# Construisez un arbre phylogénétique!



Il est possible de construire un arbre phylogénétique à partir de différents types de données:

- les données morphologiques (écailles ou plumes, présence de certains os du crâne, température corporelle, ...). Il existe quelques centaines de caractères définis dans ce but par les spécialistes.
- les données moléculaires (séquences d'ADN ou de protéines). Des mutations modifient les séquences de l'ADN et par conséquent des protéines au cours de l'évolution.

....grâce à PhiloPhylo, un programme bioinformatique, vous allez construire des arbres phylogénétiques obtenus sur la base de séquences de protéines et découvrirez que les protéines ont aussi la mémoire de leurs ancêtres...





#### Choisissez une protéine

- Insuline (permet au sucre d'entrer dans les cellules)
- C TPIS (impliquée dans le métabolisme des sucres)
- MetRS (impliquée dans la synthèse des protéines)
- O Histone H4 (importante pour la structure des chromosomes)
- C ATPA (impliquée dans la production d'énergie)
- C Hormone de croissance (fait grandir les enfants...)
- Cytochrome B (impliquée dans la production d'énergie)



recherchez les séquences de cette protéine dans différentes espèces



# Joyeuses découvertes!



### Fiche technique



#### Choisissez une protéine



L'idéal est de choisir une protéine qui vous intéresse et qui est connue dans les espèces que vous voulez comparer... ce n'est pas toujours le cas:

- Les biologistes savent qu'une protéine existe dans une espèce donnée, mais elle n'a pas encore été caractérisée: par exemple, les giraffes ont de l'insuline, mais sa séquence n'est pas encore connue.
- la protéine n'existe pas dans une espèce: les bactéries, les levures ou le maïs par exemple, n'ont pas d'insuline. D'autres protéines, comme le cytochrome B, sont appréciées des phylogénéticiens, car leurs séquences sont connues dans de très nombreuses espèces, y compris dans des espèces disparues comme le dodo ou le mammouth!



...et recherchez les séquences de cette protéine chez différentes espèces...autrement dit, allez pêcher l'équivalent de votre protéine (humaine) dans d'autres espèces comme la grenouille, le bœuf ou le lapin.

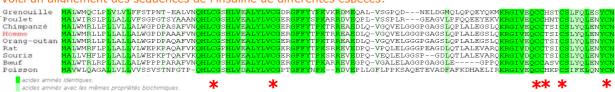
Pour cela, il faut utiliser un programme bioinformatique (appelé 'Blast') qui va 'pêcher' dans une base de données toutes les protéines qui ressemblent à la protéine de départ. La base de données que nous utilisons est appelée Swiss-Prot. Elle contient des informations sur ~230'000 protéines provenant de ~10'000 espèces différentes.

### **Comparez les séquences des protéines**... dans le jargon bioinformatique, on parle d'alignement de séquences.

Pour comprendre cette étape, il faut se rappeler que les protéines peuvent être comparées à des colliers de longueur variable, composés de 20 perles différentes: les acides aminés. Les acides aminés sont représentés par des lettres majuscules (G, E, N, I, E...). Construire un alignement consiste à mettre en relation les colliers de perles les uns avec les autres en fonction de la similarité de leurs perles (comparer de façon bio-logique les différents colliers de perles). Au cours de l'évolution, les acides aminés qui jouent un rôle important pour la structure ou la fonction d'une protéine ne sont pas ou peu modifiés et se retrouvent à la même place dans toutes les espèces. Les acides aminés moins 'vitaux' pour la fonction de la protéine peuvent être plus ou moins modifiés en fonction du moment auquel les espèces ont divergé.



#### Voici un alignement des séquences de l'insuline de différentes espèces:

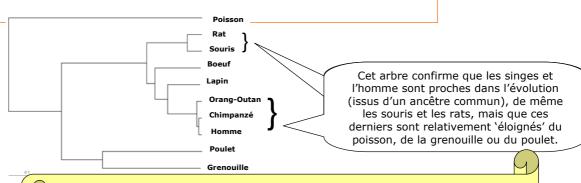


Construisez un arbre phylogénétique...

Pour construire un arbre, il faut utiliser des programmes bioinformatiques qui évaluent les différences ou similitudes observées dans l'alignement. Les résultats peuvent ensuite être visualisés à l'aide d'un arbre phylogénétique. Plus le nombre d'acides aminés est différent entre les protéines, plus les espèces seront 'éloignées' dans les différents embranchement de l'arbre et plus les espèces seront considérées comme 'éloignées' dans l'évolution. Les embranchements (ou noeuds) correspondent à des organismes ancestraux hypothétiques.

Les 6 'C' sont conservés au cours de l'évolution, parce qu'ils sont importants pour la structure de l'insuline: ils forment 3 'ponts'.

Voici un arbre phylogénétique construit à partir de l'alignement des séquences d'insuline:



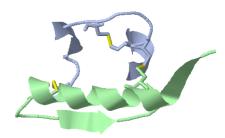
- Selon la protéine ou les caractères morphologiques choisis, les programmes utilisés, les arbres phylogénétiques peuvent être différents... ne vous inquiétez pas... cela donne parfois du fil à retordre même aux spécialistes !
- Les résultats de ces analyses 'moléculaires' sont importants pour les biologistes parce qu'ils sont <u>complémentaires</u> aux analyses des caractères morphologiques: ils ont permis de confirmer beaucoup d'hypothèses sur l'évolution de la vie.
- Il est maintenant possible de construire un arbre en tenant compte à la fois des données morphologiques et des données moléculaires.

## Arbre phylogénétique (insuline)

L'insuline est une hormone cruciale pour le métabolisme du sucre. Elle est fabriquée par le pancréas puis secrétée dans la circulation sanguine. Elle régule le taux de sucre dans le sang en permettant au sucre d'entrer dans les cellules (et donc les tissus). En cas de manque d'insuline (comme c'est le cas dans certaines formes de diabète), il est nécessaire de faire des injections d'insuline.

# Séquence en acides aminés de l'insuline humaine

MALWMRLLPLLALLALWGPDPAAAFVNQHLCGSHLVEALYLVC GERGFFYTPKTRREAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSL QKRGIVEQCCTSICSLYQLENYCN Structure 3D de l'insuline humaine



### Alignement multiple des séquences des insulines des différentes espèces

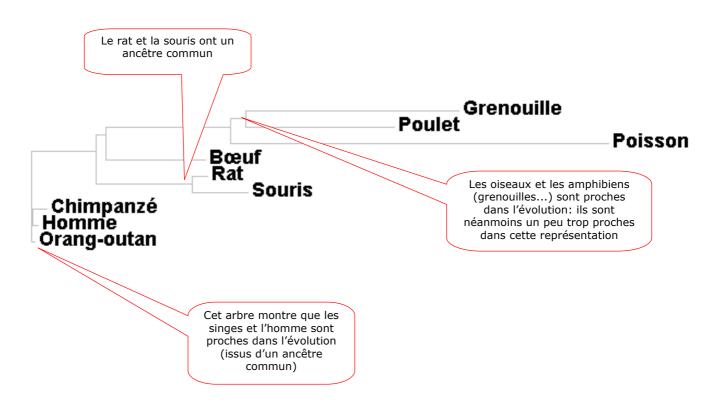


Calcul des différences entre les séquences





### Arbre phylogénétique



## Arbre phylogénétique (TPIS)

TPIS (Triosephosphate isomerase de son petit nom) est une protéine impliquée dans le métabolisme des sucres. Cette protéine est intéressante pour la phylogénie, car elle est universelle, autrement dit, elle est existe chez toutes les espèces vivantes, de la bactérie à l'homme.

### Séquence en acides aminés de TPIS humaine

MAPSRKFFVGGNWKMNGRKQSLGELIGTLNAAKVPADTEVVCAPPTAYIDFARQKLDPKIA VAAQNCYKVTNGAFTGEISPGMIKDCGATWVVLGHSERRHVFGESDELIGQKVAHALAEG LGVIACIGEKLDEREAGITEKVVFEQTKVIADNVKDWSKVVLAYEPVWAIGTGKTATPQQ AQEVHEKLRGWLKSNVSDAVAQSTRIIYGGSVTGATCKELASQPDVDGFLVGGASLKPEF VDIINAKO

Structure 3D de TPIS



### Alignement multiple des séquences de TPIS des différentes espèces (extrait)



les colonnes colorées mettent en évidence les positions conservés entre les séquences des différentes espèces;

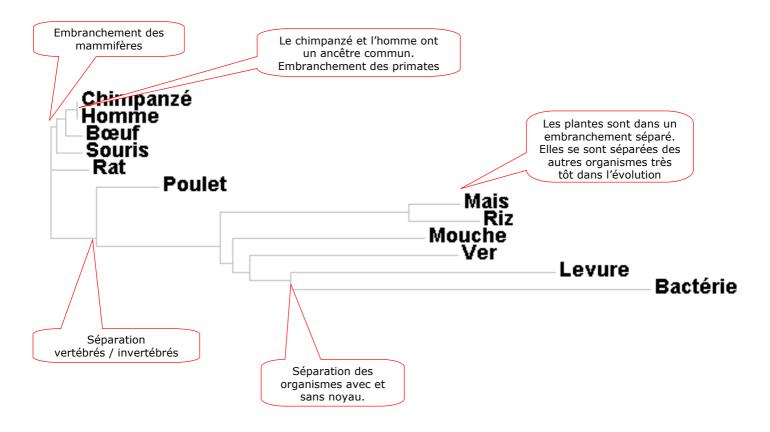
- 📕 acides aminés identiques.
- acides aminés avec les mêmes propriétés biochimiques. acides aminés peu similaire du point de vue biochimique acides aminés non similaire du point de vue biochimique

Calcul des différences entre les séquences





### Arbre phylogénétique



## Arbre phylogénétique (MetRS)

MetRS (Methionyl-tRNA synthetase de son petit nom) est une protéine impliquée dans la synthèse des autres protéines. Cette protéine est universelle, car impliquée dans un processus biologique essentiel à la vie.

### Séquence en acides aminés de MetRS humaine

HELPSONDFÖLLTVI AAAGRANGARVI. STVORECVYPPLTERVYVQLOSSGRIFESTSA CKYPPLIGHREGOLTHQUERERTELQDA GAAL YLVIVORGUSULOSSGRIFEST THI BELERGEDET ALGERITATION OF THE STREET OF THE Structure 3D de MetRS d'une bactérie



### Alignement multiple des séquences de MetRS des différentes espèces (extrait)

□Homme
□Souris
□Grenouille
□Levure
□Riz
□Ver
□Bactérie

HLIATEYLNYEDGKFSKSRGVGVFGDMAQDTGIPADIWRFYLLYIRPEGQDSAFSWTDLLLKNNSELLNNLGNFINRAGMEVSKFFGG-HIIATEYLNYEDGKFSKSRGIGVFGDMAKDTGIPADIWRFYLLYIRPEGQDSAFSWTDLLIKNNSELLNNLGNFINRAGMEVSKFFGG-HLVATEYLNYEDGKFSKSRGVGVFGDMAKDTGIPADIWRFYLLYVRPEGQDSAFSWSDLMLKNNSELLNNLGNFVNRAGMEVQKFFNG-HLNTTEYLQYENGKFSKSRGVGVFGNNAQDSGISPSVWRYYLASVRPESSDSHFSWDDFVARNNSELLANLGNFVNRLIKEVNAKYNG-FISVTEYLNYEAGKFSKSHGIGVFGNDAKDTNIPPEVWRYYLLTNRPEVSDTLFTWADLQAKLNSELLNNLGNFINRVLSEVAKPAGAG NLCATEYLNYEDTKFSKSRGTGIFGDAAQGTEIPADIWRFYLLYMRPESQDTAFSWDDFVLKVNSELLNNLGNFINRALSEVANSFGG-NLFVHGYVTVNGAKMSKSRGTFIKASTWLNHFDADSLRYYYTAKLSSRIDDDINLEDFVQRVNADIVNKVVNLASENAGEINKRFDG-

les colonnes colorées mettent en évidence les positions conservés entre les séquences des différentes espèces;

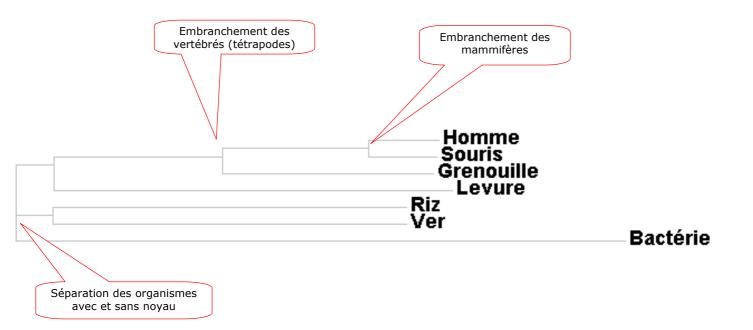
- acides aminés identiques.
- acides aminés avec les mêmes propriétés biochimiques. acides aminés peu similaire du point de vue biochimique.
- acides amines peu similaire du point de vue biochimique. acides aminés non similaire du point de vue biochimique.

Calcul des différences entre les séquences





#### Arbre phylogénétique



## Arbre phylogénétique (H4)

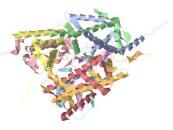
H4, ou histone H4, est une protéine très importante pour la structure des chromosomes (enroulement de l'ADN autour des nucléosomes).

Elle existe chez tous les organismes 'nucléés'.

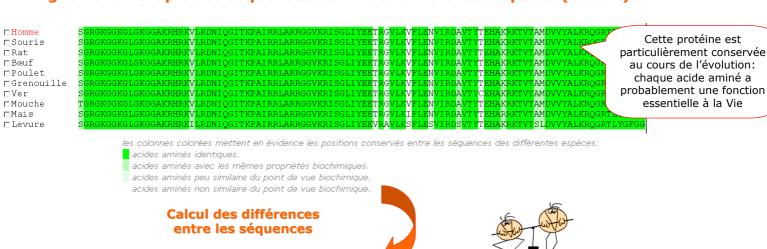
### Séquence en acides aminés de H4 humaine

Structure 3D de H4 humain

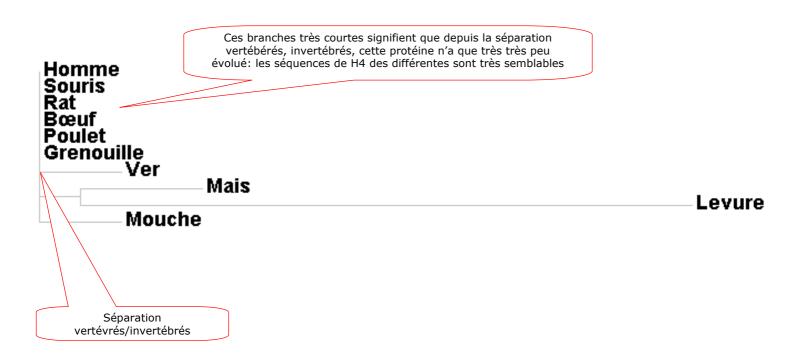
 ${\tt MSGRGKGLGKGGAKRHRKVLRDNIQGITKPAIRRLARRGGVKRISGLIYEE} \\ {\tt TRGVLKVFLENVIRDAVTYTEHAKRKTVTAMDVVYALKRQGRTLYGFGG}$ 



#### Alignement multiple des séquences de H4 des différentes espèces (extrait)



#### Arbre phylogénétique



## Arbre phylogénétique (ATPA)

ATPA (ou ATP synthase alpha chain) est une protéine impliquée dans la production d'énergie.

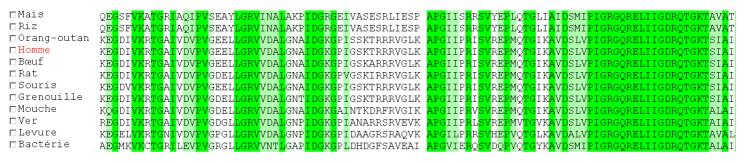
### Séquence en acides aminés de ATPA humaine

MLSVRVAAAVVRALPRRAGLVSRNALGSSFIAARNFHASNTHLQKTGTAEMSSILEERIL
GADTSVDLEETGRVLSIGDGIARVHGLRWQAEEMVEFSSGLKGMSLNLEPDMVGVVVFG
NDKLIKEGDIVKRTGAIVDVPVGEELLGRVVDALGNAIDGKGPIGSKTRRVGLKAPGII
PRISVREPMOTGIKAVDSLVPIGRGQRELIIGDROTGKTSIAIDTIINQKRFNDGSDEKK
KLYCLYVAIGQKRSTVAQLVKRLTDADAMKYTIVVSATASDAAPLQYLAPYSGCSMGEYF
RDNGKHALIIYDDLSKQAVAYRQMSLLLRRPPGRAYPGDVFYLHSRLLERAAKMNDAFG
GGSLTALPVIETQAGDVSAYIPTNVISITDGGIFLETELFYKGIRPAINVGLSVSRVGSA
AQTRAMKQVAGTMKLELAQYREVAAFAQFGSDLDAATQQLLSRGVRLTELLKQGQYSPMA
IEEQVAVIYAGVRGYLDKLEPSKITKFENAFLSHVVSQHQALLGTIRADGKISEQSDAKL
KEIVTNFILAGFEA

Structure 3D de ATPA de bactérie



### Alignement multiple des séquences de ATPA des différentes espèces (extrait)



les colonnes colorées mettent en évidence les positions conservés entre les séquences des différentes espèces

acides aminés identiques.

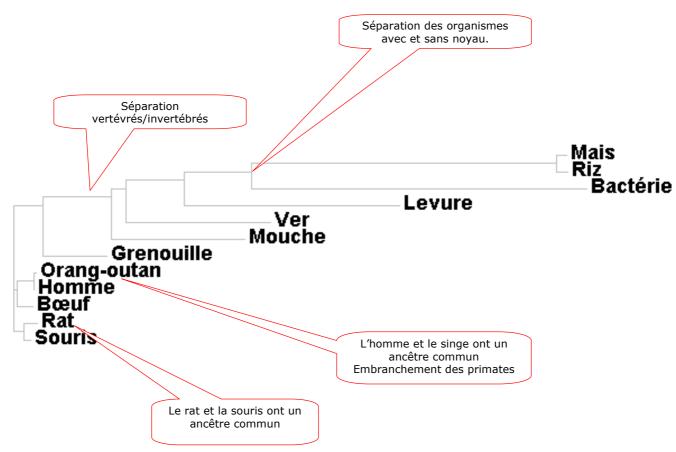
acides aminés avec les mêmes propriétés biochimiques. acides aminés peu similaire du point de vue biochimique, acides aminés non similaire du point de vue biochimique,

Calcul des différences entre les séquences





#### Arbre phylogénétique



### Arbre phylogénétique (hormone de croissance)

L'hormone de croissance (SOMA), comme son nom l'indique est une hormone indispensable à la croissance. Elle est synthétisée par l'hypophyse puis secrétée dans la criculation sanguine. Un manque de cette hormone conduit, entre autre, au nanisme.

# Séquence en acides aminés de l'hormone de croissance humaine

 $\label{thm:continuous} $$\operatorname{MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEEA}$$YIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSESIPTPSNREETQQKSNLELLRISLLLIQSWLEPVQFLR$$SVFANSLVYGASDSNVYDLLKDLEEGIQTLMGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETFLRIVQCRSVEGSCGF$ 

Structure 3D de l'hormone de croissance humaine



### Alignement multiple des séquences des hormones de croissance des différentes espèces (extrait)

☑ Chimpanzé ☑ Homme ☑ Rat

✓ Souris
✓ Lapin
✓ Bœuf

☑Grenouille ☑Poulet -MAPGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSESIPTPSNREETQQK:
-MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSAFPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDTYQEFEE AYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSESIPTPSNREETQQK:
-MAADSQTPWLLTFSLLCLLWPQEAGAFPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFER AYIPEGQRYS-IQNAQAAFCFSETIPAPTGKEEAQQR'
-MATDSRTSWLLTVSLLCLLWPQEASAFPAMPLSSLFSNAVLRAQHLHQLAADTYKEFER AYIPEGQRYS-IQNAQAAFCFSETIPAPTGKEEAQQR'
-MAAGSWTAGLLAFALLCLPWPQEASAFPAMPLSSLFANAVLRAQHLHQLAADTYKEFER AYIPEGQRYS-IQNAQAAFCFSETIPAPTGKDEAQQR'
MMAAGPRTSLLLAFALLCLPWTQVVGAFPAMSLSGLFANAVLRAQHLHQLAADTFKEFER TYIPEGQRYS-IQNTQVAFCFSETIPAPTGKNEAQQK:
-MATG-FCSSFGLLVVLLLKNVADVGAFPSVPLFSLFTNAVSRAQYIHMLAADTYRDYER TYITDEQRYS-NKNSHVVSCYSETIPYPTDKDNTHQK:
-MAPGSWFSPLLIAVVTLGLPQEAAATFPAMPLSNLFANAVLRAQHLHLLAAETYKEFER TYIPEDQRYT-NKNSQAAFCYSETIPAPTGKDDAQQK:

les colonnes colorées mettent en évidence les positions conservés entre les séquences des différentes espèces.

acides aminés identiques.

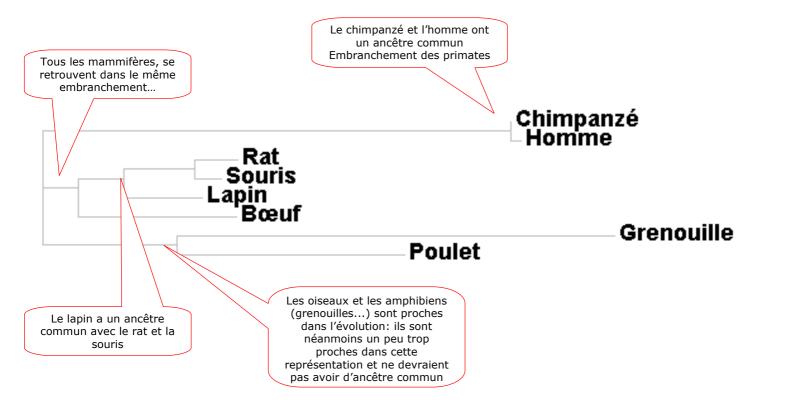
 acides aminés avec les mêmes propriétés biochimiques.
 acides aminés peu similaire du point de vue biochimique, acides aminés non similaire du point de vue biochimique.

Calcul des différences entre les séquences





### Arbre phylogénétique



## Arbre phylogénétique (cytochrome B)

Le cytochrome B est une protéine impliquée dans la production d'énergie. Elle est fabriquées dans les mitochondries, des organelles présentes en copie multiple dans les cellules. Conséquence: on retrouve suffisamment de matériel génétique dans les fossiles ou les restes d'animaux, ce qui permet de retrouver la séquence de cette protéine dans de nombreuses espèces (~1250), même éteintes (Dodo, Mammouth....)

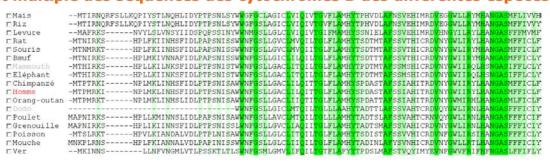
### Séquence en acides aminés du cytochrome B

MMCGAPSATQPATAETQHIADQVRSQLEEKENKKFPVFKAVSFKSQVVAG TNYFIKVHVG DEDFVHLRVFQSLPHENKPLTLSNYQTNKAKHDELTYF

Structure 3D du cytochrome **B** bovin



### Alignement multiple des séquences des cytochromes B des différentes especes (extrait)



les colonnes colorées mettent en évidence les positions conservés entre les séquences des différentes espèces

acides aminés identiques.

acides aminés avec les mêmes propriétés biochimiques acides aminés peu similaire du point de vue biochimique. acides aminés non similaire du point de vue biochimique

Calcul des différences entre les séquences



### Arbre phylogénétique

