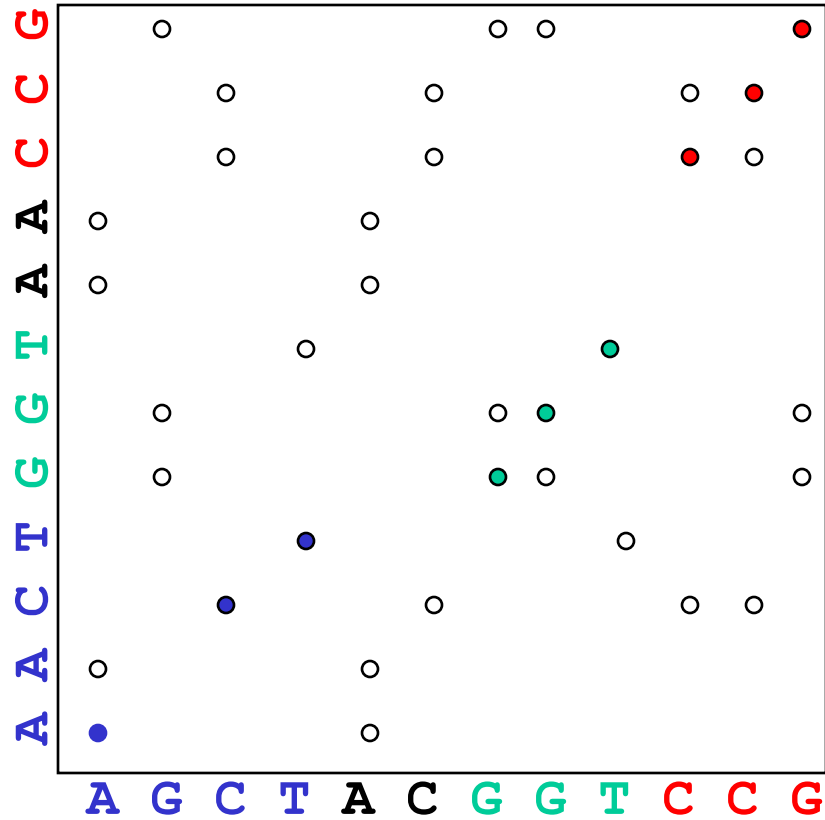


Comparaison de deux séquences

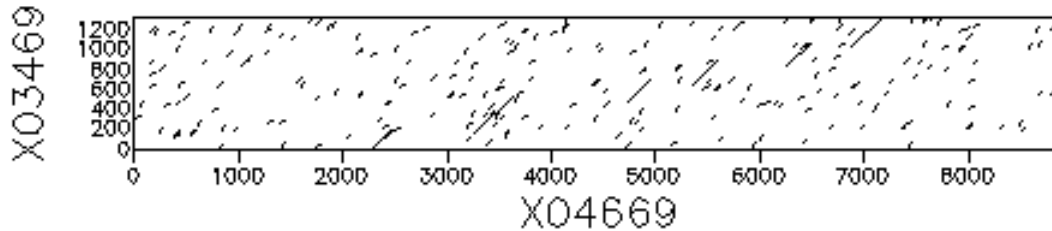
Matrice de points (Dotplot)



Exemple d'utilisation d'un dotplot : mise en évidence des exons

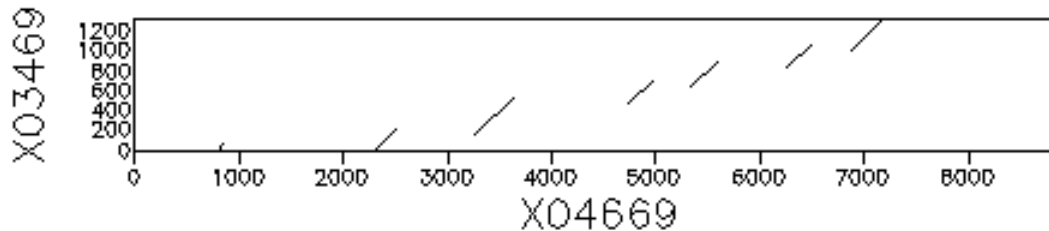
Dotmatcher: X04669 vs X03469

(windowsize = 30, threshold = 40.00 26/09/06)



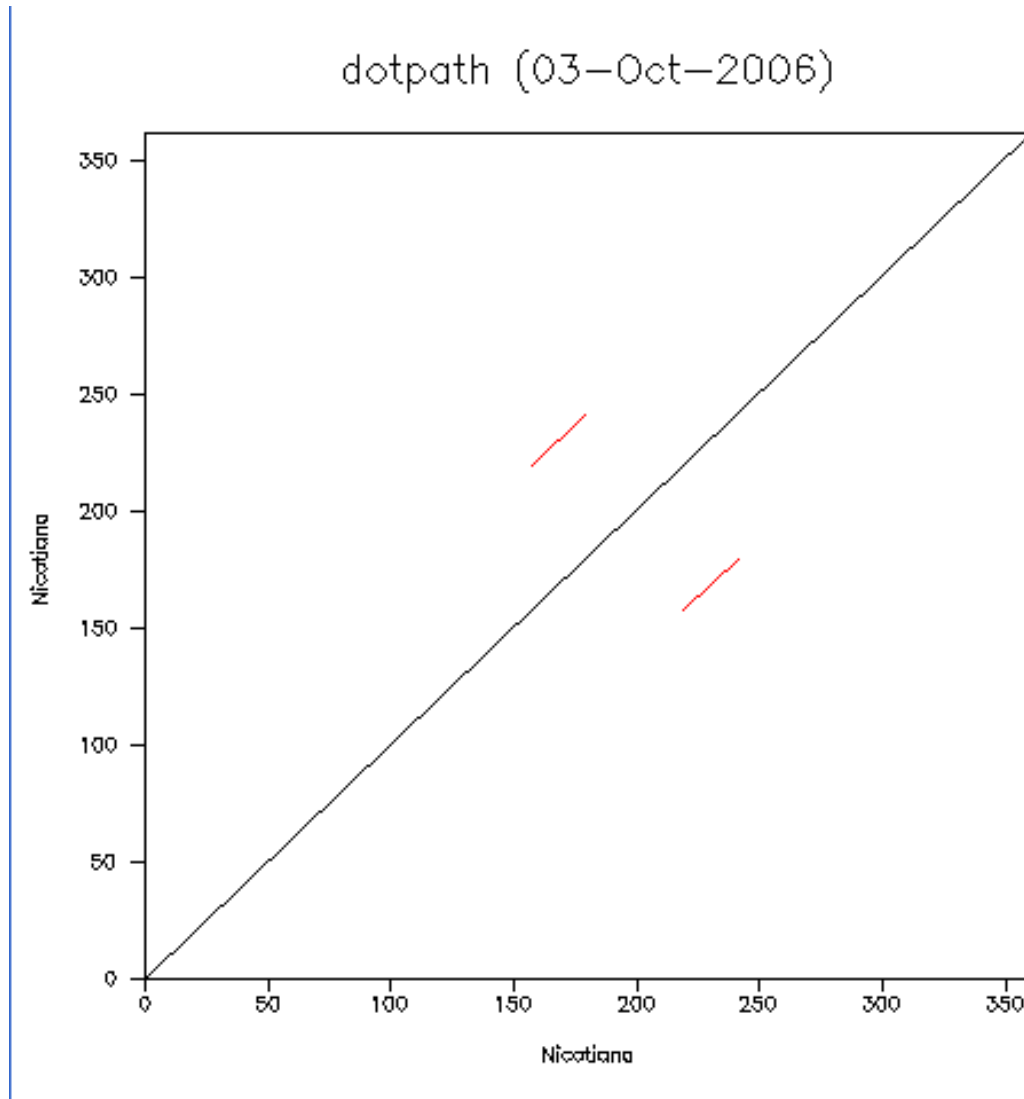
Dotmatcher: X04669 vs X03469

(windowsize = 50, threshold = 80.00 26/09/06)

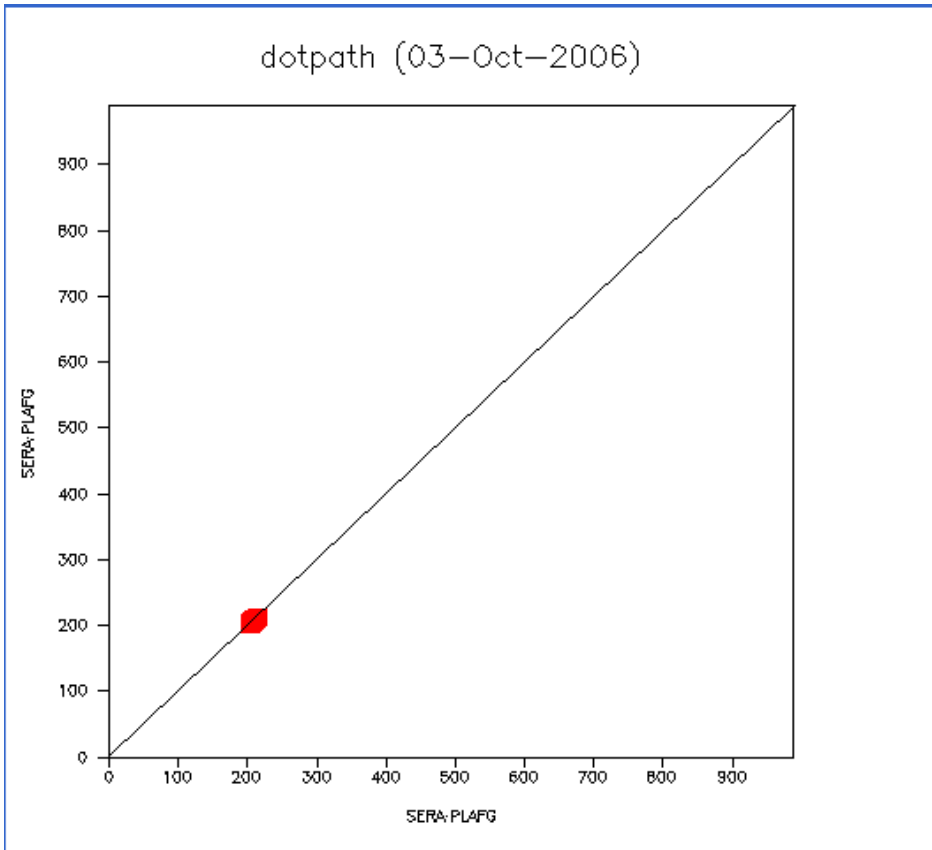


Effet des paramètres
pour filtrer le bruit de
fond

Exemple d'utilisation d'un dotplot : mise en évidence de répétitions



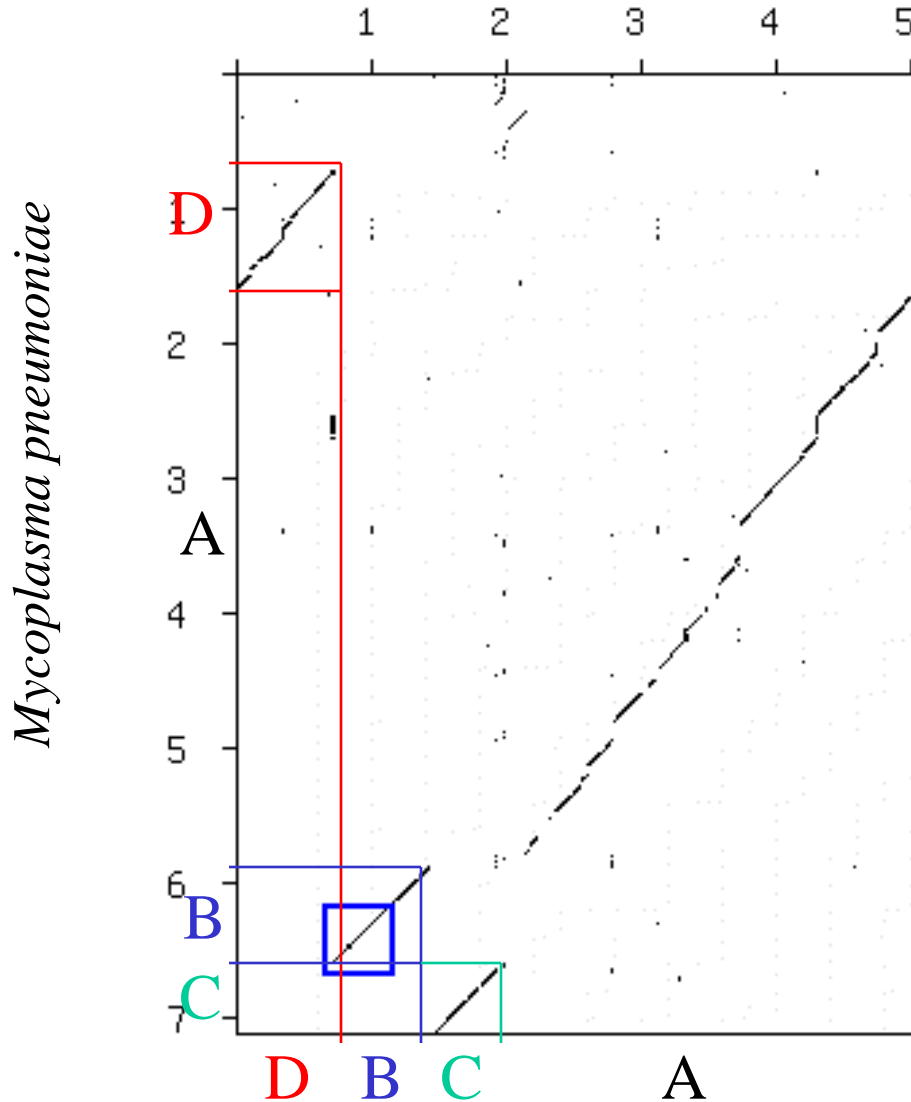
Exemple d'utilisation d'un dotplot : mise en évidence de « structure »



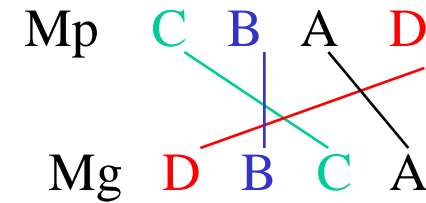
```
>SERA_PLAFG (P13823): Plasmodium falciparum serine-  
repeat antigen protein precursor.  
MKSYISLFFILCVIFNKNVIKCTGESQTGNTGGGQAGNTVGDQAGSTGGSPQG  
STGASQPGSSEPSNPVSSGHSVSTVSVSQTSTSSSEKQDTIQVKSALLKDYMGL  
KVTGPCNENFIMFLVPHIYIDVDTEDTNIELRTTTLKETNNAISFESNSGSLEK  
KKYVLPNNGTTGEQGSSTGTVRGDTEPISSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS  
SSSSSSSSSSSESLPANGPDSPTVKPPRNLQNICETGKNFKLVVYIKENTLI  
IKWKVYGETKDDTENNKVDVRKYLINEKETPFTSILIHAYKEHNGTNLIESKN  
YALGSDIPEKCDTLASNCFLSGNFNIEKCFQCALLVEKENKNDVCYKYLSEDI  
VSNFKEIKAETEDDDEDDYTEYKLTESIDNILVKMFKTNENNDKSELIKLEEV  
DDSLKLELMNYCSLLKDVDTTGTLDNYGMGNEMDIFNNLKRLLIYHSEENINT  
LKNKFRNAAVCLKNVDDWIVNKRGLVLPELNYDLEYFNEHLYNDKNSPEDKDN  
KGKGVVHVDTTLEKEDTLSYDNSDNMFCNKEYCNRLKDENNCISNLQVEDQGN  
CDTSWIFASKYHLETIRCMKGYEPTKISALYVANCYKGEHKDRCDEGSSPMEF  
LQIIEDYGFLPAESNYPYNYVKVGEQCPKVEDHWMNLWDNGKILHNKNEPNSL  
DGKGYTAYESERFHDNMDAFVKIIKTEVMNKGSVIAYIKAENVMGYEFSGKKV  
QNLCGDDTADHAVNIVGYGNYVNSEGEKKSYWIVRNSWGPYWGDEGYFKVDMY  
GPTHCHFNFIHSVVIFNVDLPMNNKTTKKESKIYDYYLKASPEFYHNLYFKNF  
NVGKKNLFSEKEDNENNKKLGNYIIFGQDTAGSGQSGKESNTALESAGTSNE  
VSERVHVYHILKHIKDGKIRMGMRKYIDTQDVNKKHSCTRSYAFNPENYEKCV  
NLCNVNWKTCCEKTSPLGLCLSKLDTNNECYFCYV
```

Exemple de l'alignement de deux génomes bactériens

Mycoplasma genitalium



Mise en évidence de remaniements chromosomiques



Alignement de deux séquences

La matrice de point est un bon outil visuel permettant de détecter les régions conservées entre deux séquences mais elle est insuffisante car on ne peut pas quantifier les similitudes observées

 Calcul d'un score

Alignement déduit du premier dotplot:

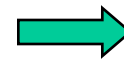
```
AACT--GGTAACCG
AGCTACGGT--CCG
```

Le score de l'alignement doit prendre en compte toutes les positions alignées : identités, substitutions et indels. Chacun de ces événements va recevoir un poids, appelé score élémentaire s_e . Le score de l'alignement correspondra à la somme des scores élémentaires correspondant aux positions alignées.

$$S = \sum_{i=1}^l s_e(i)$$

exemple: $l = 14$

s_e identité = +2
 s_e substitution = -1
 s_e indels = -2



$S = 9$

Où l est le nombre de positions alignées

Algorithme de programmation dynamique

Etant donné un système de score, garantit l'obtention de l'alignement optimal

Hypothèse : l'évolution est parcimonieuse

Signification: pour trouver l'alignement optimal, l'algorithme va rechercher le chemin permettant de passer d'une séquence à l'autre avec le minimum de changements

Deux types de score en fonction des algorithmes :

- score d'homologie: la valeur du score diminue avec le nombre de différences observées entre les deux séquences
- score de distance: la valeur du score augmente avec le nombre de différences observées entre les deux séquences

Exemples de systèmes de scores

	Score d'homologie	Score de distance
identité	+1	0
mismatch	-1	+1
indel	-2	+2

Systeme de score : matrices de substitution

	Score d'homologie	Score de distance
identité	+1	0
mismatch	-1	+1
indel	-2	+2



	A	T	C	G	-
A	+1	-1	-1	-1	-2
T	-1	+1	-1	-1	-2
C	-1	-1	+1	-1	-2
G	-1	-1	-1	+1	-2
-	-2	-2	-2	-2	

	A	T	C	G	-
A	0	+1	+1	+1	+2
T	+1	0	+1	+1	+2
C	+1	+1	0	+1	+2
G	+1	+1	+1	0	+2
-	+2	+2	+2	+2	

Les matrices de substitution permettent de spécifier le coût/score de chaque substitution possible (A avec C, A avec T, ...) de manière indépendante

Algorithme de programmation dynamique

Deux types principaux d'algorithmes d'alignement de deux séquences:

- alignement global (proposé en premier par Needleman and Wunsch). Les séquences vont être alignées sur toutes leurs longueurs (du premier au dernier résidus). Utilisé quand les séquences ont à peu près la même longueur
- alignement local (connu comme l'algorithme de Smith and Waterman). L'algorithme recherche les deux sous-régions les plus conservées entre les deux séquences. Seulement ces deux régions seront alignées.

Algorithme de programmation dynamique

Comment ça marche ?

Prenons comme exemple deux séquences X et Y de longueur M et N :

X = AGTCCATC M=8

Y = TCCGC N=5

Matrice de programmation dynamique :

		→ i							
		A	G	T	C	C	A	T	C
↓ j	T								
	C								
	C								
	G								
	C								
	C								

Le score optimal sera calculé récursivement. Le score calculé pour la cellule (i,j) correspondra au meilleur alignement des résidus x_1, \dots, x_i avec les résidus y_1, \dots, y_j

Algorithme de programmation dynamique

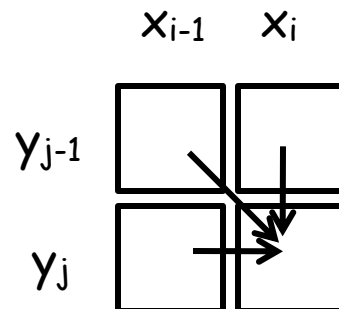
Comment calcule-t-on le score d'une cellule ?

Il y a seulement trois façons d'aligner x_i avec y_j :

- les deux résidus s'alignent (identité ou substitution)
- le résidu x_i est aligné avec un gap (insertion dans la séquence X)
- le résidu y_j est aligné avec un gap (insertion dans la séquence Y)

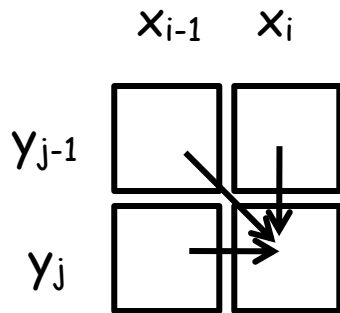
Cela correspond à trois chemins différents pour atteindre la cellule (i, j) :

- on atteint la cellule par la diagonale en venant de la cellule $(i-1, j-1)$
- on atteint la cellule par l'horizontale en venant de la cellule $(i-1, j)$
- on atteint la cellule par la verticale en venant de la cellule $(i, j-1)$



Algorithme de programmation dynamique

L'algorithme doit choisir entre ces trois chemins



Il va utiliser la matrice de substitution choisie

Matrice : méthode score de distance

	A	T	C	G	-
A	0	+1	+1	+1	+2
T	+1	0	+1	+1	+2
C	+1	+1	0	+1	+2
G	+1	+1	+1	0	+2
-	+2	+2	+2	+2	

Matrice : méthode score d'homologie

	A	T	C	G	-
A	+1	-1	-1	-1	-2
T	-1	+1	-1	-1	-2
C	-1	-1	+1	-1	-2
G	-1	-1	-1	+1	-2
-	-2	-2	-2	-2	

S'il utilise un score d'homologie, il choisira le chemin qui maximise la valeur du score $s(i,j)$. S'il utilise un score de distance, il choisira le chemin qui minimise la valeur du score $s(i,j)$.

Algorithme de programmation dynamique

Alignement global:

- Remplissage de la matrice
- Score de l'alignement = score de la dernière cellule en bas à droite (cellule de coordonnées (M,N))
- l'alignement n'est pas encore connu

Détermination de l'alignement :

- construit par une procédure de « retour en arrière » récursive. En partant de la dernière cellule (M,N) , on détermine le chemin utilisé pour l'atteindre et on le traduit en terme d'alignement :
 - cellule atteinte par la diagonale : les deux résidus s'alignent
 - cellule atteinte par l'horizontale : insertion dans séquence horizontale, délétion dans séquence verticale
 - cellule atteinte par la verticale : insertion dans séquence verticale, délétion dans séquence horizontale

On continue le processus, une cellule du chemin optimal à la fois, jusqu'à atteindre la première cellule $(1,1)$. A ce point, l'alignement optimal est complètement reconstruit.

Algorithme de programmation dynamique : alignement global

Algorithme : score de distance

Matrice de substitution utilisée :

	A	T	C	G	-
A	0	+1	+1	+1	+2
T	+1	0	+1	+1	+2
C	+1	+1	0	+1	+2
G	+1	+1	+1	0	+2
-	+2	+2	+2	+2	

Première étape : initialisation de la matrice (cellules bleues)

		A	G	T	C	C	A	T	C
	0	2	4	6	8	10	12	14	16
T	2	1	3	4	6	8	10	12	14
C	4	3	2	4	4	6	8	10	12
C	6	5	4	3	4	4	6	8	10
G	8	7	5	5	4	5	5	7	9
C	10	9	7	6	5	4	6	6	7

Score de l'alignement = 7

```
AGTCCATC
|||||||
--TCC-GC
```

Alignement correspondant au chemin rouge

```
AGTCCATC
|||||||
--TCCG-C
```

Deux alignements de même score : problème de positionnement d'un indel, deux positions possibles.

Alignement correspondant au chemins vert

Algorithme de programmation dynamique : alignement global

Effet des scores de la matrice de substitution sur l'alignement obtenu. Ici, choix de scores pas « réalistes » au niveau biologique. Coût de l'indel moins important que celui de la substitution

	A	T	C	G	-
A	0	+3	+3	+3	+1
T	+3	0	+3	+3	+1
C	+3	+3	0	+3	+1
G	+3	+3	+3	0	+1
-	+1	+1	+1	+1	

Première étape : initialisation de la matrice (cellules bleues)

		A	G	T	C	C	A	T	C
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
T	1	2	3	2	3	4	5	6	7
C	2	3	4	3	2	3	4	5	6
C	3	4	5	4	3	2	3	4	5
G	4	5	4	5	4	3	4	5	6
C	5	6	5	6	5	4	5	6	5

Score de l'alignement = 5

```

AGTC CA - TC
| | | | | | | |
-- TC C - G - C
    
```

Alignement correspondant au chemin rouge

```

AGTC C - ATC
| | | | | | | |
-- TC CG - - C
    
```

Alignement correspondant au chemins vert

Mauvaise pondération, quand l'algorithme doit choisir entre mettre un indel ou une substitution, il choisit l'indel car coût plus faible dans la matrice.

Conséquence : Alignement biologiquement moins « réaliste » que le précédent.

Algorithme de programmation dynamique

Score d'homologie:

$$s(i, j) = \max \begin{cases} s(i-1, j-1) + w(x_i, y_j) \\ s(i-1, j) + \delta \\ s(i, j-1) + \delta \end{cases}$$

Score de distance:

$$s(i, j) = \min \begin{cases} s(i-1, j-1) + w(x_i, y_j) \\ s(i-1, j) + \delta \\ s(i, j-1) + \delta \end{cases}$$

Où :

- $w(x_i, y_j)$ est la valeur dans le système de score correspondant soit à l'identité soit à la substitution (mismatch)
- δ est le poids de l'insertion/délétion (indel)

Algorithme de programmation dynamique

Alignement local:

Deux différences majeures:

- l'alignement peut commencer à n'importe quelles positions, pas forcément les premières
- l'alignement peut se terminer à n'importe quelles positions, pas forcément les dernières

L'algorithme va utiliser un score d'homologie et seule l'identité recevra un poids positif (score élémentaire).

Quand la valeur du score d'une cellule devient négatif, il est remplacé par zéro. Il vaut mieux recommencer un nouvel alignement que de le prolonger. Donc une cellule contenant un zéro indique le début d'un alignement.

Quand on reconstruit l'alignement par la procédure de « retour en arrière », au lieu de partir de la dernière cellule, on choisira celle qui a le score le plus élevé.

Algorithme de programmation dynamique : pondération des indels (gaps)

Utilisation d'une pondération simple pour le calcul de l'exemple

En réalité, pondération affine des gaps (indels) : $\delta = ax + b$

Avec b : coût pour l'ouverture d'un indel (création de l'indel)

a : coût pour l'extension d'un indel (allongement d'un indel déjà ouvert)

x : taille de l'indel

Hypothèse : si lors de l'alignement entre deux séquences, il y a plusieurs indels à placer dans la même région, il est plus probable qu'il y ait eu un seul évènement mutationnel conduisant à la perte/gain simultané des résidus plutôt que plusieurs évènements indépendants.

Donc on donne un coût plus faible à un seul évènement en pondérant moins fortement le coût d'extension de l'indel par rapport au coût de création de l'indel

Alphabet étendu pour les nucléotides

- Problème de séquençage
- Polymorphisme

L'alphabet étendu permet de modéliser l'incertitude sur une séquence : le nucléotide à une position n'est pas clairement identifié ou peut varier.

Symbol	Meaning	Nucleic Acid
A	A	Adenine
C	C	Cytosine
G	G	Guanine
T	T	Thymine
U	U	Uracil
M	A or C	
R	A or G	purine
W	A or T	
S	C or G	
Y	C or T	pyrimidine
K	G or T	
V	A or C or G	not T
H	A or C or T	not G
D	A or G or T	not C
B	C or G or T	not A
X	G or A or T or C	any
N	G or A or T or C	any
.	G or A or T or C	any

Problème :

un mismatch entre A et C
n'a pas le même coût qu'un
mismatch entre A et M !

Matrice pour les nucléotides (alphabet étendu)

NUC4.4 pour BLAST ou EDNAFULL pour EMBOSS

This matrix was created by Todd Lowe 12/10/92

#

Uses ambiguous nucleotide codes, probabilities rounded to
nearest integer

#

Lowest score = -4, Highest score = 5

#

	A	T	G	C	S	W	R	Y	K	M	B	V	H	D	N
A	5	-4	-4	-4	-4	1	1	-4	-4	1	-4	-1	-1	-1	-2
T	-4	5	-4	-4	-4	1	-4	1	1	-4	-1	-4	-1	-1	-2
G	-4	-4	5	-4	1	-4	1	-4	1	-4	-	-	-	-	-
C	-4	-4	-4	5	1	-4	-4	1	-4	1	-	-	-	-	-
S	-4	-4	1	1	-1	-4	-2	-2	-2	-2	-	-	-	-	-
W	1	1	-4	-4	-4	-1	-2	-2	-2	-2	-	-	-	-	-
R	1	-4	1	-4	-2	-2	-1	-4	-2	-2	-	-	-	-	-
Y	-4	1	-4	1	-2	-2	-4	-1	-2	-2	-	-	-	-	-
K	-4	1	1	-4	-2	-2	-2	-2	-1	-4	-	-	-	-	-
M	1	-4	-4	1	-2	-2	-2	-2	-4	-1	-	-	-	-	-
B	-4	-1	-1	-1	-1	-3	-3	-1	-1	-3	-	-	-	-	-
V	-1	-4	-1	-1	-1	-3	-1	-3	-3	-1	-	-	-	-	-
H	-1	-1	-4	-1	-3	-1	-3	-1	-3	-1	-	-	-	-	-
D	-1	-1	-1	-4	-3	-1	-1	-3	-1	-3	-	-	-	-	-
N	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-

Symbol	Meaning	Nucleic Acid
A	A	Adenine
C	C	Cytosine
G	G	Guanine
T	T	Thymine
U	U	Uracil
M	A or C	
R	A or G	purine
W	A or T	
S	C or G	
Y	C or T	pyrimidine
K	G or T	
V	A or C or G	not T
H	A or C or T	not G
D	A or G or T	not C
B	C or G or T	not A
X	G or A or T or C	
N	G or A or T or C	
.	G or A or T or C	