



Universität Hamburg
Fakultät für Mathematik,
Informatik und Naturwissenschaften
Department Informatik

Bachelorarbeit

Speichereffiziente Methoden zur Repräsentation von paarweisen Sequenz-Alignments

Thorben Wiese

3wiese@informatik.uni-hamburg.de

Studiengang B.Sc. Informatik

Matr.-Nr. 6537204

Fachsemester 6

Erstgutachter Universität Hamburg:
Zweitgutachter Universität Hamburg:

Prof. Dr. Stefan Kurtz
Dr. Giorgio Gonnella

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Methoden	5
2.1	CIGAR-Strings	5
2.1.1	Kodierung eines CIGAR-Strings	5
2.2	Trace Point Konzept	10
2.2.1	Differenzen-Kodierung	11
2.3	Entropie der Methoden	14
3	Resultate	15
3.1	CIGAR Kodierung	15
3.2	Differenzen Kodierung	19
3.3	Entropie der Repräsentationen	23
4	Diskussion	27
4.1	Bewertung CIGAR-Kodierung	27
4.2	Bewertung Kodierung der Differenzen der Trace Points	27
4.3	Bewertung Entropie beider Methoden	27
5	Programm	29
5.1	Aufbau	29
5.2	Funktionalität	30
5.2.1	Informationsverlust bei der encode()-Funktion	30
6	Fazit	33
	Literaturverzeichnis	35

Abbildungsverzeichnis

2.1	Huffman-Bäume der Kodierung des CIGAR-Strings	8
2.2	Huffman-Baum der Differenzen-Kodierung	13
3.1	Größe der naiven binären Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit	16
3.2	Größe der unären Kodierung für einen CIGAR-String eines paar- weisen Sequenz-Alignments in Bit	16
3.3	Größe der Huffman-Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit	17
3.4	Größe der binären Kodierung für einen CIGAR-String eines paar- weisen Sequenz-Alignments in Bit	17
3.5	Größe der unären Kodierung für einen CIGAR-String eines paar- weisen Sequenz-Alignments in Bit	18
3.6	Größe der Huffman-Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit	18
3.7	Größe der unären Kodierung für die Differenzen der Trace Points eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit	20
3.8	Größe der Huffman-Kodierung für die Differenzen der Trace Points eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit	21
3.9	Größe der unären Kodierung für die Differenzen der Trace Points eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit	21
3.10	Größe der Huffman-Kodierung für die Differenzen der Trace Points eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit	22
3.11	Entropie des CIGAR-Strings	24
3.12	Entropie der Trace Point Differenzen	25
5.1	UML-Diagramm	29

Tabellenverzeichnis

2.1	Unäre Kodierung des CIGAR-Strings	8
2.2	Huffmann-Kodierung des CIGAR-Strings	9
2.3	Unäre Kodierung der Differenzen-Kodierung	13
2.4	Huffman-Kodierung der Differenzen-Kodierung	13

1 Einleitung

Ein Sequenzalignment wird in der Bioinformatik dazu verwendet, zwei oder mehrere Sequenzen von zum Beispiel DNA-Strängen oder Proteinsequenzen miteinander zu vergleichen und die Verwandtschaft zu bestimmen. Ein Alignment ist das Ergebnis eines solchen Vergleichs. Bei einem globalen Alignment wird jeweils die gesamte Sequenz betrachtet, bei einem lokalen Alignment lediglich Teilabschnitte der beiden Sequenzen. Um die verschiedenen Sequenzen vergleichen zu können, berechnet man einen Score oder die Kosten, um den Aufwand, den man betreiben muss, um die gegebene Sequenz in die Zielsequenz umzuwandeln, beschreiben zu können. Hierbei wird jeweils das Optimum, also entweder der maximale Score oder die minimalen Kosten gesucht. Die verschiedenen Schritte, um die Symbole der Strings zu verändern, sind bei Gleichheit ein 'match', bei der Substitution ein 'mismatch', bei der Löschung eine 'deletion' und bei der Einfügung eine 'insertion', welche je nach Verfahren unterschiedlich gewichtet werden können. Hierbei haben ähnliche Sequenzen einen hohen Score und geringe Kosten und unterschiedliche Sequenzen analog einen kleinen Score und hohe Kosten.

Ziel dieser Bachelorarbeit ist es, verschiedene Repräsentationen von paarweisen Sequenzalignments und deren Kodierungen zu beschreiben und zu vergleichen, sowie basierend auf einer eigenen Implementierung einer speichereffizienten Repräsentation Unterschiede zu diskutieren.

Die Edit-Operationen

Die in diesem Kapitel eingeführten Begriffe werden in [Kurtz, S. 5-7, 14-16] definiert.

Sei \mathcal{A} eine endliche Menge von Buchstaben, die man Alphabet nennt. Für DNA-Sequenzen verwendet man üblicherweise die Menge der Basen, also $\mathcal{A} = \{a, c, g, t\}$. \mathcal{A}^i sei die Menge der Sequenzen der Länge i aus \mathcal{A} und ε sei die leere Sequenz. Formal ausgedrückt ist eine Edit-Operation ein Tupel

$$(\alpha, \beta) \in (\mathcal{A}^1 \cup \{\varepsilon\}) \times (\mathcal{A}^1 \cup \{\varepsilon\}) \setminus \{(\varepsilon, \varepsilon)\}.$$

Eine äquivalente Schreibweise von (α, β) ist $\alpha \rightarrow \beta$. Es gibt drei verschiedene Edit-Operationen

$a \rightarrow \varepsilon$ ist eine Deletion für alle $a \in \mathcal{A}$

$\varepsilon \rightarrow b$ ist eine Insertion für alle $b \in \mathcal{A}$

$a \rightarrow b$ ist eine Substitution für alle $a, b \in \mathcal{A}$

Dabei ist zu beachten, dass $\varepsilon \rightarrow \varepsilon$ keine Edit-Operation darstellt.

Ein Alignment von zwei Sequenzen u und v lässt sich nun als eine Sequenz $(\alpha_1 \rightarrow \beta_1, \dots, \alpha_h \rightarrow \beta_h)$ von Edit-Operationen definieren, sodass $u = \alpha_1 \dots \alpha_h$ und $v = \beta_1 \dots \beta_h$ gilt.

Üblicherweise wird ein Alignment in drei Zeilen wie folgt geschrieben. In der ersten Zeile schreibt man die Sequenz u und in der dritten Zeile die Sequenz v . In der mittleren Zeile symbolisiert das Zeichen $'|'$ einen Match. Außerdem wird ein ε aus der Edit-Operation durch das Zeichen $'-'$ dargestellt.

Beispiel 1. Sei von u und v das folgende Alignment $A = (a \rightarrow a, c \rightarrow c, t \rightarrow t, \varepsilon \rightarrow a, g \rightarrow g, a \rightarrow a, a \rightarrow a, c \rightarrow \varepsilon, t \rightarrow t)$ gegeben.

a	c	t	-	g	a	a	c	t
a	c	t	a	g	a	a	-	t

Die Edit-Distanz

Sei eine Kostenfunktion δ mit $\delta(a \rightarrow b) \geq 0$ für alle Substitutionen $a \rightarrow b$ und $\delta(\alpha \rightarrow \beta) > 0$ für alle Einfügungen und Löschungen $\alpha \rightarrow \beta$ gegeben. Die Kosten für ein Alignment $A = (\alpha_1 \rightarrow \beta_1, \dots, \alpha_h \rightarrow \beta_h)$ ist die Summe der Kosten aller Edit-Operationen des Alignments.

$$\delta(A) = \sum_{i=1}^h \delta(\alpha_i \rightarrow \beta_i)$$

Ein Beispiel einer Kostenfunktion ist die Einheitskostenfunktion

$$\delta(\alpha \rightarrow \beta) = \begin{cases} 0, & \text{wenn } \alpha, \beta \in \mathcal{A} \text{ und } \alpha = \beta \\ 1, & \text{sonst.} \end{cases}$$

Die Edit-Distanz von zwei Sequenzen ist wie folgt definiert:

$$edist_{\delta}(u, v) = \min\{\delta(A) \mid A \text{ ist Alignment von } u \text{ und } v\}$$

Ein Alignment A ist optimal, wenn $\delta(A) = edist_{\delta}(u, v)$ gilt.

Wenn δ die Einheitskostenfunktion ist, so ist $edist_{\delta}(u, v)$ die Levenshtein Distanz [Kurtz, S. 19-21].

2 Methoden

2.1 CIGAR-Strings

Ein Dateiformat, welches zur Speicherung von Alignments verwendet wird, ist das SAM-Format oder die binär komprimierte Version BAM. Dieses codiert ein Alignment in einem sogenannten CIGAR-String, der aus einzelnen Zeichen besteht, die jeweils eine Edit-Operation bezeichnen, also M für eine Substitution, I für eine Insertion und D für eine Deletion. Gleiche aufeinanderfolgende Operationen werden als Kombination von Quantität und Symbol geschrieben.

Definition 1. Eine Folge von abwechselnd Quantitäten und Edit-Operationen $C = s_1c_1s_2c_2\dots s_nc_n$ ist ein CIGAR-String mit der Länge $|C| = 2n$ eines Alignments für alle Symbole $s \in \{M, I, D\}$ und alle Quantitäten $c \in \mathbb{N}$.

Beispiel 2. Sei folgendes Alignment aus Beispiel 1 gegeben.

a	c	t	-	g	a	a	c	t
a	c	t	a	g	a	a	-	t

Dieses Alignment wird durch den CIGAR-String 3M1I3M1D1M repräsentiert [The SAM/BAM Format Specification Group 2015].

2.1.1 Kodierung eines CIGAR-Strings

Für die Kodierung eines CIGAR-Strings ist es sinnvoll, alle Quantitäten und Symbole separat zu kodieren, um so mit kleineren Alphabeten für die zu kodierenden Symbole arbeiten zu können.

$\mathcal{A}_s = \{M, I, D\}$ und $\mathcal{A}_c = \{s_i \mid 1 \leq i \leq n\}$ sind somit die Alphabete der zu kodierenden Symbole eines CIGAR-Strings.

Drei der gängigsten Kodierungsverfahren sind die naive binäre Kodierung, die unäre Kodierung und die Huffman-Kodierung.

Bei einer naiven binären Kodierung wird jedes Symbol $a \in \mathcal{A}$ mit $\lceil \log_2 |\mathcal{A}| \rceil$ Bit kodiert, was den Vorteil hat, dass alle Codewörter die gleiche Länge haben.

Die unäre Kodierung kodiert jedes Symbol nach der Häufigkeit des Auftretens im Alphabet mit $i - 1$ '0'-Bits, gefolgt von einem '1'-Bit, wobei i die Position des Symbols in einer nach der Häufigkeit absteigend sortierten Liste ist. Das am Häufigsten auftretende Symbol des Alphabets wird also mit '1', das zweithäufigste mit '01', das dritthäufigste mit '001' usw. kodiert [Moffat u. Turpin 2002, S. 29-30]. Diese Art der Kodierung bietet sich insbesondere dann an, wenn ein zu kodierendes Symbol deutlich häufiger auftritt, als die anderen Symbole. Außerdem hat jedes Codewort die Größe 1, was den Vorteil hat, dass lediglich die Länge variiert.

Bei einer *minimalen* binären Kodierung, wie sie auch im Huffman-Algorithmus verwendet wird, werden die Längen der Codewörter anhand der Häufigkeiten der Symbole in der zu kodierenden Sequenz angepasst. Somit lässt sich eine Kodierung ermöglichen, welche im Durchschnitt weniger Bit pro Symbol beansprucht. Jedes Codewort ist dabei nie der Anfang eines anderen Codewortes, was den Code präfixfrei macht und die Codewörter somit eindeutig zugeordnet werden können [Moffat u. Turpin 2002, S. 53-57].

Als Datenstruktur wird hierbei eine priorisierte Queue verwendet, welche nach den Häufigkeiten der Symbole sortiert ist. Der Algorithmus wählt immer die zwei Symbole mit den geringsten Häufigkeiten aus und fügt sie als ein Symbol zusammen, bis am Ende alle Symbole zusammengefügt wurden. So wird rekursiv ein Baum aufgebaut, welcher am Ende durch das Hinzufügen von den Kantengewichten 0 und 1 die Kodierungen der einzelnen Symbole bestimmt.

Immer wenn die Wahl zwischen mehreren Symbolen mit der selben Häufigkeit getroffen werden muss, kann eine Regel eingeführt werden. Zum Beispiel können immer die zwei Symbole, die im Alphabet oder numerisch vor den anderen stehen, ausgewählt werden. Hierdurch vermeidet man die generierung unterschiedlicher Kodierungen.

Dieser 'kanonische' Huffman-Algorithmus benötigt aufgrund der oben genannten Eigenschaften lediglich die Anzahl der Codewörter für jede vorhandene Codewortlänge, sowie die sortierten Symbole benötigt, um die Informationen zu dekodieren [Matai u. a. 2014].

Im Folgenden vergleiche ich ausführlich für den CIGAR-String eines Alignments

die Verfahren der naiven binären Kodierung, der unären Kodierung und der Huffman-Kodierung.

Beispiel 3. Sei das Alignment A

```

0      5      0      5      0      5      0      5      0
gagc-a-t-gttgcc-tggtcctttgctaggtactgta-gaga
|| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
gaccaagtag--g-cgtggacctt-gctcggc-ctgtaagaga
0      5      0      5      0      5      0      5      0

```

gegeben, welches durch den CIGAR-String 4M1I1M1I1M1I1M2D1M1D1M1I8M1D7M1D5M1I4M repräsentiert werden kann.

Sei außerdem das Alphabet $\mathcal{A}_s = \{M, I, D\}$, welches alle Symbole aus dem CIGAR-String enthält, das Alphabet $\mathcal{A}_c = \{1, 2, 4, 5, 7, 8\}$, welches alle Zahlen aus dem CIGAR-String enthält, sowie die Häufigkeiten jeden Symbols gegeben.

Bei einer naiven binären Kodierung wird jedes Symbol $a \in \mathcal{A}_{s,c}$ mit $\lceil \log_2 3 \rceil + \lceil \log_2 6 \rceil = 2 + 3 = 5$ Bit pro Symbol kodiert. Insgesamt ergibt das somit $19 \cdot 5 = 95$ Bit.

Die unäre Kodierung des oben genannten CIGAR-Strings ist in Tabelle 2.1 beschrieben. Sie benötigt folglich $32 + 35 = 67$ Bit.

Der kanonische Huffman-Algorithmus würde bei dem oben genannten Beispiel des CIGAR-Strings nach [Moffat u. Turpin 2002, S. 54] die Symbole wie in Tabelle 2.2 beschrieben kodieren. Die Huffman-Bäume beider Alphabete sind in Abbildung 2.1 dargestellt. Für die Dekodierung sind somit zusätzlich die Listen $(1, 2)$, (M, D, I) und $(1, 1, 0, 4)$, $(1, 4, 2, 5, 7, 8)$ zu speichern. Diese können als sogenannter 'Header' am Anfang der kodierten Datei unär kodiert werden. In diesem Fall würde der Header als 01001;0001 und 0101100001;0000001 kodiert werden, wobei jeweils der erste Teil die Häufigkeiten der Code-Längen und der zweite Teil die Gesamtanzahl der Symbole kodiert.

Die Größe dieser Kodierung ist demnach $28 + 33 + 9 + 17 = 87$ Bit.

Symbol	Häufigkeit	Kodierung	Anzahl Bits
M	10	1	$10 \cdot 1 = 10$
D	5	01	$5 \cdot 2 = 10$
I	4	001	$4 \cdot 3 = 12$

Gesamtanzahl:			32
Symbol	Häufigkeit	Kodierung	Anzahl Bits
1	13	1	$13 \cdot 1 = 13$
4	2	01	$2 \cdot 2 = 4$
2	1	001	$1 \cdot 3 = 3$
5	1	0001	$1 \cdot 4 = 4$
7	1	00001	$1 \cdot 5 = 5$
8	1	000001	$1 \cdot 6 = 6$
Gesamtanzahl:			35

Tabelle 2.1: Unäre Kodierung des CIGAR-Strings

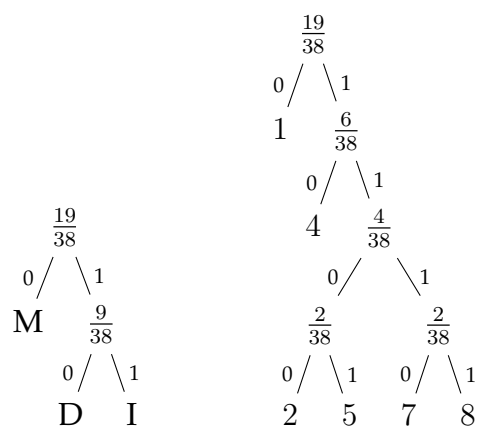


Abbildung 2.1: Huffman-Bäume der Kodierung des CIGAR-Strings

Symbol	Häufigkeit	Kodierung	Anzahl Bits
M	10	0	$10 \cdot 1 = 10$
D	5	10	$5 \cdot 2 = 10$
I	4	11	$4 \cdot 2 = 8$

Gesamtanzahl:			28
Symbol	Häufigkeit	Kodierung	Anzahl Bits
1	13	0	$13 \cdot 1 = 13$
4	2	10	$2 \cdot 2 = 4$
2	1	1100	$1 \cdot 4 = 4$
5	1	1101	$1 \cdot 4 = 4$
7	1	1110	$1 \cdot 4 = 4$
8	1	1111	$1 \cdot 4 = 4$
Gesamtanzahl:			33

Tabelle 2.2: Huffman-Kodierung des CIGAR-Strings

2.2 Trace Point Konzept

Ein neuer Ansatz der speichereffizienten Repräsentation von Alignments wurde von Gene Myers in [Myers 2015] beschrieben und basiert auf dem Konzept der Trace Points.

Sei A ein Alignment von $u[i...j]$ und $v[k...l]$ mit $i < j$ und $k < l$ und sei $\Delta \in \mathbb{N}$. Sei $p = \lceil \frac{i}{\Delta} \rceil$. Man unterteilt $u[i...j]$ in $\tau = \lceil \frac{j}{\Delta} \rceil - \lfloor \frac{i}{\Delta} \rfloor$ Substrings $u_0, u_1, \dots, u_{\tau-1}$ mit

$$u_q = \begin{cases} u[i...p \cdot \Delta] & \text{falls } q = 0 \\ u[(p+q-1) \cdot \Delta + 1... (p+q) \cdot \Delta] & \text{falls } 0 < q < \tau - 1 \\ u[(p+\tau-2) \cdot \Delta...j] & \text{falls } q = \tau - 1 \end{cases}$$

Für alle q mit $0 \leq q < \tau - 1$ sei t_q der letzte Index des Substrings von v , der in A mit u_q aligniert. t_q nennt man Trace Point. Für $q = 0$ aligniert u_0 mit $v_0 = v[k...t_0]$. Für alle q mit $0 < q < \tau - 1$ aligniert u_q mit $v_q = v[t_{q-1} + 1...t_q]$.

Seien i, j, k, ℓ, Δ und die Trace-Points eines Alignments von u und v gegeben. Dann kann ein Alignment A' von u und v mit $\delta(A') \leq \delta(A)$ konstruiert werden. Danach bestimmt man aus den Trace-Points die Substring-Paare u_q und v_q , berechnet hierfür jeweils ein optimales Alignment und konkateniert die Alignments von den aufeinanderfolgenden Substring-Paaren zu A' .

Beispiel 4. Sei $\Delta = 15$ und folgendes Alignment gegeben:

```

0      5      0      5      0      5      0      5      0
gagc-a-t-gttgcc-tggtcctttgctaggtactgta-gaga
|| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
gaccaagtag--g-cgtggacctt-gctcggc-ctgtaagaga
0      5      0      5      0      5      0      5      0
```

Beide Sequenzen seien in dem Intervall $0...37$. Das Alignment wird wie oben beschrieben in $\tau = \lceil \frac{37}{15} \rceil - \lfloor \frac{0}{15} \rfloor = 3 - 0 = 3$ Abschnitte unterteilt. Der erste Abschnitt ist in u von 0 bis 14 und in v von 0 bis 15.

```
gagc-a-t-gttgcc-tgg
```

```

| | | | | | | |
gaccaagtag--g-cgtgg

```

Der zweite Abschnitt ist in u von 15 bis 29 und in v von 16 bis 28.

```

tcctttgctaggtac
| | | | | | | |
acctt-gctcggg-c

```

Der dritte Abschnitt ist in u von 30 bis 37 und in v von 29 bis 37.

```

tgta-gaga
| | | | | | | |
tgtaagaga

```

Somit ergeben sich als Endpunkte aller Abschnitte außer dem letzten die Trace Points 15 und 28.

2.2.1 Differenzen-Kodierung

Gegeben sei eine Liste $L = (a_1, a_2, \dots, a_n)$ mit $a_i < a_{i+1}, 0 < i < n$.

Anstatt jeden Wert $a \in L$ als solchen abzuspeichern, kann alternativ die Differenz eines Wertes a_i zu dem nachfolgenden Wert a_{i+1} abgespeichert werden. Lediglich der erste (oder letzte) Wert aus L wird benötigt, um später sukzessive die ursprüngliche Liste rekonstruieren zu können.

$$L_{diff} = (a_1, (a_2 - a_1), (a_3 - a_2), \dots, (a_n - a_{n-1}))$$

Bei gleichmäßig ansteigenden Werten ist die Abweichung der Differenzen zweier aufeinanderfolgender Werte in der Liste untereinander gering und die Menge der zu kodierenden Symbole verringert sich.

Im Folgenden Beispiel werde ich die Kodierung der Trace Point Differenzen ausführlich für die naive binäre, unäre und Huffman-Kodierung erläutern.

Beispiel 5. Sei $\Delta = 5$ und das Alignment A

```

0      5      0      5      0      5      0      5      0
gagc-a-t-gttgcc-tgggtcctttgctagggtactgta-gaga
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
gaccaagtag--g-cgtggacctt-gctcgggt-ctgtaagaga
0      5      0      5      0      5      0      5      0

```

wie in Abschnitt 2.1.1 mit den dazugehörigen TracePoints 5, 10, 15, 20, 24, 28 und 34 gegeben. Es ergibt sich somit das Alphabet $\mathcal{A} = \{5, 10, 15, 20, 24, 28, 34\}$ mit ausschließlich positiven und aufsteigenden Werten.

Für die Trace Point Darstellung ist in diesem Beispiel somit eine Differenzen-Kodierung möglich.

Als neue Liste zu kodierender Werte ergibt sich nach 2.2.1 $L_{diff} = (5, 5, 5, 5, 4, 4, 6)$.

Um aus den Trace Points ein neues Alignment rekonstruieren zu können, benötigt man zusätzlich mindestens den Δ -Wert, damit die Grenzen der Substrings beider Sequenzen berechnet werden können. Hierfür muss also der Δ -Wert zu L_{diff} hinzugefügt werden.

Für das oben genannten Beispiel ergibt sich somit

$$\begin{aligned}
 L_{diff} &= (\Delta, a_1, (a_2 - a_1), (a_3 - a_2), \dots, (a_n - a_{n-1})) \\
 &= (5, 5, 5, 5, 5, 4, 4, 6)
 \end{aligned}$$

sowie das Alphabet $\mathcal{A} = \{4, 5, 6\}$.

Bei der naiven binären Kodierung von L_{diff} ergibt sich analog zu 2.1.1 ein Bedarf von $\lceil \log_2 8 \rceil = 3$ Bit pro Symbol, also $8 \cdot 3 = 24$ Bit insgesamt und damit nur $\frac{24}{95} = 25.26\%$ der binären Kodierung für den CIGAR-String.

Die unäre Kodierung ergibt für dieses Beispiel die in Tabelle 2.3 beschriebene Kodierung. Die Größe dieser Kodierung ist demnach 12 Bit und benötigt damit nur $\frac{12}{67} = 17.91\%$ der unären Kodierung für den CIGAR-String.

Symbol	Häufigkeit	Kodierung	Anzahl Bits
5	5	0	$5 \cdot 1 = 5$
4	2	10	$2 \cdot 2 = 4$
6	1	110	$1 \cdot 3 = 3$
Gesamtanzahl:			12

Tabelle 2.3: Unäre Kodierung der Differenzen-Kodierung

Symbol	Kodierung	Anzahl Bits
5	0	$5 \cdot 1 = 5$
4	10	$2 \cdot 2 = 4$
6	11	$1 \cdot 2 = 2$
Gesamtanzahl:		11

Tabelle 2.4: Huffman-Kodierung der Differenzen-Kodierung

Die Ausführung des Huffman-Algorithmus kodiert nach [Moffat u. Turpin 2002, S. 54] die Symbole wie in Tabelle 2.4 aufgelistet. Der dazugehörige Huffman-Baum aus 2.2 verdeutlicht die Kodierung der einzelnen Symbole, muss aber für den kanonischen Huffman-Algorithmus, wie in 2.1.1 beschrieben, nicht komplett gespeichert werden. Aufgrund der Beschaffenheit der Codewörter des kanonischen Huffman-Algorithmus ist hier lediglich die Speicherung der Listen $(1, 2)$, $(5, 4, 6)$, welche als 10110; 1110 im Header kodiert werden, nötig.

Die Größe der kanonischen Huffman-Kodierung ist demnach $11 + 10 = 21$ Bit und benötigt damit nur $\frac{21}{70} = 30\%$ der Huffman-Kodierung für den CIGAR-String.

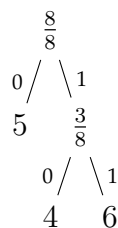


Abbildung 2.2: Huffman-Baum der Differenzen-Kodierung

2.3 Entropie der Methoden

Die Entropie H beschreibt den durchschnittlichen Informationsgehalt einer Sequenz S für alle Symbole $a \in S$ mit den relativen Wahrscheinlichkeiten $p(a)$ jeden Symbols in der Einheit $\frac{\text{Bit}}{\text{Symbol}}$.

$$H(S) = - \sum_{a \in S} p(a) \cdot \log_2 p(a)$$

Sie ist maximal, wenn alle Symbole mit der gleichen Wahrscheinlichkeit $\frac{1}{|S|}$ auftreten [Mézard u. Montanari 2009].

Für den in 2.1.1 genannten CIGAR-String ergibt sich eine Entropie von

$$\begin{aligned} H(Cigar) &= -\left(\frac{10}{38} \cdot \log_2 \frac{10}{38} + \frac{5}{38} \cdot \log_2 \frac{5}{38} + \frac{4}{38} \cdot \log_2 \frac{4}{38} + \frac{13}{38} \cdot \log_2 \frac{13}{38} + \frac{2}{38} \cdot \right. \\ &\quad \left. \log_2 \frac{2}{38} + \frac{1}{38} \cdot \log_2 \frac{1}{38} + \frac{1}{38} \cdot \log_2 \frac{1}{38} + \frac{1}{38} \cdot \log_2 \frac{1}{38} + \frac{1}{38} \cdot \log_2 \frac{1}{38}\right) \\ &\approx 2.54 \frac{\text{Bit}}{\text{Symbol}} \end{aligned}$$

Die in 2.2.1 genannten Trace Point Differenzen des selben Alignments ergeben analog

$$\begin{aligned} H(Diff) &= -\left(\frac{5}{8} \cdot \log_2 \frac{5}{8} + \frac{2}{8} \cdot \log_2 \frac{2}{8} + \frac{1}{8} \cdot \log_2 \frac{1}{8}\right) \\ &\approx 1.30 \frac{\text{Bit}}{\text{Symbol}} \end{aligned}$$

3 Resultate

3.1 CIGAR Kodierung

Die ersten drei der folgenden Grafiken wurden mit jeweils 10 000 zufällig generierte Sequenzpaaren mit je etwa 1 000 Basen, einer Fehlerrate von 15% und einem Δ -Wert von 100 berechnet und auf 10 Bit gerundet. Die letzten drei der Grafiken wurden mit jeweils 100 zufällig generierten Sequenzpaaren mit je etwa 10.000 Basen, einer Fehlerrate von 15% und einem Δ -Wert von 100 berechnet und auf 10 Bit gerundet.

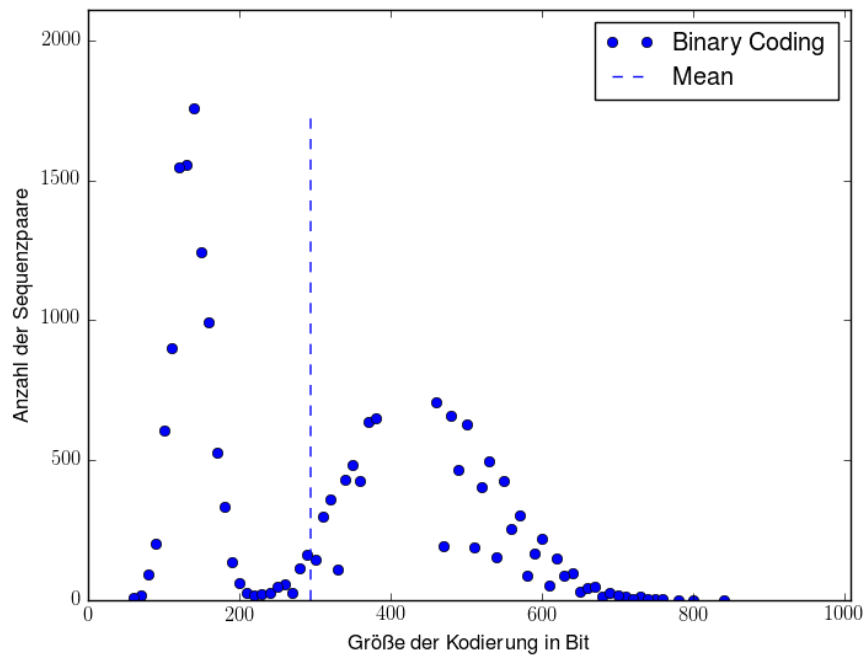


Abbildung 3.1: Größe der naiven binären Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

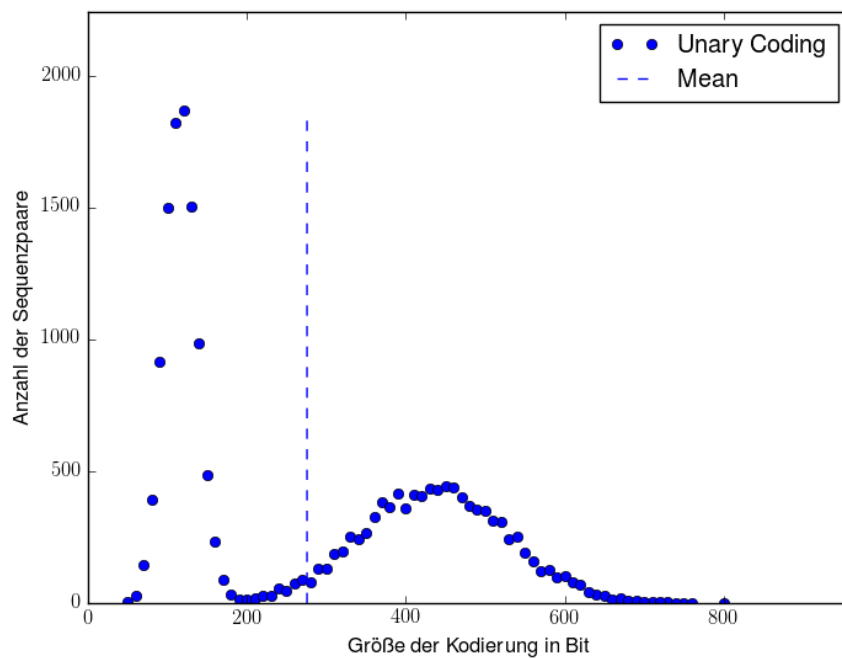


Abbildung 3.2: Größe der unären Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

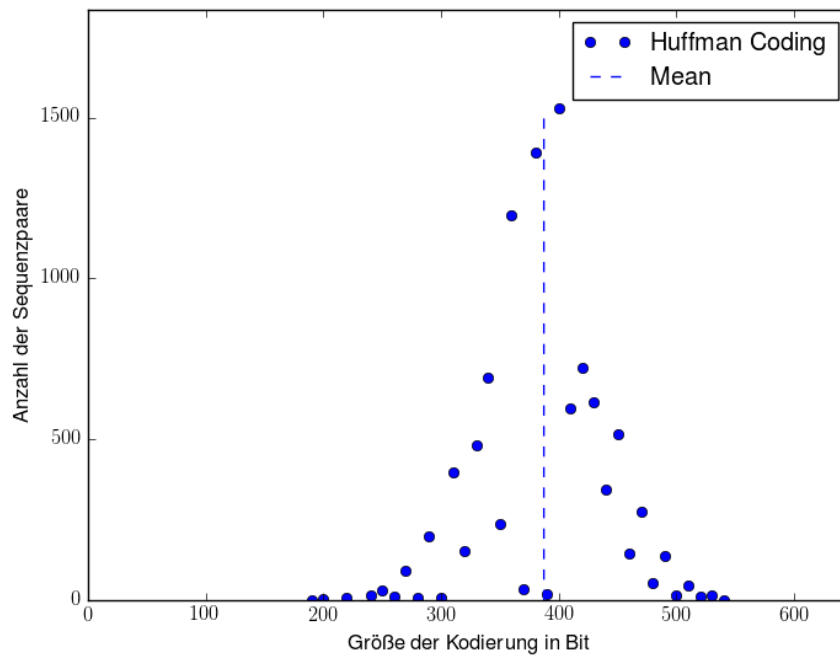


Abbildung 3.3: Größe der Huffman-Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

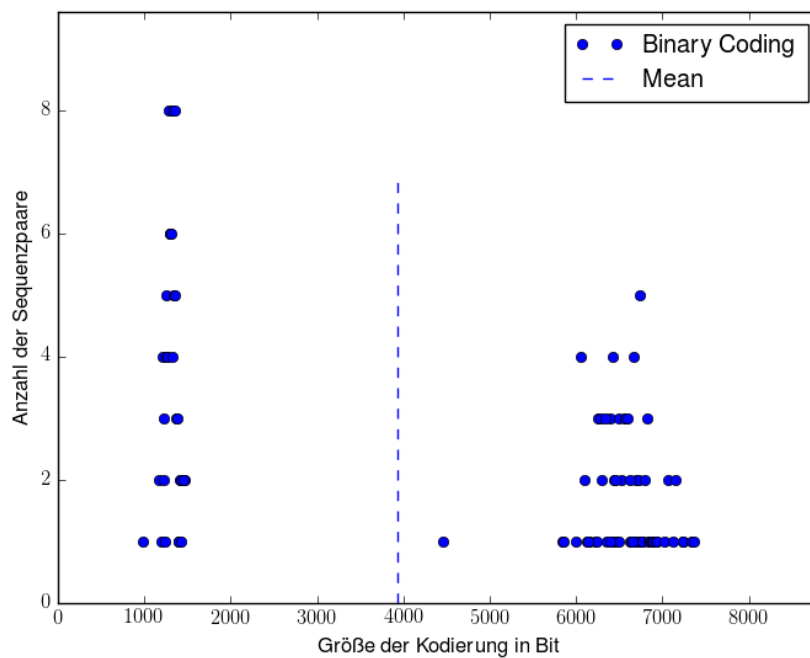


Abbildung 3.4: Größe der binären Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

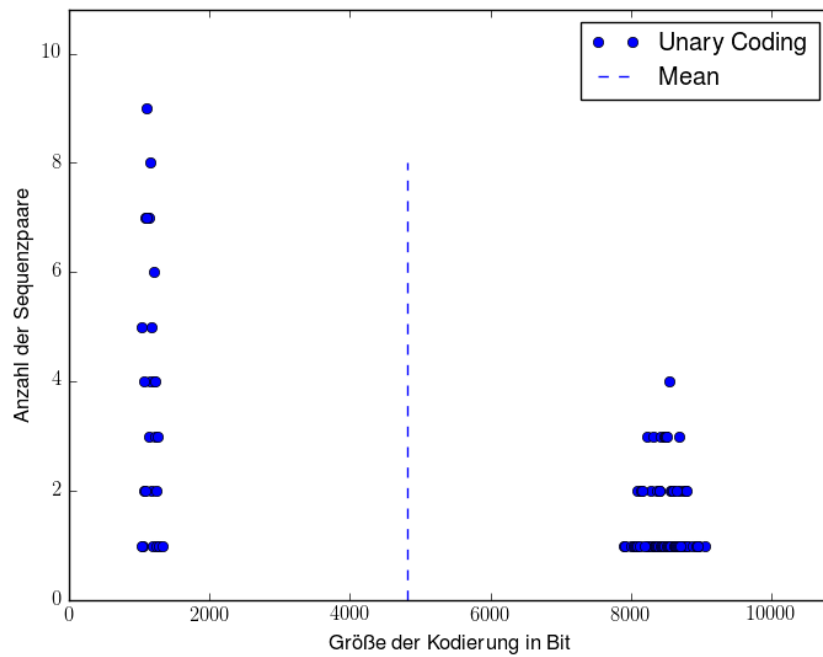


Abbildung 3.5: Größe der unären Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

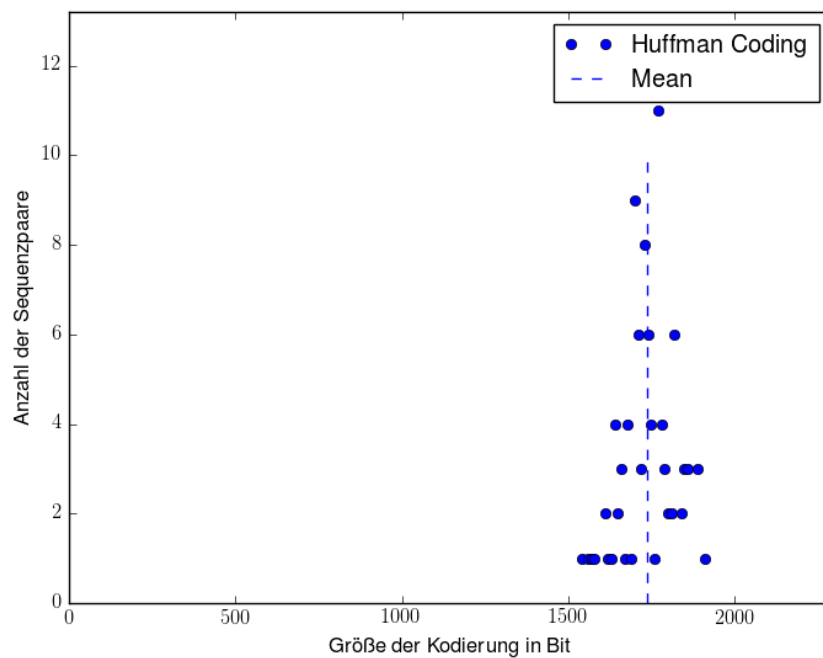


Abbildung 3.6: Größe der Huffman-Kodierung für einen CIGAR-String eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

Die naive binäre Kodierung der CIGAR-Strings benötigt wie in Abbildung 3.1 dargestellt für 10000 Sequenzpaare mit je 1000 Basen im Mittel 294.27 Bit, wobei Werte zwischen 50 und 900 Bit erreicht werden. Diese bilden zwei Maxima bei 1800 Sequenzpaaren mit jeweils etwa 120 Bit als globales Maximum und 700 Sequenzpaaren mit jeweils etwa 450 Bit als lokales Maximum. Für 100 Sequenzpaare mit je 10000 Basen werden, wie in Abbildung 3.4 zu sehen ist, Werte zwischen 900 und 7500 Bit mit einem Mittelwert von 3942.06 Bit erreicht, wobei hier eine ähnliche Verteilung wie in Abbildung 3.1 auftritt. Die Maxima liegen hier bei 8 Sequenzpaaren mit 1100 Bit und 5 Sequenzpaare mit 6700 Bit.

Wie in Abbildung 3.2 zu erkennen ist, ähnelt die Anzahl der Bits für die unäre Kodierung der CIGAR-Strings für 10000 Sequenzpaare mit je 1000 Basen der der naiven binären Kodierung. Hier werden ebenfalls zwei Maxima erreicht, wobei hier das globale Maximum bei 1900 Sequenzpaaren mit etwa 150 Bit und das lokale Maximum bei 500 Sequenzpaaren mit etwa 450 Bit liegt. Für die unäre Kodierung wird im Mittel 275.70 Bit für die Kodierung eines CIGAR-Strings und damit nur etwa 6.3% weniger als bei der naiven binären Kodierung benötigt. Für 100 Sequenzpaare mit je 10000 Basen werden, wie in Abbildung 3.5 dargestellt, ebenfalls zwei Maxima erreicht, einmal bei 9 Sequenzpaaren zu 1700 Bit und 4 Sequenzpaare mit 8500 Bit. Der Mittelwert liegt hier bei 4794.50 Bit.

Die Huffman-Kodierung kodiert wie in Abbildung 3.3 zu erkennen ist die CIGAR-Strings für 10000 Sequenzpaare mit je 1000 Basen zwischen 200 und 550 Bit. Die Bitanzahl ist hier nahezu normalverteilt mit einem Maximum von 1500 Sequenzpaaren für etwa 390 Bit, was in etwa dem Durchschnitt von 387.38 Bit entspricht. Für 100 Sequenzpaare mit je 10000 Basen werden, wie in Abbildung 3.6 zu sehen ist, zwischen 1500 und 1900 Bit benötigt, wobei das Maximum bei 11 Sequenzpaaren mit 1750 Bit liegt und damit dem Mittelwert von 1734.18 Bit entspricht.

3.2 Differenzen Kodierung

Die ersten beiden der folgenden Grafiken wurden mit jeweils 10.000 zufällig generierte Sequenzpaaren mit je etwa 1.000 Basen, einer Fehlerrate von 15% und einem Δ -Wert von 100 berechnet und auf 3 Bit gerundet. Die letzten beiden Grafiken wurden mit jeweils 100 zufällig generierte Sequenzpaaren mit je etwa 10.000

Basen, einer Fehlerrate von 15% und einem Δ -Wert von 100 berechnet und auf 3 Bit gerundet.

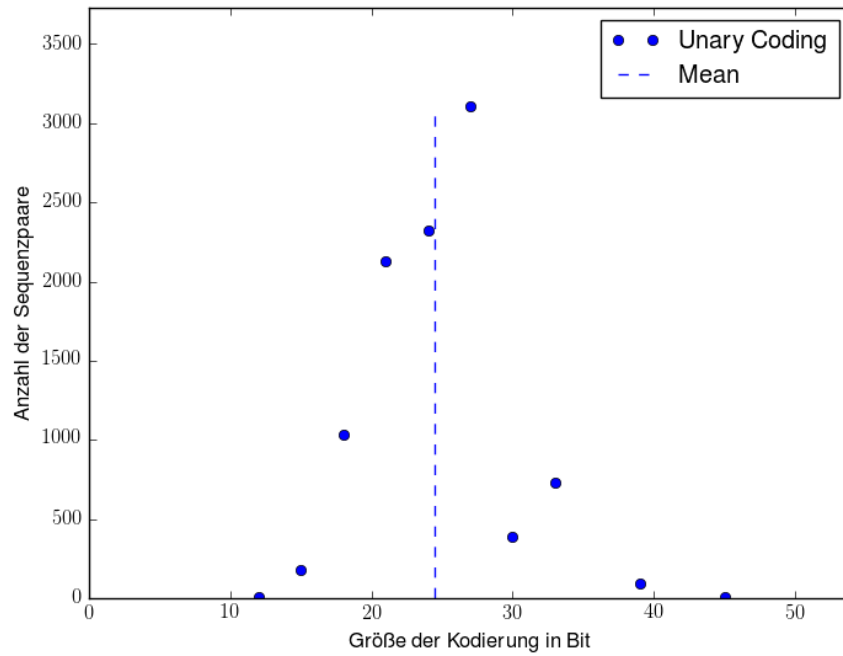


Abbildung 3.7: Größe der unären Kodierung für die Differenzen der Trace Points eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

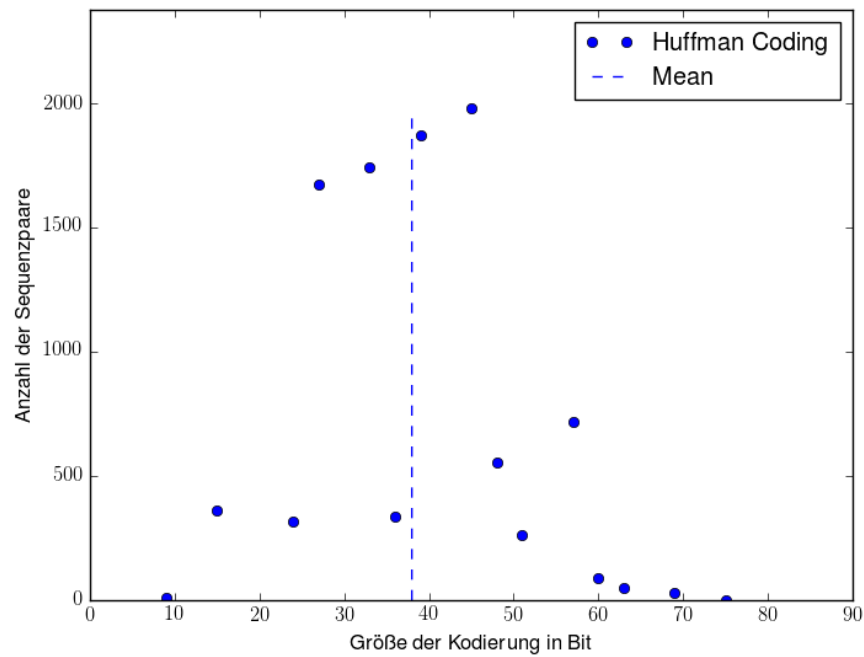


Abbildung 3.8: Größe der Huffman-Kodierung für die Differenzen der Trace Points eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

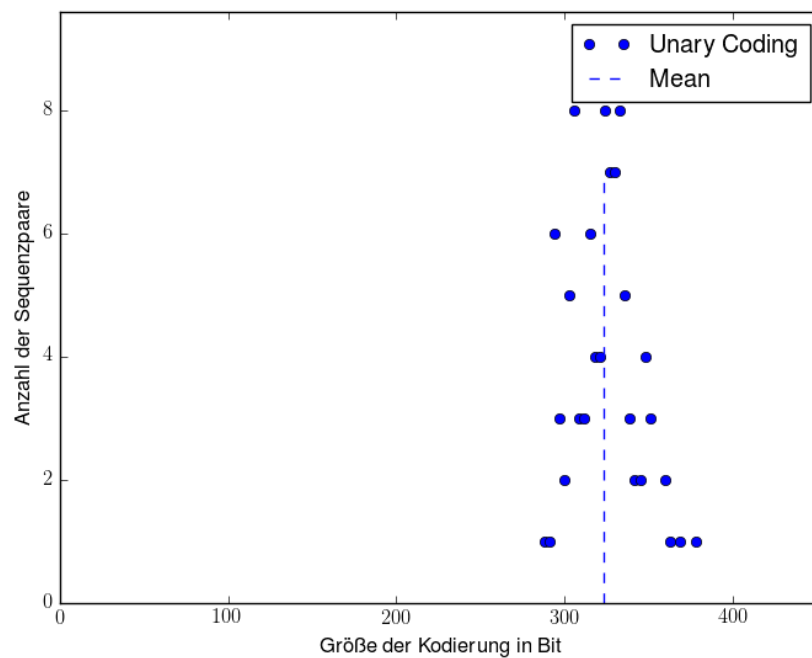


Abbildung 3.9: Größe der unären Kodierung für die Differenzen der Trace Points eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

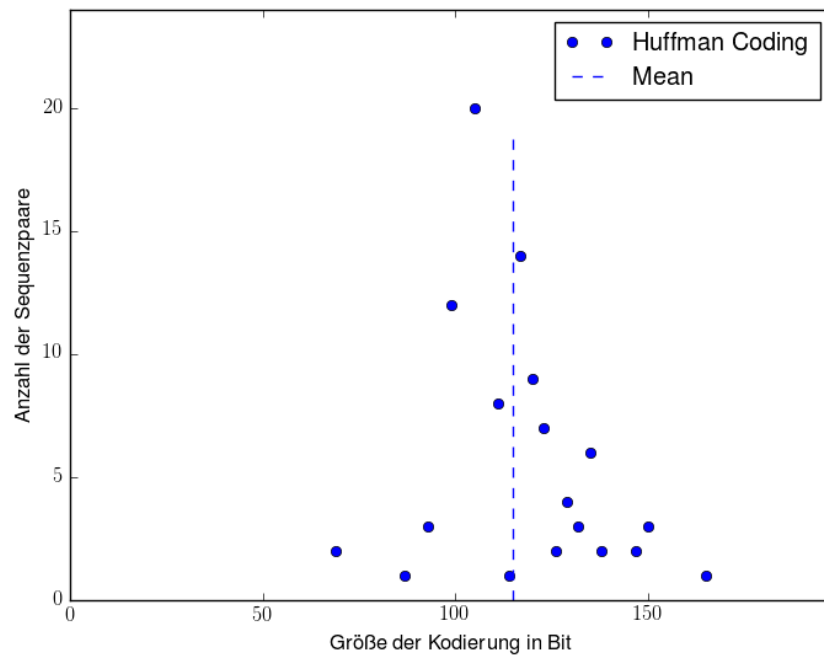


Abbildung 3.10: Größe der Huffman-Kodierung für die Differenzen der Trace Points eines paarweisen Sequenz-Alignments in Bit

Die naive binäre Kodierung benötigt für 10000 Sequenzpaare mit 1000 Basen und einem Δ -Wert von 100 in jedem Durchlauf und somit auch im Mittel konstant 40 Bit, da für jeden Durchlauf 9 Trace Points und der Δ -Wert gespeichert werden für $\lceil \log_2 10 \rceil \cdot 10 = 40$ Bit. Für 100 Sequenzpaare mit 10000 und einem Δ -Wert von 100 werden in jedem Durchlauf und im Mittel 700 Bit benötigt, da $\lceil \log_2 100 \rceil \cdot 100 = 700$ Bit für die binäre Kodierung benötigt werden.

Für die unäre Kodierung der Differenzen der Trace Points wird für 10000 Sequenzpaare mit 1000 Basen, wie in Abbildung 3.7 verdeutlicht, zwischen 12 und 45 Bit benötigt. Die Bitanzahl ist in etwa normalverteilt, wobei das Maximum bei 3050 Sequenzpaaren mit 26 Bit liegt. Im Mittel wird für diese Kodierung 24.49 Bit und damit nur etwa 61.22% der binären Kodierung benötigt. Für 100 Sequenzpaare mit je 10000 Basen werden, wie in Abbildung 3.9 dargestellt, zwischen 290 und 390 Bit mit einem Maximum bei 8 Sequenzpaaren und 320 Bit benötigt, wobei der Mittelwert bei 323.2 Bit liegt.

Die Huffman-Kodierung kodiert für 10000 Sequenzpaare mit 1000 Basen, wie in Abbildung 3.8 zu sehen ist, die Differenzen der Trace Points mit 3 bis 30 Bit, wobei hier das Maximum bei 2600 Sequenzpaaren mit 15 Bit liegt. Sie benötigt durchschnittlich nur 13.90 Bit und damit nur etwa 56.75% des Speicherbedarfs der unären und 34.74% der naiven binären Kodierung. Für 100 Sequenzpaare mit 10000 Basen wird, wie in Abbildung 3.10 dargestellt, zwischen 70 und 170 Bit benötigt, wobei das Maximum bei 20 Sequenzpaaren mit 110 Bit und der Mittelwert bei 114.04 Bit liegt.

3.3 Entropie der Repräsentationen

Die folgenden Grafiken zeigen die Entropie der CIGAR-Strings und Trace Point Differenzen von 10.000 zufällig generierten Sequenzpaaren mit je etwa 1.000 Basen, einer Fehlerrate von 15% und einem Δ -Wert von 100.

Die Entropie für die CIGAR-String Repräsentation liegt für die gegebenen Sequenzpaare, wie in Abbildung 3.11 zu erkennen ist, zwischen 110 und 580 Bit, wobei der Durchschnittswert bei 323.98 Bit liegt. Die Werte sind normalverteilt, wobei das Maximum bei 700 Sequenzpaaren, welche mit etwa 320 Bit kodiert wurden, liegt.

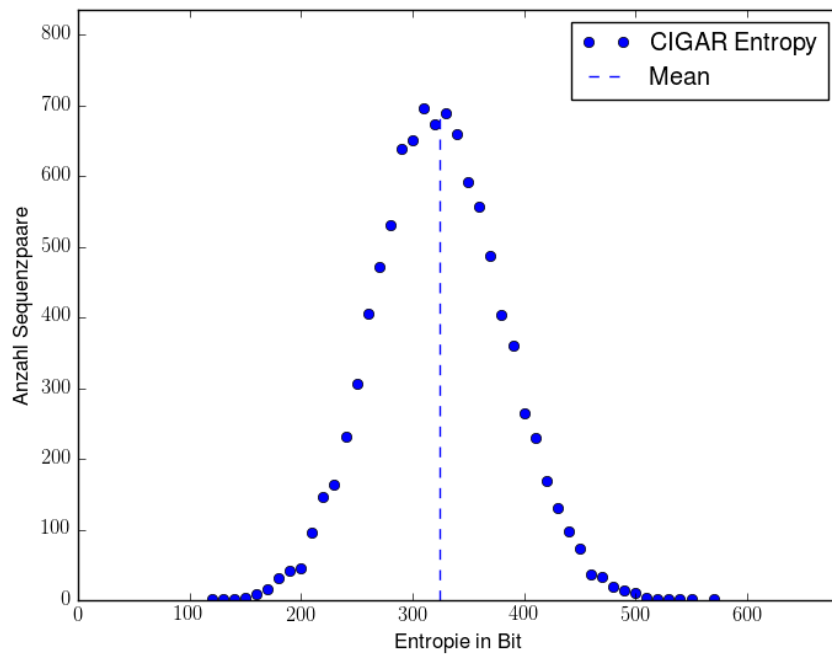


Abbildung 3.11: Entropie des CIGAR-Strings

Die Differenzen der Trace Points weisen hingegen, wie in Abbildung 3.12 verdeutlicht, eine Entropie im Bereich von 6 bis 30 Bit auf, wobei der Durchschnittswert von 21.53 Bit nur etwa 7% des Durchschnittswertes der CIGAR-String Repräsentation ausmacht. Das Maximum der nahezu normalverteilten Entropie-Werte liegt hier bei etwa 21 Bit, mit welchem 4000 Sequenzpaare kodiert wurden.

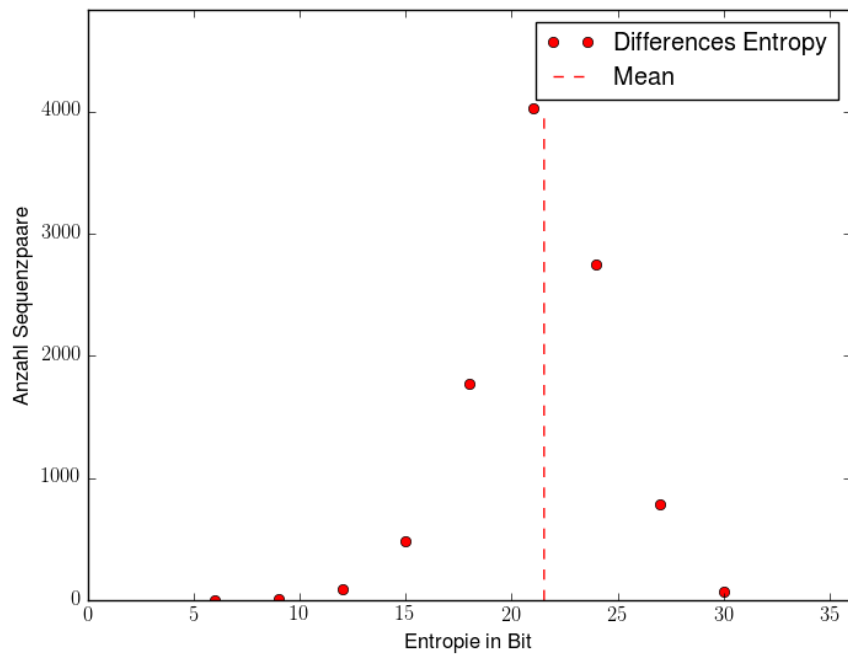


Abbildung 3.12: Entropie der Trace Point Differenzen

4 Diskussion

TODO

4.1 Bewertung CIGAR-Kodierung

4.2 Bewertung Kodierung der Differenzen der Trace Points

4.3 Bewertung Entropie beider Methoden

5 Programm

5.1 Aufbau

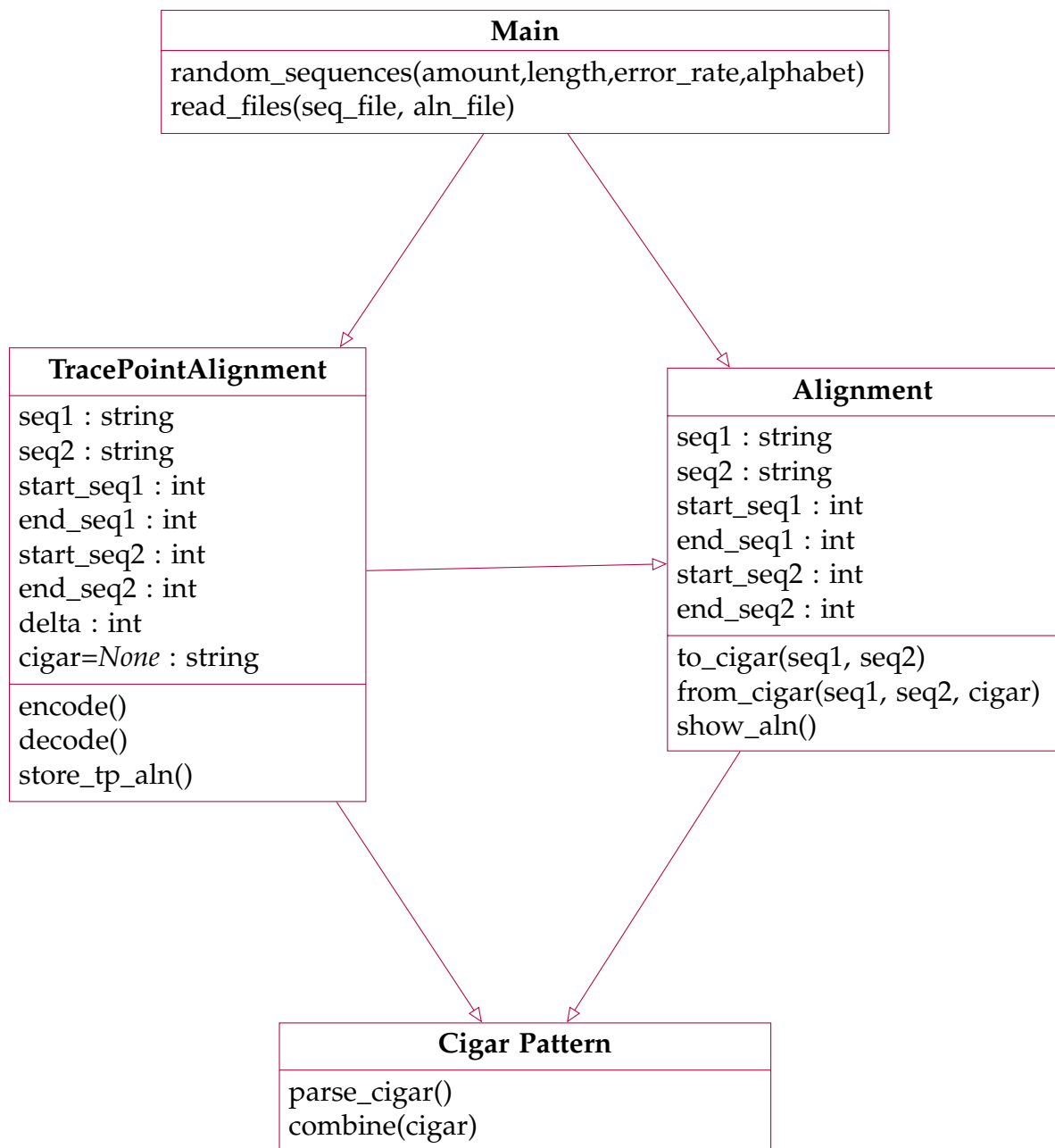


Abbildung 5.1: UML-Diagramm

5.2 Funktionalität

5.2.1 Informationsverlust bei der encode()-Funktion

Die encode-Funktion extrahiert aus dem gegebenen CIGAR-String die Trace Points, welche dann zusammen mit dem Δ -Wert und den Start- und Endpositionen der Sequenzabschnitte gespeichert werden. Hierbei geht die Information, wie die jeweiligen Intervalle zwischen den Trace Points zu den komplementären Intervallen in der Ursprungssequenz aligniert werden, verloren. Um bestimmen zu können, wie die einzelnen Abschnitte zueinander aligniert werden, muss in der decode()-Funktion zunächst ein neues Alignment des jeweiligen Intervall-Paares errechnet werden und alle Teilalignments zu einem Gesamtalignment konkateniert werden. Hierbei ist jedoch nicht gewährleistet, dass das neue Alignment dem alten entspricht. Da das neue Alignment aus konkatenierten optimalen Alignments besteht, ist es ebenfalls optimal und hat daher mindestens die gleiche Edit-Distanz wie das alte Alignment.

Algorithm 1 Berechnung der Trace Points von einem gegebenen CIGAR-String

Parameter: $seq1$ und $seq2$ sind die beiden Sequenzen mit den jeweiligen Start- und Endpositionen $start_seq1, end_seq1$ bzw. $start_seq2, end_seq2$. Zusätzlich werden der Funktion der Δ -Wert und der CIGAR-String übergeben.

```

1: function encode( $seq1, seq2, start\_seq1, end\_seq1, start\_seq2, \Delta, cigar$ )
2:   assert( $|seq1|, |seq2|, |cigar|, \Delta > 0$ )
3:   assert( $start\_seq1, start\_seq2 \geq 0$ )
4:   assert( $start\_seq1 < end\_seq1$ )
5:    $p \leftarrow MAX(1, \lceil start\_seq1 / \Delta \rceil)$ 
6:    $\tau \leftarrow \lceil end\_seq1 / \Delta \rceil - \lfloor start\_seq2 / \Delta \rfloor$ 
7:    $uTP \leftarrow$  Array for interval termini in the first sequence
8:   for  $i \leftarrow 0$  upto  $|\tau|$  do
9:      $uTP[i] \leftarrow (p + i) \cdot (\Delta - 1)$ 
10:  end for
11:   $uChars, vChars, count \leftarrow 0$ 
12:   $TP \leftarrow$  Array for Trace Points
13:  for each ( $cig\_count, cig\_symbol$ ) in  $cigar$  do
14:    for  $i \leftarrow 0$  upto  $cig\_count$  do
15:      if  $cig\_symbol = 'I'$  then
16:        increment  $uChars$ 
17:      else if  $cig\_symbol = 'D'$  then
18:        increment  $vChars$ 
19:      else
20:        increment  $uChars, vChars$ 
21:      end if
22:      if  $uChars = uTP[count]$  then
23:         $TP.append(vChars)$ 
24:      end if
25:      if  $count \neq |uTP| - 1$  then
26:        return  $TP$ 
27:      else
28:        increment  $count$ 
29:      end if
30:    end for
31:  end for
32: end function

```

Algorithm 2 Berechnung eines CIGAR-Strings von einem gegebenen Trace Point Array

Parameter: $seq1$ und $seq2$ sind die beiden Sequenzen.

Zusätzlich werden der Funktion der Δ -Wert und das Trace Point Array übergeben.

```

1: function decode( $seq1, seq2, \Delta, TP$ )
2:   assert( $|seq1|, |seq2|, \Delta, |TP| > 0$ )
3:    $cig \leftarrow$  empty String
4:   for  $i \leftarrow 0$  upto  $|TP|$  do
5:     if  $i = 0$  then
6:        $cig.append(cigar(seq1[0... \Delta], seq2[0... TP[i] + 1]))$ 
7:     else if  $i = |TP| - 1$  then
8:        $cig.append(cigar(seq1[i \cdot \Delta... |seq1|], seq2[TP[i - 1] + 1... |seq2|]))$ 
9:     else
10:       $cig.append(cigar(seq1[i \cdot \Delta... (i+1) \cdot \Delta], seq2[TP[i - 1] + 1... TP[i] + 1]))$ 
11:    end if
12:  end for
13:   $cig \leftarrow combine(cig)$ 
14:  return  $cig$ 
15: end function
16:
17: function combine( $cigar$ )
18:    $cig \leftarrow$  empty String
19:    $tmp \leftarrow 0$ 
20:   for each  $cig\_count, cig\_symbol$  in  $cigar$  do
21:      $tmp \leftarrow tmp + previous\_cig\_count$ 
22:     if  $cig\_symbol = previous\_cig\_symbol$  then
23:       if not last element in  $cigar$  then
24:          $tmp \leftarrow 0$ 
25:       end if
26:     end if
27:     if last element is in  $cigar$  then
28:        $cig.append(tmp + cig\_count, cig\_symbol)$ 
29:     end if
30:   end for
31:   return  $cig$ 
32: end function

```

6 Fazit

TODO

Je größer der vorher definierte positive Parameter Δ ist, desto weniger Trace Points werden gespeichert und umso länger dauert die Berechnung, um die Teil-Alignments zu rekonstruieren. Bei einem kleinen Δ werden analog mehr Trace Points gespeichert, aber die Rekonstruktionszeit der Teil-Alignments ist geringer.

Mithilfe von Δ lässt sich somit ein Trade-Off zwischen dem Speicherplatzverbrauch und dem Zeitbedarf für die Rekonstruktion der Teil-Alignments einstellen.

Literaturverzeichnis

[Kurtz] KURTZ, Stefan: *Foundations of Sequence Analysis*. – Lecture notes for a course in the Wintersemester 2015/2016

[Matai u. a. 2014] MATAI, Janarbek ; KIM, Joo-Young ; KASTNER, Ryan: *Energy Efficient Canonical Huffman Encoding*. https://www.zurich.ibm.com/asap2014/presentations/day2/ses6_ASAP2014_Final-kastner.pdf. Version: 2014. – Presentation at IBM Research - Zurich

[Mézard u. Montanari 2009] MÉZARD, Marc ; MONTANARI, Andrea: *Information, Physics and Computation*. Oxford University Press, 2009

[Moffat u. Turpin 2002] MOFFAT, Alistair ; TURPIN, Andrew: *Compression and Coding Algorithms*. Kluwer Academic Publishers, 2002

[Myers 2015] MYERS, Eugene: *Recording Alignments with Trace Points*. <https://dazzlerblog.wordpress.com/2015/11/05/trace-points/>. Version: November 2015

[The SAM/BAM Format Specification Group 2015] THE SAM/BAM FORMAT SPECIFICATION GROUP: *Sequence Alignment/Map Format Specification*. <https://samtools.github.io/hts-specs/SAMv1.pdf>. Version: November 2015
