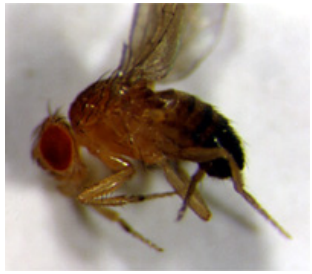
Выравнивание биологических последовательностей

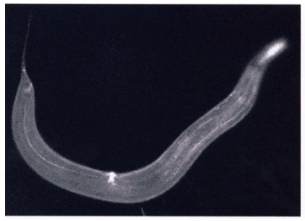
Сравнение геномов

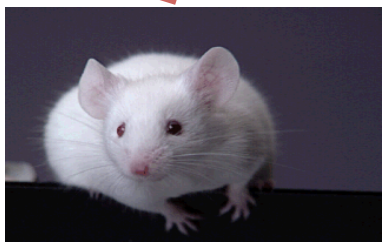




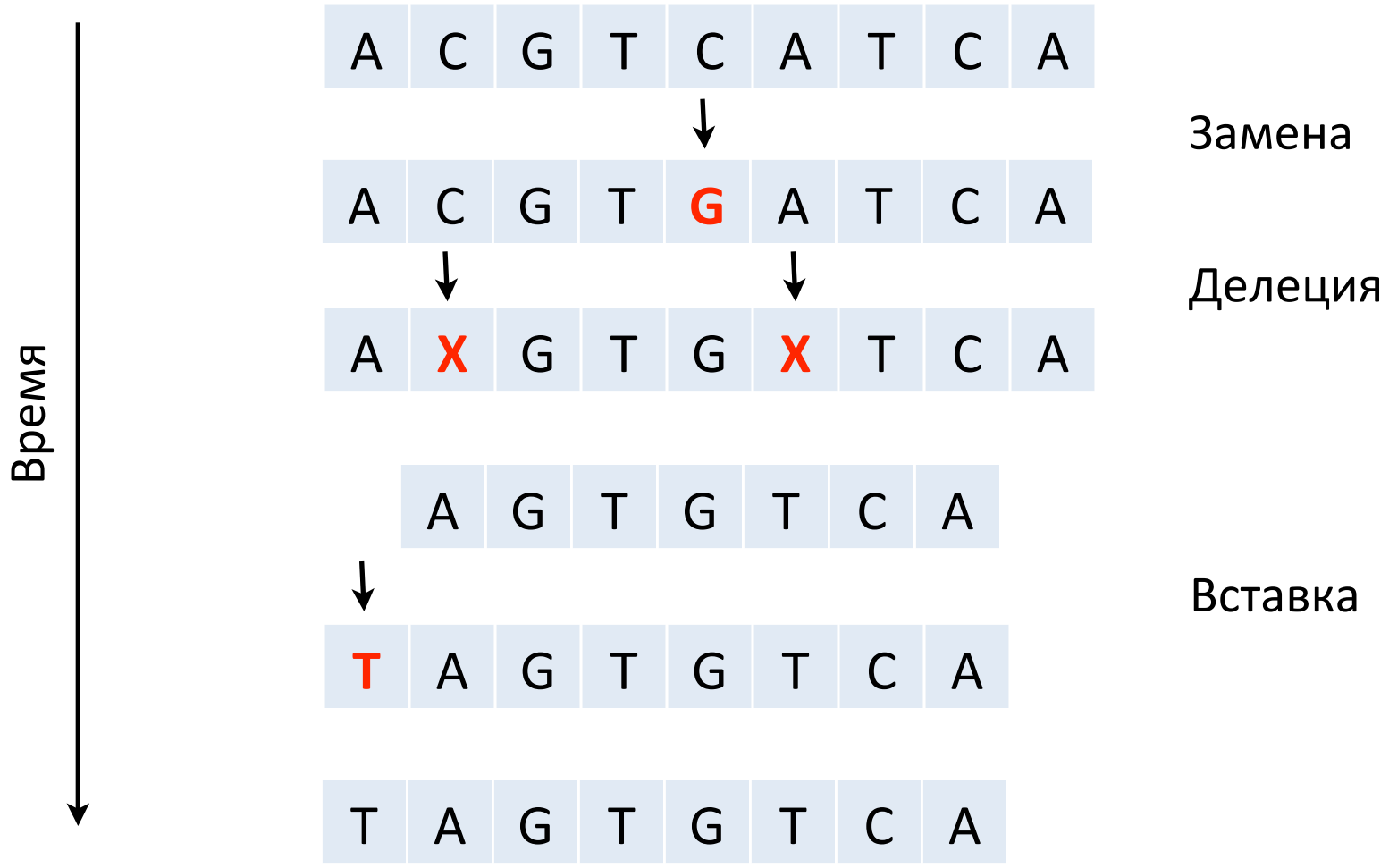






Изменение геномов с течением веремени



Задача выравнивания: определение редакционного расстояния

A	C	G	T	C	A	T	C	A

?

Формальная постановка задачи: определение редакционного расстояния - минимального количества элементарных преобразований (замен, вставок, делеций), переводящих одну последовательность в другую

T	A	G	T	G	T	C	A

Что необходимо для вычисления оптимального выравнивания?

S1	A	C	G	T	C	A	T	C	A
S2	T	A	G	T	G	T	C	A	

- Весовая функция (scoring function)
  - Вес выравнивания = стоимость редактирования S1 в S2
  - Стоимость замены, вставки, делеции
  - Бонус за совпадение букв
- Алгоритм нахождения оптимального выравания
  - Перебор?

Возможно ли выполнить полный перебор выравниваний?

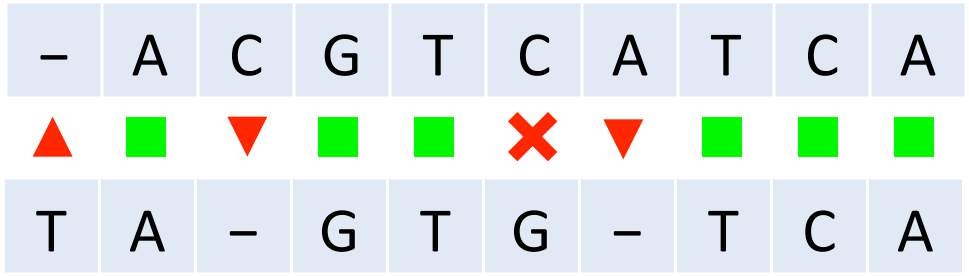
- Количество способов выравнивания двух последовательностей длин *m* и *n*:

$$\binom{n+m}{m} = \frac{(m+n)!}{(m!)^2} \approx \frac{2^{m+n}}{\sqrt{\pi m}}$$

- Для двух последовательностей дины *n*:

n	Число вариантов
10	184756
20	1.40E+11
100	9.00E+58

Весовая функция (scoring function)

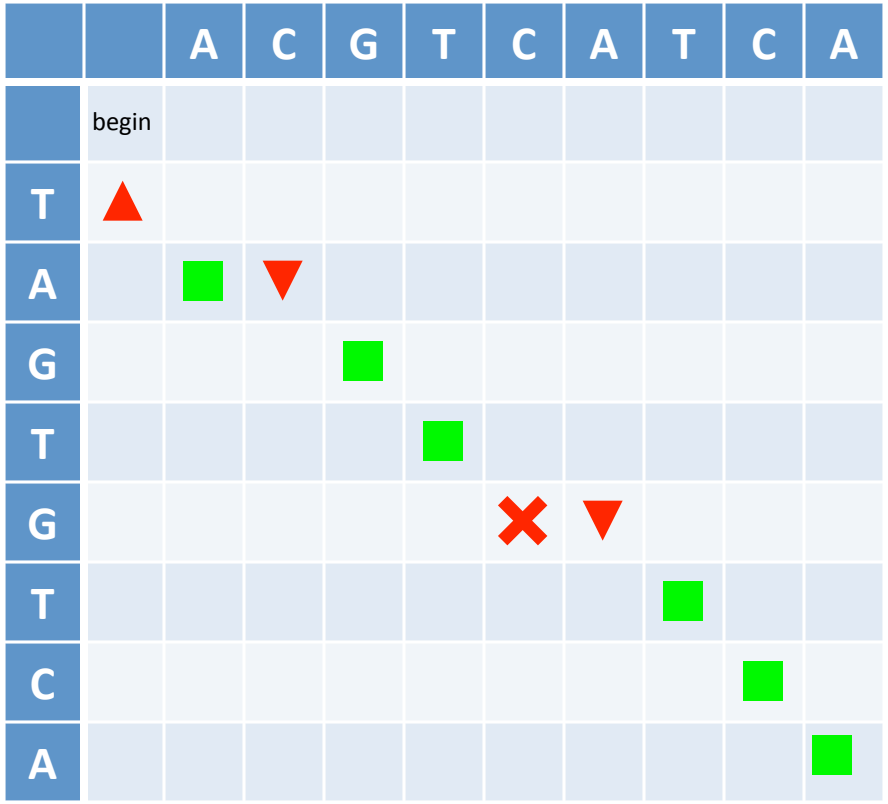


Тип позиции	Стоимость
Совпадение ■	*+m*
Несовпадение ✕	*-s*
Разрыв ▲ ▼	*-d*

Вес выравнивания (Score) =
(число совпадений)×*m* − (число несовпадений)×*s* − (число разрывов)×*d*

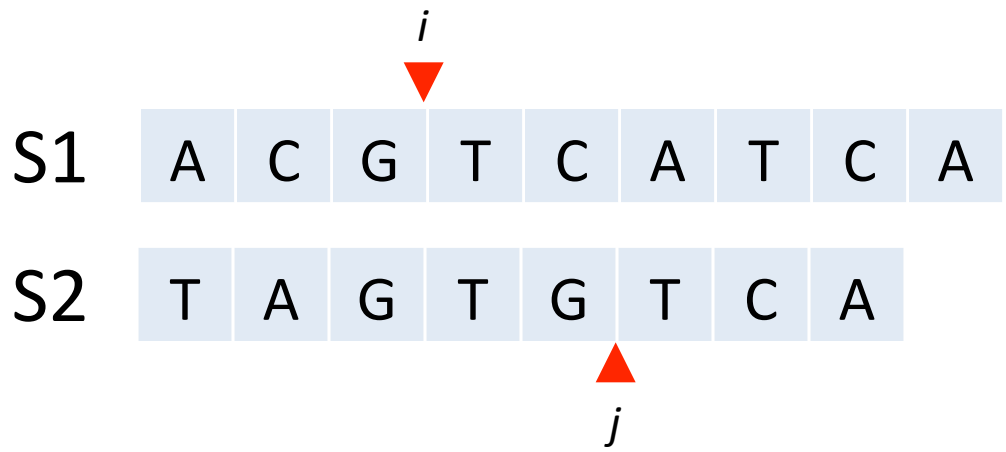
Матричное представление выравнивания

–	A	C	G	T	C	A	T	C	A
T	A	–	G	T	G	–	T	C	A

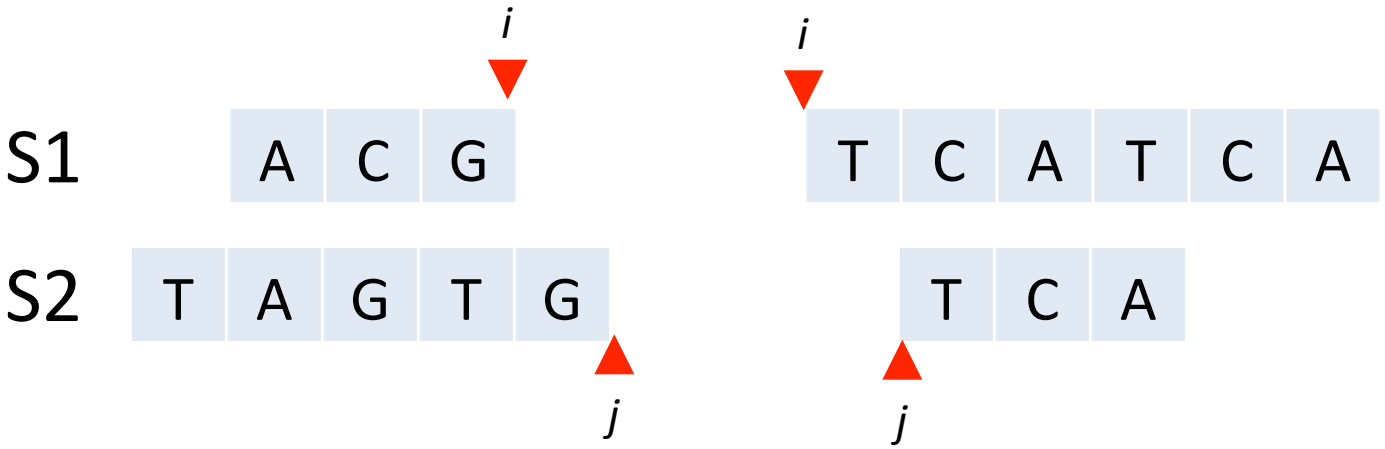


Цель: найти оптимальный путь по матрице от точки начала до точки окончания.

Вес (score) выравнивания аддитивен



Для заданного разделения (*i,j*) вес оптимального выравнивания есть:
вес оптимального выравнивания между S1[1,*i*] и S2[1,*j*] +
вес оптимального выравнивания между S1[*i*,*n*] и S2[*j*,*m*]



Динамическое программирование

- Для данной задачи существует только конечное число подзадач?
  - Да. Имеем $n \times m$ позадач выравниваний S1[1,i] с S2[1,j].
- Первоначальная задача является одной из подзадач?
  - Да. Выравнивание S1[1,n] с S2[1,m].
- Каждая подзадача решается на основе решений более мелких подзадач?
  - Да. (покажем далее).

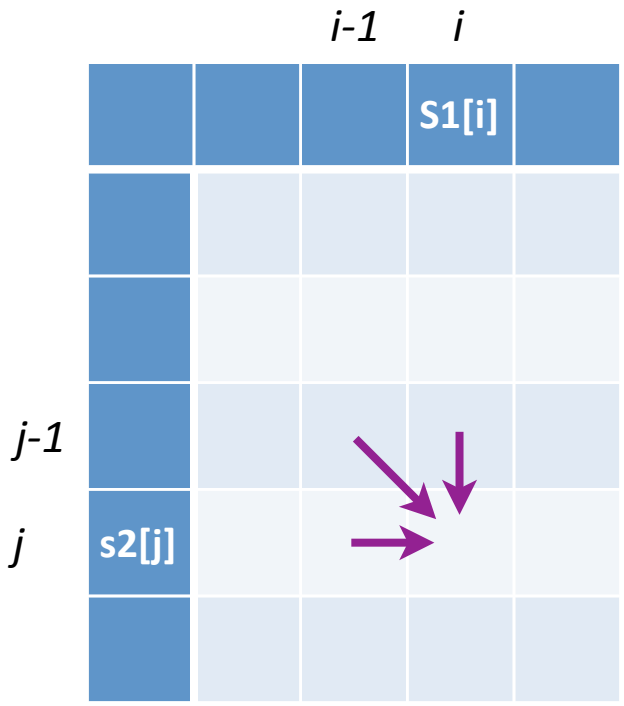
Вывод: мы можем использовать динамическое программирование

Поиска оптимального выравнивания S1[1,*i*] с S2[1,*j*]

- Мы можем попасть в точку (*i*,*j*) только из трех позиций: (*i*-1,*j*-1), (*i*-1,*j*) и (*i*,*j*-1).
- Зная веса F оптимальных выравниваний *F*(*i*-1,*j*-1), F(*i*-1,*j*) и *F*(*i*,*j*-1), вес оптимального выравнивания *F*(*i*,j) определяется как:

$$F(i,j) = \max\begin{cases} F(i-1,j-1) + g(i,j) \\ F(i-1,j) - d \\ F(i,j-1) - d \end{cases}$$

где $$g(i,j) = \begin{cases} m, if\ S1[i] = S2[j] \\ -s, if\ S1[i] \neq S2[j] \end{cases}$$



Пример

S1	A	G	T	A

m=1, s=-1, d=-1

S2	A	T	A

		A	G	T	A
A					
T					
A					

Пример

S1	A	G	T	A	
S2	A	T	A		

m=1, s=-1, d=-1

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1				
T	-2				
A	-3				

Пример

S1	A	G	T	A

m=1, s=-1, d=-1

S2	A	T	A

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1				
T	-2				
A	-3				

Пример

S1 A G T A

S2 A T A

m=1, s=-1, d=-1

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1				
T	-2				
A	-3				

$$F(1,1) = \max\begin{cases} F(0,0) + g(A,A) \\ F(0,1) - d \\ F(1,0) - d \end{cases} =$$

$$= \max\begin{cases} 0+1 \\ -1-1=1 \\ -1-1 \end{cases}$$

Пример

S1	A	G	T	A
S2	A	T	A	

m=1, s=-1, d=-1

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1	1			
T	-2				
A	-3				

Пример

S1 A G T A

S2 A T A

m=1, s=-1, d=-1

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1	1			
T	-2				
A	-3				

Пример

S1	A	G	T	A	
S2	A	T	A		

m=1, s=-1, d=-1

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1	1	0	-1	-2
T	-2	0	0	1	0
A	-3	-1	-1	0	2

Пример

S1 A G T A

S2 A T A

m=1, s=-1, d=-1

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1	1	0	-1	-2
T	-2	0	0	1	0
A	-3	-1	-1	0	2

A

A

Пример

S1	A	G	T	A

m=1, s=-1, d=-1

S2	A	T	A

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1	1	0	-1	-2
T	-2	0	0	1	0
A	-3	-1	-1	0	2

T	A
T	A

Пример

S1	A	G	T	A

m=1, s=-1, d=-1

S2	A	T	A

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1	1	0	-1	-2
T	-2	0	0	1	0
A	-3	-1	-1	0	2

G	T	A
–	T	A

Пример

S1	A	G	T	A

m=1, s=-1, d=-1

S2	A	T	A

		A	G	T	A
	0	-1	-2	-3	-4
A	-1	1	0	-1	-2
T	-2	0	0	1	0
A	-3	-1	-1	0	2

A	G	T	A
A	–	T	A

Глобальное выравнивание (алгоритм Нидлмана-Вунша)

1. Инициализация.
   a. $F(0, 0) = 0$
   b. $F(0, j) = -j \times d$
   c. $F(i, 0) = -i \times d$

2. Основной цикл. Заполнение матрицы
   a. For each i = 1……M
      For each j = 1……N

$$F(i, j) = \max \begin{cases} F(i-1,j-1) + g(s1[i], s2[j]) & \text{[case 1]} \\ F(i-1, j) - d & \text{[case 2]} \\ F(i, j-1) - d & \text{[case 3]} \end{cases}$$

$$Ptr(i,j) = \begin{cases} DIAG, & \text{if [case 1]} \\ LEFT, & \text{if [case 2]} \\ UP, & \text{if [case 3]} \end{cases}$$

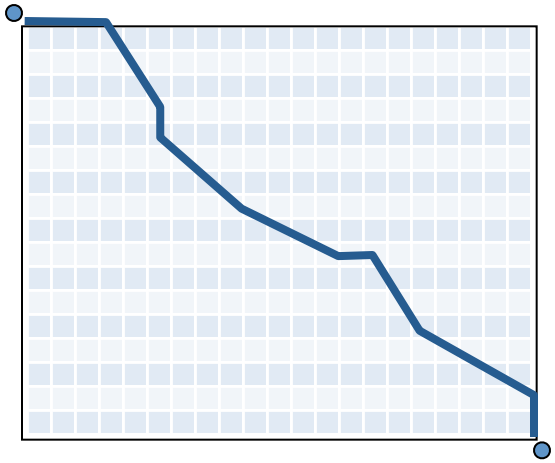
3. Завершение. F(M, N) - оптимальный вес, выравнивание извлекается из Ptr(M, N) процедурой обратного прохода

Вычислительная сложность алгоритма Нидлмана-Вунша

- Временная сложность (количество операций) - O(N×M)
- Пространственная сложность (объем памяти) - O(N×M)

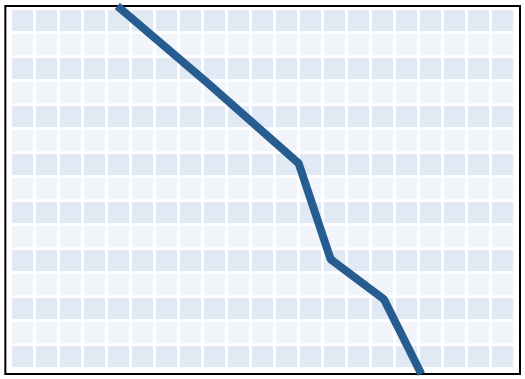
Граничные условия

- Матрица выравнивания преполагает штрафы за начальные и концевые делеции



Как не штрафовать за концевые делеции?

- Штрафы за разрывы в граничных столбцах и колонках установить в 0



Локальное выравнивание

Даны две последовательности

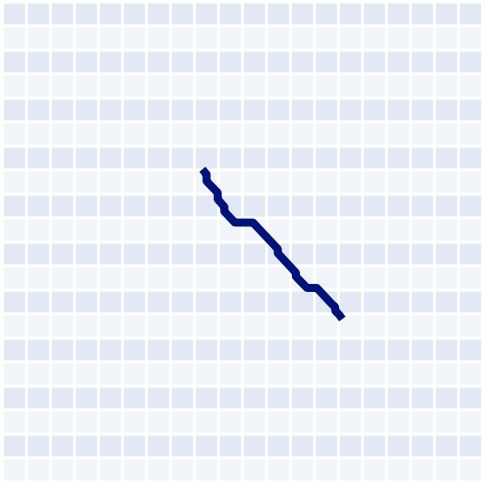
$S1 = S1_1 \ldots\ldots S1_M$,

$S2 = S2_1 \ldots\ldots S2_N$

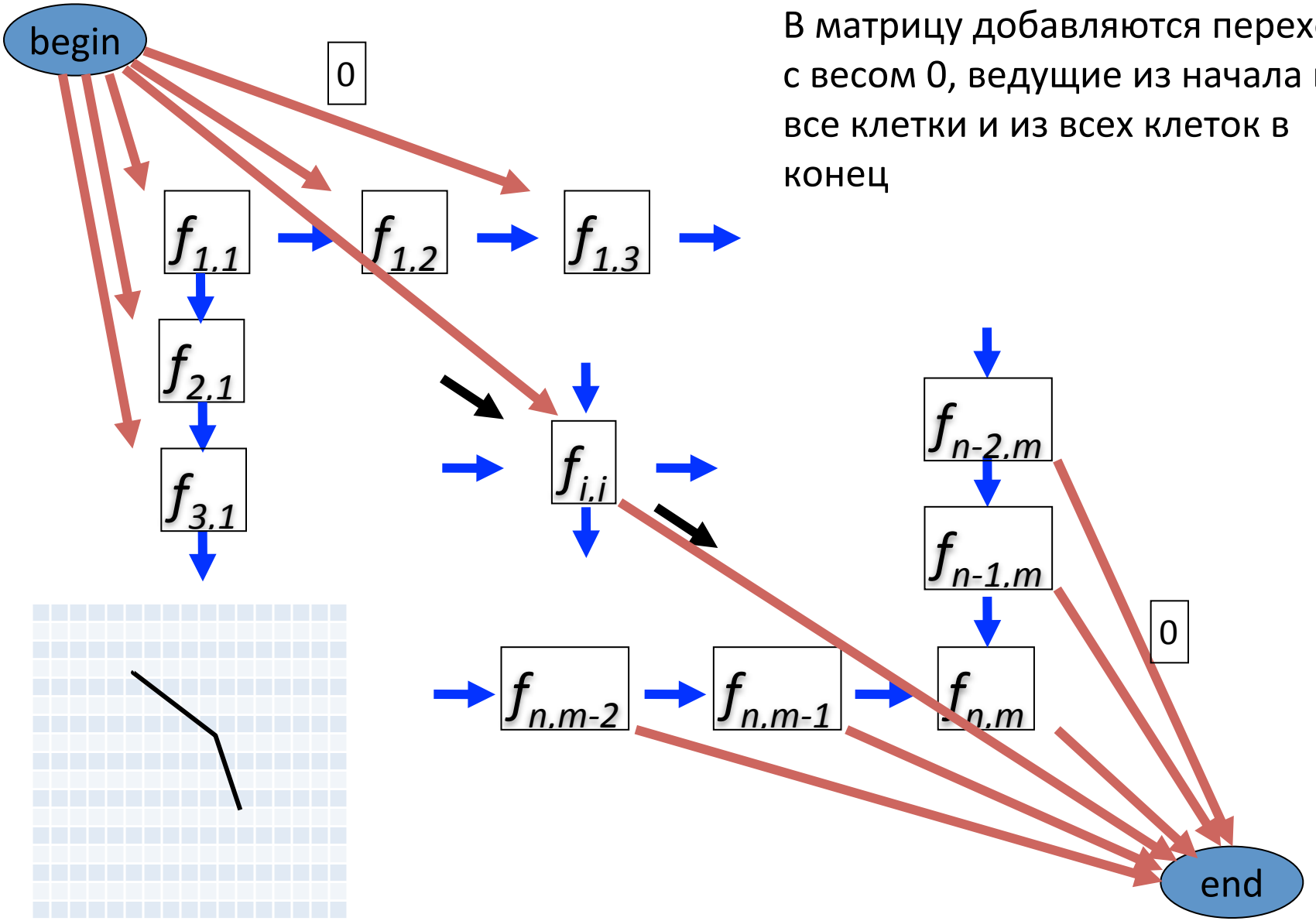
Найти подстроки S1’, S2’, имеющие максимальный вес выравнивания

S1 = aaaaccccccgggggtta

S2 = ttccccgggaaccaacc



Алгоритм Смита-Ватермана

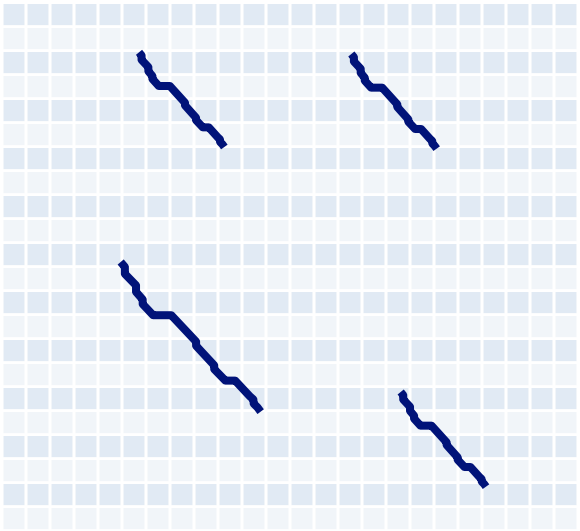


В матрицу добавляются переходы с весом 0, ведущие из начала во все клетки и из всех клеток в конец

Алгоритм локального выравнивания Смита-Ватермана

По сути - модификация алгоритма Нидлмана-Вунша:

Инициализация: $F(0, j) = F(i, 0) = 0$



Итерация основного цикла:

$$F(i, j) = \max \begin{cases} 0 \\ F(i-1, j) - d \\ F(i, j-1) - d \\ F(i-1, j-1) + g(s1[i], s2[j]) \end{cases}$$

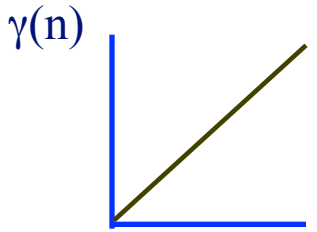
Завершение:

$F_{OPT} = \max_{i,j} F(i, j)$

Найти F_{OPT} и выполнить процедуру обратного прохода

Оптимизация штрафов за разрывы

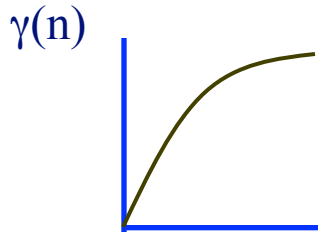
Текущая модель:



За разрыв длины n
следует штраф $n \times d$

Известно, что разрывы чаще всего встречаются сериями

Выпуклая штрафная функция:

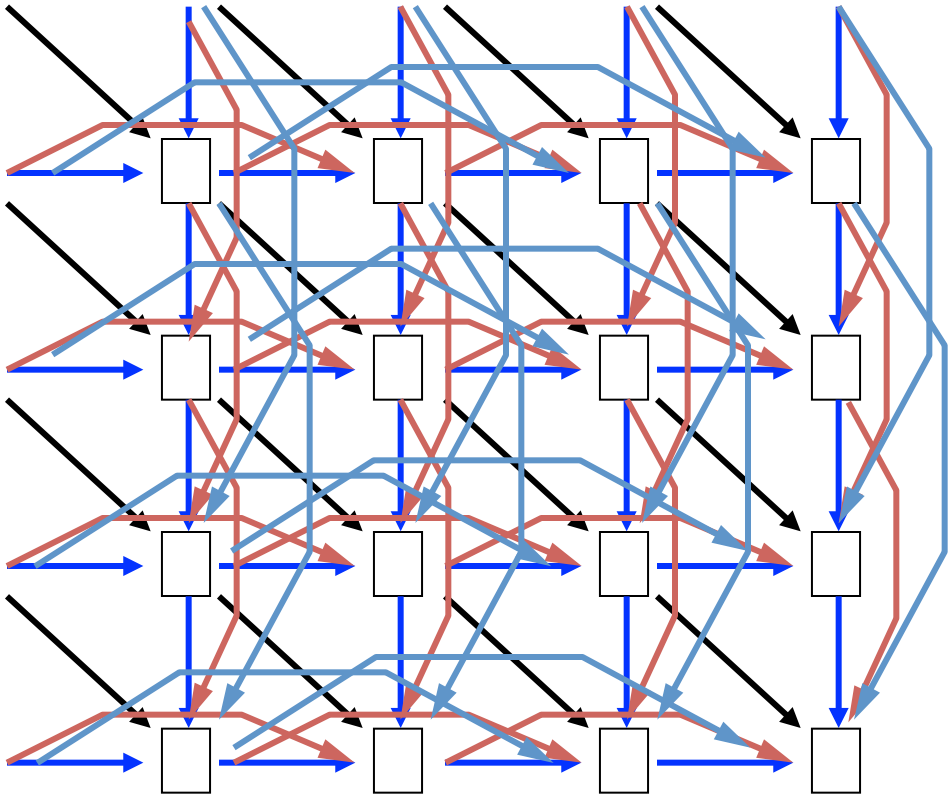


$\gamma(n)$:
for all n, $\gamma(n + 1) - \gamma(n) \leq \gamma(n) - \gamma(n - 1)$

Более обшая завиисмость штрафа за делецию от величины делеции

Теперь надо просматривать все возможные варианты делеций. Поэтому в каждую клетку возможно попсть не 3-мя типами переходов, а примерно (n+m)/2 - путями, где n,m – длины последовательностей

Поэтому время работы алгоритма становится кубичным: O(nm(n+m))

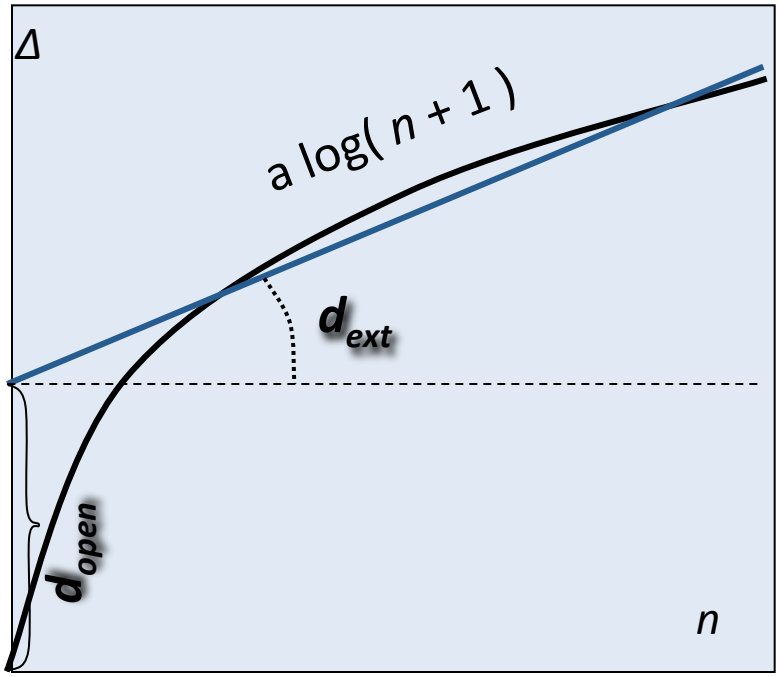


Аффинные штрафы за разрывы

- Вместо логарифмической зависимости используют зависимость вида:

$$\Delta (n) = d_{open} + (n-1)\, d_{ext}$$

- d_{open} – штраф за открытие делеции
- d_{ext} – штраф за удлинение делеции



Параметры выравнивания

X = {	C	A	C	G	T	C	A	T	C	A	}
Y = {	T	A	T	G	T	G	G	T	C	A	}

Случайная модель R (независимые последовательности):

$$P(x,y \mid R) = \prod_i q_{x_i} \prod_i q_{y_i}$$

Родственная модель M:

$$P(x,y \mid M) = \prod_i p_{x_i y_i}$$

Определим вес выравнивания как отношение вероятностей двух моделей:

$$\frac{P(x,y \mid M)}{P(x,y \mid R)} = \frac{\prod_i p_{x_i y_i}}{\prod_i q_{x_i} \prod_i q_{y_i}} = \prod_i \frac{p_{x_i y_i}}{q_{x_i} q_{y_i}}$$

Для получения аддитивной весовой функции возьмем логарифм:

$$s(x_i, y_i) = \log\left(\frac{p_{x_i y_i}}{q_{x_i} q_{y_i}}\right)$$

Матрицы замен

- Элемент матрицы для пары остатков *a* и *b* определяется из вероятностной модели как:

$$s(a,b) = \log\left(\frac{p_{ab}}{q_a q_b}\right)$$

- Как вычислить p_{ab} - вероятность того, что остатки *a* и *b* происходят от общего предкового остатка? -
  - Можно использовать выравнивания составленные экспертами

- Популярные наборы матрицы замен для белковых последовательностей:
  - матрицы BLOSUM [Henikoff & Henikoff, 1992]
  - матрицы PAM [Dayhoff *et al*., 1978]

Матрицы BLOSUM

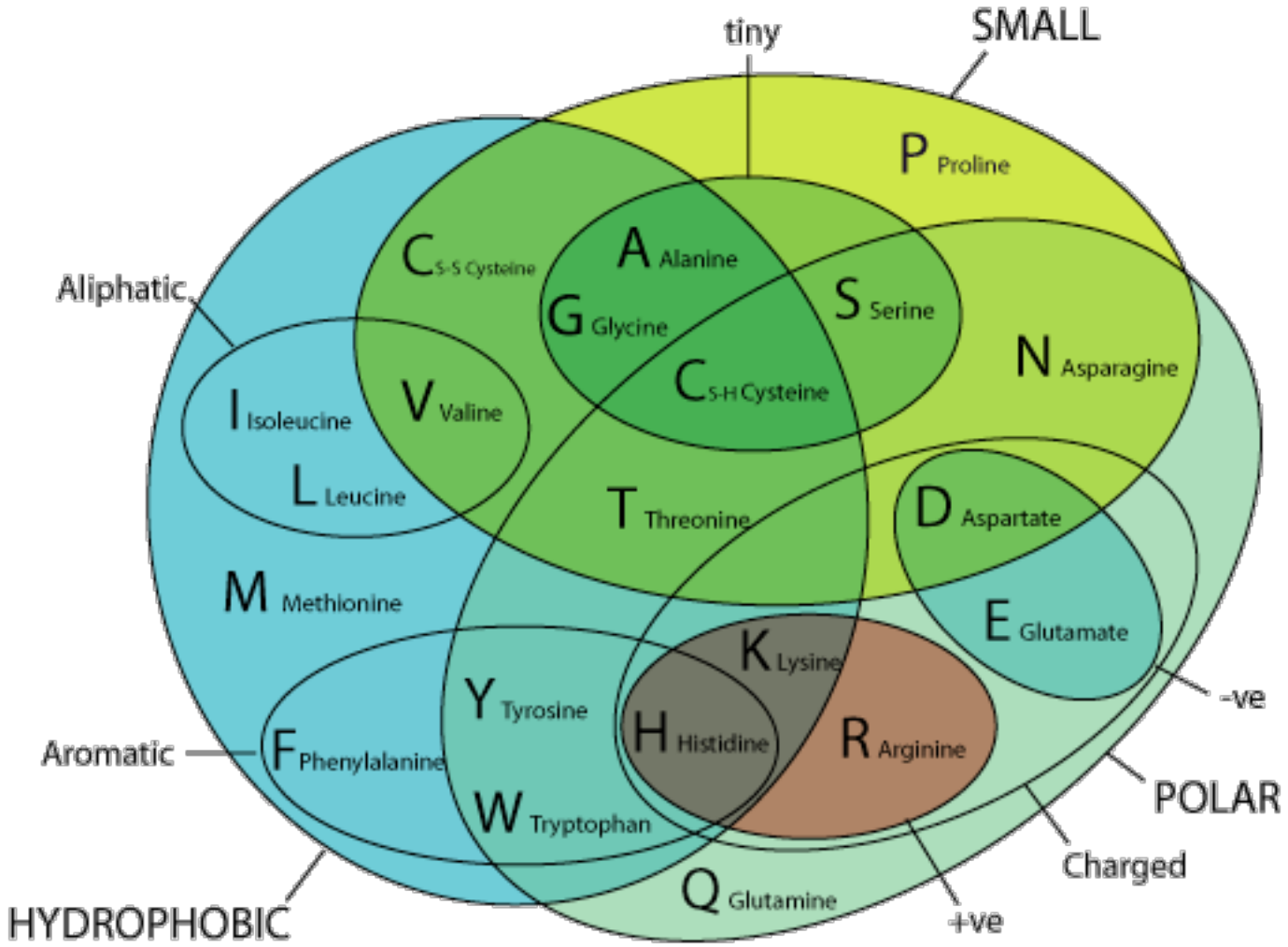
- Источник - база данных BLOCKS (*Henikoff & Henikoff*) – безделеционные фрагменты множественных выравниваний (выравнивания получены *экспертом*)
- Блоки выравниваний разбивались на кластеры, соответствующие проценту консервативности:
  - 45% идентичности (матрица BLOSUM45)
  - 50% идентичности (матрица BLOSUM50)
  - 62% идентичности (матрица BLOSUM62)
- A_{ab} - частота выравнивания остатка *a* с остатком *b* в соответствующем кластере

$$p_{ab} = \frac{A_{ab}}{\sum_{c,d} A_{cd}} \qquad q_a = \frac{\sum_{b} A_{ab}}{\sum_{c,d} A_{cd}}$$

Матрица BLOSUM62

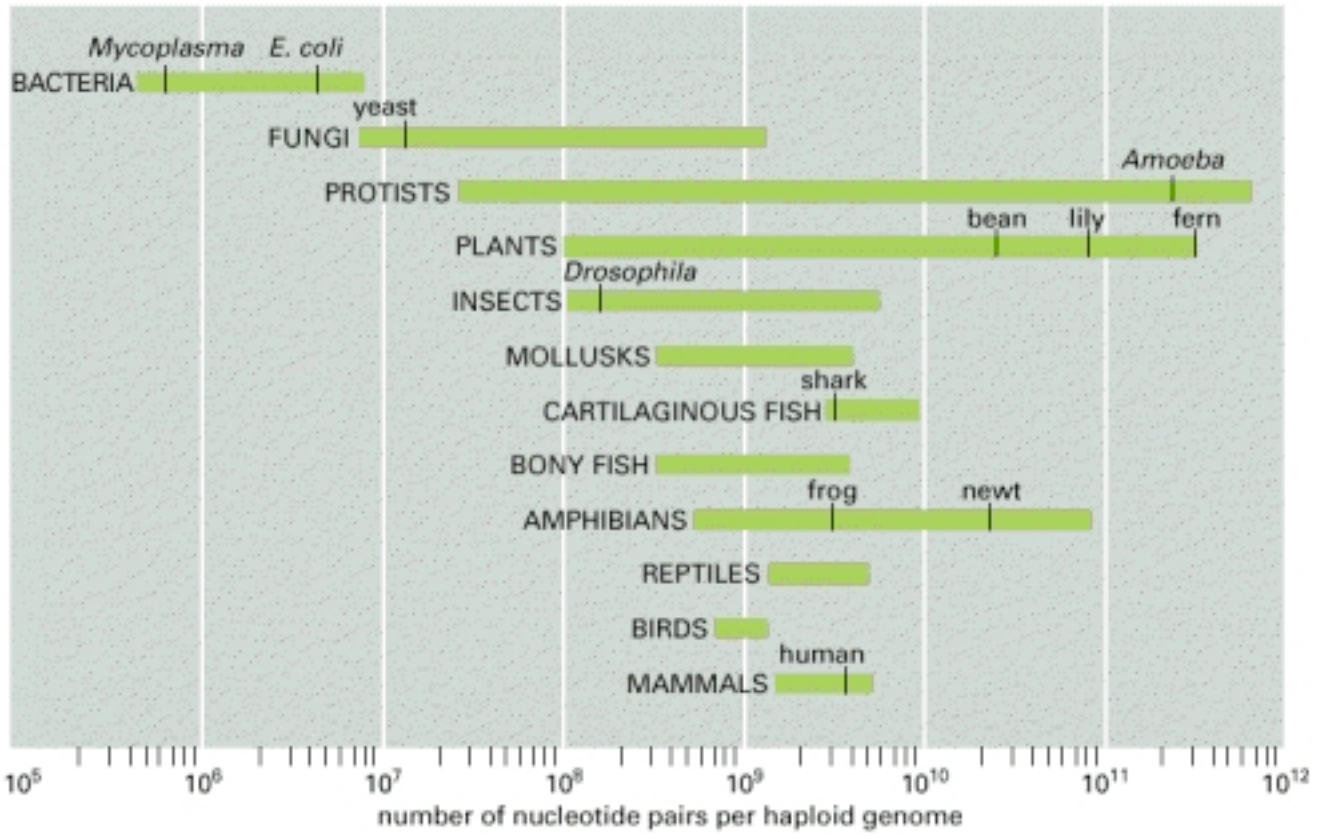
	C	S	T	P	A	G	N	D	E	Q	H	R	K	M	I	L	V	F	Y	W	
C	9																				C
S	-1	4																			S
T	-1	1	5																		T
P	-3	-1	-1	7																	P
A	0	1	0	-1	4																A
G	-3	0	-2	-2	0	6															G
N	-3	1	0	-2	-2	0	6														N
D	-3	0	-1	-1	-2	-1	1	6													D
E	-4	0	-1	-1	-1	-2	0	2	5												E
Q	-3	0	-1	-1	-1	-2	0	0	2	5											Q
H	-3	-1	-2	-2	-2	-2	1	-1	0	0	8										H
R	-3	-1	-1	-2	-1	-2	0	-2	0	1	0	5									R
K	-3	0	-1	-1	-1	-2	0	-1	1	1	-1	2	5								K
M	-1	-1	-1	-2	-1	-3	-2	-3	-2	0	-2	-1	-1	5							M
I	-1	-2	-1	-3	-1	-4	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	1	4						I
L	-1	-2	-1	-3	-1	-4	-3	-4	-3	-2	-3	-2	-2	2	2	4					L
V	-1	-2	0	-2	0	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	-2	1	3	1	4				V
F	-2	-2	-2	-4	-2	-3	-3	-3	-3	-3	-1	-3	-3	0	0	0	-1	6			F
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-3	-2	-3	-2	-1	2	-2	-2	-1	-1	-1	-1	3	7		Y
W	-2	-3	-2	-4	-3	-2	-4	-4	-3	-2	-2	-3	-3	-1	-3	-2	-3	1	2	11	W
	C	S	T	P	A	G	N	D	E	Q	H	R	K	M	I	L	V	F	Y	W	

Свойства аминокислот

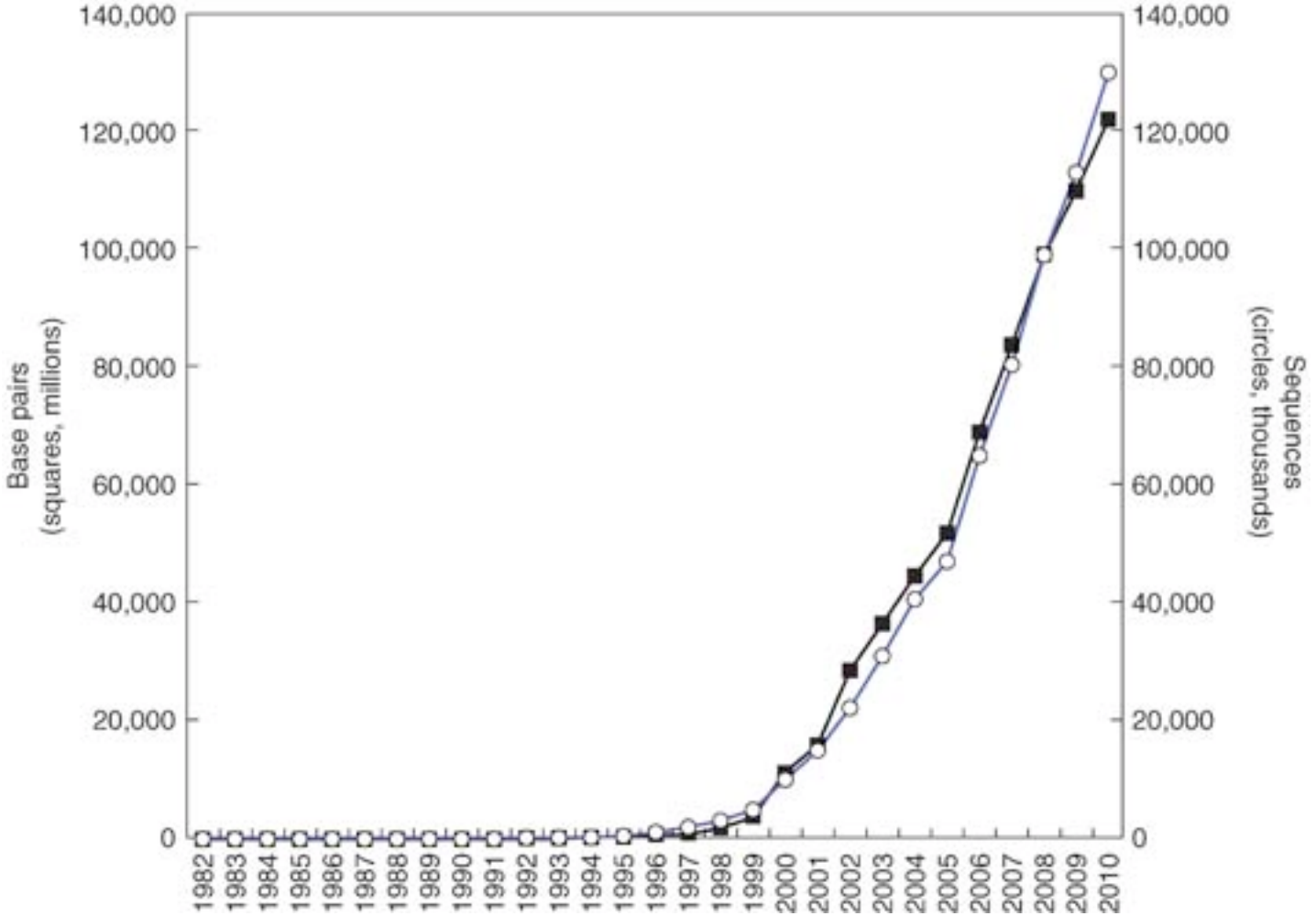


Алгоритм BLAST

Размеры геномов

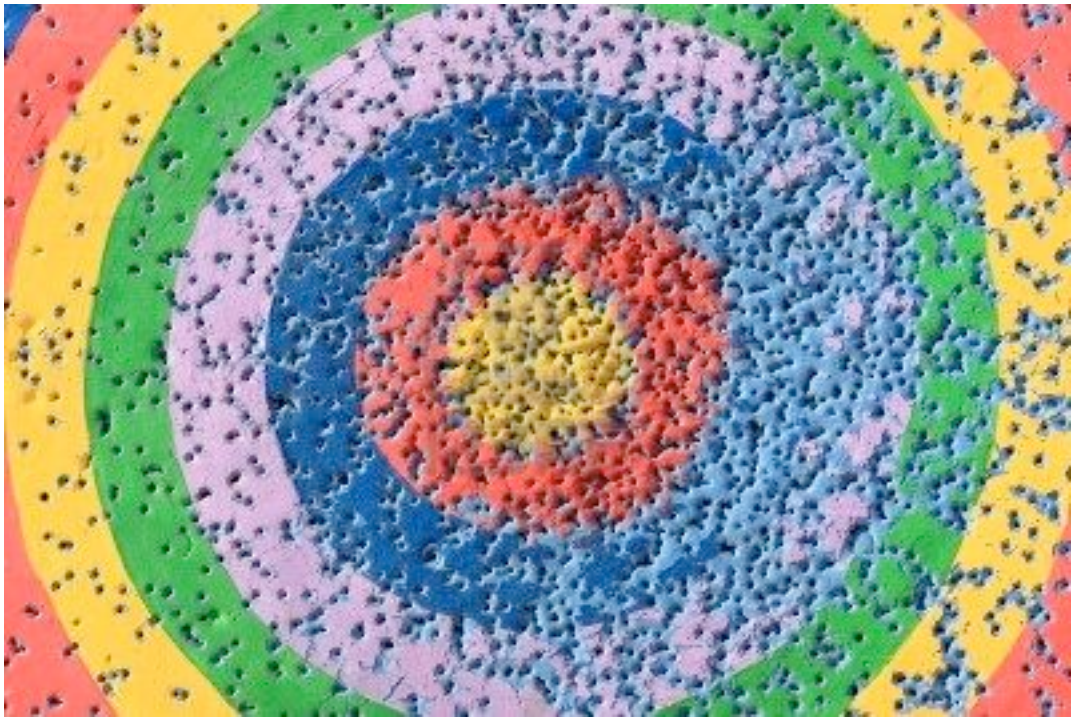


GenBank: экспоненциальный рост объема данных



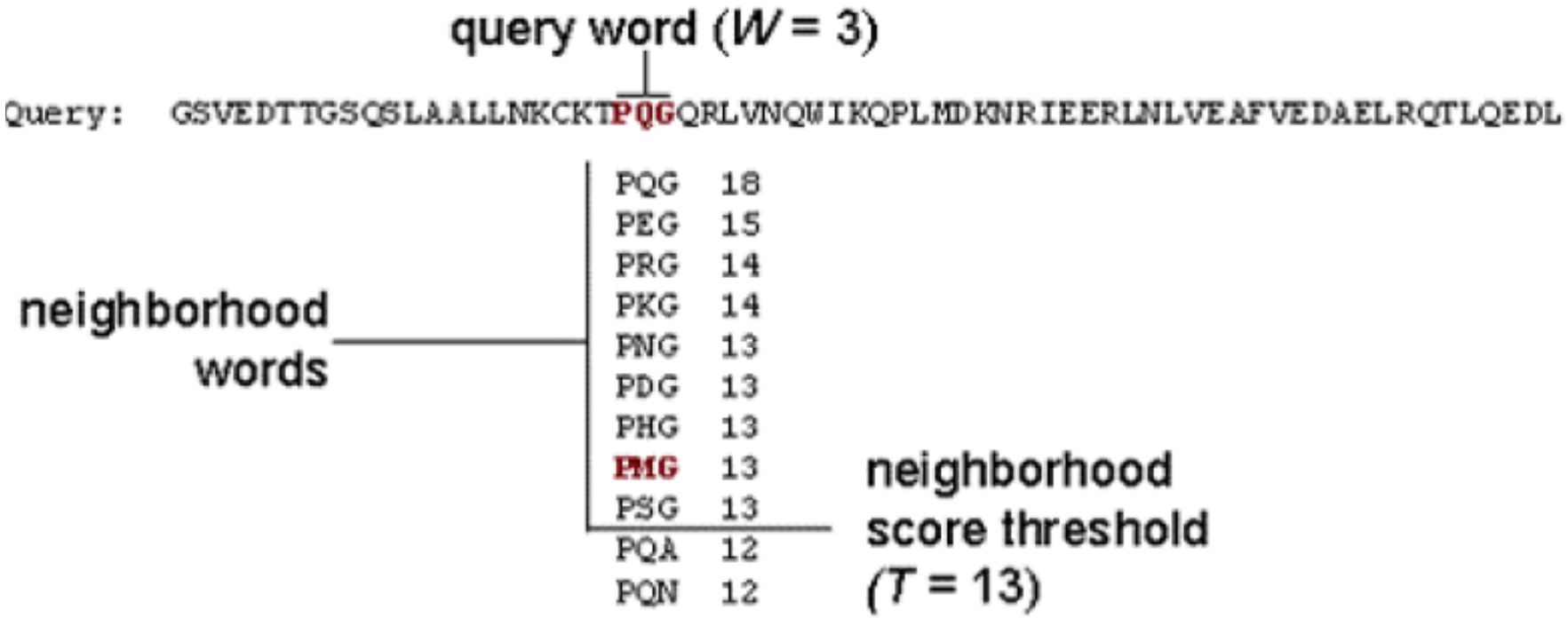
Алгоритм BLAST: идея

Несмотря на снижение сходства родственных последовательностей при их расхождении с течение времени, мы можем расчитывать обнаружить короткие участки высокого сходства, не затронутые мутациями.



BLAST

1. Для каждого слова длины *W* в искомой последовательности составляется список схожих слов, вес выравнивания которых выше определенного порога *T*.



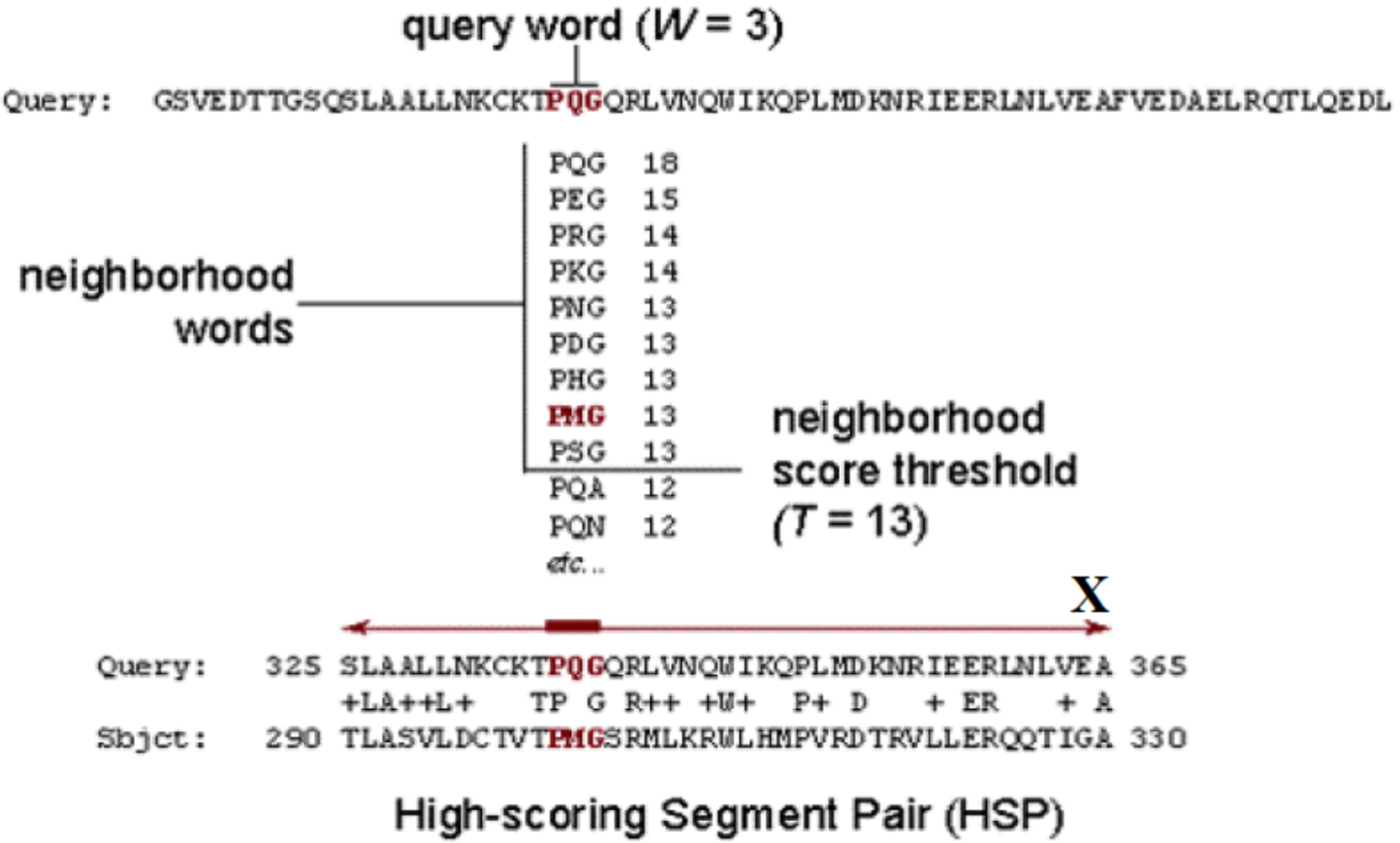
BLAST

2. Для каждого слова обрабатываем составленный для него список схожих слов - ищем, по заранее построенной хэш-таблице, последовательности в базе данных, имеющие точное вхождение данных слов.

Слово	Индексы записей в БД
AAA	1,7,457,2957,...
AAC	34,756,2345,71928,...
AAD	3,75,827,1876,...
AAE	7,15,234,987,...
AAF	71,743,18762,...
AAG	55,221,347,876,...
...	...

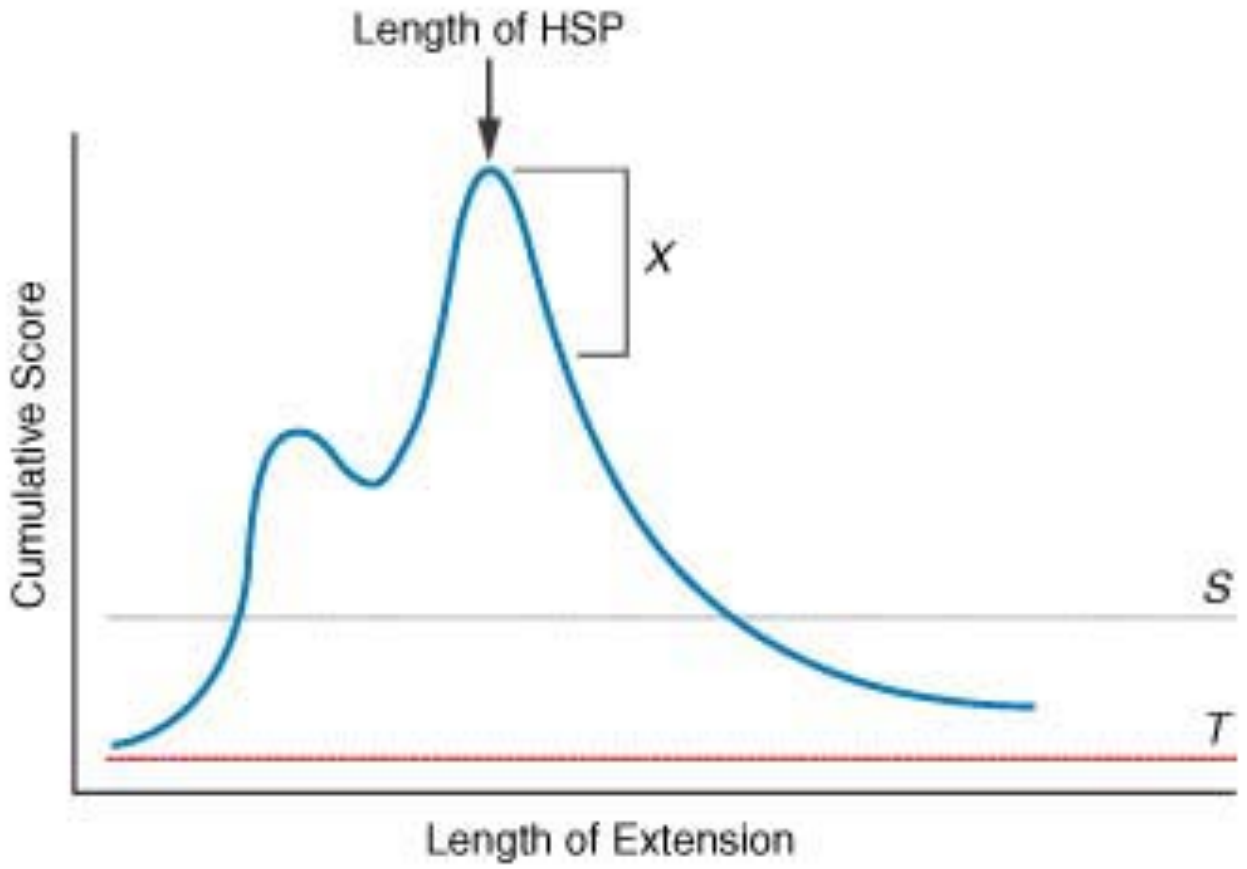
BLAST

3. Расширяем выравнивание вправо и влево от найденных “затравок” используя алгоритм динамического программирования.



BLAST

4. Прекращаем расширение выравнивание если падение суммарного веса выравнивания от точки последнего максимума достигнет заранее установленного порога *X*. Устанавливаем длину выравнивания в позиции последнего максимума.



Благодарности

- При подготовке слайдов использовались материалы лекций:

  - Михаила Гельфанда (ИППИ)
  - Андрея Миронова (МГУ)
  - Serafim Batzoglou (Stanford)
  - Manolis Kellis (MIT)
  - Pavel Pevzner (UCSD)