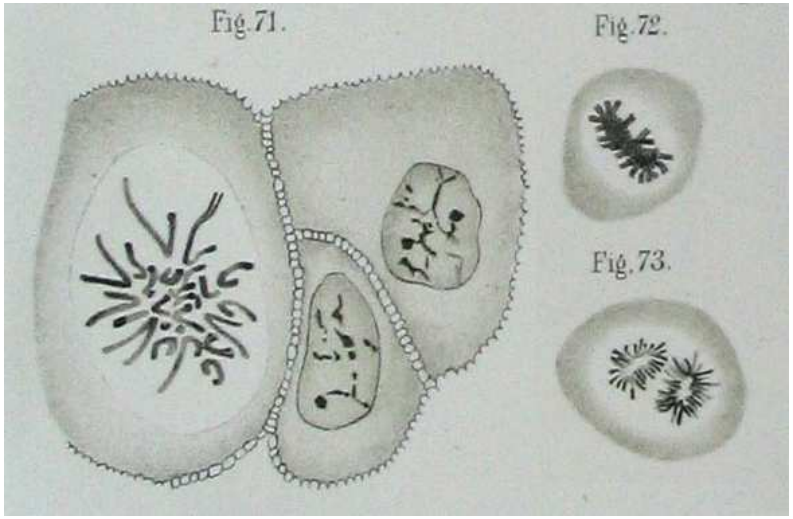
Biológia pre informatikov

Broňa Brejová

26.9.2019



Walther Flemming, 1881

Hlavné postavy

Deoxyribonukleová kyselina (DNA)

Obsahuje genetickú informáciu prenášanú z generácie na generáciu.
Dlhý reťazec nukleotidov z množiny $\{A, C, G, T\}$
(adenín, cytozín, guanín, tymín).
Informácia uložená v symbolickej, digitálnej forme.

Ribonukleová kyselina (RNA)

Blízka príbuzná DNA, tymín T nahradený uracylom U

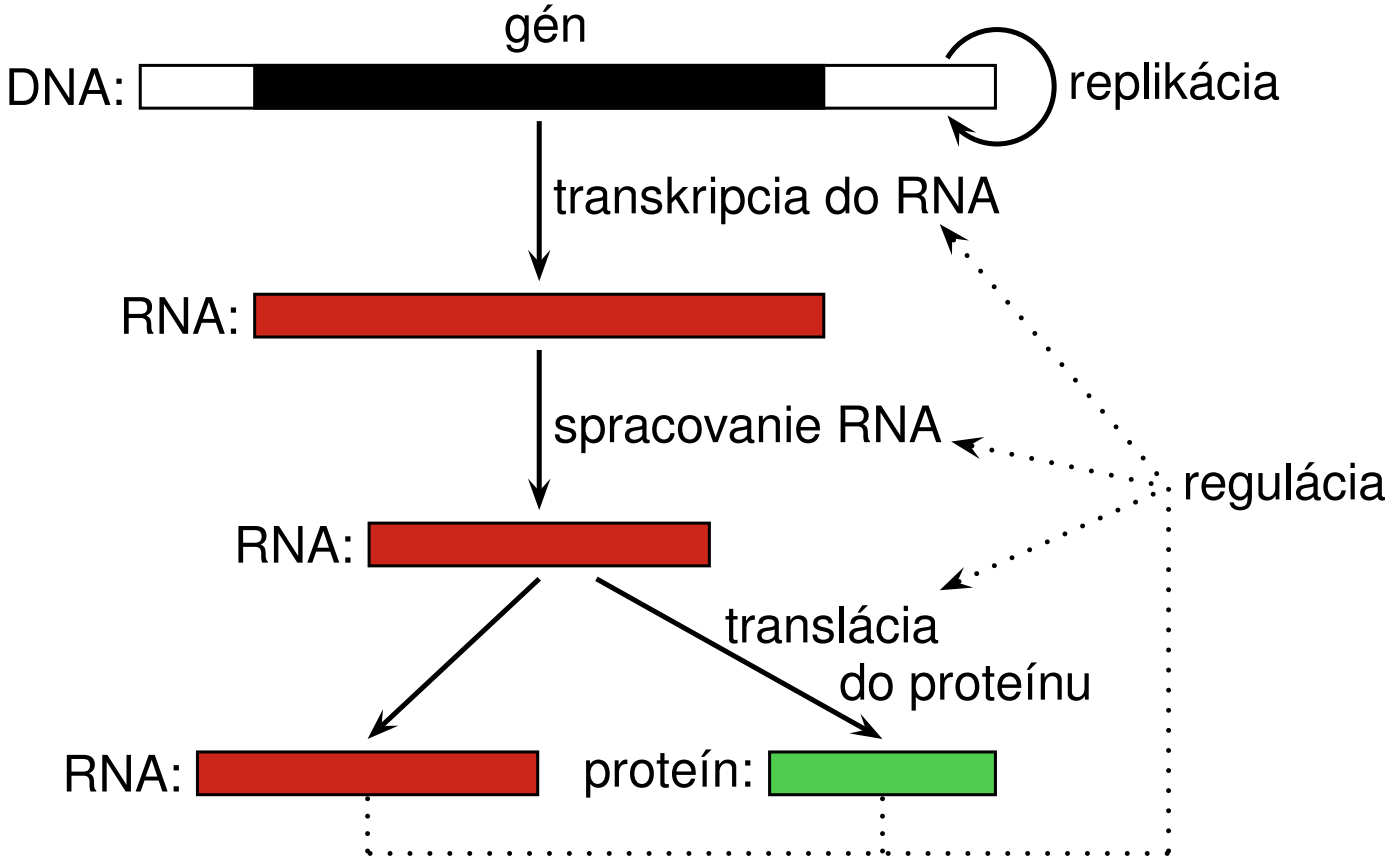
Proteíny (bielkoviny)

Katalyzujú biochemické reakcie v bunke (enzýmy),
prenášajú signály v rámci bunky/medzi bunkami,
sú dôležité pre stavbu bunky a pohyb.
Reťazec aminokyselín (20 rôznych aminokyselín).

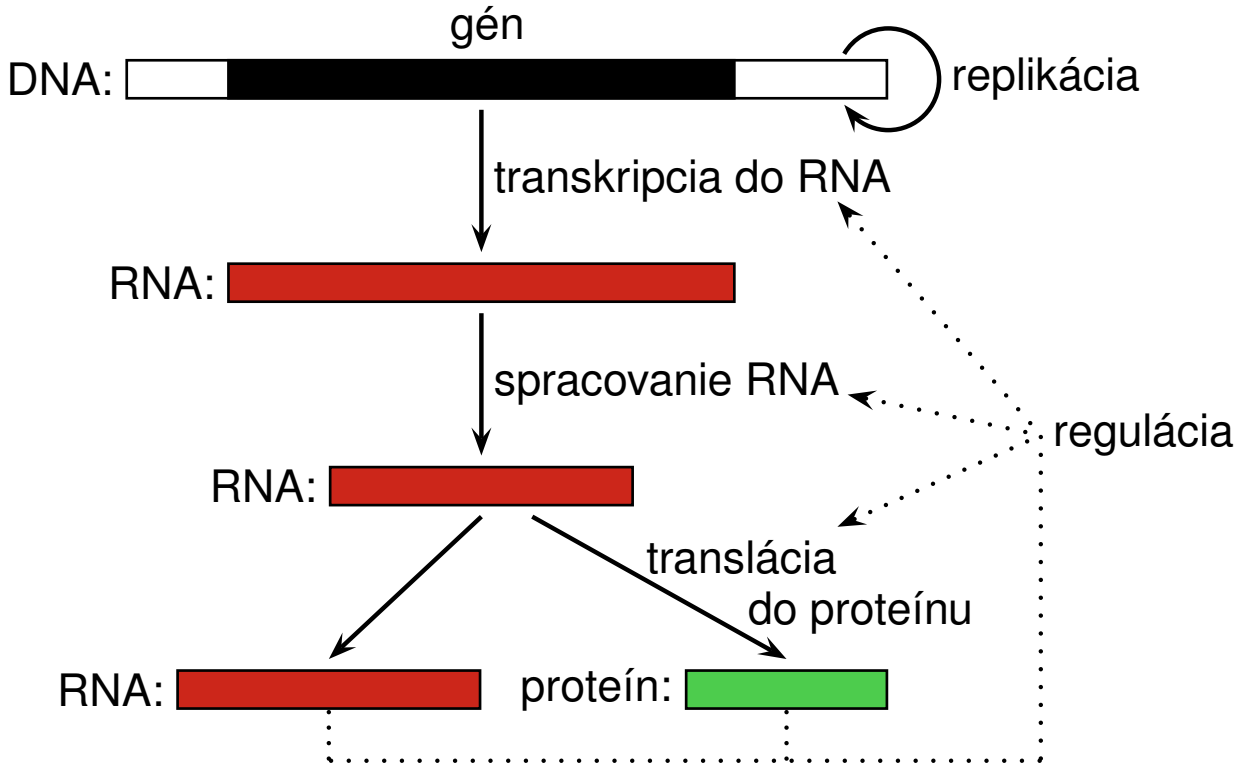
Aká informácia je uložená v DNA?

Gény: Predpisy na tvorbu proteínov a funkčných RNA molekúl.

Riadenie ich expresie: kedy a koľko sa má tvoriť.



Centrálna dogma (Francis Crick 1958,1970)

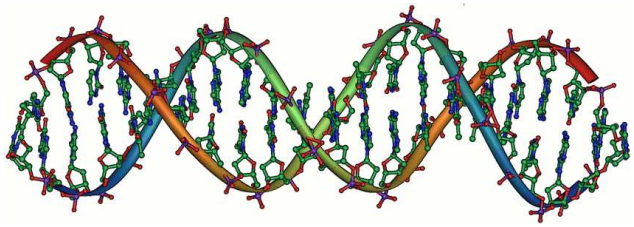


"The central dogma of molecular biology deals with the detailed residue-by-residue transfer of sequential information. It states that such information cannot be transferred back from protein to either protein or nucleic acid."

DNA, chromozómy

DNA: dve komplementárne vlákna, strands (páry A-T, C-G),
v opačnej orientácii (konce sa nazývajú 5' a 3').
Napr. ACCATG je komplementárny s CATGGT.

Tvar dvojitej špirály:



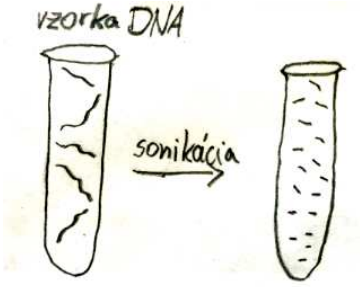
Dvojvláknová štruktúra poskytuje redundanciu, možnosť opravy pri poškodení jedného vlákna.
Pri delení bunky sa dvojvláknová DNA rozdelí a ku každému vláknu sa doplní komplement (DNA replikácia).

Chromozóm: Súvislý úsek dvojvláknovej DNA a podporných proteínov.

Ľudský genóm má 22 párov chromozómov plus dva pohlavné,
spolu 3GB.

Technológia: sekvenovanie DNA

- Postup na zisťovanie poradia báz v chromozómoch genómu.
- Chromozómy sa nasekajú na krátke kúsky,
  každý sa sekvenuje zvlášť
  napr. Sangerovým sekvenovaním.
  – využíva prírodné enzýmy, napr. DNA polymerázu



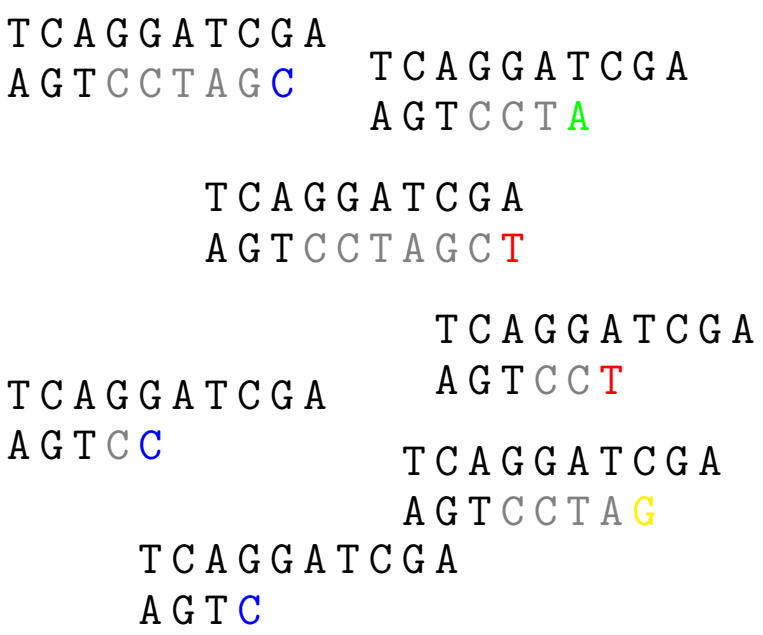
- **Bioinformatický problém:** skladanie celej sekvencie z kúskov.
- Dostupnosť genómov umožňuje
  katalogizovať gény a iné funkčné úseky,
  hľadať podobnosti a rozdiely medzi druhmi a jedincami.

Sangerovo sekvenovanie (Sanger sequencing)

Sekvenujeme AGCTAGGACT (zobrazená sprava doľava)

Primer AGT + enzýmy + nukleotidy + modifikované ofarbené nukleotidy

Výsledky sekvenovacej reakcie:



Na géli zoradíme podľa dĺžky:

AGTCCTAGCT
AGTCCTAGC
AGTCCTAG
AGTCCTA
AGTCCT
AGTCC
AGTC

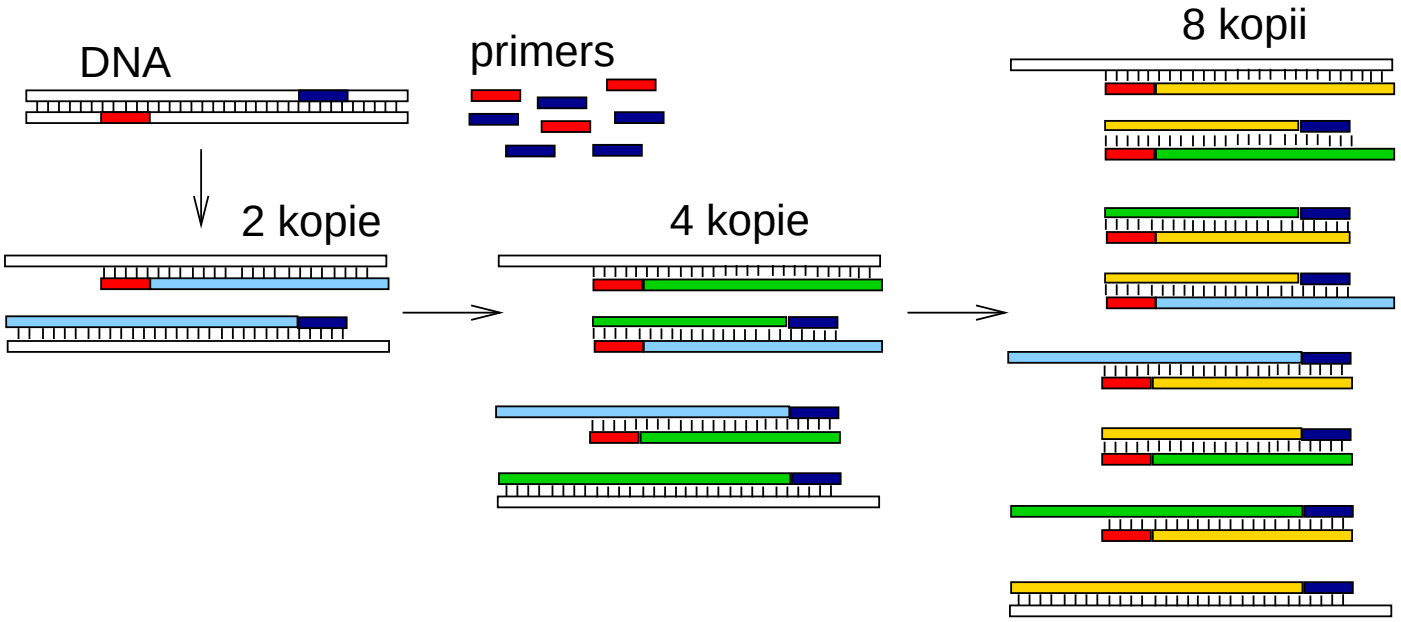
Odčítaním farieb dostaneme komplementárne vlákno: AGTCCTAGCT

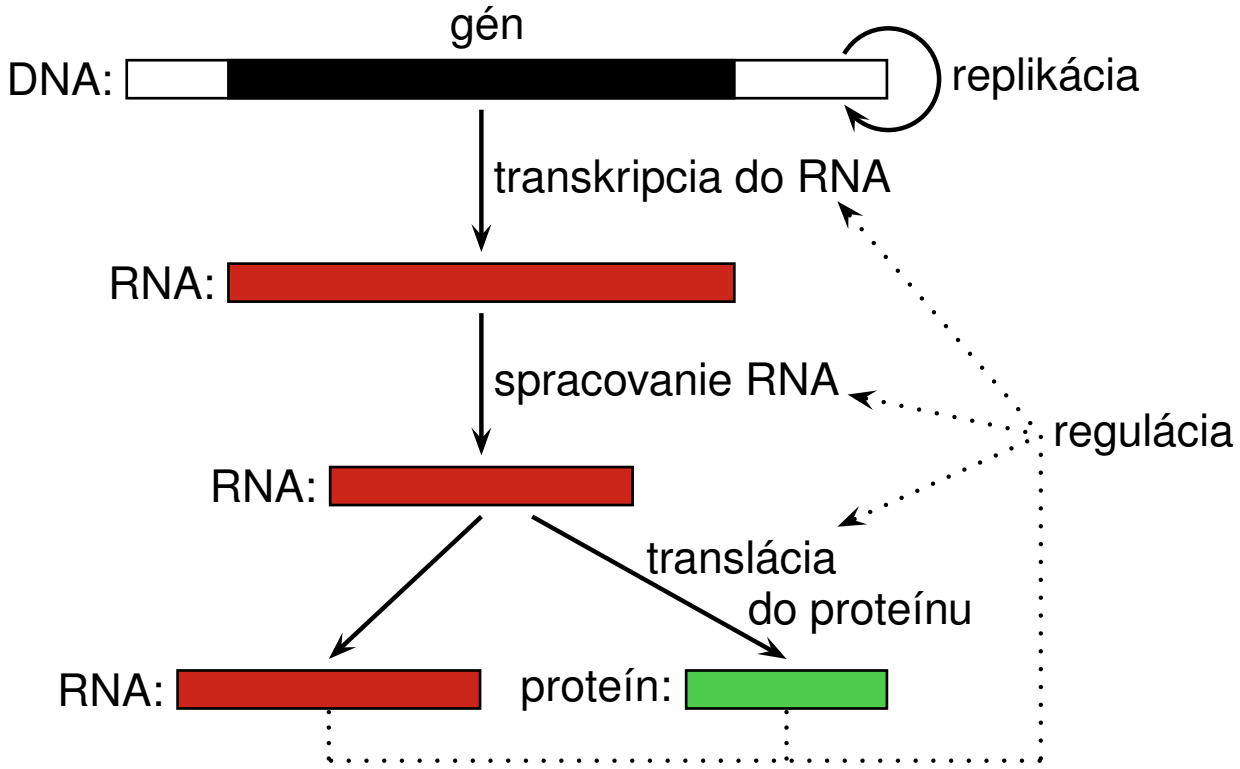
PCR (polymerase chain reaction)

Zvolíme si dva krátke úseky DNA (primers)

PCR testuje či sú v DNA blízko seba (stovky, tisíce báz)

Ak áno, namnoží úsek medzi nimi

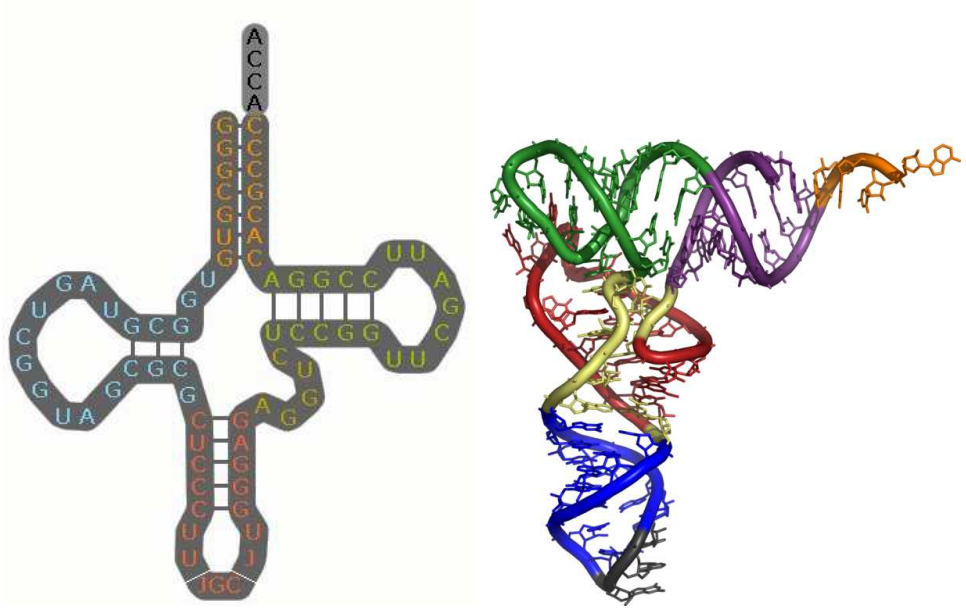



gén
DNA:
replikácia
transkripcia do RNA
RNA:
spracovanie RNA
regulácia
RNA:
translácia
do proteínu
RNA:
proteín:

RNA

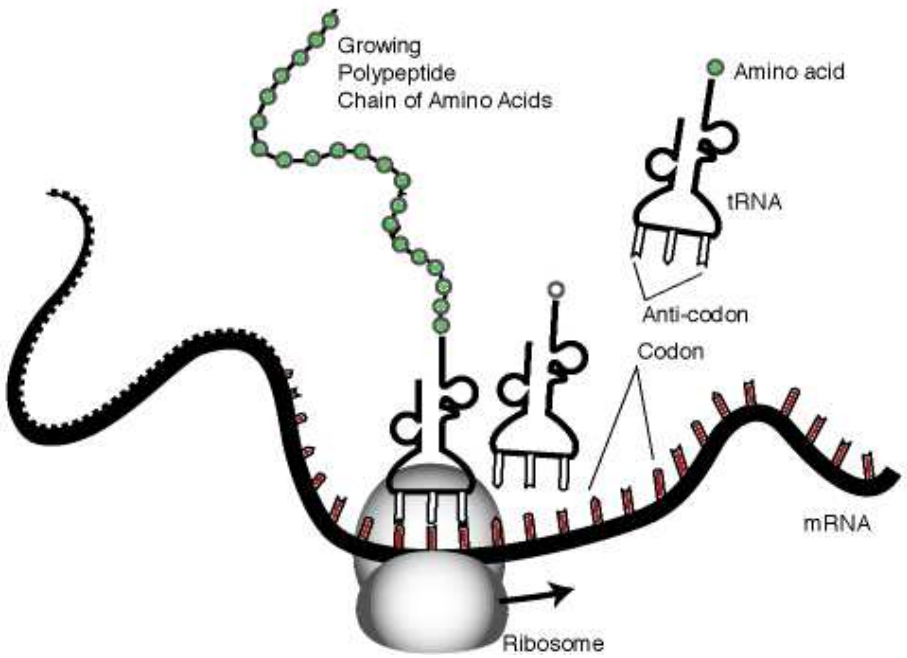
Ako sa líši od DNA?

- obsahuje ribózu namiesto deoxyribózy
- obsahuje uracil namiesto tymínu (bázy A,C,G,U)
- jednovláknové reťazce, zvyčajne kratšie
- zložitá sekundárna štruktúra: spárované komplementárne úseky

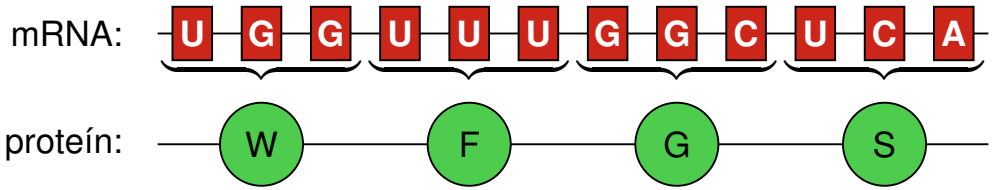


transferová RNA (tRNA)

Translácia



Kodón (trojica nukleotidov) určuje 1 aminokyselinu



Genetický kód

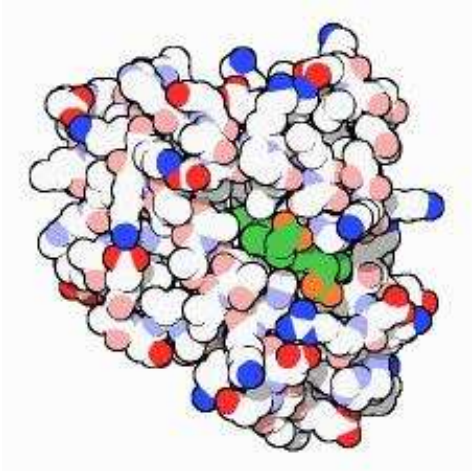
Ala / A	GCT, GCC, GCA, GCG	Leu / L	TTA, TTG, CTT, CTC, CTA, CTG
Arg / R	CGT, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	Lys / K	AAA, AAG
Asn / N	AAT, AAC	Met / M	ATG
Asp / D	GAT, GAC	Phe / F	TTT, TTC
Cys / C	TGT, TGC	Pro / P	CCT, CCC, CCA, CCG
Gln / Q	CAA, CAG	Ser / S	TCT, TCC, TCA, TCG, AGT, AGC
Glu / E	GAA, GAG	Thr / T	ACT, ACC, ACA, ACG
Gly / G	GGT, GGC, GGA, GGG	Trp / W	TGG
His / H	CAT, CAC	Tyr / Y	TAT, TAC
Ile / I	ATT, ATC, ATA	Val / V	GTT, GTC, GTA, GTG
START	ATG	STOP	TAA, TGA, TAG

Proteíny

Reťazce 20 rôznych aminokyselín s rôznymi chemickými vlastnosťami:

Aminokyselina	Postranný reťazec	Jeho vlastnosti
Alanín (A)	-CH3	hydrofóbny
Arginín (R)	-(CH2)3NH-C(NH)NH2	bázický
Asparagín (N)	-CH2CONH2	hydrofilný
Kyselina asparágová (D)	-CH2COOH	kyslý
Cysteín (C)	-CH2SH	hydrofóbny
Kyselina glutámová (E)	-CH2CH2COOH	kyslý
Glutamín (Q)	-CH2CH2CONH2	hydrofilný
Glycín (G)	-H	hydrofilný
Histidín (H)	-CH2-C3H3N2	bázický
Izoleucín (I)	-CH(CH3)CH2CH3	hydrofóbny
Leucín (L)	-CH2CH(CH3)2	hydrofóbny
Lyzín (K)	-(CH2)4NH2	bázický
Metionín (M)	-CH2CH2SCH3	hydrofóbny
Fenylalanín (F)	-CH2C6H5	hydrofóbny
Prolín (P)	-CH2CH2CH2-	hydrofóbny
Serín (S)	-CH2OH	hydrofilný
Treonín (T)	-CH(OH)CH3	hydrofilný
Tryptofán (W)	-CH2C8H6N	hydrofóbny
Tyrozín (Y)	-CH2-C6H4OH	hydrofóbny
Valín (V)	-CH(CH3)2	hydrofóbny

Štruktúra proteínov

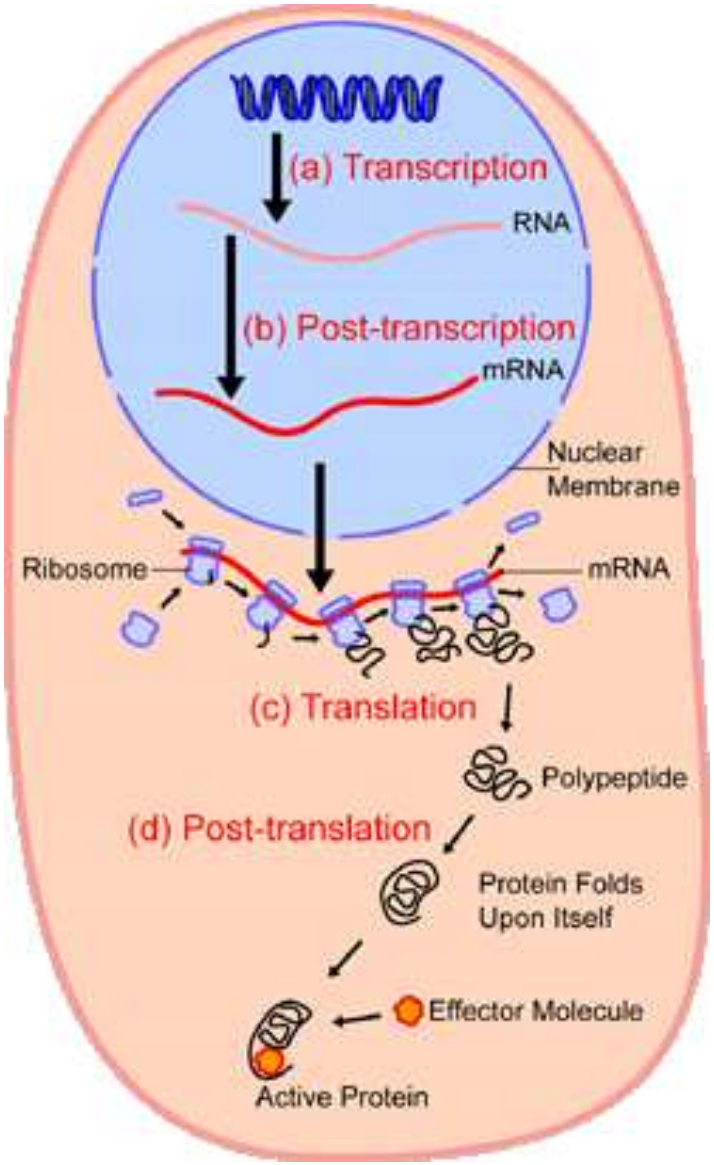


Myoglobín, prvý proteín so známou štruktúrou (Kendrew a kol. 1958).

Proteíny sa vyskytujú poskladané v určitej stabilnej štruktúre, prípadne prechádzajú medzi niekoľkými stavmi.

Hydrofóbne aminokyseliny neinteragujú s vodou, zväčša sa vyskytujú vo vnútri štrukúry.

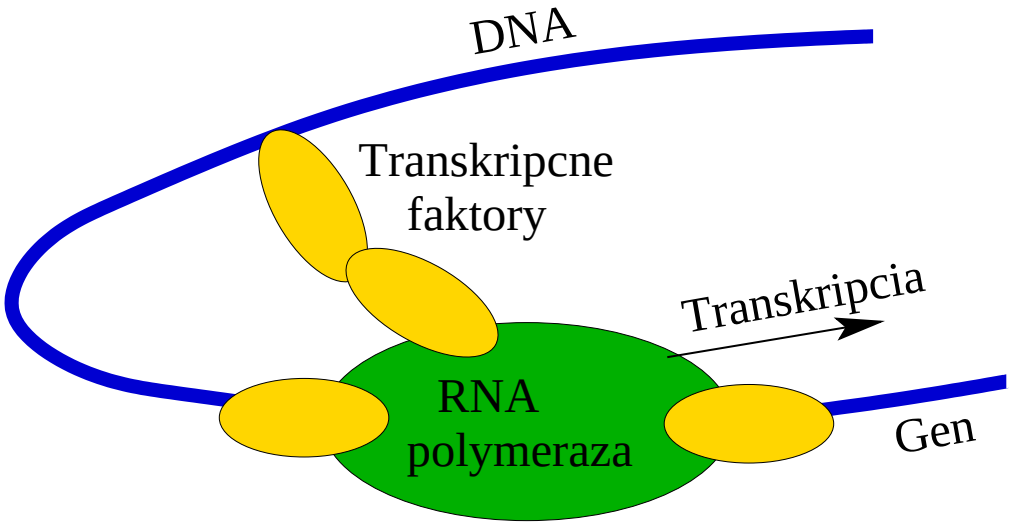
Štruktúra proteínu určuje jeho funkciu.


(a) Transcription
RNA
(b) Post-transcription
mRNA
Nuclear Membrane
Ribosome
mRNA
(c) Translation
Polypeptide
(d) Post-translation
Protein Folds Upon Itself
Effector Molecule
Active Protein

Regulácia expresie

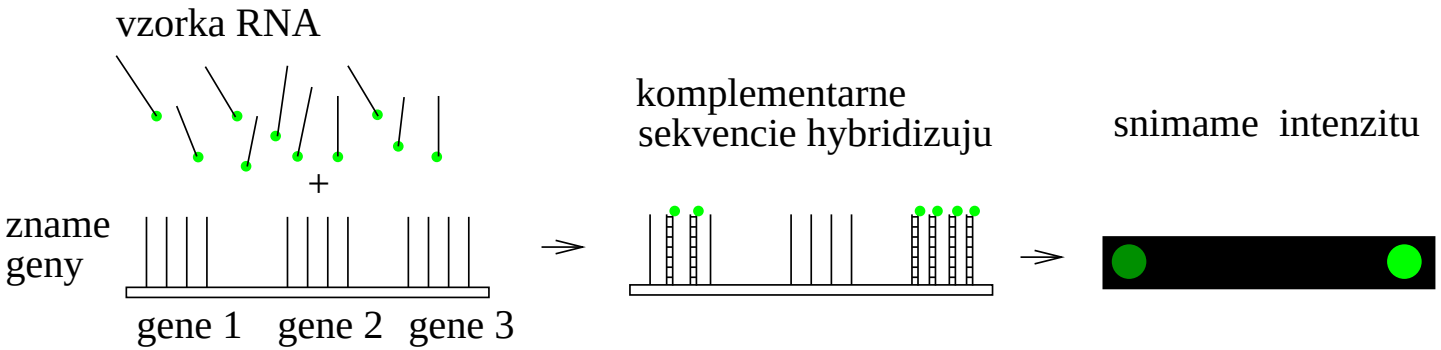
Bunky v rôznych tkanivách toho istého organizmu zdieľajú ten istý genóm, vyzerajú a fungujú však veľmi rôzne.
Niektoré proteíny sa tvoria len za určitých okolností, alebo v premenlivom množstve.

Regulácia začatia transkripcie pomocou transkripčných faktorov:



Bioinformatický problém: zisti, ktoré faktory ovplyvňujú ktorý gén, kde presne sa viažu.

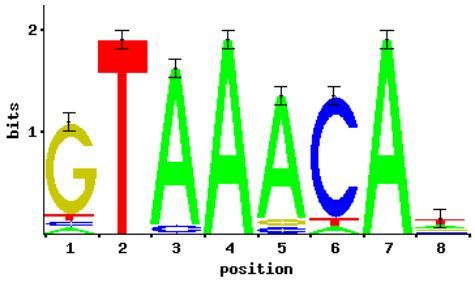
Technológia: microarray



Meranie množstva mRNA prítomnej v bunke pre **veľa génov** naraz.
Zopakujeme za rôznych podmienok, študujeme korelácie medzi génmi.
Môžu byť dôsledkom spoločného regulátora (transkripčného faktoru).

Bioinformatický problém:

niekoľko ko-regulovaných génov,
nájdi motív, ku ktorému sa môže viazať spoločný transkripčný faktor **(motif finding)**



Príklad microarray dát

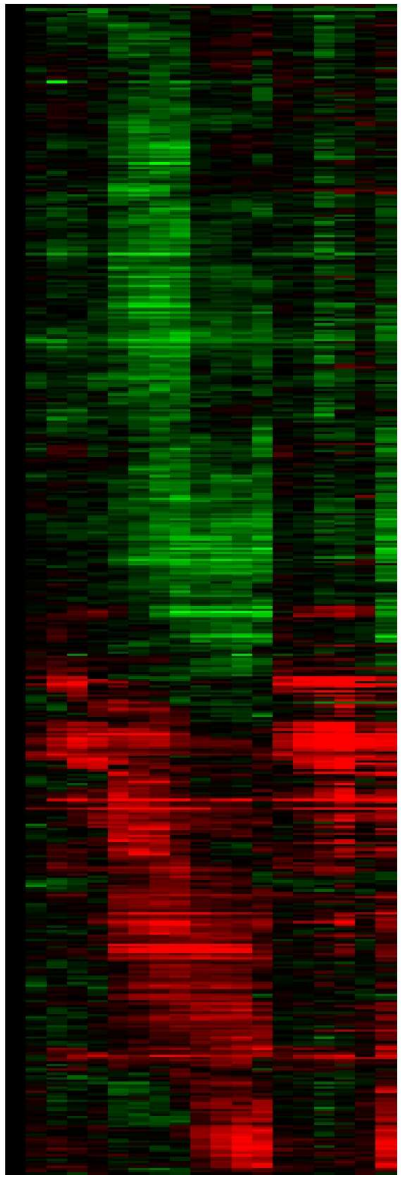
Pomer expresie génu v meranej a kontrolnej vzorke fg/bg

Červená: fg>bg

Zelená: fg<bg

517 génov

19 experimentov



Mutácie DNA

V DNA občas dochádza k zmenám, mutáciám
(napr. pod vplyvom prostredia, či chybou pri replikácii).

Typy mutácií:

substitúcia, substitution (jedna báza sa zmení na inú),
inzercia, insertion (vloží sa niekoľko nových báz),
delécia, deletion (vynechá sa niekoľko báz),
zmeny väčšieho rozsahu (napr. translokácie).

Bioinformatické problémy:

Ktoré sekvencie vznikli z spoločného predka mutovaním?
(hľadanie homológov, homology search)
Ktoré bázy v dvoch príbuzných sekvenciách si navzájom zodpovedajú?
(sequence alignment, zarovnávanie sekvencií)

Populačná genetika

Mutácie sa šíria v populácii z rodičov na potomkov.
Nebezpečné mutácie rýchlejšie vymiznú, prospešné sa rýchlejšie ujmú (prírodný výber, natural selection).

Polymorfizmus: genetický rozdiel medzi organizmami v rámci druhu.
Vedie k rozdielnosti vo fenotype, napr. výzor, dedičné choroby.
Sekvenovaním viacerých jedincov toho istého druhu získame prehľad o polymorfizme.

Bioinformatický problém:
Nájdi polymorfizmus zodpovedný za určitý znak (napr. chorobu).

Evolúcia

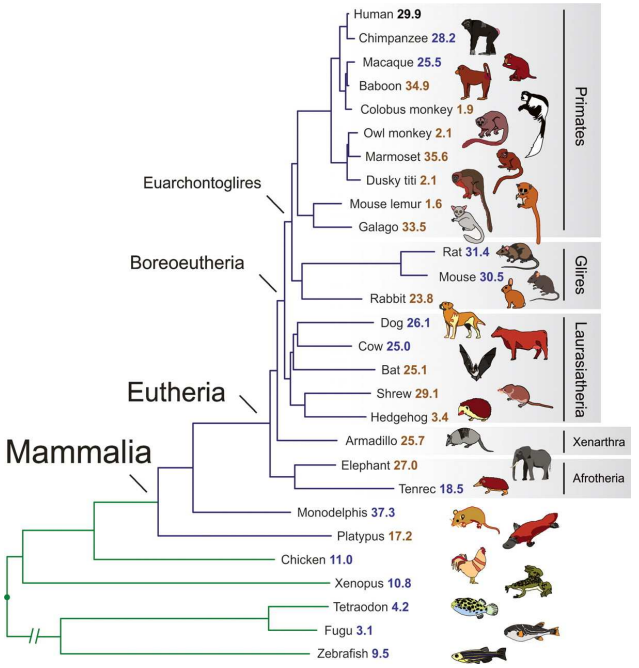
Vznik nových druhov (speciation):

Po rozdelení populácie na viacero oddelených častí nedochádza k výmene genetického materiálu.

Hromadia sa zmeny až kým nie je možné párenie: vznik nových druhov.

Bioinformatický problém:

Na základe dnešných sekvencií urči strom reprezentujúci vývoj druhov (fylogenetický strom, phylogenetic tree)



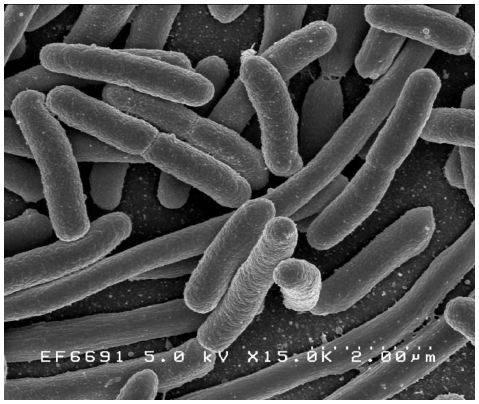
Prokaryotické vs. eukaryotické organizmy

Prokaryoty: baktérie, jednoduché jednobunkové organizmy.
Nemajú jadro (DNA priamo v cytoplazme),
majú kruhový chromozóm (a prípadné kratšie plasmidy),
jednoduchšia štruktúra génu atď.

Eukaryoty: živočíchy, rastliny, huby, niektoré jednobunkové organizmy.
Bunka obsahuje jadro s DNA, viacero organel.
Mitochondrie a chloroplasty sú pohltené prokaryoty, ktoré sa stali časťou eukaryotickej bunky.
Dlhší genóm v niekoľkých lineárnych chromozómoch.

Modelové organizmy

Dôležité pre biologický výskum, vieme o nich viac než o príbuzných druhoch. Poznatky širšie aplikovateľné.



Escherichia coli: baktéria žijúca v črevách. Jednoduchá manipulácia, delenie každých 20 min. Štúdium základných životných procesov: DNA replikácia, expresia génov, atď. Genóm s 4000 génmi, 4.6MB.

Saccharomyces cerevisiae: pekárske droždie. Jednoduchý eukaryotický organizmus. Genóm s 6000 génmi, 13MB. Delenie každé 2 hodiny. Štúdium špecificky eukaryotických javov.

Modelové organizmy

Arabidopsis thaliana: malá kvitnúca rastlina, 6-týždňový životný cyklus. Skúmanie javov špecifických pre rastliny.

Caenorhabditis elegans: malý červ, nematód, žijúci v pôde. Štúdium vývinu (ontogenéza, development), diferenciácie buniek.

Drosophila melanogaster: vínna muška. Štúdium genetiky, gény riadiace vývin jedinca.

Stavovce: žaba Xenopus laevis (veľké, ľahko manipuľovateľné vajíčka), akvarijná ryba Danio rerio (priehľadné embryá), myš Mus musculus (existuje veľa plemien so špeciálnymi vlastnosťami).

Dostupné dáta

- DNA sekvencie: celé genómy, ich časti
- Ich anotácia: súradnice génov a iných funkčných častí
- Sekvencie RNA, ich štruktúra
- Sekvencie proteínov, ich funkcia a štruktúra
- Merania množstva RNA/proteínu v bunke
- ...

Dáta založené na experimentoch alebo výsledky výpočtových metód
Veľa chýb (v oboch prípadoch)

Ďalšie informácie

- Zvelebil, Baum: Understanding Bioinformatics, kap. 1
- Vysokoškolské učebnice molekulárnej biológie
- Anglická wikipédia
- Tutoriály na stránke predmetu

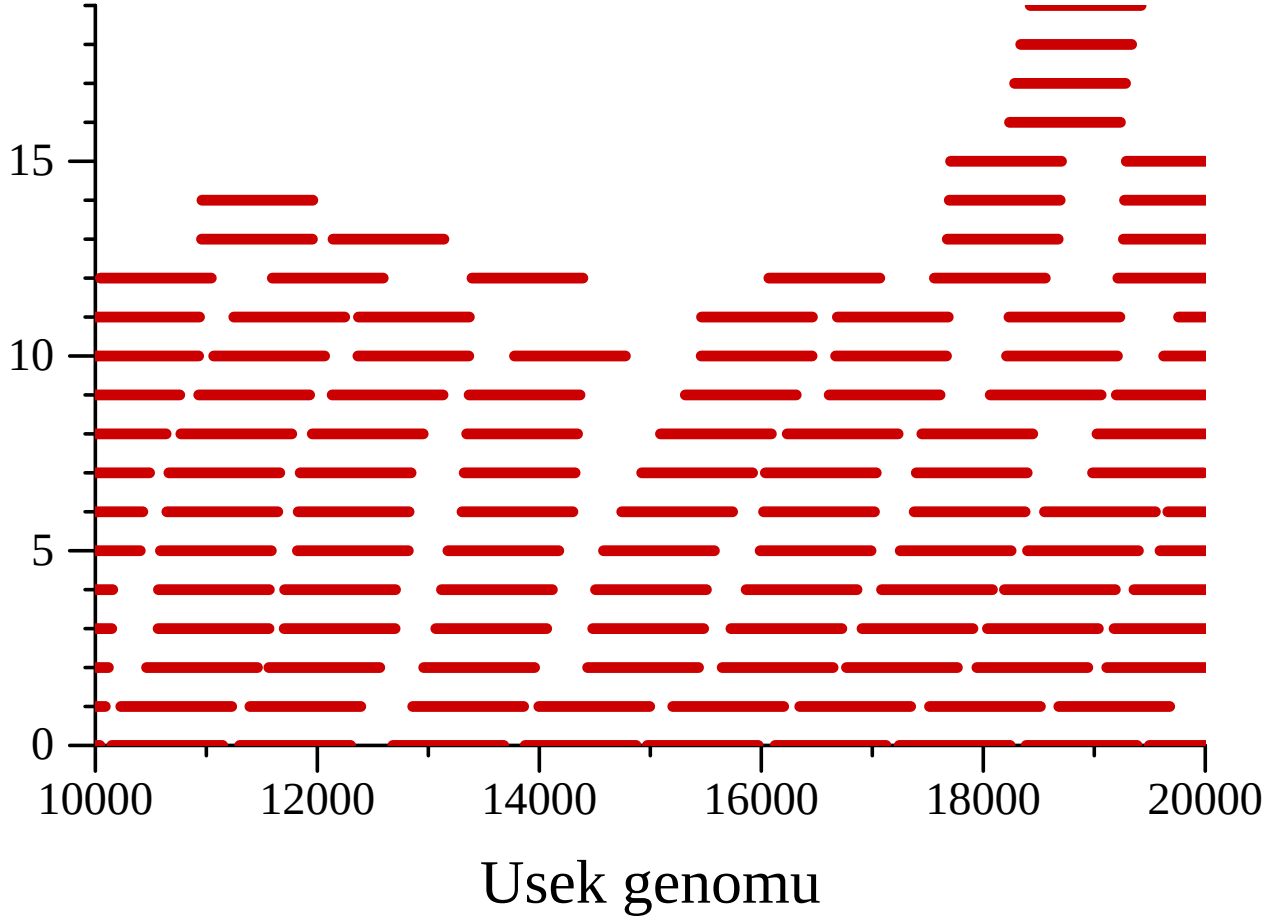
Úvod do pravdepodobnosti, sekvenovanie genómov (cvičenie)

Askar Gafurov

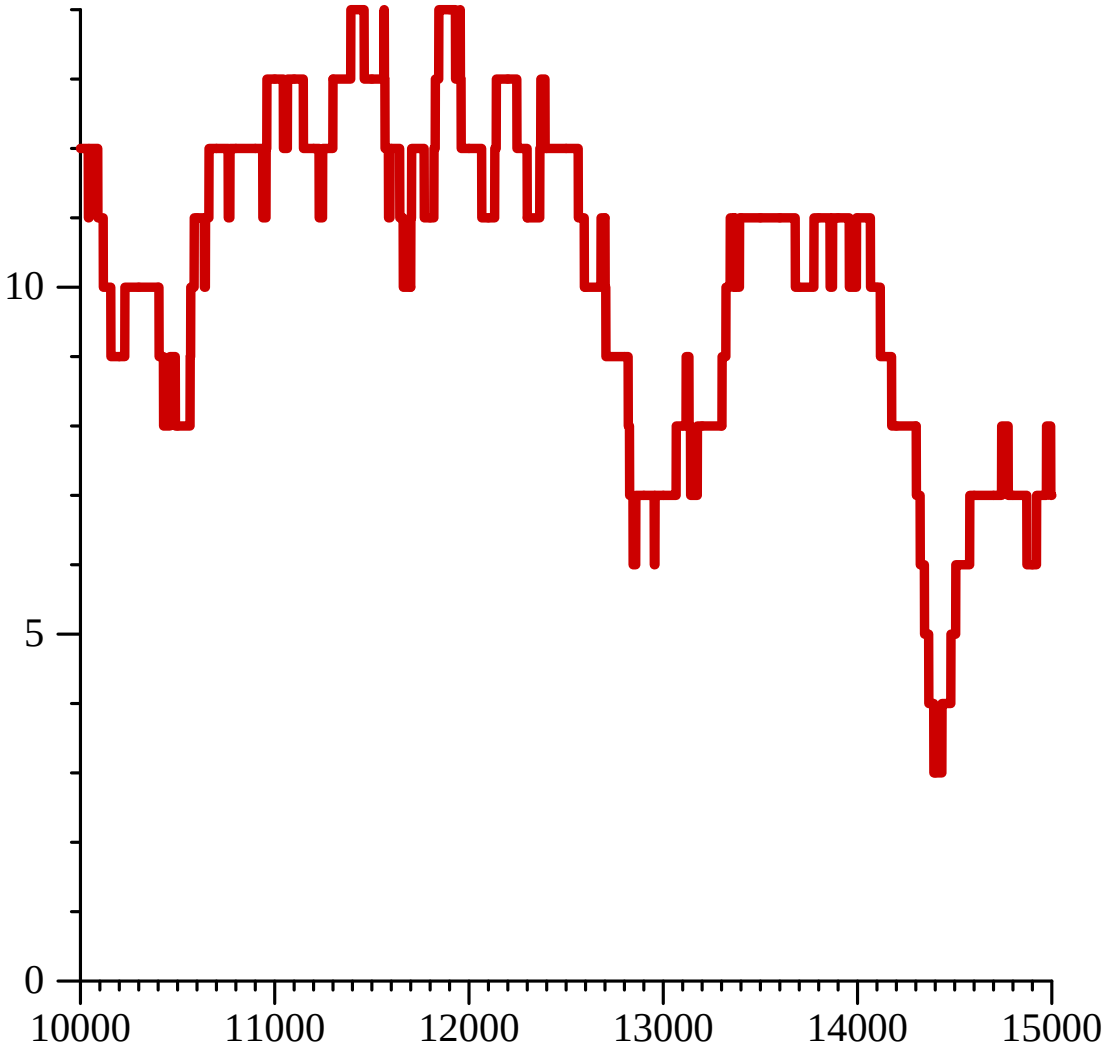
3.10.2019

- $G =$ dĺžka genómu, napr. 1 000 000
- $N =$ počet čítaní (readov), napr. 10 000
- $L =$ dĺžka čítania, napr. 1000
- $T =$ potrebná dĺžka prekryvu, napr. 50

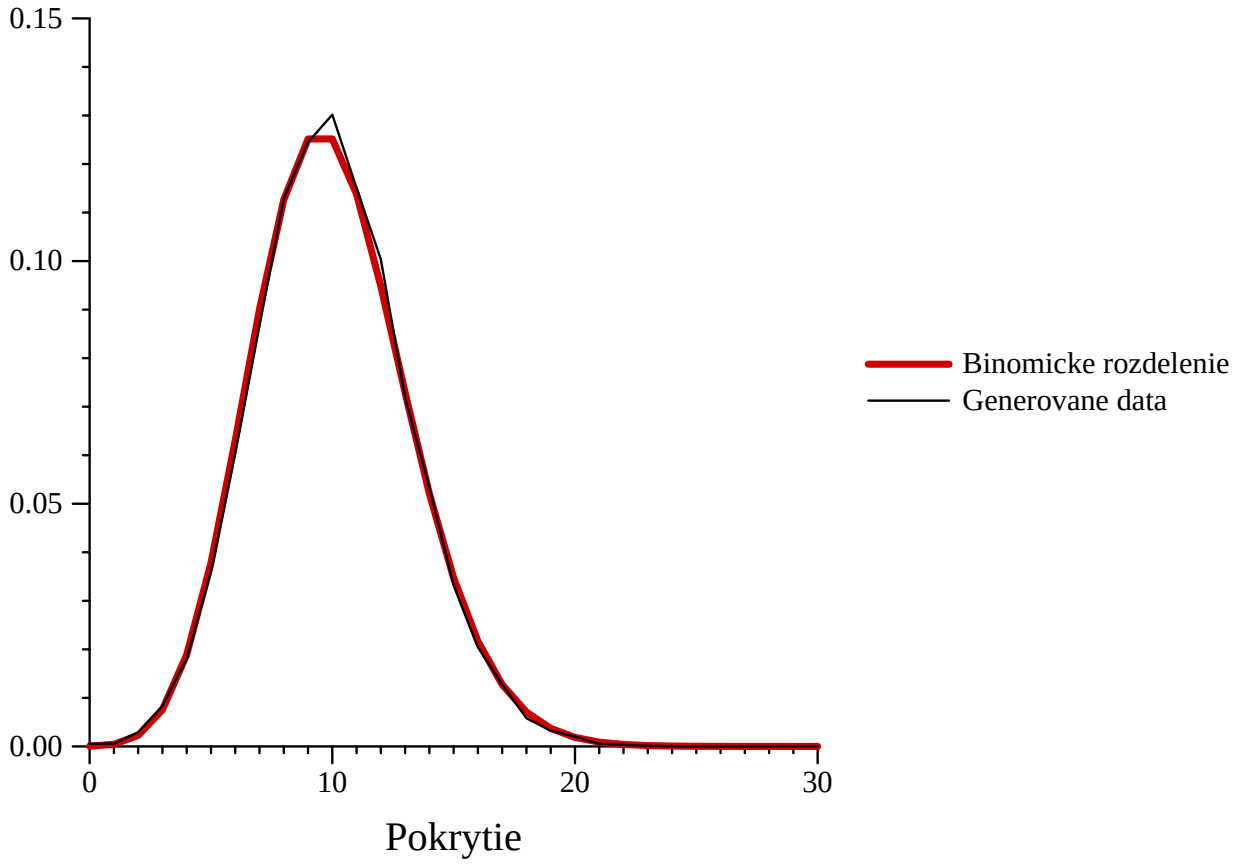
Náhodne generované čítania



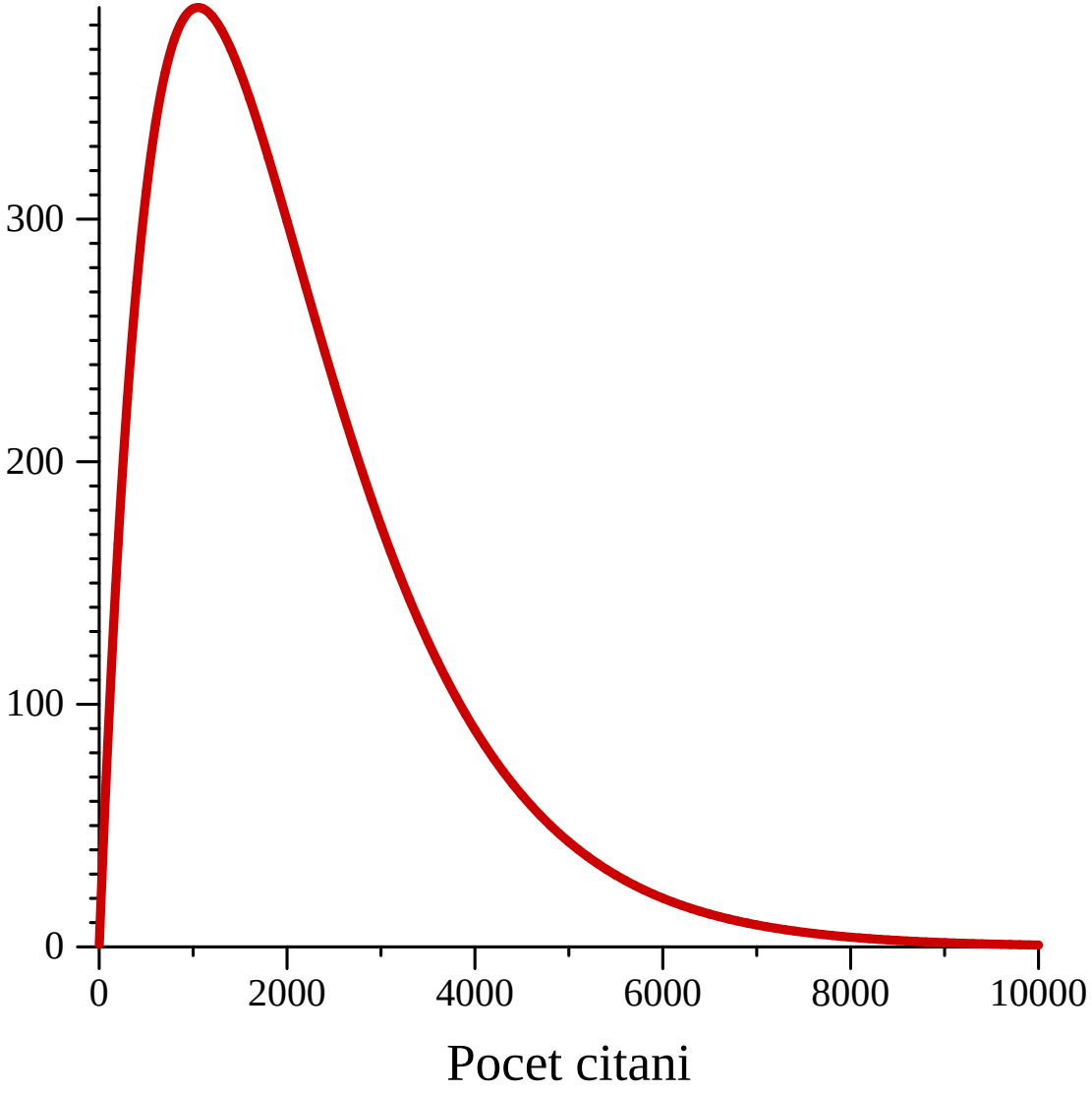
Pokrytie jednotlivých báz



Počet báz s určitým pokrytím



Predpokladaný počet kontigov od počtu čítaní



```
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 274 koncov: 2
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 122 koncov: 1
nepokr: 13 koncov: 1
nepokr: 265 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 217 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 139 koncov: 2
nepokr: 76 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 103 koncov: 2
nepokr: 69 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 282 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 12 koncov: 1
nepokr: 135 koncov: 1
nepokr: 1 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 3 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 221 koncov: 1
nepokr: 1 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 8 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 111 koncov: 1
nepokr: 56 koncov: 1
nepokr: 10 koncov: 1
nepokr: 130 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 86 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 26 koncov: 1
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 0 koncov: 0
nepokr: 12 koncov: 1
nepokr: 71 koncov: 1
```

Úvod do dynamického programovania, proteomika

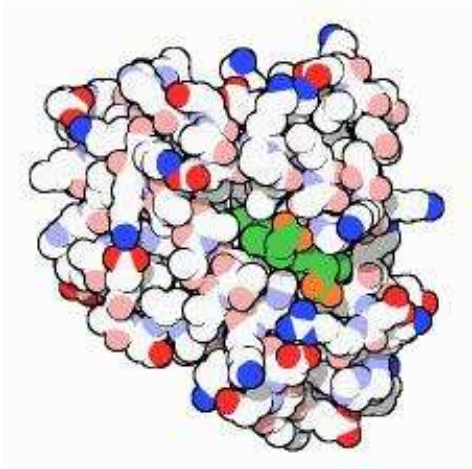
Askar Gafurov

10.10.2019

Proteomika

Proteín: sekvencia pozostáva z 20 rôznych aminokyselín

```
MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADIPGHGQEVLIRLFKGHPETLEKFDKFKHLKSEDEMKASE
DLKKHGATVLTALGGILKKKGHHEAEIKPLAQSHATKHKIPVKYLEFISECIIQVLQSKH
PGDFGADAQGAMNKALELFRKDMASNYKELGFQG
```



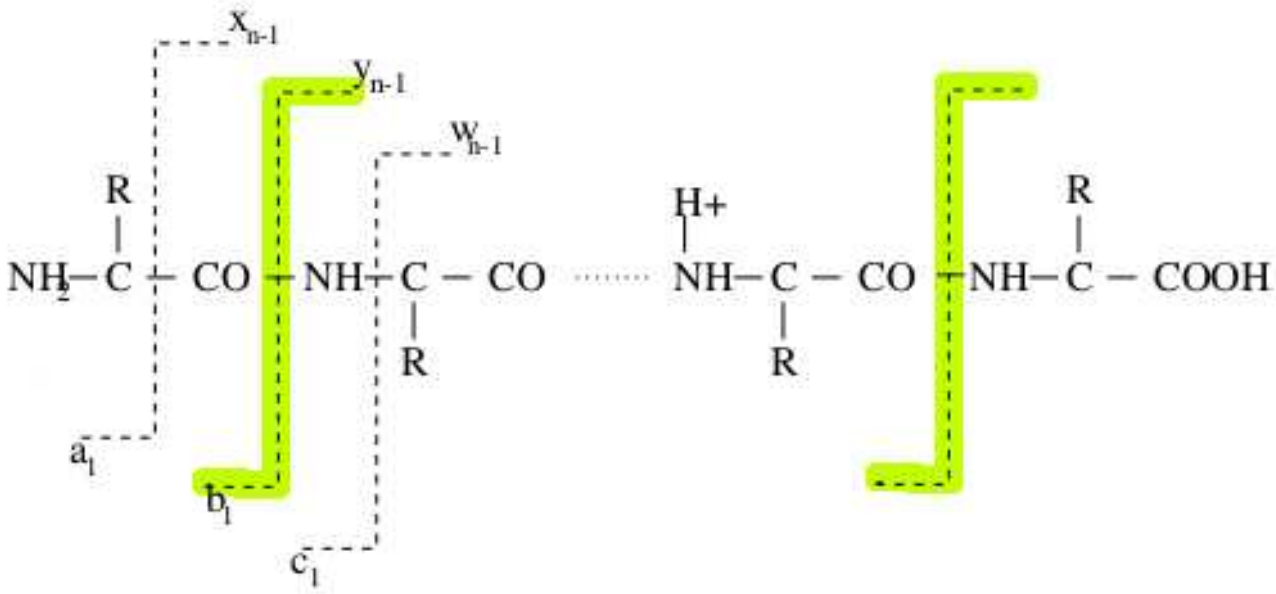
Z bunky sme izolovali určitý proteín, chceme zistiť jeho sekvenciu.

Hmotnostná spektrometria (mass spectometry)

- Meria pomer hmostnosť/náboj molekúl vo vzorke
- Používa sa na identifikáciu proteínov
- Proteín nasekáme enzýmom trypsín (seká na `[KR]{P}`) na peptidy
- Meriame hmostnosť kúskov, porovnáme s databázou proteínov.
- Tandemová hmotnostná spektrometria (MS/MS) ďalej fragmentuje každý kúsok a dosiahne podrobnejšie spektrum, ktoré obsahuje viac informácie
- V niektorých prípadoch tak vieme sekvenciu proteínu určiť priamo z MS/MS, bez databázy proteínov

Tandemová hmotnostná spektrometria MS/MS

Štiepenie peptidu na prefixy a sufixy



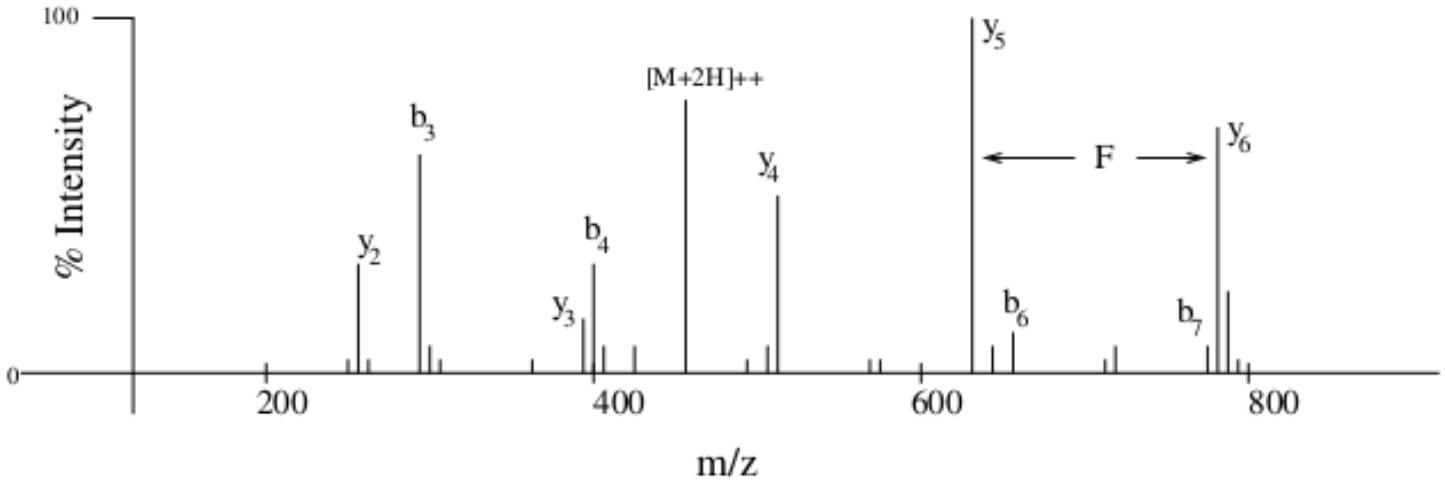
zdroj: Bafna and Reinert

b-ióny: prefixy

y-ióny: sufixy

Tandemová hmotnostná spektrometria MS/MS

88	145	292	405	534	663	778	924	b-ions
S	G	F	L	E	E	D	K	
924	837	780	633	520	391	262	141	y-ions



zdroj: Bafna and Reinert

Sekvenovanie peptidov pomocou MS/MS

Vstup: celková hmotnosť peptidu M,
hmotnosti aminokyselín $a[1], \ldots, a[20]$ (celé čísla),
spektrum ako tabuľka $f[0], \ldots, f[M]$, ktorá hmotnosti určí skóre
podľa signálu v okolí príslušného bodu grafu

Označenie:
Nech $x = x_1 \ldots x_k$ je postupnosť aminokyselín
Nech $m(x) = \sum_{j=1}^{k} a[x_j]$ je hmotnosť x
Nech $\mathcal{M}_P(x) = \{m(x_1 \ldots x_j) \mid j = 1, \ldots, k\}$ sú hmotnosti prefixov x
Nech $\mathcal{M}_S(x) = \{m(x_j \ldots x_k) \mid j = 1, \ldots, k\}$ sú hmotnosti sufixov x

Problém 1: uvažujeme iba b-ióny (prefixy)

Výstup: postupnosť aminokyselín x taká, že $m(x) = M$ a
$\sum_{m \in \mathcal{M}_P(x)} f[m]$ je maximálna možná

Príklad

Uvažujme len 3 aminokyseliny X,Y,Z

$M = 23$, $a[X] = 4$, $a[Y] = 6$, $a[Z] = 7$

m	4	6	7	11	12	17	18	19
$f[m]$	1	1	1	1	1	1	1	1

Hmotnosti prefixov $\mathcal{M}_P(XZYY) =$
$\{m(), m(X), m(XZ), m(XZYY), m(XZYY)\} = \{0, 4, 11, 17, 23\}$

Hmotnosti sufixov $\mathcal{M}_S(XZYY) =$
$\{m(), m(Y), m(YY), m(ZYY), m(XZYY)\} = \{0, 6, 12, 19, 23\}$

Skóre XZYY: $\sum_{m \in \mathcal{M}_P(ZYXX)} f[m] = 0 + 1 + 1 + 1 + 0 = 3$

Skóre XZXXX: $\sum_{m \in \mathcal{M}_P(ZYZZZ)} f[m] =$
$f[0] + f[4] + f[11] + f[15] + f[19] + f[23] = 0 + 1 + 1 + 0 + 1 + 0 = 3$

Sekvenovanie peptidov pomocou MS/MS

Problém 2: uvažujeme prefixy aj sufixy, sčítame ich skóre

Výstup: postupnosť aminokyselín x taká, že $m(x) = M$ a $\sum_{m \in \mathcal{M}_P(x)} f[m] + \sum_{m \in \mathcal{M}_S(x)} f[m]$ je maximálna možná

Problém 3: uvažujeme prefixy aj sufixy, sčítame ich skóre, ale každú hmotnosť započítame najviac raz

Výstup: postupnosť aminokyselín x taká, že $m(x) = M$ a $\sum_{m \in \mathcal{M}_P(x) \cup \mathcal{M}_S(x)} f[m]$ je maximálna možná

Príklad

$M = 23,\ a[X] = 4,\ a[Y] = 6,\ a[Z] = 7$

m	4	6	7	11	12	17	18	19
$f[m]$	1	1	1	1	1	1	1	1

$\mathcal{M}_P(XZYY) = \{0, 4, 11, 17, 23\} \quad \mathcal{M}_S(XZYY) = \{0, 6, 12, 19, 23\}$

$\mathcal{M}_P(XZXXX) = \{0, 4, 11, 15, 19, 23\}$
$\mathcal{M}_S(XZXXX) = \{0, 4, 8, 12, 19, 23\}$

Problém 2: $\sum_{m \in \mathcal{M}_P(x)} f[m] + \sum_{m \in \mathcal{M}_S(x)} f[m]$
Skóre XZYY: $0 + 1 + 1 + 1 + 0 + 0 + 1 + 1 + 1 + 0 = 6$
Skóre XZXXX: $0 + 1 + 1 + 0 + 1 + 0 + 0 + 1 + 0 + 1 + 1 + 0 = 6$

Problém 3: $\sum_{m \in \mathcal{M}_P(x) \cup \mathcal{M}_S(x)} f[m]$
XZYY: $\{0, 4, 6, 11, 12, 17, 19, 23\},\ 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 0 = 6$
XZXXX: $\{0, 4, 8, 11, 12, 15, 19, 23\},\ 1 + 0 + 1 + 1 + 0 + 1 + 0 = 4$

Ekvivalencia problémov

Problém 2: maximalizujeme $\sum_{m \in \mathcal{M}_P(x)} f[m] + \sum_{m \in \mathcal{M}_S(x)} f[m]$

Iná formulácia: maximalizujeme $\sum_{m \in \mathcal{M}_p(x)} g[m]$

kde $g[m] = f[m] + f[M - m]$

Ekvivalencia problémov

Problém 3: maximalizujeme $\sum_{m \in \mathcal{M}_P(x) \cup \mathcal{M}_S(x)} f[m]$

Iná formulácia: maximalizujeme $\sum_{m \in \mathcal{M}_p(x) \cup \mathcal{M}_S(x), m \leq M/2} h[m]$

kde $h[m] = \begin{cases} f[m] + f[M-m] & \text{ak } m < M/2 \\ f[m] & \text{ak } m = M/2 \end{cases}$

Algoritmy pre HMM

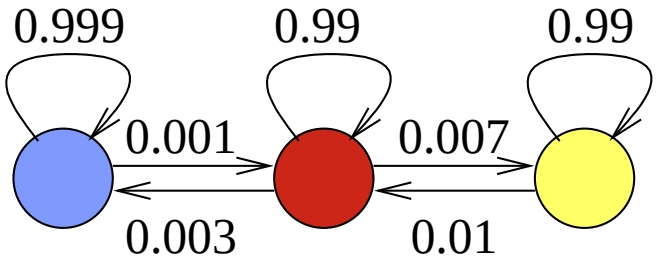
Askar Gafurov

7.11.2019

Opakovanie: HMM (skrytý Markovov model)

→ náhodná DNA sekvencia S, náhodná anotácia A
(podobné na ozajstnú DNA)

$\Pr(S, A)$ – pravdepodobnosť, že model vygeneruje pár (S, A).



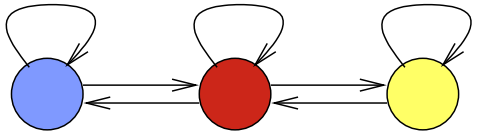
a:0.27	a:0.24	a:0.26
c:0.23	c:0.27	c:0.22
g:0.23	g:0.28	g:0.22
t:0.27	t:0.21	t:0.30

Predpokladajme, že model vždy začína v modrom stave.

$\Pr(\text{aca}) = 0.27 \cdot 0.001 \cdot 0.27 \cdot 0.99 \cdot 0.24 = 0.000017$

$\Pr(\text{aca}) = 0.27 \cdot 0.999 \cdot 0.23 \cdot 0.999 \cdot 0.27 = 0.017$

Parametre HMM (označenie)



Sekvencia $S_1, \ldots, S_n$

Anotácia $A_1, \ldots, A_n$

Parametre modelu:

Prechodová pravdepodobnosť $a(u, v) = \Pr(A_{i+1} = v | A_i = u)$,

Emisná pravdepodobnosť $e(u, x) = \Pr(S_i = x | A_i = u)$,

Počiatočná pravdepodobnosť $\pi(u) = \Pr(A_1 = u)$.

a			
	0.99	0.007	0.003
	0.01	0.99	0
	0.001	0	0.999

e	a	c	g	t
	0.24	0.27	0.28	0.21
	0.26	0.22	0.22	0.30
	0.27	0.23	0.23	0.27

Výsledná pravdepodobnosť: $\Pr(A_1, \ldots, A_n, S_1, \ldots, S_n) = \pi(A_1)e(A_1, S_1) \prod_{i=2}^{n} a(A_{i-1}, A_i)e(A_i, S_i)$

Viterbiho algoritmus

Pre danú sekvenciu S nájde najpravdepodobnejšiu anotáciu
$A = \arg\max_A \Pr(A|S)$

Dynamické programovanie v čase $O(nm^2)$

Podproblém $V[i,u]$: pravdepodobnosť najpravdepodobnejšej cesty končiacej po i krokoch v stave u, pričom vygeneruje $S_1 S_2 \ldots S_i$

Rekurencia:

$V[1,u] = \pi_u \cdot e_{u,S_1}$
$V[i,u] = \max_w V[i-1,w] \cdot a_{w,u} \cdot e_{u,S_i}$

Algoritmus:

Inicializuj $V[1,*]$
for $i = 2 \ldots n$ (n=dĺžka reťazca)
    for $u = 1 \ldots m$ (m =počet stavov)
        vypočítaj $V[i,u]$
Maximálne $V[n,j]$ je pravdepodobnosť najpravdepodobnejšej cesty

Dopredný algoritmus

Počíta celkovú pravdepodobnosť, že vygenerujeme sekvenciu S
$\Pr(S) = \sum_A Pr(A, S)$

Podproblém $F[i, u]$**:** pravdepodobnosť, že po i krokoch vygenerujeme $S_1, S_2, \ldots S_i$ a dostaneme sa do stavu u.

$F[i, u] = \Pr(A_i = u \wedge S_1, S_2, \ldots, S_i) =$
$\sum_{A_1, A_2, \ldots, A_i = u} \Pr(A_1, A_2, ..., A_i \wedge S_1, S_2, ..., S_i)$

Rekurencia:

$F[1, u] = \pi_u \cdot e_{u, S_1}$
$F[i, u] = \sum_v F[i-1, v] \cdot a_{v,u} \cdot e_{u, S_i}$

Celková pravdepodobnosť $\Pr(S) = \sum_u F[n, u]$

Spätný algoritmus

Obdoba dopredného algoritmu

Dopredný algoritmus: $F[i,u] = \Pr(A_i = u \wedge S_1, \ldots, S_i)$

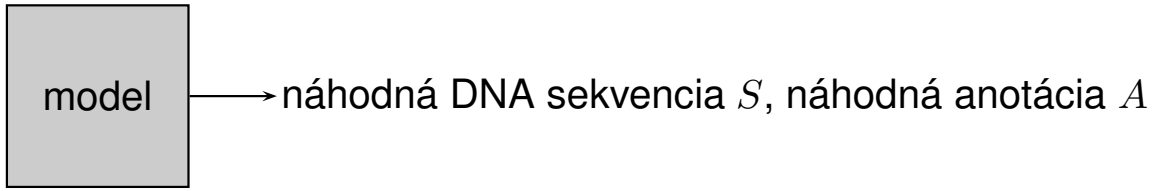
$F[1,u] = \pi_u \cdot e_{u,S_1}$

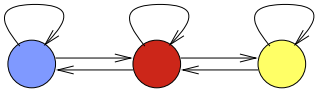
$F[i,u] = \sum_v F[i-1,v] \cdot a_{v,u} \cdot e_{u,S_i}$

$\Pr(S) = \sum_u F[n,u]$

Spätný algoritmus: $B[i,u] = \Pr(S_{i+1} \ldots, S_n | A_i = u)$

Hľadanie génov s HMM



- **Určenie stavov a prechodov v modeli:** ručne, na základe poznatkov o štruktúre génu. 
- **Trénovanie parametrov:** pravdepodobnosti určíme na základe sekvencií so známymi génmi (**trénovacia množina**).
  Model zostavíme tak, aby páry (S, A) s vlastnosťami podobnými skutočným génom mali veľkú pravdepodobnosť $\Pr(S, A)$
- **Použitie:** pre novú sekvenciu S nájdi najpravdepodobnejšiu anotáciu $A = \arg\max_A \Pr(A|S)$ Viterbiho algoritmom

Trénovanie HMM

- Stavový priestor + povolené prechody väčšinou ručne
- Parametre (pravdepodobnosti prechodu, emisie a počiatočné) automaticky z trénovacích sekvencií
- Čím zložitejší model a viac parametrov máme, tým potrebujeme viac trénovacích dát, aby nedošlo k preučeniu, t.j. k situácii, keď model dobre zodpovedá nejakým zvláštnostiam trénovacích dát, nie však ďalším dátam.
- Presnosť modelu testujeme na zvláštnych testovacích dátach, ktoré sme nepoužili na trénovanie.

Trénovanie HMM z anotovaných sekvencií

Vstup: topológia modelu a niekoľko trénovacích párov $S^{(i)}, A^{(i)}$

Cieľ: nastaviť π_u, $e_{u,x}$, $a_{u,v}$ tak, aby $\prod_i \Pr(S^{(i)}, A^{(i)})$ bola čo najväčšia

Dosiahneme jednoduchým počítaním frekvencií

Napr. $a_{u,v}$: nájdeme všetky výskyty stavu u a zistíme, ako často za nimi ide stav v

Trénovanie HMM z neanotovaných sekvencií

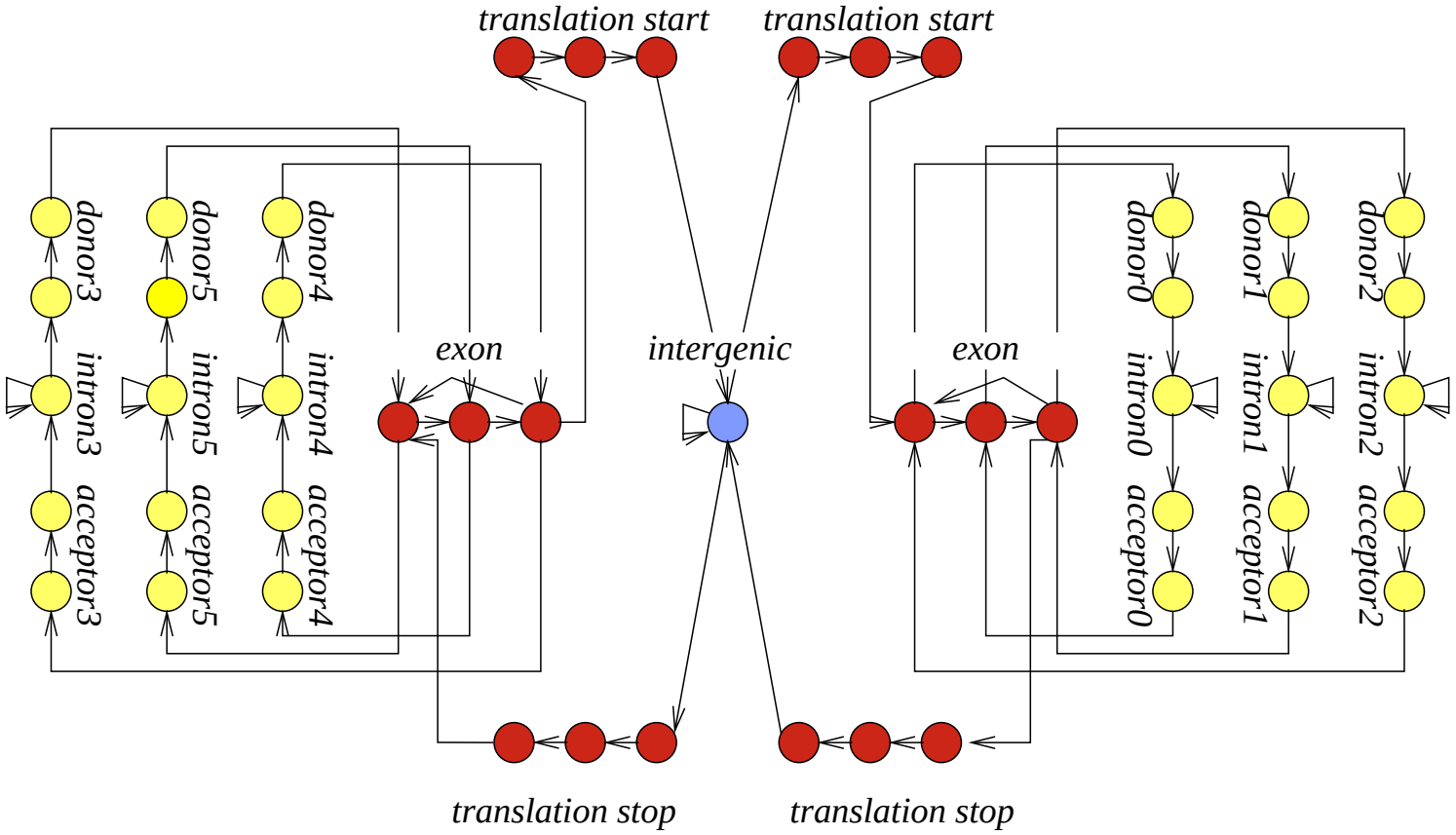
Vstup: topológia modelu a niekoľko trénovacích sekvencií $S^{(i)}$ anotácie $A^{(i)}$ nepoznáme

Cieľ: nastaviť π_u, $e_{u,x}$, $a_{u,v}$ tak, aby $\prod_i \Pr(S^{(i)})$ bola čo najväčšia

Používajú sa heuristické iteratívne algoritmy, napr. Baum-Welchov, ktorý je verziou všeobecnejšieho algoritmu EM (expectation maximization).

Tvorba stavového priestoru modelu

Príklad HMM na hľadanie génov



Substitučné modely

Askar Gafurov

14.11.2019

Substitučné modely, označenie

Nech $P(b|a,t)$ je pravdepodobnosť, že ak začneme s bázou a, tak po čase t budeme mať bázu b.

Matica pravdepodobností prechodu:

$$S(t) = \begin{pmatrix} P(A|A,t) & P(C|A,t) & P(G|A,t) & P(T|A,t) \\ P(A|C,t) & P(C|C,t) & P(G|C,t) & P(T|C,t) \\ P(A|G,t) & P(C|G,t) & P(G|G,t) & P(T|G,t) \\ P(A|T,t) & P(C|T,t) & P(G|T,t) & P(T|T,t) \end{pmatrix}$$

Substitučné modely, požiadavky

- $S(0) = I$
- $\lim_{t\to\infty} S(t) = \begin{pmatrix} \pi_A & \pi_C & \pi_G & \pi_T \\ \pi_A & \pi_C & \pi_G & \pi_T \\ \pi_A & \pi_C & \pi_G & \pi_T \\ \pi_A & \pi_C & \pi_G & \pi_T \end{pmatrix}$

  Rozdelenie π nazývame limitné (equilibrium)
- $S(t_1 + t_2) = S(t_1)S(t_2)$ (multiplikatívnosť)
- Pre Jukes-Cantorov model by navyše malo platiť

$$S(t) = \begin{pmatrix} 1-3s(t) & s(t) & s(t) & s(t) \\ s(t) & 1-3s(t) & s(t) & s(t) \\ s(t) & s(t) & 1-3s(t) & s(t) \\ s(t) & s(t) & s(t) & 1-3s(t) \end{pmatrix}$$

$$S(t) = \begin{pmatrix} 1-3s(t) & s(t) & s(t) & s(t) \\ s(t) & 1-3s(t) & s(t) & s(t) \\ s(t) & s(t) & 1-3s(t) & s(t) \\ s(t) & s(t) & s(t) & 1-3s(t) \end{pmatrix}$$

$$S(2t) = S(t)^2 =$$

$$= \begin{pmatrix} 1-6s(t)+12s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 \\ 2s(t)-4s(t)^2 & 1-6s(t)+12s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 \\ 2s(t)-4s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 & 1-6s(t)+12s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 \\ 2s(t)-4s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 & 2s(t)-4s(t)^2 & 1-6s(t)+12s(t)^2 \end{pmatrix}$$

$$\approx \begin{pmatrix} 1-6s(t) & 2s(t) & 2s(t) & 2s(t) \\ 2s(t) & 1-6s(t) & 2s(t) & 2s(t) \\ 2s(t) & 2s(t) & 1-6s(t) & 2s(t) \\ 2s(t) & 2s(t) & 2s(t) & 1-6s(t) \end{pmatrix}$$

pre $t \to 0$

Matica rýchlostí (matica intenzít, substitution rate matrix)

- Matica rýchlostí pre Jukes-Cantorov model:

$$R = \begin{pmatrix} -3\alpha & \alpha & \alpha & \alpha \\ \alpha & -3\alpha & \alpha & \alpha \\ \alpha & \alpha & -3\alpha & \alpha \\ \alpha & \alpha & \alpha & -3\alpha \end{pmatrix}$$

- Pre veľmi malý čas t je $S(t) \approx I + Rt$
- Rýchlosť α je pravdepodobnosť zmeny za jednotku času pre veľmi krátke t, resp. derivácia $s(t)$ vzhľadom na t v bode 0
- Riešením diferenciálnych rovníc pre Jukes-Cantorov model dostávame $s(t) = (1 - e^{-4\alpha t})/4$

Riešenie pre Jukes-Cantorov model

$$S(t) = \begin{pmatrix} (1+3e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 \\ (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1+3e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 \\ (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1+3e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 \\ (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1-e^{-4\alpha t})/4 & (1+3e^{-4\alpha t})/4 \end{pmatrix}$$

Matica rýchlostí sa zvykne normalizovať tak, aby na jednotku času pripadla v priemere jedna substitúcia, čo dosiahneme ak $\alpha = 1/3$

Substitučné matice, zhrnutie

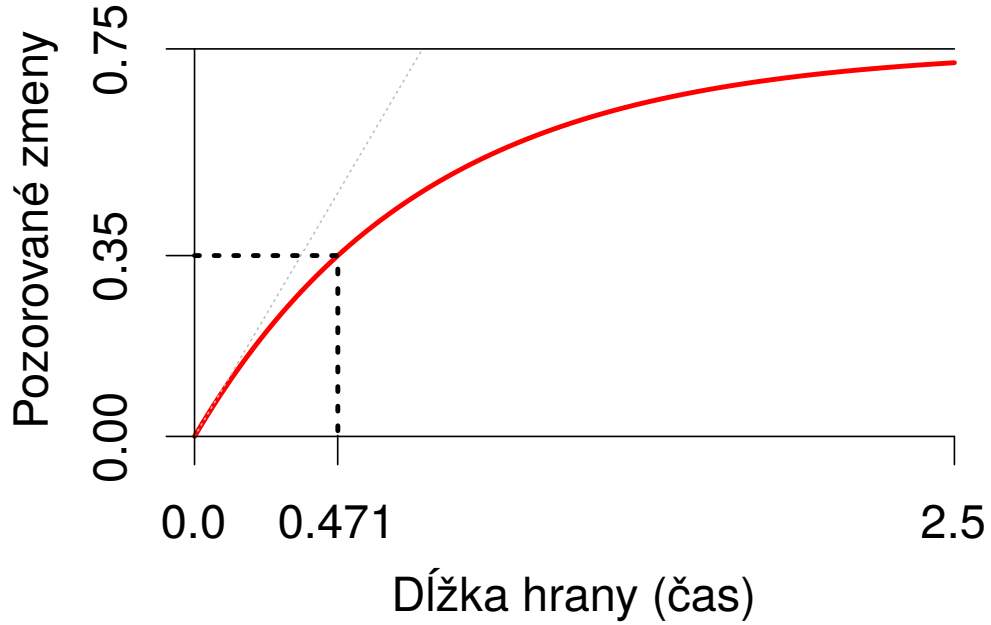
- $S(t)$: matica 4×4, kde políčko $S(t)_{a,b} = P(b|a,t)$ je pravdepodobnosť, že ak začneme s bázou a, tak po čase t budeme mať bázu b.
- Jukes-Cantorov model predpokladá, že $P(b|a,t)$ rovnaká pre každé $a \neq b$
- Pre daný čas t máme mimo diagonály $s(t)$, na diagonále $1 - 3s(t)$
- Matica rýchlostí R: pre J-C model mimo diagonály α, na diagonále -3α
- Pre veľmi malé t máme $S(t) \approx I - Rt$
- Rýchlosť α je pravdepodobnosť zmeny za jednotku času pre veľmi malé t, resp. derivácia $s(t)$ vzhľadom na t v bode $t = 0$
- Riešením diferenciálnych rovníc pre J-C model dostávame $s(t) = (1 - e^{-4\alpha t})/4$
- Matica rýchlostí sa zvykne normalizovať tak, aby na jednotku času pripadla v priemere jedna substitúcia, čo dosiahneme ak $\alpha = 1/3$

Korekcia evolučných vzdialeností

$$\Pr(X_{t_0+t} = C \mid X_{t_0} = A) = \tfrac{1}{4}(1 - e^{-\frac{4}{3}t})$$

Očakávaná frekvencia pozorovaných zmien na bázu za čas t:

$$D(t) = \Pr(X_{t_0+t} \neq X_{t_0}) = \tfrac{3}{4}(1 - e^{-\frac{4}{3}t})$$



Korekcia pozorovaných vzdialeností

$$D = \frac{3}{4}(1 - e^{-\frac{4}{3}t}) \qquad \Rightarrow \qquad t = -\frac{3}{4}\ln(1 - \frac{4}{3}D)$$

Zložitejšie modely

- Všeobecná matica rýchlostí R

$$R = \begin{pmatrix} \cdot & \mu_{AC} & \mu_{AG} & \mu_{AT} \\ \mu_{CA} & \cdot & \mu_{CG} & \mu_{CT} \\ \mu_{GA} & \mu_{GC} & \cdot & \mu_{GT} \\ \mu_{TA} & \mu_{TC} & \mu_{TG} & \cdot \end{pmatrix}$$

- μ_{xy} je rýchlosť, akou sa báza x mení na inú bázu y
- Presnejšie $\mu_{xy} = \lim_{t \to 0} \frac{\Pr(y \mid x,t)}{t}$
- Diagonálu dopočítame tak, aby súčet každého riadku bol 0
- Existujú modely s menším počtom parametrov (kompromis medzi J-C a ľubovoľnou maticou)

Kimurov model

- Zachytáva, že puríny sa častejšie menia na iné puríny (A a G) a pyrimidíny na ine pyrimidíny (C a T)
- Má dva parametre: rýchlosť tranzícií α, transverzií β
- $$R = \begin{pmatrix} -2\beta - \alpha & \beta & \alpha & \beta \\ \beta & -2\beta - \alpha & \beta & \alpha \\ \alpha & \beta & -2\beta - \alpha & \beta \\ \beta & \alpha & \beta & -2\beta - \alpha \end{pmatrix}$$

HKY model (Hasegawa, Kishino, Yano)

- Rozšírenie Kimurovho modelu, umožňuje aj rôzne pravdepodobnosti A, C, G a T v limite (v ekvilibriu)
- Ak nastavíme čas v evolučnom modeli na nekonečno, nezáleží na tom, z ktorej bázy sme začali, frekvencia výskytu jednotlivých báz sa ustáli v tzv. ekvilibriu.
- V Jukes-Cantorovom modeli je pravdepodobnosť každej bázy v ekvilibriu 1/4.
- V HKY si zvolíme aj frekvencie jednotlivých nukleotidov v ekvilibriu $\pi_A, \pi_C, \pi_G, \pi_T$ so súčtom 1
- Parameter κ: pomer tranzícií a transverzií (α/β)
- Matica rýchlostí:

$$\mu_{x,y} = \begin{cases} \kappa\pi_y & \text{ak mutácia z } x \text{ na } y \text{ je tranzícia} \\ \pi_y & \text{ak mutácia z } x \text{ na } y \text{ je transverzia} \end{cases}$$

Od R k $S(t)$

- Pre zložité modely nevieme odvodiť explicitný vzorec na výpočet $S(t)$, ako sme mali pri Jukes-Cantorovom modeli
- Vo všeobecnosti $S(t) = e^{Rt}$
- Exponenciálna funkcia matice A sa definuje ako $e^A = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{1}{k!} A^k$
- Ak R diagonalizujeme $R = UDU^{-1}$, kde D je diagonálna matica, tak $e^{Rt} = Ue^{Dt}U^{-1}$ a exponenciálnu funkciu uplatníme iba na prvky na uhlopriečke D
- Diagonalizácia vždy existuje pre symetrické R (na diagonále vlastné hodnoty)

Cvičenia pre informatikov, 19.12.2019
Zhrnutie semestra

Pravdepodobnostné modely

- Skryté Markovove modely (hľadanie génov, konzervovaných oblastí, fylogenetické HMM, profilové HMM)
- Fylogenetické stromy a substitučné modely
- Stochastické bezkontextové gramatiky
- Gibbsovo vzorkovanie
- Metóda maximálnej vierohodnosti
- Expectation maximization (EM)

Štatistické metódy

- Pojem štatistickej významnosti, E-hodnota a P-hodnota
- Test na pozitívny výber
- Väzbová nerovnováha, mapovanie asociácií

Precvičenie dynamického programovania

- Zarovnávanie sekvencií
  (globálne, lokálne, afínne medzery)
- Skryté Markovove modely (Viterbiho algoritmus)
- Výpočty na stromoch
  (úspornosť, vierohodnosť - Felsensteinov algoritmus)
- Hmotnostná spektrometria (MS/MS)
- Sekundárna štruktúra RNA

Iné

- Celočíselné lineárne programovanie
- deBruijnove grafy
- Zhlukovanie a klasifikácia

Ako modelovať problémy reálneho sveta

- Rozmyslieť si, aké máme dáta, čo by sme chceli ako výsledok
- Sformulovať ako informatický problém (napr. optimalizácia nejakého skóre)
- Pravdepodobnostné modely nám často dovolia zvoliť skórovaciu schému systematickým spôsobom
- Výsledný problém často NP ťažký
  - Heuristiky, aproximačne algoritmy
  - ILP a iné techniky na presné riešenie
  - Nedá sa problém trochu preformulovať?
- Testovanie: sú výpočtové výsledky relevantné v danej doméne? (bola formulácia dostatočne realistická?)

Ďalšie predmety

- **Strojové učenie** 2-INF-150, Vinař/Boža (ZS, 4P, 6kr)
- **Vybrané partie z dátových štruktúr** 2-INF-237, Kováč (ZS, 4P, 6kr)
- **Seminár z bioinformatiky (1)-(4)** 2-AIN-50[56],25[12] (oba semestre, 2S, 2kr)
- **Integrácia dátových zdrojov** 2-INF-185 Brejová, Vinař, Boža (LS, 1P/2C, 4kr)
- **Biológia** N-bCXX-055/1-BIN-101, Tomáška (ZS, 2P, 2kr)
- **Všeobecná biológia** N-bCXX-085/1-BIN-113, Tomáška (LS, 2P, 2kr)
- **Genomika** 2-INF-269, Nosek a kol. (LS, 2P/1C, 4kr)
- **Výzvy súčasnej bioinformatiky** 1-BIN-105, Brejová, Vinař (LS, 2S, 2kr)
- http://compbio.fmph.uniba.sk/vyuka/