

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

Ю.Пеков, А.Алексеевский, С.Спирин

BLAST – 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.

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 белки заранее ничего не известно, то более информативным будет локальное выравнивание. Поэтому именно оно применяется при поиске в банках данных.

Protein BLAST: поиск гомологов данного белка в банке аминокислотных последовательностей

Алгоритмы

-blastp

-psi-blast

-phi-blast

Можно использовать:

- из командной строки
- через веб-интерфейс

Что подаётся на вход программе BLAST?

- Последовательность запроса
- Банк последовательностей
- Параметры:
 - параметры выравнивания: матрица аминокислотных замен, штрафы за гэпы;
 - параметры поиска: длина слова и другие (см. далее);
 - параметры выдачи: максимальное число находок, пороги на качество выравнивания, форма выдачи (обычная, табличная, формат ASN, ...)

Что выдает BLAST?

Выдача самой программы состоит из четырёх частей:

- заголовок с описанием программы, банка, запроса (query);
- список находок;
- выравнивания запроса с находками;
- несколько строк со статистическими показателями.

Веб-интерфейсы тем или иным способом перерабатывают выдачу программы. Раздел со статистикой обычно не показывается. Часто вставляется графическое изображение находок.

Выравнивание, выданное BLAST

Длина найденного белка

Length=129 Number of matches=1

Вес в битах

Вес

E-value

Score = 78.6 bits (192), Expect = 9e-15, Method: Compositional matrix adjust.
Identities = 34/73 (47%), Positives = 50/73 (68%), Gaps = 0/73 (0%)

```
Query 17 YRLEEVQKHNSQSTWIIVHHRIYDITKFLDEHPGGEEVLREQAGGDATENFEDVGHSTD 76
          Y  EEV +H          W+I++ ++Y+I+ ++DEHPGGEEV+ + AG DATE F+D+GHS +
Sbjct 11 YTHEEVAQHHTTHDDLWVILNGKVYNISNYIDHPGGEEVILDCAGTDATEAFDDIGHSDE 70
```

```
Query 77 ARALSETFIIGEL 89
          A  + E   IG L
Sbjct 71 AHEILEKLYIGNL 83
```

Число сходных
"букв"

Число символов гэпа

Число совпадений

Длина выравнивания

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

В выдаче BLAST E-value называется “Expect”

Чем **меньше** E-value, тем **выше** значимость находки.

E-value зависит от:

- веса выравнивания (чем больше вес, тем **меньше** E-value)
- размера банка (чем больше банк, тем больше E-value)
- длины запроса (чем длиннее запрос, тем больше E-value)
- параметров, используемых для вычисления веса.

Как посчитать E-value

Прямой способ — вычислительный эксперимент: перемешать банк (или запрос) очень много раз, каждый раз запуская BLAST, и посмотреть, сколько в среднем найдётся находок с весом выше данного.

Такой способ, естественно, не применяется :)

Как посчитать E-value

Имеется замечательная теорема (С.Карлина):

$$E\text{-value} = Kmn \cdot e^{-\lambda S}$$

S – Score (вес)

m – длина исходной последовательности

n – размер базы данных (суммарная длина всех последовательностей)

K и λ – две константы

Коэффициенты K и λ зависят от параметров вычисления веса, то есть матрицы и штрафов за гэпы.

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. Эта зависимость подобрана так, чтобы

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

m – длина исходной последовательности

n – размер базы данных

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

Нетрудно подсчитать, что $B = (\lambda S - \ln K) / \ln 2$

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

BLAST Basic Local Alignment Search Tool

Home Recent Results Saved Strategies Help

NCBI/ BLAST/ blastp suite

blastn **blastp** blastx tblastn tblastx

BLASTP programs search protein databases using a protein query. [more...](#)

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)

Clear Query subrange

From

To

Or, upload file Файл не выбран

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

Align two or more sequences

Choose Search Set

Database

Organism Exclude

Enter organism common name, binomial, or taxid. Only 20 top taxa will be shown.

Exclude Models (XM/XP) Uncultured/environmental sample sequences

Entrez Query

Enter an Entrez query to limit search

<i>nr</i>	<i>Non-redundant</i>
<i>refseq</i>	<i>Reference Sequences</i>
<i>swissprot</i>	<i>SWISS-PROT</i>
<i>pat</i>	<i>Patents</i>
<i>pdb</i>	<i>Protein Data Bank</i>
<i>env_nr</i>	<i>Environmental samples</i>

Program Selection

Algorithm blastp (protein-protein BLAST)

PSI-BLAST (Position-Specific Iterated BLAST)

PHI-BLAST (Pattern Hit Initiated BLAST)

Choose a BLAST algorithm

Search database Non-redundant protein sequences (nr) using Blastp (protein-protein BLAST)

Show results in a new window

[Algorithm parameters](#)

**ВВОДИМ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ**

банк

организм (если надо ограничить)

дополнительные параметры

Дополнительные параметры

максимальный
размер выдачи

▼ Algorithm parameters

General Parameters

Max target sequences Select the maximum number of aligned sequences to display

Short queries Automatically adjust parameters for short input sequences

Expect threshold

Word size

Max matches in a query range

Scoring Parameters

Matrix

Gap Costs Existence: 11 Extension: 1

Compositional adjustments Conditional compositional score matrix adjustment

Filters and Masking

Filter Low complexity regions

Mask Mask for lookup table only
 Mask lower case letters

порог на E-value

параметры
выравнивания

борьба с «участками
малой сложности»

Участок малой сложности

Ищем: белок P02929

если отключить “Compositional adjustment” и фильтр, то одной из находок (18-ой от начала) будет следующее:

```
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 EPPQAVQPPPEPVVEPEPEPEPEPIPEP-PKEAPVVIEKPKPKPKPKPKPKVKKVQEQPKRDV 114
          EP +P PEP EPEPEPEP PEP P+ P +P+P+P+P+P + + +P+ +
Sbjct 243 EPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEPEP 302
```

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

в исходном белке имеется участок, содержащий очень много пролина и глутаминовой кислоты

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

Участок малой сложности

Определяется как участок с смещенным составом (biased composition)

- Гомополимерные участки
- Короткие повторы
- Перепредставленность отдельных остатков

- ✓ Может мешать анализу последовательностей
- ✓ Вычисление E-value (параметры K и λ) опирается на среднее по всем белкам распределение частот аминокислотных остатков
- ✓ Обычно ведет к ложным предсказаниям гомологии (false positives)
- ✓ Лучше использовать «Compositional adjustment» (по умолчанию включен)

Переход к текстовому виду

Чтобы увидеть выдачу самой программы (а не его обработку интерфейсом), можно поступить так:

выбираем formatting options

ⓘ Your search parameters were adjusted to search for a short input sequence.

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#)

Formatting options

Show as Advanced View Use old BLAST report format [Reset form to defaults](#)

Alignment View

Display Graphical Overview Linkout Sequence Retrieval NCBI-gi

Masking Character: Color:

Limit results Descriptions: Graphical overview: Alignments:

Organism Type common name, binomial, taxid, or group name. Only 20 top taxa will be shown.
 Exclude

Entrez query:

Expect Min: Expect Max:

Percent Identity Min: Percent Identity Max:

Format for PSI-BLAST with inclusion threshold:

подтверждаем выбор

Выравнивание, выданное BLAST

Длина найденного белка

Length=129 Number of matches=1

Вес в битах

Вес

E-value

Score = 78.6 bits (192), Expect = 9e-15, Method: Compositional matrix adjust.
Identities = 34/73 (47%), Positives = 50/73 (68%), Gaps = 0/73 (0%)

```
Query 17 YRLEEVQKHNNNSQSTWIIVHHRIYDITKFLDEHPGGEEVLRQAGGDATENFEDVGHSTD 76
          Y  EEV +H          W+I++ ++Y+I+ ++DEHPGGEEV+ + AG DATE F+D+GHS +
Sbjct 11 YTHEEVAQHHTTHDDLWVILNGKVYNISNYIDHPGGEEVILDCAGTDATEAFDDIGHSDE 70
```

```
Query 77 ARALSETFIIGEL 89
          A + E IG L
Sbjct 71 AHEILEKLYIGNL 83
```

Число сходных
"букв"

Число символов гэпа

Число совпадений

Длина выравнивания

Якорь (в примере — длины 3)

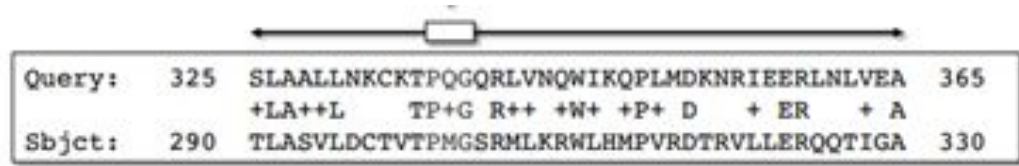
Query: GSQSLAALLNKCKT**PQG**QRLVNQWIKQPLMDKNRIEERLNLVEAFVED

Сходные слова

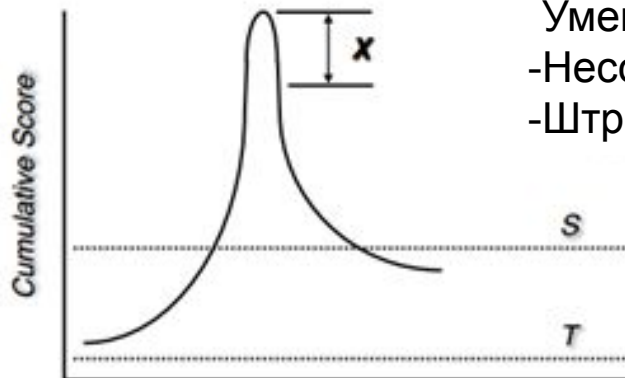
PQG	18	=7+5+6
PEG	15	
PRG	14	
PKG	14	
PNG	13	
PDG	13	
PHG	13	
PMG	13	
PSG	13	
PQA	12	
PQN	12	
etc.		

Порог на score

Как работает BLAST?



Поиск коротких сходных слов (якорей)



Уменьшение за счёт:
-Несовпадений
-Штрафов за гэпы

Расширение

BLAST — эвристический алгоритм

Алгоритмы биоинформатики можно разделить на точные и эвристические.

Точные алгоритмы решают какую-либо точно сформулированную формализованную задачу. Пример: алгоритм Нидельмана – Вунша, который для данных последовательностей находит выравнивание с максимальным весом.

Эвристические алгоритмы — те, для которых формальную задачу сформулировать нельзя.

BLAST **не гарантирует** нахождение оптимального локального выравнивания. За счёт этого достигается высокая скорость работы. Но теоретически возможно, что BLAST не найдёт в банке вполне достоверный (судя по выравниванию) гомолог.

Параметры сервиса

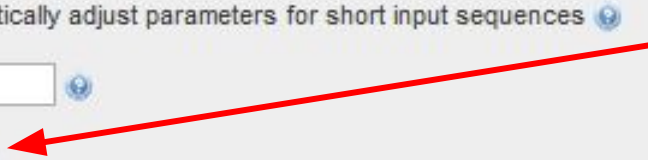
▼ **Algorithm parameters**

General Parameters

Max target sequences | 100 ▼
Select the maximum number of aligned sequences to display ⓘ

Short queries | Automatically adjust parameters for short input sequences ⓘ

Expect threshold | 10 ⓘ

Word size | 3 ▼ ⓘ 

Max matches in a query range | 0 ⓘ

Scoring Parameters

Matrix | BLOSUM62 ▼ ⓘ

Gap Costs | Existence: 11 Extension: 1 ▼ ⓘ

Compositional adjustments | Conditional compositional score matrix adjustment ▼ ⓘ

Filters and Masking

Filter | Low complexity regions ⓘ

Mask | Mask for lookup table only ⓘ
 Mask lower case letters ⓘ

Длина слова

Длина слова

Одним из параметров BLAST является длина слова (word size). Это начальная длина якоря для поиска (см. слайд 19, где длина слова равна 3).

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

Сейчас на сайте NCBI значение длины слова по умолчанию равно 6, доступны значения 2 и 3.