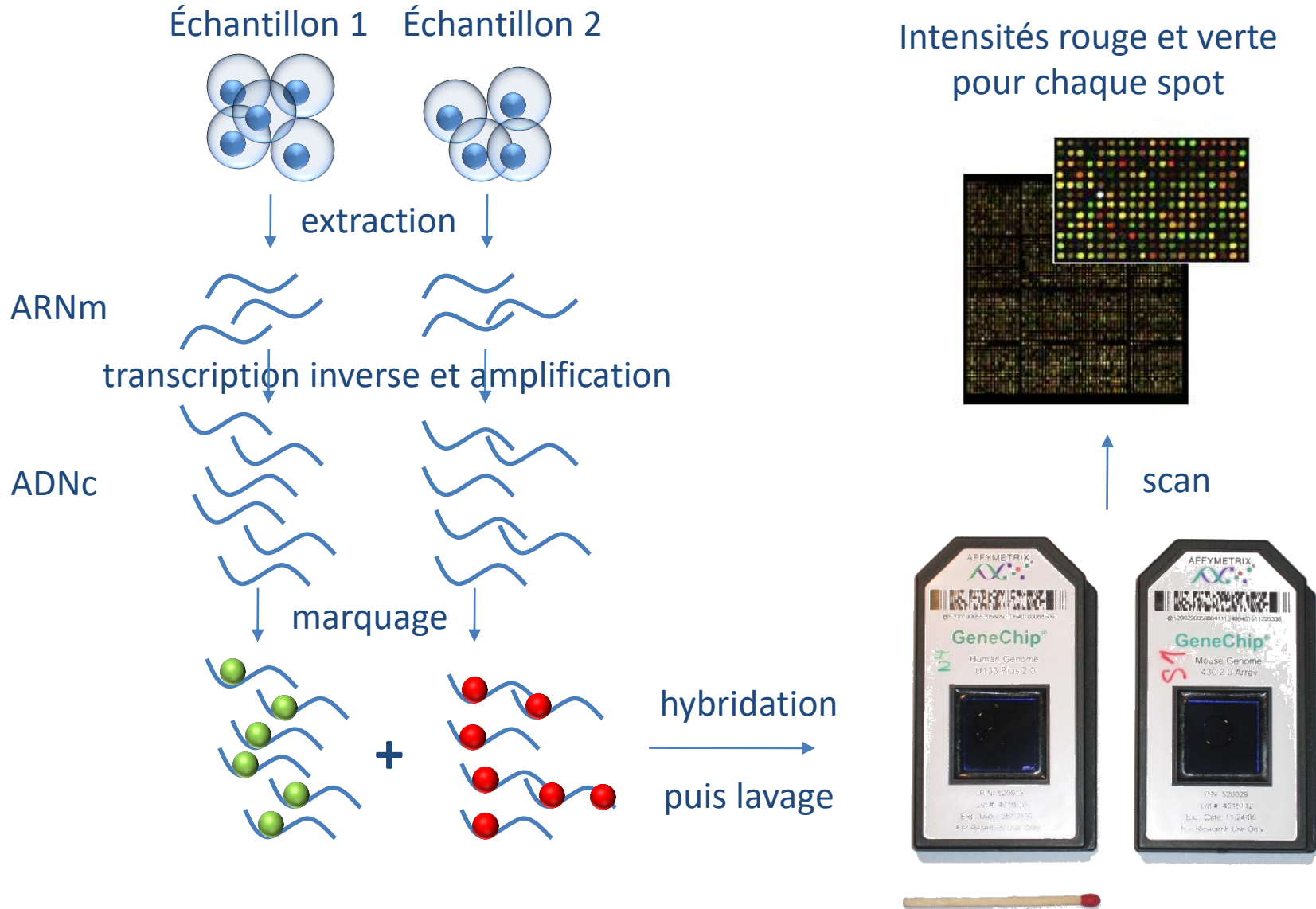
Principales techniques d'acquisition

- Next Generation Sequencing (NGS)
 - RNAseq
 - sRNAseq
- Microarrays
- qPCR, RT-PCR, qRT-PCR

Acquisition des données (RNAseq)



Acquisition des données (microarray)



Exemple d'application

- Plante modèle : le riz (*Oryza sativa*), monocotylédone
- Génome :
 - Petit : ~450Mb
 - 12 chromosomes
 - ~55k gènes codants pour des protéines
- Etude des gènes au cours du développement (approche globale)
 - Masahiro Fujita *et al.* Plant Cell Physiol 2010;51:2060-2081
 - Affymetrix microarray
 - 57k probesets (dont 25k pour des gènes seulement prédits)
 - 98 hybridations sur 25 organes ou stades de développement

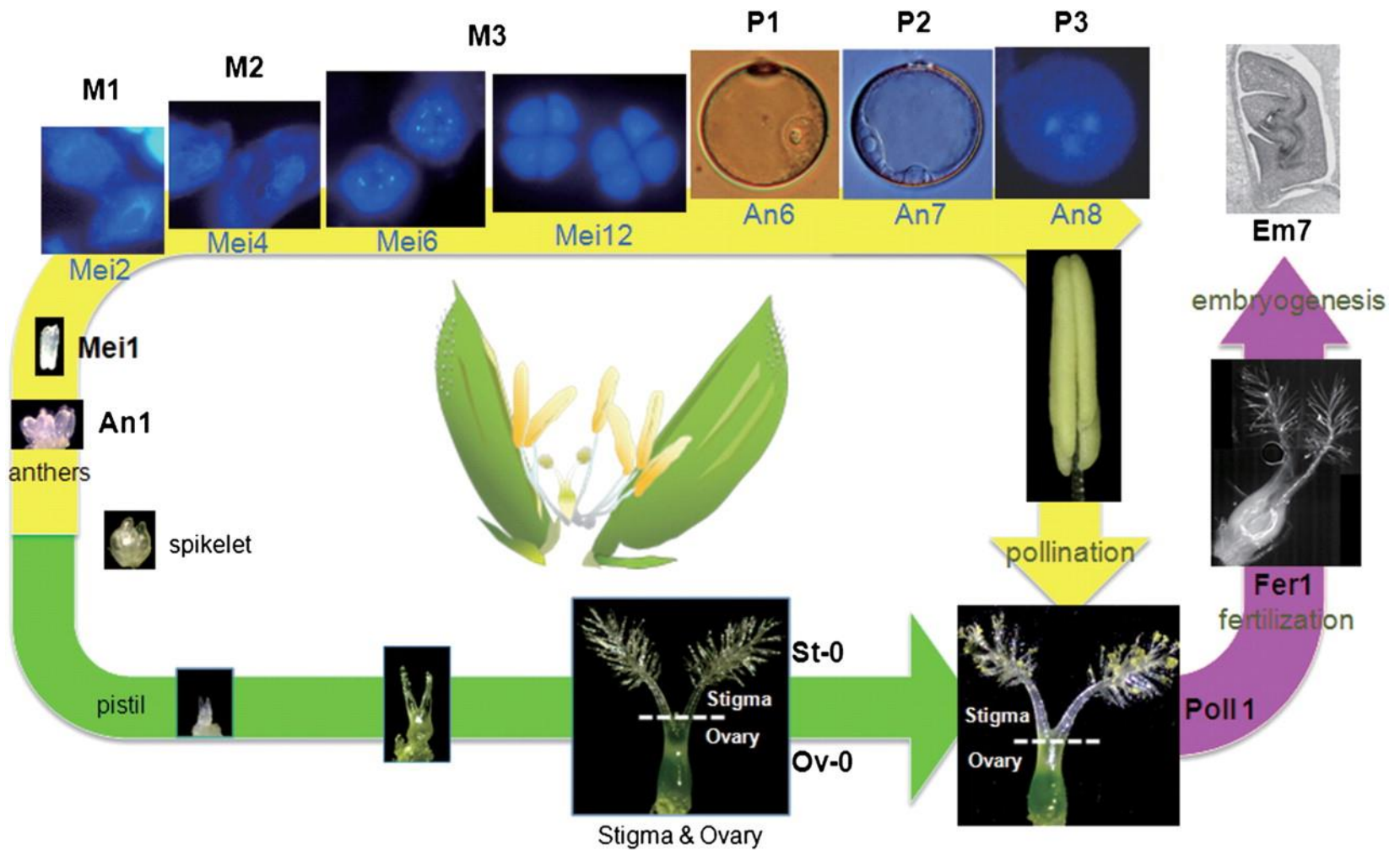
PCP
PLANT & CELL PHYSIOLOGY

Rice Expression Atlas In Reproductive Development

Masahiro Fujita¹, Youko Horiuchi^{1,3}, Yayoi Ueda^{1,2}, Yoko Mizuta^{1,2}, Takahiko Kubo^{1,2}, Kentaro Yano⁴, Shinichiro Yamaki¹, Katsutoshi Tsuda^{1,2}, Toshifumi Nagata¹, Mitsuru Niihama¹, Hiroataka Kato⁴, Shunsuke Kikuchi⁴, Kazuki Hamada⁴, Takako Mochizuki¹, Takeshi Ishimizu⁵, Hiroaki Iwai⁶, Nobuhiro Tsutsumi⁷ and Nori Kurata^{1,2,3,*}

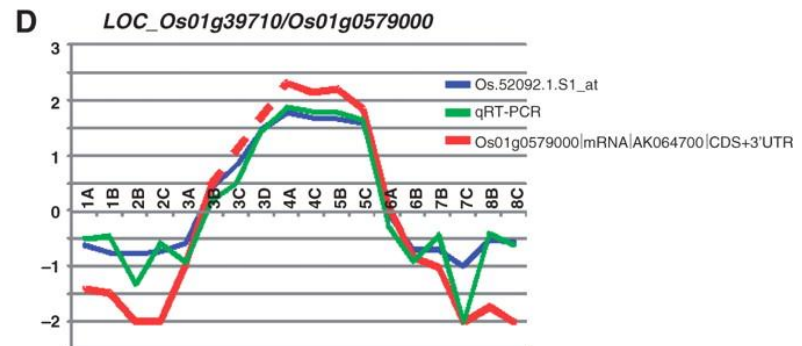
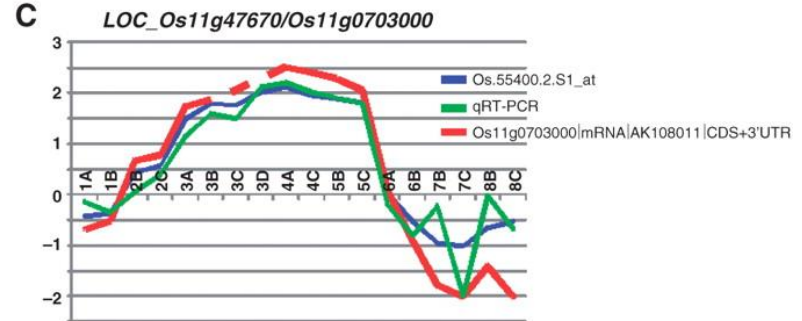
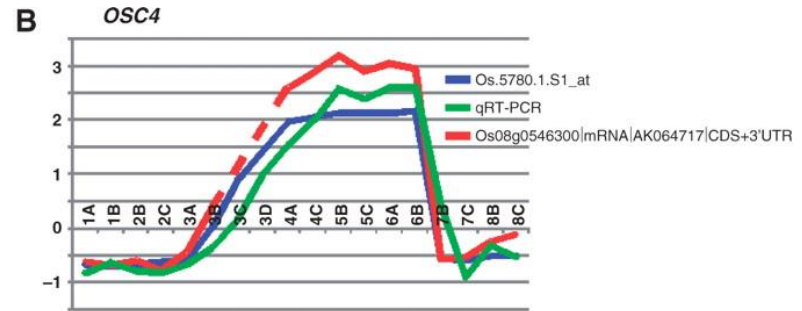
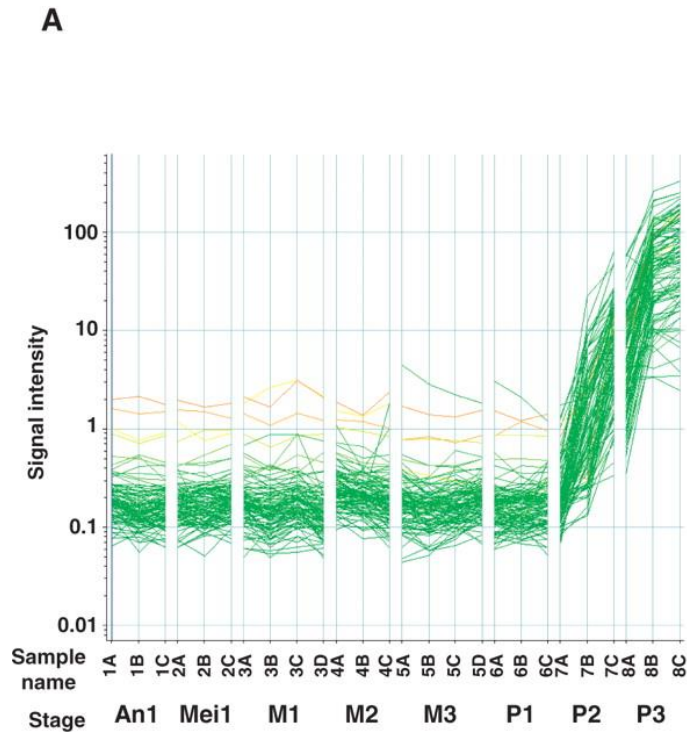
¹Plant Genetics Laboratory, National Institute of Genetics, Mishima, 411-8540 Japan

Reproductive organs and stages used in this study.



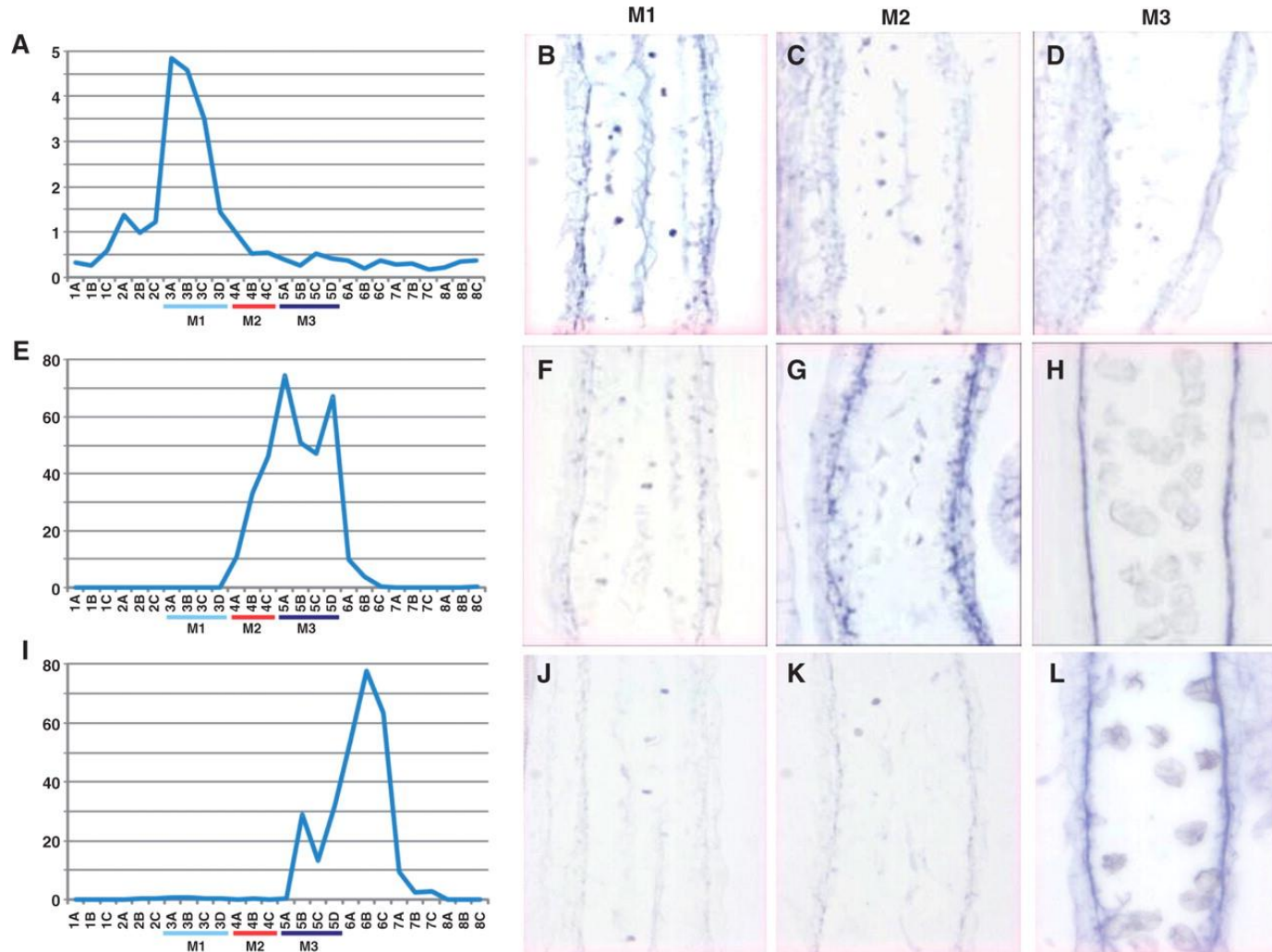
Masahiro Fujita et al. *Plant Cell Physiol* 2010;51:2060-2081

Changes in expression values detected by different microarrays and qRT-PCR.



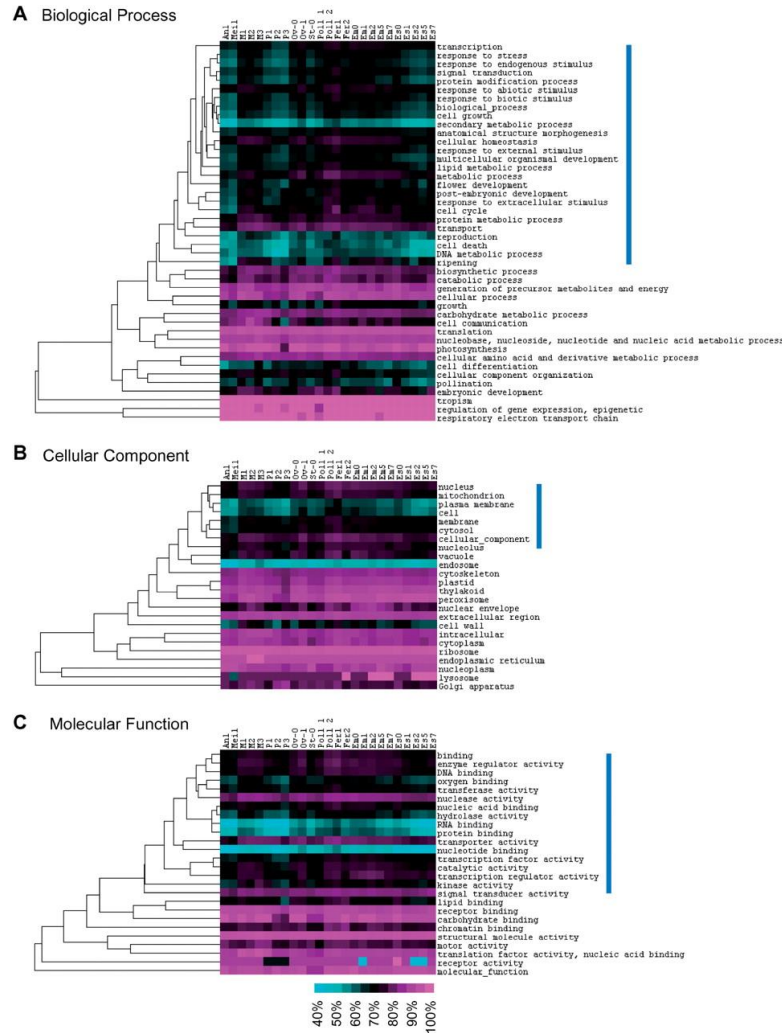
Masahiro Fujita et al. Plant Cell Physiol 2010;51:2060-2081

Expression of meiotic anther-specific genes detected by microarray and in situ hybridization.



Masahiro Fujita et al. *Plant Cell Physiol* 2010;51:2060-2081

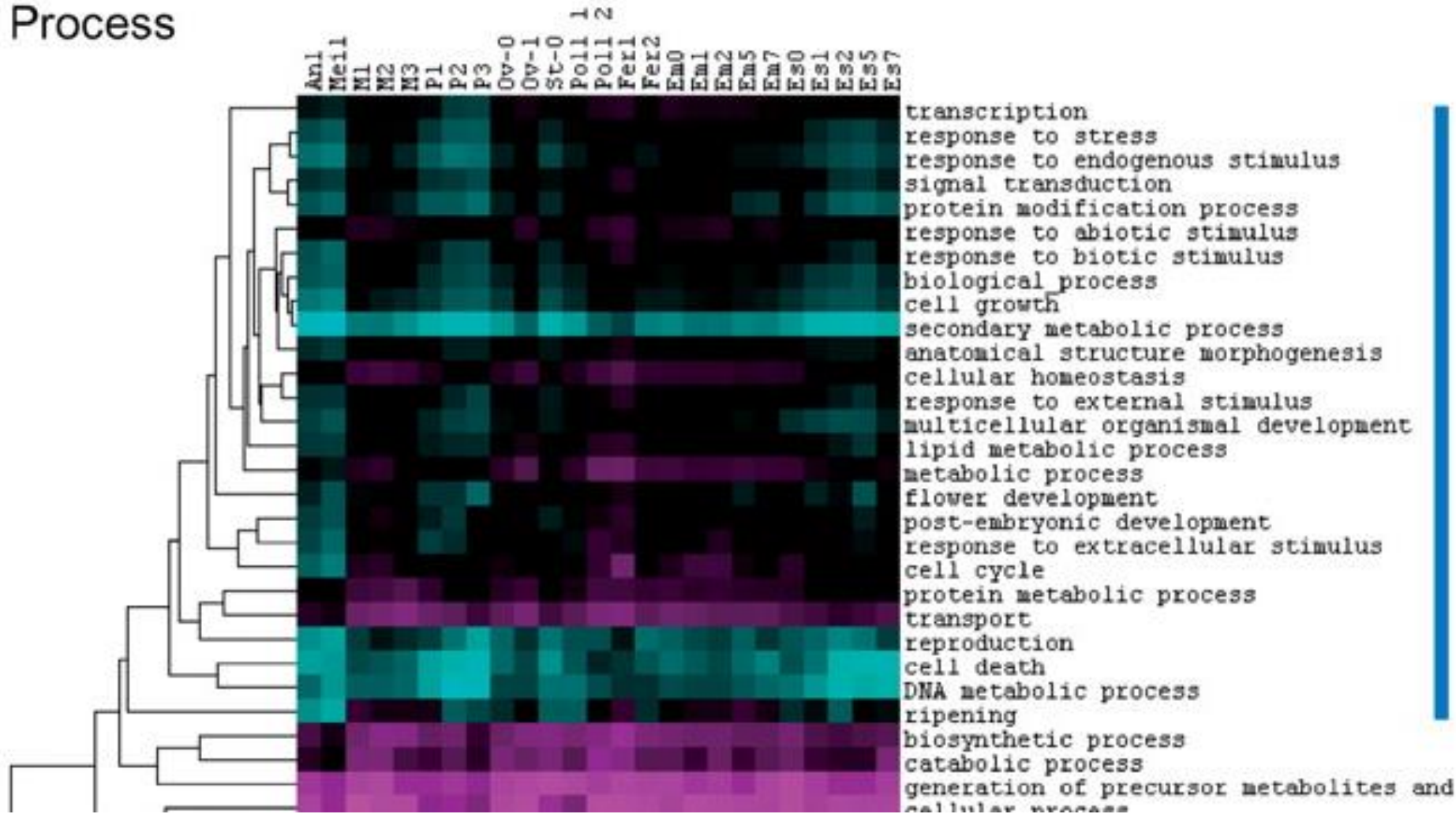
The number of expressed genes in reproductive stages classified by GO terms.



Masahiro Fujita et al. *Plant Cell Physiol* 2010;51:2060-2081

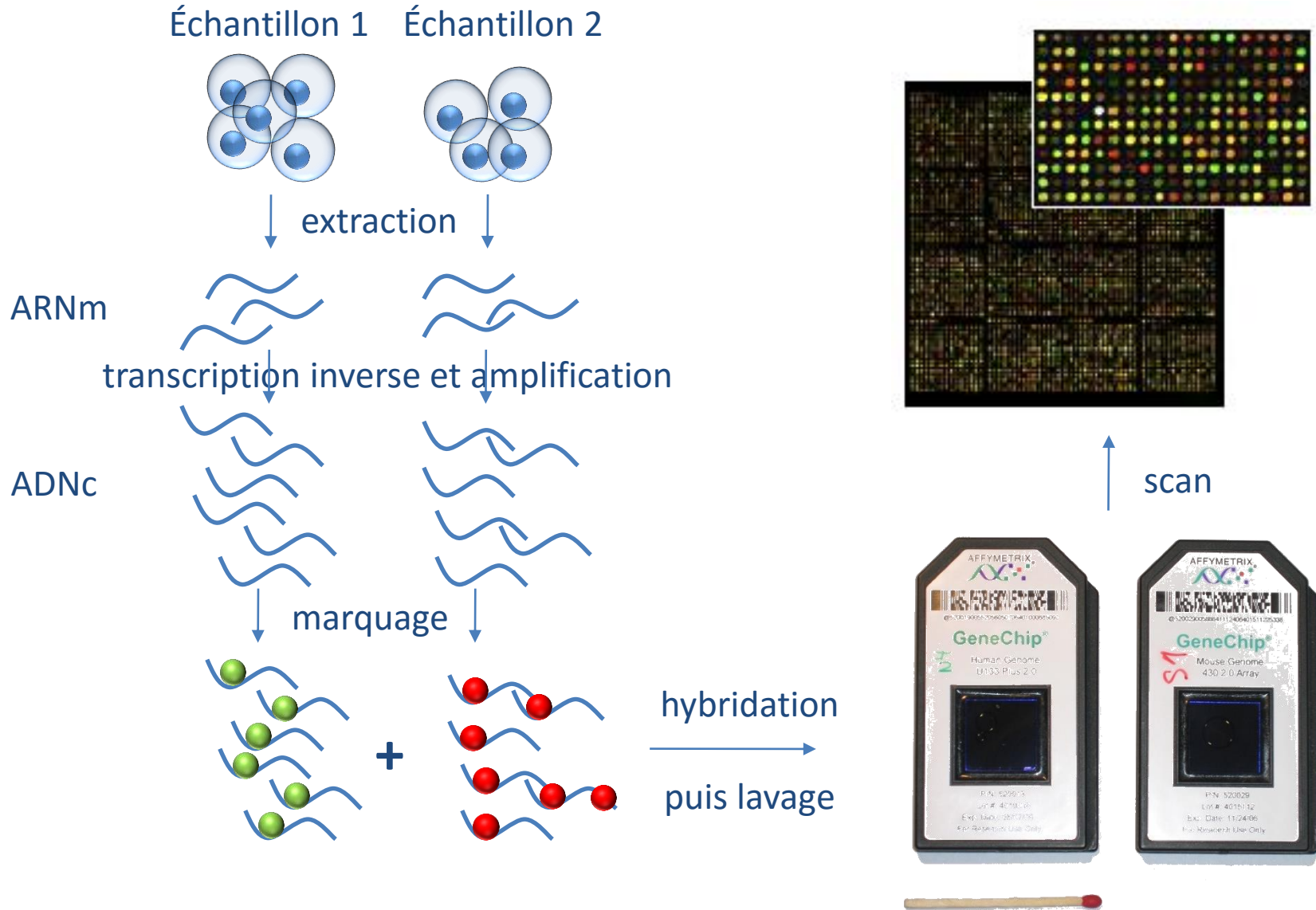
The number of expressed genes in reproductive stages classified by GO terms.

il Process

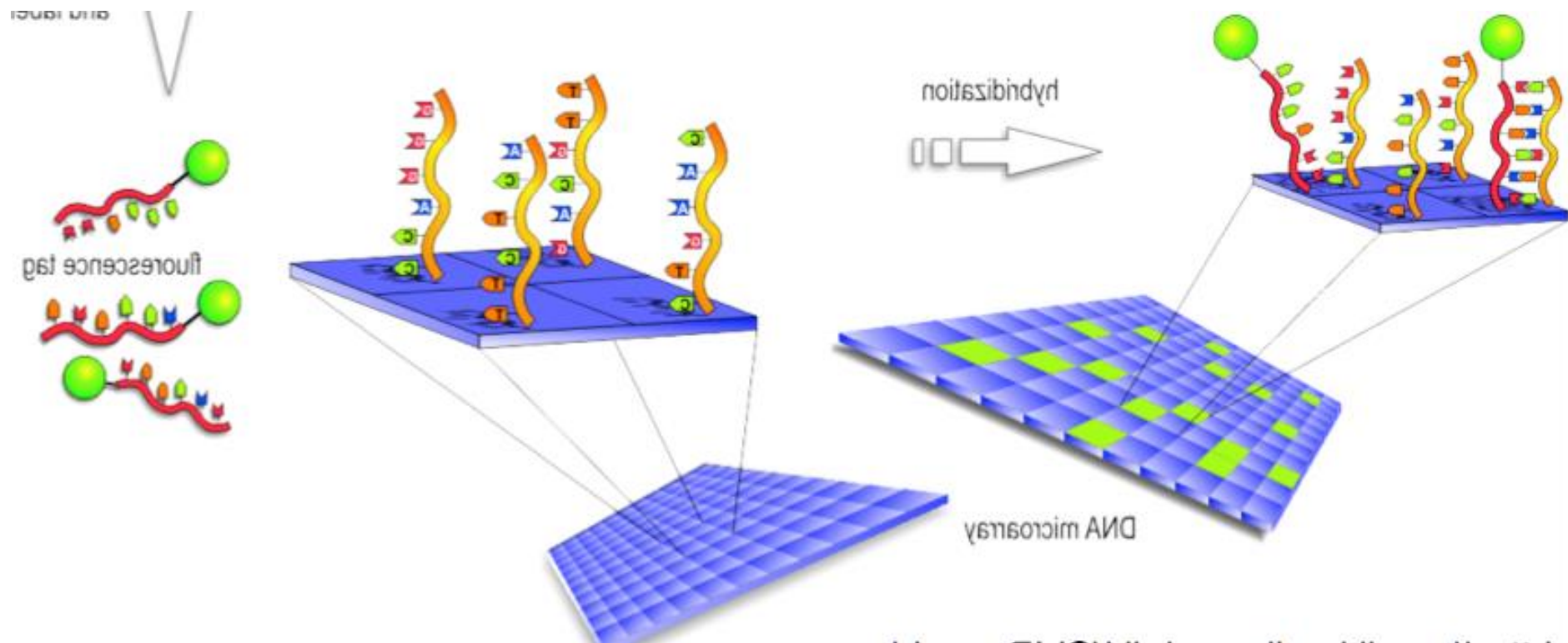


Masahiro Fujita et al. Plant Cell Physiol 2010;51:2060-2081

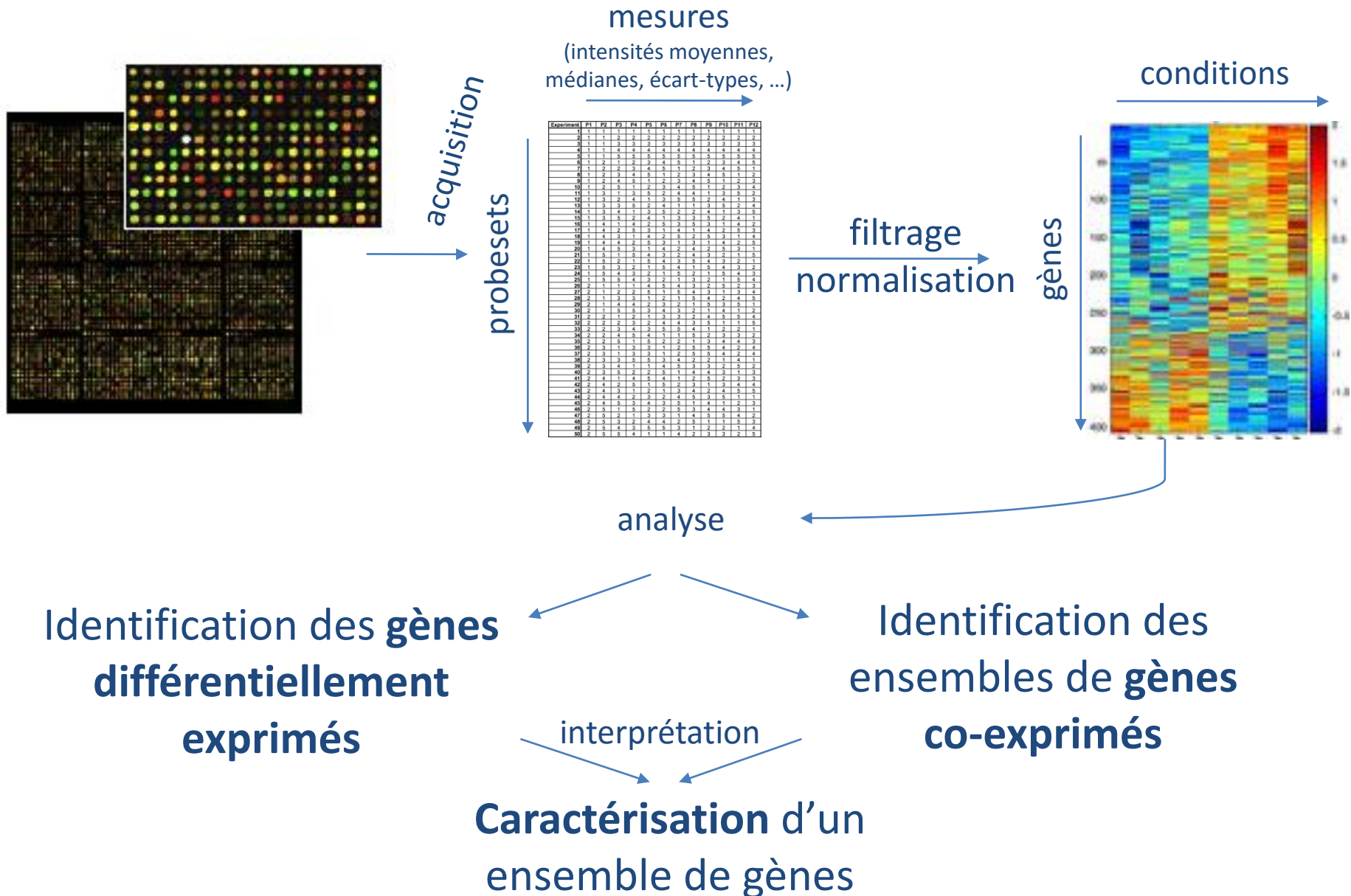
Acquisition des données (microarray)



Hybridization



Analyse et interprétation des données



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	128.89803	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

Right-click to "Freeze" relation

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

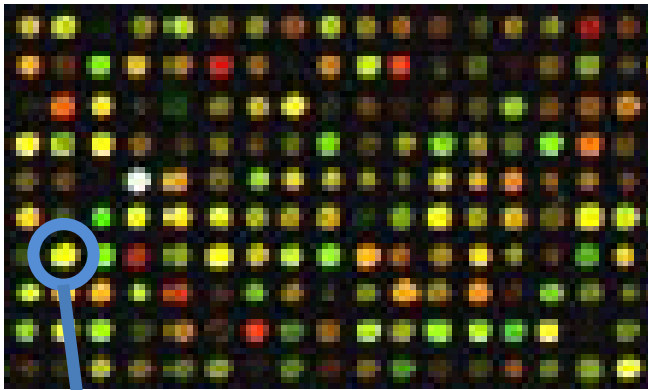
Active tool: Adjust Spot

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 :

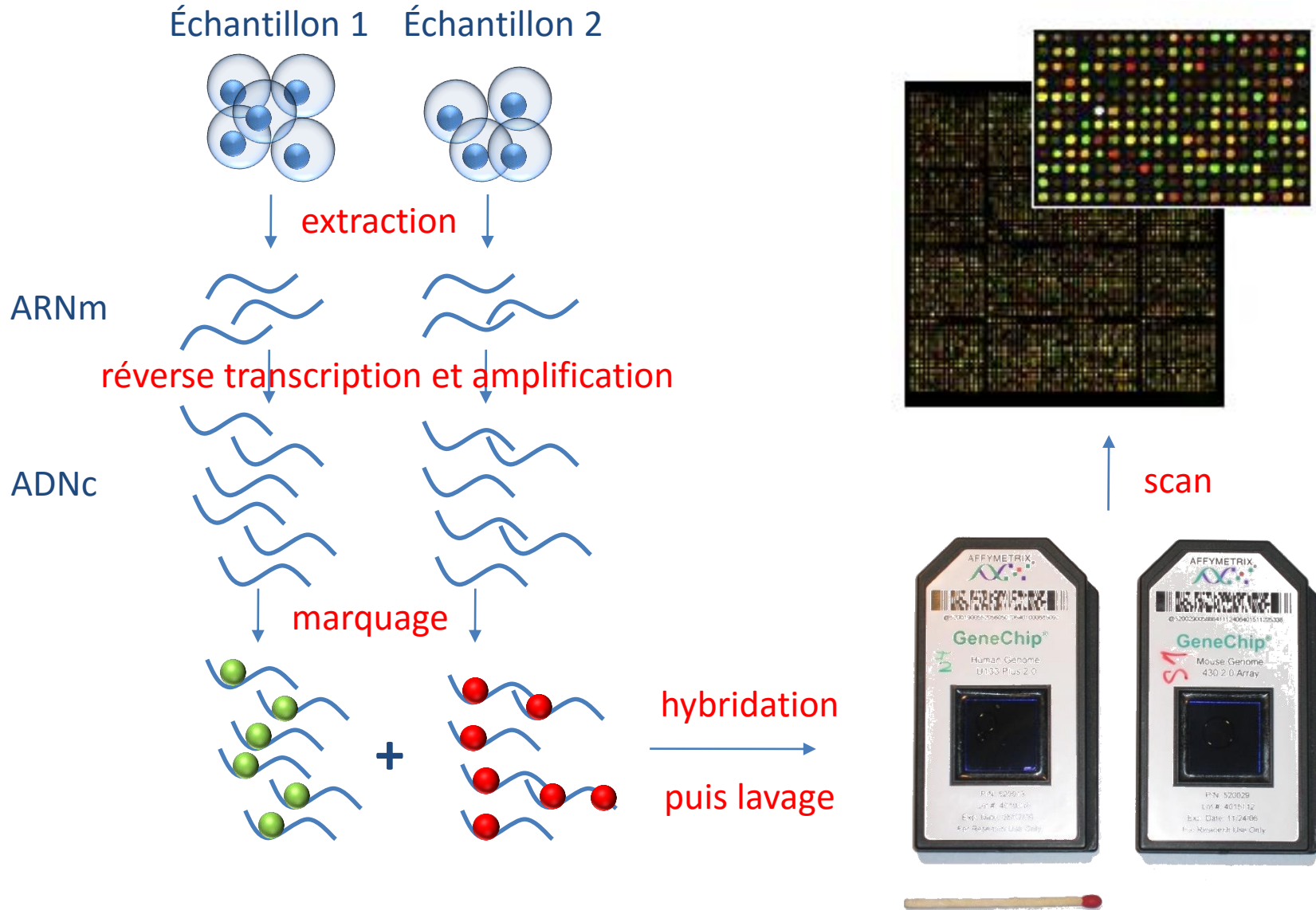
- intensité de vert
- intensité de rouge

- ⚠ 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, exemple : Saturation
 - du scanner pour les fluorochromes
 - de la plaque pour la radioactivité
 - du spot sur la puce

Acquisition des données



Problème : variabilité technique et biologique

- Solution : réplicats & traitement statistique
 - ⚠ Nombre de réplicats augmente la fiabilité des résultats
 - Réplicat biologique & réplicat technique
- estimer **l'erreur non systématique** associée à une mesure
- évaluer le niveau de variabilité des mesures (moyenne + intervalle de confiance)

Réplicats & validation

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

Réplicats

Réplicats
biologiques

Protocole
expérimental

Réplicat 1

Réplicat 2

Réplicats
techniques

Extrait 1

Extrait 2

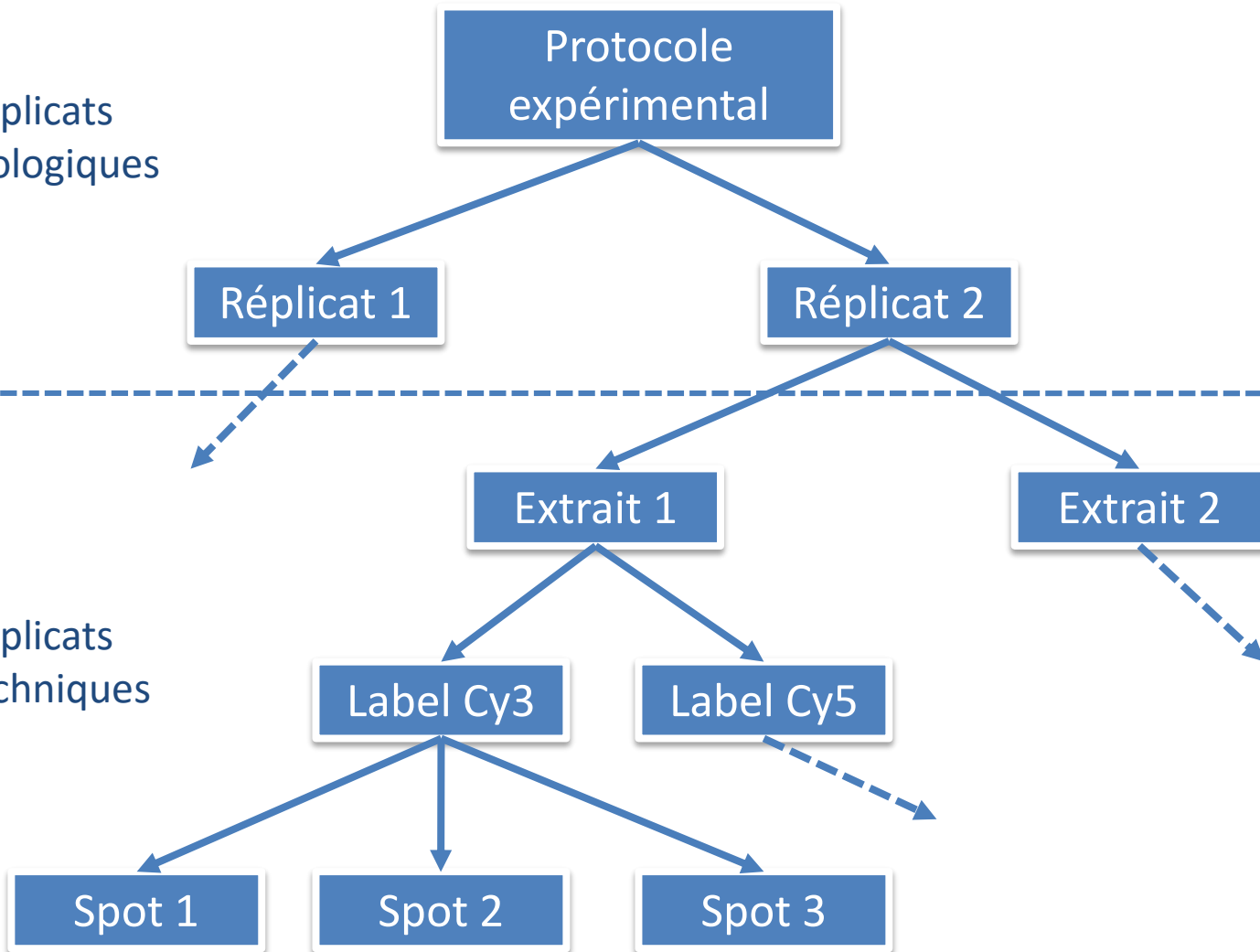
Label Cy3

Label Cy5

Spot 1

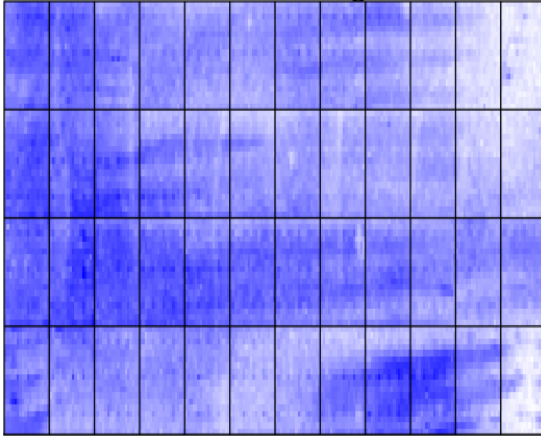
Spot 2

Spot 3



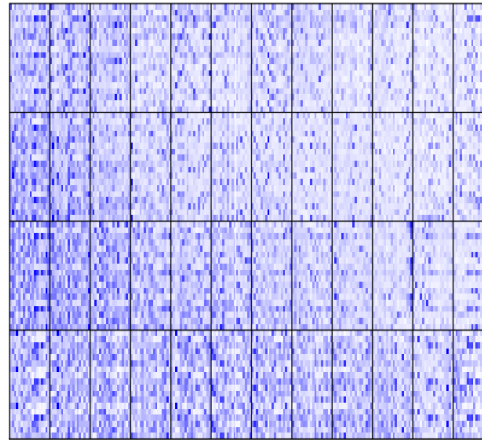
Exemples d'hybridation

300768 Red bg



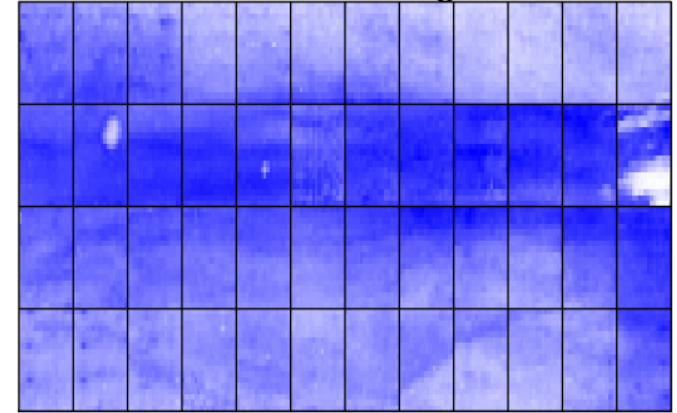
z-range 6.5 to 10.2 (saturation 6.5, 10.2)

300768 Red



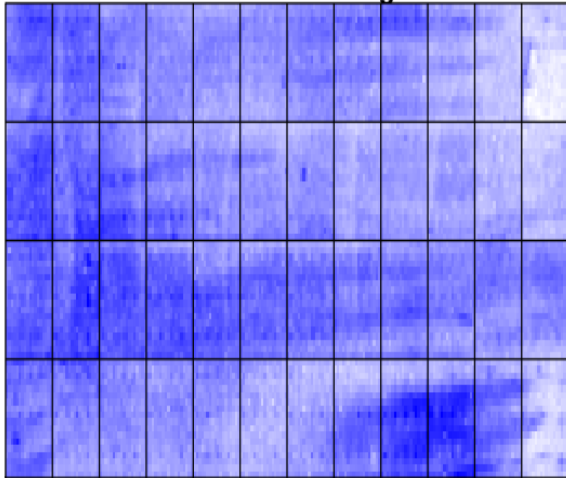
z-range 6.7 to 15.9 (saturation 6.7, 15.9)

227839 Red bg



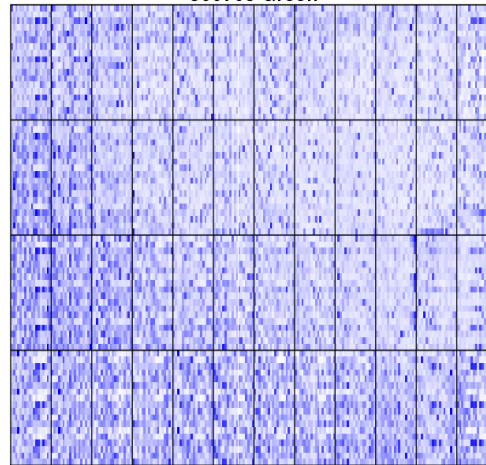
z-range 6.6 to 10.1 (saturation 6.6, 10.1)

300768 Green bg



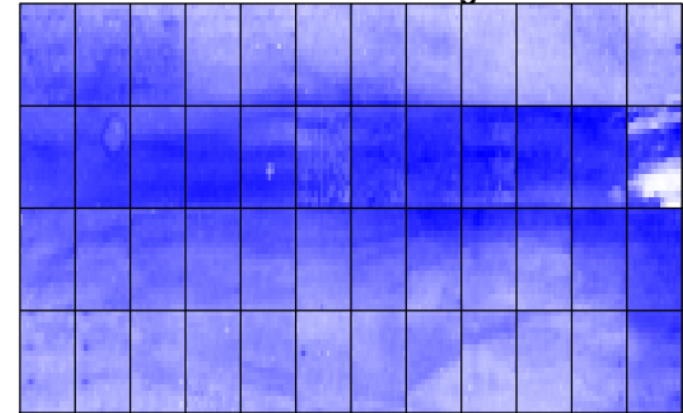
z-range 7.1 to 10.4 (saturation 7.1, 10.4)

300768 Green



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

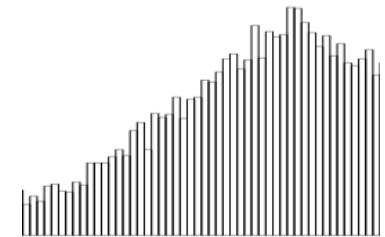
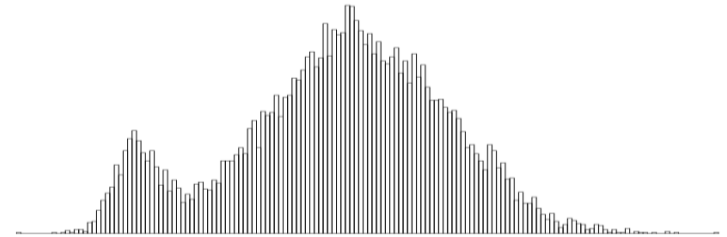
227839 Green bg



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

Filtrage

- valeurs de (trop) faible intensité
 - non exprimé ou valeur manquante (problème sur la puce) ?
 - 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
 - $I_{\text{médiane}}$ du bruit de fond + $2 \times \sigma(\text{bruit de fond})$
 - I_{moyenne} du bruit de fond + $2 \times \sigma(\text{bruit de fond})$
- outlier (valeurs aberrantes)
- valeurs de trop forte intensité (saturation)



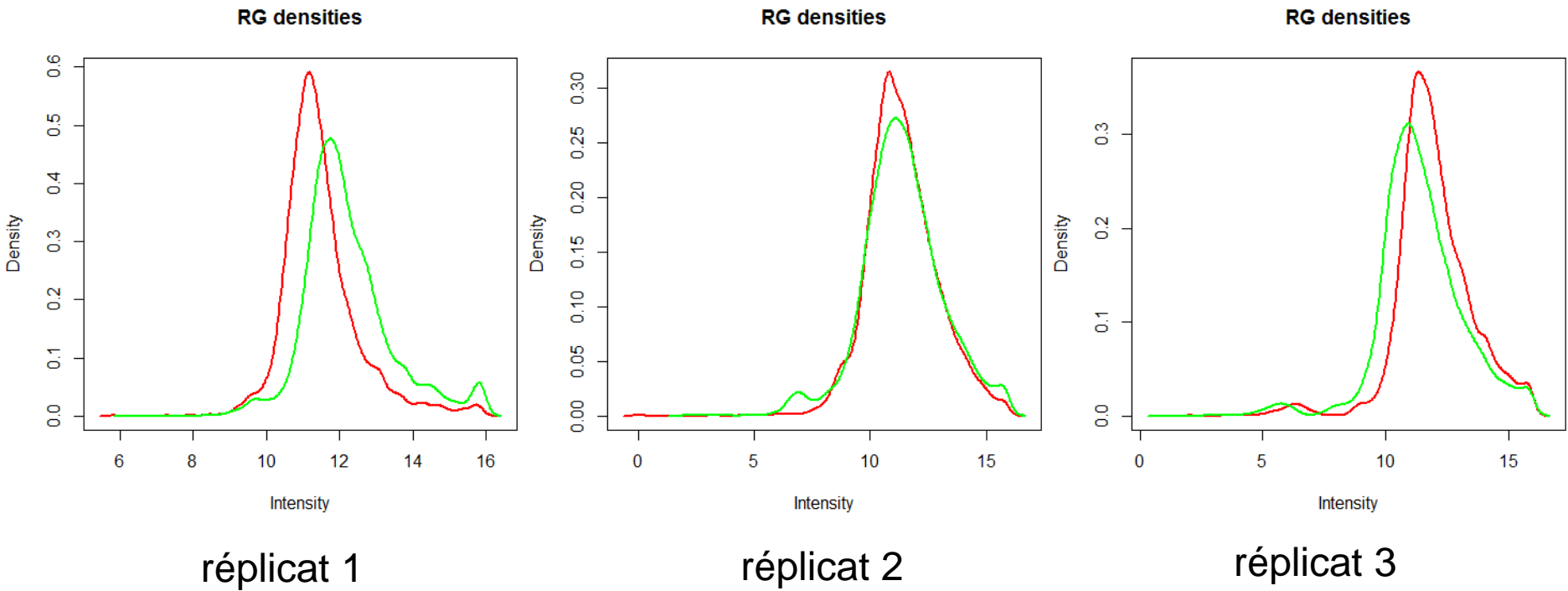
Normalisation

- 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
- Normalisation : transformation des données pour corriger ces effets.

Normalisation

- 2 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

Avant normalisation

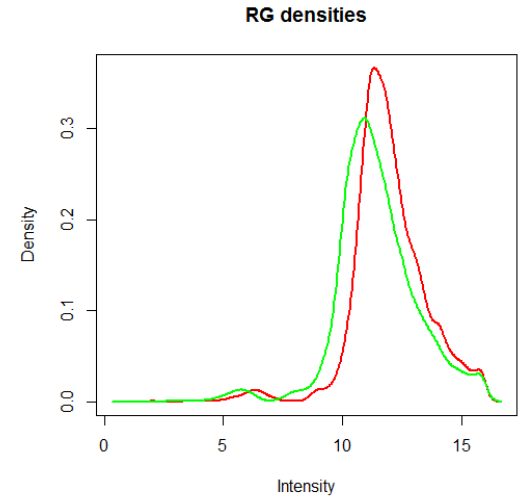
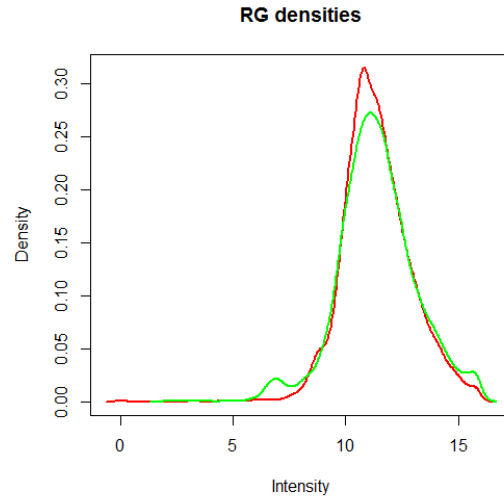
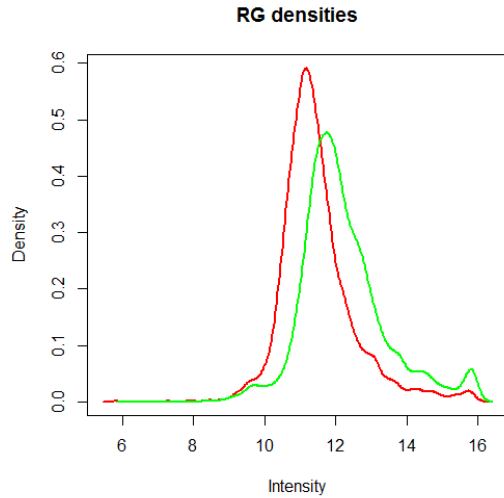


Distributions des intensités rouges et vertes
sur 3 hybridations (répétitions)

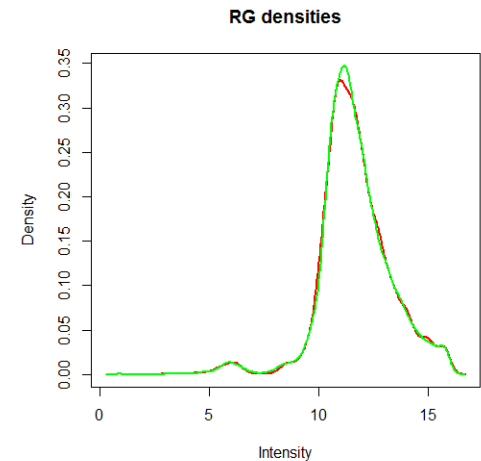
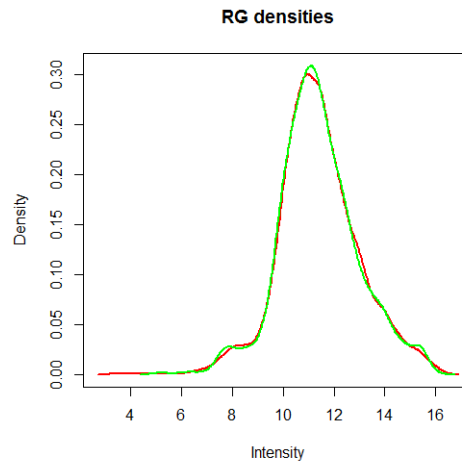
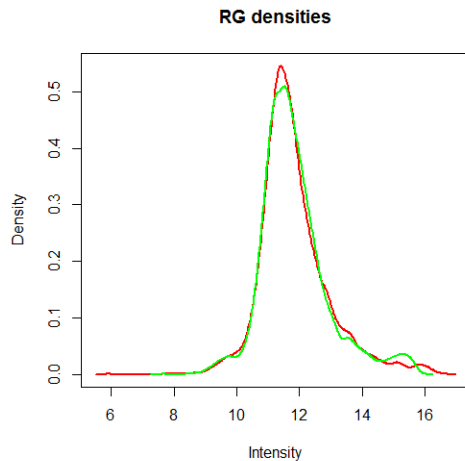
Hypothèses pour la normalisation :

- le niveau d'expression de la plupart des gènes est le même entre les 2 conditions
- les niveaux d'expression sont les mêmes d'une hybridation à l'autre

Avant normalisation

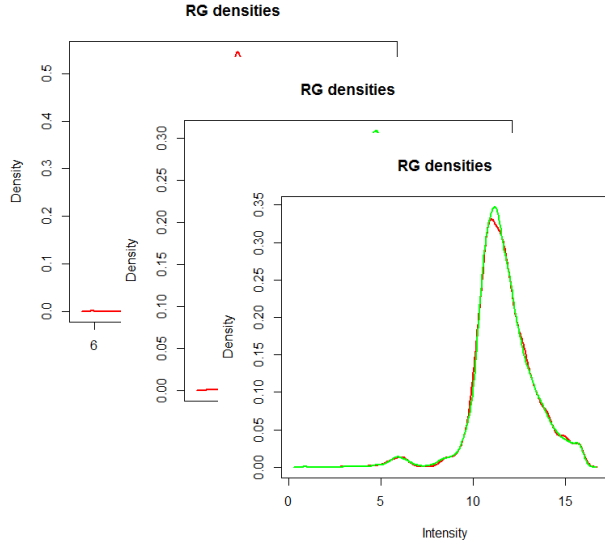


Après normalisation intra-puces

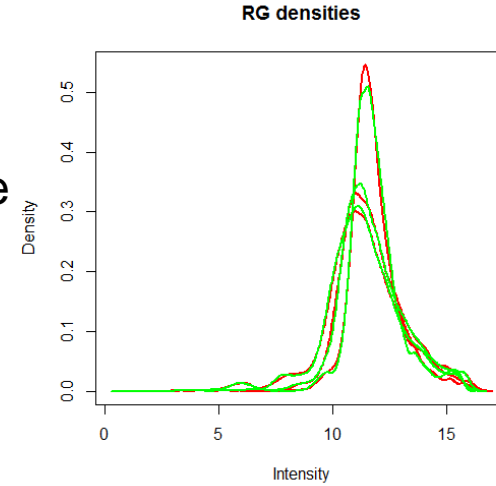


= rendre comparables les intensités rouges et vertes au sein d'une même hybridation

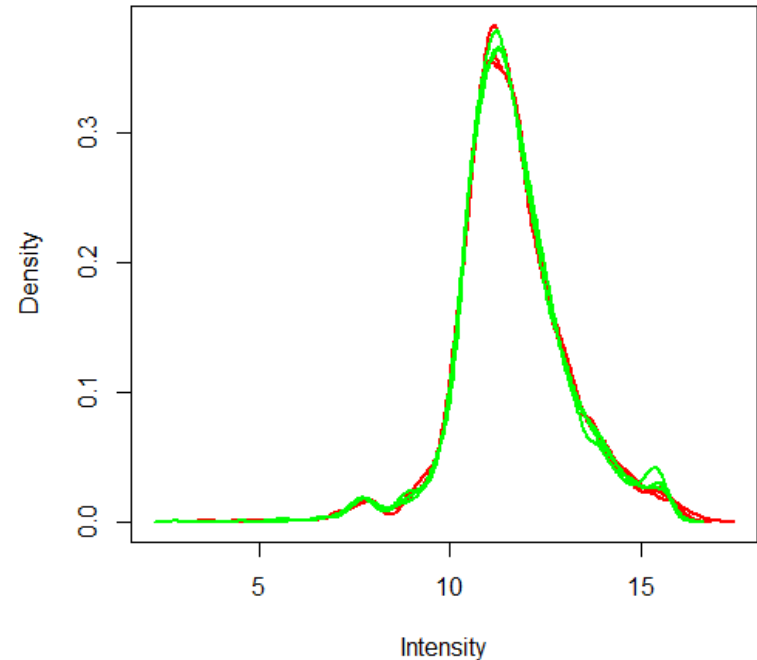
Après normalisation intra-puces



réplicats sur le même graphique

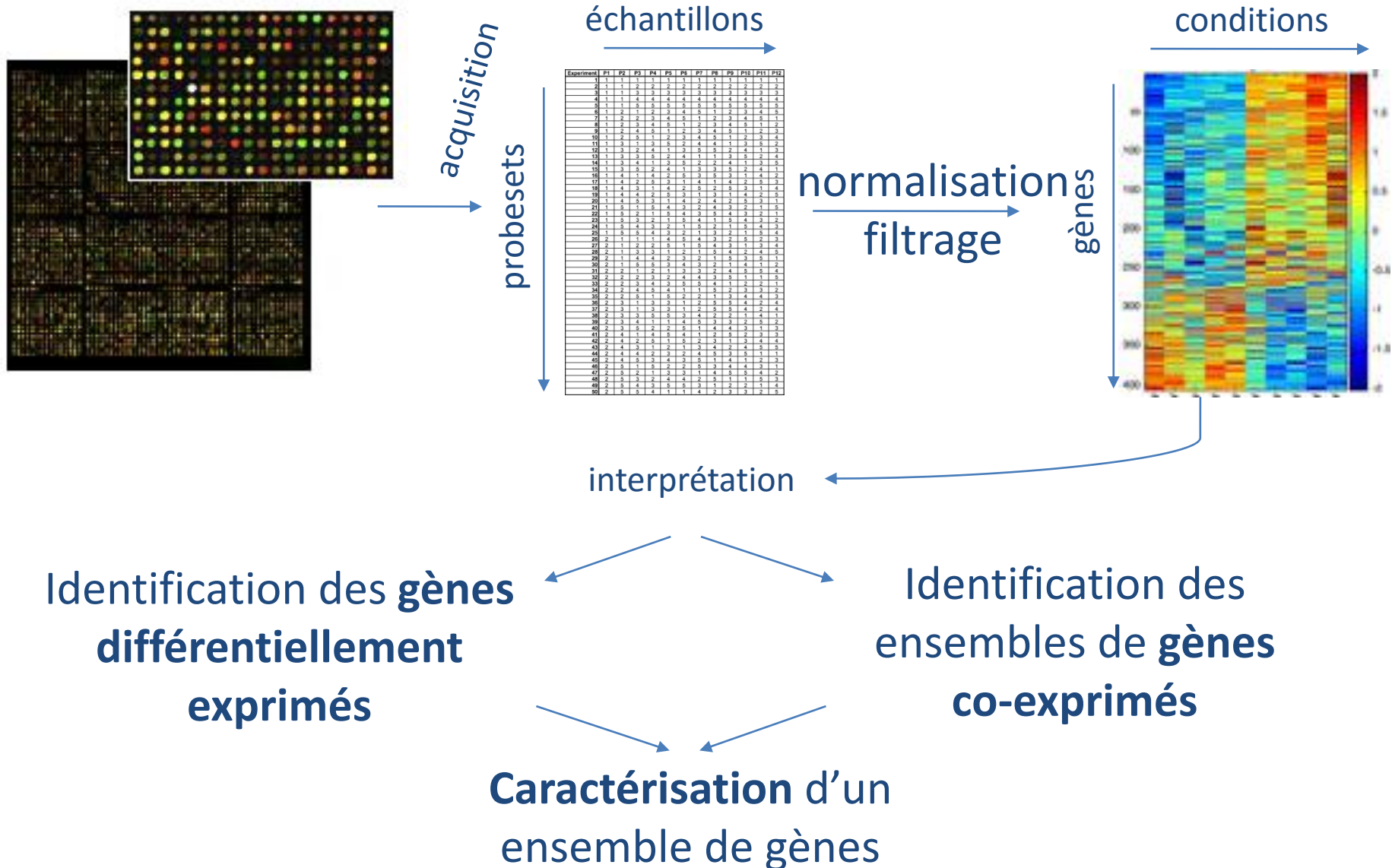


Après normalisation inter-puces



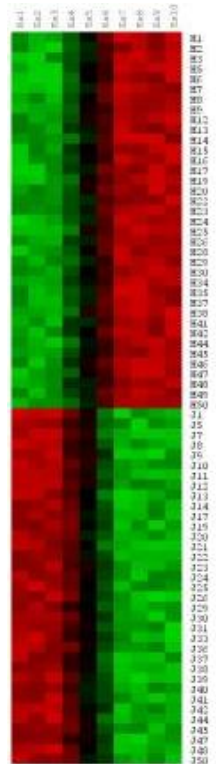
= rendre comparables les niveaux d'expression provenant d'hybridations différentes

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

Modèles statistiques

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

Test de Student (2 conditions)

- 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 répétitions
 - ex : R_1, R_2, \dots, R_n et G_1, G_2, \dots, G_n
 - Si le gène n'est pas différentiellement exprimé, la moyenne des ratios d'expression du gène vaut 1
 - $\text{moyenne}(R_i) = \text{moyenne}(G_i)$?
 - two sample t -test permet de déterminer si les valeurs observées proviennent de distributions ayant la même moyenne

Application du test de Student

- H_0 : les valeurs observées proviennent de distributions ayant la même moyenne
- Autrement dit, H_0 : le gène a le même niveau d'expression dans les 2 conditions
- Mise en œuvre du test sur chaque gène séparément
 - Obtention de la p -valeur
 - Comparaison au seuil α (généralement 0.05)
 - Décision : Acceptation ou rejet de H_0
 - p -valeur $\geq \alpha$: le gène a le même niveau d'expression dans les 2 conditions
 - p -valeur $< \alpha$: le gène est différentiellement exprimé

Test de Student : illustration

- Application
 - R : contrôle
 - G : traitement

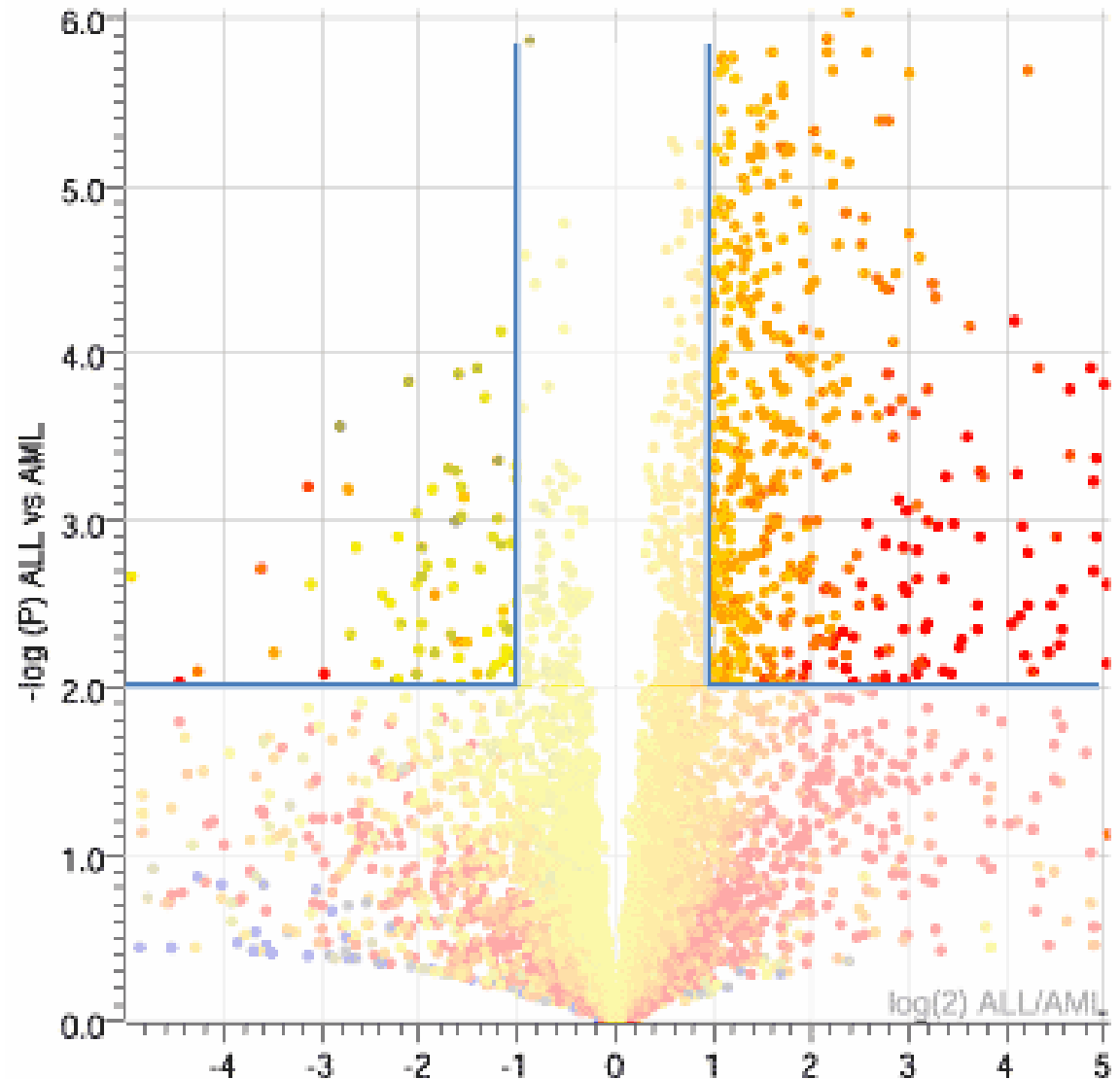
	R_1	R_2	G_1	G_2	p -value
267627_at	57	6	45.5	38.6	0.7504
267628_at	441.8	431.5	347.2	355.2	0.0072
267629_at	226.5	205.6	148.2	132.9	0.0343
267630_at	1142.6	1080.7	1019.8	1018.6	0.2055
267631_at	77.7	58	84.4	57.4	0.8734

Volcano plot

fold change
(variation
d'expression
en abscisses x)

vs.

$-\log(p\text{-valeur})$
(significativité :
 t -test
ou autre en
ordonnées y)



Tests multiples

- H_0 : le gène g a un niveau d'expression constant
- seuil α typique de 5% *i.e.* g est considéré comme différentiellement exprimé si $p\text{-valeur}(g) < 0.05$
- 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^{ère} et 2^{ème} espèce

- Erreur de 1^{ère} espèce (Type 1 error) :
 - probabilité α 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^{ème} espèce (Type 2 error) :
 - probabilité β d'accepter H_0 alors qu'elle est fautive
 - 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	$1-\alpha$	α
H_0 fautive (diff. expr.)	β	$1-\beta$

- Conséquence :
 - En testant les 50 000 gènes de la puce avec $\alpha = 5\%$
 - 2000 gènes ont une p-valeur comprise entre 0.01 et 0.05
 - on s'attend à obtenir au moins 2000×0.01 faux positifs
soit >20 gènes qui ne sont en réalité **pas** différentiellement exprimés

Correction pour tests multiples

- Bonferroni
 - consiste à diviser le seuil par le nombre de tests effectués
 - souvent trop conservateur (peu voire pas de gènes différentiellement exprimés détectés)
- False Discovery Rate (FDR) *Benjamini & Hochberg '95*
 - Principe : ajuster le seuil α 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 α 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	0.02
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

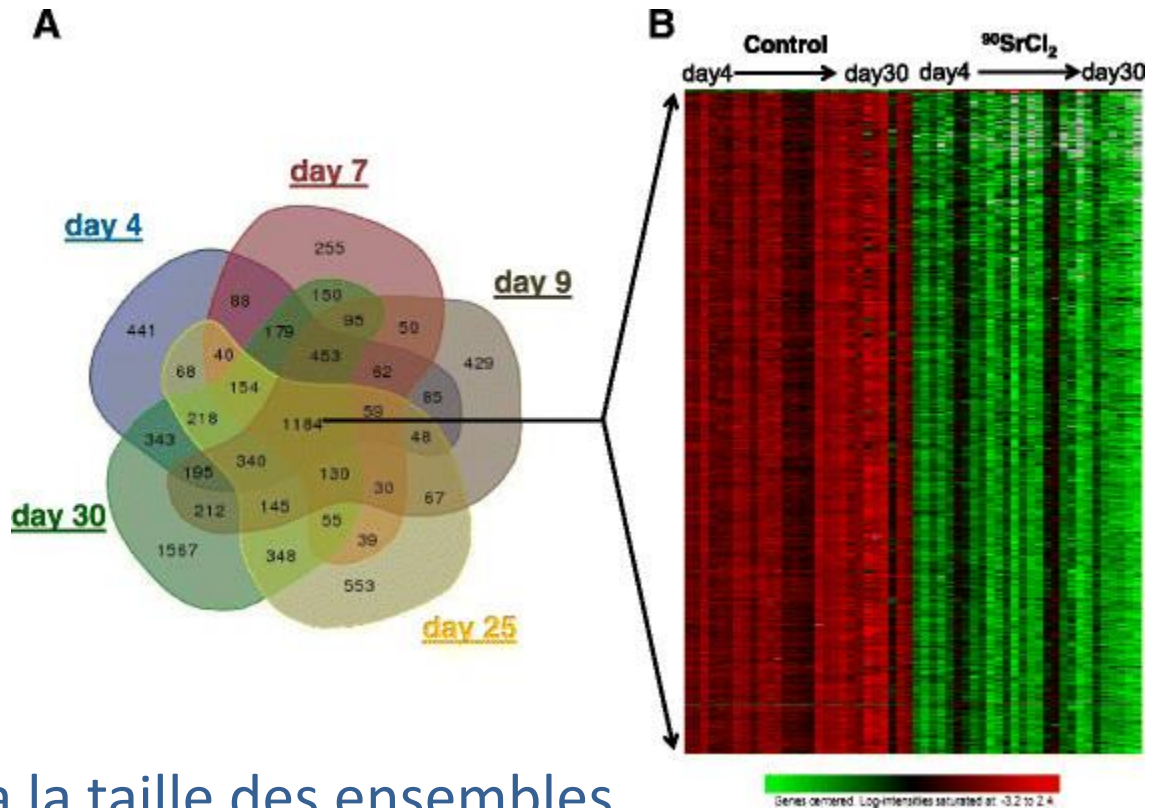
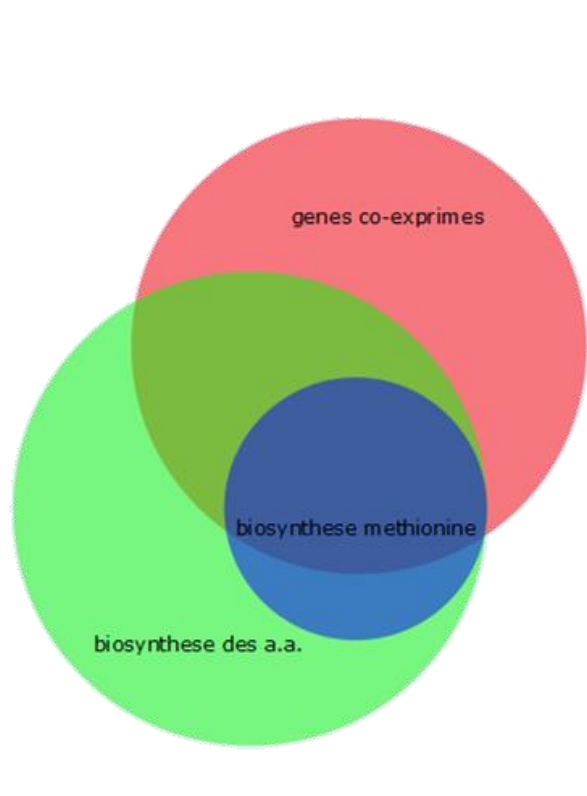
un gène est déclaré différentiellement exprimé
pour $\alpha = 0.05$

ANOVA (≥ 2 conditions)

- But : déterminer si **un gène** est différentiellement dans (au moins) une des conditions
- Hypothèse testée : les moyennes des niveaux d'expression du gène dans les différentes conditions sont égales
- Autrement dit, H_0 : le gène a le même niveau d'expression dans toutes les conditions

- Mise en œuvre du test sur chaque gène séparément
 - Obtention de la p -valeur
 - Comparaison au seuil α (généralement 0.05)
 - Décision : Acceptation ou rejet de H_0
 - p -valeur $\geq \alpha$: le gène a le même niveau d'expression dans toutes les conditions
 - p -valeur $< \alpha$: le gène a un niveau d'expression différent dans au moins une condition
- Remarque: pour 2 conditions, cela équivaut au t -test

Diagramme de Venn



Ghandhi *et al.* BMC Genomics (2015) 16:586

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

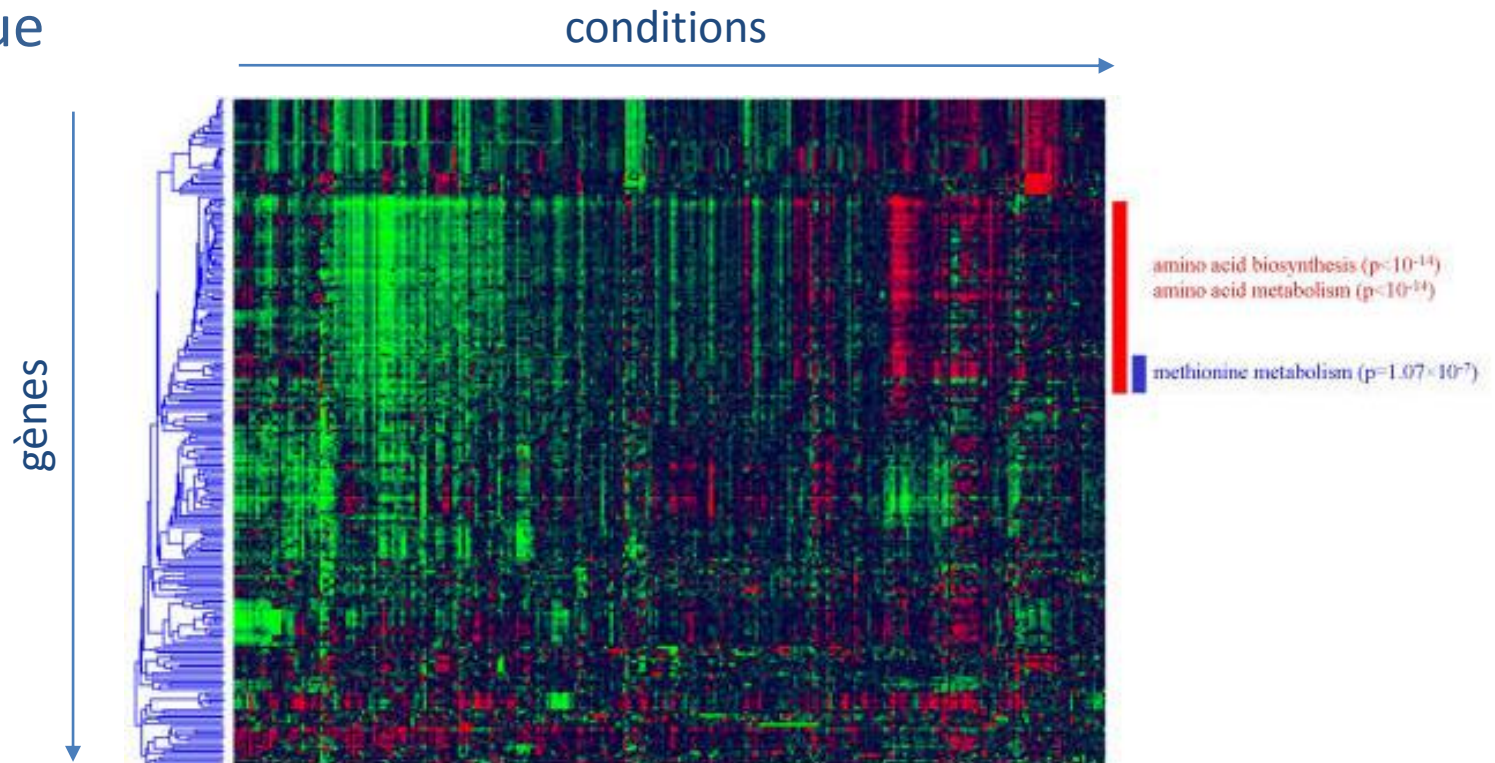
outil en ligne (Toulouse) <http://bioinfo.genotoul.fr/jvonn/index.html>

Philippe Bardou, Jérôme Mariette, Frédéric Escudié, Christophe Djemiel and Christophe Klopp.

jvonn: an interactive Venn diagram viewer. BMC Bioinformatics 2014, 15:293 doi:10.1186/1471-2105-15-293

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



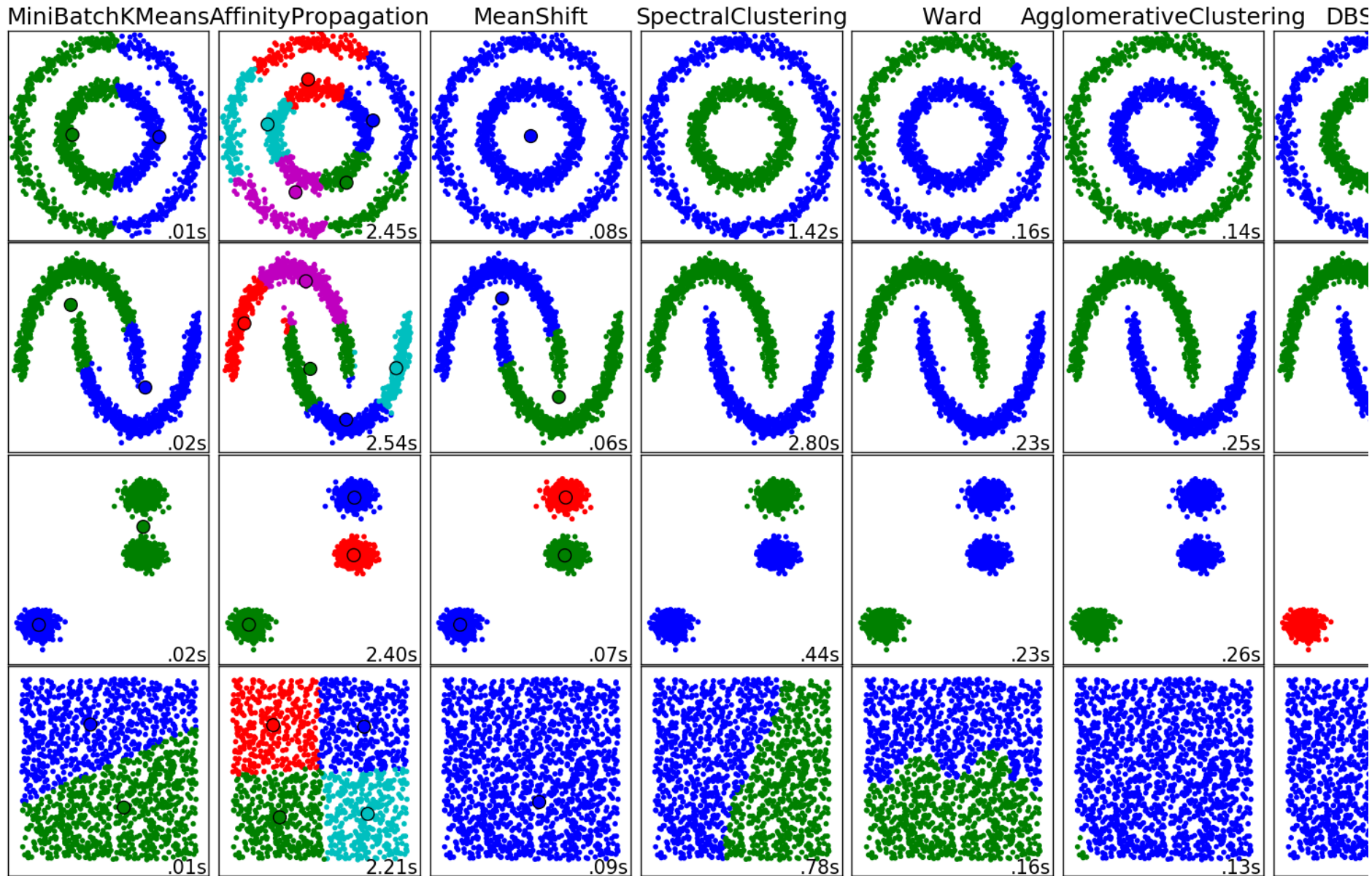
Qu'est-ce que le clustering ?

- analyse de clustering
 - regroupement des objets en clusters (groupes)
- 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
- ...

Méthodes et résultats variés



Mesure de similarité entre 2 gènes : Gènes co-exprimés

- Profil d'expression
d'un gène : niveau d'expression à travers différentes conditions (mutants, tissus, cinétique, ...)

- Mesure de similarité entre 2 profils :

Coefficient de corrélation de Pearson (ou Spearman)

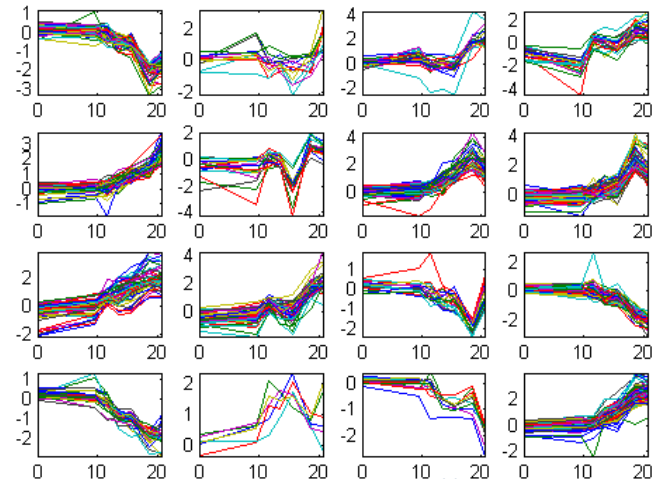
$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{(n-1)\sigma_X\sigma_Y}$$

- -1 : corrélation négative
- 0 : indépendance
- 1 : corrélation positive

- Clustering des profils

- Ensembles de gènes ayant des profils d'expression similaires

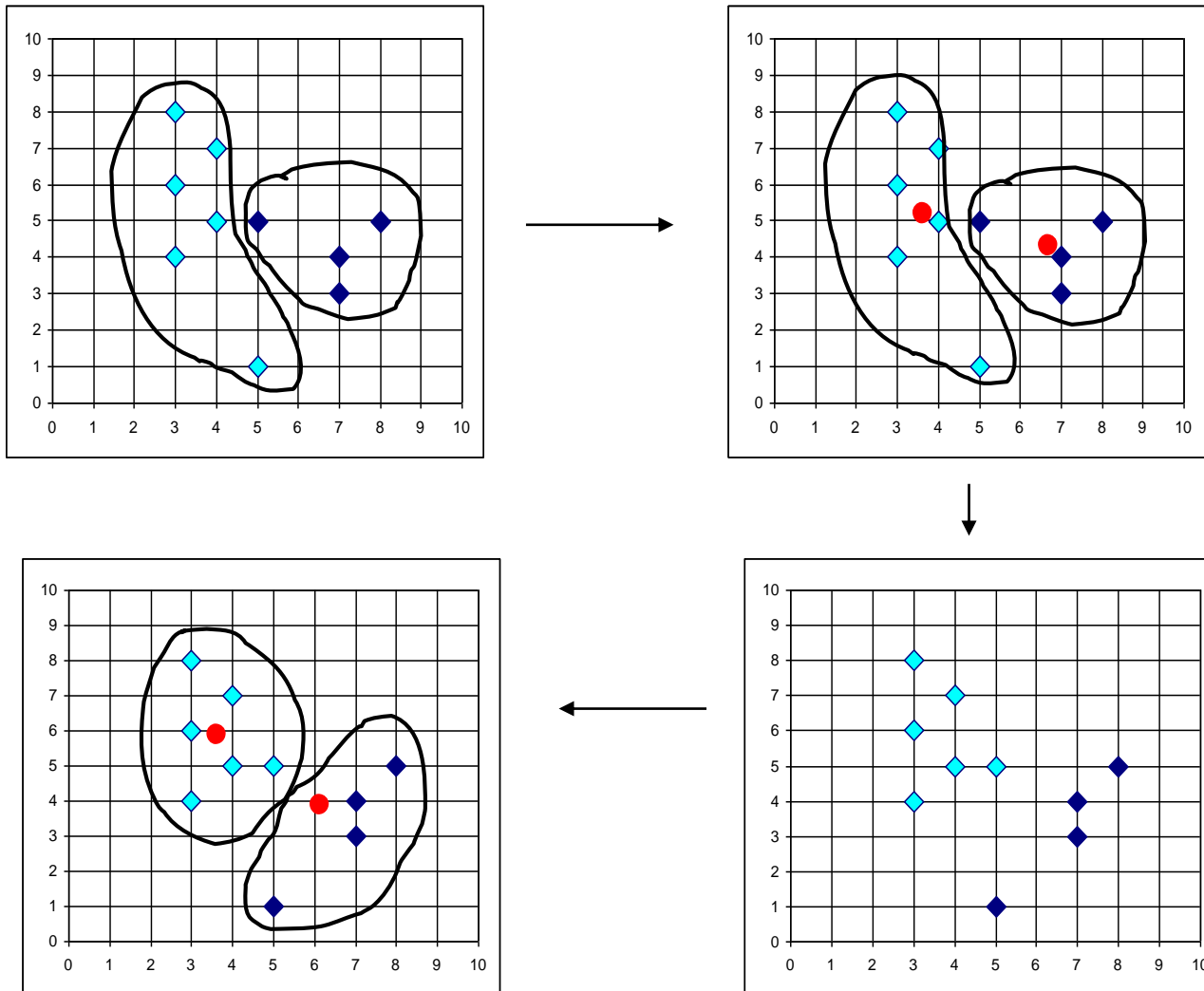
K-Means Clustering of Profiles



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.

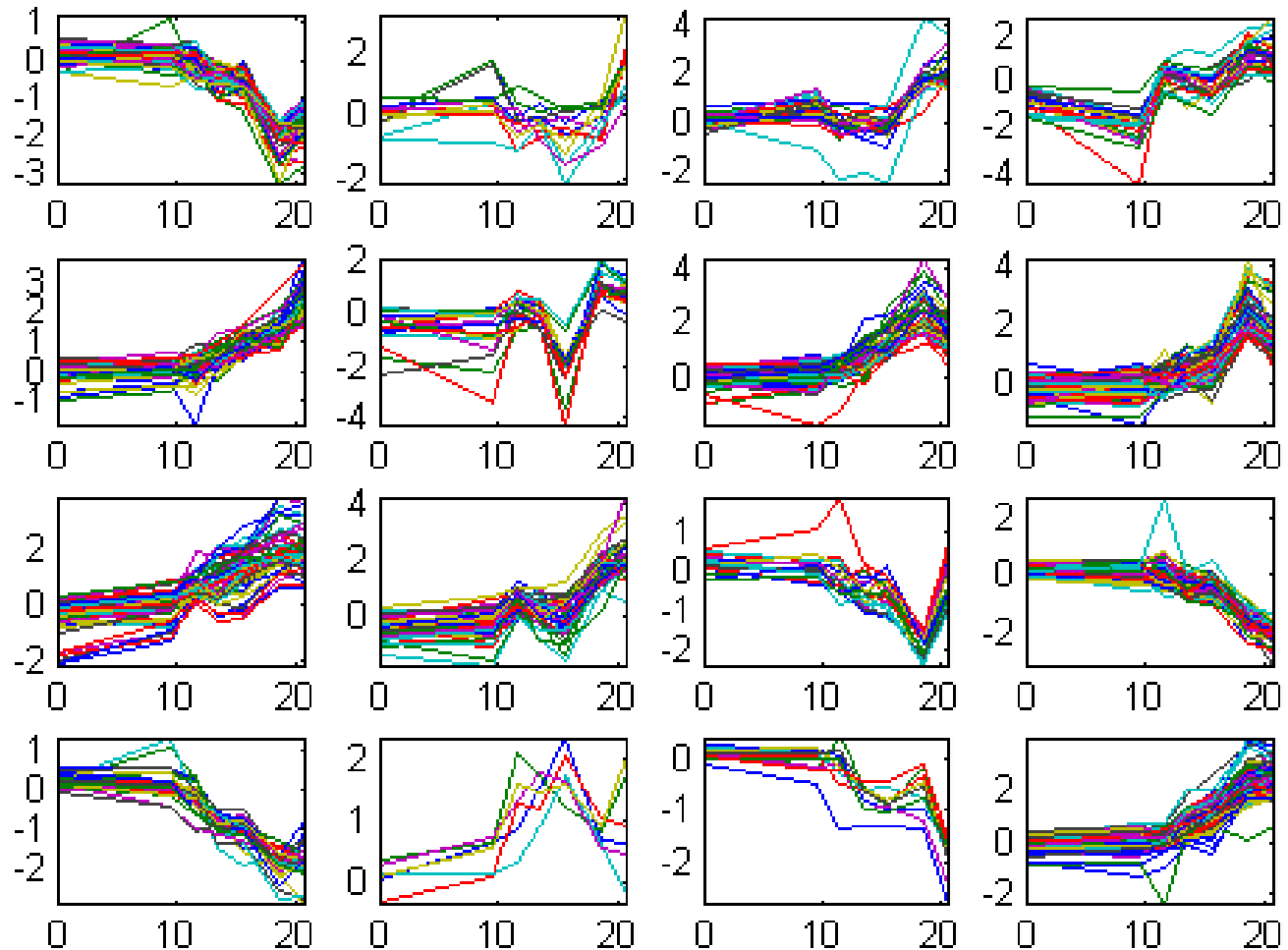
k-means, exemple



k -means, application

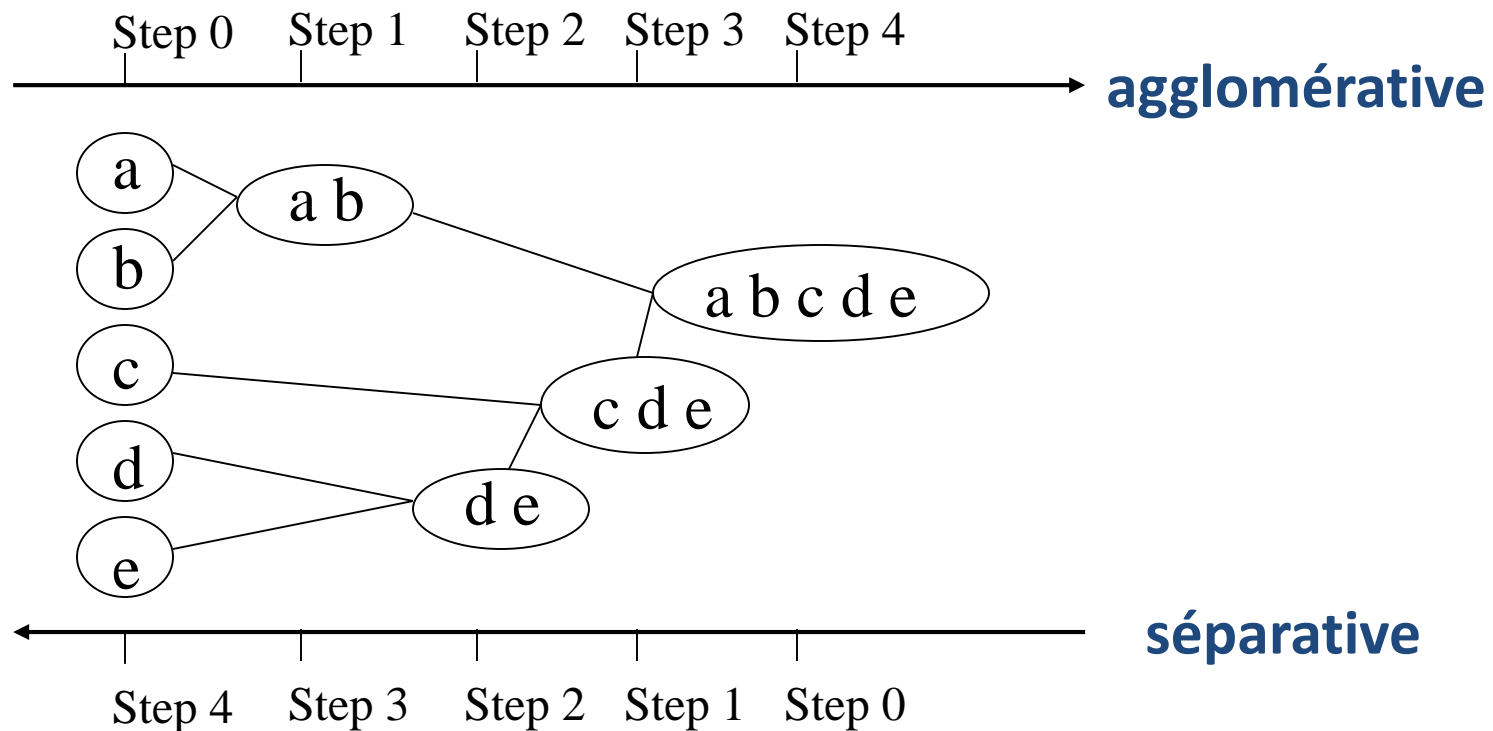
- $k = 16$ clusters

K-Means Clustering of Profiles



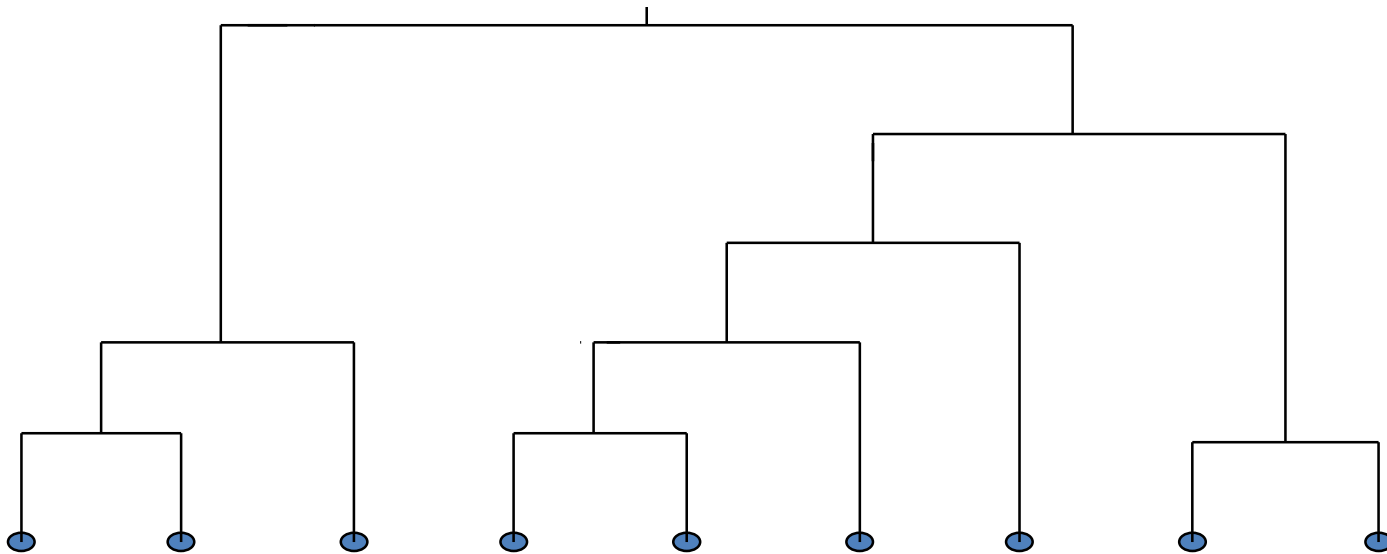
Clustering hiérarchique

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



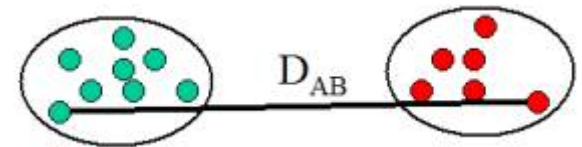
Dendrogramme : clusters fusionnés hiérarchiquement

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

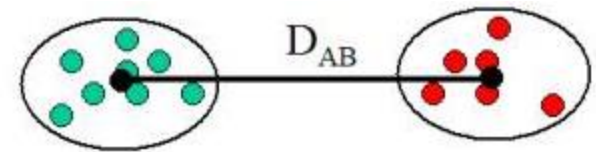


Mesures de similarité entre 2 clusters

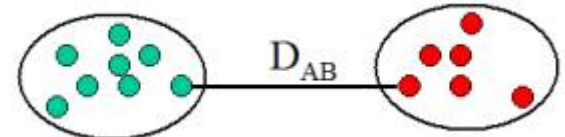
- Lien complet (*complete linkage*)
 - plus petite similarité/plus grande distance entre toutes les paires de gènes entre 2 clusters



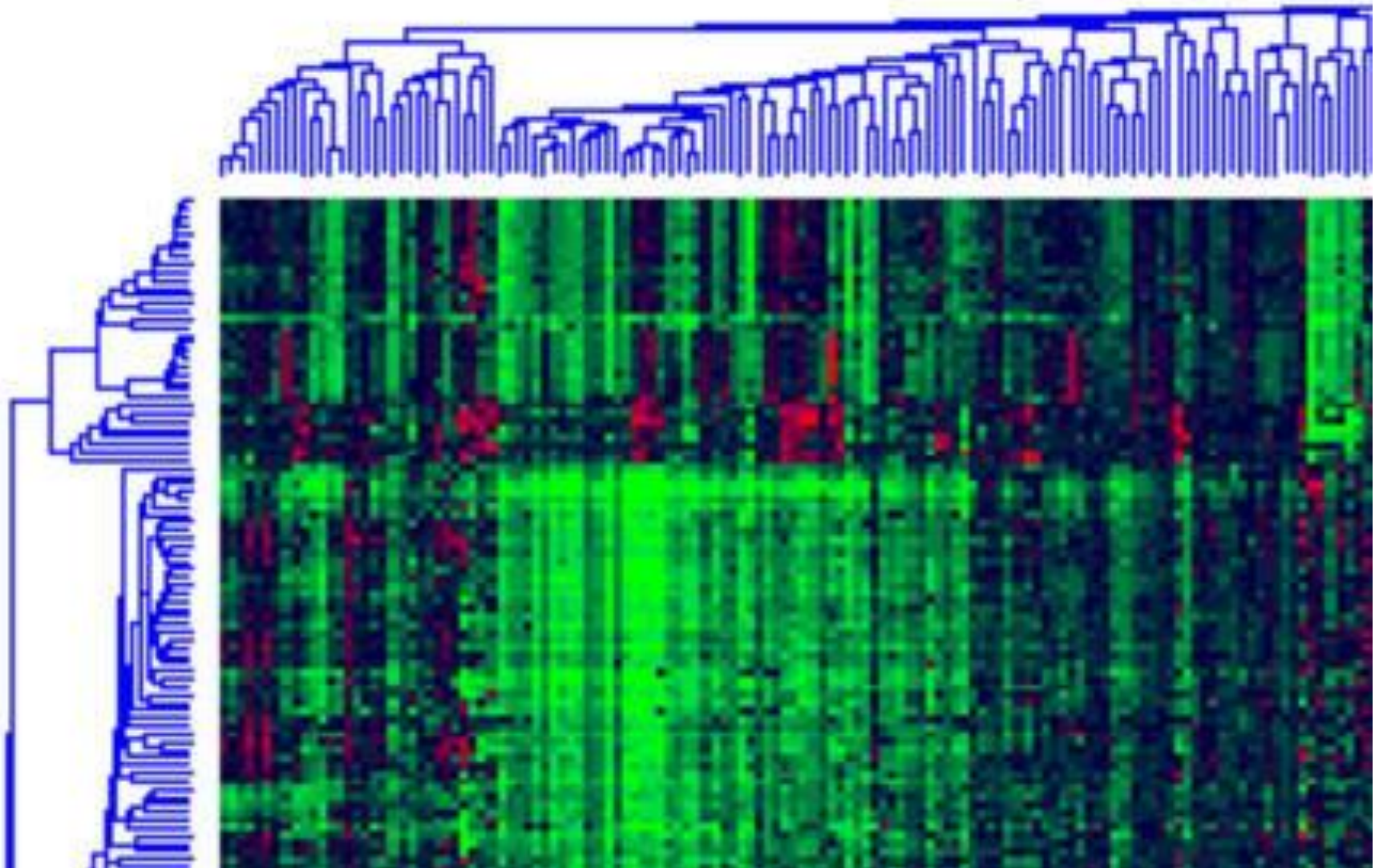
- Lien moyen (*average linkage*)
 - moyenne des similarités entre toutes les paires de gènes entre 2 clusters



- Lien simple (*single linkage*)
 - plus grande similarité/plus petite distance entre 2 gènes de 2 clusters



Clustering hiérarchique



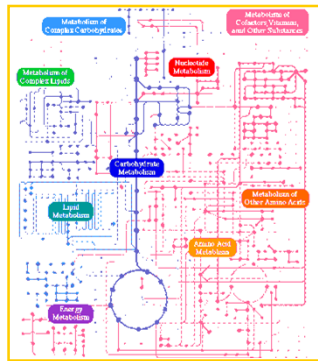
Caractérisation d'une liste de gènes

- Motivation
 - jusqu'à plusieurs milliers de gènes co-exprimés ou différentiellement exprimés
 - analyse « manuelle » laborieuse, biaisée
- Principe
 - Rechercher les caractéristiques communes aux gènes
 - Sur-représentation 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

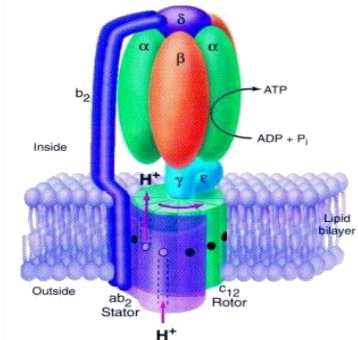
Sources de données



voies
métaboliques



localisation chromosomique



complexes
protéiques

ensembles de gènes

Nucleic Acids Research Advance Access published May 28, 2008

Nucleic Acids Research Advance Access published May 28, 2008

Nucleic Acids Research Advance Access published May 28, 2008
Nucleic Acids Research, 2008, 1-8
doi:10.1093/nar/gkn225

ENDEAVOUR update: a web resource for gene prioritization in multiple species

Léon-Charles Tranchevent¹, Roland Barriot¹, Shi Yu¹, Steven Van Vooren¹, Peter Van Loo^{1,2,3}, Bert Coessens¹, Bart De Moor¹, Stein Aerts^{3,4} and Yves Moreau^{1,*}

¹Department of Electrical Engineering ESAT-SCD, Katholieke Universiteit Leuven, ²Human Genome Laboratory, Department of Molecular and Developmental Genetics, VIB, Leuven, ³Department of Human Genetics, Katholieke Universiteit Leuven School of Medicine and ⁴Laboratory of Neurogenetics, Department of Molecular and Developmental Genetics, VIB, Leuven (Belgium)

Received February 7, 2008; Revised April 30, 2008; Accepted May 7, 2008

ABSTRACT
Endeavour (<http://www.esat.kuleuven.be/endeavour>); this web site is free and open to all users and there is no login requirement) is a web resource for the prioritization of candidate genes. Using a training set of genes known to be involved in a biological process of interest, our approach consists of (i) inferring several models (based on various genomic data sources), (ii) applying each model to the candidate genes to rank those candidates against the profile of the known genes and (iii) merging the several rankings into a global ranking of the candidate genes. In the present

BACKGROUND
With the recent improvements in high-throughput technologies, many organisms have seen their genomes sequenced and, more importantly, annotated. This process leads to the generation of a large amount of genomic data and the creation and maintenance of corresponding databases. However, covering genomic data into biological knowledge to identify genes involved in a particular process or disease remains a major challenge. Nevertheless, there is much evidence to suggest that functionally related genes often cause similar phenotypes (1-3). To identify which genes are responsible for which phenotype, association studies and linkage analyses are often used, resulting in large lists of candidate genes. In

co-citation



domaines
protéiques

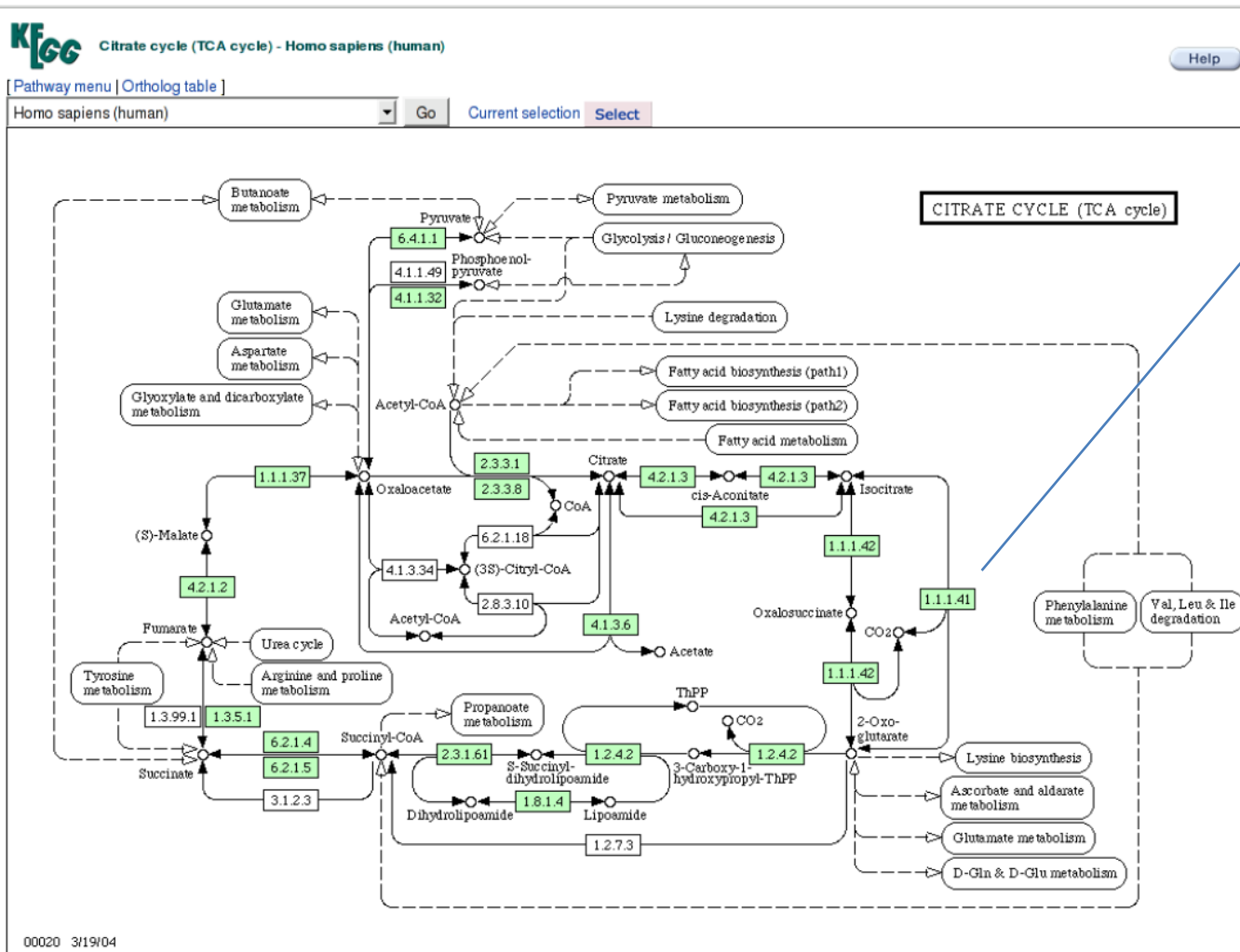


Gene
Ontology

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



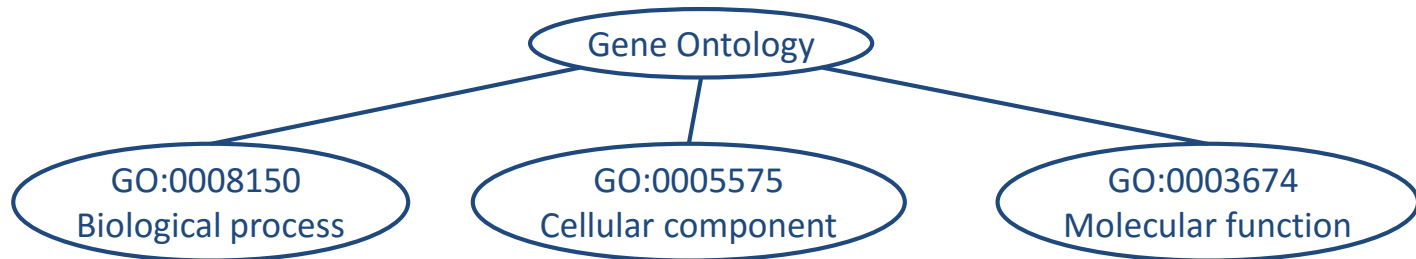
code d'enzyme
(EC number)

Ensemble des gènes codant pour les enzymes impliquées dans un pathway

Gene Ontology

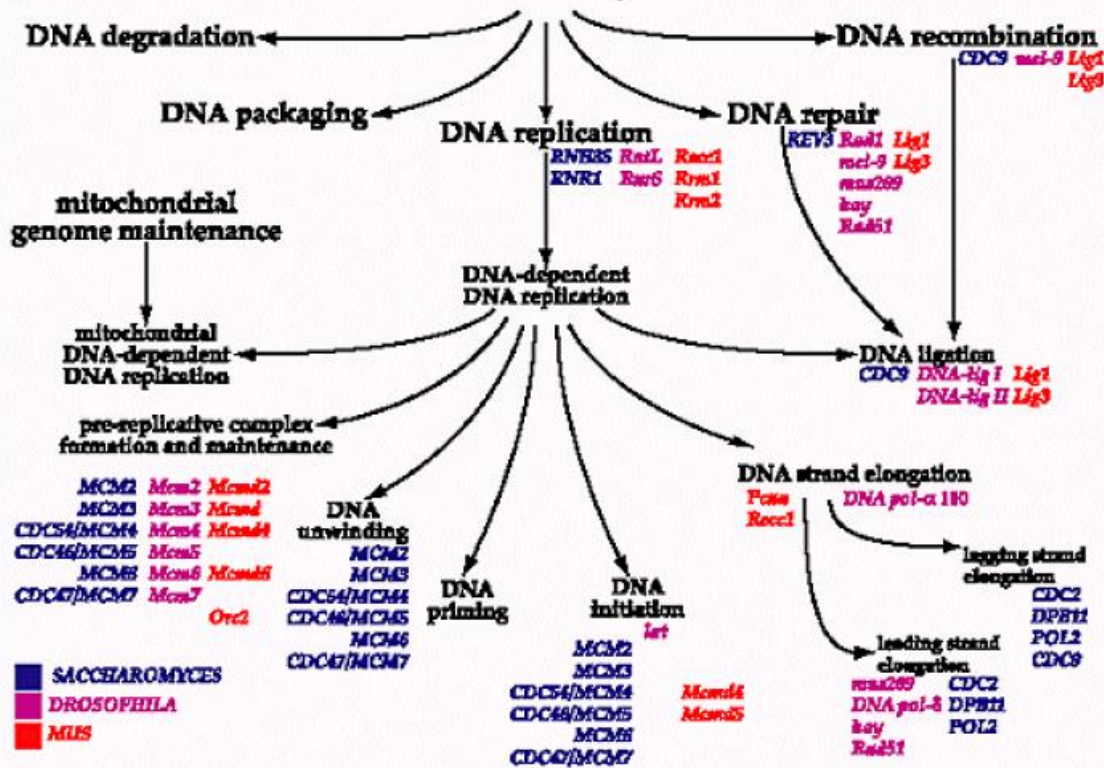
- Vocabulaire contrôlé : le même terme pour parler de la même chose
- Ensemble de termes (définitions) reliés par des relations de type est-un ou fait-parti-de
- Trois ontologies:
 - Biological process
 - Molecular function
 - Cellular component

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
Pfam	PF00734	CBM_1	487
PROSITE pattern	PS00562	CBM1_1	417
PROSITE profile	PS51164	CBM1_2	480
SMART	SM00236	fCBD	454
SuperFamily	SSF57180	CBD_fun	485

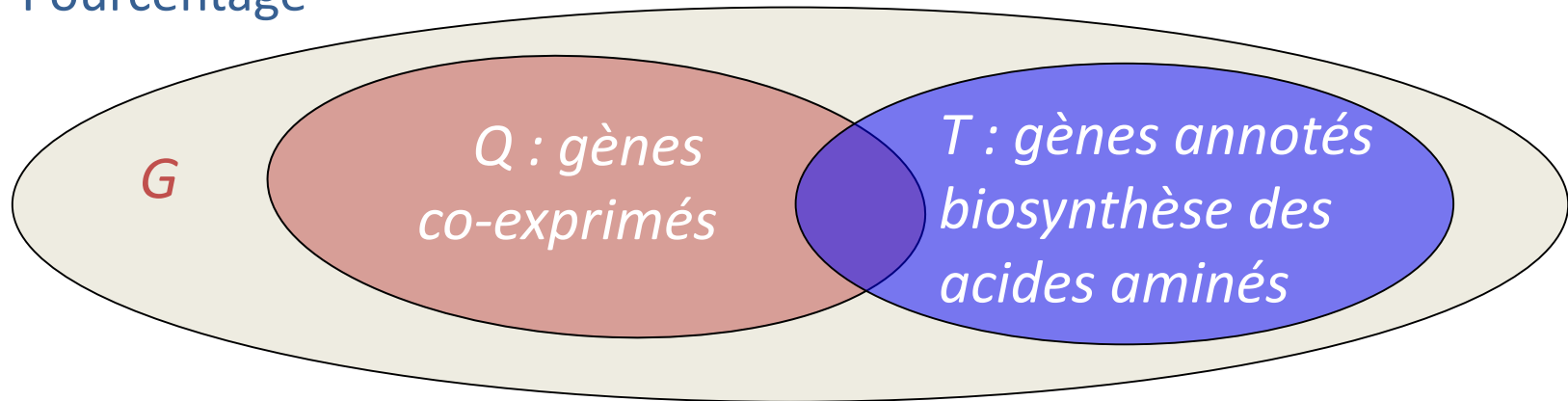
Signatures

GO Term annotation

Process	GO:0005975 carbohydrate metabolic process
Function	GO:0004553 hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds GO:0030248 cellulose binding
Component	GO:0005576 extracellular region

Test de surreprésentation

- Loi binomiale
- χ^2
- Pourcentage



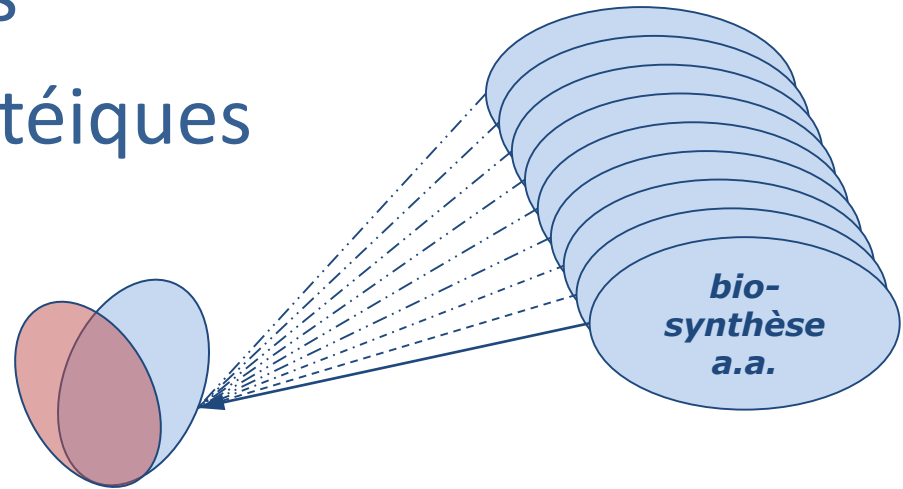
- Loi binomiale : probabilité d'avoir au moins le nombre d'éléments communs observé entre 2 échantillons (tirés aléatoirement avec remise) issus d'une même population
- Autrement dit, la fréquence de gènes annotés biosynthèse des acides aminés dans les gènes co-exprimés est-elle supérieure à celle dans le génome ?

Loi binomiale

- Quelle est la probabilité d'avoir au moins autant de gènes annotés de telle manière parmi les gènes différentiellement exprimés/co-exprimés ?
- Chaque annotation est considérée indépendamment des autres et utilisée pour un test statistique
 - Probabilité/fréquence qu'un gène soit annoté « biosynthèse des a.a. » = t/g
 - Est-ce que cette fréquence est plus importante parmi les gènes considérés ?

Recherche de caractéristiques communes

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

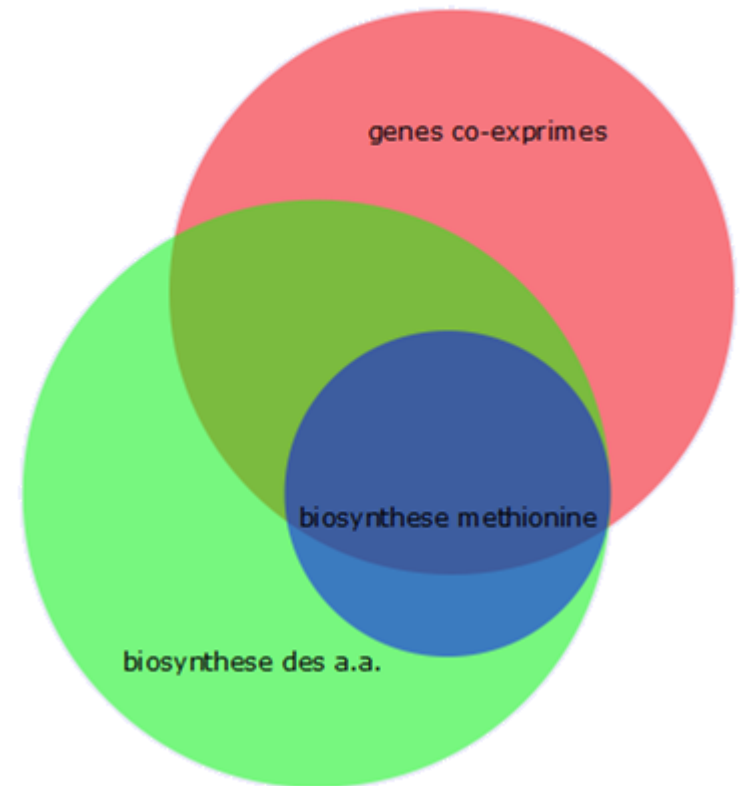


- Correction pour tests multiples (FDR ou autre)
- On conserve les caractéristiques statistiquement significatives

Visualisation

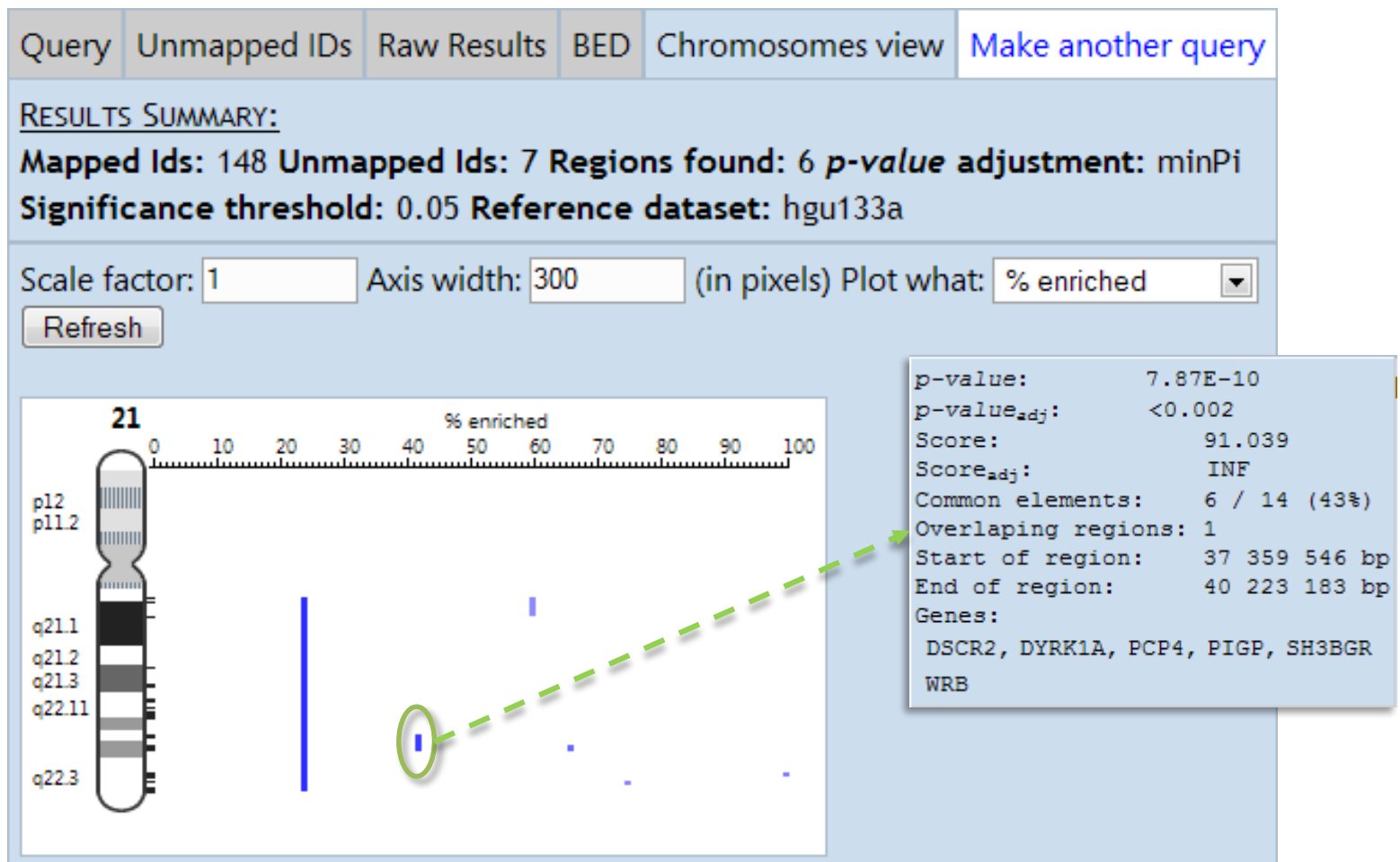
- Diagramme de Venn
 - Aire proportionnelle à la taille des ensembles
 - Chevauchement proportionnel aux gènes communs
 - possible pour un petit nombre d'ensembles

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)