

К. Л. ГЛАДИЛИН

О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОХИМИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 11 V 1971)

Применение теории ошибок при обработке результатов биохимических экспериментов характеризуется рядом особенностей, обусловленных в определенной степени спецификой объекта исследования. Во-первых, биохимия в той или иной степени имеет дело с биологическими объектами, которые более чувствительны, чем другие, к различным и, как правило, трудно контролируемым изменениям внешней среды. Кроме того, эти изменения среды в ряде случаев могут существенно отличаться от случайных колебаний около средней величины. Во-вторых, организмы обладают более или менее ярко выраженной индивидуальностью — таким свойством, с которым, как правило, не приходится сталкиваться экспериментаторами в других областях естествознания. Эти особенности объекта в тех случаях, когда они не служат предметом специального исследования, накладываются в качестве фона на изучаемую закономерность. В результате, при использовании обычно принятых математических методов (¹⁻⁴) для обработки экспериментальных данных, получаем значительные отклонения от средней величины: колебания «фона» маскируют исследуемую закономерность. Целью данной работы является описание метода, при помощи которого становится возможным выделение изучаемой закономерности из экспериментальных данных за счет чисто математического вычлечения маскирующего фона. Поставленная задача аналогична выделению сигнала из суммы сигнал + шум, решаемой в теории связи (^{5,6}). Однако в теории связи исследователь имеет дело с периодическим сигналом, маскируемым белым шумом. В данной работе мы рассматриваем аperiodический сигнал и фон, как правило, отличающийся от белого шума.

Возможность решения данной задачи появляется в следующих случаях: когда результаты определения исследуемой величины, маскируемой фоном, могут быть сопоставлены с величиной фона, определяемой одновременно (группировка по времени), или когда результаты опытов могут быть сгруппированы по каждому индивидуальному объекту или применяемому прибору. В последнем случае понятие индивидуальности как бы расширяется и может быть (хотя и в переносном смысле) применено не только к объекту исследования, но и к прибору, что позволяет в случае необходимости провести исследования с использованием нескольких аналогичных приборов, провести пересчет всех результатов на любой из отдельных приборов, получив тем самым исследуемую закономерность в относительно инвариантном, не зависящем от используемого прибора виде.

Сущность предлагаемого нами подхода заключается во введении в формулу зависимости $y = f(x)$ экспериментально определяемой величины y от независимой переменной x постоянного и индивидуального для каждого объекта или прибора параметра a , b или c , являющегося характеристикой фона: $y_i = a_i + f(x)$; $y_i = b_i f(x)$ или $y_i = f(x + c_i)$, где i — индекс из множества индексов $I (i \in I)$, изоморфного множеству объектов (или приборов), устанавливающий соответствие экспериментальных данных использованным объектам (или приборам соответственно).

При одновременном действии различных фофов, накладывающихся на изучаемую зависимость, величина результата может маскироваться всеми тремя параметрами $y_i = a_i + b_i f(x + c_i)$ или их любым возможным сочетанием.

В тех случаях, когда величина фофа не является постоянной, но может рассматриваться как известная или экспериментально выявляемая функция другой переменной, например времени, предлагаемый метод не претерпевает существенных изменений: вместо постоянной величины a , b или c в исходную формулу вводится функция $f(z)$, где z играет роль независимой переменной фофа.

Приведем ряд конкретных примеров, для которых применение данного метода позволяет значительно повысить точность определения исследуемой зависимости.

При измерении радиоактивности биологических препаратов определенная предварительно средняя величина фофа, вызываемого космическими лучами, вычитается из суммарной величины радиоактивности образцов и фофа, определяемых далее. Учитывая, что величина колебания во времени радиоактивности образца за счет большого количества в нем радиоактивных атомов (величина флюктуации обратно пропорциональна количеству элементов системы) должна быть существенно меньше колебаний во времени космического фофа, особенно при высоких относительных значениях последнего, целесообразно экспериментально получаемые величины суммарной радиоактивности образца и фофа сопоставлять с определяемыми одновременно на параллельном приборе величинами фофа. Расчет радиоактивности образца проводится в этом случае по формуле $x = y_i - ka_i$, где x — исследуемая величина радиоактивности образца, y_i — суммарная радиоактивность образца и фофа, определяемая экспериментально, a_i — определяемая одновременно на другом идентичном приборе величина фофа, k — коэффициент пересчета показаний одного прибора в показания другого. Значение коэффициента k определяется предварительно, сопоставляя одновременно получаемые на двух приборах величины фофа или суммарной радиоактивности стандарта и фофа. Индекс i в данном случае сопоставляет величину суммарной радиоактивности образца и фофа с определяемой одновременно на другом приборе величиной фофа, т. е. i соответствует интервалам времени определения радиоактивности.

Другим примером использования предлагаемого метода для обработки экспериментальных данных может служить расчет для коацерватных капель отношения величин светорассеяния при двух различных длинах волн. Экспериментальные данные представлены на рис. 1. Хорошо видно, что величины светорассеяния для одинаковых образцов значительно отличаются друг от друга, причем для каждого следующего образца получаем величину светорассеяния большую, чем для предыдущего. Так как истинная величина светорассеяния может зависеть только от времени, прошедшего с момента образования коацерватов, то она должна совпадать для одинаковых образцов, т. е. в данном случае мы имеем дело с возрастающей во времени величиной фофа.

Анализ экспериментальных данных (рис. 2) указывает на монотонное возрастание во времени от момента включения прибора величины светорассеяния у одинаковых систем для одних и тех же моментов времени: одного и того же интервала времени, прошедшего с момента сливания коацерватобразующих исходных растворов (0,01% растворов в 0,1N Na-ацетатном буфере pH 3,4 сывороточного альбумина и дрожжевой РНК в отношении 2:1). Действительно, точки, соответствующие величинам светорассеяния через 5, 10 и 20 мин. после образования коацервата (моменты времени выбраны произвольно), для последовательно приготовляемых образцов лежат на одной прямой в системе координат — величина светорассеяния от времени с момента включения

прибора. Этот факт позволяет высказать предположение, что измеряемая величина I_0 находится в линейной зависимости от истинного значения величины светорассеяния I_n : $I_0 = I_n + kI_n\Delta t_{пр}$ (уравнение прямой). В таком случае мы имеем дело с фоном, накладывающимся на исследуемую зависимость по уже упоминавшемуся ранее типу $y_i = \varphi_i(z)f(x)$.

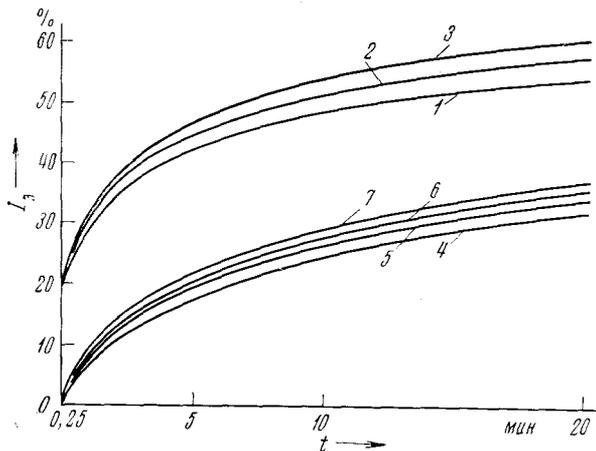


Рис. 1. Кинетика изменения светорассеяния $I(t)$ нуклеопротеидными коацерватами (запись на спектрофотометре СФ-8). Цифры 1—7 у кривых соответствуют последовательности приготовления коацерватов. Запись проводили при 440 м μ для кривых 1—3 и при 660 м μ для 4—7. t — время с момента сливания исходных коацерватобразующих растворов

Для разбираемого эксперимента $f(x) = I_n = f(\Delta t_k)$, а $\varphi_i(z) = 1/(1 - k_i\Delta t_{пр})$, где Δt_k — время, прошедшее с момента образования коацерватов, а $\Delta t_{пр}$ — время с момента включения прибора.

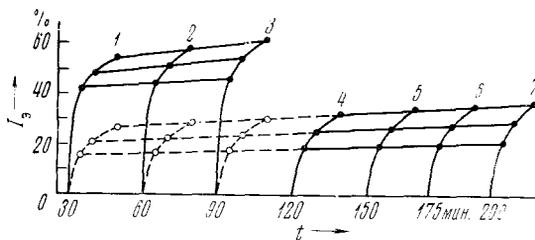
В случае, когда нам требуется установить отношение величин светорассеяния при разных длинах волн падающего света для одного и того же фиксированного значения времени, мы можем, продолжив прямые (см. рис. 2), графически перенести точки в нужное положение и определить искомое отношение. Следует отметить, что «обычное» вычисление отношения величин светорассеяния также связано с перенесением экспериментальной точки во времени, но по прямой, параллельной оси абсцисс. Действительно, мы предполагаем, что при хорошо совпадающих результатах опытов можно характеризовать коацерваты отношением величин светорассеяния при разных длинах волн, которые можно определить только для разных образцов, промеряемых последовательно один за другим. В предлагаемом нами методе такой перенос осуществляется по прямой, наклонной к оси абсцисс. Расчет отношения светорассеяния дает для пятиминутных коацерватов $2,62 \pm 0,01$; для десятиминутных $2,33 \pm 0,01$ и для двадцатиминутных $2,05 \pm 0,02$. Таким образом, полученные данные подтверждают возможность снятия фона методом графического перенесения точек, т. е. снятие возрастающего во времени фона, который, естественно, не может быть устранен при помощи одних только повторных измерений.

И наконец, при изучении кинетики химических или биохимических реакций погрешности, обуславливаемые систематической ошибкой величины количества исходных компонентов, возникающей при использовании, например, различных пипеток, могут быть легко приведены к величинам, которые получались бы при использовании лишь одной пипетки, по формуле $y_i = f(x + \Delta c_i)$. Величина Δc_i — это разница в количестве вещества, добавляемого i -й пипеткой и той, которая принята за образец, т. е. той, на которую ведется пересчет величин. Так, для реакций первого порядка известное уравнение скорости реакции $\dot{c} = kc$ преобразуется в $\dot{c} = -k(c_i - \Delta c_i)$, а для реакций второго порядка уравнение $\dot{c}_1 = -kc_1c_2$ — в $\dot{c}_1 = -k(c_{1,i} - \Delta c_{1,i})(c_{2,i} - \Delta c_{2,i})$.

Таким образом, предлагаемый нами метод позволяет в значительной

степени увеличить точность определения исследуемой закономерности, снимая фон во всех случаях, когда его величина, зависимость от какого-либо параметра или характер изменения во времени могут быть сформулированы математически. В общем случае множество получаемых экспериментальных данных $\{y_i\}$ можно рассматривать как результат

Рис. 2. Кинетика изменения светорассеяния нуклеопротеидными коацерватами (обработка данных рис. 1), t — время с момента включения прибора. Штрихами показан перенос экспериментальных точек и полученные в результате этого кривые



действия на исследуемую закономерность $f(x)$ множества маскирующих ее операторов различного типа фонов $\{O_i\}$: $\{y_i\} = \{O_i\}f(x)$.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
27 I 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Бейли, Статистические методы в биологии, ИЛ, 1962. ² Н. А. Плохинский, В сборн. Актуальные вопросы современной генетики, М., 1966, стр. 564.
³ А. Н. Зайдель, Элементарные оценки ошибок измерений, «Наука», 1968.
⁴ Б. Я. Курицкий, Математические методы в физиологии, «Наука», 1969.
⁵ Г. Бодэ, К. Шеннон, В сборн. Теория информации и ее приложения, М., 1969, стр. 113. ⁶ И. Ли, Т. Читтем, Дж. Виспер, там же, стр. 138.