דוח מסכם – סדנה לפרויקטים

MinProtBert – מודל מצומצם ויעיל חישובית לחיזוי קשירת דנ"א ומשימות ביואינפורמטיות שונות.

מנחה:

- פרופ' רון אונגר

שמות המגישים:

- עידן קורנפלד 322525627
- רועי שלוסברג 211600812

קישור ל-GitHub Repository:

https://github.com/RoeeShlosberg/MinProtBert

פרויקט זה נעשה בהשראתו של ירון גפן, ועבודתו במאמר:
DistilProtBert: Distillation of Protein Language Models.

תקציר

חלבונים קושרי DNA ממלאים תפקידים קריטיים בתהליכים ביולוגיים מרכזיים כגון בקרה על ביטוי גנים, שכפול גנומי, תיקון DNA ואריזת DNA. הבנה טובה יותר של מנגנוני הקישור מאפשרת חקר מסלולים תאיים, איתור מוטציות בעלות משמעות קלינית, ופיתוח תרופות ממוקדות למחלות הקשורות לבקרת ביטוי גנים.

יכולת הקישור ל- DNA נקבעת לרוב על פי מאפיינים מבניים ותפקודיים הנגזרים מרצף חומצות האמינו. לכן, ניתן לפתח מודלים חישוביים המזהים דפוסים ברצף החלבון לצורך חיזוי קישור ל-DNA. עם זאת, מדובר במשימה מאתגרת במיוחד - שכן הקשר בין הרצף הראשוני למבנה התלת־ממדי ולפונקציה הביולוגית מורכב, ודורש מודלים מתקדמים המאפשרים הכללה טובה על מגוון רחב של חלבונים ואורגניזמים.
בשנים האחרונות, התפתחותם של מודלי Protein Language Models מבוססי Transformers הובילה לפריצת דרך משמעותית ביכולת ללמוד ייצוגים עשירים של רצפי חלבונים, אך מודלים אלה נוטים להיות גדולים מאוד ודורשי משאבים חישוביים ניכרים, מה שמגביל את השימוש בהם בפועל.

מטרת הפרויקט הייתה לפתח את MinProtBert, גרסה קלה ויעילה של מודל ProteinBert, המאפשרת חיזוי חלבונים קושרי DNA תוך שמירה על ביצועים גבוהים, אך עם הפחתה משמעותית בזמן ריצה ובדרישות חישוביות. בנוסף, ביקשנו להעריך את יכולת ההכללה של המודל על משימות ביואינפורמטיות נוספות, כמו חיזוי מבנה שניוני וסיווג חלבונים ממברנליים, ולהשוות את ביצועיו למודלים קיימים בנושא זיהוי חלבוני קושרי דנ"א כגון מודל Deep-WET למגוון סטי-דאטה מגוונים של רצפי חלבונים.

בבסיס הפרויקט עומדת ארכיטקטורת Transformers ובפרט מודל BERT, שהותאם לרצפי חלבון. לצורך פיתוח MinProtBERT השתמשנו בגישת Knowledge Distillation, שבה מודל ProteinBert שימש כמודל "מורה" וממנו נגזר מודל "תלמיד" קומפקטי. תהליך האימון כלל שני שלבים עיקריים: Pre-training שאחריו קיבלנו מודל גנרי מוכלל לשפת חלבונים ו- Fine-tuning למשימות סיווג ייעודיות, בהן חיזוי חלבונים קושרי DNA, חיזוי מבנה שניוני של חלבונים, וסיווג חלבונים חוצי ממברנה.

MinProtBERT הציג ביצועים כמעט זהים ל־ ProteinBert בכל שלוש המשימות המרכזיות, תוך הפחתה משמעותית בזמני הריצה. במשימת חיזוי חלבונים קושרי DNA התקבלו תוצאות זהות כמעט לחלוטין עם חיסכון של כ־38% בזמן החישוב. במשימת חיזוי מבנה שניוני התקבלו ביצועים דומים בכל המדדים, אך MinProtBERT קיצר את זמן הריצה בכ־66%. בנוסף, במשימת סיווג חלבונים ממברנליים המודל הציג שיפור קל בכל המדדים, לצד קיצור של כ־16% בזמן הריצה.
בבדיקות על אורגניזמים שונים, MinProtBERT שמר על ביצועים גבוהים גם על רצפים מאורגניזמים שונים, עם ירידה קלה בבקטריות וארכיאה. ניתוח נוסף שבחן השפעת סינון רצפים מסט-הדאטה הראה כי הסרת רצפים בעלי אחוז דימיון גבוה (SUB) שיפרה את הביצועים, בעוד שסינון אקראי (CUT) בגודל זהה כמעט לא השפיע, מה שמדגיש את יכולתו של המודל ללמוד ייצוגים כלליים יותר ולא להסתמך על כפילויות. לבסוף, בהשוואה למודל קיים מהשנתיים האחרונות בשם Deep-WET, בו MinProtBERT הציג ביצועים טובים יותר בכל המדדים (Accuracy, AUC, MCC).

הפרוייקט הראה ש- MinProtBERT מאפשר להשיג ביצועים גבוהים כמעט זהים לאלו של ProtBERT תוך הפחתה משמעותית בדרישות משאבים חישוביים ובזמני ריצה, מה שהופך אותו לפתרון יעיל ליישומים ביואינפורמטיים מגוונים. השימוש ב-Knowledge Distillation מאפשר לשמר ייצוגים איכותיים גם במודל קומפקטי, תוך יכולת הכללה טובה על מגוון רחב של חלבונים ואורגניזמים. המודל מהווה בסיס למחקר עתידי

בזיהוי תכונות חלבונים, חקר קשר רצף-פונקציה, ופיתוח תרופות ממוקדות, ומדגים את הפוטנציאל של שילוב גישות NLP מתקדמות במחקר חלבונים.

מבוא

רקע ביולוגי

חלבונים קושרי DNA (DNA-Binding Proteins) מהווים קבוצה רחבה ומגוונת של חלבונים המעורבים כמעט בכל תהליך ביולוגי מרכזי בתא. הם מזהים רצפי DNA ספציפיים או מבנים מרחביים מסוימים ב־DNA, ונקשרים אליהם כדי לווסת, להפעיל או לשנות את פעילותם של גנים ושל מערכות תאיות שלמות. אחד התפקידים העיקריים של חלבונים אלו הוא בקרה על ביטוי גנים: חלבוני בקרה (כגון פקטורי שעתוק) נקשרים לאזורים פרומוטוריים או רגולטוריים בגנום, ומווסתים את קצב השעתוק בהתאם לצרכים הפיזיולוגיים של התא.
מעבר לכך, חלבונים קושרי DNA ממלאים תפקידים מרכזיים גם בשכפול הגנום - כאשר הם פותחים, מייצבים ומארגנים את סליל ה־DNA במהלך סינתזת הגדילים החדשים. בנוסף, הם משתתפים בתהליכי תיקון DNA, שם הם מזהים נזקים גנטיים ומובילים לגיוס מנגנוני תיקון מתאימים, ובכך משמרים את יציבות הגנום. חלבונים מסוימים משמשים גם בתפקידי אריזה וארגון כרומטין, כדוגמת ההיסטונים - אשר יוצרים מבנים קומפקטיים המאפשרים אחסון יעיל של המידע הגנטי בגרעין התא.

מעבר לתפקידים הפיזיולוגיים, חלבונים קושרי DNA קשורים ישירות גם למצבים פתולוגיים. מוטציות המשפיעות על פעילותם או על דפוסי הקישור שלהם עלולות לגרום לשיבושים בבקרת ביטוי גנים, לפגיעה במנגנוני תיקון נזקי DNA ולהתפתחות מחלות שונות, כולל סרטן ומחלות גנטיות מורכבות.

למעשה, בגנומים של יונקים וחיידקים קיימים עדיין עשרות אלפי חלבונים שלא אופיינו מבחינה פונקציונלית, והיכולת לזהות אילו מהם קושרי DNA היא מפתח לקידום האנוטציה הגנומית ולחשיפת תפקידים ביולוגיים חדשים. מסיבה זו, הבנת המנגנונים המולקולריים של קישור DNA היא יעד מחקרי מרכזי, והיכולת לזהות חלבונים קושרי DNA באופן חישובי תורמת להאצת מחקרים בתחומי האנוטציה הגנומית, פיתוח תרופות ממוקדות וחקר מחלות. נוסף לכך, הבנה מדויקת של דפוסי הקישור מאפשרת גם תכנון מושכל של חלבונים מלאכותיים עם יכולות קישור מותאמות מטרה, תחום הצובר עניין הולך וגובר בביו-הנדסה סינתטית.

עם זאת, חיזוי חלבונים קושרי DNA על בסיס רצף החלבון בלבד מהווה אתגר משמעותי. למרות שרצף חומצות האמינו מכיל מידע סמנטי וביוכימי עשיר, הקשר בינו לבין יכולת הקישור ל־DNA אינו ישיר. תכונות מבניות ותפקודיות, כגון: קיפול חלבון, מטענים חשמליים, דינמיקת אינטראקציות ותכונות הידרופוביות, משפיעות במידה רבה על יכולת הקישור, אך אינן תמיד ניתנות להסקה באופן מיידי מרצף החלבון. במקרים רבים, גם שינויים מזעריים ברצף-כמו החלפת חומצת אמינו אחת - עלולים לשנות משמעותית את יכולת הקישור, מה שמדגיש את הצורך במודלים מתקדמים המסוגלים ללמוד דפוסים מורכבים ולא ליניאריים ישירות מהנתונים.

השיטות הניסיוניות הקיימות, כגון EMSA או ChIP-seq , מספקות מידע אמין על חלבונים קושרי DNA, אך הן יקרות, איטיות ותלויות בתנאים ספציפיים של דגימה. כאן נכנס לתמונה הפתרון החישובי: שימוש במודלי למידה עמוקה מאפשר לזהות דפוסים חבויים ברצפי חלבונים ולחזות יכולת קישור ל-DNA בקנה מידה רחב, בדיוק גבוה ובעלויות נמוכות משמעותית. עם זאת, האתגר נותר מורכב במיוחד עבור מודלים חישוביים,

משום שנדרש מהם להתמודד עם כמות עצומה של דאטה, רמות שונות של דמיון בין רצפים, ושונות גבוהה בין אורגניזמים וכל זאת מבלי להסתמך על מידע מבני חיצוני.
אתגר נוסף הוא המחסור בדאטה מתויג: רק חלק קטן מהחלבונים זוהה באופן אמין וחד משמעי כקושר או לא קושר DNA. עובדה זו מקשה על אימון ישיר של מודלים מונחי־תיוג, ומדגישה את יתרונם של מודלים המבוססים על למידה מראש מתוך מאגרי רצפים לא מתויגים - המאפשרים לרכוש ידע כללי על דפוסי החלבונים, ולאחר מכן ליישמו גם במשימות שבהן כמות הדאטה המתויג מוגבלת.

רקע חישובי

התקדמות דרמטית בתחום עיבוד השפה הטבעית (NLP) בשנים האחרונות הושגה בזכות פיתוחם של מודלי Transformers, שהוצגו לראשונה ב־2017 במאמר *"Attention is All You Need"* [1]. הייחודיות של מודלי Transformers נובעת ממנגנון ה-Self-Attention, המאפשר למודל לשקלל את הקשרים בין כל זוג עמדות ברצף. בכל שלב, כל טוקן (רכיב בקלט) ברצף "מתבונן" בכל שאר הטוקנים ומחשב כמה כל אחד מהם חשוב להבנת ההקשר שלו. המודל משקלל את התשובות לייצוג כולל. בכך מתאפשרת תפיסה יעילה של יחסי תלות ארוכי־טווח ברצף, אשר שיטות קלאסיות המבוססות על חלונות מקומיים לא הצליחו ללכוד בנוסף, Transformers מאפשרים עיבוד מקבילי של כל הרצף בבת אחת, בניגוד למודלים כמו RNN, תכונה שמקצרת את זמן האימון ומאפשרת שימוש בסטים גדולים מאוד של דאטה. ביישום על רצפי חלבון, כל חומצת אמינו ברצף מומרת לטוקן (רכיב נפרד בקלט) ומקבלת ייצוג חדש שמכיל מידע על שאר החומצות הרלוונטיות, גם אם הן מרוחקות מאוד זו מזו ברצף הלינארי. יתרון זה מאפשר למודל ללמוד דפוסים מבניים ותפקודיים מורכבים שמבוססים על אינטראקציות גלובליות, ולא רק על סמיכות מקומית.

על בסיס ארכיטקטורה זו פותח מודל BERT (Bidirectional Encoder Representations from Transformers) [2], אחד ממודלי השפה המשפיעים ביותר, אשר הציג קפיצת מדרגה ביכולת לנתח רצפים מורכבים. ייחודו של BERT הוא בכך שהוא דו-כיווני - הוא קורא את הרצף כולו במקביל ומבין את ההקשר של כל טוקן על פי מה שבא לפניו וגם על פי מה שבא אחריו וכך לומד קשרי תלות מורכבים בין עמדות שונות ברצף. מודלים מסוג BERT מאומנים בשני שלבים: בשלב ה- Pre-training המודל לומד באופן לא מונחה (unsupervised) על כמויות גדולות מאוד של דאטה. כך הוא רוכש הבנה סמנטית עמוקה של הדפוסים בתוך הרצף כולו. לאחר שלב זה המודל עובר שלב של Fine-tuning, שבו הוא מותאם למשימות ספציפיות באמצעות דאטה מתויג, משימת חיזוי סיווג.

בעקבות ההצלחה של מודל BERT בעיבוד שפה טבעית, נעשו התאמות של הארכיטקטורה גם לתחום הביולוגי, ובפרט לניתוח רצפי חלבון. אחת הדוגמאות הבולטות היא ProteinBert [3], מודל Transformer רחב היקף שפותח במיוחד לעיבוד מידע חלבוני. המודל שומר על הארכיטקטורה הדו-כיוונית של BERT, אך מותאם באופן ייעודי לרצפי חומצות אמינו. כך שהמודל מייצר במקביל גם ייצוג פרטני לכל חומצת אמינו וגם ייצוג גלובלי לרצף החלבון כולו ,מה שמאפשר לו ללמוד קשרים מורכבים ברמות שונות של הארגון המבני והתפקודי גם ברמת החלבון וגם ברמת החומצה אמינית.

ProteinBert (נקרא גם ProtBert) אומן בשלב הקדם אימון (pre-training) על יותר מ־206 מיליון רצפים ממסד הנתונים UniRef100, יחד עם אנוטציות ביולוגיות מ-Gene Ontology במטרה ללמוד ייצוגים המשלבים גם מידע על הרצף וגם מידע פונקציונלי. המודל כולל 30 שכבות Transformer ומכיל כ-420 מיליון פרמטרים, מה שמאפשר לו לקלוט הקשרים גלובליים מורכבים ולבצע משימות מגוונות, כגון: חיזוי מבנים שניוניים, סיווג פונקציות חלבון, זיהוי דומיינים ותכונות ביופיזיקליות, והסקת תכונות מורכבות מתוך

הרצף בלבד - גם במקרים של חלבונים ארוכים ומורכבים. בזכות ביצועיו הגבוהים ורב־השימושיות שלו, ProtBERT הפך בפועל ל־benchmark עבור מגוון רחב של משימות חלבוניות, והוא משמש נקודת ייחוס מרכזית למחקרים חדשים בתחום.

עם זאת, העלות החישובית של ProteinBert גבוהה: המודל דורש משאבי GPU משמעותיים, נפח זיכרון גדול וזמני ריצה ארוכים, ולכן שימוש בו עשוי להיות מאתגר בפרויקטים רחבי היקף או בסביבות עם משאבים מוגבלים.

בעקבות האתגרים החישוביים של מודלים גדולים כמו ProteinBert, שבהם מספר הפרמטרים ועומק השכבות גבוהים מאוד, פותחה גישה יעילה בשם Knowledge Distillation. הרעיון המרכזי בתהליך זה הוא שימוש במודל "מורה" גדול, בעל ביצועים גבוהים, כדי להדריך מודל "תלמיד" קטן יותר. המודל התלמיד מאומן לא רק לשחזר את התוויות הסופיות של המורה, אלא גם לחקות את התפלגות ההסתברויות של המורה ואת הייצוגים הפנימיים שנלמדו בשכבותיו. כך, המודל הקטן רוכש ידע עמוק ועשיר מבלי להזדקק לאותה כמות משאבים חישוביים.

גישה זו הודגמה לראשונה בצורה בולטת במודל DistilBERT [4] בתחום עיבוד השפה הטבעית, שהצליח לשמר כ־97% מביצועי BERT תוך שימוש בכ־40% פחות פרמטרים והרבה פחות משאבי GPU. ההצלחה שלDistilBERT סללה את הדרך ליישום טכניקות דומות גם בתחום הביואינפורמטיקה, במטרה ליצור גרסאות קומפקטיות ויעילות יותר של מודלים חלבוניים מבוססי Transformers, תוך שמירה על רוב הביצועים של המודלים המקוריים יחד עם הפחתה משמעותית במשאבים החישוביים ובזמן הריצה.
מעבר לחיסכון בפרמטרים, היתרון המעשי של Knowledge Distillation ("זיקוק ידע") מתבטא בכך שהוא מאפשר להריץ מודלים מתקדמים גם בסביבות מוגבלות בחומרה (כמו מחשבים אישיים או שרתים עם GPU יחיד), ובכך הופך אותם לכלים שימושיים באמת בקנה מידה רחב.

מטרות הפרויקט

מטרת המחקר היא לפתח ולבחון מודל חישובי מתחום עיבוד השפה הטבעית (NLP), MinProtBERT, המבוסס על דחיסה והתאמה של מודל ProteinBERT, במטרה לשפר את היעילות החישובית של משימות חיזוי ביולוגיות מורכבות מבלי לפגוע בביצועים.
הפרויקט נשען על עבודתו של ירון גפן, שפיתח את מודל DistilProtBERT [5] - גרסה דחוסה של המודל ProteinBERT. שלד המודל, כמו גם שלבי הלמידה המוקדמת שתוארו בעבודתו, שוחזרו כחלק מהפרויקט הנוכחי, ולאחר מכן הורחבו ואומנו מחדש על משימת הסיווג הספציפית של חלבונים קושרי DNA.
הפרויקט מתמקד בשש מטרות מרכזיות, שכל אחת מהן תורמת לביסוס המודל ככלי מחקרי יעיל ורחב היקף.

מטרה 1: פיתוח מודל חישובי יעיל וקל-משקל לזיהוי חלבונים קושרי DNA

זיהוי חלבונים קושרי DNA הוא אתגר משמעותי בביולוגיה מולקולרית, שכן חלבונים אלו ממלאים תפקיד מרכזי במגוון תהליכים ביולוגים שונים מהאדם ועד הארכאה. מטרתנו המרכזית בפרויקט הייתה לפתח מודל חישובי חדש, יעיל וקל-משקל, המיועד לזיהוי חלבונים קושרי DNA, המבוסס על מסגרת DistilBERT. המודל שפותח MinProtBERT , נבנה כך שיוכל לחזות במדויק את משימת סיווג חלבונים קושרי DNA, באמצעות שמירה על ביצועיו הגבוהים של המודל המורכב ProteinBERT המבוסס על האקספרסיביות הגבוהה של טרנספורמרים ואומן על דאטה של מאות מיליונים רצפי חלבונים.

מטרה 2: שמירה על ביצועים דומים ל-ProteinBERT, תוך צמצום דרישות חישוב.

מטרה מהותית נוספת הייתה להבטיח שהמעבר ממודל מלא כמו ProteinBERT למודל קל משקל כמו MinProtBERT לא יפגע ביכולת הניבוי. שמירה על ביצועים דומים תוך חיסכון משמעותי בזמן האימון ובזיכרון נדרשת במיוחד בתחום הביואינפורמטיקה, המכיל נתוני עתק ונדרש היקף חישוב עצום. מודל יעיל מאפשר לחוקרים להריץ אנליזות מורכבות על סביבות בעלות כוח חישובי מוגבל, לקצר משמעותית זמני פיתוח ולשלב את הגישה בקלות בפרויקטים חישוביים מגוונים. הפרויקט ביקש להראות שניתן להגיע ליחס אופטימלי בין איכות החיזוי לבין יעילות חישובית, כך ש-MinProtBERT יכול לספק פתרון חדשני ופקרטי, בעל השפעה רחבה על נגישות הכלים החישוביים לקהילה המדעית.

מטרה 3: השוואת ביצועי המודלים על פני משימות ביואינפורמטיות שונות

לצורך הערכת היכולת הגנרית של MinProtBERT בהשוואה ל-ProteinBert, בוצעה סדרת ניסויים במספר משימות ביואינפורמטיות שונות, ביניהן:

- חיזוי חלבונים קושרי DNA - המשימה המרכזית של הפרויקט.
- סיווג מבנה שניוני - בחינת היכולת של המודל להכליל בצורה מדוייקת ברמת החומצה האמינית בחלבון.
- סיווג חלבונים ממברנליים - בדיקה של יכולת הכללה למשימות שונות שאינן קשירת DNA והינה ברמת ייצוג של החלבון השלם.

מטרה זו נועדה לוודא שהמודל אינו מוגבל למשימה אחת בלבד, אלא מתאים לשימוש במגוון רחב של יישומים ביואינפורמטיים. ההשוואות מאפשרות להבין את החוזקות והחולשות של המודל החדש ביחס לגרסתו המלאה, ולספק תובנות משמעותיות לגבי תכנון מודלים עתידיים.

מטרה 4: הערכת ביצועי המודל בין אורגניזמים שונים

במסגרת הפרויקט נבחנו ביצועי המודל על פני מספר דאטא סט של אורגניזמים שונים, במטרה לבחון את היכולת להכליל את הידע הנלמד על פני מינים ביולוגיים מגוונים.
ההשוואה הדגימה את רמת ההתאמה של המודל לבקטריות, אאוקריוטים ואורגניזמים אחרים, ובחנה האם קיימת ירידה מובהקת ביכולת החיזוי במערכות ביולוגיות שונות. מטרה זו נועדה להעריך את הגמישות והאמינות של המודל, ולאפשר התאמות עתידיות לשימוש בהקשרים מחקריים מגוונים. בנוסף, הצלחת המודל בהקשר זה מרחיבה את השימושיות שלו במחקר משווה, לזיהוי מוטיבים שמורים אבולוציוניות, ואף לחקר מחלות בבני אדם תוך הסתמכות על נתונים ממודלים אחרים.

מטרה 5: השוואה בין תתי סטים של דאטה - סינון חכם לעומת סינון רנדומלי

כדי לבחון את השפעת איכות הנתונים על ביצועי המודל, נבחנה השוואה בין שלושה סוגי דאטא סט:

- דאטא סט מלא - סט הנתונים לרצפי חלבונים עם תיוג האם חלבון קושר DNA או לא.
- דאטא סט מסונן באופן חכם - סינון התבסס על חיתוך לפי אחוזי דמיון בין רצפי חלבונים, כדי למנוע למידת יתר והטיה לטובת רצפי חלבונים דומים ולשפר הכללה.
- דאטא סט מסונן באופן רנדומלי - חיתוך ללא שיקולים ביולוגיים, במטרה להוות קבוצת ביקורת.

המטרה הינו להבין עד כמה הנתונים מאוזנים ומגוונים ומהי תרומתם וחשיבותם על ביצועי המודל במשימת הסיווג. תובנות אלו רלוונטיות לא רק עבור MinProtBERT, אלא גם עבור פיתוח סטי-דאטה עתידיים ומחקר ביואינפורמטי רחב יותר.

מטרה 6: השוואה בין MinProtBERT למודל DeepWET

לבסוף, נבחנה השוואה ישירה בין MinProtBERT לבין מודל DeepWET - מודל למידה עמוקה מהשנתיים האחרונות בעלת יכולת לחזות את יכולת קשירת החלבון ל-DNA. המטרה הייתה להעריך את היתרונות היחסיים של המודל החדש לעומת מודלים קיימים, ולבדוק האם ניתן להגיע לדיוק דומה או טוב יותר תוך שימוש בארכיטקטורה קלה ויעילה משמעותית. תוצאות ההשוואה מספקות אינדיקציה ברורה לחדשנות המודל ולפוטנציאל שלו להשתלב בכלים הביואינפורמטיים העדכניים ביותר.

שיטות עבודה

איסוף נתונים ועיבודם

<u>Pretraining Dataset</u>

בשלב הקדם-אימון (Pretraining) השתמשנו בנתוני רצפי חלבונים ממאגר UniRef50 (גרסת 02_2022) [1], בהתאם לגישה שתוארה בעבודתו של ירון גפן בפיתוח מודל DistilProtBERT. מאגר זה מבוסס על מאגר UniProtKB ועבר תהליך קיבוץ (clustering) ברמת 50% זהות רצף, כך שכל קבוצה של רצפים דומים מיוצגת על ידי רצף מייצג יחיד. שימוש במבנה זה מאפשר להפחית עודפות גבוהה (redundancy) בין דגימות, לשפר את היכולת להכליל על פני משפחות חלבונים מגוונות, ולשמר ייצוג איכותי של מידע ביולוגי רחב. לצורך אימון המודל, בוצעה סינון של הרצפים במטרה לשמור רק על טווח אורכים מייצג – בין 20 ל-512 חומצות אמינו. רצפים קצרים או ארוכים במיוחד הוסרו, כדי למנוע הטיות בתהליך הלמידה ולאפשר למודל להתמקד בדפוסים ביולוגיים משמעותיים. בסך הכול, כלל סט הקדם אימון כ-43 מיליון רצפי חלבונים ייחודיים לאחר הסינון. המאגר שהתקבל שימש בסיס ללמידת הייצוגים ההתחלתיים של המודל, במטרה ללכוד מידע סמנטי, מבני ותפקודי מתוך הרצפים עצמם.

<u>Benchmark Datasets</u>

הערכת הביצועים של המודל MinProtBERT בוצעה על מספר משימות ביואינפורמטיות מגוונות, תוך שימוש בסטי נתונים מבוססי ספרות ובנתוני סטים שנאספו במיוחד לצורך הפרויקט.

(א) חיזוי מבנה שניוני (Q3):

למשימה זו נעשה שימוש בסטי **CB513**, **CASP12** ו-**TS115** ([4]) הכוללים תיוגים לשלוש קטגוריות:-α helix, β-sheet ו-coli המשמשים להערכת יכולת ההכללה ברמת חומצת האמינו.

(ב) סיווג חלבונים ממברנליים מול מסיסים (Q2):

למשימה זו נעשה שימוש בסט הנתונים *(Almagro Armenteros et al., 2017)* DeepLoc [3], הכולל תיוגים של חלבונים חוצי ממברנה לאי חוצים. סט זה מאפשר הערכה של היכולת של המודל להכליל לרמות

ייצוג גלובליות יותר של חלבונים.

(ג) סיווג חלבוני קושרי דנ"א בבני אדם:

לצורך משימת חיזוי חלבונים קושרי DNA בבני אדם, שלפנו נתונים ממאגר UniProtKB/Swiss-Prot ([2]) תוך שימוש במסנן מותאם אישית. המסנן הגביל את החיפוש לחלבונים אנושיים בלבד, באורך שנע בין 20 ל-512 חומצות אמינו, ונבחרו אך ורק חלבונים שעברו אנוטציה ידנית ואימות איכותי (Reviewed entries). לאחר שליפת הנתונים, חולקו החלבונים לשתי קבוצות: חלבונים שסומנו במאגר כקושרי DNA הוגדרו כקבוצת החיוביים (Positive set), וחלבונים שאינם מתויגים כקושרי DNA הוגדרו כקבוצת השליליים (Negative set). בסיום תהליך הסינון התקבל סט נתונים הכולל כ-1000 חלבונים קושרי DNA וכ-12,000 חלבונים שאינם קושרי DNA.

(ד) סיווג חלבוני קושרי DNA באורגניזמים נוספים:

כדי להעריך את יכולת ההכללה של המודל MinProtBERT מעבר לנתונים של רצפי אדם, נבנו שני סטים נוספים ממאגר UniProtKB/Swiss-Prot:

1. C. elegans - סט הכולל חלבונים מהאורגניזם Caenorhabditis elegans, המסווגים כקושרי DNA או שאינם קושרי DNA.
2. Bacteria & Archaea - סט משולב הכולל חלבונים ממגוון רחב של חיידקים וארכאות, מסווגים באופן דומה.

שני הסטים עברו סינון זהה לנתוני האדם: נכללו חלבונים באורך 20 ל-512 חומצות אמינו בלבד, והועדפה בחירה של כניסות שעברו אנוטציה ידנית ואימות איכותי. סטים אלו נועדו להעריך את ביצועי המודל על אורגניזמים רחוקים אבולוציונית, ולבחון את היכולת שלו להכליל ידע על פני מינים ביולוגיים מגוונים.

(ה) תתי-סטים של DNA-binding אנושי - סינון חכם לעומת אקראי

כדי לבדוק את השפעת עודפות הרצפים על ביצועי המודל, חילקנו את סט החלבונים האנושי לשלושה תתי-סטים.

- Full Dataset – כלל המאגר קושרי DNA אנושי כפי שתואר לעיל.
- סינון חכם (SUB) - הסרת רצפים בעלי דמיון גבוה באמצעות האלגוריתם MMseqs2. הכלי מזהה קבוצות של רצפים דומים על בסיס Sequence Identity כך שרצפים בעלי דמיון מעל 85% או 75% אוחדו לקבוצות, ומתוכן נבחר רצף מייצג אחד בלבד מכל קבוצה. MMseqs2 מבצע תהליך clustering היררכי: בשלב הראשון הוא מחשב מרחקים בין רצפים באמצעות חיפוש מהיר בעזרת k-mers ולאחר מכן מקבץ רצפים קרובים מבחינה חלבונית, באופן שמבטיח ייצוג מגוון ובלתי תלוי בעודפות רצפים.
- סינון אקראי (CUT) - נבחרה תת-קבוצה אקראית של רצפים, בגודל זהה לקבוצת הסינון החכם, אך ללא שיקול ביולוגי, כדי לשמש כקבוצת ביקורת.
גישה זו אפשרה לנו להעריך עד כמה עודפות הרצפים משפיעה על למידת המודל, ולבחון האם

הפחתת הדמיון התוך קבוצתי משפרת את יכולת ההכללה שלו על דגימות חדשות.

(ו) דאטא סט DeepWET

כחלק מתהליך ההערכה, ביקשנו להשוות את MinProtBERT למודל עדכני, שפותח במיוחד עבור משימת חיזוי חלבונים קושרי DNA. לצורך כך חיפשנו עבודות חדשות מהשנים האחרונות המתמקדות במשימה זו, ומצאנו את מודל DeepWET, שפורסם בשנת 2024 [5].

במאמרם, המחברים הציגו מודל ייעודי לזיהוי חלבונים קושרי DNA. הרעיון המרכזי היה לקחת ייצוגים מספריים של רצפי חלבונים – שנבנו בעזרת שיטות מקובלות ובסיסיות בתחום של עיבוד שפה רדודה (כגון Word2Vec ו-fastText) – ולשפר אותם באמצעות אלגוריתם אופטימיזציה ולאחר מכן למקד את המידע החשוב ביותר. הייצוגים המעובדים הוזנו לרשת עצבית מסוג CNN, אשר למדה להבחין בין חלבונים הקושרים DNA לבין כאלה שאינם קושרים.

חשוב לציין כי המחברים סיפקו מאגר נתונים ייחודי, שכלל כ-2,000 חלבונים קושרי DNA ולא קושרי DNA עבור אימון המודלים, לצד סט מבחן עצמאי של כ-300 רצפים נוספים ולכן לצורך ההשוואה השתמשנו לאימון MinProtBERT באותם נתוני אימון ומבחן שסיפקו מחברי המאמר.
באופן זה, יצרנו בסיס השוואה שקוף וישיר מול DeepWET, הן מבחינת הדאטה והן מבחינת מדדי הביצועים, כדי לאפשר בחינה אובייקטיבית של היתרונות והחסרונות של MinProtBERT במשימת חיזוי קישור ל-DNA.

(*) חלוקה לסטי אימון, ולידציה ומבחן

בסטים שאספנו במיוחד לפרויקט (DNA-binding אנושי, תתי-הסטים SUB/CUT וכן סטי ה- DNA-binding לאורגניזמים נוספים) ביצענו חלוקה רנדומית של 85% אימון, 7.5% ולידציה ו-7.5% מבחן .בחרנו ביחס זה כדי למקסם את כמות הדגימות לאימון בסביבה של דאטה יחסי דל, תוך שמירה על סטי הערכה בלתי מוטים.
בסטים מבוססי ספרות לא בוצעה חלוקה מחדש והשתמשנו בחלוקות שסופקו:
בQ3 (CASP12/CB513/TS115) ובQ2 (DeepLoc) על פי הפיצולים המקוריים ובסט ההשוואה של DeepWET השתמשנו ישירות בחלוקת המחברים (≈2,000 אימון, ≈300 מבחן) ללא ולידציה נוספת.

טוקניזציה

בפרויקט שלנו, שלב הטוקניזציה מהווה רכיב קריטי בתהליך עיבוד רצפי החלבונים עבור המודל MinProtBERT, ומטרתו להמיר את רצפי החומצות האמיניות לייצוג מספרי המותאם לעיבוד על-ידי ארכיטקטורת ה-Transformers. באופן כללי, טוקניזציה היא שלב שבו מחלקים את רצף הקלט ליחידות בסיסיות הנקראות טוקנים, ומקצים לכל טוקן מזהה מספרי ייחודי. בפרויקט השתמשנו בTokenizer של מודל ProtBERT (מתוך HuggingFace, Rostlab/prot_bert) שנועד במיוחד לרצפי חלבונים ומבצע טוקניזציה ברמת חומצת אמינו – כל חומצת אמינו ברצף מיוצגת כטוקן אחד, בשונה ממודלי שפה טבעית בהם טוקן עשוי להיות מילה שלמה או חלק ממילה. בשלב עיבוד הנתונים הוגדר אלפבית קבוע של סוגי חומצות האמינו הסטנדרטיות, אליו הוספנו את התו X עבור חומצות אמינו לא ידועות או נדירות, לאחר שהחלפנו מראש תווים חריגים כמו U, Z, O ו- B ב-X כדי לשמור על עקביות. נוסף על כך, נעשה שימוש

בטוקנים מיוחדים על פי פורמט BERT: [CLS] בתחילת הרצף, המשמש לקבלת הווקטור הייצוגי של הרצף כולו לצורך משימות סיווג, [SEP] לסימון סיום רצף החלבון, [PAD] לריפוד רצפים קצרים, ו-[MASK] שמשמש רק בשלב קדם-האימון במשימת MLM (Masked Language Modeling). מאחר שהמודל תומך באורך רצף מקסימלי עד 512 חומצות אמינו, רצפים ארוכים יותר מנופים בהתאם ורצפים קצרים יותר עוברים ריפוד בשימוש בטוקנים [PAD]. חשוב לציין כי שימוש בטוקנייזר זהה לזה של מודל ה"מורה" (ProtBERT) מאפשר שמירה על עקביות מוחלטת במהלך שלבי האימון ומונע סטיות בייצוגי הטוקנים. שלב הטוקניזציה חיוני במיוחד כדי לאפשר למודל ללמוד ייצוגים עקביים של חומצות אמינו, לייצג רצפים באורכים משתנים בצורה יעילה, ולבצע הכללה מוצלחת למשימות חיזוי שונות, לרבות חיזוי חלבונים קושרי DNA, חיזוי מבנה שניוני (Q3) וסיווג חלבונים חוצי ממברנה (Q2).

המחשה:

במהלך תהליך הטוקניזציה במודל MinProtBER כל רצף חומצות אמינו עובר המרה לייצוגים מספריים (Embeddings), המשמשים כקלט למודל. כפי שמודגם בתרשים א', ההמרה מורכבת משלושה רכיבים עיקריים:

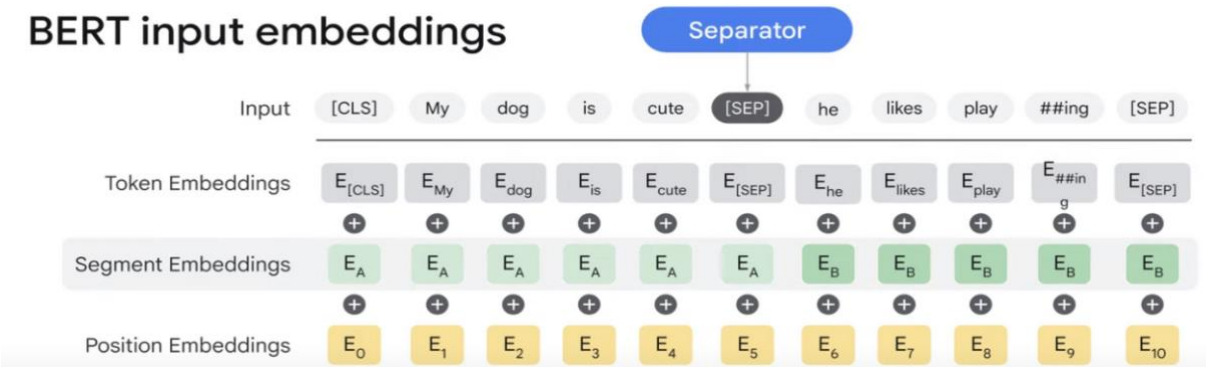
Token Embeddings - כל חומצת אמינו ברצף מומרת לוקטור צפוף במרחב מימדים גבוה. במודל שלנו, נעשה שימוש במרחב בגודל 1024 מימדים. בנוסף, מוסיפים טוקנים מיוחדים כפי שתואר להעיל.

Segment Embeddings - וקטורים המייצגים את "קטע" הרצף שאליו משתייכת כל חומצת אמינו. בפרויקט שלנו, לא נעשה שימוש בוקטורים אלו שכן כל הטוקנים שויכו לרצף יחיד בכל דגימה.

Position Embeddings - וקטורים המייצגים את המיקום הסדרתי של כל טוקן ברצף, כדי לאפשר למודל ללמוד את הסדר הלינארי של החומצות. הייצוג הזה קריטי להבנת מבנים מרחביים וחיזוי פונקציות ביולוגיות.

לבסוף, הרכיבים הללו מחוברים יחד ליצירת הייצוג הסופי של כל טוקן, מכאן ניתן להבין את חשיבות טוקניזציה הכוללת מידע על זהות החומצה האמינית, ההקשר שבו היא מופיעה והמיקום שלה ברצף.

תרשים א – טוקניזציה של קלט במודל מבוסס BERT



אתחול MinProtBERT

לצורך פיתוח מודל MinProtBERT, נעשה שימוש במודל ProtBERT כמודל "מורה", אשר אומן מראש על כ-215 מיליון רצפי חלבונים ממסד הנתונים UniRef100. בשלב האתחול יושם תהליך דיסטילציה, שבמסגרתו הופחתו 50% משכבות ה-Transformer של מודל המורה באופן רנדומלי, תוך שמירה על המשקולות

המקוריות של השכבות שנותרו, במטרה לשמר את מרבית הידע שנרכש במהלך שלב הקדם אימון. כתוצאה מתהליך זה נבנה מודל MinProtBERT, גרסה קומפקטית יותר של ProtBERT, אשר עושה שימוש ב-15 שכבות Transformer בלבד (לעומת 30 שכבות ב-ProtBERT) ומכילה כ- 230 מיליון פרמטרים בלבד, לעומת כ- 420 מיליון פרמטרים במודל המורה. בנוסף, MinProtBERT אותחל מחדש לאימון על דאטה-סט קטן וממוקד יותר של כ-43 מיליון רצפי חלבונים ממסד UniRef50, עם אורך רצף מקסימלי של 512 טוקנים, בהשוואה ל-ProtBERT שתומך ברצפים של עד 2048 טוקנים. השוואה זו מדגישה את יתרונותיו של MinProtBERT כמודל יעיל וקל משקל, המאפשר צמצום משמעותי בדרישות החישוביות, בנפח הזיכרון ובזמני הריצה, תוך שימור בסיס הידע שנלמד במודל המורה.

קדם אימון (Pretraining)

הקדם אימון נועד להקנות למודל התלמיד ייצוגים לשוניים כלליים לשפת החלבונים לפני ההתאמה למשימות הייעודיות. לשם כך אימצנו את תצורת הקדם אימון של DistilProtBERT, שבוצע על כ-43 מיליון רצפים ממאגר UniRef50, לאחר איסוף ועיבוד הנתונים וביצוע טוקניזציה, משימת הקדם אימון המרכזית הייתה Masked Language Modeling (MLM) - שיטה בה מסתירים באופן אקראי כ־15% מהטוקנים בכל רצף בעזרת הטוקן המיוחד [MASK], והמטרה של המודל היא לנבא את החומצות המוסתרות על סמך ההקשר הסמנטי והמבני של הרצף כולו, כך שמתקבל פלט של וקטור הסתברויות לאותה מילה. גישה זו מאפשרת למודל ללמוד ייצוגים סמנטיים עשירים של חומצות אמינו ושל דפוסי חלבון, גם ללא תוויות ביולוגיות חיצוניות, והיא מתאימה במיוחד לרצפים ביולוגיים שבהם תלותיות בין חומצות עשויות להיות הרחק במורד הזרם. כך ביצענו למידת מתויגת בשימוש בדאטה שאינו מתויג.

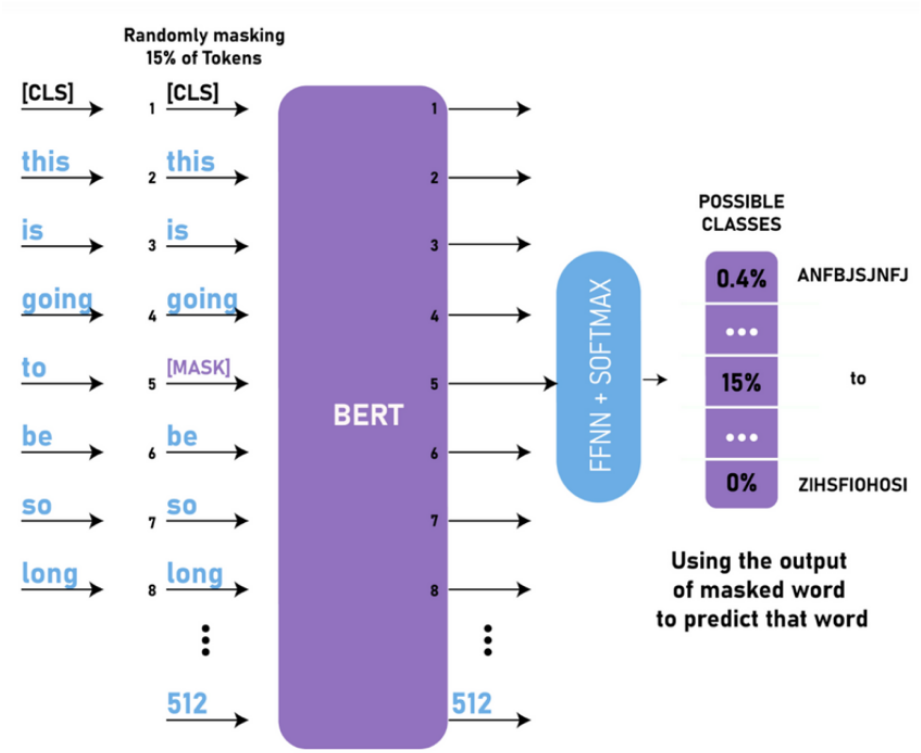
<u>המחשה:</u>

תרשים ב' מדגים את עקרון פעולת Masked Language Modeling (MLM), שהיא משימת הקדם אימון המרכזית ששימשה אותנו בפיתוח MinProtBERT.
בתהליך זה, כ־15% מהטוקנים ברצף (במקרה שלנו - חומצות אמינו) נבחרים באופן אקראי ומוחלפים בטוקן מיוחד [MASK]. המודל, המבוסס על ארכיטקטורת BERT, מקבל את הרצף כולו -כולל הטוקנים המוסתרים, ומטרתו היא לחזות מחדש את הטוקנים שהוסתרו על סמך ההקשר הגלובלי של כל הרצף.
בתרשים ניתן לראות כיצד רצף מילים (או חומצות אמינו, בהקשר שלנו) עובר לתוך המודל:

1. בתחילת הרצף נוסף טוקן מיוחד [CLS], שמייצג את סיכום המידע על כל הרצף.
2. כ־15% מהטוקנים, כמו למשל המילה "to" בדוגמה, מוחלפים ב- [MASK].
3. המודל מעבד את כל 512 הטוקנים במקביל באמצעות מנגנון Self-Attention, הלומד את הקשרים בין כל זוג טוקנים ברצף.
4. הפלט עובר דרך שכבת FFNN + Softmax, שמחשבת התפלגות הסתברויות לכל מילה אפשרית במילון.
5. המודל משחזר את המילה/הטוקן שהוסתר, למשל "to" על סמך ההקשר הכולל.

בכך, המודל לומד ייצוגים סמנטיים ועשירים של כל חומצת אמינו ושל ההקשרים בין חומצות שונות ברצף, גם ללא תוויות ביולוגיות חיצוניות. הבנה זו היא הבסיס ליכולת לבצע בהמשך Fine-Tuning למשימות ייעודיות כמו חיזוי חלבונים קושרי DNA, סיווג מבנה שניוני וסיווג חלבונים חוצי ממברנה.

תרשים ב – למידת MLM בתהליך Pretraining



האופטימייזר ששימש לאימון היה AdamW עם קצב למידה התחלתי של 5e−5 ו-3 אפוקים (סבבים). בפרוטוקול המקורי של DistilProtBERT האימון בוצע על מעבדי (DGX) 5× V100 32GB עם batch מקומי של 16 דגימות. כאשר כל אפוק ארך כ-4 ימים, סה"כ כל הקדם אימון ארך כ-12 יום. עם זאת, בפרויקט הנוכחי לא השלמנו את שלב הקדם אימון בשל מגבלות חומרה: סביבת ה-GPU שלנו (GTX 1080 Ti) לא התאימה לעיבוד בקנה מידה כזה. נשקלה אפשרות להשתמש ב-Google Cloud, אך לאחר בחינה של עלויות וזמני ריצה החלטנו לוותר ולעבור לשימוש במשקולות שהתקבלו ממודל DistilProtBERT מעבודתו של ירון גפן [5].

דיסטילציית ידע (Knowledge Distillation)

בפרויקט זה יישמנו תהליך מלא של Knowledge Distillation, שבו יצרנו את מודל MinProtBERT, על בסיס המודל "המורה" ProtBERT. הרעיון המרכזי בתהליך זה הוא 'זיקוק' הידע שנרכש על ידי המודל "המורה", שהינו מודל עשיר, עתיר בפרמטרים שנלמד על בסיס נתונים רבים, זמן ארוך ומשאבים יקרים. כאמור, תהליך הדיסטילציה החל בשלב האתחול, הורדה רנדומלית של 50% משכבות הטרנספורמר של המודל המורה, תוך שמירה על המשקולות של השכבות שנבחרו, על מנת לשמר את הידע המבני שנלמד במהלך קדם האימון. כך שכבר לאחר שלב זה קיבלנו את הצמצום הרב במשאבים ובזמן החישוב של מודל ה"תלמיד".

על מנת לצמצם כמה שניתן את הפגיעה בביצועים של מודל "התלמיד" בהשוואה למודל "המורה", העברת הידע התבצעה דרך פונקציית הפסד משולבת, הכוללת שלושה רכיבים מרכזיים:

$$\mathcal{L} = \frac{1}{3}(L_{mlm} + L_{ce} + L_{cos})$$

L_{MLM}:

$$L_{\text{mlm}} = -\frac{1}{|M|}\sum_{i\in M}\log p_S(x_i|\text{context})$$

- רכיב ההפסד L_{MLM} (Masked Language Modeling) משמש במהלך קדם האימון של MinProtBERT כדי ללמד את המודל להבין את "שפת החלבונים" מתוך רצפי חומצות אמינו.
בתהליך זה מוסתרים כ־15% מהטוקנים ברצף, והמודל נדרש לנבא את החומצות החסרות על סמך ההקשר הסובב.
הנוסחה מחשבת את הממוצע של ההפסדים עבור כל הטוקנים שהוסתרו: |M| מייצג את מספר הטוקנים המוסתרים, והסכימה מבוצעת רק עליהם. בתוך הסכימה הוא הלוג של ההסתברות שהמודל הסטודנט MinProtBERT ינבא נכונה את החומצה האמינית. המשמעות היא שכבל שהמודל מצליח לנבא טוב יותר את החומצות המוסתרות - ההפסד קטן, ותהליך הקדם אימון משפר את היכולת של המודל ללמוד ייצוגים סמנטיים ותפקודיים מדויקים יותר לחלבונים.

$L_{Distill}$:

$$L_{\text{distill}} = \mathbb{E}\left[-\sum_{v} p_T^{(\tau)}(v)\cdot\log p_S^{(\tau)}(v)\right]$$

$$p_T^{(\tau)} = \text{softmax}\left(\frac{z_T}{\tau}\right), \quad \log p_S^{(\tau)} = \log\text{softmax}\left(\frac{z_S}{\tau}\right)$$

- רכיב ה- $L_{Distill}$ אחראי על העברת הידע ממודל המורה (ProtBERT) למודל התלמיד (MinProtBERT). בנוסחה p_T מייצג את ההתפלגות של המורה (ProtBERT) על פני כל הטוקנים במילון, ואילו p_S מייצג את ההתפלגות המקבילה של התלמיד (MinProtBERT).
ההתפלגויות מחושבות באמצעות Softmax עם פרמטר τ שתפקידו לרכך את ההתפלגות, כך שבמקום לקבל פלט חד מאוד, נקבל הסתברויות מפוזרות יותר, מה שמקל על המודל התלמיד ללמוד את הדפוסים הפנימיים שהמורה מזהה.
רכיב זה מחשב את הפער בין ההסתברויות של המורה להסתברויות של התלמיד באמצעות **Cross-Entropy** בין שתי ההתפלגויות. המטרה היא לגרום לתלמיד לחקות כמה שיותר טוב את הפלטים של המורה, ובכך ללמוד מידע סמוי על יחסים בין טוקנים שהמורה רכש במהלך קדם האימון על דאטה גדול בהרבה.

L_{COS}:

$$L_{\cos} = 1 - \mathbb{E}\left[\frac{\langle h_S, h_T\rangle}{\|h_S\|\cdot\|h_T\|}\right]$$

- רכיב ה-L_{cos} , מבוסס על דמיון הקוסינוס בין ה- Hidden States של מודל המורה (ProtBERT) ומודל התלמיד (MinProtBERT). מטרתו של רכיב זה היא להבטיח שהתלמיד לא רק ילמד לשחזר את הפלטים הסופיים של המורה, אלא גם יחקה את הייצוגים הפנימיים של המורה בשכבות העמוקות של רשת המודל. הנוסחה מחשבת את הדמיון הקוסיני (Cosine Similarity) בין הווקטורים של הייצוגים הנלמדים, כאשר h_s מייצג את ה- hidden state של מודל התלמיד ו- h_T מייצג את ה-hidden state של מודל המורה. הדמיון הקוסיני מודד עד כמה שני הווקטורים מצביעים לאותו כיוון במרחב, ללא קשר לגודל שלהם. ערך קרוב ל־1 מעיד על דמיון גבוה, בעוד ערך קרוב ל־0 מעיד על שונות גבוהה.
  ככל שהדמיון בין הייצוגים של המורה והתלמיד גדול יותר - ההפסד קטן יותר. רכיב זה חשוב כיוון שהוא מאפשר למודל התלמיד לשמר ידע סמנטי עמוק מהמורה, גם אם המודל קטן יותר ומכיל פחות שכבות ופרמטרים.

Fine tuning for benchmark tasks

בשלב ה־Fine-Tuning, לאחר קדם־האימון והדיסטילציה, דייקנו את MinProtBERT למשימות המסוימות של הפרויקט, כאשר לכל משימה הותאמה שכבת סיווג ייעודית מעל המודל המאומן מראש באמצעות סביבת Hugging Face Transformers, המאפשרת הוספה נוחה של שכבת סיווג ייעודית למשימה.
בשונה מקדם האימון, שבו המודל לומד ייצוגים כלליים של רצפי חלבון, בשלב זה המודל מותאם כך שיפיק תחזיות מדויקות עבור משימות סיווג ממוקדות. האימון הינו אימון מתויג, עם סטים שנאספו מראש כפי שציינו בשלבים הקודמים.

כל שלבי ה-Fine Tuning בוצעו ללא הקפאת שכבות, כך שכל 15 שכבות ה-Transformer של MinProtBERT המשיכו להתעדכן, אך בנפרד – כך שכל משימה עושה שימוש באותו המודל הpre-trained עבור האימון והמבחן.
בנוסף, השתמשנו באותם היפר פרמטרים עבור כלל המשימות: learning rate של 2e-5, אופטימיזר AdamW, Batch Size של 8 דגימות, שלושה אפוקים, והוספת רגולריזציה קלה באמצעות weight decay של 0.01. מדובר בהיפור-פרמטרים סטנדרטיים, ומתואמים לאלו שהיו בשימוש בשיטת הדיסטילציה כפי שהופיעה בDistilBert [4].

במהלך תהליכי ה־Fine-Tuning אספנו באופן אוטומטי את מדדי Accuracy, AUC ו־F1 באמצעות מחלקות המעקב המובנות של Transformers Trainer API, כך שניתן היה לבצע השוואה עקבית ושיטתית בין המשימות השונות.

בגישה זו, יכולנו להתאים את המודל בצורה מיטבית למגוון רחב של משימות ביואינפורמטיות, תוך שמירה על יציבות האימון והכללה טובה בין משימות ודאטא סטים שונים.

חלוקה למשימות השונות

במשימת חיזוי מבנה שניוני (Q3), הוספנו למודל ראש סיווג לכל טוקן (All-Tokens Classification Head) - שכבת לינארית המחוברת לכל אחד מה-hidden states של חומצות האמינו. כך, כל חומצת אמינו ברצף קיבלה תחזית ישירה לגבי המבנה שלה: Helix, Strand או Coil על בסיס ההקשר הכולל של הרצף.

לעומת זאת, במשימת סיווג חלבונים חוצי ממברנה מול חלבונים מסיסים (Q2) - השתמשנו באסטרטגיית First-Token Classification Head. כאן, הוספנו שכבת סיווג לינארית על הייצוג של טוקן ה-[CLS] בלבד. מכיוון שטוקן זה מקודד אינטגרציה של כל ההקשרים ברצף, הוא מייצג בצורה מיטבית את החלבון כולו ומאפשר קבלת החלטה בינארית האם החלבון ככלל הוא חוצה ממברנה או לא.

במשימת חיזוי חלבונים קושרי DNA, השתמשנו גם כן בשכבת סיווג על גבי טוקן ה-[CLS], כיוון שמדובר בהחלטה ברמת החלבון כולו ולא ברמת הטוקן הבודד. בנוסף, ביצענו Fine-Tuning זהה על סטים שונים דל דאטה: סט אנושי, סט של *C. elegans*, וסט משולב של ארכיאה וחיידקים - כל אחד נבחן בנפרד כדי להעריך את יכולת ההכללה של המודל בין אורגניזמים שונים.

לאחר מכן, ביצענו Fine-Tuning נוסף על תתי סטים מסוננים של דאטא סט החלבונים האנושיים, שהופרדו באמצעות סינון חכם (SUB) ו-סינון אקראי (CUT) כפי שפירטנו קודם לכן, כדי לבדוק את השפעת עודפות הרצפים על ביצועי המודל.

לבסוף, אימנו את MinProtBERT על אותם נתוני אימון שהוגדרו במאמר DeepWet, ובחנו אותו על סט המבחן התואם. ההרצה בוצעה, תוך הוספת שכבת סיווג פשוטה לייצוג [CLS] של כל רצף – כפי שעשינו קודם. ביצועי המודל נבחנו לפי אותם מדדים ששימשו במאמר המקורי: דיוק (Accuracy), שטח מתחת לעקומה (AUC) ומקדם מתאם (MCC).

תוצאות

תוצאות כלליות – השוואה בין ProtBert ו-MinProtBert

בשלב הראשון של הניסויים בחנו את ביצועי המודל שפותח (MinProtBERT) לעומת מודל הבסיס ProtBERT בשלוש משימות מרכזיות:

1. חיזוי מבנה שניוני של חלבונים (Secondary Structure Prediction, Q3).
2. חיזוי חלבון ממברנלי (Membrane Protein Classification, Q2).
3. חיזוי קישור DNA לחלבון (DNA Binding Classification).

מדדי ביצועים:

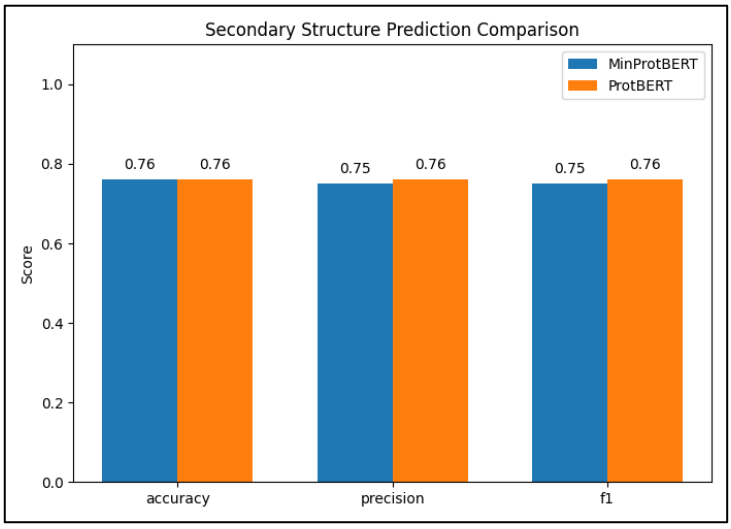
- Accuracy: אחוז החיזויים הנכונים הכולל.
- Precision: דיוק החיזויים החיוביים (מתייחס ל-false positives).
- F1 score: מאזנת בין Precision ל-Recall, שימושי במיוחד במצבים של קלאסים לא מאוזנים.

התוצאות עבור שלושת מבחני fine-tune השונים מובאות בטבלה א ובהרחבה בגרפים א-ד:

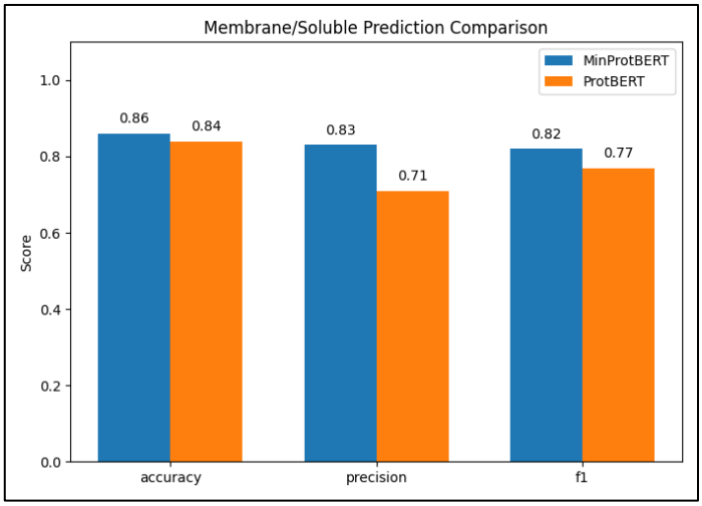
טבלה א – השוואת ביצועי MinProtBERT מול ProtBERT

משימה	מודל	Precision	Accuracy	F1	Runtime (דקות)
מבנה שניוני (Q3)	ProtBERT	0.76	0.76	0.76	387
	MinProtBERT	0.75	0.76	0.75	132
ממברנלי (Q2)	ProtBERT	0.71	0.84	0.77	697
	MinProtBERT	0.83	0.86	0.82	586
קישור DNA	ProtBERT	0.97	0.971	0.97	443
	MinProtBERT	0.96	0.969	0.97	273

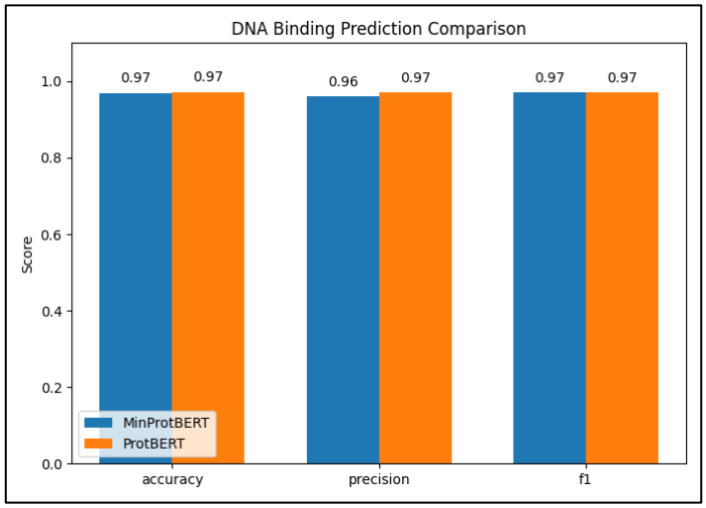
גרף א – השוואה בין המודלים במשימת חיזוי מבנה שניוני



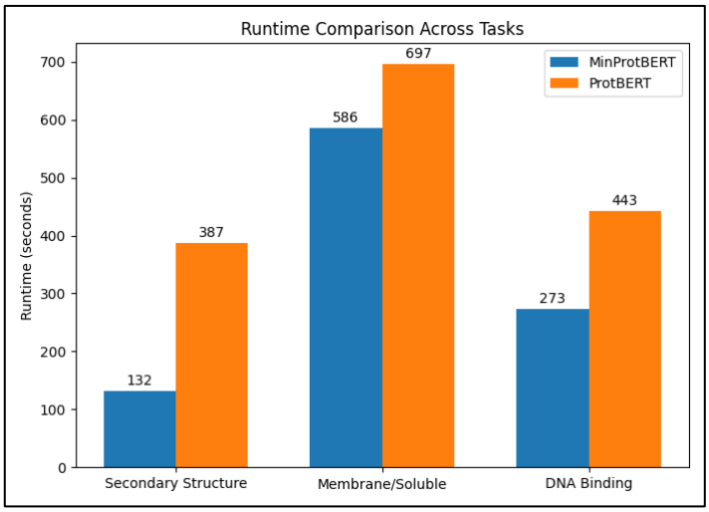
גרף ב – השוואה בין המודלים במשימת חיזוי חלבון ממברנלי/מסיס



גרף ג – השוואה בין המודלים במשימת חיזוי קשירת DNA



גרף ד – השוואה בין המודלים בזמני ריצה



שמירה על ביצועים במקביל לחיסכון במשאבים:

<u>שמירת ביצועים:</u>

כפי שניתן לראות בטבלה א - MinProtBERT מצליח לשמור על ביצועים כמעט זהים לאלו של ProtBERT בכל שלוש המשימות, על אף היותו מודל קטן ויעיל יותר חישובית. בפרט, הוא שומר על Accuracy בטווח של כ-0.02 מתוצאות המקור.

<u>יתרון במשימת הממברנלי:</u>

כפי שניתן לשים לב בגרף ב - מעניין לראות כי במשימת סיווג חלבונים ממברנליים MinProtBERT אף מתעלה על ProtBERT בכל המדדים (Accuracy, Precision, F1) ובפרט שיפור של 0.05 ב-F1. ייתכן שהפשטות היחסית של המודל אפשרה לו הכללה טובה יותר בדאטה זה, שלא דורש מודל מורכב ומספר רב של שכבות.

יעילות חישובית:

לפי גרף ד, זמן הריצה של MinProtBERT קצר משמעותית בכל המשימות – חיסכון של עשרות אחוזים לעומת ProtBERT עם שונות רבה. כך למשל יש חיסכון של 16% במשימת חיזוי חלבון ממברנלי ו66% ריצה במשימת חיזוי מבנה שניוני, כך שמשימה ארוכה יותר מביאה לשיפור זניח יותר. הדבר ממחיש את הערך המעשי של תהליך ה-distillation: מודל קטן יותר שמאפשר אימון והרצה מהירים בהרבה.

משימת קישור DNA:

לפי גרף ג, במשימה המרכזית – חיזוי חלבונים קושרי DNA – שני המודלים הגיעו לתוצאות כמעט זהות (F1 =0.97), כלומר MinProtBERT מצליח לעמוד בסטנדרט הגבוה של ProtBERT גם כאן, ובכך מממש את מטרת הפרויקט. ובנוסף, עמידה במשימת זיהוי קשירת דנ"א בשימוש במודלי שפה.

תוצאות השוואה – קשירת דנ"א

השוואה בין גדלי הסטים

כדי לבחון האם ביצועי המודל נשענים על נוכחותם של רצפים דומים מאוד בדאטה-סט, ביצענו ניסוי סינון על פי אחוז דמיון בין רצפים. מטרת הניסוי הייתה לוודא כי המודל אינו מסתמך על זיהוי טריוויאלי של חלבונים כמעט זהים, וכי הוא מסוגל להכליל (generalize) גם במצבים בהם קיימת שונות גבוהה יותר בין הרצפים.

בוצעו שני סוגי סינון:

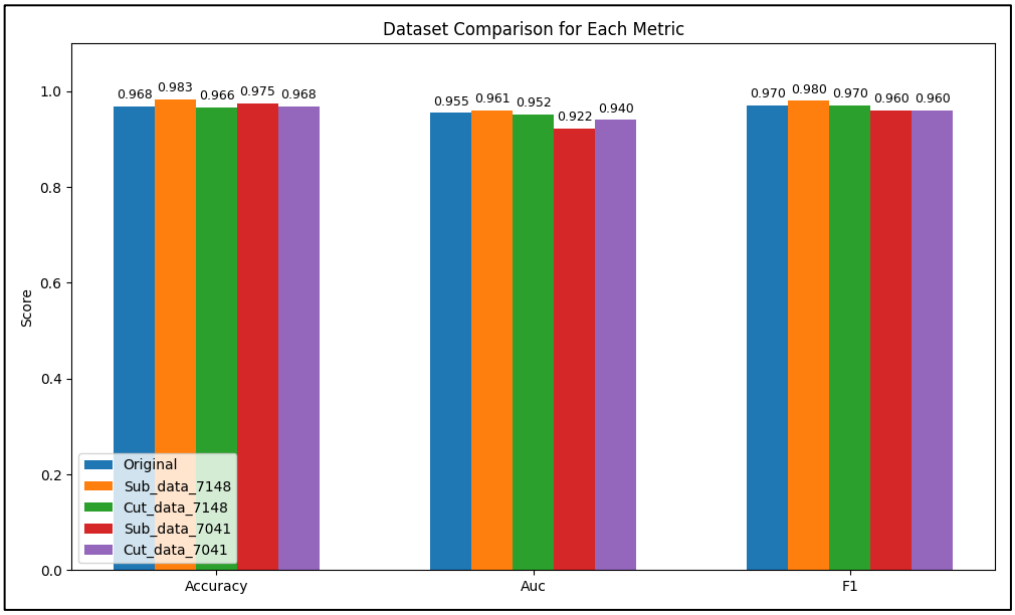
1. סינון חכם (sub) – איחוד רצפים בעלי דמיון גבוה (מעל 0.85 ומעל 0.75) כך שיישאר ייצוג אחד מכל קבוצה דומה.
2. סינון אקראי (cut) – בחירת תת-קבוצה אקראית בגודל זהה לתת-הקבוצה שנוצרה מהסינון החכם, לצורך השוואה.

תוצאות הניסוי מובאות בהרחבה בטבלה ב':

טבלה ב – תוצאות MinProtBert במבחן קשירת DNA עבור סטים בגדלים שונים

סט נתונים	גודל	Accuracy	AUC	F1
Full dataset	12600	0.9682	0.9552	0.97
Sub (SIM ≤ 0.15)	7148	**0.9832**	**0.961**	0.98
Cut (Random 7148)	7148	0.966	0.9521	0.97
Sub (SIM ≤ 0.25)	7041	0.9754	0.9218	0.96
Cut (Random 7041)	7041	0.9679	0.9404	0.96

גרף ה – השוואה סטים בגדלים שונים במבחן קשירת DNA



כפי שניתן לראות בהדגשה בטבלה ב, הסינון החכם של רצפים דומים – SUB (במיוחד ברמת דמיון של 0.85) – לא הוביל לירידה בביצועי המודל, אלא אף לשיפור ב-Accuracy ו-F1 בהשוואה לדאטה-סט המלא. לעומת זאת, סינון אקראי (CUT) בגודל מקביל לא הניב שיפור משמעותי, והמדדים שמרו על רמתם כמעט זהה לדאטה המלא.

תוצאה זו מעידה כי בחלק מהדאטה-סט המלא, ביצועי המודל נבעו מאימון על רצפים דומים מדי, מה שגרם ל-overfitting לרצפים חוזרים. הסרת הדמיון הגבוה אפשרה למודל ללמוד ייצוגים כלליים יותר, ולשפר את ביצועי המדדים.

כדי להבין את התופעה טוב יותר, נבחן את טיב הדאטה עצמו. חישוב אחוז הדמיון המקסימלי בין רצפים עם תיוגים שונים הראה מספר זוגות עם דמיון גבוה מאוד, עד כ־97%, כמו למשל בין RPS27 ל-RPS27L. שני החלבונים הם חלק מתת-היחידה הקטנה של הריבוזום (S40) והם כמעט זהים ברצף החומצות שלהם, אך הם פאראלוגים – כלומר חלבונים שהתפתחו מנקודת מוצא משותפת עם שינויים פונקציונליים קלים. ההבדלים הקטנים ברצף מכתיבים הבדלים בביטוי ברקמות שונות או בתגובה למצבי עקה תאיים. כתוצאה מכך, RPS27L לעיתים קשור למנגנוני תיקון DNA ומסומן כקושר-DNA, בעוד ש-RPS27 אינו משתתף במנגנונים הללו, ולכן קיבל תיוג שונה בבסיס הנתונים. לכן, נוכחות של שני החלבונים האלה במהלך האימון לדוגמה, מקשה על המודל להבחין בהבדל הדק שמשפיע על התיוג שלהן.

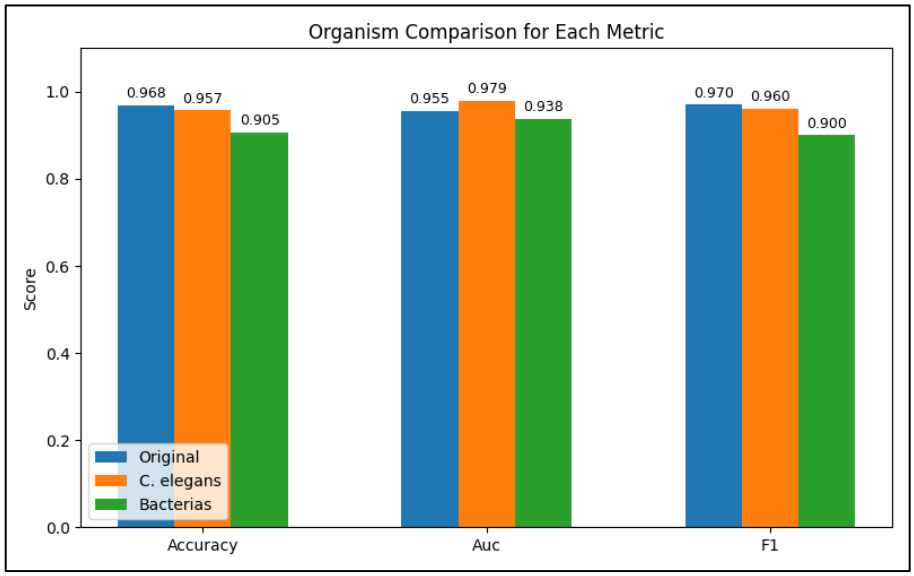
תוצאות – השוואת ביצועים בין אורגניזמים שונים

כחלק מבדיקת איכות הריצה בשאלת קשירת דנ"א, בחנו את ביצועי המודל על סט הנתונים המקורי של Homo sapiens לעומת אורגניזמים אחרים, תוך שימוש באותם מדדים: Accuracy, AUC ו-F1.
טבלה ג' להלן מתארת את התוצאות:

טבלה ג – תוצאות MinProtBert במבחן קשירת DNA עבור אורגניזמים שונים

סט נתונים	Accuracy	AUC	F1
Original data (Human)	0.9682	0.9552	0.97
C. elegnas	0.957	**0.979**	0.96
Bacteria & Archea	0.905	0.938	0.9

גרף ו – השוואה בין סטי אורגניזמים שונים במבחן קשירת DNA



מהטבלה והגרף ניתן לראות מספר ממצאים מעניינים:

- עבור C. elegans, אין ירידה חדה ב-Accuracy או ב-F1 ביחס לסט האנושי, ואפילו נרשמה עלייה ב-AUC, מה שמעיד על יכולת כללית טובה של המודל ללמוד ייצוגים כלליים של רצפים גם באורגניזם זה.
- עבור בקטריות וארכאה, נצפתה ירידה בביצועים בכל המדדים. סביר כי ירידה זו נובעת מהעובדה שבשלב ה-pretraining על UniRef50, מודל ProtBERT ומורשו MinProtBERT נחשפו בעיקר לרצפים אוקריוטיים, ופחות לרצפים של בקטריות וארכאה, ולכן הייצוגים של רצפים אלו פחות מוכרים למודל.
- מסקנה עיקרית היא כי המודל מצליח לשמור על ביצועים טובים יחסית גם על אורגניזמים רחוקים מאדם, אם כי עבור אורגניזמים פחות ייצוגיים ב-pretraining ניכרת ירידה, כפי שמודגם בביצועים עבור בקטריות וארכאה.

השוואת ביצועים למודלים נוספים בתחום זיהוי קשירת DNA

כחלק מהערכת היכולת הכללית של MinProtBERT לזהות חלבונים קושרי DNA, השווינו את ביצועיו למודלים נוספים שפורסמו לאחרונה בתחום. מצאנו מאמר עדכני, Deep-WET, שמתאר שיטה מבוססת למידה עמוקה לזיהוי חלבונים קושרי DNA על בסיס רצפי חומצות אמינו בלבד. Deep-WET משתמש בשילוב של שלושה סוגי קידוד רצפים (Global Vectors, Word2Vec ו-fastText), משקלל את התכונות באמצעות אלגוריתם Differential Evolution, ומסנן תכונות לא רלוונטיות לפני הזנתן לרשת קונבולוציונלית. בניגוד למודל שלנו, Deep-WET אומן על דאטה-סט קטן יחסית, הכולל כ־2,000 רצפים לאימון וכ־300 למבחן.

כדי לבצע השוואה ישירה, הרצנו את MinProtBERT על אותו דאטה-סט והערכת הביצועים ניתנה לפי Accuracy, AUC ו-MCC. להלן טבלה ד' המציגה את התוצאות:

טבלה ד – תוצאות MinProtBert וDeepWet במבחן קשירת DNA

מודל	Accuracy	AUC	MCC
MinProtBert	0.7939	**0.8361**	0.5885
DeepWet	0.7808	0.805	0.559

מטבלה ד, ניתן לראות כי MinProtBERT מציג ביצועים טובים יותר בכל המדדים בהשוואה ל-DeepWet בכל המדדים. בפרט, במדד AUC המודגש – אנו רואים כי יש שיפור מ0.805 ל0.8361, שיפור משמעותי במדד זה.

מסקנה עיקרית היא כי גם על סט קטן וסטנדרטי כזה, MinProtBERT מצליח לשמור על ביצועים גבוהים יותר מהמודלים האחרים, ומראה כי הידע שנצבר ב-pretraining וב-distillation מאפשר לו לבצע זיהוי מדויק ואמין של חלבונים קושרי DNA, גם כאשר הנתונים מוגבלים בגודלם. התוצאה מחזקת את היכולת של המודל להתמודד עם משימות זיהוי חלבונים קריטיות ולהציע שיפור אמיתי לעומת גישות קיימות.

סיכום ודיון

התוצאות שהוצגו מעל מדגימות את היכולת של MinProtBERT לשמר ביצועים גבוהים, כמעט ברמת ProtBERT, תוך הפחתת משאבים חישוביים בצורה משמעותית. ניתן להצביע על מספר נקודות עיקריות המשקפות את היכולות והיתרונות של מודלי שפה גדולים וקטנים בתחום הביואינפורמטיקה.

ראשית, השימוש בתהליך ה-distillation ליצירת MinProtBERT ממחיש כיצד ניתן ליצור מודל קומפקטי ויעיל חישובית מבלי לפגוע בביצועים. Distillation מאפשר העברת ידע ממודל גדול ומורכב (ProtBERT) למודל קטן יותר, כך שהמודל הקטן "לומד" את הדפוסים המרכזיים ללא הצורך בכל השכבות והפרמטרים הרבים של המודל המקורי. זה בא לידי ביטוי בזמני הריצה הקצרים יותר של MinProtBERT, לצד שמירה על ביצועים כמעט זהים, ואפילו שיפור במדדים במשימת חלבונים ממברנליים, שבה מודל פשוט יחסית מצליח

להכליל טוב יותר.
אמנם, יש לציין כי החיסכון יכול להגיע לעשרות אחוזים, אך עם שונות ניכרת בין משימות שונות. שונות זו יכולה להיות מוסברת, למשל, בעומס משתנה על השרתים בהם הופעלו המודלים: בעת ביצוע ניסויים במקביל למטלות אחרות או תחת עומס מערכת גבוה, זמני הריצה נוטים להיות ארוכים יותר. לכן, אף על פי שהשוואה כזו אינה מדויקת לחלוטין, היא ממחישה בבירור כי המודל הקומפקטי מציע יתרון מעשי משמעותי בזמן ריצה, מה שמדגיש את הערך של תהליך ה-distillation במיוחד בסביבות שבהן משאבים מוגבלים.

שנית, הממצאים ממחישים את יעילותם של מודלי שפה חלבוניים (Protein Language Models) במטלות שונות של זיהוי תכונות חלבונים. השימוש ב-pretraining על מאגרי רצפים רחבים כמו UniRef50 מאפשר למודל ללמוד ייצוגים עשירים של רצפים, המאפשרים הכללה על מטלות שונות, גם במצבים בהם הדאטה-סט קטן או חלקי. תכונה זו בולטת במיוחד בהשוואות בין אורגניזמים שונים: בעוד שסט הנתונים של Homo sapiens משמר ביצועים גבוהים, סטים מאורגניזמים רחוקים יותר (כגון בקטריות וארכאה) מצביעים על ירידה במדדים, כנראה בשל ייצוג נמוך של רצפים אלו ב-pretraining. עם זאת, אפילו עבור C. elegans לא נצפתה ירידה חדה ב-Accuracy או ב-F1, ואף נרשמה עלייה ב-AUC, מה שמעיד על יכולת הכללה מרשימה של המודל על רצפים קרובים ביולוגית.

בהקשר של זיהוי חלבונים קושרי DNA, המודל מראה יתרון ברור בהשוואה לגישות אחרות שפורסמו לאחרונה, כגון Deep-WET. MinProtBERT מצליח לשפר את כל המדדים – Accuracy, AUC ו-MCC – על סט קטן ומוגבל בגודלו, המראה כי הידע הנצבר ב-pretraining וב-distillation מאפשר זיהוי אמין גם עם דאטה מוגבל.

כמו כן, ממצא זה מסביר מדוע הסינון החכם (SUB) משפר ביצועים: הסרת רצפים כמעט זהים אך עם תיוגים סותרים הפחיתה רעש תיוג והקטינה את התלות בכפילויות, כך שהמודל נאלץ ללמוד ייצוגים כלליים יותר ולזהות דפוסים אמיתיים הקשורים לתיוג, במקום להסתמך על שוני נקודתי בין רצפים כמעט זהים. נקודה זו היא גם חולשה במודל – הוא אינו מצליח להבחין בהבדלים דקים שבין רצפים עם תיוג שונה.

סינון אקראי (CUT) לא פוגע בביצועים, מה שמעיד על חוסן המודל בפני צמצום אקראי של הדאטה – שמירה על גיוון ורמת דמיון כללית מספיקה כדי לשמר את היכולת ללמוד ייצוגים שימושיים.

לסיכום, התוצאות מדגישות את היתרון המשולב של מודלי שפה חלבוניים עם distillation: יכולת הכללה גבוהה, חיסכון חישובית משמעותי, והתמודדות טובה עם משימות מורכבות כמו זיהוי חלבונים קושרי DNA. יתרון זה חשוב במיוחד ליישומים ביואינפורמטיים שבהם משאבים מוגבלים, ומחזק את המגמה להשתמש במודלים קומפקטיים אך עוצמתיים בתחום חיזוי תכונות חלבונים.

כיווני מחקר לעתיד

למרות ההישגים המרשימים של MinProtBERT, מספר כיווני מחקר מעניינים עדיין פתוחים לחקירה והרחבה:

1. <u>השוואה למודלים נוספים</u>

ניתן להרחיב את ההשוואה למודלים נוספים שפותחו לאחרונה לזיהוי חלבונים קושרי DNA או חיזוי תכונות חלבונים אחרות. מודלים מבוססי Transformers שונים, רשתות קונבולוציונליות, או מודלים היברידיים עם קידוד תכונות ביולוגיות (כגון Deep-WET) מציעים נקודות השוואה נוספות. מחקר מעמיק יוכל לבחון:

- כיצד MinProtBERT מתמודד מול מודלים עם ארכיטקטורה שונה או מאגרי דאטה שונים.
- אילו מאפיינים ביולוגיים ומבניים המודל הקטן מצליח ללמוד טוב יותר ממודלים אחרים.
- היכן המודל לא מצליח להגיע לתוצאות די טובות, כלומר היכן החולשות של מודל מבוסס NLP.

2. <u>חקר רצפים דומים מאוד עם תיוג שונה</u>

הממצא של זוגות רצפים כמעט זהים אך בעלי תיוגים שונים (כגון RPS27 ו-RPS27L) מצביע על אתגר ביולוגי ומחקרי מעניין:

- ניתן לבדוק האם המודל מסוגל ללמוד הבחנה מבוססת על תת-רצף קטן, שבו ההבדלים הפונקציונליים מתבטאים.
- חקירה מעמיקה של תתי-האזורים השונים ברצף יכולה לחשוף אילו פיסות מידע ביולוגי קריטיות לזיהוי פונקציה שונה, ומה מייחד את תת-החלק הזה מבחינת מבנה או קישור.
- פיתוח שיטות לניתוח ויזואלי של תשומת הלב (attention maps) לפי טוקנים עשוי לסייע לזהות את תתי-האזורים בהם המודל מתמקד להבחנה בין פאראלוגים דומים.

3. <u>חיזוי קשירת DNA ברמת בטוקן</u>

כיוון נוסף הוא הרחבת חיזוי קשירת DNA לרמת החומצה האמינית (token-level):

- המטרה היא לזהות באילו חומצות אמינו ברצף נוצר הקישור ל-DNA, ולא רק להעריך האם חלבון מסוים קושר DNA.
- חקירה כזו תאפשר זיהוי דפוסי רצף ספציפיים, קווים משותפים בין רצפים שונים, ואולי גם הבנה של תפקיד ההבדלים הקטנים בין רצפים כמעט זהים.
- שילוב של מודלי שפה פר-טוקן עם ידע מבוסס מבנה חלבוני עשוי להעצים את הדיוק ולספק יכולת ניתוח ביולוגי עשיר יותר, והבנה יותר טובה של אותן תתי-רצף שמאפשרים הבדל פונקציונאלי.

הכיוונים שהוצגו מאפשרים לא רק שיפור ביצועים, אלא גם הרחבת ההבנה הביולוגית של רצפים דומים עם תיוגים שונים, חקר קשר רצף-פונקציה ברמת הטוקן, והרחבת שימושי המודל למשימות שונות בתחום הביואינפורמטיקה. גישה זו מחזקת את הפוטנציאל של מודלים קומפקטיים אך רבי-עוצמה בשימור דיוק תוך חיסכון חישובית משמעותי.

ביבליוגרפיה

מאמרים:

[1] Vaswani, A., Shazeer, N., Parmar, N., Uszkoreit, J., Jones, L., Gomez, A. N., Kaiser, Ł., & Polosukhin, I. (2017). Attention is all you need. Advances in Neural Information Processing Systems, 30.

[2] Devlin, J., Chang, M.-W., Lee, K., & Toutanova, K. (2018). BERT: Pre-training of Deep Bidirectional Transformers for Language Understanding. NAACL-HLT.

[3] Brandes, N., Ofer, D., Peleg, Y., Rappoport, N., & Linial, M. (2022). ProteinBERT: A universal deep-learning model of protein sequence and function. Bioinformatics.

[4] Sanh, V., Debut, L., Chaumond, J., & Wolf, T. (2019). DistilBERT, a distilled version of BERT: smaller, faster, cheaper and lighter. arXiv preprint arXiv:1910.01108.

[5] Geffen, Y., Ofran, Y., & Unger, R. (2022). DistilProtBert: Distillation of Protein Language Models. bioRxiv.

[6] Mahmud, S. M. H., Goh, K. O. M., Hosen, M. F., Nandi, D., & Shoombuatong, W. (2024). Deep-WET: Deep learning for protein–DNA binding prediction. Briefings in Bioinformatics.

מאגרי דאטה:

[1] UniRef50 (Uniprot Consortium, 2019) - מאגר רצפי חלבונים מקובצים לפי 50% דמיון רצפים, שימש עבור Pretraining של מודל השפה החלבוני.

[2] UniProtKB/Swiss-Prot (Uniprot Consortium, 2024) - רצפי חלבונים ממוינים עם אנוטציה איכותית, שימשו למשימות זיהוי חלבונים קושרי DNA.

[3] DeepLoc (Almagro Armenteros et al., 2017) - מאגר עבור סיווג חלבונים ממברנליים ומומסיים.

[4] CASP12, CB513, TS115 (מקורות שונים) - סטי Benchmark לחיזוי מבנה שניוני של חלבונים (משימת Q3).