



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO - BICOCCA

Scuola di Scienze

Dipartimento di Informatica, Sistemistica e Comunicazione

Corso di laurea in Informatica

# Estensione di ASGAL per read paired-end

**Relatore:** Prof. Della Vedova Gianluca

**Correlatore:** Prof. Rizzi Raffaella

**Relazione della prova finale di:**

Francesco Porto

Matricola 816042

**Anno Accademico 2018-2019**

## **Abstract**

In questa tesi si discuterà l'estensione di ASGAL (un tool sviluppato dall' Algo-Lab in grado di rilevare eventi di Alternative Splicing) per il supporto alle read in formato paired-end. Inizialmente verranno introdotti i concetti necessari per comprendere questo documento, oltre ad una panoramica sullo stato dell'arte. Verranno poi evidenziate le principali modifiche apportate ad ASGAL, ponendo l'attenzione sulle differenze tra il formato single-end e quello paired-end. Infine verrà mostrato un esempio di funzionamento, insieme ad alcuni possibili sviluppi futuri.

# Contents

|          |                                      |          |
|----------|--------------------------------------|----------|
| <b>1</b> | <b>Introduzione</b>                  | <b>1</b> |
| 1.1      | ASGAL . . . . .                      | 1        |
| 1.2      | Alternative Splicing . . . . .       | 2        |
| 1.3      | Paired-End Reads . . . . .           | 3        |
| <b>2</b> | <b>Modifiche effettuate ad ASGAL</b> | <b>4</b> |

# 1 Introduzione

## 1.1 ASGAL

ASGAL (Alternative Splicing Graph Aligner) è un tool per l'identificazione di eventi di Alternative Splicing espressi in un campione di RNA-seq a partire da un'annotazione di un gene. ASGAL si compone di tre step:

- **Costruzione dello splicing graph:** a partire dall'annotazione di un gene, ASGAL costruisce uno splicing graph, ovvero una struttura a grafo che rappresenta tutti i trascritti noti del gene in input.
- **Allineamento Splice-Aware:** ASGAL allinea le read di RNA-Seq con lo splicing graph del gene in input. L'allineamento è Splice-Aware in quanto è necessario tenere traccia della posizione di esoni ed introni per un corretto allineamento.
- **Rilevamento degli eventi di Alternative Splicing:** gli allineamenti prodotti dallo step precedente sono analizzati per rilevare gli eventi di alternative splicing indotti dalle read del campione.

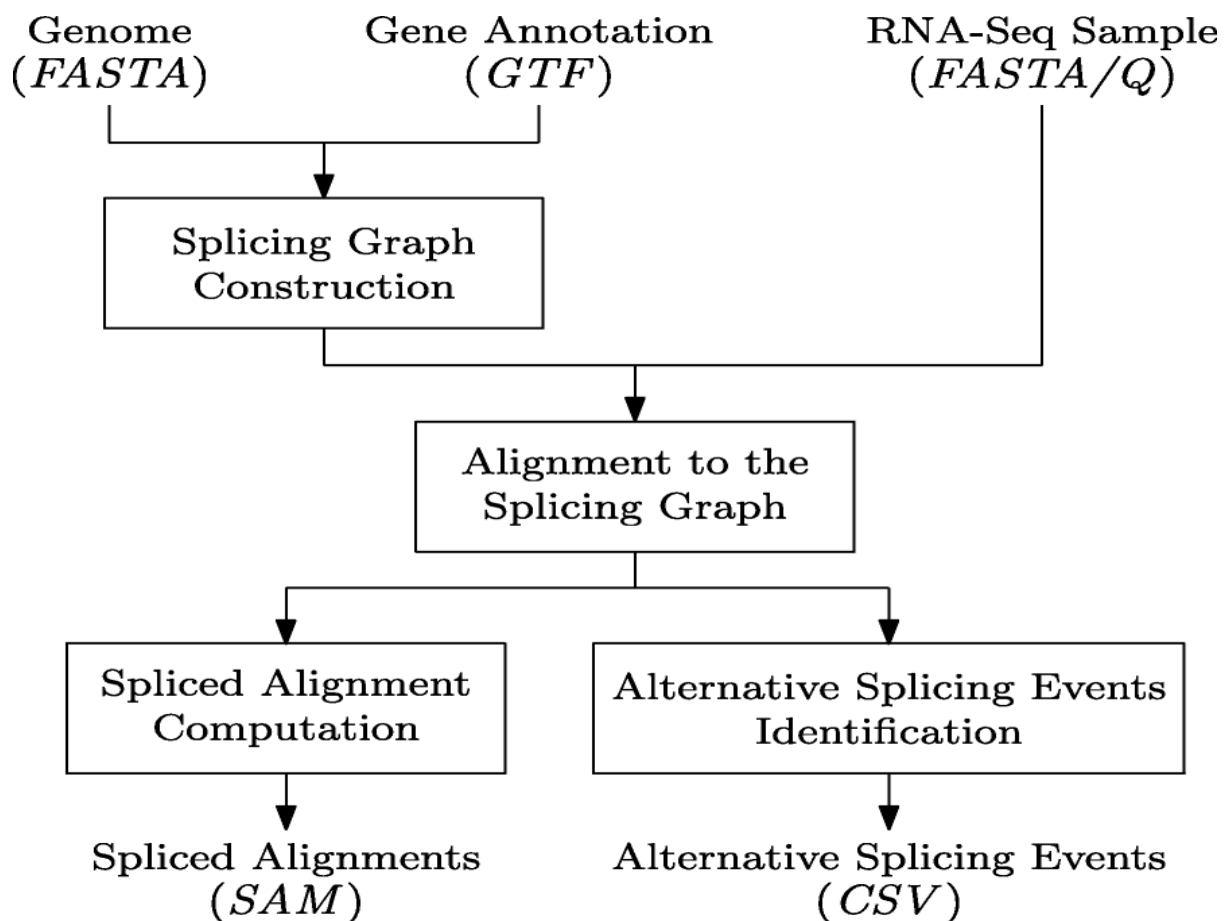


Figure 1: La pipeline di ASGAL illustrata

## 1.2 Alternative Splicing

L'Alternative Splicing è un metodo utilizzato dalle cellule per produrre proteine diverse dallo stesso frammento di DNA che viene utilizzato da oltre il 75% dei geni umani.

Considerando un generico locus, esso può essere diviso in esoni (parti codificanti) e introni (parti non codificanti). Durante la fase di Trascrizione gli introni vengono rimossi e la Timina viene trasformata in Uracile, ottenendo pre-RNA. A questo punto, in un normale processo di Splicing, tutti gli esoni vengono utilizzati, nell'ordine in cui appaiono nel pre-RNA, per ottenere una proteina. Nel caso di un evento di Alternative Splicing, questo non accade: alcuni esoni potrebbero infatti non essere utilizzati, o apparire in un ordine diverso.

Vengono riconosciuti 5 tipi di eventi di Alternative Splicing:

1. **Exon Skipping:** Almeno un esone non appare nel trascritto
2. **Mutually Exclusive Exons:** Almeno due esoni non compaiono mai in uno stesso trascritto
3. **Alternative 5' Donor Site:** Parte di un introne nel 5' diventa un esone
4. **Alternative 3' Acceptor Site:** Parte di un introne nel 3' diventa un esone
5. **Intron Retention:** Parte di un esone diventa un introne

ASGAL è in grado di rilevarli tutti tranne il caso 2.

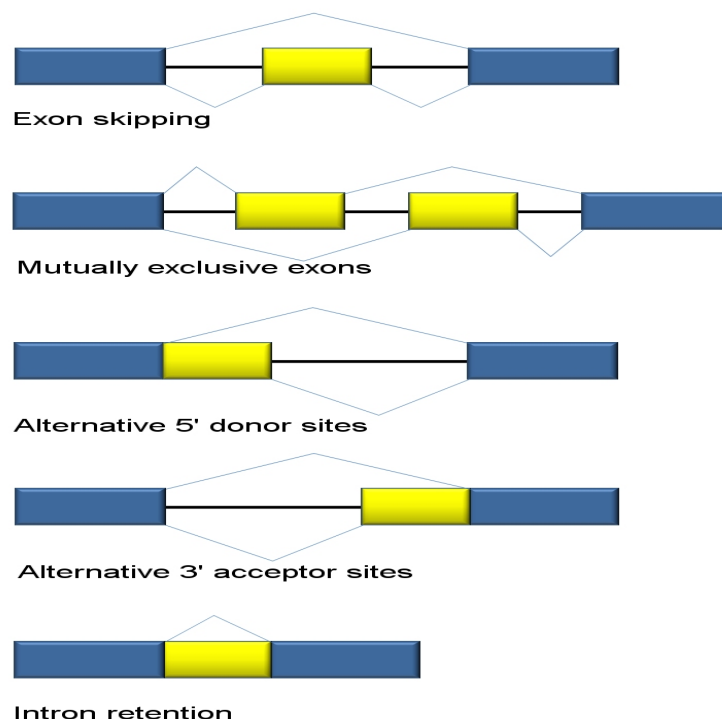


Figure 2: I diversi tipi di Alternative Splicing

### 1.3 Paired-End Reads

Le paired-end reads consistono nell'estrazione di due letture da un singolo frammento di DNA (generalmente le due estremità), contrariamente alle single-end reads che ne estraggono solo una. Sono prodotte da sistemi NGS, e la loro preparazione è molto semplice: una volta stabilita la grandezza della singola lettura, viene estratta la lettura sull'estremità sinistra, il campione viene girato, e viene estratta nuovamente l'estremità sinistra (ottenendo quindi l'estremità destra). Viene inoltre fornita la distanza tra le due letture, che permette di disambiguare alcuni casi di allineamento.

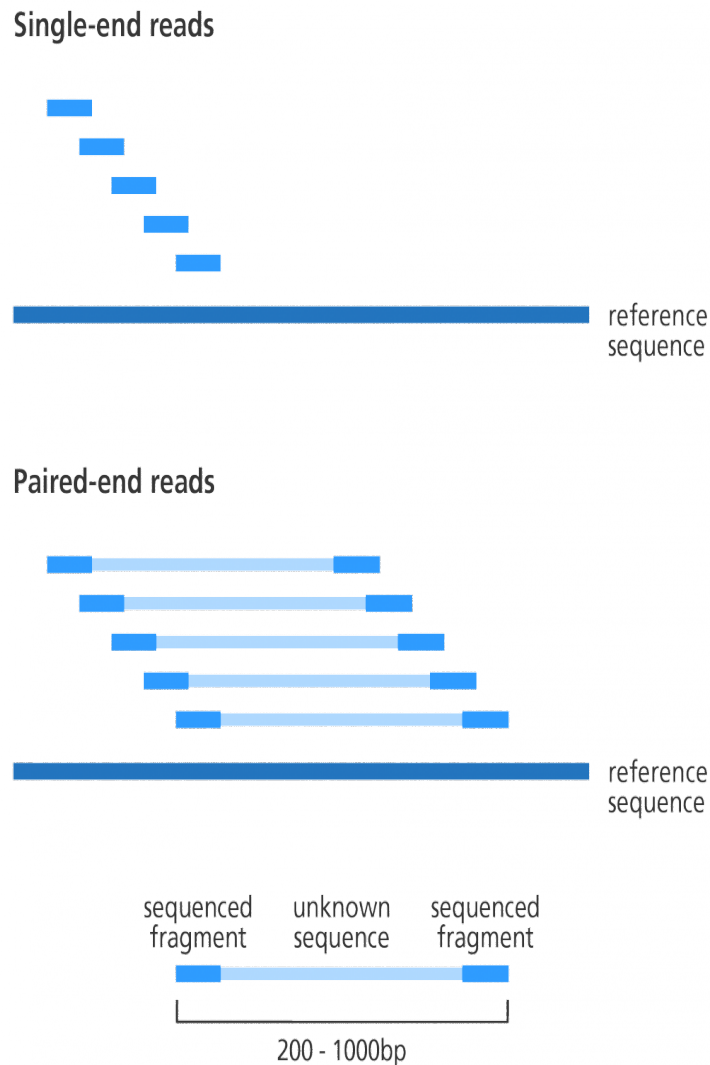


Figure 3: Esempi di read single-end e paired-end

## 2 Modifiche effettuate ad ASGAL