גל סזנה 318510633
נועה מרגוליס 208635334

תרגיל 2 – אלגוריתמים בביולוגיה חישובית

תיאור המודל:

בחרנו לממש מודל מרקוב חבוי (HMM – Hidden Markov Model) למטרת התרגיל – זיהוי אזורי CpG ב-DNA, בדומה למודל שלמדנו בכיתה.

בחרנו במודל זה מכיוון שהמודל תואם למבנה הנתונים שלנו – במודל HMM המצבים החבויים מייצגים מאפיינים מבניים בגנום שאינם נצפים ישירות. קיומם של איי CpG הוא תכונה סמויה, אך ניתן להסיק עליהם דרך רצפי הDNA. לכן, מודל מרקוב חבוי הוא כלי נוח ומתאים לזיהוי איי CpG – בזכות היכולת שלו לדמות מצבים חבויים, לשמר הסתברויות מעבר ופליטה, ולהתמודד עם רעש ונתונים לא שלמים.

המודל מבצע אימון על בסיס זוגות של נתוני DNA והתיוגים שלהם, באמצעות מודל ה - HMM שבו נלמדים הסתברויות המעבר והסתברויות הפליטה. לאחר מכן מתויג קובץ פלט חדש באמצעות הפרמטרים שוערכו בשלב האימון – בעזרת אלגוריתם ויטרבי שמטרתו למצוא את רצף המצבים (C/N) הסביר ביותר עבור הנתונים החדשים. אלגוריתם ויטרבי מיישם חישוב דינאמי (Dynamic Programming) כדי למקסם את ההסתברות לרצף המצבים שנבחר עבור התצפית (רצף ה-DNA).

המודל מורכב מהרכיבים הבאים:

1. שני מצבים חבויים (States):

- C – מצב המייצג אזור אי CpG.
- N – מצב המייצג אזור שאינו אי CpG.

נניח שכל מצב מקושר להסתברות פליטה של בסיסי ה-DNA.

2. תצפיות (Observations):

- התצפיות הן רצפים של האותיות {A,T,G,C,N} כך שארבע האותיות הראשונות מייצגות את בסיסי הדנ״א ואות N מייצגת פער בתצפית.

3. הסתברויות התחלה (Start Probabilities):

- הסתברות התחלתית עבור כל מצב:

$$P_0(S = C) \quad , \quad P_0(S = N)$$

4. הסתברויות מעבר (Transition Probabilities):

- הסתברויות המעבר בין המצבים: $P(S_t|S_{t-1})$, עבור כל צמד מצבים.

5. הסתברויות פליטה (Emission Probabilities):

- הסתברויות הפליטה עבור כל מצב: $P(O_t|S_t)$, כאשר O_t הוא הבסיס ה-t ברצף הדנ"א.

הגדרת הפרמטרים במודל:

פרמטרים:

- π – וקטור הסתברויות התחלה.
- A – מטריצת הסתברויות מעבר.
- B – מטריצת הסתברויות פליטה.

חישוב הפרמטרים:

- וקטור הסתברויות התחלה – π:

נחשב את שכיחות המצבים הראשוניים ברצף המוערכים (מספר הפעמים שכל מצב מופיע כמצב ראשון חלקי מספר הרצפים הכולל).

- מטריצת הסתברויות מעבר – A:

נחשב את היחס בין המעברים בין כל מצב S_i למצב S_j, לחלק למספר הכולל של מעברים מהמצב S_i.

לדוגמה: $P(N) = \frac{count(N \to C)}{count(N \to C \text{ or } N)}$

- מטריצת הסתברויות פליטה – B:

נחשב את היחס בין שכיחות כל תצפית O_t במצב S, לחלק למספר הכולל של תצפיות במצב S.

לדוגמה: $P(C) = \frac{Frequency\ of\ A\ in\ state\ C}{Total\ occurrences\ of\ state\ C}$

לימוד הפרמטרים:

1. איסוף הנתונים:

- נשתמש בקובץ ה-fasta שניתן לנו במסגרת התרגיל ובקובץ התיוגים המתאים.
- על מנת להגדיל את סט האימון שלנו הפכנו את הרצפים המופיעים בקובץ ה-fasta והתאמנו לכך את התיוגים המופיעים בקובץ התיוגים וכך קיבלנו סט אימון בגודל כפול.

2. שיערוך פרמטרים:

- כאמור, נעשה שימוש באומדן נראות מירבית (MLE) באופן הבא:

$$\hat{A}_{i,j} = \frac{count(S_i \to S_j)}{\sum_j count(S_i \to S_j)}$$

$$\hat{B}_{i,k} = \frac{Frequency\ of\ O_k\ in\ state\ S_i}{\sum_k number\ of\ emission\ in\ state\ S_i}$$

הנחות המודל:

1. תכונת המרקוביות:

במודל אנחנו מניחים כי הסתברות של מצב תלויה רק במצב הקודם, כלומר:

$$P(S_{t-1}) = P(S_t | S_{t-1}, S_{t-2}, \dots, S_0)$$

2. תכונת עצמאות הפליטות:

ההנחה היא שהפליטה תלויה רק במצב הנוכחי ולא במצבים או תצפיות אחרים, כלומר:

$$P(S_t) = P(S_t, O_{t-1}, \dots)$$

3. ההנחה כי הנתונים המתויגים מספיק גדולים לייצג את ההתפלגות האמיתית של המעברים והפליטות.

אופטימליות של הפרמטרים

מטריצות ההסתברויות הנלמדות לפי אומדן הנראות המירבית הם האופטימליים בהנחה שאכן המדגם שלנו מייצג את ההתפלגויות בעולם האמיתי.

יתרון של השיטה שממומשת בתרגיל היא בפשטות החישובית, אך היא תלויה בגודל ואיכות הנתונים. ולכן, במדגם קטן או במדגם מוטה נצפה שיהיו שגיאות באומדנים.

תהליך בחירת התיוגים בהינתן המודל:

כדי לבחור את התיוגים עבור התצפיות, נשתמש באלגוריתם ויטרבי (Viterbi Algorithm), שהוא אלגוריתם דינאמי למציאת רצף המצבים הסביר ביותר במודל מרקוב חבוי.

שימוש באלגוריתם ויטרבי:

1. אתחול:

- חישוב ההסתברות להתחיל במצב S_1 ולהפיק את O_1:

$$\delta_1(s) = P_1(O_1, S = s) \cdot P_1(S = s) \ \ , where\ s \in \{C, N\}$$

ונבחר את המצב שמקבל את ההסתברות הגבוה יותר בחישוב זה.

2. שלב החישוב:

עבור כל תצפית O_t ולכל מצב s, נחשב את ההסתברות המצטברת המקסימלית שהמצב s ב-t מגיע מרצף מצבים אפשרי קודם:

$$\delta_t = (P_t(S = s) \cdot \ P(S_{t-1} = s') \cdot \delta_{t-1}(s'))$$

ז״א, δ_t הוא המסלול המקסימלי שהוביל למצבs במיקום t ברצף.

3. מעקב לאחור – backtracking:

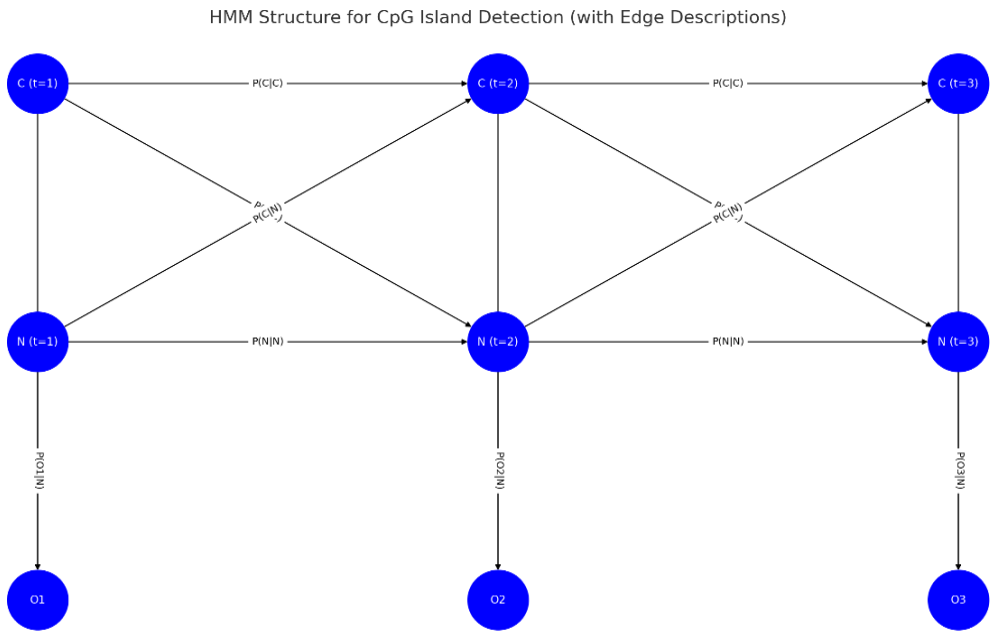
לאחר סיום חישוב כל ההסתברויות, מוצאים את המצב הסביר ביותר במיקום האחרון (T) ברצף:

$$S_T = arg \max_s \delta_T(s)$$

וחוזרים אחורה לאורך המסלול שחושב על מנת למצוא את $S_{T-1}, S_{T-2}, \dots, S_1$.

אלגוריתם ויטרבי מבטיח את מציאת הרצף הסביר ביותר של מצבים במודל HMM ועובד בצורה דינאמית כך שהוא יעיל גם עבור רצפים ארוכים.

אילוסטרציה למודל HMM



בגרף מתואר באופן ויזואלי המבנה של מודל מרקוב חבוי עבור משימת זיהוי איי CpG .

בתרשים ניתן לראות את שני המצבים החבויים בעיגולים הכחולים $\{N, C\}$ ו- O_t שמייצג את הבסיס שחזינו בו $\{A, T, G, C\}$.

בהמשך למה שמתואר במסמך בפירוט, מודל המרקוב החבוי משערך את ההסתברויות של כלל המעברים ובעזרת אלגוריתם ויטרבי מוצא את המסלול בעל ההסתברות המצטברת הגבוהה ביותר.

הערכת ביצועי המודל:

ביצענו אימון על בסיס הנתונים שקיבלנו בתיקיית data, על מנת להכפיל את גודל סט האימון ביצענו reverse-complement לרצפים בקובץ שסופק, והערכנו את ביצוע המודל על ידי שימוש במידע שסופק על כרומוזום 2.

על מנת להריץ את הטסט יש לכתוב את המילה "evaluate" במקום נתיב output בשורת הפקודה ולהכניס את קובץ האינפוט CpG-islands.2K.chr2.lbl.fa.gz כך שהמודל יציג את ניתוח ביצועיו על נתוני הטסט שקיבלנו.

כדי לתייג את הנתונים נריץ בדרך הרגילה את קבצי הטסט.

להלן התוצאות שהתקבלו בהרצה:

```
Transition Probabilities:
          C         N
  C   0.9969    0.0031
  N   0.0006    0.9994
```

```
Emission Probabilities:
          A         T         G         C         N
  C   0.1614    0.1614    0.3386    0.3386    0.0000
  N   0.2362    0.2362    0.2637    0.2637    0.0002
```

<u>Evaluation Metrics</u>

```
Evaluating the model...
Comparison Metrics:
Accuracy: 0.8263
Balanced accuracy: 0.5452
Precision: 0.7765
Recall: 0.8263
F1 score: 0.7885
Evaluation complete.
```

ניתן לראות שהתוצאות שמתקבלות על ידי שימוש במודל הן תוצאות טובות סה"כ למשימה מורכבת כמו זיהוי איי CpG ובעבור מודל יחסית פשוט עם הנחות משמעותיות:

Accuracy = 82.6%

משמעות – היחס הכולל של ניבויים נכונים מתוך כל הניבויים שבוצעו.

פירוש – דיוק של כ-83% מצביע על כך שהמודל מסווג נכון אזורי CpG ואזורי non-CpG ב-83% מהמקרים, שזו תוצאה יחסית טובה.

Balanced Accuracy = 0.5452

המודל מצליח לזהות היטב תיוג אחד אך פחות טוב תיוג אחר למשל את C שמופיע פחות פעמים.

ניסינו לשפר את המודל באמצעות איזון הנתונים כך שיכלול משקלים מותאמים לשיפור זיהוי התיוג הנדיר יותר על ידי הגדלת המשקל של כיתה "C" בעת חישוב הסתברויות המעבר והפליטה-

הגדלנו את כמות המעברים מ"C" ל- "C" בחישוב הסתברויות המעבר כדי להעלות את ההסתברות שבמידה ואנחנו כבר באי CpG נישאר באי בסיכוי 1

בנוסף, הגדלנו את כמות המעברים מ-"N" ל-"C".

בהתאם, הורדנו את ההסתברויות למעבר ל N והישארות בN, אך לא בהלימה מוחלטת כך שסכום ההסתברויות כאן לא שווה ל-1.

באמצעות שיפורים אלו הצלחנו להגיע לדיוק של 0.5623 אך הזקנו מעט לדיוק. אלו התוצאות של המודל עם תוספת זאת:

```
Transition Probabilities:
           C         N
  C   1.0000    0.0011
  N   0.8125    0.9919

Emission Probabilities:
           A         T         G         C
  C   0.1614    0.1614    0.3386    0.3386
  N   0.2362    0.2362    0.2637    0.2637
Evaluating the model...
Comparison Metrics:
Accuracy: 0.8168
Balanced accuracy: 0.5623
Precision: 0.7780
Recall: 0.8168
F1 score: 0.7912
Evaluation complete.
```

Precision = 77.6%

משמעות – המדד בוחן את היחס בין הניבויים החיוביים שנמצאו נכונים לבין סך כל הניבויים החיוביים.

פירוש – כאשר המודל מנבא אזור כ- CpG הוא צודק ב-77.6% מהמקרים. זה מצביע על כך שקיים שיעור מסוים של false positives.

Recall = 82.6%

משמעות – המדד בוחן את היחס בין הניבויים החיוביים הנכונים לבין סך כל המקרים החיוביים בפועל.

פירוש – רגישות של כ-82.6% מציינת שהמודל מצליח לזהות כ-82% מכלל אזורי ה-CpG בפועל. זה מצביע על יכולת טובה של המודל לזהות מקרים חיוביים.

F1 Score = 78.8%

משמעות - מדד F1 הוא הממוצע ההרמוני בין הדיוק החיובי לרגישות, ומאזן בין שני המדדים:

$$F1\ Score = 2 \cdot \frac{Precision \cdot Recall}{Precision + Recall}$$

פירוש – מדד F1 של כ-78.8% מצביע על איזון טוב בין הדיוק החיובי לרגישות. המדד חשוב כאשר יש צורך לאזן בין שיעור החיוביים הכוזבים לשיעור השליליים הכוזבים.