# Support de cours
# Annotation des génomes  prédiction des CDS
# (Partie II)

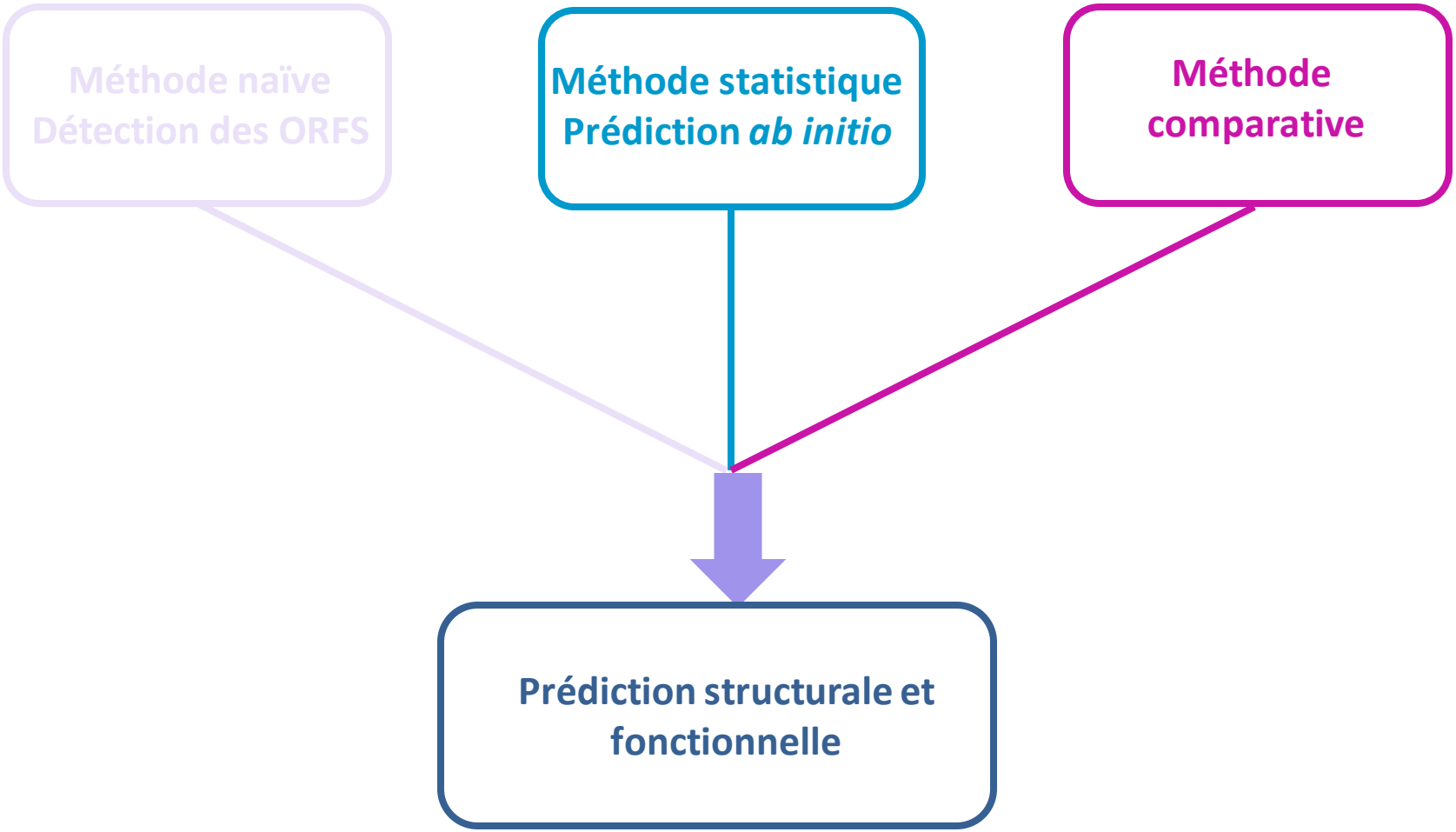
## Recherche des régions codant pour des protéines chez les procaryotes

- recherche des ORFs (Open reading frame)
- recherche des unités de traduction. Même si les gènes sont co-transcrits, ils sont en général traduits de façon indépendante (recherche des Shine Dalgarno en 5' du codon initiateur). Permet d'identifier le « bon » codon initiateur.
- recherche des unités de transcription. Chez les procaryotes, certains gènes sont co-transcrits donc recherche de la structure en opérons (promoteurs et terminateurs de transcription)

## Recherche des régions codant pour des protéines chez les eucaryotes

- recherche de la structure en exon/intron du gène
- recherche des 5'UTR et 3' UTR
- recherche des promoteurs et des sites de polyadénylation

# Recherche des régions codant pour des protéines chez les procaryotes



# Une méthode naïve : ORFfinder (NCBI)

Recherche les phases ouvertes de lecture, les ORFs, dans les 6 cadres de lecture (les 3 cadres du brin direct et les 3 cadres du brin complémentaire).

Attention problème de sémantique :

Une ORF peut être définie entre deux codons stop

stop XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX stop

n codons

Ou entre un codon initiateur (start) et un codon stop

ATG XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX stop

n codons

On considère en général que les ORFs supérieures à 100 codons (300 pb) comme étant potentiellement codantes (analyse statistique a montré que bien que des gènes de taille inférieure à 100 codons existent, la majorité des petites ORFs étaient des faux positifs).

>BS 1-8301
tttcgaggaaaatgtgcaataaccaactcatttcccgggcaattccgccg
gttccgaatgatacgaacaactgagactgagccgcaaatggttcagtctt
tttacatggcagccagagggctttgtgcacttgacatttgtgaaaaagaa
agtaaaatattttactaaaacaatgcgagctgaataatggaggcagatac
aatggcgacaattaaagatatcgcgcaggaagcgggattttcaatctcaa
ccgtttcccgcgttttaaataacgatgaaagcctttctgttcctgatgag
acacgggagaaaatctatgaagcggcggaaaagctcaattaccgcaaaaa
aacagtaaggccgctggtgaaacatattgcgtttttatattggctgacag
ataaagaagaattagaagatgtctattttaaaacgatgagattagaagta
gagaaactggcgaaagcattcaatgtcgatatgaccacttataaaatagc
ggatggaatcgagagcattcctgaacatacggaagggtttattgccgtcg
gcacattttcagatgaagagctggctttcctcagaaatctcactgaaaac
ggcgtgttcatcgattcaactcctgatcccgatcattttgactcggtaag
gcccgatttggcacaaatgacaaggaagacggtaaacatcctgactgaga
aggggcataagagcatcggttttatcggcggcacatacaaaaatccgaat
accaatcaggatgaaatggacatccgtgaacaaaccttcagatcctatat
gagggaaaaagccatgctggacgagcgctatattttctgtcatcgcggat
tctctgtagaaaacggctaccgcctgatgtcagcagcgatcgacacatta
ggcgatcagcttccgactgcttttatgattgcagcggacccgattgcagt
gggctgtctgcaagccctgaacgaaaaaggaattgccataccaaacaggg
taagcattgtgagtatcaacaacatcagcttcgcgaagtatgtctcgcct
cctctgacgacgtttcatattgatatacatgaattatgtaaaaacgctgt
tcaattactgcttgaacaagtgcaggacaagagaagaacggtaaaaacat
tatatgtgggcgcagaattaatcgtcaggaagagtatgaattaaggatga
cttaggacactaagtcatttttatttaggtaaaaaaatttactctatga
agtaaatagtttgtttacacattttctcaggcatgctatattatctttaa
agcgctttcattcctaccgaaagggtgacaatcaatgaaaatggcaaaaa
agtgttccgtattcatgctctgcgcagctgtcagtttatccttggcggct
tgcggcccaaaggaaagcagcagcgccaaatcgagttcaaaagggtcaga
gcttgttgtatgggaggataaagaaaagagcaacggcattaaagacgctg
tggctgcatttgaaaaagagcatgatgtgaaggtcaaagtcgttgaaaaa
ccgtatgccaagcagattgaagatttgcgaatggatggaccggccggcac
aggccctgacgtgttaacaatgccaggggaccaaatcggaaccgctgtca
cggaaggattactcaaggaattacatgtcaaaaaagacgttcaatcactt
tatactgacgcttccattcagtctcaaatggtagatcaaaagctttatgg
actgccaaaagcggtcgaaacgactgtgctttttacaacaaagatctca
tcacagaaaaggaattgcccaaaacgctggaagagtggtacgactattcc

Exemple traité : fragment de 8300 pb du génome de *Bacillus subtilis*

UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER

## Open Reading Frame Finder


ORF finder searches for open reading frames (ORFs) in the DNA sequence you enter. The program returns the range of each ORF, along with its protein translation. Use ORF finder to search newly sequenced DNA for potential protein encoding segments, verify predicted protein using newly developed SMART BLAST or regular BLASTP.

This web version of the ORF finder is limited to the subrange of the query sequence up to 50 kb long. Stand-alone version, which doesn't have query sequence length limitation, is available for Linux x64.

**Examples** (click to set values, then click Submit button) :

- NC_011604 Salmonella enterica plasmid pWES-1; genetic code: 11; 'ATG' and alternative initiation codons; minimal ORF length: 300 nt
- NM_000059; genetic code: 1; start codon: 'ATG only'; minimal ORF length: 150 nt

UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER

### Enter Query Sequence

**Enter accession number, gi, or nucleotide sequence in FASTA format:**

```
>BS 1-8301
tttcgaggaaaatgtgcaataaccaactcatttcccgggcaattccgccggttccgaatg
atacgaacaactgagactgagccgcaaatggttcagtctttttacatggcagccagaggg
ctttgtgcacttgacatttgtgaaaaagaaagtaaaatattttactaaaacaatgcgagc
tgaataatggaggcagatacaatggcgacaattaaagatatcgcgcaggaagcgggattt
tcaatctcaaccgtttcccgcgttttaaataacgatgaaagcctttctgttcctgatgag
acacgggagaaaatctatgaagcggcggaaaagctcaattaccgcaaaaaaacagtaagg
ccgctggtgaaacatattgcgtttttatattggctgacagataaagaagaattagaagat
gtctattttaaaacgatgagattagaagtagagaaactggcgaaagcattcaatgtcgat
atgaccacttataaaatagcggatggaatcgagagcattcctgaacatacggaagggttt
attgccgtcggcacattttcagatgaagagctggctttcctcagaaatctcactgaaaac
```

**From:** **To:**

### Choose Search Parameters

**Minimal ORF length (nt):** 300

**Genetic code:** 1. Standard

**ORF start codon to use:**

- "ATG" only
- "ATG" and alternative initiation codons
- Any sense codon

**Ignore nested ORFs:**

### Start Search / Clear

Submit Clear

# Résultat de ORFfinder : ORFs de plus de 300 pb

Options : - ATG only
- Ignore nested ORF pas coché

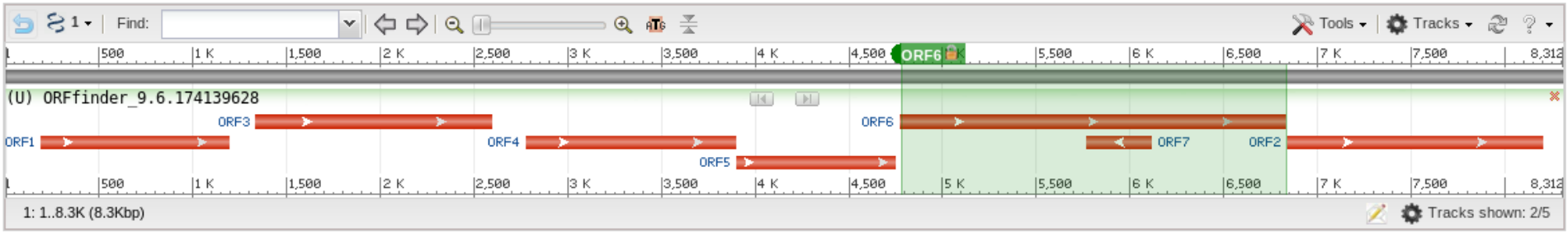
UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER

Open Reading Frame Viewer

Help

Sequence

ORFs found: 7 Genetic code: 1 Start codon: 'ATG' only




Six-frame translation...

ORF6 (686 aa) Display ORF as... Mark Mark subset... Marked: 0 Download marked set as Protein FASTA

```
>lcl|ORF6
MSKLEKTHVTKAKFMLHGGDYNPDQWLDRPDILADDIKLMKLSHTNTFSV
GIFAWSALEPEEGVYQFEWLDDIFERIHSIGGRVILATPSGARPAWLSQT
YPEVLRVNASRVKQLHGGRHNHCLTSKVYREKTRHINRLLAERYGHHPAL
LMWHISNEYGGDCHCDLCQHAFREWLKSKYDNSLKTLNHAWWTPFWSHTF
NDWSQIESPSPIGENGLHGLNLDWRRFVTDQTISFYENEIIPLKELTPDI
PITTNFMADTPDLIPYQGLDYSKFAKHVDAISWDAYPVWHNDWESTADLA
MKVGFINDLYRSLKQQPFLLMECTPSAVNWHNVNKAKRPGMNLLSSMQMI
AHGSDSVLYFQYRKSRGSSEKLHGAVVDHDNSPKNRVFQEVAKVGETLER
LSEVVGTKRPAQTAILYDWENHWALEDAQGFAKATKRYPQTLQQHYRTFW
EHDIPVDVITKEQDFSPYKLLIVPMLYLISEDTVSRLKAFTADGGTLVMT
YISGVVNEHDLTYTGGWHPDLQAIFGVEPLETDTLYPKDRNAVSYRSQIY
EMKDYATVIDVKTASVEAVYQEDFYARTPAVTSHEYQQGKAYFIGARLED
QFQRDFYEGLITDLSLSPVFPVRHGKGVSVQARQDQDNDYIFVMNFTEEK
QLVTFDQSVKDIMTGDILSGDLTMEKYEVRIVVNTH
```

| Label | Strand | Frame | Start | Stop | Length (nt \| aa) |
|---|---|---|---|---|---|
| **ORF6** | **+** | **3** | **4773** | **6833** | **2061 \| 686** |
| ORF2 | + | 1 | 6838 | 8202 | 1365 \| 454 |
| ORF3 | + | 3 | 1335 | 2600 | 1266 \| 421 |
| ORF4 | + | 3 | 2778 | 3896 | 1119 \| 372 |
| ORF1 | + | 1 | 187 | 1194 | 1008 \| 335 |
| ORF5 | + | 3 | 3900 | 4751 | 852 \| 283 |
| ORF7 | - | 3 | 6117 | 5770 | 348 \| 115 |

ORF6

SmartBLAST

BLAST

Marked set ( 0 )

SmartBLAST best hit titles...

BLAST

# Résultat de ORFfinder : ORFs de plus de 300 pb

Options : - ATG and alternative initiation codons
- Ignore nested ORF coché

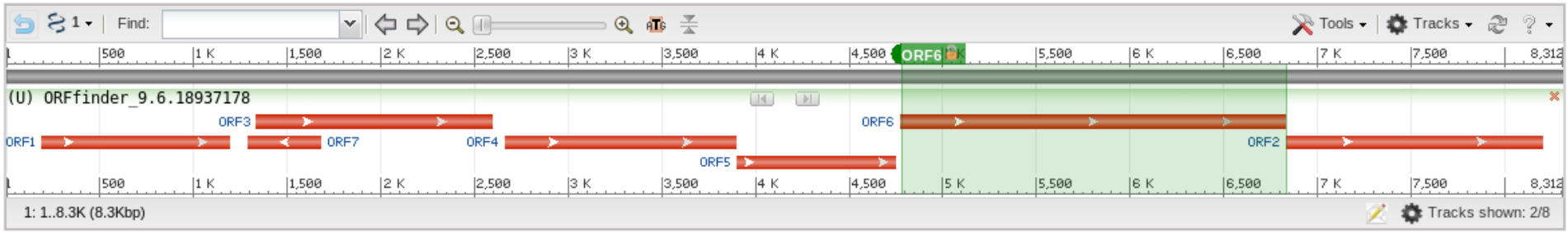
UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER

Open Reading Frame Viewer

Help

Sequence

ORFs found: 7 Genetic code: 1 Start codon: 'ATG' and alternative codons Nested ORFs removed




Six-frame translation...

ORF6 (686 aa) Display ORF as... Mark Mark subset... Marked: 0 Download marked set as Protein FASTA

```
>lcl|ORF6
MSKLEKTHVTKAKFMLHGGDYNPDQWLDRPDILADDIKLMKLSHTNTFSV
GIFAWSALEPEEGVYQFEWLDDIFERIHSIGGRVILATPSGARPAWLSQT
YPEVLRVNASRVKQLHGGRHNHCLTSKVYREKTRHINRLLAERYGHHPAL
LMWHISNEYGGDCHCDLCQHAFREWLKSKYDNSLKTLNHAWWTPFWSHTF
NDWSQIESPSPIGENGLHGLNLDWRRFVTDQTISFYENEIIPLKELTPDI
PITTNFMADTPDLIPYQGLDYSKFAKHVDAISWDAYPVWHNDWESTADLA
MKVGFINDLYRSLKQQPFLLMECTPSAVNWHNVNKAKRPGMNLLSSMQMI
AHGSDSVLYFQYRKSRGSSEKLHGAVVDHDNSPKNRVFQEVAKVGETLER
LSEVVGTKRPAQTAILYDWENHWALEDAQGFAKATKRYPQTLQQHYRTFW
EHDIPVDVITKEQDFSPYKLLIVPMLYLISEDTVSRLKAFTADGGTLVMT
YISGVVNEHDLTYTGGWHPDLQAIFGVEPLETDTLYPKDRNAVSYRSQIY
EMKDYATVIDVKTASVEAVYQEDFYARTPAVTSHEYQQGKAYFIGARLED
QFQRDFYEGLITDLSLSPVFPVRHGKGVSVQARQDQDNDYIFVMNFTEEK
QLVTFDQSVKDIMTGDILSGDLTMEKYEVRIVVNTH
```

| Label | Strand | Frame | Start | Stop | Length (nt \| aa) |
|---|---|---|---|---|---|
| **ORF6** | + | **3** | **4773** | **6833** | **2061 \| 686** |
| ORF2 | + | 1 | 6835 | 8202 | 1368 \| 455 |
| ORF3 | + | 3 | 1335 | 2600 | 1266 \| 421 |
| ORF4 | + | 3 | 2661 | 3896 | 1236 \| 411 |
| ORF1 | + | 1 | 187 | 1194 | 1008 \| 335 |
| ORF5 | + | 3 | 3900 | 4751 | 852 \| 283 |
| ORF7 | - | 2 | 1681 | 1286 | 396 \| 131 |

**ATG only : début 6838**

**ATG only : début 2778**

**Pas trouvé ATG only**

ORF6

SmartBLAST

BLAST

Marked set ( 0 )

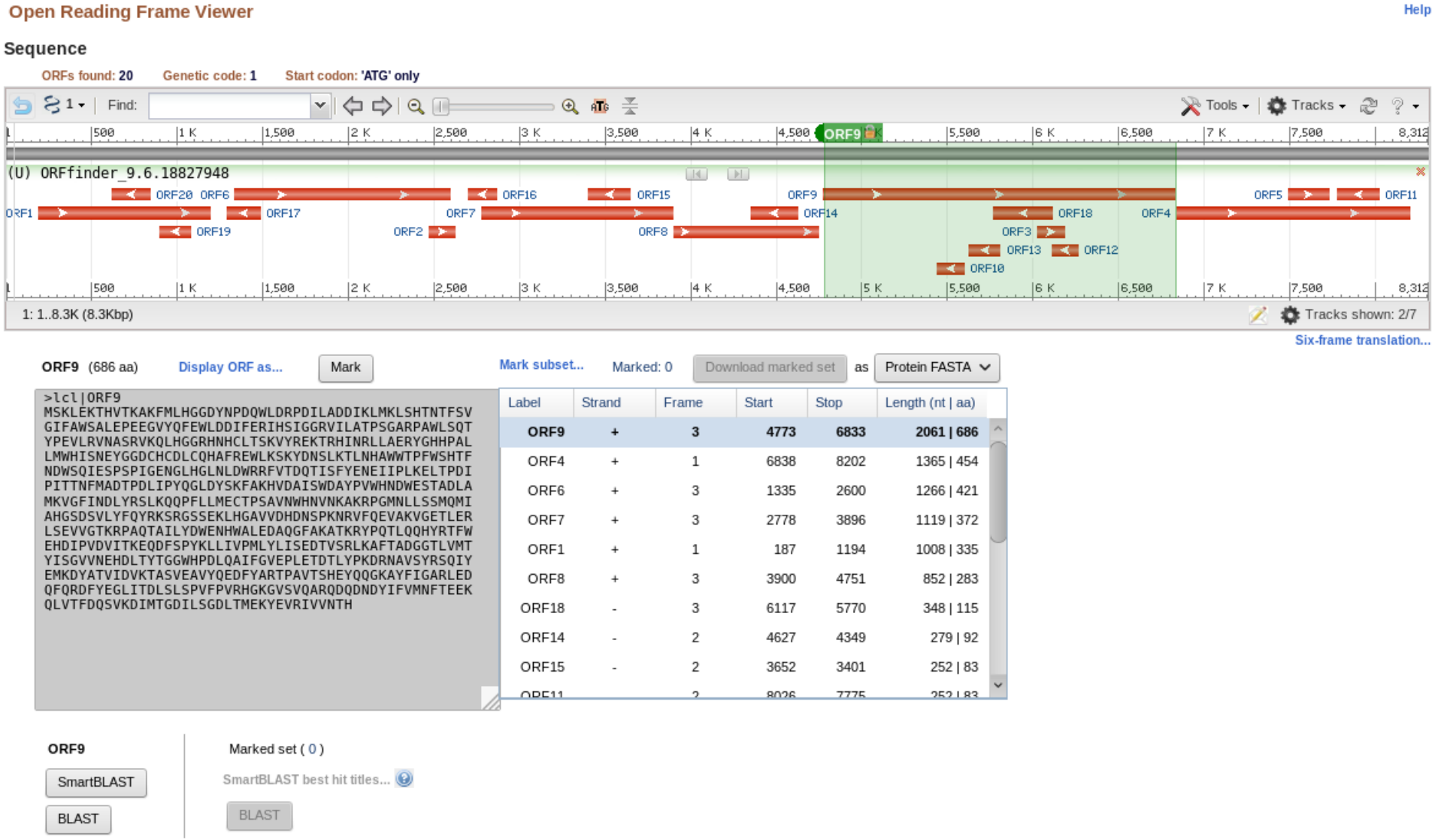
SmartBLAST best hit titles...

BLAST

# Résultat de ORFfinder : ORFs de plus de 150 pb

Options : - ATG only

- Ignore nested ORF pas coché



# Limites d'ORFfinder

- Seul critère la taille, mais tous les ORF ne sont pas des régions codantes (Coding Sequence : CDS) quand ils sont de petites tailles.

- Problème d'identification du « vrai » codon initiateur car plusieurs possibilités en fonction du choix « ATG » ou « codon initiateur alternatif », GTG et TTG chez les bactéries avec comme fréquence 13% et 9% chez *Bacillus subtilis* par exemple.

- ne prend pas en compte le biais de l'utilisation des triplets existant dans les phases codantes car structurées en codons.

Utilisation de méthode statistique

# Biais des codons chez les bactéries

Prise en compte du biais de l'utilisation des triplets existant dans les phases codantes par rapport aux régions non codantes car structurées en codons.

Biais dans l'utilisation des codons dus à :

- la différence de fréquence des acides aminés (Leu plus fréquent que Trp par exemple)
- la dégénérescence du code génétique (61 codons -> 20 aa)
- pour un acide aminé donné, certains codons peuvent être plus fréquemment utilisés que d'autres. Ces préférences varient en fonction :
  - la composition en bases de l'organisme (riche ou pauvre en C+G) : **usage du code** différent
  - du taux d'expression du gène : il a été montré chez *E. coli* que les gènes fortement exprimés utilisaient préférentiellement certains codons correspondant aux ARNt les plus abondants dans la cellule (efficacité de la traduction, coadaptation codons/ARNt. (Calcul du **Codon Adaptation Index (CAI**) pour prédire gène fortemnt exprimé ou pas)

# Exemples d'usage des codons chez les bactéries

| Espèce | GC% codant | GC% 1ère pos. codon | GC% 2ème pos. codon | GC% 3ème pos. codon |
|---|---|---|---|---|
| *Synechocystis sp.* | 48.25 | 55.82 | 39.74 | 49.19 |
| *Streptomyces coelicolor* | 72.30 | 72.67 | 51.39 | 92.83 |
| *Escherichia coli 0157:H7* | 51.54 | 58.44 | 41 | 55.17 |
| *Bacillus subtilis* | 44.36 | 52.10 | 36.08 | 44.91 |

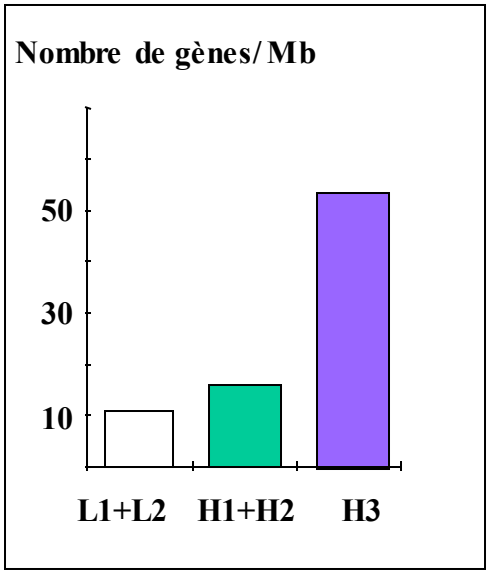
| A.A. | codon | % S. sp. (cyano) | % S. coelicolor | % E. coli | % B. subtilis |
|---|---|---|---|---|---|
| Gly | GGG | 0.24 | 0.19 | 0.164 | 0.16 |
| Gly | GGA | 0.18 | 0.075 | 0.123 | 0.315 |
| Gly | GGT | 0.27 | 0.096 | 0.331 | 0.187 |
| Gly | GGC | 0.31 | 0.64 | 0.382 | 0.337 |
| Glu | GAG | 0.264 | 0.846 | 0.325 | 0.32 |
| Glu | GAA | 0.736 | 0.154 | 0.675 | 0.68 |
| Asp | GAT | 0.646 | 0.05 | 0.631 | 0.636 |
| Asp | GAC | 0.354 | 0.95 | 0.369 | 0.364 |

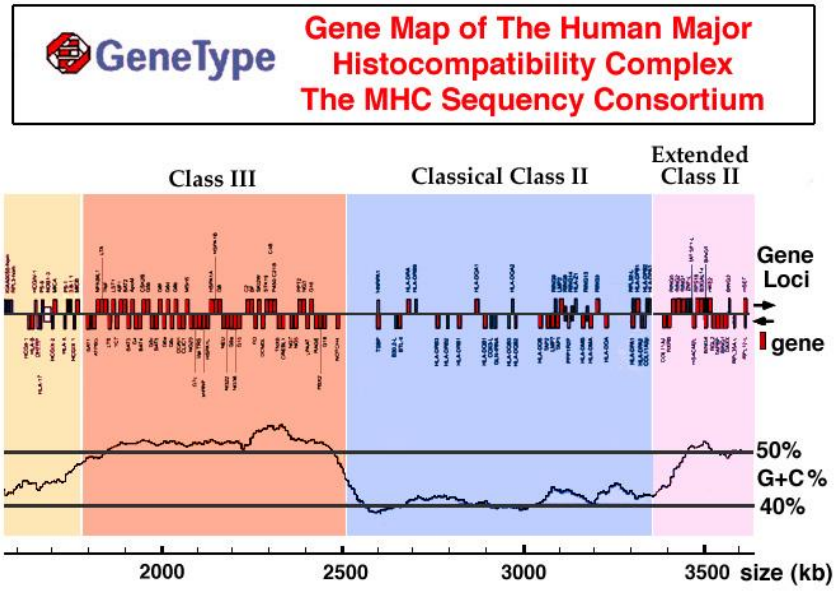
UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER

# Modèle de la structure en isochores chez les vertébrés

Isochores : régions > 300 kb homogène dans sa composition en bases
5 types d'isochores en fonction de leur pourcentage en G+C (2 légers et 3 lourds)

| Isochore | %C+G | % total genomic DNA |
|---|---|---|
| L1+L2 | 33%-44% | 62 % |
| H1+H2 | 44%-51% | 31% |
| H3 | 51%-60% | 3-5% |

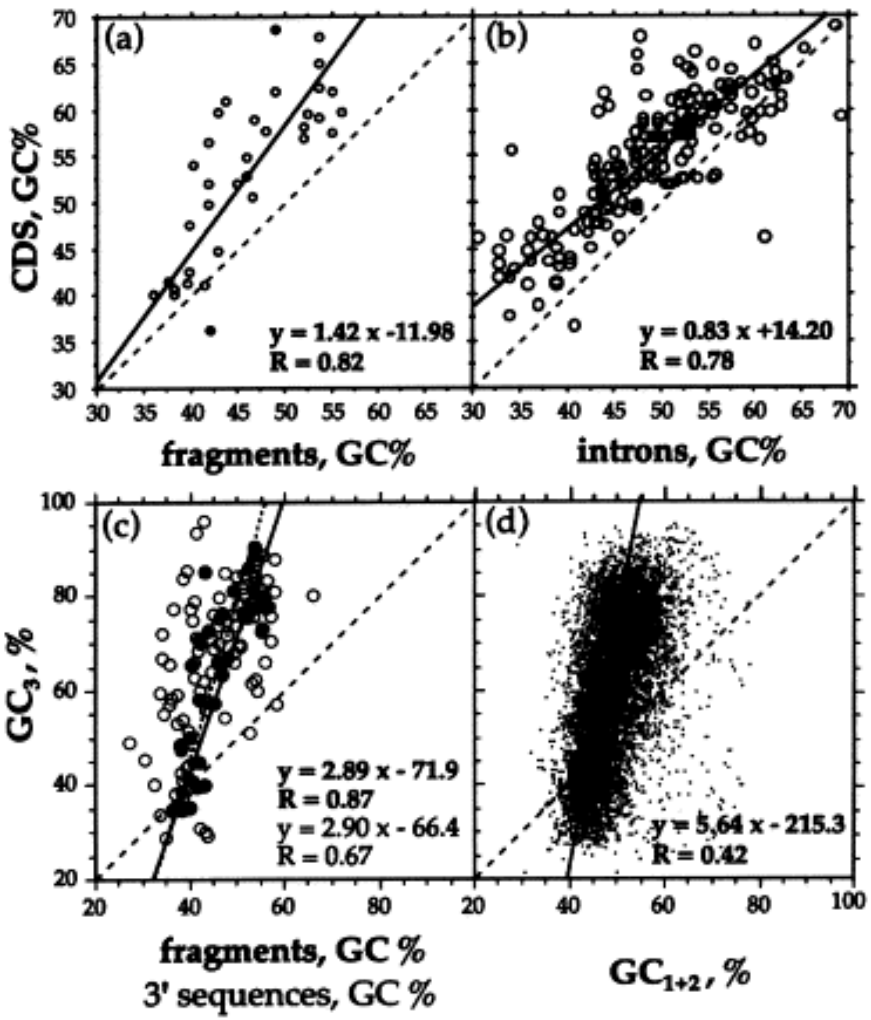



MHC locus (3.6 Mb) (The MHC sequencing consortium 99)

- Class I, class II (H1-H2 isochores): 20 gènes/Mb, beaucoup de pseudogènes
- Class III (H3 isochore): 84 gènes/Mb, pas de pseudogène

# Modèle de la structure en isochores chez les vertébrés




Correlation between GC levels of human coding sequences and :

(a) the GC levels of the large DNA fragments in which sequences were localized, or

(b) the GC levels of the corresponding introns (top frames).

The bottom frames show the correlations between $GC_3$ of human coding sequences and

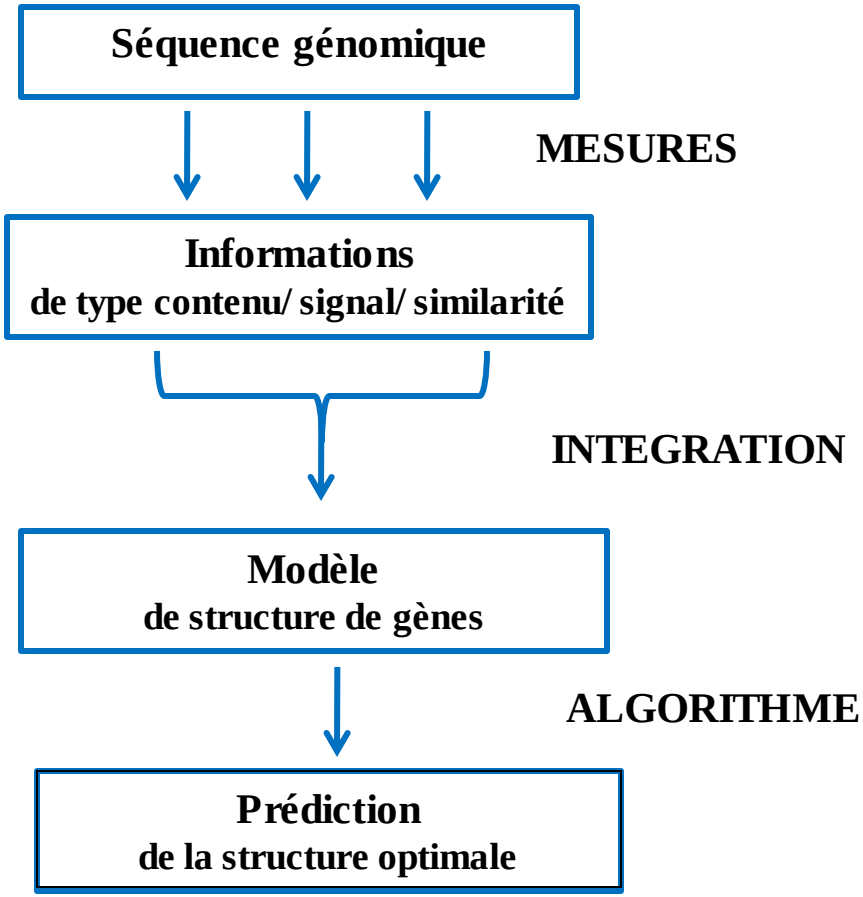
(c) the GC levels of the DNA fractions in which the genes were localized (filled circles) and of 3' flanking sequences further than 500 bp from the stop codon (open circles; the solid and the broken lines are the regression lines through the two sets of points); or

(d) $GC_1$+$GC_2$ values of human sequences. Diagonals (unity slope lines) are also shown

Extrait de Bernardi, 2000, *Gene*, 241 3-17

# Recherche des régions codant pour des protéines

**Fonctionnement schématique d'un logiciel de prédiction de gènes**



# Méthode statistique
## Traitement de l'information de type contenu

Utilisation de méthodes statistiques prenant en compte ces biais d'utilisation des codons. Plus récemment avec l'augmentation des données pour établir les systèmes de référence, prise en compte de la composition en hexanucléotides (mots de longueur 6).

Les méthodes statistiques couramment utilisées :

- Modèles de Markov
- Modèles de Markov interpolés (IMM)
- Modèles de Markov caché (HMM)

# Modèle de Markov

Développé en 1907 par le mathématicien Andreï Markov :

- Décrit un processus permettant de calculer la probabilité d'occurrence de phénomènes aléatoires en considérant qu'ils sont liés comme les maillons d'une chaîne .
- Interdépendance des éléments

Ordre du modèle de Markov :

- Ordre 0 : les éléments sont indépendants
- Ordre 1 : la probabilité d'apparaître de l'élément *n* dépend (est lié) à l'élément *n-1*
- Ordre 2 : la probabilité d'apparaître de l'élément *n* dépend (est lié) des éléments *n-2 et n-1*
- ….

# Modèle de Markov

Un modèle de Markov d'ordre *k* appliqué aux séquences ADN est entièrement défini par les deux probabilités suivantes :

$P_0(w_1^k)$ ⟶ Probabilité initiale du mot $w^k$

$P(x / w^k)$ ⟶ Probabilité d'observer x sachant que le mot $w^k$ le précède

Modèle probabiliste qui représente une séquence comme un processus qui peut être décrit comme une séquence de variable aléatoire $X_1, X_2, \ldots$ où $X_i$ correspond à la position *i* de la séquence. Chaque variable aléatoire $X_i$ prend une valeur dans l'ensemble des bases (A,C,G,T). La probabilité que va prendre la variable $X_i$ dépend du contexte c'est à dire des bases immédiatement adjacentes à la base à la position *i.*

# Modèle de Markov : Présentation de GeneMark

(Borodovsky et al., Nucleic Acids Res.,22,4756-67)

La méthode repose sur le modèle probabiliste suivant appelé modèle de Markov:

Hypothèse 1: La probabilité d'observer une base à une position donnée dépend :

- Régions non codantes
  - ✓ des bases précédant cette position
  - ✓ modélisé par un modèle de Markov homogène

- Régions codantes
  - ✓ des bases précédant cette position
  - ✓ de sa localisation dans le codon
  - ✓ Modélisé par un modèle de Markov non-homogène 3-périodique (construction de 3 modèles différents un par position)

Hypothèse 2: Une région particulière ne peut être que dans un des 7 états suivants:

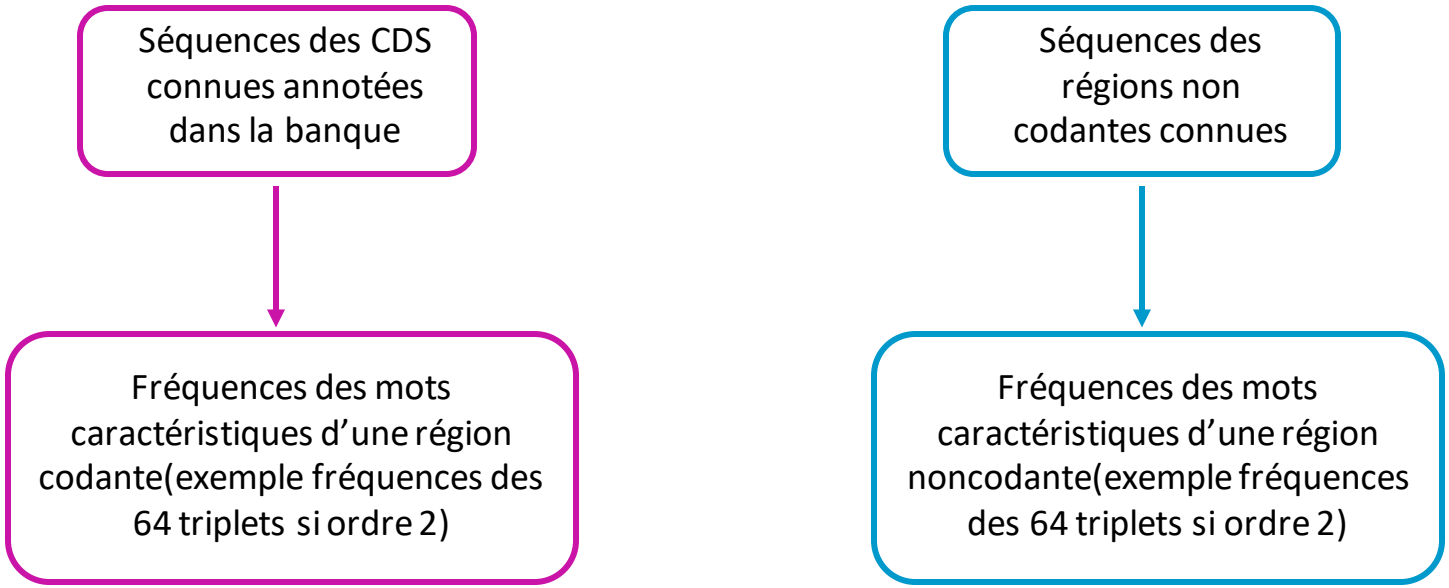
- 1. codant en phase 1 sur le brin direct
- 2. codant en phase 2 sur le brin direct
- 3. codant en phase 3 sur le brin direct
- 4. codant en phase 4 sur le brin indirect
- 5. codant en phase 5 sur le brin indirect
- 6. codant en phase 6 sur le brin indirect
- 7. non-codant

Prédiction : calculer les probabilités d'observer la région dans un état *i* sachant que l'un des 7 états est réalisé (formule de Bayes).

# Mise en oeuvre

Nécessite d'avoir des tables de référence pour calculer la fréquence de chaque mots Annotation d'un fragment génomique issu d'une espèce bactérienne *B* :

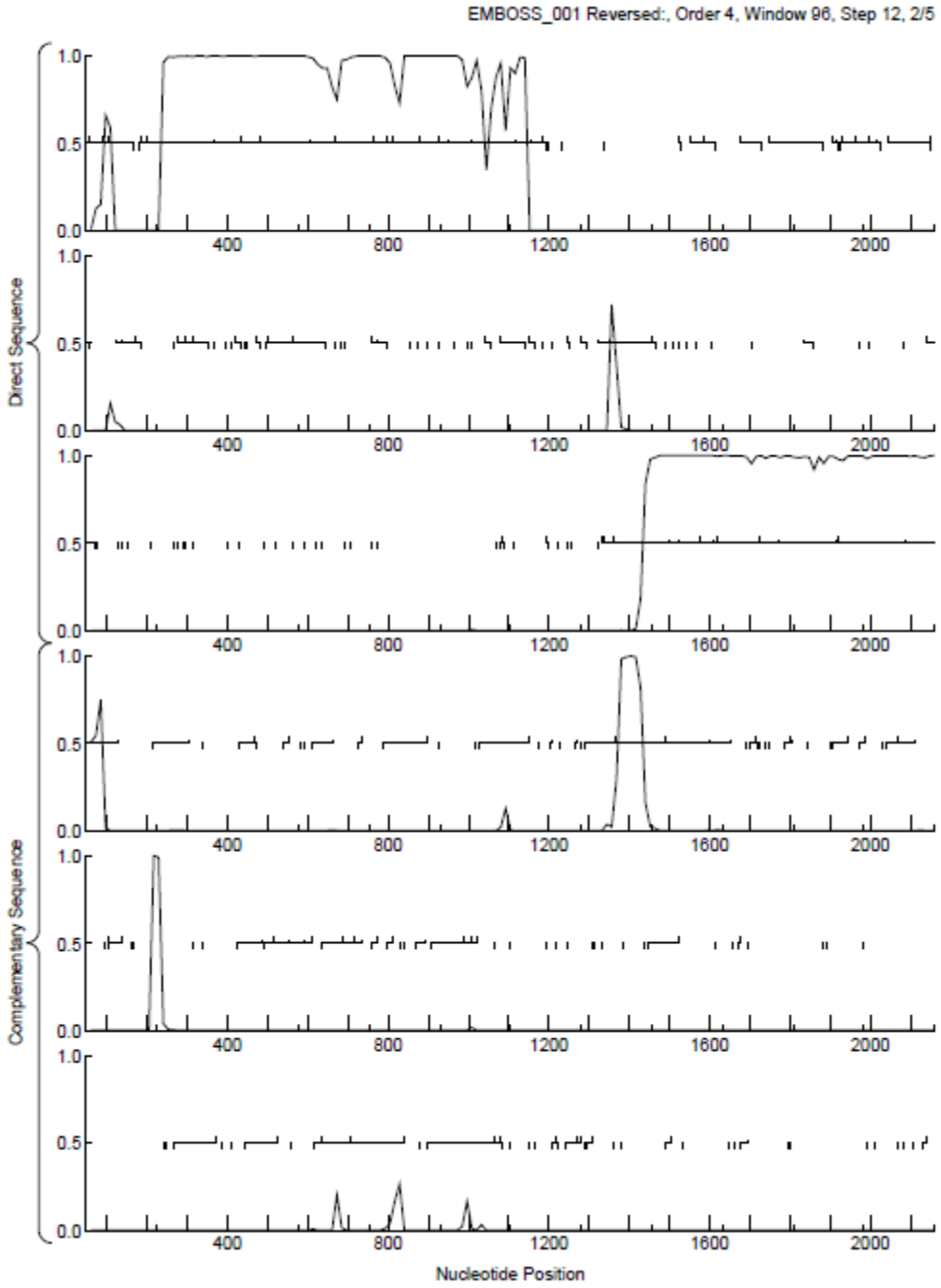
- Des données sont disponibles dans les bases de données comme GenBank ou EMBL pour l'espèce *B* ou une espèce proche dans l'évolution -> utilisation d'une référence externe
  - ✓ création de deux ensemble d'apprentissage et calcul des tables de référence




  - ✓ Prédiction sur notre séquence : comparaison des mots rencontrés dans notre fragment avec chaque table : calcul de la probabilité que la portion de la séquence soit dans chacun des 7 états. Choix de l'état le plus probable

- Pas de données disponibles pour l'espèce *B :*
  - ✓ Tables obtenues en utilisant un modèle heuristique

# Résultat graphique de GeneMark sur le fragment de *B. subtilis*



# Résultat de GeneMark sur le fragment de *B. subtilis*

UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER

**Entête du fichier :**

```
Sequence: EMBOSS_001 Reversed:
Sequence file: seq.fna
Sequence length: 8312
GC Content:  45.19%
Window length: 96
Window step: 12
Threshold value: 0.500
---
Matrix: Bacillus_subtilis_168
Matrix author: -
Matrix order: 4
```

**Fin du fichier :**

**List of Regions of interest**
(regions from stop to stop codon
w/ a signal in between)

| LEnd | REnd | Strand | Frame |
|---|---|---|---|
| 181 | 1194 | direct | fr 1 |
| 1286 | 1693 | complement | fr 1 |
| 1326 | 2600 | direct | fr 3 |
| 2610 | 3896 | direct | fr 3 |
| 3894 | 4751 | direct | fr 3 |
| 4749 | 6833 | direct | fr 3 |
| 6820 | 8202 | direct | fr 1 |

List of Open reading frames predicted as CDSs, shown with alternate starts
(regions from start to stop codon w/ coding function >0.50)

| Left end | Right end | DNA Strand | Coding Frame | Avg Prob | Start Prob | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 187 | 1194 | direct | fr 1 | 0.85 | 0.99 | → ORF Finder |
| 202 | 1194 | direct | fr 1 | 0.86 | 0.90 | |
| 367 | 1194 | direct | fr 1 | 0.89 | 0.10 | |
| 436 | 1194 | direct | fr 1 | 0.88 | 0.02 | |
| 481 | 1194 | direct | fr 1 | 0.87 | 0.01 | |
| 1335 | 2600 | direct | fr 3 | 0.87 | 0.04 | → ORF Finder |
| 1341 | 2600 | direct | fr 3 | 0.87 | 0.02 | |
| 1365 | 2600 | direct | fr 3 | 0.89 | 0.08 | |
| 1500 | 2600 | direct | fr 3 | 0.95 | 0.04 | |
| 1527 | 2600 | direct | fr 3 | 0.95 | 0.02 | |
| 1581 | 2600 | direct | fr 3 | 0.95 | 0.01 | |
| 2631 | 3896 | direct | fr 3 | 0.80 | 0.75 | |
| 2640 | 3896 | direct | fr 3 | 0.80 | 0.87 | |
| 2778 | 3896 | direct | fr 3 | 0.82 | 0.28 | → ORF Finder (ATG only) |
| 2814 | 3896 | direct | fr 3 | 0.81 | 0.03 | 2661 start alternatif |
| 2868 | 3896 | direct | fr 3 | 0.80 | 0.49 | |
| 3900 | 4751 | direct | fr 3 | 0.74 | 0.26 | → ORF Finder |
| 3912 | 4751 | direct | fr 3 | 0.75 | 0.01 | |
| 3966 | 4751 | direct | fr 3 | 0.80 | 0.65 | |
| 4116 | 4751 | direct | fr 3 | 0.80 | 0.27 | |
| 4137 | 4751 | direct | fr 3 | 0.80 | 0.05 | |
| 4158 | 4751 | direct | fr 3 | 0.79 | 0.14 | |
| 4770 | 6833 | direct | fr 3 | 0.90 | 0.82 | |
| 4773 | 6833 | direct | fr 3 | 0.90 | 0.79 | → ORF Finder |
| 4815 | 6833 | direct | fr 3 | 0.92 | 0.13 | |
| 4890 | 6833 | direct | fr 3 | 0.92 | 0.01 | |
| 5226 | 6833 | direct | fr 3 | 0.93 | 0.02 | |
| 6838 | 8202 | direct | fr 1 | 0.85 | 0.06 | → ORF Finder (ATG only) |
| 6877 | 8202 | direct | fr 1 | 0.88 | 0.71 | 6835 start alternatif |
| 6913 | 8202 | direct | fr 1 | 0.89 | 0.74 | |
| 6925 | 8202 | direct | fr 1 | 0.89 | 0.02 | |
| 6931 | 8202 | direct | fr 1 | 0.89 | 0.01 | |

# Interpolated Markov Model (IMM)

## Glimmer (Salzberg et *al.*, Nucleic Acids Res.,26,544-48)

Modèle de Markov d'ordre *k* :apprendre $4^{k+1}$ probabilités
Dans le cadre de la prédiction des CDS prise en compte des 6 cadres de lecture, donc nécessité d'apprendre 6 * $4^{k+1}$ probabilités
Si modèle de Markov d'ordre 5 : 4096 probabilités à définir (hexamères)
Si on considère les 6 cadres de lecture : 24 576 probabilité

Plus l'ordre du modèle est élevé, moins l'estimation des paramètres du modèles va être fiable

Pour certains kmers rares même avec un grand jeu d'apprentissage comme un génome entier, il peut être difficile d'obtenir des estimations précises et inversement pour certains kmers fréquents un modèle de markov d'ordre élevé donnera des estimations plus précises.

Souhait : un modèle de Markov qui utilise les ordres les plus élevés quand il y a assez de données disponibles et des ordres moins élevés dans les cas où les données sont insuffisantes.

Interpolation des modèles de Markov

# Interpolated Markov Model (IMM)

Autrement dit , un IMM utilise une combinaison de toutes les probabilités basées sur 0, 1, 2, ..., *k* bases précédentes, où *k* est un paramètre donné à l'algorithme. Dans le cas de GLIMMER *k* = 8
Donc pour les oligomères fréquents, le IMM peut utiliser un modèle d'ordre 8 alors qu'il pourra utiliser par exemple un modèle d'ordre 5 voir d'un ordre inférieur pour des oligomères rares.
Afin de " lisser " ses prédictions, un IMM utilise les prédictions des modèles d'ordre inférieur, pour lesquels on dispose de beaucoup plus de données, afin d'ajuster les prédictions faites à partir des modèles d'ordre supérieur.

Donc les poids attribués aux différents modèles vont définir le poids des modèles inférieurs dans le calcul de la probabilité du modèle d'ordre supérieur.

Ces poids sont appelés les paramètres d'interpolation, avec $0 \leq \lambda \leq 1$.

# Interpolated Markov Model (IMM)

Interpolation linéaire simple : combinaison linéaire des probabilités associées aux mots de tailles inférieures à *k* contenus dans $w_k$ (par exemple si *k* = 8 on regarde les mots de taille 1 à 7)

$$P_{IMM}(x_i|x_{i-k},\dots,x_{i-1}) = \lambda_0\, P(x_i) + \lambda_{1(x_{i-1})}P(x_i|x_{i-1}) + \cdots + \lambda_{k(x_{i-k}\dots x_{i-1})}P(x_i|x_{i-k}\dots x_{i-1})$$

Avec $\sum_i \lambda_i = 1$

Les poids peuvent aussi dépendre des données observées. Pour un ordre donné, on peut avoir plus de données pour estimer certains mots que d'autres.

$$P_{IMM}(x_i|x_{i-k},\dots,x_{i-1}) = \lambda_0\, P(x_i) + \lambda_{1(x_{i-1})}P(x_i|x_{i-1}) + \cdots + \lambda_{k(x_{i-k}\dots x_{i-1})}P(x_i|x_{i-k}\dots x_{i-1})$$

Dans ce cas, $\lambda$ est une fonction des données observées.

# Interpolated Markov Model (IMM)

Estimation des valeurs des paramètres $\lambda_i$ :

- basée sur la fréquence du mot associé au $\lambda_i$

$\rightarrow$ Partir d'un ensemble d'apprentissage

Problème quand nouveau génome, comment être certain que les ORFs sont réellement codantes.

Solution Glimmer :

- ✓ Conserver les séquences présentant des similarités avec des gènes connus d'autres organismes
- ✓ Garder les ORFs longs seulement

Procédure :

- ✓ Identification de toutes les "Open Reading Frames" (ORFs) dans les 6 cadres avec une longueur > seuil (~ 90 bp par défaut)
- ✓ Sélection des ORFs qui vont constituer l'ensemble d'apprentissage
  - à partir de gènes connus (expérimentalement)
  - à partir du génome ORF longueur > 500 bp
    pas chevauchement avec une ORF > 500 bp

**Obtenir un ensemble importants de gènes "fiables"**

# Interpolated Markov Model (IMM)

Estimation des valeurs des paramètres $\lambda_i$ :

A partir de l'ensemble d'apprentissage :

- ✓ Calcul de la fréquence des mots de longueurs 1 à 9 (rappel ordre le plus élevé de Modèle de Markov fixé à 8)
- ✓ Estimer la probabilité d'observer une base de la séquence en fonction de son contexte, *i.e.*, en fonction des *i* bases qui la précédent, avec i ≤ 8

Exemple : Probabilité du 5mer ATTCA

$$P(ATTCA) = P(A|ATTC) = \frac{f(ATTCA)}{f(ATTCA) + f(ATTCC) + f(ATTCG) + f(ATTCT)}$$

avec *f* fréquence observée du mot dans l'ensemble d'apprentissage

# Interpolated Markov Model (IMM)

UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER

**Estimation des valeurs des paramètres $\lambda_i$ dans GLIMMER :**

$$P_{IMM}(x_i|x_{i-k},\dots,x_{i-1}) = \lambda_0\, P(x_i) + \lambda_{1(x_{i-1})}P(x_i|x_{i-1}) + \cdots + \lambda_{k(x_{i-k}\dots x_{i-1})}P(x_i|x_{i-k}\dots x_{i-1})$$

avec $\lambda_{k(x_{i-k}\dots x_{i-1})}$ le poids associé au mot $x_{i-k}\dots x_{i-1}$

Soit c($x_{i-k}\dots x_{i-1}$) le nombre de mots correspondant à $x_{i-k}\dots x_{i-1}$ dans notre ensemble d'apprentissage :

- ✓ Si c($x_{i-k}\dots x_{i-1}$) > 400 alors $\lambda_{k(x_{i-k}\dots x_{i-1})}$ =1

- ✓ Sinon utilisation d'un test statistique : le test du $\chi^2$

Comparaison de l'occurrence des mots entre deux ordres pour savoir si elles dépendent de l'ordre du modèle de Markov

# Interpolated Markov Model (IMM)

Comparaison des occurrences des mots entre deux ordres pour savoir si elles dépendent de l'ordre du modèle de Markov :

| modèle ordre n + base | modèle ordre n-1 + base |
|---|---|
| $x_{i-n}, \ldots, x_{i-1}$, a | $x_{i-n+1}, \ldots, x_{i-1}$, a |
| $x_{i-n}, \ldots, x_{i-1}$, c | $x_{i-n+1}, \ldots, x_{i-1}$, c |
| $x_{i-n}, \ldots, x_{i-1}$, g | $x_{i-n+1}, \ldots, x_{i-1}$, g |
| $x_{i-n}, \ldots, x_{i-1}$, t | $x_{i-n+1}, \ldots, x_{i-1}$, t |

Hypothèse nulle $H_0$ : la distribution des valeurs de $x_i$ est indépendante de l'ordre du modèle
Hypothèse alternative $H_1$ : cette distribution dépend de l'ordre du modèle

Utilisation du test du $\chi^2 \rightarrow$ si la p-valeur est grande, on ne peut pas rejeter $H_0$

Calcul de *d* avec $d = 1 - p\text{-}valeur$

- Si *d* est petit, pas besoin de prendre en compte l'ordre le plus grand, $\lambda$ vaudra 0 pour cet ordre
- sinon pondération de d par le nombre de mots pour calculer $\lambda$

# Interpolated Markov Model (IMM)

Résumé de la détermination des poids $\lambda$ dans GLIMMER :

Le poids $\lambda_{k(x_{i-k}\ldots x_{i-1})}$ associé au mot $x_{i-k}\ldots x_{i-1}$ vaudra :

$$\lambda_{k(x_{i-k}\ldots x_{i-1})} = \begin{cases} 1 & \text{si } c(x_{i-k}\ldots x_{i-1}) > 400 \\ 0 & \text{si } d < 0.5 \\ d \times \dfrac{c(x_{i-k}\ldots x_{i-1})}{400} & \text{si } d \geq 0.5 \end{cases}$$

# Interpolated Markov Model (IMM)

Exemple : Supposons que nous avons les fréquences observées des mots suivants dans notre ensemble d'apprentissage

| ordre 3 | | ordre 2 | | ordre 1 | |
|---|---|---|---|---|---|
| **ATC**A | 25 | **TC**A | 100 | **C**A | 175 |
| **ATC**C | 40 | **TC**C | 90 | **C**C | 140 |
| **ATC**G | 15 | **TC**G | 35 | **C**G | 65 |
| **ATC**T | 20 | **TC**T | 75 | **C**T | 120 |
| total | 100 | | 300 | | 500 |

$\chi^2$ test : $d = 0.857$ $d = 0.140$

$$\lambda_3(\mathrm{ATC}) = 0.857 \text{ x } 100/400 = 0.214$$

$$\lambda_2(\mathrm{TC}) = 0 \ (\mathrm{d} < 0.5 \text{ et } \mathrm{c} < 400)$$

$$\lambda_1(\mathrm{C}) = 1 \ (\mathrm{c} > 400)$$

# Interpolated Markov Model (IMM)

Comment ensuite calculer la probabilité qu'une nouvelle séquence soit codante :

GLIMMER calcule la probabilité que le modèle $M$ génère la séquence étudiée $S$ soit si la longueur de la séquence est $n$ :

$$P(S|M) = \sum_{x=1}^{n} IMM_8\ (S_x)$$

où $S_x$ est l'oligomère se terminant à la position $x$

$\mathrm{IMM}_8(S_x)$ est le score du model de Markov interpolé d'ordre 8 et il est calculé de façon récursive :

$$IMM_k(S_x) = P_{IMM_k}(x_i|x_{i-k}, \dots, x_{i-1})$$
$$= \lambda_{k(x_{i-k}\dots x_{i-1})} \times P(x_i|x_{i-k}\dots x_{i-1}) + \left[1 - \lambda_{k(x_{i-k}\dots x_{i-1})}\right] \times P_{IMM_{k-1}}(x_i|x_{i-k+1}, \dots, x_{i-1})$$

# Interpolated Markov Model (IMM)

Rappel :

$$P_{IMM,n}(x_i|x_{i-n},\dots,x_{i-1}) = \lambda_n(x_{i-n},\dots,x_{i-1})P(x_i|x_{i-n},\dots,x_{i-1}) + [1-\lambda_n(x_{i-n},\dots,x_{i-1})]P_{IMM,n-1}(x_i|x_{i-n+1},\dots,x_{i-1})$$

Si on veut calculer $P_{\mathrm{IMM},3}(\mathrm{G}|\mathrm{ATC})$ :

$$P_{IMM,1}(G|C) = \lambda_1(C)P(G|C) + [1-\lambda_1(C)]P_{IMM,0}(G) = P(G|C)$$

car $\lambda_1(\mathrm{C}) = 1$

$$P_{IMM,2}(G|TC) = \lambda_2(TC)P(G|TC) + [1-\lambda_2(TC)]P_{IMM,1}(G|C) = P_{IMM,1}(G|C) = P(G|C)$$

car $\lambda_2(\mathrm{TC}) = 0$

$$P_{IMM,3}(G|ATC) = \lambda_3(ATC)P(G|ATC) + [1-\lambda_3(ATC)]P_{IMM,2}(G|TC)$$
$$= 0.214\,P(G|ATC) + (1-0.214)\,P_{IMM,2}(G|TC)$$

car $\lambda_3(\mathrm{ATC}) = 0{,}214$

$$\boxed{P_{IMM,3}(G|ATC) = 0.214\,P(G|ATC) + 0.786\,P(G|C)}$$

# Interpolated Markov Model (IMM)

$$P_{IMM,3}(G|ATC) = 0.214\,P(G|ATC) + 0.786\,P(G|C)$$

$$P(G|C) = P(CG) = \frac{f(CG)}{f(CA) + f(CC) + f(CG) + f(CT)} = \frac{65}{500} = 0.13$$

$$P(G|ATC) = P(ATCG) = \frac{f(ATCG)}{f(ATCA) + f(ATCC) + f(ATCG) + f(ATCT)} = \frac{15}{100} = 0.15$$

$$P_{IMM,3}(G|ATC) = 0.214 \text{ x } 0.15 + 0.786 \text{ x } 0.13 = 0.13428$$

# Identification des CDS avec GLIMMER

- ✓ n'utilise pas de fenêtre glissante
- ✓ Identifie en premier les ORF plus long qu'un certain seuil
- ✓ Calcul le score de chacun dans les six cadres de lecture comme suit :

La probabilité que le modèle M génère la séquence S est :

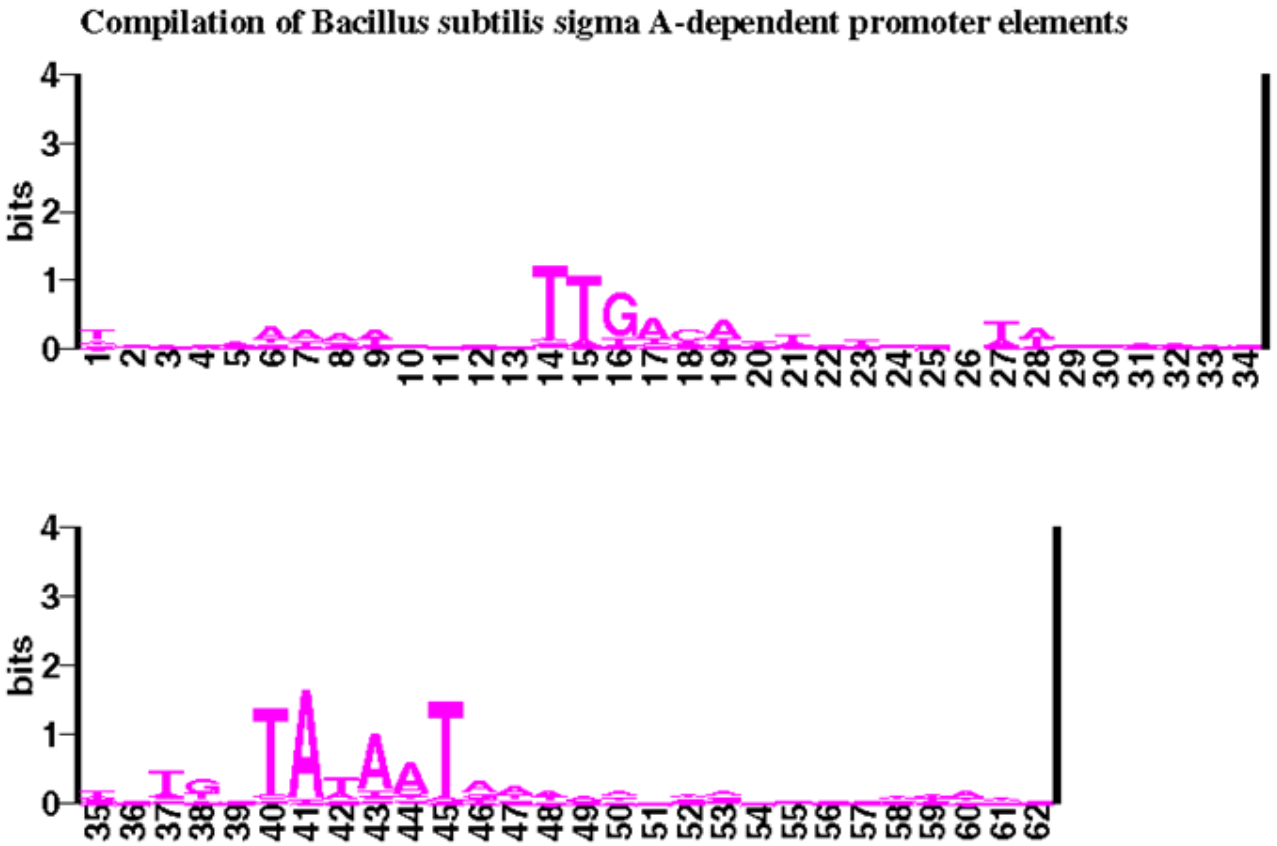
$$P(S|M) = \sum_{x=1}^{n} IMM_8(S_x)$$

Avec $S_x$ l'oligomer se terminant à la position *x* et *n* la taille de la séquence

- ✓ Les ORF qui ont un score supérieur à un seuil spécifié dans le cadre de lecture correct sont sélectionnées pour un traitement ultérieur des chevauchements

# Traitement de l'information de type signal

Différentes façon de représenter la conservation des séquences impliquées dans un processus donné (promoteur lors de la transcription, ribosome binding site lors de la traduction, jonction d'épissage etc…) et ensuite de rechercher ces « signaux » dans une nouvelle séquence.



# Petit rappel : Motifs

**Définition :** zone d'une séquence nucléique ou protéique présentant une conservation quand on compare plusieurs séquences.

• correspondent en général à des zones fonctionnelles

• ADN et ARN : aussi appelé **signal**, ces zones interviennent souvent dans des systèmes de régulation, ex :

- ➢ -10 et -35 des promoteurs chez les procaryotes,
  jonction d'épissage,
- ➢ boite CRE (catabolite repression element) : après mise en évidence de certains gènes soumis à la répression catabolique chez *B. subtilis*, l'identification du signal permet de rechercher dans le génome complet les boites CRE et donc les gènes qui pourraient être soumis à la répression catabolique.

• différents des signaux reconnus par les enzymes de restrictions qui reconnaissent des séquences exactes, ex: GAATTC pour ECOR1.

• Les motifs et profils présentent une certaine **variabilité** (souvent impliquée dans la variabilité de la régulation par une reconnaissance plus ou moins forte des partenaires)

**Comment représenter cette variabilité ?**

- ➢ séquence consensus
- ➢ matrice de poids

# Représentation : Séquence consensus

**Exemples des boîtes CRE:**

| | |
|---|---|
| *acsA* | TGAAAGCGTTACCA |
| *acuA* | TGAAAACGCTTTAT |
| *amyE* | TGTAAGCGTTAACA |
| *gntR* | TGAAAGCGGTACCA |
| *hutP* | TGAAACCGCTTCCA |
| *licS* | AGAAAACGCTTTCA |
| *xylA* | TGGAAGCGTAAACA |
| *xylA* | TGAAAGCGCAAACA |
| *xylA* | AGTAAGCGTTTACA |
| *ackA* | TGTAAGCGTTATCA |
| consensus | TGAAAGCGNTAACA |
| | T TC |

# Représentation : Matrice de poids

Exemples de 242 séquences de promoteurs (-10) chez *E. coli* :

Matrices des fréquences de chaque base *b* à chaque position *i* ($f_{b,i}$) du motif -10 (6 positions) :

| Pos. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 0.04 | 0.88 | 0.26 | 0.59 | 0.49 | 0.03 |
| C | 0.09 | 0.03 | 0.11 | 0.13 | 0.22 | 0.05 |
| G | 0.07 | 0.01 | 0.12 | 0.16 | 0.12 | 0.02 |
| T | 0.80 | 0.08 | 0.51 | 0.13 | 0.18 | 0.89 |

Avec $f_{b,i} = n_{b,i} / n_{tot}$

$n_{tot}$ : nombre total de séquences analysées

# Représentation : Matrice de poids position (Position Weight Matrix, PWM)

Exemples de 242 séquences de promoteurs (-10) chez *E. coli* :

Normalisation de la matrice : log matrice $\log_2(f_{b,i}/P_b)$

$f_{b,i}$ = fréquence observée de la base *b* à la position *i* dans toutes les séquences
$P_b$ = fréquence de cette base dans l'ensemble du génome

| Pos. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | -2.76 | 1.88 | 0.06 | 1.23 | 0.96 | -2.92 |
| C | -1.46 | -3.11 | -1.22 | -1.00 | -0.22 | -2.21 |
| G | -1.76 | -5.00 | -1.06 | -0.67 | -1.06 | -3.58 |
| T | 1.67 | -1.66 | 1.04 | -1.00 | -0.49 | 1.84 |

Le rapport $f_{b,i}/P_b$ est une mesure de l'écart entre fréquence observée et attendue.

# Utilisation d'une matrice de poids sur une séquence

| Pos. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | -28 | 18 | 1 | 12 | 10 | -29 |
| C | -15 | -31 | -12 | -10 | -2 | -22 |
| G | -18 | -50 | -11 | -7 | -11 | -36 |
| T | 17 | -17 | 10 | -10 | -5 | 18 |

A CTATAATCG

AC TATAATCG

ACT ATAATCG

Score1 = -15-17 +1-10+10-29 = -60

Score2 = 17+18+10+12+10+18 = 85

Score3 = -28-17+1+12-5-22 = -59

# Théorie de l'information : obtention de WebLogo

## Shannon et Weaver (1949).

La valeur de l'information $I$ à la position $j$ d'un signal est donnée par :

$$I(j) = \sum_i f_{ij} \log_2 f_{ij} - \sum_i P_i \log_2 P_i$$

où :

$P_i$ ($i$ = 1 à 4) est la fréquence de la base $i$ dans l'ensemble du génome (probabilité théorique)

$f_{ij}$ est la fréquence observée de la base $i$ à la position $j$ d'un signal sur un ensemble d'exemples.

Les $P_i$ étant estimées à 0.25 pour chacune des 4 bases on a :

$$\sum_i P_i \log_2 P_i = -2$$

donc

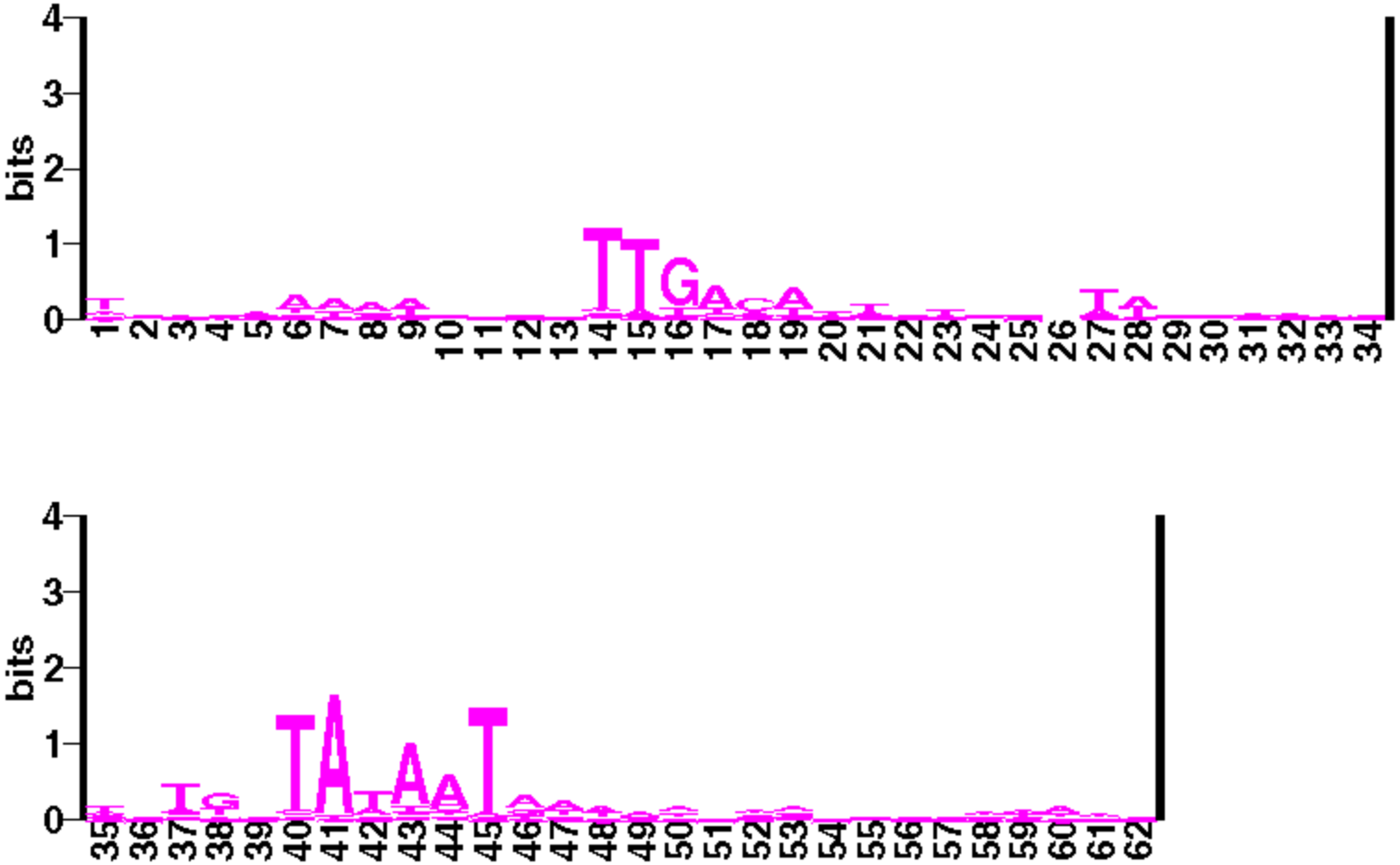
$$I(j) = \sum_i f_{ij} \log_2 f_{ij} + 2$$

Les positions du signal qui contiendront de l'information seront celles qui auront une composition très biaisées par rapport à ce qui est attendu.

Si à une position $j$ du signal, présence d'une seule base invariante $i$ alors $f_{ij} = 1$ et $\log_2 f_{ij} = 0$ donc $f_{ij} \log_2 f_{ij} = 0$ et les fréquences observées des autres bases sont nulles. On aura

$I(j) = 2$ information maximale

**Compilation of Bacillus subtilis sigma A-dependent promoter elements**



# Recherche des signaux d'initiation de la traduction

**Programme utilisé: Scan_For_Matches**

Motif du Shine-Dalgarno recherché : **GGAGG 6...11 DTG** correspond à la présence de la séquence GGAGG à 6 ou 11 pb en amont d'un codon AUG, GUG ou UUG.

Résultats:

```
BS:[189,204]   :  ggagg cagataca    atg     ->    A
BS:[3175,3192]:  ggagg tcgacttttt   ttg     ->    dans le gène C
BS:[3887,3902]:  ggagg cataaggt     atg     ->    D
BS:[4760,4775]:  ggagg agaatgtg     atg     ->    E
BS:[7501,7516]:  ggagg atttgccg     gtg     ->    dans le gène F
```

Donc:

**Gène A : début en 202**
**Gène D : début en 3900**
**Gène E : début en 4773**

Les autres SD des gènes B, C et F trouvés avec une autre représentation (matrice de poids) car ils sont modifiés.

| | |
|---|---|
| AAGGAGGTG | consensus |
| G**A**AAG**GGTG** | GTG pour B |
| **A**GA**GAGGTG** | GTG pour C |
| GG**GG**G**G**A**TG** | ATG pour F |

## Unités de traduction prédites

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 202 | 1194 | direct | fr 1 | -> A | |
| 1335 | 2600 | direct | fr 3 | -> B | SD modifié |
| 2640 | 3896 | direct | fr 3 | -> C | SD modifié |
| 3900 | 4751 | direct | fr 3 | -> D | |
| 4773 | 6833 | direct | fr 3 | -> E | |
| 6877 | 8202 | direct | fr 1 | -> F | SD modifié |

# Recherche des unités de transcription

Chez *B. subtilis*, l'initiation de la transcription fait intervenir le facteur sigma A qui reconnaît une séquence spécifique localisée environ en -10 et -35 pb du +1 de transcription.

**Séquence consensus:** **TTGACA 16...35 TATAAT**

Grand nombre de promoteurs de type sigma A identifiés expérimentalement chez *B. subtilis* **:**

→ **matrices de poids**

# Résultats de la recherche des promoteurs

Utilisation du programme Scan_For_Matches et de la matrice de poids

| | -35 | -10 |
|---|---|---|
| **BS:[1264,1292]:** | **tttaca** | **cattttctcaggcatgc** **tatatt** |
| **BS:[131,158] :** | **ttgaca** | **tttgtgaaaaagaaag** **taaaat** |

# Liste des logiciels pour la prédiction des promoteurs chez les bactéries



**TABLE 1** General information on the tools used here

| Tool | Method | Training sequence data set[a] | No. of *E. coli* sigma factors | Availability | Yr | Reference | No. of citations (Google Scholar)[b] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BPROM | Weight matrices of different motifs combined with linear discriminant analysis | Positive: Experimentally validated promoters from *E. coli* (14).<br>Negative: Inner regionsof protein-coding ORFs. | 70 | Web server http://www.softberry.com/berry.phtml?topic=bprom&group=programs&subgroup=gfindb | 2011 | 33 | 427 |
| bTSSfinder | Position weight matricesfor promoter elements, oligomer frequencies, physicochemical properties as features, and Mahalanobis distance for feature selection and with neural network for classification | Positive: Experimentally validated TSSs from Regulon DB. [−200, +51].<br>Negative: Genomic regions withno experimental evidence for the presence of TSSs. | 24, 28, 32, 38, 70 | Stand-alone and Web server http://www.cbrc.kaust.edu.sa/btssfinder/ | 2016 | 23 | 26 |
| BacPP | Weighted rules extracted from neural network | Positive: Regulon DB available promoters. [−60, +20].<br>Negative: randomly generated sequences (with established nucleotide frequencies) and intergenic sequences. | 24, 28, 32 38, 54, 70 | Web server http://www.bacpp.bioinfoucs.com/home | 2011 | 17 | 22 |
| Virtual Footprint | PWMs from different available databases | | | Web server http://www.prodoric.de/vfp/vfp_promoter.php | 2005 | 36 | 370 |
| IBBP | Image-based and evolutionary approach which generates "images" (template-image strings that keep features of spatial sequence relationships) | Positive: sigma 70 promoters from Regulon DB. [−60, +20].<br>Negative: randomly generated from protein-coding sequences. | 70 (expand-able approach) | Source code https://github.com/hahatcdg/IBPP | 2018 | 35 | 1 |
| iPro70-FMWin | 22,595 features extracted from sequence and AdaBoost to select the most representatives among then; logistic regression classifier | Positive: Regulon DB annotated promoters. [−60, 20].<br>Negative: randomly generated from protein- coding and intergenic region sequences. | 70 | Webserver http://ipro70.pythonanywhere.com/ | 2019 | 38 | 4 |
| 70ProPred | Support vector machine using position-specific tendencies of trinucleotide and electron-ion interaction pseudopotentials as features | Positive: promoters from Regulon DB. [−60, 20].<br>Negative: randomly generated from coding and noncoding sequences. | 70 | Webserver http://server.malab.cn/70ProPred/ | 2017 | 39 | 33 |
| CNNProm | Convolutional neural networks | Positive: promoters from Regulon DB. [−60, 20].<br>Negative: the opposite chain of randomly selected protein-coding genes. | 70 | http://www.softberry.com/berry.phtml?topic=index&group=programs&subgroup=deeplearn | 2017 | 34 | 60 |
| MULTiPly | Support vector machine using biprofile Bayes, KNN features, k-tuple nucleotide compositions, and dinucleotide-based auto-covariance as features | Positive: promoters from Regulon DB. [−60, 20]. | 24, 28, 32, 38, 54, 70 | Web server and stand-alone http://flagshipnt.erc.monash.edu/MULTiPly/ | 2019 | 41 | 30 |
| iPromoter-2L | Multiwindow-based pseudo k-tuple nucleotide composition with physicochemical properties as features and Random Forest as a predictor | Positive: promoters from Regulon DB. [−60, 20].<br>Negative: randomly extracted from the middle regions of long coding sequences and convergent intergenic region (none of the promoters in each set has more than 0.8 pairwise sequence identity) | 24, 28, 32. 38, 54, 70 | Web server http://bioinformatics.hitsz.edu.cn/iPromoter-2L/ | 2018 | 40 | 180 |

[a]Positive, positive sequences, sequences expected to be promoters. Negative, negative sequences, sequences expected to not include promoters. The interval of the sequence with the boundary numbers related to a TSS is indicated within brackets ([−60, +20], [−60, +19], or [−200, +51]).
[b]Citations checked on 3 May 2020.



Extrait de : Cassiano MHA, Silva-Rocha R. Benchmarking Bacterial Promoter Prediction Tools: Potentialities and Limitations. mSystems. 2020 Aug 25;5(4):e00439-20. doi: 10.1128/mSystems.00439-20.

# Liste des logiciels pour la prédiction des promoteurs chez les bactéries



**TABLE 2** Usage characteristics of the tools analyzed here

| Tool | Multifasta | Big files | Shows promoter core | Score or probability | Uppercase only | Output format | Execution time | Follow up | Interface | Comment(s) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BPROM | No | Yes | Yes | Yes | No | Text on screen | Fast | Progress on screen | Webform, simple, intuitive | Multifasta not supported and sequence boxes are not shown; difficult to process the results |
| bTSSfinder | Yes | Yes | Yes | Yes | No | Text file, GFF file, BED file | Fast | Progress on screen | Login needed, webform, simple, intuitive | Flexible configurations of cutoff values; results saved for 1 week; Linux tool available for download; it needs a large promoter sequence (−200, +50, related to the putative TSS) |
| BacPP | Yes | No | No | Yes | No | Text on screen or text file | Fast | N | Login needed, webform, simple, intuitive | Short tests per time |
| Virtual Footprint | No | Yes | Yes | Yes | No | Text on screen | Medium fast | Progress on screen | Webform, many fields, and option in the screen | Integrated with a large PWM database of TFBS; applicable to many species; limited to the position weight matrix available |
| IBBP | No | Yes | It shows the putative TSS | Yes | No | Text file | Fast | Progress on screen | Command line | Windows SO only execution; requires the manual input files; training and test procedures are separated; fast for big files; it can be used as an approach to the initial prediction of any type of promoters |
| iPro70-FMWin | Yes | Yes | No | Yes | No | Text on screen | Fast | No | Webform, simple, intuitive | High accuracy |
| 70ProPred | Yes | Yes | No | No | Yes | Text on screen | Fast | No | Webform, simple, intuitive | High accuracy; it does not accept a file as input, just text on a form |
| CNNProm | Yes | Yes | No | Yes | Yes | Text on screen | Long time (for genomes), fast for multifasta | No | Webform, simple, intuitive | Useful for large sequences (genomes); without a follow-up display; multifasta not supported and sequence boxes are not shown; difficult to process the results |
| MULTiPly | Yes | Yes | No | No | No | Text on screen or text file | Medium time | Progress on screen, job ID to find the result later | Webform, simple, intuitive | Good accuracy; it saves the result; time-consuming for large sequences |
| iPromoter-2L | Yes | Yes | No | No | No | Text on screen | Fast | Progress on screen | Webform, simple, intuitive | Good accuracy |

Extrait de : Cassiano MHA, Silva-Rocha R. Benchmarking Bacterial Promoter Prediction Tools: Potentialities and Limitations. mSystems. 2020 Aug 25;5(4):e00439-20. doi: 10.1128/mSystems.00439-20.

UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER Université de Toulouse

# Recherche des terminateurs de transcription

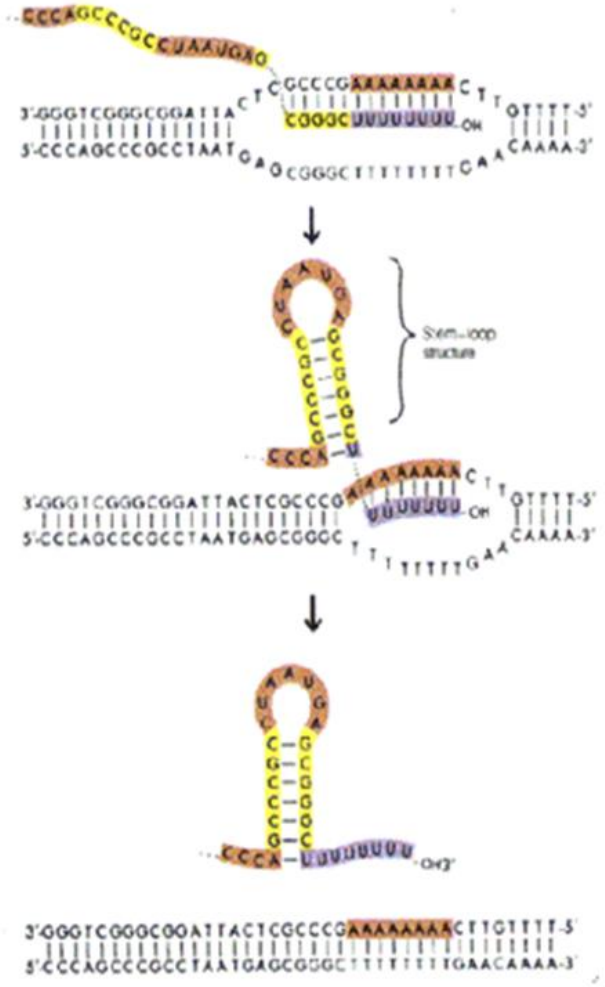
Au niveau séquence, on ne sait modéliser que les terminateurs Rho indépendants.

Mécanisme proposé pour les terminateurs Rho indépendants.

Quand l'ARN est en cours de transcription, on a une hybridation ARN/ADN sur environ 12 pb.

Le site de terminaison de la transcription est précédé par une séquence capable de former une structure secondaire stable. Il y a compétition entre la formation de cette structure et l'appariement avec l'ADN. La présence d'un poly(U) en cours de synthèse déplace l'équilibre en faveur de la tige-boucle et il y a alors décrochage de l'ARN et arrêt de la transcription.

Dans les séquences, on va donc rechercher des séquences répétées inversées suivies d'un poly(U).



# Terminateurs rho indépendant

Le modèle : Formation d'une tige boucle en amont d'une région riche en U qui déstabilise l'appariement ADN/ARN et conduit au décrochage de l'ARN.

Deux classes de terminateurs:

- ✓ petite tige de 5 à 7 pb très stable et d'une boucle de 4 pb suivie d'une région riche en U.

- ✓ une longue tige qui peut se décomposer en deux tiges imbriquées l'une dans l'autre.
  - La première plus stable doit faire au moins 3 pb de long avec un appariement GC à son pied.
  - La seconde est incluse dans la première et comporte au moins 3 appariements. Elle est généralement moins stable que la première. La boucle est de 3 à 7 pb de long.

Utilisation de scan_for-matches
Un site éventuel pour prédire les terminateurs de transcription ou au moins vérifier la probabilité de ceux sélectionnés avec scan_for_matches
http://lin-group.cn/server/iTerm-PseKNC/predictor.php

# Résultat de la recherche des terminateurs sur le fragment de *B. subtilis*

**1199-1223**

```
  A C
G   A
  G-C
  T-A
  T-A
  C-G
  A-T
  G-C
  T-A
    T
    T
    T
    T
    T
    T
```

**6843-6866**

```
    T
A     A
  G.T
  C-G
  T.G
  C-G
  G-C
  C-G
  C-G
    A
    T
    T
    C
    T
    T
    T
```

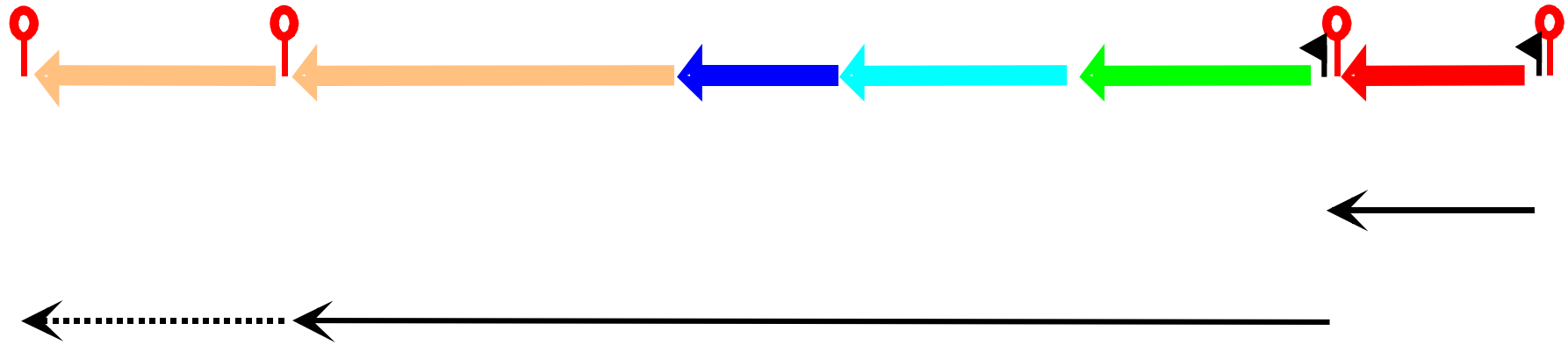
**75-103**

```
  A A
C     A
  G.T
  C-G
  C-G
  G.T
  A-T
  G-C
  T-A
  C-G
  A-T
  G-C
    T
    T
    T
    T
    T
```

**8215-8256**

```
  T C
A     A
  A-T
  A-T
  C-G
  A-T
  A-T
  T-A
  G.T
  T.G
  A-T
  G-C
  A-T
  G-C
  T-A
  A-T
  C-G
  C-G
    ATCATTT
```

# Prédiction des unités de traduction et de transcription



terminateur rho-indépendant

promoteurs de transcription de type sigma

transcrit putatif

# Prédictions fonctionnelles

Identification
- homologues
- motifs
- domaines

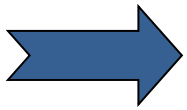
Localisation cellulaire
- fragments trans-membranaires
- peptide signal

Structure
- secondaire
- tertiaire

Recherche de liens fonctionnelles
- réseaux de régulation
- voies métaboliques
- interactions moléculaires

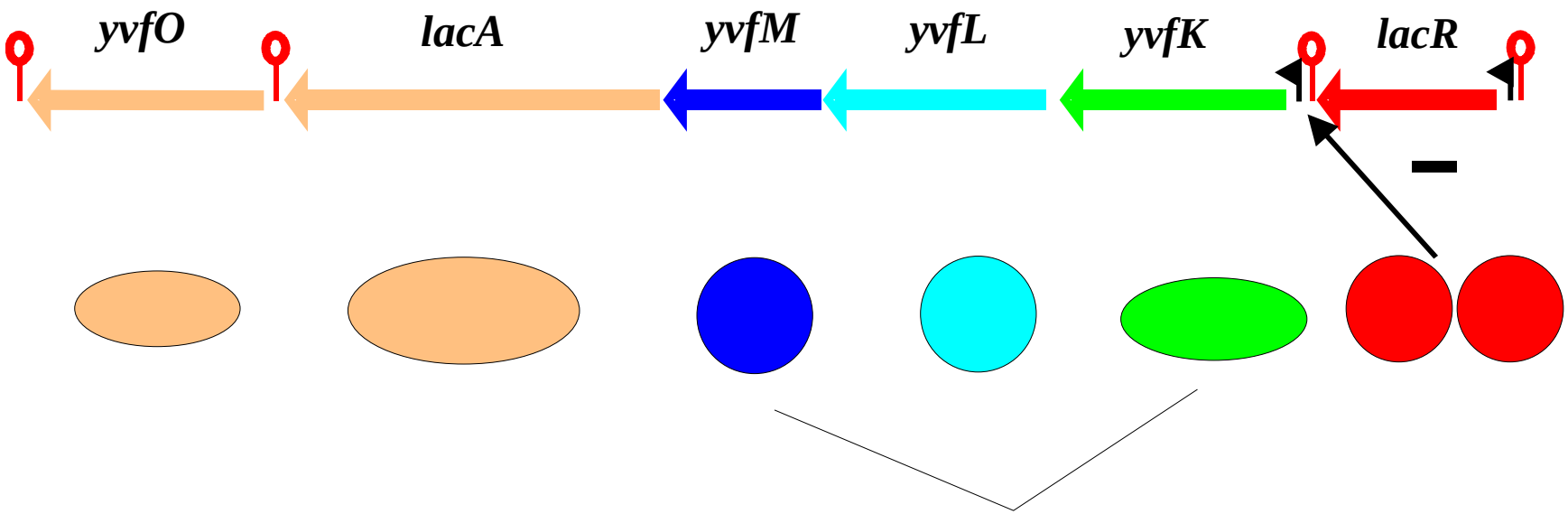
# Prédiction fonctionnelle

Recherche par similitude dans les bases de données : programme BLAST

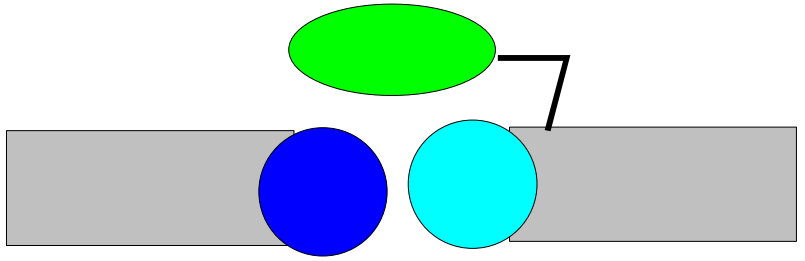


- A LACR protéine régulatrice de type LacI/GalR
- B YVFK protéine affine d'un ABC transporteur
- C YVFL perméase d'un ABC transporteur
- D YVFM perméase d'un ABC transporteur
- E LACA galactosidase
- F YVFO arabino-galactosidase

# Synthèse des résultats




**Système à la membrane**



? ?

# Modèles de gènes : génomes procaryotes

Modèle de Markov caché (HMM : Hidden Markov Model)

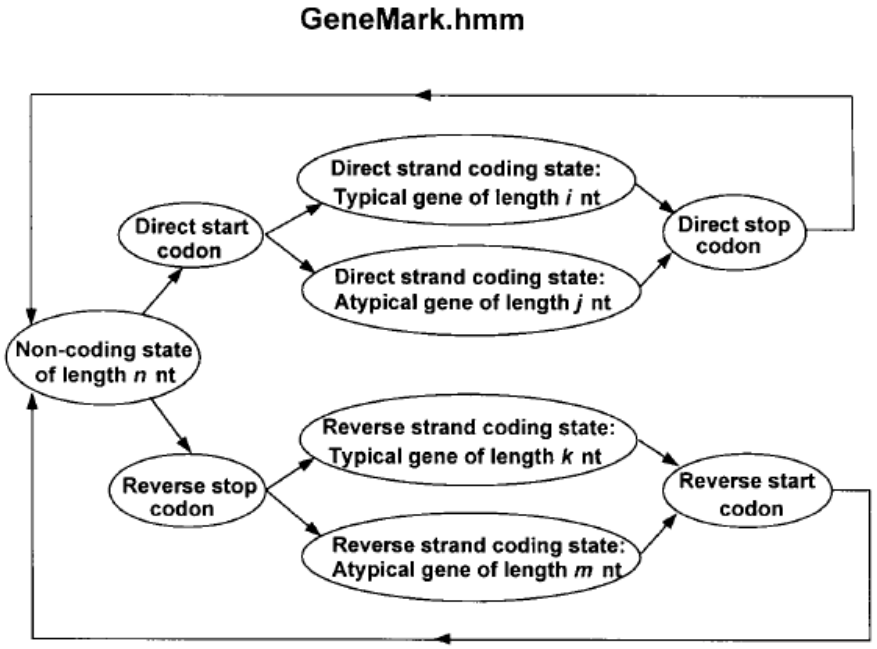


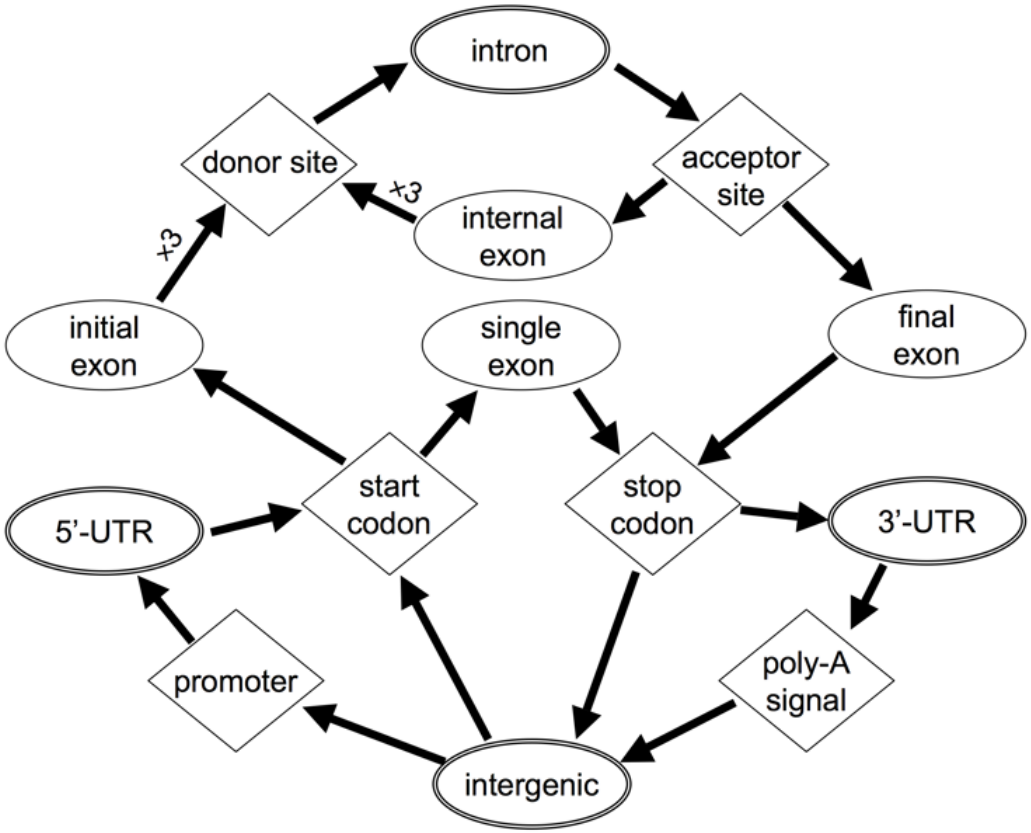

**Figure 1.** Hidden Markov model of a prokaryotic nucleotide sequence used in the GeneMark.hmm algorithm. The hidden states of the model are represented as ovals in the figure, and arrows correspond to allowed transitions between the states.

(extrait de Nucleic Acids Res. (1998), 26, 1107-1115)

# Modèles de gènes : génomes eucaryotes

## Modèle de Markov caché (HMM : Hidden Markov Model)

Exemple du modèle simplifié de GENSCAN
(extrait de J. Mol. Biol. (1997) 268, 78-94)



# Information de type similarité

Information externe à la séquence elle-même (de type extrinsèque) contrairement au contenu statistique ou aux signaux qui sont internes à la séquence (de type intrinsèque)

Comparer la séquence à analyser avec des séquences connues peut permettre de refléter la présence de gènes et donner des informations sur leur structure. Notamment, la structure en exons/introns pour les gènes eucaryotes.

Types de séquences utilisées pour la comparaison :

- les ADNc
- les EST
- les protéines
- des séquences génomiques

# Information de type similarité

Méthodes prédisant la structure en exons-introns par alignement de la séquence génomique soit avec un ARNm (ou un ADNc), soit avec une protéine. Parmi les plus utilisés, on trouve :

| Méthode | Séquence de référence | Référence |
|---|---|---|
| BLAT | ARNm ou protéine | Genome Research 12(4):656-64 (2002). |
| sim4 | ARNm | Genome Research 8:967-74 (1998). |
| Scipio | ARNm ou protéine | BMC Bioinformatics 9:278 (2008) |
| GeneWise | protéine | Genome Research 14(5):988-95 (2004) |
| GenomeWise | ADNc, EST | Genome Research 14(5):988-95 (2004) |
| WebScipio | protéine | Bioinformatics 12:270 (2011) |

L'extension du logiciel WebScipio permet de rechercher une forme spécifique d'épissage alternatif (exons mutuellement exclusifs)