Análise de significância de alinhamentos

Análise de significância de um alinhamento

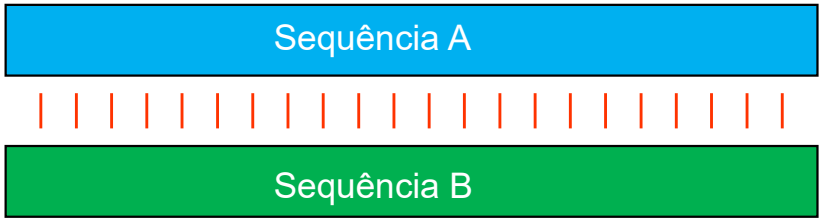
Tão importante como escolher o método de *scoring* ou encontrar o alinhamento que maximiza o score é saber avaliar a *significância estatística* do alinhamento obtido.

Como se compara o score obtido no alinhamento com o score obtido alinhando duas sequências não-relacionadas ?

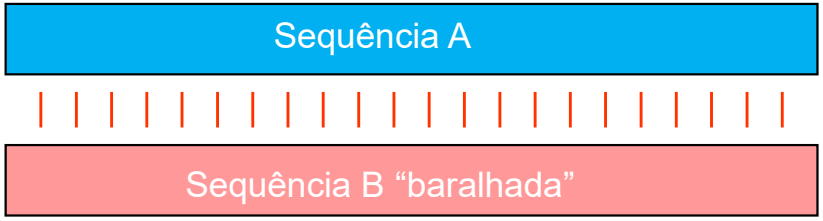
OU

Qual a probabilidade de obter um score idêntico ao obtido ao alinhar duas sequências aleatórias ?

Análise de significância de um alinhamento



Score = X



Score = Y

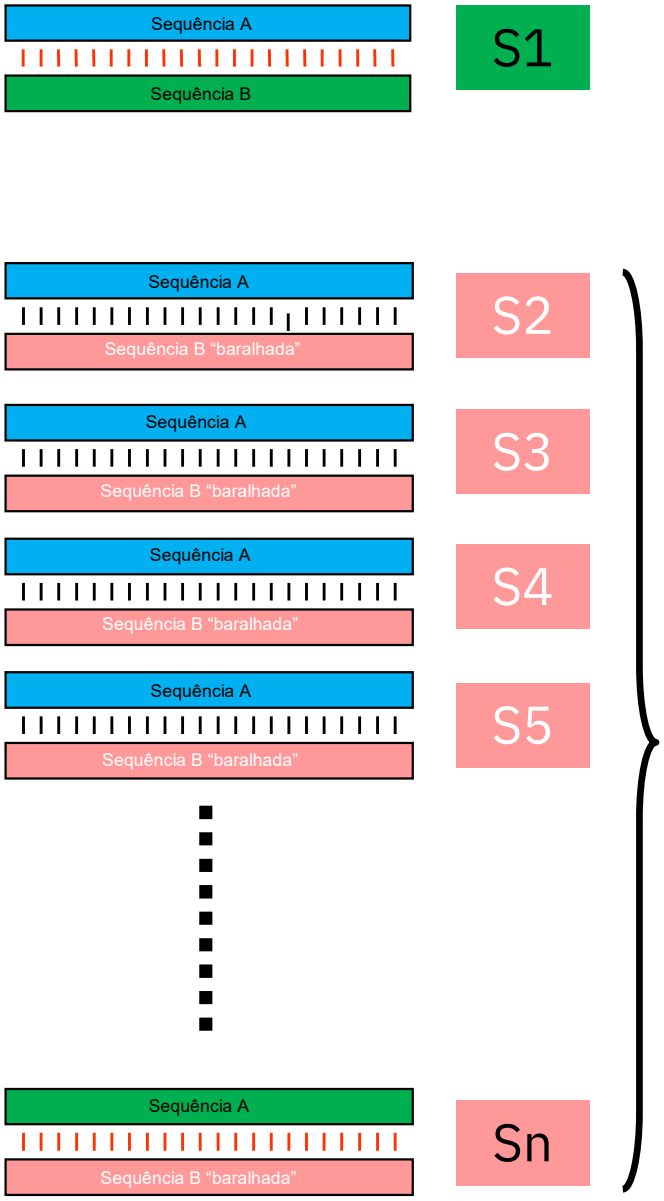
Para duas sequências relacionadas, esperamos que o score do alinhamento original seja superioer ao score do alinhamento "bralhado", ou seja **X > Y**

Ao "baralhar" a sequência permutando os aminoácidos, mantemos a percentagem de composição.

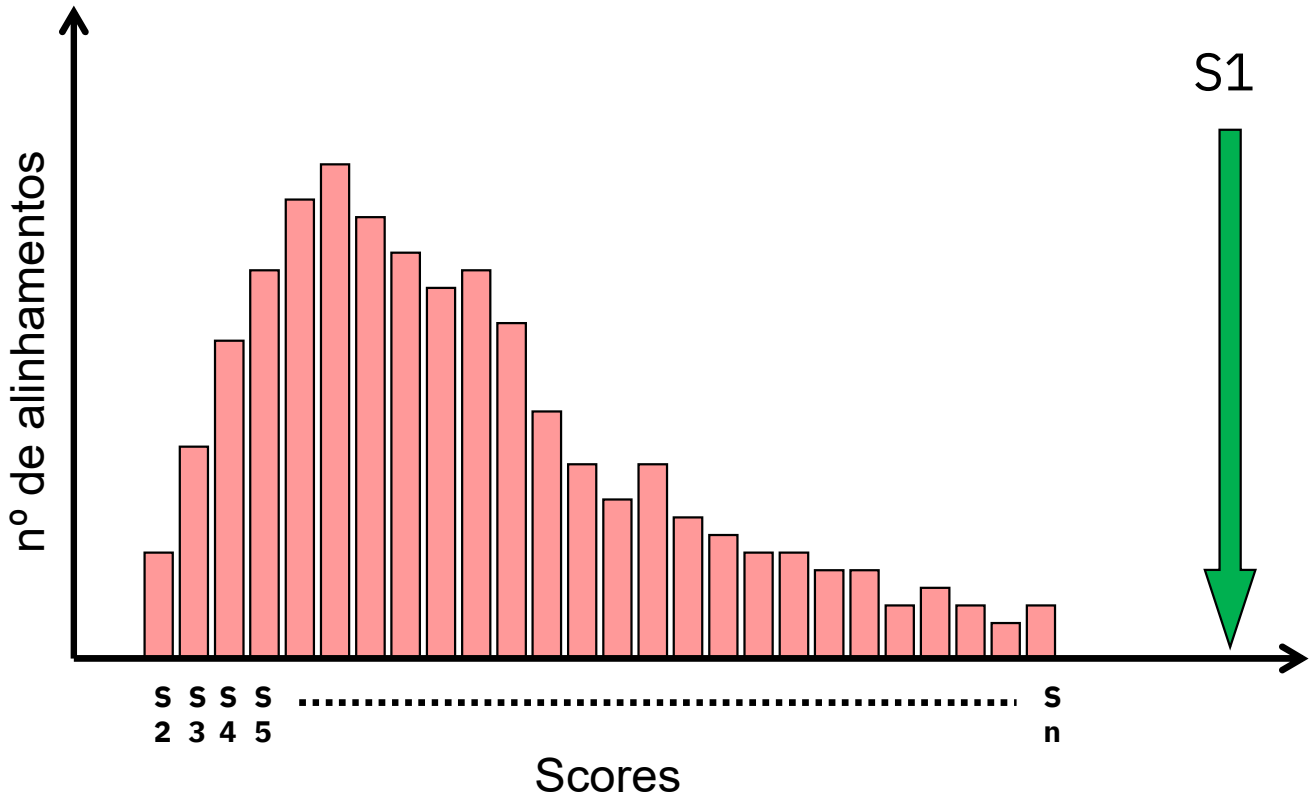
A sequência deve ser baralhada muitas vezes e o alinhamento repetido, para obter uma *distribuição de scores.*

Sequências relacionadas

Scores:



O score S1 para o alinhamento das duas sequências encontra-se distante do intervalo de valores prováveis para um alinhamento aleatório



```
SeqA -  MV-LSPADKTNVKAAWGKVGAHAGEYGAEALERMFLSFPTTKTYFPHF-DLSHGSAQVKGHG
SeqB -  MVHLTPEEKSAVTALWGKV--NVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPK
```

Score = 129, id = 40%

```
SeqA -  MVLSPADKTNVKAAWGKVGAHAGEYGAEALERMFLSF-PTTKTYFPH-FDLSHGSAQVK----GHG
SeqB -  RLL--VSKNSV----NLVGTETEVGGWSPVEQLVTAFRPKTMHFEGGWLAVAAGDDKVELMDPFYP
```

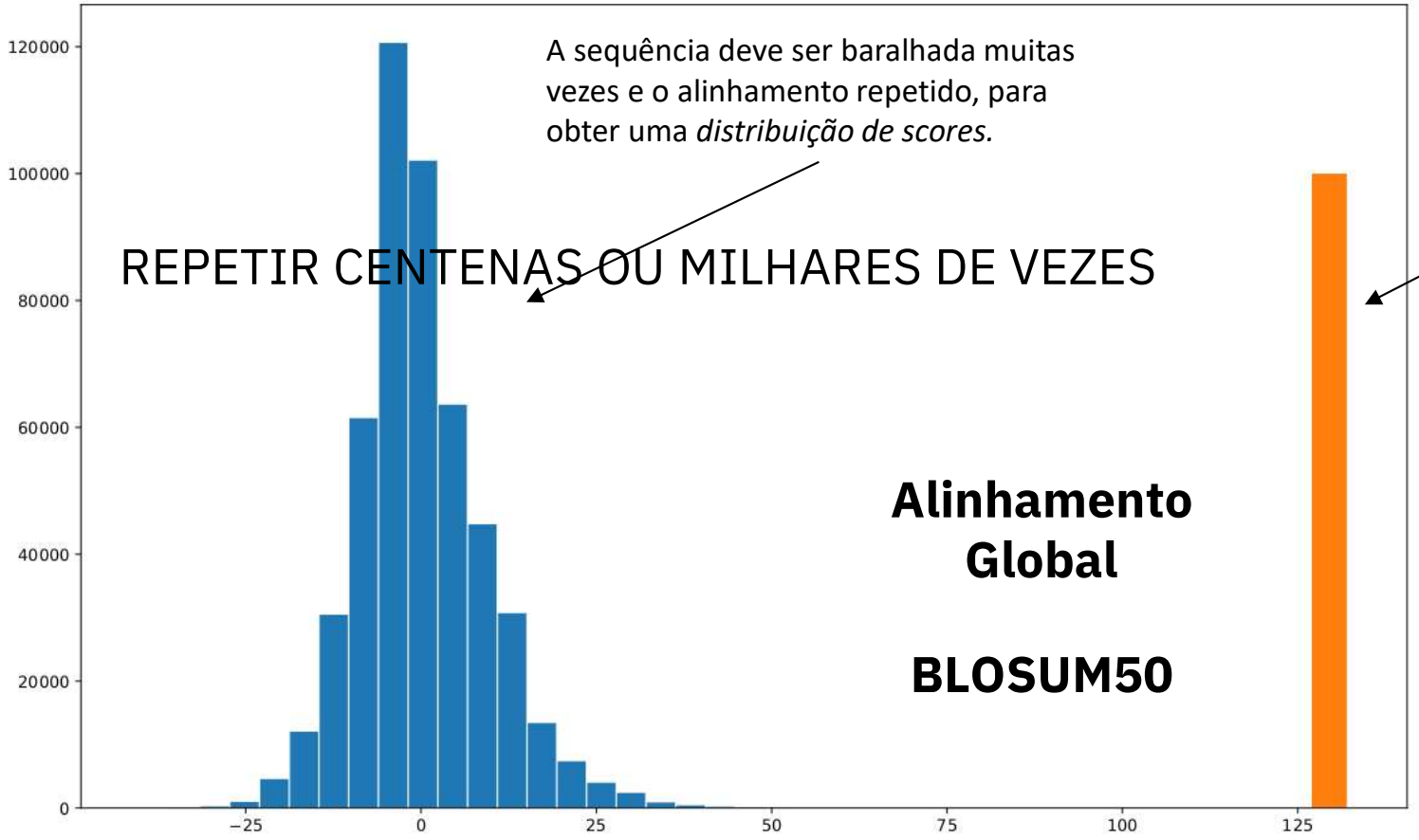
Score = 1

```
SeqA -  MVLSPADKTNVKAAWGKVGAHAGE-YGAEALERMFLSFPTTKT-------------YFPHFDLSHGSAQVKGH-G
SeqB -  ---GPWDAFTLADVTYFHGEKLGENVGLEPMSKMNPG-PVVQTADETWSLELVGAVVF----------LRSKVR
```

Score = -12

```
SeqA -  MVLSPADKTNVKAAWGKVGAH---AGEYGAEALERMFLSFPTTKTYF---PHFDLSHGSAQVKGHG--------
SeqB -  ---LPSYRS--FRMWGSLEPNDVVAGT--PTGLE-----WHELKTVFATGP--DLFDAKQNVEGVGVVKLEAVM
```

Score = 8



```
SeqA -  LSPADKTNVKAAWGKVGAHAGEYGAEALERMFLSFPTTKTYFPHF-DLS
SeqB -  LTPEEKSAVTALWGKV--NVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGDLS
```

Score = 95, id = 44%

```
SeqA -  AEALERMFLS-FPTTKTYFP-HFDLSHGSAQVK
SeqB -  AAPLDVAFLGPVPVSPLFMDGHLEVSTEEWDVK
```

Score = 18

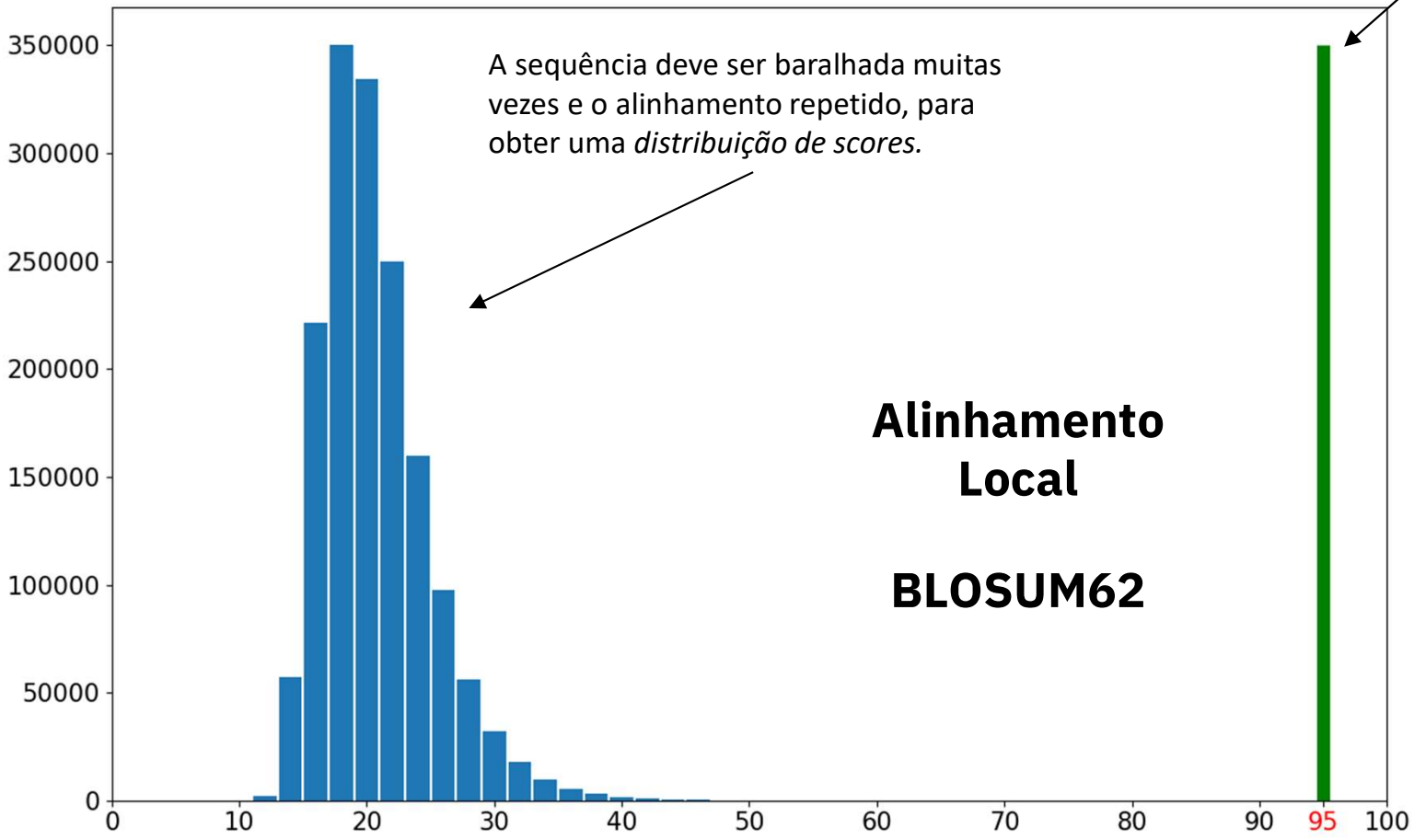
```
SeqA -  ERMFLSFPTTKTYFP—HFDLSHGSAQVKGH
SeqB -  KRQNSSVDTATTGFPVLPWFVKEGLAEVVGH
```

Score = 34

```
SeqA -  GAHAGEYG-AEALERMFLSFPTTKTYFPHFDLSHGSAQ
SeqB -  GFTEGKTGMATWMSPVVVELAVTKLPFLFGDLVRGELE
```

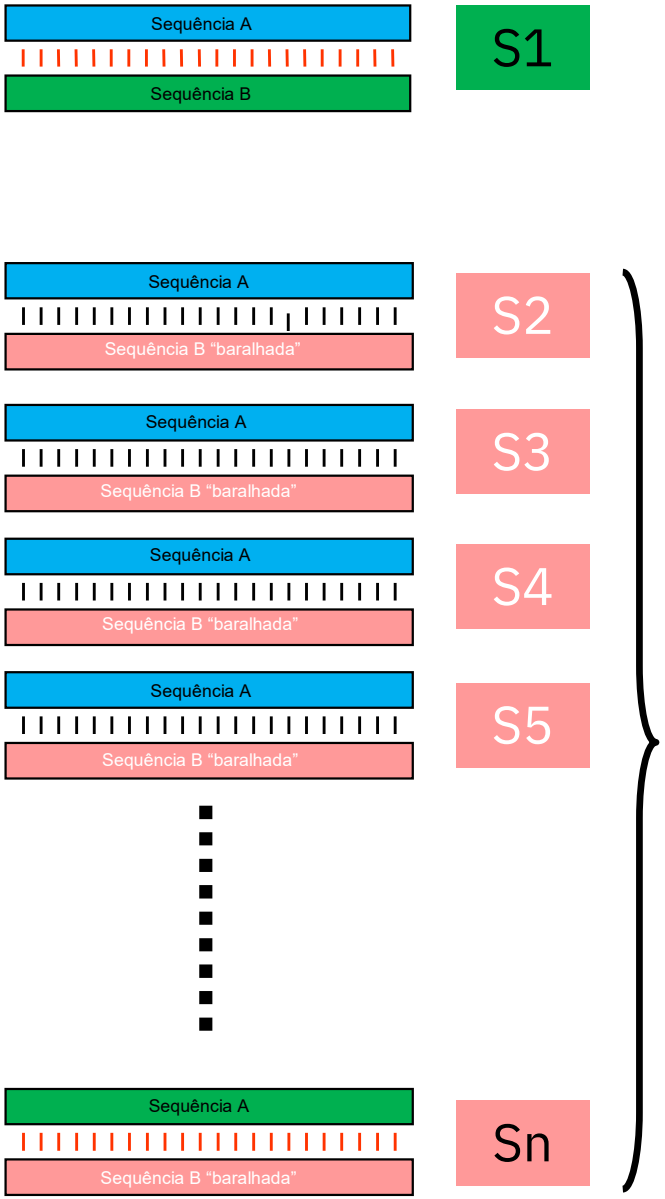
Score = 22

Score do alinhamento original

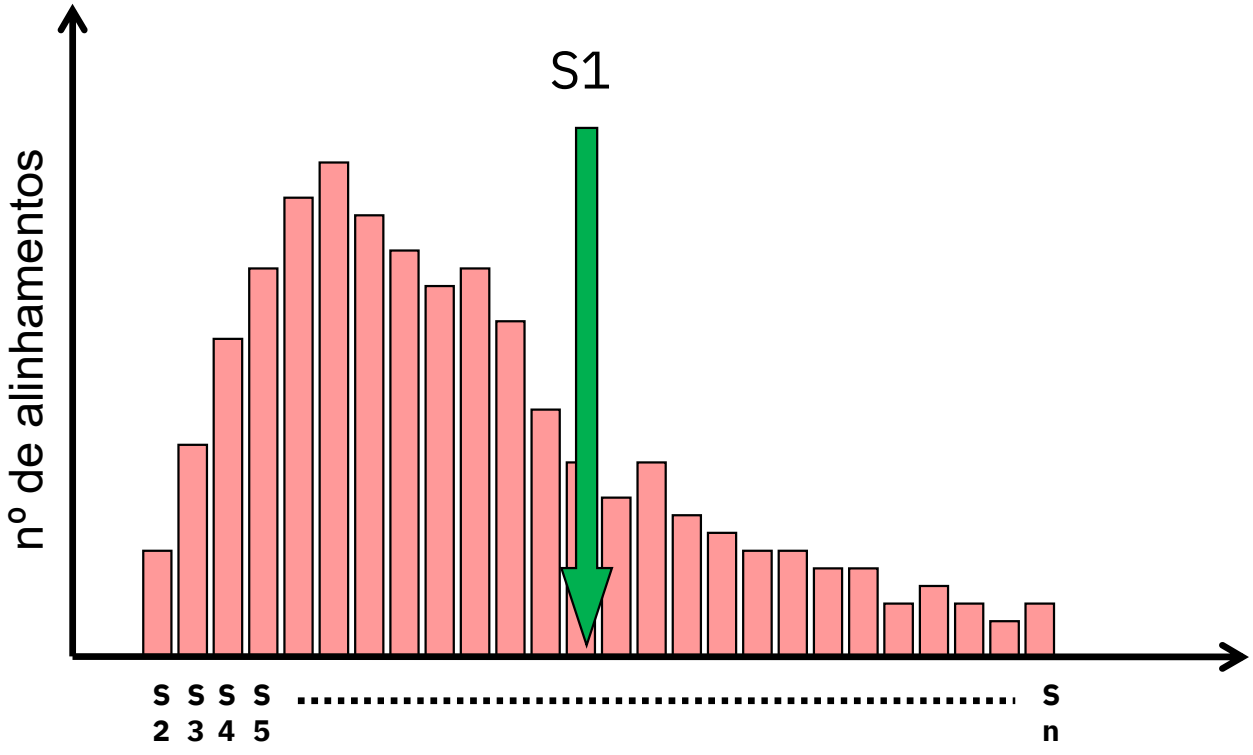


Sequências não-relacionadas

Scores:



O score S1 para o alinhamento das duas sequências encontra-se dentro do intervalo de valores prováveis para um alinhamento aleatório



```
SeqA -  MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVG-GEALGRLLVV-------YPWTQRFFESF------GDLST-PDAVMGNPK
SeqB -  MVH------------YKLMCFDVRGLGEVIRQLFYLGDVSFEDFRVSREEFKSLKSNLPSGQLPVLEIDGVM---
```

Score = 3
id = 19%

```
SeqA -  MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRF--FESFGDLSTPDAV--MGNP--K
SeqB -  ------DSKGSEFCLYSVMGRLEFFEQVLMDDLYLMKSGDRFRVGVSNEKLIPPHQVRLEGVIFLV
```

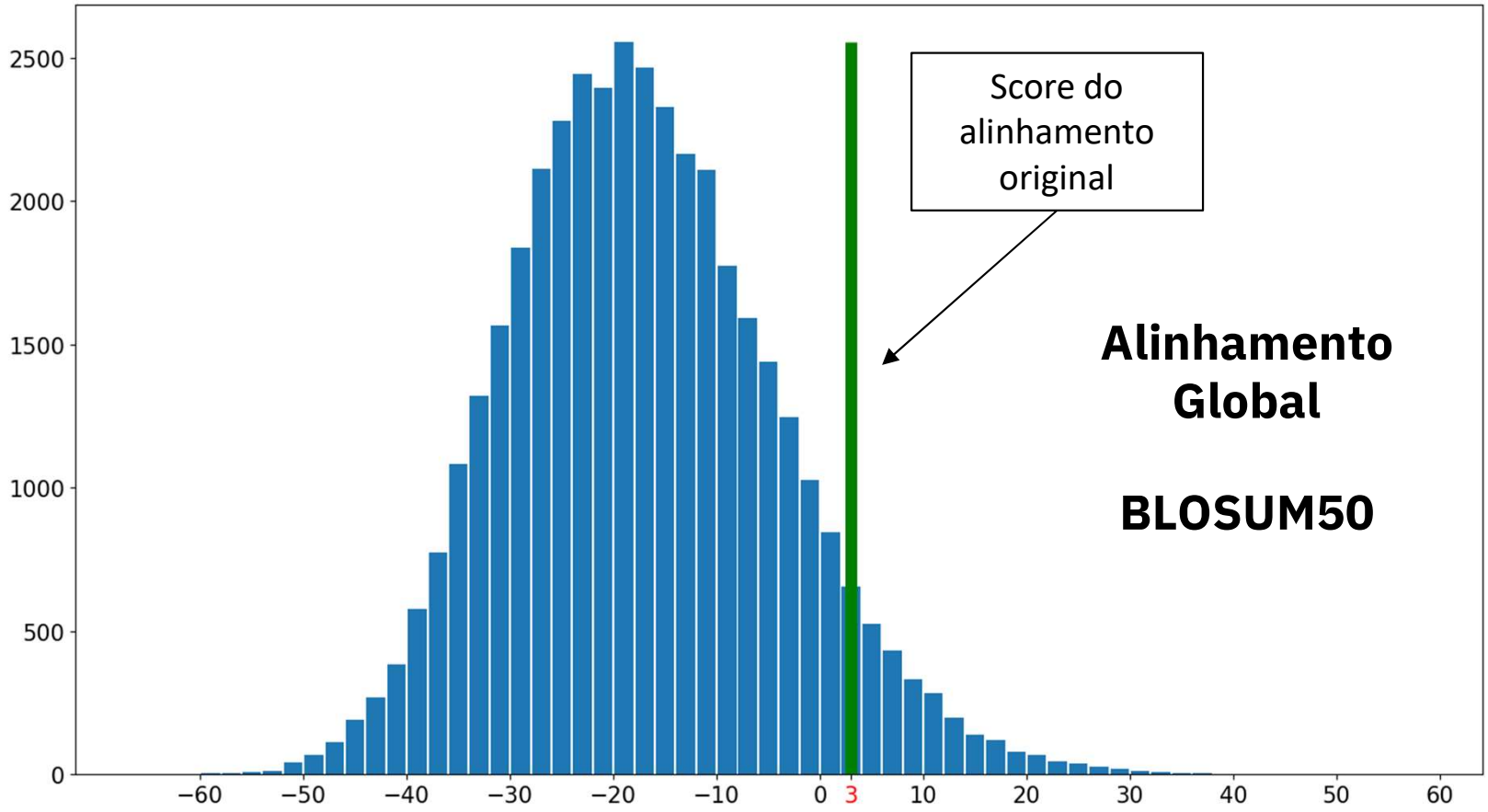
Score = -38

```
SeqA -  MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGE-----ALGRLLVVYPWTQRFFESFGDLSTPDAV-MGNPK
SeqB -  M-DLSGQEPN-MCILYGMV-LSFVGSELVKLIFFGEKLRVVP---RLHEGERSFVQKDRLDVYSDF
```

Score = 13

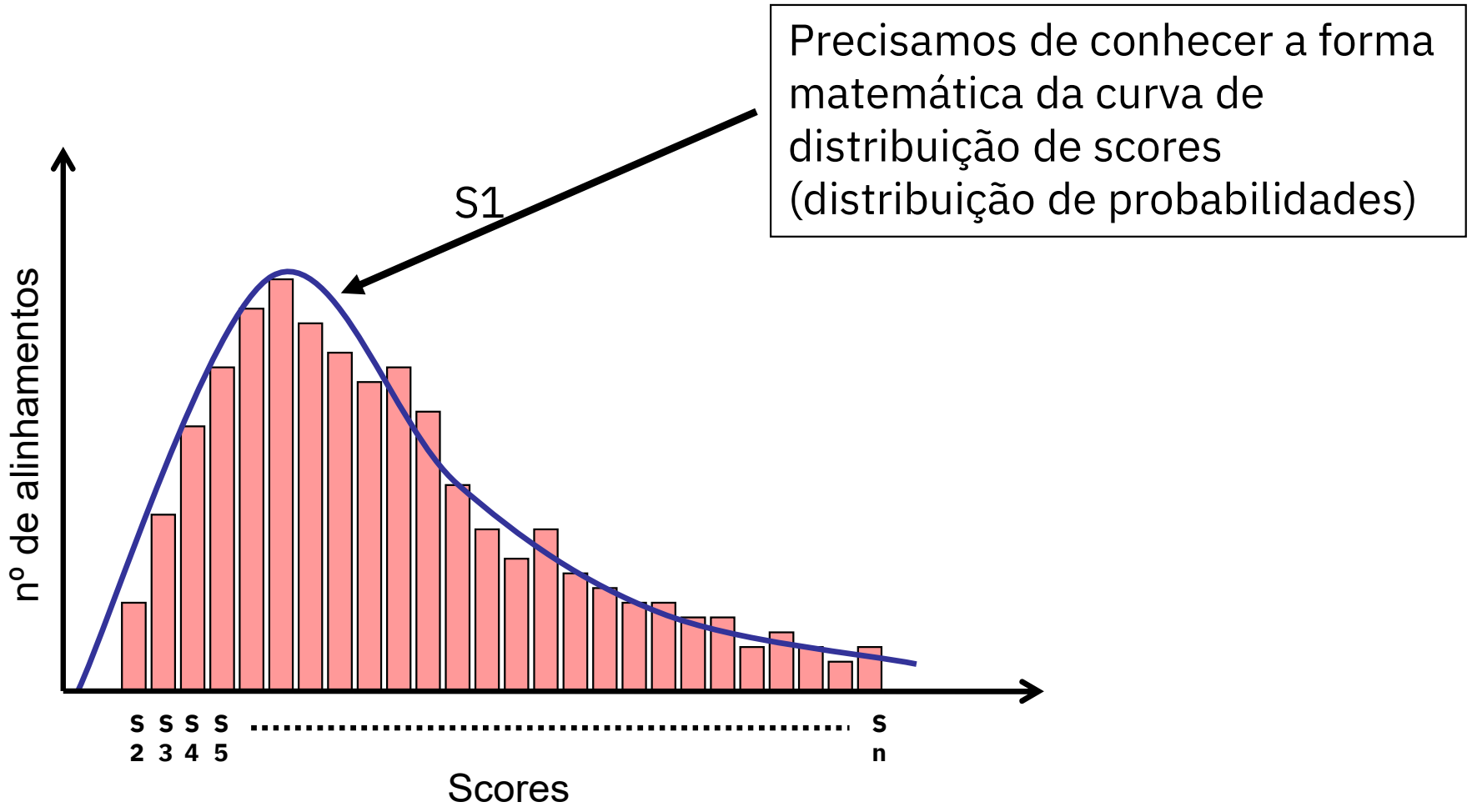
```
SeqA -  -MVHLTPEEKSAV--------TALWGK-VNVDEVG-----GEALGRL-LVVYPWTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPK
SeqB -  PMEEDSGQRRSGMFFPDGYLSSCIFKKSVDVLEQGVDVMFVENLGFLELVVY----------------KLIRLHLR
```

Score = -14



Como calcular a probabilidade obter um dado score ?

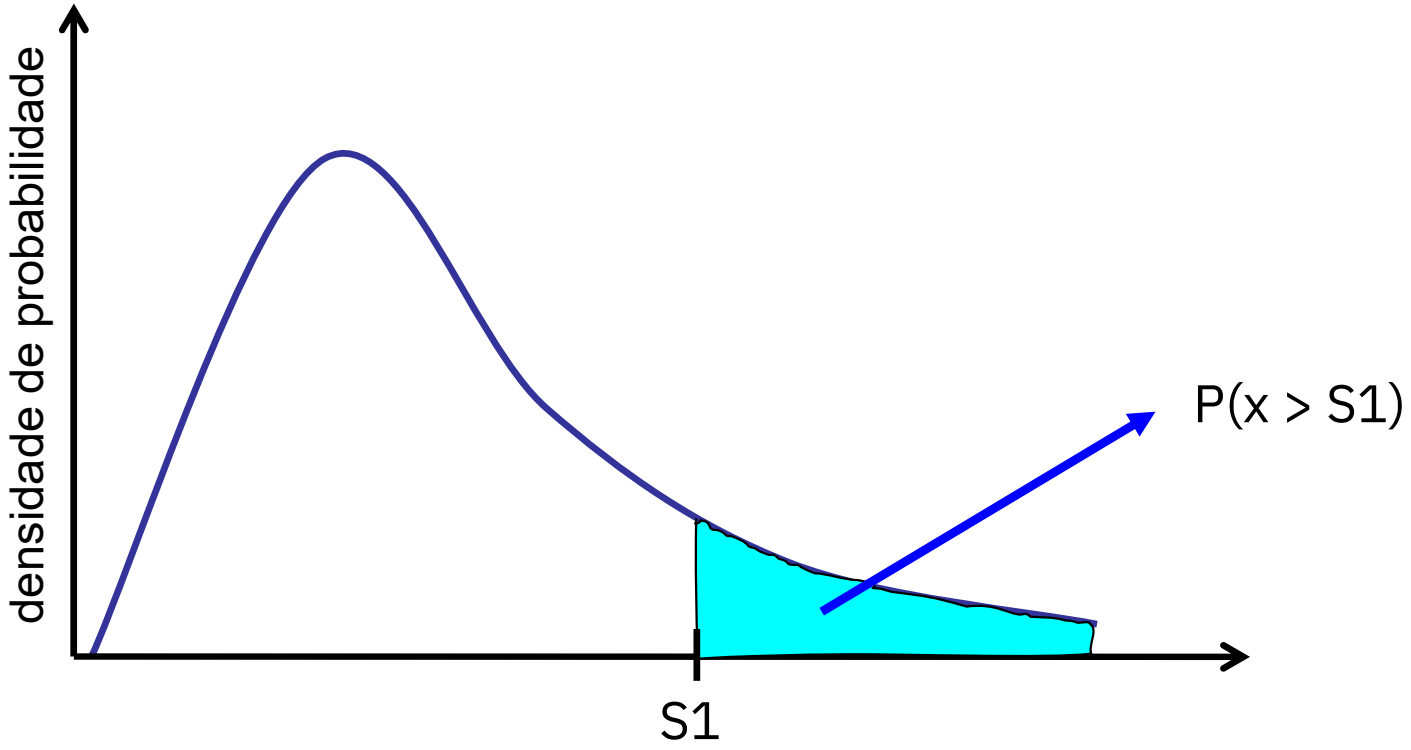
•Para poder quantificar a significância estatística de um dado alinhamento, precisamos de calcular a probabilidade de obter um determinado *score* num alinhamento aleatório.



A probabilidade é obtida a partir da curva de distribuição

•A probabilidade de obter um score **x** igual ou superior a **S1** será dada pela área debaixo da curva de densidade de probabilidade **entre S1 e +∞**

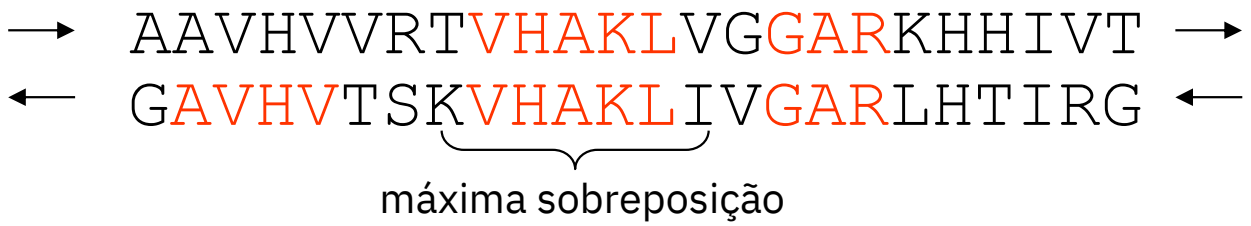
• O histograma com a distribuição de scores tem que ser normalizado para que lhe possa ser ajustada uma densidade de probabilidade (a probabilidade de obter um score **s** tal que **-∞<s <+∞** tem que ser =1)



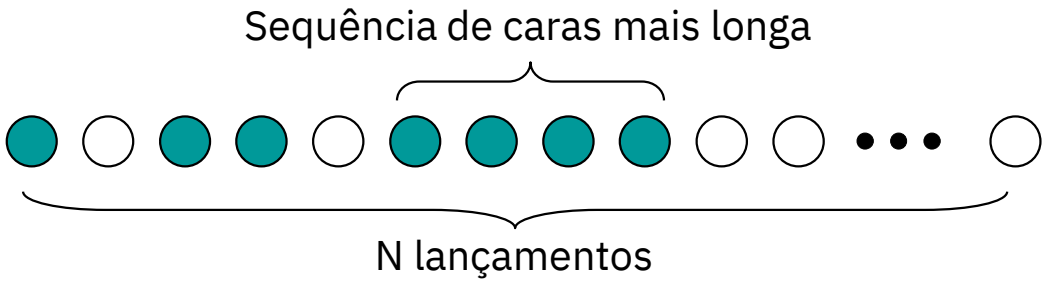
Qual a curva de distribuição ?

- Ainda não existe um tratamento completamente geral para o problema estatístico do alinhamento de sequências
- O problema pode ser formulado de forma rigorosa para o caso do alinhamento local sem gaps
- As curvas de distribuição obtidas neste caso são aplicadas de forma empírica a situações mais complexas, como seja o alinhamento local com gaps ou o alinhamento global
- A distribuição de scores não é dada por uma distribuição normal (Gaussiana), mas sim por uma distribuição de valor extremo (Gumbel)

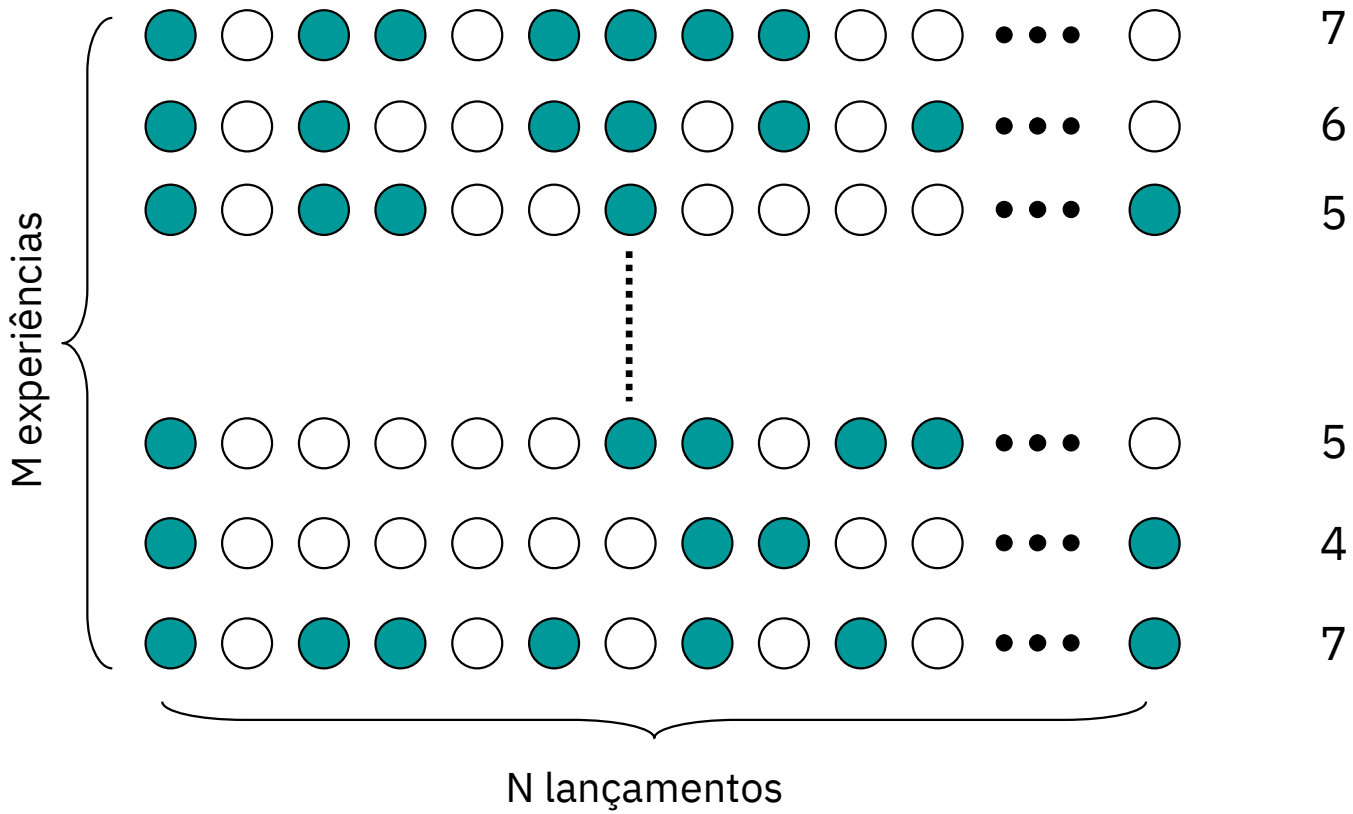
O alinhamento local sem gaps pode considerar-se como a busca da subsequência mais longa entre duas sequências:



Para sequências aleatórias, pode mostrar-se que este problema segue uma distribuição de probabilidade semelhante à do seguinte problema: sequência de caras *mais longa* num conjunto de *n* lançamentos de uma moeda.

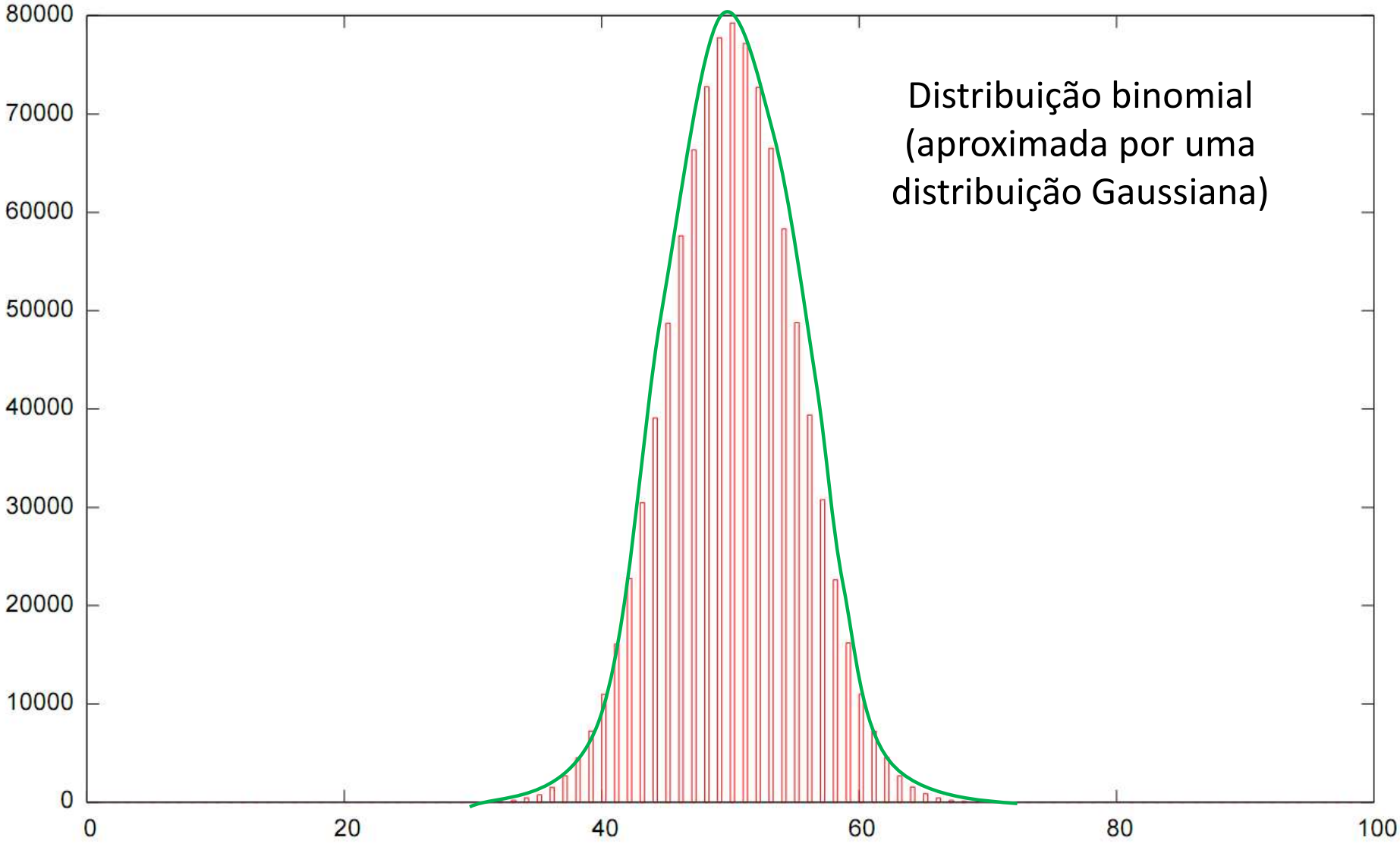


Distribuição do número total de caras

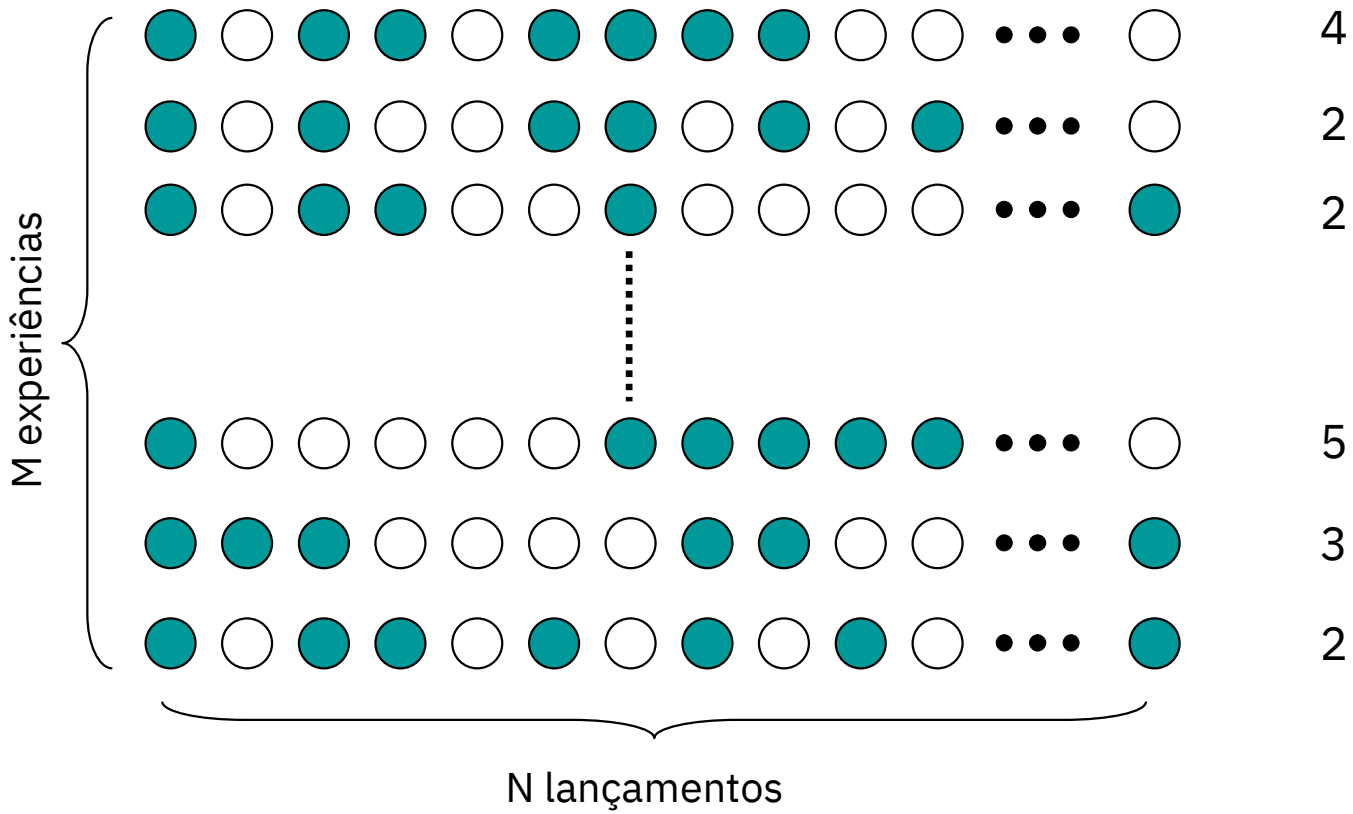


Consideremos M repetições dos N lançamentos de uma moeda, contando em cada uma das vezes o número de caras obtido.

Distribuição do número total de caras

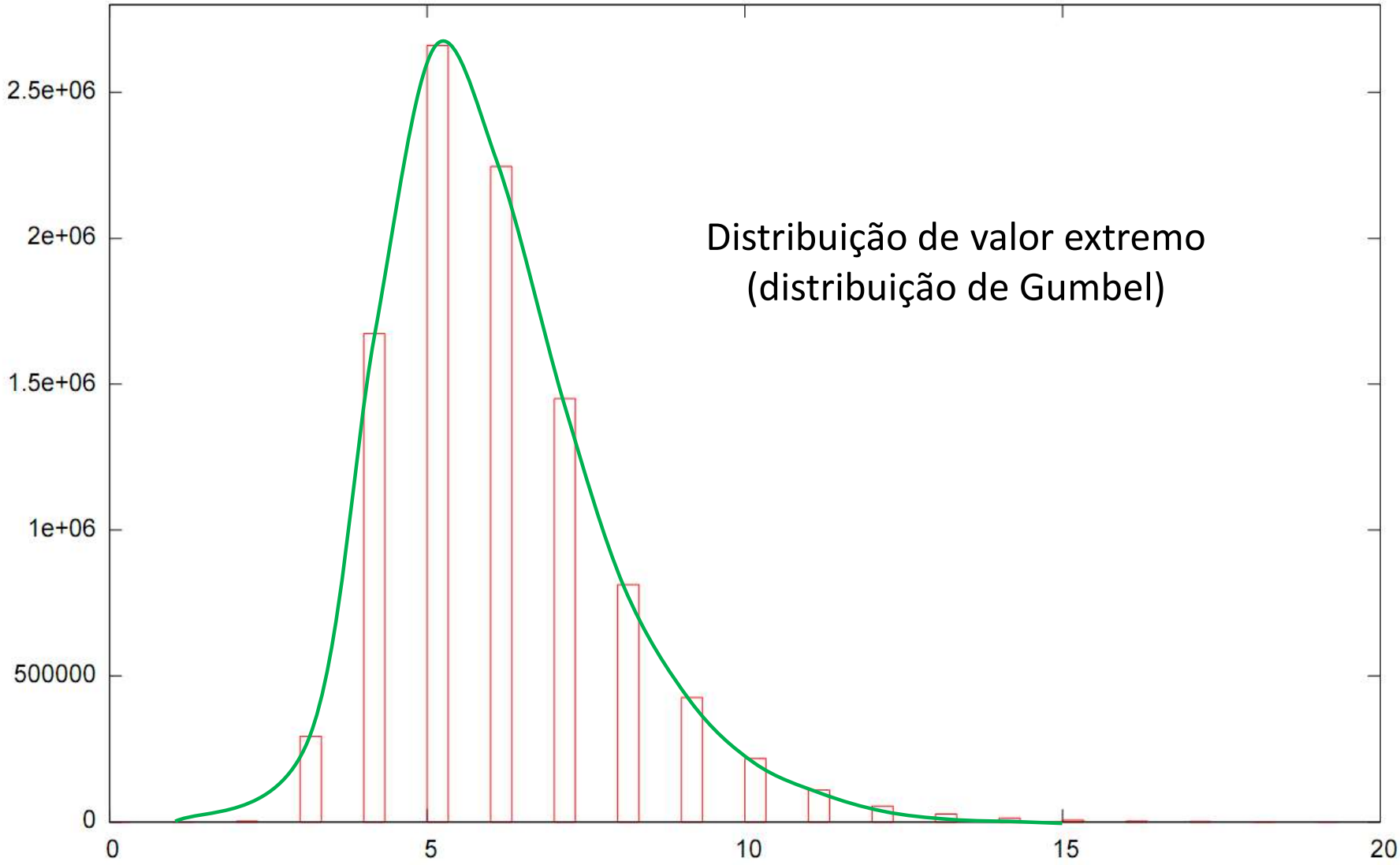


Distribuição da sequência mais longa de caras



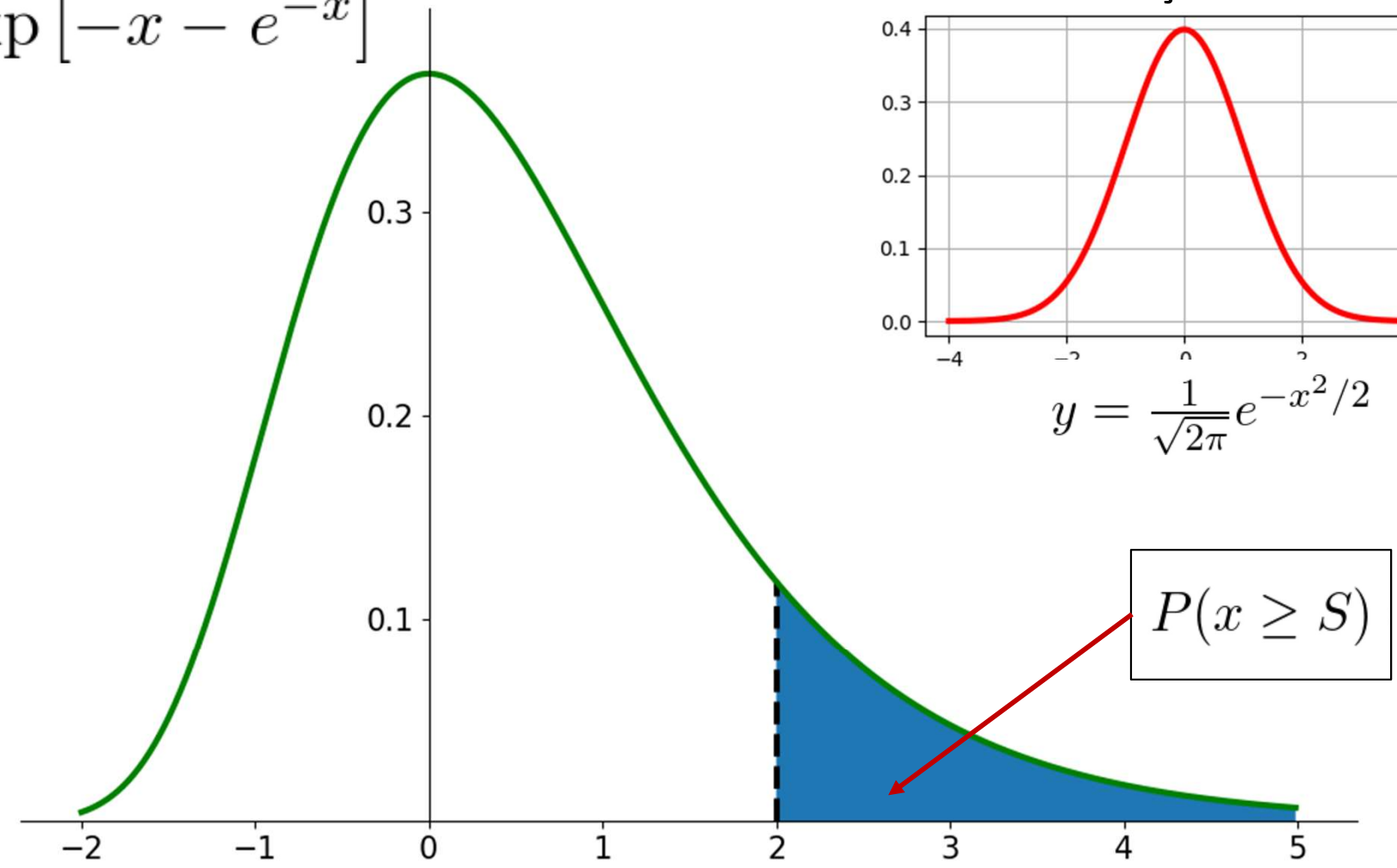
Consideremos M repetições dos N lançamentos de uma moeda, contando em cada uma das vezes o número de caras obtido.

Distribuição da sequência mais longa de caras



Distribuição de valor extremo (Gumbel)

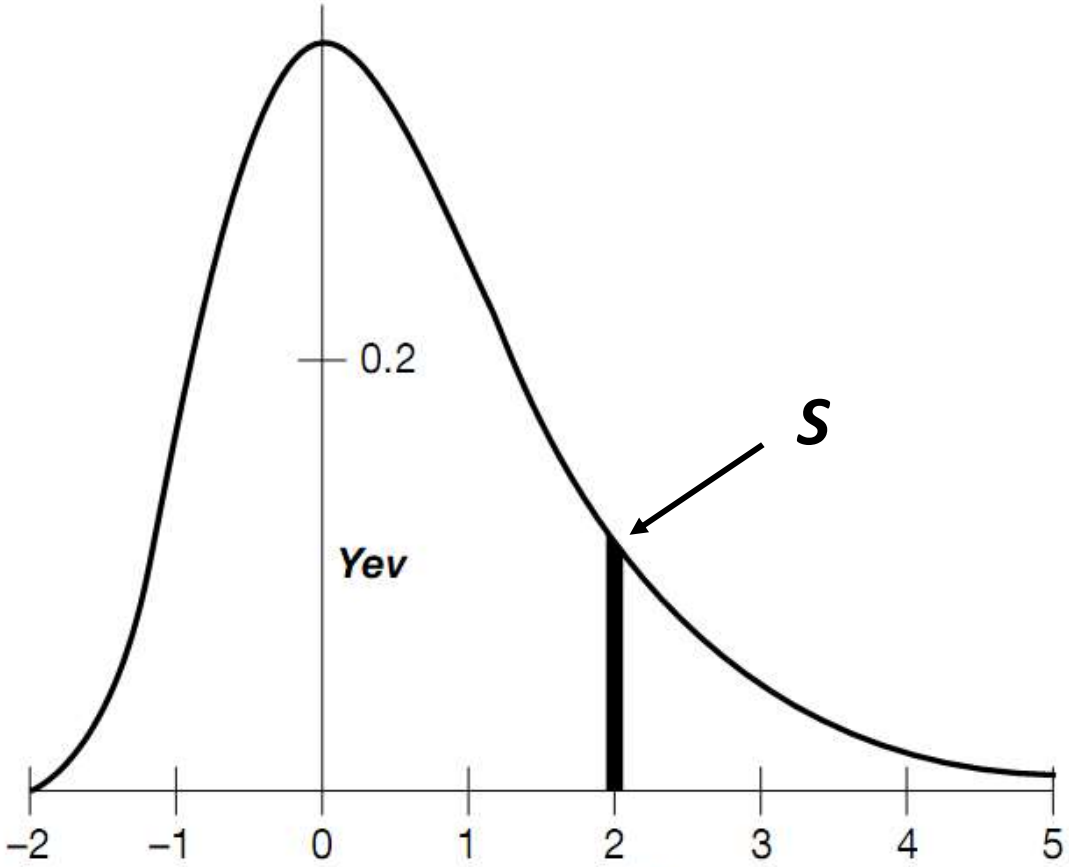
$$y = \exp\left[-x - e^{-x}\right]$$



Distribuição Normal

$$y = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-x^2/2}$$

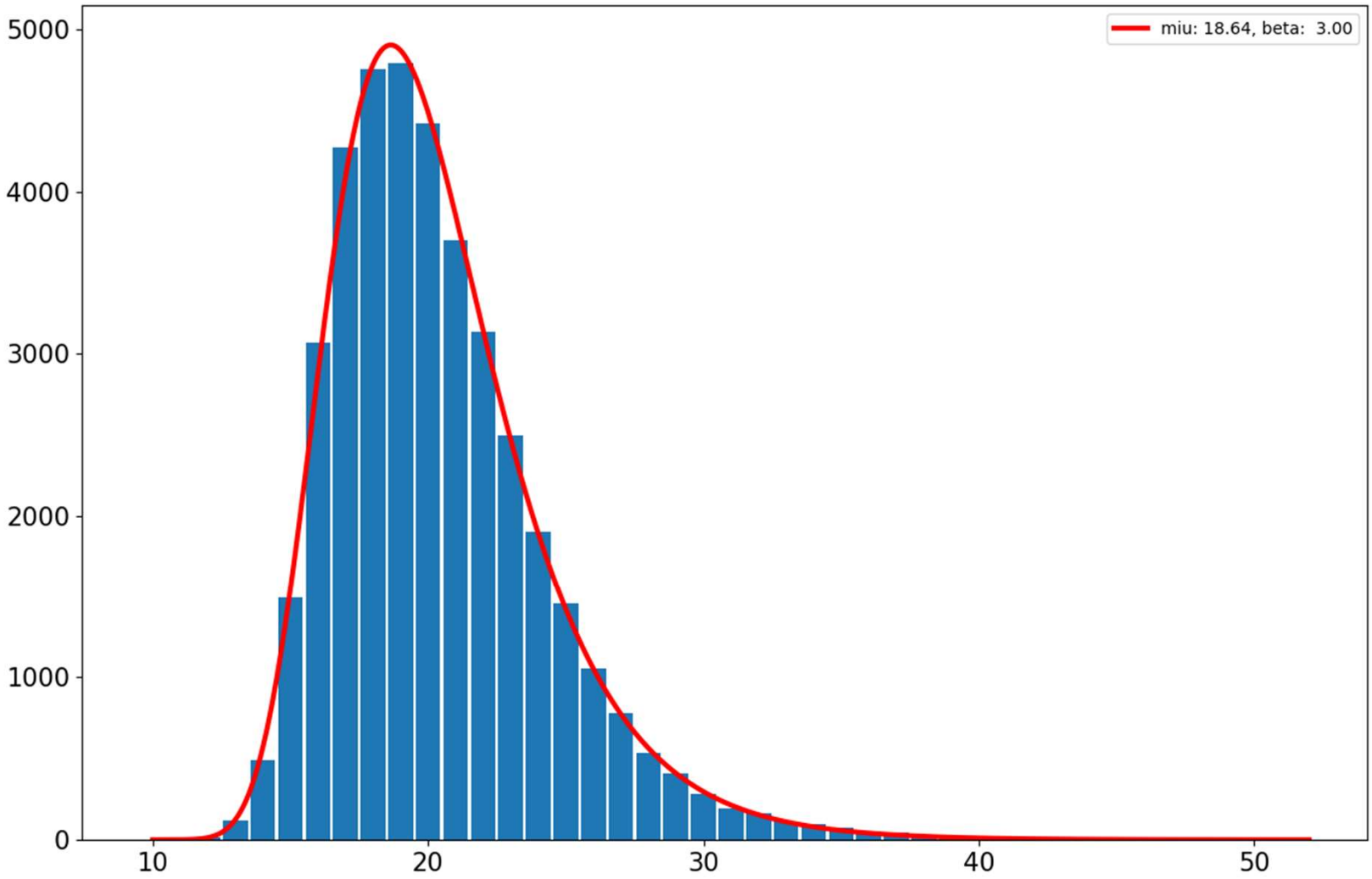
$$P(x \geq S) = 1 - \exp\left[-e^{\frac{S-\mu}{\beta}}\right]$$



$$P(x \geq S) = 1 - \exp(-Kmne^{-\lambda S})$$

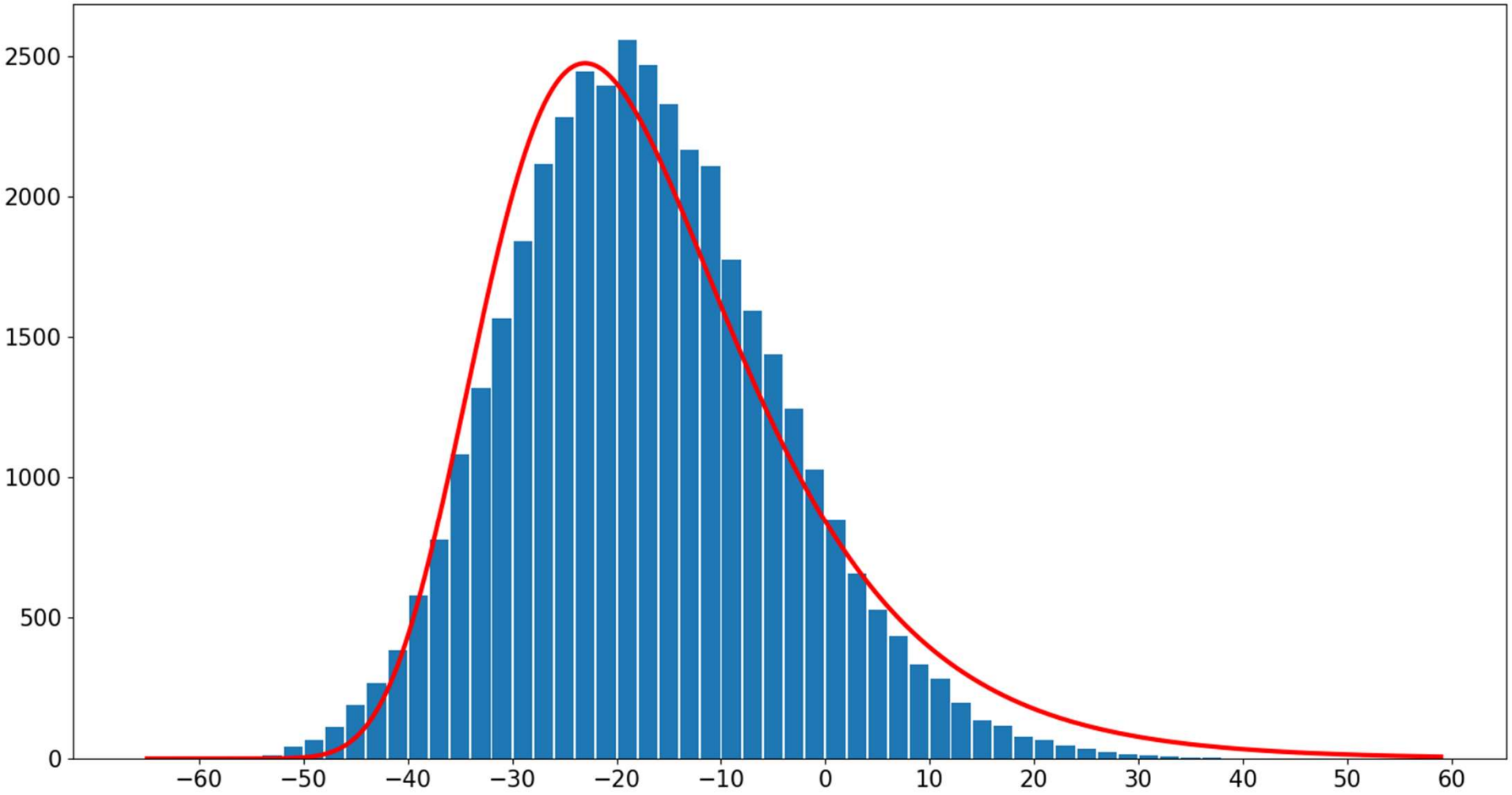
Em que **m** e **n** são os comprimentos das sequências, e **K** e λ são parâmetros que descrevem a distribuição e variam consoante a matriz e o esquema de "gap penalty" usados e também com o comprimento das duas sequências.

Distribuição de valor extremo: alinhamentos locais com gaps



A distribuição de scores aleatórios ajusta-se perfeitamente a uma distribuição de valor extremo com os valores **miu** e **beta** indicados.

Distribuição de valor extremo: alinhamentos globais com gaps



A distribuição de scores aleatórios não segue uma curva de valor extremo…

- **P-value**
  É a probabilidade de encontrar ao menos um alinhamento aleatório com score >= S, dada por:

$$P(s \geq S) = 1 - \exp(-Kmne^{-\lambda S})$$

- **E-value**
  corresponde ao número esperado de alinhamentos aleatórios capazes de produzir um score *pelo menos* igual ao score S do alinhamento original:

$$E = L \times P(s \geq S)$$

em que L é o número total de alinhamentos gerados.

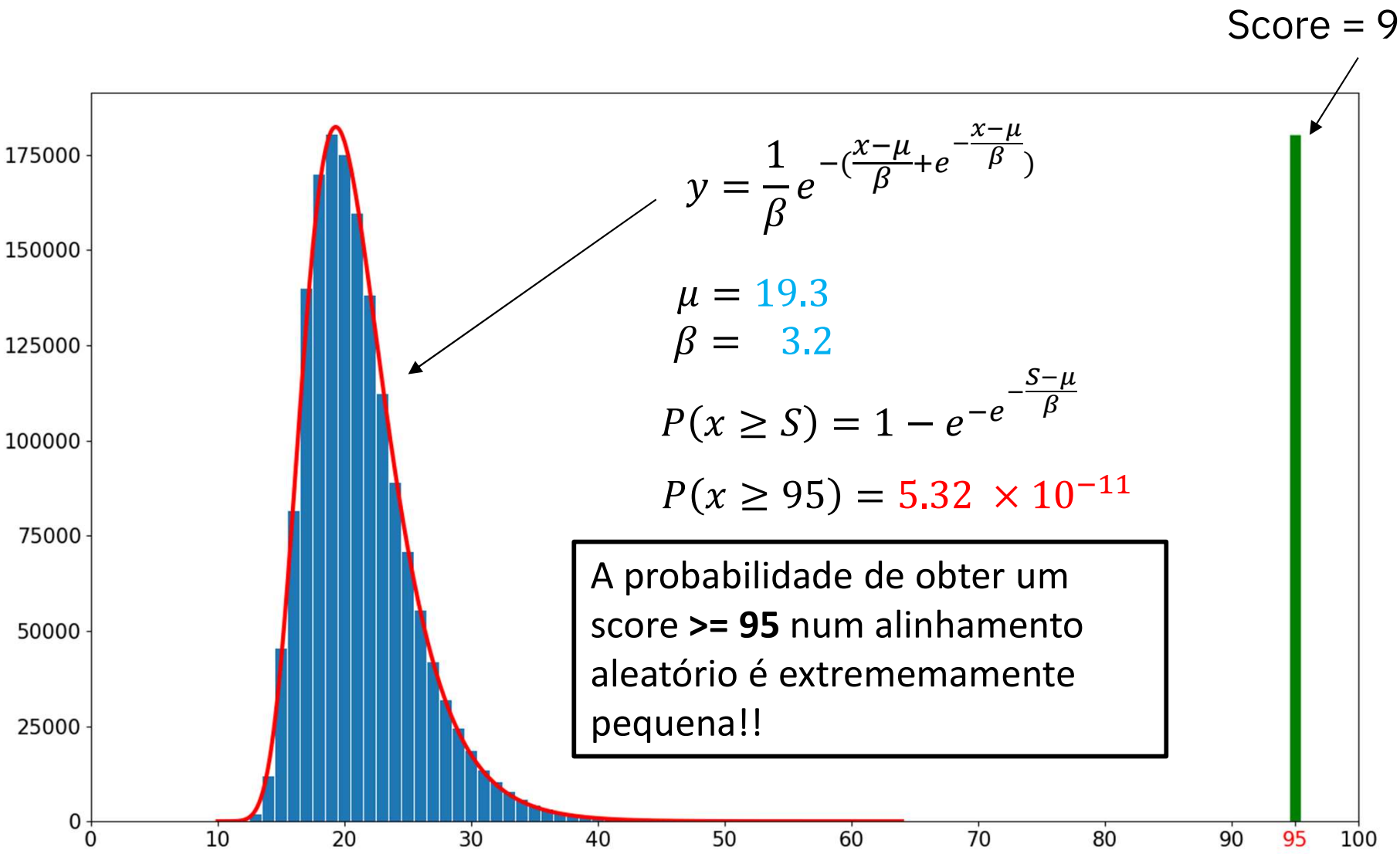
- **Bit scores**
  Os bit scores são obtidos normalizando os valores de S de forma a torná-los independentes dos valores de K e λ,

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

ficando os P values, para valores pequenos, simplesmente dados por:

$$P = mn2^{-S'}$$

Exemplo: probabilidade de score num alinhamento aleatório



Ajuste de uma curva de distribuição de valor extremo (linha vermelha) a um conjunto de scores de alinhamentos aleatórios (histograma, a azul), sendo o score do alinhamento não-aleatório **igual 95**

Z-scores

Define-se como **z score** a distância de um determinado valor relativamente à **média** da distribuição, expressa em unidades de **desvio padrão**.

Para o caso da distribuição de valor extremo, a probabilidade de obter um valor Z superior a um determinado valor z é dada por:

$$P(Z>z) = 1 - \exp(-e^{-1.285z-0.5772})$$

Parâmetros da distribuição de valor extremo

Scoring matrix	Gap opening penalty[b]	Gap extension penalty[b]	*K*	λ	*H*[c]
BLOSUM50	∞[a]	0-∞	0.232	0.11	0.34
BLOSUM50	15	8–15	0.09	0.222	0.31
BLOSUM50	11	8–11	0.05	0.197	0.21
BLOSUM50	11	1	—	—	—
BLOSUM62	∞[a]	0-∞	0.318	0.13	0.40
BLOSUM62	12	3–12	0.1	0.305	0.38
BLOSUM62	8	7–8	0.06	0.270	0.25
BLOSUM62	7	1	—	—	—
PAM250	∞[a]	0-∞	0.229	0.09	0.23
PAM250	15	5–15	0.06	0.215	0.20
PAM250	10	8-10	0.031	0.175	0.11
PAM250	11	1	—	—	—

ch.EMBnet.org

Home | Services | Courses | Links | Contacts

PRSS3 - evaluates the significance of a protein sequence alignment

Number of shuffles : 200 window size: 10

Scoring matrix : default

gap opening penalty: tension penalty: 2

First sequence title (optional):

Input sequence format

1st Query sequence: or ID or AC or GI (see above for valid formats)

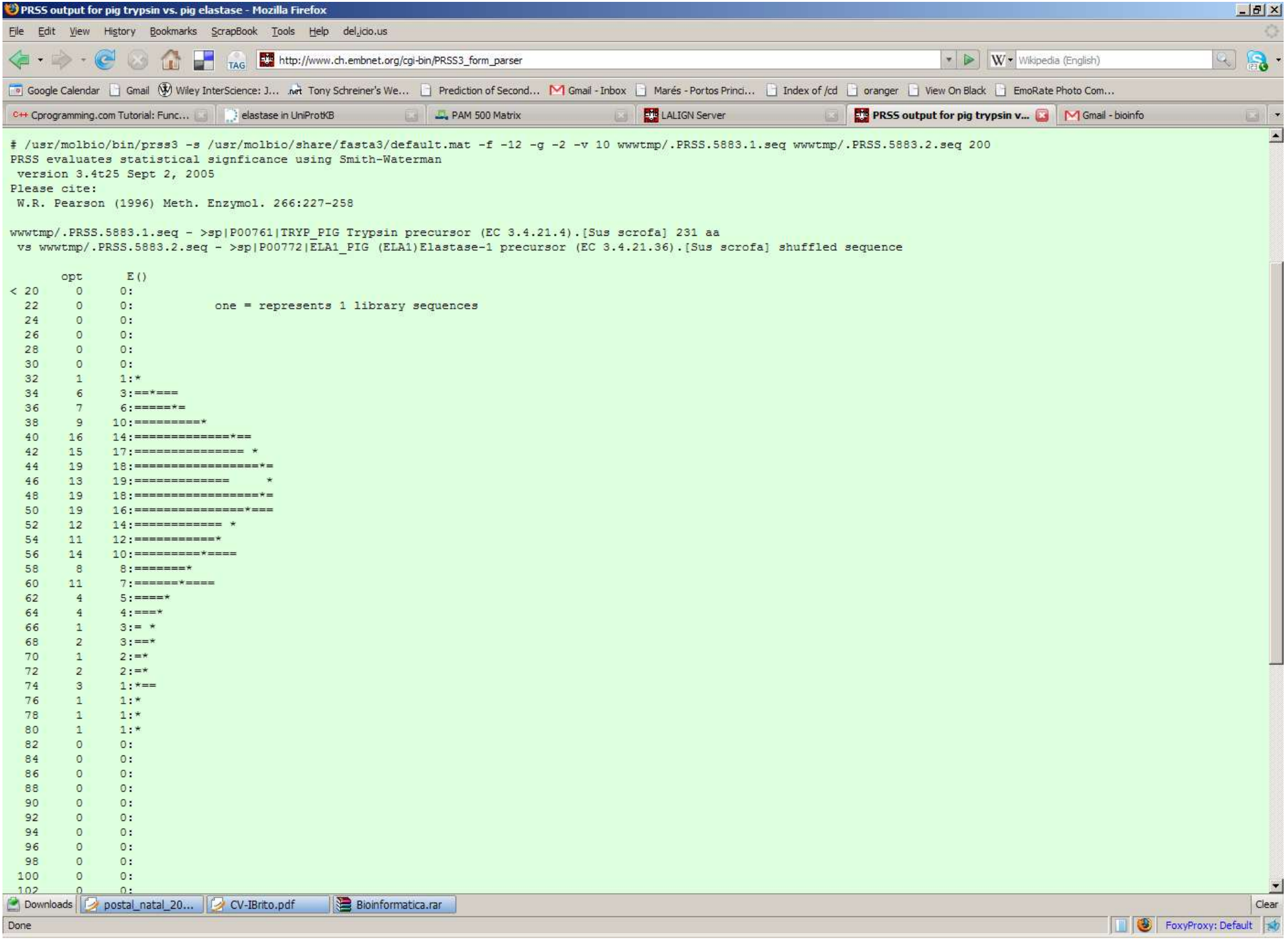
- blosum30
- blosum45
- blosum50
- blosum62
- blosum65
- blosum80
- blosum100
- dayhoff
- dna
- gonnet
- identity
- pam30
- pam40
- pam80
- pam120
- pam160
- pam200
- pam250
- pam400
- default

Second sequence title (optional):

Input sequence format: Plain Text

2nd Query sequence: or ID or AC or GI (see above for valid formats)

Run PRSS | Clear Input


PRSS output for pig trypsin vs. pig elastase - Mozilla Firefox
File Edit View History Bookmarks ScrapBook Tools Help del.icio.us
http://www.ch.embnet.org/cgi-bin/PRSS3_form_parser
Wikipedia (English)
Google Calendar Gmail Wiley InterScience: J... Tony Schreiner's We... Prediction of Second... Gmail - Inbox Marés - Portos Princi... Index of /cd oranger View On Black EmoRate Photo Com...
Cprogramming.com Tutorial: Func... elastase in UniProtKB PAM 500 Matrix LALIGN Server PRSS output for pig trypsin v... Gmail - bioinfo
/usr/molbio/bin/prss3 -s /usr/molbio/share/fasta3/default.mat -f -12 -g -2 -v 10 wwwtmp/.PRSS.5883.1.seq wwwtmp/.PRSS.5883.2.seq 200
PRSS evaluates statistical signficance using Smith-Waterman
version 3.4t25 Sept 2, 2005
Please cite:
W.R. Pearson (1996) Meth. Enzymol. 266:227-258
wwwtmp/.PRSS.5883.1.seq - >sp|P00761|TRYP_PIG Trypsin precursor (EC 3.4.21.4).[Sus scrofa] 231 aa
vs wwwtmp/.PRSS.5883.2.seq - >sp|P00772|ELA1_PIG (ELA1)Elastase-1 precursor (EC 3.4.21.36).[Sus scrofa] shuffled sequence
opt E()
< 20 0 0:
22 0 0: one = represents 1 library sequences
24 0 0:
26 0 0:
28 0 0:
30 0 0:
32 1 1:*
34 6 3:==*===
36 7 6:======*=
38 9 10:==========*
40 16 14:==============*==
42 15 17:================ *
44 19 18:==================*=
46 13 19:============= *
48 19 18:==================*=
50 19 16:================*===
52 12 14:============ *
54 11 12:===========*
56 14 10:==========*====
58 8 8:========*
60 11 7:======*====
62 4 5:=====*
64 4 4:====*
66 1 3:= *
68 2 3:==*
70 1 2:=*
72 2 2:=*
74 3 1:*==
76 1 1:*
78 1 1:*
80 1 1:*
82 0 0:
84 0 0:
86 0 0:
88 0 0:
90 0 0:
92 0 0:
94 0 0:
96 0 0:
98 0 0:
100 0 0:
Downloads postal_natal_20... CV-IBrito.pdf Bioinformatica.rar
Clear
Done
FoxyProxy: Default

PRSS output for pig trypsin vs. pig elastase - Mozilla Firefox

File Edit View History Bookmarks ScrapBook Tools Help del.icio.us

http://www.ch.embnet.org/cgi-bin/PRSS3_form_parser

Google Calendar | Gmail | Wiley InterScience: J... | Tony Schreiner's We... | Prediction of Second... | Gmail - Inbox | Marés - Portos Princi... | Index of /cd | oranger | View On Black | EmoRate Photo Com...

Cprogramming.com Tutorial: Func... | elastase in UniProtKB | PAM 500 Matrix | LALIGN Server | PRSS output for pig trypsin v... | Gmail - bioinfo

```
  54    11    12:===========*
  56    14    10:==========*====
  58     8     8:=======*
  60    11     7:======*=====
  62     4     5:=====*
  64     4     4:====*
  66     1     3:= *
  68     2     3:==*
  70     1     2:=*
  72     2     2:=*
  74     3     1:*==
  76     1     1:*
  78     1     1:*
  80     1     1:*
  82     0     0:
  84     0     0:
  86     0     0:
  88     0     0:
  90     0     0:
  92     0     0:
  94     0     0:
  96     0     0:
  98     0     0:
 100     0     0:
 102     0     0:
 104     0     0:
 106     0     0:
 108     0     0:
 110     0     0:
 112     0     0:
 114     0     0:
 116     0     0:
 118     0     0:
>120     0     0:
  53200 residues in   200 sequences
 (shuffled, win: 10) MLE statistics: Lambda= 0.0690;  K=0.001178
 Kolmogorov-Smirnov  statistic: 0.0280 (N=25) at  60

 Smith-Waterman (3.40 March 2004) function [/usr/molbio/share/fasta3/default.mat matrix (15:-5)], open/ext: -12/-2
 Scan time:  0.290
The best scores are:                                      s-w bits E(200)
sp|P00772|ELA1_PIG (ELA1)Elastase-1 precursor (EC  ( 266)  535  63.0 1.4e-12


231 residues in 1 query   sequences
53200 residues in 200 library sequences
 Scomplib [34t25]
 start: Tue Jan  8 18:43:22 2008 done: Tue Jan  8 18:43:23 2008
 Scan time:  0.290 Display time:  0.000

Function used was PRSS [version 3.4t25 Sept 2, 2005]
```

Downloads | postal_natal_20... | CV-IBrito.pdf | Bioinformatica.rar | Clear

Done | FoxyProxy: Default