Tworzenie skróconych alfabetów aminokwasowych dla białek amyloidogennych

Projekt badawczy Doktoranckiego Koła Naukowego Bioinformatyki

Michał Burdukiewicz, Przemysław Gagat

1 Założenia projektu badawczego

Sekwencje białkowe zazwyczaj są opisywane przy wykorzystaniu alfabetu aminokwasowego zawierającego 20 aminokwasów. W przypadku wielu problemów badawczych, np. przewidywania funkcji białka (Longo et al., 2013) lub jego fałdowania (Murphy et al., 2000), znajomość dokładnego składu aminokwasowego nie jest konieczna i trafnych analiz można dokonywać na podstawie skróconego alfabetu aminokwasego.

Skrócony alfabet aminokwasowy to alfabet w którym aminokwasy na podstawie określonych podobieństw są przypisane do grup (Tab. 1). W sekwencji białkowej zapisanej przy użyciu takiego alfabetu konkretne reszty aminokwasowe zastępuje się numerem grupy do której zostały przypisane. Zazwyczaj w celu stworzenia skróconego alfabetu wykorzystuje się macierze podstawień (Cannata et al., 2002) lub właściwości fizykochemiczne aminokwasów (Stephenson & Freeland, 2013). Istnieją również kryteria pozwalające ustalić optymalną wielkość alfabetu (liczbę grup, do których przypisujmy aminokwasy) (Solis, 2015).

Tab. 1: Przykładowy skrócony alfabet aminokwasowy (Melo & Marti-Renom, 2006). Sekwencja ADPH w tym alfabecie zostanie zapisana jako 1335.

Numer grupy	Aminokwasy
1	A, G
2	C
3	D, E, K, N, P, Q, R, S, T
4	F, I, L, M, V, W, Y
5	H

Nasze wstępne wyniki sugerują, że w przypadku niektórych problemów przewidywania właściwości białek, zastosowanie skróconego alfabetu aminokwasowego może znacząco ulepszyć precyzję predykcji. Jednakże taki alfabet musi zostać wybrany spośród wielu potencjalnych skróconych alfabetów. Liczba wszystkich

możliwych skróconych alfabetów aminokwasowych n_s zawierających k grup jest wyrażona poprzez:

$$n_s = \frac{1}{k!}\sum_{j=0}^{k}(-1)^{k-j}\binom{k}{j}j^{20}$$

Nawet przy założeniu, że optymalna wielkość skróconego alfabetu jest już znana, to liczba potencjalnych możliwości jest bardzo duża (np. wszystkich alfabetów sześcioelementowych jest 4.306079×10^{12}).

2 Obecny stan badań

2.1 Predykcja białek amyloidogennych

Jednym z poprzednich zadań badawczych naszego Koła było opracowanie algorytmu przewidującego amyloidy, białka, których agregaty występują w różnych zaburzeniach neurodegeneracyjnych (m.in. choroby Alzheimera, Creutzfelda-Jacoba). Podczas tworzenia predyktora amyloidogenności AmyloGram wygenerowaliśmy i przetestowaliśmy 18 535 unikalnych skróconych alfabetów o długości od 3 do 6 (ok. 3.63×10^{-7}% wszystkich możliwych skróconych alfabetów o długości od 3 do 6). Spośród sprawdzonych alfabetów wybrano ten, który gwarantował najlepszą predykcję.

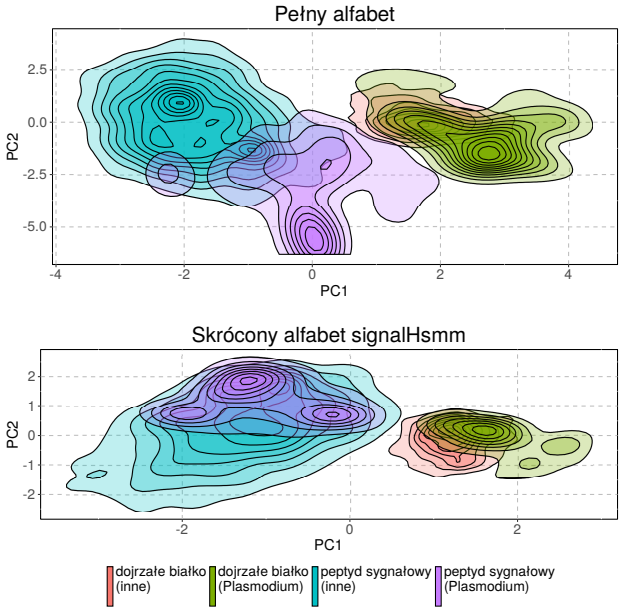
Zastosowanie skróconego alfabetu istotnie podwyższyło skuteczność przewidywania amyloidogenności (Tab. 2). Jednakże ze względu na szczupłość sprawdzonego zbioru alfabetów, prawdopobnie istnieje skrócony alfabet, który pozwala na jeszcze lepsze predykcje oraz precyzyjniejsze opisanie procesu agregacji białek amyloidowych.

Tab. 2: Porównanie predykcji amyloidogenności na zbiorze testowym *pep424* (Walsh et al., 2014) dla klasyfikatorów uczonych na sekwencjach zapisanych z wykorzystaniem pełnego alfabetu i skróconego. AUC: Area Under the Curve. MCC: Matthew's Correlation Coefficient.

Classifier	AUC	MCC
Skrócony alfabet (zbiór uczący A)	0.8856	0.6057
Pełny alfabet (zbiór uczący A)	0.8411	0.5427
Skrócony alfabet (zbiór uczący B)	**0.8972**	**0.6307**
Pełny alfabet (zbiór uczący B)	0.8581	0.5698
Skrócony alfabet (zbiór uczący C)	0.8728	0.5420
Pełny alfabet (zbiór uczący C)	0.8610	0.5490

2.2 Predykcja peptydów sygnałowych u nietypowych organizmów

Zredukowane alfabety aminokwasowe zostały również wykorzystane w naszym programie signalHsmm, który przewiduje występowanie peptydów sygnałowych u Eukariontów. Zastosowanie skróconego alfabetu aminokwasowego pozwoliło trafnie przewidywać peptydy sygnałowe również u nietypowych grup taksonomicznych takich jak rodzaj *Plasmodiidae* do którego zalicza się zarodziec malarii. Nietypowy skład aminokwasowy takich peptydów sygnałowych utrudnia ich rozpoznawanie przy użyciu innych programów, które wykorzystują pełny alfabet aminokwasowy. Zapisanie sekwencji peptydów sygnałowych *Plasmodiidae* przy użyciu skróconego alfabetu aminokwasowego pozwala na identyfikację reguł decyzyjnych, które łączą je z analogicznymi sekwencjami pochodzącymi od innych eukariontów (Rys. 1). Nie jest to możliwe przy użyciu pełnego alfabetu aminokwasowego.



Tab. 1: Wyniki PCA dla częstości aminokwasów w peptydach sygnałowych i dojrzałych białkach *Plasmodiidae* oraz innych eukariontów.

3 Cel badań

Głównym zadaniem badawczym jest opracowanie nowej metody poszukiwania skróconych alfabetów. Nowe rozwiązania zostaną zastosowane do problemu przewidywania białek amyloidogennych i nietypowych peptydów sygnałowych.

4 Metody

Głównym narzędziem wykorzystywanym w projekcie badawczym jest pakiet *biogram* przeznaczony do analizy n-gramowej sekwencji biologicznych. Program ten zawiera liczne narzędzia umożliwiające tworzenie i porównywanie skróconych alfabetów (takie jak *similarity index*) (Stephenson & Freeland, 2013), które mogą być podstawą dla nowego algorytmu opracowanego podczas projektu badawczego.

5 Czas realizacji projektu

Projekt będzie realizowany w okresie 1.08.2016 do 1.02.2017.

6 Planowane wydatki

Łączny koszt projektu badawczego to 29 796,00 zł.

Tab. 3: Kosztorys projektu badawczego.

Nazwa	Koszt
Utworzenie studenckiego klastra obliczeniowego	25 036,00 zł
Akcesoria niezbędne w realizacji zadań badawczych	760,00 zł
Wyjazdy konferencyjne	4 000,00 zł
Łącznie	29 796,00 zł

6.1 Utworzenie studenckiego klastra obliczeniowego

Realizacja projektu wymaga stworzenia nowego klastra obliczeniowego na potrzeby przewidzianych zadań badawczych (Tab. 4). Po zakończeniu badań klaster pozostanie cennym narzędziem dla studentów, którzy będą go mogli wykorzystać do obliczeń niezbędnych do napisania prac dyplomowych.

W celu zoptymalizowania wykorzystania zasobów zarządzanych bezpośrednio przez Wydział Biotechnologii, komputery w pracowniach studenckich zostaną zaadoptowane jako węzły klastra. Rozważono trzy potencjalne rozwiązania technologiczne: obliczenia rozproszonych dedykowane dla systemów Microsoft Windows, oprogramowanie pośredniczące i klaster oparty na systemach z rodziny Unix.

Każde z możliwych rozwiązań będzie wymagało dedykowanego serwera. Serwer ma za zadanie dzielić zadania między węzły klastra i łączyć uzyskane wyniki. Dodatkowo, wszystkie potencjalne rozwiązania wymagają zmodyfikowania oprogramowania przyszłych elementów klastra.

Z przedstawionych poniżej rozwiązań wybrano klaster oparty na systemie z rodziny Unix, Ubuntu 16. Z przeprowadzonych prób wynika, że utworzenie tego typu klastra jest możliwe na komputerach w pracowni bez konieczności

Tab. 4: Koszty utworzenia studenckiego klastra obliczeniowego.

Nazwa	Cena (szt.)	Liczba	Łączna cena
Zasilacze - 500W	230,00 zł	4	920,00 zł
Bateria do UPS APC RBC7	314,00 zł	3	940,00 zł
Napęd optyczny zewnętrzny USB 2.0	150,00 zł	1	150,00 zł
Switch Netgear GS324 24 porty 10/100/1000	500,00 zł	2	1 000,00 zł
Pamięć RAM 2x8GB DDR3	330,00 zł	1	330,00 zł
Jednostka obliczeniowa (komputer)	3 499,00 zł	4	13 996,00 zł
Monitor 24”	700,00 zł	1	700,00 zł
Utworzenie klastra - umowa o dzieło	7000,00 zł	1	7000,00 zł
		Łącznie:	25 036,00 zł

drastycznej modyfikacji istniejącej infrastruktury. Dodatkowymi zaletami jest brak kosztów licencyjnych, które są znaczne przy rozwiązaniach dedykowanych dla systemów Microsoft Windows oraz duża uniwersalność klastra pozwalające na wykonywanie obliczeń rozproszonych używając programów napisanych w różnych językach.

Mgr inż. Al-Yawir Rashad podjął się utworzenia klastra w pracowni studenckiej w ramach umowy o dzieło. W zakres prac wchodzi modyfikacja oprogramowania komputerów w pracowniach studenckich oraz konfiguracja serwera nadzorującego pracę klastra. Serwer, ponieważ musi spełniać szczególne wymagania techniczne, zostanie utworzony na na dedykowanych jednostkach obliczeniowych, które nie są elementem wyposażenia pracowni studenckich.

6.1.1 Obliczenia rozproszone dedykowane dla systemów Microsoft Windows

Microsoft wspiera w tej chwili wyłącznie jedno rozwiązanie technologiczne do obliczeń rozproszonych: Windows HPC Server 2008 R2. Oprogramowanie to wymaga dowolnej wersji systemu Windows Server 2012. Koszt zakupu licencji Windows Server 2012 (typ licencji Datacenter, dane ze strony `microsoft.com` na dzień 14.09.2016) wynosi 6 155,00$.

6.1.2 Oprogramowanie pośredniczące

Oprogramowanie pośredniczące, np. Berkeley Open Infrastructure for Network Computing, to oprogramowanie wspierające rozproszone obliczenia na wielu maszynach niezależnie od używanego systemu operacyjnego. Zaletami tego rozwiązania jest dostosowywanie liczby obliczeń do aktualnego obciążenia komputera oraz otwarta licencja, umożliwiająca darmowe wykorzystanie tej technologii w zastosowaniach niekomercyjnych.

Istotną wadą oprogramowania pośredniczącego jest jego brak elastyczności ograniczający potencjalne zastosowania do kilku języków niskopoziomowych.

Tab. 5: Koszty akcesoriów niezbędnych w realizacji zadań badawczych.

Nazwa	Cena (szt.)	Liczba	Łączna cena
Pendrive USB 3.0 - 32 GB	45,00 zł	4	180,00 zł
Słuchawki z mikrofonem Creative	140,00 zł	2	280,00 zł
Plecak na laptopa	150,00 zł	2	300,00 zł
		Łącznie:	760,00 zł

6.1.3 Obliczenia rozproszone dedykowane dla systemów z rodziny Unix

Systemy z rodziny Unix są powszechnie wykorzystywane podczas przeprowadzania obliczeń rozproszonych. Ważnym aspektem ich użycia jest brak kosztów licencyjnych, co znacznie zmniejsza obciążenia finansowe związane z utworzeniem klastra. Klastry oparte na systemie z rodziny Unix będą również najbardziej uniwersalne, pozwalając na proste używanie zarówno programów języków w programach nisko- i wysokopoziomowych.

Trudnością związaną z tym rozwiązaniem jest konieczność utrzymywania dwóch systemów na komputerach w pracowni: Microsoft Windows, niezbędnym do prowadzenia zajęć dydaktycznych oraz wybranej dystrybcji systemu z rodziny Unix na której będą prowadzone obliczenia.

6.2 Akcesoria niezbędne w realizacji zadań badawczych

Właściwe zrealizowanie projektu badawczego wymaga również dokupienie akcesoriów (Tab. 5), takich jak pamięci USB niezbędne do przenoszenia duzych objętości danych i słuchawki z mikrofonem do prowadzenia rozmów z zagranicznym uczestnikiem projektu. Wykonanie części zadań badawczych nie byłaby możliwa gdyby nie komputery przenośne udostępnione członkom Koła przez Zakład Genomiki. Bezpieczny transport otrzymanego sprzętu wymaga zakupu specjalnych plecaków na laptopy.

6.3 Wyjazdy konferencyjne

Wstępne wyniki badań zostaną zaprezentowane podczas 9 Sympozjum Polskiego Towarzystwa Bioinformatycznego (28-30 września 2016, Białystok) oraz European R User Meeting (12-14 października 2016, Poznań). Dofinansowanie umożliwi większej liczbie członków Koła aktywny udział w konferencji i zaprezentowanie nie tylko wyników realizacji zadań badawczych postawionych w tym wniosku, ale również postępów w realizacji prac doktorskich. W ramach projektu łącznie odbędą się cztery wyjazdy (trzy wyjazdy na Sympozjum Polskiego Towarzystwa Bioinformatycznego i jeden wyjazd na European R User Meeting).

Tab. 6: Kosztorys wyjazdów konferencyjnych.

Nazwa	Cena (szt.)	Liczba	Łączna cena
Dofinansowanie wyjazdu	1 000 zł	4	4 000 zł
		Łącznie:	4 000,00 zł

References

Cannata, N., Toppo, S., Romualdi, C., & Valle, G. (2002, August). Simplifying amino acid alphabets by means of a branch and bound algorithm and substitution matrices. *Bioinformatics (Oxford, England)*, *18*(8), 1102–1108.

Longo, L. M., Lee, J., & Blaber, M. (2013, February). Simplified protein design biased for prebiotic amino acids yields a foldable, halophilic protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(6), 2135–2139. doi: 10.1073/pnas.1219530110

Melo, F., & Marti-Renom, M. A. (2006, June). Accuracy of sequence alignment and fold assessment using reduced amino acid alphabets. *Proteins*, *63*(4), 986–995. doi: 10.1002/prot.20881

Murphy, L. R., Wallqvist, A., & Levy, R. M. (2000, March). Simplified amino acid alphabets for protein fold recognition and implications for folding. *Protein Engineering*, *13*(3), 149–152. Retrieved 2016-01-24, from `http://peds.oxfordjournals.org/content/13/3/149` doi: 10.1093/protein/13.3.149

Solis, A. D. (2015, December). Amino acid alphabet reduction preserves fold information contained in contact interactions in proteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, *83*(12), 2198–2216. Retrieved 2016-07-14, from `http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.24936/abstract` doi: 10.1002/prot.24936

Stephenson, J. D., & Freeland, S. J. (2013, October). Unearthing the root of amino acid similarity. *Journal of Molecular Evolution*, *77*(4), 159–169. doi: 10.1007/s00239-013-9565-0

Walsh, I., Seno, F., Tosatto, S. C. E., & Trovato, A. (2014, July). PASTA 2.0: an improved server for protein aggregation prediction. *Nucleic Acids Research*, *42*(W1), W301–W307. Retrieved 2015-07-24, from `http://nar.oxfordjournals.org/content/42/W1/W301` doi: 10.1093/nar/gku399