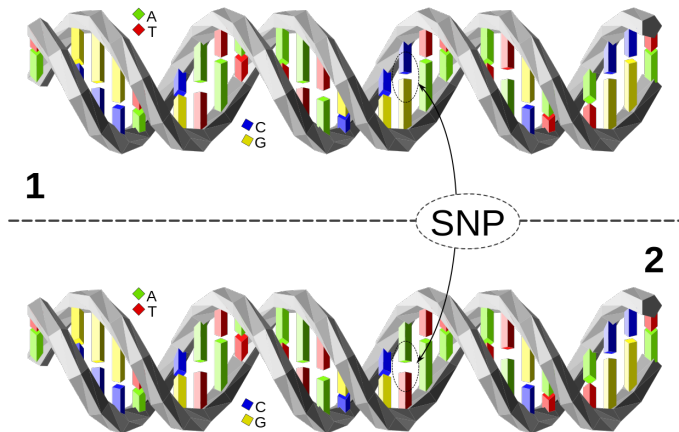


Predicción de patogenicidad en SNPs

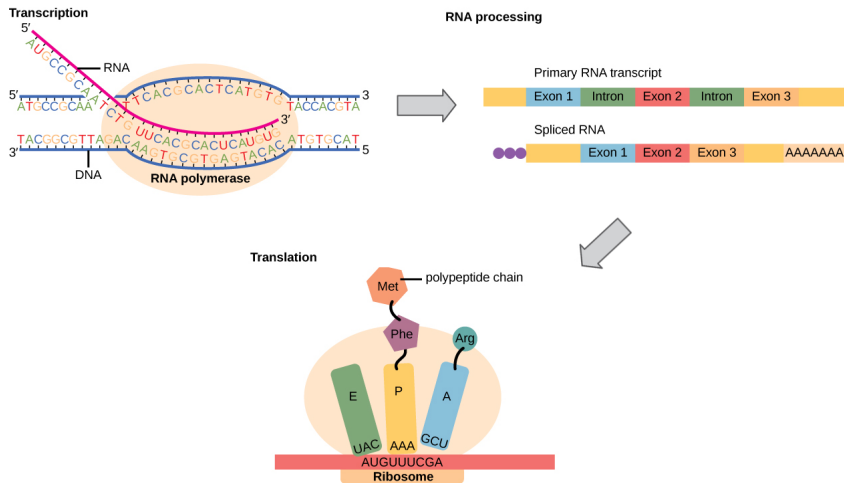
Martín Ezequiel Langberg

Introducción: ¿Qué son los SNPs?



Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

Introducción: Del ADN a las proteínas



Dogma central de la biología

¿Cómo se expresan los SNPs en el organismo?

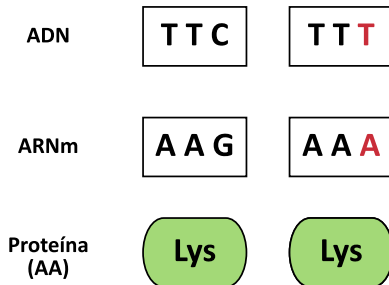
		Second letter					
		U	C	A	G		
First letter	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG Trp	U C A G	Third letter
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G	
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G	
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G	

Tabla de codones de ARN

Introducción: Tipos de SNPs

Sustitución sinónima o *silent*

El cambio en el nucleótido no modifica el aminoácido



Sustitución *silent*

Introducción: Tipos de SNPs

Sustituciones no sinónimas

Nonsense: Generan un codón de terminación o *stop*

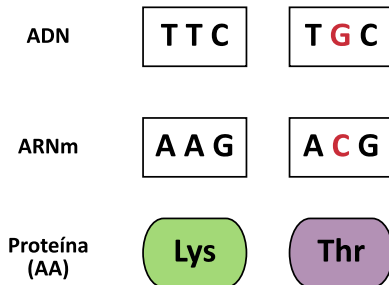
ADN	T T C	A T C
ARNm	A A G	U A G
Proteína (AA)	Lys	STOP

Sustitución *nonsense*

Introducción: Tipos de SNPs

Sustituciones no sinónimas

Missense: Generan un cambio de aminoácido en la proteína



Sustitución *missense*

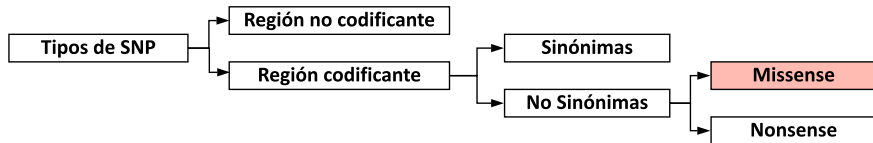
Foco de estudio: Variantes *missense*

Sustitución sinónima o *silent*

- El cambio en el nucleótido no modifica el aminoácido

Sustituciones no sinónimas

- Nonsense: Generan un codón de terminación o *stop*
- Missense: Generan un cambio de aminoácido en la proteína



Tipos de SNPs

Problema biológico: detectar la patogenicidad de SNPs

- La mayoría de las mutaciones no sinónimas son raras ($AF < .05 \%$)
- Los estudios realizados con secuenciación tienen baja significación estadística
- Existen bases de datos biológicas que registran patogenicidad de mutaciones: Clinvar, Humsavar y otras

Main gene name	AA change	Type of variant	dbSNP
A4GALT	p.Pro251Leu	Polymorphism	rs28940571
A4GALT	p.Gln163Arg	Polymorphism	rs28915383
A4GNT	p.Ala218Asp	Polymorphism	rs2246945
AAAS	p.His160Arg	Disease	-
AAAS	p.Ser263Pro	Disease	rs121918550

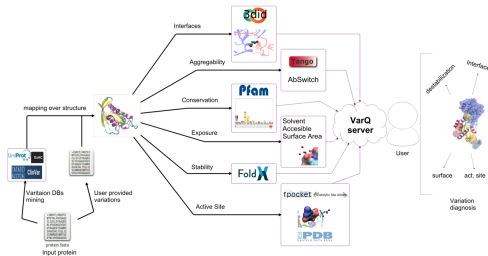
Selección de columnas de tabla Humsavar (extracto)

Enfoque computacional: un problema de clasificación

- **Objetivo: Predecir patogenicidad de SNPs *missense* humanos**
- Trabajos previos:
 - ▶ VEST (Carter et al., 2013)
 - ▶ FATHMM-MKL (Shihab et al., 2015)
 - ▶ REVEL (Ioannidis et al., 2016)
- Aprendizaje automático supervisado
- Dimensiones estructurales, físico-químicas de las proteínas, genómicas
- Análisis de importancia de las variables

¿Qué tan difícil es este problema?

Primer modelo: Propiedades estructurales usando VarQ



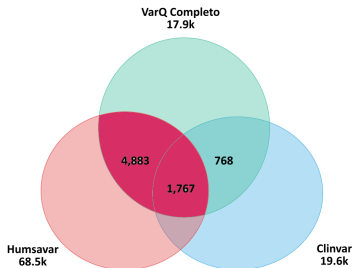
Pipeline de extracción de datos de VarQ

Features extraídos (cobertura)

- Variación de la energía
- SASA
- Porcentaje de SASA
- B-Factor
- Switchbility
- Aggregability
- Conservación
- Interfaz 3DID
- Interfaz PDB
- **Active Site**

Filtrado de variantes del dataset VarQ

- Removimos variantes sin un status confirmado (*risk factor, likely benign, uncertain significance*)
- Priorizamos con el reporte de Humsavar (Pathogenic, Disease)
- Aproximadamente 7,500 variantes: 72 % patogénicas, 28 % benignas



Intersección del dataset VarQ usando Humsavar y Clinvar

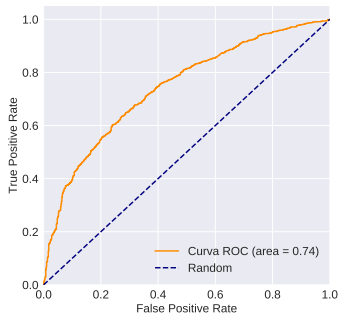
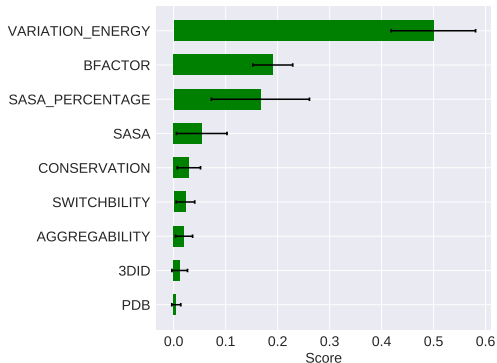
Generación de modelos de aprendizaje automático

- Modelos clásicos usando `scikit-learn`
 - ▶ Support Vector Classifier (kernel radial)
 - ▶ Random Forest
 - ▶ Regresión logística
- Imputación de variables nulas
- Búsqueda de hiperparámetros usando *3-fold Cross Validation*

Comparación de modelos usando VarQ: Random Forest tiene el mejor AUC

	SVC	LR	RF
Precisión	0.72	0.75	0.77
Recall	1.00	0.94	0.93
AUC	0.70	0.71	0.74
T_{fit}	2m 39s	1.17s	9.82s
T_{pred}	0.77s	0.01s	0.11s

Resultados del modelo VarQ (Random Forest): La variable más importante es la Variación de la Energía

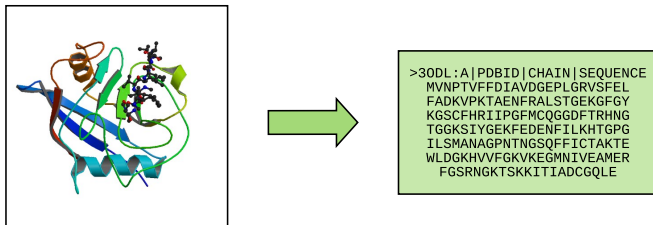


Importancia de variables usando
método estándar de `scikit-learn`

¿Cuál es el valor predictivo de las variables fisico-químicas de la proteína?

Modelo: Propiedades Físico-Químicas de la proteína

- Uniprot: Proteoma humano completo
- Nuevas fuentes de variables:
 - ▶ ProtParam (Biopython)
 - ▶ SNVBox
- Usando únicamente la tabla Humsavar:
 - ▶ Más de 68 mil variantes (aprox. $\times 10$ Varq!)
 - ▶ Status aportado por Humsavar



Extracción de secuencia proteica (ciclofilina) en formato FASTA usando Uniprot

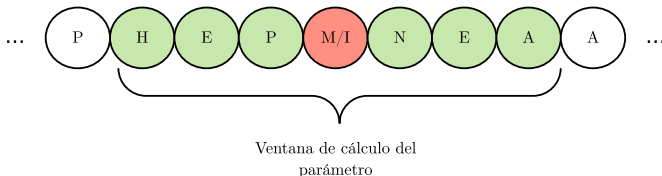
Generación de nuevas variables usando ProtParam

Parámetros calculados

- Punto isoelectrico
- Aromaticidad
- Índice de inestabilidad
- Flexibilidad
- Promedio de hidrofobicidad

Cambio en la variante

- Diferencia
- Log-ratio



Variables físico-químicas extraídas de SNVBox

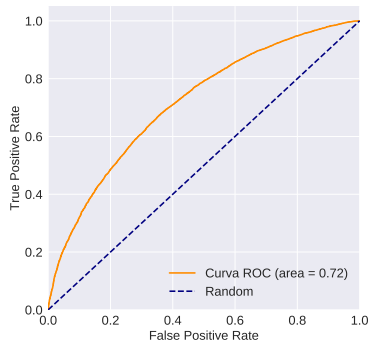
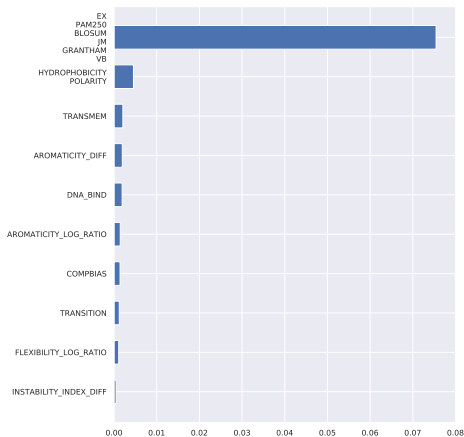
Variables a nivel de aminoácido (considerando sustitución)

- Score BLOSUM, EX, GRANTHAM, PAM250, VB, JM
- Carga
- Volumen
- Polaridad
- Hidrofobia
- Transición

Variables a nivel de proteína (sin considerar sustitución)

- BINDING: Sitio de unión
- ACTIVE_SITE: Sitio activo
- LIPID: Unión con un lípido
- METAL: Unión con un metal
- otras

Las matrices fueron las más relevantes



Curva ROC (0.72)

Importancia de variables clusterizada
usando rfimp

¿Cuál es el valor predictivo de las variables genómicas?

Modelo: Variables genómicas

- Identificador rsID: aproximadamente 55,000 variantes en Humsavar
 - ▶ 68 % variantes benignas
 - ▶ 32 % variantes patogénicas
- Fuentes de variables:
 - ▶ SNVBox
 - ▶ dbSNP
 - ▶ Genome Browser (UCSC)



Explorador de variantes de dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)

Variables del modelo Genómico

Variables de conservación genómica

- PhastCons a 46 vías (vertebrados)
- PhyloP a 46 vías (vertebrados)

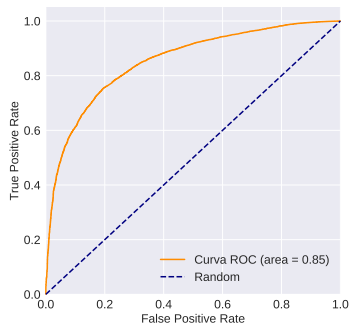
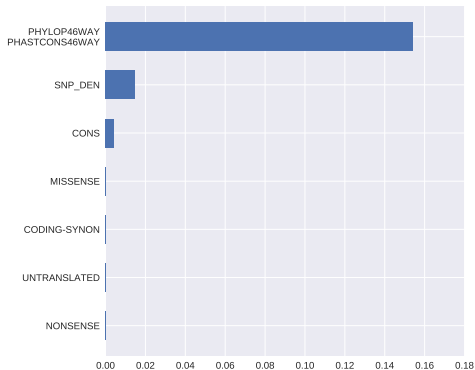
Variables extraídas de SNVBox

- Conservación a nivel de exón
- Densidad de SNPs en HapMap
- Densidad de SNPs a nivel de exón

Variables relativas a la clase funcional

- Missense
- Nonsense
- Intrón
- y otras

La conservación genómica es importantísima!



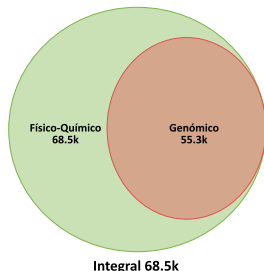
Curva ROC (0.85!)

Importancia de variables clusterizada
usando rfpimp

Podemos mejorar el modelo
genómico integrando las variables
físico-químicas?

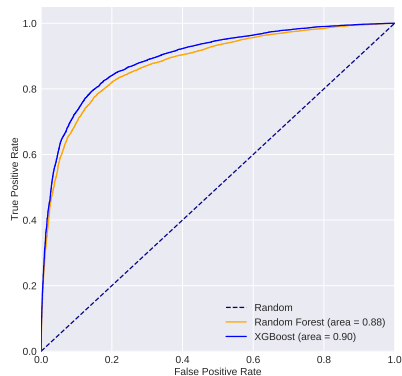
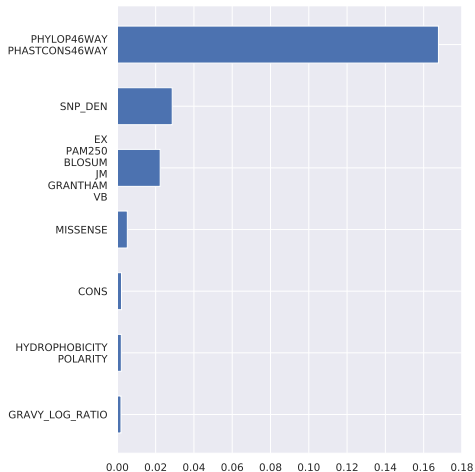
Integrando las variables físico-químicas y genómicas

- Dataset Humsavar: 68 mil variantes
- Cobertura variables genómicas: aprox. 80 %
- Cobertura variable físico-químicas: misma que el dataset físico-químico
- Evaluamos un nuevo método de aprendizaje automático: XGBoost



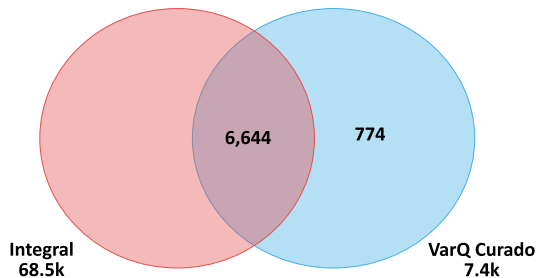
Unión de los datasets Físico-Químico y Genómico

XGBoost supera a Random Forest



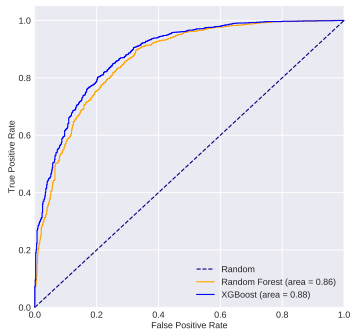
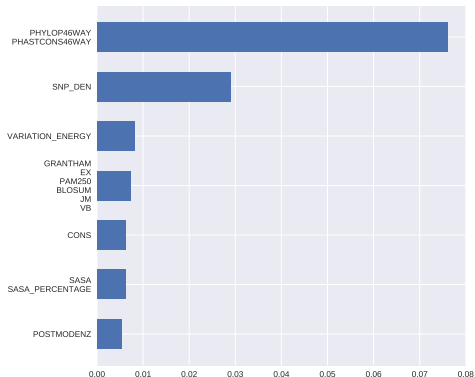
AUC: 0.90

Modelo Integral + VarQ



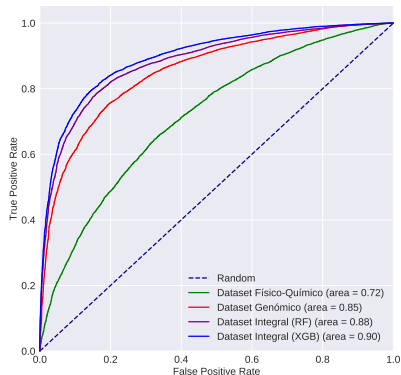
Unión de los datasets Integral y VarQ

Resultados del modelo Integral + VarQ (XGBoost)

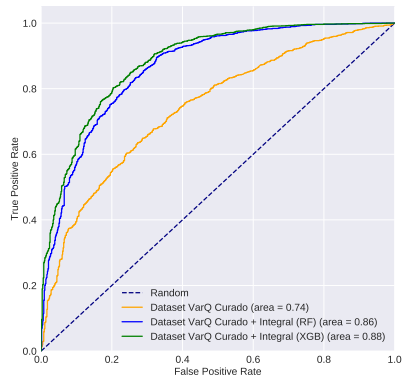


AUC: 0.88

Comparación entre los distintos modelos



Dataset Humsavar



Dataset VarQ (Curado)

Conclusiones:

- La combinación de distintas dimensiones del problema aportó buenos resultados, consiguiendo un AUC de 0.90
- El método estándar de cálculo de importancia de variables usado por scikit-learn puede ser engañoso en el caso de variables altamente correlacionadas
- Los mejores resultados fueron obtenidos por algoritmos de Boosting

- Aumentar la cobertura de las variables más importantes: La variación de la energía y las variables de conservación genómica
- Mejorar la búsqueda de hiperparámetros en XGBoost
- Evaluar SNPs *nonsense* o no codificantes
- Mejoras metodológicas

¿Preguntas?

¡Muchas gracias!