Przewidywanie właściwości sekwencji biologicznych w oparciu o analizę n-gramów

Michał Burdukiewicz

Zakład Genomiki, Uniwersytet Wrocławski

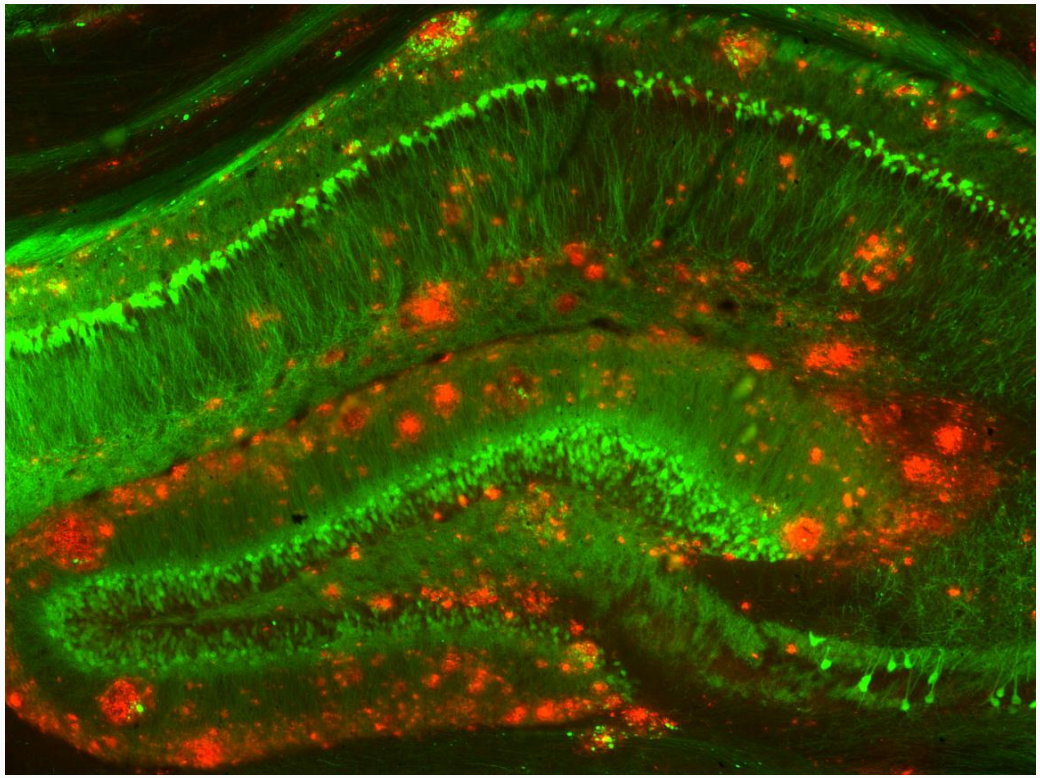
Prace eksperymentalne zazwyczaj poprzedza się analizami komputerowymi, które pozwalają optymalniej zaprojektować dalsze badania.

Przykłady:

- przewidywanie lokalizacji białek w komórce,
- modelowanie struktury przestrzennej białek oraz kwasów nukleinowych,
- wykrywanie miejsc wiązania czynników transkrypcyjnych,
- poszukiwanie sekwencji kodujących białko.

Białka amyloidowe

Białka związane z licznymi chorobami (np. choroby Alzheimera, Parkinsona, Creutzfeldta-Jakoba) tworzące szkodliwe agregaty.

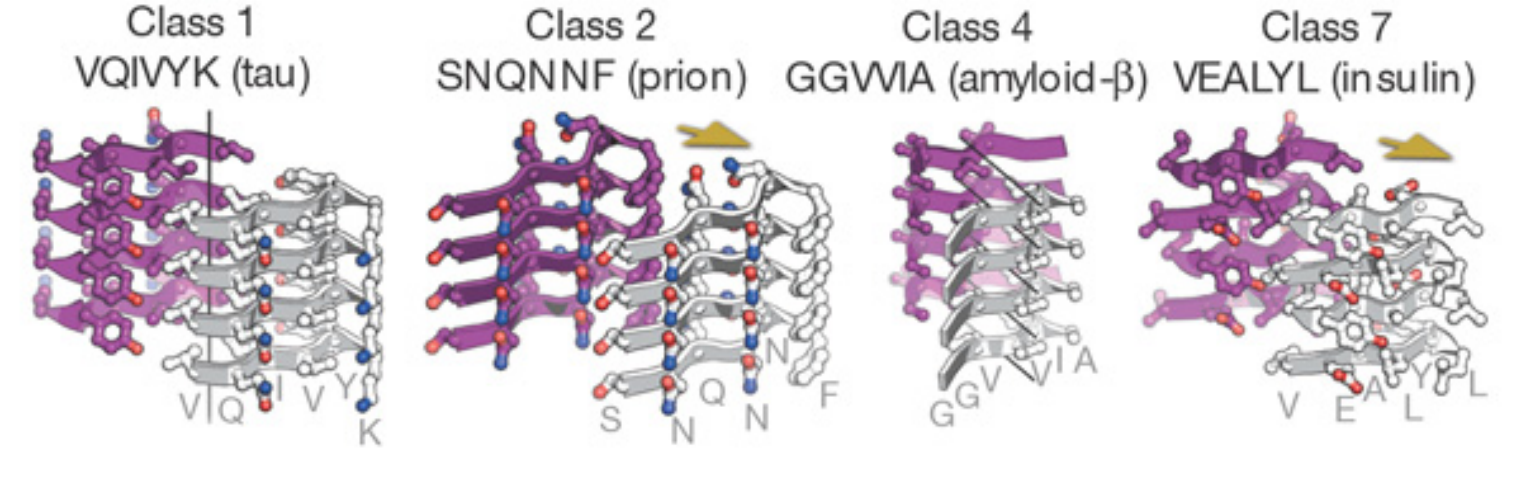


Agregaty amyloidowe (czerwony) wokół neuronów (zielony). Strittmatter Laboratory, Yale University.

Białka amyloidowe

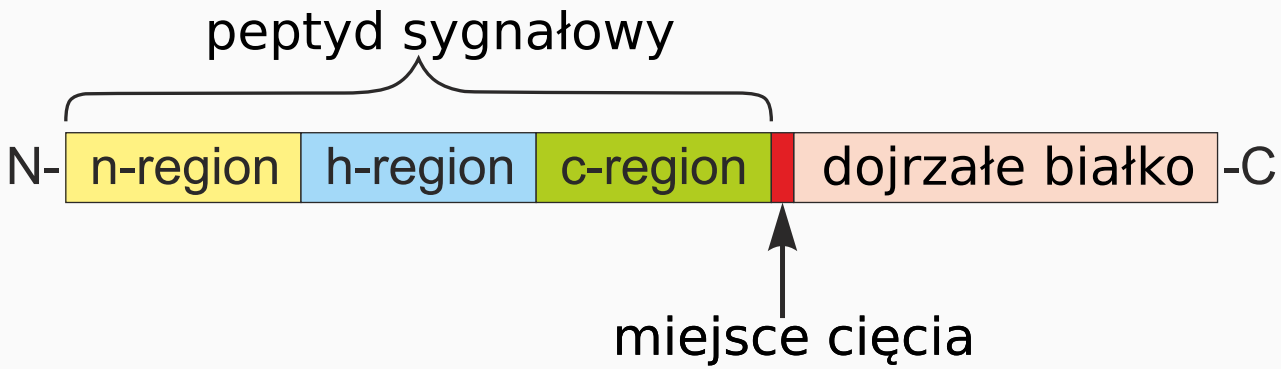
Hot-spots:

- krótkie (6-15 aminokwasów), ale bardzo zróżnicowane fragmenty białek amyloidogennych,
- miejsce inicjacji agregacji amyloidowej,
- formują specyficzne struktury β typu "zamka błyskawicznego".



Sawaya et al. (2007)

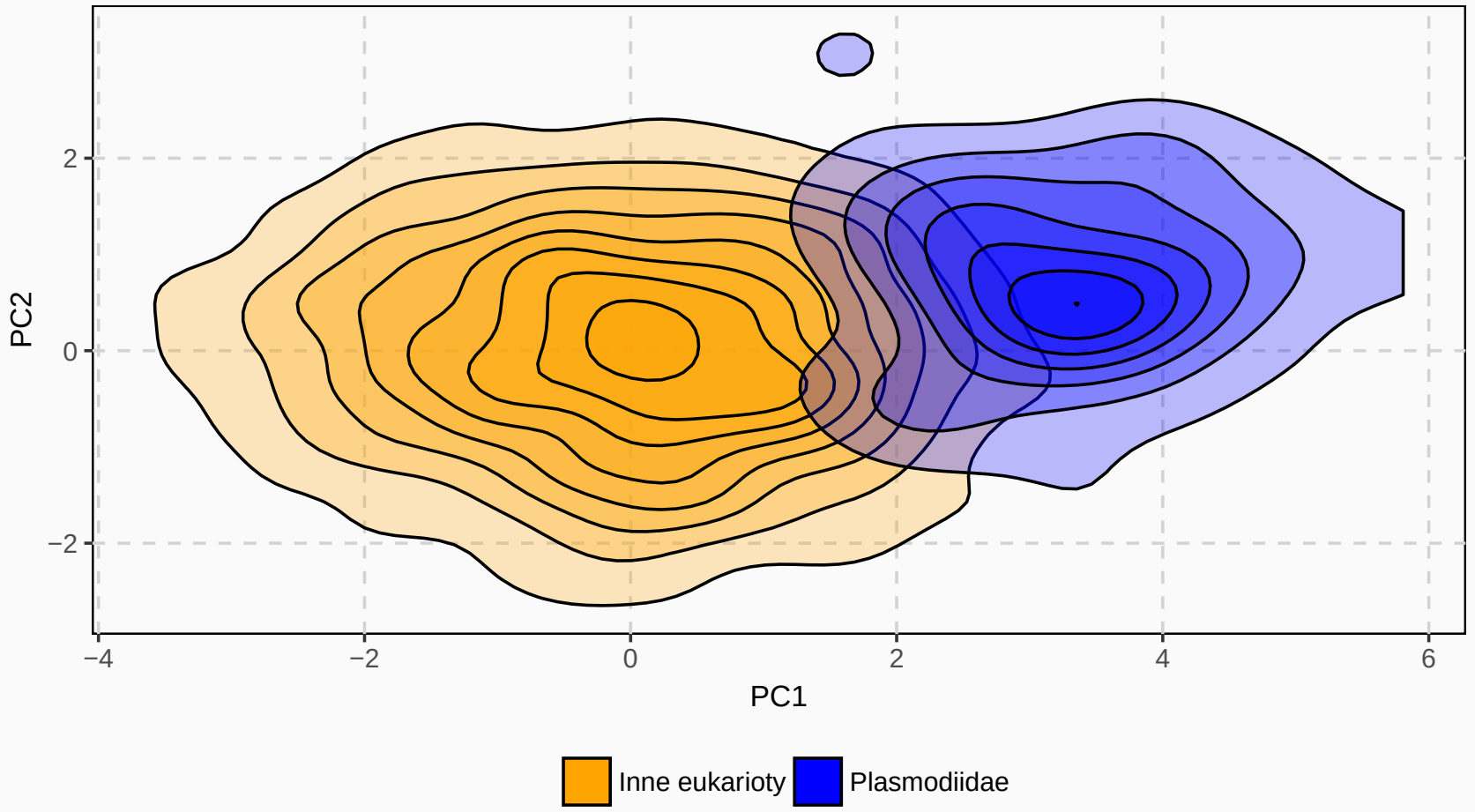
Peptydy sygnałowe



Peptydy sygnałowe:

- krótkie (15-30 aminokwasów) N-końcowe sekwencje,
- wystepują w białkach układu odpornościowego, strukturalnych, enzymach metabolicznych i hormonach,
- składają się z trzech regionów, gdzie preferowane są aminokwasy o określonych właściwościach fizykochemicznych.
- zróżnicowany skład aminokwasowy peptydów sygnałowych utrudnia ich rozpoznawanie.

Peptydy sygnałowe



Peptydy sygnałowe zarodźców malarii mają skład aminokwasowy różny od peptydów sygnałowych innych eukariontów.

n-gramy

n-gramy (k-tuple, k-mery):

- podsekwencje (ciągłe lub z przerwami) o długości n,
- uwzględniają otoczenie danej reszty.

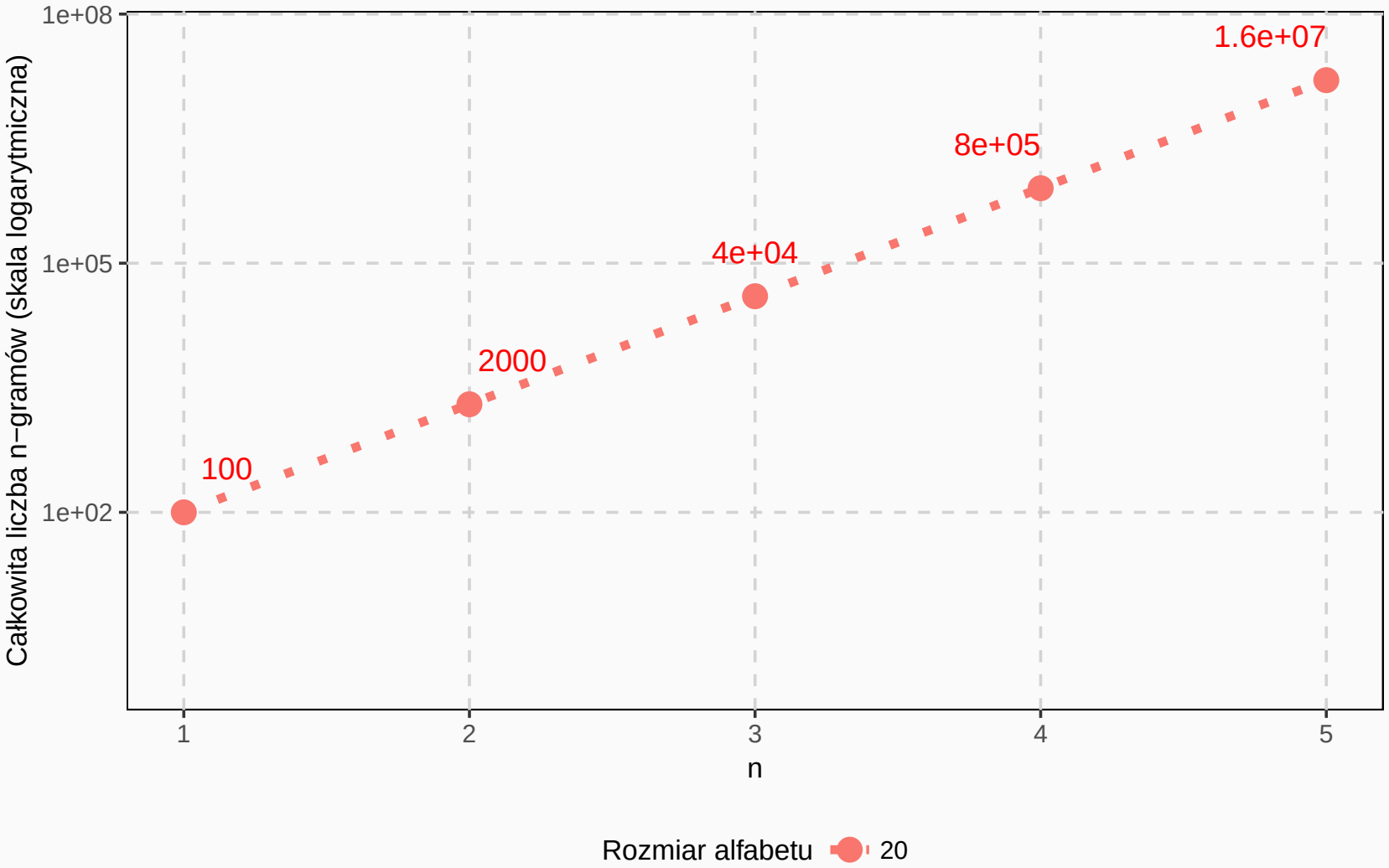
	P1	P2	P3	P4	P5
S1	M	R	K	L	Y

2-gramy: MR, RK, KL, LY

2-gramy (przerwa 1): M – K, R – L, K – Y

3-gramy: MRK, RKL, KLY

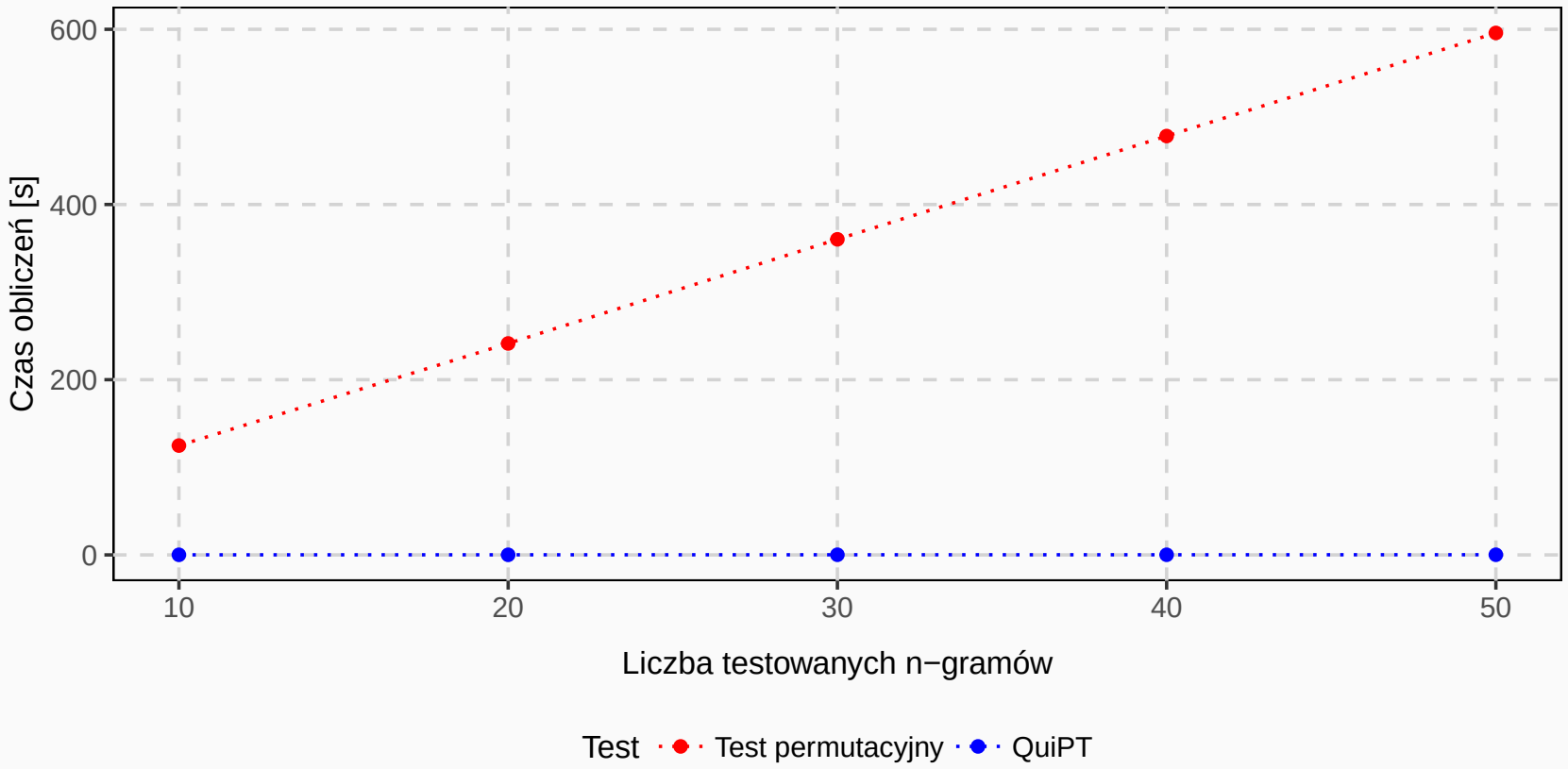
n-gramy



n-gramy tworzą duże i trudne do analizy zbiory danych.

n-gramy

QuiPT (**Qui**ck **P**ermutation **T**est) szybko i efektywnie filtruje informatywne n-gramy.



QuiPT jest szybszy niż klasyczne testy permutacyjne i zwraca dokładniejsze p-wartości.

Uproszczone alfabety

Uproszczone alfabety:

- opierają się na grupowaniu aminokwasów o podobnych właściwościach fizykochemicznych,
- ułatwiają modelowanie i przewidywanie właściwości sekwencji (Murphy et al., 2000),
- tworzą łatwiej interpretowalne modele.

Uproszczone alfabety

Dwie sekwencje zupełnie różne pod względu składu aminokwasowego mogą być identyczne pod względem właściwości reszt.

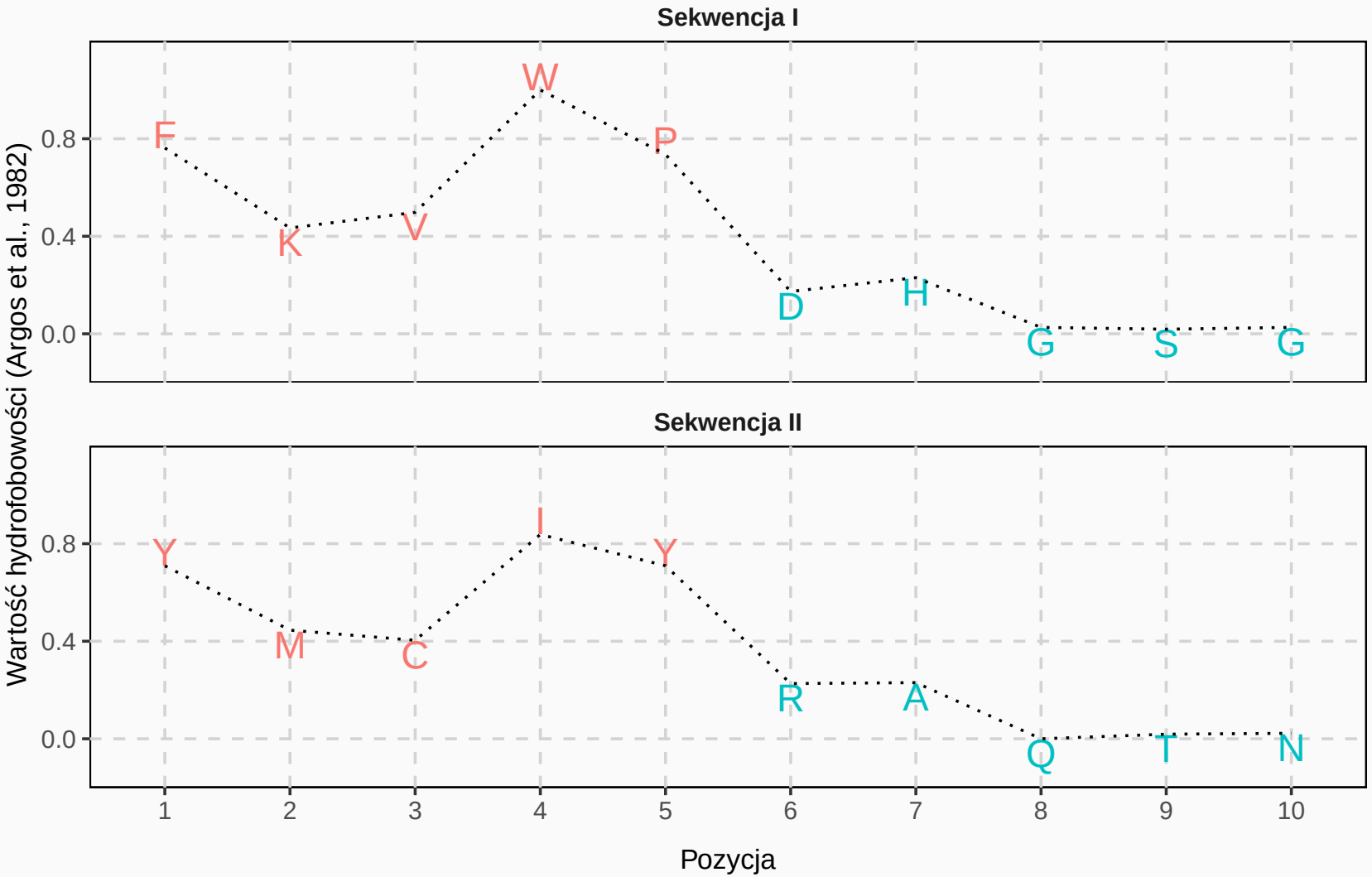
Sekwencja I:

`FKVWPDHGSG`

Sekwencja II:

`YMCIYRAQTN`

Uproszczone alfabety



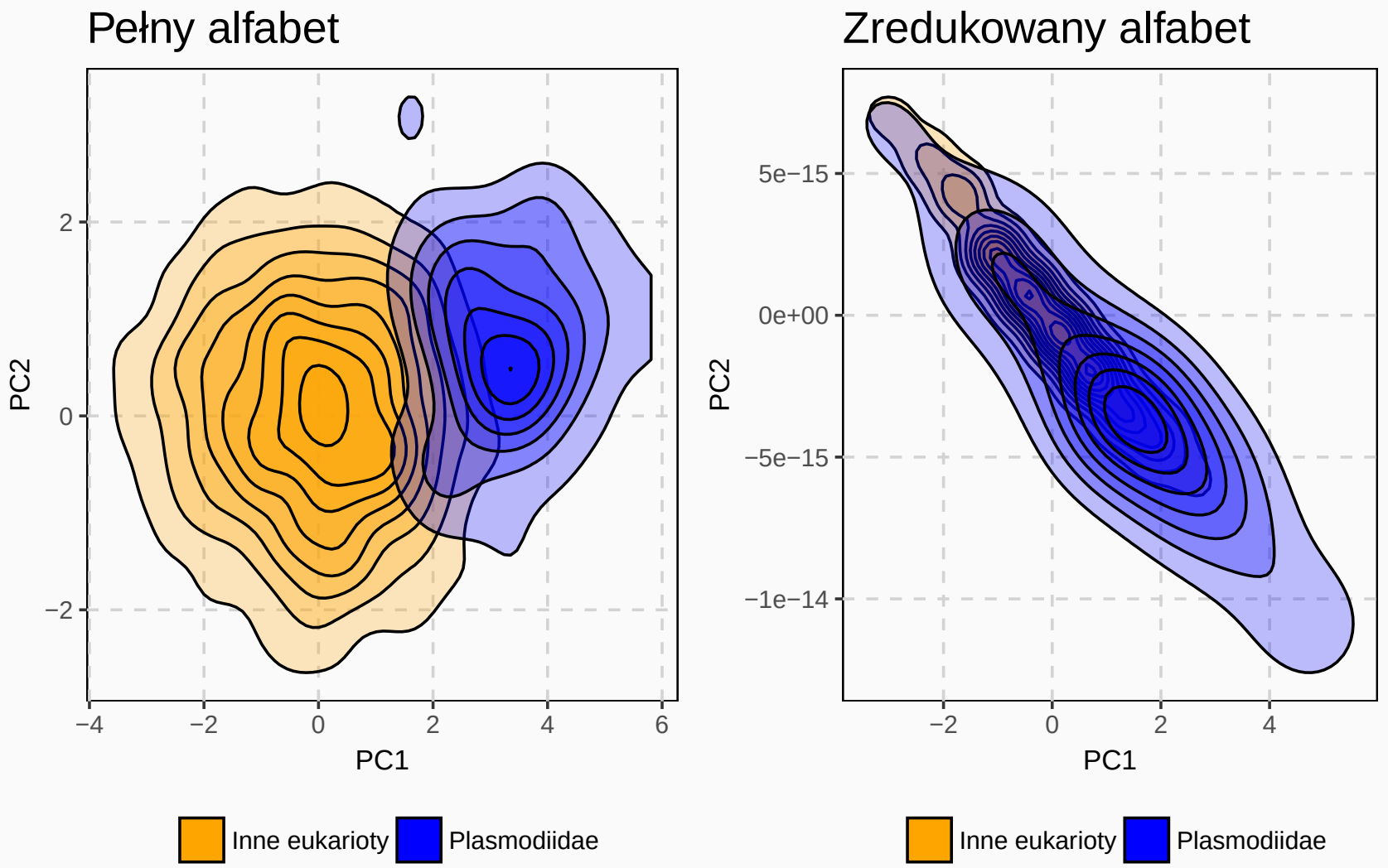
Uproszczone alfabety

Nr podgrupy	Aminokwasy
1	C, I, L, K, M, F, P, W, Y, V
2	A, D, E, G, H, N, Q, R, S, T

Sekwencja I: `FKVWPDHGSG` $\rightarrow$ `1111122222`

Sekwencja II: `YMCIYRAQTN` $\rightarrow$ `1111122222`

Uproszczone alfabety



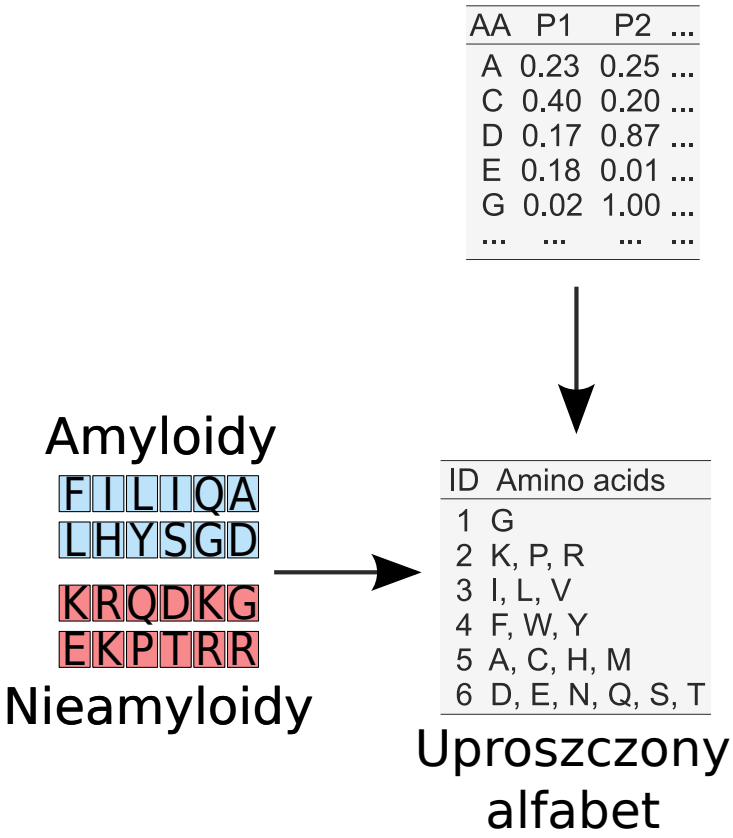
PCA częstości pojedynczych aminokwasów w peptydach sygnałowych innych eukariotów i zaródźców malarii.

AmyloGram

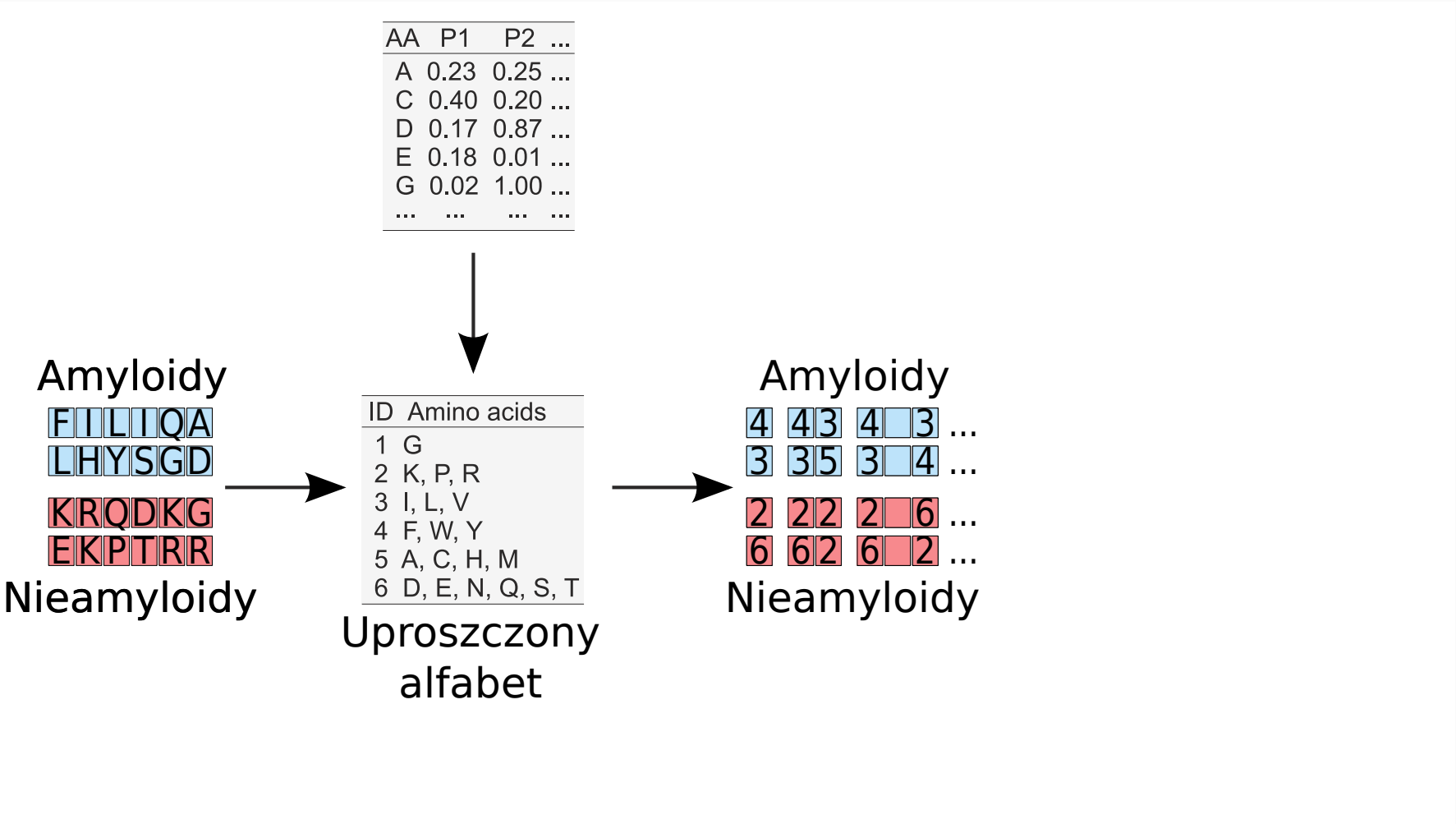
AmyloGram: oparte o redukcję alfabetów i kodowanie n-gramowe narzędzie do predykcji białek amyloidogennych (Burdukiewicz et al., 2016).

AmyloGram

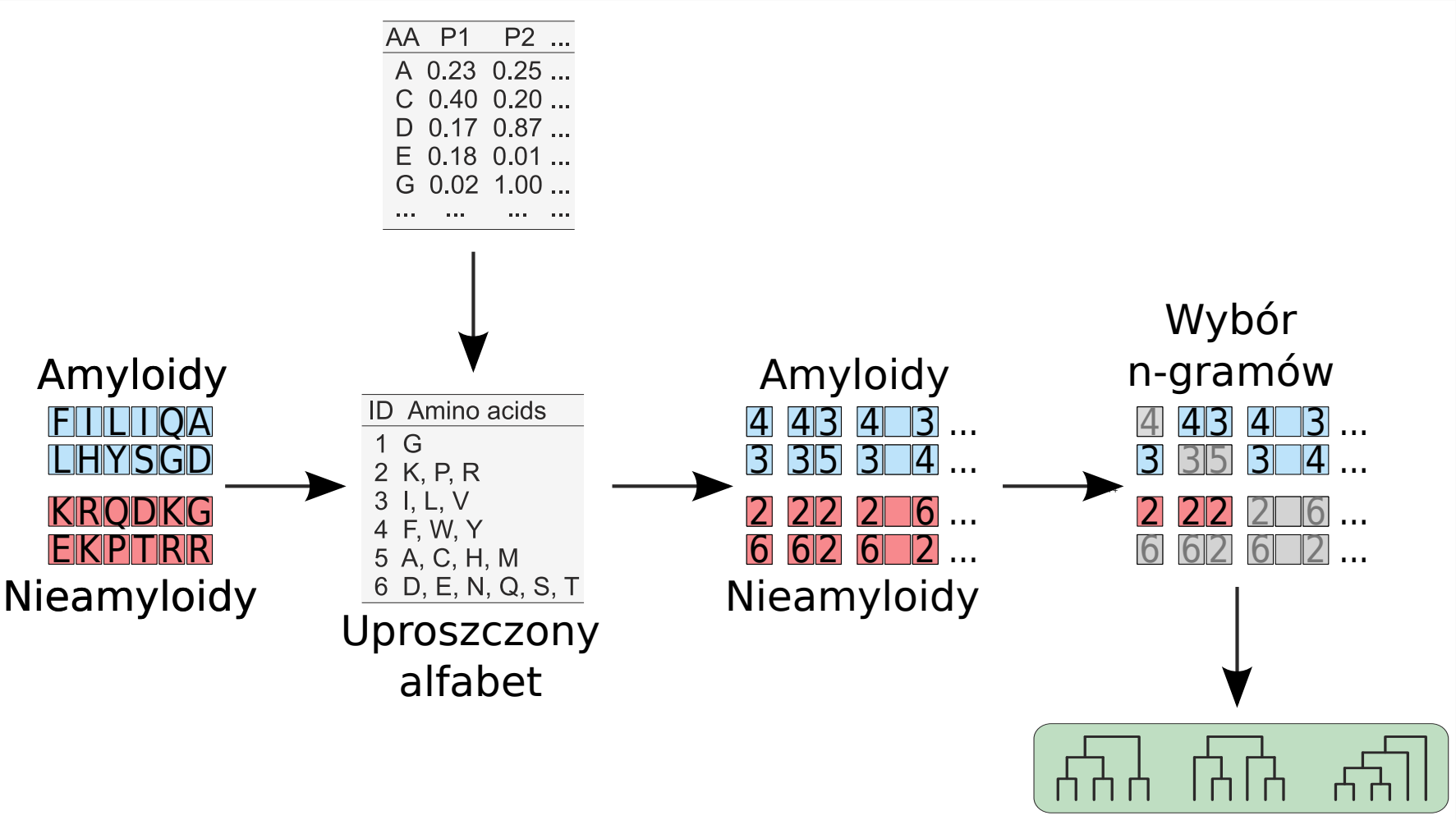
AmyloGram


AA P1 P2 ...
A 0.23 0.25 ...
C 0.40 0.20 ...
D 0.17 0.87 ...
E 0.18 0.01 ...
G 0.02 1.00 ...
... ...
Amyloidy
FILIQA
LHYSGD
KRQDKG
EKPTRR
Nieamyloidy
ID Amino acids
1 G
2 K, P, R
3 I, L, V
4 F, W, Y
5 A, C, H, M
6 D, E, N, Q, S, T
Uproszczony alfabet

AmyloGram


AA P1 P2 ...
A 0.23 0.25 ...
C 0.40 0.20 ...
D 0.17 0.87 ...
E 0.18 0.01 ...
G 0.02 1.00 ...
... ...
Amyloidy
FILIQA
LHYSGD
KRQDKG
EKPTRR
Nieamyloidy
ID Amino acids
1 G
2 K, P, R
3 I, L, V
4 F, W, Y
5 A, C, H, M
6 D, E, N, Q, S, T
Uproszczony alfabet
Amyloidy
4 43 4 3 ...
3 35 3 4 ...
2 22 2 6 ...
6 62 6 2 ...
Nieamyloidy

AmyloGram


AA P1 P2 ...
A 0.23 0.25 ...
C 0.40 0.20 ...
D 0.17 0.87 ...
E 0.18 0.01 ...
G 0.02 1.00 ...
... ...
Amyloidy
FILIQA
LHYSGD
KRQDKG
EKPTRR
Nieamyloidy
ID Amino acids
1 G
2 K, P, R
3 I, L, V
4 F, W, Y
5 A, C, H, M
6 D, E, N, Q, S, T
Uproszczony alfabet
Amyloidy
4 43 4 3 ...
3 35 3 4 ...
2 22 2 6 ...
6 62 6 2 ...
Nieamyloidy
Wybór n-gramów
4 43 4 3 ...
3 35 3 4 ...
2 22 2 6 ...
6 62 6 2 ...

Porównanie z innymi klasyfikatorami

Klasyfikator	AUC	MCC
AmyloGram	**0.8972**	**0.6307**
PASTA 2.0 (Walsh et al., 2014)	0.8550	0.4291
FoldAmyloid (Garbuzynskiy et al., 2010)	0.7351	0.4526
APPNN (Família et al., 2015)	0.8343	0.5823

AUC (Area Under the Curve): miara jakości predykcji (1: idealny dobry klasyfikator, 0: idealnie zły klasyfikator).

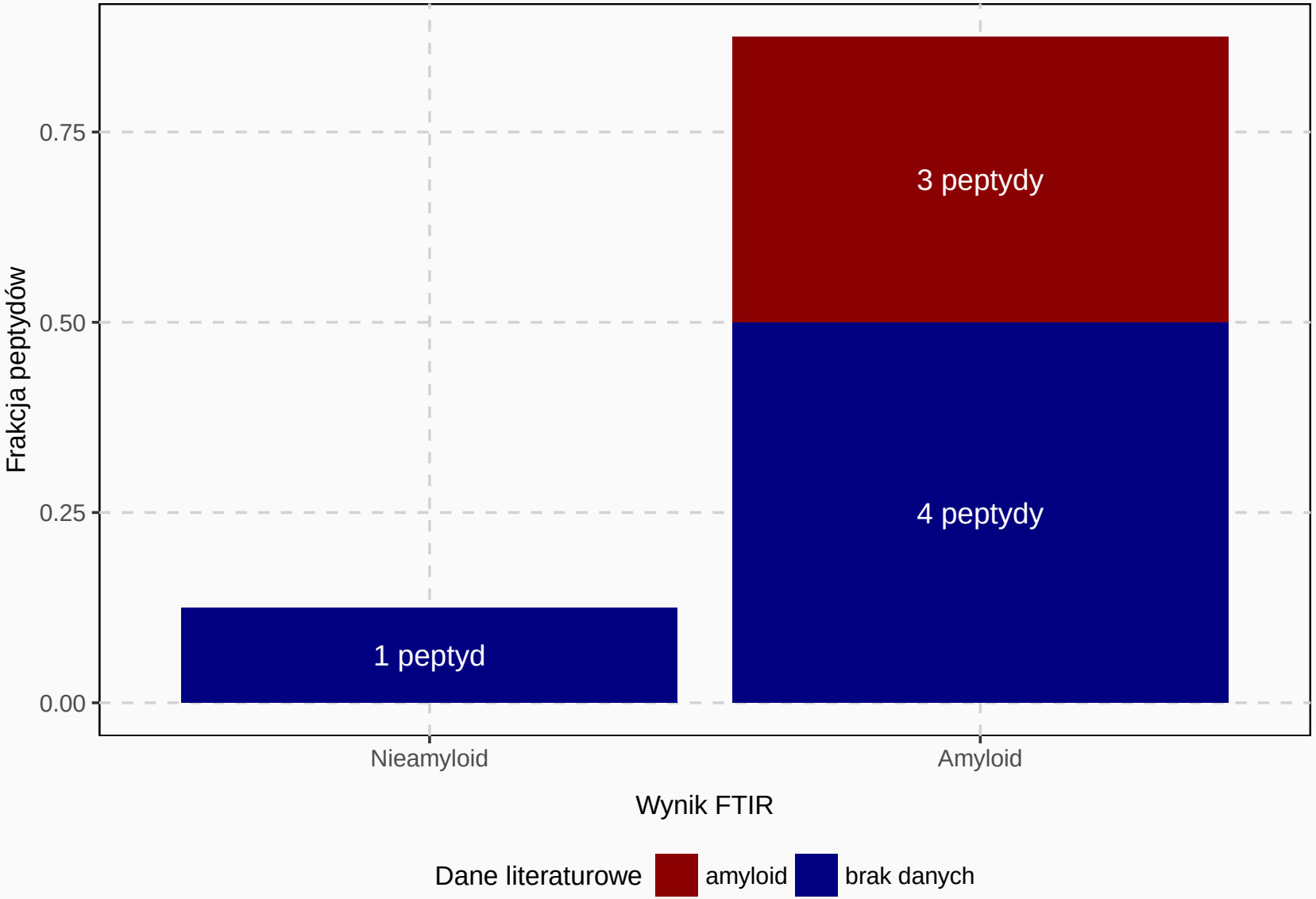
MCC (Matthew's Correlation Coefficient): miara jakości predykcji (1: idealny dobry klasyfikator, -1: idealnie zły klasyfikator).

AmyloGram porównano z innymi klasyfikatorami na zewnętrznym zbiorze danych *pep424*.

Walidacja eksperymentalna

1. Wszystkie nieamyloidowe peptydy z bazy AmyLoad zanalizowano AmyloGramem.
2. Wybrano 8 peptydów z najwyższym prawdopodobieństwem amyloidogenności.
3. Peptydy zbadano przy pomocy spektroskopii fourierowskiej (FTIR).
4. Wyniki potwierdzono esejami z czerwienią Kongo i tioflawiną.

Walidacja eksperymentalna



Podsumowanie

1. Stworzono algorytm efektywnie selekcjonujący informatywne n-gramy reprezentujące sekwencje aminokwasowe.
2. Opracowano metody poszukujące uproszczone alfabety aminokwasowe.
3. Opracowaną metodologię zastosowano do przewidywania białek amyloidogennych tworząc pakiet **R** i web server AmyloGram (`http://www.smorfland.uni.wroc.pl/shiny/AmyloGram/`).

Perspektywy

1. Zastosowanie opracowanej metodologii do przewidywania lokalizacji subkomórkowej białek.
2. Upublicznienie rozwijanych metod w postaci pakietu *biogram* w środowisku programistycznym i statystycznym **R**.

Literatura

Burdukiewicz, M., Sobczyk, P., Rödiger, S., Duda-Madej, A., Mackiewicz, P., and Kotulska, M. (2016). Prediction of amyloidogenicity based on the n-gram analysis. Technical Report e2390v1, PeerJ Preprints.

Família, C., Dennison, S. R., Quintas, A., and Phoenix, D. A. (2015). Prediction of Peptide and Protein Propensity for Amyloid Formation. *PLOS ONE*, 10(8):e0134679.

References II

Garbuzynskiy, S. O., Lobanov, M. Y., and Galzitskaya, O. V. (2010). FoldAmyloid: a method of prediction of amyloidogenic regions from protein sequence. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 26(3):326–332.

Murphy, L. R., Wallqvist, A., and Levy, R. M. (2000). Simplified amino acid alphabets for protein fold recognition and implications for folding. *Protein Engineering*, 13(3):149–152.

Sawaya, M. R., Sambashivan, S., Nelson, R., Ivanova, M. I., Sievers, S. A., Apostol, M. I., Thompson, M. J., Balbirnie, M., Wiltzius, J. J. W., McFarlane, H. T., Madsen, A. , Riekel, C., and Eisenberg, D. (2007). Atomic structures of amyloid cross-spines reveal varied steric zippers. *Nature*, 447(7143):453–457.

References III

Walsh, I., Seno, F., Tosatto, S. C. E., and Trovato, A. (2014). PASTA 2.0: an improved server for protein aggregation prediction. *Nucleic Acids Research*, 42(W1):W301–W307.