Remigiusz Marciniak 244781
Zadanie 1: Dopasowanie par sekwencji – algorytm kropkowy

1.

https://gitlab.com/RemigiuszMMarciniak/pythonprojectdnacomparisionandvisualization/

https://github.com/RemigiuszMMarciniak/PythonProjectDNARNAProteinComparisionAndVisualization

2.

Złożoność obliczeniowa czasowa i pamięciowa zaimplementowanych algorytmów

Program został zaprojektowany jako aplikacja konsolowa posiadająca wiele funkcji. Rozpatrzone zostaną funkcje przetwarzające sekwencje, zaś funkcje, które pobierają dane z serwera, od użytkownika lub zapisują macierz zostają pominięte. W tym przypadku możemy je pominąć ponieważ ich złożoność obliczeniowa nie zależy od danych wejściowych (czyli od dlugości sekwencji), lecz jest stała – O(1). Ponadto, funkcje, zapisujące wynik do pliku są zależne od rozmiaru macierzy, lecz w tej analizie zostanie to pominięte. Rozpatrzmy następujące funkcje:

```
def show_filtered_dot_plot(filtered_dot_plot):
    for i in range(len(filtered_dot_plot)):
        for j in range(len(filtered_dot_plot[i])):
            print(filtered_dot_plot[i][j], end=' ')
        print()
```

W tym przypadku złożoność jest zależna od dwóch iteratorów – “i” i ”j”. Granica iteratora ”i” jest zależna od długości sfiltrowanej macierzy, czyli od liczby wierszy macierzy wejściowej, zaś granica iteratora ”j” zależna jest od liczby kolumn w danym wierszu (każdy wiersz ma taką samą ilość kolumn). Z tego wynika, że dane wejściowe to liczba wierszy macierzy, oznaczymy ją jako ”n” oraz liczba rzędów macierzy, oznaczymy ją jako ”m”. Funcja złożoności obliczeniowej tego algorytmu wynosi:

$$\exists n,m \rightarrow \underset{n>0,m>0}{\forall n,m}: \quad f(n,m)=n\cdot(1\cdot m)\rightarrow f(n,m)\in O(n\cdot m)\rightarrow O(n^2)$$

```
def create_matrix_window(dot_plot, window_size, i, j):
    matrix = [[0 for x1 in range(window_size)] for y1 in range(window_size)]
    a = 0
    for x in range(i, i + window_size):
        b = 0
        for y in range(j, j + window_size):
            matrix[a][b] = dot_plot[x][y]
            b += 1
        a += 1
    return matrix
```

Tutaj pomijamy operacje inicjalizacji macierzy oraz zmiennej, ponieważ jej złożoność jest stała i niezależna od wejścia. Zarówno jak w przypadku poprzednim mamy pętle w pętli, zatem:

$$\exists n,m \rightarrow \underset{n>0,m>0}{\forall n,m}: \quad f(n,m)=(2\cdot n)\cdot(2\cdot m) \rightarrow 4\cdot f(n,m)\in O(n\cdot m) \rightarrow O(n^2)$$

```
def sum_diag(matrix):
    counter = 0
    for i in range(len(matrix)):
        for j in range(len(matrix[i])):
            if i == j:
                if matrix[i][j] == 1:
                    counter += 1
    return counter
```

W tej funkcji zarówno jak powyżej złożoność obliczeniowa wynosi O(n^2).

```
def filter_dot_plot(window_size, threshold, dot_plot):
    filtered_dot_plot = [[0 for x in range(len(dot_plot[0]))] for y in
range(len(dot_plot))]
    for i in range(len(dot_plot) - window_size + 1):
        for j in range(len(dot_plot[i]) - window_size + 1):
            window_matrix = create_matrix_window(dot_plot, window_size, i, j)
            if sum_diag(window_matrix) >= window_size - threshold:
                for k in range(len(window_matrix)):
                    filtered_dot_plot[i + k][j + k] = window_matrix[k][k]
    return filtered_dot_plot
```

Algorytm filtrowania macierzy jest dość skomplikowany, wymaga zastosowania pętli w pętli, w której wywoływana jest funkcja *create_matrix_window* posiadająca złożoność O(n^2) oraz w przypadku gdy przekątna macierzy okienka jest większa niż podany próg wywołania kolejnej pętli. Najbardziej wewnętrzna pętla jest zależna od długości okna, oznaczamy ją jako “w”.

$$\exists n,m,w \rightarrow \underset{n>0,m>0,w>0}{\forall n,m,w}: \quad f(n,m,w)=n\cdot((n\cdot m)\cdot m)\cdot w=n^2\cdot m^2\cdot w \rightarrow f(n,m,w)\in O(n^2\cdot m^2\cdot w) \rightarrow O(n^5)$$

W tej funkcji złożoność obliczeniowa jest równa O(n^5) – jest to niekorzystna złożoność.

```
def generate_dot_plot(array1, array2):
    dot_plot = [[0 for i in range(len(array2))] for j in range(len(array1))]
    for i in range(len(array1)):
        for j in range(len(array2)):
            if array1[i] == array2[j]:
                dot_plot[i][j] = 1
            else:
                dot_plot[i][j] = 0
    return dot_plot
```

Złożoność obliczeniowa wynosi $O(n^2)$.

```
def string_to_array(string):
    string = string.upper()
    index = string.rfind('\n')
    string_to_list = ""
    description = ""
    is_description_skipped = False
    for x in string:
        if x == "\n":
            is_description_skipped = True
        if is_description_skipped:
            string_to_list += x
        else:
            description += x
    string_list = ""
    for x in string_to_list:
        if not x == "\n":
            string_list += x
    return description, list(string_list)
```

Złożoność dla tej funkcji jest zależna tylko od jednej wielkości, zatem jej złożoność obliczeniowa wynosi $O(n)$.

3.

Zainspirowałem się następującym obrazkiem:

Lipase Sequence Homology in Different Human Tissues

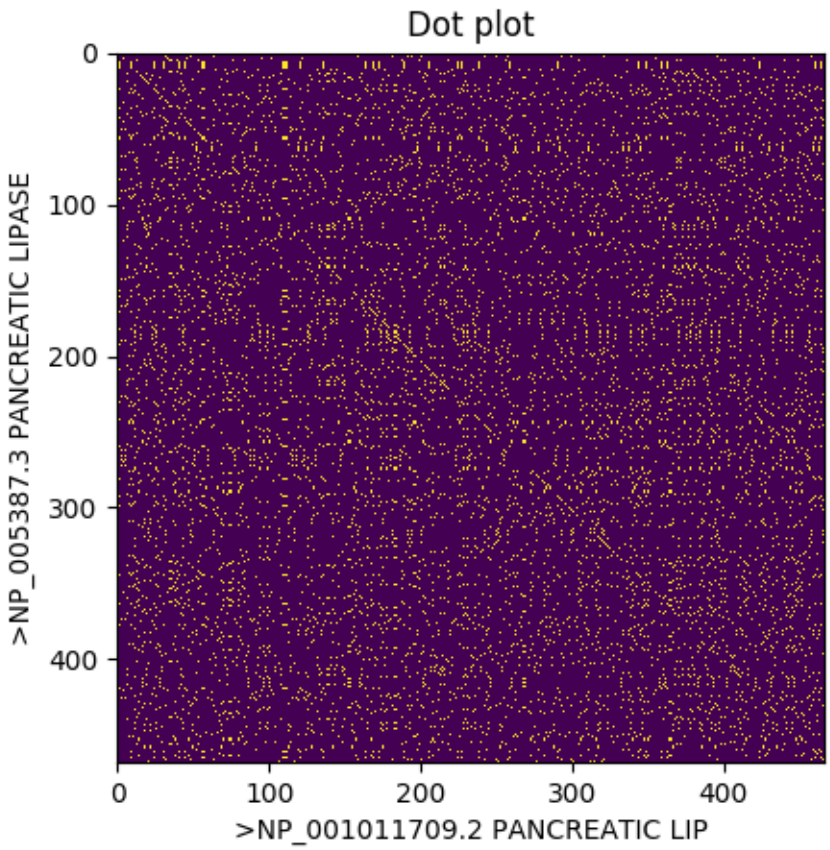
Query hit (click to show/hide alignment)	Target hit	Target len	Identity	Tot. score	E-value
Lipoprotein lipase *(LPL)* [NX_P06858-1]		475aa	100%	2570	0.0e+00
Endothelial lipase *(LIPG)* [NX_Q9Y5X9-1]		500aa	45%	1158	1.4e-126
Hepatic triacylglycerol lipase *(LIPC)* [NX_P11150-1]		499aa	43%	1037	1.5e-112
Endothelial lipase *(LIPG)* [NX_Q9Y5X9-2]		354aa	34%	935	1.1e-100
Pancreatic triacylglycerol lipase *(PNLIP)* [NX_P16233-1]		465aa	27%	503	1.2e-50
Inactive pancreatic lipase-related protein 1 *(PNLIPRP1)* [NX_P54315-1]		467aa	27%	497	6.4e-50
Pancreatic lipase-related protein 2 *(PNLIPRP2)* [NX_P54317-1]		469aa	25%	459	2.0e-45
Pancreatic lipase-related protein 3 *(PNLIPRP3)* [NX_Q17RR3-1]		467aa	24%	430	4.4e-42
Lipase member H *(LIPH)* [NX_Q8WWY8-1]		451aa	22%	423	2.9e-41
Lipase member I *(LIPI)* [NX_Q6XZB0-1]		460aa	21%	412	5.7e-40
Lipase member I *(LIPI)* [NX_Q6XZB0-2]		481aa	21%	411	6.3e-40
Lipase member I *(LIPI)* [NX_Q6XZB0-6]		375aa	22%	408	1.4e-39
Lipase member I *(LIPI)* [NX_Q6XZB0-3]		454aa	20%	405	3.1e-39

Źródło:
https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_evolution#/media/File:Lipase_Sequence_Homology.png

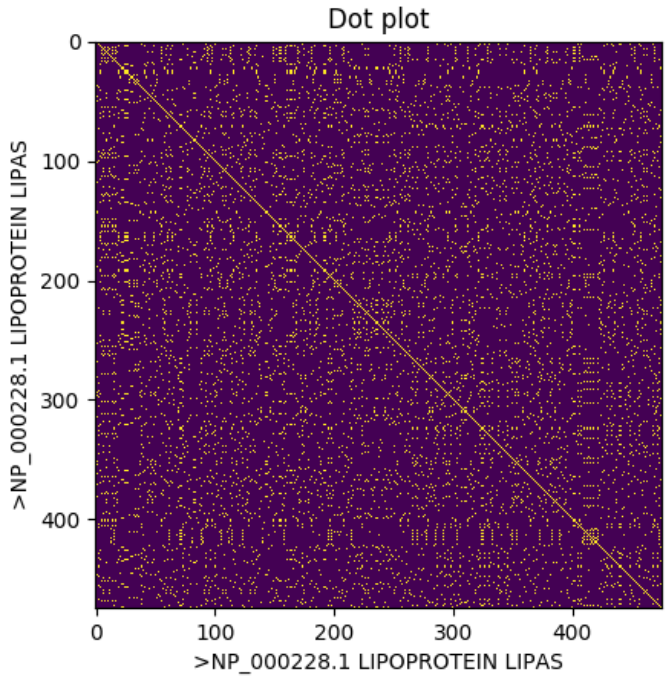
Porównanie par sekwencji ewolucyjnie powiązanych

Porównywane będą sekwencje aminokwasów, które wchodzą w skład białek, które są ewolucyjnie powiązane. W tym przypadku bierzemy pod uwagę ewolucje białek, a nie ewolucję organizmu. Porównane będą lipazy występujące u człowieka – Pancreatic lipase-related protein 2 (PNLIPRP2) oraz Pancreatic lipase-related protein 3 (PNLIPRP3)

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_005387.3
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_001011709.2

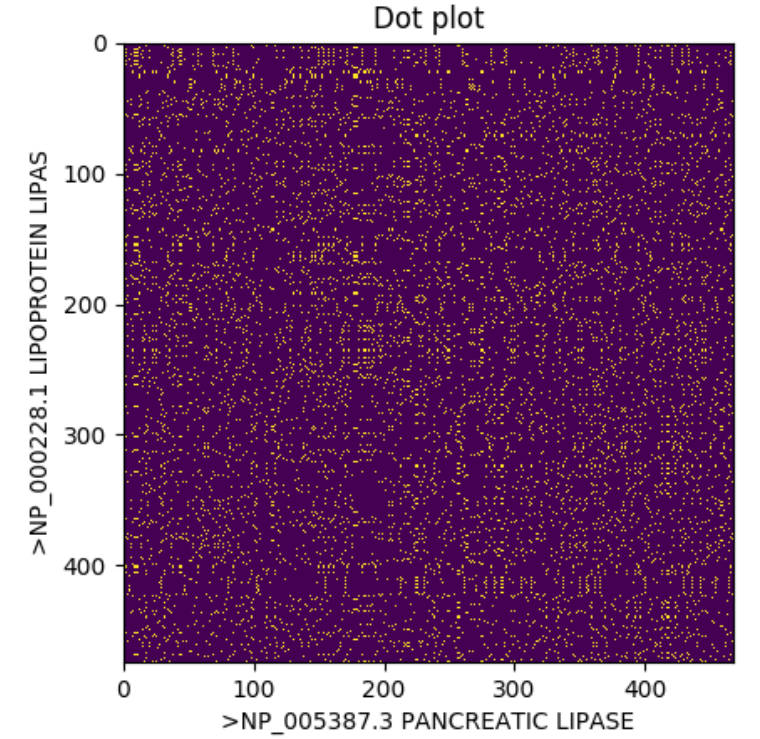


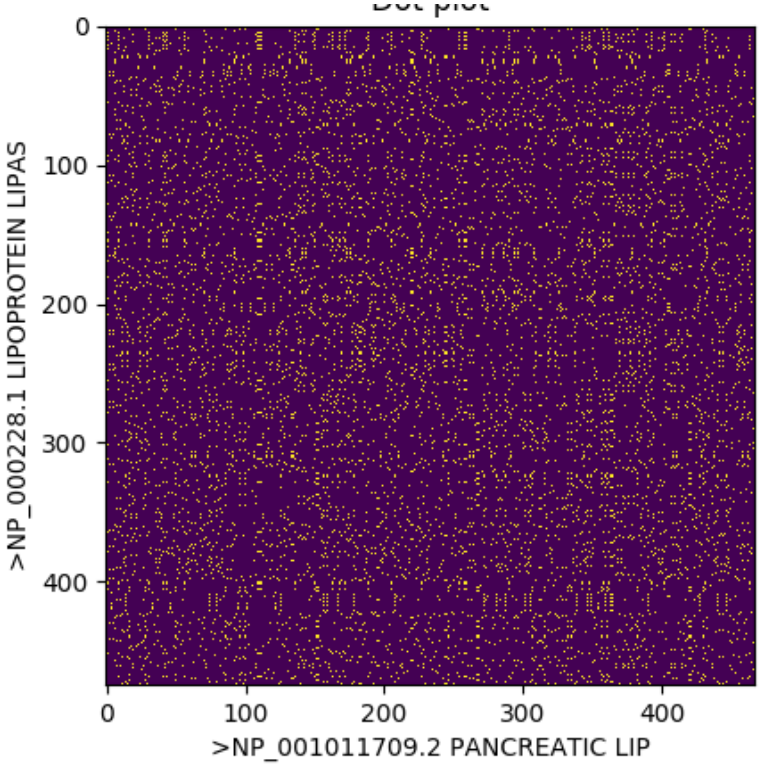
Jak możemy zauważyć, na macierzy kropkowej występuje główna przekątna macierzy, która nie jest idealnie zapełniona – występują w niej przerwy. Oznacza to, że obie proteiny są powiązane ewolucyjnie, lecz obie posiadają w swoich sekwencjach różnice wobec siebie. Im bardziej pełna jest główna przekątna macierzy tym obie sekwencje są bardziej ewolucyjnie powiązane. Możemy to zauważyć w przypadku porównania dwóch tych samych sekwencji.



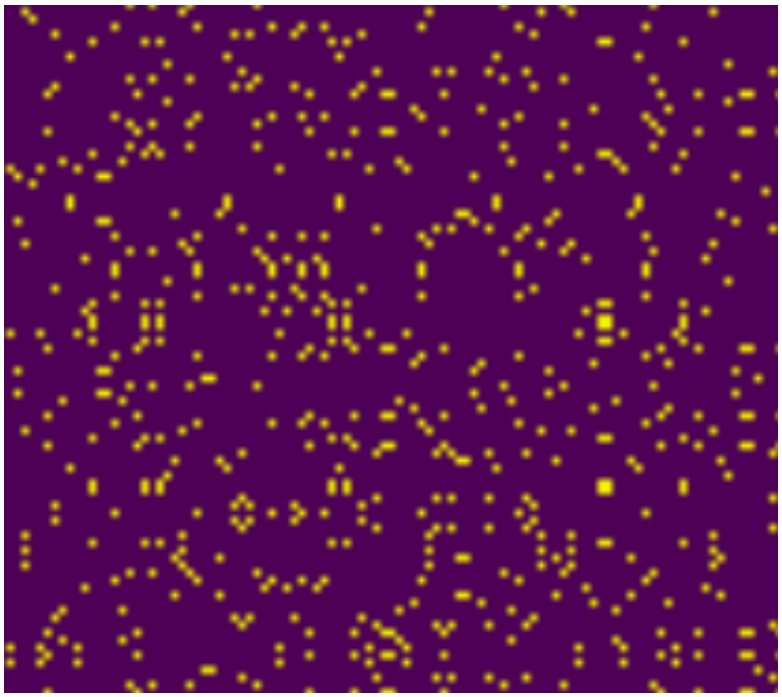
Porównanie par sekwencji ewolucyjnie niepowiązanych

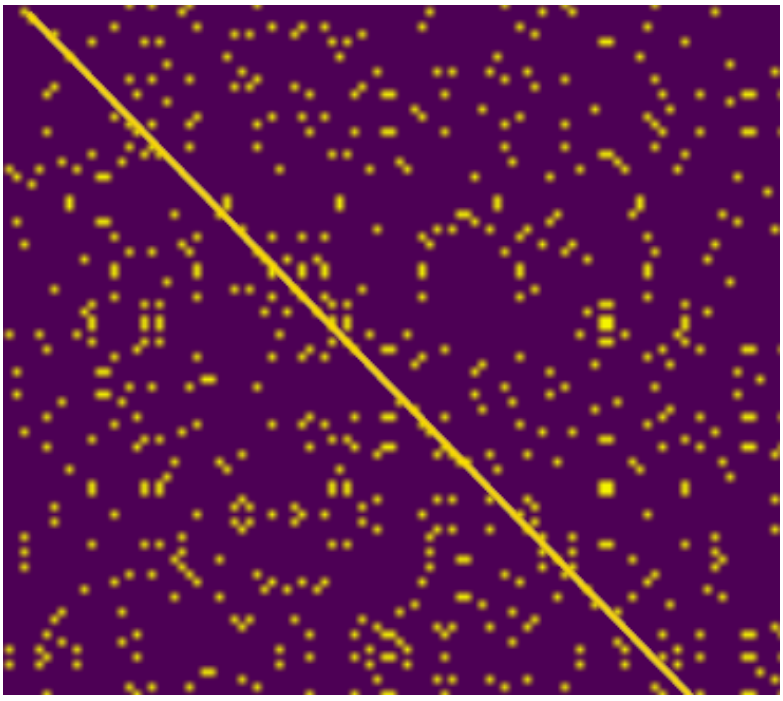
Porównywane będą sekwencje aminokwasów, które wchodzą w skład białek, które są ewolucyjnie niepowiązane. Porównane będą lipazy występujące u człowieka – Lipoprotein lipase (LPL) oraz Pancreatic lipase-related protein 2 (PNLIPRP3) i Lipoprotein lipase (LPL) oraz Pancreatic lipase-related protein 3 (PNLIPRP3)
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000228.1
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_001011709.2
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_005387.3





Jak widzimy na powyższych wykresach nie występuje zjawisko wypełnienia głównej przekątnej macierzy – sekwencje nie są w wysokim stopniu ewolucyjnie powiązane. Co ciekawe, możemy zauważyć, że skoro threshold (próg) wynosi 10, tak jak długość okienka to zakładamy 100% identyczność sekwencji w tym okienku. Zatem możemy zauważyć w macierzy kropkowych przedstawionych poniżej, że na głównej przekątnej występują miejsca gdzie elementy sekwencji są identyczne. W tym przypadku, jako że badamy lipazy człowieka nie jest to przypadkowe podobieństwo.





4.

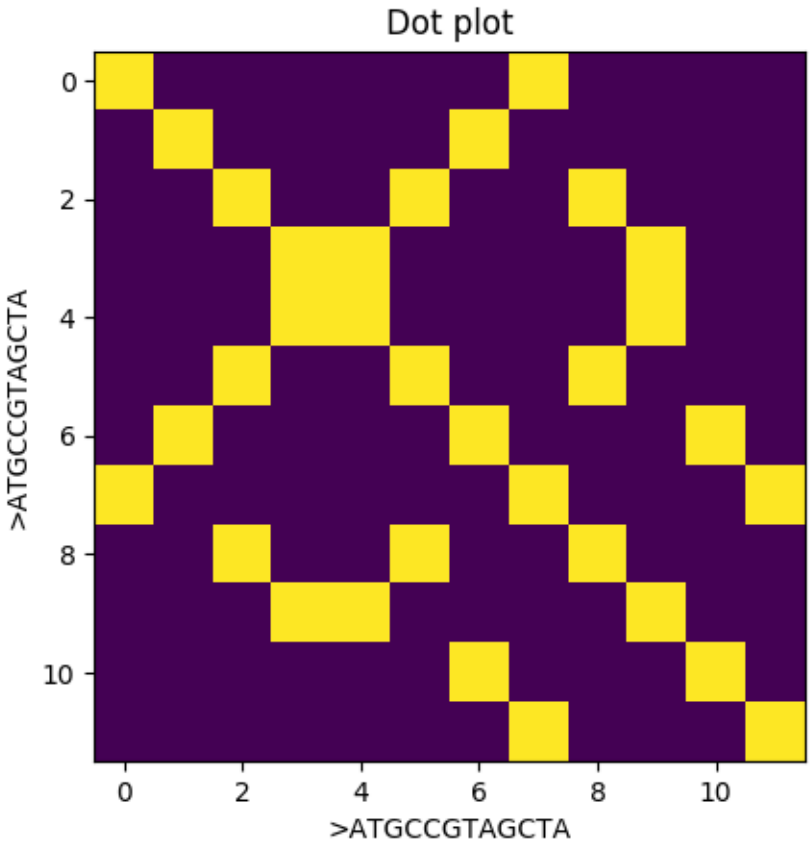
Interpretacja macierzy kropkowej dla przykładowych par (określenie rodzaju mutacji)

Dla prostego przykładu wybierzmy dwie pary sekwencji z okienkiem 4 oraz progiem 4 (100%):

Pierwotne sekwencje (identyczne):

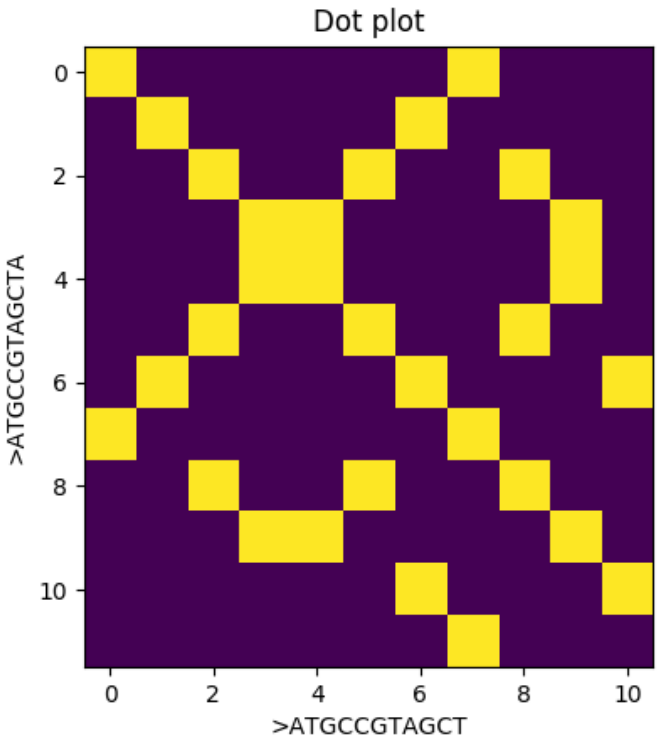
ATGCCGTAGCTA

ATGCCGTAGCTA



Delecja w drugiej sekwencji:

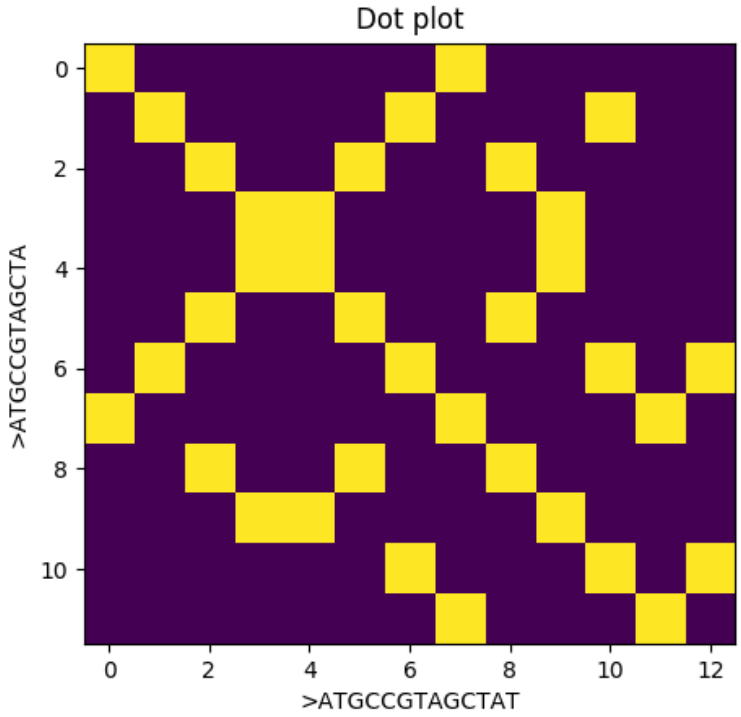
ATGCCGTAGCTA
ATGCCGTAGCT-



Możemy zaobserwować utratę dwóch żółtych pixeli odpowiadających za identyczność na danym miejscu.

Insercja w drugiej sekwencji:

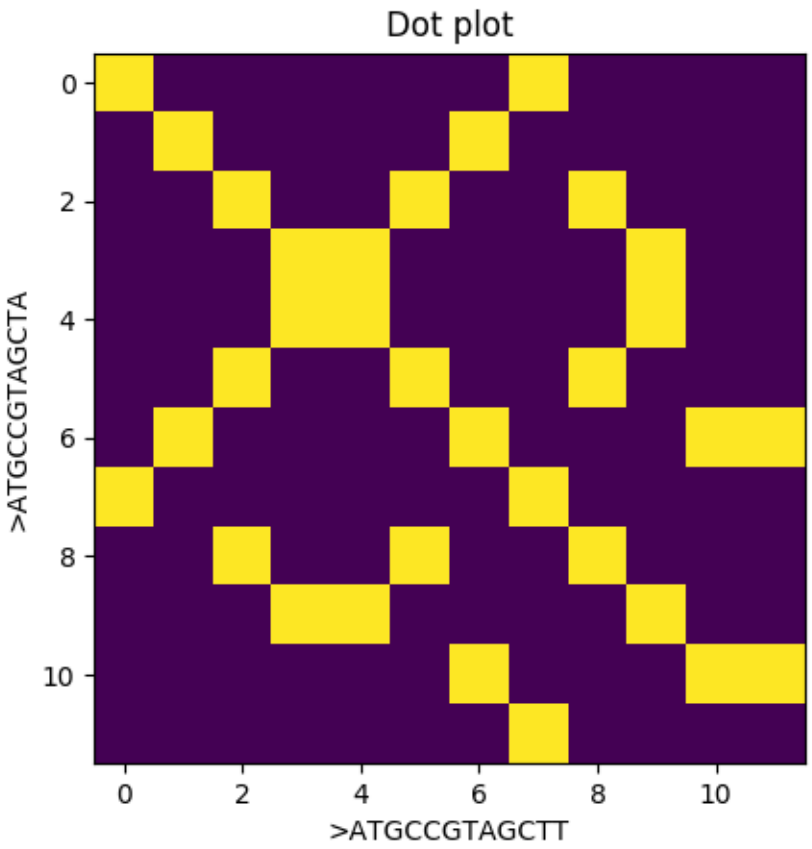
ATGCCGTAGCTA-
ATGCCGTAGCTAT



Można zauważyć, że insercja jest działaniem odwrotnym do delecji i zależy od punktu odniesienia (sekwencji). Obserwujemy występowanie dodatkowych pixeli.

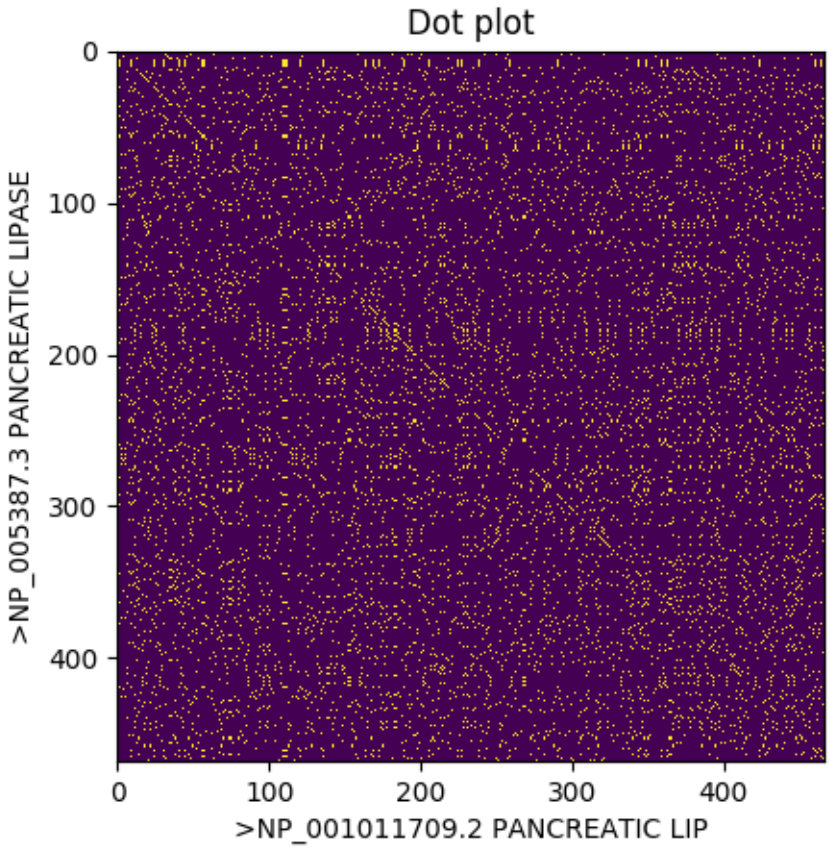
Substytucja w drugiej sekwencji:

ATGCCGTAGCTA
ATGCCGTAGCTT



Substytucja sprawia, że na głównej przekątnej pojawił się pixel o kolorze fioletowym , czyli brak zgodności (0 w macierzy kropkowej).

Analiza dla realnych wyników:
Pancreatic lipase-related protein 2 (PNLIPRP2) oraz Pancreatic lipase-related protein 3 (PNLIPRP3)
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_005387.3
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_001011709.2



Jako, że rozmiar okna jest równy rozmiarowi progu, oznacza to, że analizujemy macierz ze 100% dokładnością sekwencji w okienku. Rozważamy główną przekątną tej macierzy kropkowej, ponieważ ona informuje nas o podobieństwie całej sekwencji. Możemy wnioskować o występowaniu substytucji w miejscach przerwy w przekątnej (fioletowa kropka na wykresie). Również, możemy wysnuć wniosek o insercji, bądź delecji. W tym przypadku należy odnieść się do sekwencji, do której się odnosimy – dla jednej będzie to insercja, a dla drugiej delecja. Dla sekwencji na osi OX rozpatrujemy insercje w pionie, zaś dla sekwencji na osi OY w poziomie.