生物信息学

第四章　双序列比对（1）

为什么要序列比对

- 基于同源序列鉴定的功能预测

- 基本假设：

  序列的保守性 ⟷ 功能的保守性

- 注意：
  - 蛋白质一般在三级结构的层面上执行功能
  - 蛋白质序列的保守性决定于其编码DNA的保守性

序列同源性模型中的进化假设

- 所有的生物都起源于同一个祖先
- 序列不是随机产生，而是在进化上，不断发生着演变
- 基本假设：

  序列保守性 → 结构保守性

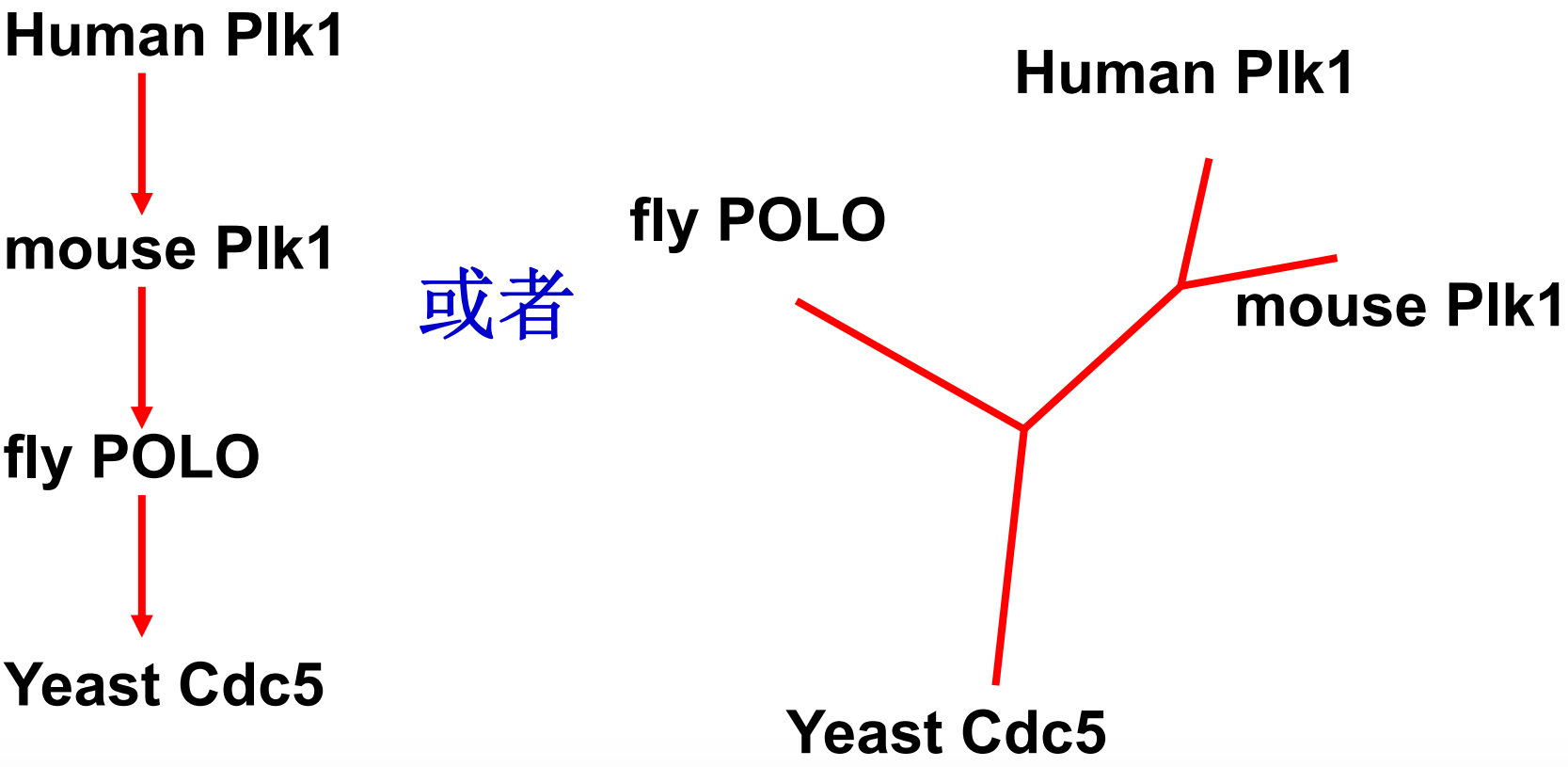
- 注意：反之可以不为真

  结构保守性 ⇏ 序列保守性

同源序列：定义

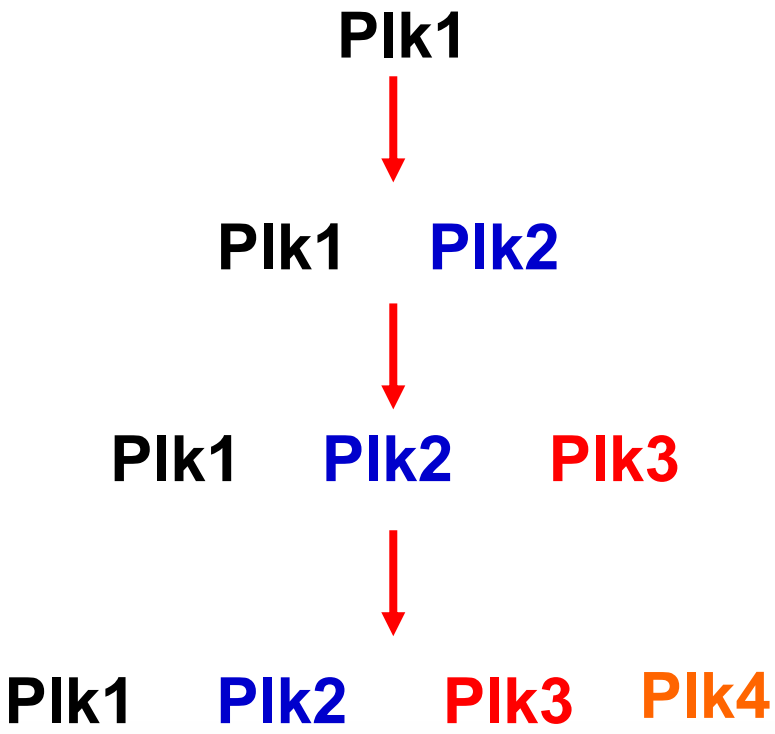
- Ortholog（直系同源序列）：两个基因通过物种形成的事件而产生，或源于不同物种的最近的共同祖先的两个基因，或者两个物种中的同一基因，一般具有相同的功能
- Paralog（旁系同源序列）：两个基因在同一物种中，通过至少一次基因复制的事件而产生
- Xenolog（异同源序列）：由某一个水平基因转移事件而得到的同源序列

直系同源序列：物种形成

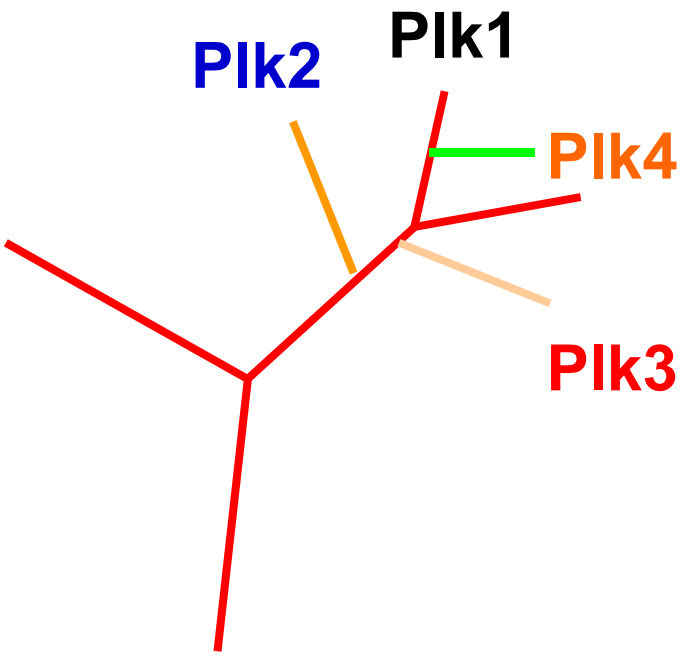

Human Plk1
mouse Plk1
fly POLO
Yeast Cdc5
或者
Human Plk1
fly POLO
mouse Plk1
Yeast Cdc5

旁系同源序列：基因复制

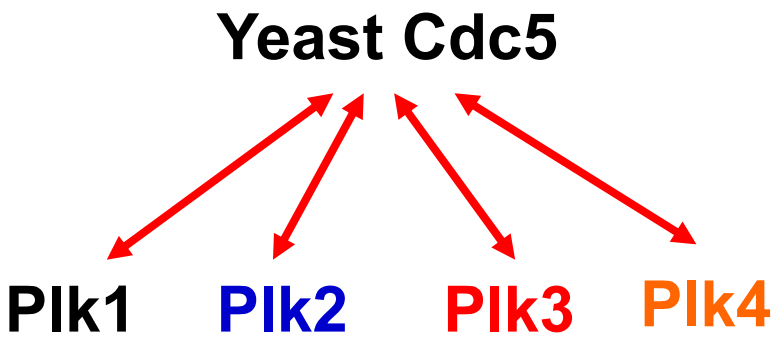
Human



或者



一个复杂的问题



- 直系同源序列 *vs*. 旁系同源序列?

双序列比对的算法

- Dot Matrix，点阵法
- 动态规划算法：
  - Global: Needleman-Wunsch
  - Local: Smith-Waterman
- Word or *k*-tuple算法：FASTA, BLAST

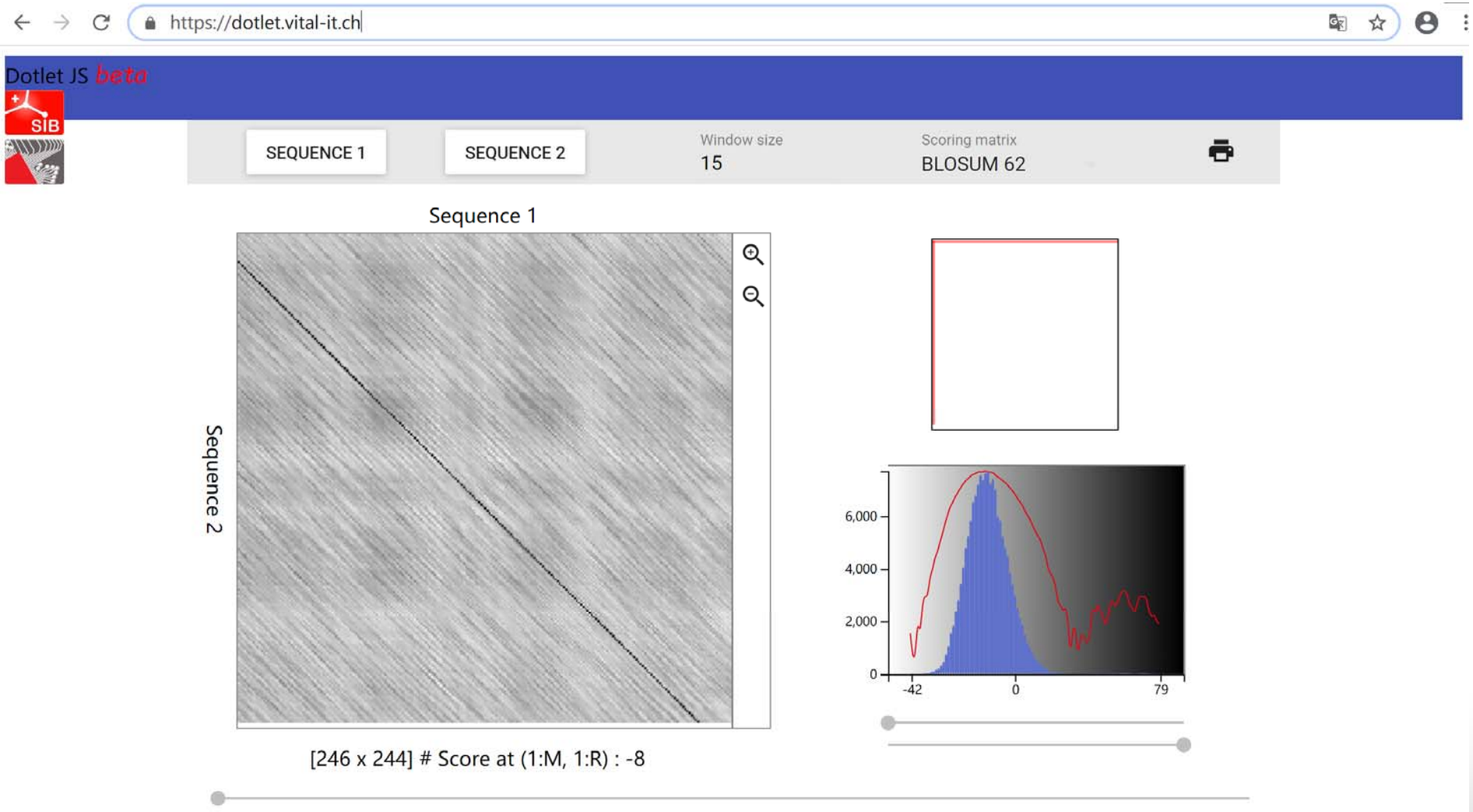
点阵法

- 1970年，Gibbs & McIntyre
- 寻找两条序列间所有可能的比对
- 发现蛋白质或者DNA序列上正向或者反向的重复
- 发现RNA上可能存在的互补区域
- 工具：
  - https://dotlet.vital-it.ch/
  - https://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/dotlet
  - http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/emboss/dotmatcher

点阵法

- 1970年，Gibbs & McIntyre
- 寻找两条序列间所有可能的比对
- 发现蛋白质或者DNA序列上正向或者反向的重复
- 发现RNA上可能存在的互补区域
- 工具：
  - https://dotlet.vital-it.ch/
  - https://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/dotlet
  - http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/emboss/dotmatcher

Dotlet JS


https://dotlet.vital-it.ch
Dotlet JS beta
SIB
SEQUENCE 1
SEQUENCE 2
Window size
15
Scoring matrix
BLOSUM 62
Sequence 1
Sequence 2
6,000
4,000
2,000
0
-42
0
79
[246 x 244] # Score at (1:M, 1:R) : -8

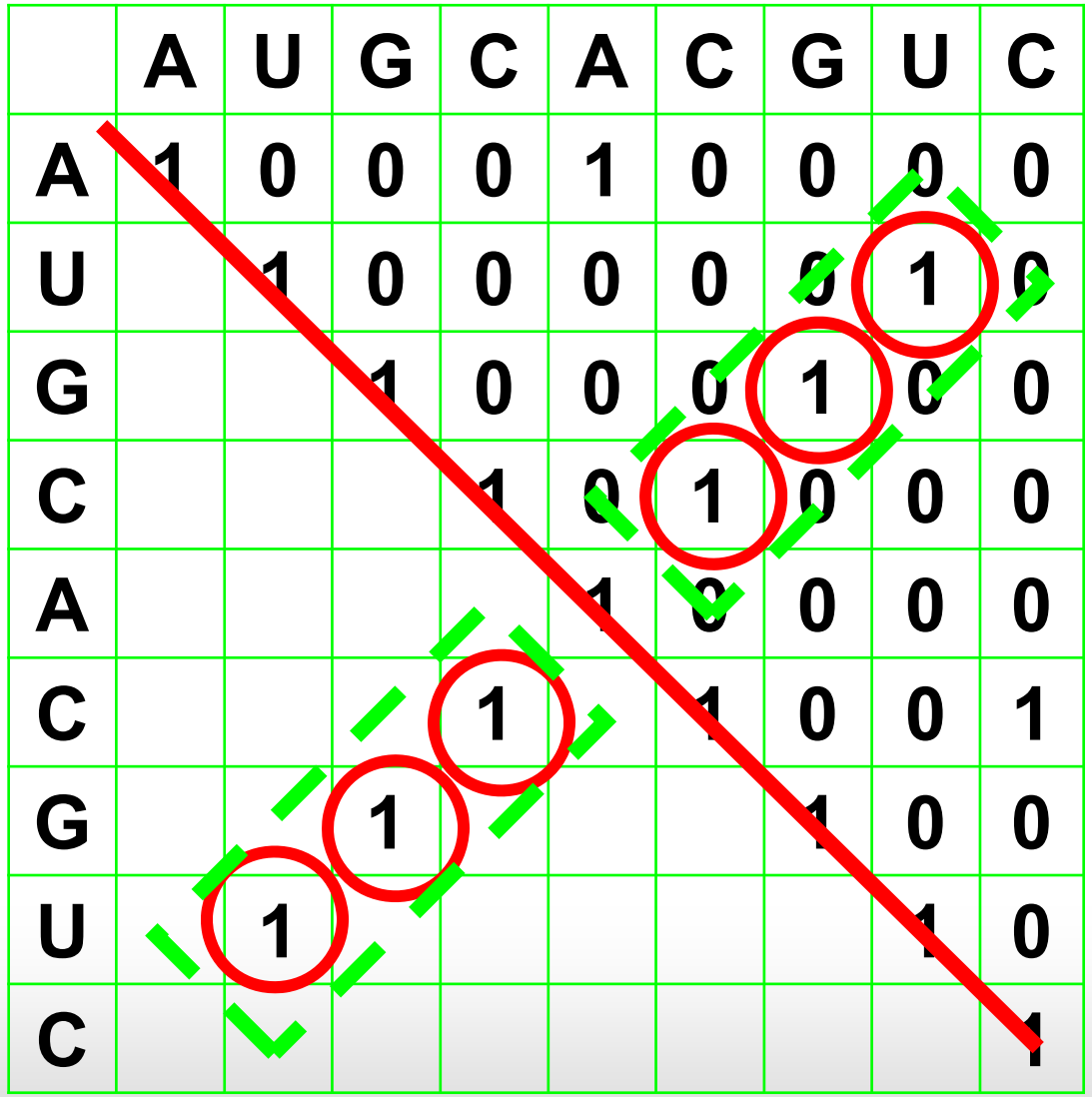
自身的比对

	A	K	G	F	K	C	A	D	E
A	1	0	0	0	0	0	1	0	0
K		1	0	0	1	0	0	0	0
G			1	0	0	0	0	0	0
F				1	0	0	0	0	0
K					1	0	0	0	0
C						1	0	0	0
A							1	0	0
D								1	0
E									1

重复序列

	A	K	G	F	D	K	G	F	E
A	1	0	0	0	0	0	0	0	0
K		1	0	0	0	1	0	0	0
G			1	0	0	0	1	0	0
F				1	0	0	0	1	0
D					1	0	0	0	0
K		1				1	0	0	0
G			1				1	0	0
F				1				1	0
E									1

反向重复/回文


A U G C A C G U C
A 1 0 0 0 1 0 0 0 0
U 1 0 0 0 0 0 1 0
G 1 0 0 0 1 0 0
C 1 0 1 0 0 0
A 1 0 0 0 0
C 1 1 0 0 1
G 1 1 0 0
U 1 1 0
C 1

不同序列的比对

	P	K	D	F	C	K	A	L	V
P	1	0	0	0	0	0	0	0	0
K		1	0	0	0	1	0	0	0
F			0	1	0	0	0	0	0
T					0	0	0	0	0
K		1				1	0	0	0
A							1	0	0
I								0	0
V								0	1

PKDFCKALV

PK-FTKAIV

动态规划算法

- 打分模型、替代矩阵以及空位罚分
- 比对算法：递归及动态规划算法
- 全局优化比对：**Needleman-Wunsch**
  - **BLAST (Global Alignment),** https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi
- 局部优化比对：**Smith-Waterman**
  - **EMBOSS Water,** https://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_water/

好的 *vs.* 差的比对

- 两条序列的相似性 -> 相似/相同的生物学功能

Good

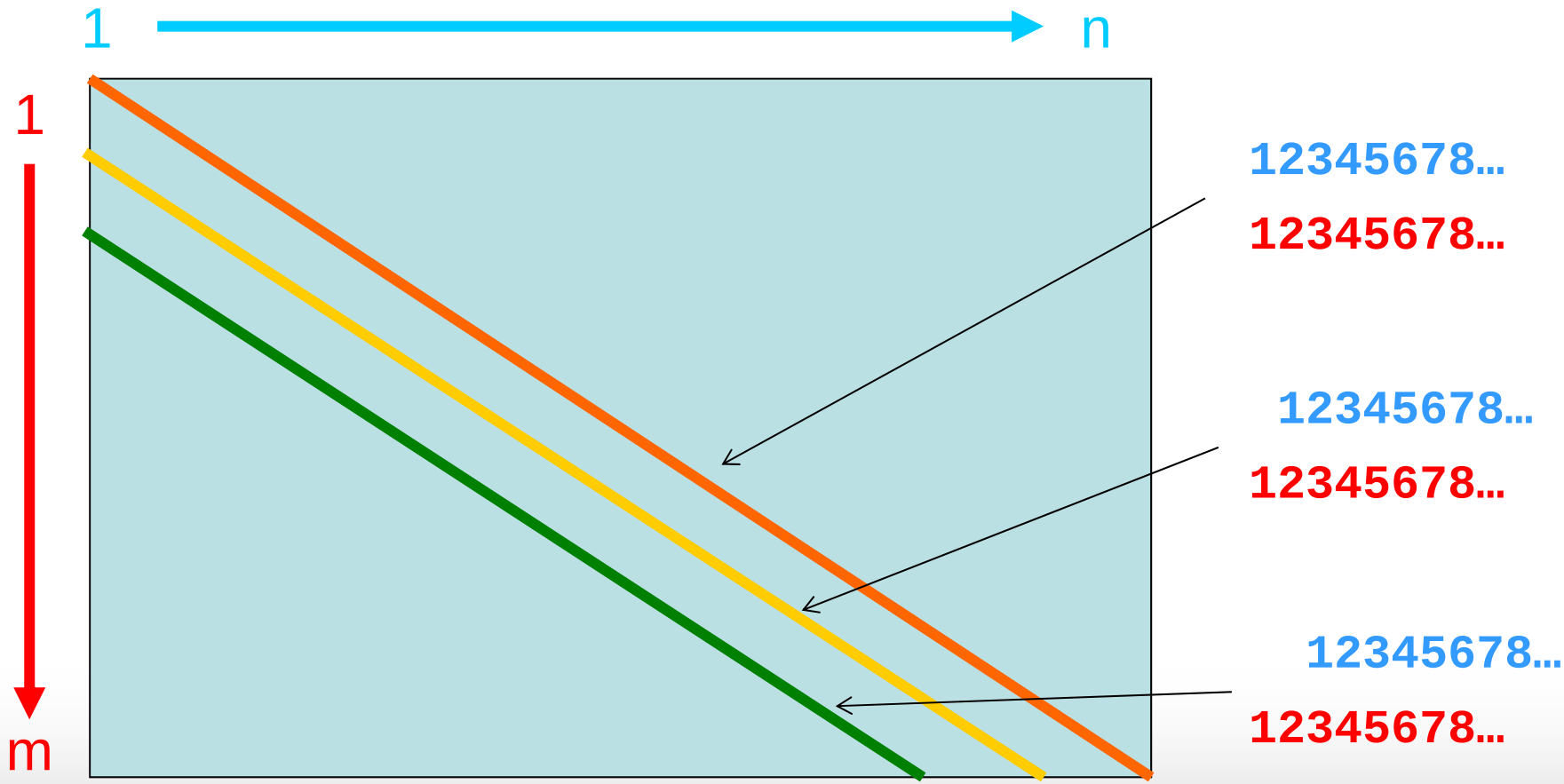
```
SUMO-1   5  EAKPSTEDLGDKKEGEYIKLKVIGQDSSEIHFKVKMTTHLKKLKESYCQRQGVPMNSLRF 64
            E KP     G K E ++I LKV GQD S + FK+K  T L KL ++YC+RQG+ M  +RF
SUMO-3   3  EEKPKE---GVKTENDHINLKVAGQDGSVVQFKIKRHTPLSKLMKAYCERQGLSMRQIRF 59

SUMO-1  65  LFEGQRIADNHTPKELGMEEEDVIEVYQEQTGG 97
             F+GQ I +  TP +L ME+ED I+V+Q+QTGG
SUMO-3  60  RFDGQPINETDTPAQLEMEDEDTIDVFQQQTGG 92
```

Bad

```
SUMO-1   1  MSDQEAKPSTEDLGDKKEGEYIKLKVIGQDSSEIHFK--VKMTTHLKKLKE 49
            +S    + S  D+G  K   Y+KL  +G+ +    FK   K+T +L  LKE
PCTK3  152  LSRMSRRASLSDIGFGKLETYVKLDKLGEGTYATVFKGRSKLTENLVALKE 202
```

无空位罚分的双序列比对

$O(n)=mn=n^2$



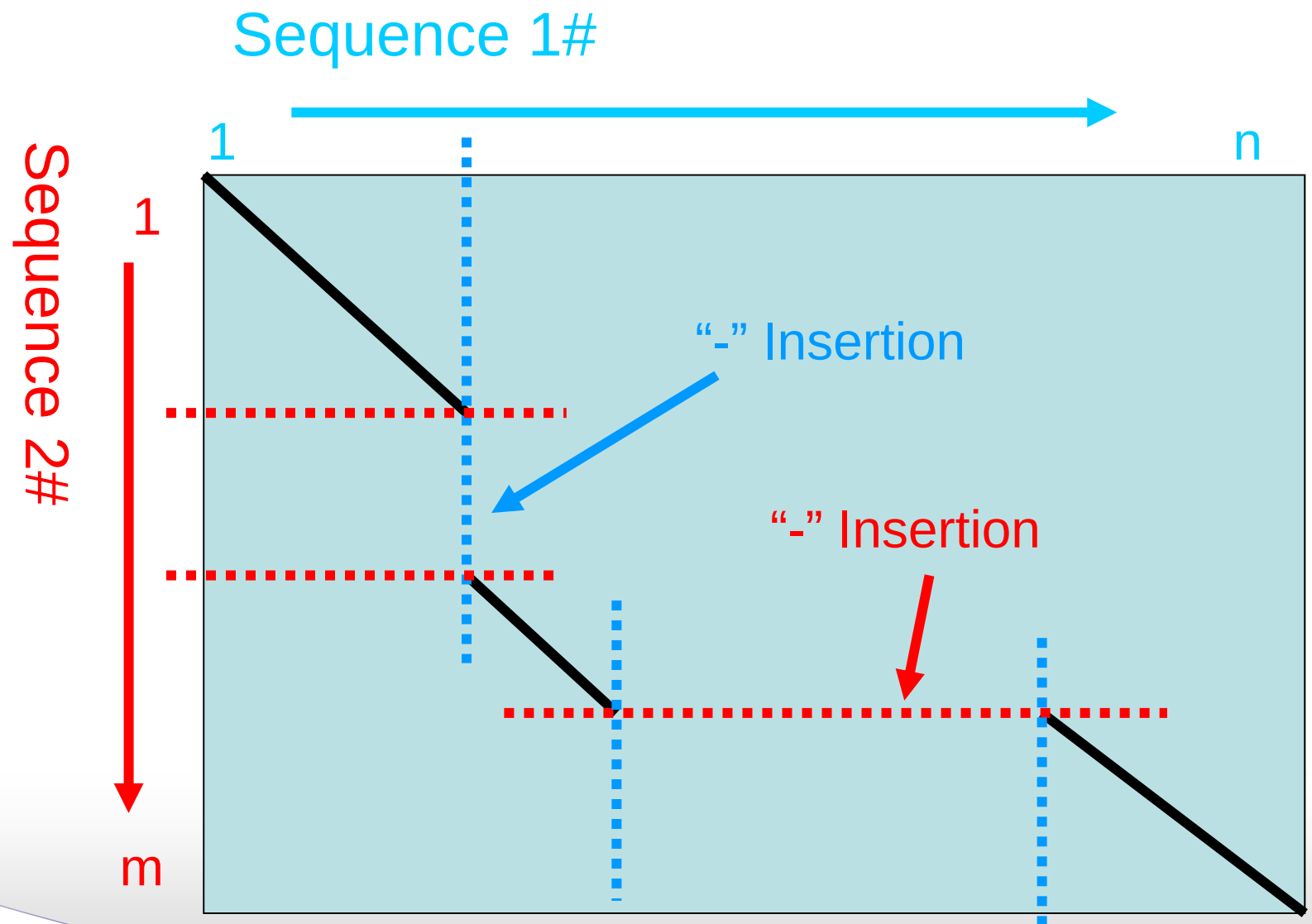
计算效率/计算复杂性

- 用CPU的计算时间和内存占用量来衡量
- O( )=…, 时间复杂度
- 对于需要解决的问题，其单位数量n运算的时间是一定的f(n)
- 如果需要解决的问题的大小与单位数量n的平方成正比，则$O(n)=n^2$
- 对于算法来说：$O(\log n) > O(n) > O(n^2)$

NP问题

- 一般的，$O(n^k)$, 当$k \leq 3$ 时，为多项式时间，较为容易处理
- 当$O(n^k)$= 指数级时间，则难以处理
- **NP难题**：无法找到能够在多项式时间复杂度内解决的问题
- 近似算法/优化算法，求近似解

有空位罚分的双序列比对



有空位罚分的双序列比对

- n=1, 3种比对
- n=2, 13种比对
- …
- 归纳法
- $a(n,n) \geq \frac{(n+2)(2n)!}{2(n!)^2}$
- n=1, $a(n, n)$ =3
- n=2, $a(n, n)$ =12 <13

A B	A- -B	-A B-	
AB CD	-AB CD-	-AB C-D	AB- -CD
	A-B CD-	A-B -CD	AB-- --CD
	A-B- -C-D	AB- C-D	--AB CD--
	-A-B C-D-	-AB- C--D	A--B -CD-

有空位罚分的双序列比对

- 两条序列比对，允许空位，时间复杂度为：

- $$\frac{(n+2)(2n)!}{2(n!)^2} \geq \frac{\sqrt{2\pi}(n+2)e^{-2\pi}(2n)^{2n+\frac{1}{2}}}{2e^{-2n+2}n^{2n+1}} = \frac{\sqrt{\pi}(n+2)2^{2n}}{e^2\sqrt{n}}$$

- NP-hard问题！

- 其中，斯特林公式：

$$x! = \sqrt{2\pi}x^{x+\frac{1}{2}}e^{-x}$$

打分模型

- 替代矩阵
  - 字符相同：identity
  - 字符替代：similarity，相似性，氨基酸/碱基之间的替代和突变
- 插入和缺失
- 空位罚分

替代矩阵的模型

- 考虑长度为*n*的序列*x*和长度为*m*的序列*y*
- 令x_i为*x*序列中的第*i*位；y_j为*y*序列中的第*j*位
- 对于不相关或者随机的模型R，假设x_i出现的频率为q_{xi}, y_j出现的频率为q_{yj}，则两条序列匹配的概率为：

$$P(x,y \mid R) = \prod_i q_{xi} \prod_j q_{yj}$$

替代矩阵的模型 (2)

- 对于另择假设/匹配模型M，两个字符匹配的概率为连接概率p_{ab}，因此：

$$P(x,y \mid M) = \prod_i P_{xiyi}$$

- 两个似然性值之间的比值称为几率值(odds ratio):

$$\frac{P(x,y \mid M)}{P(x,y \mid R)} = \frac{\prod_i p_{xiyi}}{\prod_i q_{xi} \prod_i q_{yi}} = \prod_i \frac{p_{xiyi}}{q_{xi} q_{yi}}$$

替代矩阵的模型 (3)

- 连乘->连加；取对数，求对数几率值(log-odds ratio):

$$S = \sum_i s(x_i, y_i)$$

- 并且

$$s(a,b) = \log\left(\frac{P_{ab}}{q_a q_b}\right)$$

变连乘为连加

空位罚分

- 线性罚分：d, 每次罚分的分数；g，空位数

$$r(g) = -gd$$

- 修正的罚分：d, 第一次罚分的分数；g，空位数；e, 修正后的参数

$$r(g) = -d - (g-1)e$$

递归和动态规划算法 (2)

- 有空位的双序列比对，时间复杂度为：$O(2^{2n})$，指数增加，无法求最优解
- 动态规划算法：比较所有可能的字符对，考虑匹配、错配以及空位罚分，并且将比对次数控制在多项式时间内
- 替代矩阵：BLOSUM62，
  - 空位罚分：11
  - 延伸的空位罚分：1 (BLAST工具)

例：双序列比对

- 序列1： V D S – C Y
- 序列2： V E S L C Y
- 替代矩阵中的分数： 4 2 4 -11 9 7

- 两序列比对的总分：
- Score=Σ(AA pair scores) – gap penalty = 15

BLOSUM62替代矩阵

	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

动态规划算法：全局比对

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	1gap	2gap	…		
V	1gap					
E	2gap					
S	…					
L						
C						
Y						

本例：线性罚分

$$r(g) = -gd$$

全局比对 (2)

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	-11	-22	-33	-44	-55
V	-11	S_{ij}				
E	-22					
S	-33					
L	-44					
C	-55					
Y	-66					

要求解S_{ij}的分数，我们必须先知道$S_{i-1, j-1}$, $S_{i-1, j}$, 以及$S_{i, j-1}$的分数，这种方法叫做递归算法；采用这种方法，可以把大的问题分割成小的问题逐一解决，即动态规划算法；需要存储如何得到S_{ij}分数的过程。

全局比对 (3)

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	-11	-22	-33	-44	-55
V	-11	S_{ij}				
E	-22					
S	-33					
L	-44					
C	-55					
Y	-66					

Needleman-Wunsch算法；

时间复杂度$O(n^2)$；

$$S_{ij} = \max \text{ of } \begin{cases} S_{i-1,\,j-1} + \sigma(x_i, y_j) \\ S_{i-1,\,j} - d \text{ (从左到右)} \\ S_{i,\,j-1} - d \text{ (从上到下)} \end{cases}$$

全局比对 (4)

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	-11	-22	-33	-44	-55
V	-11	S_{ij}				
E	-22					
S	-33					
L	-44					
C	-55					
Y	-66					

4

-11

-11

Needleman-Wunsch算法；

时间复杂度$O(n^2)$；

$$S_{ij} = \max \text{ of } \begin{cases} S_{i-1,\,j-1} + \sigma(x_i, y_j) \\ S_{i-1,\,j} - d \text{ (从左到右)} \\ S_{i,\,j-1} - d \text{ (从上到下)} \end{cases}$$

全局比对 (6)

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	-11	-22	-33	-44	-55
V	-11	4	S_{ij}			
E	-22					
S	-33					
L	-44					
C	-55					
Y	-66					

-3

-11

-11

Needleman-Wunsch算法；

时间复杂度$O(n^2)$；

$$S_{ij} = \max \text{ of } \begin{cases} S_{i-1,\,j-1} + \sigma(x_i, y_j) \\ S_{i-1,\,j} - d \text{ (从左到右)} \\ S_{i,\,j-1} - d \text{ (从上到下)} \end{cases}$$

全局比对 (7)

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	-11	-22	-33	-44	-55
V	-11	4	-7			
E	-22					
S	-33					
L	-44					
C	-55					
Y	-66					

-3

-11

-11

全局比对 (8)

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	-11	-22	-33	-44	-55
V	-11	4	-7	-18	-29	-40
E	-22	-7	6	-5	-16	-27
S	-33	-18	-5	10	-1	-12
L	-44	-29	-16	-1	9	-3
C	-55	-40	-27	-12	8	7
Y	-66	-51	-38	-23	-3	15

4

2

回溯：比对结果

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	-11	-22	-33	-44	-55
V	-11	4	-7	-18	-29	-40
E	-22	-7	6	-5	-16	-27
S	-33	-18	-5	10	-1	-12
L	-44	-29	-16	-1	9	-3
C	-55	-40	-27	-12	8	7
Y	-66	-51	-38	-23	-3	15

比对结果：

V D S – C Y

V E S L C Y

	Gap	V	D	S	C	Y
Gap	0	-11	-22	-33	-44	-55
V	-11	4	-7	-18	-29	-40
E	-22	-7	6	-5	-16	-27
S	-33	-18	-5	10	-1	-12
L	-44	-29	-16	-1	9	-3
C	-55	-40	-27	-12	8	7
Y	-66	-51	-38	-23	-3	15

4

2

局部优化比对

- 下例：局部优化打分
- 两条序列如下：

L D S – C H

G E S L C K

- 目标：使用局部优化算法寻找比对的结果

局部优化比对 (2)

- Smith-Waterman算法
- 时间复杂度$O(n^2)$
- S_{ij} = max of 0
- $S_{i-1,j-1} + \sigma(x_i, y_j)$
- $S_{i-1,j}$ - A (从左到右)
- $S_{i,j-1}$ - A (从上到下)
- 本例中：gap: 12，线性罚分模型

局部优化比对 (3)

	Gap	L	D	S	C	H
Gap	0	0	0	0	0	0
G	0	S_{ij}				
E	0					
S	0					
L	0					
C	0					
K	0					

Smith-Waterman算法；

$$S_{ij} = \max \text{ of } \begin{cases} S_{i-1,\,j-1} + \sigma(x_i, y_j) \\ S_{i-1,\,j} - d \text{ (从左到右)} \\ S_{i,\,j-1} - d \text{ (从上到下)} \\ 0 \end{cases}$$

局部优化比对 (5)

	Gap	L	D	S	C	H
Gap	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0			
E	0					
S	0					
L	0					
C	0					
K	0					

-1

-12

-12

局部优化比对 (6)

	Gap	L	D	S	C	H
Gap	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0
E	0	0	2	0	0	0
S	0	0	2	6	0	0
L	0	4	0	0	5	0
C	0	0	1	0	9	2
K	0	0	0	0	0	8

-2

-12

局部优化比对 (7)

	Gap	L	D	S	C	H
Gap	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0
E	0	0	2	0	0	0
S	0	0	2	6	0	0
L	0	4	0	0	5	0
C	0	0	1	0	9	2
K	0	0	0	0	0	8

比对结果：

L D S – C H

G E S L C K

	Gap	L	D	S	C	H
Gap	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0
E	0	0	2	0	0	0
S	0	0	2	6	0	0
L	0	4	0	0	5	0
C	0	0	1	0	9	2
K	0	0	0	0	0	8

打分有何不同？

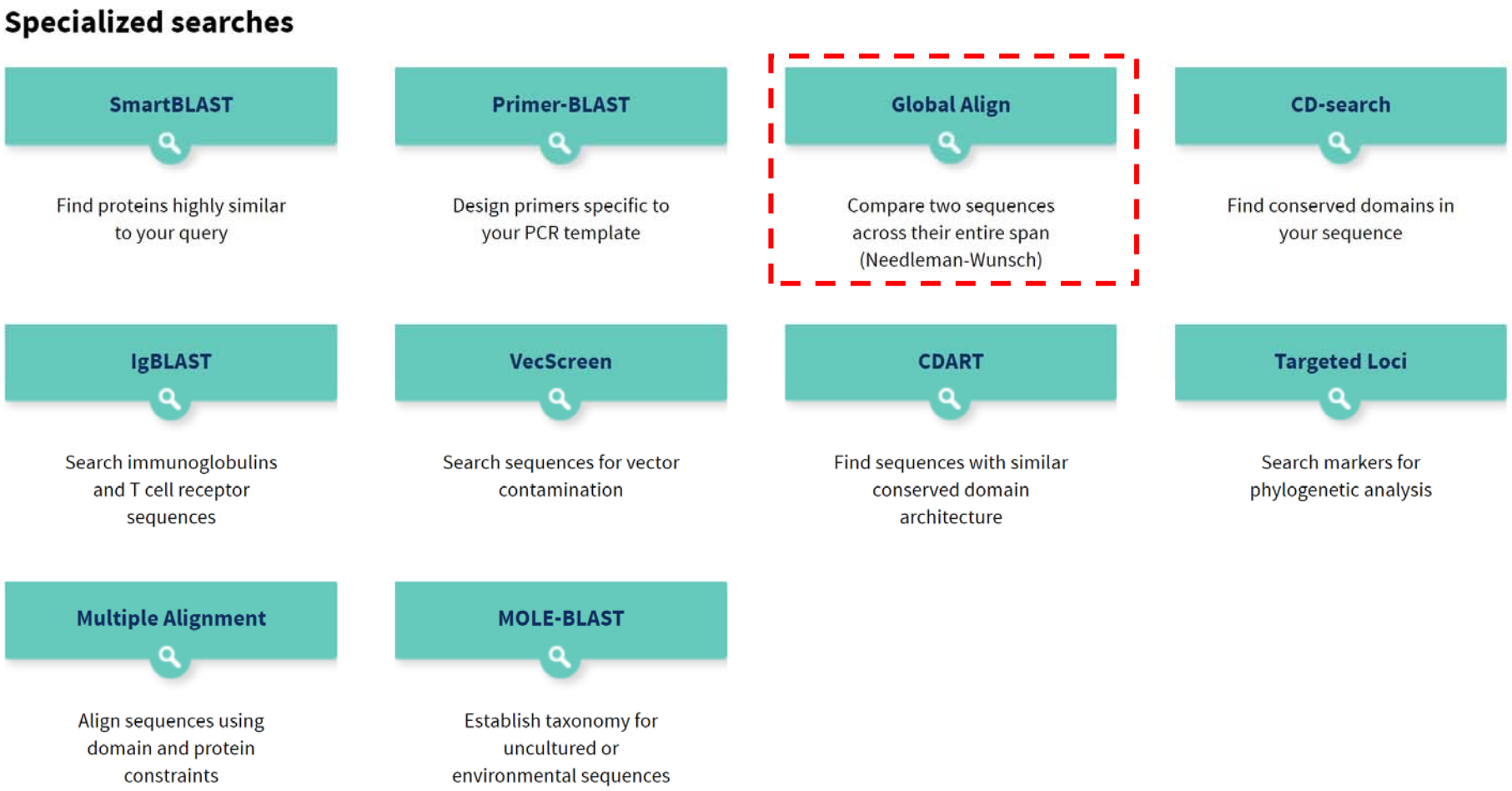
L D S – C H

G E S L C K

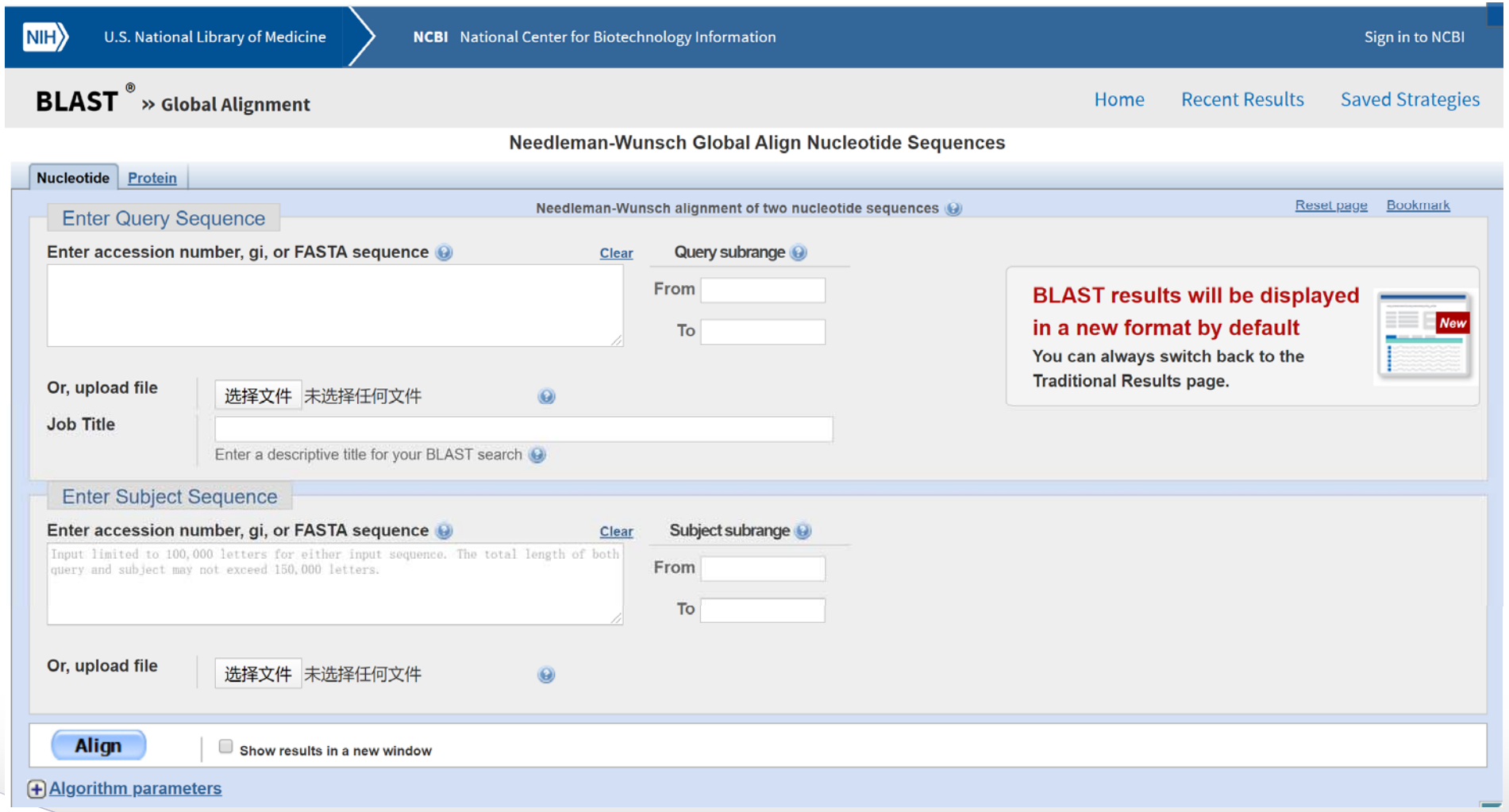
- Smith-waterman算法打分：9分
- 直接打分：-4+2+4-12+9-1=-2
- 为何不同？

Needleman-Wunsch算法

- https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi



Global Alignment



Smith-Waterman算法

- https://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_water/