Alignement de génomes

L'alignement est probablement le problème le plus fondamental en génomique.

- liens d'homologie / similarité

Alignement de génomes (WGA)

Etablir une "correspondance" entre les génomes.

- Pour chaque segment d'un génome donné, un WGA nous indique où se trouvent le(s) **segment(s)** "correspondant(s)" dans d'autres génomes.
- Un segment peut être une ou plusieurs positions nucléotidiques contiguës dans un génome.

Dans le cadre de l'évolution:

- Que signifie le fait que deux segments génomiques "correspondent" l'un à l'autre ?

Alignement de génomes (WGA)

Etablir une "correspondance" entre les génomes.

- Pour chaque segment d'un génome donné, un WGA nous indique où se trouvent le(s) **segment(s)** "correspondant(s)" dans d'autres génomes.
- Un segment peut être une ou plusieurs positions nucléotidiques contiguës dans un génome.

Dans le cadre de l'évolution:

- Que signifie le fait que deux segments génomiques "correspondent" l'un à l'autre ?

Dans la plupart des cas, nous considérons que deux segments sont correspondants s'ils sont **orthologues**.

Remarque un WGA fonctionne au niveau des **nucléotides**.

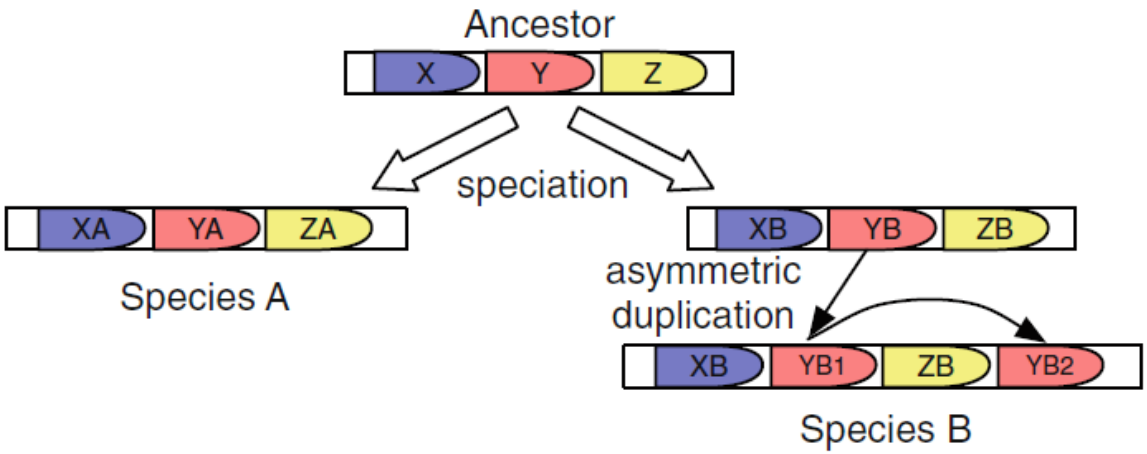
- un WGA fournit des prédictions d'orthologues à la fois pour les gènes et les régions inter-géniques.

Toporthologie :

Dans de nombreux cas, les WGA ne visent pas à prédire toutes les séquences orthologues.

- ils ne prédisent que la **toporthologie** (orthologie positionnelle).

Le concept de toporthologie reflète la notion que toutes les relations d'orthologies ne sont pas équivalentes en termes d'histoire du **contexte génomique**.

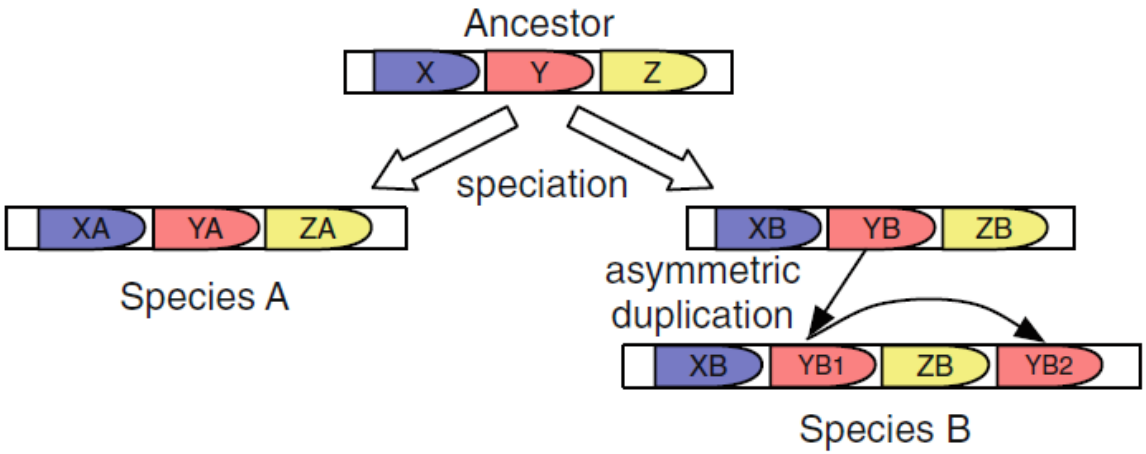


Est-ce que les gènes *YB1* et *YB2* entretiennent la même relation avec *YA*?

Toporthologie :

Sa définition dépend du type d'événements de duplication.

- Un événement de duplication est considéré comme "**symétrique**" si le retrait de **l'une ou l'autre copie** du matériel génomique dupliqué ramène le génome à son état original (duplications en tandem et les duplications de génomes entiers).
- Si une **seule copie** peut être supprimée pour annuler un événement de duplication, alors l'événement est considéré comme "**asymétrique**" (rétrotransposition et la duplication segmentaire)
  - La copie amovible est appelée "**cible**",
  - l'autre copie est appelée "**source**".



Définition la toporthologie :

Deux segments génomiques sont toporthologues s'ils sont orthologues et aucun des segments n'est dérivé de la cible d'un événement de duplication asymétrique depuis le dernier ancêtre commun des segments.

toporthologues => absence d'événement de réarrangement,

- ils partagent le même contexte génomique ancestral.

- Conséquences?

Définition la toporthologie :

Deux segments génomiques sont toporthologues s'ils sont orthologues et aucun des segments n'est dérivé de la cible d'un événement de duplication asymétrique depuis le dernier ancêtre commun des segments.

toporthologues => absence d'événement de réarrangement,

- ils partagent le même contexte génomique ancestral.

Comme le contexte d'un gène ou d'un segment génomique a des conséquences fonctionnelles, on s'attend généralement à ce que les séquences toporthologues soient **plus semblables dans leur fonction** que les séquences orthologues qui ne sont pas toporthologues.

Mais pas uniquement!

Analyse de la **structure et de l'évolution** des génomes

Procaryotes

- Définition d'un **génome minimal ancestral**
- Identification de **l'origine d'un phénotype particulier** (pathogénicité, adaptation,…)
- Prédiction et analyse de la structure de certains **éléments fonctionnels** (motifs, îlots)
- Aide à **l'assemblage et à l'annotation** de génomes "drafts"

Eucaryotes

- La détermination de la structure des gènes
- La définition de régions synténiques
- La prédiction des éléments cis-régulateurs

Différences par rapport à un alignement de séquences?

Alignement de génomes

Différences par rapport à un alignement de séquences?

Doit prendre en compte les réarrangements chromosomiques :

- Inversions
- Transposition
- Duplications

Le programme doit aligner rapidement de très longues séquences génomiques.

- Décomposer le problème en sous problèmes

Alignement de génomes

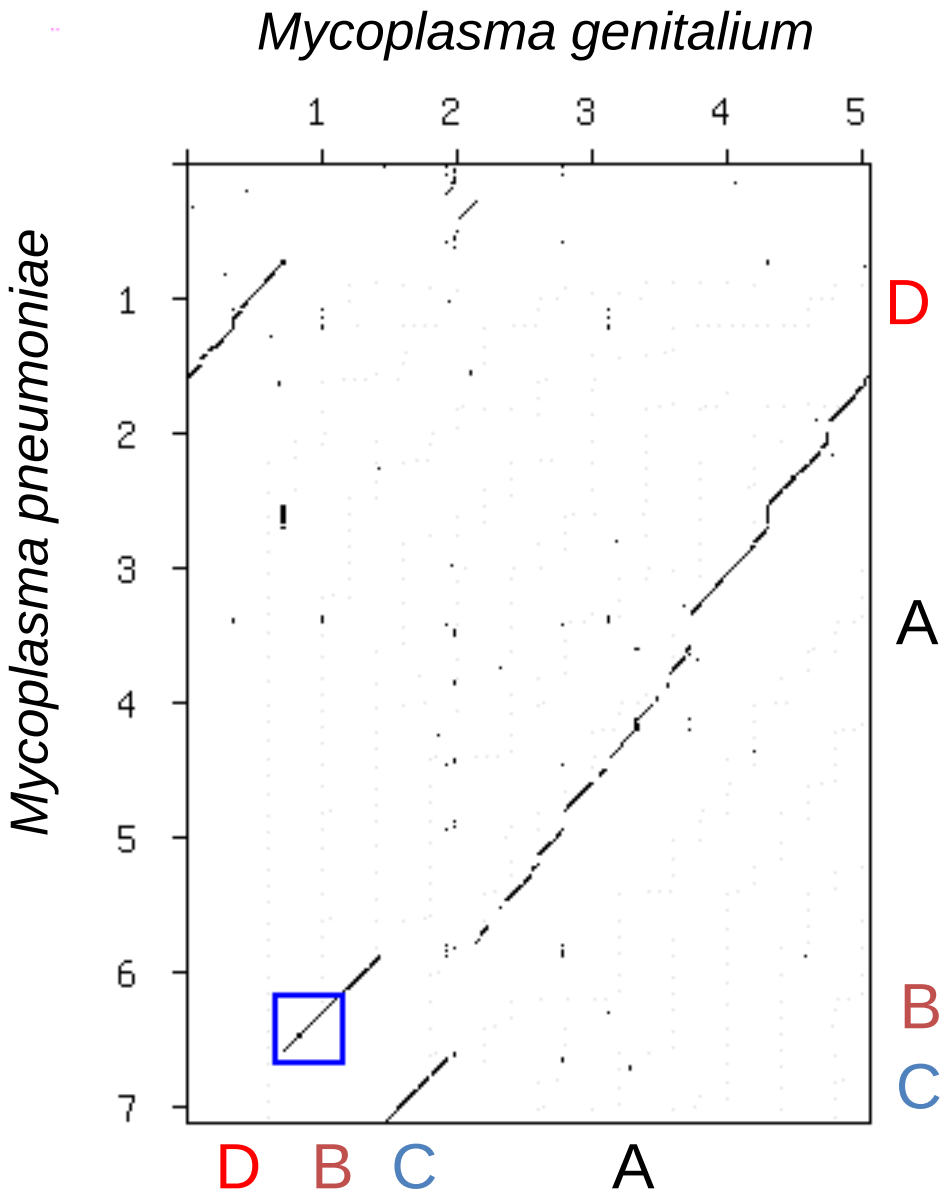
Chaque génome est constitué d'une mosaïque de :

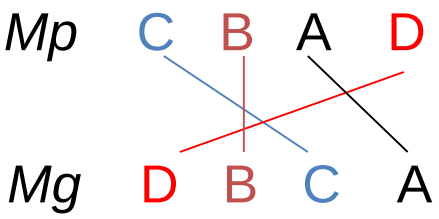
- segments uniques à la lignée,
- segments conservés dans un sous ensemble de génomes,
- segments conservés dans tous les génomes.

Quand on compare plusieurs génomes, **l'ordre linéaire** de ces différents fragments peut être remanié d'un génome à l'autre.

Problèmes :

- La recombinaison peut conduire à des réarrangements des génomes.
- Les HGT introduisent de nouvelles séquences dans certains génomes.
- Les délétions peuvent conduire à la perte de régions dans certains génomes.


Mycoplasma genitalium
Mycoplasma pneumoniae
1
2
3
4
5
1
2
3
4
5
6
7
D
A
B
C
D
B
C
A


Mp
C
B
A
D
Mg
D
B
C
A

Alignement de génomes

Méthode la plus souvent appliquée en première étape :

- Recherche de régions alignées servant de **points d'ancrage.**

Les génomes sont connus pour posséder des **régions répétées,** comme les opérons ribosomiques, les prophages et les EGM.

Donc quand on recherche des ancres entre plusieurs génomes, des problèmes vont apparaître si un motif répété particulier est rencontré plusieurs fois dans chaque séquence. Il devient difficile de déterminer quelle combinaison de régions il faut aligner.

En effet, si l'élément répété est trouvé r fois dans chacun des G génomes, on a rG combinaisons possibles et seulement r vont correspondre à l'alignement des régions orthologues.

Alignement de génomes : MAUVE

Darling et al. (2004), Genome Research 14, 1394-1403

MAUVE évite ce problème en utilisant des « Multiple Maximal Unique Matches » (**multi-MUMs**) de longueur minimum *k* comme ancres

- régions trouvées **identiques** entre deux ou plusieurs génomes mais présentes **au plus une fois** par génome et qui sont bordées de chaque côté par des résidus qui ne sont plus conservés entre les différentes séquences.

Genome *A*: `tcgatcGACGATCGCGGCCGTAGATCGAATAACGAGAGAGCATAAcgactta`
Genome *B*: `gcattaGACGATCGCGGCCGTAGATCGAATAACGAGAGAGCATAAtccagag`

Cette approche réduit la **sensibilité** de MAUVE

- dans les régions conservées répétées,
- dans les régions qui présentent beaucoup d'évènements de substitutions et/ou d'indels.

- Utilisation d'une stratégie **d'ancrage récursive** qui progressivement réduit la taille de *k* pour trouver des ancres de plus petites tailles dans les régions restant non alignées.

Recherche des multi-MUMs :

- pour chaque génome *g*, construction d'une liste triée de ***k*-mers**.
- les listes ordonnées sont ensuite parcourues pour identifier les *k*-mers qui sont trouvés dans deux ou plusieurs séquences mais qui apparaissent **au plus une fois** dans chacun des génomes.
- si le multi-MUM qui inclut le *k*-mer détecté n'a pas encore été découvert, alors on procède à une extension dans chaque génome tant que les positions alignées restent identiques. L'extension s'arrête dès qu'une substitution est rencontrée.

Recherche des multi-MUMs :

Notation:

Chaque multi-MUM est définit comme un *tuple* (L, S_1,…, S_j…,S_G) avec L sa longueur et S_j sa position gauche (première position) dans le génome j.

L'ensemble résultant de multi-MUMs trouvé est $M = \{M_1,\ldots,M_i, \ldots, M_N\}$

La i^{ème} multi-MUM est appelé M_i.

- Sa **longueur** est notée $M_i \bullet L$.
- Sa **position** dans le génome j $M_i \bullet S_j$.

Si le multi-MUM est trouvé dans le génome j dans une région en **orientation inverse**, le signe de $M_i \bullet S_j$ est négatif.

Si le multi-MUM **n'existe pas** dans le génome j, $M_i \bullet S_j$ vaut 0.

Sélection des ensembles d'ancres :

Parmi les multi-MUMs sélectionnés, certains peuvent être des **contaminants**,

- des segments dont la similarité est due au hasard.

=> Filtrer de ces contaminants

Construction des blocs localement colinéaires (**LCB**).

Définition d'un LCB :

Un LCB est une séquence de multi-MUMs,

$lcb = \{M_1, M_2, \ldots, M_{lcb}\}$

qui satisfait une propriété d'ordre total tel que

$M_i \bullet S_j \leq M_{i+1} \bullet S_j$

pour tout i, $1 \leq i \leq |lcb|$ et pour tout j, $1 \leq j \leq G$, (G nombre total de génomes comparés).

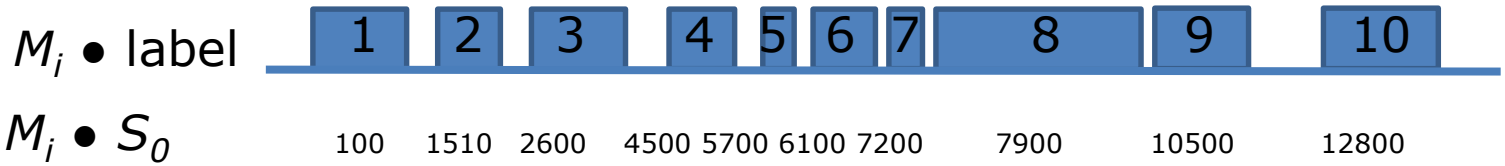
Recherche des LCB :

Partitionnement de *M* en sous ensembles colinéaires.

- implémentation d'un algorithme de recherche des points de cassure (breakpoints).

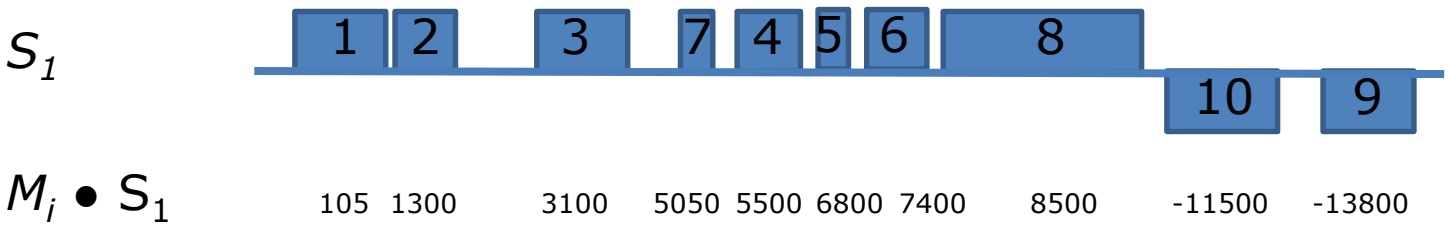
1. MAUVE ordonne les multi-MUMs de *M* sur le **génome de référence** S_0 en fonction des $M_i \bullet S_0$:

2. Un label est augmenté de façon monotone de 1 à $|M|$ et est assigné à chaque MUM correspondant à son index sur $|M_i \bullet S_0|$. Le label du $i^{\text{ème}}$ multi-MUM est donné par $M_i \bullet$ label:



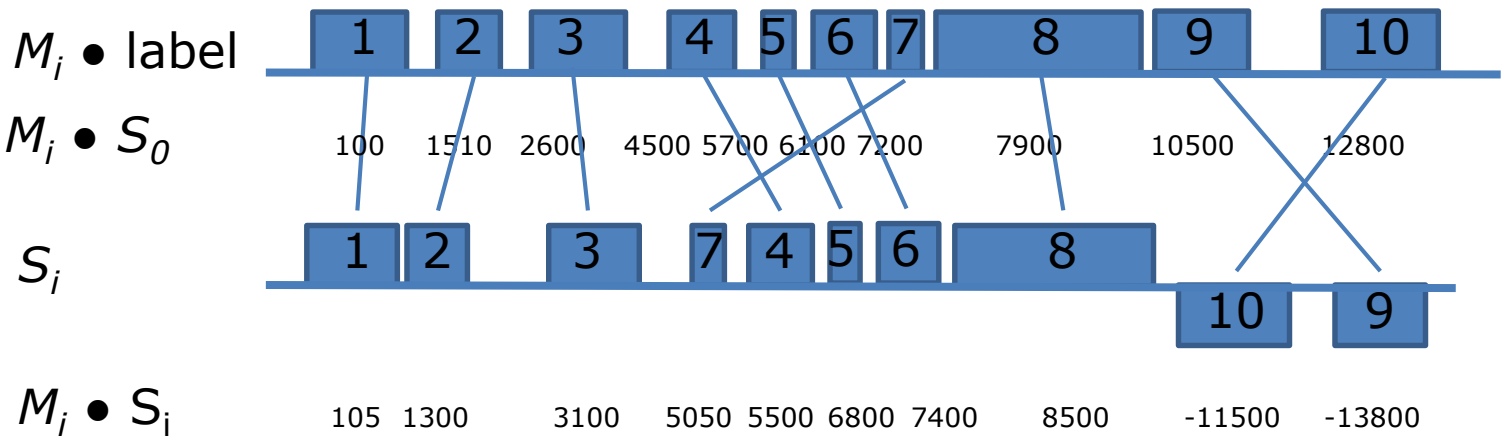
Recherche des LCB :

3. Le groupe de multi-MUMs est réordonné suivant les positions dans chaque génome autre que celui de référence
   - donc par rapport au | $M_i \bullet S_j$| pour j = 1 à G.



Recherche des LCB :

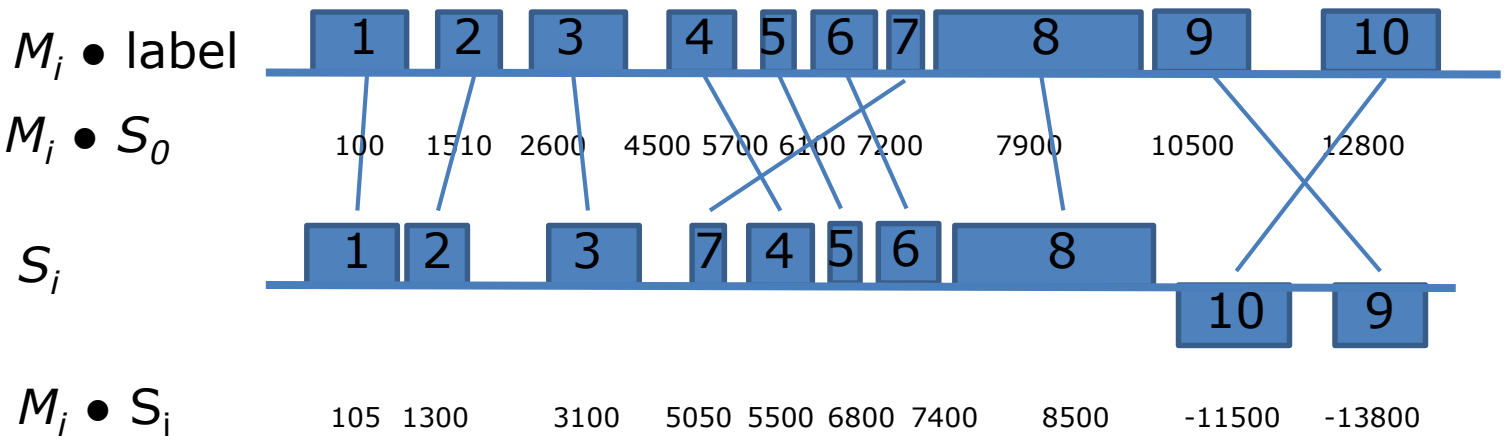
4. Après chaque ré-ordonnancement, recherche des points de cassure :



Comment identifier ces points de cassures?

Recherche des LCB :

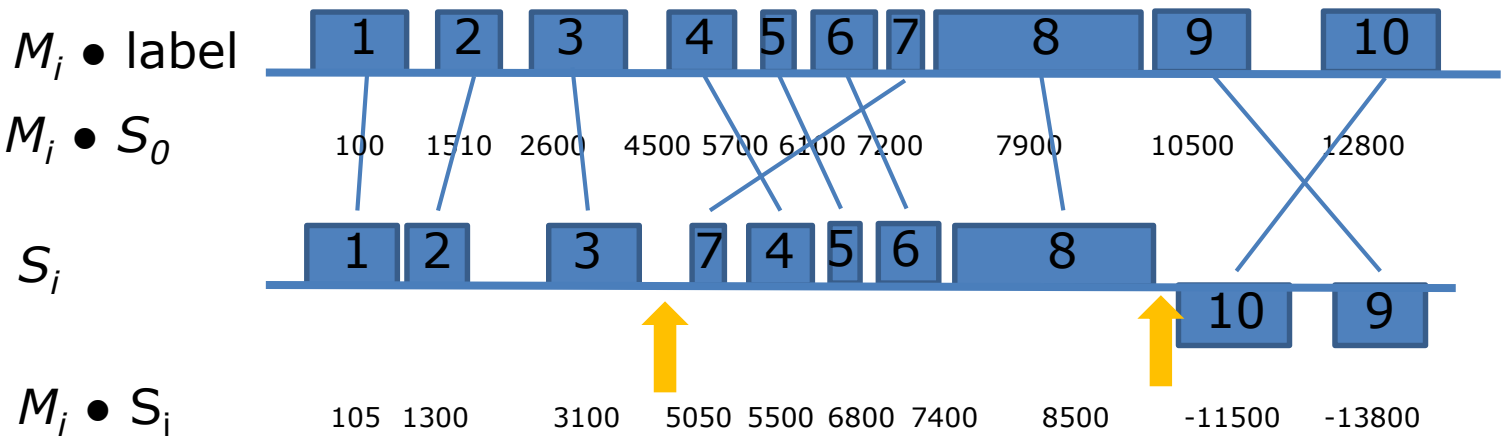
4. Après chaque ré-ordonnancement, recherche des points de cassure :



5. Point de cassure entre M_i et M_{i+1} si :
   - M_i • label + 1 ≠ M_{i+1} • label — M_i et M_{i+1} brin direct
   - M_i • label - 1 ≠ M_{i+1} • label — M_i et M_{i+1} brin complémentaire
   - signe (M_i • S_j) ≠ signe (M_{i+1} • S_j) — M_i et M_{i+1} sur des brins différents

Recherche des LCB :

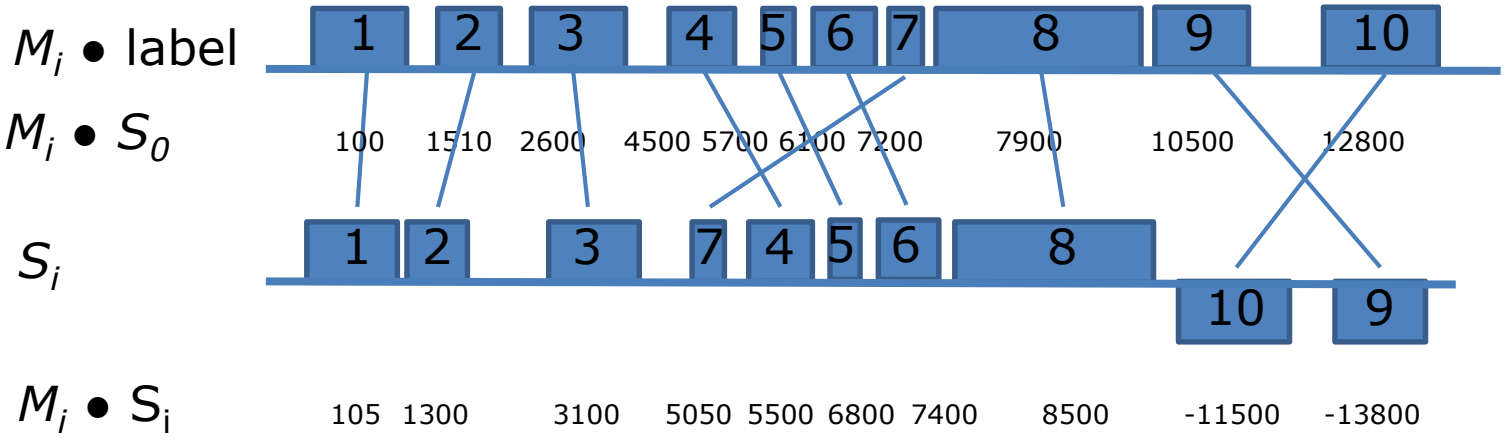
3. Après chaque ré-ordonnancement, recherche des points de cassure :



1. Point de cassure entre M_i et M_{i+1} si :
   - M_i • label + 1 ≠ M_{i+1} • label — M_i et M_{i+1} brin direct
   - M_i • label - 1 ≠ M_{i+1} • label — M_i et M_{i+1} brin complémentaire
   - signe (M_i • S_j) ≠ signe (M_{i+1} • S_j) — M_i et M_{i+1} sur des brins différents

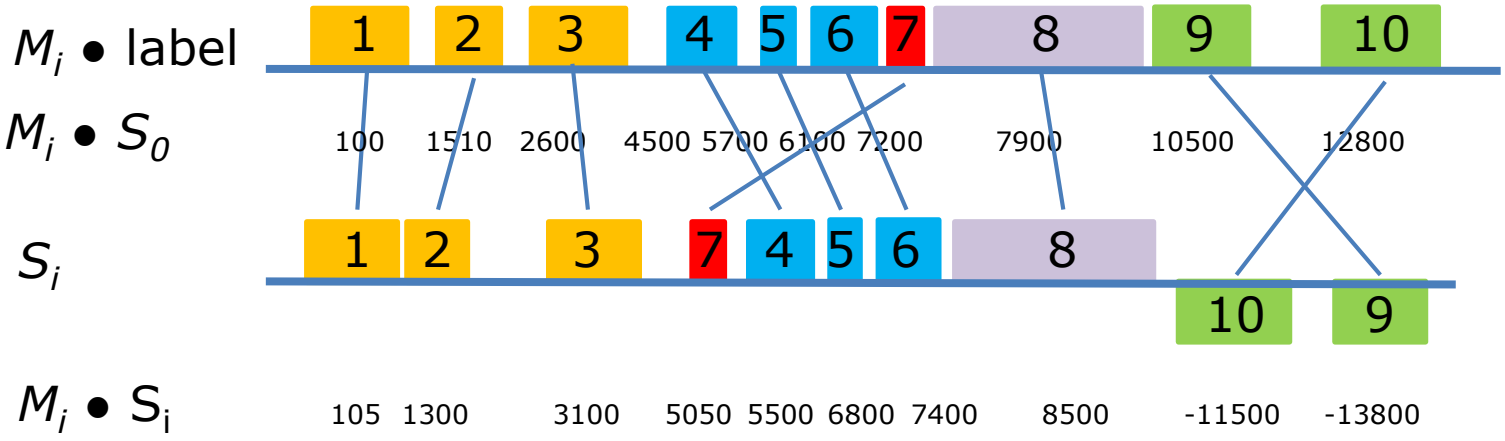
Recherche des LCB :

6. Les LCBs sont les sous-séquences de longueurs maximales de multi-MUMs M_i … M_{i+1} qui ne possèdent pas de points de cassure identifiés entre eux.



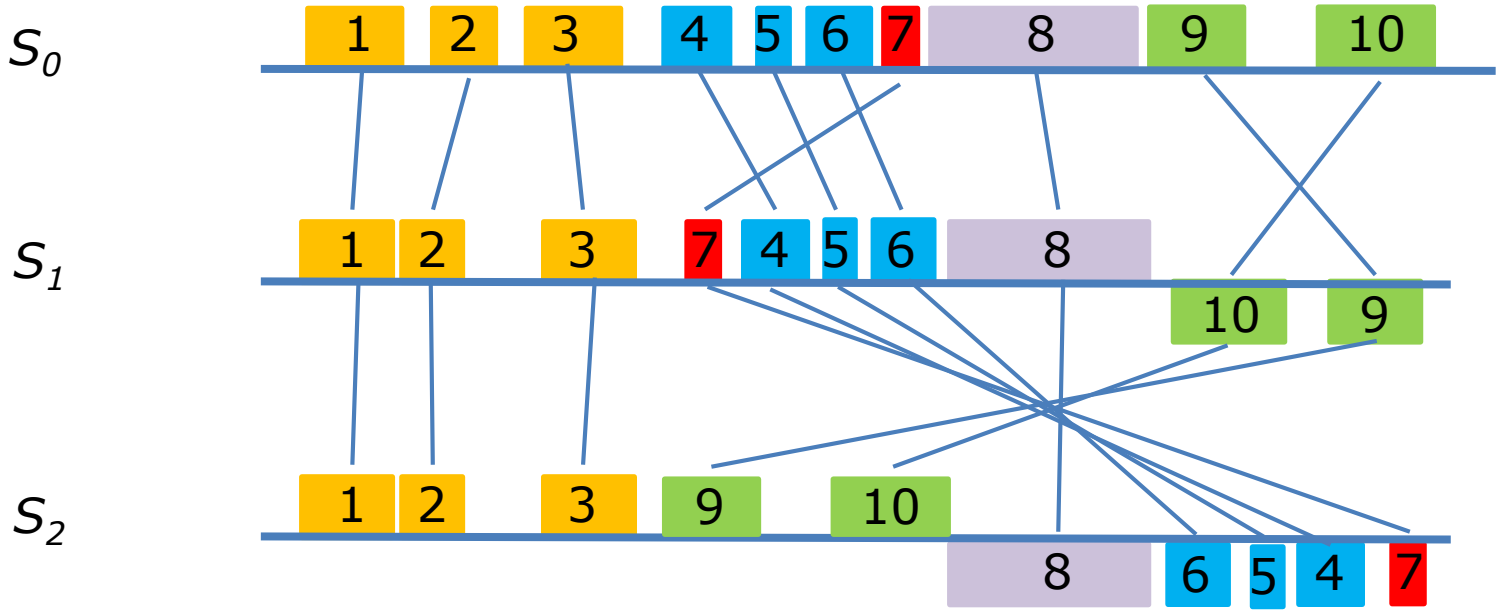
Recherche des LCB :

6. Les LCBs sont les sous-séquences de longueurs maximales de multi-MUMs M_i … M_{i+1} qui ne possèdent pas de points de cassure identifiés entre eux.



Recherche des LCB :

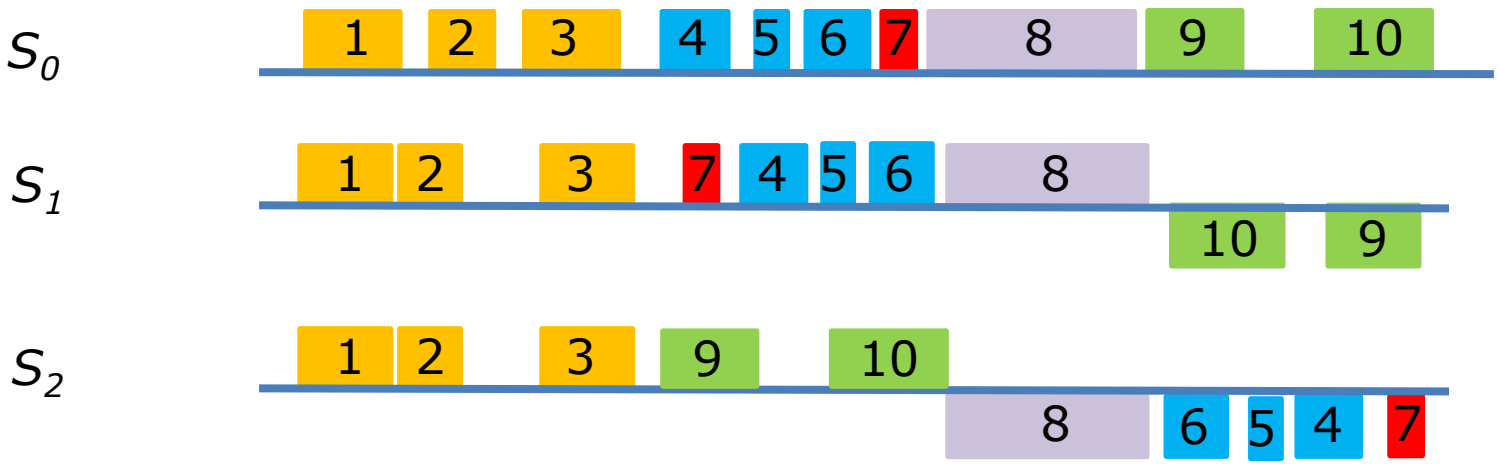
6. Les LCBs sont les sous-séquences de longueurs maximales de multi-MUMs M_i … M_{i+1} qui ne possèdent pas de points de cassure identifiés entre eux.



Elimination des points de cassure :

Algorithme d'élimination des points de cassure dus à la présence de LCB court pouvant résulter de la détection de multi-MUMs **contaminants**.

- Nécessite un critère de poids minimum ***MinimumWeight*** ≥ 0

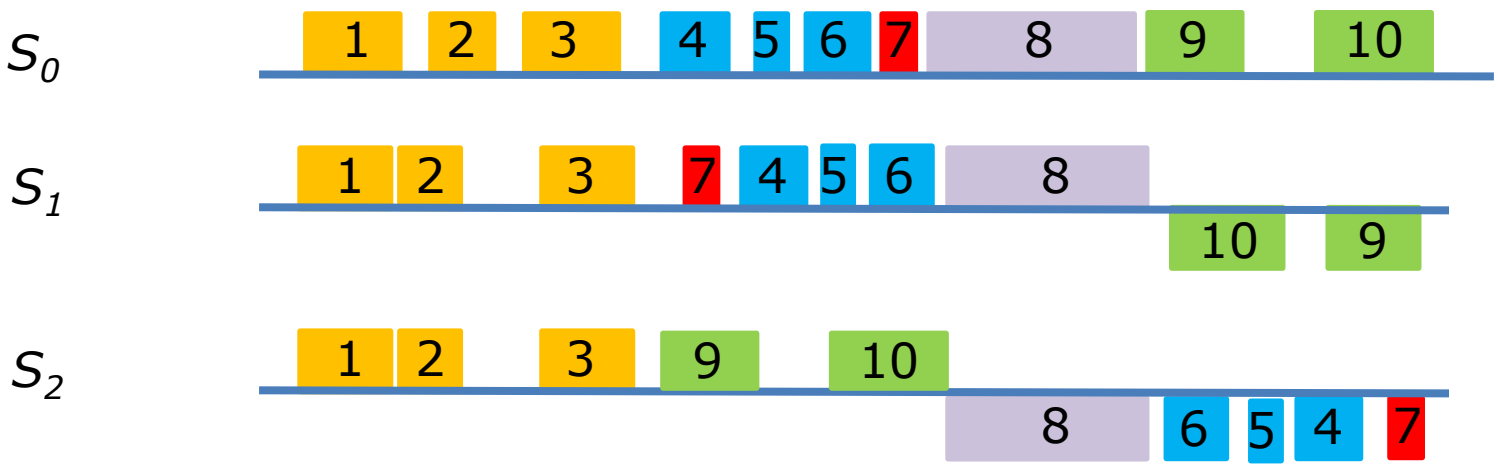


1. Déterminer le partitionnement de **M** en blocs colinéaires **CB**
2. Calculer le poids $w(cb_i)$ de chaque bloc colinéaire $cb_i \in$ **CB**. Avec :

$$w(cb_i) = \sum_{M_i \in CB} M_i.L$$

Elimination des points de cassure :

1. Déterminer le partitionnement de **M** en blocs colinéaires **CB**
2. Calculer le poids $w(cb_i)$ de chaque bloc colinéaire $cb_i \in$ **CB**.
3. Soit $z = min_{cb \in \mathbf{CB}} w(cb)$
4. Stop si $z \geq MinimumWeight$
5. identifier les sous ensembles $MinCB \subseteq$ **CB** qui satisfont $w(cb_i) = z$
6. Pour chaque $cb \in MinCB$ enlever chaque multi-MUM $M \in cb$ de **M**
7. Retourner en 1.

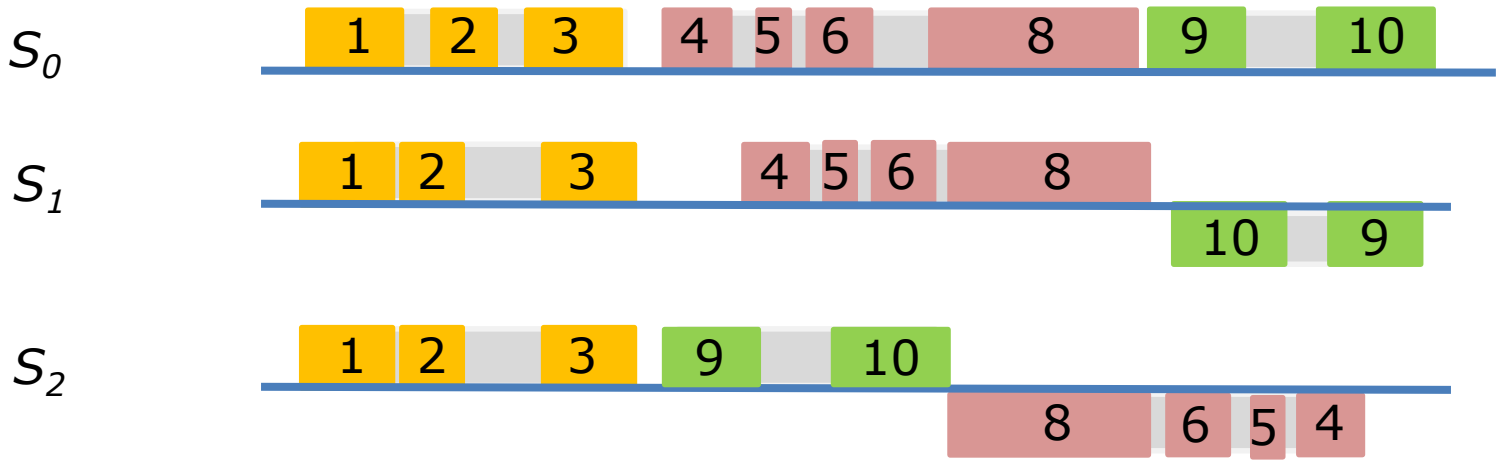


Recherche récursive d'ancres:

Recherche initiale d'ancres peut na pas être assez sensible pour détecter des ancres dans les régions répétées et les régions ayant un taux de substitution plus élevé.

- Utilisation des ancrages précédents comme guide
- Deux recherches récursives (avec une valeur de *k* plus faible) :

1. Régions à **l'extérieur** des LCBs sont examinées pour étendre les frontières des LCBs existants (régions blanches).
2. Régions sans ancre à **l'intérieur** des LCBs sont examinées pour rechercher de nouveaux multi-MUMs (régions grises).



Alignement des séquences entre les ancres:

Utilisation d'un programme « classique » d'alignement multiple progressif comme **ClustalW**. Cependant pour des séquences de longueur supérieure à 10 Kb, le temps de calcul devient prohibitif,

- d'où la nécessité de trouver le maximum d'ancres.

Ces méthodes d'alignement progressif utilisent un **arbre guide** pour ajouter de façon itérative les séquences dans l'alignement en construction.

MAUVE utilise les multi-MUMs détectés avant la sélection des ancres pour construire cet arbre guide. Si des multi-MUMs se chevauchent, le chevauchement est résolu car chaque résidu aligné ne doit compter qu'une fois.

Le rapport du nombre de bases communes entre deux génomes sur la moyenne de leur longueur fournit une **estimation de la similarité de séquence**.

Elle est convertie en distance pour construire la matrice des distances utilisée ensuite par la Neighbor Joining Method (d = 1-s).

ClustalW est exécuté pour chaque paires d'ancres adjacentes de chaque LCB. Les répétitions en tandem < 10 Kb sont alignées pendant cette phase.

Les régions ≥ 10 Kb sans une ancre sont ignorées.

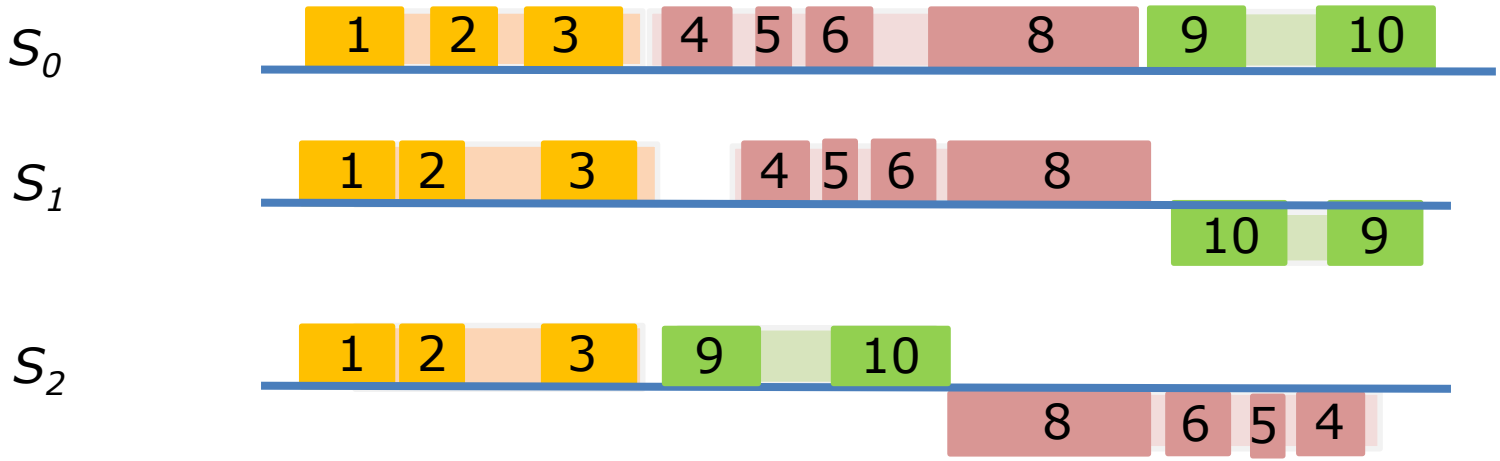
Alignement de génomes : MAUVE

La procédure d'alignement de MAUVE fournit un **alignement global** de chaque bloc localement colinéaire (LCB) dont les éléments de séquences sont conservés entre tous les génomes étudiés.

Les nucléotides alignés sont considérés comme **orthologues**.

MAUVE n'essaie pas d'aligner les régions **paralogues** (in-paralogs).
Les régions restant non alignées peuvent donc être :

- des séquences lignée spécifique
- des régions localement très réarrangées
- des régions paralogues



Alignement de génomes : MAUVE

Exemple de l'alignement de 3 génomes (alignment viewer) extrait du guide utilisateur de Mauve

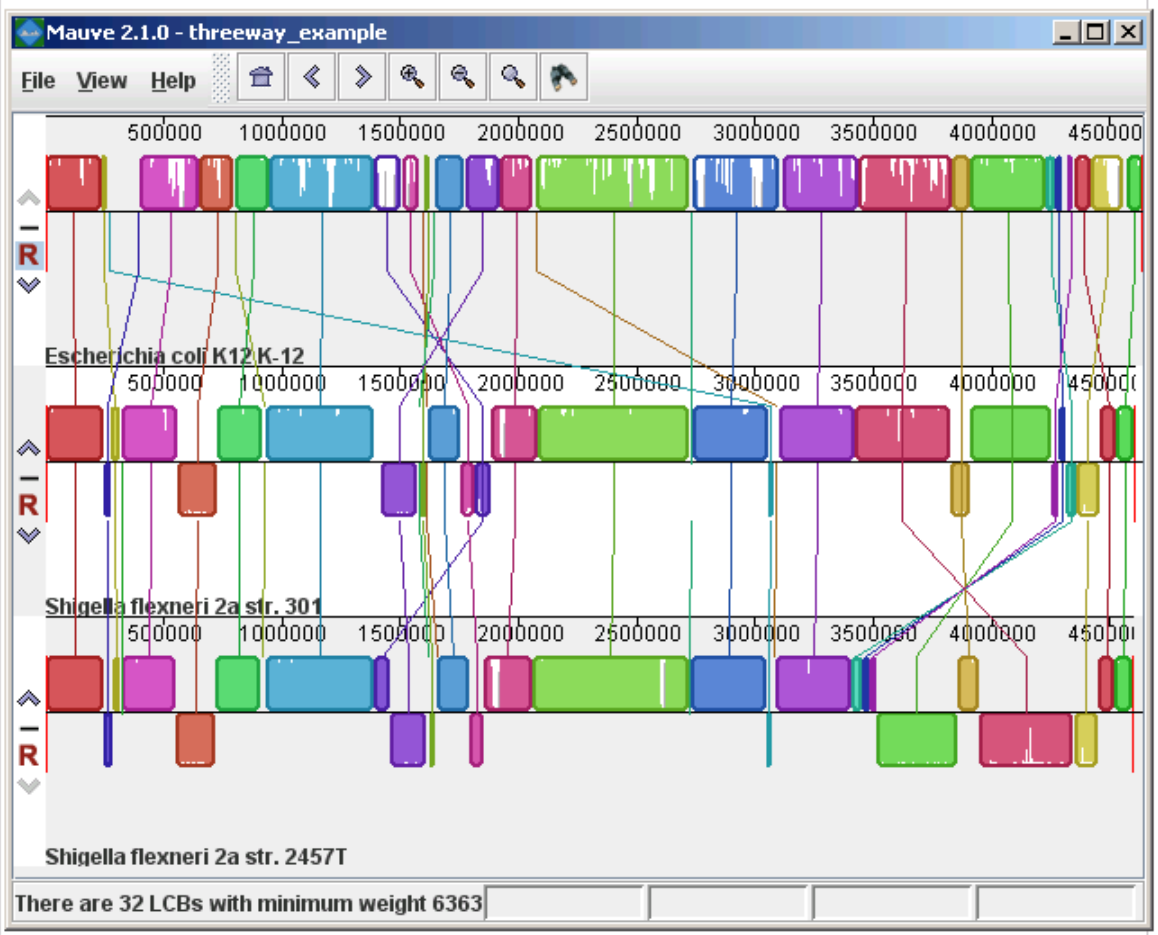


Figure 1 (above) shows an alignment of *E. coli* K12 MG1655, *S. flexneri* 2a 301, and *S. flexneri* 2457T. Notice how inverted regions in the *S. flexneri* are clearly depicted as blocks below a genome's center line. These three genomes were taken from the NCBI FTP site and aligned with Progressive Mauve using default parameters, as described in the previous section.

In Figure 1, colored blocks in the first genome are connected by lines to similarly colored blocks in the second and third genomes. These lines indicate which regions in each genome are homologous. Notice the crossing "X" pattern of lines, which happen to occur in the vicinity of the predicted origin and terminus of replication in these organisms. When viewing genomes with complex rearrangements, the LCB connecting lines can be confusing and they can be hidden (or made visible again) by typing **Shift+L** (pressing shift and L simultaneously) or using the "View" menu.

In the standard color scheme, the region of sequence covered by a colored block is entirely collinear and homologous among the genomes. The boundaries of colored blocks usually indicate the breakpoints of genome rearrangement, unless sequence has been gained or lost in the breakpoint region.

Alignement des 9 génomes d'entérobactéries :

Figure 6 Locally collinear blocks identified among the nine enterobacterial genomes listed in Table 1. Each contiguously colored region is a locally collinear block, a region without rearrangement of homologous backbone sequence. LCBs below a genome's center line are in the reverse complement orientation relative to the reference genome. Lines between genomes trace each orthologous LCB through every genome. Large gray regions within an LCB signify the presence of lineage-specific sequence at that site. Each of the 45 blocks has a minimum weight of 69. The *Shigella* and *Salmonella* genomes have undergone more genome rearrangements than the *E. coli*, possibly because of the presence of specific mobile genetic elements. The computation consumed ~3 h on a 2.4-GHz workstation with 1 GB of memory. The figure was generated by the Mauve rearrangement viewer.

Inversion reportée dans le génome de *E. coli* O157:H7 EDL 933 identifiée

Les génomes de *Shigella* et *Salmonella* sont plus remaniés que ceux *de E. coli*, notamment une grande inversion.

Alignement de génomes : MAUVE

Bilan:

- MAUVE donne de **très bons résultats** quand le taux de substitution ou d'inversion est faible, atteignant des score de plus de 90% quand l'un ou l'autre de ces taux est faible.
- Bonne performance quand les séquences alignées sont réarrangées mais il faut qu'elles présentent un **faible taux de substitution**.
- Pour les taux de substitutions et d'indels reportés dans le jeu de données des entérobactéries, MAUVE aligne les génomes simulés avec un très **haut degré de précision**.

Limitations des premières versions:

- Mauve cible les comparaisons de **génomes proches** : les souches d'une même espèce ou organismes très proches (comme *E. coli* et *Salmonella* ou *Y. pestis*).
- Le **poids minimum des LCB** est un paramètre déterminant qui doit être souvent réglé manuellement pour une estimation correcte des réarrangements génomiques.
- Mauve a des difficultés avec les génomes contenant de grandes quantités de **duplications**.
- Les alignements produits par Mauve contiennent des "spurious matchs" et des **alignements erronés**
- Les grandes régions chromosomiques partagées uniquement par un sous-groupe d'organismes ne sont pas alignées

➢ Evolution de la méthode pour pallier les faiblesses de MAUVE : **progressiveMAUVE**

(Darling et al. (2010) Plos One volume 5 Issue 6 e11147).

progressiveMAUVE

Darling et al. (2010) Plos One volume 5 Issue 6 e11147

Nouvel algorithme d'alignement permettant d'aligner les régions conservées uniquement dans un sous groupe de séquences.

Trois innovations principales dans l'algorithme :

1. Un nouveau **score d'alignement** : permet la détection précise des positions de réarrangements quand les génomes ont un contenu en gènes très différents
2. Une heuristique basée sur le score calculé en 1: permet **d'optimiser l'ensemble d'ancres choisi**.
3. Un modèle de Markov caché (HMM) : permet d'éliminer les **alignements erronés** du résultat final (méthode de Treangen et al., 2008).

Méthode plus robuste pour traiter les génomes divergents ou ayant subi de multiples réarrangements, insertions/délétions et répétitions.

1. Local Multiple Alignments :

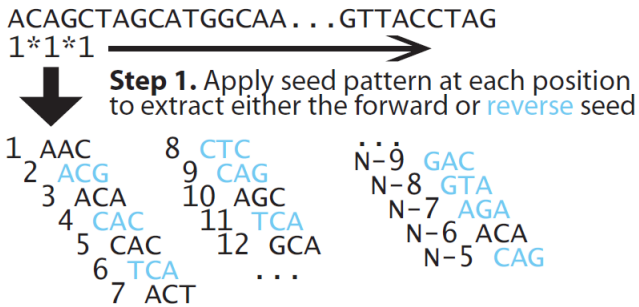
Les alignements multiples locaux (LMA) reprennent la même philosophie que celles des multi-MUM de MAUVE

Comme les multi-MUM, les LMA sont des alignements sans *indels* de sous-séquences uniques.

Contrairement aux multi-MUM, les LMA peuvent contenir des substitutions.

Les *k*mers ne sont plus utilisés comme graines, ils sont remplacés par des **motifs palindromiques espacées**.

Un **motif espacé** (spaced seed pattern) de longueur *k* et de poids *w* est un motif pour lequel certaines positions sont contrainte alors que les autres positions peuvent accepter tous les nucléotides.



Un motif est dit **palindromique** si il est identique lorsqu'il est lu sur le brin directe et inversé.

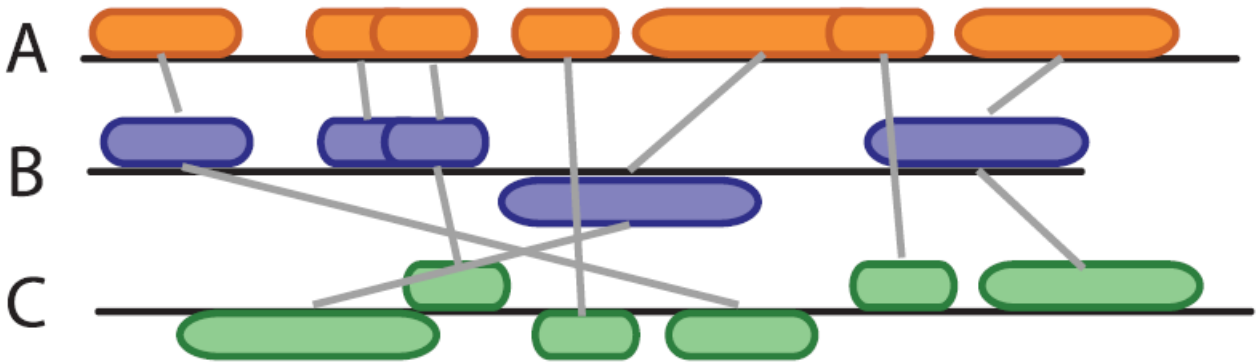
Par exemple, le motif 11*11*11*11 identifie les oligomères correspondants de longueur *k* = 8 où les 3ème et 6ème positions sont dégénérées.

Le poids du motif est égal au nombre de 1, le motif 11*11*11 a un poids *w* =6.

Les motifs utilisés ont un poids dépendant de la longueur moyenne des génomes ($|\dot{g}|$): $w = \log_2 (|\dot{g}|/1.5)$

1. Local Multiple Alignments :

Local alignement de trois génomes A, B et C

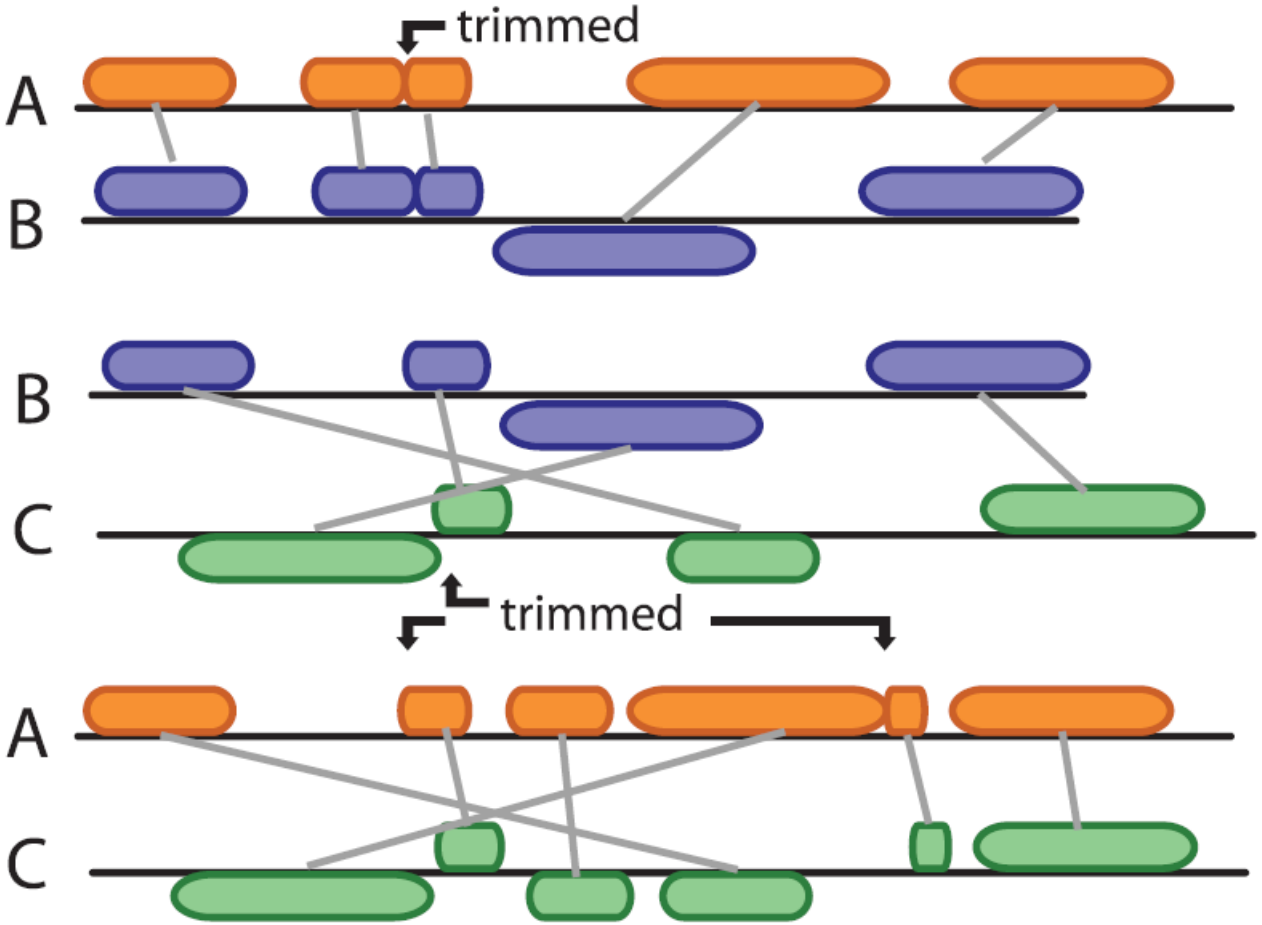


Le logiciel va procéder par un alignement progressifs des génomes à la manière de clustalW.

2. Distances entre pairs de génomes:

Calculer les distances entre pairs de génomes sur la base des séquences uniques partagées entre les deux génomes.

- Les blocs colinéaires locaux (LCB) sont calculés par paire de génomes.
- Les régions de recouvrements entre LMA sont éliminées



A: 60% couvert
B: 70% couvert
AB: moyen 65%

B: 62% couvert
C: 50% couvert
AB: moyen 56%

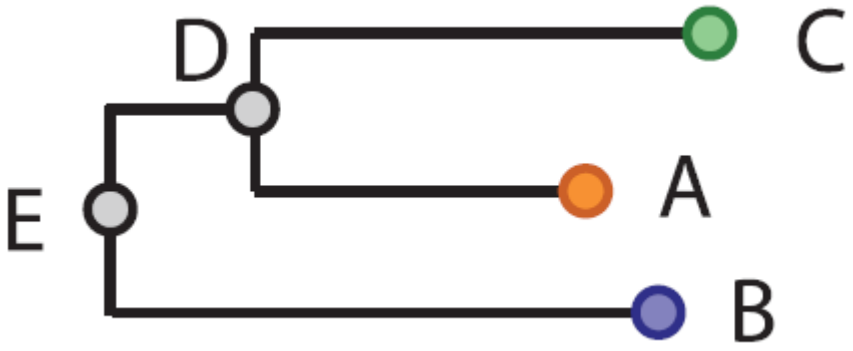
A: 70% couvert
C: 70% couvert
AC: moyen 70%

3. Arbre guide:

Les valeurs de couvertures sont transformée en distances.

La matrice de distance est utilisée pour calculer un arbre guide avec la méthode NJ et enracinement de l'arbre au milieu du point médian.

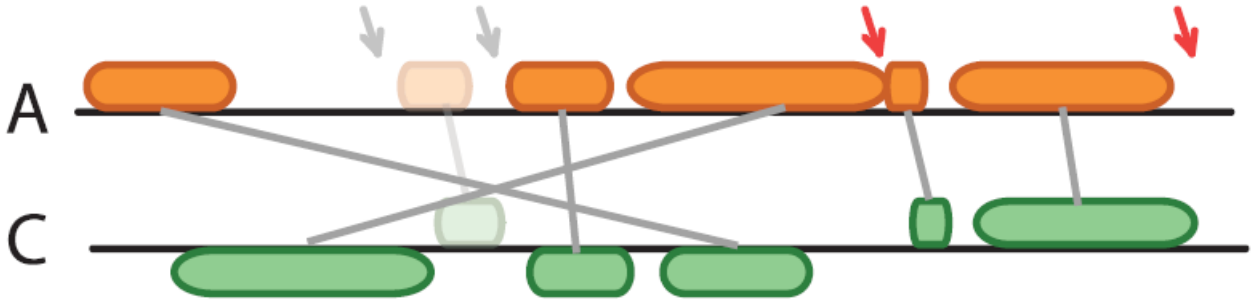
	A	B	C
A	0	0.35	0.30
B	-	0	0.44
C	-	-	0



4. Sélection d'un ensemble d'ancres:

Une heuristique d'élimination des points d'ancrages permet d'optimiser les réarrangements entre les LCB des pairs de génomes (basée sur la minimisation du nombre de points de cassures et la maximisation de la couverture des LCB).

Sur la figure l'élimination d'une pair de LCB (grisées) diminue le nombre de cassures (flèches).



5. Recherche itérative d'ancres:

Dans la première étape, l'algorithme trouve des alignements locaux dans des régions uniques d'identité à séquence élevée (w70%).

Les régions homologues ayant une identité de séquence inférieure ne seront pas identifiées.

Pour **améliorer la sensibilité** pendant la recherche récursive d'ancres, des poids de graines plus petits, sont utilisés (similaire à Mauve).

Tous les nouveaux alignements locaux sont ajoutés.

On revient à l'étape 4: Sélection d'un ensemble pour optimiser encore une fois le score des LCB.

Les étapes 4 et 5 se répètent jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'amélioration.

La procédure est répétée successivement à chacun des nœuds internes de l'arbre guide, en commençant avec les deux génomes les plus proches et allant de l'arbre guide vers la racine.

6. Alignement global des génomes:

Alignement du **profil** ancré et raffinement itératif

L'alignement global par pairs de profils implique que les séquences soient libres de tout réarrangement.

- Les LCB calculées à chaque nœuds sont donc utilisées.

Chaque LCB en est soumis indépendamment à un **alignement par profils** en utilisant Muscle.

Afin d'étendre la recherche aux bornes des LCB, les régions flanquant les LCB sont réparties au hasard et assignées aux LCB voisins.

Après l'alignement initial par profils, un raffinement itératif par fenêtre glissante est appliqué pour améliorer l'alignement global.

7. Rejeter les alignements erronés

En forçant l'alignement entre les LCB on peut obtenir un alignement de séquences non apparentées.

Pour identifier ces régions, une méthode basée sur un HMM est utilisée.

Elle classe les colonnes d'un alignement par paires comme homologues ou non apparentées.

Le HMM fait des prédictions d'homologie par paires, qui sont combinées en utilisant des relations d'homologie transitive.

Les régions jugées non apparentées sont éliminées de l'alignement.

Bilan:

Avantages :

- Peut être appliqué à un plus grand nombre de génomes que Mauve.
- Peut aligner des génomes plus divergents (~ 50 % d'identité).
- En général ne nécessite pas d'ajustement de paramètres.
- Permet de générer le pan-génome, e.g. les régions conservées entre un sous-ensemble de génomes.
- Est plus précis que l'algorithme Mauve.

Limitations :

- Plus lent que l'algorithme initial de Mauve
- Consomme plus de mémoire que l'algorithme initial de Mauve.

Alignement de génomes : progressiveMAUVE

Pour aller plus loin:

- Armstrong *et al.*, Whole-Genome Alignment and Comparative Annotation *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2019.
- Earl *et al*., Alignathon: A competitive assessment of whole genome alignment methods *Genome Res*. 2014. 24: 2077-2089
- Dewey Whole-genome alignment. *Methods Mol Biol.* 2012;855:237-57

M_i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
S_0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$M_i \bullet S_0$	100	1510	2600	4500	5700	6100	7200	7900	10500	12800
$M_i \bullet$ label	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

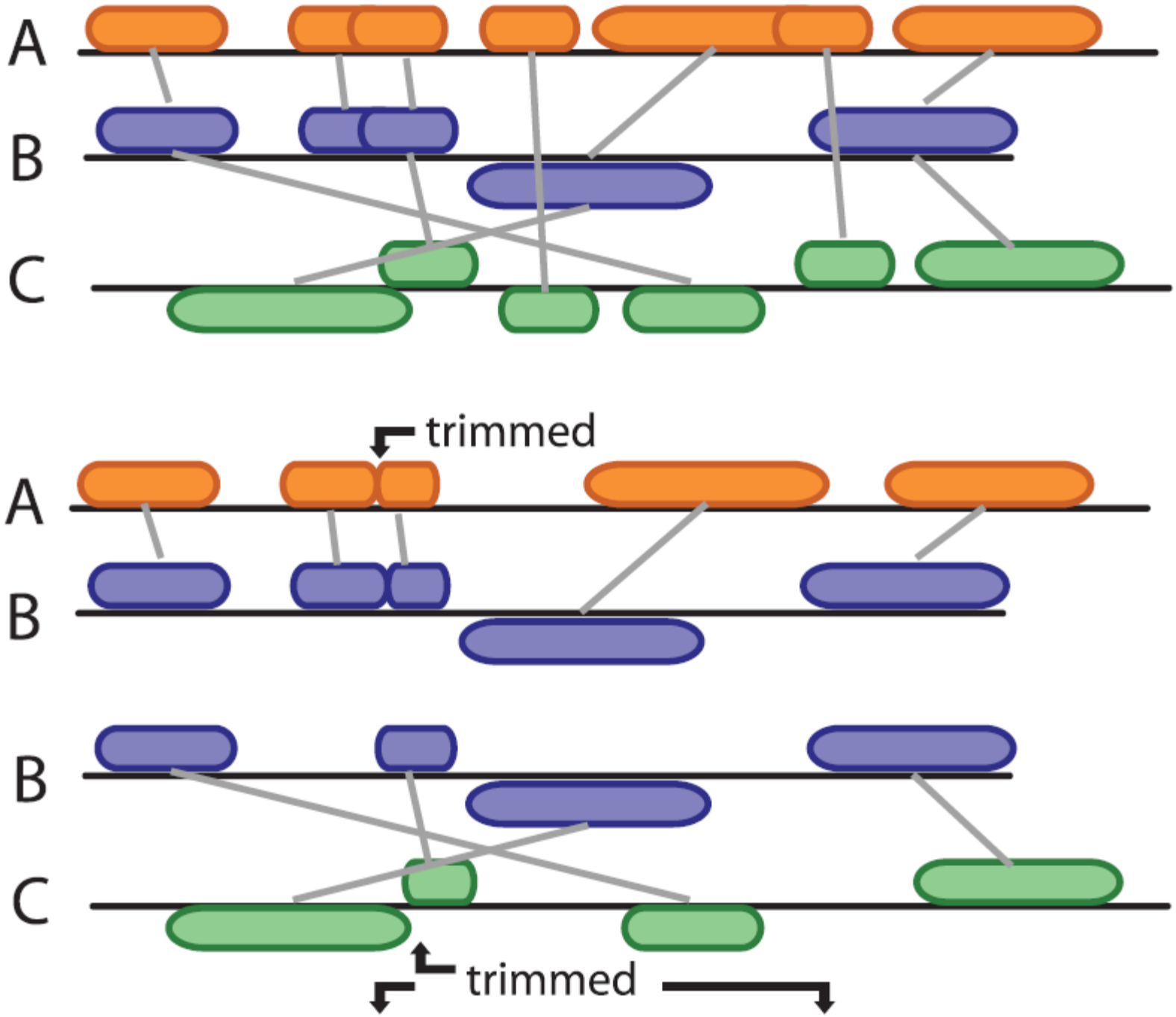
S_1	1	2	3	7	4	5	6	8	10	9
$M_i \bullet S_1$	105	1300	3100	5050	5500	6800	7400	8500	-11500	-13800
$M_i \bullet$ label	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Given a set of genomes:

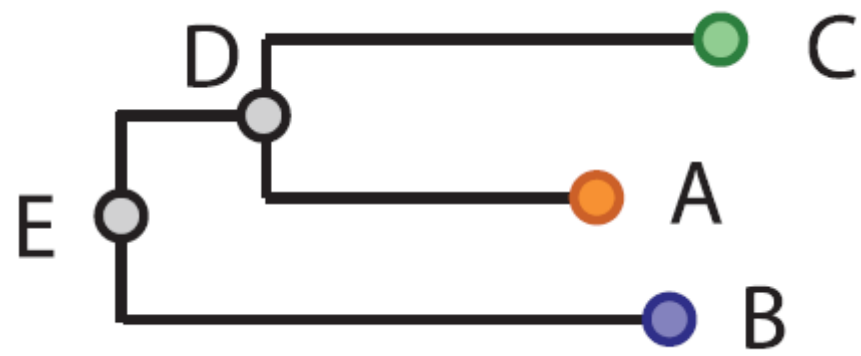
Genome 1:

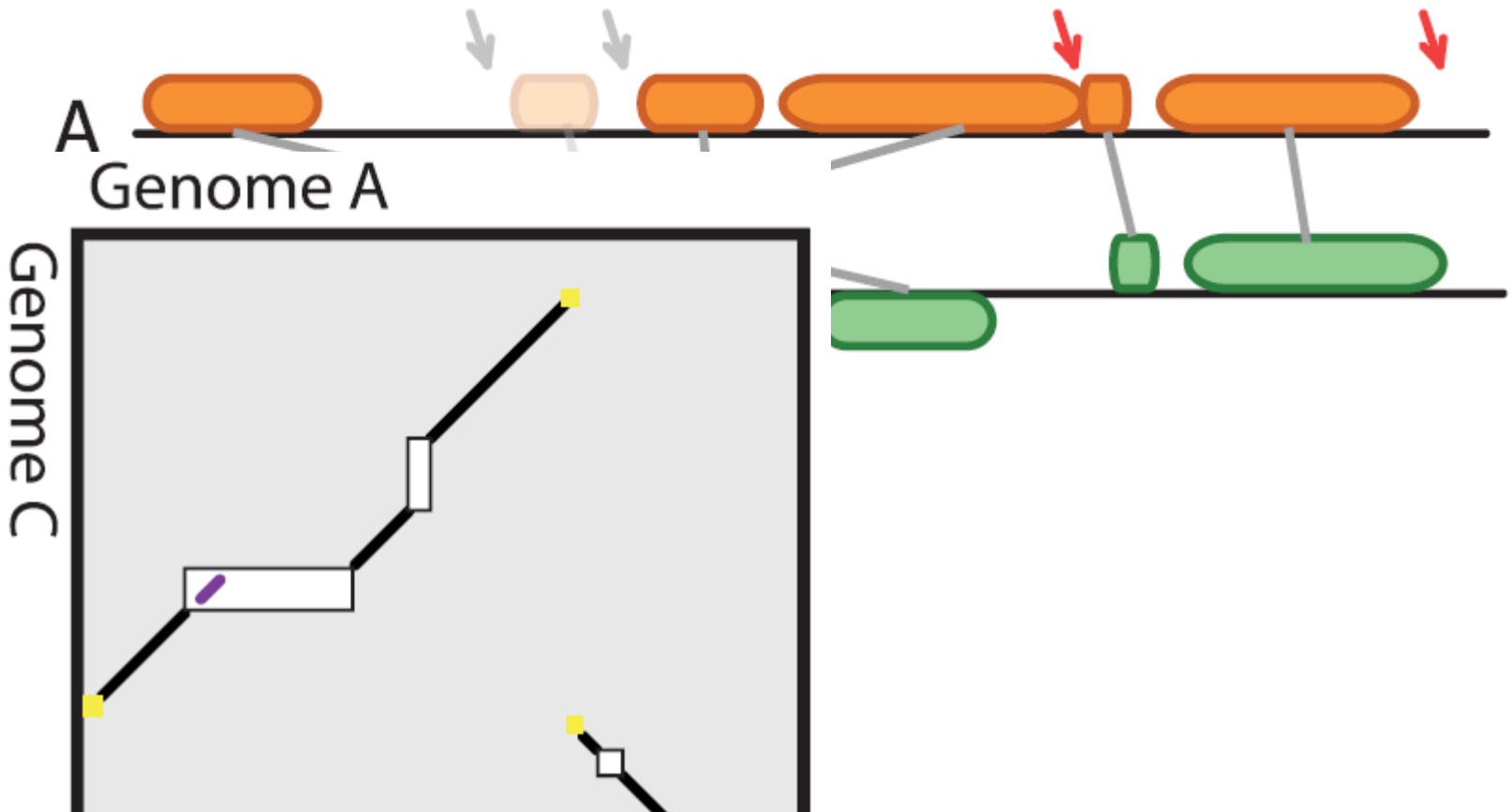
Genome 2:

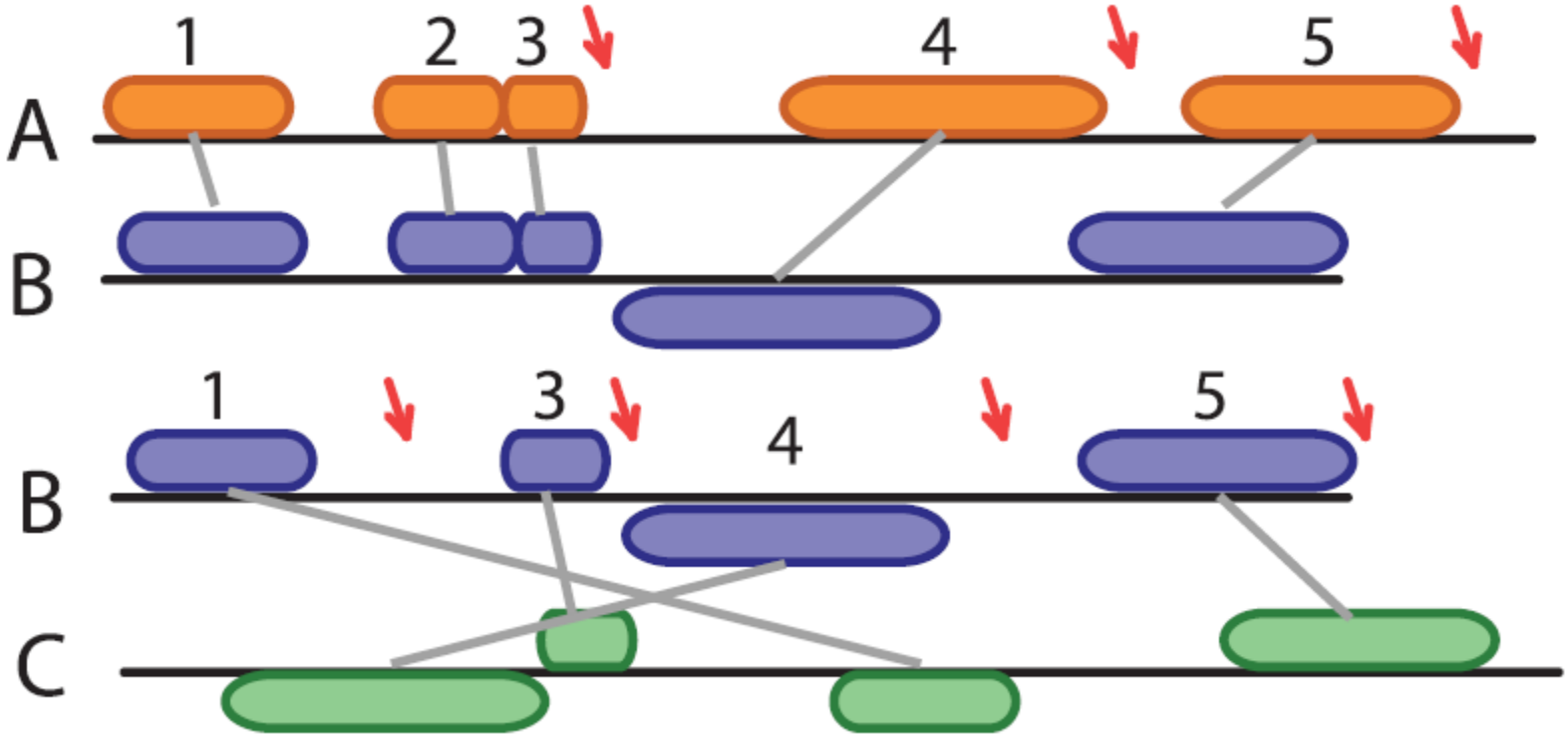
Genome 3:

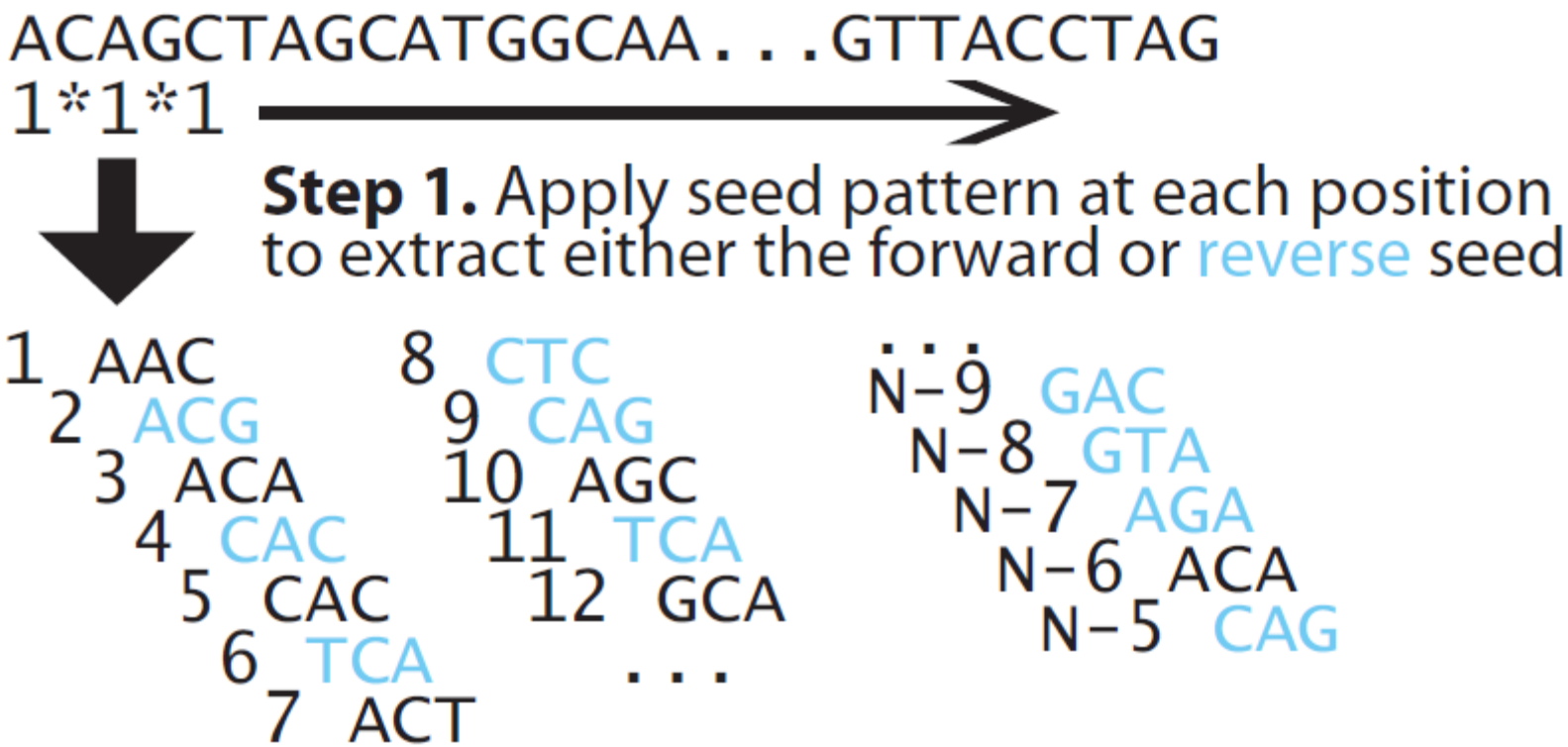

A
B
C
trimmed
A
B
B
C
trimmed

	A	B	C
A	0	0.35	0.30
B	-	0	0.44
C	-	-	0



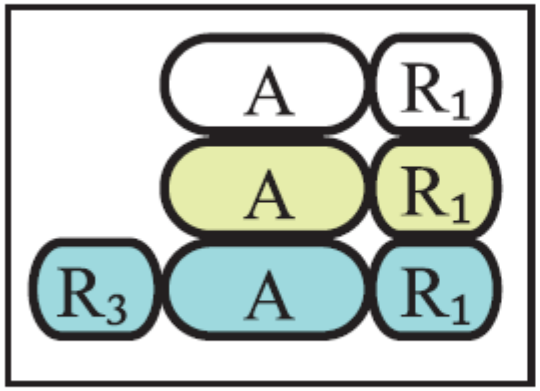



1
2
3
4
5
A
B
1
3
4
5
B
C

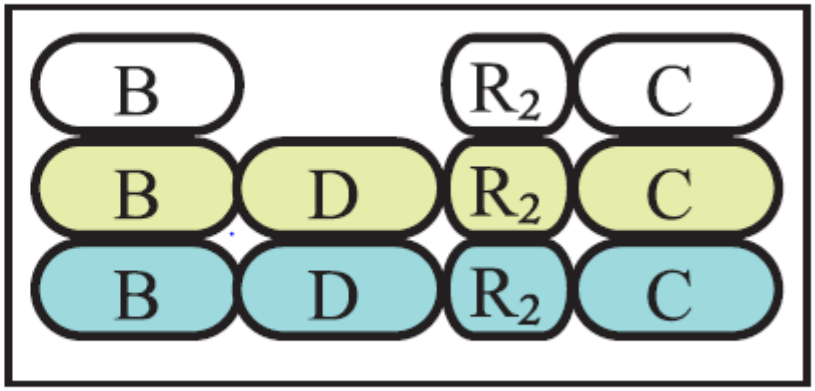


From Darling et al., 2006 In: WABI
2006: Proceedings of the sixth annual Workshop on Alg

Ideal *positional homology* multiple genome alignment:

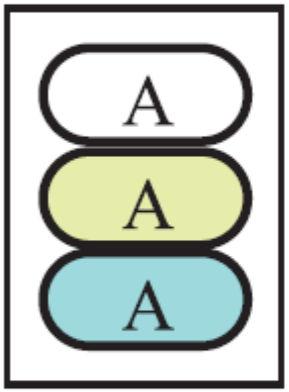


Block 1

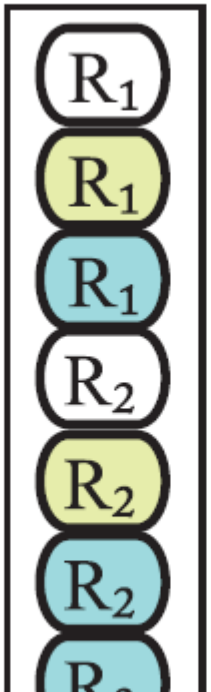


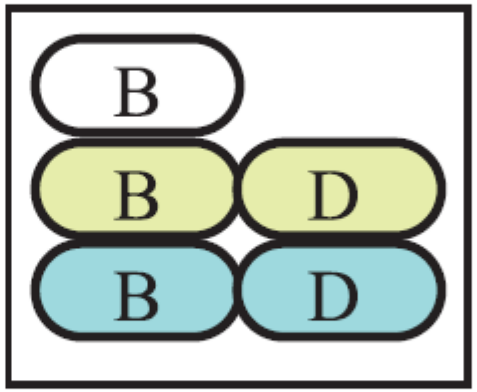
Block 2

Ideal *glocal* multiple genome alignment:

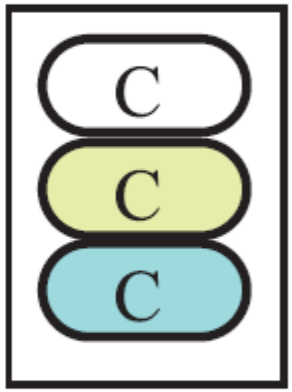


Block 1





Block 3



Block 4

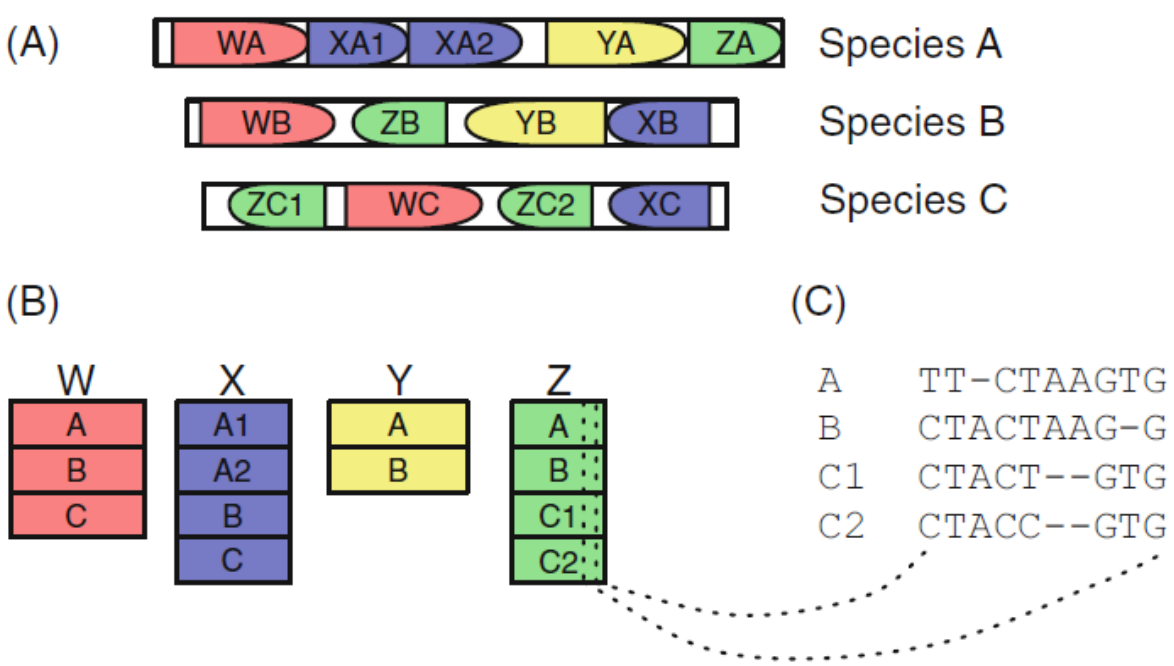
Alignement de génomes

Un WGA est habituellement représentée comme un ensemble de " blocs " au niveau des nucléotides.

Chaque bloc étant constitué de **segments** des génomes qui sont à la fois **homologues** et **colinéaires**.

A l'échelle de génomes entiers, les WGA sont généralement constitués de plusieurs blocs.

Un bloc contient deux segments génomiques ou plus,

Plusieurs segm ome (indiquant une

Une représenta aque position appartienne à n seul segment, ce qu