Filogenetik ağacın qurulması. MEGA: Molekulyar Təkamül Genetika Analizi

MEGA11 ilə Filogenetik Ağaç Yaratma

Molekulyar Təkamül Genetik Analizi (MEGA), molekulyar təkamülün statistik təhlilini aparmaq və filogenetik ağaclar qurmaq üçün istifadə olunan bir kompüter proqramıdır. Filogenomika və filotibbi tədqiqatlar üçün bir çox inkişaf etmiş üsul və alətləri özündə birləşdirir. Bu proqram lisenziyalı, amma pulsuz olaraq təqdim olunur.

MEGA11 proqramından istifadə edərək filogenetik ağacınızı qura bilərsiniz.

Filogenetik ağac (təkamül ağacı), bioloji ardıcıllıqların təkamül tarixinin qrafik təsviridir və onlar arasındakı təkamül əlaqələrini vizuallaşdırmağa imkan verir.

Təkamül Yer üzündə həyatın müxtəlifliyini izah edir və təkamül əlaqələrini anlamaq, müxtəlif orqanizmlər arasındakı mənşə və əlaqələri başa düşməyimizə kömək edir. Molekulyar filogeniya, DNT və ya zülal ardıcıllıqları kimi molekulyar məlumatlardan istifadə edərək filogenetik ağaclar qurmaqla təkamül tarixini və əlaqələri anlamağımıza kömək edən bioinformatikanın mühüm bir sahəsidir.

Filogenetik ağaç üçün homoloq DNA dizilərinin tapılması

Homoloq (oxşar) DNA dizilərinin əldə edilməsi:

Filogenetik ağac qurmaq üçün, sorğu dizinizlə müqayisə edəcəyiniz homolog, yəni genetik cəhətdən oxşar olan digər diziləri əldə etməlisiniz. Bunu etmək üçün NCBI BLAST vasitəsilə GenBank-da bənzər diziləri tapmalısınız.

NCBI BLAST istifadə qaydası:

1.NCBI BLAST veb saytına daxil olun:

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

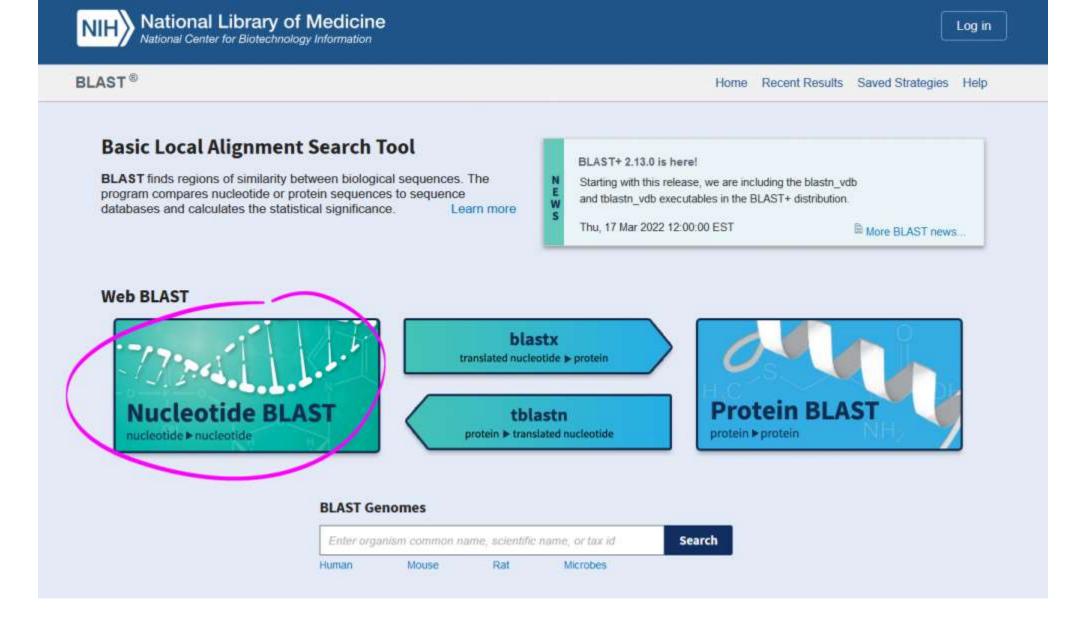
2. Nükleotid dizilərin müqayisəsi üçün "Nucleotide BLAST" (blastn) seçin:

- •BLAST səhifəsində "Nucleotide BLAST" və ya "blastn" variantını tapıb seçin.
- •Bu, sorğu nükleotid dizinizin GenBank-da olan digər nükleotid dizilərlə müqayisəsini təmin edir.

3. Sorğu dizinizi daxil edin:

- •Sizin dizinizin FASTA formatında olan ardıcıllığını BLAST-a yapışdırın.
- •Parametrləri lazım olduqda tənzimləyin (məsələn, hansı verilənlər bazasında axtarış edəcəyinizi seçin).

4. Axtarışı başladın və nəticələri gözləyin:



Sorğu sətirinizi "Qoşulma nömrələrini, GI(lərini) və ya FASTA sətirlərini daxil edin" altındakı mətn qutusuna daxil edin.

BLAST® » blastn suite Standard Nucleotide BLAST blastp tblastn tblastx blastn blastx BLASTN programs search nucleotide databases using a nu-**Enter Query Sequence** Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s) @ Clear Query subrange 🔞 GCAGATGCCGAAGACCGGAATTTCGGTTTCCAGCACTTCCTTGATGGCCT ^ From TGATTGCGTAGTCGCAAGGCTCCGGGTCACCAGGGCCGTTGGACAGGA ACACGCCGTCCGGCTTCAGAGCCAGCACGTCGGCAGCCGGGGTTTGCG v CCGGAACCACGGTCACCCGGCAACCGCGCTCGACCAGCATGCGCAGG To Or, upload file Browse... No file selected. 0 Job Title carA Enter a descriptive title for your BLAST search ? Align two or more sequences ② Choose Search Set ⑤ Standard databases (nr etc.): ○ rRNA/TS databases ○ Genomic + transcript databases ○ Betacoronavirus Database ~ 0 Nucleotide collection (nr/nt) Organism exclude Add organism Optional Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown ? Exclude Optional Limit to Sequences from type material Optional You Tillia Create custom database **Entrez Query** Optional Enter an Entrez guery to limit search ? **Program Selection** Optimize for Highly similar sequences (megablast) More dissimilar sequences (discontiguous megablast) Somewhat similar sequences (blastn) Choose a BLAST algorithm ? BLAST Search database Nucleotide collection (nr/nt) using Discontiguous megablast (Optimize for more dissimilar sequences) Show results in a new window

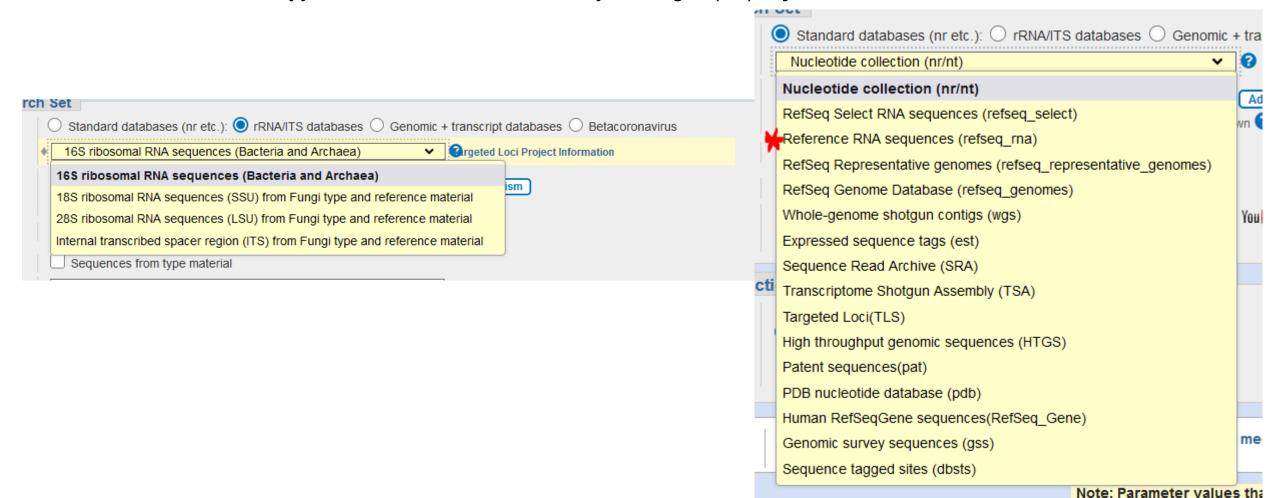
Note: Parameter values that differ from the default are highlighted in yellow and

Verilənlər bazanızı seçin

Çoxlu genlər üçün Standart verilənlər bazası – Nükleotid kolleksiyası ən uyğundur.

Ancaq 16S rRNA/ITS diziləri üçün isə rRNA/ITS verilənlər bazası və ya Standart verilənlər bazası – Referans RNA dizilərini seçə bilərsiniz.

Bu verilənlər bazaları müəyyən bir növün 16S rRNA və ya ITS gen(ler)i üçün nümunəvi diziləri ehtiva edir.



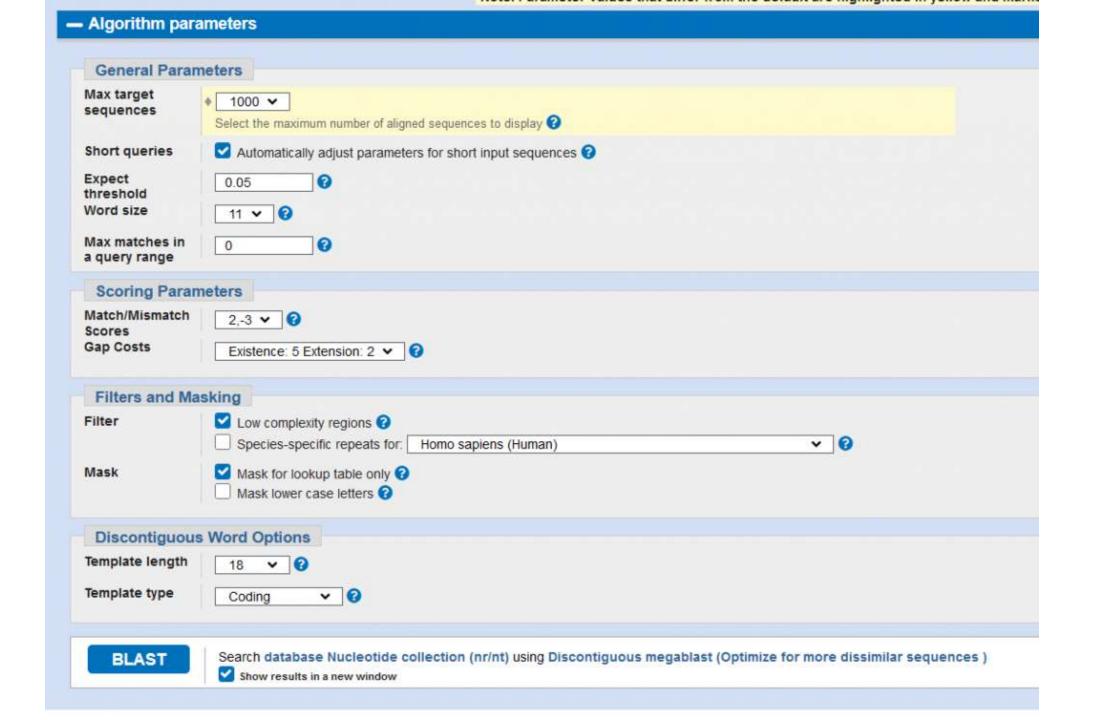
BLAST programınızı seçin

"Çox yüksək oxşar dizilər" sizin sorgu dizinizə ən yaxın əlaqəli diziləri verəcəkdir (bir növü sürətlə tanımaq üçün yaxşıdır, adətən yalnız %95-dən yuxarı oxşarlığa malik çoxlu uyğunluqlar olur, buna görə cins səviyyəsində identifikasiya üçün faydalıdır).

"Daha fərqli dizilər" isə sorgu dizinizə o qədər bənzəməyən diziləri verəcəkdir (daha az yüksək oxşarlığa malik uyğunluqlar olur, bu isə müxtəlif növləri və hədəf suşunuzun bu növlərlə necə əlaqəli olduğunu göstərən bir ağac qurmaq üçün yaxşıdır).

%95-dən yuxarı oxşarlığa malik çoxlu uyğunluq verən cinslər/növlər üçün istəyə bağlıdır (məsələn, Pseudomonas): "Algoritm Parametrləri"nə klikləyin və "Maksimum hədəf dizilər" sayını dəyişdirin.

Cinsinizin/növünüzün nə qədər yaxın əlaqəli uyğunluq tapacağına bağlı olaraq, bu sayı 100-dən 500-1000-ə dəyişdirə bilərsiniz.



Nəticələrinizi əldə etmək üçün BLAST

düyməsir BLAST® » blastn suite » results for RID-KH9RUMJV013 Home Recent Results Saved Strategies Help Save Search < Edit Search Search Summary > How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page Job Title carA Filter Results RID KH9RUMJV013 Search expires on 10-03 04:45 am exclude Organism only top 20 will appear Download All > Type common name, binomial, taxid or group name Program BLASTN @ Citation ~ + Add organism Database nt See details > Query ID Icl|Query 60327 Percent Identity E value Query Coverage Description None to to to Molecule type dna Reset Filter Query Length 704 Distance tree of results MSA viewer 3 Other reports Graphic Summary Descriptions Alignments Taxonomy Select columns ♥ Show 1000 ✔ Sequences producing significant alignments Download ~ Select all 1000 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer Scientific Name Description Accession Pseudomonas fluorescens strain DR397 chromosome, complete genome 0.0 99.43% 6418441 CP048408.1 Pseudomonas sp. DR 5-09 chromosome, complete genome 98.43% 6427864 CP011566.1 Pseudomonas sp. 3-2 chromosome, complete genome Pseudomonas sp... 1195 99% 0.0 97.72% 6441476 CP081200.1 Pseudomonas glycinae strain MS586 chromosome, complete genome Pseudomonas gly... 1186 99% 0.0 97.44% 6396728 CP014205.2 Pseudomonas sp. HS6 chromosome, complete genome 0.0 97.44% 6547752 CP067412.1 Pseudomonas sp... Pseudomonas kribbensis strain 46-2 chromosome, complete genome Pseudomonas kn. 0.0 97.29% 6324282 CP029608.1 Pseudomonas sp. IzPS59 chromosome, complete genome Pseudomonas sp.... 1181 99% 0.0 97.29% 6381635 CP062251.1 Pseudomonas syringae isolate int/918 chromosome, complete genome Pseudomonas syr... 1177 99% 0.0 97.15% 6381237 CP024646.1 Pseudomonas fluorescens strain NEP1 genome Pseudomonas flu... 1177 99% 0.0 97.15% 6313875 CP022313.1 Pseudomonas fluorescens strain MS82 chromosome, complete genome Pseudomonas flu. 1172 99% 0.0 97.01% 6207556 CP028826.1 Pseudomonas sp. B21-021 chromosome, complete genome 0.0 97.01% 6494068 CP087192.1 Pseudomonas sp.... 1172 99%

Filogenetik ağacınızı yaratmaq üçün təxminən 20-30 seçim (dosya) etməlisiniz.

Bütün dizilərin seçimini ləğv edin və diziləri əl ilə seçin — bu hissə ən vacibdir!

Yalnız ən yüksək oxşarlığa (90-100% arasında) malik diziləri seçməyin, həmçinin 90%-dən aşağı oxşarlığa malik

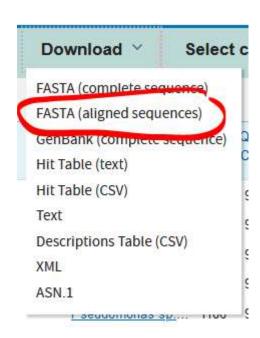
bəzi xarici qruplara (outgroup) da ehtiyacınız olacaq.

Ən yaxşı ağacı əldə etmək üçün dizilərin yaxşı yayılmış olduğundan əmin olun.

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Download ~ Select columns Y Show 1000 ~ Sequences producing significant alignments select all 21 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer Acc Description Scientific Name Accession Len Pseudomonas fluorescens strain DR397 chromosome, complete genome Pseudomonas flu. 1249 99% 99.43% 6418441 CP048408.1 Pseudomonas sp. DR 5-09 chromosome, complete genome Pseudomonas sp.... 1217 99% 0.0 98.43% 6427864 CP011566.1 Pseudomonas sp. 3-2 chromosome, complete genome Pseudomonas sp.... 1195 99% 97.72% 6441476 CP081200.1 Pseudomonas glycinae strain MS586 chromosome, complete genome Pseudomonas gly... 1186 99% 97.44% 6396728 CP014205.2 Pseudomonas sp. HS6 chromosome, complete genome Pseudomonas sp.... 1186 99% 97.44% 6547752 CP067412.1 Pseudomonas kribbensis strain 46-2 chromosome, complete genome Pseudomonas kri... 1181 99% 97.29% 6324282 CP029608.1 Pseudomonas sp. IzPS59 chromosome, complete genome Pseudomonas sp.... 1181 99% 97.29% 6381635 CP062251.1 Pseudomonas syringae isolate inb918 chromosome, complete genome Pseudomonas svr... 1177 99% 97.15% 6381237 CP024646.1 Pseudomonas fluorescens strain NEP1 genome Pseudomonas flu... 1177 99% 97.15% 6313875 CP022313.1 Pseudomonas fluorescens strain MS82 chromosome, complete genome Pseudomonas flu... 1172 99% 97.01% 6207556 CP028826.1 Pseudomonas sp. B21-021 chromosome, complete genome-97.01% 6494068 CP087192.1 Pseudomonas sp.... 1172 99% Pseudomonas gozinkensis strain IzPS32d chromosome, complete genome 97.01% 6563527 CP062253.1 Pseudomonas go... 1172 99% Pseudomonas sp. FIT81 chromosome, complete genome Pseudomonas sp.... 1170 99% 97.00% 6492796 CP075567.1 Pseudomonas fluorescens Pf0-1, complete genome Pseudomonas flu... 1168 99% 96.87% 6438405 CP000094.2 Pseudomonas fluorescens strain YK-310 chromosome, complete genome Pseudomonas flu... 1159 99% 96.58% 6498941 CP071797.1 Pseudomonas kribbensis strain H38E-23 chromosome, complete genome 96.44% 6164383 CP090355.1 Pseudomonas kri... 1154 99% Pseudomonas fluorescens strain G7 chromosome, complete genome Pseudomonas flu... 1150 99% 0.0 96.30% 6336169 CP027561.1 Pseudomonas sp. IAC-BECa141 chromosome, complete genome Pseudomonas sp.... 1150 99% 96.30% 6221060 CP065410.1 Pseudomonas allokribbensis strain IzPS23 chromosome, complete genome Pseudomonas all... 1150 99% 96.30% 6565027 CP062252.1 Pseudomonas sp. BW7P1 chromosome 95.73% 6113052 CP103374.1 Pseudomonas sp.... 1131 99% CONTRACTO I

Ardıcıllıqları seçməyi bitirdikdən sonra endirməyə keçin və FASTA (düzləşdirilmiş ardıcıllıqlar) üzərinə klikləyin; Bu, .txt faylını endirəcək.



Massivləri FASTA formatında göstərəcək .txt

File Edit Format View Help >CP048408.1:1165683-1166384 Pseudomonas fluorescens strain DR397 ■ ATGACCGGCTATCAGGAAATCCTTACCGATCCTTCCTACGCCCAACAGATCGTTACCCTGACTTACCCGCACATCGGCAA CACCGGCACGACGCCGGAAGACGCCGAGTCCGACCGCGTCTGGTCCGCTGGTCTGGTCATCCGTGACCTGCCGCTGGTAG CGAGCAACTGGCGTAACACGATGTCCCTGTCCGATTACCTGAAAGCCAACAATGTTGTGGCAATCGCCGGTATCGACACC CGCCGCCTGACCCGCATCCTGCGTGAAAAAGGCGCACAGAACGGCTGCATCATGGCCGGCGACAACATCTCCGAAGAGGC GGCCATCGCCGCTGCGCAAGGCTTCCCGGGCCTGAAGGGCATGGATCTGGCGAAAGTCGTCAGCACCAAGACCCAATACG AATGGCGCTCCACTGTCTGGGATCTGAAAACCGACAGCCACGCGACCATCGAAGCCTCCGAGCTGCCATACCACGTGGTT GCCTACGACTACGGCGTCAAGGTCAACATCCTGCGCATGCTGGTCGAGCGCGGTTGCCGCGTGACCGTGGTTCCGGCGCA AACCCCGGCTGCCGACGTGCTCGAAGCCGGACGGCGTGTTCCTGTCCAACGGCCCTGGTGACCCGGAGCCTTGCG ACTACGCAATCAAGGCCATCAAGGAAGTGCTGGAAACCGAAATTCCGGTCTTCGGCATCTGC >CP014205.2:4250167-4250868 Pseudomonas glycinae strain MS586 chromosome, complete genome GCAGATGCCGAAGACCGGAATTTCGGTTTCCAGCACTTCCTTGATCGCTTTGATCGCGTAGTCGCAAGGCTCTGGATCAC CAGGACCGTTGGACAGGAACACGCCGTCCGGCTTCAAGGCCAGCACATCGGCCGCGGAGTTTGCGCCGGCACCACGGTC ACGCGGCAACCGCGCTCGACCAGCATGCGCAGGATGTTGACCTTGACGCCGTAGTCGTAGGCAACCACGTGGTAAGGCAG CTCGGACGCTTCGATGGTCGCGTGGCTGTCGGTTTTCAGATCCCAGACAGTGGAGCGCCATTCGTATTGGGTCTTGGTGC TGACGACTTTCGCCAGATCCATGCCCTTCAGGCCCGGGAAGCCTTGCGCCGCGGCGATGGCCGCTTCTTCGGAGATGTTG TCGCCGGCCATGATGCAGCCGTTCTGTGCGCCTTTTTCACGCAGGATGCGGGTCAGGCGGGGGTGTCGATACCGGCGAT CGCCACAACATTGTTGGCTTTCAGGTAATCGGACAGGGACATCGTGTTACGCCAGTTGCTCGCTACCAGCGGCAGGTCAC GGATGACCAGGCCAGCGGACCAGACGCGATCGGACTCGGCGTCTTCCGGCGTGGTGCCGGTGTTGCCGATGTGCGGGTAA GTCAGGGTAACGATCTGTTGGGCGTAGGAAGGATCGGTAAGGATTTCCTGATAGCCGGTCAT >CP029608.1:929257-929958 Pseudomonas kribbensis strain 46-2 chromosome, complete genome ATGACCGGCTATCAGGAAATCCTTACCGATCCTTCCTACGCCCAACAGATCGTTACCCTGACTTACCCGCACATCGGCAA CACCGGCACCACGCCGGAAGACGCCGAGTCCAATCGCGTCTGGTCCGCTGGCCTGGTCATCCGTGACCTGCCGCTGGTAG CGAGCAACTGGCGTAACACGATGTCCCTGTCCGACTACCTGAAAGCCAACAACGTTGTGGCAATCGCCGGTATCGACACC CGTCGCCTGACCCGCATCCTGCGTGAAAAAGGCGCACAGAACGGCTGCATCATGGCCGGCGACAACATCTCCGAAGAAGC GGCCATCGCCGCTGCGCAAGGCTTCCCGGGCCTGAAGGGCATGGACCTGGCGAAAGTCGTCAGCACCAAGACCCAATACG AATGGCGCTCCACTGTCTGGGATCTGAAGACCGACAGCCACGCGACCATCGAAGCCTCCGAGCTGCCATACCACGTGGTT GCCTACGACTACGGCGTCAAGGTCAACATCCTGCGCATGCTGGTCGAGCGCGGTTGCCGCGTGACCGTAGTGCCAGCGCA AACCCCGGCTGCCGACGTGCTGGCCCTGAATCCGGATGGCGTGTTCCTGTCCAACGGCCCTGGTGACCCGGAGCCTTGCG ACTACGCGATCAAGGCGATCAAGGAAGTGCTGGAAACCGAAATTCCGGTGTTCGGCATCTGC >CP014947.1:1524868-1525569 Pseudomonas koreensis strain D26 chromosome, complete genome ATGACCGGCTATCAGGAAATCCTTACCGATCCTTCCTACGCCCAGCAGATCGTTACCCTGACTTACCCGCACATCGGCAA CACCGGCACCACGCCGGAAGACGCCGAGTCCGACCGCGTCTGGTCCGCTGGCCTGGTCATCCGTGACCTGCCGCTGGTAG CGAGCAACTGGCGCAACACGATGTCCCTGTCTGATTACCTGAAAGCCAACAATGTAGTGGCAATCGCCGGTATCGACACC CGTCGCCTGACCCGCATCCTGCGTGAAAAAGGCGCTCAGAACGGCTGCATCATGGCCGGCGACAACATCTCCGAAGAAGC GGCCATCGCCGCTGCGCAAGGCTTCCCAGGCCTGAAGGGCATGGACCTGGCGAAAGTCGTCAGCACCAAGACCCAATACG ΔΔΤGGCGCTCGΔCTGTCTGGGΔTCTGΔΔΔΔCCGΔCΔGCCΔCCΔTCGΔΔGCTTCCGΔGCTGCCΔTΔCCΔCGTGGTC

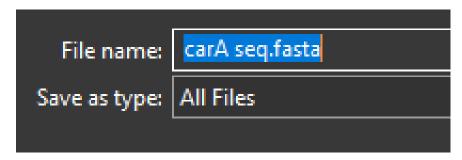
Dizilərinizi FASTA formatında əlavə edin:

açıqlama (adətən "Cins növ" olur)

DİZİ

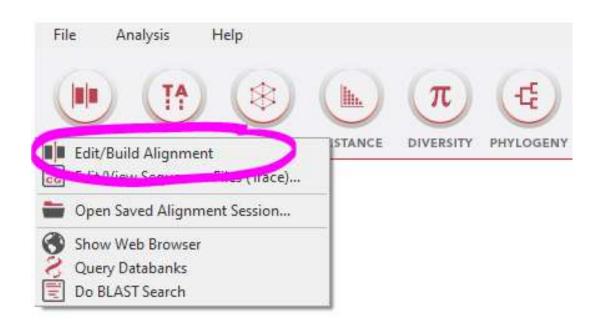
```
>Pseudomonas sp. strain P3AW
GCAGATGCCGAAGACCGGAATTTCGGTTTCCAGCACTTCCTTGATGGCCTTGATTGCGTAGTCGC
>Pseudomonas sp. strain P3BW
AGATGCCGAAGACCGGAATTTCGGTTTCCAGCACTTCCTTGATGGCCTTGATTGCGTAGTCGCA/
>Pseudomonas sp. strain AY2
CCCCAGGCAGATGCCGAAGACCGGAATTTCGGTTTCCAGCACTTCCTTGATGGCCTTGATTGCGT
>Pseudomonas sp. strain WC
ATGCCGAAGACCGGAATTTCGGTTTCCAGCACTTCCTTGATGGCCTTGATTGCGTAGTCGCAAG(
>Pseudomonas sp. strain WCY
AGGCAGATGCCGAAGACCGGAATTTCGGTTTCCAGCACTTCCTTGATGGCCTTGATTGCGTAGT(
```

1. "Kromozom, tam genom" və ya digər təkrarlanan ad əlavələrini silin, amma dosya adlarını saxlayın. Faylı MEGA11 proqramının oxuya bilməsi üçün .fasta formatında yadda saxlayın.

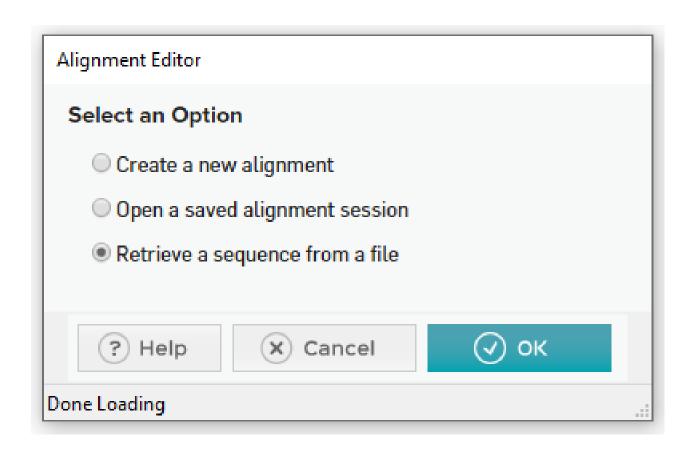


2. Dizilərinizi hizalamaq:

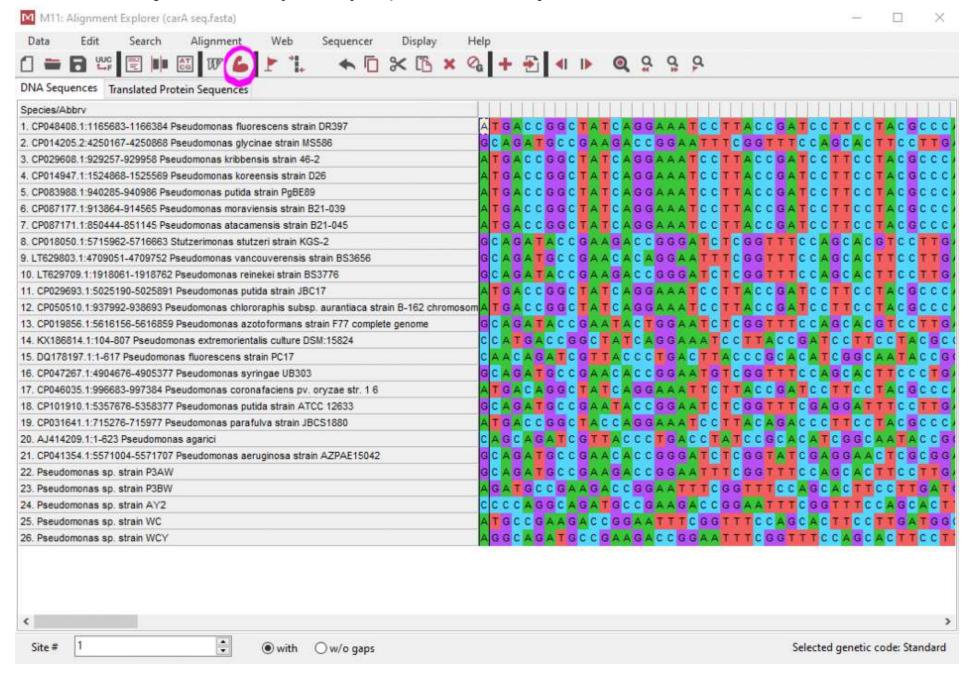
MEGA11 proqramını açın və "HİZALA - Hizalamayı Düzenle/Oluştur" bölməsinə daxil olun.

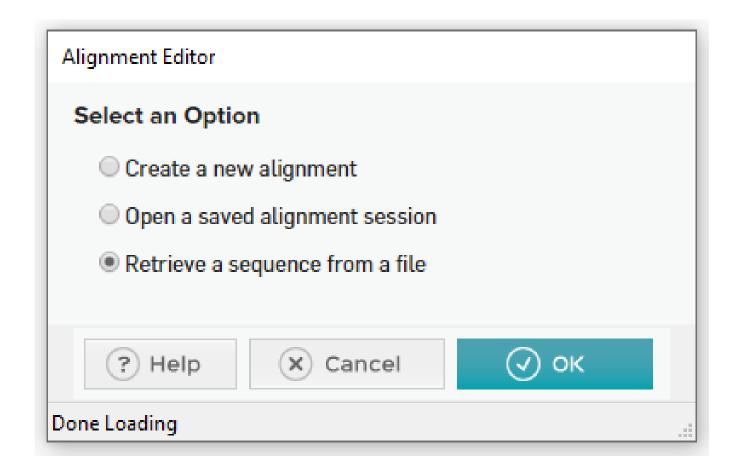


"Bir fayldan sıra al" seçimini seçin və daha əvvəl hazırladığınız .fasta faylını seçin.



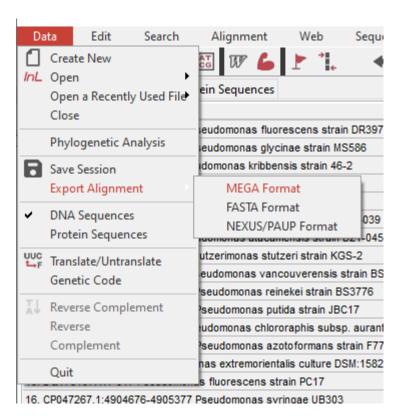
"Hizalama - KAS ilə hizala" seçiminə klikləyin və ya qırmızı 💪 emojisinə toxunun.



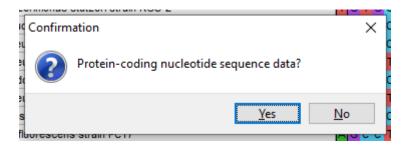


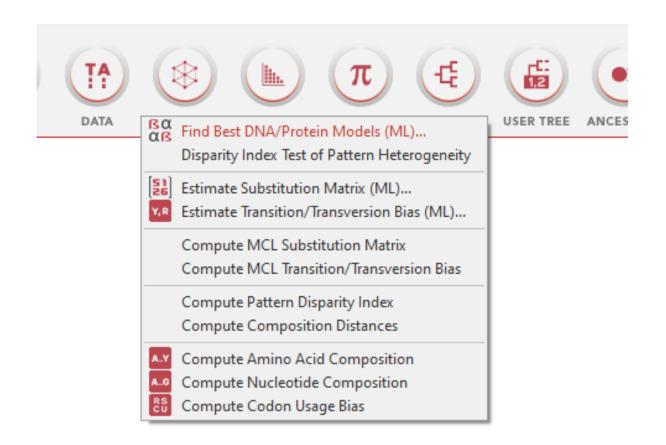
Varsayılan seçimlərlə oynamayın və sadəcə "Tamam" düyməsinə klikləyin.

Hər şey hizalandıqdan sonra, "Veri – Hizalamayı Dışa Aktar – MEGA Biçimi" bölməsinə gedin və faylı MEG formatında yadda saxlayın.



Proqram sizdən bunun zülal kodlayıb-kodlamadığını soruşacaq — 16S rRNA üçün cavab "Xeyr" olmalıdır, amma digər genlər üçün "Bəli" ola bilər.





3. Ağacın yaradılması:

Bu hissədə Maksimum Ehtimallıq (ML) ağacı quracağıq.

Proqramın verilənləriniz üçün ən yaxşı əvəzləmə modelini təyin edə bilməsi üçün "MODELS – Find Best DNA/Protein Models (ML)" seçiminə klikləyin.

1. Filogenetik ağac nədir?

Filogenetik ağac — orqanizmlər və ya genetik ardıcıllıqlar arasında təkamül əlaqələrini göstərən budaqlanmış diaqramdır. Hər budaq ayrılması (node) ümumi bir əcdadı təmsil edir.

- ₱ Filogenetik ağac müxtəlif üsullarla
 qurula bilər:
- •Uzaqlığa əsaslanan (məsələn, Neighbor-Joining)
- •Parsimoniyaya əsaslanan
- •Maksimum ehtimallıq (Maximum Likelihood,
 ML)
- •Bayes yanaşması

Maksimum ehtimallıq (ML) ağacı nədir?

ML ağacı, filogenetik ağac yaratma üsullarından biridir.

Əsas xüsusiyyətləri:

- •Sizdə bir veri (məsələn, DNA, RNA və ya zülal ardıcıllığı) olur.
- •Bu veri ilə ən yüksək ehtimalla baş vermiş təkamül ağacını hesablamaq məqsədi güdür.
- •Başqa sözlə: "Bu verilənlərə əsasən, hansı ağac ehtimal baxımından daha realdır?" sualına cavab verir.
- *Bu metod **statistik modellərə** əsaslanır və dəqiq nəticə verir, lakin hesablama baxımından ağırdır.

Xüsusiyyət	Filogenetik Ağac (Ümumi)	ML Ağac
Tərifi	Təkamül əlaqəsini göstərən ümumi quruluş	Ehtimala əsaslanaraq qurulmuş xüsusi ağac
Hesablama	Müxtəlif üsullarla aparılır	Statistik modelə əsaslanır
Dəqiqlik	Metoddan asılıdır	Adətən daha etibarlıdır
İstifadə sahəsi	Ümumi analizlər üçün	Elmi tədqiqat və dəqiq nəticələr üçün

Hər ML ağacı bir filogenetik ağacdır, lakin hər filogenetik ağac ML metodu ilə hazırlanmayıb. ML — daha dəqiq və statistik əsaslı bir yanaşmadır.

1. Uzaqlığa əsaslanan metodlar

Məsələn: Neighbor-Joining (NJ)

Təsviri:

Bu metod iki orqanizm (və ya takson) arasındakı genetik və ya fenotipik **uzaqlıqlara** əsaslanır. Bütün cütlər arasında məsafələr hesablanır və sonra bu uzaqlıqlara əsasən ağac qurulur.

Xüsusiyyətləri:

- •Sadə və sürətli hesablama metodudur.
- •Giriş məlumatı olaraq uzaqlıq matrisindən istifadə olunur (məsələn, genetik məsafələr).
- •Optimal ağac deyil, təxmini ağac verir.
- •Modelə əsaslanmır, yəni konkret təkamül modelini nəzərə almır.

Üstünlüklər:

- •Böyük verilənlər üçün sürətlidir.
- •Sıralanmış məlumatlarla yaxşı işləyir.

- •Təkamül hadisələrini və mutasiya modellərini nəzərə almır.
- ·Ağacın həqiqiliyi uzaqlıq ölçüsünün düzgünlüyündən asılıdır.

2. Parsimoniyaya əsaslanan metod (Maximum Parsimony)

Təsviri:

Bu metod ən az sayda təkamül dəyişiklikləri ilə izah olunan ağacı tapmağa çalışır. Yəni, hansı ağacda daha az mutasiya baş veribsə, o, daha inandırıcı sayılır.

Xüsusiyyətləri:

- •Dəyişikliklərin minimal sayda olduğunu fərz edir.
- •Ağacın sadəliyini ön planda tutur.
- •Model əsaslı deyil.

Üstünlüklər:

- •Asan başa düşülür.
- •Sadə və kiçik datasetlər üçün faydalıdır.

- •Homoplaziya (eyni xüsusiyyətin müstəqil şəkildə bir neçə dəfə yaranması) varsa, nəticə yanıltıcı ola bilər.
- •Məlumat miqdarı artdıqca və dəyişikliklər çox olduqca bu metod qeyri-effektiv ola bilər.

3. Maksimum ehtimallıq metodu (Maximum Likelihood, ML)

Təsviri:

Bu metod **ehtimal modellərinə** əsaslanır. Hər bir mümkün filogenetik ağac üçün, müşahidə olunan genetik məlumatların həmin ağac əsasında yaranma ehtimalı hesablanır. Ən yüksək ehtimala malik ağac seçilir.

Xüsusiyyətləri:

- •Statistiki və model əsaslıdır.
- •Təkamül modelinə (məsələn, Jukes-Cantor, GTR və s.) əsaslanır.
- •Ən uyğun ehtimal dəyəri ilə ağac seçilir.

Üstünlüklər:

- •Etibarlı və elmi əsaslı nəticə verir.
- •Mürəkkəb modelləri daxil edə bilir (məsələn, dəyişən mutasiya sürətləri).

- •Hesablama baxımından çox vaxt və resurs tələb edir.
- •Böyük datasetlər üçün yavaş ola bilər.

4. Bayes yanaşması (Bayesian Inference)

Təsviri:

Bu metod da ehtimal modellərinə əsaslanır, lakin **Bayes teoremi** tətbiq edilir. Yəni, əvvəlcədən müəyyən olunmuş ehtimallar (priorlar) ilə müşahidə olunan məlumatlara əsasən, bir ağacın nə dərəcədə mümkün olduğunu müəyyən edir. Nəticədə, **posterior ehtimallar** əldə edilir.

Xüsusiyyətləri:

- •Model əsaslı yanaşmadır.
- •Markov Chain Monte Carlo (MCMC) kimi metodlardan istifadə olunur.

Üstünlüklər:

- •Tək bir optimal ağacdan başqa, ehtimallara əsaslanan ağac paylanması əldə edilir.
- •Prior biliklər əlavə etmək mümkündür.
- •Daha kompleks analizlərə imkan verir.

- •Hesablama baxımından ən ağır metoddur.
- •Modelləşdirmə səhvləri nəticəyə mənfi təsir göstərə bilər.

Metod	Model əsaslı	Sürət	Etibarlılıq	Uyğunluq
Neighbor-	Vorre	Q# + 1 - !		Böyük
Joining	Xeyr	Sürətli	Orta	datasetlər
Parsimony	Xeyr	Orta	Zəif-Orta	Sadə hallar
Maximum	D-1:	77	77# la a. a. la	Təkamül
Likelihood	Bəli	Yavaş	Yüksək	modelləri ilə
Bayesian	Bəli Çox yavaş			Prior
Inference		Çox yavaş	Çox Yüksək	biliklərlə

Varsayılan ayarları dəyişdirməyin və Sadəcə Tamam düyməsinə basın.

Proqram hər modelin verilənlərə necə uyğun gəldiyini göstərən bir qrafik yaradacaq (daha aşağı BIC dəyəri daha

yaxşıdır).

•	•	est-Fit Substitutio	n iviodel (IVIL)							×
File Edit	View	Help								
kr 🖶 💷 🗀										
esults										
Table. Maximum Likelihood fits of 24 different nucleotide substitution models										
Model	Parameter	s BIC	AICc	InL	(+/)	(+G)	R	f(A)	f(T)	_
T92+G	52	12895.002	12489.595	-6192.645	n/a	0.63	1.43	0.193	0.193	Н
T92+G+I	53	12902.092	12488.894	-6191.288	0.00	0.63	1.43	0.193	0.193	
HKY+G	54	12912.272	12491.285	-6191.477	n/a	0.63	1.43	0.193	0.192	
TN93+G	55	12922.500	12493.722	-6191.690	n/a	0.63	1.43	0.193	0.192	
HKY+G+I	55	12925.967	12497.189	-6193.424	0.00	0.63	1.43	0.193	0.192	
TN93+G+I	56	12931.705	12495.138	-6191.392	0.00	0.63	1.43	0.193	0.192	
GTR+G	58	12946.366	12494.220	-6188.920	n/a	0.63	1.43	0.193	0.192	1
GTR+G+I	59	12952.256	12492.321	-6186.964	0.00	0.63	1.43	0.193	0.192	1
K2+G	51	13015.032	12617.416	-6257.561	n/a	0.68	1.35	0.250	0.250	1
K2+G+I	52	13024.852	12619.444	-6257.569	0.00	0.68	1.35	0.250	0.250	1
T92+I	52	13138.190	12732.783	-6314.238	0.22	n/a	1.29	0.193	0.193	
HKY+I	54	13158.090	12737.102	-6314.386	0.22	n/a	1.29	0.193	0.192	
TN93+I	55	13165.755	12736.978	-6313.318	0.22	n/a	1.29	0.193	0.192	

K2 = Kimura 2 parametrli

T92 = Tamura 3 parametrli

TN93 = Tamura-Nei

HKY = Hasegawa-Kishino-Yano

GTR = Ümumi Zaman Geri Dönüşü

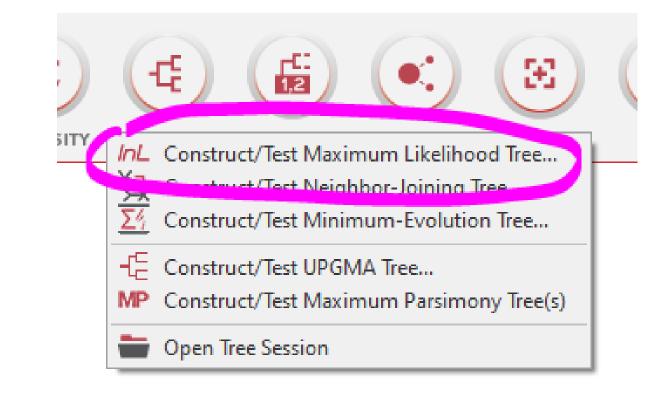
JC = Jukes-Cantor

+G = gamma paylanması

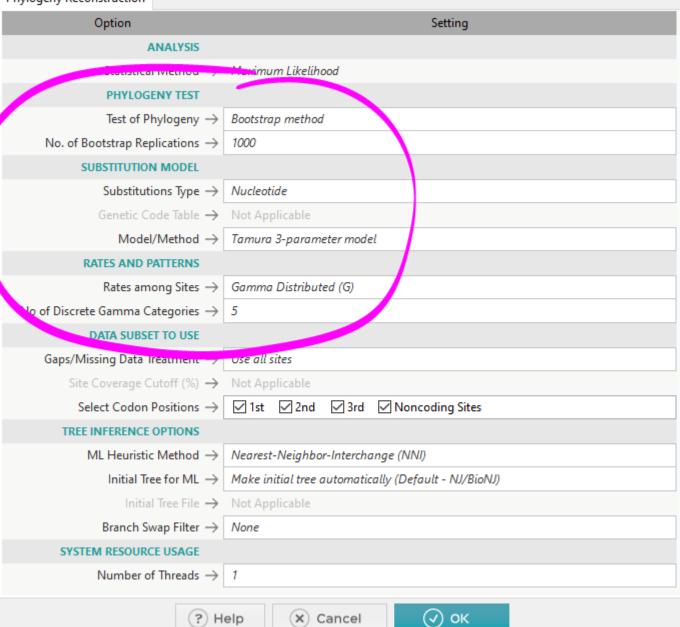
+l = dəyişməz yerlər var

+G+I = gamma paylanması və dəyişməz yerlər

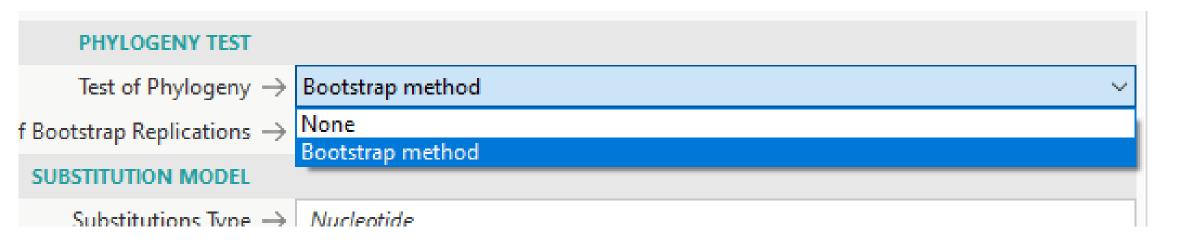
"FİLOGENİ – Maksimum Ehtimallı Ağaç Yarat/Test Et" bölməsinə keçin.



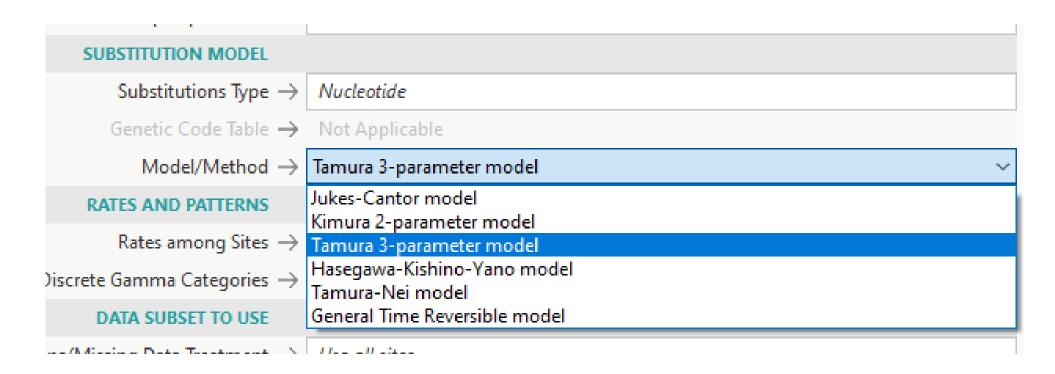
Phylogeny Reconstruction



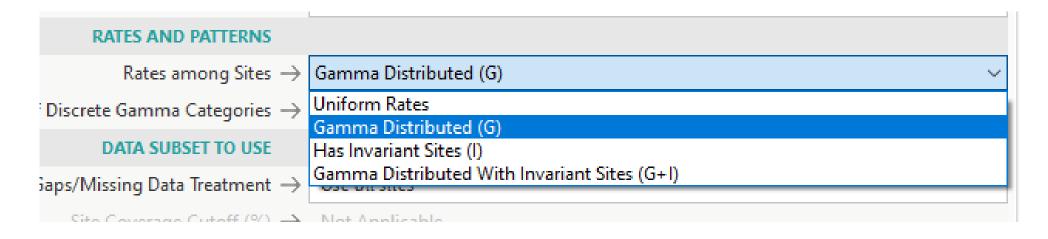
- Filogeni Testi üçün 2 seçim var: Heç biri və ya Bootstrap (Önyükleme)
- Heç biri, tək bir ağacın sürətli yaradılması üçün istifadə olunur.
- Bootstrap, son ağacdakı hər bir budağın sabitliyini/dəqiqliyini yoxlamaq üçün bir neçə ağacın simulyasiyasını ehtiva edir.
- Əgər ağacı elmi məqalədə dərc etmək istəyirsinizsə, ən azı 1000 təkrarlamalı Bootstrap seçməlisiniz (500 də uyğun ola bilər).



İkame Modeli, daha əvvəl yaratdığınız modellərdən (T92/K2/TN93 və s.) verilərinizə ən uyğun olan modeli seçməyiniz tələb olunan modeldir.



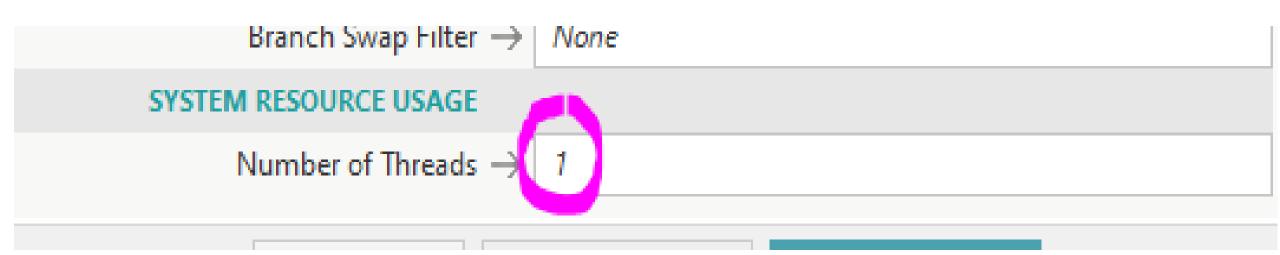
Rates and Patterns bölməsi, modeliniz bu seçimləri etməyinizi tələb edirsə, +G/+I/+G+I seçməli olduğunuz yerdir.



MEGA11 üçün, birdən çox iş parçacıqları (Sistem Resurs İstifadəsi) istifadə etmək bəzən proqramın çöküşünə səbəb ola bilər!

Tək iş parçacığı istifadə etmək təhlükəsizdir, amma yavaşdır.

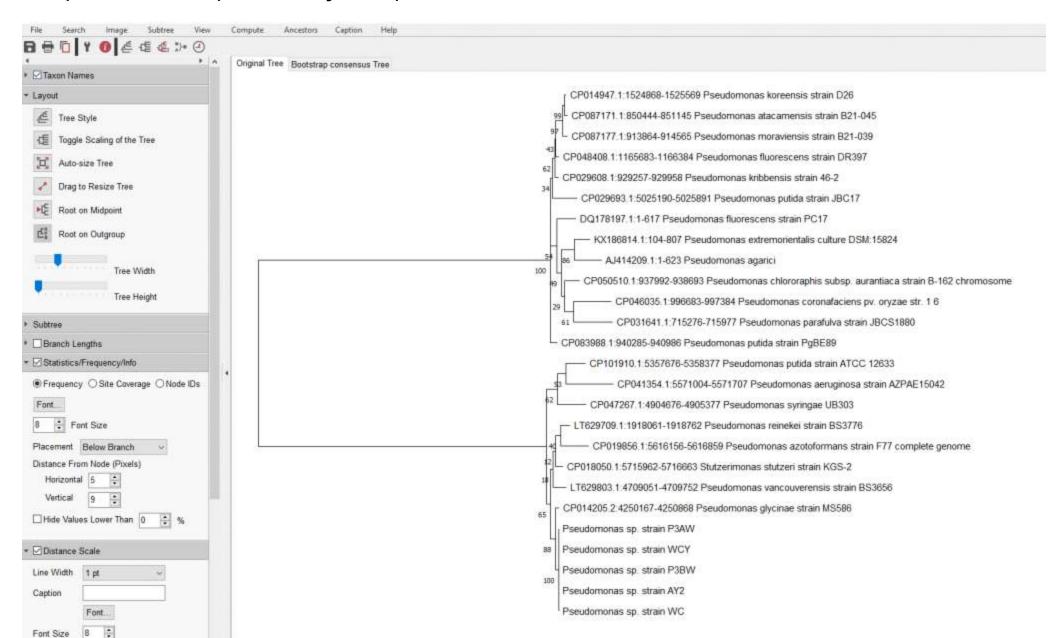
1-dən çox iş parçacığı istifadə etmək daha sürətli olar, amma simulyasiyanın ortasında çöküş riski mövcuddur.



Tamam düyməsini basın və gözləyin.

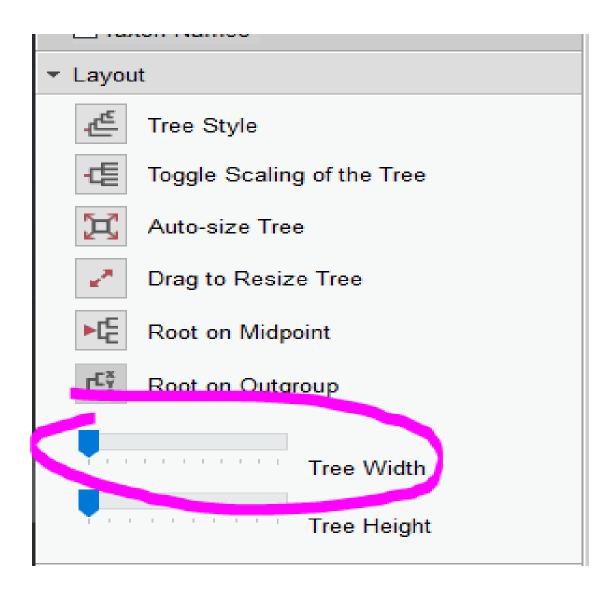
4. Ağacın görüntülənməsi və tənzimlənməsi:

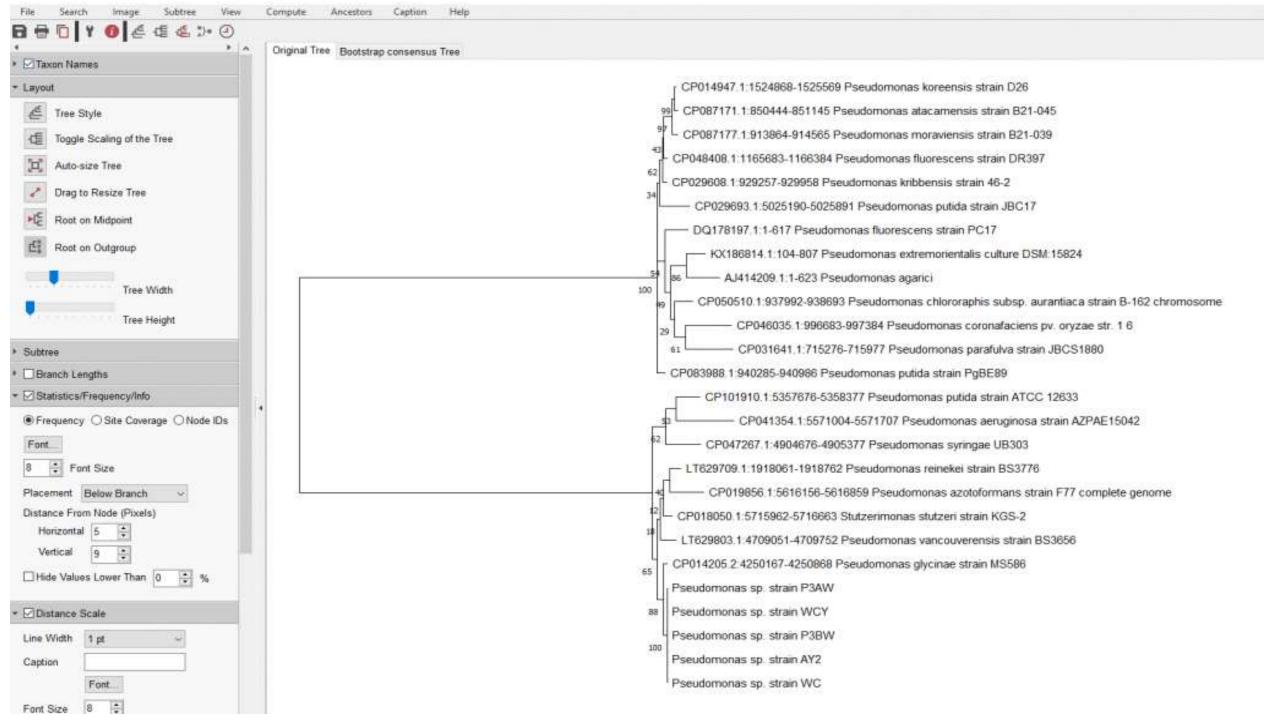
Ağac yaradıldıqdan sonra bu pəncərə açılacaq.



Gördüyünüz kimi, bütün budaqlar bir-birinə çox yaxın olduğundan, bu ağacı anlamaq çətindir.

"Düzen" bölməsinə keçin və ağacın enini tənzimləmək üçün "Ağaç Genişliği" seçimini istifadə edin.

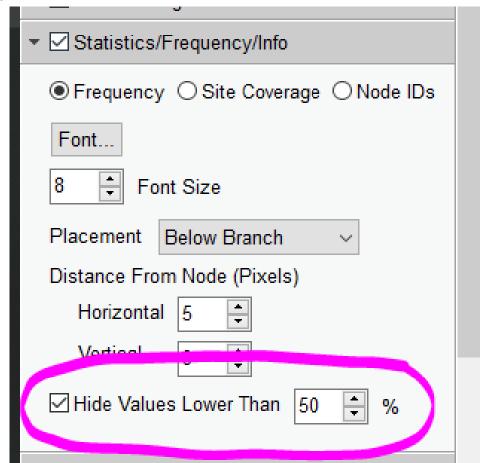




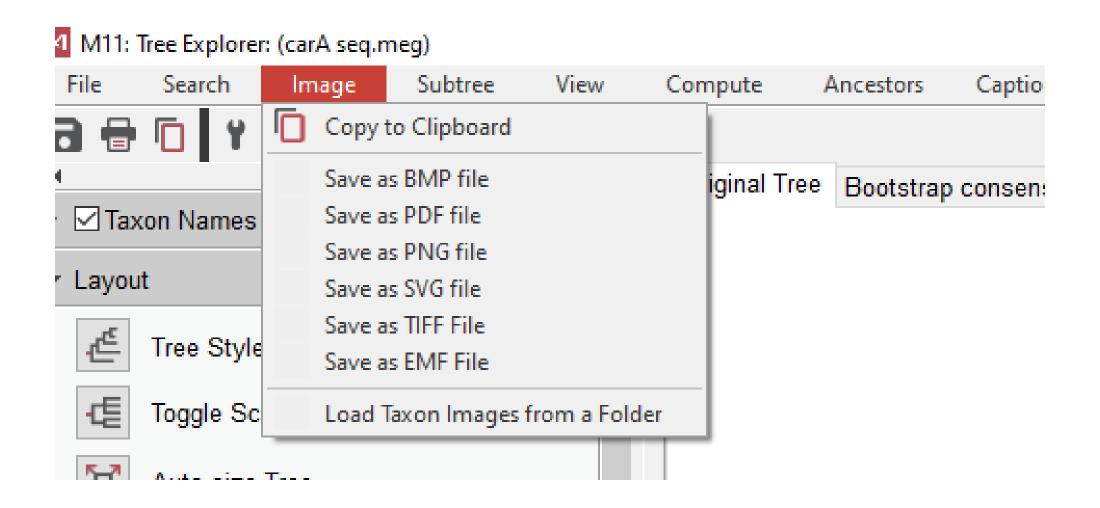
Əgər önyükleme (bootstrap) üsulundan istifadə etmisinizsə, bu rəqəmləri budaqlarda görəcəksiniz.



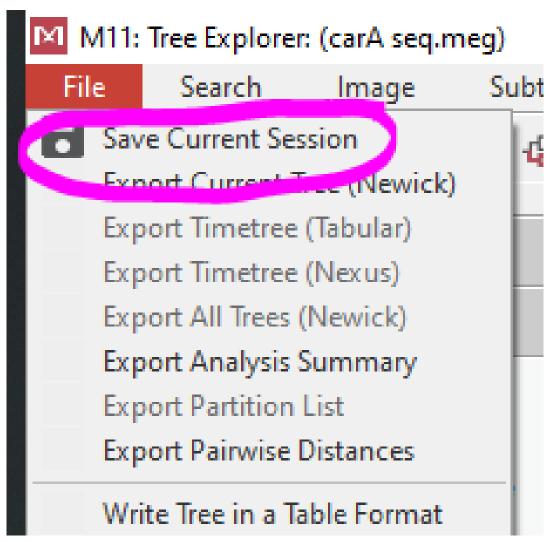
- Bu rəqəmlər, həmin budaqların 1000 təkrarda (bootstrap replikasiyasında) bu mövqelərdə neçə faiz hallarda göründüyünü göstərir.
- 70-dən aşağı olan dəyərlər şübhəli sayılır, lakin bir çox elmi məqalələr yalnız 50-dən aşağı olan dəyərləri gizlədir. 50-dən aşağı dəyərləri gizlətmək üçün aşağıdakıları edin:
- "Statistika/Tezlik/Məlumat" bölməsinə keçin,
- "__%'dən Aşağı Dəyərləri Gizlət" seçimini işarələyin və 50 rəqəmini daxil edin.



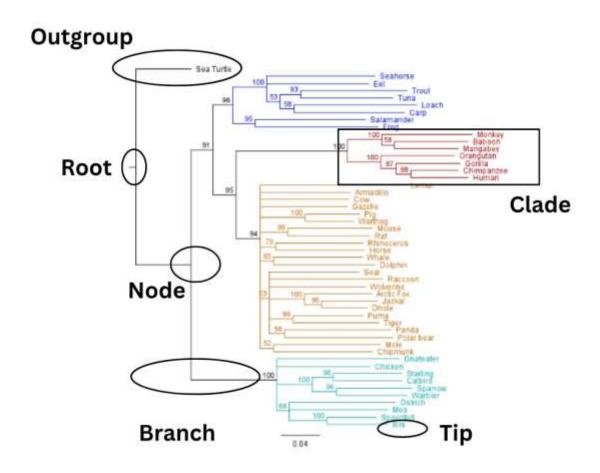
Ağacınızdan razı qaldıqda, "Görüntü" (Image/Display) bölməsinə keçin və istədiyiniz formatı seçin.



Həmçinin, ağacı MEGA11-in anlaya biləcəyi bir formatda (.mas və ya .nwk kimi) yadda saxlamaq istəyə bilərsiniz. Bu, sonradan geri qayıdıb ağacı yenidən yaratmaq üçün əlavə vaxt sərf etməyinizin qarşısını alacaq.



Filogenetik ağacın müxtəlif komponentləri.



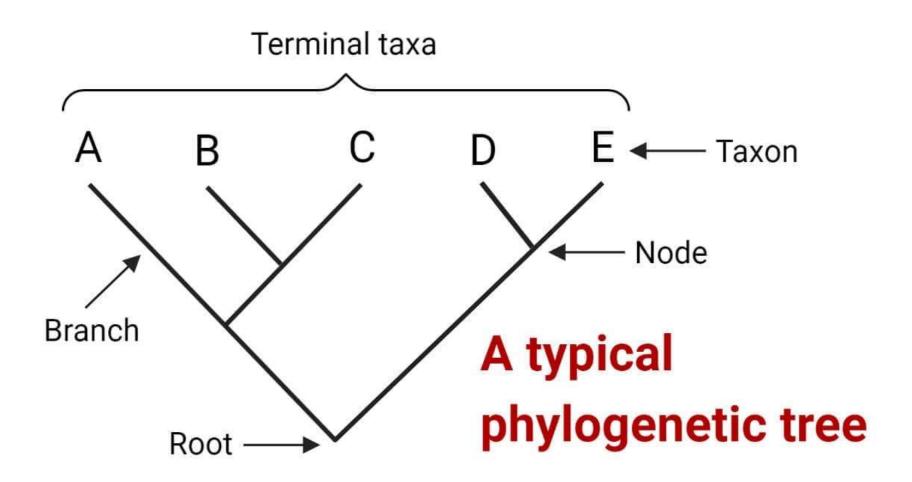
Filogenetik Ağacın Hissələri

Çox sayda olmasına baxmayaraq, filogenetik ağacların bir çox ortaq xüsusiyyətləri mövcuddur (Şəkil 2):

- Topologiya: Ağacın topologiyası, onun ümumi budaqlanma naxışını ifadə edir.
- Budaq: Budaq ümumi atasından gələn bir növü və ya qrupu təmsil edir.
- Uç (Ucluq): Budağın ucu bir növü, geni, taksonu və ya başqa bir vahidi göstərir.
- Düyün: Düyün, ondan ayrılan növlərin ümumi atasını simvollaşdırır.
- Klad: Klad ümumi bir atadan gələn və onun bütün törəmələrini əhatə edən qrupdur.
- Kök: Kök, ağacdakı bütün növlərin ümumi atasını göstərir.
- Xarici Qrup (Dış Qrup): Xarici qrup, ağacdakı digər bütün taksonlardan fərqlənən bir taksonu təmsil edir.

Filogenetika alimlərə aşağıdakı sahələrdə kömək edir:

- Növlərin təkamül tarixini anlamaq
- Növləri müəyyən etmək və təsnif etmək
- Bir xəstəliyin təkamülünü anlamaq
- Virusların necə təkamül keçirdiyini başa düşmək (məsələn, peyvənd hazırlanması üçün)



Filogenetik Ağaç Parçaları

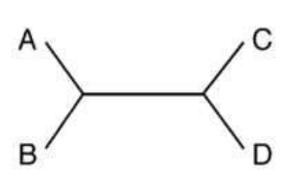
Filogenetik Ağac Növləri

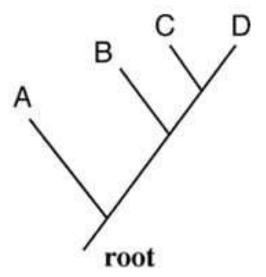
Filogenetik ağacların bir neçə fərqli növü mövcuddur. Bunlar aşağıdakı şəkildə təsnif edilə bilər:

Ortaq bir kökün olub-olmamasına əsasən

Köklü ağaclar – ağacdakı bütün orqanizmlərin ortaq əcdadını təmsil edən müəyyən bir kök düyünə sahib olan ağaclardır.

Köklü ve köksüz Filogenetik ağaçlar





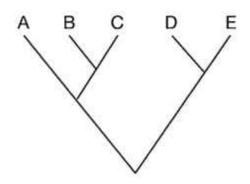
Unrooted

Rooted

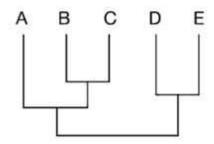
Topologiyaya əsasən

Kladogram – orqanizmlər arasındakı təkamül əlaqələrinin yalnız budaqlanma naxışını göstərən bir filogenetik ağac növüdür. Kladogramlar miqyaslandırılmamış olur, bu da budaq uzunluqlarının taksonlar və ya əməli taksonomik vahidlər (OTU'lar) arasındakı təkamül fərqliliyinin miqdarını əks etdirmədiyi anlamına gəlir.

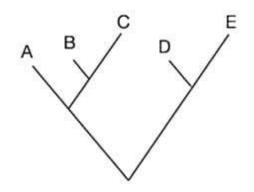
Filogram, həm budaqlanma naxışını, həm də təkamül sapmasının miqdarını göstərərək orqanizmlər arasındakı təkamül əlaqələrini təmsil edən filogenetik ağac növüdür. Filogramlar miqyaslıdır, yəni budaq uzunluqları təkamül sapmasının miqdarı ilə mütənasibdir.

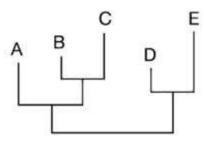


Kladogram ve Filogram



Cladogram

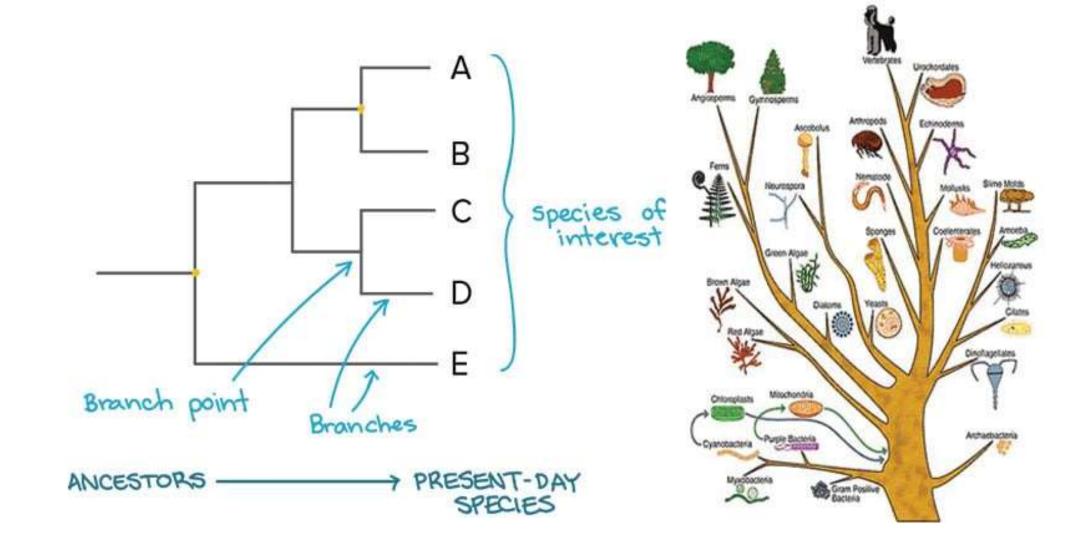




Phylogram

Filogenetik ağac necə qurulur?

Filogenetik ağac, müxtəlif orqanizmlər arasındakı əlaqəni vizual şəkildə göstərən, ortaq əcdaldan fərqli nəsləllərə qədər								
olan	evrim	zamanı	keçmiş	yolu	əks	etdirən	bir	təsviridir.
Dizgi hizalanması vasitəsilə aşkar olunan əlaqəli bioloji dizgilər arasındakı oxşarlıqlar və fərqliliklər tez-tez filogenetik								
ağacların kontekstində izah edilməli və vizuallaşdırılmalıdır. Buna görə də, molekulyar filogenetika biyoenformatikanın								
əsas sahələrindən								biridir.
Molekulyar filogenetika, əsasən DNT dizgilərində genetik və irsi molekulyar fərqlilikləri analiz edən və orqanizmlərin								
evrim	əlaqələri	haqqında	məlumat	əldə	edən	filogeniyanın	bir	qoludur.
Canlı orqanizmlərdə bioloji funksiyalar və molekulyar mexanizmlərin oxşarlığı, növlərin ortaq əcdaldan törədiyini								
güclü şəkildə göstərir. Molekulyar filogenetika, molekulların quruluşu və funksiyasını, həmçinin onların zamanla necə								
dəyişdiyin	i	istifadə	edərək	bu	evrim	əlaqələ	rini	çıxarır.
Bu analizlərdən növlər arasındakı müxtəlifliyin necə meydana gəldiyi haqqında məlumat əldə etmək mümkündür.								
Molekulyar filogenetik analizlərin nəticəsi filogenetik ağac şəklində ifadə olunur.								



Filogenetikada istifadə olunan əsas terminologiya

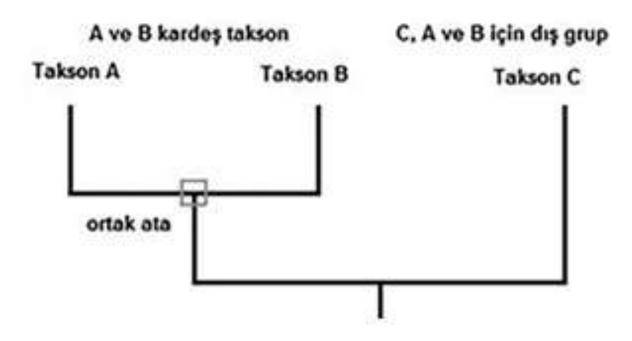
Takson

Canlıların təsnifatında, alemdən tüfə qədər bir iyerarxiya içində təşkil olunmuş vahidlərin (şöbə, sinif, dəstə, familya, cins) hər birinə "takson" deyilir. Bir qrupa takson deyilməsi üçün müəyyən bir kateqoriyaya daxil ola biləcək qədər fərqləndirici xüsusiyyətlərə sahib olması lazımdır. Ən yüksək kateqoriyalarda yerləşən taksonlar, daha aşağıdakı taksonları özündə əhatə edən pillələr şəklində göstərilir. Filogenetik ağaclardakı budaqlanma nöqtələrində yerləşirlər.

Filogenetik ağacda ortaq bir atadan törəyən, bir-biri ilə yaxın əlaqəli taksonlara isə "qardaş taksonlar" deyilir.

Xarici Qrup (Dış Grup)

Filogenetik ağacda digər bütün taksonlardan təkamül prosesində açıq şəkildə ən erkən ayrılan taksona deyilir. Digər taksonlar, xarici qrupla müqayisədə bir-biri ilə daha yaxın əlaqəlidir. Buna görə də ağacın kökünə yaxın yerləşirlər.



Filogenetik ağac vahidləri

Klan

Ortaq bir atadan gələn takson qrupuna (növ və ya populyasiyalar) "klan" və ya "monofiletik" deyilir. Bir monofiletik qrupdakı taksonların paylaşdığı bir ata, başqa heç bir takson tərəfindən paylaşılmır. Buna görə də "tək köklülük" olaraq da bilinirlər.

Polifiletik və Parafiletik Qrup

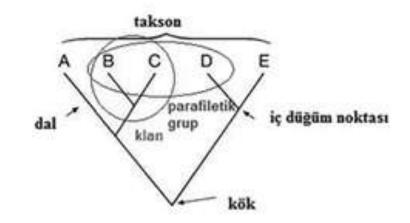
Bir neçə atadan ibarət olan növlərə "polifiletik qrup" və ya "çox köklülük" deyilir. Ortak atan bütün törəmələrini daxil etməyən bəzi qruplara isə "parafiletik qrup" deyilir.

Soy

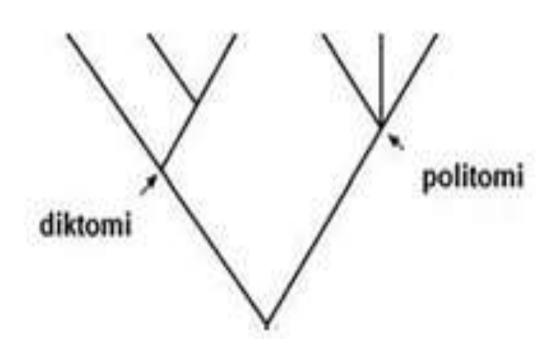
Filogenetik ağacda ata-torun əlaqəsini təyin edən və monofiletik qrupa gedən budağa "soy" deyilir.

Düyün Nöqtəsi

Filogenetik ağacda qonşu iki taksonun kəsişdiyi nöqtədir. Hər bir düyün taksonomik vahiddir. Onlar həmçinin "hipotetik taksonlar" və ya "çatallanma nöqtəsi" kimi də adlandırıla bilərlər



Dikotomi və Poliotomi filogenetik ağacın budaqlanma modelinə və ya naxışına deyilir. Bu model ayrı iki əsas budaq üzərində yarandıqda "dikotomi"; tək bir düyün nöqtəsindən yaranan ikidən çox əsas budaq üzərində yarandıqda isə "poliotomi" adlanır.

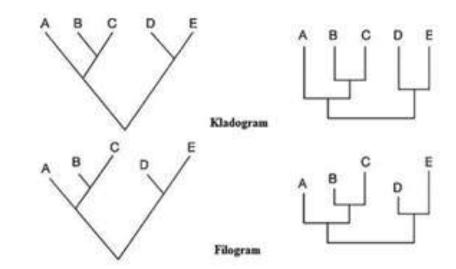


Dendrogram, Kladogram və Filogram

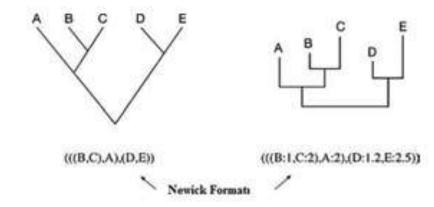
Filogenetik ağaclarda taksonlar arasındakı əlaqələr təsvir edilir. Bu təsvir dendrogram, kladogram və filogram kimi fərqli yollarla edilə bilər.

"Dendrogram" yunan dilində "ağac" (dendro) və "çizim" (gramma) sözlərindən yaranmışdır. Kümeleme və hiyerarşik ardıcıllıq əsasında verilənləri bir araya gətirən ən əsas təsvir formasıdır. Öbek ağacı kimi də tanınır.

"Kladogram" isə budaq uzunluqlarının önəmli olmadığı filogenetik ağac şəkilləridir. Buna görə budaq uzunluqları fərqli deyil və evolyusiya yaxınlığı üçün heç bir məna daşımır. "Filogram" isə budaq uzunluqlarının önəmli olduğu filogenetik ağac şəkilləridir. Budaq uzunluqları ilə evolyusiya məsafələrinin doğru nisbətdə ifadə olunduğu təsvir formasıdır.



Şekil 8. Kladogram ve Filogram



Şekil 9. Newick formatı.

İnsan və Simian İmmunçatışmazlıq Virusları (HIV və SIV)

Qazanılmış İmmunçatışmazlıq Sindromuna (AIDS) səbəb olan **HİV virusları**, meymun və insanabənzər primatlarda rast gəlinən **simian immunçatışmazlıq virusları (SIV)** ilə yaxından əlaqəlidir. Bu və digər oxşar viruslar **ret-roviruslar** kateqoriyasına daxildir. Retroviruslar **RNT genomu** daşıyır və bu genom, ev sahibinin hüceyrəsinə daxil olduqdan sonra **əks transkripsiya** yolu ilə **DNT-yə çevrilir** və ev sahibi hüceyrənin genomuna **birləşdirilir**. Bu birləşdirilmiş virus genomuna **provvirus** deyilir. Bız proviral DNT ardıcıllıqlarına baxacıq.

HİV viruslarının mənşəyi ilk dəfə 1980-ci illərdə bu viruslar aşkarlandıqda **sirli** idi. İki əsas HİV növü mövcuddur: **HİV tip 1 (HİV-1)** və **HİV tip 2 (HİV-2)**. HİV-1 daha geniş yayılıb və HİV-2 ilə müqayisədə **daha ağır xəstəliklərə** səbəb olur. Eyni zamanda, HİV-1-in **genetik müxtəlifliyi** də HİV-2-dən daha çoxdur.

Məlumat dəsti haqqında

Bizim istifadə etdiyimiz ardıcıllıqlar, müxtəlif **Afrika primat növlərindən** götürülmüş və **fərqli SIV virusları ilə yoluxmuş** nümunələrdir. Həmçinin, **Afrikadan olmayan üç Asiya mənşəli primat növü** də var ki, bu heyvanlar **nəzarət şəraitində (laboratoriyada və ya zooparkda) SIV virusları ilə yoluxdurulmuşdur**. Bu növlər bunlardır:

- Donuzquyruqlu makak (pig-tailed macaque)
- Rezus makak (rhesus macaque)
- Qısaquyruqlu makak (stump-tailed macaque)

Bu primat növlərindən əldə olunan bütün SIV virusları, şəkillərlə birlikdə verilmiş üçhərfli kodlarla adlandırılır.

Məsələn, **səcdəçi manqabe** (sooty mangabey) primatından alınan SIV virusu **SIVSMM** adlanır və **ardıcıllıqda və ya filogenetik ağacda** bu **SIV-SMM** şəklində göstərilir.

Çoxsaylı Ardıcıllıqların Aliniyası (Multiple Sequences Alignment)

arasında bir tarazlıq qurulur.

Filogenetik ağac qurulmazdan əvvəl, ardıcıllıqların aliniyası (yəni düzülməsi və uyğunlaşdırılması) aparılmalıdır. Ardıcıllığın uyğunlaşdırılmasının məqsədi, ardıcıllıqlar arasındakı oxşarlığı maksimuma çatdırmaqdır. Bu zaman zərurət olduqda boşluqlar (gaps) əlavə edilə bilər ki, ümumi uyğunluq yaxşılaşdırılsın.

Çoxlu ardıcıllıq uyğunlaşdırması üçün istifadə olunan alqoritmlər, hər bir mövqe üçün uyğunluqlara və uyğunsuzluqlara bal (skor) verən sistemlərdən istifadə edir və boşluqlar cəza xalı ilə qiymətləndirilir. Bir ardıcıllıqda boşluq əlavə etmək, ətrafdakı bazaların uyğunluğunu artıraraq ümumi uyğunlaşdırma skorunu yüksəldə bilər. Buna görə də, boşluq açma və genişləndirmə cəzası ilə uyğunluq/uyğunsuzluq skorları

Biz HIV-1, HIV-2 və müxtəlif SIV-lərə aid 62 env gen ardıcıllığını uyğunlaşdıracağəq. SIV ardıcıllıqları Afrika və qeyri-Afrika mənşəli müxtəlif primat növlərindən götürülmüşdür.

Env geni bütün retroviruslarda mövcuddur. Bu gen, virionun səthində yerləşən və virusun ev sahibi hüceyrənin səth reseptorları ilə qarşılıqlı təsir göstərən iki glikoproteini kodlayır.

'HIV_sequences' üzərinə klikləyərək ardıcıllıqları görə bilərsiniz.

Ardıcıllıqlar belə adlandırılıb: əvvəlcə virus tipi; sonra SIV-lər üçün primat növünün adi adı, HIV-1 və HIV-2 üçün isə qrup və ya subtip; sonda isə giriş nömrəsi (accession number) göstərilib.

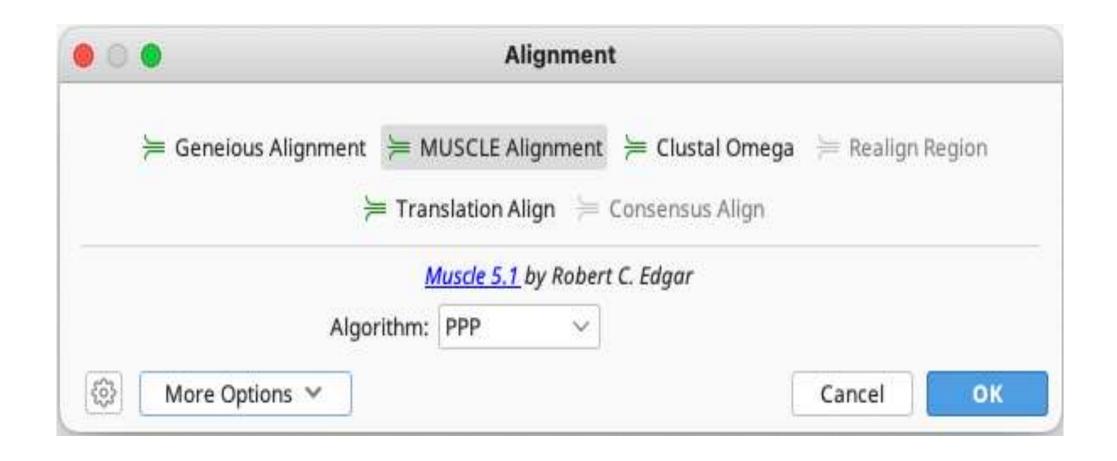
Bu ardıcıllıqları uyğunlaşdırmaq üçün Align/Assemble → Multiple Align bölməsinə keçin.

Geneious proqramında üç fərqli uyğunlaşdırma alqoritmi mövcuddur (Geneious aligner,

MUSCLE və Clustal Omega) və əlavə olaraq MAFFT aligner üçün plugin də mümkündür.

Bu nümunədə orta ölçülü məlumat dəsti üçün uyğun olan MUSCLE aligner istifadə ediləcək.

Uyğunlaşdırma seçimlərindən MUSCLE aligner-i seçin. Default (ilkin) parametrlərdən istifadə ediləcək, buna görə də, pəncərənin sol aşağı küncündəki dişli təkərə (settings cog) klikləyib "Reset to defaults" seçin (əgər boz rəngdədirsə, artıq ilkin parametrlər təyin olunub deməkdir). Əlavə parametrləri görmək istəsəniz, "More



Uyğunlaşdırma tamamlandıqdan sonra, üzərinə klikləyərək onu görüntüləyin və bazaları daha yaxından görmək üçün böyüdün (zoom in). Qeyd edin ki, çoxlu sayda böyük boşluqlar (gaps) mövcuddur – bu, fərqli növlərdə sürətlə təkamül edən bir genin uyğunlaşdırmasına xas olan bir xüsusiyyətdir.

Filogenetik Ağacın Qurulması

Biz Neighbor-Joining (Qonşuluq Birləşdirmə) ağac qurma metodu və Tamura-Nei modeli istifadə edərək bir filogenetik ağac quracıq.

Təkamül modelləri hər bir nukleotidin gözlənilən tezliyini və nukleotidlər arasında dəyişmə sürətlərini təsvir edir. Tamura-Nei modeli, hər bir bazanın fərqli tarazlıq tezliyinə sahib olduğunu fərz edir və keçidlər (transitions) və dəyişmələr (transversions) arasında fərqli sürətlə baş verməsinə icazə verir. Bu model, iki fərqli keçid növünün (A ↔ G və C ↔ T) fərqli sürətlə baş verməsini də nəzərə alır.

Bu model HIV ardıcıllıqlarını təhlil edərkən çox faydalıdır, çünki HIV-də host fermenti (APOBEC3G) tərəfindən törədilən G-dən A-ya hiper-mutasiya müşahidə olunur.

Bu ardıcıllıqlar ümumiyyətlə saat kimi sabit sürətlə təkamül etmədiyi üçün NeighborJoining metodu istifadə olunacaq.

İcra qaydası:

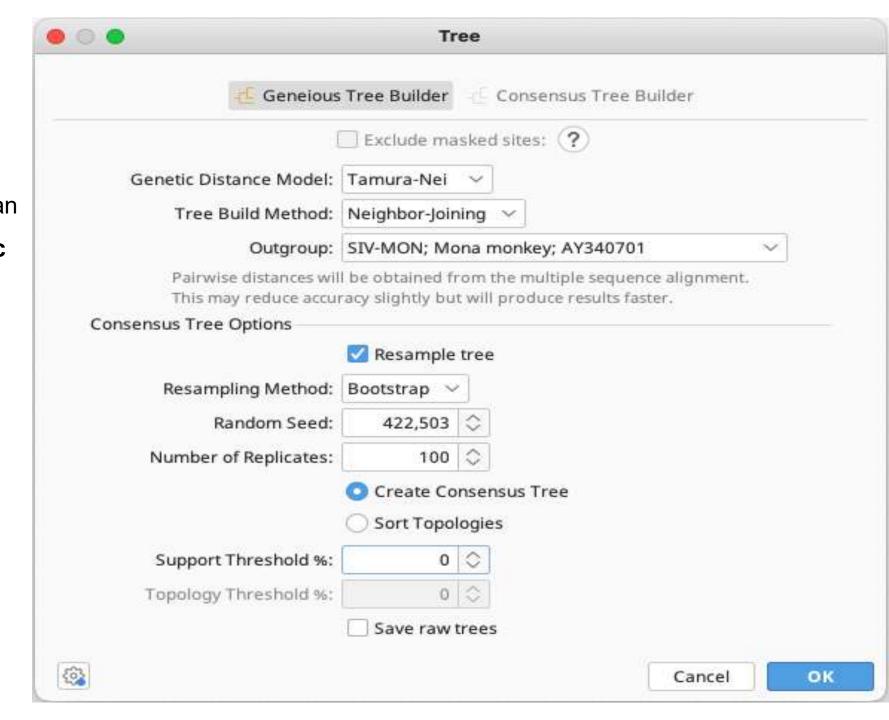
- 1. Daha əvvəl yaratdığımız uyğunlaşdırmanı (alignment) seçirik.
- 2.Tree (Ağac) düyməsinə klikləyin və Geneious Tree Builder seçin.
- 3. Əvvəlcə parametrlərin defolt olduğuna əmin olun (Reset to Defaults düyməsinə klikləyin).
- 4. Genetik məsafə modeli olaraq Tamura-Nei,
- Ağac qurma metodu olaraq isə Neighbor-Joining seçin.
- 5.Outgroup kimi "SIV-MON; Mona monkey; AY340701" seçin. Bu ardıcıllıq ağacın köklənməsi üçün istifadə olunacaq.

Dəstəkləyici dəyərləri hesablamaq üçün bootstrapping tətbiq edin:

- •Resample tree qutusunu işarələyin.
- *Resampling method bölməsindən Bootstrap seçin.
- •Təkrar sayı (replicates) olaraq 100 yazın.
- *Dəstək həddi (support threshold) olaraq isə 0 yazın.
- Ağac qurma seçimləriniz bu mərhələdə təxminən aşağıdakı kimi görünməlidir.

OK (Təsdiqlə) düyməsinə klikləyərək ağacın qurulmasına başlayın.

Ağac qurma prosesi tamamlandıqdan sonra, Geneious proqramında ağac sənədi sənədlər cədvəlində (document table) görünəcək və avtomatik olaraq açılacaq.



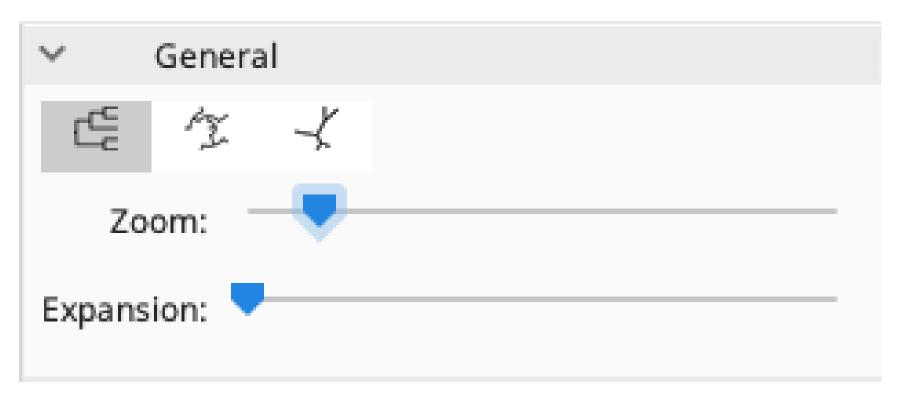
Filogenetik Ağaclara Baxmaq və Onları İdarə Etmək

Filogenetik ağac — təkamül əlaqələrini göstərən budaqlanan bir diaqramdır. Bu ağac, orqanizmlər qrupunun daxilində baş verən təkamül ayrılmalarının ardıcıllığı haqqında məlumat ehtiva edir və beləliklə, həmin orqanizmlər arasındakı əlaqələri göstərir. Eyni zamanda, iki budaqlanma hadisəsi arasında baş vermiş təkamül dəyişikliyinin miqdarı haqqında da məlumat verə bilər.

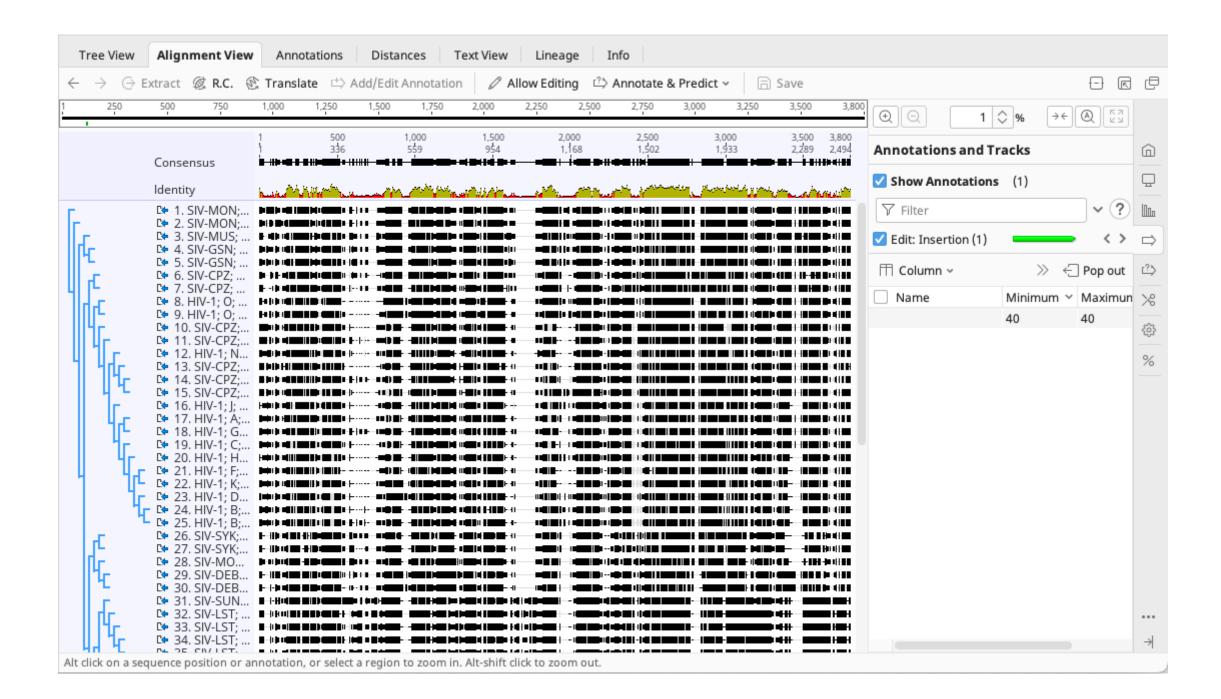
Ağacdakı xətlərə **budaqlar (branches)**, bu xətlərin kəsişmə nöqtələrinə isə **qovşaqlar (nodes)** deyilir. Bir **qovşaq**, ağacda bir budaqlanma hadisəsini təmsil edir. Ağacın budaqlanma düzülüşünə **topologiya (topology)** deyilir. Topologiya, orqanizmlərin bir-biri ilə necə əlaqəli olduğunu göstərir.

Ekranınızın ölçüsündən və ağacın böyüklüyündən asılı olaraq, bütün ardıcıllıq adlarının ağac üzərində göstərilməsi fiziki olaraq mümkün olmaya bilər. Bu səbəbdən **Geneious** proqramı yalnız bəzi ardıcıllıq adlarını göstərəcək.

- •Ağacı **böyütmək** üçün, ağac görünüşünün sağ tərəfindəki paneldə "General" bölməsinin altındakı **Zoom** (Böyütmə) sürgüsündən istifadə edin.
- •Ağac budaqları arasındakı məsafəni **genişləndirmək** üçün **Expansion (Genişlətmə)** sürgüsündən istifadə edin. Budaqlar arasındakı məsafə artdıqca, daha çox ardıcıllıq adı ağac üzərində görünəcək.



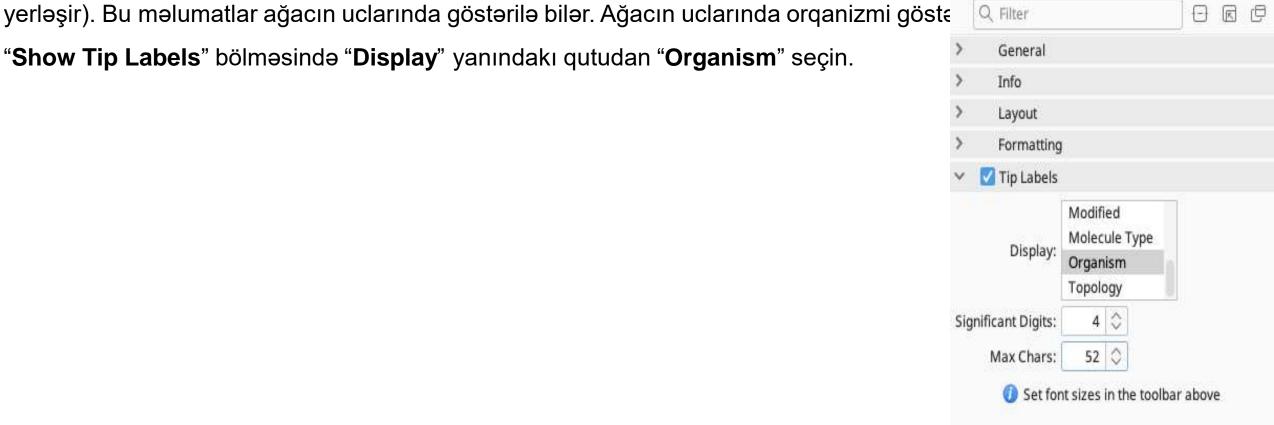
Bu ağac **Geneious** proqramında uyğunlaşdırma (alignment) istifadə edilərək yaradıldığı üçün, uyğunlaşdırma ağaca əlavə olunub. **Uyğunlaşdırmanı görmək** üçün "**Alignment View**" (Uyğunlaşdırma Görünüşü) sekmesine klikləyin.



Uyğunlaşdırmadakı ardıcıllıqlar ağacın topologiyasına uyğun şəkildə sıralanıb. Ardıcıllıq adlarının sol tərəfində ağacın topologiyasını görə bilərsiniz (əgər böyük ağaclarla işləyirsinizsə, bu görünməyə bilər). Uyğunlaşdırmada "SIV-MON; Mona monkey; AY340701" ardıcıllığını seçin və sonra "Tree View" (Ağac Görünüşü) sekmesine qayıdın. Bu zaman həmin ardıcıllıq ağacda da seçilmiş olacaq.

Bu uyğunlaşdırma və ağacın yaradılmasında istifadə edilən ardıcıllıqlarla bağlı əlavə meta-məlumatlar mövcuddur (bu məlumatlar ayrı-ayrı ardıcıllıq sənədlərinin "Info" sekmesindəki "Properties" sahəsində

"Show Tip Labels" bölməsində "Display" yanındakı qutudan "Organism" seçin.

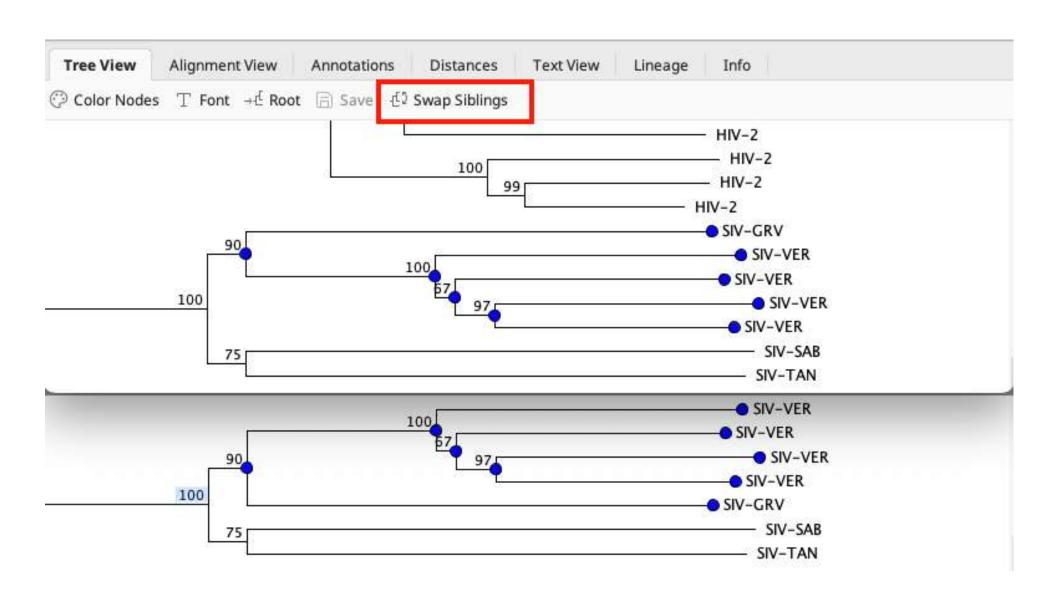


Orqanizm və sahib orqanizmi göstərmək üçün, **Ctrl** düyməsini (Windows-da) və ya **Cmd** düyməsini (Mac-də) basılı saxlayaraq "**Organism**" və "**Host Organism**" seçimlərini eyni anda seçin. Ağacın uclarında orqanizm və sahib orqanizm vergüllə ayrılmış şəkildə göstəriləcək. Ardıcıllıq adlarını ağacda göstərmək üçün "**Names**" seçimindən istifadə edin.

Necə ki bir cümlə fərqli şriftlərlə və ya fərqli mürəkkəb rəngləri ilə yazıla bilər və mənası dəyişməz, eyni şəkildə fylogenetik ağaclar da fərqli formalarda və istiqamətlərdə təqdim oluna bilər. Ağacın görünüşü dəyişsə də, ondakı məlumat dəyişmir. Məsələn, ağacın görünüşünü budaq qruplarını fırladaraq dəyişmək olar. Budanma nöqtələrini fırlatmaq üçün ağacda bir **daxili node** (budaqlanma nöqtəsi) seçin və pəncərənin yuxarısında yerləşən **Swap Siblings** (Qardaş budaqları dəyiş) düyməsini klikləyin. Bu, həmin alt-ağacdakı budaqları fırladacaq; lakin bu fırlatma dərəcədə oxşarlıq və ya qohumluğu dəyişdirmir. Ağacda iki adın bir-birinə yaxın yerləşməsi onların yaxın qohum olduqları anlamına gəlmir.

Bunu yaratdığınız ağacda sınayın: **Grivet monkey** və **dörd Vervet monkey** ardıcıllığını ehtiva edən node-u seçin və **Swap Siblings** düyməsini klikləyin.

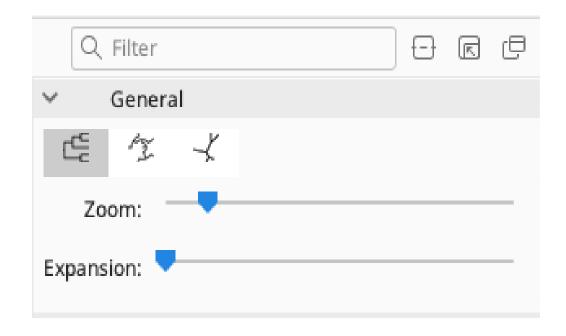
Bu nümunələrin ağacdakı sıralanması dəyişəcək, lakin Grivet meymunu nümunəsi ilə dörd Vervet meymunu nümunələri arasındakı əlaqə dəyişməyib.



Filogenetik Ağac Növlərinin Təyini

Köklü Ağaclar

Ağaclar köklü və ya köksüz ola bilər. HIV ağacını köksüz ağac kimi görmək üçün, ağac görünüşünün sağ tərəfindəki paneldə "General" seçimləri altında olan köksüz görünüşlərdən birini seçin.

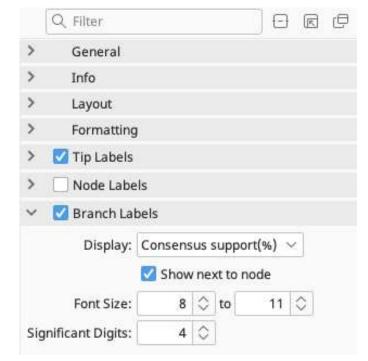


Filoqramlar və kladogramlar

Ağacın budaqlarının uzunluğu ixtiyari ola bilər (məsələn, kladogramda) və ya təkamül dəyişikliyinin miqdarını göstərə bilər (filoqramda).

Filoqramda budaqların uzunluğu budaqlanma hadisələri arasındakı dəyişiklik miqdarına mütənasib olur. Siz qurduğunuz ağac məsafə (1 – oxşarlıq) ölçüsü ilə qiymətləndirildiyi üçün (məsələn, NJ metodu ilə), düyünlərin yaxınlığı onların ümumi oxşarlıq dərəcəsini göstərir.

Ağacdakı budaqların uzunluqlarını göstərmək üçün, ağac görünüşünün sağ tərəfindəki paneldə "Show Branch Labels" altında "Display" yanında olan açılan siyahıdan "Substitutions per site" seçin.

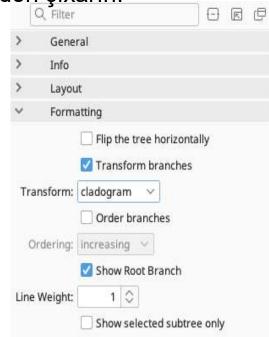


- ❖ Ağacınızda "SIV-MAC; Rhesus macaque; M33262" və "SIV-MNE; Pig-tailed macaque; U79412" nümunələrini tapın və bu iki taksonu ayıran budaqların uzunluğuna baxın. İndi isə "SIV-RCM; Red-capped mangabey; AF382829" və "SIV-RCM; Red-capped mangabey; AF349680" nümunələrini tapın və onları ayıran budaqların uzunluğunu yoxlayın. SIV-MAC və SIV-MNE ardıcıllıqlarını ayıran budaqların uzunluğu, iki SIV-RCM ardıcıllığını ayıran budaqların uzunluğundan qısadır. Bundan belə nəticəyə gələ bilərsiniz ki, SIV-MAC SIV-MNE-yə, iki SIV-RCM ardıcıllığından daha çox oxşardır.
- Ogər ağacın qiymətləndirilməsi üçün optimalik metod (məsələn, MP və ya ML) istifadə olunubsa, iki düyünün yaxınlığı onların arasındakı təkamül dəyişikliklərinin sayını əks etdirir. Ağacın kökündən bir ucdakı A orqanizminə gedən ümumi budaq uzunluğu digər ucda olan B orqanizminə gedən budaq uzunluğundan çoxdursa, demək olar ki, təkamül A sülaləsində B sülaləsinə nisbətən daha sürətli baş verib, bu ağacın əsaslandığı xarakterlər üzrə.
- Ağacı kladograma çevirmək üçün "Formatting" seçimlərində "Transform branches" qutusunu işarələyin. "Transform" yanındakı açılan siyahıdan "Cladogram" seçin.

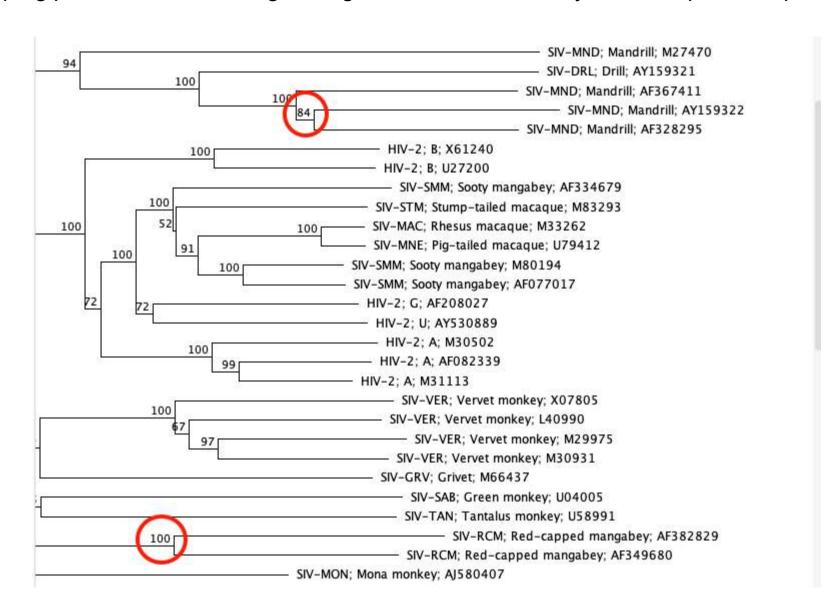
Ağacın budaq uzunluqlarının necə dəyişdiyinə diqqət edin və ağacın uclarının hamısının ağac görünüşünün sağ tərəfində düzülmüş olduğunu müşahidə edin. Bu çevirmə ilə budaqların uzunluqları artıq mənasız olur. İndi "SIV-MAC; Rhesus macaque; M33262" və "SIV-MNE; Pig-tailed macaque; U79412" nümunələrinə, sonra isə "SIV-RCM; Red-capped mangabey; AF349680" və "SIV-RCM; Red-capped mangabey; AF382829" nümunələrinə baxdıqda görəcəksiniz ki, SIV-MAC ilə SIV-MNE arasındakı budaqların uzunluğu ilə iki SIV-RCM nümunəsini ayıran budaqların uzunluğu eynidir. Bu çevrilmiş budaqlar ilə ardıcıllıqların bir-birinə nə dərəcədə oxşar olduğunu qiymətləndirmək mümkün deyil.

Ağacı yenidən filoqram (phylogram) vəziyyətinə gətirmək üçün "Transform branches" seçimini deaktiv edin.

Budaq uzunluqlarını gizlətmək üçün isə "Show Branch Labels" yanındakı qutunu işarədə<u>n çıxarın.</u>



Bir klad üçün bootstrap dəyəri, həmin kladın ən son ümumi əcdad düyününün sol tərəfində görünəcək. İndi bootstrap dəyərləri ağac üzərində göstərildiyinə görə, SIV-RCM ardıcıllarını ehtiva edən kladın güclü dəstəyə (100%) malik olduğunu görə bilərsiniz. Lakin, iki mandril ardıcıllarını ehtiva edən kladın dəstəyi daha azdır (55%). Qeyd etmək lazımdır ki, bootstrapping prosesinin təbiətinə görə, ağacınızdakı dəstək dəyərləri bir qədər fərqli ola bilər.



Bəzən az bootstrap dəstəyinə malik düyünləri sıxışdırmaq (collapse) faydalı olur ki, onlar ağacın topologiyasına təsir etməsin. Bu, ağac qurularkən bootstrapping seçimlərində Support threshold (Dəstək həddi) dəyərini dəyişməklə edilə bilər. Əgər bu dəyər 50% olaraq təyin olunarsa, bootstrap dəstəyi 50%-dən az olan düyünlər çoxdallı (polytomy) düyünlərə çevriləcək. Aşağıdakı ekran görüntüsündə (A) hissəsində 38% və 36% bootstrap dəstəyinə malik düyünlərin Support threshold 50% olaraq təyin edildikdə (B) hissəsində sıxışdırıldığı nümunə göstərilmişdir.

