In [1]:
```
import pandas as pd
import numpy as np
import seaborn as sns
import matplotlib.pyplot as plt
from statsmodels.sandbox.stats.multicomp import multipletests
%matplotlib inline
```

Читаем данные

In [2]:
```
data = pd.read_excel('memantine.xls', sheet_name=1)
```

In [3]:
```
#список белков в исследовании
proteins_list = data.columns[1:-4]
```

In [4]:
```
# Число наблюдений в каждой подгруппе
data['class'].value_counts()
```

Out[4]:
```
c-CS-m    150
c-SC-m    150
t-CS-m    135
c-SC-s    135
c-CS-s    135
t-SC-m    135
t-SC-s    135
t-CS-s    105
Name: class, dtype: int64
```

In [5]:
```
data['class_gen'] = data['class'].apply(lambda x: x[2:])
```

In [6]:
```
#число здоровых и трисомных мышей
data['Genotype'].value_counts()
```

Out[6]:
```
Control    570
Ts65Dn     510
Name: Genotype, dtype: int64
```

Посмотрим на средние и медианы в группах

In [7]:
```
data.groupby(['Genotype', 'class'])[proteins_list].mean()
```

Out[7]:

Genotype	class	DYRK1A_N	ITSN1_N	BDNF_N	NR1_N	NR2A_N	pAKT_N	pBRAF_N	pCAMKII_N	pCREB_N	pELK_N	...	SHH_N	BAD
Control	c-CS-m	0.480456	0.652587	0.339217	2.381749	4.308540	0.229932	0.182211	2.916187	0.198484	1.492318	...	0.226911	0.156
	c-CS-s	0.596748	0.772395	0.342315	2.417809	4.280077	0.212423	0.168356	2.935576	0.208439	1.686844	...	0.214818	0.144
	c-SC-m	0.273203	0.436361	0.290946	2.145633	3.459416	0.241253	0.189547	4.736327	0.208149	1.278566	...	0.224470	0.169
	c-SC-s	0.274823	0.449354	0.313393	2.404974	3.913096	0.233368	0.184975	3.361288	0.214949	1.327714	...	0.241853	0.156
Ts65Dn	t-CS-m	0.619294	0.797007	0.312732	2.196541	3.565960	0.213621	0.173956	3.121801	0.203395	1.563905	...	0.216934	0.150
	t-CS-s	0.525735	0.759556	0.305460	2.184606	3.514839	0.214466	0.164795	2.488902	0.210041	1.518302	...	0.222144	0.150
	t-SC-m	0.329861	0.566783	0.321063	2.379446	4.056223	0.269131	0.201007	4.277257	0.231789	1.381516	...	0.230667	0.153
	t-SC-s	0.337488	0.549056	0.325586	2.248742	3.565093	0.246759	0.185318	4.176555	0.227165	1.204840	...	0.234828	0.174

8 rows × 77 columns

In [8]:
```
data.groupby(['Genotype', 'class'])[proteins_list].median()
```

Out[8]:

Genotype	class	DYRK1A_N	ITSN1_N	BDNF_N	NR1_N	NR2A_N	pAKT_N	pBRAF_N	pCAMKII_N	pCREB_N	pELK_N	...	SHH_N	BAD
Control	c-CS-m	0.472297	0.640591	0.333664	2.391115	4.258744	0.227052	0.182671	2.698185	0.198426	1.489857	...	0.228732	0.149
	c-CS-s	0.414939	0.612273	0.340390	2.393446	4.168781	0.208671	0.174440	2.795285	0.206734	1.470238	...	0.216270	0.140
	c-SC-m	0.275085	0.437696	0.291883	2.124527	3.359592	0.234453	0.183598	4.671556	0.207211	1.256820	...	0.214774	0.159
	c-SC-s	0.274443	0.454752	0.314812	2.442128	3.878765	0.234393	0.185532	3.235436	0.212318	1.279603	...	0.236464	0.151
Ts65Dn	t-CS-m	0.613747	0.786627	0.317112	2.217863	3.572717	0.213226	0.173021	2.371592	0.204358	1.553389	...	0.218807	0.145
	t-CS-s	0.474926	0.732011	0.295108	2.147198	3.558131	0.208735	0.163033	2.322522	0.206376	1.471846	...	0.219722	0.148
	t-SC-m	0.324465	0.567582	0.318074	2.406845	4.029405	0.262364	0.198871	4.325740	0.234054	1.369267	...	0.226149	0.148
	t-SC-s	0.347893	0.551938	0.322757	2.248275	3.418932	0.245555	0.187351	3.777065	0.230500	1.222532	...	0.233932	0.170

8 rows × 77 columns

In [9]:
```
classes = list(data['class_gen'].unique())
classes
```

Out[9]:
```
['CS-m', 'SC-m', 'CS-s', 'SC-s']
```

Нужные методы

In [10]:
```
# МПГ
def multiTest(p_values, method='bonferroni'):
    #вычисление скорректированных p-value
    corrected_p_values = np.apply_along_axis(lambda x: multipletests(x, method=method)[1],
     axis=0, arr=p_values.values[:,1:])

    #вычисление решений по скорректированных p-value
    corrected_rejections = np.apply_along_axis(lambda x: multipletests(x, method=method)[0],
     axis=0, arr=p_values.values[:,1:])

    #сохраняем скорректированные p-value в датафрейм
    corrected_p_values_df = pd.DataFrame(corrected_p_values,
     columns=p_values.columns[1:].values+'_corrected')

    #сохраняем решения по скорректированным p-value в датафрейм
    corrected_rejections_df = pd.DataFrame(corrected_rejections,
     columns=p_values.columns[1:].values+'_reject')

    #добавляем финальное решение - хотя бы в одной группе отвергается нулевая - есть различие
    corrected_rejections_df['final_reject'] = corrected_rejections_df.max(axis=1)

    #собираем в итоговый датафрейм скорректированные p-value и решения по ним
    multi_test_result = pd.concat([p_values, corrected_p_values_df, corrected_rejections_df], axis=1)


    return multi_test_result
```

In [11]:
```
# Выводы
def summary(dataset_result):
    print("Количество белков, экспрессия которых отличается хотя бы в одной подгруппе: {}".format((dataset_re
    print("Количество белков, экспрессия которых не отличается ни в одной подгруппе: {}".format((dataset_resu
    print("-------------------------------------------------------------------------")
    print('Количество генов с различающейся экспрессией по подгруппам:')
    print(dataset_result[[c+'_reject' for c in classes]].sum())
    print("-------------------------------------------------------------------------")
    print("Тёмный - есть различие в экспрессии")
    print("Светлый - нет различия в экспрессии")
    plt.figure(figsize=[10,20])
    _=sns.heatmap(dataset_result[[c+'_reject' for c in classes]])
```

Дисперсионный анализ

In [12]:
```
from scipy.stats import f_oneway

f_test_result = pd.DataFrame(columns=classes, index=proteins_list)
for selected_class in classes:
    for selected_protein in proteins_list:
        protein_groups = list(cur_df[selected_protein].dropna() for _, cur_df in
                              data.loc[data['class_gen'] == selected_class].groupby('class'))
        f_res = f_oneway(*protein_groups)
        f_test_result.loc[selected_protein, selected_class] = f_res[1]
f_test_result = f_test_result.reset_index().rename({'index':'protein'}, axis=1)

#Корректировка на МПГ
f_test_result_corrected = multiTest(f_test_result)
f_test_result_corrected.head()
```

Out[12]:

	protein	CS-m	SC-m	CS-s	SC-s	CS-m_corrected	SC-m_corrected	CS-s_corrected	SC-s_corrected	CS-m_reject	SC-m_reject	CS-s_reject	s
0	DYRK1A_N	9.79967e-15	1.32279e-12	0.182102	7.34137e-15	7.54574e-13	1.01855e-10	1	5.65285e-13	True	True	False	
1	ITSN1_N	8.09194e-12	8.48281e-38	0.801073	6.00338e-16	6.23079e-10	6.53176e-36	1	4.6226e-14	True	True	False	
2	BDNF_N	7.63624e-06	1.60787e-11	4.67483e-08	0.0517823	0.00058799	1.23806e-09	3.59962e-06	1	True	True	True	
3	NR1_N	1.18628e-05	5.20036e-12	1.55253e-07	0.000603815	0.000913439	4.00428e-10	1.19544e-05	0.0464938	True	True	True	
4	NR2A_N	8.94094e-11	1.33548e-10	7.21666e-11	0.0028397	6.88452e-09	1.02832e-08	5.55683e-09	0.218657	True	True	True	

Попарное сравнение критерием Стьюдента

Алгоритм првоерки следующий:

- Выбирается один белок
- Выбирается одна подгруппа
- Формируется две выборки: выборка экспрессий выбранного белка среди трисомных мышей этой подгруппы и выборка экспрессий выбранного белка среди здоровых мышей этой подгруппы
- Для выделеных выборок проводится тест на равенство дисперсий
- Для выделеных выборок проводит тест Стьюдента на равенство средних в двух независимых выборках с учётом результата теста на равенство дисперсий

In [13]:
```
from scipy.stats import ttest_ind
from scipy.stats import bartlett
from scipy.stats import kruskal

#t-тест на равенство средних, возвращает - отклонять ли нулевую гипотезу о равенствед
def ttest(a, b, p_val=0.05):
    # Проверяем равенство дисперсий
    barlett_result = bartlett(a, b)
    variance_is_equal = barlett_result[1]>=0.05
    #тест на равенство средних
    ttest_result = ttest_ind(a, b, equal_var=variance_is_equal, nan_policy = 'omit')
    reject = ttest_result[1]<p_val
    return ttest_result[1]
```

In [14]:
```
# делим на контрольных и трисомных
trisom_data = data.loc[data['Genotype']=='Ts65Dn']
control_data = data.loc[data['Genotype']=='Control']

#проводим тестирование
ttest_result = pd.DataFrame(columns=classes, index=proteins_list)
#одна подгруппа
for cl in classes:
    #один белок
    for protein in proteins_list:
        #выделение подвыборок
        control_protein_class = control_data.loc[(control_data['class'].apply(lambda x: x[2:]))==cl, protein]
        trisom_protein_class = trisom_data.loc[(trisom_data['class'].apply(lambda x: x[2:]))==cl, protein]
        # t-тест
        t_test_pval = ttest(control_protein_class, trisom_protein_class)
        # сохранение результатов t-теста
        ttest_result.loc[protein, cl] = t_test_pval

ttest_result = ttest_result.reset_index().rename({'index':'protein'}, axis=1)
```

In [15]:
```
ttest_result_corrected = multiTest(ttest_result)
```

In [16]:
```
ttest_result_corrected.head()
```

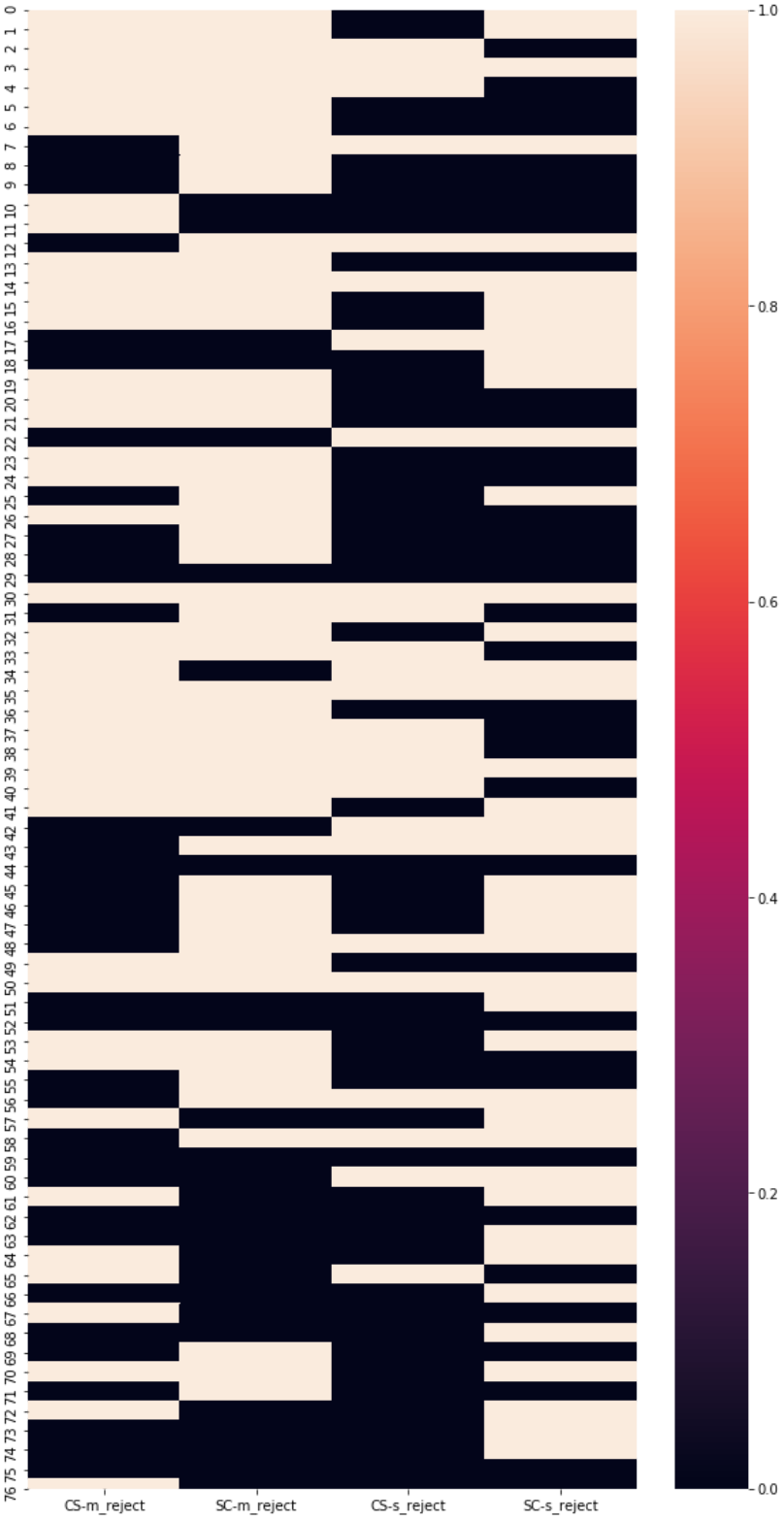
Out[16]:

	protein	CS-m	SC-m	CS-s	SC-s	CS-m_corrected	SC-m_corrected	CS-s_corrected	SC-s_corrected	CS-m_reject	SC-m_reject	CS-s_reject	s
0	DYRK1A_N	2.14343e-14	7.32464e-12	0.137414	1.86567e-14	1.65044e-12	5.63997e-10	1	1.43657e-12	True	True	False	
1	ITSN1_N	1.48895e-11	8.48281e-38	0.779849	1.43452e-15	1.14649e-09	6.53176e-36	1	1.10458e-13	True	True	False	
2	BDNF_N	7.63624e-06	1.60787e-11	1.97333e-08	0.0525825	0.00058799	1.23806e-09	1.51946e-06	1	True	True	True	
3	NR1_N	1.4414e-05	5.20036e-12	5.8263e-08	0.000603815	0.00110988	4.00428e-10	4.48625e-06	0.0464938	True	True	True	
4	NR2A_N	8.94094e-11	2.43489e-10	8.56083e-12	0.0028397	6.88452e-09	1.87486e-08	6.59184e-10	0.218657	True	True	True	

Выводы

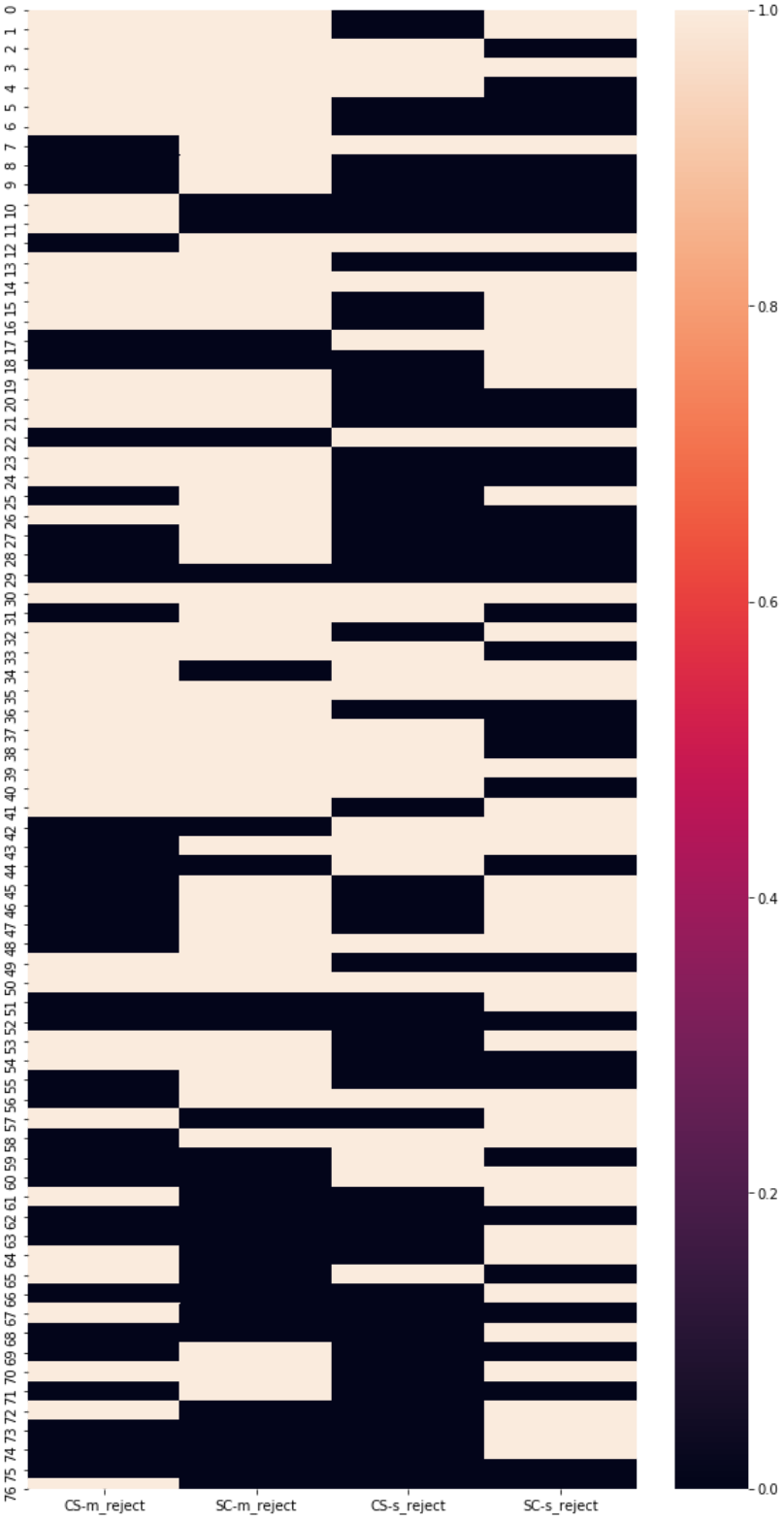
In [17]:
```
summary(f_test_result_corrected)
```

```
Количество белков, экспрессия которых отличается хотя бы в одной подгруппе: 71
Количество белков, экспрессия которых не отличается ни в одной подгруппе: 6
--------------------------------------------------------------------------------
Количество генов с различающейся экспрессией по подгруппам:
CS-m_reject    42
SC-m_reject    50
CS-s_reject    25
SC-s_reject    41
dtype: int64
--------------------------------------------------------------------------------
Тёмный - есть различие в экспрессии
Светлый - нет различия в экспрессии
```



In [18]:
```
summary(ttest_result_corrected)
```

```
Количество белков, экспрессия которых отличается хотя бы в одной подгруппе: 73
Количество белков, экспрессия которых не отличается ни в одной подгруппе: 4
--------------------------------------------------------------------------------
Количество генов с различающейся экспрессией по подгруппам:
CS-m_reject    42
SC-m_reject    50
CS-s_reject    27
SC-s_reject    41
dtype: int64
--------------------------------------------------------------------------------
Тёмный - есть различие в экспрессии
Светлый - нет различия в экспрессии
```



Ответ

Да:

- по 71 белкам экспрессия хотя бы в одной подгруппе различается
- по 6 белкам экспрессия ни в одной подгруппе не различается