Gilbert Deléage
Manolo Gouy

Bioinformatique

Cours et applications

2e édition

DUNOD

5 rue Laromiguière, 75005 Paris
www.dunod.com
ISBN 978-2-10-072752-0

Table des matières

Comment utiliser cet ouvrage VI

Avant-propos IX

Chapitre 1 • La composition en acides aminés 1
1.1 Acides aminés et séquence 1
1.2 Informations déduites de la composition en acides aminés 4

Chapitre 2 • Bases de données pour données de bases 7
2.1 Les banques de données généralistes 7
2.2 Une entrée SWISS-PROT 14
2.3 Les interrogations Entrez, ACNUC, SRS 17

Chapitre 3 • La comparaison de deux séquences 21
3.1 Matrice de points 21
3.2 Matrice de substitution 26

Chapitre 4 • Recherche dans les banques 33
4.1 Score de similitude entre séquences 33
4.2 Recherche globale ou locale 36
4.3 FASTA 37
4.4 BLAST 41

Chapitre 5 • Alignement de séquences 47
5.1 Introduction 47
5.2 Comparaison de protéines homologues (algorithme global) 49
5.3 Meilleur chevauchement entre séquences (algorithme local) 52
5.4 Alignements multiples 54
5.5 Représentation « logo » 57

Chapitre 6 • Bases théoriques de la phylogénie moléculaire 59
6.1 Arbres phylogénétiques 59
6.1.1 Arbres racinés et arbres non racinés 61
6.1.2 Le format Newick d'arbres phylogénétiques 62
6.2 Arbre des espèces – arbres de gènes 63
6.2.1 Nombre d'arbres binaires possibles 64
6.3 Modèle markovien de l'évolution moléculaire 65

6.3.1 Matrice de transition 67
6.3.2 Quelques modèles nucléotidiques de Markov 68
6.3.3 Longueur d'une branche 70
6.3.4 Modélisation de la variation des taux d'évolution entre sites 70
6.4 Choix des sites 72
6.5 Matrices de taux de substitution entre séquences protéiques 73
6.6 Distances évolutives entre paires de séquences 74

Chapitre 7 • Algorithmes pour la phylogénie moléculaire 77
7.1 Parcimonie 78
7.1.1 Algorithme 78
7.1.2 Heuristiques 82
7.1.3 Propriétés 82
7.1.4 Implémentations 83
7.1.5 Longueurs de branches des arbres de parcimonie 83
7.1.6 Traitement des indels 84
7.2 Méthodes de distances 85
7.2.1 Méthode d'évolution minimale 86
7.2.2 Méthode Neighbor-Joining 86
7.3 Maximum de vraisemblance 89
7.3.1 Modèle probabiliste utilisé au maximum de vraisemblance 90
7.3.2 Calcul de la vraisemblance 90
7.3.3 L'algorithme de Felsenstein 91
7.3.4 Prise en compte de la variabilité des vitesses d'évolution entre sites 92
7.3.5 Optimisation de la vraisemblance 93
7.3.6 Implémentation 94
7.4 Estimation de la fiabilité d'un arbre par bootstrap 94
7.5 Choix des méthodes de calcul d'arbres 97

Chapitre 8 • Recherche de fonctions 99
8.1 Définitions 99
8.2 Détection de signatures de séquence (PROSITE) 100
8.3 Recherche de fonction avec pondération par la fréquence 103
8.4 Méthodes à base de profils 106

Chapitre 9 • Profils physico-chimiques 111
9.1 Pourquoi les profils physico-chimiques ? 111
9.2 Hydrophobie-paramètres-construction du profil – interprétation 111
9.3 Amphiphilie 114
9.4 Accessibilité au solvant 115

Chapitre 10 • Prédictions de structures secondaires 117
10.1 Méthode « statistique empirique » 120
10.2 Méthode information directionnelle (GOR) 123
10.3 Méthode de recherche des plus proches voisins (NNM) 127

10.4 Méthode auto-optimisée (SOPM) 130
10.5 Méthode auto-optimisée avec alignements (SOPMA) 131
10.6 Méthodes neuronales 132
10.7 Autres méthodes 134
10.7.1 Méthode statistique discriminante (DSC) 134
10.7.2 Méthode neuronale (PREDATOR) 134
10.7.3 Méthode hiérarchisée réseaux de neurones (HNN) 134
10.7.4 Méthodes utilisant les chaînes de Markov 135
10.7.5 Combinaison de méthodes 135
10.8 Critères de qualité prédictive 137

Chapitre 11 • Prédiction de structures 3D 139
11.1 Principe des méthodes de détermination expérimentale 139
11.2 Le format PDB 140
11.3 Les différents modes de représentations 142
11.4 Classification de structures 3D 145
11.5 Comparaison de structures 3D 146
11.6 Énergétique moléculaire 148
11.7 Optimisation de structures 3D 151
11.8 Modélisation de structures 3D 152
11.8.1 Les méthodes d'enfilage des repliements (*threading*) 153
11.8.2 Modélisation par homologie 154
11.8.3 Les alphabets structuraux 163
11.8.4 Les méthodes de novo 166

Chapitre 12 • Détection de sites 3D dans les protéines 169
12.1 Problématique 169
12.2 Méthode SuMO 170

Cas pratique d'analyse de séquences 173

Cas pratique de modélisation moléculaire de protéine par homologie 183

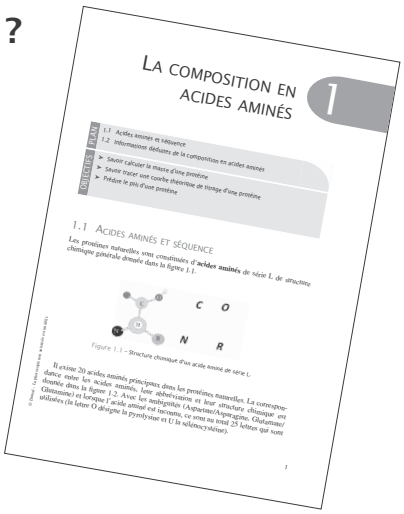
Conclusion 191

Bibliographie 193

Glossaire 199

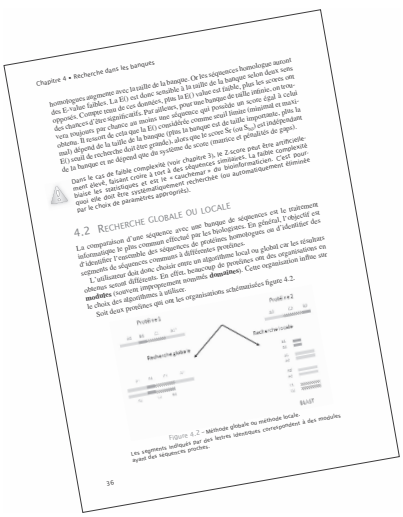
Index 201

Comment utiliser cet ouvrage ?



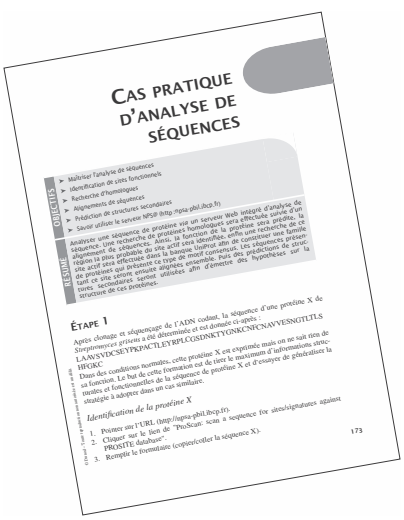
La page d'entrée de chapitre

Elle donne le plan du cours ainsi qu'un rappel des objectifs pédagogiques du chapitre.



Le cours

Le cours, concis et structuré, expose le programme.



Cas pratique

Proposé en fin d'ouvrage, avec les réponses aux questions, pour appliquer les notions du cours.

Les rubriques

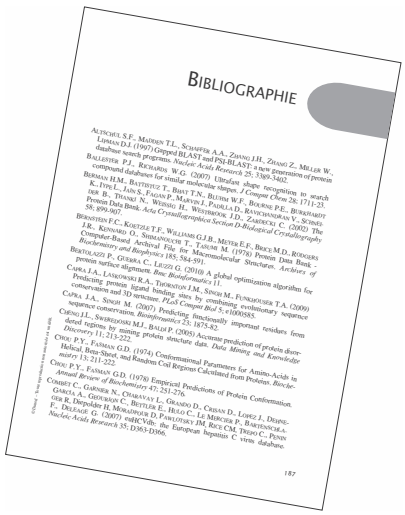
Une erreur
à éviter.

Une note,
un complément
d'information.

Un éclairage
sur une notion
(résumé, conseil, etc.)

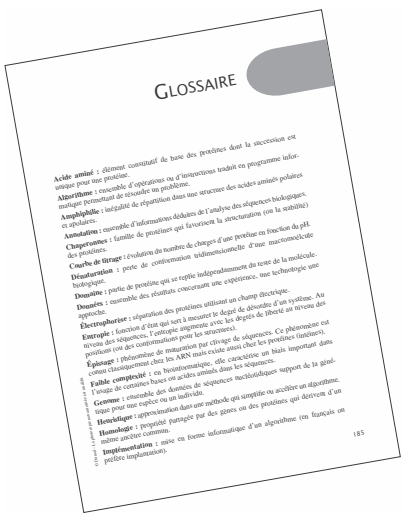
La bibliographie

Elle regroupe les articles fondateurs
de la discipline.



Le glossaire

Vous y trouverez les définitions
des principales notions développées.



L'index

Outil indispensable pour trouver
rapidement ce que l'on cherche.

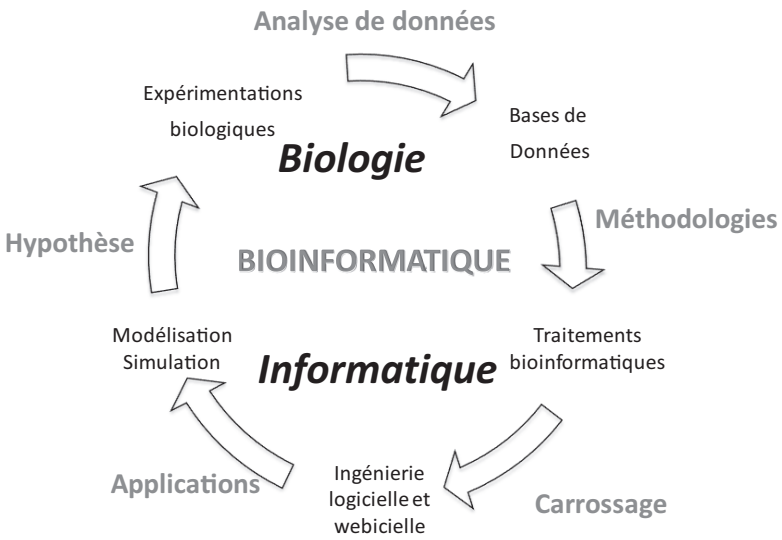
AVANT-PROPOS

La bioinformatique est une « interdiscipline » à la frontière de la biologie, de l'informatique et des mathématiques. Les systèmes biologiques sont très complexes et les techniques modernes d'investigation du monde biologique fournissent une vaste quantité de **données** expérimentales. Le but ultime de la bioinformatique est d'intégrer ces données d'origines très diverses pour modéliser les systèmes vivants afin de comprendre et prédire leurs comportements (biologie systémique ou biologie des systèmes) dans des conditions de fonctionnement normales ou pathologiques. Ainsi, à titre d'exemple, le séquençage à très haut débit offre la possibilité de connaître de manière personnalisée le **génome** de chacun. Pour tirer le bénéfice de cette connaissance, il faut développer et appliquer de nouvelles méthodes d'analyse bioinformatique qui permettent d'extraire l'information utile cachée dans la séquence du génome et, de manière plus générale, des données biologiques à grande échelle issues des progrès de l'expérimentation et des technologies de l'automatique. La bioinformatique est donc étroitement couplée à ses applications. Bon nombre de bioinformaticiens ne travaillent pas dans des laboratoires formellement estampillés « bioinformatique ». La bioinformatique et la modélisation procèdent selon un cercle vertueux (schématisé page suivante) dans lequel le point de départ est l'expérimentation biologique (un séquençage par exemple), les données produites sont ensuite organisées dans des dépôts de données (banques ou bases de données). Les méthodes d'analyse qui utilisent ces données sont développées par les bioinformaticiens souvent en association avec des informaticiens et mathématiciens. Pour que ces méthodes permettent le traitement ultérieur des données, il est nécessaire de « carrosser » ces méthodes (sous forme de logiciels ou serveurs Web) afin de permettre au biologiste de les utiliser pour émettre de nouvelles hypothèses qui seront testées et qui généreront de nouvelles données.

Aujourd'hui tout projet de biologie comporte une étape d'analyse bioinformatique des données. Par conséquent, un biologiste passe environ 20-30 % de son temps à utiliser des outils bioinformatiques.

Ce livre décrit de manière simple les tâches courantes de la bioinformatique qu'un biologiste/biochimiste doit savoir traiter par lui-même sans avoir recours au spécialiste afin de répondre à des questions usuelles comme :

- Comment extraire des informations pertinentes dans les banques de données biologiques ?
- Est-ce qu'une nouvelle séquence a déjà été complètement ou partiellement répertoriée ?
- Est-ce que ce gène appartient à une famille connue ?

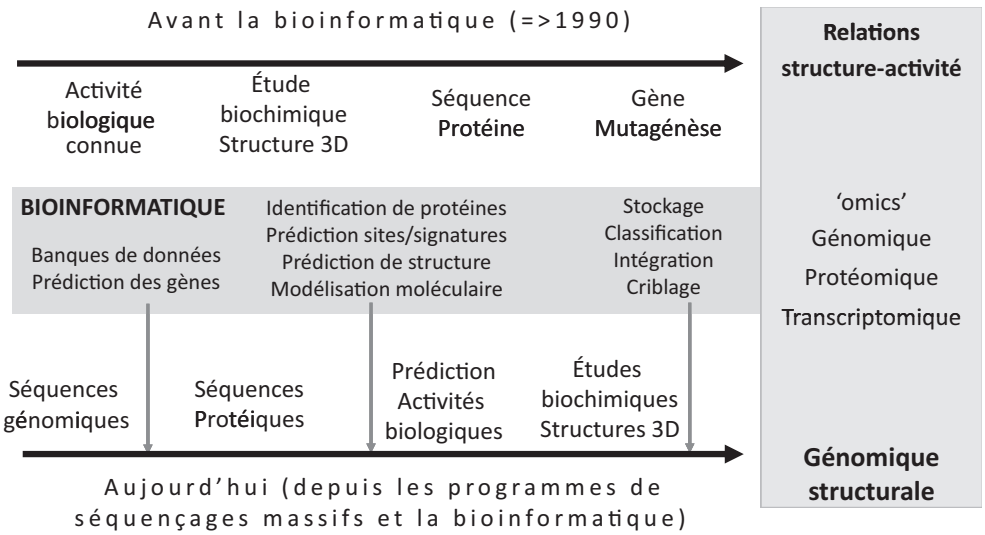


- Existe-t-il d'autres gènes homologues ?
- Est-ce que deux séquences correspondent à deux gènes homologues ?
- Existe-t-il des résidus essentiels à la fonction ?
- Alignement multiple, quel outil ? Pour quoi faire ? Établissement de consensus.
- Quelle peut être la fonction d'une protéine (prédit d'après sa séquence, sa structure...) ?
- Recherche de sous-motifs communs à un ensemble de séquences.
- Recherche de régions contenant des séquences répétées.
- Recherche d'hélices ou de brins dans les protéines.
- Comment construire un modèle tridimensionnel de protéine ?
- Optimisation et comparaison de structures 3D.
- Quelle est la charge globale d'une protéine à un pH donné ?

Ce livre n'a pas la prétention d'être exhaustif (il se limite d'une manière générale aux protéines, mais les **algorithmes** sont souvent très proches de ceux développés pour les acides nucléiques). Il a été rédigé afin de faciliter la compréhension des approches, méthodes, algorithmes et **implémentations** les plus courantes en bioinformatique moléculaire et structurale. À ce titre, il est parfois simplificateur et doit être considéré comme une introduction à la bioinformatique moléculaire et structurale. Il s'adresse donc aux étudiants de biologie/biochimie, de niveau licence, master ou classes préparatoires, ou bien aux biologistes qui souhaitent s'initier et comprendre les méthodes sous-jacentes aux programmes afin d'estimer la qualité de leurs analyses.

La logique suivie dans le livre est de partir des séquences de protéines pour aller vers leurs structures secondaires, leurs structures tridimensionnelles et finir par leurs fonctions. Elle suit la stratégie actuelle d'analyse d'une question biologique qui a été revisitée du fait de l'avènement de la bioinformatique et des séquençages massifs.

La bioinformatique moléculaire a pour première mission de « faire parler cette séquence » pour en tirer le maximum d'informations selon le schéma suivant :



Un exercice de mise en pratique de l'analyse de séquence est fourni avec son corrigé (chapitre 13).

La plupart des images des structures 3D présentées ont été générées à l'aide du logiciel AnTheProt pour Windows (http://antheprot-pbil.ibcp.fr).

Les vidéos fournies dans le complément numérique (www.dunod.com) ont été capturées à l'aide du logiciel CAMSTUDIO (http://camstudio.org/). Un quiz en ligne est disponible à l'adresse suivante : https://publi.ibcp.fr/scripts/bio_info.php.

Les auteurs remercient Christophe Combet et Céline Brochier pour leur relecture.

1 La composition en acides aminés

PLAN

1.1 Acides aminés et séquence
1.2 Informations déduites de la composition en acides aminés

OBJECTIFS

- Savoir calculer la masse d'une protéine
- Savoir tracer une courbe théorique de titrage d'une protéine
- Prédire le pHi d'une protéine

1.1 Acides aminés et séquence

Les protéines naturelles sont constituées d'**acides aminés** de série L de structure chimique générale donnée dans la figure 1.1.

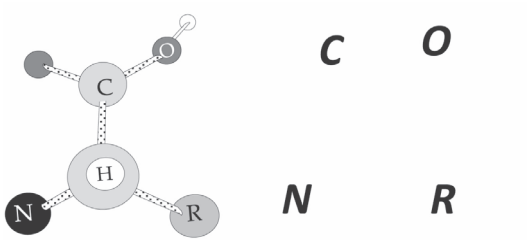


Figure 1.1 – Structure chimique d'un acide aminé de série L.

Il existe 20 acides aminés principaux dans les protéines naturelles. La correspondance entre les acides aminés, leur abbréviation et leur structure chimique est donnée dans la figure 1.2. Avec les ambiguïtés (Aspartate/Asparagine, Glutamate/Glutamine) et lorsque l'acide aminé est inconnu, ce sont au total 25 lettres qui sont utilisées (la lettre O désigne la pyrolysine et U la sélénocystéine).

A	Alanine	Ala
C	Cysteine	Cys
D	Aspartic Acid	Asp
E	Glutamic Acid	Glu
F	Phenylalanine	Phe
G	Glycine	Gly
H	Histidine	His
I	Isoleucine	Ile
K	Lysine	Lys
L	Leucine	Leu
M	Methionine	Met
N	Asparagine	Asn
O	Pyrrolysine	Pyl
P	Proline	Pro
Q	Glutamine	Gln
R	Arginine	Arg
S	Serine	Ser
T	Threonine	Thr
U	Sélénocystéine	Sec
V	Valine	Val
W	Tryptophane	Trp
Y	Tyrosine	Tyr
B		Asn/Asp
Z		Gln/Glu
X	Inconnu	

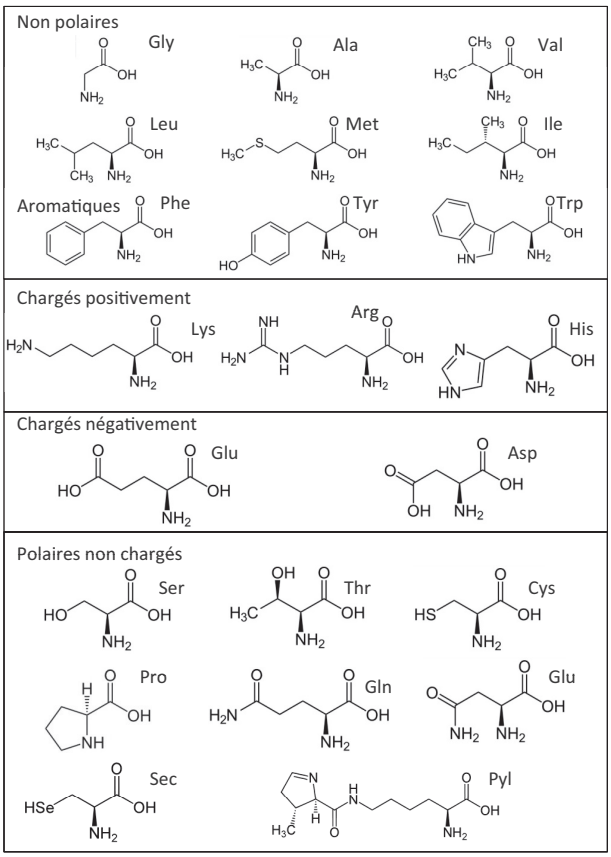


Figure 1.2 – Correspondance entre CODE 1 lettre, CODE 3 lettres et la structure chimique des acides aminés trouvés dans les protéines.

Pour identifier la série d'un acide aminé, il suffit de regarder le Cα avec le H devant les autres atomes. On doit pouvoir lire « CORN » comme illustré dans la figure 1.1.

Certains acides aminés partagent des propriétés physico-chimiques avec d'autres. Cela conduit à une distribution des groupes d'acides aminés selon le diagramme (non exclusif) de Venn schématisé figure 1.3.

Au niveau chimique, les protéines sont obtenues par condensation des acides aminés et élimination d'eau lors de la formation de la liaison peptidique (pour chaque acide aminé ajouté). La suite des lettres indiquant l'enchaînement des acides aminés constitue la **séquence** de la protéine (on parle aussi de **structure primaire**). Chaque séquence caractérise de manière unique une protéine. Une infime partie des séquences théoriquement possibles existe vraiment. Ce sont celles qui ont été sélectionnées par l'évolution et qui sont douées d'une activité biologique (structurelle et/ou fonctionnelle).

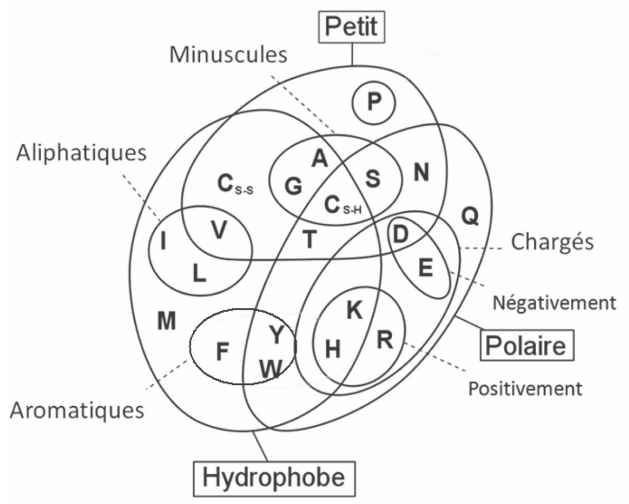


Figure 1.3 – **Diagramme de Venn des propriétés des acides aminés.**

Le génome humain comprend $3{,}4.10^9$ bases et coderait pour 20 563 séquences protéiques.

La bioinformatique s'est emparée très tôt de la comparaison des séquences. En effet, au sens informatique, il s'agit principalement de comparer des mots entre eux, rechercher des mots communs, trouver le plus grand mot commun, aligner les mots en autorisant des « jokers » à certaines positions.

Le nombre de séquences de longueur 100 réalisable à partir de 20 acides aminés différente (20^{100}) est supérieur au nombre d'atomes dans l'Univers ($\sim 10^{80}$).

Combien de séquences protéiques différentes peut-on générer en théorie ?

Le nombre de séquences différentes de longueur N qu'il est possible de générer en prenant les 20 acides aminés principaux est 20^N.

Exemples :

Peptide (5 acides aminés) : 20^5
Protéine de taille standard moyenne de 400 acides aminés : 20^{400}
Protéome humain (soit ~20 000 protéines de longueur moyenne 400) : $20^{\ 8\ 000\ 000}$

1.2 Informations déduites de la composition en acides aminés

La première information dérivable d'une séquence est la composition en acides aminés. Cette composition (nombre et pourcentage de chacun des acides aminés) peut aussi être obtenue expérimentalement par des méthodes d'analyse biochimiques.

Si la composition en acide aminé d'une protéine X est biaisée par rapport à la composition moyenne de l'ensemble des protéines, on dit que la protéine X présente une **faible complexité**. Cette faible complexité peut aussi ne concerner qu'une partie de la séquence. Ainsi, dans certains récepteurs stéroïdiens, on observe jusqu'à 37 glutamines consécutives constituant un cas extrême de faible complexité.

Tableau 1.1 – Les pKa des acides aminés ionisables.

I	pKa i	j	pKa j
His	6,00	**Ser**	13,60
Arg	12,48	**Tyr**	10,10
Lys	10,53	**Glu**	4,20
N_{ter}	9,80	**Thr**	13,60
		Asp	3,86
		C_{ter}	2,10
		Cys	8,33

La composition permet au biochimiste de calculer la masse moléculaire théorique *M* de la protéine en utilisant la relation suivante :

$$M = \sum_{i=1}^{N} m(i) - 18 \times (N-1)$$

où $m(i)$ est la masse moléculaire de l'acide aminé i et N le nombre d'acides aminés. Connaissant la composition en acides aminés, le coefficient ε_{280} d'extinction molaire à 280 nm se calcule grâce à la relation suivante :

$$\varepsilon_{280} = [N_{Trp} \times 5\,500] + [N_{Tyr} \times 1\,490] + [N_{Cys} \times 125].$$

Il est alors possible de doser précisément par spectrophotométrie (densité optique) la concentration en protéine grâce à la relation de Beer-Lambert :

$$DO_{280} = \varepsilon_{280}\, L\, C$$

où L est la longueur du trajet optique, C la concentration en g/l.

Enfin, le pI (ou **point isoélectrique** d'une protéine) correspond à la valeur de pH telle que $NC = 0$ dans la relation suivante :

$$NC = \sum_i Ni\left(1 - \frac{10^{-\mathrm{pka}(i)}}{10^{-\mathrm{pka}(i)} + 10^{-\mathrm{pH}}}\right) - \sum_j Nj\left(\frac{10^{-\mathrm{pka}(j)}}{10^{-\mathrm{pka}(j)} + 10^{-\mathrm{pH}}}\right)$$

NC est le nombre de charges théoriques portées par la protéine.

i désigne un résidu qui peut être chargé positivement (Arg, Lys, His) ayant un pKa(i).
j désigne un résidu qui peut être chargé négativement Asp, Glu, Tyr, Cys, Ser, Thr ayant un pKa(j).

À partir de cette relation, il est possible de calculer la **courbe de titrage** théorique (*NC*) = f (pH) d'une protéine. Cette information même très approximative est très utile au biochimiste avant de se lancer dans une purification de protéine car la physico-chimie des solutions fait que solubilité d'une protéine est minimale quand le pH de la solution est égal au pHi. Par ailleurs, la connaissance du pHi d'une protéine permet de choisir une colonne de purification de type échangeuse d'ions qui soit adaptée aux conditions de pH utilisées pendant la purification.

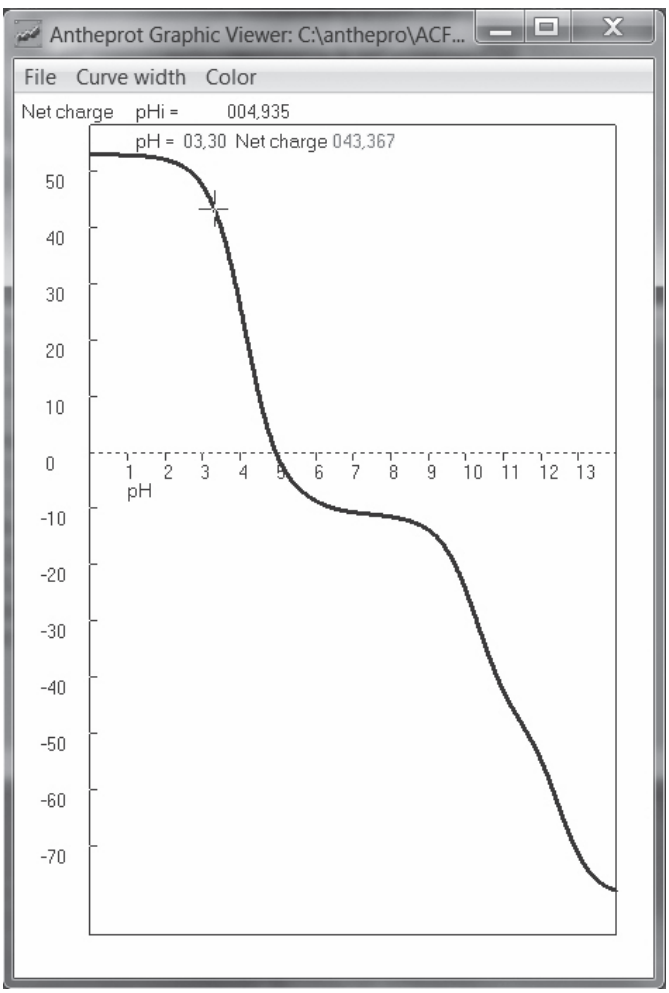


Figure 1.4 – Courbe de titrage théorique d'ATPA_TOBAC.
La courbe représente le nombre de charges théoriques portées par la protéine en fonction du pH. Le point isoélectrique est le pH pour lequel le nombre de charge est égal à 0 (ici 4,98).