n-gramy w analizie sekwencji biologicznych

Michał Burdukiewicz[1], Piotr Sobczyk[2], Paweł Mackiewicz[1]

[1]Zakład Genomiki, Uniwersytet Wrocławski

[2]Instytut Matematyki i Informatyki, Politechnika Wrocławska

Outline

n-gramy (k-mery, k-tuple) to wektory o długości n zawierające znaki z sekwencji wejściowych.

Pierwotnie analiza n-gramów rozwijana była na potrzeby analizy języka naturalnego, ale ma również zastosowania w genomice (Fang et al., 2011), transkryptomice (Wang et al., 2014) i proteomice (Guo et al., 2014).

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
S1	C	T	T	A	G	C
S2	C	A	G	A	C	G
S3	G	T	G	A	T	T

Przykładowe sekwencje. S - sekwencje, P - pozycja nukleotydu.

	A	C	G	T
S1	1	2	1	2
S2	2	2	2	0
S3	1	0	2	3

Zliczenia 1-gramów.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
S1	C	T	T	A	G	C
S2	C	A	G	A	C	G
S3	G	T	G	A	T	T

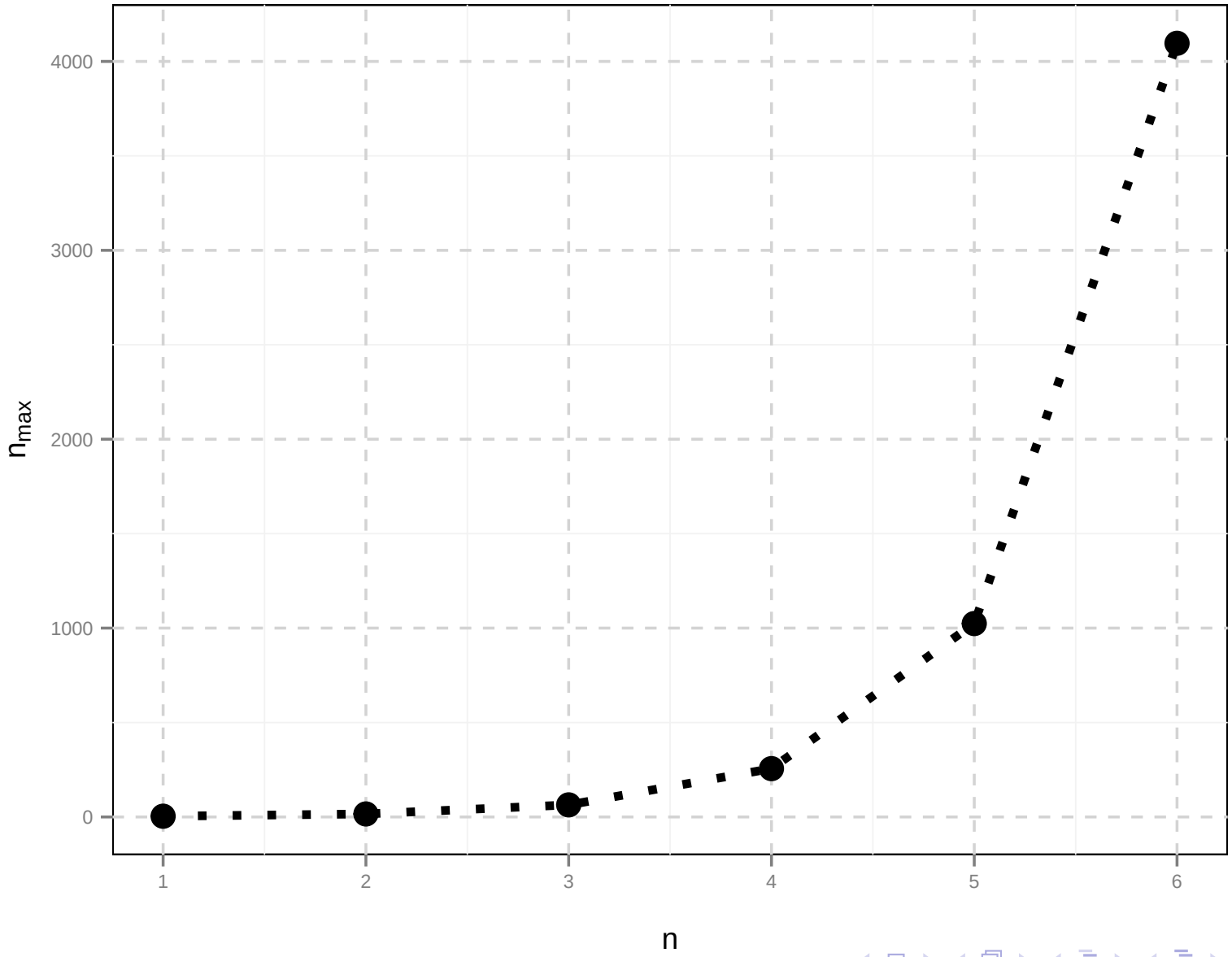
Przykładowe sekwencje. S - sekwencje, P - pozycja nukleotydu.

	AA	CA	GA	TA	AC	CC	GC	TC
S1	0	0	0	1	0	0	1	0
S2	0	1	1	0	1	0	0	0
S3	0	0	1	0	0	0	0	0

Zliczenia 2-gramów (fragment tabeli).

$$n_{\text{max}} = u^n$$

n_{max}: liczba wszystkich możliwych n-gramów
u: liczba liter w alfabecie.
n: długość n-gramu


4000
3000
2000
1000
0
n_{max}
1
2
3
4
5
6
n

n-gramy mogą być przypisaną informację o pozycjach na których występują.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
S1	C	T	T	A	G	C
S2	C	A	G	A	C	G
S3	G	T	G	A	T	T

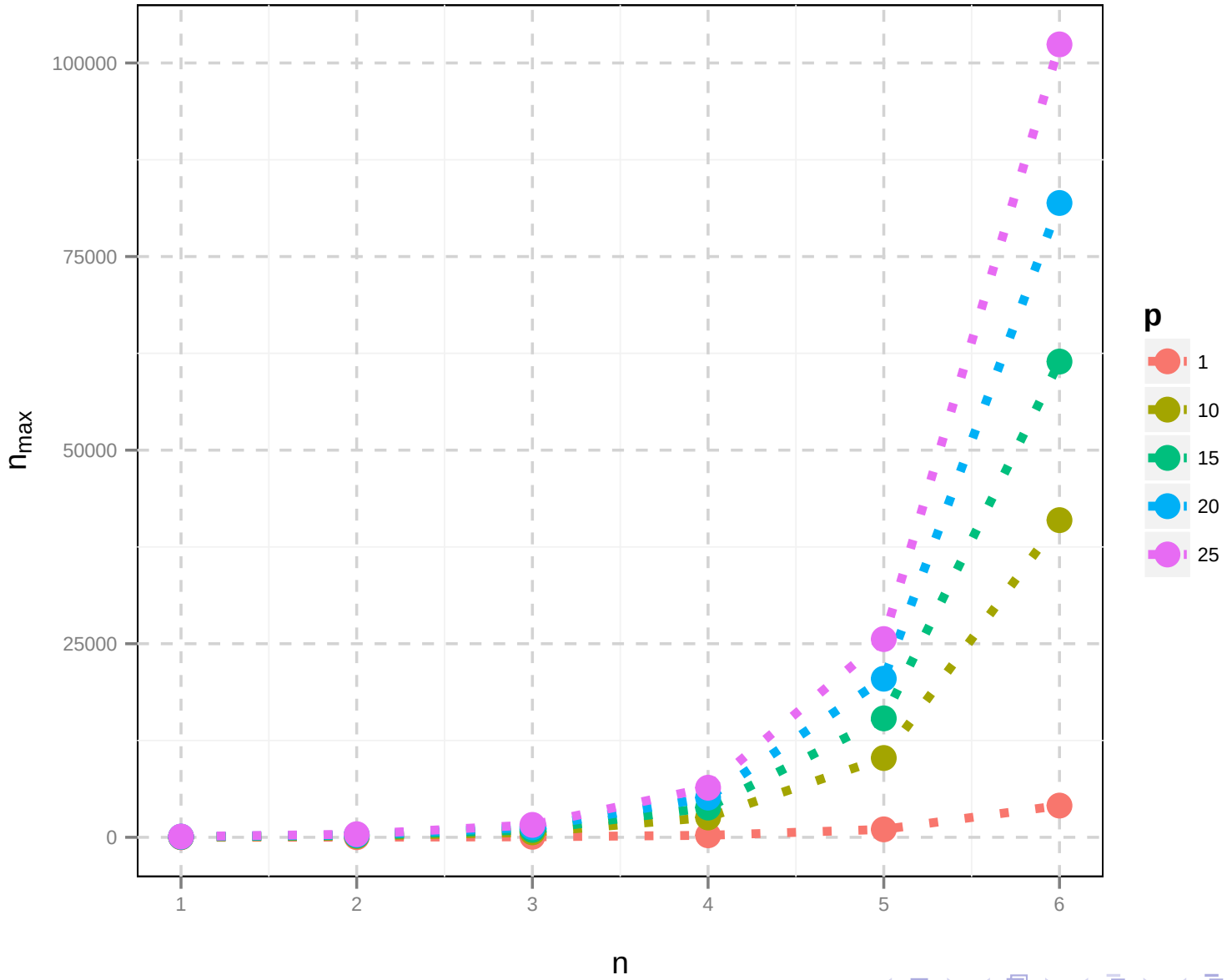
Przykładowe sekwencje. S - sekwencje, P - pozycja nukleotydu.

	1_A.A	2_A.A	3_A.A	4_A.A	5_A.A	1_C.A	2_C.A	3_C.A
S1	0	0	0	0	0	0	0	0
S2	0	0	0	0	0	1	0	0
S3	0	0	0	0	0	0	0	0

Zliczenia 2-gramów z informacją o pozycji (fragment tabeli).

$$n_{\text{max}} = p \times u^n$$

n_{max}: liczba wszystkich możliwych n-gramów
p: liczba możliwych pozycji.
u: liczba liter w alfabecie.
n: długość n-gramu


100000
75000
50000
25000
0
n_{max}
1
2
3
4
5
6
n
p
1
10
15
20
25

n-gramy mogą być nieciągłe - pomiędzy elementami n-gramu mogą występować przerwy.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
S1	C	T	T	A	G	C
S2	C	A	G	A	C	G
S3	G	T	G	A	T	T

Przykładowe sekwencje. S - sekwencje, P - pozycja nukleotydu.

	A_A	C_A	G_A	T_A	A_C	C_C	G_C	T_C
S1	0	0	0	1	1	0	0	0
S2	1	0	0	0	0	0	1	0
S3	0	0	0	1	0	0	0	0

Zliczenia 2-gramów z przerwą 1 (fragment tabeli).

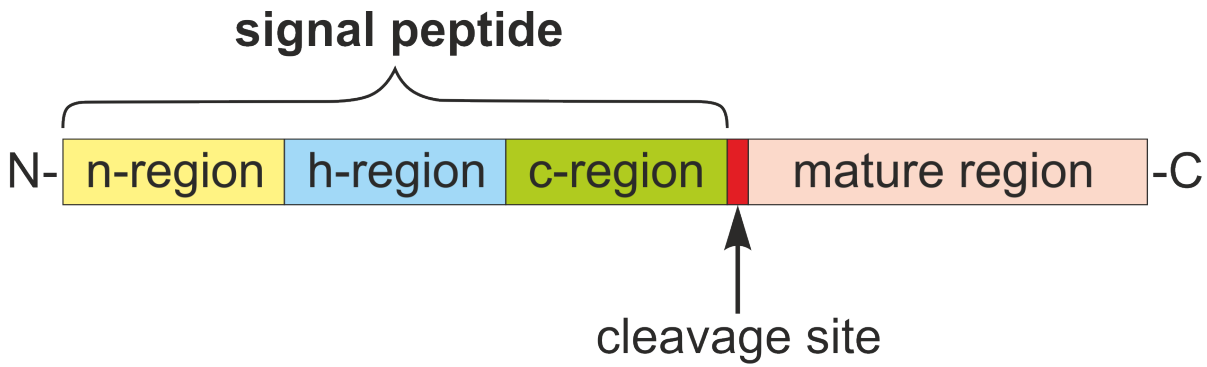
Wielowymiarowa przestrzeń atrybutów jest filtrowana z pomocą QuiPT (**Qui**ck **P**ermutation **T**est) łączącego zalety testów permutacyjnych (brak założeń) z szybkością wykonania.

W trakcie testu permutacyjnego oznaczenia klas są losowo mieszane na potrzeby obliczania statystyki testowej.

$$\text{p-value} = \frac{N_{T_P > T_R}}{N}$$

gdzie $N_{T_P > T_R}$ to liczba losowań, kiedy T_P (permutowana statystyka testowa) miała wartość krytyczniejszą niż T_R (statystyka testowa dla niepermutowanych danych).

Outline



- n-region: głównie zasadowe aminokwasy (Nielsen and Krogh, 1998),
- h-region: silnie hydrofobowe reszty aminokwasy (Nielsen and Krogh, 1998),
- c-region: kilka polarnych aminokwasów bez ładunku (Jain et al., 1994).

Istnieje szereg programów przewidujących występowanie peptydu sygnałowego:

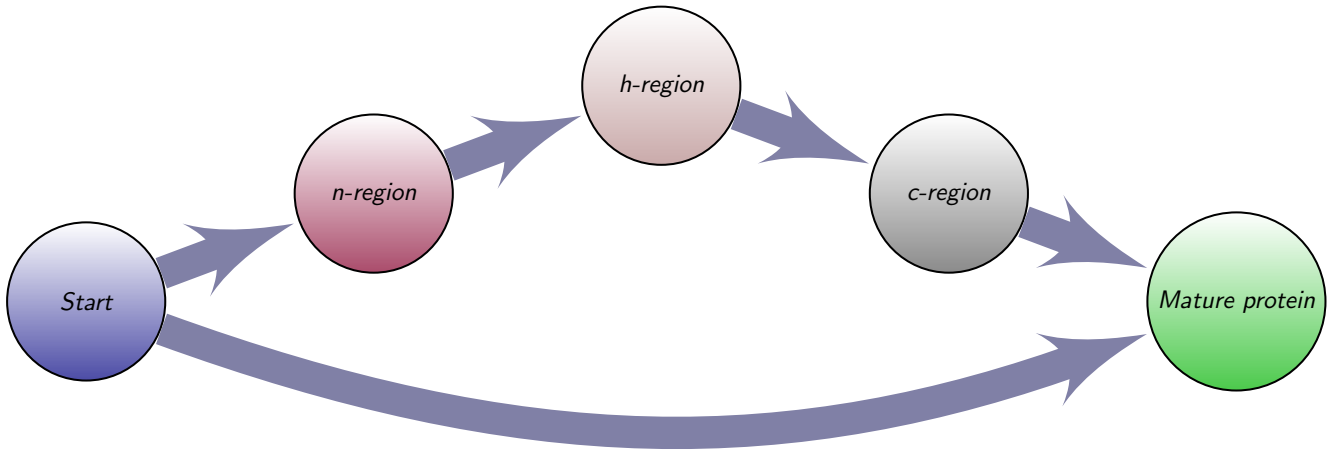
- signalP 4.1 (sieci neuronowe) (Petersen et al., 2011),
- PrediSi (Position Weight Matrix) (Hiller et al., 2004),
- Signal-3L (k-najbliszych sąsiadów) (Shen and Chou, 2007),
- Phobius (ukryte modele Markowskie) (Käll et al., 2004).

Założenia modelu:

- obserwowany rozkład aminokasów jest wynika z przebywania w określonym regionie (stanie),
- długość regionu (czas trwania stanu) jest modelowana poprzez rozkład prawdopodobieństwa (inny niż rozkład geometryczny jak w ukrytych modelach Markowskich).

1. Pozyskanie eukariotycznych białek z bazy UniProtKB 2014_07 (po ocyszczeniu z nietypowych lub niedokładnie opisanych rekordów zbiór danych liczy 3816 białek z peptydem sygnałowym i 9795 białek bez peptydu sygnałowego),
2. określenie granic n-, h- i c-regionów przez algorytm heurystyczny,
3. redukcja wymiarowości problemu poprzez zagregowanie aminokwasów na podstawie ich właściwości fizykochemicznych do kilku grup,
4. obliczenie częstości występowania grup aminokwasowych w danych regionie oraz długości regionów,
5. uczenie dwóch HSMM dla białek z peptydem sygnałowym i bez peptydu sygnałowego.

Podczas testowania, każde białko jest dopasowane do dwóch HSMM, które modelują odpowiednio białka bez peptydu sygnałowego i z peptydem sygnałowym. Prawdopodobieństwo obu dopasowań stanowią wynik działania programu.



Zbiór danych do analizy porównawczej: 140 eukariotycznych białek z peptydem sygnałowym i 280 losowo wybranych eukariotycznych bialek bez peptydu sygnałowego dodanych po 2010 do bazy UniProt.

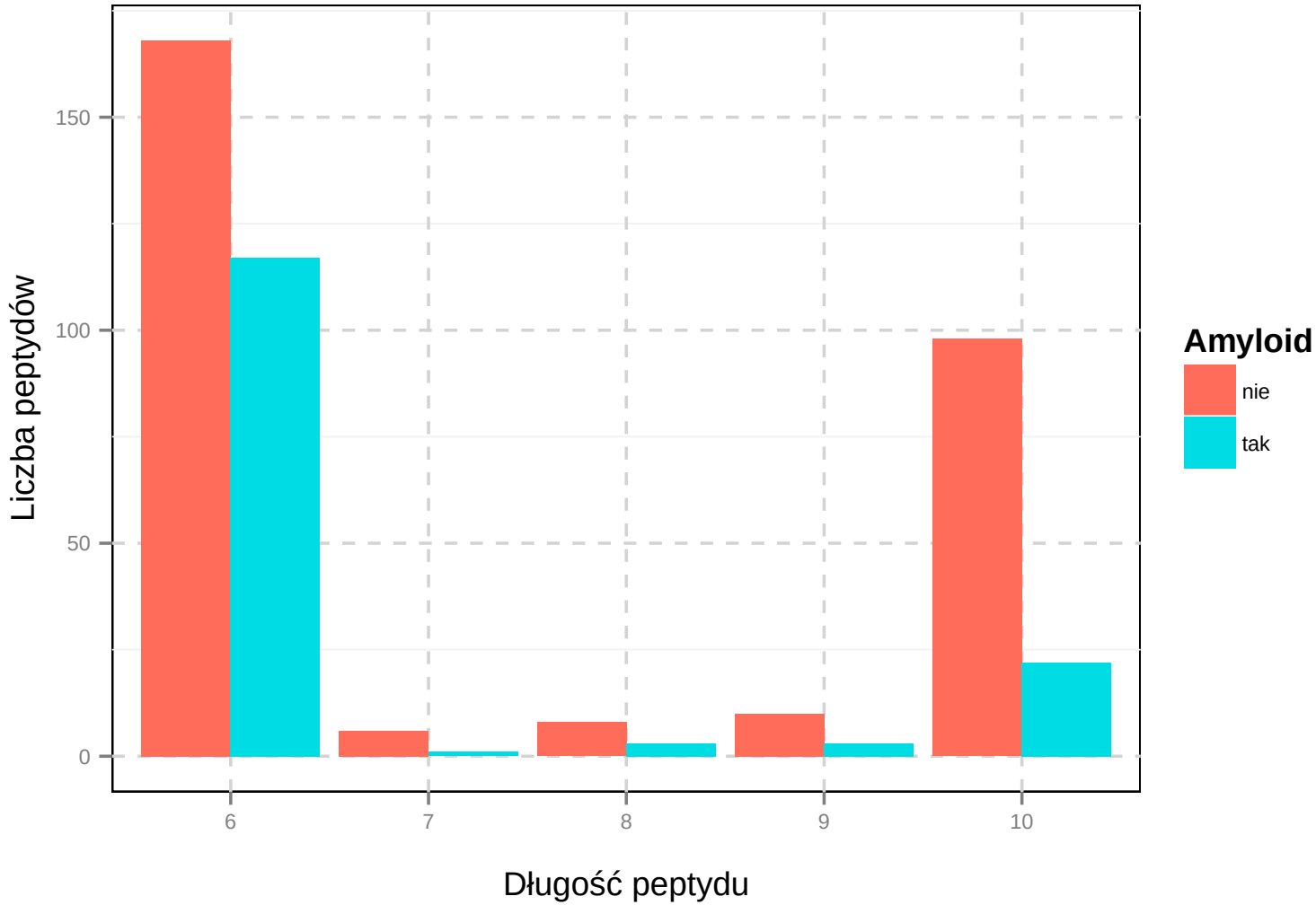
signal.hsmm1987: wytrenowany na zbiorze 496 eukariotycznych białek z peptydem sygnałowym dodanych do bazy przed 1987.

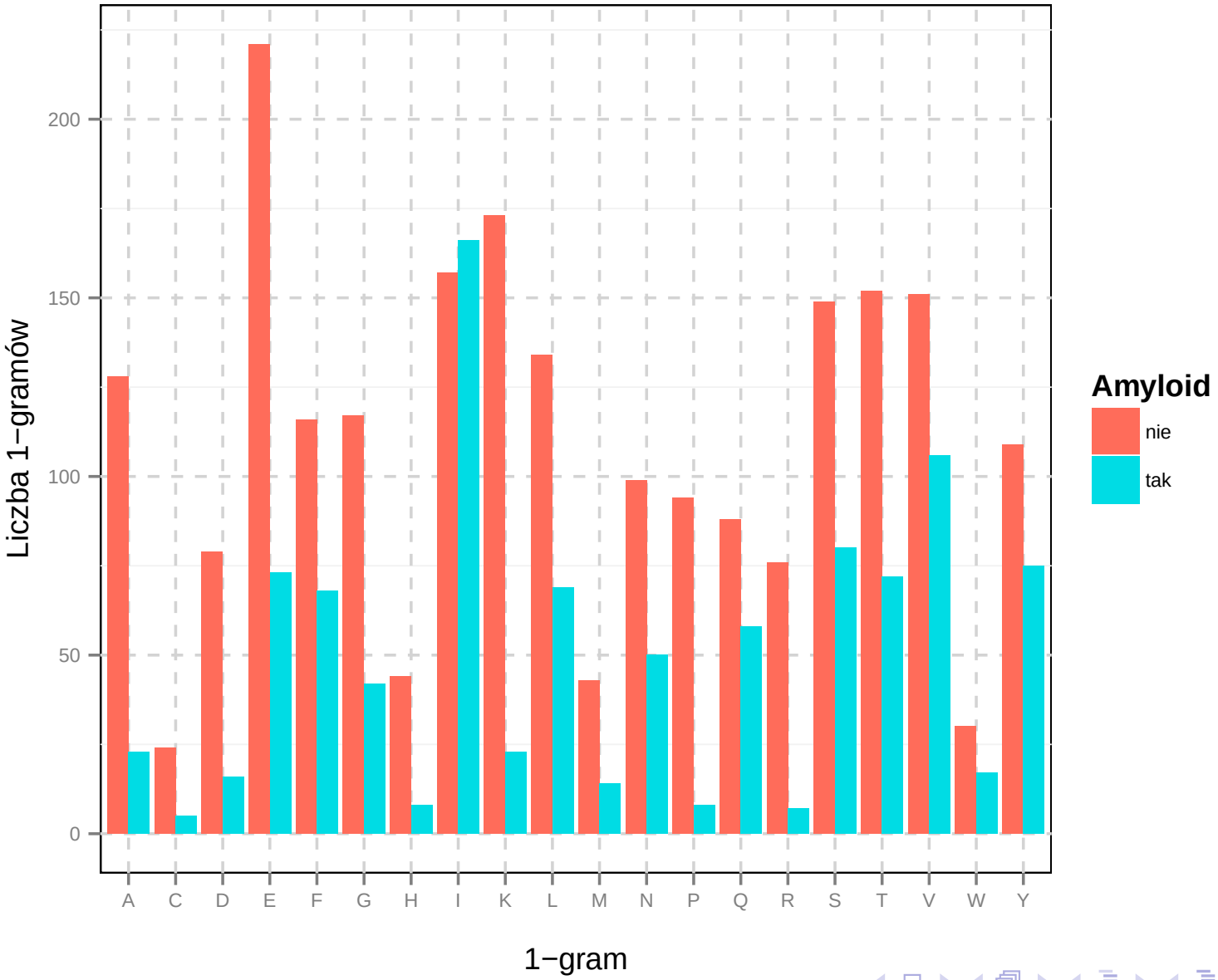
signal.hsmm2010: wytrenowany na zbiorze 3676 eukariotycznych białek z peptydem sygnałowym dodanych do bazy przed 2010.

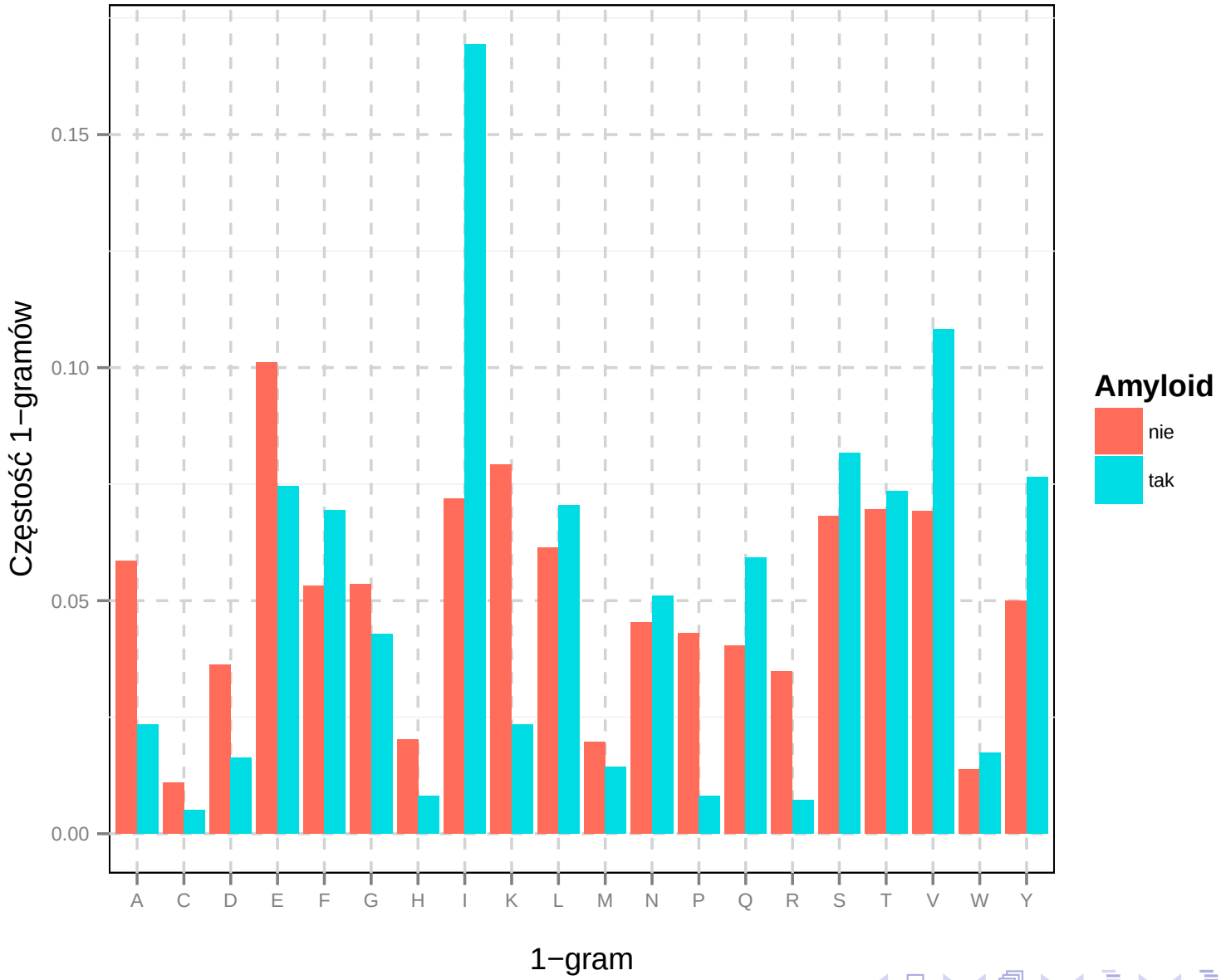
	AUC	H-measure	Gini index
Phobius	0.9643	0.8844	0.9286
PrediSi	0.9411	0.8238	0.8821
signalP 4.1 (no tm)	0.9679	0.8909	0.9357
signalP 4.1 (tm)	0.9750	0.9261	0.9500
signalhsmm2010	0.9893	0.8963	0.9786
signalhsmm1987	0.9889	0.8994	0.9778

Outline

Zbiór danych: 146 amyloidów i 290 nieamyloidów (Gasior and Kotulska, 2014).



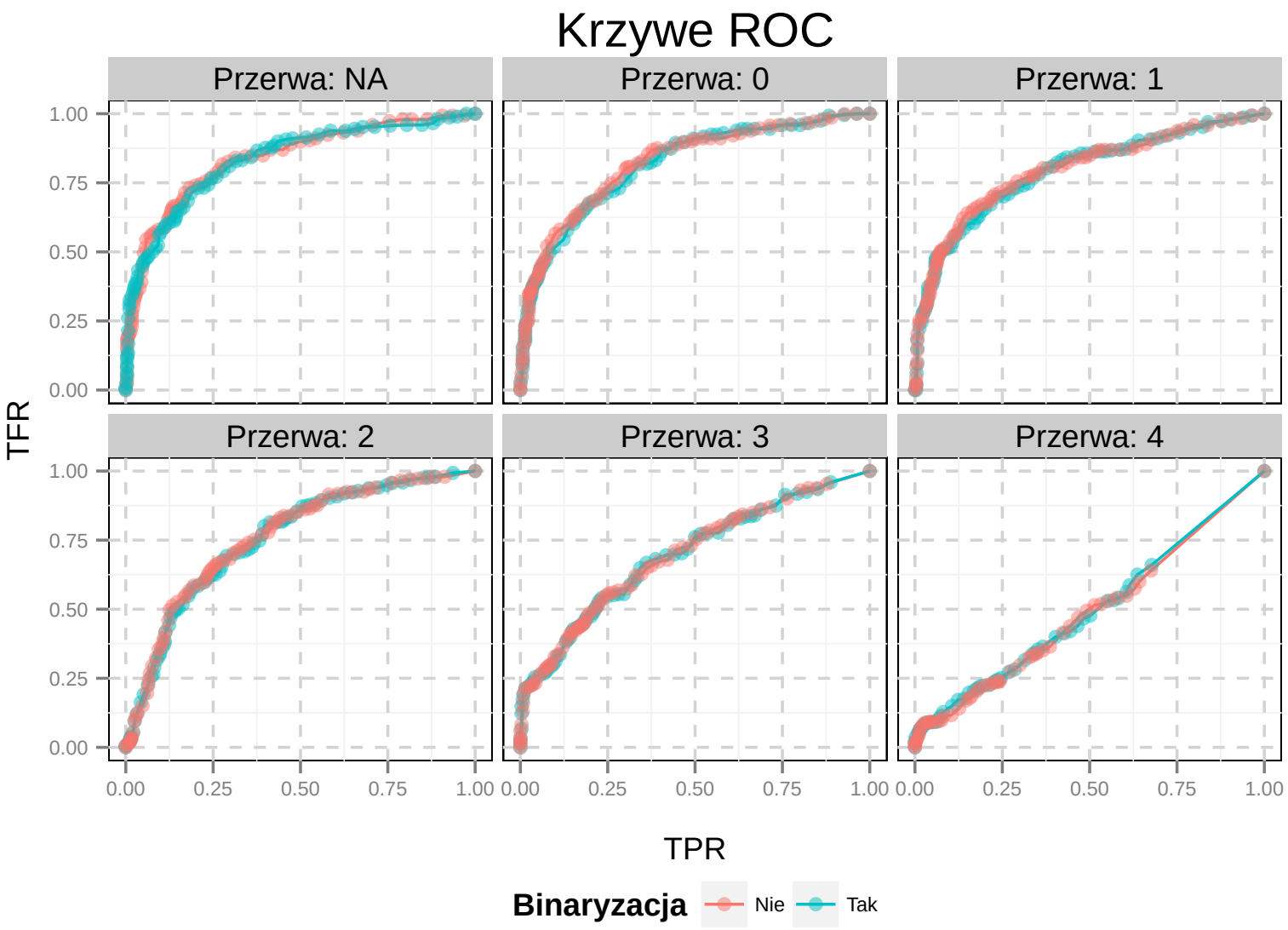

Liczba 1−gramów
200
150
100
50
0
A C D E F G H I K L M N P Q R S T V W Y
1−gram
Amyloid
nie
tak


Częstość 1−gramów
0.15
0.10
0.05
0.00
A C D E F G H I K L M N P Q R S T V W Y
1−gram
Amyloid
nie
tak

- Duże różnice w częstościach aminokwasów sugerują użycie n-gramów.
- Nierówne długości peptydów wykluczają n-gramy z informacją o pozycji.

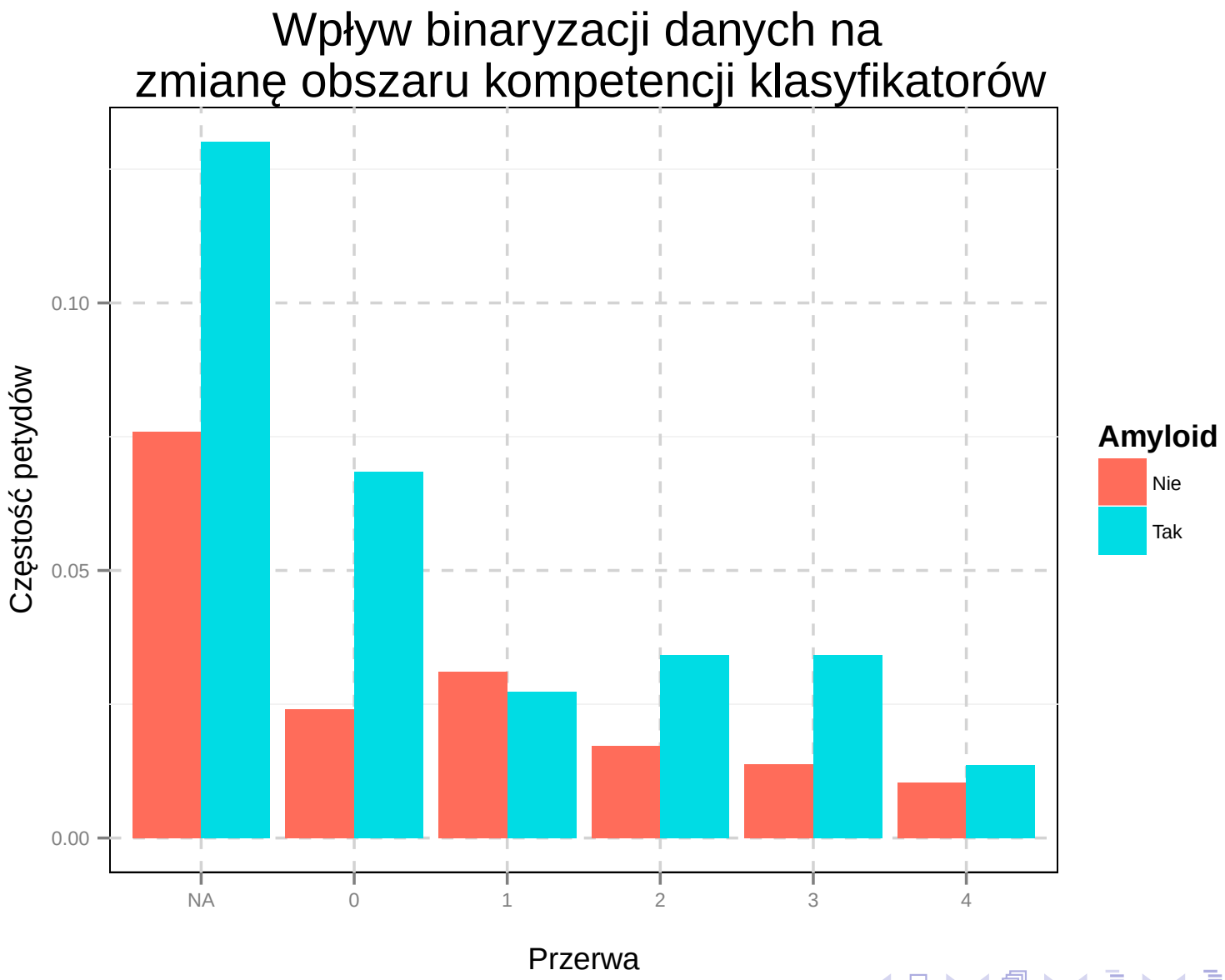
Czy można zbinaryzować zliczenia 1- i 2-gramów bez utraty zbyt dużej ilości informacji?

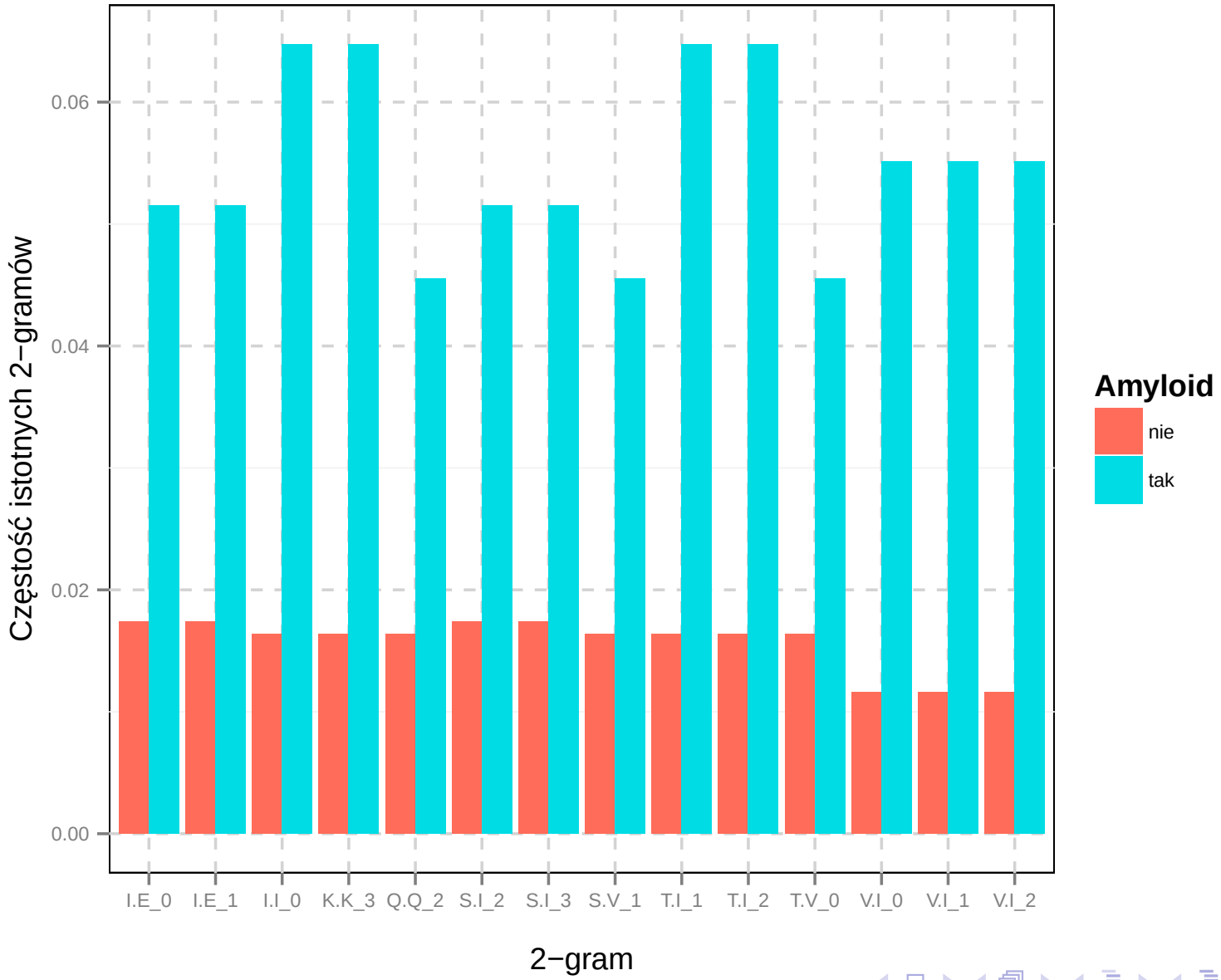
W 5-krotnej walidacji krzyżowej porównano 6 klasyfikatorów (lasy losowe) dla 1-gramów i 2-gramów (rozważane przerwy: 0 - 4) dla zliczeń zwykłych i zbinaryzowanych.


Krzywe ROC
Przerwa: NA
Przerwa: 0
Przerwa: 1
Przerwa: 2
Przerwa: 3
Przerwa: 4
TFR
TPR
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
Binaryzacja
Nie
Tak

n	Długość przerwy	Binaryzacja	AUC	TNR	TPR
1	NA	nie	0.84	0.88	0.61
1	NA	tak	0.83	0.86	0.62
2	0	nie	0.82	0.89	0.60
2	0	tak	0.82	0.87	0.62
2	1	nie	0.79	0.83	0.62
2	1	tak	0.79	0.83	0.63
2	2	nie	0.76	0.80	0.57
2	2	tak	0.76	0.80	0.59
2	3	nie	0.71	0.80	0.47
2	3	tak	0.70	0.79	0.45
2	4	nie	0.49	0.83	0.19
2	4	tak	0.48	0.82	0.20

Ocena predykcji klasyfikatorów


Wpływ binaryzacji danych na
zmianę obszaru kompetencji klasyfikatorów
Częstość petydów
0.10
0.05
0.00
NA
0
1
2
3
4
Przerwa
Amyloid
Nie
Tak


Częstość istotnych 2−gramów
0.06
0.04
0.02
0.00
I.E_0
I.E_1
I.I_0
K.K_3
Q.Q_2
S.I_2
S.I_3
S.V_1
T.I_1
T.I_2
T.V_0
V.I_0
V.I_1
V.I_2
2−gram
Amyloid
nie
tak

Fang, Y.-C., Lai, P.-T., Dai, H.-J., and Hsu, W.-L. (2011). Meinfotext 2.0: gene methylation and cancer relation extraction from biomedical literature. *BMC Bioinformatics*, 12(1):471.

Gasior, P. and Kotulska, M. (2014). Fish amyloid - a new method for finding amyloidogenic segments in proteins based on site specific co-occurence of aminoacids. *BMC Bioinformatics*, 15(1):54.

Guo, S.-H., Deng, E.-Z., Xu, L.-Q., Ding, H., Lin, H., Chen, W., and Chou, K.-C. (2014). inuc-pseknc: a sequence-based predictor for predicting nucleosome positioning in genomes with pseudo k-tuple nucleotide composition. *Bioinformatics*, 30(11):1522–1529.

Hiller, K., Grote, A., Scheer, M., Münch, R., and Jahn, D. (2004). PrediSi: prediction of signal peptides and their cleavage positions. *Nucleic Acids Research*, 32(suppl 2):W375–W379.

Jain, R. G., Rusch, S. L., and Kendall, D. A. (1994). Signal peptide cleavage regions. functional limits on length and topological implications. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(23):16305–16310.

Käll, L., Krogh, A., and Sonnhammer, E. L. L. (2004). A combined transmembrane topology and signal peptide prediction method. *Journal of Molecular Biology*, 338(5):1027–1036.

Nielsen, H. and Krogh, A. (1998). Prediction of signal peptides and signal anchors by a hidden markov model. *Proceedings / ... International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology ; ISMB. International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology*, 6:122–130.

Petersen, T. N., Brunak, S., von Heijne, G., and Nielsen, H. (2011). SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nature Methods*, 8(10):785–786.

Shen, H.-B. and Chou, K.-C. (2007). Signal-3l: A 3-layer approach for predicting signal peptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 363(2):297–303.

Wang, Y., Liu, L., Chen, L., Chen, T., and Sun, F. (2014). Comparison of metatranscriptomic samples based on ¡italic¿k-¡/italic¿tuple frequencies. *PLoS ONE*, 9(1):e84348.