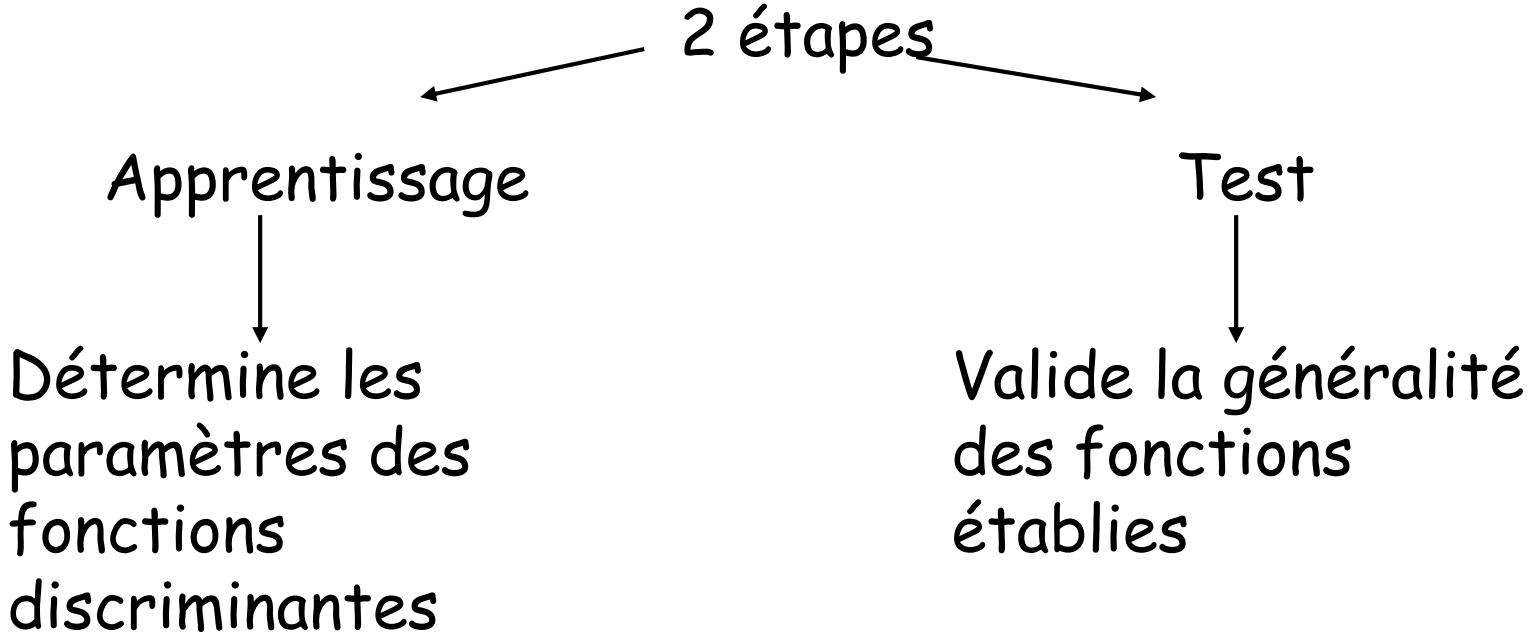
Support de cours
Annotation des génomes
(Partie II)

Méthodes de prédiction: démarche générale

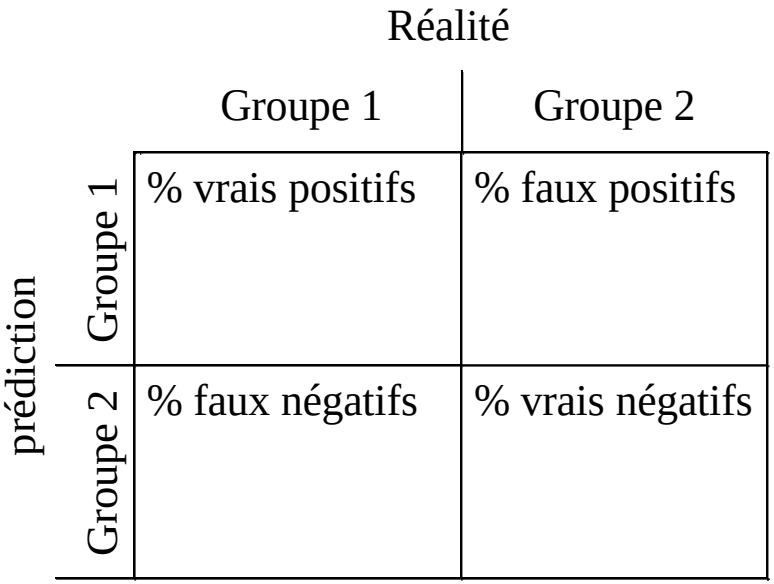
- Définir clairement l'objectif.
- Choisir les critères.
- Choisir le type d'approche :
  - sans système de référence,
  - avec système de référence.



Mesure du pouvoir prédictif d'une méthode

4 paramètres importants :

- pourcentage de vrais positifs (VP, True positive)
- pourcentage de faux positifs (FP, False positive)
- pourcentage de vrais négatifs (VN, True negative)
- pourcentage de faux négatifs (FN, False negative)



Groupe 1 : exemples
Groupe 2 : contre-exemples

Mesure du pouvoir prédictif d'une méthode

Idéal: prédire le maximum d'exemples (max VP) avec un minimum d'erreurs (min FP). Mais valeurs non indépendantes donc impossible.
Solution un compromis:

• on maximise le % de VP (donc minimise le % de FN) souvent par utilisation de critères moins stricts même si cela entraîne l'augmentation du % de FP. L'élimination des FP se fait par un autre traitement informatique ultérieur. On dit que l'on privilégie la sensiblilité de la méthode

• inversement, on minimise le % de FP même si cela conduit à ne pas détecter certaines séquences d'intérêts (donc plus grand % de FN). On dit que l'on privilégie la spécificité de la méthode.

Sensibilité = VP/(VP+FN) sensibility an anglais

Spécificité = VP/(VP+FP) specificity en anglais (ou VN/VN+FP 2 définitions)

précision = (VP+VN)/(VP+VN+FP+FN) accuracy en anglais

Annotation d'un génome

Identification des gènes codant pour :

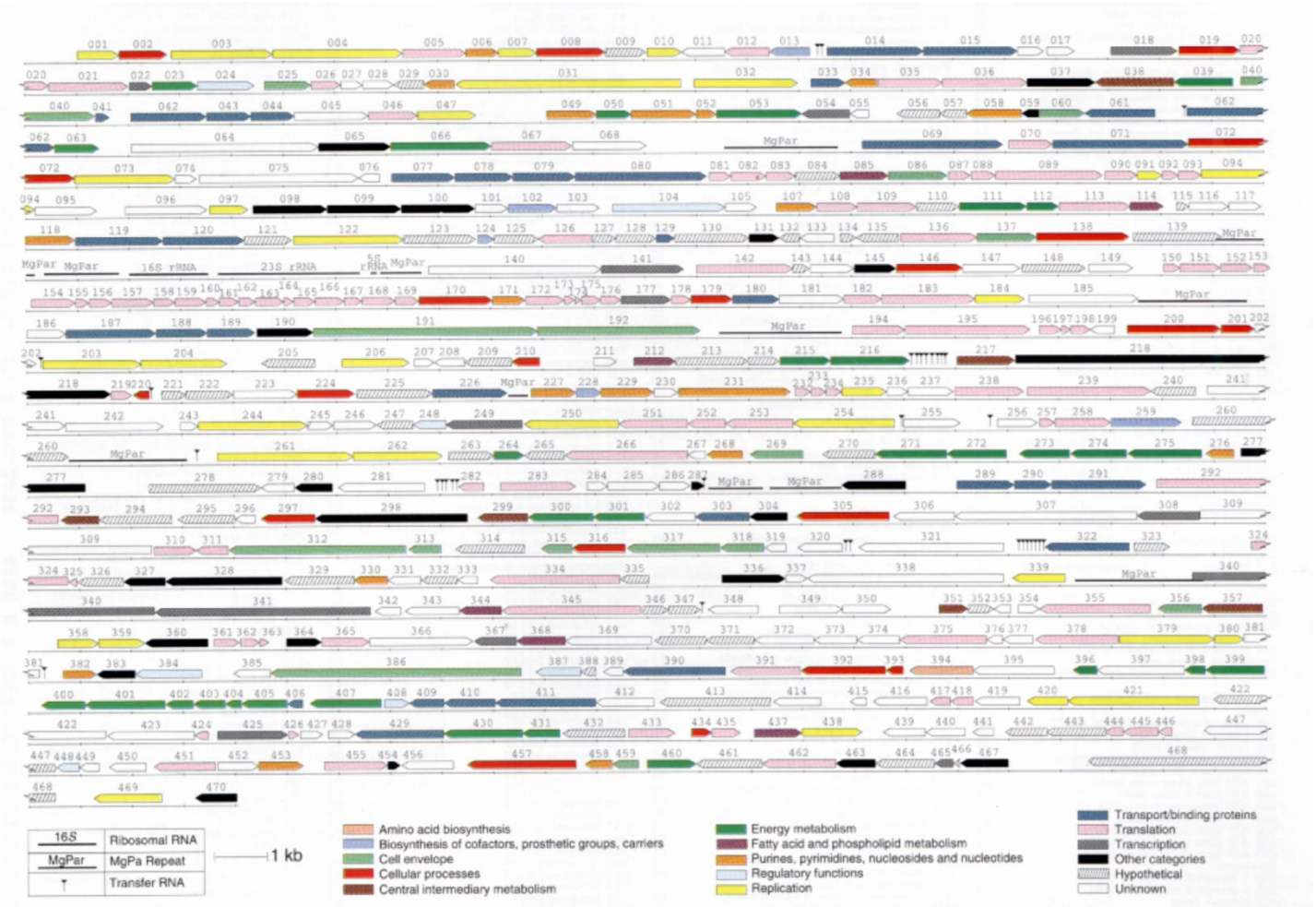
- les ARNr
- les ARNt
- les protéines

Identification des unités de transcription (promoteur et terminateur)

Identification des unités de traduction

Pour les gènes codant pour les protéines, prédiction fonctionnelle par recherche de similarité de séquences (Blast) et classification en grandes classes fonctionnelles (ex: biosynthèse des acides aminés, métabolisme énergétique….)

Exemple d'annotation d'un génome
Mycoplasma genitalium



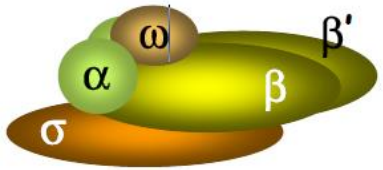
Recherche des régions codant pour des protéines chez les procaryotes

- 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)

La transcription

3 étapes :

- l'initiation : reconnaissance de séquences spécifiques sur l'ADN : le promoteur
- l'élongation
- la terminaison



ARN polymérase procaryote

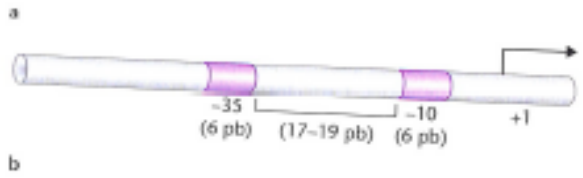
Transcription des gènes codant pour des protéines

Chez les bactéries :

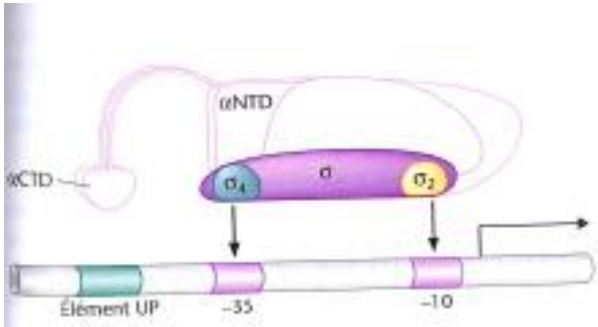
L'initiation :

Le facteur σ de la RNA polymérase reconnait deux régions constituant le promoteur : la région -35 et la région -10 (TATAAT box) séparées par une région de taille variable (17 à 19 pb). Le promoteur se trouve en amont du début du (des gènes).

Promoteurs bactériens



Recrutement du cœur de l'ARN polymérase au promoteur

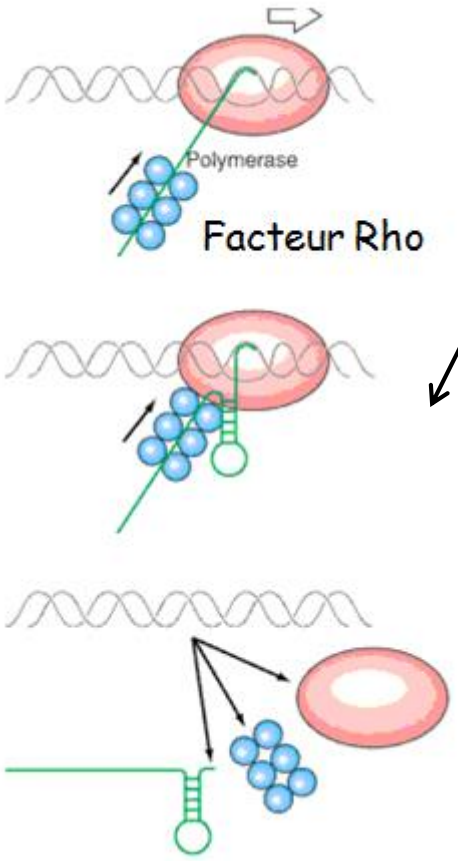


La transcription

Transcription des gènes codant pour des protéines

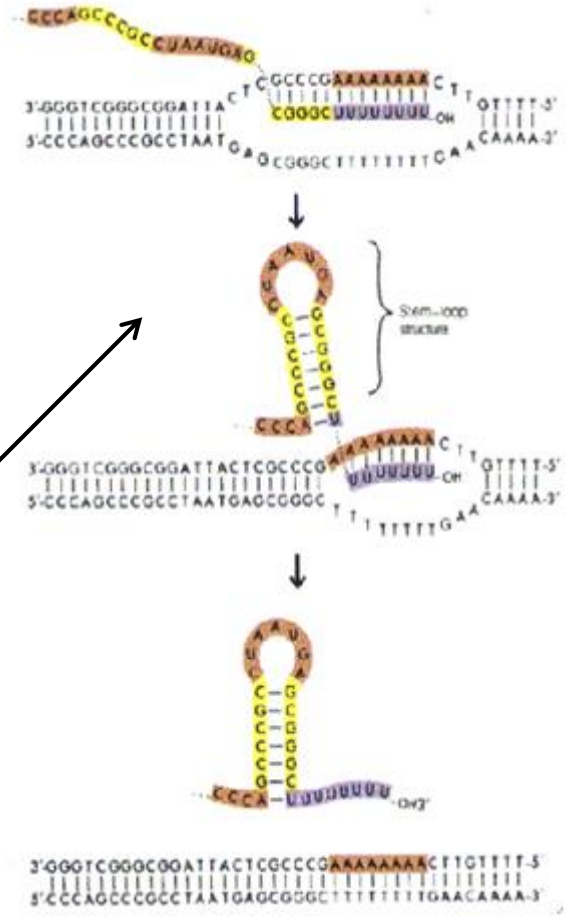
Chez les bactéries :

La terminaison : deux types de terminateurs Rho-dépendants et Rho-indépendants



Rho-dépendant : L'ATPase Rho, une protéine qui se déplace le long du transcrit naissant jusqu'à rattraper la polymérase, stimule la terminaison de la transcription

Rho-indépendant : deux éléments une courte séquence répétée inversée suivie d'une série d'environ 8 paires de bases A-T. Le transcrit est capable de former une structure secondaire tige-boucle qui provoque la désorganisation de l'ARN polymérase. La suite du transcrit est faiblement apparié au brin ADN ce qui conduit à sa libération.



La traduction

4 composants principaux font partie de la machinerie de traduction :

- l'ARN messager (ARNm) contenant la séquence codant la protéine ainsi que des régions de reconnaissance pour l'initiation et la terminaison de la traduction.

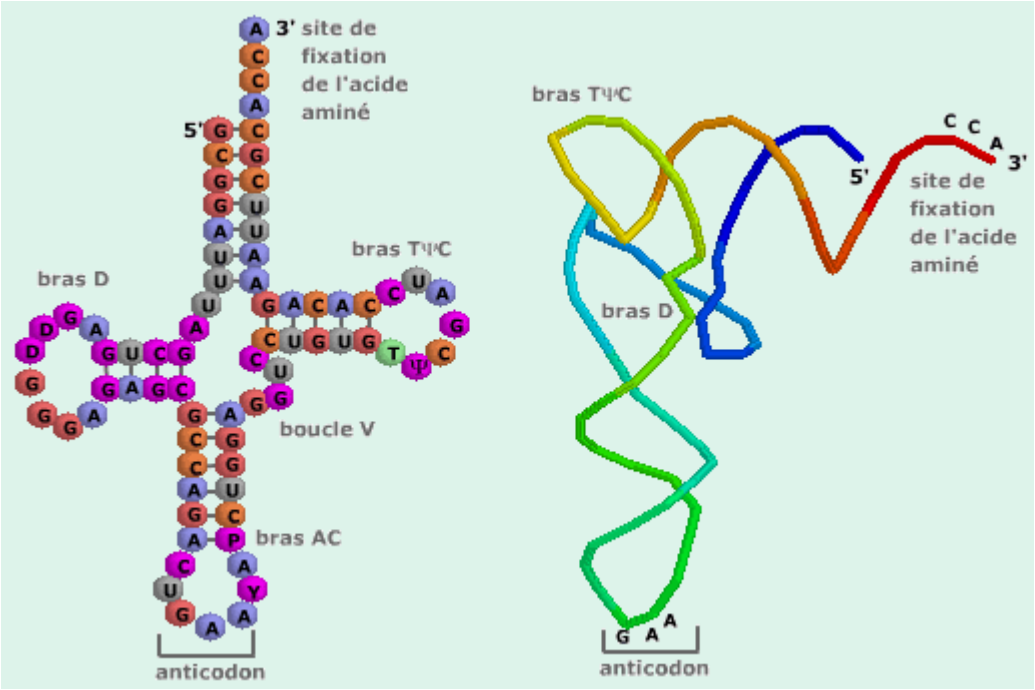
- les ARN de transfert (ARNt) qui une fois chargé de leur acide aminé (processus réalisé par les aminocyl-ARNt- synthétases) vont mettre en relation un codon et un acide aminé.

- les aminocyl-ARNt- synthétases permettant donc de charger l'acide aminé sur l'ARNt

- le ribosome : gros complexe formé de deux sous-unités (une grande et une petite) chacune constituées par des protéines ribosomiques et un ou plusieurs ARN ribosomique (ARNr).

La traduction : les ARNt

Ce sont de petites molécules d'ARN, d'une taille variant entre 70 et 100 nucléotides. Ils se replient en une structure secondaire caractéristique appelée feuille de trèfle et présente une structure tridimensionnelle en forme de L.



Structures secondaire et tertiaire d'un ARNt

L'anticodon s'apparie avec le codon de l'ARNm. L'ARNt chargé portant à son extrémité 3' l'acide aminé correspondant permet donc de faire la correspondance codon-acide aminé. Après reconnaissance du codon, l'acide aminé est transféré à la chaîne peptidique en croissance. Ce processus est réalisé à l'intérieur du ribosome.

La traduction : les ribosomes

Le ribosome : une usine de synthèse des protéines.

Il contient 3 sites de fixation pour les ARNt :

- le site A lie les ARNt chargés de leur acide aminé (ARNt aminoacylés)
- le site P lie les ARNt liés à la chaîne peptidique en cours de synthèse (peptidyl ARNt)
- le site E lie les ARNt libres (déchargé et décroché la chaîne peptidique) avant leur sortie du ribosome (E pour « exit »).

La traduction comprend également 3 étapes :

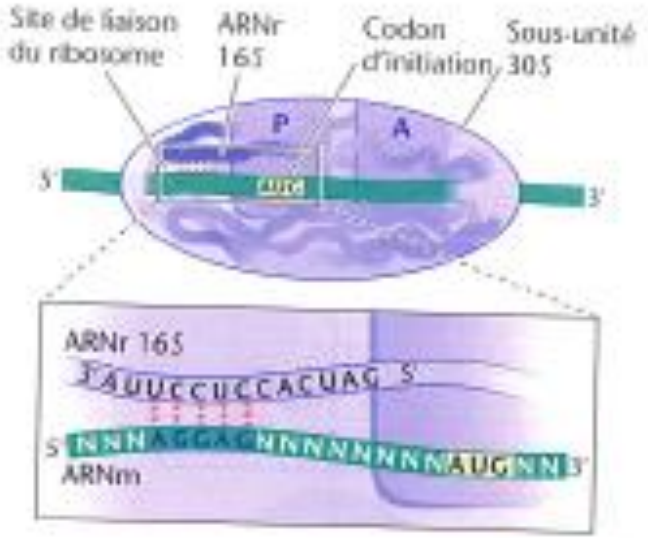
- l'initiation qui charge le ribosome sur l'ARNm
- l'élongation qui conduit à la synthèse de la protéine
- la terminaison conduisant à la dissociation du ribosome de l'ARNm

La traduction

L'initiation :

- chez les bactéries :

La petite sous-unité est chargée en premier sur l'ARNm, ceci grâce à un appariement des bases d'une région de l'ARNr 16S avec le RBS. Pour un RBS idéalement situé, le codon initiateur (AUG, GUG ou UUG) se trouve situé au site P du ribosome (et non au A comme pour l'élongation). Ceci requiert un ARNt particulier, appelé ARNt initiateur. Cet ARNt ne porte ni la méthionine, ni la valine, ni la leucine comme acide aminé, mais une méthionine modifiée (N-formylméthionine) d'où son nom ARNt fMet.
Quand l'ARNt fMet s'apparient au site P, il y a un changement de conformation de la petite sous-unité qui fait que la grande sous-unité peut se lier à elle pour former le ribosome 70S.

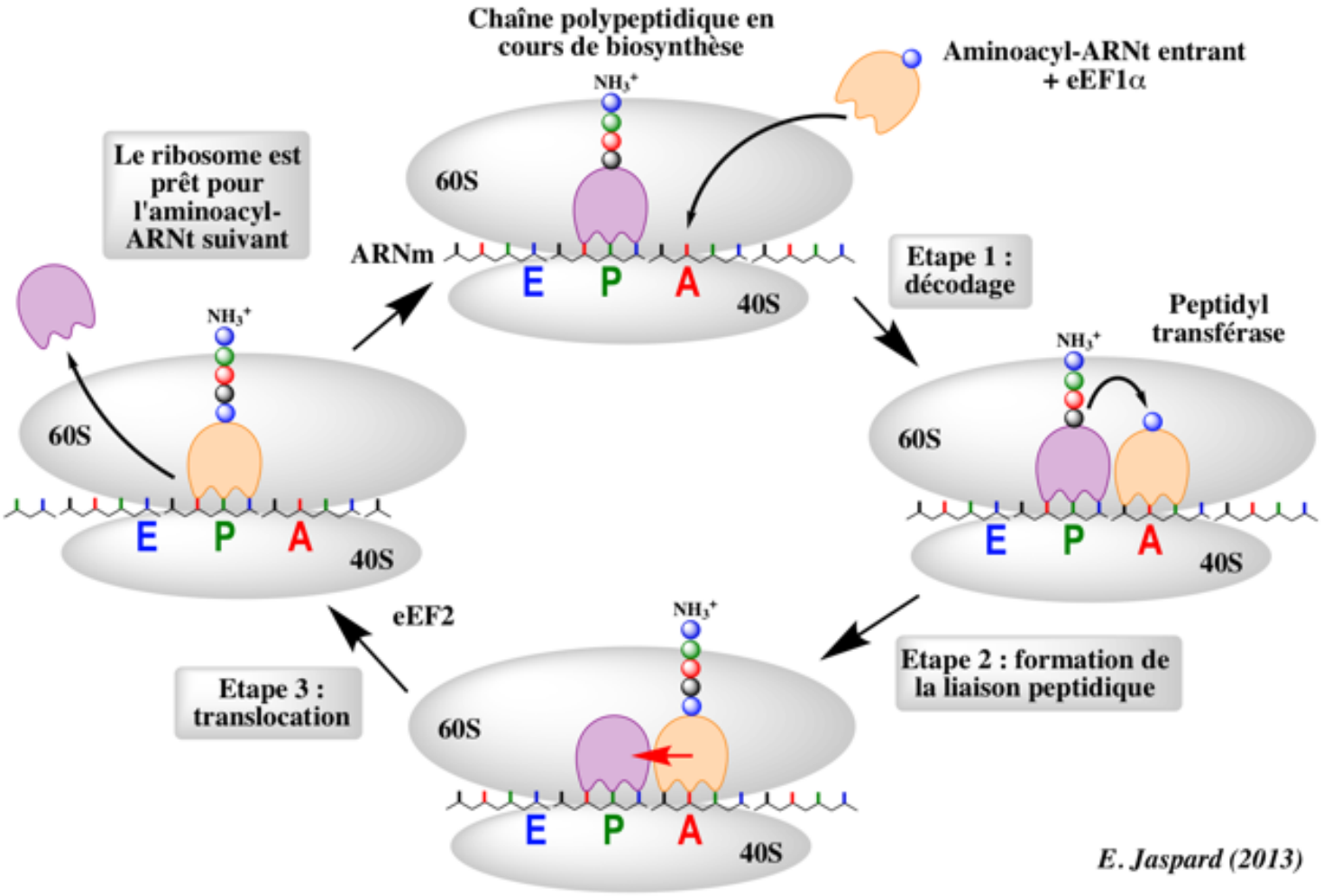


Interaction RBS et ARNr 16S pour positionnement du codon AUG au site P

RBS = Ribosome Binding Site

La traduction

L'elongation :



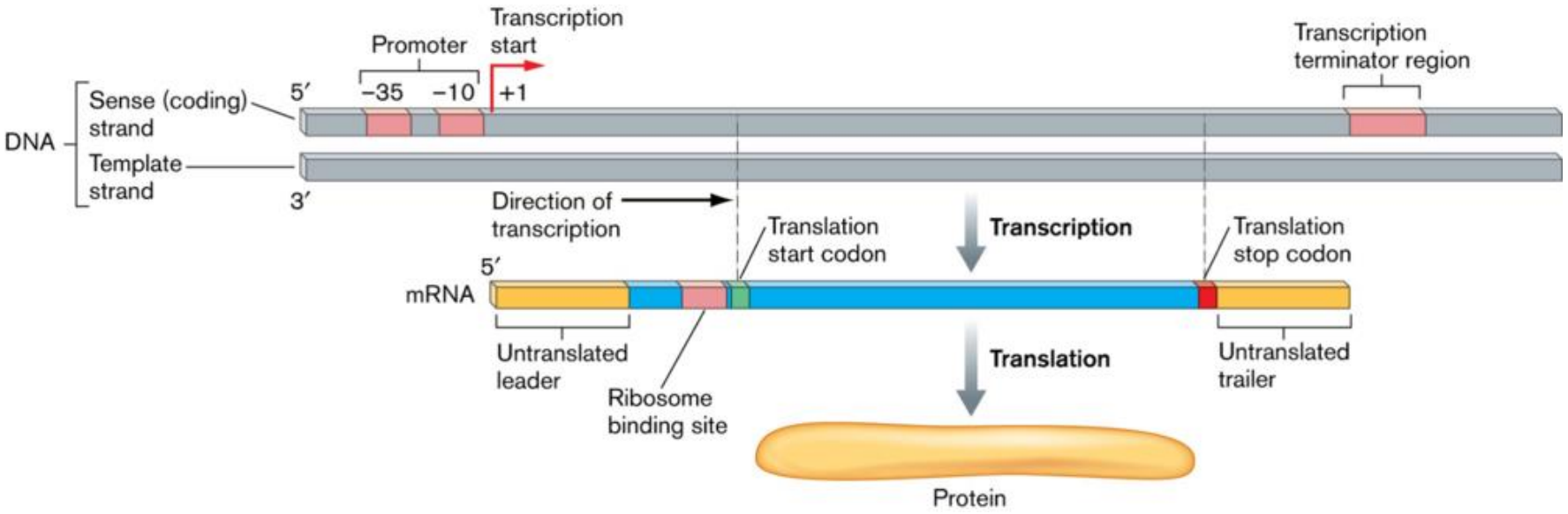
La traduction

La terminaison :

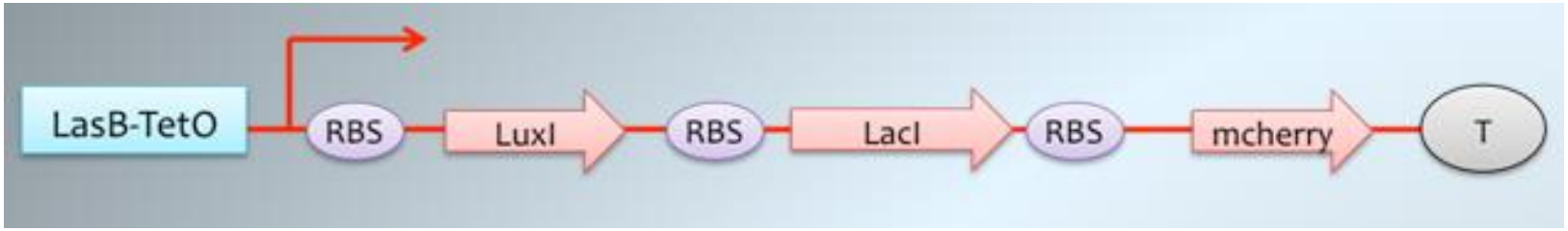
La traduction s'arrête quand le ribosome rencontre un codon stop au site A.

Ce codon stop est reconnu par un des deux facteurs de terminaison de classe 1 chez les procaryotes. Ce facteur stimule l'hydrolyse du polypeptide et du peptidyl-ARNt, libérant ainsi le peptide complet.

Structure d'un gène bactérien

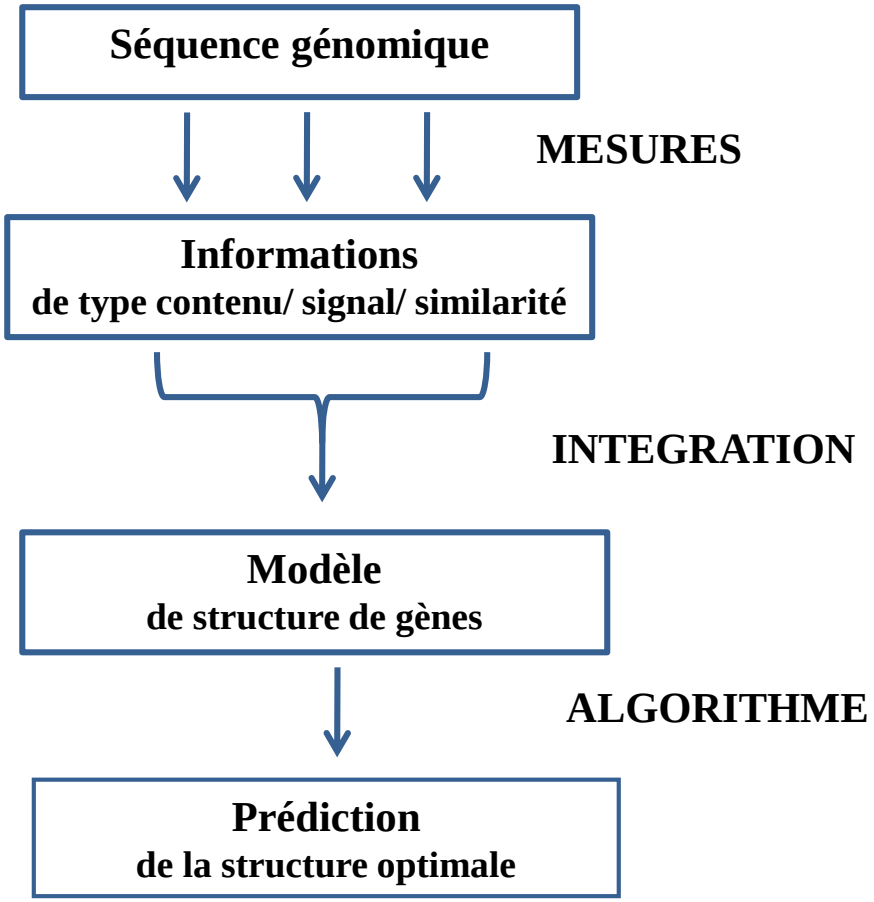


Les gènes peuvent être co-transcrits. Ils sont organisés en unité de transcription, appelée opéron entre un promoteur et un terminateur de transcription.



Recherche des régions codant pour des protéines

Fonctionnement schématique d'un logiciel de prédiction de gènes



Une méthode simple: 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 :

Alors qu'une ORF est normalement définie entre deux codons stop

stop XXXXXXXXXXXXXXXXX stop

n codons

Dans ORF Finder, elle est définie entre un codon start et un codon stop

ATG XXXXXXXXXXXXXXXXX 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, donc lors de l'annotation d'un génome, dans un premier temps on ne retient que les ORFs de taille supérieure ou égale à 100 codons).

>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*

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

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

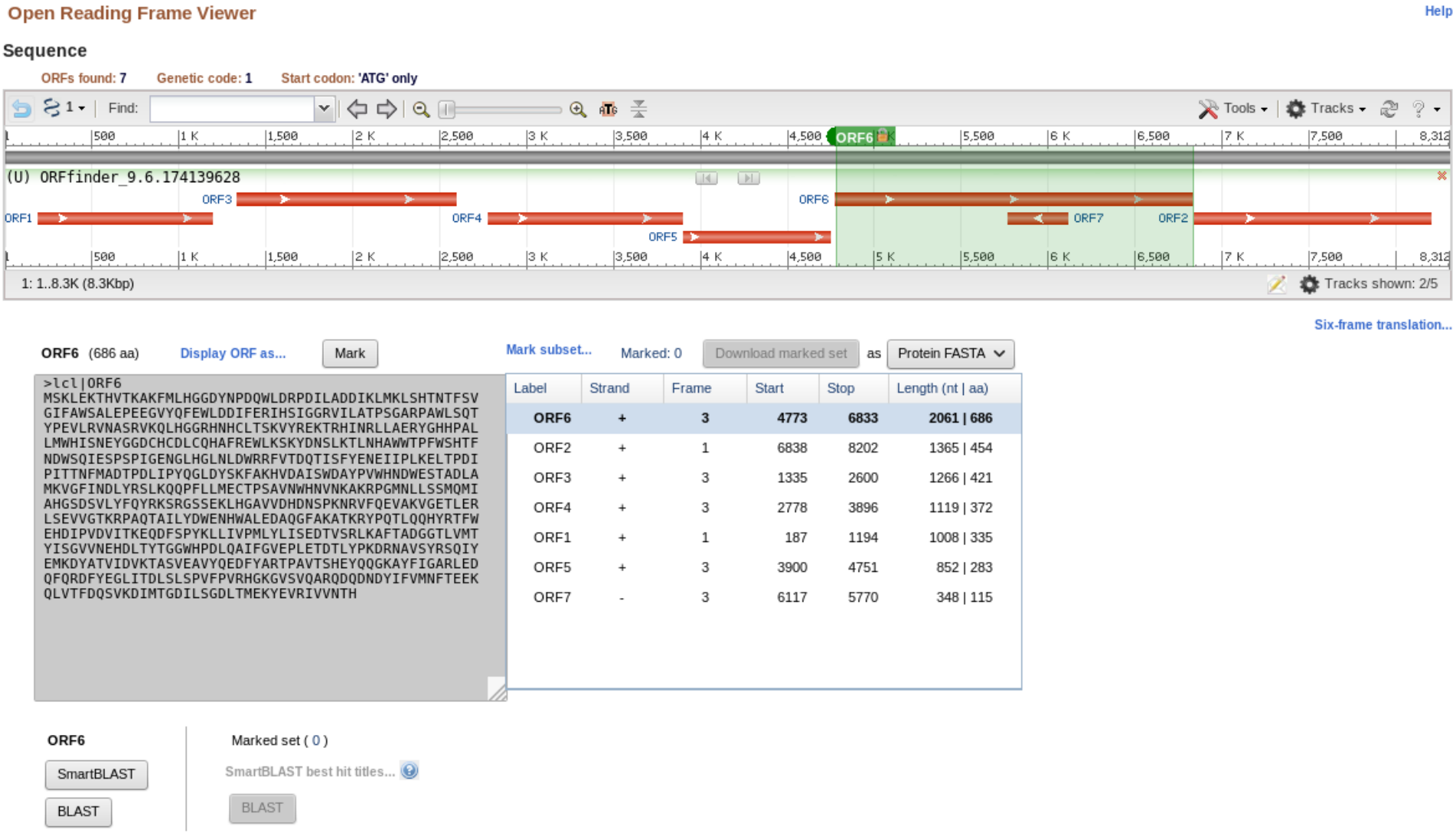
Ignore nested ORFs:

Start Search / Clear

Submit Clear

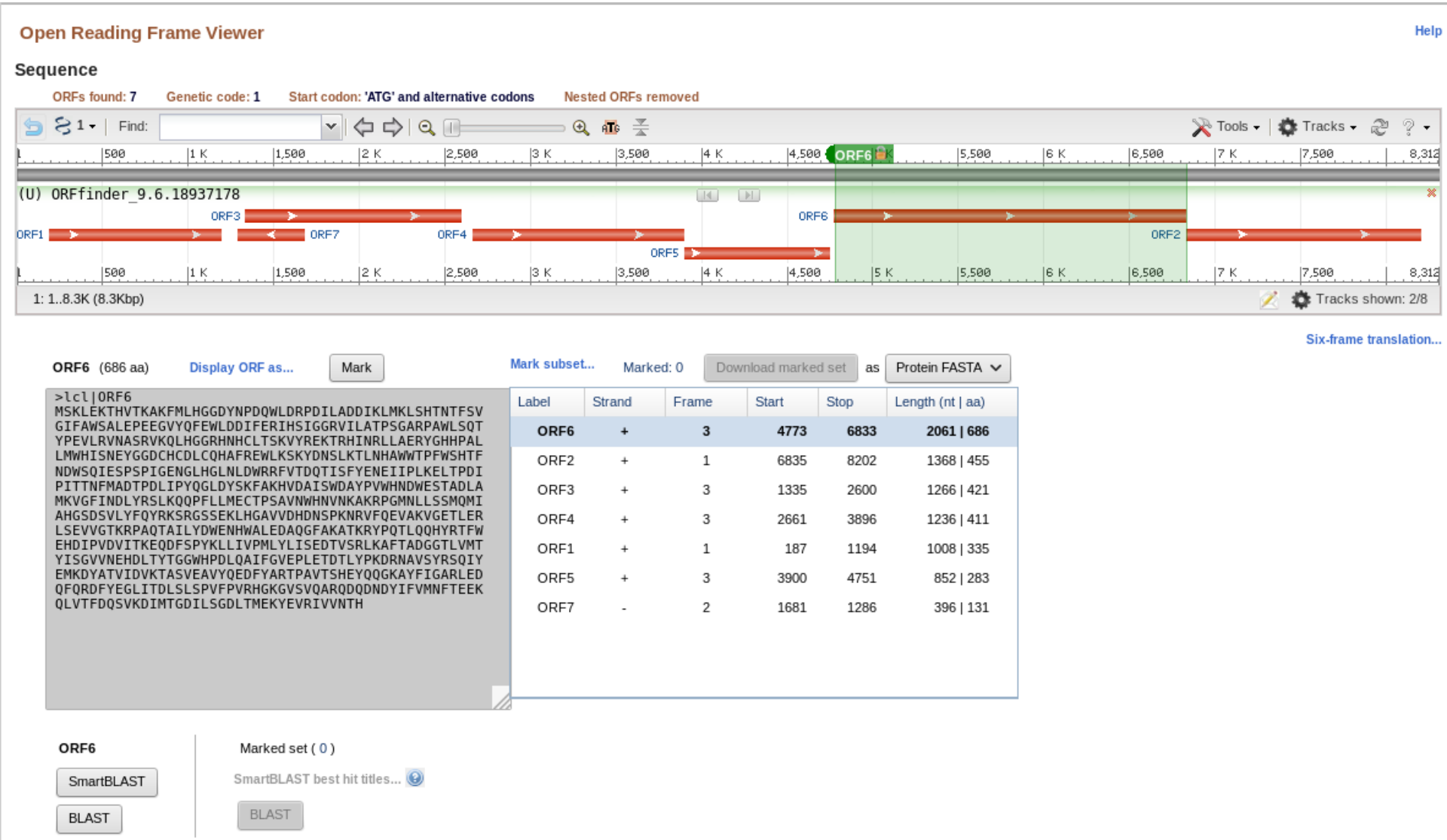
Résultat de ORFfinder : ORFs de plus de 300 pb

Options : - ATG only
- Ignore nested ORF pas coché



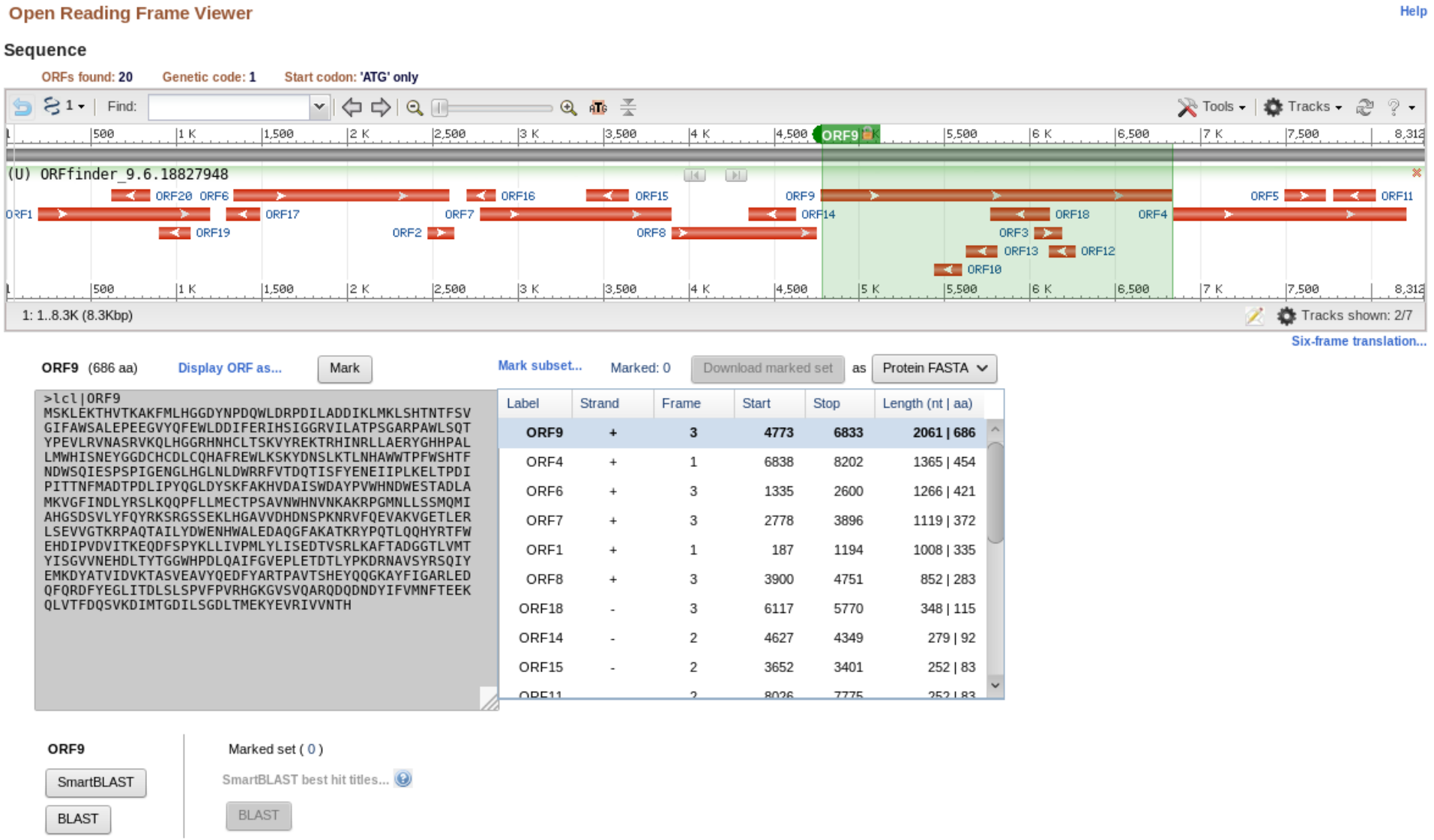
Résultat de ORFfinder : ORFs de plus de 300 pb

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



Résultat de ORFfinder : ORFs de plus de 150 pb

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



Les codons initiateurs alternatifs chez les procaryotes sont GTG et TTG (chez *B. subtilis* GTG 13%, TTG 9%)

Limites d'ORFfinder :

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

Traitement de l'information de type contenu

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 ou de la région génomique (isochores chez les vertébrés) (riche ou pauvre en C+G)

    - 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.

Exemples d'usage des codons chez les procaryotes

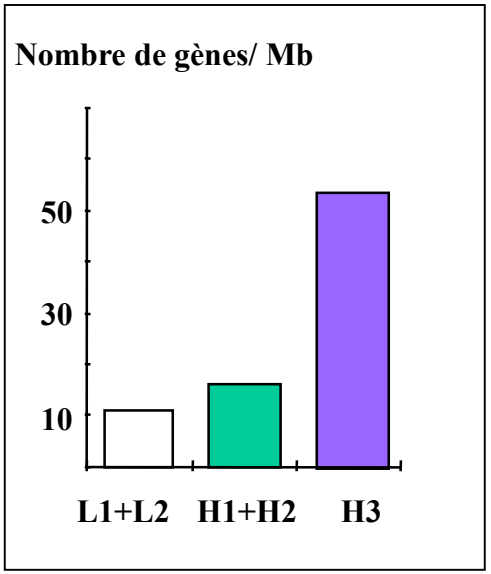
Espèce	GC% codant	GC% 1ère pos. codon	GC% 2ème pos. codon	GC% 3ème pos. codon
Synechocystis sp.	48.25	55.82	39.74	49.19
Streptomyces coelicolor	72.30	72.67	51.39	92.83
Escherichia coli 0157:H7	51.54	58.44	41	55.17
Bacillus subtilis	44.36	52.10	36.08	44.91

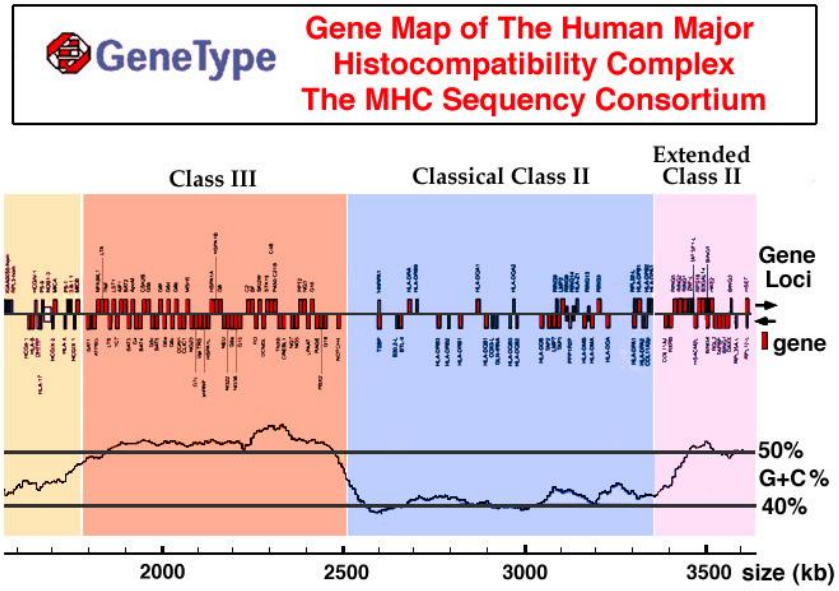
A.A.	codon	% S. sp. (cyano)	% S. coelicolor	% E. coli	% B. subtilis
Gly	GGG	0.24	0.19	0.164	0.16
Gly	GGA	0.18	0.075	0.123	0.315
Gly	GGT	0.27	0.096	0.331	0.187
Gly	GGC	0.31	0.64	0.382	0.337
Glu	GAG	0.264	0.846	0.325	0.32
Glu	GAA	0.736	0.154	0.675	0.68
Asp	GAT	0.646	0.05	0.631	0.636
Asp	GAC	0.354	0.95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

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

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 suivantes seront abordées :

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

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:

- des bases précédant cette position
- de sa localisation dans le codon

Modélisé par

modèle de Markov homogène pour les régions non-codantes.
modèle de Markov non-homogène pour les séquences codantes.

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).

Modèle de Markov

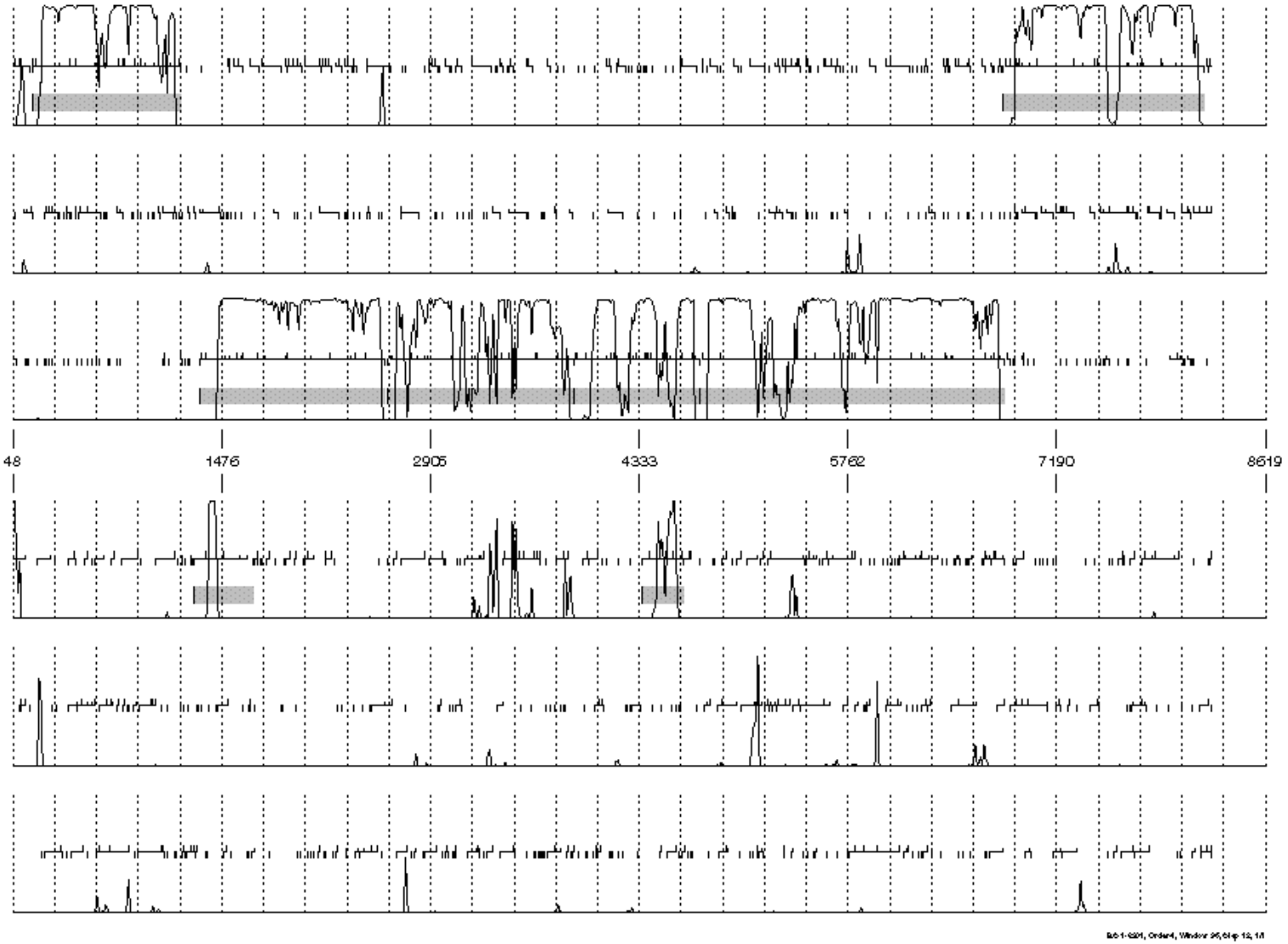
Un modèle de Markov d'ordre *k* appliqué aux séquences ADN est entièrement défini par les deux probabilités suivantes :

$P_0(w_1^k)$ ⟶ 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 ide 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*

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



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

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

GENEMARK PREDICTIONS

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	0.80	0.99	**-> ORF Finder**
202	1194	direct	fr 1	0.81	0.89	
367	1194	direct	fr 1	0.82	0.29	
436	1194	direct	fr 1	0.81	0.03	
481	1194	direct	fr 1	0.80	0.02	
1335	2600	direct	fr 3	0.85	0.01	**-> ORF Finder**
1341	2600	direct	fr 3	0.85	0.00	
1365	2600	direct	fr 3	0.87	0.08	
1500	2600	direct	fr 3	0.93	0.07	
1527	2600	direct	fr 3	0.93	0.00	
1581	2600	direct	fr 3	0.92	0.03	
2631	3896	direct	fr 3	0.73	0.67	
2640	3896	direct	fr 3	0.73	0.77	
2778	3896	direct	fr 3	0.76	0.53	**-> ORF Finder**
2814	3896	direct	fr 3	0.75	0.02	
2868	3896	direct	fr 3	0.74	0.40	
3900	4751	direct	fr 3	0.65	0.17	**-> ORF Finder**
3912	4751	direct	fr 3	0.66	0.02	
3966	4751	direct	fr 3	0.71	0.34	
4116	4751	direct	fr 3	0.71	0.11	
4137	4751	direct	fr 3	0.70	0.02	
4158	4751	direct	fr 3	0.69	0.06	
4770	6833	direct	fr 3	0.85	0.76	
4773	6833	direct	fr 3	0.85	0.82	**-> ORF Finder**
4815	6833	direct	fr 3	0.86	0.12	
4890	6833	direct	fr 3	0.85	0.05	
5226	6833	direct	fr 3	0.85	0.01	
6838	8202	direct	fr 1	0.79	0.03	**-> ORF Finder**
6877	8202	direct	fr 1	0.82	0.86	
6913	8202	direct	fr 1	0.83	0.67	
6925	8202	direct	fr 1	0.83	0.01	
6931	8202	direct	fr 1	0.83	0.01	
6952	8202	direct	fr 1	0.84	0.00	
7009	8202	direct	fr 1	0.85	0.63	
7057	8202	direct	fr 1	0.86	0.28	

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 certains kmers fréquents même avec un modèle de markov d'ordre élevé des estimations précises peuvent être obtenues.

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

Modèle de Markov Caché (HMM hidden Markov Model)

En biologie on recherche souvent à mettre le bon label sur chaque résidu d'une séquence.
Par exemple :

- définir si un résidu appartient à un exon, un intron ou à une région intergénique.
- déterminer si une nouvelle séquence protéique appartient à une famille de protéines donnée
- etc…

Les modèles de Markov cachés (HMM) permettent de réaliser des modèles probabilistes d'une suite de problèmes linéaires labellisés.

Ils sont utilisés pour :

- déterminer la structure en gènes d'un fragment génomique
- réaliser des alignements multiples
- déterminer des profils
- identifier des sites de régulations
- etc…

Modèle de Markov Caché (HMM hidden Markov Model)

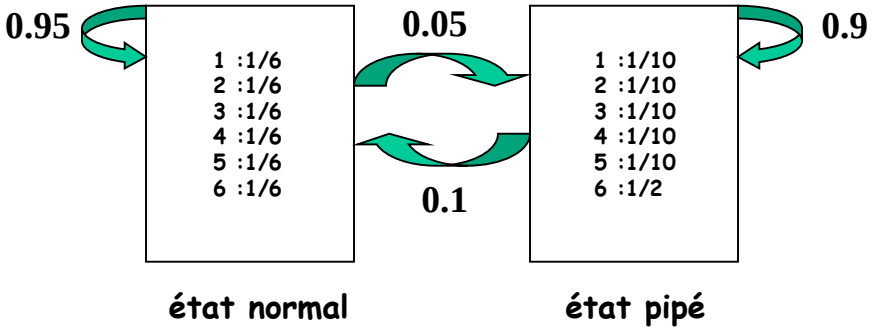
Un exemple simple non biologique

Première étape : modéliser le problème en terme d'états

Exemple simple : dans un casino, ils utilisent la plupart du temps un dé normal, mais occasionnellement aussi un dé pipé. Le dé pipé a une probabilité de 0.5 pour le 6 et de 0.1 pour les autres chiffres.
La probabilité de changer du dé normal au dé pipé avant chaque jet est de 0.05, et celle de passer du dé pipé au dé normal est de 0.1.
Le changement de dé suit donc un processus de Markov.
Dans chaque état du processus, le résultat d'un jet de dé est associé à des probabilités différentes.

L'ensemble du processus décrit peut être modélisé par un HMM :

On a deux états : dé normal, dé pipé



Qu'est ce qui est caché :

Observation : résultat du jet de dé
On ne sait pas quel dé est utilisé

L'état de la séquence d'observation est caché

Modèle de Markov Caché (HMM hidden Markov Model)

Le modèle est décrit par deux ensembles de probabilités :

- probabilités de passer d'un état à l'autre : probabilités de transition
- probabilités d'observer un symbole pour un état donné : probabilités d'émission

A ceci s'ajoute le choix de l'état initial.

Un HMM est donc défini par :

- Un vecteur de probabilités initiales $\Pi = (\pi_i)$
- un vecteur de probabilités de transition $A = (a_{ij})$
  (probabilité de passer de l'état i à l'état j)
- une matrice de probabilités d'émission $E = (e_i(b))$
  (probabilité que le symbole b soit observé dans l'état i)

La probabilité d'une séquence d'observation x et d'une séquence d'état (chemin) π est donnée par :

$$P(x,\pi) = a_{0\pi_1} \prod_{i=1}^{L} e_{\pi_i}(x_i) a_{\pi_i \pi_{i+1}}$$

Problème : en général on ne connaît pas π. On cherche à l'estimer.

Les GHMM : Generalized Hidden Markov Model

Les HMM vu précédemment ne permettent pas de prendre en compte la longueur des régions à identifier (CDS, exons, introns etc.).
L'idée est que la probabilité d'observation d'une suite de nucléotides d'un même état n'est pas uniquement le produit des probabilités associées à chaque nucléotides. Elle dépend aussi de la longueur de cette suite, c'est-à-dire que la probabilité qu'un segment de séquence soit dans un état donné est aussi fonction de sa longueur.

Pour pouvoir prendre cela en compte, il faut recourir à des GHMM.

Un GHMM est défini par :

- un ensemble fini d'états $Q = \{q_0, q_1, \ldots, q_m\}$
- Un vecteur de probabilités initiales $\Pi = (\pi_i)$
- un vecteur de probabilités de transition $A = (a_{ij})$
- une matrice de probabilités d'émission
- une distribution des longueurs (duration)

GHMM et HMM : principales différences

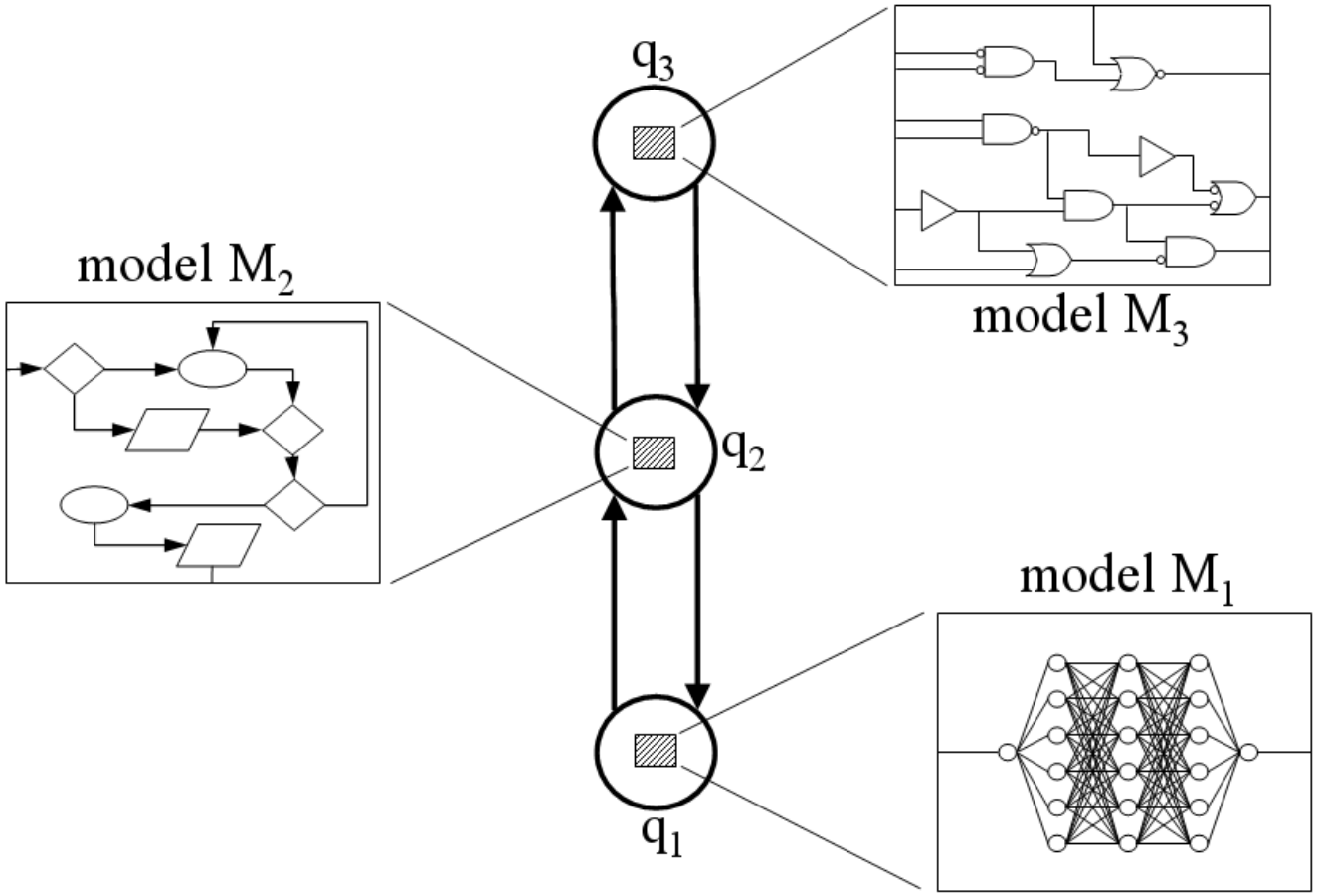
• Chaque état émet maintenant une sous séquence et non plus juste un symbole

• Les longueurs sont maintenant explicitement modélisées

• Les probabilités d'émission peuvent maintenant être obtenues par n'importe quel modèle probabiliste (des modèles différents peuvent être utilisés suivant l'état à identifier)

• Cela tend à réduire le nombre d'état, donc plus simple et plus facile à modifier

GHMM



Avantages :
* abstraction des sous-modèles
* architecture plus simple
* modélisation de la durée des états

Désavantage :
* complexité du décodage

modèle de genMark.hmm : « GHMM »

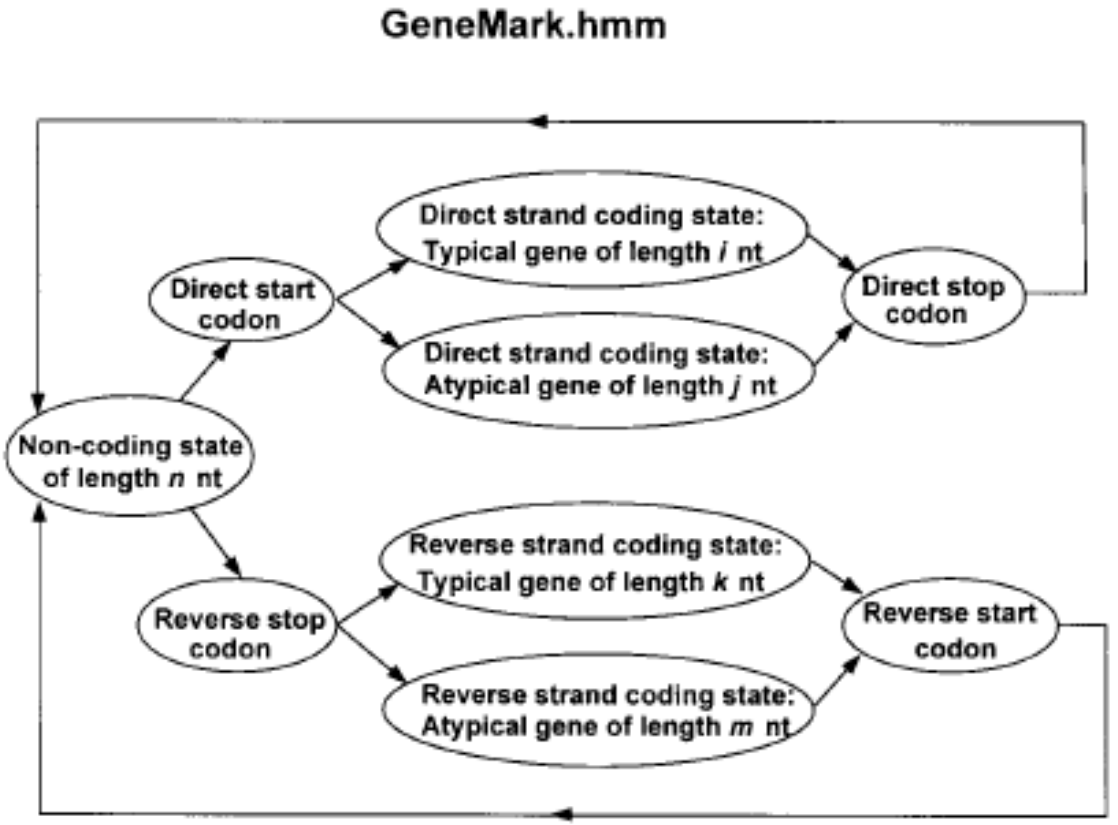


Figure 1. Hidden Markov model of a prokaryotic nucleotide sequence used in the GeneMark.hmm algorithm. The hidden states of the model are represented as ovals in the figure, and arrows correspond to allowed transitions between the states.

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

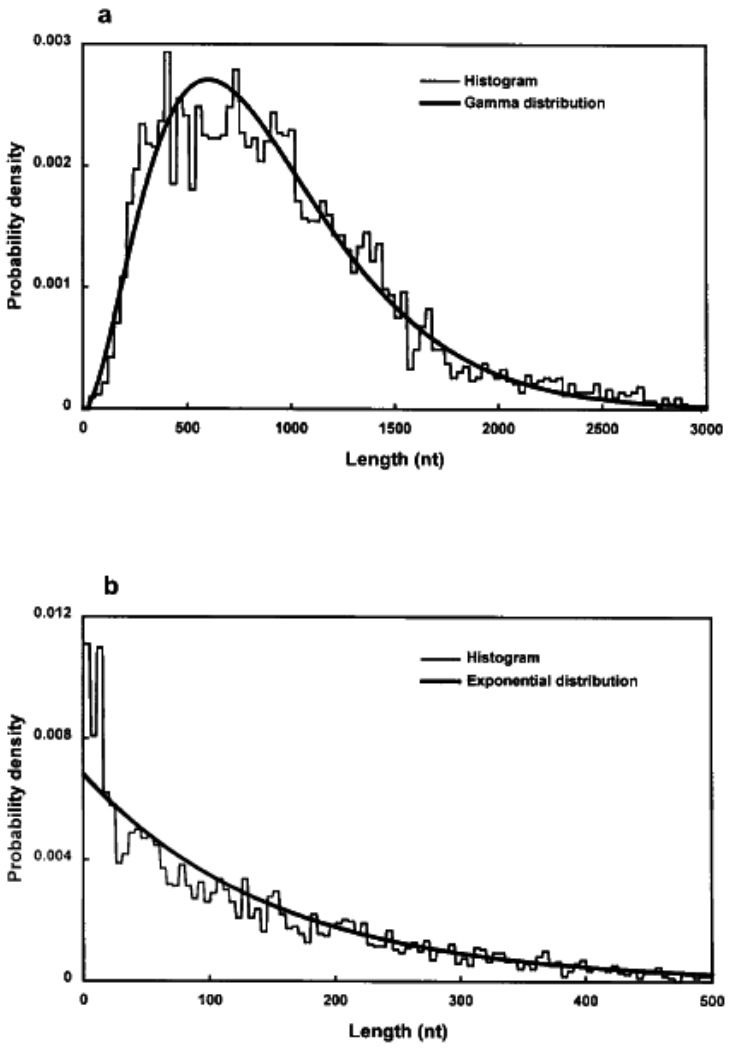
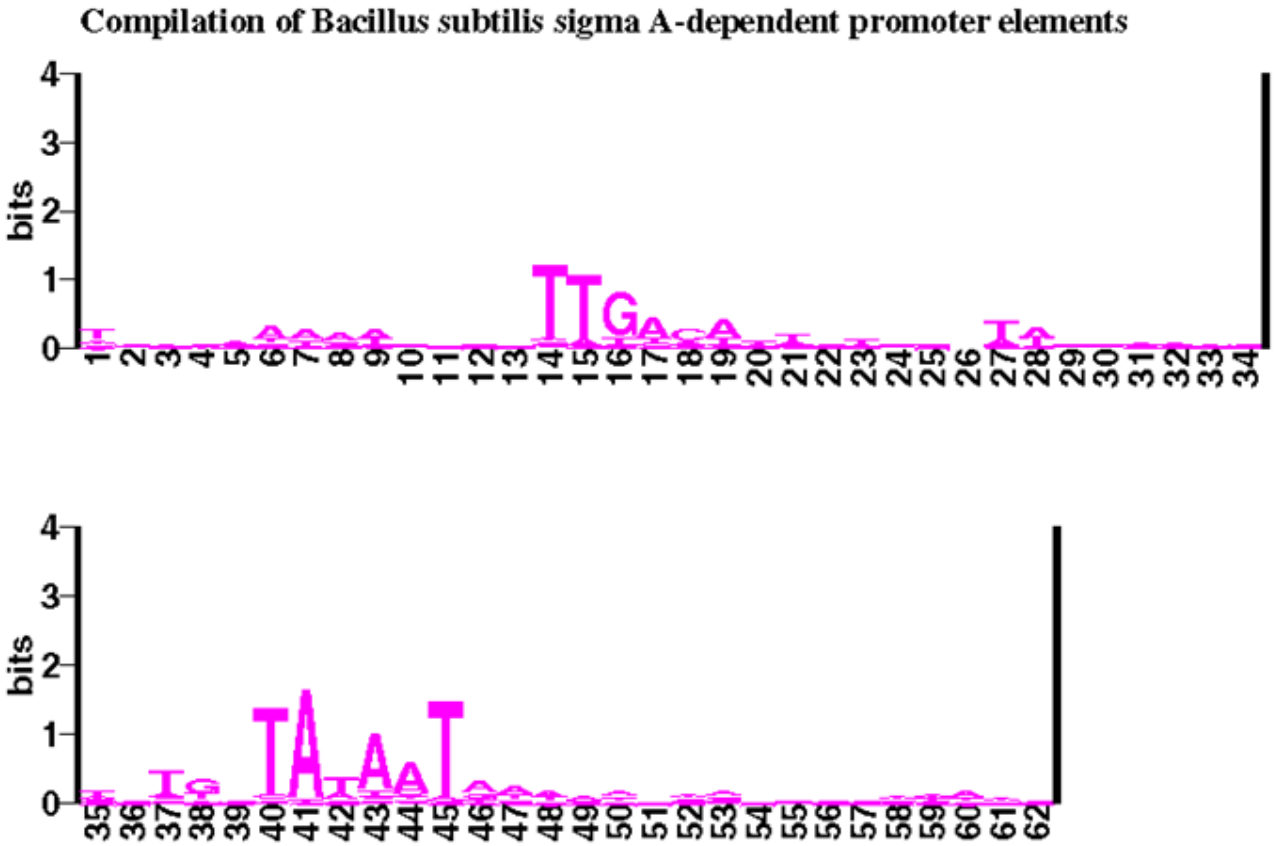


Figure 2. Length distribution probability densities of protein-coding and non-coding regions derived from the annotated *E.coli* genomic DNA (histograms). (**a**) Coding regions; the solid curve is the approximation by γ distribution $g(d) = N_c(d/D_c)^2 \exp(-d/D_c)$, where d is the length in nt, D_c = 300 nt, N_c is the coefficient chosen to normalize the distribution function on the interval from 30 nt (the minimal length of coding region) to 7155 nt (the maximal length). (**b**) Non-coding regions; the solid curve is the approximation by exponential distribution $f(d) = N_n \exp(-d/D_n)$, where D_n = 150 nt. The coefficient N_n normalizes the distribution function on the interval from 1 to 1000 nt.

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

Motif dans les séquences de Maltose Binding Proteins

YvfK_Bs	PTPNIPEMNEIW
YvfK_Bs	PTPNIPEMAEVW
MalX_Sp	PLPNISQMSAVW
MalE_Sc	PRPALPEYSSLW
MalE_Tm	PMPNVPEMAPVW
MalE_Dr	PMPNIPEMGAVW
CymE_Ko	AMPSIPEMGYLW
MalE_Ea	IMPNIPQMSAFW
MalE_Sy	IMPNIPQMSAFW
MalE_Ec	IMPNIPQMSAFW

Signature PROSITE :

[PAI]-[TLRM]-P-[NAS]-[ILV]-[PS]-[EQ]-[MY]-[NASG]-[EASPY]-[ILVF]-W

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

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

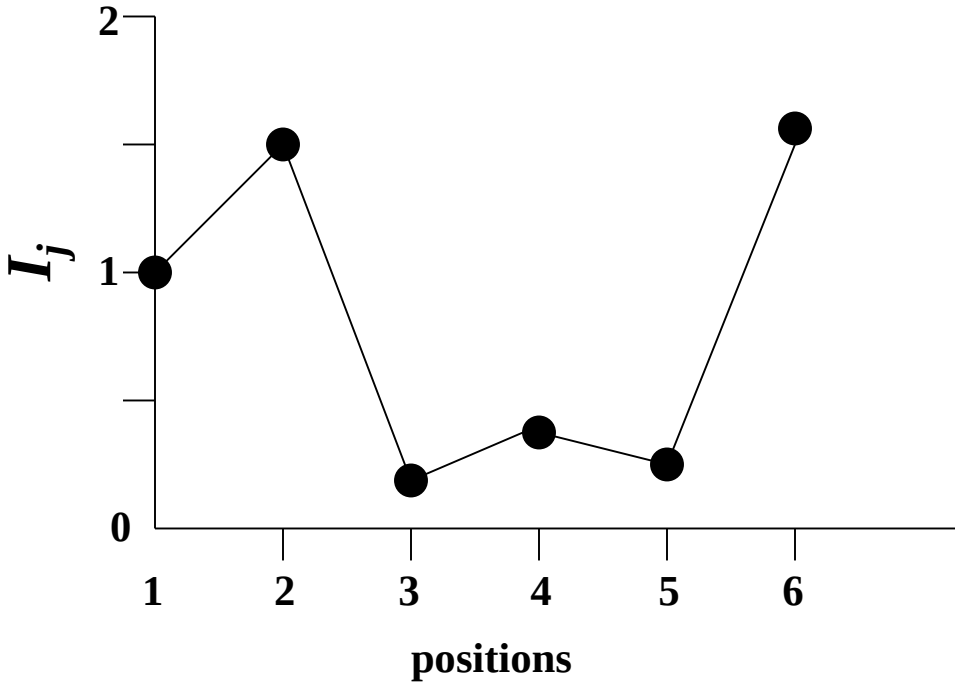
Les positions du signal qui contiendront de l'information seront celles qui auront une composition très biaisées par rapport à ce qui est attendu.

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

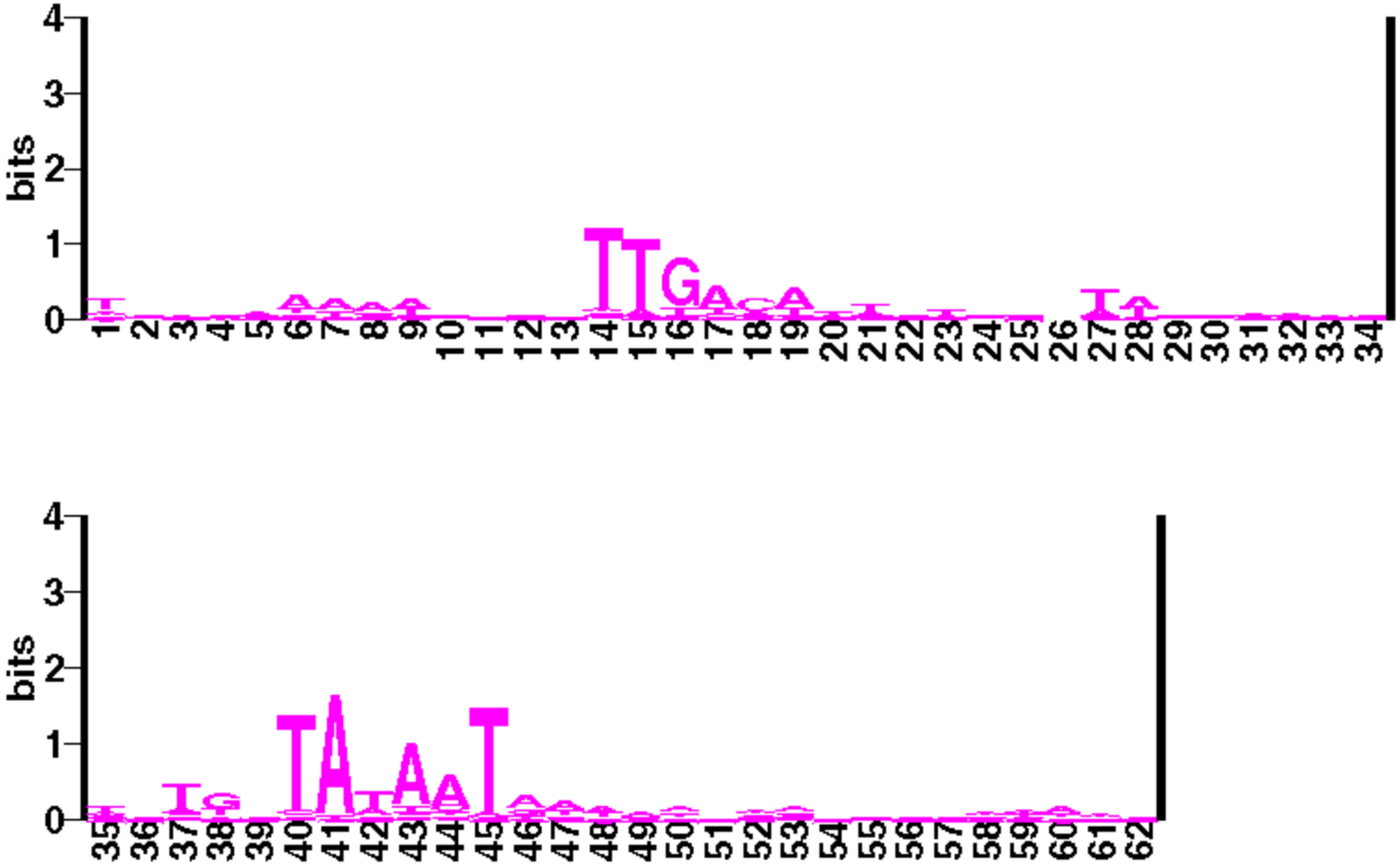
$f_{ij} \log_2 f_{ij} = 0$ et les fréquences observées des autres bases sont nulles. On aura

$I(j) = 2$ information maximale

Valeurs de l'information I_j à chaque position j du motif -10 des promoteurs d'*E. coli*.



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**	7	ATG pour B
AGA **GAGGTG**	6	GTG pour C
GG**GG**G**A**T**G**	5	ATG pour F

Unités de traduction prédites

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

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.

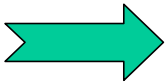
Séquence consensus: TTGACA 16...35 TATAAT

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

matrices de poids position (PWM)

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**

Recherche des terminateurs de transcription

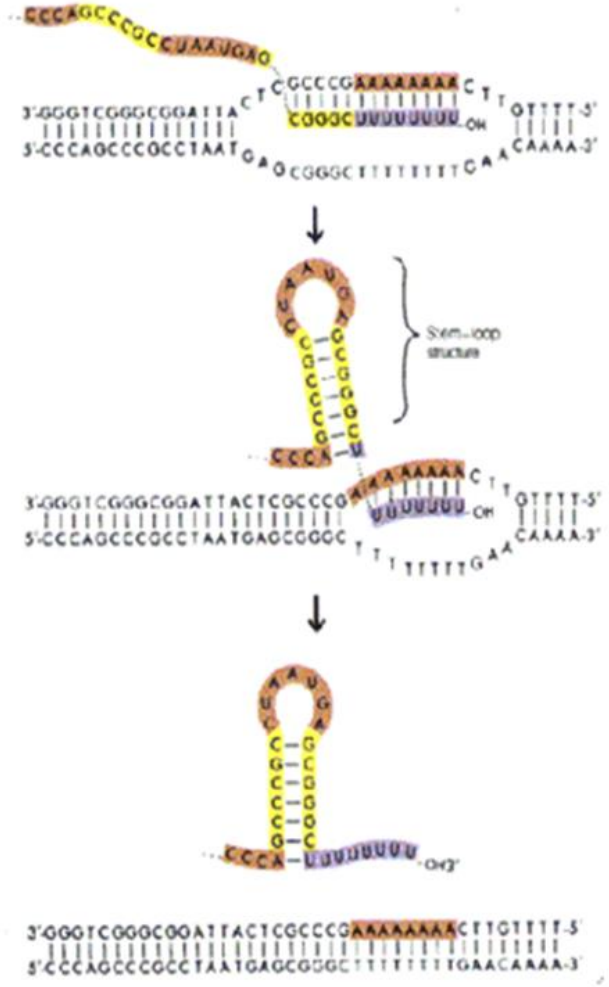
Au niveau séquence, on ne sait modéliser que les terminateurs Rho indépendants.

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

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.

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
```

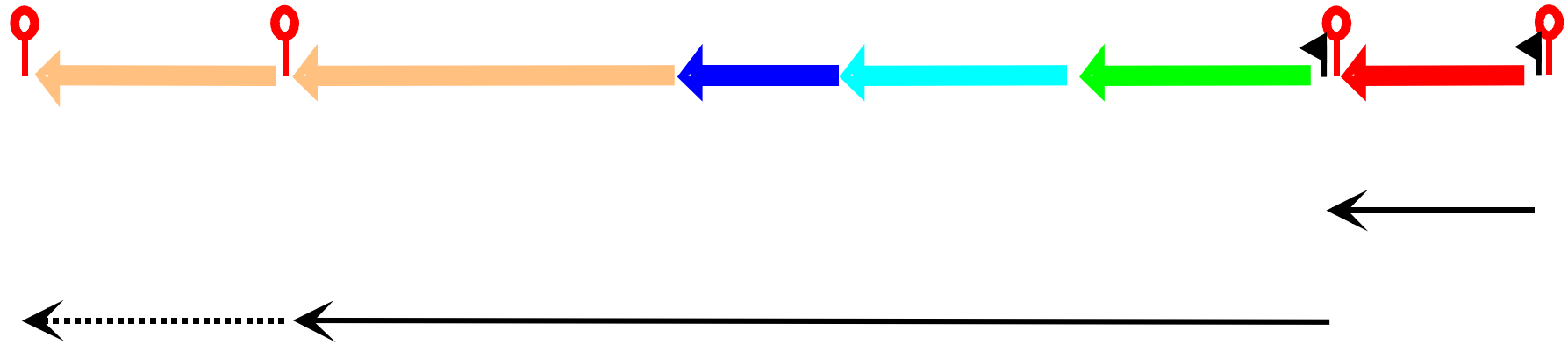
75-103

```
  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

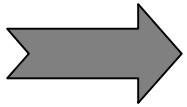
Localisation cellulaire
- fragments trans-membranaires
- peptide signal

Structure
- secondaire
- tertiaire

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

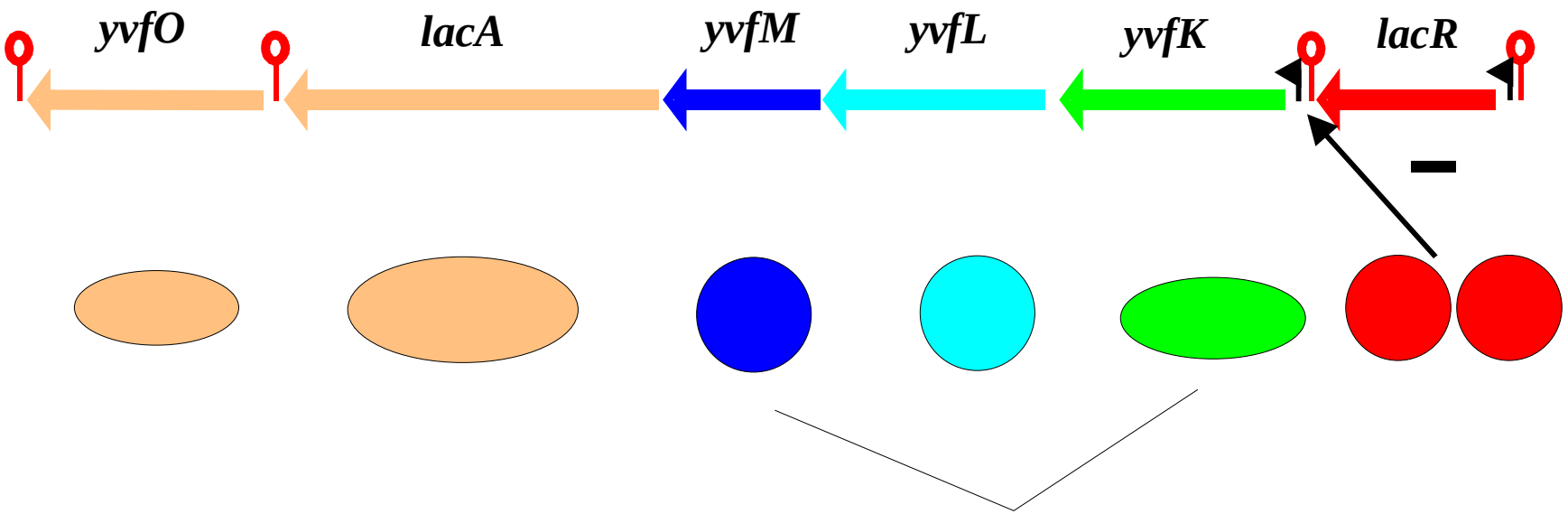
Prédiction fonctionnelle

Recherche par similitude dans les bases de données: programme BLAST

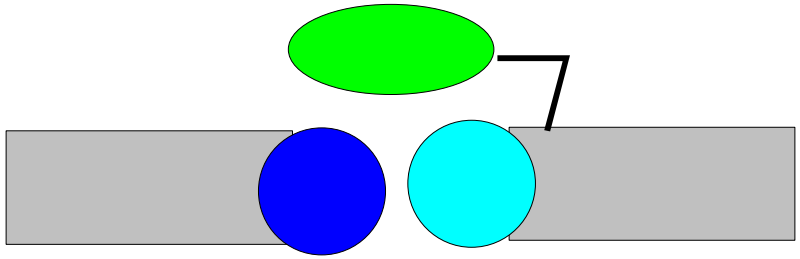


- **A LACR protéine régulatrice de type LacI/GalR**
- **B YVFK protéine affine d'un ABC transporteur**
- **C YVFL perméase d'un ABC transporteur**
- **D YVFM perméase d'un ABC transporteur**
- **E LACA galactosidase**
- **F YVFO arabino-galactosidase**

Synthèse des résultats



Système à la membrane



? ?

Environnements intégrés pour l'annotation des génomes procaryotes

✓ **RAST server** (BMC Genomics. 2008 Feb 8;9:75. doi: 10.1186/1471-2164-9-75)

DESCRIPTION:

We describe a fully automated service for annotating bacterial and archaeal genomes. The service identifies protein-encoding, rRNA and tRNA genes, assigns functions to the genes, predicts which subsystems are represented in the genome, uses this information to reconstruct the metabolic network and makes the output easily downloadable for the user

✓ **Prokka** (Bioinformatics. 2014, 30:2068-69)

DESCRIPTION:

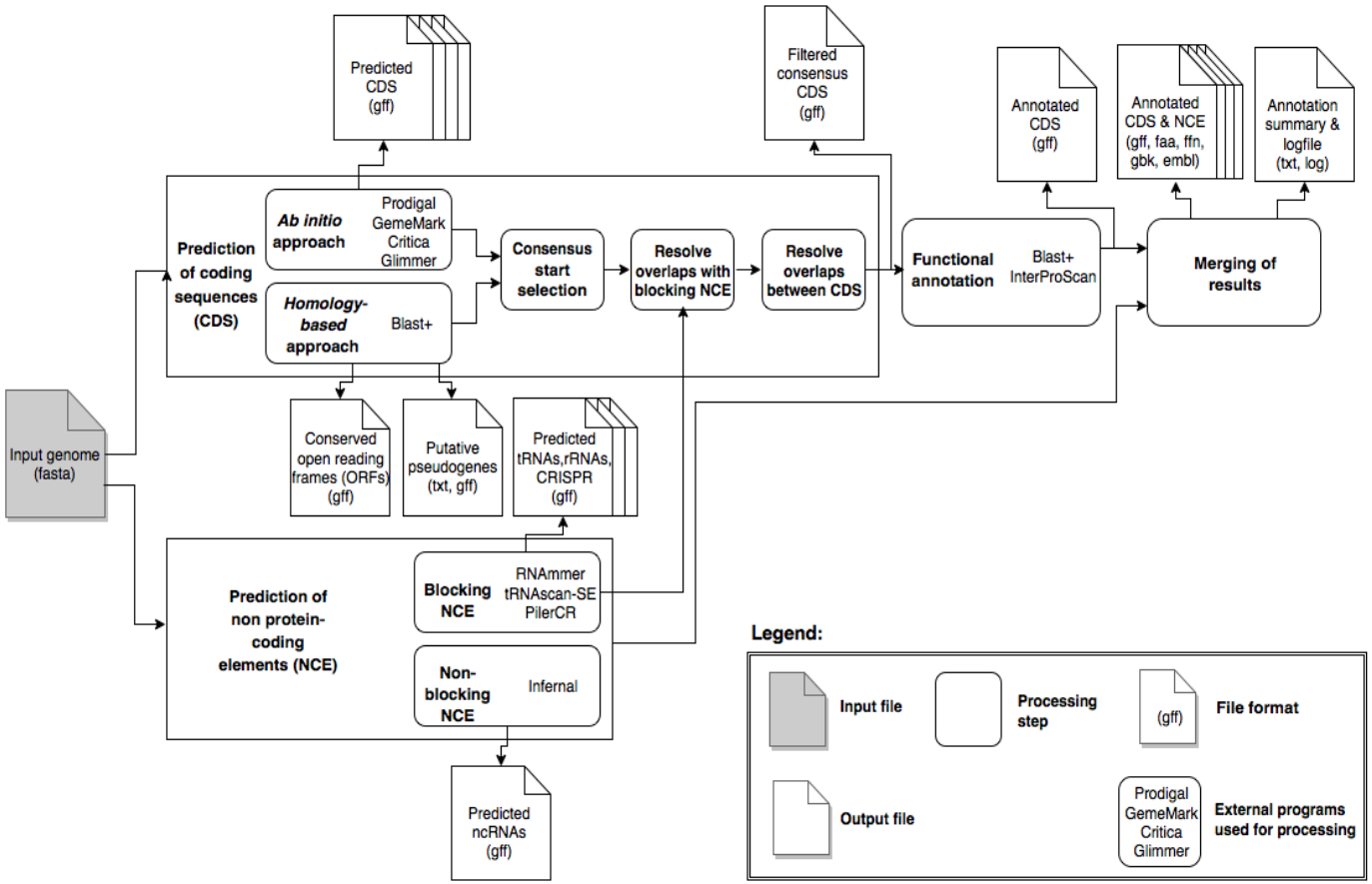
Prokka, a command line software tool to fully annotate a draft bacterial genome in about 10min on a typical desktop computer. It produces standards-compliant output files for further analysis or viewing in genome browsers.

✓ **ConsPred** (Bioinformatics. 2016, 32:3327-29)

DESCRIPTION:

We present ConsPred, a prokaryotic genome annotation framework that performs intrinsic gene predictions, homology searches, predictions of non-coding genes as well as CRISPR repeats and integrates all evidence into a consensus annotation. ConsPred achieves comprehensive, high-quality annotations based on rules and priorities, similar to decision-making in manual curation and avoids conflicting predictions. Parameters controlling the annotation process are configurable by the user.

Environnements intégrés pour l'annotation des génomes procaryotes
Exemple de ConsPred (Weinmaier *et al.*, 2016, Bioinformatics, 32:3327-29)



(Extrait de Weinmaier *et al.*)

Figure S1. ConsPred workflow
Coding sequences (CDS) are predicted by combining different *ab initio* gene predictions, and conserved open reading frames (ORFs) detected by homology search against the NCBI nr database. Database entries from closely related taxa are excluded to prevent possible misannotations due to low phylogenetic distance. Putative pseudogenes are exported for user inspection. From all predicted non-protein-coding elements (NCE) those that biologically must not overlap with CDS are considered blocking NCE. CDS overlapping with blocking NCE are removed. Filtered consensus CDS are obtained from predicted CDS and conserved ORFs by using predefined weights and rules and subsequent removal of CDS that overlap with blocking NCEs. Filtered consensus CDS are functionally annotated and then merged with the NCE into the final annotation files.

Rappel sur la prédiction fonctionnelle

- Recherche par similarité dans les banques de données de séquences
- Recherche de Domaines fonctionnels

Recherche par similarité dans les banques/bases de données
La suite Blast (Basic Local Alignment Search Tool)

- Approche développée pour faire des recherches rapides des séquences homologues à notre séquences d'intérêt.

- L'alignement fourni n'est pas un alignement exact car utilisation d'heuristiques

Pourquoi comparer des séquences (nucléiques ou protéiques) ?

Hypothèse 1: si deux ou plusieurs séquences possèdent des résidus conservés (bases ou acides aminés), cela signifie qu'elles ont une histoire évolutive commune. Elles ont évoluées à partir d'une séquence ancêtre commune.

On dit qu'elles sont **homologues**.

Hypothèse 2 : si deux séquences sont homologues, alors elles doivent avoir des fonctions similaires.

Le pourcentage de similitude entre deux séquences est considéré comme reflétant la distance évolutive existant entre ces deux séquences. Les différences observées sont dues à l'accumulation de mutations au cours du temps. Les mutations prises en compte sont les substitutions et les insertions/délétions (indels).

Homologie - orthologie- paralogie

• Deux gènes sont **homologues** s'ils ont divergé à partir d'une séquence ancêtre commune.

• Deux gènes sont **orthologues** si leur divergence est due à la spéciation (le gène ancêtre commun se trouvait dans l'organisme ancêtre).

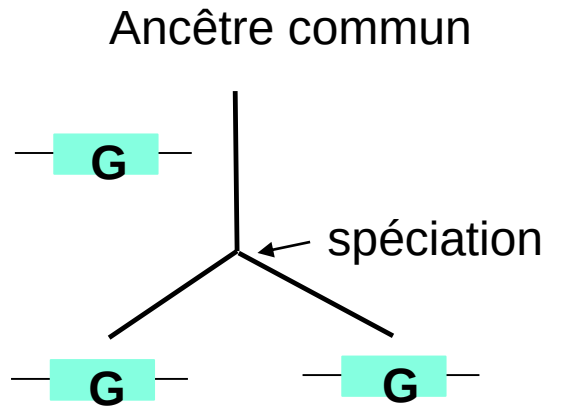
• Deux gènes sont **paralogues** si leur divergence est due à la duplication du gène ancêtre.

Donc deux séquences sont ou ne sont pas homologues.

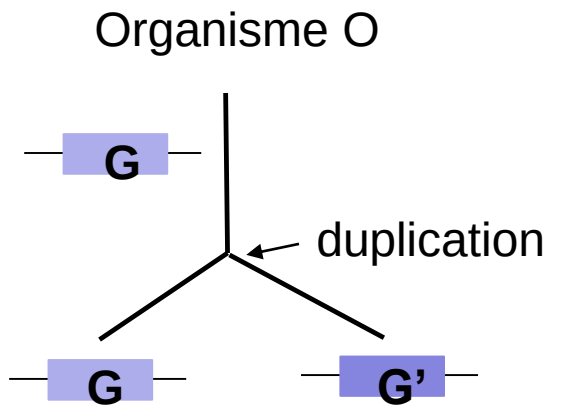
Dire que la protéine X a 80% d'homologie avec la protéine Y est donc incorrect:
soit:

- les deux protéines présentent 80% d'identité (résidus identiques)
- les deux protéines présentent 80% de similarité (résidus similaires)

Homologie - orthologie- paralogie



Génes orthologues



Génes paralogues

Alignement de deux séquences

L'alignement de deux séquences permet de détecter les régions conservées entre deux séquences et de quantifier les similarités observées

➡ Calcul d'un score

Petit exemple d'alignement :

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

Le score de l'alignement doit prendre en compte toutes les positions alignées : identités, substitutions et indels. Chacun de ces évènements 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.

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

Où l est le nombre de positions alignées

exemple: l = 14

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

➡ S = 9

Alignement de deux séquences : 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

Système de score (acides nucléiques) : 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

Alphabet étendu pour les nucléotides

- Problème de séquençage
- Polymorphisme

L'alphabet étendu appelé code IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) 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	

Alignement de deux séquences protéiques

Les acides aminés composant une protéine peuvent avoir des propriétés physico-chimiques similaires.

→ La structure 3D dépend de ces caractéristiques

Une similitude au niveau de ces propriétés sera suffisante pour permettre la substitution d'un acide aminé en un autre sans perturber la fonction de la protéine (par exemple, échange de l'acide aminé hydrophobe valine en leucine).

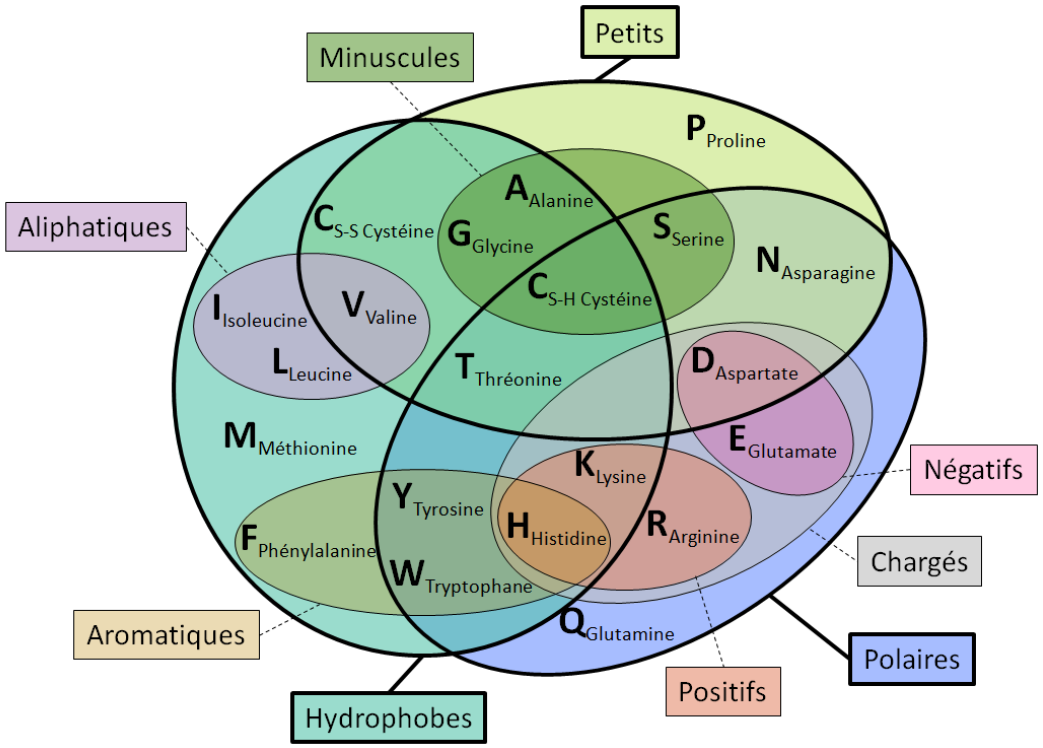


Diagramme de Venn des propriétés des acides aminés

Acide aminé polaire ou hydrophile, localisé le plus souvent à la surface des protéines (certains sont chargés)

Acide aminé hydrophobe ou apolaire ou aliphatique tendent à occuper le cœur de la protéine.

Les acides aminés aromatiques possèdent un cycle dans leur chaîne latérale.

La cystéine permet d'établir des ponts disulfures

Alignement de deux séquences protéiques

Lors de la comparaison de deux séquences protéiques, il faut prendre en compte en plus de l'identité et de la différence, la similarité qui peut exister entre deux acides aminés.

Comment quantifier la similarité entre deux acides aminés ?

- calculer une distance entre acides aminés basée sur leurs caractéristiques
- estimer la fréquence de substitution de l'acide aminé X en Y au cours de l'évolution

Les deux approches donnent une matrice (20,20) symétrique par rapport à la diagonale. Cependant, les matrices les plus utilisées ont été obtenues par la seconde approche et sont appelées « matrices de substitution »

Approches basée sur les fréquences de substitutions des a.a. au cours de l'évolution

Principe :

- les séquences homologues ont conservées des fonctions similaires
- deux a.a. se ressembleront d'autant plus que la fréquence de substitution observée est grande puisque ces substitutions n'auront pas modifié la fonction de la protéine
- il est possible d'estimer la fréquence avec laquelle un a.a. est remplacé par un autre au cours de l'évolution à partir de séquences homologues alignées

Principales approches :

- Comparaison directe des séquences (alignement global) : matrices PAM (Dayhoff, 1978)
- Comparaison des domaines protéiques (régions les plus conservées) : matrices **BLOSUM** (Henikoff et Henikoff, 1992)

Dans les deux cas, on obtient une famille de matrices car les probabilités de mutation d'un acide aminé en un autre dépend de la distance évolutive entre les séquences comparées.

Matrices PAM

La matrice « de base » construite par Dayhoff correspond à la 1-PAM dans laquelle ont a 1 mutation acceptée pour 100 acides aminés. **Comment estimer les probabilités de mutation des paires d'acides aminés pour des distances évolutives plus grande ?**

On a fait l'hypothèse que la probabilité de mutation d'un acide aminé est indépendante de ce qui s'est produit à cette position dans le passé, donc pour obtenir les probabilités de mutation pour des intervalles d'évolution plus grands on va multiplier la PAM1 avec elle-même. Une PAMk sera obtenue en multipliant la PAM1 k fois par elle-même (k mutations acceptées pour 100 sites)

PAM2 = PAM1 x PAM1 = $PAM1^2$	intervalle d'évolution : 2 mutations acceptées pour chaque 100 résidus
PAM40 = $PAM1^{40}$	intervalle d'évolution : 40 mutations acceptées pour chaque 100 résidus
PAM120 = $PAM1^{120}$	intervalle d'évolution : 120 mutations acceptées pour chaque 100 résidus
PAM250 = $PAM1^{250}$	intervalle d'évolution : 250 mutations acceptées pour chaque 100 résidus

Exemple d'une matrice PAM

La matrice PAM250

	C	S	T	P	A	G	N	D	E	Q	H	R	K	M	I	L	V	F	Y	W
C	12																			
S	0	2																		
T	-2	1	3																	
P	-3	1	0	6																
A	-2	1	1	1	2															
G	-3	1	0	-1	1	5														
N	-4	1	0	-1	0	0	2													
D	-5	0	0	-1	0	1	2	4												
E	-5	0	0	-1	0	0	1	3	4											
Q	-5	-1	-1	0	0	-1	1	2	2	4										
H	-3	-1	-1	0	-1	-2	2	1	1	3	6									
R	-4	0	-1	0	-2	-3	0	-1	-1	1	2	6								
K	-5	0	0	-1	-1	-2	1	0	0	1	0	3	5							
M	-5	-2	-1	-2	-1	-3	-2	-3	-2	-1	-2	0	0	6						
I	-2	-1	0	-2	-1	-3	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	5					
L	-6	-3	-2	-3	-2	-4	-3	-4	-3	-2	-2	-3	-3	4	2	6				
V	-2	-1	0	-1	0	-1	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	2	4	2	4			
F	-4	-3	-3	-5	-4	-5	-3	-6	-5	-5	-2	-4	-5	0	1	2	-1	9		
Y	0	-3	-3	-5	-3	-5	-2	-4	-4	-4	0	-4	-4	-2	-1	-1	-2	7	10	
W	-8	-2	-5	-6	-6	-7	-4	-7	-7	-5	-3	2	-3	-4	-5	-2	-6	0	0	17

S – small hydrophilic

N- acid, acid amide, hydrophylic

H - basic

V – small hydrophobic

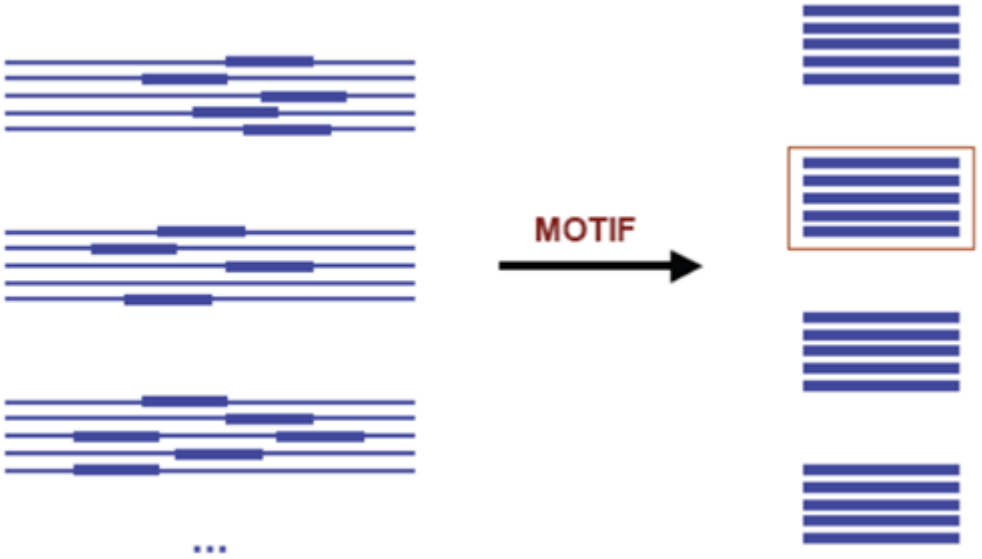
F- aromatic

Matrices BLOSUM (Henikoff et Henikoff, 1992)

BLOSUM : BLOcks SUbstituion Matrix

Principe :
- Obtention à partir de blocs de séquences alignées (alignement multiple sans brèche)
- Pour une paire d'a.a. : log (fréquence observée / fréquence attendue)

<u>Avantages par rapport aux matrices PAM :</u>
- contrairement aux matrices PAM, les matrices BLOSUM pour différentes distances évolutives sont obtenues directement avec des séquences plus ou moins divergentes
- l'utilisation de blocs plutôt que de séquences complètes : modélise les contraintes uniquement sur les régions conservées
- obtenues à partir d'un plus grand jeu de données (>2000 blocks, > 500 familles)



504 groupes de protéines apparentées **2205 blocs (domaines alignement sans gap)**

Matrices BLOSUM (Henikoff et Henikoff, 1992)

Pour calculer les différentes matrices en fonction de la distance évolutive, les estimations des fréquences de substitution sont réalisées en regroupant les séquences ayant un pourcentage d'identité ≥ au numéro donné à la matrice BLOSUM.

Exemple de la matrice BLOSUM62 (calcul réalisé en regroupant les séquences ayant un % d'identité ≥ 62%

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

Choix des Matrices de substitution

Famille de matrices correspondant à différentes distances évolutives entre les séquences :

PAM120 et BLOSUM80 : estimation des fréquences de substitution entre acides aminés pour des séquences proches dans l'évolution (courtes distances)

PAM250 et BLOSUM45 : estimation des fréquences de substitution entre acides aminés pour des séquences distantes dans l'évolution (longues distances)

PAM160 et BLOSUM62 : estimation des fréquences de substitution entre acides aminés pour des séquences ayant des distances évolutives intermédiaires.

longueur séquence	matrice	ouverture de gap	extension de gap
≥300	BLOSUM50	-10	-2
85-300	BLOSUM62	-7	-1
50-85	BLOSUM80	-16	-4
≥300	PAM250	-10	-2
85-300	PAM120	-16	-4

Recommandations (à adapter)

distance %	PAM
1	1
25	30
50	80
80	246

Utilisation des Matrices de substitution

Ces matrices sont utilisées comme paramètres dans :

les programmes d'alignement de deux séquences
les recherches par similitude dans les bases de données
les programmes d'alignement multiple

Quelle matrice doit-on utiliser ?

Les matrices BLOSUM sont le plus souvent proposées comme matrices par défaut car les fréquences de substitution sont directement calculées à partir de l'alignement.

La BLOSUM62 est utilisée comme matrice par défaut car elle offre un bon compromis quand les distances évolutives entre les séquences ne sont pas connues.

La BLOSUM80 donnera de meilleurs résultats pour des séquences proches dans l'évolution. Elle tend à trouver des alignements courts fortement similaires.

La BLOSUM45 donnera de meilleurs résultats pour des séquences éloignées dans l'évolution. Elle trouvera de plus longs alignements locaux de faible conservation.

Recherche de similarité avec la suite Blast

En fonction de la nature des séquences sonde et banque, utilisations de différents programmes de la suite Blast :

programme	séquence requête	Banque
BlastN	nucléique	nucléique
BlastP	protéique	protéique
BlastX	nucléique (séquence traduite dans les 6 cadres de lecture)	protéique
tblastN	protéique	nucléique (séquences de la banque traduites dans les 6 cadres de lecture)
tblastX	nucléique (séquence traduite dans les 6 cadres de lecture)	nucléique (séquences de la banque traduites dans les 6 cadres de lecture)

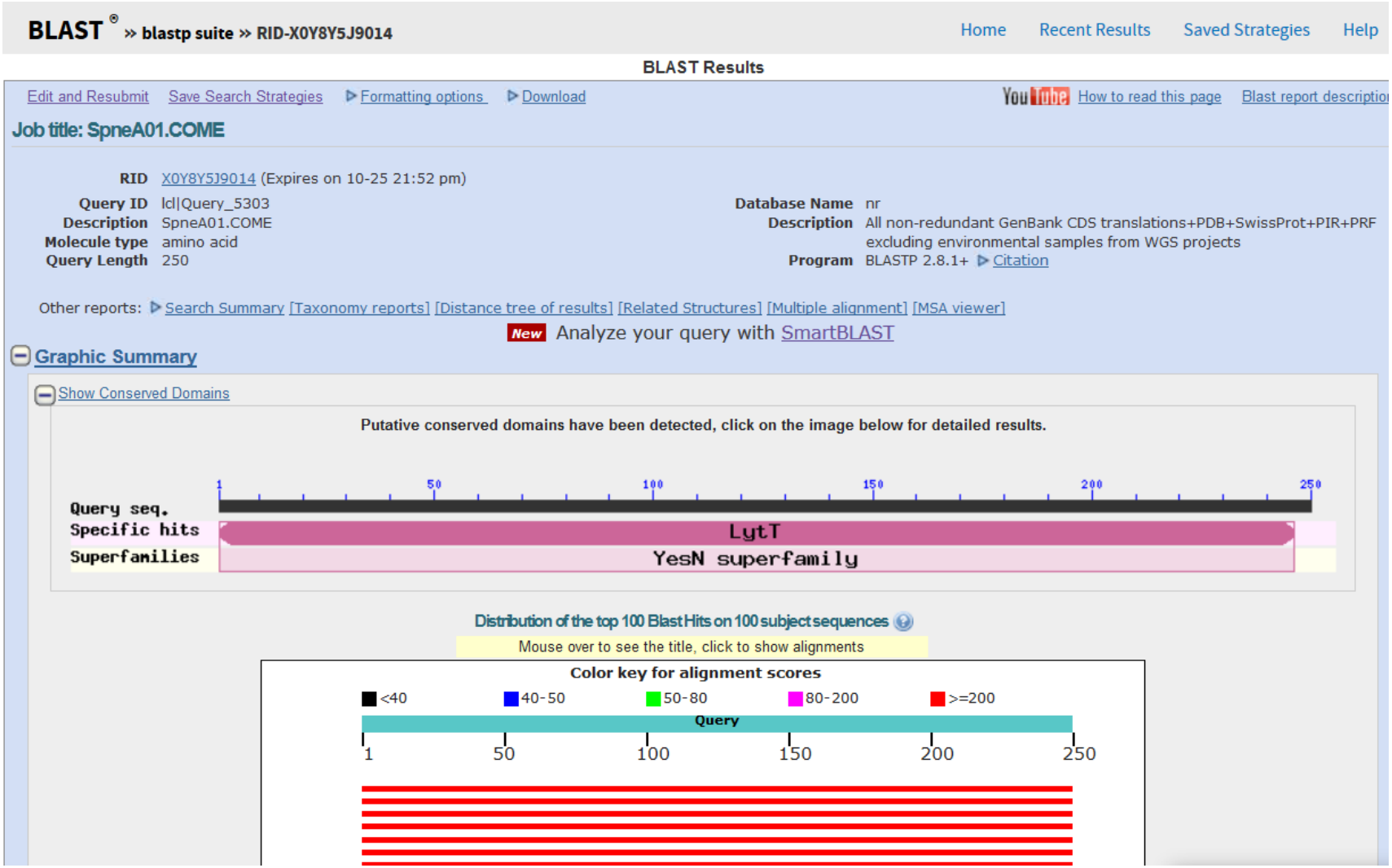
Recherche de similarité avec la suite Blast

Quelque soit le programme une même approche est utilisé qui permet de passer très peu de temps à analyser les séquences de la banque qui ne présentent pas de conservation avec la séquence sonde (requête).

- Choix d'une matrice de substitution pour réaliser les comparaisons

- Utilisation d'une heuristique pour fournir l'alignement final entre les deux séquences (alignement local qui va renvoyer les deux sous-régions les plus conservées entre la séquence requête et séquence de la banque)

Résultat d'une recherche avec BlastP2 sur le site du NCBI



Résultat d'une recherche avec BlastP2 sur le site du NCBI

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
MULTISPECIES: DNA-binding response regulator [Streptococcus]	502	502	100%	9e-180	100%	WP_000866065.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus pneumoniae]	502	502	100%	1e-179	99%	WP_000866071.1
MULTISPECIES: DNA-binding response regulator [Streptococcus]	502	502	100%	1e-179	99%	WP_000866069.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus pneumoniae]	502	502	100%	1e-179	99%	WP_061848346.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus pneumoniae]	502	502	100%	1e-179	99%	WP_061743230.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus pneumoniae]	502	502	100%	1e-179	99%	WP_050119213.1
▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪						
DNA-binding response regulator [Streptococcus bovimastitidis]	163	163	96%	5e-46	38%	WP_071794029.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	163	163	99%	6e-46	37%	WP_074392423.1
hypothetical protein RV02_GL002721 [Enterococcus gilvus]	162	162	96%	6e-46	40%	OJG43518.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	163	163	98%	6e-46	39%	WP_105207106.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	163	163	99%	6e-46	37%	WP_074414831.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	162	162	98%	6e-46	39%	WP_029173665.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	162	162	98%	7e-46	39%	WP_105157768.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	162	162	98%	7e-46	38%	WP_104931080.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	162	162	98%	7e-46	39%	ARS43234.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus sobrinus]	161	161	79%	7e-46	41%	WP_019791862.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	162	162	98%	7e-46	39%	WP_105107448.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus sp. F0442]	162	162	98%	8e-46	38%	WP_009732096.1
DNA-binding response regulator [Streptococcus suis]	162	162	99%	9e-46	37%	WP_074389180.1
DNA-binding response regulator [Leuconostoc suionicum]	162	162	97%	9e-46	37%	WP_072612886.1

Résultat d'une recherche avec BlastP2 sur le site du NCBI

Download GenPept Graphics Next Previous Descriptions

MULTISPECIES: DNA-binding response regulator [Streptococcus]
Sequence ID: WP_070674677.1 Length: 244 Number of Matches: 1
See 2 more title(s)

Range 1: 2 to 244 GenPept Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
157 bits(397)	9e-44	Compositional matrix adjust.	91/250(36%)	147/250(58%)	11/250(4%)

```
Query  1    MKVLILEDVIEHQVRLERILDEISKESNIPI-SYKTTGKVREFEEYIENDEVNQLYFLDI  59
            +K+ +LED    Q R+E +L ++ ++ ++   + +  GK  +  + I     + L+FLDI
Sbjct  2    LKIFVLEDEWIQQSRIEAVLQDLIRQKSLQCKAPEVFGKSSQLLDAITERGAHHLFFLDI  61

Query  60   DIHGIEKKGFEVAQLIRHYNPYAIIVFITSRSEFATLTYKYQVSALDFVDKDINDEMFKK  119
            +I G EKKG E+A+ IR  +P+A IVF+T+ SEF  +T++Y+V+ALDF+DK + +E FK+
Sbjct  62   EIKGEEKKGLEIAKEIRKKDPHATIVFVTTHSEFMPITFQYKVAALDFIDKTLGEEEFKE  121

Query  120  RIEQNIFYTKSMLLENEDVV---DYFDYNYKGNDLKIPYHDILYIETTGVSHKLRIIGKN  176
            RI   I YT    LE        D F +      +++P++ ILY+ET+   HK+ +  +
Sbjct  122  RISSAIDYT----LEQAGTTIAQDAFTFESAMARVQVPFNKILYVETSPAIHKVILHTQE  177

Query  177  FAKEFYGTMTDIQEKDKHTQRFYSPHKSFLVNIGNIREIDRKNLEIVFYEDHRCPISRLK  236
               EFY ++ DI++ D    R Y  H+SF+VN  NI +ID++  +  F     C ISR K
Sbjct  178  ERLEFYASIADIEKADP---RLYRCHRSFVVNPQNITKIDKETKKAFFENGDNCLISRTK  234

Query  237  IRKLKDILEK  246
             R L + L+K
Sbjct  235  YRGLLEALKK  244
```

Related Information

Identical Proteins - Identical proteins to WP_070674677.1

Download GenPept Graphics Next Previous Descriptions

DNA-binding response regulator [Streptococcus parasanguinis]
Sequence ID: WP_049483605.1 Length: 244 Number of Matches: 1

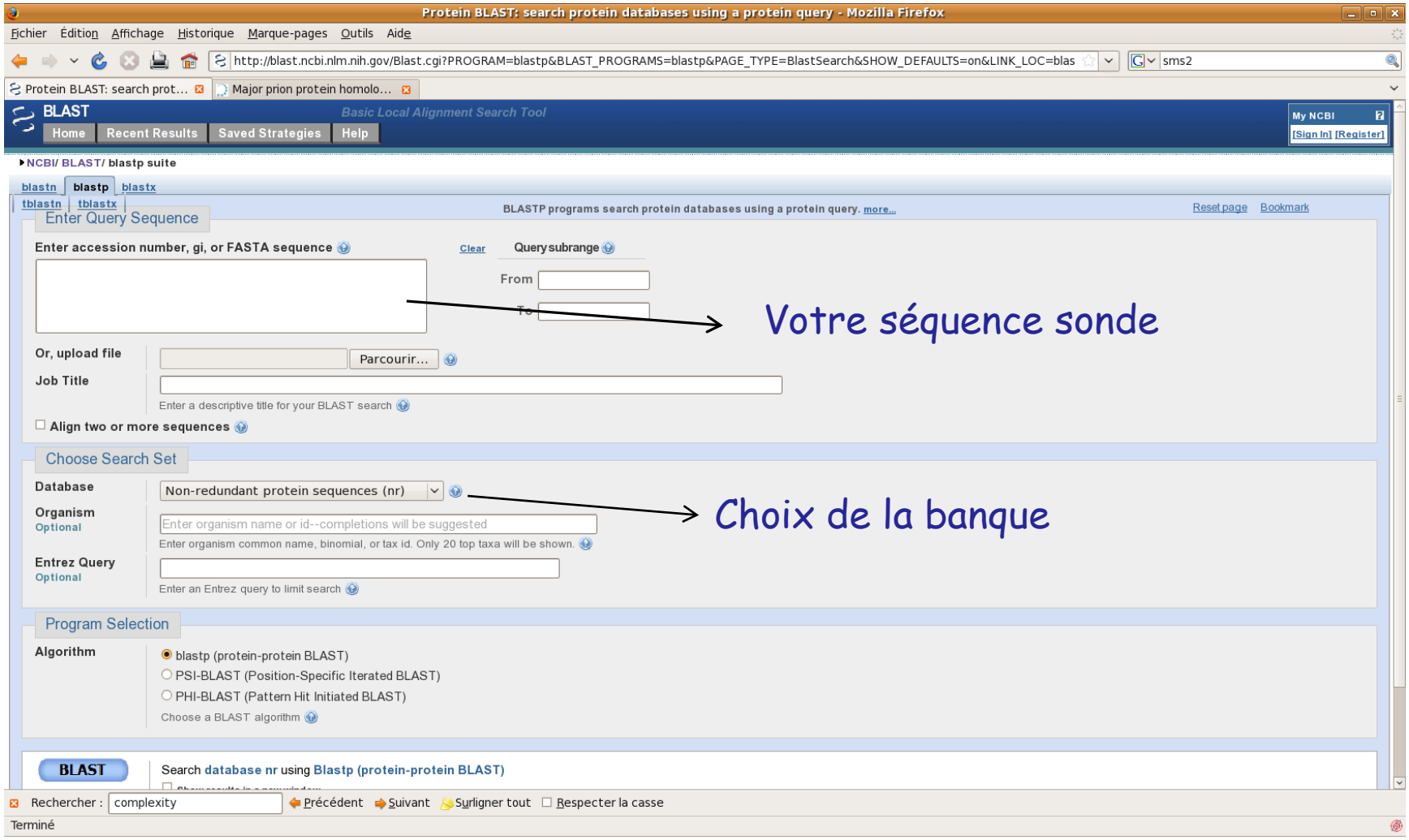
Range 1: 2 to 244 GenPept Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
157 bits(397)	9e-44	Compositional matrix adjust.	90/250(36%)	149/250(59%)	11/250(4%)

```
Query  1    MKVLILEDVIEHQVRLERILDEISKESNIPI-SYKTTGKVREFEEYIENDEVNQLYFLDI  59
            +K+ +LED    Q R+E +L ++ ++ ++   + +  GK  +  + I     + L+FLDI
Sbjct  2    LKIFVLEDEWIQQSRIEAVLQDLIRQKSLQCKAPEVFGKSSQLLDAITERGAHHLFFLDI  61

Query  60   DIHGIEKKGFEVAQLIRHYNPYAIIVFITSRSEFATLTYKYQVSALDFVDKDINDEMFKK  119
            +I G EKKG E+A+ IR  +P+A IVF+T+ SEF  +T++Y+V+ALDF+DK + +E F++
Sbjct  62   EIKGEEKKGLEIAKEIRKKDPHATIVFVTTHSEFMSITFQYKVAALDFIDKTLGEEEFRE  121

Query  120  RIEQNIFYTKSMLLENEDVV---DYFDYNYKGNDLKIPYHDILYIETTGVSHKLRIIGKN  176
            RI   I YT    LE        D F +      +++P++ ILY+ET+   HK+ +  +
Sbjct  122  RISSAIDYT----LEQAGTTIAQDAFTFESAMARVQVPFNKILYVETSPTIHKVILHTQD  177

Query  177  FAKEFYGTMTDIQEKDKHTQRFYSPHKSFLVNIGNIREIDRKNLEIVFYEDHRCPISRLK  236
               EFY ++ DI++ D    R Y  H+SF+VN  NI +ID++  +  F     C ISR K
Sbjct  178  ERLEFYASIADIEKADP---RLYRCHRSFVVNPQNITKIDKEAKKAFFENGDNCLISRTK  234

Query  237  IRKLKDILEK  246
             R L + L+K
Sbjct  235  YRGLLEALKK  244
```

Related Information

Exemple d'interface du programme BlastP (site NCBI)



Les paramètres « cachés »

Nombre de séquences cibles

Seuil E-value

Taille des mots pour construire la liste des mots voisins

Choix de la matrice de substitution

Pondération des gaps : ouverture et extension

La suite Blast

Possibilité d'appliquer des filtres et masques (paramètres de l'algorithme) :

- masquer les séquences de faible complexité (proposé pour l'ensemble des programmes de la suite Blast)

- dans le cas d'une recherche avec une séquence d'acides nucléiques contre une banque de séquences nucléiques (BlastN), masquer les séquences répétées (ex: les séquences Alu chez les primates).

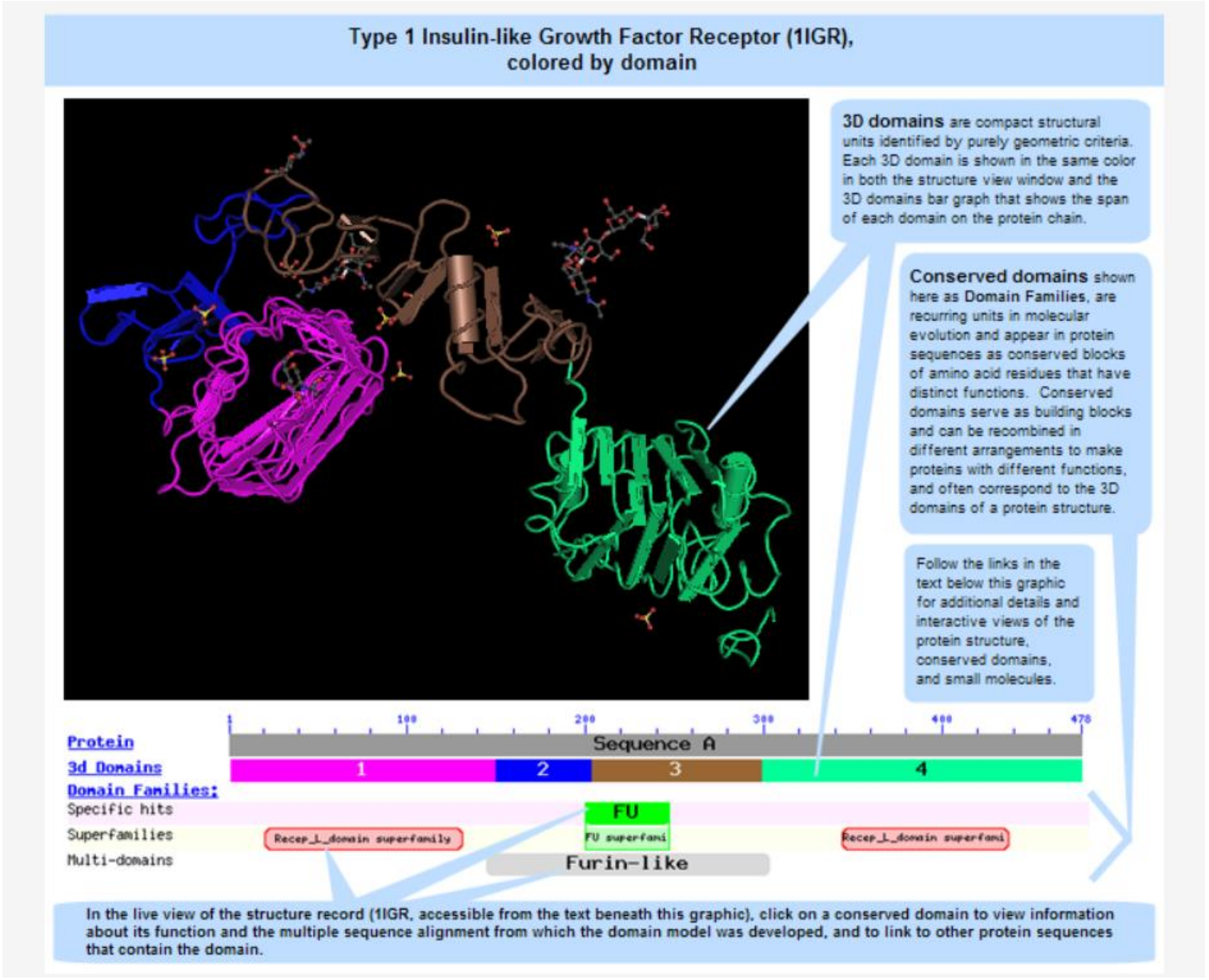
  Une première analyse compare la séquence sonde à une banque de séquences d'éléments répétés. Les zones de la séquence sonde s'alignant avec les séquences d'éléments répétés sont masquées pour la recherche de similarité dans la banque.

Domaines fonctionnels

Deux définitions des domaines : domaines **structuraux** et domaines **fonctionnels**. Ils constituent des parties de la protéines. Un domaine structural est une partie de la chaîne polypeptidique qui se replie indépendamment. Un domaine fonctionnel est une région de la protéine qui présente une conservation de séquence mise en évidence par alignement multiple auquel on peut associer une fonction. Il forme une « brique » qui a pu être recombinée dans différents arrangements pour moduler l'expression des protéines au cours de l'évolution.
Les deux classifications des domaines fonctionnels et structuraux coïncident assez souvent.

Les domaines fonctionnels peuvent contenir des motifs (ou pattern) fonctionnels. La différence est souvent liée à leur taille, plus petite pour les motifs.

Exemple de coïncidence entre domaines fonctionnels et structuraux



(Extrait de la documentation sur le site du NCBI https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd_help.shtml#CDWhat)

Banque de données ProSite

ProSite consiste en un ensemble d'entrées décrivant les domaines protéiques et les motifs caractéristiques de fonctions ou de familles protéiques.

Une entrée Prosite est constituée de deux parties :

- une fiche qui fournit une description des domaines et des motifs fonctionnels et renseigne sur la fonction associée au domaine ou motif. Cette fiche a un préfixe PDOC (exemple : PDOC00185)
- Une fiche décrivant le motif ou le domaine qui a un préfixe PS (exemple PS50893)

ScanProsite tool

http://prosite.expasy.org/scanprosite/

This form allows you to scan proteins for matches against the PROSITE collection of motifs as well as against your own patterns.

- (•) **Option 1 - Submit PROTEIN sequences to scan them against the PROSITE collection of motifs.**
- ( ) Option 2 - Submit MOTIFS to scan them against a PROTEIN sequence database.
- ( ) Option 3 - Submit PROTEIN sequences and MOTIFS to scan them against each other.

Reset

STEP 1 - Submit PROTEIN sequences [help]

(•) Submit PROTEIN sequences (max. 10) Examples

( ) Submit a PROTEIN database (max. 16MB) for repeated scans (The data will be stored on our server for 1 month).

Enter UniProtKB accessions or identifiers or PDB identifiers or sequences in FASTA format

Supported input:

- UniProtKB accessions e.g. P98073 or identifiers e.g. ENTK_HUMAN
- PDB identifiers e.g. 4DGJ
- Sequences in FASTA format

Séquence(s) à analyser (max 10)

STEP 2 - Select options [help]

[x] Exclude motifs with a high probability of occurrence from the scan

[ ] Exclude profiles from the scan

[ ] Run the scan at high sensitivity (show weak matches for profiles)

Exclure de l'analyse les motifs avec une forte probabilité d'occurence

STEP 3 - Select output options and submit your job

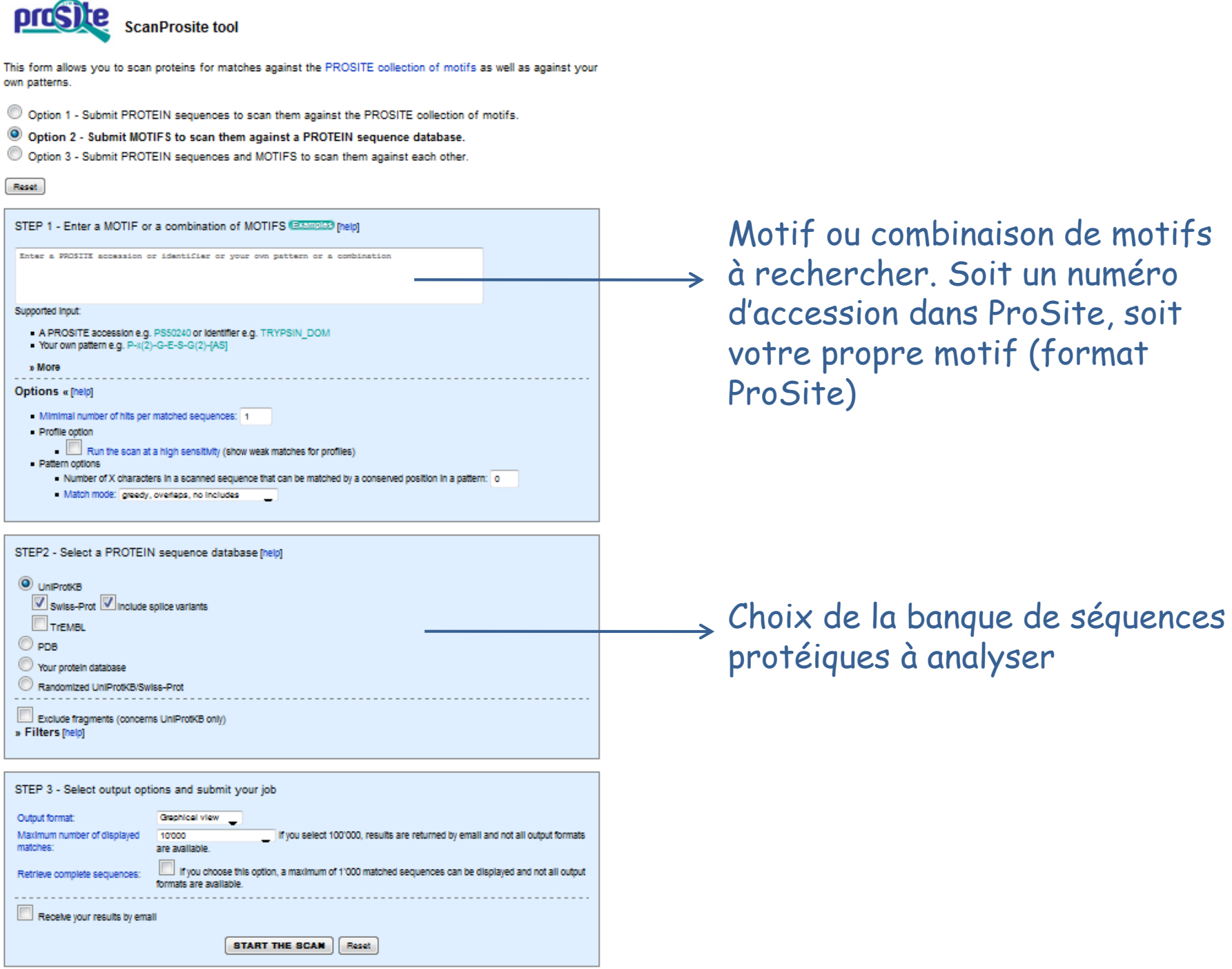
Output format: Graphical view

Retrieve complete sequences: [ ] If you choose this option, not all output formats are available.

[ ] Receive your results by email

START THE SCAN Reset

```
ID   ASN_GLYCOSYLATION; PATTERN.
AC   PS00001;
DE   N-glycosylation site.
PA   N-{P}-[ST]-{P}
```



Motif ou combinaison de motifs à rechercher. Soit un numéro d'accession dans ProSite, soit votre propre motif (format ProSite)

Choix de la banque de séquences protéiques à analyser

Domaines et motifs fonctionnels par l'exemple

ScanProsite tool

Analyse de la séquence protéique ComA de *Streptococcus pneumoniae* souche R6

This form allows you to scan proteins for matches against the PROSITE collection of motifs as well as against your own patterns.

- (●) **Option 1 - Submit PROTEIN sequences to scan them against the PROSITE collection of motifs.**
- ( ) Option 2 - Submit MOTIFS to scan them against a PROTEIN sequence database.
- ( ) Option 3 - Submit PROTEIN sequences and MOTIFS to scan them against each other.

Reset

STEP 1 - Submit PROTEIN sequences [help]

- (●) Submit PROTEIN sequences (max. 10) Examples
- ( ) Submit a PROTEIN database (max. 16MB) for repeated scans (The data will be stored on our server for 1 month).

```
>SpneA01.COMA
MKFGKRHYRPQVDQMDCGVASLAMVFGYYGSYYFLAHLRELAKTTMDGTTALGLVKVAEE
IGFETRAIKADMTLFDLPDLTFPFVAHVLKEGKLLHYYVVTGQDKDSIHIADPDPGVKLT
KLPRERFEEEWTGVTLFMAPSPDYKPHKEQKNGLLSFIPILVKQRGLIANIVLATLLVTV
INIVGSYYLQSIIDTYVPDQMRSTLGIISIGLVIVYILQQILSYAQEYLLLVLGQRLSID
VILSYIKHVFHLPMSFFATRRTGEIVSRFTDANSIIDALASTILSIFLDVSTVVIISLVL
FSQNTNLFFMTLLALPIYTVIIFAFMKPFEKMNRDTMEANAVLSSSIIEDINGIETIKSL
TSESQRYQKIDKEFVDYLKKSFTYSRAESQQKALKKVAHLLLNVGILWMGAVLVMDGKMS
LGQLITYNTLLVYFTNPLENIINLQTKLQTAQVANNRLNEVYLVASEFEEKKTVSDLSLM
KGDMTFKQVHYKYGYGRDVLSDINLTVPQGSKVAFVGISGSGKTTLAKMMVNFYDPSQGE
ISLGGVNLNQIDKKALRQYINYLPQQPYVFNGTILENLLLGAKEGTTQEDILRAVELAEI
```

Supported input:

- UniProtKB accessions e.g. P98073 or identifiers e.g. ENTK_HUMAN
- PDB identifiers e.g. 4DGJ
- Sequences in FASTA format

STEP 2 - Select options [help]

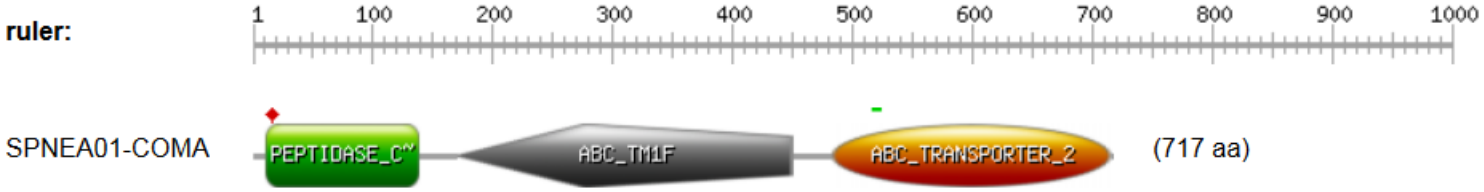
- [x] Exclude motifs with a high probability of occurrence from the scan
- [ ] Exclude profiles from the scan
- [ ] Run the scan at high sensitivity (show weak matches for profiles)

Domaines et motifs fonctionnels par l'exemple

Domaines fonctionnels identifiés dans la séquence ComA de *S. pneumoniae*

hits by profiles: [3 hits (by 3 distinct profiles) on 1 sequence]

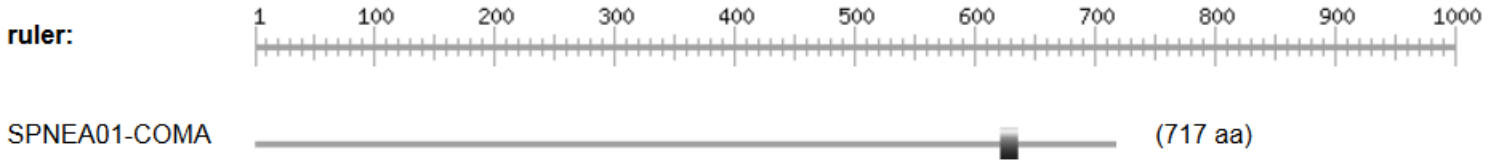
Upper case represents match positions, lower case insert positions, and the '-' symbol represents deletions relative to the matching profile.



Motif fonctionnel identifié dans la séquence ComA de *S. pneumoniae*

hits by patterns: [1 hit (by 1 pattern) on 1 sequence]

Hits by PS00211 **ABC_TRANSPORTER_1** *ABC transporters family signature* :



622 - 636: [confidence level: (0)] ISGGQRQRIALARAL

Entrée ProSite associées au domaine fonctionnel ABC_TRANSPORTER_2

ABC_TRANSPORTER_2, PS50893; ATP-binding cassette, ABC transporter-type domain profile (MATRIX)

- Sequences in UniProtKB/Swiss-Prot known to belong to this class: 3998
  - detected by PS50893: 3983 (true positives)
  - undetected by PS50893: 15 (5 false negatives and 10 'partials')
- Other sequence(s) in UniProtKB/Swiss-Prot detected by PS50893:
  NONE.
- Domain architecture view of Swiss-Prot proteins matching PS50893

- Retrieve an alignment of UniProtKB/Swiss-Prot true positive hits:
  Clustal format, color, condensed view / Clustal format, color / Clustal format, plain text / Fasta format
- Retrieve the sequence logo from the alignment
- Taxonomic distribution of all UniProtKB (Swiss-Prot + TrEMBL) entries matching PS50893
- Retrieve a list of all UniProtKB (Swiss-Prot + TrEMBL) entries matching PS50893
- Scan UniProtKB (Swiss-Prot and/or TrEMBL) entries against PS50893
- View ligand binding statistics of PS50893
- Matching PDB structures: 1B0U 1F3O 1G29 1G6H ... [ALL]

Extrait de la matrice (profil) ProSite associées au domaine fonctionnel ABC_TRANSPORTER_2

Matrix / Profile [info]

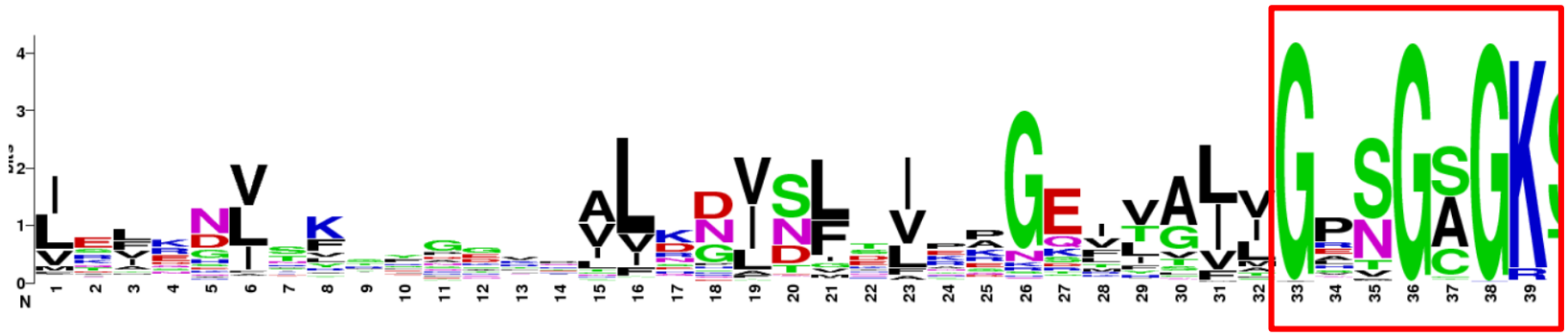
```
/GENERAL_SPEC: ALPHABET='ABCDEFGHIKLMNPQRSTVWYZ'; LENGTH=240;
/DISJOINT: DEFINITION=PROTECT; N1=6; N2=235;
/NORMALIZATION: MODE=1; FUNCTION=LINEAR; R1=5.7291522; R2=0.0066693; TEXT='NScore';
/NORMALIZATION: MODE=-1; FUNCTION=LINEAR; R1=27511.1894531; R2=19.6396694; TEXT='Heuristic 5.0%';
/CUT_OFF: LEVEL=0; SCORE=431; H_SCORE=35976; N_SCORE=8.6; MODE=1; TEXT='!';
/CUT_OFF: LEVEL=-1; SCORE=116; H_SCORE=29789; N_SCORE=6.5; MODE=1; TEXT='?';
/DEFAULT: M0=-8; D=-20; I=-20; B0=*; B1=*; E0=*; E1=*; MI=-105; MD=-105; IM=-105; DM=-105;

                A   B   C   D   E   F   G   H   I   K   L   M   N   P   Q   R   S   T   V   W   Y   Z
/I:          B0=0; B1=0; BI=-105; BD=-105;
/M: SY='I'; M= -6,-30,-18,-32,-26,  4,-32,-26, 29,-26, 29, 16,-28,-28,-24,-22,-20, -6, 29,-24, -4,-26;
/M: SY='R'; M=-16, -4,-30, -4,  6,-26,-20, 19,-28, 22,-22, -6,  2,-16, 21, 38, -8,-12,-24,-22, -5, 10;
/M: SY='L'; M=-10,-10,-18,-11,-14,  8,-25,-18,  2,-19, 11,  0,-13,-22,-20,-16, -9,  4,  5,-22, -2,-16;
/M: SY='E'; M=-10,  1,-27,  5, 12,-24,-23, -9, -8,  3,-12, -6, -4,-12,  9, -3, -6, -8, -7,-27,-12, 10;
/M: SY='D'; M=-12, 38,-23, 41, 10,-30, -5,  2,-30, -2,-30,-25, 32,-13,  0, -7, 10, -2,-27,-40,-20,  5;
/M: SY='V'; M= -5,-30,-17,-32,-27,  3,-32,-27, 31,-25, 25, 15,-28,-28,-25,-22,-19, -5, 33,-25, -5,-27;
/M: SY='F'; M= -8,-18,-21,-21,-17,  7,-20, -4, -6,-17, -9, -6,-13,-22,-16,-14, -3,  1,  0,  3,  6,-16;
/M: SY='K'; M=-13,-10,-27,-14, -4,  8,-23,-13,-20, 22,-16, -7, -7,-17, -7, 13,-13,-10,-13,-10,  4, -4;
/M: SY='T'; M=  3,-12,-17,-15,-12, -5,-17, -8, -6, -5,-10, -6, -9,-19, -8, -1,  4,  6,  1,-15,  6,-12;
/I:          I=-5; MI=0; MD=-27; IM=0; DM=-27;
/M: SY='F'; M=-17,-20,-25,-22, -9, 28,-27, -8, -6,-11,  6, -1,-15,-24,-15,  0,-17,-10, -7, -3, 19,-12;
/M: SY='G'; M= -5,-12,-30, -9, -6,-23, 25,-17,-25,-16,-15,-13, -9,  1,-13,-17, -7,-15,-23,-23,-24,-10;
/M: SY='E'; M= -9,  5,-30, 11, 15,-28,  8,-10,-24, -7,-20,-16,  1,-11, -2,-12, -3,-13,-22,-27,-20,  6;
/M: SY='V'; M= -9,-20,-18,-26,-22, 12,-28, -6, 10,-20,  3,  4,-15,-24,-21,-17, -8,  2, 16,-20,  4,-22;
/M: SY='E'; M=-10,-10,-27, -8,  3,-12,-23, -9,-12,  2, -7, -6,-11,  2, -3, -3, -9, -1,-13,-18, -1, -1;
/M: SY='A'; M= 25,-20,-10,-25,-20,-10,-15,-25, 10,-15,  0,  0,-20,-20,-20,-20,  0,  0, 25,-25,-15,-20;
/M: SY='L'; M= -8,-30,-18,-30,-22,  8,-30,-22, 22,-28, 44, 18,-30,-30,-22,-20,-27, -8, 16,-22, -2,-22;
/M: SY='K'; M=-14,  9,-30, 13, 12,-32,-18, -3,-30, 29,-27,-13,  4,-12, 17, 24, -6,-10,-24,-24,-12, 14;
/M: SY='G'; M= -6, 10,-29, 12,  2,-30, 33,-10,-36, -9,-28,-22, 11,-15, -8,-13,  1,-14,-30,-28,-25, -3;
/M: SY='V'; M= -5,-28,-17,-32,-27,  2,-30,-24, 30,-22, 20, 21,-27,-27,-22,-20,-17, -5, 33,-25, -5,-25;
/M: SY='S'; M=  2, 12,-13,  4, -2,-18, -4, -6,-18, -7,-26,-18, 23,-13, -2, -7, 27, 19,-14,-38,-18, -2;
/M: SY='F'; M=-13,-30,-22,-36,-26, 32,-32,-22, 20,-30, 30, 13,-24,-28,-27,-22,-24,-10, 11,-10, 10,-26;
/M: SY='E'; M= -4,  7,-21,  4, 12,-24,-13, -5,-21,  7,-23,-14, 10,-10, 12,  3, 12,  9,-19,-30,-15, 12;
/M: SY='V'; M=  3,-27,-18,-31,-25, -1,-28,-27, 28,-23, 17, 12,-24,-24,-22,-23,-14, -5, 29,-24, -7,-25;
/M: SY='R'; M=-13,  7,-28,  4, 13,-25,-16, -1,-28, 26,-25,-14, 13,-14, 10, 32, -4, -8,-24,-26,-14, 10;
/M: SY='K'; M= -4,  2,-29,  7, 12,-28,-15, -9,-27, 14,-24,-16, -2,  8,  3, 10, -4, -8,-22,-26,-18,  6;
/M: SY='G'; M=  0,-10,-30,-10,-20,-30, 70,-20,-40,-20,-30,-20,  0,-20,-20,-20,  0,-20,-30,-20,-30,-20;
/M: SY='E'; M=-14, 23,-30, 35, 39,-35,-16,  2,-32,  6,-24,-20,  7, -5, 19, -2,  0,-10,-30,-32,-18, 29;
/M: SY='V'; M= -7,-30,-15,-33,-28, 25,-30,-25, 20,-25, 17,  9,-27,-30,-31,-20,-16, -5, 29,-17,  3,-28;
/M: SY='T'; M= -5,-17,-16,-24,-19, -2,-26,-20, 14,-18, 12, 13,-15,-19,-14,-16, -5, 15, 14,-25, -5,-17;
/M: SY='A'; M= 16,-15,-15,-20,-12,-10,-13,-19,  3,-17,  2, -2,-10,-16,-11,-19,  5,  2,  4,-26,-13,-12;
/M: SY='I'; M= -8,-30,-23,-35,-27,  3,-35,-27, 37,-28, 28, 18,-25,-25,-22,-25,-22, -8, 27,-22, -2,-27;
/I:          I=-6; MD=-32;
```

Entrée ProSite associées au motif fonctionnel ABC_TRANSPORTER_1

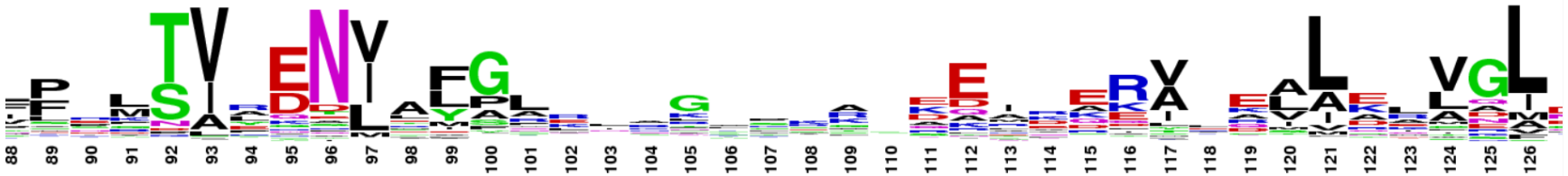
ABC_TRANSPORTER_1, PS00211; ABC transporters family signature (PATTERN)

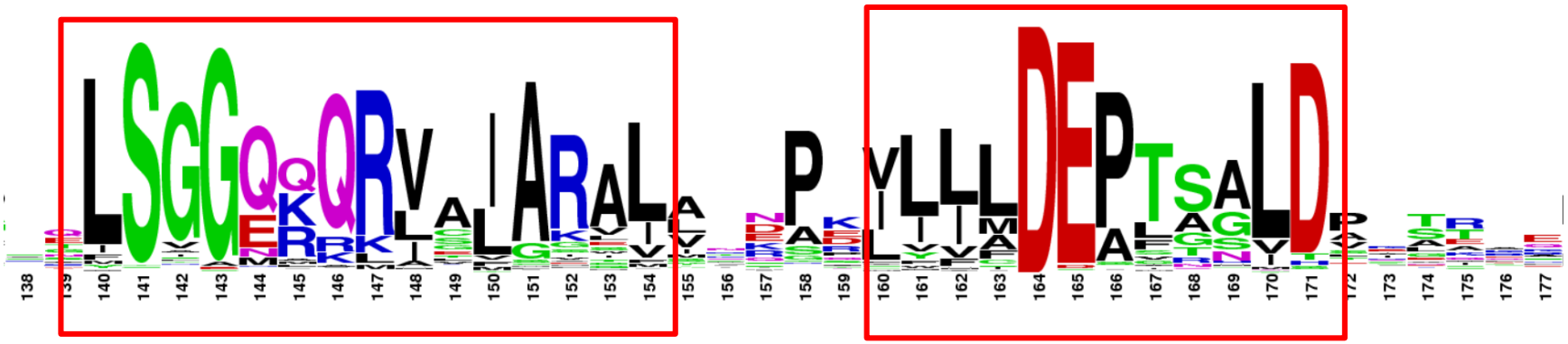
- Consensus pattern:
  [LIVMFYC]-[SA]-[SAPGLVFYKQH]-G-[DENQMW]-[KRQASPCLIMFW]-[KRNQSTAVM]-[KRACLVM]-[LIVMFYPAN]-{PHY}-[LIVMFW]-[SAGCLIVP]-{FYWHP}-{KRHP}-[LIVMFYWSTA]
- Sequences in UniProtKB/Swiss-Prot known to belong to this class: 4003
  - detected by PS00211: 3668 (true positives)
  - undetected by PS00211: 335 (327 false negatives and 8 'partials')
- Other sequence(s) in UniProtKB/Swiss-Prot detected by PS00211:
  201 false positives.
- Retrieve an alignment of UniProtKB/Swiss-Prot true positive hits:
  Clustal format, color, condensed view / Clustal format, color / Clustal format, plain text / Fasta format
- Retrieve the sequence logo from the alignment
- Taxonomic distribution of all UniProtKB (Swiss-Prot + TrEMBL) entries matching PS00211
- Retrieve a list of all UniProtKB (Swiss-Prot + TrEMBL) entries matching PS00211
- Scan UniProtKB (Swiss-Prot and/or TrEMBL) entries against PS00211
- View ligand binding statistics of PS00211
- Matching PDB structures: 1B0U 1F3O 1G29 1G6H ... [ALL]

Extrait du logo du domaine fonctionnel ABC_TRANSPORTER_2 de ProSite



Motif Walker A





Motif ABC transporters family signature

Motif Walker B

Banque de données Pfam : banque de domaines fonctionnels

La banque de données Pfam est une large collection de familles de protéines représentées par des alignements multiples et des modèles de Markov cachés.

Les protéines sont généralement composée d'une ou plusieurs régions fonctionnelles, appelées domaines. Différentes combinaisons de domaines donnent naissance aux différentes protéines trouvées dans la nature. L'identification des domaines présents dans une protéine permet donc d'avoir des idées sur sa fonction.

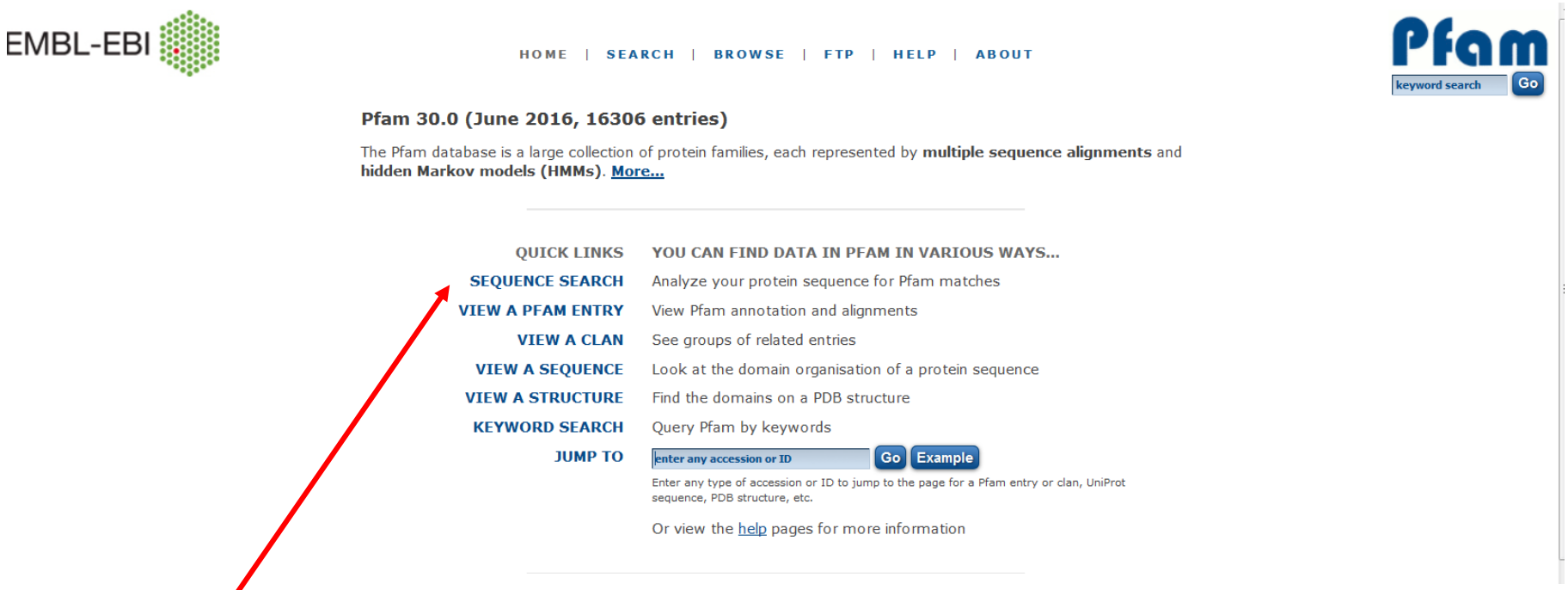
2 sections dans Pfam:

Pfam-A : entrées de très grande qualité produite par des experts

Pfam-B : entrées produites par une procédure automatisée.

Page d'entrée de Pfam

http://pfam.xfam.org/



Analyser le contenu en domaines d'une séquence protéique

Analyse de la séquence protéique ComA de *Streptococcus pneumoniae* souche R6

EMBL-EBI

HOME | SEARCH | BROWSE | FTP | HELP | ABOUT

Pfam

keyword search Go

Sequence search results

Show the detailed description of this results page.

We found **3** Pfam-A matches to your search sequence (**all** significant)

Show the search options and sequence that you submitted.

Return to the search form to look for Pfam domains on a new sequence.

Significant Pfam-A Matches

Show or hide all alignments.

Family	Description	Entry type	Clan	Envelope		Alignment		HMM		HMM length	Bit score	E-value	Predicted active sites	Show/hide alignment
				Start	End	Start	End	From	To					
Peptidase_C39	Peptidase C39 family	Family	CL0125	5	143	7	142	3	132	133	140.0	3.4e-41	n/a	Show
ABC_membrane	ABC transporter transmembrane region	Family	CL0241	168	438	170	438	3	274	274	212.1	1.1e-62	n/a	Show
ABC_tran	ABC transporter	Domain	CL0023	500	650	500	650	1	137	137	110.3	9.3e-32	n/a	Show

Comments or questions on the site? Send a mail to **pfam-help@ebi.ac.uk**.

European Molecular Biology Laboratory

Extrait de la description du domaine ABC_tran

EMBL-EBI

HOME | SEARCH | BROWSE | FTP | HELP | ABOUT

Pfam keyword search Go

Family: *ABC_tran* (PF00005)

Loading page components (2 remaining)...

1119 architectures | 228719 sequences | 14 interactions | 3422 species | 507 structures

- Summary
- Domain organisation
- Clan
- Alignments
- HMM logo
- Trees
- Curation & model
- Species
- Interactions
- Structures

Jump to... enter ID/acc Go

Summary: ABC transporter

Pfam includes annotations and additional family information from a range of different sources. These sources can be accessed via the tabs below.

Wikipedia: ATP-binding domain of ABC transporters | Pfam | InterPro

This is the Wikipedia entry entitled "ATP-binding domain of ABC transporters". More...

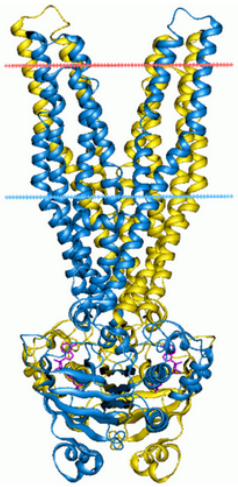
ATP-binding domain of ABC transporters

Edit Wikipedia article

In molecular biology, **ATP-binding domain of ABC transporters** is a water-soluble domain of transmembrane ABC transporters.

ABC transporters belong to the ATP-Binding Cassette superfamily, which uses the hydrolysis of ATP to translocate a variety of compounds across biological membranes. ABC transporters are minimally constituted of two conserved regions: a highly conserved ATP binding cassette (ABC) and a less conserved transmembrane domain (TMD). These regions can be found on the same protein or on two different ones. Most ABC transporters function as a dimer and therefore are constituted of four domains, two ABC modules and two TMDs.

Contents [hide]



Multidrug ABC transporter SAV1866, closed state

Identifiers

Biological function

ABC transporters are involved in the export or import of a wide variety of substrates ranging from small ions to macromolecules. The major function of ABC import systems is to provide essential nutrients to bacteria. They are found only in prokaryotes and their four constitutive domains are usually encoded by independent polypeptides (two ABC proteins and two TMD proteins). Prokaryotic importers require additional extracytoplasmic binding proteins (one or more per systems) for function. In contrast, export systems are involved in the extrusion of noxious substances, the export of extracellular toxins and the targeting of membrane components. They are found in all living organisms and in general the TMD is fused to the ABC module in a variety of combinations. Some eukaryotic exporters encode the four domains on the same polypeptide chain.

Amino acid sequence

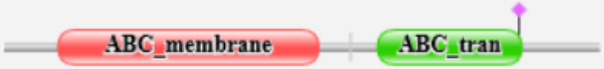
The ABC module (approximately two hundred amino acid residues) is known to bind and hydrolyze ATP, thereby coupling transport to ATP hydrolysis in a large number of biological processes. The cassette is duplicated in several subfamilies. Its primary sequence is highly conserved, displaying a typical

Différentes architectures protéiques possédant le domaine ABC_tran (extrait)

There are 90080 sequences with the following architecture: ABC_tran
X6PF59_RETFI [Reticulomyxa filosa] ATP-binding cassette protein {ECO:0000313|EMBL:ETO36694.1} (332 residues)

Show all sequences with this architecture.

There are 21754 sequences with the following architecture: ABC_membrane, ABC_tran
X4ZNP7_9BACL [Paenibacillus sabinae T27] ABC transporter ATP-binding protein {ECO:0000313|EMBL:AHV98210.1} (617 residues)



Show all sequences with this architecture.

There are 10217 sequences with the following architecture: ABC_tran x 2
W9SF44_9ROSA [Morus notabilis] ABC transporter F family member 4 {ECO:0000313|EMBL:EXC49943.1} (726 residues)

Show all sequences with this architecture.

There are 8474 sequences with the following architecture: ABC_membrane, ABC_tran, ABC_membrane, ABC_tran
W5N0E5_LEPOC [Lepisosteus oculatus (Spotted gar)] Uncharacterized protein {ECO:0000313|Ensembl:ENSLOCP00000014104} (1310 residues)

Show all sequences with this architecture.

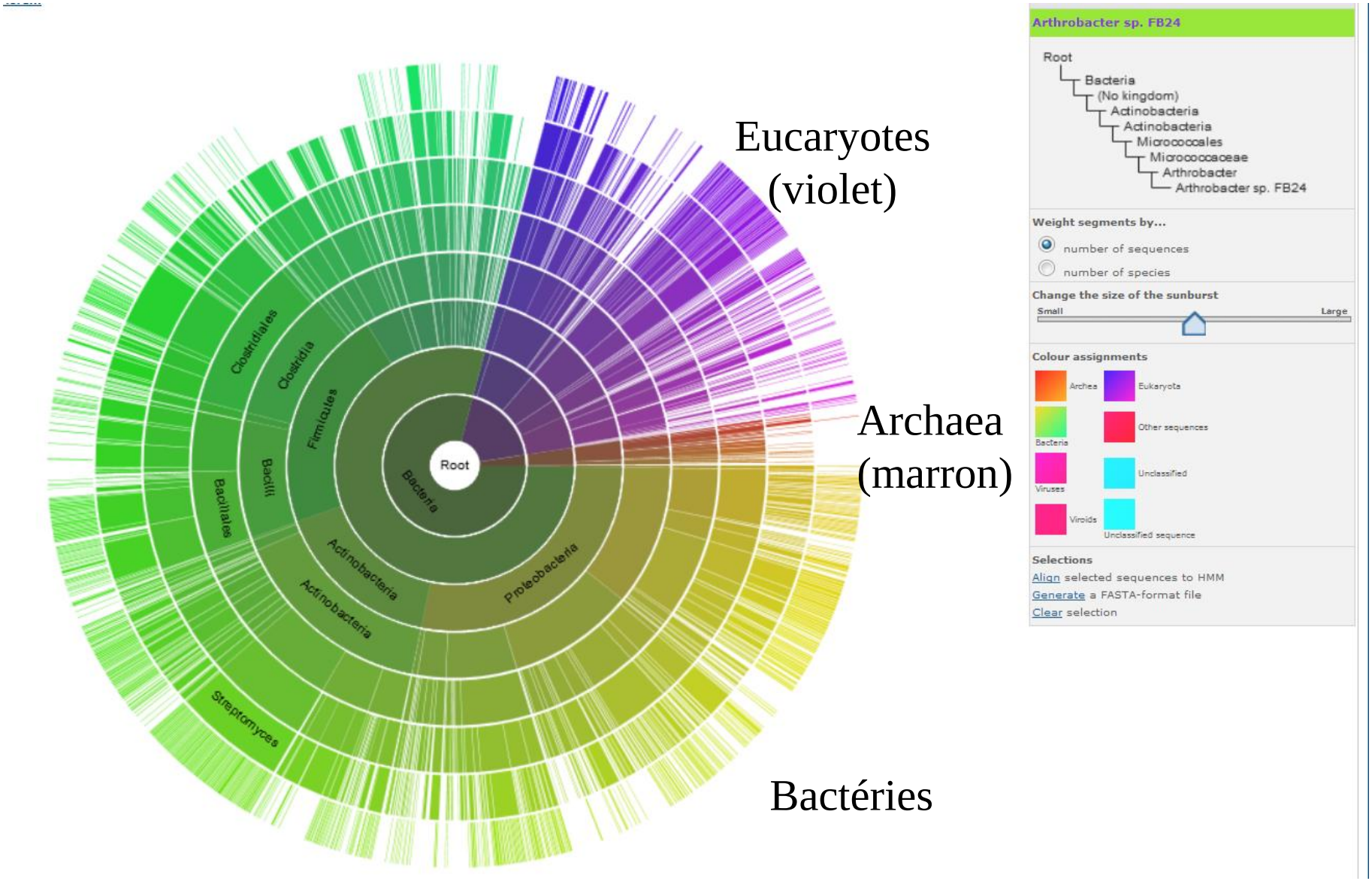
There are 8145 sequences with the following architecture: ABC_tran, oligo_HPY
W8X1U8_CASDE [Castellaniella defragrans 65Phen] Dipeptide transport ATP-binding protein DppF {ECO:0000313|EMBL:CDM26063.1} (380 residues)

Show all sequences with this architecture.

There are 7095 sequences with the following architecture: ABC_tran, TOBE_2
D5RQ25_9PROT [Roseomonas cervicalis ATCC 49957] ABC transporter, ATP-binding protein {ECO:0000313|EMBL:EFH10598.1} (347 residues)

Show all sequences with this architecture.

Visualisation graphique simple de cette famille de protéines au sein des espèces

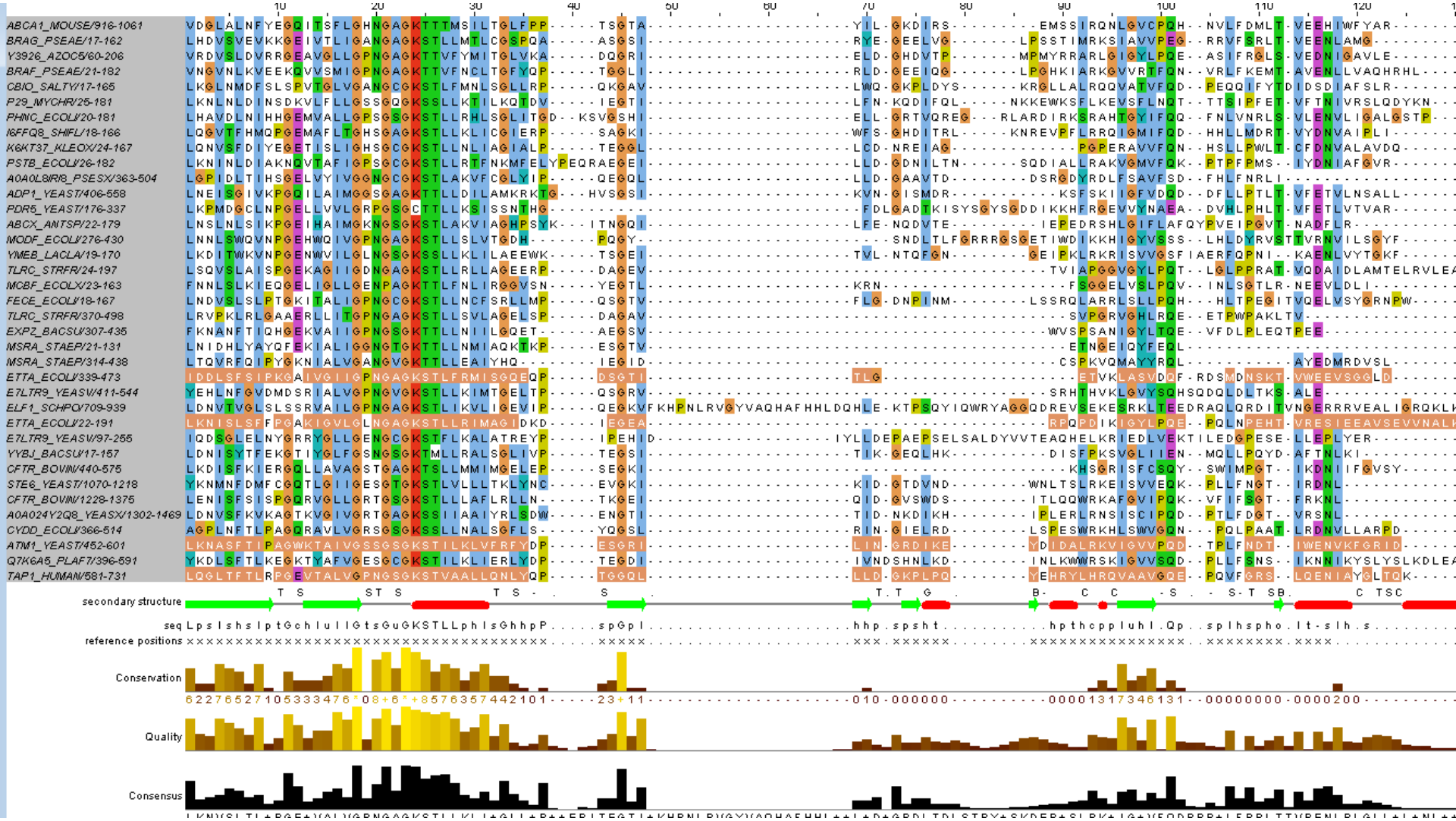


Eucaryotes (violet)

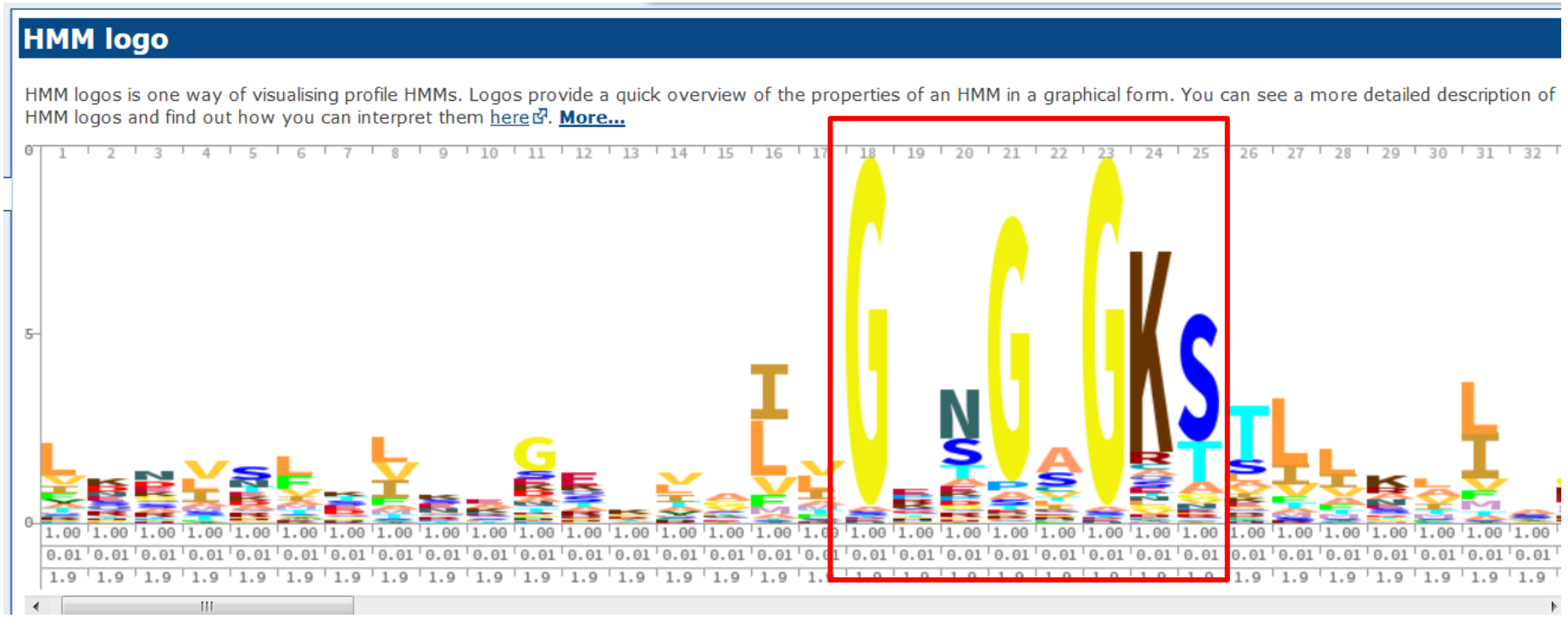
Archaea (marron)

Bactéries

Extrait de l'alignement multiple correspondant au domaine fonctionnel ABC_tran (sous Jalview) sur les séquences « seed »



Extrait du logo correspondant au domaine fonctionnel ABC_tran

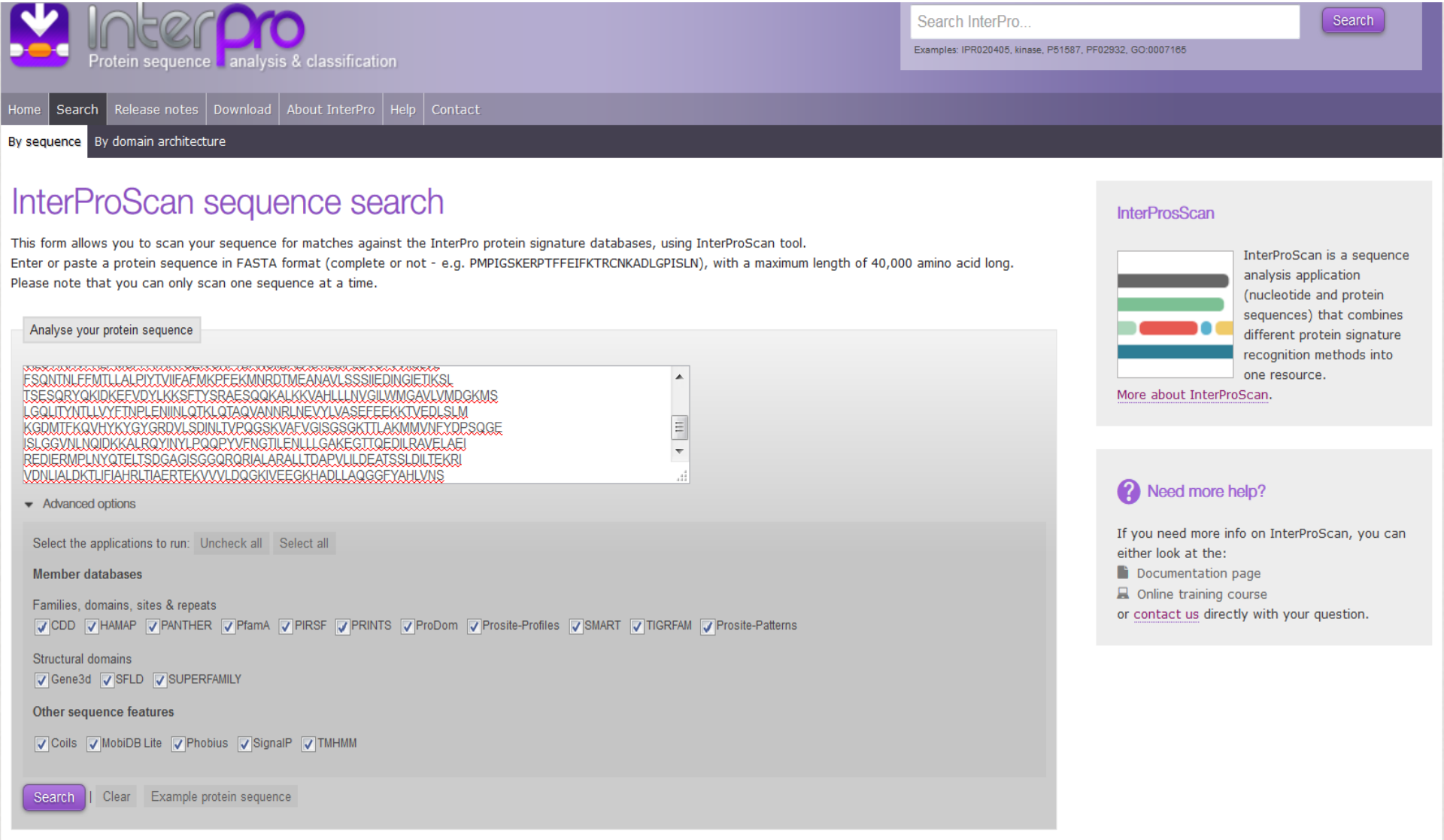


Correspond à la zone fortement conservée de l'alignement précédent et représente le motif Walker A de liaison de l'ATP

InterPro

Interpro permet la classification des protéines en fonction de la présence de domaines fonctionnels, répétitions, et signaux grâce à une recherche automatisée dans plusieurs bases de données (CATH-Gene3D, HAMAP, PANTHER, Pfam, PIRSF, PRINTS, ProDom, PROSITE, SMART, SUPERFAMILY, TIGRFAMs).

Page d'entrée d'InterPro : analyse de la séquence ComA de *S. pneumoniae*



https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence-search

Résultats de l'analyse de la séquence ComA de *S. pneumoniae*

Protein family membership

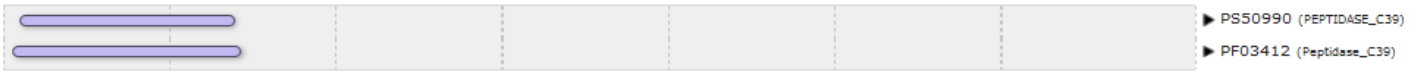
F Peptidase C39, ABC-type bacteriocin transporter (IPR005897)

Domains and repeats

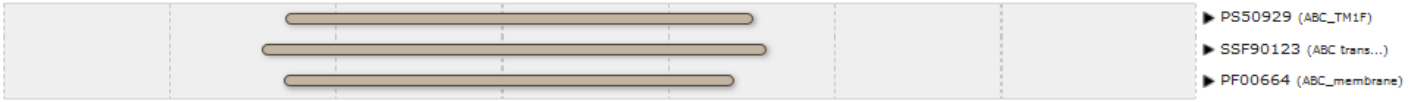
Detailed signature matches

F IPR005897 Peptidase C39, ABC-type bacteriocin transporter

D IPR005074 Peptidase C39, bacteriocin processing



D IPR011527 ABC transporter type 1, transmembrane domain

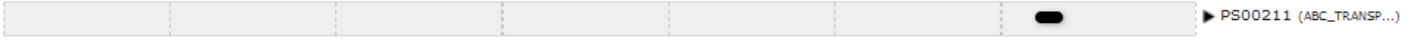


D IPR027417 P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolase

D IPR003439 ABC transporter-like

D IPR003593 AAA+ ATPase domain

S IPR017871 ABC transporter, conserved site



Recherche des domaines fonctionnels dans la séquence ComA de *S. pneumoniae* dans la banque « Conserved Domain Database » (CDD) maintenue au NCBI (CD_search)

NCBI

Conserved Domains

HOME | SEARCH | GUIDE | Structure Home | 3D Macromolecular Structures | Conserved Domains | Pubchem | BioSystems

Search for Conserved Domains within a protein or coding nucleotide sequence

NEW! Use Batch CD-search to submit multiple query proteins at once!

Enter **protein** or **nucleotide** query as accession, gi, or sequence in FASTA format

```
>SpneA01.COMA "Transport ATP-binding protein ComA"
MKFGKRHYRPQVDQMDCGVASLAMVFGYYGSYYFLAHLRELAKTTMDGTTALGLVKVAEEIGFETRAIKADMTLFDLPDL
TFPFVAHVLKEGKLLHYYVVTGQDKDSIHIADPDPGVKLTKLPRERFEEEWTGVTLFMAPSPDYKPHKEQKNGLLSFIPI
LVKQRGLIANIVLATLLVTVINIVGSYYLQSIIDTYVPDQMRSTLGIISIGLVIVYILQQILSYAQEYLLLVLGQRLSID
VILSYIKHVFHLPMSFFATRRTGEIVSRFTDANSIIDALASTILSIFLDVSTVVIISLVLFSQNTNLFFMTLLALPIYTV
IIFAFMKPFEKMNRDTMEANAVLSSSIIEDINGIETIKSLTSESQRYQKIDKEFVDYLKKSFTYSRAESQQKALKKVAHL
LLNVGILWMGAVLVMDGKMSLGQLITYNTLLVYFTNPLENIINLQTKLQTAQVANNRLNEVYLVASEFEEKKTVEDLSLM
KGDMTFKQVHYKYGYGRDVLSDINLTVPQGSKVAFVGISGSGKTTLAKMMVNFYDPSQGEISLGGVNLNQIDKKALRQYI
NYLPQQPYVFNGTILENLLLGAKEGTTQEDILRAVELAEIREDIERMPLNYQTELTSDGAGISGGQRQRIALARALLTDA
PVLILDEATSSLDILTEKRIVDNLIALDKTLIFIAHRLTIAERTEKVVVLDQGKIVEEGKHADLLAQGGFYAHLVNS
```

OPTIONS

Search against database: CDD v3.15 - 48963 PSSMs

Expect Value threshold: 0.010000

Apply low-complexity filter

Composition based statistics adjustment

Force live search

Rescue borderline hits Suppress weak overlapping hits

Maximum number of hits: 500

Result mode: Concise Standard Full

Submit Reset

Retrieve previous CD-search result

Request ID: Retrieve

References:

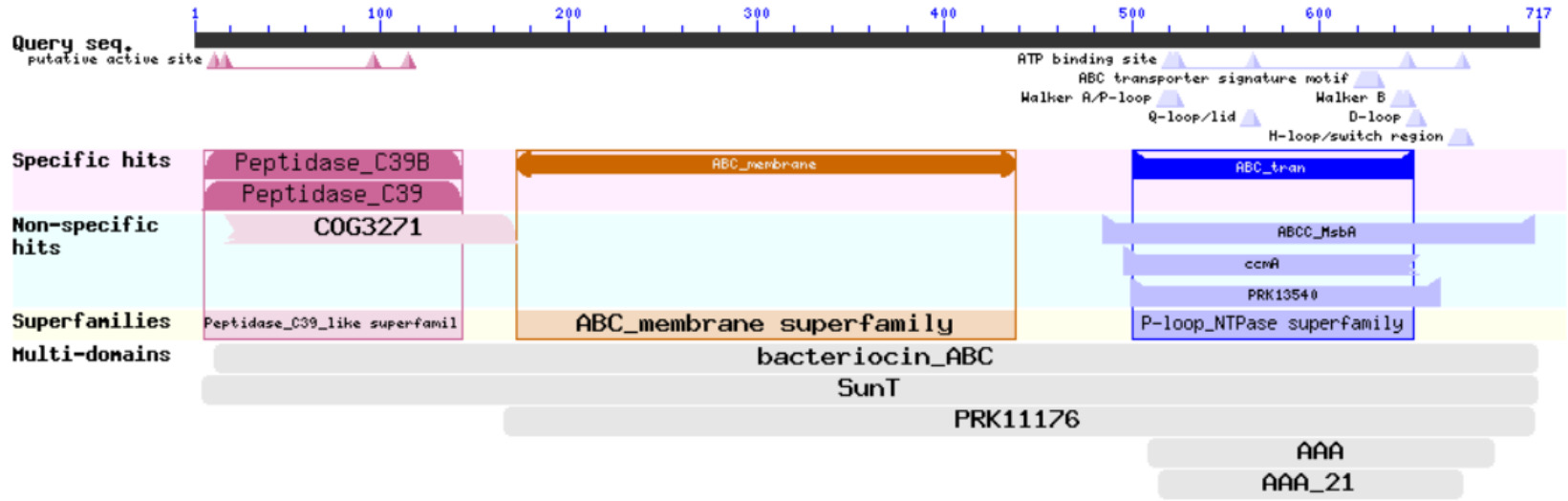
- Marchler-Bauer A et al. (2017), *"CDD/SPARCLE: functional classification of proteins via subfamily domain architectures."*, **Nucleic Acids Res.45**(D)200-3.
- Marchler-Bauer A et al. (2015), *"CDD: NCBI's conserved domain database."*, **Nucleic Acids Res.43**(D)222-6.
- Marchler-Bauer A et al. (2011), *"CDD: a Conserved Domain Database for the functional annotation of proteins."*, **Nucleic Acids Res.39**(D)225-9.
- Marchler-Bauer A, Bryant SH (2004), *"CD-Search: protein domain annotations on the fly."*, **Nucleic Acids Res.32**(W)327-331.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi

Résultat de la recherche dans la banque CDD

protein containing domains Peptidase_C39B, ABC_membrane, and P-loop_NTPase

Graphical summary Zoom to residue level show extra options »



Search for similar domain architectures | Refine search

List of domain hits

Name	Accession	Description	Interval	E-value
[+] ABCC_MsbA	cd03251	ATP-binding cassette domain of the bacterial lipid flippase and related proteins, subfamily C; ...	485-714	9.00e-79
[+] Peptidase_C39B	cd02418	A sub-family of peptidase family C39. Peptidase family C39 mostly contains ...	6-143	1.66e-68
[+] ABC_membrane	pfam00664	ABC transporter transmembrane region; This family represents a unit of six transmembrane ...	172-438	2.87e-64
[+] Peptidase_C39	pfam03412	Peptidase C39 family; Lantibiotic and non-lantibiotic bacteriocins are synthesized as ...	5-143	1.20e-50
[+] ABC_tran	pfam00005	ABC transporter; ABC transporters for a large family of proteins responsible for translocation ...	500-650	5.05e-39
[+] ccmA	TIGR01189	heme ABC exporter, ATP-binding protein CcmA; This model describes the cyt c biogenesis protein ...	496-653	6.96e-19
[+] PRK13540	PRK13540	cytochrome c biogenesis protein CcmA; Provisional	499-664	4.40e-10
[+] COG3271	COG3271	Predicted double-glycine peptidase [General function prediction only];	17-172	4.87e-05
[+] bacteriocin_ABC	TIGR01193	ABC-type bacteriocin transporter; This model describes ABC-type bacteriocin transporter. The ...	11-716	0e+00
[+] SunT	COG2274	ABC-type bacteriocin/lantibiotic exporters, contain an N-terminal double-glycine peptidase ...	5-716	0e+00
[+] PRK11176	PRK11176	lipid transporter ATP-binding/permease protein; Provisional	166-714	9.99e-76
[+] AAA	smart00382	ATPases associated with a variety of cellular activities; AAA - ATPases associated with a ...	509-693	8.93e-09
[+] AAA_21	pfam13304	AAA domain, putative AbiEii toxin, Type IV TA system; Several members are annotated as being ...	514-676	1.42e-03

Résultat détaillée de la détection du domaine fonctionnel Pfam00664

ABC transporter; ABC transporters for a large family of proteins responsible for translocation of a variety of compounds across biological membranes. ABC transporters are the largest family of proteins in many completely sequenced bacteria. ABC transporters are composed of two copies of this domain and two copies of a transmembrane domain pfam00664. These four domains may belong to a single polypeptide or belong in different polypeptide chains.

Pssm-ID: 278435 **Cd Length:** 150 **Bit Score:** 140.09 **E-value:** 5.05e-39

```
                                          10        20        30        40        50        60        70        80
                                 ....*....|....*....|....*....|....*....|....*....|....*....|....*....|....*....|
seqsig_MKFGK_e2ea59cba8ae2f892bff9c30e69b60cc 500 LSDINLTVPQGSKVAFVGISGSGKTTLAKMMVNFYDPSQGEISLGGVNLNQIDKKALRQYINYLPQQPYVFNG-TILENL 578
Cdd:pfam00005                                   1 LKNVSLTLNPGEILALVGPNGAGKSTLLKLIAGLLSPTEGTILLDGQDLTDDERKSLRKEIGYVFQDPNLFPRlTVRENL  80

                                          90       100       110       120       130       140       150
                                 ....*....|....*....|....*....|....*....|....*....|....*....|....*....|....
seqsig_MKFGK_e2ea59cba8ae2f892bff9c30e69b60cc 579 LLGAKEgttqEDILRAVELAEIREDIERMPLNYQ--TELTSDGAGISGGQRQRIALARALLTDAPVLILDEATS 650
Cdd:pfam00005                                  81 RLGLRL----KGLSKREKDARAEEALEKLGLGDLldRPVGENPGTLSGGQKQRVAIARALLTKPKLLLLDEPTA 150
```