

# Novas abordagens para o problema do alinhamento múltiplo de seqüências

André Atanasio M. Almeida

Instituto de Computação - Unicamp

3 de Abril de 2009

# Introdução

## Definição

*Alinhamento de seqüências homólogas consiste na tentativa de posicionar resíduos em colunas, que derivam de um resíduo de um ancestral comum.*

- Modelo hipotético de mutações no decorrer da evolução
- Melhor alinhamento: o mais parecido com um cenário evolucionário
- Exemplo:
  - ▶ ATG---GACCGAGGAGCAGCGA
  - ▶ ATGGCGGACGGAGGA--AGCGA

# Introdução

## Definição

*Alinhamento de seqüências homólogas consiste na tentativa de posicionar resíduos em colunas, que derivam de um resíduo de um ancestral comum.*

- Modelo hipotético de mutações no decorrer da evolução
- Melhor alinhamento: o mais parecido com um cenário evolucionário
- Exemplo:
  - ▶ ATG---GACCGAGGAGCAGCGA
  - ▶ ATGGCGGACGGAGGA--AGCGA

# Introdução

## Definição

*Alinhamento de seqüências homólogas consiste na tentativa de posicionar resíduos em colunas, que derivam de um resíduo de um ancestral comum.*

- Modelo hipotético de mutações no decorrer da evolução
- Melhor alinhamento: o mais parecido com um cenário evolucionário
- Exemplo:
  - ▶ ATG---GACCGAGGAGCAGCGA
  - ▶ ATGGCGGACCGAGGA--AGCGA

# Introdução

- Alinhamento de um par de seqüências

- ▶ Alinhamento global: Needleman e Wunsch (1970)
- ▶ Alinhamento local: Smith e Waterman (1981)
- ▶ Heurísticas: Miller e Myers (1988), FASTA (Pearson e Lipman, 1988), BLAST (Altschul et al, 1990)

- Esquema de pontuação

- ▶ Substituições

- ★ Deve considerar as características e relações entre as bases envolvidas
- ★ Deve considerar a distância evolucionária entre as seqüências
- ★ Deve considerar variações na pontuação ao longo da seqüência
- ★ Métodos: PAM (Dayhoff et al, 1978) e BLOSUM (Henikoff e Henikoff, 1992)

- ▶ *Indels*

- ★ Deve considerar custos diferenciados para abertura e expansão de *gaps*
- ★ Linear:  $p(L) = a + b \times L$
- ★ Logarítmico:  $p(L) = a + b \times \log(L)$

# Introdução

- Alinhamento de um par de seqüências
  - ▶ Alinhamento global: Needleman e Wunsch (1970)
  - ▶ Alinhamento local: Smith e Waterman (1981)
  - ▶ Heurísticas: Miller e Myers (1988), FASTA (Pearson e Lipman, 1988), BLAST (Altschul et al, 1990)
- Esquema de pontuação
  - ▶ Substituições
    - ★ Deve considerar as características e relações entre as bases envolvidas
    - ★ Deve considerar a distância evolucionária entre as seqüências
    - ★ Deve considerar variações na pontuação ao longo da seqüência
    - ★ Métodos: PAM (Dayhoff et al, 1978) e BLOSUM (Henikoff e Henikoff, 1992)
  - ▶ *Indels*
    - ★ Deve considerar custos diferenciados para abertura e expansão de *gaps*
    - ★ Linear:  $p(L) = a + b \times L$
    - ★ Logarítmico:  $p(L) = a + b \times \log(L)$

# Introdução

- Alinhamento de um par de seqüências
  - ▶ Alinhamento global: Needleman e Wunsch (1970)
  - ▶ Alinhamento local: Smith e Waterman (1981)
  - ▶ Heurísticas: Miller e Myers (1988), FASTA (Pearson e Lipman, 1988), BLAST (Altschul et al, 1990)
- Esquema de pontuação
  - ▶ Substituições
    - ★ Deve considerar as características e relações entre as bases envolvidas
    - ★ Deve considerar a distância evolucionária entre as seqüências
    - ★ Deve considerar variações na pontuação ao longo da seqüência
    - ★ Métodos: PAM (Dayhoff et al, 1978) e BLOSUM (Henikoff e Henikoff, 1992)
  - ▶ *Indels*
    - ★ Deve considerar custos diferenciados para abertura e expansão de *gaps*
    - ★ Linear:  $p(L) = a + b \times L$
    - ★ Logarítmico:  $p(L) = a + b \times \log(L)$

# Introdução

- Alinhamento múltiplo (MSA)

- ▶ Generalização de Needleman e Wunsch (1970)
  - ★ tempo:  $\Omega(2^n I^n)$  e espaço:  $\Omega(I^n)$
  - ★ NP-Difícil (Just 2001, Wang e Jiang 1994)
- ▶ Algoritmos aproximados
- ▶ Abordagens heurísticas: progressiva, iterativa, etc

- Exemplo:

- ▶ AT--CGGAC-GAGGAGCA-CGA
- ▶ ATGGCG-ACGGAG-ATCAGCGA
- ▶ AT-GCGGAC-GAGGAGCAGCGA
- ▶ ATGGC-GCCGGAGG-GCAGCGA
- ▶ AT-GCGGA--GAGGAGCA-CGA
- ▶ --GCGGACGGAGGAGCA----



# Introdução

- Alinhamento múltiplo (MSA)
  - ▶ Generalização de Needleman e Wunsch (1970)
    - ★ tempo:  $\Omega(2^n I^n)$  e espaço:  $\Omega(I^n)$
    - ★ NP-Difícil (Just 2001, Wang e Jiang 1994)
  - ▶ Algoritmos aproximados
  - ▶ Abordagens heurísticas: progressiva, iterativa, etc
- Exemplo:
  - ▶ AT--CGGAC-GAGGAGCA-CGA
  - ▶ ATGGCG-ACGGAG-ATCAGCGA
  - ▶ AT-GCGGAC-GAGGAGCAGCGA
  - ▶ ATGGC-GCCGGAGG-GCAGCGA
  - ▶ AT-GCGGA--GAGGAGCA-CGA
  - ▶ --GGCGGACGGAGGAGCA----

# Dificuldades técnicas em MSA

- Escolha das seqüências
  - ▶ Seqüências homólogas
- Escolha da função objetivo (OF)
  - ▶ Quantificação de qualidade
  - ▶ Ótimo matemático = ótimo biológico
  - ▶ Deve incorporar o máximo de informação
- Otimização da função

# Esquema de pontuação

- Alinhamento de pares

- ▶ ATG---GACCGAGGAGCAGCGA

- ▶ ATGGCGGACCGAGGA--AGCGA

- ▶  $16 * (1) + 1 * (-1) - (2 + 3 * 1) - (2 + 2 * 1) = 6$

- Alinhamento múltiplo

- ▶ Soma das pontuações das colunas

- ★  $\alpha = AT--C$

- ★  $\beta = ATGGC$

- ★  $\gamma = AT-GC$

- ★  $\delta = ACGGC$

- ★ Para cada coluna, pontua cada par de bases desprezando par de *gaps*

- ★  $6 + 0 - 7 - 3 + 6 = 2$

- ▶ Soma dos pares com função afim para penalidade de *gap*

- ★ Pontua as  $n(n-1)/2$  projeções de alinhamentos de pares

- ★  $-1 + 1 - 3 + 2 + 3 + 0 = 2$

- ▶ Soma dos pares com pesos e função afim para penalidade de *gap*

# Esquema de pontuação

- Alinhamento de pares

- ▶ ATG---GACCGAGGAGCAGCGA
- ▶ ATGGCGGACCGAGGA--AGCGA
- ▶  $16 * (1) + 1 * (-1) - (2 + 3 * 1) - (2 + 2 * 1) = 6$

- Alinhamento múltiplo

- ▶ Soma das pontuações das colunas

- ★  $\alpha = AT--C$

- ★  $\beta = ATGGC$

- ★  $\gamma = AT-GC$

- ★  $\delta = ACGGC$

- ★ Para cada coluna, pontua cada par de bases desprezando par de *gaps*

- ★  $6 + 0 - 7 - 3 + 6 = 2$

- ▶ Soma dos pares com função afim para penalidade de *gap*

- ★ Pontua as  $n(n-1)/2$  projeções de alinhamentos de pares

- ★  $-1 + 1 - 3 + 2 + 3 + 0 = 2$

- ▶ Soma dos pares com pesos e função afim para penalidade de *gap*

# Esquema de pontuação

- Alinhamento de pares

- ▶ ATG---GACCGAGGAGCAGCGA
- ▶ ATGGCGGACCGAGGA--AGCGA
- ▶  $16 * (1) + 1 * (-1) - (2 + 3 * 1) - (2 + 2 * 1) = 6$

- Alinhamento múltiplo

- ▶ Soma das pontuações das colunas

- ★  $\alpha = AT--C$

- ★  $\beta = ATGGC$

- ★  $\gamma = AT-GC$

- ★  $\delta = ACGGC$

- ★ Para cada coluna, pontua cada par de bases desprezando par de *gaps*

- ★  $6 + 0 - 7 - 3 + 6 = 2$

- ▶ Soma dos pares com função afim para penalidade de *gap*

- ★ Pontua as  $n(n-1)/2$  projeções de alinhamentos de pares

- ★  $-1 + 1 - 3 + 2 + 3 + 0 = 2$

- ▶ Soma dos pares com pesos e função afim para penalidade de *gap*

# Esquema de pontuação

- Alinhamento de pares

- ▶ ATG---GACCGAGGAGCAGCGA
- ▶ ATGGCGGACCGAGGA--AGCGA
- ▶  $16 * (1) + 1 * (-1) - (2 + 3 * 1) - (2 + 2 * 1) = 6$

- Alinhamento múltiplo

- ▶ Soma das pontuações das colunas
  - ★  $\alpha = AT--C$
  - ★  $\beta = ATGGC$
  - ★  $\gamma = AT-GC$
  - ★  $\delta = ACGGC$
  - ★ Para cada coluna, pontua cada par de bases desprezando par de *gaps*
  - ★  $6 + 0 - 7 - 3 + 6 = 2$
- ▶ Soma dos pares com função afim para penalidade de *gap*
  - ★ Pontua as  $n(n-1)/2$  projeções de alinhamentos de pares
  - ★  $-1 + 1 - 3 + 2 + 3 + 0 = 2$
- ▶ Soma dos pares com pesos e função afim para penalidade de *gap*

# Motivação

- Alinhamento

- ▶ Predição de função de gene
- ▶ Estudo de relacionamentos evolucionários
- ▶ Identificação de restrições estruturais ou funcionais
- ▶ Buscas em bancos de dados de seqüências

- Alinhamento múltiplo

- ▶ Visualizar evolução em famílias de proteínas
- ▶ Construção de árvore filogenéticas precisas
- ▶ Identificar *motifs* preservados
- ▶ Predição de estrutura: secundária e terciária

# Motivação

- Alinhamento
  - ▶ Predição de função de gene
  - ▶ Estudo de relacionamentos evolucionários
  - ▶ Identificação de restrições estruturais ou funcionais
  - ▶ Buscas em bancos de dados de seqüências
- Alinhamento múltiplo
  - ▶ Visualizar evolução em famílias de proteínas
  - ▶ Construção de árvore filogenéticas precisas
  - ▶ Identificar *motifs* preservados
  - ▶ Predição de estrutura: secundária e terciária



# Soluções para MSA

- Quase exatas:
  - ▶ MSA (Carillo e Lipman, 1988)
  - ▶ DCA (Stoye et al, 1997)
  - ▶ OMA (Reinert et al, 2000)
- Algoritmos de aproximação:
  - ▶ Gusfield (1993): fator  $2 - 2/n$
  - ▶ Pevzner (1992): fator  $2 - 3/n$
  - ▶ Bafna et al (1994): fator  $2 - l/n$ , onde  $l < n$
- Abordagens heurísticas
  - ▶ Algoritmos progressivos
  - ▶ Algoritmos iterativos
  - ▶ Algoritmos baseados em consistência
  - ▶ Algoritmos baseados em consenso, modelos ou blocos

# Soluções para MSA

- Quase exatas:
  - ▶ MSA (Carillo e Lipman, 1988)
  - ▶ DCA (Stoye et al, 1997)
  - ▶ OMA (Reinert et al, 2000)
- Algoritmos de aproximação:
  - ▶ Gusfield (1993): fator  $2 - 2/n$
  - ▶ Pevzner (1992): fator  $2 - 3/n$
  - ▶ Bafna et al (1994): fator  $2 - l/n$ , onde  $l < n$
- Abordagens heurísticas
  - ▶ Algoritmos progressivos
  - ▶ Algoritmos iterativos
  - ▶ Algoritmos baseados em consistência
  - ▶ Algoritmos baseados em consenso, modelos ou blocos

# Soluções para MSA

- Quase exatas:
  - ▶ MSA (Carillo e Lipman, 1988)
  - ▶ DCA (Stoye et al, 1997)
  - ▶ OMA (Reinert et al, 2000)
- Algoritmos de aproximação:
  - ▶ Gusfield (1993): fator  $2 - 2/n$
  - ▶ Pevzner (1992): fator  $2 - 3/n$
  - ▶ Bafna et al (1994): fator  $2 - l/n$ , onde  $l < n$
- Abordagens heurísticas
  - ▶ Algoritmos progressivos
  - ▶ Algoritmos iterativos
  - ▶ Algoritmos baseados em consistência
  - ▶ Algoritmos baseados em consenso, modelos ou blocos

# MSA Progressivo

- Consiste em construir um alinhamento múltiplo a partir de alinhamentos de pares
- Descrito inicialmente por Hogeweg e Hesper (1984) e depois reinventado por Feng e Doolittle (1987) e Taylor (1988)
- Características:
  - ▶ Simples e efetivo para MSA
  - ▶ Requer pouco tempo e memória
  - ▶ Bom desempenho para seqüências homólogas e relativamente bem conservadas
  - ▶ Problema: natureza gulosa e muito sensível ao esquema de pontuação

# MSA Progressivo

- Consiste em construir um alinhamento múltiplo a partir de alinhamentos de pares
- Descrito inicialmente por Hogeweg e Hesper (1984) e depois reinventado por Feng e Doolittle (1987) e Taylor (1988)
- Características:
  - ▶ Simples e efetivo para MSA
  - ▶ Requer pouco tempo e memória
  - ▶ Bom desempenho para seqüências homólogas e relativamente bem conservadas
  - ▶ Problema: natureza gulosa e muito sensível ao esquema de pontuação

# MSA Progressivo

- Etapas:
  1. Computar alinhamentos de pares
  2. Construir uma árvore guia
  3. Construir o alinhamento múltiplo guiado pela árvore
- Construção de árvore guia:
  - ▶ UPGMA (Sneath e Sokal, 1973)
  - ▶ Neighbor-Joining (Saitou e Nei, 1987)
- Alinhamento múltiplo
  - ▶ Seleção do par a agrupar
  - ▶ Alinhar duas seqüências/alinhamentos:
    - ★ Consenso
    - ★ Perfil
- Esquema de pontuação:
  - ▶ Baseado em matriz:
    - ★ Clustal W (Thompson et al, 1994)
    - ★ MUSCLE (Edgar, 2004)
  - ▶ Baseado em consistência:
    - ★ T-COFFEE (Notredame et al, 2000)
    - ★ ProbCons (Do et al, 2005)

# MSA Progressivo

- Etapas:
  1. Computar alinhamentos de pares
  2. Construir uma árvore guia
  3. Construir o alinhamento múltiplo guiado pela árvore
- Construção de árvore guia:
  - ▶ UPGMA (Sneath e Sokal, 1973)
  - ▶ Neighbor-Joining (Saitou e Nei, 1987)
- Alinhamento múltiplo
  - ▶ Seleção do par a agrupar
  - ▶ Alinhar duas seqüências/alinhamentos:
    - ★ Consenso
    - ★ Perfil
- Esquema de pontuação:
  - ▶ Baseado em matriz:
    - ★ Clustal W (Thompson et al, 1994)
    - ★ MUSCLE (Edgar, 2004)
  - ▶ Baseado em consistência:
    - ★ T-COFFEE (Notredame et al, 2000)
    - ★ ProbCons (Do et al, 2005)

# MSA Progressivo

- Etapas:
  1. Computar alinhamentos de pares
  2. Construir uma árvore guia
  3. Construir o alinhamento múltiplo guiado pela árvore
- Construção de árvore guia:
  - ▶ UPGMA (Sneath e Sokal, 1973)
  - ▶ Neighbor-Joining (Saitou e Nei, 1987)
- Alinhamento múltiplo
  - ▶ Seleção do par a agrupar
  - ▶ Alinhar duas seqüências/alinhamentos:
    - ★ Consenso
    - ★ Perfil
- Esquema de pontuação:
  - ▶ Baseado em matriz:
    - ★ Clustal W (Thompson et al, 1994)
    - ★ MUSCLE (Edgar, 2004)
  - ▶ Baseado em consistência:
    - ★ T-COFFEE (Notredame et al, 2000)
    - ★ ProbCons (Do et al, 2005)



# MSA Progressivo

- Etapas:
  1. Computar alinhamentos de pares
  2. Construir uma árvore guia
  3. Construir o alinhamento múltiplo guiado pela árvore
- Construção de árvore guia:
  - ▶ UPGMA (Sneath e Sokal, 1973)
  - ▶ Neighbor-Joining (Saitou e Nei, 1987)
- Alinhamento múltiplo
  - ▶ Seleção do par a agrupar
  - ▶ Alinhar duas seqüências/alinhamentos:
    - ★ Consenso
    - ★ Perfil
- Esquema de pontuação:
  - ▶ Baseado em matriz:
    - ★ Clustal W (Thompson et al, 1994)
    - ★ MUSCLE (Edgar, 2004)
  - ▶ Baseado em consistência:
    - ★ T-COFFEE (Notredame et al, 2000)
    - ★ ProbCons (Do et al, 2005)

# MSA Iterativo

- Consiste em refinar alinhamentos através de uma série de ciclos
- Bom desempenho no geral
- Problema: requer muito tempo e depende de outros métodos
- Classes:
  - ▶ Determinístico:
    - ★ Mais simples
    - ★ Diferencia na divisão das seqüências para realinhar
    - ★ Geralmente pouco avaliados
    - ★ PRRP (Gotoh, 1996)
  - ▶ Estocástico:
    - ★ Boa separação entre OF e otimização
    - ★ SA e GA: modificar, pontuar e decidir
    - ★ Outros exemplos: HMM e Gibbs Sampling
    - ★ SAGA (Notredame e Higgins, 1996)

# MSA Iterativo

- Consiste em refinar alinhamentos através de uma série de ciclos
- Bom desempenho no geral
- Problema: requer muito tempo e depende de outros métodos
- Classes:
  - ▶ Determinístico:
    - ★ Mais simples
    - ★ Diferencia na divisão das seqüências para realinhar
    - ★ Geralmente pouco avaliados
    - ★ PRRP (Gotoh, 1996)
  - ▶ Estocástico:
    - ★ Boa separação entre OF e otimização
    - ★ SA e GA: modificar, pontuar e decidir
    - ★ Outros exemplos: HMM e Gibbs Sampling
    - ★ SAGA (Notredame e Higgins, 1996)

# MSA Baseados em Consistência

- Dado um conjunto de seqüências, o MSA ótimo é definido como aquele que está de acordo com a maioria dos possíveis alinhamentos ótimos de pares.
- Primeiro método descrito por Kececioglu (1993)
- Primeira implementação SAGA-COFFEE
- Outros: T-COFFEE e ProbCons
- Características:
  - ▶ Não dependem de matriz de substituição
  - ▶ Sensível a posição
  - ▶ Frequentemente produzem bons resultados

# MSA Baseados em Consistência

- Dado um conjunto de seqüências, o MSA ótimo é definido como aquele que está de acordo com a maioria dos possíveis alinhamentos ótimos de pares.
- Primeiro método descrito por Kececioglu (1993)
- Primeira implementação SAGA-COFFEE
- Outros: T-COFFEE e ProbCons
- Características:
  - ▶ Não dependem de matriz de substituição
  - ▶ Sensível a posição
  - ▶ Frequentemente produzem bons resultados

# MSA baseado em consenso, modelos e blocos

- Meta-método consenso:
  - ▶ Combina alinhamentos
  - ▶ Exemplo: M-Coffee (Wallace et al, 2006)
- Métodos baseados em modelos:
  - ▶ Elementos estruturais são, no geral, mais conservados
  - ▶ Extensão estrutural: 3D-Coffee (Poirot et al, 2004)
  - ▶ Extensão por homologia: DbClustal (Thompson et al, 2000)
- Métodos baseados em blocos:
  - ▶ Utiliza blocos conservados para guiar o alinhamento e reduzir a dependência nos parâmetros de penalidade para *gaps*
  - ▶ Exemplos:
    - ★ DiAlign (Morgenstern et al, 1996)
    - ★ ASSEMBLE (Vingron e Argos, 1991)

# MSA baseado em consenso, modelos e blocos

- Meta-método consenso:
  - ▶ Combina alinhamentos
  - ▶ Exemplo: M-Coffee (Wallace et al, 2006)
- Métodos baseados em modelos:
  - ▶ Elementos estruturais são, no geral, mais conservados
  - ▶ Extensão estrutural: 3D-Coffee (Poirot et al, 2004)
  - ▶ Extensão por homologia: DbClustal (Thompson et al, 2000)
- Métodos baseados em blocos:
  - ▶ Utiliza blocos conservados para guiar o alinhamento e reduzir a dependência nos parâmetros de penalidade para *gaps*
  - ▶ Exemplos:
    - ★ DiAlign (Morgenstern et al, 1996)
    - ★ ASSEMBLE (Vingron e Argos, 1991)

# MSA baseado em consenso, modelos e blocos

- Meta-método consenso:
  - ▶ Combina alinhamentos
  - ▶ Exemplo: M-Coffee (Wallace et al, 2006)
- Métodos baseados em modelos:
  - ▶ Elementos estruturais são, no geral, mais conservados
  - ▶ Extensão estrutural: 3D-Coffee (Poirot et al, 2004)
  - ▶ Extensão por homologia: DbClustal (Thompson et al, 2000)
- Métodos baseados em blocos:
  - ▶ Utiliza blocos conservados para guiar o alinhamento e reduzir a dependência nos parâmetros de penalidade para *gaps*
  - ▶ Exemplos:
    - ★ DiAlign (Morgenstern et al, 1996)
    - ★ ASSEMBLE (Vingron e Argos, 1991)



# Avaliação de MSAs

- Normalmente usam bases de dados de alinhamentos pré-compilados
- Ponto positivo: simplicidade
- Ponto negativo: possibilidade de parametrizar alinhador
- Ferramentas:
  - ▶ BALiBASE (Thompson et al, 1999): refino manual e conjuntos de teste
  - ▶ SABmark (Walle et al, 2005): separa os alinhamentos em dois grupos
  - ▶ HOMSTRAD (Mizuguchi et al, 1998)
  - ▶ PREFAB (Edgar, 2004)
  - ▶ APDB (O'Sullivan et al, 2003): baseia-se na sobreposição de estruturas PDB

# Avaliação de MSAs

- Normalmente usam bases de dados de alinhamentos pré-compilados
- Ponto positivo: simplicidade
- Ponto negativo: possibilidade de parametrizar alinhador
- Ferramentas:
  - ▶ BALiBASE (Thompson et al, 1999): refino manual e conjuntos de teste
  - ▶ SABmark (Walle et al, 2005): separa os alinhamentos em dois grupos
  - ▶ HOMSTRAD (Mizuguchi et al, 1998)
  - ▶ PREFAB (Edgar, 2004)
  - ▶ APDB (O'Sullivan et al, 2003): baseia-se na sobreposição de estruturas PDB

# Projeto

- Objetivo: projetar, implementar e testar algoritmos para MSA que gerem bons alinhamentos do ponto de vista biológico e que sejam eficientes em termos de tempo e espaço.
- Etapas:
  1. Estudo e implementações de métodos progressivos
  2. Estudo e implementações de métodos iterativos
  3. Estudo e implementações de métodos alternativos
  4. Estudo e implementações de métodos baseados em modelo
  5. Estudo e implementação de um meta-método

# Projeto

- Objetivo: projetar, implementar e testar algoritmos para MSA que gerem bons alinhamentos do ponto de vista biológico e que sejam eficientes em termos de tempo e espaço.
- Etapas:
  1. Estudo e implementações de métodos progressivos
  2. Estudo e implementações de métodos iterativos
  3. Estudo e implementações de métodos alternativos
  4. Estudo e implementações de métodos baseados em modelo
  5. Estudo e implementação de um meta-método

# Cronograma

Tabela: Cronograma de Atividades: Março/2007 - Fevereiro/2009

2007											2008											2009	
M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F
1											2												
						3																	
																					4		

1. Disciplinas obrigatórias;
2. Estágio docente;
3. Revisão bibliográfica das principais referências de MSA;
4. Preparação para o Exame de Qualificação Específico;

# Cronograma

Tabela: Cronograma de Atividades: Março/2009 - Fevereiro/2011

2009												2010												2011	
M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F		
4																									
5																									
												6													
												7													
																		8							
												9													
																							10		

4. Preparação para o Exame de Qualificação Específico;
5. Estudo da abordagem progressiva seguido de projeto, implementação e teste dos novos algoritmos;
6. Estudo de métodos iterativos e alternativos seguido de projeto, implementação e teste dos novos algoritmos;
7. Estudo de métodos baseados em modelo seguido de projeto, implementação e teste dos novos algoritmos;
8. Projeto, implementação e teste de um meta-método que combine os resultados de uma seleção dos métodos desenvolvidos nas etapas anteriores;
9. Escrita e revisão da tese; e
10. Defesa da tese.