

# Predicción de patogenicidad en SNPs usando Aprendizaje Automático

Tesis de Licenciatura en Ciencias de la Computación

Martín Ezequiel Langberg

Directores: Ariel Berenstein y Pablo Turjanski

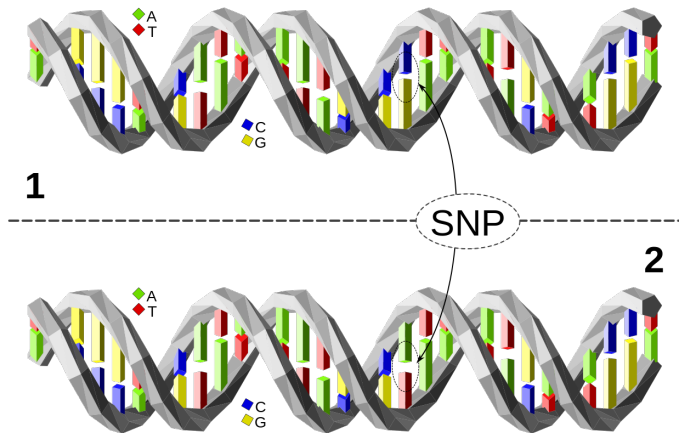
Jurado: Viviana Cotik y Marcelo Martí

Departamento de Computación, FCEyN, UBA

# Motivación del trabajo

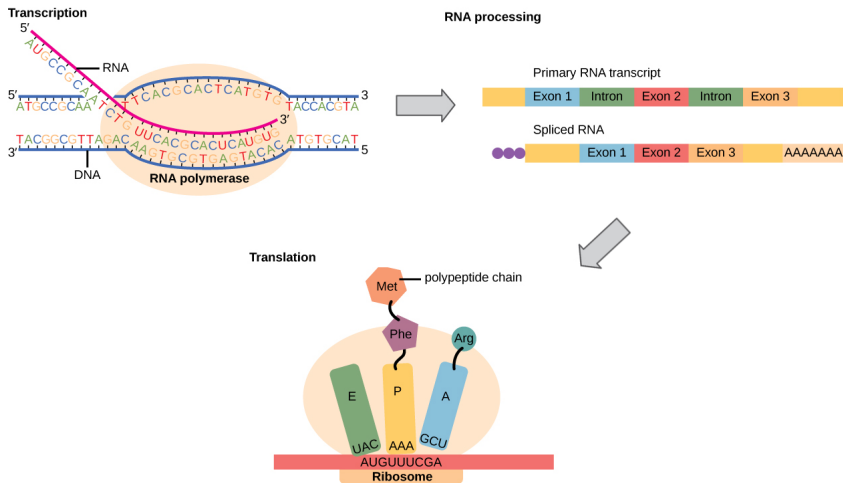
- Existen variantes en el ADN causantes de enfermedades (patogénicas)
- La detección de estas variantes es esencial para el avance de la medicina personalizada
- Queremos poder predecir la patogenicidad de un SNP en el ADN usando métodos computacionales

# ¿Qué son los SNPs?



Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

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

Tabla de codones de ARN

# Tipos de SNPs

## Sustitución sinónima o *silent*

El cambio en el nucleótido no modifica el aminoácido

ADN	TTC	TTT	Second letter				First letter	Third letter
			U	C	A	G		
			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		
ARNm	AAG	AAA	C	CCU } CUC } CUA } Leu CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	
			A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	
			G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	

Sustitución *silent*

# Tipos de SNPs

## Sustituciones no sinónimas

Nonsense: Generan un codón de terminación o *stop*

ADN	TTC	ATC
ARNm	AAG	UAG
Proteína (AA)	Lys	STOP

		Second letter				Third letter
		U	C	A	G	
First letter	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } Stop <b>UAG } Stop</b>	UGU } Cys UGC } <b>UGA } Stop</b> UGG } Trp	U C A G
	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 } <b>AUG } Met</b>	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AUU } Asn AUC } AUA } Lys <b>AAG }</b>	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

Sustitución *nonsense*

# Tipos de SNPs

## Sustituciones no sinónimas

Missense: Generan un cambio de aminoácido en la proteína

ADN	T T C	T G C	Second letter				First letter					Third letter
			U	C	A	G		U	C	A	G	
			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	
ARNm	A A G	A C G	C	U	A	G		C	U	A	G	
			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	U	A	G		A	U	A	G	
Proteína (AA)	Lys	Thr	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	U	A	G		G	U	A	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	

Sustitución *missense*



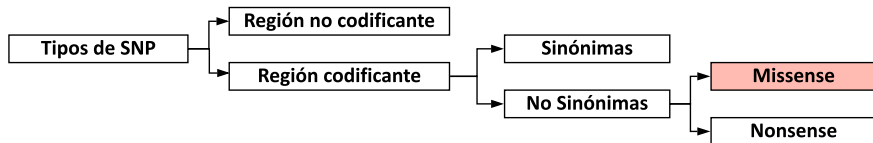
# Foco de estudio: Variantes *missense*

## 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

# Bases de datos biológicas

- Existen bases de datos biológicas que registran patogenicidad de variantes:
  - Clinvar (pública): Variantes de distinto nivel de confianza
  - Humsavar (pública): Solamente variantes missense**
  - HGMD (privada)

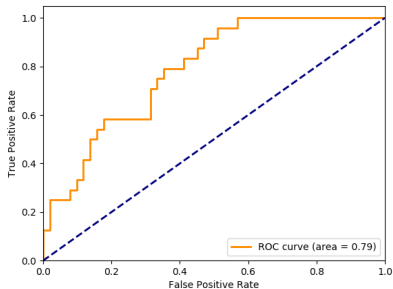
Swiss Prot AC	AA change	Type of variant	dbSNP
Q9NPC4	p.Pro251Leu	Polymorphism	rs28940571
Q9NPC4	p.Gln163Arg	Polymorphism	rs28915383
Q9NPC4	p.Ala218Asp	Polymorphism	rs2246945
Q9NRG9	p.His160Arg	Disease	-
Q9NRG9	p.Ser263Pro	Disease	rs121918550

Selección de columnas de tabla Humsavar (extracto)

# Enfoque computacional: un problema de clasificación

- Trabajos previos:
  - ▶ VEST (Carter et al., 2013)
  - ▶ FATHMM-MKL (Shihab et al., 2015)
  - ▶ REVEL (Ioannidis et al., 2016)
  - ▶ VarQ (Santiago Moreno, en proceso)
- Aprendizaje automático supervisado
- Dimensiones estructurales, físico-químicas de las proteínas, genómica
- Análisis de importancia de los features

# Principal métrica de desempeño: AUC (Area bajo la curva)



Curva ROC

## Rango de valores

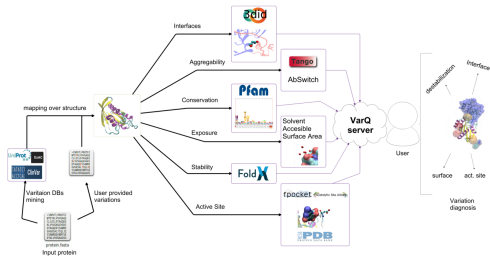
- $AUC = 1$ : Predictor ideal
- $AUC = 0.5$ : Predictor *random*

## Principales ventajas

- Independiente del umbral de clasificación
- No es sensible a desbalances en los datos

¿Qué tan difícil es este problema?

# Primer modelo: Propiedades estructurales usando VarQ



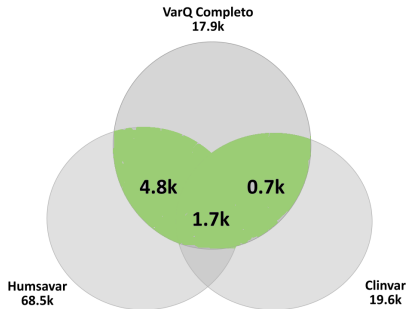
Pipeline de extracción de datos de VarQ

## Features extraídos (cobertura)

- Variación de la energía (100 %)
- SASA (95 %)
- Porcentaje de SASA (95 %)
- B-Factor (95 %)
- Switchability (90 %)
- Aggregability (72 %)
- Conservación (37 %)
- Interfaz 3DID (100 %)
- Interfaz PDB (100 %)
- **Active Site (5 %)**

# Filtrado de variantes del dataset VarQ

- Removimos variantes sin un status confirmado (*risk factor, likely benign, uncertain significance*)
- Aproximadamente 7.5k variantes: 72 % patogénicas, 28 % benignas
- Dataset VarQ Curado



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 features nulos
  - ▶ Mediana para features continuos
  - ▶ Media para features categóricos (PDB, 3DID)
- Búsqueda de hiperparámetros usando *Grid-search* y validación cruzada
- 70 % dataset de entrenamiento, 30 % dataset de test

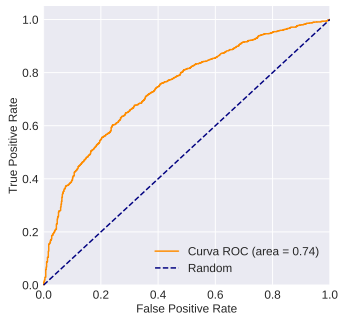
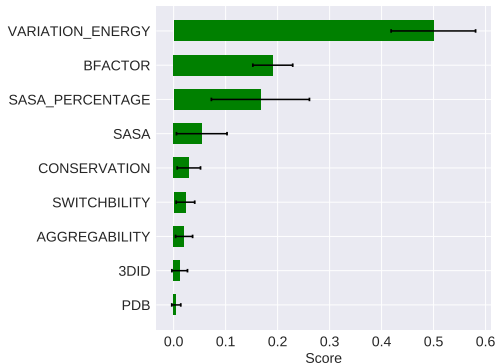


## El modelo Random Forest obtuvo el mejor AUC

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

- Mejores hiperparámetros encontrados (RF):
  - ▶ Profundidad de árbol: 7
  - ▶ Estimadores: 100
  - ▶ Cantidad de variables por árbol: 4

# La variación de la energía es el feature más importante

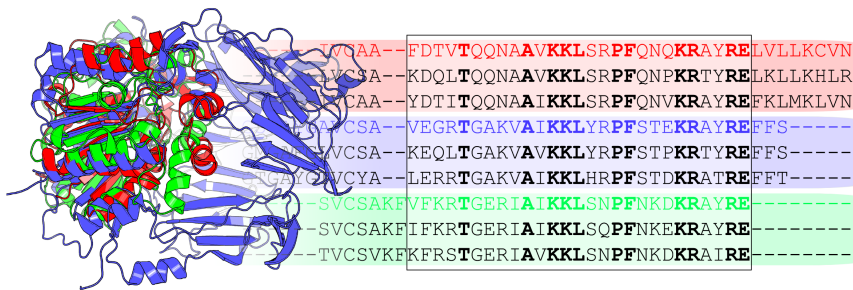


Curva ROC

Importancia de features usando método estándar de scikit-learn

- **AUC VarQ Curado: 0.74**
- AUC VEST: 0.84
- AUC FATHMM-MKL: 0.82
- AUC REVEL: 0.90

# ¿Cuál es el valor predictivo de las propiedades físico-químicas de la proteína?



<https://biokinet.belozersky.msu.ru/mustguseal>

# Modelo: Propiedades Físico-Químicas de la proteína

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



```
>30DL:A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE
MVNPTVFFDIAVDGEPLGRVSFEL
FADKVPKTAENFRALSTGEKGFGY
KGSCFHRIIPGFMCQGGDFTRHNG
TGGKSIYGEKFEDENFILKHTGPG
ILSMANAGPNTNGSQFFICTAKTE
WLDGKHVVFGKVKEGMNIVEAMER
FGSRNGKTSKKITIADCGQLE
```

Extracción de secuencia proteica (Ciclofilina A: P62937) en formato FASTA usando Uniprot

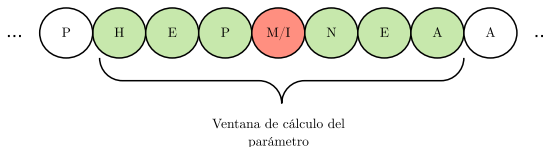
# Generación de nuevos features usando ProtParam

## Parámetros calculados

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

## Cambio en la variante

- Diferencia:  $x_{var} - x$
- Log-ratio:  $\log(x_{var})/\log(x)$



# Variables físico-químicas extraídas de SNVBox

## Variables a nivel de aminoácido (considerando sustitución)

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

## Variables a nivel de proteína (sin considerar sustitución)

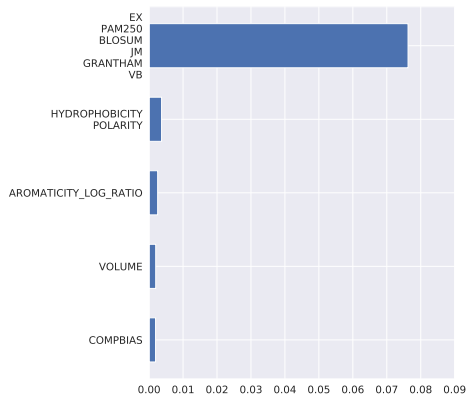
- BINDING: Sitio de unión
- ACTIVE\_SITE: Sitio activo
- LIPID: Unión con un lípido
- METAL: Unión con un metal

- Base de datos generada en la Universidad Johns Hopkins Wong et al., 2011

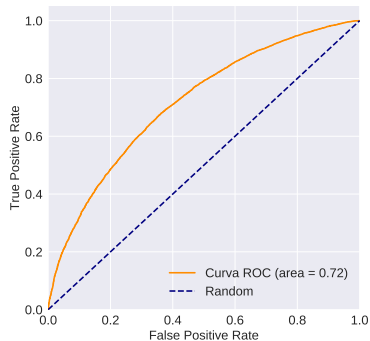
# Modificamos nuestro análisis de importancia

- Generamos un nuevo modelo basado en Random Forest
- Reutilizamos el pipeline usado en el modelo anterior (Pipeline Tree)
  - ▶ Misma imputación de variables
  - ▶ Mismo esquema de entrenamiento y test
- Mejores hiperparámetros encontrados:
  - ▶ Profundidad de árbol: 7
  - ▶ Estimadores: 100
  - ▶ Cantidad de variables por árbol: 20 %
- Usamos `rfpimp` para calcular la importancia de las variables

# Las matrices de sustitución fueron las más relevantes



Importancia de features clusterizada usando rfpimp

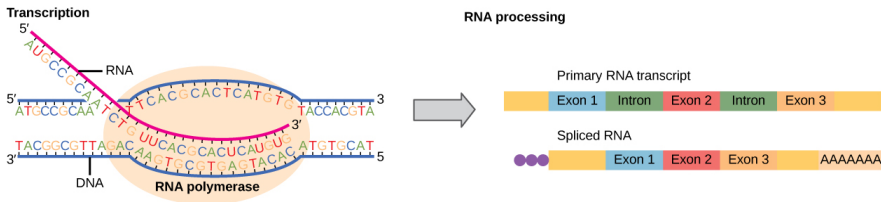


Curva ROC

- **AUC Físico-Químico: 0.72**
- **AUC VarQ: 0.74**



# ¿Cuál es el valor predictivo de los features genómicos?



# Modelo: Variables genómicas

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



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

# Features del modelo Genómico

## Features de conservación genómica

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

## Features extraídas de SNVBox

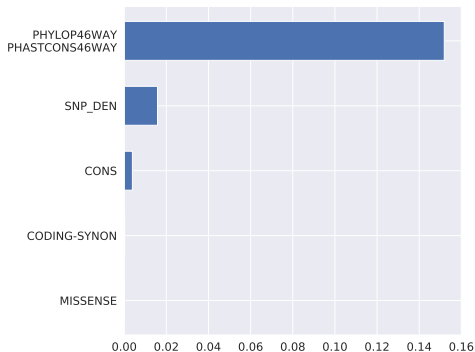
- Conservación a nivel de exón
- Densidad de SNPs en HapMap
- Densidad de SNPs a nivel de exón

## Features relativas a la clase funcional

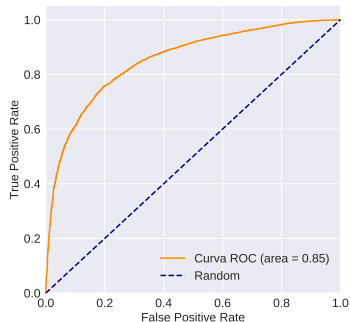
- Missense
- Nonsense
- Intrón

- Hiperparámetros: Profundidad 7, 100 estimadores, 7 variables por corte

# La conservación genómica aportó un salto en el AUC



Importancia de features clusterizada  
usando rfpimp



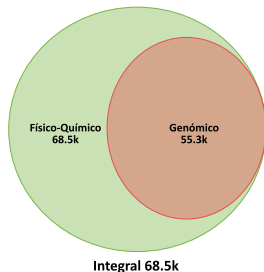
Curva ROC

- **AUC Genómico: 0.85**
- AUC Físico-Químico: 0.72
- AUC VarQ: 0.74

¿Podemos mejorar el modelo  
genómico integrando los features  
físico-químicos?

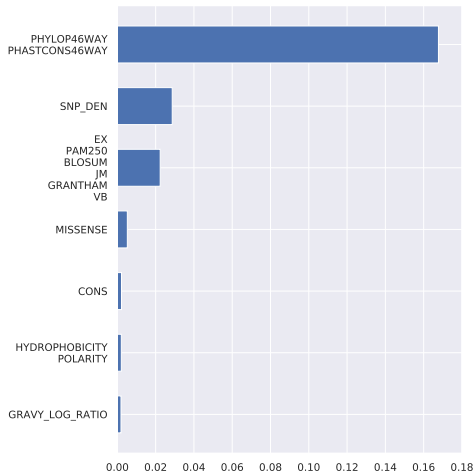
# Integramos los features físico-químicos y genómicos

- Dataset Humsavar: 68k variantes
- Cobertura features genómicos: aprox. 80 %
- Evaluamos un nuevo método de aprendizaje automático: XGBoost
  - ▶ Hiperparámetros encontrados:

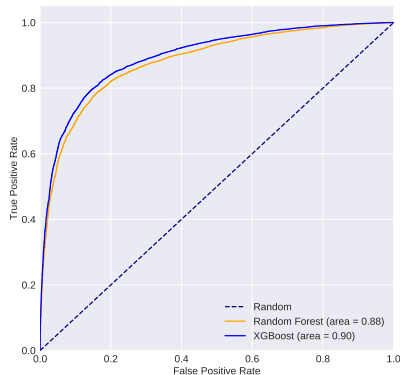


Unión de los datasets Físico-Químico y Genómico

# XGBoost permitió alcanzar al mejor trabajo del área

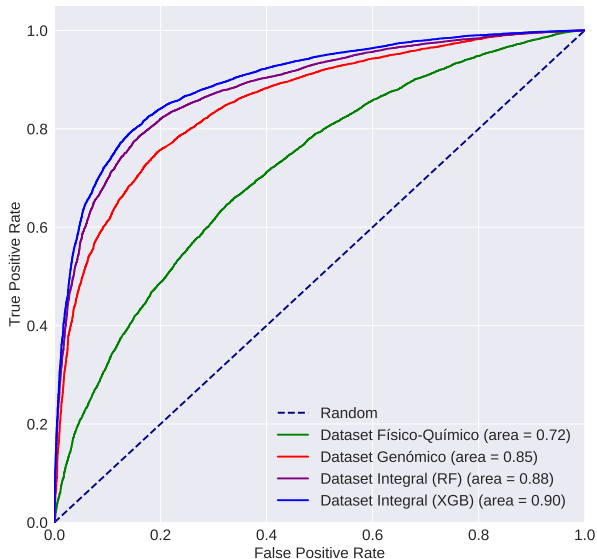


Importancia de features clusterizada usando rfpimp



Curva ROC

- **AUC Integral: 0.90**
- AUC VEST: 0.84
- AUC FATHMM-MKL: 0.82
- **AUC REVEL: 0.90**



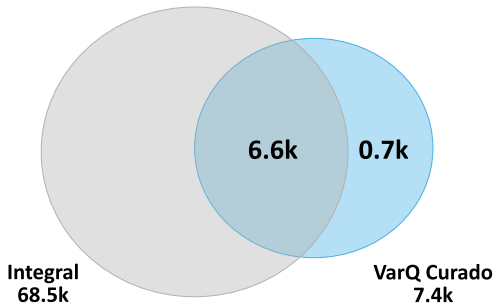
Desempeño de los modelos usando las variantes de la tabla Humsavar



¿Qué sucede al sumar estos features al dataset VarQ?

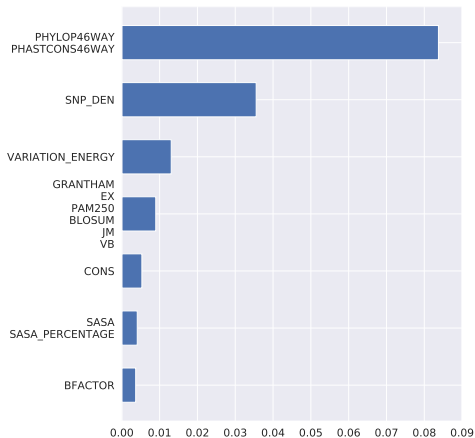
## Sumamos las nuevas variables al dataset VarQ

- Unimos los features del dataset Integral al dataset VarQ Curado
- 72 features: 9 de VarQ + 63 de Integral
- 7.4k variantes: 72 % patogénicas, 28 % benignas
- Comparamos XGBoost con Random Forest nuevamente

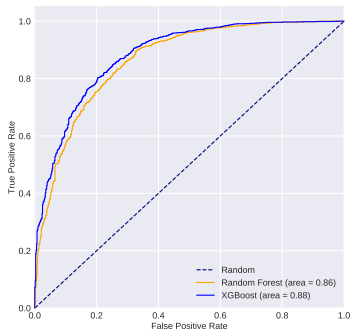


*Right Join* de los datasets Integral y VarQ

# Importancia transversal a todas las dimensiones estudiadas

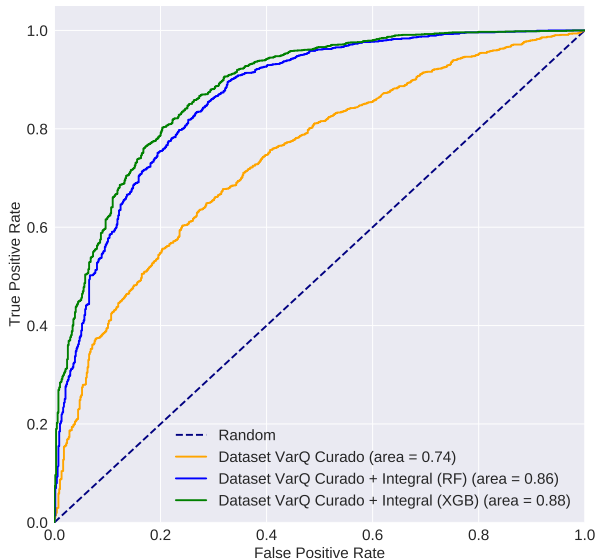


Importancia de features clusterizada  
usando rfimp



Curva ROC

- **AUC VarQ+Integral: 0.88**
- AUC VarQ Curado: 0.74



Desempeño de los modelos usando las variantes de VarQ (Curado)

# Conclusiones

- La combinación de distintas dimensiones del problema aportó excelentes resultados, consiguiendo un AUC de 0.90. Los features de conservación (genómicos y matrices de sustitución) fueron las que más aportaron al desempeño del modelo
- El método estándar de cálculo de importancia de features usado por scikit-learn puede ser engañoso en el caso de features altamente correlacionados
- La exploración de un algoritmo más avanzado (XGBoost) aportó mejoras sustanciales al modelo

- Aumentar la cobertura de los features más importantes: La variación de la energía y las features de conservación genómica
- Mejorar la búsqueda de hiperparámetros en XGBoost
- Evaluar SNPs en regiones no codificantes (FATHMM-MKL)

¿Preguntas?

¡Muchas gracias!