SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET ELEKTROTEHNIKE I RAČUNARSTVA

Poboljšanje djelomično sastavljenog genoma dugim očitanjima

Dan Ambrošić
Stjepan Dugonjić
Mihaela Bošnjak

Zagreb, siječanj 2019.

Sadržaj

1. Opis problema i podataka

Cilj ovog projekta je poboljšati djelomično sastavljen genom koristeći duga očitanja. Ukoliko genom ima puno ponavljajućih sekvenci, pogotovo ako su iste duže od duljine očitanja, teško ga je sastaviti u potpunosti. Ulazni podaci su skup sastavljenih sekvenci (contig-a), koje su dobivene nekim od alata za sastavljanje genoma, te skup dugih očitanja. Zadatak je napisati program koji pokušava sastaviti contig-e u jednu sekvencu koristeći dobivena očitanja.

Za provjeru rada implementacije korištena su 3 genoma:

1. EColi - sintetski podaci (3 contig-a)
2. CJejuni - stvarni podaci (5 contig-a)
3. BGrahamii - stvarni podaci (5 contiga-a)

Svi podaci se sastoje od datoteke s očitanjima te datoteke s već sastavljenim sekvencama koje su u FASTA formatu. Uz njih algoritmu su potrebna i preklapanja između contig-a i očitanja, te međusobna preklapanja očitanja koja su dobivena alatom Minimap2 [1] u PAF formatu. Konačno, dobivena je i datoteka koja sadrži referentnu sekvencu s kojom se uspoređuje krajnji rezultat.

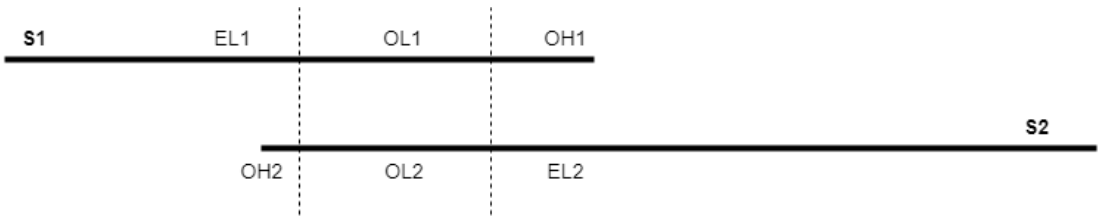
[1] https://github.com/lh3/minimap2

2. Opis implementacije

Implementacija uglavnom slijedi algoritam HERA (engl. *Highly Efficient Repeat Assembly*) opisan u radu [**?**] uz nekoliko manjih modifikacija. Algoritam se sastoji od tri glavnih koraka. Prvo se gradi graf preklapanja u kojem se traže putevi između contig-a. Nakon što su pronađeni mogući putevi, za svaki par contig-a se traži reprezentativna sekvenca te se u konačnici sastavlja jedna sekvenca između povezanih contig-a.

Alat Minimap2, ukoliko pronađe preklapanje između dvije sekvence (očitanje ili contig), da informacije o indeksima početka i kraja preklapanja za obje sekvence. Prvi korak je odbacivanje preklapanja koja zadovoljavaju barem jedan od sljedećih uvjeta:

- preklapanje je između dvije iste sekvence,
- preklapanje u kojem jedna sekvenca u potpunosti sadrži drugu,
- SI (engl. *sequence identity*) mjera je ispod određene granice (primjerice 40%).



Slika 2.1: Primjer preklapanja između S1 i S2

Za preostale sekvence se računaju mjere preklapanja i produživanja. Na slici 2.1 je prikazano preklapanje između sekvenca S_1 i S_2 gdje se sekvenca S_2 nalazi nakon sekvence S_1. U sredini između isprekidanih linija je regija preklapanja čija je duljina OL_1 i OL_2, ovisno koju sekvencu gledamo, a izvana su OH (engl. *overhang length*) i EL (engl. *extension length*). Koristeći navedene duljine, računa se mjera preklapanja OS i mjere produživanja ES_1 i ES_2 prema izrazima 2.1 -

2.3. Pri tome je potrebno voditi računa preklapaju li se sekvence na istim ili suprotnim lancima. Primjerice da se S_1 i S_2 preklapaju na suprotnim lancima, potrebno bi bilo zamijeniti vrijednosti OH_2 i EL_2.

$$OS = \frac{(OL_1 + OL_2) * SI}{2} \tag{2.1}$$

$$ES_1 = OS + \frac{EL_1}{2} - \frac{OH_1 + OH_2}{2} \tag{2.2}$$

$$ES_2 = OS + \frac{EL_2}{2} - \frac{OH_1 + OH_2}{2} \tag{2.3}$$

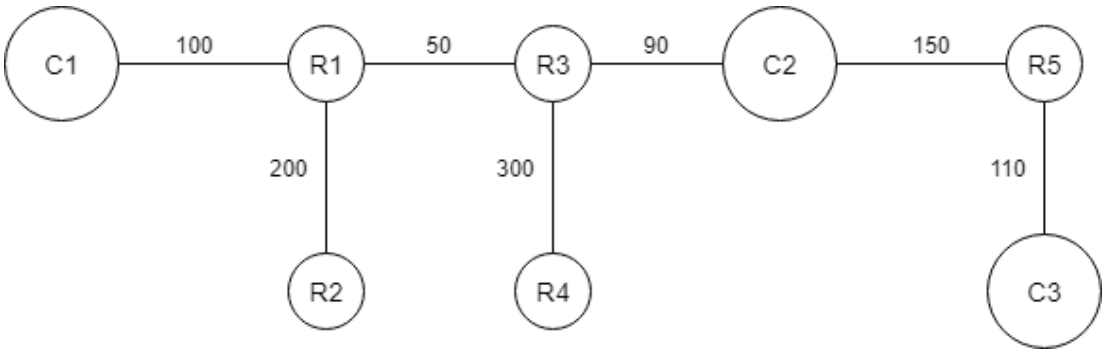
Nakon što su sve mjere izračunate, odbacuju se preklapanja gdje je zbroj OH_1 i OH_2 veći od 20% duljine produživanja EL_1 ili EL_2 te je moguće prijeći na izradu grafa preklapanja.

2.1. Graf preklapanja

Čvorovi u grafu predstavljaju contig-e i očitanja, a grane preklapanja, s time da grana može biti povezana na glavu ili rep čvora. Drugim riječima, svaki čvor ima svoje prefikse i sufikse. Sljedeći korak je traženje puteva između dva contig-a koji se obavlja pretraživanjem u dubinu (engl. *DFS*) uz nekoliko pravila. Postupak kreće iz svakog contig-a i zaustavlja se kada dođe do očitanja koje je povezano s drugim contig-om ili je trenutni put veći od maksimalne dopuštene duljine. Dodatno ograničenje je da se jedno očitanje ne može više puta pojaviti u istom putu.

Za izgradnju puteva koriste se tri pristupa. Prvi pristup iz početnog contiga izabere sve produžetke, ali za svaki sljedeći produžetak bira onaj koji ima najveću mjeru preklapanja OS. Ukoliko se dođe do čvora koji nema produžetke, vraća se jedan korak nazad i bira sljedeći najbolji produžetak. Drugi pristup radi isto kao prvi jedino koristi mjeru produživanja ES. Konačno, treći pristup nasumično bira produživanja proporcionalno mjeri produživanja ES, s time da je potrebno odrediti koliko puta će se iz svakog contig-a pokušati pronaći put ovom metodom. Po završteku postupka pronalaženja puteva između contig-a potrebno je samo odbaciti duplikate i moguće je prijeći na sljedeći korak algoritma.

Na slici 2.2 je primjer jednostavnog grafa preklapanja gdje brojevi na granama predstavljaju mjeru preklapanja OS. Pretpostavimo da tražimo put iz contig-a C_1 prvim pristupom. Prvo ćemo produžiti put u R_1, nakon toga u R_2 jer ima veću mjeru preklapanja od puta koji vodi u R_3. Međutim, kako dalje nema čvorova



Slika 2.2: Primjer grafa preklapanja

moramo se vratiti nazad i ići u R_3. Iako je po mjeri preklapanja veći put u R_4, za sljedeći čvor biramo C_2 jer predstavlja contig i time je jedan put završen.

2.2. Stevo

2.3. Mihaela

3. Rezultati

4. Zaključak

Literatura

Poboljšanje djelomično sastavljenog genoma dugim očitanjima

Sažetak

Blah blah blah

Ključne riječi: kljucne rijeci