

Elementi di Bioinformatica

Gianluca Della Vedova

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

2 novembre 2020

Allineamento

Allineamento di 2 sequenze

Allineamento

- Input: 2 sequenze s_1 e s_2
- Aggiunta di **indel** in s_1 e s_2
- sequenze estese = stessa lunghezza
- NO colonne di indel

Allineamento: esempio

Input

ABRACADABRA

BANANA

sequenze allineate 1

ABRACADABRA

-B-ANA-NA

sequenze allineate 2

ABR-AC-ADABRA

-B-ANA-NA

sequenze allineate 3

ABRACADABRA

-BANA--NA

Allineamento: costo o valore?

Problema di ottimizzazione

- Istanza: insieme infinito di casi
- Soluzioni ammissibili: ammissibilità verificabile in tempo polinomiale
- Funzione obiettivo: soluzione ammissibile $\mapsto \mathbb{Q}$
- Massimizzazione o minimizzazione

costo o valore?

- Costo da minimizzare
- Valore da massimizzare

Valore

Valore di un allineamento

- Somma dei valori delle singole colonne

Valore

Valore di un allineamento

- Somma dei valori delle singole colonne
- Valore di una colonna =

Valore

Valore di un allineamento

- Somma dei valori delle singole colonne
- Valore di una colonna =
- valore in ingresso

Valore

Valore di un allineamento

- Somma dei valori delle singole colonne
- Valore di una colonna =
- valore in ingresso

Istanza

- due sequenze s_1 e s_2
- matrice di score $d : (\Sigma \cup \{-\}) \times (\Sigma \cup \{-\}) \mapsto \mathbb{Q}$ (normalmente interi)
- problema di massimizzazione = massima omologia

Needleman-Wunsch: Equazione di ricorrenza

Definizione

$M[i, j] = \text{ottimo su } s_1[:i], s_2[:j]$

$$M[i, j] = \max \begin{cases} M[i-1, j-1] + d(s_1[i], s_2[j]) \\ M[i, j-1] + d(-, s_2[j]) \\ M[i-1, j] + d(s_1[i], -) \end{cases}$$

Condizione al contorno

- $M[0, 0] = 0$
- $M[i, 0] = M[i-1, 0] + d(s_1[i], -)$
- $M[0, j] = M[0, j-1] + d(-, s_2[j])$

Allineamento locale

Allineamento globale

Si allineano le sequenze intere

Allineamento locale

- 1 Input: s_1, s_2 , matrice di score d
- 2 Individuare sottostringhe t_1 di s_1 e t_2 di s_2 tale che
- 3 $All[t_1, t_2] \geq All[u_1, u_2]$ per ogni coppia di sottostringhe u_1, u_2 di s_1, s_2 .
- 4 Algoritmo banale: calcolo tutte le sottostringhe di s_1, s_2 e ne calcolo allineamento globale
- 5 Tempo $O(n^3m^3)$

Smith-Waterman

Osservazione 1

- 1 Matrice $M[i, j]$ memorizza allineamento di tutte le coppie di **prefissi** di s_1, s_2
- 2 Allineamento massimo fra coppie di prefissi = valore massimo in M

Osservazione 2

- 1 $M[0, 0] = 0$
- 2 quindi non si prendono sottostringhe con allineamento negativo

Equazione di ricorrenza

Definizione

$M[i, j]$ = ottimo fra tutte le stringhe $s_1[k : i]$, $s_2[h : j]$

$$M[i, j] = \max \begin{cases} M[i-1, j-1] + d(s_1[i], s_2[j]) \\ M[i, j-1] + d(-, s_2[j]) \\ M[i-1, j] + d(s_1[i], -) \\ 0 \end{cases}$$

Condizione al contorno

- $M[0, 0] = M[i, 0] = M[0, j] = 0$
- punto finale = valore massimo
- si risale nell'allineamento fino a uno 0.
- Tempo (nm)

Gap

Definizione

- 1 Sequenza contigua di indel in un **allineamento**

Esempio

ABR-AC-ADABRA: 2 gap

-B-ANA-NA: 3 gap

Osservazione

- 1 Un gap sposta il frame di lettura
- 2 no indel \neq 1 indel
item 1 indel \approx 2 indel

Allineamento con gap generici

- costo gap lungo l : $P(l)$

Allineamento con gap generici

- costo gap lungo l : $P(l)$
- Come descrivo l'allineamento ottimo?

Allineamento con gap generici

- costo gap lungo l : $P(l)$
- Come descrivo l'allineamento ottimo?
- Come è fatta l'ultima colonna?

Allineamento con gap generici

- costo gap lungo l : $P(l)$
- Come descrivo l'allineamento ottimo?
- Come è fatta l'ultima colonna?
- Come è fatto l'ultimo gap?

Gap generico

Definizione

$M[i, j] = \text{ottimo su } s_1[:i], s_2[:j]$

$$M[i, j] = \max \begin{cases} M[i-1, j-1] + d(s_1[i], s_2[j]) \\ \max_{l>0} M[i, j-l] + P(l) \\ \max_{l>0} M[i-l, j] + P(l) \end{cases}$$

Condizione al contorno

- $M[0, 0] = 0$

Gap generico

Definizione

$M[i, j] = \text{ottimo su } s_1[:i], s_2[:j]$

$$M[i, j] = \max \begin{cases} M[i-1, j-1] + d(s_1[i], s_2[j]) & \text{no gap} \\ \max_{l>0} M[i, j-l] + P(l) & \text{gap in } s_1 \\ \max_{l>0} M[i-l, j] + P(l) & \text{gap in } s_2 \end{cases}$$

Condizione al contorno

- $M[0, 0] = 0$
- $M[i, 0] = P(i), M[0, j] = P(j)$

Gap generico

Definizione

$M[i, j] = \text{ottimo su } s_1[:i], s_2[:j]$

$$M[i, j] = \max \begin{cases} M[i-1, j-1] + d(s_1[i], s_2[j]) \\ \max_{l>0} M[i, j-l] + P(l) \\ \max_{l>0} M[i-l, j] + P(l) \end{cases}$$

Condizione al contorno

- $M[0, 0] = 0$
- $M[i, 0] = P(i), M[0, j] = P(j)$
- Tempo $O(nm(n+m))$

Allineamento con gap affine

- costo gap lungo l : $P_o + lP_e$

Allineamento con gap affine

- costo gap lungo l : $P_o + lP_e$
- P_o : costo apertura gap

Allineamento con gap affine

- costo gap lungo l : $P_o + lP_e$
- P_o : costo apertura gap
- P_e : costo estensione gap

Allineamento con gap affine

- costo gap lungo l : $P_o + lP_e$
- P_o : costo apertura gap
- P_e : costo estensione gap
- $P_e, P_o > 0$

Allineamento con gap affine

- costo gap lungo l : $P_o + lP_e$
- P_o : costo apertura gap
- P_e : costo estensione gap
- $P_e, P_o > 0$
- Come descrivo l'allineamento ottimo?

Allineamento con gap affine

- costo gap lungo l : $P_o + lP_e$
- P_o : costo apertura gap
- P_e : costo estensione gap
- $P_e, P_o > 0$
- Come descrivo l'allineamento ottimo?
- Come è fatta l'ultima colonna?

Allineamento con gap affine

- costo gap lungo l : $P_o + lP_e$
- P_o : costo apertura gap
- P_e : costo estensione gap
- $P_e, P_o > 0$
- Come descrivo l'allineamento ottimo?
- Come è fatta l'ultima colonna?
- Come è fatto l'ultimo gap?

Gap affine

Definizione

- $M[i, j] =$ ottimo su $s_1[:i], s_2[:j]$
- $E_1[i, j] =$ ottimo su $s_1[:i], s_2[:j]$, con estensione di gap finale in s_1
- $E_2[i, j] =$ ottimo su $s_1[:i], s_2[:j]$, con estensione di gap finale in s_2
- $N_1[i, j] =$ ottimo su $s_1[:i], s_2[:j]$, con apertura di gap alla fine di s_1
- $N_2[i, j] =$ ottimo su $s_1[:i], s_2[:j]$, con apertura di gap alla fine di s_2

Gap affine

$$M[i, j] = \max \begin{cases} M[i-1, j-1] + d(s_1[i], s_2[j]) \\ E_1[i, j], E_2[i, j] \\ N_1[i, j], N_2[i, j] \end{cases}$$

$$E_1[i, j] = \max \begin{cases} E_1[i, j-1] + P_e \\ N_1[i, j-1] + P_e \end{cases}$$

$$E_2[i, j] = \max \begin{cases} E_2[i-1, j] + P_e \\ N_2[i-1, j] + P_e \end{cases}$$

$$N_1[i, j] = M[i, j-1] + P_o + P_e, \quad N_2[i, j] = M[i-1, j] + P_o + P_e$$

Allineamento multiplo

k sequenze

- Input: insieme di sequenze $\{s_1, \dots, s_k\}$

Allineamento multiplo

k sequenze

- Input: insieme di sequenze $\{s_1, \dots, s_k\}$
- Aggiunta di **indel** nelle sequenze

Allineamento multiplo

k sequenze

- Input: insieme di sequenze $\{s_1, \dots, s_k\}$
- Aggiunta di **indel** nelle sequenze
- sequenze estese = tutte stessa lunghezza

Allineamento multiplo

k sequenze

- Input: insieme di sequenze $\{s_1, \dots, s_k\}$
- Aggiunta di **indel** nelle sequenze
- sequenze estese = tutte stessa lunghezza
- NO colonne di indel

Valore di una colonna

SP: sum of pairs

- $\{s_1, \dots, s_k\} \mapsto \{s_1^*, \dots, s_k^*\}$ allineate

Complessità

Valore di una colonna

SP: sum of pairs

- $\{s_1, \dots, s_k\} \mapsto \{s_1^*, \dots, s_k^*\}$ allineate
- Valore $\{s_1^*[h], \dots, s_k^*[h]\}$

Complessità

Valore di una colonna

SP: sum of pairs

- $\{s_1, \dots, s_k\} \mapsto \{s_1^*, \dots, s_k^*\}$ allineate
- Valore $\{s_1^*[h], \dots, s_k^*[h]\}$
- $\sum_{i < j} d(s_1^*[i], s_k^*[j])$

Complessità

Valore di una colonna

SP: sum of pairs

- $\{s_1, \dots, s_k\} \mapsto \{s_1^*, \dots, s_k^*\}$ allineate
- Valore $\{s_1^*[h], \dots, s_k^*[h]\}$
- $\sum_{i < j} d(s_i^*[i], s_k^*[j])$

Complessità

- se k è arbitrario \Rightarrow NP-completo

Valore di una colonna

SP: sum of pairs

- $\{s_1, \dots, s_k\} \mapsto \{s_1^*, \dots, s_k^*\}$ allineate
- Valore $\{s_1^*[h], \dots, s_k^*[h]\}$
- $\sum_{i < j} d(s_i^*[i], s_k^*[j])$

Complessità

- se k è arbitrario \Rightarrow NP-completo
- se k è fissato \Rightarrow tempo $O(n^k)$

Matrici di sostituzione

- 1 Utilizzate per valutare un allineamento
- 2 Implicitamente probabilità di transizione
- 3 Mutazioni ricorrenti
- 4 Allineamenti di proteine

PAM: unità di misura

- 1 PAM: point/percent accepted mutation
- 2 due sequenze s_1 e s_2 : quanto sono distanti?
- 3 distanza 1PAM \Rightarrow numero mutazioni = $\frac{1}{100}|s_1|$
- 4 semplice in assenza di indel
- 5 Mutazioni ricorrenti \Rightarrow misura affidabile solo per piccoli valori
- 6 s_1 e s_2 distanti 100 PAM \Rightarrow una singola base ha 36% di probabilità di non essere mutata

Matrici PAM

- 1 dipende dalla distanza attesa
- 2 PAM250, PAM200, PAM1

Calcolo PAM k

- 1 Costruzione PAM k
- 2 Si prendono varie sequenze distanti k PAM
- 3 si allineano le sequenze
- 4 si calcolano le frequenze $f(i)$, $f(i, j)$ di tutti i singoli caratteri e le coppie di caratteri
- 5
$$\text{PAM}k(i, j) = \log \frac{f(i, j)}{f(i)f(j)}$$

Log odds ratio

Odds ratio

- 1 $\frac{p}{1-p}$, p è la probabilità dell'evento interessante (target)
- 2 $\frac{f(i,j)}{f(i)f(j)}$
- 3 $f(i, j)$: frequenza della mutazione misurata
- 4 $f(i)f(j)$: ipotesi nulla (caratteri indipendenti)

Matrici PAM

Calcolo PAM k nella realtà

- Problema: come allineare se non si conosce la matrice
- Allineate sequenze molto simili
- no indel
- $M_k(i, j) = \log \frac{f(i)M_1^k(i, j)}{f(i)f(j)} = \log \frac{M_1^k(i, j)}{f(j)}$
- valori moltiplicati per 10
- arrotondati all'intero più vicino
- si somma un intero a tutti i valori

Matrici BLOSUM

Confronto con PAM

- PAM allinea sequenze vicine
- ma viene usata per allineare sequenze lontane
- regioni conservate e non conservate hanno stessa importanza

BLOCKS

- blocchi di regioni conservate
- scelte “a mano”
- $B(i, j) = \log \frac{f(i, j)}{f(i)f(j)}$

Matrici BLOSUM

BLOSUM_x

- le sequenze che sono simili più di $x\%$ vengono clusterizzate
- cluster = rimuovere tutte tranne una
- scopo: evitare di sovrappesare parti sovrarappresentate nel campione
- BLOSUM62: più usata per gli allineamenti

Statistiche Karlin-Altschul

Ricerca in un database

- Punteggio positivo possibile
- Punteggio medio negativo
- Simboli indipendenti e equiprobabili
- Sequenze infinitamente lunghe
- Allineamenti senza gap

Equazione Karlin-Altschul

$$E = kmne^{-\lambda S}$$

- E : numero allineamenti
- k : costante
- n : numero caratteri in database
- m : lunghezza stringa query
- λS : punteggio normalizzato

BLAST

Basic Local Alignment Search Tool

- Ricerca seed
- seed = pattern matching con sottostringa di lunghezza 3
- Costruzione high-scoring segment pair (HSP) = estensione seed
- Filtro seed tenuti solo HSP con alta significatività
- Fusione HSP vicine
- Smith-Waterman sulle regioni

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.