Поиск сигналов в последовательности ДНК

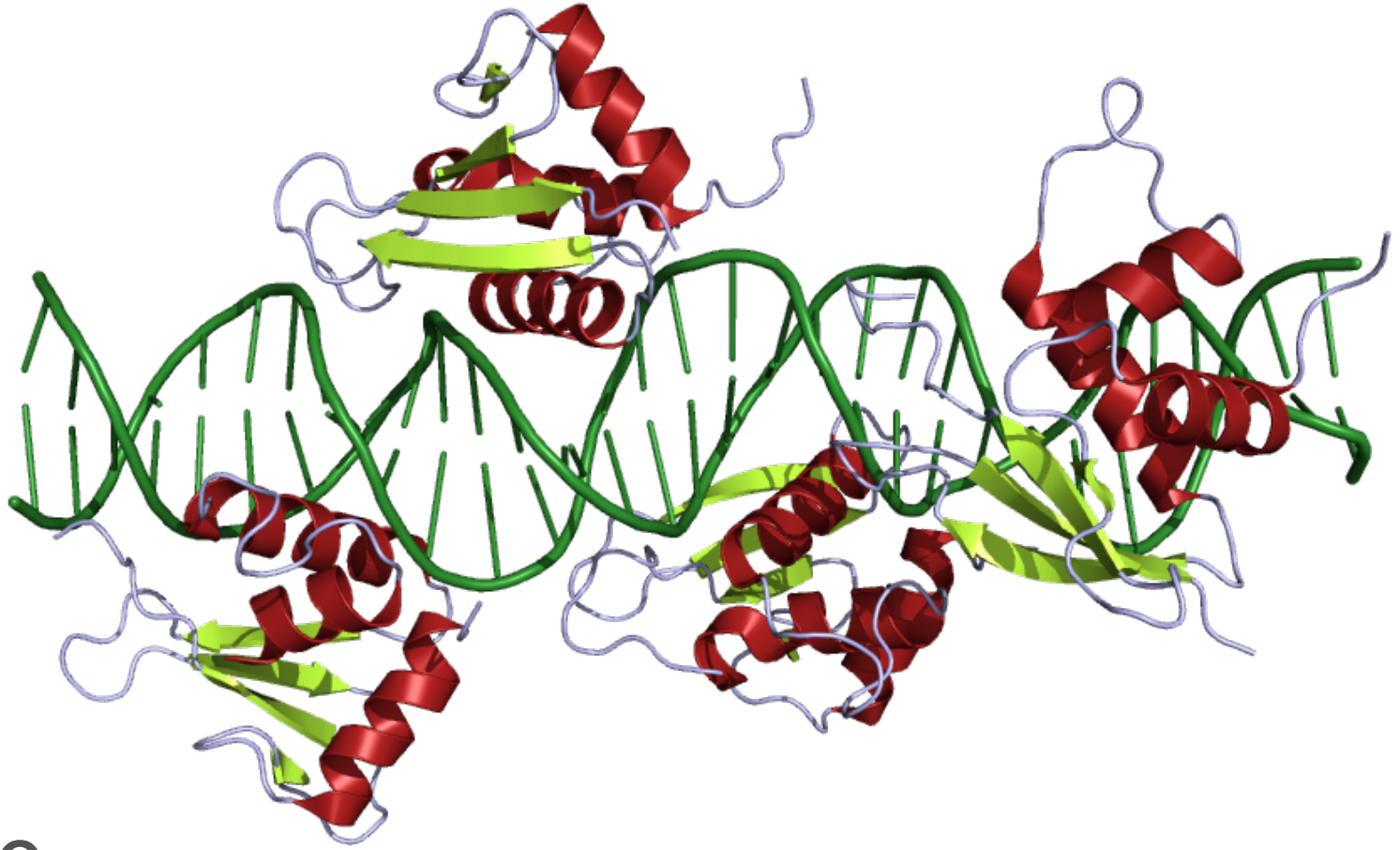
План

- Что такое сигнал — сайт связывания ТФ, и т. д. Сильные и слабые сайты?
- Умные слова мотив, паттерн, консенсус профиль
- БД мотивов — TransFac, JasPAR, RegTransBase
- Выявление и поиск мотивов (построение мотива по имеющимся данным и поиск нового мотива в последовательности):
  - HMM — требует большой объем данных
  - PFM/PWM — программа MEME

Сайты и белки

Painting published on cover of magazine: Nature Structural and Molecular Biology, September 1994, Volume 1 No. 9.

INTERFERON REGULATORY FACTOR 1



2pi0

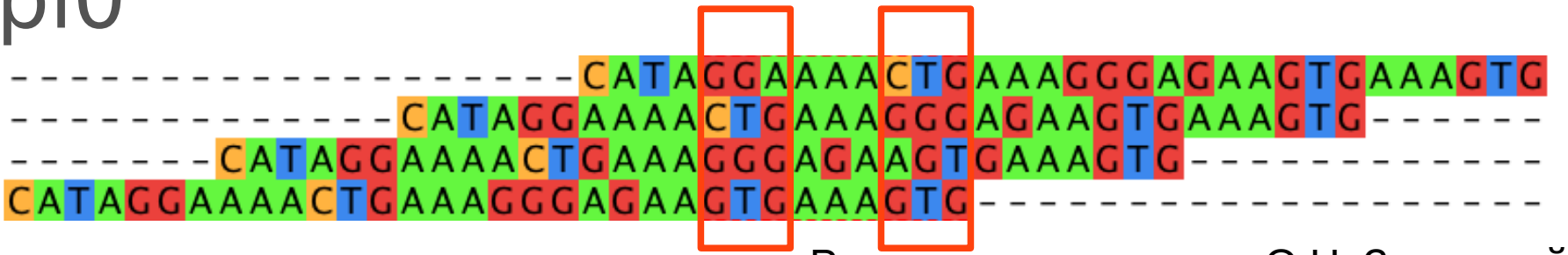
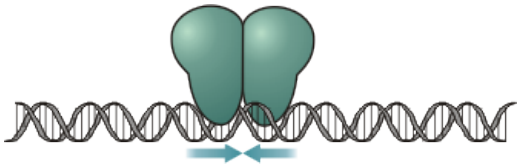
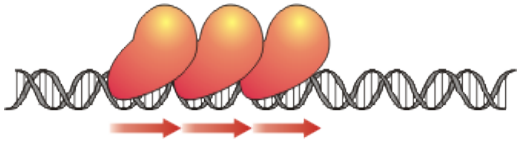
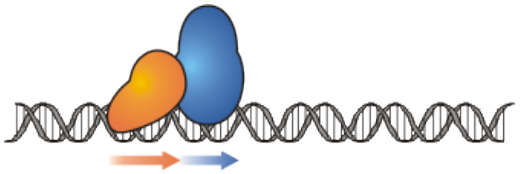


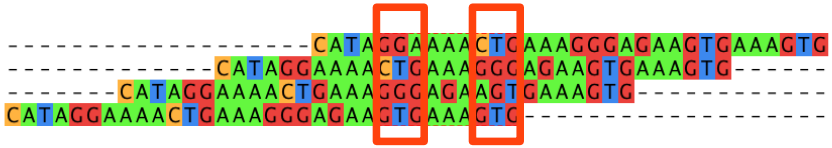
Рисунок предоставлен О.Н. Занегиной

ДНК-связывающие белки и их сигналы

- Кооперативные однородные
  - Палиндромы 
  - Прямые повторы 
- Кооперативные неоднородные
  - Кассеты 
- Другие

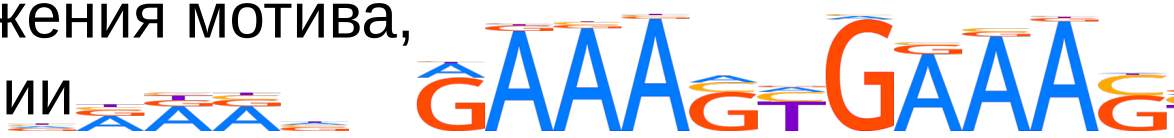
Источник: РГМ

Некоторые термины



- Мотив - сигнал, который есть у последовательностей, с которыми белок связывается и нет у последовательностей, с которыми белок не связывается.

- Профиль — способ отображения мотива, основанный на выравнивании



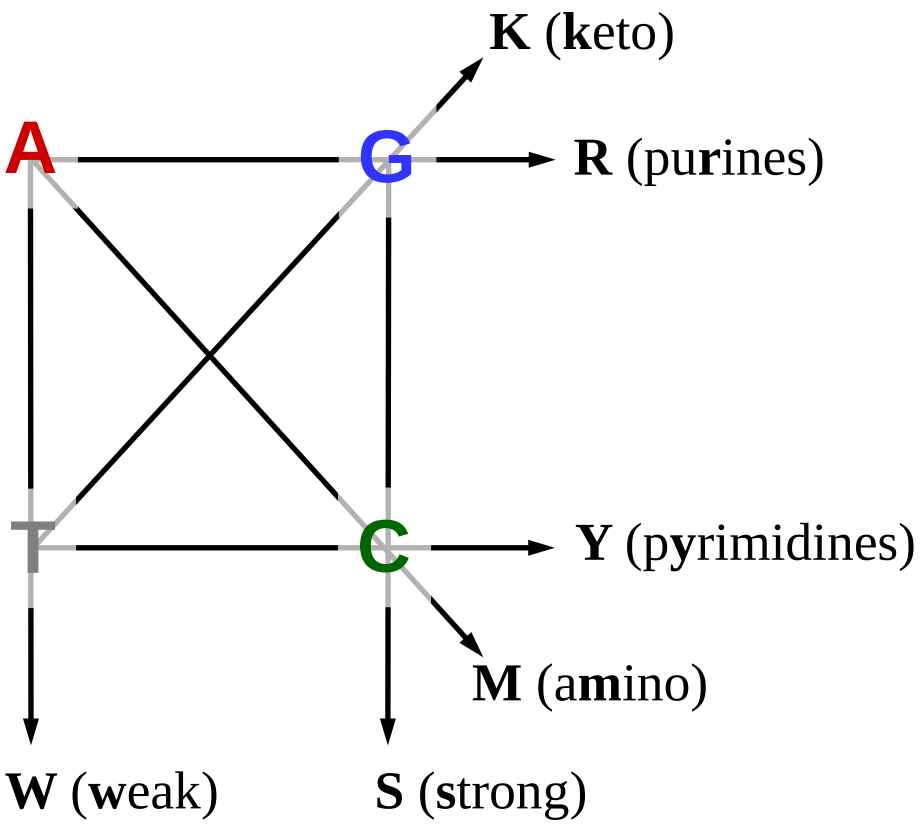
  - Паттерн — вид профиля, в котором указываются все основания/аминокислоты, встречающиеся в данной позиции без указания частот

RRvnGAAASKGAAASK

- Консенсус — способ отображения мотива, в котором в каждой позиции указывается самое частое основание/аминокислота

GAAAGTGAAA

Для справки: Ambiguity codes

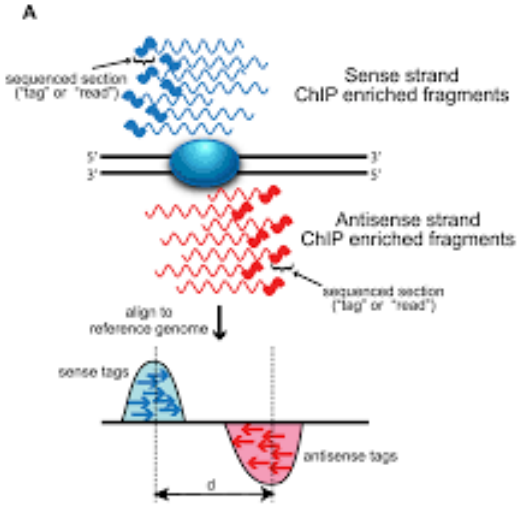


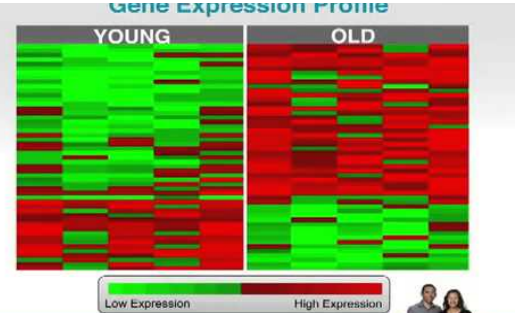
C / G / T (“не A”) → **B**
A / G / T (“не C”) → **D**
A / C / T (“не G”) → **H**
A / C / G (“не T”) → **V**

A / C / G / T → **N** (**n**ucleotide)

Источник: РГМ

Исходные данные для поиска мотива (примеры)





- Данные экспериментов ChiP-Seq
- Upstream области коэкспрессирующихся генов

CCTACGCAAACGTTTTCTTTTT
GTCTCGCAAACGTTTGCTTTCC
CACACGCAAACGTTTTCGTTTA
TCCACGCAAACGGTTTCGTCAG
GCCACGCAACCGTTTTCCTTGC
GATACGCAAACGTGTGCGTCTG
CCGACGCAATCGGTTACCTTGA
GTTGCGCAAACGTTTTCGTTAC

Методы обнаружения мотивов

Поиск точных последовательностей

Ищем подпоследовательности:

- которые часто встречаются в наборе последовательностей, связывающихся с белком, и
- не встречаются в контрольном наборе

Недостатки — ищет более-менее точное совпадение, в то время как большинство сайтов связывания ТФ устроены более сложно

Поиск мотива с использованием позиционно-весовой матрицы

Информационное содержание и энтропия Шеннона

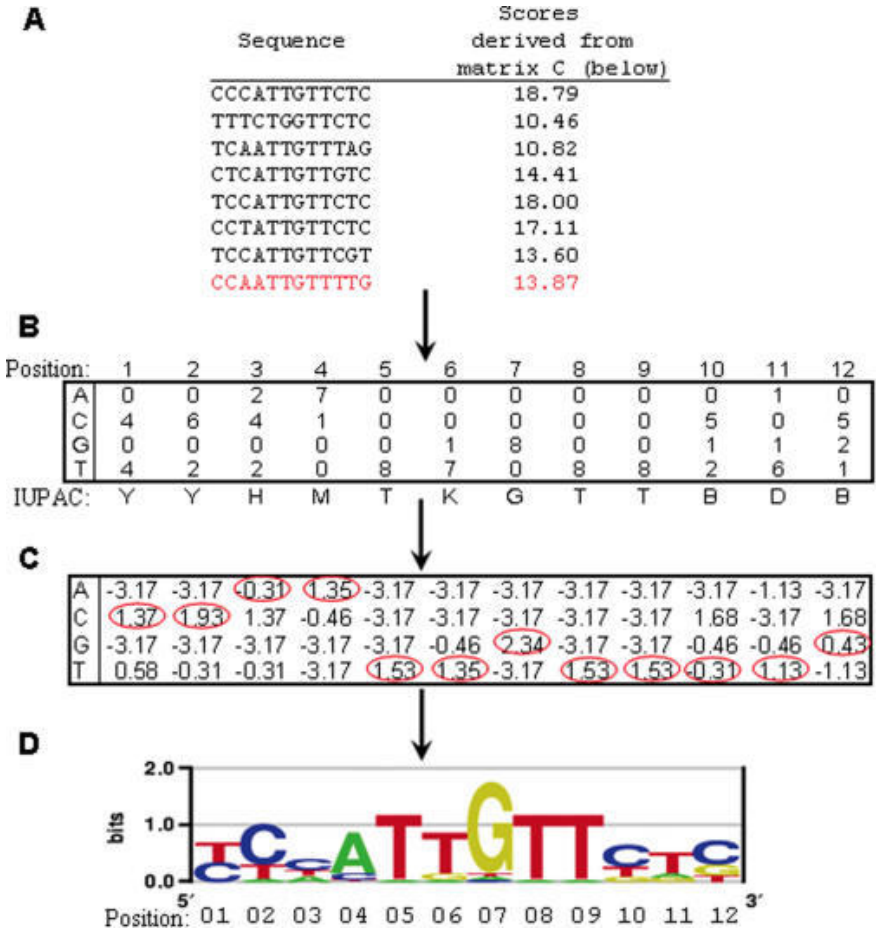
$$H = -\sum_{i=1}^{N} p_i \cdot \log_b (p_i)$$

где H — энтропия, pi — вероятность i-го события

Информационное содержание (I) — мера уменьшения неопределенности после получения некоторого сообщения

$I = H_{before} - H_{after}$

Поиск мотива с использованием позиционно-весовой матрицы



Вес (I(bj) основания b в данной позиции j
I(bj)=f(bj)*log f(bj) — p(b)*log p(b), где f(bj) — частота основания и в позиции j выравнивания, p(b) — фоновая частота основания b

Вес позиции — сумма по столбцу, вес мотива — сумма весов позиций

GuhaThakurta D. Computational identification of transcriptional regulatory elements in DNA sequence. Nucleic Acids Res. 2006 Jul 19;34(12):3585-98.

Поиск мотивов программой MEME

Дано: длина искомого сигнала;
набор последовательностей, в которых ищется сигнал

1. Последовательно берем фрагмент заданной длины в каждой последовательности, ищем похожие фрагменты в других последовательностях, строим выравнивание. Берем базовые частоты букв из дополнения.
2. Для каждого выравнивания получаем PWM с максимальным весом, используя алгоритм EM (Expectation maximization)
3. Выбираем заданное число PWM с лучшим весом

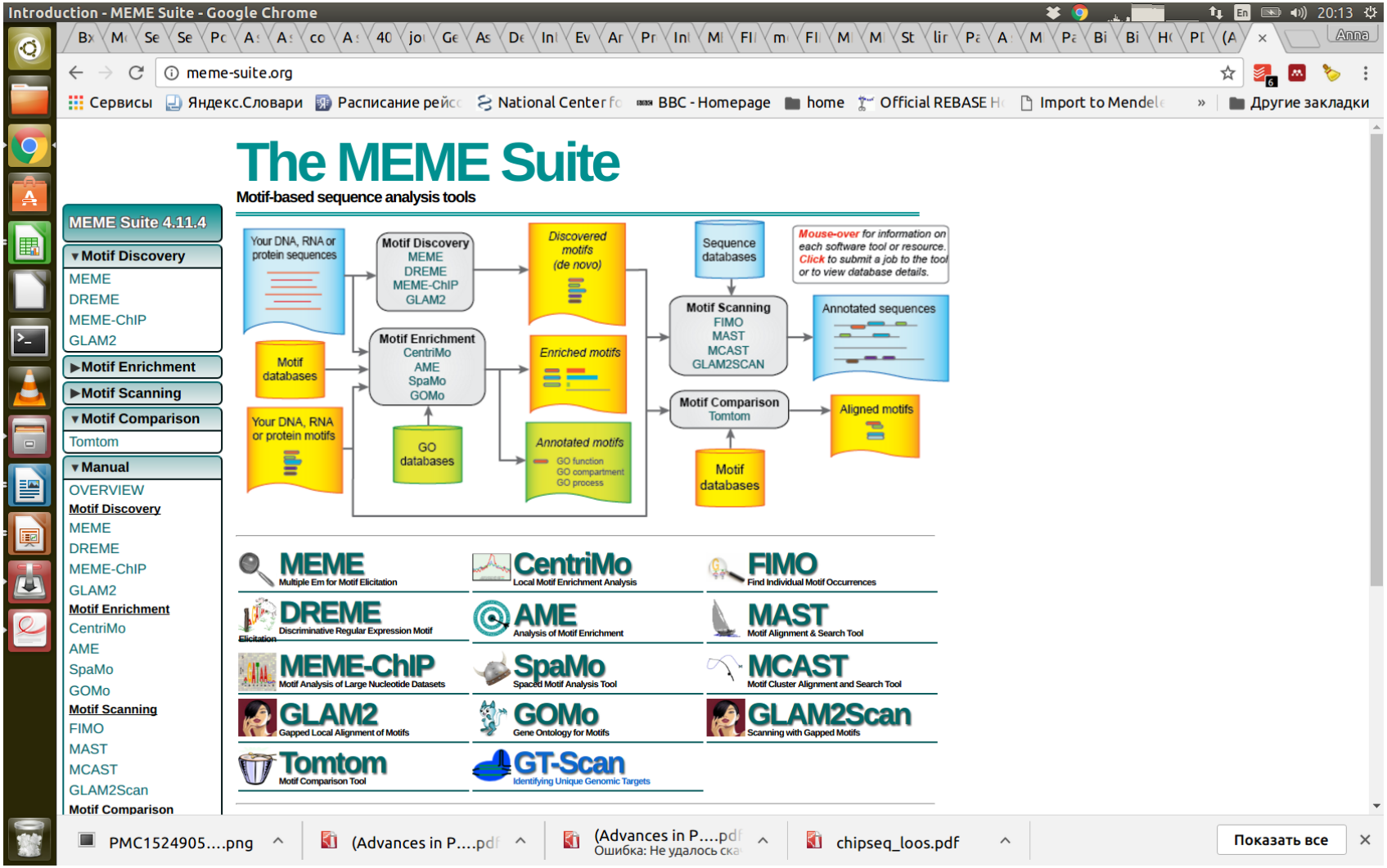
Алгоритм EM (Expectation maximization)

- Строим PWM по выравниванию:
- По очереди удаляем фрагмент из выравнивания, и заменяем его на лучший по PWM фрагмент в соответствующей последовательности
- Находим максимальный вес, записываем PWM с максимальным весом

Ограничения MEME

1. Предположение о независимости позиций выравнивания
2. Находит мотив без гэпов
3. Последовательности должны быть как можно короче и содержать минимум шума
4. После 40 последовательностей, включение дополнительных последовательностей не улучшает работу алгоритма

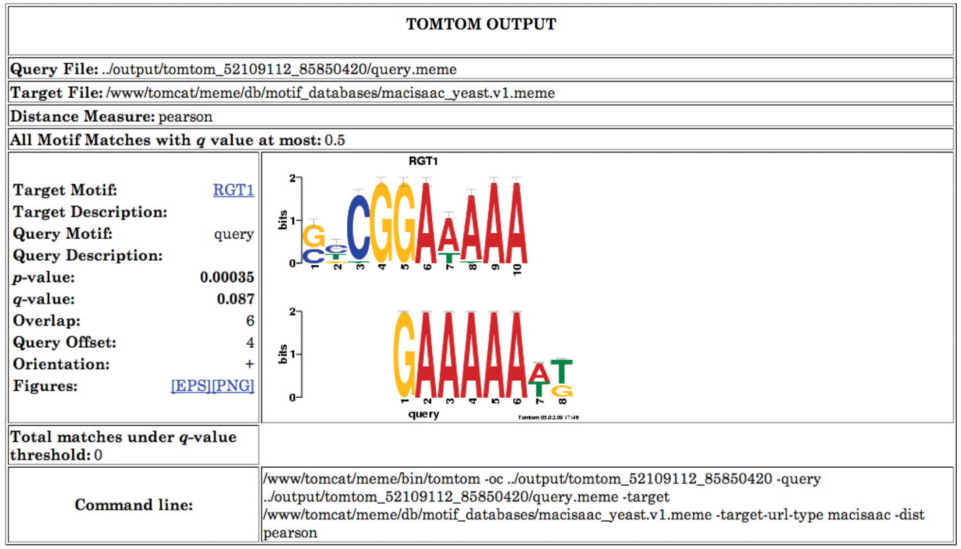
Набор программ для работы с мотивами



Tomtom output

From: **MEME Suite: tools for motif discovery and searching**

Nucleic Acids Res. 2009;37(suppl_2):W202-W208. doi:10.1093/nar/gkp335



TOMTOM OUTPUT

Query File: ../output/tomtom_52109112_85850420/query.meme

Target File: /www/tomcat/meme/db/motif_databases/macisaac_yeast.v1.meme

Distance Measure: pearson

All Motif Matches with *q* value at most: 0.5

Target Motif:	RGT1
Target Description:	
Query Motif:	query
Query Description:	
***p*-value:**	0.00035
***q*-value:**	0.087
Overlap:	6
Query Offset:	4
Orientation:	+
Figures:	[EPS][PNG]

Total matches under *q*-value threshold: 0

Command line: /www/tomcat/meme/bin/tomtom -oc ../output/tomtom_52109112_85850420 -query ../output/tomtom_52109112_85850420/query.meme -target /www/tomcat/meme/db/motif_databases/macisaac_yeast.v1.meme -target-url-type macisaac -dist pearson

Figure Legend:

The figure shows the Tomtom output from searching a single DNA motif against a collection of yeast transcription factor binding site motifs identified via ChIP-seq (9). Tomtom shows that the query motif closely resembles the binding motif for transcription factor RGT1.

OXFORD
UNIVERSITY PRESS

FIMO output

From: **MEME Suite: tools for motif discovery and searching**

Nucleic Acids Res. 2009;37(suppl_2):W202-W208. doi:10.1093/nar/gkp335

Sequence Analysis with fimo

Pattern Name	Sequence Name	Start	Stop	Score	p-value	q-value	Matched Sequence
1	NP_418484.4|yjcB	281	298	21.2367	5.3e-09	0.00758	AATTGTGATATAGTTCAC
1	NP_418485.1|yjcC	149	132	21.2367	5.3e-09	0.00758	AATTGTGATATAGTTCAC
1	NP_418031.1|yiaJ	175	158	19.8034	3.86e-08	0.0173	AAGTGTGCCGTAGTTCAC
1	NP_418032.1|yiaK	26	43	19.8034	3.86e-08	0.0173	AAGTGTGCCGTAGTTCAC
1	NP_418535.1|proP	37	54	19.7078	4.3e-08	0.0173	ATGTGTGAAGTTGATCAC
1	NP_414666.1|gcd	126	143	19.6123	4.85e-08	0.0173	AATTGTGATGACGATCAC
1	NP_414667.4|hpt	80	63	19.6123	4.85e-08	0.0173	AATTGTGATGACGATCAC

Figure Legend:

Полезные ссылки

- Анализ данных ChiPSeq https://books.google.ru/books?hl=ru&lr=&id=YC2K_v1mficC&oi=fnd&pg=PA135&dq=makeev+vsevolod&ots=uSo84sL8A6&sig=xOTJH2RcPWhsjL7cBELQqkCkyfI&redir_esc=y#v=onepage&q=makeev%20vsevolod&f=true
- Bailey TL, Williams N, Misleh C, Li WW. MEME: discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs. Nucleic Acids Research. 2006;34(Web Server issue):W369-W373. doi:10.1093/nar/gkl198.
- Tran NTL, Huang C-H. A survey of motif finding Web tools for detecting binding site motifs in ChIP-Seq data. Biology Direct. 2014;9:4. doi:10.1186/1745-6150-9-4.
- Kulakovskiy IV, Makeev VJ. DNA sequence motif: a jack of all trades for ChIP-Seq data. Adv Protein Chem Struct Biol. 2013;91:135-71.

Сравнение двух PWM

- Как в MEME
- Vorontsov et co-authors https://almob.biomedcentral.com/articles/10.1186/1748-7188-8-23