

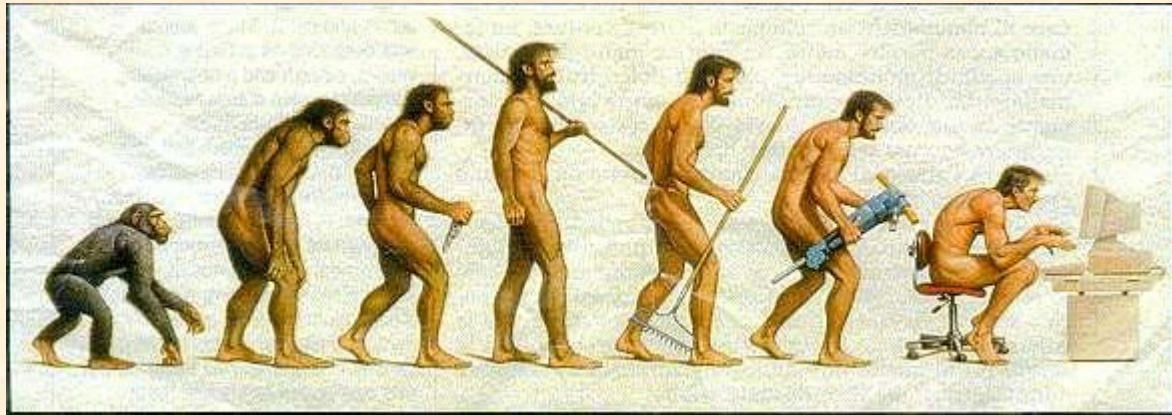
Fylogenetická evoluční analýza

Pro zajímavost...

Důležité...

Fylogeneze = vývoj druhu (vývoj nových druhů) procesem evoluce.

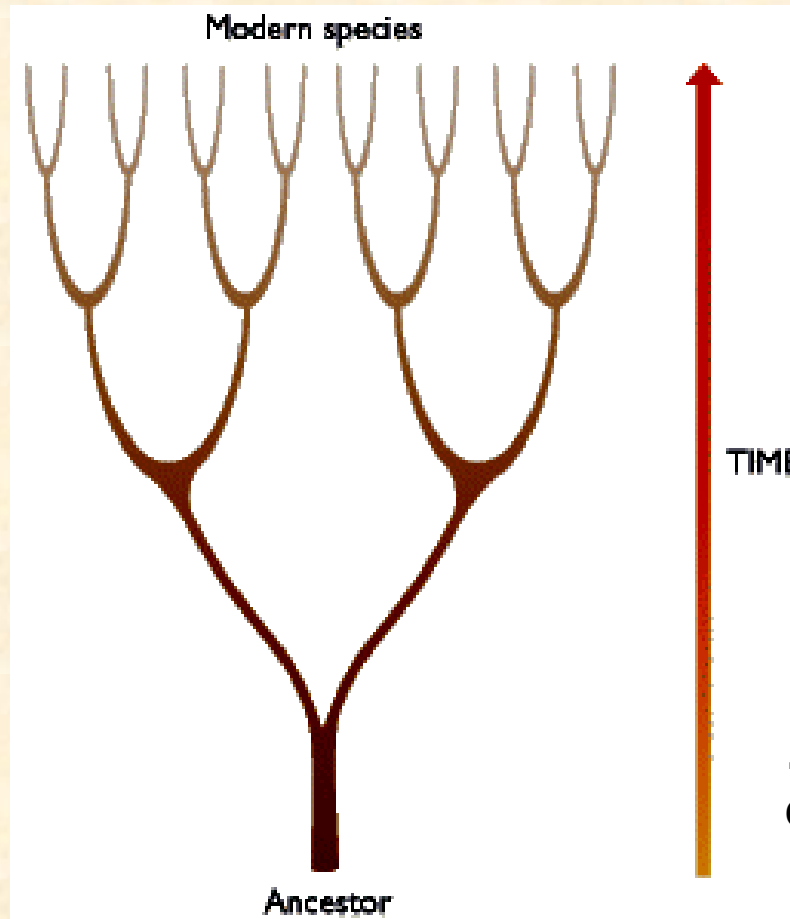
Fylogenetika = věda zkoumající fylogenezi, příbuzenské vztahy a vývoj organismů.



Evoluce bioinformatika

Fylogeneze

Fylogeneze
nezahrnuje pouze
podobnosti a rozdíly
mezi organismy
(taxonomie)...



...ale také jejich
evoluční vztahy.

Fylogenetická data

- Fylogenetická data jsou získávána zkoumáním charakteristických znaků studovaných organismů.

Prvotně používány **MORFOLOGICKÉ** znaky.

Problém – fosilní pozůstatky většinou **NEKVALITNÍ**, neposkytují žádané informace nebo se **VŮBEC** nedochovají.



Molekulární fylogenetická data

- **Jediný experiment může poskytnout informace o mnoha znacích.**

```
AAGACGGCACCGACAACGACTACAACGACGCCGTCGTGGTGAATCAACTGGCCGCTCGGCT
AGGATGGTACCGACATGGACTACAACGACTCCATCGTCATCCTGAACTGGCCGCTGGGCT
GGGACGGCAACGGC-TGGAC--CAAGGGCGCCTACACCGCCACGAACTGA-----
ACGACGTGCCCGGAACCTATGGCAATAACTCCGGC-TCGTTTAGTGTCAAATATTGGAAAAG
```

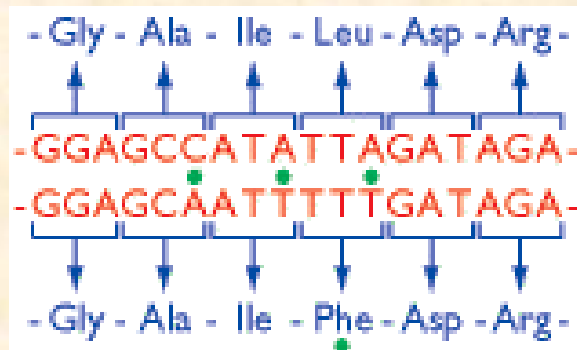
Každá nukleotidová pozice v sekvenci může být považována za jeden **ZNAK**, který se vyskytuje ve **ČTYŘECH** rozdílných **STAVECH**.

- **Jednotlivé stavy jsou jednoznačné a nezaměnitelné (A x C x G x T).** Na rozdíl od morfologických znaků (tvar), u nichž existuje mnoho přechodových forem.
- **Molekulární data se dají snadno převést do „číselné“ formy.** Vhodné pro matematické a statistické analýzy.

Proteinové sekvence x DNA sekvence

- Pro fylogenetickou analýzu využívány **PŘEVÁŽNĚ DNA sekvence.**

DNA poskytuje mnohem více fylogenetických informací než protein.



Tiché mutace

Variabilita uspořádání genomu
(kódující x nekódují oblasti)

PCR, automatické sekvencování

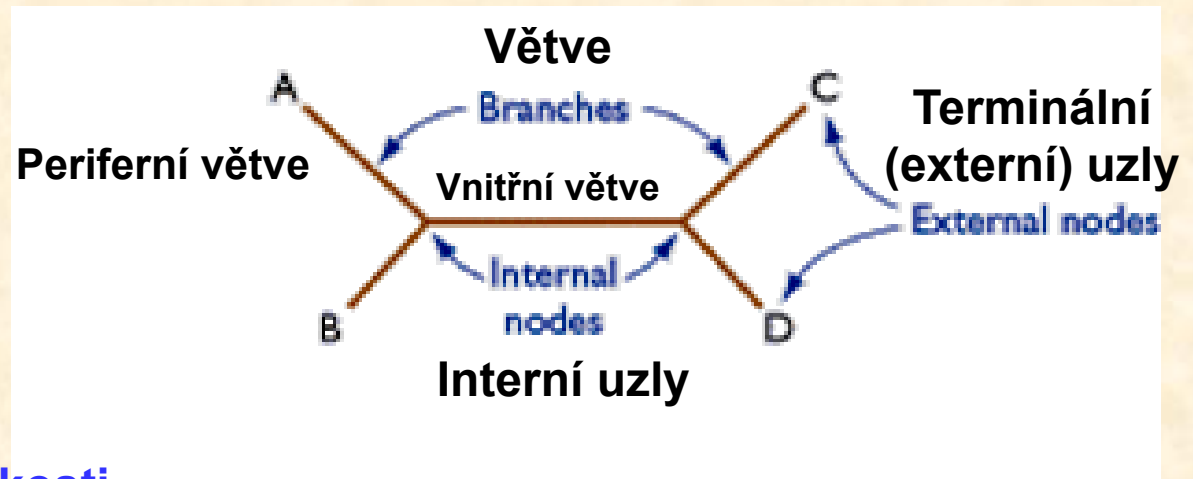
Fylogenetický strom

- **Cíl fylogenetické analýzy** - fylogenetický strom popisující evoluční vztahy mezi studovanými organismy.

Současné taxony
(geny) = terminální
(externí) uzly, vrcholy

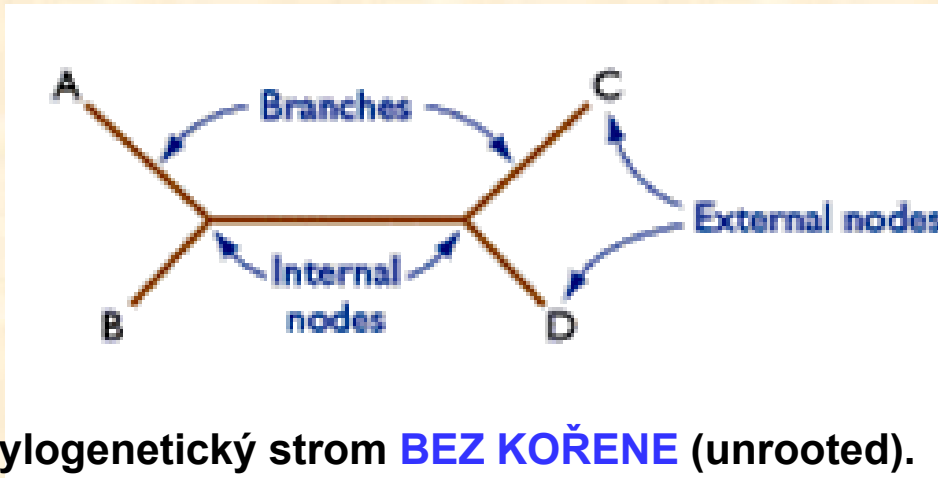
Interní uzly = rozdělení
společného „předka“

Délky větví = uměrné velikosti
změny v průběhu evoluce



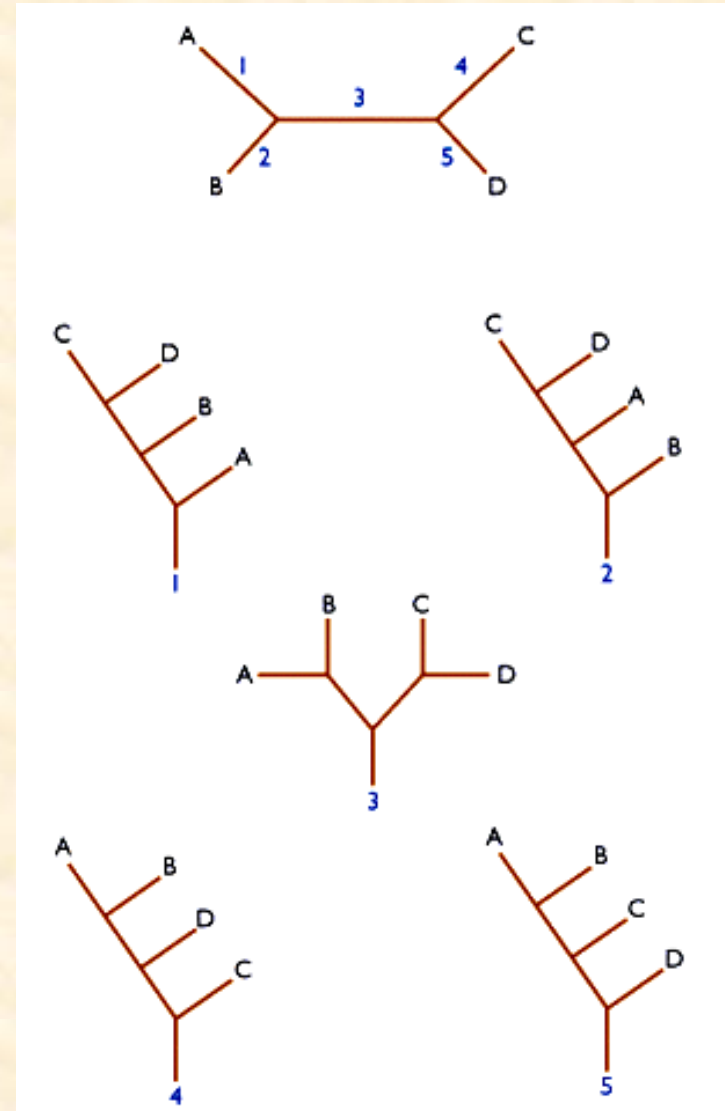
Fylogenetický strom (strom)

Fylogenetický strom

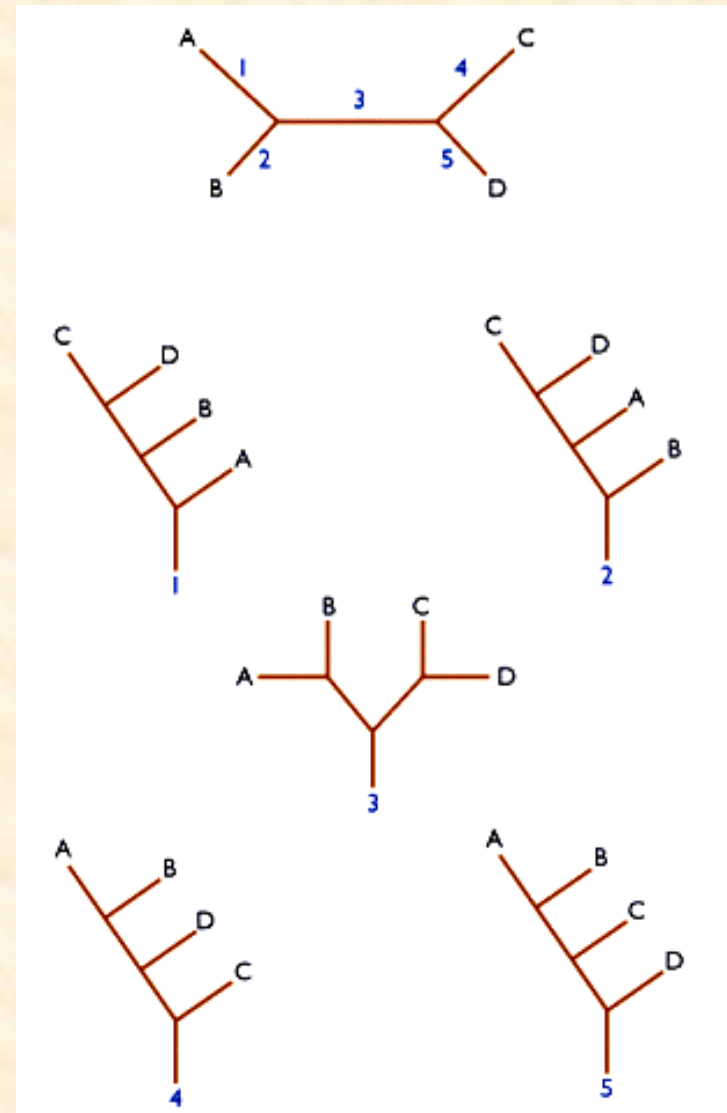
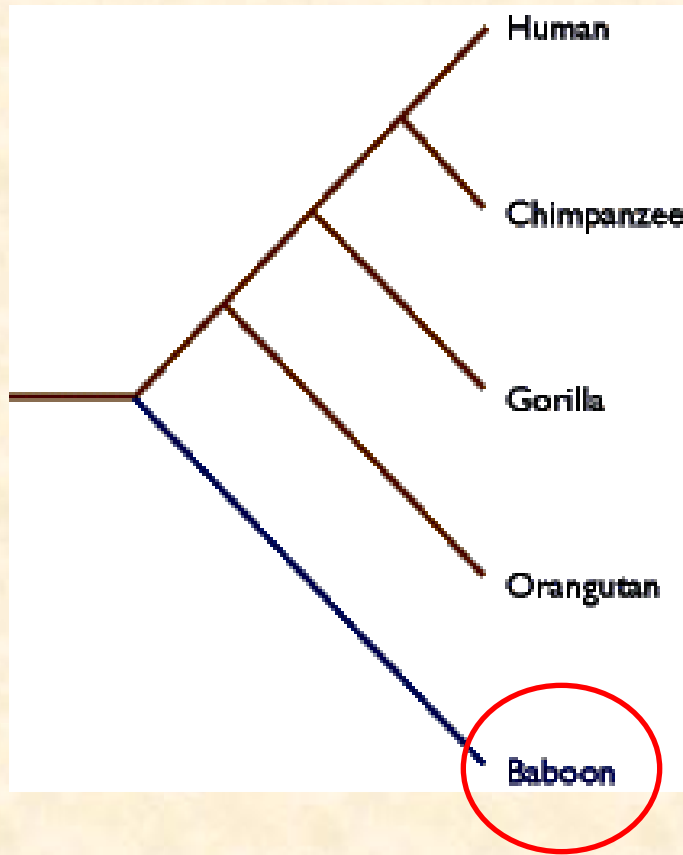


Fylogenetický strom **BEZ KOŘENE** (unrooted).
Není známý nejstarší společný předek (bod).
Vypovídá pouze o příbuzenských vztazích mezi geny, ne o „cestě“ kterou se evoluce ubírala.

Fylogenetický strom **S KOŘENEM** (rooted).
Nutný alespoň jeden gen, který je méně příbuzný s A,B,C,D, než jsou tyto geny mezi sebou navzájem
= „outgroup“



Fylogenetický strom



Fylogenetický strom **S KOŘENEM** (rooted).
Nutný alespoň jeden gen, který je méně příbuzný
s A,B,C,D, než jsou tyto geny mezi sebou navzájem
= „outgroup“

„Genový“ strom x „druhový strom“

- **Genový strom – odvozen ze srovnání ortologních genů.** Předpokládá se, že bude přesnější než strom získaný pomocí morfologických dat.

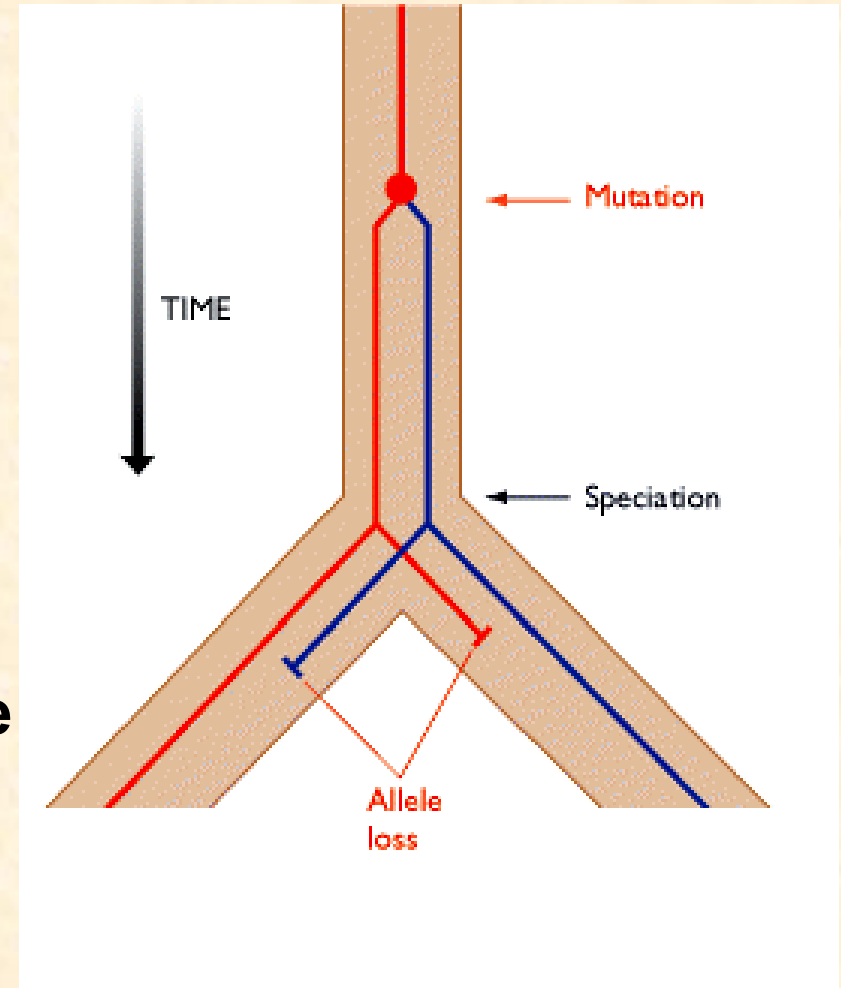
- **Genový strom \neq druhový strom.**

Genový strom – vnitřní uzly představují rozdělení původního **GENU** (mutace).

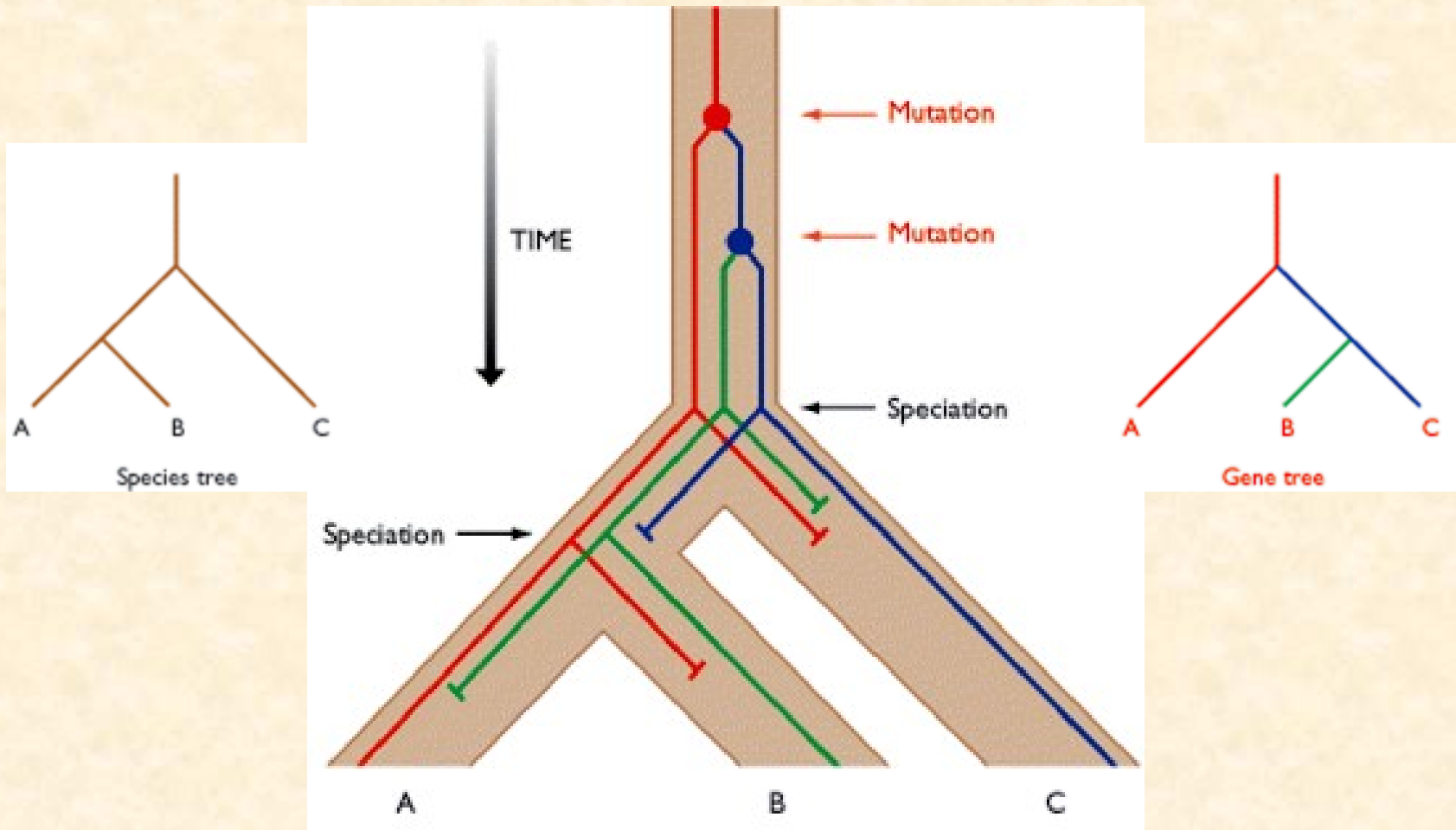
Druhový strom – vnitřní uzly představují rozdělení populace původního **DRUHU** do dvou skupin (geografická izolace).

„Genový“ strom x „druhový strom“

- Mutace a vznik nového druhu se s největší pravděpodobností neodehrají současně.
- Mutace předchází separaci – v populaci se nacházejí obě alely genu. Po rozdělení populací může dojít ke ztrátě jedné alely.



„Genový“ strom x „druhový strom“



Tvorba evolučních stromů

- „Alignment“ sekvencí – nezbytný pro vytvoření stromu. Vyhodnocení rozdílů mezi jednotlivými nukleotidovými sekvencemi, většinou „multiple alignment“.

```
BclA  CGATCAACGGCAAGAAATCGGACGGCTCGCCGTTACGGTCAACTTCGGGATCGTCGTGT 325
BclB  CGA-CATCTTCAAGAAGAC-----CTACTTCGGGCTGGTCGGAT 670
BclD  CGCTGAGCGCGGGGCGATACCG-----TGTGGCTGGGCTGGCTGGGC 804
BclC  GGA-TATTTTTAAAAATC-----TTATTTCGGTATTATTGGCT 754
      * * * * * ** * *

BclA  -CGGAAGACGGCCACGACAGCGACTACAACGACGGCATCGTCGTGCTCCAGTGGCCGATC 384
BclB  -CGGAAGATGGCGGCGATGGCGACTACAACGACGGCATCGCGATCCTGAACTGGCCGCTG 729
BclD  GCGGAAGATGGTGCCGATGCGGATTATAATGATGGCATTGTTATTCTGCAGTGGCCGATT 864
BclC  -CTGAAGATGGTGCGGATGATGATTATAACGATGGCATCGTGTTTCTGAACTGGCCGCTG 813
      * * * * * ** ** * * * * * * * * * * * * * * * *
```

Jak převést „multiple alignment“ na strom?

- **Neexistuje „nejlepší metoda“.** Několik metod je používáno souběžně, žádnou nelze označit za lepší než ostatní.
- **Distanční matice.** Slouží k určení délky větví.

Multiple alignment

```
1 AGGCCAAGCCATAGCTGTCC
2 AGGCAAAGACATACCTGACC
3 AGGCCAAGACATAGCTGTCC
4 AGGCAAAGACATACCTGTCC
```

4/20

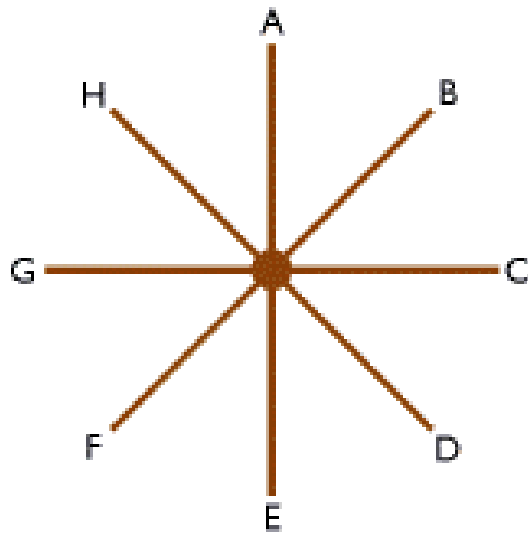
Distance matrix

	1	2	3	4
1	–	0.20	0.05	0.15
2		–	0.15	0.05
3			–	0.10
4				–

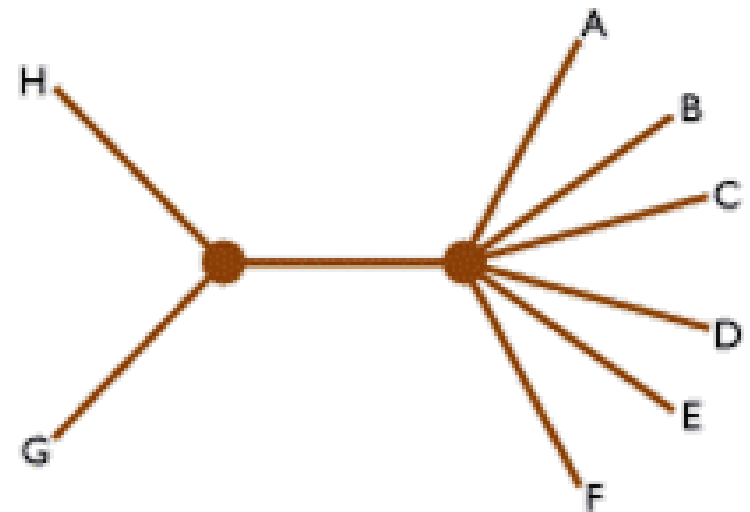
Jak převést „multiple alignment“ na strom?

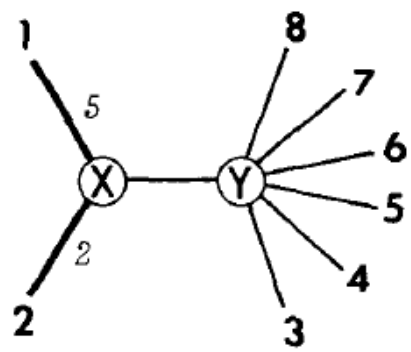
- **Neighbor-joining method**– „spojování sousedních objektů“ (Saitou a Nei 1987) . Využívá **distanční matici**.

(A) The starting point for the neighbor-joining method

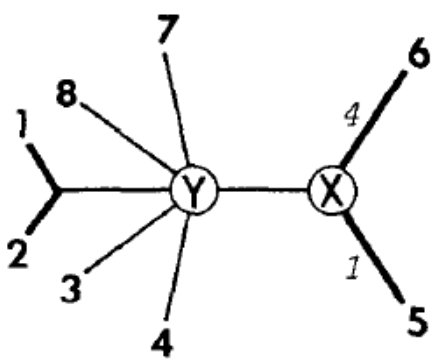


(B) Removal of two sequences from the star

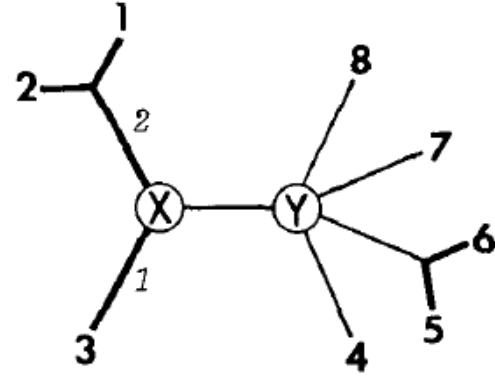




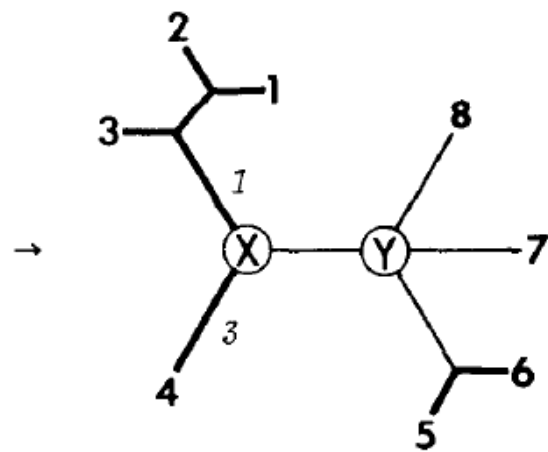
(a)



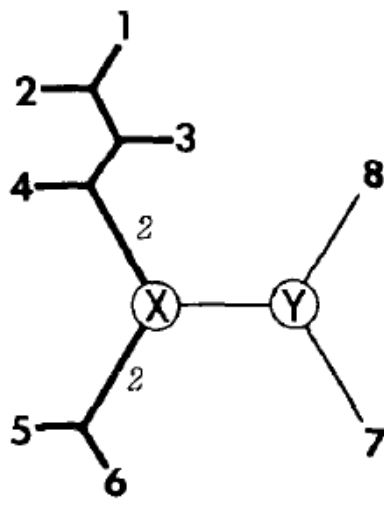
(b)



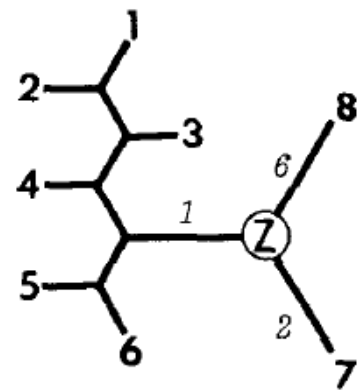
(c)



(d)



(e)



(f)

The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees¹

Naruya Saitou² and Masatoshi Nei

Jak převést „multiple alignment“ na strom?

- **Neighbor-joining method** – „spojování sousedních objektů“ (Saitou a Nei 1987) . Využívá distanční matrici.
 - + **Jednoduché = rychlé**
 - + **Vhodné pro velké soubory dat**
 - + **Vhodné pro prvotní analýzu**
 - **Informace z alignmentu velmi zredukována**
 - **Poskytuje pouze jeden výsledný strom**

Jak převést „multiple alignment“ na strom?

- **Metody maximální úspornosti** – maximum parsimony method. Předpokládá (správně???), že evoluce jde nejkratší možnou cestou, tj. správný fylogenetický strom je ten, který požaduje **minimum nukleotidových změn**, aby bylo dosaženo daného rozdílů mezi sekvencemi.
 - + **Preciznější**
 - **Větší nároky na manipulaci s daty**
 - **Čím více sekvencí, tím více topologií stromů je nutné vyzkoušet**
 - **5 sekvencí = 15 stromů, 10 sekvencí = 2 027 025 stromů**

Jak převést „multiple alignment“ na strom?

- **Parsimonie**: Fitchova parsimonie
 - Wagnerova parsimonie (reverzibilita změn)
 - Dollova parsimonie („novinka“ může zaniknout)
 - Caminova-Sokalova parsimonie (změny ireverzibilní)
 - Vážená parsimonie
 - Generalizovaná parsimonie
- **Metoda maximální pravděpodobnosti**
- **Metoda minimální evoluce**

Výsledky fylogenetické analýzy

- **Topologie stromu** – evoluční vztahy mezi srovnávanými (DNA) sekvencemi.
- **Kdy došlo k divergenci sekvencí?**
Kdy vznikly „dnešní“ sekvence, tj. moderní organismy? Nutné využít **MOLEKULÁRNÍ HODINY**.

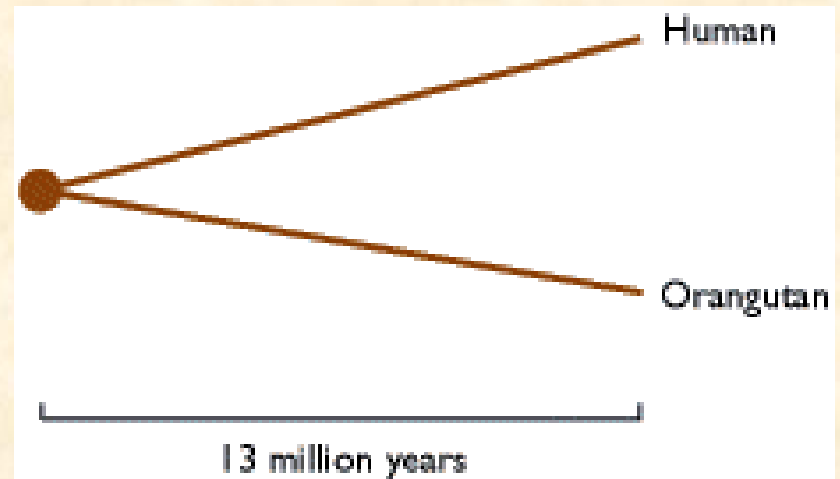
Předpoklad: k nukleotidovým substitucím dochází s **KONSTANTNÍ** četností.

Molekulární hodiny

- Rozdíl mezi sekvencemi odpovídá době, která uplynula od jejich rozdělení (divergence).

Ke kolika substitucím dojde za milion let?

Nutná kalibrace!!!



$$\begin{aligned} \text{Number of substitutions} &= x \\ \text{Number per lineage} &= \frac{x}{2} \\ \text{Number per lineage per million years} &= \frac{x}{2 \times 13} \end{aligned}$$

Molekulární hodiny

- Rozdílné u různých organismů.
- Rozdílné i v rámci jednoho organismu!



Software pro fylogenetickou analýzu

- **BioNJ** (Neighbor-joining method)
- **PAUP** - Phylogenetic Analysis Using Parsimony

PAUP*

- About PAUP*
- To Order
- Versions**
 - Macintosh
 - UNIX/VMS
 - DOS
 - Windows
- Support**
 - FAQ
 - Tech exchange
 - Downloads
 - Known problems
 - Mailing list

PAUP* Version 4
...tools for inferring and interpreting phylogenetic trees

Analyze

- Molecular sequences
- Morphological data
- Other data types

Using

- Maximum likelihood
- Parsimony
- Distance methods

Getting Started

Purchase PAUP*

<http://paup.csit.fsu.edu/index.html>

Software pro fylogenetickou analýzu

PHYLIP

PHYLIP (the *PHY*Logeny *I*nference *P*ackage) is a package of programs for inferring phylogenies (evolutionary trees). It is [available free](#) over the Internet, and written to work on as many different kinds of computer systems as possible. The [source code](#) is distributed (in C), and executables are also distributed. In particular, [already-compiled executables](#) are available for Windows (95/98/NT/2000/me/xp/Vista), Mac OS X, Mac OS 8 and 9, and Linux systems. Complete documentation is available on documentation files that come with the package.

- **PHYLIP** – *PHY*Logeny *I*nference *P*ackage

Methods that are available in the package include parsimony, distance matrix, and likelihood methods



<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>

Software pro fylogenetickou analýzu

Phylogenetic Analysis by Maximum Likelihood (PAML)

Introduction

PAML is a package of programs for phylogenetic analyses of DNA or protein sequences using maximum likelihood. It is maintained and distributed for academic use free of charge by Ziheng Yang. ANSI C source codes are distributed for UNIX/Linux/Mac OSX, and executables are provided for MS Windows. PAML is not good for tree making. It may be used to estimate parameters and test hypotheses to study the evolutionary process, when you have reconstructed trees using other programs such as PAUP*, PHYLIP, MOLPHY, PhyML, RaxML, etc.

<http://abacus.gene.ucl.ac.uk/software/paml.html>



MacClade

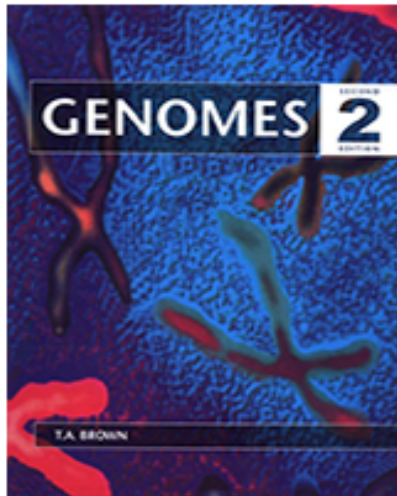
<http://macclade.org/index.html>

Shrnutí

- **Fylogenetika** = věda zkoumající fylogenezi, příbuzenské vztahy a vývoj organismů.
- **Morfologická data/molekulární data (sekvence).**
- **Fylogenetické stromy: topologie (příbuznost + evoluce) a molekulové hodiny.**
- **Tvorba stromů: alignment + parsimonie, Neighbor-joining method, ...**
- **BioNJ, PAUP, PHYLIP, PAML**

Použitá literatura

Bookshelf ID: NBK21128 PMID: [20821850](#)



Genomes, 2nd edition

Terence A Brown.

Department of Biomolecular Sciences, UMIST, Manchester, UK

Oxford: Wiley-Liss; 2002.

ISBN-10: 0-471-25046-5

[Copyright and Permissions](#) [Cite this Page](#)

[Current edition published by Garland Science](#)

Genomes fuses the fresh outlook of the new genomics with the traditional approach to gene expression to provide an up-to-date understanding of the role of the genome as the blueprint for life. This integrated approach focuses on the topics that are central to molecular genetics to create a teaching resource for modern molecular biology.

Za odměnu...

<http://www.nobelprize.org/educational/chemistry/pcr/>

...si zahrajte na PCR