

Biascorrector и Methcorrector: веб-приложения для устранения всех типов экспериментальных отклонений при количественном анализе метилирования ДНК с помощью разных технологий

Капснер Л.А.¹, Завгородний М.Г.², Майорова С.П.³, Халлер Ф.⁴, Лебедев И.Н.⁵, Москалев Е.А.⁴

- 1 — Медицинский центр информационных технологий, Университетская клиника, Университет Фридриха-Александра в Эрлангене и Нюрнберге, Эрланген, Германия
- 2 — Кафедра функционального анализа и операторных уравнений, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия
- 3 — Кафедра высшей математики и физико-математического моделирования, Воронежский государственный технический университет, Воронеж, Россия
- 4 — Институт патологии, Университетская клиника, Университет Фридриха-Александра в Эрлангене и Нюрнберге, Эрланген, Германия
- 5 — НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия

Высокоточный количественный анализ профилей метилирования ДНК в опухолях лежит в основе эпигенетической диагностики, а также необходим для более полного и адекватного понимания молекулярных механизмов опухолеобразования. Тем не менее, результаты анализа метилирования ДНК часто содержат экспериментальные отклонения разного происхождения. Ранее мы предложили алгоритм для эффективной корректировки данных, содержащих экспериментальное искажение, однако, решение данных уравнений вручную или с использованием электронных таблиц не является оптимальным подходом. В данной работе мы представляем приложения BiasCorrector и MethCorrector, имплементирующие алгоритм в виде R-пакета и программы на языке Ruby, соответственно. Разработанные программы обеспечивают детекцию, анализ и устранение экспериментальных отклонений для каждого CpG-динуклеотида. Функционирование приложений было протестировано с использованием данных метилирования ДНК, полученных с помощью трёх разных технологий анализа: бисульфитного пиросеквенирования, высокопроизводительного бисульфитного секвенирования и гибридационного анализа на олигонуклеотидных ДНК-чипах. Обе программы способны эффективно устранять экспериментальные отклонения безотносительно к исследуемому региону, числу CpG-динуклеотидов, методу эпигенетического анализа, а также природе искажений.

Ключевые слова: BiasCorrector, MethCorrector, метилирование ДНК, опухоли, экспериментальные отклонения, ПЦР-отклонение, пост-ПЦР-отклонение, корректировка, гиперболическая регрессия, кубическая полиномиальная регрессия, бисульфитное пиросеквенирование, высокопроизводительное бисульфитное секвенирование, олигонуклеотидные ДНК-чипы.

Для цитирования: Капснер Л.А., Завгородний М.Г., Майорова С.П., Халлер Ф., Лебедев И.Н., Москалев Е.А. Biascorrector и Methcorrector: веб-приложения для устранения всех типов экспериментальных отклонений при количественном анализе метилирования ДНК с помощью разных технологий. *Медицинская генетика* 2020; 19(12): 61-63.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.61-63

Автор для корреспонденции: Москалев Евгений Александрович; **e-mail:** moskalyov@mail.ru

Финансирование. Федеральное министерство образования и научных исследований Германии (BMBF), консорциум MIRACUM, номер гранта FKZ 01ZZ1801A. Научно-исследовательская стипендия от Германской службы академических обменов (DAAD).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020.

Biascorrector and Methcorrector: web-applications for correcting all types of experimental biases in quantitative DNA methylation data derived by different technologies

Kapsner L.A.¹, Zavgorodnij M.G.², Majorova S.P.³, Haller F.⁴, Lebedev I.N.⁵, Moskalev E.A.⁴

1 — Medical Center for Information and Communication Technology, University Hospital Erlangen, Erlangen, 91054, Germany

2 — Functional Analysis and Operational Equations, Voronezh State University, Voronezh, 394018, Russia

3 — Higher Mathematics and Physical Mathematical Modelling, Voronezh State Technical University, Voronezh, 394006, Russia

4 — Institute of Pathology, University Hospital Erlangen, Friedrich-Alexander University Erlangen-Nürnberg (FAU), Erlangen, 91054, Germany

5 — Laboratory of Cytogenetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, 634050, Russia

Accurate quantification of DNA methylation in cancer is a prerequisite for epigenetic-based diagnostics as well as the mechanistic understanding of tumour development. Still, the results of DNA methylation analysis are often prone to experimental biases of different origin. Since that thorough optimisation of the experimental conditions – a possibility to prevent biases – has serious limitations, particularly if many loci are analysed in parallel, we have earlier developed a universal process for correcting biased DNA methylation data irrespective of the loci that are interrogated. Its implementation required multiple manual steps, for example, solving the respective equations by using electronic tables, thereby increasing the risk of introducing errors and necessitating automation. Here, we present web-applications BiasCorrector and MethCorrector that implement our algorithm in the open-source programming languages “R” or Ruby, respectively. The software offers a graphical user interface (GUI) to accommodate also researchers without prior programming skills. Three common technologies – bisulphite pyrosequencing and next generation sequencing as well as oligonucleotide microarrays – were used to comprehensively test the correct operation of the applications. We demonstrate the accuracy of BiasCorrector’s performance and reveal PCR- and post-PCR biases that contribute to the total experimental deviation in a technology-specific manner. Both programmes effectively eliminate biases regardless of their nature, locus, the number of interrogated methylation sites, and the detection method. They are of interest as user friendly tools for epigenetic studies and are freely available <https://biascorrector.diz.uk-erlangen.de/> and <http://approximation.herokuapp.com/>

Keywords: BiasCorrector, MethCorrector, DNA methylation, cancer, experimental biases, PCR-bias, post-PCR bias, correction, hyperbolic regression, cubic polynomial regression, bisulphite pyrosequencing, massively parallel sequencing, oligonucleotide microarrays.

For citation: Kapsner L.A., Zavgorodnij M.G., Majorova S.P., Haller F., Lebedev I.N., Moskalev E.A. Biascorrector and Methcorrector: web-applications for correcting all types of experimental biases in quantitative DNA methylation data derived by different technologies. *Medical genetics*. 2020; 19(12): 61-63. (In Rus.).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.61-63

Corresponding author: Evgeny Moskalev; **e-mail:** moskalyov@mail.ru

Funding. This work was funded in part by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) within the Medical Informatics Initiative (MIRACUM Consortium) under the funding number FKZ: 01ZZ1801A. The study was in part supported by a postdoctoral fellowship of the German Academic Exchange Service (DAAD).

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest

Accepted: 20.05.2020.

Высокоточный количественный анализ профилей метилирования ДНК в опухолях лежит в основе эпигенетической диагностики, а также необходим для более полного и адекватного понимания молекулярных механизмов опухолеобразования. Тем не менее, результаты анализа метилирования ДНК часто содержат экспериментальные отклонения различного происхождения. Поскольку исследование характера метилирования генов нередко проводят не в геномной ДНК, а в её амплифицированных копиях, одним из источников искажения является избирательная амплификация метилированных и неметилированных

аллелей изучаемых генов в ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР-отклонение). Другие экспериментальные искажения могут вноситься самими методами детекции (пост-ПЦР-отклонение). Предотвращение экспериментальных искажений с помощью ген-специфичной оптимизации экспериментальных условий трудозатратно или практически невозможно, например, при параллельном анализе множества генов. По этой причине допущение искажений в эксперименте, но их последующее устранение из исходных данных обладает большим преимуществом. Ранее мы предложили алгоритм для эффективной коррекции

ровки данных, содержащих экспериментальное искажение [1, 2]. Он включает калибровку, которая проводится с использованием проб ДНК с известными величинами метилирования. Отклонения установленных экспериментально величин от теоретически ожидаемых учитываются при построении кубических или гиперболических регрессионных кривых, уравнения которых затем используются для корректировки. Однако, решение данных уравнений вручную или с использованием электронных таблиц не является оптимальным подходом. Опыт использования и востребованность этого метода указали на необходимость его автоматизации.

Цель: разработать веб-приложения с графическим интерфейсом, которые бы обеспечивали автоматическую корректировку первичных экспериментальных данных.

Материалы и методы

Созданные приложения имплементируют ранее предложенный и отработанный алгоритм по корректировке экспериментальных отклонений с использованием калибровочных проб ДНК известной степени метилирования и регрессионного анализа на основе кубической или гиперболической регрессии. Веб-приложения разработаны в виде R-пакета и на основе программы на языке Ruby. Количественные данные метилирования ДНК получены методами бисульфитного пиросеквенирования, высокопроизводительного бисульфитного секвенирования и гибридизационного анализа на олигонуклеотидных ДНК-чипах.

Результаты

Приложения Biascorrector и Methcorrector реализуют графический пользовательский интерфейс, что делает их доступными для широкого круга пользователей. Данные программы обеспечивают детекцию, анализ и устранение экспериментальных отклонений для каждого CpG-динуклеотида. Их функцио-

нирование было протестировано с использованием данных метилирования ДНК, полученных с помощью трёх разных технологий анализа: бисульфитного пиросеквенирования, высокопроизводительного бисульфитного секвенирования и гибридизационного анализа на олигонуклеотидных ДНК-чипах. Обнаружены как ПЦР-, так и пост-ПЦР-отклонения, вносящие разный вклад в суммарное искажение в зависимости от используемого метода анализа. Обе программы способны эффективно устранять экспериментальные отклонения безотносительно к исследуемому региону, числу CpG-динуклеотидов, методу эпигенетического анализа, а также природе искажений. Приложения представляют интерес в качестве удобных и простых в использовании инструментов для эпигенетических исследований. Программы свободно доступны по следующим веб-адресам: <https://biascorrector.diz.uk-erlangen.de/> <http://approximation.herokuapp.com/>

Литература

1. Moskalev E.A., Zavgorodnij M.G., Majorova S.P. et al. Correction of PCR-bias in quantitative DNA methylation studies by means of cubic polynomial regression. *Nucleic acids research* 2011; (39): e77.
2. Москалев Е.А., Завгородний М.Г., Майорова С.П., Лебедев И.Н. Устранение экспериментальных отклонений при количественном анализе профилей метилирования ДНК посредством высокопроизводительного бисульфитного секвенирования и гибридизации на олигонуклеотидных ДНК-чипах. *Медицинская генетика* 2016; (15): 9-16.

References

1. Moskalev E.A., Zavgorodnij M.G., Majorova S.P. et al. Correction of PCR-bias in quantitative DNA methylation studies by means of cubic polynomial regression. *Nucleic acids research* 2011; (39): e77.
2. Moskalev E.A., Zavgorodnij M.G., Majorova S.P., Lebedev I.N. Ustranenie eksperimental'nyh otklonenij pri kolichestvennom analize profilej metilirovaniya DNK posredstvom vysokoproduktivnogo bisul'fitnogo sekvenirovaniya i gibrizatsii na oligonukleotidnyh DNK-chipah. [Elimination of experimental deviations in results of quantitative DNA methylation profiling by using massively parallel sequencing and hybridisation onto oligonucleotide microarrays]. *Meditsinskaya genetika* [Medical Genetics] 2016; (15): 9-16. (In Russ.)