Butlletí de la Societat Catalana de Matemàtiques
Vol. 00, núm. 0, 2006. Pàg. 1–5

Models algebraics en filogenètica*

Marta Casanellas

> Mathematics is biology's next microscope, only better; biology is mathematics' next physics, only better.
>
> **Joel E. Cohen**

Resum En aquest article fem una introducció a les aplicacions de la geometria algebraica en filogenètica. Gràcies a què gran part dels models evolutius usats en filogenètica corresponen a varietats algebraiques, l'ideal associat a aquestes varietats pot ser usat per donar un nou enfocament a la inferència filogenètica.

Paraules clau: invariants filogenètic, model evolutiu, aplicació racional

Classificació MSC2000: 14M25, 92D15, 92D20

Resum en anglès: In this paper we present some applications of algebraic geometry to phylogenetics. As many of the evolutionary models correspond to algebraic varieties, it is possible to use the ideal associated to these varieties for phylogenetic inference.

Paraules clau en anglès: phylogenetic invariant, evolutionary model, rational map.

1 Introducció

En els darrers anys s'ha demostrat que dues disciplines tan distants com la geometria algebraica i la genètica comparativa poden beneficiar-se d'un treball conjunt. Aquestes dues àrees es poden connectar gràcies a l'estadística algebraica,

* Aquesta exposició correspon a la xerrada impartida per la mateixa autora a la Novena Trobada de la Societat Catalana de Matemàtiques que va tenir lloc a Vic el 22 d'abril de 2006.

que parteix del fet que un gran nombre de models estadístics usats en biologia corresponen a varietats algebraiques. L'estadística algebraica s'ha desenvolupat en els últims anys i s'ha aplicat a l'estudi de taules de contingència, disseny d'experiments....(veure [15]). Recentment, s'han unit esforços de biòlegs i geòmetres algebraics per a incidir en les aplicacions de l'estadística algebraica a la biologia computacional. Els fruits d'aquest esforç els podem trobar per exemple al llibre "Algebraic statistics for computational biology" [14].

En aquest a article pretenem fer una introducció a la relació entre la geometria algebraica i la genètica, o més concretament la filogenètica. Com veurem, l'ús de la geometria algebraica en la filogenètica pot aportar noves tècniques i nous resultats a aquesta branca de la biologia.

La filogenètica parteix de la base que tots els organismes de la Terra provénen d'un ancessor comú. Així, totes les espècies de la Terra tenen relacions ancestrals entre elles que s'anomenen filogènies. Les filogènies es poden representar mitjançant un arbre denominat *arbre filogenètic*. En particular, la *filogenètica* es dedica a inferir aquests arbres a partir dels genomes[1] de les espècies que trobem en l'actualitat.

L'arbre filogenètic es dibuixa com una arbre invertit: les fulles de l'arbre representen les espècies actuals i les situem a baix de tot; l'arrel de l'arbre filogenètic es troba al node de dalt de tot i representa l'ancessor comú de totes les espècies que formen l'arbre, i els nodes interiors representen espècies ancestrals comuns de les espècies que se'n deriven. La longitud de les branques representa la "distància evolutiva" entre les espècies que uneix la branca o, dit d'una altra manera, el nombre de mutacions que s'han produït entre el node pare i el node fill.

Per exemple, si coneixem el genoma —o part d'ell (normalment s'usen només els gens)— de l'espècie humana, el ximpanzé i el goril·la, podem preguntar-nos quin és l'arbre filogenètic d'aquestes espècies. Tenim tres possibilitats representades en la figura 1.

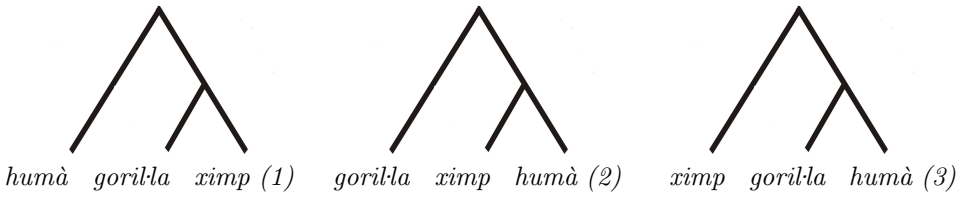


FIGURA 1: Els tres possibles arbres de tres fulles

Fins als anys 80 es creia que l'arbre correcte era el primer, però des que s'han fet estudis usant els genomes de les espècies, hi ha força evidències que l'arbre que ha donat lloc a l'espècie humana és el segon (veure [2]). En aquest article presentarem,

1 El genoma d'una espècie eucariota és el contingut d'ADN que trobem en el nucli de les cèl·lules. Les unitats bàsiques que composen l'ADN són els *nucleòtids*. Hi ha quatre nucleòtids diferents: `A` denota *adenina*, `C` *citosina*, `G` *guanina* i `T` *timina*. En el nostre context, donar el genoma d'una espècie equival a donar una seqüència ordenada de caràcters en les lletres `A,C,G,T`.

des d'un punt de vista esbiaixat vers la geometria algebraica, el tipus d'estudis en filogenètica que han donat lloc a aquestes conclusions.

En la següent secció farem una introducció als models estadístics més usats en filogenètica i n'estudiarem la relació amb la geometria algebraica. En la secció 3 presentarem els resultats de geometria algebraica que permeten donar un nou enfocament a la inferència filogenètica. Finalment a la secció 4 donarem mètodes que demostren que a la pràctica sí que és factible usar les tècniques de geometria algebraica per a reconstrucció d'arbres filogenètics.

2 Models algebraics en filogenètica

2.1 Models estadístics d'evolucó

Per a representar el procés evolutiu de la formació d'espècies donarem un model estadístic basat en les mutacions que es produeixen en l'ADN, on suposarem que:

(i) Els arbres són *binaris*, és a dir, del node arrel en surten dues branques i cada branca es divideix en dues més fins arribar a les fulles.

(ii) L'evolució d'una espècie només depèn del node immediatament superior.

(iii) Les mutacions ocorren aleatòriament i la probabilitat que es produeixi una mutació és sempre positiva.

(iv) Suposarem donat un alineament de les seqüències d'ADN de les espècies. Degut a processos de mutació, duplicació i supressió de parts de l'ADN, les seqüències de les diferents espècies tenen parts idèntiques, parts que s'assemblen i parts que no es poden comparar. A més a més les parts idèntiques o comparables no tenen per què trobar-se en el mateix lloc del genoma (els genomes de diferents espècies tenen diferents longituds i diferent nombre de cromosomes i de gens). És per això que abans d'estudiar les relacions entre les espècies ens interessa saber quines parts de l'ADN són comparables i quines parts dels genomes de les diferents espècies es corresponen entre elles. Tot això es recull en un bon alineament de les seqüències d'ADN que volem considerar. En el nostre exemple, suposarem que partim del següent alineament de seqüències:

humà	`AACTTCGAGGCTTACCGCTG`
goril·la	`AACGTCTATGCTCACCGATG`
ximpanzé	`AAGGTCGATGCTCACCGATG`

(v) Les diferents posicions de la cadena d'ADN evolucionen de la mateixa manera i independentment de les altres posicions.

Com que suposem que totes les posicions de la cadena d'ADN evolucionen de la mateixa manera, per a cada posició considerarem el mateix model evolutiu probabilístic que representarem en l'arbre de la següent forma. Enumerem els vèrtexos de l'arbre d'esquerra a dreta i de baix a dalt i anomenem t_i a la longitud de la branca que puja des del vèrtex i. El node arrel s'anomenarà r. A cada vèrtex i de l'arbre

hi posem una variable aleatòria discreta que pren valors a $\{\mathtt{A},\mathtt{C},\mathtt{G},\mathtt{T}\}$. Les variables aleatòries X_i a les fulles de l'arbre seran "variables observades" (perquè l'alineament ens dóna observacions del vector aleatori $X=(X_1,X_2,X_3)$), les dels nodes interiors seran ocultes (perquè no en tindrem cap observació) i les anomenarem Y_i:

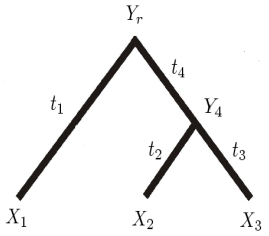


FIGURA 2: Model estadístic en un arbre de tres fulles

Seguint un procés de Markov, a cada branca li associem una matriu S_i les entrades de la qual són les probabilitats $P(x|y,t_i)$ que un nucleòtid y en el node pare muti a un nucleòtid x en el node fill al llarg d'una branca de longitud t_i:

$$S_i = \begin{array}{c} \\ \mathtt{A} \\ \mathtt{C} \\ \mathtt{G} \\ \mathtt{T} \end{array} \begin{array}{c} \begin{array}{cccc} \mathtt{A} & \mathtt{C} & \mathtt{G} & \mathtt{T} \end{array} \\ \begin{pmatrix} P(\mathtt{A}|\mathtt{A},t_i) & P(\mathtt{C}|\mathtt{A},t_i) & P(\mathtt{G}|\mathtt{A},t_i) & P(\mathtt{T}|\mathtt{A},t_i) \\ P(\mathtt{A}|\mathtt{C},t_i) & P(\mathtt{C}|\mathtt{C},t_i) & P(\mathtt{G}|\mathtt{C},t_i) & P(\mathtt{T}|\mathtt{C},t_i) \\ P(\mathtt{A}|\mathtt{G},t_i) & P(\mathtt{C}|\mathtt{G},t_i) & P(\mathtt{G}|\mathtt{G},t_i) & P(\mathtt{T}|\mathtt{G},t_i) \\ P(\mathtt{A}|\mathtt{T},t_i) & P(\mathtt{C}|\mathtt{T},t_i) & P(\mathtt{G}|\mathtt{T},t_i) & P(\mathtt{T}|\mathtt{T},t_i) \end{pmatrix} \end{array}$$

Aquestes probabilitats són desconegudes per a nosaltres i seran els *paràmetres* del model. Les matrius S_i s'anomenen *matrius de substitució*.

Suposarem que la distribució de nucleòtids en l'arrel $\pi_{\mathtt{A}} = P(Y_r=\mathtt{A})$, $\pi_{\mathtt{C}} = P(Y_r=\mathtt{C})$, $\pi_{\mathtt{G}} = P(Y_r=\mathtt{G})$, $\pi_{\mathtt{T}} = P(Y_r=\mathtt{T})$ és coneguda. La hipòtesi (v) ens diu que la probabilitat que del node arrel de l'arbre (1) de la figura 1 s'hagi evolucionat a les seqüències d'humà, goril·la i ximpanzé donades en l'alineament és igual a

$$p^4_{\mathtt{AAA}} * p_{\mathtt{CCG}} * p_{\mathtt{TGG}} * p^3_{\mathtt{TTT}} * p^4_{\mathtt{CCC}} * p_{\mathtt{GTG}} * p_{\mathtt{GTT}} * p^3_{\mathtt{GGG}} * p_{\mathtt{TCC}} * p_{\mathtt{CAA}}$$

on $p_{x_1x_2x_3} = P(X_1=x_1,X_2=x_2,X_3=x_3)$. Dit d'una altra manera, la hipòtesi (v) ens diu que les columnes de l'alineament evolucionen de forma independent.

Considerant el procés de Markov en l'arbre de la figura 2, la probabilitat d'observar els nucleòtids x_1,x_2,x_3 en les fulles s'expressa en funció de les entrades de les matrius de substitució de la següent manera:

$$p_{x_1x_2x_3} = \sum_{y_r,y_4\in\{\mathtt{A},\mathtt{C},\mathtt{G},\mathtt{T}\}} \pi_{y_r} S_1(x_1,y_r)S_4(y_4,y_r)S_2(x_2,y_4)S_3(x_3,y_4). \qquad (1)$$

Tenim diferents models estadístics d'evolució segons la forma que tinguin les matrius de substitució i segons la distribució de nucleòtids en l'arrel. Seguidament els presentem en la seva versió *algebraica* (veure secció 2.2).

Models de grup. Els models més usats en filogenètica són els *models de grup* (a la següent secció veurem per què s'anomenen així). En aquests models la distribució de nucleòtids en l'arrel és uniforme i les matrius de substitució són de la forma

$$S_i = \begin{pmatrix} a_i & b_i & c_i & d_i \\ b_i & a_i & d_i & c_i \\ c_i & d_i & a_i & b_i \\ d_i & c_i & b_i & a_i \end{pmatrix}$$

on $a_i + b_i + c_i + d_i = 1$. La justificació biològica per a aquest model rau en el fet que, degut a certes propietats químiques, l'adenina i la guanina són *purines* i la citosina i la timina són *pirimidines*. Aquest model (anomenat **Kimura 3-paràmetres** [12]) vol reflectir el fet que les *transicions* (és a dir, mutacions de purina a purina o pirimidina a pirimidina) són més freqüents que les *transversions* (mutacions de purina a pirimidina o a l'inversa). Casos particulars d'aquest model són el **Kimura 2-paràmetres** [11] (només usa un paràmetre per a les transicions i un altre per a les transversions, és a dir $b_i = d_i$) i el **Jukes-Cantor** [10] (és el model més simple ja que no distingeix entre transicions i transversions, és a dir $b_i = c_i = d_i$).

Strand symmetric model. En aquest model no se suposa que la distribució de nucleòtids és uniforme sinó que $\pi_{\mathtt{A}} = \pi_{\mathtt{T}}$ i $\pi_{\mathtt{C}} = \pi_{\mathtt{G}}$. Aquest model s'adapta més a la realitat de les seqüències que s'usen normalment per a inferir filogènies, que són *seqüències codificants* (gens o parts de gens). Les regions codificants contenen més `C`, `G`'s que no pas `A`, `T`'s i degut a la simetria de la doble cadena d'ADN, s'ha comprovat en diversos estudis que $\pi_{\mathtt{A}} \sim \pi_{\mathtt{T}}$ i $\pi_{\mathtt{C}} \sim \pi_{\mathtt{G}}$. En aquest model suposarem que $\pi_{\mathtt{A}} = \pi_{\mathtt{T}}$ i $\pi_{\mathtt{C}} = \pi_{\mathtt{G}}$. D'altra banda, si una `A` muta a una `C`, aleshores en la cadena d'ADN complementària es produeix una mutació de `T` a `G` perquè una `A` (respectivament `C`) sempre va enllaçada amb una `T` (resp. `G`). Així es natural requerir que

$$P(\mathtt{A}|\mathtt{A}) = P(\mathtt{T}|\mathtt{T}), P(\mathtt{C}|\mathtt{A}) = P(\mathtt{G}|\mathtt{T}), P(\mathtt{G}|\mathtt{A}) = P(\mathtt{C}|\mathtt{T}),$$

$$P(\mathtt{T}|\mathtt{A}) = P(\mathtt{A}|\mathtt{T}), P(\mathtt{A}|\mathtt{C}) = P(\mathtt{T}|\mathtt{G}), P(\mathtt{C}|\mathtt{C}) = P(\mathtt{G}|\mathtt{G}),$$

$$P(\mathtt{G}|\mathtt{C}) = P(\mathtt{C}|\mathtt{G}), P(\mathtt{T}|\mathtt{C}) = P(\mathtt{T}|\mathtt{G}).$$

Aquest model només requereix aquestes igualtats i per tant les matrius de substitució són de la forma

$$S_i = \begin{pmatrix} a_i & b_i & c_i & d_i \\ e_i & f_i & g_i & h_i \\ h_i & g_i & f_i & e_i \\ d_i & c_i & b_i & a_i \end{pmatrix}.$$

Notem que els models de grup són un cas particular d'aquest. Aquest model algebraic va ser introduït a [5].

Model de Markov general. Aquest és el model més general possible. No es requereix res sobre la distribució en l'arrel i les matrius de substitució són genèriques:

$$S_i = \begin{pmatrix} a_i & b_i & c_i & d_i \\ e_i & f_i & g_i & h_i \\ j_i & k_i & l_i & m_i \\ n_i & o_i & p_i & q_i \end{pmatrix}.$$

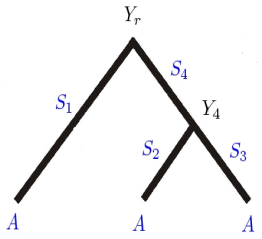
Un model amb més paràmetres sempre s'adequa més a la realitat però augmentar el nombre de paràmetres pot augmentar moltíssim la complexitat dels càlculs necessaris per a inferir filogènies.

2.2 Invariants filogenètics

Els models evolutius que hem descrit són models *algebraics*. S'anomenen així perquè les probabilitats conjuntes de les variables observades s'expressen com a funció polinòmica en els paràmetres (veure equació (1)). Així, un model evolutiu algebraic de d paràmetres lliures sobre un arbre T de n fulles ve descrit per la següent aplicació polinomial:

$$\begin{array}{rcl} \varphi : \mathbb{R}^d & \longrightarrow & \mathbb{R}^{4^n} \\ \theta = (\theta_1, \ldots, \theta_d) & \mapsto & (p_{\mathtt{AA\ldots A}}, p_{\mathtt{AA\ldots C}}, p_{\mathtt{AA\ldots G}}, \ldots, p_{\mathtt{TT\ldots T}}) \end{array} \tag{2}$$

Per exemple, si en el següent arbre considerem el model de Jukes-Cantor,



obtenim (substituint en l'equació (1)):

$$p_{\mathtt{AAA}} = \frac{1}{4}(a_1a_4a_2a_3 + 3b_1b_4a_2a_3 + 3b_1a_4a_2a_3 + 3a_1b_4a_2a_3 + 6b_1b_4b_2b_3), \tag{3}$$

on $a_i + 3b_i = 1$. Observem que per a qualsevol dels models descrits, $p_{x_1x_2x_3}$ és un polinomi homogeni de grau igual al nombre de branques de l'arbre.

En el cas del model de Jukes-Cantor, per a un arbre de tres fulles tenim definida una aplicació polinòmica

$$\begin{array}{rcl} \varphi : \mathbb{R}^4 & \longrightarrow & \mathbb{R}^{64} \\ (a_1, a_2, a_3, a_4) & \mapsto & (p_{\mathtt{AAA}}, p_{\mathtt{AAC}}, p_{\mathtt{AAG}}, \ldots, p_{\mathtt{TTT}}) \end{array}$$

De fet, com que estem parlant de probabilitats, el model estadístic està definit a $\Delta^1 \times \Delta^1 \times \Delta^1 \times \Delta^1$ i la imatge de l'aplicació polinomial ha de caure dins del símplex de dimensió 63, Δ^{63}.

L'aplicació polinomial (2) parametritza un obert d'una *varietat algebraica*. Recordem que una varietat algebraica és el conjunt de punts que són solució d'un sistema d'equacions polinomials: $V = Z(f_1, \ldots, f_r)$, $f_1, \ldots, f_r \in k[x_1, \ldots, x_n]$, on k és un cos. La imatge d'una aplicació polinomial no és en general una varietat algebraica, però sempre podem considerar la seva *clausura*, és a dir, la menor varietat algebraica que el conté. Les varietats algebraiques són els tancats d'una topologia en k^n anomenada *topologia de Zariski*. A partir d'ara quan parlem de la imatge d'una aplicació polinomial φ ens referirem a la seva clausura. Així $Im(k^d)$ denotarà la menor varietat algebraica que conté $\varphi(k^d)$. Quan el cos k és infinit es pot veure que aquesta varietat algebraica és irreductible.

Per a poder estudiar una varietat algebraica ens interessa conèixer els generadors del seu *ideal*. Recordem que donat un subconjunt X de k^n, l'ideal de X és el conjunt de polinomis que s'anul·len sobre tots els punts de X,

$$I(X) = \{f(x_1, \ldots, x_n) | f \in k[x_1, \ldots, x_n], f(p) = 0 \ \forall p \in X\}.$$

Es pot demostrar fàcilment que $I(X)$ és un ideal de l'anell de polinomis $k[x_1, \ldots, x_n]$. El teorema de la base de Hilbert ens diu que aquest anell és noetherià i per tant, tot ideal és finitament generat. Així existeixen generadors $g_1, \ldots, g_s \in k[x_1, \ldots, x_n]$ tals que $I(X) = (g_1, \ldots, g_s)$.

Degut al teorema dels zeros de Hilbert, sovint ens interessa considerar les nostres varietats dins de $\mathbb{C}^n$. De fet, en els casos que es pugui, és molt més pràctic considerar els models estadístics com aplicacions racionals des d'un producte d'espais projectius en un altre espai projectiu.

Tornant a l'aplicació polinomial (2) definida per un model evolutiu, ens interessa trobar els generadors de l'ideal de la clausura de la imatge.

1 Definició Sigui V la clausura de la imatge de l'aplicació φ associada a un arbre T de n fulles i a un model evolutiu M. Els polinomis de $I(V)$ s'anomenen *invariants algebraics*. Aquells polinomis de $I(V)$ que no estan en l'ideal $I(V')$ corresponent a un altre arbre T' de n fulles sota el mateix model M s'anomenen *invariants filogenètics*.

Els invariants filogenètics permeten distingir entre diferents arbres i per tant poden ser usats per a inferir l'arbre filogenètic d'espècies actuals. Els invariants filogenètics van ser introduïts per biòlegs i han estat usats per a estudiar l'adequació del model escollit o bé per a deduir divisions ancestrals entre grups d'espècies. Concretament van ser introduïts per Lake [13] i independentment per Cavender i Felsenstein [6]. No ha estat fins fa un parell d'anys que els matemàtics, o més precisament els geòmetres algebraics, s'han interessat per aquesta aplicació de la geometria algebraica.

Exemple En el cas d'un arbre T de 3 fulles sota el model de Jukes-Cantor les següents igualtats (que es dedueixen fàcilment de la simetria de les matrius de substitució en aquest model) donen lloc a invariants algebraics:

$$\begin{aligned} p_{\mathtt{AAA}} = p_{\mathtt{CCC}} = p_{\mathtt{GGG}} = p_{\mathtt{TTT}} &\quad 4 \text{ termes} \\ p_{\mathtt{AAC}} = p_{\mathtt{AAG}} = p_{\mathtt{AAT}} = \cdots = p_{\mathtt{TTG}} &\quad 12 \text{ termes} \\ p_{\mathtt{ACA}} = p_{\mathtt{AGA}} = p_{\mathtt{ATA}} = \cdots = p_{\mathtt{TGT}} &\quad 12 \text{ termes} \\ p_{\mathtt{CAA}} = p_{\mathtt{GAA}} = p_{\mathtt{TAA}} = \cdots = p_{\mathtt{GTT}} &\quad 12 \text{ termes} \\ p_{\mathtt{ACG}} = p_{\mathtt{ACT}} = p_{\mathtt{AGT}} = \cdots = p_{\mathtt{CGT}} &\quad 24 \text{ termes} \end{aligned}$$

Un altre invariant que trobem fàcilment és $\sum_{x_1,x_2,x_3} p_{x_1x_2x_3} - 1 = 0$.

Aquests 60 invariants algebraics són polinomis de l'ideal per a qualsevol arbre de 3 fulles sota el model Jukes-Cantor i per tant no són invariants filogenètics. Tenim 3 arbres possibles de 3 fulles (vegeu la figura 1) i l'únic que els distingeix sota el model de Jukes-Cantor és un polinomi de grau 3. Per a cadascun dels tres arbres possibles l'ideal està generat pels 60 invariants lineals que hem donat i per un polinomi de grau 3 que es pot calcular usant un programa d'àlgebra computacional (per exemple el `SINGULAR` [9]). Això ens defineix una varietat de dimensió 3 a $\mathbb{R}^{64}$ (que viu de fet a $\mathbb{R}^4$).

Per a arbres de 4 o més fulles és impossible usar un programa d'àlgebra computacional per a trobar els generadors de l'ideal (fins i tot sota models senzills com Jukes-Cantor). Cal doncs, provar resultats teòrics que ens permetin trobar els generadors de l'ideal (vegeu la secció 3).

A la pàgina web `http://bio.math.berkeley.edu/ascb/chapter15/` hi ha descrits els invariants algebraics per a arbres de fins a 5 fulles i sota diferents models evolutius.

Anomenem $\rho_{x_1\ldots x_n}$ a la freqüència relativa de la n-tuple $x_1, \ldots, x_n$ en l'alineament donat. En l'exemple de Jukes-Cantor proposat en les pàgines 3 i 7, seguint l'arbre (1) de la figura 1 i l'alineament donat tenim que:

$$\begin{aligned} &\rho_{\mathtt{AAA}} = 4/20, \rho_{\mathtt{CAA}} = 1/20, \rho_{\mathtt{CCC}} = 4/20, \rho_{\mathtt{CCG}} = 1/20, \rho_{\mathtt{GGG}} = 3/20 \\ &\rho_{\mathtt{GTG}} = 1/20, \rho_{\mathtt{GTT}} = 1/20, \rho_{\mathtt{TCC}} = 1/20, \rho_{\mathtt{TGG}} = 1/20, \rho_{\mathtt{TTT}} = 3/20 \end{aligned}$$

i és 0 en els altres casos.

En el cas hipotètic que un conjunt de seqüències haguessin evolucionat seguint un arbre i un model evolutiu dels descrits aquí, tindríem que els invariants filogenètics corresponents s'anul·larien quan els avaluéssim en les freqüències relatives $\rho_{x_1\ldots x_n}$. Dit d'una altra manera, $(\rho_{\mathtt{AA\ldots A}}, \ldots, \rho_{\mathtt{TT\ldots T}})$ seria un punt de la nostra varietat algebraica. a la pràctica, les seqüències no han evolucionat seguint un model evolutiu i per tant en avaluar els invariants filogenètics en les freqüències relatives de l'arbre correcte obtindrem valors només *propers* a zero.

Nota Acabem de veure que el model de Jukes-Cantor per a un arbre arrelat de tres fulles ens defineix una varietat algebraica de dimensió 3 a $\mathbb{R}^{64}$. En particular en aquest model els paràmetres no són *identificables*, és a dir, donat un punt de la varietat la seva antiimatge per φ no consta d'un únic punt $(a_1, a_2, a_3, a_4) \in \mathbb{R}^4$,

sinó de tota una corba.
En els models no algebraics, a l'hora d'inferir un arbre filogenètic cal inferir també quina és la longitud de les branques de l'arbre. Si en el model que estem considerant els paràmetres no són identificables, això implica que no podem trobar totes les longituds de les branques sinó la suma d'algunes d'elles. En particular, no podem conèixer quina és la longitud de les branques que van des de l'arrel fins als altres nodes. Per a tenir models identificables, cal parlar d'arbres sense arrel i és per això que en la secció 4 considerem només arbres sense arrel.

3 Invariants per als models basats en grups i generalitzacions

Per a obtenir l'ideal de les varietats algebraiques corresponents als models de grup (Jukes-Cantor i Kimura 2 i 3 paràmetres) ha estat molt útil fer un canvi de coordenades en les indeterminades $p_{x_1 \ldots x_n}$. El canvi proposat a [7] és una transformada de Fourier discreta tal i com describim a continuació.

Pensem els caràcters `A,C,G,T` com a elements del grup $G = \mathbb{Z}_2 \times \mathbb{Z}_2$. Així podem veure les matrius de substitució com a certes funcions sobre el grup:

$$S_i(g,h) = f^i(h-g),\ g,h \in G$$

(és fàcil deduir com és f segons el model) i d'aquesta manera podem escriure les probabilitats conjuntes a les fulles també com a funcions sobre $G \times G \times \cdots \times G$:

$$p(g_1,\ldots,g_m) = \frac{1}{4}\sum \prod_{b \in branques} f^b(g_{p(b)} - g_{f(b)})$$

on la suma és sobre tots els possibles valors de les variables en els nodes interns de l'arbre (si b és un abranca de l'arbre, $p(b)$ denota el node pare de b i $f(b)$ el node fill). Recordem que si tenim una funció $f : G \longrightarrow \mathbb{C}$, la seva transformada de Fourier discreta $\hat{f} : \hat{G} = Hom(G, \mathbb{C}^*) \longrightarrow \mathbb{C}$ ve donada per

$$\hat{f}(\chi) \quad = \quad \sum_{g \in G} \chi(g) f(g),\ \chi \in G^*.$$

Una de les propietats més útils de la transformada de Fourier és que si tenim una convolució de dues funcions $(f_1 * f_2)(g) = \sum_{h \in G} f_1(h) f_2(g-h)$, la seva transformada és el producte de transformades: $\widehat{f_1 * f_2} = \widehat{f_1} \cdot \widehat{f_2}$. Així es va poder demostrar el següent teorema:

2 Teorema (Evans-Speed [7]) *Per a un model basat en grup sobre un arbre T, la transformada de Fourier de la distribució conjunta $p(g_1,\ldots,g_n)$ té la forma*

$$q(\chi_1,\ldots,\chi_m) \quad = \quad \prod_{b \in branques} \widehat{f^b}\Big(\prod_{l \in fulla\ per\ sota\ de\ b} \chi_l \Big)$$

Per tant, una expressió com (3) passa a ser una expressió monomial en les coordenades de Fourier. Dit d'una altra manera, en el cas dels models de grup,

obtenim una parametrització monomial de la nostra varietat algebraica. És conegut que si tenim una varietat algebraica donada per una parametrització monomial, aleshores el seu ideal està generat per binomis. Això fa que en aquestes noves coordenades de Fourier sigui molt fàcil calcular l'ideal de la varietat. Des del punt de vista de la geometria algebraica, aquestes varietats donades per parametrizacions monomials es coneixen com a *varietats tòriques* i han estat àmpliament estudiades.

3 Teorema (Sturmfels-Sullivant [16]) *Per als models de grup, l'ideal corresponent a un arbre filogenètic qualsevol està generat per binomis de grau com a màxim 4 en les coordenades de Fourier. A més a més, l'ideal d'un arbre arbitrari es pot descriure a partir de l'ideal d'un arbre de tres fulles sense arrel.*

La segona part del teorema dóna un algoritme de càlcul per als invariants filogenètics d'arbres de qualsevol nombre de fulles sota un model de grup.

Per al "strand symmetric model" un canvi de coordenades de Fourier no porta a una parametrització monomial però en [5] hem considerat una transformada de Fourier "generalitzada" que ens ha permès trobar invariants filogenètics per a un arbre arbitrari a partir dels invariants d'un arbre de tres fulles sense arrel. La transformada que efectuem es pot explicar breument de la següent manera.

Considerem que les variables aleatòries als nodes de l'arbre prenen valors en parells $\binom{j}{i}$, on j pertany a un grup G, $i \in \{0,\dots,l\}$, i l és un natural qualsevol. En el cas que ens ocupa considerem $\mathtt{A}=\binom{0}{0}$, $\mathtt{G}=\binom{0}{1}$, $\mathtt{T}=\binom{1}{0}$, $\mathtt{C}=\binom{1}{1}$, $G=\mathbb{Z}/(2)$, $l=2$. D'aquesta manera les matrius de substitució satisfan certes simetries. En efecte, si anomenem $S^{j_1,j_2}_{i_1,i_2}$ a la probabilitat $P(\binom{j_2}{i_2}|\binom{j_1}{i_1})$, aleshores tenim

$$S^{j_1,j_2}_{i_1,i_2} = S^{k_1,k_2}_{i_1,i_2} \text{ si } j_1-j_2=k_1-k_2.$$

Això permet considerar aquest model com una extensió dels models basats en grups ja que, denotant per $p^{j_1\dots j_n}_{i_1\dots i_n}$ la probabilitat d'observar els estats $\binom{j_1}{i_1},\dots,\binom{j_n}{i_n}$ en les fulles de l'arbre, obtenim que per a $i_1,\dots,i_n$ fixats, $p^{j_1\dots j_n}_{i_1\dots i_n}$ vénen donades per un group-based model. Aleshores, la transformada de Fourier que considerem serà respecte aquest model de grup i és el que ens ha permès demostrar el següent resultat.

4 Teorema ([5]) *Per al "strand symmetric model", si coneixem els invariants d'un arbre de 3 fulles sense arrel, aleshores podem descriure els invariants d'un arbre qualsevol.*

En aquest cas és difícil descriure els invariants d'un arbre de tres fulles sense arrel (és un problema massa complex per als programes d'àlgebra computacional). Des del punt de vista de la geometria algebraica, és un problema interessant perquè es tracta de trobar l'ideal d'una projecció de la varietat de rectes secants de la varietat de Segre $\mathbb{P}^3\times\mathbb{P}^3\times\mathbb{P}^3 \hookrightarrow \mathbb{P}^{63}$. Recentment però, hem pogut descriure'n els generadors de grau ≤ 5 a partir de certes relacions binomials de matrius en les coordenades de Fourier generalitzades.

Per al model de Markov general també s'han aconseguit resultats anàlegs als teoremes 3 i 4 (veure [1]).

4 Usant els invariants filogenètics

Els mètodes usats generalment en inferència filogenètica són el *neighbor-joining*, el *maximum parsimony* i un algoritme basat trobar l'arbre i els paràmetres que satisfan el *màxim de versemblança*. Podeu trobar-ne una explicació entenedora de tots ells a [8]. El primer no es basa en models evolutius i per tant no té en compte mutacions que no donen lloc a substitucions. Per exemple, al llarg d'una branca es pot produir una mutació d'una `A` a una `G` i després un altre cop a `A`. Aquest procés no es veu reflectit en les seqüències finals, però en canvi aquesta possibilitat sí que es recull en considerar models evolutius probabilístics. És per això que els algoritmes de reconstrucció filogenètica basats en models evolutius són més fiables. El cost computacional de l'algoritme de màxim de versemblança però, no permet usar aquest algoritme per a inferir arbres d'un gran nombre d'espècies. En canvi, l'algoritme neighbor-joining és àmpliament usat per a inferir filogènies de moltes espècies.

En aquesta secció proposem un mètode per a inferir arbres d'espècies usant els invariants filogenètics. Els resultats exposats en aquesta secció fan referència a arbres de 4 fulles, sense arrel. El model evolutiu considerat és el Kimura 3 paràmetres i els invariants filogenètics els vam calcular seguint els resultats de [16]. Aquests invariants es poden trobar a la pàgina web:

`http://bio.math.berkeley.edu/ascb/chapter15/`

Concretament, els generadors minimals són 144 binomis de grau 2, 1984 de grau 3 i 5874 de grau 4.

Suposem que tenim 4 espècies i per tant tenim 3 arbres possibles sense arrel (o dit en el llenguatge de la filogenètica, tenim tres "topologies"possibles si mirem el graf etiquetat), vegeu la figura 3.

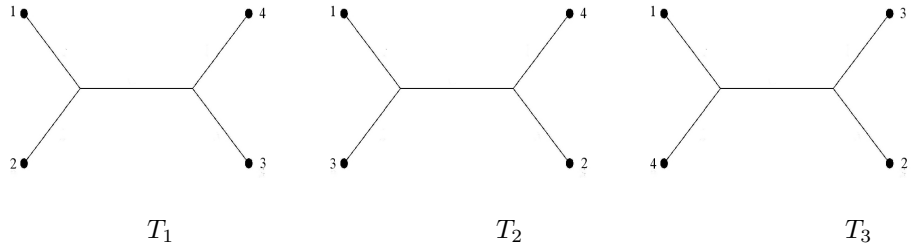


FIGURA 3: Els tres arbres de 4 fulles sense arrel

Algoritme: Partim d'un alineament de les quatre seqüències d'ADN s_1, s_2, s_3, s_4. Comptem les freqüències de cada 4-uple `AAAA, AAAC, ...,TTTT` segons l'arbre T_1. A partir d'aquestes freqüències $\rho^{T_1}_{x_1x_2x_3x_4}$ trobem fàcilment les freqüències de les 4-uples ens els altres dos arbres T_2 i T_3. Substituïm les indeterminades $p_{x_1x_2x_3x_4}$ pels valors de les freqüències $\rho^{T}_{x_1x_2x_3x_4}$ en cada polinomi invariant f i per a cada arbre T, i anomenem aquest valor s^T_f. Per fer-ho passem primer a coordenades de

Fourier ja que en aquest cas l'avaluació del polinomi és molt més senzilla perquè es tracta d'un binomi. A partir d'aquests valors $\{s_f^T\}_f$, donem una puntuació a cada arbre: $s(T) = \sum_f |s_f^T|$. El nostre algoritme escull aleshores la topologia d'arbre que té menor puntuació.

L'algortime és consistent en el sentit que, donades suficients dades provinents del model, recuperem l'arbre correcte amb probabilitat 1 (ja que els invariants s'han d'anul·lar).

Des del punt de vista de cost computacional, és impensable calcular els invariants filogenètics d'un arbre de qualsevol nombre de fulles. És per això que aquest mètode només ha estat desenvolupat per a arbres de quatre fulles. Donat els resultats obtinguts però, creiem que pot ser un bon punt de partida per a mètodes d'inferència filogenètica basats en *quartets* ([8, capítol 12]). A continuació presentem un estudi de l'eficàcia d'aquest mètode. Altres estudis es poden trobar a [3] i [4].

Usant el programa *evolver* del paquet `PAML` [17], hem generat seqüències seguint el model de Kimura 2 paràmetres per a l'arbre T_1 (notem que aquest programa no permet generar seqüències sota el model de Kimura 3-paràmetres). A continuació descrivim les proves efectuades i els resultats obtinguts.

Per cada $n \in \{100, 200, ...1000\}$ vam generar 1000 alineaments de seqüències de longitud n evolucionant sota el model Kimura 2-paràmetres en un arbre de 4 fulles amb longituds de branca distribuïdes uniformement entre 0 i 1. En la figura 4 es pot veure el percentatge d'arbres resconstruïts correctament usant tres mètodes diferents: el mètode basat en invariants presentat aquí, el neighbor-joining i el maxim de versemblança.

Veiem així que el mètode d'invariants supera el neighbor-joining i és compatible amb el mètode del màxim de versemblança. Quin és doncs l'avantatge d'usar mètodes basats en geometria algebraica? Intentarem explicar-ho breument a continuació.

Ja hem mencionat que els mètodes que estem considerant aquí són *algebraics*. En la versió no algebraica (és a dir la versió usada pels biòlegs), les matrius de transició S_i són solucions d'una equació diferencial: si Q és una matriu fixada que representa les raons de canvi d'un nucleòtid a un altre en un instant, aleshores la matriu de substitucions $S(t)$ al cap d'un temps t satisfà

$$S'(t) = S(t)Q \quad i \quad S(0) = Id.$$

Per tant en cada branca tenim $S_i = exp(Q \cdot t_i)$. En els models que es consideren en biologia normalment, la matriu Q és la mateixa per a totes les branques de l'arbre (model *homogeni*). Hi ha evidències que no totes les espècies evolucionen amb les mateixes proporcions de canvis [18], però suposar que les matrius Q són diferents a cada branca (i per tant per les diferents espècies de l'arbre) implicaria considerar un model amb un nombre excessiu de paràmetres. En canvi, en els models algebraics considerats aquí, els paràmetres del model són les entrades de les matrius S_i cosa que implica que permetem que les matrius Q siguin diferents en cada branca. Això és el que s'anomena un model *no-homogeni*. Remarquem que en les simulacions de

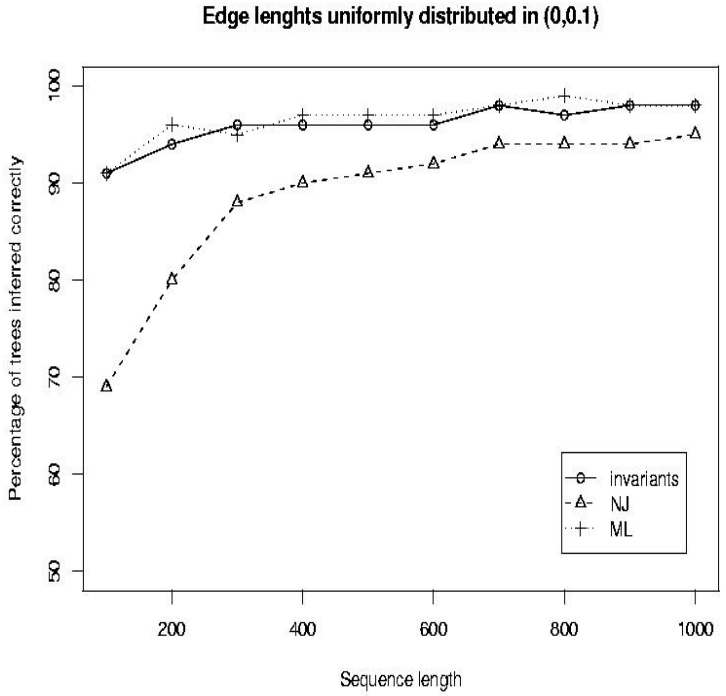


FIGURA 4: Percentatge d'arbres reconstruïts correctament amb longituds de branca uniformement distribuïdes entre 0 and 1. Els mètode usats són: el mètode d'invariants presentat aquí (`invariants`), el neighbor-joining (`NJ`) i el maxim de versemblaça (`ML`).

la figura 4, s'havia escollit un model homogeni per a generar els alineaments i per tant no s'ha afavorit el mètode basat en geometria algebraica.

Per exemple, els mètodes de màxim de versemblança i neighbor-joining aplicats a un model homogeni, obtenen que la filogènia entre les espècies gos (*Canis familiaris*), humà (*Homo sapiens*), ximpanzé (*Pan troglodytes*), rata (*Rattus norvegicus*), ratolí (*Mus musculus*) i pollastre (*Gallus gallus*) és la representada en la figura 5.

Tot i que morfològicament l'espècie humana és més propera al gos que als rosegadors, l'arbre de la figura 5 no és l'arbre que es considera correcte. Degut a que la raó de mutació en els rosegadors és més alta que en les altres espècies considerades, els mètodes basats en models homogenis tendeixen a situar-los en una posició incorrecta. En canvi, un mètode basat en invariants filogenètics reconstruiria l'arbre que s'estima com a cert (veure figura 6).

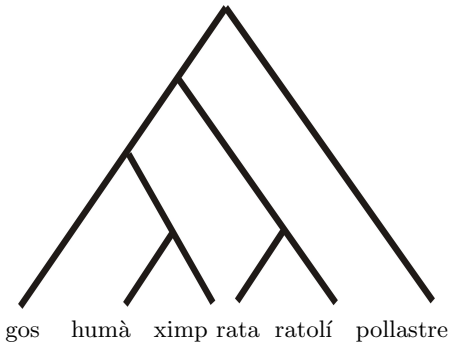


FIGURA 5: Arbre incorrecte.

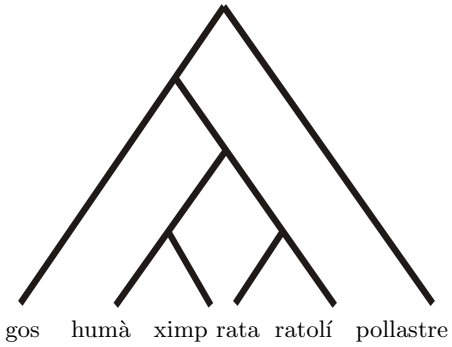


FIGURA 6: Arbre biològicament correcte.

Agraïments

Agraeixo als organitzadors de la Novena Trobada de la Societat Catalana de Matemàtiques haver-me donat l'oportunitat de fer-hi una xerrada. Agraeixo també la Facultat de Matemàtiques i Estadística de la Universitat Politècnica de Catalunya, i en especial S. Xambó, haver-me permès incloure aquí part del que es va publicar al seu Butlletí de la FME [3]. Aquesta recerca ha estat finançada pel Ministeri de Ciència i Tecnologia, Programa Ramón y Cajal, i BFM2003-06001.

Referències

[1] ALLMAN, E.; RHODES, J., «Phylogenetic ideals and varieties for the general Markov model» (2004). Preprint, http://arxiv.org/abs/math.AG/0410604.

[2] BARRY, D.; HARTIGAN, J., «Statistical analysis of hominoid molecular evolution». *Statistical Scince*, 2, (1987), 191–210.

[3] Casanellas, M., «Genètica i geometria algebraica». A: FME, ed., *Conferències FME. Volum II. CURS EINSTEIN*, 2005, 299–316.

[4] Casanellas, M.; Garcia, L.; Sullivant, S., «Catalog of small trees». A: Pachter, L.; Sturmfels, B., ed., *Algebraic Statistics for computational biology*, cap. 15, Cambridge University Press, 2005.

[5] Casanellas, M.; Sullivant, S., «The strand symmetric model». A: Pachter, L.; Sturmfels, B., ed., *Algebraic Statistics for computational biology*, cap. 16, Cambridge University Press, 2005.

[6] Cavender, J.; Felsenstein, J., «Invariants of phylogenies in a simple case with discrete states». *J. Classification*, 4, (1987), 57–71.

[7] Evans, S.; Speed, T., «Invariants of some probability models used in phylogenetic inference». *The Annals of Statistics*, 21, (1993), 355–377.

[8] Felsenstein, J., *Inferring Phylogenies*. Sinauer Associates, Inc., 2003.

[9] Greuel, G.; Pfister, G.; Schoenemann, H., «Singular: A computer algebra system for polynomial computations». Available at `http://www.singular.uni-kl.de/` (2003).

[10] Jukes, T.; Cantor, C., «Evolution of protein molecules». A: Munro, H., ed., *Mammalian Protein Metabolism*, New York Academic Press, 1969, 21–32.

[11] Kimura, M., «A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences». *J. Mol. Evol.*, 16, (1980), 111–120.

[12] Kimura, M., «Estimation of evolutionary sequences between homologous nucleotide sequences». *Proc. Nat. Acad. Sci. , USA*, 78, (1981), 454–458.

[13] Lake, J., «A rate-independent technique for analysis of nucleaic acid sequences: evolutionary parsimony». *Mol. Biol. Evol.*, 4, (1987), 167–191.

[14] Pachter, L.; Sturmfels, B., ed., *Algebraic Statistics for computational biology*. Cambride University Press, 2005. ISBN 0-521-85700-7.

[15] Pistone, G.; Riccomagno, E.; Wynn, H., *Algebraic Statistics: Computational Commutative Algebra in Statistics*. Chapman & Hall/CRC, 2000.

[16] Sturmfels, B.; Sullivant, S., «Toric ideals of phylogenetic invariants». *J. Comput. Biol.*, 12, (2005), 204–228.

[17] Yang, Z., «PAML: A program package for phylogenetic analysis by maximum likelihood». *CABIOS*, 15, (1997), 555–556.

[18] Yang, Z.; Yoder, A. D., «Estimation of the transition/transversion rate bias and species sampling». *J. Mor. Evol.*, 48, (1999), 274–283.

Dpt. Matemàtica Aplicada I.
Universitat Politècnica de Catalunya.
Av. Diagonal 647. 08028-Barcelona.
`marta.casanellas@upc.edu`