



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

TRABAJO FIN DE GRADO
GRADO DE INGENIERÍA EN INFORMÁTICA

Machine Learning para co- rrección de errores en da- tos de secuenciación de ADN

Autor

Amin Kasrou Aouam

Directores

Carlos Cano Gutiérrez

María Soledad Benítez Cantos



FACULTAD DE EDUCACIÓN, TECNOLOGÍA Y ECONOMÍA DE CEUTA

—
Ceuta, Julio de 2021

Índice general

Índice de cuadros	II	
Índice de figuras	III	
1	Resumen	1
2	Abstract	2
3	Introducción	3
3.1	Secuenciación de ADN	4
3.2	Técnicas de secuenciación de alto rendimiento	4
3.3	Limitaciones de los métodos paralelos	5
3.4	Variedad genética en el sistema inmunitario	6
3.5	Inteligencia artificial	7
3.6	Redes neuronales artificiales	9
3.7	Hacia el Deep Learning	12
3.8	Bioinformática	13
4	Estado del arte	15
4.1	Bioinformática	15
4.2	Deep Learning	15
5	Objetivos	16
6	Métodos	17
6.1	Tecnologías	17
6.2	Pipeline	17
6.3	Reproducibilidad	17
7	Resultados	18
8	Conclusiones	19
9	Futuras mejoras	20
	Bibliografía	21

Índice de cuadros

3.1 Problemas clásicos de la bioinformática	13
---	----

Índice de figuras

3.1	Dogma central de la biología molecular	3
3.2	Alineamiento múltiple de secuencias. La secuencia de consenso aparece en la parte inferior y está formada por los nucleótidos con más ocurrencias en cada posición. [12]	6
3.3	Generación de diversidad en el TCR $\alpha \beta$. Durante el desarrollo de los linfocitos T se reordenan los segmentos génicos V (rosa), D (naranja) y J (verde) a través del proceso de recombinación V(D)J. Durante este proceso se pueden añadir o eliminar nucleótidos en la unión de los segmentos (rojo), contribuyendo a la diversidad de la secuencia. Se señalan las 3 regiones CDR, estando CDR ₃ localizada en la unión V(D)J. [16]	7
3.4	Diagrama de una neurona artificial [20]	9
3.5	Estructura de una red neuronal artificial [20]	10
3.6	Diagrama del algoritmo de <i>gradient descent</i> . Comenzando en el punto inicial w^0 hacemos nuestra primera aproximación a $g(w)$ en el punto $(w^0, g(w^0))$ en la función (mostrada como un punto negro hueco) con la aproximación en serie de Taylor de primer orden dibujada en rojo. Moviéndonos en la dirección de descenso del gradiente negativo proporcionada por esta aproximación llegamos a un punto $w^1 = w^0 - \alpha \frac{d}{dw} g(w^0)$. A continuación, repetimos este proceso en w^1 , moviéndonos en la dirección del gradiente negativo allí, y así sucesivamente. [24]	11
3.7	Diferencia entre inteligencia artificial, <i>machine learning</i> y <i>deep learning</i>	12

1 Resumen

Las nuevas técnicas de secuenciación de ADN (NGS) han revolucionado la investigación en genómica. Estas tecnologías se basan en la secuenciación de millones de fragmentos de ADN en paralelo, cuya reconstrucción se basa en técnicas de bioinformática. Aunque estas técnicas se apliquen de forma habitual, presentan tasas de error significativas que son perjudiciales para el análisis de regiones con alto grado de polimorfismo. En este estudio se implementa un nuevo método computacional, locimend, basado en *Deep Learning* para la corrección de errores de secuenciación de ADN. Se aplica al análisis de la región determinante de complementariedad 3 (CDR3) del receptor de linfocitos T (TCR), generada *in silico* y posteriormente sometida a un simulador de secuenciación con el fin de producir errores de secuenciación. Empleando estos datos, entrenamos una red neuronal convolucional (CNN) con el objetivo de generar un modelo computacional que permita la detección y corrección de los errores de secuenciación.

Palabras clave: deep learning, corrección de errores, receptor de linfocitos T, secuenciación de ADN, inmunología

2 Abstract

Next generation sequencing (NGS) have revolutionised genomic research. These technologies perform sequencing of millions of fragments of DNA in parallel, which are pieced together using bioinformatics analyses. Although these techniques are commonly applied, they have non-negligible error rates that are detrimental to the analysis of regions with a high degree of polymorphism. In this study we propose a novel computational method, locimend, based on a *Deep Learning* algorithm for DNA sequencing error correction. It is applied to the analysis of the complementarity determining region 3 (CDR3) of the T-cell receptor (TCR), generated in silico and subsequently subjected to a sequencing simulator in order to produce sequencing errors. Using these data, we trained a convolutional neural network (CNN) with the aim of generating a computational model that allows the detection and correction of sequencing errors.

Keywords: deep learning, error correction, DNA sequencing, T-cell receptor, immunology

3 Introducción

El ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN) son los repositorios moleculares de la información genética. La estructura de cada proteína, y en última instancia de cada biomolécula y componente celular, es producto de la información programada en la secuencia de nucleótidos de una célula. La capacidad de almacenar y transmitir la información genética de una generación a otra es una condición fundamental para la vida. Un segmento de una molécula de ADN que contiene la información necesaria para la síntesis de un producto biológico funcional, ya sea una proteína o un ARN, se denomina gen. El almacenamiento y la transmisión de información biológica son las únicas funciones conocidas del ADN. [1]

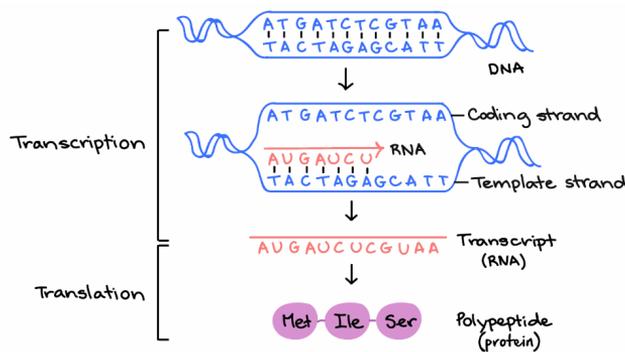


Figura 3.1: Dogma central de la biología molecular

Hay muy pocos principios firmes en biología. A menudo se dice, de una forma u otra, que la única regla real es que no hay reglas, es decir, que se pueden encontrar excepciones a cada principio fundamental si se busca lo suficiente. El principio conocido como el Dogma central de la biología molecular parece ser una excepción a esta regla de excepción ubicua. [2] El dogma central de la biología molecular establece que una vez que la información ha pasado a proteína no puede volver a salir; i.e. la transferencia de información de ácido nucleico a ácido nucleico, o de ácido nucleico a proteína puede ser posible, pero la transferencia de proteína a proteína, o de proteína a ácido nucleico es imposible. [3]

Por lo tanto, si elucidamos la información contenida en el ADN, obtenemos información sobre las biomoléculas que realizan las diferentes tareas fisiológicas y metabólica (e.g. ARN, proteínas).

3.1. Secuenciación de ADN

La secuenciación de ADN es el proceso mediante el cual se determina el orden de los nucleótidos en una secuencia de ADN. En los años 70, Sanger et al. desarrollaron métodos para secuenciar el ADN mediante técnicas de terminación de cadena. [4] Este avance revolucionó la biología, proporcionando las herramientas necesarias para descifrar genes, y posteriormente, genomas completos. La demanda creciente de un mayor rendimiento llevó a la automatización y paralelización de las tareas de secuenciación. Gracias a estos avances, la técnica de Sanger permitió determinar la primera secuencia del genoma humano en 2004 (Proyecto Genoma Humano). [5]

Sin embargo, el Proyecto Genoma Humano requirió una gran cantidad de tiempo y recursos, y era evidente que se necesitaban tecnologías más rápidas, de mayor rendimiento y más baratas. Por esta razón, en el mismo año (2004) el *National Human Genome Research Institute* (NHGRI) puso en marcha un programa de financiación con el objetivo de reducir el coste de la secuenciación del genoma humano a 1000 dólares en diez años. [6] Esto estimuló el desarrollo y la comercialización de las tecnologías de secuenciación de alto rendimiento o *Next-Generation Sequencing* (NGS), en contraposición con el método automatizado de Sanger, que se considera una tecnología de primera generación.

3.2. Técnicas de secuenciación de alto rendimiento

Estos nuevos métodos de secuenciación proporcionan tres mejoras importantes: en primer lugar, en lugar de requerir la clonación bacteriana de los fragmentos de ADN, se basan en la preparación de bibliotecas de moléculas en un sistema sin células. En segundo lugar, en lugar de cientos, se producen en paralelo de miles a muchos millones de reacciones de secuenciación. Finalmente, estos resultados de secuenciación se detectan directamente sin necesidad de electroforesis. [7]

Actualmente, se encuentran en desarrollo las tecnologías de tercera generación de secuenciación (Third-Generation Sequencing). Existe un debate considerable sobre la diferencia entre la segunda y tercera generación de secuenciación, la secuenciación en tiempo real y la divergencia simple con respecto a las tecnologías anteriores deberían ser las características definitorias de la tercera generación. Aquí consideramos que las tecnologías de tercera generación son aquellas capaces de secuenciar moléculas individuales, negando el requisito de amplificación del ADN que comparten todas las tecnologías anteriores. [8]

Estas nuevas técnicas han demostrado su valor, con avances que han permitido secuenciar el genoma humano completo, incluyendo las secuencias repetitivas (de telómero a telómero). Combinando los aspectos complementarios de las tecnologías Oxford Nanopore y PacBio HiFi, 2111 nuevos genes, de los cuales 140 son codificantes, fueron descubiertos en el genoma humano. [9]

3.3. Limitaciones de los métodos paralelos

Aunque las tecnologías de secuenciación paralelas (NGS) han revolucionado el estudio de la variedad genómica entre especies y organismos individuales, la mayoría tiene una capacidad limitada para detectar mutaciones con baja frecuencia. Este tipo de análisis es esencial para detectar mutaciones en oncogenes (genes responsables de la transformación de una célula normal a maligna), pero se ve restringido por una tasa de errores de secuenciación no despreciables. En 2011, la tasa de errores por sustitución (intercambio de un nucleótido por otro) era $> 0.1\%$, y era similar en estudios posteriores. [10]

Para contrarrestar este obstáculo, varias técnicas mitigatorias se han puesto en marcha. Una de las más populares es el uso de una secuencia de consenso, que es un perfil estadístico a partir de un alineamiento múltiple de secuencias. Es una forma básica de descubrimiento de patrones, en la que un alineamiento múltiple de secuencias más amplio se resume en las características que se conservan. Este tipo de análisis permite determinar la probabilidad de cada base en cada posición de una secuencia. [11]

Todas las técnicas de consenso monocatenarias reducen los errores en dos o tres órdenes de magnitud, lo que es mucho mayor que cualquier enfoque computacional o bioquímico anterior, y permiten iden-

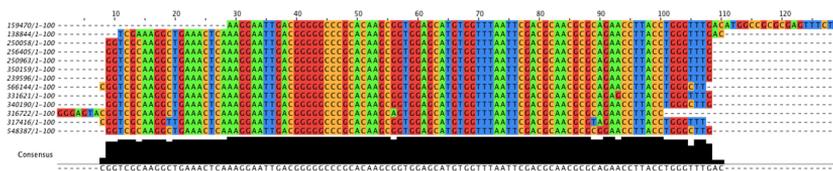


Figura 3.2: Alineamiento múltiple de secuencias. La secuencia de consenso aparece en la parte inferior y está formada por los nucleótidos con más ocurrencias en cada posición. [12]

ificar con precisión variantes raras por debajo del 0.1 % de abundancia. Sin embargo, persisten algunos errores. Los errores que se producen durante la primera ronda de amplificación pueden propagarse a todas las demás copias escapando la corrección. [13]

Este problema se agrava en el análisis de repertorios inmunológicos, debido a nuestra limitada capacidad para distinguir entre la verdadera diversidad de los receptores de los linfocitos T (TCR) e inmunoglobulinas (IG) de los errores de PCR y secuenciación que son inherentes al análisis del repertorio. Los clonotipos resultantes pueden tener concentraciones drásticamente diferentes, lo que hace que los clonotipos menores sean indistinguibles de las variantes erróneas. [14]

3.4. Variedad genética en el sistema inmunitario

La capacidad del sistema inmunitario adaptativo para responder a cualquiera de los numerosos antígenos extraños potenciales a los que puede estar expuesta una persona depende de los receptores altamente polimórficos expresados por las células B (inmunoglobulinas) y las células T (receptores de células T [TCR]). La especificidad de las células T viene determinada principalmente por la secuencia de aminoácidos codificada en los bucles de la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). [15]

En el timo, durante el desarrollo de los linfocitos T, se selecciona al azar un segmento de cada familia mediante un proceso conocido como recombinación somática o recombinación V(D)J, de modo que se eliminan del genoma del linfocito los no seleccionados y los segmentos V(D)J escogidos quedan contiguos, determinando la secuencia de las subunidades del TCR y, por tanto, la especificidad de antígeno de la célula T. La selección aleatoria de segmentos junto con la introducción o

pérdida de nucleótidos en sus uniones son los responsables directos de la variabilidad de TCR, cuya estimación es del orden de 10^{15} posibles especies distintas o clonotipos. [16]

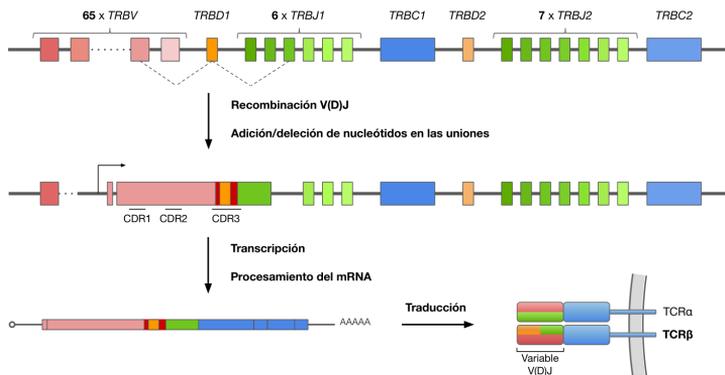


Figura 3.3: Generación de diversidad en el TCR α β . Durante el desarrollo de los linfocitos T se reordenan los segmentos génicos V (rosa), D (naranja) y J (verde) a través del proceso de recombinación V(D)J. Durante este proceso se pueden añadir o eliminar nucleótidos en la unión de los segmentos (rojo), contribuyendo a la diversidad de la secuencia. Se señalan las 3 regiones CDR, estando CDR3 localizada en la unión V(D)J. [16]

Debido a la diversidad de uniones, las moléculas de anticuerpos y TCR muestran la mayor variabilidad, que forman la región determinante de la complementariedad 3 (CDR3). De hecho, debido a la diversidad de uniones, el número de secuencias de aminoácidos que están presentes en las regiones CDR3 de las de las moléculas de Ig y TCR es mucho mayor que el número que pueden ser codificadas por segmentos de genes de la línea germinal. [17]

Frente a la evidencia recaudada, diversos métodos computacionales basados en la inteligencia artificial se aplican para aliviar estos impedimentos.

3.5. Inteligencia artificial

La inteligencia artificial (IA) es uno de los campos más nuevos de la ciencia y la ingeniería. La investigación empezó después de la Segunda Guerra Mundial, y el término se acuñó en 1956, en la conferencia

de Dartmouth College. La definición de inteligencia artificial sigue generando debate a día de hoy, por ende acotaremos la definición de inteligencia artificial al estudio de los agentes inteligentes. [18]

Un agente es cualquier elemento capaz de percibir su entorno mediante sensores y actuar en consecuencia en ese entorno mediante actuadores. Un agente inteligente es aquel que actúa para conseguir el mejor resultado o, cuando hay incertidumbre, el mejor resultado esperado. En términos matemáticos, formulamos que el comportamiento de un agente se describe por la función de agente que asigna a cualquier entrada una acción. [18]

3.5.1. Historia inicial de la inteligencia artificial

Los comienzos de la inteligencia artificial (1956-1969) se caracterizan por un entusiasmo y optimismo generalizado. Los rápidos avances en *hardware*, junto con el desarrollo de sistemas que redefinían las posibilidades de los ordenadores excedían las expectativas de los especialistas. [18] La atmósfera frenética, durante este periodo, se puede recapitular a partir de de la propuesta de la conferencia de Dartmouth:

El estudio se basa en la conjetura de que cada aspecto del aprendizaje o cualquier otro rasgo de la inteligencia puede ser, en principio, precisamente descifrado. Se intentará encontrar un método para hacer que las máquinas utilicen el lenguaje, formen abstracciones y conceptos, resuelvan problemas que ahora están reservados a los humanos, y que se mejoren a sí mismas. [19]

A finales de los años 1960, los investigadores se toparon con numerosos obstáculos al tratar de usar sus sistemas para resolver problemas más complejos. Debido a una carencia de resultados decisivos, la financiación en este ámbito académico fue cancelada. [18]

Los sistemas de conocimiento (década de 1970) aprovecharon conocimiento específico de una rama para escalar los sistemas inteligentes, intercambiando sistemas generales con bajo rendimiento por sistemas específicos al problema con mejor rendimiento. Estos sistemas novedosos se empezaron a comercializar en los años 80, creando la industria de la IA. [18]

3.6. Redes neuronales artificiales

Una red neuronal artificial es un modelo de computación bioinspirado, formado por capas de neuronas artificiales. Comenzaremos definiendo el concepto de neurona artificial, con el fin de introducir la noción de red neuronal artificial de forma clara y concisa.

Una neurona artificial es un modelo de una neurona biológica, cada neurona recibe un conjunto de señales y, al dispararse, transmite una señal a las neuronas interconectadas. Las entradas (*inputs*) se inhiben o amplifican mediante unos pesos numéricos asociados a cada conexión. El disparo, i.e. activación, se controla a través de la función de activación. La neurona recoge todas las señales entrantes y calcula una señal de entrada neta en función de los pesos respectivos. La señal de entrada neta sirve de entrada a la función de activación que calcula la señal de salida. [20]

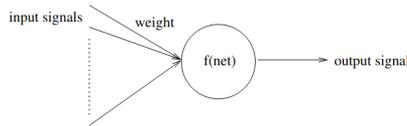


Figura 3.4: Diagrama de una neurona artificial [20]

El proceso de activación se puede expresar como un modelo matemático:

$$y = f \left(\sum_{i=0}^n w_i x_i - T \right) \quad (3.1)$$

donde y es la salida del nodo, f es la función de activación, w_i es el peso de la entrada x_i , y T es el valor del umbral. [21]

Una red neuronal artificial (ANN) es una red de capas de neuronas artificiales. Una ANN está formada por una capa de entrada, capas ocultas y una capa de salida. Las neuronas de una capa están conectadas, total o parcialmente, a las neuronas de la capa siguiente. También son posibles las conexiones de retroalimentación con las capas anteriores. [20] La estructura típica de una ANN es la siguiente:

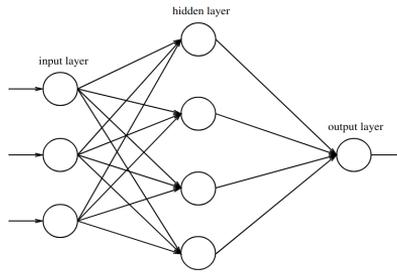


Figura 3.5: Estructura de una red neuronal artificial [20]

Los principios básicos de las redes neuronales artificiales fueron formulados por primera vez en 1943, y el perceptrón, que históricamente es posiblemente la primera neurona artificial, se propuso en 1958. [22] Sin embargo, estos modelos no fueron populares hasta mediados de la década de 1980, cuando se reinventó el algoritmo de *back-propagation*. [18]

3.6.1. Back propagation

El algoritmo de *back propagation* (BP) permite establecer los pesos y, por tanto, entrenar los perceptrones multicapa. Esto abrió el camino para el uso de las redes neuronales multicapa. La disponibilidad de un método riguroso para fijar los pesos intermedios, i.e. para entrenar las capas ocultas, impulsó el desarrollo de las ANN, superando las deficiencias de la capa única propuesta por Minsky. [22] Los autores de la publicación original que describió este algoritmo sintetizan su funcionamiento a alto nivel:

Este algoritmo ajusta iterativamente los pesos de cada conexión, con el objetivo de minimizar la función de pérdida (i.e. obtener la menor diferencia entre la salida de la ANN y el valor esperado). Como resultado de ello, las capas ocultas llegan a representar características importantes del dominio del problema, y las regularidades de la tarea son captadas por las interacciones de estas unidades. La capacidad de crear nuevas características útiles distingue a la retropropagación de otros métodos anteriores más sencillos, como el procedimiento de convergencia del perceptrón. [23]

Asimismo el algoritmo de *back propagation* es un enfoque para calcular los gradientes de forma algorítmica, que es especialmente eficaz para los modelos que emplean redes neuronales multicapa. [24] Procedemos a la exposición del algoritmo de optimización más usado con la *back propagation*, el *gradient descent*.

3.6.2. Gradient descent

El *gradient descent* es una forma de minimizar una función objetivo parametrizada por los parámetros de un modelo (e.g. pesos de una neurona artificial) mediante la actualización de los parámetros en la dirección opuesta al gradiente de la función objetivo con respecto a los parámetros, i.e. seguimos la dirección de la pendiente de la superficie creada por la función objetivo cuesta abajo hasta llegar a un mínimo local o global. [25]

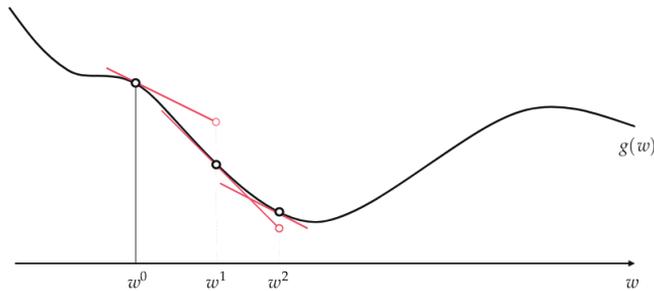


Figura 3.6: Diagrama del algoritmo de *gradient descent*. Comenzando en el punto inicial w^0 hacemos nuestra primera aproximación a $g(w)$ en el punto $(w^0, g(w^0))$ en la función (mostrada como un punto negro hueco) con la aproximación en serie de Taylor de primer orden dibujada en rojo. Moviéndonos en la dirección de descenso del gradiente negativo proporcionada por esta aproximación llegamos a un punto $w^1 = w^0 - \alpha \frac{d}{dw} g(w^0)$. A continuación, repetimos este proceso en w^1 , moviéndonos en la dirección del gradiente negativo allí, y así sucesivamente. [24]

Esta secuencia de pasos se puede formular, de forma matemática:

$$w^k = w^{k-1} - \alpha \nabla g(w^{k-1}) \quad (3.2)$$

donde $\nabla g(w)$ es el gradiente negativo de una función $g(w)$ en un punto. [24]

Este proceso, junto con sus variantes, es el algoritmo de optimización local más utilizado en *machine learning* actualmente. Esto se debe en gran medida al hecho de que la dirección de descenso proporcionada a través del gradiente es más fácil de computar (particularmente cuando la dimensión del *input* aumenta). [24]

3.7. Hacia el Deep Learning

El *Deep Learning* es un subconjunto del *machine learning*, en el cual se utiliza como modelo de computación las redes neuronales artificiales (ANN), con múltiples capas ocultas. Este enfoque trata de resolver el problema de una buena capacidad expresiva de las redes neuronales, sin el aumento exponencial del número de neuronas. [26]

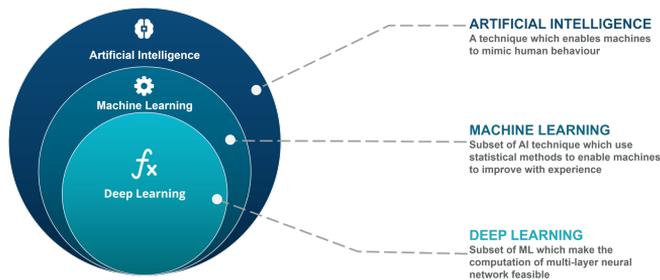


Figura 3.7: Diferencia entre inteligencia artificial, *machine learning* y *deep learning*

La pregunta sobre cómo mantener esta capacidad expresiva de la red y al mismo tiempo reducir el número de unidades de cálculo se ha planteado durante años. Intuitivamente, se sugirió que es natural buscar redes más profundas porque 1) el sistema neuronal humano es una arquitectura profunda y 2) los humanos tienden a representar conceptos en un nivel de abstracción como la composición de conceptos en niveles inferiores. Actualmente, la solución es construir arquitecturas más profundas, i.e. redes neuronales con más capas ocultas. [26]

En la actualidad, los avances tanto en potencia de cálculo del *hardware*, especialmente en las tarjetas gráficas (GPU) [27], junto con la disponibilidad de grandes *datasets* [18] han permitido que esta disciplina prospere.

Este área de conocimiento ha mejorado drásticamente el estado del arte en muchas tareas de inteligencia artificial, como la detección de objetos, el reconocimiento del habla o la traducción automática. Su naturaleza de arquitectura profunda otorga al aprendizaje profundo la posibilidad de resolver muchas tareas de IA más complicadas. [26] Como resultado, los investigadores están extendiendo el aprendizaje profundo a una variedad de diferentes dominios y tareas modernas:

- Eliminación del ruido en las señales de voz
- Descubrimiento de patrones de agrupación de expresiones genéticas
- Generación de imágenes con distintos estilos
- Análisis de sentimientos de diferentes fuentes simultáneas

3.8. Bioinformática

La bioinformática es un campo interdisciplinar en el que intervienen principalmente la biología molecular y la genética, la informática, las matemáticas y la estadística. Los problemas biológicos a gran escala y con gran cantidad de datos se abordan desde un punto de vista informático. Los problemas más comunes son el modelado de procesos biológicos a nivel molecular y la realización de inferencias a partir de los datos recogidos, [28] en particular:

Cuadro 3.1: Problemas clásicos de la bioinformática

Problema	Fuente de datos
Alineamiento de secuencias múltiples	ADN
Búsqueda de patrones de secuencias	ADN
Análisis evolutivos	ADN
Análisis de la función	Proteínas
Predicción de las estructuras	Proteínas
Estudio de las vías metabólicas	Redes biológicas

Es tentador atribuir los orígenes de la bioinformática a la reciente convergencia de la secuenciación del ADN, los proyectos genómicos a gran escala, Internet y los superordenadores. Sin embargo, algunos científicos que afirman que la bioinformática se encuentra en su infancia reconocen que los ordenadores eran herramientas importantes en la biología molecular una década antes de que la secuenciación del ADN se convirtiera en algo factible (década de los 1960). [29]

4 Estado del arte

4.1. Bioinformática

4.2. Deep Learning

5 Objetivos

6 Métodos

6.1. Tecnologías

6.2. Pipeline

6.3. Reproducibilidad

7 Resultados

8 Conclusiones

9 Futuras mejoras

Bibliografía

- [1] M. M. C. Albert Lehninger David L. Nelson, *Lehninger-principles of biochemistry*, 5th Edition. W. H. Freeman, 2008, p. 276.
- [2] F. Crick, “Central dogma of molecular biology,” *Nature*, vol. 227, no. 5258, pp. 561–563, Aug. 1970, doi: [10.1038/227561a0](https://doi.org/10.1038/227561a0).
- [3] F. H. Crick, “On protein synthesis,” in *Symp soc exp biol*, 1958, vol. 12, p. 8.
- [4] F. Sanger, S. Nicklen, and A. R. Coulson, “DNA sequencing with chain-terminating inhibitors,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 74, no. 12, pp. 5463–5467, 1977, doi: [10.1073/pnas.74.12.5463](https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463).
- [5] I. H. G. S. Consortium, “Finishing the euchromatic sequence of the human genome,” *Nature*, vol. 431, no. 7011, pp. 931–945, Oct. 2004, doi: [10.1038/nature03001](https://doi.org/10.1038/nature03001).
- [6] J. A. Schloss, “How to get genomes at one ten-thousandth the cost,” *Nature Biotechnology*, vol. 26, no. 10, pp. 1113–1115, Oct. 2008, doi: [10.1038/nbt1008-1113](https://doi.org/10.1038/nbt1008-1113).
- [7] E. L. van Dijk, H. Auger, Y. Jaszczyszyn, and C. Thermes, “Ten years of next-generation sequencing technology,” *Trends in Genetics*, vol. 30, no. 9, pp. 418–426, Sep. 2014, doi: [10.1016/j.tig.2014.07.001](https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.07.001).
- [8] J. M. Heather and B. Chain, “The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA,” *Genomics*, vol. 107, no. 1, pp. 1–8, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2015.11.003>.
- [9] S. Nurk *et al.*, “The complete sequence of a human genome,” *bioRxiv*, 2021, doi: [10.1101/2021.05.26.445798](https://doi.org/10.1101/2021.05.26.445798).
- [10] X. Ma *et al.*, “Analysis of error profiles in deep next-generation sequencing data,” *Genome Biology*, vol. 20, no. 1, p. 50, Mar. 2019, doi: [10.1186/s13059-019-1659-6](https://doi.org/10.1186/s13059-019-1659-6).
- [11] C. Lee, “Generating consensus sequences from partial order multiple sequence alignment graphs,” *Bioinformatics*, vol. 19, no. 8, pp. 999–1008, May 2003, doi: [10.1093/bioinformatics/btg109](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg109).

- [12] A. Nagar and M. Hahsler, “Fast discovery and visualization of conserved regions in DNA sequences using quasi-alignment,” *BMC Bioinformatics*, vol. 14, no. 11, p. S2, Sep. 2013, doi: [10.1186/1471-2105-14-S11-S2](https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-S11-S2).
- [13] J. J. Salk, M. W. Schmitt, and L. A. Loeb, “Enhancing the accuracy of next-generation sequencing for detecting rare and subclonal mutations,” *Nature Reviews Genetics*, vol. 19, no. 5, pp. 269–285, May 2018, doi: [10.1038/nrg.2017.117](https://doi.org/10.1038/nrg.2017.117).
- [14] M. Shugay *et al.*, “Towards error-free profiling of immune repertoires,” *Nature Methods*, vol. 11, no. 6, pp. 653–655, Jun. 2014, doi: [10.1038/nmeth.2960](https://doi.org/10.1038/nmeth.2960).
- [15] H. S. Robins *et al.*, “Comprehensive assessment of T-cell receptor beta-chain diversity in alphabeta T cells,” *Blood*, vol. 114, no. 19, pp. 4099–4107, Nov. 2009.
- [16] M. S. B. Cantos, “Análisis de repertorios de receptores de células t a partir de datos de secuenciación masiva,” Master’s thesis, Universidad de Granada, 2019.
- [17] A. K. Abbas, A. H. Lichtman, and S. Pillai, in *Cellular and molecular immunology*, 9th ed., Elsevier, 2017, p. 204.
- [18] P. N. Stuart Russell, *Artificial intelligence: A modern approach*, 3rd ed. Prentice Hall, 2010, pp. 38–45, 48–49, 55–56.
- [19] J. McCarthy, M. L. Minsky, N. Rochester, and C. E. Shannon, “A proposal for the dartmouth summer research project on artificial intelligence, august 31, 1955,” *AI Magazine*, vol. 27, no. 4, p. 12, 2006, doi: [10.1609/aimag.v27i4.1904](https://doi.org/10.1609/aimag.v27i4.1904).
- [20] A. P. Engelbrecht, *Computational intelligence. An introduction*, 2nd ed. Wiley, 2007, pp. 39–40.
- [21] J. Zou, Y. Han, and S.-S. So, “Overview of artificial neural networks,” in *Artificial neural networks: Methods and applications*, D. J. Livingstone, Ed. Totowa, NJ: Humana Press, 2009, pp. 14–22. doi: [10.1007/978-1-60327-101-1_2](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-101-1_2).
- [22] D. Graupe, *Principles of artificial neural networks*, 3. ed. World Scientific Publ, 2013, pp. 28–31.

- [23] D. E. Rumelhart, G. E. Hinton, and R. J. Williams, “Learning representations by back-propagating errors,” *Nature*, vol. 323, no. 6088, pp. 533–536, Oct. 1986, doi: [10.1038/323533a0](https://doi.org/10.1038/323533a0).
- [24] A. K. K. Jeremy Watt Reza Borhani, *Machine learning refined: Foundations, algorithms, and applications*, 2nd ed. Cambridge University Press, 2020.
- [25] S. Ruder, “An overview of gradient descent optimization algorithms,” *arXiv preprint arXiv:1609.04747*, 2016.
- [26] H. Wang, B. Raj, and E. P. Xing, “On the origin of deep learning,” *CoRR*, vol. abs/1702.07800, 2017, Available: <http://arxiv.org/abs/1702.07800>
- [27] D. C. Cireşan, U. Meier, L. M. Gambardella, and J. Schmidhuber, “Deep, big, simple neural nets for handwritten digit recognition,” *Neural Computation*, vol. 22, no. 12, pp. 3207–3220, Dec. 2010, doi: [10.1162/NECO_a_00052](https://doi.org/10.1162/NECO_a_00052).
- [28] T. Can, “Introduction to bioinformatics,” in *miRNomics: MicroRNA biology and computational analysis*, M. Yousef and J. Allmer, Eds. Totowa, NJ: Humana Press, 2014, pp. 51–71. doi: [10.1007/978-1-62703-748-8_4](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-748-8_4).
- [29] J. B. Hagen, “The origins of bioinformatics,” *Nature Reviews Genetics*, vol. 1, no. 3, pp. 231–236, Dec. 2000, doi: [10.1038/35042090](https://doi.org/10.1038/35042090).