Alignements multiples

Celine Brochier

celine.brochier@up.univ-mrs.fr

http://194.57.197.233:800/

04.91.10.64.75

Intérêt des alignements multiples

- Caractérisation des familles multigéniques
- Démontrer l'homologie entre les nouvelles séquences et des familles de séquences préexistantes
- Prédiction de structures secondaires et tertiaires
- Suggestion d'oligonucléotides pour fabriquer des amorces
- Phylogénies

Alignement de deux séquences

- Programmation dynamique
  - Algorithme de Needleman et Wunsh (1970)
  - Algorithme de Waterman (1976)
- Alignement mathématiquement optimal
  - Table de scores pour les matches et mismatches entre tous les acides aminés ou les nucléotides :
    - Matrices PAM250, BLOSUM62
    - Définition des pénalités pour l'insertion de gaps de tailles différentes

Alignement de n séquences simultanément

- L'accroissement du nombre de séquences dans les banques de données oblige le développement et l'utilisation de méthodes d'alignements multiples
- Généralisation de la méthode d'alignement de 2 séquences à l'alignement de n séquences simultanément

  $\Rightarrow$ Impossible si on traite un nombre de séquences > à 10

  $\Rightarrow$ Besoin d'utiliser des heuristiques <=> ALIGNEMENT MULTIPLE PROGRESSIF

L’homologie, base théorique de l’alignement multiple

- Les séquences homologues sont reliées d’un point de vue évolutif
- Idée = construire progressivement un alignement, à partir de séries de séquences (ou de groupes de séquences) alignées deux à deux, suivant un ordre de branchement donné par un arbre phylogénétique
  - Alignement des séquences les plus proches d’un point de vue phylogénétique
  - Intégration progressive des séquences un peu plus éloignées
- Approche suffisamment rapide pour permettre la construction d’alignements contenant un grand nombre de séquences

Algorithme de CLUSTAL W

- Alignement de toutes les paires de séquences deux à deux par l'algorithme de Needleman et Wunsh
- Construction d'une matrice de distances d'après la divergence mesurée entre chaque paire de séquences
- Calcul d'un arbre guide à partir de la matrice de distances
- Alignement progressif des séquences suivant l'ordre de branchement donné par l'arbre

Exemple

- Alignement de 7 séquences de globines:
  - Hémoglobine β Humaine (Hbb_H)
  - Hémoglobine α Humaine (Hba_H)
  - Hémoglobine β Cheval (Hbb_C)
  - Hémoglobine α Cheval (Hba_C)
  - Myoglobine de cétacé *Physeter catodon* (Myo)
  - Hémoglobine V de lamproie *Petromyzon marinus* (Glb5)
  - Leghémoglobine II de Lupin (Lgb)

Alignement des séquences 2 à 2 et construction de la matrice de distances

- Alignement des séquences 2 à 2 par programmation dynamique (algorithme de Needleman et Wunsh) connaissant une matrice de similarité et les pénalité dues aux gaps (ouverture et extension)
- Score = nombre d'identités / nb de résidus comparés (excluant les gaps)
- % de divergence = 1 - score
- Remarque : le calcul du score ne tient pas compte des substitutions multiples, mais on peut utiliser des modèles d'évolution comme Kimura ou JC pour en tenir compte

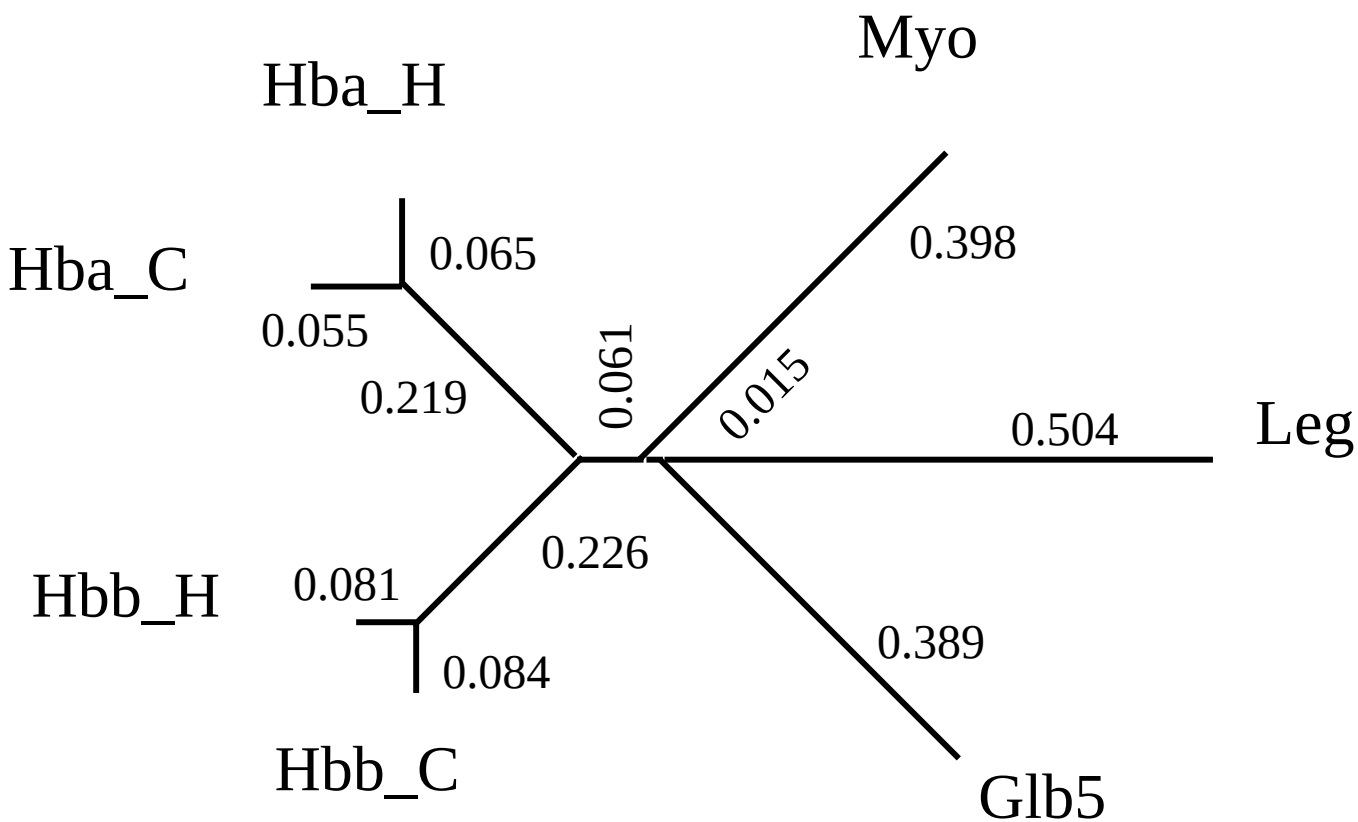
Alignement des séquences 2 à 2 et construction de la matrice de distances

	Hbb_B	Hbb_C	Hba_H	Hba_C	Myo	Glb5	Lgb
Hbb_H	-						
Hbb_C	0.17	-					
Hba_H	0.59	0.60	-				
Hba_C	0.59	0.59	0.13	-			
Myo	0.77	0.77	0.75	0.75	-		
Glb5	0.81	0.82	0.73	0.74	0.80	-	
Lgb	0.87	0.86	0.86	0.88	0.93	0.90	-

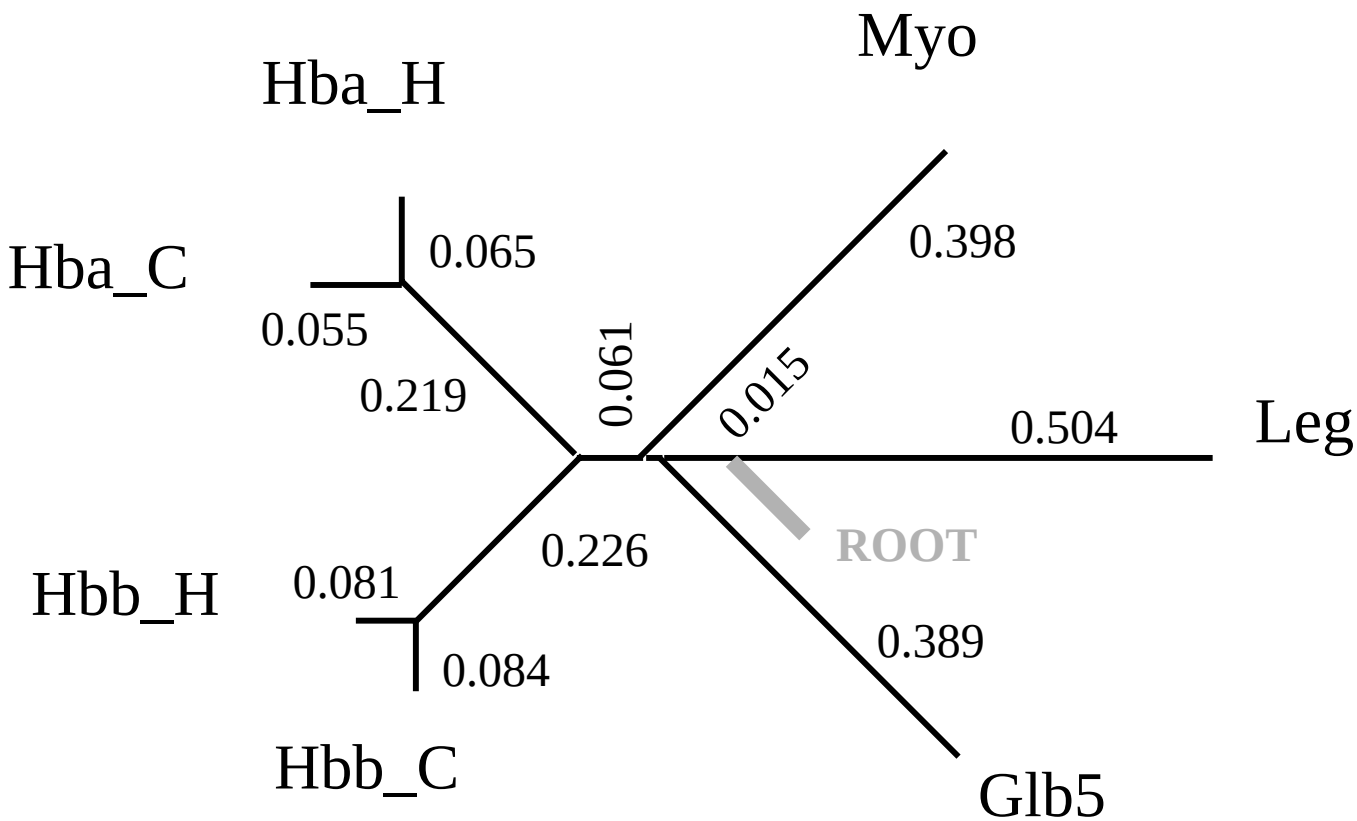
Construction de l’arbre guide

- Arbre phylogénétique non raciné construit par la méthode du Neighbor-Joining à partir de la matrice de distances calculée précédemment
  - Longueur des branches <=> proportionnelle à la divergence estimée
  - Racine placée au « poids moyen » <=> Longueur des branches d’un côté de la racine = longueur des branches de l’autre côté

Construction de l’arbre guide

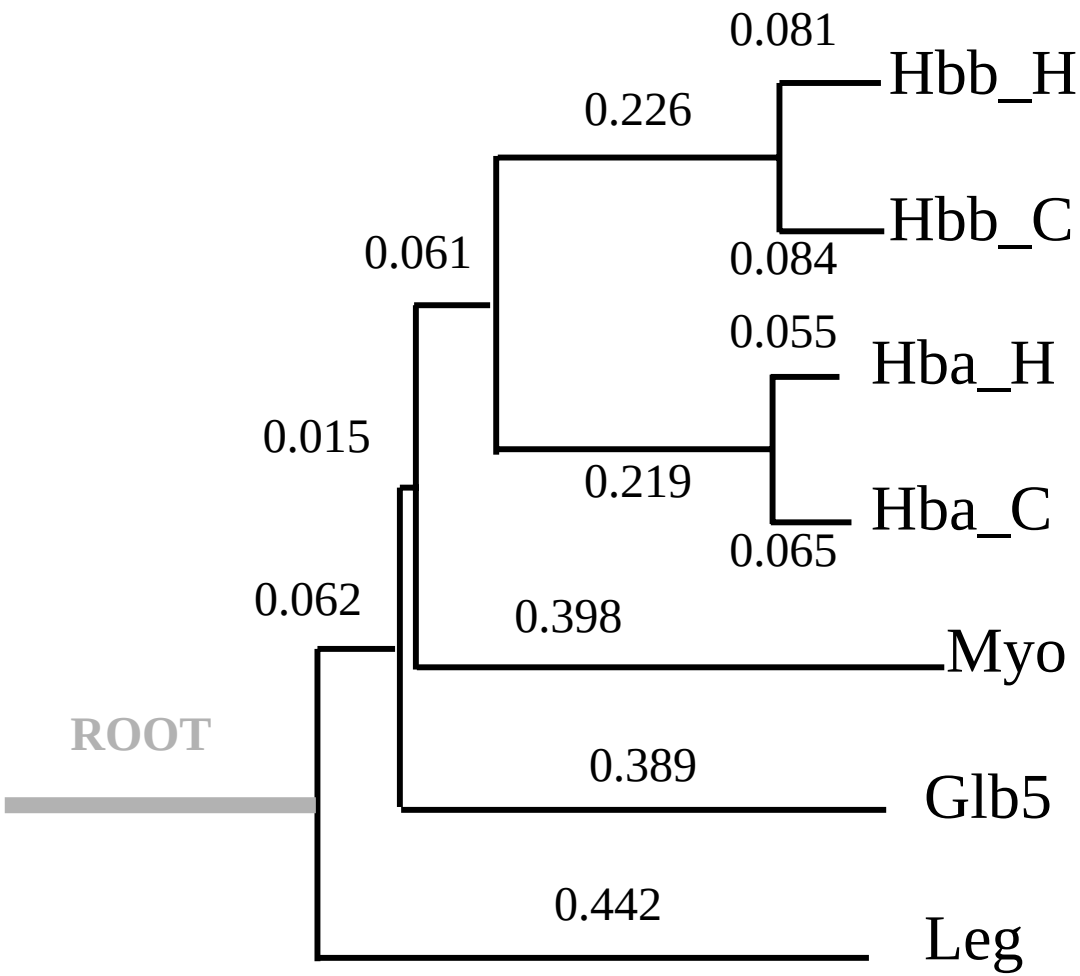


Placement de la racine



Positionnement de la racine au poids moyen (point à partir duquel les longueurs moyennes des branches de chaque côté du nœud sont égales)

Arbre guide raciné



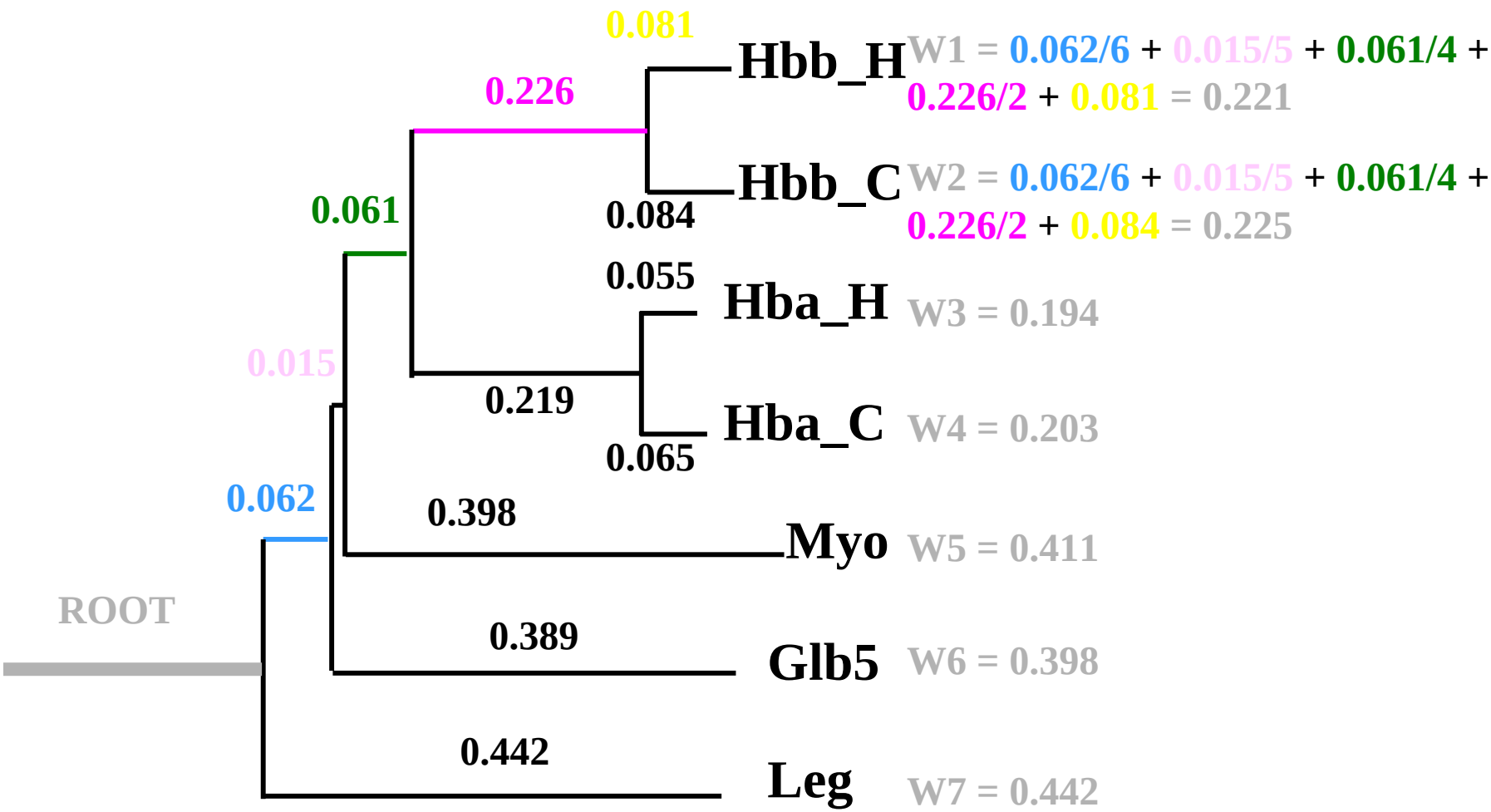
Pondération des séquences

- Principe : attribuer un poids à chaque branche de l'arbre

  => Dépend de la taille de la branche et du nombre de taxa partageant cette branche (redondance de l'information)

  => longueur de la branche / nombre de taxa partageant cette branche
- Poids d'une séquence = Σ des longueurs des branches pondérées de la racine au taxon considéré

Pondération des séquences



Alignement progressif

- Principe : utiliser une série de paires d’alignements pour aligner des groupes de séquences de plus en plus larges, en respectant l’ordre de branchement dans l’arbre guide (des feuilles vers la racine)

Alignement progressif

- Dans l'exemple des globines, on aligne dans l'ordre:
  - Les β globines humaines et de cheval
  - Les α globines humaines et de cheval
  - Les α et β hémoglobines
  - Les α, β hémoglobines et la myoglobine
  - Les hémoglobines, myoglobine et l'hémoglobine de lamproie
  - La leghémoglobine avec toutes les autres

Alignement progressif

- A chaque étape on utilise un algorithme de programmation dynamique :
  - La matrice de substitution est choisie en fonction de la divergence entre les groupes de séquences qu'on cherche à aligner:
    - 80% < identité < 100% => PAM20
    - 60% < identité < 80% => PAM60
    - 40% < identité < 60% => PAM120
    - 0% < identité < 40% => PAM350
  - Pénalité pour ouverture (GOP) et extension (GEP) des gaps variable selon les séquences et les positions considérées :
    - GOP = (GOP + Log(min(N,M)) x moyenne des scores des substitutions dans la matrice de substitution utilisée x % d'identité des séquences ⇔ ↑ si les séquences sont très divergentes
    - GEP = GEP x (1.0 + |Log(N/M)|) ⇔ limite l'introduction de trop grands INDEL dans la plus petite séquence
    - GOP / 3 dans les régions hydrophiles (D,E,G,K,N,Q,P,R,S)
    - Si la région présente un INDEL le GOP est ↑ : GP = GOP x (2 + ((8 – distance de l'INDEL) x 2) / 8)
    - Le GOP varie suivant l'a.a. présent

Alignement progressif

- Calcul du score à une position = moyenne des scores obtenus par toutes les comparaisons 2 à 2 des séquences de chaque groupe pondérés par le poids de chaque séquence

Alignement progressif

- Exemple: on cherche à aligner un groupe de 4 séquences (déjà alignées) avec un groupe de 2 séquences (déjà alignées)

```
                    Calcul du score:
1 PEEKSAVTAL              M(T,V) x w1 x w5 +
2 GEEKAAVLAL              M(T,I) x w1 x w6 +
3 PADKTNVKAA              M(L,V) x w2 x w5 +
4 AADKTNVKAA              M(L,I) x w2 x w6 +
                          M(K,V) x w3 x w5 +
5 EGEWQLVLHV              M(K,I) x w3 x w6 +
6 AAEKTKIRSA              M(K,V) x w4 x w5 +
                          M(K,I) x w4 x w6 / 8
```

Score associé à la comparaison d'un gap = 0 ⇔ plus mauvais score possible

Alignement progressif

Qualité des alignements obtenus

- Alignement des séquences proches très rapide et fiable
  - Donne des informations importantes sur la variabilité des positions et la position des gaps
    - La position des gaps introduits pendant la phase précoce de l'alignement ne sont pas changés lors de l 'alignement de séquences plus divergentes
  - Sert de canevas pour l'alignement de séquences plus divergentes

Qualité des alignements obtenus

- Séquences très divergentes < 25-30% d'identité
- Stratégie adoptée par la méthode des alignements progressifs
  - Ordre d'ajout des taxa est primordial (⇔ qualité de l'arbre initial)
  - Ajout progressif des séquences ⇔ les erreurs survenant dans les premières étapes ne seront pas corrigées lors de l'ajout de nouvelles séquences
  - Choix des paramètres d'alignement (matrice de substitution, pénalités d'ouverture et de fermeture des gaps doivent être adaptés)
- Aucune garantie que la solution finale soit proche de la solution exacte

Ressources

- ClustalW en ligne
  - http://www.infobiogen.fr/services/analyseq/cgi-bin/clustalw_in.pl
- ClustalW download (unix, mac, dos…)
  - http://www.es.embnet.org/Services/ftp/software/ebi/