Métodos de alineamiento (3)

Bioinformática, 28-2-18

Elvira Mayordomo

Hoy veremos …

- **Multialineamiento (MSA):**
  - Un problema NP-completo
  - Algoritmo aproximado para Multialineamiento: el método de la estrella
  - Métodos usados en la práctica: CLUSTAL

Alineamientos múltiples

- Hasta ahora alinéabamos (global o localmente) 2 secuencias
- Ahora, dado un conjunto de secuencias, queremos alinear **todas ellas a la vez**, de manera que los caracteres relacionados estén en la misma columna
- El problema es mucho más difícil
- A partir de 3 secuencias, se hace rápidamente inviable (por ejemplo la programación dinámica es muy lenta) → necesitamos alternativas

Alineamientos múltiples

- Queremos saber:
  - Cómo evaluar un MSA (cómo puntuarlo)
  - Cómo conseguir un buen MSA
- Veremos:
  - una demostración de dificultad para el problema de optimización
  - una solución aproximada
  - un ejemplo de heurística

Alineamiento múltiple

Definición: Sean $s_1=s_{11}\ldots s_{1m_1}, \ldots, s_k=s_{k1}\ldots s_{km_k}$ k strings sobre Σ. Sea h: $(\Sigma\cup\{-\})^* \rightarrow \Sigma^*$ la función "quita huecos"

($h(-)=\lambda$, $h(a)=a$ para $a\in\Sigma$)

Un <u>alineamiento múltiple</u> de $s_1, \ldots, s_k$ es una k-tupla de strings $(s'_1, \ldots, s'_k)$ que cumplen

1. $h(s'_i)= s_i$
2. $|s'_i|=|s'_j|$ para cada i, j
3. No hay posiciones que contengan – alineados en todos los s'_i

Puntuar un MSA

- Supongamos que ya hemos conseguido un alineamiento con 3 ó más secuencias. Queremos evaluar lo bueno que es. ¿Cómo podemos calcular una puntuación?

Puntuar un MSA

- Básicamente hay dos métodos:
  1. Calculamos una secuencia consenso y la puntuación del alineamiento múltiple es la distancia a ese consenso
  2. Calculamos la puntuación del multialineamiento como la suma de las puntuaciones de los alineamientos entre parejas (SP)

Ejemplo

- Supongamos que tenemos esta alineación:
  r_1: ACGGCT
  r_2: GCGGTT
  r_3: TGGG_T
  r_4: TCGG_T
- coincidencia: +1, diferencia / indel: -1

Todas las parejas

- La matriz de puntuación:

	r_1	r_2	r_3	r_4
r_1	6	2	0	2
r_2	2	6	0	2
r_3	0	0	5	3
r_4	2	2	3	5

r_1 : ACGGCT
r_2 : GCGGTT
r_3 : TGGG_T
r_4 : TCGG_T

- Puntuación media= (2 + 0 + 0 + 2 + 2 + 3) / 6 = 9 / 6 = 1,5
- Nota: el alineamiento entre las secuencias r_3 y r_4 tiene una columna de “sólo gaps” – la ignoramos

coincidencia: +1, diferencia / indel: -1

secuencia de consenso

- Supongamos que representamos el alineam. por la secuencia de consenso TCGGCT
- Las puntuaciones del alineam. entre cada secuencia de entrada y el consenso:
  - r_1: 4
  - r_2: 2
  - r_3: 2
  - r_4: 4
  - media = (4 + 2 + 2 + 4) / 4 = 12/4 = 3
- Mejor permitir varias opciones o usar un modelo probabilístico como PWM

r_1: ACGGCT
r_2: GCGGTT
r_3: TGGG_T
r_4: TCGG_T

coincidencia: +1, diferencia / indel: -1

Puntuación por consenso

- Sea $(s'_1, \ldots, s'_k)$ un alineamiento múltiple de $s_1, \ldots, s_k$ con $l = |s'_i|$
- $c = c_1 \ldots c_l$ es <u>consenso</u> de $(s'_1, \ldots, s'_k)$ si para cada j, c_j es la más frecuente de $s'_{1j}, \ldots, s'_{kj}$
- La <u>distancia</u> de un alineamiento $(s'_1, \ldots, s'_k)$ a un consenso c es

$$|\{s'_{ij} \mid s'_{ij} \neq c_j\}|$$

Cuidado: buscamos distancia pequeña

Ejemplo de alineamiento múltiple

- s_1= AATGCT, s_2= ATTC, s_3= TCC

s'_1= AATGCT
s'_2= A-TTC-
s'_3= ---TCC

Ejemplos de puntuación

- Distancia de edición o de Levenshtein

$p(a,b)=1$ si $a \neq b$, $p(a,a)=0$, $g=1$

- A menor puntuación mejor alineamiento

Ejemplo de consenso

- s_1= AATGCT, s_2= ATTC, s_3= TCC

s'_1= AATGCT
s'_2= A-TTC-
s'_3= ---TCC

c= AATTCT

distancia = (1+2+1+1+0+2)/3 = 7/3 = 2,3

p(a,b)=1 si a≠b, p(a,a)=0, g=1

Importante

- Si hay dos consensos posibles c, $\underline{c}$, la distancia no depende del consenso que se elija

$$\text{distancia}(c, (s'_1, \ldots, s'_k)) = \text{distancia}(\underline{c}, (s'_1, \ldots, s'_k))$$

MULTCONSENSUSALIGN

- Dados s_1, …, s_k strings, se trata de encontra el alineamiento múltiple que minimiza la distancia al consenso

- Hay conceptos más generales de consenso que también se usan …

Puntuación SP

- Se trata de puntuar las parejas de alineamientos y hacer la suma
- SP = “sum of pairs”

Puntuación SP

- Sea $(s'_1, \ldots, s'_k)$ un alineamiento múltiple y δ una puntuación para alineamientos

  La puntuación SP es:

  $\delta_{SP}(s'_1, \ldots, s'_k) = \Sigma_{i=1}^{k} \Sigma_{r=i+1}^{k} \delta(s'_i, s'_r)$ / no. pares

Cuidado: buscamos puntuación pequeña

Ejemplo de puntuación SP

s'_1= AATGCT

s'_2= A-TTC-

s'_3= ---TCC

Recordad:

$\delta(a,a)=0$, $\delta(a,b)=1$, si $a \neq b$ (incluyendo -)

$\delta_{SP}(s'_1,s'_2,s'_3) = (\delta(s'_1,s'_2) + \delta(s'_1,s'_3) + \delta(s'_2,s'_3))/3 = (3+5+3)/3 = 11/3 = 3,6$

Hoy veremos …

- Multialineamiento (MSA):
  - **Un problema NP-completo**
  - Algoritmo aproximado para Multialineamiento: el método de la estrella
  - Métodos usados en la práctica: CLUSTAL

MULTSPALIGN

- Dados s_1, …, s_k strings y δ una puntuación para alineamientos se trata de encontra el alineamiento múltiple que minimiza la puntuación SP

Cómo calcular el óptimo SP

- Se puede utilizar la programación dinámica con matrices k dimensionales M nxnx…xn
- $M(i_1, \ldots, i_k)$ es la puntuación del alineamiento óptimo múltiple entre

  $s_{1i} \ldots s_{1i_1}, \ldots, s_{k1} \ldots s_{kik}$
- El problema es que cada posición depende de al menos 2^k vecinos
- Se tarda tiempo $O(k^2\, 2^k\, n^k)$

Cómo calcular el óptimo SP

- Si k (el número de strings a alinear) es parte de la entrada la programación dinámica es muy lenta
- De hecho el problema es NP-completo …

- (recordad) Para NP-completos había que tomar versiones con sólo dos soluciones

DecMULTSPALIGN

- Dados $s_1, \ldots, s_k$ strings, δ una puntuación para alineamientos y d un entero positivo
- ¿Existe un alineamiento múltiple con puntuación menor o igual que d?

NP-completitud

- Vamos a ver que DecMULTSPALIGN es NP-completo comparándolo con otro problema conocido que sabemos que es NP-completo
- Se trata del problema de la supersecuencia común

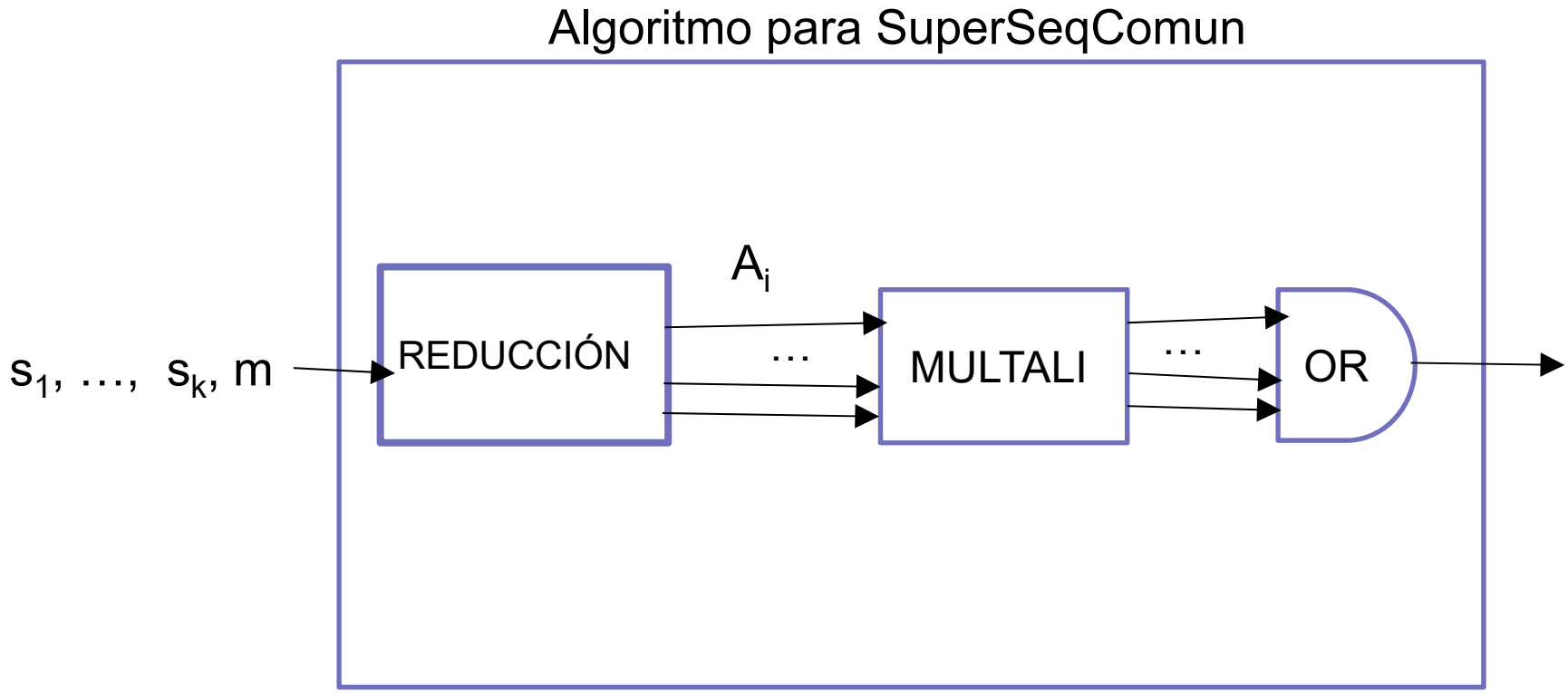
SuperSeqComun

- Dados $s_1, \ldots, s_k$ strings sobre {0,1}, m un entero
- ¿Existe un string t con |t|=m de forma que s_i es subsecuencia de t para todo i?

- Este problema es NP-completo (Middendorf 1994)

Demostración de NP-completitud

- Se trata de coger una entrada de SuperSeqComun $s_1, \ldots, s_k$, m y convertirla en m+1 entradas $A_0, \ldots, A_m$ de DecMULTSPALIGN
- $s_1, \ldots, s_k$, m tiene solución SÍ para SuperSeqComun si y sólo si **alguna** de las $A_0, \ldots, A_m$ **tiene solución SÍ** para DecMULTSPALIGN
- Así que un algoritmo eficiente para DecMULTSPALIGN nos daría un algoritmo eficiente para SuperSeqComun


Algoritmo para SuperSeqComun
$s_1, \ldots, s_k, m$
REDUCCIÓN
A_i
…
MULTALI
…
OR

Idea de la demostración

- Dados s_1, …, s_k strings sobre {0,1}, m un entero
- La entrada A_i será

Strings s_1, …, s_k , α_i, β_i con $\alpha_i = a^i$, $\beta_i = b^{m-i}$ (con a y b dos símbolos adicionales)

δ Puntuación que considera cerca a,0 y b,1

(ver tabla después)

$d=(k-1)\Sigma|s_j|+(k+1)m$

Idea de la demostración

- $s_1, \ldots, s_k$ tiene un superstring t de tamaño m

Si y sólo si para algún i

- Podemos alinear $s_1, \ldots, s_k$, a^i, b^{m-i} con puntuación <= d

Idea de la demostración

- Si tenemos un multialineamiento de s_1, …, s_k , α_i, β_i con puntuación <= d tenemos una supersecuencia de longitud m
- Si tenemos una supersecuencia de s_1, …, s_k de longitud m que tenga i ceros, entonces tenemos un multialineamiento de s_1, …, s_k , α_i, β_i con puntuación <= d

Idea de la demostración

- $s_1, \ldots, s_k$ tienen un superstring t de tamaño m

Si y sólo si para algún i

- podemos alinear $s_1, \ldots, s_k$, a^i, b^{m-i} con puntuación <= d

- La clave está en que δ está elegida para que si queremos conseguir la cota d
  - no podemos alinear a con b
  - no podemos alinear a con 1
  - no podemos alinear b con 0
  - la longitud del alineamiento es <= m

Idea de la demostración

δ	0	1	a	b	–
0	2	2	0	2	1
1	2	2	2	0	1
a	0	2	0	3	1
b	2	0	3	0	1
–	1	1	1	1	0

Detalles …

NP-completitud

- Tenemos que SuperSeqComun es NP-completo y que resolver SuperSeqComun se reduce a resolver m+1 entradas de DecMULTSPALIGN
- Luego DecMULTSPALIGN es NP-completo
- No podemos esperar tener algoritmos eficientes para el multialineamiento con puntuación SP …

Hoy veremos …

- Multialineamiento (MSA):
  - Un problema NP-completo
  - **Algoritmo aproximado para Multialineamiento: el método de la estrella**
  - Métodos usados en la práctica: CLUSTAL

¿Qué hacemos?

- No podemos esperar tener algoritmos eficientes para el multialineamiento con puntuación SP …
- Nos conformamos con aproximar el resultado

Aproximar el alineamiento múltiple

- Se trata de combinar un conjunto de alineamientos de pares de strings
- Para ello utilizaremos el método de la estrella: ponemos como centro de la estrella el string que mejor se alinee con todos los demás y vamos extendiendo el alineamiento hasta que incluya a todas …

MULTSPALIGN

- Dados s_1, …, s_k strings y δ una puntuación para alineamientos se trata de encontra el alineamiento múltiple que minimiza la puntuación SP

Combinamos alineamientos por parejas

- El método para conseguir un multialineamiento de $s_1, \ldots, s_k$ es el *método de estrella*
- Primero seleccionamos el *centro de la estrella* c como el string más cercano a todos los demás
- Luego combinamos el alineamiento de c con cada uno de los s_i en un multialineamiento

Alineamientos compatibles

- Sea S={s_1, …, s_k} y T un subconjunto de S
- Un multi-alineamiento de S y un multi-alineamiento de T son compatibles si quitando columnas del de S obtienes el de T

Ejemplo

- S={ ACGG, ATG, ATCGG}, T_1={ACGG, ATG}, T_2={ATG, ATCGG}

```
A-CGG  compatible con      ACGG
A--TG                      A-TG
ATCGG

A-CGG  no compatible con   AT-G-
A--TG                      ATCGG
ATCGG
```

Construir multi-alineamientos

- Dado un árbol de alineamientos por parejas, se pueden combinar en un multi-alineamiento
- Nosotros trataremos el caso de partir de una estrella que contiene alineamientos de cada string con el centro

Alineamiento en estrella

Algorithm 5.3 Star Alignment

Input: A set $S = \{s_1, \ldots, s_k\}$ of strings.

1. Compute the center c of the star:

   for $i := 1$ **to** k **do**

   for $j := i$ **to** k **do**

   Compute an optimal pairwise alignment of s_i and s_j and determine its score $sim(s_i, s_j)$.

   Define c as the string t minimizing the sum $\sum_{s \in S} sim(t, s)$.

   Define T to be the star with center c and leaves $S - \{c\}$.

2. Compute a compatible multiple alignment:

   for $i := 2$ **to** k **do**

   Compute a multiple alignment of c and $s_1, \ldots, s_i$ that is compatible with T from the already known compatible multiple alignment of c and $s_1, \ldots, s_{i-1}$ and the optimal pairwise alignment of c and s_i using the principle "Once a gap — always a gap".

Output: The computed multiple alignment of S, which is compatible with T.

Once a gap --- always a gap

- Insertamos el mínimo número de – posible que permita combinar dos alineamientos de c con otras secuencias
- Veamos un ejemplo …

Ejemplo

c'= ATG-CATT

s'_1= A-GTCAAT

s'_2= -TCTCA--

c''= A-TGC-ATT

s''_3= ACTGTAATT

c'''= A-TG-C-ATT

s'''_1= A--GTC-AAT

s'''_2= --TCTC-A--

s'''_3= ACTG-TAATT

No es óptimo, sería mejor s'''_3=ACTGT-AATT

(2-2/k)- aproximación

- Vamos a ver que el método de la estrella nos devuelve un multialineamiento que es como mucho (2-2/k) veces el óptimo
- Suponemos que la puntuación δ utilizada cumple
  - $\delta(a,a)=0$, $\delta(-,-)=0$
  - $\delta(a,c) \leq \delta(a,b)+ \delta(b,c)$
- Por ejemplo p(a,b)=1 si $a \neq b$, p(a,a)=0, g=1

Propiedad

- Dados $S=\{s_1, \ldots, s_k\}$

  sea $(s'_1,\ldots, s'_k)$ el multi-alineamiento del método estrella, sea $(s''_1,\ldots, s''_k)$ el multialineamiento óptimo, entonces

  $\delta_{SP}(s'_1,\ldots, s'_k) \leq (2\text{-}2/k)\, \delta_{SP}(s''_1,\ldots, s''_k)$

Demostración

- El centro de la estrella cumple

  $$\Sigma_i \, sim(c,s_i) = \min_t \Sigma_i \, sim(t,s_i)$$

  donde sim(x,y) es la puntuación del alineamiento óptimo del par x,y
- $M = \Sigma_i \, sim(c,s_i)$
- Suponemos que $c=s_k$

Demostración

$\delta_{SP}(s'_1, \ldots, s'_k) = \Sigma_{i=1}^{k} \Sigma_{r=i+1}^{k} \ \delta(s'_i, s'_r)$

$2\ \delta_{SP}(s'_1, \ldots, \ s'_k) = \Sigma_{i=1}^{k} \Sigma_{r=1}^{k} \ \delta(s'_i, s'_r) \leq$
$\Sigma_{i=1}^{k} \Sigma_{r=1}^{k} \ \delta(s'_i,c') + \delta\ (c',s'_r) =$

(ya que (s'_i,c') es óptimo para (s_i,c))
$\Sigma_{i=1}^{k-1} \Sigma_{r=1}^{k-1}$ $sim(s_i,c) + sim(c,s_r) =$
$2(k-1)\ \Sigma_{i=1}^{k}$ $sim(s_i, c) = 2(k-1)\ M$

Demostración

$$\delta_{SP}(s''_1, \ldots, s''_k) = \sum_{i=1}^{k} \sum_{r=i+1}^{k} \delta(s''_i, s''_r)$$

$$2\ \delta_{SP}(s''_1, \ldots, s''_k) = \sum_{i=1}^{k} \sum_{r=1}^{k} \delta(s''_i, s''_r) \geq$$

$$\sum_{i=1}^{k} \sum_{r=1}^{k} sim(s_i, s_r) \geq$$

$$k \sum_{i=1}^{k} sim(s_i, c) = k\ M$$

Demostración

$2\ \delta_{SP}(s'_1, \ldots, s'_k) \leq 2(k-1)\ M$

$2\ \delta_{SP}(s''_1, \ldots, s''_k) \geq k\ M$

Luego

$\delta_{SP}(s'_1, \ldots, s'_k) \leq (2-2/k)\ \delta_{SP}(s''_1, \ldots, s''_k)$

Conclusión

- El método de la estrella da un multialineamiento de coste de algo menos que el doble del óptimo
- También se puede usar el mismo método con puntuación por consenso

Hoy veremos …

- Multialineamiento (MSA):
  - Un problema NP-completo
  - Algoritmo aproximado para Multialineamiento: el método de la estrella
  - **Métodos usados en la práctica: CLUSTAL**

MSA en la práctica: heurísticas

- Muchos métodos:
  - Clustal (ClustalW, ClustalX, Clustal Omega, etc.)
  - T-Coffee
  - MAFFT
  - MUSCLE
  - ...
- Vamos a estudiar las ideas principales de Clustal

Clustal

- Primero se propuso por Giggins y Sharp en 1988
- La versión popular ClustalW (Clustal **w**eighted) fue propuesta por Thompson et al en 1994
- Pasos principales:
  - Calcular la matriz de las distancias entre cada par de secuencias
  - Construir un árbol que captura la relación entre las secuencias según la matriz de distancia
  - Progresivamente alinear las secuencias según el árbol

Matriz de distancias

- matriz de distancias: una distancia entre cada par de secuencias
- Digamos que utilizamos programación dinámica para conseguir un alineam. óptimo y la distancia = longitud del alineam. - puntuación del alineam.
  - no tenemos todavía el MSA …

r_1 : ACGGCT
r_2 : GCGGTT
r_3 : TGGGT
r_4 : TCGGT

	r_1	r_2	r_3	r_4
r_1	0	4	6	4
r_2	4	0	6	4
r_3	6	6	0	2
r_4	4	4	2	0

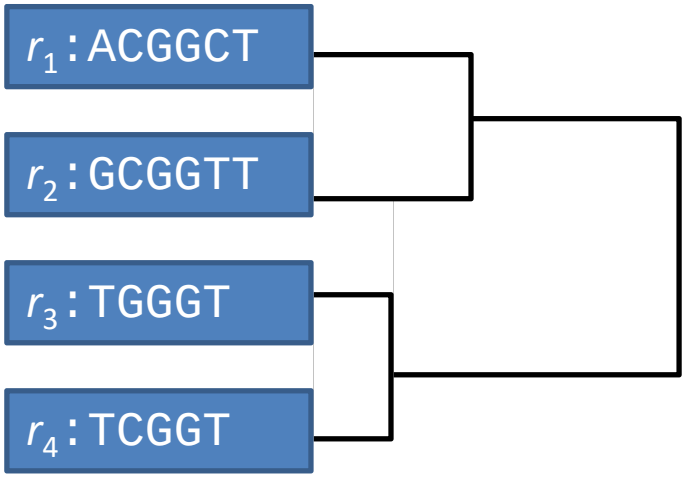
De matriz de distancia a árbol

- Árbol: las secuencias cercanas se colocan cerca en el árbol, la distancia en el árbol se corresponde a la distancia de la matriz
- Definir un árbol (una forma posible): agrupar repetidamente las dos secuencias más cercanas entre sí (clustering jerárquico)
  - Veremos más sobre filogenética …

De matriz de distancia a árbol

- Un árbol posible:

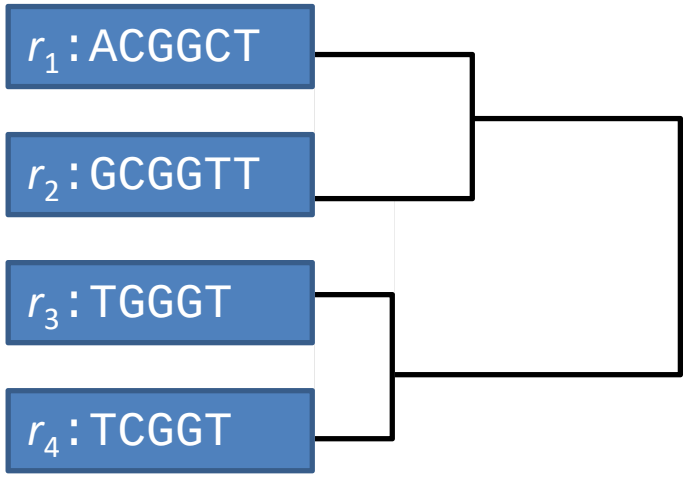
r_1 : ACGGCT
r_2 : GCGGTT
r_3 : TGGGT
r_4 : TCGGT



	r_1	r_2	r_3	r_4
r_1	0	4	6	4
r_2	4	0	6	4
r_3	6	6	0	2
r_4	4	4	2	0

De árbol a MSA

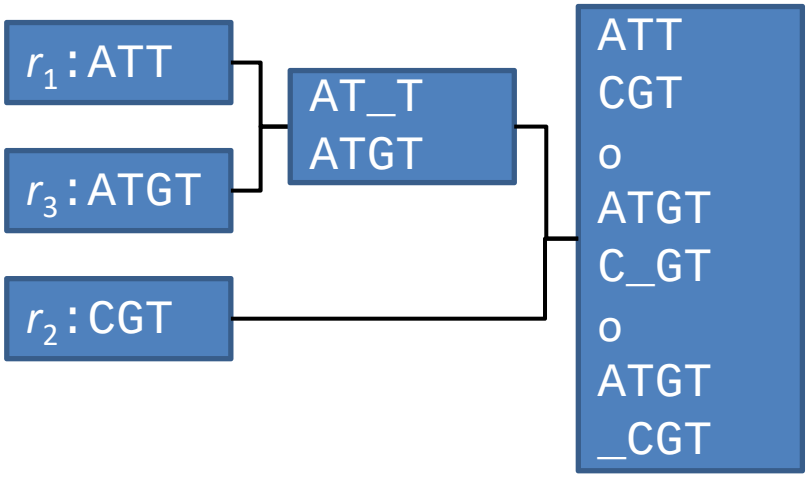
- Orden del alineam.:
  1. r_3 vs. r_4
  2. r_1 vs. r_2
  3. (r_1, r_2) vs. (r_3, r_4)
     - Puedo alinear la sec. de consenso entre r_1 y r_2 con la sec. de consenso entre r_3 y r_4
     - (hay alternativas)



Un ejemplo completo

- r_1 = ATT, r_2 = CGT, r_3 = ATGT
- Coincid.: 1; difer.: -1; indel: -2
- Mejor alineam. entre r_1 y r_2:
  ATT
  CGT
  (puntuac. = -1, distancia = 4)
- Mejor alineam. entre r_1 y r_3:
  AT_T
  ATGT
  (puntuac. = 1, distancia = 3)
- Mejores alineams. entre r_2 y r_3:
  C_GT _CGT
  ATGT y ATGT
  (puntuac. = -1, distancia = 5)
- Consenso entre r_1 y r_3:
  r_{13} = ATT o ATGT
- Mejores alineamientos entre r_{13} y r_2:
  ATT ATGT ATGT
  CGT ó C_GT ó _CGT
  (para ATT) (para ATGT)

Árbol resultante:



MSAs:

AT_T	AT_T	AT_T
CG_T	C_GT	_CGT
ATGT ó	ATGT ó	ATGT

Posible trabajo

- Investigar MAFFT

Resumen

- Necesitamos métodos heurísticos de alineam. debido a que la programación dinámica es inviable para secuencias muy largas y / o muchas secuencias
- Para alineamiento de pares, FASTA y BLAST primero encuentran alineam. locales, a continuación, los extienden / combinan
  - Se puede evaluar la significancia estadística de los resultados
- Para MSA, una heurística es llevar a cabo una serie de alineamientos por pares, de forma voraz