

Evolution Moléculaire (Master 1 Bioinformatique - parcours BBS et BGE)

Evolution moléculaire : neutre ou adaptative ?

Maxime Bonhomme

Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales

10 mai 2022

Evolution Moléculaire : neutre ou adaptative ?

- 1 Théorie neutraliste
- 2 Sélection au niveau moléculaire
- 3 Tests de neutralité
 - tests sur les fréquences alléliques
 - polymorphisme et divergence
 - méthodes phylogénétiques
- 4 References

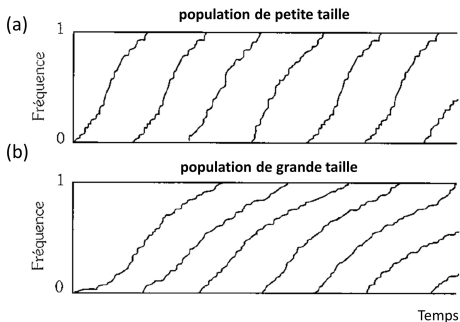
Théorie neutraliste de l'évolution moléculaire

Principaux résultats

- développée par Motoo Kimura (1968, 1969, 1983)
- selon la théorie, la majorité des polymorphismes moléculaires résulte de **l'évolution par dérive génétique** d'allèles mutants sélectivement neutres (ex : ADN non codant majoritaire, 3ème position des codons - mutation synonyme -) :
- à un gène donné, dans une population, les mutations se produisent à un taux par génération de $2N\mu$ ($2N$ = nombre de "copies" du gène dans une population diploïde, μ = taux de mutation du gène)
- sous dérive chaque mutation a une probabilité de fixation = sa fréquence = $\frac{1}{2N}$
- sous dérive chaque mutation a une probabilité d'élimination = $1 - \frac{1}{2N}$
- le taux de fixation (remplacement) d'allèles neutres = $2N\mu * \frac{1}{2N} = \mu$
- temps moyen de fixation d'une mutation dépend de la taille de la population : $4N$ générations
- dans les populations de petites taille, temps de fixation plus court
- à l'équilibre mutation-dérive, la quantité de polymorphisme dans la population est déterminé par le produit $N\mu$, généralement mesuré par $\theta = 4N\mu$

Théorie neutraliste

La quantité de polymorphisme au locus dépend de la taille de la population



Le taux de mutation μ est le même, donc le taux de remplacement neutre aussi ($= \mu$), mais comme $4N$ est différent, il y a tout moment plus de mutations neutres (polymorphisme $\theta = 4N\mu$) dans la population de grande taille que dans celle de petite taille ($\theta_b > \theta_a$).

Théorie neutraliste

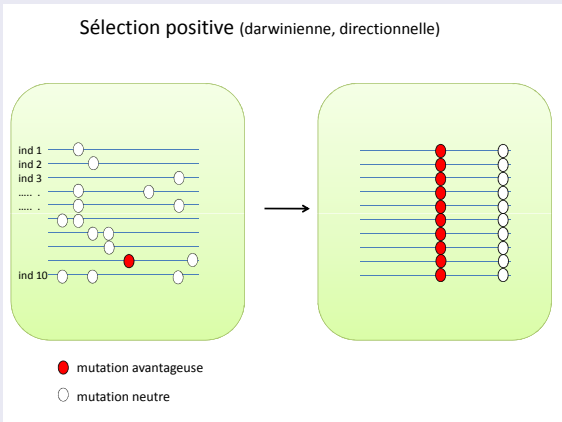
En pratique

- **mutation neutre** : le plus souvent éliminée de la population, mais peut aussi se substituer à l'allèle sauvage, à cause des effets aléatoires de la **dérive génétique** dans les petites populations
- **mutation légèrement défavorable** : se comporte de manière similaire à une mutation neutre
- **mutation défavorable** : diminue en fréquence (**sélection négative**)
- **mutation favorable** : augmente en fréquence (**sélection positive**)
- les mutations favorables ou défavorables sont de toute façon sous l'emprise de la dérive génétique

Quels sont les effets de la sélection naturelle ?

- affecte la **distribution des fréquences alléliques**, parfois rapidement
- affecte le **nombre d'allèles** maintenus (augmentation, diminution)
- affecte l'**hétérozygotie**
- affecte la proportion de **changements synonymes et non-synonymes** des séquences codantes

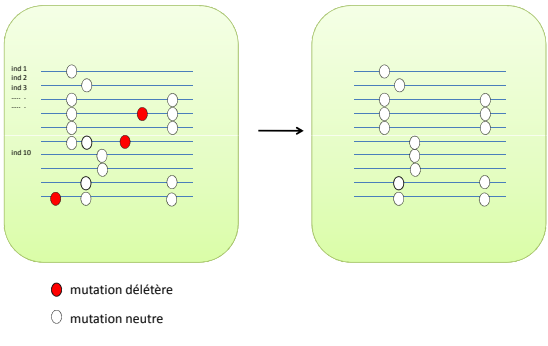
Sélection positive



- gènes ayant un rôle dans l'adaptation (ex : résistance aux insecticides chez le moustique, adaptation à la sécheresse)

Sélection négative (purifiante)

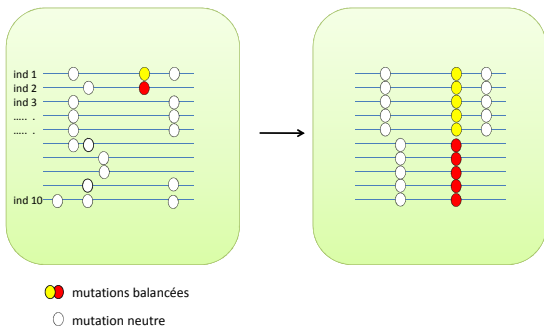
Sélection purifiante (stabilisante, background selection)



- gènes "domestiques" ("housekeeping genes") : les changements sont contre-sélectionnés

Sélection balancée

Sélection balancée (diversifiante)



- avantage à l'hétérozygote (overdominance)
- sélection fréquence dépendante (sélection de l'allèle rare, dynamique de fréquences cyclique)
- ex : anémie falciforme chez l'homme, gènes de l'immunité (maintien d'un fort polymorphisme)

Comment détecter la sélection ?

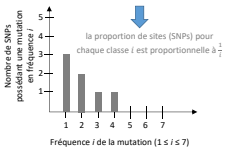
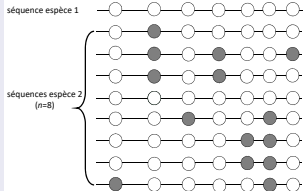
- **approche directe** : suivre expérimentalement une population au cours du temps
 - avantage : on connaît et on manipule l'agent de la sélection.
 - "evolve and resequence"
 - contraintes sur l'échelle de temps et taille d'échantillons.
 - donc contraintes sur les organismes étudiés (ex : bactéries, drosophile, arabidopsis,...).
- **approche alternative "indirecte"** : différentes signatures moléculaires de la sélection sur les séquences d'ADN peuvent être utilisées :
 - spectre de fréquences alléliques et diversité nucléotidique
 - polymorphisme / divergence
 - méthodes phylogénétiques ($\frac{dN}{dS}$)
 - importance de la théorie neutraliste :
 - un modèle "nul" (hypothèse "H0" qui décrit un monde sans sélection naturelle)
 - la diversité génétique n'est affectée que par la dérive, la mutation, la recombinaison et la migration
 - **prédire avec le modèle nul ce qu'on devrait attendre** (hétérozygotie, nombre d'allèles, distribution des fréquences alléliques) et **tester l'ajustement de nos données au modèle**

Spectre de fréquences alléliques et sites nucléotidiques

Neutralité

Exemple 1: évolution neutre

Site nucléotidiques (SNPs) mutés chez l'espèce 2

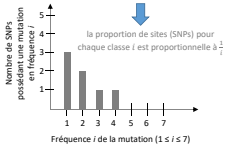
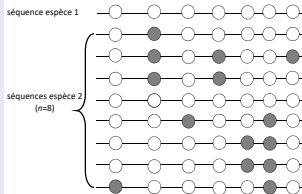


Spectre de fréquences alléliques et sites nucléotidiques

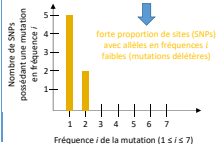
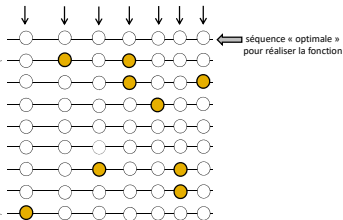
Sélection négative (purifiante)

Exemple 1: évolution neutre

Site nucléotidiques (SNPs) mutés chez l'espèce 2



Exemple 2: sélection négative sur ● (sélection purifiante, contre-sélection des mutations délétères)

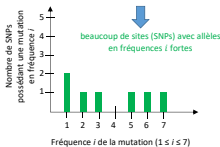
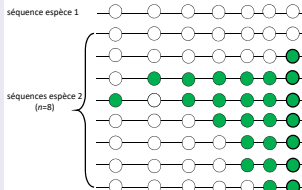


Spctre de fréquences alléliques et sites nucléotidiques

Sélection positive

Exemple 3: sélection positive sur ●

Site nucléotidiques (SNPs) mutés chez l'espèce 2

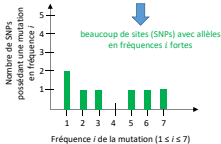
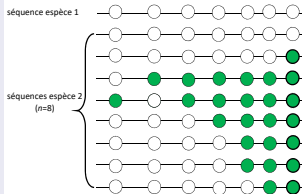


Spectre de fréquences alléliques et sites nucléotidiques

Sélection positive intense (balayage sélectif)

Exemple 3: sélection positive sur

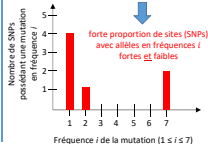
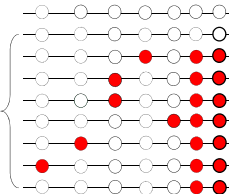
Site nucléotidiques (SNPs) mutés chez l'espèce 2



Exemple 4: sélection positive forte sur

(balayage sélectif, « selective sweep »)

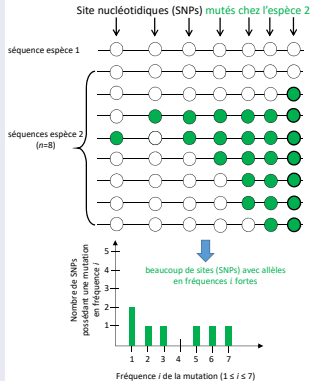
Site nucléotidiques (SNPs) mutés chez l'espèce 2



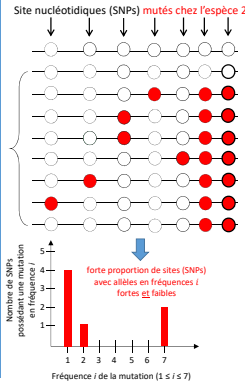
Spectre de fréquences alléliques et sites nucléotidiques

Sélection balancée

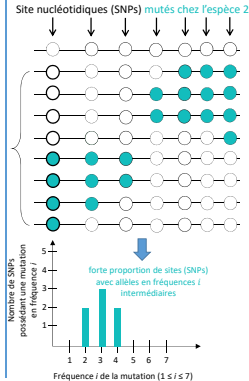
Exemple 3: sélection positive sur



Exemple 4: sélection positive forte sur (balayage sélectif, « selective sweep »)

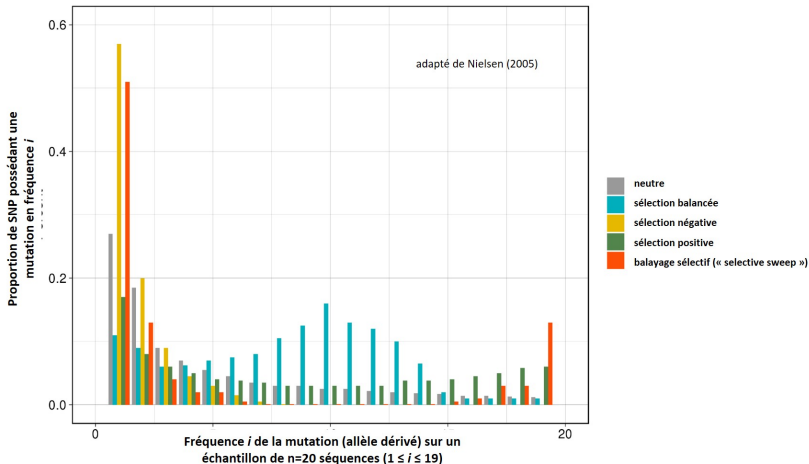


Exemple 5: sélection balancée sur et

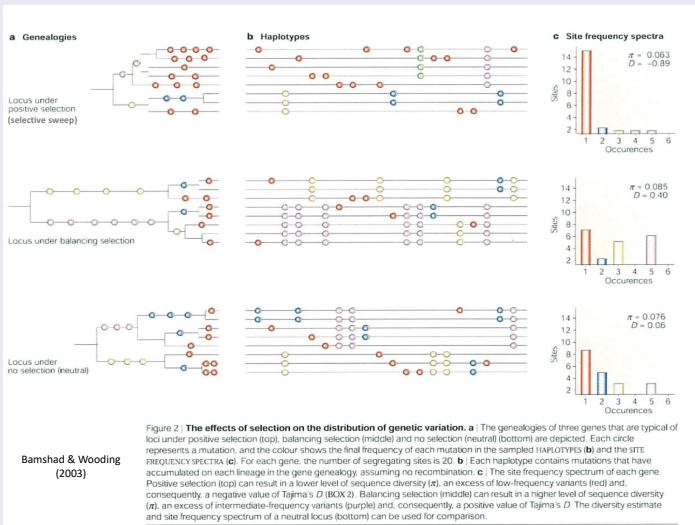


Spectre de fréquences alléliques et sites nucléotidiques

"Site Frequency Spectrum" (SFS) pour différentes formes de sélection



Spectre de fréquences alléliques et sites nucléotidiques, et généalogie



Bamshad & Wooding
(2003)

Test de Tajima sur la diversité nucléotidique

- compare deux estimateurs du paramètre $\theta = 4N\mu$:
 - sur la base du nombre de sites qui ségrégent (S)
 - sur la base de la diversité nucléotidique (hétérozygotie) (π)
- chaque mutation crée un nouveau site ségrégeant (S) mais contribue très peu à la diversité nucléotidique (π)
- ces 2 estimateurs diffèrent donc par l'importance relative accordée aux variants rares et intermédiaires

$$D = \frac{\hat{\theta}_\pi - \hat{\theta}_S}{SE(\hat{\theta}_\pi - \hat{\theta}_S)} \quad (1)$$

- sous $H_0 = \text{neutralité}$: $\mathbb{E}(D) = 0$ et $\text{Var}(D) = 1$ (utilisation des lois normales et beta, ou simulations, pour effectuer le test)
- $D < 0 = \text{sélection purifiante}$, présence de mutations légèrement délétères dans la population : excès d'allèles rares, forte contribution de S (possible aussi en cas d'expansion de la population, et de balayage sélectif)
- $D > 0 = \text{sélection balancée}$, présence de mutations en fréquences intermédiaires : moins d'allèles rares mais beaucoup d'hétérozygotie, forte contribution de π (possible aussi en cas de goulot d'étranglement de la population)

Test de Tajima sur la diversité nucléotidique

exemple du gène CCR5 chez l'homme

A strong signature of balancing selection in the 5' cis-regulatory region of CCR5

Michael J. Bamshad^{1*}, Srinivas Mummidi^{1*}, Enrique Gonzalez^{1*}, Seema S. Ahuja^{1*}, Diane M. Dunn¹, W. Scott Watkins¹, Stephen Wooding¹, Anne C. Stone¹, Lynn B. Jorde¹, Robert B. Weiss¹, and Sunil K. Ahuja^{1*}

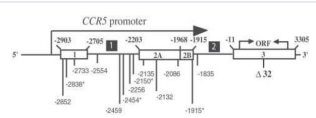


Table 1. Summary of sequence variation in the cis-regulatory region of CCR5

Population	n*	S	θ_W	$\pi \pm SD, \%$	Tajima's D [†]	F _s [‡]
NIH panel	176	9	1.57	0.29 ± 0.17	—	— [§]
Old World panel	224	13	2.18	0.21 ± 0.13	0.667 (0.37)	0.02 (0.38)
Africans	62	12	2.56	0.22 ± 0.13	0.292 (0.38)	-0.81 (0.57)
Non-Africans	162	8	1.42	0.21 ± 0.12	2.08 (0.03)	2.57 (0.10)
Asians	54	6	1.32	0.20 ± 0.12	2.52 (0.01)	3.45 (0.06)
Europeans	48	7	1.58	0.22 ± 0.13	2.20 (0.02)	1.61 (0.17)
Indians	60	7	1.54	0.20 ± 0.12	1.85 (0.04)	2.34 (0.12)

*Number of chromosomes.

[†]P value is given in parentheses.

[‡]Ethnic identity unlinked to samples, therefore haplotypes could not be estimated reliably.

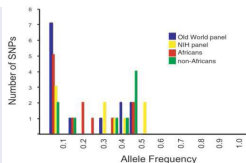
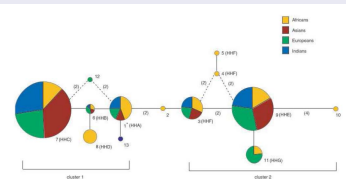
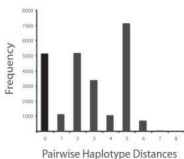


Fig. 2. Allele frequency spectrum for 13 SNPs found in the Old World and NIH panels, and for Africans and non-Africans. The frequency of the derived allele of each SNP is shown.



• des allèles trop divergents pour un modèle neutre: sélection balancée?

- avantage à long terme aux hétérozygotes à CCR5?
- un locus impliqué dans la résistance à d'autres maladies?

Polymorphisme et divergence des mutations synonymes et non synonymes

test de McDonald-Kreitman

- polymorphisme neutre et divergence neutre sont deux facettes d'un même processus
- hypothèse du test : si mutations *syn* et *nonsyn* sont **neutres**, la proportion de polymorphismes *syn* et *nonsyn* dans une espèce devrait être égale à la proportion de différences *syn* et *nonsyn* entre espèces
- exemple d'un site nucléotidique chez 5 individus par espèce :
 - AAAAA chez espèce 1, GGGGG chez espèce 2 = une différence fixée
 - AGAGA chez espèce 1, AAAAA chez espèce 2 = un site polymorphe
- classification des sites nucléotidiques dans un tableau de contingence

Type de changement	Divergence	Polymorphisme
remplacement (non syn)	N_1	N_2
silencieux (syn)	N_3	N_4

- test de χ^2 d'indépendance ou test exact de Fisher
- McDonald and Kreitman (1991) : mise en évidence de la sélection sur le gène de l'*Adh* chez 3 espèces de *Drosophile*

Comparaison des taux de substitution

dégénérescence du code génétique

le code génétique										
		Deuxième lettre								
		U	C	A	G					
Première lettre (côté 5')	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
	G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
		GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
		GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
		GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G
		codon d'initiation			codon de terminaison					

Troisième lettre (côté 3')

Comparaison des taux de substitution pour deux séquences

séquence 1: TCC GCA CCA
 séquence 2: TCA GCA ACA

séquence 1: TCC GCA CCA
 séquence 2: TCA GCA ACA

séquence 1: Ser Ala Pro
 séquence 2: Ser Ala Thr

- nombre moyen de sites synonymes par séquence: 3

- substitutions synonymes: 1

- nombre moyen de sites non synonymes par séquences: 6

- substitutions non synonymes: 1

$$d_N = \frac{\text{nombre de substitutions non synonymes}}{\text{nombre de sites non synonymes}}$$

$$d_S = \frac{\text{nombre de substitutions synonymes}}{\text{nombre de sites synonymes}}$$

$$d_N / d_S = \omega \quad [\text{aussi appelé Ka/Ks}]$$

$0 < \omega < 1$: sélection purifiante (séquence conservée)

$\omega = 1$: neutralité

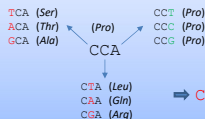
$\omega > 1$: sélection positive (diversifiante)

$$d_N = 1/6$$

$$d_S = 1/3$$

$$d_N / d_S = \omega = 0.5$$

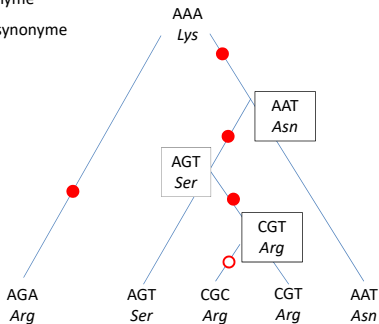
Quels sont les sites *s* et *ns* sur un codon ? :
 un cas simple



Comparaison des taux de substitution sur les branches de l'arbre

○ substitution synonyme

● substitution non-synonyme



on estime d_N et d_S sur chaque branche:

- il faut inférer la séquence ancestrale (ici l'acide aminé Lys)
- utilisation d'un espèce divergente (orthologue distant)

Comparaison des taux de substitution

un grand nombre de méthodes

● méthodes heuristiques (approximations) :

- inférence de la séquence ancestrale par parcimonie, estimation de d_N et d_S sur chaque branche, et approximation normale de $d_N - d_S$ (Messier and Stewart, 1997)
- MAIS incertitudes sur la reconstruction de la séquence ancestrale
- pour éviter cela Zhang et al. (1998) calculent d_N et d_S pour chaque comparaison de séquences 2 à 2, et estiment les longueurs de branches indépendamment pour les taux de substitution *syn* et *non - syn*. Ensuite, ils comparent les deux arbres basés sur les substitutions *syn* et *non - syn*

● méthodes par vraisemblance (Likelihood methods) :

- analyses plus rigoureuses car tiennent compte de l'incertitude sur la séquence ancestrale, en utilisant **les modèles de substitution des codons** et en **analysant toutes les séquences conjointement dans un arbre phylogénétique**
- avantage : on peut modéliser la **variation de ω le long d'une branche** de l'arbre et le **long de la séquence**, jusqu'à estimer un ω par site nucléotidique !
- donc on peut estimer la sélection dans le temps (branches internes) mais aussi sur certaines parties d'un gène (sites conservés, sites adaptatifs)
- exemple : sur 7645 gènes chez homme-chimpanzé-souris, 1547 ont un $\omega > 1$ le long de la branche qui mène aux humains, et 1534 le long de la branche qui mène aux chimpanzés : pas les mêmes gènes

Liste des tests usuels

Table 1 | **Commonly used tests of neutrality**

Test	Compares
<i>Tests based on allelic distribution and/or level of variability</i>	
Tajima's D	The number of nucleotide polymorphisms with the mean pairwise difference between sequences
Fu and Li's D , D^*	The number of derived nucleotide variants observed only once in a sample with the total number of derived nucleotide variants
Fu and Li's F , F^*	The number of derived nucleotide variants observed only once in a sample with the mean pairwise difference between sequences
Fay and Wu's H	The number of derived nucleotide variants at low and high frequencies with the number of variants at intermediate frequencies
<i>Tests based on comparisons of divergence and/or variability between different classes of mutation</i>	
d_n/d_s , K_a/K_s	The ratios of non-synonymous and synonymous nucleotide substitutions in protein coding regions
HKA	The degree of polymorphism within and between species at two or more loci
MK	The ratios of synonymous and non-synonymous nucleotide substitutions in and between species

HKA, Hudson-Kreitman-Aguade; MK, McDonald-Kreitman.

