Algorithmique et bioinformatique

Projet : Assemblage de fragments d'ADN

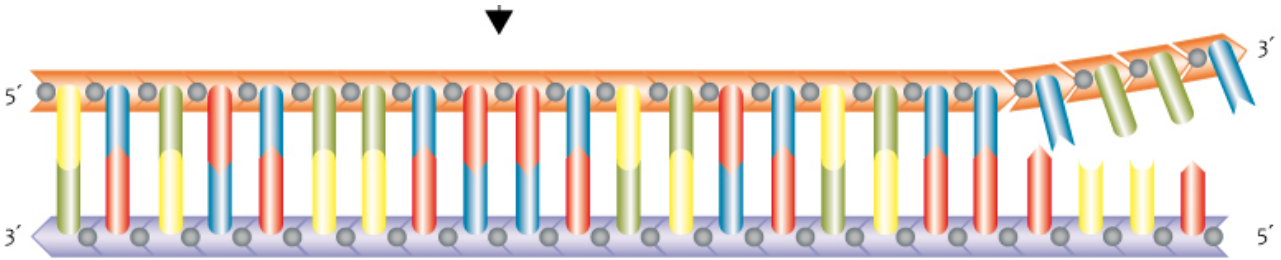
Université de Mons

UMONS

Année académique 2021 – 2022

Plan

Séquençage de génomes



Séquençage de génomes

Comment organiser le séquençage de très longues molécules ?

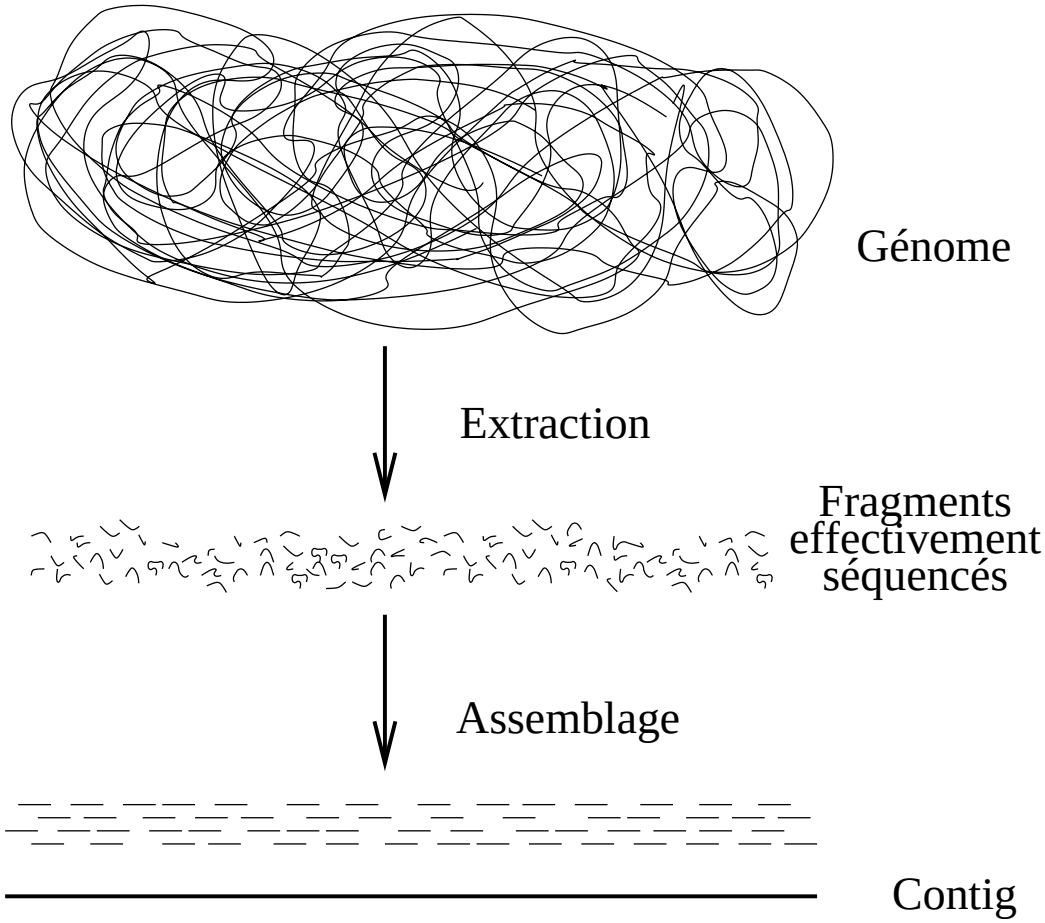
On dispose d'un processus bio-chimique aléatoire capable d'extraire des petits fragments des molécules d'ADN

- Longueur des fragments : $\approx$ 500pb ;
- Les positions sont inconnues, ainsi que l'orientation ;
- Erreurs de séquençage ;
- Processus aléatoire ;

$\rightarrow$ **Problème extrêmement complexe !**

La suite du travail repose sur des méthodes informatiques : utilisation des chevauchements approximatifs pour construire un *contig*("super-séquence")

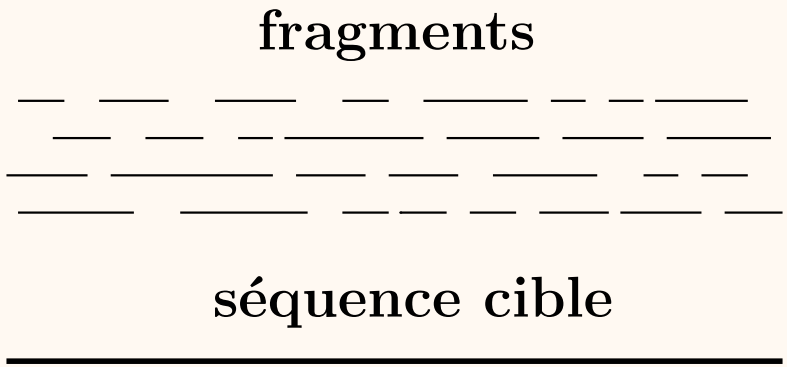
Séquençage de génomes



Le problème

Le problème d'assemblage de fragments

Etant donné une collection de fragments de quelques centaines de paires de bases, il faut construire la séquence cible




```
ACCGT          ⟹     ACCGT
CGTGC                   CGTGC
TTAC                 TTAC
TACCGT                TACCGT
                     ------------
                     TTACCGTGC
```

Consensus

Complications

Erreurs

- Erreurs de séquençage ;
- Erreurs dans le mécanisme de fragmentation et de clonage.

$$\Rightarrow \text{Substitutions et indels (gaps) : 5\%}$$

```
ACCAGT          ⟹     ACCAGT
CGGT                     C-G-GT
TTAC                  TTAC
TGCCGT                 TGCC-GT
                      ------------
                      TTACC-GTGT
```

Consensus "vote de majorité"

Complications

Orientation inconnue

Les fragments sont orientés $5' \rightarrow 3'$ mais sur n'importe quel brin.

```
CACGT          ⟹  CACGT
ACGT                ACGT
ACTACG               CGTAGT
GTACT                   AGTAC
ACTGA                      ACTGA
CTGA                        CTGA
                ----------------
                CACGTAGTACTGA
```

Considérer les fragments complémentaires et inversés également !

$\Rightarrow$ un fragment sera présent soit tel quel, soit complémenté et inversé **(pas les 2)**.

Complications

Manque de couverture

Mécanisme de fragmentation aléatoire $\rightarrow$ certaines positions risquent de ne pas être couvertes.

Etc ...

Modèles formels

Aucun modèle n'est pleinement satisfaisant !

Plus courte "super-chaîne" commune

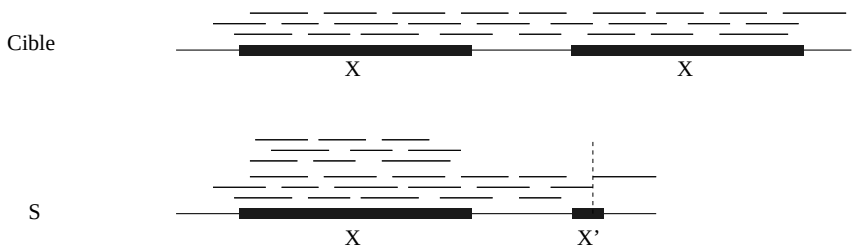
INPUT : Collection $\mathscr{F}$ de fragments
OUTPUT : **Plus courte** chaîne S telle que $\forall f \in \mathscr{F}$: f facteur de S

Exemple : $\mathscr{F} = \{\texttt{ACT}, \texttt{CTA}, \texttt{AGT}\} \Rightarrow S = \texttt{ACTAGT}$

INCONVENIENTS :

- Ne permet pas les erreurs
- Les orientations des fragments doivent être connues

Modèles formels



- Couverture irrégulière
- Liaison manquante : aucune suite de fragments chevauchants ne lie le début de X' à la fin de X'

Problème NP-Complet $\Rightarrow$ approximations
Bonne base de travail pour le reste

Sans erreur, orientation connue

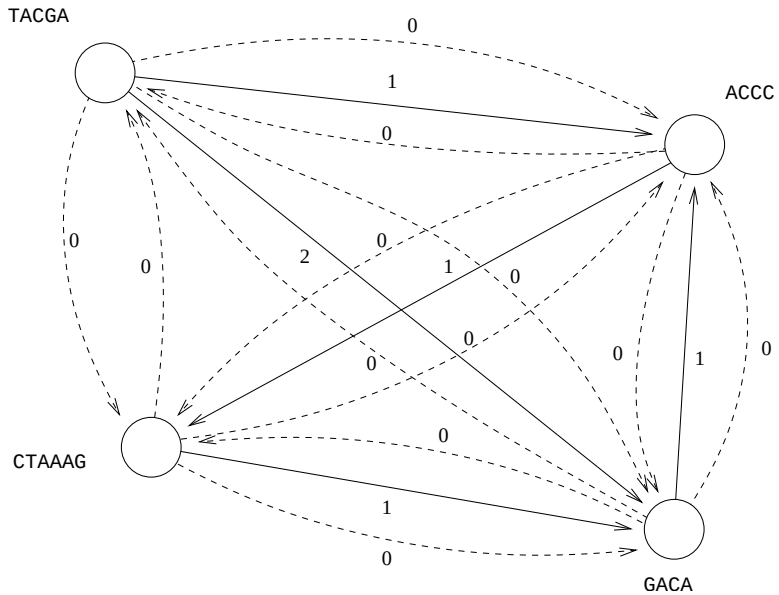
Représentation des chevauchements

Def : **Overlap Multigraph** $\mathscr{OM}(\mathscr{F})$: graphe orienté pondéré

- sommets : les fragments $f \in \mathscr{F}$
- arc de $f \in \mathscr{F}$ à $g \in \mathscr{F}$ de poids $t \geq 0$ si $suff(f,t) = pref(g,t)$ et $f \neq g$

Algorithme

Exemple : $a = \texttt{TACGA}$
$b = \texttt{ACCC}$
$c = \texttt{CTAAAG}$
$d = \texttt{GACA}$



Tout chemin décrit un alignement entre des fragments
Un chemin Hamiltonien décrit une super-chaîne

Algorithmes

Soient :

- P un chemin de $\mathscr{OM}(\mathscr{F})$
- $A \subseteq \mathscr{F}$ les fragments correspondant à P
- $S(P)$ la super-chaîne dérivée de P

On a $||A|| = |S(P)| + w(P)$ avec $||A|| = \sum_{a \in A} |a|$ et $w(P)$ le poids de P.

Si on ne considère que les chemins Hamiltoniens,
minimiser $|S(P)|$ revient à maximiser $w(P)$

Heuristiques

1. Algorithme d'approximation : *Greedy*

On cherche à maximiser les chevauchements $\Longrightarrow$ pour chaque paire de nœuds de $\mathscr{OM}(\mathscr{F})$, on ne conserve que l'arc de poids maximal.

$$\Longrightarrow \mathscr{OG}(\mathscr{F}) : \textbf{Overlap Graph}$$

On ajoute progressivement les arcs de poids maximaux jusqu'à ce que le chemin contienne tous les nœuds

Heuristiques

- Il faut empêcher la formation de cycles ;
- On peut "entrer" dans un nœud au plus une fois ; et
- On peut "sortir" d'un nœud au plus une fois.

Algorithme : Greedy

Entrées : $\mathscr{OG}(\mathscr{F})$, n
Sortie : Chemin hamiltonien de $\mathscr{OG}(\mathscr{F})$

```
1  pour i ← 1 à n faire
2      in[i] ← 0 ; out[i] ← 0
3      MAKESET (i)

4  Tri des arcs par poids décroissants

5  pour chaque arc(f,g) dans cet ordre faire
6      si ( in[g] = 0 et out[f] = 0 et FINDSET (f) ≠ FINDSET (g) ) alors
7          SELECT (f,g)
8          in[g] ← 1 ; out[f] ← 1
9          UNION (FINDSET (f), FINDSET (g))
10     si il ne reste qu'un seul ensemble alors
11         sortir de la boucle

12 retourner (arcs choisis)
```

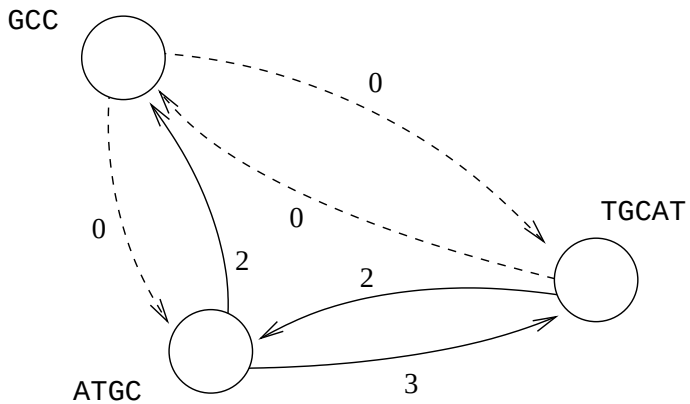
Heuristiques

Avec :

- MAKESET(i) : initialise l'ensemble $\{i\}$
- FINDSET(f) : retourne l'ensemble contenant f
- UNION(E_1, E_2) : fusionne les 2 ensembles E_1 et E_2
- SELECT(f,g) : choisit $arc(f, g)$

Heuristiques

Exemple :



GREEDY :

```
ATGC
 TGCAT
       GCC     → 9
---------
ATGCATGCC
```

2. Tri topologique

S'applique dans le cas de graphes acycliques.
Pas vu ici.

Assemblage en pratique ?

3 étapes :

1. rechercher les chevauchements approximatifs ;

   $\rightsquigarrow$ **Alignement semi-global**

2. construire l'alignement ;

   $\rightsquigarrow$ Greedy + gérer les gaps

3. calculer la séquence consensus.

   $\rightsquigarrow$ Vote de majorité

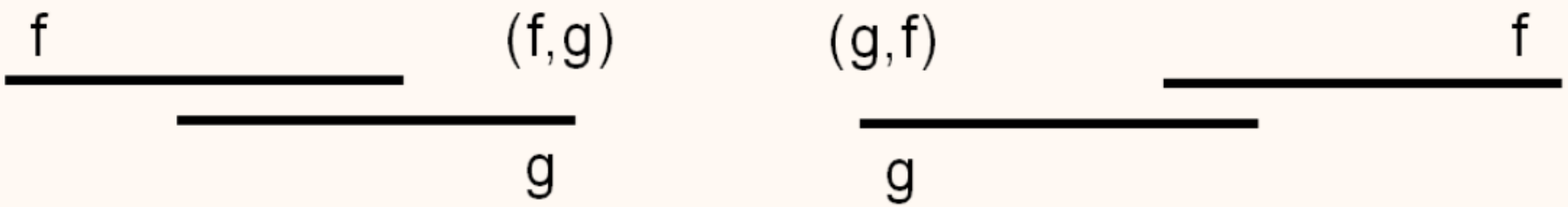
Assemblage en pratique ?

1. Recherche des chevauchements

Considérer toutes les paires de fragments et leurs complémentaires.

$\Longrightarrow$ Alignement semi-global par programmation dynamique

Remarque : Considération des 8 cas d'alignement (f, g), (g, f), $(\overline{f}, g)$, ...



Assemblage en pratique ?

		A	T	C	G	G	C	A	T	T	C	A	G	T
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A	0	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1
T	0	-1	2	0	-2	-2	-2	-1	2	0	-2	-1	0	0
T	0	-1	0	1	-1	-3	-3	-3	0	3	1	-1	-2	1
A	0	1	-1	-1	0	-2	-4	-2	-2	1	2	2	0	-1
G	0	-1	0	-2	0	1	-1	-3	-3	-1	0	1	3	1
A	0	1	-1	-1	-2	-1	0	0	-2	-3	-2	1	1	2
C	0	-1	0	0	-2	-3	0	-1	-1	-3	-2	-1	0	0
C	0	-1	-2	1	-1	-3	-2	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-1
A	0	1	-1	-1	0	-2	-4	-1	-2	-3	-3	-1	-3	-3
T	0	-1	2	0	-2	-1	-3	-3	0	-1	-3	-3	-2	-2
G	0	-1	0	1	1	-1	-2	-4	-2	-1	-2	-4	-2	-3
C	0	-1	-2	1	0	0	0	-2	-4	-3	0	-2	-4	-3
G	0	-1	-2	-1	2	1	-1	-1	-3	-5	-2	-1	-1	-3
G	0	-1	-2	-3	0	3	1	-1	-2	-4	-4	-3	0	-2
C	0	-1	-2	-1	-2	1	4	2	0	-2	-3	-5	-2	-1

```
ATTAGACCATGCGGC
  AT CGGCATTCAGT
```

Assemblage en pratique ?

2. Ordonner les fragments (greedy ou tri topologique)

Les sommets du graphe : $\mathscr{DF} = \mathscr{F} \cup \overline{\mathscr{F}}$ avec $\overline{\mathscr{F}} = \{\bar{f} | f \in \mathscr{F}\}$

Si un fragment apparaît dans le chemin, son complémentaire ne peut plus être choisi !

Remarques :

- Des fragments peuvent être inclus à d'autres. Adaptez le comportement de l'algorithme greedy à ce cas particulier.

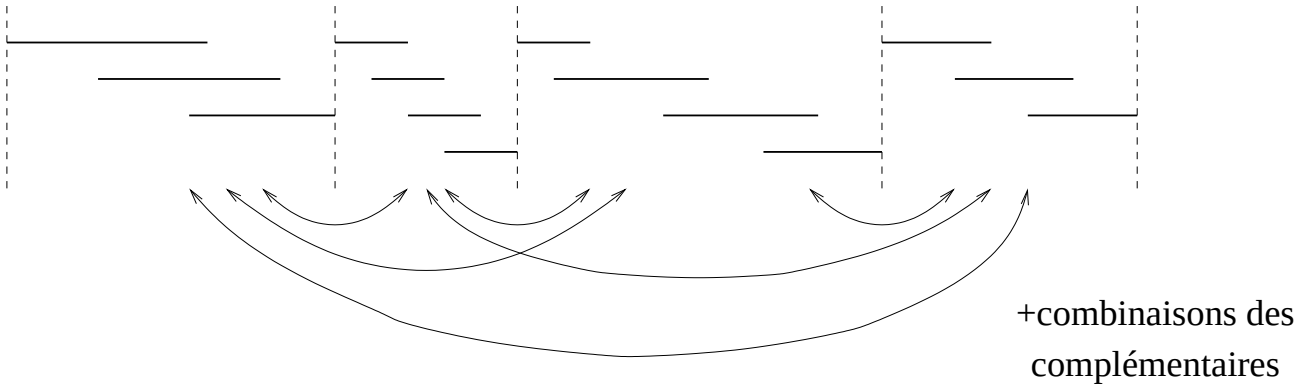
Assemblage en pratique ?

Remarques (suite) :

- le complémentaire inversé d'un "bon chemin" est également un "bon chemin" :

$$f_1 \to f_2 \to \dots f_k \quad \text{et} \quad \overline{f_k} \to \overline{f_{k-1}} \to \dots \overline{f_1}$$

- Une multitude de solutions sont valides si plusieurs contigs. Il s'agit là d'un problème de liaison.



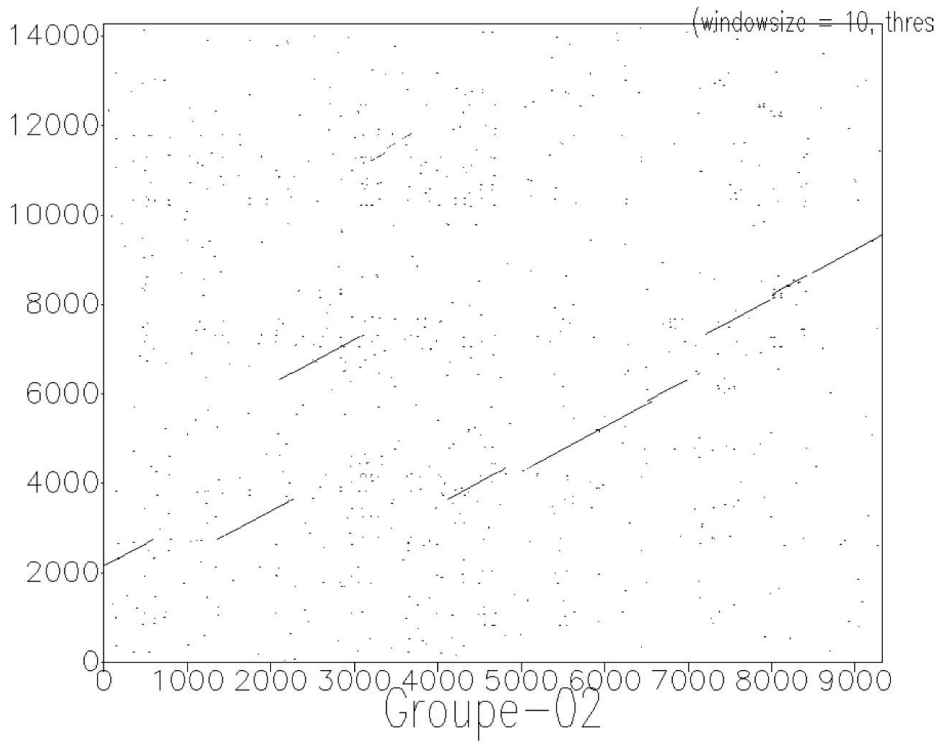
Assemblage en pratique ?

3. Alignement et consensus

Réaliser l'alignement obtenu et calculer la séquence consensus.

4. Verification des résultats

Qualité de la séquence obtenue par rapport à la cible.



Bibliographie


J. Setubal et J. Meidanis
Introduction to Computational Molecular Biology - Chap.4.
PWS Publishing Company, 1997.