5. Počítačové cvičení

Restrikční mapování

Double Digest Problem

(Kniha 3, kapitola 4.1 až 4.4)

Molekula DNA je kompletně štěpena enzymem A, enzymem B a kombinací obou enzymů. Vstupem problému jsou tři vektory vzestupně setříděných fragmentů štěpení:

$\Delta X_A = \{a_1, a_2, \ldots, a_m\}$ - vektor fragmentů po štěpení enzymem A,

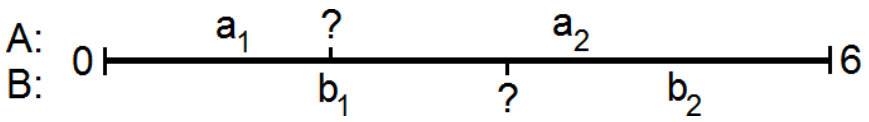
$\Delta X_B = \{b_1, b_2, \ldots, b_n\}$ - vektor fragmentů po štěpení enzymem B,

$\Delta X_{AB} = \{c_1, c_2, \ldots, c_{m+n-1}\}$ - vektor fragmentů po současném štěpení enzymy A+B.

Úkolem je nalézt pozice štěpení pro oba enzymy.

Triviální příklad: $\Delta X_A = \{2,4\}$, $\Delta X_B = \{1,5\}$ a $\Delta X_{AB} = \{1,1,4\}$.

Štěpení enzymem A i B produkuje pouze dva fragmenty, což znamená, že DNA obsahuje jedno restrikční místo pro každý z enzymů a délka molekuly je 6 (suma délek fragmentů).



Štěpení oběma enzymy současně produkuje tři fragmenty. Je potřeba určit, kde na molekule DNA se nachází restrikční místa.

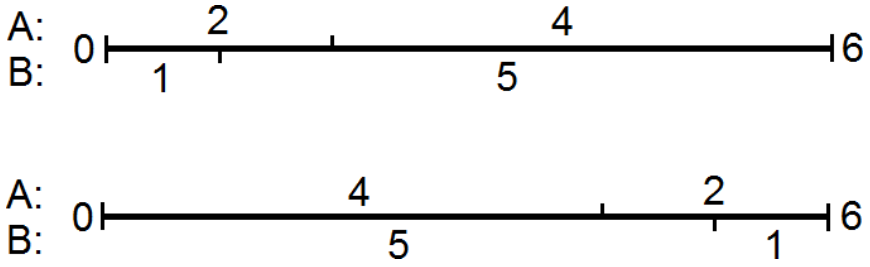
Počet fragmentů *m* pro enzym A a *n* pro B určuje počet kombinací pozic restrikčních míst. Konkrétně pro příklad: (m!)*(n!) = (2!)*(2!) = 4 kombinace pozic fragmentů:

2 4 4 2 2 4 4 2

1 5 1 5 5 1 5 1

Která z těchto kombinací generuje vektor X_{AB}?

Správné řešení: (reverze jednoho řešení je dalším řešením)



Enzym A štěpí DNA na pozici 2 a enzym B na pozici 1, nebo na pozici 4 a 5.

Další příklad:

$\Delta X_A = \{2, 3, 5, 10\}$

$\Delta X_B = \{3, 7, 10\}$

$\Delta X_{AB} = \{1, 2, 2, 5, 5, 5\}$

Enzym A má na DNA 3 restrikční místa, enzym B 2 místa, DNA je dlouhá 20. Je potřeba prověřit (4!)*(3!) = 144 kombinací pozic.

Exhaustive search (brute-force) algoritmus prověří všechny možnosti pozic, např. tímto způsobem:

uspořádání fragmentů	mapa pozic	sloučené pozice
3 5 2 10	0 3 8 10 20	0 3 7 8 10 20
7 3 10	0 7 10 20	

postupné diference

3 – 0, 7 – 3, 8 – 7, 10 – 8, 20 – 10 = 3, 4, 1, 2, 10

setřídit na 1, 2, 3, 4, 10 toto ale není správné řešení, neboť se to nerovná X_{AB}.

Mapa pozic se tvoří postupným sčítáním fragmentů a sloučené pozice neobsahují duplikace.

Pro jinou kombinaci:

uspořádání fragmentů	mapa pozic	sloučené pozice
2 3 10 5	0 2 5 15 20	0 2 3 5 10 15 20
3 7 10	0 3 10 20	

postupné diference

2 – 0, 3 – 2, 5 – 3, 10 – 5, 15 – 10, 20 – 15 = 2, 1, 2, 5, 5, 5

setřídit na 1, 2, 2, 5, 5, 5 a toto se rovná X_{AB} a tudíž restrikční místa pro enzym A jsou {2, 5, 15} a enzym B {3, 10} a dalším řešením je jejich reverze {5, 15, 18} a {10, 17}. Reverze se tvoří obrácením pořadí uspořádání fragmentů a vytvořením mapy pozic.

Tento přístup testování všech možných kombinací uspořádání fragmentů nalezne všechny možné pozice restrikčních míst. Algoritmus je však enormně výpočetně náročný.

Úkol: V R naprogramujte funkci pro brute-force algoritmus DDP pro jedno možné uspořádání fragmentů. Následně upravte pro všechny možné uspořádání fragmentů.

Partial Digest Problem

Řešený příklad:

Máme vektor délek ΔX={2,2,3,3,4,5,6,7,8,10}. Najděte vektor X, z kterého byl vektor délek vygenerován. X = {x_1=0,x_2,…,x_n}, kde ΔX = {x_j-x_i : 1 ≤ i < j ≤ n}.
Velikost ΔX = 10 tudíž podle $\frac{n(n-1)}{2} = 10 \rightarrow$ n = 5, tudíž hledáme $X = \{x_1, x_2, x_3, x_4, x_5\}$. Vektor délek ΔX byl vygenerován podle této tabulky:

	x_1	**x_2**	**x_3**	**x_4**	**x_5**
x_1		x_2-x_1	x_3-x_1	x_4-x_1	x_5-x_1
x_2			x_3-x_2	x_4-x_2	x_5-x_2
x_3				x_4-x_3	x_5-x_3
x_4					x_5-x_4
x_5					

1) Nalezneme maximum v ΔX. Maximální prvek musí za předpokladu, že vektor X je setříděn vzestupně, odpovídat prvku z tabulky x_5-x_1.
   max = 10 $x_5 - x_1 = 10$, když $x_1 = 0$, pak $x_5 = 10$

   tudíž X = {0,x_2,x_3,x_4,10}.
   Z ΔX odstraníme prvek x_5-x_1 a dostáváme nové ΔX = {2,2,3,3,4,5,6,7,8}.

2) max = 8 máme možnosti: $x_4 - x_1 = 8$, $x_4 = 8$
   nebo $x_5 - x_2 = 8$, $x_2 = 2$
   jelikož jde o zrcadlové prvky (od první i poslední hodnoty X mají stejnou vzdálenost) můžeme vybrat jakoukoli z nich.
   Vezměme, že $x_2 = 2$.
   Nové X = {0,2,x_3,x_4,10}.
   Z ΔX odstraníme prvky o hodnotách: $x_2 - x_1 = 2$, $x_5 - x_2 = 8$.

Nové ΔX = {2,3,3,4,5,6,7}.

3) max = 7 máme možnosti: $x_4 - x_1 = 7$, $x_4 = 7$
nebo $x_5 - x_3 = 7$, $x_3 = 3$
avšak kdyby $x_3 = 3$, tak by $x_3 - x_2 = 1$, ale 1 není v ΔX, tudíž volíme $x_4 = 7$.
Nové X = {0,2,x_3,7,10}.
Z ΔX odstraníme prvky o hodnotách: $x_5 - x_4 = 3$, $x_4 - x_1 = 7$ a $x_4 - x_2 = 5$.
Nové ΔX = {2,3,4,6}.

4) max = 6 zbyly dvě možnosti $x_3 - x_1 = 6$, $x_3 = 6$
nebo $x_5 - x_3 = 6$, $x_3 = 4$
kdyby $x_3 = 6$ tak by $x_4 - x_3 = 1$, to ale není v ΔX, takže $x_3 = 4$.

Výsledek: X = {0,2,4,7,10}

Provedeme kontrolu správnosti řešení. Vypočítáme všechny možnosti vzdáleností mezi prvky a po setřídění musí dát zadaný vektor.

ΔX = {2,4,7,10,2,5,8,3,6,3} = {2,2,3,3,4,5,6,7,8,10}

Příklady k řešení:

1) ΔX = {1,2,2,3,4,4,5,6,7,8}

2) ΔX = {2,2,2,4,4,4,6,6,8,10}

3) ΔX = {1,2,2,2,2,3,4,4,4,5,6,6,7,8,9}

Úkol: V R implementujte rekurzivní algoritmus pro PDP (Partial Digest Problem) podle následujícího pseudokódu:

PartialDigestProblem(L)

```
1   width ← maximální prvek z L
2   Delete(width,L)
3   X ← {0,width}
4   Place(L,X)
```

Place(L,X)

```
1       if L je prázdné
2           output X
3           return
4       y ← maximální prvek z L
5       if Δ(y,X) ⊇ L
6           přidej y do X a odstraň délky Δ(y,X) z L
7           Place(L,X)
8           odstraň y z X a přidej délky Δ(y,X) do L
9       if Δ(width-y,X) ⊇ L
10          přidej width-y do X a odstraň délky Δ(width-y,X) z L
11          Place(L,X)
12          odstraň width-y z X a přidej délky Δ(width-y,X) do L
13      return
```

Upřesnění: $L = \Delta X$, *Delete(y,L)* vymaže hodnotu *y* z *L*, $\Delta(y,X)$ je vektor délek mezi hodnotou *y* a všemi hodnotami *X*.

Nápověda: Vytvořte externí funkci *Remove()*, která bude z vektoru *L* odstraňovat použité délky Δ.

Brute-force Motif Search

Ačkoli některé problémy v biologických systémech lze řešit pomocí velmi jednoduchých vyhledávacích algoritmů, velký prohledávací prostor může způsobit exponenciální nárůst doby běhu s velikostí systému. V boji proti tomuto problému je obvykle možné využít porozumění omezením vyhledávacího prostoru k chytrému návrhu algoritmů, které dávají rozumnou dobu běhu v porovnání s velikostí biologických systémů.

V předchozí části cvičení jsme se zabývali dvěma algoritmy pro řešení částečného rozkladu problému (DDP & PDP). Metoda hrubé síly prohledává všechny možné množiny (*n* - 2) restrikčních míst pro původní řetězec složený ze $\binom{n}{2}$ prvků, dokud se nenajde množina *L*. Toho se dosáhne pomocí funkcí *place* a *select* k vytvoření řetězců o délce *(n - 2)*. Doba běhu tohoto algoritmu je však *O(W (n-2))*, kde W je délka původního řetězce.

Tím, že si uvědomíme, že největší prvek v *L* bude délka původního řetězce, a že dalšími největšími prvky v množině budou vzdálenosti od omezení ke koncům původního řetězce, jsme vytvořili nový algoritmus nazvaný **Branch and Bound**. Tím se doba běhu zkrátila na *O(n2).*

Naopak hrubou silou (**Brute-force Motif Search**) lze jednoduše iterovat přes všechny $(L_1-n)\times(L_2-n)\times...\times(L_k-n)$ takových výchozích pozic $\{s_1, s_2, ...s_k\}$ a zachovat posloupnost, jejíž profilová matice dává výsledek nejnižší konsenzuální skóre. Protože potřebujeme vyhodnotit na pořadí matic L_k každá s $n\times k$ prvky, roste doba běhu této metody jako $T = O(n_k L_k)$, což je exponenciální v počtu sekvencí DNA, které chceme zkoumat. Proto tato metoda funguje, pokud se porovnává pouze několik sekvencí.

Postup **Brute-force Motif Search**

1. Funkce Score
2. Funkce **NextLeaf**
3. Funkce **BFMotifSearch**
4. Funkce **NextVertex**
5. Funkce **SimpleMotifSearch**

Úkol: V R implementujte Brute-force Motif Search algoritmus. Pseudokódy pro jednotlivé funkce tohoto algoritmu jsou dostupné v Knize 1 – kapitola 4.