Structure secondaire de l'ARN - BIF7101

Abdoulaye Baniré Diallo *Ph.D.*
Mohamed Amine Remita

18 février 2015

La structure primaire

L'ARN

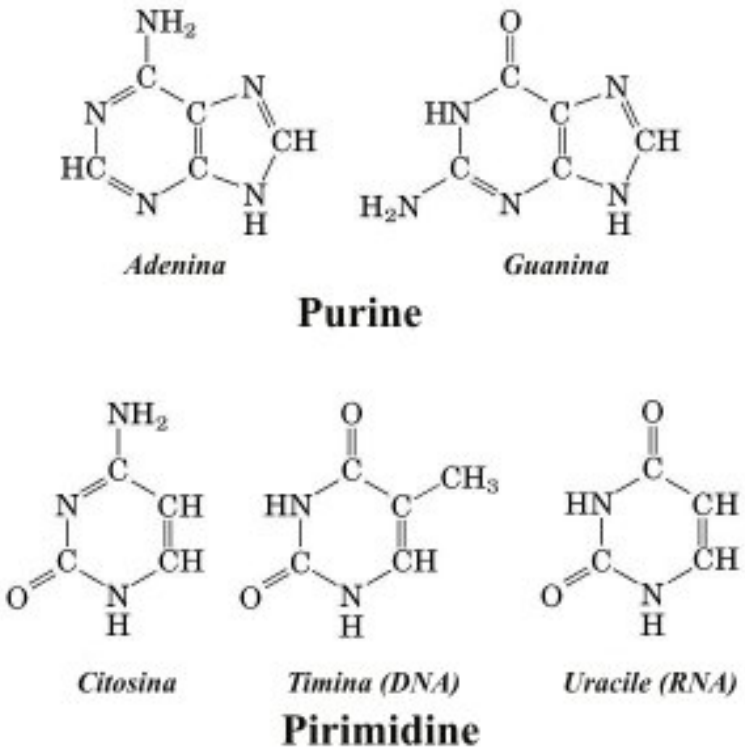
Les mots sur $\{A, C, G, U\}$
GUCCUCAUAGCUUACAAACCUCAAAGCGCGGCACUG
AAGAUGCCAAGACGGUAACCACCAUACCUGAGGACA
(tRNA-Phe)

Différence ADN et ARN

Uracile : pyrimidine $\simeq$ Thymine
Le sucre des nucléotides = ribose au lieu de désoxyribose dans l'ADN
ARN : simple brin $\Rightarrow$ plus de souplesse dans les structures 2D et 3D

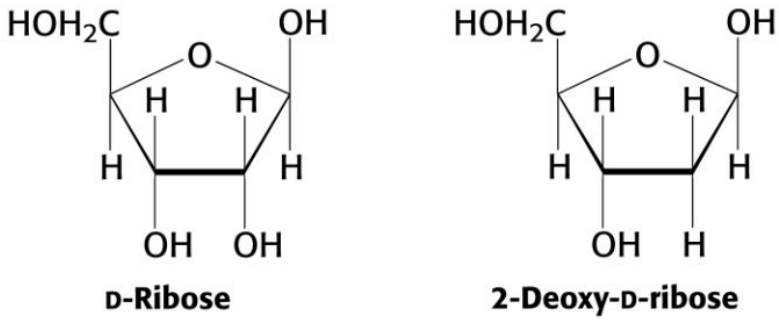
La structure primaire

ARN



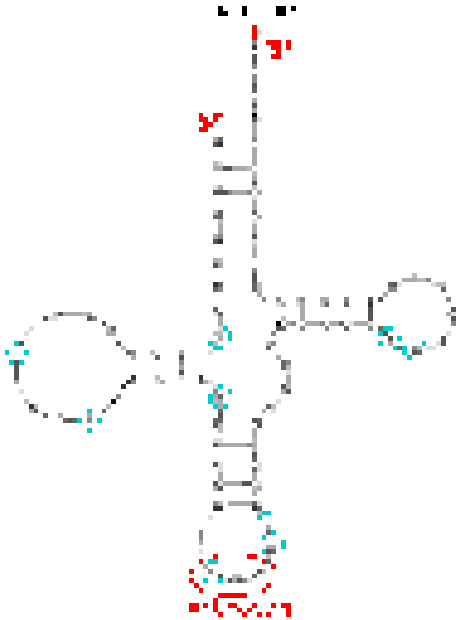
La structure primaire

ARN



La structure secondaire

Repliement 2D par création de liens entre paires de bases

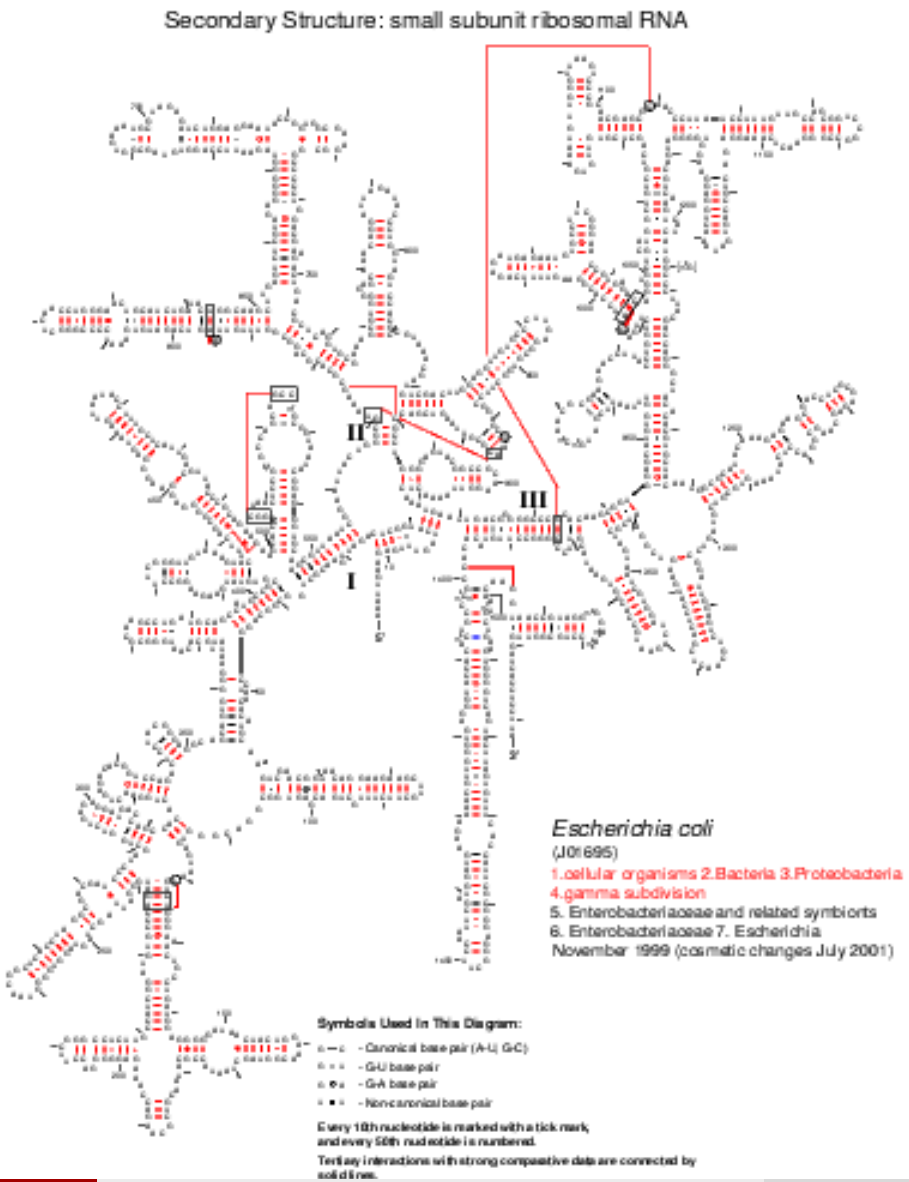


$$\left.\begin{array}{l} \mathrm{A}-\mathrm{U} \\ \mathrm{C}-\mathrm{G} \end{array}\right\} \text{Watson-Crick}$$

$$\left.\begin{array}{l} \mathrm{G}-\mathrm{U} \end{array}\right\} \text{Wobble}$$

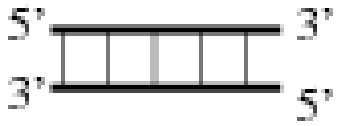
Pas de croisements

Éléments de structure secondaire

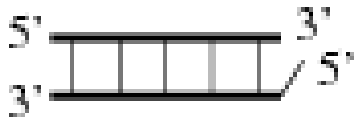


Éléments de structure secondaire

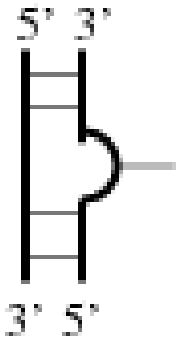
single strand



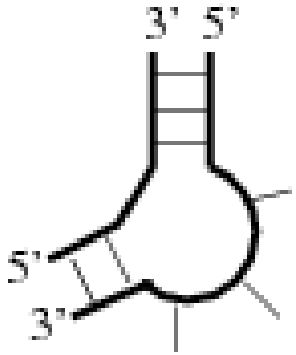
A–form double helix



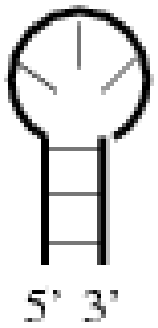
Double helix with
5' dangling end



single nucleotide
bulge

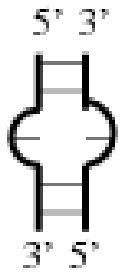


three nucleotides
bulge

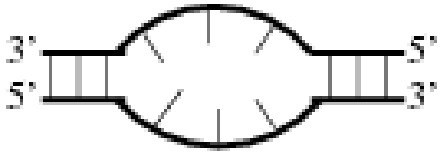


hairpin loop

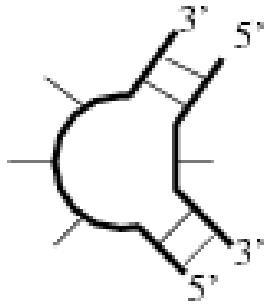
Éléments de structure secondaire



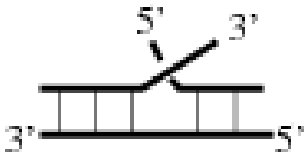
mismatch pair or, symmetric internal loop of 2 nucleotides



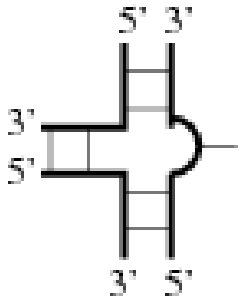
symmetric internal loop



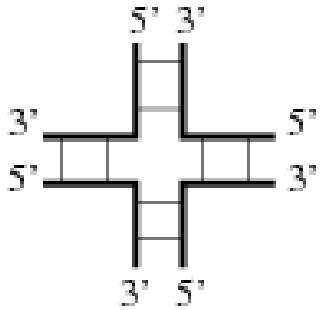
asymmetric internal loop



two–stem junction or coaxial stack



three–stem junction



four–stem junction

La structure tertiaire

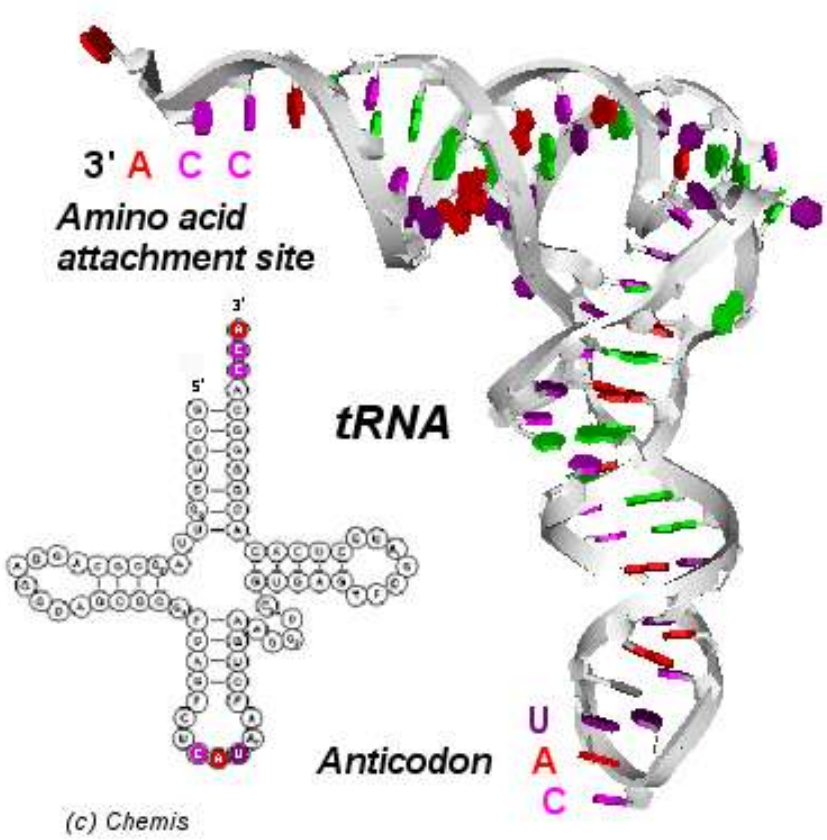
Repliement dans l'espace (3D) de la structure secondaire

Remarque :

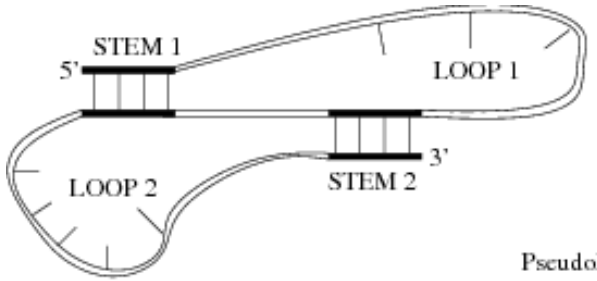
- Les ARN non traduits (ARNt, ARNr, . . .) ont une structure ≪ fixe ≫pour chaque famille
- Les ARNm ont une structure très variable
- La structure est très fortement liée à la fonction

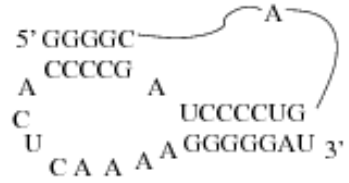
En général, les méthodes ne tiennent pas compte de la structure tertiaire au départ

Structure secondaire vs. Structure tertiaire

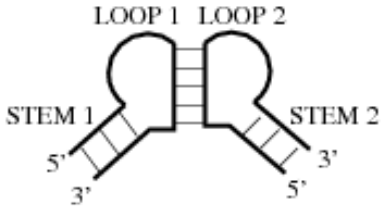


Éléments de structure tertiaire

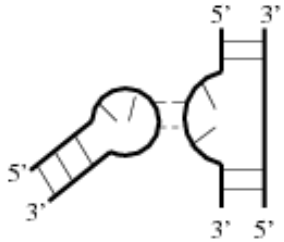


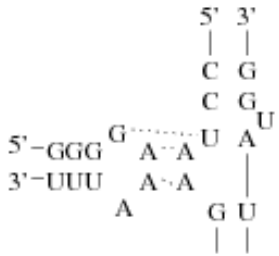


Pseudoknot



Kissing haipins





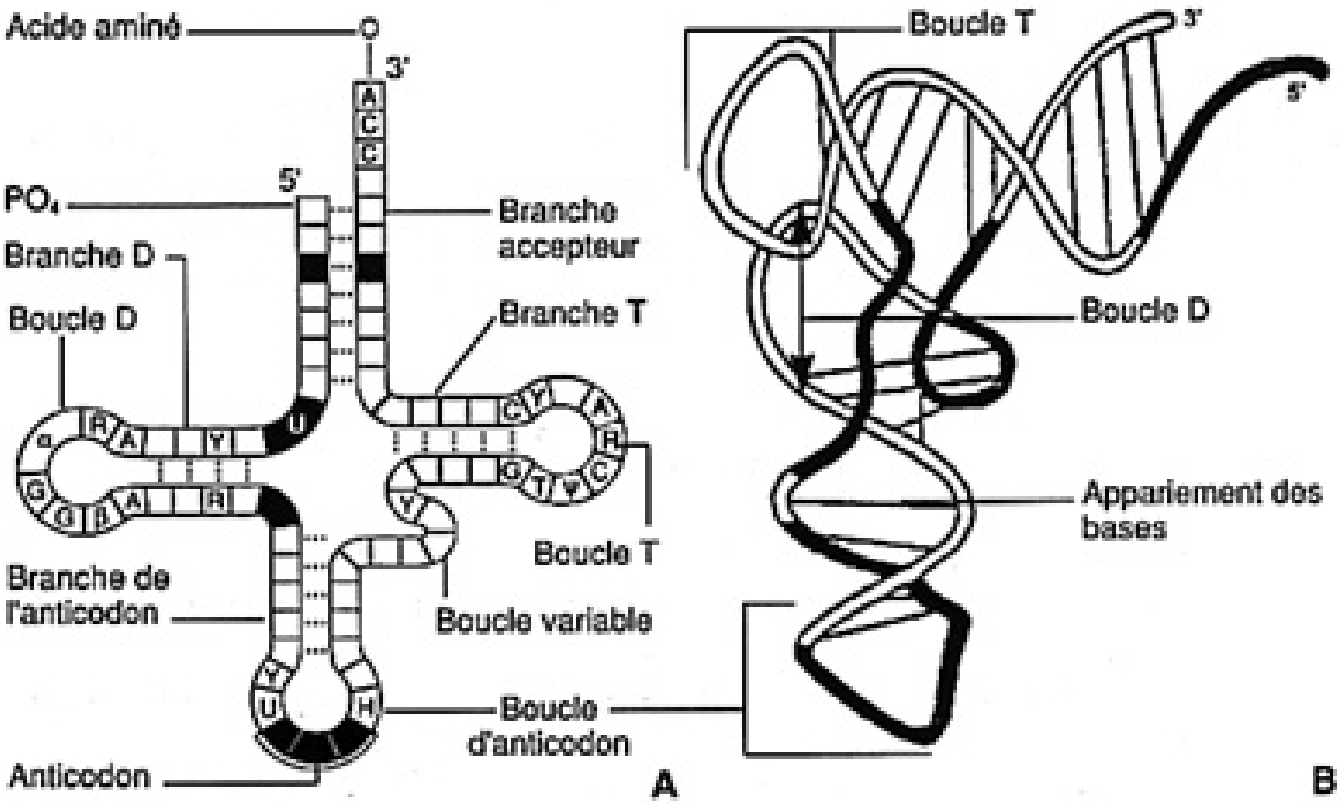
Hairpin loop – bulge contact

Les types d'ARN

- ARN de transfert
- ARN ribosomial
- ARN messager
- snoARN
- microARN

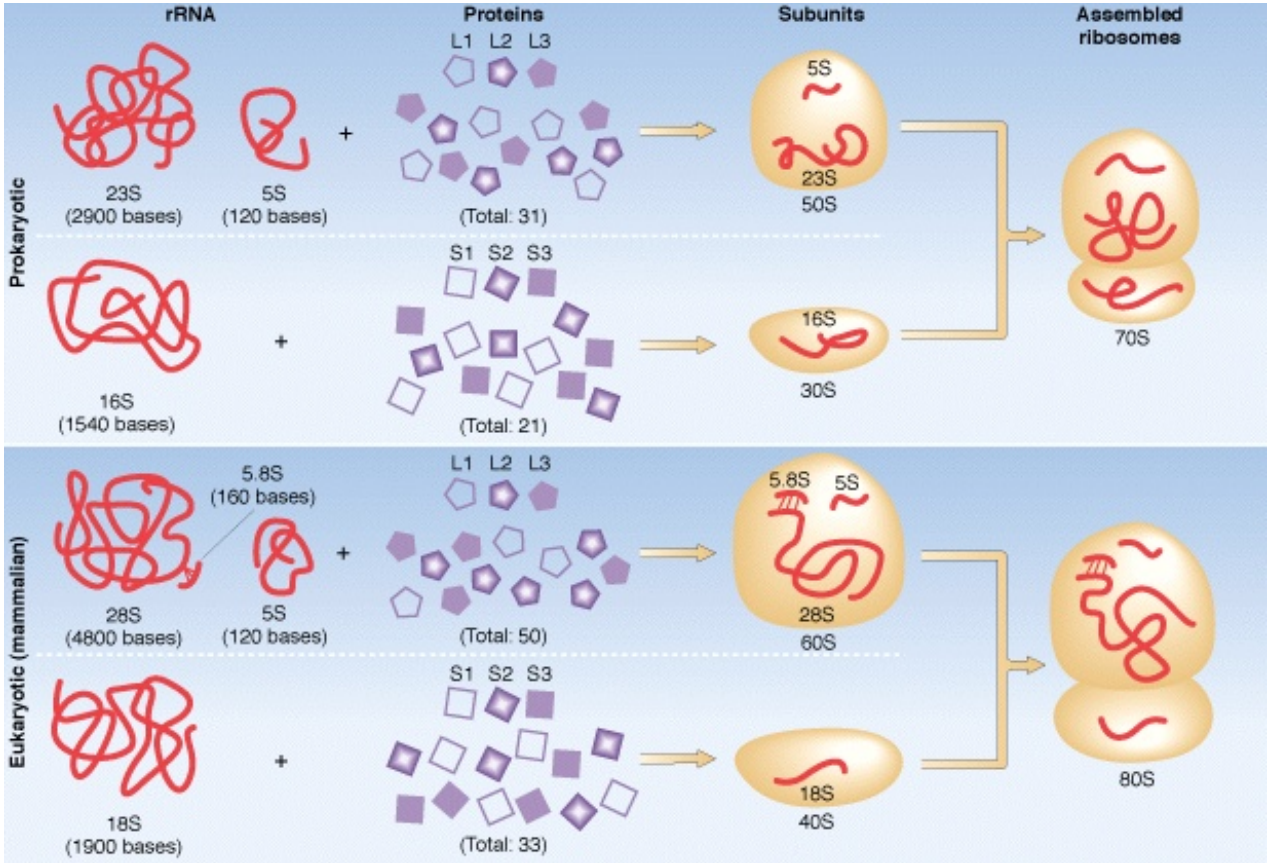
ARNt

Motifs d'un ARNt



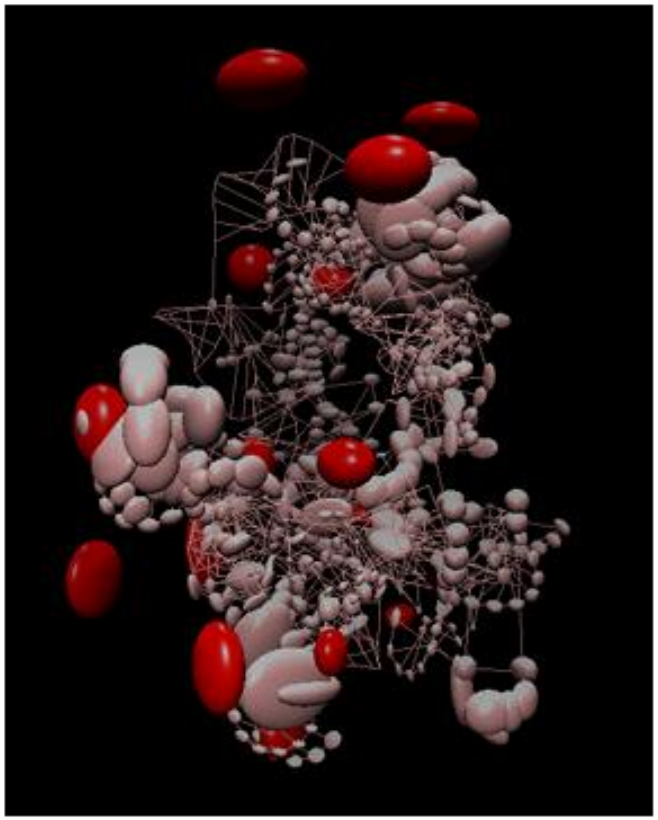
ARNr

Composition des sous unités



ARNr

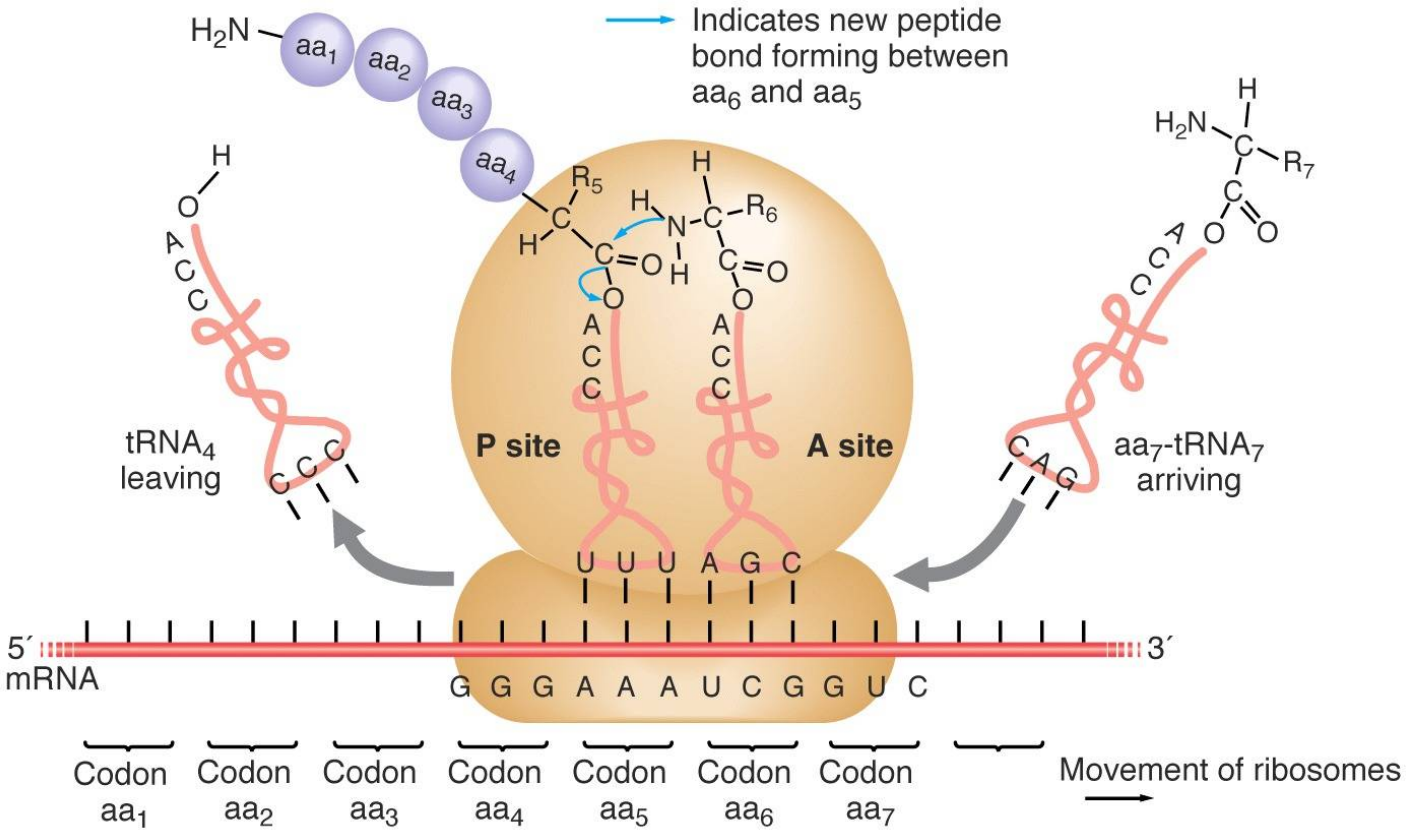
Structure tertiaire et secondaire



16S rRNA

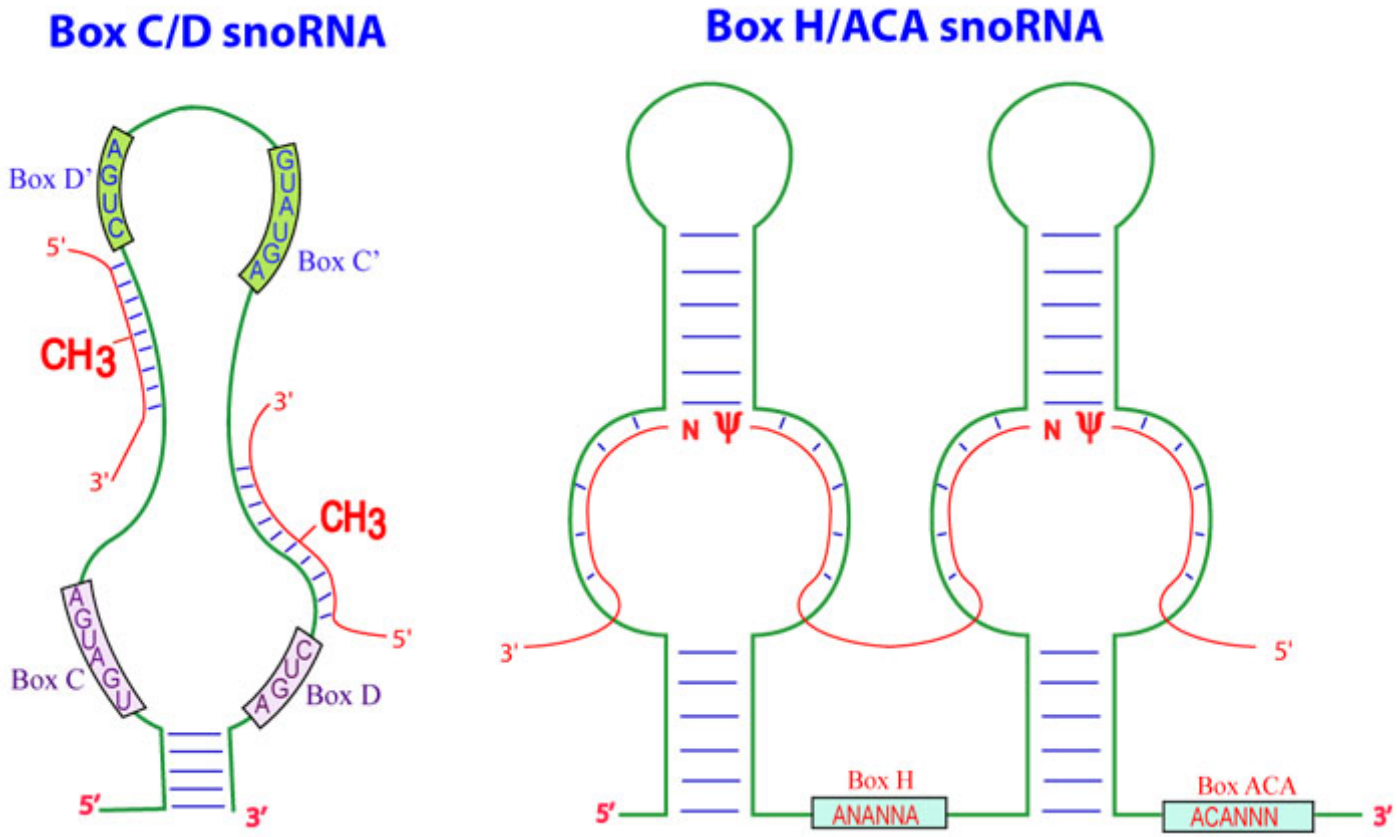
ARNm

Traduction de l'ARNm



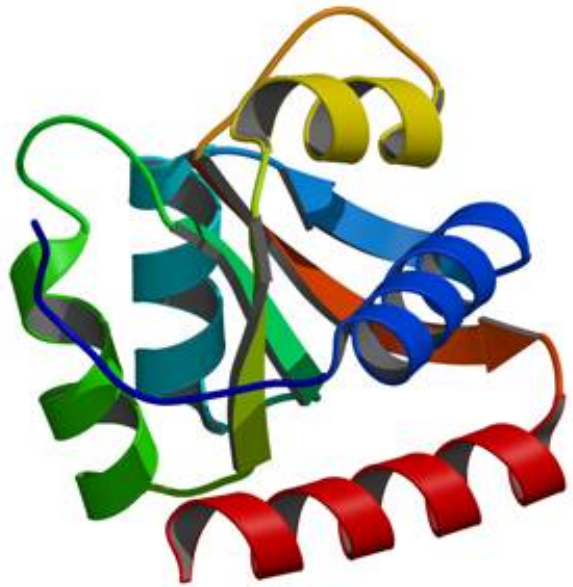
snoARN

Structure et motifs communs



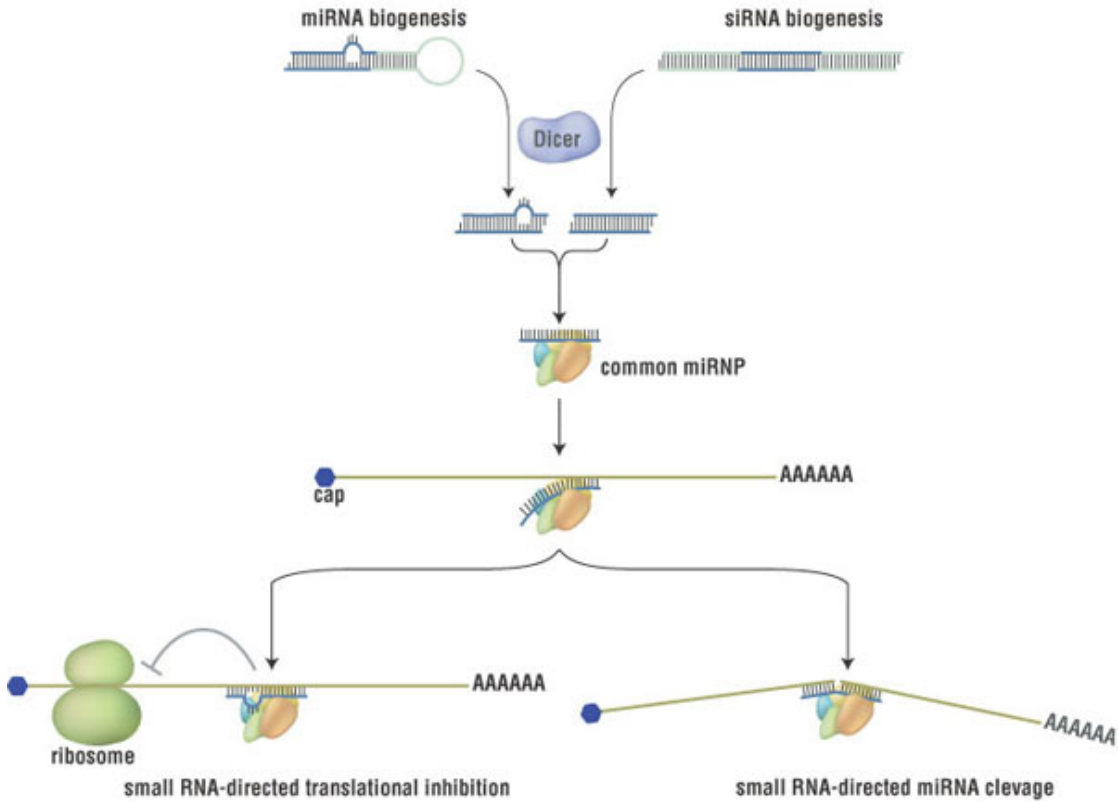
snoARN

Crystal structure of the L7 snoRNA-binding protein from *Methanococcus jannaschii*



micro ARN

Mécanisme d'action des miRNAs



Structure d'ARN et bioinformatique

Manipulation de structures

bases de données, sites web, format de fichiers, visualisation

Prédiction / Repliement

Structure primaire d'ARN
↓ prédiction
Structure secondaire

Détection d'ARN

À partir d'une séquence d'ARN et d'un schéma de structure secondaire, retrouver dans l'ARN les sous-séquences pouvant se replier selon le schéma donné

Le problème

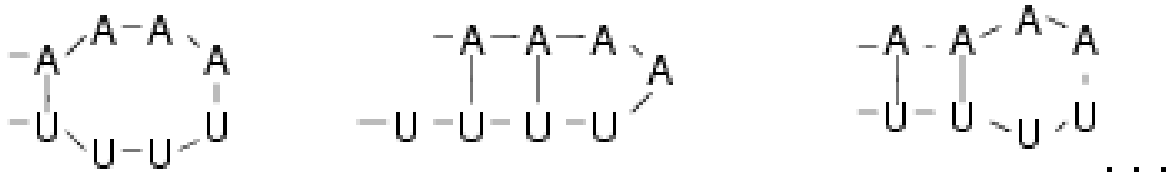
Définition

S = séquence d'ARN

prédire sa structure secondaire

Il y a un nombre exponentiel de repliements possibles

Exemple : AAAAUUUU



Lesquels sont ≪ censés ≫ ?

Un critère de choix : l'énergie

Une paire de bases renforce la stabilité de la structure : il faut beaucoup d'énergie pour la casser

Une boucle déstabilise la structure

Une structure stable demande beaucoup d'énergie pour être modifiée
$\Rightarrow$ on cherche à replier en une structure stable du point de vue énergétique

Plus précisément

Une paire de bases ≪ cachée ≫ dans un gros groupe de paires de base est protégée et dure à casser

Une paire de bases adjacente à une boucle est plus facile à casser

Une paire de bases adjacente à une grosse boucle l'est encore plus

Technique :la programmation dynamique

Premier critère :

on essaie de maximiser le nombre de paires de bases en tenant compte du fait que les liaisons A-U et G-C sont très stables, les liaisons G-U sont stables et les autres ne sont pas stables.

Avant de passer au calcul :

il faut travailler encore sur la partie ≪ modèle ≫, à savoir déterminer un critère de stabilité.

Algorithme de Nussinov

Principe :

calculer le repliement qui maximise le nombre de paires de bases (approximation du maximum d'énergie)

Programmation dynamique :

1. Calcul d'un tableau W : $W_{i,j}$ = nombre maximal de paires de bases parmi tous les repliements possibles du segment $S[i..j]$
$\Rightarrow$ $W_{1,n}$ = nombre de paires de bases d'une structure optimale
2. Calcul d'un chemin dans W pour en déduire une structure optimale.

Algorithme de Nussinov

Calcul de W :

programmation dynamique

Cas de base :

$L =$ taille minimale d'une boucle

$W_{i,j} = 0$ si $j \leq i + L$

Récursion :

4 cas pour le calcul de $W_{i,j}$. On suppose $W_{k,l}$ connu pour

$$\begin{cases} k = i, & l < j \\ k > i, & l = j \\ k > i & l < j \end{cases}$$

Algorithme de Nussinov

a). i et j forment une paire de bases :

$$W_{i,j} = 1 + W_{i+1,j-1}$$

b). i et j ne sont dans aucune paire de bases :

$$W_{i,j} = W_{i+1,j-1}$$

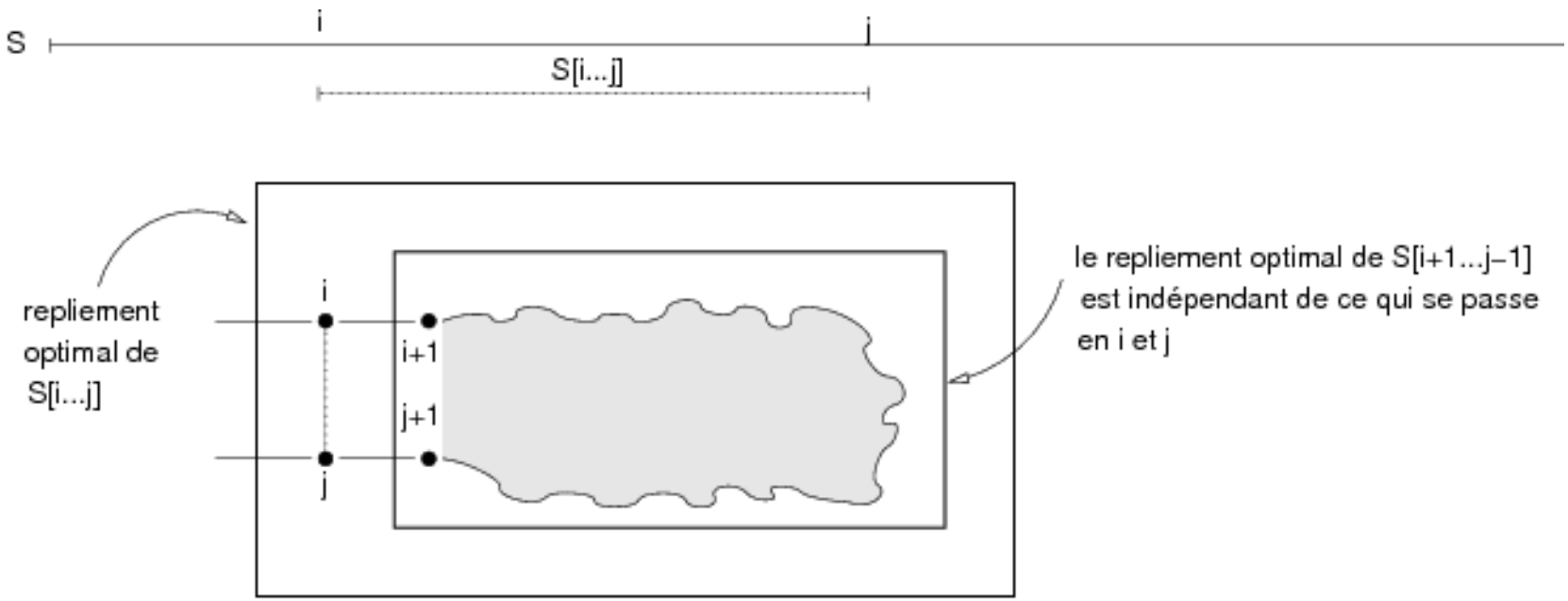
c). i (resp. j) est dans une paire de bases mais pas j (resp. i) :

$$W_{i,j} = W_{i,j-1} \text{ (resp. } W_{i,j} = W_{i-1,j})$$

d). i et j sont dans deux paires de bases :

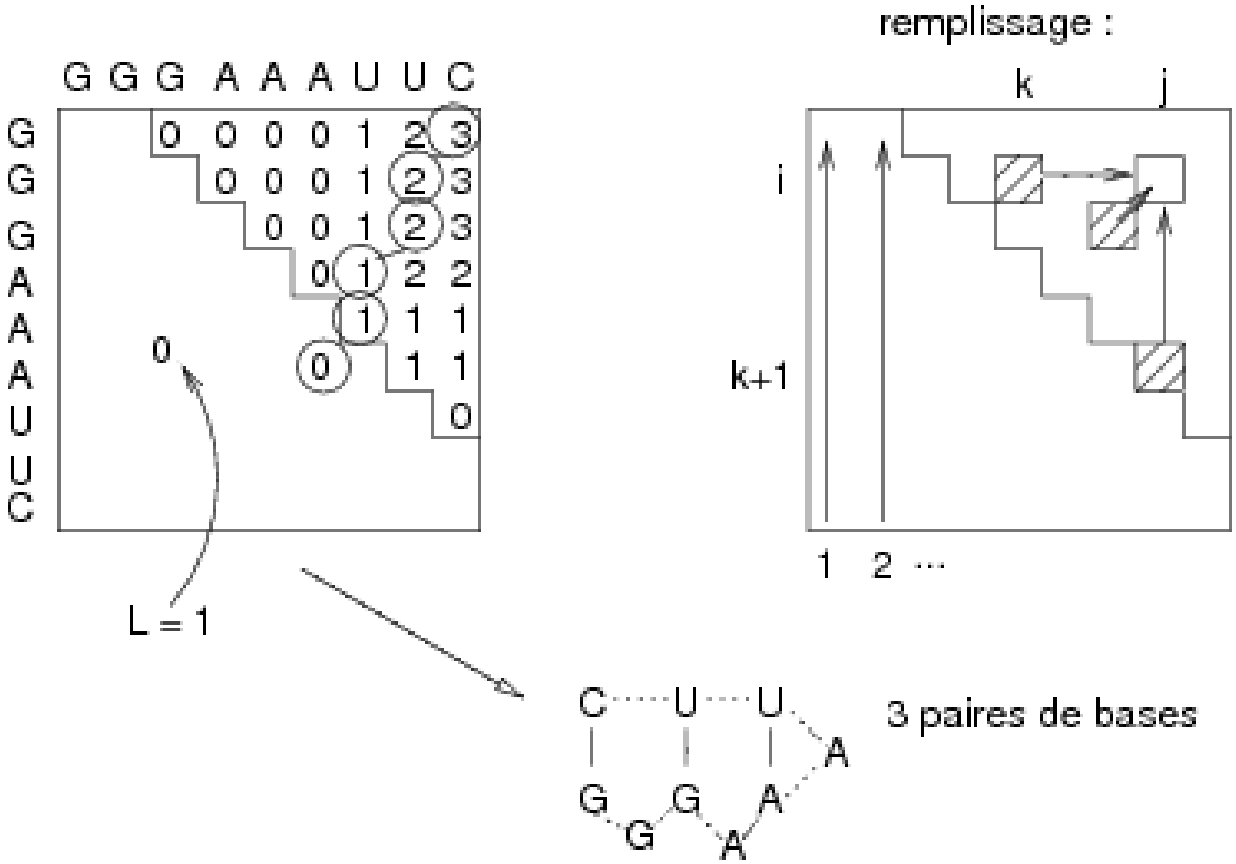
$$W_{i,j} = \max_{k \in [i+1, j-2]} \{W_{i,k} + W_{k+1,j}\}$$

Principe de la programmation dynamique



Algorithme de Nussinov

Exemple de remplissage de la matrice



Algorithme de Nussinov

Algorithme de Nussinov et al. (repliement d'ARN)

```
1. Calcul de la matrice W
Pour j de 1 à n faire
    Pour i de 1 à n-j+1 faire
       Si (j ≤s i+L) alors // L longueur minimale d'une boucle
          W[i,j] := 0;
       Sinon
          w := W[i,i+1] + W[i+2,j];
          Pour k de i+2 à j faire
             Si W[i,k] + W[k+1,j] > w alors
                w := W[i,k] + W[k+1,j];
          W[i,j] := MAX{
                        W[i+1,j],
                        W[i,j-1],
                        δ(i,j) + W[i+1,j-1],
                        w

                     }
```

$\delta(i,j) = 1$ si $W[i]$ et $W[j]$ peuvent former une paire de bases, 0 sinon

Algorithme de Nussinov

2. Calcul des paires de bases d'une structure secondaire

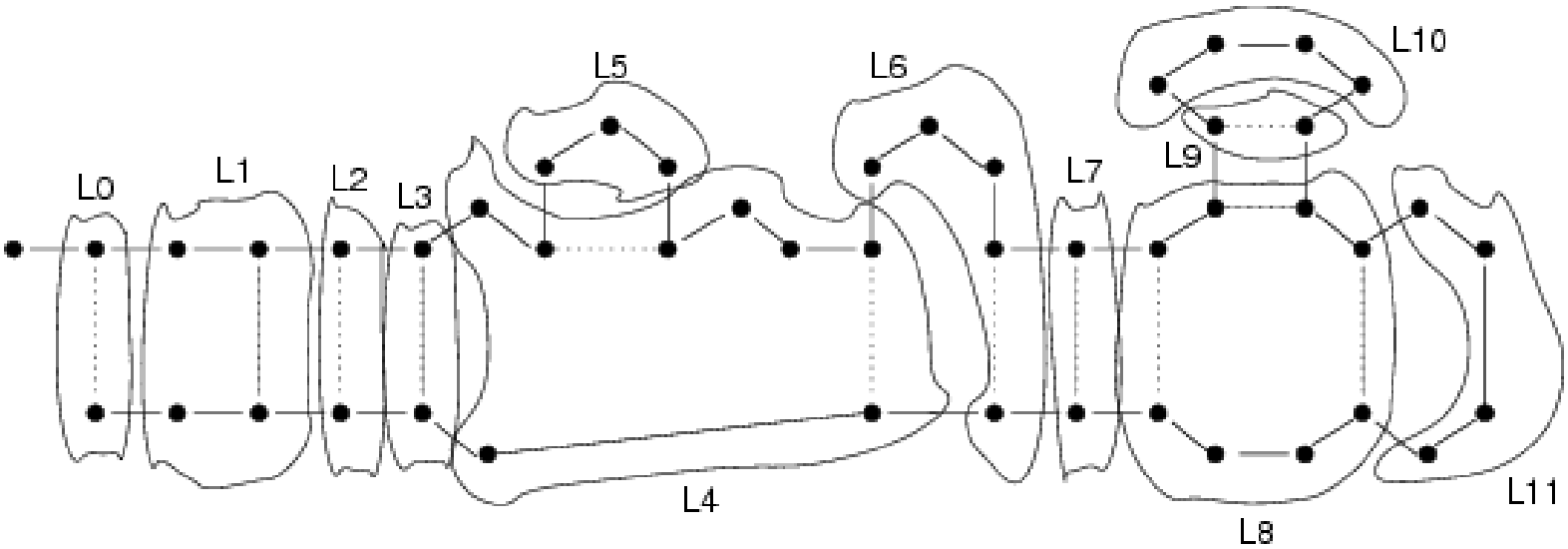
```
Soir P une pile vide;
Empiler (1,n) dans P;
Tant que P n'est pas vide faire
    Soit (i,j) le sommet de P;
    Dépiler (i,j) de P;
    Si i >= j ne rien faire;
    Sinon Si W[i+1,j-1] + delta(i,j) = W[i,j]
       Enregistrer (i,j) comme paire de base de la structure secondaire;
       Empiler (i+1,j-1) dans P;
    Sinon Si W[i,j] = W[i+1,j]
       Empiler (i+1,j) dans P;
    Sinon Si W[i,j] = W[i,j-1]
       Empiler (i,j-1) dans P;
    Sinon
       Pour k de i+1 à j-1 faire
          Si W[i,k] + W[k+1,j] = W[i,j] alors
             Empiler (k+1,j) dans P;
             Empiler (i,k) dans P;

             Sortir de la boucle Pour;
```

L'algorithme MFOLD

Ne prendre en compte que le nombre de paires de bases est insuffisant : une paire de bases isolée stabilise moins que si elle est groupée avec d'autres.

Mais le principe de la programmation dynamique est intéressant
$\Rightarrow$ il faut améliorer le modèle de stabilité énergétique : MFOLD (Zucker)

L'algorithme MFOLD



Idée :

décomposer une structure en éléments moins grossiers que de simples paires de bases et associer une énergie à chacun.

$$G(S) = \sum_{i=0}^{11} G(L_i)$$

Éléments structuraux : Loops

Soit (i, j) une paire de bases

- la base i' (resp. paire de base (i', j')) est accessible depuis (i, j) si $\forall (k, l)$ paire de bases, on n'a pas $i < k < i'$ (resp. $< j'$) $< l < j$
- une loop est fermée par (i, j) si toutes ses bases et paires de bases sont accessibles

$k-$loop

une loop à $k - 1$ paire de bases

Hairpin :

$1-$loop (L_5, L_{10}, L_{11})

BasePairs :

$2-$loop fermée par (i, j) et avec une seule paire de bases (i', j') : $i' = i + 1$ et $j' = j - 1$ (L_2, L_3, L_7, L_9)

Éléments structuraux : Loops

Bulge :

2−loop $\{(i,j),(i',j')\}$ telle que : $(i' = i+1, j' < j-1)$ ou $(i' > i+1, j' = j-1)$ (L_6)

InteriorLoop :

2−loop $\{(i,j),(i',j')\}$ telle que : $i' > i+1, j' < j-1)$ (L_1)

MultiLoop :

k−loop, pour $k \geq 3$ (L_4, L_8)

Stem (ou Stack) : suite de BasePairs $(L_2 L_3)$

Éléments structuraux : Loops

Energie d'une hairpin (exemple de calcul)

Exemple :

calcul :

1. Loop penalty (loop size=4)	+5.60 kcal/mol
2. Stacking GC/AU	-2.20 kcal/mol
3. Tetraloop bonus	-3.00 kcal/mol
Total :	+0.40 kcal/mol

Éléments structuraux : Loops

Energie associée à une loop : le cas des hairpins

Soit (i, j) la paire de bases fermant une hairpin

L'énergie est :

$$
\begin{array}{rll}
e_h = & e_h^1(i,j) & \text{influence de la longueur de la loop} \\
+ & e_h^2(i+1,j-1) & \text{influence du premier mismatch} \\
+ & e_h^3(j-i) & \text{terme correctif si la partie terminale} \\
 & & \text{a 3 ou 4 bases}
\end{array}
$$

Fichiers

Fichier `loop` de MFOLD Énergie de déstabilisation d'une loop à 37 degrés C (kCal/mol)

SIZE	INTERNAL	BULGE	HAIRPIN
1	.	3.80	.
2	.	2.80	.
3	.	3.20	5.70
4	1.70	3.60	5.60
5	1.80	4.00	5.60
6	2.00	4.40	5.40
7	2.20	4.60	5.90
8	2.30	4.70	5.60
9	2.40	4.80	6.40
10	2.50	4.90	6.50
11	2.60	5.00	6.60
12	2.70	5.10	6.70
13	2.80	5.20	6.80
14	2.90	5.30	6.90
15	3.00	5.40	6.90
16	3.00	5.40	7.00
17	3.10	5.50	7.10
18	3.10	5.50	7.10
19	3.20	5.60	7.20
20	3.30	5.70	7.20
21	3.30	5.70	7.30
22	3.40	5.80	7.30
23	3.40	5.80	7.40
24	3.40	5.80	7.40
25	3.50	5.90	7.50
26	3.50	5.90	7.50
27	3.60	6.00	7.50
28	3.60	6.00	7.60
29	3.60	6.00	7.60
30	3.70	6.10	7.70

Fichiers

Fichier `tstackh` de MFOLD Hairpin loop : Enthalpies selon les mismatchs terminaux et les paires de bases à 37 degrés C (kCal/mol)

```
      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      AX
      AY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      AX
      CY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      AX
      GY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      AX
      UY
   3' <-- 5'
-0.30 -0.50 -0.30 -0.30
-0.10 -0.20 -1.50 -0.20
-1.10 -1.20 -0.20  0.20
-0.30 -0.30 -0.60 -1.10

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      CX
      AY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      CX
      CY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      CX
      GY
   3' <-- 5'
-1.50 -1.50 -1.40 -1.80
-1.00 -0.90 -2.90 -0.80
-2.20 -2.00 -1.60 -1.10
-1.70 -1.40 -1.80 -2.00

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      CX
      UY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      GX
      AY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      GX
      CY
   3' <-- 5'
-1.10 -1.50 -1.30 -2.10
-1.10 -0.70 -2.40 -0.50
-2.40 -2.90 -1.40 -1.20
-1.90 -1.00 -2.20 -1.50

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      GX
      GY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      GX
      UY
   3' <-- 5'
 0.20 -0.50 -0.30 -0.30
-0.10 -0.20 -1.50 -0.20
-0.90 -1.10 -0.30  0.00
-0.30 -0.30 -0.40 -1.10

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      UX
      AY
   3' <-- 5'
-0.50 -0.30 -0.60 -0.50
-0.20 -0.10 -1.20 -0.00
-1.40 -1.20 -0.70 -0.20
-0.30 -0.10 -0.50 -0.80

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      UX
      CY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      UX
      GY
   3' <-- 5'
-0.50 -0.30 -0.60 -0.50
-0.20 -0.10 -1.70  0.00
-0.80 -1.20 -0.30 -0.70
-0.60 -0.10 -0.60 -0.80

      Y
----------------
A   C   G   U
----------------
   5' --> 3'
      UX
      UY
   3' <-- 5'
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
.    .    .    .
```

Fichiers

Fichier `tloops` de MFOLD Tetraloops : Énergie à 37 degrés C (kCal/mol)

Seq	Energy
GGGGAC	-3.00
GGUGAC	-3.00
CGAAAG	-3.00
GGAGAC	-3.00
CGCAAG	-3.00
GGAAAC	-3.00
CGGAAG	-3.00
CUUCGG	-3.00
CGUGAG	-3.00
CGAAGG	-2.50
CUACGG	-2.50
GGCAAC	-2.50
CGCGAG	-2.50
UGAGAG	-2.50
CGAGAG	-2.00
AGAAAU	-2.00
CGUAAG	-2.00
CUAACG	-2.00
UGAAAG	-2.00
GGAAGC	-1.50
GGGAAC	-1.50
UGAAAA	-1.50
AGCAAU	-1.50
AGUAAU	-1.50
CGGGAG	-1.50
AGUGAU	-1.50
GGCGAC	-1.50
GGGAGC	-1.50
GUGAAC	-1.50
UGGAAA	-1.50

Énergie

nécessaire à la stabilité de la structure à une température donnée

données stockées dans des fichiers distribués avec le logiciel MFOLD (modifiables)

autres loops :

- stack : $e_s(i,j)$
- bulge et interior loop : $e_{bi}(i,j,i',j')$

Énergie d'empilement (stacking)

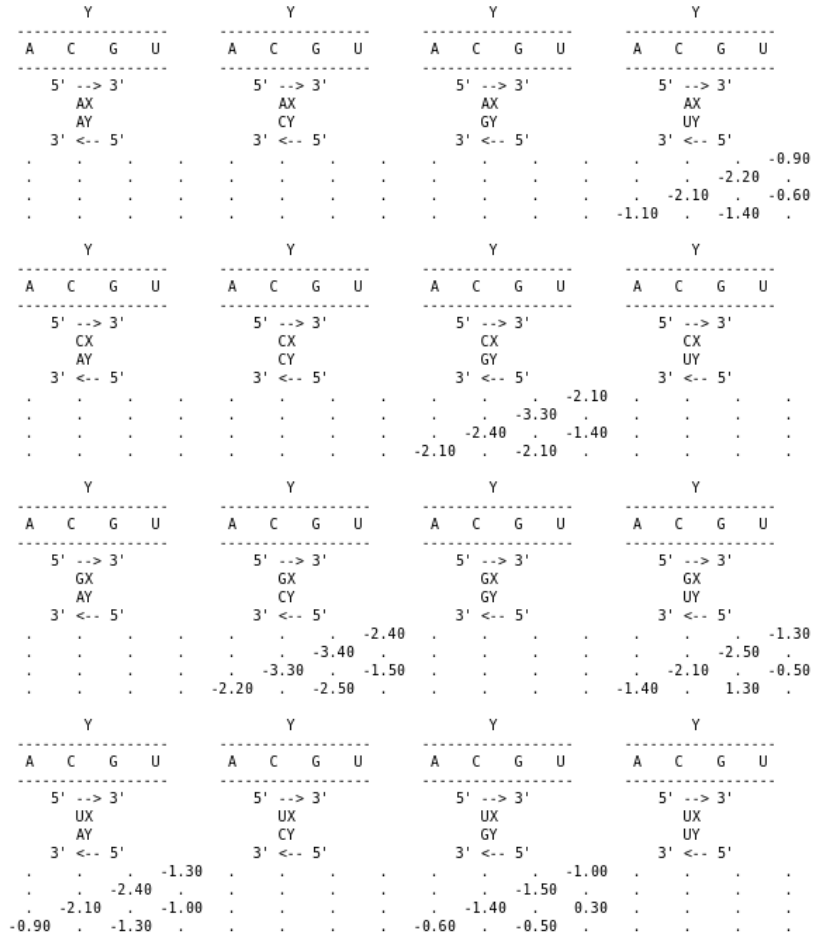
- Les énergies d'empilement sont données en 16 (4x4) tableaux de 16 (4x4) nombres
- Par convention, A, C, G, T/U correspondent à 1, 2, 3 et 4 respectivement

Pour un empilement :
5' -WX- 3'
3' -ZY- 5' ,
l'énergie correspondante est dans le tableau de la Wième ligne et la Zième colonne, et dans ce tableau, à la Xième ligne et la Yième colonne. Par exemple, pour W=1 et Z=4 :

```
------------------
 A   C   G   U
------------------
   5' --> 3'
      AX
      UY
   3' <-- 5'
 .     .     .   -0.90
 .     .   -2.20   .
 .   -2.10   .   -0.60
-1.10  .   -1.40   .
```

Énergie d'empilement (stacking)

Fichier `stack` de MFOLD
Enthalpies d'empilement à 37 degrés C (kCal/mol)



Énergie pour les Bulges et Interior loops

Exemple de Bulge

1. Internal loop energy penalty (loop size = 5) : +1.8 kcal/mol
2. Terminal stacking energies for the mismatched base pairs
   adjacent to CG base pair (CG/CU) : 0.0 kcal/mol
   adjacent to GC base pair (CG/AC) : 0.0 kcal/mol
3. For non-symmetric interior loops, there is an asymmetric loop penalty : 0.5 kcal/mol

Total : +2.3 kcal/mol

Énergie pour les Bulges et Interior loops

Fichier `tstacki` de MFOLD Interior Loops : Enthalpies selon les mismatchs terminaux et les paires de bases à 37 degrés C (kCal/mol)

```
      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      AX
      AY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      AX
      CY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      AX
      GY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      AX
      UY
   3' <-- 5'
 0.70  0.70 -0.40  0.70
 0.70  0.70  0.70  0.70
-0.40  0.70  0.70  0.70
 0.70  0.70  0.70  0.00

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      CX
      AY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      CX
      CY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      CX
      GY
   3' <-- 5'
-0.00 -0.00 -1.10 -0.00
-0.00 -0.00 -0.00 -0.00
-1.10 -0.00 -0.00 -0.00
-0.00 -0.00 -0.00 -0.70

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      CX
      UY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      GX
      AY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      GX
      CY
   3' <-- 5'
-0.00 -0.00 -1.10 -0.00
-0.00 -0.00 -0.00 -0.00
-1.10 -0.00 -0.00 -0.00
-0.00 -0.00 -0.00 -0.70

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      GX
      GY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      GX
      UY
   3' <-- 5'
 0.70  0.70 -0.40  0.70
 0.70  0.70  0.70  0.70
-0.40  0.70  0.70  0.70
 0.70  0.70  0.70  0.00

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      UX
      AY
   3' <-- 5'
 0.70  0.70 -0.40  0.70
 0.70  0.70  0.70  0.70
-0.40  0.70  0.70  0.70
 0.70  0.70  0.70  0.00

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      UX
      CY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      UX
      GY
   3' <-- 5'
 0.70  0.70 -0.40  0.70
 0.70  0.70  0.70  0.70
-0.40  0.70  0.70  0.70
 0.70  0.70  0.70  0.00

      Y
-----------------
A   C   G   U
-----------------
   5' --> 3'
      UX
      UY
   3' <-- 5'
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
.     .     .     .
```

MFOLD : L'algorithme

- Principe similaire à Nussinov, mais on a 2 tableaux : W et V
  $W_{i,j}$ = énergie (minimum) du repliement optimal de $S[i..j]$
  $V_{i,j}$ = idem mais quand i et j forment une paire de bases ensemble
- Étape de base de la programmation dynamique :
  $W_{i,j} = V_{i,j} = \infty$ si $j \leq i + L$

MFOLD : L'algorithme

- Récursion :
  - $W_{i,j} = \min\{W_{i,j-1}; W_{i+1,j}; \min_{i<k<j}\{W_{i,k} + W_{k+1,j}\}; V_{i,j}\}$
  - $V_{i,j} = \begin{cases} e_h(i,j) & \text{si } (i,j) \text{ forme une hairpin} \\ \text{ou} \quad e_s(i,j) + V_{i+1,j-1} & \text{si } (i,j) \text{ est une 1-loop} \\ \text{ou} \quad e_{bi}(i,j,i',j') & \text{si } (i,j) \text{ est une 2-loop} \end{cases}$

  (multiloops non incluses, compliquées à traiter)
- Complexité : $\mathcal{O}(n^3)$

MFOLD : Le logiciel

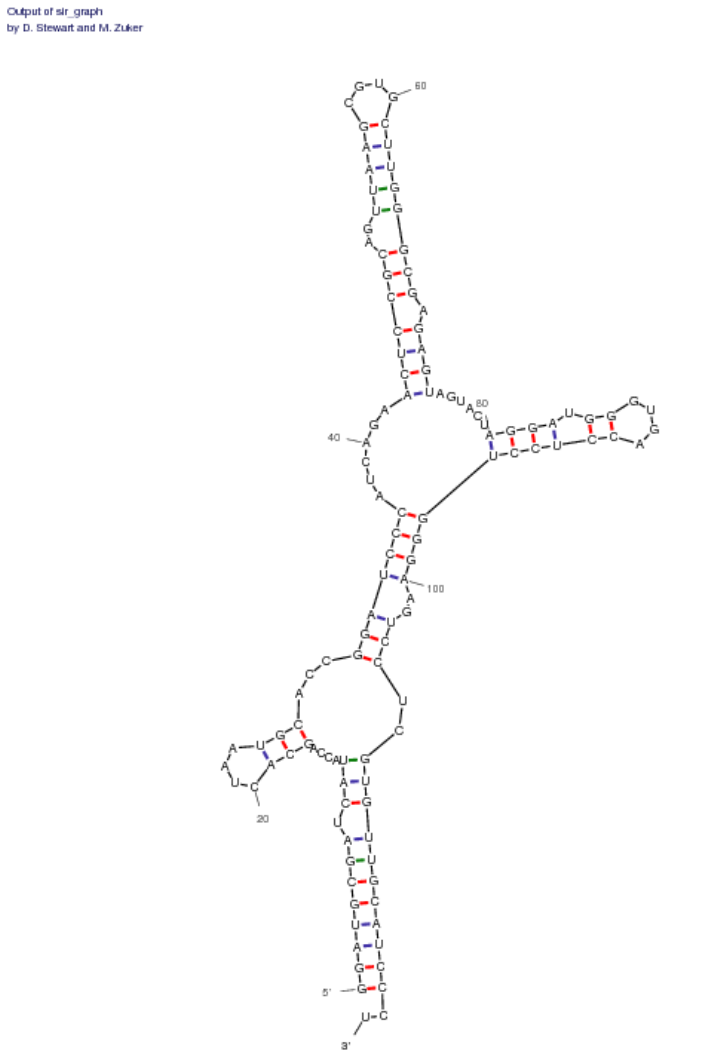
Entrée :

- une séquence
- des paramètres énergétiques
- un ensemble de contraintes
  `F 23 87 3` va forcer les paires de bases 23.87, 24.86 et 25.85

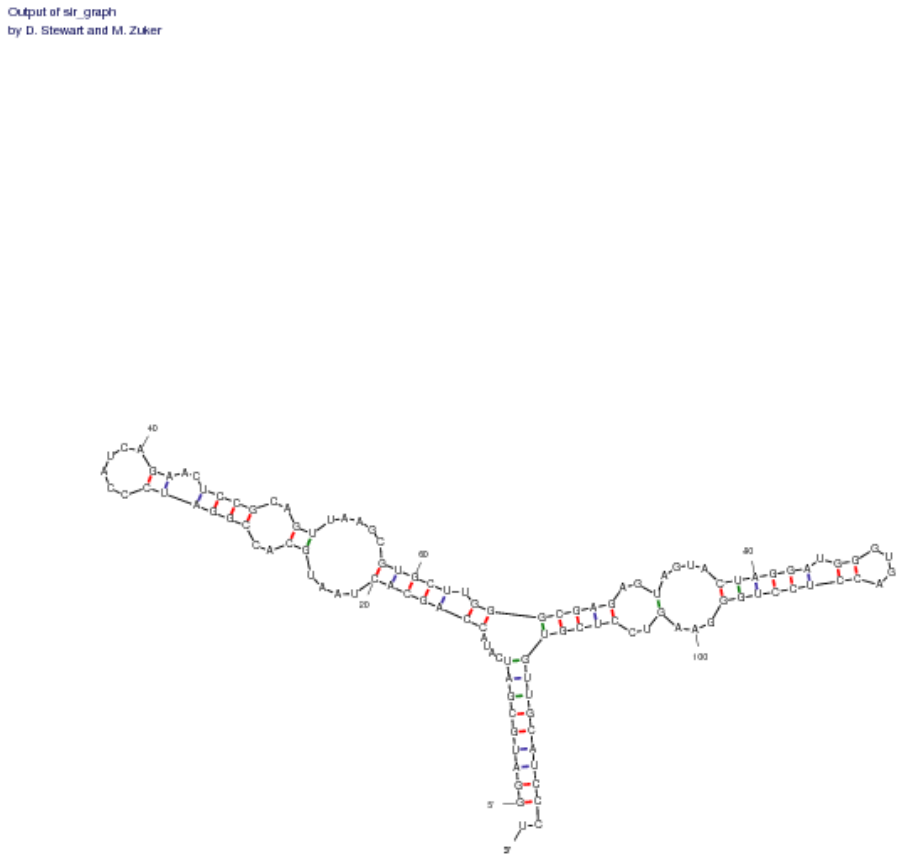
Sortie :

- énergie dot-plot
- RNAML
- un ensemble de structures
- Annotations

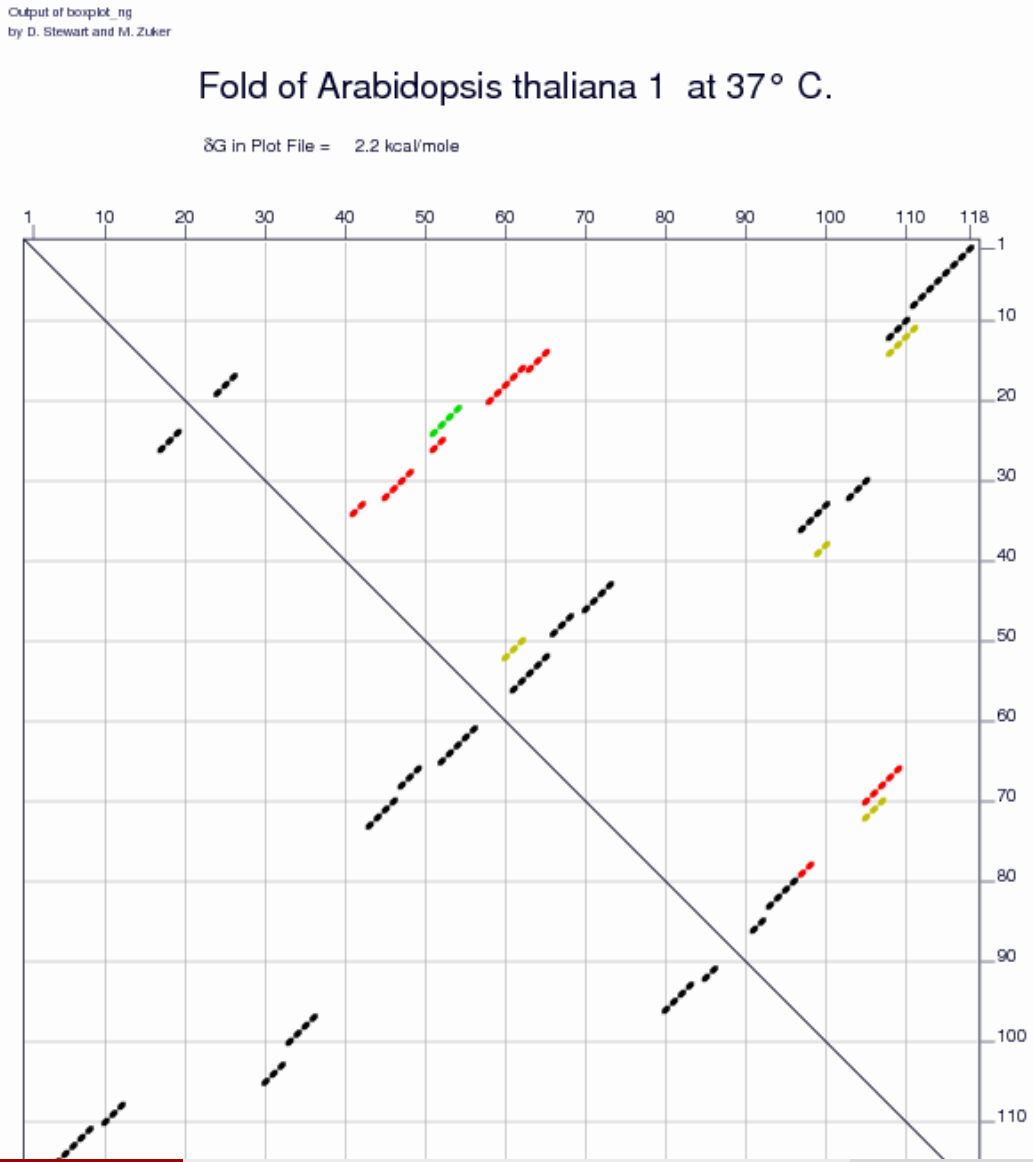
MFOLD : Le logiciel



MFOLD : Le logiciel



MFOLD : Le logiciel



Énergie et probabilités : Vienna

Idée : calculer la structure la plus probable (du point de vue énergie) en fonction des paramètres énergétiques choisis.

Mise en œuvre :

- fonction de partition : $\begin{cases} S = & \text{séquence} \\ \mathcal{R} = & \text{espace des repliements de } S \end{cases}$

$$Q_S = \sum_{r \in \mathcal{R}} e^{-G(r)/RT},$$

où $G(r)$ est l'énergie minimum de r, et R, T des constantes connues

Énergie et probabilités : Vienna

- probabilité d'un repliement r :

$$P(r|S) = e^{-G(r)/RT}/Q_S$$

- calcul de Q_S : « parallèle à MFOLD »

$$G(r) = \sum_{L_i} G(L_i)$$

$$e^{-G(r)/RT} = \prod_{L_i} e^{-G(L_i)/RT}$$

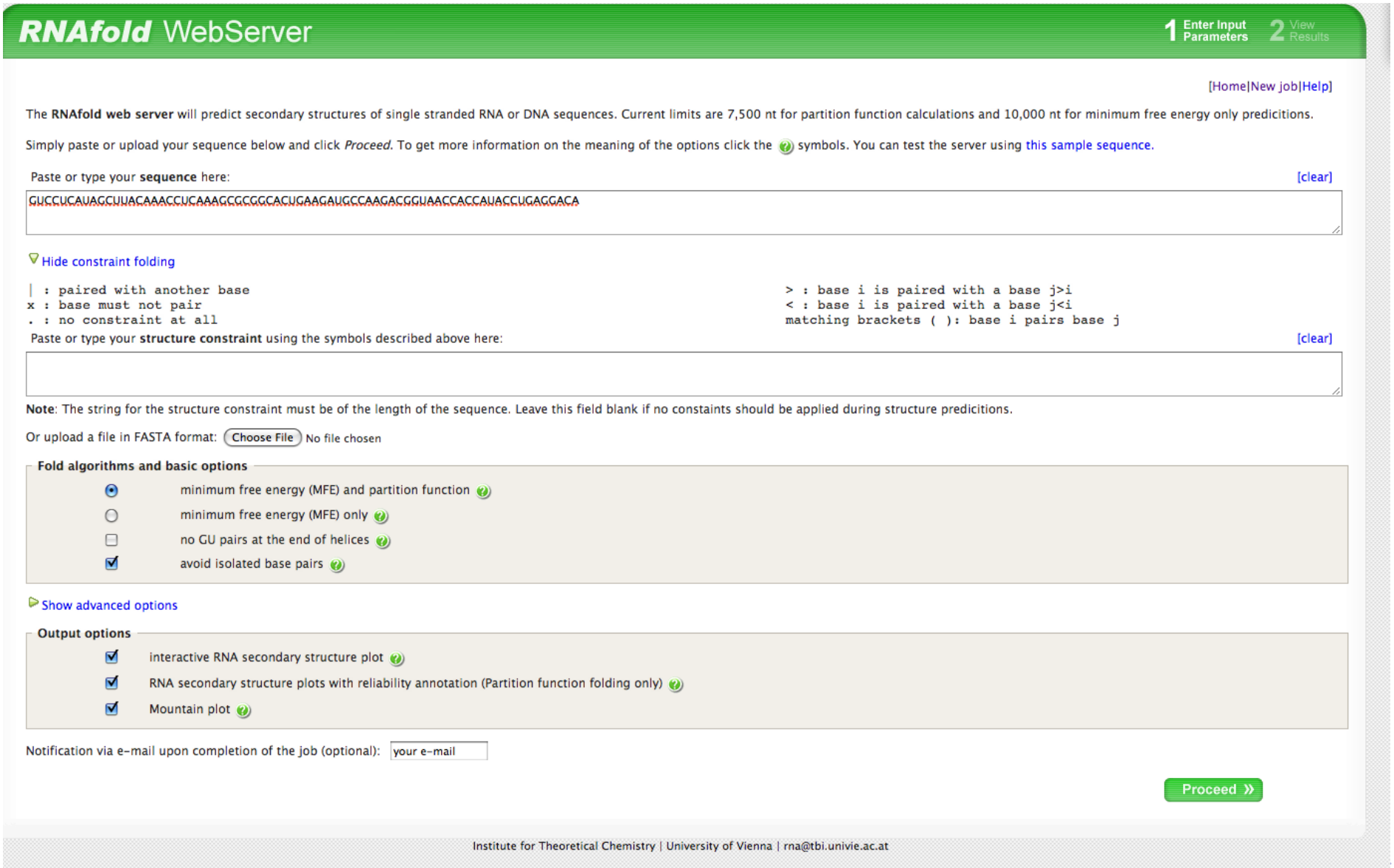
$\Rightarrow$ algorithme calqué sur celui de MFOLD

Corollaire : pour une paire de bases (i, j) donnée, on peut calculer la probabilité qu'elle appartienne à un repliement de S.

Énergie et probabilités : Vienna

- RNAfold -- predict minimum energy secondary structures and pair probabilities
- RNAeval -- evaluate energy of RNA secondary structures
- RNAheat -- calculate the specific heat (melting curve) of an RNA sequence
- RNAinverse -- inverse fold (design) sequences with predefined structure
- RNAdistance -- compare secondary structures
- RNApdist -- compare base pair probabilities
- RNAsubopt -- complete suboptimal folding
- RNAplot -- RNA structure drawings in PostScript, SVG, or GML
- RNAcofold -- predict hybrid structure of two sequences
- RNAduplex -- predict possible hybridization sites between two sequences
- RNAup -- predict RNA-RNA interaction sites using accessibilities
- RNAalifold -- predict the consensus structure of several aligned sequences
- RNAaliduplex -- comparative (multiple alignment) version of RNAduplex
- RNALfold -- predict locally stable structure of long sequences
- RNAplfold -- compute average pair probabilities for local base pairs in long sequences
- RNApaln -- fast structural alignment of RNA sequences using string alignments
- Several small but helpful Perl Utilities

Énergie et probabilités : Vienna



RNAfold WebServer

1 Enter Input Parameters 2 View Results

[Home|New job|Help]

The **RNAfold web server** will predict secondary structures of single stranded RNA or DNA sequences. Current limits are 7,500 nt for partition function calculations and 10,000 nt for minimum free energy only predicitions.

Simply paste or upload your sequence below and click *Proceed*. To get more information on the meaning of the options click the symbols. You can test the server using this sample sequence.

Paste or type your **sequence** here: [clear]

GUCCUCAUAGCUUACAAACCUCAAAGCGCGGCACUGAAGAUGCCAAGACGGUAACCACCAUACCUGAGGACA

Hide constraint folding

| : paired with another base
x : base must not pair
. : no constraint at all

> : base i is paired with a base j>i
< : base i is paired with a base j<i
matching brackets ( ): base i pairs base j

Paste or type your **structure constraint** using the symbols described above here: [clear]

Note: The string for the structure constraint must be of the length of the sequence. Leave this field blank if no constaints should be applied during structure predicitions.

Or upload a file in FASTA format: Choose File No file chosen

Fold algorithms and basic options

- (•) minimum free energy (MFE) and partition function
- ( ) minimum free energy (MFE) only
- [ ] no GU pairs at the end of helices
- [x] avoid isolated base pairs

Show advanced options

Output options

- [x] interactive RNA secondary structure plot
- [x] RNA secondary structure plots with reliability annotation (Partition function folding only)
- [x] Mountain plot

Notification via e-mail upon completion of the job (optional): your e-mail

Proceed »

Institute for Theoretical Chemistry | University of Vienna | rna@tbi.univie.ac.at

Énergie et probabilités : Vienna

Results for minimum free energy prediction

The optimal secondary structure in dot-bracket notation with a minimum free energy of **-17.20** kcal/mol is given below.
[color by base-pairing probability | color by positional entropy | no coloring]

```
1       GUCCUCAUAGCUUACAAACCUCAAAGCGCGGCACUGAAGAUGCCAAGACGGUAACCACCAUACCUGAGGACA
1       (((((((..((((.........)))).((((.......)))).....(((.......)))))))))).
```

You can download the minimum free energy (MFE) structure in [Vienna Format| Ct Format]. You can get thermodynamic details on this structure by submitting to our RI

Results for thermodynamic ensemble prediction

The free energy of the thermodynamic ensemble is **-17.91** kcal/mol.
The frequency of the MFE structure in the ensemble is **31.59** %.
The ensemble diversity is **4.81** .
You may look at the **dot plot** containing the base pair probabilities [EPS|PDF|IMAGE CONVERTER].

The centroid secondary structure in dot-bracket notation with a minimum free energy of **-17.20** kcal/mol is given below.
[color by base-pairing probability | color by positional entropy | no coloring]

```
1       GUCCUCAUAGCUUACAAACCUCAAAGCGCGGCACUGAAGAUGCCAAGACGGUAACCACCAUACCUGAGGACA
1       (((((((..((((.........)))).((((.......)))).....(((.......)))))))))).
```

You can download the minimum free energy (MFE) structure in [Vienna Format| Ct Format]. You can get thermodynamic details on this structure by submitting to our RI

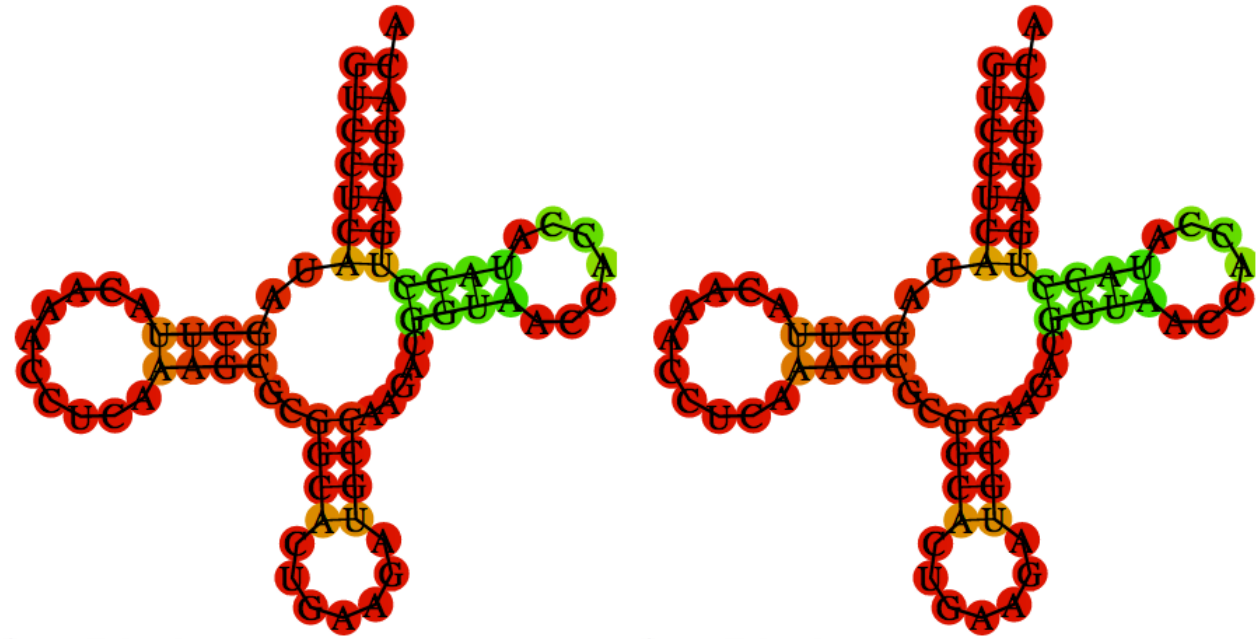
Graphical output

You may look at the interactive drawing of the MFE structure below. If you do not see the interactive drawing and you are using Internet Explorer, please install the Adobe
The structure below is colored by base-pairing probabilities. For unpaired regions the color denotes the probability of being unpaired.

Énergie et probabilités : Vienna

Graphical output

You may look at the interactive drawing of the MFE structure below. If you do not see the interactive drawing and you are using Internet Explorer, please install the Adobe SVG plugin. **A note on base-pairing probabilities:** The structure below is colored by base-pairing probabilities. For unpaired regions the color denotes the probability of being unpaired.



Sequence display options
- (•) Plain Sequence
- ( ) No Sequence

MFE secondary structure

Other display options
- (•) Base-pair probabilities
- ( ) Positional entropy
- ( ) None

0 — 1

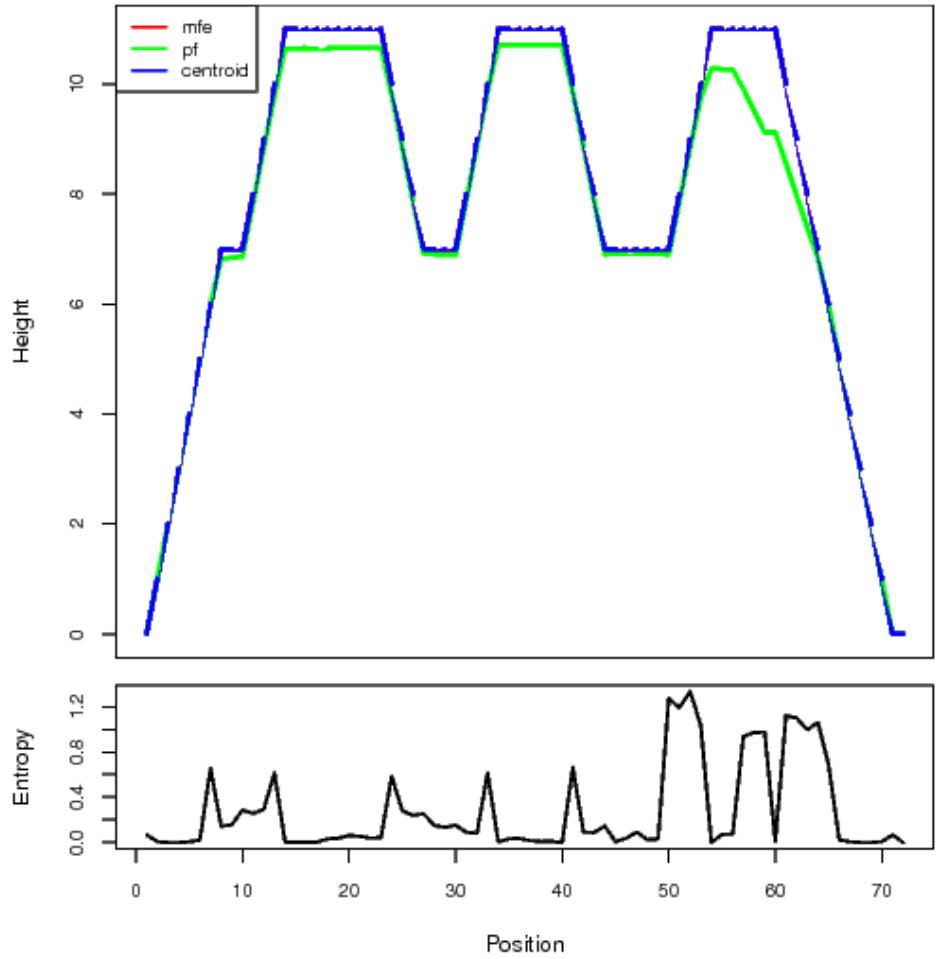
Sequence display options
- (•) Plain Sequence
- ( ) No Sequence

Centroid secondary structure

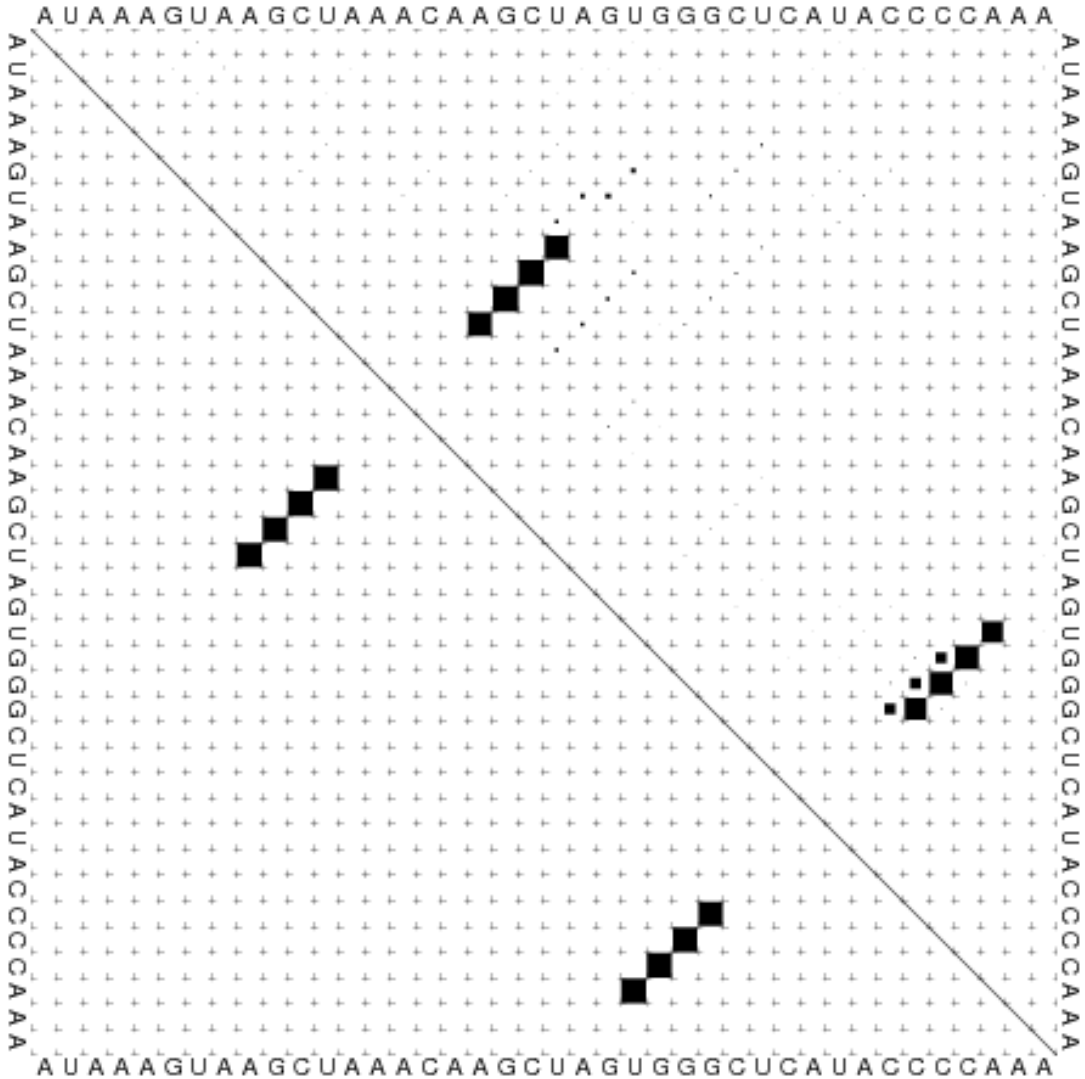
Other display options
- (•) Base-pair probabilities
- ( ) Positional entropy
- ( ) None

0 — 1

Énergie et probabilités : Vienna

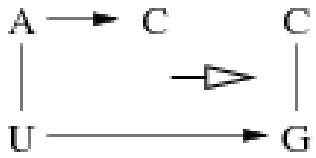


Énergie et probabilités : Vienna



Analyse de covariation de séquences

1. La structure a plus d'importance que la séquence vis-à-vis de la fonction d'un gène : des séquences de même fonction dans plusieurs organismes auront même structure (à peu près) mais des séquences très différentes.
2. La structure secondaire des ARN étant créée par des paires de bases, une mutation d'une base ne modifiant pas la structure devra être compensée par une mutation de l'autre base de la paire :



COVARIATION.

3. On va donc analyser ces covariations chez plusieurs organismes pour prédire la structure secondaire.

Covariation

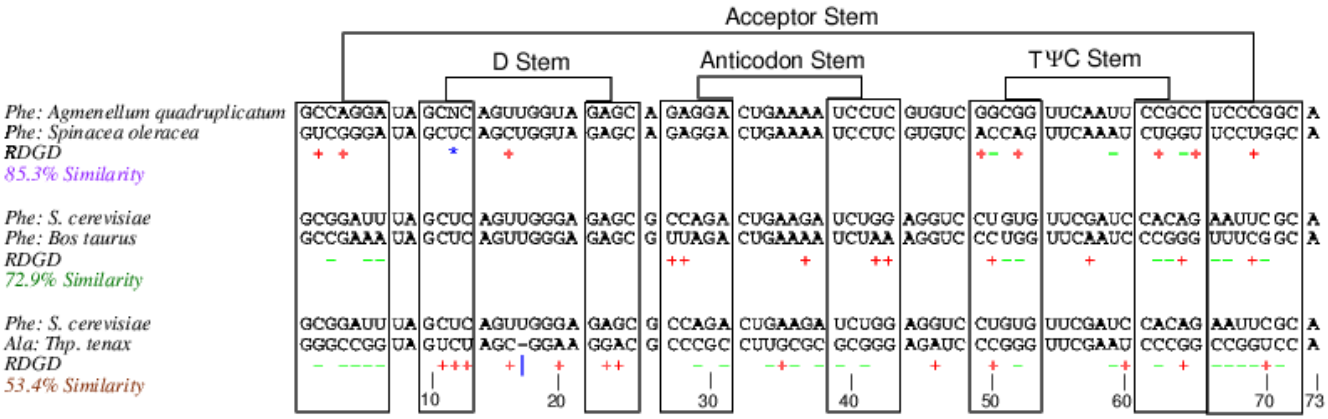


Figure 1. Reddot-greendot examples from tRNA. Symbols used: +: transition; -: transversion; |: deletion; *: ambiguous nucleotide. Experimentally verified helices from the secondary structure are boxed and connected with black lines. Nucleotide position numbers refer to the S.cerevisiae Phe reference sequence. Sequence names are shown as *amino acid:organism*.

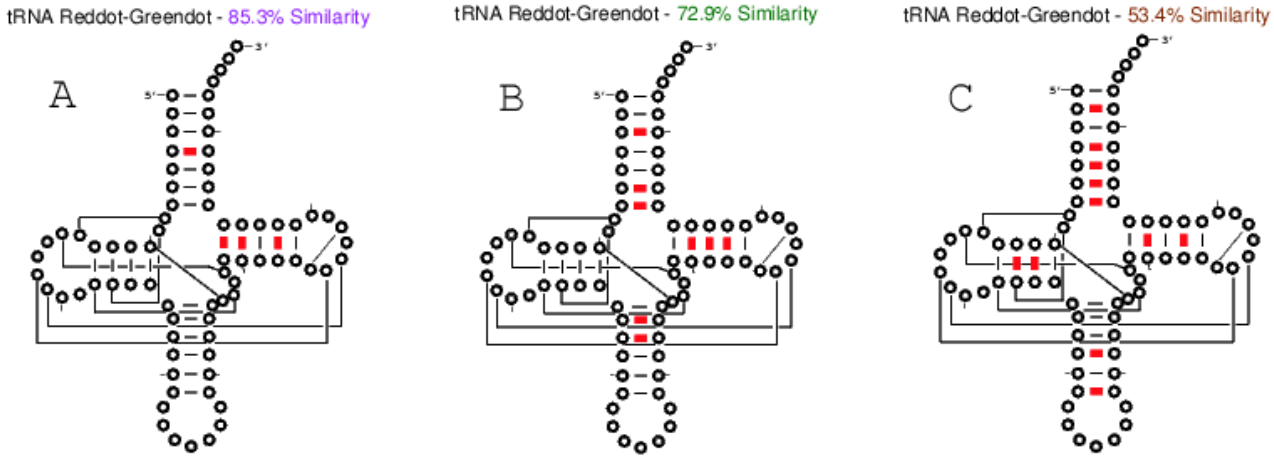


Figure 2. Results of the reddot-greendot analysis shown on tRNA secondary structure diagrams. Base pairs which are predicted with the method are shown with red tick marks. **A.** Sequences with 85.3% similarity. **B.** 72.9% similarity. **C.** 53.4% similarity.

Mutual Information content : MIX

1. Le problème : on a un alignement de séquences dont on suppose qu'elles ont même structure (ou à peu près) : prédire cette structure
2. Calcul : matrice M des scores MIX
   - i, j : colonnes de l'alignement
     $f_i(X)$: fréquence de la base X en colonne i
     (X, Y) : paire de bases AU, UA, GC, CG, GU, UG
     $f_{i,j}(X, Y)$: fréquence de la paire de bases (X, Y) en i et j.
   - $M_{i,j} = \sum_{X,Y} f_{i,j}(X, Y) \log_2 \left(\frac{f_{i,j}(X, Y)}{f_i(X) f_j(Y)} \right)$
   - $M_{i,j} \Rightarrow$ matrice de scores $\in [0, 2]$: plus $M_{i,j}$ est élevé, plus les covariations en colonnes i et j supportent l'hypothèse d'une paire de bases entre ces deux positions.

MIX

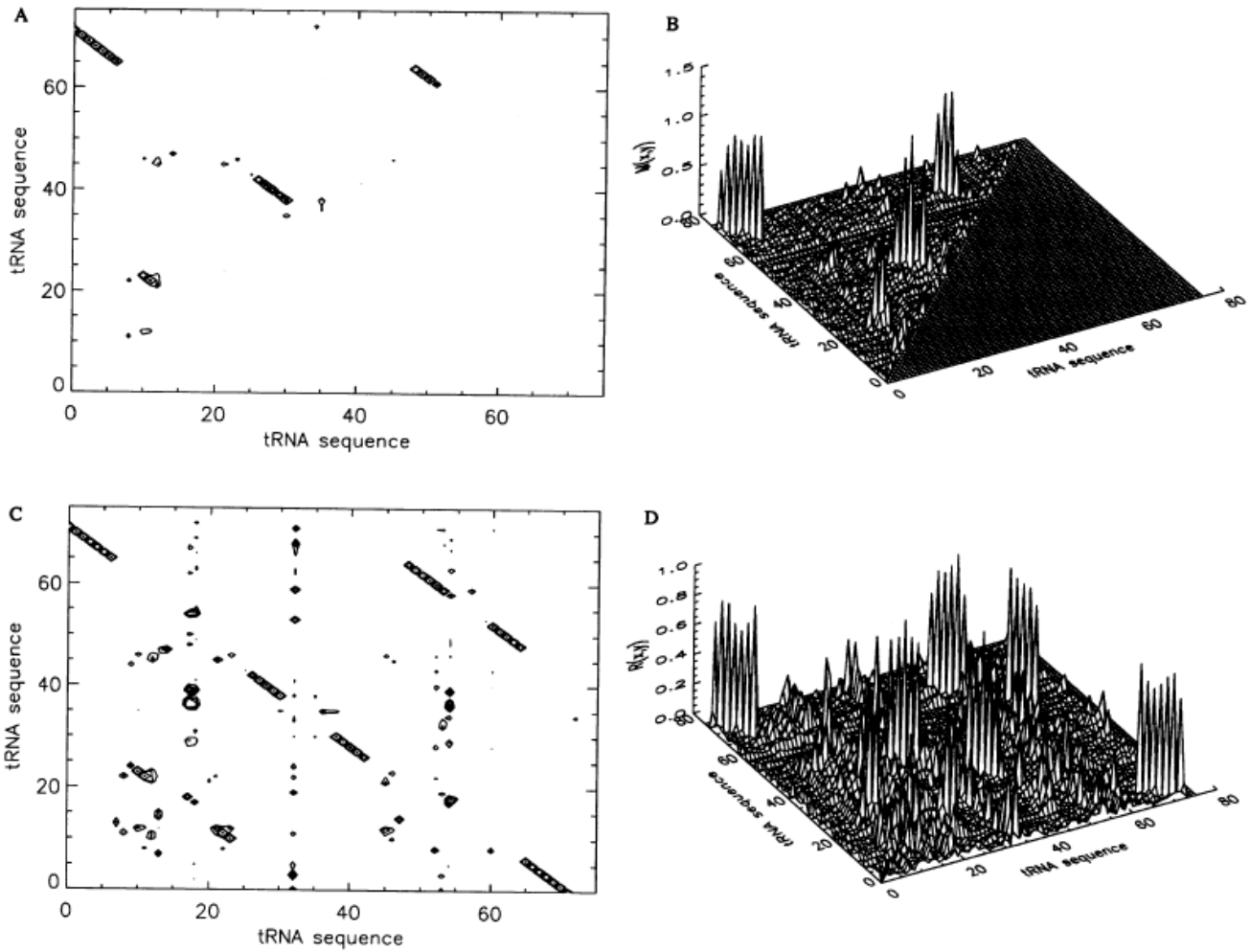


Figure 2. Graphical display of $M(x,y)$ and R values. Only values above 0.2 are displayed on the Contour plots. **A**: Contour plot of $M(x,y)$ values. **B**: Surface plot of $M(x,y)$ values. **C**: Contour plot of R values. The values are determined by taking the values from $M(x,y)$ (shown in part A) and replicating them symmetrically into the other half of the matrix, and then dividing each row by the entropy of the position on the vertical axis. As described in the text, $R_1(x,y) = R_2(y,x)$, so this plot shows both values. If the vertical axis is considered to be position x, then the plot is of $R_1(x,y)$; if the vertical axis is considered to be position y then the plot is of $R_2(x,y)$. Sorting by $R_1(x,y)$ is equivalent to sorting within rows and sorting by $R_2(x,y)$ is equivalent to sorting within columns. **D**: Surface plot of R values. The values are the same as in part C, but displayed as a 3-D plot.

MIX

1

i	j	$f_i(A) = 2/3$
A	U	$f_j(A) = 0$
C	G	$f_{ij}(AU) = 1/3$
A	G	$f_{ij}(AG) =$ non défini

$$M_{ij} = 1/3 \log_2 \left(\frac{1/3}{2/3 \cdot 1/3} \right) + 1/3 \log_2 \left(\frac{1/3}{1/3 \cdot 2/3} \right) (\simeq 0.389975)$$

MIX

2

i	j
A	C
G	U
G	A
A	G

0

i	j
A	U
A	U
A	U
A	U

0

aucune covariation pour appuyer l'hypothèse d'une paire de bases

i	j
A	U
A	U
G	C
G	C

1

peu de covariation, 1 mutation puis évolution

i	j
A	U
C	G
G	U
G	C

7/4

i	j
A	U
C	G
G	U
U	A

2

fortes covariations

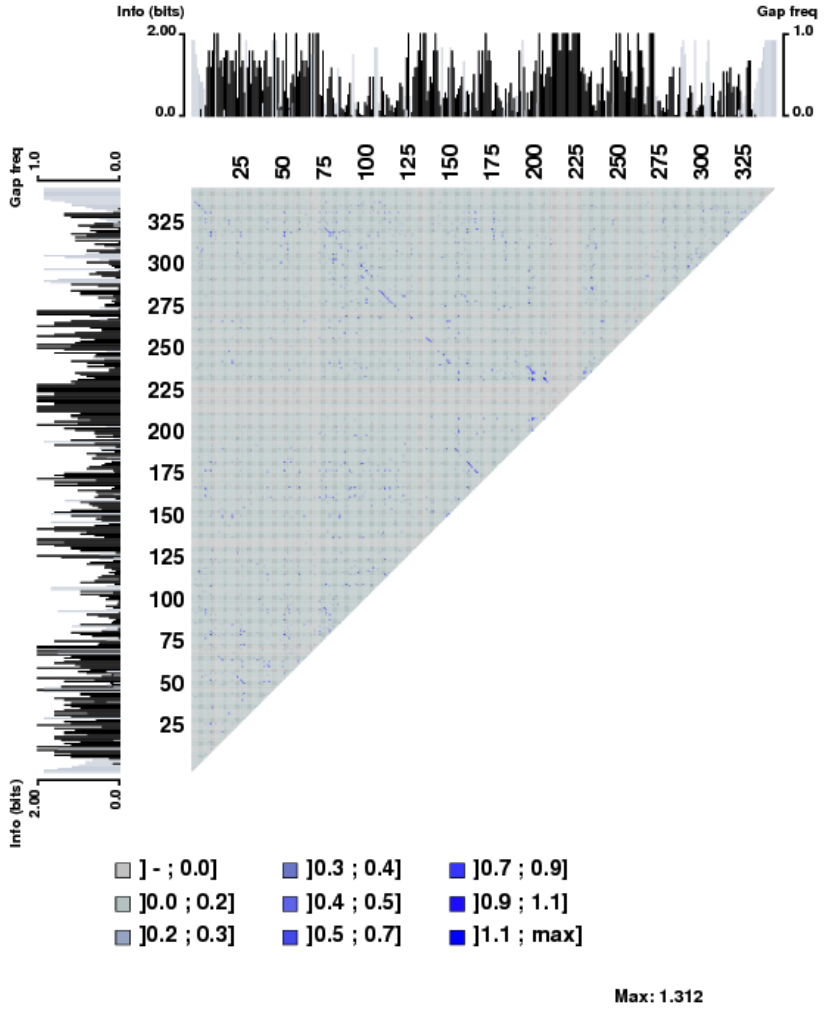
MIX

3 Logiciels
   - MatrixPlot (Gorodkin et al.).
   - Structure Logo
   - cf. CRW

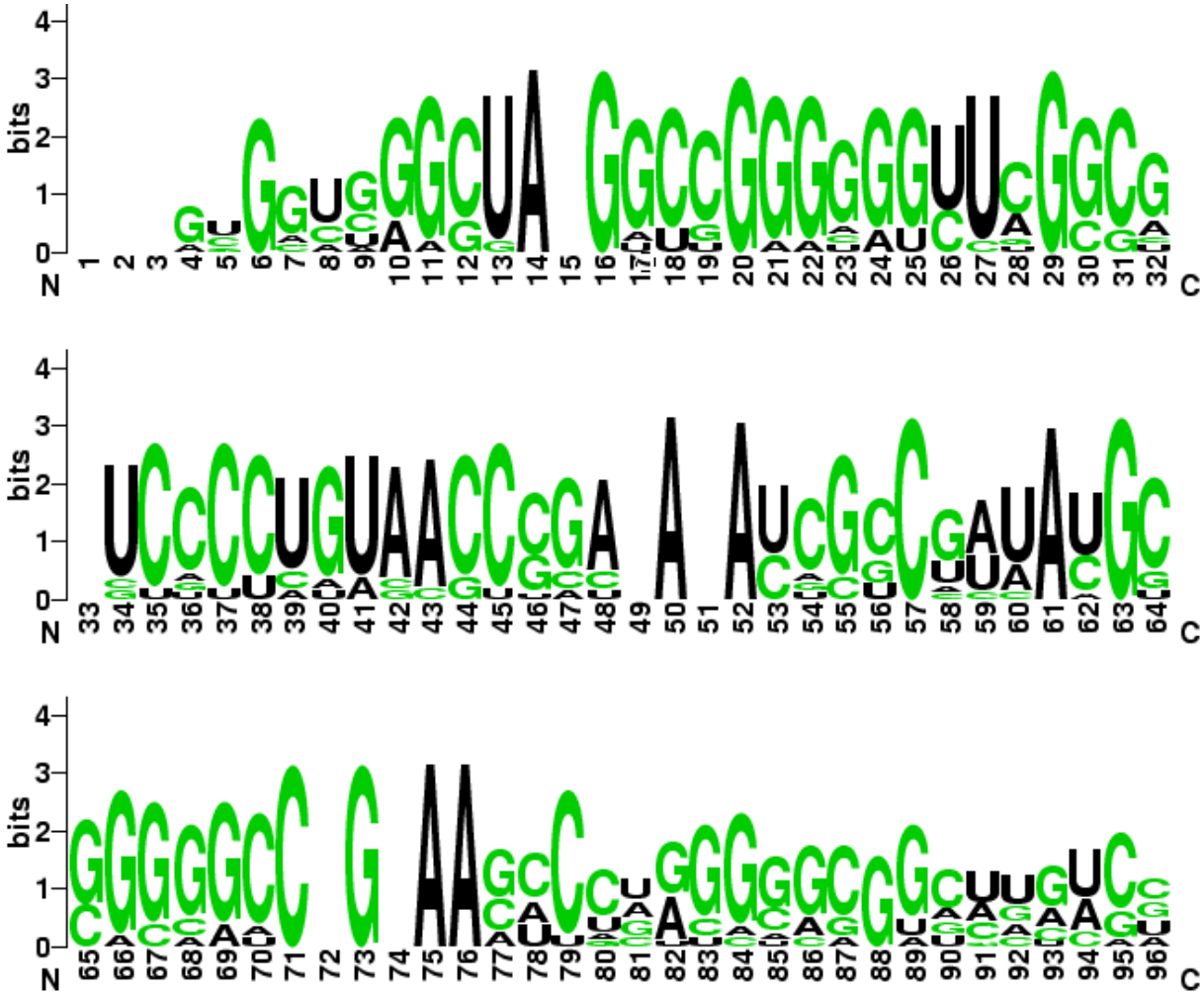
4 Défaut : nécessite un alignement structurel

5 Ne prédit pas mais indique des hélices possibles

MatrixPlot


Info (bits)
2.00
0.0
Gap freq
1.0
0.0
25 50 75 100 125 150 175 200 225 250 275 300 325
325 300 275 250 225 200 175 150 125 100 75 50 25
] - ; 0.0]
]0.0 ; 0.2]
]0.2 ; 0.3]
]0.3 ; 0.4]
]0.4 ; 0.5]
]0.5 ; 0.7]
]0.7 ; 0.9]
]0.9 ; 1.1]
]1.1 ; max]
Max: 1.312

Structure Logo



Prédiction par analyse des covariations

Algorithme de Parsch et al. (2000)

Calcul en deux étapes : (données = alignement)

1. Calcul d'une matrice BP
   $BP(i, j)$ = type de paire de bases le plus probable entre les colonnes i et j de l'alignement (seuil déterminé par l'utilisateur) : Watson-Cricks, Wooble, aucune, ...
   Identification de séquences de paires de bases probables (hélices) et calcul d'un score LRT pour chacune.
2. Assemblage des hélices en structures, par regroupement des hélices compatibles et calcul d'un score LRT pour chaque structure

Prédiction par analyse des covariations

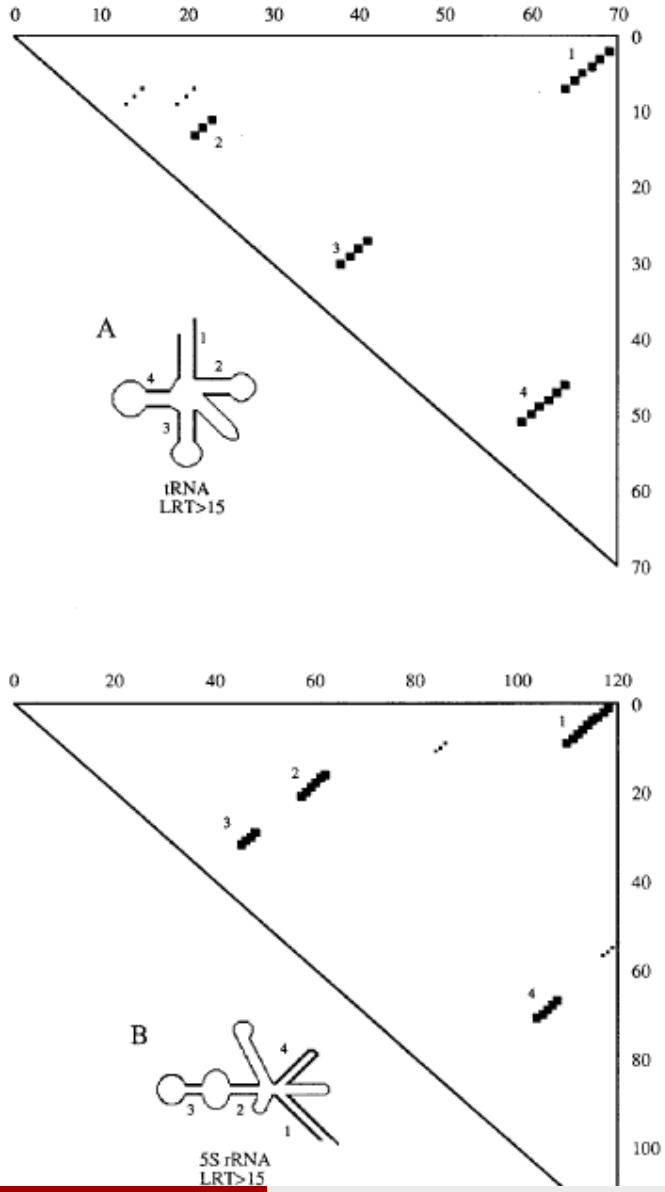
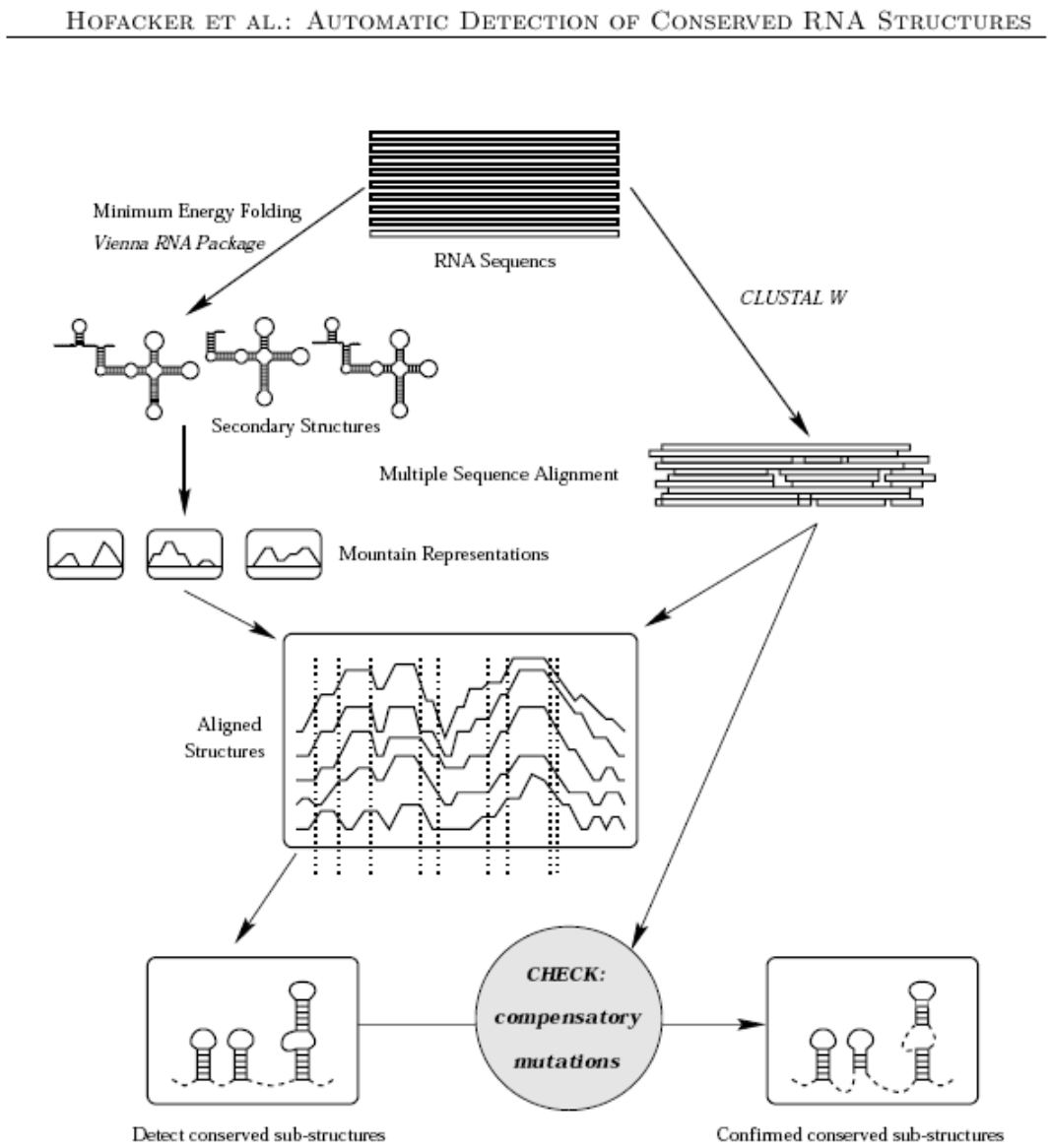


FIGURE 1.—Results of RNA secondary structure prediction for (A) tRNA, (B) 5S rRNA, (C) RNaseP RNA, (D) *bcd* mRNA 3′ UTR, and (E) SSU rRNA. The graphs show the $n \times n$ matrix for each RNA, where n is the length of the alignment in bases. Helices identified by PIRANAH and meeting the minimum LRT requirement are plotted as diagonal lines, with the helices included in the final structure prediction by GROUPER (*i.e.*, the set of compatible helices with the greatest value of total LRT) shown in boldface. The inset shows the consensus structure for each RNA with the conserved helices shown in boldface and numbered corresponding to the above graph. Potential false positives (*i.e.*, helices included in the final structure prediction but not present in the consensus structure) are indicated by "?." In (C) the two RNase P pseudoknot pairings are indicated (pk1 and pk2).

Utiliser covariation **et** énergie minimum

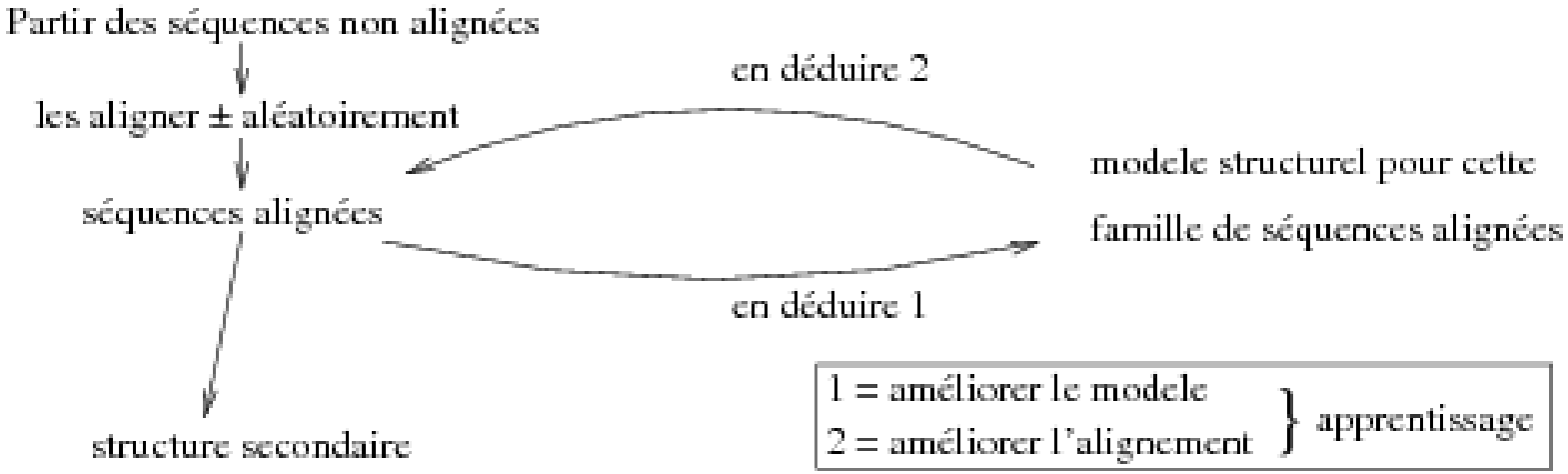
1. Défauts des 2 méthodes :
   - covariation : besoin de nombreuses séquences homologues et divergentes et d'un bon alignement
   - énergie : confiance dans les paramètres thermodynamiques ; pertinence du concept
2. Un exemple d'utilisation conjointe : Construct (Lück et al. 1999)

Utiliser covariation **et** énergie minimum



Modélisation et apprentissage

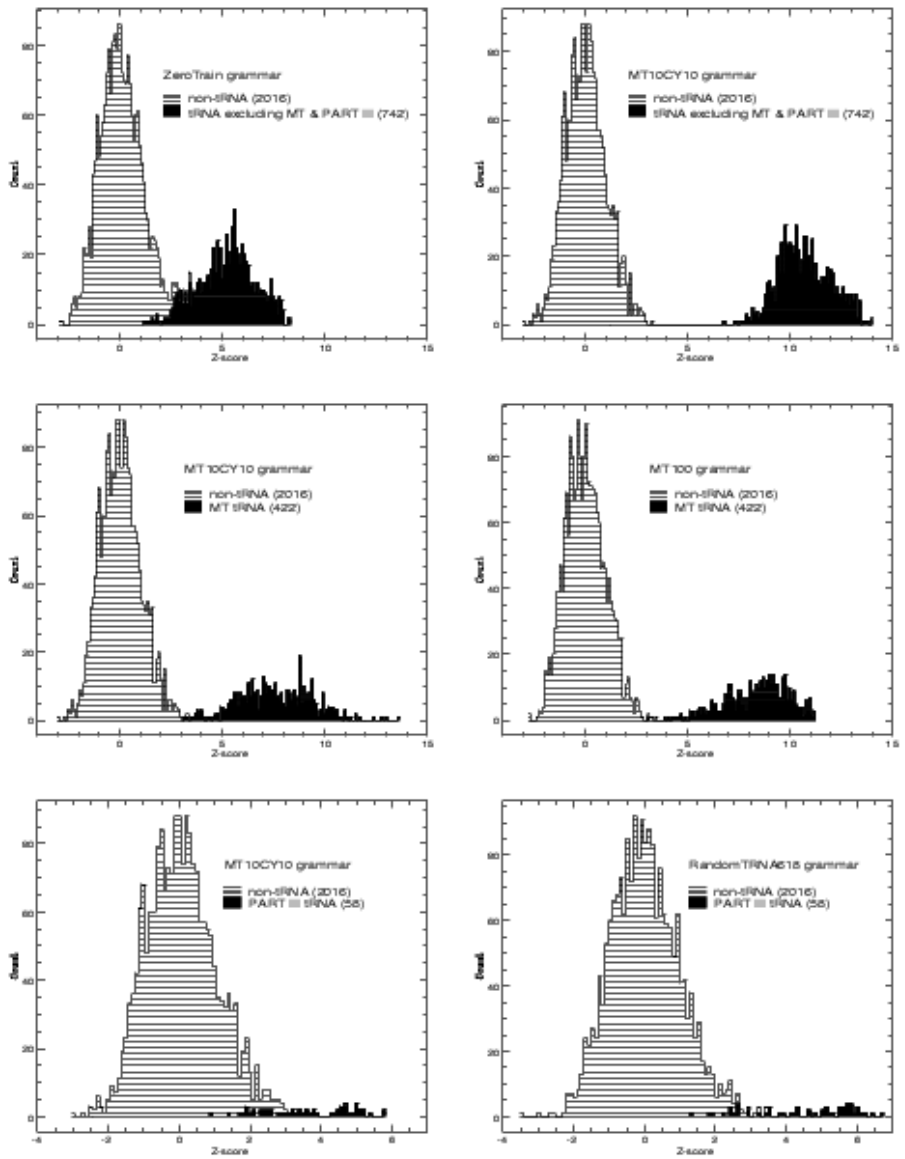
1. Problème avec toute approche basée sur la covariation :
   - pour prédire une structure, il faut un alignement correct des séquences
   - pour aligner correctement, il faut connaître la structure
2. Idée :



Modélisation et apprentissage

3 Technique : modèle = modèle stochastique basé sur une grammaire et un HMM
Durbin et al. logiciel COVE
Sakakibara et al. logiciel RNACAD

Modélisation et apprentissage



Modélisation et apprentissage

Table 2. Training and multiple alignment results from models trained from the trusted alignments (A models) and models trained from no prior knowledge of tRNA (U models)

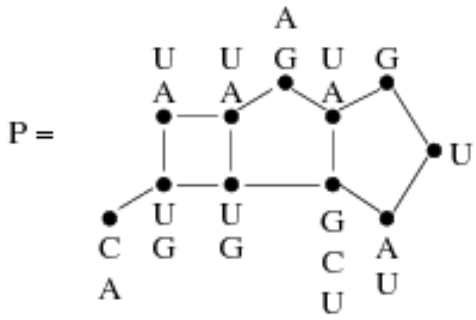
Model	Training set	Iterations	Score (bits)	Alignment accuracy
A1415	all sequences (aligned)	3	58.7	95%
A100	SIM100 (aligned)	3	57.3	94%
A65	SIM65 (aligned)	3	46.7	93%
U100	SIM100 (degapped)	23	56.7	90%
U65	SIM65 (degapped)	29	47.2	91%

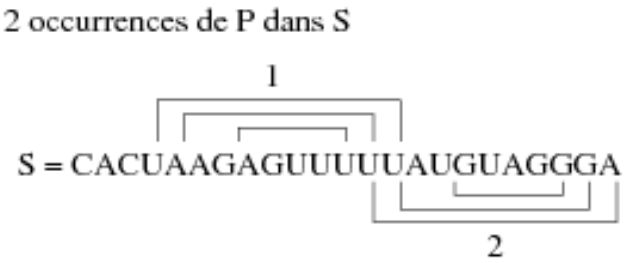
Détection d'ARN dans une séquence

1 Le problème

- Données : S une séquence d'ARN
  P une description d'une famille de structures secondaires
- Rechercher dans S toutes les sous-séquences pouvant se replier en une structure secondaire décrite par P

Exemple :





Détection d'ARN dans une séquence

2 Deux types de programmes :

- optimisés pour un type d'ARN (ARNt, Introns groupe I, motifs stem-loop) : P fixé
- généraux : l'utilisateur définit P

Deux problèmes bioinformatiques

Définir un motif de structure secondaire assez spécifique, mais pas trop rigide : consensus de ce qui est connu pour cette famille

Rechercher efficacement les occurences de ce motif

On a déjà vu un outil : RNACAD, COVE

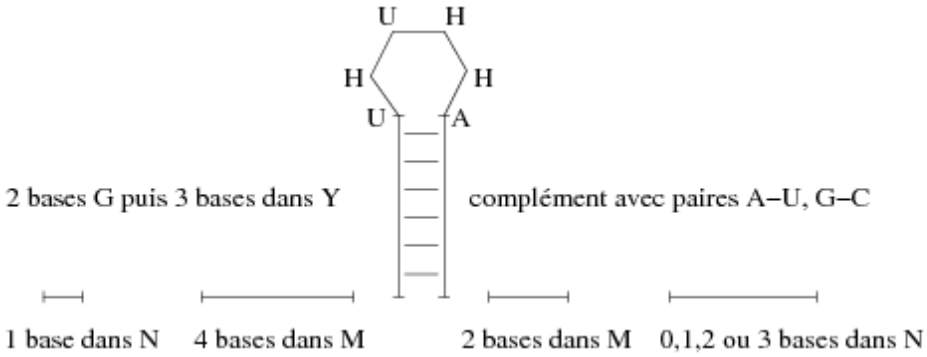
Analogie

Recherche de motifs primaires : KMP,BM, automates, recherche de motifs approchés

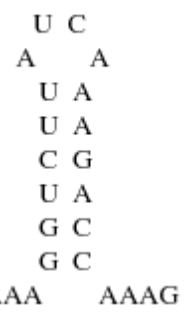
mais compliqué par l'emphase sur la structure plus que sur la séquence

Un programme général : PatSearch

1 Description d'un motif :



Exemple :



$r_1 = \{au, ua, cg, gc\}$

0...1 mmmm p_1 = ggyyy u huhh a $r_1 \simeq p_1$ mm 0...3

semblable à une **expression régulière !**

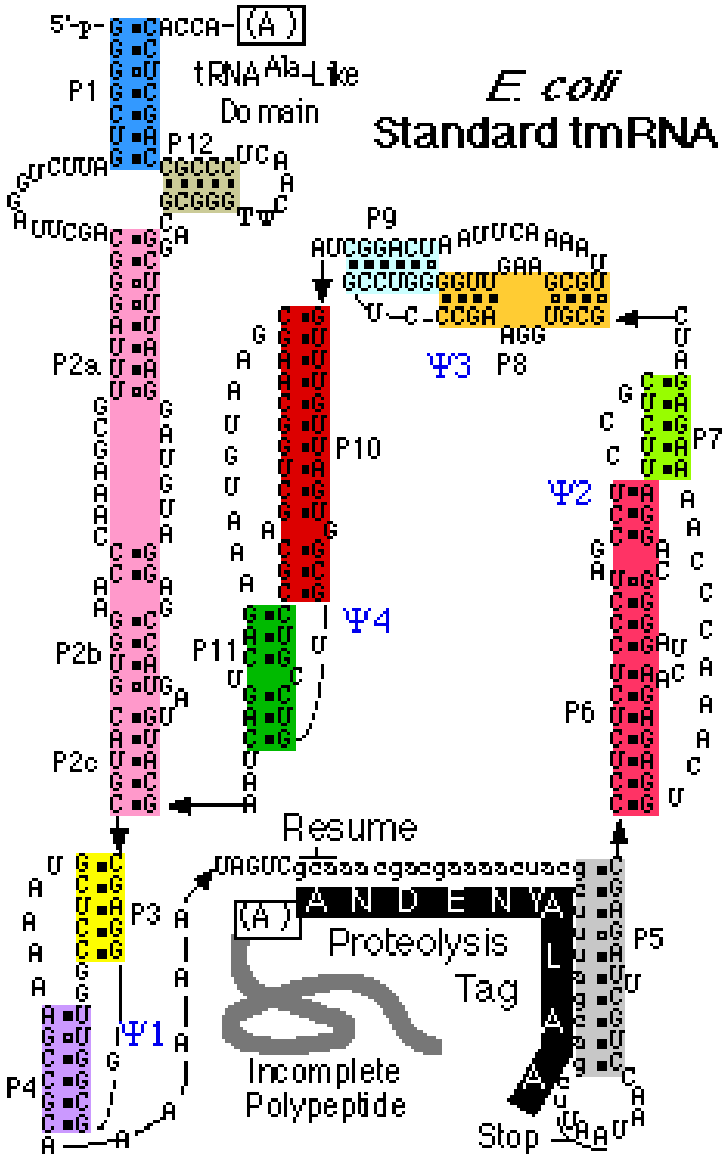
Un programme général : PatSearch

2 types d'éléments :

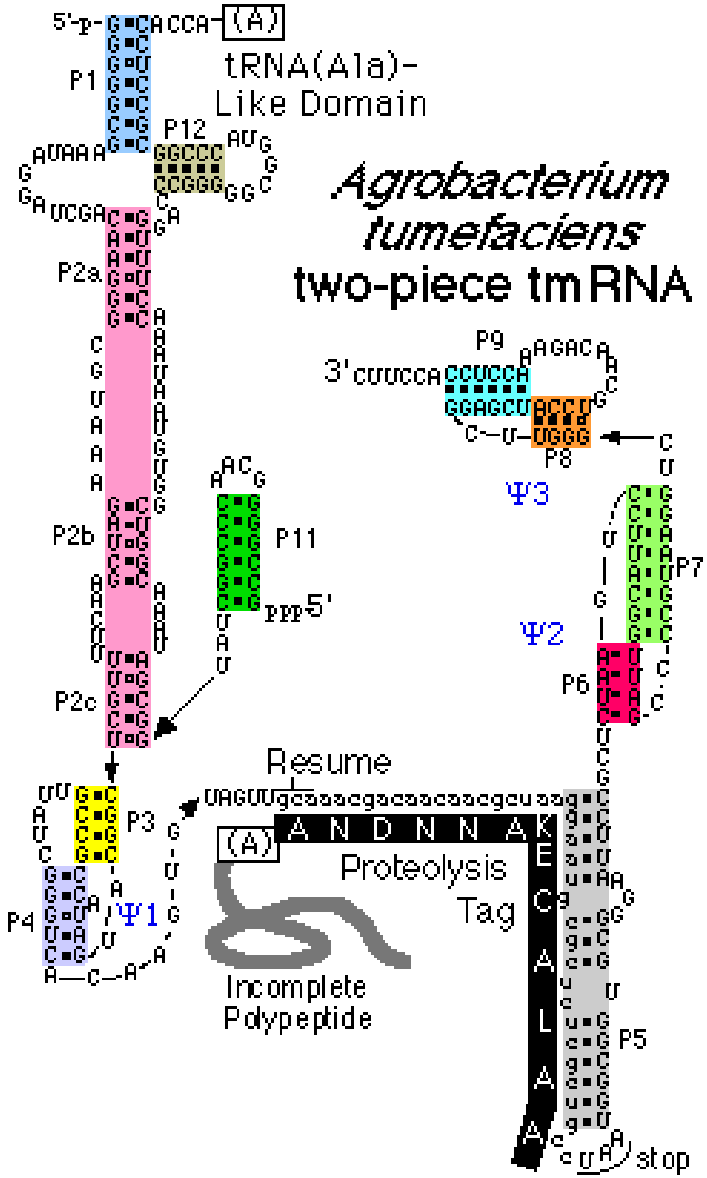
- pairing rules
- pattern units
  - → intervalle `i...j`
  - → séquence `u ; mm ; ggyyy`
  - → complément d'une précédente pattern unit identifiée $r_1 \simeq p_1$

2 La recherche des occurrences : algorithme naïf de recherche de motifs avec backtracking

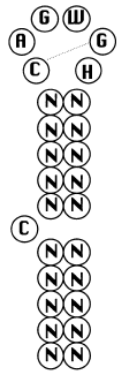
PatSearch


E. coli
Standard tmRNA
tRNA Ala-Like Domain
5'-p-
ACCA-
(A)
P1
P12
P9
P10
P11
P2a
P2b
P2c
P3
P4
P5
P6
P7
P8
Ψ1
Ψ2
Ψ3
Ψ4
Resume
ANDENYA
(A)
Proteolysis Tag
Incomplete Polypeptide
Stop

PatSearch


tRNA(Ala)-
Like Domain
Agrobacterium
tumefaciens
two-piece tmRNA
P1
P2a
P2b
P2c
P3
P4
P5
P6
P7
P8
P9
P11
P12
Ψ1
Ψ2
Ψ3
Resume
Proteolysis
Tag
Incomplete
Polypeptide
stop

PatSearch



PatSearch pattern:

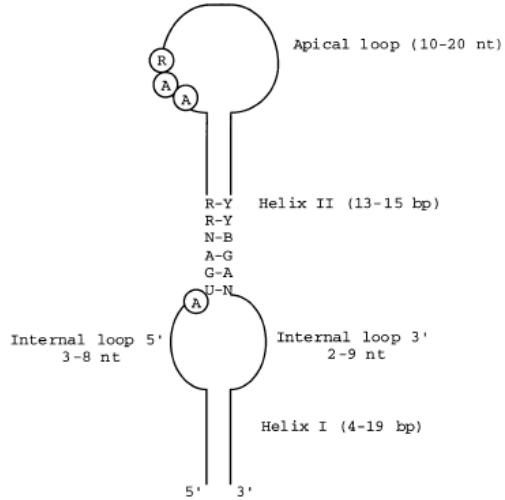
```
r1={au,ua,gc,cg,gu,ug}
(p1=2...8 c p2=5...5 CAGWGH r1~p2 r1~p1 l
p3=2...8 nnc p4=5...5 CAGWGH r1~p4 n r1~p3      )
```

Fig. 2. Consensus structure devised for the IRE (a). Two alternative PatSearch patterns (b) are reported and degenerate nucleotides are represented by the IUB code (W = A/U; H = not G; N = any base).

N = A ou C ou G ou U

W = A ou U

H = A ou C ou G



PatSearch pattern:

```
r1={au,ua,gc,cg,gu,ug}
r2={uu,cu,cc,au,aa,gu,gg}
p1=4...19
p2=2...7  a
uga p3=1...1 p4=rr p5=7...9
p6=0...2 aav p7=5...15
r1~p5[1,1,1] r1~p4 r2~p3 gan
p8=2...9 ~p1[1,0,0]
```

Fig. 3. Consensus structure devised for the Selenocysteine insertion sequence (a). In the corresponding PatSearch pattern (b) two different pairing rules ($r1$ and $r2$) are used for different helices where mismatches and indels are allowed in some cases.

Algorithme de PatSearch

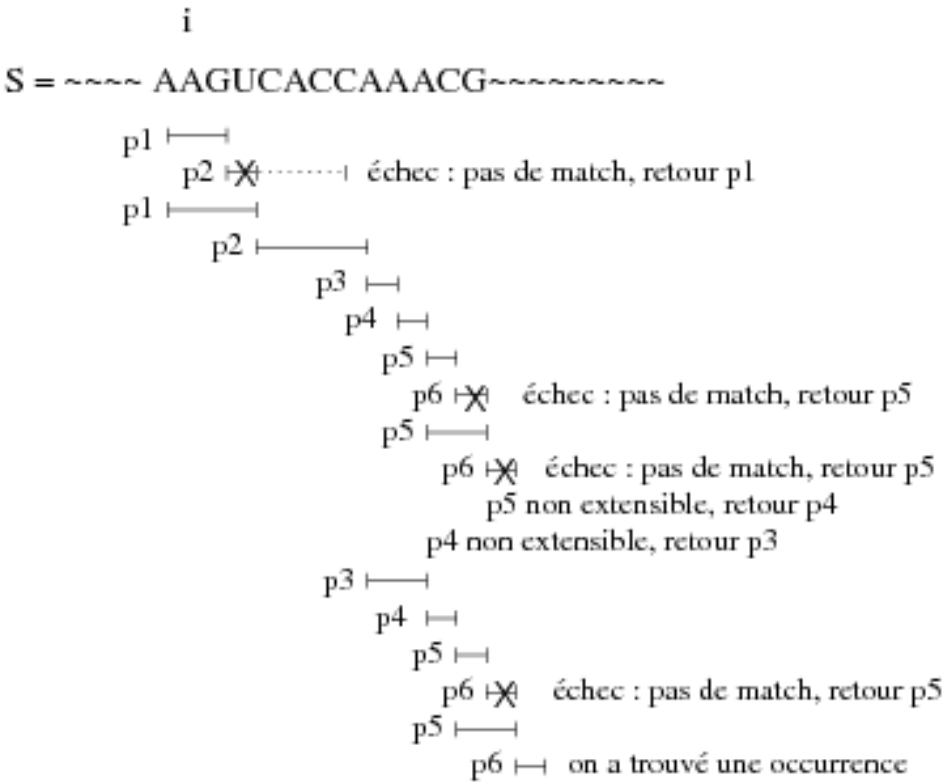
Données : S séquence de m nucléotides ; $p_1, \ldots, p_n$ suite de pattern units

1. Pour i de 1 à m faire
2. $j = i$; $k = 1$; $P = \emptyset$ (pile vide);
3. $l =$ longueur minimale de p_1 ;
4. Répéter
5. Si ($l >$ longueur maximale de p_k) alors
6. Si ($P = \emptyset$) alors $j = m + 1$;
7. Sinon $l =$ Dépiler(P)+1;
8. Sinon Si $S[i \ldots i + l - 1]$ matche p_k alors
9. Empiler (P, l) ; $k = k + 1$; $j = j + l$;
10. Sinon Si ($P = \emptyset$) alors $j = n + 1$;
11. Sinon $l =$ Dépiler(P)+l;
12. jusqu'à ce que $k > n$ ou $j > m$;
13. Si ($k > n$) alors $\ll$ occurrence entre i et $j \gg$
14. Sinon $\ll$ pas d'occurrence en $i \gg$

Complexité : $\prod_{i=1}^{n} |p_i|$

Algorithme de PatSearch

Exemple : $p_1 = 2..3$, p_2 =YYAY, $p_3 = 1..2$, p_4 =A, $p_5 = 1..2$, p_6 =G

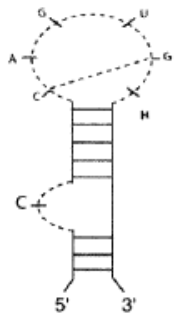


Autres programmes

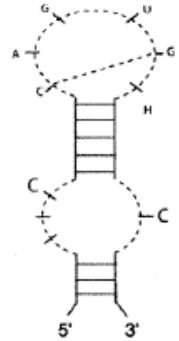
- Palingol : motif = suite d'hélices (pattern units) + contraintes de proximité entre les hélices + contraintes tertiaires
  algo (exponentiel) = liste des hélices puis combinaison
- RNAMotif : motif semblable à PatSearch, algorithme idem. Score (GC, erreurs, énergie) : plus spécifique
- COVE (covels) motif = SCFG : grammaire, algo = CYK : programmation dynamique
- El-Mabrouk et Raffinot

RNAMotif

A



B



C

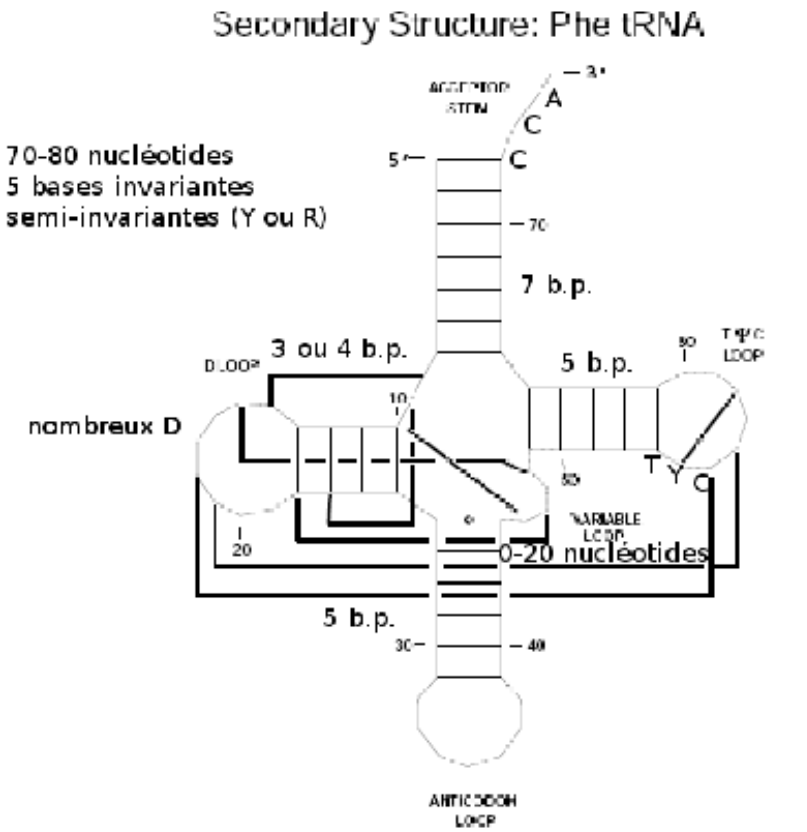
```
parms
wc += gu;
descr
ss( len=3 )
h5( tag='lower_stem', len=3 )
ss( tag='5p_bulge', minlen=1, maxlen=3, tag='5p', seq="c$" )
h5( tag='upper_stem', len=5 )
ss( len=6, seq="^cagug" )
h3(tag='upper_stem')
ss(tag='3p_bulge', minlen=0, maxlen=1)
h3(tag='lower_stem')
ss( len=3 )
score
{
SCORE = 0.0;
if( length(ss(tag="5p")) == 3 && length( ss( tag="3p")) == 1 ){
if( ss(tag="5p") == "tgc" )
        SCORE = 0.5;
else if( ss(tag="5p") == "tac" )
        SCORE = 0.4;
else if( ss(tag="5p") == "tcc" )
        SCORE = 0.3;
else if( ss(tag="5p") == "ttc" )
        SCORE = 0.2;
else if( ss(tag="5p",pos=1,len=1) == "c" )
        SCORE = 0.1;
if( ss(tag="3p") == "c" )
        SCORE += 0.5;
else if( ss(tag="3p") == "t" )
        SCORE += 0.2;
ACCEPT;
}else if( length(ss(tag="5p" )) == 1 && length(ss(tag="3p")) == 0 ){
SCORE = 1.0;
ACCEPT;
}else
REJECT;
```

Recherche d'ARNt : FasttRNA

- Base : la structure des ARNt est suffisamment stable pour un programme très spécifique
- Idée algorithmique :
  1. associer un signal aux bras TΨC et D
  2. rechercher uniquement ces signaux (simples) dans S
  3. pour chaque région de S contenant ces deux signaux, l'examiner en détail (i.e. lentement) pour essayer de la replier en ARNt

  Étape 2 : recherche de motifs primaires approchée à l'aide d'un algorithme bit-vecteur Shift-Add.

FasttRNA


Secondary Structure: Phe tRNA
70-80 nucléotides
5 bases invariantes
semi-invariantes (Y ou R)
7 b.p.
3 ou 4 b.p.
5 b.p.
nombreux D
5 b.p.
0-20 nucléotides
ANTICODON LOOP
Saccharomyces cerevisiae
[K01553]
1.cellular organisms 2.Eukaryota
3.eukaryota crown group
4.Fungi/Metazoa group 5.Fungi
6.Ascomycota 7.Saccharomycetales
8.Saccharomycetaceae 9.Saccharomyces
July 2001
Citation and related information available at http://www.rna.icmb.utexas.edu

FasttRNA

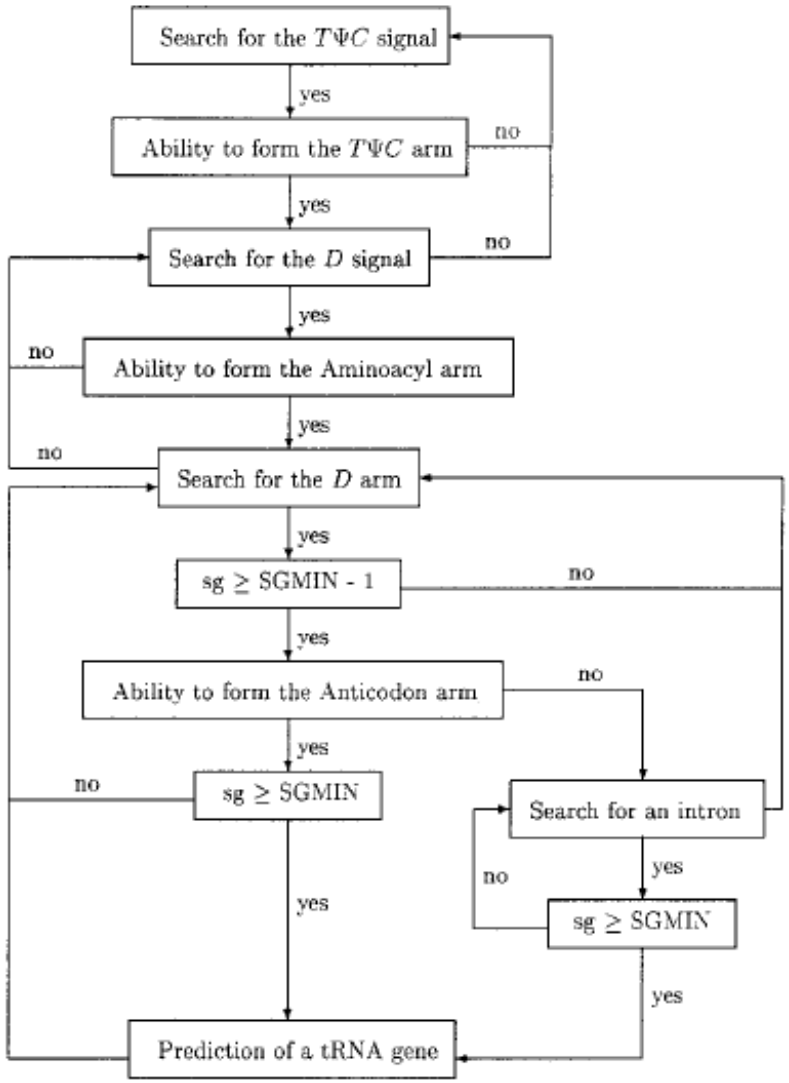


Figure 2. Flow chart of the algorithm.

FasttRNA

Table 4. Parameter and threshold values used in *FAStRNA*

Region[a]	Perfect match[b]	Threshold match[c]
TΨC signal	At most 1 mismatch	Three mismatches
TΨC arm	base-pairing score >26	Base-pairing score >10 and at least 3 base-pairing
D signal	No mismatch	Two mismatches
Aminoacyl arm	Base-pairing score >36	base-pairing score >18 and at least 4 base-pairing
D arm	Score of the 4 base-pairs >16	Score of the 3 first base-pairs >1 or score of the 3 first base-pairs and 4th base-pairing >0
Base 18, 19 and 21	Base 18 = G, base 19 = G and base 21 = A	Other bases
Base 33	T	Other base
Anticodon arm		
Without intron	Base-pairing score >19	Base-pairing score >11
With intron	Base-pairing score >26	Base-pairing score >17

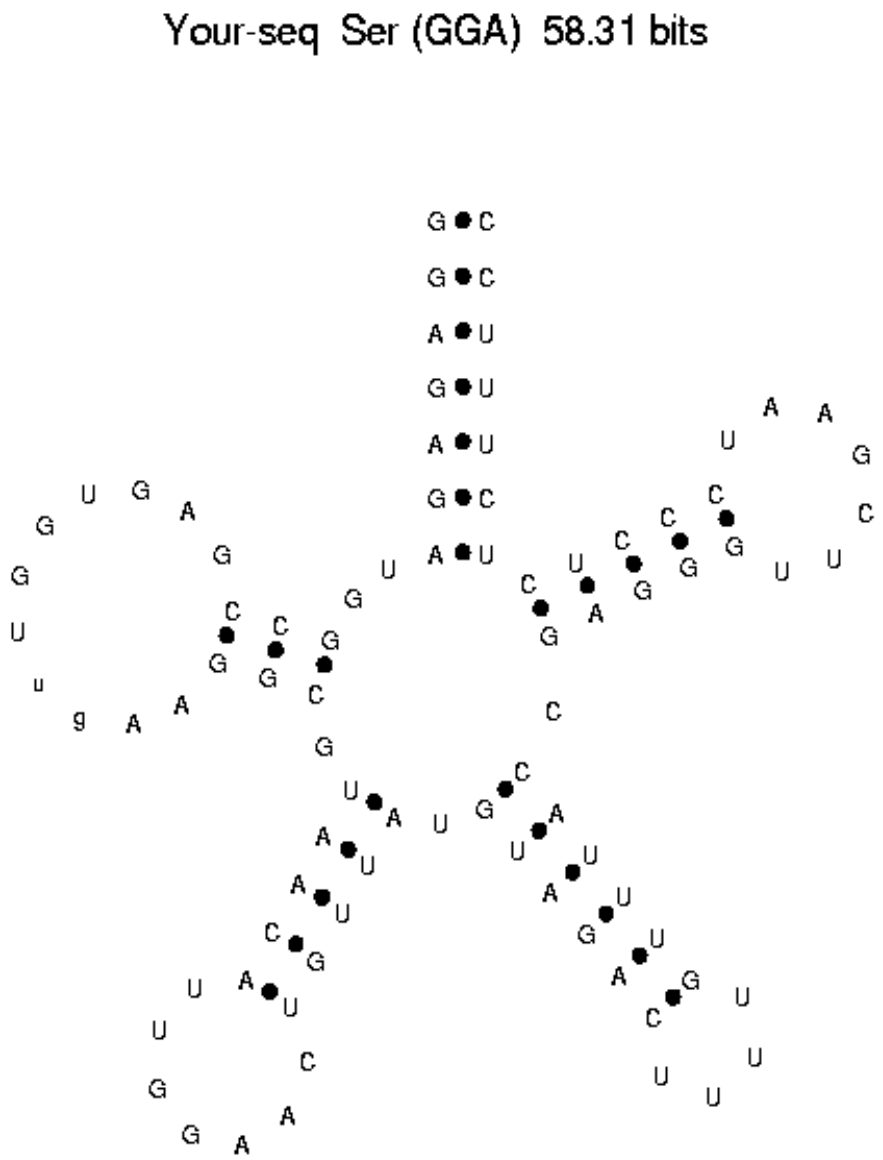
[a] Regions of the tRNA-sequence chronologically analysed by the algorithm.
[b] Each time a condition is verified, the general score *sg* is incremented.
[c] Minimal conditions for accepting a region.

Autres programmes

- tRNAscan : même idée de signal mais approche probabiliste
- tRNAscan_SE : modèle de covariation

Important : modélisation par expression régulière puis adaptation d'algorithmes de recherche de motifs primaires

FasttRNA



Détection d'ARN : résumé

- ARN précis (ARNt, Introns) : programmes dédiés
- Structure connue (ou en partie) : définir un motif, rechercher ses occurrences, examiner les hits et leurs repliements
- Ensemble de séquences disponibles (Rfam ! !) alignées ou non : modèle de covariation
- En général, moins on a d'information, plus la recherche est longue $\Rightarrow$ intérêt à bien cibler les zones examinées
- Une fois une séquence plausible repérée, la replier aide à la classifier comme ARN ou non
- ARN non-codants : le grand défi