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 similarité 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). Les acides aminés de même classe peuvent être substitués par simple mutation *acceptable* et répondre ainsi aux contraintes de la sélection évolutive. Il en découle alors des structures protéiques non identiques mais similaires assurant la même fonction biologique.
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.

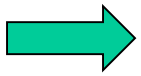
Comment quantifier la similarité entre deux acides aminés ?

- 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 caractéristiques des a.a.

Basée sur le code génétique : une substitution d'un a.a. en un autre se produit d'autant plus rarement que cela nécessite un plus grand nombre de mutations au niveau ADN.



Matrice génétique (Fitch, 1966)

Identité : +3
1 mutation ADN = 2 nt identiques : +2
2 mutations ADN = 1 nt identique : +1
3 mutations ADN = 0 nt identique : 0

le code génétique

Première lettre (côté 5')	Deuxième lettre U		Deuxième lettre C		Deuxième lettre A		Deuxième lettre G		Troisième lettre (côté 3')
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G

codon d'initiation — codon de terminaison

Basée sur les propriétés physico-chimiques des a.a. :

- composition, polarité, volume moléculaire (Grantham, 1974)
- volume et polarité (Miyata *et al.*, 1979)
- paramêtres de Chou et Fasman (structures secondaires), polarité et hydrophobicité (Rao, 1987)

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

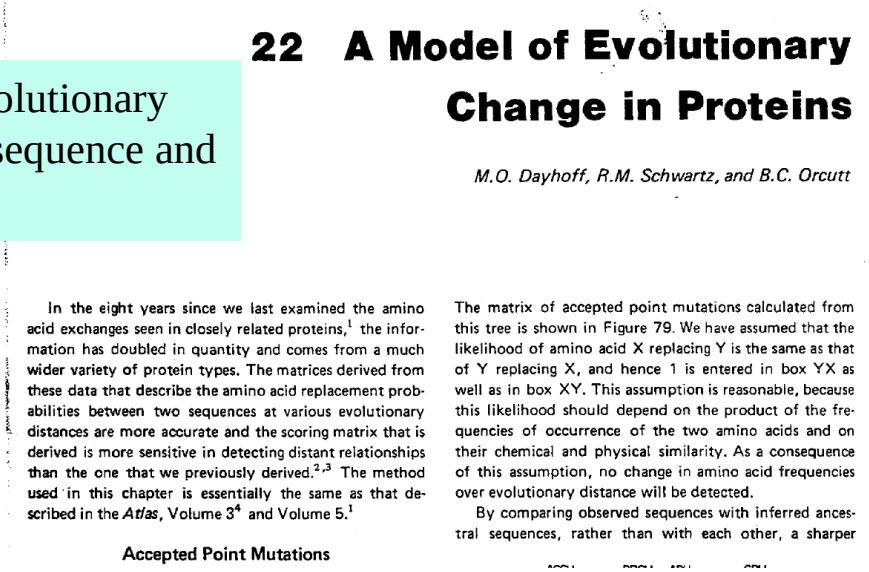
Principales approches :

- Comparaison directe des séquences (alignement global) : matrices PAM (Dayhoff, 1978)
- Comparaison des domaines protéiques (régions les plus conservées) : matrices **BLOSUM** (Henikoff et Henikoff, 1992)
- Alignement des séquences en comparant leur structure secondaire ou tertiaire

Matrices PAM

PAM : Point/Percent Accepted Mutation (Dayhoff, 1978)

M. Dayhoff *et al* (1978) A model of evolutionary change in proteins. In Atlas of protein sequence and structure Vol 5, No suppl 3, p.345-351



22 A Model of Evolutionary Change in Proteins

M.O. Dayhoff, R.M. Schwartz, and B.C. Orcutt

In the eight years since we last examined the amino acid exchanges seen in closely related proteins,[1] the information has doubled in quantity and comes from a much wider variety of protein types. The matrices derived from these data that describe the amino acid replacement probabilities between two sequences at various evolutionary distances are more accurate and the scoring matrix that is derived is more sensitive in detecting distant relationships than the one that we previously derived.[2,3] The method used in this chapter is essentially the same as that described in the *Atlas*, Volume 3[4] and Volume 5.[1]

Accepted Point Mutations

The matrix of accepted point mutations calculated from this tree is shown in Figure 79. We have assumed that the likelihood of amino acid X replacing Y is the same as that of Y replacing X, and hence 1 is entered in box YX as well as in box XY. This assumption is reasonable, because this likelihood should depend on the product of the frequencies of occurrence of the two amino acids and on their chemical and physical similarity. As a consequence of this assumption, no change in amino acid frequencies over evolutionary distance will be detected.

By comparing observed sequences with inferred ancestral sequences, rather than with each other, a sharper

Elle rend compte de deux processus :

- l'apparition de substitutions
- leur passage au travers du crible de la sélection.

Etant donné ces mutations ponctuelles acceptées, on pourrait calculer la probabilité qu'un acide aminé dans une position reste le même ou la probabilité qu'il change vers un autre acide aminé.

Matrices PAM

PAM : Point/Percent Accepted Mutation (Dayhoff, 1978)

Le modèle utilisé est dérivé d'un modèle général pour l'évolution des protéines.

Deux hypothèses :

- Les évènements de mutation sont indépendants du contexte, c'est-à-dire de la position et de la nature des acides aminés adjacents. Les positions de la protéine sont considérées comme indépendantes.

- La probabilité de mutation d'un acide aminé est indépendante de ce qui s'est produit à cette position dans le passé. Par exemple, la probabilité qu'un acide aminé valine soit remplacé par l'acide aminé leucine est la même pour tous les acides aminés valine rencontrés dans la protéine et ceci indépendamment des acides aminés qui occupaient cette position dans le passé (donc avant l'acide aminé valine)

Matrices PAM

Construction :

- 71 familles de protéines (environ 1300 séquences)
- Une famille de protéines est constituée de protéines homologues
- Choix des séquences : très proches minimum 85% d'identité entre chaque paire de séquences de manière à éviter la présence de substitutions multiples.

Extrait des alignements multiples du jeu de données de Dayhoff

```
                                  1                   2                   3
                  1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9…
KAPPA
 1 HUMAN EU       T - V A A P S V F I F P P S D E Q - L K S - G T A S V V C L L N N F Y P - R E…
 2 MOUSE MOPC 21  A - D A A P T V S I F P P S S E Q - L T S - G G A S V V C F L N N F Y P - K D
 3 QAT S211       A - N A A P T V S I F P P S T Z Z - L A T - G G A S V V C L M N K.F Y P - R D
 4 84 RA881T 4135 D - P V A P T V L I F P P A A D Q - V A T - G T V T I V C V A N K Y F P - - D
 B9 RA881T        D P P I A P T V L L F P P S A D Q - L T T - Z T V T I V C V A N K F R P - D D

LAMBDA
 6 HUMAN SH       Q P K A A P S V T L F P P S S E E - L Q A - N K A T L V C L I S D F Y P - G A
 7 PIG            Q P K A A P T V N L F P P S S E E - L G T - N K A T L V C L I S D F Y P - G A
 8 MOUSE MOPC 104E Q P K S S P S V T L F P P S S E E - L T E - N K A T L V C T I T O F Y P - G V
 9 MOUSE MOPC 315 Q P K S T P T L T V F P P S S E E - L K E - N K.A T L V C L I S N F S P - G S
 …
```

comptage du nombre n_{ij} de substitution de l'acide aminé i vers l'acide aminé j et du nombre de conservations

Matrice de cumul des mutations acceptées (x10) issue du comptage des n_{ij}

	ala	arg	asn	asp	cys	gln	glu	gly	his	ile	leu	lys	met	phe	pro	ser	thr	trp	tyr	val
A																				
R	30																			
N	109	17																		
D	154	0	532																	
C	33	10	0	0																
Q	93	120	50	76	0															
E	266	0	94	831	0	422														
G	579	10	156	162	10	30	112													
H	21	103	226	43	10	243	23	10												
I	66	30	36	13	17	8	35	0	3											
L	95	17	37	0	0	75	15	17	40	253										
K	57	477	322	85	0	147	104	60	23	43	39									
M	29	17	0	0	0	20	7	7	0	57	207	90								
F	20	7	7	0	0	0	0	17	20	90	167	0	17							
P	345	67	27	10	10	93	40	49	50	7	43	43	4	7						
S	772	137	432	98	117	47	86	450	26	20	32	168	20	40	269					
T	590	20	169	57	10	37	31	50	14	129	52	200	28	10	73	696				
W	0	27	3	0	0	0	0	0	3	0	13	0	0	10	0	17	0			
Y	20	3	36	0	30	0	10	0	40	13	23	10	0	260	0	22	23	6		
V	365	20	13	17	33	27	37	97	30	661	303	17	77	10	50	43	186	0	17	

Nombre de fois où C (cys) est muté : 280
Nombre de fois où V (val) est muté : 2003

Pourquoi cette différence ?
V plus fréquent que C dans l'échantillon ?
V mute plus fréquemment que C ?

Matrices PAM

Calcul : la matrice PAM1 : plusieurs normalisations :

1. Calcul du pourcentage d'acides aminés X mutés et non mutés
2. Calcul du pourcentage d'acides aminés X mutés en Y

- 1. Calcul de la *mutabilité* de chaque acide aminé *i*

La mutabilité est défini comme le rapport entre le nombre de substitutions affectant l'acide aminé *i* et le nombre d'acide aminé *i* observé dans les données (pourcentage d'acide aminé i muté et non muté) :

$$m_i = \frac{\text{nombre de changements de i}}{\text{nombre d'occurences de i}} = \frac{\sum_{i \neq j} n_{ij}}{\sum_j n_{ij}}$$

- 2. Calcul de la probabilité de mutation de chaque paire d'acides aminés

Le calcul de la mutabilité nous indique si un acide aminé *i* est plus souvent (ou moins souvent) muté qu'un autre acide aminé *k*. Par contre, ceci ne nous indique pas quel est le pourcentage, par exemple, de *i* muté en *j*. Ce pourcentage correspond à la probabilité de mutation de la paire d'acides aminés *ij*. Cette valeur est donnée par :

$$p_{ij} = m_i \frac{n_{ij}}{\sum_{i \neq j} n_{ij}} = \text{mutabilité de i} \frac{\text{nombre d'acides aminés i muté en j}}{\text{nombre d'acides aminés i muté}}$$

Matrices PAM

Petit exemple calcul de la mutabilité et de la probabilité de mutation d'un aa en un autre :

Si on à 100 acides aminés i et 10 sont mutés -> $m_i = 0{,}1$
5 i sont mutés en A -> $q_{iA} = 0{,}1 * 5/10 = 0{,}05$ (5%)
3 i sont mutés en V -> $q_{iV} = 0{,}1 * 3/10 = 0{,}03$ (3%)
2 i sont mutés en S -> $q_{iS} = 0{,}1 * 2/10 = 0{,}02$ (2%)

Calcul la matrice PAM1 : dernière normalisation :

- Normalisation des valeurs pour qu'elles représentent 1 mutation acceptée pour 100 acides aminés
- Calcul d'une log-odd matrice

$$w_{i,j} = \log \frac{q_{ij}}{p_{ij}}$$

où : q_{ij} est la fréquence observée de substitution de l'acide aminé i en j
p_{ij} est la fréquence théorique de substitution de l'acide aminé i en j

$w_{i,j} > 0$: la probabilité de substitution observée de i vers j est plus élevée qu'attendue par hasard
$w_{i,j} < 0$: la probabilité de substitution observée de i vers j est moins élevée qu'attendue par hasard
$w_{i,j} = 0$: la probabilité de substitution observée de i vers j n'est pas différente de l'attendue (modèle aléatoire)

Matrices PAM

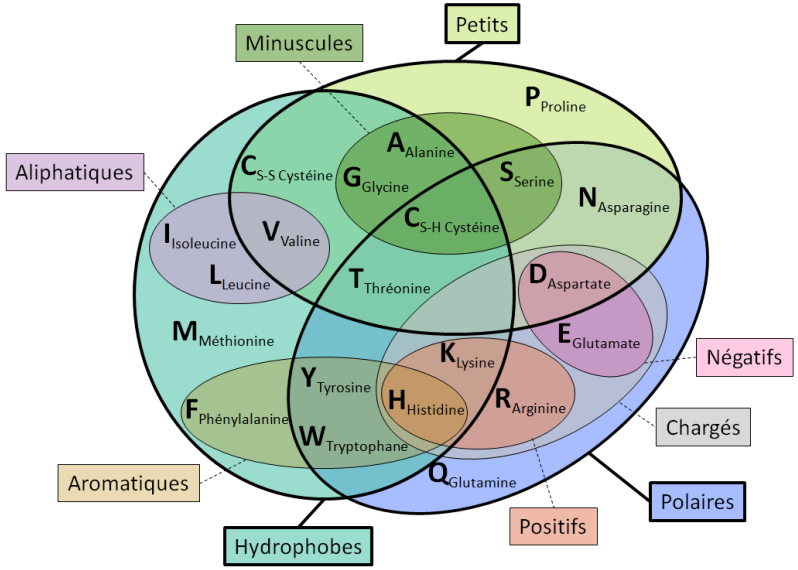
Comment estimer les probabilités de mutation des paires d'acides aminés pour des distances évolutives plus grande ?

Comme 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, on va pouvoir obtenir les probabilités de mutation pour des intervalles d'évolution plus grands par la multiplication de 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

Matrices de substitution

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 PAM

Remarques :

• Biais dans la sélection des protéines (petites protéines globulaires)

• Matrice calculée à partir de séquences ayant moins de 15% de divergence. Pour des distances évolutives plus grandes, les probabilités de substitution des acides aminés les uns envers les autres sont estimées et non calculées directement en comparant des séquences plus distantes.

Développement des matrices BLOSUM

Matrices BLOSUM (Henikoff et Henikoff, 1992)

BLOSUM : BLOcks SUbstituion Matrix

S. Henikoff et J.G. Henikoff (1992) Amino acid substitution matrices from protein blocks. Proc Natl Acad Sci USA 89:10915-10919

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 89, pp. 10915–10919, November 1992
Biochemistry

Amino acid substitution matrices from protein blocks

(amino acid sequence/alignment algorithms/data base searching)

STEVEN HENIKOFF* AND JORJA G. HENIKOFF

Howard Hughes Medical Institute, Basic Sciences Division, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA 98104

Communicated by Walter Gilbert, August 28, 1992 (received for review July 13, 1992)

ABSTRACT **Methods for alignment of protein sequences typically measure similarity by using a substitution matrix with scores for all possible exchanges of one amino acid with another. The most widely used matrices are based on the Dayhoff model of evolutionary rates. Using a different approach, we have derived substitution matrices from about 2000 blocks of aligned sequence segments characterizing more than 500 groups of related proteins. This led to marked improvements in alignments and in searches using queries from each of the groups.**

Among the most useful computer-based tools in modern biology are those that involve sequence alignments of proteins, since these alignments often provide important insights into gene and protein function. There are several different

new sequence and every other sequence in the block. For example, if the residue of the new sequence that aligns with the first column of the first block is A and the column has 9 A residues and 1 S residue, then there are 9 AA matches and 1 AS mismatch. This procedure is repeated for all columns of all blocks with the summed results stored in a table. The new sequence is added to the group. For another new sequence, the same procedure is followed, summing these numbers with those already in the table. Notice that successive addition of each sequence to the group leads to a table consisting of counts of all possible amino acid pairs in a column. For example, in the column consisting of 9 A residues and 1 S residue, there are $8 + 7 + \ldots 1 = 36$ possible AA pairs, 9 AS or SA pairs, and no SS pairs. Counts of all possible pairs in each column of each block in the data base are summed.

Matrices BLOSUM (Henikoff et Henikoff, 1992)

BLOSUM : BLOcks SUbstituion Matrix

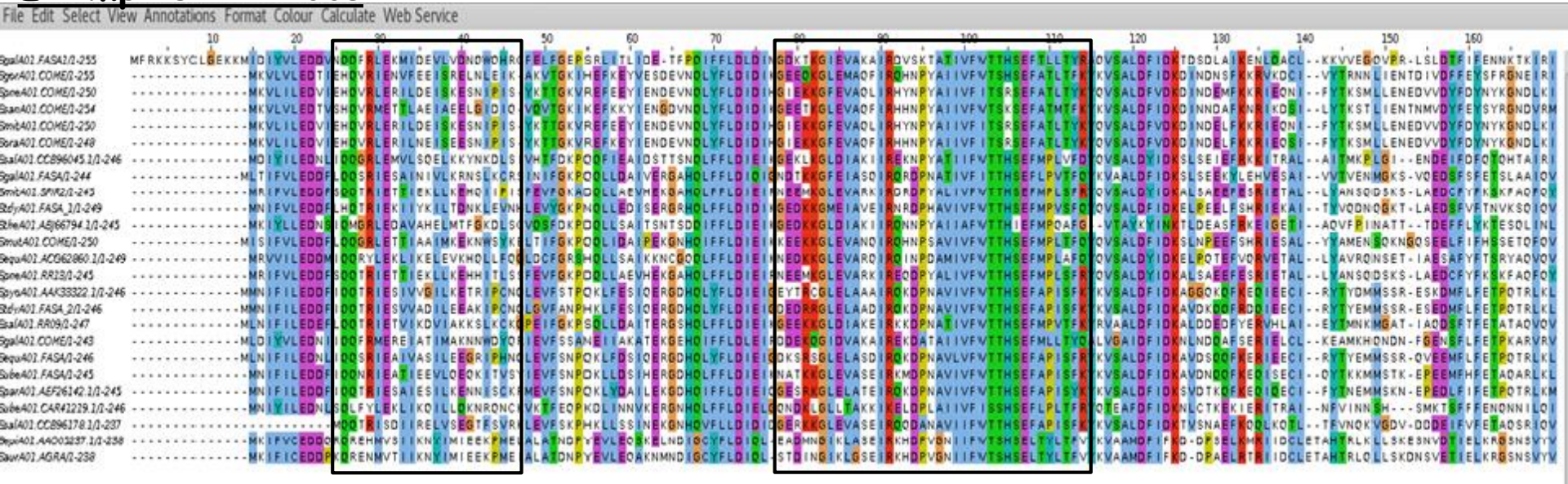
Principe :

- 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)

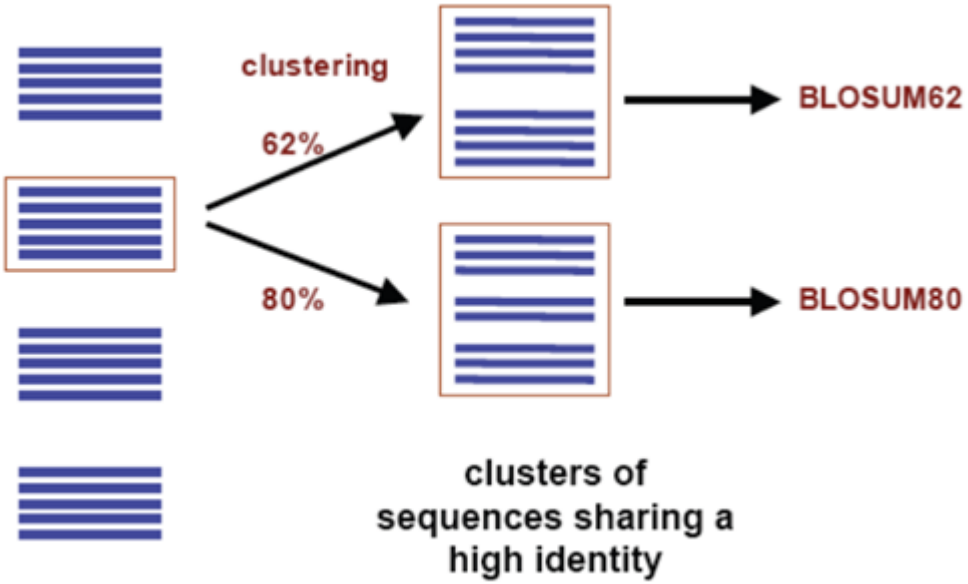
Exemples de blocs



Matrices BLOSUM

Pour calculer les probabilités de substitution des acides aminés en fonction de la distance évolutive des séquences, les blocs ont été regroupés en fonction du pourcentage d'identité observés entre les positions alignées.

- La matrice BLOSUM62 a été calculée sur des blocs de >=62% d'identité
- La matrice BLOSUM80 a été calculée sur des blocs de >=80% d'identité



Calcul de la log-odd matrice

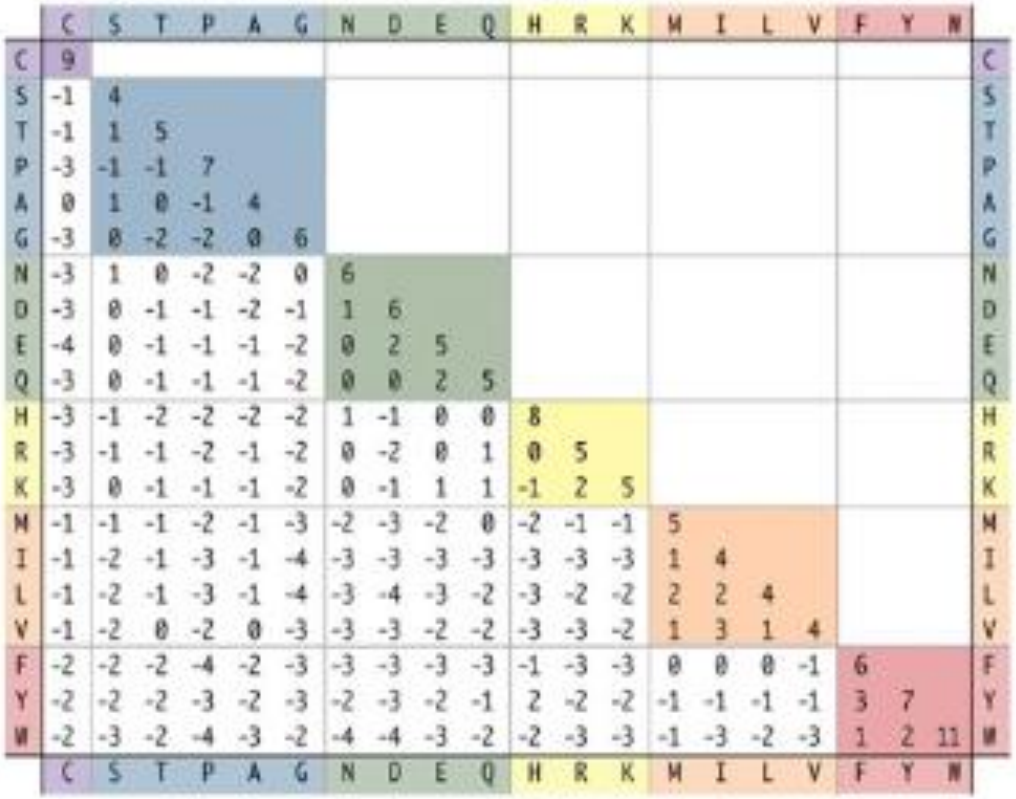
$$w_{i,j} = \log \frac{q_{ij}}{p_{ij}}$$ où :

q_{ij} est la fréquence observée de substitution de l'acide aminé *i* en *j*

p_{ij} est la fréquence théorique de substitution de l'acide aminé *i* en *j*

Matrices BLOSUM

La matrice BLOSUM62



	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

S – small hydrophilic

N- acid, acid amide, hydrophylic

H - basic

V – small hydrophobic

F- aromatic

- un indice élevé pour une matrice PAM décrit une distance d'évolution élevée
- un indice élevé pour une matrice BLOSUM décrit au contraire une forte similarité de séquences donc une distance d'évolution faible

Matrices BLOSUM

La matrice BLOSUM80

		Ala	Arg	Asn	Asp	Cys	Gln	Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
		A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
Ala	A	5																			
Arg	R	-2	6																		
Asn	N	-2	-1	6																	
Asp	D	-2	-2	1	6																
Cys	C	-1	-4	-3	-4	9															
Gln	Q	-1	1	0	-1	-4	6														
Glu	E	-1	-1	-1	1	-5	2	6													
Gly	G	0	-3	-1	-2	-4	-2	-3	6												
His	H	-2	0	0	-2	-4	1	0	-3	8											
Ile	I	-2	-3	-4	-4	-2	-3	-4	-5	-4	5										
Leu	L	-2	-3	-4	-5	-2	-3	-4	-4	-3	1	4									
Lys	K	-1	2	0	-1	-4	1	1	-2	-1	-3	-3	5								
Met	M	-1	-2	-3	-4	-2	0	-2	-4	-2	1	2	-2	6							
Phe	F	-3	-4	-4	-4	-3	-4	-4	-4	-2	-1	0	-4	0	6						
Pro	P	-1	-2	-3	-2	-4	-2	-2	-3	-3	-4	-3	-1	-3	-4	8					
Ser	S	1	-1	0	-1	-2	0	0	-1	-1	-3	-3	-1	-2	-3	-1	5				
Thr	T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-2	-1	-1	-2	-2	1	5			
Trp	W	-3	-4	-4	-6	-3	-3	-4	-4	-3	-3	-2	-4	-2	0	-5	-4	-4	11		
Tyr	Y	-2	-3	-3	-4	-3	-2	-3	-4	2	-2	-2	-3	-2	3	-4	-2	-2	2	7	
Val	V	0	-3	-4	-4	-1	-3	-3	-4	-4	3	1	-3	1	-1	-3	-2	0	-3	-2	4

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). A utiliser si les séquences à aligner sont similaires et courtes

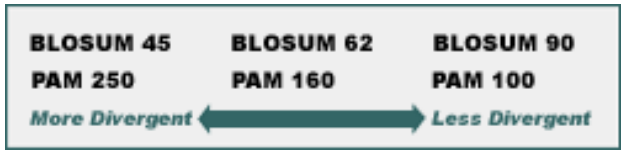
PAM250 et BLOSUM45 : estimation des fréquences de substitution entre acides aminés pour des séquences distantes dans l'évolution (longues distances). A utiliser si les séquences à aligner sont divergentes et longues

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 adopter)

distance %	PAM
1	1
25	30
50	80
80	246



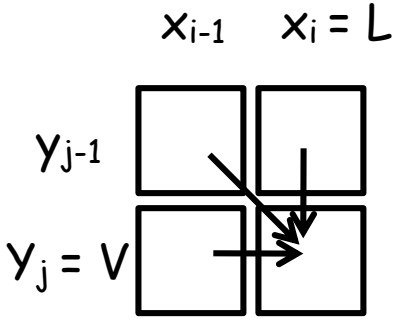
Source figure : ebi.ac.uk

Alignement de deux séquences protéiques

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

Alignements de deux séquences : même principe que pour les séquences d'acides nucléiques (programmation dynamique).



la cellule (i,j) atteinte par la diagonale en venant de la cellule (i-1,j-1)

$$s(i, j) = s(i-1, j-1) + w(x_i, y_j)$$

Dans l'exemple x_i=L et y_j = V, w(L,V) correspondra à la valeur présente dans la matrice de substitution utilisée

Déplacement horizontal ou vertical on ajoute la pondération de l'indel

Alignement de deux séquences protéiques

Donc quand on compare deux séquences protéiques :

- le pourcentage d'identité correspond au pourcentage d'acides aminés identiques

- le pourcentage de similarité correspond au pourcentage d'acides aminés ayant une valeur positive dans la matrice de substitution donc acides aminés identiques et similaires. Dans certains programmes, le pourcentage de similarité est appelé Positives Percentage (valeurs positives dans la matrice de substitution).

Alignement de deux séquences protéiques

Quelle matrice doit-on utiliser ?

Les matrices BLOSUM sont le plus souvent proposées comme matrices par défaut.

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.

Alignement de deux séquences protéiques

Le problème est qu'avant de réaliser l'alignement, on connaît pas le pourcentage d'identité entre nos deux séquences.
Comment faire ?

- On réalise un premier alignement avec une matrice « moyenne » comme la matrice BLOSUM62.
- On observe le % d'identité dans cet alignement.
- On choisit alors la matrice dont l'indice est le plus proche de ce taux
- On refait l'alignement avec cette nouvelle matrice

Exemples:

- L'alignement présente 68.4% d'identité -> le premier alignement avec BLOSUM62 était correct.
- L'alignement présente 33.2% d'identité -> on refait l'alignement avec BLOSUM30
- L'alignement présente 79.5% d'identité -> on refait l'alignement avec BLOSUM80

Effet du choix de la matrice de substitution

```
# Aligned_sequences: 2
# 1: PDC1_MAIZE
# 2: ILVB_ARATH
# Matrix: EBLOSUM62
# Gap_penalty: 12
# Extend_penalty: 2
#
# Length: 692
# Identity:      133/692 (19.2%)
# Similarity:    244/692 (35.3%)
# Gaps:          104/692 (15.0%)
# Score: -14
```

```
                                                  10
PDC1_M METLLAG----------------------------------NPANGVAKPT
       :                                          ::    .
ILVB_A MAAATTTTTTSSSISFSTKPSPSSSKSPLPISRFSLPFSLNPNKSSSSSR
              10        20        30        40        50

       20        30        40             50
PDC1_M CNGVGALPVANSHAIIATPAAAAATLAPAGAT-----LGRH---------
         :. .   ..  :.. :      : .:   :     . :
ILVB_A RRGIKSSSPSSISAVLNTTTNVTTTPSPTKPTKPETFISRFAPDQPRKGA
              60        70        80        90       100

             60        70        80        90       100
PDC1_M --LARRLVQIGASDVFAVPGDFNLTLLDYLIAEPGLTLVGCCNELNAGYA
        :   : . :   ::: ::  .. .   :     .  :   .:    .:
ILVB_A DILVEALERQGVETVFAYPGGASMEIHQALTRSSSIRNVLPRHEQGGVFA
             110       120       130       140       150

            110       120       130       140       150
PDC1_M ADGYARSRGV-GACAVTFTVGGLSVLNAIAGAYSENLPVVCIVGGPNSND
       :.:::::  :   : :   :   : .... .: :  ...:.: : :
ILVB_A AEGYARSSGKPGICIATSGPGATNLVSGLADALLDSVPLVAITGQVPRRM
             160       170       180       190       200

             160       170       180       190
PDC1_M YGTNRILHHTIGLPDFSQELRCFQTITCYQAIINNLDDAHEQIDTA--IA
        ::.      :         .   ..:: .  .. ...:    :. :  .:
ILVB_A IGTDAFQETPI--------VEVTRSITKHNYLVMDVEDIPRIIEEAFFLA
             210               220       230       240

      200       210       220           230       240
PDC1_M TALRESKPVYISVSCNLAG-LSHPTFS---RDPVPMFISPRLSNKANLEY
       :. :   :: . :  ..   :. : .    : :  :   :.    ..::
ILVB_A TSGRPG-PVLVDVPKDIQQQLAIPNWEQAMRLPGYMSRMPKPPEDSHLEQ
             250       260       270       280       290
```

```
# Aligned_sequences: 2
# 1: PDC1_MAIZE
# 2: ILVB_ARATH
# Matrix: EPAM350
# Gap_penalty: 12
# Extend_penalty: 2
#
# Length: 700
# Identity:      133/700 (19.0%)
# Similarity:    360/700 (51.4%)
# Gaps:          120/700 (17.1%)
# Score: 396
```

```
             10            20
PDC1_M METLLAGNPANGV----AKPT-CNGVGALPVAN-----------------
       :..  .......     .::.  .. ..::...
ILVB_A MAAATTTTTTSSSISFSTKPSPSSSKSPLPISRFSLPFSLNPNKSSSSSR
              10        20        30        40        50

                  30        40             50
PDC1_M -----------SHAIIATPAAAAATLAPAGAT-----LGRH---------
                   :.. :..  ..: .:. .:     ..:
ILVB_A RRGIKSSSPSSISAVLNTTTNVTTTPSPTKPTKPETFISRFAPDQPRKGA
              60        70        80        90       100

             60        70        80        90       100
PDC1_M --LARRLVQIGASDVFAVPGDFNLTLLDYLIAEPGLTLVGCCNELNAGYA
        :   : . :   ::: ::. .. . . :   ...  :   .: .. .:
ILVB_A DILVEALERQGVETVFAYPGGASMEIHQALTRSSSIRNVLPRHEQGGVFA
             110       120       130       140       150

            110       120       130       140       150
PDC1_M ADGYARSRG-VGACAVTFTVGGLSVLNAIAGAYSENLPVVCIVGGPNSND
       :.:::::  :   : :   : . :. ......:.:  ...:.: : :
ILVB_A AEGYARSSGKPGICIATSGPGATNLVSGLADALLDSVPLVAITG------
             160       170       180       190

             160         170       180       190
PDC1_M YGTNRILHHTIGLPDFSQE--LRCFQTITCYQAIINNLDDAHEQIDTA--
          .. .. ::  .: .   .   ..::  . .. ...:    :. :
ILVB_A ----QVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNYLVMDVEDIPRIIEEAFF
             200       210       220       230       240

       200       210       220       230       240
PDC1_M IATALRESKPVYISVSCNLAG-LSHPTFSRD-PVPMFISPRLSNKANLEY
       .::. : . :: ..:. ..   :. :.. ..  .: ..: :... .. .
ILVB_A LATSGRPG-PVLVDVPKDIQQQLAIPNWEQAMRLPGYMS-RMPKPPE-DS
             250       260       270       280
```

Effet du choix de la matrice de substitution

```
# Aligned_sequences: 2
# 1: PDC1_MAIZE
# 2: ILVB_ARATH
# Matrix: EBLOSUM62
# Gap_penalty: 12
# Extend_penalty: 2
#
# Length: 692
# Identity:      133/692 (19.2%)
# Similarity:    244/692 (35.3%)
# Gaps:          104/692 (15.0%)
# Score: -14

                                                    10
PDC1_M METLLAG--------------------------------NPANGVAKPT
       :                                       ::    .
ILVB_A MAAATTTTTTSSSISFSTKPSPSSSKSPLPISRFSLPFSLNPNKSSSSSR
              10        20        30        40        50

       20        30        40             50
PDC1_M CNGVGALPVANSHAIIATPAAAAATLAPAGAT-----LGRH---------
        :. .   ..  :.. :      : .:   :     . :
ILVB_A RRGIKSSSPSSISAVLNTTTNVTTTPSPTKPTKPETFISRFAPDQPRKGA
              60        70        80        90       100

              60        70        80        90       100
PDC1_M --LARRLVQIGASDVFAVPGDFNLTLLDYLIAEPGLTLVGCCNELNAGYA
         :   : . :   ::: ::  .. .   :     .  :   .:    .:
ILVB_A DILVEALERQGVETVFAYPGGASMEIHQALTRSSSIRNVLPRHEQGGVFA
              110       120       130       140       150

             110       120       130       140       150
PDC1_M ADGYARSRGV-GACAVTFTVGGLSVLNAIAGAYSENLPVVCIVGGPNSND
       :.::::: :  : :  :   :  .... .: :  ...:.: : :
ILVB_A AEGYARSSGKPGICIATSGPGATNLVSGLADALLDSVPLVAITGQVPRRM
              160       170       180       190       200

              160       170       180       190
PDC1_M YGTNRILHHTIGLPDFSQELRCFQTITCYQAIINNLDDAHEQIDTA--IA
        ::.      :        .   ..:: .  .. ...:    :. :  .:
ILVB_A IGTDAFQETPI--------VEVTRSITKHNYLVMDVEDIPRIIEEAFFLA
              210               220       230       240

      200       210       220           230       240
PDC1_M TALRESKPVYISVSCNLAG-LSHPTFS---RDPVPMFISPRLSNKANLEY
       :. :   :: . :  ..   :. : .    : :  :   :.    ..::
ILVB_A TSGRPG-PVLVDVPKDIQQQLAIPNWEQAMRLPGYMSRMPKPPEDSHLEQ
             250       260       270       280       290
```

```
# Aligned_sequences: 2
# 1: PDC1_MAIZE
# 2: ILVB_ARATH
# Matrix: EPAM30
# Gap_penalty: 12
# Extend_penalty: 2
#
# Length: 797
# Identity:      173/797 (21.7%)
# Similarity:    216/797 (27.1%)
# Gaps:          314/797 (39.4%)
# Score: -977

                  10        20                30
PDC1_M ME----TLLAGNPANGVAKPT-CNGVGALPVA--------NSH-------
       :     :            ::        ::.         :
ILVB_A MAAATTTTTTSSSISFSTKPSPSSSKSPLPISRFSLPFSLNPNKSSSSSR
              10        20        30        40        50

                           40             50
PDC1_M -------------AIIATPAAAAATLAPAGAT-----LGRHLA----RR-
                    :.  :      :  :   :       :  :    :
ILVB_A RRGIKSSSPSSISAVLNTTTNVTTTPSPTKPTKPETFISR-FAPDQPRKG
              60        70        80        90

          60            70        80        90       100
PDC1_M ---LVQI----GASDVFAVPGDFNLTLLDYLIAEPGLTLVGCCNELNAGY
         ::.      :   ::: ::   .     :         :    :    .
ILVB_A ADILVEALERQGVETVFAYPGGASMEIHQALTRSSSIRNVLPRHEQGGVF
     100       110       120       130       140

             110       120       130       140
PDC1_M AADGYARSRG-VGACAVTFTVGGLSVLNAIAGAYSENLPVVCIVGGPNSN
       ::.::::: :  : :  :   :        : :  .  : : :
ILVB_A AAEGYARSSGKPGICIATSGPGATNLVSGLADALLDSVPLVAI-------
     150       160       170       180       190

     150       160       170           180
PDC1_M DYGTNRILHHTIGLPDFSQELRCFQT----ITCYQAII--NNL----DDA
         :  .    ::   : ::     :    .:    :   : :    .:
ILVB_A ---TGQVPRRMIGTDAF-QE-----TPIVEVT--RSITKHNYLVMDVEDI
              200               210       220       230

     190         200       210                 220
PDC1_M HEQIDTA--IATALRESKPVYISVSCN----LA------GLSHPTF-SRD
         :. :   ::  :   :: . :  .    ::        .  : . ::
ILVB_A PRIIEEAFFLATSGRPG-PVLVDVPKDIQQQLAIPNWEQAMRLPGYMSR-
             240       250       260       270
```

Effet de la pénalité des indels

```
# 1: ILV1_TOBAC
# 2: ILVB_ARATH
# Matrix: EPAM60
# Gap_penalty: 2
# Extend_penalty: 2
#
# Length: 715
# Identity:     531/715 (74.3%)
# Similarity:   586/715 (82.0%)
# Gaps:          93/715 (13.0%)
# Score: 3415

                10          20          30          40
ILV1_T MAAAAPSP--SSS-AFS-KTLSPSSSTSSTLLP--RSTF--PFP-HHPHK
       :::::. .   ::: .:: :  ::::: :  : :  :  :  ::  . :.:
ILVB_A MAAATTTTTTSSSISFSTKP-SPSSSKSP-L-PISR--FSLPFSLN-PNK
              10        20          30          40

             50        60              70
ILV1_T TTPPPLHLTHTHIHIHSQRRR-F-T-----ISNVIST--NQKV----SQT
       ..      . .     : :::   .     :: : .:  :  :    : :
ILVB_A SS------S-S-----S-RRRGIKSSSPSSISAVLNTTTN--VTTTPSPT
                       50        60        70

       80          90        100         110       120
ILV1_T EK-T--ETFVSRFAPDEPRKGSDVLVEALEREGV-TDVFAYPGGASMEIH
        : :  :::.:::::::.:::::.:.:::::::.:: : ::::::::::::
ILVB_A -KPTKPETFISRFAPDQPRKGADILVEALERQGVET-VFAYPGGASMEIH
       80        90        100         110       120

         130       140       150         160       170
ILV1_T QALTRSS-IIRNVLPRHEQGGVFAAEGYARATG-FPGVCIATSGPGATNL
       ::::::: : ::::::::::::::::::::::.:  ::.::::::::::::
ILVB_A QALTRSSSI-RNVLPRHEQGGVFAAEGYARSSGK-PGICIATSGPGATNL
       130       140       150         160       170

           180       190       200         210       220
ILV1_T VSGLADALLDSVPIVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNYLV
       :::::::::::: :::::::::::::::::::::::::::::::::::::
ILVB_A VSGLADALLDSVPLVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNYLV
         180       190       200         210       220

           230         240       250       260       270
ILV1_T MDVEDIPRVVRE-AFFLA-RSGRPGPILIDVPKDIQQQLVIPDWDQPMRL
       :::::::::.. : :::::  :::::::.:.:::::::::: ::.:.: :::
ILVB_A MDVEDIPRII-EEAFFLAT-SGRPGPVLVDVPKDIQQQLAIPNWEQAMRL
         230       240       250       260       270
```

```
# 1: ILV1_TOBAC
# 2: ILVB_ARATH
# Matrix: EPAM60
# Gap_penalty: 12
# Extend_penalty: 2
#
# Length: 683
# Identity:     520/683 (76.1%)
# Similarity:   575/683 (84.2%)
# Gaps:          29/683 ( 4.2%)
# Score: 3275

                10        20        30        40
ILV1_T MAAAAPS---PSSSAFSKTLSPSSSTSSTLLPRSTFPFPHHPHKTTPPPL
       ::::. .    :: .::   ::::: :     : . ::  .:.:..
ILVB_A MAAATTTTTTSSSISFSTKPSPSSSKSPLPISRFSLPFSLNPNKSSS---
            10        20        30        40

        50        60              70              80
ILV1_T HLTHTHIHIHSQRRR-------FTISNVISTNQKVSQTE------KTETF
                : :::        .:: : .:   :. :       : :::
ILVB_A ----------SSRRRGIKSSSPSSISAVLNTTTNVTTTPSPTKPTKPETF
                50        60        70        80

          90       100       110       120       130
ILV1_T VSRFAPDEPRKGSDVLVEALEREGVTDVFAYPGGASMEIHQALTRSSIIR
       .:::::::.::::.:.:::::::.::  ::::::::::::::::::: ::
ILVB_A ISRFAPDQPRKGADILVEALERQGVETVFAYPGGASMEIHQALTRSSSIR
        90       100       110       120       130

          140       150       160       170       180
ILV1_T NVLPRHEQGGVFAAEGYARATGFPGVCIATSGPGATNLVSGLADALLDSV
       ::::::::::::::::::::..: ::.:::::::::::::::::::::::
ILVB_A NVLPRHEQGGVFAAEGYARSSGKPGICIATSGPGATNLVSGLADALLDSV
       140       150       160       170       180

          190       200       210       220       230
ILV1_T PIVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNYLVMDVEDIPRVVRE
       : ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::.. :
ILVB_A PLVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSITKHNYLVMDVEDIPRIIEE
       190       200       210       220       230

          240       250       260       270       280
ILV1_T AFFLARSGRPGPILIDVPKDIQQQLVIPDWDQPMRLPGYMSRLPKLPNEM
       ::::: :::::::.:.:::::::::: ::.:.: ::::::::::.:: : .
ILVB_A AFFLATSGRPGPVLVDVPKDIQQQLAIPNWEQAMRLPGYMSRMPKPPEDS
       240       250       260       270       280
```

Alignement global versus Alignement local

```
# Aligned_sequences: 2
# 1: frag_new
# 2: ILV1_TOBAC
# Matrix: EBLOSUM45
# Gap_penalty: 12
# Extend_penalty: 2
#
# Length: 667
# Identity:      40/667 ( 6.0%)
# Similarity:    56/667 ( 8.4%)
# Gaps:         576/667 (86.4%)
# Score: -1062
```

Frag_n : 83 aa
ILV1_T : 667 aa

```
frag_n M----------------------ETLL----------------------
       :                      :::
ILV1_T MAAAAPSPSSSAFSKTLSPSSSTSSTLLPRSTFPFPHHPHKTTPPPLHLT
              10        20        30        40        50


frag_n --------------------------------------------------

ILV1_T HTHIHIHSQRRRFTISNVISTNQKVSQTEKTETFVSRFAPDEPRKGSDVL
              60        70        80        90       100


frag_n --------------------------------------------------

ILV1_T VEALEREGVTDVFAYPGGASMEIHQALTRSSIIRNVLPRHEQGGVFAAEG
             110       120       130       140       150

             10
frag_n ----AGNPA-----------NGVS----------------------IG-
           : :            : ::                      ::
ILV1_T YARATGFPGVCIATSGPGATNLVSGLADALLDSVPIVAITGQVPRRMIGT
             160       170       180       190       200


frag_n --------------------------------------------------

ILV1_T DAFQETPIVEVTRSITKHNYLVMDVEDIPRVVREAFFLARSGRPGPILID
             210       220       230       240       250


frag_n -------------WS-----------------------------------
                    :
ILV1_T VPKDIQQQLVIPDWDQPMRLPGYMSRLPKLPNEMLLEQIVRLISESKKPV
             260       270       280       290       300
```

```
                              20                        30
frag_n ------------------------VGATLGYAGAV--------------S
                              : .::   ::
ILV1_T LYVGGGCSQSSEDLRRFVELTGIPVASTLMGLGAFPTGDELSLSMLGMHG
             310       320       330       340       350

              40        50
frag_n TTFCAEIVESADAYLFAGPIFND---------------------------
       : .    :.:.:  :  :  :.:
ILV1_T TVYANYAVDSSDLLLAFGVRFDDRVTGKLEAFASRAKIVHIDIDSAEIGK
             360       370       380       390       400

frag_n ----------------------------------YSSWQEN----------
                                        .:.:..
ILV1_T NKQPHVSICADIKLALQGLNSILESKEGKLKLDFSAWRQELTEQKVKHPL
             410       420       430       440       450


frag_n ------DQCP--Y-----------------------------------RT
            :  :  :                                      :
ILV1_T NFKTFGDAIPPQYAIQVLDELTNGNAIISTGVGQHQMWAAQYYKYRKPRQ
             460       470       480       490       500

                                                  70
frag_n W--------------------------------------HITSITT---
       :                                      ..  . :
ILV1_T WLTSGGLGAMGFGLPAAIGAAVGRPDEVVVDIDGDGSFIMNVQELATIKV
             510       520       530       540       550

                                    80
frag_n ---------------------------NDYAHV-------EAB-----CK
                                  . ::        ::.      :
ILV1_T ENLPVKIMLLNNQHLGMVVQWEDRFYKANRAHTYLGNPSNEAEIFPNMLK
             560       570       580       590       600

                             90
frag_n F---------------------ERME------------------------
       :                    ..:
ILV1_T FAEACGVPAARVTHRDDLRAAIQKMLDTPGPYLLDVIVPHQEHVLPMIPS
             610       620       630       640       650


frag_n -----------------

ILV1_T GGAFKDVITEGDGRSSY
             660
```

Alignement global versus Alignement local

Frag_n : 83 aa
ILV1_T : 667 aa

```
# Aligned_sequences: 2
# 1: frag_new
# 2: ILV1_TOBAC
# Matrix: EBLOSUM45
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 97
# Identity:      25/97 (25.8%)
# Similarity:    37/97 (38.1%)
# Gaps:          16/97 (16.5%)
# Score: 72.5
#
#
#=======================================

          10        20              30        40
frag_n LAGNPANGVSIGWSVGA-------TLGYAGAVSTTFCAEIVESADAYLFA
       : : :     .:  .::       .:   :   : .    :.:.:  :
ILV1_T LTGIPVASTLMG--LGAFPTGDELSLSMLGMHGTVYANYAVDSSDLLLAF
     320       330         340       350       360

        50          60        70            80
frag_n GPIFNDYSSWQ-ENDQCPYRTWHI----TSITTNDYAHVE--ABCKF
       :  :.:  . . :      .  ::      :  :   ::   :. :.
ILV1_T GVRFDDRVTGKLEAFASRAKIVHIDIDSAEIGKNKQPHVSICADIKL
       370       380       390       400       410
```