

LI323
Statistique en Bioinformatique :
Analyse statistique d'une famille de protéines

Martin Weigt and Juliana S. Bernardes
(Dated: January 31, 2015)

L'objectif de ce projet est l'analyse statistique d'une famille de protéines donnée par un alignement de séquences:

- objectif 1: détection des positions conservées,
- objectif 2: détection de séquences qui appartiennent à la même famille,
- objectif 3: détection de corrélations entre colonnes différentes de l'alignement, et de leur relation avec les distances entre acides aminés dans la structure 3D d'une protéine représentative de la famille.

Le but générale est "de faire parler" des séquences, ça veut dire d'extraire information statistique sur structure et fonction d'une famille de protéines homologues, en partant seulement des séquences.

A rendre (à juliana.silva_bernardes@upmc.fr) :

- un rapport de 4 pages maximum, avec les réponses aux questions de l'énoncé et une guide d'utilisation de votre code,
- le code développé.
- L'objet du email : [SBAS] TME1

I. DONNÉES

Il y a 3 fichiers avec les données (<http://www.lcqb.upmc.fr/julianab/teaching/SBAS/TD1.tar.gz>):

- **Dtrain.txt**: C'est un alignement de $M = 5643$ protéines d'une seule famille en format FASTA, ex. :
>IVBI5_BUNMU/30-82
-CNLPDPGPGCHDNKFAYHHPASNKCKEFVYGGCGGNDNRFKTRNKCQCTC-
>C1IC53.WALAE/30-82
-CHLPADPGPCSNYRPAYYYNPASRKCEEFMVGGCKGNKNFTRHECHRVCV
>IVBI2.PSETT/30-82
LCELPPDTGPCRVRFPSPFYYPDEQKCLEFIYGGCEGNANNFITKEECESTC-
>IVBI1.OXYMI/30-82
LCELPA DTGPCRVRFPSPFYYPDEKKCLEFIYGGCEGNANNFITKEECESTC-
Lignes qui commencent avec ">" contiennent des commentaires (nom de la protéine etc.). Elles n'ont aucune importance pour notre projet. Les autres lignes contiennent les séquences, que l'on va utiliser dans le projet. Les séquences sont alignées, elles ont toutes la même longueur ($L = 48$ positions dans notre fichier). Chaque position $i = 0, \dots, L - 1$ d'une séquence contient ou une acide aminé (A,C,...,Y, il y en a 20) ou un trou (-), que l'on considère comme 21ème lettre. Ensemble elles forment l'alphabet

$$\mathcal{A} = \{A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, Y, -\}$$

avec $q = 21$ lettres différentes.

- **testseq.txt**: Même format de **train.faa**, mais avec une seule séquence $b = (b_0, \dots, b_{N-1})$ plus longue (longueur $N = 114 > L$). On va scanner cette séquence pour trouver une sous-séquence qui appartient à la famille définie par **Dtrain.txt**.
- **distances.txt**: Contient les distances entre paires d'acides aminés. Il y a trois colonnes: ID de la première position, ID de la deuxième position, distance (en Angstrom). ATTENTION: Les positions sont numérotées $i = 0, \dots, L - 1$.

II. MODÉLISATION PAR PSWM

A. Estimer une PSWM

On veut modéliser une famille de protéines, données par l'alignement (une matrice)

$$D_{train} = \begin{pmatrix} a_0^1 & a_2^1 & \dots & a_{L-1}^1 \\ a_0^2 & a_2^2 & \dots & a_{L-1}^2 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ a_0^M & a_2^M & \dots & a_{L-1}^M \end{pmatrix} .$$

Les entrées $a_i^m \in \mathcal{A}$ sont les acide aminées (ou un trou) en position $i \in \{0, \dots, L-1\}$ de la séquence numero $m \in \{1, \dots, M\}$, avec M = nombre total de séquences (notre cas: $M = 5643$). Les quantités importantes pour la modélisation sont les

$$n_i(a) = \text{nombre d'occurrences d'acide aminée } a \text{ en position (colonne) } i . \quad (1)$$

Ces nombres sont spécifiques pour chaque position (= chaque colonne de D_{train}). Ils satisfont $\sum_{a \in \mathcal{A}} n_i(a) = M$ pour chaque $i \in \{0, \dots, L-1\}$.

Le modèle statistique est un modèle factorisé

$$P(a_0, \dots, a_{L-1} | \omega) = \prod_{i=0}^{L-1} \omega_i(a_i) , \quad (2)$$

donc on suppose que les positions sont indépendantes. Les paramètres $\omega_i(a)$, qui forment une matrice $L \times q$, sont spécifiques pour la position i et l'acide aminée a . ω est appelé "position-specific weight matrix" (matrice de poids spécifiques des positions, PSWM ou PWM). Les poids sont calculé en utilisant les nombres d'occurrence (et un pseudocount 1):

$$\omega_i(a) = \frac{n_i(a) + 1}{M + q} . \quad (3)$$

B. Conservation

On cherche des positions *conservées*, i.e. positions qui ont un poids très élevé pour une acide aminée. En général, des positions conservées sont biologiquement importantes, une mutations d'une telle position souvent interrompt le fonctionnement de la protéine.

Pour trouver ces positions, on calcule l'entropie relative (aussi : information (en bit) sur l'identité de l'acide aminée donnée par la connaissance de la position) :

$$S_i = \log_2(q) + \sum_{a \in \mathcal{A}} \omega_i(a) \cdot \log_2[\omega_i(a)] . \quad (4)$$

Elle prends une valeur entre zero (aucune information, donc position ne pas conservée) et $\log 2(21) \simeq 4.39$ (information maximale, donc acide aminée complètement conservée). Donc les positions conservées vont avoir des valeurs assez grandes de S_i . L'acide aminée plus probable dans une telle position est simplement donnée par la PSWM :

$$a_i^* = \operatorname{argmax}_{a \in \mathcal{A}} \omega_i(a) . \quad (5)$$

On va déterminer les positions plus conservées avec l'acide aminée présente.

C. Evaluer une nouvelle séquence

Comment est-ce qu'on peut décider si une nouvelle séquence $b = (b_0, \dots, b_{L-1})$ (qui typiquement n'est pas contenue dans l'alignement) fait partie de la même famille de protéines? Selon équation (2) sa probabilité est

$$P(b_0, \dots, b_{L-1} | \omega) = \prod_{i=0}^{L-1} \omega_i(b_i) . \quad (6)$$

Pour décider si cette probabilité est “assez grande” pour dire que b appartient à la famille donnée par D_{train} , il faut la comparer avec un *modèle nul* qui n’est pas spécifique dans les positions:

$$P^{(0)}(b_0, \dots, b_{L-1}) = \prod_{i=0}^{L-1} f^{(0)}(b_i) \quad (7)$$

avec

$$f^{(0)}(b) = \frac{1}{L} \sum_{i=0}^{L-1} \omega_i(b) , \quad (8)$$

i.e. $f^{(0)}(b)$ correspond à la fréquence de chaque $b \in \mathcal{A}$ dans l’alignement D_{train} entier (sans regarder la position i).

Pour comparer le modèle spécifique (PSWM) avec le modèle nul, on introduit la *log-vraisemblance* (aussi “log-odds ratio”)

$$\ell(b_0, \dots, b_{L-1}) = \log_2 \frac{P(b_0, \dots, b_{L-1} | \omega)}{P^{(0)}(b_0, \dots, b_{L-1})} = \sum_{i=0}^{L-1} \log_2 \frac{\omega_i(b_i)}{f^{(0)}(b_i)} . \quad (9)$$

Pour $\ell(b_0, \dots, b_{L-1}) > 0$, la séquence b est plus probable dans le modèle spécifique, donc on peut supposer qu’elle appartient à la même famille. Pour $\ell(b_0, \dots, b_{L-1}) < 0$, la séquence b est plus probable dans le modèle nul. C’est une indication que b n’est pas de la famille donnée par D_{train} .

Pour la séquence longue dans les fichier `testseq.txt`, il faut donc prendre chaque sous-séquence (positions consécutives) de longueur L (fenêtre glissante - sliding window), et déterminer la log-vraisemblance, pour trouver des sous-séquences qui appartiennent à la famille donnée par D_{train} .

D. Réalisation

- Première fonction: Pour chaque position (colonne) $i = 0, \dots, L - 1$ et chaque acide aminée $a \in \mathcal{A}$ (le trou compris), calculer le nombre d’occurrence $n_i(a)$ (équation (1)) et le poids $\omega_i(a)$ (équation (3)).
- Deuxième fonction: Pour chaque position $i = 0, \dots, L - 1$, déterminer l’entropie relative S_i (équation (4)), et pour les trois positions plus conservées aussi les acides aminées conservées (équation (5)). Tracer l’entropie relative en fonction de la position i .
- Troisième fonction: Déterminer les paramètres $f^{(0)}(a)$ du modèle nul (équation (7)).
- Quatrième fonction (à appliquer à `testseq.txt`): Déterminer $\ell(b_i, \dots, b_{i+L-1})$ (équation (9)) pour chaque sous-séquence de longueur L . Déterminer si il y a des sous-séquences de la famille définie par D_{train} . Tracer la log-vraisemblance en fonction de sa première position $i = 0, \dots, N - L$.

Aide: Pour tester les fonctions, comparer vos résultats avec les valeurs suivantes :

$$\begin{aligned} \omega_0(\text{' - '}) &\simeq 0.31 \\ S_0 &\simeq 1.85 \\ \ell(b_0, \dots, b_{L-1}) &\simeq -116 \end{aligned}$$

III. CO-ÉVOLUTION DE RÉSIDUES EN CONTACT

ATTENTION: Terminer la première partie du projet (PSWM) avant de vous consacrer à la deuxième.

Dans un alignement, il y a de l’information au-delà de ce que l’on peut détecter avec le simple modèle factorisé des PSWM. Comme discuté au TDs, la co-évolution de deux positions, qui sont en contact dans le repliement d’une protéine, induit des corrélations entre les occurrences des acides aminées dans ces positions. Pour détecter ces corrélations, il faut calculer les nombres de co-occurrences:

$$n_{ij}(a, b) = \text{nombre de séquences avec acide aminée } a \text{ en position } i \text{ ET avec acide aminée } b \text{ en position } j . \quad (10)$$

Maintenant on peut déterminer les poids respectifs

$$\omega_{ij}(a, b) = \frac{n_{ij}(a, b) + 1/q}{M + q} . \quad (11)$$

Le pseudocount est choisi pour garantir $\sum_b \omega_{ij}(a, b) = \omega_i(a)$.

Les corrélations sont quantifié par l'*information mutuelle*

$$M_{ij} = \sum_{a \in \mathcal{A}} \sum_{b \in \mathcal{A}} \omega_{ij}(a, b) \log_2 \frac{\omega_{ij}(a, b)}{\omega_i(a)\omega_j(b)} \quad (12)$$

pour chaque pair de positions $0 \leq i < j \leq L-1$. L'information mutuelle vaut zéro si et seulement si les deux positions sont statistiquement indépendantes ($\omega_{ij}(a, b) = \omega_i(a)\omega_j(b)$). Pour chaque dépendance statistique, M_{ij} prends une valeur positive.

Il est maintenant possible de comparer les paires de positions les plus corrélées (valeurs plus hautes de l'information mutuelle) avec les distances en `distances.txt`.

A. Réalisation

- Première fonction: Identique à la première fonction ci-dessus (calcul $\omega_i(a)$).
- Deuxième fonction: Pour chaque paire de positions $1 \leq i < j \leq L$ et chaque combinaison d'acides aminés $a, b \in \mathcal{A}$ (le trou compris), calculer le nombre d'occurrence $n_{ij}(a, b)$ (équation (10)) et le poid $\omega_{ij}(a, b)$ (équation (11)).
- Troisième fonction: Pour chaque paire de positions $0 \leq i < j \leq L-1$, calculer l'information mutuelle M_{ij} (équation (12)).
- Quatrième fonction: Trier ("sort") les M_{ij} , sélectionner les 1,2,3,4,5,...,50 paires de positions avec les valeurs M plus grandes, chercher les distances correspondentes. Calculer la fraction des paires sélectionnées qui ont une distance plus petit que 8 (= qui sont des contacts). Tracer cette fraction en fonction du nombre de paires considérées. Est-ce que vous pouvez vérifier que les paires les plus corrélées ont une probabilité élevée d'être en contact?

Test: $M_{0,1} \simeq 0.404$.