



An efficient error correction algorithm using FM-index

Seminararbeit

vorgelegt von:

Eike Gebauer

Matrikelnummer: 408126

Studiengang: MSc. Informatik

Zusammenfassung

An dieser Stelle soll eine Zusammenfassung der wissenschaftlichen Arbeit stehen. Idealerweise ist die Zusammenfassung genau eine Seite lang, was in etwa 350 - 450 Wörtern entspricht. Sie bildet zusammen mit dem Fazit einen Rahmen der gesamten wissenschaftlichen Arbeit und sollte auch für Außenstehende einfach zu verstehen und ansprechend formuliert werden.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	DNA-Sequenzierung	1
1.2	Fehlerkorrektur	3
2	Methodik	5
2.1	Datenstrukturen	5
2.1.1	Patternsuche	6
2.2	Fehlerkorrektur	9
2.2.1	Vorbereitung	10
2.2.2	Fehleridentifikation	10
2.2.3	Überlappungen finden	10
2.2.4	Alignment der gefundenen Reads	11
2.2.5	Fehlerkorrektur durch k-mer Voting	12
3	Ergebnisse	15
4	Diskussion	17
5	Fazit	19

1 Einleitung

DNA Sequenzierung ist aus der biologischen und medizinischen Forschung nicht mehr wegzudenken. Die Entwicklung immer günstigerer und leistungstärkerer Sequenzierungsverfahren hat in den letzten Jahrzehnten für einen rapiden Anstieg der zu verarbeitenden Datenmengen gesorgt. Hinzu kommt, dass die verwendeten Verfahren nicht fehlerfrei sind, was die Verarbeitung der Daten weiter erschwert.

In dieser Arbeit wird ein Paper behandelt, in dem der Fehlerkorrekturalgorithmus FMOE vorgestellt wird. Zu erst wird aber der Hintergrund in den Bereichen Biologie und Bioinformatik erläutert.

1.1 DNA-Sequenzierung

Das Ziel der de-novo DNA-Sequenzierung ist die Bestimmung der Nukleotidfolge in DNA ohne ein bereits bekanntes Referenzgenom. Wo bei alten Verfahren noch alle Basen nacheinander bestimmt wurden, werden seit dem sogenannten Shotgun Sequencing viele Teilstücke der DNA parallel analysiert. Das macht es möglich, lange DNA Stränge mit Verfahren zu sequenzieren, die nur kurze Fragmente verarbeiten können. Gleichzeitig ermöglicht es die parallele Sequenzierung von mehreren Fragmenten, was den Vorgang extrem beschleunigt.

Die Reihenfolge der DNA-Fragmente aufrecht zu erhalten, ist möglich, aber relativ langsam. Die sogenannten next-gen Sequenzierungsverfahren, welche den aktuell höchsten Durchsatz erzielen, verzichten daher darauf. Um trotzdem auf die ursprüngliche Reihenfolge und damit auf die gesamte DNA-Sequenz zurückschließen zu können, wird das Verfahren für mehrere Kopien desselben DNA-Strangs durchgeführt.

Wie in Abbildung 1.1 zu sehen, trennt man also mehrere Kopien des Strangs an zufälligen Positionen in ungefähr gleich lange Fragmente. Alle Fragmente können dann unabhängig von einander - und damit parallel - sequenziert werden. Das Ergebnis der Sequenzierung eines Fragments wird Read genannt. Aufgrund der zufälligen Trennungspositionen überlappen sich viele dieser Reads. Vorausgesetzt die Abdeckung¹ reicht an allen Stellen der Sequenz aus, kann man mit den Überlappungen die Reads in die ursprüngliche Reihenfolge bringen und so die gesuchte DNA-Sequenz bestimmen. Dieser Prozess heißt Assembly.

¹Abdeckung (Englisch Coverage) beschreibt die Anzahl einzigartiger Reads, die dieselbe Base enthalten.

1 Einleitung

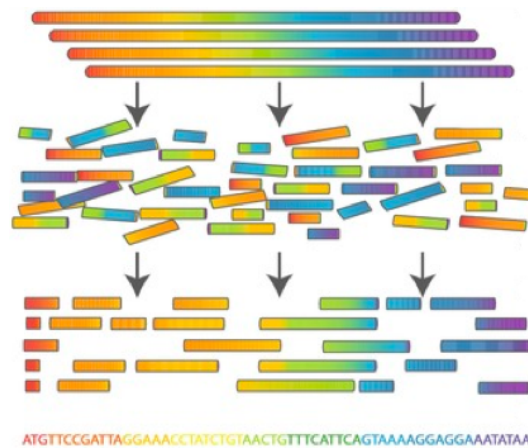


Abbildung 1.1: Shotgun Sequenzierung: Kopien des DNA-Strangs (oben) werden an zufälligen Positionen fragmentiert und sequenziert (darunter), in die korrekte Reihenfolge gebracht (3. von oben) und zur Gesamtsequenz zusammengesetzt (unten)

Wie bereits erwähnt, sind die aktuellen Verfahren zur Bestimmung der Reads nicht fehlerfrei. Es kann zum Überspringen (Deletion) oder Vertauschen (Substitution) richtiger Basen oder zur Einfügung (Insertion) falscher Basen kommen. Kollektiv werden diese Fehler Indels genannt.

Die Assembly üblicherweise durch Überlappungsgraphen oder de Bruijn Graphen bewältigt. Überlappungsgraphen können Fehler bis zu einem gewissen Maß kompensieren, bringen allerdings hohe Speicher- und Rechenanforderungen mit sich. De Bruijn Graphen sind deutlich ressourcensparender, tolerieren aber keine Fehler. Aus diesem Grund wird bei großen Datenmengen oft auf de Bruijn Graphen mit vorheriger Fehlerkorrektur zurückgegriffen.

Fehler in den Reads sorgen für verschiedene Probleme bei der Assembly mithilfe eines de Bruijn Graphen:

Fragmentierte Assembly

Fehlerhafte Reads verhindern das Erkennen von Überlappungen und sorgen für Graphen, die keine valide Assembly zulassen. Ein Beispiel für eine fragmentierte Assembly ist in Abbildung 1.2(b) zu sehen.

Misassembly

Fehlerhafte Reads überlappen sich in manchen Fällen mit korrekten Reads und sorgen für eine valide Assembly, die aber eine falsche Sequenz ergibt.

Dieser Fall ist im Nachhinein schwer zu erkennen.

Zusätzlich erhöht sich die Komplexität des Graphen bei fehlerhaften Reads unter Umständen enorm.

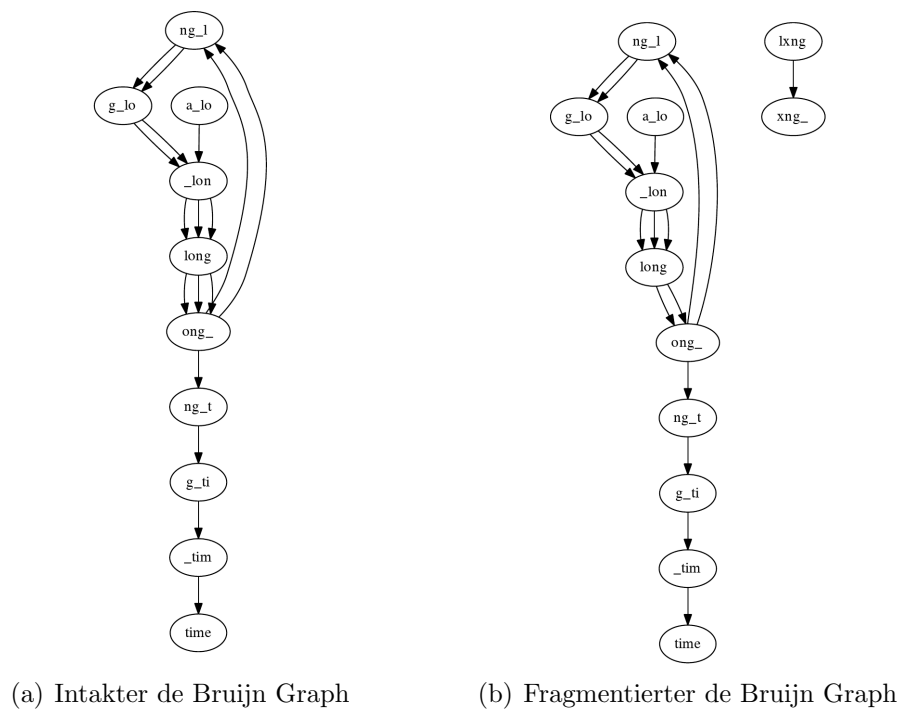


Abbildung 1.2: De Bruijn Graph des Texts „a long long time“. Oben der Graph aus fehlerfreien Fragmenten, unten der fragmentierte Graph, hervorgerufen durch Substitutionsfehler.

1.2 Fehlerkorrektur

Aufgabe der Fehlerkorrektur ist es, diese Komplikationen zu verhindern. Da bei der de-novo Sequenzierung kein Referenzgenom zur Verfügung steht, kann die Fehlerkorrektur nur auf Grundlage der Reads geschehen. Die üblichen Verfahren stützen sich dabei auf statistische Modelle, um fehlerhafte Reads zu finden und zu verwerfen oder zu korrigieren.

Das hier behandelte Paper teilt Fehlerkorrekturalgorithmen in drei Kategorien:

k-mer Frequenzspektrum Methoden erzeugen eine Erhebung aller k-mere² und ihrer Häufigkeiten aus den Reads und ersetzen seltene k-mere durch Häufige. Diese Verfahren sind empfindlich gegenüber Wiederholungen in der DNA-Sequenz.

Suffix-Tree / -Array Methoden erzeugen einen Index der Suffixe der Reads in Form eines Arrays oder Baums und verhalten sich ansonsten ähnlich

²k-mer wird eine k Zeichen lange Teilkette einer Zeichenkette genannt. Beispiel: Die 3-mere von „ABCDE“ sind „ABC“, „BCD“ und „CDE“.

1 Einleitung

zu den k-mer-basierten Methoden.

Die variable Länge der Suffixe macht diese Verfahren etwas resistenter gegen Wiederholungen.

Überlappungsbasierte Methoden suchen für jeden zu korrigierenden Read alle überlappenden Reads und korrigieren potenzielle Fehler mit einem MSA³ der gefundenen Reads.

Durch die Verwendung der ganzen Reads sind diese Verfahren nicht anfällig für Wiederholungen, allerdings ist die Berechnung des MSA Berechnung sehr langsam.

Weitere Vor- und Nachteile der verschiedenen Vorgehensweisen werden später noch erläutert.

³MSA ist die Abkürzung für Multiple Sequence Alignment und beschreibt das alignen von mehr als drei DNA-Sequenzen. Mit alignment ist an dieser Stelle der methodische Vergleich von Sequenzen gemeint.

2 Methodik

FMOE fällt in die dritte Kategorie und unterscheidet sich von anderen Verfahren derselben Kategorie hauptsächlich durch die Verwendung von FM-Index und damit verbundenen Optimierungen.

Im Folgenden werden daher zuerst die Datenstrukturen behandelt.

2.1 Datenstrukturen

Der FM-index ist eine Datenstruktur für Zeichenfolgen, die auf der Burrows Wheeler Transformation (BWT) basiert.

Die BWT ist ein Algorithmus, der aus einer beliebigen Zeichenfolge eine Permutation dieser Folge und einen Index erzeugt, mit dem Effekt, dass die erhaltene Permutation in der Regel leichter zu komprimieren ist. Eine Rücktransformation ermöglicht dann die Wiederherstellung der ursprünglichen Zeichenfolge.

Der FM-Index wird ähnlich zur BWT konstruiert, speichert aber zusätzliche Daten, um schnelle Patternsuche bei immer noch sehr geringer Speicherkomplexität zu ermöglichen. Die Funktionsweise und die Gründe für die Ressourcensparsamkeit lassen sich am besten im Vergleich zum Suffix-Array erläutern.

Wie in den Tabellen 2.1 und 2.2 zu sehen ist, beginnt man bei beiden Datenstrukturen damit, alle Suffixe der Zeichenfolge zu erzeugen. Im Fall des FM-Index wird jede Zeile mit dem Anfang der Zeichenfolge aufgefüllt, sodass sich die Rotationen der Zeichenfolge ergeben. Zusätzlich werden die Suffixpositionen in der Zeichenfolge in einer extra Spalte festgehalten.

Das Ergebnis dieser Operation wird dann lexikographisch sortiert. In Tabelle 2.4 ist der fertige Suffix Array zu sehen. Während bei dem Suffix-Array das gesamte Array gespeichert werden muss, kann beim FM-Index auf einen großen Teil der Daten verzichtet werden.

- Aus den Rotationen müssen nur die Spalten F und L gespeichert werden.
- Die Spalte F ist aufsteigend sortiert und kann daher bei einem kleinen Alphabet wie $\{A, C, G, T, \$\}$ sehr stark komprimiert werden.
- Für den Suchalgorithmus müssen die Ränge der Zeichen in der letzten Zeile (in Tabelle 2.5 als tiefgestellte Indizes sichtbar) bekannt sein. Diese kann man bei jeder Suche neu berechnen oder speichern. In den meisten Fällen wird ein hybrider Ansatz verwendet, bei dem ein Bruchteil

2 Methodik

0	a	t	g	a	t	t	a	t	c	\$
1	t	g	a	t	t	a	t	c	\$	
2	g	a	t	t	a	t	c	\$		
3	a	t	t	a	t	c	\$			
4	t	t	a	t	c	\$				
5	t	a	t	c	\$					
6	a	t	c	\$						
7	t	c	\$							
8	c	\$								
9	\$									

Abbildung 2.1: Suffixe

0	a	t	g	a	t	t	a	t	c	\$
1	t	g	a	t	t	a	t	c	\$	a
2	g	a	t	t	a	t	c	\$	a	t
3	a	t	t	a	t	c	\$	a	t	g
4	t	t	a	t	c	\$	a	t	g	a
5	t	a	t	c	\$	a	t	g	a	t
6	a	t	c	\$	a	t	g	a	t	t
7	t	c	\$	a	t	g	a	t	t	a
8	c	\$	a	t	g	a	t	t	a	t
9	\$	a	t	g	a	t	t	a	t	c

Abbildung 2.2: Rotationen

Abbildung 2.3: Vorstufen von Suffix-Array und FM-Index für die Zeichenfolge „atgattatc\$“

der Ränge vorberechnet und gespeichert wird, um die Berechnung der Übrigen zu beschleunigen.

- Die Positionen in der ursprünglichen Zeichenfolge (in den Tabellen 2.6 als getrennte Spalte sichtbar) können genau wie die Ränge teilweise vorberechnet werden, um einen guten Kompromiss zwischen Speicherverbrauch und Rechenaufwand zu erhalten.

Diese Optimierungen sorgen dafür, dass ein Suffix-Array in der Regel ein vielfaches an Speicher benötigt als ein FM-Index.

2.1.1 Patternsuche

Die Patternsuche im Suffix-Array ist trivial, da es für jedes Vorkommen des Patterns einen Suffix geben muss, der mit dem Pattern beginnt. Weil alle

9	\$
6	a t c \$
0	a t g a t t a t c \$
3	a t t a t c \$
8	c \$
2	g a t t a t c \$
5	t a t c \$
7	t c \$
1	t g a t t a t c \$
4	t t a t c \$

Abbildung 2.4: Suffix-Array

	F	L
9	\$ a t g a t t a t	c ₁
6	a ₁ t c \$ a t g a t	t ₁
0	a ₂ t g a t t a t c	\$
3	a ₃ t t a t c \$ a t	g ₁
8	c ₁ \$ a t g a t t a	t ₂
2	g ₁ a t t a t c \$ a	t ₃
5	t ₁ a t c \$ a t g a	t ₄
7	t ₂ c \$ a t g a t t	a ₁
1	t ₃ g a t t a t c \$	a ₂
4	t ₄ t a t c \$ a t g	a ₃

Abbildung 2.5: FM-Index

Abbildung 2.6: Resultierender Suffix-Array und FM-Index für die Zeichenfolge „atgattatc\$“

Suffixe lexikographisch sortiert sind, liegen alle Suffixe, die mit dem Pattern beginnen hintereinander im Array. Es genügt also den Ersten und den Letzten der Suffixe durch wiederholte binäre Suche zu finden und mithilfe der ersten Spalte die Position aller dazwischen liegenden herauszufinden.

Beispiel: Suche nach „att“ (siehe auch Tabelle 2.7)

1. Durch binäre Suche das Intervall der Suffixe finden, dass mit „a“ beginnt (blau). Wenn die erste Spalte des Arrays durch RLE¹ komprimiert wurde, kann dieser Schritt ohne binäre Suche in konstanter Zeit stattfinden.
2. Mit binärer Suche das Teilintervall finden, dessen zweites Zeichen „t“ ist

¹RLE steht für Run Length Encoding (auf Deutsch Lauflängenkodierung) und ist eine Kompression, die bei Daten mit vielen Symbolwiederholungen eingesetzt wird. Beispiel: „aaaaabbb“ wird komprimiert zu „a5b3“

2 Methodik

(orange).

- Schritt 2 für das nächste Zeichen wiederholen (rot).
- Den gefundenen Suffix anhand der extra Spalte seiner Position in der Zeichenfolge zuordnen (Index 3)

9										\$
6	a	t	c							\$
0	a	t	g	a	t	t	a	t	c	\$
3	a	t	t	a	t	c				\$
8	c									\$
2	g	a	t	t	a	t	c			\$
5	t	a	t	c						\$
7	t	c								\$
1	t	g	a	t	t	a	t	c		\$
4	t	t	a	t	c					\$

Abbildung 2.7: Patternsuche in Suffix-Array

Die Patternsuche in einem FM-Index ist etwas komplizierter. Man sucht das Pattern von hinten nach vorne durch ein sogenanntes LF-Mapping. Die Eigenschaft, die dieses Mapping ermöglicht, ist, dass der Zeichenrang in der letzten Zeile, dem der ersten Zeile entspricht. Das dritte „a“ in der Spalte L ist in der ursprünglichen Folge also dasselbe Zeichen, wie das dritte „a“ in der Spalte F.

Im FM-Index liegen alle Vorkommen des Patterns in dem gleichen zusammenhängenden Intervall, wie im Suffix Array. Aus diesem Grund ist auch bei Resultaten einer Patternsuche in einem FM-Index oft von Suffix-Array-Intervallen die Rede.

Das selbe Beispiel: Suche nach „att“ (siehe auch Tabelle 2.8)

- In konstanter Zeit das Intervall von F suchen, dass mit „t“ beginnt (blau).
- In dem selben Intervall in L linear nach dem nächsten Zeichen „t“ suchen (orange).
- Das gefundene „t“ anhand des Rangs in konstanter Zeit in F wieder finden.
- Schritt 2 und 3 mit dem Zeichen „a“ wiederholen (rot).
- Den gefundenen Eintrag anhand der extra Spalte seiner Position in der Zeichenfolge zuordnen (Index 3)

	F	L
9	\$ a t g a t t a t	c ₁
6	1 t c \$ a t g a t	t ₁
0	a ₂ t g a t t a t c	\$
3	a ₃ t t a t c \$ a t	g ₁
8	c ₁ \$ a t g a t t a	t ₂
2	g ₁ a t t a t c \$ a	t ₃
5	t ₁ a t c \$ a t g a t	t ₄
7	t ₂ c \$ a t g a t t	a ₁
1	t ₃ g a t t a t c \$	a ₂
4	t ₄ t a t c \$ a t g	a ₃

Abbildung 2.8: Patternsuche in FM-Index

Per LF-Mapping ist man mit den erwähnten Optimierungen also in der Lage mit geringer Komplexität nach Patterns zu suchen und die Speichereffizienz ermöglicht es im Vergleich zum Suffix-Array bei der selben Speichermenge deutlich größere Datenmengen zu verarbeiten.

Ein FM-Index des Menschlichen Genoms (ca. 3Mbp² mit 2 Bits pro Base) braucht ca. 1,5GB Speicher, während ein Suffix-Array ca. 12GB braucht.

2.2 Fehlerkorrektur

Im folgenden geht es um den Ablauf des Fehlerkorrekturalgorithmus. Dieser sieht es vor, dass jeder Read einzeln auf Fehler überprüft und bei Auftreten eines Fehlers dieser korrigiert wird.

Das Verfahren für den aktuellen - Query genannten - Read lässt sich in folgende grobe Schritte einteilen:

Potenzielle Fehler identifizieren

Fehler werden anhand von Thresholding gesucht.

Reads finden, die sich mit der Query überlappen

Aus allen Reads werden die gefunden, die sich in der Nähe des identifizierten Fehlers mit dem Query Read überlappen.

Gefundene Reads mit dem Query-Read alignen

Ausgehend von der Überlappung werden alle gefundenen Reads schrittweise in beide Richtungen mit der Query aligned.

Korrektur des Fehlers

Durch k-mer Voting aus den alignen Reads wird der Ersatz für die fehlerhafte Base gewählt.

²Mbp steht für Mega Basenpaare, also 1 Milliarde Basenpaare

Bevor dieser Ablauf beginnen kann, müssen aber ein paar Vorbereitungen getroffen werden.

2.2.1 Vorbereitung

Als erstes wird ein FM-Index aus allen Reads erzeugt und ein weiterer, der alle Reads rückwärts enthält. Die Verwendung des umgekehrten FM-Index wird in während des Alignment-Schritts erläutert.

Wie bei den meisten anderen Verfahren, wird auch ein Frequenzspektrum von k -meren erzeugt. In diesem Fall allerdings nicht von allen k -meren sondern aus 10.000 zufällig gezogenen k -meren aus allen Reads. Die Hoffnung ist, dass diese zufällige Stichprobe die gesamten Daten ausreichend repräsentiert, um Sonderfälle zu erkennen. k ist im Normalfall 31, kann aber angepasst werden. Die optimale Größe der k -mere hängt von der Länge der Reads, der erwarteten Größe der Überlappungen und weiteren Faktoren ab.

Aus diesem k -mer Frequenzspektrum werden weitere statistische Werte, wie der Mittelwert und Median der k -mer Häufigkeit, berechnet, die im Verlauf des Algorithmus Verwendung finden.

2.2.2 Fehleridentifikation

Für einen gegebenen Query Read werden nun alle k -mere erzeugt. Wenn die Häufigkeit von einem dieser k -mere im Frequenzspektrum unter einem bestimmten Schwellenwert (standardmäßig die Hälfte des Medians) fällt, enthält es wahrscheinlich Fehler.

2.2.3 Überlappungen finden

Der größte, an das fehlerhafte k -mer grenzende, Bereich, welcher entsprechend des Schwellenwerts ausreichende Qualität hat, wird identifiziert (in Abbildung 2.9 High Quality Region genannt).

Das k -mer innerhalb dieses Bereichs, das dem Fehler am nächsten ist, wird Seed genannt.

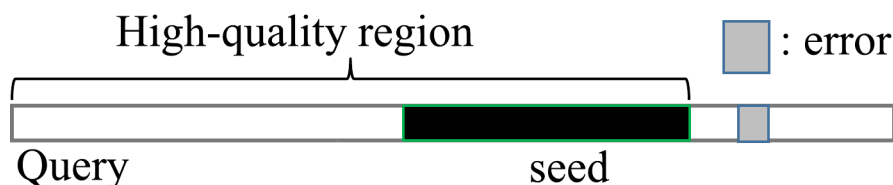


Abbildung 2.9: Visualisierung der Seed Position in einem fehlerhaften Query Read

Nun werden in dem normalen FM-Index alle Reads gesucht, die den Seed enthalten. Dies wird durch eine Patternsuche erreicht und resultiert in einem zusammenhängenden Suffix-Array-Intervall aller Vorkommen des Seeds.

2.2.4 Alignment der gefundenen Reads

Zusammen mit dem vorherigen Schritt wird diese Art von Alignment als Seed-and-Extend Strategie bezeichnet. Bereits vor dem Erscheinen des Papers wurde die FM-Index Variante dieser Strategie in der Bioinformatik verwendet. Nachdem alle Reads mit dem Seed gefunden wurden, beginnt hier also die Extension Phase.

In dieser Phase werden die gefundenen Reads Schritt für Schritt mit der Query aligned. Man beginnt also mit dem Suffix-Array-Intervall aus dem vorherigen Schritt und führt in jedem Schritt das LF-Mapping für alle möglichen Basen (A, C, G und T) aus. Daraus ergeben sich vier neue Intervalle, die mit dem Seed beginnen und jeweils eine weitere Base enthalten.

Auf diese Art und Weise wird ein Baum aus allen auftretenden Basen erzeugt, welche mit ihrer Intervallgröße annotiert werden (siehe Abbildung 2.10). Das sorgt dafür, dass eine beliebige Menge von Reads in einen Pfad komprimiert werden, solange sie sich nicht voneinander unterscheiden. Während dieses Prozesses werden Pfade, die zu sehr kleinen Intervallen gehören, entfernt, um das Verfahren zu beschleunigen. Die Extension wird abgebrochen, wenn die gesamte Query enthalten ist oder die Anzahl der Pfade einen festgelegten Schwellenwert überschreitet.

Ein Beispiel für die FM-Index Extension ist in Abbildung 2.11 zu sehen.

An dieser Stelle wird auch deutlich, weshalb der zweite, umgekehrte, FM-Index notwendig ist. Die FM-Index Extension funktioniert aufgrund des LF-Mappings nur in eine Richtung. Um die Überlappung in beide Richtungen zu erweitern, ist also auch ein FM-Index der alle Reads rückwärts enthält nötig.

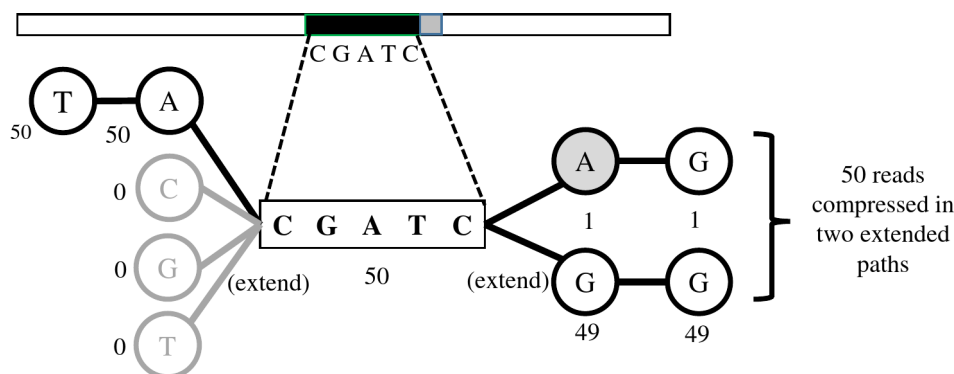


Abbildung 2.10: Extension Baum von 50 gefundenen Reads.

Anstatt das Alignment aus dem erhaltenen Baum mit herkömmlichen Verfahren aus dem Feld der dynamischen Programmierung zu berechnen, wurde eine heuristische Lösung entworfen. Noch vor der Extension werden die Suffix-Array-Intervalle aller k-mere des Query Reads berechnet. Während der Extension wird dann jedem neuen Pfad sein Intervall zugeordnet.

i	L													F	
0	\$	a	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	c	a	t	g
1	\$	a	a	t	g	\$	c	a	t	g	\$	a	a	t	g
2	\$	c	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	a	a	t	g
3	a	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	c	a	t	g	\$
4	a	a	t	g	\$	c	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$
5	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	c
6	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	c	a	t	g	\$	a
7	a	t	g	\$	c	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	a
8	c	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$
9	g	\$	a	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	c	a	t
10	g	\$	a	a	t	g	\$	c	a	t	g	\$	a	a	t
11	g	\$	c	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	a	a	t
12	t	g	\$	a	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	c	a
13	t	g	\$	a	a	t	g	\$	c	a	t	g	\$	a	a
14	t	g	\$	c	a	t	g	\$	a	a	t	g	\$	a	a

Abbildung 2.11: FM-Index der Reads „aatgc“, „aatgc“ und „catgc“ mit Trennzeichen „\$“. Von dem Intervall des Seeds „atgc“, [5, 7] ausgehend, entstehen durch das LF-Mapping mit allen vorhandenen Zeichen zwei Pfade: „a“, [3, 4] und „c“, [8, 8]

Ist das Intervall des Pfads äquivalent zu dem Intervall eines k-meres aus der Query mit gleichem Abstand vom Seed, so überlappt sich die Query mit den Reads in diesem Pfad.

An dieser Stelle müssen allerdings mögliche Indels beachtet werden, welche den effektiven Abstand des gemeinsamen k-mers vom Seed beeinflussen können. Um eine gewisse Anzahl Indels zu tollerieren, müssen also auch Suffix-Array-Intervalle der benachbarten k-mere mit denen der Pfade verglichen werden.

2.2.5 Fehlerkorrektur durch k-mer Voting

Üblicherweise wird nach der Berechnung eines MSA, wie im vorherigen Schritt, eine Matrix aller alignnten Reads erstellt (siehe Abbildung 2.12(a)). Aus dieser Matrix lässt sich die Häufigkeit jeder Base für jede alignnte Position der Query berechnen.

Eine einfache Lösung, um Fehler zu beheben, wäre also, die seltenen Basen in der Query durch die Häufigsten der jeweiligen Position zu ersetzen. Diese Vorgehensweise ist zwar weit verbreitet, sorgt unter Umständen aber für Probleme.

Die chemischen Verfahren, die aktuellen Sequenzierungsmethoden zugrunde liegen, identifizieren nicht alle Basen gleich gut. Regionen mit hohen Guanin

und Cytosin Konzentrationen lassen sich nicht so gut verstärken, wie Adenin und Thymin reiche Regionen. Aus diesem Grund enthalten solche Regionen verstärkt Fehler.

Diese und ähnliche systematische Fehler können bei herkömmlichen MSA Matrix Verfahren dafür sorgen, dass die Häufigkeit falscher Basen, die der korrekten übersteigt.

Um dem entgegen zu wirken, verwendet FMOE an dieser Stelle sogenanntes k-mer Voting (siehe Abbildung 2.12(b)). Beim k-mer Voting werden die k-mere aller Reads erzeugt, die die Fehlerposition enthalten. Die Häufigkeit aller unterschiedlichen k-mere wird berechnet und das Häufigste ersetzt die Fehlerposition.

Der Vorteil von k-mer Voting ist, dass selbst Reads mit hohen Fehleranteilen stückweise korrekte Sequenzen enthalten. Diese sind statistisch häufiger als identische Fehler in mehreren Reads und sorgen so für Wahl der korrekten Base.

k ist im Fall von FMOE standardmäßig 5, abhängig von der Länge des Alignments können aber andere Werte optimaler sein. Hier müssen neben dem Rechenaufwand wieder mehrere Faktoren abgewogen werden. Es wäre es auch möglich verschiedene Werte aus einem festgelegten Intervall zu testen und die eindeutigste Entscheidung zu übernehmen.

Ein Algorithmisch bedingter Vorteil dieser Methode ist, dass die Häufigkeit der k-mere bereits durch die Intervallgrößen aus dem Alignmentschritt gegeben sind. Das offensichtlich komplexere Verfahren benötigt an dieser Stelle also nicht signifikant mehr Rechenleistung.

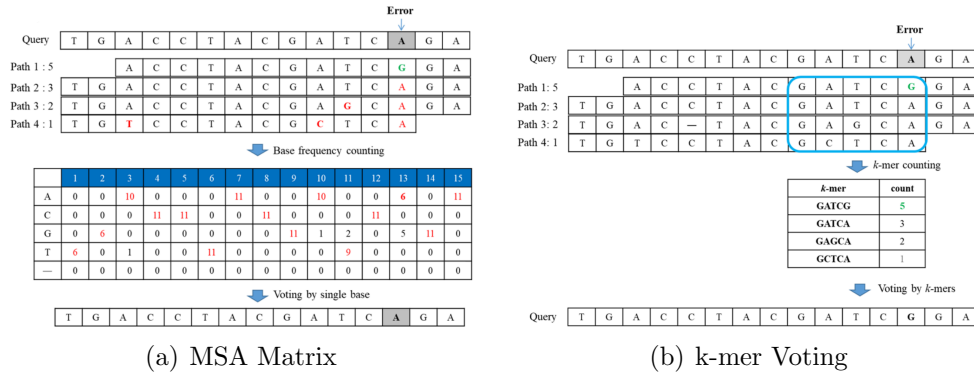


Abbildung 2.12

3 Ergebnisse

Dieses Kapitel sollte die Ergebnisse beinhalten, die mit den Methoden aus Kapitel 2 erstellt wurden.

Tabelle 3.1: Beispieltabelle

Spalte1	Spalte2	Spalte3
1	2	3

4 Diskussion

In diesem Kapitel werden die zuvor vorgestellten Ergebnisse der Arbeit diskutiert. Häufig wird es mit dem Fazit zusammengelegt.

5 Fazit

Dieses Kapitel bildet die abschließende Zusammenfassung der Arbeit. Dazu können die folgende Punkte behandelt werden:

- Reflexion: wurden die Ziele der Arbeit erreicht?
- mögliche Erweiterungen und Verbesserungen („future work“)

Literaturverzeichnis

- [1] JELE, Harald: *Wissenschaftliches Arbeiten: Zitieren*. R. Oldenbourg Verlag, 2010