SVEUČILIŠTE U RIJECI

TEHNIČKI FAKULTET

Diplomski sveučilišni studij računarstva

Diplomski rad

ANALIZA SLIČNOSTI PEPTIDA TEMELJENA NA LATENTNOM PROSTORU AUTOENKODERA

Rijeka, rujan 2023.

Bruno Novosel
0069078199

SVEUČILIŠTE U RIJECI

TEHNIČKI FAKULTET

Diplomski sveučilišni studij računarstva

Diplomski rad

ANALIZA SLIČNOSTI PEPTIDA TEMELJENA NA LATENTNOM PROSTORU AUTOENKODERA

Mentor: doc. dr. sc. Goran Mauša

Rijeka, rujan 2023.

Bruno Novosel
0069078199

IZJAVA

Izjavljujem da sam ovaj rad izradio samostalno, uz vodstvo i stručnu pomoć mentora doc. dr. sc. Gorana Mauše i asistenta Marka Njirjaka.

_____

Bruno Novosel

ZAHVALA

Zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Goranu Mauši i asistentu Marku Njirjaku na pomoći i stručnom vođenju kojim su me vodili kroz izradu ovog rada i što su mi uvijek bili na raspolaganju.

Sadržaj

1. UVOD

Zahvaljujući napretku medicine i znanosti, otkrivena su i proizvedena mnoga cjepiva i lijekovi koji su značajno doprinijeli suzbijanju raznih bolesti kod ljudi. Unatoč tome, mnoge bolesti i dalje predstavljaju veliku prijetnju ljudskom zdravlju te se neprestano traže nova rješenja za njihovo suzbijanje. U tom kontekstu, peptidi su se istaknuli kao obećavajuće novo rješenje pri liječenju. Iako se još uvijek smatraju pomalo nekonvencionalnim pristupom liječenju raznih bolesti i infekcija i relativno su brojčano ograničeni, peptidi su pokazali obećavajuće rezultate u mnogim istraživanjima [1]. U prirodi postoje peptidi s različitim funkcijama, ali ograničena raznolikost sekvenci unutar ovih molekula ograničava i spektar njihove primjene pa se zbog toga pokušava sintetizirati nove peptide koji će imati željena svojstva. Međutim, predviđanje svojstava novo sintetiziranih peptida i poboljšanje postojećih metoda predviđanja još uvijek ima prostora za napredak.

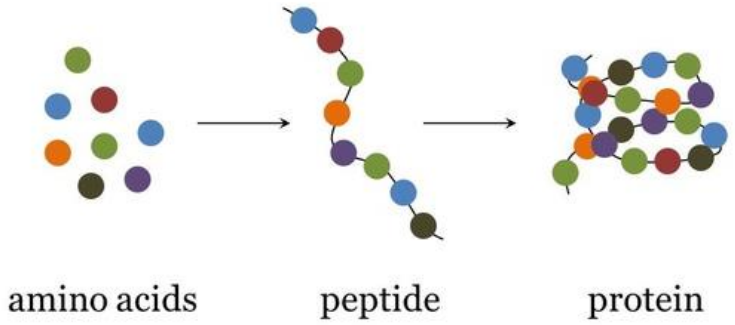
Temeljem dosadašnjih uspjeha metoda strojnog učenja na ovom području, u ovom radu koristi se varijacijski autoenkoder kako bi veliki broj peptida opisanih njihovim fizikalno-kemijskim značajkama prikazali u latentom prostoru autoenkodera. S obizrom na to da su se brojne fizikalno-kemijske značajke peptida pokazale kao potencijalni indikatori antimikrobne ili antiviralne učinkovitosti [2], u latentnom prostoru tada možemo promatrati sličnost među pojedinim vrstama i podvrstama peptida sa željenim svojstvima. Također, može se postaviti pitanje postoji li korelacija između takve sličnosti, dobivene u latentnom prostoru autoenkodera, i sličnosti izračunate prema sekvencama pojedinih peptida.

Ovaj rad predstavlja metode i rezultate istraživanja koji prikazuju potencijal korištenja strojnog učenja za istraživanje peptida u svrhu otkrivanja novih lijekova. Korištenjem ovakvih računalnih metoda, cilj je ubrzati otkrivanje i dizajn antimikrobnih i antiviralnih peptida s poboljšanom učinkovitošću.

2. PEPTIDI

2.1. Što su peptidi?

Peptidi su biomolekule prisutne u svim živim organizmima. Kao i proteini, sastavljeni su od aminokiselina povezanih peptidnim vezama u polipeptidne lance, a razlikuju se po broju aminokiselina od kojih se sastoje. Polipeptidne lance do 50 aminokiselina smatramo peptidima, a s više od 50 smatramo proteinima [3]. Pojednostavljeni prikaz aminokiselina, peptida i proteina nalazi se na slici 2.1.



Slika 2.1. Pojednostavljeni prikaz aminokiselina, peptida i proteina (preuzeto iz [4])

U prirodi se pojavljuje dvadeset standardnih aminokiselina. Svaka aminokiselina ima jedinstvenu strukturu i svojstva te one među sobom mogu stvarati peptidne veze i tako se povezivati u lance. Popis svih prirodnih aminokiselina prikazan je slikom 2.2.

Ovisno o broju aminokiselina od kojih se sastoje, peptidi se mogu klasificirati kao dipeptidi, tripeptidi, oligopeptidi ili polipeptidi. Također se mogu podijeliti na linearne i cikličke, ovisno o načinu povezivanja aminokiselina.

Peptidi imaju raznolike uloge u biološkim sustavima, kao što su signalizacija, obrana od patogena, regulacija enzimskih aktivnosti i strukturna podrška. Jedna od posebno bitnih karakteristika za ovaj rad je da peptidi mogu imati antimikrobnu aktivnost, boreći se na taj način protiv bakterija, gljivica, parazita i virusa. Takvi peptidi, poznati kao antimikrobni peptidi (AMP), imaju široki spektar djelovanja i važni su u razvoju novih lijekova.

Amino Acid	3-Letters	1-Letter
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartic acid	Asp	D
Cysteine	Cys	C
Glutamic acid	Glu	E
Glutamine	Gln	Q
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

Slika 2.2. Popis svih prirodnih aminokiselina i njihove oznake (preuzeto iz [5])

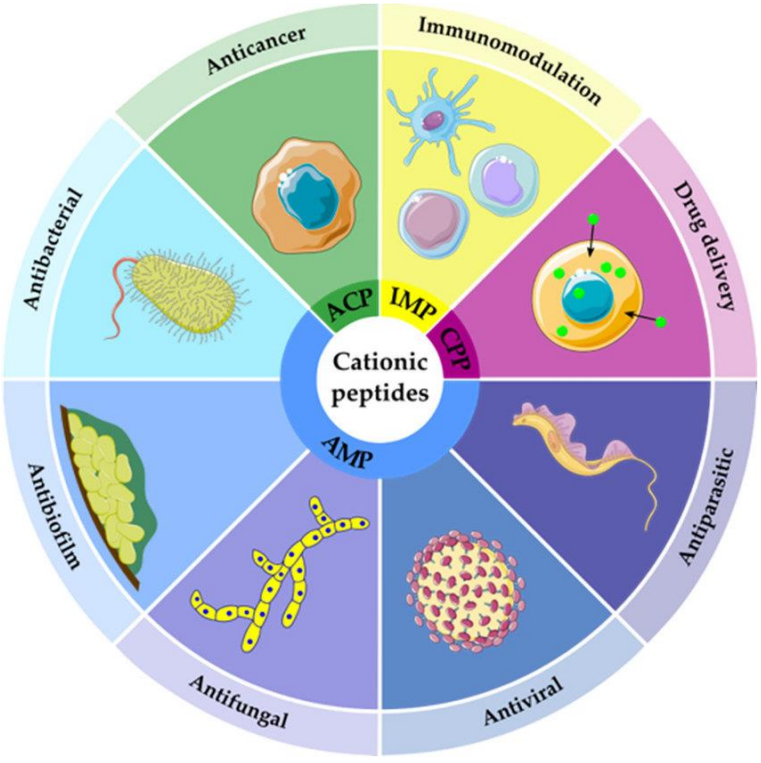
Interes istraživača za razvoj novih peptida i proučavanje struktura i funkcija ciljnih receptora znatno je porastao posljednjih godina. Suvremeno medicinsko i biokemijsko istraživanje ima značajan fokus na peptide zbog njihove selektivnosti, specifičnosti i snažne interakcije s ciljanim proteinima. Svojom veličinom i površinom omogućuju preciznije vezanje na ciljne molekule. Mogu imati vrlo selektivno djelovanje, smanjujući rizik od nuspojava, ali brzo se metaboliziraju te imaju kratko djelovanje u tijelu. Aktivnost peptida može se produljiti uvođenjem raznih modifikacija.

Peptidi također imaju neke prednosti u usporedbi s proteinima kada govorimo o liječenju, iako proteini zauzimaju sve veći udio na farmaceutskom tržištu posljednjih nekoliko godina. Proteini, iako su često vrlo sigurni i učinkoviti, moraju se proizvoditi u bioreaktorima koji koriste cijele stanice, a njihovo pročišćenje i strukturna analiza često su složeni i skupi. S druge strane, peptidi se

često mogu dobiti kemijski, a njihovo pročišćenje i analiza su mnogo jednostavniji. Također, sve je više primjera oralno djelotvornih peptida, što ih čini poželjnijima jer se lijekovi zasnovani na proteinima gotovo uvijek moraju ubrizgati u tijelo [3].

2.2. Antimikrobna svojstva

Antimikrobni peptidi (AMP) su peptidi koji imaju antimikrobna svojstva i time igraju ključnu ulogu u obrani organizama od mikrobnih infekcija. Često se nazivaju i kationskim peptidima jer su kao cjelina pozitivno nabijeni, iako su zapravo samo podvrsta kationskih peptida. Simboličan prikaz podjele kationskih peptida u skupine prema njihovim funkcijama, među kojima se nalaze i AMP prikazan je slikom 2.4. Oni su dio prirodnog imunološkog sustava prisutnog kod gotovo svih živih organizama, uključujući ljude, životinje, biljke i mikroorganizme. AMP se ističu svojom sposobnošću da selektivno ciljaju i ubiju mikrobe, uključujući bakterije, gljivice, parazite i viruse.

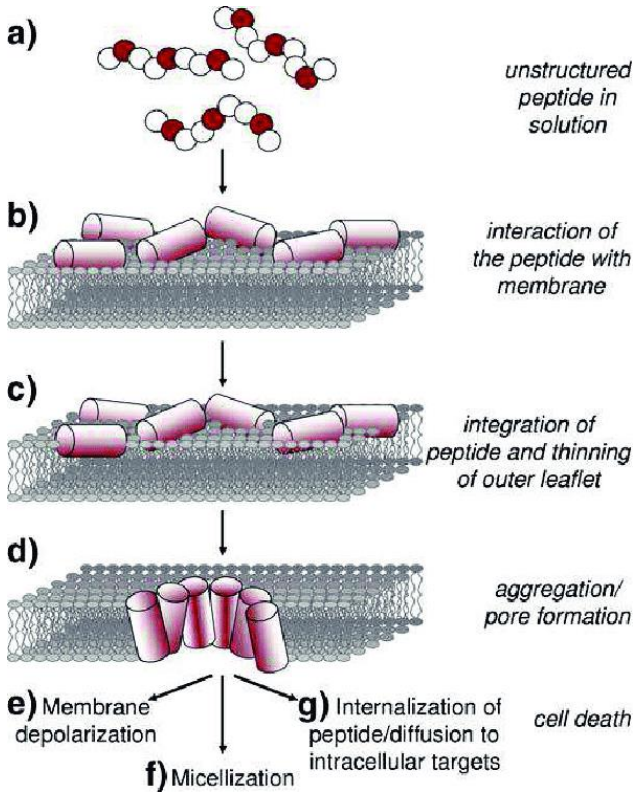


Slika 2.3. Podjela kationskih peptida prema funkcijama (preuzeto iz [6])

AMP imaju raznoliku strukturu koja može uključivati linearno raspoređene aminokiseline, cikličke strukture, kao i kombinaciju različitih strukturnih motiva. Ovi peptidi često sadrže hidrofobne i hidrofilne regije, što im omogućuje interakciju s membranama mikroba. Mnogi AMP imaju pozitivno nabijene aminokiseline, kao što su lizin i arginin, što im pomaže u vezivanju za negativno nabijene komponente mikrobnih membrana [7].

AMP djeluju na mikrobe na različite načine, ciljajući njihove vitalne strukture i funkcije. Neki peptidi djeluju na mikrobne membrane, oštećujući njihovu strukturu i uzrokujući curenje unutarstaničnih tvari. Drugi peptidi prodiru u unutrašnjost mikroba i ciljaju vitalne procese kao što su sinteza proteina i DNA replikacija. Pojednostavljeni primjer djelovanja peptida na ciljnu molekulu prikazan je slikom 2.3. Također, neki peptidi imaju imunomodulatorna svojstva, potičući imunološki odgovor organizma i potencijalno regulirajući upalne procese.

Kada govorimo o razvoju lijekova, jedna od ključnih prednosti AMP je to što su mikroorganizmi manje skloni razvoju otpornosti na njihovo djelovanje za razliku od ostalih lijekova. Otpornost na antimikrobne lijekove postala je globalni problem, ali mnogi AMP djeluju na mikrobe putem mehanizama koji se razlikuju od konvencionalnih antibiotika, što smanjuje vjerojatnost razvoja otpornosti.



Slika 2.4. Primjer djelovanja AMP na membranu ciljne molekule (preuzeto iz [8])

2.3. Antiviralna svojstva

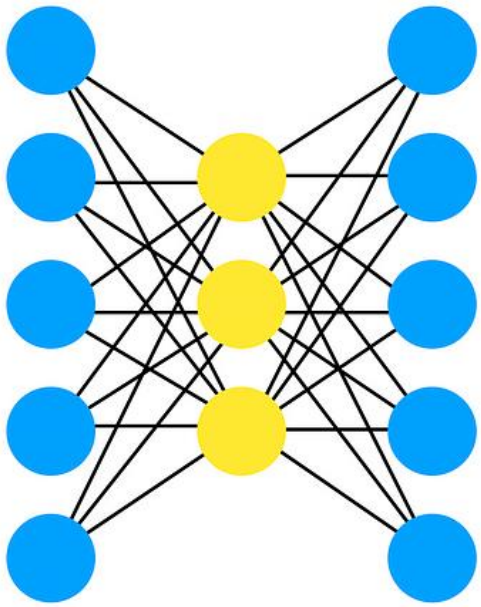
Antiviralni peptidi (AVP) su podvrsta AMP koja ima gotovo sve iste karakteristike, ali su specifični po tome što imaju sposobnost suzbijanja virusnih infekcija. Kao i kod AMP, AVP koriste razne mehanizme kojima suzbijaju infekcije, npr. mogu blokirati vezanje virusa, spriječiti spajanje virusa sa stanicama domaćina, prekinuti proces signaliziranja virusa ili spriječiti razmnožavanje virusa u stanicama domaćina [1]. Osim toga, AVP mogu modulirati imunološki odgovor domaćina i poticati stvaranje protuvirusnih citokina.

Predviđanje antiviralnih svojstava prije sinteze novih peptida izuzetno je važno za razvoj lijekova i prevenciju virusnih infekcija. Mnoge metode strojnog učenja i računalnog modeliranja koriste se za predviđanje antiviralnih svojstava peptida na temelju njihovih fizikalno-kemijskih značajki i strukture. Ova područja istraživanja doprinose razvoju boljih modela za predviđanje antiviralne aktivnosti peptida i optimizaciju njihovih svojstava.

3. AUTOENKODERI

3.1. Autoenkoderi općenito

Autoenkoderi su posebna vrsta neuronskih mreža čiji je cilj što vjernije rekonstruirati podatke sa ulaza na izlazu. Sastoje se od tri glavna dijela: enkodera, latentnog prostora i dekodera, vrlo pojednostavljeno prikazano na slici 3.1. Možemo reći da autoenkoder uči kako kroz enkoder sažeti podatke u latentni prostor i prikazati ih pomoću manjeg broja značajki, a pritom minimizirati grešku rekonstrukcije na izlazu dekodera.



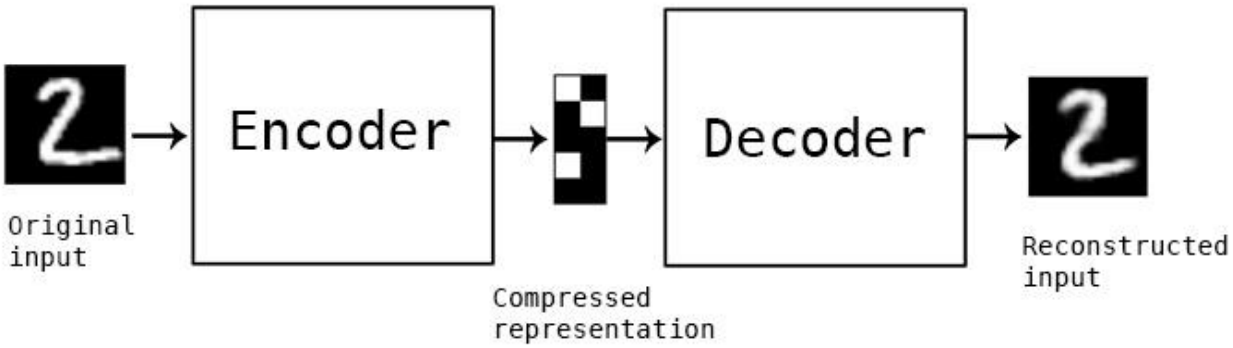
Slika 3.1. Pojednostavljeni prikaz autoenkodera (enkoder – lijevi sloj, latentni prostor – srednji sloj, dekoder – desni sloj) (preuzeto iz [9])

Međutim, autoenkoder ne bi imao svrhu kada bi samo preslikavao podatke s ulaza na izlaz. Ono što ga čini korisnim je to da kroz proces rekonstrukcije podataka model uči koje su najvažnije značajke ulaznih podataka te kada je istreniran može se koristiti kako bi na temelju naučenog stvorio nove podatke uz dodatak ili izuzetak određenih značajki [10]. Takav primjer možemo vidjeti i na slici 3.2. gdje autoenkoder uzima sliku znamenke napisane rukom, sažima ju u mali broj dimenzija, uči koje su najvažnije značajke te na kraju pomoću tih značajki rekonstruira sliku koja je vrlo slična originalnoj slici na ulazu.

Svaki dio autoenkodera ima svoju konkretnu ulogu u cijelome procesu. Enkoder je gusto povezana mreža i ulaz u autoenkoder. Zadaća mu je da uzme ulazne podatke te ih sažme i prikaže u latentnom prostoru, čineći tako novi prikaz podataka koji ima smanjenu dimenzionalnost.

Latentni prostor radi sa sažetim prikazom podataka. Konstruiran je tako da odredi najvažnije dijelove promatranih podataka odnosno značajke podataka koje su najvažnije za dobru rekonstrukciju. Cilj mu je odrediti koje značajke podataka trebaju biti očuvane, a koje se mogu ukloniti. Također treba uzeti u obzir i napraviti dobar omjer između veličine latentnog prikaza odnosno koliko će on biti sažet te relevantnosti značajki.

Dekoder je zadužen da uzme sažete podatke iz latentnog prostora koje je kreirao enkoder i pretvori ih ponovno u prikaz sa istim brojem dimenzija kao što su imali i početni ulazni podaci.



Slika 3.2. Slika prolazi kroz enkoder, postaje sažeti prikaz podataka te na izlazu postaje rekonstruirana ulazna slika (preuzeto iz [11])

Postoje tri vrlo bitne značajke koje definiraju rad autoenkodera [11]:

1) Specifični su za podatke na kojima uče – bit će u mogućnosti raditi samo s podacima koji su vrlo slični onima na kojima je model treniran, npr. autoenkoder koji je treniran na slikama na kojima se nalaze ljudska lica će raditi vrlo loše sa slikama na kojima se nalazi drveće jer su značajke koje je autoenkoder naučio specifične za ljudska lica
2) Imaju gubitke – podaci na izlazu koji su prošli kroz dekompresiju će biti lošije kvalitete u usporedbi s ulaznim podacima
3) Uče automatski iz primjera podataka – vrlo je lako trenirati algoritam da radi dobro na raznim tipovima ulaznih podataka, odnosno nije potrebno mijenjati algoritam već je dovoljno algoritmu dati prikladne podatke za trening

Autoenkoderi imaju vrlo široki spektar primjene, ali najčešće su sljedeće[10]:

- Smanjenje dimenzionalnosti - prolaskom kroz enkoder podaci dolaze u latentni prostor gdje su prikazani pomoću manjeg broja dimenzija u odnosu na izvorne ulazne podatke te se tako mogu lakše razumjeti ili vizualizirati; također može pomoći mrežama visokog kapaciteta naučiti korisne značajke podataka što upućuje na to da autoenkoderi mogu biti korišteni za poboljšanje treninga drugih tipova neuronskih mreža
- Uklanjanje šuma iz podataka - često se koristi na slikama; osim uklanjanja šuma, autoenkoderi mogu ispraviti i druge tipove oštećenja na slikama kao što su mutne slike ili dopuniti dijelove slike koji nedostaju
- Ekstrakcija značajki - kao i smanjenje dimenzionalnosti može biti korisno za poboljšanje treninga drugih tipova neuronskih mreža jer se mogu koristiti za prepoznavanje značajki skupova podataka koji se koriste za treniranje drugih modela
- Generiranje slika - autoenkoderi mogu generirati slike novih, nepostojećih ljudi ili animiranih likova što pomaže pri konstruiranju sustava za prepoznavanje lica ili automatiziranja određenih aspekata animacije
- Predviđanje sekvence - mogu se koristiti za određivanje promjene strukture podataka kroz vrijeme, što znači da mogu generirati idući podatak u sekvenci i to dovodi do toga da autoenkoderi mogu generirati videozapise
- Stvaranje sustava preporuke - koriste se duboki autoenkoderi, a sustave stvaraju tako što će prepoznati uzorke korištenja i povezati ih s interesima korisnika; u ovoj primjeni enkoder analizira podatke o načinu interakcije, a dekoder stvara preporuke koje odgovaraju prepoznatim uzorcima

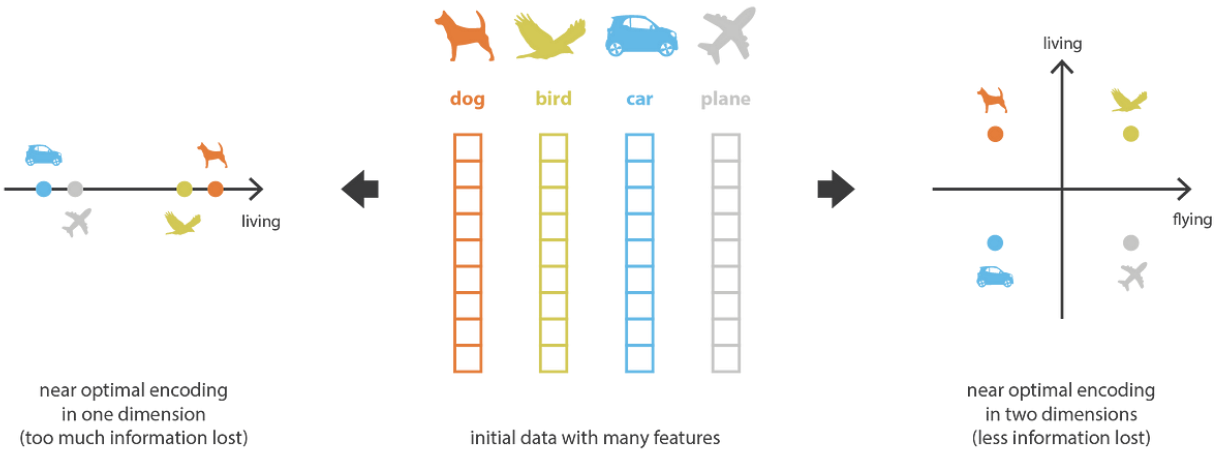
3.2. Varijacijski autoenkoderi

U osnovi, varijacijski autoenkoder (VAE) je autoenkoder čija je distribucija enkodiranih podataka regularizirana tijekom treninga kako bismo osigurali da latentni prostor ima dovoljno dobra svojstva da možemo generirati nove podatke [12].

„Obični“ autoenkoderi često nemaju svojstva koja su potrebna za generiranje novih podataka. Kako bismo to prikazali možemo zamisliti primjer gdje postoje enkoder i dekoder koji su dovoljno moćni da postave bilo koji N početni skup podataka na realnu os, odnosno svaku točku

podataka enkodiraju kao realnu vrijednost u jednoj dimenziji, i dekodiraju ih bez ikakvih gubitaka pri rekonstrukciji. U tom slučaju visoki stupanj slobode koji omogućava autoenkoderu enkodiranje i dekodiranje bez ikakvih gubitaka informacija dovodi do jakog *overfittinga* što znači da će neke točke latentnog prostora nakon dekodiranja vraćati besmislen i nerazumljiv sadržaj. Također treba uzeti u obzir da je cilj smanjenja dimenzionalnosti, uz smanjenje broja dimenzija podataka, i zadržavanje većine informacija u sažetim prikazima, a sažimanjem podataka u samo jednu dimenziju gubimo jako velik dio informacija, dok već sa dvije dimenzije zadržavamo mnogo veći dio informacija, što je vrlo pojednostavljeno prikazano slikom 3.3. Iako je ovaj primjer s jednom dimenzijom u latentnom prostoru poprilično ekstreman, on demonstrira kako autoenkoderi općenito imaju problem s regularnosti latentnog prostora i da na to treba pripaziti.

Ovaj problem nedostatka strukture u enkodiranim podacima u latentnom prostoru je shvatljiv s obzirom na to da zadatak za koji je autoenkoder treniran ne zahtijeva takvu organizaciju. Autoenkoder je treniran isključivo da enkodira i dekodira podatke sa što manje gubitaka, bez obzira na to kako je latentni prostor organiziran. Stoga, ako se arhitekturi autoenkodera ne priodaje posebna pažnja, normalno je da mreža koristi sve mogućnosti za *overfitting* koje ima kako bi postigla što bolji rezultat.

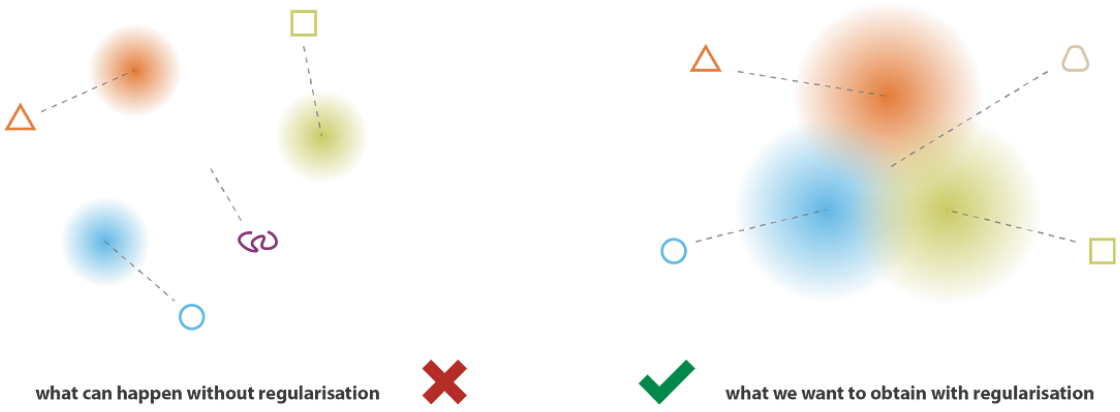


Slika 3.3. Početni skup podataka (sredina) enkodiran u jednu dimenziju (lijevo) i u dvije dimenzije (desno) (preuzeto iz [12])

Dakle, kako bismo mogli koristiti dekoder autoenkodera u svrhu generiranja novih podataka moramo osigurati regularnost latentnog prostora. Jedno od rješenja za postizanje regularnosti je da tijekom procesa treninga eksplicitno uvedemo regularizaciju. Na taj način dobivamo varijacijski autoenkoder. Njegova arhitektura je ista kao i kod standardnog autoenkodera, ali postoji razlika kod procesa enkodiranja: umjesto enkodiranja ulaznih podataka kao pojedinačne točke, enkodiramo ih kao distribucije u latentnom prostoru. Time dolazimo do sljedećeg načina treniranja modela:

1) Ulazni podaci se enkodiraju kao distribucija u latentnom prostoru
2) Točka iz latentnog prostora se uzima kao uzorak iz te distribucije
3) Uzorkovana točka se dekodira i izračunava se greška rekonstrukcije
4) Greška rekonstrukcije se vraća unazad kroz mrežu

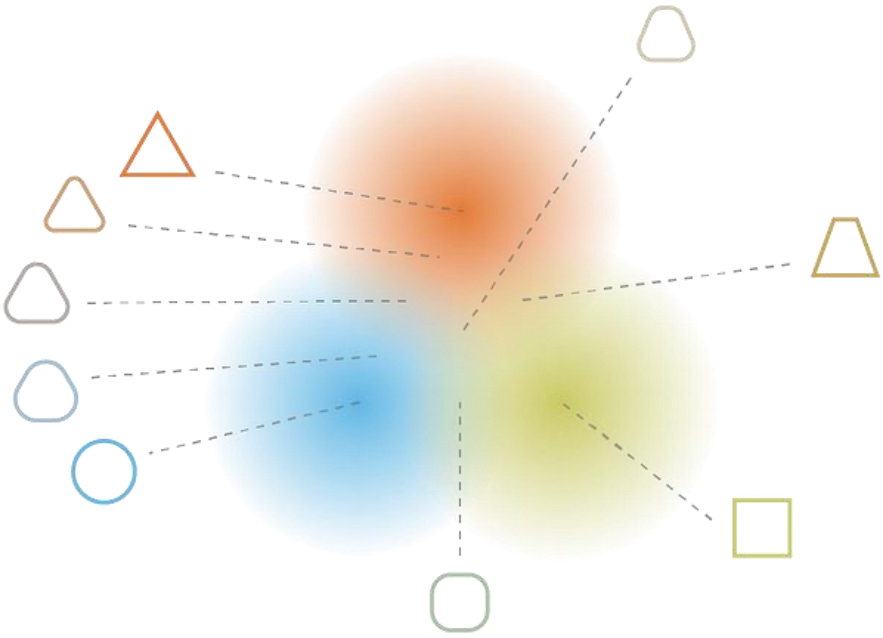
Regularnost koja se očekuje od latentnog prostora kako bi se omogućio proces generiranja novih podataka zahtijeva da latentni prostor bude kontinuiran i potpun. Kontinuiranost osigurava da dvije točke koje su blizu jedna drugoj u latentnom prostoru ne vraćaju potpuno drugačiji sadržaj kada se dekodiraju. Potpunost osigurava da za odabranu distribuciju svaka točka koja se uzme kao uzorak iz latentnog prostora i dekodira vraća smisleni sadržaj. Važnost regularizacije latentnog prostora pojednostavljeno je prikazana slikom 3.4.



Slika 3.4. Slikoviti prikaz latentnog prostora i podataka bez regularizacije (lijevo) i s regularizacijom (desno) (preuzeto iz [12])

Sama činjenica da VAE enkodira ulazne podatke kao distribucije umjesto pojedinačnih točaka nije dovoljno da osigura kontinuitet i potpunost. Zbog toga je potrebno regularizirati matricu kovarijance i srednju vrijednost distribucija koje vraća enkoder. U praksi se to postiže osiguravanjem da distribucija bude što sličnija normalnoj distribuciji (centrirana i reducirana). Na taj način se osigurava da matrica kovarijance bude slična jediničnoj matrici, spriječavajući točkaste distribucije, i da srednja vrijednost bude blizu nuli, spriječavajući enkodirane distribucije da budu predaleko jedne od drugih.

Cijeli postupak regularizacije dovodi do toga da spriječavamo model da enkodira podatke daleko jedne od drugih u latentnom prostoru i potiče enkodirane distribucije da se preklapaju koliko god je to moguće, zadovoljavajući na taj način uvjete kontinuiteta i potpunosti i stvarajući gradijent u podacima enkodiranim u latentnom prostoru. Npr. točka u latentnom prostoru koja je na pola puta između srednjih vrijednosti dvije enkodirane distribucije koje dolaze od različitih podataka u treningu trebala bi biti dekodirana u nešto što bi odgovaralo vrijednosti između podatka koji je dao prvu distribuciju i podatka koji je dao drugu distribuciju. Ovo je vrlo jednostavno i slikovito prikazano na slici 3.5.



Slika 3.5. Latentni prostor i dekodirani podaci uz prisutnu regularizaciju (preuzeto iz [12])

Dodatno treba napomenuti dvije funkcije koje računaju gubitke kod VAE, a koje osiguravaju regularnost i bit će spomenute u kasnijim poglavljima: gubici rekonstrukcije i Kullback-Leibler divergencija (KL divergencija). Kada se minimiziraju gubici rekonstrukcije, to za mrežu znači da mora učiniti da izlazni podaci izgledaju što više kao ulazni podaci i da pri tome može koristiti sve što ima na raspolaganju. To će osigurati da model grupira uzorke koji su slični jedni drugima, odnosno svaka klasa će biti u jednoj skupini, a slične klase će biti enkodirane blizu jedna drugoj te je tako zadovoljen kontinuitet latentnog prostora.

Međutim, kada uzimamo u obzir samo gubitke rekonstrukcije nemamo pravilo koje osigurava da se grupacije donekle preklapaju i da su na taj način povezane jer u namjeri modela da minimizira gubitke rekonstrukcije, on može u potpunosti razdvojiti grupacije enkodiranih podataka te tada nemamo zadovoljenu potpunost latentnog prostora. U tom slučaju, uz izračun gubitaka rekonstrukcije dodajemo i KL divergenciju. KL divergencija je specifična za VAE i ne postoji kod klasičnih autoenkodera. KL divergencija zapravo izračunava divergenciju između dvije distribucije vjerojatnosti, odnosno njen gubitak se povećava kada se distribucija vjerojatnosti koju je generirao enkoder razlikuje od standardne normalne distribucije. To znači da je model prisiljen učiti tako da enkoder „gura“ distribucije vjerojatnosti odnosno uzorke što je bliže moguće jedne drugima i tako zadovoljava potpunost latentnog prostora [13].

4. MODEL

4.1. Alati

Alati pomoću kojih je izrađen model, napravljena vizualizacija i analiza rezultata odabrani su tako da nude što veću moć i više mogućnosti, a da budu relativno jednostavni za korištenje i tumačenje. Programski kod napisan je u programskom jeziku Python unutar Jupyter Notebook sučelja pomoću knjižnica Keras i Tensorflow koje su specijalizirane za strojno učenje.

4.1.1. Python

Python je jedan od najpopularnijih programskih jezika u svijetu već dugi niz godina. S obzirom na to da je Python jezik opće namjene, može se koristiti za razne stvari kao što su izgradnja web stranica i softvera, automatizacija procesa ili analiza podataka. Ono što ga također čini toliko popularnim je činjenica da je vrlo intuitivan i lagan za učenje kod početnika. U ovom radu korištena je verzija Pythona 3.4.10.

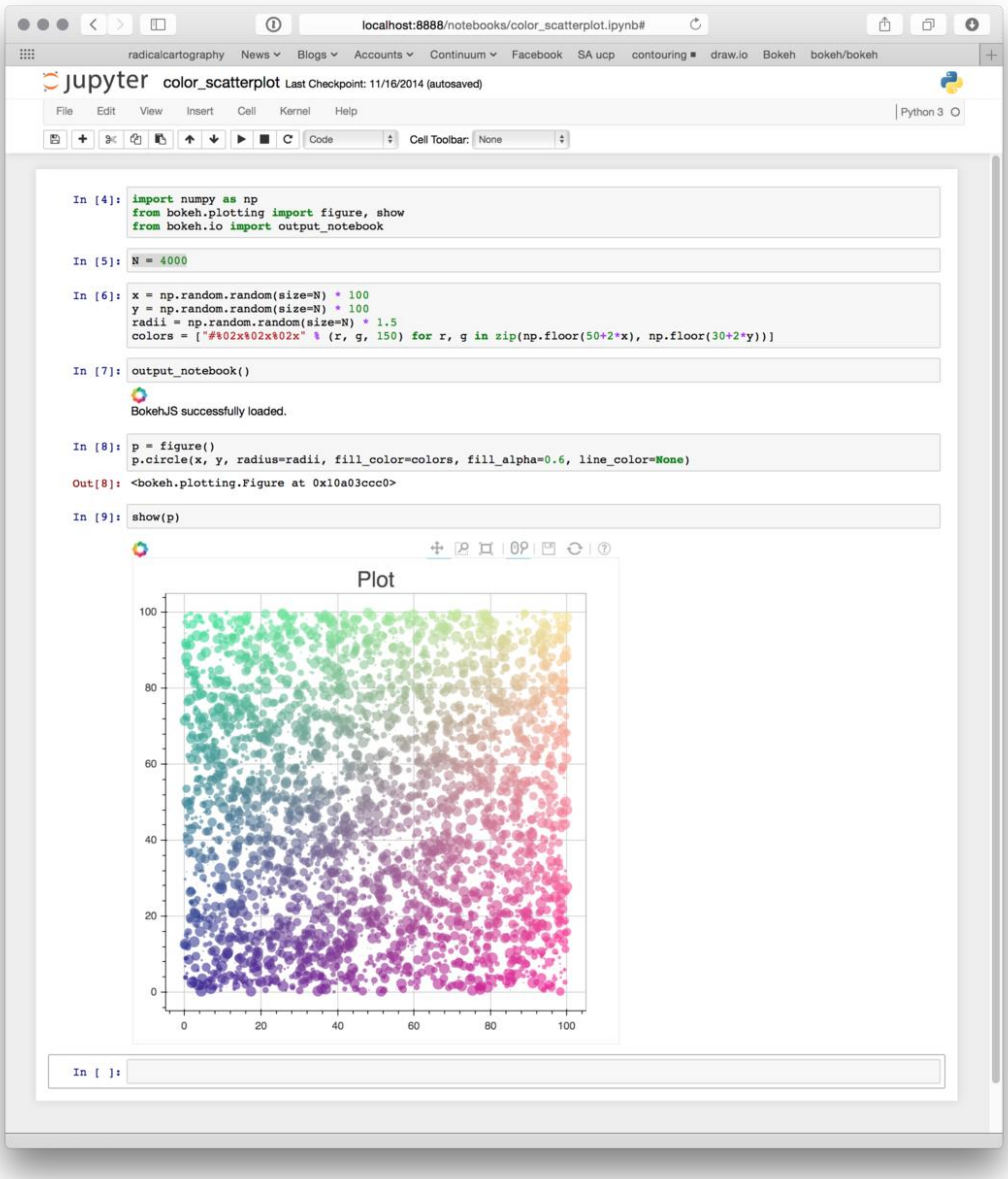
Python je također vrlo moćan jezik kada govorimo o strojnom učenju. Sposoban je provoditi kompleksne statističke izračune, graditi algoritme strojnog učenja, manipulirati podacima i analizirati ih, stvarati razne vizualizacije podataka te izvoditi razne druge zadatke vezane uz rad s podacima. Također, postoje mnoge knjižnice koje dodatno olakšavaju pisanje koda za analizu podataka i strojno učenje te čine kod bržim i efikasnijim, kao što su Tensorflow i Keras [14].

4.1.2. Jupyter Notebook

Jupyter Notebook je aplikacija koja nam pruža okruženje za interaktivno programiranje, analizu podataka i prikaz rezultata. Omogućava korisnicima da kombiniraju kod, tekst, vizualizacije i matematičke formule u jednom dokumentu, stvarajući dinamične i interaktivne „notebookove“ odnosno bilježnice. Alat je u potpunosti otvorenog koda. [15]

Blokovi koda, koji se nazivaju ćelijama, mogu se pokretati zasebno što omogućava izvršavanje željenih dijelova koda u stvarnom vremenu i time interaktivno istraživanje podataka. Ovo je vrlo korisno za eksperimentiranje s različitim pristupima analize podataka ili provjeravanje

ispravnosti koda. U konkretnom slučaju ovog rada, Jupyter Notebook je imao veliku prednost zbog toga što su se analiza podataka, arhitektura modela, izračuni, trening, vizualizacije i interpretacija rezultata, sve moglo prikazati u jednom dokumentu. Slikom 4.1. prikazan je izgled Jupyter Notebook sučelja i kratki kod koji pokazuje mogućnost da se izračuni, obrada podataka i vizualizacija sve obavlja na jednom mjestu.



Slika 4.1. Izgled sučelja i demonstracija mogućnosti Jupyter Notebooka (preuzeto iz [16])

4.1.3. Tensorflow

Tensorflow je besplatna knjižnica otvorenog koda za strojno učenje i umjetnu inteligenciju. Ima vrlo široki spektar primjene, ali posebno se fokusira na rad s dubokim neuronskim mrežama. Prva verzija knjižnica objavljena je 2015. godine, a nova i unaprijeđena verzija pod imenom „Tensorflow 2.0“ objavljena je 2019. godine i ona je korištena u ovom radu. Tensorflow se može koristiti u raznim programskim jezicima, kao što su Python, Javascript, C++ i Java, što mu osigurava veliku fleksibilnost. [17]

Tensorflow ima praktičnu primjenu najčešće za klasifikaciju i detekciju (prepoznavanje objekata na slikama i analiza teksta), generiranje i sintezu (stvaranje umjetnih slika, glazbe ili teksta) te *reinforcement learning* (inteligentni sustavi koji uče putem interakcije s okolinom). Tensorflow uglavnom radi s višedimenzionalnim poljima koja se nazivaju tenzorima i postoje kao zasebni objekti. Neke od prednosti su mu da omogućava rad na više uređaja, uključujući CPU, GPU i TPU (*Tensor Processing Unit*), velika prilagodljivost i kontrola prilikom izgradnje modela te opširna i detaljna dokumentacija.

4.1.4. Keras

Keras je knjižnica otvorenog koda koja pruža Python sučelje za strojno učenje i rad s neuronskim mrežama uz fokus na duboko učenje, odnosno služi kao sučelje za Tensorflow knjižnicu. Keras pokriva sve korake strojnog učenja, od procesiranja podataka preko podešavanja hiperparametara do konačnog modela. Razvijen je s fokusom na omogućavanje brzog eksperimentiranja.

Uz Keras možemo u potpunosti iskoristiti skalabilnost i kompatibilnost s više platformi koju nudi Tensorflow. Keras je dizajniran da smanji kognitivno opterećenje programera tako što će [18]:

- Ponuditi jednostavno, dosljedno sučelje
- Minimizirati broj potrebnih radnji za najčešće slučajeve korištenja
- Pružiti jasne poruke kod grešaka
- Pratiti princip progresivnog otkrivanja: lako je započeti s korištenjem, a zahtjevnije zadatke je moguće riješiti usputnim učenjem dok radimo na modelu
- Pomoći pisati jasan i čitljiv kod

Glavne strukture podataka u Kerasu su slojevi i modeli. Slojevi podrazumijevaju ulazne i izlazne transformacije podataka dok su modeli objekti koji povezuju slojeve i koji se tada mogu trenirati na podacima.

4.1.5. Ostale Python knjižnice

Pandas je moćna i fleksibilna knjižnica otvorenog koda za analizu i manipulaciju podataka. Glavna struktura s kojom radi Pandas je DataFrame, odnosno dvodimenzionalna tablica s označenim redovima i stupcima. U ovom radu je Pandas knjižnica korištena za učitavanje podataka i obradu prije treniranja modela.

Scikit-learn ili skraćeno *sklearn* je knjižnica za strojno učenje i analizu podataka. Sadrži razne algoritme strojnog učenja za klasifikaciju, regresiju i *clustering* te alate za obradu i pripremu podataka. U ovom radu je uz Pandas knjižnicu korištena za obradu podataka prije treniranja modela.

Numpy je knjižnica koja omogućava brzu i učinkovitu manipulaciju numeričkim podacima. Pruža podršku za rad s velikim, višedimenzionalnim poljima i matricama, zajedno s velikim brojem matematičkih funkcija koje olakšavaju rad s tim poljima.

Matplotlib je knjižnica koja se koristi za stvaranje različitih vrsta grafova, grafikona i vizualnih prikaza podataka. Pomoću nje mogu se kreirati statičke, animirane i interaktivne vizualizacije kako bismo lakše predstavili i razumjeli svoje podatke.

Scipy je knjižnica za Python koja proširuje njegove mogućnosti za znanstvenu i tehničku analizu. Sadrži razne module za optimizaciju, linearnu algebru, statistiku, integraciju, interpolaciju, procesiranje signala i slika te druge znanstvene proračune. U ovom radu su iz Scipy knjižnice korišteni moduli za korelacijsku analizu kako bismo obradili krajnje rezultate rada.

Biopython je knjižnica za Python koja nudi niz alata za bioinformatičku analizu i manipulaciju bioloških podataka. Neki od alata omogućavaju rad s biološkim sekvencama, analizu genoma, analizu strukture proteina i slično. Također, omogućava programski pristup bazama podataka koje sadrže biološke informacije. U ovom radu knjižnica Biopython je korištena za izračun sličnosti među peptidima temeljene na njihovim sekvencama.

4.2. Podaci

Skup podataka koji je korišten za trening i testiranje modela sastavljen je od dva manja skupa podataka. Prvi sadrži 1050 sekvenci peptida zajedno s oznakom antiviralne aktivnosti (603 pozitivnih i 447 negativnih) gdje „1“ označava prisutnost, a „0“ odsutnost antiviralne aktivnosti. Njemu je pridodan drugi skup podataka koji sadrži 9409 sekvenci peptida s oznakom antimikrobne aktivnosti (3708 pozitivnih i 5701 negativnih) gdje „3“ označava prisutnost, a „2“ odsutnost antimikrobne aktivnosti. Konačni skup dakle sadrži ukupno 10459 sekvenci peptida, a radi bolje preglednosti informacije o podjeli podataka prikazane su i tablicom 4.1.

Tablica 4.1. Sadržaj skupa podataka korištenog za treniranje i testiranje modela

	Pozitivni	Negativni	Ukupno
Antiviralna svojstva	603	447	1050
Antimikrobna svojstva	3708	5701	9409
Ukupno	4311	6148	10459

Sljedeći korak bio je izračunavanje značajki svih peptida u skupu podataka. Za to je korišten Python paket pod imenom *peptides* te je izračunato 88 značajki za svaki peptid. U nastavku se nalazi sažeti popis svih značajki koje su dostupne za izračun u paketu *peptides* i koje su izračunate za peptide u korištenom skupu podataka [19]:

- Statistike aminokiselina:
    - Broj pojavljivanja određene aminokiseline u sekvenci peptida
    - Učestalost pojavljivanja u sekvenci peptida
- QSAR deskriptori:
    - BLOSUM indeksi
    - Cruciani svojstva
    - FASGAI vektori
    - Kidera faktori
    - MS-WHIM rezultati
    - PCP deskriptori

    - ProtFP deskriptori
    - Sneath vektori
    - ST-skale
    - T-skale
    - VHSE-skale
    - Z-skale
- Profili sekvenci:
    - Profil hidrofobnosti
    - Profil momenta hidrofobnosti
    - Pozicija membrane
- Fizikalno-kemijska svojstva:
    - Alifatski indeks
    - Indeks nestabilnosti
    - Ukupni teoretski naboj
    - Izoelektrična točka
    - Molekularna masa
- Biološka svojstva
    - Strukturna klasa

Konačni skup podataka sa izračunatim značajkama svih peptida spremljen je u datoteku *features.csv* s konačnim dimenzijama od 10460 redaka gdje se u prvom retku nalaze nazivi stupaca, a ostalo su peptidi, te 89 stupaca gdje se u prvom stupcu nalaze sekvence peptida, a u ostalima su izračunate značajke. Slikom 4.2. prikazan je isječak programskog koda pomoću kojeg su izračunate značajke peptida. Iz datoteke *amp+avp.csv* učitane su sekvence peptida, za njih su izračunate značajke te je sve skupa spremljeno u datoteku *features.csv*. Izlaz nakon zadnje linije prikazanog koda prikazan je na slici 4.3., a u kojem je vidljiv izgled konačnog skupa podataka, njegove dimenzije i neke od izračunatih značajki.

```
import pandas as pd

seqs = pd.read_csv('amp+avp.csv')

seqs
```

```
import peptides

descriptors = seqs['sequence'].apply(lambda x: peptides.Peptide(x).descriptors())

descriptors_df = pd.DataFrame(descriptors.tolist())

result_df = pd.concat([seqs, descriptors_df], axis=1)

result_df.to_csv('features.csv', index=False)
```

```
descriptors_df
```

Slika 4.2. Isječak programskog koda kojim su izračunate značajke za sve peptide u skupu podataka

	BLOSUM1	BLOSUM2	BLOSUM3	BLOSUM4	BLOSUM5	BLOSUM6	BLOSUM7	BLOSUM8	BLOSUM9	BLOSUM10	...
0	1.070000	-0.093333	0.480000	-0.380000	-0.690000	-0.303333	0.350000	0.293333	0.120000	0.080000	...
1	0.896667	0.390000	-0.430000	-0.013333	-0.130000	-0.963333	0.356667	-0.076667	-0.076667	0.453333	...
2	-0.790000	0.520000	-0.657500	0.147500	0.160000	0.087500	0.247500	0.045000	0.120000	-0.520000	...
3	-0.797500	0.405000	-0.612500	0.025000	0.105000	0.287500	0.170000	0.147500	0.020000	-0.685000	...
4	-0.687500	-0.587500	-0.827500	-0.217500	-0.047500	0.235000	-0.170000	0.202500	-0.137500	0.060000	...
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
10454	0.138400	-0.480400	0.110400	-0.094400	-0.119200	0.338800	0.312800	0.137200	0.204400	0.052000	...
10455	0.534286	-0.542857	-0.040000	-0.364286	0.488571	0.151429	0.467143	0.027143	0.854286	-0.175714	...
10456	0.008077	-0.551923	-0.281923	-0.137692	0.091923	0.205000	0.106154	-0.323462	0.217692	-0.190000	...
10457	0.395000	-0.175000	0.492500	-0.092500	-0.105000	0.685000	0.772500	0.485000	0.012500	0.142500	...
10458	0.468889	0.175556	0.132222	-0.290000	0.515556	0.192222	-0.045556	-0.107778	-0.087778	0.058889	...

10459 rows × 88 columns

Slika 4.3. Konačni skup podataka objedinjen u datoteci features.csv

Treba napomenuti da uz glavni skup podataka postoji i skup podataka koji se nalazi u datoteci *labels.csv* i koji sadrži ranije spomenute oznake aktivnosti svih peptida u istom poretku kao i u datoteci *features.csv*. Oznaka „0“ označava odsutnost viralne aktivnosti, oznaka „1“ prisutnost antiviralne aktivnosti, oznaka „2“ odsutnost antimikrobne aktivnosti, a oznaka „3“ prisutnost

antimikrobne aktivnosti. Oznake ovisno o aktivnosti i vrsti peptida su prikazane i tablicom 4.2. Skup podataka *labels.csv* neće biti korišten prilikom treniranja modela jer autoenkoderima nisu potrebni *labeli* za učenje, ali će biti vrlo koristan prilikom vizualizacije kako bismo mogli prikazati peptide odgovarajućom bojom ovisno o vrsti njihove aktivnosti.

Tablica 4.2. Oznake peptida ovisno o njihovoj vrsti i aktivnosti u skupu podataka labels.csv

	Neaktivan	Aktivan
AVP	0	1
AMP	2	3

4.3. Metode

U ovom poglavlju bit će prikazane i objašnjene sve metode kojima se došlo do konačnih rezultata. To uključuje izgradnju modela VAE, enkodera i dekodera, obradu podataka kako bi ih VAE mogao koristiti za trening, optimizaciju parametara modela i sami trening. Većina ovog dijela koda je napisana po uzoru na Kerasov tutorial za VAE [20] i članak o izgradnji VAE sa GitHuba koji je napisao Christian Versloot [21].

Na početku je naravno potrebno napraviti *import* glavnih knjižnica i njihovih pojedinih dijelova koji će biti korišteni u kodu, Numpy, Tensorflow, Keras, Pandas, Scikit-learn, Matplotlib, koje su navedene i objašnjene u poglavlju 4.1., a što je prikazano slikom 4.4.

```
import numpy as np
import tensorflow as tf
from tensorflow import keras
from tensorflow.keras import layers
import pandas as pd
from sklearn.model_selection import train_test_split
from keras.callbacks import ReduceLROnPlateau, EarlyStopping
import matplotlib.pyplot as plt
```

Slika 4.4. Import glavnih knjižnica i njihovih dijelova koji će biti korišteni u kodu

Sljedeći dio koji se mora definirati prije nego što se krene u izgradnju same arhitekture VAE je sloj za uzorkovanje, odnosno *sampling layer*. Kao što mu ime govori, njegov zadatak je da uzima uzorke *z* iz latentnog prostora, gdje je *z* vektor koji predstavlja enkodirani peptid odnosno njegove značajke. U ovom dijelu definiramo i varijablu *latent_dim* koja označava broj dimenzija koje će sadržavati latentni prostor. Slikom 4.5. prikazan je ovaj dio koda.

```
class Sampling(layers.Layer):

    def call(self, inputs):
        z_mean, z_log_var = inputs
        batch = tf.shape(z_mean)[0]
        dim = tf.shape(z_mean)[1]
        epsilon = tf.keras.backend.random_normal(shape=(batch, dim))
        return z_mean + tf.exp(0.5 * z_log_var) * epsilon

latent_dim = 2
```

Slika 4.5. Definiranje sloja za uzorkovanje i varijable koja definira broj dimenzija u latentnom prostoru

4.3.1. Enkoder

Kreiranje enkodera je proces koji se sastoji od tri koraka: prvo ga moramo definirati, drugi korak je „trik reparametrizacije“ koji nam omogućava da povežemo enkoder s dekoderom i tako definiramo VAE kao cjelinu i na kraju treći korak u kojem instanciramo enkoder. Prvi korak prikazan je slikom 4.6., na kojoj vidimo na koji način se definira enkoder i kako se povezuju slojevi neuronske mreže.

```
encoder_inputs = keras.Input(shape=(88, 1))
x = layers.Conv1D(8, 3, activation='relu', padding='same', dilation_rate=2)(encoder_inputs)
x = layers.MaxPooling1D(2)(x)
x = layers.Conv1D(16, 3, activation='relu', padding='same', dilation_rate=2)(x)
x = layers.MaxPooling1D(2)(x)
x = layers.Flatten()(x)
encoder = layers.Dense(128, activation='relu')(x)
z_mean = layers.Dense(latent_dim, name="z_mean")(encoder)
z_log_var = layers.Dense(latent_dim, name="z_log_var")(encoder)
z = Sampling()([z_mean, z_log_var])
encoder = keras.Model(encoder_inputs, [z_mean, z_log_var, z], name="encoder")
encoder.summary()
```

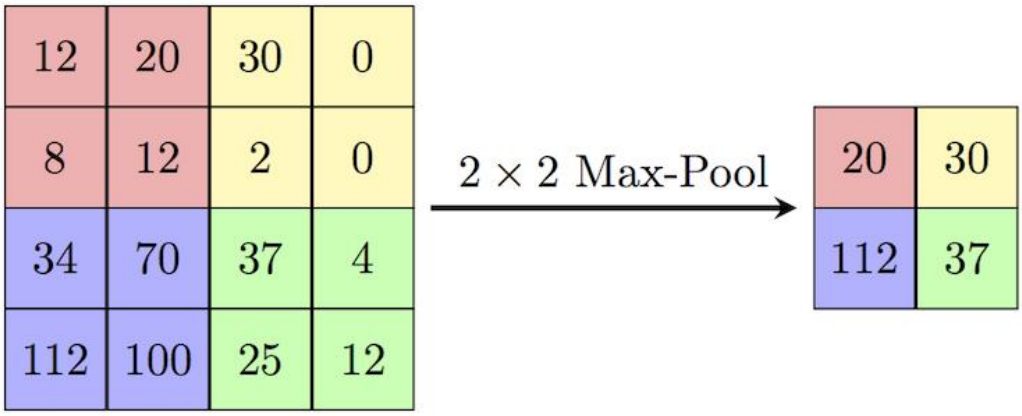
Slika 4.6. Definiranje enkodera

U nastavku su pojašnjeni svi slojevi i instanciranje enkodera:

- **encoder_inputs = keras.Input(shape=(88, 1))** - prvi sloj je ulazni sloj koji prihvaća ulazne podatke u obliku (88, 1), dakle jedan po jedan peptid opisan sa 88 izračunatih značajki
- **x=layers.Conv1D(8,3,activation='relu',padding='same',dilation_rate=2)(encoder_inputs)** - drugi sloj je jednodimenzionalni konvolucijski sloj s 8 filtera; vrijednost 2 parametra *dilation_rate* označava da postoje praznine između vrijednosti u konvolucijskom kernelu; izlazni tenzor sada ima oblik (None, 88, 8)
- **x = layers.MaxPooling1D(2)(x)** – ovaj sloj obavlja operaciju *max pooling* na izlaznom tenzoru prethodnog sloja i tako mu smanjuje dimenzije na pola pa je sada izlazni tenzor oblika (None, 44, 8); ova operacija smanjuje dimenzionalnost podataka primjenom max filtera na podregije izvornih podataka; time spriječava *over-fitting* jer pruža apstraktni oblik izvornih podataka i smanjuje računalnu zahtjevnost modela smanjivanjem broja parametara koje treba učiti; slikom 4.7. prikazan je princip *max poolinga*
- **x = layers.Conv1D(16, 3, activation='relu', padding='same', dilation_rate=2)(x)** – još jedan jednodimenzionalni konvolucijski sloj, ali ovaj put sa 16 filtera što dovodi do oblika izlaznog tenzora (None, 44, 16)
- **x = layers.MaxPooling1D(2)(x)** – još jedan *max pooling* sloj koji dodatno smanjuje dimenzije podataka na oblik (None, 22, 16)
- **x = layers.Flatten()(x)** – ovaj sloj služi da „izravna“ višedimenzionalne tenzore u jednu dimenziju te je sada oblik podataka (None, 352); ovo moramo napraviti zato što idući slojevi zahtijevaju da podaci budu takvog oblika
- **encoder = layers.Dense(128, activation='relu')(x)** – *Dense* sloj se klasificira kao potpuno povezani sloj i on mapira tenzor iz prethodnog sloja u prikaz s manje dimenzija u latentnom prostoru te ovdje dolazimo do „najužeg“ dijela odnosno sredine autoenkodera; izlazni podaci su oblika (None, 128)
- **z_mean = layers.Dense(latent_dim, name="z_mean")(encoder)** – još jedan potpuno povezani sloj koji mapira tenzor *encoder* kao srednje vrijednosti u latentnom prostoru; oblik

podataka je sada (None, latent_dim) odnosno (None, 2) jer smo na početku definirali varijablu *latent_dim = 2*

- **z_log_var = layers.Dense(latent_dim, name="z_log_var")(encoder)** – slično kao prethodni sloj, još jedan potpuno povezani sloj koji mapira tenzor *encoder* ali ovaj put kao logaritam varijance u latentnom prostoru; izlaz je također (None, 2)
- **z = Sampling()([z_mean, z_log_var]) –** koristimo prethodno definirani sloj za uzorkovanje koji uzima *z_mean* i *z_log_var* kao ulaz i generira uzorak iz latentnog prostora koristeći „trik reparametrizacije“; trik reparametrizacije služi da izmijenimo parametre uzorka u oblik koji je potreban da bismo mogli koristiti gradijentni spust za preciznu procjenu gradijenata
- **encoder = keras.Model(encoder_inputs, [z_mean, z_log_var, z], name="encoder")** – instanciramo model enkodera uzimajući *encoder_inputs* kao ulaz te [*z_mean*, *z_log_var*, *z*] kao izlaz
- **encoder.summary()** – ova linija ispisuje kratki pregled enkodera, prikazujući slojeve i njihove oblike izlaznih podataka; izlaz ove linije prikazan je slikom 4.8.



Slika 4.7. Princip max pooling operacije na dvodimenzionalnoj matrici (preuzeto iz [22])

```
Model: "encoder"
__________________________________________________________________________________________________
 Layer (type)                Output Shape              Param #     Connected to
==================================================================================================
 input_3 (InputLayer)        [(None, 88, 1)]           0           []

 conv1d_5 (Conv1D)           (None, 88, 8)             32          ['input_3[0][0]']

 max_pooling1d_2 (MaxPooling1D)  (None, 44, 8)         0           ['conv1d_5[0][0]']

 conv1d_6 (Conv1D)           (None, 44, 16)            400         ['max_pooling1d_2[0][0]']

 max_pooling1d_3 (MaxPooling1D)  (None, 22, 16)        0           ['conv1d_6[0][0]']

 flatten_1 (Flatten)         (None, 352)               0           ['max_pooling1d_3[0][0]']

 dense_3 (Dense)             (None, 128)               45184       ['flatten_1[0][0]']

 z_mean (Dense)              (None, 2)                 258         ['dense_3[0][0]']

 z_log_var (Dense)           (None, 2)                 258         ['dense_3[0][0]']

 sampling_1 (Sampling)       (None, 2)                 0           ['z_mean[0][0]',
                                                                    'z_log_var[0][0]']

==================================================================================================
Total params: 46,132
Trainable params: 46,132
Non-trainable params: 0
```

Slika 4.8. Kratki pregled enkodera

4.3.2. Dekoder

Kreiranje dekodera je jednostavniji proces od kreiranja enkodera i sastoji se samo od dva koraka: definicije i instanciranja dekodera. Oba koraka prikazana su slikom 4.9., na kojoj vidimo na koji način se definira dekoder, kako se povezuju slojevi neuronske mreže i kako ga instanciramo.

```
latent_inputs = keras.Input(shape=(latent_dim,))
x = layers.Dense(128, activation='relu')(latent_inputs)
x = layers.Dense(88 * 8)(x)
x = layers.Reshape((88, 8))(x)
x = layers.Conv1D(16, 3, activation='relu', padding='same')(x)
x = layers.UpSampling1D(2)(x)
x = layers.Conv1D(8, 3, activation='relu', padding='same')(x)
x = layers.UpSampling1D(2)(x)
decoded = layers.Conv1D(1, 3, activation='sigmoid', padding='same')(x)
decoded = layers.Cropping1D(cropping=(0, 264))(decoded)
decoder = keras.Model(latent_inputs, decoded, name="decoder")
decoder.summary()
```

Slika 4.9. Definiranje dekodera

U nastavku su pojašnjeni svi slojevi dekodera:

- **latent_inputs = keras.Input(shape=(latent_dim,))** – prvi sloj je ulazni sloj dekodera koji kao ulaz očekuje točku iz latentnog prostora; podatak koji ovaj sloj dobiva na ulaz je oblika (None, 2) kao i u zadnjem sloju enkodera
- **x = layers.Dense(128, activation='relu')(latent_inputs) –** ovaj potpuno povezani sloj mapira točku iz latentnog prostora u prikaz s više dimenzija; izlazni tenzor je oblika (None, 128)
- **x = layers.Dense(88 * 8)(x) –** još jedan potpuno povezani sloj koji mapira tenzor iz prethodnog sloja u prikaz s još više dimenzija što rezultira izlaznim oblikom (None, 704)
- **x = layers.Reshape((88, 8))(x) –** ovaj sloj preoblikuje prethodni tenzor u tenzor s dimenzijom više i oblikom (None, 88, 8)
- **x = layers.Conv1D(16, 3, activation='relu', padding='same')(x) –** jednodimenzionalni konvolucijski sloj sa 16 filtera nakon kojeg izlazni tenzor ima oblik (None, 88, 16)
- **x = layers.UpSampling1D(2)(x)** – ovaj sloj obavlja povećanje uzorkovanja odnosno *upsampling* na prethodnom tenzoru i udvostručuje njegovu duljinu što na kraju daje oblik (None, 176, 16)
- **x = layers.Conv1D(8, 3, activation='relu', padding='same')(x)** – još jedan jednodimenzionalni konvolucijski sloj, ovaj put s 8 filtera što dovodi do oblika (None, 176, 8)
- **x = layers.UpSampling1D(2)(x) –** još jedan sloj za povećanje uzorkovanja koji ponovno udvostručava duljinu tenzora i daje mu oblik (None, 352, 8)
- **decoded = layers.Conv1D(1, 3, activation='sigmoid', padding='same')(x) –** konačni jednodimenzionalni konvolucijski sloj s jednim filterom što izlaznom tenzoru *decoded* daje oblik (None, 352, 1)
- **decoded = layers.Cropping1D(cropping=(0, 264))(decoded) –** sloj za izrezivanje koji uklanja potreban broj značajki da bi konačan tenzor *decoded* imao oblik (None, 88, 1)
- **decoder = keras.Model(latent_inputs, decoded, name="decoder") -** instanciramo model dekodera uzimajući *latent_inputs* kao ulaz te tenzor *decoded* kao izlaz
- **decoder.summary()** - ova linija ispisuje kratki pregled dekodera, prikazujući slojeve i njihove oblike izlaznih podataka; izlaz ove linije prikazan je slikom 4.10.

```
Model: "decoder"
_________________________________________________________________
 Layer (type)                Output Shape              Param #
=================================================================
 input_4 (InputLayer)        [(None, 2)]               0

 dense_4 (Dense)             (None, 128)               384

 dense_5 (Dense)             (None, 704)               90816

 reshape_1 (Reshape)         (None, 88, 8)             0

 conv1d_7 (Conv1D)           (None, 88, 16)            400

 up_sampling1d_2 (UpSampling  (None, 176, 16)          0
 1D)

 conv1d_8 (Conv1D)           (None, 176, 8)            392

 up_sampling1d_3 (UpSampling  (None, 352, 8)           0
 1D)

 conv1d_9 (Conv1D)           (None, 352, 1)            25

 cropping1d_1 (Cropping1D)   (None, 88, 1)             0

=================================================================
Total params: 92,017
Trainable params: 92,017
Non-trainable params: 0
```

Slika 4.10. Kratki pregled dekodera

4.3.3. Model VAE

U trenutku kada imamo definiran enkoder i dekoder možemo ih povezati i tako dobiti konačnu arhitekturu varijacijskog autoenkodera. Kao što vidimo prema kratkom isječku koda i njegovom ispisu na slici 4.11., ulaz u VAE, odnosno enkoder, je oblika (None, 88, 1). Izlaz iz enkodera, odnosno ulaz u dekoder je oblika (None, 2). Izlaz iz VAE, odnosno dekodera, je također oblika (None, 88, 1). Dakle možemo reći da je izlaz cijelog VAE zapravo izvorni ulaz, enkodiran enkoderom i dekodiran dekoderom.

```
vae = VAE(encoder, decoder)
vae.build(input_shape=(None, 88, 1))
vae.summary()
```

```
Model: "vae"
_________________________________________________________________
 Layer (type)                Output Shape              Param #
=================================================================
 encoder (Functional)        [(None, 2),               46132
                              (None, 2),
                              (None, 2)]

 decoder (Functional)        (None, 88, 1)             92017

=================================================================
Total params: 138,155
Trainable params: 138,149
Non-trainable params: 6
_________________________________________________________________
```

Slika 4.11. Instanciranje i kratki pregled varijacijskog autoenkodera

Međutim, treba napomenuti kako je za izgradnju modela definirana nova klasa *VAE*, što je vidljivo i iz linije *vae = VAE(encoder, decoder)* na slici 4.11, koja nasljeđuje klasu *keras.Model* jer su neke metode trebale biti prilagođene za ovaj specifičan slučaj. U nastavku će biti objašnjeni i prikazani slikama dijelovi koda kojima se definirala klasa *VAE* i njene metode.

Na slici 4.12., kao što je već spomenuto, definiramo novu klasu *VAE* koja nasljeđuje klasu *keras.Model*. Slijedi konstruktor metoda u kojoj ćemo spojiti enkoder i dekoder u jedan model. Ona prihvaća dva argumenta, naravno enkoder i dekoder, koje smo instancirali ranije. ***kwargs* u argumentima služi kako bi prihvatio bilo kakve dodatne ključne riječi kao argumente. Zatim pozivamo konstruktor klase roditelja *keras.Model* i prosljeđujemo dodatne argumente ako ih je bilo. Slijedi dodjela ranije instanciranih enkodera i dekodera atributima *encoder* i *decoder*. Nakon toga moramo inicijalizirati atribute metrika koje će pratiti gubitke pri treniranju modela. Metrike koje ćemo koristiti su ukupan gubitak, gubitak rekonstrukcije i KL gubitak, odnosno KL divergencija. Na slici 4.12. je osim opisanog do sada prikazana i *metrics* metoda koja se definira kao *property* klase *VAE*. Njena zadaća je da vraća listu prethodno definiranih metrika: *total_loss_tracker*, *reconstruction_loss_tracker* i *kl_loss_tracker*.

```python
class VAE(keras.Model):
    def __init__(self, encoder, decoder, **kwargs):
        super(VAE, self).__init__(**kwargs)
        self.encoder = encoder
        self.decoder = decoder
        self.total_loss_tracker = keras.metrics.Mean(name="total_loss")
        self.reconstruction_loss_tracker = keras.metrics.Mean(name="reconstruction_loss")
        self.kl_loss_tracker = keras.metrics.Mean(name="kl_loss")

    @property
    def metrics(self):
        return [
            self.total_loss_tracker,
            self.reconstruction_loss_tracker,
            self.kl_loss_tracker,
        ]
```

Slika 4.12. Definiranje klase VAE, konstruktora i metode metrics

Slijedi definiranje *train_step* i *test_step* metoda kako bismo prilagodili procese treniranja i testiranja. Prva na redu je *train_step* metoda, prikazana slikom 4.13. Ona definira kako izgleda jedan korak procesa treniranja modela VAE. Pomoću linije *with tf.GradientTape() as tape* postavljamo kontekst gdje će operacije biti "spremljene na vrpcu" što će nam kasnije omogućiti računanje gradijenata. Unutar tog konteksta prvo prosljeđujemo ulazne podatke u enkoder kako bismo dobili latentne varijable *z_mean, z_log_var* i *z*, a zatim prosljeđujemo latentnu varijablu *z* u dekoder kako bismo dobili renkonstruirane podatke. Slijede izračuni gubitaka: gubitak rekonstrukcije je srednja kvadrirana greška između ulaznih i rekonstruiranih podataka sumirana preko odgovarajućih osi, gubitak KL divergencije predstavlja razliku između naučene distribucije i standardne Gaussove distribucije, a *total_loss* odnosno ukupni gubici su suma gubitaka rekonstrukcije i gubitaka KL divergencije. Gubici KL divergencije su prilikom zbrajanja s gubicima rekonstrukcije množeni faktorom $\beta = 0.27$ kako bi uskladili težine ovih dvaju gubitaka. Razlog i način odabira faktora β bit će predstavljen u poglavlju s rezultatima jer su oni usko povezani. Sada izvan postavljenog konteksta izračunavamo gradijente ukupnih gubitaka s obzirom na težine modela te ih primjenjujemo na te težine. Zatim ažuriramo stanja metrika koje mjere gubitke kako bismo ih mogli pratiti i na kraju vraćamo rječnik koji sadrži sve definirane metrike za mjerenje gubitaka i koje ćemo koristiti za praćenje procesa treniranja.

```
def train_step(self, data):
    with tf.GradientTape() as tape:
        z_mean, z_log_var, z = self.encoder(data)

        reconstruction = self.decoder(z)
        reconstruction_loss = tf.reduce_mean(
            tf.reduce_sum((data - reconstruction) ** 2, axis=(1, 2))
        )

        kl_loss = -0.5 * (1 + z_log_var - tf.square(z_mean) - tf.exp(z_log_var))
        kl_loss = tf.reduce_mean(tf.reduce_sum(kl_loss, axis=1))

        total_loss = reconstruction_loss + 0.27 * kl_loss

    grads = tape.gradient(total_loss, self.trainable_weights)
    self.optimizer.apply_gradients(zip(grads, self.trainable_weights))
    self.total_loss_tracker.update_state(total_loss)
    self.reconstruction_loss_tracker.update_state(reconstruction_loss)
    self.kl_loss_tracker.update_state(kl_loss)
    return {
        "loss": self.total_loss_tracker.result(),
        "reconstruction_loss": self.reconstruction_loss_tracker.result(),
        "kl_loss": self.kl_loss_tracker.result(),
    }
```

Slika 4.13. Definiranje train_step metode

Nakon *train_step* metode slijedi *test_step* metoda. Ona definira kako izgleda jedan korak testiranja odnosno validacije modela VAE i vrlo je slična *train_step* metodi, osim što ne izračunava gradijente i ne ažurira težine s obzirom da se radi o fazi evaluacije. Najprije postavljamo ulazne podatke kao *x* te izračunavamo latentne varijable *z_mean*, *z_log_var* i *z* pomoću enkodera. Argument *training=False* osigurava da slojevi enkodera rade u načinu rada za zaključivanje umjesto za treniranje. Zatim rekonstruiramo podatke *x* pomoću enkodera i latentne varijable *z*. Slijede izračuni gubitaka na isti način kao i u *train_step* metodi. Na kraju imamo rječnik *results* koji sadrži izračunate gubitke i metrike, a pomoću kojih će se pratiti proces evaluacije.

```
def test_step(self, data):
    x = data

    z_mean, z_log_var, z = self.encoder(x, training=False)
    reconstructed_x = self.decoder(z, training=False)

    reconstruction_loss = tf.reduce_mean(
        tf.reduce_sum((x - reconstructed_x) ** 2, axis=(1, 2))
    )

    kl_loss = -0.5 * (1 + z_log_var - tf.square(z_mean) - tf.exp(z_log_var))
    kl_loss = tf.reduce_mean(tf.reduce_sum(kl_loss, axis=1))

    total_loss = reconstruction_loss + 0.27 * kl_loss

    results = {m.name: m.result() for m in self.metrics}
    results["reconstruction_loss"] = reconstruction_loss
    results["kl_loss"] = kl_loss
    results["total_loss"] = total_loss
    return results
```

Slika 4.13. Definiranje test_step metode

4.3.4. Obrada podataka

Nakon definirane arhitekture modela, potrebno je pripremiti ulazne podatke na način da ih model VAE može prihvatiti i efikasno učiti na njima. Slikom 4.14. prikazan je dio koda u kojem je odrađeno učitavanje i obrada ulaznih podataka, a koji će biti objašnjen u nastavku.

Najprije radimo *import* klase za skaliranje podataka *MinMaxScaler* iz knjižnice Scikit-learn pomoću koje ćemo odraditi normalizaciju podataka. Zatim učitavamo podatke iz .csv datoteka koje su opisane u poglavlju 4.2., *features.csv* i *labels.csv*, a koje sadrže sekvence i izračunate značajke peptida te oznake aktivnosti peptida. Slijedi funkcija *train_test_split* iz knjižnice Scikit-learn koja automatski dijeli podatke u skupove za trening i testiranje. Funkcija odmah dijeli i podatke *x*, koji sadrže izračunate značajke peptida, i podatke *y*, koji sadrže oznake peptida koje će biti korištene isključivo prilikom vizualizacije. Argument *test_size=0.2* unutar te funkcije određuje da će se podaci podijeliti na način da 20% podataka bude korišteno za testiranje, a ostalih 80% će se koristiti za trening. Zatim imamo dvije linije koje služe kako bismo odvojili prvi stupac glavnog skupa podataka, u kojem se nalaze sekvence peptida, u zasebne varijable *x_train_seq* i *x_test_seq* koje će nam koristiti kasnije pri izračunu sličnosti između peptida temeljene na njihovim sekvencama.

Slično tome, slijede dvije linije odvajaju sve stupce osim prvog, u kojima se nalaze izračunate značajke peptida, u zasebne varijable *x_train_features* i *x_test_features* jer želimo da model uči isključivo pomoći izračunatih značajki, bez znanja o sekvencama peptida. Nakon toga instanciramo objekt klase *MinMaxScaler*, primjenjujemo ga na varijable u kojima su spremljene značajke peptida i spremamo u varijable *x_train* i *x_test*. Klasa *MinMaxScaler* normalizira podatke, odnosno postavlja njihove vrijednosti u raspon od 0 do 1 na način da najmanju vrijednost značajke postavi kao 0, najveću vrijednost značajke postavi kao 1, a ostatak vrijednosti skalira u odnosu na minimum i maksimum. To radi za svaki stupac posebno tako da smo sigurni da će sve značajke biti ispravno normalizirane bez obzira na moguće razlike u njihovim izvornim rasponima vrijednosti. Na *x_train* koristimo *fit_transform* kako bi funkcija izračunala parametre za skaliranje na temelju podataka za treniranje i tek tada primijenila skaliranje. Na *x_test* koristimo običan *transform* kako bismo na testnim podacima primijenili skaliranje s parametrima naučenim iz podataka za trening. Na kraju svim glavnim varijablama: *x_train*, *x_test*, *y_train*, i *y_test*, dodajemo još jednu dimenziju odnosno novu os kako bi oblik podataka odgovarao onome što model očekuje na ulazu.

```
from sklearn.preprocessing import MinMaxScaler

features = pd.read_csv('features.csv')
labels = pd.read_csv('labels.csv')
(x_train, x_test, y_train, y_test) = train_test_split(
                                    features, labels, test_size=0.2, random_state=42)

x_train_seq = x_train.values[:, 0]
x_test_seq = x_test.values[:, 0]

x_train_features = x_train.values[:, 1:]
x_test_features = x_test.values[:, 1:]

scaler = MinMaxScaler()

x_train = scaler.fit_transform(x_train_features)
x_test = scaler.transform(x_test_features)

x_train = np.expand_dims(x_train, -1)
x_test = np.expand_dims(x_test, -1)
y_train = np.expand_dims(y_train, -1)
y_test = np.expand_dims(y_test, -1)
```

Slika 4.14. Učitavanje i obrada ulaznih podataka

4.3.5. Optimizacija hiperparametara

Početni plan za optimizaciju parametara bio je odraditi optimizaciju pomoću klase *GridSearchCV* iz knjižnice Scikit-learn koja je osmišljena specifično za ovakve zadatke. Međutim, kako je ovaj model VAE veoma prilagođen u svrhu ovog rada i unutar njega su prilagođene razne metode, između ostalog i način evaluacije modela, došlo je do problema s kompatibilnosti modela VAE i klase *GridSearchCV*. Uzimajući to u obzir, i činjenicu da imamo samo dva hiperparametra koja želimo optimizirati, bilo je jednostavnije napisati kod koji će „ručno“ odraditi optimizaciju tako što će isprobati sve kombinacije hiperparametara u treningu, evaluirati ih te na kraju vratiti najbolju kombinaciju hiperparametara. Kod je prikazan slikom 4.15., a u nastavku je detaljnije objašnjeno kako on radi.

```
learn_rate = [0.001, 0.005, 0.008, 0.01]
batch_size = [32, 64, 128, 256]

param_grid = dict(learn_rate=learn_rate, batch_size=batch_size)

best_score = None
best_params = {}

for lr in learn_rate:
    for bs in batch_size:
        print("Learning rate: ", lr)
        print("Batch size: ", bs)

        vae = VAE(encoder, decoder)
        vae.compile(optimizer=keras.optimizers.Adam(learning_rate=lr))

        reduce_lr = ReduceLROnPlateau(monitor='loss', factor=0.5, patience=10, verbose=1, min_lr=1e-6)
        early_stop = EarlyStopping(monitor='loss', patience=20, verbose=1, restore_best_weights=True)

        vae.fit(x_train, batch_size=bs, epochs=30, validation_split = 0.2,
                callbacks=[reduce_lr, early_stop])

        score = vae.evaluate(x_test)
        print(score)

        if best_score is None or score < best_score:
            best_score = score
            best_params = {'learn_rate': lr, 'batch_size': bs}

print("Best Hyperparameters:", best_params)
print("Best Score:", best_score)

lr = best_params['learn_rate']
bs = best_params['batch_size']
```

Slika 4.15. Optimizacija hiperparametara

Unutar prve dvije linije pomoću dvije liste definiramo prostor pretrage hiperparametara za dvije varijable koje želimo optimizirati. Varijabla *learn_rate* sadrži listu od četiri česte vrijednosti koje se uzimaju za parametar *learning_rate* optimizatora prilikom kompajliranja modela. Varijabla *batch_size* sadrži listu od četiri najčešće vrijednosti koje se uzimaju za parametar *batch_size* prilikom treniranja modela. Spomenute vrijednosti, odnosno prostor pretrage hiperparametara, prikazane su tablicom 4.3. Slijedi stvaranje rječnika *param_grid* koji mapira hiperparametre u njihove pripadajuće liste vrijednosti te inicijalizacija varijabli *best_score* i *best_params* koje će redom pratiti najbolji postignuti rezultat i pripadajuće hiperparametre. Slijede ugniježđene petlje koje iteriraju kroz definirane liste i tako prolaze kroz svaku kombinaciju parametara. U unutrašnjoj petlji stvara se i kompajlira novi model VAE s trenutnim *learning_rate*. Nakon toga instanciramo dva povratna poziva kojima ćemo dodatno optimizirati trening modela, a koji su detaljno opisani u poglavlju 4.3.6. Zatim se model trenira s trenutnim *batch_size* tijekom 30 epoha, validacija se izvršava na 20% podataka određenih za validaciju iz skupa podataka za trening i na kraju se model evaluira na testnim podacima kako bismo dobili rezultat uspješnosti modela. Na taj način imamo model VAE za svaku kombinaciju definiranih hiperparametara. Nakon evaluacije, provjeravamo je li trenutni rezultat bolji od prethodnog najboljeg rezultata, odnosno jesu li gubici trenutnog modela manji od gubitaka prethodnih najmanjih gubitaka i u tom slučaju ažuriramo vrijednosti najboljeg rezultata i najboljih hiperparametara. Nakon što se ispitaju sve kombinacije, ispisujemo najbolji rezultat i odgovarajuće najbolje hiperparametre. Na kraju najbolje hiperparametre spremamo u varijable *lr* i *bs* kako bismo ih mogli koristiti u daljnjem radu.

Tablica 4.3. Prostor pretrage hiperparametara

PARAMETAR	VRIJEDNOSTI			
learn_rate	0.001	0.005	0.008	0.01
batch_size	32	64	128	256

Izlaz opisanog koda, izuzevši ispise gubitaka u svakoj od epoha za svaki pojedini model, nalazi se na slici 4.16. Iz njega možemo iščitati da su vrijednosti hiperparametara koje su postigle najbolje rezultate: 0.008 za *learn_rate* i 64 za *batch_size*. Brojevi kojima je opisan rezultat predstavljaju redom: ukupne gubitke, gubitke rekonstrukcije i gubitke KL divergencije.

```
Best Hyperparameters: {'learn_rate': 0.008, 'batch_size': 64}
Best Score: [0.6887722611427307, 0.48396357893943787, 0.7585505843162537]
```

Slika 4.16. Rezultati optimizacije hiperparametara

4.3.6. Trening

Nakon optimizacije hiperparametara opisane u prethodnom poglavlju, imamo sve što nam je potrebno kako bismo mogli započeti s kompajliranjem i treniranjem modela VAE. S obzirom da je sve već pripremljeno, ovaj dio je relativno jednostavan. Kod se nalazi na slici 4.17., a objašnjen je u nastavku.

Prije svega moramo instancirati model VAE tako što ćemo spojiti prethodno definirani enkoder i dekoder. Slijedi kompajliranje modela pomoću optimizatora *Adam*, slično kao i kod optimizacije hiperparametara, samo što ovaj put u parametar *learning_rate* postavljamo vrijednost koju smo dobili kao najbolju prilikom optimizacije hiperparametara. Slijedi stvaranje instanci dvaju povratnih poziva (*callbacks*) koji će dodatno optimizirati treniranje.

Prva od njih je *reduce_lr* koji je instanca povratnog poziva *ReduceLROnPlateau*. On prati gubitke prilikom treninga i u slučaju da se ukupni gubici prestanu smanjivati tijekom određenog broja epoha, smanjuje *learning_rate*. Prema ovdje definiranim parametrima, *patience=10* označava da ako se tijekom deset epoha treninga ne smanje ukupni gubici, *learning_rate* se smanjuje na pola, odnosno množi faktorom 0.5, što iščitavamo iz parametra *factor=0.5*. Minimalni dozvoljeni *learning_rate* je definiran parametrom *min_lr=1e-6*, što znači da se *learning_rate* nakon što dostigne tu vrijednost više neće smanjivati.

Druga instanca je *early_stop*, odnosno instanca povratnog poziva *EarlyStopping*. On također prati gubitke tijekom treninga, ali u slučaju da se ukupni gubici prestanu smanjivati određen broj epoha u potpunosti zaustavlja trening. Prema ovdje definiranim parametrima, *patience=20*, ovaj povratni poziv će se aktivirati ako se ukupni gubici ne smanje tijekom 20 epoha treninga. Kako je prethodni povratni poziv – *reduce_lr* – postavljen da se aktivira nakon samo 10 epoha, to znači da će se uvijek on aktivirati prije, a *early_stop* će se aktivirati tek u slučaju da nakon smanjenja vrijednosti *learning_rate* ukupni gubici i dalje ne budu padali. Parametar

restore_best_weights=True označava da se nakon izvršenja povratnog poziva *early_stop* vraćaju najbolje težine modela koje su bile postignute tijekom treninga.

U ovom trenutku započinjemo s treniranjem modela. Unutar *vae.fit()* funkcije navodimo potrebne parametre: *x_train* kao skup podataka za treniranje modela, *batch_size* postavljamo na prethodno definirani *bs*, *epochs* postavljamo na 100 kao broj epoha kroz koje će se obavljati trening, u *validation_split* postavljamo faktor 0.2 kako bi model na izdvojenih 20% podataka iz skupa podataka *x_train* nakon svake epohe mogao provesti validaciju i na kraju u *callbacks* navodimo dva povratna poziva koja smo ranije definirali kako bi se oni mogli primijeniti tijekom treninga. Rezultati samog treniranja bit će prikazani u sljedećem poglavlju.

```
vae = VAE(encoder, decoder)
vae.compile(optimizer=keras.optimizers.Adam(learning_rate = lr))

reduce_lr = ReduceLROnPlateau(monitor='loss', factor=0.5, patience=10, verbose=1, min_lr=1e-6)
early_stop = EarlyStopping(monitor='loss', patience=20, verbose=1, restore_best_weights=True)

vae.fit(x_train, batch_size=bs, epochs=100, validation_split = 0.2,
        callbacks=[reduce_lr, early_stop])
```

Slika 4.17. Instanciranje, kompajliranje i trening modela

5. REZULTATI

5.1. Rezultati treninga

Nakon treniranja modela na način objašnjen u prethodnom poglavlju dolazimo do rezultata koje možemo opisati prethodno definiranim metrikama gubitaka. U ovom slučaju putem optimizacije hiperparametara odabrane su vrijednosti 0.008 za *learning*_rate i 64 za *batch*_size. U tablici 5.1. nalaze se vrijednosti gubitaka koje su dobivene prilikom jednog treninga.

Tablica 5.1. Vrijednosti gubitaka nakon jednog treninga

	Ukupni gubici	Gubici rekonstrukcije	Gubici KL divergencije
Gubici treninga	0.8413	0.6575	0.7109
Gubici validacije	0.8606	0.6280	0.8614

Prema podacima iz tablice 5.1. možemo zaključiti da su gubici rekonstrukcije i gubici KL divergencije dobro izbalansirani. To nam je bitno jer u isto vrijeme želimo imati i dobru rekonstrukciju podataka i dobra svojstva latentnog prostora. Izravno zbrojeni gubici rekonstrukcije i gubici KL divergencije ne daju iznos ukupnih gubitaka zbog njihovih različitih težina, odnosno zbog toga što se prije zbrajanja gubici KL divergencije množe faktorom $\beta = 0.27$. Gubicima KL divergencije dodan je taj faktor kako bi smanjili njihov značaj u ukupnim gubicima i tako prisilili model da se više fokusira na smanjivanje gubitaka rekonstrukcije. Bez faktora β, odnosno kada je faktor β jednak 1, naš model krene smanjivati gubitke isključivo smanjivanjem gubitaka KL divergencije jer su ulazni podaci očito takvog tipa da je modelu puno lakše na taj način smanjiti ukupne gubitke pa to i koristi. U tom slučaju dobivamo izuzetno kvalitetnu regularnost latentnog prostora, ali s druge strane jako lošu rekonstrukciju, što nam naravno nije cilj. Zbog toga je uveden faktor β, a njegovu vrijednost smo dobili tako što smo trenirali četiri različita modela s različitim vrijednostima faktora β koje bi mogle pružiti zadovoljavajuće rezultate i odabrali onu za koju model ima najbolji omjer između kvalitete rekonstrukcije i regularnosti latentnog prostora. U tablici 5.2.

nalaze se dobivene vrijednosti gubitaka i metrika koje određuju točnost modela za svaki faktor β. Metrike točnosti bit će predstavljene u nastavku.

Tablica 5.2. Rezultati modela za pojedine vrijednosti faktora β

β	Ukupni gubici	Gubici rekonstrukcije	Gubici KL divergencije	NSURLP	PKK	RMSE
0.25	0.8429	0.6356	0.8041	0.091	0.799	0.085
0.27	**0.8413**	**0.6575**	**0.7109**	**0.103**	**0.7917**	**0.0869**
0.3	0.8802	0.7419	0.4529	0.121	0.763	0.092
0.35	0.8946	0.7912	0.3193	0.167	0.739	0.096

Iz tablice 5.2. je vidljivo da je za faktor β = 0.27 dobiven najbolji omjer gubitaka rekonstrukcije i gubitaka KL divergencije. Regularnost latentnog prostora je i dalje zadovoljena, što ćemo i vizualno prikazati u sljedećem poglavlju, a vrijednosti metrika kojima mjerimo točnost modela pokazuju da je model uspješan pri rekonstrukciji. Uveli smo tri metrike kojima mjerimo točnost modela: normaliziranu srednju udaljenost rekonstrukcije u latentnom prostoru (NSURLP), Pearsonov koeficijent korelacije (PKK) i kvadratni korijen srednje kvadratne pogreške (RMSE – *Root Mean Square Error*). Njihova implementacija prikazana je slikom 5.1.

```python
#NORMALIZIRANA UDALJENOST REKONSTRUKCIJE U LATENTNOM PROSTORU

min_values = np.min(z_test_input, axis=0)
max_values = np.max(z_test_input, axis=0)

latent_space_size = np.linalg.norm(max_values - min_values)

print(latent_space_size)

distances_x_test = []

for i in range(len(x_test)):
    dist = euclidean_distance(z_test_input[i], reconstructed_z_test_encoded[i])

    distances_x_test.append(dist)

print("Normalizirana prosječna udaljenost između izvornih i rekonstruiranih točaka: ",
      np.sum(distances_x_test)/latent_space_size/len(x_test))
```

```python
#PEARSONOV KOEFICIJENT KORELACIJE

from scipy.stats import spearmanr, kendalltau, pearsonr

print(pearsonr(x_test.flatten(), reconstructed_z_test_input.flatten()))
```

```python
#RMSE

mse = np.mean(np.square(x_test - reconstructed_z_test_input))
rmse = np.sqrt(mse)

print(f"RMSE: {rmse}")
```

Slika 5.1. Implementacija metrika kojima mjerimo točnost modela

NSURLP označava normaliziranu srednju udaljenost rekonstrukcije u latentnom prostoru. Izračunali smo je na način da smo za testni skup podataka enkodiran u latentni prostor odredili koordinate točaka s najmanjim i najvećim iznosima na obje osi i tako odredili granice latentnog prostora unutar kojih se nalaze svi enkodirani podaci. Zatim smo uzeli dijagonalu tog prostora kao najveću moguću udaljenost koja može postojati između izvornog i rekonstruiranog peptida. Naravno, u teoriji ta udaljenost može biti i veća, ali takva rekonstrukcija se niti ne bi mogla smatrati korektnom. Nakon toga izračunavamo udaljenosti između svih peptida enkodiranih u latentni prostor i njihovih pripadajućih rekonstruiranih, odnosno dekodiranih i ponovno enkodiranih,

peptida. Te udaljenosti zbrajamo te zatim dijelimo s ukupnim brojem peptida u testnom skupu podataka kako bi dobili srednju udaljenost i na kraju dijelimo s dijagonalom latentnog prostora kako bi tu vrijednost normalizirali. Dakle metriku NSURLP možemo shvatiti i kao postotak greške, s obzirom na to da će se ona u gotovo svakom slučaju nalaziti između 0 i 1, a manja vrijednost označava bolji rezultat, to jest manje odstupanje od izvornih podataka. Za naš konkretni model s faktorom $\beta = 0.27$, iznos metrike jest NSURLP = 0.103, što bi značilo da model rekonstruira peptide s prosječnom greškom od 10.3%.

PKK označava Pearsonov koeficijent korelacije koji se općenito koristi za mjerenje linearne povezanosti između dvije varijable. U ovom slučaju uspoređujemo izvorni skup testnih podataka s dekodiranim, odnosno rekonstruiranim skupom testnih podataka iz latentnog prostora. Prema tome, rekonstruirani skup podataka bi trebao imati slične obrasce i promjene u vrijednostima kao izvorni skup podataka te bi PKK trebao dobro opisati njihovu povezanost, a time i sličnost. Vrijednost PKK će se također uvijek nalaziti između 0 i 1 gdje veća vrijednost označava bolji rezultat, odnosno veću sličnost rekonstruiranih i izvornih podataka. Dobiveni iznos PKK = 0.7917 označava izraženu linearnu vezu. Iznos pripadne p-vrijednosti je gotovo jednak nuli, tako da možemo biti sigurni u vjerodostojnost ovog podatka jer takav iznos p-vrijednosti označava da je iznos PKK statistički značajan. Više detalja o koeficijentima korelacije nalazi se u poglavlju 5.3.

RMSE označava kvadratni korijen srednje kvadratne pogreške. On se izračunava na način da kvadriramo razlike između vrijednosti izvornih i rekonstruiranih podataka, izračunamo srednju vrijednost tih razlika i na kraju izračunamo korijen srednje vrijednosti. Općenito je metrika RMSE relativna i može poprimiti bilo koju realnu vrijednost, ali s obzirom na to da su naši ulazni podaci normalizirani, samim time će i izlazni podaci biti normalizirani i metrika RMSE će također moći poprimiti samo vrijednosti između 0 i 1 gdje će manja vrijednost označavati manju grešku, odnosno bolji rezultat modela. Za ovaj model je dobiven iznos RMSE = 0.0869, što možemo protumačiti kao grešku od 8.69%. Ovakav iznos je u skladu s iznosima prethodnih metrika.

Uzimajući u obzir rezultate predstavljenih metrika možemo zaključiti da je model uspješan u rekonstruiranju podataka. Rezultati rekonstrukcije se mogu poboljšati, ali tada bi izgubili regularnost latentnog prostora koju model VAE zahtijeva. Uz ovakve rezultate, model i dalje zadržava regularnost latentnog prostora, a rekonstrukcija ostaje u prihvatljivim granicama.

Ono što također možemo vidjeti tijekom treninga, prikazano na slici 5.2., je kako rade definirani povratni pozivi. Ovdje je prikazan sami kraj treninga, gdje se nakon epohe 92 aktiviraju oba povratna poziva. Povratni poziv *ReduceLROnPlateau*, aktivira se iz razloga što je namješten da se poziva u slučaju ako ukupni gubici treninga, navedeni kao *loss*, ne padaju tijekom 10 epoha treninga odnosno ako ne padnu ispod prethodne najbolje vrijednosti, a kako je najbolja vrijednost jednaka 0.8413 što je prikazano i u rezultatima treninga u tablici 5.1., vidimo da gubici nisu padali ispod te vrijednosti nakon epohe 82 i tom aktivacijom trenutni *learning_rate* je smanjen na polovicu dosadašnjeg iznosa, na vrijednost 0.00025. Također, nakon epohe 92 aktivira se i povratni poziv *EarlyStopping*, iz razloga što je namješten da se poziva u slučaju ako ukupni gubici treninga ne padaju tijekom 20 epoha treninga, a kako gubici očito nisu padali nakon epohe 72 niti nakon povratnog poziva *ReduceLROnPlateau* koji je smanjio *learning_rate* na 0.0005 to čini tih 20 epoha i model prestaje s treningom. Na kraju se vraćaju težine modela iz epohe u kojoj su postignuti najmanji gubici, a to je u ovom slučaju epoha 72.

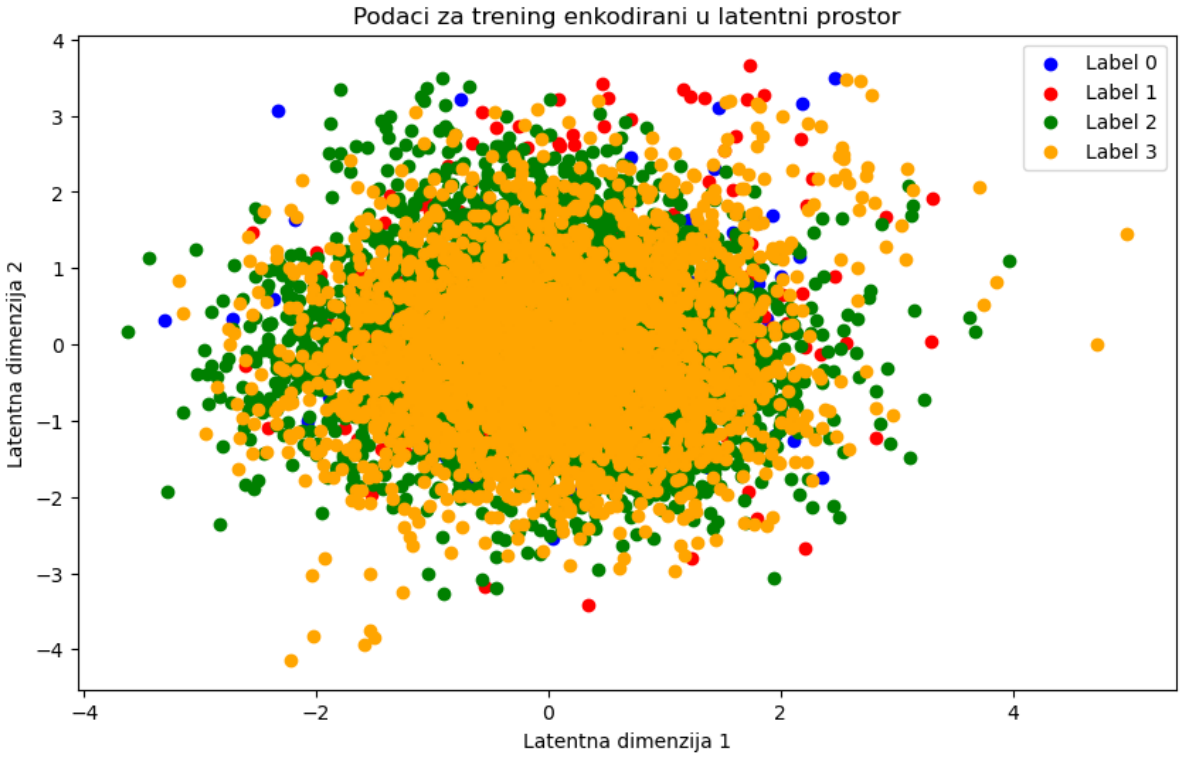
```
Epoch 83/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8544 - reconstruction_loss: 0.6544 - kl_loss: 0.7267 - val_tot
al_loss: 0.7932 - val_reconstruction_loss: 0.5563 - val_kl_loss: 0.8775 - lr: 5.0000e-04
Epoch 84/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8494 - reconstruction_loss: 0.6577 - kl_loss: 0.7146 - val_tot
al_loss: 1.0429 - val_reconstruction_loss: 0.8040 - val_kl_loss: 0.8851 - lr: 5.0000e-04
Epoch 85/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8562 - reconstruction_loss: 0.6568 - kl_loss: 0.7182 - val_tot
al_loss: 0.9372 - val_reconstruction_loss: 0.7017 - val_kl_loss: 0.8724 - lr: 5.0000e-04
Epoch 86/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8463 - reconstruction_loss: 0.6564 - kl_loss: 0.7129 - val_tot
al_loss: 0.8374 - val_reconstruction_loss: 0.6058 - val_kl_loss: 0.8578 - lr: 5.0000e-04
Epoch 87/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8295 - reconstruction_loss: 0.6572 - kl_loss: 0.7028 - val_tot
al_loss: 0.8683 - val_reconstruction_loss: 0.6344 - val_kl_loss: 0.8665 - lr: 5.0000e-04
Epoch 88/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8513 - reconstruction_loss: 0.6606 - kl_loss: 0.7101 - val_tot
al_loss: 0.9339 - val_reconstruction_loss: 0.6958 - val_kl_loss: 0.8819 - lr: 5.0000e-04
Epoch 89/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8351 - reconstruction_loss: 0.6569 - kl_loss: 0.7026 - val_tot
al_loss: 1.0439 - val_reconstruction_loss: 0.8108 - val_kl_loss: 0.8633 - lr: 5.0000e-04
Epoch 90/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8513 - reconstruction_loss: 0.6566 - kl_loss: 0.7140 - val_tot
al_loss: 1.0390 - val_reconstruction_loss: 0.8039 - val_kl_loss: 0.8709 - lr: 5.0000e-04
Epoch 91/100
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8399 - reconstruction_loss: 0.6577 - kl_loss: 0.7161 - val_tot
al_loss: 0.8412 - val_reconstruction_loss: 0.6109 - val_kl_loss: 0.8530 - lr: 5.0000e-04
Epoch 92/100
101/105 [===========================>..] - ETA: 0s - loss: 0.8409 - reconstruction_loss: 0.6560 - kl_loss: 0.7142
Epoch 92: ReduceLROnPlateau reducing learning rate to 0.0002500000118743628.
Restoring model weights from the end of the best epoch: 72.
105/105 [==============================] - 1s 8ms/step - loss: 0.8413 - reconstruction_loss: 0.6575 - kl_loss: 0.7109 - val_tot
al_loss: 0.8606 - val_reconstruction_loss: 0.6280 - val_kl_loss: 0.8614 - lr: 5.0000e-04
Epoch 92: early stopping
```

Slika 5.2. Gubici tijekom zadnjih epoha treninga

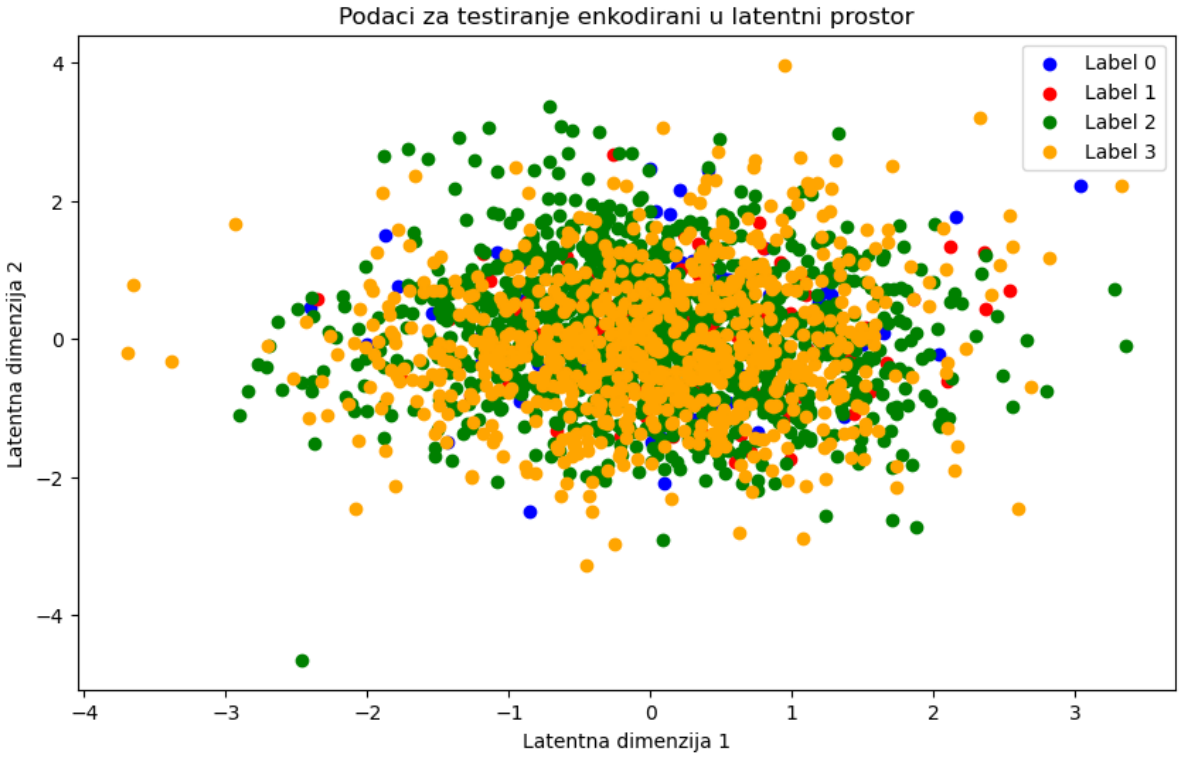
5.2. Vizualizacije

U ovom poglavlju bit će prikazane najvažnije vizualizacije podataka kojima će se jednostavno predočiti rezultati rada modela VAE. Jedan od razloga, a vjerojatno i najvažniji razlog zašto je arhitektura modela takva da u latentnom prostoru ima samo dvije dimenzije je upravo ovaj korak vizualizacije jer na taj način možemo vrlo jednostavno prikazati i shvatiti što se događa u latentnom prostoru. Na gotovo svim slikama su peptidi prikazani točkama obojenim prema njihovim oznakama koje odgovaraju vrstama i aktivnostima peptida već navedenim u tablici 4.2.

Na slikama 5.3. i 5.4. prikazani su ulazni podaci za trening i testiranje enkodirani u latentni prostor. Ovdje je jasno vidljivo da je zadovoljena potpunost koju VAE zahtijeva od latentnog prostora jer se distribucije maksimalno preklapaju i da gotovo i nema „praznog“ prostora u glavnom području latentnog prostora koji bi kad se dekodira mogao davati nejasne rezultate. Ono što bi moglo biti problematično jest kontinuitet latentnog prostora. S obzirom na to da su točke koje predstavljaju peptide obojene različitim bojama prema njihovoj vrsti, vidimo da se sve vrste uglavnom „preklapaju“, odnosno pokrivaju isti dio latentnog prostora što znači da dekodiranjem bilo kojeg dijela latentnog prostora zapravo možemo dobiti bilo koju vrstu peptida. Druga stvar koju možemo zaključiti iz toga jest da se značajke peptida prema vrsti aktivnosti možda i ne razlikuju dovoljno da bi ih model VAE mogao razlučiti.

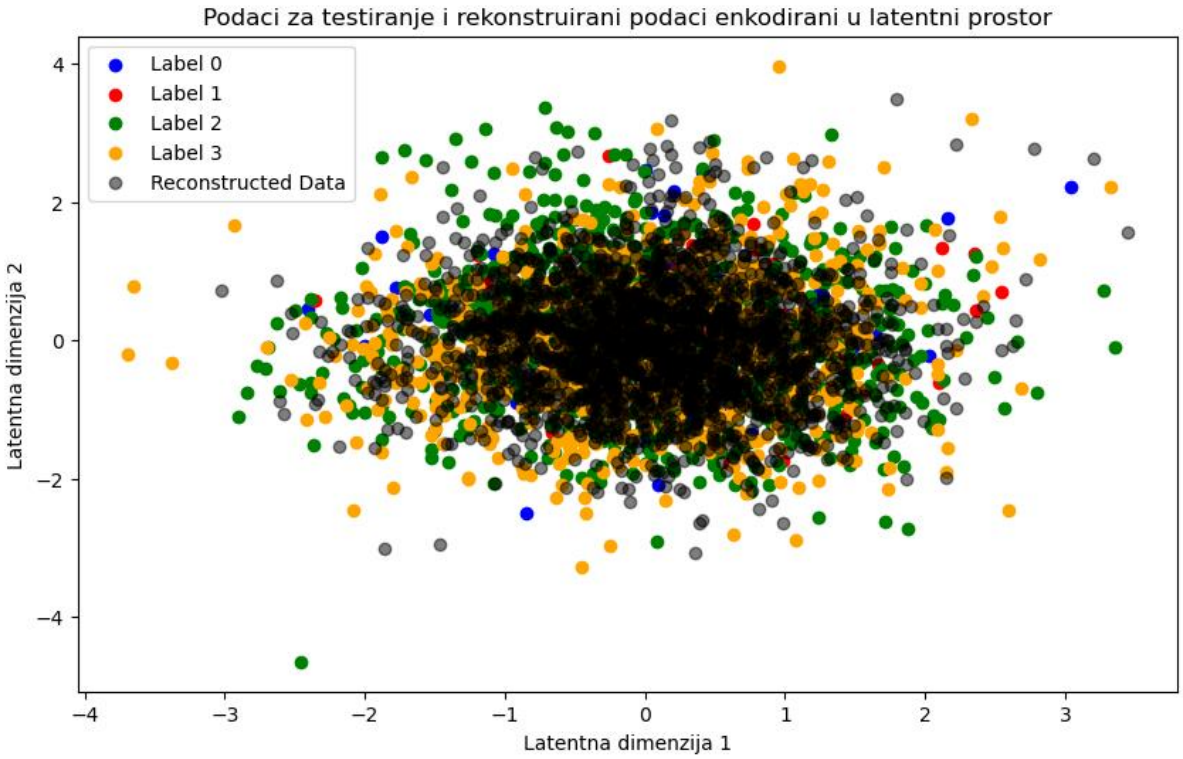


Slika 5.3. Podaci za trening enkodirani u latentni prostor

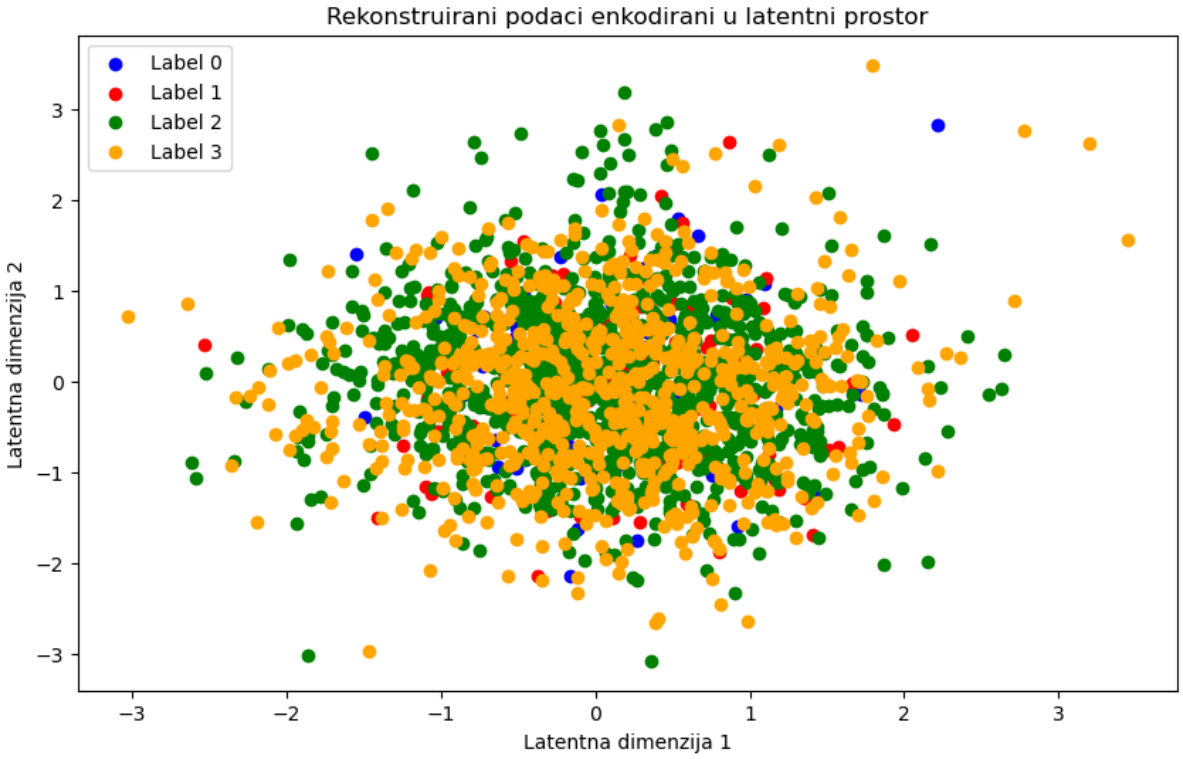


Slika 5.4. Podaci za testiranje enkodirani u latentni prostor

Na slici 5.5. prikazani su podaci za testiranje i rekonstruirani podaci enkodirani u latentni prostor. Ono što možemo zaključiti s ove slike jest da model generalno dobro dekodira podatke jer kad se oni ponovno enkodiraju gotovo se u potpunosti preklapaju s početnim podacima. Problem je što ne možemo znati koliko dobro su konstruirane konkretne točke zbog toga što su sve rekonstruirane točke obojene istom bojom, no u protivnom slika ne bi bila čitljiva. Rekonstruirane točke su prikazane različitim bojama prema vrsti peptida na slici 5.6. koju možemo usporediti sa slikom 5.4. da bi usporedili izvorne i rekonstruirane podatke, ali to opet nije dovoljno da bismo mogli sa sigurnošću odrediti koliko su dobro rekonstruirane konkretne točke jednostavno zbog prevelikog broja točaka koje se preklapaju i zbog toga što ne možemo razlučiti konkretne točke unutar neke boje odnosno vrste.

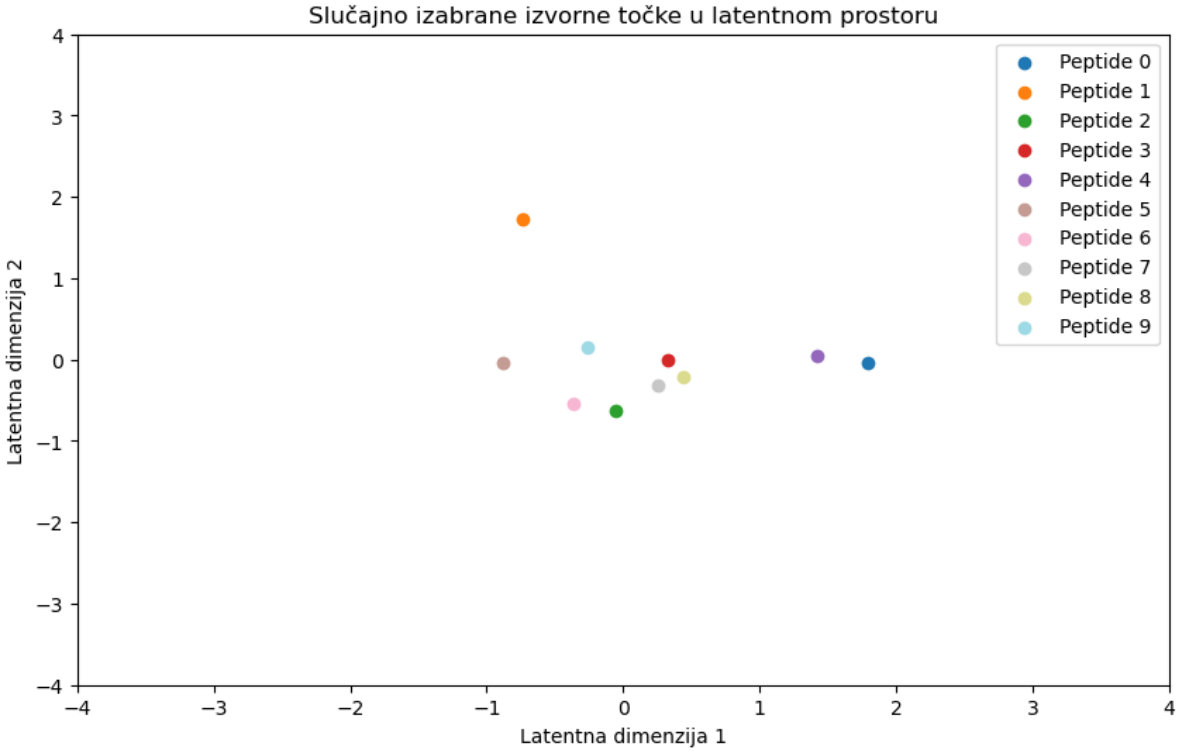


Slika 5.5. Podaci za testiranje i rekonstruirani podaci enkodirani u latentni prostor

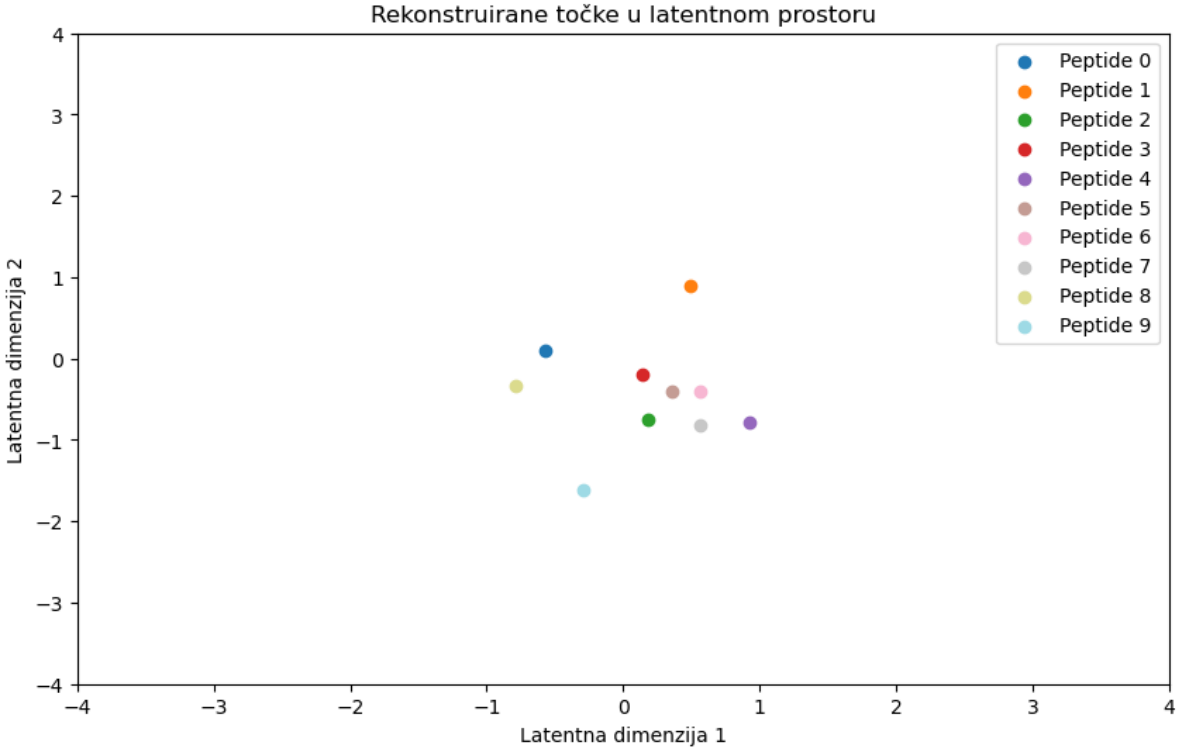


Slika 5.6. Rekonstruirani podaci za testiranje enkodirani u latentni prostor

Kako bismo lakše vizualno procijenili koliko dobro model rekonstruira izvorne podatke, stvorili smo vizualizacije prikazane slikama 5.7. i 5.8. Ovaj put smo nasumično odabrali 10 peptida iz skupa podataka za testiranje koje smo prikazali enkodirane u latentni prostor svakog svojom bojom bez obzira na antimikrobnu i antiviralnu aktivnost. Te iste peptide smo zatim dekodirali i ponovno enkodirali u latentni prostor kako bi ih mogli prikazati. Kako se radi o jako malom broju peptida i kako je svaki od njih prikazan svojom bojom, možemo točno vidjeti koliko je svaki rekonstruirani peptid udaljen od pripadajućeg izvornog peptida. Očito je da model rekonstruira podatke na korektan način, ali uz prisutnu grešku. Ove dvije vizualizacije nalaze se fiksno u granicama [-4, 4] na obje osi kako bi lakše predočili stvarnu udaljenost rekonstrukcije, a u tim granicama se nalaze svi izvorni podaci.



Slika 5.7. Slučajno izabrane izvorne točke u latentnom prostoru



Slika 5.8. Rekonstruirane točke u latentnom prostoru

Kako bismo vizualne rezultate rekonstrukcije sa slika 5.7. i 5.8. i kvantitativno defnirali, udaljenosti između svakog pojedinog izvornog peptida i njemu pripadajućeg rekonstruiranog peptida izračunate su i prikazane slikom 5.9. Vidimo da se udaljenosti razlikuju, ali uglavnom su niske s obzirom na veličinu latentnog prostora, kao i prosječna udaljenost između prikazanih točaka te možemo zaključiti da je model uspješan u dekodiranju točaka iz latentnog prostora.

```
Relativna udaljenost između svake pojedine točke i njoj pripadajuće rekonstruirane točke:
 [2.370133, 1.4891131, 0.26502588, 0.25001997, 0.9617837, 1.290007, 0.9350733, 0.58391976, 1.2317334, 1.7596855]

Prosječna relativna udaljenost između izvornih i rekonstruiranih točaka:  1.1136494636535645
```

Slika 5.9. Udaljenosti između izvornih i rekonstruiranih točaka

5.3. Korelacijska analiza

Konačni cilj ovog rada je provjeriti postoji li korelacija između sličnosti peptida prema njihovim sekvencama i sličnosti peptida prema njihovim fizikalno-kemijskim značajkama. Da bismo to ustanovili moramo provesti korelacijsku analizu.

Prije svega moramo izračunati sličnost među peptidima na osnovu njihove sekvence, odnosno dobiti kvantitativni podatak njihove sličnosti. To radimo pomoću knjižnice Biopython koja sadrži funkciju za računanje sličnosti peptida i proteina prema njihovim sekvencama tako što na njima provodi *global sequence alignment* odnosno globalno poravnanje sekvenci. Ovaj dio koda je relativno jednostavan i zbog toga nije prikazan slikom, ali se nalazi na kraju rada u prilozima zajedno s ostatkom koda i sada ćemo ga ukratko objasniti. Na početku radimo *import* potrebnih modula iz knjižnice Biopython i definiramo funkciju koja će uzimati dvije sekvence peptida, pretvoriti ih u *Seq* objekte s kojima knjižnica Biopython radi, napraviti na njima globalno poravnanje sekvenci, odabrati najbolje poravnanje te vraćati njihovu sličnost u obliku decimalnog broja u rasponu od 0 do 1 gdje broj bliži nuli označava manju sličnost, a bliži jedinici veću sličnost. Nakon toga prolazimo kroz dijelove skupova podataka *x_train_seq* i *x_test_seq*, prethodno definirane u poglavlju 4.3.4., pomoću dvije petlje s rasponom od 50 i primjenjujemo definiranu funkciju za računanje sličnosti između dvije sekvence peptida. Na taj način dobivamo dvije liste, jednu s podacima za trening i drugu s podacima za testiranje, koje kasnije pretvaramo u Numpy

polja – *similarities_train* i *similarities_test*. Ta polja su dvodimenzionalna polja, odnosno matrice dimenzija 50x50 koje sadrže izračunate sličnosti među peptidima. Razlog zašto nismo uključili cijele skupove podataka *x_train_seq* i *x_test_seq* je taj što bi to rezultiralo jako velikim matricama koje bi sadržale desetke milijuna brojeva i samim time bile računalno previše zahtjevne za izračun, a matrice od 2500 brojeva koje smo mi dobili će biti sasvim dovoljne za korelacijsku analizu.

Sljedeći korak je izračunavanje sličnosti među peptidima na osnovu njihovih fizikalno-kemijskih značajki i za ovo će nam koristiti naš model VAE. Pretpostavljamo da bi peptidi koji imaju slične značajke trebali biti enkodirani vrlo blizu u latentnom prostoru. Dakle, kao mjeru sličnosti između dva peptida prema njihovim značajkama uzet ćemo njihovu udaljenost u latentnom prostoru. Ovaj dio koda je vrlo sličan izračunavanju sličnosti prema sekvencama i također vrlo jednostavan pa će biti ukratko objašnjen, ali nije prikazan slikom već se nalazi na kraju rada u prilozima zajedno s ostatkom koda. Najprije moramo definirati funkciju koja će računati euklidsku udaljenost između dvije točke u latetnom prostoru. Ona kao argumente prihvaća dvije točke, recimo *x* i *y*, te računa njihovu udaljenost formulom *np.sqrt(np.sum((x - y)**2))*. Zatim prolazimo kroz enkoodirane podatke za trening i testiranje pomoću dvije petlje raspona 50 i primjenjujemo definiranu funkciju za računanje euklidske udaljenosti između dvije točke. Bitno je napomenuti da ovdje uključujemo iste one peptide za koje smo računali sličnost prema sekvencama kako bi ih mogli pravilno usporediti. Dobivamo dvije liste s udaljenostima, jednu s podacima za trening i drugu s podacima za testiranje, koje pretvaramo u Numpy polja te normaliziramo vrijednosti u raspon od 0 do 1 kako bi ih mogli uspoređivati sa sličnostima prema sekvenci koje su u istom rasponu. Konačni rezultat su ponovno matrice, *normalized_distances_train* i *normalized_distances_test*, dimenzija 50x50 koje sadrže 2500 decimalnih brojeva koji ovaj put predstavljaju sličnost među peptidima na osnovi njihovih značajki odnosno udaljenosti u latentnom prostoru VAE.

Nakon što smo pripremili matrice koje sadrže sve potrebne vrijednosti možemo provesti korelacijsku analizu. U knjižnici Scipy već postoje gotove funkcije koje računaju koeficijente korelacije i njihove p-vrijednosti. Koeficijenti korelacije mogu poprimiti vrijednosti između -1 i 1. Pozitivan koeficijent korelacije blizu broja 1 bi ukazivao na jaku vezu između dvije varijable gdje bi se povećanjem jedne varijable povećala i druga. Negativan koeficijent korelacije blizu -1 bi ukazivao na jaku negativnu vezu između dvije varijable gdje bi se povećanjem jedne varijable druga varijabla smanjila. Koeficijent korelacije koji je blizu 0 bi ukazivao na to da veza između dvije varijable ne postoji. P-vrijednosti mogu poprimiti vrijednosti između 0 i 1, a one predstavljaju

vjerojatnost da je promatrani koeficijent korelacije dobiven slučajno, odnosno da ne postoji snažan dokaz da su dvije varijable zaista u korelaciji. Niska p-vrijednost, obično manja od 0.05, ukazuje na to da je dobiveni koeficijent korelacije statistički značajan i da postoji stvarna veza između dvije varijable. Visoka p-vrijednost ukazuje na to da je dobivena korelacija možda slučajna i da ne postoji snažan dokaz koji bi potvrdio vezu između dvije varijable.

U tablici 5.3. prikazani su dobiveni koeficijenti korelacije i p-vrijednosti za naše podatke. S obzirom na to da nemamo jasne pretpostavke o našim podacima i kako se oni ponašaju, proveli smo analizu korelacije pomoću tri različite tehnike i dobili tri različita koeficijenta korelacije za svaku usporedbu skupova podataka: Spearmanov, Pearsonov i Kendall-tau koeficijent korelacije. Dobivene vrijednosti koeficijenata korelacije, koje su sve negativne, ukazuju na to da bi mogla postojati i blaga negativna veza između ovih dviju varijabli. Međutim, sve vrijednosti koeficijenata korelacije osim što su negativne su i vrlo blizu nuli, tako da možemo zaključiti da veza između ove dvije varijable ne postoji, odnosno da sličnost peptida prema njihovim sekvencama i sličnost prema njihovim značajkama nisu povezane. Također, p-vrijednosti su sve gotovo jednake nuli što ukazuje na to da su dobiveni koeficijenti korelacije statistički značajni i da možemo biti sigurni u dobivene vrijednosti.

Tablica 5.3. Rezultati korelacijske analize

		Koeficijent korelacije	p-vrijednost
Skup podataka za trening	Spearmanov koeficijent korelacije	-0.2026	4.99e-25
	Pearsonov koeficijent korelacije	-0.2666	9.22e-43
	Kendall-tau koeficijent korelacije	-0.1383	1.79e-25
Skup podataka za testiranje	Spearmanov koeficijent korelacije	-0.0965	1.06e-06
	Pearsonov koeficijent korelacije	-0.1246	2.69e-10
	Kendall-tau koeficijent korelacije	-0.0651	9.24e-07

6. ZAKLJUČAK

S obzirom na obećavajuće rezultate primjene peptida u medicini za liječenje raznih bolesti, postalo je vrlo važno fokusirati se na otkrivanje novih i djelotvornih peptida. Razne metode strojnog učenja pokazale su se vrlo učinkovitima za otkrivanje novih peptida sa željenim svojstvima za razliku od otkrivanja novih peptida u laboratorijima što je vrlo skupo, sporo i neefikasno.

U ovom radu proveli smo istraživanje o primjeni varijacijskih autoenkodera za analizu sličnosti peptida s antimikrobnim i antiviralnim svojstvima kako bismo pokušali bolje shvatiti vezu između njihovih sekvenci i fizikalno-kemijskih značajki. Enkodirali smo peptide opisane njihovim fizikalno-kemijskim značajkama u latentni prostor VAE kako bi ih mogli lakše proučavati i vizualizirati, uz zadržavanje što više informacija o podacima. To je uključivalo prikupljanje i organizaciju podataka, obradu podataka, kodiranje samog autoenkodera, treniranje modela, optimizaciju hiperparametara, osmišljanje metrika koje će mjeriti točnost modela, vizualizacije latentnog prostora, izračune sličnosti na temelju sekvenci peptida te sličnosti na temelju njihovih fizikalno-kemijskih značajki, odnosno njihove udaljenosti u latentnom prostoru, i na kraju provođenje korelacijske analize između tih dviju varijabli. Ono na što su rezultati ukazali jest da sličnost peptida prema njihovoj sekvenci i sličnost prema fizikalno-kemijskim značajkama nisu povezane, no to ne možemo tvrditi sa potpunom sigurnošću i trebalo bi provesti dodatna istraživanja kako bi potvrdili te rezultate.

Ono što je ipak ostvareno, bez obzira na nedostatak sličnosti peptida prema sekvencama i fizikalno-kemijskim značajkama, jest VAE dizajniran da nauči smislene prikaze peptida u dvodimenzionalnom latentnom prostoru, koji je uspješan u rekonstrukciji peptida iz latentnog prostora i koji se pokazao kao moćan pristup istraživanju strukturnih veza među peptidima te može biti korišten za razna istraživanja u bioinformatici, otkrivanju lijekova i molekularnoj biologiji. Ovim radom i istraživanjem VAE u kontekstu analize peptida pokazujemo veliki potencijal koji imaju VAE u daljnjim pokušajima da unaprijedimo naše razumijevanje ovih kompleksnih molekula.

LITERATURA

[1] Kuan Y. Chang, Je-Ruei Yang: Analysis and prediction of highly effective antiviral peptides based on random forests, s Interneta, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3734225/, 7. kolovoza 2023.

[2] Vilas Boas LCP, Campos ML, Berlanda RLA, de Carvalho Neves N, Franco OL: Antiviral peptides as promising therapeutic drugs, s Interneta, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7079787/, 8. kolovoza 2023.

[3] Peptides Guide, s Interneta, https://peptidesguide.com, 18. srpnja 2023.

[4] Peptide Sciences, s Interneta, https://www.peptidesciences.com/information/peptides-vs-proteins/, 18. srpnja 2023.

[5] Courtney Simons: Structure of amino acids and proteins, s Interneta, https://cwsimons.com/structure-of-amino-acids-and-proteins/, 5. srpnja 2020.

[6] Hitchhiking with Nature: Snake Venom Peptides to Fight Cancer and Superbugs - Scientific Figure on ResearchGate, s Interneta, https://www.researchgate.net/figure/Principal-functions-of-cationic-peptides-ACP-anticancer-peptides-AMP-antimicrobial_fig1_340674862, 7. kolovoza 2023.

[7] Sara Wilcox: Cationic peptides: A new hope, s Interneta, https://www.scq.ubc.ca/cationic-peptides-a-new-hope/, 8. kolovoza 2023.

[8] Protein Esterification: Design, Antibacterial and Safety Assessment - Scientific Figure on ResearchGate, s Interneta, https://www.researchgate.net/figure/Fig-1-Model-for-the-mechanism-of-action-of-cationic-antimicrobial-peptides_fig1_282186504, 7. kolovoza 2023.

[9] Shreya Chaudhary: A High-level guide to autoencoders, s Interneta, https://towardsdatascience.com/a-high-level-guide-to-autoencoders-b103ccd45924, 8. kolovoza 2023.

[10] Daniel Nelson: What is an autoencoder?, s Interneta, https://www.unite.ai/what-is-an-autoencoder/, 9. kolovoza 2023.

[11] Francois Chollet: Building autoencoders in Keras, s Interneta, https://blog.keras.io/building-autoencoders-in-keras.html, 9. kolovoza 2023.

[12] Joseph Rocca: Understanding variational autoencoders, s Interneta, https://towardsdatascience.com/understanding-variational-autoencoders-vaes-f70510919f73, 10. kolovoza 2023.

[13] Christian Vesloot: What is a variational autoencoder (VAE)?, s Interneta, https://github.com/christianversloot/machine-learning-articles/blob/main/what-is-a-variational-autoencoder-vae.md, 10. kolovoza 2023.

[14] Coursera: What is Python used for? A beginner's guide, s Interneta, https://www.coursera.org/articles/what-is-python-used-for-a-beginners-guide-to-using-python, 10. kolovoza 2023.

[15] Jupyter Notebook Documentation, s Interneta, https://jupyter-notebook-beginner-guide.readthedocs.io/en/latest/what_is_jupyter.html, 11. kolovoza 2023.

[16] Bokeh documentation: First steps 7: Displaying and exporting, s Interneta, https://docs.bokeh.org/en/latest/docs/first_steps/first_steps_7.html, 15. kolovoza 2023.

[17] Wikipedia: Tensorflow, s Interneta, https://en.wikipedia.org/wiki/TensorFlow, 11. kolovoza 2023.

[18] Tensorflow documentation, s Interneta, https://www.tensorflow.org/guide/keras, 11. kolovoza 2023.

[19] Peptides.py documentation, s Interneta, https://peptides.readthedocs.io/en/stable/, 12. kolovoza 2023.

[20] Francois Chollet: Variational autoencoder, s Interneta, https://keras.io/examples/generative/vae/, 14. kolovoza 2023.

[21] Christian Versloot: How to create a variational autoencoder with Keras, s Interneta, https://github.com/christianversloot/machine-learning-articles/blob/main/how-to-create-a-variational-autoencoder-with-keras.md, 14. kolovoza 2023.

[22] Computer Science Wiki: Max-pooling/Pooling, s Interneta, https://computersciencewiki.org/index.php/Max-pooling_/_Pooling, 14. kolovoza 2023.

POPIS KRATICA

AVP – antiviralni peptidi

AMP – antimikrobni peptidi

VAE – varijacijski autoenkoder

KL divergencija – Kullback-Leibler divergencija

PKK – Pearsonov koeficijent korelacije

NSURLP – normalizirana srednja udaljenost rekonstrukcije u latentnom prostoru

RMSE – *Root Mean Square Error* (kvadratni korijen srednje kvadratne pogreške)

Sažetak

Unatoč brzom napretku medicine i znanosti, mnoge bolesti i dalje predstavljaju veliku prijetnju ljudskom zdravlju. U tom kontekstu, peptidi su se istaknuli kao obećavajuće novo rješenje pri liječenju. Razne metode strojnog učenja pokazale su se vrlo učinkovitima za otkrivanje novih peptida sa željenim svojstvima za razliku od otkrivanja novih peptida u laboratorijima što je vrlo skupo, sporo i neefikasno. U ovom radu proveli smo istraživanje o primjeni varijacijskih autoenkodera za analizu sličnosti peptida s antimikrobnim i antiviralnim svojstvima kako bismo pokušali bolje shvatiti vezu između njihovih sekvenci i fizikalno-kemijskih značajki. Potreban je dodatan trud i ulaganja u slična istraživanja jer imaju velik potencijal za ostvarenje napretka u medicini i poboljšanje kvalitete ljudskog života.

Ključne riječi: antimikrobni peptidi, antiviralni peptidi, autoenkoderi, varijacijski autoenkoderi, latentni prostor, korelacijska analiza

Abstract

Despite the quick progress in medicine and science, there are still many diseases that keep posing a threat to human health. In that context, peptides stood out as a promising new solution in treatment. Various machine learning methods proved themselves very efficient in discovering new peptides with wanted properties, unlike discovering new peptides in laboratories which is very expensive, time-consuming and inefficient. In this paper we conducted a study about the use of variational autoencoders for similarity analysis of peptides with antimicrobial and antiviral properties so we could better understand the connection between their sequences and physicochemical properties. Additional effort and investments are needed for similar research because of its great potential in achieving progress in medicine and improving the quality of human life.

Keywords: antimicrobial peptides, antiviral peptides, autoencoders, variational autoencoders, latent space, correlation analysis

PRILOZI

Programski kod

```
# In[1]:


#IMPORT KNJIŽNICA I ARHITEKTURA MODELA

#Import knjižnica
import numpy as np
import tensorflow as tf
from tensorflow import keras
from tensorflow.keras import layers
import pandas as pd
from sklearn.model_selection import train_test_split
from keras.callbacks import ReduceLROnPlateau, EarlyStopping
import matplotlib.pyplot as plt

#Klasa za uzorkovanje iz latentnog prostora
class Sampling(layers.Layer):

    def call(self, inputs):
        z_mean, z_log_var = inputs
        batch = tf.shape(z_mean)[0]
        dim = tf.shape(z_mean)[1]
        epsilon = tf.keras.backend.random_normal(shape=(batch, dim))
        return z_mean + tf.exp(0.5 * z_log_var) * epsilon

latent_dim = 2

#Arhitektura enkodera
encoder_inputs = keras.Input(shape=(88, 1))
x = layers.Conv1D(8, 3, activation='relu', padding='same',
dilation_rate=2)(encoder_inputs)
x = layers.MaxPooling1D(2)(x)
x = layers.Conv1D(16, 3, activation='relu', padding='same', dilation_rate=2)(x)
x = layers.MaxPooling1D(2)(x)
x = layers.Flatten()(x)
encoder = layers.Dense(128, activation='relu')(x)
z_mean = layers.Dense(latent_dim, name="z_mean")(encoder)
z_log_var = layers.Dense(latent_dim, name="z_log_var")(encoder)
z = Sampling()([z_mean, z_log_var])
encoder = keras.Model(encoder_inputs, [z_mean, z_log_var, z], name="encoder")
encoder.summary()

#Arhitektura dekodera
```

```
latent_inputs = keras.Input(shape=(latent_dim,))
x = layers.Dense(128, activation='relu')(latent_inputs)
x = layers.Dense(88 * 8)(x)
x = layers.Reshape((88, 8))(x)
x = layers.Conv1D(16, 3, activation='relu', padding='same')(x)
x = layers.UpSampling1D(2)(x)
x = layers.Conv1D(8, 3, activation='relu', padding='same')(x)
x = layers.UpSampling1D(2)(x)
decoded = layers.Conv1D(1, 3, activation='sigmoid', padding='same')(x)
decoded = layers.Cropping1D(cropping=(0, 264))(decoded)
decoder = keras.Model(latent_inputs, decoded, name="decoder")
decoder.summary()

#Klasa VAE
class VAE(keras.Model):
    def __init__(self, encoder, decoder, **kwargs):
        super(VAE, self).__init__(**kwargs)
        self.encoder = encoder
        self.decoder = decoder
        self.total_loss_tracker = keras.metrics.Mean(name="total_loss")
        self.reconstruction_loss_tracker =
keras.metrics.Mean(name="reconstruction_loss")
        self.kl_loss_tracker = keras.metrics.Mean(name="kl_loss")

    @property
    def metrics(self):
        return [
            self.total_loss_tracker,
            self.reconstruction_loss_tracker,
            self.kl_loss_tracker,
        ]

    def train_step(self, data):
        with tf.GradientTape() as tape:
            z_mean, z_log_var, z = self.encoder(data)

            reconstruction = self.decoder(z)
            reconstruction_loss = tf.reduce_mean(
                tf.reduce_sum((data - reconstruction) ** 2, axis=(1, 2))
            )

            kl_loss = -0.5 * (1 + z_log_var - tf.square(z_mean) -
tf.exp(z_log_var))
            kl_loss = tf.reduce_mean(tf.reduce_sum(kl_loss, axis=1))

            total_loss = reconstruction_loss + 0.27 * kl_loss
```

```
        grads = tape.gradient(total_loss, self.trainable_weights)
        self.optimizer.apply_gradients(zip(grads, self.trainable_weights))
        self.total_loss_tracker.update_state(total_loss)
        self.reconstruction_loss_tracker.update_state(reconstruction_loss)
        self.kl_loss_tracker.update_state(kl_loss)
        return {
            "loss": self.total_loss_tracker.result(),
            "reconstruction_loss": self.reconstruction_loss_tracker.result(),
            "kl_loss": self.kl_loss_tracker.result(),
        }


    def test_step(self, data):
        x = data

        z_mean, z_log_var, z = self.encoder(x, training=False)
        reconstructed_x = self.decoder(z, training=False)

        reconstruction_loss = tf.reduce_mean(
            tf.reduce_sum((x - reconstructed_x) ** 2, axis=(1, 2))
        )

        kl_loss = -0.5 * (1 + z_log_var - tf.square(z_mean) - tf.exp(z_log_var))
        kl_loss = tf.reduce_mean(tf.reduce_sum(kl_loss, axis=1))

        total_loss = reconstruction_loss + 0.27 * kl_loss

        results = {m.name: m.result() for m in self.metrics}
        results["reconstruction_loss"] = reconstruction_loss
        results["kl_loss"] = kl_loss
        results["total_loss"] = total_loss
        return results



# In[2]:


#OBRADA PODATAKA

from sklearn.preprocessing import MinMaxScaler

#Učitavanje podataka i podjela na skupove za trening i testiranje
features = pd.read_csv('features.csv')
labels = pd.read_csv('labels.csv')
(x_train, x_test, y_train, y_test) = train_test_split(
```

```
                                    features, labels, test_size=0.2,
random_state=42)

#Odvajanje sekvenci peptida od ostatka podataka
x_train_seq = x_train.values[:, 0]
x_test_seq = x_test.values[:, 0]

#Odvajanje izračunatih značajki peptida
x_train_features = x_train.values[:, 1:]
x_test_features = x_test.values[:, 1:]

#Normalizacija podataka
scaler = MinMaxScaler()

x_train = scaler.fit_transform(x_train_features)
x_test = scaler.transform(x_test_features)

#Prilagođavanje dimenzionalnosti podataka
x_train = np.expand_dims(x_train, -1)
x_test = np.expand_dims(x_test, -1)
y_train = np.expand_dims(y_train, -1)
y_test = np.expand_dims(y_test, -1)


# In[3]:


#OPTIMIZACIJA HIPERPARAMETARA

#Prostor pretrage
learn_rate = [0.001, 0.005, 0.008, 0.01]
batch_size = [32, 64, 128, 256]

param_grid = dict(learn_rate=learn_rate, batch_size=batch_size)

best_score = None
best_params = {}

#Petlje u kojima se obavlja testiranje svih kombinacija hiperparametara iz prostora
pretrage
for lr in learn_rate:
    for bs in batch_size:
        print("Learning rate: ", lr)
        print("Batch size: ", bs)

        vae = VAE(encoder, decoder)
        vae.compile(optimizer=keras.optimizers.Adam(learning_rate=lr))
```

```
        reduce_lr = ReduceLROnPlateau(monitor='loss', factor=0.5, patience=10,
verbose=1, min_lr=1e-6)
        early_stop = EarlyStopping(monitor='loss', patience=20, verbose=1,
restore_best_weights=True)

        vae.fit(x_train, batch_size=bs, epochs=30, validation_split = 0.2,
                callbacks=[reduce_lr, early_stop])

        score = vae.evaluate(x_test)
        print(score)

        if best_score is None or score < best_score:
            best_score = score
            best_params = {'learn_rate': lr, 'batch_size': bs}

#Ispis najboljih hiperparametara
print("Best Hyperparameters:", best_params)
print("Best Score:", best_score)

#Spremanje najboljih hiperparametara u varijable za daljnje korištenje
lr = best_params['learn_rate']
bs = best_params['batch_size']


# In[4]:


#TRENING

#Instanciranje i kompajliranje modela
vae = VAE(encoder, decoder)
vae.compile(optimizer=keras.optimizers.Adam(learning_rate = lr))

#Instanciranje povratnih poziva
reduce_lr = ReduceLROnPlateau(monitor='loss', factor=0.5, patience=10, verbose=1,
min_lr=1e-6)
early_stop = EarlyStopping(monitor='loss', patience=20, verbose=1,
restore_best_weights=True)

#Treniranje modela
vae.fit(x_train, batch_size=bs, epochs=100, validation_split = 0.2,
        callbacks=[reduce_lr, early_stop])


# In[5]:
```

```
#Stvaranje enkodiranih i rekonstruiranih podataka za daljnje korištenje
_, _, z_input = encoder.predict(x_train)
reconstructed_z_input = vae.decoder.predict(z_input)
_, _, reconstructed_z_encoded = vae.encoder.predict(reconstructed_z_input)

_, _, z_test_input = encoder.predict(x_test)
reconstructed_z_test_input = vae.decoder.predict(z_test_input)
_, _, reconstructed_z_test_encoded =
vae.encoder.predict(reconstructed_z_test_input)


# In[6]:


#Funkcija za vizualizaciju ulaznih podataka
def plot_input_data(x_data, y_data):
    z_input = x_data
    unique_labels = np.unique(y_data)
    label_colors = ['blue', 'red', 'green', 'orange']

    for label in unique_labels:
        indices = np.where(y_data == label)[0]
        plt.scatter(z_input[indices, 0], z_input[indices, 1],
c=label_colors[label], label=f'Label {label}')

    plt.xlabel("Latentna dimenzija 1")
    plt.ylabel("Latentna dimenzija 2")
    plt.legend()
    plt.show()

#Vizualizacija podataka za trening i testiranje
plt.figure(figsize=(10, 6))
plt.title("Podaci za trening enkodirani u latentni prostor")
plot_input_data(z_input, y_train)

plt.figure(figsize=(10, 6))
plt.title("Podaci za testiranje enkodirani u latentni prostor")
plot_input_data(z_test_input, y_test)


# In[7]:


#Funkcija za vizualizaciju rekonstruiranih podataka preko ulaznih podataka
def plot_input_and_reconstructed_data(x_input_data, x_reconstructed, y_input_data):
    z_input = x_input_data
    recon_data_lsp = x_reconstructed
```

```
    unique_labels = np.unique(y_input_data)
    label_colors = ['blue', 'red', 'green', 'orange']

    for label in unique_labels:
        indices = np.where(y_input_data == label)[0]
        plt.scatter(z_input[indices, 0], z_input[indices, 1],
c=label_colors[label], label=f'Label {label}')

    plt.scatter(recon_data_lsp[:, 0], recon_data_lsp[:, 1], c='black', alpha=0.5,
label='Reconstructed Data')

    plt.xlabel("Latentna dimenzija 1")
    plt.ylabel("Latentna dimenzija 2")
    plt.title("Podaci za testiranje i rekonstruirani podaci enkodirani u latentni
prostor")
    plt.legend()
    plt.show()

plt.figure(figsize=(10, 6))
plot_input_and_reconstructed_data(z_test_input, reconstructed_z_test_encoded,
y_test)


# In[8]:


#Funkcija za vizualizaciju rekonstruiranih podataka
def plot_reconstructed_data(x_reconstructed, y_data):
    recon_data_lsp = x_reconstructed

    unique_labels = np.unique(y_data)
    label_colors = ['blue', 'red', 'green', 'orange']

    for label in unique_labels:
        indices = np.where(y_data == label)[0]
        plt.scatter(recon_data_lsp[indices, 0], recon_data_lsp[indices, 1],
                    c=label_colors[label], label=f'Label {label}')

    plt.xlabel("Latentna dimenzija 1")
    plt.ylabel("Latentna dimenzija 2")
    plt.legend()
    plt.show()

#Vizualizacija ulaznih i rekonstruiranih podataka za testiranje
plt.figure(figsize=(10, 6))
plt.title("Podaci za testiranje enkodirani u latentni prostor")
```

```
plot_input_data(z_test_input, y_test)

plt.figure(figsize=(10, 6))
plt.title("Rekonstruirani podaci enkodirani u latentni prostor")
plot_reconstructed_data(reconstructed_z_test_encoded, y_test)


# In[9]:


#Vizualizacija 10 nasumično izabranih peptida i njihove rekonstrukcije za usporedbu

#Odabir 10 nasumičnih peptida
selected_indices = np.random.choice(len(x_test), 10, replace=False)

selected_peptides = x_test[selected_indices]

#Enkodiranje i rekonstrukcija
_, _, encoded_selected_peptides = vae.encoder.predict(selected_peptides)
reconstructed_peptides = vae.decoder.predict(encoded_selected_peptides)
_, _, encoded_reconstructed_peptides = vae.encoder.predict(reconstructed_peptides)

#Funkcija za vizualizaciju odabranih podataka
def plot_selected_data(x_data):
    z_input = x_data
    num_peptides = z_input.shape[0]
    unique_colors = plt.cm.tab20(np.linspace(0, 1, num_peptides))

    for i in range(num_peptides):
        plt.scatter(z_input[i, 0], z_input[i, 1], color=unique_colors[i],
label=f'Peptide {i}')

    ax = plt.gca()
    ax.set_xlim([-4,4])
    ax.set_ylim([-4,4])
    plt.xlabel("Latentna dimenzija 1")
    plt.ylabel("Latentna dimenzija 2")
    plt.legend()
    plt.show()

#Funkcija za izračun euklidske udaljenosti
def euclidean_distance(x, y):
    return np.sqrt(np.sum((x - y)**2))

#Vizualizacija odabranih peptida u izvornom i rekonstruiranom obliku
plt.figure(figsize=(10, 6))
plt.title("Slučajno izabrane izvorne točke u latentnom prostoru")
```

```
plot_selected_data(encoded_selected_peptides)

plt.figure(figsize=(10, 6))
plt.title("Rekonstruirane točke u latentnom prostoru")
plot_selected_data(encoded_reconstructed_peptides)

#Izračun udaljenosti između izvornih i rekonstruiranih peptida
distances = []

for i in range(10):
    dist = euclidean_distance(encoded_selected_peptides[i],
encoded_reconstructed_peptides[i])

    distances.append(dist)

print("Relativna udaljenost između svake pojedine točke i njoj pripadajuće
rekonstruirane točke: \n", distances, "\n")
print("Prosječna relativna udaljenost između izvornih i rekonstruiranih točaka: ",
np.sum(distances)/10)


# In[10]:


#NORMALIZIRANA UDALJENOST REKONSTRUKCIJE U LATENTNOM PROSTORU

min_values = np.min(z_test_input, axis=0)
max_values = np.max(z_test_input, axis=0)

latent_space_size = np.linalg.norm(max_values - min_values)

print(latent_space_size)

distances_x_test = []

for i in range(len(x_test)):
    dist = euclidean_distance(z_test_input[i], reconstructed_z_test_encoded[i])

    distances_x_test.append(dist)

print("Normalizirana prosječna udaljenost između izvornih i rekonstruiranih točaka:
",
      np.sum(distances_x_test)/latent_space_size/len(x_test))


# In[11]:
```

```
#PEARSONOV KOEFICIJENT KORELACIJE

from scipy.stats import spearmanr, kendalltau, pearsonr

print(pearsonr(x_test.flatten(), reconstructed_z_test_input.flatten()))


# In[12]:


#RMSE

mse = np.mean(np.square(x_test - reconstructed_z_test_input))
rmse = np.sqrt(mse)

print(f"RMSE: {rmse}")


# In[13]:


#IZRAČUN SLIČNOSTI PEPTIDA PREMA SEKVENCI
from Bio import pairwise2
from Bio.Seq import Seq

def calculate_sequence_similarity(seq1, seq2):

    seq1 = Seq(seq1)
    seq2 = Seq(seq2)

    alignments = pairwise2.align.globalxx(seq1, seq2)

    best_alignment = alignments[0]
    seq1_aligned, seq2_aligned, score, begin, end = best_alignment

    similarity = (score / max(len(seq1), len(seq2)))

    return similarity

similarities_train = []
similarities_test = []

for i in range(50):
    row_similarities_train = []
    row_similarities_test = []
    for j in range(50,101):
        sim_train = calculate_sequence_similarity(x_train_seq[i], x_train_seq[j])
```

```
        sim_test = calculate_sequence_similarity(x_test_seq[i], x_test_seq[j])
        row_similarities_train.append(sim_train)
        row_similarities_test.append(sim_test)

    similarities_train.append(row_similarities_train)
    similarities_test.append(row_similarities_test)

similarities_train = np.array(similarities_train)
similarities_test = np.array(similarities_test)

print(similarities_train)
print(similarities_test)


# In[14]:


#IZRAČUN SLIČNOSTI PEPTIDA PREMA UDALJENOSTI U LATENTNOM PROSTORU
distances_train = []
distances_test = []

for i in range(50):
    row_distances_train = []
    row_distances_test = []
    for j in range(50,101):
        dist_train = euclidean_distance(z_input[i], z_input[j])
        dist_test = euclidean_distance(z_test_input[i], z_test_input[j])
        row_distances_train.append(dist_train)
        row_distances_test.append(dist_test)

    distances_train.append(row_distances_train)
    distances_test.append(row_distances_test)

distances_train = np.array(distances_train)
distances_test = np.array(distances_test)

normalized_distances_train = scaler.fit_transform(distances_train)
normalized_distances_test = scaler.fit_transform(distances_test)

print(normalized_distances_train)
print(normalized_distances_test)


# In[15]:


#KORELACIJSKA ANALIZA
```

```
correlation_train, p_value_train = spearmanr(similarities_train.flatten(),
distances_train.flatten())
correlation_test, p_value_test = spearmanr(similarities_test.flatten(),
distances_test.flatten())

print("Spearmanov koeficijent korelacije za skupove podataka za trening i
testiranje: \n", correlation_train, correlation_test)
print("p-value:", p_value_train, p_value_test, "\n")

correlation_train, p_value_train = pearsonr(similarities_train.flatten(),
distances_train.flatten())
correlation_test, p_value_test = pearsonr(similarities_test.flatten(),
distances_test.flatten())

print("Pearsonov koeficijent korelacije za skupove podataka za trening i
testiranje: \n", correlation_train, correlation_test)
print("p-value:", p_value_train, p_value_test, "\n")

correlation_train, p_value_train = kendalltau(similarities_train.flatten(),
distances_train.flatten())
correlation_test, p_value_test = kendalltau(similarities_test.flatten(),
distances_test.flatten())

print("Kendall tau koeficijent korelacije za skupove podataka za trening i
testiranje: \n", correlation_train, correlation_test)
print("p-value:", p_value_train, p_value_test)
```