

# Мутации и выравнивание

С.А. Спирин

14 апреля 2020

# План

0. Введение: гомологичные белки

1. Источники гомологичных белков

- Мутации:
  - Ошибки репликации.
  - Повреждения ДНК и их репарация.
- Закрепление мутаций

2. Выравнивание:

- последовательностей потомков относительно предка;
- двух потомков одного предка.

3. Формализация: вес выравнивания

4. Программы парного выравнивания в EMBOSS

5. Редактор выравниваний Jalview

# Последовательности миоглобинов человека, мыши и быка

>MYG\_HUMAN

MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADIPGHGQEV LIRLFKGHPETLEKFDKFKHLKSEDEMKASE  
DLKKHGATVLTALGGILKKKGHHEAEIKPLAQSHATKHKIPVKYLEFISECIIQVLQSKH  
PGDFGADAQGAMNKALELFRKDMASNYKELGFQG

>MYG\_MOUSE

MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADLAGHGQEV LIGL FKTHPETLDKFDKFKNLKSEEDMKGSE  
DLKKHGCTVLTALGTILKKKGQHAAEIQLAQSHATKHKIPVKYLEFISEIIIEVLKKRH  
SGDFGADAQGAMSKALELFRNDIAAKYKELGFQG

>MYG\_BOVIN

MGLSDGEWQLVLNAWGKVEADVAGHGQEV LIRLFTGHPETLEKFDKFKHLKTEAEMKASE  
DLKKHGNTVLTALGGILKKKGHHEAEVKHLAESHANKHKIPVKYLEFISDAIIHVLHAKH  
PSDFGADAQAAMSKALELFRNDMAAQYKVLGFHG

Напишем последовательности друг под другом, чтобы было видно сходство:

```
MYG_HUMAN MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADIPGHGQEVLIIRLFKGH PETLEKFDKFKHLKSEDEMKASE 60
MYG_MOUSE MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADLAGHGQEVLIIGLFKTHPETLDKFDKFKNLKSEEDMKGSE 60
MYG_BOVIN MGLSDGEWQLVLNAWGKVEADVAGHGQEVLIIRLFTGHPETLEKFDKFKHLKTEAEMKASE 60
          *****.*****: ***** ** . *****:*****:***:* :**.**
          .

MYG_HUMAN DLKKHGATVLTALGGILKKKGHHEAEIKPLAQSHATKHKIPVKYLEFISECIIQVLQSKH 120
MYG_MOUSE DLKKHGCTVLTALGTILKKKGQHAAEIQLAQSHATKHKIPVKYLEFISEIIIIEVLKKRH 120
MYG_BOVIN DLKKHGNTVLTALGGILKKKGHHEAEVKHLAESHANKHKIPVKYLEFISDAIIHVLHAKH 120
          ***** ***** *****:* **:: **:***.*****: **.**: :*
          .

MYG_HUMAN PGDFGADAQGAMNKALELFRKDMASNYKELGFQG 154
MYG_MOUSE SGDFGADAQGAMSKALELFRNDIAAKYKELGFQG 154
MYG_BOVIN PSDFGADAQAAMSKALELFRNDMAAQYKVLGFHG 154
          .*****.*.*****:*:*::** ***.*
          .
```

Видно, что большинство букв совпадает, но некоторые различаются.

Это последовательности **гомологических** белков, что означает, что эти белки произошли от общего предка. За время, прошедшее от существования общего предка, некоторые буквы менялись, но большинство остались неизменными.

# Последовательности миоглобинов человека и рыбы

>MYG\_HUMAN

MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADIPGHGQEV LIRLFKGHPETLEKFDKFKHLKSEDEMKASE  
DLKKHGATVLTALGGILKKKGHHEAEIKPLAQSHATKHKIPVKYLEFISECIIQVLQSKH  
PGDFGADAQGAMNKALELFRKDMASNYKELGFQG

>MYG\_DANRE

MADHDLVLKCGAVEADYAANGGEVLNRLFKEYPDTLKLFPKFSGISQGDLAGSPAVAAH  
GATVLKKLGELLKAKGDHAALLKPLANTHANIHKVALNNFRLITEVLVKVMAEKAGLDAA  
GQGALRRVMDAVIDGIDGYEIGFAG

Разная длина, как сравнивать?

# Последовательности миоглобинов человека и рыбы

>MYG\_HUMAN

MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADIPGHGQEV LIRLFKGHPETLEKFDKFKHLKSEDEMKASE  
DLKKHGATVLTALGGILKKKGHHEAEIKPLAQSHATKHKIPVKYLEFISECIIQVLQSKH  
PGDFGADAQGAMNKALELFRKDMASNYKELGFQG

>MYG\_DANRE

MADHDLVLK CWGAVEADYAANGGEVLNRLFKEYPDTLKLFPKFSGISQGDLAGSPAVAAH  
GATVLKKLGELLKAKGDHAALLKPLANTHANIHKVALNNFRLITEVLVKVMAEKAGLDAA  
GQGALRRVMDAVIDGIDGYIKEIGFAG

Разная длина, как сравнивать?

Ответ: **выравнивание**

```
MYG_HUMAN MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADIPGHGQEV LIRLFKGHPETLEKFDKFKHLKSEDEMKASE 60
MYG_DANRE ----MADHDLVLK CWGAVEADYAANGGEVLNRLFKEYPDTLKLFPKFSGISQG-DLAGSP 55
          .: :***: ** ***** .:* *** ***** :*:***: * *. :.. :: .*
```

```
MYG_HUMAN DLKKHGATVLTALGGILKKKGHHEAEIKPLAQSHATKHKIPVKYLEFISECIIQVLQSKH 120
MYG_DANRE AVAAHGATVLKKLGELLKAKGDHAALLKPLANTHANIHKVALNNFRLITEVLVKVMAEKA 115
          : ***** . ** :** **.* * :*****:***. **: :: :.***: :***: .*
```

```
MYG_HUMAN PGDFGADAQGAMNKALELFRKDMASNYKELGFQG 154
MYG_DANRE --GLDAAGQGALRRVMDAVIDGIDGYIKEIGFAG 147
          ...* .***:..... . *: . ***:** *
```

# Источники разнообразия геномов

## 1. Ошибки репликации ДНК

- Регулярное переписывание информации как способ сохранения имеет определенные преимущества.  
Рукопись «Слова о полку Игореве» сгорела, но информация сохранилась.
- При переписывании бывают ошибки – мутации.
- ДНК любого ныне живущего организма получилась переписыванием ДНК организма, жившего примерно 3,5 млрд лет тому назад.  
Этот организм называют **LUCA** (Last Universal Common Ancestor).  
При переписывании случались и добавления, при этом источники «новой» ДНК довольно загадочны.
- Текст ДНК, конечно, изменился до неузнаваемости.  
Но родство (гомологичность) последовательностей некоторых белков во всех современных организмах устанавливается достаточно надежно

# Источники разнообразия геномов

## 2. Повреждения ДНК и их репарация

- Имеется много источников повреждений ДНК
  - ультрафиолетовое излучение
  - различные химические вещества, содержащиеся в пище, воздухе, табачном дыме...
  - некоторые ферменты самого организма
- Повреждения ДНК контролируются клеткой и **репарируются**  
Увы, не всегда правильно. Одно из следствий – онкологические заболевания.



# Гомологичные последовательности

>First

CGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGCCGG  
TGGAGTAACCATTTGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGG

>Second

CGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTCTGCAATGCCCAAAGTCGG  
TGGGATAACCTTTATAGGAGTCAGCCGCCTAAGGCAGG

# Выравнивание (демонстрирует сходство)

>First

CGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGCCGG  
TGGAGTAACCATTTGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGG

>Second

CGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTCTGCAATGCCCAAAGTCGG  
TGGGATAACCTTTATAGGAGTCAGCCGCCTAAGGCAGG

First      1 CGTTCCCGGGTCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAC      50  
             | | | | | | | | . | | | | | | | | | | | | | | | | | . | : . | | . | . | .

Second 1 CGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGTCTGCAAT 50

First    51   ACCCGAAGCCGGTGGAGTAACCAT--TTGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGG    98  
         .|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.

Second 51 GCCCAAAGTCGGTGGGATAACCTTTATAGGAGTCAGCCGCCTAAGGCAGG 100

# Негомологичные последовательности

>First

CGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGCCGG  
TGGAGTAACCATTTGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGG

>Third

CCTGCCTTAGGCGGCTGACTCCTATAAAGGTTATCCCACCGACTTTGGGCATTGCAGACTTC  
CATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG

# Выравнивание (бессмысленное)

>First

CGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGCCGG  
TGGAGTAACCATTTGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGG

>Third

CCTGCCTTAGGCGGCTGACTCCTATAAAGGTTATCCCACCGACTTTGGGCATTGCAGACTTC  
CATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG

```
First  1  -----CGTTCCCGGGT  11
                                     ||.....|||.
Third  1  CCTGCCTTAGGCGGCTGACTCCTATAAAGGTTATCCCACCGACTTTGGGC  50

First 12  CTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGCCG  61
          .|||.|.|||.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.
Third 51  ATTGCAGACTTCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG  100
```

# Выравнивание последовательностей потомков относительно предка

Гомологичные нуклеотиды ставим друг под другом

ПРЕДОК 1 . TATGCGAATGCCCTGAA

сын 2 . TATGC**A**AATGCCCTGAA замена

# Выравнивание последовательностей потомков относительно предка

Гомологичные нуклеотиды ставим друг под другом

ПРЕДОК	1 .	TATGCGAAT-GCCCTGAA	
сын	2 .	TATGC <b>A</b> AAT-GCCCTGAA	замена
внук	3 .	TATGC <b>A</b> AAT-GC <b>T</b> CTGAA	замена
правнук	4 .	TATGC <b>A</b> AAT <b>C</b> GC <b>T</b> C <b>G</b> GAA	вставка 1 п.н.

# Выравнивание последовательностей потомков относительно предка

Гомологичные нуклеотиды ставим друг под другом

ПРЕДОК	1 .	TATGCGAAT–GCCCTGAA	
сын	2 .	TATGC <b>A</b> AAT–GCCCTGAA	замена
внук	3 .	TATGC <b>A</b> AAT–GC <b>T</b> CTGAA	замена
правнук	4 .	TATGC <b>A</b> AAT <b>C</b> GC <b>T</b> C <b>G</b> GAA	вставка 1 п.н.
праправнук	5 .	TATGC <b>A</b> AA <b>A</b> C <b>G</b> CT <b>C</b> G <b>G</b> AA	замена
прапраправнук	6 .	TATGC <b>A</b> AA– <b>C</b> GC <b>T</b> C <b>G</b> GAA	делеция 1п.н.

# Выравнивание последовательностей потомков относительно предка

Гомологичные нуклеотиды ставим друг под другом

ПРЕДОК	1 .	TAT--GCGAAT-GCCCTGAA	
сын	2 .	TAT--GC <b>A</b> AAT-GCCCTGAA	замена
внук	3 .	TAT--GC <b>A</b> AAT-GC <b>T</b> CTGAA	замена
правнук	4 .	TAT--GC <b>A</b> AAT <b>C</b> GC <b>T</b> C <b>G</b> GAA	вставка 1 п.н.
праправнук	5 .	TAT--GC <b>A</b> AA <b>A</b> CGC <b>T</b> C <b>G</b> GAA	замена
прапраправнук	6 .	TAT--GC <b>A</b> AA- <b>C</b> GC <b>T</b> C <b>G</b> GAA	делеция 1п.н.
.....	7 .	TAT--GC <b>A</b> <b>T</b> A- <b>C</b> GC <b>T</b> C <b>G</b> GAA	замена
.....	8 .	TAT--GC <b>A</b> <b>T</b> A- <b>C</b> GC- - -GAA	делеция 3 п.н.
.....	9 .	TAT <b>A</b> <b>T</b> GC <b>A</b> <b>T</b> A- <b>C</b> GC- - -GAA	вставка 2 п.н.

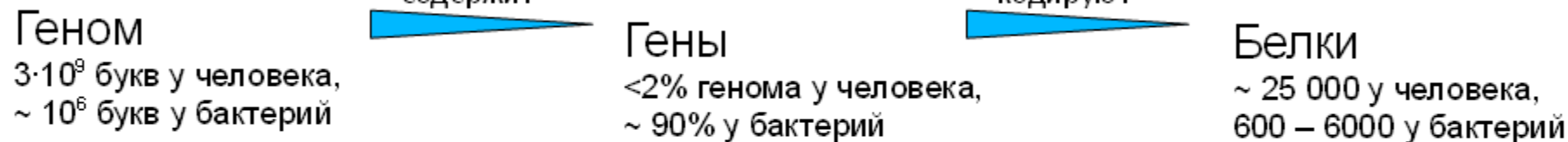


# Выравнивание геномов двух потомков: *M. capricolum* и *M. mycoides*, общего предка микоплазм (маленький фрагмент)

1 <i>M. mycoides</i>	1091	t a a - - - t t a a t t a t a a a t t t a t a a a t a t t t t t c a t t a a G T C T G A	1130
1 <i>M. capricolum</i>	1116	T A A T T T T T A A T T A T A A A T T T A T A A A T A T T T T T C A T T A A G T C T A A	1158
1 <i>M. mycoides</i>	1131	T G T A T T C A C C T T T T T T A A T A T A T A A A A C T C C A G A A A G A A A A T C	1173
1 <i>M. capricolum</i>	1159	T A T A T T C A C C T T T T T T A A C A T A T A A A A C T C C A G A A A G A A A A T C	1201
1 <i>M. mycoides</i>	1174	T T T A A A A C G T T T A G C T T T A T T A T C A T C T A A G T T T T T A A A A T C T	1216
1 <i>M. capricolum</i>	1202	T T T A A A A C G T T T A G C T T T A T T A T C A T C T A A G T T T T T A A A A T C T	1244
1 <i>M. mycoides</i>	1217	A C A A C A A C A A C T T T T T G A T C T A A T A A A G T A T C T A C A A T T G A T T	1259
1 <i>M. capricolum</i>	1245	A T A A C A A C A A C A T T A T A T G T T C T A A T A A A G T A T C A A C A A T T G A T T	1287
1 <i>M. mycoides</i>	1260	G A A C T T C A G A A A A T T T C A T A G G A C T A A A T A C A T A A G T G T T A A T	1302
1 <i>M. capricolum</i>	1288	G A A T T T C A G A A A A T T T C A T A G G A C T A A A A A C A T A T G T A T T A A C	1330

В среднем 92% совпадающих букв на **гомологичных** участках

# Гены и белки



## Генетический код

	T(U)	C	A	G
T(U)	TTT Phe TTC Phe TTA Leu TTG Leu	TCT Ser TCC Ser TCA Ser TCG Ser	TAT Tyr TAC Tyr TAA <b>stop</b> TAG <b>stop</b>	TGT Cys TGC Cys TGA <b>stop</b> TGG Trp
C	CTT Leu CTC Leu CTA Leu CTG Leu	CCT Pro CCC Pro CCA Pro CCG Pro	CAT His CAC His CAA Gln CAG Gln	CGT Arg CGC Arg CGA Arg CGG Arg
A	ATT Ile ATC Ile ATA Ile ATG Met	ACT Thr ACC Thr ACA Thr ACG Thr	AAT Asn AAC Asn AAA Lys AAG Lys	AGT Ser AGC Ser AGA Arg AGG Arg
G	GTT Val GTC Val GTA Val GTG Val	GCT Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAT Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGT Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly

### Аминокислоты

A Ala Alanine Аланин  
 R Arg Arginine Аргинин  
 N Asn Asparagine Аспарагин  
 D Asp Aspartic Acid Аспарагиновая кислота  
 C Cys Cysteine Цистеин  
 Q Gln Glutamine Глютамин  
 E Glu Glutamic Acid Глутаминовая кислота  
 G Gly Glycine Глицин  
 H His Histidine Гистидин  
 I Ile Isoleucine Изолейцин  
 L Leu Leucine Лейцин  
 K Lys Lysine Лизин  
 M Met Methionine Метионин  
 F Phe Phenylalanine Фенилаланин  
 P Pro Proline Пролин  
 S Ser Serine Серин  
 T Thr Threonine Треонин  
 W Trp Thryptophan Триптофан  
 Y Tyr Tyrosine Тирозин  
 V Val Valine Валин

**"stop"** в таблице кода означает  
 стоп-кодон — сигнал окончания трансляции.

# Мутации

gatcaacactacttgacttcaag**g**acttaccataaagaaaac



gatcaacactacttgacttcaaa**a**acttaccataaagaaaac

точечная замена

gatcaacactacttgacttcaag**g**acttaccataaagaaaac



gatcaacactacttgacttcaacttaccataaagaaaac

делеция

gatcaacactacttgacttcaagacttaccataaagaaaac



gatcaacactacttgacttcaagat**a**acttaccataaagaaaac

инсерция  
(вставка)

# Классификация мутаций в кодирующих последовательностях ДНК

**Синонимическая или молчащая:** не меняет кодируемый аминокислотный остаток

**Миссенс (missense):** меняет остаток

**Нонсенс (nonsense):** заменяет кодон остатка на стоп-кодон

**Сдвиг рамки (frameshift):** вставка или делеция размера, не кратного трём.

Результатом являются совсем другие аминокислоты после мутации и, как правило, стоп-кодон сравнительно недалеко (в среднем через 21 триплет после мутации)

# Точечные замены в гене

... AATCCGTCAAGTCTA...

... Asn Pro Ser Ser Leu ...

1) “молчащая”(синонимическая)мутация

... AATCCGTCAGAGTCTA...

... Asn Pro Ser Ser Leu ...

2) замена остатка на близкий по свойствам

... AATCCGACAAGTCTA...

... Asn Pro Thr Ser Leu ...

3) замена остатка на остаток с иными свойствами

... AATCCGTCAAGACTA...

... Asn Pro Ser Arg Leu ...

# Судьба мутации

Бактерия разделилась, и у одного из потомков произошла мутация.  
(ошибка репликации, или повреждение ДНК и ошибка репарации).

Что будет с потомством мутанта? Увидим ли мы эту мутацию, если отсеквенируем 1 000 000 бактерий этого штамма через 10 лет?

# Потомство бактерии

В благоприятных условиях бактерия может делиться каждый час.

Сколько будет бактерий через 24 часа? А через год???

# Потомство бактерии

В благоприятных условиях бактерия может делиться каждый час.

Сколько будет бактерий через 24 часа? А через год????

Ответ: примерно столько же, сколько сейчас.



# Потомство бактерии

В благоприятных условиях бактерия может делиться каждый час.

Сколько будет бактерий через 24 часа? А через год????

Ответ: примерно столько же, сколько сейчас.

Численность подавляющего большинства популяций **постоянна** (по крайней мере на отрезках времени порядка лет) — погибает примерно столько же, сколько рождается.  
*Современная популяция человека — исключение!*

Если члены популяции генетически идентичны, то вероятность оставить потомство для всех **одинакова** (точнее, зависит от только от внешних факторов).

***Следствие: математическое ожидание числа потомков одной бактерии через достаточно большой промежуток времени равно 1.***

# Судьба нейтральной мутации

Предположим, что мутация **нейтральна** = никак не влияет на матожидание числа потомков (таких мутаций довольно много).

Мутация произошла и передаётся потомкам мутанта. Значит, в популяции появился новый **полиморфизм**. У данного варианта кода есть **частота** (сначала очень маленькая).

# Судьба нейтральной мутации

Предположим, что мутация **нейтральна** = никак не влияет на матожидание числа потомков (таких мутаций довольно много).

Мутация произошла и передаётся потомкам мутанта. Значит, в популяции появился новый **полиморфизм**. У данного варианта генома есть **частота** (сначала очень маленькая).

Что произойдёт с частотой через пару суток?

# Судьба нейтральной мутации

Предположим, что мутация **нейтральна** = никак не влияет на матожидание числа потомков (таких мутаций довольно много).

Мутация произошла и передаётся потомкам мутанта. Значит, в популяции появился новый **полиморфизм**. У данного варианта генома есть **частота** (сначала очень маленькая).

## Что произойдёт с частотой через пару суток?

Ответ: частота либо немного возрастет, либо немного упадет. То и другое примерно равновероятно.

# Случайное блуждание

Частота любого нейтрального полиморфизма постоянно колеблется случайным образом (это называется «генетический дрейф»).

Математическая модель такого процесса называется «случайное блуждание».

*На тротуаре стоит пьяный и каждые 10 сек. делает шаг либо направо, либо налево, случайно выбирая направление. Как далеко он уйдёт за время  $T$ ?*

*Ответ: в среднем на расстояние, пропорциональное  $\sqrt{T}$ .*

# Случайное блуждание с поглощением

*По длинной дамбе идёт пьяный и с каждым шагом отклоняется либо на полметра вправо, либо на полметра влево. Как скоро он свалится с дамбы?*

**Ответ:** скоро...

Когда частота генетического варианта достигает 100% или 0%, процесс её изменения прекращается.

**За исторически короткое время любой нейтральный вариант либо исчезает из популяции, либо закрепляется в ней!**

# Закрепление мутаций как результат генетического дрейфа

Вероятность закрепиться для новой нейтральной мутации очень мала, но не 0.

Организмов в популяции много, мутаций в них происходит тоже много (примерно  $10^{-8}$  на п.н. на поколение – каждая сотая новорождённая бактерия несёт новую мутацию). Значительная доля мутаций нейтральна.

Итог: геномы независимых популяций начинают различаться, чем дальше, тем больше – в них независимо накапливаются нейтральные мутации.

# А если мутация не нейтральна?

Каждому варианту генома можно сопоставить его «приспособленность»  $f$  = матожидание числа потомков организма с таким геномом (через какой-то фиксированный промежуток времени).

В подавляющем большинстве случаев новая мутация порождает либо нейтральный вариант ( $f = 1$ ) либо вредный ( $f < 1$ ).

Вредный вариант тоже начинает «блуждать», но вероятность «шага вверх» оказывается меньше вероятности «шага вниз». Это очень сильно уменьшает вероятность закрепления – тем сильнее, чем меньше  $f$ , и тем сильнее, чем больше популяция.

Явление невозможности закрепления вредной мутации называется **стабилизирующий отбор** или же **отрицательный отбор**.



# Положительный отбор

Если вдруг  $f > 1$  , то вероятность закрепления мутации вырастает во много раз.  
Процесс закрепления полезных мутаций называется **положительным отбором**.

Собственно, полезных мутаций так мало именно потому, что большинство возможных полезных мутаций уже закрепились.

Обычно полезные мутации начинают появляться в заметном количестве только при изменении условий жизни организмов – например при появлении нового источника пищи или новой опасности или попадании части популяции в другой климат...

# Эволюция белков

Мутации возникают случайно.

Конкретная мутация может быть:

- летальной;
- вредной;
- слабовредной;
- нейтральной;
- полезной.

Мутация порождает **полиморфизм данного белка в популяции**.

Доля каждого варианта подвержена случайным изменением (модель: «случайное блуждание с поглощением»).

За исторически короткое время один из вариантов (старый или новый) исчезает. В первом случае говорят, что мутация **закрепилась**.

Как правило, пространственная структура белка **почти не меняется** при эволюции его последовательности. В первом приближении верно утверждение: **гомологичные белки имеют почти одинаковые 3D-структуры**.

# Множественное выравнивание белков

```

11 DRREIRHIWDDVWSSSF TDRRVAIVRAVFDDL FKHYP TSKALFERVKIDEPESGEF 66
 8 DRHEVLDNWKGIWSAEFTGR RVAIGQAIFQELFALDPNAKG VFG RVNVDPK PSEADW 63
 8 DRREVQALWRSIWSAEDTGRRTLIGRLLFEELFEIDGATKGLFKRVNVDDTHSPEE 63
 7 QR I KVKQQAQVYSVGES--RTDFAIDVFNNFFRTNPD-RSLFN RVNGDNVYSPEF 59
 9 QRLKVKQQA KAYGVGHE--RVELGIALWKSMFAQDNDARDL FKR VHGEDVHSPAF 62
 8 EGLKVKSEWGRAYGSGHD--REAFSQA IWRATFAQVPESRSLFKRVHGD DTSHPAF 61
 6 QRFKVKHQWAEAFGTSHH--RLDFGLKLWNSIFRDAPEIRGLFKRV DGDNAYS AEF 59
 7 QRLKVKRQWAEAYGSGND--REEFGHF I WTHVFKDAPSARDL FKRVRGDN IHTPAF 60

67 KSHLVRVANGLDLLINLLDDTLVLQSHLGHLADQHIQRKGV TKEYFRGIGEAFA 120
64 KAHVIRVINGLDLAVNLLLEDPKALQEELKHLARQHRERSGVKAVYFDEMEKALL 117
64 FAHVLRVVNGLDTLIGVLGDSDTLNSLIDHLAEQHKARAGFKTVYFKEFGKALN 117
60 KAHMVRVFAGFDILISVLDDKPVL DQALAHYA AFHKQF-GTIP--FKA FGQTMF 110
63 EAHMARVFNGLD RVISSLTDEPVLNAQLEHLRQQHIKL-GITGHMFNL MRTGLA 115
62 IAHAE RVLGGLDIAISTLDQPATLKEELDHLQVQHEGR-KIPDNYFD AFKTAIL 114
60 EAHAE RVLGGLDMTISLLDDQAAFD AQLAHLKSQHAER-NIKADYYGVFVNELL 112
61 RAHAT RVLGGLDMCIALLDDEGV LNTQLAHLASQHSSR-GVSAAQYDVVEHSVM 113

```

Мы видим только закрепившиеся мутации!

# Гомология – общность происхождения

- При репликации почти всегда каждый нуклеотид потомка происходит от определенного нуклеотида предка.
- В выравнивании гомологичных последовательностей у разных потомков одного и того же предка гомологичные нуклеотиды должны стоять в одной колонке.
- Как правило, нам известны геномы только современных организмов, и потому у нас нет способа проверить, какие нуклеотиды гомологичны.
- Гомологичность последовательностей часто можно установить анализом их выравнивания.
- Проблема построения выравнивания обсуждается ниже.

# Выравнивание последовательностей касается всех студентов МГУ!

## **Положение об обеспечении самостоятельности выполнения письменных работ в МГУ имени М.В.Ломоносова на основе системы «Антиплагиат»**

Самостоятельное выполнение письменных работ обучающимися в МГУ имени М.В.Ломоносова (далее – МГУ) является необходимым условием эффективности этих работ как элементов учебного процесса, развития у обучающихся навыков научной работы.

К обучающимся в Университете относятся студенты, аспиранты, докторанты, слушатели и соискатели (ст.ст. 123-128 Устава МГУ).

# Для данных двух последовательностей существует много разных выравниваний

TGGAGTAACCAT-  
TGGGATAACCTTG

TGGAGTAACCAT-----  
-----TGGGATAACCTTG

-TGGAGTAACCAT  
TGGGATAACCTTG

TGGA--GTAACCAT--  
TGGGATAA---CCTTG

Всего для двух последовательностей одинаковой длины  $n$  имеется  $2^n$  разных выравниваний

**Биоинформатическая задача: выбрать среди множества  
выравниваний правильное**

# Алгоритм выравнивания решает математическую задачу, а не биологическую

Математическая задача разбивается на две:

- Любому выравниванию сопоставить число – его **вес**
- Для данных последовательностей построить выравнивание с наибольшим весом

# Три понимания «правильного» выравнивания

## 1 **Оптимальное выравнивание:** наилучшее по весу

Его ищут программы.

*Оптимальное выравнивание существует для любого набора последовательностей, даже негомولوجичных!*

## 2 **Эволюционное выравнивание:** запись, отражающая ход эволюции

Не поддается достоверной реконструкции в большинстве реальных случаев; может отличаться от оптимального выравнивания.

Алгоритм вычисления веса стараются выбрать так, чтобы можно было ожидать, что эволюционное выравнивание будет среди нескольких оптимальных.

*Для негомولوجичных последовательностей эволюционного выравнивания не существует!*

## 3 **Функциональное выравнивание:** сопоставление функционально идентичных частей белков или нуклеиновых кислот

Объясняет сохранение в эволюции одних частей белка и варьирование других. Поскольку функция и 3D-структура белка очень тесно связаны, функционально выровненные аминокислотные остатки должны иметь примерно одинаковое расположение в пространстве.



# Вес парного выравнивания

Простейший вариант

За каждую колонку с совпадающими буквами прибавляем число  $A$

За каждую колонку с разными буквами вычитаем число  $B$

За каждую «чёрточку» (гэп) вычитаем число  $C$

# Вес парного выравнивания

Простейший вариант

За каждую колонку с совпадающими буквами прибавляем число  $A$

За каждую колонку с разными буквами вычитаем число  $B$

За каждую «чёрточку» (гэп) вычитаем число  $C$

```
First   TGGAGTAACCAT--TAGGAGCTAGCCG
        |||.|||||.  |||||.|||||
Second  TGGGATAACCTTGATAGGAGTCAGCCG
```

Здесь 20 совпадений, 5 несовпадений, два гэпа, значит вес  $20A - 5B - 2C$

Например, при  $A = 5$ ,  $B = 4$ ,  $C = 6$  вес равен 68.

Проверьте, что ни у какого выравнивания этих последовательностей вес не будет бóльшим. Это выравнивание является оптимальным при данных параметрах  $A$ ,  $B$ ,  $C$ .

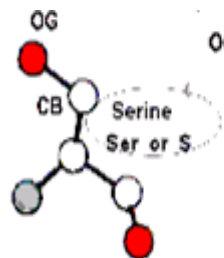
# Вес парного выравнивания – белки

Какое выравнивание имеет бóльшие шансы оказаться правильным?

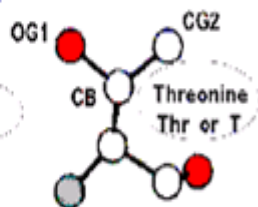
AFTGAHAYL  
AYS---AYM

AFTGAHAYL  
AY---SAYM

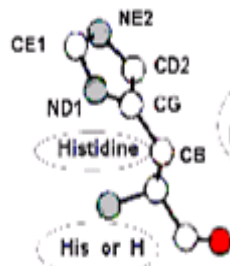
# Вес парного выравнивания – белки



Серин S



Треонин T



Гистидин H

Мутация серина в треонин закрепляется с гораздо большей вероятностью по сравнению с мутацией серина в гистидин.

Поэтому если в одной колонке выравнивания оказались буквы S и T, это скорее аргумент за данное выравнивание, чем против него. Значит, за такую колонку лучше увеличивать вес, чем уменьшать.

# Матрица весов аминокислотных замен BLOSUM 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

Треугольная (симметричная)  
матрица

Из работы (Henikoff&Henikoff, **1992**, *PNAS*)

## Матрица BLOSUM62

```
# Matrix made by matblas from blosum62.ii
# * column uses minimum score
# BLOSUM Clustered Scoring Matrix in 1/2 Bit Units
# Blocks Database = /data/blocks_5.0/blocks.dat
# Cluster Percentage: >= 62
# Entropy = 0.6979, Expected = -0.5209
```

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

# Вес парного выравнивания – белки

Посчитаем веса выравниваний, используя матрицу BLOSUM62

AFTGAHAYL  
AYS---AYM

AFTGAHAYL  
AY---SAYM

Обозначим значения матрицы на пересечении строки A и столбца B через  $M(A,B)$

Тогда вес левого выравнивания равен:

$M(A,A) + M(F,Y) + M(T,S) + M(A,A) + M(Y,Y) + M(L,M)$  – штраф за гэпы,

а правого:

$M(A,A) + M(F,Y) + M(H,S) + M(A,A) + M(Y,Y) + M(L,M)$  – штраф за гэпы.

Штрафы за гэпы одинаковы, значит веса различаются слагаемым  $M(T,S)$  слева против  $M(H,S)$  справа. Но  $M(T,S) = 1$ , а  $M(H,S) = -1$ , поэтому вес левого выравнивания больше на 2.

# Вес парного выравнивания: аффинные штрафы за гэпы

First TGGAGTAACCAT--TTGGAGCTAGCCG  
      | | | . . | | | | | . |   | . | | | | . . | | | | |  
Second TGGGATAACCTTTATAGGAGTCAGCCG

Выравнивание 1

First TGGAGTAACCAT-TT-GGAGCTAGCCG  
      | | | . . | | | | | . |   . |   | | | | . . | | | | |  
Second TGGGATAACCTTTATAGGAGTCAGCCG

Выравнивание 2



# Вес парного выравнивания: аффинные штрафы за гэпы

```
First  TGGAGTAACCAT--TTGGAGCTAGCCG
      |||..|||||. | |.||||..|||||
Second TGGGATAACCTTTATAGGAGTCAGCCG
```

Выравнивание 1

```
First  TGGAGTAACCAT-TT-GGAGCTAGCCG
      |||..|||||. | .| ||||..|||||
Second TGGGATAACCTTTATAGGAGTCAGCCG
```

Выравнивание 2

Выравнивание 1 биологически более вероятно, чем выравнивание 2  
(потому что одна делеция в две буквы случается чаще, чем две делеции в одну букву)

Чтобы выравнивание 1 имело больший вес, чем выравнивание 2, штрафы за гэпы делают зависимым от числа подряд идущих гэпов. Стандартный способ: за первый гэп вычитается «штраф за открытие», за каждый последующий — меньший «штраф за удлинение»

# Терминология: гэпы и индели

Один знак "--", означающий отсутствие в данной последовательности **одной** буквы, гомологичной другим буквам данного столбца, мы будем называть «**гэп**»

Совокупность нескольких подряд идущих гэпов мы будем называть «**индель**», от **ин**серция/**де**леция.

```
First  TGGAGTAACCAT--TTGGAGCTAGCCG
      |||.|||||.|  |.|||||.|||||
Second TGGGATAACCTTTATAGGAGTCAGCCG
```

Тут два гэпа и один индель

*К сожалению, терминология не вполне устоялась. В литературе и описаниях программ вы можете встретить употребление термина «гэп» для обозначения инделя.*

# Парное выравнивание: локальное и глобальное

На самом деле это две формализации одной и той же задачи: даны последовательности двух белков, найти гомологичные аминокислотные остатки.

Задача глобального выравнивания: найти выравнивание с наибольшим весом. При вычислении весов учитываются: матрица замен (BLOSUM62) и аффинные штрафы за гэпы.

Задача локального выравнивания: найти

- участок в первой последовательности;
- участок во второй последовательности;
- выравнивание выбранных участков;

так, чтобы вес выравнивания был наибольшим.

*Разница в том, что теперь выбираем не только как выравнивать, но и что.*

# Для самостоятельного обдумывания

1. (формальный вопрос). Если не штрафовать гэпы до первого сопоставления и после последнего, то глобальное выравнивание сведётся к локальному. Иначе говоря, задачу локального выравнивания можно сформулировать так: найти выравнивание с наибольшим весом, но при этом вес считаем хитрее: штрафует только те гэпы, которые оказались между сопоставлениями букв.
2. (содержательный вопрос). Почему локальное выравнивание довольно часто имеет больший биологический смысл по сравнению с глобальным?

# Форматы хранения выравниваний

## Fasta-формат

```
>CHICK
MVGSSSEAGGEAWRGRYYRLEEVQKHNNSEQSTWIIVHHRIYDITKFLDEHPGGEEVLREQAGGDATENFEDVG
HSTDARALSETFIIGELH-PDDRPKLQK--PAETLITTVQSNSSSSWSN---WVIP-AIAAII VALMYRSYMS
E-
>HUMAN
---MAEQSDEAVK--YYTLEEIQKHNSKSTWLILHHKVYDLTKFLEEHPGGEEVLREQAGGDATENFEDVG
HSTDAREMSKTFIIGELH-PDDRPKLNK--PPETLITTIDSSSSWWTN---WVIP-AISAVAVALMYRLYMA
ED
>CUSRE
-----MGGSKV----YSLAEVSEHSQPNDWCWLVIGGKVYDVTKFLDDHPGGADVLLSSTAKDATDDFEDIG
HSSSARAMMDEMCGVDID-SSTIPTKTSYTPPKQPLYNQDKTPQFIIKLLQFLVPLIILGVAVGIRFYKKQS
SD
```

## Aln-формат (он же Clustal)

```
CHICK    MVGSSEAGGEAWRGRYYRLEEVQKHNNSEQSTWIIVHHRIYDITKFLDEHPGGEEVLREQA
HUMAN    ---MAEQSDEAVK--YYTLEEIQKHNSKSTWLILHHKVYDLTKFLEEHPGGEEVLREQA
CUSRE    -----MGGSKV----YSLAEVSEHSQPNDWCWLVIGGKVYDVTKFLDDHPGGADVLLSST

CHICK    GGDATENFEDVGHSTDARALSETFIIGELH-PDDRPKLQK--PAETLITTVQSNSSSSWSN
HUMAN    GGDATENFEDVGHSTDAREMSKTFIIGELH-PDDRPKLNK--PPETLITTIDSSSSWWTN
CUSRE    AKDATDDFEDIGHSSSARAMMDEMCGVDID-SSTIPTKTSYTPPKQPLYNQDKTPQFIIK

CHICK    ---WVIP-AIAAII VALMYRSYMSE-
HUMAN    ---WVIP-AISAVAVALMYRLYMAED
CUSRE    LLQFLVPLIILGVAVGIRFYKKQSSD
```

# Программы

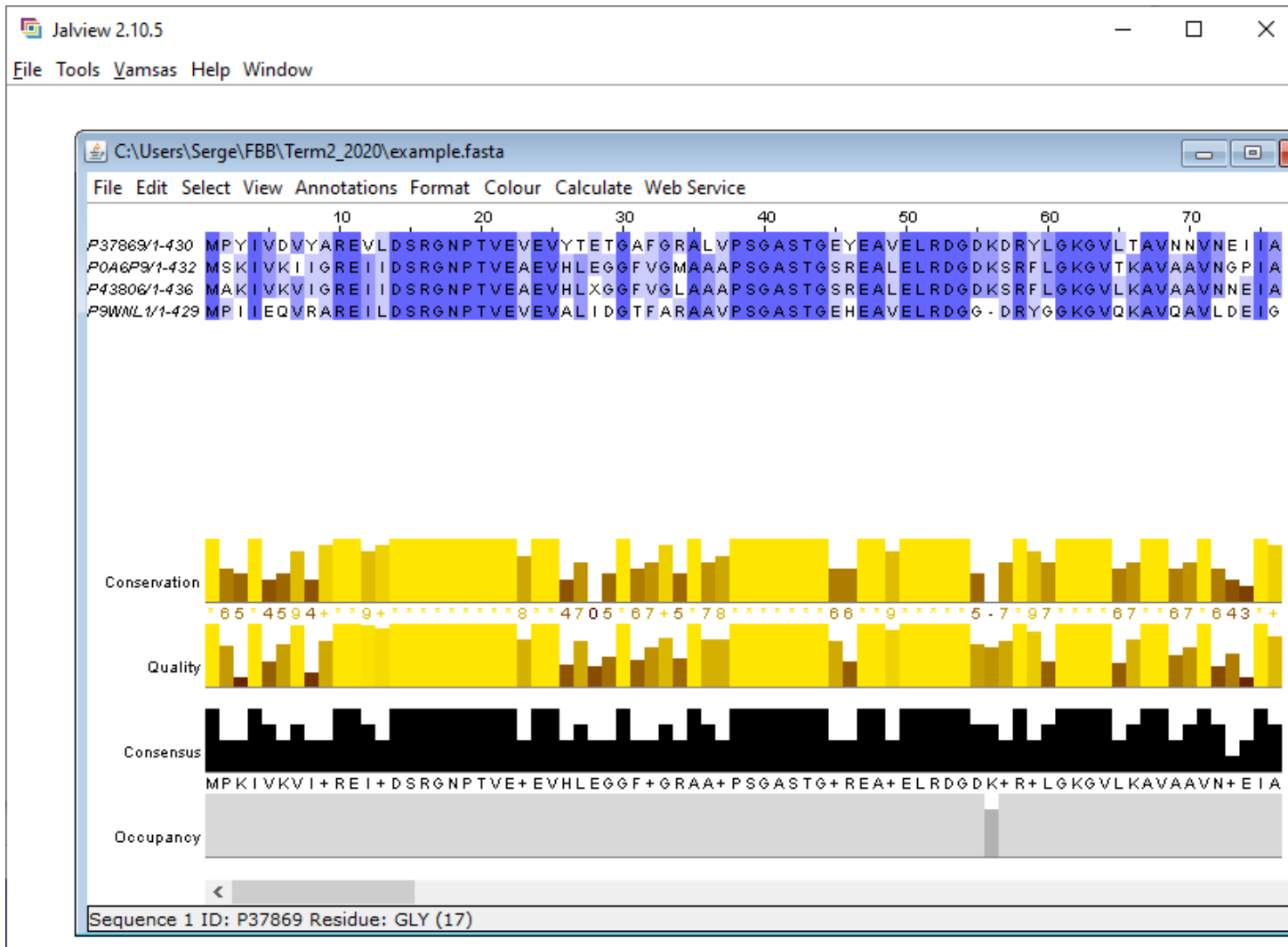
Парное глобальное выравнивание: needle, stretcher

Парное локальное выравнивание: water, matcher, blast

Множественное выравнивание: Muscle, MAFFT, Pride, ...

Редакторы выравниваний: JalView, GeneDoc, ...

# Jalview



# Словарик

Alignment	Выравнивание
Gap	Гэп
Indel	Индель
Gap penalty	Штраф за гэпы
Gap opening penalty	Штраф за открытие гэпа
Gap extension penalty	Штраф за удлинение гэпа
Score	Вес выравнивания
Scoring matrix	Матрица замен аминокислот



# Вопросы и ответы

## **Что такое гомология?**

Ответ: общность происхождения

*(НЕПРАВИЛЬНО говорить «последовательности гомологичны на 56%.  
Последовательности либо гомологичны, либо нет)*

## **Как определить, гомологичны ли белки?**

Ответ: в большинстве случаев единственный способ — выровнять их последовательности и посмотреть на процент совпадающих букв. Если он достаточно велик, то белки, вероятно, гомологичны. Если нет, то всякое может быть.

Если для обоих белков известны пространственные структуры, то есть гораздо более чувствительный способ: сравнить ход полипептидной цепи.

## **Какой процент идентичности служит надёжным признаком гомологии?**

Ответ: для белков обычно более 20–25% на достаточно длинном участке (более точный ответ будет дан на следующей лекции)