Technische Hochschule Bingen
Fachbereich 2 – Technik, Informatik und Wirtschaft
Angewandte Bioinformatik (B. Sc.)

Proteinerkennung auf Basis physikalischer Eigenschaften mittels Fourier-Transformation

Bachelorarbeit
abgegeben am: 26.08.2024
von: Franz-Eric Sill

Betreuer: Prof. Dr. Asis Hallab

Zusammenfassung

...

Abstract

...

Literatur

[Con20] The UniProt Consortium. "UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021". In: *Nucleic Acids Research* 49.D1 (Nov. 2020), S. D480–D489. ISSN: 0305-1048. DOI: 10.1093/nar/gkaa1100. eprint: https://academic.oup.com/nar/article-pdf/49/D1/D480/35364103/gkaa1100.pdf. URL: https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1100.

[Doo81] Russell F Doolittle. "Similar amino acid sequences: chance or common ancestry?" In: *Science* 214.4517 (1981), S. 149–159.

[Jum+21] John Jumper u. a. "Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold". In: *Nature* 596.7873 (Aug. 2021), S. 583–589. ISSN: 1476-4687. DOI: 10.1038/s41586-021-03819-2. URL: https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2.

[Kid+85] Akinori Kidera u. a. "Statistical analysis of the physical properties of the 20 naturally occurring amino acids". In: *Journal of Protein Chemistry* 4.1 (Feb. 1985), S. 23–55. ISSN: 1573-4943. DOI: 10.1007/BF01025492. URL: https://doi.org/10.1007/BF01025492.

[LOH+14] MARC LOHSE u. a. "Mercator: a fast and simple web server for genome scale functional annotation of plant sequence data". In: *Plant, Cell & Environment* 37.5 (2014), S. 1250–1258. DOI: https://doi.org/10.1111/pce.12231. eprint: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/pce.12231. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pce.12231.

[ORT15] Daniel Osorio, Paola Rondón-Villarreal und Rodrigo Torres. "Peptides: A Package for Data Mining of Antimicrobial Peptides". In: *The R Journal* 7 (1 2015). https://rjournal.github.io/, S. 4–14. ISSN: 2073-4859.

[Pea13] William R. Pearson. "An Introduction to Sequence Similarity ("Homology") Searching". In: *Current Protocols in Bioinformatics* 42 (2013), S. 3.1.1–3.1.8. DOI: https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0301s42. eprint: https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/0471250953.bi0301s42. URL: https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0471250953.bi0301s42.

[Sch+19] Rainer Schwacke u. a. "MapMan4: A Refined Protein Classification and Annotation Framework Applicable to Multi-Omics Data Analysis". In: *Molecular Plant* 12.6 (2019). Plant Systems Biology, S. 879–892. ISSN: 1674-2052. DOI: https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.01.003. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1674205219300085.

[Str21] Michael Strauss. "How Shazam Works - An explanation in Python". In: (Jan. 2021). Zugriff: 17.08.2024. URL: https://michaelstrauss.dev/shazam-in-python.

[Suz+14] Baris E. Suzek u. a. “UniRef clusters: a comprehensive and scalable alternative for improving sequence similarity searches”. In: *Bioinformatics* 31.6 (Nov. 2014), S. 926–932. ISSN: 1367-4803. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu739. eprint: https://academic.oup.com/bioinformatics/article-pdf/31/6/926/49011550/bioinformatics_31_6_926.pdf. URL: https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu739.

[Var+23] Mihaly Varadi u. a. “AlphaFold Protein Structure Database in 2024: providing structure coverage for over 214 million protein sequences”. In: *Nucleic Acids Research* 52.D1 (Nov. 2023), S. D368–D375. ISSN: 0305-1048. DOI: 10.1093/nar/gkad1011. eprint: https://academic.oup.com/nar/article-pdf/52/D1/D368/55039845/gkad1011.pdf. URL: https://doi.org/10.1093/nar/gkad1011.

[Vir+20] Pauli Virtanen u. a. “SciPy 1.0: Fundamental Algorithms for Scientific Computing in Python”. In: *Nature Methods* 17 (2020), S. 261–272. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2.

[Wan03] Avery Wang. “An Industrial Strength Audio Search Algorithm.” In: Jan. 2003.

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

ASCII "American Standard Code for Information Interchange" 19
CM Constellation-Map 11
CSV Comma Separated Values 13
Exp. Experiment 18
FG Fenstergröße 20
JSI Jaccard Similarity Index 15
KF Kidera-Faktor 1
MB Megabyte
STFT Short Time Fourier Transformation 2
TP Trainings-Protein 13
TZ Target-Zone 18

Algorithmenverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung

Die Methoden des Next Generation Sequencing ermöglichen sehr effizient das schnelle und kostengünstige Entschlüsseln von ganzen Genomen und folglich ihren Proteomen. Um aus Sequenzen des Proteoms die Funktionen der Proteine abzuleiten, werden in der Bioinformatik seit jeher mittels paarweisen Alignments deren Sequenzen verglichen, mit dem Hintergrund, dass ähnliche Sequenzen auf eine ähnliche Funktion der verglichenen Proteine hindeuten. In der Regel wird dafür BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) verwendet, welches mit einer Datenbank sehr zuverlässig in Sequenzen Homologien identifiziert, welche auf Verwandtschaft und in Proteinsequenzen auf funktionelle Ähnlichkeit hindeuten. Allerdings besteht bei zunehmender evolutionärer Distanz eine wachsende Schwierigkeit, solche Homologien von zufälliger Ähnlichkeit zu unterscheiden, da der potentielle Vorfahr zeitlich so weit entfernt ist, dass er ebenso ein Vorfahr eines komplett anderen Proteins sein könnte. So kann es dann sein, dass BLAST mit einer kleinen Datenbank für eine Suchsequenz Homologien findet, die bei einer größeren Datenbank schon nicht mehr als signifikant gewertet werden [vgl. Pea13].

Schon 1981 hat Doolittle sich mit diesem Problem beschäftigt und verschiedene Ansätze angesprochen, welche die Entscheidung über Signifikanz verbessern würden. So könnten zum Beispiel Multiple Sequenzalignments verwendet werden, also Alignments, bei denen noch zusätzliche Sequenzen herangezogen werden, um Sicherheit über gefundene Homologien in stark konservierten Regionen zu geben. Das würde die Weite evolutionärer Distanz erhöhen, um Verwandtschaft vorherzusagen. Ebenso erwähnt sie die dreidimensionale Struktur der Proteine, die auch weitere Möglichkeiten der Analyse erlauben würde [Doo81]. Allerdings war die Vorhersage dieser Struktur damals sehr unzuverlässig und selbst heute in 2024 mit Verfahren der Künstlicher Intelligenz noch sehr neu und in weiterer Entwicklung, aber mit hohem Zukunftspotential [Jum+21][Var+23].

In dieser Bachelorarbeit soll zwar nicht die vorhergesagte dreidimensionale Struktur der Proteine zur Erkennung funktionaler Ähnlichkeit verwendet werden, dafür aber ein Algorithmus entwickelt werden, der sich dennoch von den üblichen Sequenzalignments unterscheidet und Information über die physikalischen Eigenschaften der Proteine einbezieht. Der Algorithmus dazu wird in dem Projekt prot-fin entwickelt.

Eine Grundlage hierfür bildet die Arbeit von Kidera u. a., welcher in seiner Forschungsgruppe mittels statistischer Faktorenanalyse 188 physikalische Eigenschaften der 20 natürlich vorkommenden Aminosäuren auf lediglich 10 sogenannte Kidera-Faktoren (KFs) reduziert hat, die zusammen all diese Eigenschaften am besten erklären [vgl. Kid+85]. So ist beispielsweise die Hydrophobizität ein ebensolcher Faktor, da diese mit vielen anderen Eigenschaften stark in Korrelation steht. Vorteil der Reduktion auf 10 KF ist, dass in den Analysen der physikalischen Eigenschaften nicht alle 188 verschiedene Eigenschaften separat betrachtet werden müssen, sondern dies durch die Korrelation schon indirekt erfolgt, was die Effizienz der Auswertung immens erhöht.

Der Einfluss eines jeden KF in einer Aminosäure lässt sich numerisch darstellen, sodass eine Aminosäuresequenz in 10 Vektoren übersetzt werden kann, welche dadurch ein

statistisch auswertbares Abbild der physikalischen Struktur des Proteins erzeugen.

Der Algorithmus für die Analyse dieser Struktur ist von SHAZAM inspiriert, einer Anwendung, die Musiktitel anhand kürzester Tonaufnahmen identifiziert, selbst wenn diese Störgeräusche aufweisen. Basis hierfür stellt die schnelle Short Time Fourier Transformation (STFT) dar, welche in dem musikalischen Spektrum intervall-/fensterweise periodisch auftretende Signale analysiert, wodurch auch die Störgeräusche eine geringe Relevanz haben.

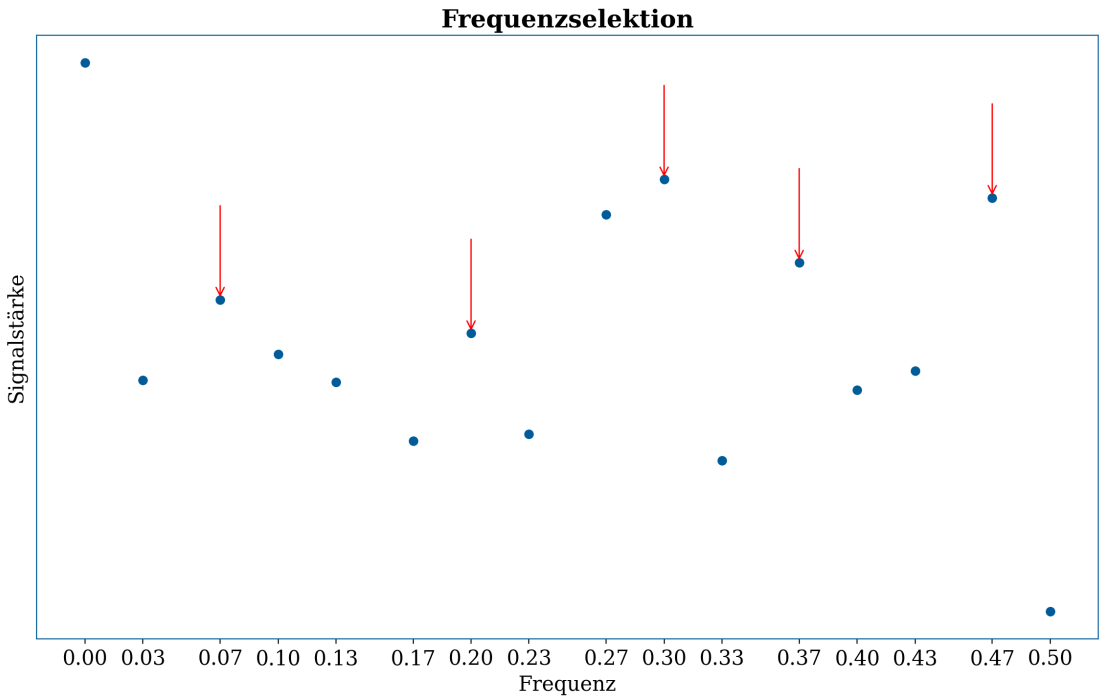


Abbildung 1: Spektralanalyse eines Fensters der STFT: Auf der x-Achse sind die Frequenzen und auf der y-Achse deren Signalstärke dargestellt. Die Pfeile markieren die lokalen Maxima als signifikant, sodass deren Frequenzen in die Datenbank einfließen. Das Reziproke einer Frequenz bedeutet, jedes wievielte Element sich wiederholt.

In Abbildung 1 (Seite 2) wird dieser Sachverhalt für ein Fenster der STFT dargestellt, also das transformierte Intervall eines numerischen Vektors. Es werden die Signalstärken für alle möglichen Frequenzen ermittelt, wobei das Reziproke einer Frequenz hier entspricht, jedes wievielte Element betrachtet wird. Bei Frequenz 0.5 wäre es also jedes $\frac{1}{0.5} = 2$te Element, hier offenbar sehr schwach ausgeprägt.

Damit die Musikerkennung funktioniert, wird vorher eine Datenbank erstellt, welche die Periodizitäten, also die auffälligen Frequenzen, mit denen sich Elemente der Aufnahme wiederholen, der Eingabesongs mittels Hashing effizient auffindbar abspeichert, sodass der Abgleich mit einer Tonaufnahme sehr schnell und korrekt abläuft [vgl. Wan03]. Zu-

dem werden hierfür aus den STFT-Ergebnissen auch nicht alle Frequenzen verwendet, sondern nur möglichst signifikante davon. Bisher wurde das mittels der lokalen Maxima der Amplituden erreicht.

Für die Anwendung auf Proteine werden statt des musikalischen Spektrums die numerischen Vektoren der Aminosäuresequenzen verwendet. Nun gibt es in prot-fin zwei verschiedene Anwendungsansätze:

1. **Single-Protein:** Als Eingabe erfolgt eine einzelne Aminosäuresequenz, für die das best passende Protein gesucht wird. Je mehr Übereinstimmung herrscht, desto funktionsähnlicher sollte es sein.
2. **Family-Matching:** Als Eingabe erfolgt eine Proteinfamilie. Die Periodizitäten, in denen sich alle Mitglieder dieser Familie ähneln, die also spezifisch für die Familie sind, werden verwendet, um Proteine zu finden, die auch in die Familie passen.

Um den Algorithmus, der von einer SHAZAM-Implementierung in Python ausgeht [Str21], für beide Ansätze auf die vergleichsweise kurzen Sequenzen von wenigen 100 Elementen abzustimmen (ein solcher Vektor für eine Sekunde Musik hätte etwa 40.000 Elemente), wurde in vorangegangenen Experimenten versucht, die Fenstergröße und die Überlappung zwischen diesen Fenstern bei der STFT zu optimieren, beziehungsweise auch die Anzahl gewählter Frequenzen, deren Amplituden auf Periodizität hindeuten. Hierbei zeigte sich bisher allerdings eine schlechte Performanz hinsichtlich Speicher- und Laufzeitkomplexität. Die Ergebnisse dazu sind in der Abbildung 2 (Seite 4) dargestellt. Die Wahl der Frequenzen der STFT Fenster und deren Abspeicherung müssen folglich noch verbessert werden.

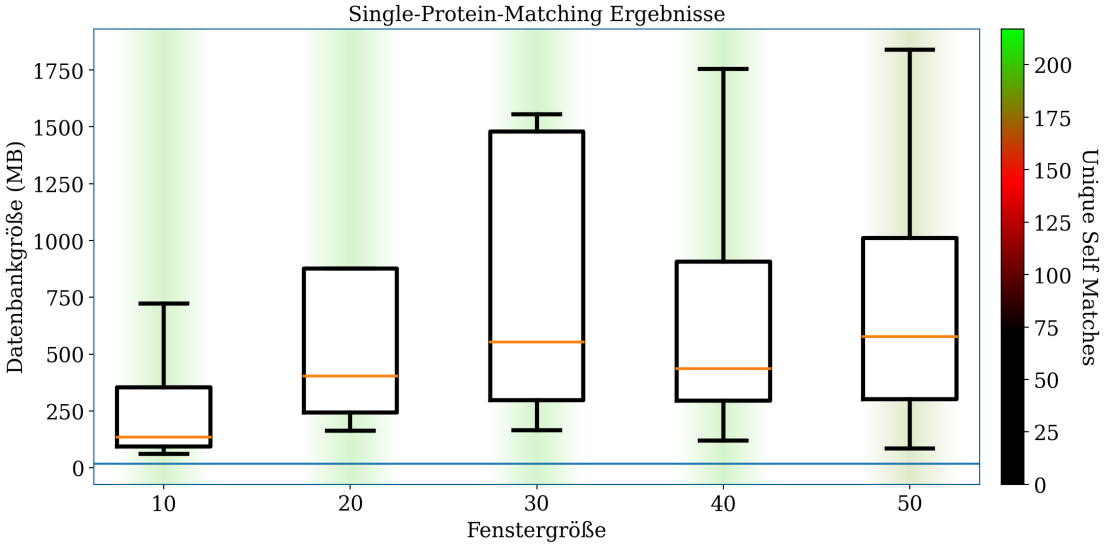


Abbildung 2: Bisherige Ergebnisse von prot-fin: Überblick der Ergebnisse für die Hydrophobizität mit Verwendung verschiedener Parameter, die die STFT betreffen (siehe Unterabschnitt 3.6 (Seite **??**)). Die Farbe stellt dar, wie viele Eingabeproteine eindeutig identifiziert wurden, die blaue Linie die Größe der Eingabedaten. Die Boxen bilden die Verteilung der Datenbankgrößen über die verschiedenen Parameterkonfigurationen ab und sind entlang der x-Achse nach der Größe eines STFT-Fensters gruppiert. Der Family-Matching Ansatz hat keine Vorergebnisse, da er erst in dieser Arbeit entwickelt wurde.

Hierzu wurden in dieser Arbeit mehrere Experimente angegangen.

1. **UniRef90-Sampling:** In vergangenen Experimenten hat sich gezeigt, dass die Selektion der Frequenzen mittels lokaler Maxima (Abbildung 1 (Seite 2)) suboptimal ist, weil es gelegentlich dazu kam, dass bei den kurzen Sequenzen in einem Fenster keine Maxima vorkamen. Es wurde auch versucht, für eine höhere Spezifität die Amplituden mit einzubeziehen, statt nur der Frequenzen selbst, was aber die Datenbankgröße stark erhöhte. Das UniRef90 Experiment soll beides vereinigen. Es sollen möglichst wenige aber sehr spezifische Frequenzen in einem Fenster ausgewählt werden, damit die Datenbank schlank bleibt. In diesem Experiment werden solche Fenster aus der UniRef90 Datenbank gesampelt. Sie enthält etwa 180 Mio. Aminosäuresequenzen, sodass aus jeder ein zufälliges Fenster gewählt wird. Die je Frequenz seltensten Amplituden sollen nun als Schwellwert das Wahlkriterium für eine Frequenz sein, was zu möglicherweise weniger selektierten Frequenzen mit dennoch guter Signifikanz führt.
2. **Filter Hashes:** Ein weiterer Ansatz die Datenbankgröße zu verringern ist das Entfernen von Hashes, die sehr häufig auftreten, also folglich wenig Informationsgehalt für die Identifikation eines Proteins haben. In diesem Experiment wird daher

geprüft, wie streng das erfolgen darf, um nicht zu viel Daten zu verlieren, sodass das Matching dadurch beeinträchtigt würde.

3. **Target-Zone:** Die effiziente Abspeicherung mittels Hashing basiert darauf, die Frequenzen eines Fensters mit den Frequenzen der Nachfolgefenster zu kombinieren. Die Target-Zone bezeichnet dabei die Anzahl betrachteter Nachfolger und ist aktuell unbeschränkt. Folglich wird hier eine Größe ermittelt, die einen guten Kompromiss zwischen der Anzahl an Kombinationen und der Genauigkeit des Matchings bildet.
4. **Selection-Method:** Das letzte durchgeführte Experiment dieser Arbeit dient der Ermittlung einer Methode für die Frequenzselektion, die vom UniRef90-Sampling profitiert, aber die Auswahl zusätzlich reduziert. Dafür wird vor Betrachtung der Schwellwerte eine Vorselektion durchgeführt, einmal anhand der lokalen Maxima der Amplituden, dann anhand der stärksten Abweichungen der Amplituden von ihren Schwellwerten und natürlich ohne Vorselektion als Nullprobe, die nur das Sampling einbezieht.

Als Trainingsdaten wird eine Referenz-Datenbank von Pflanzen-Proteinen verwendet, die in Gruppen derselben Funktion eingeordnet sind. Diese Zuordnung wurde manuell von Experten durchgeführt in sogenannte MapMan-Bins, was heißt:
Derselbe Bin $\rightarrow$ dieselbe Funktion [Sch+19][LOH+14].

2 Material

2.1 Trainings-Proteine

Für die Entwicklung von prot-fin wurden 41669 MapMan-Referenz-Pflanzenproteine verwendet (`protein.fa` im Anhang (Seite 33)), die dem Trainieren von Bin-spezifischen Hidden Markov Models von MapMan4 dienten [Sch+19]. MapMan ist eine für Pflanzen entwickelte Methode, um deren Proteinsequenzen in diesen Bins nach Funktion zu klassifizieren, siehe `mapman.tsv` im Anhang (Seite 33). Dies erfolgt in einer Baumstruktur, wobei die Wurzelknoten sowie die Knoten je Ebene eines Baums von 1 aufsteigend nummeriert sind. Die Wurzelknoten sind grobe Beschreibungen der Funktion, wie zum Beispiel der Photosynthese. Je mehr der Baum in die Tiefe geht, desto präziser wird die Beschreibung, bis an den Blättern die Proteine mit ihrer Annotation stehen [Sch+19][Sch+19]. Ein Bin setzt sich aus der Konkatenation seiner Knoten mittels Punkt als Separator zusammen. So ist in `mapman.tsv` im Anhang (Seite 33) zum Beispiel der Bin 1.1.1, wobei die linke Ziffer für die Wurzel Photosynthese steht, die mittlere Ziffer für die Photophosphorylation und die dritte für das betreffende Photosystem 2. Aufgrund dieser Klassifizierung nach Funktion werden die Bins der Proteine in prot-fin als Familien betrachtet und gehen daher in die Bewertung der Identifikation von Funktionsgleichheit ein.

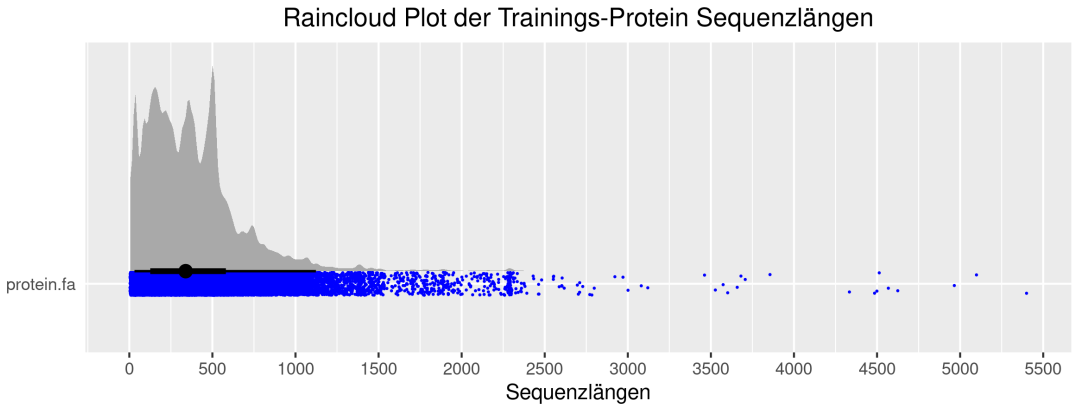


Abbildung 3: Die graue "Wolke" des Raincloud Plots stellt die Dichteverteilung der Sequenzlängen über die 41669 MapMan-Referenz-Proteine (Trainings-Protein) dar, die blauen Punkte darunter, welche Werte tatsächlich angenommen wurden, und dazwischen ist ein Boxplot, der Aufschluss über den Median (schwarzer Kreis) und die anderen Quartile bietet. Die mediale Länge liegt bei etwa 300 Aminosäuren.

2.2 UniRef90

In der UniRef90-Datenbank sind Sequenzen aus der UniProtKB [Con20] mit 90% Sequenzübereinstimmung in sogenannten UniRef-Einträgen gruppiert, welche verschiedens-

te Informationen über die Gruppe bieten. Zudem ist jedem Eintrag die Proteinsequenz zugeordnet, die die Gruppe am besten repräsentiert [Suz+14]. UniRef-Datenbanken werden regelmäßig erneuert. Für die Experimente in prot-fin mit der UniRef90-Datenbank wird der Release 2024_02 (27.03.2024) verwendet:

https://ftp.uniprot.org/pub/databases/uniprot/previous_releases/release-2024_02/

Die entpackte FASTA-Datei ist etwa 82 Gigabyte groß und enthält 187.136.236 Proteinsequenzen. Sie befindet sich zum Zeitpunkt der Abgabe dieser Arbeit auf dem Compute Cluster der Hochschule an folgendem Pfad:

`/media/BioNAS/UniProtKB/20240408/uniref90.fasta`

3 Methoden

Jeglicher Code, ob für die konkrete Implementierung der Algorithmen oder der durchgeführten Experimente, wurde mit versioniert und ist auf GitHub verfügbar. Die genauen Verweise, was wo hinterlegt ist, sind in `README.txt` im Anhang (Seite 33) zu finden.

3.1 Grundalgorithmus

Algorithmus 1 Übersetzen einer Aminosäuresequenz in einen numerischen Vektor

Eingabe sind eine Aminosäuresequenz und die Nummer eines Kidera-Faktors, beginnend mit 0. Dann wird die Sequenz zeichenweise in einen Vektor übersetzt, wobei erst der Wert des KF abgerufen wird und dieser dann auf einen positiven Wert normalisiert wird.

Vorbedingung $sequence \in \{\text{A-Z}, \text{'}\Psi\text{'}, \text{'}\Omega\text{'}, \text{'}\Phi\text{'}, \text{'}\zeta\text{'}, \text{'}\Pi\text{'}, \text{'}+\text{'}, \text{'}-\text{'}\}^*$
$0 \leq kf \leq 9$

Nachbedingung $|aa\_vector| = |sequence| \triangleright aa = Aminosäure$
$v \geq 0 \; \forall \; v \in aa\_vector$

```
1: aa_vector ← array()
2: for each aa in sequence do
3:     kf_value ← get_kf_value(aa, kf)                ▷ kf = Kidera Faktor
4:     min_kf_value ← get_min_kf_value()
5:     aa_vector.append(kf_value + abs(min_kf_value))
6: end for
```

Voraussetzung für den Algorithmus ist ein numerischer Vektor, so wie es die digitale Tonspur bei SHAZAM darstellt. Um dies im Kontext von Proteinen zu erreichen, wird in prot-fin auf sogenannte Kidera-Faktoren zurückgegriffen. Diese Faktoren stammen aus einem Forschungsprojekt von Kidera u. a., welches 1985 publiziert wurde [Kid+85]. Inhalt des Projekts war die statistische Faktorenanalyse von 188 physikalischen Eigenschaften der 20 natürlichen Aminosäuren zur Ermittlung von 10 dieser Eigenschaften, durch die die anderen aufgrund hoher Korrelation erklärt werden können. Dadurch, dass die weni-

gen KF all die Eigenschaften repräsentieren, können diese effizient gleichzeitig analysiert werden. In Tabelle 1 (Seite 8) sind die KF dargestellt.

Tabelle 1: Kidera-Faktoren
Jeder Kidera-Faktor hat eine eigene Zeile mit seiner beschreibenden Bezeichnung in der linken Spalte, danach folgen die Werte je Aminosäure. Die vollständige Tabelle ist in `Amino_Acid_Kidera_Factors.csv` im Anhang (Seite 33) zu finden und stammt aus dem R-Paket "Peptides" [ORT15].

Beschreibung	**A**	**C**	**D**	**E**	**F**	**G**	**...**
Helix/bend preference	-1.56	0.12	0.58	-1.45	-0.21	1.46	...
Side-chain size	-1.67	-0.89	-0.22	0.19	0.98	-1.96	...
Extended structure preference	-0.97	0.45	-1.58	-1.61	-0.36	-0.23	...
Hydrophobicity	-0.27	-1.05	0.81	1.17	-1.43	-0.16	...
Double-bend preference	-0.93	-0.71	-0.92	-1.31	0.22	0.1	...
Partial specific volume	-0.78	2.41	0.15	0.4	-0.81	-0.11	...
Flat extended preference	-0.2	1.52	-1.52	0.04	0.67	1.32	...
Occurrence in alpha region	-0.08	-0.69	0.47	0.38	1.1	2.36	...
pK-C	0.21	1.13	0.76	-0.35	1.71	-1.66	...
Surrounding hydrophobicity	-0.48	1.1	0.7	-0.12	-0.44	0.46	...

Folglich kann eine Aminosäuresequenz pro KF in einen numerischen Vektor übersetzt werden, wobei ein höherer absoluter Wert für mehr Relevanz des KF steht.

Um für die Fourier Transformation nur positive Werte zu verwenden, wird der Vektor anschließend dahingehend normalisiert, dass das absolute Minimum aller Werte aus Tabelle 1 (Seite 8) aufaddiert wird. Das absolute Minimum ist 2.33, sodass die Übersetzung der Beispielsequenz `EVKEFDGQGCFC` für die Hydrophobizität folgendermaßen geschehe:

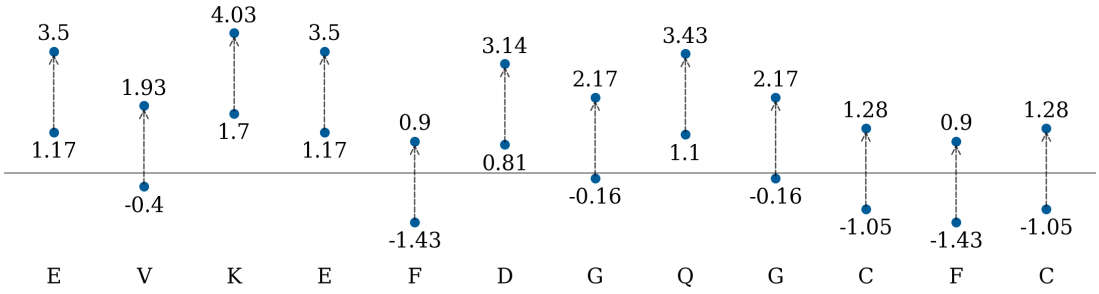


Abbildung 4: Beispielsequenz als numerische Repräsentation: Je Aminosäure auf der x-Achse entspricht der untere Punkt ihrem Wert für "Hydrophobicity" aus Tabelle 1 (Seite 8). Der Pfeil symbolisiert die Normalisierung dieses Wertes durch das Inkrement von 2.33. Die horizontale Linie ist die Nulllinie.

Algorithmus 2 Sammeln von Strukturdaten

Eingabe ist der Vektor aus Algorithmus 1 (Seite 7). Dieser wird mittels STFT fensterweise transformiert und anschließend je Fenster die Frequenzen ausgewählt, deren Amplituden ein lokales Maximum bilden, und zur Constellation-Map hinzugefügt.

Vorbedingung *aa_vector* aus Algorithmus 1 (Seite 7) ▷ *aa* = *Aminosäure*
Nachbedingung *constellation_map* is an Array of Arrays of Floats

```
constellation_map ← array()
stft_result ← stft_transform(aa_vector)
for each window in stft_result do
    selected_frequencies ← select_maxima(window)
    constellation_map.append(selected_frequencies)
end for
```

Der erhaltene Vektor aus Algorithmus 1 (Seite 7) wird strukturell analysiert. Das dafür genutzte Vorgehen basiert auf der STFT, welche den Vektor fensterweise auf periodische Signale untersucht, wie z.B. dem wiederholten Auftreten von hydrophoben Aminosäuren im gleichen Abstand oder in der Musik ein Refrain oder dem Rhythmus. Für die STFT in prot-fin Version 0.4 wird die Methode `stft` aus dem Untermodul `signal` des Python-Moduls `scipy` [Vir+20] Version 1.11.4 verwendet. Je Fenster werden die Frequenzen der auffälligsten Signale ausgewählt, wie in Abbildung 1 (Seite 2) dargestellt mittels der lokalen Maxima, sodass über alle Intervalle eine sogenannte Constellation-Map entsteht, welche in der folgenden Abbildung 5 (Seite 10) im linken Teil dargestellt ist. Diese Map wird dabei als Array repräsentiert, wobei jedes Element hierbei eine Liste darstellt, die ihrem Index entsprechend die gewählten Frequenzen des jeweiligen Fensters beinhaltet.

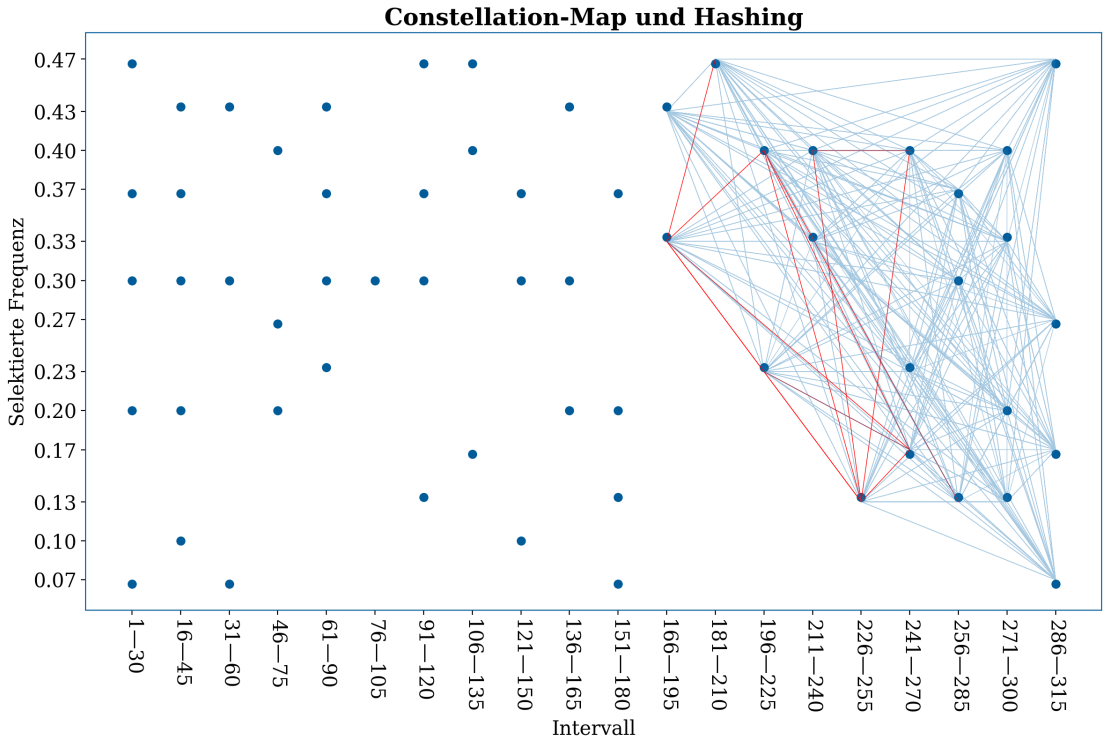


Abbildung 5: Die Punkte bilden die Constellation-Map. Auf der y-Achse ist die Frequenz und auf der x-Achse das Intervall des STFT-Fensters. Die zur Übersicht nur rechts eingezeichneten Kanten repräsentieren die Hash-Bildung aus dieser Constellation-Map, wobei rote Kanten ignorierte Hashes darstellen, weil sie in einem Nachfolgefenster erneut auftauchen und nur das letzte Vorkommen gespeichert wird.

Algorithmus 3 Hashing

Eingabe ist eine Constellation-Map aus Algorithmus 2 (Seite 9), die ID des betreffenden Proteins und die Nummer des Kidera-Faktors, beginnend bei 0. Je Fenster wird jede Frequenz A paarweise mit den Frequenzen aus allen Nachfolgefenstern kombiniert. Die Frequenz A, die jeweilige Nachfolgefrequenz, der Abstand zur Nachfolgefrequenz und die Nummer des Kidera-Faktors bilden den Hash. Der Abstand darf 12 Bit, also 2^{12} nicht überschreiten, siehe nachfolgende Abbildung 6. Je Hash wird die Position des Fensters von Frequenz A in der Constellation-Map gespeichert und zusätzlich die Protein-ID, um die Verbindung von Hash und Protein zu erhalten.

Vorbedingung *constellation_map* aus Algorithmus 2 (Seite 9)
protein_id is a String
$0 \leq kf \leq 10$

Nachbedingung *hashes* is a HashMap of: $Int \rightarrow Int, String$

```
1:  hashes ← hashmap()
2:  window_idx ← 0
3:  repeat
4:      selected_frequencies ← constellation_map.pop(0)
5:      for each frequency in selected_frequencies do
6:          successor_count ← min(2^12, length(constellation_map)) − 1
7:          for successor_idx ← 0 to successor_count do
8:              succ_frequencies ← constellation_map[successor_idx]
9:              for each succ_frequency in succ_frequencies do
10:                 hash ← create_hash(frequency, succ_frequency, successor_idx, kf)
11:                 hashes[hash] ← (window_idx, protein_id)
12:             end for
13:         end for
14:     end for
15:     window_idx ← window_idx + 1
16: until constellation_map is empty
```

Die erhaltene Constellation-Map (CM) wird elementweise gehashed, um einen effizienten Vergleich mit anderen CMs zu ermöglichen. Um das zu erzielen, wird jede ausgewählte Frequenz eines Fensters mit jeder weiteren Frequenz der Nachfolgefenster gepaart. Bildlich gesprochen werden also Kanten gebildet, wodurch die CM zu einem Graphen wird. Jede dieser Kanten bildet einen Hash, also einer Kombination aus den beiden Frequenzen/Kantenenden und der Kantenlänge (hier `successor_idx`, beginnend mit 0). In einer HashMap (für prot-fin Version 0.4 in Python ein Dictionary) wird sich folgend für den Hash die Position der Kante in der CM gemerkt, sowie die ID des Proteins, für die diese CM erstellt wurde. Sollte ein Hash dabei mehrfach vorkommen, verbleibt lediglich seine letzte Position. Dieses Verfahren wird im rechten Teil von Abbildung 5 (Seite 10) repräsentativ dargestellt, wobei rote Linien die ignorierten Kanten abbilden.

Die Hashfunktion ist bijektiv gestaltet, sodass aus einem Hash all seine Bestandteile, die für die Erstellung verwendet wurden, eindeutig abgeleitet werden können. Das hängt damit zusammen, dass diese Bestandteile nach folgendem Schema auf Bit-Ebene hintereinandergereiht werden:

6 Bit	4 Bit	12 Bit	5 Bit	5 Bit
unbelegt	Kidera-Faktor	Kantenlänge/Fensterabstand	Frequenz Nachfolger	Frequenz Ursprung

Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines Hashes: 4 Bit werden für die Nummer eines Kidera-Faktors belegt. Die Fenstergrößen belaufen sich auf unter 64, sodass mit 5 Bit alle möglichen Frequenzen abgedeckt werden können. Da die Anzahl Frequenzen immer gleich ist, können diese aufsteigend durchnummeriert werden, sodass die x-Achse in Abbildung 1 (Seite 2) der Folge von 0 bis 15 entspräche. 12 Bit enthalten die "Kantenlänge" eines Hashes. Die restlichen 6 Bits zu einem 32-Bit Integer können in der weiteren Entwicklung des Algorithmus beliebig belegt werden.

Algorithmus 4 Erstellung der Datenbank

Eingabe ist eine Datei im FASTA-Format. Aus jeder darin befindlichen Sequenz wird nach Algorithmus 1 (Seite 7) ein numerischer Vektor erstellt, dieser dann mittels Algorithmus 2 (Seite 9) in eine Constellation-Map übersetzt und diese anschließend dem Algorithmus 3 (Seite 11) entsprechend gehashed. Je Hash wird das Tupel aus Position, an der der Hash in der Constellation-Map auftauchte, und Protein-ID in eine Liste in der Datenbank eingefügt, auf die der Hash verweist.

Vorbedingung $fasta$ is a FASTA-formatted file
Nachbedingung $database$ is a HashMap of: $Int \rightarrow Array\ of\ (Int, String)$

```
1:  database ← hashmap()
2:  for each protein_id, sequence in fasta do
3:      for kf ← 0 to 10 do                                  ▷ kf = Kidera Faktor
4:          aa_vector ← get_aa_vector(sequence, kf)          ▷ aa = Aminosäure
5:          constellation_map ← get_constellation_map(aa_vector)
6:          hashes ← get_hashes(constellation_map, protein_id)
7:          for each hash in hashes do
8:              if hash not in database then
9:                  database[hash] ← array()
10:             end if
11:             database[hash].append(hashes[hash])
12:         end for
13:     end for
14: end for
15: save_to_file(database)
```

Die beschriebenen Algorithmen 1 bis 3 beschreiben den Weg von einer Aminosäuresequenz in Textform zu den Hashes, die die strukturelle Information des Proteins entsprechend der spektralen Zerlegung mittels STFT repräsentieren sollen. Übrig bleibt nur der Schritt, der die Hashes einer Menge von mehreren Proteinen in einer Datenbank vereinigt, sodass im Anschluss die Identifizierung von Eingabesequenzen erfolgen kann. Dafür werden je Trainings-Protein (TP) für alle Kidera-Faktoren die Hashes gebildet und in die Datenbank geschrieben, welche eine HashMap ist. Im Gegensatz zu der resultierenden HashMap in Algorithmus 3 (Seite 11) verweisen die Hashes in der Datenbank allerdings nicht auf eine Position des Hashes für ein Protein, sondern auf eine Liste von solchen. Das heißt, dass für die Datenbank ein neuer Hash mit einem leeren Array initialisiert wird, in das darauf all diese Position-Protein-ID-Tupel eingefügt werden.

Version 0.4 von prot-fin ist in Python implementiert. Von daher wird für die Persistierung der Datenbank (`save_to_file`) zur Einfachheit das `pickle`-Modul verwendet, welches mit der genutzten Python-Version 3.10.12 mitgeliefert wird und Python-Objekte effizient in Dateien ablegen kann.

Wurde die Datenbank erstellt, ist sie für die Identifizierung funktionsähnlicher Proteine anhand einer Eingabe verwendbar. Hierfür gibt es zwei Ansätze:

a) **Single-Protein-Matching:** Eingabe ist eine FASTA-Datei, also eine Menge an Suchsequenzen. Ausgabe je Sequenz ist eine Liste von Treffern, sortiert nach Übereinstimmung der Hashes der Constellation-Maps von Treffer und Suchsequenz. Je höher der Rang eines Treffers, desto funktionsähnlicher sollte das entsprechende Protein sein. Treffer mit dem besten Score erhalten Rang 1, mit dem zweitbesten Score Rang 2, ... und der Treffer mit dem schlechtesten Score den letzten Rang. Die Ausgabe in prot-fin Version 0.4 sind Comma Separated Values (CSV), also eine durch Kommata separierte Tabelle, mit folgenden Spalteninhalten:

   1. Rank → Rang
   2. Match_Protein_ID → Protein-ID des Treffers
   3. JSI → Jaccard Similarity Index (siehe Algorithmus 5 (Seite 14))
   4. Score → Score (Übereinstimmung der Constellation-Map)
   5. Input_Protein_ID → Protein-ID der Suchsequenz
   6. Input_Sequence_Length → Sequenzlänge der Suchsequenz
   7. Input_Found_Hashes → Anzahl Hashes der Suchsequenz

Algorithmus 5 Treffer-Bewertung beim Single-Protein-Matching

Eingabe sind die Hashes für die Suchsequenz nach Algorithmus 3 (Seite 11) und die trainierte Datenbank aus Algorithmus 4 (Seite 12). Für jeden Hash der Suchsequenz S wird für jedes Protein P in der Datenbank mit diesem Hash der Abstand/Offset seiner Position in der Constellation-Map (CM) von der Position von P in dessen CM gebildet. Für P wird gezählt, wie oft ein jeder Offset vorkommt. Der Score von P bildet sich durch die Anzahl des häufigsten Offsets und dem nachfolgend in Gleichung 1 (Seite 15) beschriebenen Jaccard Similarity Index.

Vorbedingung *hashes* aus Algorithmus 3 (Seite 11)
database aus Algorithmus 4 (Seite 12)
Nachbedingung *match_scores* is a HashMap of: $String \rightarrow Float$

```
1:  matches_per_tp ← hashmap()                          ▷ tp = TrainingsProtein
2:  for each hash, position in hashes do
3:      if hash in database then
4:          for each tp_position, protein_id in database[hash] do
5:              if protein_id not in matches_per_tp then
6:                  matches_per_tp[protein_id] ← hashmap()
7:              end if
8:              offset ← tp_position − position
9:              if offset not in matches_per_tp[protein_id] then
10:                 matches_per_tp[protein_id][offset] ← 0
11:             end if
12:             offset_count ← matches_per_tp[protein_id][offset]
13:             matches_per_tp[protein_id][offset] ← offset_count + 1
14:         end for
15:     end if
16: end for
17: match_scores ← hashmap()
18: for each protein, offsets in matches_per_tp do
19:     score ← get_most_common_offset(offsets)
20:     match_protein_hashes ← database.get_hashes(protein)
21:     jsi ← get_jsi(hashes, match_protein_hashes)
22:     match_scores[protein] ← score · jsi
23: end for
```

Um den Score zu bestimmen, also die Ähnlichkeit der CM der Eingabe mit denen der TP, werden pro Eingabe-Hash die Differenzen zwischen dessen Position mit den Positionen der trainierten Hashes gebildet und global pro Protein gezählt. Diese Differenzen repräsentieren den Abstand/Offset der Kante in der Eingabe-Map zur Kante der jeweiligen TP-Map, also wie weit die Eingabe-Map verschoben wäre, sollte es sich bei dem TP um das Original handeln. Auf diese Weise sammeln sich pro TP mehrere solcher potentiellen Abstände, wobei der Abstand, der am häufigsten aufgetreten

ist, offensichtlich die meiste Übereinstimmung in den Kanten zeigt. Diese Tatsache qualifiziert diese Maximalanzahl als geeigneten Score (S1) für ein Match.

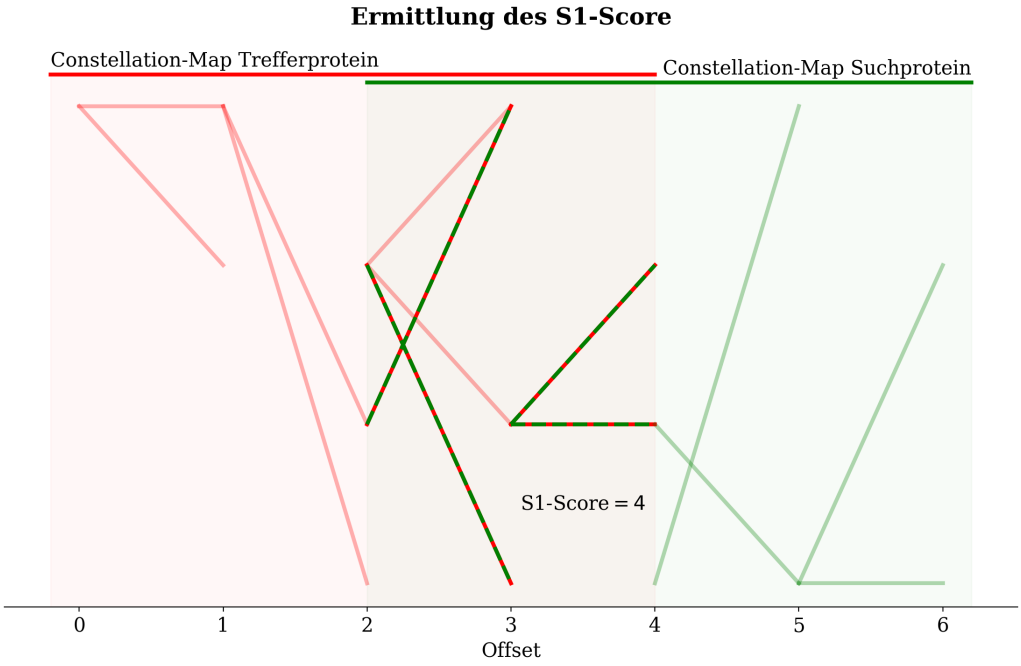


Abbildung 7: Die Constellation-Maps werden aneinander verschoben. Die maximale Überschneidung bei Offset 2 ist der Score. Hier stimmen 4 Hashes in Position überein, sie liegen genau übereinander und sind somit gestrichelt dargestellt.

Da große Proteine mit sehr langen Aminosäuresequenzen kürzere Sequenzen kleinerer funktionsungleicher Proteine enthalten können, reicht der ermittelte Score alleine nicht aus, da in diesem Fall sehr viele Kanten der Eingabe-CM übereinstimmen würden, sodass trotz Mis-Match der nahezu maximale Score erreicht werden würde. Bezogen auf das Beispiel zu S1 in Abbildung 7 (Seite 15), wäre dort der grüne Bereich vollständig vom roten Bereich eingeschlossen mit Überschneidungen in beinahe allen Kanten.

Um das zu umgehen, wird der Jaccard Similarity Index (JSI) verwendet, einem Maß, das die Übereinstimmung zweier Mengen A und B wie folgt bewertet:

$$JSI(A, B) = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|} \tag{1}$$

Dieser Index nimmt einen Wert von 0 an, wenn beide Mengen disjunkt sind, und nähert sich der 1 je größer die Schnittmenge ist. Im Fall des Vergleichs zweier Constellation-Maps, also zwei Hash-Mengen, wird hier bewertet, wie viele Kanten sich die beiden Maps positionsunabhängig teilen. Durch diese Unabhängigkeit reicht der JSI alleine nicht als Score aus, sodass nur in Kombination/Multiplikation mit dem S1 ein robuster

Score entsteht, da beide zusammen ihre Schwächen aufheben. Der JSI in Abbildung 7 (Seite 15) beträgt $\frac{4}{14} \approx 0.286$, da die Schnittmenge beider Hashmengen hier gleichzeitig den S1-Score bilden und die restlichen Hashes disjunkt zueinander sind. Der S1 wäre nur noch 3, wenn eine der markierten Kanten an einer anderen Position wäre, wobei der JSI davon unberührt bliebe.

b) **Family-Matching:** Eingabe ist eine CSV-Tabelle mit der Zuordnung von Protein-ID und -familie (mittels Familien-ID). Die für das Matching verwendeten Hashes sind hier diejenigen, die sich alle Mitglieder einer Suchfamilie teilen. Die Idee dahinter ist, dass diese Hashes spezifisch für diese Familie, beziehungsweise deren Funktion ist. Als Bewertungsmaß wird dabei die Anzahl Hashes des Treffers verwendet, die mit den Familienhashes übereinstimmen. Der Vorteil dieses Ansatzes ist, dass durch die Reduktion der betrachteten Hashes die Laufzeit im Vergleich zum Single-Protein-Matching verringert wird. Denn für jeden Hash muss in der Datenbank durch alle Proteine iteriert werden, die ebenfalls diesen Hash haben. Je weniger Hashes also betrachtet werden, desto weniger Iterationen gibt es. Da die geteilten Hashes einer Familie in der Anzahl nur kleiner oder gleich der Anzahl Hashes des Familienmitglieds mit den wenigsten Hashes sein können, ist dieser Ansatz somit mindestens so schnell wie für das Single-Protein-Matching mit diesem kleinsten Mitglied.

   Für die Ausgabe werden diese Treffer zusammengefasst. Dazu gibt es zwei Kriterien, den F-Score und die Schärfe (Sharpness), die nach folgender Berechnung ermittelt werden:

$$
\begin{aligned}
t &= \texttt{max\_score}(TrP) \\
Sharpness &= \begin{cases} \frac{t - \texttt{max\_score}(FP)}{t}, & \text{if t} > 0 \\ \text{-1}, & \text{sonst} \end{cases} \\
Precision &= \frac{|TrP|}{|TrP| + |FP|} \\
Recall &= \frac{|TrP|}{|TrP| - member\_count} \\
F\_Score &= \frac{2 \cdot Precision \cdot Recall}{Precision + Recall}
\end{aligned}
\tag{2}
$$

   TrP ist hierbei die Menge der Treffer, die tatsächlich in der Familie vorkommen (true positives), wobei FP diejenigen sind, die das nicht tun (false positives) und einen besseren Score als der letzte korrekte Treffer haben. “member_count” ist die Anzahl an Mitgliedern der Familie.

   Die Schärfe stellt das Verhältnis der besten Scores von FP und TrP dar, also wie weit der beste korrekte Treffer im Score von dem besten falschen Treffer entfernt ist.

   Die Präzision gibt an, wie viele der Treffer korrekt gewesen sind, während der Recall zeigt, wie viele der Familienmitglieder gefunden wurden. Der F-Score bringt diese beiden Werte zusammen.

   Die Ausgabe von prot-fin Version 0.4 als CSV-Tabelle beinhaltet aktuell diese Zusam-

menfassung zu Entwicklungszwecken. Sollte prot-fin ausgereift sein, wird die Ausgabe vermutlich die Treffer je Suchfamilie enthalten. In den Spalten wird folgendes dokumentiert:

1. Family_ID → ID der Suchfamilie
2. F_Score
3. Precision
4. Recall
5. Sharpness
6. Member_Count → Anzahl der Mitglieder der Suchfamilie
7. Match_Count → Anzahl gefundener Treffer
8. Hash_Intersec_Size → Anzahl der Hashes, die sich die Mitglieder teilen

3.2 Experiment 1: UniRef90 Sampling

Ein Bestandteil der Strukturanalyse in Algorithmus 2 (Seite 9) ist die Selektion signifikanter Frequenzen zur Erstellung der CM. Es wäre zwar möglich, alle Frequenzen auszuwählen und dafür die Signalstärke in den Hash einfließen zu lassen, jedoch führe diese Vorgehensweise zu wesentlich mehr Hashes und einer folglich sehr großen Datenbank, was wiederum das Scoring/Matching verlangsamt. Ein Anspruch an prot-fin ist, dass die Datenbankgröße die Eingabegröße nicht wesentlich übersteigt, wobei es sich bei der Eingabe um eine einfache FASTA-Datei handelt.

Diesem Problem soll durch ein Sampling-Experiment abgeholfen werden. Darin wurden aus etwa 180 Millionen Sequenzen der UniRef90 Datenbank je ein zufälliges Fenster fester Größe für die STFT ausgewählt, transformiert und die Signalstärken je Frequenz gemerkt. Um daraus eine Selektionsmethode abzuleiten, wurden die Grenzquantile einer jeden Frequenz ermittelt, um signifikant seltene Signalstärken zu ermitteln. Folglich war es möglich, für die Constellation-Map nur diejenigen Frequenzen zu behalten, welche in den Randzonen der Signalstärken liegen, sodass nicht nur Signale infrage kommen, die für eine besonders starke Ausprägung eines Kidera-Faktors sprechen, sondern auch für den Fall der umgekehrten Ausprägung, wie z.B. Hydrophilie statt Hydrophobie.

Algorithmus 2 (Seite 9) wurde daher anschließend insofern angepasst, dass bei der Frequenz-Selektion in Zeile 4 (Seite 9) die gewählten Frequenzen so ermittelt werden, dass je Grenzwert die Ausreißer ausgewählt werden, also einmal für den oberen Wert und dann für den unteren Wert, und aus diesen Ausreißermengen die Maxima selektiert werden. Zudem wird einem Hash je Frequenz noch mit einem Bit die Information hinzugefügt, ob die Amplitude besonders hoch oder niedrig ist.

Die zu klärende Frage war, welche Grenzquantile verwendet werden müssen, um eine möglichst gute Frequenzauswahl zu erzielen, für ein gutes Matching mit kleineren Datenbanken.

3.3 Experiment 2: Filter Hashes

Die Experimente zu vorigen Versionen von prot-fin haben zu sehr großen Datenbanken und entsprechend langsamem Matching geführt. Mit dem Ziel, die Datenbank auf Eingabegröße zu reduzieren, sollte darin je Protein nur das Notwendigste gespeichert werden. In Experiment (Exp.) 1 (Seite 17) wurde dafür die Frequenzwahl angegangen, indem die Grenzwerte mit der Wahl der Maxima kombiniert wurden. Alternativ soll hier die Größe durch einen Filter ermöglicht werden, wobei die Grenzwerte als alleiniges Selektionskriterium dienen. Zum Filtern wurden dazu nach der Datenbankerstellung nur die Einträge der quantilsmäßig seltensten Hashes behalten. Die entfernten Hashes an sich wurden zudem in einer Blacklist gespeichert, um sie vor dem Matching auch aus den Hashes der Suchsequenzen zu entfernen, da sie ansonsten den JSI verfälschen würden, weil entfernte Hashes nicht in der Schnittmenge auftauchen könnten.

Auch in diesem Experiment musste herausgefunden werden, welches Quantil sich am besten eignet. Je kleiner es ist, desto kleiner wird auch die Datenbank, aber umso ungenauer auch das Matching. Es galt einen guten Kompromiss zu finden.

3.4 Experiment 3: Target-Zone

Die Target-Zone (TZ) beschreibt in Abbildung 5 (Seite 10) die maximal mögliche Kantenlänge eines Hashes, also die Anzahl Nachfolgefenster, die für das Hashing herangezogen werden. Je größer die TZ, desto näher kommt die Constellation-Map einem vollständigen Graphen, was die Datenbankgröße entscheidend beeinflusst. Da die TZ mit 12 Bit (Abbildung 6 (Seite 12)), also 4096, für Aminosäuresequenzen nahezu unbeschränkt ist, wurde in diesem Experiment geprüft, wie wenige Bits ausreichen, um noch ein gutes Matching zu gewährleisten. Umgesetzt wurde dies in Zeile 6 von Algorithmus 3, wo über die Nachfolger iteriert wurde. Um die TZ einzubeziehen, wurden die hard-coded $2^{12} - 1$ mit einer zusätzlichen Variable zu $2^{targetZoneBits} - 1$ erweitert. Als Selektiosmethode wurd der Ansatz aus Exp. 1 (Seite 17) verwendet.

3.5 Experiment 4: Selection-Method

Dieses letzte Experiment knüpft an Exp. 1 (Seite 17) an. Dort war die Intention, die ermittelten Grenzwerte mit einer anschließenden Maxima-Wahl zu kombinieren. Hier wurden nun folgende Ansätze versucht:

1. Es werden alle Frequenzen ausgewählt, deren Amplituden den oberen/unteren Grenzwert aus Exp. 1 (Seite 17) über-/unterschreiten. Es bilden die Grenzwerte allein die Selektionsbedingung.
2. Es werden erst Frequenzen über Maxima ausgewählt und anschließend aus diesen nur diejenigen behalten, die den oberen Grenzwert überschreiten. Gleiches wird für Minima mit dem unteren Grenzwert wiederholt.
3. Die Amplituden der Frequenzen werden in ihren Abstand zum oberen Grenzwert

umgerechnet. Für jede Frequenz wurde in Exp. 1 (Seite 17) zudem die Standardabweichung der gesampelten Amplituden ermittelt. Die Abstände werden durch die Division dadurch normalisiert. In diesen normalisierten Abständen werden die Frequenzen nach lokalen Maxima ausgewählt und nur die behalten, die den oberen Grenzwert überschreiten. Das ganze Verfahren wird für den unteren Grenzwert ebenfalls mit lokalen Maxima wiederholt.

Diesen beiden Methoden wurden zusätzlich durch einen Parameter k erweitert, welcher bestimmt, dass die ersten k Frequenzen im Nachhinein aus der Auswahl entfernt werden (entsprechend ihrer Reihenfolge wie im Beispiel in Abbildung 1 (Seite 2), also $k = 2$ entfernt Frequenzen 0,1). Das hatte den Hintergrund, dass in niedrige Frequenzen in oft ausgewählt wurden.

Die vorigen Ergebnisse hatten zudem veranlasst, das Signifikanzniveau der gesampelten Amplituden von 5% zu verringern, sodass zusätzlich die Grenzwerte für $\alpha \in \{0.1\%, 0.01\%, 0.001\%\}$ ermittelt werden sollten. Aufgrund eines Rechenfehlers wurden tatsächlich die Werte für $\alpha \in \{10\%, 1\%, 0.1\%\}$ berechnet, was bis zum Verfassen dieser Arbeit unentdeckt blieb. Als Obergrenze wurde immer der maximale Amplitudenwert verwendet. Um die Laufzeit dieses Experiments durch zu viele Parameterwerte nicht unnötig zu erhöhen, wurden vor der Durchführung die pro TP selektierten Frequenzen gezählt und die mittlere Anzahl Frequenzen pro Fenster ermittelt, um die zu testenden α-Werte zu begrenzen.

Um die Ansätze effizient zu testen, wird für dieses Experiment die Datenbankerstellung in Algorithmus 4 (Seite 12) so angepasst, dass sie abgebrochen wird, sobald der Speicherbedarf das 6-fache der Eingabedaten übersteigt. Wenn eine Datenbank nicht größer als die Eingabe sein soll, dürfen die Daten einer Sequenz nicht den Speicherbedarf der Textrepräsentation ihrer Aminosäuren überschreiten. Diese Zeichen sind Teil des "American Standard Code for Information Interchange" (ASCII) und benötigen daher nur 1 Byte Speicher, was bedeutet, dass bei einer Sequenz der TP mit einer medialen Länge von etwa 300 Aminosäuren nur ebensoviele Bytes verwendet werden dürften. Hierzu eine Rechnung unter der Annahme, es gäbe nur eine Frequenz pro Fenster:

$$
\begin{aligned}
target\_zone &= 8 \\
fenster\_größe &= 30 \\
überlappung &= 15 \\
sequenz\_länge &= 300 \\
anzahl\_fenster &= \frac{sequenz\_länge}{fenster\_größe - überlappung} = 20 \\
hash\_größe &= 32\ Bit = 4\ Byte \\
speicher\_pro\_kf &= target\_zone \cdot anzahl\_fenster \cdot hash\_größe = 640\ Byte \\
anzahl\_kf &= 10 \\
datenbank\_speicher &= target\_zone \cdot anzahl\_fenster \cdot hash\_größe \cdot 10 = 6400\ Byte
\end{aligned}
\tag{3}
$$

Selbst bei einer Frequenz pro Fenster wäre die Datenbank nach dieser Abschätzung dop-

pelt so groß wie die Eingabe. Dieses Kriterium floss bei der Auswahl der α-Werte für dieses Experiment ein.

3.6 Durchführung

Die Durchführung der Experimente läuft nach einem immergleichen Schema ab. Zuerst werden mit den MapMan-Referenz-Proteinen aus Unterabschnitt 2.1 (Seite 6) die Datenbanken erstellt und anschließend mit einer Teilmenge dieser Proteine das Single-Protein-Matching durchgeführt. Diese Teilmenge wird über die MapMan-Bins ausgewählt. Um die Suchproteine nämlich möglichst funktional divers zu halten, werden je Wurzelknoten der Bins sieben zufällige Sequenzen ausgewählt. Für das Family-Matching werden alle die MapMan-Bins mit ihren Proteinen einbezogen, die durch mehr als einem Protein verteten werden.

Neben den experimentspezifischen Parametern, wie Quantilen oder der Größe der Target-Zone, werden zusätzlich jedes Mal Parameter getestet, die die STFT und somit alle Experimente betreffen, da sich die Werte dazu aufgrund der zu digitaler Musik vergleichsweise kurzen Sequenzen nicht direkt von SHAZAM ableiten lassen. Hierbei geht es um die Fenstergröße (FG), die Länge der Überlappung zwischen benachbarten Fenstern und n_peaks, der Anzahl Frequenzen, die von den ausgewählten signifikanten Frequenzen verwendet werden. Sind also $n + x$ Frequenzen in der Auswahl, werden die x am wenigsten signifikanten Frequenzen entfernt, im Gegensatz zu k aus Exp. 4 (Seite 18), welches unabhängig der Anzahl immer dieselben Frequenzen entfernt. Alle Parameter mit ihren getesteten Werten sind in Tabelle 2 (Seite 21) aufgelistet:

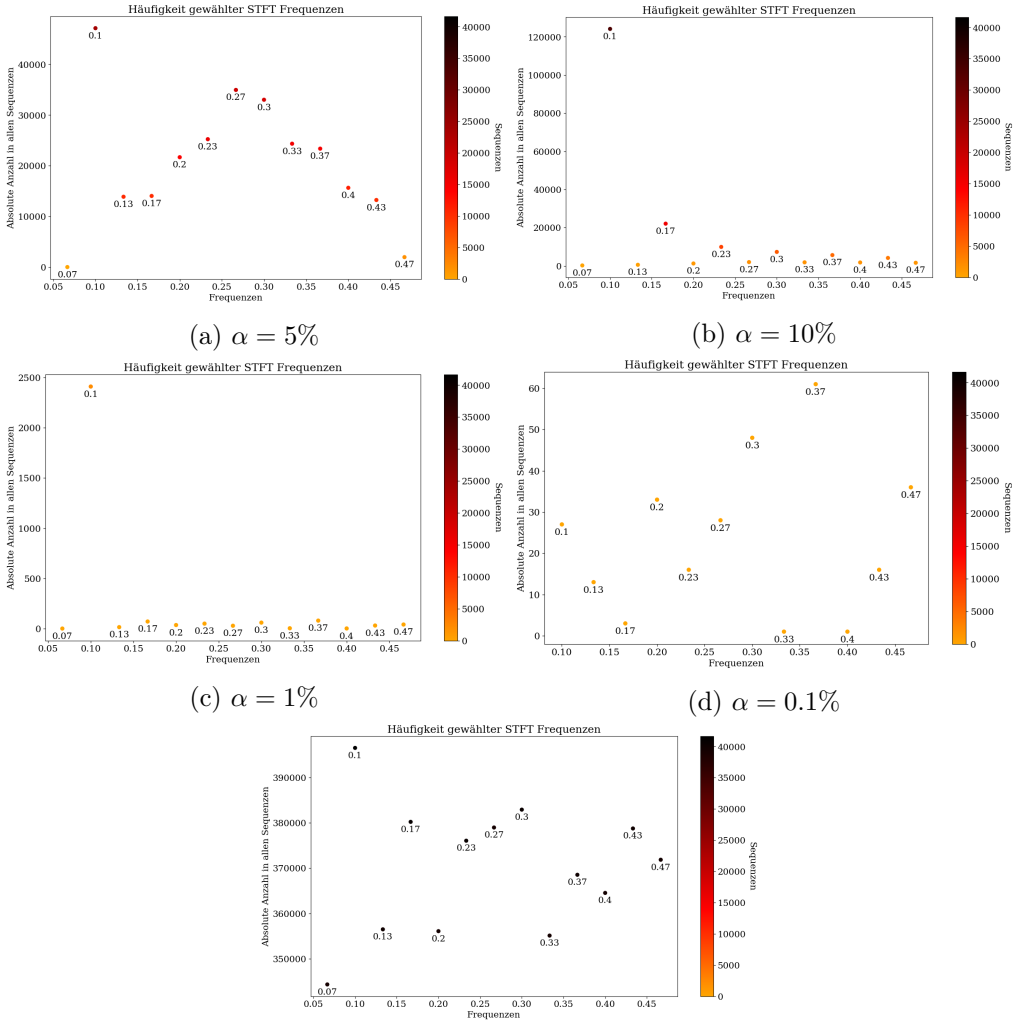
Tabelle 2: Experiment-Parameter

Bei dem Parameter Quantil handelt es sich um das Quantil der Hashes, das beim Filtern der Datenbank behalten wird (siehe Exp. 2 (Seite 18)). Die Signifikanz bezeichnet das Signifikanzniveau α, welches in Exp. 1 (Seite 17) verwendet wird, um aus den Fenster-Samples die Grenzwerte für auffällige Amplituden einer Frequenz zu bestimmen. Für das Matching wird bei Exp. 1 (Seite 17) lediglich $\alpha = 5\%$ betrachtet.

Parameter	**Werte**					**Experimente**
Fenstergröße (FG)	10	20	30	40	50	1, 3
		20	30	40	50	2
			30	40	50	4
n_peaks	alle	3	5			1, 3, 4
		3	5			2
Overlap	0	25%	50%	75%	FG − 1	1, 2, 3
		25%	50%	75%		4
Target-Zone	8	16	32	64		3
	8					4
Quantil	0.1	0.2	...	0.9	1	2
Signifikanz	5%	10%	1%	0.1%		1
			1%	0.1%		4
	5%					2, 3

4 Ergebnisse

4.1 UniRef90 Sampling



(a) $\alpha = 5\%$

(b) $\alpha = 10\%$

(c) $\alpha = 1\%$

(d) $\alpha = 0.1\%$

(e) Normal

Abbildung 8: Häufigkeit gewählter Frequenzen über alle Trainings-Proteine: Die Häufigkeiten, wie oft eine Frequenz in einer Sequenz gewählt wird, werden über alle TP summiert (y-Achse). Die Farbe der Punkte gibt an, in wie vielen Sequenzen die jeweilige Frequenz vorkam.

Beim UniRef90 Sampling wurden die Amplituden-Grenzwerte für vier verschiedene Signifikanzniveaus ermittelt. Abbildung 8 (Seite 22) stellt den folglichen Einfluss auf die Frequenzselektion bezüglich Häufigkeit dar, exemplarisch für Hydrophobizität bei FG 30 mit Überlappung von 15 und $n\_peaks = alle$. Exemplarisch weil primäres Ziel die Er-

mittlung der Grenzwerte je Signifikanzniveau war, Exp. 3 (Seite 18) wird mit derselben Selektionsmethode für alle Parameter durchgeführt.

In Abbildung 8e (Seite 22) ist die Auswahl vor dem Sampling dargestellt. Die Häufigkeiten der Frequenzen liegen im Mittel etwa bei 360000 und sind in allen Frequenzen vertreten, was bei circa 40000 Proteinen bedeutet, dass in einer Sequenz jede Frequenz etwa 9-mal vorkommt. Frequenz 0.1, also eine Periode von jeder 10. Aminosäure, scheint zudem besonders häufig gewählt zu werden. Bis auf Abbildung 8d (Seite 22) scheint das auch für die Frequenzselektion zu gelten, die auf dem Sampling basiert.

Die Häufigkeiten werden mit schrumpfendem α deutlich kleiner. So kommt eine Frequenz mit 5% Grenze nur etwa in jeder zweiten Sequenz vor, bei 0.1% in jeder 20., und bei noch strengeren Grenzen seltener als in jeder 200. Sequenz.

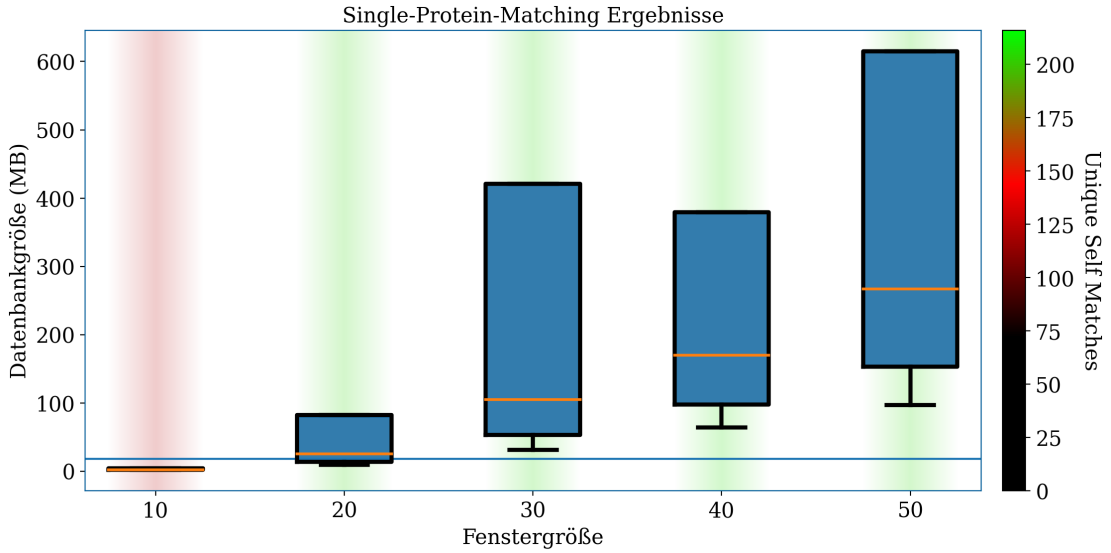


Abbildung 9: Matching-Ergebnisse für $\alpha = 5\%$. Die Boxen bilden die Datenbankgrößen für die verschiedenen Parameter aus Tabelle 2 (Seite 21) ab. Die blaue Füllung repräsentiert die Schärfe (Gleichung 2 (Seite 16)), sofern sie einen positiven Wert hat. Die farbige Fläche über und unter den Boxen stellt die Anzahl dar, wie viele der Suchproteine als Treffer mit alleinigem besten Score identifiziert wurden (hier "Unique Self Matches"). Die blaue horizontale Linie kennzeichnet die Größe der Eingabedaten.

Ursprünglich war Exp. 1 (Seite 17) so konzipiert, dass nur das ein 5%-alpha ermittelt wird. Da die Datenbanken aber weiterhin zu groß sind, wie in Abbildung 9 (Seite 23), Unterabschnitt 4.2 (Seite 24) und Unterabschnitt 4.3 (Seite 25) zu sehen, wurde es um die strengeren Signifikanzniveaus erweitert. Die Identifizierung ist ab FG 20 sehr gut und hat eine nahezu 100%-ige Schärfe. FG 10 ist zwar unter der Eingabegröße, scheitert aber bei der Identifikation und wurde daher nicht für alle Experimente betrachtet.

4.2 Filter Hashes

Aufgrund eines Eingabefehlers wurde der Parameter $Quantil = 0.8$ ausgelassen.

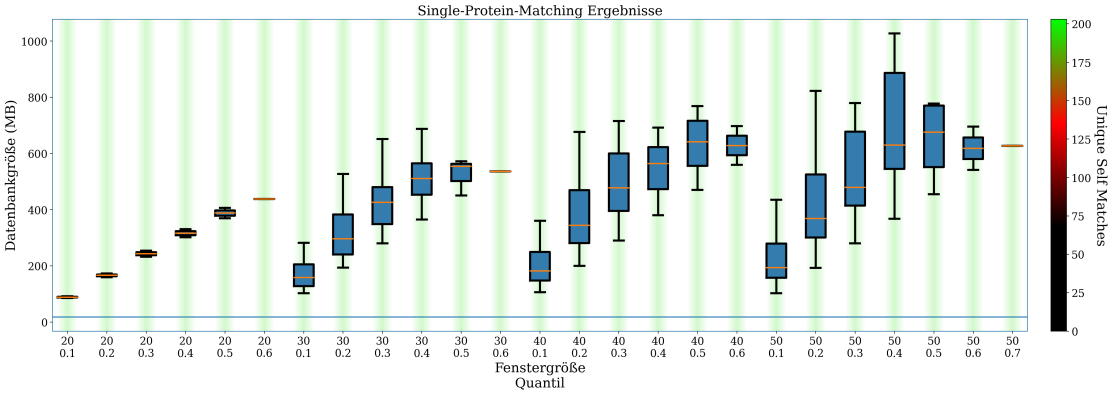


Abbildung 10: Die Boxen bilden die Datenbankgrößen für die verschiedenen Parameter aus Tabelle 2 (Seite 21) ab. Die blaue Füllung repräsentiert die Schärfe (Gleichung 2 (Seite 16)), sofern sie einen positiven Wert hat. Die farbige Fläche über und unter den Boxen stellt die Anzahl dar, wie viele der Suchproteine als Treffer mit alleinigem besten Score identifiziert wurden (hier "Unique Self Matches"). Die blaue horizontale Linie kennzeichnet die Größe der Eingabedaten.

Aufgrund zu langer Laufzeit wurde das Single-Protein-Matching vorzeitig abbgebrochen, sodass die Daten der pro FG jeweils letzten Quantile nicht vollständig sind. Abbildung 10 (Seite 24) zeigt für die Suchproteine für alle getesteten Parameter eine hohe Identifikationsrate mit hoher Schärfe. Mit sinkendem Quantil schrumpft auch die Datenbankgröße scheinbar linear. Dennoch ist keine davon unter dem Limit der Eingabe.

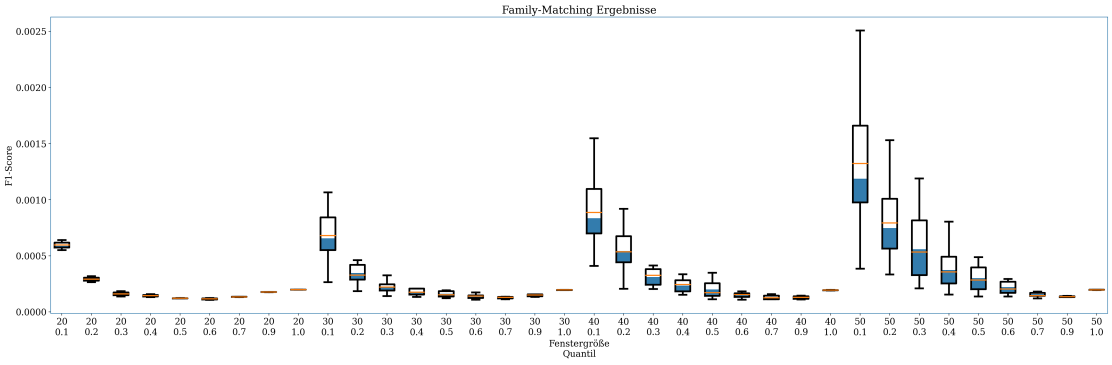


Abbildung 11: Die Boxen bilden die F-Scores für die verschiedenen Parameter aus Tabelle 2 (Seite 21) ab. Die blaue Füllung repräsentiert die Schärfe (Gleichung 2 (Seite 16)), sofern sie einen positiven Wert hat.

Der Family-Matching-Ansatz in Abbildung 11 (Seite 24) hat eine geringe Schärfe von unter 0.5, wobei sich für die getesteten Parameter zeigt, dass kleinere Quantile einen höheren F-Score haben, der aber deutlich unter 1 liegt.

4.3 Target-Zone

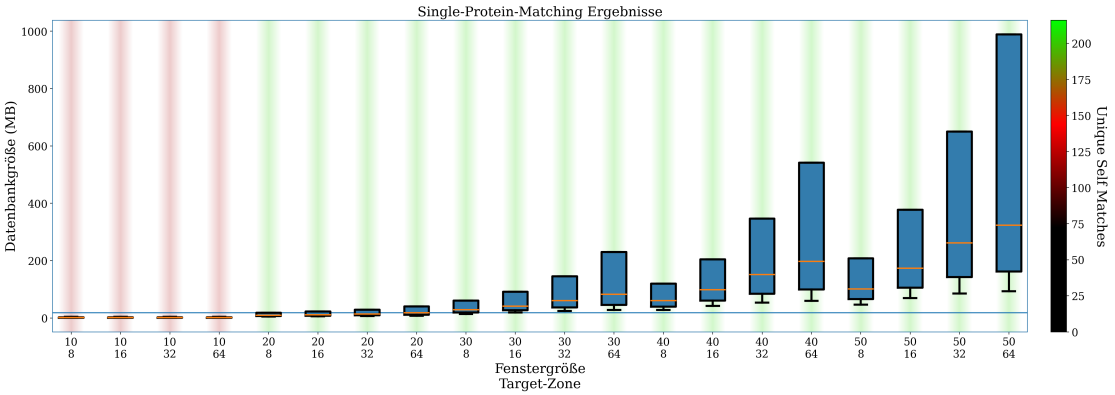
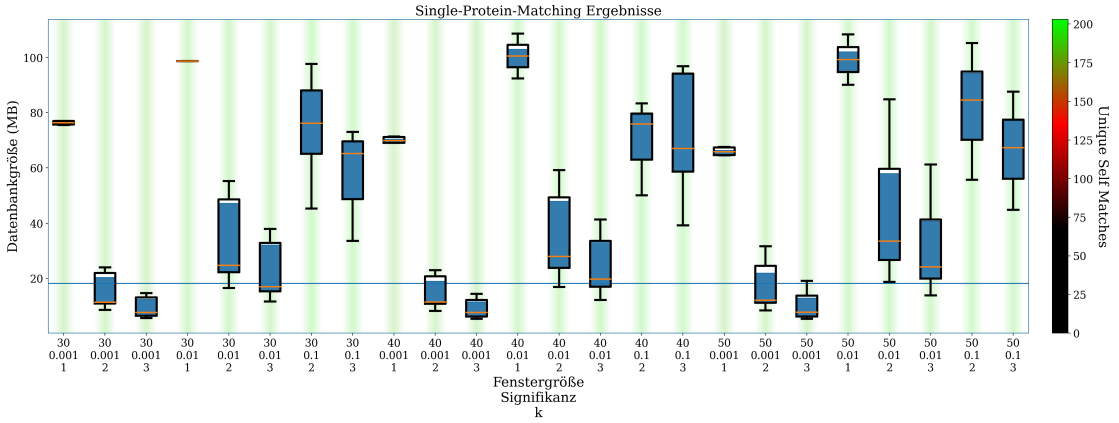


Abbildung 12: Die Boxen bilden die Datenbankgrößen für die verschiedenen Parameter aus Tabelle 2 (Seite 21) ab. Die blaue Füllung repräsentiert die Schärfe (Gleichung 2 (Seite 16)), sofern sie einen positiven Wert hat. Die farbige Fläche über und unter den Boxen stellt die Anzahl dar, wie viele der Suchproteine als Treffer mit alleinigem besten Score identifiziert wurden (hier "Unique Self Matches"). Die blaue horizontale Linie kennzeichnet die Größe der Eingabedaten.

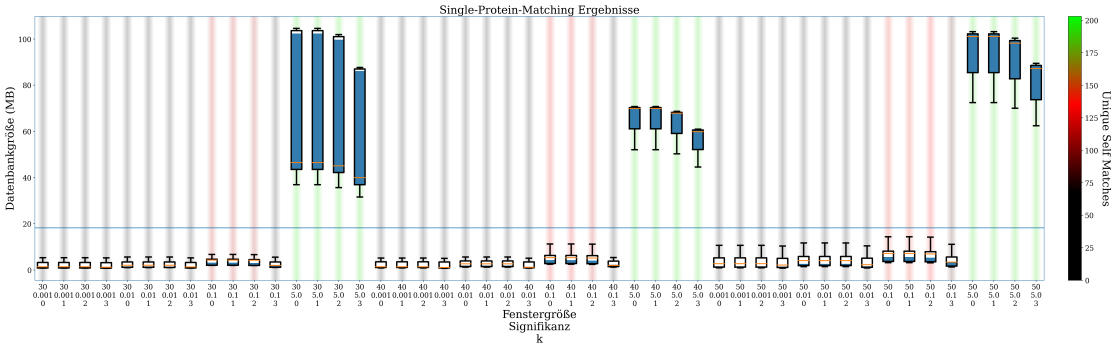
Für das Testen verschiedener Target-Zones ist in Abbildung 12 (Seite 25) eine Tendenz zu exponentiellem Wachstum der Datenbankgröße bei ansteigender TZ erkennbar. Wie beim Sampling in Abbildung 9 (Seite 23) scheitert die Identifikation bei FG 10, im Gegensatz zu den anderen Größen, welche auch eine hohe Schärfe haben.

4.4 Selection-Method

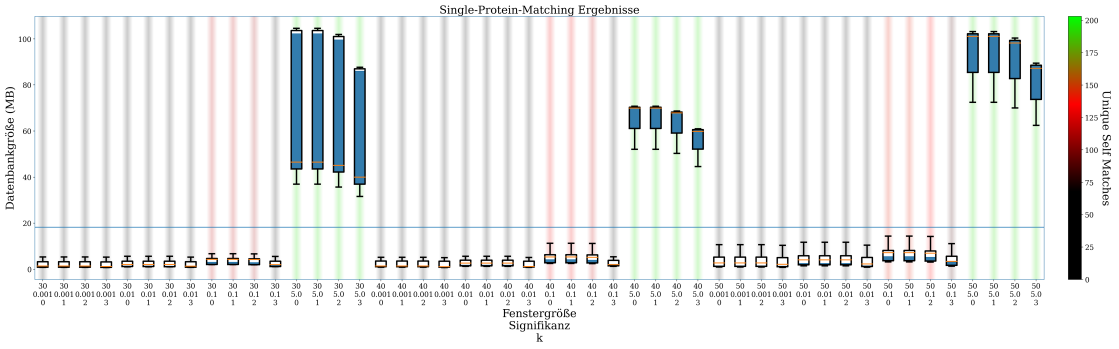
Da das Exp. 3 (Seite 18) in Unterabschnitt 4.3 (Seite 25) aufgrund zu hoher Laufzeit vorzeitig abgebrochen wurde, wurde in dem hiesigen Experiment die Datenbankerstellung bei zu hoher Größe abgebrochen. Lediglich der Selektionsansatz, der die Maxima der absoluten Grenzwertabweichungen auswählt, hat zur Fertigstellung geführt, sodass das Matching nur für diese Datenbanken erfolgen konnte. Vor dem eigentlichen Experiment wurde für mehrere α-Werte die mittlere Anzahl Frequenzen pro Fenster bestimmt, mit dem Kiterium, eine Frequenz pro Fenster nicht übermäßig zu überschreiten.



(a) Ansatz 1: Wahl nur mit Grenzwerten siehe Exp. 4 (Seite 18)



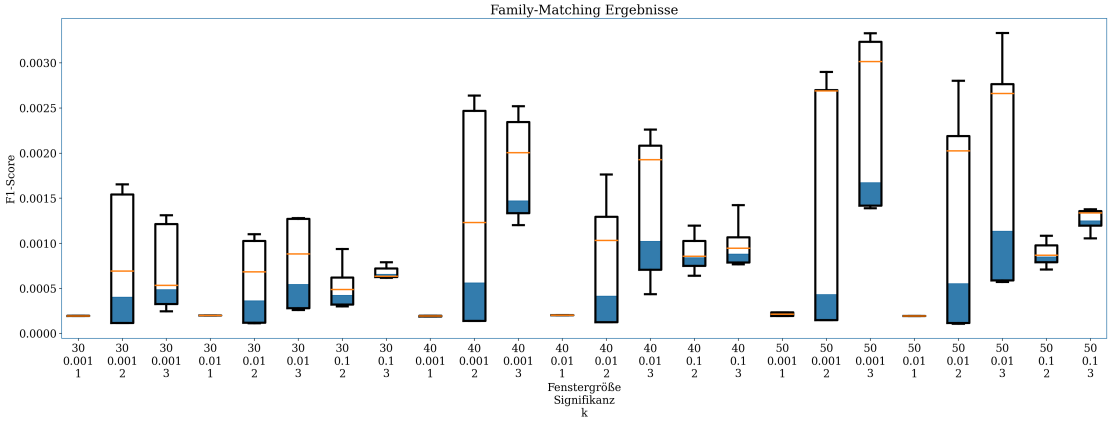
(b) Ansatz 2: Wahl der Ausreißer der lokalen Maxima/Minima siehe Exp. 4 (Seite 18)



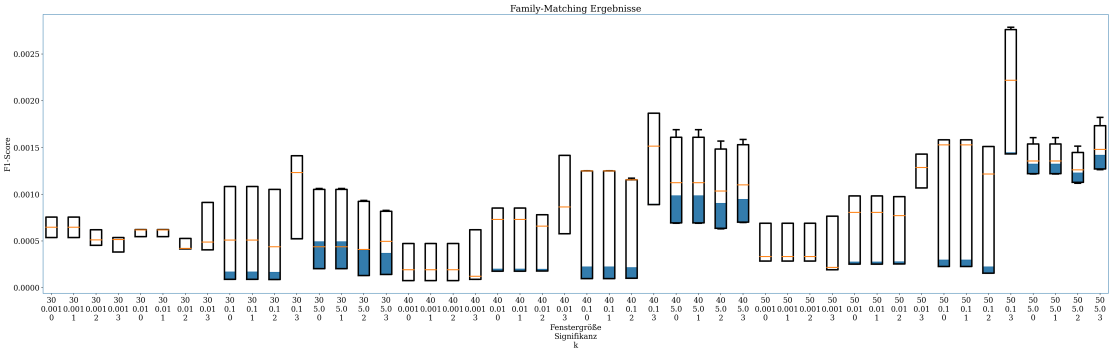
(c) Ansatz 3: Wahl nach Grenzwertabweichung siehe Exp. 4 (Seite 18)

Abbildung 13: Die Boxen bilden die Datenbankgrößen für die verschiedenen Parameter aus Tabelle 2 (Seite 21) ab. Die blaue Füllung repräsentiert die Schärfe (Gleichung 2 (Seite 16)), sofern sie einen positiven Wert hat. Die farbige Fläche über und unter den Boxen stellt die Anzahl dar, wie viele der Suchproteine als Treffer mit alleinigem besten Score identifiziert wurden (hier "Unique Self Matches"). Die blaue horizontale Linie kennzeichnet die Größe der Eingabedaten.

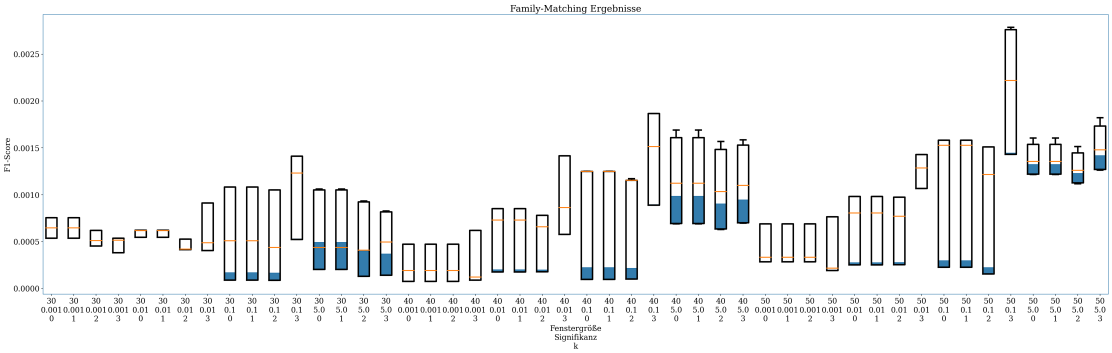
In Abbildung 13 (Seite 26) zeigt sich für das Single-Protein-Matching, dass die Identifikation bei den getesteten Parametern mit hoher Schärfe erfolgreich funktionierte. Beim Wechsel von $k = 2$ zu $k = 3$ ist zudem ein kleiner Sprung nach unten zu erkennen.



(a) Ansatz 1: Wahl nur mit Grenzwerten siehe Exp. 4 (Seite 18)



(b) Ansatz 2: Wahl der Ausreißer der lokalen Maxima/Minima siehe Exp. 4 (Seite 18)



(c) Ansatz 3: Wahl nach Grenzwertabweichung siehe Exp. 4 (Seite 18)

Abbildung 14: Die Boxen bilden die F-Scores für die verschiedenen Parameter aus Tabelle 2 (Seite 21) ab. Die blaue Füllung repräsentiert die Schärfe (Gleichung 2 (Seite 16)), sofern sie einen positiven Wert hat.

Beim Family-Matching scheinen die höheren FGs ab 40 besser abzuschneiden. Für $k = 2$ sinkt der F-Score ein wenig. Die Schärfe liegt wie bei Abbildung 11 (Seite 24) überall unter 0.5.

5 Diskussion

Die Entwicklung von prot-fin hat das Ziel, eine mögliche Alternative zu Alignment-basierten Verwandtschaftsanalysen zwischen Proteinen zu erhalten. Der zugundeliegende Algorithmus ist dabei von SHAZAM inspiriert, welches Musik erkennt, indem es Tonaufnahmen nicht auf direkte Ähnlichkeit vergleicht, wie es bei einem Alignment der Fall wäre, sondern durch Vergleich der periodischen Signale innerhalb der Aufnahmen. Dies wurde nun halbwegs erfolgreich bei prot-fin umgesetzt. Halbwegs deswegen, weil die Erkennung von Proteinen zwar funktioniert, dafür aber die Performanz hinsichtlich Speicherbedarf der Datenbanken und daraus resultierenden hohen Laufzeiten nicht gut ist. Außerdem fehlt eine robuste und zuverlässige Möglichkeit, verwandte Proteine zu identifizieren. Um diesen Mangeln entgegenzuwirken, wurden 4 verschiedene Experimente entwickelt, die zum Ziel haben, nur möglichst signifikante Signale in die Datenbank einfließen zu lassen.

Verglichen mit den Ergebnissen der vorigen Version von prot-fin in Abbildung 2 (Seite 4), wurde in allen angesetzten Experimenten eine Verbesserung in den Datenbankgrößen erzielt, abgesehen von Fenstergröße (FG) 10, welche an Eindeutigkeit der Ergebnisse verloren hat. Es ist hier aber wichtig zu bemerken, dass in der Vorversion das Matching lediglich für nur einen Kidera-Faktor (KF) durchgeführt wurde. Daher ergibt der Verlust bei FG 10 Sinn, da die so wenigen infrage kommenden Frequenzen trotzdem auf über 100 MB aufgebläht wurden. Bezüglich der Schärfe lässt sich hier leider kein Vergleich vornehmen, da dieses Maß in der Vorversion noch nicht implementiert war. Ebenso stammt der Ansatz des Family-Matchings auch erst aus dieser Arbeit.

Das Sampling scheint eine gute Idee gewesen zu sein, um die Frequenzselektion signifikanter zu gestalten, ohne dabei willkürlich Information zu entfernen. In Abbildung 8 (Seite 22) ist der Effekt auf die Wahl deutlich zu erkennen. Interessant hierbei ist, dass es für mehrere Signifikanzniveaus in jeder 10. Aminosäure ein periodisches Signal gibt. Das betrifft bei einem Fenster der Größe 30 zwar nur drei und ist vielleicht in den Trainings-Protein (TP) begründet, aber könnte möglicherweise auf ein konzeptuelles Problem hindeuten. Für zukünftige Ergebnisse sollte das im Hinterkopf behalten werden.

Bezüglich der Werte für $\alpha \leq 0.01\%$ ist es zweifelhaft, ob bei diesen niedrigen Häufigkeiten unter 100 wirklich alle TP abgedeckt werden können. Für $\alpha = 5\%$ sieht das Matching in Abbildung 9 (Seite 23) jedenfalls noch in Ordnung aus. Da die Datenbankgrößen dennoch recht hoch sind, wäre hier nur eine Reduktion über andere Ansätze denkbar, wie zum Beispiel das Filtern von Hashes in Exp. 2 (Seite 18). Die Ergebnisse dort zeigen, dass auf diese Weise effektiv kleinere Datenbanken erzielt werden, wobei die Schärfe und Identifikationsrate scheinbar verlustfrei bleiben. Da bei dem Experiment zudem die gelernten Grenzwerte das alleinige Selektionskriterium darstellen, im Gegensatz zur Kombination mit Wahl lokaler Maxima wie bei Exp. 1 (Seite 17), sollte dies für die Ergebnisse in Abbildung 9 (Seite 23) zu einer Verbesserung führen. Abbildung 11 (Seite 24) betrachtend, scheint wohl ein zu behaltendes Quantil der Hashes von 10% geeignet zu sein. Allerdings ist der steigende F-Score mit kleiner werdendem Quantil dadurch zu erklären, dass die Wahrscheinlichkeit auf falsche Treffer sinkt, wenn weniger Hashes behalten werden. Die

Mitglieder der Familie sind auf jeden Fall enthalten, sofern es Hashes gibt, die sie sich teilen. Die Auswertung der Ergebnisse des Family-Matchings sollte dahingehend erweitert werden, dass angegeben wird, wie viele Familien keine Hashes hatten und was darin die jeweilige Mindestzahl an Hashes ist, die ein Mitglied hat, damit die Darstellung der Ergebnisse weniger irreführend gestaltet werden kann. Ebenso ist es denkbar, dass das Verhältnis von mittlerer Hashanzahl in der Familie und der tatsächlichen Menge geteilter Hashes als Bewertungsmaß neben dem F-Score einfließt.

In Exp. 3 (Seite 18) wird dieselbe Selektionsmethode wie in Exp. 1 (Seite 17) verwendet. Es zeigt sich, dass eine Target-Zone (TZ) von 8, also einem Bedarf von 3 Bit, vollkommen ausreichend für die Identifikation ist, welche in ihrer Bewertung keine Einbußen hat und eine Datenbankgröße von medialen etwa 100 MB zur Folge hat.

Bei Exp. 4 (Seite 18) hat sich offenbar nur eine Methode als tauglich erwiesen, nämlich die Frequenzen danach zu wählen, wie stark deren Amplituden von den gelernten Grenzwerten in Exp. 1 (Seite 17) abweichen. Die Datenbankgrößen sind sehr gut, wenn man bedenkt, dass hier keine Hashes herausgefiltert wurden, sondern das lediglich über diese Selektion mit TZ 8 erzielt wurde. Der Parameter $k = 3$ scheint ganz geeignet zu sein, die Werte beim Single-Protein-Matching sind da am besten. Beim Family-Matching beeinflusst k scheinbar nicht allzu viel, wenn die Ergebnisse nicht irreführend sind, nur bei FG 50 gibt es offenbar einen erhöhten F-Score. Für die weitere Entwicklung sollte diese Selektionsmethode auf jeden Fall in Betracht gezogen werden. Bei Durchführungen, die weiterhin k-Werte austesten, reicht es, nur ein $k \in \{0, 1\}$ zu testen, da die Ergebnisse immer identisch sind. Dies liegt daran, dass die Frequenzen nach lokalen Maxima ausgewählt werden, was bedeutet, dass die Randfrequenzen niemals infrage kommen können, da ihr Extremverhalten nur von einer Seite betrachtet werden kann. Wenn also $k = 1$ gilt, wird eine Frequenz ignoriert, die sowieso niemals gewählt wird.

Was in den Ergebnissen fehlt, ist beim Single-Protein-Matching der Bezug zur Familienähnlichkeit. Aktuell wird lediglich betrachtet, ob das Protein selbst identifiziert wurde und wie weit sich der Score von den Treffern abhebt, die nicht in der Familie sind. Letzteres wird durch die Schärfe abgebildet, die den Abstand prozentual angibt, also wie viel höher der Score ist. Dieser Abstand soll möglichst hoch sein, der zu den Familienmitgliedern hingegen nicht. Die Schärfe müsste um diese Information erweitert werden, was sich folgendermaßen formulieren lässt:

$$\begin{aligned}
scores_trp &= \{S1(t) \cdot JSI(t) \mid t \in TrP\} \\
scores_fp &= \{S1(f) \cdot JSI(f) \mid f \in FP\} \\
dist_nicht_familie &= \frac{\texttt{max}(scores_trp) - \texttt{max}(scores_fp)}{\texttt{max}(scores_trp)} \\
dist_familie &= \frac{\texttt{max}(scores_trp) - \texttt{mean}(scores_trp \setminus \{\texttt{max}(scores_trp)\})}{\texttt{max}(scores_trp)} \\
Schärfe &= dist_nicht_familie \cdot (1 - dist_familie)
\end{aligned} \tag{4}$$

TrP sind die Treffer innerhalb der Familie und FP die anderen. Der Abstand ($dist$)

zu den TrP ist, wie sehr sich der beste Score der Familie prozentual von allen anderen Familienmitgliedern abhebt. Damit dieser Abstand in die Schärfe minimierend einfließt, wird diese wie bisher berechnet und anschließend mit der Umkehrung des Familienabstands multipliziert, also wie nah der beste Score den TrP ist. Auf diese Weise wäre ein hoher Abstand zu FP bei ebenso hohem Abstand zu TrP trotzdem schlecht bewertet. Gleiches gilt umgekehrt, dass eine hohe Nähe zu den Familienmitgliedern auch schlecht bewertet wird, wenn die FP ebenso nah sind. Gegebenenfalls sollte der Abstand zu den FP auch über den Mittelwert berechnet werden anstelle des Maximums, damit die Schärfe robuster gegenüber Ausreißern der FP ist.

Ausblick

Den bisherigen Ergebnissen nach, hat prot-fin das Potential, eines Tages seinem Zweck gerecht zu werden. Aktuell ist dies zwar noch nicht der Fall, aber die Experimente zeigen, dass es Wege gibt, dem Ziel nahezukommen. Auch möglich ist, dass der aktuelle Ansatz einfach nicht funktioniert, weil die aus den Sequenzen erhaltenen Vektoren zu kurz sind oder ein anderer noch ungesehener Fall vorliegt, der die Verwandtschaftserkennung verhindert.

Andere Ansätze gibt es auf jeden Fall:

1. Der für mich anfangs intuitivste Weg war, die Sequenzen in echte Musik zu übersetzen, sodass SHAZAM direkt darauf angewandt werden könnte. `A0A1D8EJF9.wav` im Anhang (Seite 33) ist eine Beispielmusikdatei, die aus einer Aminosäuresequenz generiert wurde, wobei jede Aminosäure in einem Akkord aus KFs entsprach. Problem hierbei war ebenso die Datenbankgröße, da Musik komplexer als Text ist. Dennoch ist der Kern der Idee vielleicht trotzdem richtig, nur die Umsetzung noch nicht ideal.
2. Ebenso möglich wäre, anstelle ein echtes musikalisches Spektrum zu erstellen, stattdessen den aktuell erstellten Vektor, wie in Abbildung 4 (Seite 8) dargestellt, durch lineare Interpolation um weitere Punkte zu ergänzen. Mit anderen Worten, die Punkte in Abbildung 4 (Seite 8) werden verbunden. Auf diese Weise hätte die STFT wesentlich mehr Spielraum.
3. Auch denkbar wäre, mehrere KFs in den Vektor einzubeziehen. Allerdings hätte das möglicherweise den Nebeneffekt, dass beim Matching nicht KF-spezifisch gesucht wird. Denn prot-fin hätte theoretisch die Option, funktionelle Ähnlichkeit in Bezug auf spezielle physikalische Eigenschaften zu identifizieren.

Es gibt allerdings auch noch Wege, wie die aktuelle Implementierung weiterentwickelt werden kann. So ist zum Beispiel das Family-Matching ausbaufähig. Neben den oben genannten Änderungen, könnte ebenfalls die Bewertungsmethode der Treffer erweitert werden. Aktuell ist deren Score lediglich die Anzahl Hashes, die mit den Hashes der Familie übereinstimmen, wie auf Seite 16 erläutert. Im Gegensatz zum Single-Protein-Matching wird hier die Position der Hashes also nicht einbezogen, was die Wahrscheinlichkeit auf Übereinstimmung deutlich erhöht. Der Grund ist, dass nicht klar ist, ob die

Hashes auch innerhalb der Familie dieselben Positionen haben. Das müsste experimentell ermittelt werden. Ansonsten wäre es auch ein möglicher Ansatz, alle Positionen P zu speichern und bei der Identifizierung eines Treffers einen Hash nur als Übereinstimmung zu bewerten, wenn seine Position Teil von P ist.

Das Speichern aller Positionen wäre ebenso eine Option für das Single-Protein-Matching. Zwar würde das ermitteln des S1-Score, siehe Abbildung 7 (Seite 15), deutlich aufwändiger sein, aber möglicherweise wäre dieser Score dann gar nicht mehr notwendig. Wenn bei der Generierung der Hashes in Algorithmus 3 (Seite 11) nicht die Position, sondern die Anzahl der Positionen gespeichert werden würde, wäre die Summe der Werte der Hashes die Gesamtzahl an Hashes des Proteins. Werden die Hashes zweier Proteine verglichen, so bildet die Summe der absoluten Differenzen der geteilten Hashes die Übereinstimmung beider Proteine. Das Verhältnis beider wäre konzeptuell dem JSI ähnlich, nur dass die beiden Mengen Duplikate enthalten dürfen. Das Problem beim JSI ist, dass er positionsunspezifisch ist. Dieser alternative Score ist ihm zwar ähnlich, aber da hier wirklich alle Hashes einfließen, da die Kombination aller Hashes die Positionen in abstrakter Form beinhaltet, da die Hashes prinzipiell Kanten in einem fast vollständigen Graph sind, wie in Abbildung 5 (Seite 10) dargestellt. Hat man eine Kante, folgt zwangsläufig daraus, dass von den Enden ebenfalls weitere Kanten ausgehen, und mit der Vorgabe, nach welchem System die Punkte verbunden werden, entsteht trotzdem der ursprüngliche Graph. Demzufolge wäre es auch möglich, mit diesem Score die TZ wieder zu erweitern, um einen vollständigeren Graph aus der Constellation-Map zu erstellen, wobei die Performanz des Scorings davon unberührt bliebe.

Ein Problem, das bei den kleinen FG angegangen werden muss, ist die Hashbildung. Bei einer maximalen FG von 50 gibt es 26 Frequenzen, die als Minimum oder Maximum ausgewählt werden können. Bei einer TZ von 8 sind das $(26 \cdot 2)^2 \cdot 8 = 21632$ mögliche Kombinationen, die ein Hash annehmen kann. Davon ausgehend, dass prot-fin mal mit Millionen von Proteinen verwendet werden soll, ist das viel zu unspezifisch. Sollte es bei diesen kleinen Fenstern bleiben, muss der Informationsgehalt eines Hashes deutlich erhöht werden. Hierfür könnten zum Beispiel statt Paaren von Punkten der Constellation-Map größere n-Tupel kombiniert werden, wobei hier die Gefahr zu hoher Spezifität besteht. Das oben beschriebene Einbeziehen aller Hash-Positionen wäre vielleicht auch eine Option für das Problem oder die Erweiterung der Vektoren.

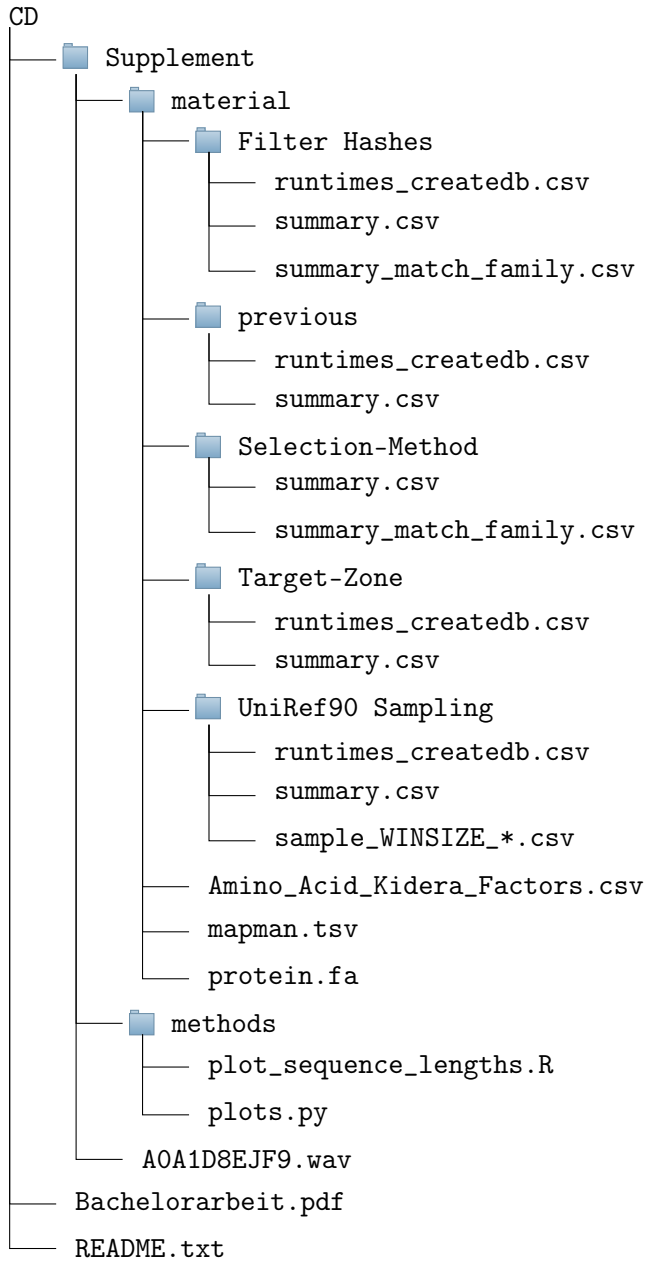
Es gibt also noch viel Entwicklungsbedarf und -möglichkeiten für prot-fin. Die Identifikation einzelner Proteine funktioniert sehr gut, das Erkennen von funktioneller Ähnlichkeit hingegen weniger, wobei die Speicher-Komplexität des Trainings auch deutlich verringert werden muss. Doch wird ein Weg gefunden, das zu erreichen, so bietet der Algorithmus eine ganz neue Alternative für die sequenzbasierte Verwandtschaftsanalyse.

6 Anhang

Sollte die CD nicht verfügbar sein, ist diese Arbeit mit Anhang auf GitHub verfügbar:

https://github.com/qwerdenkerXD/Bachelorarbeit-Bioinformatik/tree/master/CD

Alle nötigen Informationen zu den Dateien, der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und Plots und der Verfügbarkeit des Codes der Implementierung der Algorithmen in prot-fin sind in `README.txt` nachzulesen.



Eigenständigkeitserklärung

Ich bestätige, dass die eingereichte Arbeit eine Originalarbeit ist und von mir ohne weitere Hilfe verfasst wurde. Die Arbeit wurde nicht geprüft, noch wurde sie widerrechtlich veröffentlicht. Die eingereichte elektronische Version ist die einzige eingereichte Version.

Unterschrift	Ort und Datum

Erklärung zu Eigentum und Urheberrecht

Ich erkläre hiermit mein Einverständnis, dass die Technische Hochschule Bingen diese Arbeit Studierenden und interessierten Dritten zur Einsichtnahme zur Verfügung stellen und unter Nennung meines Namens (Franz-Eric Sill) veröffentlichen darf.

Unterschrift	Ort und Datum