

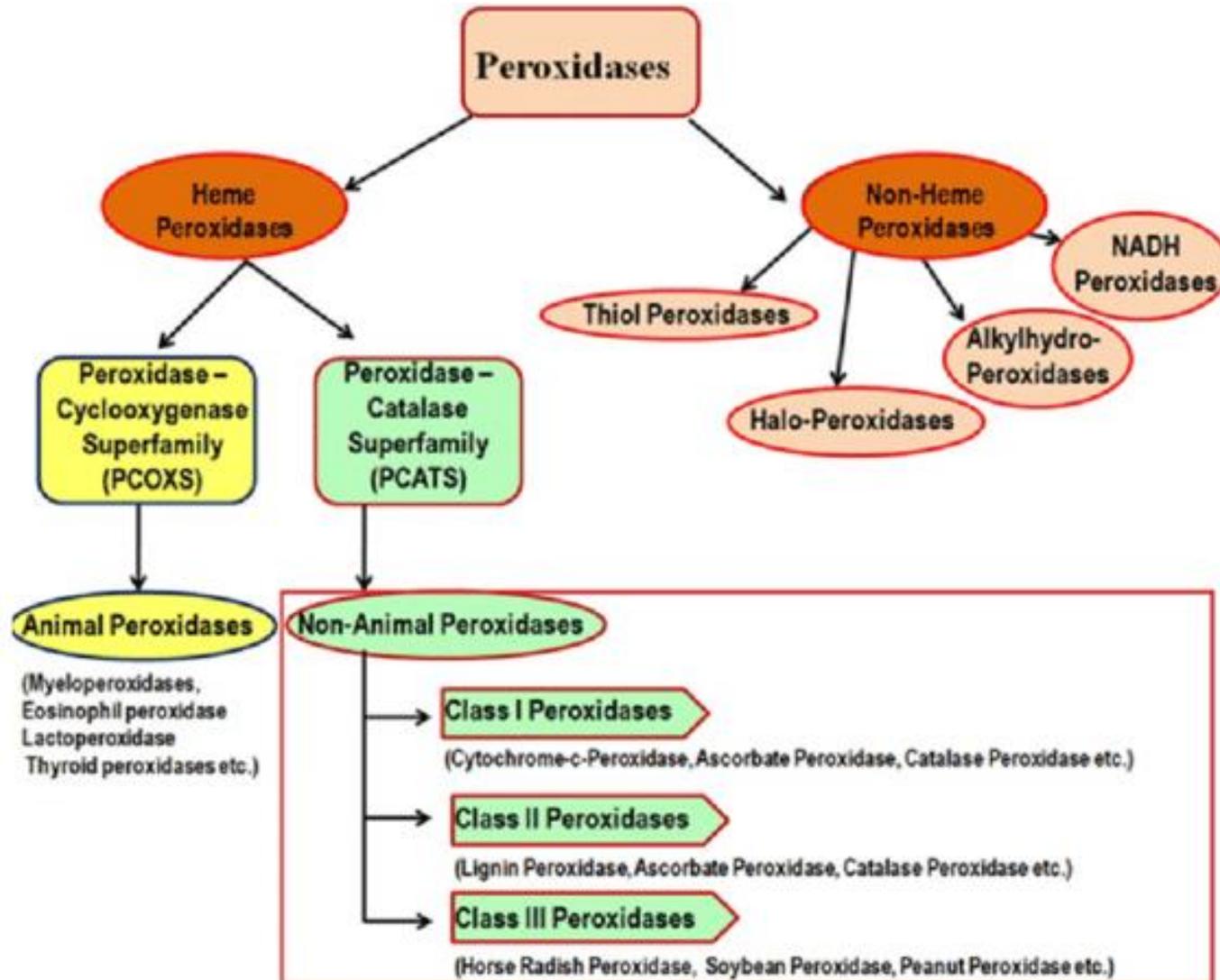
Caractérisation de la famille des peroxydases de classe III

DE FREITAS Thomas M1 BBS

METHODE DE CARACTERISATION

- ▶ Objectif : avoir un outil pour distinguer efficacement les peroxydases de Classe I et de Classe III.
- ▶ Méthode:
 - ▶ Recherche dans les banques d'un jeu de séquences
 - ▶ Alignement multiples des séquences
 - ▶ Création du profil HMM
 - ▶ Vérification du profil HMM contre une banque de données

LES PEROXYDASES



Alignement multiples des séquences

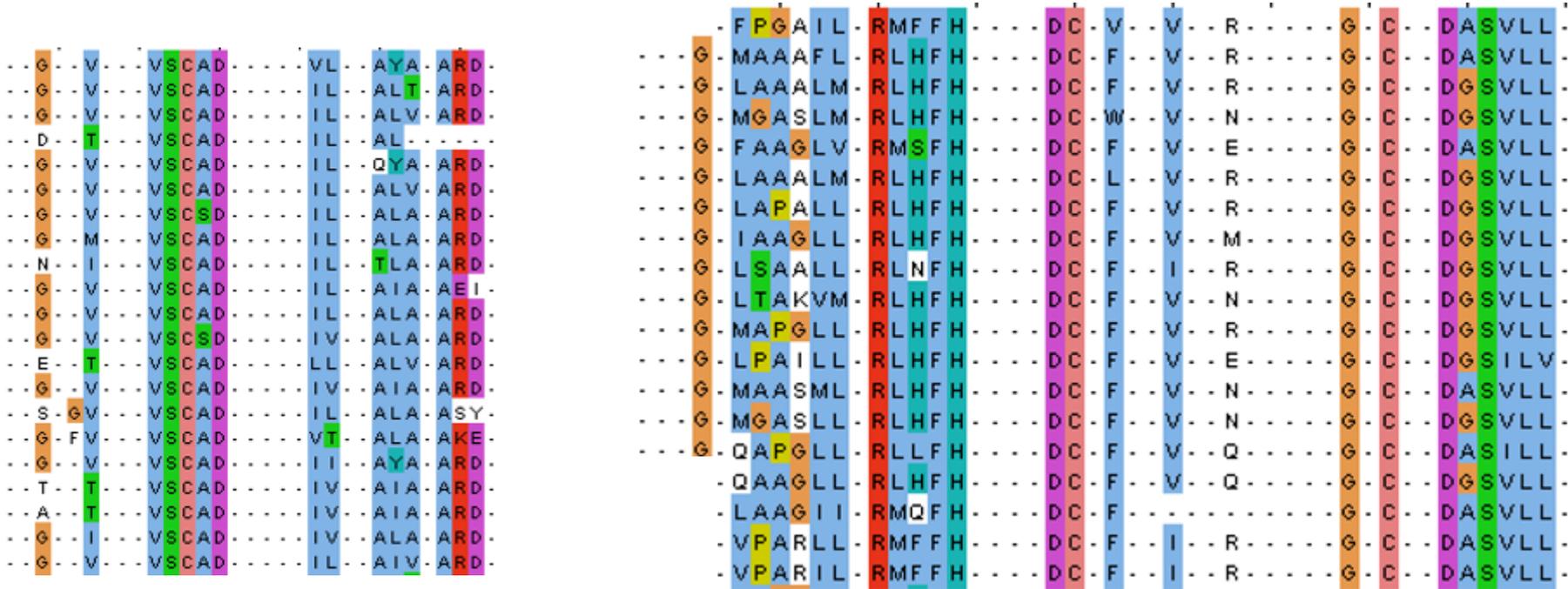
- Utilisation MAAFT sous MobaXterm pour la création des alignements

```
>module load bioinfo/mafft-7.487
```

```
>mafft PB_AP.fasta >PB_AP.mafft
```

```
>mafft PB_class3.fasta >PB_class3.mafft
```

Alignement multiples des séquences de Classe 3

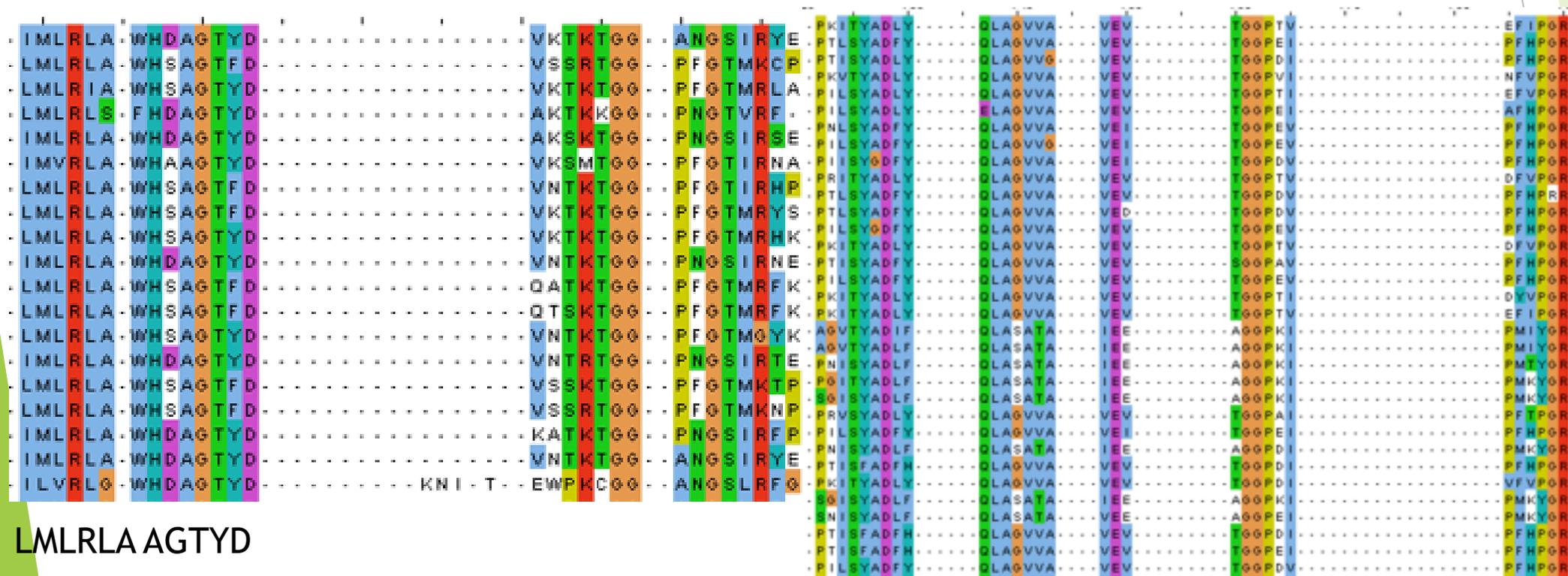


Motif VSCAD

Motif FHDC

Motif DASVLL

Alignement multiples des séquences de Classe 1



LMLRLA AGTYD

QLAGVVA

TGGP

Amélioration de l'alignement des séquences

- ▶ Présence d'énormément de gaps dans les alignements
 - ▶ Séquences isolées très différentes
 - ▶ Alignement à améliorer
- ▶ Début de l'alignement → grands gaps
 - ▶ Zones non communes aux séquences
- ▶ Profil HMM sur la partie de l'alignement la plus conservée
 - Classe 1: de position 520 à 1180
 - Classe 3 : de position 1700 à 2770

Création du profil HMM

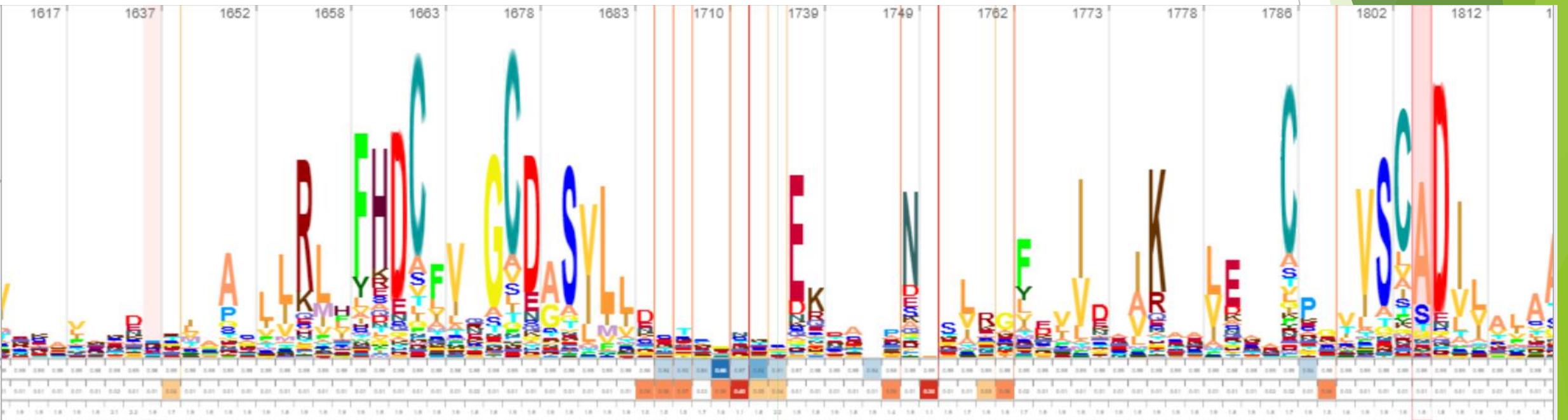
- ▶ Utilisation HMMER sous MobaXterm pour la création des profils HMM

```
>module load bioinfo/hmmer-3.2.1
```

```
>hmmbuild PB_AP.hmm PB_AP.mafft
```

```
>hmmbuild PB_classe3.hmm PB_classe3.mafft
```

► Logo profil HMM peroxydase de classe 3



Recherche du profil HMM contre une banque de données

- Utilisation HMMsearch sous MobaXterm pour la comparer les profils HMM à la banque de données SwissProt

```
>hmmsearch -o PB_AP.search PB_AP.hmm /bank/ebi/uniprot/current/fasta/uniprot_sprot.fasta
```

```
>hmmsearch -o PB_class3.search PB_classe3.hmm /bank/ebi/uniprot/current/fasta/uniprot_sprot.fasta
```

Résultats

► Peroxydases de classe 3 PER

```
Query:          Align_PB_classIII [M=404]
Scores for complete sequences (score includes all domains):
--- full sequence ---    --- best 1 domain ---    -#dom-
E-value  score  bias    E-value  score  bias    exp  N  Sequence
-----  -
1e-142  480.5  0.5  1.1e-142  480.4  0.5  1.0  1  sp|O23237|PER.
1.1e-141  477.1  0.3  1.2e-141  477.0  0.3  1.0  1  sp|Q9SI16|PER
4.1e-140  472.0  0.0  4.5e-140  471.9  0.0  1.0  1  sp|A7QEU4|PER
1.1e-139  470.5  0.0  1.2e-139  470.4  0.0  1.0  1  sp|Q96512|PER
5.1e-139  468.4  1.4  5.6e-139  468.2  1.4  1.0  1  sp|P22195|PER
6.8e-139  468.0  0.5  7.5e-139  467.8  0.5  1.0  1  sp|A7NY33|PER.
1.1e-138  467.3  0.2  1.2e-138  467.2  0.2  1.0  1  sp|Q9SI17|PER
3.5e-138  465.6  0.0  3.9e-138  465.5  0.0  1.0  1  sp|Q9FJZ9|PER
1.8e-137  463.3  0.4  2e-137  463.1  0.4  1.0  1  sp|Q9SD46|PER
3.1e-137  462.5  0.2  3.4e-137  462.4  0.2  1.0  1  sp|Q9LEH3|PER
3.7e-137  462.2  0.1  4.1e-137  462.1  0.1  1.0  1  sp|P22196|PER.
4.8e-137  461.9  0.6  5.6e-137  461.6  0.6  1.0  1  sp|Q9FG34|PER
7e-137  461.3  2.1  7.7e-137  461.2  2.1  1.0  1  sp|Q9FLC0|PER
8.4e-137  461.1  0.1  9.2e-137  460.9  0.1  1.0  1  sp|O23044|PER
1.2e-136  460.5  0.8  1.3e-136  460.4  0.8  1.0  1  sp|Q42578|PER
3e-136  459.3  0.0  3.3e-136  459.1  0.0  1.0  1  sp|Q9SUT2|PER
6.2e-135  454.9  4.1  6.9e-135  454.8  4.1  1.0  1  sp|Q0D3N0|PER.
8.1e-135  454.5  0.1  9.2e-135  454.4  0.1  1.0  1  sp|Q9LHB9|PER
1.7e-134  453.5  4.0  1.9e-134  453.3  4.0  1.0  1  sp|A2YPX3|PER.
1.7e-134  453.5  0.2  2e-134  453.2  0.2  1.0  1  sp|Q9LDN9|PER
1.8e-134  453.4  0.1  2e-134  453.3  0.1  1.0  1  sp|P37834|PER
2.6e-134  452.9  0.3  2.8e-134  452.8  0.3  1.0  1  sp|Q02200|PER.
7.8e-134  451.3  0.6  8.6e-134  451.1  0.6  1.0  1  sp|P80679|PER.
1.3e-133  450.6  0.1  1.5e-133  450.4  0.1  1.0  1  sp|P17179|PER.
```

7.6e-104	352.5	0.0	8.3e-104	352.4	0.0	1.0	1	sp Q9SB81 PER42
1.7e-103	351.4	0.6	1.8e-103	351.3	0.6	1.0	1	sp Q9LSP0 PER29
3.2e-101	343.9	0.0	3.6e-101	343.7	0.0	1.0	1	sp Q42580 PER21
1.2e-99	338.8	4.3	1.4e-99	338.5	4.3	1.0	1	sp P15004 PER2_
2e-97	331.4	3.7	2.3e-97	331.2	3.7	1.1	1	sp P15003 PER1_
3.1e-97	330.8	2.9	3.5e-97	330.6	2.9	1.1	1	sp P12437 PERX_
2e-95	324.8	3.5	2.1e-95	324.7	3.5	1.0	1	sp O04796 PERN_
1.1e-89	306.0	1.6	1.2e-89	305.8	1.6	1.1	1	sp O04795 PERA_
4.5e-57	198.5	0.1	5.5e-57	198.2	0.1	1.0	1	sp P16147 PERX_
7.9e-51	177.9	0.1	9e-51	177.7	0.1	1.0	1	sp Q01548 PER2_
2.6e-35	126.8	0.0	5.8e-24	89.5	0.0	2.3	2	sp Q8GY91 APX6_
2.4e-29	107.2	0.1	2.6e-29	107.1	0.1	1.0	1	sp P15984 PERX_
2.8e-29	107.0	0.1	2.1e-17	67.9	0.0	2.3	2	sp Q7XZP5 APX5_
1.5e-28	104.6	0.0	2.9e-15	60.8	0.0	2.4	2	sp Q42564 APX3_
1.5e-28	104.6	0.0	2.3e-14	57.8	0.0	2.6	2	sp Q0JEQ2 APX3_
1.6e-28	104.4	0.0	2.6e-14	57.7	0.0	2.7	2	sp Q01MI9 APX3_
2.3e-27	100.6	0.0	1.2e-14	58.8	0.0	2.2	2	sp Q6ZJJ1 APX4_
8.9e-27	98.7	0.0	2.8e-13	54.3	0.0	2.1	2	sp Q9FE01 APX2_
4.5e-26	96.4	0.0	2.6e-12	51.1	0.0	2.3	2	sp Q10N21 APX1_
8.1e-26	95.6	0.0	3.2e-12	50.8	0.0	2.1	2	sp Q05431 APX1_
8.7e-26	95.5	0.0	8.5e-13	52.7	0.0	2.4	2	sp P48534 APX1_
1.5e-25	94.7	0.1	1.5e-14	58.5	0.0	2.5	2	sp Q42592 APXS_
2.8e-25	93.8	0.0	3.6e-13	53.9	0.0	2.2	2	sp Q42593 APXT_
3.3e-25	93.6	0.0	2.6e-12	51.1	0.0	2.3	2	sp A2XFC7 APX1_
5.1e-25	92.9	0.0	5.5e-13	53.3	0.0	2.2	2	sp Q7XJ02 APX7_
1.1e-24	91.9	0.0	2.6e-13	54.4	0.0	2.2	2	sp Q1PER6 APX2_
3.8e-24	90.1	0.0	1.5e-12	51.8	0.0	2.1	2	sp Q69SV0 APX8_
5e-24	89.7	0.0	2.4e-12	51.2	0.0	2.3	2	sp P0C0L0 APX5_
6.9e-24	89.2	0.0	1.6e-10	45.2	0.0	2.2	2	sp P0CP56 CCPR2
6.9e-24	89.2	0.0	1.6e-10	45.2	0.0	2.2	2	sp P0CP57 CCPR2
7e-24	89.2	0.0	7e-12	49.7	0.0	2.4	2	sp P0C0L1 APX6_

► Peroxydases de classe 1 (APX, CCPR, KAT)

```

Query:      Align_PB_classI [M=271]
Scores for complete sequences (score includes all domains):
--- full sequence ---    --- best 1 domain ---    -#dom-
  E-value  score  bias    E-value  score  bias    exp  N  Sequence
-----
1.1e-120  406.9  0.0    1.3e-120  406.6  0.0    1.0  1  sp|Q42564|APX3_
      8e-120  404.1  0.0    9.6e-120  403.8  0.0    1.0  1  sp|Q0JEQ2|APX3_
2.4e-119  402.5  0.0    2.9e-119  402.2  0.0    1.0  1  sp|Q01MI9|APX3_
1.1e-118  400.3  0.0    1.3e-118  400.1  0.0    1.0  1  sp|Q6ZJJ1|APX4_
1.5e-114  386.7  0.0     2e-114  386.4  0.0    1.0  1  sp|Q1PER6|APX2_
6.8e-113  381.3  0.0    7.9e-113  381.1  0.0    1.0  1  sp|Q7XZP5|APX5_
6.9e-113  381.3  0.0    8.1e-113  381.1  0.0    1.0  1  sp|Q10N21|APX1_
1.1e-112  380.6  0.0    1.3e-112  380.4  0.0    1.0  1  sp|P48534|APX1_
2.5e-112  379.5  0.0    2.8e-112  379.3  0.0    1.0  1  sp|Q05431|APX1_
4.4e-112  378.7  0.0    5.1e-112  378.5  0.0    1.0  1  sp|A2XFC7|APX1_
4.8e-110  372.0  0.0    5.5e-110  371.8  0.0    1.0  1  sp|Q9FE01|APX2_
4.8e-107  362.2  0.0    6.8e-107  361.7  0.0    1.1  1  sp|Q7XJ02|APX7_
      1e-106  361.0  0.0    1.5e-106  360.5  0.0    1.1  1  sp|Q69SV0|APX8_
2.9e-105  356.3  0.0    3.6e-105  356.0  0.0    1.0  1  sp|P0C0L1|APX6_
1.1e-104  354.5  0.0    1.3e-104  354.1  0.0    1.1  1  sp|Q42592|APXS_
5.4e-104  352.1  0.0    8.6e-104  351.5  0.0    1.2  1  sp|Q42593|APXT_
3.5e-101  342.9  0.0    4.5e-101  342.6  0.0    1.0  1  sp|P0C0L0|APX5_
      5.4e-83  283.3  0.0     6.8e-83  282.9  0.0    1.0  1  sp|Q6CAB5|CCPR2_
      2.3e-81  278.0  0.0     2.9e-81  277.6  0.0    1.1  1  sp|Q4PD66|CCPR2_
      1.5e-80  275.3  0.0     2.1e-80  274.8  0.0    1.1  1  sp|Q4PBY6|CCPR_
      3.3e-80  274.2  0.0     4.4e-80  273.7  0.0    1.1  1  sp|Q4WPF8|CCPR_
      3.7e-80  274.0  0.0     4.5e-80  273.7  0.0    1.0  1  sp|A4R606|CCPR2_
      8.9e-80  272.7  0.0     1.2e-79  272.3  0.0    1.1  1  sp|Q7SDV9|CCPR_
      1.4e-79  272.1  0.0     1.8e-79  271.7  0.0    1.1  1  sp|Q4WLG9|CCPR2_
      1.6e-78  268.6  0.0     2.1e-78  268.2  0.0    1.1  1  sp|Q6URB0|CCPR_
      1.6e-78  268.6  0.0     2.2e-78  268.2  0.0    1.1  1  sp|P0CP54|CCPR_
      1.6e-78  268.6  0.0     2.2e-78  268.2  0.0    1.1  1  sp|P0CP55|CCPR_
      4.4e-78  267.2  0.0     6.6e-78  266.6  0.0    1.2  1  sp|Q5B1Z0|CCPR2_
      9.5e-78  266.1  0.0     1.3e-77  265.7  0.0    1.1  1  sp|A4QVH4|CCPR_

```

2.8e-41	146.5	4.0	1.7e-24	91.4	0.7	2.8	2	sp Q8RJZ6 KATG_
4.5e-41	145.8	0.4	1.1e-25	95.4	0.1	3.0	2	sp Q8TS34 KATG_
5.4e-41	145.6	0.0	6.8e-17	66.5	0.0	3.4	3	sp Q87WL6 KATG_
1.3e-40	144.4	0.1	6.3e-17	66.6	0.0	3.5	3	sp B0U3C6 KATG_
5.3e-39	139.0	0.0	6e-16	63.4	0.0	3.4	3	sp Q9PBB2 KATG_
1.1e-37	134.6	0.3	2.1e-15	61.6	0.0	3.5	3	sp Q4F6N6 KATG2
1.7e-37	134.1	0.6	2.2e-15	61.5	0.0	3.4	3	sp Q9AP06 KATG_
1.7e-37	134.0	0.0	6.6e-23	86.2	0.0	3.1	2	sp A1T9D9 KATG2
1.7e-37	134.0	0.0	5.8e-23	86.4	0.0	3.1	2	sp Q9R2E9 KATG_
5.3e-36	129.2	0.0	6e-22	83.1	0.0	3.1	2	sp O08405 KATG2
2.4e-33	120.5	0.0	3.2e-33	120.1	0.0	1.1	1	sp O23609 PER41
6.8e-33	119.0	0.3	5.4e-32	116.0	0.3	1.9	1	sp O81772 PER46
2.7e-32	117.0	0.0	7.6e-32	115.5	0.0	1.6	1	sp Q9SK52 PER18
5.8e-32	115.9	0.0	7.9e-32	115.5	0.0	1.1	1	sp Q9M9Q9 PER5_
1.2e-31	114.9	0.0	1.6e-31	114.5	0.0	1.1	1	sp Q9FJR1 PER65
1.7e-31	114.4	0.0	2.4e-31	113.9	0.0	1.1	1	sp P19136 PEM4_
1.8e-31	114.3	0.0	2.4e-31	113.9	0.0	1.1	1	sp O23474 PER40
8.2e-31	112.2	1.5	1.3e-23	88.5	0.1	3.0	2	sp P37743 KATG_
1.5e-30	111.3	0.0	2e-30	110.9	0.0	1.1	1	sp Q96522 PER45
1.7e-30	111.1	0.0	2.3e-30	110.7	0.0	1.1	1	sp Q9SJZ2 PER17
1.8e-30	111.1	0.0	2.5e-30	110.6	0.0	1.1	1	sp Q02567 PEM1_
2.8e-30	110.4	0.0	3.8e-30	110.0	0.0	1.1	1	sp Q9LE15 PER4_
3.4e-30	110.1	0.0	4.6e-30	109.7	0.0	1.1	1	sp Q9SY33 PER7_
4.2e-30	109.8	0.0	5.7e-30	109.4	0.0	1.1	1	sp Q96518 PER16
8.6e-30	108.8	0.0	1.2e-29	108.3	0.0	1.1	1	sp O23237 PER49
1.1e-29	108.5	0.0	1.5e-29	108.1	0.0	1.1	1	sp Q9SZB9 PER47
1.8e-29	107.7	0.0	2.6e-29	107.3	0.0	1.1	1	sp Q02200 PERX_
1.9e-29	107.7	0.0	2.7e-29	107.2	0.0	1.1	1	sp O48677 PER6_
2.7e-29	107.2	0.0	4e-29	106.6	0.0	1.2	1	sp Q9FX85 PER10
3.7e-29	106.7	0.0	5e-29	106.3	0.0	1.1	1	sp P00434 PERP7
4.2e-29	106.5	0.0	5.7e-29	106.1	0.0	1.1	1	sp Q9FLC0 PER52
7.5e-29	105.7	0.0	1.1e-28	105.2	0.0	1.1	1	sp Q43872 PER64
7.8e-29	105.7	0.0	1.1e-28	105.2	0.0	1.1	1	sp Q43731 PER50
1.2e-28	105.0	0.0	1.7e-28	104.6	0.0	1.1	1	sp Q9UR19 VPL1_

Analyse des résultats

- ▶ Les profils HMM permettent d'identifier les peroxydases de classe 1 et 3
 - ▶ Manque de spécificité
 - ▶ Amélioration de l'alignement à revoir
 - ▶ Ajout d'un score seuil
- ▶ Vérification de la spécificité
 - ▶ Recherche de profil HMM des peroxydases de classe 3 contre les séquences des peroxydases de classe 1 et inversement