1. Сигналы и мотивы

Поиск сигналов в последовательностях

ААл

План

- Геном и информация.
  - Способы кодирования
  - Способы считывания сигнала в ДНК
- Примеры сигналов
- Способы перекодировки сигналов в ДНК для людей – мотивы
  - Последовательность
  - Паттерн
  - PWM – позиционная весовая матрица
- Примеры без подробностей
- Информационное содержание сигнала

Геном и Информация

- Носитель генома – совокупность ДНК клетки.
  У вирусов, хотя вирусы – не клетки, тоже есть геном, ДНК или РНК
- В геноме закодирована информация.
- Что такое информация? Нашел такое определение:
  ИНФОРМАЦИЯ — сведения независимо от формы их представления))) [1)]
- Эту информацию в перекодированном виде и изучает биоИНФОРМАТИКА.
  Значит, для биоинформатики требуется перекодировка молекулярно-биологической информации – какой и как?
- ……

Теория информации основанная Шенноном – математическая теория передачи данных[2)] – используется в биоинформатике, но слишком формализована и проста для объяснения живого:)

[1)] Wiki со ссылкой на Когаловского Р.М. специалиста по информационным систем.
[2)] C.Shannon, “The Mathematical Theory of Communications” , 1948

Геном и информация

- Так какая информация закодирована в геноме?
  - Гены белков
  - Гены РНК
  - Что ещё ……
- Кто, как и зачем в клетке использует информацию из ДНК?
- Это и составляет загадку жизни:)

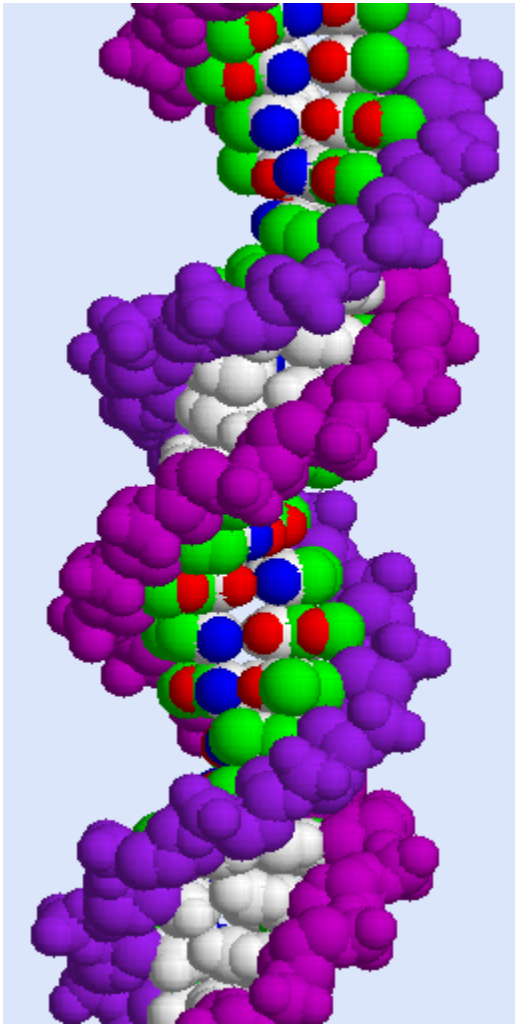
Способы кодирования сигнала в геноме

- Закодированы
  - последовательностью нуклеотидов,
  - для белков – последовательностью аминокислотных остатков
- Закодированы структурой НК или белка
  - G-квадруплекс
  - IRES – особым образом уложенная шпилька РНК
- Закодированы химической модификацией НК или белка
  - Cap
  - Метилирование ДНК

В ДНК закодированы сигналы, необходимые для управления клеточными механизмами

- Сигналы закодированные последовательностью нуклеотидов
  - «Чтение» последовательности с помощью комплементарности РНК-ДНК
  - «Чтение» ДНК без её расплетения
- Сигналы, закодированные химическими модификациями ДНК или (у эукариот) гистонов.
- Сигналы, закодированные вторичной или третичной структурой ДНК, РНК, белков

Так белки читают последовательность ДНК не расплетая её



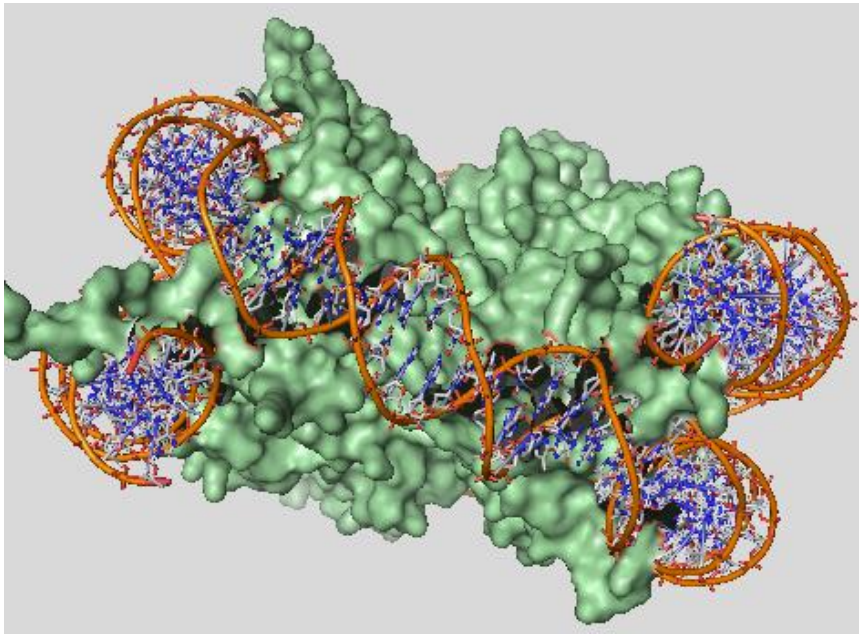
Двойная спираль ДНК.
3D расшифровка рентгено-структурным анализом

Раскраска моя AAл ☺

Глядя на рисунок легко представить себе почему в последовательностях сайтов ДНК, связываемых одним белком (и его близкими гомологами) не может быть делеций!

Сигнал, по существу, трехмерный. К тому же, известно, что конформация остова ДНК немножко зависит от последовательности оснований

Для эукариот дело усложняется доступностью ДНК для белков



Нуклеосома,
3D расшифровка
рентгено-
структурным
анализом

Нуклеосома:
ДНК человека на
“катушке” из гистонов:
вид сбоку (гистоны –
такие белки)

Ещё сложнее на более высоких уровнях организации хроматина.

Пример 1й

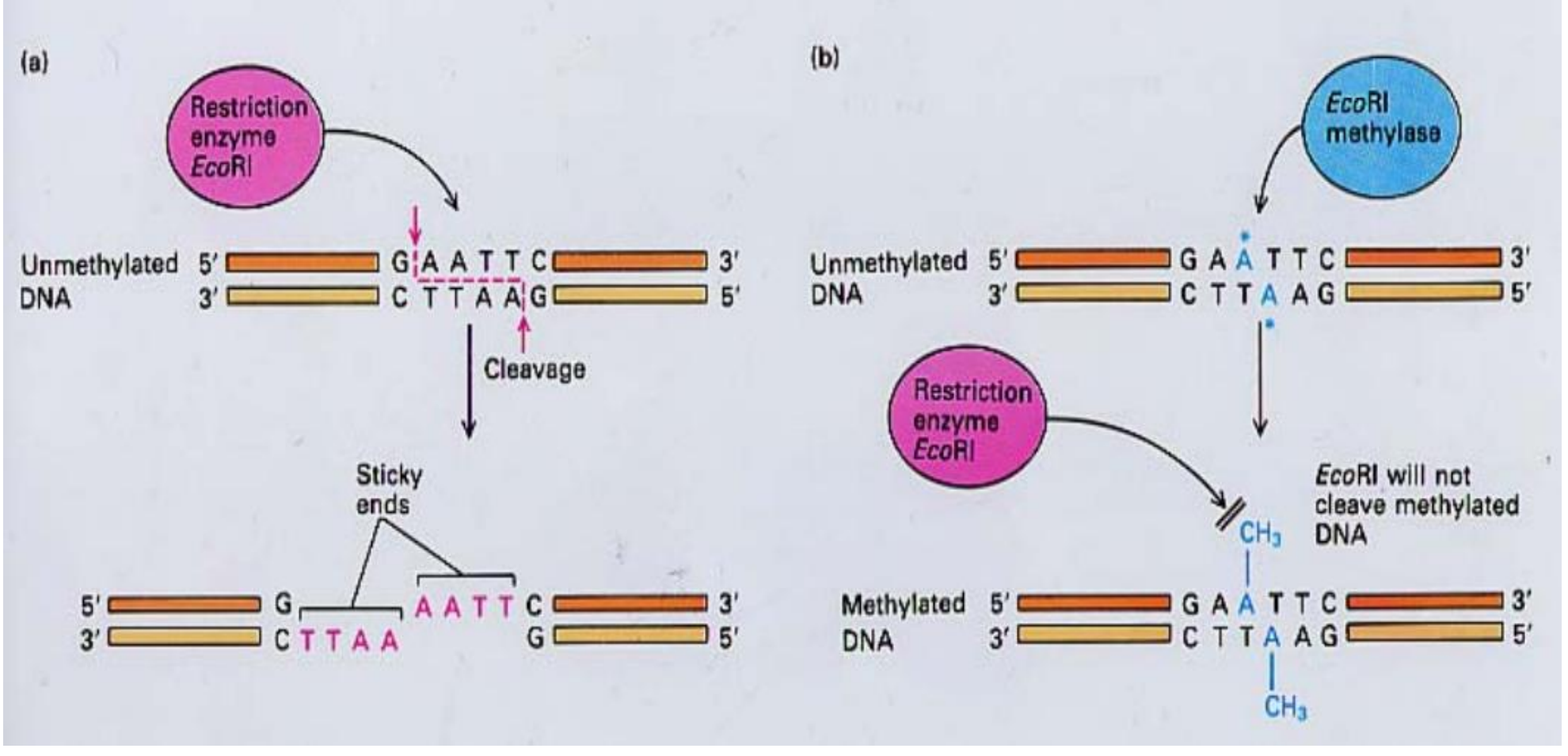
Сигнал «рестрикции» - расщепления ДНК эндонуклеазой рестрикции у прокариот

Сигнал: **GAATTC** в геноме E.coli

Адресован системе рестрикции-модификации EcoRI (белки R и M)

Три состояния:
- не метилирован
- Полуметилирован – метилирован по одной цепочке
- метилирован но двум цепочкам

Предназначен для отличения и расщепления чужой ДНК, и не расщепления своей



Этот сигнал определен экспериментально в 1971 году в Phd thesis автор Yoshimori R.M. В университете Сан-Франциско

Для людей всё однозначно. Найти встречи этого сигнал в нуклеотидной последовательности (геноме) легко, используя программу _____ из пакета EMBOSS

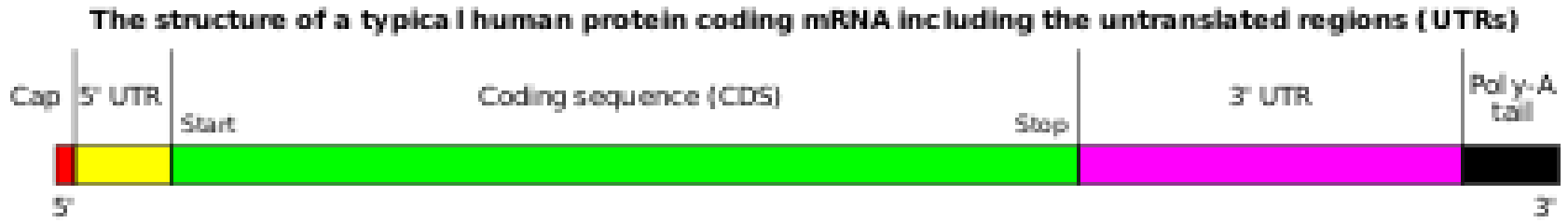
В терминах теории информации для человека **Информационное содержание** (IC) этого сигнала – максимально возможное: есть сигнал ⇔ есть ответ, ДНК будет расщеплена в этом месте эндонуклеазой EcoRI
Энтропия (H), т.е. степень неопределенности сигнала, - нулевая

Для эндонуклеазы – так же, или почти так же, если она иногда ошибается – расщепляет не этот, а похожий сайт (не знаю, но исключить без результатов экспериментов не могу)

Пример 2й

Старт трансляции у эукариот
Он же – задание 1

Сигналы, позволяющие рибосоме отличить мРНК человека (эук.) от остальных РНК



<u>мРНК эукариот</u> содержит такие сигналы рибосоме:

- 5’: **КЭП (cap)** - 7-метилгуанозин
  - присоединяет кэп связывающий комплекс (CBC)
- 3’: **ПолиА** - много-много-много А (аденинов)
  - Присоединяет поли(А)-полимераза при наличии сигнала полиаденилирования в 3’ концевой части транскрипта

Инициация, элонгация, терминация

в объёме одного слайда

- Фактор инициации трансляции узнаёт кэп и связывается с ним. Белки PABP связываются с полиА и они же связываются с инициаторным комплексом, стабилизируя его
- Малая субъединица рибосомы садится на 5’ конец мРНК и сканирует её до старта инициации трансляции, ATG (кодон метионина)
- Привлекается большая субъединица рибосомы и начинается трансляция
- Терминация – на ближайшем стоп-кодоне в рамке

У человека одна мРНК – один белок

Проблема: старт трансляции со второго ATG кодона

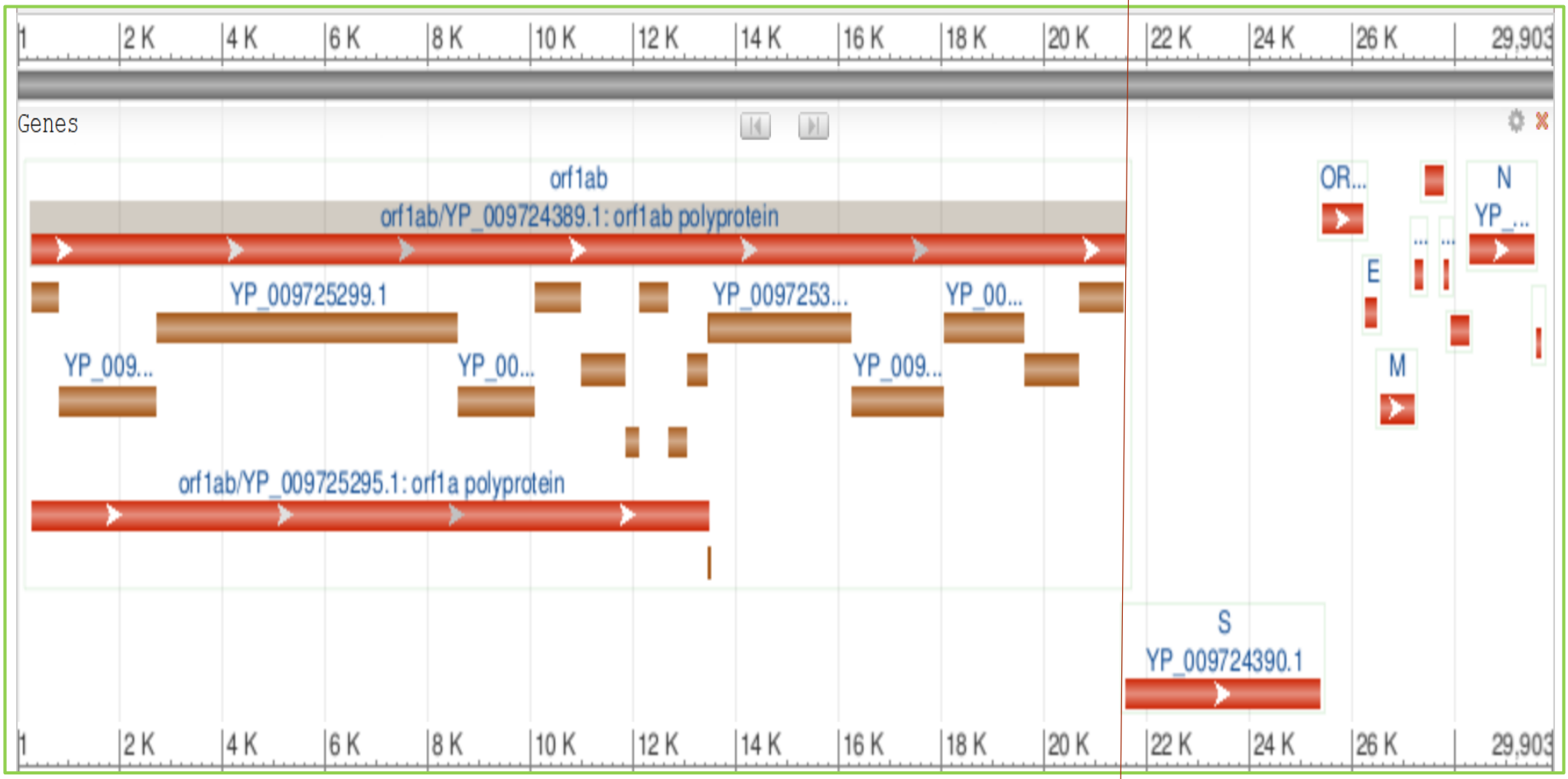
- Первый ген CoV orf1ab начинается с 266 пн (самая длинная красная полоска)
- У SARS-CoV-2 такие ATG до 269-го нукл.:
  - 107 – ATG
  - 266 – ATG
- Просто ATG недостаточно для старта трансляции?
- М.Ко́зак в 1986 году проанализировала известные инициаторные кодоны ATG и нашла более длинный *слабый* сигнал
- Сигнал начала трансляции (у эукариот) называется последовательностью Козак. В разных таксонах - отличия

ГЕНЫ БЕЛКОВ SARS-CoV-2

красные и коричневые полоски

По оси X нуклеотиды РНК

1 10 000 20 000 29 903



Вопросы есть?

Кэп-зависимая инициация трансляции

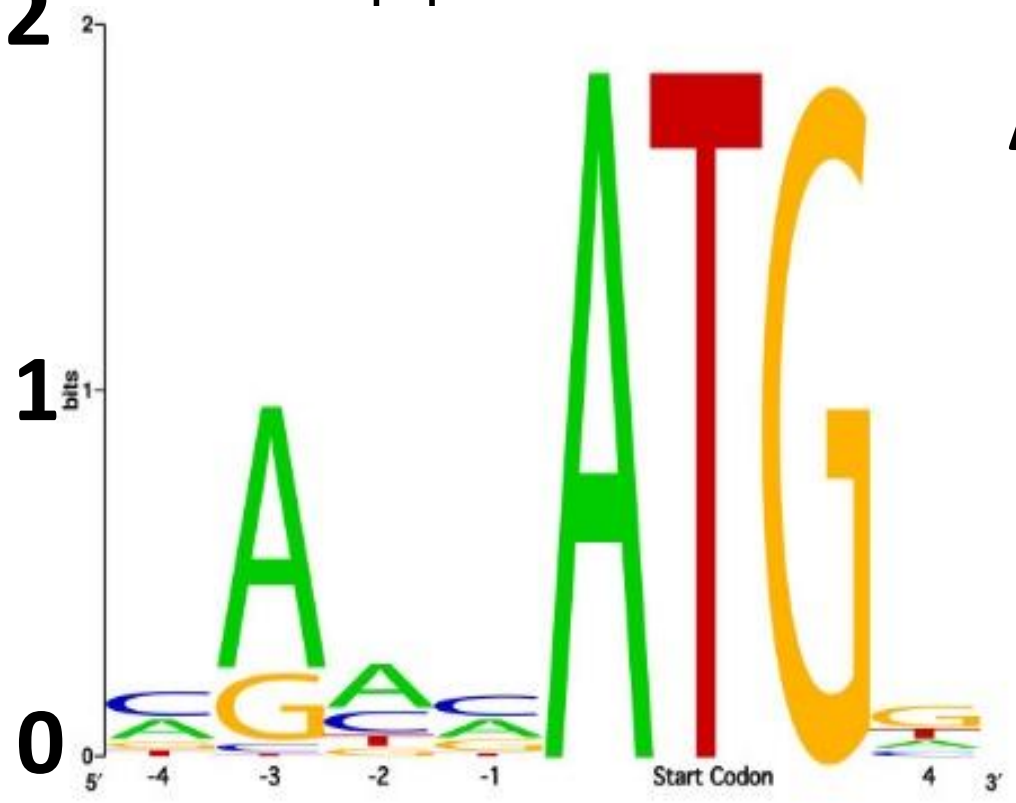
При сканирующем механизме малая субъединица рибосомы садится на 5'-конец мРНК в области кэпа и двигается вдоль молекулы мРНК, «сканирует» кодоны в поисках инициаторного AUG.

- Консенсусная последовательность Ко́зак, играющая важную роль в инициации трансляции у эукариот, включает четыре-шесть нуклеотидов, предшествующих старт-кодону, и один-два нуклеотида непосредственно после старт-кодона.
- Оптимальный нуклеотидный контекст AUG кодона, коррелирует с высоким уровнем синтеза белка с соответствующей мРНК in vivo и является характеристикой так называемой "сильной" (эффективно инициирующей трансляцию) последовательности Козак
- Последовательность Козак не является сайтом связывания рибосомы (англ. ribosomal binding site, RBS), в отличие от прокариотической последовательности ШайнаДальгарно.

из презентации М.Скоблова

Как ещё может инициироваться трансляция у эукариот? _____
(И.Н. Шацкий и команда)

Последовательность Козак человека



ATG между 1 и 269 в геноме SARS-CoV-2:

104-TGC **ATG** C -110

263-AAG **ATG** G -269

Контекст (окружение) ATG в позиции 266 более похож на последовательностью Козак

Kozak M, Cell, 1986.

РНК коронавируса содержит оба сигнала

- ПолиА на 3’-конце [сигнал в последовательности]
- КЭП – 7-метилгуанозин - на 5’ конце [химический сигнал]

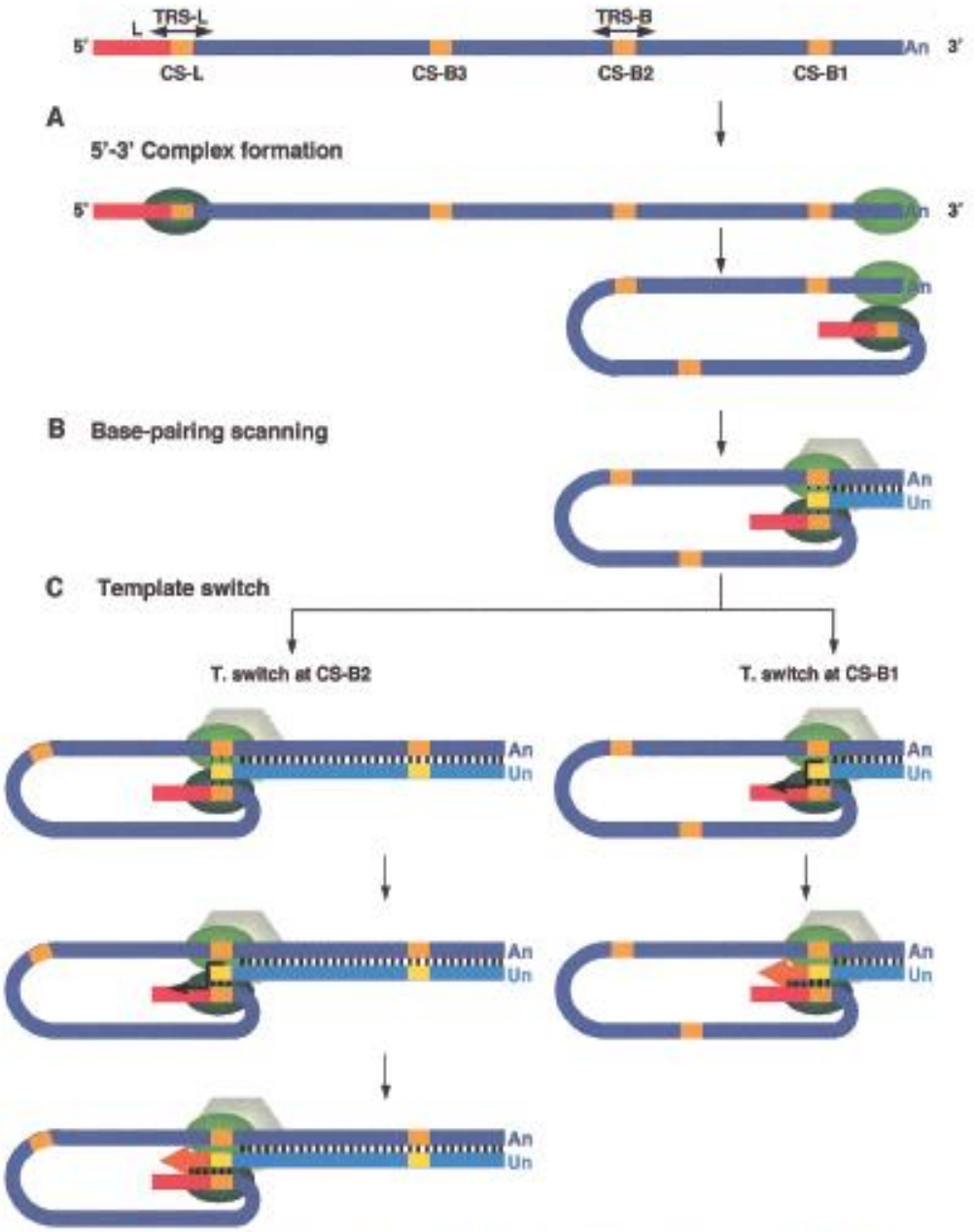
……AAAATTAATTTTAGTAGTGCTATCCCC
ATGTGATTTTAATAGCTTCTTAGGAGAAT
GAC**AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA**
AAAAAAA – 29903

У человека одна мРНК – один белок!

Транскрипция вирусной РНК

- Вирусная РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRP) закодирована в полипротеине (nsp11).
- RdRP по РНК матрице делает комплементарную копию. Из вирусной +RNA получается -RNA; из -RNA получается -(-RNA) = +RNA
- Сигналы разрывной транскрипции направляют перескок RdRP при синтезе -RNA, в результате которого синтезируются -sgRNA.
- -sgRNA является матрицей для RdRP; продукт – субгеномная мРНК (+sgRNA)
- Сигналы разрывной транскрипции называются так: TRS-L в лидере, TRS-B перед каждым поздним геном (TRS=transcription-regulatory sequences)

TRS-L и TRS-B



Лидер –красная полоска

Сигналы TRS – желтые прямоугольники. В них есть общее слово из шести букв (CS)

Мутации в CS влияют на синтез sgmRNA ожидаемым образом

Рисунок - гипотеза, косвенно подтвержденная

Zuniga et al., Journal of Virology, 2004

Сигналы разрывной транскрипции TRS-L, TRS-B; CS

Сигналы TRS-L и все TRS-B имеют высокосходные последовательности. Наиболее похожие их части, часто полностью совпадающие, называются CS (core sequences)

Принято считать, что длина CS – шесть нуклеотидов, TRS включает2-3 нуклеотида с 5’ и 3’ концов CS.

Как все в биологии значения длин не являются мировыми константами

Пример 3й

Сигнал посадки рибосомы у прокариот – последовательность Shine-Dalgarno (SD)

Одно из заданий (по выбору) занятия 7

В геноме одной археи или бактерии найти сигнал сайта посадки рибосомы (SD)

Shine-Dalgarno motifs have the consensus sequence GGAGG and can base pair with as many as nine nt in the 3’ terminal sequence of 16S rRNA (ACCUCCUUA in E. coli) referred to as the anti-Shine Dalgarno or ASD (Shine and Dalgarno, 1974).

Saito et al., 2020, eLife

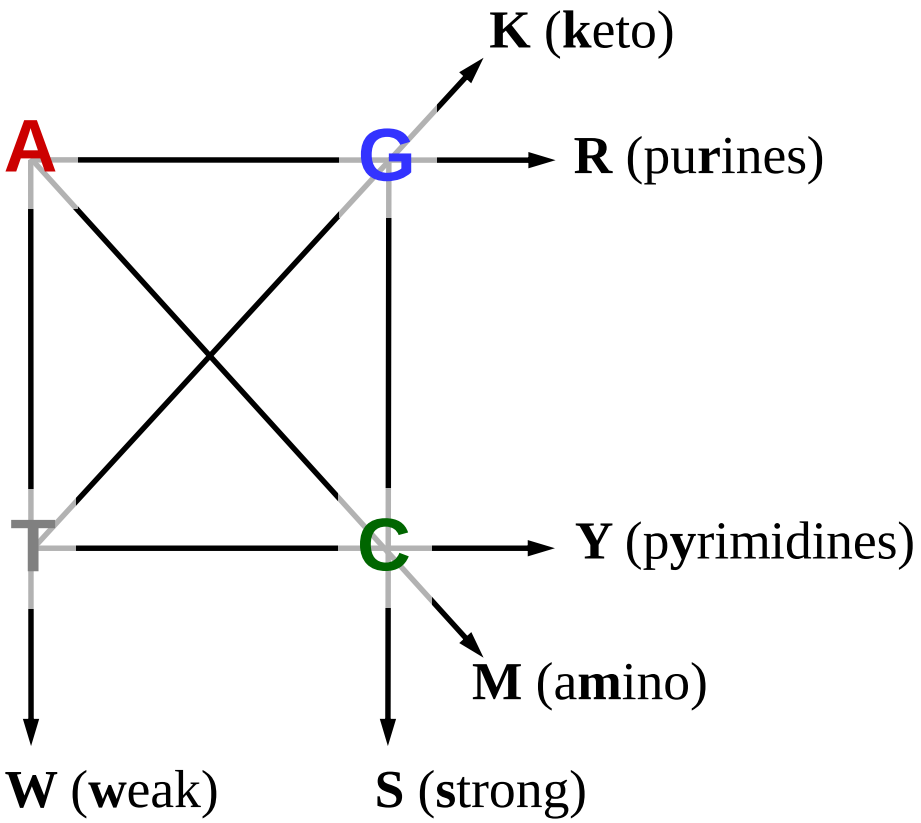
Способы описания сигнала

в последовательности

Мотив – описание последовательностей одного сигнала

- Точная последовательность
  - AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA (от десятков до сотен букв)
  - CpG
  - GATC
- Паттерн
  - CCWGG, и др. примеры из миниКР
- Выравнивание
  - Консенсус
  - LOGO
  - Позиционная весовая матрица (PWM)
  - Профиль (чаще для белков)

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

Позиционная весовая матрица (PWM)

Для поиска сигналов в последовательностях, если известны последовательности ряда сигналов.

(Задание 2 этого практикума)

Впервые предложена в работе:

Stormo GD, Schneider TD, Gold L, Ehrenfeucht A. Use of the 'Perceptron' algorithm to distinguish translational initiation sites in E. coli. Nucleic Acids Res. **1982**;10(9):2997-3011

PWM Известно выравнивание (без гэпов) последовательностей сигнала

```
1234567890123456
ACGCAAACGTTTTCTT
TCGCAAACGTTTGCTT
ACGCAAACGTTTTCGT
ACGCAAACGGTTTCGT
ACGCAACCGTTTTCCT
ACGCAAACGTGTGCGT
ACGCAATCGGTTACCT
GCGCAAACGTTTTCGT
AGGAAAACGATTGGCT
AAGCAAACGGTGATTT
ATGCAATCGGTTACGC
AGGCAAACGTTTACCT
GAGCAAACGTTTCCAC
```

Задача: найти все сигналы в геноме

Похожа ли новая последовательность на выравнивание?

```
1234567890123456
ACGCAAACGTTTTCTT
TCGCAAACGTTTGCTT
ACGCAAACGTTTTCGT
ACGCAAACGGTTTCGT
ACGCAACCGTTTTCCT
ACGCAAACGTGTGCGT
ACGCAATCGGTTACCT
GCGCAAACGTTTTCGT
AGGAAAACGATTGGCT
AAGCAAACGGTGATTT
ATGCAATCGGTTACGC
AGGCAAACGTTTACCT
GAGCAAACGTTTCCAC
```

Идея: вес буквы зависит от позиции в выравнивании

Новая .... `CCTAACCATTATTTTT`...

ШАГ 1. Подсчёт числа букв N(b,j)

```
1234567890123456
ACGCAAACGTTTTCTT
TCGCAAACGTTTGCTT
ACGCAAACGTTTTCGT
ACGCAAACGGTTTCGT
ACGCAACCGTTTTCCT
ACGCAAACGTGTGCGT
ACGCAATCGGTTACCT
GCGCAAACGTTTTCGT
AGGAAAACGATTGGCT
AAGCAAACGGTGATTT
ATGCAATCGGTTACGC
AGGCAAACGTTTACCT
GAGCAAACGTTTCCAC
```

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	**10**	2	0	1	**13**	**13**	**10**	0	0	1	0	0	4	0	1	0
G	2	2	**13**	0	0	0	0	0	**13**	4	1	1	3	1	**5**	0
T	1	1	0	0	0	0	**2**	0	0	**8**	**12**	**12**	**5**	1	3	**11**
C	0	**8**	0	**12**	0	0	**1**	**13**	0	0	0	0	1	**11**	4	2
Всего	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
	A	**C**	**G**	**C**	**A**	**A**	**A**	**C**	**G**	**T**	**T**	**T**	**t**	**C**	**g**	**T**
	G	**C**	**C**	**T**	**A**	**C**	**C**	**C**	**C**	**A**	**T**	**T**	**A**	**T**	**T**	**T**

Проверяемая последовательность

Самая частая буква в колонке (консенсус)

ШАГ 2. Частоты букв f(b,j)

f(b,j) = N(b,j)/N в примере N=13

Частоты	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	0.77	0.15	0.00	0.08	1.00	1.00	0.77	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.31	0.00	0.08	0.00
G	0.15	0.15	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.31	0.08	0.08	0.23	0.08	0.38	0.00
T	0.08	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.62	0.92	0.92	0.38	0.08	0.23	0.85
C	0.00	0.62	0.00	0.92	0.00	0.00	0.08	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.85	0.31	0.15
Всего	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	G	**C**	**C**	**T**	**A**	**C**	**C**	**C**	**C**	**A**	**T**	**T**	**A**	**T**	**T**	**T**

Повышенная частота буквы может объясняться её повышенной частотой в геноме!!!

Частота G в позиции 15 равна 0.38

Значит ли это что-нибудь, если GC состав генома равен 0.7,
Т.е. частота G в геноме равна 0.35?

ЛОГАРИФМ Отношения правдоподобия W как вес различия наблюдаемой частоты и ожидаемой:

$$w(G,15) = \ln(0.38/0.35) = 0.1$$

ШАГ 4. Матрица весов PWM

w(b,j)	Баз. частоты	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
A	0.15	1.6	0.0	-inf	-0.7	1.9	1.9	1.6	-inf	-inf	-0.7	-inf	-inf	0.7	-inf	-0.
G	0.35	-0.8	-0.8	1.0	-inf	-inf	-inf	-inf	-inf	1.0	-0.1	-1.5	-1.5	-0.4	-1.5	0.
T	0.15	-0.7	-0.7	-inf	-inf	-inf	-inf	0.0	-inf	-inf	1.4	1.8	1.8	0.9	-0.7	0.
C	0.35	-inf	0.6	-inf	1.0	-inf	-inf	-1.5	1.0	-inf	-inf	-inf	-inf	-1.5	0.9	-0.
	1	-inf	-0.9	-inf	-inf	-inf	-inf	-inf	-inf	-inf	-inf	-inf	-inf	-0.3	-inf	-0.

Шаг 5. Псевдоотсчёты: борьба с –inf и не только... Pseudocounts

Идея в том, чтобы немножко изменить ЧАСТОТЫ букв.

(1) Избавляется от возможности нулевой частоты буквы

(2) Если частота A равна единицы, то разрешим другим буквам появляться с малой частотой, вдруг у нас просто мало последовательностей, чтобы все буквы появились

$F(b,j) = [N(b,j) + \varepsilon(b)] \ /(N + \varepsilon)$ вместо

$f(b,j) = N(b,j)/N$

Здесь $\varepsilon = \varepsilon(A) + \varepsilon(G) + \varepsilon(T) + \varepsilon(C)$

Все $\varepsilon(b)$ маленькие в сравнении с N

Подбираются опытным путем

Выбор ε(b)

В работе Nishida K, Frith MC, Nakai K. Pseudocounts for transcription factor binding sites. Nucleic Acids Res. 2009 Feb;37(3):939-44.
Исследовали вопрос о лучшем выборе псевдоотсчётов для нукл. последовательностей. Заключение авторов:

выбирать ε примерно равным 1, а ε(b) = ε/4
(проверить по статье)

Однако, по прежнему, выбор псевдоотсчётов остаётся на усмотрении авторов и может меняться в зависимости от ситуации

ШАГ 4. Частоты с псевдоотсчётами

F(b,j)	баз. Частоты	e(b)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0.15	0.100	0.75	0.16	0.01	0.08	0.98	0.98	0.75	0.01	0.01	0.08	0.01	0.01	0
G	0.35	0.100	0.16	0.16	0.98	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.98	0.31	0.08	0.08	0
T	0.15	0.100	0.08	0.08	0.01	0.01	0.01	0.01	0.16	0.01	0.01	0.60	0.90	0.90	0
C	0.35	0.100	0.01	0.60	0.01	0.90	0.01	0.01	0.08	0.98	0.01	0.01	0.01	0.01	0
	1	0.40	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1

ШАГ 5. Матрица PWM с псевдоотсчётами
Вес последовательности

W(b,j)	баз. Частоты	e(b)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
A	0.15	0.10	1.6	0.0	-3.0	-0.6	1.9	1.9	1.6	-3.0	-3.0	-0.6	-3.0	-3.0	0.7	-3.0	-
G	0.35	0.10	-0.8	-0.8	1.0	-3.8	-3.8	-3.8	-3.8	-3.8	1.0	-0.1	-1.5	-1.5	-0.4	-1.5	
T	0.15	0.10	-0.6	-0.6	-3.0	-3.0	-3.0	-3.0	0.0	-3.0	-3.0	1.4	1.8	1.8	0.9	-0.6	
C	0.35	0.10	-3.8	0.5	-3.8	0.9	-3.8	-3.8	-1.5	1.0	-3.8	-3.8	-3.8	-3.8	-1.5	0.9	-
	1	0.4	**G**	**C**	**C**	**T**	**A**	**C**	**C**	**C**	**C**	**A**	**T**	**T**	**A**	**T**	

-8.1= -0.8 +0.5-3.8 -3.0 +1.9-3.8 -1.5 +1.0-3.8 -0.6 +1.8+1.8 +0.7 -0.6 +

Выравнивание сайтов связывания PurR *E. coli*

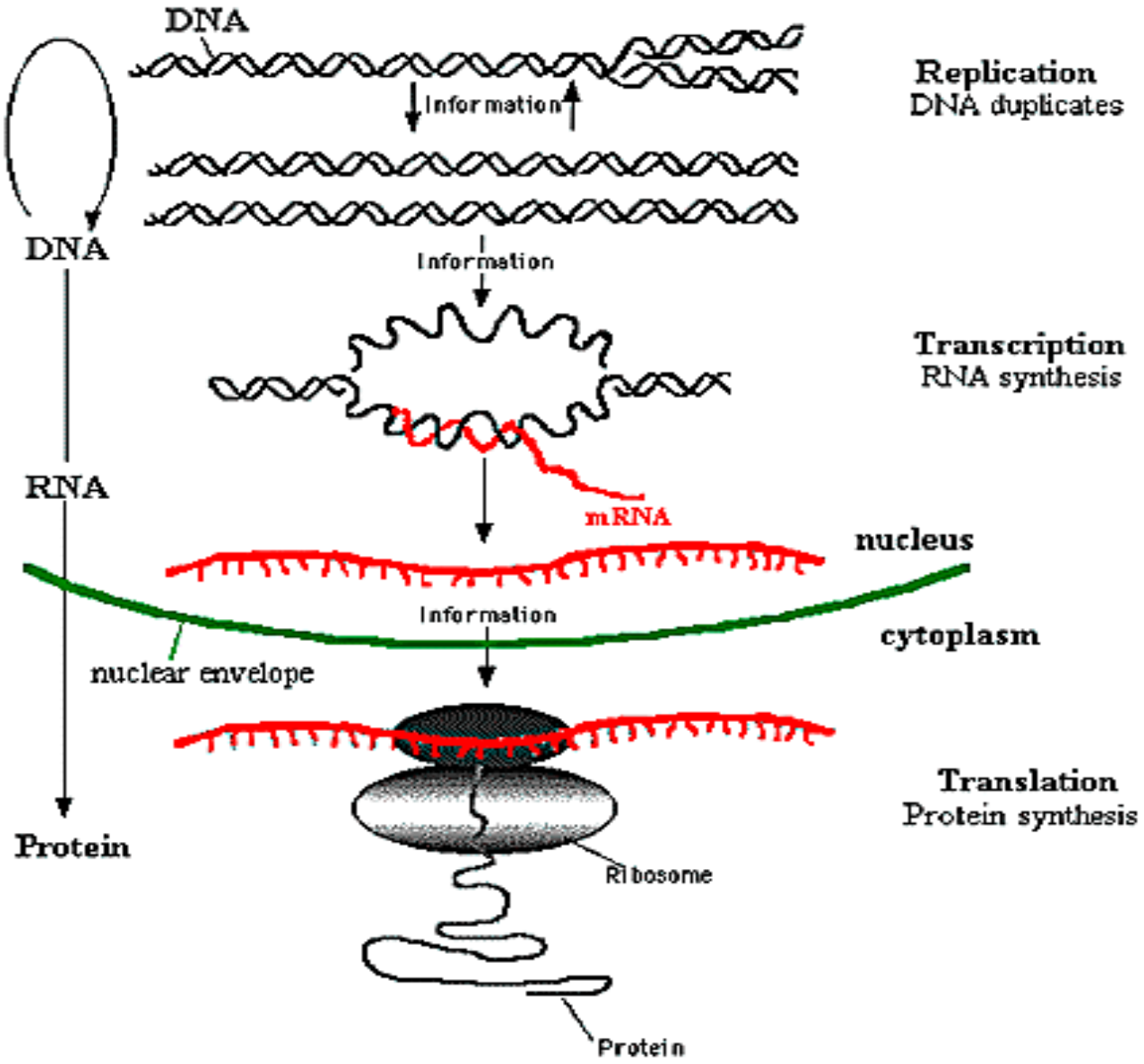
cvpA	**CCTACGCAAACGTTTTCTTTTT**
purM	**GTCTCGCAAACGTTTGCTTTCC**
purT	**CACACGCAAACGTTTTCGTTTA**
purL	**TCCACGCAAACGGTTTCGTCAG**
purE	**GCCACGCAACCGTTTTCCTTGC**
purC	**GATACGCAAACGTGTGCGTCTG**
purB	**CCGACGCAATCGGTTACCTTGA**
purH	**GTTGCGCAAACGTTTTCGTTAC**
$purA_1$	**TTGAGGAAAACGATTGGCTGAA**
$purA_2$	**TTTAAGCAAACGGTGATTTTGA**
guaB	**TAGATGCAATCGGTTACGCTCT**
$purR_1$	**TAAAGGCAAACGTTTACCTTGC**
$purR_2$	**AACGAGCAAACGTTTCCACTAC**
consensus	**AcGCAAACGtTTtCgT**
pattern	**dnGMAAhCGdKKnbnY**

Источник: РГМ

IРазнообразные сигналы

Быстро!

В клетке вот что происходит



The Central Dogma of Molecular Biology

Designer Chang

Для человека важно назвать объекты

- Репликация
  Репликацию ДНК осуществляет сложный комплекс, состоящий из 15—20 различных белков-ферментов, называемый реплисомой (wiki)
  - Где начать
    Место начала репликации (англ. origin of replication)
    - *Сайт связывания белка DnaA*
    - *Область первичного раскручивания спирали ДНК*
    - *Сайты метилирования (GATC dam MTase)*
      [wiki на примере E.coli]
  - когда начинать (?)
- Транскрипция
  ДНК зависимая РНК полимераза, комплекс белков.
  - Инициация
    место начала – промотор
  - Терминация
    прокариоты – Rho-зависимая и Rho – независимая
    эукариоты у мРНК сигнал полиаденилирования (поли-А и сигнал кэппирование мРНК)
- (eu) Сплайсинг
- Трансляция мРНК
  - место начала (инициация)
  - место окончания
  - Программируемый сдвиг рамки считывания

Для человека важно назвать объекты

- Трансляция мРНК
  - место начала (инициация)

  эукариоты - ATG в хорошем контексте (последовательность Ко́зак)
  прокариоты – последовательность Шайн-Далгарно
  - место окончания

- Трансляция
- *Рибосома.*
  - Инициация
    место начала – промотор
  - Терминация
    прокариоты – Rho-зависимая и Rho – независимая
    эукариоты у мРНК сигнал полиаденилирования (поли-А и сигнал кэппирование мРНК)
- Регуляция

Сигналы, закодированные последовательностью НК или белка.

Для белков, комплексов белков и молекулярных машин

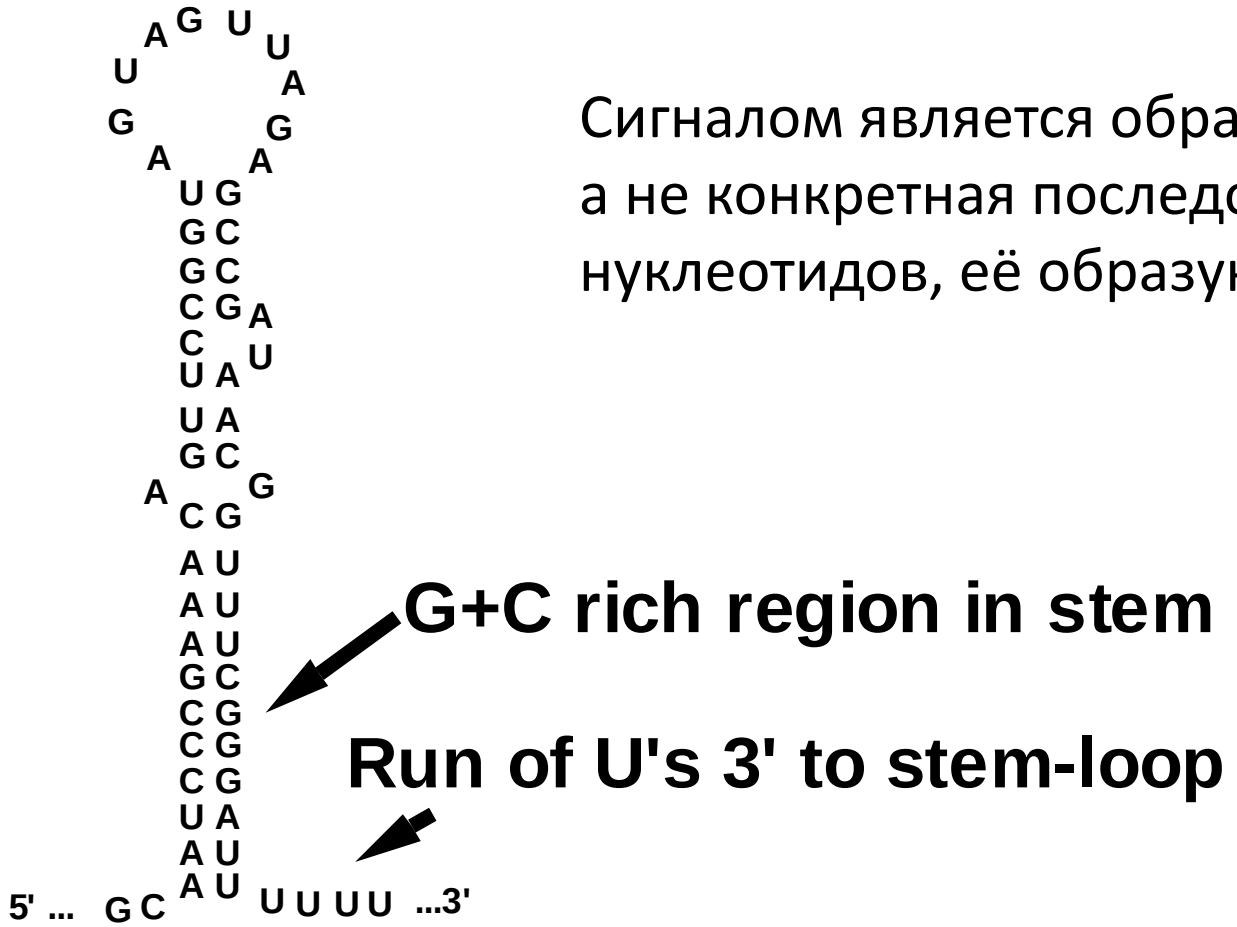
Мотивы в последовательности

Описания сигналов, понятные людям: биоинформатикам и молекулярным биологам

Примеры

- ПолиА в мРНК, но в ДНК гена белка это:
  - Сигнал полиаденилирования (AAUAAA на 3’ в мРНК)
    - Его читает …. => полиаденилат-полимеразой
    - Важность этой последовательности можно увидеть на примере мутации в гене человеческого 2-глобина, которая изменяет AAUAAA на AAUAAG, что приводит к недостаточному количеству глобина в организме
- Промотор и старт транскрипции
- Конец транскрипта
  - Эукариоты – тот же сигнал полиаденилирования
  - Прокариоты:
    - Rho independent
    - Rho dependent
    - ??????? (Ju, Li, Lui, Nat Microbiol. 2019; о результатах Send-seq технологии)

Termination of transcription in *E. coli*: Rho-**independent** site

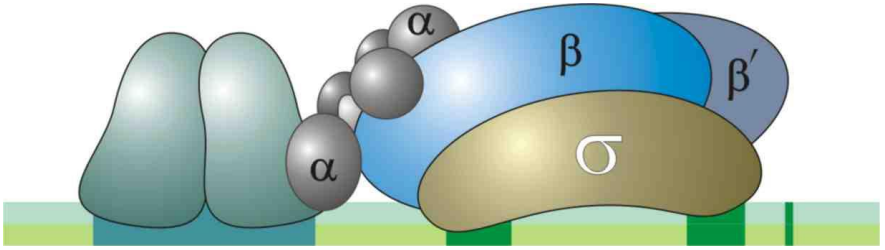


Сигналом является образование шпильки, а не конкретная последовательность нуклеотидов, её образующих

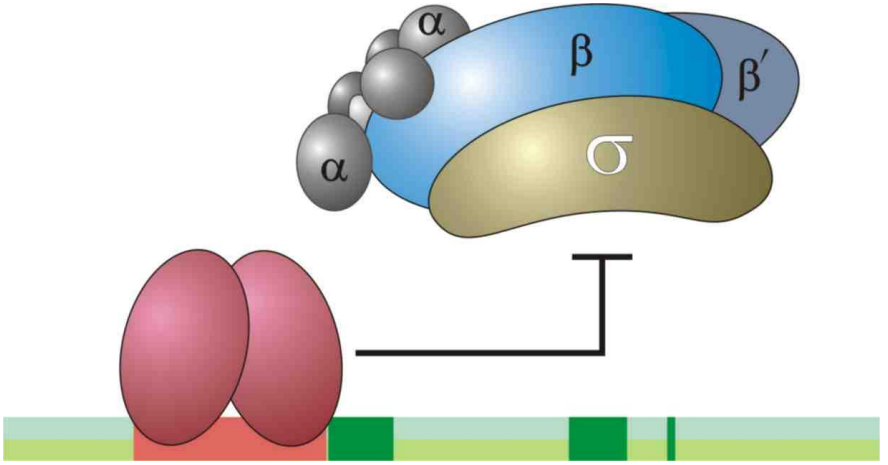
Транскрипция в прокариотах:

Регуляция транскрипции

Активация



Репрессия



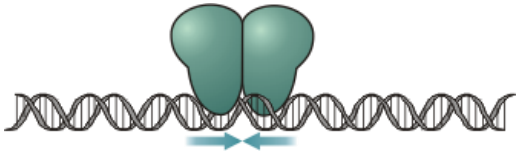
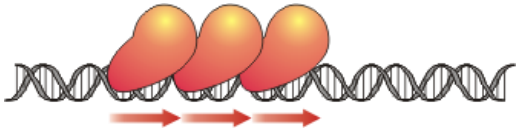
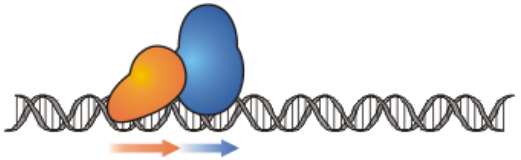
Транскрипция инициируется связыванием сигма-субъединицы со своими сайтами в промоторе (зелёные жирные). В геноме могут быть закодированы несколько разных сигма-субъединиц, узнающих отличающиеся сайты. На sigma собирается комплекс субъединиц, образующих ДНК зависимую РНК полимеразу и начинается транскрипция (начало – узкая зеленая полоска).

Репрессор загораживает сайт сигма.

Активатор делай сайт посадки и сборки комплекса более выгодным для сигма

Источник: РГМ

Использование свойств сигнала

- ДНК-связывающие белки и их сигналы
  - Кооперативные однородные
    - Палиндромы 
    - Прямые повторы 
  - Кооперативные неоднородные
    - Кассеты 
  - Другие
- РНК-сигналы

Источник: РГМ

Информационное содержание выравнивания последовательностей сигнала

LOGO

«Сила» сигнала

Информация и энтропия сигнала

Информация противоположна энтропии.
Энтропия – мера неупорядоченности.
Чем больше энтропия, тем меньше порядка.
Чем больше информации, тем меньше энтропия

- Информационная ёмкость - потенциально возможное количество информации в сигнале (матем.)
- Информационное «содержание» – насколько сигнал отличается от случайного (статист.)
- Содержательность - чем чаще сигнал приводит к реакции, тем более содержательна информация в сигнале

Энтропия

- Изучаем сигнал, который есть последовательность букв. В нашем случае – задан выравниванием представителей сигнала.
- Энтропия H сигнала, заданного выравниванием, – число характеризующее неопределенность сигнала. Чем ближе сигнал к набору случайных посл-й, тем больше энтропия H
  Аксиомы:
  - H положительна
  - H = 0 если сигнал однозначно предсказуем (задан точной последовательностью)
  - Чем менее предсказуем сигнал по выравниванию, тем больше энтропия сигнала. Максимум достигается когда все слова, составляющие сигнал, равновероятны.
  - H аддитивна: энтропия сигнала длиной в одну букву равна сумме энтропий каждой из букв ; энтропия сигнала состоящего из нескольких независимых сигналов (колонок выравнивания) равна сумме энтропий
  - H можно вычислить в два шага через группировку.
    Пример группировки: W= {A или T}, S = {G или C}.
    Энтропию сигнала в алфавите (A,T,G,C) можно вычислить через энтропию в алфавите (W, S) и энтропии W в алфавите (A,T) и S в алфавите (G,C)

Теорема Шеннона: существует единственная функция H, удовлетворяющая аксиомам

На примере сигналов из нуклеотидов ДНК

- Энтропия сигнала из одного нуклеотида
  $H = -\Sigma_b\, p(b) \log_2 p(b)$ b пробегает A, T, G, C. Если буквы равновероятны, то H = 2
- H(сигнала из N равновероятных букв) = N•H в силу аддитивности

Если сигнал двоичный. Например, последовательность комплементарных пар W=(A или T) и S = (G или C).
Пусть p = «GC состав в долях единицы»
Тогда (1-p) = «частота пар A-T»
Обозначим через H(p) энтропию однобуквенного сигнала при данном p

Если W и S – равновероятны, то сигнал из одной буквы ничего не значит. H максимальна.
Если GC состав очень близок к 0 (напр. $p=10^{-10}$), то сигнал предсказуем: почти всегда будет W. Появление S невероятно, и потому может что-то значить. H близка к 0
Аналогично с p близким к 1.

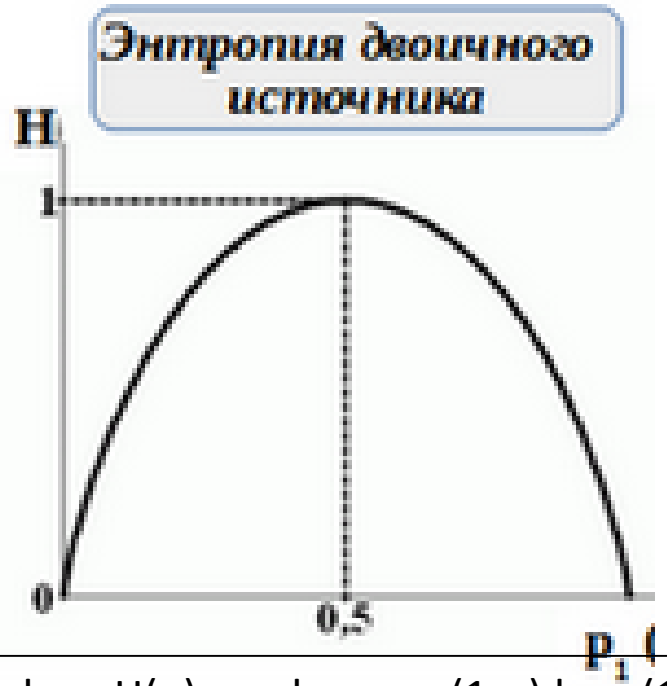


График $H(p) = p \log_2 p + (1-p) \log_2 (1-p)$ зависимости энтропии 1-буквенного сигнала от p = «GC состав»

Содержание информации IC в сигнале

- Информация IC измеряется тем, насколько уменьшилась неопределенность после получения информации о сигнале.
- IC(сигнала) = $H_{before} - H_{after}$

В нашем случае H_{before} - энтропия полностью случайного выравнивания фрагментов той же длины и того же нуклеотидного состава

H_{after} - энтропия выравнивания известных сигналов.

Использование терминологии мат.теории передачи данных Шеннона – некоторая историческая условность. Впрочем, разумная и полезная для целей анализа сигналов, заданных выравниваниями. См. сайт ниже:

"The meaning of information has nothing to do with Shannon's amount of information.

For example, the word "AND" contains the same amount of information even we spell it backward to "DNA."

Similarly, 010101 carries the same amount of information 101010 as well as a DNA codon ATG and GTA or GAT all carry the same amount of information only the meaning is different."

https://bioinformaticshome.com/bioinformatics_tutorials/sequence_alignment/introduction_to_information_theory_page3.html

Информационное содержание IC сигнала, заданного выравниванием

```
1234567890123456
ACGCAAACGTTTTCTT
TCGCAAACGTTTGCTT
ACGCAAACGTTTTCGT
ACGCAAACGGTTTCGT
ACGCAACCGTTTTCCT
ACGCAAACGTGTGCGT
ACGCAATCGGTTACCT
GCGCAAACGTTTTCGT
AGGAAAACGATTGGCT
AAGCAAACGGTGATTT
ATGCAATCGGTTACGC
AGGCAAACGTTTACCT
GAGCAAACGTTTCCAC
```

- Измеряет насколько сигнал отличается от случайной последовательности такой же длины
- Чем дальше – тем больше в нем информации и меньше его энтропия
- IC = Hbefore - Hafter

Вычисление IC мотива M, заданного выравниванием

```
1234567890123456
ACGCAAACGTTTTCTT
TCGCAAACGTTTGCTT
ACGCAAACGTTTTCGT
ACGCAAACGGTTTCGT
ACGCAACCGTTTTCCT
ACGCAAACGTGTGCGT
ACGCAATCGGTTACCT
GCGCAAACGTTTTCGT
AGGAAAACGATTGGCT
AAGCAAACGGTGATTT
ATGCAATCGGTTACGC
AGGCAAACGTTTACCT
GAGCAAACGTTTCCAC
```

Сигнал NNN….NN длины n с независимым появлением букв

$$H_{before} = - \sum_i \sum_b p(b) \log_2 p(b)$$

i номер буквы в сигнале; все буквы равноправны,

p(b) - априорная вероятность появления буквы b в изучаемых последовательностях (напр., частота в геноме)

$$H_{after} = - \sum_i \sum_b f_i(b) \log_2 f_i(b)$$

Это энтропия того знания о мотиве M, которое мы получаем глядя на выравнивание: $f_i(b)$– частота буквы b в i-м столбце

$$H'_{before} = - \sum_i \sum_b f_i(b) \log_2 p(b)$$ Обоснование?

$$IC = H'_{before} - H_{after} = - \sum_i \sum_b f_i(b) \log_2 p(b) + \sum_i \sum_b f_i(b) \log_2 f_i(b) =$$

$$= \sum_i \sum_b f_i(b) \log_2 f_i(b)/p(b)$$

Итоговая формула для информационного содержания сигнала, заданного выравниванием:

$$IC = \sum_i IC_j$$

$$IC_j = \sum_b f_i(b) \log_2 f_i(b)/p(b)$$

IC_j - информационное содержание колонки j выравнивания

ШАГ 1. Подсчёт числа букв N(b,j)

```
1234567890123456
ACGCAAACGTTTTCTT
TCGCAAACGTTTGCTT
ACGCAAACGTTTTCGT
ACGCAAACGGTTTCGT
ACGCAACCGTTTTCCT
ACGCAAACGTGTGCGT
ACGCAATCGGTTACCT
GCGCAAACGTTTTCGT
AGGAAAACGATTGGCT
AAGCAAACGGTGATTT
ATGCAATCGGTTACGC
AGGCAAACGTTTACCT
GAGCAAACGTTTCCAC
```

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	**10**	2	0	1	**13**	**13**	**10**	0	0	1	0	0	4	0	1	0
G	2	2	**13**	0	0	0	0	0	**13**	4	1	1	3	1	**5**	0
T	1	1	0	0	0	0	**2**	0	0	**8**	**12**	**12**	**5**	1	3	**11**
C	0	**8**	0	**12**	0	0	**1**	**13**	0	0	0	0	1	**11**	4	2
Всего	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13

G C C T A C C C C A T T A T T T...

ШАГ 2. Частоты букв f(b,j)

f(b,j) = N(b,j)/N в примере N=13

Частоты	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
A	0.77	0.15	0.00	0.08	1.00	1.00	0.77	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.31	0.00	0.0
G	0.15	0.15	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.31	0.08	0.08	0.23	0.08	0.3
T	0.08	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.62	0.92	0.92	0.38	0.08	0.2
C	0.00	0.62	0.00	0.92	0.00	0.00	0.08	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.85	0.3
Всего	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

G C C T A C C C C A T T A T T

Величина IC для буквы b в позиции j выравнивания

$$IC(b,j) = f(b,j)*\log_2[f(b,j)/p(b)] = f(b,j)*w(b,j)$$

$\log_2[f(b,j)/p(b)] = w(b,j)$ – вес из матрицы PWM **без псевдоотсчётов.**

IC(b,j) **положительное число ⇔ f(b,j) > p(b)**

(как вычислять при f(b,j) = 0 ?)

Если f(b,j) = 0, то IC(b,j) = 0 (теорема)

Также IC(b,j) = 0 если частота f(b,j) = p(b)

Максимум IC(b,j) = $\log_2[1/p(b)]$ для минимальной p(b)

Величина IC(j) для колонки j

$$IC(j) = \sum_b f(b,j)*w(b,j))$$

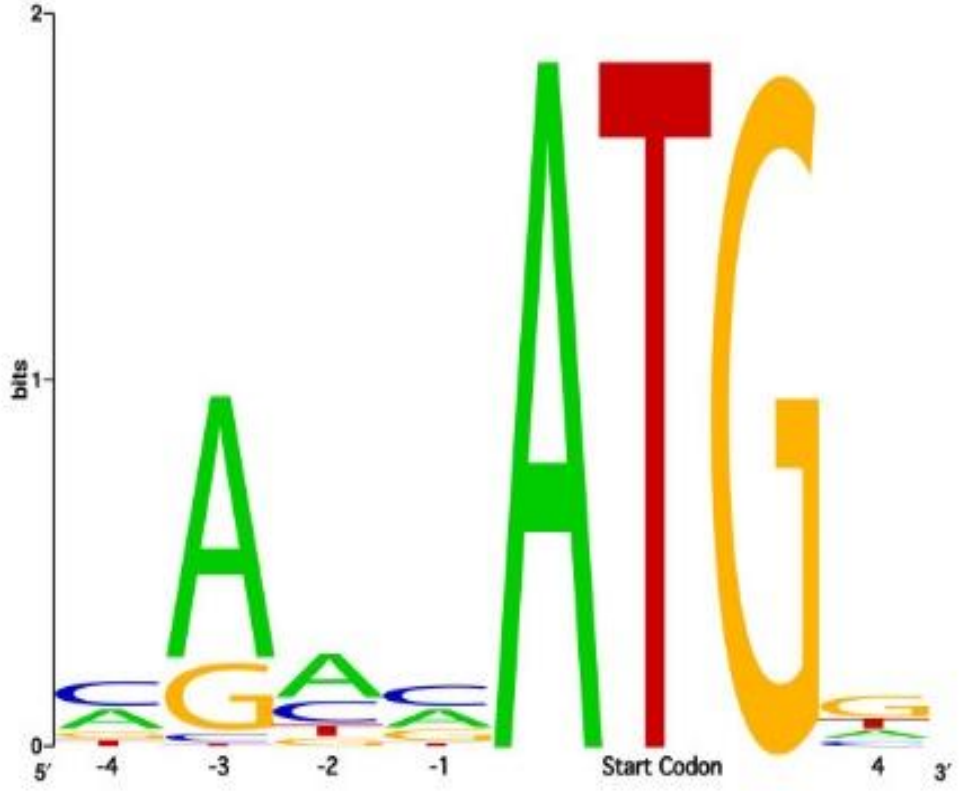
Из формулы следует, что IC(j) – матожидание - веса в колонке при распределении вероятностей букв b заданного частотами букв в колонке

Теорема. $0 \le IC(j) \le$ (?) $\max(\log_2 1/p(b))$ При $p(b) = ¼$ имеем 2

Чем больше IC(j), тем больше частоты букв в колонке отличаются от ожидаемых, тем больше информации в колонке

Информационное содержание IC выравнивания равно

$$IC = \sum_j IC(j)$$



В LOGO сигнал от буквы b в позиции j имеют высоту, равную информационному содержанию IC(b,j)

webLOGO.

$$Rseq = Smax - Sobs = \log_2 N - (- \Sigma f(b) \log_2 f(b))$$

N = 4 для ДНК, т.к. 4е буквы, $\log_2 N = 2$

$$IC(\text{колонки}) = \Sigma f(b) \log_2 f(b) - \Sigma f(b) \log_2 p(b)$$

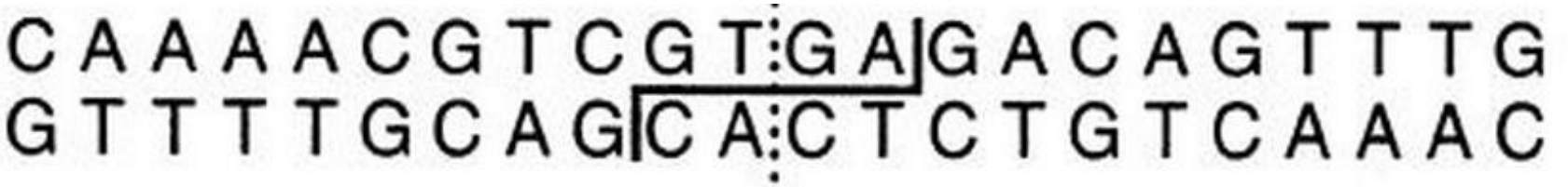
При p(b) = ¼ для всех b получаем

$$IC(\text{колонки}) = \Sigma f(b) \log_2 f(b) + 2^* \Sigma f(b)$$

Совпадает с Rseq

Примеры

- Слабый сигнал:
  - Гомеодомен - консервативный ДНК-узнающий домен многих важных транскрипционных факторов эукариот
  - Узнаёт короткую последовательность ДНК
  - На основании наложения структр гомеодоменов найден единственный общий контакт домена с сайтом ДНК: Asn51 две водородных связи с аденином (!)
  - Сигнал NNANN слабый)))
- Сильный сигнал:
  - Эндонуклеаза I-CreI семейства LAGLIDADG узнает такую последовательность. Вероятность обнаружить в геноме такую последовательность случайно близка к 0



Информационное содержание как мера силы сигнала

- В грубом приближении два выравнивания с одинаковым информационным содержанием дадут одинаковое число «случайных» находок в «случайном» банке

- Информационное содержание «выравнивания» из одной последовательности из n букв равно, 2n (по формуле)
- Сколько раз случайно встретится слово длины n в геноме длины N? В грубом приближении

$$N/(4^n) \text{ раз}$$

Значит если информационное содержание выравнивания равно 10, то случайных находок в геноме размера N будет

$N/(4^5)$ - примерно, 1 на 1000 п.н.

Надо понимать, что такая оценка грубая, но грубые оценки полезны!

ИС измеряет отклонение частот от случайного

КОНЕЦ ПРЕЗЕНТАЦИИ