# 有機合成に最適な酵素候補提示のための特徴量エンジニアリングによる EC 番号予測

EC Number Prediction Using Feature Engineering to Present Optimal Enzyme Candidates in Organic Synthesis

武藤 克弥 (Katsuya Muto)
u255018@st.pu-toyama.ac.jp

富山県立大学大学院 電子・情報工学専攻 情報基盤工学部門

N212, 10:00-10:30, Tuesday, February 13, 2024.

# 1. はじめに





## 1.1 研究背景

有機合成化学において，生体触媒の効率性や環境面から化学反応の設計に酵素を生体触媒として利用される機会が増加している．酵素は EC 番号によって分類されており，代謝経路の解析や新たな酵素反応設計のため，機械学習で EC 番号を予測し，酵素の性質を特定する研究が行われている．

## 1.2 本研究の目的

有機合成に用いる酵素を探索する実験コストや時間削減のため，化学反応に最適な酵素候補を EC 番号として予測できる EC 番号予測手法を開発する．

**1. 代謝経路の解明 = 生体の機能の解明**

未知のタンパク質配列
[ MAKLLLLIFGVFIFVNSQAQTFPTILEKHN・・・ ]

どんな性質か知る
**時間　大**
**コスト　大**
→

まず大まかに知りたい
？

**2. 新たな化合物の設計 = 医薬品など**

酵素(生体触媒)
A + B → C

効率よく反応
環境にやさしい

どの酵素最適か？
**時間　大**
**コスト　大**
→

候補絞りたい
？

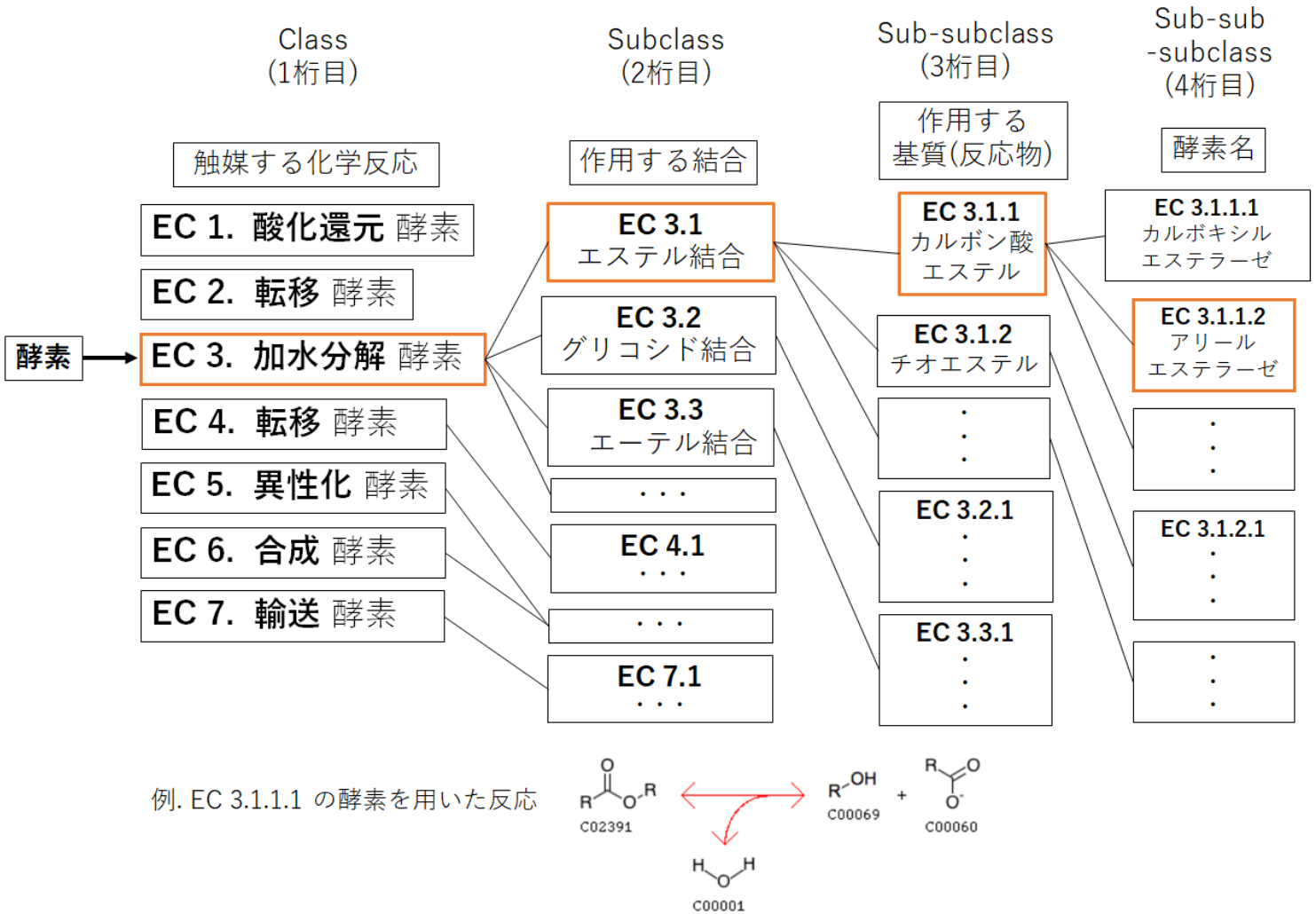
# 2. 酵素と EC 番号





酵素を 4 組の数字 (EC ○. ○. ○. ○) の組み合わせで分類したもの.

EC 番号の機械学習予測 = 酵素候補の絞り込み



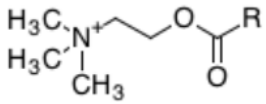
# 3.1 計算機上における化学反応の表現法





## 計算機上で化学反応を表現する各種方法

**構造式**

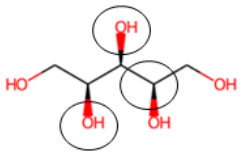


**計算機表現**

**SMILES** *C(=O)OCC[N+](C)(C)C

**フィンガープリント**

(100001011・・・) =



化合物の構造を表現
例1)官能基の有無
例2)分子の結合関係

**物理・化学的特性値**

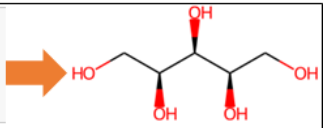
分子量，電荷，疎水性，etc.

例) 化合物A: **(100, 8.32, -0.23, ・・・)**
→化学反応の表現(**特性値ベクトル**)

**RDKit**

**化学のデータ分析モジュール(Python)**
**→210種類の特性値(記述子)**

```
from rdkit import Chem
Xylitol = Chem.MolFromMolFile('Xylitol.mol')
Xylitol
```



```
from rdkit.Chem import Descriptors
print("SMILES: " + Chem.MolToSmiles(Xylitol))
print("分子量: " + str(Descriptors.MolWt(Xylitol)))
print("LogP: "+ str(Descriptors.MolLogP(Xylitol)))
print("TPSA: "+ str(Descriptors.TPSA(Xylitol)))
```

```
SMILES: OC[C@H](O)[C@@H](O)[C@H](O)CO
分子量: 152.14600000000002
LogP: -2.9462999999999995
TPSA: 101.15
```

# 3.2 EC 番号予測手法





## EC 番号予測の目的

酵素探索の短縮:：既存データで学習＆予測精度向上→ (将来的) 未知データ適用

(1)タンパク質配列[1]　**予測範囲：1桁目～4桁目**

画像処理(CNN),自然言語処理(Transformer)ベースの予測

MAKLLLNSQAQTFPTILEKHN・・・

(2)化合物の物理・化学的特性値[2]
分子量，電荷，疎水性など
予測範囲
1桁目～3桁目
データ数小

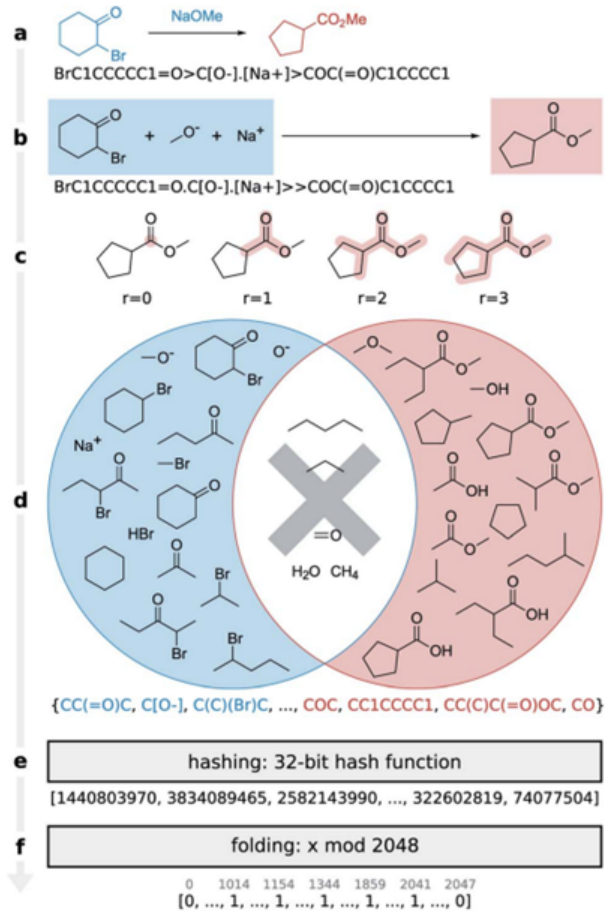
(3)差分反応フィンガープリント[3]
SMILESをハッシュ化
→2048次元のバイナリベクトル
予測範囲
1桁目～3桁目
**データ数大**

EC 番号反応式： 反応物 1 + 反応物 2 ⟷ 生成物 1 + 生成物 2

$$\rightarrow RFP = FP_{\text{生成物 1+生成物 2}} - FP_{\text{反応物 1+反応物 2}}$$

反応物→生成物の変化
=フィンガープリントの変化

有機合成目線




SMILESの2値ベクトル化[3]

# 3.3 機械学習と特徴量エンジニアリング





## ラッパー法による記述子選択 (SequentialFeatureSelector(SFS)[1])

210 種から分類精度を高める**記述子組合せ**を選択

【Step Forward 法】

1. 記述子 $n$ 個から 1 つ選択し，$n$ 種類の分類モデルを作成
2. Macro F1-Score が最も高いモデルの記述子を選択
3. 記述子 $n-1$ 個から新たに 1 つ追加し，$n-1$ 種類の分類モデルを作成
4. Macro F1-Score が最も高いモデルの**記述子組合せ**を選択
5. 指定した記述子数になるまで 3 と 4 を繰り返す.

[1] Mlxtend.feature selection, http://rasbt.github.io/mlxtend/api_subpackages/mlxtend.feature_selection/

# 3.3 機械学習と特徴量エンジニアリング





## ランダムフォレスト (RF)[2] による EC 番号分類

各ノードで情報利得 ($IG$) を最大にする記述子 $f$ と分割閾値を決定

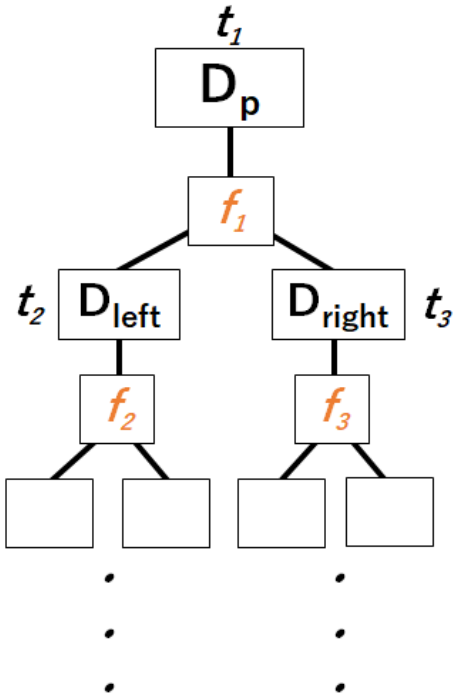
$$IG(D_P, f) = I_{imp}(D_p) - \frac{N_{left}}{N_p} I_{imp}(D_{left}) - \frac{N_{right}}{N_p} I_{imp}(D_{right})$$

$D_p$：上位ノードに属するデータ

$f$：ノード分割に用いる特徴量

$D_{left}$，$D_{right}$：下位ノードに属するデータ

$N_p$，$N_{left}$，$N_{right}$：上位，下位ノードのデータ数




ノード $t$ のジニ不純度：

$$I_{imp}(t) = \sum_{i=1}^{c} p(i|t)(1 - p(i|t)) = 1 - \sum_{i=1}^{c} p(i|t)^2$$

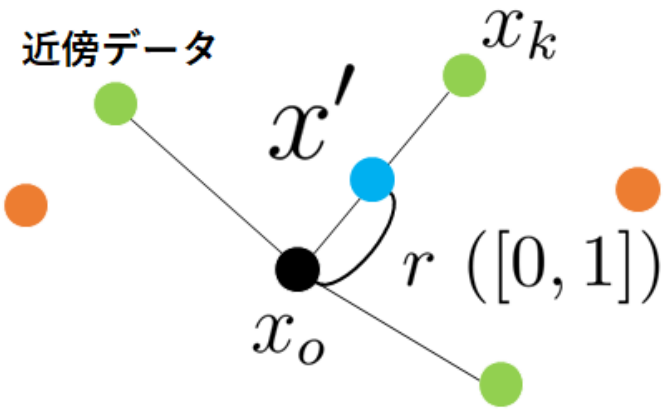
$p(i|t)$：クラス $i$ の割合

$c$：クラス数

[2] Leo Breiman., 2001.

## SMOTE[3] によるオーバーサンプリング

EC 番号データ： 多数クラスと少数クラスのデータ差大きい
→ (多数クラスに比べ) 少数クラスの正分類が難しい




$K = 3$

1. $x_o$ の近傍データ点を $K$ 個選択
2. $K$ 個から 1 個 ($x_k$) 選択
3. $x_o$ と $x_k$ 間に新データ ($x'$) を生成

$$x' = x_o + r(x_k - x_o)$$

**少数クラスを閾値数までオーバーサンプリング**

[3] Nitesh V. Chawla et al., 2002.

# 4.1 提案手法の概要





## RDKit 特性値を用いた EC 番号予測

反応物から生成物に変化するときの 210 種類の特性値変化量を計算

特性値(RDKit)　分子量，電荷，疎水性　官能基1，官能基2，官能基3

化合物　A = (100, 8.32, -0.23, ・・・, 1, 0, 0, ・・・)

210種

B = (99, 9.32, -6.23, ・・・, 0, 0, 0, ・・・)

C = (100, 8.32, -0.23, ・・・)

D = (89, 7.32, 0, ・・・)

反応式：A + B ⟶ C + D

**特徴ベクトル：(A + B) - (C + D)**

**= (10, 2, -6.23, ・・・, 1, 0, -1, ・・・)**

210次元

**有意性**

(2)特性値ベース

＋

(3)フィンガープリント(一部)の組み合わせ

**(3)との比較**

・1~3桁目の予測(同様)

・構造情報 ＋ 物理化学情報

**→化学反応時の特徴をより詳細化**

RDKit特性値(記述子)

特徴ベクトル↓

| | MaxEStateIndex | MinEStateIndex | MinAbsEStateIndex | qed | |
|---|---|---|---|---|---|
| **4.1.1.74** | -7.449074 | -2.629630 | -0.064815 | -0.360209 | -1. |
| **1.2.1.8** | -0.197403 | 1.307870 | 0.405116 | -0.079826 | 0. |
| **2.5.1.85** | 0.593569 | 0.196239 | -2.312624 | 0.488055 | -4. |
| **1.4.1.4** | 0.234718 | -0.413194 | 0.418052 | 0.389325 | 0. |
| **1.1.1.3** | -0.155930 | -0.317778 | 0.059255 | 0.016389 | -2. |
| **...** | ... | ... | ... | ... | |
| **4.4.1.13** | -3.236897 | -0.282721 | -1.272102 | -0.270358 | 5 |
| **2.3.1.-** | -0.286151 | 0.039395 | 0.454936 | -0.386083 | 0. |
| **2.3.1.57** | -0.286151 | 0.039395 | 0.454936 | -0.386083 | 0. |

# 4.1 提案手法の概要

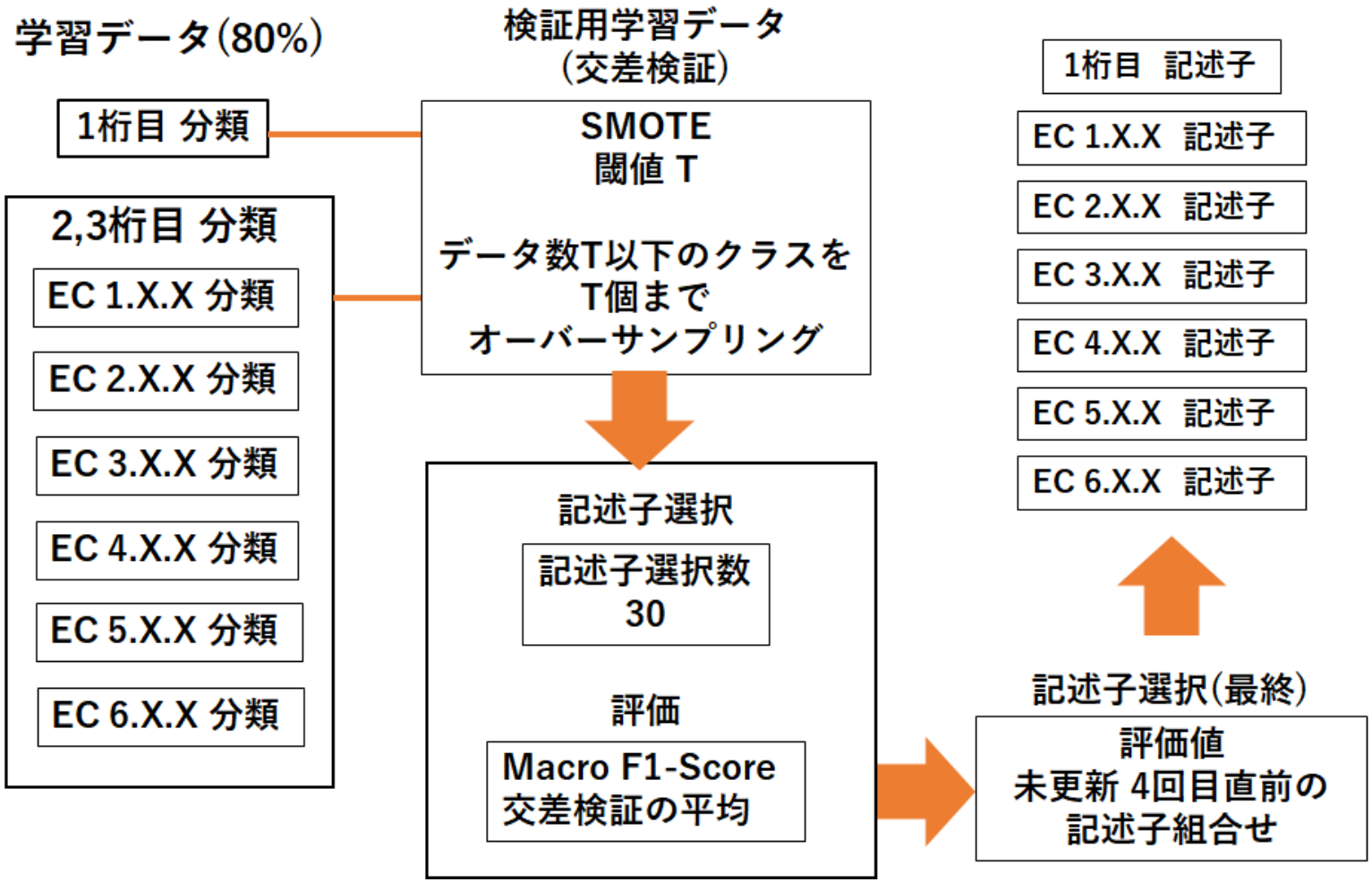




## 特徴ベクトルの多クラス分類

EC 番号の 1〜3 桁目までを多クラス分類

→ EC 番号 1 桁目 + EC T.X.X (T= $1, 2, \cdots, 6$) の分類 (特徴選択) を実施



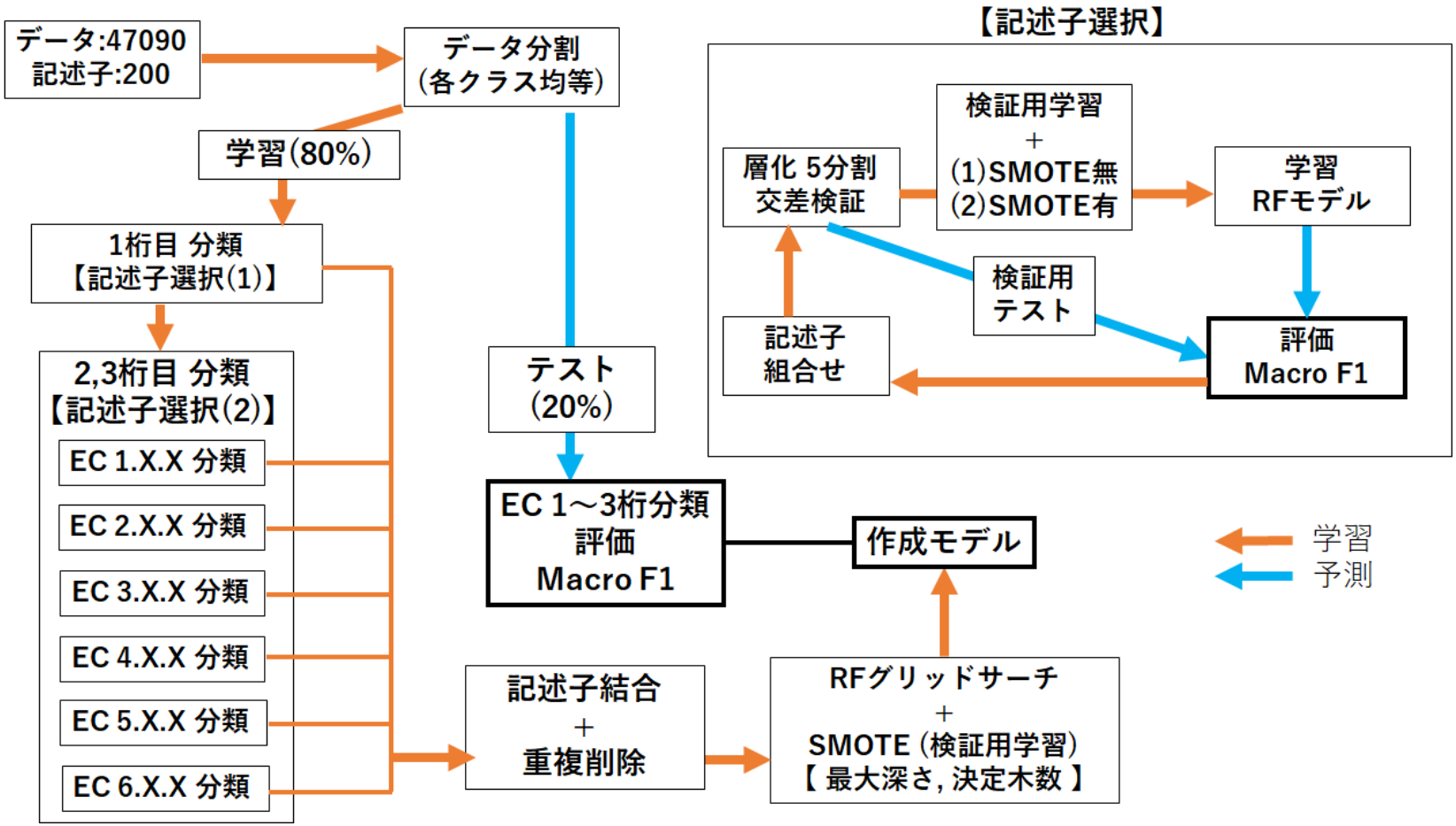
# 4.2 EC 番号予測モデルの構築と予測





## モデル作成・予測手順

EC1, EC2, EC3, EC4, EC5, EC6 の多クラス分類を実行



# 4.3 提案手法の実装と流れ





## デモ動画による説明

# 5.1 数値実験の概要





## 数値実験の流れ

【予備実験 1】SMOTE 適用前と適用後に対するクラス分類精度の比較
【予備実験 2】記述子選択，パラメータ調整 (本実験用)
【本実験】EC1〜3 桁までの多クラス分類

**【予備実験1】RF×記述子選択**

**SMOTE 未適用**

| クラス | データ数 | クラス | データ数 | クラス | データ数 |
|---|---|---|---|---|---|
| 3.1.1 | 122 | 3.2.2 | 24 | 3.5.5 | 12 |
| 3.1.2 | 59 | 3.3.2 | 6 | 3.5.99 | 11 |
| 3.1.3 | 152 | 3.4.13 | 6 | 3.6.1 | 94 |
| 3.1.4 | 29 | 3.4.19 | 7 | 3.7.1 | 35 |
| 3.1.6 | 14 | 3.5.1 | 155 | 3.8.1 | 16 |
| 3.1.7 | 8 | 3.5.3 | 25 | 3.13.1 | 9 |
| 3.2.1 | 131 | 3.5.4 | 47 | 合計 | 962 |

**SMOTE 適用**

**層化5分割交差検証**

**検証用学習データにSMOTE**

# 5.1 数値実験の概要





## 化学反応データの取得と整形

4 つのデータベース (Rhea, BRENDA, MetaNetX, PathBank) からなる SMILES データセット [4] を使用

| rxn | ec | source | rxn | ec | source |
|---|---|---|---|---|---|
| CC(=O)C(=O)[O-]<br>\|4.1.1.74>><br>CC=O.O=C=O | 4.1.1.74 | brenda_<br>reaction_smiles | N[C@@H](CCC(=O)O)C(=O)O.O=C(O)C(=O)Cc1ccccc1<br>\|2.6.1.57>><br>N[C@@H](Cc1ccccc1)C(=O)O.O=C(O)CCC(=O)C(=O)O | 2.6.1.57 | pathbank_<br>reaction_smiles |
| NC(=O)c1ccc[n+]([C@@H]2O[C@H](COP(=O)(O)OP(=O)(O)OC[C@H]3O[C@@H](n4cnc5c(N)ncnc54)[C@H](O)[C@@H]3O)[C@@H](O)[C@H]2O)c1.NCCC=O.O<br>\|1.2.1.8>><br>NC(=O)C1=CN([C@@H]2O[C@H](COP(=O)(O)OP(=O)(O)OC[C@H]3O[C@@H](n4cnc5c(N)ncnc54)[C@H](O)[C@@H]3O)[C@@H](O)[C@H]2O)C=CC1.NCCC(=O)O.[H+] | 1.2.1.8 | brenda_<br>reaction_smiles | O=CC(O)COP(=O)(O)O<br>\|5.3.1.1>><br>O=C(CO)COP(=O)(O)O | 5.3.1.1 | pathbank_<br>reaction_smiles |
| . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . |
| NC(=O)CC[C@H]([NH3+])C(=O)[O-].Nc1ncnc2c1ncn2[C@@H]1O[C@H](COP(=O)([O-])OP(=O)([O-])[O-])[C@@H](O)[C@H]1O.O=P([O-])([O-])O.[H+]<br>\|6.3.1.2>><br>Nc1ncnc2c1ncn2[C@@H]1O[C@H](COP(=O)([O-])OP(=O)([O-])OP(=O)([O-])[O-])[C@@H](O)[C@H]1O.[NH3+][C@@H](CCC(=O)[O-])C(=O)[O-].[NH4+] | 6.3.1.2 | metanetx_<br>reaction_smiles | C[NH+]1CCC[C@@H]1c1ccc(O)nc1.O.O=O<br>\|1.5.3.6>><br>C[NH2+]CCCC(=O)c1ccc(O)nc1.OO | 1.5.3.6 | rhea_<br>reaction_smiles |
| NC(=O)CC[C@H]([NH3+])C(=O)[O-].O<br>\|1.4.1.13>><br>[NH3+][C@@H](CCC(=O)[O-])C(=O)[O-].[NH4+] | 1.4.1.13 | metanetx_<br>reaction_smiles | COc1cc(/C=C/C(=O)OCC[N+](C)(C)C)cc(OC)c1O.O<br>\|3.1.1.49>><br>COc1cc(/C=C/C(=O)[O-])cc(OC)c1O.C[N+](C)(C)CCO.[H+] | 3.1.1.49 | rhea_<br>reaction_smiles |
| . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . |

[4] Daniel Probstl., 2023.

# 5.2 実験結果と考察





## 予備実験 1 結果

EC 3 (20 クラス, 962 データ) 2,3 桁目の多クラス分類比較

SMOTE 未適用

| | precision | recall | f1-score | support |
|---|---|---|---|---|
| 3.1.1. | 0.96 | 0.96 | 0.96 | 25 |
| 3.1.2. | 0.92 | 1.00 | 0.96 | 12 |
| 3.1.3. | 0.91 | 0.94 | 0.92 | 31 |
| 3.1.4. | 0.86 | 1.00 | 0.92 | 6 |
| 3.1.6. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 3 |
| 3.1.7. | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2 |
| 3.13.1. | 1.00 | 0.50 | 0.67 | 2 |
| 3.2.1. | 0.96 | 0.96 | 0.96 | 26 |
| 3.2.2. | 0.83 | 1.00 | 0.91 | 5 |
| 3.3.2. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1 |
| 3.4.13. | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1 |
| 3.4.19. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1 |
| 3.5.1. | 0.94 | 0.97 | 0.95 | 31 |
| 3.5.3. | 0.83 | 1.00 | 0.91 | 5 |
| 3.5.4. | 0.89 | 0.89 | 0.89 | 9 |
| 3.5.5. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 2 |
| 3.5.99. | 1.00 | 0.50 | 0.67 | 2 |
| 3.6.1. | 0.86 | 0.95 | 0.90 | 19 |
| 3.7.1. | 1.00 | 0.71 | 0.83 | 7 |
| 3.8.1. | 1.00 | 0.67 | 0.80 | 3 |
| accuracy | | | 0.92 | 193 |
| macro avg | 0.85 | 0.80 | 0.81 | 193 |
| weighted avg | 0.91 | 0.92 | 0.91 | 193 |

SMOTE適用

| | precision | recall | f1-score | support |
|---|---|---|---|---|
| 3.1.1. | 1.00 | 0.96 | 0.98 | 25 |
| 3.1.2. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 12 |
| 3.1.3. | 0.97 | 0.94 | 0.95 | 31 |
| 3.1.4. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 6 |
| 3.1.6. | 0.75 | 1.00 | 0.86 | 3 |
| 3.1.7. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 2 |
| 3.13.1. | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 2 |
| 3.2.1. | 1.00 | 0.96 | 0.98 | 26 |
| 3.2.2. | 0.71 | 1.00 | 0.83 | 5 |
| 3.3.2. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1 |
| 3.4.13. | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1 |
| 3.4.19. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1 |
| 3.5.1. | 0.94 | 0.97 | 0.95 | 31 |
| 3.5.3. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 5 |
| 3.5.4. | 0.88 | 0.78 | 0.82 | 9 |
| 3.5.5. | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 2 |
| 3.5.99. | 0.67 | 1.00 | 0.80 | 2 |
| 3.6.1. | 0.89 | 0.89 | 0.89 | 19 |
| 3.7.1. | 0.88 | 1.00 | 0.93 | 7 |
| 3.8.1. | 1.00 | 0.67 | 0.80 | 3 |
| accuracy | | | 0.94 | 193 |
| macro avg | 0.86 | 0.88 | 0.87 | 193 |
| weighted avg | 0.94 | 0.94 | 0.94 | 193 |

# 5.2 実験結果と考察





## 予備実験 2 結果

【記述子選択】足し合わせ × 重複削除で 93 種選択

【最適パラメータ】最大深さ 90, 決定木数 300

**SMOTE増加数**

合計の2%
～
最多クラス数

| EC 1.X.X計 | クラス数 | SMOTE 増加数 | 1.1.1 | 1.14.13 | 1.2.1 | ・・・ | 1.4.3 | ・・・ | 1.23.5 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6380 | 64 | 3%(191) | 1745 | 761 | 666 | ・・・ | 156 | ・・・ | 5 |
| EC 2.X.X計 | クラス数 | SMOTE 増加数 | 2.7.8 | 2.3.1 | 2.1.1 | ・・・ | 2.6.1 | ・・・ | 2.7.3 |
| 23160 | 24 | 2%(463) | 10074 | 7309 | 2797 | ・・・ | 280 | ・・・ | 5 |
| EC 3.X.X計 | クラス数 | SMOTE 増加数 | 3.1.1 | 3.1.3 | 3.6.3 | ・・・ | 3.1.4 | ・・・ | 3.3.1 |
| 5377 | 27 | 10%(538) | 2277 | 589 | 508 | ・・・ | 104 | ・・・ | 5 |
| EC 4.X.X計 | クラス数 | SMOTE 増加数 | 4.1.1 | 4.2.1 | 4.1.2 | ・・・ | 4.1.3 | ・・・ | 4.6.1 |
| 1878 | 14 | 20%(376) | 1037 | 361 | 106 | ・・・ | 32 | ・・・ | 5 |
| EC 5.X.X計 | クラス数 | SMOTE 増加数 | 5.5.1 | 5.3.1 | 5.3.3 | ・・・ | 5.4.3 | ・・・ | 5.1.1 |
| 273 | 12 | 最多(80) | 80 | 46 | 44 | ・・・ | 12 | ・・・ | 5 |
| EC 6.X.X計 | クラス数 | SMOTE 増加数 | 6.2.1 | 6.3.2 | 6.3.4 | 6.3.5 | 6.3.1 | 6.4.1 | 6.1.2 |
| 604 | 7 | 最多(266) | 266 | 233 | 30 | 29 | 22 | 18 | 6 |

**記述子選択**
**(本実験用)**

| | 選択記述子数 |
|---|---|
| EC X | 19 |
| EC 1.X.X | 27 |
| EC 2.X.X | 20 |
| EC 3.X.X | 28 |
| EC 4.X.X | 21 |
| EC 5.X.X | 13 |
| EC 6.X.X | 15 |

**記述子結合**
**＋**
**重複削除**

**93種**

# 5.2 実験結果と考察





## 本実験結果 (EC 1 桁〜3 桁の多クラス分類)

84 種の記述子でグリッドサーチしたモデルに Test データを適用

| | EC2 | EC1 | EC3 | EC4 | EC6 | EC5 | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Train | 23160 | 6380 | 5377 | 1878 | 604 | 273 | 37672 |
| Test | 5789 | 1601 | 1345 | 462 | 154 | 67 | 9418 |
| | | | | | | ALL | 47090 |

クラス数 148
テストデータ 9418

| ECクラス | データ数 | Precision | Recall | Macro F1-Score |
|---|---|---|---|---|
| EC 1.X.X | 1601 | 0.80 | 0.78 | 0.78 |
| EC 2.X.X | 5789 | 0.83 | 0.81 | 0.81 |
| EC 3.X.X | 1345 | 0.81 | 0.87 | 0.83 |
| EC 4.X.X | 462 | 0.86 | 0.85 | 0.84 |
| EC 5.X.X | 67 | 0.66 | 0.71 | 0.68 |
| EC 6.X.X | 154 | 0.96 | 0.75 | 0.81 |
| 合計 | 9418 | | | |
| Macro Average | | 0.81 | 0.80 | 0.79 |
| Weighted Average | | 0.96 | 0.95 | 0.95 |
| Accuracy | | 0.95 | | |

# 5.2 実験結果と考察





## 考察

・選ばれた各 EC クラスの記述子
→どのような種類の記述子が集まっているのか分析
→分析結果〜〜〜
→フィンガープリントの手法では得られないもの

# 6 おわりに





## おわりに

- SMOTE によるオーバーサンプリングの有効性を示した
- 多クラス分類で得られた記述子の分析
  →さらに優れたモデルの構築

## 今後の課題

- EC 番号 4 桁目までの予測
- 実際実験に利用