Сборка и аннотирование геномов

Антон Александров

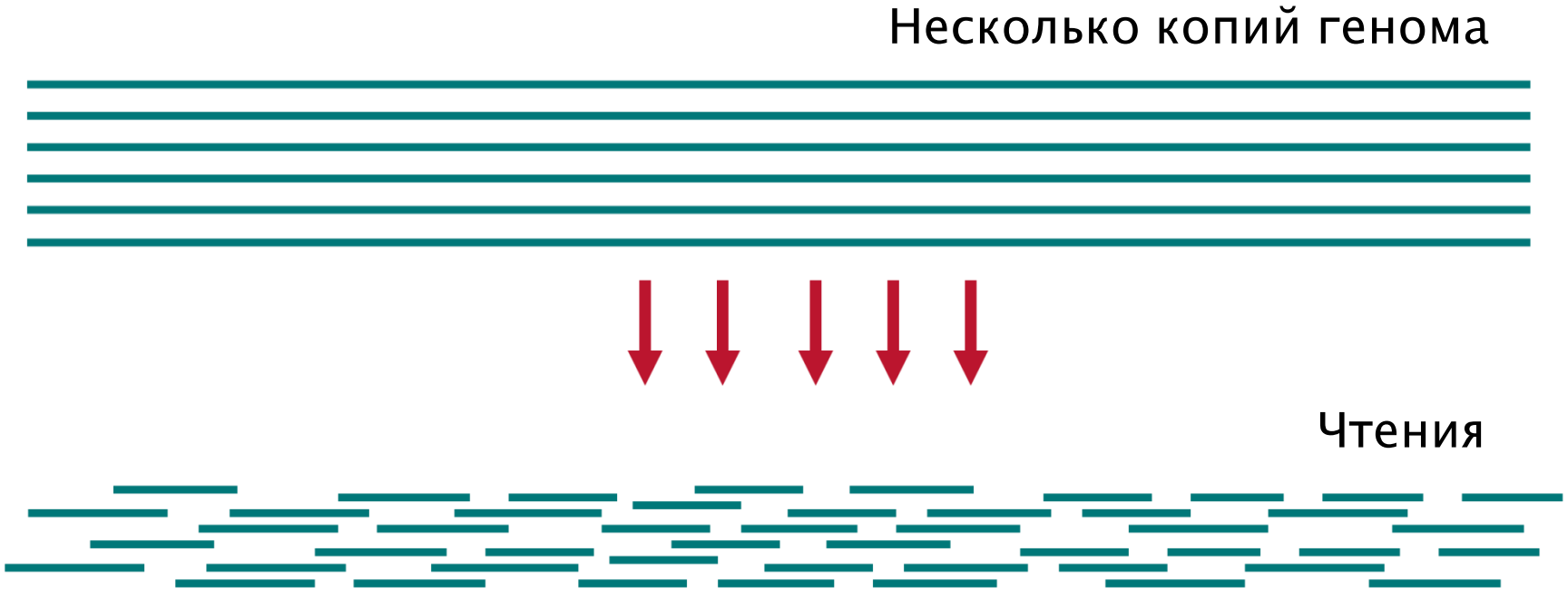
Практическая школа по биоинформатике

МНЛ «Компьютерные технологии»

19.02.2014

Входные данные

- Чтения (возможно, парные):
  - fastq
  - sff



Выходные данные

- Контиги или скэффолды
  - fasta
- Аннотированные контиги
  - Список генов
  - Филогенетические данные

ITMO assembler

- http://genome.ifmo.ru/assembler
- Консольная версия
  - Больше параметров
- Графическая версия
- Парные чтения
- Секвенатор-Который-Нельзя-Называть
- Ion Torrent
- Java => кроссплатформенность

ITMO assembler. Базовые параметры

- ./itmo-assembler.sh –h
- -a – длина якоря (по умолчанию: 19)
- -k – длина k-мера (по умолчанию: 19)
- -i – входные файлы
- -w – рабочая директория (по умолчанию: workDir)
- -l, -L – минимальный и максимальный размеры инсерта (по умолчанию: 0, 1000)

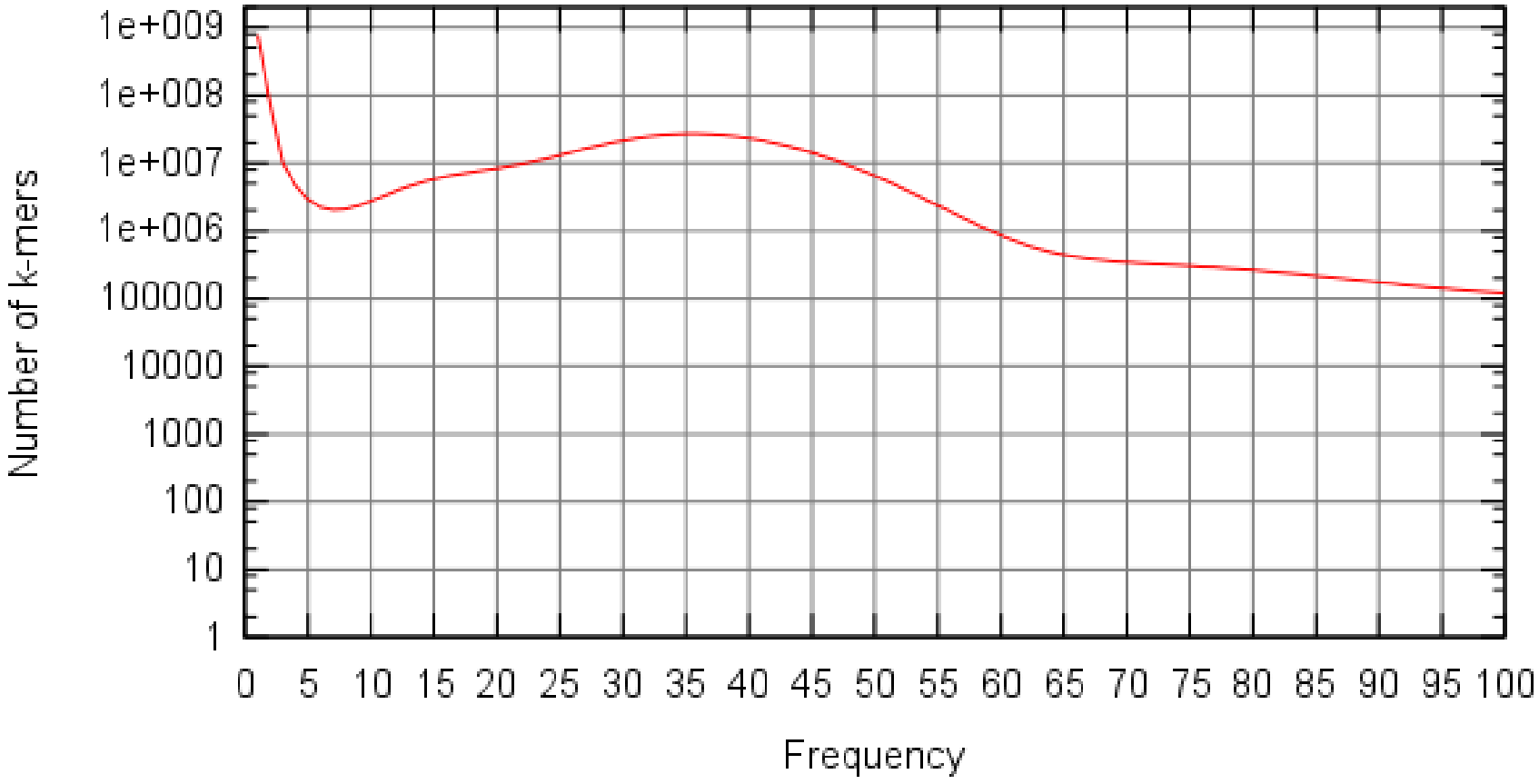
Давайте запустим сборщик

- `./itmo-assembler.sh -i work/buchnera*fastq -w work/assembly`

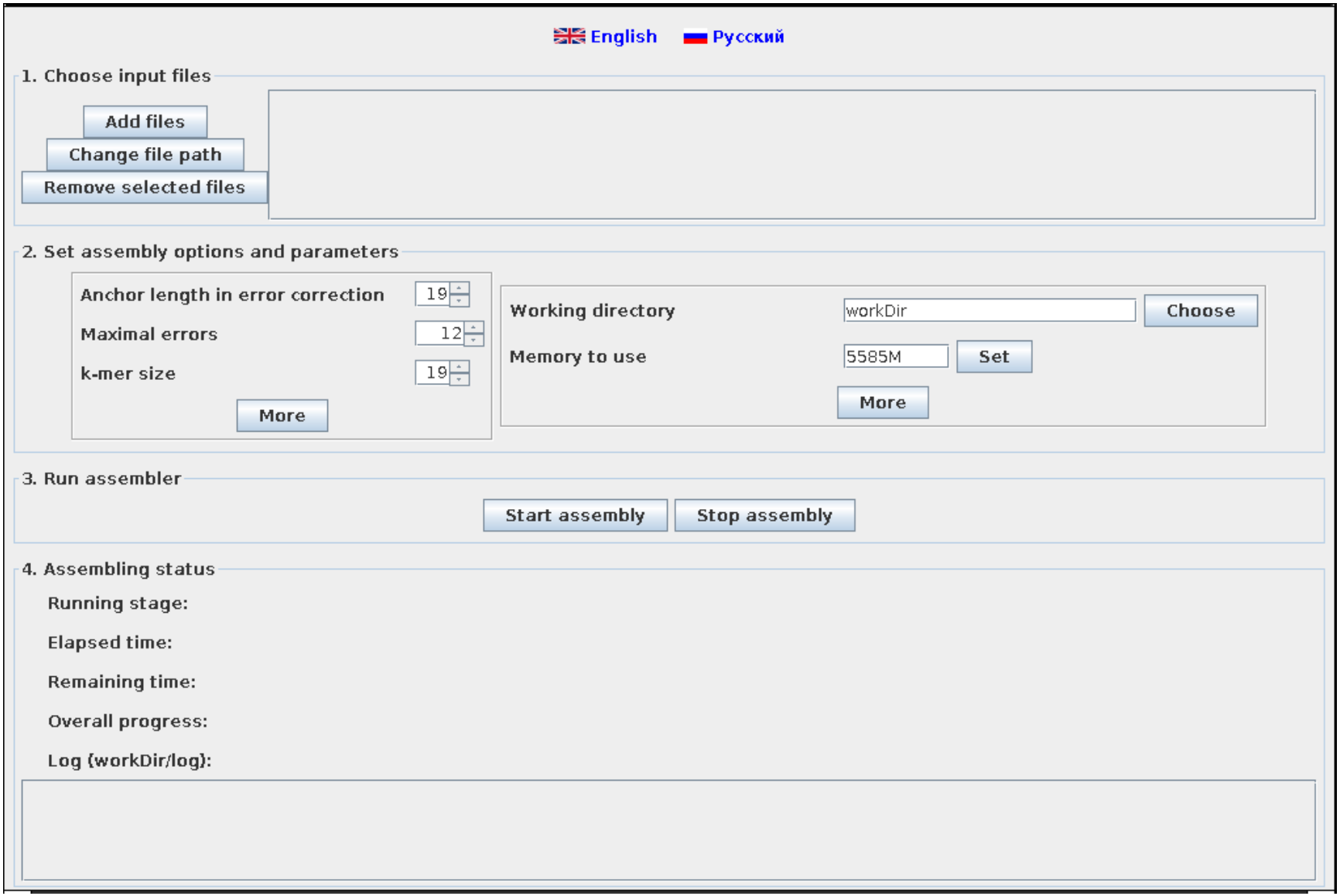
ITMO assembler. Дополнительные параметры

- -M – запустить микросборку (сложно)
- --orientations – список взаимных ориентаций парных чтений ([FR]) через пробел
- -b – максимальная частота ошибочного k-мера
- -u – порог качества для обрезания концов чтений
- -g – порог минимальная частота k-мера, используемого в сборке квазиконтигов
- -p – максимальное число потоков выполнения
- -m – максимальное количество используемой памяти (должен быть 1-ым параметром)

ITMO assembler. Распределение частот k-меров



ITMO assembler



mira-assembler

- Другой сборщик
- Manifest-file
  - parameter = value
  - # comment
- Linux, MacOS

mira-assembler. Общие параметры сборки

- project = <project name>
- job =
  - **genome**/est
  - **denovo**/mapping
  - **accurate**/draft
- parameters =
  - -NW:somrnl=0
  - -GE:not=3

mira-assembler. Параметры библиотеки

- readgroup = id
- data = file1.fastq file2.fastq
- technology =
  - iontor
  - 454
  - solexa
  - sanger

mira-assembler. Параметры библиотеки

- template_size = min max exclusion_criterion autorefine
- segment_placing = ---> <---
- *autopairing*

Давайте запустим mira-assembler

- Создадим директорию work/mira_assembly
- Поместим в нее файл manifest
- Перейдем в нее
- Запустим mira manifest

Другие сборщики

- SPAdes
  - http://bioinf.spbau.ru/spades
- CLC-bio
  - http://www.clcbio.com/
- ABySS
  - http://www.bcgsc.ca/platform/bioinfo/software/abyss

Что делать с контигами?

- Оценка качества
- Аннотирование

Оценка качества. Quast

- http://quast.bioinf.spbau.ru
- quast.py –o dir –R /data/buchnera.fasta /data/buchnera_contigs.fasta
- nano dir/report.txt

Оценка качества. Quast.

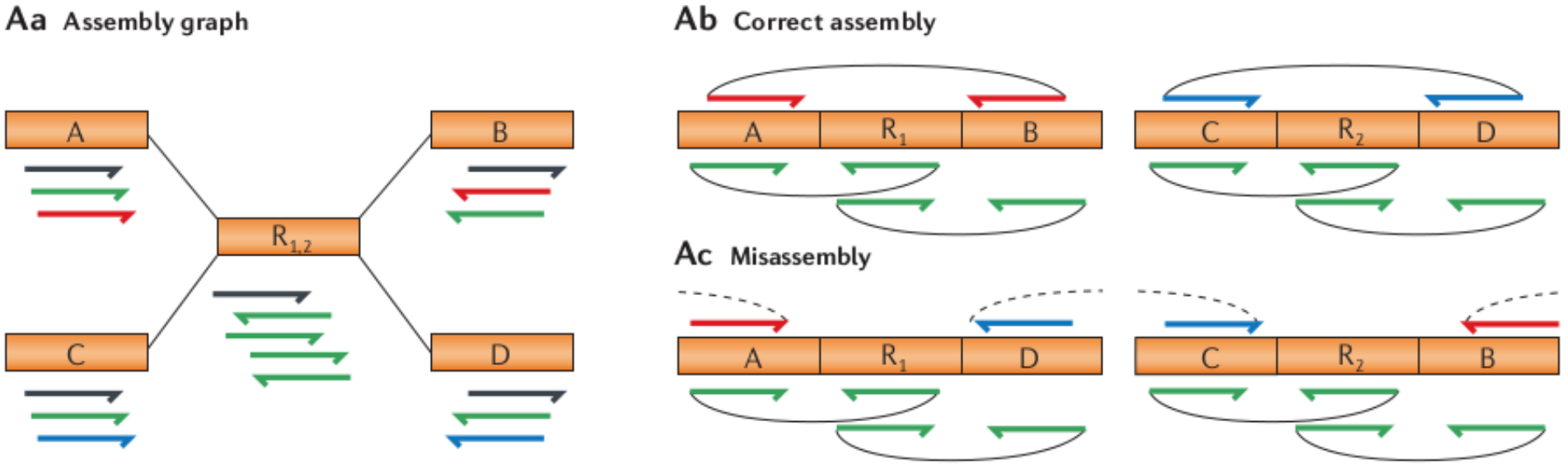
- N50
- Maximal contig length
- # misassemblies
- Mismatches per 100kbp
- Indels per 100kbp
- Unaligned contigs
- Genome fraction

Оценка качества. N50

- N«число» (NG«число») – такая длина контига, что контиги длины не меньше её составляют не меньше «число»% сборки (генома)

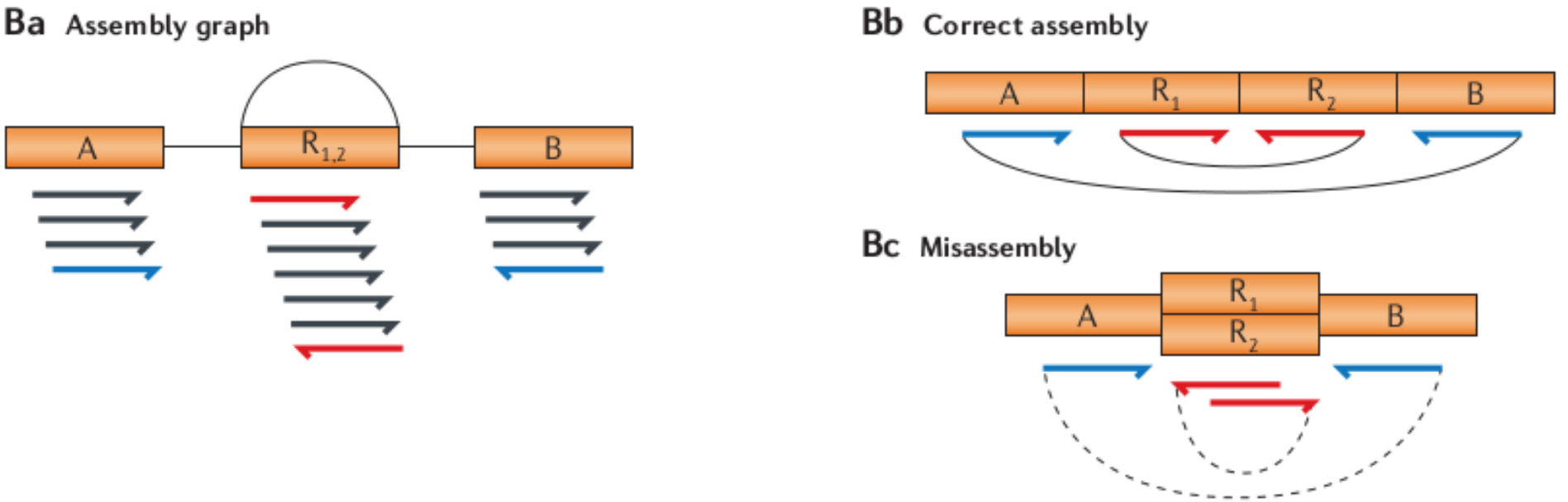
Оценка качества. Misassemblies

- Нарушение парности чтений


Aa Assembly graph
A
B
C
D
$R_{1,2}$
Ab Correct assembly
A
R_1
B
C
R_2
D
Ac Misassembly
A
R_1
D
C
R_2
B

Оценка качества. Misassemblies

- Нарушение ограничений на длину инсерта


Ba Assembly graph
A
R1,2
B
Bb Correct assembly
A
R1
R2
B
Bc Misassembly
A
R1
R2
B

Аннотирование

- myRAST
- Входные данные – fasta-файл с контигами

Аннотирование. myRAST