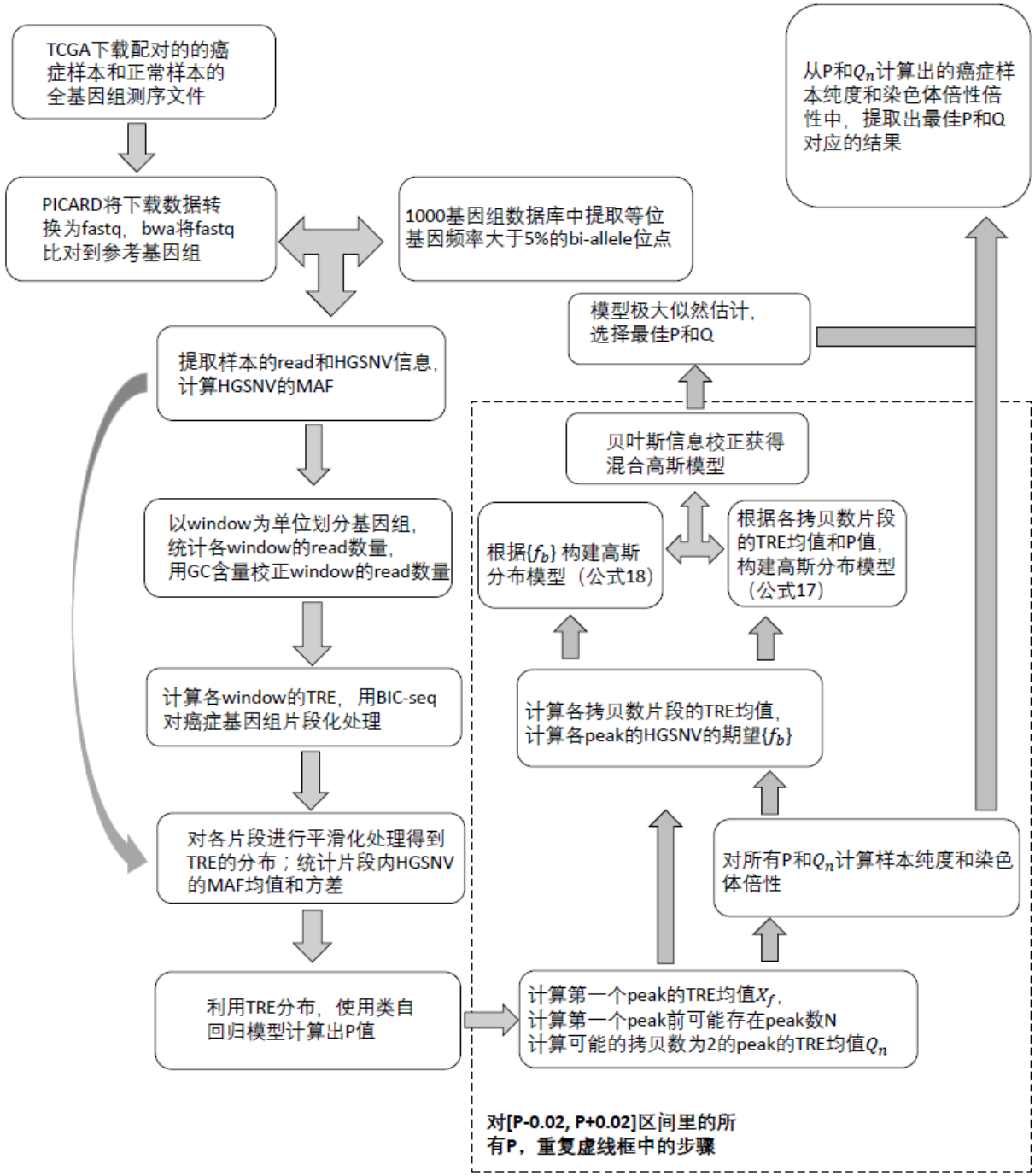
说 明 书 摘 要

本发明提供了一种全自动、高效率、高准确性的计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置。通过本发明提供的层次混合高斯模型，实现了对癌症样本纯度和染色体倍性的快速和准确计算，节约了纯度估算的时间和经济成本，同时提高了计算结果的准确性。本发明在癌症样本纯度和染色体倍性计算上具有广阔的运用前景。

摘 要 附 图


TCGA下载配对的的癌症样本和正常样本的全基因组测序文件
PICARD将下载数据转换为fastq，bwa将fastq比对到参考基因组
1000基因组数据库中提取等位基因频率大于5%的bi-allele位点
提取样本的read和HGSNV信息，计算HGSNV的MAF
以window为单位划分基因组，统计各window的read数量，用GC含量校正window的read数量
计算各window的TRE，用BIC-seq对癌症基因组片段化处理
对各片段进行平滑化处理得到TRE的分布；统计片段内HGSNV的MAF均值和方差
利用TRE分布，使用类自回归模型计算出P值
计算第一个peak的TRE均值X_f，
计算第一个peak前可能存在peak数N
计算可能的拷贝数为2的peak的TRE均值Q_n
对所有P和Q_n计算样本纯度和染色体倍性
计算各拷贝数片段的TRE均值，
计算各peak的HGSNV的期望$\{f_b\}$
根据$\{f_b\}$构建高斯分布模型（公式18）
根据各拷贝数片段的TRE均值和P值，构建高斯分布模型（公式17）
贝叶斯信息校正获得混合高斯模型
模型极大似然估计，选择最佳P和Q
从P和Q_n计算出的癌症样本纯度和染色体倍性倍性中，提取出最佳P和Q对应的结果
对[P-0.02, P+0.02]区间里的所有P，重复虚线框中的步骤

权 利 要 求 书

1、一种用于计算癌症样本中癌症细胞纯度和染色体倍性的方法，所述方法包括以下步骤：

步骤 A：

获取配对的癌症组织样本和正常组织样本的全基因组测序数据，并将测序数据比对到参考基因组；

步骤 B：

从步骤 A 得到的比对结果文件中，提取 read 位置和长度信息，HGSNV 位点和覆盖该位点的 read 数量信息，计算所有 HGSNV 的 MAF，其中，计算公式如（1.1）所示：

$$C = \max\left(\frac{n^r}{n^t}, \quad \frac{n^a}{n^t}\right) \qquad (1.1)$$

公式（1.1）中，n^r为包含与参考基因组相同等位基因的 read 数量，n^a为包含另一种等位基因的 read 的数量，n^t表示覆盖该 HGSNV 位点的总 read 数量， C为该 HGSNV 的 MAF 值；

步骤 C：

根据步骤 B 得到的 read 位置和长度信息，以 window 为单位统计各 window 内包含的 read 数量，使用基因组 GC 含量校正所有 window 内 read 数量；

步骤 D：

使用步骤 C 校正后的 read 数量，使用公式（1）计算每一个 window 的 TRE，然后运用 TRE，通过 BIC-seq 软件对基因组进行片段化，获得以拷贝数划分的基因组片段：

$$e_s = \frac{n_t^s / N_t}{n_n^s / N_n} \qquad (1)$$

公式（1）中，n_t^s和n_n^s分别表示在癌症样本中覆盖片段 s 的 read 数量和在正常样本中覆盖片段 s 的 read 数量，N_t表示癌症样本总 read 数量，N_n表示相应正常样本总 read 数量，e_s为 TRE 值；

步骤 E：

以步骤 D 中 BIC-seq 处理后的基因组片段为单位，统计片段内所有 window 的 TRE 的均值、方差和该片段内 window 数量，根据均值和方差对基因组每个片段的 window 数量进行平滑化处理，使 TRE 的分布更均匀，然后将平滑化处理后所有片段的 window 分布汇总，得到基因组上 window 随 TRE 变化的分布结果；同时以片段为单位，计算片段中所有 HGSNV 的 MAF 的均值和方差；

步骤 F：

使用如公式（12）、（13）所示的类自回归模型，计算相邻拷贝数片段内 TRE 的差值

即P，其中，遍历一定范围的 P，计算 $Y(P)$， 在 $Y(P)$的分布中，选择第二高峰内 $Y(P)$的最大值对应的P作为 P 的计算结果：

$$X_t = \frac{t}{1000} \qquad (12)$$

$$Y(P) = \sum_{t=1}^{(M_t-P)\times 1000} C(X_t) \times C(X_{t+\ 1000\ \times P}) \ ,\ 0 < X_t < M_t - P,\ P > 0 \qquad (13)$$

公式（12）和（13）中，X_t表示 0 到M_t之间的 TRE 值；t 表示扩大了 1000 倍的 TRE 值；M_t表示 TRE 的最大值；变量P表示两个 TRE 位点的间隔；$C(X_t)$表示在 TRE 为X_t的位点，对应的 window 数量；$C(X_{t\ +1000\ \times\ P})$表示在 TRE 为$X_{t\ +1000\ \times\ P}$的位点，对应的 window 数量；$Y(P)$表示在变量$P$下，类自回归模型的函数值；

步骤 G：

根据步骤 F 得到的P，计算 TRE 分布中第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，然后计算在第一个实际 peak 之前最多可能存在理论 peak 的数量 N，最后当第一个实际 peak 之前存在 n 个理论 peak 时，计算 Q 的值，以Q_n表示，其中步骤 G 包括：

G1：

根据步骤 F 计算的P，使用公式（13.1），选取使公式（13.1）取最大值的X_f作为第一个实际观测 peak 的 TRE 均值：

$$f(X_f) = \sum_{i=0}^{n} C(X_f + P\ \times\ i)\ ,\quad 0 < X_f < M_t,\qquad 0 < X_f + P\ \times i < M_t, \qquad (13.1)$$

公式(13.1)中，i 表示第 i 个 peak，$C(X_f + P\ \times\ i)$表示在 TRE 为$X_f + P\ \times\ i$ 的位点，对应的 window 数量，n 表示M_t以内 peak 的最大数量，M_t表示 TRE 的最大值；

G2：

使用公式（13.2），根据步骤 F 计算的P和步骤 G1 计算的X_f，计算在X_f 之前最多可能存在的 peak 数量N：

$$N = floor\left(\frac{X_f}{P}\right) \qquad (13.2)$$

公式（13.2）中，X_f表示第一个 peak 的均值，P表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，floor 表示向下取整数；

G3：

利用步骤 G2 计算的 N 值，当 n 取 0 到 N 之间的整数时，使用公式（13.3）计算Q_n的值：

$$Q_n = X_f\ -\ n\ \times P\ +\ 2\times P = X_f + (2\ -n)\times P\ ,\quad n\ \in [0,\ N] \qquad (13.3)$$

公式（13.3）中，n 表示X_f之前 peak 的数量，取值范围是 0 到 N 之间的整数，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f表示第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，Q_n表

示在X_f之前理论上存在 *n* 个 peak 时的 Q 值；

步骤 H：

使用步骤 F 计算的 *P* 与步骤 G 计算的Q_n，使用公式（10）、（11）计算癌症样本纯度γ和染色体倍性κ：

$$\gamma = \frac{2 \times P}{Q} \qquad (10)$$

$$\kappa = 2 + \frac{1 - Q}{2 \times P} \qquad (11)$$

公式（10）、（11）中，γ表示样本纯度，κ表示染色体倍性，由此对（P，Q_N）得到对应的（γ，κ）；

步骤 I：

当 n 取[0,*N*]之间的某个整数值时，使用公式（13.4）计算第 *i* 个 peak 的 TRE 均值：

$$T_i = X_f - n \times P + i \times P = X_f + (i - n) \times P \ , \quad n \in [0, N] \qquad (13.4)$$

公式（13.4）中，*n* 表示X_f之前 peak 的数量，取值范围是 0 到 *N* 之间的整数，*P* 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f表示第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，T_i表示第 *i* 个 peak 的 TRE 均值，

对于落在T_i附近的片段，认为该片段具有拷贝数 *i*；对于没有落在T_i附近的片段，将其归类为亚克隆片段，在后续分析中剔除所有亚克隆片段；然后根据步骤 H 计算的癌症样本纯度γ和 peak 对应的拷贝数，计算 peak 的 MAF 的期望f_b，不同 peak 的 MAF 期望不同，对基因组上的所有 peak，最终得到 MAF 期望的集合$\{f_b\}$；同时计算各个 peak 的 TRE 均值和方差或标准差；

步骤 J：

根据步骤 F 计算的 *P* 和步骤 I 计算的$\{f_b\}$构建如公式（19）所示的用“贝叶斯信息准则”校正后的混合高斯分布模型，然后对模型极大似然估计；其中，步骤 J 包括如下几步：

J1：

以步骤 F 计算的 P 构建如公式（17）所示的高斯分布模型：

$$L(e_s;\ \gamma, \kappa) = \prod_{s=1}^{N} \left[\sum_{i=0}^{I} p_i \times \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_i} \ exp\left(- \frac{(e_s - S^i)^2}{2\sigma_i^2} \right) \right] \qquad (17)$$

公式（17）中，$L(e_s;\ \gamma, \kappa)$表示基因组片段 TRE 的似然函数，*N* 表示基因组上的所有 window 的数量，*I* 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数，σ_i表示拷贝数为 *i* 的所有片段的 TRE 的标准差由步骤 *I* 得到，e_s为第 *s* 个 window 的 TRE 观测值，S^i表示第 *i* 个 peak 的 TRE 均值即步骤 I 中的T_i，p_i表示第 *s* 个 window 的拷贝数为 *i* 的权重，对所有的 *i*，p_i均取值为 1；

J2：

以步骤 I 计算的f_b构建如公式（18）所示的高斯分布模型：

$$L(f_s;\ \gamma,\kappa) = \prod_{s=1}^{M}\left\{\sum_{i=0}^{I} p_i \left[\sum_{j=\frac{i}{2}}^{i} p_{i,j} \times \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_{i,j}}\ exp\left(-\ \frac{\left(f_s-\ F^{i,j}\right)^2}{2\sigma_{i,j}^2}\right)\right]\right\} \quad (18)$$

公式（18）中，$L(f_s;\ \gamma,\kappa)$表示 HGSNV 的似然函数，M 表示基因组中所有 HGSNV 数量，S 表示第 S 个 HGSNV，I 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数；$F^{i,j}$表示拷贝数为 i，主要等位基因的拷贝数为 j 的片段内 HGSNV 的 MAF 期望值，由步骤 I 得到；f_s表示该片段内所有 HGSNV 的 MAF 的观测值均值，由步骤 E 得到；$\sigma_{i,j}$表示该片段内所有 HGSNV 的 MAF 观测值的标准差，由步骤 E 得到；$p_{i,j}$表示在主要等位基因的拷贝数为 j 时，高斯分布的权重，对所有的 i 和 j，$p_{i,j}$取值均为 1，p_i表示第 S 个 HGSNV 所在片段的拷贝数为 i 的权重，对所有的 i，p_i取值均为 1；

J3：

将（17）与（18）相加得到混合高斯模型，然后对混合模型进行 BIC（Bayesian Information Criterion）校正得到最终混合模型如公式（19）：

$$BIC(e_s, f_s;\ \gamma,\kappa\ ) = -2 \times log\, L(f_s;\ \gamma,\kappa) - 2 \times log\, L(e_s;\ \gamma,\kappa) + I\ \times\ log(N)\ +\ J\ \times\ log(M) \quad (19)$$

公式（19）中，$BIC(e_s, f_s;\ \gamma,\kappa\ )$表示混合模型的似然函数，$I$ 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数，J 是公式（18）中 j 的取值个数，N 是基因组中 window 的数量，M 是基因组中 HGSNV 的个数，

对[*0, N*]范围内的每一个整数值 n，通过步骤 G 得到Q_n，或者通过步骤 I 得到所有 peak 的 MAF 期望的集合$\{f_b\}$，由一对（P，$\{f_b\}$）构建一个公式（19）所示的模型；

步骤 K：

以 0.001 为分辨率，对[*P-m, P +m*]区间的所有 P 值，重复步骤 G~J，得到一系列不同的（P，Q_n）与对应的似然函数值，取最大的似然函数值对应的(P，Q_n)作为最合适的 P 和 Q 值，m 是 0 到 0.5 之间的一个值；

步骤 L：

查询步骤 H 的结果，找到在步骤 K 得到的（P，Q）下，对应的癌症样本纯度和染色体倍性。

2、一种用于计算癌症样本中癌症细胞纯度和染色体倍性的装置，其包括处理器，所述处理器用于运行程序，所述程序运行时执行以下步骤：

步骤 A：

获取配对的癌症组织样本和正常组织样本的全基因组测序数据，并将测序数据比对到参考基因组；

步骤 B：

从步骤 A 得到的比对结果文件中，提取 read 位置和长度信息，HGSNV 位点和覆盖该位点的 read 数量信息，计算所有 HGSNV 的 MAF，其中，计算公式如（1.1）所示：

$$C = \max\left(\frac{n^r}{n^t}, \frac{n^a}{n^t}\right) \qquad (1.1)$$

公式（1.1）中，n^r为包含与参考基因组相同等位基因的 read 数量，n^a为包含另一种等位基因的 read 的数量，n^t表示覆盖该 HGSNV 位点的总 read 数量，C为该 HGSNV 的 MAF 值；

步骤 C：

根据步骤 B 得到的 read 位置和长度信息，以 window 为单位统计各 window 内包含的 read 数量，使用基因组 GC 含量校正所有 window 内 read 数量；

步骤 D：

使用步骤 C 校正后的 read 数量，使用公式（1）计算每一个 window 的 TRE，然后运用 TRE，通过 BIC-seq 软件对基因组进行片段化，获得以拷贝数划分的基因组片段：

$$e_s = \frac{n_t^s / N_t}{n_n^s / N_n} \qquad (1)$$

公式（1）中，n_t^s和n_n^s分别表示在癌症样本中覆盖片段 *s* 的 read 数量和在正常样本中覆盖片段 *s* 的 read 数量，N_t表示癌症样本总 read 数量，N_n表示相应正常样本总 read 数量，e_s为 TRE 值；

步骤 E：

以步骤 D 中 BIC-seq 处理后的基因组片段为单位，统计片段内所有 window 的 TRE 的均值、方差和该片段内 window 数量，根据均值和方差对基因组每个片段的 window 数量进行平滑化处理，使 TRE 的分布更均匀，然后将平滑化处理后所有片段的 window 分布汇总，得到基因组上 window 随 TRE 变化的分布结果；同时以片段为单位，计算片段中所有 HGSNV 的 MAF 的均值和方差；

步骤 F：

使用如公式（12）、（13）所示的类自回归模型，计算相邻拷贝数片段内 TRE 的差值即P，其中，遍历一定范围的 *P*，计算 *Y(P)*， 在 *Y(P)*的分布中，选择第二高峰内 *Y(P)*的最大值对应的P作为 *P* 的计算结果：

$$X_t = \frac{t}{1000} \qquad (12)$$

$$\mathrm{Y}(P) = \sum_{t=1}^{(M_t - P)\times 1000} C(X_t) \times C(X_{t+\ 1000\times P}) \ ,\ 0 < X_t < M_t - \mathrm{P},\ \mathrm{P} > 0 \qquad (13)$$

公式（12）和（13）中，X_t表示 0 到M_t之间的 TRE 值；*t* 表示扩大了 1000 倍的 TRE

值；M_t表示 TRE 的最大值；变量P表示两个 TRE 位点的间隔；$C(X_t)$表示在 TRE 为X_t的位点，对应的 window 数量；$C(X_{t\ +1000\ \times\ P})$表示在 TRE 为$X_{t\ +1000\ \times\ P}$的位点，对应的 window 数量；$Y(P)$表示在变量$P$下，类自回归模型的函数值；

步骤 G：

根据步骤 F 得到的P，计算 TRE 分布中第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，然后计算在第一个实际 peak 之前最多可能存在理论 peak 的数量 N，最后当第一个实际 peak 之前存在 n 个理论 peak 时，计算 Q 的值，以Q_n表示，其中步骤 G 包括：

G1：

根据步骤 F 计算的P，使用公式（13.1），选取使公式（13.1）取最大值的X_f作为第一个实际观测 peak 的 TRE 均值：

$$f(X_f) = \sum_{i=0}^{n} C(X_f + P\ \times\ i)\ ,\quad 0 < X_f < M_t,\qquad 0 < X_f + P\ \times i < M_t, \qquad (13.1)$$

公式(13.1)中，i 表示第 i 个 peak，$C(X_f + P\ \times\ i)$表示在 TRE 为$X_f + P\ \times\ i$ 的位点，对应的 window 数量，n 表示M_t以内 peak 的最大数量，M_t表示 TRE 的最大值；

G2：

使用公式（13.2），根据步骤 F 计算的P和步骤 G1 计算的X_f，计算在X_f 之前最多可能存在的 peak 数量N：

$$N = floor\left(\frac{X_f}{P}\right) \qquad （13.2）$$

公式（13.2）中，X_f表示第一个 peak 的均值，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，floor 表示向下取整数；

G3：

利用步骤 G2 计算的 N 值，当 n 取 0 到 N 之间的整数时，使用公式（13.3）计算Q_n的值：

$$Q_n = X_f - n \times P + 2 \times P = X_f + (2 - n) \times P\ ,\quad n \in [0,\ N]$$

（13.3）公式（13.3）中，n 表示X_f之前 peak 的数量，取值范围是 0 到 N 之间的整数，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f表示第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，Q_n表示在X_f之前理论上存在 n 个 peak 时的 Q 值；

步骤 H：

使用步骤 F 计算的 P 与步骤 G 计算的Q_n，使用公式（10）、（11）计算癌症样本纯度γ和染色体倍性κ：

$$\gamma = \frac{2\ \times\ P}{Q} \qquad (10)$$

$$\kappa = 2 + \frac{1 - Q}{2 \times P} \qquad (11)$$

公式（10）、（11）中，γ表示样本纯度，κ表示染色体倍性，由此对（P，Q_N）得到对应的（γ，κ）；

步骤 I：

当 n 取[0, N]之间的某个整数值时，使用公式（13.4）计算第 i 个 peak 的 TRE 均值：

$$T_i = X_f - n \times P + i \times P = X_f + (i - n) \times P, \quad n \in [0, N] \qquad (13.4)$$

公式（13.4）中，n 表示X_f之前 peak 的数量，取值范围是 0 到 N 之间的整数，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f表示第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，T_i表示第 i 个 peak 的 TRE 均值，

对于落在T_i附近的片段，认为该片段具有拷贝数 i；对于没有落在T_i附近的片段，将其归类为亚克隆片段，在后续分析中剔除所有亚克隆片段；然后根据步骤 H 计算的癌症样本纯度γ和 peak 对应的拷贝数，计算 peak 的 MAF 的期望f_b，不同 peak 的 MAF 期望不同，对基因组上的所有 peak，最终得到 MAF 期望的集合$\{f_b\}$；同时计算各个 peak 的 TRE 均值和方差或标准差；

步骤 J：

根据步骤 F 计算的 P 和步骤 I 计算的$\{f_b\}$构建如公式（19）所示的用“贝叶斯信息准则”校正后的混合高斯分布模型，然后对模型极大似然估计；其中，步骤 J 包括如下几步：

J1：

以步骤 F 计算的 P 构建如公式（17）所示的高斯分布模型：

$$L(e_s;\ \gamma, \kappa) = \prod_{s=1}^{N} \left[\sum_{i=0}^{I} p_i \times \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_i} exp\left(- \frac{(e_s - S^i)^2}{2\sigma_i^2} \right) \right] \qquad (17)$$

公式（17）中，$L(e_s;\ \gamma, \kappa)$表示基因组片段 TRE 的似然函数，N 表示基因组上的所有 window 的数量，I 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数，σ_i表示拷贝数为 i 的所有片段的 TRE 的标准差由步骤 I 得到，e_s为第 s 个 window 的 TRE 观测值，S^i表示第 i 个 peak 的 TRE 均值即步骤 I 中的T_i，p_i表示第 s 个 window 的拷贝数为 i 的权重，对所有的 i，p_i均取值为 1；

J2：

以步骤 I 计算的f_b构建如公式（18）所示的高斯分布模型：

$$L(f_s;\ \gamma, \kappa) = \prod_{s=1}^{M} \left\{ \sum_{i=0}^{I} p_i \left[\sum_{j=\frac{i}{2}}^{i} p_{i,j} \times \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_{i,j}} exp\left(- \frac{(f_s - F^{i,j})^2}{2\sigma_{i,j}^2} \right) \right] \right\} \qquad (18)$$

公式（18）中，$L(f_s;\ \gamma, \kappa)$表示 HGSNV 的似然函数，M 表示基因组中所有 HGSNV

数量，S 表示第 S 个 HGSNV，I 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数；$F^{i,j}$表示拷贝数为 i，主要等位基因的拷贝数为 j 的片段内 HGSNV 的 MAF 期望值，由步骤 I 得到；f_s表示该片段内所有 HGSNV 的 MAF 的观测值均值，由步骤 E 得到，$\sigma_{i,j}$表示该片段内所有 HGSNV 的 MAF 观测值的标准差，由步骤 E 得到；$p_{i,j}$表示在主要等位基因的拷贝数为 j 时，高斯分布的权重，对所有的 i 和 j，$p_{i,j}$取值均为 1，p_i表示第 S 个 HGSNV 所在片段的拷贝数为 i 的权重，对所有的 i，p_i取值均为 1；

J3：

将（17）与（18）相加得到混合高斯模型，然后对混合模型进行 BIC 校正得到最终混合模型如公式（19）：

$$BIC(e_s, f_s;\ \gamma, \kappa\ ) = -2 \times log\, L(f_s;\ \gamma, \kappa) - 2 \times log\, L(e_s;\ \gamma, \kappa)\ + I \times log(N) + J \times log(M) \quad (19)$$

公式（19）中，$BIC(e_s, f_s;\ \gamma, \kappa\ )$表示混合模型的似然函数，$I$ 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数，J 是公式（18）中 j 的取值个数，N 是基因组中 window 的数量，M 是基因组中 HGSNV 的个数，

对[*0, N*]范围内的每一个整数值 n，通过步骤 G 得到Q_n，或者通过步骤 I 得到所有 peak 的 MAF 期望的集合$\{f_b\}$，由一对（P，$\{f_b\}$）构建一个公式（19）所示的模型；

步骤 K：

以 0.001 为分辨率，对[*P-m, P +m*]区间的所有 P 值，重复步骤 G~J，得到一系列不同的（P，Q_n）与对应的似然函数值，取最大的似然函数值对应的(P，Q_n)作为最合适的 P 和 Q 值，m 是 0 到 0.5 之间的一个值；

步骤 L：

查询步骤 H 的结果，找到在步骤 K 得到的（P，Q）下，对应的癌症样本纯度和染色体倍性。

3、根据权利要求 1 所述的方法或者权利要求 2 所述的装置，其中，所述步骤 A 中，采用 1000 基因组计划第三期（phase 3）项目使用的参考基因组 hs37d5 (ftp://ftp.1000genomes.ebi.ac.uk/vol1/ftp/technical/reference/phase2_reference_assembly_sequence/hs37d5.fa.gz)作为所述参考基因组；和/或，比对软件使用 Burrows-Wheeler Aligner (BWA)，比对方法使用其中的 bwa mem，最终获得癌症和正常样本的比对结果 bam 格式文件。

4、根据权利要求 1 所述的方法或者权利要求 2 所述的装置，其中，所述步骤 B 中，采用 samtools 软件提取 read 的位置和长度信息，HGSNV 的位点和覆盖该位点的 read 数量信息，其中，使用 samtools view 命令提取 read 信息时，使用参数 -q 31 过滤掉序列比对质量（MAPQ）低于 31 的序列，其中 q 表示过滤掉测序质量差的序列，同时使用参数 -f 0x2 -F 0x18 过滤掉未能正确匹配的 read，其中 f 表示提取符合一定要求的序列，F 表示

过滤符合一定要求的序列，使用 samtools mpileup 命令提取 HGSNV 信息时，使用参数 -q 20 过滤掉序列比对质量低于 20 的序列，并使用参数 -Q 20 过滤掉碱基质量小于 20 的序列， 其中 Q 表示过滤掉碱基质量差的序列；选取等位基因频率时，使用 samtools mpileup 的-l 参数；使用该参数需要提前准备一个包含 SNP 位点信息的 bed 格式文件。

5、根据权利要求 1 所述的方法或者权利要求 2 所述的装置，其中，

所述步骤 C 包括 4 步：

C1、将全基因组按照一定碱基长度的 window 为单位进行划分，对每个 window 统计覆盖该 window 的 read 数量，统计时以每条 read 的中点代表该 read 的位置；

C2、对参考基因组创建索引文件，提高 GC 含量的统计速度；

C3、以每个 window 的 GC 含量为自变量，以每个 window 的 read 数量为因变量，拟合 read 数量随 GC 含量变化的函数；

C4、使用拟合出的模型对全基因组 read 数量进行调整。

6、根据权利要求 5 所述的方法或者装置，其中，所述步骤 C2 中，为参考基因组创建 GC 含量索引文件，对每一条染色体分别统计 1、5、25、125 个碱基间隔的区域内，鸟嘌呤（G）和胞嘧啶（C）的累积数量，其中，在统计某一个 window 中的 GC 含量时，用 a* 125 + b*25 + c*5 +d*1 的快速算法提取，其中 a,b,c,d 表示系数变量。

7、根据权利要求 5 所述的方法或者装置，其中，所述步骤 C3 中，使用步骤 C1 和步骤 C2 提取的各 window 的 GC 含量，通过如下弹性网络模型拟合 read 数量随 GC 含量变化，其中，使用 window 的 GC 含量为变量 x，使用$x, x^2, x^3, x^4, x^5, x^6$作为弹性网络模型的输入变量，以 read 数量为输出变量，构建弹性网络模型如公式（20）所示：

$$E(\lambda_1, \lambda_2, \beta) = |y - X\beta|^2 + \lambda_2 \sum_{j=1}^{P} \beta_j^2 + \lambda_1 \sum_{j=1}^{P} |\beta_j| \quad , \lambda_1 + \lambda_2 = 1 \qquad （20）$$

公式（20）中，y 表示 window 内观测到的 read 数量，X 表示输入变量矩阵，β表示变量系数矩阵，j 表示变量系数下标，P 表示系数总数，λ_1和λ_2表示罚分系数。

8、根据权利要求 5 所述的方法或者装置，其中，所述步骤 C4 中，使用步骤 C3 中的模型预测每一个 window 理论上的 read 数量μ_{gc}，基因组的平均 GC 含量定义为μ，window 内观测到的 read 数量定义为y，window 内校正后的 read 数量为 Y，那么校正公式如下（21）所示：

$$Y = \frac{\mu}{\mu_{gc}} \times y \qquad （21）。$$

9、根据权利要求 1 所述的方法或者权利要求 2 所述的装置，其中，所述步骤 E 中，使用步骤 D 中 BIC-seq 处理后的基因组片段为单位，计算片段所包含的 window 数量，TRE 的平均值以及方差，然后对片段的 TRE 进行平滑化处理，处理方式如公式（22）所示，针对每一个基因组片段，以 TRE 的均值作为正态分布的均值μ，以 TRE 的方差作为正态

分布的方差σ，计算出 TRE 在$[\mu-2\sigma,\mu+2\sigma]$范围内 window 数量的分布，定义 v 为 TRE 坐标，取值范围为$[\mu-2\sigma,\mu+2\sigma]$，分辨率为 0.001，$C_{win}$为该片段分配到 v 位点的 window 数量，C_T表示该片段内 window 的总数，将所有片段的 window 根据 TRE 值平滑化后，可使片段内的 window 数量呈现正态分布，对所有片段各 TRE 位点对应的 window 数求和汇总，得到基因组范围的 window 随 TRE 变化的分布：

$$C_{win}=C_T\times\frac{1}{\sqrt{2\pi}\,\sigma}\,exp\left(-\frac{(v-\mu)^2}{2\sigma^2}\right),\ v\in[\mu-2\sigma,\mu+2\sigma] \qquad (22)。$$

10、根据权利要求 1 所述的方法或者权利要求 2 所述的装置，其中，所述步骤 F 中，以 0.001 为分辨率，遍历[0,1]范围内的所有 P，使用类自回归模型，计算 $Y(P)$的值，$Y(P)$表现为多峰分布，使用第二高峰内 $Y(P)$的最大值对应的P作为P的计算结果，M_t是 TRE 的最大取值，这里将M_t设置为 3。

11、根据权利要求 1 所述的方法或者权利要求 2 所述的装置，其中，所述步骤 G 中，步骤 G 包括 3 个步骤，步骤 G1 中，遍历[0,1]的 TRE 区间作为X_f，过滤掉 C(X_f)小于 1000 的 TRE 位点，计算使公式（13.1）取最大值时的X_f作为第一个实际观测 peak 的均值。

12、根据权利要求 1 所述的方法或者权利要求 2 所述的装置，其中，所述步骤 I 中，然后根据步骤 H 计算的癌症样本纯度γ和 peak 对应的拷贝数，计算 peak 的 MAF 的期望f_b，其中步骤 I 包括：

I1，使用公式（14）计算 peak 内 HGSNV 的 MAF 理论值：

$$f=\frac{1-\gamma+C_{mcp}\times\gamma}{(1-\gamma)\times 2+C_{cp}\times\gamma},\quad \frac{C_{cp}}{2}<C_{mcp}<C_{cp} \qquad (14)$$

公式（14）中，C_{mcp}表示主要等位基因的拷贝数，C_{cp}表示 peak 的整体拷贝数，由步骤 I 得到，f表示该 peak 内 MAF 的理论值，可见当C_{cp}较大时，f有多种不同的可能值；

I2，利用负二项分布估计覆盖每个 HGSNV 位点的 read 总数的概率，使用公式（15）计算负二项分布的概率 p 和失败次数 r：

$$p=1-\frac{m}{v}\quad ;\ r=\frac{m^2}{v-m} \qquad (15)$$

公式（15）中，m 是 peak 内所有 window 中 read 数量的均值，v 是 peak 内所有 window 中 read 数量的方差，所求得的 p 是用于负二项分布的随机变量成功的概率，r 为随机变量失败的次数，随机变量为覆盖某个 HGSNV 中的 read 数量；

I3，利用二项分布求得的覆盖某个 HGSNV 的 read 数的概率，结合在一定 read 数量下，HGSNV 只有两种基因型，服从二项分布规律，利用公式（16）计算f的校正值f_b，同一个 peak 中，不同的C_{mcp}计算得到不同的f_b，选择与该 peak 的 MAF 观测均值最接近的f_b作为该 peak 的f_b：

$$f_b = \sum_{n=0}^{\infty}\left\{\sum_{k=0}^{d}\left[max\left\{\frac{k}{d}, 1-\frac{k}{d}\right\}\binom{d}{k}f^k(1-f)^{d-k}\right]\binom{d+r-1}{r}(1-p)^r p^d\right\} \quad (16)$$

公式（16）中，k 表示在某个 HGSNV 位点，某一种等位基因 A 或 B 的数量，d 为覆盖该 HGSNV 的 read 数量，r 为随机变量失败的次数，p 是用于负二项分布的随机变量成功的概率；

对每一个Q_n，可推断获得基因组所有 peak 对应的拷贝数和癌症样本纯度，从而对每一个 peak 求f_b，进而得到所有 peak 的 MAF 的期望值得集合$\{f_b\}$。

13、根据权利要求 1 所述的方法或者权利要求 2 所述的装置，其中，所述步骤 K 中，m 取 0.02 作为 P 值得遍历区间为[*P-0.02, P+0.02*]。

说 明 书

用于计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置

技术领域

本发明属于癌症研究领域，具体涉及用于计算癌症样本中癌症细胞纯度和细胞内染色体倍性的方法和装置。

背景技术

癌症的研究是生命医学中的重要研究领域，并对人类健康生活有重大影响。癌症是一类细胞恶性增殖的疾病，因其病理十分复杂，人类尚无法攻克这类疾病。二代测序（next generation sequencing）为快速检测病人遗传信息提供了可能。然而测序需要从病人组织中提取样本，但通常癌症组织并不是只单纯地包含癌症细胞，它还有非常丰富的微环境。癌症细胞微环境指包围或伴随癌症细胞的正常细胞(non-cancerous cells)环境。癌细胞样本提取时，这些微环境会和癌细胞一起被提取，并会伴随癌细胞一起被测序[1]。癌症细胞在癌症样本中的比例被定义为癌症样本的纯度。癌症基因组通常包含着大量体细胞序列拷贝数变异，这些变异主要由基因组片段扩增或删除造成。识别特定肿瘤基因组的基因组片段拷贝数变化，是癌症基因组研究的一个重要课题。要准确鉴定基因组片段拷贝数具有一定挑战，因为癌症片段拷贝数主要由两个因素混合决定，一是癌症样本纯度，即癌症细胞在癌症样本中所占比例，二是染色体倍性[2,3]。传统中鉴定癌症样本纯度和染色体倍性的方法是使用实验技术，如定量图像分析[4]或单细胞测序[5]。但是在大型项目中，这样的方法会耗费大量人力、资金和时间。随着测序技术地发展，测序数据地快速增长，以及测序数据分析技术的积累，各种各样的癌症样本纯度算法被提出，并开发出了相对应的软件。

基于基因组片段拷贝数变异和基于等位基因频率（突变位点的 B-等位基因（B-allele））的计算方法被相继提出。基于等位基因频率的方法有 PurityEst[6]和 PurBayes[7]，主要是依赖于随着肿瘤样本纯度和肿瘤基因组倍性的不同，等位基因的频率会有所不同。基于拷贝数变异的方法有 CNAnorm[8]、THetA[9]、和 ABSOLUTE[10]等。然而这两种方法都有不同程度的问题，使用等位基因频率的方法由于数据量的问题会有较大的误差，而运用拷贝数变异的方法虽然较稳定，但却无法区分样本纯度和染色体倍性的补偿效应，即存在识别问题。以上基于片段拷贝数的软件都没有解决这一问题，CNAnorm 倾向于选择染色体倍性离二倍体最近的解决方案，ABSOLUTE 结合了其他的经验数据，THetA 则直接将所有可能结果都列出来了。

更优的方案应该是结合等位基因频率信息和片段拷贝数信息共同计算肿瘤样本纯度。PyLOH[11]，patchwork[12]使用了基因组上杂合 SNV（单核苷酸变异）位点的频率信息，和基因组片段的拷贝数。PyLOH 一定程度上解决了“识别困难”的问题，可以更合理给出

唯一解决方案。但是其准确性较差，特别是遇到基因组中存在亚克隆（subclone）的情况下。Patchwork 同时使用了两种信息，但是在计算基因型的中间步骤中，需要人工识别，人工判断的结果缺乏准确性，并且这种半自动化软件给应用带来很多不便。

如何充分利用现有的二代测序数据准确计算癌症样本纯度和癌症细胞基因组倍性问题仍然是一项具有挑战性的工作。

参考文献

1、Junttila M R, de Sauvage F J. Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response [J]. Nature, 2013, 501(7467):346-354.

2、Carter S L, Cibulskis K, Helman E, et al. Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer [J]. Nature Biotechnology, 2012, 30(5):413-21.

3、Oesper L, Mahmoody A, Raphael B J. Inferring intra-tumor heterogeneity from high-throughput DNA sequencing data [J]. Genome Biology, 2013, 14(7):R80.

4、Yuan Y, Failmezger H, Rueda O M, et al. Quantitative Image Analysis of Cellular Heterogeneity in Breast Tumors Complements Genomic Profiling [J]. Science Translational Medicine, 2012, 4(157):157ra143.

5、Navin N, Kendall J, Troge J, et al. Tumour evolution inferred by single-cell sequencing [J]. Nature, 2011, 472(7341):90-4.

6、Su X, Zhang L, Zhang J, et al. PurityEst: estimating purity of human tumor samples using next-generation sequencing data.[J]. Bioinformatics, 2012, 28(17):2265-2266.

7、Larson N B. PurBayes: estimating tumor cellularity and subclonality in next-generation sequencing data [J]. Bioinformatics, 2013, 29(15):1888-9.

8、Gusnanto A, Wood H M, Pawitan Y, et al. Correcting for cancer genome size and tumour cell content enables better estimation of copy number alterations from next-generation sequence data [J]. Bioinformatics, 2012, 28(1):40-47.

9、Oesper L, Mahmoody A, Raphael B J. Inferring intra-tumor heterogeneity from high-throughput DNA sequencing data [J]. Genome Biology, 2013, 14(7):R80.

10、Carter S L, Cibulskis K, Helman E, et al. Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer [J]. Nature Biotechnology, 2012, 30(5):413-21.

11、Li Y, Xie X. Deconvolving tumor purity and ploidy by integrating copy number alterations and loss of heterozygosity [J]. Bioinformatics, 2015, 30(4):2121.

12、Mayrhofer M, Dilorenzo S, Isaksson A. Patchwork: allele-specific copy number analysis of whole-genome sequenced tumor tissue [J]. Genome Biology, 2013, 14(3):R24.

发明内容

术语定义

为了更好地理解本发明，下面提供相关的解释和说明：

Whole Genome Sequencing(WGS)： 使用二代测序技术的全基因组测序。

read： 高通量测序平台产生的测序序列。

测序深度：测序得到的碱基（bp）总量与基因组（Genome）大小的比值，它是评价测序量的指标之一。

window（窗口）：按照一定长度划分的基因组片段，该长度代表 window 大小。本方法中 window 大小可由使用者自由设置，通常设置为几百碱基。一个大基因组片段 S 可以包含大量 window。

Tumor Read Enrichment（TRE）： 癌症片段读长富集程度e_s，指癌症样本中某一片段 S 内 read 数量与相应正常样本中对应片段 read 数量的比值，定义公式如下：

$$e_s = \frac{n_t^s / N_t}{n_n^s / N_n} \qquad (1)$$

公式（1）中，n_t^s和n_n^s分别表示在癌症样本中覆盖片段 s 的 read 数量和相匹配的正常样本中覆盖片段 s 的 read 数量，N_t表示癌症样本全基因组测序获得 read 总数量，N_n表示相应正常样本全基因组测序获得 read 总数量。

Heterozygous Germline Single Nucleotide Variants（HGSNV）：杂合生殖系细胞单碱基变异，由于人类染色体属于二倍体，体细胞均由胚胎细胞发育而来，而生殖细胞中 HGSNV 位点只有两种碱基类型 A 和 B，其中一种来源于父本，另一种来源于母本。

Major Allele Fraction(MAF)： 主要等位基因(allele)分数，本发明中使用的 HGSNV 只有两种等位基因，一种等位基因与参考基因组相同，另一种与参考基因组不同。这两种等位基因型分数的计算方法为覆盖某一等位基因的 read 数量除以覆盖该位点总 read 数量的比值，MAF 就是两种等位基因分数中的较大值。计算公式如（1.1）所示，n^r为包含与参考基因组相同等位基因的 read 数量，n^a为包含另一种等位基因的 read 的数量，n^t表示覆盖该 HGSNV 位点的总 read 数量，C为该 HGSNV 的 MAF 值。MAF 是相对于 HGSNV 的概念，本发明中“片段的 MAF”指片段内所有 HGSNV 的 MAF 均值，“peak 的 MAF”指 peak 中所有片段包含的 HGSNV 的 MAF 均值。

$$C = \max\left(\frac{n^r}{n^t}, \frac{n^a}{n^t}\right) \qquad (1.1)$$

major allele copy number： 主要等位基因拷贝数，指在拷贝数为 i 的片段中，主要等位基因拷贝数的取值，它的取值范围为大于等于 $\frac{i}{2}$ 的整数。

peak： 指基因组所有 window 的 TRE 分布中，聚集在一起的 TRE 簇。如附图 1 所示，图 A 表示基因组上所有 window 的 TRE 分布，纵轴表示对应某 TRE 位点的 window 总数量，该图为基因组 GC 含量校正之前的 TRE 分布，图 B 表示 GC 含量校正之后的 TRE

分布，图 B 中可以看到 window 明显以簇聚集，本方法将通过类自回归模型鉴定出来的 TRE 簇定义为 peak，本质上是具有相同拷贝的基因组片段内 window 的聚集。

癌症样本： 指从某患癌症的个体身上取下的癌症组织，它包含了一部分癌症细胞和一部分正常细胞。

***P*：** 指两个相邻 peak 之间的间距，由于 peak 是一个簇，这里 peak 的 TRE 由 peak 的 TRE 均值来表示，所以实际上是两个相邻 peak 的 TRE 均值的差。由于 peak 是具有相同拷贝数基因组片段内 window 的聚集，所以这里也表述为相邻拷贝数片段 TRE 的差值。

发明目的

本发明的目的在于克服现有技术的缺陷，提供一种全自动、高效率、高准确性的计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置。本发明在癌症样本纯度和染色体倍性计算上具有广阔的运用前景。

技术方案

为实现上述发明目的，本发明采取的技术方案为：通过癌症样本和匹配的正常样本的全基因组测序数据，对不同拷贝数片段的 TRE 和 HGSNV 的 MAF 分布构建混合高斯模型，计算癌症样本纯度和染色体倍性。

本发明主要运用了全基因组测序数据的 TRE 信息和 HGSNV 的 MAF 信息。TRE 基本反映了癌症样本拷贝数变异情况，HGSNV 的 MAF 信息基本反映了癌症样本的基因型。

TRE 的差别主要来源于基因组片段的拷贝数差异，高拷贝数基因组片段内测序获得的 read 数量一定大于低拷贝数基因组片段测序获得的 read 数量，通过片段内 read 数量差异计算片段拷贝数差异是基因组拷贝数检测中的常用方法。但是大多数研究中，直接使用癌症样本片段内 read 数量除以正常样本该片段内 read 数量的比值（ratio）来进行 read 数量差异评估。本发明使用公式（1）所示的 TRE 来评估片不同片段的 read 数量差异。传统方法计算所得 ratio 不仅受癌症样本纯度与染色体倍性的影响，还受到癌症样本和正常样本测序深度的影响，而 TRE 不会受到样本测序深度的影响。

单独依赖 read 数量差异，无法确定各拷贝数片段的基因型，更重要的是无法区分样本纯度与样本倍性的补偿效应。而结合拷贝数差异片段内的 HGSNV 可以提供基因型信息，并帮助解决纯度与倍性的补偿效应，然而在前人的研究中，并没有高效利用 HGSNV 的方法，大部分方法采用枚举的方式将不同拷贝数片段可能对应的基因型一一列出，然后对排列组合的结果进行计算，挑选最可信的结果。这些方法共同的特点是，方法计算时间长，准确性差，对拷贝数很高或基因组变化较大的样本效果很差。本发明依据 HGSNV 的 MAF 与 TRE 的混合高斯模型计算癌症样本纯度和染色体倍性，能显著减少计算时间，并提高计算结果准确率。

假设某癌症样本的纯度为γ，那么癌症样本中的正常细胞比例为$1 - \gamma$。癌症样本中

正常细胞的染色体倍性为 2，癌症细胞的染色体倍性为κ。那么癌症样本的染色体倍性ω如下公式（2）所示。

$$\omega = (1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times \kappa \qquad (2)$$

假设在癌症细胞中某一片段 S 的拷贝数为C_S。那么癌症样本的片段 S 的拷贝数C_t应该为如下公式（3）所示。

$$C_t = (1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times C_s \qquad (3)$$

对于基因组片段 S，TRE 的计算方式如公式（1）所示。而 TRE 的期望值（expectation）$E(e_s)$的推导公式如下公式（4）所示，式中的n_t^s、n_n^s、N_n和N_t与公式（1）中含义相同。

$$e_s = E(e_s) = E\left(\frac{n_t^s/N_t}{n_n^s/N_n}\right) = \frac{E\left(n_t^s/N_t\right)}{E\left(n_n^s/N_n\right)} \approx \frac{E(n_t^s)}{E(n_t^s)} \times \frac{E(N_n)}{E(N_t)} \qquad (4)$$

为了更进一步引出e_s，本方法定义了一些帮助理解的参数。片段 S 的长度L_S，人类参考基因组的长度L_{gw}，癌症样本的测序深度V_{gw}^T， 正常样本的测序深度V_{gw}^N。那么片段 S 在癌症样本中测序深度为$\lambda_S \times V_{gw}^T$，片段 S 在正常样本中测序深度为$\lambda_S \times V_{gw}^T$。$\lambda_S$是指与片段 S 特性（如 GC 含量等引起测序深度偏好的特性）有关的参数，所以在癌症和正常样本中是一样的。进一步通过γ， κ， C_s 来表示e_s，如公式（5）所示。

$$e_s = \frac{E(n_t^s)}{E(n_t^s)} \times \frac{E(N_n)}{E(N_t)} = \frac{C_t \times L_S \times \lambda_S \times V_{gw}^T}{2 \times L_S \times \lambda_S \times V_{gw}^N} \times \frac{2 \times L_{gw} \times V_{gw}^N}{\omega \times L_{gw} \times V_{gw}^N} = \frac{C_t}{\omega}$$
$$= \frac{(1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times C_s}{(1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times \kappa} \qquad (5)$$

公式（5）中C_s表示在癌症细胞中片段 S 的拷贝数，那么当片段 S 的拷贝数为 i 时和 i+1 时对应的 TRE 均值S^i和S^{i+1}分别如公式（6）和公式（7）所示：

$$S^i = \frac{(1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times i}{(1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times \kappa} \qquad (6)$$

$$S^{i+1} = \frac{(1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times (i + 1)}{(1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times \kappa} \qquad (7)$$

通过公式（6）和公式（7），对于相邻的拷贝数对应的片段，它们的 TRE 的差值 P 如公式（8）所示，可见 P 值的大小与片段具体拷贝数没有关系，它只决定于癌症样本纯度和染色体倍性。通过附图 2 可以直观的看到在 TRE 分布图中，peak 之间的距离是恒定的。

$$P = S^{i+1} - S^i = \frac{\gamma}{(1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times \kappa} \qquad (8)$$

此外，对于 i = 2 即拷贝数为 2 的片段，它们的 TRE 值 Q 如公式 9 所示。附图 2 中 Q 对应的 peak 的 TRE 值略大于 1。

$$Q = S^i|(i = 2) = \frac{\gamma}{(1 - \gamma) \times 2 + \gamma \times \kappa} \qquad (9)$$

通过上述公式（8）和（9），可以解得癌症样本的纯度（γ）和染色体倍性(κ) 分别为：

$$\gamma = \frac{2 \times P}{Q} \qquad (10)$$

$$\kappa = 2 + \frac{1 - Q}{2 \times P} \qquad (11)$$

通过以上分析可以得知，通过确定 P 和 Q 可以计算出癌症样本纯度γ和染色体倍性κ。

如附图 2 所示，计算出全基因组所有片段的 TRE 分布后，可以计算 peak 间的间距得到 P。在前人的研究方法中，patchwork[12]使用相邻拷贝数片段的对应的 read 数量的比值的间距来辅助计算癌症样本纯度，但是该研究无法自动识别 read 数量比值之间的间距，需要人工识别图像确定 read 数量比值间距来进行下一步计算，效率和准确性都比较低。本发明开创性的使用类自回归模型鉴定 TRE 之间的间距，如公式（12）、（13）所示。公式（12）和（13）中，X_t表示 0 到M_t之间的 TRE 值；t 表示扩大了 1000 倍的 TRE 值；M_t表示 TRE 的最大值；P表示两个 TRE 位点的间隔；$C(X_t)$表示在 TRE 为X_t的位点，对应的 window 数量；C($X_{t+1000\times P}$)表示在 TRE 为$X_{t+1000\times P}$的位点，对应的 window 数量；$Y(P)$表示在P下，类自回归模型的函数值；显而易见当P=0 时，Y(P)的取值最大，但这时候的P并不是实际 peak 之间的间距。

$$X_t = \frac{t}{1000} \qquad (12)$$

$$\mathrm{Y}(P) = \sum_{t=1}^{(M_t-P)\times 1000} C(X_t) \times C(X_{t\ +\ 1000\ \times \mathrm{P}}) \ ,\ 0 < X_t < M_t - P,\ P > 0 \qquad (13)$$

以 0.001 为分辨率，遍历 0 到 1 之间的所有P值，然后求$Y(P)$。$Y(P)$的值分布如附图 3 所示。根据公式（13）的特点，我们可以知道，当P等于 0 时，Y(P)的值会是最大的，但此时的P并不是 peak 之间的间距。我们选择图中第二高峰中Y(P)的最大值对应的 x 轴坐标值P作为 peak 之间的间距P的计算结果。

如图 1 中 B 图所示的 peak 之所以簇状分布，是因为具有相同拷贝数的基因组片段的 TRE 值（指片段内所有 window 的 TRE 的均值）并不完全相等，同拷贝数片段 TRE 相互之间存在误差。该误差服从高斯分布，所以图 B 中的簇状分布被认为是高斯分布。

如附图 2 所示，P 确定以后，peak 会被识别出来，但是有部分基因组片段没有落在识别出的 peak 上，这些片段被称作亚克隆片段（subclone segmentation）。在考虑亚克隆片段的情况下，会对后面公式（17）和（18）所示的高斯模型取值有影响，进而会影响最终混合高斯模型的取值。由于在后续的分析中，本发明只需考虑落在 peak 位点的片段，由此排除了亚克隆片段的干扰。

在如图 2 所示的 TRE 分布图中，Q 位点表示拷贝数为 2 的片段对应的 TRE 值。首先我们可以推测，如果癌症细胞基因组中，存在部分片段的拷贝数为 1，部分片段的拷贝数为 0，那么在 Q 位点之前应该存在两个 peak 分别对应拷贝数 1 和 0。如果不存在拷贝数

为 1 的片段，只存在拷贝数为 0 的片段，那么在 Q 位点之前距离 $2P$ 的位点存在一个 peak，而在 Q 位点之前距离 P 的位点 peak 的 window 数为 0，这也就是图 2 所示的情形。另一种情况假若拷贝数为 1 和 0 的片段都没有，那么在 Q 位点之前距离 P 和距离 $2P$ 的位点对应的 window 数都为 0。那么对于 TRE 的分布图，对于X_f，即第一个出现的 peak，它可能对应的拷贝数为 2（拷贝数 1 和 0 的 peak 对应的 window 就是 0），也可能对应的拷贝数是 1（拷贝数为 0 的片段对应 peak 的 window 为 0），也有可能对应的拷贝数是 0。

通过上述分析，我们可以知道，图 2 中的第一个 peak 即X_f对应的片段的拷贝数有几种不同的可能，而每一种可能都会使 Q 对应不同的 peak。本发明通过混合高斯模型计算出了最可能的X_f对应的片段的拷贝数，从而确定了 Q 的取值，最终得到了癌症样本纯度和染色体倍性。首先我们需要鉴定出X_f对应片段的拷贝数的所有可能值。本发明通过如下公式（13.1）来确定X_f的值。(13.1)中，$C(X_f + P)$表示在 TRE 为$X_f + P$的位点，对应的 window 数量，n 表示M_t以内 peak 的最大数量。当$f(X_f)$取最大值时X_f为第一个 peak 的 TRE 均值。

$$f(X_f) = \sum_{i=0}^{n} C(X_f + P \times i), \quad 0 < X_f < M_t, \qquad 0 < X_f + P \times i < M_t, \qquad (13.1)$$

然后使用公式（13.2）求X_f之前最多可能有几个 peak。其中X_f表示第一个 peak 的 TRE 均值，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，floor 表示向下取整数，当 N=0 时，表示X_f之前没有 peak，X_f对应的片段拷贝数为 0；当 N = 1 时，表示X_f之前最多可能有 1 个 peak，也可能没有 peak；当 N = 2 时，表示X_f之前最多可能有 2 个 peak，也可能只有一个 peak 或者没有 peak；

$$N = floor\left(\frac{X_f}{P}\right) \qquad （13.2）$$

对于X_f之前可能有（1，2，3…N）个 peak 的情形，每一种情形下都可以通过如下公式（13.3）计算出一个对应的 Q 值。根据 Q 的定义，我们知道 Q 为拷贝数为 2 的片段的 peak 对应的 TRE 值。首先可以推断拷贝数为 0 的片段对应的 TRE 值为$X_f - n \times P$，其中 n 表示X_f之前 peak 的个数，取值范围是 0 到 N 之间的整数，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f含义与公式（13.1）中相同，公式（13.3）如下所示，其中Q_n表示在X_f之前存在 n 个 peak 时，Q 的取值。

$$Q_n = X_f - n \times P + 2 \times P = X_f + (2 - n) \times P, \quad n \in [0, N] \qquad （13.3）$$

根据以上分析，可以得到对于X_f之前可能有（0，1，2，3…N）个 peak 的情形时，Q_n取值可能为（Q_0，Q_1，Q_2，Q_3…Q_N）。而前面的类自回归模型已经计算出了 P，那么对于每一个可能的 Q，我们可以通过公式（10）和（11）计算出相应的γ和κ。本发明通过混合高斯模型计算出X_f之前最可能的 peak 数量 n，从而确定了X_f对应的片段的拷贝数，进而

确定了 Q 的取值，最终得到了癌症样本纯度和染色体倍性。具体方法如下说明。

对于Q_n的每一个可能的取值，结合 P，我们可以计算得到相应的γ，然后计算各个拷贝数片段内 HGSNV 的 MAF 的理论值。其理论计算方式如公式（14）所示。C_{mcp}表示主要等位基因的拷贝数（major allele copy number），C_{cp}表示 peak 的整体拷贝数。f表示该 peak 内 MAF 的理论值。

$$f = \frac{1-\gamma + C_{mcp} \times \gamma}{(1-\gamma) \times 2 + C_{cp} \times \gamma} \qquad (14)$$

但是在实际情况下当测序深度比较低时，f与真实值（期望值）会有较大的误差。这里需要进一步校正f，校正方法如公式（15）、（16）所示。式（15）中 m 是某 peak 内所有 window 中 read 数量的均值，v 是 peak 内所有 window 中 read 数量的方差，所求得的 p 是用于负二项分布的随机变量成功的概率，r 为随机变量失败的次数，这里的随机变量 d 为测序获取到的测序深度（read coverage）。

$$p = 1 - \frac{m}{v} \quad ; \; r = \frac{m^2}{v - m} \qquad （15）$$

在某一个测序深度即 d 下，MAF 实际上是服从以f为概率、d 为实验次数的二项分布。本发明以如下公式（16）对f进行校正，得到 MAF 的期望值f_b。公式中 k 表示在某个 HGSNV 位点，某一种等位基因（A 或 B）的数量，测得的等位基因总量为 d（与测序深度相等）。

$$f_b = \sum_{n=0}^{\infty}\left\{\sum_{k=0}^{d}\left[max\left\{\frac{k}{d}, 1-\frac{k}{d}\right\}\binom{d}{k} f^k (1-f)^{d-k}\right]\binom{d+r-1}{r}(1-p)^r p^d\right\} \qquad (16)$$

公式（13.2）表明每个基因组片段的拷贝数有 N 种可能。公式（14）表明，某一拷贝数片段可以有多种主要等位基因拷贝数，于是对每个基因组 peak，可以算出多个f，也可以算出多个f_b，取距离 peak 实际观测 MAF 均值最近的f_b作为该 peak 的 MAF 期望。而全基因组有多个 peak，每个 peak 的 MAF 期望不同，对应算出多个 MAF 期望值$\{f_b\}$。考虑到某一 peak 内 HGSNV 的 MAF 会存在一定误差但也近似服从高斯分布，peak 内所有 HGSNV 的 MAF 期望值可以由实际数据直接计算获得。假设某 peak 的基因型一定，那么通过比较 peak 的 MAF 观测值与 peak 的$\{f_b\}$的值就可以判断该 peak 的拷贝数和基因型。也就可以计算出拷贝数为 2 的 peak 对应的 TRE 值即 Q 的位置。同时也为了进一步校正 P，本发明提出了一种混合高斯模型对 TRE 和 HGSNV 的观测数据进行拟合。

通过前面的分析可以得知因为公式（12）中ε_t的存在，X_t并不能十分准确的代表各个 peak 的 TRE 均值。TRE 的高斯分布模型如公式 17 所示：

$$L(e_s;\ \gamma, \kappa) = \prod_{s=1}^{N}\left[\sum_{i=0}^{I} p_i \times \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_i}\ exp\left(-\frac{(e_s - S^i)^2}{2\sigma_i^2}\right)\right] \qquad (17)$$

其中，$L(e_s;\ \gamma, \kappa)$表示基因组片段 TRE 的似然函数。N 表示基因组上的所有 window 的数量。I 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数。 σ_i表示拷贝数为 i 的所有片段的 TRE

的标准差。e_s为第 *s* 个 window 的 TRE 观测值，S^i表示第 *i* 个 peak 的 TRE 均值。p_i表示第 *s* 个 window 的拷贝数为 *i* 的权重，本公式中对所有的 *i*，p_i均取值为 1。该公式表明似然函数的大小与S^i的取值相关，当S^i与e_S越接近，似然函数的取值越大，同时也表示 *P* 值越接近真实值。使用$L(e_s;\ \gamma,\kappa)$的极大似然估计可以计算出较合理的 *P* 值。

然而在部分情况下，*P* 在较小的区间内波动时（如[-0.005, 0.005]），对应的似然函数值可能相同。本发明通过结合 HGSNV 的高斯分布模型如公式（18）所示，来更近一步确定 *P* 值，同时确定 *Q* 值。

$$L(f_s;\ \gamma,\kappa) = \prod_{s=1}^{M}\left\{\sum_{i=0}^{I} p_i\left[\sum_{j=\frac{i}{2}}^{i} p_{i,j} \times \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_{i,j}}\ exp\left(-\frac{(f_s - F^{i,j})^2}{2\sigma_{i,j}^2}\right)\right]\right\} \quad (18)$$

其中，$L(f_s;\ \gamma,\kappa)$表示 HGSNV 的似然函数。*M* 表示基因组中所有 HGSNV。*S* 表示第 *S* 个 HGSNV。*I* 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数。$F^{i,j}$为拷贝数为 *i*、主要等位基因的拷贝数为 *j* 的片段内 HGSNV 的 MAF 期望值，即公式（16）计算出的f_b。f_s表示该片段内 MAF 的观测值均值，$\sigma_{i,j}$表示该片段内 HGSNV 的 MAF 观测值的标准差。$p_{i,j}$表示在主要等位基因的拷贝数为 *j* 时，高斯分布的权重，对所有的 *i* 和 *j*，$p_{i,j}$取值均为 1。p_i表示第 *S* 个 HGSNV 所在片段的拷贝数为 *i* 的权重，对所有的 *i*，p_i取值均为 1。公式（18）表明，似然函数的大小与$F^{i,j}$值相关，当$F^{i,j}$与f_s越接近，似然函数越大，表明f_s越准确，同时表明公式（14）中的f越准确，从而可以得到各片段对应的C_{cp}与C_{mcp}。于是确定了 *Q* 的取值。为了得到最准确的 *P* 与 *Q*，本方法将公式（17）和公式（18）相加，得到混合高斯模型。

但对该混合模型统计计算容易发生模型过拟合现象。本发明进一步使用了贝叶斯信息准则（Bayesian Information Criterion，BIC）方法，给混合高斯模型一个罚分函数，用于控制模型的过拟合，最终混合高斯模型如公式（19）所示：

$$BIC(e_s, f_s;\ \gamma,\kappa\ ) = -2 \times \log L(f_s;\ \gamma,\kappa) - 2 \times \log \mathrm{L}(e_s;\ \gamma,\kappa) + I\ \times \log(N) + J \times \log(M) \quad (19)$$

其中，$BIC(S_s, f_s;\ \gamma,\kappa\ )$表示混合模型的似然函数，*I* 是公式（17）中高斯分布的个数，*J* 是公式（18）中高斯分布的个数。*N* 是基因组中窗口的数量，*M* 是基因组中 HGSNV 的个数。

通过遍历[*P-0.02, P+0.02*]的区间，对所有的（P，Q_n）求极大似然估计，可以得到最合适的 *P* 值与 *Q* 值然后根据公式（10）和（11）可计算癌症样本的纯度和染色体倍性。

因此，本发明一方面提供了一种用于计算癌症样本中癌症细胞纯度和染色体倍性的方法，所述方法包括以下步骤：

步骤 A：

获取配对的（来自同一癌症病人的）癌症组织样本和正常组织样本的全基因组测序（WGS）数据，并将测序数据比对到参考基因组；

步骤 B：

从步骤 A 得到的比对结果文件中，提取 read 位置和长度信息，HGSNV 位点和覆盖该位点的 read 数量信息，计算所有 HGSNV 的 MAF，其中，计算公式如（1.1）所示：

$$C = \max\left(\frac{n^r}{n^t}, \frac{n^a}{n^t}\right) \qquad (1.1)$$

公式（1.1）中，n^r为包含与参考基因组相同等位基因的 read 数量，n^a为包含另一种等位基因的 read 的数量，n^t表示覆盖该 HGSNV 位点的总 read 数量，C为该 HGSNV 的 MAF 值；

步骤 C：

根据步骤 B 得到的 read 位置和长度信息，以 window 为单位统计各 window 内包含的 read 数量，使用基因组 GC 含量校正所有 window 内 read 数量；

步骤 D：

使用步骤 C 校正后的 read 数量，使用公式（1）计算每一个 window 的 TRE，然后运用 TRE，通过 BIC-seq 软件对基因组进行片段化，获得以拷贝数划分的基因组片段：

$$e_s = \frac{n_t^s / N_t}{n_n^s / N_n} \qquad (1)$$

公式（1）中，n_t^s和n_n^s分别表示在癌症样本中覆盖片段 *s*（这里指 window）的 read 数量和在正常样本中覆盖片段 *s* 的 read 数量，N_t表示癌症样本总 read 数量，N_n表示相应正常样本总 read 数量，e_s为 TRE 值；

步骤 E：

以步骤 D 中 BIC-seq 处理后的基因组片段为单位，统计片段内所有 window 的 TRE 的均值、方差和该片段内 window 数量，根据均值和方差对基因组每个片段的 window 数量进行平滑化（smooth）处理，使 TRE 的分布更均匀，然后将平滑化处理后所有片段的 window 分布汇总，得到基因组上 window 随 TRE 变化的分布结果；同时以片段为单位，计算片段中所有 HGSNV 的 MAF 的均值和方差；

步骤 F：

使用如公式（12）、（13）所示的类自回归模型，计算相邻拷贝数片段内 TRE 的差值即P，具体方法为遍历一定范围的 *P*，计算 *Y(P)*， 在 *Y(P)*的分布中，选择第二高峰内 *Y(P)* 的最大值对应的P作为 *P* 的计算结果：

$$X_t = \frac{t}{1000} \qquad (12)$$

$$\mathrm{Y}(P) = \sum_{t=1}^{(M_t - P)\times 1000} C(X_t) \times C(X_{t\ +1000\ \times\ P}) \quad , \ 0 < X_t < M_t - P, \ P > 0 \qquad (13)$$

公式（12）和（13）中，X_t表示 0 到M_t之间的 TRE 值；*t* 表示扩大了 1000 倍的 TRE 值；M_t表示 TRE 的最大值；变量P表示两个 TRE 位点的间隔；$C(X_t)$表示在 TRE 为X_t的

位点，对应的 window 数量；$C(X_{t\ +1000\ \times\ P})$表示在 TRE 为$X_{t\ +1000\ \times\ P}$的位点，对应的 window 数量；$Y(P)$表示在变量$P$下，类自回归模型的函数值；

步骤 G：

根据步骤 F 得到的P，计算 TRE 分布中第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，然后计算在第一个实际 peak 之前最多可能存在理论 peak 的数量 N，最后当第一个实际 peak 之前存在 n 个理论 peak 时，计算 Q 的值，以Q_n表示，其中步骤 G 可以包括：

G1：

根据步骤 F 计算的P，使用公式（13.1），选取使公式（13.1）取最大值的X_f作为第一个实际观测 peak 的 TRE 均值：

$$f(X_f) = \sum_{i=0}^{n} C(X_f + P\ \times\ i)\ ,\quad 0 < X_f < M_t,\qquad 0 < X_f + P\ \times i < M_t, \qquad (13.1)$$

公式(13.1)中，i 表示第 i 个 peak，$C(X_f + P\ \times\ i)$表示在 TRE 为$X_f + P\ \times\ i$ 的位点，对应的 window 数量，n 表示M_t以内 peak 的最大数量，M_t表示 TRE 的最大值；

G2：

使用公式（13.2），根据步骤 F 计算的P和步骤 G1 计算的X_f，计算在X_f 之前最多可能存在的 peak 数量N：

$$N = floor\left(\frac{X_f}{P}\right) \qquad （13.2）$$

公式（13.2）中，X_f表示第一个 peak 的均值，P表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，floor 表示向下取整数；

G3：

利用步骤 G2 计算的 N 值，当 n 取 0 到 N 之间的整数时，使用公式（13.3）计算Q_n的值：

$$Q_n = X_f - n \times P + 2 \times P = X_f + (2 - n) \times P\ ,\quad n \in [0,\ N] \qquad （13.3）$$

公式（13.3）中，n 表示X_f之前 peak 的数量，取值范围是 0 到 N 之间的整数，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f表示第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，Q_n表示在X_f之前理论上存在 n 个 peak 时的 Q 值；

步骤 H：

使用步骤 F 计算的 P 与步骤 G 计算的所有可能的Q_n，使用公式（10）、（11）计算癌症样本纯度γ和染色体倍性κ：

$$\gamma = \frac{2 \times P}{Q} \qquad (10)$$

$$\kappa = 2 + \frac{1 - Q}{2 \times P} \qquad （11）$$

公式（10）、（11）中，γ表示样本纯度，κ表示染色体倍性，那么对所有的（P，Q_N）都可以得到对应的（γ，κ）；

步骤 I：

当 n 取[0,N]之间的某个整数值时，使用公式（13.4）计算第 i 个 peak 的 TRE 均值：

$$T_i = X_f - n \times P + i \times P = X_f + (i - n) \times P \ , \quad n \in [0, N] \qquad (13.4)$$

公式（13.4）中，n 表示X_f之前 peak 的数量，取值范围是 0 到 N 之间的整数，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f表示第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，T_i表示第 i 个 peak 的 TRE 均值，

对于落在T_i附近的片段，认为该片段具有拷贝数 i；对于没有落在T_i附近的片段，将其归类为亚克隆片段，在后续分析中剔除所有亚克隆片段；然后根据步骤 H 计算的癌症样本纯度γ和 peak 对应的拷贝数，可计算 peak 的 MAF 的期望f_b，不同 peak 的 MAF 期望不同，对基因组上的所有 peak，最终得到 MAF 期望的集合$\{f_b\}$；同时计算各个 peak 的 TRE 均值和方差(或标准差)；

步骤 J：

根据步骤 F 计算的 P 和步骤 I 计算的$\{f_b\}$构建如公式（19）所示的用“贝叶斯信息准则”校正后的混合高斯分布模型，然后对模型极大似然估计；其中，步骤 J 可以包括如下几步：

J1：

以步骤 F 计算的 P 构建如公式（17）所示的高斯分布模型：

$$L(e_s;\ \gamma, \kappa) = \prod_{s=1}^{N} \left[\sum_{i=0}^{I} p_i \times \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_i} \ exp\left(- \frac{(e_s - S^i)^2}{2\sigma_i^2} \right) \right] \qquad (17)$$

公式（17）中，$L(e_s;\ \gamma, \kappa)$表示基因组片段 TRE 的似然函数，N 表示基因组上的所有 window 的数量，I 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数，σ_i表示拷贝数为 i 的所有片段的 TRE 的标准差由步骤 I 得到，e_s为第 s 个 window 的 TRE 观测值，S^i表示第 i 个 peak 的 TRE 均值即步骤 I 中的T_i，p_i表示第 s 个 window 的拷贝数为 i 的权重，对所有的 i，p_i均取值为 1；

J2：

以步骤 I 计算的f_b构建如公式（18）所示的高斯分布模型：

$$L(f_s;\ \gamma, \kappa) = \prod_{s=1}^{M} \left\{ \sum_{i=0}^{I} p_i \left[\sum_{j=\frac{i}{2}}^{i} p_{i,j} \times \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_{i,j}} \ exp\left(- \frac{(f_s - F^{i,j})^2}{2\sigma_{i,j}^2} \right) \right] \right\} \qquad (18)$$

公式（18）中，$L(f_s;\ \gamma, \kappa)$表示 HGSNV 的似然函数，M 表示基因组中所有 HGSNV 数量，S 表示第 S 个 HGSNV，I 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数；$F^{i,j}$表示拷贝数为 i，主要等位基因的拷贝数为 j 的片段内 HGSNV 的 MAF 期望值，由步骤 I 得到；f_s表示该片段内所有 HGSNV 的 MAF 的观测值均值，由步骤 E 得到，$\sigma_{i,j}$表示该片段内所有

HGSNV 的 MAF 观测值的标准差，由步骤 E 得到；$p_{i,j}$表示在主要等位基因的拷贝数为 j 时，高斯分布的权重，对所有的 i 和 j，$p_{i,j}$取值均为 1，p_i表示第 S 个 HGSNV 所在片段的拷贝数为 i 的权重，对所有的 i，p_i取值均为 1；

J3：

将（17）与（18）相加得到混合高斯模型，然后对混合模型进行 BIC（Bayesian Information Criterion）校正得到最终混合模型如公式（19）：

$$BIC(e_s, f_s;\ \gamma, \kappa\ ) = -2 \times \log L(f_s;\ \gamma, \kappa) - 2 \times \log \mathrm{L}(e_s;\ \gamma, \kappa) + I \times \log(N) + J \times \log(M) \quad (19)$$

公式（19）中，$BIC(e_s, f_s;\ \gamma, \kappa\ )$表示混合模型的似然函数，$I$ 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数，J 是公式（18）中 j 的取值个数，N 是基因组中 window 的数量，M 是基因组中 HGSNV 的个数，

对$[0,\ N]$范围内的每一个整数值 n，可以通过步骤 G 得到Q_n，也可以通过步骤 I 得到所有 peak 的 MAF 期望的集合$\{f_b\}$，而一对（P，$\{f_b\}$）可以构建一个公式（19）所示的模型，实质上是对每一对（P，Q_n），可以构建一个公式（19）所示的模型；

步骤 K：

以 0.001 为分辨率，对$[P\text{-}m,\ P+m]$区间的所有 P 值，重复步骤 G~J，可以得到一系列不同的（P，Q_n）与对应的似然函数值，取最大的似然函数值对应的(P，Q_n)作为最合适的 P 和 Q 值，m 是 0 到 0.5 之间的一个值；

步骤 L：

查询步骤 H 的结果，可以找到在步骤 K 得到的（P，Q）下，对应的癌症样本纯度和染色体倍性。

另一方面，本发明提供了一种用于计算癌症样本中癌症细胞纯度和染色体倍性的装置，其包括处理器，所述处理器用于运行程序，所述程序运行时执行以下步骤：

步骤 A：

获取配对的（来自同一癌症病人的）癌症组织样本和正常组织样本的全基因组测序（WGS）数据，并将测序数据比对到参考基因组；

步骤 B：

从步骤 A 得到的比对结果文件中，提取 read 位置和长度信息，HGSNV 位点和覆盖该位点的 read 数量信息，计算所有 HGSNV 的 MAF，其中，计算公式如（1.1）所示：

$$C\ = \max\left(\frac{n^r}{n^t},\quad \frac{n^a}{n^t}\right) \qquad (1.1)$$

公式（1.1）中，n^r为包含与参考基因组相同等位基因的 read 数量，n^a为包含另一种等位基因的 read 的数量，n^t表示覆盖该 HGSNV 位点的总 read 数量， C为该 HGSNV 的 MAF 值；

步骤 C：

根据步骤 B 得到的 read 位置和长度信息，以 window 为单位统计各 window 内包含的 read 数量，使用基因组 GC 含量校正所有 window 内 read 数量；

步骤 D：

使用步骤 C 校正后的 read 数量，使用公式（1）计算每一个 window 的 TRE，然后运用 TRE，通过 BIC-seq 软件对基因组进行片段化，获得以拷贝数划分的基因组片段：

$$e_s = \frac{n_t^s / N_t}{n_n^s / N_n} \qquad (1)$$

公式（1）中，n_t^s和n_n^s分别表示在癌症样本中覆盖片段 *s*（这里指 window）的 read 数量和在正常样本中覆盖片段 *s* 的 read 数量，N_t表示癌症样本总 read 数量，N_n表示相应正常样本总 read 数量，e_s为 TRE 值；

步骤 E：

以步骤 D 中 BIC-seq 处理后的基因组片段为单位，统计片段内所有 window 的 TRE 的均值、方差和该片段内 window 数量，根据均值和方差对基因组每个片段的 window 数量进行平滑化（smooth）处理，使 TRE 的分布更均匀，然后将平滑化处理后所有片段的 window 分布汇总，得到基因组上 window 随 TRE 变化的分布结果；同时以片段为单位，计算片段中所有 HGSNV 的 MAF 的均值和方差；

步骤 F：

使用如公式（12）、（13）所示的类自回归模型，计算相邻拷贝数片段内 TRE 的差值即P，具体方法为遍历一定范围的 *P*，计算 *Y(P)*， 在 *Y(P)*的分布中，选择第二高峰内 *Y(P)* 的最大值对应的P作为 *P* 的计算结果：

$$X_t = \frac{t}{1000} \qquad (12)$$

$$Y(P) = \sum_{t=1}^{(M_t - P)\times 1000} C(X_t) \times C(X_{t+1000 \times P}) \quad , \ 0 < X_t < M_t - P, \ P > 0 \qquad (13)$$

公式（12）和（13）中，X_t表示 0 到M_t之间的 TRE 值；*t* 表示扩大了 1000 倍的 TRE 值；M_t表示 TRE 的最大值；变量P表示两个 TRE 位点的间隔；$C(X_t)$表示在 TRE 为X_t的位点，对应的 window 数量；$C(X_{t+1000 \times P})$表示在 TRE 为$X_{t+1000 \times P}$的位点，对应的 window 数量；$Y(P)$表示在变量P下，类自回归模型的函数值；

步骤 G：

根据步骤 F 得到的P，计算 TRE 分布中第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，然后计算在第一个实际 peak 之前最多可能存在理论 peak 的数量 *N*，最后当第一个实际 peak 之前存在 n 个理论 peak 时，计算 *Q* 的值，以Q_n表示，其中步骤 G 可以包括：

G1：

根据步骤 F 计算的P，使用公式（13.1），选取使公式（13.1）取最大值的X_f作为第一个实际观测 peak 的 TRE 均值：

$$f(X_f) = \sum_{i=0}^{n} C(X_f + P \times i) \quad , \quad 0 < X_f < M_t, \qquad 0 < X_f + P \times i < M_t, \qquad (13.1)$$

公式(13.1)中，i 表示第 i 个 peak，$C(X_f + P \times i)$表示在 TRE 为$X_f + P \times i$ 的位点，对应的 window 数量，n 表示M_t以内 peak 的最大数量，M_t表示 TRE 的最大值；

G2：

使用公式（13.2），根据步骤 F 计算的P和步骤 G1 计算的X_f，计算在X_f 之前最多可能存在的 peak 数量N：

$$N = floor\left(\frac{X_f}{P}\right) \qquad （13.2）$$

公式（13.2）中，X_f表示第一个 peak 的均值，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，floor 表示向下取整数；

G3：

利用步骤 G2 计算的 N 值，当 n 取 0 到 N 之间的整数时，使用公式（13.3）计算Q_n的值：

$$Q_n = X_f - n \times P + 2 \times P = X_f + (2 - n) \times P \quad , \quad n \in [0, N]$$

（13.3）公式（13.3）中，n 表示X_f之前 peak 的数量，取值范围是 0 到 N 之间的整数，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f表示第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，Q_n表示在X_f之前理论上存在 n 个 peak 时的 Q 值；

步骤 H：

使用步骤 F 计算的 P 与步骤 G 计算的所有可能的Q_n，使用公式（10）、（11）计算癌症样本纯度γ和染色体倍性κ：

$$\gamma = \frac{2 \times P}{Q} \qquad (10)$$

$$\kappa = 2 + \frac{1 - Q}{2 \times P} \qquad （11）$$

公式（10）、（11）中，γ表示样本纯度，κ表示染色体倍性，那么对所有的（P，Q_N）都可以得到对应的（γ，κ）；

步骤 I：

当 n 取[0,N]之间的某个整数值时，使用公式（13.4）计算第 i 个 peak 的 TRE 均值：

$$T_i = X_f - n \times P + i \times P = X_f + (i - n) \times P \quad , \quad n \in [0, N] \qquad （13.4）$$

公式（13.4）中，n 表示X_f之前 peak 的数量，取值范围是 0 到 N 之间的整数，P 表示相邻拷贝数片段对应的 peak 之间的间距，X_f表示第一个实际观测 peak 的 TRE 均值，T_i表

示第 i 个 peak 的 TRE 均值。

对于落在T_i附近的片段，认为该片段具有拷贝数 i；对于没有落在T_i附近的片段，将其归类为亚克隆片段，在后续分析中剔除所有亚克隆片段；然后根据步骤 H 计算的癌症样本纯度γ和 peak 对应的拷贝数，可计算 peak 的 MAF 的期望f_b，不同 peak 的 MAF 期望不同，对基因组上的所有 peak，最终得到 MAF 期望的集合$\{f_b\}$；。同时计算各个 peak 的 TRE 均值和方差(或标准差)；

步骤 J：

根据步骤 F 计算的 P 和步骤 I 计算的$\{f_b\}$构建如公式（19）所示的用“贝叶斯信息准则”校正后的混合高斯分布模型，然后对模型极大似然估计；其中，步骤 J 可以包括如下几步：

J1：

以步骤 F 计算的 P 构建如公式（17）所示的高斯分布模型：

$$L(e_s;\ \gamma,\kappa) = \prod_{s\ =\ 1}^{N}\left[\sum_{i=0}^{I} p_i\ \times\ \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_i}\ exp\left(-\ \frac{\left(e_s-\ S^i\right)^2}{2\sigma_i^2}\right)\right] \qquad (17)$$

公式（17）中，$L(e_s;\ \gamma,\kappa)$表示基因组片段 TRE 的似然函数，N 表示基因组上的所有 window 的数量，I 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数，σ_i表示拷贝数为 i 的所有片段的 TRE 的标准差由步骤 I 得到，e_s为第 s 个 window 的 TRE 观测值，S^i表示第 i 个 peak 的 TRE 均值即步骤 I 中的T_i，p_i表示第 s 个 window 的拷贝数为 i 的权重，对所有的 i，p_i均取值为 1；

J2：

以步骤 I 计算的f_b构建如公式（18）所示的高斯分布模型：

$$L(f_s;\ \gamma,\kappa) =\ \prod_{s=1}^{M}\left\{\sum_{i=0}^{I} p_i\left[\sum_{j=\ \frac{i}{2}}^{i} p_{i,j}\times\ \frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma_{i,j}}\ exp\left(-\ \frac{\left(f_s-\ F^{i,j}\right)^2}{2\sigma_{i,j}^2}\right)\right]\right\} \qquad (18)$$

公式（18）中，$L(f_s;\ \gamma,\kappa)$表示 HGSNV 的似然函数，M 表示基因组中所有 HGSNV 数量，S 表示第 S 个 HGSNV，I 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数；$F^{i,j}$表示拷贝数为 i，主要等位基因的拷贝数为 j 的片段内 HGSNV 的 MAF 期望值，由步骤 I 得到；f_s表示该片段内所有 HGSNV 的 MAF 的观测值均值，由步骤 E 得到，$\sigma_{i,j}$表示该片段内所有 HGSNV 的 MAF 观测值的标准差，由步骤 E 得到；$p_{i,j}$表示在主要等位基因的拷贝数为 j 时，高斯分布的权重，对所有的 i 和 j，$p_{i,j}$取值均为 1，p_i表示第 S 个 HGSNV 所在片段的拷贝数为 i 的权重，对所有的 i，p_i取值均为 1；

J3：

将（17）与（18）相加得到混合高斯模型，然后对混合模型进行 BIC（Bayesian Information Criterion）校正得到最终混合模型如公式（19）：

$$BIC(e_s,f_s;\ \gamma,\kappa\ ) = -2\times log\,L(f_s;\ \gamma,\kappa) - 2\times log\,L(e_s;\ \gamma,\kappa) + I\ \times\ log(N)\ +\ J\ \times\ log(M) \qquad (19)$$

公式（19）中，$BIC(e_s, f_s;\ \gamma, \kappa\ )$表示混合模型的似然函数，$I$ 表示基因组中所有片段的最大的拷贝数，J 是公式（18）中 j 的取值个数，N 是基因组中 window 的数量，M 是基因组中 HGSNV 的个数。

对$[0,\ N]$范围内的每一个整数值 n，可以通过步骤 G 得到Q_n，也可以通过步骤 I 得到所有 peak 的 MAF 期望的集合$\{f_b\}$，而一对（P，$\{f_b\}$）可以构建一个公式（19）所示的模型，实质上是对每一对（P，Q_n），可以构建一个公式（19）所示的模型；

步骤 K：

以 0.001 为分辨率，对$[P\text{-}m,\ P+m]$区间的所有 P 值，重复步骤 G~J，可以得到一系列不同的（P，Q_n）与对应的似然函数值，取最大的似然函数值对应的$(P,\ Q_n)$作为最合适的 P 和 Q 值，m 是 0 到 0.5 之间的一个值；

步骤 L：

查询步骤 H 的结果，可以找到在步骤 K 得到的（P，Q）下，对应的癌症样本纯度和染色体倍性。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 A 中，采用 1000 基因组计划第三期（phase 3）项目使用的参考基因组 hs37d5 (ftp://ftp.1000genomes.ebi.ac.uk/vol1/ftp/technical/reference/phase2_reference_assembly_sequence/hs37d5.fa.gz)作为本发明的参考基因组,它包含了 GRCh37 中的所有染色体和零散序列（decoy sequences）。比对软件使用 Burrows-Wheeler Aligner (BWA)， 比对方法使用其中的 bwa mem，最终获得癌症和正常样本的比对结果 bam 格式文件。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 B 中，采用了 samtools 软件提取 read 的位置和长度信息，HGSNV 的位点和覆盖该位点的 read 数量信息。使用 samtools view 命令提取 read 信息时，过滤掉序列比对质量（MAPQ）低于 31 的序列（参数 -q 31, q 表示过滤掉测序质量差的序列），同时过滤掉未能正确匹配的 read（参数 -f 0x2 -F 0x18， f 表示提取符合一定要求的序列，F 表示过滤符合一定要求的序列）。使用 samtools mpileup 命令提取 HGSNV 信息时，过滤掉序列比对质量（MAPQ）低于 20 的序列（参数 -q 20），并过滤掉碱基质量小于 20 的序列（参数 -Q 20， Q 表示过滤掉碱基质量差的序列）。选取等位基因频率（allele frequence）时，本发明使用 samtools mpileup 的-l 参数。使用该参数需要提前准备一个包含 SNP 位点信息的 bed 格式文件。本发明方法提前收集了 1000 基因组（genome）计划（http://www.internationalgenome.org/）中，根据大量样本统计出来的杂合等位基因位点，并且过滤掉 B-等位基因频率（B-allele frequence）小于 0.05 的位点，然后做成 bed 文件。使用“ - l”参数在确保能提供充足的 HGSNV 位点基础上，大大加快了 HGSNV 位点的提取速度，提高了装置运行效率。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤

C 中，步骤 C 可以包括 4 步：

C1、将全基因组按照一定碱基长度的 window 为单位进行划分，对每个 window 统计覆盖该 window 的 read 数量，统计时以每条 read 的中点代表该 read 的位置；

C2、对参考基因组创建索引文件，提高 GC 含量的统计速度；

C3、以每个 window 的 GC 含量为自变量，以每个 window 的 read 数量为因变量，拟合 read 数量随 GC 含量变化的函数；

C4、使用拟合出的模型对全基因组 read 数量进行调整。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 C2 中，本发明为参考基因组创建 GC 含量索引文件。对每一条染色体分别统计 1、5、25、125 个碱基间隔的区域内，鸟嘌呤（G）和胞嘧啶（C）的累积数量。那么在统计某一个 window 中的 GC 含量时，可以用 a* 125 + b*25 + c*5 +d*1（其中 a,b,c,d 表示系数变量）的快速算法提取。例如想要统计某 380bp 区域内的 GC 含量时，可以分解为 3*125 + 1*5 形式，那么只需要读取特定索引文件的某个区域 5 碱基中的 GC 含量和某个区域 125 碱基中的 GC 含量即可。同时本发明将索引文件存储为二进制的格式，极大的加快了对特定区域的 GC 含量的提取。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 C3 中，本发明使用步骤 C1 和步骤 C2 提取的各 window GC 含量，通过如下弹性网络模型拟合 read 数量随 GC 含量变化。本发明使用 window 的 GC 含量为变量 x， 使用$x, x^2, x^3, x^4, x^5, x^6$作为弹性网络模型的输入变量，以 read 数量为输出变量，构建弹性网络模型如公式（20）所示。式中，y 表示 window 内观测到的 read 数量，X 表示输入变量矩阵，β表示变量系数矩阵，j 表示变量系数下标，P 表示系数总数，λ_1和λ_2表示罚分系数。

$$E(\lambda_1,\ \lambda_2,\ \beta) = |y - X\beta|^2 + \ \lambda_2 \sum_{j=1}^{P} \beta_j^2 + \ \lambda_1 \sum_{j=1}^{P} |\beta_j| \ ,\ \lambda_1 + \lambda_2 = 1 \qquad (20)$$

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 C4 中，使用步骤 C3 中的模型预测每一个 window 理论上的 read 数量μ_{gc}，基因组的平均 GC 含量定义为μ，window 内观测到的 read 数量定义为y，window 内校正后的 read 数量为 Y。那么校正公式如下（21）所示：

$$Y = \frac{\mu}{\mu_{gc}} \times \ y \qquad (21)$$

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 D 中，本发明使用公式（1）计算每个 window 的 TRE 取值。然后运用 TRE 的值，使用 BIC-seq 软件对全基因组进行片段化（segmentation）。BIC-seq 的思路是使用 Bayesian Information Criterion（BIC）算法，统计相邻窗口的 BIC 值，值越小说明两个窗口越相似，

然后将 BIC 值小于 0 的 window 合并，最终 BIC-seq 会按照片段拷贝数的差异，将全基因组分割为不同片段。每一个片段与相邻片段有不同的 TRE 均值，即拷贝数存在差异。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 E 中，使用步骤 D 中 BIC-seq 处理后的基因组片段为单位，计算片段所包含的 window 数量，TRE 的平均值以及方差。然后对片段的 TRE 进行 smooth 处理。处理方式如公式（22）所示。针对每一个基因组片段，以 TRE 的均值作为正态分布的均值μ，以 TRE 的方差作为正态分布的方差σ，计算出 TRE 在$[\mu-2\sigma,\mu+2\sigma]$范围内 window 数量的分布，定义 v 为 TRE 坐标，取值范围为$[\mu-2\sigma,\mu+2\sigma]$，分辨率为 0.000，$C_{win}$为该片段分配到 v 位点的 window 数量，C_T表示该片段内 window 的总数。将所有片段的 window 根据 TRE 值 smooth 后，可使片段内的 window 数量呈现正态分布，对所有片段各 TRE 位点对应的 window 数求和汇总，可以得到基因组范围的 window 随 TRE 变化的分布。

$$C_{win}=C_T\times\frac{1}{\sqrt{2\pi}\ \sigma}\ exp\left(-\frac{(v-\mu)^2}{2\sigma^2}\right),\quad v\in[\mu-2\sigma,\mu+2\sigma] \qquad (22)$$

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 F 中，以 0.001 为分辨率，遍历$(0,1]$范围内的所有P，使用类自回归模型，计算 *Y(P)*的值。*Y(P)*表现为多峰分布，类似图 3 所示，图中横轴为P，纵轴表示 *Y(P)*，本发明使用第二高峰内 *Y(P)*的最大值对应的P作为P的计算结果，M_t是 TRE 的最大取值，这里将M_t设置为 3。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 G 中，步骤 G 包括 3 个步骤，步骤 G1 中，[0,1]的 TRE 区间作为变量X_f的取值范围，过滤掉 C(X_f)小于 1000 的 TRE 位点，计算使公式（13.1）取最大值时的X_f作为第一个 peak 的均值点。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤 I 中，根据步骤 H 计算的癌症样本纯度γ和 peak 对应的拷贝数，可计算 peak 的 MAF 的期望f_b 。其中步骤 I 可以包含 I1、I2、I3 三个步骤。

I1，使用公式（14）计算 peak 内 HGSNV 的 MAF 理论值，公式（14）中，C_{mcp}表示主要等位基因的拷贝数（major allele copy number），C_{cp}表示 peak 的整体拷贝数，由步骤 I 得到，f表示该 peak 内 MAF 的理论值,可见当C_{cp}较大时，f有多种不同的可能值。

$$f=\frac{1-\gamma+\ C_{mcp}\ \times\ \gamma}{(1\ -\ \gamma)\ \times\ 2+C_{cp}\ \times\ \gamma}\ ,\quad \frac{C_{cp}}{2}<C_{mcp}<\ C_{cp} \qquad (14)$$

I2，利用负二项分布估计覆盖每个 HGSNV 位点的 read 总数的概率，使用公式（15）计算负二项分布的概率 p 和失败次数 r。公式（15）中，m 是片段内所有 window 中 read 数量的均值，v 是片段内所有 window 中 read 数量的方差，所求得的 p 是用于负二项分布的随机变量成功的概率，r 为随机变量失败的次数，随机变量为覆盖某个 HGSNV 中的 read 数量。

$$p = 1 - \frac{m}{v};\ r = \frac{m^2}{v - m} \qquad (15)$$

I3，利用二项分布求得的覆盖某个HGSNV的read数的概率。结合在一定read数量下，HGSNV只有两种基因型，服从二项分布规律，利用公式（16）计算f的校正值f_b（即f的期望）。同一个peak中，不同的C_{mcp}可以计算得到不同的f_b，选择与该peak的MAF观测均值最接近的f_b作为该peak的f_b。公式（16）中，k表示在某个HGSNV位点，某一种等位基因（A或B）的数量，d为覆盖该HGSNV的read数量，r为随机变量失败的次数，p是用于负二项分布的随机变量成功的概率；

$$f_b = \sum_{n=0}^{\infty}\left\{\sum_{k=0}^{d}\left[max\left\{\frac{k}{d}, 1 - \frac{k}{d}\right\}\binom{d}{k} f^k (1-f)^{d-k}\right]\binom{d+r-1}{r}(1-p)^r p^d\right\} \qquad (16)$$

对每一个Q_n，可推断获得基因组所有peak对应的拷贝数和癌症样本纯度，从而对每一个peak可求f_b，进而可以得到所有peak的MAF的期望值得集合$\{f_b\}$。

作为一种优选方案，上述计算癌症样本纯度和染色体倍性的方法和装置中，所述步骤K中，m取0.02，P值的遍历区间为[*P-0.02, P+0.02*]。

通过本发明提供的层次混合高斯模型，实现了对癌症样本纯度的快速和准确计算，节约了纯度估算的时间和经济成本，同时提高了计算结果的准确性。

附图说明

图1表示全基因组中window数量在TRE上的分布。其中，图A表示的是未进过GC校正的TRE分布，图B表示经过GC含量校正后的TRE分布图。

图2表示一种癌症细胞中的TRE分布的模型，图为smooth处理以后，图中的peak满足以P为周期的分布，少量不满足周期性分布的小peak被认为是亚克隆片段。Q表示拷贝数为2的peak，不存在拷贝数为1的片段，所以在大约0.6的位置的peak的window数量为0。

图3表示横轴为P纵轴为类自回归模型计算值得分布。

图4表示本发明方法和装置的流程图。

具体实施方式

为更好地说明本发明的目的、技术方案和优点，下面将结合附图和具体实施例对本发明作进一步说明。但是提供实施例仅用于说明目的，而本发明的范围不限于实施例。

使用本发明所述的装置计算癌症样本纯度和染色体倍性的流程图如图4所示。

实施例中，所使用的实验材料为TCGA（https://cancergenome.nih.gov/）数据库下载的样本（TCGA-AD-A5EJ）的正常组织TCGA-AD-A5EJ-10A和癌症组织TCGA-AD-A5EJ-01A的全基因组测序数据。计算平台为ubuntu 16.04，方法的具体实现为C++，python，R程序。

实施例：根据样本TCGA-CM-4746的癌症组织和正常组织的全基因组测序数据，使用层

次性混合高斯模型计算癌症样本的纯度和染色体倍性。

一、 收集样本数据，在TCGA中下载TCGA-CM-4746-01A的肿瘤样本和正常样本的全基因组测序数据。癌症样本bam文件大小为12.6G，正常样本bam文件大小为10.1G。将bam文件用PICARD软件处理为fastq文件。将fastq使用bwa mem比对到参考基因组hs37d5得到新的癌症样本和正常样本bam文件，文件大小分别为12.4G和9.9G。

二、 下载1000 genome项目提供的1到22号染色体的vcf文件（ftp://ftp.1000genomes.ebi.ac.uk/vol1/ftp/release/20130502/），使用GATK的SelectVariants方法，提取参考基因组hs37d5.fa中的等位基因频率大于5%的BIALLELIC位点作为潜在的HGSNV位点，最终得到5633774个biallele位点。

三、 提取正常样本和癌症样本的read信息，同时提取癌症样本的HGSNV信息。使用samtools提取癌症样本的序列覆盖度和HGSNV，得到HGSNV 67732个。提取HGSNV时，采用上述步骤一获得的biallele位点作为备选位点表单。使用samtools view方法，直接从备选表单中提取HGSNV，加快提取速度。

四、 以500bp为window对参考基因组建立GC含量的索引文件，对上述步骤一下载得到的参考基因组hs37d5.fa文件，建立1, 5, 25, 125区段中的GC含量索引文件。存储为二进制格式。

五、 以500bp为一个窗口，统计全基因组范围内每个窗口中的read数量。同时使用步骤四中产生的索引文件计算每个窗口中的GC含量。通过弹性网络模型对read数量进行GC含量校正。

六、 对每一个窗口，使用矫正后的read数量计算TRE。并依据TRE，通过BIC-seq对基因组进行片段化。片段化的结果如表一所示，每一列数据表示了一个基因组片段的位置信息和TRE的均值，方差和片段内window的数量。

表1 BIC-seq对基因组片段化后的结果

染色体号	起始	终止	TRE 均值	TRE 方差	Windows 数量
chr1	13001	45265500	0.944508	0.0014742	86128
chr1	45265501	85978000	0.945454	0.00133201	80970
chr1	85978001	86011500	1.27362	0.0981321	68
chr1	86011501	116069000	0.94915	0.00153058	58775
chr1	116069001	120339500	1.01323	0.00437891	8488
chr1	120339501	143744000	1.07492	0.016337	2442
chr1	143744001	144707500	1.36461	0.0514154	469
chr1	144707501	145290000	1.46903	0.0252744	887
chr1	145290001	145833000	1.73666	0.0262944	936
chr1	145982001	148248000	1.33895	0.0131223	2306
chr1	148248001	149200000	1.68214	0.0381542	725

chr1	149200001	249240500	1.3383	0.00114954	196613
chr2	10001	41403000	0.948769	0.00134201	81865
chr2	41403001	51317000	0.563251	0.00183306	19717
chr2	51317001	91701500	0.950325	0.00145809	75550
chr2	91701501	91824500	1.23428	0.0605257	188
chr2	91824501	233387500	0.952652	0.000744377	271202
chr2	233387501	243186500	0.936487	0.00308593	19032
chr3	60001	197956500	0.952134	0.000613478	386567
chr4	10001	6890000	0.959657	0.00417921	13520
chr4	6890001	191044500	0.952703	0.000633657	358360
chr5	11501	12616000	0.55999	0.00180406	24895
chr5	12616001	180901000	0.948663	0.000676533	323787
chr6	124001	24827000	0.941509	0.00171221	49041
chr6	24827001	25982500	0.612532	0.00544556	2311
chr6	25982501	171051000	0.953312	0.000725761	280819
chr7	10001	5630500	0.954414	0.00461892	10976
chr7	5630501	38306500	0.955796	0.00149665	64732
chr7	38306501	38394000	1.24215	0.0368986	176
chr7	38394001	55087500	0.950529	0.00212248	33130
chr7	55087501	73283500	0.947545	0.00272214	27156
chr7	73283501	142340000	0.955659	0.00107445	134626
chr7	142340001	142491000	1.14391	0.0259809	303
chr7	142491001	159128500	0.965812	0.00251871	31914
chr8	11501	46857500	1.32635	0.00175707	84373
chr8	46857501	47744500	1.01383	0.015617	1735
chr8	47744501	146304000	1.33053	0.00112019	194805
chr9	10501	89624000	0.956959	0.00120825	119638
chr9	89624001	90043500	1.25975	0.0167381	836
chr9	90043501	92343000	1.91959	0.010442	4544
chr9	92343001	93352000	3.24803	0.0257886	1498
chr9	93352001	93696000	3.54267	0.0399231	683
chr9	93696001	94232000	2.92273	0.0283735	1068
chr9	94232001	95076500	3.23526	0.0249389	1668
chr9	95076501	95080000	1.47383	0.2343	8
chr9	95080001	95099000	0.580555	0.0461102	39
chr9	95099001	124413000	0.94853	0.00161715	58162
chr9	124413001	124419500	1.57438	0.201191	14
chr9	124419501	141128000	0.944109	0.00248041	32615
chr10	66001	135525000	0.946217	0.000787218	255445
chr11	113001	134946500	0.950948	0.000777276	259377
chr12	60501	93500	1.88481	0.206704	52

chr12	93501	100378000	0.949564	0.000874433	193005
chr12	100378001	133841500	0.943986	0.00155671	65852
chr13	19020501	115110000	0.984116	0.000893338	189923
chr14	19000001	22533500	0.981344	0.00661204	5638
chr14	22533501	23038000	1.12146	0.0151437	1009
chr14	23038001	74253500	0.948794	0.00119784	101769
chr14	74253501	74254500	3.63901	1.12718	3
chr14	74254501	107289500	0.943291	0.00152386	65750
chr15	20000001	29346000	0.940128	0.00397412	13933
chr15	29346001	102521500	0.946193	0.00104706	141616
chr16	60001	32646500	0.950261	0.00184498	60296
chr16	32646501	33796500	0.889339	0.0178243	1172
chr16	33796501	90282000	0.945044	0.00135985	89305
chr17	1	6109000	0.91987	0.00396313	11836
chr17	6109001	6125500	1.97935	0.163898	34
chr17	6125501	16653500	0.922942	0.00286745	20945
chr17	16653501	16738500	0.739932	0.0500593	142
chr17	16738501	22262500	0.959384	0.00557573	9958
chr17	22262501	27097500	1.71012	0.0106513	3647
chr17	27097501	34432500	0.93298	0.00339514	14570
chr17	34432501	34508500	1.28216	0.050695	121
chr17	34509001	36215500	0.91458	0.00729353	2890
chr17	36215501	36415000	1.0867	0.0380984	263
chr17	36415001	39421500	0.949891	0.00582802	5984
chr17	39421501	39432000	0.249188	0.0386297	20
chr17	39432001	51996000	0.937382	0.00264461	24210
chr17	51996001	52037000	1.3725	0.0543202	83
chr17	52037001	55322000	0.938207	0.00465989	6539
chr17	55322001	55632500	0.607987	0.0102	622
chr17	55632501	68609500	0.942895	0.00246878	25575
chr17	68609501	68745000	1.26374	0.0235519	272
chr17	68745001	81195000	0.943562	0.00287259	24285
chr18	10001	9988500	1.32762	0.00351405	19817
chr18	9988501	78017500	0.944828	0.00106534	128567
chr19	89001	23964500	0.940128	0.00211755	46618
chr19	23964501	24028000	0.547803	0.0243662	128
chr19	24028001	24621000	0.915363	0.0118983	1155
chr19	24628501	59119000	1.27099	0.00216296	61940
chr20	60001	29423000	0.944634	0.00166596	51929
chr20	29423001	62965500	1.6413	0.0024125	66170
chr21	9411001	40067000	0.938475	0.00164672	52525

chr21	40067001	40442000	0.605613	0.00897434	747
chr21	40442001	48120000	0.958554	0.00369137	14996
chr22	16050001	51235000	0.944787	0.00174455	66591

七、 通过步骤六得到了每个片段的TRE的均值和方差，以及该片段内包含的窗口数量。使用正态分布的方法，以每个片段的TRE均值和方差作为正态分布的均值和方差，将片段中的窗口按照正态分布进行平滑化。汇总所有片段smooth后的TRE以及对应窗口数的信息。

八、 对smooth后的TRE的窗口数进行自回归分析，得到*P*的取值为0.386。

九、 *P*等于0.386时，第一个实际观测peak的TRE均值为0.562，第一个实际观测peak前最多可以存在1个理论peak，即N=1。可能的Q为：$Q_0 = 1.334$ ， $Q_1 = 0.948$，这两种Q的混合高斯模型的似然函数值分别为1.77E+07，1.78E+07。

十、 计算*P*在取值范围[*P-0.02, P+0.02*]内，BIC校正后的混合高斯模型的极大似然值，计算结果如表2所示。

表2 在*P*的取值范围内混合高斯模型的结果

***P* 值**	***Q* 值**	**似然函数值**	***P* 值**	***Q* 值**	**似然函数值**
0.366	0.932	1.12E+06	0.386	1.334	1.77E+07
0.366	1.298	1.12E+06	0.387	0.948	1.78E+07
0.367	0.933	849906	0.387	1.335	1.77E+07
0.367	1.3	847125	0.388	0.948	1.84E+07
0.368	0.934	795735	0.388	1.336	1.84E+07
0.368	1.302	792858	0.389	0.948	1.88E+07
0.369	0.935	832922	0.389	1.337	1.87E+07
0.369	1.304	830037	0.39	0.948	1.87E+07
0.37	0.936	1.05E+06	0.39	1.338	1.87E+07
0.37	1.306	1.04E+06	0.391	0.948	1.88E+07
0.371	0.937	1.18E+06	0.391	1.339	1.87E+07
0.371	1.308	1.17E+06	0.392	0.949	1.84E+07
0.372	0.938	1.72E+06	0.392	1.341	1.83E+07
0.372	1.31	1.71E+06	0.393	0.95	1.84E+07
0.373	0.939	3.74E+06	0.393	1.343	1.83E+07
0.373	1.312	3.73E+06	0.394	0.951	1.80E+07
0.374	0.94	5.34E+06	0.394	1.345	1.79E+07
0.374	1.314	5.31E+06	0.395	0.952	1.75E+07
0.375	0.941	7.56E+06	0.395	1.347	1.74E+07

0.375	1.316	7.52E+06	0.396	0.953	1.63E+07
0.376	0.942	8.71E+06	0.396	1.349	1.62E+07
0.376	1.318	8.67E+06	0.397	0.954	1.53E+07
0.377	0.943	1.08E+07	0.397	1.351	1.52E+07
0.377	1.32	1.07E+07	0.398	0.955	1.34E+07
0.378	0.944	1.58E+07	0.398	1.353	1.33E+07
0.378	1.322	1.57E+07	0.399	0.956	1.17E+07
0.379	0.945	1.69E+07	0.399	1.355	1.17E+07
0.379	1.324	1.68E+07	0.4	0.957	8.63E+06
0.38	0.946	1.78E+07	0.4	1.357	8.57E+06
0.38	1.326	1.77E+07	0.401	0.958	6.79E+06
0.381	0.947	1.88E+07	0.401	1.359	6.74E+06
0.381	1.328	1.87E+07	0.402	0.959	1.77E+06
0.382	0.948	1.93E+07	0.402	1.361	1.76E+06
0.382	1.33	1.92E+07	0.403	0.96	831069
0.383	0.948	1.92E+07	0.403	1.363	826993
0.383	1.331	1.91E+07	0.404	0.961	412408
0.384	0.948	1.92E+07	0.404	1.365	411139
0.384	1.332	1.91E+07	0.405	0.962	351299
0.385	0.948	1.88E+07	0.405	1.367	350311
0.385	1.333	1.87E+07	0.406	0.963	352988
0.386	0.948	1.78E+07	0.406	1.369	352002

十一、步骤十中的结果显示，*P*为0.382时，混合模型取极大值，此时的*Q*为0.948，据此可计算获得癌症样本纯度为0.80，癌症细胞染色体倍性为2.14。

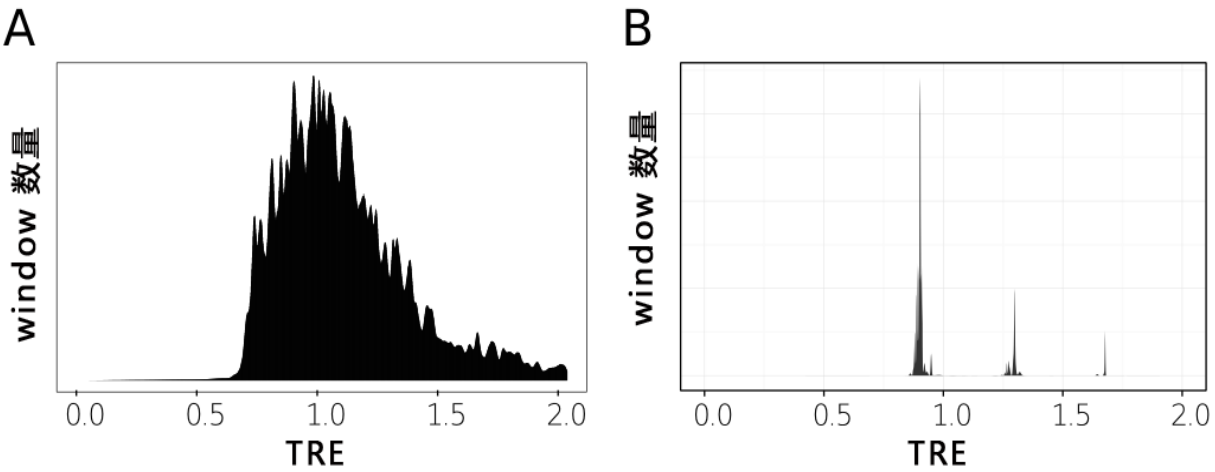

A
B
window 数量
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
TRE

图 1

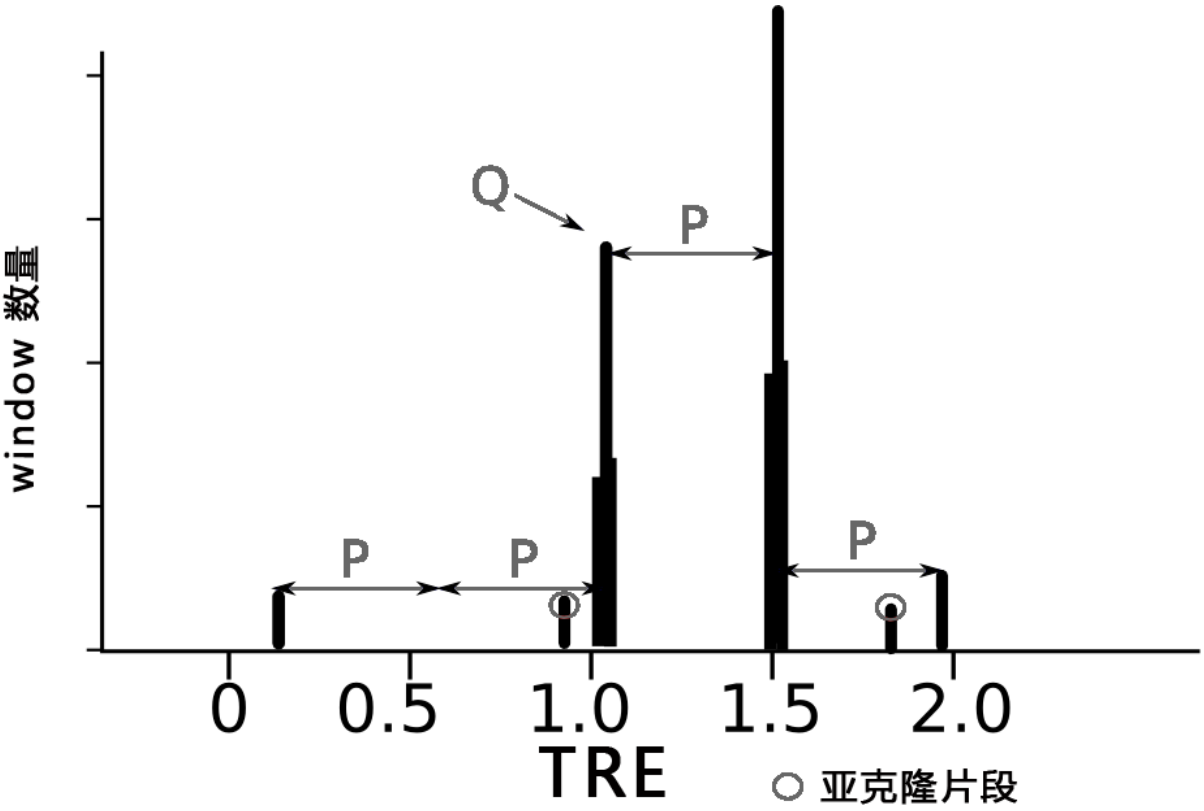

window 数量
Q
P
P
P
P
0
0.5
1.0
1.5
2.0
TRE
亚克隆片段

图 2

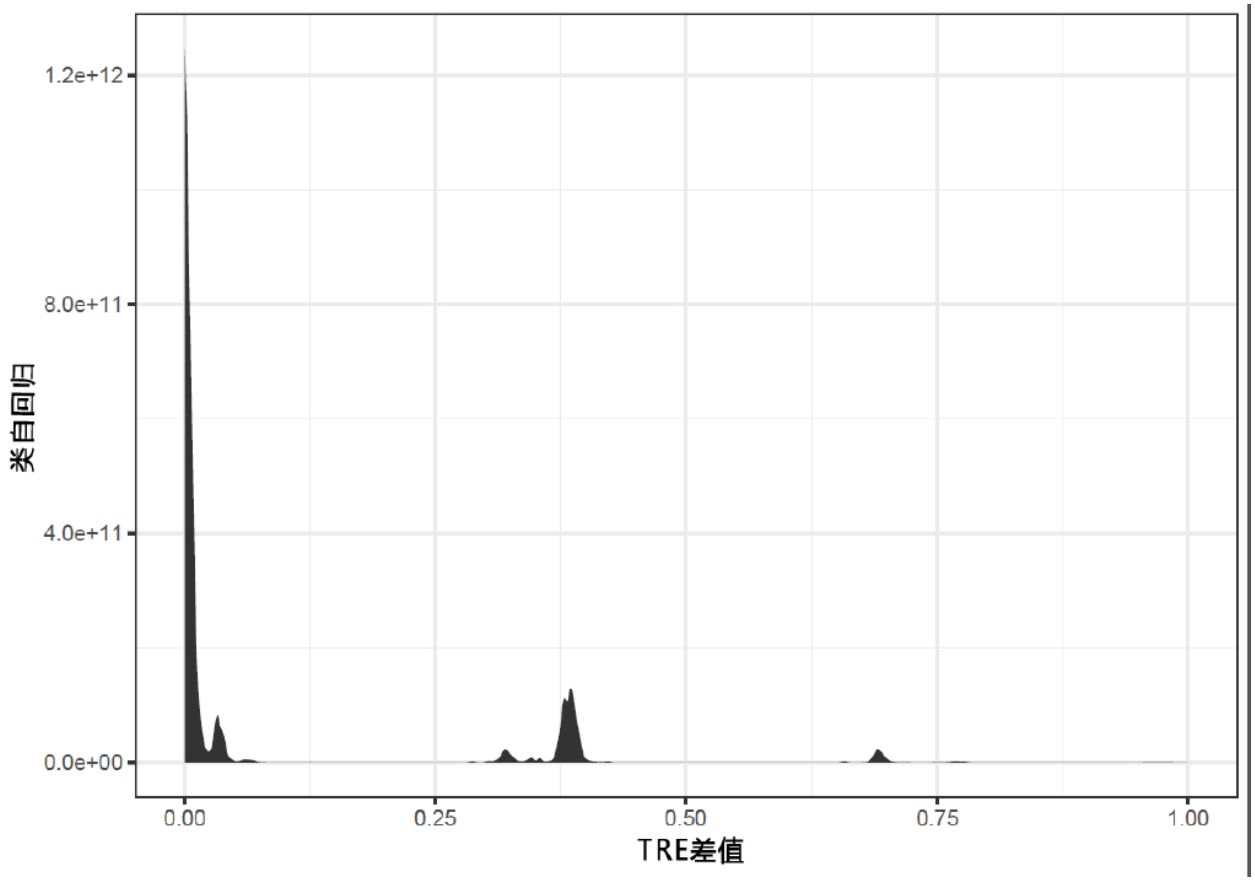


图 3

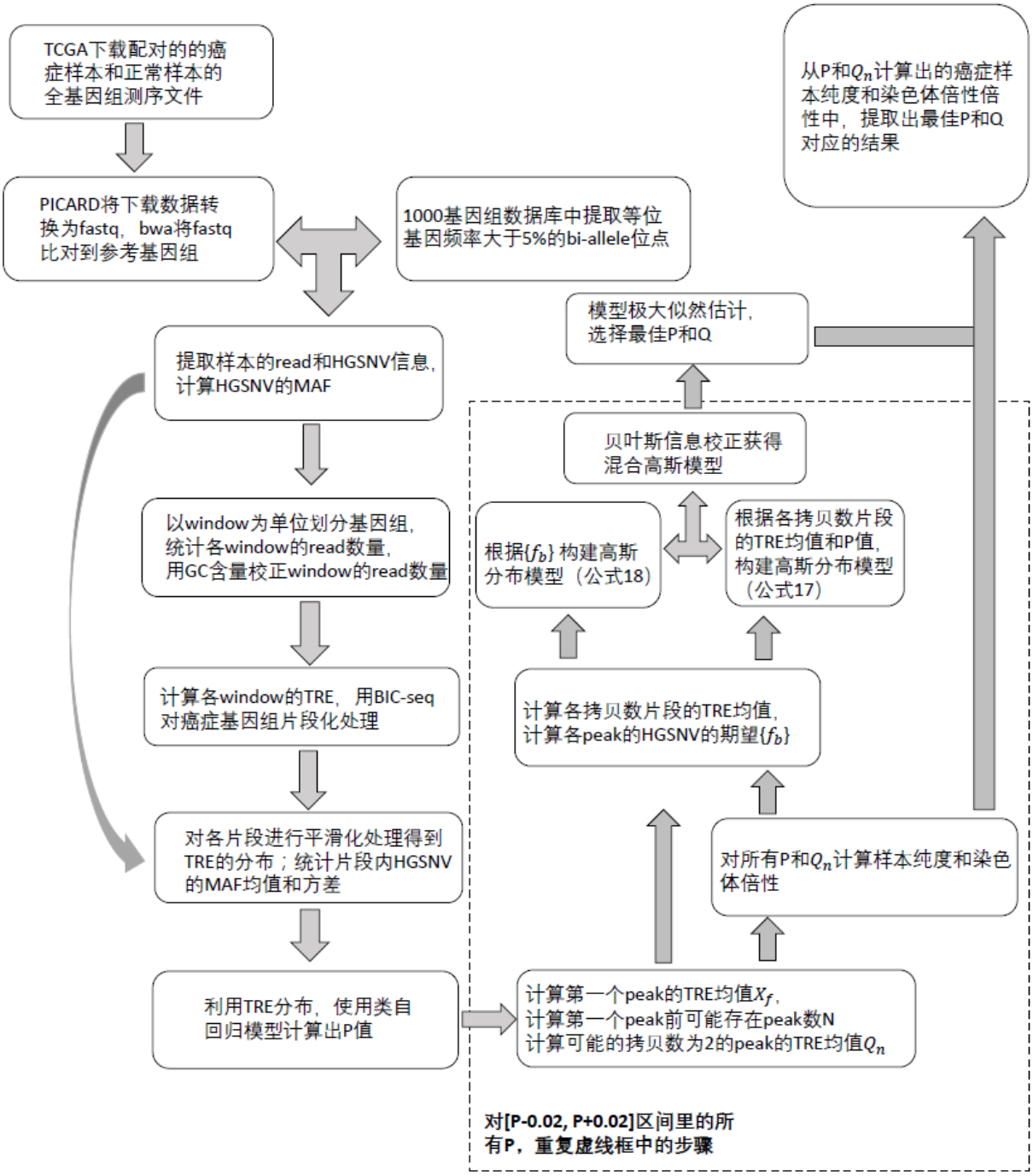

TCGA下载配对的的癌症样本和正常样本的全基因组测序文件
PICARD将下载数据转换为fastq，bwa将fastq比对到参考基因组
1000基因组数据库中提取等位基因频率大于5%的bi-allele位点
提取样本的read和HGSNV信息，计算HGSNV的MAF
以window为单位划分基因组，统计各window的read数量，用GC含量校正window的read数量
计算各window的TRE，用BIC-seq对癌症基因组片段化处理
对各片段进行平滑化处理得到TRE的分布；统计片段内HGSNV的MAF均值和方差
利用TRE分布，使用类自回归模型计算出P值
计算第一个peak的TRE均值X_f，
计算第一个peak前可能存在peak数N
计算可能的拷贝数为2的peak的TRE均值Q_n
对所有P和Q_n计算样本纯度和染色体倍性
计算各拷贝数片段的TRE均值，计算各peak的HGSNV的期望$\{f_b\}$
根据$\{f_b\}$构建高斯分布模型（公式18）
根据各拷贝数片段的TRE均值和P值，构建高斯分布模型（公式17）
贝叶斯信息校正获得混合高斯模型
模型极大似然估计，选择最佳P和Q
从P和Q_n计算出的癌症样本纯度和染色体倍性倍性中，提取出最佳P和Q对应的结果
对[P-0.02, P+0.02]区间里的所有P，重复虚线框中的步骤

图 4