

Analyse von RAD-Seq-Daten unter Berücksichtigung von Sequenzierfehlerraten und Heterozygotiewahrscheinlichkeiten

Antonie Vietor

1. März 2021

Technische Universität Dortmund
Fakultät für Informatik
Lehrstuhl 11
Bioinformatics for High-Throughput Technologies
<http://ls11-www.cs.tu-dortmund.de/>

In Kooperation mit:
Universität Duisburg-Essen
Genome Informatics
<http://genomeinformatics.uni-due.de/>

Aufbau von DNA und RNA

Aufbau der DNA

- besteht aus Nukleotiden
- jedes **Nukleotid** besteht aus einem Zuckermolekül (Desoxyribose), einem Phosphatrest und einer Base
- **Basen**: A (Adenin), T (Thymin), G (Guanin), C (Cytosin)
- meist **doppelsträngig**
- dient vor allem der **Informationsspeicherung** (Erbinformation)

Aufbau von DNA und RNA

Aufbau der DNA

- besteht aus Nukleotiden
- jedes **Nukleotid** besteht aus einem Zuckermolekül (Desoxyribose), einem Phosphatrest und einer Base
- **Basen**: A (Adenin), T (Thymin), G (Guanin), C (Cytosin)
- meist **doppelsträngig**
- dient vor allem der **Informationsspeicherung** (Erbinformation)

Unterschiede im Aufbau der RNA

- **Nukleotide**: das Zuckermolekül ist Ribose
- **Basen**: Uracil (U) statt Thymin
- meist **einzelsträngig**
- viele Funktionen, dient unter anderem der **Informationsübertragung** bei der Proteinbiosynthese

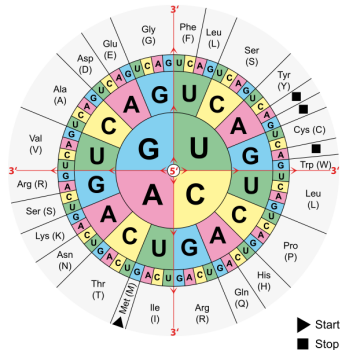
Struktur der DNA

- **Doppelhelixstruktur**
- **Komplementarität:** selektive Basenpaarung von A und T und ebenso von G und C
- **Antiparallelität:** in der Doppelhelix sind die beiden DNA-Stränge gegenläufig zu einander
- **Gene:** Wechsel von codierenden (Exons) und nicht-codierenden Abschnitten (Introns)
- zwischen den Genen nicht-codierende Bereiche, z.T. mit regulatorischen Funktionen
- ca. 98 % der DNA sind nicht-codierend

Proteinbiosynthese

Genetischer Code

- Codierung der **DNA-Sequenz** in eine **Aminosäuresequenz**, welche die Primärstruktur der Proteine darstellt
- **Basentriplets** (Codons) codieren für i.d.R. 20 Aminosäuren sowie ein Start- und drei Stop-Codons
- **Degeneration**: mehrere Basentriplets können für die gleiche Aminosäure codieren

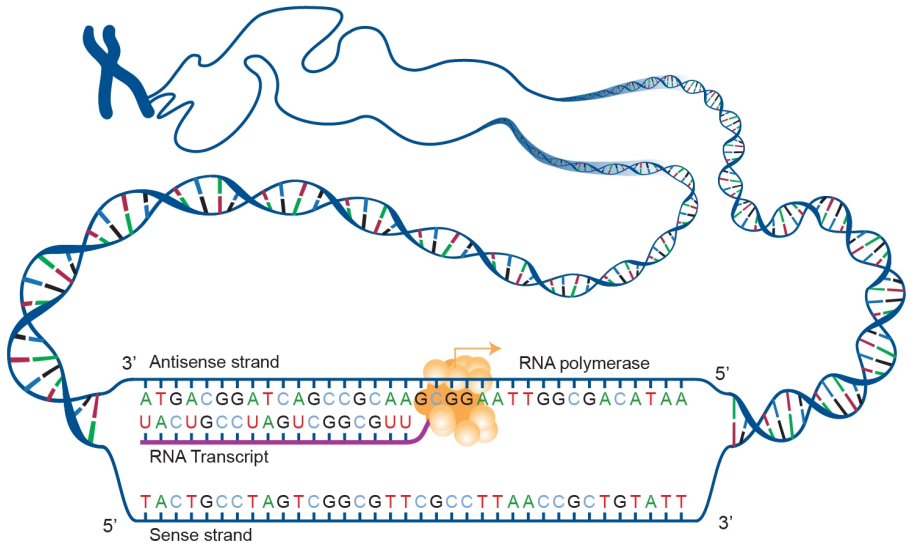


Bildquelle: [1]

Transkription

Umschreiben eines DNA-Abschnitts zu Arbeitskopien in Form von **mRNA** (messenger RNA)

Proteinbiosynthese



Bildquelle: [2]

Translation

- **Übersetzen** der Basensequenz in die Aminosäuresequenz mit Hilfe von **tRNA** (transfer RNA)

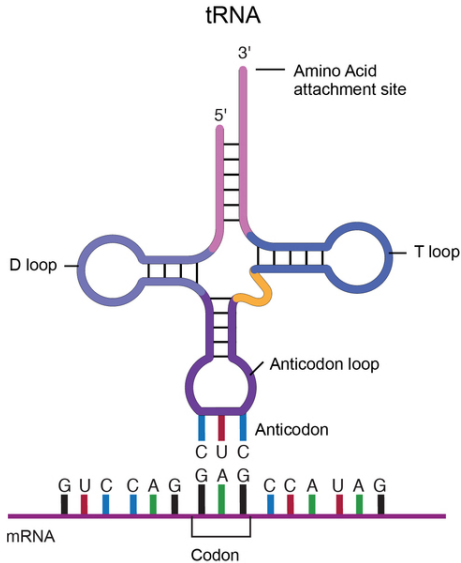
Translation

- **Übersetzen** der Basensequenz in die Aminosäuresequenz mit Hilfe von **tRNA** (transfer RNA)
- Aufbau der tRNA:
 - ⇒ **mRNA-Bindungsstelle** bestehend aus einem Basentriplett

Translation

- **Übersetzen** der Basensequenz in die Aminosäuresequenz mit Hilfe von **tRNA** (transfer RNA)
- Aufbau der tRNA:
 - ⇒ **mRNA-Bindungsstelle** bestehend aus einem Basentriplett
 - ⇒ trägt die **korrespondierende Aminosäure (AS)**, die nach dem genetischen Code der mRNA-Bindungsstelle entspricht

Proteinbiosynthese



Bildquelle: [3]

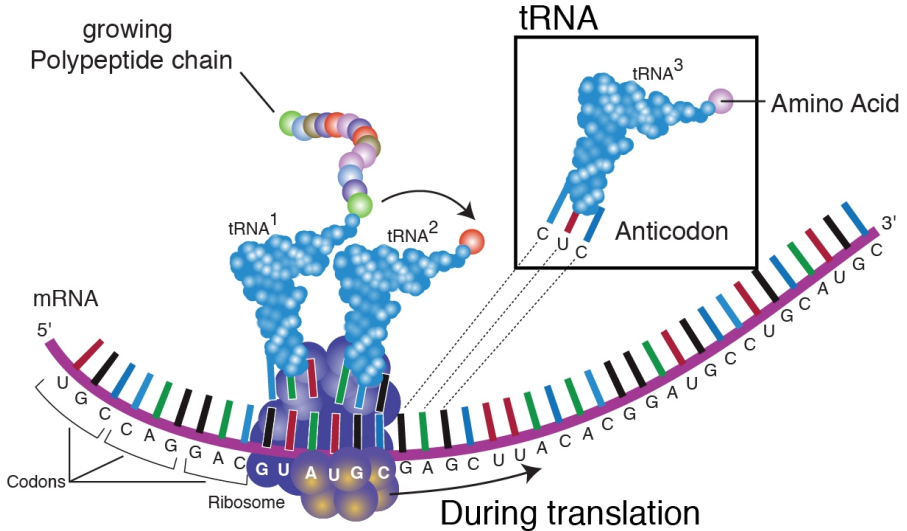
Translation

- **Übersetzen** der Basensequenz in die Aminosäuresequenz mit Hilfe von **tRNA** (transfer RNA)
- Aufbau der tRNA:
 - ⇒ **mRNA-Bindungsstelle** bestehend aus einem Basentriplett
 - ⇒ trägt die **korrespondierende Aminosäure (AS)**, die nach dem genetischen Code der mRNA-Bindungsstelle entspricht

Translation

- **Übersetzen** der Basensequenz in die Aminosäuresequenz mit Hilfe von **tRNA** (transfer RNA)
- Aufbau der tRNA:
 - ⇒ **mRNA-Bindungsstelle** bestehend aus einem Basentriplett
 - ⇒ trägt die **korrespondierende Aminosäure** (AS), die nach dem genetischen Code der mRNA-Bindungsstelle entspricht
- von der Startsequenz ausgehend werden die tRNAs mit komplementärer Bindungsstelle nacheinander an die mRNA gebunden, dadurch wird ihre AS gelöst und an die AS der nachfolgenden tRNA gebunden ⇒ es entsteht eine **Aminosäuresequenz**

Proteinbiosynthese



Bildquelle: [4]

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

- 1 Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

- ① Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)
- ② Auftrennung des DNA-Doppelstrangs (**Helikase**)

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

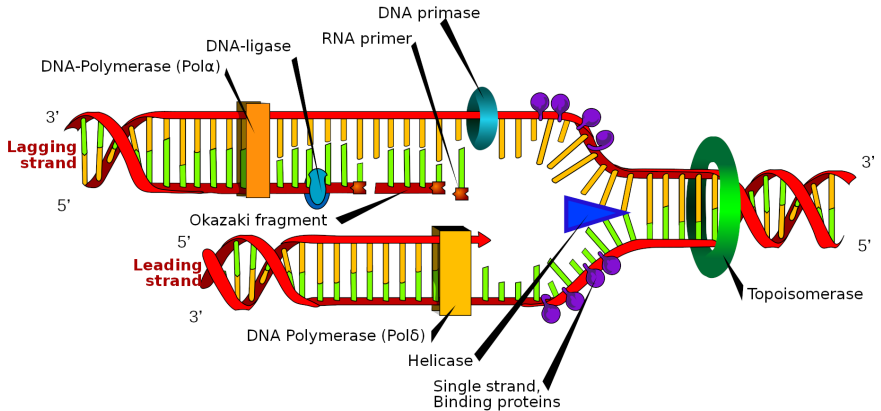
- ① Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)
- ② Auftrennung des DNA-Doppelstrangs (**Helikase**)
- ③ Synthese der RNA-Primer (**Primasen**)

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

- ① Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)
- ② Auftrennung des DNA-Doppelstrangs (**Helikase**)
- ③ Synthese der RNA-Primer (**Primasen**)
- ④ Kopieren der beiden Elternstränge ausgehend von den RNA-Primern (**DNA-Polymerasen**)

DNA-Replikation



Bildquelle: [5]

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

- ① Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)
- ② Auftrennung des DNA-Doppelstrangs (**Helikase**)
- ③ Synthese der RNA-Primer (**Primasen**)
- ④ Kopieren der beiden Elternstränge ausgehend von den RNA-Primern (**DNA-Polymerasen**)

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

- 1 Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)
- 2 Auftrennung des DNA-Doppelstrangs (**Helikase**)
- 3 Synthese der RNA-Primer (**Primasen**)
- 4 Kopieren der beiden Elternstränge ausgehend von den RNA-Primern (**DNA-Polymerasen**)

⇒ es entstehen zwei komplementäre Tochterstränge

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

- ① Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)
- ② Auftrennung des DNA-Doppelstrangs (**Helikase**)
- ③ Synthese der RNA-Primer (**Primasen**)
- ④ Kopieren der beiden Elternstränge ausgehend von den RNA-Primern (**DNA-Polymerasen**)
 - ⇒ es entstehen zwei komplementäre Tochterstränge
 - ⇒ kontinuierliche Synthese des Leitstrangs

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

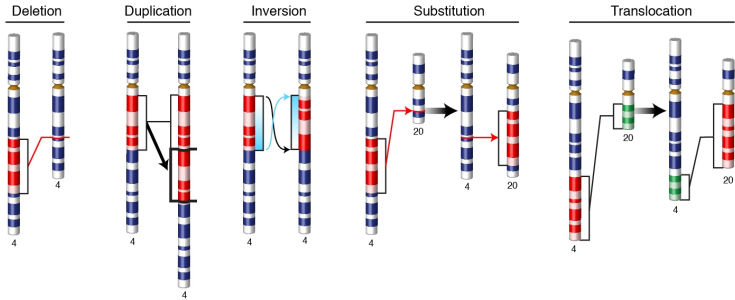
- ① Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)
- ② Auftrennung des DNA-Doppelstrangs (**Helikase**)
- ③ Synthese der RNA-Primer (**Primasen**)
- ④ Kopieren der beiden Elternstränge ausgehend von den RNA-Primern (**DNA-Polymerasen**)
 - ⇒ es entstehen zwei komplementäre Tochterstränge
 - ⇒ kontinuierliche Synthese des Leitstrangs
 - ⇒ diskontinuierliche Synthese des Folgestrangs (Okazaki-Fragmente)

DNA-Replikation

Natürlicher Vorgang zur Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung:

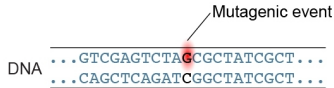
- ① Entwindung der DNA (**Topoisomerasen**)
- ② Auftrennung des DNA-Doppelstrangs (**Helikase**)
- ③ Synthese der RNA-Primer (**Primasen**)
- ④ Kopieren der beiden Elternstränge ausgehend von den RNA-Primern (**DNA-Polymerasen**)
 - ⇒ es entstehen zwei komplementäre Tochterstränge
 - ⇒ kontinuierliche Synthese des Leitstrangs
 - ⇒ diskontinuierliche Synthese des Folgestrangs (Okazaki-Fragmente)
- ⑤ Verbindung der Okazaki-Fragmente des Folgestrangs (**Ligase**)

Mutationen



Bildquelle: [6]

Mutationen



Deletion



Insertion

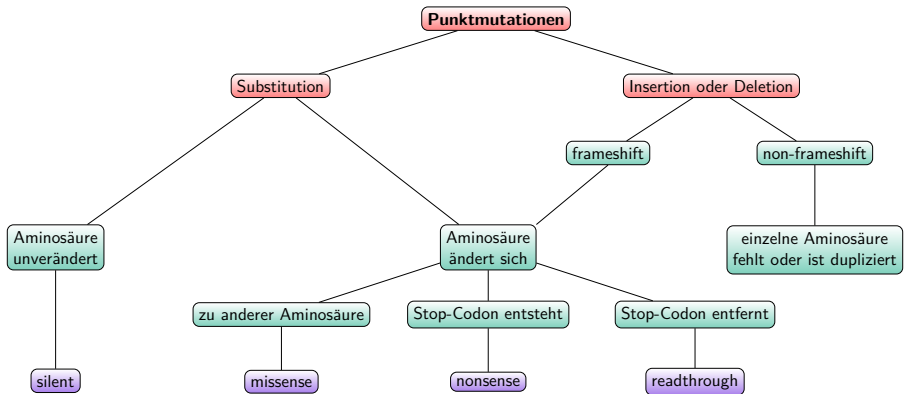


Substitution



Bildquelle: [6]

Mutationen



Folgen von Mutationen

- Loss-of-function-Mutationen
- Gain-of-function-Mutationen

Folgen von Mutationen

- Loss-of-function-Mutationen
- Gain-of-function-Mutationen

Varianten

- oft Varianten einzelner Basen: SNPs (single nucleotide polymorphism)
- ohne pathologische Auswirkungen
- vermehrtes Auftreten innerhalb einer Spezies

Folgen von Mutationen

- Loss-of-function-Mutationen
- Gain-of-function-Mutationen

Varianten

- oft Varianten einzelner Basen: SNPs (single nucleotide polymorphism)
- ohne pathologische Auswirkungen
- vermehrtes Auftreten innerhalb einer Spezies

Allele, Locus, Ploidie und Genotyp

- **Allele:** verschiedene Varianten eines genomischen Ortes (**Locus**)
- **Ploidie:** Anzahl der Chromosomensätze (**homologe Chromosomen**)
- **Genotyp:**
 - ⇒ **Homozygotie:** an einem Locus liegt auf allen homologen Chromosomen das gleiche Allel vor
 - ⇒ **Heterozygotie:** die homologen Chromosomen weisen an einem Locus unterschiedliche Allele auf

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

- Methode zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten
- mehrere Zyklen der folgenden temperaturabhängigen Schritte:

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

- Methode zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten
- mehrere Zyklen der folgenden temperaturabhängigen Schritte:
 - ① **Denaturierung:** durch Erhitzen wird der DNA-Doppelstrang in zwei Einzelstränge aufgespalten (96°C)

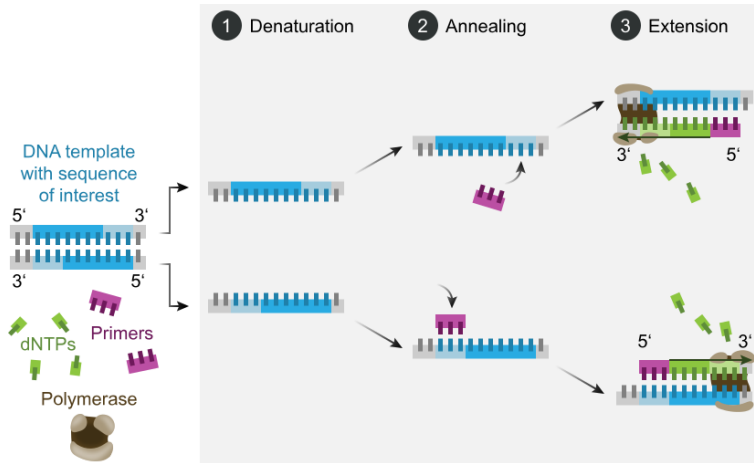
Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

- Methode zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten
- mehrere Zyklen der folgenden temperaturabhängigen Schritte:
 - 1 **Denaturierung**: durch Erhitzen wird der DNA-Doppelstrang in zwei Einzelstränge aufgespalten (96°C)
 - 2 **Annealing**: Primerbindung an den 3'-Enden der zu amplifizierenden Gensequenz beider Einzelstränge (55-65°C)

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

- Methode zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten
- mehrere Zyklen der folgenden temperaturabhängigen Schritte:
 - 1 **Denaturierung**: durch Erhitzen wird der DNA-Doppelstrang in zwei Einzelstränge aufgespalten (96°C)
 - 2 **Annealing**: Primerbindung an den 3'-Enden der zu amplifizierenden Gensequenz beider Einzelstränge (55-65°C)
 - 3 **Elongation**: DNA-Synthese der komplementären Stränge (72°C)

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)



Bildquelle: [7]

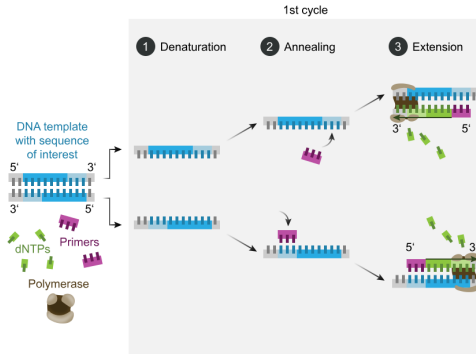
Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

- Methode zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten
- mehrere Zyklen der folgenden temperaturabhängigen Schritte:
 - 1 **Denaturierung**: durch Erhitzen wird der DNA-Doppelstrang in zwei Einzelstränge aufgespalten (96°C)
 - 2 **Annealing**: Primerbindung an den 3'-Enden der zu amplifizierenden Gensequenz beider Einzelstränge (55-65°C)
 - 3 **Elongation**: DNA-Synthese der komplementären Stränge (72°C)

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

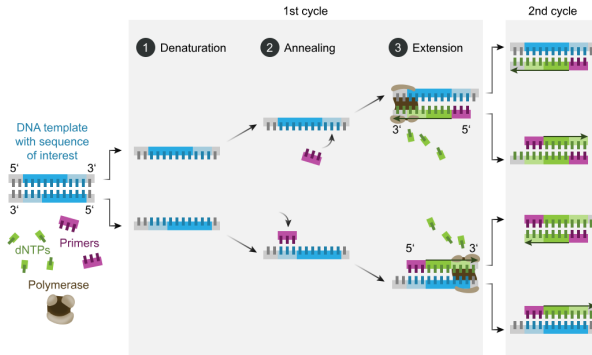
- Methode zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten
- mehrere Zyklen der folgenden temperaturabhängigen Schritte:
 - 1 **Denaturierung**: durch Erhitzen wird der DNA-Doppelstrang in zwei Einzelstränge aufgespalten (96°C)
 - 2 **Annealing**: Primerbindung an den 3'-Enden der zu amplifizierenden Gensequenz beider Einzelstränge (55-65°C)
 - 3 **Elongation**: DNA-Synthese der komplementären Stränge (72°C)
- mit jedem Zyklus wird die betreffende Sequenz verdoppelt
- in Abhängigkeit von der Anzahl der durchgeführten Zyklen n exponentieller Anstieg der Kopien 2^n

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)



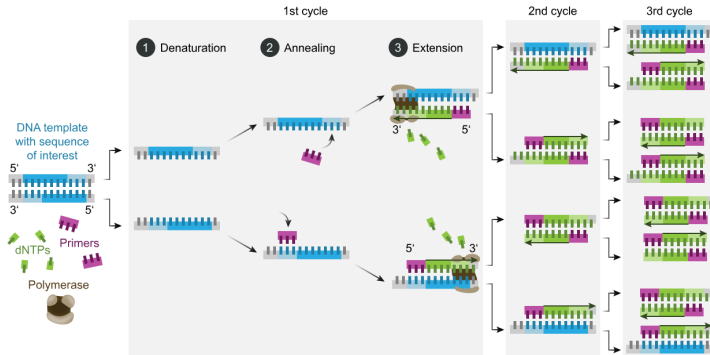
Bildquelle: [7]

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)



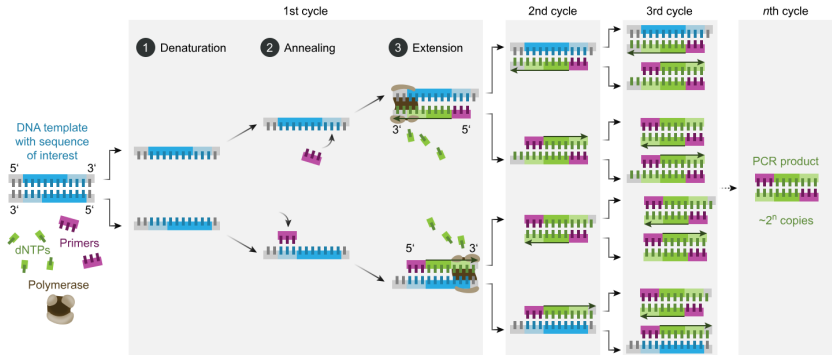
Bildquelle: [7]

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)



Bildquelle: [7]

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)



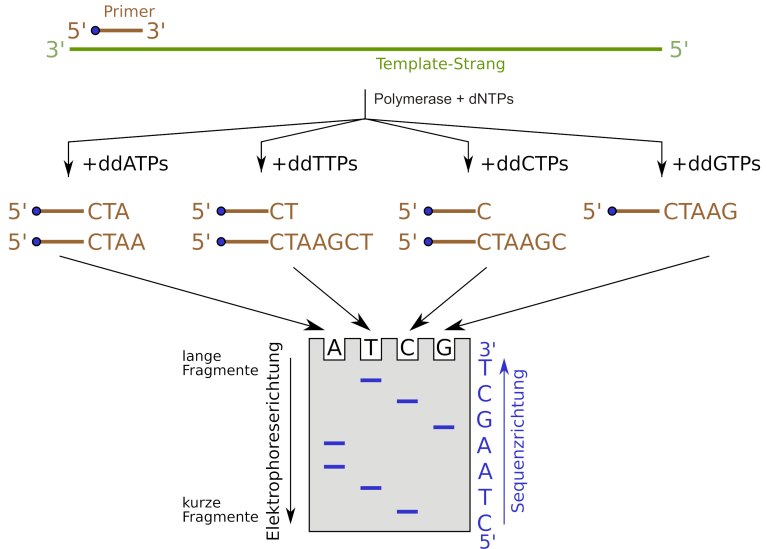
Bildquelle: [7]

Sequenzierung

Sanger-Sequenzierung

Kettenabbruch-Synthese mit vier Probenansätzen denen jeweils eine der vier möglichen Nukleotide in modifizierter Form beigefügt wird

Sequenzierung



Bildquelle: [8]

Sequenzierung

Sanger-Sequenzierung

Kettenabbruch-Synthese mit vier Probenansätzen denen jeweils eine der vier möglichen Nukleotide in modifizierter Form beigefügt wird

Sequenzierung

Sanger-Sequenzierung

Kettenabbruch-Synthese mit vier Probenansätzen denen jeweils eine der vier möglichen Nukleotide in modifizierter Form beigefügt wird

NGS-Sequenzierung

verbesserte Sequenziertechnologien im Hochdurchsatzverfahren

Sequenzierung

Sanger-Sequenzierung

Kettenabbruch-Synthese mit vier Probenansätzen denen jeweils eine der vier möglichen Nukleotide in modifizierter Form beigefügt wird

NGS-Sequenzierung

verbesserte Sequenziertechnologien im Hochdurchsatzverfahren

RAD-Sequenzierung

- restriction site associated DNA sequencing
- **Anwendung:** Populationsgenetik, Ökologie, Genotypisierung, Evolutionsforschung
- Sequenzierung multipler kleiner DNA-Fragmente aus dem gesamten Genom
- gleichzeitige Analyse mehrerer Individuen in gepoolten Proben
- benötigt kein Referenzgenom

Restriktionsenzyme

- molekulare Scheren, welche die DNA an spezifischen Sequenzen schneiden
- Enden können glatt oder versetzt sein

Restriktionsenzyme

- molekulare Scheren, welche die DNA an spezifischen Sequenzen schneiden
- Enden können glatt oder versetzt sein



CCCGGG
GGGCCC

Bildquelle: [9]

Restriktionsenzyme

- molekulare Scheren, welche die DNA an spezifischen Sequenzen schneiden
- Enden können glatt oder versetzt sein



GAATTC
CTTAAG

Bildquelle: [10]

RAD-Verfahren

Restriktionsenzyme

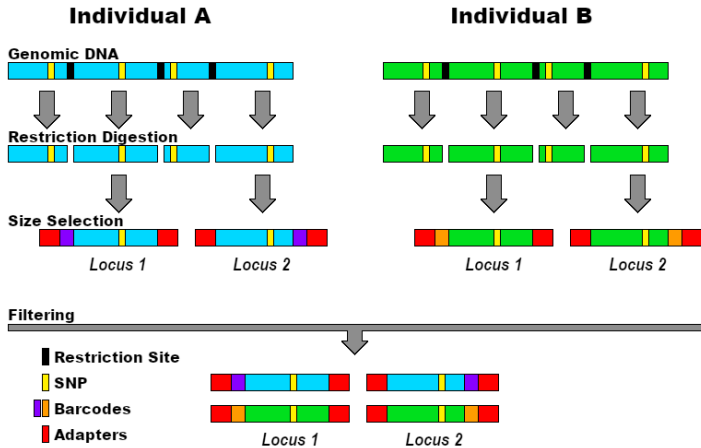
- molekulare Scheren, welche die DNA an spezifischen Sequenzen schneiden
- Enden können glatt oder versetzt sein

Methode

- 1 **DNA-Verdau** durch Restriktionsenzyme
- 2 Sequenz der Restriktionsstelle ist bekannt, dies ermöglicht die Bindung der **Adapter-** und **Barcode**sequenzen
- 3 **Größenselektion** der DNA-Fragmente
- 4 **Sequenzierung** der gepoolten Proben verschiedener Individuen

RAD-Verfahren

Restriction-site Associate DNA Sequencing (RADSeq)



Bildquelle: [11] (modifiziert)

RAD-Verfahren

Restriktionsenzyme

- molekulare Scheren, welche die DNA an spezifischen Sequenzen schneiden
- Enden können glatt oder versetzt sein

Methode

- 1 **DNA-Verdau** durch Restriktionsenzyme
- 2 Sequenz der Restriktionsstelle ist bekannt, dies ermöglicht die Bindung der **Adapter-** und **Barcode**sequenzen
- 3 **Größenselektion** der DNA-Fragmente
- 4 **Sequenzierung** der gepoolten Proben verschiedener Individuen

RAD-Verfahren

Restriktionsenzyme

- molekulare Scheren, welche die DNA an spezifischen Sequenzen schneiden
- Enden können glatt oder versetzt sein

Methode

- 1 **DNA-Verdau** durch Restriktionsenzyme
- 2 Sequenz der Restriktionsstelle ist bekannt, dies ermöglicht die Bindung der **Adapter-** und **Barcode**sequenzen
- 3 **Größenselektion** der DNA-Fragmente
- 4 **Sequenzierung** der gepoolten Proben verschiedener Individuen

ddRADSeq (double digest RAD sequencing)

- Verwendung von zwei verschiedenen Restriktionsenzymen
- bessere Steuerbarkeit und höhere Genauigkeit

RADSeq-Verfahren

- durch die **Sequenzspezifität der Restriktionsenzyme** stammen die DNA-Fragmente bei den verschiedenen Individuen meistens vom gleichen genomischen Locus
- interindividueller Vergleich ist **ohne Referenzgenom** möglich
- **gepoolte Proben**: Zeit- und Kostenersparnis, gleiche Versuchsbedingungen für die verschiedenen Individuen
- die DNA-Fragmente stammen aus dem gesamten Genom, aber **keine vollständige genomische Abdeckung**

Problem:

- Reads ohne Kenntnis eines Referenzgenoms möglichen Loci zuordnen
- die Loci und ihre Sequenz sind unbekannt

Problemstellung

Problem:

- Reads ohne Kenntnis eines Referenzgenoms möglichen Loci zuordnen
- die Loci und ihre Sequenz sind unbekannt

Gegeben:

- Menge von Reads: $D = (s_1, \dots, s_m) \in \{A, C, G, T, \}^{k^m}$
- Qualität der Sequenzierung: $Q = (q_1, \dots, q_m) \in [0, 1]^{k^m}$
- Sequenzierfehlerraten: $\epsilon = \{\epsilon_{ins}, \epsilon_{del}\}$
- Heterozygotiewahrscheinlichkeiten: $\eta = \{\eta_{sub}, \eta_{ins}, \eta_{del}\}$
- Ploidie: ϕ

Problemstellung

Problem:

- Reads ohne Kenntnis eines Referenzgenoms möglichen Loci zuordnen
- die Loci und ihre Sequenz sind unbekannt

Gegeben:

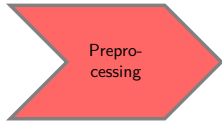
- Menge von Reads: $D = (s_1, \dots, s_m) \in \{A, C, G, T\}^{k^m}$
- Qualität der Sequenzierung: $Q = (q_1, \dots, q_m) \in [0, 1]^{k^m}$
- Sequenzierfehlerraten: $\epsilon = \{\epsilon_{ins}, \epsilon_{del}\}$
- Heterozygotiewahrscheinlichkeiten: $\eta = \{\eta_{sub}, \eta_{ins}, \eta_{del}\}$
- Ploidie: ϕ

Ziel:

- Zuordnung der Reads zu den Loci unter Berücksichtigung von ϵ und η
- Ausgabe der Menge der ermittelten Loci mit den Sequenzen der beteiligten Allele

⇒ die Loci können anschließend für Diversitätsanalysen genutzt werden

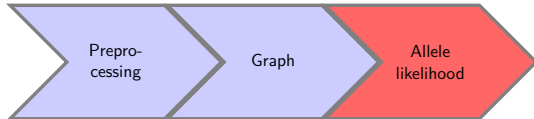
Model



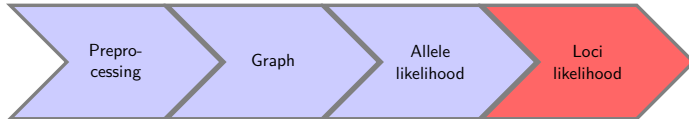
Model



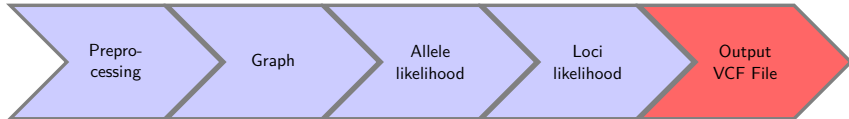
Model



Model



Model



Model - Preprocessing



Model - Preprocessing

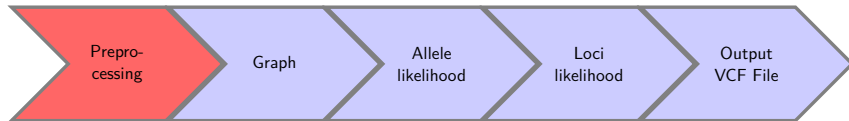


Model - Preprocessing

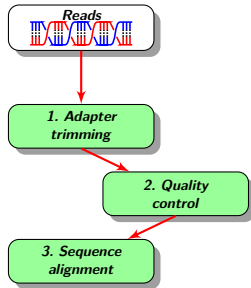


- Statistiken zur Qualität der Reads
- Individuen werden entsprechend ihres Barcodes separiert
- Entfernen der Barcode- und Adaptersequenzen
- Erzeugen eines Sequenzalignments

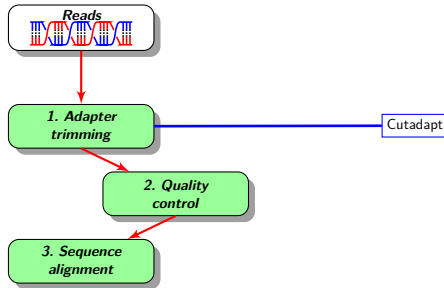
Implementierung - Preprocessing



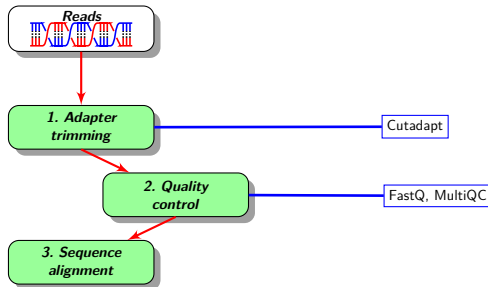
Implementierung - Preprocessing



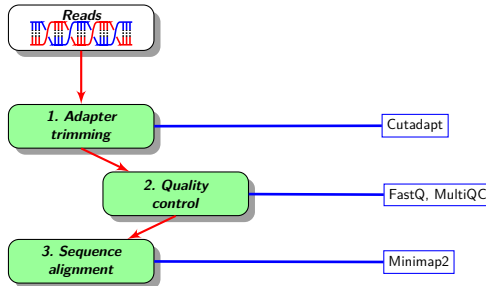
Implementierung - Preprocessing



Implementierung - Preprocessing



Implementierung - Preprocessing



Model - Graphkonstruktion



Model - Graphkonstruktion



- das Problem wird als gerichteter Graph $G = (V, E)$ betrachtet
- die Knoten werden durch die Reads repräsentiert
- die Kanten basieren auf dem Sequenzalignment
- das Sequenzalignment wird als approximiertes pairHMM betrachtet

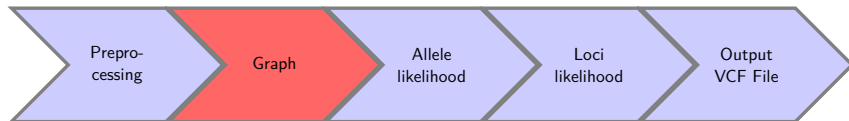
pairHMM vs. Minimap

tabelle

Likelihoodberechnung beim approximierten pairHMM

Tabelle

Model - Graphkonstruktion



- das Problem wird als gerichteter Graph $G = (V, E)$ betrachtet
- die Knoten werden durch die Reads repräsentiert
- die Kanten basieren auf dem Sequenzalignment
- das Sequenzalignment wird als approximiertes pairHMM betrachtet

Model - Graphkonstruktion



- **Grapheigenschaften:**

- Ploidie
- Sequenzierfehlerraten für Insertionen und Deletionen
- Heterozygotiewahrscheinlichkeiten für Substitutionen und Indels

- **Knoteneigenschaften:**

- ID
- Basensequenz
- Basenqualität

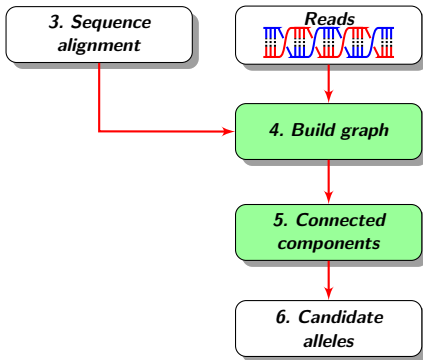
- **Kanteneigenschaften:**

- CIGAR-Tupel
- Edit-Distanz

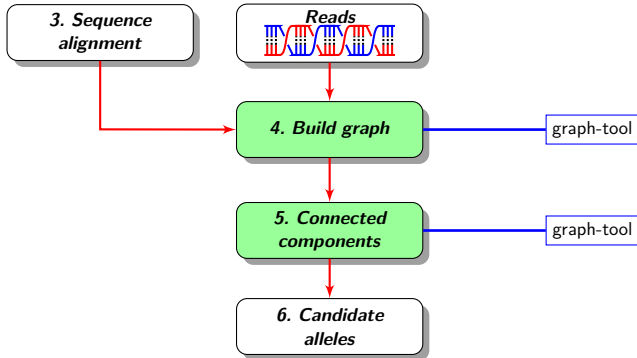
Implementierung - Graphkonstruktion



Implementierung - Graphkonstruktion



Implementierung - Graphkonstruktion



Laufzeit - Graphkonstruktion

text

Model - Allele-Fractions



Model - Allele-Fractions



- Identifizierung der Allele, von denen die übrigen Reads der Zusammenhangskomponenten am wahrscheinlichsten durch Sequenzierfehler entstanden sind

Model - Allele-Fractions



- Identifizierung der Allele, von denen die übrigen Reads der Zusammenhangskomponenten am wahrscheinlichsten durch Sequenzierfehler entstanden sind
- Kandidatenallele und Anzahl der tatsächlich zu erwartenden Allele $n_{alleles}$ bestimmen:

$$n_{alleles} = \begin{cases} \phi, & \phi \geq n_{cand} \\ n_{cand} + \phi - d, & \phi < n_{cand} \wedge d \neq 0 \\ n_{cand}, & \phi < n_{cand} \wedge d = 0 \end{cases}$$

(es gilt $d = n_{cand} \bmod \phi$)

Model - Allele-Fractions



⇒ aus den Kandidatenallelen **Kombinationen mit Wiederholung** der Länge $n_{alleles}$ gebildet:

Model - Allele-Fractions



⇒ aus den Kandidatenallelen **Kombinationen mit Wiederholung** der Länge $n_{alleles}$ gebildet:

$ploidy = 2, n_{cand} = 2, n_{alleles} = 2$:

$[(0, 0), (0, 1), (1, 1)]$

Model - Allele-Fractions



⇒ aus den Kandidatenallelen **Kombinationen mit Wiederholung** der Länge $n_{alleles}$ gebildet:

$ploidy = 2, n_{cand} = 2, n_{alleles} = 2$:

$[(0, 0), (0, 1), (1, 1)]$

⇒ aus den Kombinationen werden die Häufigkeitsverteilungen der Kandidatenallele (**Allele-Fractions**) bestimmt:

Model - Allele-Fractions



⇒ aus den Kandidatenallelen **Kombinationen mit Wiederholung** der Länge $n_{alleles}$ gebildet:

$$ploidy = 2, n_{cand} = 2, n_{alleles} = 2:$$

$$[(0, 0), (0, 1), (1, 1)]$$

⇒ aus den Kombinationen werden die Häufigkeitsverteilungen der Kandidatenallele (**Allele-Fractions**) bestimmt:

$$ploidy = 2, n_{cand} = 2, n_{alleles} = 2:$$

$$[1.0, 0.0], [0.5, 0.5], [0.0, 1.0]$$

Model - Allele-Fractions



Allelkombinationen:

$ploidy = 2, n_{cand} = 3, n_{alleles} = 4:$

$[(0, 0, 0, 0), (0, 0, 0, 1), (0, 0, 0, 2), (0, 0, 1, 1), (0, 0, 1, 2),$
 $(0, 0, 2, 2), (0, 1, 1, 1), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 2), (0, 2, 2, 2),$
 $(1, 1, 1, 1), (1, 1, 1, 2), (1, 1, 2, 2), (1, 2, 2, 2), (2, 2, 2, 2)]$

Model - Allele-Fractions



Allelkombinationen:

$ploidy = 2, n_{cand} = 3, n_{alleles} = 4$:

[(0, 0, 0, 0), (0, 0, 0, 1), (0, 0, 0, 2), (0, 0, 1, 1), (0, 0, 1, 2),
(0, 0, 2, 2), (0, 1, 1, 1), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 2), (0, 2, 2, 2),
(1, 1, 1, 1), (1, 1, 1, 2), (1, 1, 2, 2), (1, 2, 2, 2), (2, 2, 2, 2)]

Allele-Fractions:

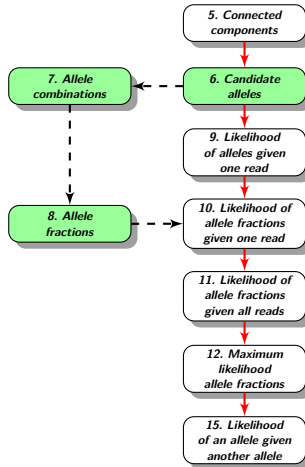
$ploidy = 2, n_{cand} = 3, n_{alleles} = 4$:

[1.0, 0.0, 0.0], [0.75, 0.25, 0.0], [0.75, 0.0, 0.25], [0.5, 0.5, 0.0],
[0.5, 0.25, 0.25], [0.5, 0.0, 0.5], [0.25, 0.75, 0.0], [0.25, 0.5, 0.25],
[0.25, 0.25, 0.5], [0.25, 0.0, 0.75], [0.0, 1.0, 0.0], [0.0, 0.75, 0.25],
[0.0, 0.5, 0.5], [0.0, 0.25, 0.75], [0.0, 0.0, 1.0]

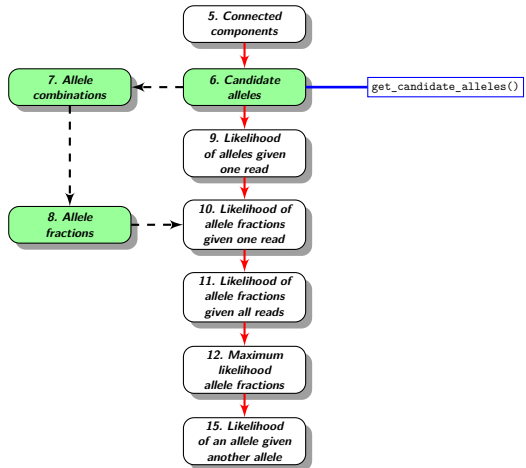
Implementierung - Allele-Fractions



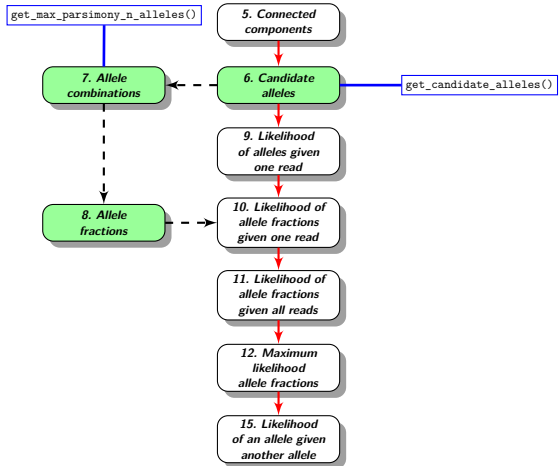
Implementierung - Allele-Fractions



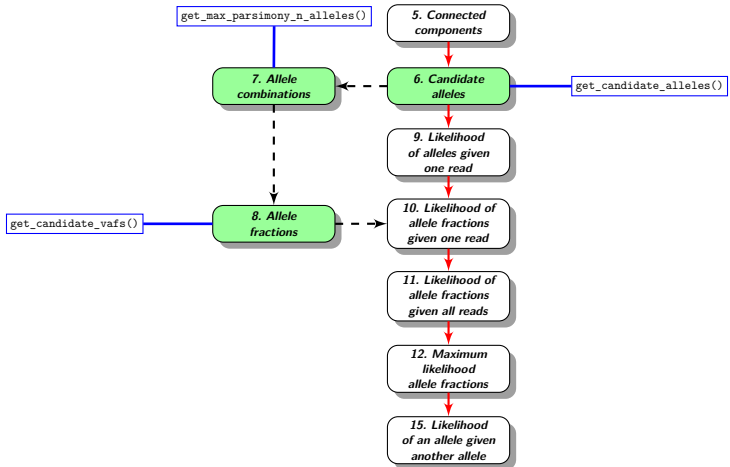
Implementierung - Allele-Fractions



Implementierung - Allele-Fractions



Implementierung - Allele-Fractions



text

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Für **jeden Read** mit der Sequenz s_r wird die Wahrscheinlichkeit errechnet, dass er aus einem bestimmten Allel a_i allein durch Sequenzierfehler ϵ hervorgegangen ist:

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Für **jeden Read** mit der Sequenz s_r wird die Wahrscheinlichkeit errechnet, dass er aus einem bestimmten Allel a_i allein durch Sequenzierfehler ϵ hervorgegangen ist:

Allel-Likelihood gegeben ein Read

$$Pr(T = s_r \mid S = a_i, \epsilon) = \text{pairHMM}_{\epsilon, q_r}(a_i, s_r)$$

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Berechnung der Wahrscheinlichkeit, einen bestimmten Read s_r anhand einer gegebenen **Allele-Fraction** $\Theta_i = (\theta_1, \dots, \theta_n) \in [0, 1]^n$ zu beobachten:

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Berechnung der Wahrscheinlichkeit, einen bestimmten Read s_r anhand einer gegebenen **Allele-Fraction** $\Theta_i = (\theta_1, \dots, \theta_n) \in [0, 1]^n$ zu beobachten:

Likelihood einer Allele-Fraction gegeben ein Read

$$Pr(s_r | \Theta = \theta_1, \dots, \theta_n) = \sum_{i=1}^n \theta_i \cdot Pr(T = s_r | S = a_i, \epsilon)$$

(es gilt $n = n_{cand}$)

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Bestimmung der resultierende Likelihood einer Allele-Fraction in Zusam-
menschau mit **allen Reads** $D = (s_1, \dots, s_m) \in \{A, C, G, T\}^{k^m}$:

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Bestimmung der resultierende Likelihood einer Allele-Fraction in Zusammenschau mit **allen Reads** $D = (s_1, \dots, s_m) \in \{A, C, G, T\}^{k^m}$:

Likelihood einer Allele-Fraction gegeben alle Reads

$$L(\Theta = \theta_1, \dots, \theta_n | D) = Pr(D | \Theta) = \prod_{r=1}^m Pr(s_r | \Theta)$$

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Bestimmung der resultierende Likelihood einer Allele-Fraction in Zusammenschau mit **allen Reads** $D = (s_1, \dots, s_m) \in \{A, C, G, T\}^{k^m}$:

Likelihood einer Allele-Fraction gegeben alle Reads

$$L(\Theta = \theta_1, \dots, \theta_n | D) = Pr(D | \Theta) = \prod_{r=1}^m Pr(s_r | \Theta)$$

⇒ L ist eine mögliche Loci-Verteilung, die durch die gegebene Allele-Fraction abgebildet wird

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Bestimmung der resultierende Likelihood einer Allele-Fraction in Zusammenschau mit **allen Reads** $D = (s_1, \dots, s_m) \in \{A, C, G, T\}^{k^m}$:

Likelihood einer Allele-Fraction gegeben alle Reads

$$L(\Theta = \theta_1, \dots, \theta_n | D) = Pr(D | \Theta) = \prod_{r=1}^m Pr(s_r | \Theta)$$

- ⇒ L ist eine mögliche Loci-Verteilung, die durch die gegebene Allele-Fraction abgebildet wird
- ⇒ die Unsicherheit bei der Zuordnung der Reads wird durch die relativen Häufigkeiten in der Allele-Fraction abgebildet und an die spätere Loci-Zuordnung weitergereicht

Model - Likelihood der Allele-Fractions



Allele-Likelihood gegeben ein Read

$$Pr(T = s_r | S = a_i, \epsilon) = \text{pairHMM}_{\epsilon, q_r}(a_i, s_r)$$

Likelihood einer Allele-Fraction gegeben ein Read

$$Pr(s_r | \Theta = \theta_1, \dots, \theta_n) = \sum_{i=1}^n \theta_i \cdot Pr(T = s_r | S = a_i, \epsilon)$$

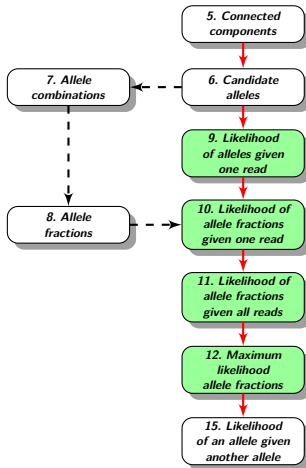
Likelihood einer Allele-Fraction gegeben alle Reads

$$L(\Theta = \theta_1, \dots, \theta_n | D = s_1, \dots, s_m) = Pr(D | \Theta) = \prod_{r=1}^m Pr(s_r | \Theta)$$

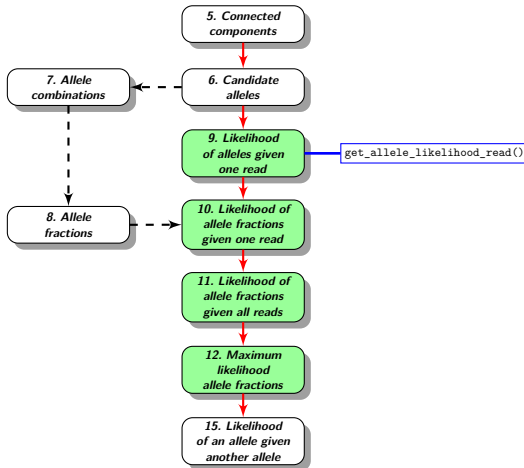
⇒ für die Allele-Fraction mit maximaler Likelihood erfolgt die Loci-Zuordnung

Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions

Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions



Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions



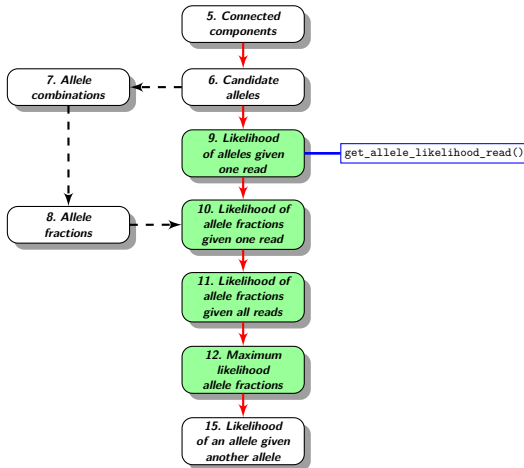
Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions

```
function GET_ALLELE_LIKELIHOOD_READ( $C_k$ ,  $r_i$ ,  $s_{a_j}$ ,  $dict$ )  
   $idx_{r_i} \leftarrow r_i[name]$   
   $qual \leftarrow r_i[q\_values]$   
   $\epsilon \leftarrow C_k[\epsilon_{ins}] \cup C_k[\epsilon_{del}]$   
  if  $\exists (idx_{r_i}, s_{a_j}) : ((idx_{r_i}, s_{a_j}), L_{r_i, a_j}) \in dict$  then  
    return  $L_{r_i, a_j}$   
  end if  
   $out\_neighbors \leftarrow get\_out\_neighbors(r_i)$   
  for  $out\_neighbor \in out\_neighbors$  do  
    if  $s_{a_j} = out\_neighbor[sequence]$  then  
       $cig \leftarrow edge(r_i, out\_neighbor)[cigar\_tuples]$   
       $rev \leftarrow False$   
       $L_{r_i, a_j} \leftarrow get\_alignment\_likelihood(\epsilon, cig, qual, rev)$   
       $dict \leftarrow dict \cup ((r_i, out\_neighbor[sequence]), L_{r_i, a_j})$   
      return  $L_{r_i, a_j}$   
    end if  
  end for  
   $\Rightarrow$  check in_neighbors  
  return 0  
end function
```

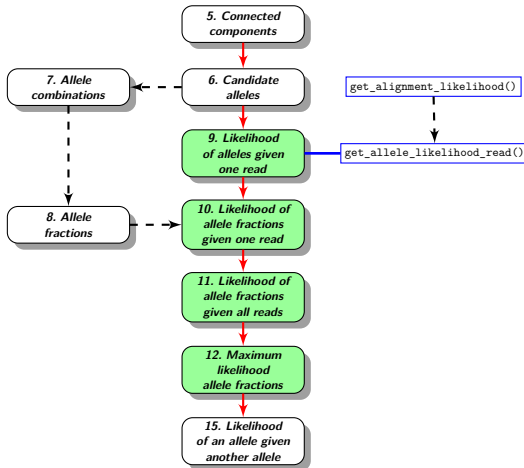
Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions

```
function GET_ALLELE_LIKELIHOOD_READ( $C_k, r_i, s_{a_j}, dict$ )  
   $idx_{r_i} \leftarrow r_i[name]$   
   $qual \leftarrow r_i[q\_values]$   
   $\epsilon \leftarrow C_k[\epsilon_{ins}] \cup C_k[\epsilon_{del}]$   
  if  $\exists (idx_{r_i}, s_{a_j}) : ((idx_{r_i}, s_{a_j}), L_{r_i, a_j}) \in dict$  then  
    return  $L_{r_i, a_j}$   
  end if  
   $\Rightarrow$  check out_neighbors  
   $in\_neighbors \leftarrow get\_in\_neighbors(r_i)$   
  for  $in\_neighbor \in in\_neighbors$  do  
    if  $s_{a_j} = in\_neighbor[sequence]$  then  
       $cig \leftarrow edge(in\_neighbor, r_i)[cigar\_tuples]$   
       $rev \leftarrow True$   
       $L_{r_i, a_j} \leftarrow get\_alignment\_likelihood(\epsilon, cig, qual, rev)$   
       $dict \leftarrow dict \cup ((r_i, in\_neighbor[sequence]), L_{r_i, a_j})$   
      return  $L_{r_i, a_j}$   
    end if  
  end for  
  return 0  
end function
```

Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions



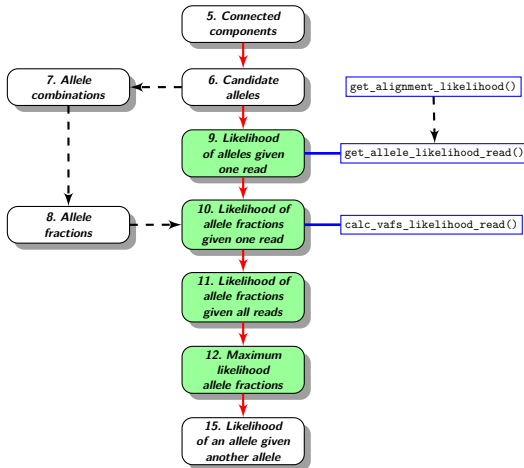
Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions



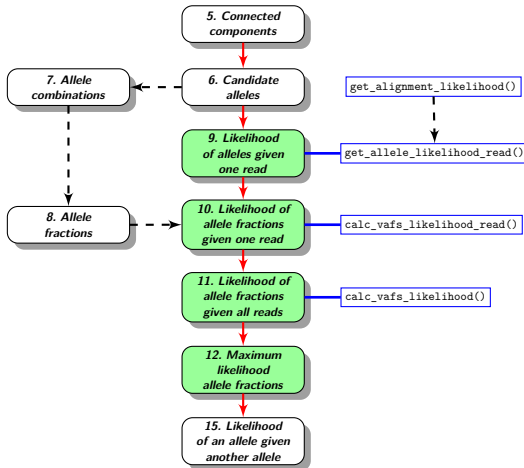
Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions

```
function GET_ALIGNMENT_LIKELIHOOD( $\epsilon_{ins}$ ,  $\epsilon_{del}$ , cigar_tuples, qquery, reverse)
  likelihood  $\leftarrow$  1.0, index  $\leftarrow$  0, pquery  $\leftarrow$  []
  for  $q_i \in qquery$  do
    pquery  $\leftarrow$  pquery  $\cup$  ( $10^{\frac{-q_i}{10}}$ )
  end for
  if reverse then
    swap values of  $\epsilon_{ins}$  and  $\epsilon_{del}$ 
  end if
  for all (operation, length)  $\in$  cigar_tuples do
    while index < (index + length) do
      if operation  $\in$  match then
        likelihood  $\leftarrow$  likelihood  $\cdot$  (1 - pquery[index])
      end if
      if operation  $\in$  substitution then
        likelihood  $\leftarrow$  likelihood  $\cdot$   $\frac{1}{3} \cdot pquery[index]$ 
      end if
      if operation  $\in$  insertion then
        likelihood  $\leftarrow$  likelihood  $\cdot$   $\epsilon_{ins}$ 
      end if
      if operation  $\in$  deletion then
        likelihood  $\leftarrow$  likelihood  $\cdot$   $\epsilon_{del}$ 
      end if
      index  $\leftarrow$  index + 1
    end while
  end for
  return likelihood
end function
```


Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions



Implementierung - Likelihood der Allele-Fractions



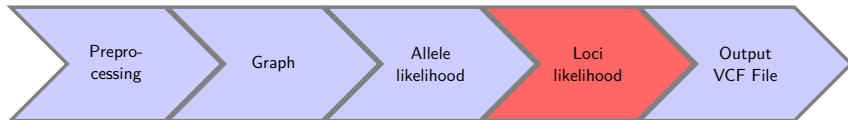
Laufzeit - Likelihood der Allele-Fractions

text

Model - Loci-Kombinationen

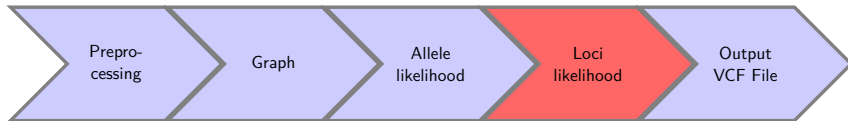


Model - Loci-Kombinationen



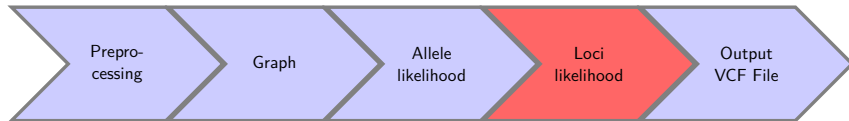
- Die Allel-Fraction mit maximaler Likelihood soll möglichen genomischen Loci zugeordnet werden

Model - Loci-Kombinationen



- Die Allel-Fraction mit maximaler Likelihood soll möglichen genomischen Loci zugeordnet werden
- in Abhängigkeit von Ploidie und Anzahl der Kandidatenallele können auch mehrere Loci in einer Zusammenhangskomponente vorkommen

Model - Loci-Kombinationen



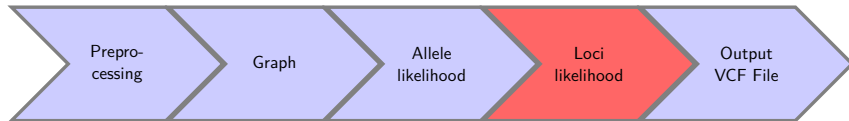
- Die Allel-Fraction mit maximaler Likelihood soll möglichen genomischen Loci zugeordnet werden
- in Abhängigkeit von Ploidie und Anzahl der Kandidatenallele können auch mehrere Loci in einer Zusammenhangskomponente vorkommen
- für alle Allelkombinationen müssen die möglichen Loci-Kombinationen der in ihnen enthaltenen Kandidatenallele gebildet werden

Model - Loci-Kombinationen



⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Model - Loci-Kombinationen

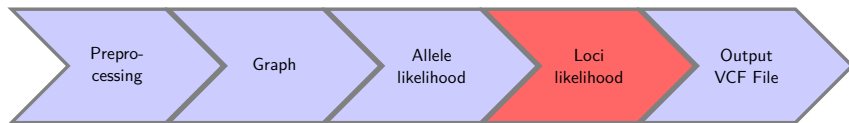


⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Kombinationen der Allele:

$[(0, 0, 0, 0), (0, 0, 0, 1), (0, 0, 0, 2), (0, 0, 1, 1), (0, 0, 1, 2),$
 $(0, 0, 2, 2), (0, 1, 1, 1), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 2), (0, 2, 2, 2),$
 $(1, 1, 1, 1), (1, 1, 1, 2), (1, 1, 2, 2), (1, 2, 2, 2), (2, 2, 2, 2)]$

Model - Loci-Kombinationen

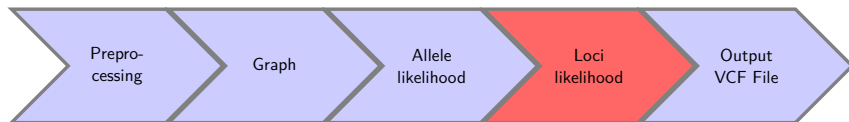


⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Permutationen der Allele:

(1, 2, 1, 1), (2, 1, 0, 0), (2, 1, 1, 1), (0, 1, 2, 1), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 0, 0),
(2, 2, 1, 0), (0, 2, 2, 1), (2, 2, 0, 1), (1, 0, 2, 2), (0, 2, 0, 1), (2, 0, 0, 1),
(1, 0, 1, 0), (0, 2, 1, 2), (0, 0, 2, 0), (2, 2, 2, 1), (1, 1, 0, 1), (2, 0, 1, 1),
(2, 0, 2, 0), (0, 0, 2, 2), (1, 1, 2, 0), (1, 2, 1, 0), (2, 0, 2, 2), (2, 1, 1, 0),
(2, 1, 0, 2), (1, 2, 0, 1), (0, 1, 2, 0), (1, 2, 1, 2), (1, 2, 2, 1), (0, 1, 1, 1),
(1, 1, 1, 0), (0, 0, 0, 0), (2, 1, 1, 2), (2, 1, 2, 1), (1, 0, 0, 1), (0, 1, 0, 2),
(2, 2, 1, 2), (0, 2, 2, 0), (1, 0, 2, 1), (2, 0, 0, 0), (0, 2, 1, 1), (1, 1, 1, 2),
(0, 0, 0, 2), (0, 0, 1, 1), (1, 0, 1, 2), (2, 0, 0, 2), (0, 0, 2, 1), (1, 1, 2, 2),
(2, 1, 0, 1), (1, 2, 0, 0), (0, 1, 2, 2), (1, 2, 2, 0), (0, 1, 1, 0), (2, 2, 0, 0),
(0, 2, 0, 0), (2, 1, 2, 0), (1, 0, 0, 0), (1, 2, 0, 2), (0, 1, 0, 1), (2, 2, 1, 1),
(2, 2, 2, 0), (1, 1, 0, 0), (1, 0, 2, 0), (0, 2, 2, 2), (1, 2, 2, 2), (2, 2, 0, 2),...

Model - Loci-Kombinationen

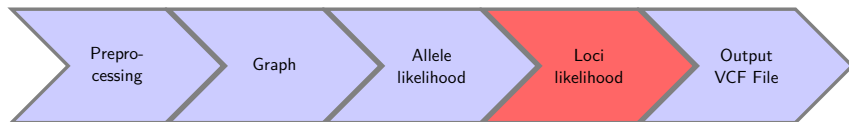


⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Mögliche Loci-Kombinationen:

$((0, 0), (0, 2)), ((1, 1), (1, 1)), ((0, 2), (0, 2)), ((1, 1), (2, 2)),$
 $((0, 1), (0, 2)), ((1, 1), (1, 2)), ((1, 2), (2, 2)), ((1, 2), (1, 2)),$
 $((0, 0), (1, 1)), ((0, 0), (2, 2)), ((0, 2), (1, 1)), ((0, 1), (1, 1)),$
 $((0, 0), (0, 0)), ((0, 2), (2, 2)), ((0, 0), (1, 2)), ((0, 1), (2, 2)),$
 $((2, 2), (2, 2)), ((0, 0), (0, 1)), ((0, 2), (1, 2)), ((0, 1), (1, 2)),$
 $((0, 1), (0, 1))$

Model - Loci-Kombinationen



⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Kombinationen der Allele:

[... (0, 1, 1, 2), ...]

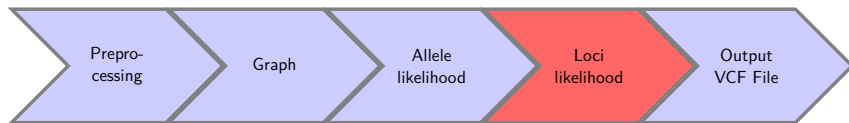
Permutationen der Allele:

(1, 0, 1, 2), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 1), (1, 0, 2, 1), (2, 1, 1, 0), (1, 2, 0, 1),
(2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (1, 2, 1, 0), (1, 1, 2, 0), (1, 1, 0, 2),
(2, 0, 1, 1), (0, 2, 1, 1), ...

Mögliche Loci-Kombinationen:

((1, 0), (1, 2)), ((0, 1), (1, 2)), ((0, 1), (2, 1)), ((1, 0), (2, 1)), ((2, 1), (1, 0)),
((1, 2), (0, 1)), ((2, 1), (0, 1)), ((2, 1), (0, 1)), ((2, 1), (0, 1)), ((1, 2), (1, 0)),
((1, 1), (2, 0)), ((1, 1), (0, 2)), ((2, 0), (1, 1)), ((0, 2), (1, 1)), ...

Model - Loci-Kombinationen



⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Kombinationen der Allele:

[... (0, 1, 1, 2), ...]

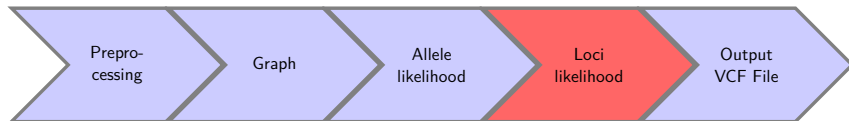
Permutationen der Allele:

(1, 0, 1, 2), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 1), (1, 0, 2, 1), (2, 1, 1, 0), (1, 2, 0, 1),
(2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (1, 2, 1, 0), (1, 1, 2, 0), (1, 1, 0, 2),
(2, 0, 1, 1), (0, 2, 1, 1), ...

Mögliche Loci-Kombinationen:

((1, 0), (1, 2)), ((0, 1), (1, 2)), ((0, 1), (2, 1)), ((1, 0), (2, 1)), ((2, 1), (1, 0)),
((1, 2), (0, 1)), ((2, 1), (0, 1)), ((2, 1), (0, 1)), ((2, 1), (0, 1)), ((1, 2), (1, 0)),
((1, 1), (2, 0)), ((1, 1), (0, 2)), ((2, 0), (1, 1)), ((0, 2), (1, 1)), ...

Model - Loci-Kombinationen



⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Kombinationen der Allele:

[... (0, 1, 1, 2), ...]

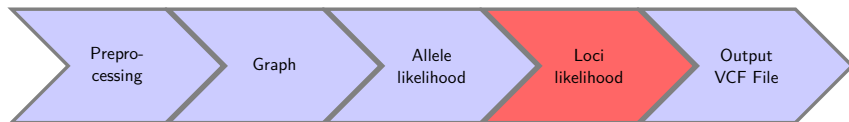
Permutationen der Allele:

(1, 0, 1, 2), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 1), (1, 0, 2, 1), (2, 1, 1, 0), (1, 2, 0, 1),
(2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (1, 2, 1, 0), (1, 1, 2, 0), (1, 1, 0, 2),
(2, 0, 1, 1), (0, 2, 1, 1), ...

Mögliche Loci-Kombinationen:

((0, 1), (1, 2)), ((1, 2), (0, 1)), ((1, 1), (0, 2)), ((0, 2), (1, 1)), ...

Model - Loci-Kombinationen



⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Kombinationen der Allele:

[... (0, 1, 1, 2), ...]

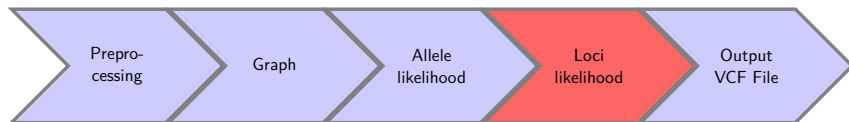
Permutationen der Allele:

(1, 0, 1, 2), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 1), (1, 0, 2, 1), (2, 1, 1, 0), (1, 2, 0, 1),
(2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (1, 2, 1, 0), (1, 1, 2, 0), (1, 1, 0, 2),
(2, 0, 1, 1), (0, 2, 1, 1), ...

Mögliche Loci-Kombinationen:

((0, 1), (1, 2)), ((1, 2), (0, 1)), ((1, 1), (0, 2)), ((0, 2), (1, 1)), ...

Model - Loci-Kombinationen



⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Kombinationen der Allele:

[... (0, 1, 1, 2), ...]

Permutationen der Allele:

(1, 0, 1, 2), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 1), (1, 0, 2, 1), (2, 1, 1, 0), (1, 2, 0, 1),
(2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (1, 2, 1, 0), (1, 1, 2, 0), (1, 1, 0, 2),
(2, 0, 1, 1), (0, 2, 1, 1), ...

Mögliche Loci-Kombinationen:

((0, 1), (1, 2)), ((1, 2), (0, 1)), ((1, 1), (0, 2)), ((0, 2), (1, 1)), ...

Model - Loci-Kombinationen



⇒ **Beispiel:** $ploidy = 2$, $n_{cand} = 3$, $n_{alleles} = 4$:

Kombinationen der Allele:

[... (0, 1, 1, 2), ...]

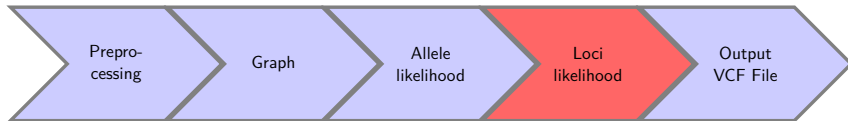
Permutationen der Allele:

(1, 0, 1, 2), (0, 1, 1, 2), (0, 1, 2, 1), (1, 0, 2, 1), (2, 1, 1, 0), (1, 2, 0, 1),
(2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (2, 1, 0, 1), (1, 2, 1, 0), (1, 1, 2, 0), (1, 1, 0, 2),
(2, 0, 1, 1), (0, 2, 1, 1), ...

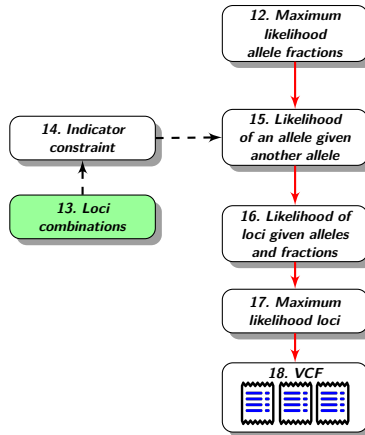
Mögliche Loci-Kombinationen:

((0, 1), (1, 2)), ((1, 1), (0, 2)), ...

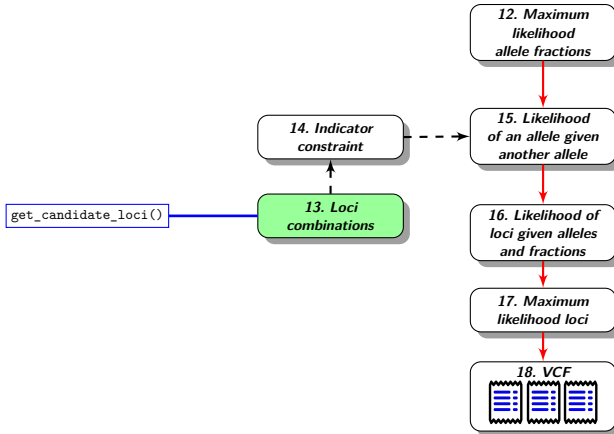
Implementierung - Loci-Kombinationen



Implementierung - Loci-Kombinationen



Implementierung - Loci-Kombinationen



text

Model - Zuordnung der Loci

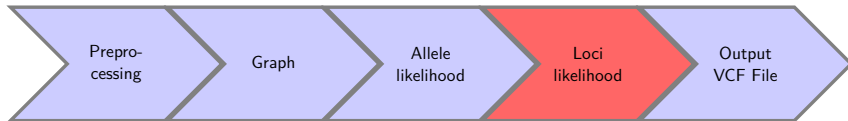


Model - Zuordnung der Loci



Prüfung jeder Loci-Kombination $L \in \{l_j \in \mathbb{N}_{\leq n}^\phi \mid j = 1, \dots, g\}$, ob sie die ermittelte wahrscheinlichste Häufigkeitsverteilung der Kandidatenallele erfüllen kann:

Model - Zuordnung der Loci

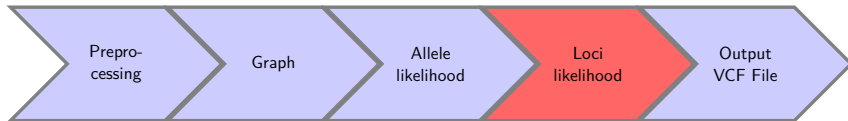


Prüfung jeder Loci-Kombination $L \in \{l_j \in \mathbb{N}_{\leq n}^\phi \mid j = 1, \dots, g\}$, ob sie die ermittelte wahrscheinlichste Häufigkeitsverteilung der Kandidatenallele erfüllen kann:

Indikatorfunktion $z_L \in [0, 1]$

$$z_L = \prod_{i=1}^n 1_{\sum_{j=1}^g \sum_{k=1}^{\phi} 1_{l_{j,k}=i} = \theta_i \cdot g \cdot \phi}$$

Model - Zuordnung der Loci



Prüfung jeder Loci-Kombination $L \in \{l_j \in \mathbb{N}_{\leq n}^\phi \mid j = 1, \dots, g\}$, ob sie die ermittelte wahrscheinlichste Häufigkeitsverteilung der Kandidatenallele erfüllen kann:

Indikatorfunktion $z_L \in [0, 1]$

$$z_L = \prod_{i=1}^n 1_{\sum_{j=1}^g \sum_{k=1}^{\phi} 1_{l_{j,k}=i} = \theta_i \cdot g \cdot \phi}$$

$\Rightarrow z_L = 1$, wenn die absolute Häufigkeit der einzelnen Kandidatenallele in einer Loci-Kombination, der Anzahl dieser Allele in der Allele-Fraction mit maximaler Likelihood entspricht

Model - Zuordnung der Loci



Bestimmung der Wahrscheinlichkeit wie die einzelnen Allele der Maximum-Likelihood-Allele-Fraction hinsichtlich der Heterozygotiewahrscheinlichkeiten η miteinander in Beziehung stehen:

Model - Zuordnung der Loci

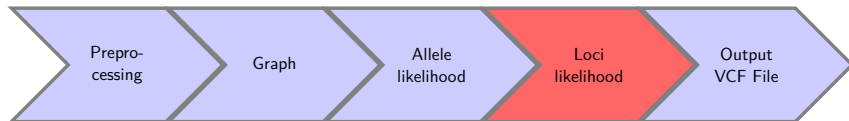


Bestimmung der Wahrscheinlichkeit wie die einzelnen Allele der Maximum-Likelihood-Allele-Fraction hinsichtlich der Heterozygotiewahrscheinlichkeiten η miteinander in Beziehung stehen:

Likelihood des paarweisen Vergleichs zweier Allele

$$Pr(T = a_{l_{j,2}}, S = a_{l_{j,1}}, \eta) = \text{pairHMM}_{\eta}(a_{l_{j,1}}, a_{l_{j,2}})$$

Model - Zuordnung der Loci



Bestimmung der Wahrscheinlichkeit wie die einzelnen Allele der Maximum-Likelihood-Allele-Fraction hinsichtlich der Heterozygotiewahrscheinlichkeiten η miteinander in Beziehung stehen:

Likelihood des paarweisen Vergleichs zweier Allele

$$Pr(T = a_{l_{j,2}}, S = a_{l_{j,1}}, \eta) = \text{pairHMM}_{\eta}(a_{l_{j,1}}, a_{l_{j,2}})$$

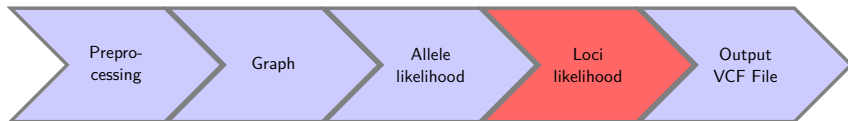
⇒ Wahrscheinlichkeit, dass zwei Allele $a_{l_{j,1}}$ und $a_{l_{j,2}}$ vom gleichen Locus l_j stammen

Model - Zuordnung der Loci



Bestimmung der Gesamtl likelihood einer Loci-Kombination, dass die enthaltenen Allele A bei gegebenen Heterozygotiewahrscheinlichkeiten in dieser Konstellation der Loci vorliegen:

Model - Zuordnung der Loci

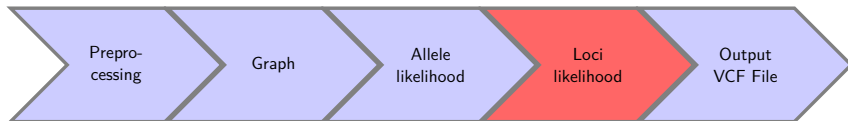


Bestimmung der Gesamtl likelihood einer Loci-Kombination, dass die enthaltenen Allele A bei gegebenen Heterozygotiewahrscheinlichkeiten in dieser Konstellation der Loci vorliegen:

Likelihood einer Loci-Kombination

$$Pr(\Theta, A | L = \{l_j | j = 1, \dots, g\}) = z_L \cdot \prod_{j=1}^g Pr(T = a_{l_j,2}, S = a_{l_j,1})$$

Model - Zuordnung der Loci



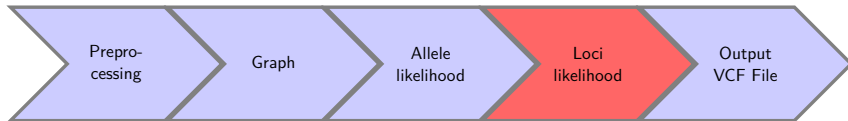
Bestimmung der Gesamtl likelihood einer Loci-Kombination, dass die enthaltenen Allele A bei gegebenen Heterozygotiewahrscheinlichkeiten in dieser Konstellation der Loci vorliegen:

Likelihood einer Loci-Kombination

$$Pr(\Theta, A | L = \{l_j | j = 1, \dots, g\}) = z_L \cdot \prod_{j=1}^g Pr(T = a_{l_j,2}, S = a_{l_j,1})$$

$\Rightarrow L$ wird für jede Loci-Kombination durchgeführt, welche die Allele-Fraction mit maximaler Likelihood erklären kann

Model - Zuordnung der Loci



Indikatorfunktion $z_L \in [0, 1]$

$$z_L = \prod_{i=1}^n 1_{\sum_{j=1}^g \sum_{k=1}^{\phi} 1_{l_{j,k}=i} = \theta_i \cdot g \cdot \phi}$$

Likelihood des paarweisen Vergleichs zweier Allele

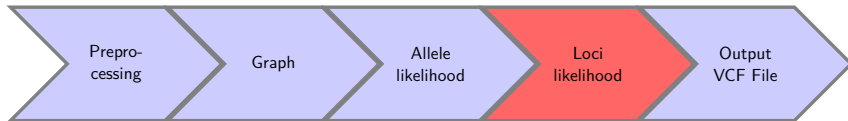
$$Pr(T = a_{l_{j,2}}, S = a_{l_{j,1}}, \eta) = pairHMM_{\eta}(a_{l_{j,1}}, a_{l_{j,2}})$$

Likelihood einer Loci-Kombination

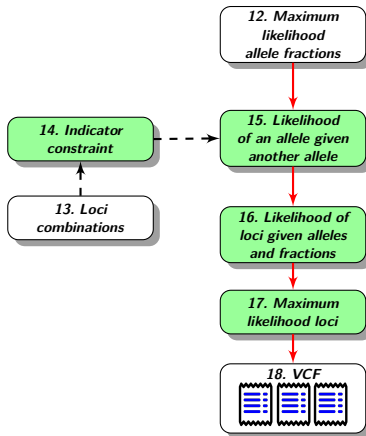
$$Pr(\Theta, A | L = \{l_j | j = 1, \dots, g\}) = z_L \cdot \prod_{j=1}^g Pr(T = a_{l_{j,2}}, S = a_{l_{j,1}})$$

⇒ die Loci-Kombination mit maximaler Likelihood ist die wahrscheinlichste Loci-Zuordnung der Reads einer Zusammenhangskomponente

Implementierung - Zuordnung der Loci



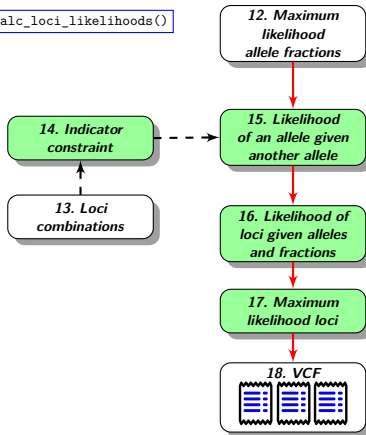
Implementierung - Zuordnung der Loci



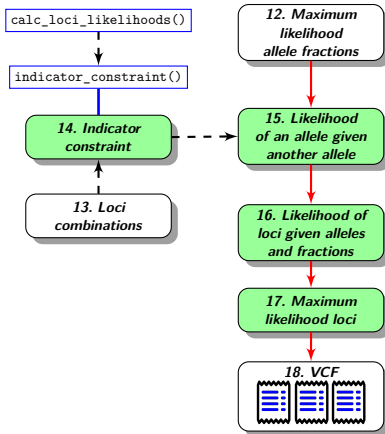
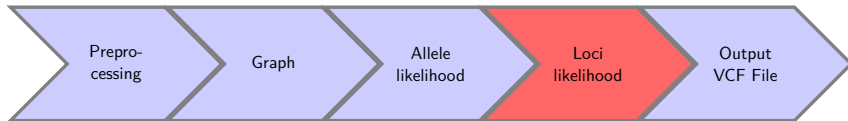
Implementierung - Zuordnung der Loci



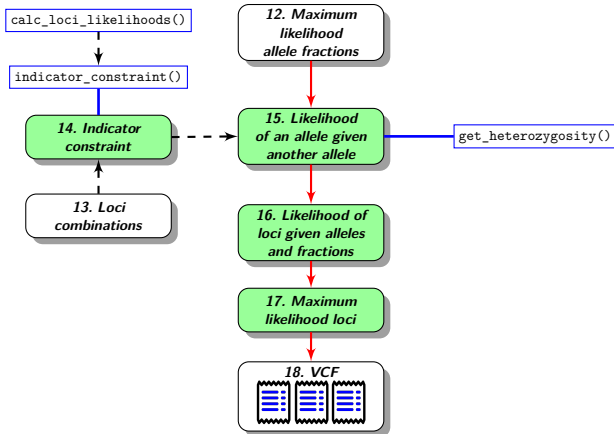
```
calc_loci_likelihoods()
```



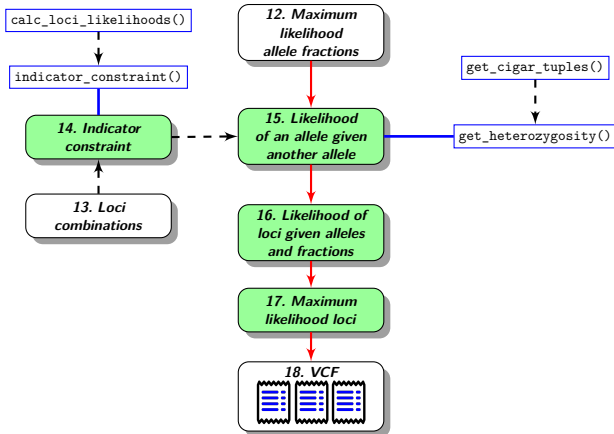
Implementierung - Zuordnung der Loci



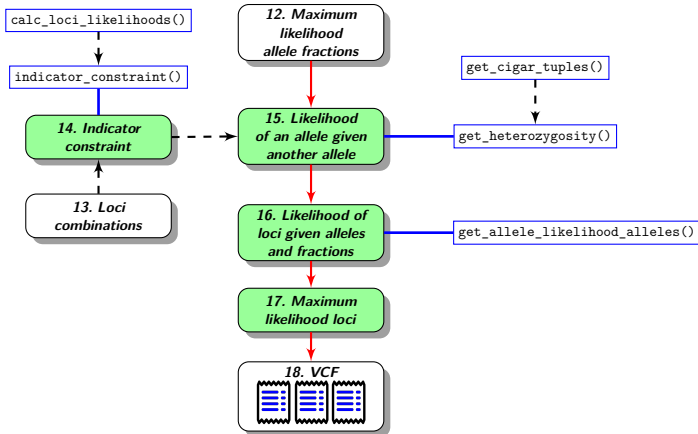
Implementierung - Zuordnung der Loci



Implementierung - Zuordnung der Loci



Implementierung - Zuordnung der Loci



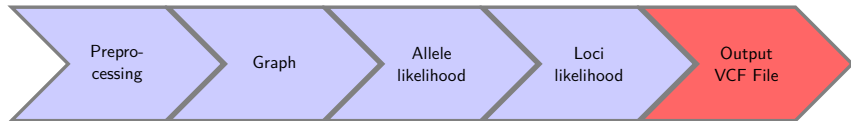
Laufzeit - Zuordnung der Loci

text

Laufzeit - Gesamtlaufzeit

text

Model - Ausgabe im Variant Call Format



Model - Ausgabe im Variant Call Format



enthält die Loci mit den Sequenzen ihrer Allele und ihrem Genotyp

Model - Ausgabe im Variant Call Format



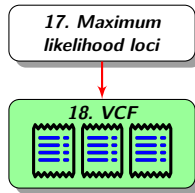
enthält die Loci mit den Sequenzen ihrer Allele und ihrem Genotyp

#CHROM	POS	ID	REF	ALT	QUAL	FILTER	INFO	FORMAT	A
LOC0	1	.	TTTGCATGTTGCGTCAGA	TTTGCATGTTGCGTCCGA	.	.	.	GT	0/1
LOC1	1	.	GGGTATCGCCTGTGGCTG	GT	0/0
LOC2	1	.	AAGGATCTTTGCCGACTT	GT	0/0
LOC3	1	.	GGCTAAGTTAACTTGAGA	GT	0/0
LOC4	1	.	GCGTCGAATCGGCACTCG	GT	0/0
LOC5	1	.	GTAATCGATGCGGCGTG	GT	0/0
LOC6	1	.	GATGCCTGATGCGTCTTT	GT	0/0
LOC7	1	.	CGATCCCGCCATATGCAC	GT	0/0
LOC8	1	.	CCCCGACGAGTCTATCTC	GT	0/0
LOC9	1	.	TGACGCTTTGTTTATCTG	TGACGCTTTGATTATCTG, TTACGCTTTGTTTATCTG	.	.	.	GT	0/1
LOC10	1	.	TGACGCTTTGTTTATCTG	TGACGCTTTGATTATCTG, TTACGCTTTGTTTATCTG	.	.	.	GT	1/2
LOC11	1	.	TTTATACGCGGACACTCT	GT	0/0
LOC12	1	.	GTTTGGTTCACTGTCCCT	GT	0/0
LOC13	1	.	CGCCGTGTGTGTTTGCCA	CGCCGTGGGTGTTTGCCA	.	.	.	GT	0/1
LOC14	1	.	TGGTCGCCCTTTTGCCAAT	GT	0/0
LOC15	1	.	AGCAATTTAAACCCGATA	GT	0/0

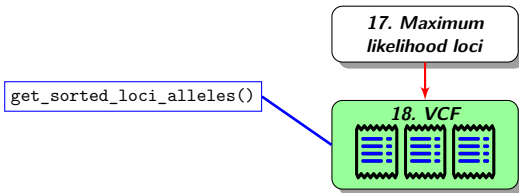
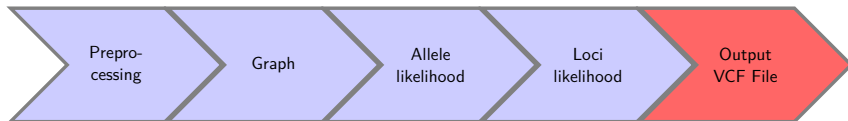
Implementierung - Ausgabe im Variant Call Format



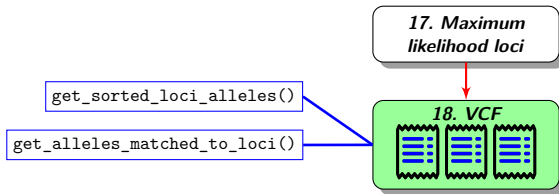
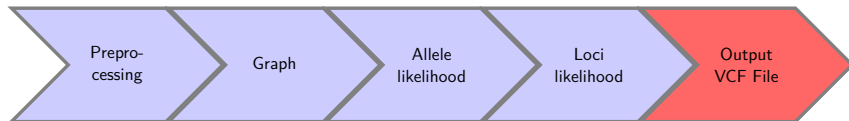
Implementierung - Ausgabe im Variant Call Format



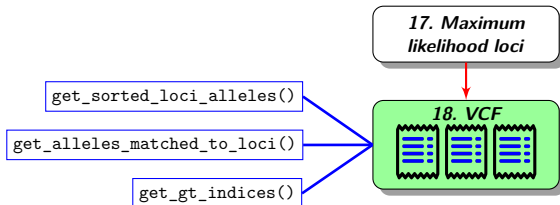
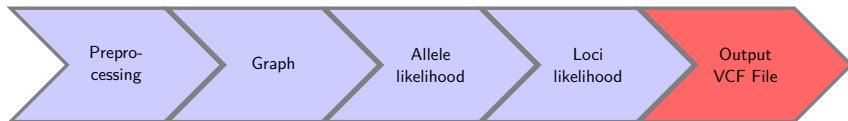
Implementierung - Ausgabe im Variant Call Format



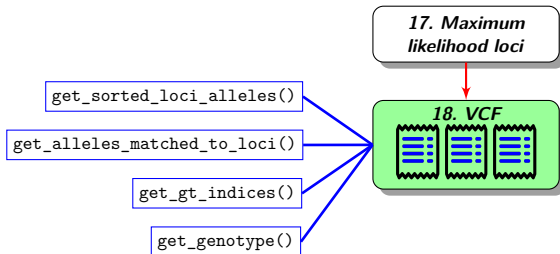
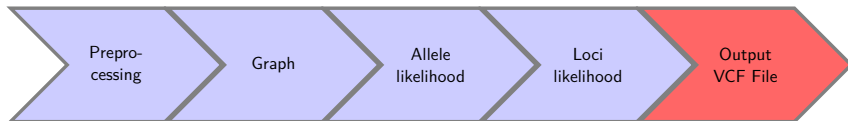
Implementierung - Ausgabe im Variant Call Format



Implementierung - Ausgabe im Variant Call Format



Implementierung - Ausgabe im Variant Call Format



text

text

text

text

text

text

text

text

text

text

text

Bildquellen I

- [1] MOUAGIP: *Aminoacids table.svg*. 2021. – source: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aminoacids_table.svg
- [2] MARGULIES, Elliott: *Transcription*. – source: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Transcription>
- [3] LEJA, Darryl: *Transfer RNA (tRNA)*. – source: <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/basics/noncodingdna/>
- [4] MARGULIES, Elliott: *Transfer RNA (tRNA)*. – source: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Transfer-RNA>
- [5] RUIZ, Mariana: *DNA replication*. – source: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_replication_en.svg
- [6] COLLINS, Francis: *Mutation*. – source: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Mutation>

Bildquellen II

- [7] ENZOKLOP: *Polymerase Chain Reaction - Schematic mechanism of PCR*. – source: https://en.wikipedia.org/wiki/File:Polymerase_chain_reaction-en.svg
- [8] CHRISTOPH GOEMANS, Norman M.: *Prinzip der DNA-Sequenzierung nach der Didesoxy-Methode*. – source: <https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Didesoxy-Methode.svg>
- [9] DERKSEN, Bryan: *EcoRI restriction enzyme recognition site with cleavage marked*. – source: https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:SmaI_restriction_enzyme_recognition_site.svg
- [10] DERKSEN, Bryan: *EcoRI restriction enzyme recognition site..* – source: https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:EcoRI_restriction_enzyme_recognition_site.svg
- [11] CLARK, Jonathan: *Schematic diagram of RADseq*. – source: https://en.wikipedia.org/wiki/File:RADseq_schematic.pdf