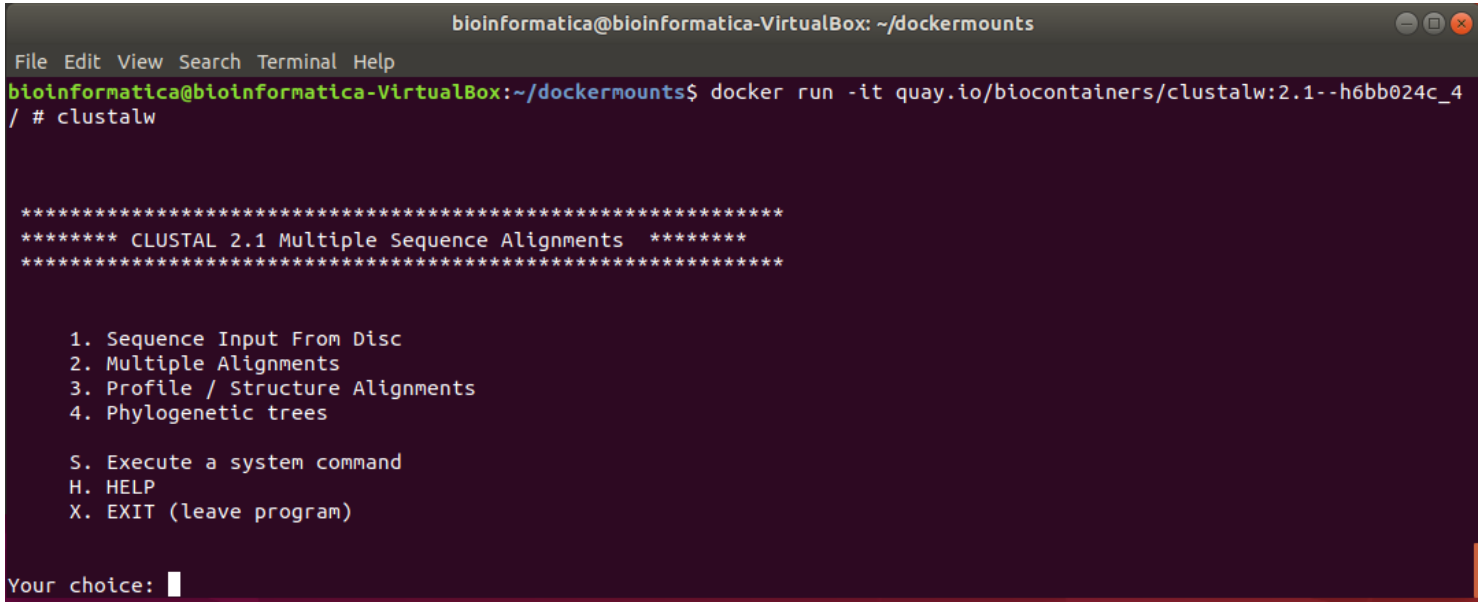
Alinhamento múltiplo

Alinhamento multiplo

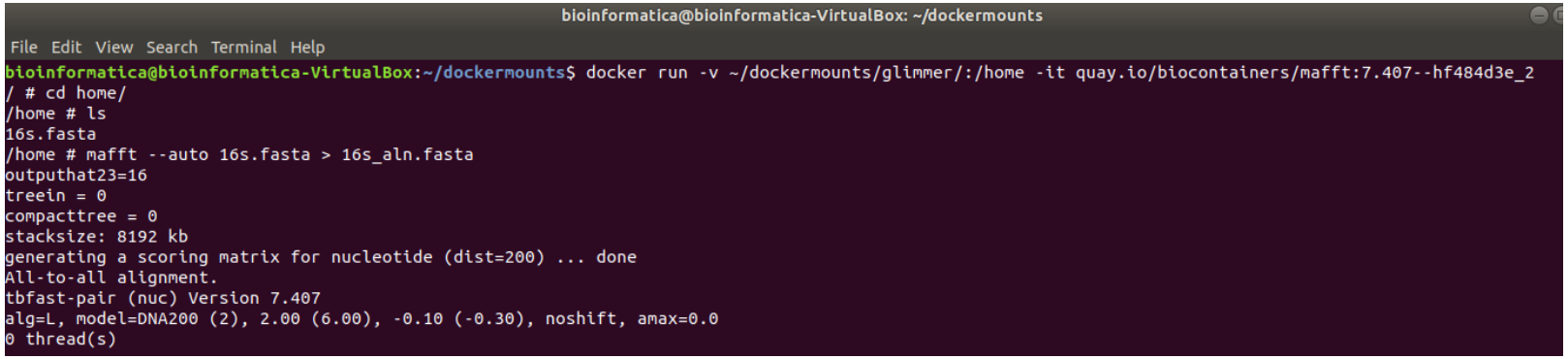
- Web – Clustal
- Command line
  - Clustal
  - Mafft
- Biopython

Bioinformatics Linux

- clustalw
  - 2.1+lgpl



- Mafft
  - 7.407--hf484d3e_2



Clustal

- is a multiple sequence alignment program for unix-like operating systems.
- Clustal 2 available in two versions
  - the command-line version Clustal W
  - graphical version X. Precompiled executables for Linux, Mac OS X and Windows Clustal
- Clustal W and Clustal X Multiple Sequence Alignment
- Multiple Sequence Alignment - CLUSTALW (genome.jp)

MAFFT

- is a multiple sequence alignment program for unix-like operating systems.
- It offers a range of multiple alignment methods
  - L-INS-i (accurate; for alignment of <~200 sequences)
  - FFT-NS-2 (fast; for alignment of <~30,000 sequences)
  - etc.

Representação de alinhamentos

- O objeto **MultipleSeqAlignment** contém objetos e funções que permitem lidar com alinhamentos (com duas ou mais sequências);
- Estes objetos são usados para guardar a estrutura dos alinhamentos e não métodos para a sua criação

Objeto MultipleSeqAlignment: exemplo

seq1 =

seq2 =

```
MHQAIFIYQIGYPLKSGYIQSIRSPEYDNW
||  |||||||*|||||||||||||| ||
MH--IFIYQIGYALKSGYIQSIRSPEY-NW
```

```
from Bio.SeqRecord import SeqRecord
from Bio.Align import MultipleSeqAlignment
from Bio.Alphabet import IUPAC
from Bio.Seq import Seq

seqr1 = SeqRecord(Seq(seq1),id="seq1")
seqr2 = SeqRecord(Seq(seq2),id="seq2")
alin = MultipleSeqAlignment([seqr1, seqr2])
print (alin.get_alignment_length())
print (alin[:,2])
print (alin)
```

Leitura de alinhamentos: objeto AlignIO

- O objeto AlignIO funciona para os alinhamentos de forma semelhante ao SeqIO para sequências
- Permite ler e escrever alinhamentos em diversos formatos
- Funções para leitura:
  - **Bio.AlignIO.read()**: lê um único alinhamento; retorna um objeto MultipleSeqAlignment
  - **Bio.AlignIO.parse()**: lê um conjunto de alinhamentos, retornando um iterador
  - Em ambos os casos, os parâmetros obrigatórios são um nome de ficheiro (ou handle), uma String a especificar o formato

AlignIO: exemplo com read

Formato Stockholm, usado pelo PFAM

```
>>> from Bio import AlignIO
>>> alignment = AlignIO.read("PF05371_seed.sth", "stockholm")
>>> print (alignment)
SingleLetterAlphabet() alignment with 7 rows and 52 columns
AEPNAATNYATEAMDSLKTQAIDLISQTWPVVTT...SKA COATB_BPIKE/30-81
AEPNAATNYATEAMDSLKTQAIDLISQTWPVVTT...SRA Q9T0Q8_BPIKE/1-52
DGTSTATSYATEAMNSLKTQATDLIDQTWPVVTS...SKA COATB_BPI22/32-83
AEGDDP---AKAAFNSLQASATEYIGYAWAMVV...SKA COATB_BPM13/24-72
AEGDDP---AKAAFDSLQASATEYIGYAWAMVV...SKA COATB_BPZJ2/1-49
AEGDDP---AKAAFDSLQASATEYIGYAWAMVV...SKA Q9T0Q9_BPFD/1-49
FAADDATSQAKAAFDSLTAQATEMSGYAWALV...SRA COATB_BPIF1/22-73
```

AlignIO: exemplo cont.

Formato Stockholm, usado pelo PFAM

```
>>>  from Bio import AlignIO
>>> alignment = AlignIO.read("PF05371_seed.sth", "stockholm")
 >>> print (”Tam. alinhamento %i" % alignment.get_alignment_length() )
Tam. alinhamento 52
>>> for record in alignment:
 ... print ("%s - %s" % (record.seq, record.id) )
>>> for record in alignment:
 ... if record.dbxrefs:
...                     print (record.id, record.dbxrefs )
```

Exemplos de uso do iterador sobre os objetos SeqRecord no alinhamento

AlignIO: exemplo com read

Formato FASTA

```
>>> from Bio import AlignIO
>>> alignment = AlignIO.read("PF05371_seed.faa", "fasta")
>>> print (alignment )
>>> print ("tam. alinhamento %i" % alignment.get_alignment_length() )
```

Note que apenas varia o formato … neste caso FASTA

AlignIO: exemplo com parse

Formato Phylip

```
from Bio import AlignIO
alignments = AlignIO.parse("resampled.phy", "phylip")
for alignment in alignments:
        print (alignment)

alignments = list(AlignIO.parse("resampled.phy", "phylip"))
last_align = alignments[-1]
first_align = alignments[0]
```

Note que, neste caso, são lidos vários alinhamentos sendo retornado um iterador sobre objetos MultipleSeqAlignment

AlignIO: escrita de alinhamentos

- A função **Bio.AlignIO.write()** permite escrever alinhamentos em vários formatos
- Argumentos:
  - Lista com objetos MultipleSeqAlignment
  - Nome do ficheiro (ou handle)
  - Formato (string)

AlignIO: exemplo write

```
from Bio.Seq import Seq
from Bio.SeqRecord import SeqRecord
from Bio.Align import MultipleSeqAlignment

align1 = MultipleSeqAlignment([SeqRecord(Seq("ACTGCTAGC"), id="A"),
    SeqRecord(Seq("ACT-CTAGC"), id="B"),
    SeqRecord(Seq("ACTGCTAGD"), id="C"), ])
align2 = MultipleSeqAlignment([ SeqRecord(Seq("TCAGC-AG"), id="D"),
    SeqRecord(Seq("ACAGCTAG"), id="E"),
    SeqRecord(Seq("TCAGCTAG"), id="F"), ])

my_alignments = [align1, align2]

from Bio import AlignIO
AlignIO.write(my_alignments, "my_example.phy", "phylip")
AlignIO.write(my_alignments, "my_example.sth", "stockholm")
AlignIO.write(my_alignments, "my_example.faa", "fasta")
```

AlignIO: conversão de formatos

```
from Bio import AlignIO
count = AlignIO.convert("PF05371_seed.sth", "stockholm",
                        "PF05371_seed.aln", "clustal")
print ("Convertidos %i alinhamentos" % count )
```

Equivalente a

```
from Bio import AlignIO
alignment = AlignIO.read("PF05371_seed.sth", "stockholm")
AlignIO.write([alignment], "PF05371_seed.aln", "clustal")
```

Slicing de alinhamentos: exemplos

`alignment[3:7]` Dará o alinhamento com as sequências entre a 4ª e a 7ª (todas as colunas)

`alignment[2].seq[6]` Uma única letra: 3ª sequência, 7ª caracter da sequencia do alinhamento

`alignment[:, 6]` Apenas uma coluna (a 7ª); todas as sequências

`alignment[3:6, :6]` Sequências da 4ª à 6ª, primeiras 6 colunas

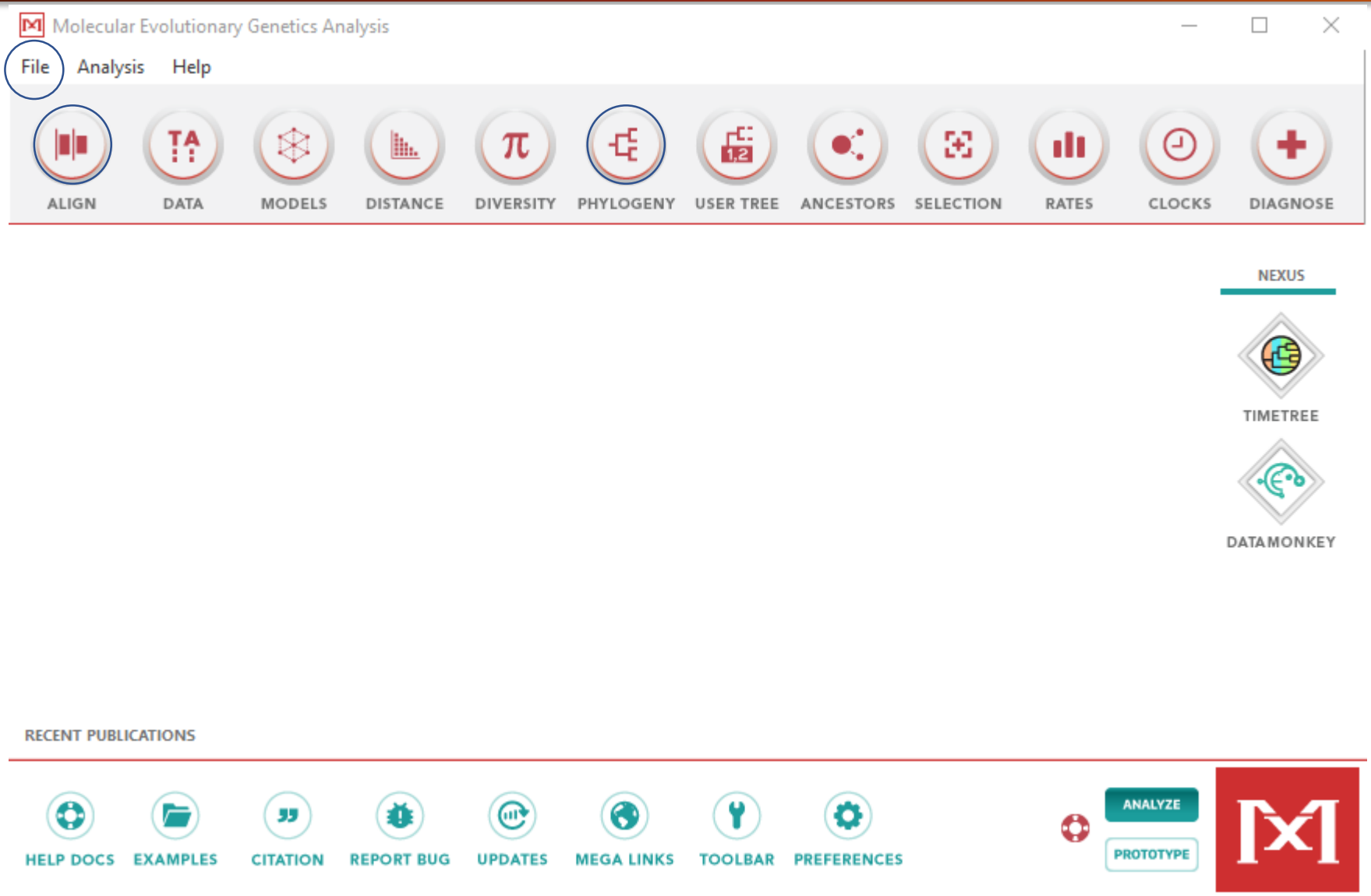
Análise Filogenética

Análise filogenética

- Mega
- Biopython

MEGA

MEGA


Molecular Evolutionary Genetics Analysis
File
Analysis
Help
ALIGN
DATA
MODELS
DISTANCE
DIVERSITY
PHYLOGENY
USER TREE
ANCESTORS
SELECTION
RATES
CLOCKS
DIAGNOSE
NEXUS
TIMETREE
DATAMONKEY
RECENT PUBLICATIONS
HELP DOCS
EXAMPLES
CITATION
REPORT BUG
UPDATES
MEGA LINKS
TOOLBAR
PREFERENCES
ANALYZE
PROTOTYPE

Biopython

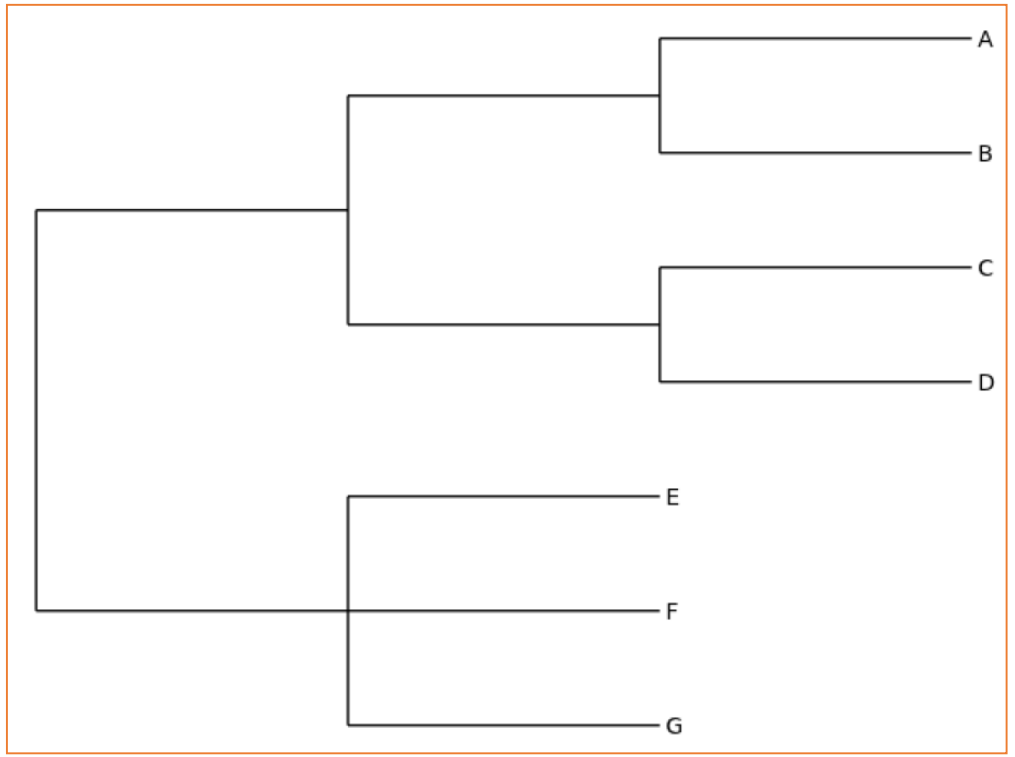
Representação de árvores

Formato Newick

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

Ficheiro “simple.dnd”

Representação gráfica

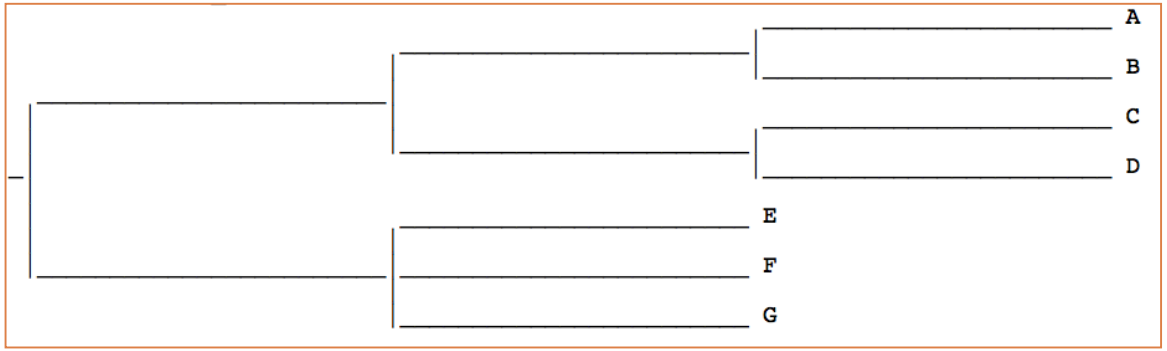


Criar árvore e desenhar

```
>>> from Bio import Phylo
>>> tree = Phylo.read("simple.dnd", "newick")
>>> print (tree)
```

```
Tree(weight=1.0, rooted=False, name="")
    Clade(branch_length=1.0)
        Clade(branch_length=1.0)
            Clade(branch_length=1.0)
                Clade(branch_length=1.0, name="A")
                Clade(branch_length=1.0, name="B")
            Clade(branch_length=1.0)
                Clade(branch_length=1.0, name="C")
                Clade(branch_length=1.0, name="D")
        Clade(branch_length=1.0)
            Clade(branch_length=1.0, name="E")
            Clade(branch_length=1.0, name="F")
            Clade(branch_length=1.0, name="G")
```

```
>>> Phylo.draw_ascii(tree)
```



Objetos Tree e Clade

- Os objetos Tree e Clade permitem representar a estrutura de uma árvore de forma recursiva
  - Tree – informação global da árvore (e.g. se tem raiz)
  - Clade – informação específica de cada nó/ramo, tal como comprimento + informação sobre as suas sub-árvores
- Existem diversos métodos para percorrer e modificar árvores e sub-árvores (ver secção 13.4 do tutorial)

Funções de I/O para árvores

- Tal como no caso do SeqIO e do AlignIO, o biopython disponibiliza com o Phylo um conjunto de funções para ler e escrever árvores em diversos formatos: parse, read, write e convert.

- Os significados de cada uma destas funções são muito semelhantes aos anteriores como se constata nos exemplos seguintes

Funções de I/O para árvores: exemplos

```
>>> from Bio import Phylo
>>> tree = Phylo.read("int_node_labels.nwk", "newick")
>>> print (tree)
>>> Phylo.draw_ascii(tree)

>>> Phylo.convert("int_node_labels.nwk", "newick", "tree.xml",
"phyloxml")

>>> trees = Phylo.parse("tree.xml", "phyloxml")
>>> for tree in trees: print(tree)
```