# DETEKCE

# SELEKCE

# Testování neutrality vs. selekce

základní mírou relativního významu selekce a driftu je poměr *dN/dS* ($\omega$)

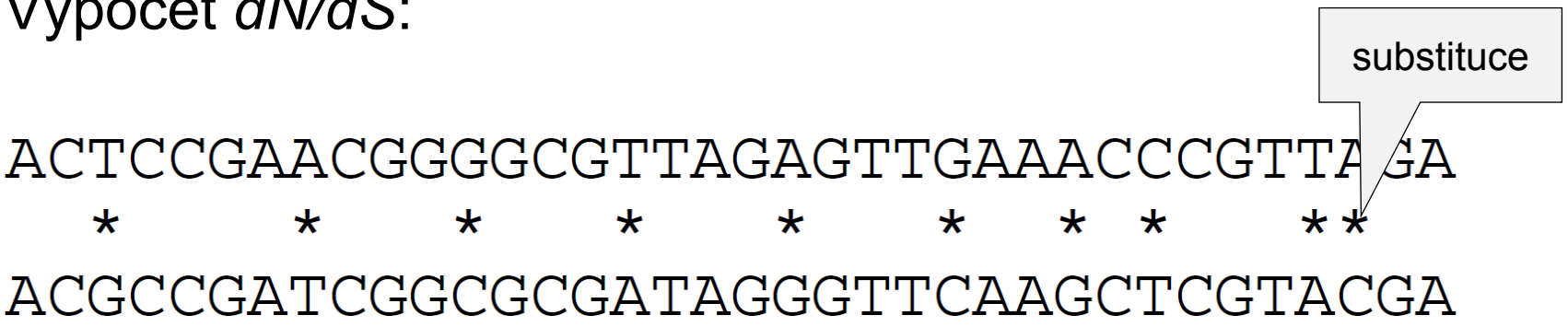
*dN* ($d_N$, $K_a$) = průměrný počet nukleotidových rozdílů mezi sekvencemi *na 1 nesynonymní pozici*

měří míru rozdílnosti 2 homologních kódujících sekvencí z hlediska aminokyselin, tj. do jaké míry se liší v nesynonymních pozicích

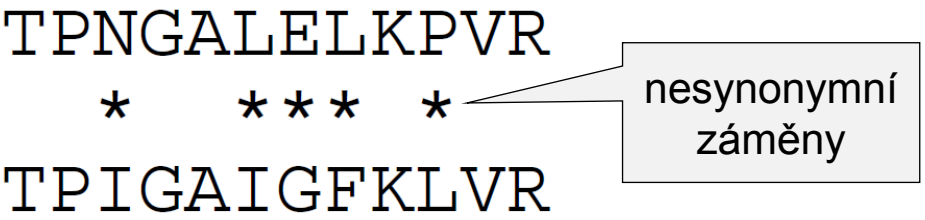
*dS* ($d_S$, $K_s$) = průměrný počet nukleotidových rozdílů mezi sekvencemi *na 1 synonymní pozici*

měří míru rozdílnosti 2 homologních kódujících sekvencí z hlediska tichých substitutcí, tj. do jaké míry se liší v synonymních pozicích

Výpočet *dN/dS*:

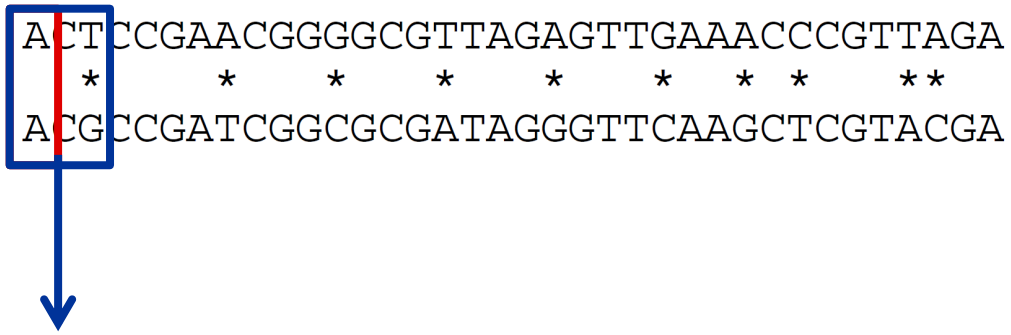



přepsáno do sekvencí aminokyselin:



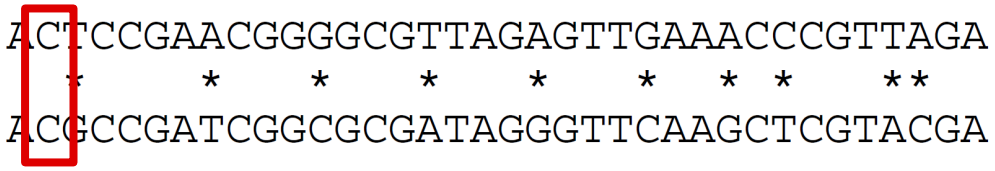

tj. 5 nesynonymních substitucí

protože celkový počet záměn je 10 (viz 10 hvězdiček mezi sekvencemi DNA), 5 musí být synonymních

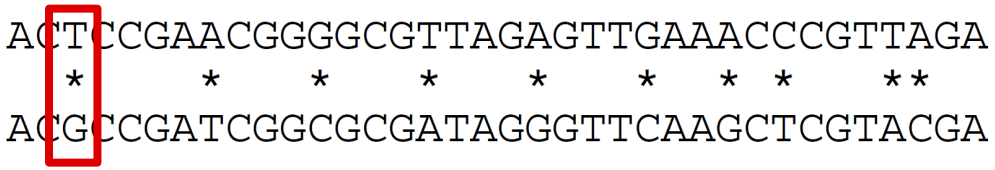



buď ACT (sekvence 1), nebo ACG (sekvence 2) ⇒ změna z A na kteroukoli bázi způsobí záměnu aminokyseliny (např. CCT, GCT, TCT)

⇒ pozice 1 je <u>nesynonymní</u>



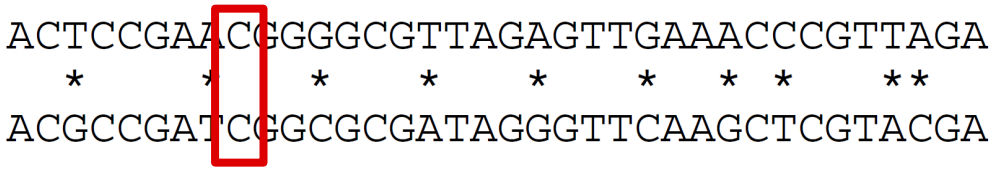

Pozice 2: podle genetického kódu každá substituce je <u>nesynonymní</u>



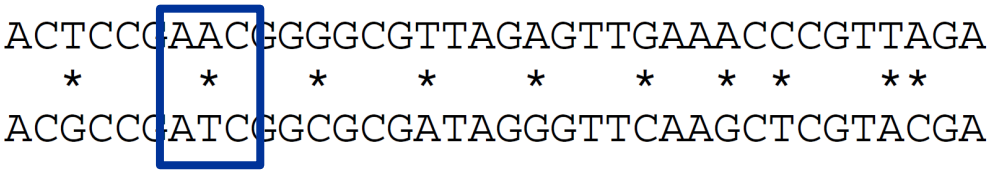

Pozice 3: 4 potenciální aminokyseliny lišící se ve 3. pozici – ACT, ACG, ACC, ACA $\rightarrow$ všechny kódují stejnou aminokyselinu (threonin, T) $\Rightarrow$ všechny substituce jsou synonymní $\Rightarrow$ pozice 3 je synonymní (tato pozice je 4-násobně degenerovaná)

pozice 4 (C v CCG): všechny substituce nesynonymní

pozice 5: nesynonymní atd.


ACTCCGAACGGGGCGTTAGAGTTGAAACCCGTTAGA
* * * * * * * **
ACGCCGATCGGCGCGATAGGGTTCAAGCTCGTACGA

Pozice 9:




Pozice 9: v sekvenci 1 = 3. pozice kodonu AAC (asparagin, N), v sekvenci 2 kodon ATC (isoleucin, I)

mutace v AAC → AAT (asparagin, N), AAG, AAA (obě lysin, K) ⇒ C = 2-násobně degenerovaná → 9. pozice z 1/3 synonymní a ze 2/3 nesynonymní

podobně mutace C v ATC → ATT, ATA (obě isoleucin, I), ATG (methionin, M) ⇒ 3-násobně degenerovaná pozice – 2/3 synonymní, 1/3 nesynonymní

⇒ průměr ½(1/3 synonymních + 2/3 nesynonymních) + ½(2/3 synonymních + 1/2 nesynonymních)
= ½ synonymních a ½ nesynonymních

⇒ pozice 9 je částečně synonymní a částečně nesynonymní

site # 123456789111111111122222222223333333
012345678901234567890123456

syn 00100100$\frac{1}{2}$001001$\frac{1}{4}$0$\frac{1}{2}$00$\frac{1}{3}\frac{1}{3}$0$\frac{1}{3}$00$\frac{1}{3}$001001$\frac{1}{3}$0$\frac{2}{3}$ sum = 7.5833

non 11011011$\frac{1}{2}$110110$\frac{3}{4}$1$\frac{1}{2}$11$\frac{2}{3}\frac{2}{3}$1$\frac{2}{3}$11$\frac{2}{3}$110100$\frac{2}{3}$1$\frac{1}{3}$ sum = 28.4167

$$dN = \frac{\text{poč. nsyn substitucí}}{\text{poč. nsyn pozic}} = \frac{5}{28{,}417} = 0{,}176$$

$$dS = \frac{\text{poč. syn substitucí}}{\text{poč. syn pozic}} = \frac{5}{7{,}583} = 0{,}659$$

$$\frac{dN}{dS} = \frac{0{,}176}{0{,}659} = 0{,}269$$

# Interpretace *dN/dS*:

1. všechny nesynonymní substituce jsou neutrální:

počet synonymních i nesynonymních neutrálních mutací fixovaných každou generaci = $\mu$
$\Rightarrow$ $dN/dS = \mu/\mu = 1$

2. část nesynonymních substitucí je neutrálních, zbytek škodlivých:

$dS = \mu$

v každé generaci fixace $f$ neutrálních nesynonymních mutací
$\Rightarrow$ $(1 - f)$ škodlivých mutací se nezafixuje

$dN = f\mu + (1 - f)0 = f\mu$

$dN/dS = f\mu/\mu = f$

Protože $f$ je vždy $< 1$, platí $dN/dS < 1$

Závěr: $dN/dS < 1$ indikuje působení purifikující selekce

3. část $f$ mutací je neškodných a $(1 - f)$ škodlivých; z neškodných mutací je část $\theta$ prospěšných a $(1 - \theta)$ neutrálních:

$dS = \mu$

$(1 - f)$ se nefixuje

$f(1 - \theta)$ neutrálních $\Rightarrow$ fixace frekvencí $\mu$ za generaci

$f\theta$ prospěšných, vznik rychlostí $2N\mu$ za generaci, pravděpodobnost fixace rovna selekčnímu koeficientu $s$

$\Rightarrow$ počet nesynonymních substitucí fixovaných každou generaci:
$dN = (1 - f)0 + f(1 - \theta)\mu + f\theta\, 2N\mu s$

$\Rightarrow dN/dS = [(1 - f)0 + f(1 - \theta)\mu + f\theta\, 2N\mu s]/\mu = f(1 - \theta) + f\theta\, 2Ns$

$dN/dS > 1$ pokud $\theta$ velká, konkrétně

$$\theta > \frac{1 - f}{f} \frac{1}{(2N - s)}$$

## Závěr: *dN/dS* > 1 indikuje působení pozitivní selekce

Pozn.: *dN/dS* < 1 nemusí znamenat, že pozitivní selekce nepůsobí, pouze že ji tímto způsobem nemůžeme detekovat

Shrnutí:

1. *dN/dS* = 1: substituce aminokyselin převážně neutrální
   (ale: pozitivní selekce může vyrušit působení selekce purifikující)

Shrnutí:

2. $dN/dS < 1$: purifikující selekce
   (ale: některé AA mohly být fixovány pozitivní selekcí, purifikující selekce ale silnější)

3. $dN/dS > 1$: pozitivní selekce fixovala některé AA, některé substituce mohly být způsobeny driftem
   (ale: purifikující selekce mohla působit, ale nebyla dost silná, aby převážila nad selekcí pozitivní)

Kromě výpočtu synonymních a nesynonymních pozic a synonymních a nesynonymních substitucí nutná ještě korekce pro opakované substituce na téže pozici

→ pro výpočty nutné zjednodušující předpoklady, navíc nemůžeme přesně zjistit počet opakovaných substitucí

Odhad pomocí maximální věrohodnosti (*maximum likelihood*): simultánní odhad všech 3 kroků současně

poskytuje navíc odhad doby divergence a poměr Ts/Tv

Ke kvantifikaci počtu substitucí lze:

rekonstruovat ancestrální sekvenci a spočítat změny na jednotlivých pozicích (výsledek bude pravděpodobně podhodnocený)

bayesovský přístup: použít substituční rychlosti (v apriorních kategoriích)

generovat substituční rychlosti pro jednotlivé kodony

# Tajimův test neutrality

měření rovnováhy mutace a driftu pomocí heterozygotnosti $\theta = 4N_e\mu$

$\theta$ lze odhadovat i jinými způsoby:

$\pi_{ij}$ = počet párových rozdílů (SNP) mezi sekvencemi *i* a *j*
(... celkem $n(n-1)/2$ možných párových srovnání)

$$\hat{\pi} = \frac{\sum_{i=1}^{j}\sum_{j=2}^{n}\pi_{ij}}{\frac{n(n-1)}{2}}$$

suma párových rozdílů

počet párových srovnání

v případě DNA sekvencí dělíme ještě jejich délkou

*S* = počet segregujících pozic: $\Theta = \frac{S}{\sum_{i=1}^{n-1}\left(\frac{1}{i}\right)}$

1/1 + 1/2 + ... + 1/(*n* – 1)

při modelu nekonečných pozic a neutrální evoluci platí:

$$\hat{\pi} = \Theta$$

Fumio Tajima (1989): $$D = \frac{\hat{\pi} - \Theta}{\sqrt{\mathrm{Var}(\hat{\pi} - \Theta)}}$$

Př.:

```
      *  *          *          *
1    ACCCG AATTC CAATC CGGTT
2    AACTG AATTC GAATC CGGTT
3    AACTG AATTC CAATC CGGTT
4    ACCTG AATTC TAATC CGGAT
```

párová srovnání:
1-2: 3 rozdíly
1-3: 2 rozdíly
1-4: 3 rozdíly
2-3: 1 rozdíl
2-4: 3 rozdíly
3-4: 3 rozdíly
prům. $\pi$ = (3+2+3+1+3+3)/6 = 2,5

*S* = 4 segregující pozice

$\Theta$ = 4/(1/1 + 1/2 + 1/3) = 4/1,83 = 2,186 $\hat{\pi}$ - $\Theta$ = 2,5 – 2,186 = 0,314

## $D < 0$:

nadbytek polymorfismů s nízkou frekvencí vzhledem k teoretickému předpokladu $\Rightarrow$ purifikující selekce, *selective sweep*
(+ populační expanze!)

## $D > 0$:

nadbytek polymorfismů s nízkou i vysokou frekvencí vzhledem k předpokladu $\Rightarrow$ balancující selekce (+ redukce populační velikosti!)

## Signifikance?

nelze použít klasické *P*

Tajima (1989): parametrická aproximace beta rozdělením

Hudson (1990): generování náhodných vzorků za předpokladu neutrality a populační stability $\rightarrow$ hodnota *P* = podíl náhodných výsledků $\leq$ vypočtené *D*

| Value of Tajima's *D* | Mathematical reason | Biological interpretation 1 | Biological interpretation 2 |
|---|---|---|---|
| Tajima's *D*=0 | Pi equivalent to Theta (Observed= Expected). Average Heterozygosity= # of Segregating sites. | Observed variation similar to expected variation | Population evolving as per mutation-drift equilibrium. No evidence of selection |
| Tajima's *D*<0 | Pi less than Theta (Observed<Expected). Fewer haplotypes (lower average heterozygosity) than # of segregating sites. | Rare alleles present at low frequencies | Recent selective sweep, population expansion after a recent bottleneck, linkage to a swept gene |
| Tajima's *D*>0 | Pi greater than Theta (Observed>Expected). More haplotypes (more average heterozygosity)than # of segregating sites. | Multiple alleles present, some at low, others at high frequencies | Balancing selection, sudden population contraction |

# McDonaldův-Kreitmanův test

John H. McDonald and Martin Kreitman (1991):

srovnání vnitrodruhového polymorfismu a mezidruhové divergence

$D_s$ = počet synonymních substitucí*) na sekvenci
$D_n$ = počet nesynonymních substitucí na sekvenci
$P_s$ = počet synonymních polymorfních pozic na sekvenci
$P_n$ = počet nesynonymních polymorfních pozic na sekvenci

$H_0$: $D_n/D_s = P_n/P_s \Rightarrow$ neutrální evoluce

$H_1$: $D_n/D_s \neq P_n/P_s \Rightarrow$ selekce

*) substituce = u 2 druhů fixována odlišná báze

## negativní (purifikující) selekce:

škodlivé mutace silně ovlivňují polymorfismus

$D_n/D_s < P_n/P_s$, tj. poměr nesynonymní/synonymní variability mezi druhy je nižší než poměr nesynonymní/synonymní variability uvnitř druhů

## pozitivní selekce:

prospěšně mutace se rychle šíří $\Rightarrow$ neovlivňují polymorfismus, ale mají vliv na mezidruhovou divergenci

$D_n/D_s > P_n/P_s$, tj. poměr nesynonymní/synonymní variability mezi druhy je vyšší než poměr nesynonymní/synonymní variability uvnitř druhů

podíl substitucí fixovaných selekcí: $$\alpha = 1 - \frac{D_s P_n}{D_n P_s}$$

Problémy MKT:

podhodnocení $\alpha$ v důsledku existence mírně škodlivých mutací,
odlišných mutačních rychlostí v různých částech genomu,
proměnlivosti v koalescenčních historiích různých částí genomu,
změn v efektivní velikosti populace

$\times$ tyto problémy ale neznamenají, že MKT považován za nespolehlivý

další potenciální problém: *infinite-sites model*

$\rightarrow$ často odchylky od modelu uvnitř druhů, tím větší v mezidruhových srovnáních

# Detekce selekce na úrovni kodonů

## Které kodony pod pozitivní/negativní selekcí?

substituční model, fylogenetický strom, výpočet *dN/dS* pro každý kodon

v případě sekvencí složených z více jedinců (např. viry) odhad pozitivní selekce na úrovni populace

## Kdy v minulosti selekce působila?

*dN/dS* mapováno na jednotlivé větve fylogenetického stromu

## Působí selekce uvnitř rekombinujících fragmentů?

## např. program Datamonkey (http://www.datamonkey.org)

# Selekce v heterogenním prostředí

variabilita prostředí:

- v prostoru
- v čase

- v hrubém měřítku: během života jedno prostředí
- v jemném měřítku: během života více prostředí

selekce: měkká
tvrdá

# 1. Prostředí proměnlivé v hrubém měřítku (*coarse-grained environment*) – prostorová variabilita

Leveneho model:

$c_i$ = část celkové populace obývající habitat *i*

měkká selekce

Př.: svijonožec *Balanus balanoides*

**Table 14.1. Habitat-Specific Viability Estimates for *Mpi* Genotypes in Northern Acorn Barnacle**

| Habitat | *SS* | *SF* | *FF* |
|---|---|---|---|
| Exposed substrate in high intertidal zone | 0.696 | 1 | 1.424 |
| Exposed substrate in low intertidal zone | 0.898 | 1 | 1.012 |
| Under algal canopy in high intertidal zone | 1.519 | 1 | 0.880 |
| Under algal canopy in low intertidal zone | 0.913 | 1 | 0.976 |

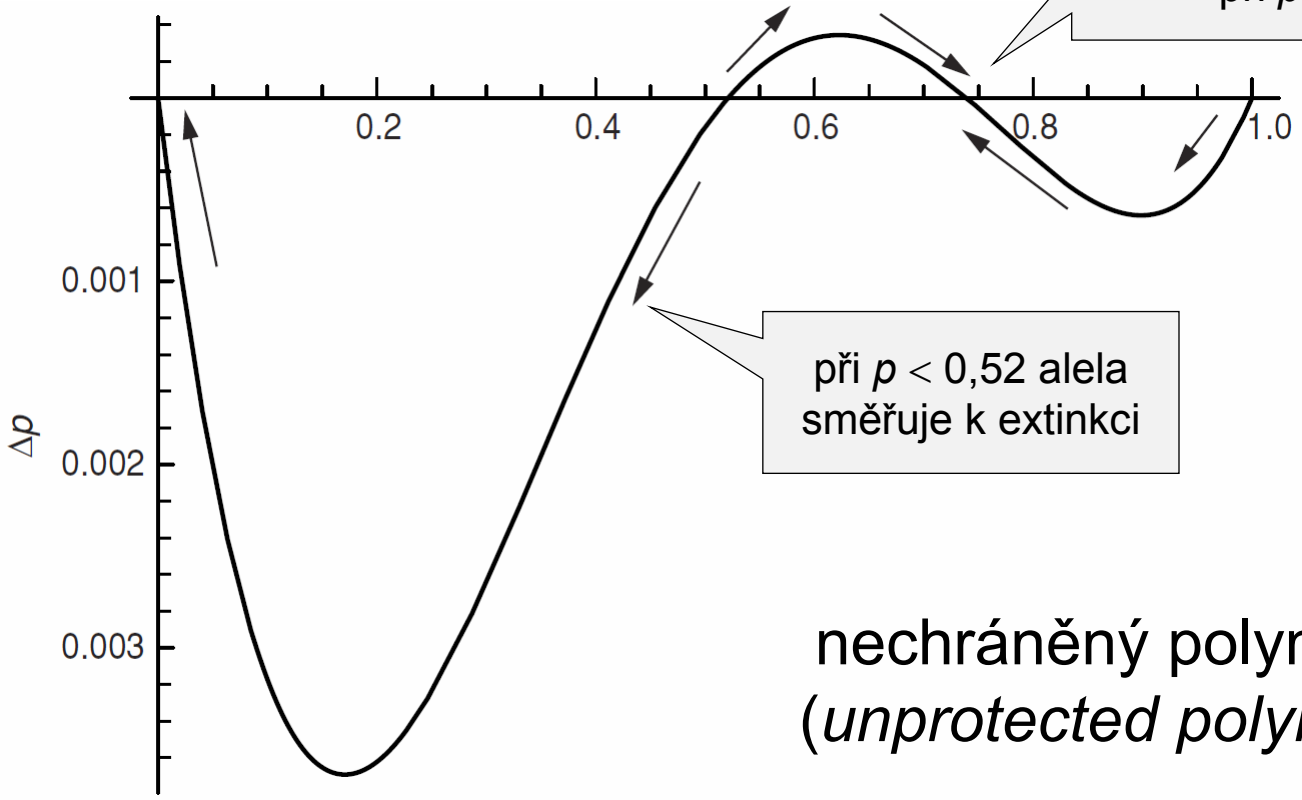
*Source:* From Schmidt and Rand (2001).
*Note:* All values are measured relative to the fitness of the heterozygote.

**Table 14.1. Habitat-Specific Viability Estimates for *Mpi* Genotypes in Northern Acorn Barnacle**

| Habitat | *SS* | *SF* | *FF* |
|---|---|---|---|
| Exposed substrate in high intertidal zone | 0.696 | 1 | 1.424 |
| Exposed substrate in low intertidal zone | 0.898 | 1 | 1.012 |
| Under algal canopy in high intertidal zone | 1.519 | 1 | 0.880 |
| Under algal canopy in low intertidal zone | 0.913 | 1 | 0.976 |

*Source:* From Schmidt and Rand (2001).
*Note:* All values are measured relative to the fitness of the heterozygote.

$c_1 = 0{,}4$
$c_2 = 0{,}05$
$c_3 = 0{,}5$
$c_4 = 0{,}05$



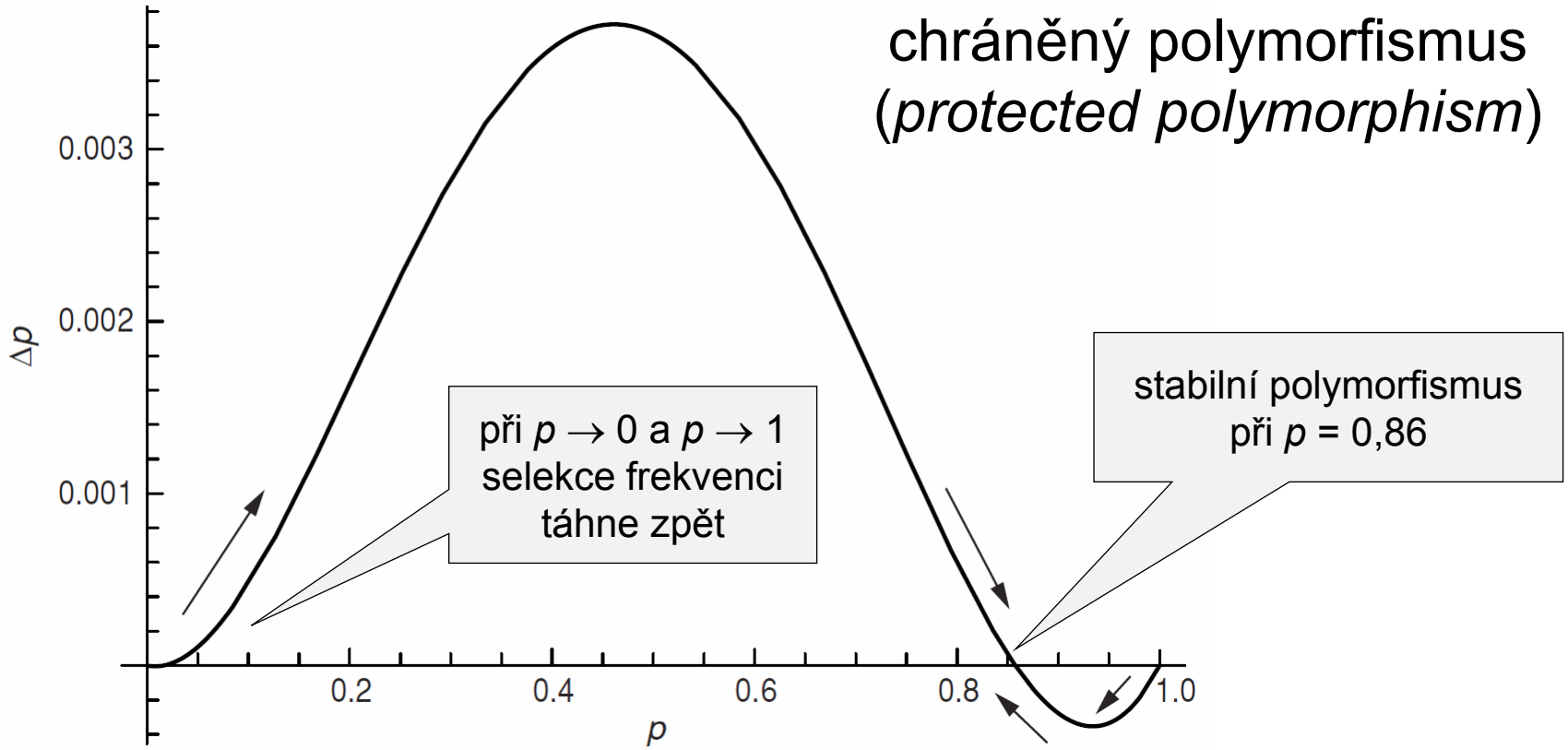

nechráněný polymorfismus
(*unprotected polymorphism*)

**Table 14.1. Habitat-Specific Viability Estimates for *Mpi* Genotypes in Northern Acorn Barnacle**

| Habitat | *SS* | *SF* | *FF* |
|---|---|---|---|
| Exposed substrate in high intertidal zone | 0.696 | 1 | 1.424 |
| Exposed substrate in low intertidal zone | 0.898 | 1 | 1.012 |
| Under algal canopy in high intertidal zone | 1.519 | 1 | 0.880 |
| Under algal canopy in low intertidal zone | 0.913 | 1 | 0.976 |

*Source:* From Schmidt and Rand (2001).
*Note:* All values are measured relative to the fitness of the heterozygote.

$c_1 = 0{,}15$
$c_2 = 0{,}375$
$c_3 = 0{,}325$
$c_4 = 0{,}15$



⇒ kvalitativně odlišné výsledky při stejných hodnotách fitness jako funkce parametru *c*

Prostorová heterogenita v hrubém měřítku rozšiřuje podmínky pro chráněný polymorfismus

V homogenním prostředí a při konstantní fitness polymorfismus jen při superdominanci ($w_{AA} < w_{Aa} > w_{aa}$)

× v heterogenním prostředí ne, např.:

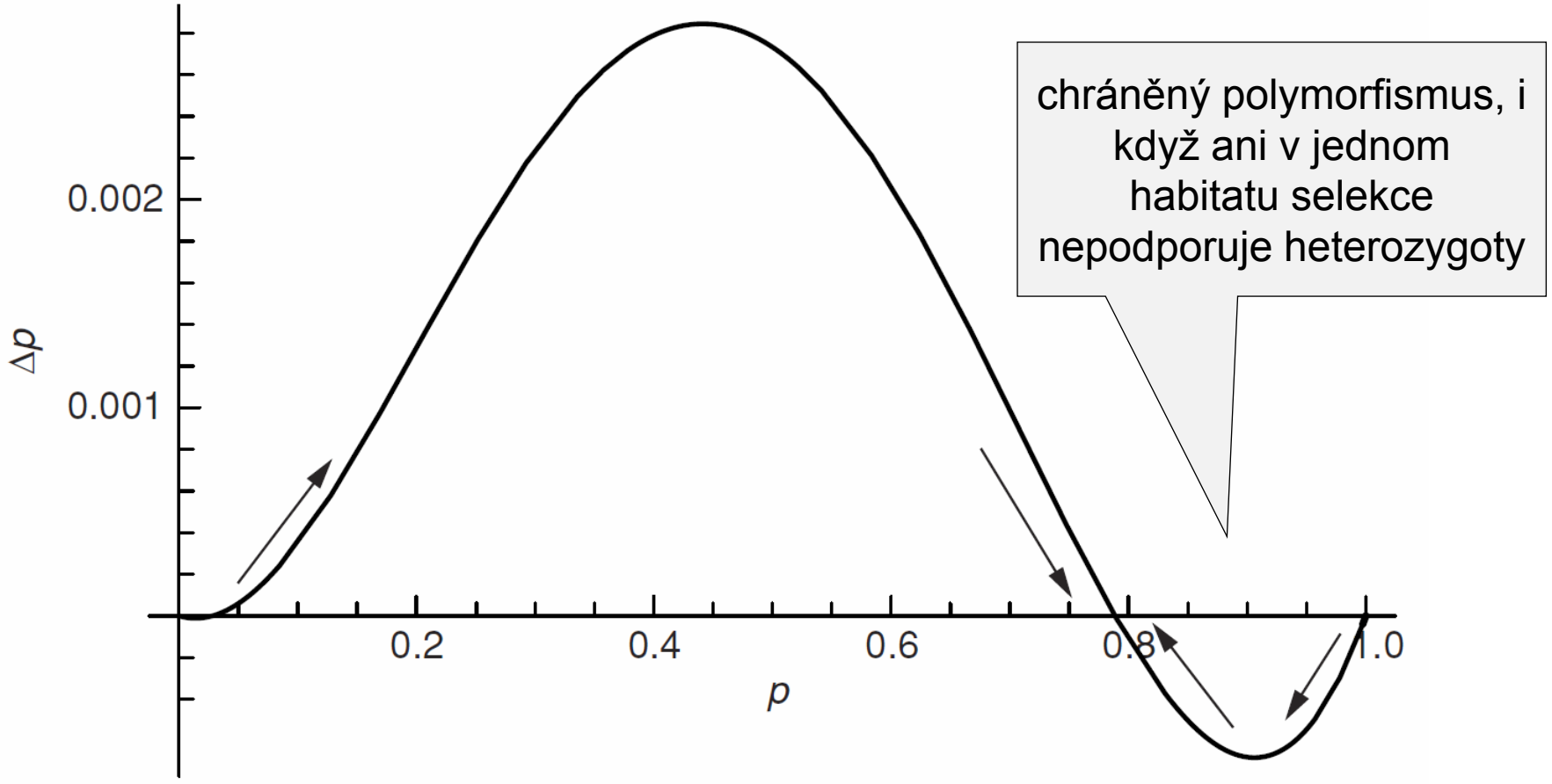
**Table 14.1. Habitat-Specific Viability Estimates for *Mpi* Genotypes in Northern Acorn Barnacle**

| Habitat | *SS* | *SF* | *FF* |
|---|---|---|---|
| Exposed substrate in high intertidal zone | 0.696 | 1 | 1.424 |
| Exposed substrate in low intertidal zone | 0.898 | 1 | 1.012 |
| Under algal canopy in high intertidal zone | 1.519 | 1 | 0.880 |
| Under algal canopy in low intertidal zone | 0.913 | 1 | 0.976 |

*Source:* From Schmidt and Rand (2001).
*Note:* All values are measured relative to the fitness of the heterozygote.

jediný habitat se superdominancí

$c_1 = 0{,}12$
$c_2 = 0{,}58$
$c_3 = 0{,}3$
$c_4 = 0$


0.002
0.001
Δp
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
p
chráněný polymorfismus, i když ani v jednom habitatu selekce nepodporuje heterozygoty

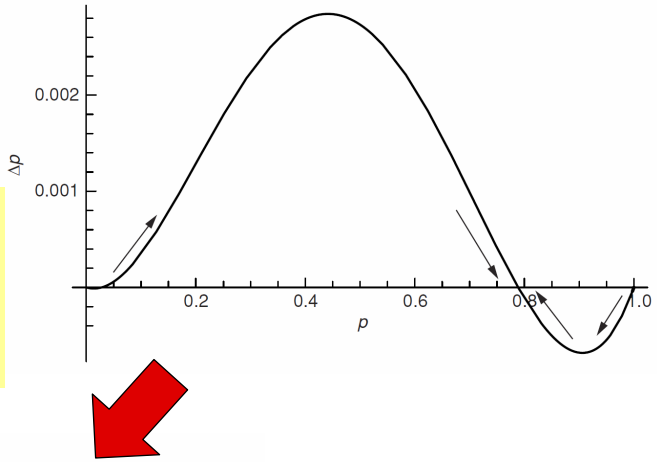
# tvrdá selekce:

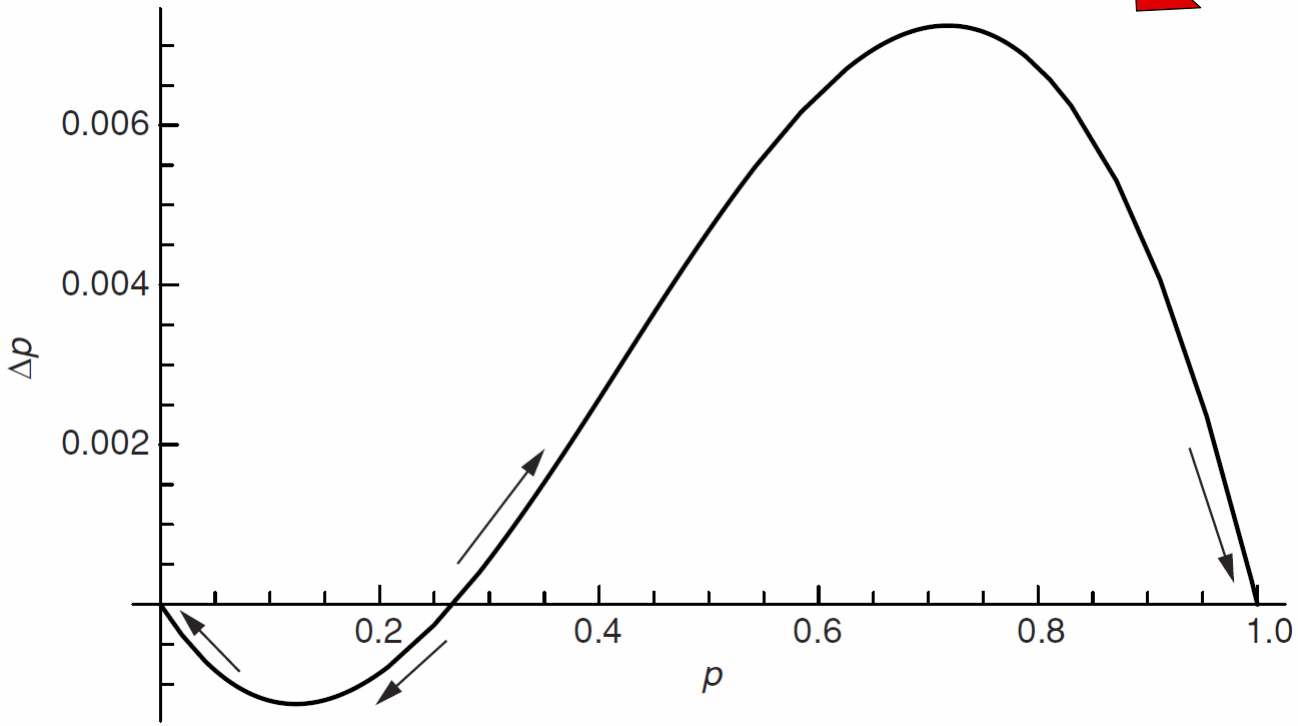
**Table 14.1. Habitat-Specific Viability Estimates for *Mpi* Genotypes in Northern Acorn Barnacle**

| Habitat | *SS* | *SF* | *FF* |
|---|---|---|---|
| Exposed substrate in high intertidal zone | 0.696 | 1 | 1.424 |
| Exposed substrate in low intertidal zone | 0.898 | 1 | 1.012 |
| Under algal canopy in high intertidal zone | 1.519 | 1 | 0.880 |
| Under algal canopy in low intertidal zone | 0.913 | 1 | 0.976 |

*Source:* From Schmidt and Rand (2001).
*Note:* All values are measured relative to the fitness of the heterozygote.

$c_1 = 0{,}12$
$c_2 = 0{,}58$
$c_3 = 0{,}3$
$c_4 = 0$



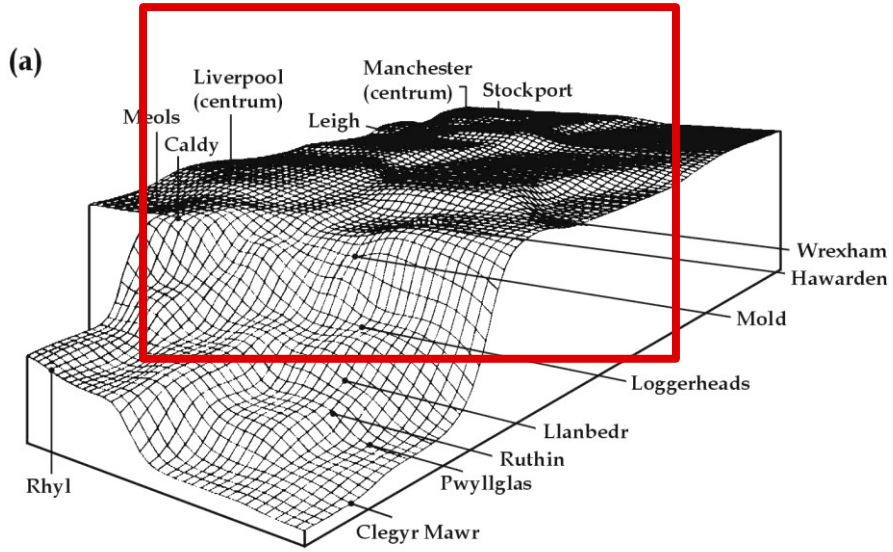




nestabilní i nechráněný polymorfismus

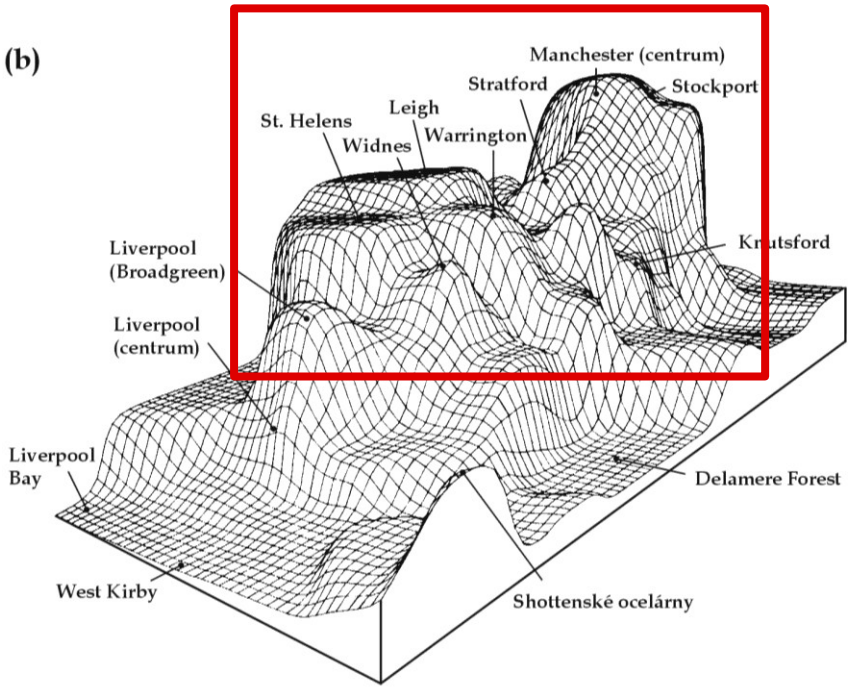
Při tvrdé selekci prostorová heterogenita v hrubém měřítku podmínky pro polymorfismus nerozšiřuje.

ALE:

Pokud tok genů velmi omezený, ekologický rozdíl mezi měkkou a tvrdou selekcí je z hlediska podmínek pro udržení polymorfismu chráněného prostorovou variabilitou v hrubém měřítku nepodstatný.




drsnokřídlec březový (*Biston betularia*): ~10/km$^2$; migrace > 1 km

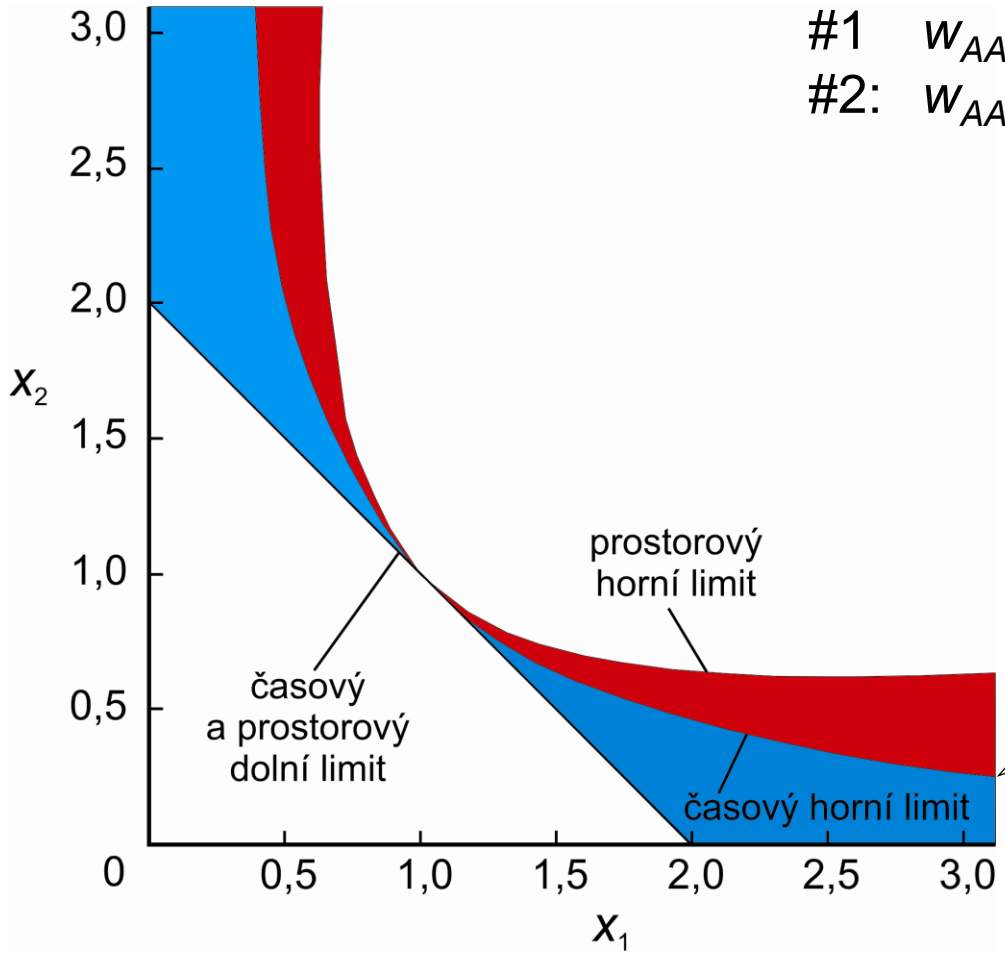



zejkovec dvojzubý (*Odontoptera bidentata*): 50 000–100 000/km$^2$; migrace < 150 m

Vyšší tok genů → na lokální úrovni proměnlivost prostředí v jemném měřítku; adaptace na prostředí měnící se v hrubém měřítku na větší geografické škále.

#1 $w_{AA} = 1$ $w_{Aa} = 1$ $w_{aa} = x_1$

#2: $w_{AA} = 1$ $w_{Aa} = 1$ $w_{aa} = x_2$




kombinace hodnot fitness poskytující stabilní polymorfismus je restriktivnější pro časovou než prostorovou variabilitu

# 2. Prostředí proměnlivé v jemném měřítku (*fine-grained environment*)

Př.: mutace $a \rightarrow A$; fitness nového genotypu $Aa = 1 + s$

$\sigma_s^2$ = heterogenita prostředí v jemném měřítku

Jaká je pravděpodobnost přežití alely *A*?

pokud *s* malé, platí:

$$P(\text{přežití } A) = \frac{2s}{1 + s + \sigma_s^2}$$

při homogenitě prostředí ($\sigma_s^2 = 0$) $P \approx 2s$

2 mutace: $a \rightarrow A_1$ a $a \rightarrow A_2$; fitness obou heterozygotů stejná, tj. $1 + s$

pokud $\sigma_{s1}^2 < \sigma_{s2}^2 \Rightarrow A_1$ má větší šanci na přežití než $A_2$!

$\Rightarrow$ selekce podporuje mutace poskytující účinnější pufrování proti fluktuacím v důsledku proměnlivosti prostředí v jemném měřítku

Za určitých okolností může být pravděpodobnost přežití vyšší i u alely spojené s nižší fitness:

např. $s_1 > s_2$

$\rightarrow$ za normálních okolností by šance na přežití byla vyšší pro $A_1$ než pro $A_2$

ale pokud platí

$$\sigma_{s2}^2 < \frac{s_2 - s_1}{s_1} + \frac{s_2}{s_1}\sigma_{s1}^2$$

bude mít vyšší pravděpodobnost přežití alela spojená s nižší fitness

tj. je-li genotyp $A_1a$ dostatečně pufrován proti heterogenitě prostředí v jemném měřítku, bude mít mutace $A_1$ větší šanci v populaci přežít, než prospěšnější mutace $A_2$

Např.: $s_1 = 0{,}02$; $s_2 = 0{,}01$; $\sigma_{s1}^2 = 4$; $\sigma_{s2}^2 = 0{,}5$

žádná heterogenita: 2x vyšší šance přežití pro $A_1$ než pro $A_2$

heterogenita: $P(A_1) = 0{,}008$
$P(A_2) = 0{,}013$

$$P(\text{přežití } A) = \frac{2s}{1 + s + \sigma_s^2}$$

$\Rightarrow$ $A_2$ je <u>výhodnější</u>

neutralita: $s_1 = s_2$ , tj. stejná fitness $\times$ selekce bude preferovat genotyp lépe pufrovaný proti fluktuacím fitness

Pokud konečná velikost populace:

$$P = \frac{1 - e^{-2s}}{1 - e^{-4Ns}}$$

výhodná alela;
viz Selekce II.,
snímek # 20

při heterogenitě prostředí místo $s \rightarrow (s - \nu/2N)$,
kde selekční koeficient jedince je náhodná veličina s průměrem $s$
a rozptylem $\nu/2N$

$\Rightarrow$ průměrná fitness v modelu proměnlivého prostředí
v jemném měřítku je při určení pravděpodobnosti fixace
výhodné alely snížena o $\nu/2N$

$\Rightarrow$ s klesající schopností pufrování heterogennosti prostředí
v jemném měřítku (tj. s rostoucím rozptylem $\nu$) klesá
pravděpodobnost fixace prospěšné alely

Pozor: je třeba mít na zřeteli, že znak, který je zde pufrován, je reprodukční zdatnost

pufrování fitness je ale většinou zprostředkováno jinými znaky, které jsou plastické a citlivé na heterogenitu prostředí v jemném měřítku

Např. člověk a jeho schopnost bránit se výkyvům teploty:

zvýšení teploty → dilatace povrchových cév
⇒ odvod tepla k povrchu těla
další zvýšení → pocení
⇒ další odvod tepla odpařováním
(delší expozice vysoké teploty ovšem může mít fatální následky)

snížení teploty → vazokonstrikce ⇒ snížení tepelných ztrát
další snížení → třes atd. ⇒ produkce tepla
(delší expozice chladu opět může mít fatální následky)

subsaharská Afrika: dřívější a intenzivnější pocení
Evropa: dřívější začátek třesu (teplota kůže 29,5 °C × Afričané 28 °C)

⇒ dřívější nástup pufrujícího mechanismu v populaci, která má historicky větší zkušenost

Kromě intenzity má vliv i délka působení prostředí
→ při dlouhodobějším působení jiné mechanismy (např. zvýšení počtu potních žláz)

Prostředí proměnlivé v hrubém měřítku a měkká selekce budou v populaci udržovat polymorfismus s vyšší pravděpodobností než proměnlivost v jemném měřítku a tvrdá selekce.