BIOINFORMATYKA

edycja 2018 / 2019

wykład 8

Analizy filogenetyczne

dr Jacek Śmietański
jacek.smietanski@ii.uj.edu.pl
http://jaceksmietanski.net

Plan wykładu

1. Cele i zastosowania
2. Podstawy ewolucyjne
3. Drzewa filogenetyczne
4. Metody konstrukcji drzew
5. Ocena wiarygodności drzewa

Cele i zastosowania

Cele i zastosowania

Analizy filogenetyczne wykorzystuje się aby poznać pokrewieństwa między gatunkami oraz innymi jednostkami taksonomicznymi.

Pozwalają określić w jakim stopniu spokrewnione są różne geny w obrębie genomu, przyczyniając się do zrozumienia jak powstają i ewoluują rodziny genów.

Mają wielkie znaczenie praktyczne w medycynie i ochronie zdrowia. Pozwalają one na określenie pochodzenia szczepów patogenów, śledzenie obecnych i historycznych dróg ich transmisji między regionami geograficznymi czy nosicielami oraz identyfikację źródeł pochodzenia epidemii.

W przypadku szybko mutujących wirusów metody filogenetyczne umożliwiają śledzenie zmian zachodzących w czasie choroby u jednego pacjenta.

Wyniki analiz filogenetycznych mogą być wykorzystywane jako materiał dowodowy w sądach.

Rola bioinformatyków

O ile jeszcze niedawno drzewa filogenetyczne budowane z kilkuset sekwencji uchodziły za duże, teraz nierzadko konstruuje się drzewa na podstawie setek tysięcy sekwencji.

Wymusza to projektowanie coraz bardziej wydajnych algorytmów heurystycznych o jak najlepszych własnościach obliczeniowych.

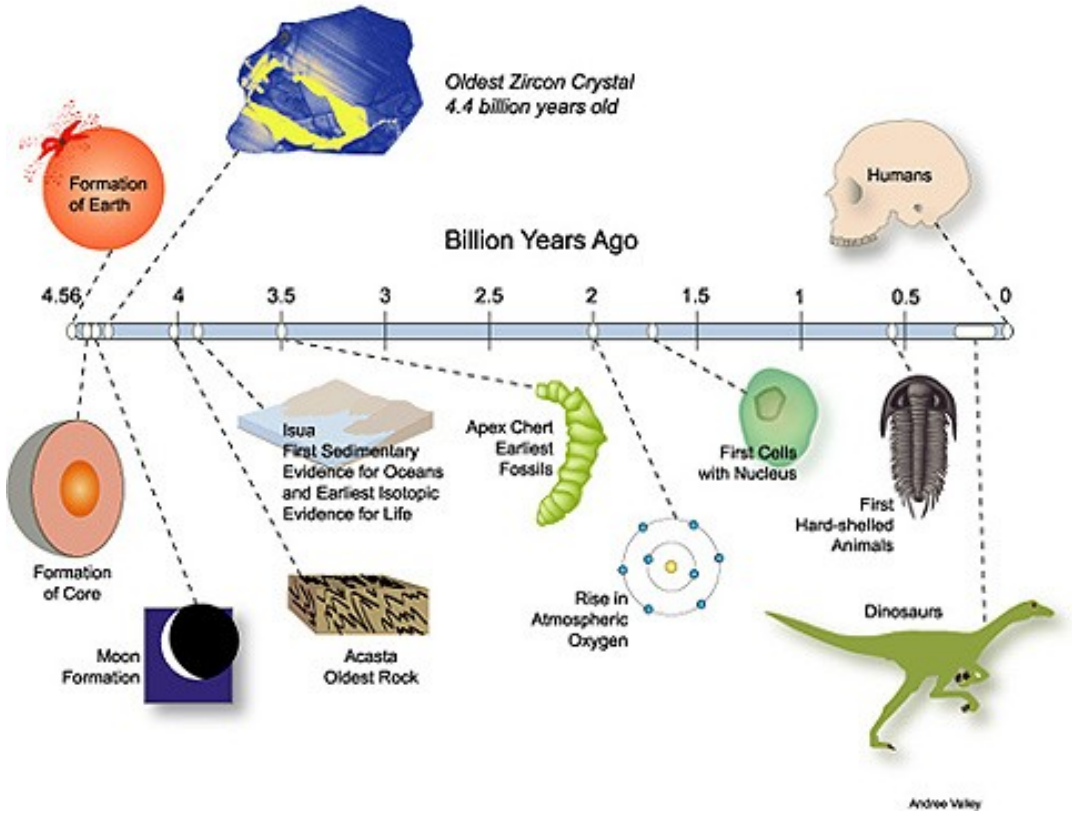
Algorytmy te musi charakteryzować szybkość działania na dużych zbiorach danych, ale też wystarczająca precyzja.

Zapotrzebowanie na takie algorytmy wśród biologów i medyków jest ogromne, co stawia wielkie wyzwania przed bioinformatykami, ale i daje szansę na ciekawą, stymulującą intelektualnie i użyteczną dla innych pracę.

Podstawy ewolucyjne

Ewolucja

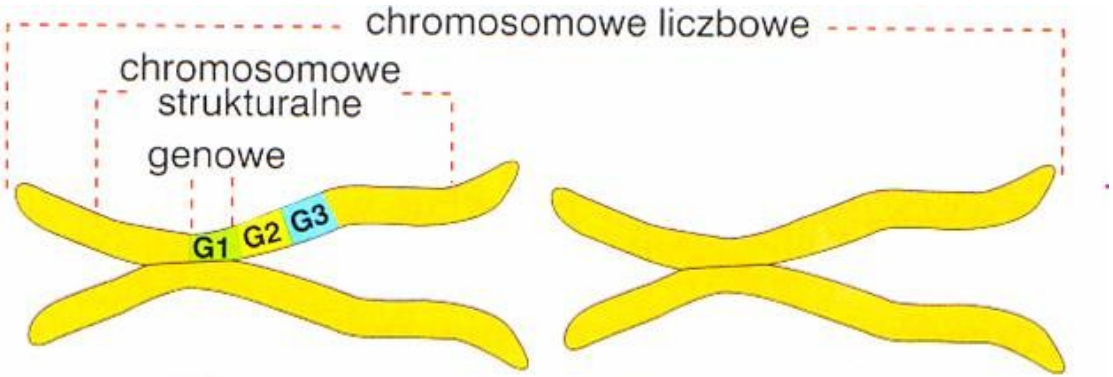
Ewolucja to rozwój formy biologicznej z innych wcześniej istniejących form lub jej powstanie w postaci istniejącej obecnie na skutek działania doboru naturalnego.



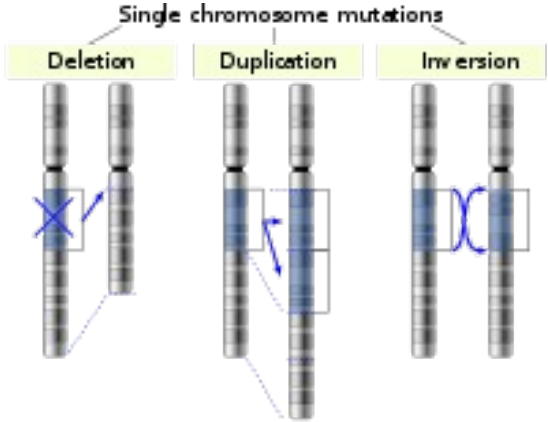
Ewolucja postępuje w wyniku nagromadzenia się mutacji.

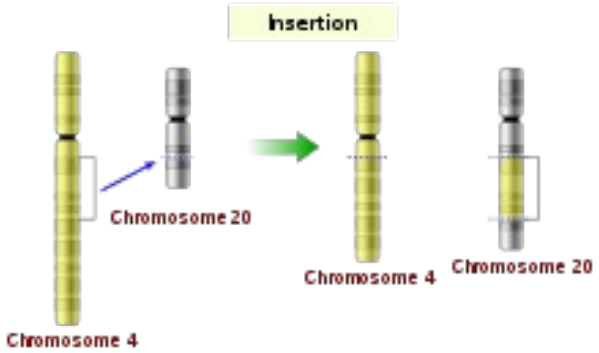
Rodzaje mutacji (podział ze względu na zasięg)

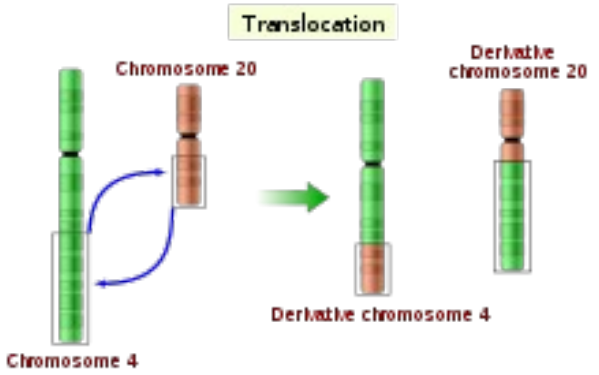
- chromosomowe:
  - liczbowe;
  - strukturalne;
- genowe (punktowe)



Ryc. Modelowy podział mutacji o różnym zasięgu (G1, G2, G3 – geny)

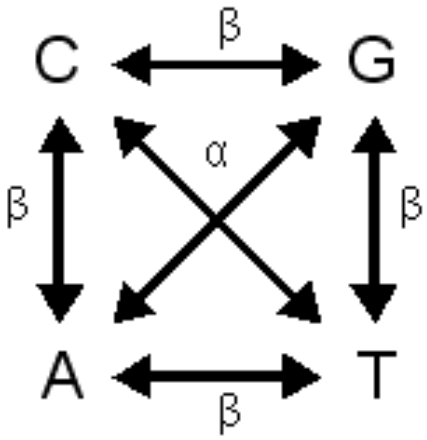






Mutacje punktowe - substytucja

α = **tranzycja** (A↔G, C↔T)
β = **transwersja** (pozostałe)



Wpływ na kodowane białko:

substytucja cicha – zamiana nukleotydów nie powodująca zmian w sekwencji aminokwasowej;

substytucja błędna (missense) – zamiana kodowanego aminokwasu;

substytucja nonsensowna (nonsense) – zamiana kowanego aminokwasu na kodon STOP.

Mutacje punktowe – insercja, delecja

Wpływ na kodowane białko:

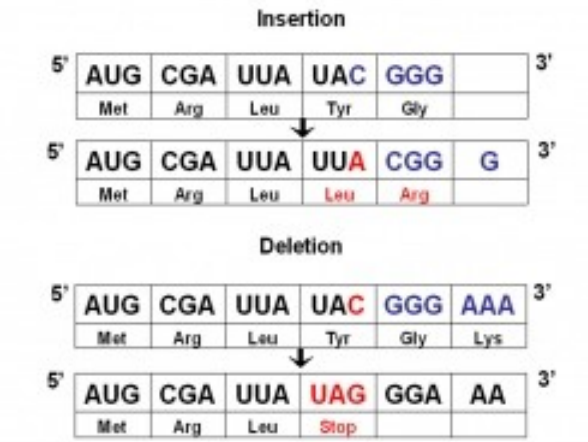
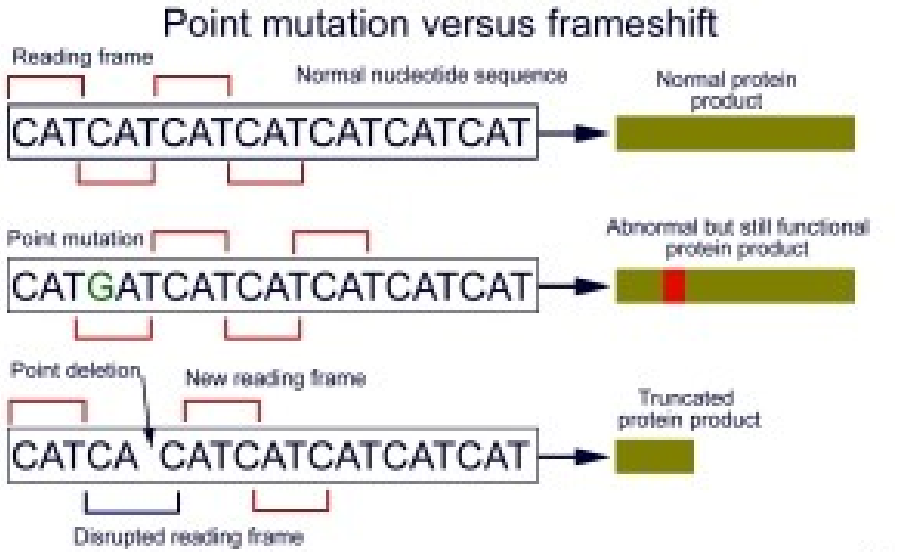


Figure 2. Schematic representation of nucleotide insertion and deletion



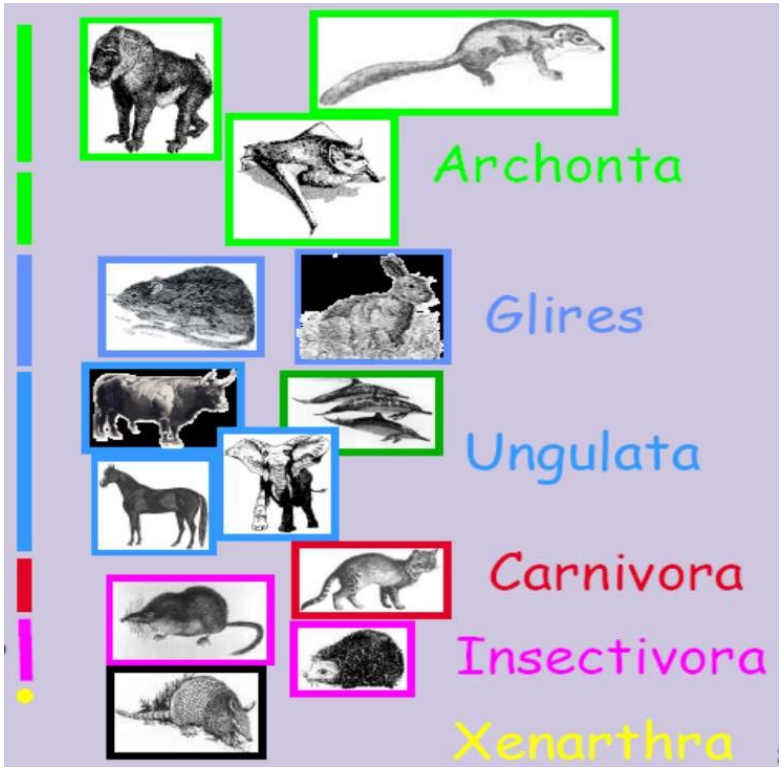
Źródło: http://caferguson.wordpress.com/2010/11/19/dna-to-a-polypeptide/

Filogenetyka zajmuje się badaniem ewolucyjnej historii organizmów.

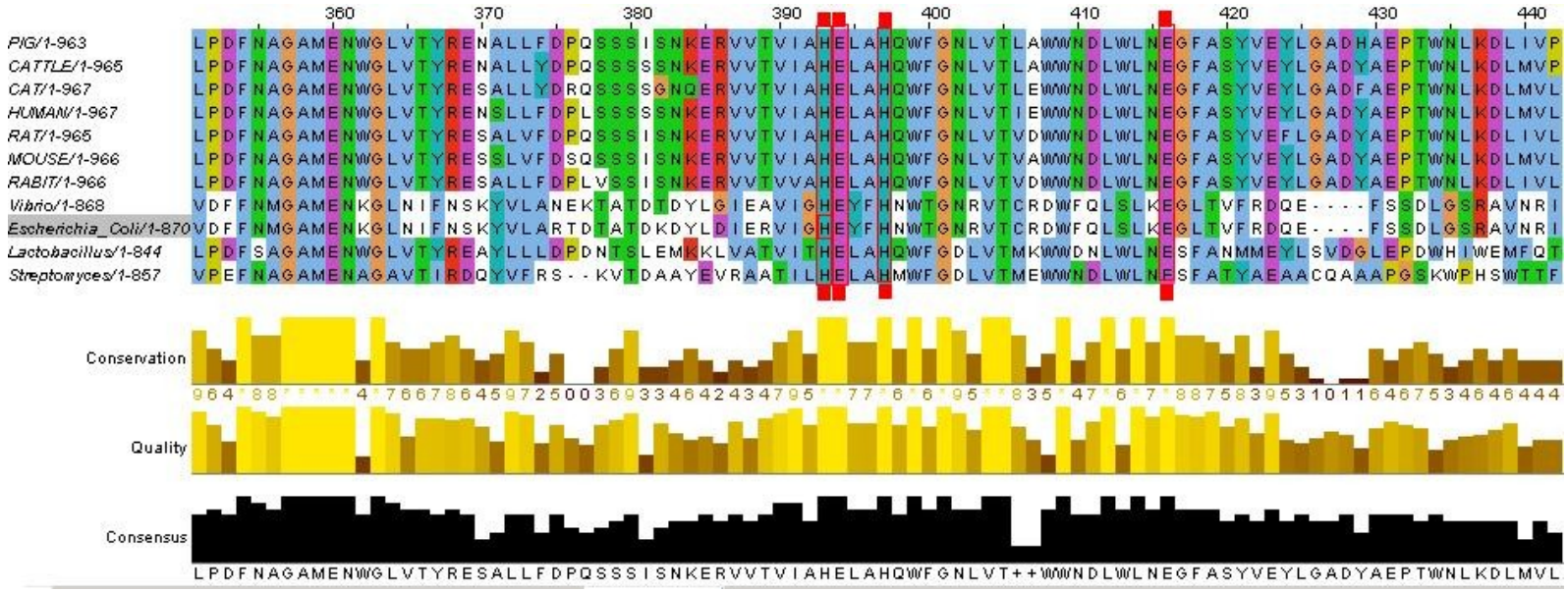
Zadania filogenetyki:

1. Rekonstrukcja ewolucyjnej historii wszystkich organizmów
2. Odkrycie przodka wszystkich organizmów żyjących na Ziemi
3. Segregacja i klasyfikacja organizmów
4. Poznanie mechanizmów ewolucji

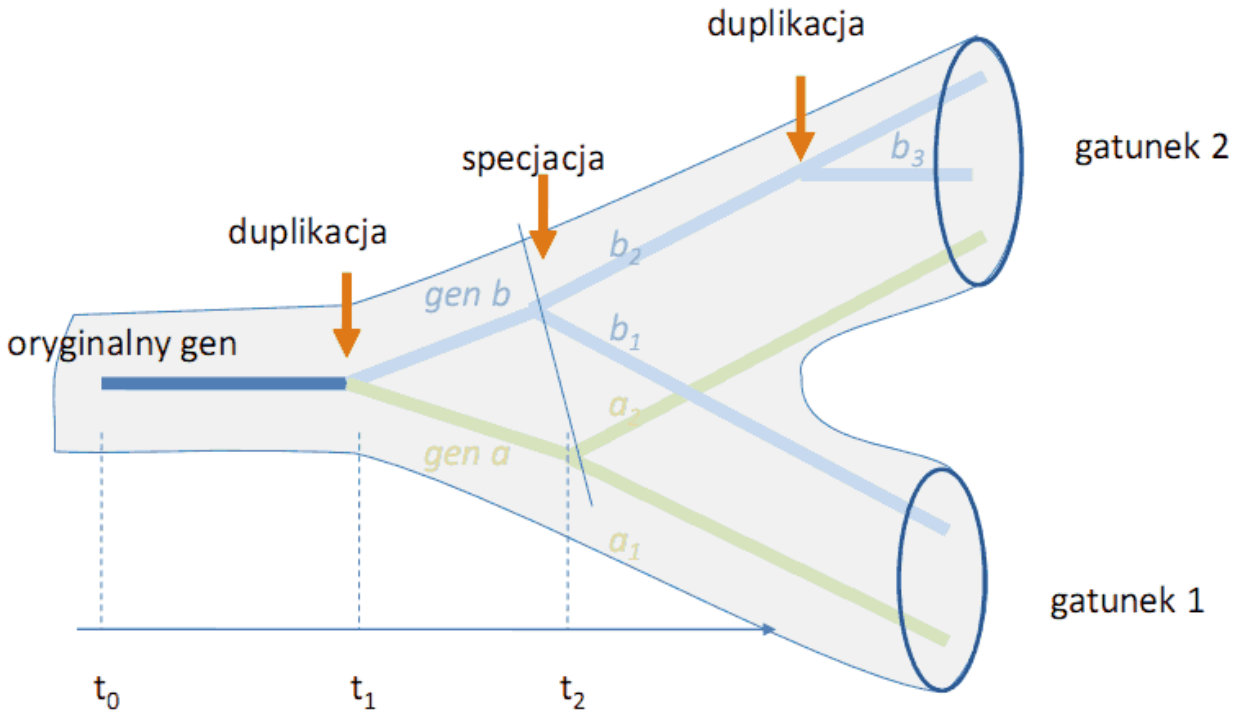
Rekonstrukcja historii ewolucji głównie w oparciu o cechy morfologiczne np. długość dzioba u ptaków, nóg itd.



Rekonstrukcja historii ewolucji poprzez porównanie sekwencji nukleotydowych lub aminokwasowych pochodzących z różnych organizmów.



Podobieństwo cech odziedziczonych po wspólnym przodku



ortologi – homologii powstałe w procesie specjacji; często pełnią podobną funkcję
paralogi – homologii powstałe w wyniku duplikacji; zazwyczaj pełnią różne funkcje
ksenologi – homologii nabyte w wyniku poziomego przenoszenia informacji genetycznej

Założenia

1. Analizowane sekwencje są homologiczne

2. Dywergencja filogenetyczna jest dychotomiczna

3. Niezależna ewolucja każdej pozycji w sekwencji
   (uproszczenie ze względu na procedury obliczeniowe; ew. można użyć macierzy substytucji zależnych od kontekstu)

4. Różnorodność analizowanych sekwencji dostarcza informacji umożliwiającej konstrukcję jednoznacznych drzew filogenetycznych

Terminologia

takson – grupa organizmów uznawanych za spokrewnione, wyróżniających się konkretną cechą różniącą je od innych jednostek taksonomicznych;

klad - grupa taksonów mających wspólnego przodka, obejmująca wszystkie wywodzące się z niego grupy potomne;

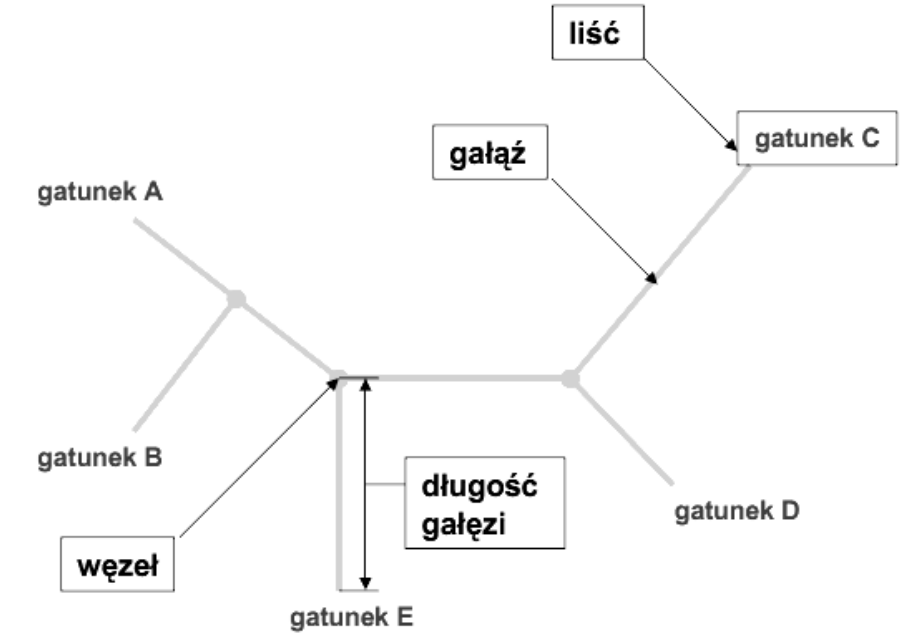
filogeneza – nauka badająca drogi rozwoju rodowego, pochodzenie i ewolucję w obrębie jakiejś grupy;

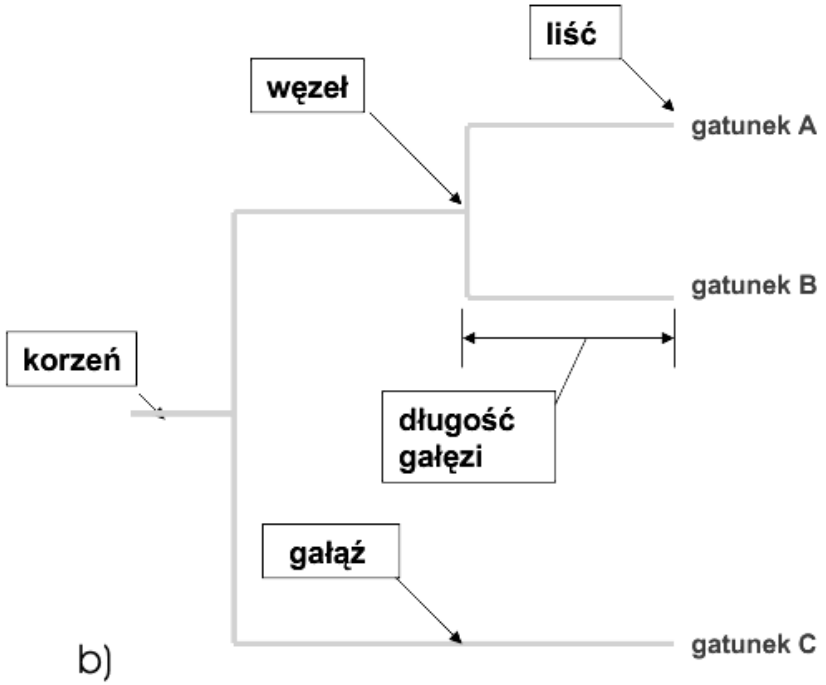
drzewo filogenetyczne – ilustracja pochodzenia i relacji pomiędzy poszczególnymi taksonami

Drzewa filogenetyczne

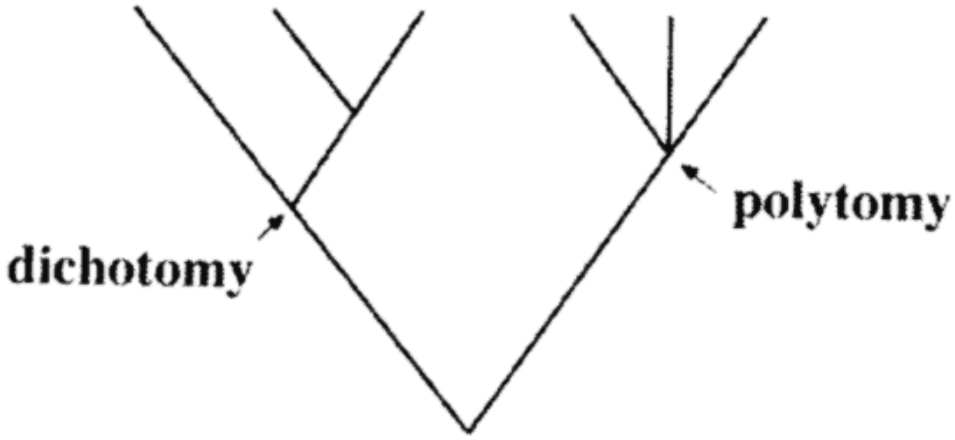
Drzewo filogenetyczne

a) drzewo nieukorzenione (nie znamy wspólnego przodka)
b) drzewo ukorzenione





Dychotomia a politomia

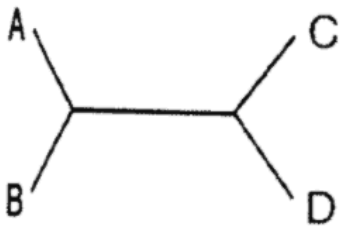


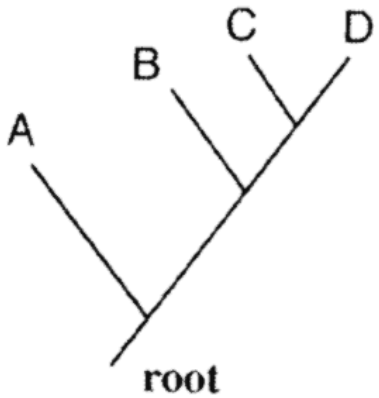
Wielokrotne rozdzielenie (politomia) wynika zwykle z niewystarczającej ilości informacji potrzebnej do rozwiązania struktury drzewa (ale może też być skutkiem procesu radiacji)

Źródło grafiki: Xiong J., Essential bioinformatics

Korzeń może nie być znany, bo wspólny przodek wyginął.

- wykorzystanie grupy zewnętrznej (np. sekwencja ptaka przy analizie filogenezy ssaków)
- ukorzenianie w środkowym punkcie – punkt równo oddalony od najbardziej różniących się grup (zgodnie z hipotezą zegara molekularnego).





Źródło grafiki: Xiong J., Essential

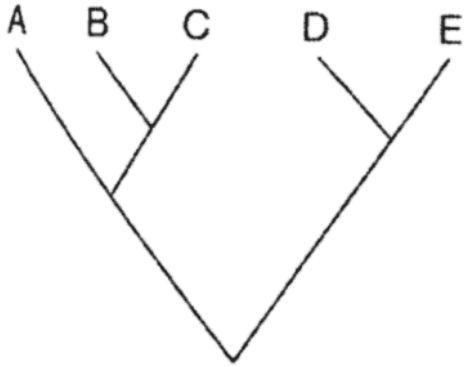
Zegar molekularny

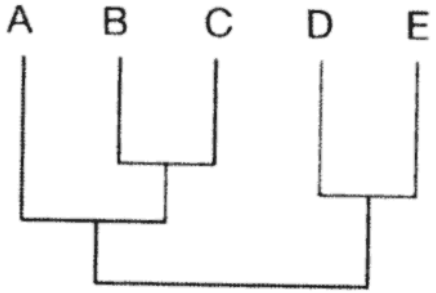
Koncepcja zegara molekularnego (Zuckerlandl i Pauling, 1965) postuluje równe tempo substytucji we wszystkich liniach ewolucyjnych.

Hipoteza nie do końca prawdziwa, ale wykorzystywana w niektórych algorytmach w celu uproszczenia obliczeń.

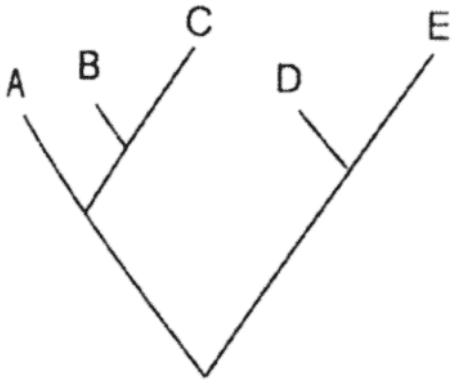
Formy reprezentacji drzew

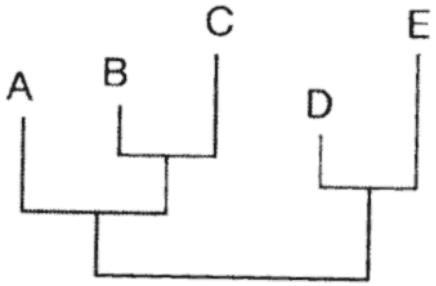
kladogram





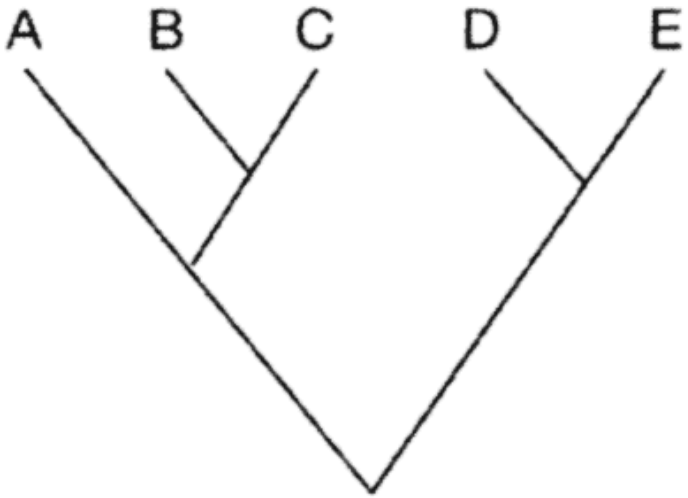
filogram



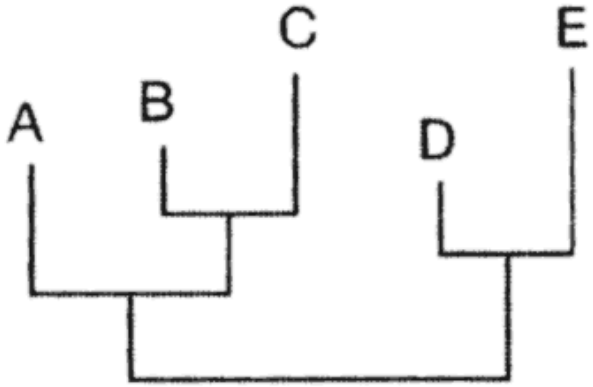


Źródło grafiki: Xiong J., Essential

Reprezentacja liniowa: format Newick



(((B,C),A),(D,E))

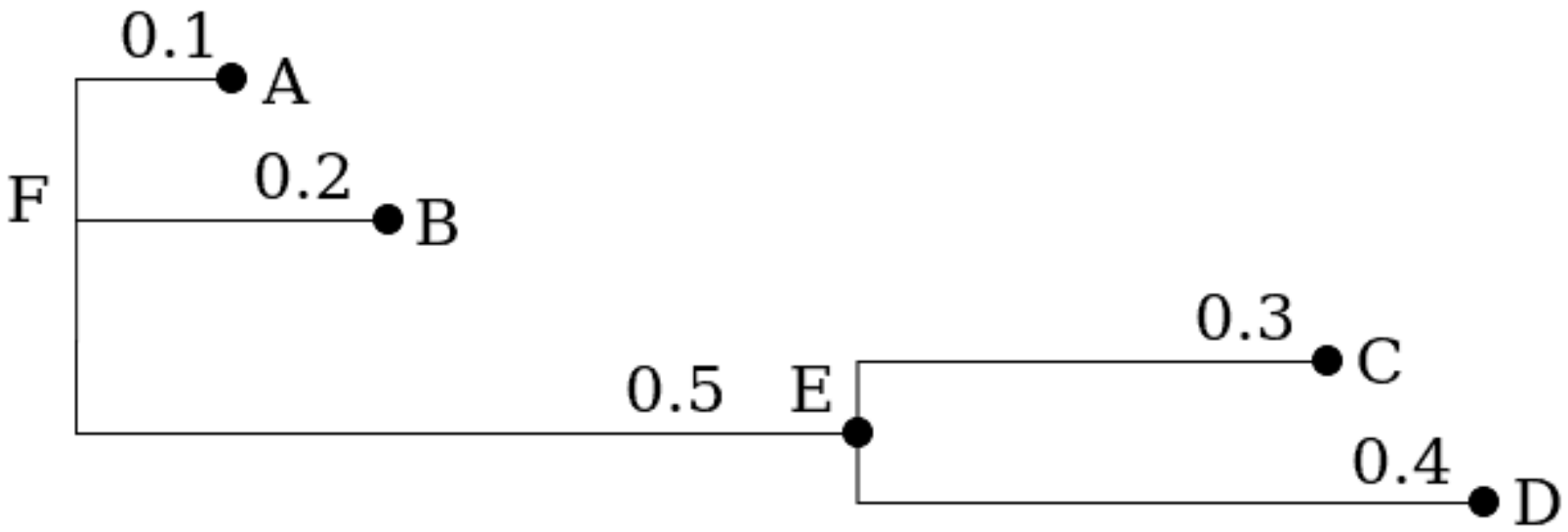


(((B:1,C:2),A:2),(D:1.2,E:2.5))

Źródło grafiki: Xiong J., Essential

Opis topologii drzewa (2)

The following tree:



could be represented in Newick format in several ways

```
(,,(,));                                no nodes are named
(A,B,(C,D));                            leaf nodes are named
(A,B,(C,D)E)F;                          all nodes are named
(:0.1,:0.2,(:0.3,:0.4):0.5);            all but root node have a distance to parent
(:0.1,:0.2,(:0.3,:0.4):0.5):0.0;        all have a distance to parent
(A:0.1,B:0.2,(C:0.3,D:0.4):0.5);        distances and leaf names (popular)
(A:0.1,B:0.2,(C:0.3,D:0.4)E:0.5)F;      distances and all names
((B:0.2,(C:0.3,D:0.4)E:0.5)F:0.1)A;     a tree rooted on a leaf node (rare)
```

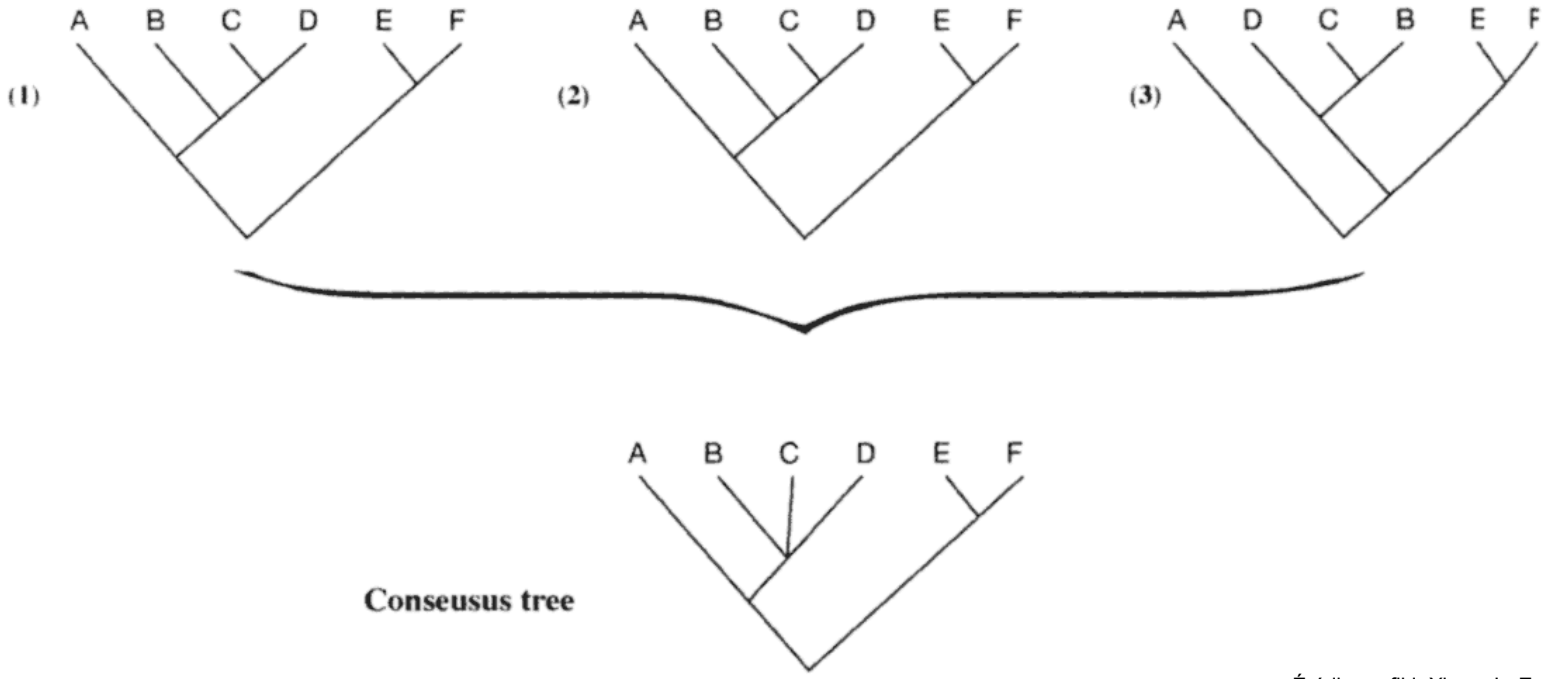
Źródło: http://en.wikipedia.org/wiki/Newick_format

Drzewo konsensusowe

Tworzone, gdy w wyniku analizy otrzymamy kilka równie dobrych drzew.

Metody:

- ścisły konsensus (węzły niejednoznaczne upraszczamy do politomii)
- reguła większości



Źródło grafiki: Xiong J., Essential

Liczba możliwych topologii

n – liczba taksonów

N_R – liczba drzew ukorzenionych

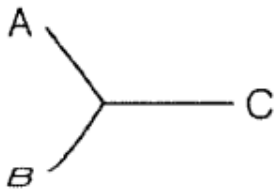
$$N_R = (2n-3)!/2^{n-2}(n-2)!$$

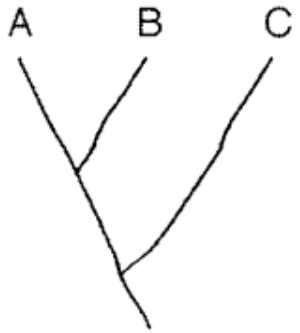
N_U – liczba drzew nieukorzenionych

$$N_U = (2n-5)!/2^{n-3}(n-3)!$$

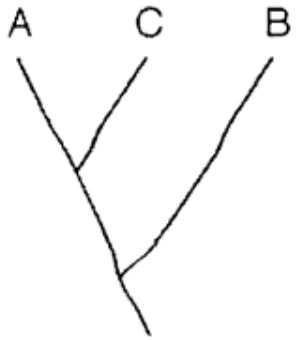
Możliwe topologie, n=3

Unrooted



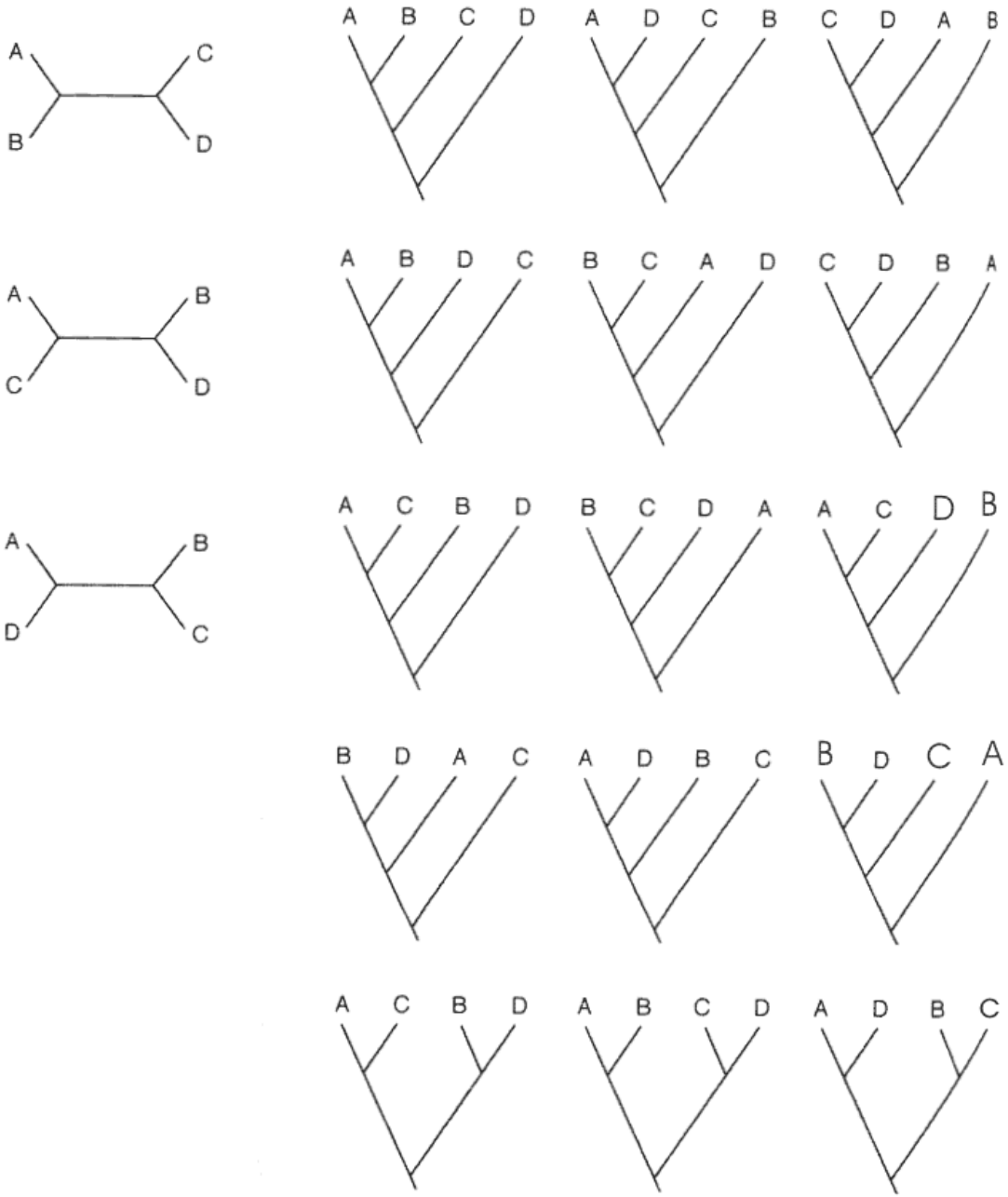


Rooted



Źródło grafiki: Xiong J., Essential bioinformatics

Możliwe topologie, n=4



Etapy analizy danych filogenetycznych

1. Wybór markerów molekularnych (sekwencji)
2. Dopasowane sekwencji *(multiple sequence alignment)*
3. Wybór modelu ewolucji
   (metoda oceny odległości ewolucyjnej)
4. Konstrukcja drzewa
5. Ocena wiarygodności uzyskanego drzewa

Sekwencje DNA czy białkowe?

DNA ewoluuje szybciej niż białka; analiza DNA ma zastosowanie dla blisko spokrewnionych organizmów, np. z jednej populacji

Zwykle jednak lepiej analizować bardziej konserwowane sekwencje białkowe.

- Przyrównujemy wiele sekwencji – brak efektywnego algorytmu dokładnego.
- Błędna konstrukcja przyrównania może prowadzić do kumulacji błędów.
- Zaleca się wykonać kilka niezależnych przyrównań (różnymi metodami) i porównać.
- Pomocą może być wykorzystanie informacji o strukturze drugorzędowej (jeśli jest znana). [np. program Praline]
- Wykorzystać całe przyrównanie czy tylko jego część?

3. Wielokrotne substytucje

Np.:
A -> C
A -> T -> G -> C
A -> C -> A -> T -> C -> A -> C

Utrudniają oszacowanie rzeczywistych odległości ewolucyjnych.
Korekta w oparciu o statystyczne modele substytucji.

Model substytucji (1) – Jukesa-Cantora

Zakłada, że wszystkie nukleotydy ulegają podstawieniu z jednakowym prawdopodobieństwem.

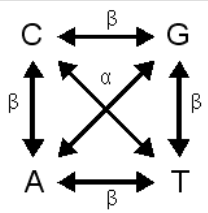
d_{AB} – odległość ewolucyjna między sekwencjami A i B

p_{AB} – obserwowana odległość sekwencji

$$d_{AB} = -(3/4)\ \ln[1 - (4/3)\, p_{AB}]$$

Stosowany dla sekwencji blisko spokrewnionych.

Model substytucji (2) – Kimury



Zakłada, że tempa zachodzenia tranzycji i transwersji są odmienne.

d_{AB} – odległość ewolucyjna między sekwencjami A i B

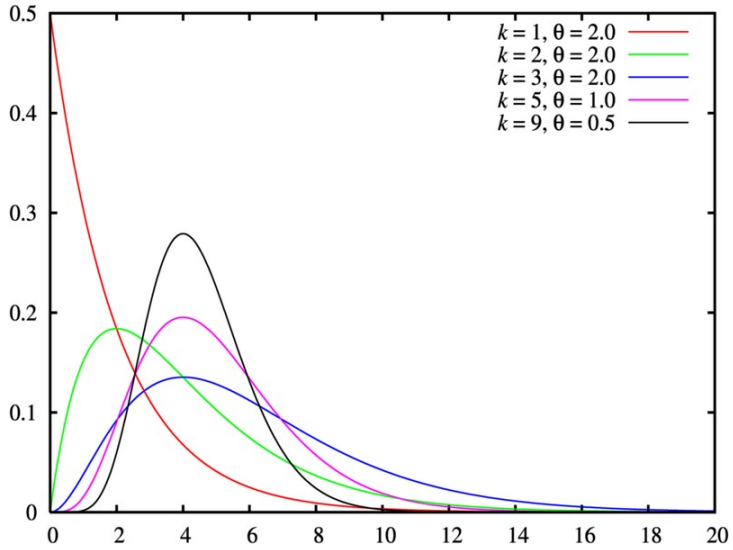
p_{ti} – obserwowana częstotliwość tranzycji

p_{tv} – obserwowana częstotliwość transwersji

$$d_{AB} = -(1/2)\ \ln(1 - 2p_{ti} - p_{tv}) - (1/4)\ \ln(1 - 2p_{tv})$$

Istnieją też inne modele, np. TN93, HKY, GTR a także odpowiedniki powyższych opracowane dla sekwencji aminokwasowych.
Dla sekwencji aminokwasowych zazwyczaj stosuje się modele PAM i JTT.

Poszczególne pozycje sekwencji ewoluują w różnym tempie.
Rozkład miejsc zmiennych odpowiada rozkładowi γ



$$\theta^k x^{k-1} \frac{\exp(-x\theta)}{\Gamma(k)}$$

Skorygowane modele substytucji:

$$d_{AB} = (3/4)\alpha[(1 - 4/3\, p_{AB})^{-1/\alpha} - 1$$

$$d_{AB} = (\alpha/2)[1 - 2p_{ti} - p_{tv})^{-1/\alpha} - (1/2)(1 - 2p_{tv})^{-1/\alpha} - 1/2]$$

Metody konstrukcji drzew

Metody konstruowania drzew filogenetycznych

Metoda obliczeniowa: optymalizacja	Metoda obliczeniowa: analiza klastrów	
• **Parsymonia** • **Maximum Likelihood** • wnioskowanie Bayesowskie		Cechy
• Minimum Evolution • Least Squares	• **UPGMA** • **Neighbor-Joining**	Dystanse

Idea:
obliczamy odległości ewolucyjne dla wszystkich par taksonów i konstruujemy macierz odległości.

a) algorytmy bazujące na klasteryzacji – tworzą drzewo bazując na macierzy odległości, poczynając od najbardziej podobnych sekwencji

b) algorytmy wykorzystujące kryterium optymalności – porównują wiele alternatywnych topologii drzew

Algorytm UPGMA

(metoda grupowania nieważonych par z arytmetycznymi średnimi)

1. konstruujemy macierz odległości;
2. grupujemy dwa taksony, których wzajemna odległość jest najmniejsza – w środkowym punkcie między nimi umieszczamy nowy węzeł;
3. tworzymy zredukowaną macierz, gdzie nowy węzeł zastąpił dwa wcześniejsze

itd.

4. ostatnio dodany takson uznajemy za grupę zewnętrzną i ukorzeniamy drzewo.

UPGMA - własności

- heurystyka: zakładamy, że wszystkie taksony mają stałe tempo ewolucji (to rzadko jest prawdą);
wszystkie taksony są równoodległe od korzenia

- kolejne etapy analizy oparte są na początkowo wyliczonych wartościach, co może oznaczać utratę ważnych informacji i kumulowanie błędu;

+ metoda intuicyjna i szybka

Algorytm NJ

(metoda łączenia sąsiadów; metoda najbliższego sąsiedztwa)

Metoda podobna do UPGMA, ale nie zakładamy stałego tempa ewolucji.

Odległość nowego węzła od rozważanych taksonów wyznaczamy na podstawie skorygowanych odległości.

Algorytm NJ (2)

n – liczba rozważanych taksonów

d_{AB} – odległość ewolucyjna pomiędzy A i B

r_i – suma odległości i-tego taksonu od wszystkich innych taksonów

d'_{AB} – skorygowana odległość ewolucyjna

$$d'_{AB} = d_{AB} - 1/2 \times (r_A + r_B)$$

$$r_i = \Sigma d_{ij}$$

$$r'_i = r_i / (n-2)$$

$$d_{AU} = [d_{AB} + (r'_A - r'_B)]/2$$

Przykład na tablicy

Algorytm NJ - przykład

Dane wejściowe:
rzeczywiste odległości ewolucyjne pomiędzy badanymi taksonami:

	A	B	C	D
A				
B	0,40			
C	0,35	0,45		
D	0,60	0,70	0,55	

Algorytm NJ – przykład (2)

	A	B	C	D
A				
B	0,40			
C	0,35	0,45		
D	0,60	0,70	0,55	

$r_i = \Sigma d_{ij}$ $\quad r'_i = r_i / (n-2)$

Metoda NJ jest podobna do UPGMA, ale przed konstrukcją drzewa dokonuje korekcji tempa ewolucji – obliczamy wartości r i r':

$r_A = AB + AC + AD = 0,4 + 0,35 + 0,6 = 1,35$
$r_B = BA + BC + BD = 0,4 + 0,45 + 0,7 = 1,55$
$r_C = CA + CB + CD = 0,35 + 0,45 + 0,55 = 1,35$
$r_D = DA + DB + DC = 0,6 + 0,7 + 0,55 = 1,85$

$r_A' = r_A / (4-2) = 1,35 / 2 = 0,675$
$r_B' = r_B / (4-2) = 1,55 / 2 = 0,775$
$r_C' = r_C / (4-2) = 1,35 / 2 = 0,675$
$r_D' = r_D / (4-2) = 1,85 / 2 = 0,925$

Algorytm NJ – przykład (3)

oraz skorygowane odległości:

$$d'_{AB} = d_{AB} - 1/2 \times (r_A + r_B)$$

$$d'_{AB} = d_{AB} - \tfrac{1}{2}\,(r_A + r_B) = 0{,}4 - (1{,}35 + 1{,}55) / 2 = -1{,}05$$
$$d'_{AC} = d_{AC} - \tfrac{1}{2}\,(r_A + r_C) = 0{,}35 - (1{,}35 + 1{,}35) / 2 = -1$$
$$d'_{AD} = d_{AD} - \tfrac{1}{2}\,(r_A + r_D) = 0{,}6 - (1{,}35 + 1{,}85) / 2 = -1$$
$$d'_{BC} = d_{BC} - \tfrac{1}{2}\,(r_B + r_C) = 0{,}45 - (1{,}55 + 1{,}35) / 2 = -1$$
$$d'_{BD} = d_{BD} - \tfrac{1}{2}\,(r_B + r_D) = 0{,}7 - (1{,}55 + 1{,}85) / 2 = -1$$
$$d'_{CD} = d_{CD} - \tfrac{1}{2}\,(r_C + r_D) = 0{,}55 - (1{,}35 + 1{,}85) / 2 = -1{,}05$$

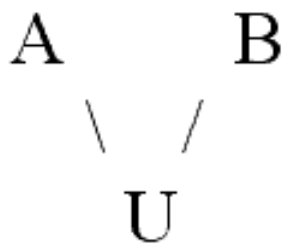
Algorytm NJ – przykład (4)

Skorygowane względem tempa ewolucji odległości pozwalają skonstruować nową macierz:

	A	B	C	D
A				
B	-1,05			
C	-1	-1		
D	-1	-1	-1,05	

Algorytm NJ – przykład (5)

Wybieramy parę taksonów z najkrótszymi skorygowanymi odległościami. W naszym przypadku mamy dwie takie pary: AB i CD. Wybieramy dowolną z nich, np. AB. Te dwa taksony łączymy w drzewie w węzeł U.



Obliczamy długości gałęzi od A i B do węzła U:

$$d_{AU} = [d_{AB} + (r_A' - r_B')]/2 = [0,4 + (0,675-0,775)]/2 = 0,15$$
$$d_{BU} = [d_{AB} + (r_B' - r_A')]/2 = [0,4 + (0,775-0,675)]/2 = 0,25$$

Algorytm NJ – przykład (6)

Punktem wyjścia do konstrukcji zredukowanej macierzy są rzeczywiste odległości:

$$d_{CU} = (d_{AC} + d_{BC} - d_{AB})/2 = (0{,}35 + 0{,}45 - 0{,}4)/2 = 0{,}2$$
$$d_{DU} = (d_{AD} + d_{BD} - d_{AB})/2 = (0{,}6 + 0{,}7 - 0{,}4)/2 = 0{,}45$$

	U	C	D
U			
C	0,20		
D	0,45	0,55	

Algorytm NJ – przykład (7)

Na podstawie zredukowanej macierzy oblicza się nowy zestaw wartości r i r' i konstruuje skorygowaną macierz odległości:

$$r_C = CU + CD = 0{,}2 + 0{,}55 = 0{,}75$$
$$r_D = DU + CD = 1$$
$$r_U = CU + DU = 0{,}65$$

$$r_C' = r_C / (3\text{-}2) = 0{,}75$$
$$r_D' = r_D / (3\text{-}2) = 1$$
$$r_U' = r_U / (3\text{-}2) = 0{,}65$$

$$d'_{CU} = d_{CU} - \tfrac{1}{2}(r_C + r_U) = 0{,}2 - (0{,}75+0{,}65)/2 = -0{,}5$$
$$d'_{DU} = -0{,}375$$
$$d'_{CD} = -0{,}325$$

Algorytm NJ – przykład (8)

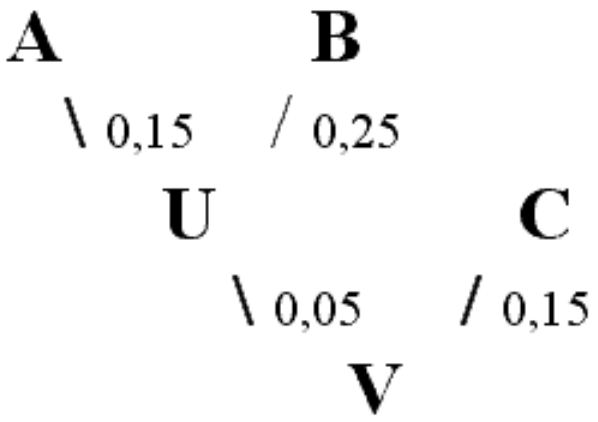
Macierz skorygowana:

	U	C	D
U			
C	-0,5		
D	-0,375	-0,325	

W macierzy tej najkrótsza jest odległość CU
i te dwa węzły łączymy w nowy węzeł V
i, analogicznie jak poprzednio, obliczamy
długości gałęzi:

$d_{CV} = 0,15$

$d_{UV} = 0,05$

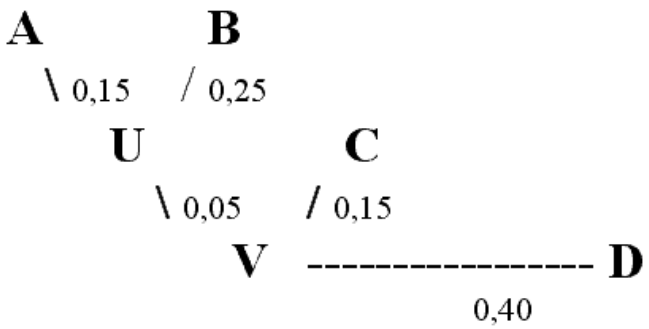


Algorytm NJ – przykład (9)

Ponieważ została nam już tylko jedna para węzłów (V i D), wiadomo, że do drzewa włączona będzie gałąź VD. Nie ma więc potrzeby obliczania kolejnych macierzy. Pozostaje jedynie obliczyć długość gałęzi VD:

$$d_{VD} = (d_{DU} + d_{DC} - d_{CU})/2 = (0{,}45 + 0{,}55 - 0{,}2) = 0{,}4.$$

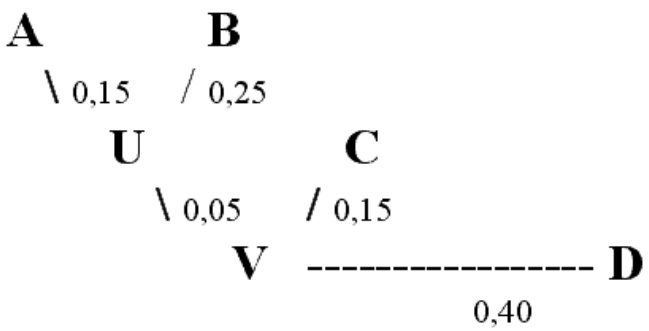
Ostatecznie uzyskujemy drzewo (nieukorzenione lub z korzeniem w D – jeśli takson D stanowił grupę zewnętrzną):



Algorytm NJ – przykład (10)

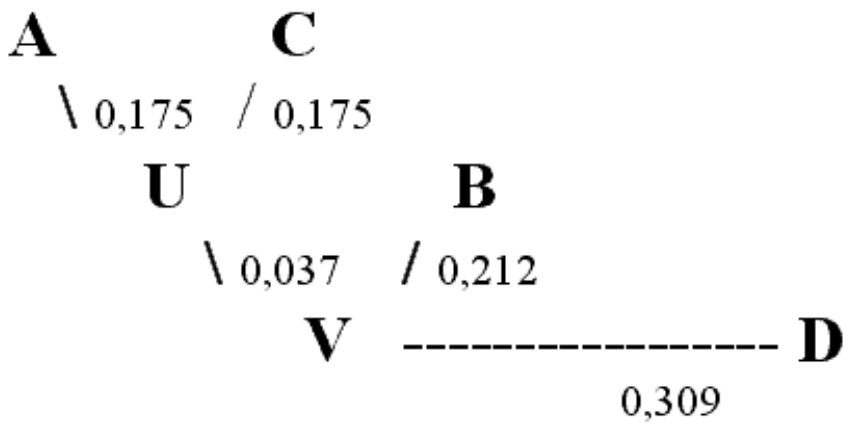
Sumując odległości pomiędzy węzłami możemy stwierdzić, że wyznaczone metodą NJ odległości odpowiadają rzeczywistym odległościom występującym w macierzy wejściowej.

	A	B	C	D
A				
B	0,40			
C	0,35	0,45		
D	0,60	0,70	0,55	



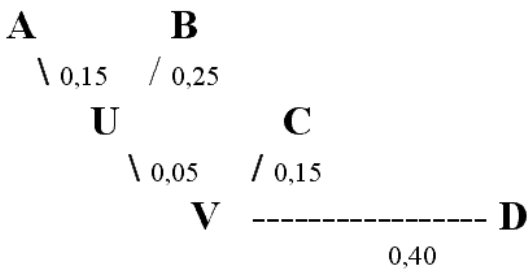
Algorytm NJ – przykład (11), porównanie z UPGMA

Dla porównania, metoda UPGMA nie zachowuje odległości. Zastosowanie UPGMA dla tych samych danych wejściowych generuje następujące drzewo i macierz odległości zmierzonych na drzewie:



	A	B	C	D
A				
B	0,42			
C	0,35	0,42		
D	0,62	0,62	0,62	

Metoda NJ:



	A	B	C	D
A				
B	0,40			
C	0,35	0,45		
D	0,60	0,70	0,55	

Uogólniona metoda NJ

Umożliwia konstrukcję większej liczby drzew, co pozwala zredukować błędy popełniane w początkowych etapach analizy.

Algorytm Fitcha-Margoliasha (FM)

Przegląd wszystkich możliwych topologii drzewa i wybór tej, która minimalizuje kwadrat odchyleń rzeczywistych odległości ewolucyjnych od wyznaczonych na podstawie drzewa.

Kryterium optymalności:

$$E = \sum_{i=1}^{T-1} \sum_{j=j+1}^{T} \frac{(d_{ij} - p_{ij})^2}{d_{ij}^2}$$

Algorytm minimalnej ewolucji (ME)

Szukamy drzewa o minimalnej łącznej długości gałęzi.

Kryterium optymalności:

$S = \sum b_i$

b_i – długość i-tej gałęzi

Opierają się bezpośrednio na symbolach w sekwencji, a nie na odległościach.

Zaleta:
- możliwość badania dynamiki ewolucyjnej dla każdego znaku (wyznaczenie przypuszczalnej sekwencji przodka)

Metoda maksymalnej parsymonii (największej oszczędności) – MP

Zakłada, że najlepszym rozwiązaniem jest to najprostsze, czyli takie drzewo, które wymaga najmniej zmian (substytucji).

Analizowane są jedynie miejsca w których sekwencje się różnią, pozostałe pozycje są usuwane i nie są dalej wykorzystywane

(założenie to ogranicza w znacznym stopniu zastosowanie tej metody – z powodu występowania wstecznych substytucji przy wysokim poziomie dywergencji sekwencji metoda ta nie jest w stanie określić prawidłowej topologii drzewa).

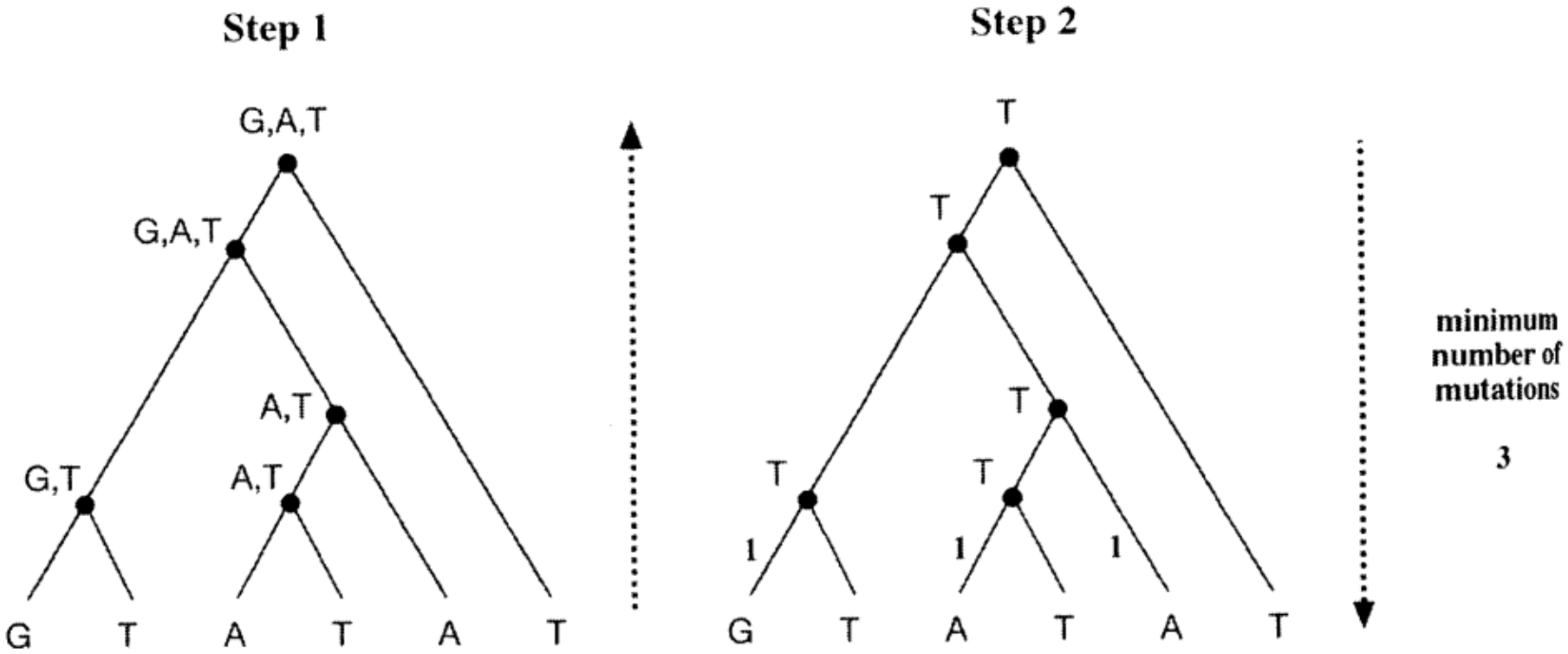
Algorytm MP – wybór pozycji informatywnych

pozycje, w których występują przynajmniej dwa rodzaje znaków, każdy przynajmniej dwa razy

taxa \ sites	1	2	3	4	5	6	7	8
I	A	A	T	T	A	G	C	T
II	G	G	T	C	G	T	A	G
III	A	A	T	G	C	G	C	T
IV	A	G	T	A	A	G	C	A
V	A	C	T	T	C	G	C	G
VI	A	C	A	T	G	G	C	A

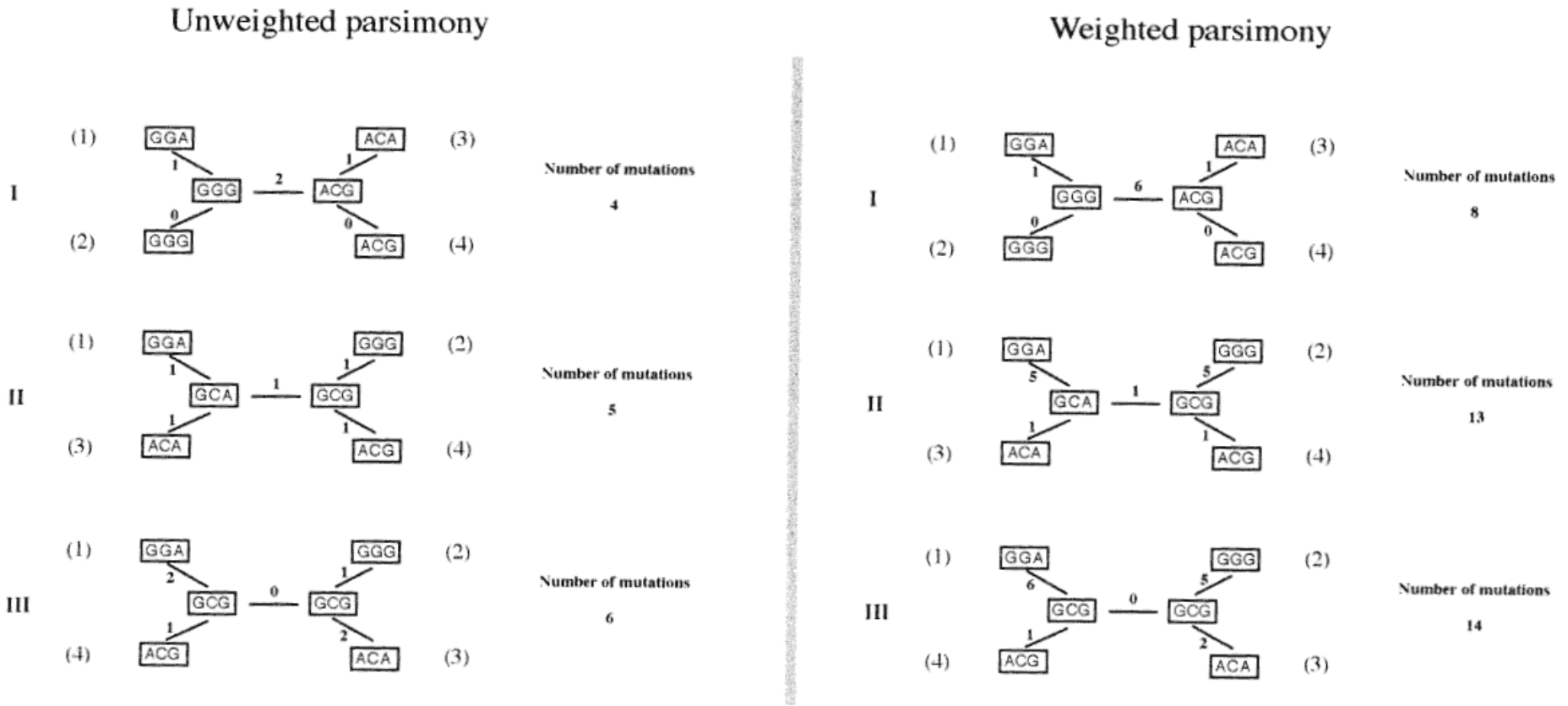
Algorytm MP – zasada działania

1. określenie wszystkich możliwych pierwotnych znaków na węzłach wewnętrznych;
2. identyfikacja tych, które wymagają minimalnej liczby mutacji

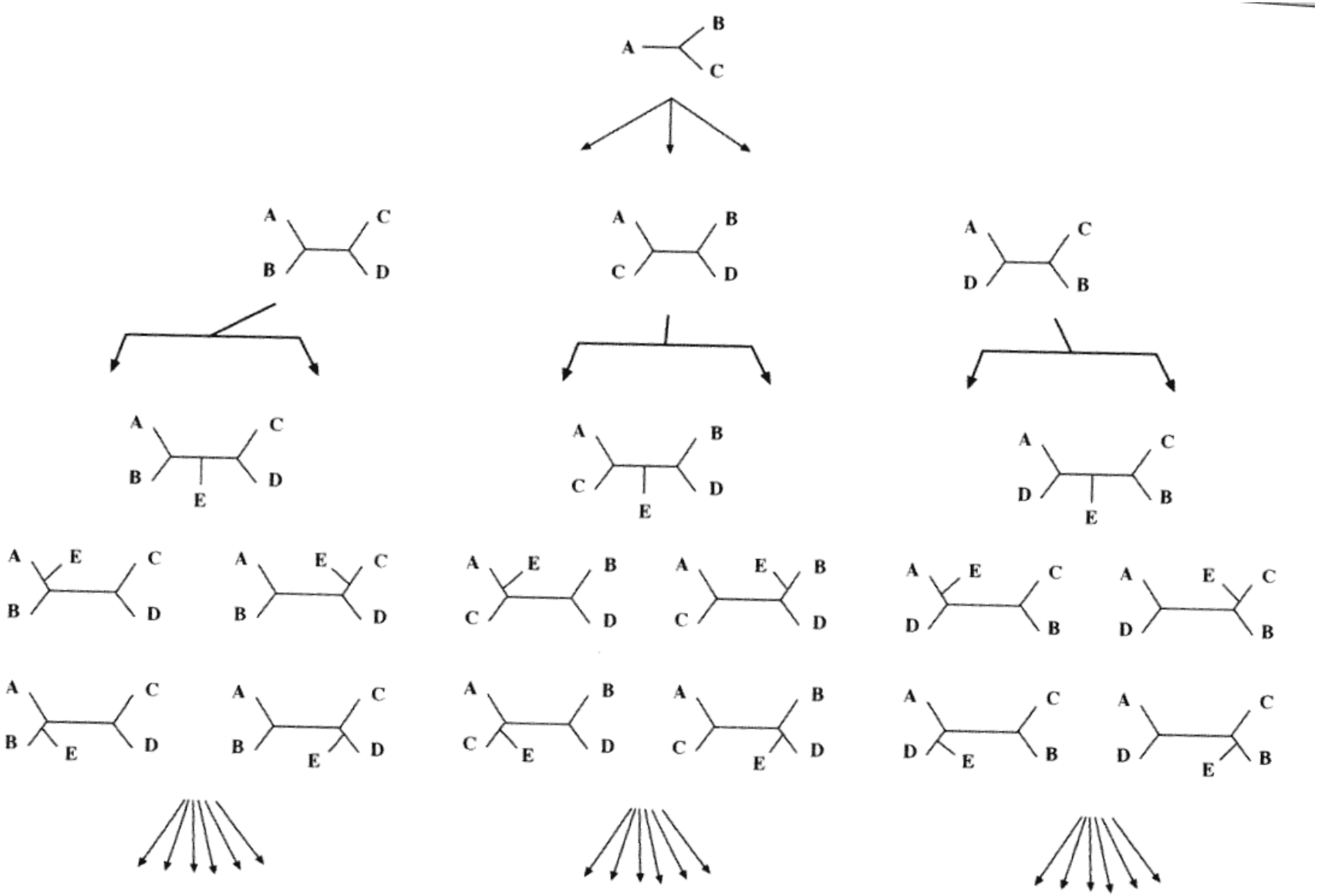


Ważona parsymonia

Zastosowane wagi:
tranzycja: 1
transwersja: 5



MP – konstrukcja drzewa



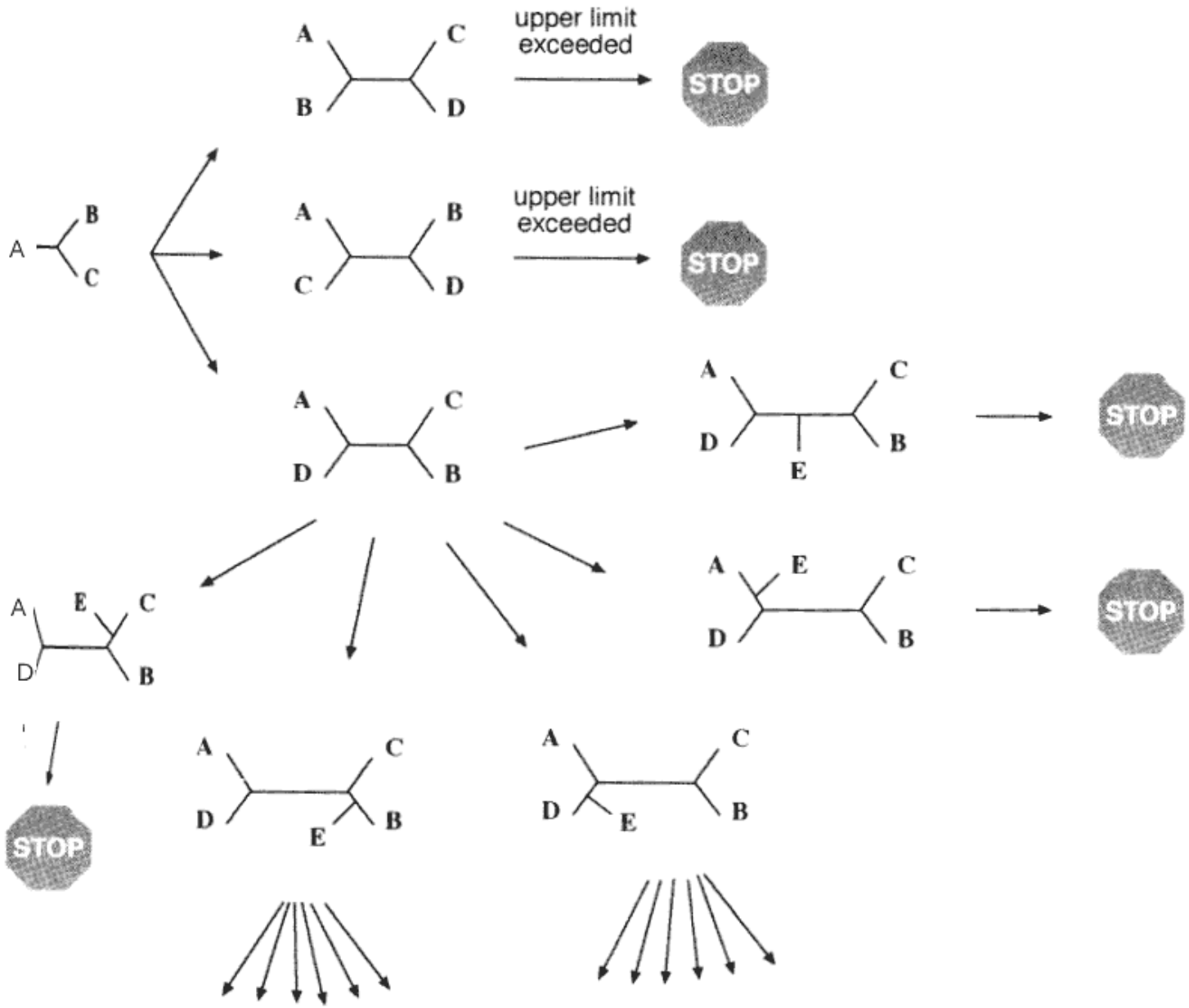
Przeglądanie wszystkich możliwych topologii.

Ograniczenie liczby przeszukiwanych topologii do zadanej z góry liczby zmian w sekwencji.

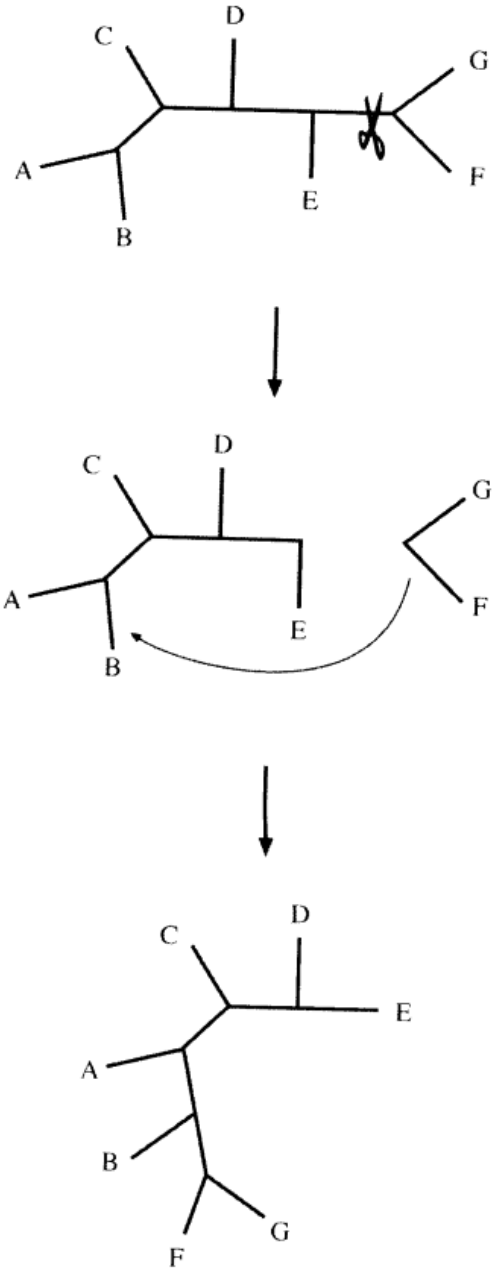
Wartość ograniczenia można uzyskać na podstawie wyniku szybkiej analizy UPGMA lub NJ.

Praktyczne zastosowanie – do ok. 20 analizowanych taksonów.

MP – *branch and bound*

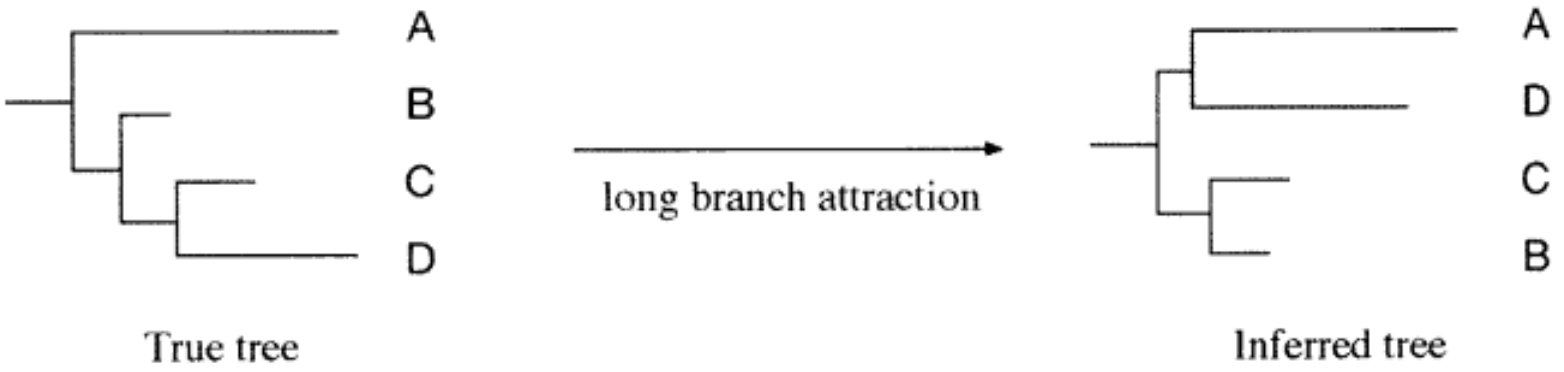


Idea:
Szybka budowa wstępnego przybliżenia (np. metodą NJ) i jego optymalizacja (np. metodą zamiany gałęzi).



Ryzyko utknięcia w minimum globalnym.

Problem przyciągania się długich gałęzi (long-branch attraction) – grupowanie szybko ewoluujących taksonów.



Metoda największej wiarygodności (ML)

Oblicza prawdopodobieństwa ewolucji sekwencji pierwotnych do węzłów wewnętrznych i do sekwencji badanych.
Wykorzystuje model substytucji.
Analizuje wszystkie znaki w sekwencji.

Metoda dokładna, lecz czasochłonna.

Możliwe uproszczenia:
- metoda kwartetów
- hybryda NJML
- algorytm genetyczny (GA)

Wybrane narzędzia

AWTY *(Are We There Yet?)* *http://king2.sc.fsu.edu/CEBProjects/awty/awty_start.php*

Phylip http://evolution.genetics.washington

MrBayes http://mrbayes.sourceforge.net/

MacClade http://macclade.org/index.html

Przykład:

```
#NEXUS Begin data;
Dimensions ntax=4 nchar=15;
Format datatype=dna symbols="ACTG" missing=? gap=-; Matrix
Species1 atgctagctagctcg
Species2 atgcta??tag-tag
Species3 atgttagctag-tgg
Species4 atgttagctag-tag ;
End;
```

Opis i przykłady:
http://wiki.christophchamp.com/index.php/NEXUS_file_format
http://nexml.org/

Narzędzia do konwersji formatów:
http://www.bugaco.com/bioinf/nexusfasta.php
http://phylosoft.org/forester/applications/phyloxml_converter/

Ocena wiarygodności drzewa

Ocena wiarygodności drzewa

- test bootstrap (konstrukcja drzew dla zaburzonych zbiorów danych)

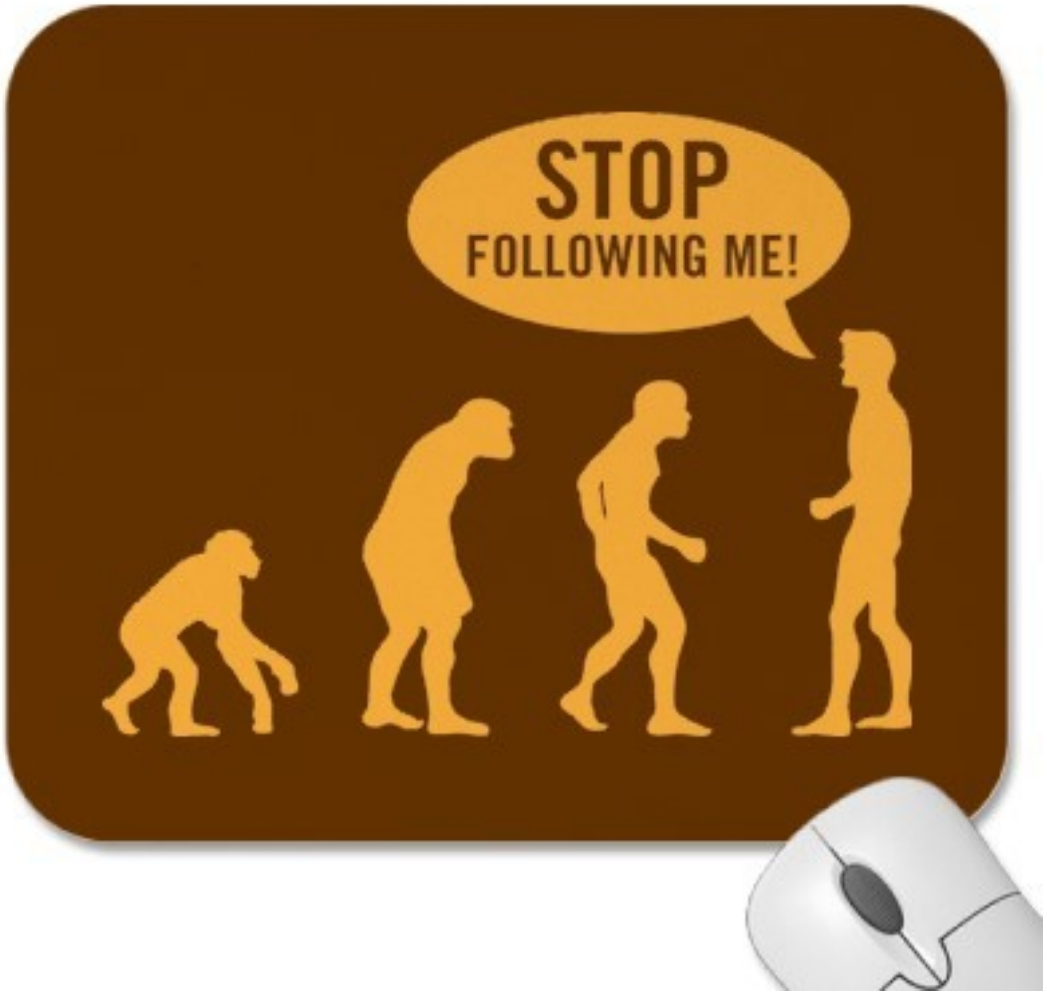
- test jacknife (konstrukcja drzew dla okrojonych zbiorów danych)

- symulacja bayesowska (MCMC)

Ocena czy wyznaczone drzewo jest istotnie lepsze od innych

- test Kishino-Hasegawy (dla drzew uzyskanych metodą MP)

- test Shimodairo-Hasegawy (dla drzew uzyskanych metodą ML)



Źródło: ???