SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET ELEKTROTEHNIKE I RAČUNARSTVA

DOKUMENTACIJA

Poboljšanje djelomično sastavljenog genoma dugim očitanjima

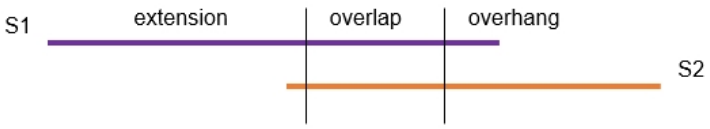
Bruno Kovač, Tonko Sabolčec, Fabijan Čorak
Voditelj: *doc. dr. sc. Krešimir Križanović*

Zagreb, siječanj 2020.

SADRŽAJ

1. Uvod

Sekvenciranje genoma svodi se na kombiniranje očitanja u jednu cjelinu. Ovaj rad pretpostavlja da su očitanja već sastavljena, ali djelomično - u fragmente. Jedan takav fragment naziva se *contig*. Dakle, zadatak se svodi na što bolje povezivanje *contiga*, što smo učinili postupkom opisanim u [1]. Taj rad definira nekoliko mjera preklopljenosti očitanja koje kombiniraju duljinu područja *overlap* (OL), *overhang* (OH) i *extension* (EL). Mjere su ovdje definirane za dva očitanja S_1 i S_2; pripadnost područja određena je indeksom.



Slika 1.1: Preklop dvaju očitanja s naznačenim područjima

– *sequence identity* (SI) - omjer ukupnog broja podudarajućih znakova u *overlap* područjima i duljine duljeg od tih dvaju područja

$$SI = \frac{\text{broj\_podudaranja}}{\max(OL_1, OL_2)}$$

– *overlap score* (OS)

$$OS = (OL_1 + OL_2)\,\frac{SI}{2}$$

– *extension score* (ES) - uz S_2 kao produžetak od S_1

$$ES_2 = OS + \frac{EL_2 - OH_1 - OH_2}{2}$$

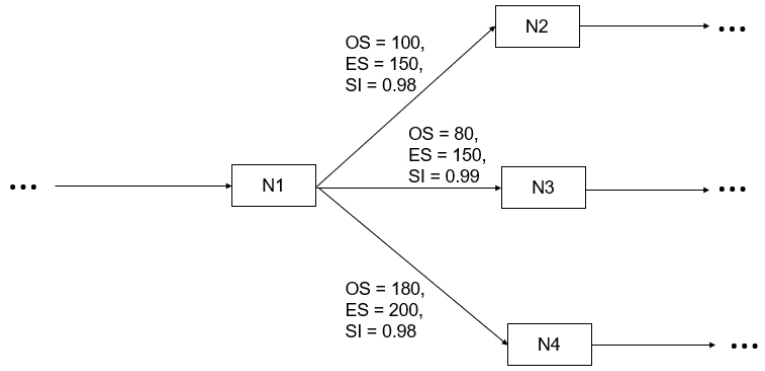
2. Postupak

Sastavljanje očitanja u niz modelirano je izgradnjom i obilaskom grafa.

2.1. Izgradnja grafa

Svaki *contig* i svako očitanje čine jedan čvor grafa. Dodatno, u skup čvorova dodaje se i reverzna inačica svakog očitanja i *contiga* jer nije unaprijed poznato koja je pogodna orijentacija. Čvor koji predstavlja *contig* zovemo *anchor*. Za svako očitanje Brid postoji između svaka dva čvora čiji je SI veći od nekog minimuma. Pritom svaki brid nosi informacije o preklopljenosti čvorova koje povezuje (SI, OS, ES). Te mjere računaju se na temelju informacija o preklopljenosti dobivenih korištenjem alata *minimap2* opisanog u [3].

2.2. Obilazak grafa



Slika 2.1: Odabir sljedećeg čvora u obilasku
Slika razmatra grananje u hipotetskom čvoru N1. Prvim postupkom prioritetna lista je: [N4, N2, N3], a drugim postupkom: [N4, N3, N2]. Treći postupak daje vjerojatnosti odabira čvorova {N2: 150/500, N3: 150/500, N4: 200/500}.

Kroz graf se traže putovi čije su krajnje točke *anchor* čvorovi. Za to se koriste tri načina obilaska, prilikom kojih je postavljena maksimalna dubina pretraživanja i pamte se obiđeni čvorovi:

1. Iz *anchor* čvora pretraga se nastavlja u sve susjedne čvorove. Iz svakog sljedećeg čvora, pretraga se nastavlja u onaj susjed s kojim je najveći *overlap score*, a kojim se u konačnici dolazi do *anchor* čvora. Ako je *overlap score* jednak, gleda se *sequence identity*. Ako je pak i ta mjera jednaka, gleda se duljina očitanja.

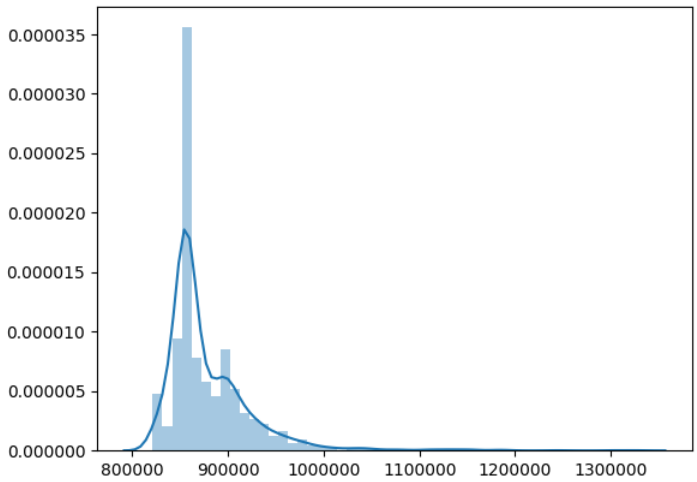
2. Kao i prethodni način, ali umjesto mjere *overlap score* gleda se *extension score*.

3. U svakom čvoru susjed se odabire probabilistički - s vjerojatnošću odabira proporcionalnom mjeri *extension score*, sve dok se ne dosegne *anchor*. Postupak se pokreće iz svakog *anchor* čvora proizvoljan broj puta. Ovo je tzv. Monte Carlo metoda.

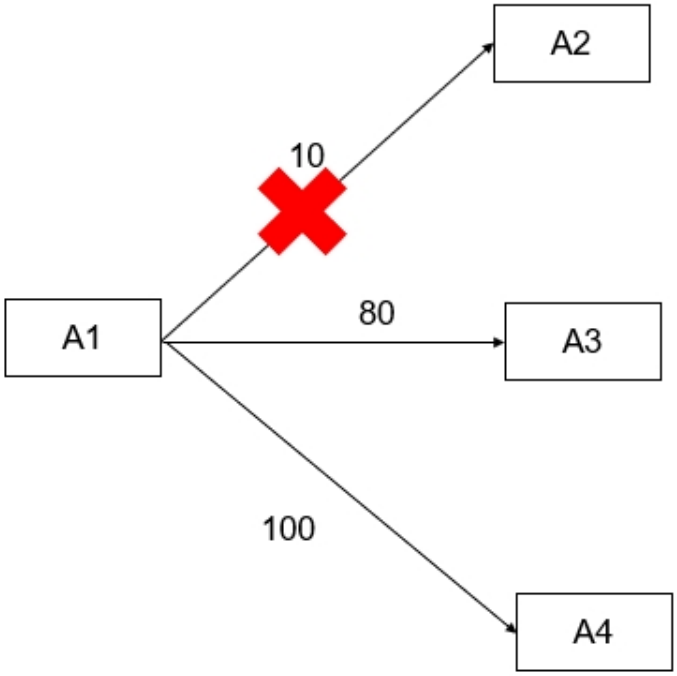
2.3. Obrada putova

Nakon agregacije putova dobivenih opisanim postupcima, odbacuju se duplikati i obrađuju se putovi između svaka dva *anchor* čvora. Putovi se sortiraju uzlazno prema duljini i razmatraju se prozori fiksne širine W. Pritom i-ti prozor obuhvaća sve putove čija je duljina L: $(i-1)W < L \leq iW$ za dobro definirane i. Koliko je koji prozor frekventan vidljivo je na primjeru povezivanja dvaju *contiga* na slici 2.2. Pretpostavka je da dominacija nekog prozora ukazuje na to da su u njemu putovi koji su izgledni kandidati za povezivanje dvaju *anchor* čvorova između kojih se nalaze. Problem je što to ne mora biti istina, tj. moguće je dominiranje nekog prozora, a da ta dva *anchor* čvora uopće nisu uzastopna.

Za svaki par *anchor* čvorova računa se konsenzus - struktura podataka koja sadrži reprezentativni put te broj valjanih putova između tih dvaju čvorova. Kao reprezentant odabire se proizvoljni čvor maksimalne duljine. Na slici 2.2 to je jedan od putova duljine cca 850000 (najviši stupac). Dodatno, iz susjedstva svakog *anchor* čvora uklanjaju se oni *anchor* čvorovi do kojih postoji premalo putova. Drugim riječima, takvi susjedi vjerojatno ne trebaju biti povezani. U konačnici se konstruiraju poboljšani sljedovi *contiga* i za svako poboljšanje generira se izlazna datoteka.



Slika 2.2: Dstribucija putova po prozorima fiksne širine
Distribucija putova između dva *anchor* čvora. Na x-osi označene su širine prozora, a na y-osi frekventnost (udio brojnosti putova prozora u ukupnom broju putova). Najviši stupac dat će i reprezentant povezanosti dvaju čvorova.

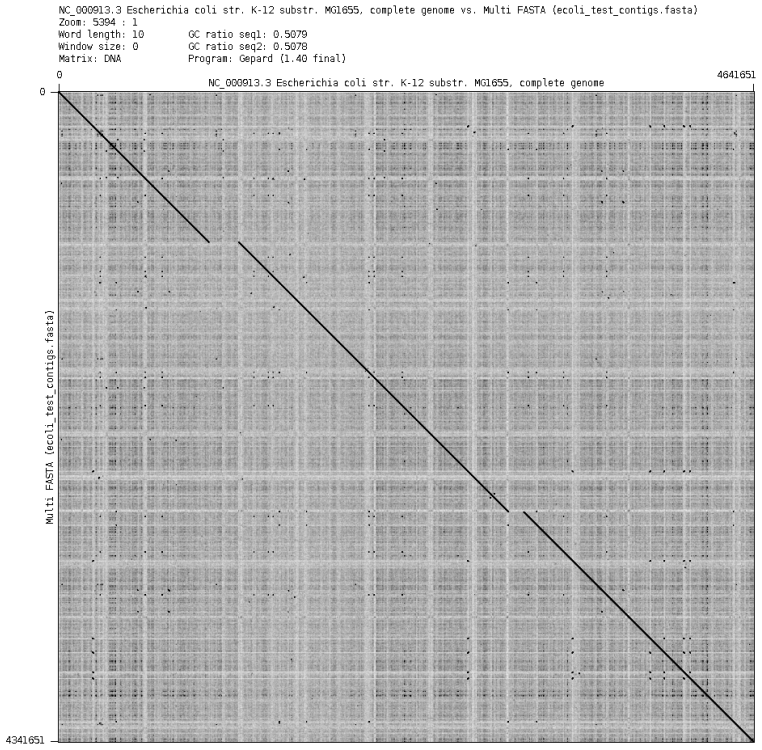


Slika 2.3: Otpadanje jedne grane u slučaju kada je granica za odbacivanje 12.5% od najvećeg broja valjanih putova.

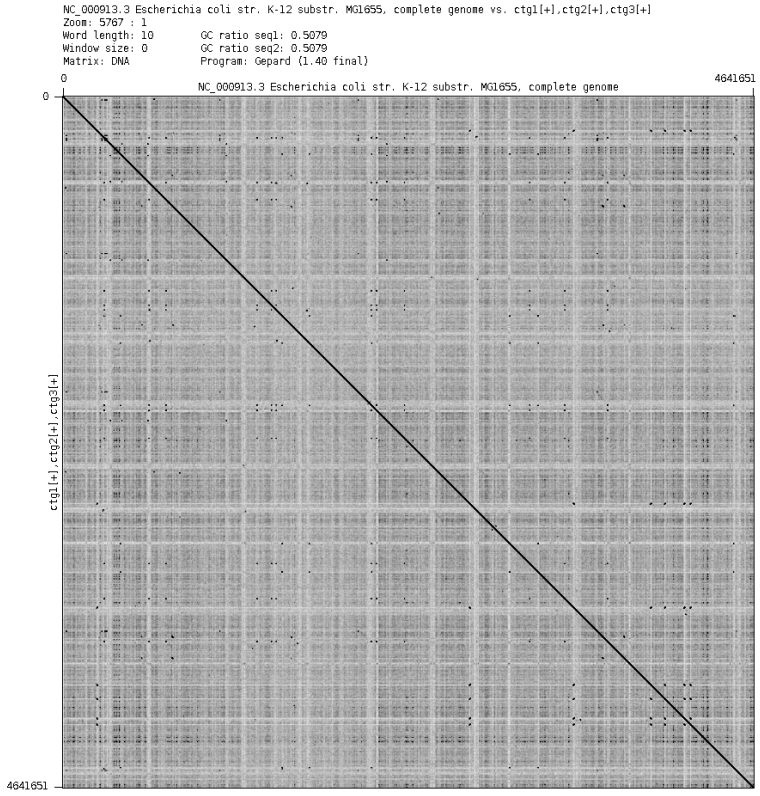
3. Rezultati

Implementacija je ispitana na skupovima E. Coli, C. Jejuni i B. Grahamii na jednoj dretvi uz procesorsku moć od ... GHz. Priložene su matrice preklapanja između referentnih skupova te prvo neobrađenih, a odmah zatim i obrađenih *contiga*. Sve matrice dobivene su alatom *Gepard* opisanim u [2]. Crne točke označavaju podudaranja, x-os predstavlja referencu, a y-os predstavlja *contige*. Predznak u opisima matrica označava korištenu orijentaciju *contiga*: + je izvorna, a - reverzna.

3.1. E. Coli



Slika 3.1: Matrica preklapanja neobrađenih *contiga* E. Coli i referentnog skupa.



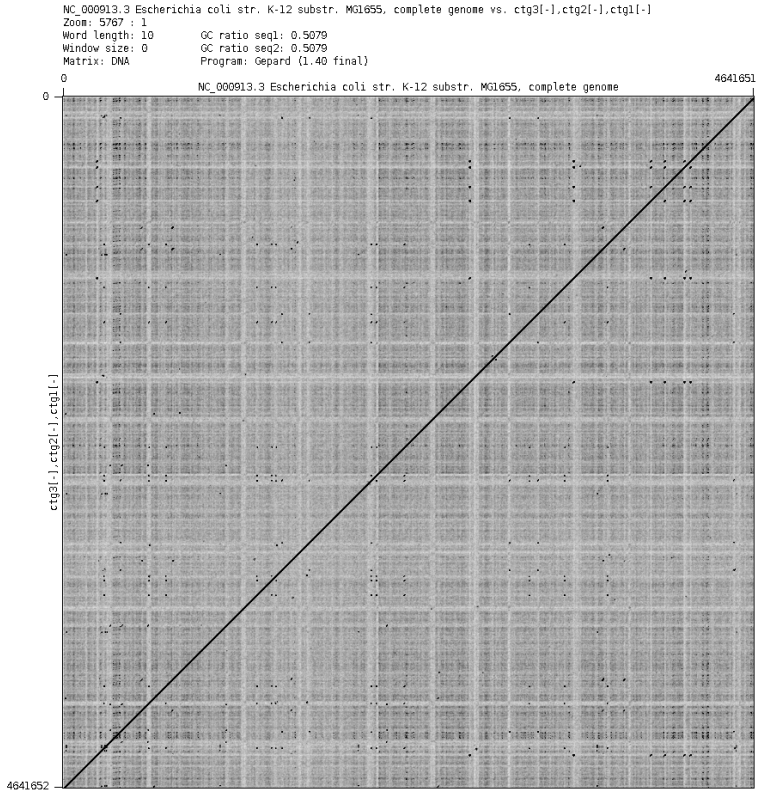
Slika 3.2: Jedan je izlaz programa niz *contiga* +1, +2, +3.

3.2. C. Jejuni

3.3. B. Grahamii

3.4. Vremensko i memorijsko opterećenje

skup podataka	vrijeme (s)	memorija (GiB)
E. Coli	X	Y
C. Jejuni	B	C
B. Grahamii	W	Z



Slika 3.3: Drugi je izlaz programa niz *contiga* -3, -2, -1.

4. Zaključak

Zaključak.

5. Literatura

[1] Huilong Du i Chengzhi Liang. Assembly of chromosome-scale contigs by efficiently resolving repetitive sequences with long reads. *bioRxiv*, 2018. doi: 10.1101/345983. URL https://www.biorxiv.org/content/early/2018/06/13/345983.

[2] Jan Krumsiek, Roland Arnold, i Thomas Rattei. Gepard: a rapid and sensitive tool for creating dotplots on genome scale. *Bioinformatics*, 23(8):1026–1028, 2007.

[3] Heng Li. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*, 34(18):3094–3100, 05 2018. ISSN 1367-4803. doi: 10.1093/bioinformatics/bty191. URL https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191.