Analyse des reads orphelins

Sophie S. Schbath

Analyse des reads orphelins

Sophie Schbath

INRA - MIG

Métagénomique des Eco-systèmes Microbiens, Paris, février 2011

Quels types d'analyses ?

Objectif

- Trouver une structure dans ce grand ensemble de séquences.

Idée 1 : étudier la composition *globale* en "mots" de ces reads

- Mots fréquents (signature) ?
- Mots *significativement* fréquents ? Cad on s'affranchit par ex. de la composition en nucléotides (voire en di-, tri-nucl.).
  → Problème de l'hétérogénéité des compositions : regrouper les reads de compositions homogènes/proches.

Idée 2 : faire des groupes de reads qui se "ressemblent"

- Classification *non supervisée* : aucun a priori sur les groupes et sur leur nombre.
- Groupes les plus homogènes possibles, groupes bien séparés.

Deux familles de méthodes de classification

Méthodes de partitionnement à base de distances. [Cadre géométrique]

- Définir une distance entre 2 séquences.
- Regrouper les séquences “proches”.

Méthodes à base de modèles. [Cadre probabiliste].
On suppose que

- chaque séquence est gouvernée par un modèle,
- les séquences d’un même groupe sont gouvernées par le même modèle
  $\longrightarrow$ un modèle différent par groupe.

Principe des méthodes à base de distances

On dispose de

- n séquences $S_1, \ldots, S_n$,
- une distance entre 2 séquences S_i et S_j : $d(S_i, S_j)$.
  (on peut définir le barycentre d'un ensemble de séquences).

Décomposition de l'inertie du nuage pour K groupes :

$$I = \sum_{i=1}^{n} d^2(S_i, G) = \underbrace{\sum_{k=1}^{K} \sum_{i \in \text{ groupe } k} d^2(S_i, C_k)}_{\text{Inertie intra-groupe}} + \underbrace{\sum_{k=1}^{K} n_k d^2(C_k, G)}_{\text{Inertie inter-groupes}}$$

avec G barycentre de $S_1, \ldots, S_n$, C_k barycentre du groupe k et n_k taille du groupe k

Objectif = trouver la partition à K groupes qui

- minimise l'inertie intra-groupe (= maximise l'inertie inter-groupe)

Distances entre séquences

Il existe beaucoup de distances entre séquences ; Dai et al. (2008) en recense 9.

Elles sont le plus souvent construites à partir des comptages des q-mers de chaque séquence :

$$\mathbf{N}_i = [N_i(\mathtt{aa}\cdots\mathtt{aa}) \quad N_i(\mathtt{aa}\cdots\mathtt{ac}) \quad \ldots \quad N_i(\mathtt{tt}\cdots\mathtt{tt})] \in \mathbb{N}^{4^q}.$$

- Distance euclidienne entre $\mathbf{N}_i/\ell_i$ et $\mathbf{N}_j/\ell_j$.
- Coefficient de corrélation : Fichant & Gautier (1987)
- Distance de Kullback-Leibler : Wu et al. (2001).
- Score D_2 : $D_2 = \sum_{w \in q\text{-mers}} N_i(w)N_j(w)$, Lippert et al.(2002)
- etc.

Ce large évantail pose le problème du choix de la distance.

Partition optimale

Comment trouver la partition de n individus en K groupes qui minimise l'inertie intra-groupe ?

Impossible de considérer toutes les partitions :

- $n = 19$ et $K = 4 \rightarrow$ plus de 10^{10} possibilités
- $n = 100$ et $K = 2 \rightarrow$ plus de 10^{29} possibilités

Solution : ne visiter qu'un nombre restreint de partitions (solution approchée)

- Algorithme des K-means
- Classification Ascendante Hiérarchique

Algorithme des *K*-means

Nombre de groupes K fixé.

Initialisation : on choisit K individus comme centres des K groupes

Algorithme

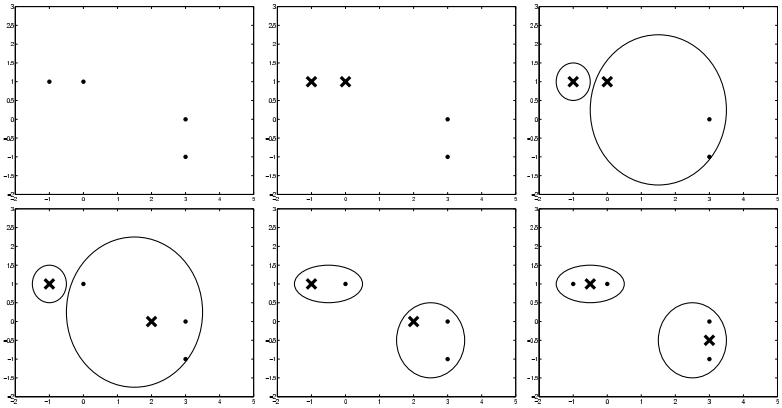
1. Affectation : chaque individu est affecté au centre le plus proche
   $\rightarrow$ on définit ainsi K groupes $G_1, \ldots, G_k$
2. Calcul des nouveaux centres (barycentre) de chaque groupe G_i.

Condition d'arrêt

- Nb fixé d'itérations.
- Les groupes restent les mêmes entre 2 itérations (convergence).

Propriété : l'inertie intra-groupe diminue à chaque itération.

K-means : exemple



K-means : avantages/inconvénients

Avantages :

- simplicité,
- convergence rapide de l'algorithme.

Inconvénients

- instabilité par rapport à l'initialisation,
- minimum local,
- choix du nombre de groupes.

Classification Ascendante Hiérarchique

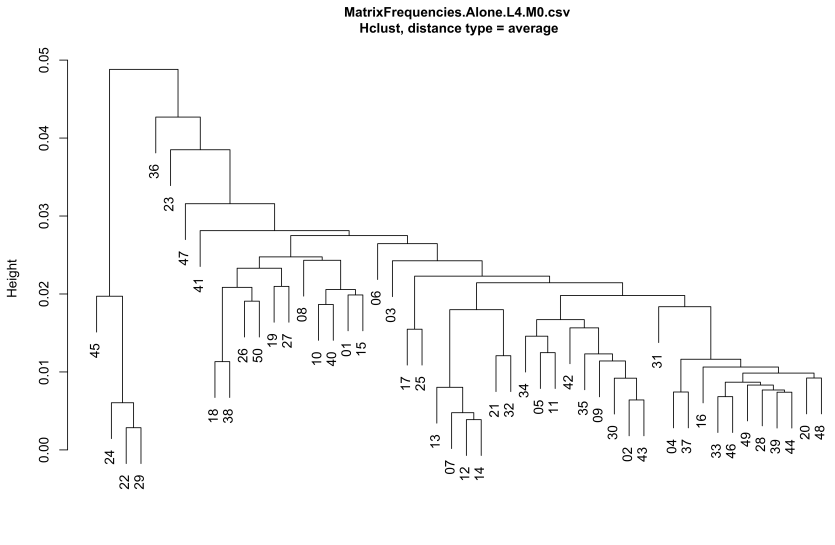
Objectif : construire une suite de partitions emboitées en n groupes, puis $(n-1)$ groupes, ..., en 1 groupe.

Initialisation : les individus constituent des groupes à eux seuls (n groupes)

Algorithme itératif :

- les 2 individus les $+$ "proches" sont réunis en 1 groupe,
- on calcule les distances entre ce nouveau groupe et les $(n-2)$ autres individus
  $\rightarrow$ nécessité de définir une distance entre 2 groupes G_i et G_j
- les 2 "individus" les $+$ "proches" sont réunis en 1 groupe,
- etc. jusqu'à n'obtenir qu'un seul groupe.

CAH : dendrogramme

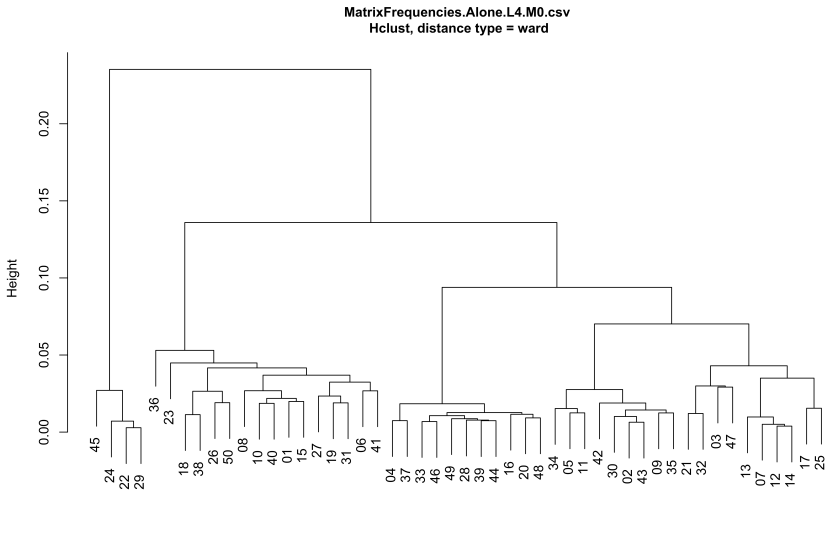


CAH : distance entre groupes

Il existe aussi plusieurs distances entre 2 groupes A et B :

- lien simple : $\min\{d(a,b)$ avec $a \in A, b \in B\}$
- lien complet : $\max\{d(a,b)$ avec $a \in A, b \in B\}$
- lien moyen : $\frac{1}{|A|.|B|} \sum_{a,b} d(a,b)$
- Ward : $d^2(C_A, C_B) \times \frac{|A|.|B|}{|A|+|B|}$
  (on regroupe les deux groupes qui entrainent le plus faible gain d'inertie intra-groupe)

CAH : dendrogramme



CAH : avantages/inconvénients

Avantages

- stabilité (pas d'initialisation),
- pas besoin de choisir le nombre de groupes à l'avance. Il peut être choisi *a posteriori* à partir du dendrogramme.

Inconvénients

- lent dès que n est grand,
  (possibilité de réduire le nombre d'individus en faisant un K-means avant.)
- dépend du choix de la distance entre groupe choisie.

Principe du modèle de mélange

On dispose de n séquences $s_1, \ldots, s_n$.

Mélange de distributions

- Les séquences sont issues de $K < n$ modèles (paramètres θ_k) :

$$(S_i \mid S_i \in \text{ groupe } k) \sim f(\cdot; \theta_k), \quad k = 1, \ldots, K$$

- Distribution de S_i :

$$f(s_i) = \sum_{k=1}^{K} \underbrace{\alpha_k}_{P(S \in \text{ groupe } k)} f(s_i; \theta_k)$$

Objectifs :

- estimer les paramètres (α_k, θ_k)
- calculer les probabilités *a posteriori* d'appartenance aux groupes :

$$P(S_i \in \text{ groupe } k \mid S_i = s_i) = \frac{\alpha_k f(s_i; \theta_k)}{\sum_\ell \alpha_\ell f(s_i; \theta_\ell)}$$

Exemples de modélisation

Modèles sur la composition $\mathbf{N}_i$ de S_i en q-mers

- $\mathbf{N}_i \ell_i$ modélisé par une gaussienne multi-dimensionnelle $\theta_k = (\mathbf{m}_k, \Sigma_k)$.
- $\mathbf{N}_i$ modélisé par un vecteur de variables de Poisson (pb de dépendance).

Modèle sur la séquence S_i

- Analyser $\mathbf{N}_i$ ou la chaîne de Markov stationnaire d'ordre $(q-1)$ qui s'ajuste sur S_i est équivalent car $\mathbf{N}_i$ est la *statistique exhaustive* d'une CM$(q-1)$.
- S_i est modélisée par une chaîne de Markov stationnaire d'ordre $(q-1)$ de probabilités de transition $\Pi_k (= \theta_k)$.

Chaîne de Markov d'ordre $q-1$

On considère une séquence aléatoire $S = X_1 X_2 X_3 \cdots X_\ell$,
$X_i \in \mathcal{A} = \{\mathtt{a}, \mathtt{c}, \mathtt{g}, \mathtt{t}\}$

S est une chaîne de Markov d'ordre $q-1$ ssi

- les lettres X_i ne sont pas indépendantes,
- la loi de la lettre X_i dépend des $(q-1)$ lettres précédentes, $i = 1, \ldots, \ell$,
- la loi de X_i sachant les $(q-1)$ lettres précédentes $X_{i-q+1} \cdots X_{i-1}$ est donnée par les probabilités de transition

$$\pi(a_1 \cdots a_{q-1}, a_q) = P(X_i = a_q \mid X_{i-q+1} \cdots X_{i-1} = a_1 \cdots a_{q-1}).$$

Pour ajuster une CM($q-1$) sur une séquence d'ADN :

$$\widehat{\pi}(a_1 \cdots a_{q-1}, a_q) = \frac{N(a_1 \cdots a_{q-1} a_q)}{N(a_1 \cdots a_{q-1} +)}$$

Estimation par maximum de vraisemblance

On définit $Z_i = k$ si $S_i \in$ groupe k (label).

Si les Z_i étaient observés :

- calculer la vraisemblance $\mathcal{L}(\mathbf{S}, \mathbf{Z}) = P(S_i = s_i, Z_i = z_i, \forall i)$

$$\mathcal{L}(\mathbf{S}, \mathbf{Z}) = \exp\left(\sum_{i=1}^{n}\sum_{k=1}^{K} 1\{z_i = k\} \log(\alpha_k f(s_i; \theta_k))\right)$$

- maximiser cette vraisemblance en $(\alpha_k, \theta_k) \Rightarrow (\widehat{\alpha}_k, \widehat{\theta}_k)$.

Mais les Z_i sont "cachés" :

- on remplace $1\{z_i = k\}$ par $P(Z_i = k \mid S_i = s_i)$,
- on maximise la pseudo-vraisemblance avec l'algorithme EM,

$$\Rightarrow (\widehat{\alpha}_k, \widehat{\theta}_k) \text{ et } \widehat{P}(S_i \in \text{ groupe } k \mid S_i = s_i) = \frac{\widehat{\alpha}_k f(s_i; \widehat{\theta}_k)}{\sum_\ell \widehat{\alpha}_\ell f(s_i; \widehat{\theta}_\ell)}.$$

Mélanges : avantages/inconvénients

Avantages

- algorithme EM est simple et converge vite,
- probabilités *a posteriori* d'appartenance à chacune des K classes,
  $\rightarrow$ classement via la règle du Maximum A Posteriori, (MAP)
- critères théoriques de sélection du nombre K de groupes (ex. ICL)
  $\rightarrow$ pénalisation de la vraisemblance par la taille du modèle.

Inconvénients

- instabilité par rapport à l'initialisation,
- minimum local.

Classification

Pourquoi classer ?

- un objectif en soi : signification des groupes ?
- ou une première étape de l'analyse
  exemple : y a-t-il des motifs sur-représentés dans les groupes de reads sachant leur composition homogène en q-mers ?

Verrous généraux

- choix des distances,
- choix du nombre K de groupes (question de recherche).

Verrous liés aux données métagénomiques : séquences courtes (q doit rester petit) en très grand nombre

- complexité calculatoire,
- fléau de la dimension.