BLAST

Спирин Сергей Александрович
Алешина Юлия Александровна

15 апреля 2025

Повторение: сходство и гомология

- Гомология — общность происхождения
  - ✓ У гомологичных нуклеотидных последовательностей/белков можно говорить о парах гомологичных нуклеотидов/ амк остатков
  - ✓ В эволюционно правильном выравнивании все остатки в одной колонке гомологичны друг другу

Предок	TATGCGAAT-G-CCCTGAA
Потомок1	TATGCATA-CG-C---GAA
Потомок2	TAT--CAAT-GCCCTGGTA
Потомок3	TAT--CAAG-GCCATGGGA

Повторение: сходство и гомология

- Признак гомологии — сходство последовательностей
  - ✓ Для выявления сходства последовательности надо выровнять
  - ✓ Подбирают оптимальное выравнивание, то есть имеющее наибольший вес
  - ✓ Оптимальное выравнивание существует для любых последовательностей, в том числе негомологичных
  - ✓ Для двух последовательностей можно рассматривать или **глобальное**, или **локальное** выравнивание

Повторение: Алгоритмы и программы парного выравнивания

- Оптимальное **глобальное** выравнивание: алгоритм Нидлмана – Вунша

Needleman & Wunsch (1970). "A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins". *Journal of Molecular Biology*. **48** (3): 443–53
В оригинальной работе предлагалось оценивать выравнивание с линейными штрафами за гэпы (одинаковый штраф за каждый гэп) и описывался алгоритм нахождения оптимального выравнивания с таким весом. Позднее был предложен вес с аффинными штрафами и алгоритм модифицирован для этой ситуации, ещё позднее введены матрицы замен.

  - ✓ Программы в EMBOSS: needle и stretcher

- Оптимальное **локальное** выравнивание: алгоритм Смита – Уотермена (=Смита – Ватермана)

Smith & Waterman (1981). "Identification of Common Molecular Subsequences". *Journal of Molecular Biology.* **147** (1): 195–197

  - ✓ Программа в EMBOSS: water

- Заданное число лучших выравниваний: алгоритм Уотермена – Эггерта

(Waterman & Eggert (1987). *Journal of Molecular Biology*. **197** (4): 723-728)

  - ✓ Программа в EMBOSS: **matcher**

Повторение: Алгоритмы и программы парного выравнивания

Параметры этих программ = параметры вычисления веса:

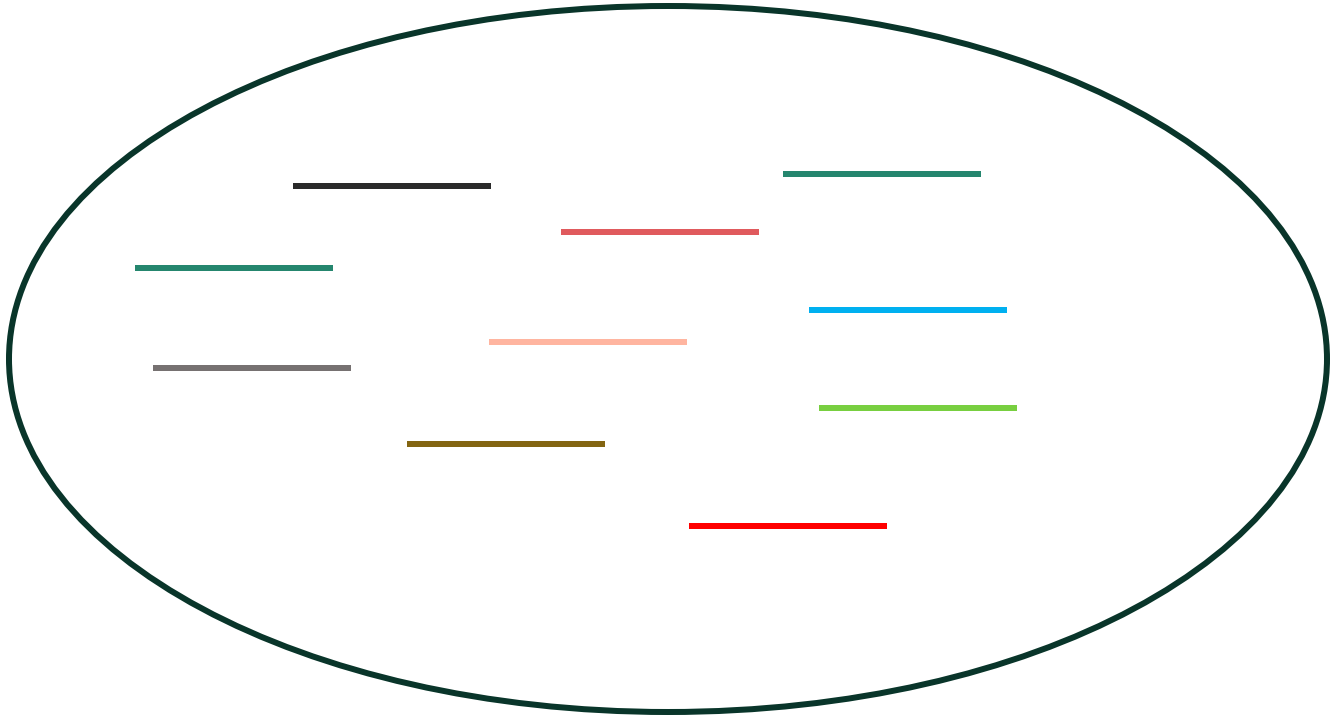
- матрица замен (для белков) или веса за совпадение и несовпадение (для ДНК/РНК)
- штраф за первый гэп инделя (gap opening penalty)
- штраф за следующие гэпы инделя (gap extension penalty)

Что это за последовательность?

MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFF
ESFGDLSTPDAVMGNPVKAHGKKVLGAFSDGLAHLDNLKGTFA
TLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVCVLAHHFGKEFTPPVQAAY
QKVVAGVANALAHKYH

База данных последовательностей

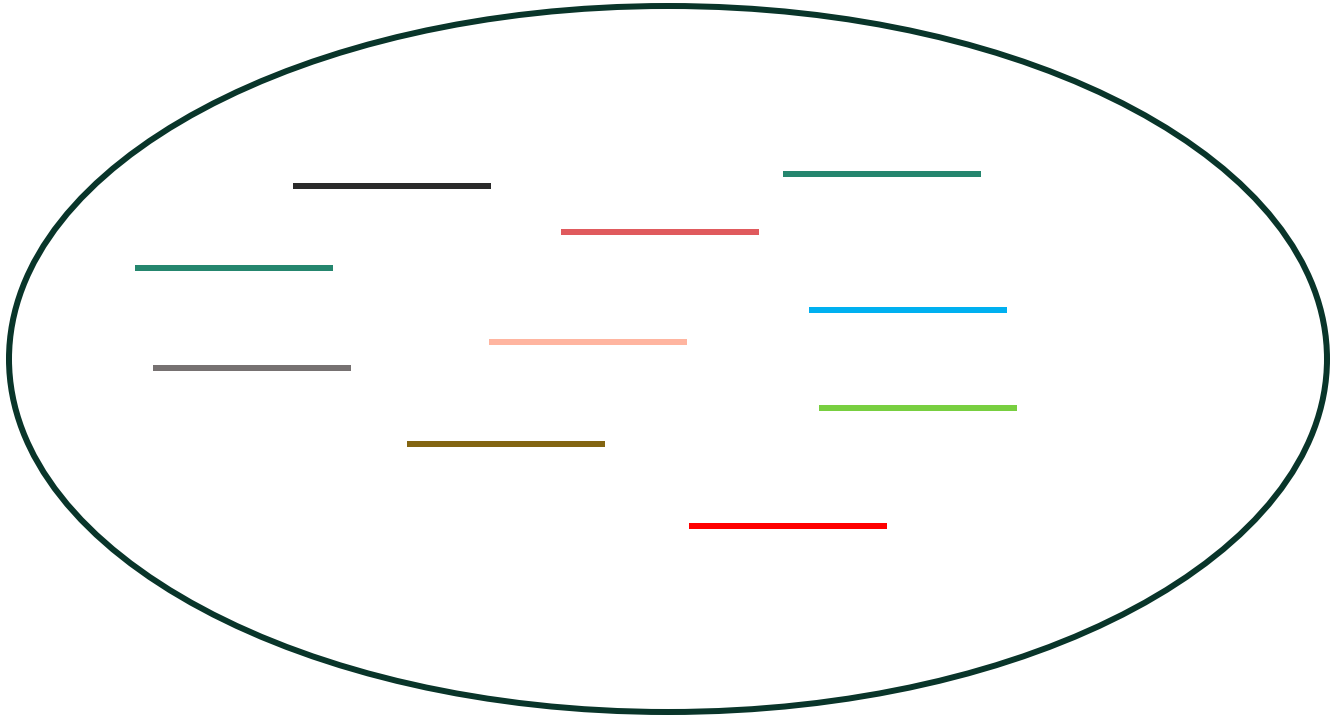
MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYP
WTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPVKAHGKKVLGAFSDG
LAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVC
VLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH



Какие Вы знаете?

MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYP
WTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPVKAHGKKVLGAFSDG
LAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVC
VLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH

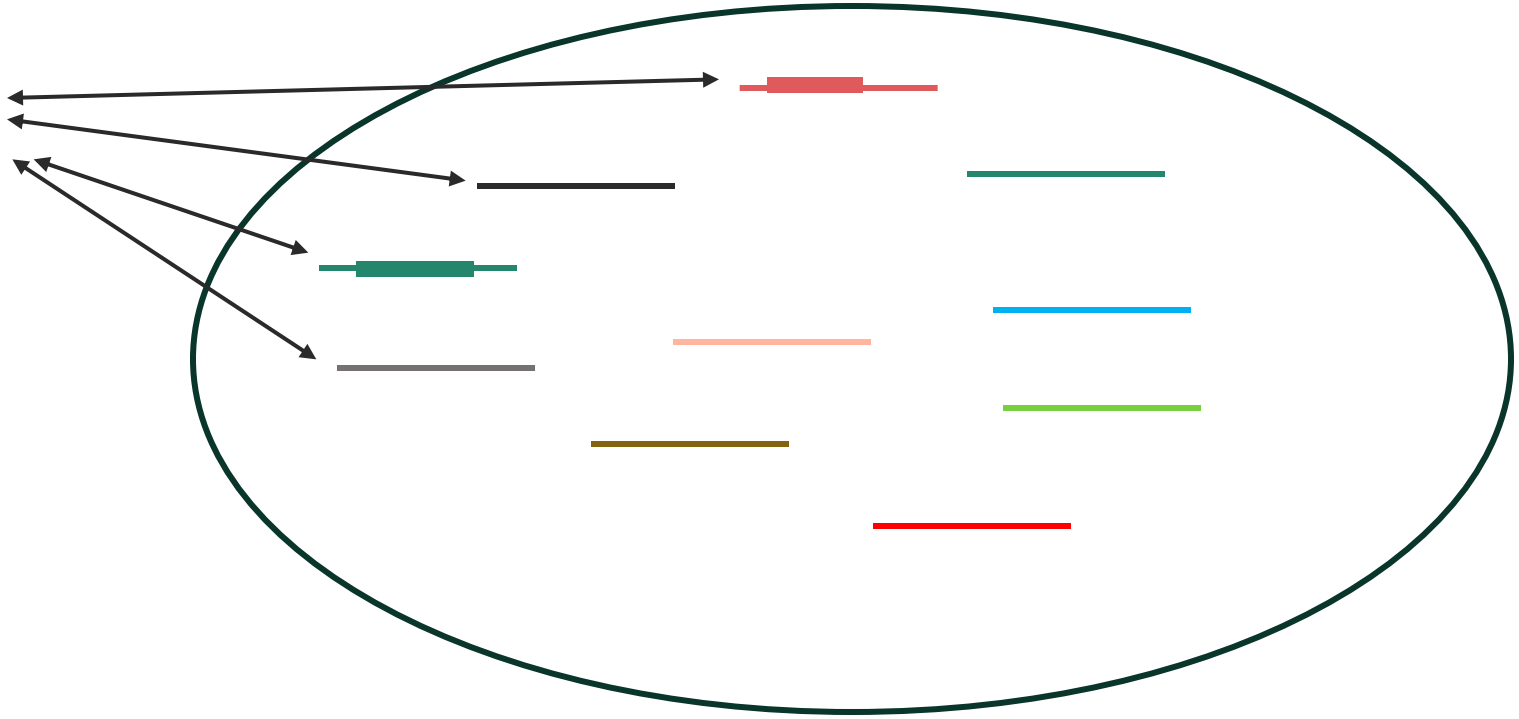
База данных последовательностей



База данных последовательностей

Как будем сравнивать с последовательностями из базы?

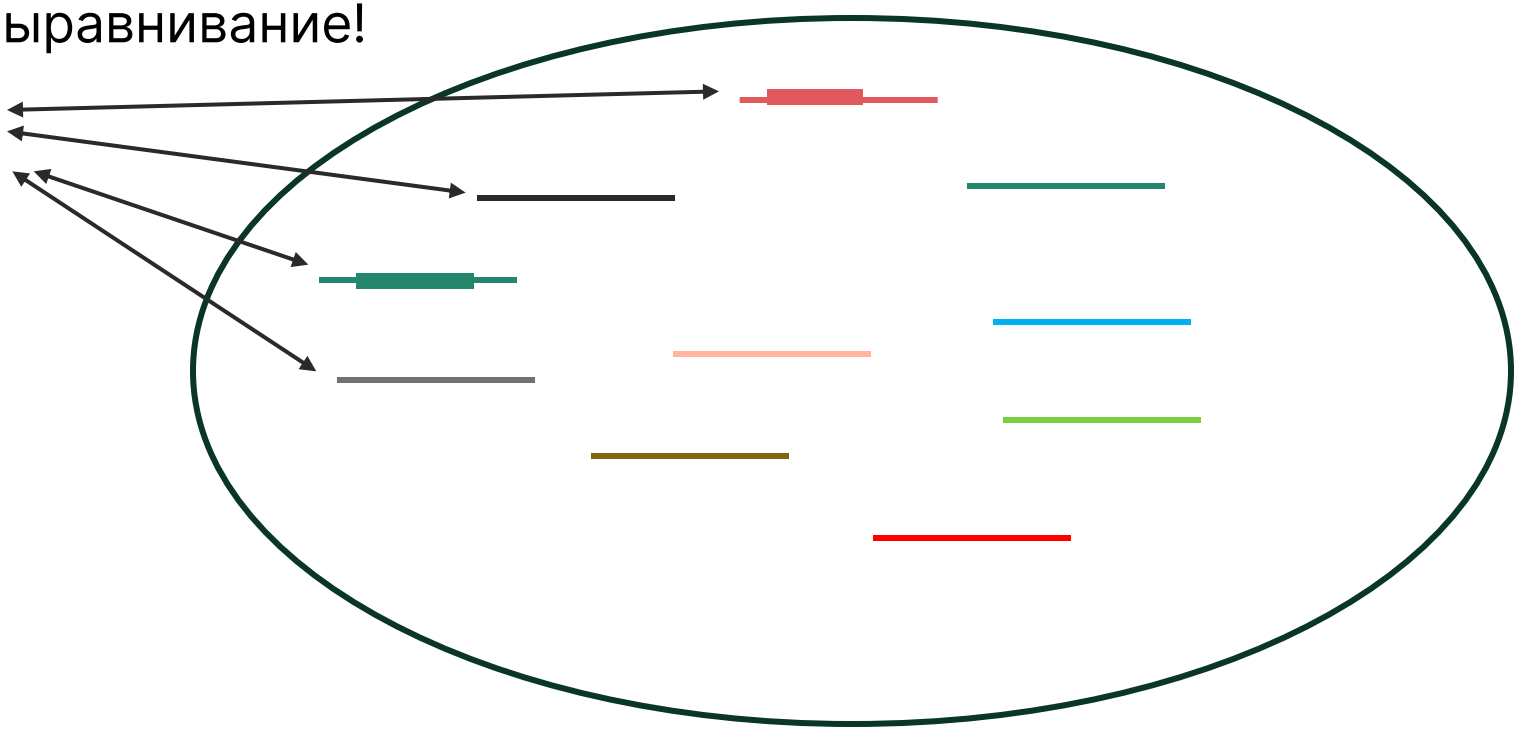
MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYP
WTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPVKAHGKKVLGAFSDG
LAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVC
VLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH



База данных последовательностей

Локальное
выравнивание!

MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYP
WTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPVKAHGKKVLGAFSDG
LAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVC
VLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH



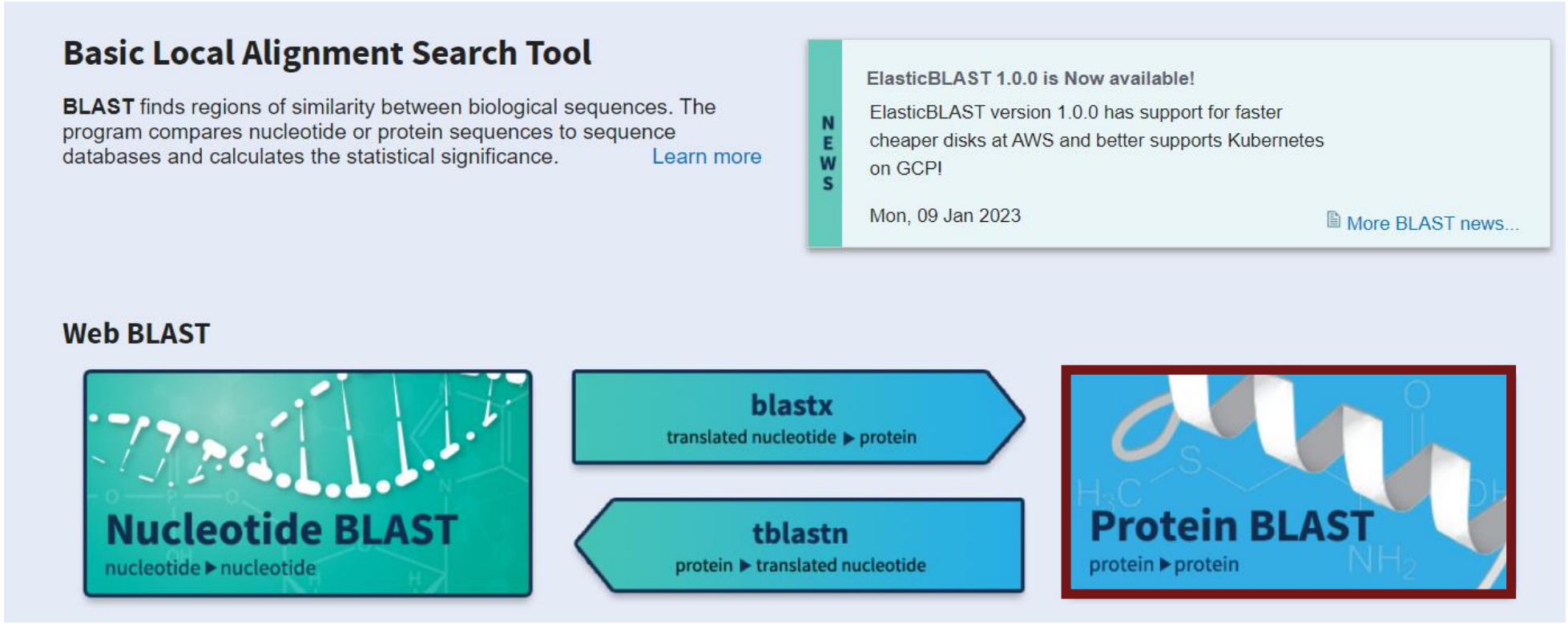
Идея поиска гомологов в банке последовательностей

- На входе — последовательность, для которой хочется найти гомологичные («запрос»), и банк последовательностей
- Выровняем запрос с каждой последовательностью банка, посчитаем веса этих парных выравниваний
- Отберём те последовательности банка («находки»), для которых вес **существенно выше, чем мог бы быть по случайным причинам.**

Basic Local Alignment Search Tool

- BLAST – это алгоритм для нахождения участков локального сходства между последовательностями
- Алгоритм сравнивает **входную последовательность** с последовательностями в **базе данных**, ищет сходные последовательности в базе данных и оценивает **статистическую значимость находок**

BLAST – это семейство программ



BLAST – почему локальное выравнивание?

BLAST – почему локальное выравнивание?

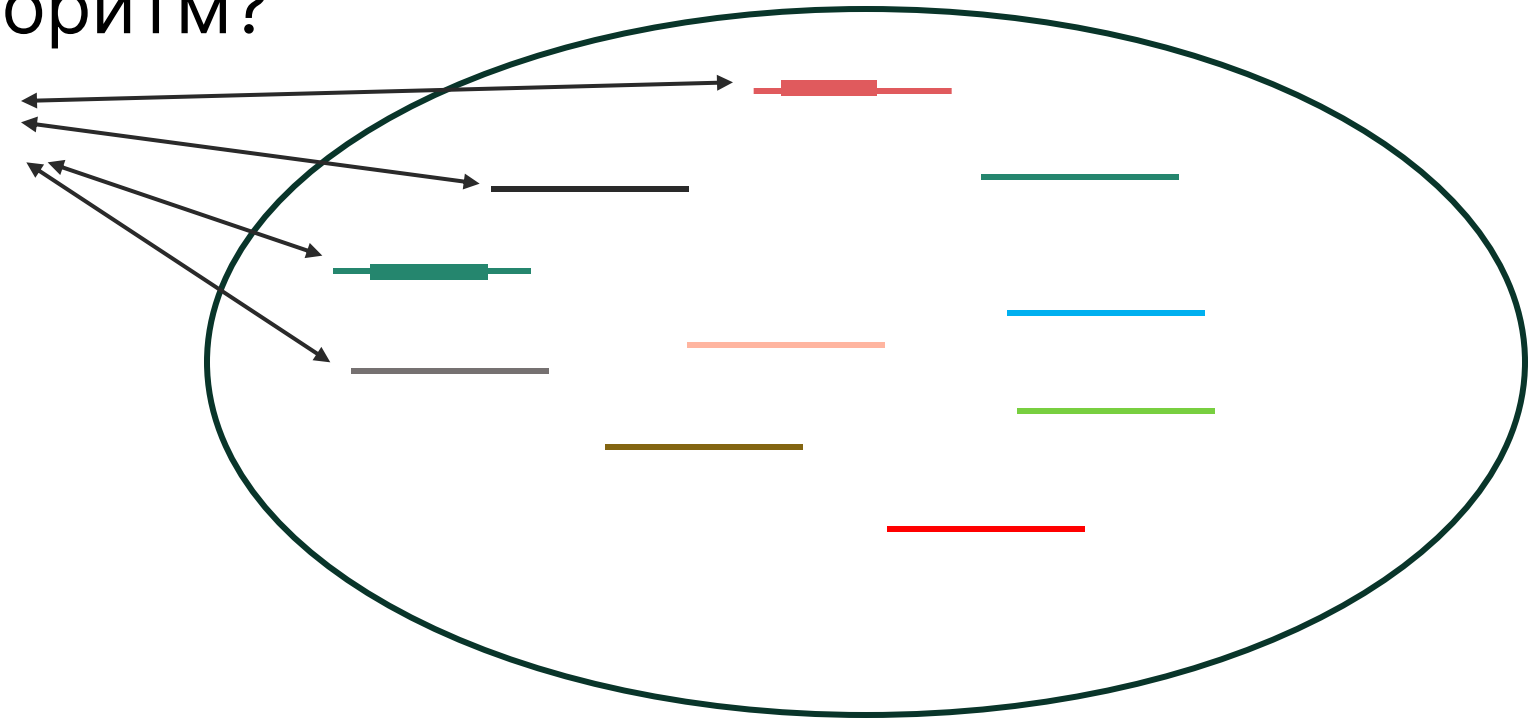
- Глобальное выравнивание следует применять только в случае заранее известной гомологии последовательностей по всей длине.
- Часто у последовательностей гомологичны только отдельные части (примеры: гомеобелки, полипротеины, ...)
- Если про последовательности заранее ничего не известно, то более информативным будет локальное выравнивание.

База данных последовательностей

Локальное выравнивание!

Алгоритм?

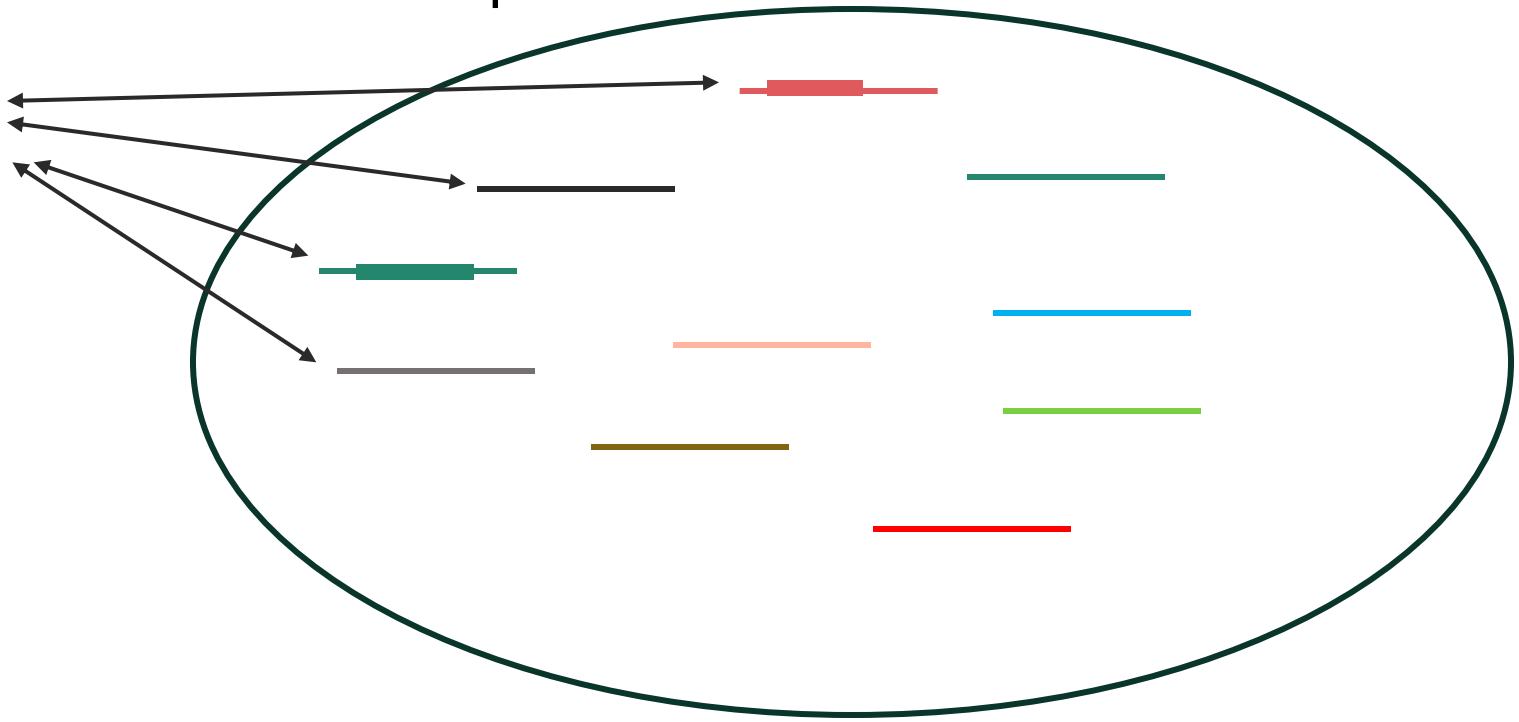
MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYP
WTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPVKAHGKKVLGAFSDG
LAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVC
VLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH



База данных последовательностей

Алгоритм Смита-Ватермана

MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYP
WTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPVKAHGKKVLGAFSDG
LAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVC
VLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH



Только в SwissProt ~250 млн последовательностей....

BLAST – это эвристический алгоритм

Алгоритмы биоинформатики можно разделить на точные и эвристические.

- Точные алгоритмы решают какую-либо точно сформулированную формализованную задачу. Пример: алгоритм Нидлмана – Вунша, который для данных последовательностей находит выравнивание с максимальным весом.
- Эвристический алгоритм — алгоритм решения задачи, включающий практический метод, не являющийся гарантированно точным или оптимальным, но достаточный для решения поставленной задачи

BLAST не гарантирует нахождение оптимального локального выравнивания. За счёт этого достигается высокая скорость работы.

Но теоретически возможно, что BLAST не найдёт в банке имеющийся там вполне достоверный (судя по выравниванию) гомолог.

Идея алгоритма BLAST

- Задача – найти в банке последовательности, хорошо (то есть с большим весом) выравнивающиеся с последовательностью запроса.
- Можно последовательно выравнивать каждую банковскую последовательность с запросом алгоритмом Смита – Ватермана
- При нынешних объемах банков это очень медленно

Проиндексируем базу

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

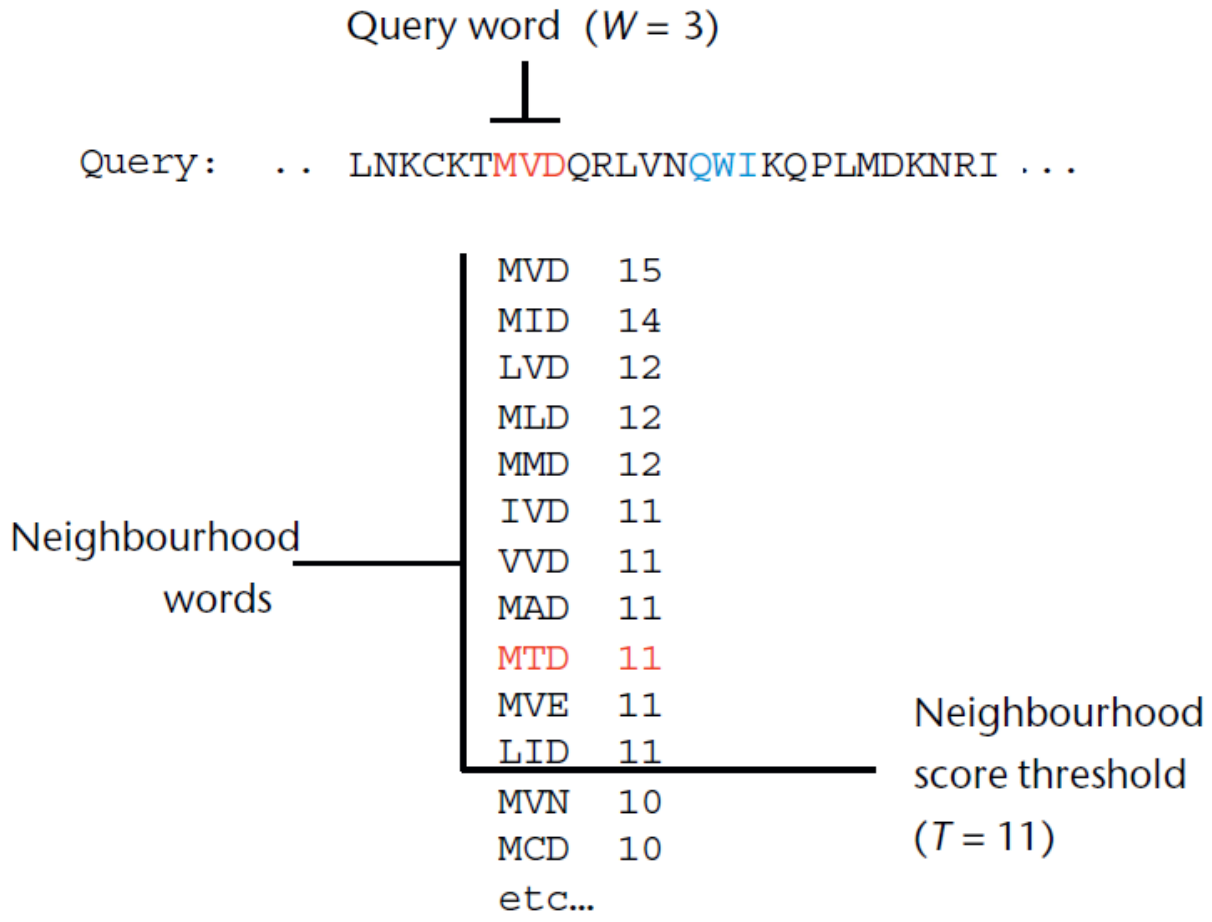
(цифры обозначают номера экспериментов или параграфов)

Алгоритм BLAST: индексация

- В случае BLAST индексами служат **слова** заданной длины из букв, встречающихся в наших последовательностях
- **Длина слова** (word_size) – это параметр алгоритма
- Например, для белков и при длине слова 3 это AAA, AAC, AAD, …, YYY, всего $20^3 = 8000$ слов.
- Индекс можно представить себе как таблицу, в которой для каждого слова указано, в какой последовательности банка и в каком месте это слово встретилось.

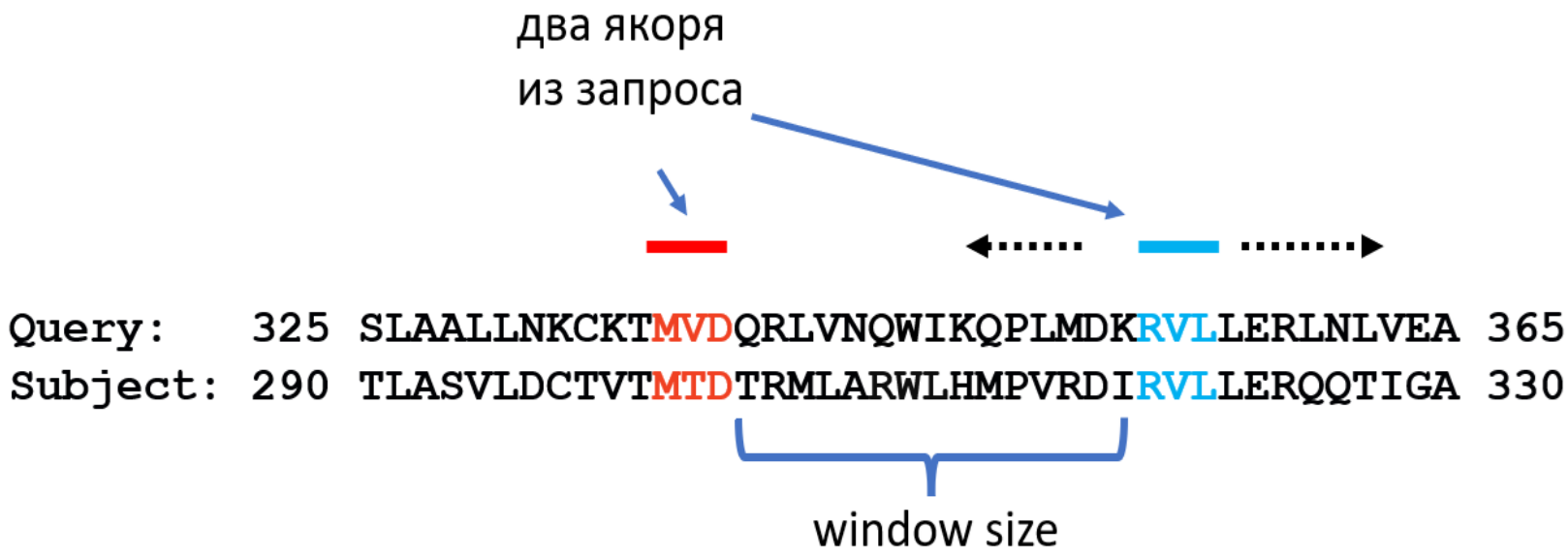
Алгоритм BLAST: разбиение последовательности-запроса

- Два параметра
  - ✓ длина слова (word_size, ≥2, в standalone по умолчанию 3)
  - ✓ порог на сходство слов (threshold, ≥0, по умолчанию 11)
- Берутся все слова из запроса (query) длины word_size
- В индексах ищутся слова, имеющие сходство со словами из запроса на уровне не менее threshold



Алгоритм BLAST: от якоря к выравниванию

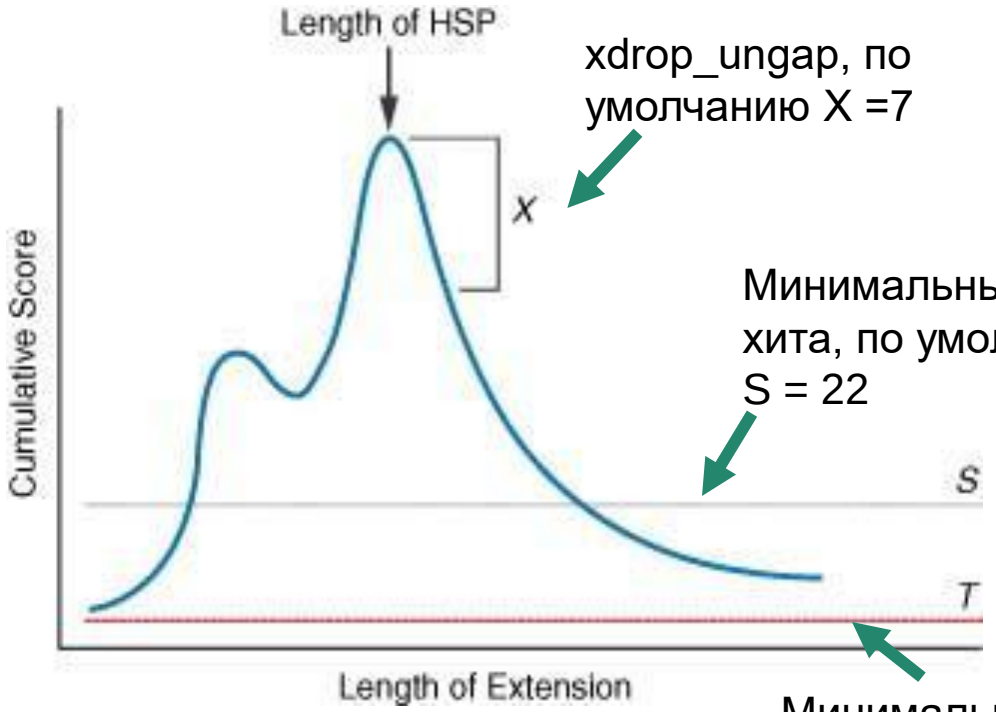
- Выравнивание начинает строиться, если в запросе есть пара слов на расстоянии, меньшем параметра window_size (по умолчанию 40), для которых нашлась пара сходных слов в одной банковской последовательности на том же расстоянии.
  В результате получаем два якоря — выравнивания длины word_size.



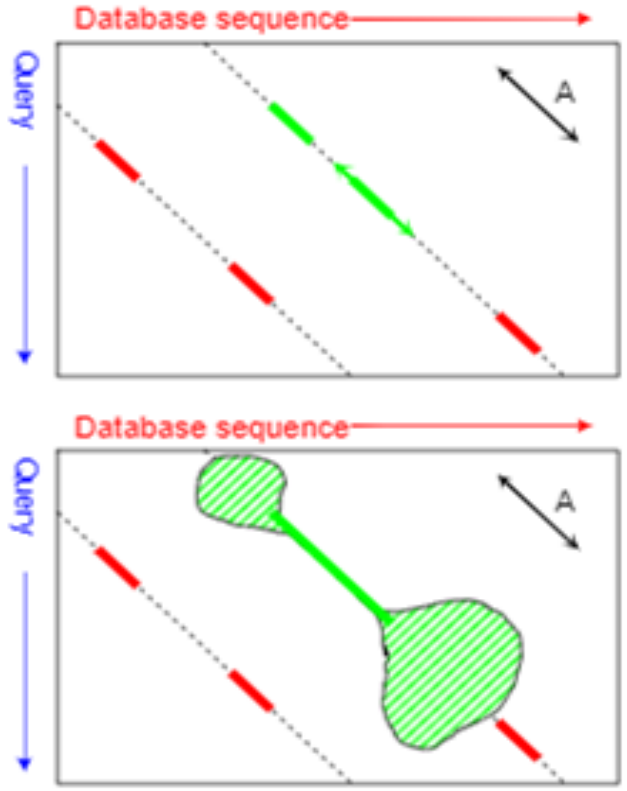
Алгоритм BLAST: от якоря к выравниванию

- Второй якорь расширяется без гэпов в обе стороны, пока вес не упадёт на заданную величину от максимально достигнутого (по умолчанию этот параметр xdrop_ungap = 7 бит)
- Если максимально достигнутый вес больше 22 бит, то соответствующее выравнивание расширяется уже с гэпами (аналогично алгоритму Нидлмана – Вунша). Расширение продолжается, пока вес не упадёт ниже максимально достигнутого на величину, большую xdrop_gap, по умолчанию 15 бит

Схема расширения в одну сторону



Алгоритм BLAST: от якоря к выравниванию



https://docplayer.net/15013198-Databases-indexation.html
Автор: Laurent Falquet, SIB

Локальное выравнивание как диагональ в матрице

Subject

Query

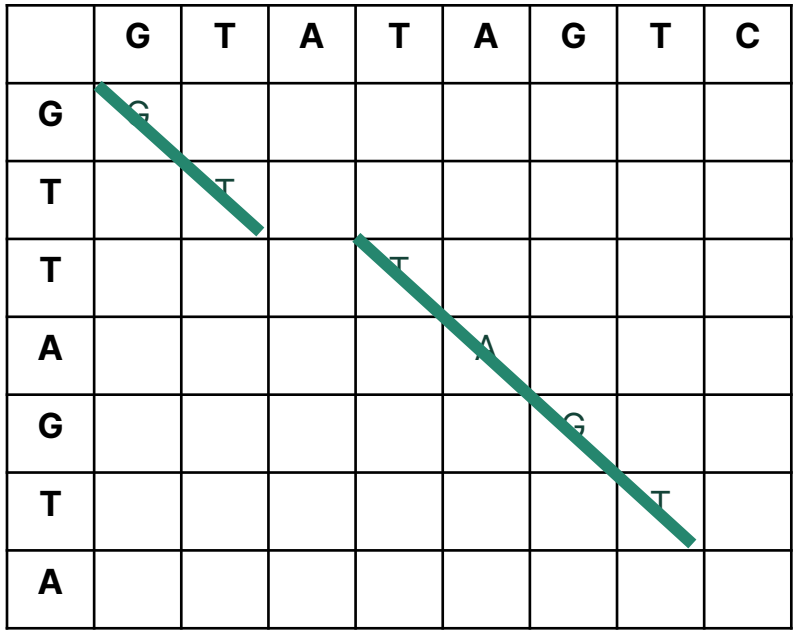
	G	T	A	T	A	G	T	C
G	G							
T		T						
T				T				
A					A			
G						G		
T							T	
A								

```
Subject: GTATAGTC
         ||  ||||
Query:   GT-TAGTA
```

Локальное выравнивание как диагональ в матрице

Subject

Query



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

```
Subject: GTATAGTC
         || |||| 
Query:   GT-TAGTA
```

Роль длины слова (эксперимент)

- Вход: последовательность из 466 остатков
- NCBI BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/)
- Область поиска: Swiss-Prot, белки из бактерий
- Порог E-value = 10, остальные параметры, кроме "Word Size", по умолчанию
- W = 6
  - ✓ Найдено 16 последовательностей, в них 18 находок
  - ✓ 8 находок с E < 0,001
  - ✓ Время работы сервиса NCBI – менее одной минуты
- W = 2
  - ✓ Найдено 69 последовательностей, в них 75 находок
  - ✓ 12 находок с E < 0,001
  - ✓ Время работы сервиса NCBI – около 35 мин

Роль длины слова

- Чем больше длина слова, тем быстрее работает BLAST, но тем меньше его **чувствительность**. Это означает, что вероятность пропустить гомологи возрастает.

- В веб-версии blastp на сайте NCBI значение длины слова по умолчанию равно 5, доступны значения 2, 3 и 6.

Вопросы и ответы про BLAST

За счёт чего BLAST работает быстро?

За счёт просмотра не всех возможных выравниваний, а только полученных расширением "затравок". Каждая "затравка" получается из слова длины k (k =2, 3, ..., 6), встреченного в запросе, и очень сходного слова из какой-либо банковской последовательности.

"Затравки" находятся очень быстро благодаря предварительной индексации всех слов в банке. В результате индексации для каждого слова указано, в каких местах каких банковских последовательностей это слово встречается.

Что может поменяться при изменении параметра "Word size»?

Чем длиннее слово, тем меньше машинного времени займёт поиск.

Чем короче слово, тем чувствительнее поиск (меньше опасность пропустить хорошее выравнивание).

Protein BLAST – поиск гомологов данного белка в банке аминокислотных последовательностей

Алгоритмы:

- BLASTP
- Quick BLASTP
- PSI-BLAST
- PHI-BLAST
- DELTA-BLAST

Можно использовать:
– из командной строки (standalone BLAST)
– через веб-интерфейс

Что подается на вход программе BLAST?

- ✓ Последовательность-запрос (query)
- ✓ Банк последовательностей
- ✓ Параметры:
  - Выравнивания (матрица амк замен, штрафы за гэпы)
  - Поиска (длина слова и др)
  - Выдачи (максимальное число находок, пороги на качество выравнивания, форма выдачи и др)

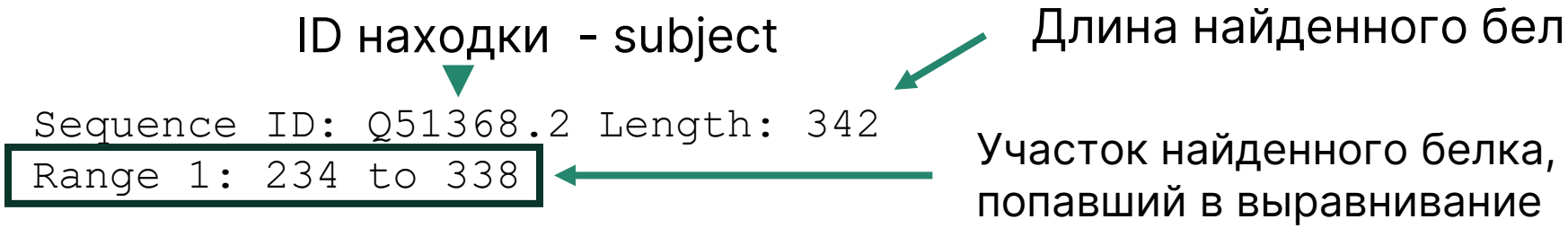
Что выдает программа BLAST?

На выходе:

- ✓ Заголовок с описанием программа, банка, запроса (query)
- ✓ Список находок
- ✓ Выравнивание запроса с находками

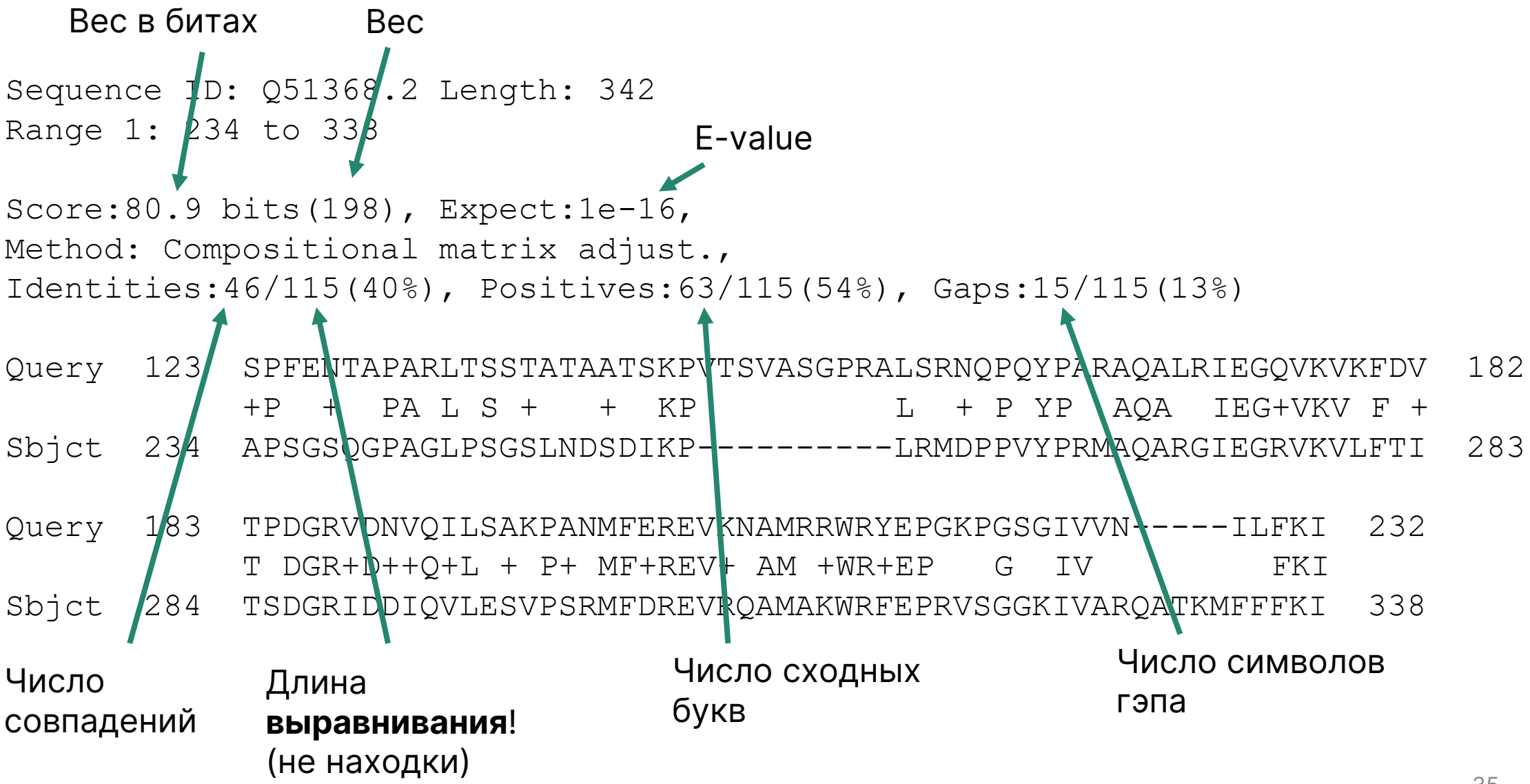
Веб-интерфейсы тем или иным способом перерабатывают выдачу программы.
Часто вставляется графическое изображение находок.

Выравнивание, выданное BLAST




```
Score:80.9 bits(198), Expect:1e-16,
Method: Compositional matrix adjust.,
Identities:46/115(40%), Positives:63/115(54%), Gaps:15/115(13%)

Query  123  SPFENTAPARLTSSTATAATSKPVTSVASGPRALSRNQPQYPARAQALRIEGQVKVKFDV  182
            +P  +  PA L S +   +  KP          L  + P YP  AQA  IEG+VKV F +
Sbjct  234  APSGSQGPAGLPSGSLNDSDIKP----------LRMDPPVYPRMAQARGIEGRVKVLFTI  283

Query  183  TPDGRVDNVQILSAKPANMFEREVKNAMRRWRYEPGKPGSGIVVN-----ILFKI  232
            T DGR+D++Q+L + P+ MF+REV+ AM +WR+EP   G  IV          FKI
Sbjct  284  TSDGRIDDIQVLESVPSRMFDREVRQAMAKWRFEPRVSGGKIVARQATKMFFKI  338
```

Выравнивание, выданное BLAST



Словарик BLAST

- Identities – совпадения (кол-во + % от длины выравнивания)
- Positives – сходные буквы = значение весовой матрицы положительно (кол-во + % от длины выравнивания)
- Gaps – знаки гэпов (кол-во + % от длины выравнивания)
- Score – вес выравнивания (в битах и обычный = сумма значений матрицы по сопоставлениям минус штраф за гэпы)
- Expect – e-value, ожидаемое число выравниваний с тем же или большим весом. Запись вида 9e-15 означает 9·10–15.

E-value

E-value – ожидаемое количество случайных находок с таким же и лучшим весом выравнивания, при поиске в той же базе данных, со случайным запросом той же длины и состава, с теми же параметрами на вычисление веса выравнивания.

- Зависит от:
  - ✓ Веса выравнивания
  - ✓ Размера банка
  - ✓ Длины запроса
  - ✓ Параметров

Чем ниже e-value,
тем выше значимость находки

E-value

- E-value – **ожидаемое** количество **случайных** находок с таким же и лучшим весом выравнивания, при поиске в той же базе данных, со случайным запросом той же длины и состава, с теми же параметрами на вычисление веса выравнивания.

Что означает слово «ожидаемое»?

Формально это то, что называется «математическое ожидание случайной величины». Случайной величиной в данном случае является **число находок** *(NB! Просьба запомнить!)*

На практике ожидаемое вычисляется как среднее по достаточно большому количеству испытаний.

Другое ключевое слово — «случайных». Нам нужно понять, сколько можно ожидать именно случайных, то есть бессмысленных, негомологичных находок, чтобы оценить, насколько надёжно утверждение, что данная находка — действительно гомолог

Как посчитать E-value

- Прямой способ — вычислительный эксперимент: перемешать буквы в запросе очень много раз, каждый раз запуская BLAST, и посмотреть, сколько в среднем при одном запуске бывает находок с весом выше данного.

- Такой способ, естественно, не применяется :)

- *Стоит подумать: от чего и как может зависеть число случайных находок*

E-value

$$\text{E-value} = Kmn \cdot e^{-\lambda S}$$ (Karlin & Altschul, 1990)

- S — Score (вес)
- m — длина исходной последовательности
- n — размер базы данных (суммарная длина всех последовательностей)
- K и λ — две константы, зависящие только от параметров вычисления веса

BLAST хранит значения K и λ для нескольких наборов параметров вычисления веса, их раз и навсегда нашли посредством вычислительного эксперимента.

Вес в битах

- Вес в битах B зависит от обычного веса S и параметров вычисления веса.

$$B = (\lambda S - \ln K)/\ln 2$$

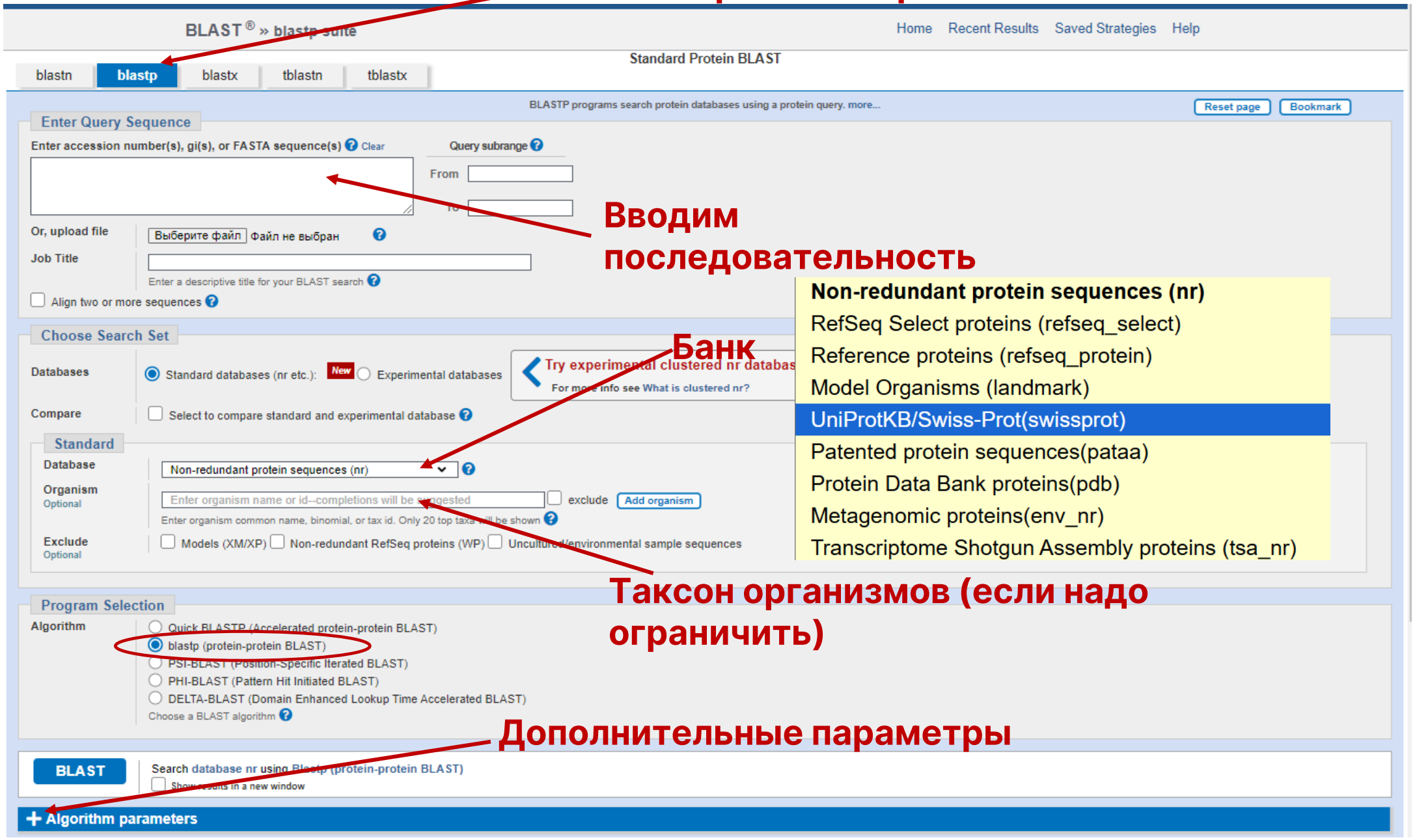
- Зависимость подогнана так, чтобы

$$\text{E-value} = mn \cdot 2^{-B}$$

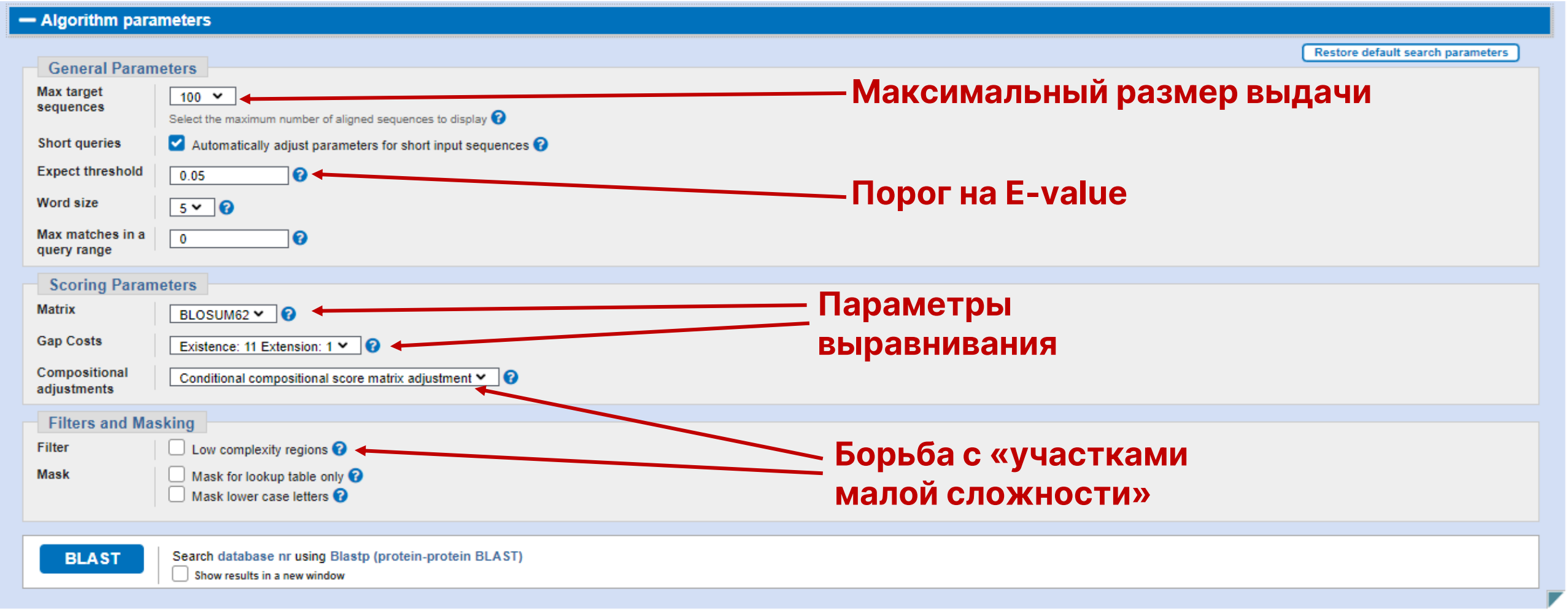
  - ✓ m — длина исходной последовательности
  - ✓ n — размер базы данных

    (констант K и λ теперь нет, они “загнаны внутрь B”)

Далее описан интерфейс, установленный на «родине» BLAST: National Center for Biotechnology Information (NCBI) в США, http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/


Алгоритм blastp
BLAST® » blastp suite
Home
Recent Results
Saved Strategies
Help
Standard Protein BLAST
blastn
blastp
blastx
tblastn
tblastx
BLASTP programs search protein databases using a protein query. more...
Reset page
Bookmark
Enter Query Sequence
Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)
Clear
Query subrange
From
Or, upload file
Выберите файл
Файл не выбран
Job Title
Enter a descriptive title for your BLAST search
Align two or more sequences
Вводим последовательность
Choose Search Set
Databases
Standard databases (nr etc.):
New
Experimental databases
Try experimental clustered nr databas
For more info see What is clustered nr?
Compare
Select to compare standard and experimental database
Банк
Standard
Database
Non-redundant protein sequences (nr)
Organism
Optional
Enter organism name or id--completions will be suggested
exclude
Add organism
Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown
Exclude
Optional
Models (XM/XP)
Non-redundant RefSeq proteins (WP)
Uncultured/environmental sample sequences
Non-redundant protein sequences (nr)
RefSeq Select proteins (refseq_select)
Reference proteins (refseq_protein)
Model Organisms (landmark)
UniProtKB/Swiss-Prot(swissprot)
Patented protein sequences(pataa)
Protein Data Bank proteins(pdb)
Metagenomic proteins(env_nr)
Transcriptome Shotgun Assembly proteins (tsa_nr)
Таксон организмов (если надо ограничить)
Program Selection
Algorithm
Quick BLASTP (Accelerated protein-protein BLAST)
blastp (protein-protein BLAST)
PSI-BLAST (Position-Specific Iterated BLAST)
PHI-BLAST (Pattern Hit Initiated BLAST)
DELTA-BLAST (Domain Enhanced Lookup Time Accelerated BLAST)
Choose a BLAST algorithm
Дополнительные параметры
BLAST
Search database nr using Blastp (protein-protein BLAST)
Show results in a new window
Algorithm parameters

Дополнительные параметры



Участок малой сложности

- Если отключить “Compositional adjustment” и фильтр, то среди прочих выдаётся следующее выравнивание

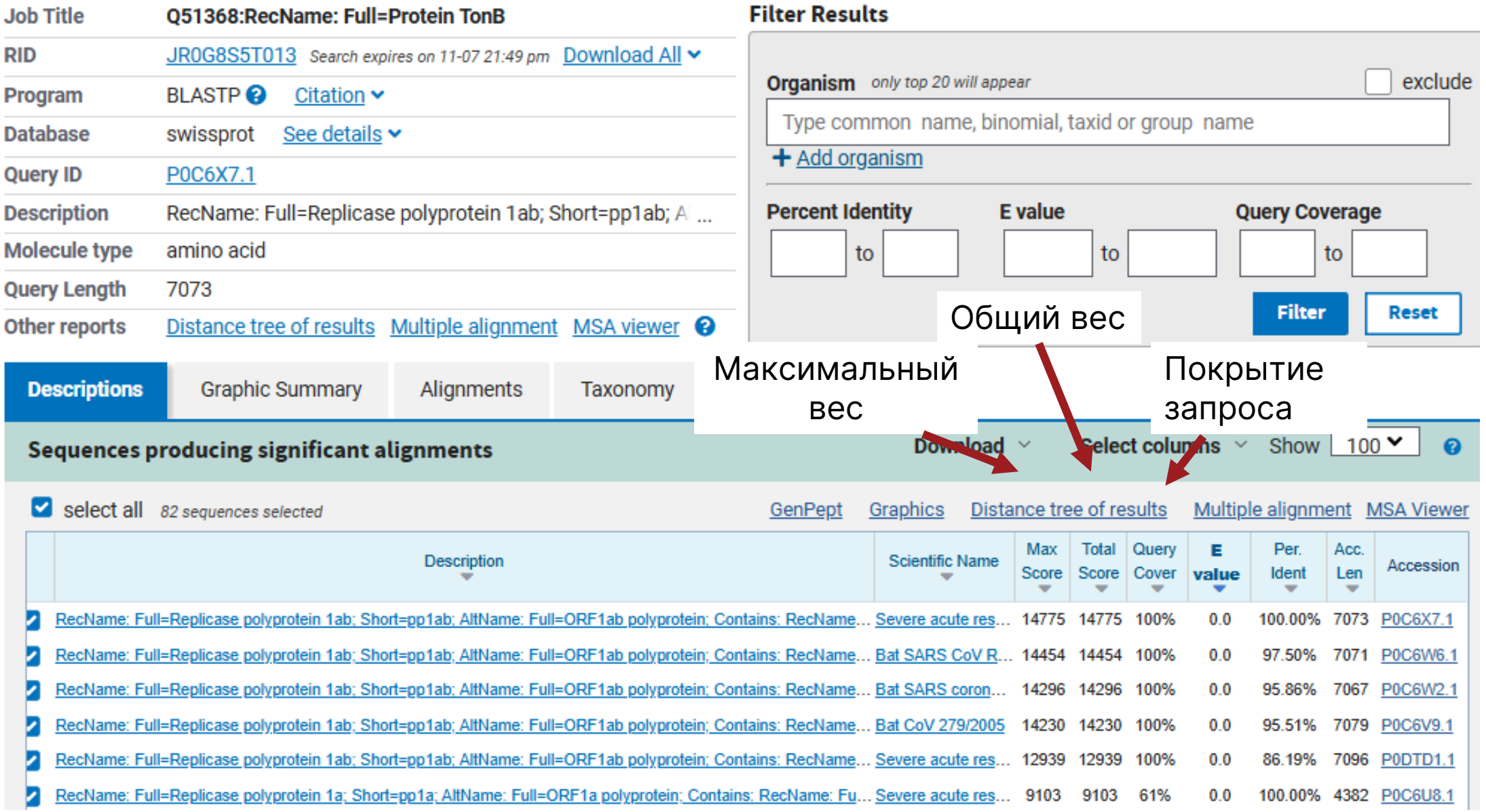
```
Query: P02929 TONB_ECOLI; Subject: Q95P09 TSEP_GLOMM
 Score = 63.5 bits (153),  Expect = 1e-09
 Identities = 32/76 (42%), Positives = 47/76 (62%), Gaps = 6/76 (8%)

Query  56   EPPQAVQPPPEPVVEPEPEPEPIPEP-PKEAPVVIEKPKPKPKPKPKPVKKVQEQPKRDV  114
            EP    +P PEP  EPEPEPEP PEP P+  P    +P+P+P+P+P+P  + + +P+ +
Sbjct  243  EPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEP  302

Query  115  KP-----VESRPASPF  125
            +P      ES+P S F
Sbjct  303  EPEPQPEPESKPNSLF  318
```

Данное выравнивание **не свидетельствует о гомологии**, несмотря на хорошее значение E-value (10^{-9})

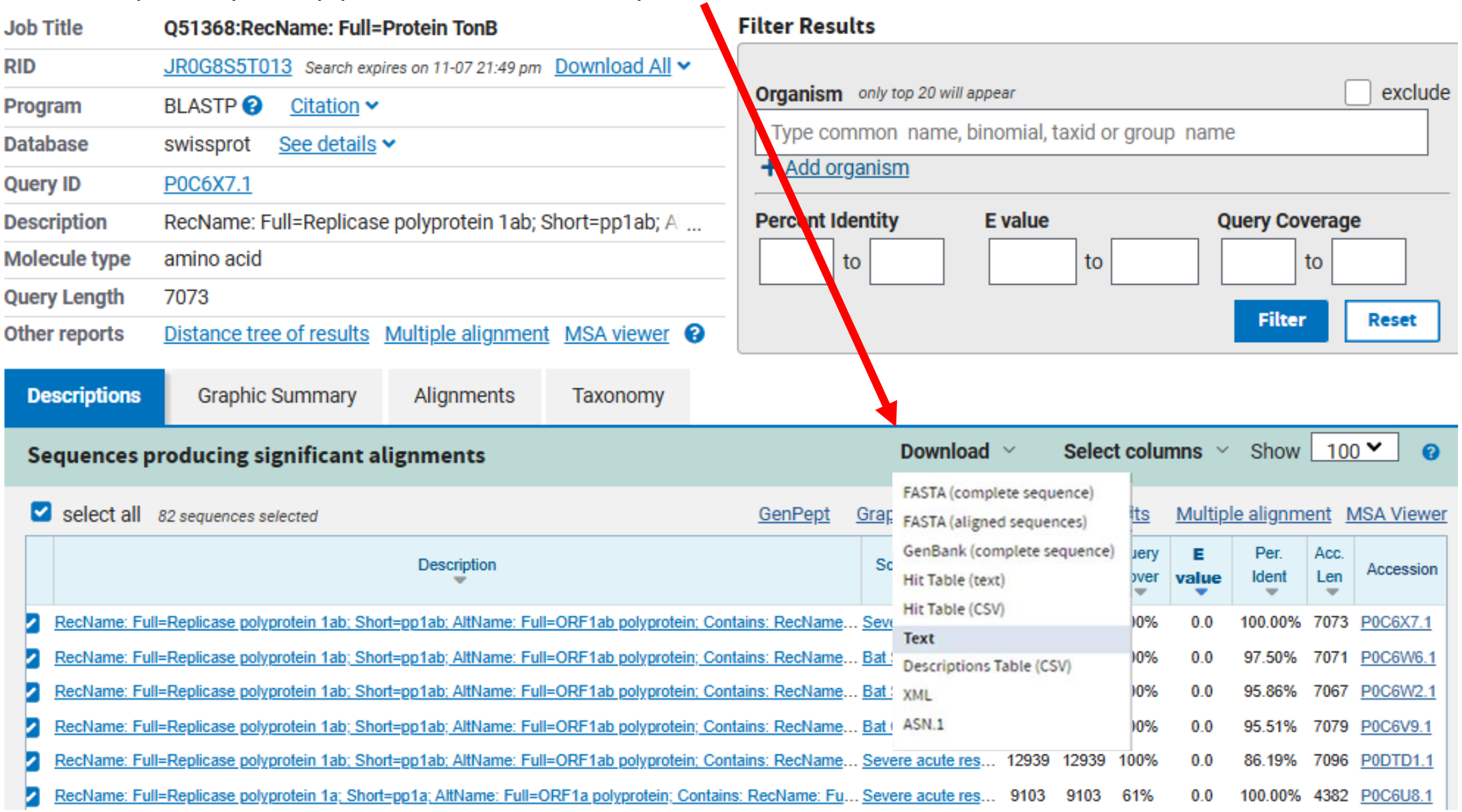
Участок малой сложности

- Определяется как участок со смещенным составом (biased composition)
  - ✓ Гомополимерные участки
  - ✓ Короткие повторы
  - ✓ Перепредставленность отдельных остатков
- Вычисление E-value (параметры *K* и λ) опирается на средние по всем белкам частоты аминокислотных остатков, поэтому на участках малой сложности оно становится некорректным -> ложное предсказание гомологии

Выдача BLAST в интерфейсе NCBI



Чтобы скачать выдачу самой программы (а не её обработку интерфейсом), можно поступить так:



RID: ZTMWDRYK013
Job Title:sp|P0C6X7|R1AB_SARS Replicase polyprotein...
Program: BLASTP
Query: sp|P0C6X7|R1AB_SARS Replicase polyprotein lab OS=Severe acute respiratory syndrome coronavirus OX=694009 GN=rep PE=1 SV=1 ID: lcl|Query_9160139(amino acid) Length: 7073
Database: swissprot Non-redundant UniProtKB/SwissProt sequences

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Severe acute...	NA	694009	14775	14775	100%	0.0	100.00	7073	P0C6X7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Bat SARS CoV...	NA	349344	14454	14454	100%	0.0	97.50	7071	P0C6W6.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Bat SARS cor...	NA	442736	14296	14296	100%	0.0	95.86	7067	P0C6W2.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Bat CoV 279/...	NA	389167	14230	14230	100%	0.0	95.51	7079	P0C6V9.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Severe acute...	NA	2697049	12939	12939	100%	0.0	86.19	7096	P0DTD1.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Severe acute...	NA	694009	9103	9103	62%	0.0	100.00	4382	P0C6U8.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Bat SARS CoV...	NA	349344	8822	8822	62%	0.0	96.55	4380	P0C6T7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Bat SARS cor...	NA	442736	8547	8547	62%	0.0	93.93	4376	P0C6F8.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Bat CoV 279/...	NA	389167	8495	8495	62%	0.0	93.26	4388	P0C6F5.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Severe acute...	NA	2697049	7475	7475	62%	0.0	80.42	4405	P0DTC1.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Pipistrellus...	NA	694008	6150	6150	100%	0.0	45.84	7182	P0C6W4.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Rousettus ba...	NA	694006	6106	6395	97%	0.0	52.41	6930	P0C6W5.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Betacoronavi...	NA	1263720	5980	6287	99%	0.0	49.62	7078	K9N7C7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Bovine respi...	NA	233264	5451	5525	82%	0.0	49.55	7094	P0C6W8.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Bovine enter...	NA	233262	5449	5522	82%	0.0	49.55	7094	P0C6W7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Human corona...	NA	31631	5437	5589	84%	0.0	49.56	7095	P0C6X6.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Murine hepat...	NA	76344	5429	5507	85%	0.0	49.18	7124	P0C6X8.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Bovine coron...	NA	11132	5418	5488	81%	0.0	49.28	7094	P0C6W9.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Murine hepat...	NA	11142	5408	5487	84%	0.0	49.28	7176	P0C6X9.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Murine hepat...	NA	11144	5356	5432	84%	0.0	48.72	7180	P0C6Y0.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Human corona...	NA	443240	5319	5400	83%	0.0	48.57	7152	P0C6X3.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Human corona...	NA	443241	5317	5396	83%	0.0	48.48	7132	P0C6X4.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Human corona...	NA	443239	5312	5391	83%	0.0	48.49	7182	P0C6X2.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Bovine coron...	NA	11133	5287	5355	80%	0.0	48.91	7059	P0C6X0.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Scotophilus ...	NA	693999	4328	4398	71%	0.0	46.40	6793	P0C6W0.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Porcine epid...	NA	229032	4295	4383	72%	0.0	46.48	6781	P0C6Y4.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Human corona...	NA	277944	4286	4370	73%	0.0	45.79	6729	P0C6X5.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Human corona...	NA	11137	4258	4345	72%	0.0	45.56	6758	P0C6X1.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Porcine tran...	NA	11151	4194	4261	72%	0.0	45.60	6684	P0C6Y5.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Feline infec...	NA	33734	4173	4233	70%	0.0	45.61	6709	Q98VG9.2
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Avian infect...	NA	11122	4133	4183	71%	0.0	45.35	6629	P0C6Y1.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Avian infect...	NA	11127	4133	4190	73%	0.0	45.31	6631	P0C6Y3.1
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:...	Avian infect...	NA	160235	4131	4181	71%	0.0	45.35	6629	P0C6Y2.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Pipistrellus...	NA	694008	2335	2335	62%	0.0	33.82	4481	P0C6T5.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Rousettus ba...	NA	694006	2288	2577	59%	0.0	40.41	4248	P0C6T6.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Betacoronavi...	NA	1263720	2184	2489	60%	0.0	37.74	4391	K9N638.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Bovine respi...	NA	233264	1887	1961	44%	0.0	38.08	4383	P0C6T9.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Bovine enter...	NA	233262	1885	1958	44%	0.0	38.08	4383	P0C6T8.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Human corona...	NA	31631	1879	2031	46%	0.0	38.07	4383	P0C6U7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Bovine coron...	NA	11133	1875	1942	43%	0.0	37.72	4383	P0C6U1.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Bovine coron...	NA	11132	1873	1943	43%	0.0	37.82	4383	P0C6U0.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Murine hepat...	NA	76344	1860	1937	46%	0.0	37.67	4416	P0C6U9.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Murine hepat...	NA	11142	1850	1929	46%	0.0	37.80	4468	P0C6V0.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Murine hepat...	NA	11144	1843	1918	45%	0.0	37.32	4474	P0C6V1.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Human corona...	NA	443240	1810	1890	45%	0.0	36.95	4441	P0C6U4.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Human corona...	NA	443241	1808	1887	45%	0.0	37.03	4421	P0C6U5.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1a; Short=ppla; AltName:...	Human corona...	NA	443239	1803	1882	45%	0.0	37.02	4471	P0C6U3.1

```
RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName:... Alphamesoniv... NA             1552985    52.0   52.0  7%    3e-04  22.56  5088       F8RL29.1
RecName: Full=Probable RNA helicase SDE3; AltName:...             Arabidopsis ... thale cress    3702       49.3   49.3  4%    0.002  25.52  1002       Q8GYD9.1
RecName: Full=ADP-ribose glycohydrolase AF_1521; AltName:...      Archaeoglobu... NA             224325     43.1   43.1  2%    0.032  29.93  192        O28751.2

Alignments:

>RecName: Full=Replicase polyprotein lab; Short=pplab; AltName: Full=ORFlab polyprotein; Contains: RecName: Full=Host translation inhibitor nsp1; AltName: Full=Leader
Contains: RecName: Full=Non-structural protein 2; Short=nsp2; AltName: Full=p65 homolog; Contains: RecName: Full=Papain-like protease nsp3; Short=PL-PRO; AltName: Ful
Contains: RecName: Full=Non-structural protein 4; Short=nsp4; Contains: RecName: Full=3C-like proteinase nsp5; Short=3CL-PRO; Short=3CLp; AltName: Full=Main protease;
Short=nsp5; AltName: Full=SARS coronavirus main proteinase; Contains: RecName: Full=Non-structural protein 6; Short=nsp6; Contains: RecName: Full=Non-structural prote
protein 8; Short=nsp8; Contains: RecName: Full=Viral protein genome-linked nsp9; AltName: Full=Non-structural protein 9; Short=nsp9; AltName: Full=RNA-capping enzyme
10; Short=nsp10; AltName: Full=Growth factor-like peptide; Short=GFL; Contains: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase nsp12; Short=Pol; Short=RdRp; AltName: Full=
Full=Helicase nsp13; Short=Hel; AltName: Full=Non-structural protein 13; Short=nsp13; Contains: RecName: Full=Guanine-N7 methyltransferase nsp14; AltName: Full=Non-st
exoribonuclease nsp14; Short=ExoN; Contains: RecName: Full=Uridylate-specific endoribonuclease nsp15; AltName: Full=NendoU; AltName: Full=Non-structural protein 15; S
nsp16; AltName: Full=Non-structural protein 16; Short=nsp16 [Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus]
Sequence ID: P0C6X7.1 Length: 7073
Range 1: 1 to 7073

Score:14775 bits(38346), Expect:0.0,
Method:Compositional matrix adjust.,
Identities:7073/7073(100%), Positives:7073/7073(100%), Gaps:0/7073(0%)

Query  1     MESLVLGVNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEALSEAREHLKNGTCGLVELEKGV  60
             MESLVLGVNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEALSEAREHLKNGTCGLVELEKGV
Sbjct  1     MESLVLGVNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEALSEAREHLKNGTCGLVELEKGV  60

Query  61    LPQLEQPYVFIKRSDALSTNHGHKVVELVAEMDGIQYGRSGITLGVLVPHVGETPIAYRN  120
             LPQLEQPYVFIKRSDALSTNHGHKVVELVAEMDGIQYGRSGITLGVLVPHVGETPIAYRN
Sbjct  61    LPQLEQPYVFIKRSDALSTNHGHKVVELVAEMDGIQYGRSGITLGVLVPHVGETPIAYRN  120

Query  121   VLLRKNGNKGAGGHSYGIDLKSYDLGDELGTDPIEDYEQNWNTKHGSGALRELTRELNGG  180
             VLLRKNGNKGAGGHSYGIDLKSYDLGDELGTDPIEDYEQNWNTKHGSGALRELTRELNGG
Sbjct  121   VLLRKNGNKGAGGHSYGIDLKSYDLGDELGTDPIEDYEQNWNTKHGSGALRELTRELNGG  180

Query  181   AVTRYVDNNFCGPDGYPLDCIKDFLARAGKSMCTLSEQLDYIESKRGVYCCRDHEHEIAW  240
             AVTRYVDNNFCGPDGYPLDCIKDFLARAGKSMCTLSEQLDYIESKRGVYCCRDHEHEIAW
Sbjct  181   AVTRYVDNNFCGPDGYPLDCIKDFLARAGKSMCTLSEQLDYIESKRGVYCCRDHEHEIAW  240

Query  241   FTERSDKSYEHQTPFEIKSAKKFDTFKGECPKFVFPLNSKVKVIQPRVEKKKTEGFMGRI  300
             FTERSDKSYEHQTPFEIKSAKKFDTFKGECPKFVFPLNSKVKVIQPRVEKKKTEGFMGRI
Sbjct  241   FTERSDKSYEHQTPFEIKSAKKFDTFKGECPKFVFPLNSKVKVIQPRVEKKKTEGFMGRI  300

Query  301   RSVYPVASPQECNNMHLSTLMKCNHCDEVSWQTCDFLKATCEHCGTENLVIEGPTTCGYL  360
             RSVYPVASPQECNNMHLSTLMKCNHCDEVSWQTCDFLKATCEHCGTENLVIEGPTTCGYL
Sbjct  301   RSVYPVASPQECNNMHLSTLMKCNHCDEVSWQTCDFLKATCEHCGTENLVIEGPTTCGYL  360

Query  361   PTNAVVKMPCPACQDPEIGPEHSVADYHNHSNIETRLRKGGRTRCFGGCVFAYVGCYNKR  420
             PTNAVVKMPCPACQDPEIGPEHSVADYHNHSNIETRLRKGGRTRCFGGCVFAYVGCYNKR
Sbjct  361   PTNAVVKMPCPACQDPEIGPEHSVADYHNHSNIETRLRKGGRTRCFGGCVFAYVGCYNKR  420
```

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Severe acute res...	14775	14775	100%	0.0	100.00%	7073	P0C6X7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Bat SARS CoV R...	14454	14454	100%	0.0	97.50%	7071	P0C6W6.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Bat SARS coron...	14296	14296	100%	0.0	95.86%	7067	P0C6W2.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Bat CoV 279/2005	14230	14230	100%	0.0	95.51%	7079	P0C6V9.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Severe acute res...	12939	12939	100%	0.0	86.19%	7096	P0DTD1.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Rousettus bat co...	6106	6395	97%	0.0	52.41%	6930	P0C6W5.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Betacoronavirus ...	5980	6287	98%	0.0	49.62%	7078	K9N7C7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Bovine respirator...	5451	5525	81%	0.0	49.55%	7094	P0C6W8.1

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Severe acute res...	14775	14775	100%	0.0	100.00%	7073	P0C6X7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Bat SARS CoV R...	14454	14454	100%	0.0	97.50%	7071	P0C6W6.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Bat SARS coron...	14296	14296	100%	0.0	95.86%	7067	P0C6W2.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Bat CoV 279/2005	14230	14230	100%	0.0	95.51%	7079	P0C6V9.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Severe acute res...	12939	12939	100%	0.0	86.19%	7096	P0DTD1.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Rousettus bat co...	6106	6395	97%	0.0	52.41%	6930	P0C6W5.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Betacoronavirus ...	5980	6287	98%	0.0	49.62%	7078	K9N7C7.1
RecName: Full=Replicase polyprotein 1ab; Short=pp1ab; AltName: Full=ORF1ab polyprotein; Contains: RecName...	Bovine respirator...	5451	5525	81%	0.0	49.55%	7094	P0C6W8.1

BLAST может найти несколько локальных выравниваний!

Таблица находок BLAST

Max Score: самый большой из весов (в битах) выравниваний запроса с данной находкой

Total Score: суммарный вес (в битах) всех выравниваний запроса с данной находкой

Query cover: процент длины запроса, покрытый выравниваниями

E Value: в таблице находок это E-value, подсчитанное по особой формуле на основе **всех** выравниваний запроса с данной находкой

Per. Ident: процент идентичных букв в лучшем (по весу) из выравниваний запроса с данной находкой

Standalone BLAST

BLAST можно установить на своём компьютере
(а на kodomo он уже установлен)

Предположим, вам нужно найти гомологи белка, чья последовательность — в файле myprot.fasta, в протеоме, содержащемся в файле proteom.fasta (всё в fasta-формате, BLAST других не понимает).

Придётся сначала проиндексировать ваш банк программой makeblastdb, подав ей на вход протеом (читайте makeblastdb -help)

Эта программа создаст несколько файлов, необходимых для поиска, в том числе тот самый индекс якорей (сразу для всех допустимых длин слов)

После этого можно искать программой blastp, указав ей имя файла с запросом и название проиндексированного банка
(читайте blastp -help, нужные опции: -query, -db, -out)

Standalone BLAST

Впрочем, можно использовать BLAST и для обычного локального выравнивания двух последовательностей, безо всякой индексации:

- blastp -query seq1.fasta -subject seq2.fasta -out result.blastp

Но имейте в виду, что BLAST и в таком варианте не гарантирует оптимального выравнивания (это эвристический алгоритм)! Зато можно быстро выровнять очень длинные последовательности (команде water может не хватить памяти) и получить не одно, а много локальных выравниваний.

(На самом деле в этом варианте BLAST «на ходу» индексирует вторую последовательность)

BLAST: варианты формата выходного файла

```
-outfmt <String>
  alignment view options:
    0 = Pairwise,
    1 = Query-anchored showing identities,
    2 = Query-anchored no identities,
    3 = Flat query-anchored showing identities,
    4 = Flat query-anchored no identities,
    5 = BLAST XML,
    6 = Tabular,
    7 = Tabular with comment lines,
    8 = Seqalign (Text ASN.1),
    9 = Seqalign (Binary ASN.1),
   10 = Comma-separated values,
   11 = BLAST archive (ASN.1),
   12 = Seqalign (JSON),
   13 = Multiple-file BLAST JSON,
   14 = Multiple-file BLAST XML2,
   15 = Single-file BLAST JSON,
   16 = Single-file BLAST XML2,
   18 = Organism Report
```

0–4 — чтобы смотреть глазами
5–12 — чтобы парсить программами.
6, 7 и 10 можно импортировать в электронные таблицы

Спасибо за внимание!