Поиск по сходству последовательностей

Нуклеотидный BLAST

Ваня Русинов

Парные выравнивания (повторение)

Основы

- Что такое парное выравнивание?
- ... эволюционное выравнивание?
- ... оптимальное парное выравнивание?
- Применяется ли неоптимальное парное выравнивание?
- Чем различаются глобальное и локальное парные выравнивания?
- Что нужно для построения парного выравнивания?

Параметры

- Что такое матрица весов замен?
- Сколько чисел в нуклеотидной матрице?
- Какие бывают штрафы за индели?

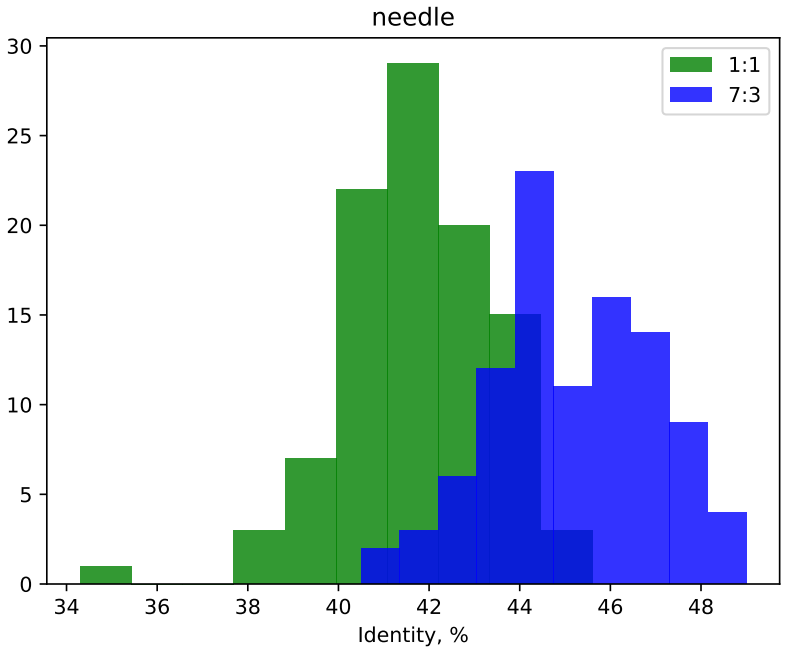
Identity (пример)

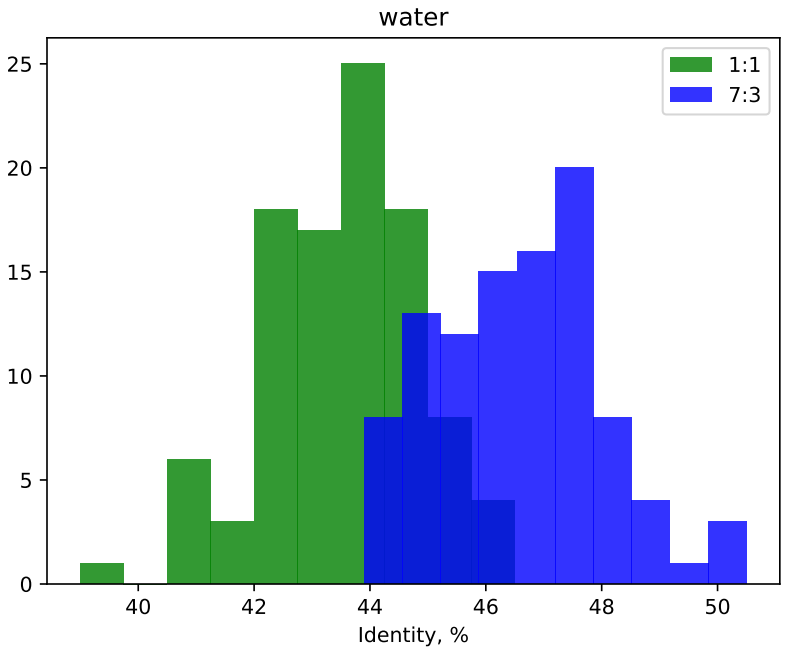
Какой процент identity можно считать свидетельством гомологии?

```
                        10        20        30        40        50        60
COI/1-133     1 CTCTTCGTCTGATCCGTCCTAATCACAGCAGTC-------CTACTTCTCCTATCTCTCCCAGTCCT  59
H3.1/1-146    1 CTCTGCGCGAGATCCGCCGTTAT--CAGAAGTCCACTGAACTGCTTATTCGTAAACTACCTTTCC-  63

                70        80        90       100       110       120       130
COI/1-133    60 AGCTGCTG-------------GCATCACTATACTACTAACAGACCGCAACCTCAACACCACCTTC 111
H3.1/1-146   64 AGCGCCTGGTGCGCGAGATTGCGCAGGACTTTA----AACAGACCTGCGTTTCCAGAGCTCC-GC 124

                  140       150
COI/1-133   112 TTCGACCCCGCCGGAGGAGGAG                                             133
H3.1/1-146  125 TGTGATGGCTCTGCAGGAGGCG                                             146
```

Identity

Парное выравнивание с параметрами по умолчанию на случайных последовательностях.





NCBI BLAST

Основы алгоритма

0. Подготовка базы (хеширование)
1. Разбивка query на "слова"
2. Поиск совпадений на одной диагонали и небольшом расстоянии
3. Построение выравнивания

Score (вес) и bit-score (вес в битах)

- Вес зависит от матрицы весов замен и штрафов за гэпы
- Bit-score – нормированный вес, не зависит от параметров вычисления веса
- По bit-score можно оценить случайность находки: если bit-score равен 30, то надо перебрать 2^{30} пар случайных последовательностей, чтобы получить одно выравнивание с таким или большим весом

$$S' = \frac{\lambda S - \ln(K)}{\ln(2)},$$

где S – вес выравнивания, λ и K – константы, зависящие от параметров вычисления веса

E-value

E-value – **математическое ожидание количества находок с таким же или большим весом в случайном банке того же размера**

(все важные слова выделены жирным)

$$E = mn \cdot 2^{-S'}$$

На самом деле, эта формула работает только для выравниваний без гэпов ☹

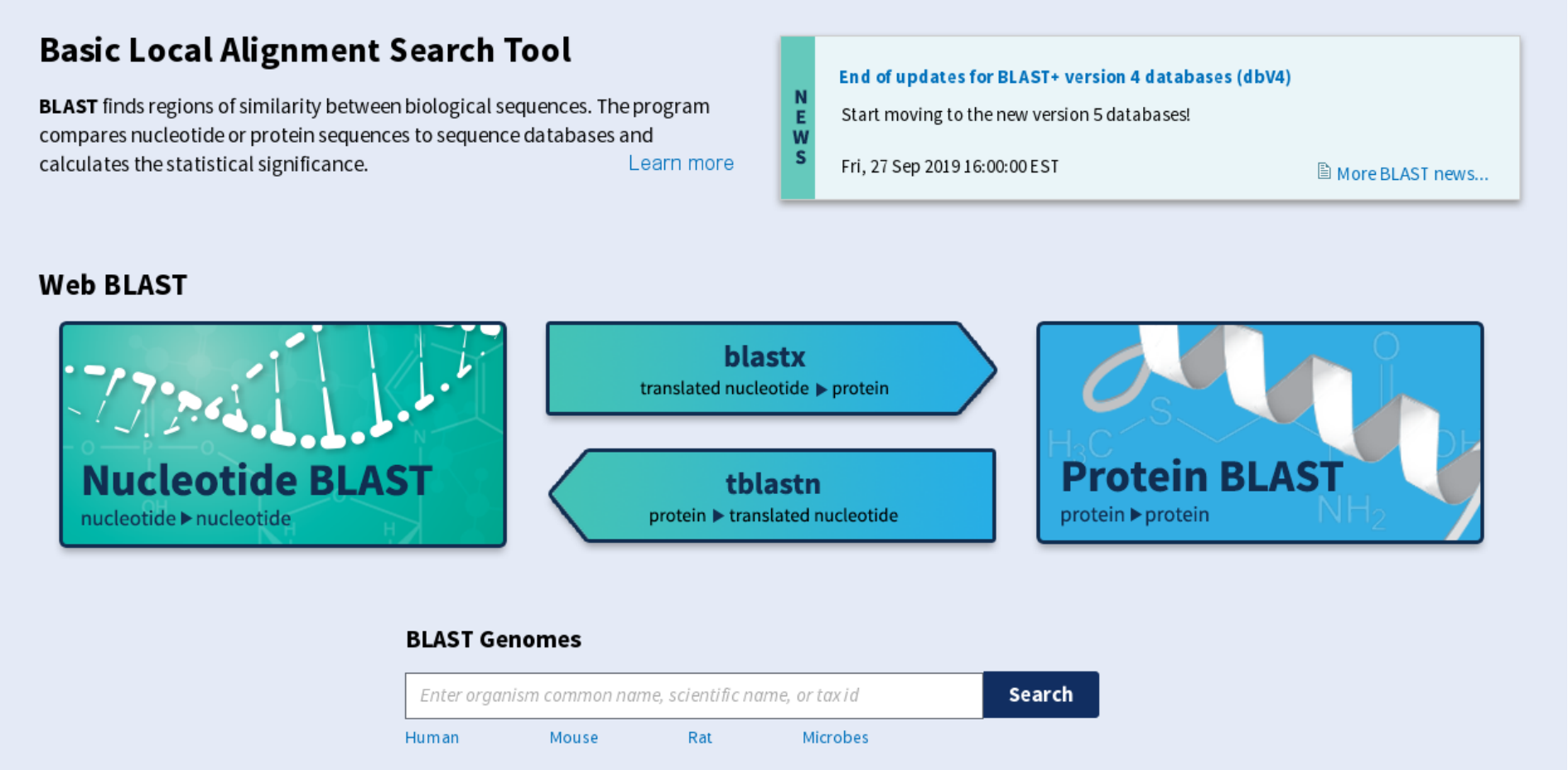
P-value

P-value – оценка вероятности получить хотя бы одно выравнивание с таким же или большим весом случайно

$$P = 1 - e^{-E}$$

Если $E < 0.01$, $P \approx E$

Виды BLAST


Basic Local Alignment Search Tool
BLAST finds regions of similarity between biological sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance.
Learn more
NEWS
End of updates for BLAST+ version 4 databases (dbV4)
Start moving to the new version 5 databases!
Fri, 27 Sep 2019 16:00:00 EST
More BLAST news...
Web BLAST
Nucleotide BLAST
nucleotide ▶ nucleotide
blastx
translated nucleotide ▶ protein
tblastn
protein ▶ translated nucleotide
Protein BLAST
protein ▶ protein
BLAST Genomes
Enter organism common name, scientific name, or tax id
Search
Human
Mouse
Rat
Microbes

Разные алгоритмы blastn

megablast	оптимизирован для поиска очень близких гомологов
blastn	для поиска сколько-нибудь похожих последовательностей
discontiguous megablast	хеширует длинные слова, но не требует полного совпадения

Разные алгоритмы blastn

Алгоритм	Длина слова по умолчанию	Возможные значения
megablast	28	16, 20, ..., 32, 48, 64, 128, 256
discontiguous megablast	11, разрывное слово (10110110010110110 1)	11 и 12, можно менять длину и тип шаблона
blastn	11	7, 11, 15

Белки или гены

Задача: найти гомологов для некоторой кодирующей нуклеотидной последовательности.

Белки или гены

Задача: найти гомологов для некоторой кодирующей нуклеотидной последовательности.

Кодирующие последовательности нужно транслировать перед поиском!

- белковые последовательности более консервативные
- можно учитывать биохимические свойства аминокислот
- автоматически учитывается рамка считывания

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома?

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом?

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**
- Как узнать, какие полиморфизмы содержатся в секвенированном участке гена?

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**
- Как узнать, какие полиморфизмы содержатся в секвенированном участке гена? **blastx**

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**
- Как узнать, какие полиморфизмы содержатся в секвенированном участке гена? **blastx**
- Есть ли теломераза у новосеквенированного эукариота?

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**
- Как узнать, какие полиморфизмы содержатся в секвенированном участке гена? **blastx**
- Есть ли теломераза у новосеквенированного эукариота? **tblastn**

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**
- Как узнать, какие полиморфизмы содержатся в секвенированном участке гена? **blastx**
- Есть ли теломераза у новосеквенированного эукариота? **tblastn**
- Насколько похожи геномы двух сравнительно близких вирусов?

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**
- Как узнать, какие полиморфизмы содержатся в секвенированном участке гена? **blastx**
- Есть ли теломераза у новосеквенированного эукариота? **tblastn**
- Насколько похожи геномы двух сравнительно близких вирусов? **tblastx**

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**
- Как узнать, какие полиморфизмы содержатся в секвенированном участке гена? **blastx**
- Есть ли теломераза у новосеквенированного эукариота? **tblastn**
- Насколько похожи геномы двух сравнительно близких вирусов? **tblastx**
- Какие глобальные перестройки генома произошли после разделения двух родственных видов бактерий?

Задачи

- Какому виду принадлежит секвенированный фрагмент 16S РНК из метагенома? **blastn**
- Как найти координаты секвенированного регуляторного участка для организма с известным геномом? **megablast**
- Как узнать, какие полиморфизмы содержатся в секвенированном участке гена? **blastx**
- Есть ли теломераза у новосеквенированного эукариота? **tblastn**
- Насколько похожи геномы двух сравнительно близких вирусов? **tblastx**
- Какие глобальные перестройки генома произошли после разделения двух родственных видов бактерий? **blast2seq**

Веб-интерфейс BLAST

По ссылкам есть pdf с картинками и описанием всяких галочек, окошек, etc
Их я советую хотя бы пролистать (там в сумме всего 12 страниц).

`https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastDocs`

Getting Started

- Guide to BLAST home and search pages
- Blast report description
- Blast topics

About BLAST

- Frequently Asked Questions
- NCBI Handbook: BLAST
- The Statistics of Sequence Similarity Scores
- BLAST glossary
- References
- Blast+ Command Line Applications User Manual
- BLAST News directory

Standalone BLAST

Пакет BLAST+

- BLAST+ – пакет консольных утилит, позволяющих запускать локальный (standalone) BLAST.
- Есть версии BLAST+ для Windows, MacOSX и Linux.
- BLAST+ установлен на kodomo.
- Для локального BLAST необходимо создать (или загрузить) базу последовательностей в специальном формате.

Создание/загрузка базы

Создание базы с помощью makeblastdb:

```
> makeblastdb -in "seqs.fasta" -dbtype "nucl"
```

Загрузка готовой базы из NCBI с помощью update_blastdb.

- Можно загрузить одну из баз, доступную для выбора в веб-интерфейсе.
- Базы весят десятки и даже сотни гигабайт.
- Если понадобится, разберетесь сами.

Запуск локального BLAST

Запуск blastn:

```
> blastn -task "blastn" -query "query.fasta" -db "seqs.fasta"
```

-task тип алгоритма (blastn, megablast, dc-megablast и другие)

-query последовательность-запрос в формате fasta

-db *имя* базы для поиска (это не fasta файл!)

Доступные команды:

- blastn, blastp, blastx, tblastn, tblastx
- psiblast
- rpstblastn, rpsblast+
- deltablast