

# Introduction

**Phylogénie** : reconstruire l'histoire évolutive des espèces. Trouver des liens de parenté.

**Evolution moléculaire** : étude de la modification du génotype causée par les mutations et qui peuvent parfois être visibles au niveau du phénotype.

Reconstruction d'arbres phylogénétiques en comparant l'information génétique présente dans le génome des êtres vivants.

Discipline relativement récente : années 1960 avec l'apparition des premières séquences.

Apport important pour la reconstruction de l'arbre du vivant car avant utilisation de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques, au pouvoir de résolution plus faible notamment pour les micro-organismes.

## Introduction

Premières analyses faites en 1965 par E. Zuckerkandl et L. Pauling montrant que la phylogénie des vertébrés était à peu près identique quand elle était basée sur la comparaison de séquences protéiques ou sur des données morphologiques, anatomiques et paléontologiques.

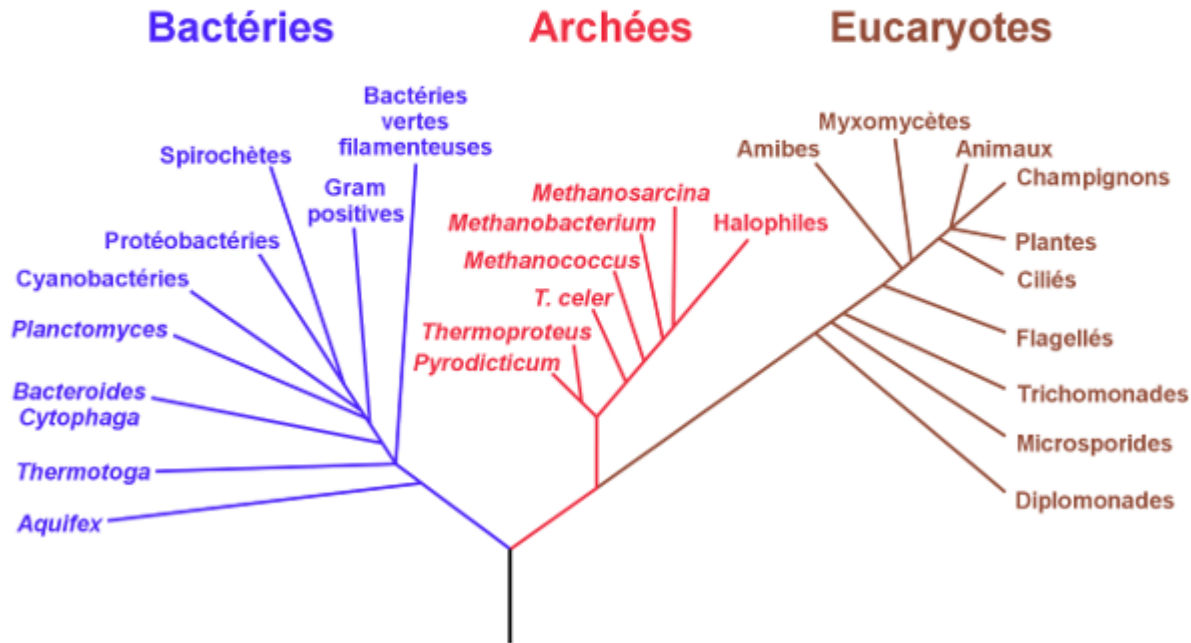
Fitch et Margoliash, 2 ans plus tard, ont établi une phylogénie des vertébrés à peu près identiques par comparaisons des protéines du cytochrome C.

A. Wilson, grâce à l'analyse de nombreuses séquences protéiques, a pu montrer que la divergence entre l'homme et les grands singes d'Afrique (chimpanzé et gorille) ne daterait que de 5 à 10 millions d'années et non de 30 millions d'années comme prédit par de nombreux paléontologues.

# Introduction

Découverte du troisième domaine du vivant par Carl Woese en 1977 par l'analyse phylogénétique des séquences d'ARNr 16S.

## Arbre phylogénétique de la vie



Extrait de *L'évolution du vivant expliquée à ma boulangère* (2009) Virginie Nepoux ([http://www.ilv-bibliotheca.net/librairie/levolution\\_du\\_vivant\\_expliquee\\_a\\_ma\\_boulangere.html](http://www.ilv-bibliotheca.net/librairie/levolution_du_vivant_expliquee_a_ma_boulangere.html)).

# Introduction

Aujourd'hui l'évolution moléculaire utilisée non seulement par les spécialistes de la phylogénie mais aussi par de nombreux biologistes désirant mieux analyser leurs séquences, comprendre l'évolution de leur fonction, analyser l'histoire des duplications etc....

Pour cela il faut entre autre connaître :

- les différents modèles évolutifs qui ont été proposés
- les différentes méthodes de reconstruction d'arbres qui ont été développées
- apprendre à analyser les arbres obtenus

## Notions de base, définitions

### Homologie :

Deux structure (ou deux caractères) sont dits homologues si elles dérivent d'une structure unique présente chez l'ancêtre commun aux organismes qui les portent. Ces structures ont donc une origine évolutive commune mais peuvent présenter des variations suite à une évolution indépendante.

Donc nous diront que deux gènes sont **homologues** s'ils ont divergé à partir d'une séquence ancêtre commune.

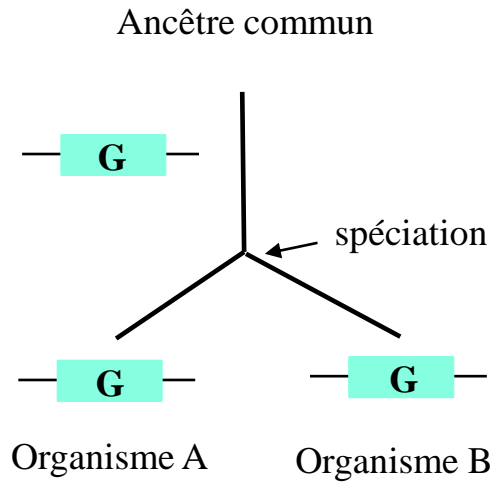
Définition insuffisante pour reconstruction de l'histoire évolutive car plusieurs mécanismes possibles pour dériver d'une séquence ancêtre.

Orthologie : deux gènes sont **orthologues** si leur divergence est due à la spéciation (le gène ancêtre commun se trouvait dans l'organisme ancêtre).

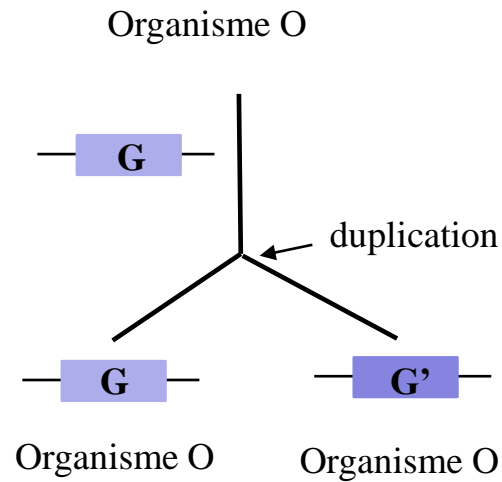
Paralogie : deux gènes sont **paralogues** si leur divergence est due à la duplication du gène ancêtre.

Xénologie : deux gènes sont xénologues si l'un d'entre eux a été acquis par transfert horizontal

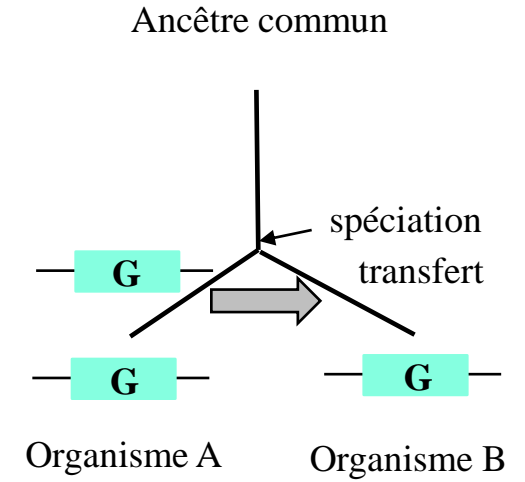
# Notions de base, définitions



**Gènes orthologues**

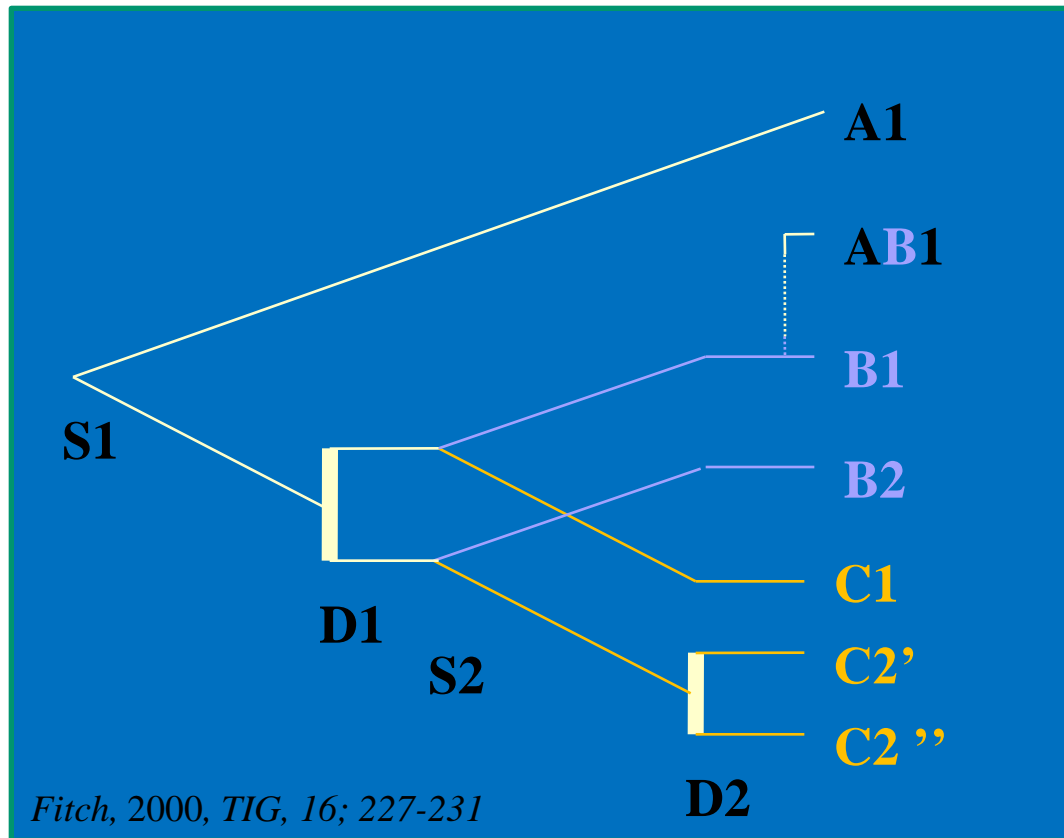


**Gènes paralogues**

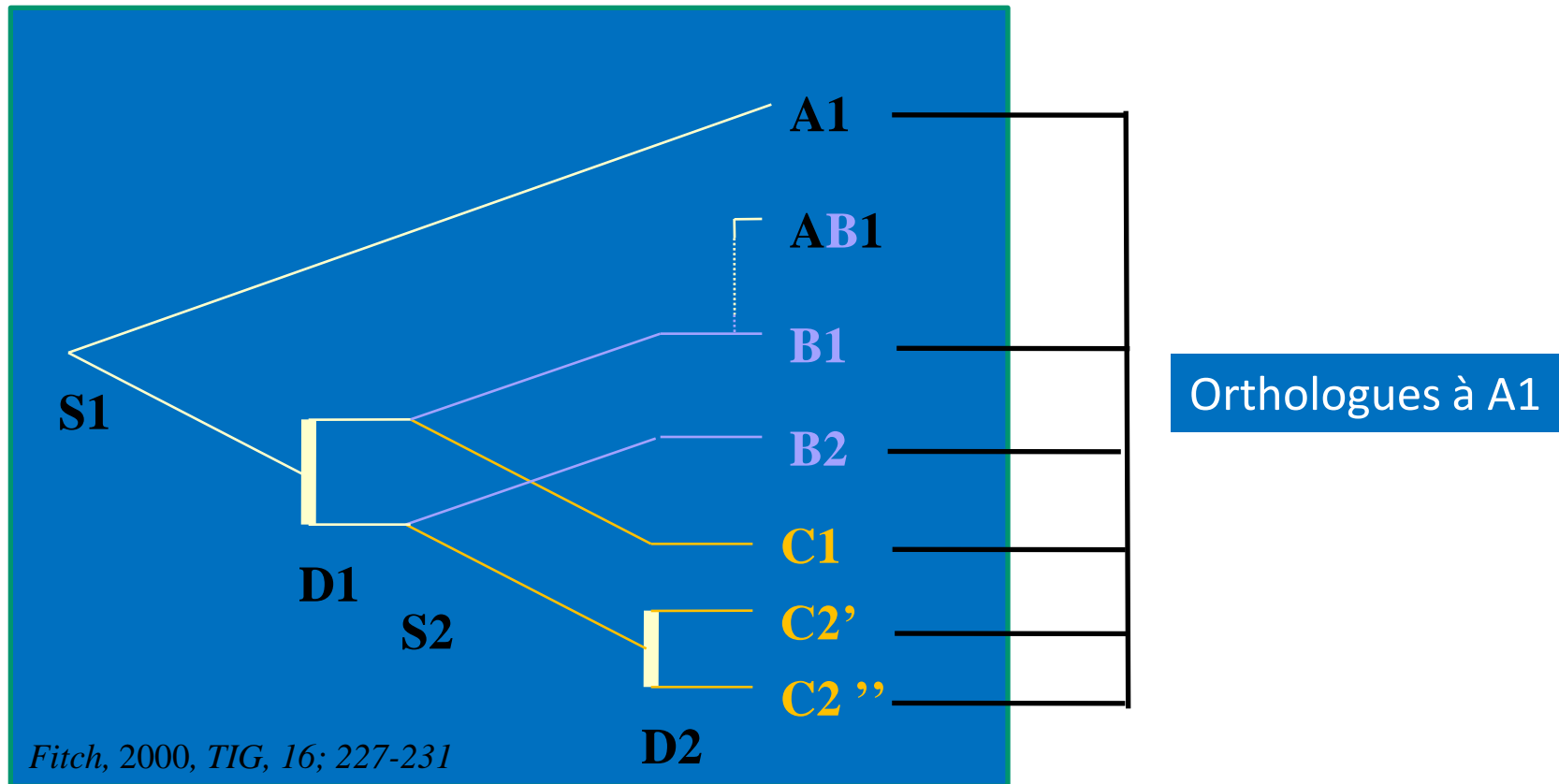


**Gènes xénologues**

# Notions de base, définitions

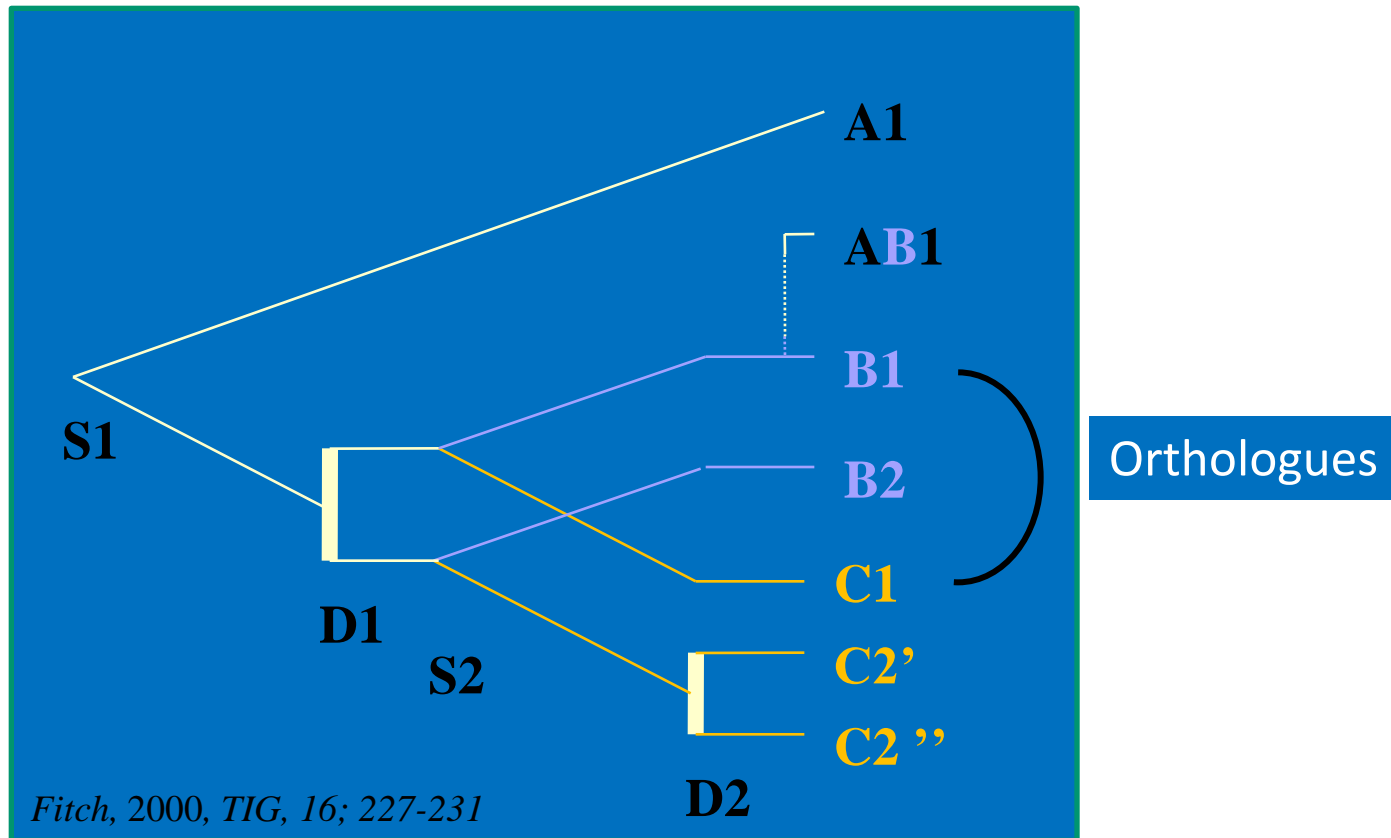


# Notions de base, définitions

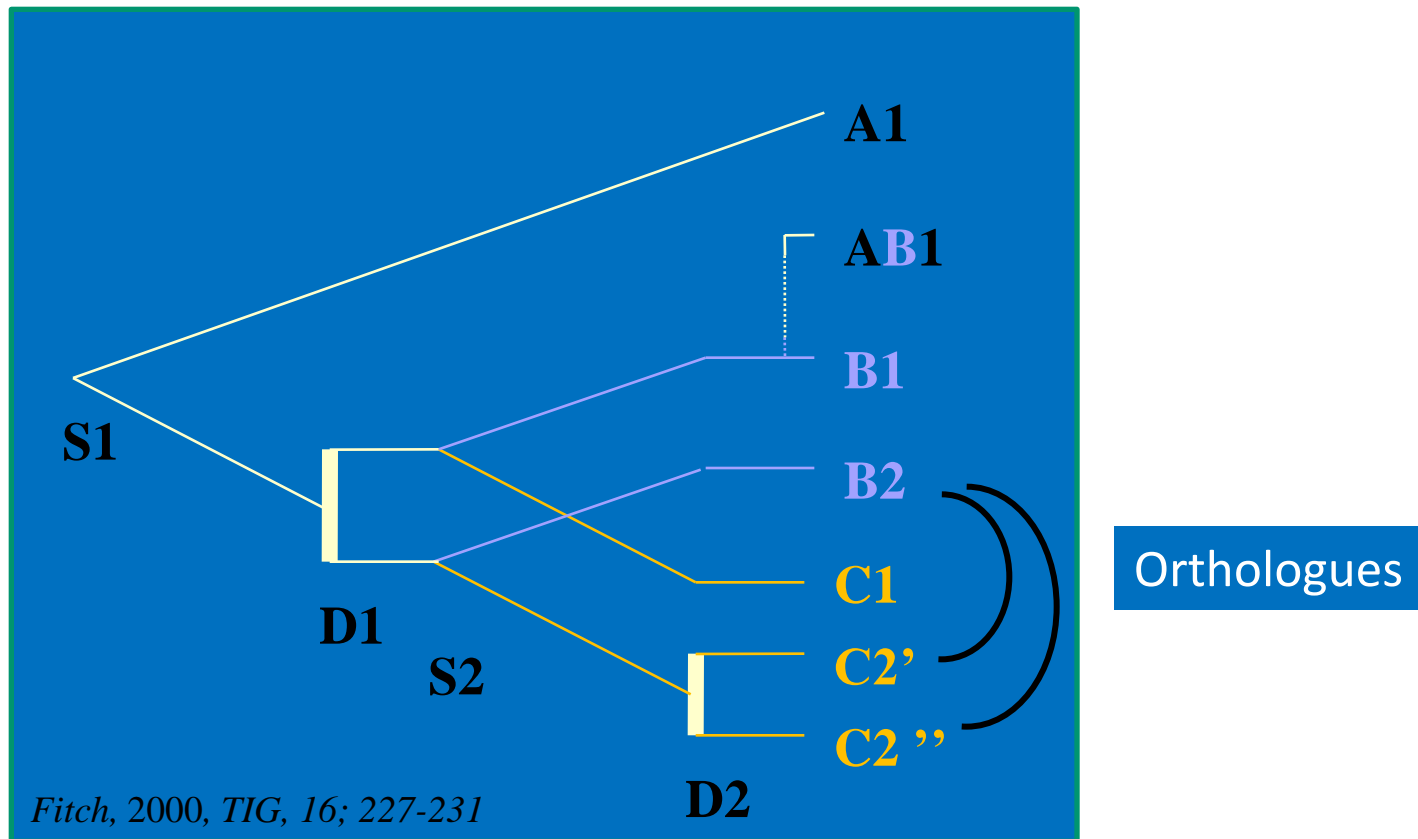




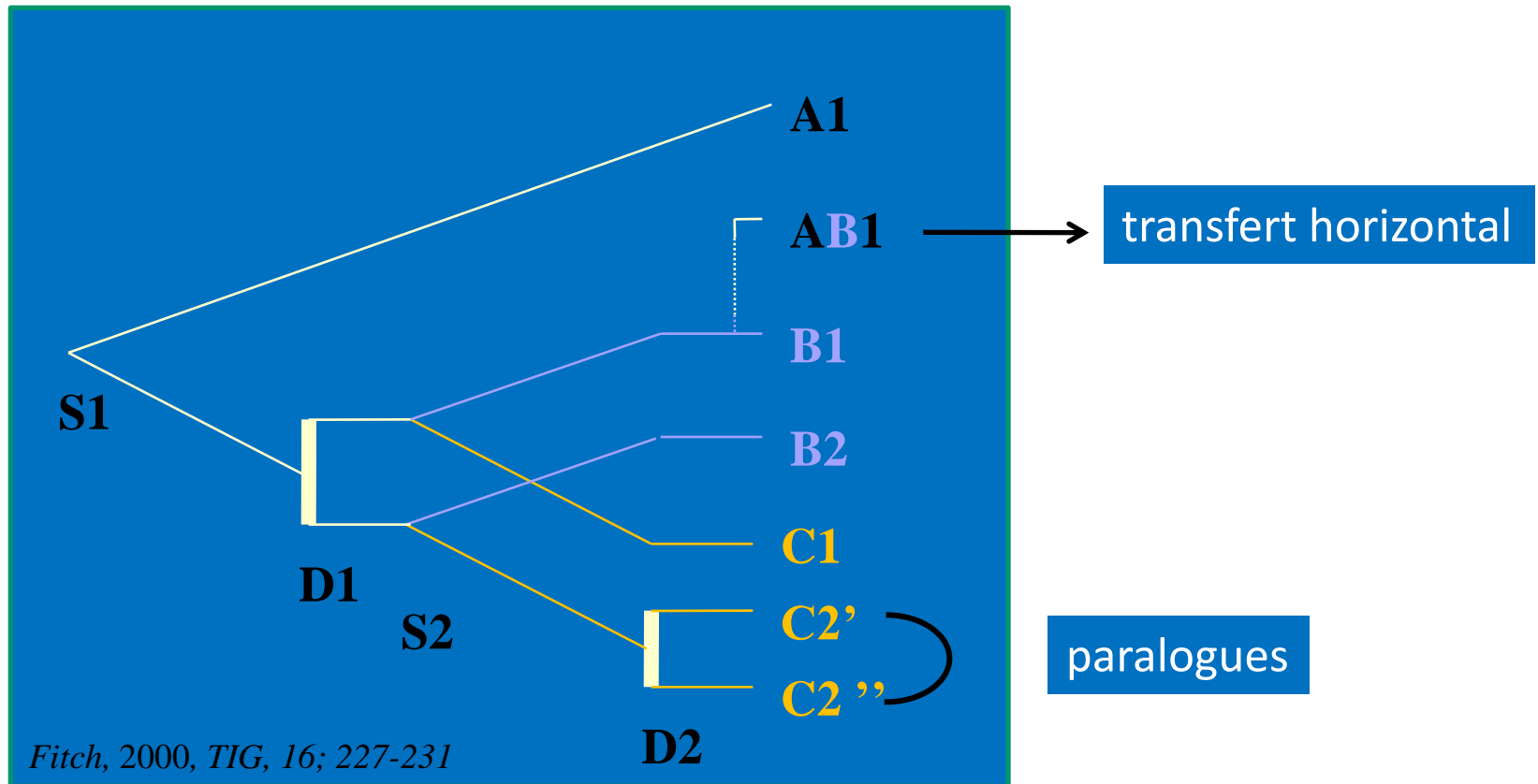
# Notions de base, définitions



# Notions de base, définitions



# Notions de base, définitions



### Pourquoi la comparaison de séquences :

**Hypothèse 1** : si deux ou plusieurs séquences possèdent des résidus conservés (bases ou acides aminés), cela signifie qu'elles ont une histoire évolutive commune. Elles ont évolué à partir d'une séquence ancêtre commune.

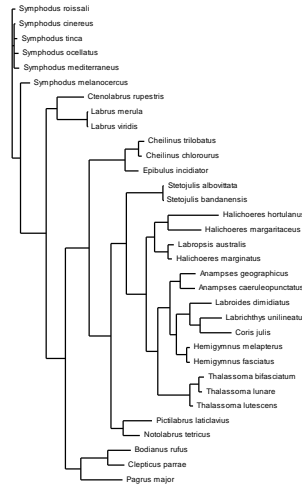
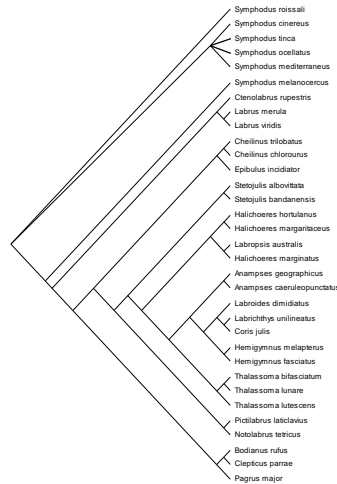
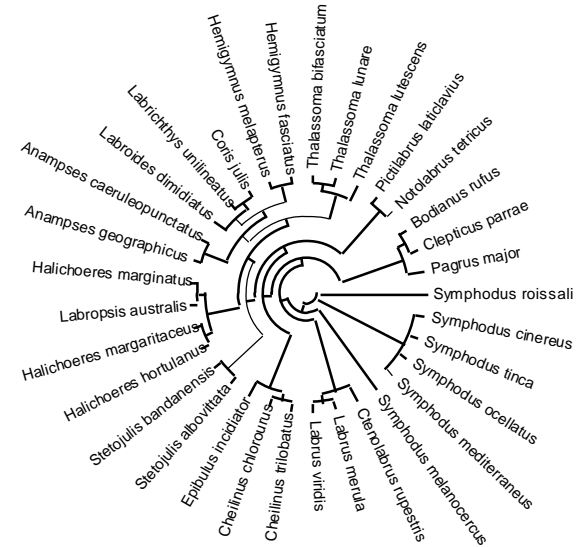
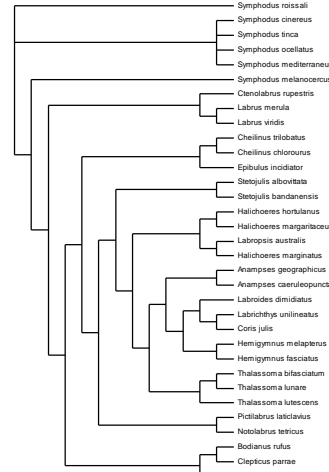
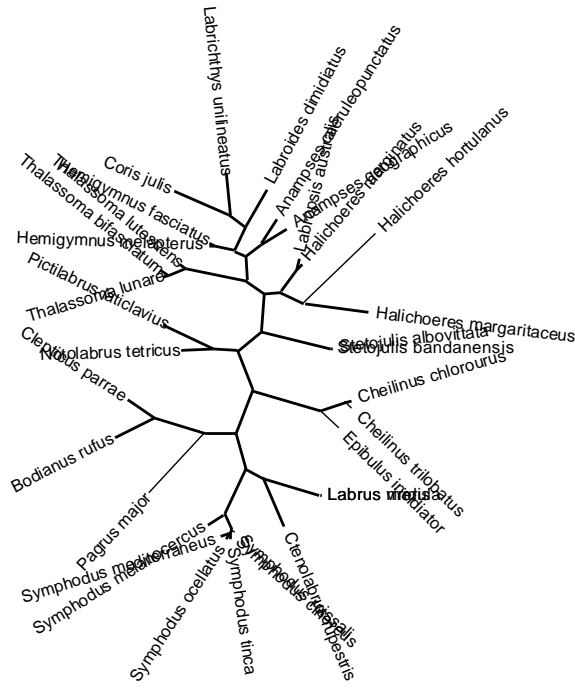
**Hypothèse 2** : si deux séquences sont homologues, alors elles doivent avoir des fonctions similaires.

Le pourcentage de similarité entre deux séquences est considéré comme reflétant la distance évolutive existant entre ces deux séquences. Les différences observées sont dues à l'accumulation de mutations au cours du temps. Les mutations prises en compte sont les substitutions et les insertions/délétions (indels).



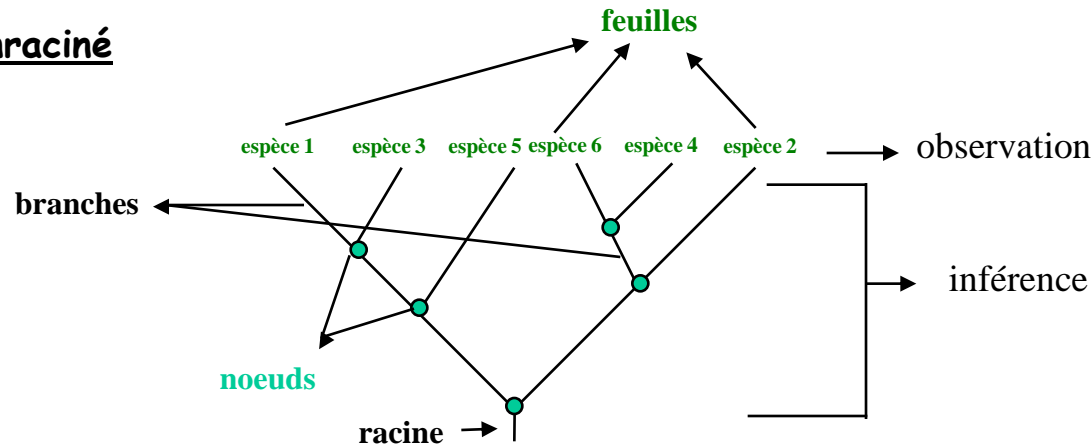
## Alignement multiple

# Notions de base : arbres phylogénétiques



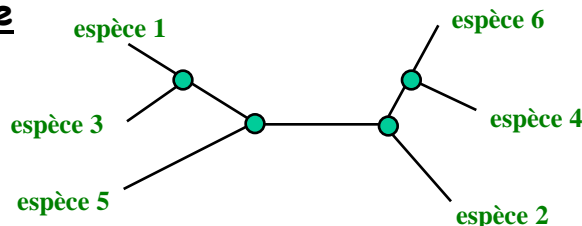
# Notions de base : arbres phylogénétiques

## Arbre enraciné



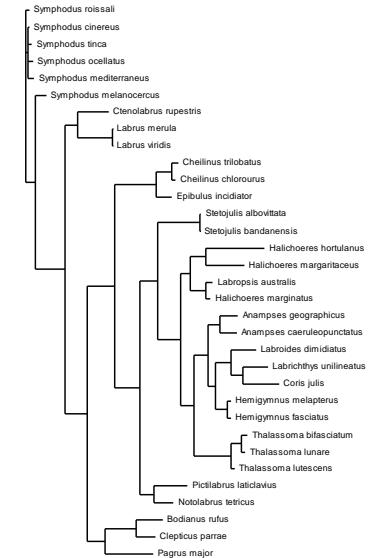
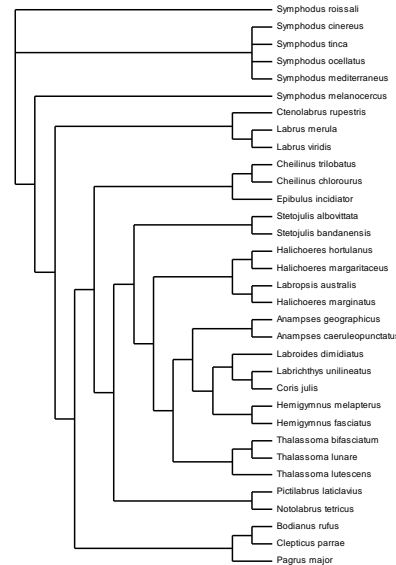
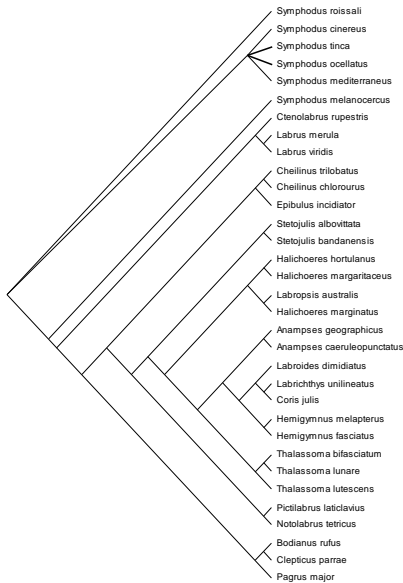
- Les sommets externes sont appelés **feuilles**. C'est la seule partie basée sur l'observation.
- Les sommets internes sont appelés **nœuds**. Ils représentent l'ancêtre commun hypothétique dans le sens où leur existence n'est pas fondée sur l'observation mais sur le processus de reconstruction.
- La relation entre deux nœuds est appelée **branche**. Les branches peuvent être valuées, c'est à dire que l'on peut leur associer une mesure (ex: une distance, une quantité d'évolution, un nombre de mutations) qui dépend de la méthode de reconstruction utilisée. Elles donnent une estimation de la divergence entre les nœuds.
- La **racine** définit l'origine commune des espèces traitées. Les liens entre nœuds et feuilles sont orientés, on part de la racine et on remonte aux feuilles.

## Arbre sans racine



Dans un arbre sans racine, les liens entre nœuds ne sont pas orientés et un seul et unique chemin permet de passer d'un sommet à l'autre.

# Notions de base : arbres phylogénétiques



**Arbre ultramétrique**

**Arbre additif**

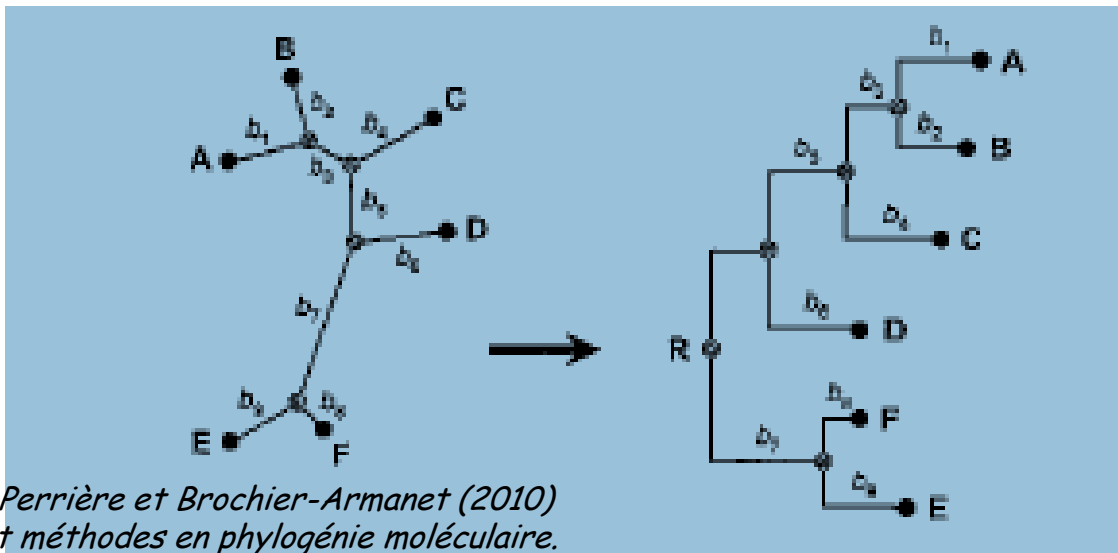
Cladogramme : pas de longueurs de branches  
(feuilles sous un même nœud appelée clade)

Phylogramme : longueurs de branches

## Notions de base : arbres racinés et non racinés

La plupart des méthodes produisent des arbres non racinés car elles détectent des différences entre séquences mais n'ont aucun moyen d'orienter temporellement ces différences.

- enracer un arbre :
  - Racinement au barycentre : ne nécessite pas de connaissances *a priori*. Positionne la racine au milieu du chemin séparant les deux groupes de feuilles les plus éloignés. La racine est donc le point de l'arbre équidistant de toutes les feuilles. Fait l'hypothèse de l'horloge moléculaire : on suppose que toutes les séquences ont évolué à la même vitesse depuis leur divergence de leur ancêtre commun. Attention, ici on fait une hypothèse très lourde qui est rarement vérifiée par les données.



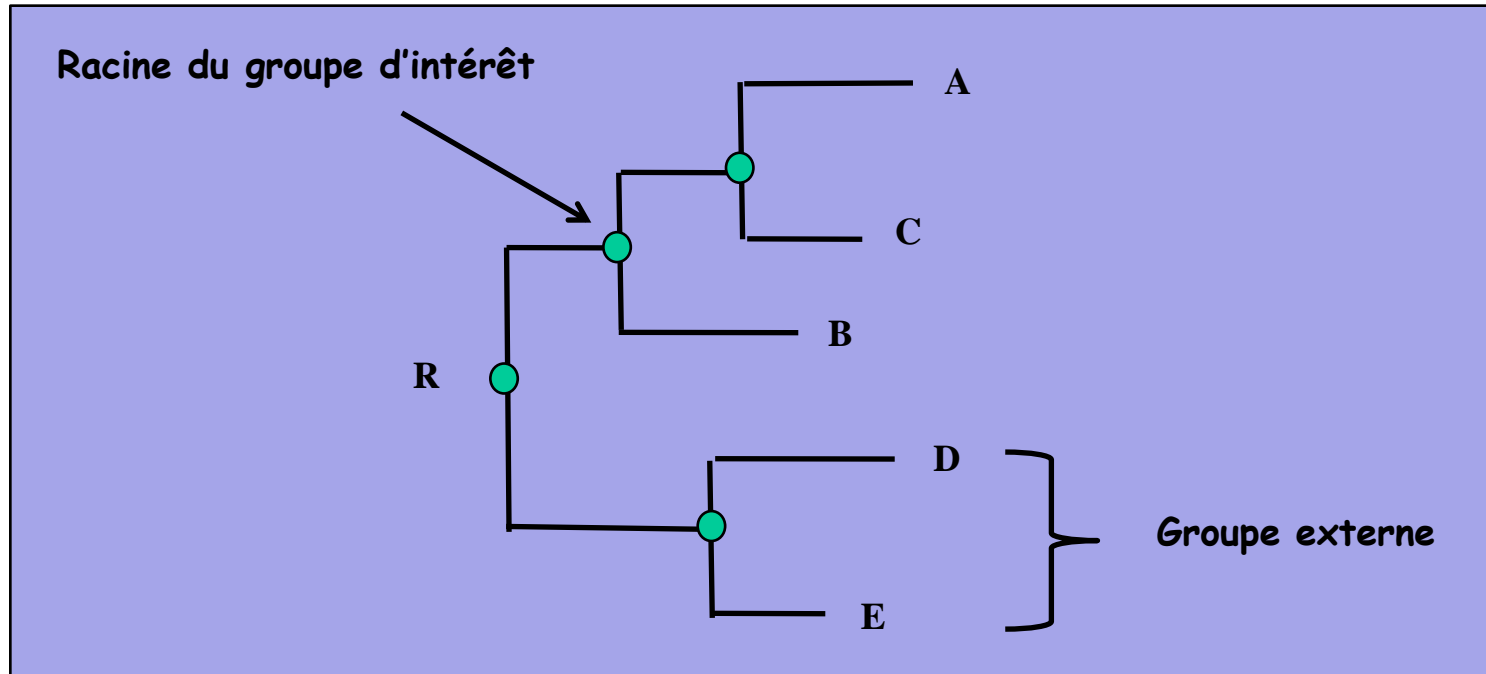
Extrait de Perrière et Brochier-Armanet (2010)  
Concepts et méthodes en phylogénie moléculaire.



## Notions de base : arbres racinés et non racinés

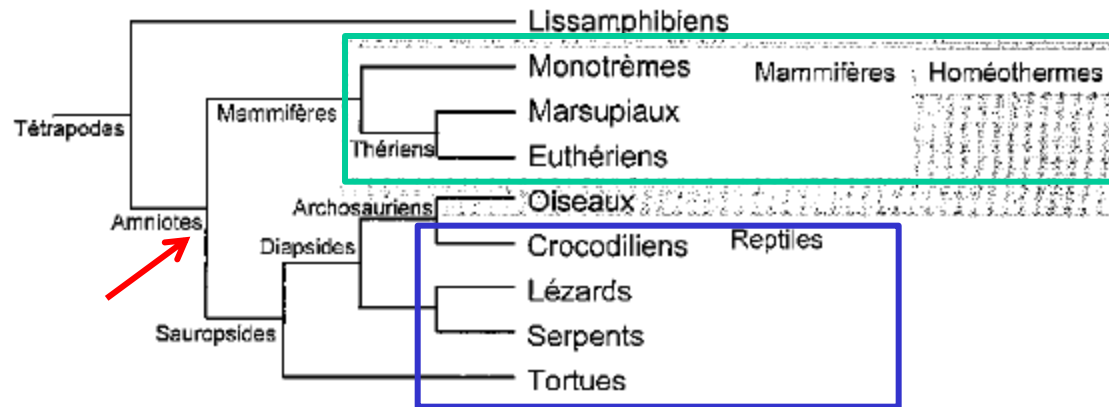
- enraciner un arbre :
  - La méthode du groupe externe : inclure un groupe de séquences connues *a priori* comme externes au groupe d'intérêt; la racine est alors sur la branche qui relie le groupe externe aux autres séquences. Séquences connues comme ayant *a priori* divergé avant le groupe d'intérêt.

Problème : choix du groupe externe, qui doit être le plus proche possible du groupe d'intérêt.



# Notions de base : vocabulaire

## Exemple de la phylogénie des Tétrapodes



*Extrait de Perrière et Brochier-Armanet (2010)  
Concepts et méthodes en phylogénie moléculaire.*

Le Groupe des Mammifères est *monophylétique* car l'ensemble des feuilles sont les descendants d'un même ancêtre.

Le Groupe des Reptiles (Crocodiliens, Lézards, Serpents et Tortues) est *paraphylétique* car les oiseaux qui sont des descendants de l'ancêtre des Reptiles ne font pas partie de ce groupe (donc paraphylétique quand une partie des descendants d'un même ancêtre n'est pas présent dans le même groupe que les autres)

Les Tétrapodes à sang chaud (Mammifères et Oiseaux) forment un groupe *polyphylétique* car leur ancêtre commun, celui des Amniotes, n'est pas à sang chaud et donc pas inclus dans le groupe.

## Notions de base : les caractères

Caractères : Organismes composés de différentes caractéristiques  
Chaque position alignée d'un alignement multiple

Ces caractéristiques ou caractères prennent des formes différentes selon les taxons :  
elles sont appelées *états de caractères*

L'état du caractère peut être soit *ancestral* (présent chez l'ancêtre commun des Operational Taxonomic Unit (OTU) analysées, soit *dérivé* (observables que dans certains OTU)

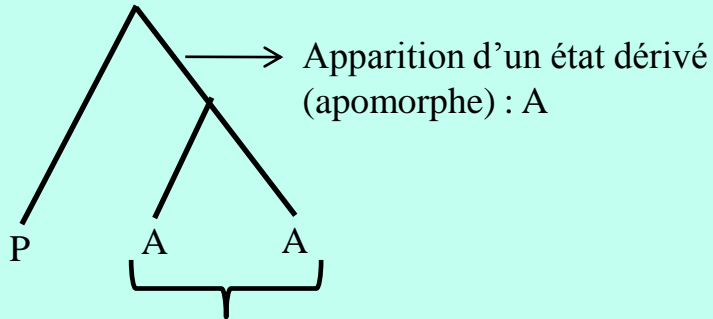
- état ancestral est dit *plésiomorphe*
- état dérivé est dit *apomorphe*
- le partage d'un état dérivé ou apomorphe par plusieurs OTU est appelé *synapomorphie*
- le partage d'un état ancestral ou plésiomorphe par plusieurs OTU est appelé *symplesiomorphie*
- un état dérivé porté que par une seule OTU est appelé *autapomorphie*

L'inférence phylogénétique se fait à partir des différences entre états de caractères

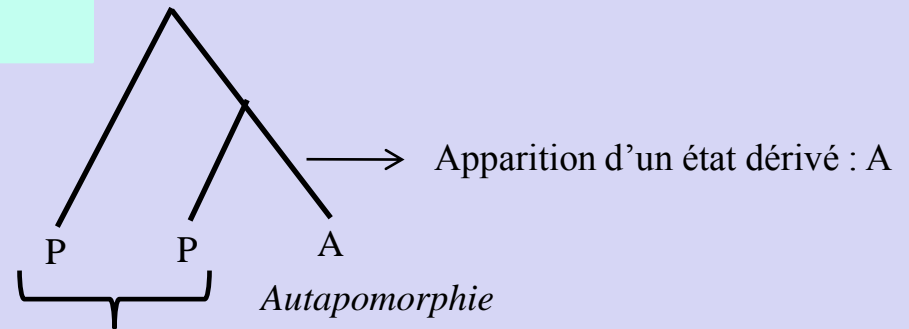
- On cherche à établir le lien entre ancêtre et descendant par la présence/absence d'un état de caractère
- On cherche l'apparition de nouveaux états de caractères dans les descendants

# Notions de base : les caractères

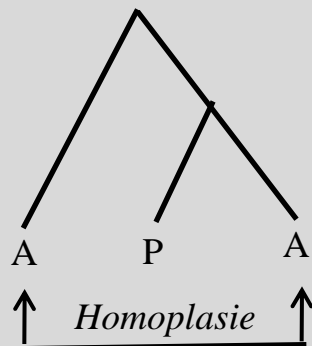
état ancestral (plésiomorphe P)



état ancestral (P)



état ancestral (P)



Apparition indépendante d'un état dérivé : A

## Reconstruction phylogénétique : deux écoles

A partir de l'observation des états des caractères, il va falloir reconstruire l'arbre et interpréter les ressemblances.

### Deux écoles :

➤ les phénéticiens adeptes de la « taxonomie numérique ». Les liens entre les taxons ne peuvent être fondés que sur la base d'une similitude globale exprimée à partir de matrices de calcul de distances. Dans le cas des séquences, à partir d'un alignement multiple, on calculera les distances entre les séquences prises deux à deux en prenant en compte toutes les positions alignées sans indels.

L'analyse phénétique se fonde sur l'analyse du plus grand nombre de caractères.

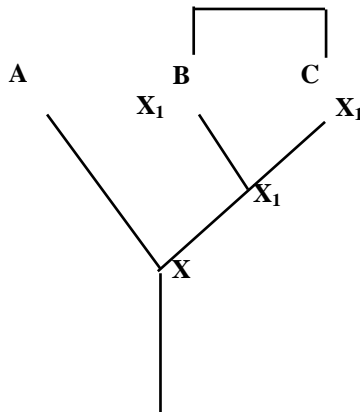
➤ Les cladistes préfèrent élaborer des phylogénies à partir d'un ensemble préalablement choisi de caractères.

# Le concept de similitude

Il peut être divisé en :

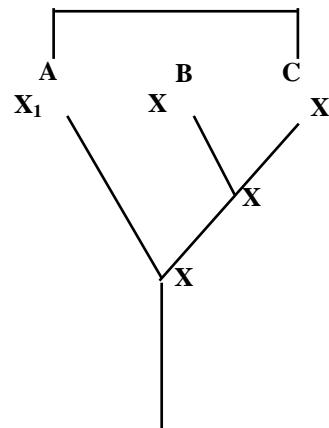
- homologie similitude héritée d'un ancêtre commun
- homoplasie similitude non héritée d'un ancêtre commun et qui est subdivisée en :
  - convergence : apparition indépendante dans deux espèces d'un même état dérivé de caractère
  - réversion : apparition d'un état de caractère ayant la forme ancestrale

## homologie



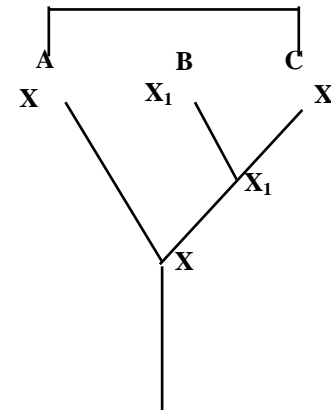
L'état de caractère  $X_1$  présent chez B et C est hérité de l'ancêtre à B et C.

## convergence



L'état de caractère  $X_1$  présent chez A et C n'est pas hérité d'un ancêtre commun. Il est apparu deux fois de façon indépendante.

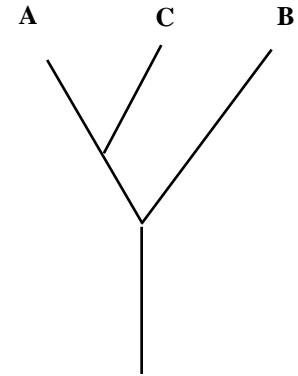
## réversion



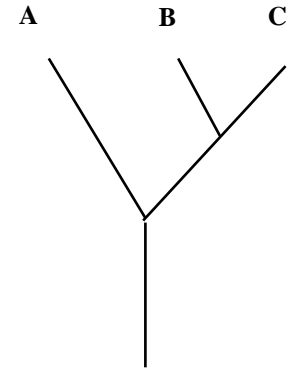
L'état de caractère X présent chez A et C n'est pas hérité d'un ancêtre commun. Chez A, il correspond à l'état ancestral et chez C il est secondairement transformé (retour à la forme ancestrale).

# Le concept de similitude

Arbre qui sera déduit à partir des valeurs des états de caractères :



Or dans les deux cas, convergence ou réversion, le vrai arbre est :



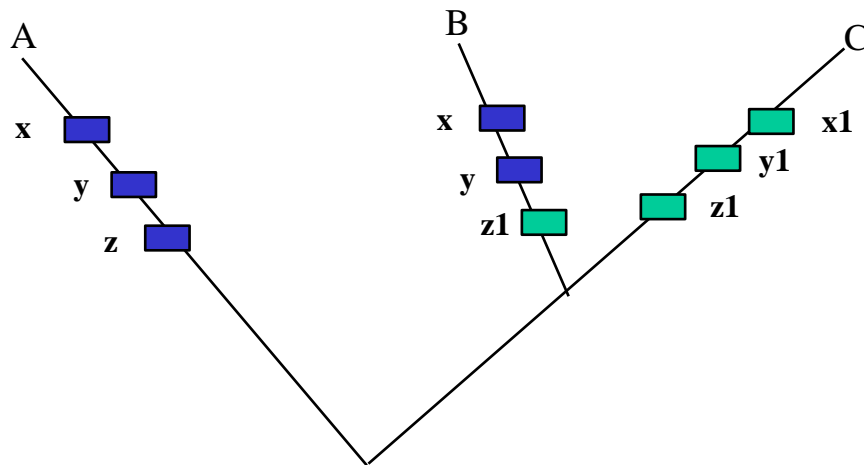
## Etats dérivés- Etats primitifs

Cladistes : états dérivés plutôt qu'états primitifs des caractères homologues

Trois espèces et 3 caractères x, y et z

■ État primitif  $x, y$  et  $z$

■ État dérivé  $x_1, y_1$  et  $z_1$



Le fait que B et C possèdent le même état dérivés  $z_1$  est plus informatif que le fait que A et B possèdent les mêmes états primitifs  $x$  et  $y$

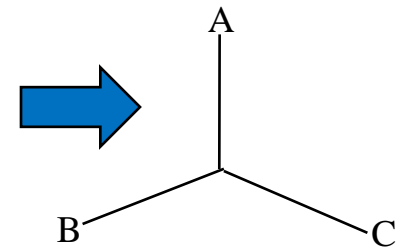
Pour trouver les états dérivés et primitifs, on considère une espèce éloignée et on voit si l'état du caractère est partagé ou pas. Si partagé : état primitif.



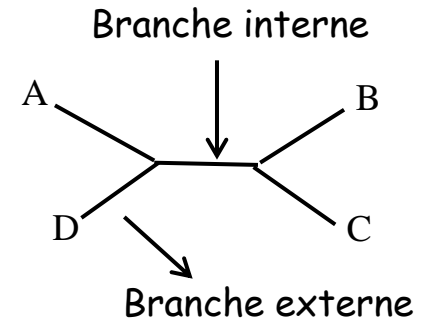
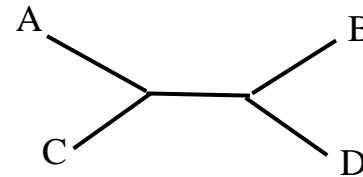
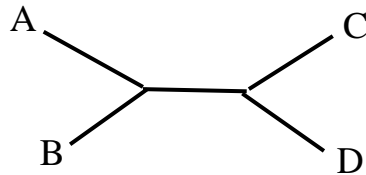
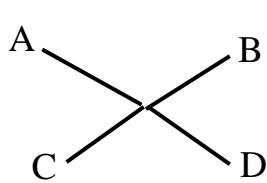
# Trouver l'arbre

Problème : un seul arbre vrai, l'arbre évolutif  
Comment le distinguer dans tous les arbres possibles

Si trois OTU : un seul arbre non raciné et trois racinés



Si quatre OTU : quatre arbres non enracinés dont trois résolus



4 branches = 4 racines possibles

5 branches : 5 racines possibles



Total : 19 arbres enracinés possibles

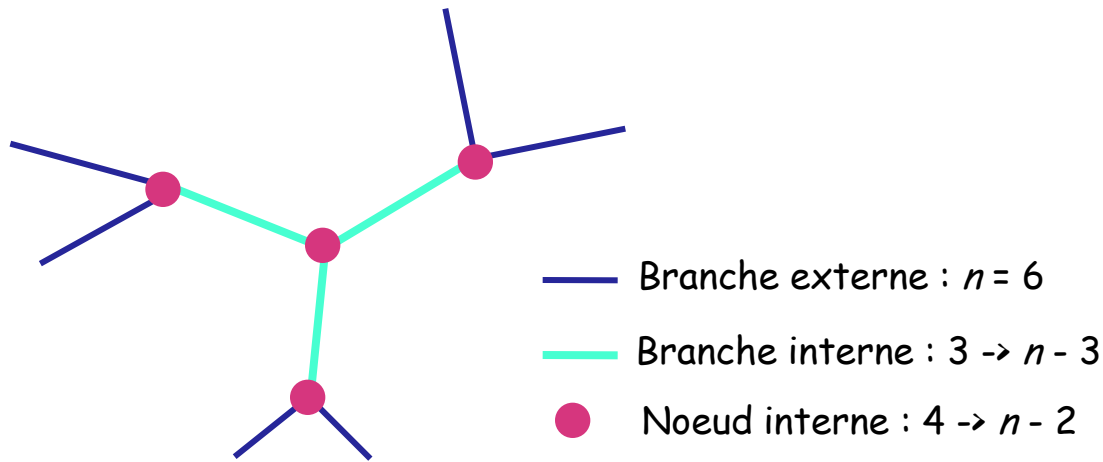
## Trouver l'arbre

Si à la place de vouloir placer une racine dans l'exemple précédent, on voulait ajouter une 5<sup>ème</sup> OTU, on aurait également 19 possibilités (sur chacune des branches) donc 19 arbres possibles.

Le calcul du nombre d'arbres non enracinés possibles présentant 3 segments par nœuds internes repose sur le raisonnement récursif suivant (Edwards et Cavalli-Sforza, 1964) :

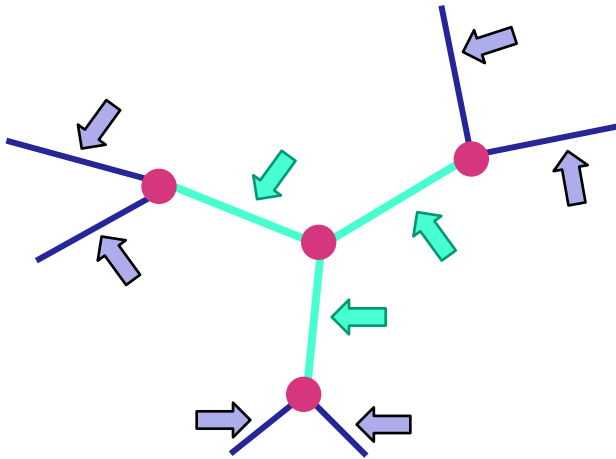
Un arbre composé de  $n$  OTU possède :

- $n$  branches externes (une pour chaque feuille de l'arbre)
- $n-3$  branches internes
- $n-2$  nœuds internes



## Trouver l'arbre

Si on veut rajouter une nouvelle OTU, on peut soit la positionner sur une branche interne ou une branche externe. On a donc  $n+(n-3)$ , soit  $2n-3$  possibilités.



Si  $T_{n-1}$  est le nombre d'arbres non enracinés possibles pour  $(n-1)$  OTU, ce nombre sera pour  $n$  OTU :

$$T_n = T_{n-1} \times (2(n-1) - 3) = T_{n-1} \times (2n - 5)$$

On peut donc écrire :

$$T_n = \prod_{k=3}^n (2k - 5)$$

# Trouver l'arbre

Nombre de topologies d'arbres non racinées binaires pour  $n$  taxons

$$Tn = \prod_{k=3}^n (2k-5)$$

$$N_{arbres} = 3.5.7...(2n-5) = \frac{(2n-5)!}{2^{n-3}(n-3)!}$$

Arbre binaire = d'un ancêtre, seuls deux organismes peuvent diverger

n	N <sub>arbres</sub>
4	3
5	15
6	105
7	945
...	...
10	2.027.025
...	...
20	$\sim 2 \times 10^{20}$

Construire un arbre d'évolution de **10 espèces** revient à **réfuter 2.027.024** cas possibles

## Trouver l'arbre

Nombre de topologies d'arbres racinées binaires pour  $n$  taxons s'obtient en suivant le même raisonnement, on a alors :

$$Tn_r = \prod_{k=2}^n (2k-3) = \frac{(2n-3)!}{2^{n-3}(n-3)!}$$

Soit pour  $n = 10$ , 34 459 425 arbres racinés possibles.

La recherche de l'arbre vrai par énumération de tous les arbres possibles devient irréalisable pour des grandes valeurs de  $n$  ( $> 10$ ).

Donc développement de stratégie efficace pour trouver cet arbre.

Mais comment identifie-t-on l'arbre vrai?

Hypothèse : on recherche l'arbre le plus parcimonieux ou le plus vraisemblable.

# Méthodes de reconstruction phylogénétique

## Quatre familles principales de méthodes :

- Parcimonie : à partir d'un ensemble de caractères choisis.
- Méthodes de distance : à partir de distances établies sur un ensemble de caractères.
- Méthodes du maximum de vraisemblance : à partir des probabilités de l'apparition des transformation d'un état de caractères en un autre.
- Approche bayésienne