



**MATEMATICKO-FYZIKÁLNÍ
FAKULTA**
Univerzita Karlova

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Richard Eliáš

Vizualizace sekundární struktury RNA s využitím existujících struktur

Katedra softwarového inženýrství

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. David Hoksza, Ph.D.

Studijní program: Informatika

Studijní obor: Obecná informatika

Praha 2016

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval(a) samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů, literatury a dalších odborných zdrojů.

Beru na vědomí, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorského zákona v platném znění, zejména skutečnost, že Univerzita Karlova má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle §60 odst. 1 autorského zákona.

V dne

Podpis autora

Název práce: Vizualizace sekundární struktury RNA s využitím existujících struktur

Autor: Richard Eliáš

Katedra: Katedra softwarového inženýrství

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. David Hoksza, Ph.D., Katedra softwarového inženýrství

Abstrakt: Molekula RNA sa stáva predmetom mnohých štúdií, vďaka čomu rastie dopyt po nástrojoch pomáhajúcich pri jej analýze. Prvým krokom je často rozbor obrázka jej sekundárnej štruktúry. Aby sme molekulu rozvrhli čo najlepšie, potrebujeme poznať kritéria, ktoré by malo nakreslenie spĺňať. Tie nie sú formalizované a sú skôr intuitívne. Tento nedostatok riešime návrhom nového algoritmu, ktorý vizualizuje sekundárnu štruktúru pomocou už existujúcej vzorového obrázka. RNA prevedieme do stromovej reprezentácie, algoritmom *tree-edit-distance* minimálny počet operácií, ktoré nám prevedú jeden strom na druhý. Preto motívy spoločné pre obidva štruktúry ostanú nedotknuté a tie zvyšné dokreslíme. Výsledky ukazujú, že náš algoritmus je schopný vizualizovať aj relatívne vzdialené štruktúry. Využitie nájde najmä pri vizualizácii homologických štruktúr.

Klíčová slova: RNA, sekundárna štruktúra, vizualizácia, konzervovanosť

Title: RNA secondary structure visualization using existing structures

Author: Richard Eliáš

Department: Department of Software Engineering

Supervisor: RNDr. David Hoksza, Ph.D., Department of Software Engineering

Abstract: Many research aim to RNA molecules and demand for tools enabling their analysis increased. First step is visual inspection of their secondary structure. In order to correctly lay out structure, the notion of optimal layout is required. However, this has never been formalized and is largely habitual. To tackle this problem we propose an algorithm capable of visualizing RNA structure using related one with known layout. Algorithm first converts both RNAs into a tree representation and using *tree-edit-distance* algorithm finds out the minimum number of operations to convert one structure into the other. All common motives are retained and the regions which differ are taken care of. Results show, that our algorithm is able to give good layouts even for relatively distant structures. It is well suited for visualization of homologous structures.

Keywords: RNA, secondary structure, visualization, conservation

Rád by som poďakoval môjmu vedúcemu práce RNDr. Davidovi Hokszoovi, Ph.D. za jeho cenné pripomienky, čas a ústretovosť pri konzultáciách, vedení a v neposlednom rade aj spracovaní bakalárskej práce.

Ďalej by som rád poďakoval všetkým, ktorí ma počas štúdia neustále podporovali a posúvali vpred.

Obsah

Úvod	3
1 Úvod do štúdia RNA štruktúry a grafov	5
1.1 Čo je RNA	5
1.2 Sekundárna štruktúra	5
1.2.1 Typy zobrazenia sekundárnej štruktúry	6
1.2.2 Motívy	8
1.3 Hlavný objekt záujmu - rRNA	8
1.4 Stromová reprezentácia sekundárnej štruktúry	9
1.5 Grafové pojmy	12
2 Mapovanie medzi RNA stromami	14
2.1 Tree-edit-distance algoritmus	14
2.2 Vývoj algoritmu - rekurzia a dynamické programovanie	15
2.2.1 RTED	15
2.2.2 Mapovanie medzi stromami	20
3 Kreslenie molekuly	25
3.1 Normalizácia vzdialeností v báзовých pároch a vyrovnávanie stemov	25
3.2 Operácie na stromoch	27
3.2.1 Vkladanie nového vrcholu do stromu	27
3.2.2 Modifikácia multibrach loop	28
3.2.3 Mazanie vrcholov zo stromu	29
4 TRAVeLer - Template RnA Visualization	30
4.1 Inštalácia	30
4.2 Argumenty programu	30
4.2.1 Formát fasta súboru	31
4.3 Príklad vstupu	32
4.4 Výstupné súbory	33
4.4.1 Mapovacia tabuľka	33
4.4.2 PostScript obrázok	33
4.4.3 SVG obrázok	35
4.5 Rozšírenie podpory formátov vstupných obrázkov	35
5 Experimentálne vyhodnotenie	36
5.1 Experimenty na testovacích štruktúrach	36
5.2 Experimenty na reálnych rRNA	37
5.3 Chyby	39
5.3.1 Otáčanie vetvy kvôli existujúcej hrane	39
5.3.2 Rozloženie báz na kružnicu	42
5.3.3 Otáčanie vetvy kvôli prekreslovaniu multibranch loopy	42
Záver	45
Seznam použité literatury	46

Úvod

Donedávna sa myslelo, že úloha ribonukleovej kyseliny, RNA, je obmedzená iba na syntézu bielkovín, buď ako nositeľka genetickej informácie (mRNA), alebo ako prenášač aminokyselín pri ich tvorbe (tRNA). Avšak existuje mnoho ďalších druhov, od relatívne malých molekúl majúcich iba desiatky nukleotidov, ktoré ovplyvňujú expresiu génov (miRNA, siRNA, snRNA, snoRNA a ďalšie) (Carthew a Sontheimer (2009), Kiss (2002)), až po veľké molekuly s tisíckami nukleotidov, ktoré sa podieľajú na tvorbe ribozómu (rRNA).

Spolu s objavmi ďalších funkcií RNA molekúl rastie záujem o nástroje dovoľujúce študovať ich štruktúru. Primárna štruktúra je určená poradím nukleotidov v reťazci RNA. Terciárnu štruktúru získame ich priestorovým usporiadaním. Poslednou a v tejto práci pre nás najdôležitejšou bude sekundárna štruktúra. Tú reprezentuje zoznam nukleotidov ktoré sú spojené väzbou. Spárované nukleotidy sú blízko seba v priestore a tak nám sekundárna relatívne dobre aproximuje terciárnu štruktúru. Predpovedanie terciárnej štruktúry nieje veľmi spoľahlivé ani pre kratšie molekuly. Naopak, pre menšie molekuly a ich sekundárnu štruktúru existujú spoľahlivejšie metódy. Ich prehľad a porovnanie nájdeme v článku od autorov Puton a kol. (2013). Príbuzné štruktúry nám vedia poslúžiť k predpovedaniu konzervovaných častí, dokonca aj veľkých rRNA molekúl (Pánek a kol. (2014)).

Vizualizácia sekundárnej štruktúry RNA sa dá previesť na kreslenie grafu, ktorého vrcholy tvoria nukleotidy a hrany reprezentujú páry medzi nimi. Kreslenie grafov je značne preskúmanou témou, keďže nachádza uplatnenie vo veľa doménach, ako napríklad analýza sociálnych sietí (Scott (1988)) alebo vo všeobecnej analýze dát (Tamassia (2007)).

Cieľom vizualizácie sekundárnej štruktúry RNA je zachytiť párovanie nukleotidov v molekule a ideálne všetky ďalšie motívy, ktoré sa v štruktúre vyskytujú, ako napríklad hairpin, bulge, interior a multi-branch loop. Existujúce nástroje na vizualizáciu zväčša volia medzi tromi tipmi reprezentácie štruktúry (Wiese a kol. (2005)): spojnicový graf (linked graph), kruhový graf (circular graph) alebo štandardná štruktúra (classical structure). Aj keď spojnicový a kruhový graf podporujú vizualizáciu párovania báz, motívy sa v nej dajú nájsť len veľmi ťažko, ak vôbec. Preto nám na hľadanie motívov v RNA ostala štandardná reprezentácia štruktúry RNA. Bolo vymyslených množstvo riešení - RNAfold z balíka ViennaRNA (Lorenz a kol. (2011)), VARNA (Darty a kol. (2009)), RnaViz (De Rijck a kol. (2003)), jViz.RNA (Wiese a kol. (2005)), mfold (Zuker (2003)), PseudoViewer (Han a kol. (2002)) alebo RNAView (Yang a kol. (2003)). Avšak iba niektoré z týchto nástrojov a algoritmov sú použiteľné pre vizualizáciu veľkých štruktúr, akou sú napríklad podjednotky rRNA (RNAfold, RnaViz a RNAView). Porovnanie väčšiny z nich nájdeme v článku autorov Ponty a Leclerc (2015).

Vzhľadom k tomu, že je nekonečne mnoho možností ako rozložiť sekundárnu štruktúru, potrebujeme zistiť aké kritéria by malo nakreslenie RNA spĺňať. Nanešťastie tieto kritéria nie sú formalizované, avšak niektoré vlastnosti ako napríklad rovinnosť nakreslenia, kreslenie loopov (hairpin, bulge, interior a multi-branch) na kružnici a vrcholy stemu ležiace na jednej priamke sú spoločné pre väčšinu vizualizácií používaných vo vedeckej komunite, ako popisujú Auber a kol. (2006).

Ostatné sa prispôsobujú oblasti štúdia, kvôli čomu každý algoritmus nebude vyhovovať veľkej časti používateľov. Dôvod môžeme ilustrovať na ribozomálnej RNA. Štruktúry týchto molekúl majú veľké konzervované časti, ktoré biológovia očakávajú na rovnakom mieste na obrázku, vďaka čomu sa vedia orientovať aj v relatívne veľkej molekule a môžu skúmať a nachádzať tie menej konzervované časti, ktoré sa líšia medzi organizmami. To znamená, že ak chceme štruktúru vizualizovať, potrebujeme ukladať konzervované časti vždy na rovnaké miesto v obrázku.

Potreba vizualizácie, ktorá by zachovávala čo najviac spomínaných vlastností nás viedla k vytvoreniu nového vizualizačného algoritmu založeného na použití šablónovej (vzorovej) molekuly (Eliáš a Hokza (2016)). Algoritmus na vstupe vezme cieľovú štruktúru, ktorú chceme vizualizovať a inú, podobnú štruktúru u ktorej poznáme jej nakreslenie. Túto podobnú molekulu nazývame šablónou. Obe štruktúry sú prevedené do ich stromovej reprezentácie. Následne nájdeme najkratšiu postupnosť editačných operácií, ktoré prevedú strom molekuly šablónovej na vizualizovanú molekulu a rovnako menia aj nakreslenie šablóny na nakreslenie cieľovej molekuly. Vzhľadom k tomu, že editačné operácie ktoré menia nakreslenie odpovedajú minimálnej editačnej vzdialenosti medzi stromami, nakreslenie spoločných častí sa nemení. Táto metóda je teda schopná vizualizovať sekundárnu štruktúru RNA molekuly presne podľa zvyku biológov - podľa poskytnutého vzorového nakreslenia.

1. Úvod do štúdia RNA štruktúry a grafov

V tejto časti práce zoznámime čitateľa s pojmami, ktoré s RNA a jej štruktúrou súvisia.

1.1 Čo je RNA

RNA, ribonukleová kyselina, je jednovláknová molekula, pozostávajúca zo sekvencie nukleotidov, jej základných stavebných častí. Tie sa ďalej skladajú z cukru (pentózy), dusíkatej bázy a zvyšku kyseliny fosforečnej. Poznáme štyri druhy báz, adenín, cytozín, guanín a uracyl, označovať ich budeme A, C, G a U. Okrem báz nás ďalšie zložky nebudú zaujímať a tak ďalej v texte stotožníme pojmy nukleotid a báza.

Štruktúru RNA môžeme chápať podľa stupňa zjednodušenia:

- Primárna štruktúra - poradie nukleotidov v reťazci
- Sekundárna štruktúra - párovanie medzi bázami
- Terciárna štruktúra - priestorové usporiadanie molekuly

RNA ako jednovláknová molekula sa v snahe minimalizovať voľnú energiu páruje sama na seba. V tomto hrajú úlohu vodíkové väzby medzi nukleotidmi. Tie majú vzájomnú preferenciu, čo znamená, že páry vznikajú najčastejšie medzi A-U a C-G, no ani iné kombinácie nie sú vylúčené.

1.2 Sekundárna štruktúra

Hlavným objektom nášho záujmu je sekundárna štruktúra RNA. V nasledujúcej časti si ju definujeme formálnejšie.

Definícia 1. *Primárna štruktúra RNA je určená poradím nukleotidov v polynukleotidovom reťazci.*

Sekundárnou štruktúrou označíme množinu \mathbb{S} párov báz (i, j) takých, že pre dva páry (i, j) a $(k, l) \in \mathbb{S}$ (bez straty všeobecnosti $i \leq k$) platí jedno z nasledujúcich:

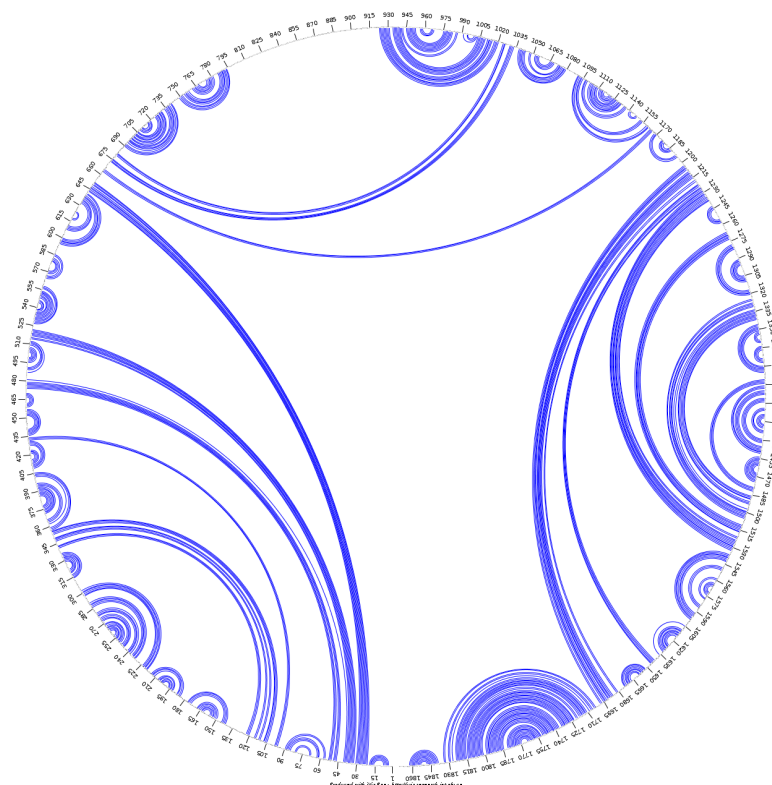
- $i = k \iff j = l$
- $i < j < k < l$, čiže pár (i, j) predchádza pár (k, l)
- $i < k < l < j$, čiže pár (i, j) obsahuje pár (k, l)

Prvá podmienka zabezpečuje, že nukleotid je najviac v jednom bázičkom páre, druhá a tretia hovoria o ich usporiadaní - buď na seba nadväzujú, alebo sú na sebe nezávislé.

Všimnime si ďalej, že podmienky vylučujú bázoové páry typu (i, j) a (k, l) , kde $i < k < j < l$, teda páry sa nesmú prekrývať. Takéto páry nazývame pseudouzly (pseudoknot) a ich rozdelenie máme na obrázku 1.5. Pseudouzly sa často



Obr. 1.1: Spojnicový graf



Obr. 1.2: Kruhový graf

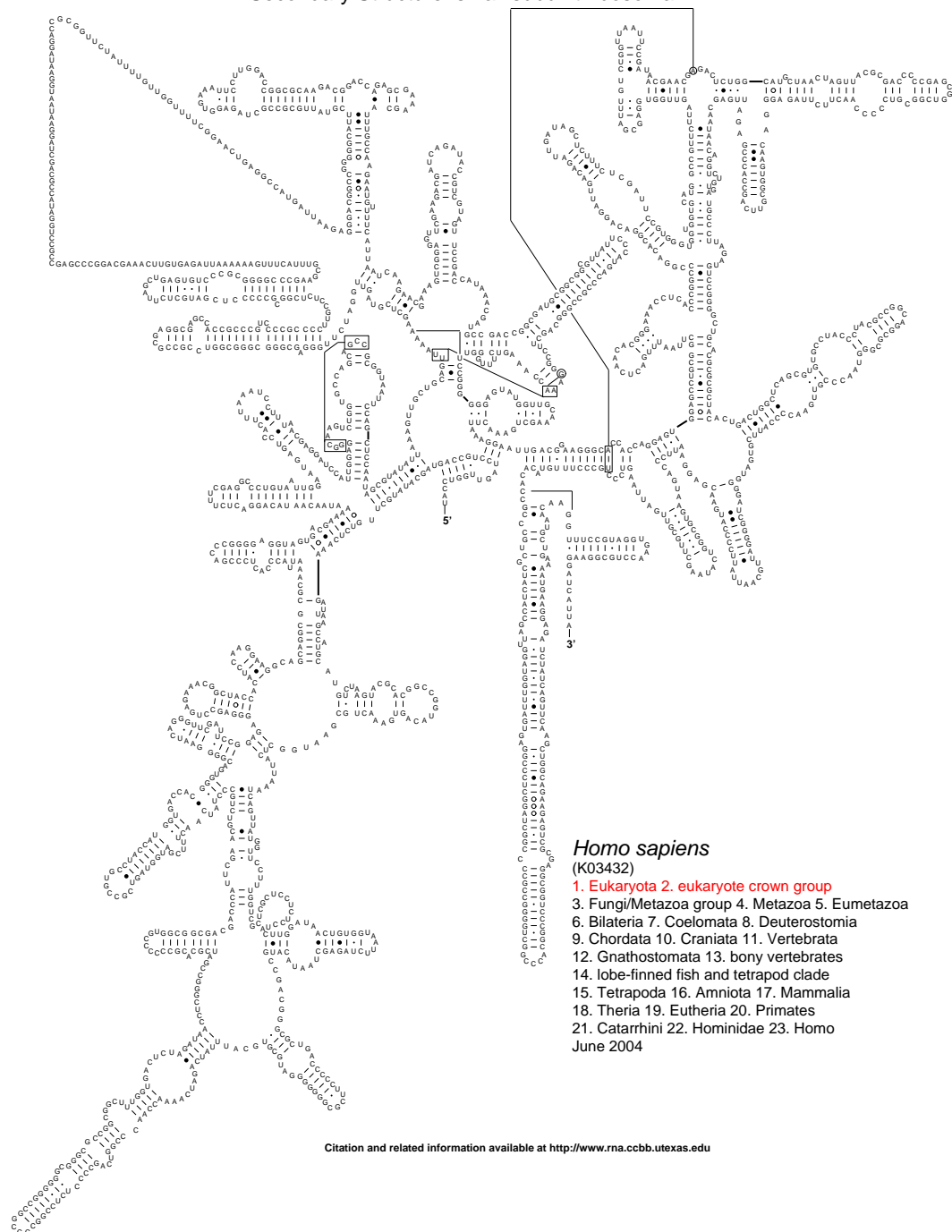
považujú za súčasť sekundárnej štruktúry, no v našej práci s nimi nepočítame. Takéto zjednodušenie nám umožní reprezentovať sekundárnu štruktúru RNA ako usporiadaný zakorenený strom (les). Definíciu grafových pojmov ako strom a les uvedieme neskôr.

1.2.1 Typy zobrazenia sekundárnej štruktúry

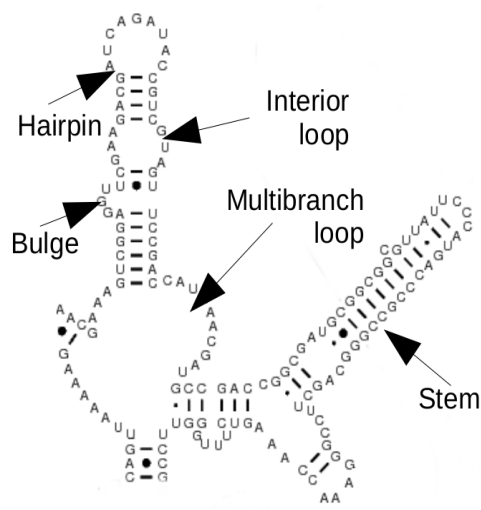
Existujúce nástroje volia medzi tromi možnosťami vizualizácie sekundárnej štruktúry: spojnicový graf (linked graph), kruhový graf (circular graph) alebo štandardná štruktúra (classical structure).

Na nasledujúcich obrázkoch sme pomocou programu jViz.Rna (Wiese a kol. (2005)) nakreslili molekulu *K03432* malej podjednotky ribozomálnej RNA človeka vo všetkých zobrazeniach. Ako vidíme, zo spojnicového 1.1 a rovnako aj kruhového grafu 1.2 sa motívy vyčítať tak ľahko nedajú. Naopak zobrazenie štandardnej štruktúry na obrázku 1.3 je podľa predstáv biológov. Tí očakávajú, že v RNA molekulách rovnakého typu (napríklad malé podjednotky rRNA 23S) budú konzervované časti nakreslené na rovnakom mieste, čo im pomôže orientovať sa aj pri molekulách veľkých rozmerov.

Secondary Structure: small subunit ribosomal RNA



Obr. 1.3: Vizualizácia sekundárnej štruktúry RNA človeka z CRW databázy (Cannon a kol. (2002))



Obr. 1.4: Štrukturálne motívy v RNA



Obr. 1.5: Typy pseudouzlov (Kleinkauf a kol. (2015))

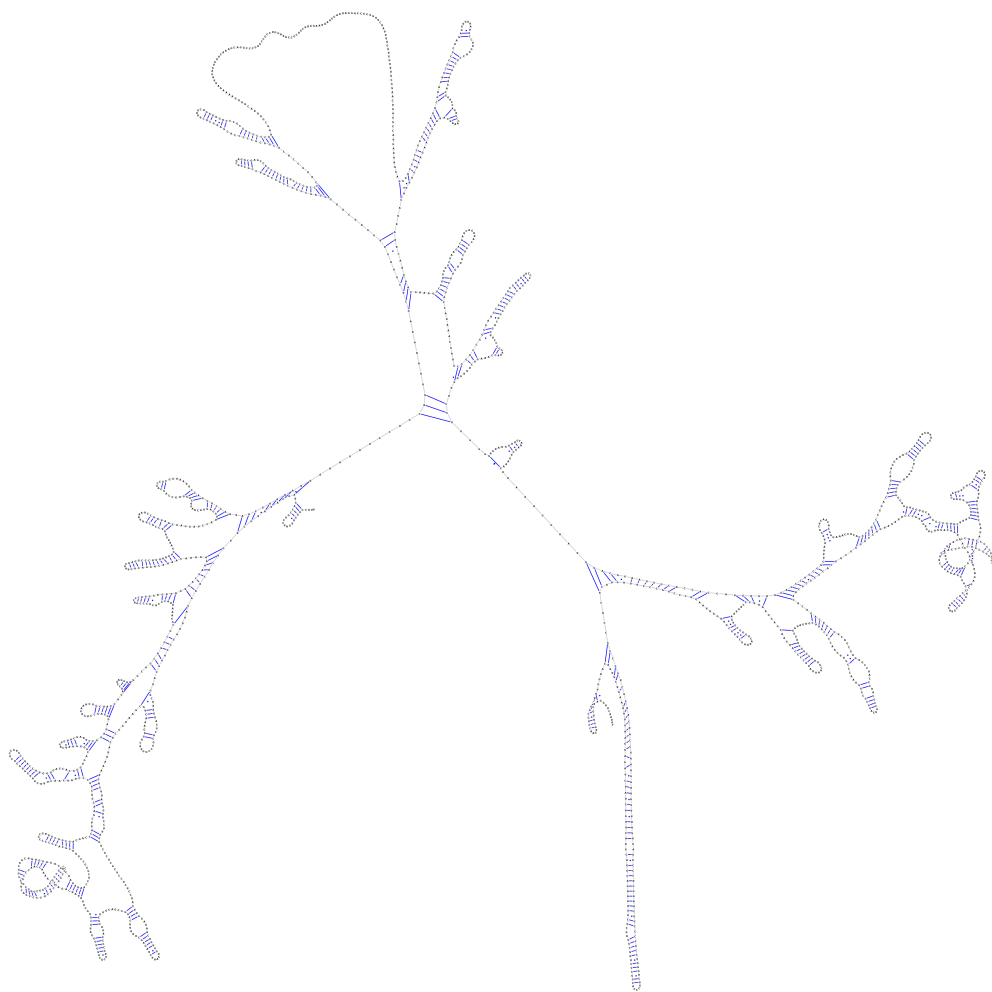
1.2.2 Motívy

Niektoré časti molekuly vytvárajú isté motívy, z ktorých niektoré môžeme vidieť na obrázku 1.4. Motívom sú aj pseudouzly 1.5, ale v tejto práci sa nimi nebudeme zaoberať.

Stem (stonka) je časť molekuly, kde sa na seba párujú dva súvislé časti vlákna. **Loopom** budeme označovať miesta s nespárovanými bázami. **Bulge** (vypuklina) je miesto v steme, ktoré z jednej strany obsahuje loop. Podobná je **interior** (vnútorná) loop, tá ale má loop po oboch stranách stemu. **Hairpin** je stem zakončený loopom a nakoniec **multibranch** (viac vetvová) loop je podobná ako interior loop, ale spája dokopy viac stemov. V ďalšom rozprávaní nám bude stačiť rozdelenie na stem (spárované bázy) a loop (nespárované bázy).

1.3 Hlavný objekt záujmu - rRNA

Ako hlavný objekt záujmu sme si spomedzi všetkých druhov RNA vybrali práve ribozomálnu, rRNA. Jej funkcia je hlavne v translácii génov, pri ktorej sa genetická informácia prekladá z poradia nukleotidov v mRNA do poradia aminokyselín v bielkovine.

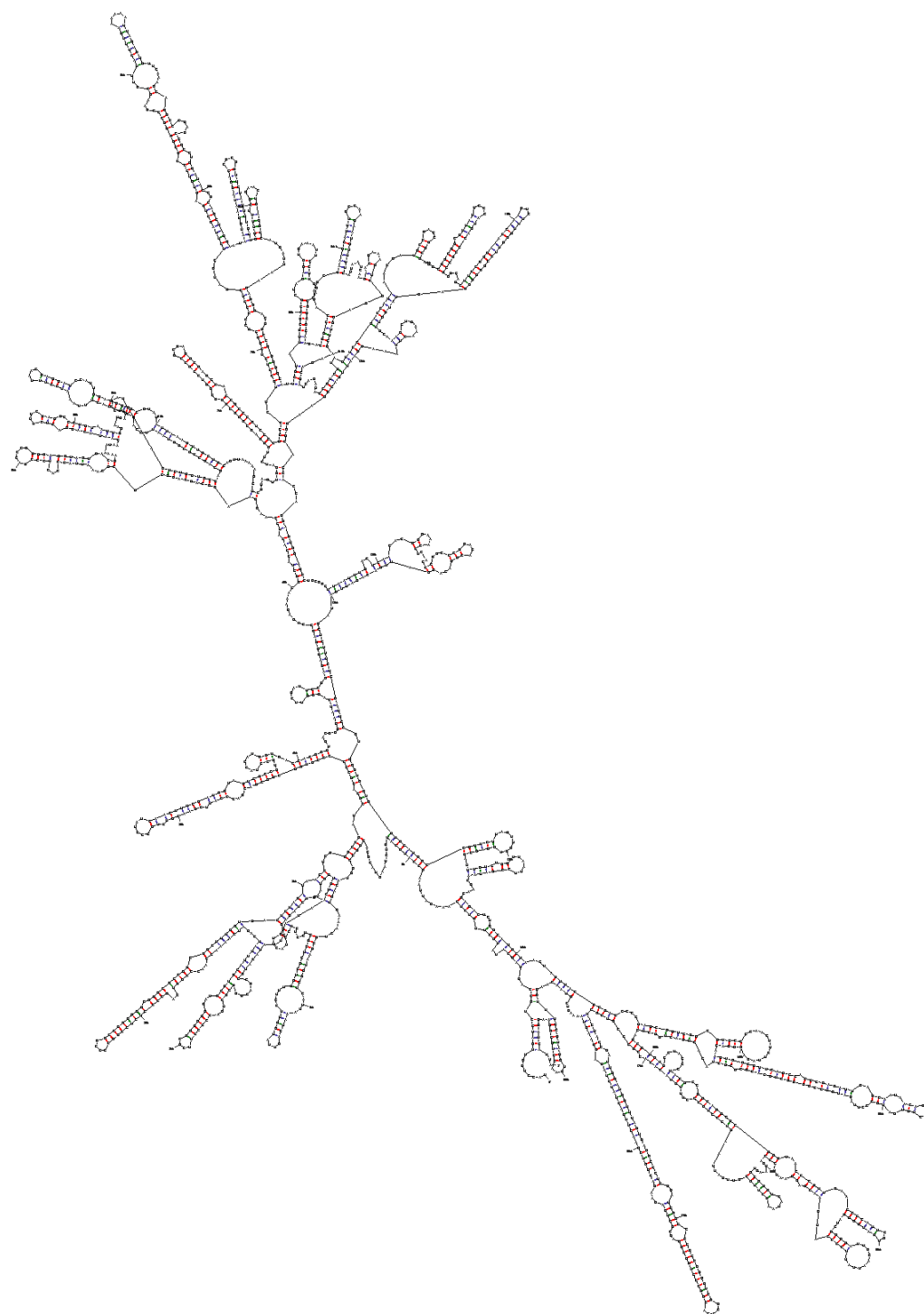


Obr. 1.6: Malá podjednotka vygenerovaná programom jViz.Rna (Wiese a kol. (2005))

Zvolili sme si ju taktiež kvôli jej konzervovanosti naprieč evolučným spektrom. Ďalším dôvodom bola jej veľkosť, ktorá robí existujúcim nástrojom najväčšie problémy pri vizualizácii. Na obrázku 1.3 vidíme sekundárnu štruktúru K03432 malej podjednotky ribozomálnej RNA človeka z CRW databázy. Tá znázorňuje predstavy biológov o tom, ako by malo nakreslenie danej molekuly vyzeráť. Obrázky 1.6, 1.7 a 1.8 sú zase vygenerované vizualizácie pomocou programov jViz.Rna, Mfold a RNAfold. Dodržiavanie základných kritérií ako rovinnosť, loopy na kružniciach a stemy na priamkach sa prevažne programom darí, no celkový vzhľad obrázkov je úplne odlišný od požiadavok biológov, keďže sa motívy z obrázka z CRW databázy hľadajú veľmi ťažko.

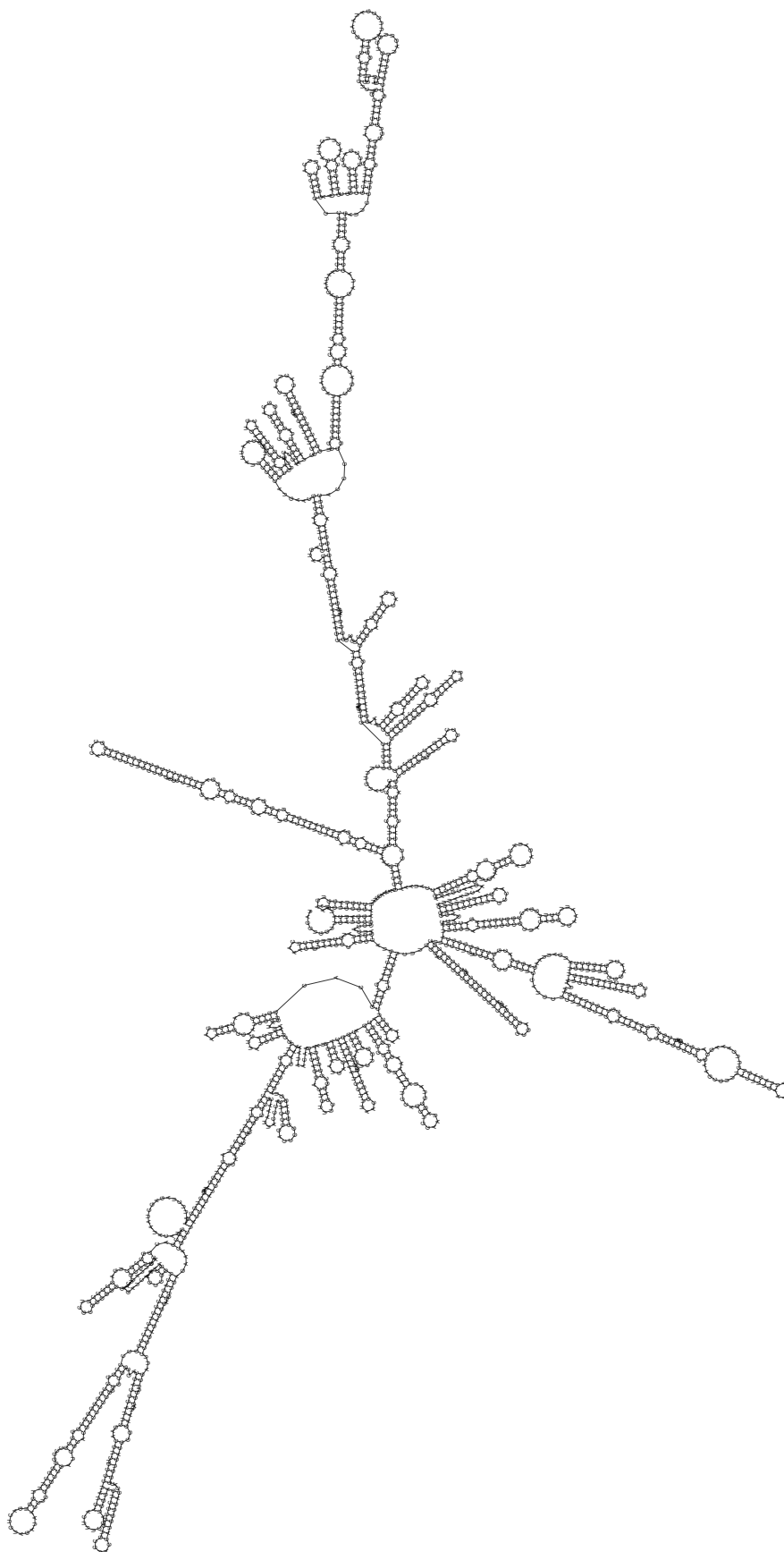
V ďalších častiach budeme ako vzory nakreslenia RNA považovať vizualizácie z CRW databázy (Cannone a kol. (2002)).

Output of sit_graph (C)
mob_util 4.7

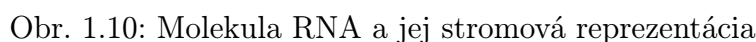
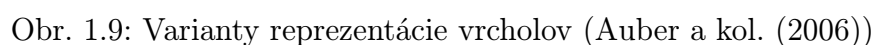


$dG = -692.73$ [Initially -763.70] human

Obr. 1.7: Malá podjednotka vygenerovaná programom Mfold (Zuker (2003))



Obr. 1.8: Malá podjednotka vygenerovaná programom RNAfold (Lorenz a kol. (2011))



V našej práci vrchol stromu reprezentuje báзовý pár (vnútorný vrchol) alebo nespárovanú bázu (list stromu), ako je to zobrazené na obrázku 1.10 Štruktúru do ktorej patrí si totiž vieme ľahko zistiť z potomkov vrcholu.

12

1.5 Grafové pojmy

V tejto časti zadefinujeme pojmy a značenie, ktoré budeme v tejto práci používať. Z väčšej časti ho prevezmeme od Pawlik a Augsten (2011).

Definícia 2. *Usporiadáný zakorenený strom je orientovaný graf bez cyklov, jeho hrany sú orientované vždy v smere od koreňa, t.j. z predka k potomkovi.*

Okrem koreňa má každý vrchol svojho predka a existuje usporiadanie medzi potomkami.

Usporiadany les je usporiadaná množina stromov.

Ak F je les, V_F budeme označovať množinu jeho vrcholov a E_F množinu jeho hrán. Prázdny strom/les budeme značiť \emptyset .

Definícia 3. *Nech F je strom, u a v jeho dva rôzne vrcholy. Hovoríme, že u je predkom (rodičom) v (v je potomok u) ak $(u, v) \in E_F$. Hovoríme, že u je súrodencom v , ak sú to rôzne vrcholy a majú spoločného predka.*

Vnútrojnými vrcholmi budeme označovať vrcholy, ktoré majú nejakého potomka, tie bez potomkov nazveme listy.

Podles lesa F je les G s vrcholmi $V_G \subseteq V_F$ a hranami $E_G \subseteq E_F \cap (V_G \times V_G)$. Obdobne to platí aj pre podstrom stromu.

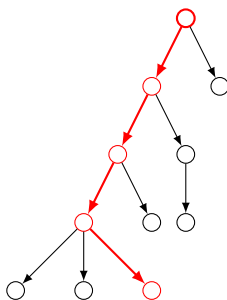
Nech v je vrchol stromu F . Potom F_v budeme značiť podstrom F zakorenený vo v , t.j. v strome ostávajú potomkovia v , ich potomkovia, atď. $F - v$ budeme značiť les, ktorý vznikne zmazaním vrcholu v z F spolu so všetkými hranami obsahujúcimi v . Podobne $F - F_v$ budeme značiť les, ktorý dostaneme zmazaním podstromu F_v z F .

Definícia 4 (Root-leaf cesta). *Nech je F strom. Cestou v F nazveme jeho súvislý podgraf taký, že všetky jeho vrcholy majú stupeň najviac 2.*

Root-leaf cestou v F budeme nazývať cestu začínajúcu v koreni stromu a končiacu v nejakom jeho liste.

V práci budeme využívať tri druhy ciest, budú to *left*, *right*, *heavy* a označovať ich budeme $\gamma^L, \gamma^R, \gamma^H$. *Left* bude v strome cesta idúca vždy do prvého (ľavého) potomka, *right* do posledného (pravého) a *heavy* zase cesta idúca do vrcholu s najväčším podstromom (najťažším)².

Príklad *root-leaf* cesty v strome je na obrázku 1.11.



Obr. 1.11: Príklad stromu. Je v ňom červene vyznačená *heavy* cesta.

²ťažkých ciest môže existovať aj viac ako jedna

2. Mapovanie medzi RNA stromami

Ako sme spomínali v predchádzajúcich častiach, biológovia očakávajú, že podobné RNA molekuly (pozeráme na sekundárnu štruktúru) budú mať aj podobnú vizualizáciu. To znamená, že nakreslenia sa majú líšiť iba v rozdielnych častiach.

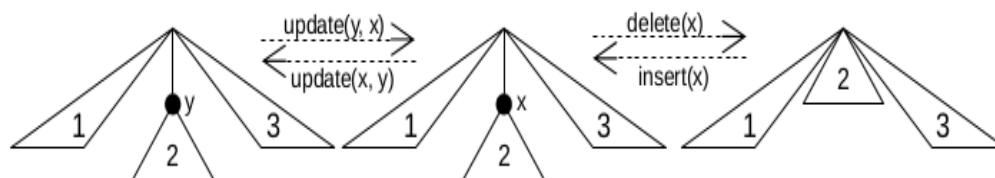
Vieme už, že RNA a jej sekundárnu štruktúru vieme reprezentovať ako usporiadaný strom. Táto kapitola nám dá návod, ako nájsť najmenší počet úprav, ktorý prevedie jeden strom na iný. Vďaka tomu, že poznáme vizualizáciu jednej molekuly - vieme rozvrhnutie jej báz na obrázku a dokážeme ju previesť na cieľovú molekulu, rovnaké štruktúry budú rovnako vizualizované.

To nás privádza k algoritmu *tree-edit-distance*, *TED*. Je obdobou Levenshteinového string-edit-distance algoritmu (Levenshtein (1966)). Ten počíta editačnú vzdialenosť medzi dvomi reťazcami a transformuje jeden reťazec na druhý.

Problém u reťazcov je špeciálnym prípadom TEDu, kedy nám stromy zdegenerovali na cesty (spojový zoznam).

2.1 Tree-edit-distance algoritmus

Základ TED algoritmu je v rekurzívnom vzorci 2.2. Vzdialenosť medzi stromami F a G , $\delta(F, G)$ je definovaná ako minimálny počet editačných operácií, ktoré z F urobia G . Používame štandardne editačné operácie - delete, insert, update.



Obr. 2.1: Ukážky TED operácií

Delete, operácia zmazania vrcholu, znamená pripojiť k jeho predkovi všetkých jeho potomkov so zachovaním poradia medzi nimi. Insert, vkladanie vrcholu, je opačná operácia. Vkladáme vrchol medzi predka a nejakých jeho, po sebe nasledujúcich potomkov. Update iba zmení hodnotu vo vrchole stromu. Tieto operácie sú názorne ukázané na obrázku 2.1.

Definícia 5 (Editačná vzdialenosť). *Nech F a G sú dva stromy. Editácia vzdialenosť (tree-edit-distance, $\delta(F, G)$), medzi F a G je rovná minimálnej cene, za ktorú strom F transformujeme na G .*

Rekurzia 2.2 počíta vzdialenosť medzi dvoma lesmi F a G . c_{del} , c_{ins} a c_{upd} sú ceny zmazania, vloženia a updatu vrcholu v strome a r_F a r_G sú korene F , respektíve G a to buď obidva najpravejšie alebo najľavejšie (tzn. vyberieme najpravejší/najľavejší strom lesa a jeho koreň).

$$\begin{aligned}
\delta(\emptyset, \emptyset) &= 0 \\
\delta(F, \emptyset) &= \delta(F - r_F, \emptyset) + c_{del}(r_F) \\
\delta(\emptyset, G) &= \delta(\emptyset, G - r_G) + c_{ins}(r_G) \\
\delta(F, G) &= \begin{cases} \delta(F - r_F, G) + c_{del}(r_F) \\ \delta(F, G - r_G) + c_{ins}(r_G) \\ \delta(F - F_{r_F}, G - G_{r_G}) \\ \quad + \delta(F_{r_F} - r_F, G_{r_G} - r_G) \\ \quad + c_{upd}(r_F, r_G) \end{cases}
\end{aligned}$$

Obr. 2.2: Rekurzívny vzorec pre výpočet tree-edit-distance od Demaine a kol. (2009) a Pawlik a Augsten (2011)

2.2 Vývoj algoritmu - rekurzia a dynamické programovanie

Algoritmus TED prešiel vývojom postupne od Tai (1979), ktorý predstavil algoritmus na výpočet editačnej vzdialenosti s priestorovou a časovou zložitou $\mathcal{O}(m^3 \cdot n^3)$. Algoritmus vylepšili Zhang a Shasha (1989) vypočítaním toho, že nepotrebuje počítať celú rekúziu. Ich algoritmus má časovú zložitou $\mathcal{O}(m^2 \cdot n^2)$ a priestorovú $\mathcal{O}(m \cdot n)$. Klein (1998) dosiahol časovú zložitou $\mathcal{O}(m^2 \cdot n \cdot \log n)$, avšak jeho riešenie potrebuje rovnako veľa pamäte. Dulucq a Touzet (2003) ukázali, že minimálny čas na beh algoritmu je $\mathcal{O}(m \cdot n \cdot \log m \cdot \log n)$. Demaine a kol. (2009) predstavili worst-case optimálny algoritmus pre tree-edit-distance. Jeho časová a priestorová zložitou je $\mathcal{O}(m^2 \cdot n \cdot (1 + \log \frac{n}{m}))$ a $\mathcal{O}(m \cdot n)$. Pawlik a Augsten (2011) ukázali spojitou medzi efektívnosťou predchádzajúcich algoritmov a tvarom stromov. Zovšeobecnil predchádzajúce prístupy a vytvorili algoritmus s worst-case časom $\mathcal{O}(m^3)$ a priestorom $\mathcal{O}(m \cdot n)$. Ako dokázali, ich algoritmus je efektívny pre všetky tvary stromov a worst-case prípad u neho nastane iba vtedy, ak lepší smer výpočtu neexistuje.

2.2.1 RTED

V nasledujúcich častiach sa budeme venovať výhradne algoritmu RTED od tvorcov Pawlik a Augsten (2011). Ich algoritmus rozdelíme na 2 časti, rovnako pomenovaný RTED a GTED.

RTED (Robust Tree Edit Distance) algoritmus bude pre nás algoritmus na výpočet optimálnej dekompozičnej stratégie (pozri definíciu 6) a GTED (General Tree Edit Distance), algoritmus pre samotný výpočet editačnej vzdialenosti z rekúzie 2.2 s aplikovaním danej stratégie.

Definícia 6 (Dekompozičná stratégia). *Nech F a G sú lesy. Dekompozičná stratégia pre rekúziu 2.2 priradí každej dvojici stromov F_v a G_w jednu cestu γ_T z koreňa do listu, kde $T \in \{T, G\}$.*

LRH dekompozičná stratégia vyberá vždy najľavejší/najpravejší/najťažší (left/right/heavy) vrchol až kým nepríde do listu. Najťažší vrchol je taký, v ktorého podstrome je najviac vrcholov.

To znamená, že dekompozičná stratégia nám pre dvojicu lesov povie, ktorý z nich a akou cestou chceme rozložiť (dekomponovať). V rekurzii to hovorí, či odoberám r_F , alebo r_G vrchol.

GTED: General Tree Edit Distance algoritmus

Začneme princípom fungovania GTED algoritmu. Detaily pre LRH stratégie sú v článku od Zhang a Shasha (1989) pre left/right a v článku od Demaine a kol. (2009) pre heavy stratégiu.

Definícia 7. *Relevant subtrees stromu F pre root-leaf cestu γ sú stromy $F - \gamma$. Relevant subforests lesa F pre nejakú root-leaf cestu γ sú definované rekurzívne (r_R a r_L označujú najpravejší, respektíve najľavejší koreň F)*

$$\begin{aligned}\mathcal{F}(\emptyset, \gamma) &= \emptyset \\ \mathcal{F}(F, \gamma) &= \{F\} \cup \begin{cases} \mathcal{F}(F - r_R(F), \gamma), & \text{ak } r_L(F) \in \gamma \\ \mathcal{F}(F - r_L(F), \gamma), & \text{v ostatných prípadoch} \end{cases}\end{aligned}$$

Algorithm 1 General Tree Edit Distance for LRH strategies

```

1: procedure GTED( $F, G, TreeDistance, Strategies$ )
2:    $\gamma \leftarrow \text{path in } Strategies[F, G]$ 
3:   if  $\gamma \in F$  then
4:     for all tree  $F' \in F - \gamma$  do
5:        $TreeDistance \leftarrow TreeDistance$ 
6:        $\cup \text{GTED}(F', G, TreeDistance, Strategies)$ 
7:      $TreeDistance \leftarrow TreeDistance$ 
8:      $\cup \text{COMPUTEDISTANCE}(F, G, TreeDistance, \gamma)$ 
9:   else
10:     $TreeDistance \leftarrow TreeDistance$ 
11:     $\cup (\text{GTED}(G, F, TreeDistance^T, Strategies^T))^T$ 
12:   return  $TreeDistance$ 

```

Poznámka. Funkcia *OrderedSubforests* v algoritme 2 vracia zoradené podlesy daného lesa v opačnom poradí, ako ich pridávame v definícii 7.

GTED algoritmus 1 funguje v troch krokoch. Najprv podľa stratégie a ňou určenej cesty γ dekomponuje jeden zo stromov, môžeme si predstaviť, že je to práve F . Následne rekurzívne spočíta editačnú vzdialenosť medzi všetkými stromami, ktoré susedia s dekompozičnou cestou (t.j. $F - \gamma$) a stromom G .

Následne pre všetky relevant-subtrees stromy G' stromu G vyráta vzdialenosti medzi F_v a G' , ktorá dopočíta vzdialeností medzi vrcholmi $v \in \gamma_F$ a stromami G' .

Algorithm 2 Single path function

```
1: procedure COMPUTEDISTANCE( $F, G, TreeDistance, \gamma$ )
2:   if  $\gamma \in \gamma^*(F)$  then
3:     for all  $G' \in \text{RELEVANTSUBTREES}(G, \gamma)$  do
4:        $\text{SINGLEPATH}(F, G', TreeDistance, \gamma)$ 
5:   else
6:     for all  $F' \in \text{RELEVANTSUBTREES}(F, \gamma)$  do
7:        $\text{SINGLEPATH}(F', G, TreeDistance, \gamma)$ 

8: procedure SINGLEPATH( $F, G, TreeDistance, \gamma$ )
9:    $ForestDistance \leftarrow \text{array } (|F| + 1) \times (|G| + 1)$ 
10:   $ForestDistance[\emptyset][\emptyset] := 0$ 
11:  for  $F'$  subforest in  $\text{ORDEREDSUBFORESTS}(F, \gamma)$  do
12:     $Last_F \leftarrow \text{last added node to } F'$ 
13:     $ForestDistance[F'][\emptyset] := ForestDistance[F' - Last_F][\emptyset]$ 
14:       $+ C_{del}(Last_F)$ 
15:  for  $G'$  subforest in  $\text{ORDEREDSUBFORESTS}(G, \gamma)$  do
16:     $Last_G \leftarrow \text{last added node to } G'$ 
17:     $ForestDistance[\emptyset][G'] := ForestDistance[\emptyset][G' - Last_G]$ 
18:       $+ C_{ins}(Last_G)$ 
19:  for  $F'$  subforest in  $\text{ORDEREDSUBFORESTS}(F, \gamma)$  do
20:    for  $G'$  subforest in  $\text{ORDEREDSUBFORESTS}(G, \gamma)$  do
21:       $Last_F \leftarrow \text{last added node to } F'$ 
22:       $Last_G \leftarrow \text{last added node to } G'$ 
23:      if both  $F'$  and  $G'$  are trees then
24:         $C_{min} := \min \{$ 
25:           $ForestDistance[F' - Last_F][G'] +$ 
26:           $C_{del}(Last_F),$ 
27:           $ForestDistance[F'][G' - Last_G] +$ 
28:           $C_{ins}(Last_G),$ 
29:           $ForestDistance[F' - Last_F][G' - Last_G] +$ 
30:           $C_{upd}(Last_F, Last_G)$ 
31:           $ForestDistance[F', G'] := C_{min}$ 
32:           $TreeDistance[Last_F][Last_G] := C_{min}$ 
33:        else
34:           $C_{min} := \min \{$ 
35:             $ForestDistance[F' - Last_F][G'] +$ 
36:             $C_{del}(Last_F),$ 
37:             $ForestDistance[F'][G' - Last_G] +$ 
38:             $C_{ins}(Last_G),$ 
39:             $ForestDistance[F' - F_{Last_F}][G' - G_{Last_G}] +$ 
40:             $TreeDistance[F_{Last_F}][G_{Last_G}]\}$ 
41:           $ForestDistance[F'][G'] := C_{min}$ 
42:  return  $ForestDistance$ 
```

Lemma 1. *Ak ComputeDistance funkcia dopočíta editačnú vzdialenosť medzi vrcholmi na ceste γ a všetkými podstromami druhého stromu, potom GTED vráti maticu vzdialenosti medzi všetkými dvojicami podstromov F_v a G_w , pre $v \in F; w \in G$.*

Dôkaz. Nech $\gamma \in F$. Po vyrátaní editačnej vzdialenosti medzi stromami $F - \gamma$ a G nám stačí dopočítať už len vrcholy na ceste, teda vzdialenosti medzi stromami F_v a G pre $v \in \gamma_F$. □

Vďaka dôslednému usporiadaniu lesov si v každom kroku pripravíme potrebné dáta pre ďalší krok algoritmu 2.

Pozrime sa znovu na algoritmus a na hodnoty používané v podmienkach na riadkoch 23 a 33. Prvé dva sú v oboch rovnaké. Počítame hodnotu zmazania a vloženia vrcholu z do F . Tretia hodnota sa líši podľa toho, či sú lesy zároveň stromami. Ak sú, tak na danom mieste je cena namapovania podstromov $F_v - v$ na $G_w - w$ a updatu vrcholu v na w . Ináč, keď aspoň jeden z lesov nie je strom, tak cenu mapovania medzi F_{Last_F} a G_{Last_G} máme vyrátanú z predchádzajúcich krokov, alebo z inej vetvy rekurzívne. Následne nastavíme hodnotu vzdialenosti medzi lesmi na minimum a v prípade že sú to obidva stromy, tak si uložíme aj ich vzdialenosť.

Poznámka. Nikdy nepoužívame viackrát rovnakú cestu γ v strome. To vyplýva z toho, že po dekompozícii stromu podľa γ , iné stromy cestu γ neobsahujú.

Poznámka. Single-path funkcia každú hodnotu ForestDistance , rovnako ako TreeDistance nastavuje práve raz.

Dôkaz. Žiadnu cestu nepoužívam opakovane. Hodnotu v TreeDistance nastavujem iba v momente, keď sú obidva lesy stromami (teda ich korene ležia na cestách γ_F a γ_G) a to sa udeje práve raz. Lesy vždy iba zväčšujem, takže nikdy sa nedostanem do menšieho aby som mu mohol znovu nastaviť hodnotu. To isté platí aj pre ForestDistance . □

Lemma 2. *Nikdy nepoužívame neinicializované hodnoty TreeDistance a ForestDistance .*

Dôkaz. Hodnota ForestDistance pre použitie s prázdny lesom je inicializovaná, a pri každej iterácii algoritmu čítam iba z hodnôt z predchádzajúcich iterácií, napríklad $\text{ForestDistance}[F - \text{Last}_F][G - \text{Last}_G]$, alebo $\text{ForestDistance}[F - F_{\text{Last}_F}][G - G_{\text{Last}_G}]$. V prvom prípade mažem iba jeden vrchol, v druhom celý jeho podstrom.

Hodnoty TreeDistance používame iba v prípade, že aspoň jeden z lesov F' alebo G' nie je stromom. To znamená, že ak posledne pridaný vrchol Last_F je mimo cesty γ_F , tak sme vzdialenosť od Last_G vyrátali rekurzívne po dekompozícii F už skôr. Naopak ak Last_F leží na ceste, potom Last_G je mimo cesty, a editačnú vzdialenosť sme vyrátali pri počítaní relevant-subtrees. □

F:

G:

<i>ForestDistance</i> :				
	0	1	2	
	1	2	1	
	2	1	2	
	3	2	1	

Obr. 2.3: Príklad výpočtu GTED medzi stromami F a G

Dôsledok. Algoritmus funguje.

Dôkaz. V predchádzajúcich častiach sme dokázali, že v každom kroku používame iba korektné hodnoty a všetky časti algoritmu počítajú správne, takže algoritmus GTED je v poriadku. □









Na záver tejto časti ukážeme na príklade, ako náš program TRAVeLer počíta vzdialenosť medzi dvomi stromami. Budeme používať, rovnako ako aj vo vyvinutej aplikácii, konštanty $c_{del} = c_{ins} = 1$, $c_{upd} = 0$. Sú nastavené tak kvôli tomu, že sa snažíme minimalizovať počet štrukturálnych zmien v strome, teda počet vkladaní a mazaní a zmena bázy nám vizualizáciu nemení. Obrázok 2.3 nám znázorňuje tabuľku *ForestDistance* z algoritmu 1 po skončení výpočtu.

Pozrime sa bližšie, ako algoritmus postupuje s výpočtom. Predpokladajme, že používame left stratégiu, ktorá nám určí cestu $\gamma = \{A, C\} \in G$. Hneď na začiatku algoritmus rozloží strom G podľa tejto cesty a rekurzívne spracuje $\{B\}^1 \in G$ (jeho podstrom) a vyráta vzdialenosť medzi ním a stromom F .

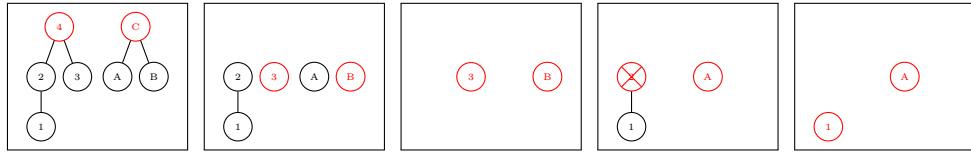
Následne začne vykonávať *SinglePath* funkciu 2, ktorej úloha je iba dorátať vzdialenosti medzi vrcholmi na ceste γ a druhým stromom. Výpočet je uvedený v tabuľke na obrázku 2.3. Začne porovnávať dva lesy, $\{1\}$ a $\{A\}$. Najmenšiu vzdialenosť (0) získame operáciou $update(1, A)$, teda zmeníme hodnotu vo vrchole z 1 na A. Vzdialenosť si uložíme do *TreeDistance* tabuľky, keďže podmienka, aby boli obidva lesy aj stromami, platí. Pokračujeme porovnávaním lesov $\{1\}$ a $\{A, B\}$. Máme tri možnosti:

- zmažeme vrchol 1 a namapujeme $\{\}$ na G
- zmažeme vrchol B a namapujeme $\{1\}$ na $\{A\}$
- použijeme mapovanie, ktoré už máme v tabuľke $\{1\}$ na $\{B\}$ (z *TreeDistance*) a namapujeme $\{\}$ na $\{A\}$ (z *ForestDistance*)

¹Množinou vrcholou budeme priamo označovať les/strom indukovaný týmito vrcholmi

<i>TreeDistance</i> :			
	A	B	
	0	0	2
 	1	1	1
	0	0	2
  	3	3	1

Obr. 2.4: Výsledná tabuľka *TreeDistance* medzi stromami z 2.3



Obr. 2.5: Výpočet mapovania medzi stromami

Hodnotu z tretej podmienky máme uloženú z predchádzajúcich krokov (tento prípad sme vyrátali pri rekurzívnom počítaní vzdialenosti medzi $\{B\}$ a celého stromu F). Ďalej pokračujeme podobne, až kým dorátame všetky hodnoty. Výsledná tabuľka je na obrázku 2.4 a určuje ceny transformácie medzi stromami.

2.2.2 Mapovanie medzi stromami

Keď už máme vyrátanú *TreeDistance* tabuľku, môžeme sa pustiť do mapovania medzi stromami. Tabuľku používame iba vo funkcii *SinglePath* a na samotné mapovanie používame *ForestDistance*, ktorá nám hovorí veľa o štruktúre stromov/lesov s ktorými pracujeme.

Princípom počítania mapovania je spätné prechádzanie matice *ForestDistance*, teda zisťujeme, akú operáciu sme v ktorom bode zvolili (update, delete, insert).

Všimnime si, že algoritmus 3 prechádza postupne relevantné podlesy (relevant subforests z definície 7) vďaka výberu vrcholov v a w a tie mapuje na seba.

Na obrázku 2.5 pokračujeme v príklade a chystáme sa namapovať tieto dva stromy na seba. Červenou sú kreslené vrcholy v a w z algoritmu. Tretí obrázok predstavuje rekurzívne volanie z riadka 21. Vo štvrtom sme vrchol 2 zmazali. Výsledné mapovanie je $4 \rightarrow C, 3 \rightarrow B, 2 \rightarrow \emptyset, 1 \rightarrow A$.

RTED: Robust Tree Edit Distance algoritmus

RTED budeme vnímať ako algoritmus na počítanie optimálnej stratégie - teda algoritmus, ktorý nám poradí, ako najlepšie dekomponovať obidva stromy.

Funguje tak, že si predpočíta koľko podproblémov budeme musieť vyriešiť, ak použijeme stratégiu *left*, *right*, alebo *heavy*.

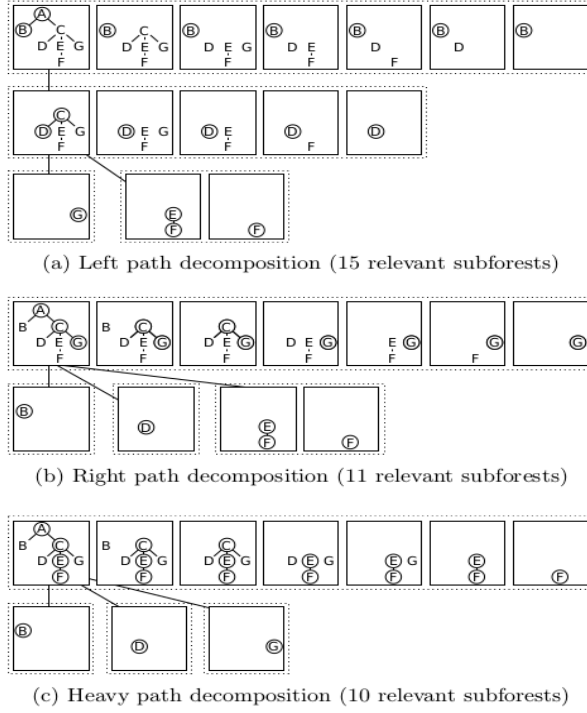
Algorithm 3 Mapping between trees

```

1: procedure GETMAPPING( $F, G, TreeDistance$ )
2:    $Mapping \leftarrow \emptyset$ 
3:    $\sigma \leftarrow$  random LRH strategy
4:    $\gamma \leftarrow$  path according to strategy  $\sigma$  (in  $F$  or  $G$ )
5:    $ForestDistance \leftarrow$  SINGLEPATH( $F, G, TreeDistance, \gamma$ )
6:   while  $F \neq \emptyset \wedge G \neq \emptyset$  do
7:      $v \leftarrow$  GETRELEVANTSUBFORESTNODE( $F, \sigma$ )
8:      $w \leftarrow$  GETRELEVANTSUBFORESTNODE( $G, \sigma$ )
9:     if  $ForestDistance[F, G] = ForestDistance[F - v, G] + c_{del}$  then
10:       $Mapping \leftarrow Mapping \cup (v \rightarrow 0)$ 
11:       $F \leftarrow F - v$ 
12:     else if  $ForestDistance[F, G] = ForestDistance[F, G - w] + c_{ins}$  then
13:       $Mapping \leftarrow Mapping \cup (0 \rightarrow w)$ 
14:       $G \leftarrow G - w$ 
15:     else
16:       if  $F$  and  $G$  are both trees then
17:          $Mapping \leftarrow Mapping \cup (v \rightarrow w)$ 
18:          $F \leftarrow F - v$ 
19:          $G \leftarrow G - w$ 
20:       else
21:          $Mapping \leftarrow Mapping \cup$  GETMAPPING( $F_v, G_w, TreeDistance$ )
22:          $F \leftarrow F - F_v$ 
23:          $G \leftarrow G - G_w$ 
24:   return  $Mapping$ 

25: procedure GETRELEVANTSUBFORESTNODE( $Forest, \sigma$ )
26:    $\gamma \leftarrow$  path in  $Forest$  according to strategy  $\sigma$ 
27:   if  $r_L(Forest) \in \gamma$  then
28:     return  $r_R(Forest)$ 
29:   else
30:     return  $r_L(Forest)$ 

```



Obr. 2.6: Celková dekompozícia pomocou LRH stratégií (Pawlik a Augsten (2011))

Definícia 8. Celková dekompozícia lesa (full decomposition) F , $\mathcal{A}(F)$ je množina všetkých podlesov F , ktoré dostaneme rekurzívnym odstránením najľavejšieho alebo najpravejšieho koreňového vrcholu - $r_L(F)$ a $r_R(F)$ - z F a následne aj všetkých jeho podlesov:

$$\begin{aligned}\mathcal{A}(\emptyset) &= \emptyset \\ \mathcal{A}(F) &= F \cup \mathcal{A}(F - r_L(F)) \cup \mathcal{A}(F - r_R(F))\end{aligned}$$

Celková dekompozícia pomocou LRH stratégií je znázornená na obrázku 2.6. Vidíme, že najmenší počet relevant subforests má *heavy* dekompozícia (10).

Nasledujúca lemma, ktorú pre *heavy* cesty dokázali Demaine a kol. (2009) a pre *left* cesty zase Zhang a Shasha (1989)² nám ukáže, že počet problémov ktoré potrebujeme vyrátať závisí od výberu dekompozičnej stratégie.

Lemma 3. Počet podproblémov (relevant subproblems) počítaných *SinglePath* funkciou pre dvojicu stromov F a G je rovná

$$\# = \begin{cases} |F| \times |\mathcal{F}(G, \Gamma^L(G))| & \text{pre left cesty} \\ |F| \times |\mathcal{F}(G, \Gamma^R(G))| & \text{pre right cesty} \\ |F| \times |\mathcal{A}(G)| & \text{pre heavy cesty} \end{cases}$$

Lemma 4. Minimálny počet podproblémov (cena počítania danou stratégiou),

²Pre *right* cesty to platí obdobne, stačí nám zmeniť poradie medzi potomkami vrcholov

ktoré potrebujeme vyrátať pri použití GTEDu je

$$cena(F, G) = \min \left\{ \begin{array}{ll} |F| \times |\mathcal{A}(G)| & + \sum_{F' \in F - \gamma^H(F)} cena(F', G) \\ |G| \times |\mathcal{A}(F)| & + \sum_{G' \in G - \gamma^H(G)} cena(G', F) \\ |F| \times |\mathcal{F}(G, \Gamma^L(G))| & + \sum_{F' \in F - \gamma^L(F)} cena(F', G) \\ |G| \times |\mathcal{F}(F, \Gamma^L(F))| & + \sum_{G' \in G - \gamma^L(G)} cena(G', F) \\ |F| \times |\mathcal{F}(G, \Gamma^R(G))| & + \sum_{F' \in F - \gamma^R(F)} cena(F', G) \\ |G| \times |\mathcal{F}(F, \Gamma^R(F))| & + \sum_{G' \in G - \gamma^R(G)} cena(G', F) \end{array} \right.$$

pričom Γ^L a Γ^R sú funkcie vracajúce left a right cestu v lese.

Dôkaz. Je uvedený v článku od Pawlik a Augsten (2011)

□

Popíšeme algoritmus 4 - RTED, od tvorcov Pawlik a Augsten (2011). Vďaka jeho rýchlosti $\mathcal{O}(n^2)$ si optimálnu stratégiu nájdeme a aj vypočítame GTED v čase $\mathcal{O}(n^3)$.

Algoritmus prechádza vrcholmi stromov a spočíta si, aká je optimálna dekompozičná stratégia pre danú dvojicu podstromov, teda pri akej potrebujem vyrátať minimálny počet podproblémov.

Stromom prechádza v postorder poradí, teda najprv navštívi potomkov zľava doprava, a až tak samotný vrchol. Toto poradie je zvolené kvôli tomu, aby sa znížila pamäťová náročnosť a nemuseli ukladať hodnoty medzi všetkými dvojicami podstromov. Namiesto toho inkrementujeme hodnotu v rodičovskom vrchole (procedúry *Update*) pri každej návšteve jeho potomka.

Lemma 5. *Algoritmus 4 vyráta optimálnu LRH stratégiu pre dvojicu podstromov F a G a časová náročnosť algoritmu je $\mathcal{O}(n^2)$.*

Dôkaz. Je uvedený v článku od Pawlik a Augsten (2011).

□

Algorithm 4 Optimal strategy

```

1: procedure RTED( $F, G$ )
2:    $L_v, R_v, H_v \leftarrow$  arrays  $|F| \times |G|$ 
3:    $L_w, R_w, H_w \leftarrow$  arrays  $|G|$ 
4:   for all  $v$  postorder in  $F$  do
5:     for all  $w$  postorder in  $G$  do
6:       if  $v$  is leaf then
7:          $L_v[v, w] \leftarrow R_v[v, w] \leftarrow H_v[v, w] \leftarrow 0$ 
8:       if  $w$  is leaf then
9:          $L_w[w] \leftarrow R_w[w] \leftarrow H_w[w] \leftarrow 0$ 
10:       $C := \{$ 
11:         $(|F_v| \times \mathcal{A}(G_w) + H_v[v, w], \gamma^H(F)),$ 
12:         $(|G_w| \times \mathcal{A}(F_v) + H_w[w], \gamma^H(G)),$ 
13:         $(|F_v| \times |\mathcal{F}(G_w, \Gamma^L(G))| + L_v[v, w], \gamma^L(F)),$ 
14:         $(|G_w| \times |\mathcal{F}(F_v, \Gamma^L(F))| + L_w[w], \gamma^L(G)),$ 
15:         $(|F_v| \times |\mathcal{F}(G_w, \Gamma^R(G))| + R_v[v, w], \gamma^R(F)),$ 
16:         $(|G_w| \times |\mathcal{F}(F_v, \Gamma^R(F))| + R_w[w], \gamma^R(G))$ 
17:       $\}$ 
18:      Get  $(c_{min}, \gamma_{min}) \in C$  such that  $c_{min} = \min\{c' | (c', \gamma') \in C\}$ 
19:       $Strategies[v, w] := \gamma_{min}$ 
20:      if  $v$  is not root of tree then
21:        UPDATE( $L_v, v, w, c_{min}, \gamma^L(parent(v))$ )
22:        UPDATE( $R_v, v, w, c_{min}, \gamma^R(parent(v))$ )
23:        UPDATE( $H_v, v, w, c_{min}, \gamma^H(parent(v))$ )
24:      if  $w$  is not root of tree then
25:        UPDATE( $L_w, w, c_{min}, \gamma^L(parent(w))$ )
26:        UPDATE( $R_w, w, c_{min}, \gamma^R(parent(w))$ )
27:        UPDATE( $H_w, w, c_{min}, \gamma^H(parent(w))$ )
28:    return  $Strategies$ 

29: procedure UPDATE( $Table, v, w, c_{min}, \gamma$ )
30:    $Table[parent(v), w] \stackrel{+}{=} \begin{cases} Table[v, w] & \text{if } v \in \gamma \\ c_{min} & \text{otherwise} \end{cases}$ 

31: procedure UPDATE( $Table, w, c_{min}, \gamma$ )
32:    $Table[parent(w)] \stackrel{+}{=} \begin{cases} Table[w] & \text{if } w \in \gamma \\ c_{min} & \text{otherwise} \end{cases}$ 

```

3. Kreslenie molekuly

Po tom, čo získame a aplikujeme mapovanie medzi šablónovou a cieľovou molekulou RNA, získame cieľovú molekulu s čiastočnou vizualizáciou, ktorej zvyšok potrebujeme dopočítať.

Príklad, ako to vyzerá je na obrázku 3.1, kde sme namapovali sekundárnu štruktúru malej podjednotky rRNA 16S žaby (*X04025*) do obrázka sekundárnej štruktúry malej podjednotky rRNA 16S človeka. Ako si môžeme všimnúť, v obrázku (najmä v spodnej časti) sú bázy nakreslené sivo - tie sa chystáme zmazať. V obrázku nám tak vzniknú prázdne miesta. Naopak po insertoch potrebujeme vypočítať, kam umiestníme daný pár, resp. samotnú bázu, prípadne pre ňu musíme urobiť miesto a posunúť zvyšok molekuly. Update vrcholu nerobí žiadne štruktúrne zmeny, zmení sa iba báza na danom mieste.

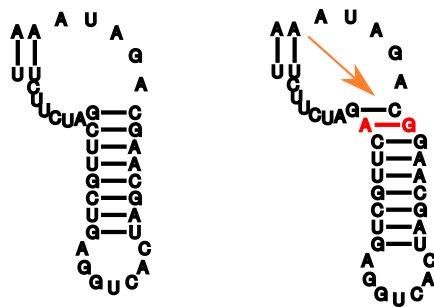
Čiastočnej vizualizácie sa chceme dotýkať čo najmenej. To znamená, že všetky zásahy sa snažíme robiť iba v miestach, ktoré sa zmenili - boli dotknuté vkladáním, alebo mazaním báz.

Jediné dve výnimky budú normalizácia vzdialeností medzi báзовými pármami a vyrovňavanie stemov.

3.1 Normalizácia vzdialeností v báзовých pároch a vyrovňavanie stemov

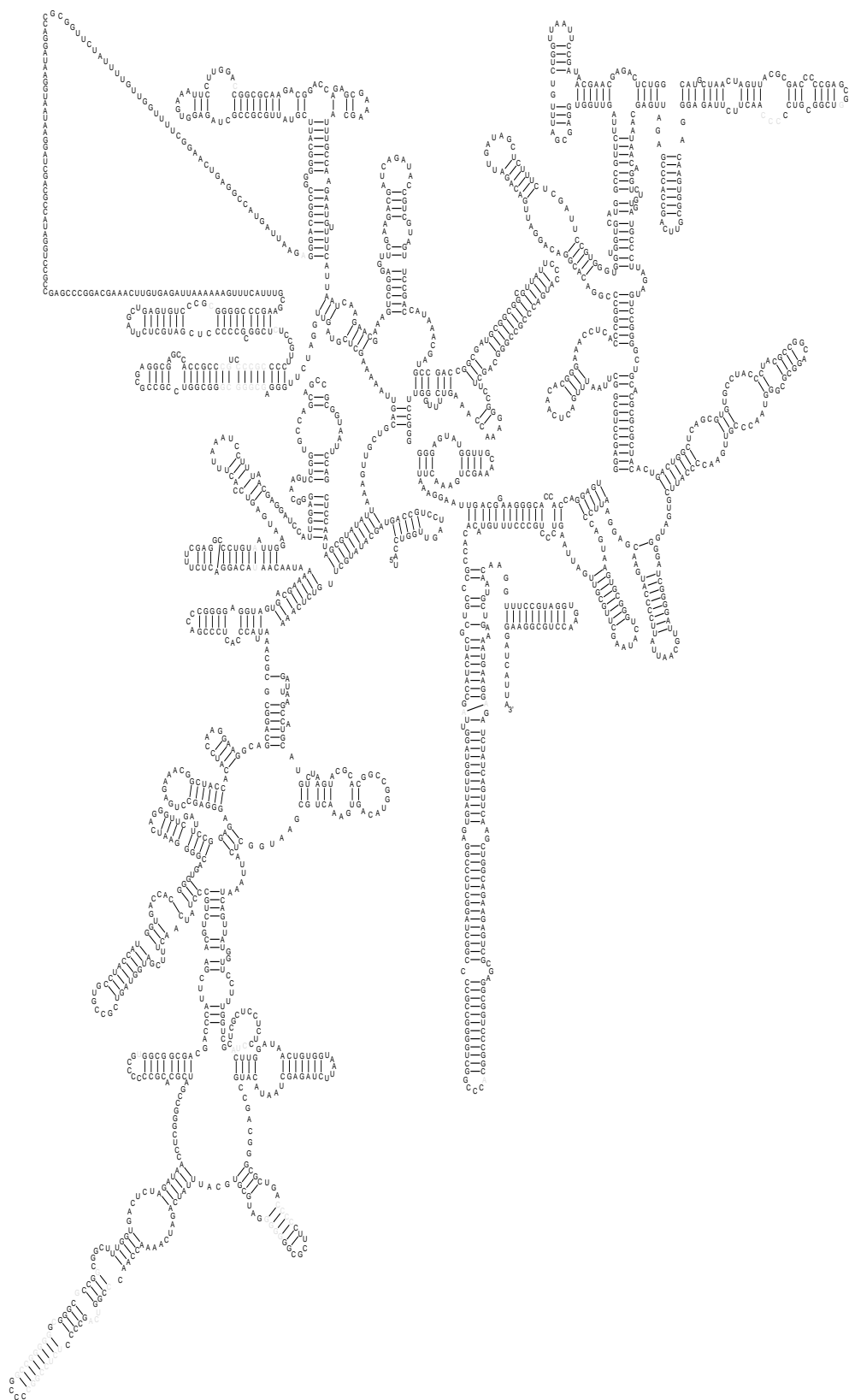
Tieto dve výnimky sme sa rozhodli urobiť, keďže časté výnimky nám sťažovali prácu a veci, ktoré predpokladáme, že v obrázku nájdeme, neboli vždy skutočnosťou.

Ako príklad môžeme uviesť, že ak chceme nakresliť nový báзовý pár a máme nakreslený rodičovský párový vrchol. Následne v smere od jeho rodiča (nášho prapredka) kreslíme nový báзовý pár. Tu môže nastať chyba, ktorú ilustrujeme na obrázku 3.2.

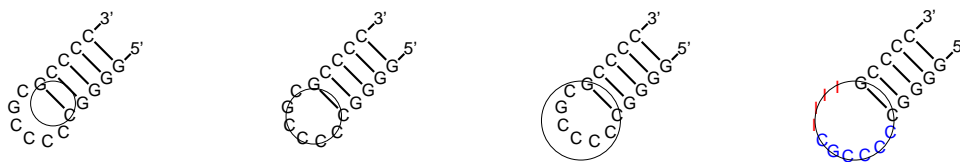


Obr. 3.2: Možná chyba pri vkladání nového báзовého páru

Vyrovňavací algoritmus prejde všetky stemy a z ich začiatkov vedie priamku na ktorej majú podľa pravidla byť uložené všetky stemové vrcholy. Následnými rotáciami a posunutiami podstromov ich uložíme na miesto.



Obr. 3.1: Namapovanie rRNA žaby (*X04025*) do obrázka rRNA človeka (*K03432*) z 1.3, sivou sú označené mazané bázy



Obr. 3.3: Príklad zväčšovania kružnice a následné vloženie báz

3.2 Operácie na stromoch

Čitateľa zoznámime s 2 operáciami, ktoré budeme vykonávať na molekule. Tie využijeme ako pri vkladaní, tak aj pri mazaní vrcholov zo stromu.

Algorithm 5 Rozloženie báz po kružnici

```

1: procedure ROZLOZBAZY(Begin, End, Bases)
2:    $n \leftarrow \text{Bases.size}()$ 
3:    $\Gamma \leftarrow$  kružnica pre  $n$  bodov prechádzajúca bodmi Begin a End
4:    $\Pi \leftarrow$  rozdel kruhový oblúk kružnice  $\Gamma$  od Begin po End na  $n$  bodov
5:   for all  $i$  in  $1 \dots n$  do
6:     nastav pozíciu bázy Bases[ $i$ ] na  $\Pi[i]$ 

```

Algorithm 6 Posunutie podstromu

```

1: procedure POSUNPODSTROM(Root, Vector)
2:   for all vrchol  $V$  v podstrome vrcholu Root do
3:     if vrchol  $V$  už má určenú pozíciu v obrázku - nie je práve vložený then
4:       pripočítaj k pozícií bázy  $V$  vektor Vector

```

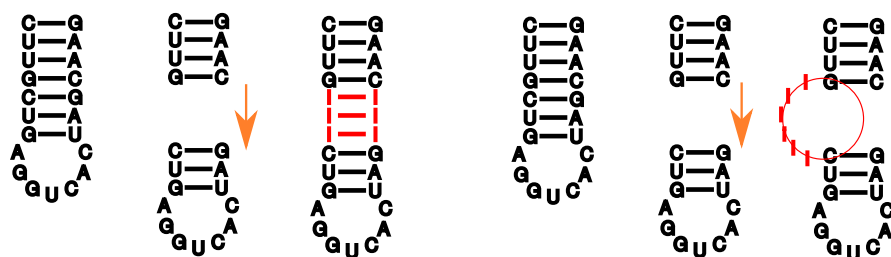
Ako sme písali už skôr, všetky loop štruktúry majú byť uložené na kružniciach. K tomu nám pomôže funkcia 5. Tá dostáva na vstupe zoznam báz *Bases* a dva body v rovine, *Begin* a *End*. Týmito bodmi potrebujeme viesť kružnicu, ktorá bude dostatočne veľká, aby na ňu všetky bázy zo zoznamu vošli. Veľkosťou kružnice v tomto prípade myslíme dĺžku jej kruhového oblúku medzi vrcholmi *Begin* a *End*.

V našom programe používame iteračný algoritmus. Ten začne s kružnicou so stredom medzi *Begin* a *End* bodmi a tú pomaly zväčšuje alebo znižuje. Nakoniec buď nájde kružnicu, ktorej veľkosť je optimálna, alebo ani na maximálny počet krokov takú kružnicu nenájde a tak vráti tú z posledného kroku. To sa môže stať napríklad, ak je samotná vzdialenosť medzi bodmi príliš veľká.

Na obrázku 3.3 vidíme celý algoritmus zväčšovania kružnice. Začíname kružnicou medzi *Begin* a *End* bodmi, ktoré reprezentujú bázy posledného páru v smere $5' \rightarrow 3'$. V ďalších dvoch iteráciách zväčšujeme kružnicu až kým nie je dostatočne veľká pre daný počet báz. Následne vrcholy hairpinu na ňu uložíme. Pôvodné vrcholy sú označené modrou, vložené sú zase červené I.

3.2.1 Vkládanie nového vrcholu do stromu

Pri vkladaní nového vrcholu do stromu môžu nastať nasledovné možnosti.



(a) Vkladanie báзовých párov

(b) Vytvorenie novej loopy v steme

Obr. 3.4: Vkladanie báz do stemu

Ak vkladáme listy do hairpinu, je to jednoduché. Potrebujeme iba použiť procedúru z algoritmu 5 s parametrami *Begin* = pozícia prvej bázy z báзовého páru, *End* = pozícia druhej bázy z páru a *Bases* = zoznam všetkých potomkov. Príklad sme už ukázali na obrázku 3.3.

Trochu zložitejšie je to pri vkladaní listu do stemu. V tomto prípade buď už stem obsahoval nejaký loop, alebo musíme vytvoriť nový. Potrebujeme upraviť vzdialenosť medzi vrcholmi stemu, teda posunúť celý podstrom tak, aby nám tu všetky bázy vošli. To vyriešime algoritmom 6. Následne postupujeme rovnako ako pri vkladaní nukleotidu do hairpinu - nájdeme kružnicu a bázy na ňu naukladáme.

Vloženie báзовého páru do stemu je jednoduché. Najprv posunieme celý podstrom a tým urobíme miesto pre novú dvojicu báz. Následne ich uložíme na pozíciu kam patria. Názorný príklad vkladania je na obrázku 3.4. Môže sa stať, že zdedíme niekoľko nepárových báz z predka. V tom prípade iba znovu prekreslíme tieto loopy.

3.2.2 Modifikácia multibrach loop

Modifikácia multibranch loop je zložitejšia ako všetky predchádzajúce prípady. Obrázky sú väčšinou ručne upravené tak, aby bol čo najkompaktnejší a kvôli tomu sa často nerešpektujú všetky pravidlá, napríklad kružnicový tvar štruktúry.

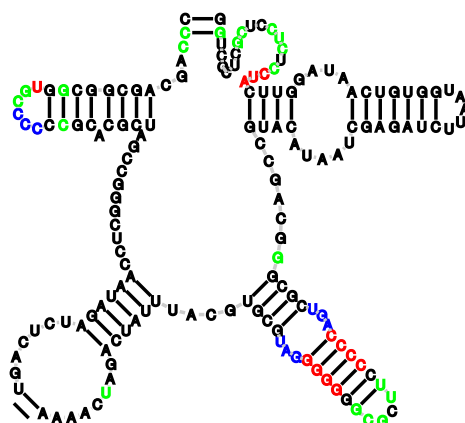
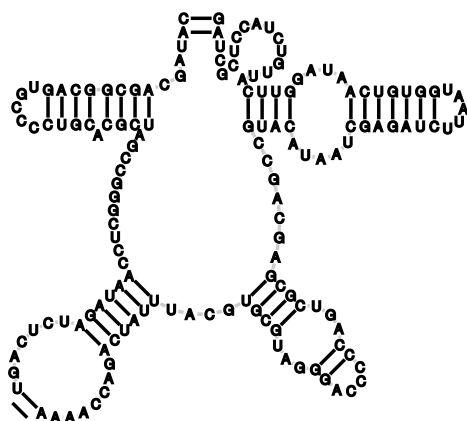
Kvôli tomu sa snažíme do tejto štruktúry nezasahovať, ak je to možné. Vyhnúť sa tomu môžeme napríklad pri malej zmene počtu listov medzi jednotlivými vetvami. Ak je dostatočne malá, môžeme sa pokúsiť vrcholy roztiahnuť od seba, alebo naopak ich priblížiť k sebe a tak viac využiť miesto medzi vetvami.

Naopak, ak sa jedná o pridanie, alebo odobratie celej vetvy, modifikácií sa nevyhneme. V tom prípade roz distribuujeme vrcholy z loopy (spolu so spárovanými bázami tvoriacimi vetvy) na kružnicu. Je to podobný proces, ako používame iba pre samotné loopy, ale potrebujeme navyše vetvy zrotovať do správneho smeru.

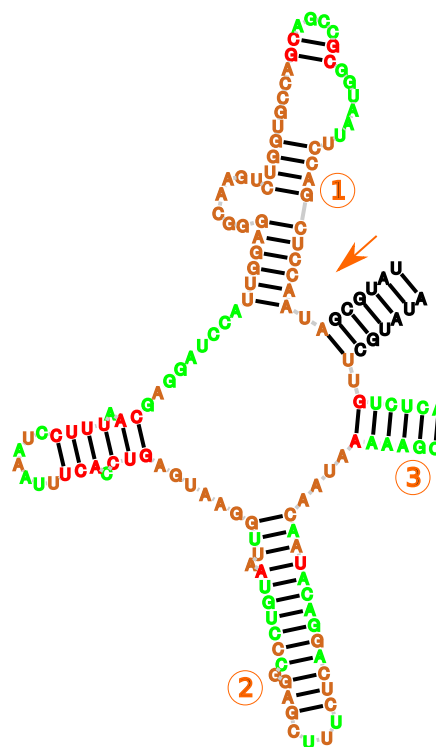
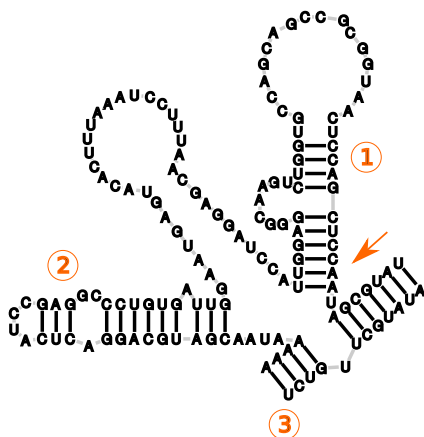
Obidva tieto prípady sú znázornené na obrázku 3.5¹, v obidvoch častiach vizualizujeme sekundárnu štruktúru rRNA človeka z obrázku 1.3. V prvej časti sme sa prekresľovali celej štruktúry vyhli a nukleotidy sme priblížili k sebe. V druhej sme už vkladali celú vetvu stromu a tak sme museli celú štruktúru prekresliť. Spoločné podčasti sú označené číslami a šípka označuje smer, ktorým do podstromu vchádzame, v smere od 3' a 5' ktoré tvoria koreň stromu.

¹Význam použitých farieb v obrázkoch popisuje tabuľka 4.1. Zatiaľ nám stačí červená - to sú vkladane nukleotidy

(a) Pôvodná časť vizualizácie X04025 rRNA (žaba) (b) Miesto na nové bázy sme urobili posúvaním pôvodných k sebe



(c) Pôvodná časť vizualizácie X01723 rRNA (kreveta) (d) Kvôli vkladaniu novej vetvy sme potrebovali prekresliť celú štruktúru



Obr. 3.5: Vkladanie báz do multibranch loopy s aj bez prekresľovania celej multibranch loop štruktúry

3.2.3 Mazanie vrcholov zo stromu

Mazanie považujeme za inverznú operáciu ku vkladaniu a vzhľadom k použitým operáciám sa od neho vôbec nelíši - ak sme urobili zásah do stemu či loopu, prekreslíme ich rovnako ako to bolo v prípade vkladania báz.

4. TRAVeLer - Template RnA Visualization

V rámci bakalárskej práce sme vyvinuli konzolovú aplikáciu TRAVeLer. Program bol vyvíjaný v C++ a je určený pre operačné systémy UNIX-ového typu. Vyvíjaný a testovaný bol na Linux-e a FreeBSD. Podpora ostatných systémov nie je zaručená.

4.1 Inštalácia

Jedinou prerekvizitou k používaniu našej aplikácie je kompilátor C++ *gcc* verzie aspoň 4.9.2.

Pri testovaní boli zaznamenané problémy s regulárnymi výrazmi u starších verzií (konkrétne 4.7.2), ktoré ich plne nepodporovali.

Zdrojové kódy programu najnovšej verzie si môžeme stiahnuť pomocou *Gitu* príkazom

```
# git clone https://github.com/rikiel/bc.git traveler
```

Preklad zdrojových kódov nám zabezpečí *make*, výsledným spustiteľným programom bude súbor *traveler/src/build/traveler*.

```
# cd traveler/src && make build
```

4.2 Argumenty programu

Ak predpokladáme, že program leží na *PATH*, spúšťame ho nasledovne:

```
traveler [-h|--help]
traveler [OPTIONS] <TREES>
```

OPTIONS:

```
<-a|--all> [--overlaps] [--colored] <FILE_OUT>]
<-t|--ted> <FILE_MAPPING_OUT>]
<-d|--draw> [--overlaps] [--colored] <FILE_MAPPING_IN> <FILE_OUT>]
[--debug]
```

TREES:

```
<-mt|--match-tree> FILE_FASTA
<-tt|--template-tree> [--type DOCUMENT_TYPE] DOCUMENT FILE_FASTA
```

Stručný návod k programu získame spustením so štandardným *-h*, alebo *--help* argumentom.

Prepínače *--ted* a *--draw* sú zjednotené v *--all* argumente. Ich existencia nám umožňuje predpočítať si mapovanie a následne vygenerovať aj niekoľko druhov obrázkov. Počítanie TEDu je totiž mnohonásobne pomalšie ako samotná vizualizácia.

Farba	Význam
Červená	vložené bázy (insert)
Zelená	premenované bázy (update)
Modrá	potrebné prekreslenie pôvodných báz
Hnedá	podstromy prekresľovaných multibranch loop

Tabuľka 4.1: Farebné označenie použitých operácií pri vizualizácii

Prepínač `--match-tree` nám určuje RNA molekulu ktorú ideme vizualizovať. Ako ďalší parameter očakáva FASTA súbor, ktorého formát uvedieme neskôr. Šablónu nám určuje prepínač `--template-tree`. Kým strom vizualizovanej molekuly sa načítava iba z fasta súboru, šablónová molekula potrebuje aj nakreslenie - obrázok z parametra `DOCUMENT`. Podrobnosti ohľadom parametra `--type` nájdete v kapitole Rozšírenie podpory formátov vstupných obrázkov.

Prepínač `--overlaps` nám po vygenerovaní obrázku spočíta počet prekryvov a vyznačí ich. Ich počet vypíše do samostatného logovacieho súboru, vďaka čomu rýchlejšie dokážeme identifikovať molekuly, ktoré potrebujú našu zvýšenú pozornosť.

Prepínač `--colored` aktivuje farebné zvýrazňovanie použitých operácií a štruktúrnych zmien v strome pri kreslení cieľovej molekuly do obrázka šablóny. Používame kódovanie farbami z tabuľky 4.1.

Farbami zvýrazňujeme zmeny v strome, to znamená, že ak napríklad urobíme `update(AU, AG)` bázevého páru a zmení sa iba jeden nukleotid, označený bude celý pár ako editovaný.

Modrou označujeme časti, ktoré sme z nejakého dôvodu potrebovali presunúť a prekresliť. Typickým príkladom je prekreslenie loop po vložení alebo zmazaní nejakej bázy. Vtedy sme kvôli zmene potrebovali prekresliť všetky bázy a uložiť ich na kružnicu. Príkladom môže byť obrázok 3.3 z predchádzajúcej kapitoly.

Hnedou farbou označujeme celé podstromy multibranch loopy, ktorú potrebujeme prekresliť. V týchto prípadoch vznikajú často veľké prekryvy a týmto sa ich snažíme odlíšiť od ostatných, menej čakaných. Ak bol ale vrchol pred tým označený, nemenujeme jeho farbu¹.

4.2.1 Formát fasta súboru

Ako formát súborov kodujúcich stromy používame trochu upravený fasta formát. Súbor na prvom riadku obsahuje názov molekuly hneď za znakom `'>'` až po prvú medzeru. Na ďalších riadkoch obsahuje sekvenciu RNA a sekundárnu štruktúru kódovanú pomocou dot-bracket formátu². Je ešte zvykom, že riadky sú najviac 80 znakov dlhé.

Fasta súbor pre šablónu potrebuje iba názov a sekundárnu štruktúru, pre cieľovú molekulu aj sekvenciu. Je to dané tým, že sekvenciu si pri šablónovej molekule načítame z obrázka.

¹Vložený vrchol bude mať vždy rovnakú farbu, aj v prípade keď sme museli prekresliť multibranch loop, do ktorej patrí

²blížšie je popísaný v článku od autorov Ponty a Leclerc (2015)

4.3 Príklad vstupu

Teraz uvidíme príklad fasta súboru pre malú podjednotku rRNA človeka z obrázka 1.3 a ukážeme (jediný) podporovaný formát PostScript obrázka. Podporujeme iba formát používaný v CRW databáze (Cannone a kol. (2002)). Ďalšie možné rozšírenia podpory iných formátov rozoberáme v kapitole Rozšírenie podpory formátov vstupných obrázkov.

[illegible]

Obr. 4.1: Príklad fasta súboru

```

%!
/lwline {newpath moveto lineto stroke} def
...
434.00 -129.00 422.00 -138.00 lwline
0.00 setlinewidth
446.00 -421.00 446.00 -412.00 lwline
306.00 -283.00 306.00 -273.00 lwline
...
(U) 303.30 -273.00 lwstring
(A) 303.30 -265.00 lwstring
(C) 303.30 -257.00 lwstring
(C) 303.50 -248.68 lwstring
(U) 311.24 -246.68 lwstring
(G) 318.99 -244.68 lwstring
...

```

Obr. 4.2: Príklad podporovaného formátu post script súboru

Kvôli dĺžke PostScript súboru sme uviedli iba jeho časť na obrázku 4.2. V súbore ignorujeme všetky riadky, ktoré sú iného formátu ako

(B) X Y *lwstring*,

Kde B označuje bázu a X a Y sú súradnice bodu, kde je báza nakreslená. Vďaka tomu, že sú riadky vypisované v smere $5' \rightarrow 3'$, tak zo súboru vieme určiť primárnu štruktúru RNA.

4.4 Výstupne súbory

Program generuje dva druhy výstupov. Prvým je tabuľka mapovania stromov ako výstup TED algoritmu. Druhým sú obrázky vo formátoch SVG a PS.

4.4.1 Mapovacia tabuľka

Formát súboru s mapovacou tabuľkou je nasledovný. Prvý riadok obsahuje *DISTANCE: n* , kde n je editačná vzdialenosť medzi stromami. Ďalšie riadky sú vo formáte i j , kde i, j sú rôzne a väčšie ako 0 a ich význam je nasledovný. Ak $i = 0$, potom do stromu šablóny vkladáme j -tý vrchol³ cieľovej molekuly. naopak ak $j = 0$, potom i -tý vrchol zo šablóny mažeme. V ostatných prípadoch mapujeme i -tý vrchol na j -tý, tzn. robíme *update*(i, j). Príklad časti súboru z mapovania medzi človekom a žabou (K03432 a X04025) je na obrázku 4.3. Ako vidíme, editačná vzdialenosť je 58, čiže sme 58 nukleotidov pridali alebo zmazali. Vkladáme nukleotidy s indexom (v cieľovej molekule) 356, 365, nukleotidy číslo 1, 2 v oboch molekulách mapujeme na seba a bázy s indexom (v molekule šablóny) 155, 156 mažeme.

4.4.2 PostScript obrázok

PostScript súbor je zložený z hlavičky, v ktorej sú definície kresliacich funkcií za ktorými sú riadky kreslenia molekuly. Príklad je na obrázku 4.4.

Najprv definujeme operácie kreslenia v hlavičke súboru - *lwline*, *lwstring* a *lwarc* - kreslenie čiar, textu a kružníc a ďalšie parametre dokumentu, za ktorými nasleduje samotné kreslenie molekuly.

³Používame post order poradie vrcholov v strome

```

DISTANCE: 58
0 356
0 365
...
1 1
2 2
3 3
4 4
5 5
...
155 0
156 0
...

```

Obr. 4.3: Časť výstupného súboru s mapovacou tabuľkou

```

%!
/lwline {newpath moveto lineto stroke} def
/lwstring {moveto show} def
/lwarc {newpath gsave translate scale /rad exch def /ang1 exch def
/ang2 exch def 0.0 0.0 rad ang1 ang2 arc stroke grestore} def
/Helvetica findfont 8.00 scalefont setfont
0.80 0.80 scale
337.29 1647.24 translate
(G)          -238.24      -721.38      lwstring
(G)          -243.9       -727.04      lwstring
(G)          -249.56      -732.7       lwstring
(G)          -255.21      -738.36      lwstring
(C)          -260.87      -744.01      lwstring
(C)          -263.91      -752.09      lwstring
(C)          -271.44      -756.35      lwstring
(C)          -280.03      -755.17      lwstring
(C)          -286.14      -749.04      lwstring
(G)          -287.29      -740.46      lwstring
(C)          -283.01      -732.93      lwstring
(G)          -275.01      -729.87      lwstring
-260.698     -738.182     -269.182     -729.698      lwline
(C)          -269.36      -724.21      lwstring
-255.038     -732.532     -263.532     -724.038      lwline
(C)          -263.7       -718.56      lwstring
-249.388     -726.872     -257.872     -718.388      lwline
(C)          -258.04      -712.9       lwstring
-243.728     -721.212     -252.212     -712.728      lwline
(C)          -252.38      -707.24      lwstring
...
(5')         -229.75      -712.89      lwstring
(3')         -243.89      -698.75      lwstring
-232.412     -715.552     -229.583     -712.723      lwline
-246.552     -701.412     -243.723     -698.583      lwline
showpage

```

Obr. 4.4: Príklad výstupného PostScript súboru

```

<svg xmlns="http://www.w3.org/2000/svg" xmlns:xlink="http://www.w3.org/1999/xlink"
width="1133.333333" height="1466.666667" viewBox="0 0 1139.172822px 1450.347571px"
style="
font-size: 8px;
stroke: none;
font-family: Helvetica; ">
<text
x="517.486977"
y="603.524781"
style="
stroke: rgb(0, 255, 0); ">5'</text>
<line
x1="681.175823"
y1="650.435118"
x2="681.175823"
y2="662.435118"
style="
stroke: rgb(0, 0, 0);
stroke-width: 2; "/>
<circle
cx="616.350806"
cy="427.616196"
r="6.276645"
style="
stroke: rgb(0, 0, 0);
fill: none; "/>
...
</svg>

```

Obr. 4.5: Príklad výstupného SVG súboru

4.4.3 SVG obrázok

Podobne funguje kreslenie v SVG súbore, ktorého príklad je na obrázku 4.5. Elementy `<text>` vypisujú na danú pozíciu text, `<line>` naopak kreslia čiary a `<circle>` zase kružnice. Argumenty týchto elementov sú bližšie vysvetlené v nejakom SVG tutorále (napríklad online tutoriál od autora Jenkov).

4.5 Rozšírenie podpory formátov vstupných obrázkov

Ako sme už uviedli, momentálne podporujeme iba jediný vstupný formát obrázkov. Je ním PostScript formát používaný databázou CRW od autorov Cannone a kol. (2002).

Pri tvorbe aplikácie sme mysleli na budúcnosť a tak načítavanie súboru robíme v jednom, ľahko rozšíriteľnom module. Ak potrebujeme pracovať s inými vstupnými súbormi, naimplementujeme extractor (pozri definíciu 9) a parametrom `--type` ho môžeme použiť. Predvoleným a jediným implementovaným je práve PostScript extractor fungujúci nad súbormi z CRW databázy.

Definícia 9. *Extractor je objekt, ktorý vie pracovať so súbormi určitého typu a vie z nich vyňať potrebné položky reprezentujúce sekvenciu RNA a pozície jej báz v obrázku.*

Vytvorenie nového typu spočíva v implementácií rozhrania *extractor* a jeho metódu *init*, ktorá ako jediný parameter dostáva názov súboru. Druhou úlohou je pridať dvojicu *názov, extractor* do tabuľky implementovaných v metóde

create_extractors. Při spuštění programu s parametrem *--type* *názov* použijeme novoimplementovaný extractor.

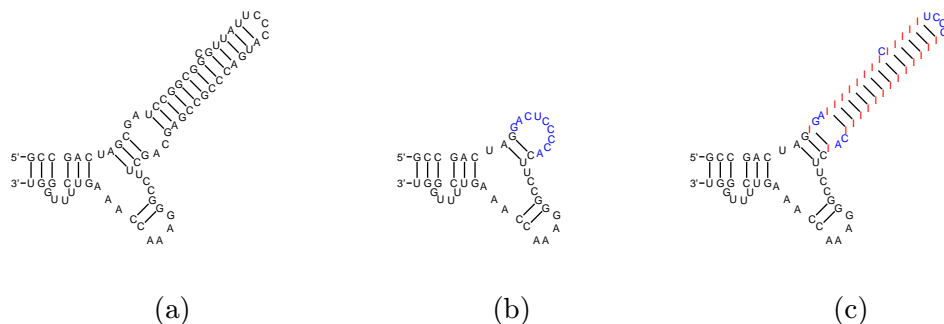
5. Experimentálne vyhodnotenie

V tejto kapitole predvedieme niekoľko vizualizácií reálnych rRNA sekundárnych štruktúr a menších, umelo vytvorených štruktúr. Na konci kapitoly zhrnieme hlavné nedostatky, ktoré naša aplikácia má.

5.1 Experimenty na testovacích štruktúrach

Už v predchádzajúcich kapitolách sme sa stretli s niekoľkými príkladmi vygenerovaných štruktúr (vkladanie do hairpinu, stemu, alebo multibranch loop, ktoré sú na obrázkoch 3.3, 3.4 a 3.5).

V tejto časti sa budeme venovať umelo vytvoreným štruktúram, na ktorých ukážeme, ako si náš program poradil s dvoma po sebe idúcimi inverznými operáciami - delete a insert, po ktorých by sme chceli získať naspäť pôvodnú vizualizáciu.



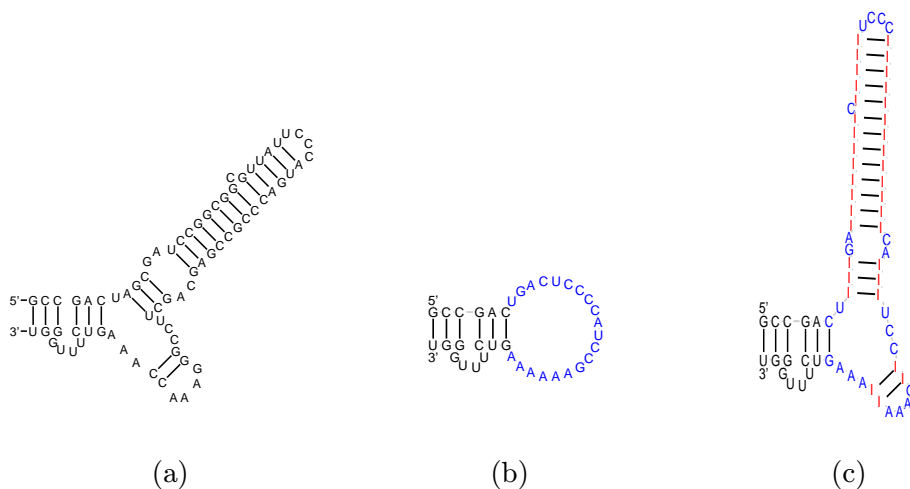
Obr. 5.1: Inverzné operácie: rekonštrukcia stemu

Obrázkom 5.1 sme simulovali mazanie a opätovné vkladanie báзовých párov do stemu. Najprv sme si vytvorili vstupné súbory pre šablónu (obrázok 5.1a spolu s fasta súborom) a cieľovú molekulu (fasta súbor reprezentujúci sekundárnu štruktúru 5.1b). Následne sme spustili program s výsledkom na obrázku 5.1b. Po úspešnej vizualizácii sme skúsili vymeniť šablónovú a cieľovú molekulu a tým sa pokúsiť znova vytvoriť pôvodný obrázok. Výsledok môžeme vidieť na obrázku 5.1c. Pre lepšie zvýraznenie sme znova vkladané bázy označili písmenom 'I'.

Tento príklad má za cieľ ukázať, že vieme znova nakresliť pôvodnú štruktúru stemu a loopov iba s malými zmenami v pozícií nukleotidov (výsledné loopy sú trochu plytšie ako pôvodné)

Ďalším pokusom bolo znova vytvorenie celej multibranch loopy. Na to sme použili rovnakú štruktúru a zmazali z nej obidva celé stemy. Následne sme ju nechali nakresliť naším programom (obrázok 5.2b). Potom sme postupovali podobne ako v prvej simulácii - vymenili sme šablónovú molekulu s cieľovou. Výsledkom bol obrázok 5.2c.

V tomto prípade je rozdielov vo výslednej vizualizácii oproti pôvodnému nakresleniu viac, napríklad vrchný stem je oveľa viac vychýlený. Kým v takejto malej štruktúre nám to nevádi, pri veľkých už problémy nastávajú, ako ukážeme neskôr.



Obr. 5.2: Inverzné operácie: rekonštrukcia multibranch loop

5.2 Experimenty na reálnych rRNA

Ďalšiu pozornosť sme upriamili na testovanie existujúcich molekúl. Ako testovaciu sadu sme zvolili malú podjednotku 16S ribozomálnej RNA v živočíšnej ríši. Z CRW databázy (Cannone a kol. (2002)) sme získali 16 nakreslených molekúl spolu s ich primárnou a sekundárnou štruktúrou.

Databáza nám ponúka viac formátov sekundárnej štruktúry (BPSEQ, CT, RNAML, BRACKET). Môžeme sa rozhodnúť, či chceme pracovať s pseudouzami, alebo nie.

Zdrojom primárnej štruktúry nám bol RNAML formát, ktorý ju v sebe ukrýva¹. Na reprezentáciu sekundárnej štruktúry sme použili formát dot-bracket. Počiatočná zvýšená pracnosť súvisiaca s používaním dvoch typov súborov sa vyplatila a výmenou za ňu sme získali pohodlie pri ladení a testovaní aplikácie spojené s ľahkou orientáciou v štruktúre.

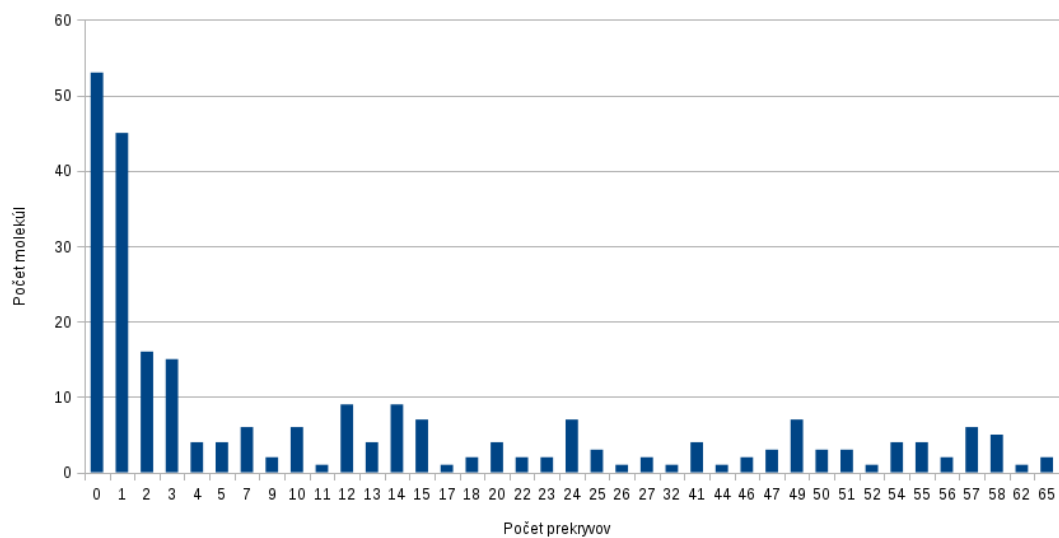
Vizualizačný test sme spustili vo forme každý s každým, teda zo 16 molekúl sme získali 256 nakreslení, u ktorých sme sledovali hlavne zachovanie ich rovinosti (výsledná vizualizácia bola bez krížení).

Graf 5.3 nám popisuje celkové výsledky testu. Aj keď je veľké množstvo molekúl bez prekryvov, stále je relatívne veľa tých, u ktorých sa nám zachovať rovinnosť nakreslenia nepodarilo. Po použití operácie prekresľovania multibranch loop sme zaznamenali zvýšený výskyt prekryvov. Závislosť medzi použitím tejto operácie a počtom prekryvov nám vyjadrujú ďalšie dva grafy, prvý - 5.5 nám ukazuje, že ak program musel rotovať a prekresľovať multibranch loopy, nedarilo sa mu najlepšie. Naopak, ak berieme do úvahy iba vizualizácie bez prekresľovania multibranch loopy (graf 5.4), vidíme, že prekryvy vznikali iba ojedinele.

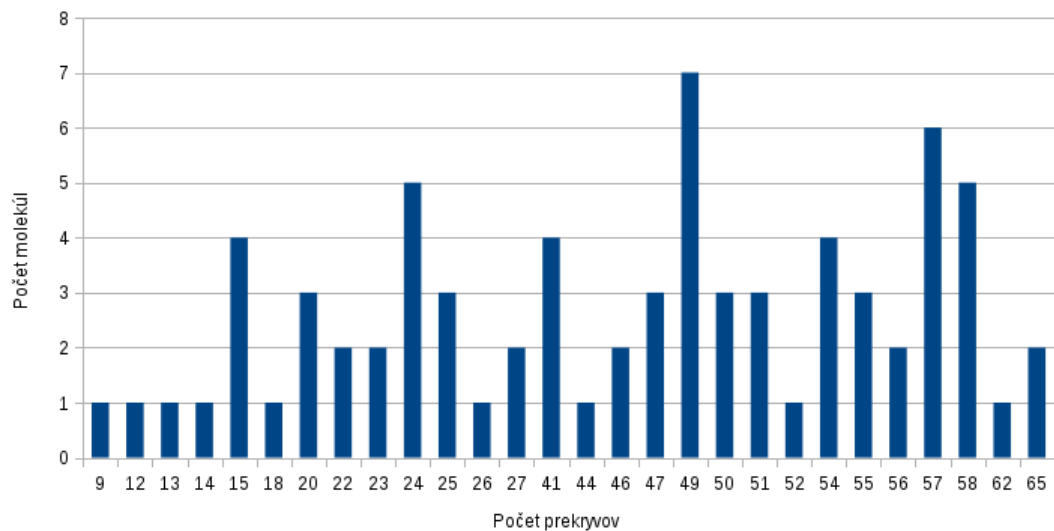
Ďalším faktorom, ktorý ovplyvňuje počet prekryvov je vzdialenosť *tree-edit-distance*. Od počtu úprav obrázka závisí počet prekryvov, ktoré môžu pri nich vzniknúť. Túto závislosť nám vyjadruje tabuľka 5.1. Pre každú dvojicu molekúl sme si spočítali vzdialenosť medzi nimi. Poradie je v závislosti od TED vzdialenosti medzi molekulami²

¹Všetky spomenuté formáty okrem dot-bracket obsahujú okrem sekundárnej štruktúry aj sekvenciu RNA

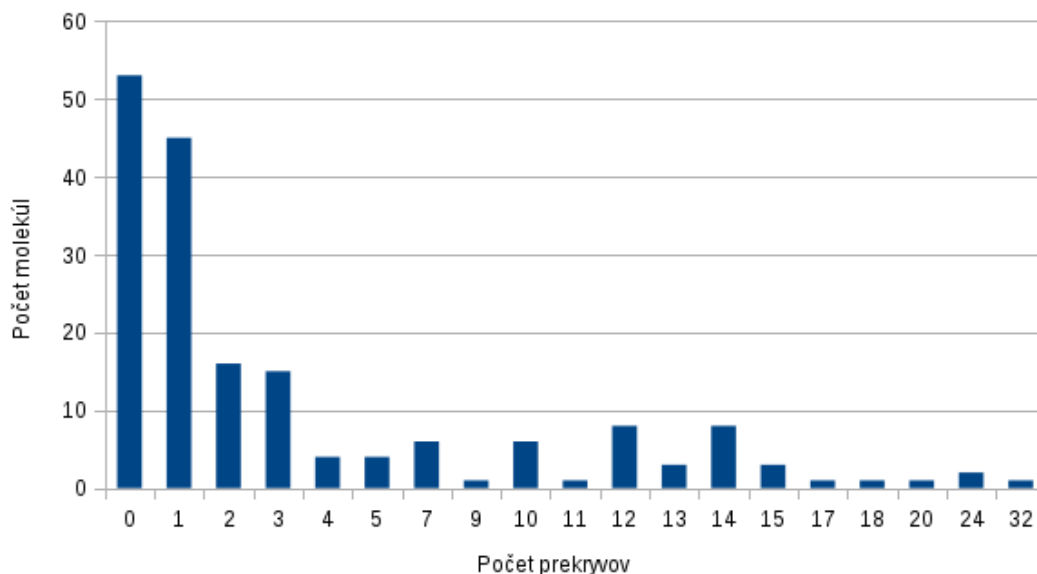
²1. je najbližšia (najmenšia hodnota TED), 15. je najvzdialenejšia



Obr. 5.3: Počet prekryvov v testovaných molekulách



Obr. 5.4: Počet prekryvov: molekuly, ktoré potrebovali prekresliť multibranch loop



Obr. 5.5: Počet prekryvov: molekuly bez prekresľovania multibranch loop

Ako vidíme, so vzdialenosťou medzi štruktúrami nám síce počty prekryvov v priemere nestúpali. Rástla ale smerodajná odchýlka - oproti priemeru nastávali väčšie výkyvy. To spôsobuje najmä to, že väčšina molekúl je dobre konzervovaných a preto počty prekryvov držia na nízkej úrovni, na druhú stranu je pár extrémov, ktoré sa prejavili v odchýlke.

Zaujímavosťou je, že ku všetkým molekulám bola najvzdialenejšia (pätnásta v poradí) molekula *Echinococcus granulosus* (U27015). Štruktúra je veľmi odlišná od ostatných. Chýbajú jej celé vetvy, čo zapríčiňuje ich mazanie, a následné vkladanie nepárových nukleotidov, ktoré sú na ich miestach spôsobí nakreslenie jednej veľkej kružnice (príklad je na obrázku 5.8). Prekryvov spôsobených touto kružnicou je relatívne málo a preto posledná hodnota tabuľky je taká nízka.

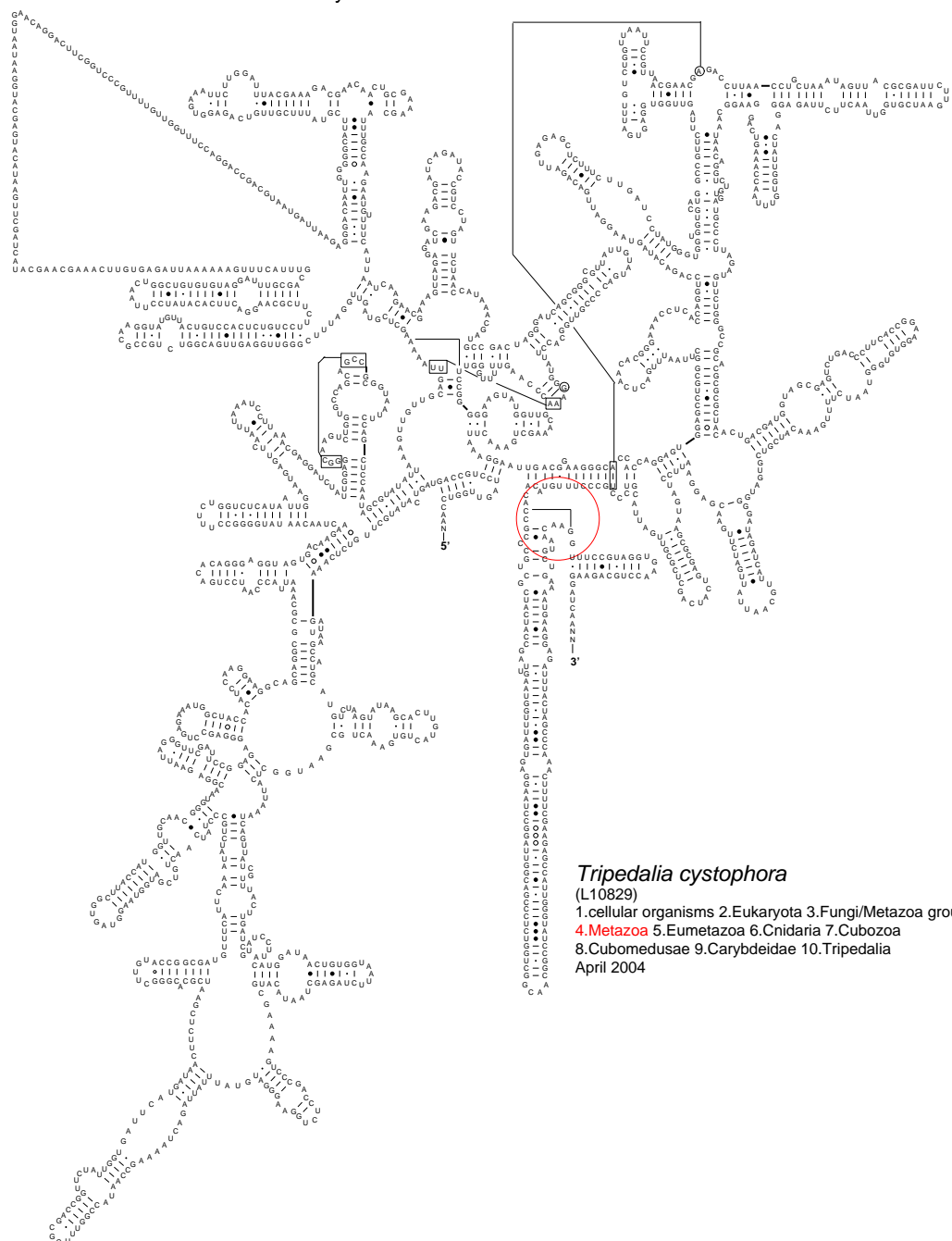
5.3 Chyby

V tejto kapitole uvedieme vygenerované obrázky niektorých molekúl a na nich ukážeme časté problémy, ktoré pri vizualizácii nastávali.

5.3.1 Otáčanie vetvy kvôli existujúcej hrane

Jedným príkladom za všetky je molekula rRNA medúzy (*L10829*, obrázok 5.6) Po tom, čo sme skúsili nakresliť molekulu samu na seba (vzorová aj cieľová molekula bola medúza) vznikol problém, kedy sa celá jedna vetva molekuly otočila na jednu stranu. Je to spôsobené existenciou bázoového páru, ktorý je v pôvodnej molekule znázornený dlhšou lomenou čiarou a keďže náš program normalizuje všetky vzdialenosti medzi bázoovými párami s následným vyrovnávaním stemov, vznikajú aj obrázky podobné 5.7.

Secondary Structure: small subunit ribosomal RNA



Obr. 5.6: Pôvodná vizualizácia rRNA medúzy (*L10829*)

Poradie	TED	Počet prekryvov	Smerodajná odchýlka
1	85,94	5,13	1,64
2	113,94	13,56	11,50
3	137,38	12,88	8,81
4	158,38	11,94	7,48
5	172,00	13,38	9,57
6	189,13	15,88	13,83
7	196,31	14,31	11,08
8	199,44	13,75	10,16
9	258,31	14,50	13,14
10	262,88	14,13	12,47
11	265,25	14,50	13,14
12	271,13	15,75	13,60
13	301,19	25,25	0,66
14	345,25	30,38	1,81
15	805,63	15,25	0,66

Tabuľka 5.1: Počty prekryvov v závislosti od tree-edit-distance vzdialenosti

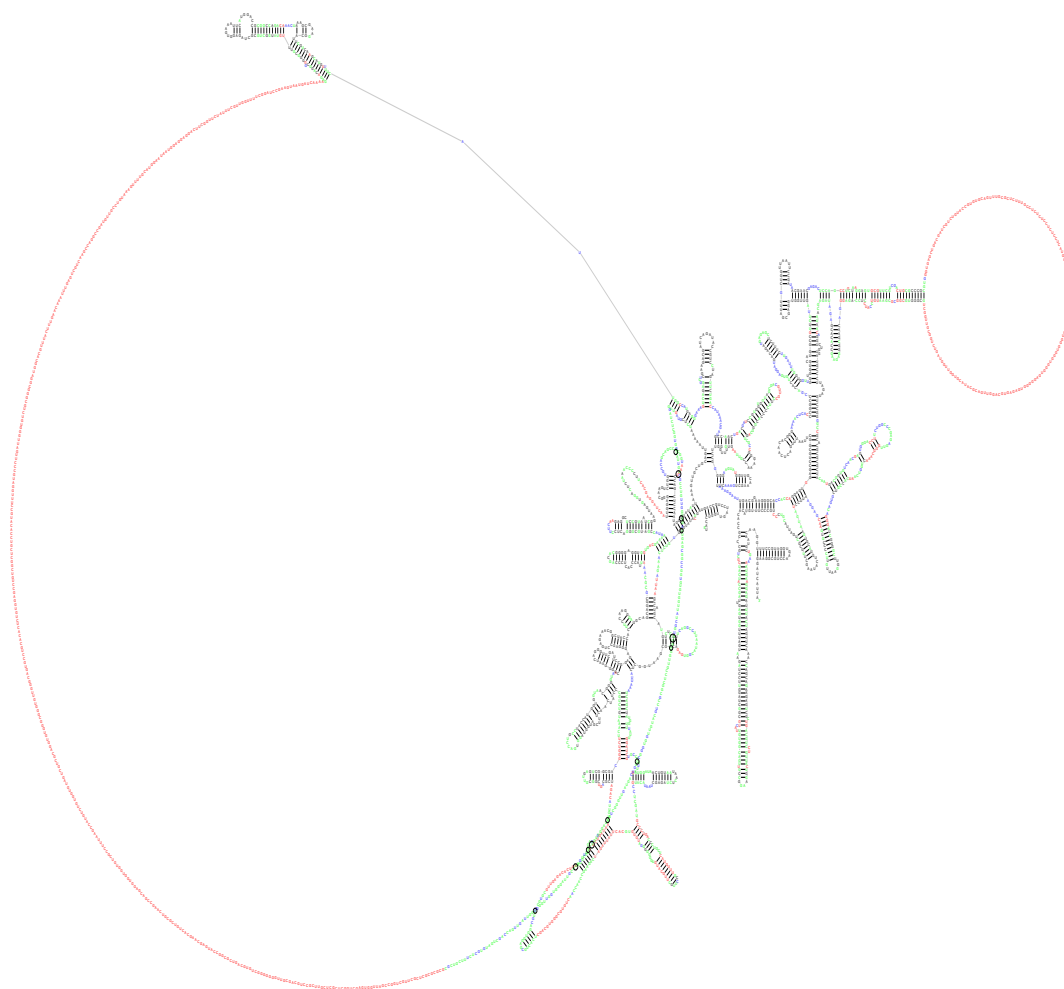
5.3.2 Rozloženie báz na kružnicu

Niekedy sa prekresleniu celej loop nevyhneme, ak napríklad vkladáme veľmi veľké množstvo nukleotidov na jedno miesto. Vtedy dochádza k problémom načrtnutým na obrázku 5.8. Na tomto konkrétnom príklade je nakreslený stem, vo vnútri ktorého je veľka interior loop. Kvôli tomu, že chceme dodržiavať pravidlá o kružnicovom tvare loopy, nájdeme dostatočne veľkú kružnicu. V tomto prípade až príliš veľkú³

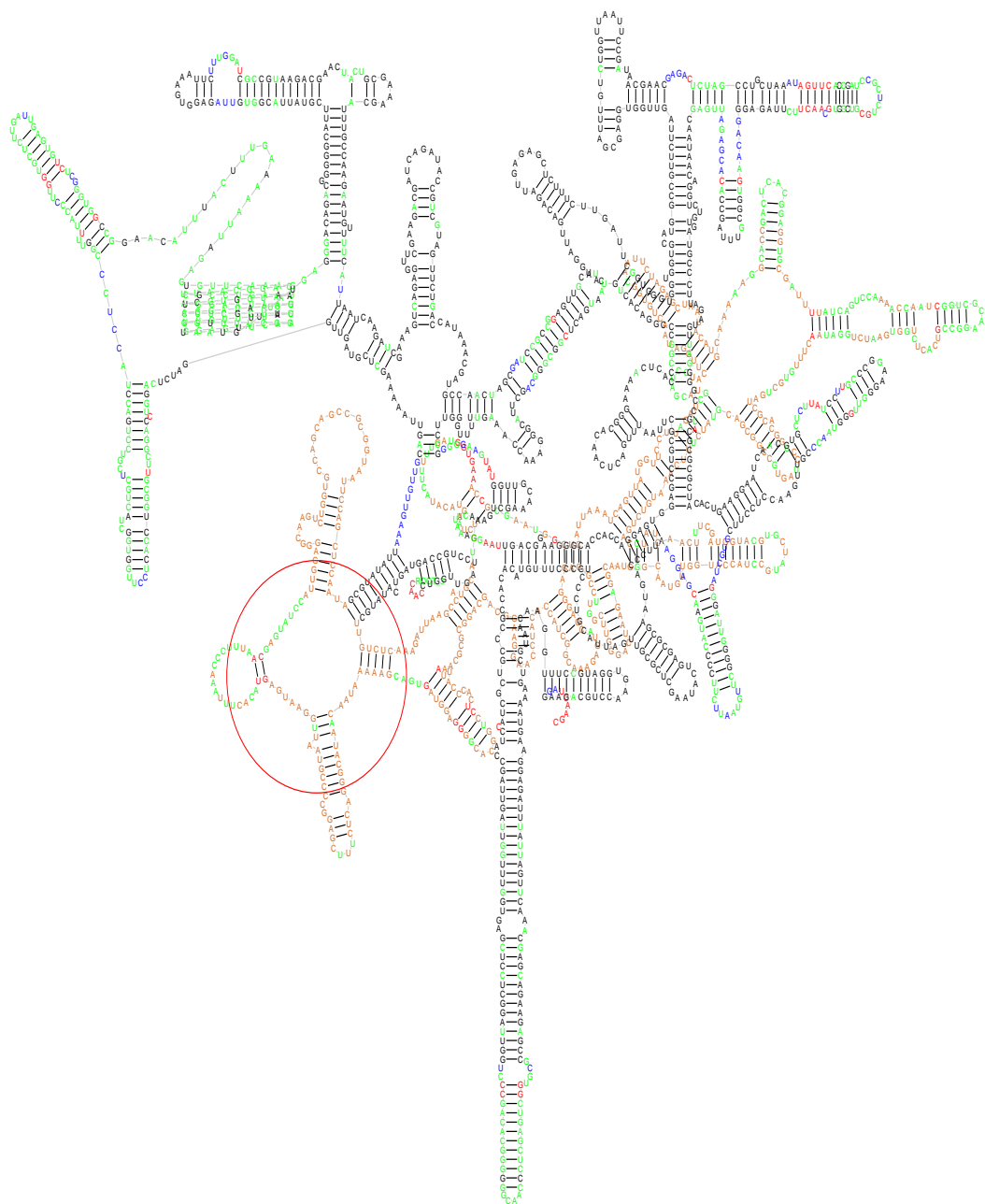
5.3.3 Otáčanie vetvy kvôli prekreslovaniu multibranch loopy

Ako už aj graf na obrázku 5.4 ukázal, prekresľovanie multibranch loopy a rotácie všetkých vetiev spôsobuje masívne prekryvy. Podobne ako na obrázku 3.5, prekreslenie multibranch loopy pri vizualizácii RNA mušle (*X53899*) pomocou obrázka RNA cikády (*U06478*). Na výslednom obrázku 5.9 sme zvýraznili miesto uskutočnenej rotácie. Ako vidíme, väčšina prekryvov je spôsobená práve ňou.

³Vo vrchnej vetve ja taktiež znázornená kružnica, ale oproti spodnej obsahuje iba 2 vrcholy



Obr. 5.8: Vizualizácia rRNA mušle (*X53899*) do obrázka cikády (*U06478*) a chyba pri rozkladaní báz na kružnicu



Obr. 5.9: Chyba pri otáčani kvôli prekreslovaniu multibranch loopy

Záver

V rámci práce sme vytvorili program TRAVeLer umožňujúci vizualizáciu sekundárnej štruktúry RNA pomocou existujúceho obrázka molekuly, ktorý nám slúži ako predloha.

Reprezentovať sekundárnu štruktúru RNA sme sa rozhodli pomocou stromov. To nám umožnilo použiť *tree-edit-distance* metriku podobnosti dvoch štruktúr. Algoritmus TED nám nedáva len informáciu o tom, s ako vzdialenými štruktúrami pracujeme, ale dáva nám aj návod, ako transformovať šablónovú molekulu na tu cieľovú. U dostatočne podobných štruktúr nám už namapovaná štruktúra dá predstavu, ako bude výsledná vizualizácia vyzeráť a ukáže, ktoré časti sú v molekulách spoločné.

Výsledky ukazujú, že ak použijeme štruktúrne dostatočne blízku molekulu ako šablónu, výsledok vizualizácie bude uspokojujúci. S väčšou vzdialenosťou ale počet prekryvov vo výsledných obrázkoch stúpa.

V budúcnosti bude vhodné upraviť naše kresliace algoritmy. Takýmto vylepšením by bola implementácia otáčania vetiev RNA stromov, v prípade, že sme našli prekryv. Druhou možnosťou by bolo pridanie interaktívneho nástroja na úpravu vzniknutých obrázkov, aby bolo možné výsledné vizualizácie ručne upraviť. Tým by sa vyriešil problém s prekryvmi, ktoré by si užívateľ sám odstránil.

V našej práci sme sa úplne vyhli pseudouzlom. To nám umožnilo reprezentovať sekundárnu štruktúru RNA ako usporiadaný, zakorenený strom. Avšak, pseudouzly sú jej dôležitou súčasťou. Možným vylepšením by preto bolo, zohľadniť ich existenciu pri mapovaní. To si ale bude vyžadovať hlbšiu analýzu tohoto problému.

Program bol uvoľnený pre používanie biológmi. Budeme očakávať ich reakcie, na základe ktorých budeme implementovať ďalšie vylepšenia programu.

Seznam použité literatury

- AUBER, D., DELEST, M., DOMENGER, J.-P. a DULUCQ, S. (2006). Efficient drawing of rna secondary structure. *Journal of Graph Algorithms and Applications*, **10**(2), 329–351. URL <http://eudml.org/doc/55423>.
- CANNONE, J., SUBRAMANIAN, S., SCHNARE, M., COLLETT, J., D'SOUZA, L., DU, Y., FENG, B., LIN, N., MADABUSI, L., MULLER, K., PANDE, N., SHANG, Z., YU, N. a GUTELL, R. (2002). The comparative RNA web (CRW) site: an online database of comparative sequence and structure information for ribosomal, intron, and other RNAs: Correction. *BMC Bioinformatics*, **3**(1), 15+. ISSN 1471-2105. doi: 10.1186/1471-2105-3-15. URL <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-3-15>.
- CARTHEW, R. W. a SONTHEIMER, E. J. (2009). Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, **136**(4), 642–655.
- DARTY, K., DENISE, A. a PONTY, Y. (2009). VARNA: Interactive drawing and editing of the RNA secondary structure. *Bioinformatics*, **25**(15), 1974–1975.
- DE RIJK, P., WUYTS, J. a DE WACHTER, R. (2003). RnaViz 2: an improved representation of RNA secondary structure. *Bioinformatics*, **19**(2), 299–300.
- DEMAINE, E. D., MOZES, S., ROSSMAN, B. a WEIMANN, O. (2009). An optimal decomposition algorithm for tree edit distance. *ACM Trans. Algorithms*, **6**(1), 2:1–2:19. ISSN 1549-6325. doi: 10.1145/1644015.1644017. URL <http://doi.acm.org/10.1145/1644015.1644017>.
- DULUCQ, S. a TOUZET, H. (2003). *Combinatorial Pattern Matching: 14th Annual Symposium, CPM 2003 Morelia, Michoacán, Mexico, June 25–27, 2003 Proceedings*, chapter Analysis of Tree Edit Distance Algorithms, pages 83–95. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. ISBN 978-3-540-44888-4. doi: 10.1007/3-540-44888-8_7. URL http://dx.doi.org/10.1007/3-540-44888-8_7.
- ELIÁŠ, R. a HOKZA, D. (2016). RNA Secondary Structure Visualization Using Tree Edit Distance. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, **6**(1), 9–17. doi: 10.17706/ijbbb.2016.6.1.9-17.
- HAN, K., LEE, Y. a KIM, W. (2002). PseudoViewer: automatic visualization of RNA pseudoknots. *Bioinformatics*, **18 Suppl 1**, S321–328.
- JENKOV, J. SVG Tutorial. URL <http://tutorials.jenkov.com/svg/index.html>. Accessed: 2016-07-24.
- KISS, T. (2002). Small nucleolar RNAs: an abundant group of noncoding RNAs with diverse cellular functions. *Cell*, **109**(2), 145–148.
- KLEIN, P. N. (1998). Computing the edit-distance between unrooted ordered trees. In *Proceedings of the 6th Annual European Symposium on Algorithms, ESA '98*, pages 91–102, London, UK, UK, 1998. Springer-Verlag. ISBN 3-540-64848-8. URL <http://dl.acm.org/citation.cfm?id=647908.740125>.

- KLEINKAUF, R., HOUWAART, T., BACKOFEN, R. a MANN, M. (2015). antaRNA—Multi-objective inverse folding of pseudoknot RNA using ant-colony optimization. *BMC Bioinformatics*, **16**, 389.
- LEVENSHTAIN, V. I. (1966). Binary Codes Capable of Correcting Deletions, Insertions and Reversals. *Soviet Physics Doklady*, **10**, 707.
- LORENZ, R., BERNHART, S. H., HONER ZU SIEDERDISSEN, C., TAHER, H., FLAMM, C., STADLER, P. F. a HOFACKER, I. L. (2011). ViennaRNA Package 2.0. *Algorithms Mol Biol*, **6**, 26.
- PAWLIK, M. a AUGSTEN, N. (2011). Rted: A robust algorithm for the tree edit distance. *Proc. VLDB Endow.*, **5**(4), 334–345. ISSN 2150-8097. doi: 10.14778/2095686.2095692. URL <http://dx.doi.org/10.14778/2095686.2095692>.
- PONTY, Y. a LECLERC, F. (2015). Drawing and editing the secondary structure(s) of RNA. *Methods Mol. Biol.*, **1269**, 63–100.
- PUTON, T., KOZŁOWSKI, L. P., ROTHER, K. M. a BUJNICKI, J. M. (2013). CompaRNA: a server for continuous benchmarking of automated methods for RNA secondary structure prediction. *Nucleic Acids Res.*, **41**(7), 4307–4323.
- PÁNEK, J., HAJIČ, J. a HOKSZA, D. (2014). Template-based prediction of ribosomal rna secondary structure. In *Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), 2014 IEEE International Conference on*, pages 18–20. doi: 10.1109/BIBM.2014.6999394.
- SCOTT, J. (1988). Social network analysis. *Sociology*, **22**(1), 109–127. doi: 10.1177/0038038588022001007. URL <http://soc.sagepub.com/content/22/1/109.abstract>.
- TAI, K.-C. (1979). The tree-to-tree correction problem. *J. ACM*, **26**(3), 422–433. ISSN 0004-5411. doi: 10.1145/322139.322143. URL <http://doi.acm.org/10.1145/322139.322143>.
- TAMASSIA, R. (2007). *Handbook of Graph Drawing and Visualization (Discrete Mathematics and Its Applications)*. Chapman & Hall/CRC. ISBN 1584884126.
- WIESE, K. C., GLEN, E. a VASUDEVAN, A. (2005). jviz.rna -a java tool for rna secondary structure visualization. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, **4**(3), 212–218. ISSN 1536-1241. doi: 10.1109/TNB.2005.853646.
- YANG, H., JOSSINET, F., LEONTIS, N., CHEN, L., WESTBROOK, J., BERMAN, H. a WESTHOF, E. (2003). Tools for the automatic identification and classification of RNA base pairs. *Nucleic Acids Res.*, **31**(13), 3450–3460.
- ZHANG, K. a SHASHA, D. (1989). Simple fast algorithms for the editing distance between trees and related problems. *SIAM Journal on Computing*, **18**(6), 1245 – 1262.
- ZUKER, M. (2003). Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic Acids Res.*, **31**(13), 3406–3415.

Zoznam obrázkov

1.1	Spojnicový graf	6
1.2	Kruhový graf	6
1.3	Vizualizácia sekundárnej štruktúry RNA človeka z CRW databázy (Cannone a kol. (2002))	7
1.4	Štrukturálne motívy v RNA	8
1.5	Typy pseudouzlov (Kleinkauf a kol. (2015))	8
1.6	Malá podjednotka vygenerovaná programom jViz.Rna (Wiese a kol. (2005))	9
1.7	Malá podjednotka vygenerovaná programom Mfold (Zuker (2003))	10
1.8	Malá podjednotka vygenerovaná programom RNAfold (Lorenz a kol. (2011))	11
1.9	Varianty reprezentácie vrcholov (Auber a kol. (2006))	12
1.10	Molekula RNA a jej stromová reprezentácia	12
1.11	Príklad stromu. Je v ňom červene vyznačená <i>heavy</i> cesta	13
2.1	Ukážky TED operácií	14
2.2	Rekurzívny vzorec pre výpočet tree-edit-distance od Demaine a kol. (2009) a Pawlik a Augsten (2011)	15
2.3	Príklad výpočtu GTED medzi stromami F a G	19
2.4	Výsledná tabuľka <i>TreeDistance</i> medzi stromami z 2.3	20
2.5	Výpočet mapovania medzi stromami	20
2.6	Celková dekompozícia pomocou LRH stratégií (Pawlik a Augsten (2011))	22
3.2	Možná chyba pri vkladaní nového bázevého páru	25
3.1	Namapovanie rRNA žaby (<i>X04025</i>) do obrázka rRNA človeka (<i>K03432</i>) z 1.3, sivou sú označené mazané bázy	26
3.3	Príklad zväčšovania kružnice a následné vloženie báz	27
3.4	Vkladanie báz do stemu	28
3.5	Vkladanie báz do multibranch loopy s aj bez prekresľovania celej multibranch loop štruktúry	29
4.1	Príklad fasta súboru	32
4.2	Príklad podporovaného formátu post script súboru	33
4.3	Časť výstupného súboru s mapovacou tabuľkou	34
4.4	Príklad výstupného PostScript súboru	34
4.5	Príklad výstupného SVG súboru	35
5.1	Inverzné operácie: rekonštrukcia stemu	36
5.2	Inverzné operácie: rekonštrukcia multibranch loop	37
5.3	Počet prekryvov v testovaných molekulách	38
5.4	Počet prekryvov: molekuly, ktoré potrebovali prekresliť multibranch loop	38
5.5	Počet prekryvov: molekuly bez prekresľovania multibranch loop	39
5.6	Pôvodná vizualizácia rRNA medúzy (<i>L10829</i>)	40
5.7	Vizualizácia rRNA medúzy (<i>L10829</i>) pomocou seba samej ako vzoru	41

5.8	Vizualizácia rRNA mušle (<i>X53899</i>) do obrázka cikády (<i>U06478</i>) a chyba pri rozkladaní báz na kružnicu	43
5.9	Chyba pri otáčaní kvôli prekreslovaniu multibranch loopy	44