Аннотация геномов. Формат GFF и GTF. Другие форматы аннотации геномов

Что такое аннотация, gff, gtf, другие форматы аннотации геномов

Page • Tag • 1 backlink

- Аннотация генома
  - RepeatMasker
    - Структура гена эукариот
    - Предсказание и аннотация генов
    - Псевдогены
  - Длины генов и геномов
- Аннотация модельных организмов
  - UCSC Tables
  - ENSEMBL
- Аннотация генома человека
  - Gencode

Аннотация генома

1. Структурная аннотация
   - поиск повторов
   - поиск протеин-кодирующих генов
   - идентификация кодирующих последовательностей
   - поиск псевдогенов и некодирующих РНК
2. Функциональная аннотация:
   - какова роль генов и регуляторных элементов.

RepeatMasker

- создается библиотека повторов (de novo или нет)
- RepeatMasker находит и “маскирует” их
- *softmask* - замена AGCAGCAGC на agcagcagc
- *hardmask* - замена AGCAGCAGC на NNNNNNNNN

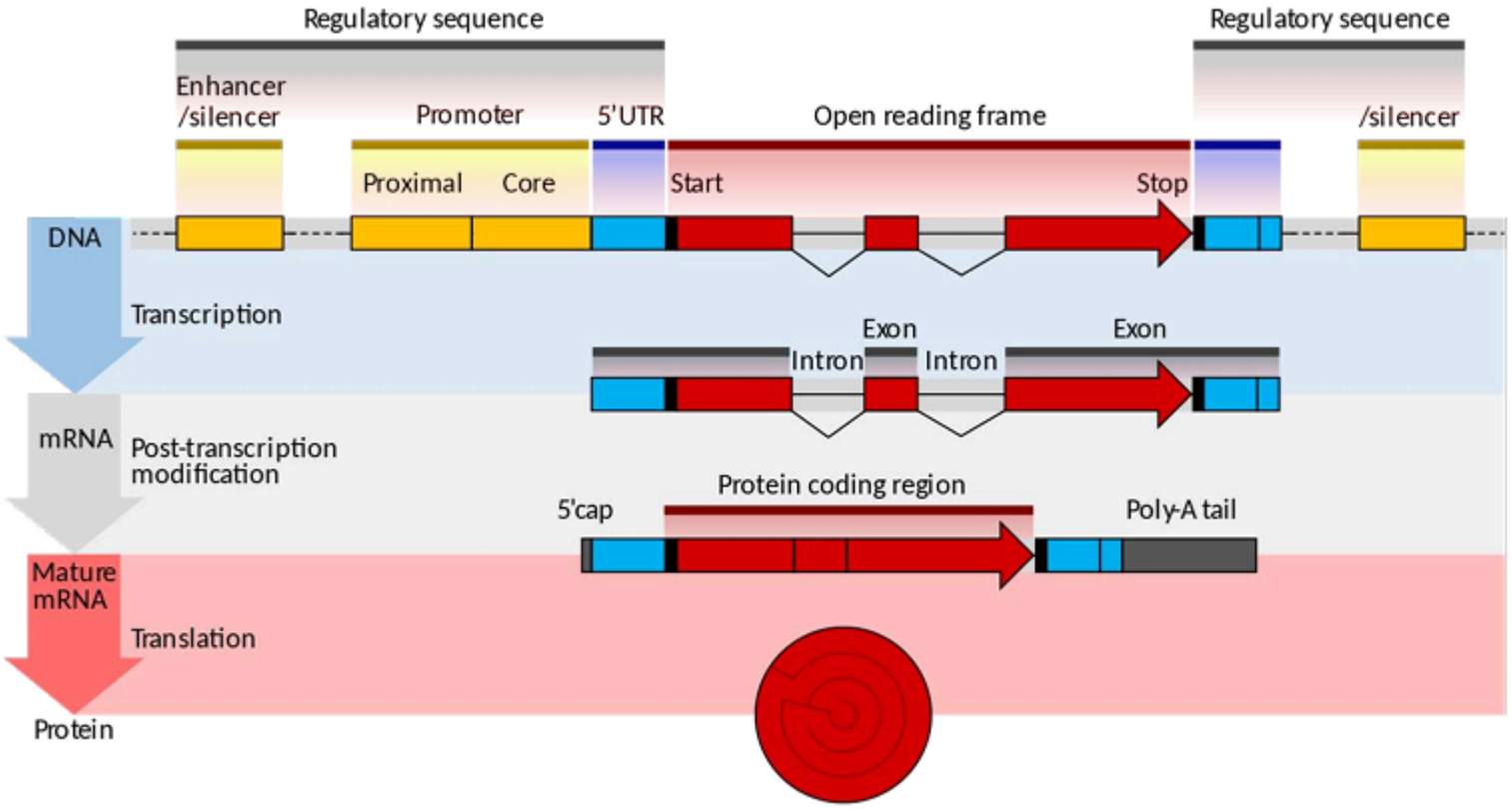
Повторы бывают: **тандемные** (повторяющиеся) и **диспергированные** (на расстоянии, часто в результате дупликации)

Маскировка: последовательность собранная заменяется нижнем регистре или N

`fasta → bedtools → fasta с маркированными повторами` (теперь можно определить за счет регистра или N)

Структура гена эукариот

1. промотор
2. нетранслируемые последовательности (5′UTR, 3′UTR)
3. экзоны и интроны

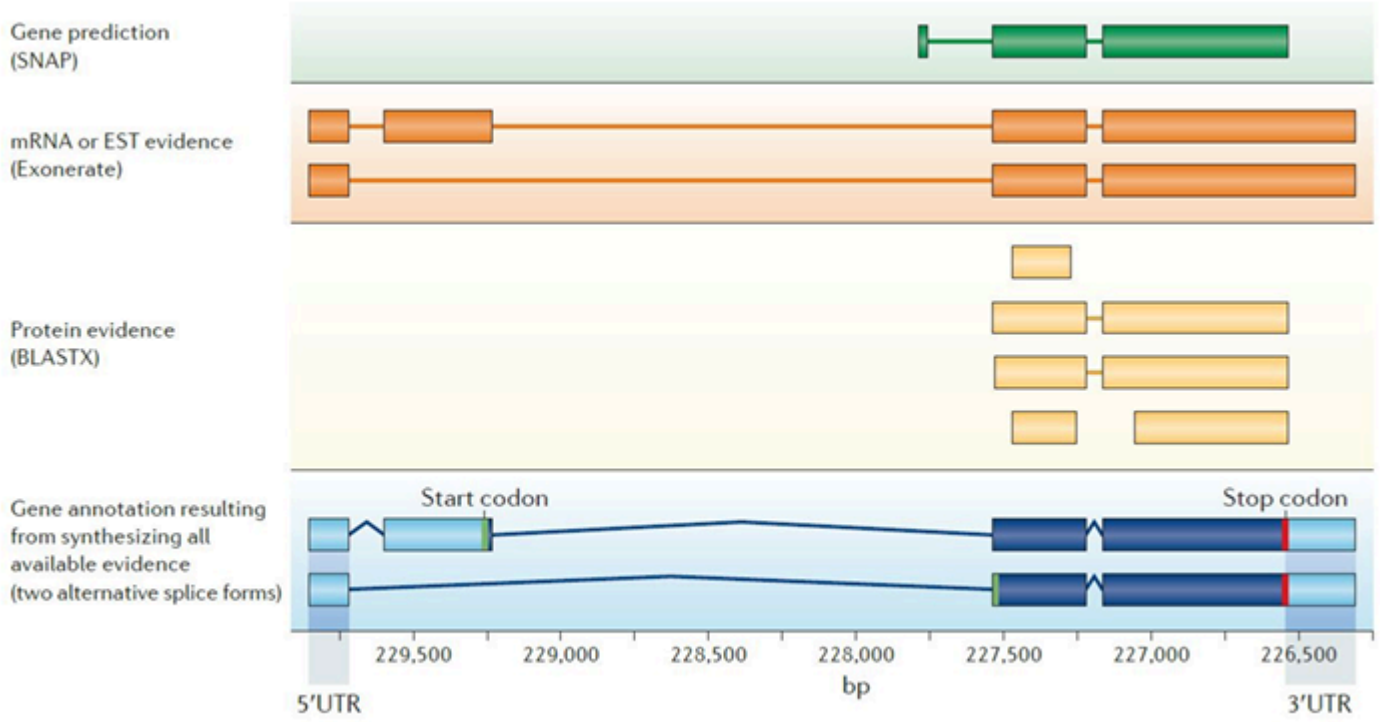


- сплайсинг — вырезание интронов и склеивание протеинов
- нетранслируемые последовательности — 5'UTR со стороны промотора, регуляторные функции и интенсивности трансляции
- 5-кэп — транспорт мрнк из ядра
- 3'-полиА — 100-200 аденозинов, защита от деградации мРНК
- энхансеры, сайленсеры — регуляция транскрипции

Предсказание и аннотация генов

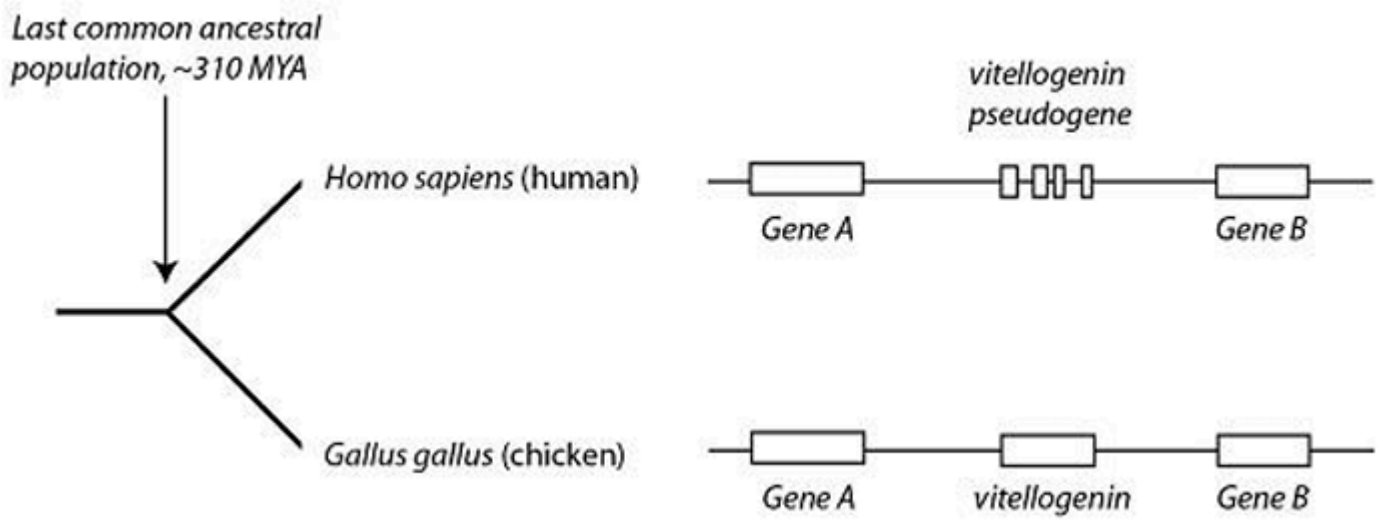
- предсказание использует только последовательность генома (нахождение всех открытых рамок считывания)

- аннотация требует данных экспрессии и протеинов



Псевдогены

- ген, у которого в процессе эволюции произошла поломка, что привело к его полной неактивности, нетранскрибируемости
- около 15к в геноме человека (20к протеин-кодирующих)
- поломки в промоторах (нет транскрипции)
- ранние стоп-кодоны (нет трансляции) → NMD
- типы: процессированные, непроцессированные, унитарные



Процессированные — получены в ходе обратной транскрипции (встраивания) ретротранспозонами уже сплайсированных генов (процессированная мРНК)

Непроцессированные — в ходе дупликации ломается вторая копия гена (может сформироваться в паралог, к примеру алкогольдегидрогеназа)

Унитарные — один ген в ходе эволюции сломался и утерял функциональность

> Процессированные псевдогены

- **Механизм образования**: Возникают в результате ретротранспозиции, когда мРНК функционального гена обратно транскрибируется в ДНК и встраивается в геном.
- **Характеристики**:
  - Не имеют интронов, поскольку образуются из зрелой мРНК.
  - Часто лишены промоторных последовательностей, что делает их неспособными к транскрипции.
  - Могут иметь полиа(А) хвост, который остаётся после ретротранспозиции.
- **Пример**: Многие ретрогены (ретропсевдогены) возникают таким образом.

> Непроцессированные псевдогены

- **Механизм образования**: Возникают в результате дупликации и последующей мутации функционального гена.
- **Характеристики**:
  - Сохраняют структуру, схожую с оригинальным геном, включая интроны и экзоны.
  - Со временем накапливают мутации, которые нарушают их способность кодировать белки.
  - Могут сохранять элементы, такие как промоторы, но, из-за мутаций, остаются нефункциональными.
- **Пример**: Гены-дубликаты, утратившие свою функциональность.

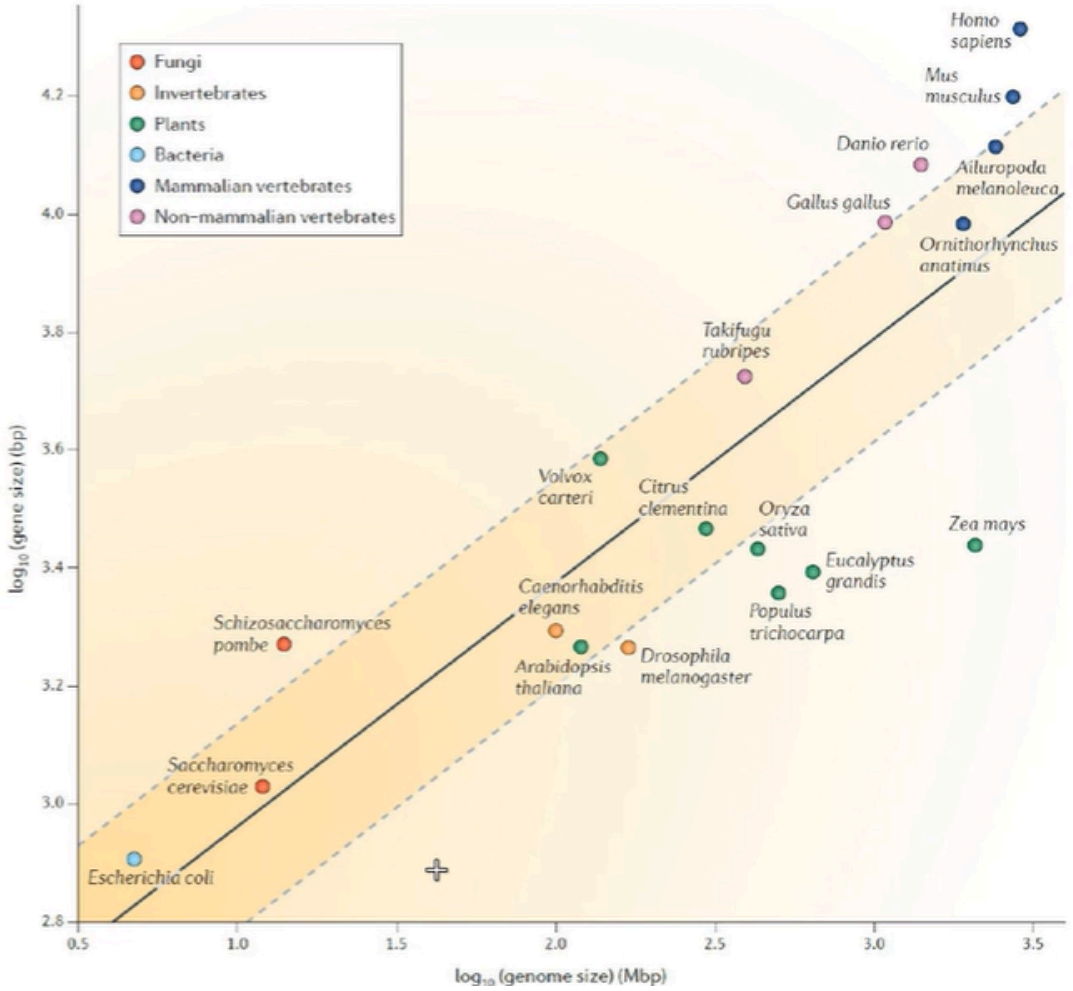
> Унитарные псевдогены

- **Механизм образования**: Возникают вследствие накопления мутаций в функциональном гене, что приводит к потере его функции, без дупликации или ретротранспозиции.
- **Характеристики**:
  - Возникают в результате мутаций (например, нонсенс-мутации, фреймшифты) в единственном экземпляре гена, который ранее был функциональным.
  - В отличие от процессированных и непроцессированных псевдогенов, они не имеют функционального аналога в геноме.
- **Пример**: Унитарные псевдогены могут возникать при утрате важного для вида гена, например, у человека псевдоген гена GULO, ответственного за синтез витамина C, который функционален у многих других млекопитающих.

Длины генов и геномов

Длины генов и геномов

- длина гена коррелирует с длиной генома
- для успешной аннотации больших геномов нужны сборки с бОльшим N50



Аннотация модельных организмов

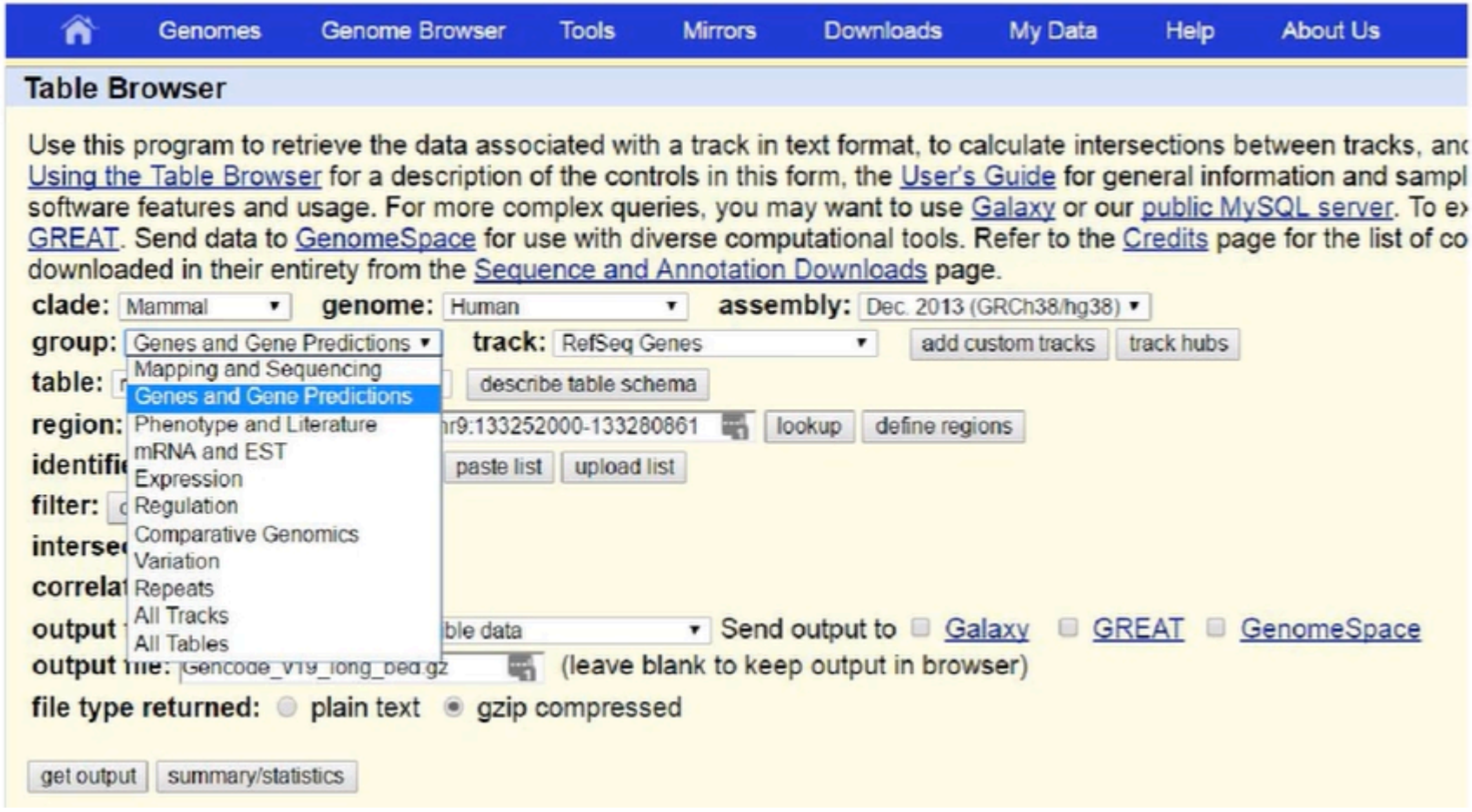
Сборкой, аннотацией и функциональной аннотацией, как правило, занимаются одни и те же консорциумы.

1. FlyBase
2. WormBase
3. TAIR

4. SGD
5. EcoGene

UCSC Tables

genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables

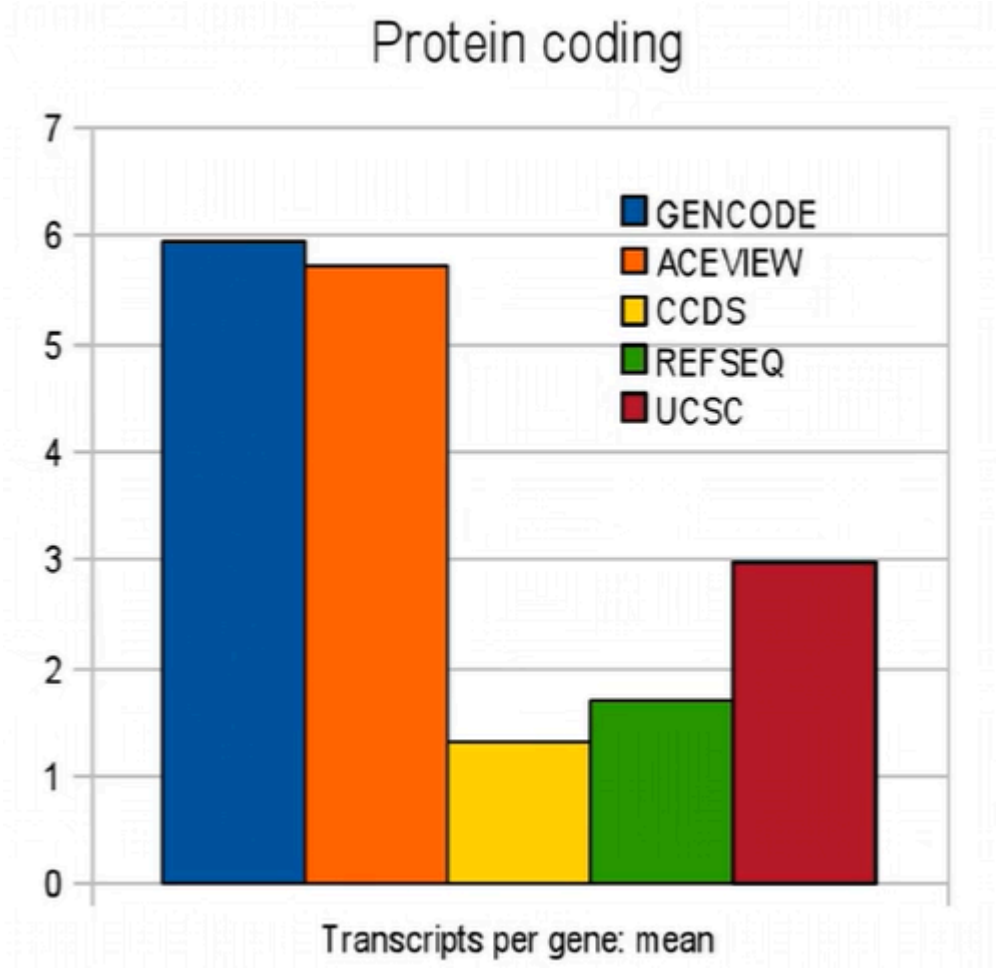


ENSEMBL

- группа под руководством Европейского института молекулярной биологии

- выпуски — release
- включает сборки геномов и их аннотации для различных биологических видов
- поддерживает единые форматы данных, API для программистов и быстрый доступ через FTP
- предоставляет инструменты для удобной работы с геномной информацией

Аннотация генома человека

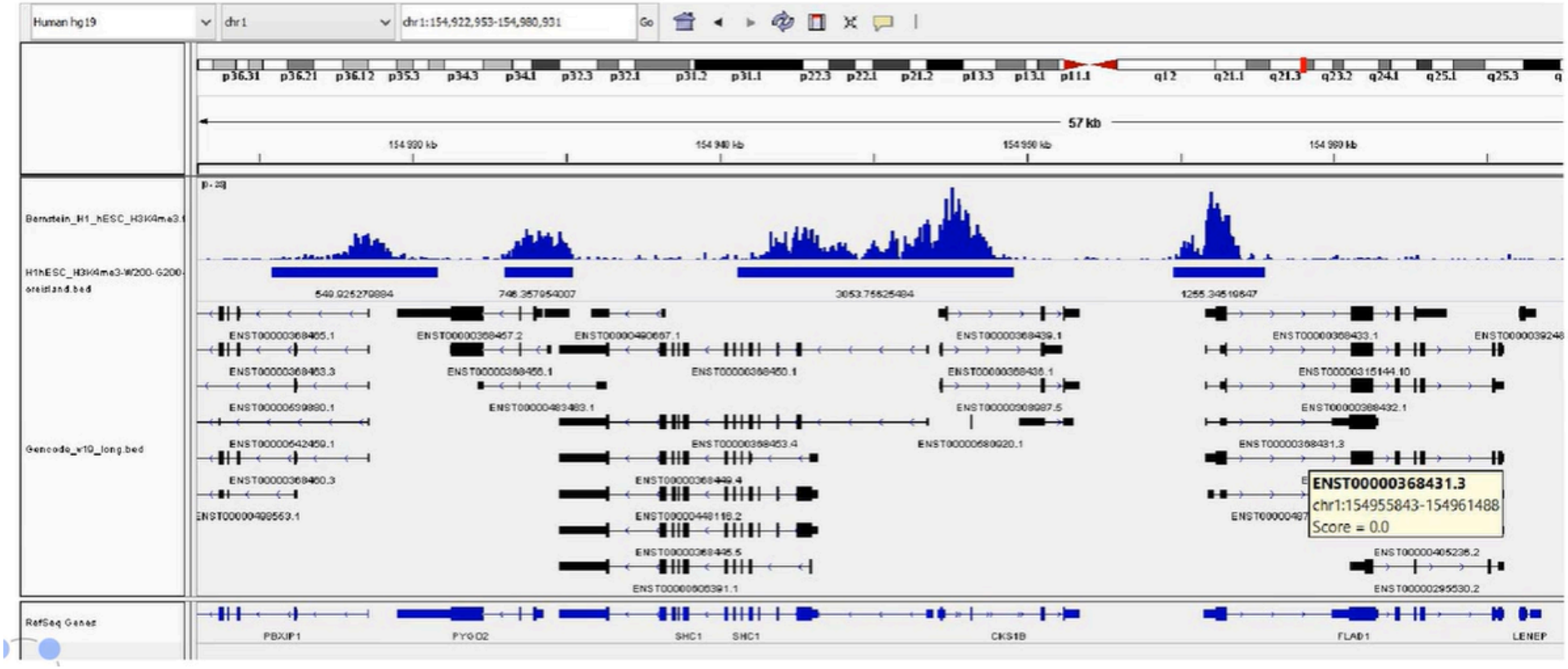


- CCDS
- Gencode
- UCSC
- REFSEQ
- Ensembl

Gencode

- аннотация для человека и мыши
- использует нотацию генов Ensembl
- ENSG0000 — для гена человека, ENST0000 — для транскриптов человека
- GRCh вариации

Аннотация BED



Аннотация 12-колоночного BED-файла позволяет увидеть различное направление транскриптов, название, кодирующие и некодирующие участки

Но мы не можем в таком формате показать принадлежность транскриптов (черное) к определенному гену (например синим *SNC1*)

Аннотация gtf, gtp

GTF = GFF2, GFF3

Формат GFF/GTF

- **Структура**: 9 колонок, разделённых табуляцией (`tab`).

- **Название**:
  - **GFF** (*General Feature Format*)
  - **GTF** (*General Transfer Format*)

Колонки:

1. **seqname** — хромосома или скаффолд (например, `chr1`).
2. **source** — источник аннотации (например, `Ensembl`, `NCBI`).
3. **feature** — тип элемента (`gene`, `transcript`, `exon`, `CDS` и т. д.).
4. **start** — начальная позиция (целое число).
5. **end** — конечная позиция (целое число).
6. **score** — оценка (часто `.` или `0`, если не применяется).
7. **strand** — нить ДНК (`+`, `-` или `.` для неопределённой).
8. **frame** — рамка считывания (`0`, `1`, `2` или `.`):
   - `0` — первый нуклеотид совпадает с кодоном.
   - `1`, `2` — сдвиг на 1 или 2 нуклеотида соответственно.
9. **attribute** — дополнительные атрибуты (например, `ID=gene1;Name=TP53`).

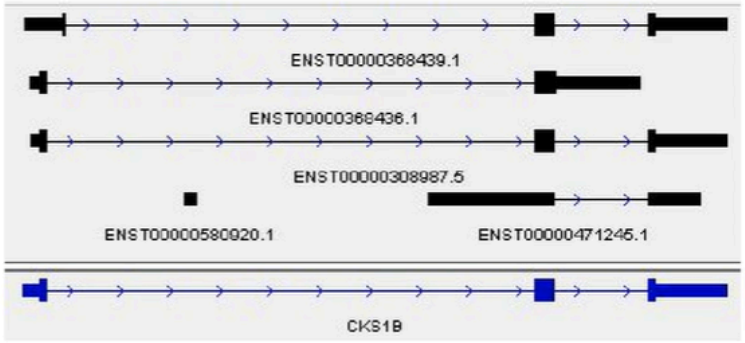
Пример строки в GFF:

```
Plain Text
chr1  Ensembl  gene  1000  5000  .  +  .  ID=gene1;Name=BRCA2
```

Примечание:

- В **GTF** (разновидность GFF) атрибуты имеют строгий формат (например, `gene_id "gene1"; transcript_id "t1";`).
- Используется для хранения геномных аннотаций в биоинформатике.

Иерархические построения



- ENSG########## Ensembl Gene ID
- ENST########## Ensembl Transcript ID
- ENSP########## Ensembl Peptide ID
- ENSE########## Ensembl Exon ID

- For non-human species a suffix is added:
  ENSMUSG MUS (*Mus musculus*) for mouse

```
GENE (gene)
│
└── TRANSCRIPT (transcript)
    │
    ├── EXON (exon)
    │   │
    │   ├── 5' UTR (UTR)
    │   ├── CDS (CDS)
    │   │   ├── start_codon
    │   │   ├── selenocysteine (при наличии)
    │   │   └── stop_codon
    │   └── 3' UTR (UTR)
```

0-based или 1-based

- формат BED - начинается с 0, не включает правое значение: [1,5)
- форматы GTF/GFF - начинается с 1, включают правое значение: [1,5]

Формат GFF3

- больше уровней иерархии
- фиксированное направление иерархии
- поля в третьей колонке только из sequenceontology.org/

```
##gff-version 2
KJ660346    demo    exon    1000    2000    .    +    .    gene_id "Happy"; transcript_id "Tic";
KJ660346    demo    exon    3000    4000    .    +    .    gene_id "Happy"; transcript_id "Tic";
KJ660346    demo    exon    5000    6000    .    +    .    gene_id "Happy"; transcript_id "Tic";
KJ660346    demo    exon    7000    8000    .    +    .    gene_id "Happy"; transcript_id "Tic";
```

```
##gff-version 3
KJ660346    demo    exon    1000    2000    .    +    .    Parent=Tic,Tac,Toe;
KJ660346    demo    exon    3000    4000    .    +    .    Parent=Tic;
KJ660346    demo    exon    5000    6000    .    +    .    Parent=Tic,Tac,Toe;
```

Формат **GFF3** задает **направление иерархии** между элементами аннотации. В форматах **GTF**, **GFF2 и GFF3 9 колонок**, разделенных знаком **табуляции**. Превращение форматов можно проводить через различные genome tools (например, из gff в gff3)

- **Важно всегда соблюдать сборку аннотации и сборку генома!**
  - ensembl: 1-22, x,y, MT
  - ucsc: chr1-22, chrX