

Assignment 1, Bioinformatics

Davide Cozzi, 829827

Indice

Capitolo 1

Esercizio 1

1.1 Versione 1

Si assumano stringhe su $\Sigma = \{a, c, g, t, A, C, G, T\}$ indicizzate a partire dalla posizione 0, per comodità. L'eventuale presenza di minuscole e maiuscole mischiate non si identifica come un problema e viene risolto portando tutto in minuscolo nell'algoritmo.

L'algoritmo si divide in due parti:

1. divisione in “token” delle due stringhe. A partire da ogni stringa si ottiene un vettore di sottostringhe di uguali caratteri
2. confronto dei due vettori di sottostringhe

Si procede specificando che:

- $length(X)$ restituisce la lunghezza di X , che sia una stringa o un vettore
- $push(X, Y)$ effettua l'operazione di **push** di Y nel vettore/stringa X
- $string(Y)$ effettua il cast di Y a **string**
- $Y[i, e]$ specifica la sottostringa di Y che va dall'indice i incluso all'indice e incluso
- $lowercase(Y)$ porta Y in *lowercase*

Si ha quindi la prima parte dell'algoritmo, che effettua la divisione in “token”.

Esempio 1. Vediamo un esempio di input e output della funzione *Splitter*.

- **input:** "aaataaaggggccccctttttttttttcc"
- **output:** ["aaa", "t", "aaa", "gggg", "cccc", "ttttttttttt", "cc"]

Si ha quindi lo pseudocodice:

Algorithm 1 Algoritmo per lo split in “token” delle stringhe

```

1: function SPLITTER(s)
2:   result  $\leftarrow$  [ ]
3:   n  $\leftarrow$  length(s)
4:   if n == 1 then
5:     push(result, string(s[0]))
6:     return result
7:   end if
8:   tmp  $\leftarrow$  ""
9:   for i  $\leftarrow$  0 to n do
10:    if i > 0 and s[i - 1]  $\neq$  s[i] then
11:      push(result, tmp)
12:      tmp  $\leftarrow$  ""
13:    end if
14:    push(tmp, s[i])
15:    if i == (n - 1) then
16:      push(result, tmp)
17:    end if
18:  end for
19:  return result
20: end function

```

Nel dettaglio:

- alle righe 2-3 si inizializzano il vettore coi risultati e una variabile contenente la lunghezza della stringa
- alle righe 4-6 si controlla se la stringa è formata da un solo carattere e in tal caso tale carattere sarà l'unico elemento del vettore dei risultati. Dopo l'aggiunta l'esecuzione termina e viene restituito il vettore
- alla riga 8 si inizializza una variabile d'appoggio che di volta in volta tiene conto dei “token”

- alle righe 9-18 si identificano i vari “token” e li si aggiungono al vettore con il risultato della funzione. Si itera su tutta la stringa
- alle righe 10-13, a partire dal secondo carattere, qualora questo sia diverso dal carattere seguente, si aggiunge il “token” e si azzerla la variabile temporanea
- alla riga 14 si aggiunge il carattere letto alla attuale stringa temporanea
- alle righe 15-17 si verifica di essere arrivati alla fine della stringa e in tal caso si aggiunge la stringa temporanea al vettore dei risultati

Una volta ottenuto il vettore dei “token” delle due sequenze in input basta confrontare i due vettori.

Prima di vedere il confronto si specifica che:

- le due sequenze vengono trasformate in *lowercase* per praticità
- si assume che le due sequenze non possono essere stringhe vuote ε

Fatte queste assunzioni si può fare ancora un ultima osservazione prima di procedere con l’algoritmo. Qualora i due vettori prodotti dalla funzione **Splitter** fossero di lunghezza diversa allora l’algoritmo non potrà in nessun caso dire che ci sia stata un’“infezione” in quanto si assume che non ci siano né *gaps* né *inserimenti*. In altri termini qualora i due vettori siano di diversa cardinalità sicuramente, con queste premesse, non è avvenuta alcuna infezione. Vediamo ora le altre casistiche. Si itera contemporaneamente sull’elemento i -esimo dei due vettori e:

- se i due elementi i -esimi presentano il primo carattere diverso allora, date le premesse, si specifica che non può essere avvenuta un’infezione
- se i due elementi i -esimi presentano il primo carattere uguale allora si procede confrontando i due elementi i -esimi (si assuma X vettore relativo alla “sequenza originale” e Y vettore relativo alla sequenze che si vuole dimostrare l’eventuale infezione):
 - se il primo carattere è “a” allora la lunghezza di $Y[i]$ deve essere minore o uguale a 5 volte quella di $X[i]$, in quanto per ogni “a” in $X[i]$ posso avere al più 5 “a” in $Y[i]$

- se il primo carattere è “t” allora la lunghezza di $Y[i]$ deve essere minore o uguale a 10 volte quella di $X[i]$, in quanto per ogni “t” in $X[i]$ posso avere al più 10 “t” in $Y[i]$
- se il primo carattere è “c” o “g” allora la lunghezza di $Y[i]$ deve essere maggiore o uguale di quella di $X[i]$, in quanto per ogni “c” o “g” in $X[i]$ posso avere un numero indefinito di “c” o “g” in $Y[i]$

Si ha quindi il seguente pseudocodice dell’algoritmo, che ritorna \top o \perp a seconda che sia possibile che $seq2$ sia una versione infettata di $seq1$:

Algorithm 2 algoritmo di verifica dell’infezione

```

1: function CHECKINFECTION( $seq1, seq2$ )
2:   if  $length(seq1) == 0$  or  $length(seq2) == 0$  then
3:     return  $\perp$ 
4:   end if
5:    $vecseq1 \leftarrow Splitter(lowercase(seq1))$ 
6:    $vecseq2 \leftarrow Splitter(lowercase(seq2))$ 
7:    $check \leftarrow \top$ 
8:   if  $length(vecseq1) \neq length(vecseq2)$  then
9:     return  $\perp$ 
10:  end if
11:   $n \leftarrow length(vecseq1)$ 
12:  for  $i \leftarrow 0$  to  $n$  do
13:    if  $vseq1[i][0] \neq vseq2[i][0]$  or  $\neg check$  then
14:      return  $\perp$ 
15:    end if
16:    if  $vecseq1[i][0] == 'a'$  then
17:       $check \leftarrow (length(vecseq2[i]) \leq 5 \cdot length(vecseq1[i]))$ 
18:    else if  $vecseq1[i][0] == 't'$  then
19:       $check \leftarrow (length(vecseq2[i]) \leq 10 \cdot length(vecseq1[i]))$ 
20:    else
21:       $check \leftarrow (length(vecseq2[i]) \geq length(vecseq1[i]))$ 
22:    end if
23:  end for
24:  return  $check$ 
25: end function

```

Nel dettaglio:

- alle righe 2-4 si controlla che nessuna stringa sia ϵ . In tal caso si ritorna \perp , come da assunzioni, concludendo l'iterazione
- alle righe 5-7 si trasformano in lowercase le stringhe per comodità e si inizializza la variabile booleana che conterrà il risultato dell'algoritmo. Si noti che una volta diventata \perp non potrebbe più tornare \top
- alle righe 8-10 si verifica che i due vettori di “token” siano lunghi uguale. In caso contrario sicuramente non si ha una mutazione secondo le specifiche e si ritorna \perp , concludendo l'iterazione
- alla riga 11 si salva la lunghezza del primo vettore di “token”, che a questo punto dell'esecuzione è pari a quella del secondo
- alle righe 11-23 si itera sui due vettori di “token” contemporaneamente, confrontando di volta in volta i due elementi i-esimi
- alle righe 13-15, qualora la variabile contente il risultato sia \perp o qualora i due “token” i-esimi inizino con un carattere diverso (e quindi siano “token” di diversi caratteri), si ritorna \perp concludendo l'iterazione
- alle righe 16-22, avendo a questo punto dell'iterazione che i due “token” sono consistenti dal punto di vista del carattere, si verifica che lo siano anche secondo le assunzioni di lunghezza, precedentemente illustrate. Si aggiorna quindi la variabile contente il risultato a seconda del controllo, che varia a seconda del carattere dei due “token” i-esimi

Esempio 2. *Qualche esempio:*

- **input:** "ATAGCTC" ϵ
"AAATAAGGGGCCCTTTTTTCC"
- **output:** \top

infatti (si usano i colori per rappresentare i vari “token” dei vettori):

ATAGCTC
 AAATAAAGGGGCCCCCTTTTTTCC

Avendo che tutti i vincoli sono rispettati.

D'altro canto vediamo un esempio in cui non si può dire di avere una mutazione:

1.2 Versione 2

Si assumano stringhe su $\Sigma = \{a, c, g, t, A, C, G, T\}$ indicizzate a partire dalla posizione 0, per comodità.

Indico anche una versione intuitivamente più semplice. In questo caso si scorre la sequenze che si suppone essere originale, tenendo conto dei caratteri uguali ripetuti. Appena si ha un cambio di carattere si verifica se nella sequenza che si vuole dimostrare essere una mutazione di quella originale si ha una corretta sequenza di caratteri secondo la specifica.

Si ha che:

- per comodità le sequenze sono riportate in lowercase e si assume che, in presenza di anche solo una sequenza nulla, l'algoritmo restituisce \perp
- **seq1** e **seq2** sono rispettivamente la sequenza originale al sequenza che si vuole dimostrare essere la mutazione
- **co** e **cm** sono le variabili che ogni volta accumulano il conteggio dei caratteri uguali consecutivi rispettivamente sulla sequenza originale e su quella che si suppone mutata
- *i* e *j* sono rispettivamente gli indici per la prima e per la seconda sequenza

In poche parole si itera sulla sequenza originale, aggiornando di volta in volta il contatore relativo finché si ha lo stesso carattere. Nel momento in cui si ha un cambiamento o si è arrivato all'ultimo carattere della sequenza si ferma il conteggio e si verifica il conteggio sulla seconda sequenza (anche in questo caso facendo attenzione a non andare *out of bounds*). Qualora la seconda sequenza presenti, all'indice a cui si è arrivati con l'algoritmo, un carattere diverso da quello della prima si può restituire \perp . Controllando la seconda sequenza si aggiorna il rispettivo contatore e l'indice. Una volta che anche sulla seconda sequenza si ha un cambio di carattere o si è arrivati alla fine si confrontano i due contatori secondo le specifiche (ad esempio se nella stringa originale avevo due "a" consecutive ne posso avere al più 10 in quella che si vuole verificare essere la mutazione). Finito questo controllo si azzerano i contatori e si verifica che, qualora la sequenza originale sia stata visitata interamente, anche la seconda sia conclusa. In caso contrario si restituisce \perp .

Si ha quindi il seguente pseudocodice.

Algorithm 3 algoritmo di verifica dell'infezione, seconda versione

```

1: function CHECKINFECTION(seq1, seq2)
2:   m  $\leftarrow$  length(seq1)
3:   n  $\leftarrow$  length(seq2)
4:   if m == 0 or n == 0 then
5:     return  $\perp$ 
6:   end if
7:   seq1  $\leftarrow$  lowercase(seq1)
8:   seq2  $\leftarrow$  lowercase(seq2)
9:   co  $\leftarrow$  0
10:  cm  $\leftarrow$  0
11:  j  $\leftarrow$  0
12:  for i  $\leftarrow$  0 to m do
13:    co  $\leftarrow$  co + 1
14:    if i == n - 1 or seq1[i]  $\neq$  seq[i + 1] then
15:      if seq1[i]  $\neq$  seq2[j] then
16:        return  $\perp$ 
17:      end if
18:      while j  $\neq$  n - 1 and seq2[j] == seq2[j + 1] do
19:        cm  $\leftarrow$  cm + 1
20:        j  $\leftarrow$  j + 1
21:      end while
22:      cm  $\leftarrow$  cm + 1
23:      j  $\leftarrow$  j + 1
24:      if seq1[i] == 'a' and cm  $\leq$  5 · co then
25:        check  $\leftarrow$   $\top$ 
26:      else if seq1[i] == 't' and cm  $\leq$  10 · co then
27:        check  $\leftarrow$   $\top$ 
28:      else if (seq1[i] == 'c' or seq1[i] == 'g') and cm  $\geq$  co then
29:        check  $\leftarrow$   $\top$ 
30:      else
31:        return  $\perp$ 
32:      end if
33:      co  $\leftarrow$  0
34:      cm  $\leftarrow$  0
35:      if i == m - 1 and j  $\neq$  n then
36:        return  $\perp$ 
37:      end if
38:    end if
39:  end for
40:  return check
41: end function

```

Nel dettaglio:

- alle righe 2-6 si verificano che le lunghezze delle due sequenze siano consistenti con le assunzioni del problema. Qualora anche solo una stringa sia ε si ritorna \perp , terminando l'esecuzione
- alle righe 7-11 si pongono le stringhe in lowercase e si inizializzano le variabili come precedentemente specificato
- alle righe 12-39 si parte iterando sulla prima stringa, aggiornando il rispettivo contatore
- alle righe 14-38 si eseguono le varie operazioni se si ha un cambio di carattere nella prima sequenza o se si è arrivati alla fine della stessa
- alle righe 15-17, qualora si abbiano in confronto caratteri diversi per le due sequenze si ritorna \perp , interrompendo l'esecuzione
- alle righe 18-21 si itera sulla seconda stringa, aggiornando il rispettivo contatore fino a che si hanno caratteri uguali
- alle righe 22-23 si aumenta il contatore della seconda stringa in quanto l'iterazione non conta il j -esimo carattere prima di un carattere diverso e si aumenta l'indice di 1 in modo che punti al $j + 1$ -esimo carattere, quello diverso dal j -esimo
- alle righe 24-32 vengono effettuati i controlli tramite i contatori secondo le specifiche date per le mutazioni, aggiornando la variabile booleana (operazione in se superflua ma comoda dal punto di vista della chiarezza dell'algoritmo). Se i controlli non sono superati si ritorna \perp , interrompendo l'esecuzione. In termini di scrittura sarebbe bastato un solo *if* che controllasse che una delle tre condizioni non fosse rispettata per ritornare \perp ma in termini di comprensione del codice si è preferito usare, per quanto inutile, la variabile d'appoggio *check*
- alle righe 33-34 si azzerano i due contatori, in modo da poter iniziare un nuovo controllo con le nuove sequenze di caratteri
- alle righe 35-37 si verifica che, qualora l'indice che itera sulla prima stringa sia arrivato a puntare alla fine della stessa, l'indice della seconda deve fare lo stesso (ricordando che, a causa del $j \leftarrow j + 1$ in riga 23, la cosa è rappresentata da $j \neq n$ e non $j \neq n - 1$)

Dal punto di vista pratico questo secondo algoritmo evita la fase di preprocessing vista nel primo algoritmo con la funzione **Splitter**. Aniché avere a priori le sottostringhe di cui confrontare le lunghezze tiene conto di volta in volta dei caratteri uguali consecutivi, confrontando i contatori (motivo per cui anche gli esempi possono essere riadattati anche a questa seconda versione). Dal punto di vista computazionale, assumendo che la funzione **length** abbia costo lineare si ha in entrambi i casi un tempo quadratico nel caso peggiore, anche se si potrebbe fare uno studio più approfondito.

Capitolo 2

Esercizio 2

2.1 Versione 1

Si assumano stringhe su $\Sigma = \{a, c, g, t, A, C, G, T\}$ indicizzate a partire dalla posizione 0, per comodità. L'eventuale presenza di minuscole e maiuscole mischiate non si identifica come un problema e viene risolto portando tutto in minuscolo nell'algoritmo.

Si fanno le seguenti assunzioni:

- si assume che le mutazioni siano solo cambi di base, non avendo quindi inserzioni o delezioni
- si assume che, non avendo inserzioni o delezioni, le due sequenze siano di egual lunghezza per poter avere un input valido per l'algoritmo
- si assume che si può avere una mutazione solo dopo almeno 5 basi non mutate
- si assume che la prima base della sequenza può mutare
- si assume che le sequenze siano tali per cui il loro *kmer-set* coincida con il loro *spettro* per $k = 6$ (scelta approfondita dopo). In altri termini le sequenze sono tali per cui si hanno solo *kmer* univoci
- si assume, per pura semplicità, di avere in input sequenze lunghe almeno quanto un singolo *kmer*

In base alle assunzioni precedenti si può anche assumere che, calcolati i due *spettri*, che sono *spettri senza ripetizioni*, relativi alle due sequenze, si abbia che essi siano di cardinalità uguale. Per verificare che il *kmer-set* sia della

stessa cardinalità dello spettro basta verificare che, assumendo *kmers* il *kmer-set* (calcolato per un certo *k*) di una certa sequenza *seq*, non valga:

$$\text{length}(\text{kmers}) \neq \text{length}(\text{seq}) - (k - 1)$$

Procediamo quindi descrivendo l'idea dietro l'algoritmo. L'idea principale è quella di calcolare i *kmer* di una lunghezza *k* non causale e di evitare confronti inutili. Assumendo di avere che una mutazione è possibile sse almeno le 5 basi precedenti non sono mutazioni, in quanto dopo una mutazione abbiamo assunto esserci almeno 5 basi non mutate, sono di fronte ad un caso “limite” del tipo:

MBBBBBM

Indicando con *M* le mutazioni e con *B* le basi non mutate. Ne segue immediatamente che *kmer* calcolati con *k* = 6 sono i *kmer* di cardinalità massima tali per cui posso avere al più una singola mutazione per *kmer*.

Indicando con *seq1* la sequenza di riferimento e con *seq2* la sequenza mutata si ha quindi che, per le assunzioni fatte, posso fare un confronto “1:1” dei *kmer-set*, sapendo che essi sono di cardinalità uguale.

Si noti però che un confronto diretto sarebbe “inutile” in quanto, avendo sicuramente almeno 5 basi non mutate dopo una mutazione posso saltare il confronto di 5 *kmer*, in quanto tutti e 5 aggiungerebbero in coda una base sicuramente non mutata. Inoltre, per le assunzioni fatte, è possibile anche solo confrontare, di volta in volta, i due simboli finali dei due *kmer* e non i *kmer* interi in quanto tutto il prefisso del *kmer*, che termina in penultima posizione della stringa, è stato già verificato negli step precedenti. Qualora il simbolo finale sia diverso si è di fronte ad una mutazione e, avendo *kmer-set* di uguale cardinalità e quindi confrontando sempre i due *kmer* *i*-esimi, è possibile risalire all'indice della mutazione basandosi su tale *i* e sulla lunghezza dei *kmer*, quindi 6.

Una volta individuata la mutazione si procede a salvare in una struttura adeguata le seguenti informazioni:

- base presente nella sequenza di riferimento, **b1**
- base mutata presente nella seconda sequenza, **b2**
- indice della mutazione, **i**

In merito si assume che `newMutation(b1, b2, i)` restituisca una mutazione con le specifiche indicate come argomento.

Bisogna fare un'ultima osservazione. Si è assunto che la primissima base

possa subire mutazione. Si verifica quindi se le due basi iniziali siano diverse e, qualora lo fossero, si aggiunge la mutazione e ci si sposta ai due *kmer* di posizione 1 nei due *kmer-set*, sapendo che essi non conterranno sicuramente la prima base delle rispettive sequenze e quindi, per le assunzioni fatte, continueranno a contenere al più una mutazione, nell'ultimo carattere. Dopo questa osservazione si procede regolarmente con l'algoritmo. Per praticità l'algoritmo restituisce una tupla contenente:

1. il vettore delle mutazioni
2. un booleano che segnala se i vincoli del problema sono stati tutti rispettati

Quindi si hanno vari casi:

- un vettore di mutazioni non nullo (in tal caso sicuramente il booleano presenta \top)
- un vettore di mutazioni nullo e in tal caso:
 - se il booleano è \top significa che le due sequenze rispettano tutti i vincoli ma non si hanno mutazioni
 - se il booleano è \perp significa che qualche vincolo è stato infranto, ovvero stringhe di lunghezza diversa, stringhe nulle e stringhe che prevedono *kmer* non univoci

L'assunzione di avere distanza 5 tra ogni mutazione non viene verificata e viene assunta come assioma.

Vediamo quindi prima lo pseudocodice e poi qualche esempio.

Esplicitiamo prima la funzione `getKmers` che, data una sequenza *seq* e un intero *k*, restituisce un vettore di stringhe, che per le assunzioni è sia il *kmer-set* che lo *spettro*, mantenendo l'ordine, quindi il *kmer* che nel vettore ha indice *i* è il *kmer* che inizia all'indice *i* della sequenza. Quest'ultimo ragionamento è possibile solo grazie alle assunzioni fatte: *kmer* non univoci non permetterebbero questo. Con *s*[*i*, *j*] si intende la sottostringa di *s* dall'indice *i* all'indice *j* inclusi. Con *s*[*i*,] si intende il suffisso di *s* che inizia all'indice *i*. Si noti che la funzione `getKmers`, così esplicitata, consumerebbe la sequenza e quindi la si “copia” in una sequenza temporanea *tmp*. Questo è superfluo in termini di pseudocodice ma mi è sembrato giusto segnalare la cosa. Nel codice Rust il problema è risolto passando un `clone()` della sequenza. Si può pensare, volendo, ad un algoritmo che non consumi la stringa e che non richieda una copia della stessa.

Passiamo quindi allo pseudocodice, in primis della funzione che calcola lo *spettro*, che ricordiamo, per le assunzioni fatte, porterà ad uno *spettro* uguale al *kmer-set*.

Algorithm 4 Funzione di calcolo dei *kmer*

```
1: function GETKMERS(seq, k)  
2:   tmp  $\leftarrow$  seq  
3:   kmers  $\leftarrow$  [ ]  
4:   while length(tmp)  $\geq k$  do  
5:     push(kmers, tmp[0, k - 1])  
6:     tmp  $\leftarrow$  tmp[1, ]  
7:   end while  
8:   return kmers  
9: end function
```

Nel dettaglio:

- alla riga 2 si crea una variabile temporanea contenente la sequenza in input di modo che quest'ultima non venga consumata
- alla riga 3 si inizializza uno *spettro*, visto come vettore di stringhe, vuoto
- alle righe 4-7 si popola lo *spettro*. Si aggiunge al vettore il prefisso lungo *k*, quindi la sottostringa compresa tra 0 e l'indice *k* - 1, incluso. Si aggiorna quindi la stringa temporanea con il suffisso di indice 1 della stringa stessa. Il ciclo termina quando la stringa temporanea è di lunghezza inferiore al *k* richiesto

Passiamo ora allo pseudocodice principale.

Algorithm 5 Algoritmo basato su *kmer* per mutazioni

```

1: function CHECKMUTATION(seq1, seq2)
2:   if length(seq1)  $\neq$  length(seq2) then
3:     return ([ ],  $\perp$ )
4:   end if
5:   if length(seq1) == 0 or length(seq2) == 0 then
6:     return ([ ],  $\perp$ )
7:   end if
8:   muts  $\leftarrow$  [ ]
9:   i  $\leftarrow$  0
10:  n  $\leftarrow$  length(seq1)
11:  seq1  $\leftarrow$  lowercase(seq1)
12:  seq2  $\leftarrow$  lowercase(seq2)
13:  kmers1  $\leftarrow$  getKmers(seq1, 6)
14:  kmers2  $\leftarrow$  getKmers(seq2, 6)
15:  if length(kmers1)  $\neq$  n - 5 or length(kmers2)  $\neq$  n - 5 then
16:    return ([ ],  $\perp$ )
17:  end if
18:  if kmers1[0][0]  $\neq$  kmers2[0][0] then
19:    push(muts, newMutation(kmers1[0][0], kmers2[0][0], 0))
20:    i  $\leftarrow$  index + 1
21:  end if
22:  while i < length(kmers1) do
23:    if kmers1[i][5]  $\neq$  kmers2[i][5] then
24:      push(muts, newMutation(kmers1[i][5], kmers2[i][5], 5 + i))
25:      i  $\leftarrow$  i + 6
26:    else
27:      i  $\leftarrow$  i + 1
28:    end if
29:  end while
30:  return (muts,  $\top$ )
31: end function

```

Dove con i teniamo traccia dei $kmer$ da confrontare, eventualmente saltando i confronti superflui sopra descritti.

Nel dettaglio quindi:

- alle righe 2-4, qualora le stringhe siano di diversa lunghezza, come da assunzioni, si restituisce la coppia formata dal vettore di mutazione vuoto e \perp , quest'ultimo per segnalare che il confronto violava le assunzioni
- alle righe 5-7, qualora anche solo una delle due stringhe sia ε , si restituisce la coppia formata dal vettore di mutazione vuoto e \perp , quest'ultimo per segnalare che il confronto violava le assunzioni
- alle righe 8-10 si inizializza il vettore delle mutazioni, l'indice che tiene conto delle posizioni delle stesse e una variabile che tiene conto della lunghezza della prima stringa, che a questo punto dell'esecuzione abbiamo garanzia essere pari a quella della seconda
- alle righe 11-12, per praticità, si riducono le due sequenze al lowercase
- alle righe 13-14 si calcolano i due *spettri*, che, per il metodo di calcolo presentano $kmer$ ordinati. Si usa $k = 6$ come descritto precedentemente rispetto alla sequenza di provenienza. In altri termini il primo $kmer$ della prima sequenza è quello che inizia all'indice 0, il secondo all'indice 1 etc. ..., permettendo così il confronto diretto tra i due *spettri*
- alle righe 15-17 si verifica che effettivamente i due *spettri* coincidano coi rispettivi *kmer-set*, come spiegato precedentemente. In caso contrario si restituisce la coppia formata dal vettore di mutazione vuoto e \perp , quest'ultimo per segnalare che il confronto violava le assunzioni
- alle righe 18-21 si risolve l'assunzione per la quale la prima base può subire una mutazione. Si verificano quindi i primi due caratteri dei primi due $kmer$ degli *spettri* delle due sequenze e, in caso di diversità, si aggiunge la mutazione al vettore delle mutazioni. Si incrementa quindi l'indice che tiene traccia della posizione delle mutazioni
- alle righe 22-29 si itera, sfruttando l'indice usato per tenere traccia delle mutazioni, per ogni coppia di $kmer$ i -esimi a partire dai due *spettri*

- alle righe 23-28 si aggiunge la mutazione qualora i due *kmer* esimi presentino l'ultimo carattere diverso. Si aggiunge quindi la mutazione tenendo conto dell'indice che rappresenta la mutazione (incrementato di 5 per rappresentare la corretta posizione della mutazione sulle stringhe). Si incrementa quindi di 6 tale indice per evitare controlli su coppie di *kmer* inutili. Qualora invece non si abbia una mutazione si incrementa semplicemente di 1 l'indice
- alla riga 30 si restituisce la coppia formata dal vettore di mutazione e \top . Si segnala che il vettore potrebbe essere comunque vuoto ma il booleano posto a \top segnala che le assunzioni, perlomeno quelle che è possibile controllare, sono state verificate e che quindi si hanno effettivamente due stringhe valide identiche

Vediamo quindi qualche esempio.

Esempio 3. *Siano date in input:*

- *atcttgattaccgcccgaatc*
- *atcttacattaccgtccaacc*

Le due sequenze rispettano tutte le assunzioni.

Calcolati i kmer si procede con il confronto, sapendo che le due sequenze iniziano con la stessa base. L'indice dell'enumerazione corrisponde all'indice i dell'algoritmo.

0. confronto "atcttg" con "atctta". Ho un mismatch tra gli ultimi simboli "g" e "a", che sono all'indice 5 essendo noi al kmer di indice 0 (si ha infatti $5 + 0 = 5$). Aggiungo quindi la mutazione (**g, a, 5**) e aggiorno l'indice al valore $i + 6$, ovvero, in questo caso, 6. Salto quindi tutti i confronti e riparto dal 6
1. ~~confronto "tcttge" con "tcttae"~~
2. ~~confronto "cttgea" con "cttaca"~~
3. ~~confronto "ttgeat" con "ttacat"~~
4. ~~confronto "tgeatt" con "tacatt"~~
5. ~~confronto "geatta" con "acatta"~~
6. confronto "cattac" con "cattac". Non ho mismatch quindi faccio $i + 1$ e basta andando al confronto successivo

7. confronto "attacc" con "attacc". Non ho mismatch quindi faccio $i + 1$ e basta andando al confronto successivo
8. confronto "ttaccg" con "ttaccg". Non ho mismatch quindi faccio $i + 1$ e basta andando al confronto successivo
9. confronto "taccgc" con "taccgt". Ho un mismatch tra gli ultimi simboli "c" e "t", che sono all'indice 14 essendo noi al kmer di indice 9 (si ha infatti $5 + 9 = 14$). Aggiungo quindi la mutazione (**c, t, 14**) e aggiorno l'indice al valore $i + 6$, ovvero, in questo caso, 15. Salto quindi tutti i confronti e riparto dal 15
10. ~~confronto "acegee" con "acegte"~~
11. ~~confronto "cegeee" con "cegteee"~~
12. ~~confronto "egeeee" con "egteeee"~~
13. ~~confronto "geeecca" con "gteeecca"~~
14. ~~confronto "ceeecca" con "teeecca"~~
15. confronto "cccaat" con "cccaac". Ho un mismatch tra gli ultimi simboli "t" e "c", che sono all'indice 20 essendo noi al kmer di indice 15 (si ha infatti $5 + 15 = 20$). Aggiungo quindi la mutazione (**t, c, 20**) e aggiorno l'indice al valore $i + 6$, ovvero, in questo caso, 26. Essendo l'indice maggiore stretto della cardinalità del kmer-set, interrompo l'esecuzione, sapendo che comunque non potrei avere in ogni caso ulteriori mutazioni
16. ~~confronto "ccaate" con "ceaaee"~~

Esempio 4. Più brevemente vediamo un altro input:

- tatcttgcattaccgcccgaatc
- gatcttacattaccgtcccaacc

In questo caso si noti come la prima base non combaci, si procede quindi salvando la mutazione (**t, g, 0**) e facendo iniziare il confronto tra i kmer di indice 1, ovvero "atcttg" e "atctta", proseguendo poi come nell'esempio precedente.

2.2 Versione 2

Per pura curiosità si può fare anche un piccolo ragionamento ulteriore. Con le assunzioni date si può costruire un **grafo di De Bruijn** delle due stringhe e vedere che non si hanno cicli, non essendoci *kmer* non univoci all'interno di ciascuna stringa. Le mutazioni possono essere quindi viste come le coppie di caratteri che etichettano l'inizio di una **bubble** nel grafo, ovvero le etichette degli archi di un nodo che ha due archi uscenti. Vista l'assenza di cicli, si ha che il primo *kmer* calcolato per ciascuna delle due sequenze (potrebbero essere due diversi) è un nodo privo di archi entranti, essendo quindi un nodo *source*, e l'ultimo nodo calcolato per ciascuna delle due sequenze (potrebbero essere due diversi) è un nodo privo di archi uscenti, essendo un nodo *sink*. Basta quindi percorrere un cammino dal primo nodo (al più del caso con mismatch in prima base che verrà trattato dopo) fino ad un nodo *sink*, privo di figli, e ogni volta che si incontra un nodo con due figli salvare la mutazione e proseguire su uno dei due cammini della **bubble**, indifferentemente. Si noti che se si incontra l'inizio di una **bubble** ma poi i suoi cammini si interrompono si può parlare di **tips** (anche se potenzialmente per le assunzioni fatte si ha un grafo sicuramente privo di cicli quindi il concetto di **tips** potrebbe dover essere pensato in modo più approfondito). Ogni avanzamento di nodo comporta l'incremento di indice utile a salvare la posizione della mutazione. Si termina quando si arriva ad un nodo privo di figli. Qualora si abbia una mutazione nella prima base allora si avranno due nodi privi di archi entranti che puntano però allo stesso nodo. Si procede quindi aggiungendo la prima base come mutazione e proseguendo con il ragionamento visto sopra a partire da questo nodo a cui puntano.

I due grafi sono visualizzabili in figura 2.1.

Facciamo le seguenti assunzioni, a livello di pseudocodice, per comodità:

- la funzione `createDBG(v, k)` prende in input un vettore *v* di stringhe e un intero *k* e restituisce un oggetto rappresentante il *grafo di De Bruijn* costruito a partire dalle sequenze contenute in *v*. Tali sequenze sono in questo caso due e sono supposte valide secondo le assunzioni fatte all'inizio
- si supponga di avere un oggetto `dbg` rappresentante il *grafo di De Bruijn*. Si ha che la funzione `startNodes(dbg)` restituisce un vettore contenente i puntatori ai nodi iniziali/sources, ovvero i nodi senza archi entranti del *grafo di De Bruijn*. Per le assunzioni fatte, ho almeno un nodo iniziale e al più due

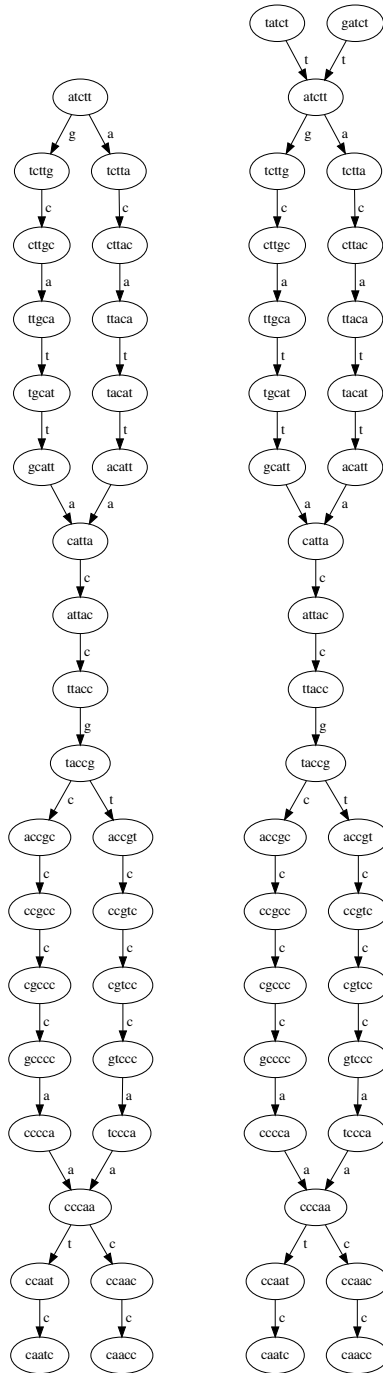


Figura 2.1: Grafi di De Bruijn relativi, rispettivamente, ai due esempi della “versione 1”

- si supponga che ogni nodo sia rappresentato da un oggetto e che, dato un nodo n si abbiano le seguenti funzioni:
 - `label(n)`, che restituisce il $(k-1)$ -mer che etichetta il nodo n
 - `outDegree(n)`, che restituisce il numero di archi uscenti dal nodo n . Se $n == null$ il metodo restituisce comunque 0
 - `outLabel(n)`, che restituisce un vettore con le etichette degli archi uscenti dal nodo n
 - `nextNodes(n)`, che fornisce un vettore di puntatori ai nodi successivi/figli di n

Ovviamente avendo due sequenze in input che garantiscono le assunzioni iniziali quando si parla di vettori si parla sempre di vettori che possono essere o di lunghezza uno o due.

Vediamo quindi uno pseudocodice possibile per trovare le mutazione usando il *grafo di De Bruijn*. L'output è dello stesso formato del precedente algoritmo.

Algorithm 6 Algoritmo basato su *kmer* e *grafo di De Bruijn* per mutazioni

```

1: function CHECKMUTATION(seq1, seq2)
2:   if length(seq1)  $\neq$  length(seq2) then
3:     return ([ ],  $\perp$ )
4:   end if
5:   if length(seq1) == 0 or length(seq2) == 0 then
6:     return ([ ],  $\perp$ )
7:   end if
8:   muts  $\leftarrow$  [ ]
9:   seq1  $\leftarrow$  lowercase(seq1)
10:  seq2  $\leftarrow$  lowercase(seq2)
11:  i  $\leftarrow$  0
12:  dbg  $\leftarrow$  createDBG([seq1, seq2], 6)
13:  s  $\leftarrow$  startNodes(dbg)
14:  if length(s)  $\neq$  1 then
15:    push(muts, newMutation(label(s[0])[0], label(s[1])[0], 0))
16:    i  $\leftarrow$  i + 1
17:  end if
18:  curr  $\leftarrow$  s[0]
19:  while  $\top$  do
20:    if outDegree(curr) == 2 then
21:      l  $\leftarrow$  outLabel(curr)
22:      push(muts, newMutation(l[0], l[1], i + 5))
23:    end if
24:    if outdegree(curr) == 0 then
25:      break
26:    end if
27:    i  $\leftarrow$  i + 1
28:    curr  $\leftarrow$  nextNodes(curr)[0]
29:  end while
30:  return (muts,  $\top$ )
31: end function

```

Nel dettaglio, tralasciando quanto uguale alla prima versione:

- alla riga 11 si inizializza un indice che tiene conto della posizione della mutazione, tramite il numero di nodi del *grafo di De Bruijn* visitati

- alla riga 12 si crea il *grafo di De Bruijn* a partire dalla coppia di stringhe
- alla riga 13 si estrae il vettore di *nodi source*, senza archi entranti
- alle righe 14-17 si risolve l'assunzione per la quale la prima base può subire una mutazione. Qualora non si abbia un solo *nodo source* si aggiunge la mutazione che corrisponde ai primi simboli delle etichette di tali nodi, che possono essere solo due (non essendo uno) per le assunzioni fatte. Si incrementa quindi l'indice
- alla riga 18 si sceglie il primo *nodo source* (unico in assenza di mutazione in prima base) come nodo da cui far partire l'iterazione
- alle righe 19-31 si studia il grafo
- alle righe 20-27 qualora un nodo abbia due archi uscenti, essendo quindi in un nodo che inizia una **bubble**, si aggiunge la mutazione corrispondente alle etichette degli archi che portano a tali nodi. L'indice di tale mutazione è ottenuto tenendo conto dell'indice incrementato di 5, per lo stesso ragionamento della prima versione dell'esercizio
- alle righe 24-26 si interrompe lo studio del grafo qualora si sia giunti ad un *nodo sink*, senza archi uscenti. A questo è possibile solo grazie alle assunzioni fatte
- alle righe 27-28 si incrementa l'indice e ci si sposta al nodo successivo. Qualora fossimo in un nodo che inizia una **bubble** si sceglie di seguire uno dei due cammini, nel dettaglio il primo

Si noti che senza ulteriori assunzioni si perde esplicita referenza di quale base della mutazione appartiene alla sequenza di riferimento o a quella mutata, ma un controllo per capirlo è facilmente eseguibile usando l'indice della mutazione.