Lab1 寻找样本 DNA 序列中的重复片段

2025-02-24

1 项目背景

1.1 DNA 基础知识

DNA 是生物的遗传物质，主要由四种碱基组成：腺嘌呤（A）、胸腺嘧啶（T）、胞嘧啶（C）和鸟嘌呤（G）。其中，A 与 T 形成碱基配对，C 与 G 形成碱基配对，这种互补配对由氢键维持。

DNA 分子是双链结构，由两条互补的链以双螺旋方式缠绕在一起。由于碱基互补配对的特性，DNA 的两条链是反向的（即 5'→3' 方向与 3'→5' 方向相对，可参考3.3节例图）。例如，若序列为 5'-ATCG-3'，其反向互补序列为 3'-TAGC-5'，或者写作 5'-CGAT-3'（一般情况下默认 5' 写在左侧，3' 写在右侧）。这就是说，序列 ATCG 和 CGAT 是反向互补的。

1.2 测序与比对

DNA 测序是一项基因组学中的基础技术，可以确定 DNA 分子中碱基（A、T、C、G）的排列顺序。人类基因组大约由 30 亿个碱基对组成，无法一次性测序整个基因组，因此目前常用的第二代测序技术通常会生成数百万条短 DNA 片段。为了确定这些短序列在基因组中的确切位置，必须将它们与参考基因组进行比对。

1.3 DNA 序列比对的挑战

将短读段（query）与参考基因组（reference）进行比对是一个计算上的挑战，主要困难包括：

- 庞大的基因组规模: 参考基因组非常庞大（数十亿碱基对）
- 突变和变异: DNA 片段可能有测序错误或突变，因此需要使用模糊匹配
- 反向互补序列: DNA 是双链结构，在比对时需要考虑原始序列及其反向互补序列

2 项目目标

2.1 整体目标

本学期项目的最终目标为设计一个将短读段（query）序列比对到参考基因组（reference）的算法，需要同时兼顾算法的时空复杂度和最终结果的准确性。由于 DNA 中的变异种类繁多，每个 Lab 会重点关注其中一种或多种变异类型。同学们需要在各次 Lab 中不断完善代码，使之能应对复杂的变异情况。

2.2 本次 Lab 目标

Lab1 的目标是初步实现一个较为简单的比对算法，主要考虑“重复”这一种变异类型，暂时不考虑其他变异。要求在 PPT 给出的 query 和 reference 中，找到 query 中存在的重复部分，并输出其相关信息（所在 reference 位置、重复片段长度、重复数量、是否为反向重复）。

3 实现细节

3.1 重复变异

设 S_{query} 和 $S_{\text{reference}}$ 是两个由 ATCG 构成的字符串，分别表示短读段和参考基因组。本次 Lab 中考虑的重复变异可以定义如下：

正向重复

正向重复变异描述的是，某个序列 s 在 reference 的某个位置仅出现一次，但在 query **对应位置**中连续出现了多次。即：

$$\begin{aligned} S_{\text{reference}} &= -S_1 s S_2 - \\ S_{\text{query}} &= -S_1 s S_3 s s \cdots s s S_2 - \end{aligned}$$

其中：

- S_1, S_2 是重复变异上下游的片段
- S_3 一般为空，在本次 Lab 中还可能是构成另一组重复的相关序列（详见3.3节）
- 重复片段 s 在 reference 和 query 中完全一致，**暂时**不考虑序列 s 内部出现的其他变异

反向重复

反向重复变异描述的是，某个序列 s 在 reference 的某个位置仅出现一次，但其反向互补序列 s' 在 query **对应位置**中连续出现了多次。即：

$$\begin{aligned} S_{\text{reference}} &= -S_1 s S_2 - \\ S_{\text{query}} &= -S_1 s S_3 s' s' \cdots s' s' S_2 - \end{aligned}$$

其中：

- S_1, S_2 是重复变异上下游的片段
- S_3 一般为空，在本次 Lab 中还可能是构成另一组重复的相关序列（详见3.3节）

- 重复片段 s 和 s' 完全符合反向互补的规则，**暂时**不考虑序列 s' 内部出现的其他变异
- 本次 Lab 中默认 query 中第一次出现的重复片段（即 S_1, S_3 之间的 s）是正向的，这是因为这一情况在生物体系中更常见。但不排除实际数据中存在重复片段第一次出现就是反向的情况，即 $-S_1s'S_3s's'\cdots s's'S_2-$

重复数量

重复数量指的是重复片段在 query 中**额外**出现的重复次数。由于重复片段 s 必须在 reference 中出现一次，我们在计算重复数量时需要扣除 query 中与 reference 对应的这一次重复。即对于如下输入：

$$S_{\text{reference}} = -S_1sS_2-$$
$$S_{\text{query}} = -S_1sssS_2-$$

重复片段 s 在 reference 该位置出现 1 次，在 query 对应位置出现 3 次，相比于 reference 额外出现 2 次。故认为重复数量为 2。

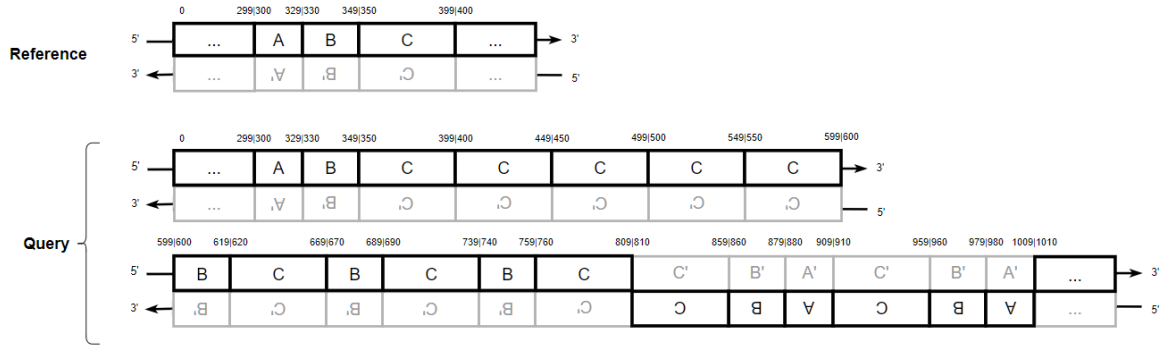
3.2 输入与输出

代码输入：query 和 reference 两个序列，均为由 ATCG 构成的字符串。详见 PPT 第 30-31 页。
代码输出：对于每一组重复，需要输出以下信息（可参考 PPT 第 29 页）

1. 第一次**额外重复**在 reference 的位置（注意：重复片段的第一次出现应当是与 reference 相对应的，需要输出的是额外重复部分开始位置）
2. 重复片段的长度
3. 重复数量（注意：重复数量是指**额外**出现的次数）
4. 是正向重复还是反向重复

3.3 样例分析

以本次 Lab 的 query 和 reference 为例，作图如下。上方的数字是字符串下标。



其中，A', B', C' 分别是序列 A, B, C 的反向互补序列。由于 DNA 双链之间的互补配对关系，我们一般只记录其中的一条链，例如 PPT 给出的 DNA 序列只记录了上面这条链，用符号可以表示为：

$$S_{\text{reference}} = \cdots \text{ABC} \cdots$$
$$S_{\text{query}} = \cdots \text{ABC-CCCC-BCBCBC-C}'\text{B}'\text{A}'\text{C}'\text{B}'\text{A}' \cdots$$

得到的结果表：

序号	重复片段	reference 中的出现位置	序列长度	重复数量	是否反向
1	C	400	50	4	False
2	BC	400	70	3	False
3	ABC	400	100	2	True

该表的解释如下：
对于重复片段 C 而言：

- 其在 query 中第一次出现是在 350-399，与 reference 一致
- 其在 query 中第二次出现（即第一次额外出现重复）是在 query 的 400-449，相当于在 reference 的 400 位置处增加了序列 C，故位置为 400
- 序列长度为 C 序列自身长度 50
- 重复数量是 C 序列额外连续重复的次数，即 query 中的 400-449, 450-499, 500-549, 550-599，共 4 次

对于重复片段 BC 而言：

- 其在 query 中第一次出现是在 330-399，与 reference 一致
- 其在 query 中第二次出现（即第一次额外出现重复）是在 query 的 600-669，但与 reference 对比，仍然相当于在 reference 的 400 位置处增加了序列 BC，故位置仍为 400

- 序列长度为 BC 序列长度 70
- 重复数量是 BC 序列额外连续重复的次数，即 query 中的 600-669, 670-739. 740-809，共 3 次

对于重复片段 ABC 而言：

- 其在 query 中第一次出现是在 300-399，与 reference 一致
- 其在 query 中第二次出现（即第一次额外出现重复）是在 query 的 810-909，但与 reference 对比，仍然相当于在 reference 的 400 位置处增加了序列 ABC 的反向互补序列，故位置仍为 400
- 序列长度为 ABC 序列长度 100
- 重复数量是 ABC 序列额外连续重复的次数，即 query 中的 810-909, 910-1009，共 2 次

4 相关要求

需要完成的任务：编写代码，根据输入的 query 和 reference 计算 query 中存在的重复片段，并输出相关信息（详见3.2节）。编程语言不限。

结果要求：本次 Lab 只需要考虑常见的重复变异，能正确处理 PPT 所给样例并给出正确结果即可。

扩展性要求：本次 Lab 无需考虑其他复杂的情况。但请注意，后续 Lab 将在本 Lab 基础上修改，请适度注意代码的可扩展性。

复杂度要求：时间复杂度不得高于平方量级（不含平方量级）。

提交要求：在 Elearning 上提交实验文档，包括算法伪代码、时空复杂度、运行结果截图。在 GitHub 上创建仓库（Repository）并上传代码。

截止时间：2025.3.30 23:59

5 常见问题

1. 哪些变换是合法的
   简单而言，**在本次 Lab 中**，只有上述提到的两类变换（正向重复、反向重复）是合法的。以下变换在本 Lab 中均不合法，并附上了不合法的原因。

   (1) 重复部分有正向也有反向，例如：

$$S_{\text{reference}} = \cdots \text{AAA} \cdots$$
$$S_{\text{query}} = \cdots \text{AAATTTAAAAAA} \cdots$$

不能简单认为这是序列 AAA 在 query 中出现了 3 次额外重复。这是因为在生物体系中，这种同时出现正向和反向重复片段的复杂情况往往包含了其他变异类型，无法通过简单的重复变异解释。

(2) 重复片段自身发生变化，例如：

$$S_{\text{reference}} = \cdots \text{CAAT} \cdots$$
$$S_{\text{query}} = \cdots \text{CAAAAAAAAT} \cdots$$

正确理解是序列 AA 在 query 中出现了 3 次额外重复，不能理解为 AAT 发生重复。这是因为目前要求 query 中的重复片段与 reference 中的序列完全一致（或反向互补）

2. 重复片段 s 的长度有无限制
理论上没有限制。不过，在后续 Lab 中，如果重复片段太短（例如只有 1 个碱基对），很可能会被当做其他变异而非重复变异。

3. pos 有多个解的情况如何处理
重复片段所在位置（pos）的数值无需特别精确，例如在重复片段与上下游序列相似的输入中：

$$S_{\text{reference}} = \cdots \text{ATCGATAT} \cdots$$
$$S_{\text{query}} = \cdots \text{ATCGATCGATAT} \cdots$$

可观察到两种重复的方式：

$$\begin{aligned} S_{\text{reference}} &= \cdots \text{ATCG-ATAT} \cdots \\ S_{\text{query}} &= \cdots \text{ATCG-ATCG-ATAT} \cdots \end{aligned} \quad \text{(Alignment A)}$$

或

$$\begin{aligned} S_{\text{reference}} &= \cdots \text{AT-CGAT-AT} \cdots \\ S_{\text{query}} &= \cdots \text{AT-CGAT-CGAT-AT} \cdots \end{aligned} \quad \text{(Alignment B)}$$

实际上，这两种结果对应的 pos 差异很小（只相差 2 个碱基对），这一误差在整个基因组的 30 亿碱基对中可以忽略不计。在提交结果时，只需选择其中一个即可。
注意：本次 Lab 不涉及该问题，理论上可以得到唯一精确的 pos。

4. 比对为什么要用到 reference，直接看 query 中重复出现的片段是否可以
以上关于重复变异的介绍存在一个重要前提，即 query 中发生重复的位置是与 reference 对应的，因此不能在脱离 reference 的情况下讨论重复变异。例如：

$$S_{\text{reference}} = -S_1 s S_2 S_3 S_4 -$$
$$S_{\text{query}} = -S_1 s S_2 S_3 s s s s S_4 -$$

这种情况不属于重复变异，因为 reference 的 S_3 和 S_4 之间不存在序列 s，query 中多出的 $ssss$ 序列属于插入变异，而不是重复变异。更形象的比喻是，重复变异是将一段序列**原地复制**若干次，且不会影响序列其他位置。

5. 什么是“最大化重复片段长度、最小化重复次数”
在下面这一样例中：

$$\begin{aligned} S_{\text{reference}} &= \cdots \text{CGATATCG} \cdots \\ S_{\text{query}} &= \cdots \text{CGATATATATATATCG} \cdots \end{aligned}$$

存在两种解释，即

$$\begin{aligned} S_{\text{reference}} &= \cdots \text{CGAT-AT-CG} \cdots \\ S_{\text{query}} &= \cdots \text{CGAT-AT-AT-AT-AT-AT-CG} \cdots \end{aligned} \tag{Alignment A}$$

或

$$\begin{aligned} S_{\text{reference}} &= \cdots \text{CG-ATAT-CG} \cdots \\ S_{\text{query}} &= \cdots \text{CG-ATAT-ATAT-ATAT-CG} \cdots \end{aligned} \tag{Alignment B}$$

其中，Alignment A 中的重复片段为“AT”，重复次数为 4 次。Aligment B 中的重复片段为“ATAT”，重复次数为 2 次。“最大化重复片段长度、最小化重复次数”主要是针对这类情况的要求，即**同一位置**存在多种可能的重复片段时，找到尽可能长的重复片段，从而降低重复次数。而对于不同位置的重复片段，其长度和重复次数没有可比性。

6 重要提醒

1. 下一个 Lab 将在本次 Lab 基础上拓展，并考虑更多变异类型。请适度注意代码的可扩展性，尽量减少返工

2. 下周一（3.10）习题课可能会提供一些相关思路，建议在课前先自行思考