

# Algoritmos para Análise de Sequências Biológicas

## Análise Filogenética

# Sumário

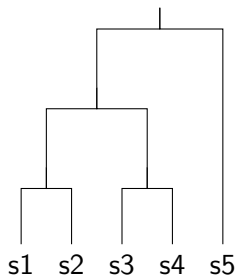
- Análise filogenética
- Algoritmo UPGMA

# Definição

- **Análise filogenética** de um conjunto de sequências (DNA, RNA, proteínas) é a determinação de como cada sequência pode ter sido derivada ao longo do processo de **evolução** natural.
- Relações evolutivas são visualizadas colocando as sequências como folhas de uma **árvore evolucionária**, onde os nós de ramificação representam eventos de mutação (substituição, inserção, remoção).

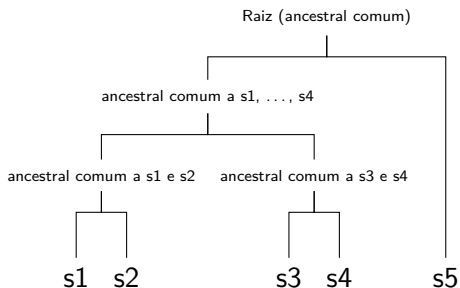
# Análise Filogenética

Uma árvore filogenética sugere as relações de proximidade entre sequências;  
Proximidade na árvore sugere proximidade evolutiva



# Análise Filogenética

Os nós da árvore indicam ancestrais comuns



# Aplicações

- Determinar a **árvore da vida** - evolução das diferentes espécies - complementando os métodos tradicionais baseados na morfologia; permitem estabelecer relações taxonómicas entre espécies ou ancestralidade entre indivíduos ou populações;
- Ajuda na determinação da **função** de sequências de DNA/ proteínas - determinação de ramos com domínios específicos que podem ter consequências funcionais;
- Análise de espécies com mutações rápidas (e.g. vírus) – pode ajudar na **epidemiologia**; permite hierarquizar mutações numa árvore - antigas vs. recentes;
- Primeiro passo para alguns algoritmos de Alinhamento Múltiplo (progressivos).

# Árvore de gene/sequência vs. espécie

- A evolução de um gene na maioria dos casos segue a evolução observada da espécie
- A reconstrução filogenética de um gene humano terá preponderância a agrupar o gene humano com o chimpanzé, e ambos com o gorila

## Exceções

- Nem sempre a filogenia pode estar correcta; não se pode fazer inferência a partir de um só gene.
- A relação entre espécies (taxonomia) pode estar incorrecta
- Transferência horizontal
  - ▶ Típica das bactérias
  - ▶ Gene é incorporado no genoma de uma fonte exterior
  - ▶ Não seguiu a história evolutiva da espécie onde se inseriu

# Árvores Evolucionárias

- Indicam o sentido da passagem do tempo
- Pode assumir-se a hipótese do relógio molecular – taxas de mutação uniformes
- Árvores podem ser representadas pelos clusters que se obtêm juntando taxa (folhas) presentes abaixo de cada nó interno (sub-árvores)
- N<sup>o</sup> de árvores aumenta muito rapidamente com o aumento do n<sup>o</sup> de sequências.



# Algoritmos de Análise Filogenética

- Objectivo: a partir de um **conjunto de sequências** (DNA ou proteínas), determinar a **árvore evolucionária** que melhor explique a sua evolução.
- Problema de **otimização**: de entre todas as árvores possíveis, escolher a que maximiza uma dada função objetivo.
- Espaço de procura tipicamente bastante grande – problema muito complexo.

## Complexidade do problema

# seqs	# pares de seqs	# arvores	# ramos/árvore
3	3	3	4
4	6	15	6
5	10	105	8
6	15	945	10
10	45	34459425	18
30	435	$4.95 \times 10^{38}$	58
N	$\frac{N(N-1)}{2}$	$\frac{(2N-3)!}{2^{N-2}(N-2)!}$	$2N - 2$

# Algoritmos de previsão filogenética

**Baseados na distância** Baseia-se na distância (alterações) entre pares de sequências: Neighbor Joining, UPGMA

**Máxima parcimônia (ou mínima evolução)** Retornam a árvore que minimiza n<sup>o</sup> de mutações necessárias para explicar a variação das sequências

**Máxima verosimilhança** Emprega modelos probabilísticos

# Métodos baseados na distância

Baseiam-se na **distância** (inverso da similaridade) entre os diversos **pares de sequências** considerados.

Objectivo: tentar identificar sequências a colocar como **vizinhas** e determinar **comprimentos dos ramos** da árvore filogenética que representem, o mais fielmente possível, as distâncias entre os pares de sequências.

São usados como primeiro passo dos **métodos progressivos de AM** (e.g. ClustalW).

# Métodos baseados na distância

Pretende-se encontrar a árvore  $T$  que minimiza

$$\text{SQE} \sum_{ij} (d_{ij}(T) - D_{ij})^2$$

Esta é a soma do quadrado dos erros entre a distância na árvore e a distância nas sequências dos vários taxa

O problema de estimar a árvore que minimiza SQE é um problema **NP-difícil**

# Cálculo da distância

- Tipicamente, distância medida pelo **nº de caracteres distintos** entre as duas sequências (edit distance)
- Métodos mais complexos podem fazer uso de matrizes de substituição (e.g. PAM, BLOSUM).
- Pode usar-se a função de mérito dos alinhamentos normalizada entre 0 e 1 (distância será  $1 - \text{mérito normalizado}$ ).

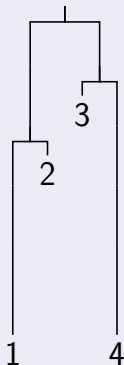
# Algoritmo Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages (UPGMA)

- Algoritmo heurístico (não dá garantias de soluções óptimas mas é eficiente)
- Começa pelo par de sequências mais próximo e vai agrupando as sequências usando sempre a distância menor como critério
- Usa um algoritmo clássico de clustering: **clustering hierárquico**

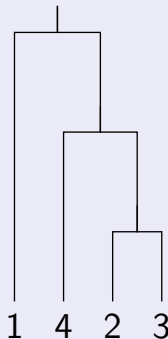
# Algoritmo UPGMA

- Assume taxas de mutação uniformes em todos os ramos, logo árvores criadas são **ultramétricas**

## Correta



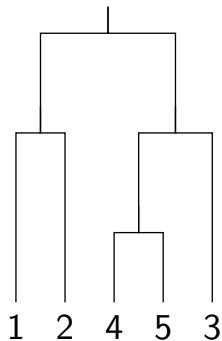
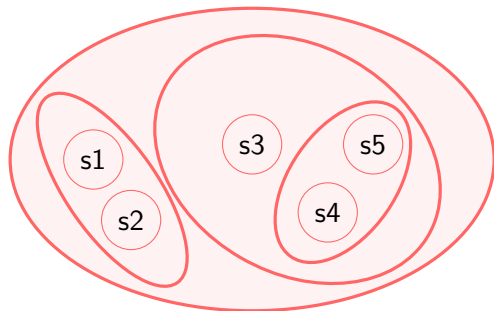
## UPGMA





# Algoritmo UPGMA

Cada sequência é agrupada num cluster



# Algoritmo UPGMA

- ❶ Criar um cluster para cada sequência:  $L = \{\{s_i\} : s_i \in S\}$
- ❷ Matriz de distâncias entre os clusters é inicializada com a matriz de distâncias entre as sequências
- ❸ Enquanto existir mais do que um cluster
  - ❶ Descobrir os clusters  $C_i$  e  $C_j$  com distância mínima entre eles
  - ❷ Criar o cluster  $C_k = C_i \cup C_j$
  - ❸ Adicionar o novo cluster a  $L$  e remover os anteriores:  
 $L = \{C_k\} \cup L \setminus \{C_i, C_j\}$
  - ❹ Remover linhas e colunas  $i$  e  $j$  da tabela de distâncias
  - ❺ Introduzir linha e coluna para  $k$  com as distâncias para o novo cluster na árvore, adicionar vértice ligando os nós referentes a  $C_i$  e  $C_j$  com valor de altura igual a  $d_{ij} / 2$

# Exemplo

	$\{s_1\}$	$\{s_2\}$	$\{s_3\}$	$\{s_4\}$	$\{s_5\}$
$\{s_1\}$	0				
$\{s_2\}$	<b>2</b>	0			
$\{s_3\}$	5	4	0		
$\{s_4\}$	7	6	4	0	
$\{s_5\}$	9	7	6	3	0

# Exemplo

	$\{s_1, s_2\}$	$\{s_3\}$	$\{s_4\}$	$\{s_5\}$
$\{s_1, s_2\}$	0			
$\{s_3\}$	4.5	0		
$\{s_4\}$	6,5	4	0	
$\{s_5\}$	8	6	<b>3</b>	0

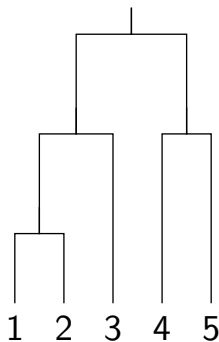
# Exemplo

	$\{s_1, s_2\}$	$\{s_3\}$	$\{s_4, s_5\}$
$\{s_1, s_2\}$	0		
$\{s_3\}$	<b>4.5</b>	0	
$\{s_4, s_5\}$	7,25	5	0

# Exemplo

	$\{s_1, s_2, s_3\}$	$\{s_4, s_5\}$
$\{s_1, s_2, s_3\}$	0	
$\{s_4, s_5\}$	6.125	0

# Exemplo



# Neighbor Joining

- Funciona de forma semelhante ao UPGMA
- Muda a forma de escolher os clusters que se juntam em cada passo: usa-se a regra de juntar sub-árvores que estejam próximas, mas afastadas das restantes
- Muda o valor colocado como altura da árvore



# Máxima parcimónia (mínima evolução)

- Objectivo: **minimizar nº de passos evolutivos** (mutações) que explicam a variação das sequências
- Baseia-se num **Alinhamento Múltiplo**; análise de cada posição (coluna do alinhamento)
- São identificadas as árvores que requerem o menor nº de mutações, para todas as posições (informativas)
- Vantagem de ser fácil estabelecer relação entre ramos da árvores e as mutações que ocorrem
- Método **exato** – **pesado** computacionalmente — ideal para **filogenias menos profundas** mas não ideal para espécies distantes

# Aferir significância

## Bootstrap

- Selecionar colunas do AM aleatoriamente, com substituição;
- Repetir construção da árvore com diferentes seleções;
- Frequência com que dada característica ocorre é indicador da sua confiança.

Se possível usar dois tipos de métodos para construir a árvore e comparar resultados

# Programas de análise filogenética

MEGA - <http://www.megasoftware.net/> Inclui métodos de máxima parcimónia, distância, máxima verosimilhança

Mr Bayes - <https://nbisweden.github.io/MrBayes/index.html> Implementa essencialmente métodos de máxima verosimilhança