

Elementi di Bioinformatica

Gianluca Della Vedova

Univ. Milano-Bicocca
<http://gianluca.dellavedova.org>

19 novembre 2019

Grafi di assemblaggio

Assemblaggio di genomi

Tecnologie

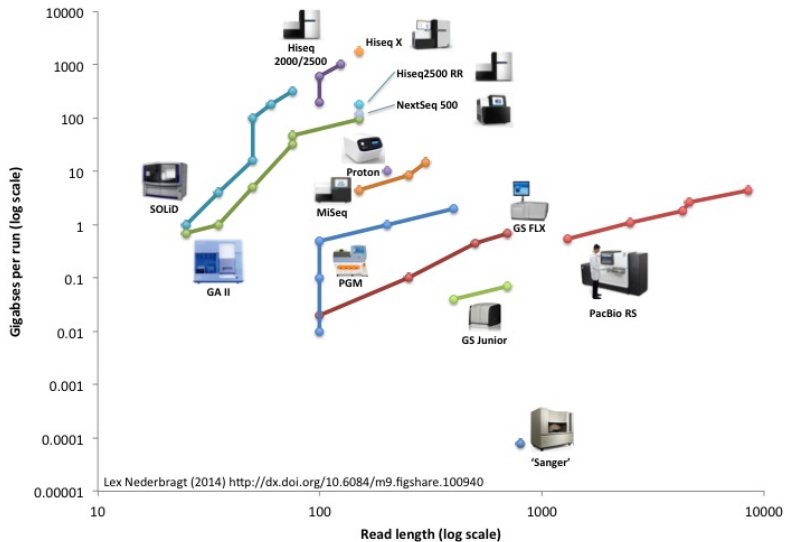
- Porzioni di genoma chiamate **read**
- 50–10000bp (base pairs)
- spesso in coppie (**mate pairs**)
- posizione originaria ignota

Obiettivo

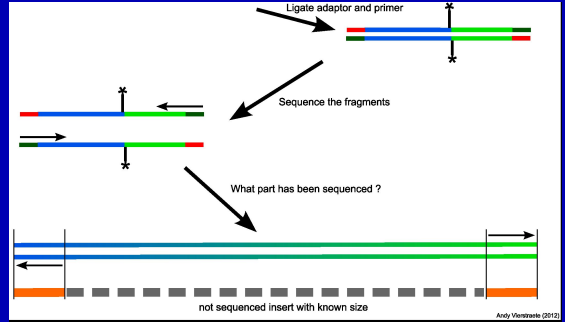
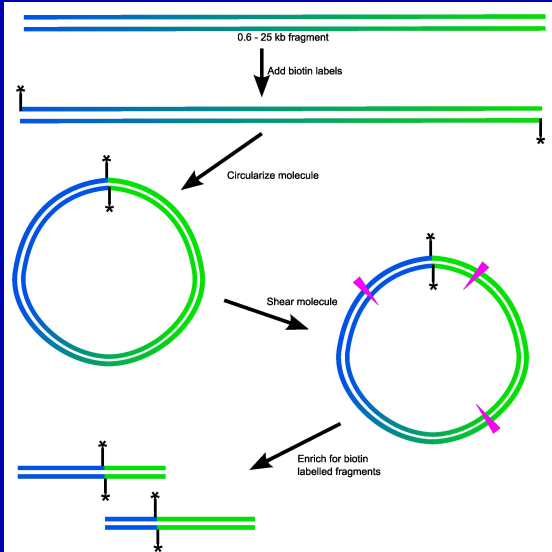
Ricostruire il genoma: circa 3 miliardi bp

Evoluzione tecnologica

Developments in High Throughput Sequencing



Mate pairs



Regola 1

Suffisso di una read può essere prefisso di un'altra read: overlap

Overlap — sovrapposizione

```
TCTATATCTCGGCTCTAGG
      |||||  |||||
TATCTCGACTCTAGGCC
```

Probabile motivo

```
TCTATATCTCGGCTCTAGG
GGCGTCTATATCTCGGCTCTAGGCCCTCATTTTTT
TATCTCGACTCTAGGCC
```

Errore oppure organismi diploidi

Grafo di overlap

Read

ACGTGTG

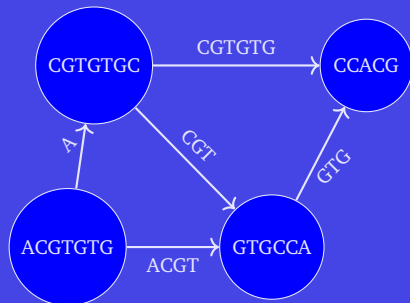
CGTGTGC

GTGCCA

CCACG

Arco fra tutte le coppie di read con overlap abbastanza lungo

Grafo



String Graph

Read

ACGTGTG

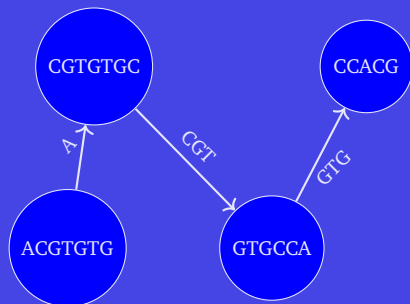
CGTGTGC

GTGCCA

CCACG

Si rimuovono gli archi transitivi dal grafo di overlap

Grafo



Shortest superstring

Istanza

Insieme $\mathcal{S} = \{s_1, \dots, s_n\}$ di stringhe

Soluzioni ammissibili

Superstring T di \mathcal{S} . Ogni s_i è sottostringa di T

Funzione obiettivo

$|T|$

T è il genoma assemblato, \mathcal{S} le read

Problema

Regioni ripetute

Algoritmo ingordo

Algoritmo

- 1 Fondere le due stringhe con massimo overlap
- 2 Finchè non rimane una stringa sola

Esempio: a_long_long_long_time

- 1 ng_lon _long_ a_long long_l ong_ti ong_lo long_t g_long g_time ng_tim
- 2 ng_time ng_lon _long_ a_long long_l ong_ti ong_lo long_t g_long
- 3 ng_time g_long_ ng_lon a_long long_l ong_ti ong_lo long_t
- 4 ng_time long_ti g_long_ ng_lon a_long long_l ong_lo
- 5 ng_time ong_lon long_ti g_long_ a_long long_l
- 6 ong_lon long_time g_long_ a_long long_l
- 7 long_lon long_time g_long_ a_long
- 8 long_lon g_long_time a_long
- 9 long_long_time a_long
- 10 a_long_long_time

Problema del commesso viaggiatore (TSP)

Istanza

Grafo orientato $G = \langle V, A \rangle$, con archi pesati $w : A \mapsto \mathbb{Q}^+$

Soluzioni ammissibili

Permutazione $\Pi = \langle \pi_1, \dots, \pi_n \rangle$ of V

Funzione obiettivo

$$w(\pi_n, \pi_1) + \sum_{i=1}^n w(\pi_i, \pi_{i+1})$$

- Una soluzione è un percorso che tocca ogni città esattamente una volta e torna al punto di partenza
- Il costo è il peso totale di tutti gli archi attraversati
- NP-completo

Problema del commesso viaggiatore (TSP)

Istanza

Grafo orientato $G = \langle V, A \rangle$, con archi pesati $w : A \mapsto \mathbb{Q}^+$

Soluzioni ammissibili

Permutazione $\Pi = \langle \pi_1, \dots, \pi_n \rangle$ of V

Funzione obiettivo

$$w(\pi_n, \pi_1) + \sum_{i=1}^n w(\pi_i, \pi_{i+1})$$

- Una soluzione è un percorso che tocca ogni città esattamente una volta e torna al punto di partenza
- Il costo è il peso totale di tutti gli archi attraversati
- NP-completo, **ma risolvibile in pratica**

Superstringa più corta e TSP

Similarità

1 read = 1 città

Differenze

- assemblaggio \neq ciclo
- lunghezza stringa \neq costo percorso TSP

Superstringa più corta e TSP

Similarità

1 read = 1 città

Differenze

- assemblaggio \neq ciclo
- lunghezza stringa \neq costo percorso TSP

Proprietà

$|\mathcal{S}| = \sum_{i=1}^n |s_i| - \sum_{i=1}^{n-1} |ov(s_i, s_{i+1})|$, dove $ov(\cdot, \cdot)$ è la lunghezza della sovrapposizione fra le stringhe

Grafo di overlap — TSP

Read

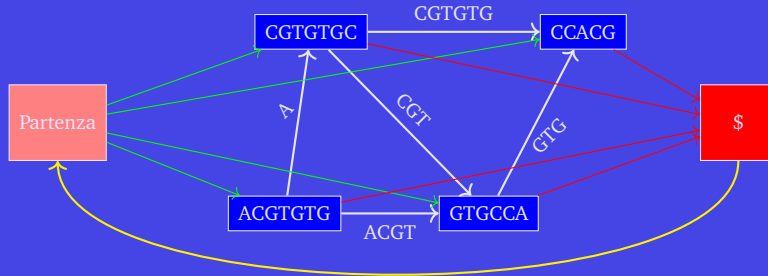
ACGTGTG

CGTGTGC

GTGCCA

CCACG

Grafo



Overlay — Layout — Consensus

Passi

- 1 Overlap: calcolare le sovrapposizioni e costruire il grafo. Usare suffix array (esatto) o programmazione dinamica (errori).
- 2 Layout: Fondere i cammini per ottenere i **contigs**. Le ripetizioni (branching nodes) vengono rimosse.
- 3 Consensus: calcola i nucleotidi

Reverse and complement

- Non si conosce lo strand
- Versione canonica (minima fra x e $\text{revcomp}(x)$)
- complica il calcolo degli overlap

DNA array

- Tecnologia vecchia
- Per ogni k -mero, si conosce se appare nel genoma
- $k \approx 8$

Procedura

- 1 Ogni k -mero viene diviso in $(k - 1)$ -meri
- 2 Un vertice per ogni $(k - 1)$ -mero
- 3 Un arco per ogni k -mero

Adesso

Stessa procedura, a partire dai read

Grafo di de Bruijn

Read

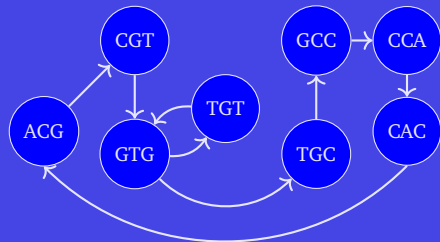
ACGTGTG

CGTGTGC

GTGCCA

CCACG

de Bruijn graphs



4-meri — 3-meri — distinti

ACGT

ACG

CGT

ACG

CACG

CAC

ACG

CAC

CCAC

CCA

CAC

CCA

CGTG

CGT

GTG

CGT

GCCA

GCC

CCA

GCC

GTGC

GTG

TGC

GTG

GTGT

GTG

TGT

TGCC

TGC

GCC

TGC

TGTG

TGT

GTG

TGT

Problemi su grafi

Ciclo Euleriano

- 1 Un assemblaggio valido è un cammino che attraversa **ogni arco** esattamente una volta
- 2 Cammino Euleriano

Ciclo Hamiltoniano

- 1 É un cammino che attraversa **ogni vertice** esattamente una volta
- 2 Caso particolare di TSP

Confronto

Qual è più difficile da risolvere?

Grafi Euleriani

Definizione

Sia $G = \langle V, A \rangle$ un grafo orientato. G è semi-euleriano se esistono due vertici s, t tali che $N_G^-(s) = N_G^+(s) + 1$, $N_G^-(t) = N_G^+(t) - 1$, mentre per ogni altro vertice w , $N_G^-(w) = N_G^+(w)$.

Definizione

Sia $G = \langle V, A \rangle$ un grafo orientato. G è euleriano se $N_G^-(w) = N_G^+(w)$ per ogni vertice.

Teorema

Un grafo connesso $G = \langle V, A \rangle$ ha un cammino euleriano se e solo se G è semi-euleriano. G ha un ciclo euleriano se e solo se G è euleriano.

Grafi Euleriani 2

Teorema

Sia $G = \langle V, A \rangle$ un grafo semi-euleriano e sia P un cammino da s a t . Sia G_1 il grafo ottenuto da G togliendo tutti gli archi di P . Allora G_1 è euleriano.

Teorema

Sia $G = \langle V, A \rangle$ un grafo euleriano e sia C un ciclo di G . Sia G_1 il grafo ottenuto da G togliendo tutti gli archi di C . Allora G_1 è euleriano.

Altre fasi

- bubble popping
- tip removal

Scaffolding

- Fondere contigs in scaffolds
- usando mate pairs
- anche con revcomp

Licenza d'uso

Quest'opera è soggetta alla licenza Creative Commons: Attribuzione-Condividi allo stesso modo 4.0. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

Sei libero di riprodurre, distribuire, comunicare al pubblico, esporre in pubblico, rappresentare, eseguire, recitare e modificare quest'opera alle seguenti condizioni:

- **Attribuzione** — Devi attribuire la paternità dell'opera nei modi indicati dall'autore o da chi ti ha dato l'opera in licenza e in modo tale da non suggerire che essi avallino te o il modo in cui tu usi l'opera.
- **Condividi allo stesso modo** — Se alteri o trasformi quest'opera, o se la usi per crearne un'altra, puoi distribuire l'opera risultante solo con una licenza identica o equivalente a questa.