

实用生物信息技术期末交流

Mega构建系统发育树实例介绍 —— 细菌16s rRNA基因序列分析

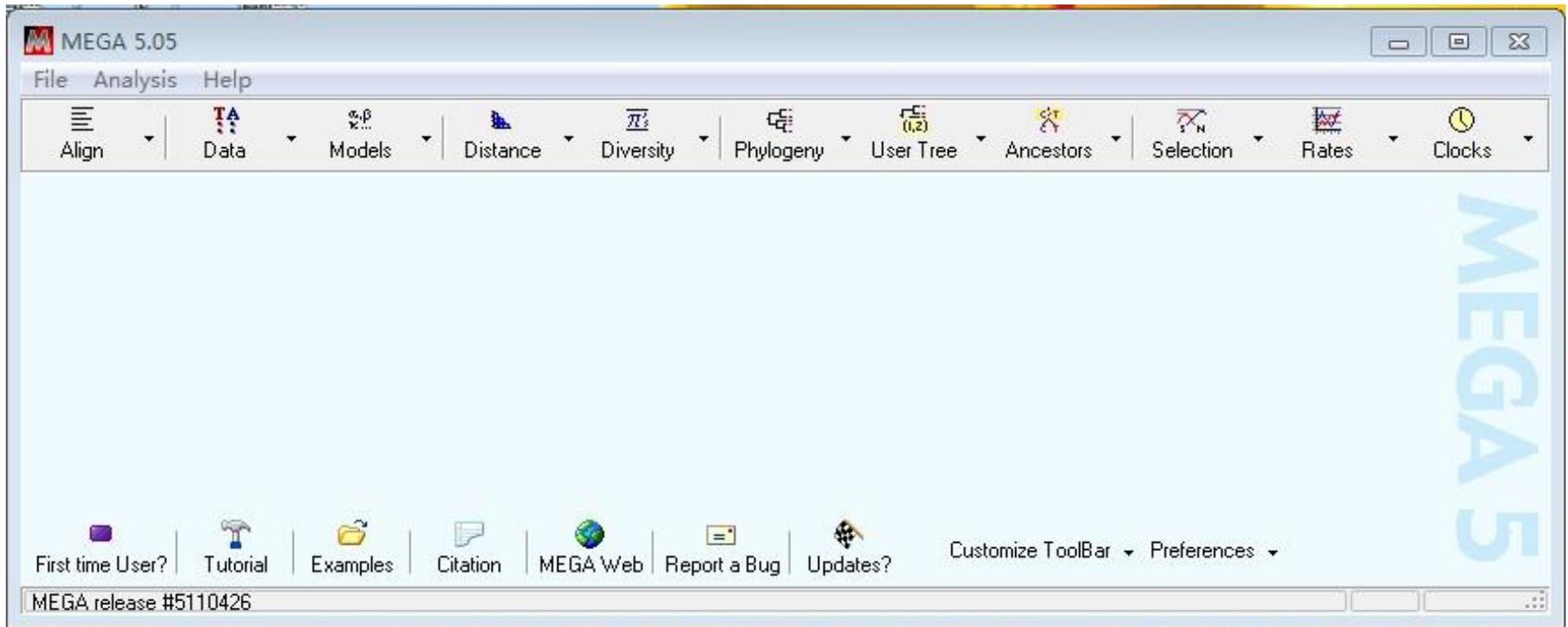
G17

龚志婷 方程 郑维豪 马琳

主要内容

1. Mega及Mega构建系统发育树简介
2. 细菌16s rRNA基因序列分析简介
3. 构建系统发育树所用序列的获得
4. 用Mega构建系统发育树的方法
5. 系统发育树构建后的修饰
6. 总结

1. Mega及Mega构建系统发育树简介

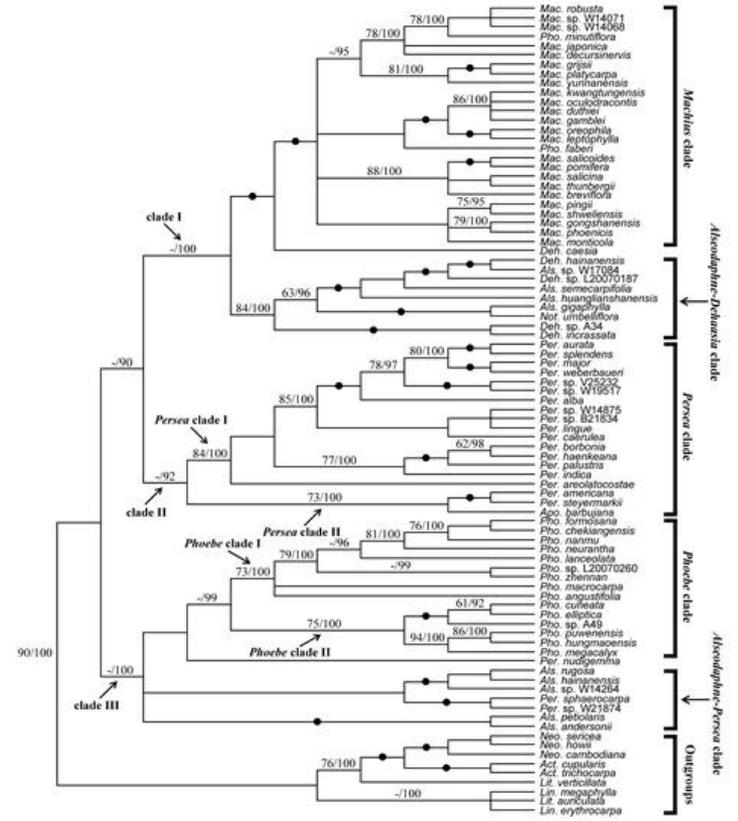
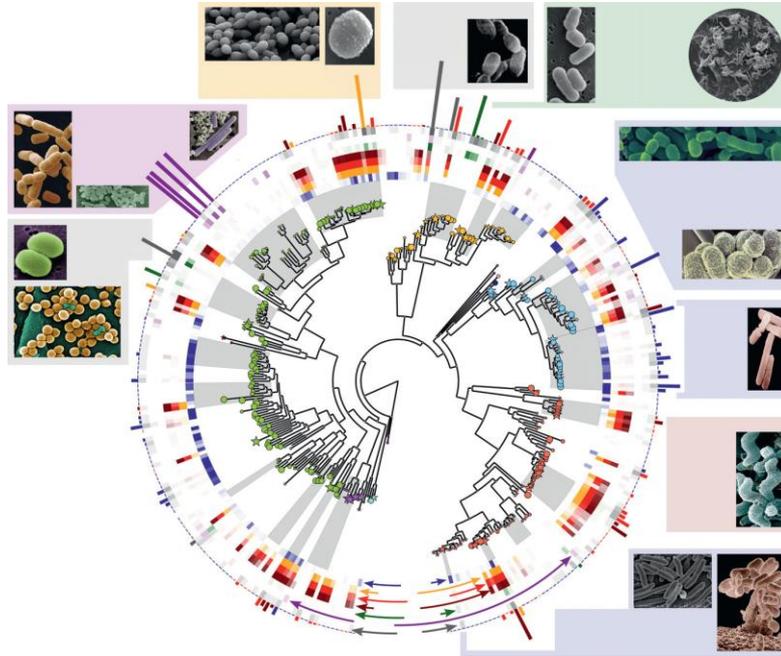


MEGA——Molecular Evolutionary Genetics Analysis

主要功能：系统发育树的构建

辅助功能：序列比对、估算进化距离、氨基酸组成比例差异分析

系统发育树



细菌16s rRNA基因序列分析简介

16s rRNA:

是细菌染色体上编码rRNA相对应的DNA序列，存在于所有细菌的染色体基因组中。

特点： 种类少
含量大
分子大小适中
进化缓慢

主要用途及实现路径

菌种鉴定

数据库检索

细菌进化位置确定



聚类分析



系统发育树构建

环境中细菌多样性分析

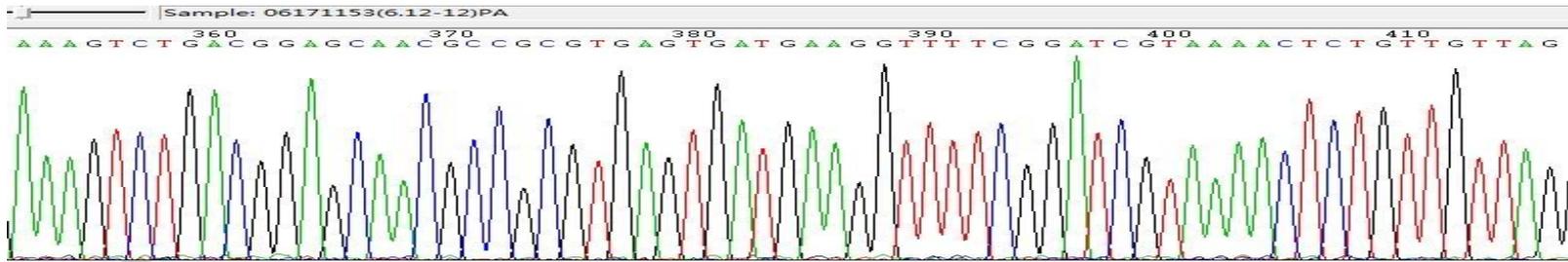
系统发育分析

3. 构建系统发育树所用序列的获得

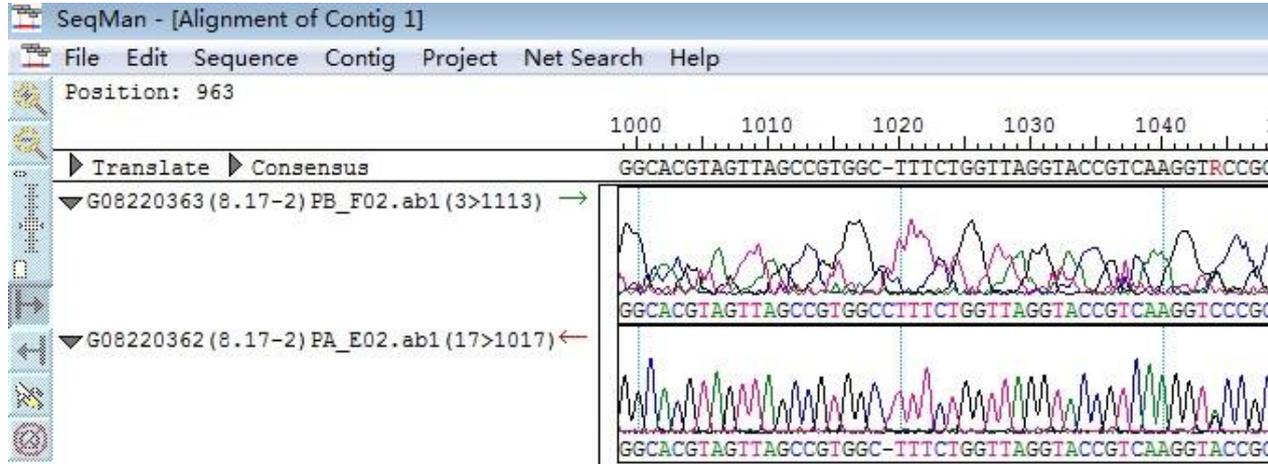
1) 测序数据获得及校正

2) **blast**分析查找初步鉴定

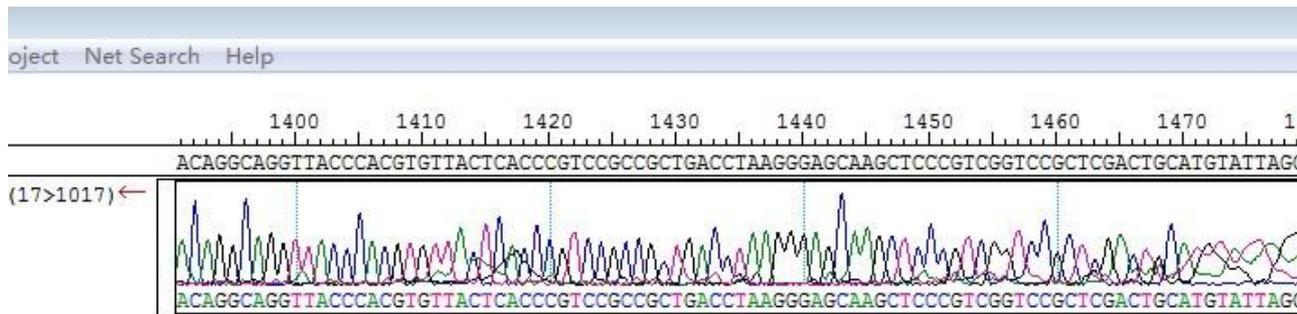
3) 外群的选择



1) 测序数据获得及校正



用SeqMan进行序列拼接，并对两端有差异的序列进行校正



去除开头和末尾可靠度低的数据

校正好的序列保存为TXT格式

2) blast分析查找初步鉴定

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Geobacillus pallidus partial 16S rRNA gene, isolate T4	2510	2510	100%	0.0	99%	FN562409.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Geobacillus sp. clone ASC135 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2508	2508	100%	0.0	99%	JF825503.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus sp. enrichment culture clone W2-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2508	2508	100%	0.0	99%	HM059719.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus pallidus gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: NCCP-131	2508	2508	100%	0.0	99%	AB543491.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus pallidus partial 16S rRNA gene, isolate T1	2508	2508	100%	0.0	99%	FN562406.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus sp. A60 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2508	2508	100%	0.0	99%	DQ642095.1
<input type="checkbox"/>	Geobacillus sp. T38 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2508	2508	100%	0.0	99%	DQ642094.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. IS-2004 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2508	2508	100%	0.0	99%	AY639816.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Geobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate Td	2508	2508	100%	0.0	99%	AJ564615.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. IZ5 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence	2508	2508	100%	0.0	99%	AB089235.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. IZ3 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence	2508	2508	100%	0.0	99%	AB089233.1

选择相似度最为接近的序列，一般认为相似度高于**97%**即有可能为同种，并查看这些序列下载，选择最为可能的**2-5**条序列一起建树。

3) 外群的选择

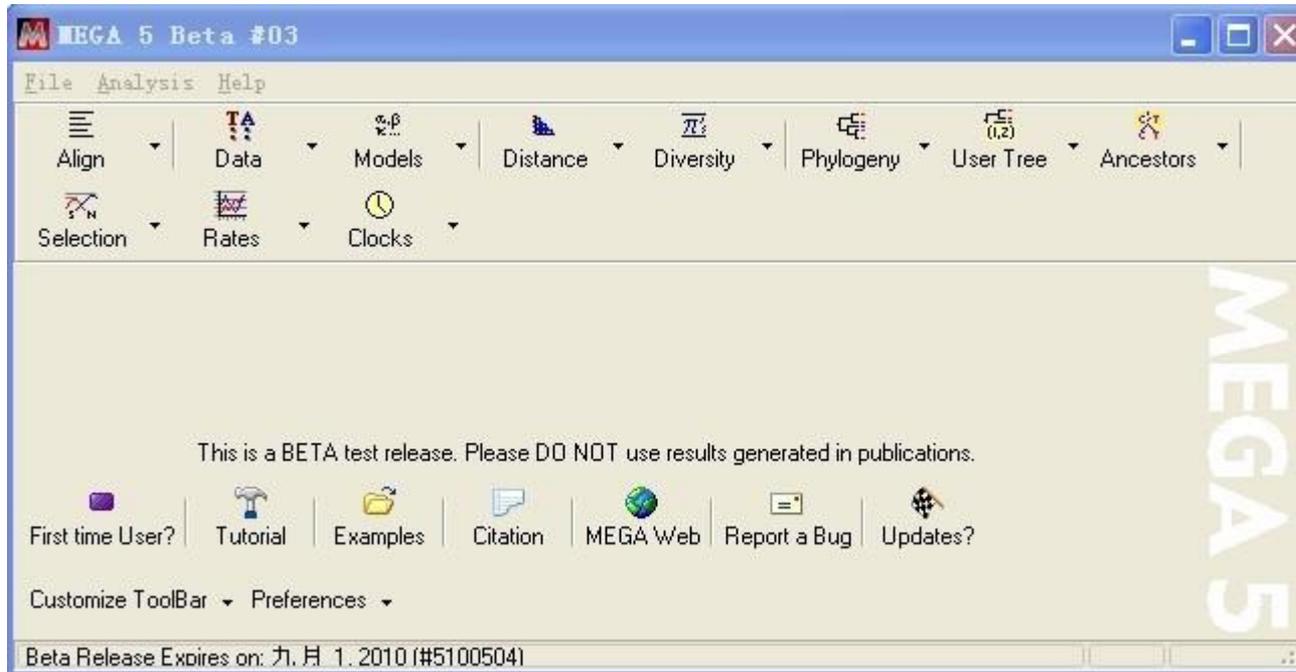
外群的选择在课上已经讲过就不再强调。

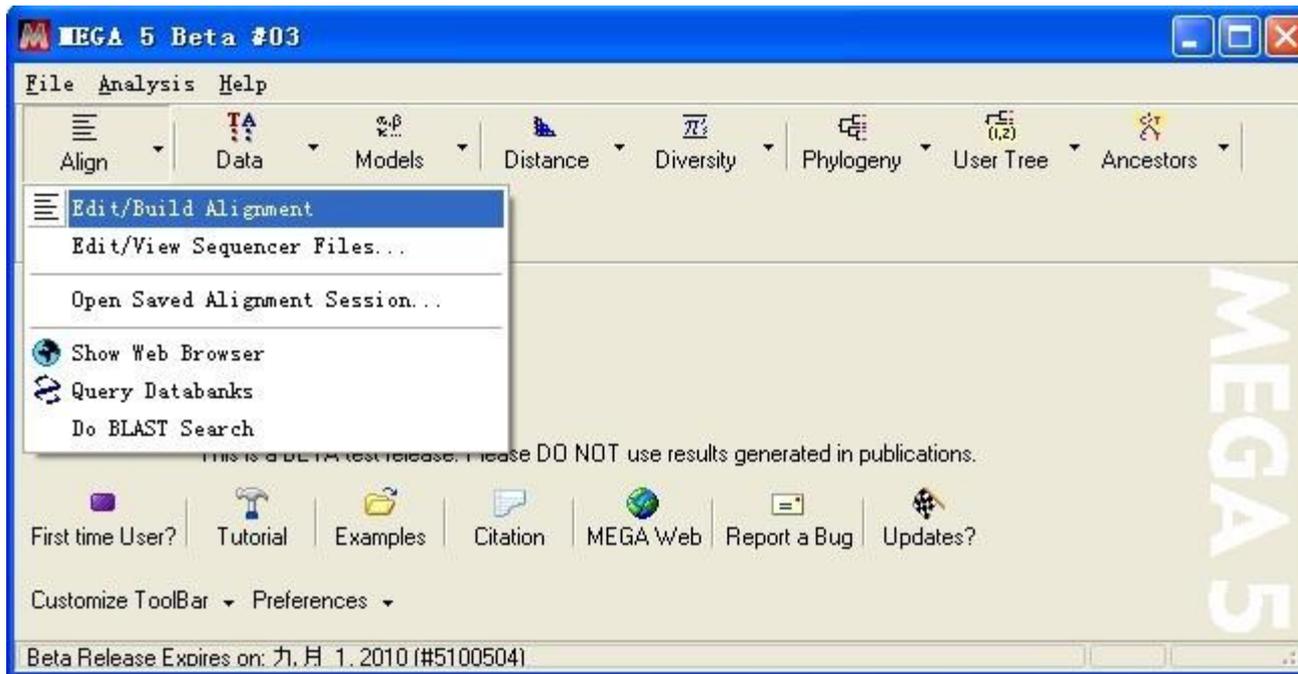
如本研究所获得菌株均来自于温泉，故选择了一个与之相近，又不同的嗜热古菌（ **Sulfolobus** ）为外群。

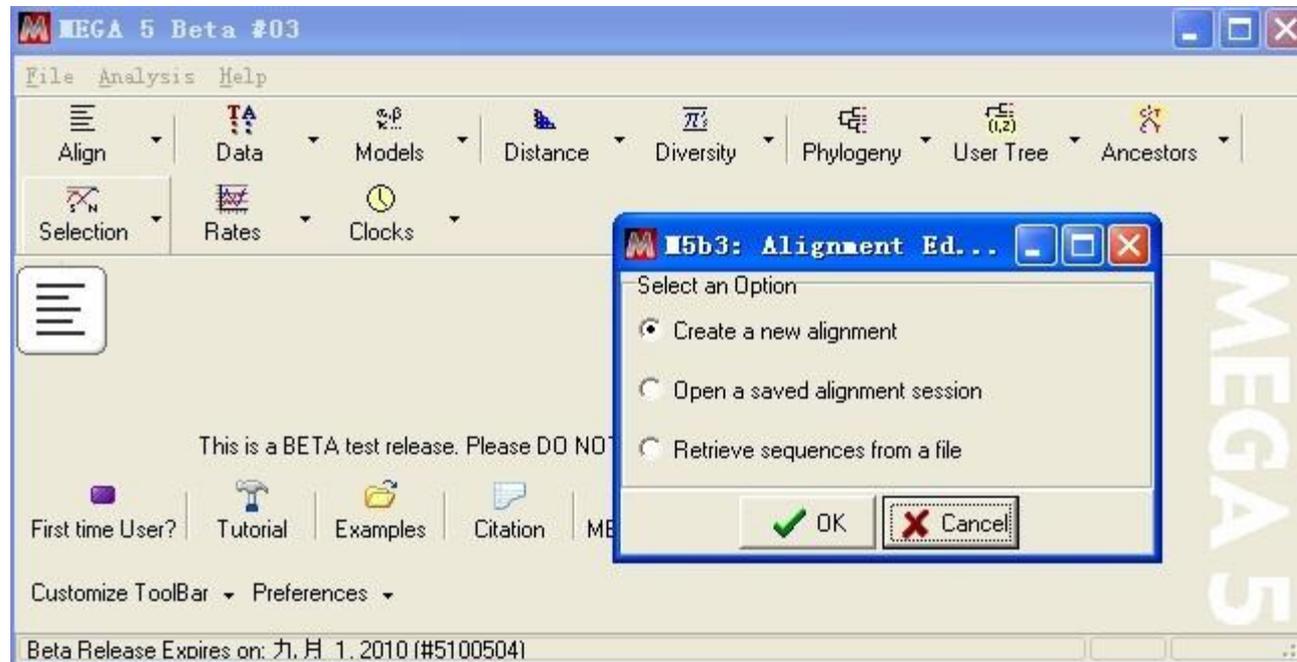
将以上校正后的序列，blast获得序列，外群都存于一个TET文件中，用于MEGA建树。

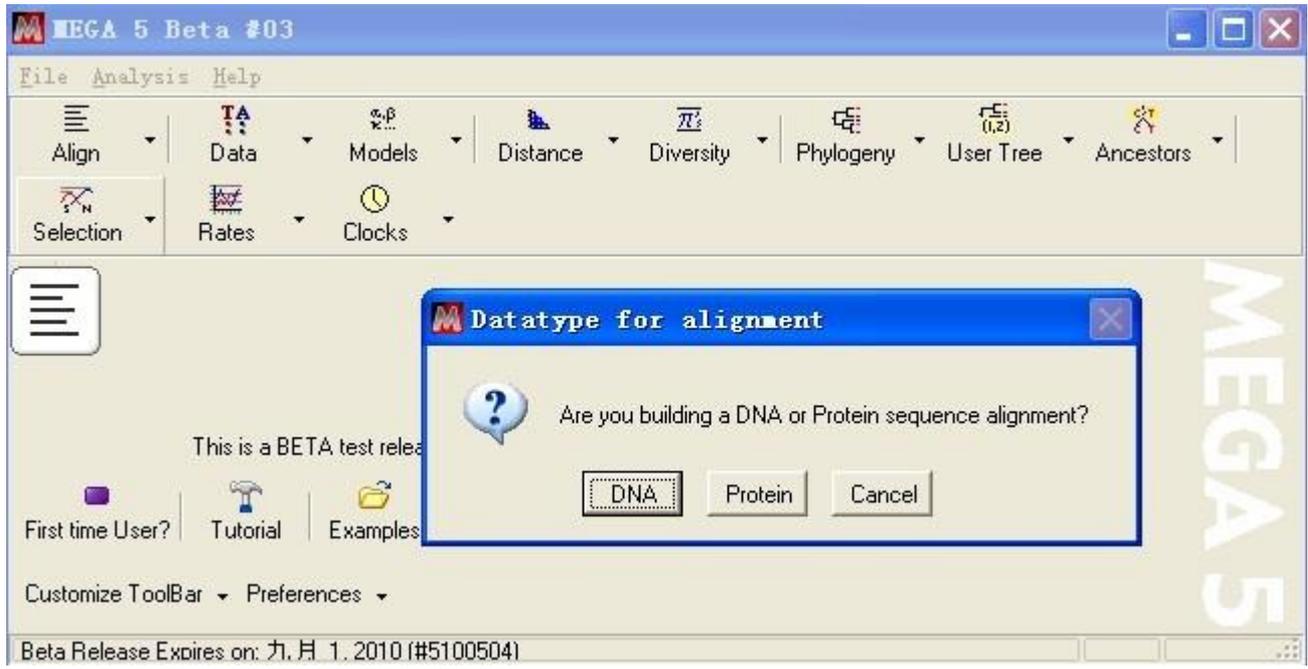
```
>Anoxybacillus, mongoliensis/EF654664/  
GCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACGAATCAAAAGCTTGCTTTTATTGATTGCGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCCTGTAGACGGGGAT  
AACACCGAGAAATCGGTGCTAATACCGGATAACACGAAATGTCGCATGACGTTTCGTTGAAAGACGGCGCAAGCTGTCGCTACAGGATGGGCCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGT  
GAGGTAACGGCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCG  
CAATGGACGAAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAGCGTAGTAACCTGGCGTTACCTTGACGGT  
ACCTAACGAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTG  
ATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAAAGTGGGGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGCGGAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAA  
CACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGATGAGTGCTAAGT  
GTTAGAGGGTATCCACCCTTTAGTGCTGTAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGCTCGCAAGAGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGG  
AGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGTCTTGACATCCCCTGACAACCCGAGAGATTGGGCGTTCGCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGCAT  
GGTTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGACCTTAGTTGCCAGCGAGTCAAGTCGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGCTAAAA  
GTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGTTGCGAACCCGCGAGGGGGAGCCAATCCCA  
AAAAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGACATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC  
CGCCCGTACACCACGAGAGTTTGAACACCCGAAGTCCGTGAGGTMACCCTTACGGGAGCCAGCCCGCGAA  
>Aeribacillus, pallidus, /Z26930/  
CTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACCGAAGGGAGCTTGCTCCTTTAGGTTAACGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCCTGC  
AGACTGGGATAACTTCGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAAACCGCATGGTTTTTCGTTGAAAGGCGGCTTTTAGCTGTCACTGCAGGATGGGCCCGCGGCGCATT  
AGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAG
```

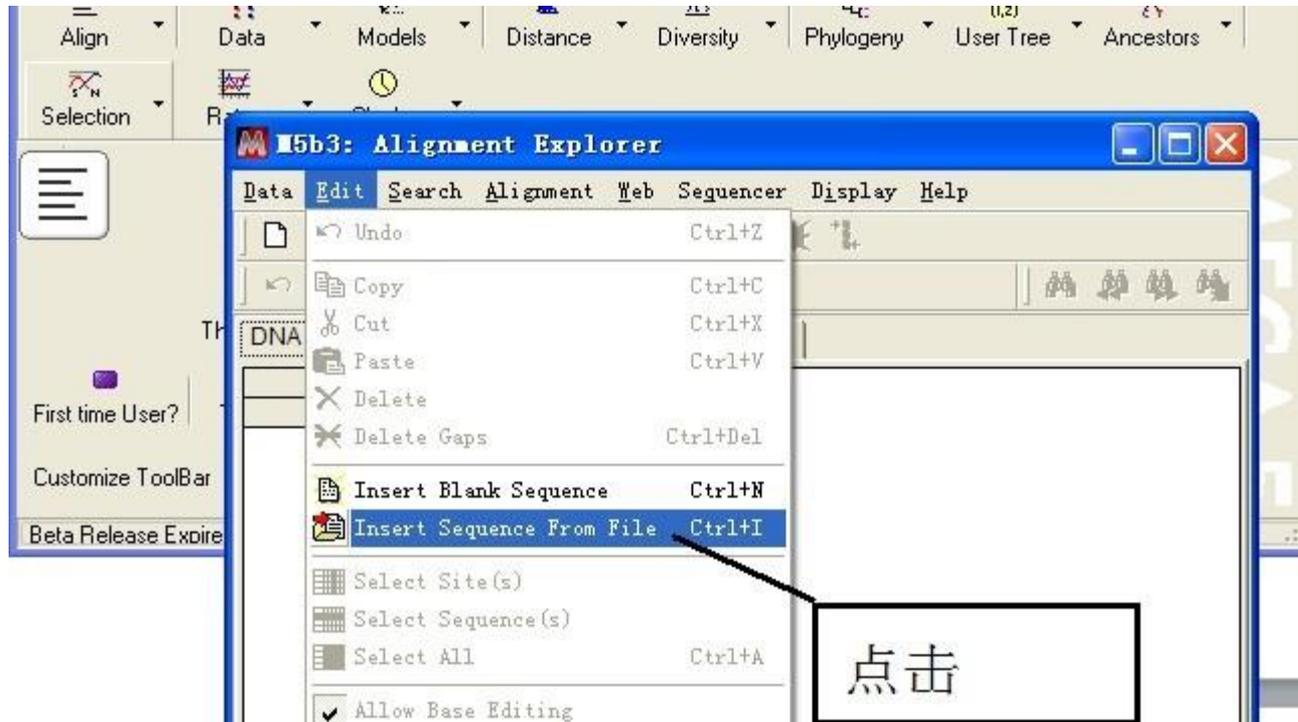
4. 用Mega构建系统发育树的方法



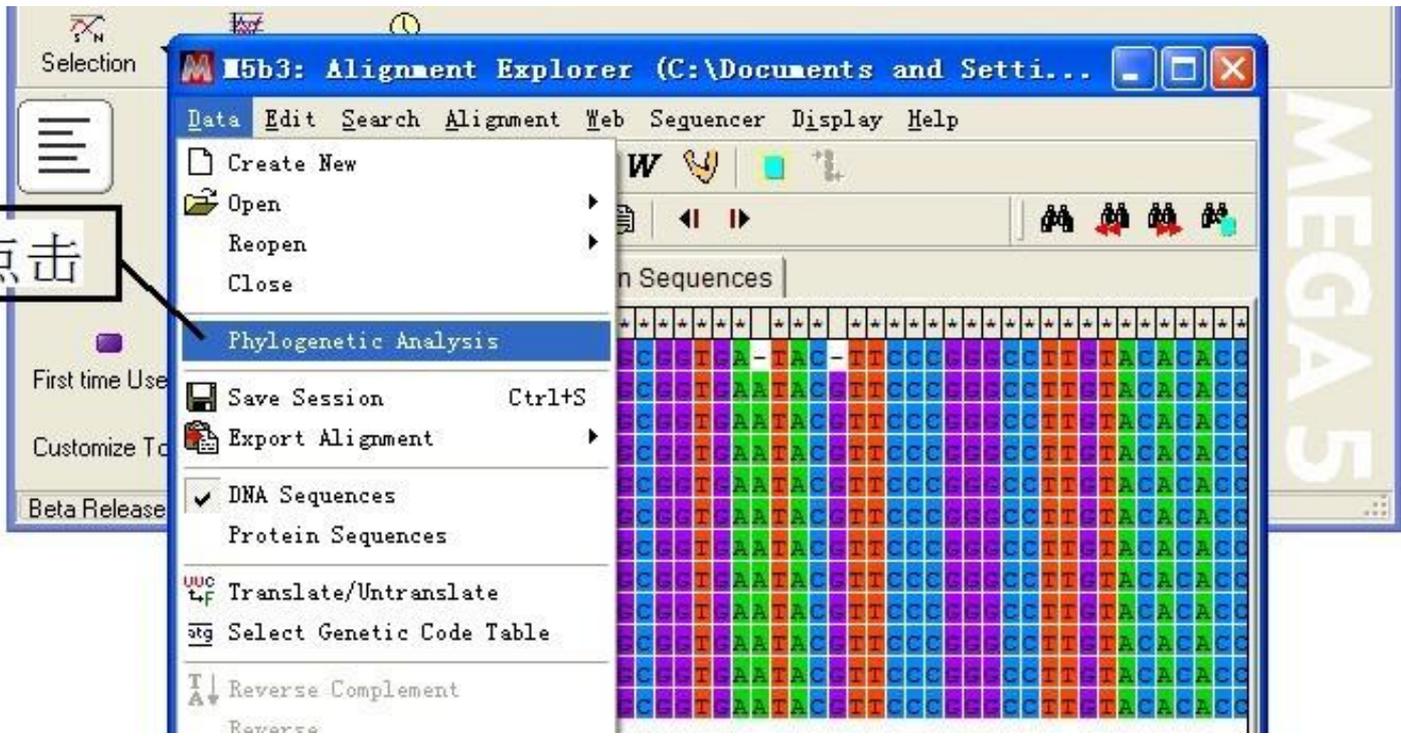


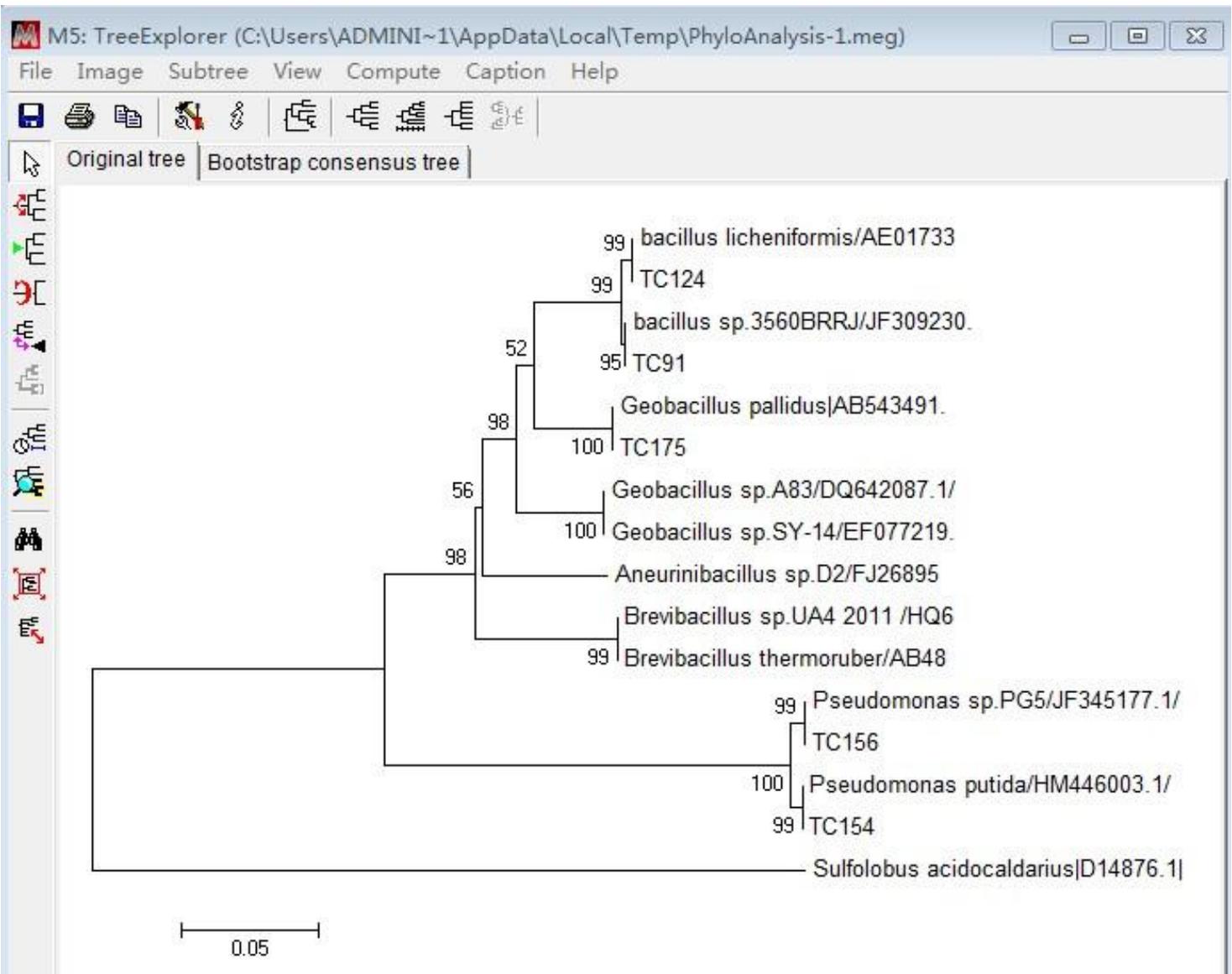






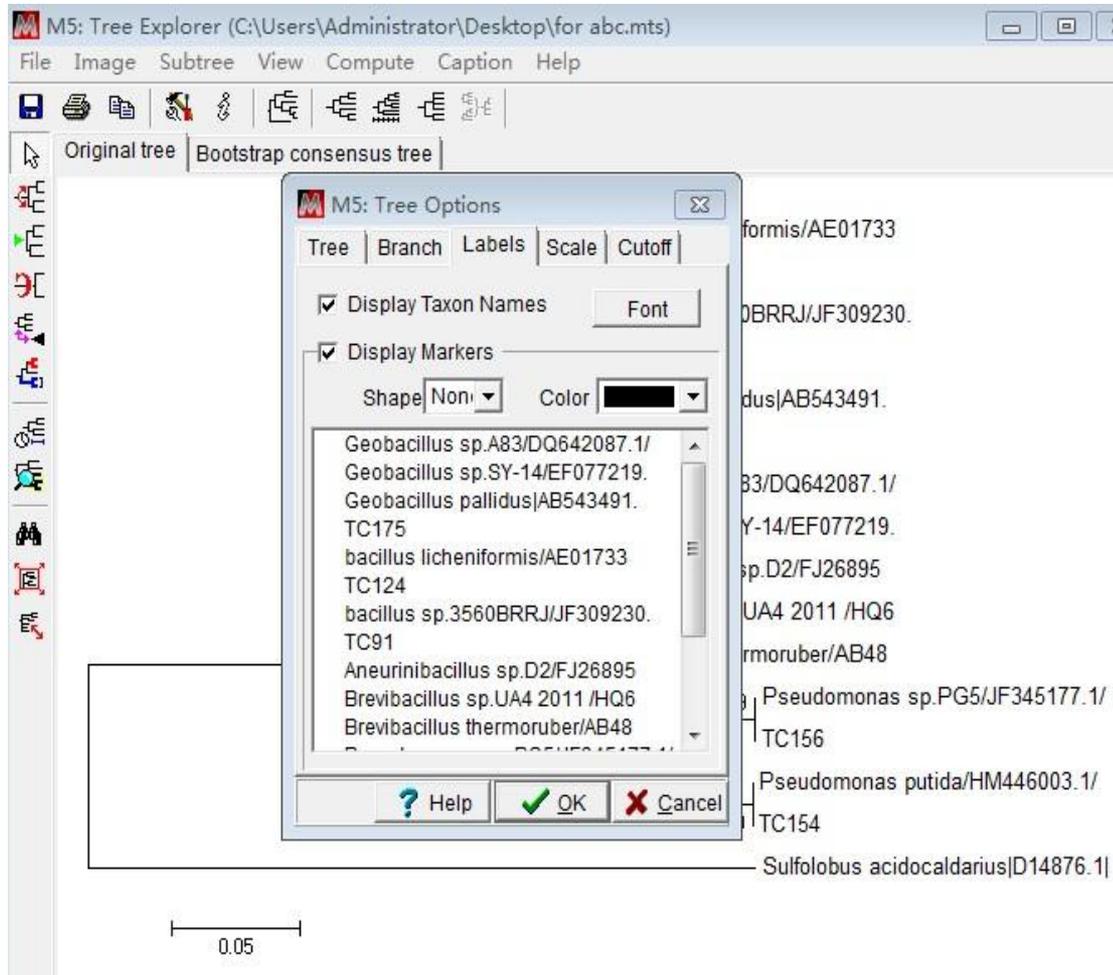
点击

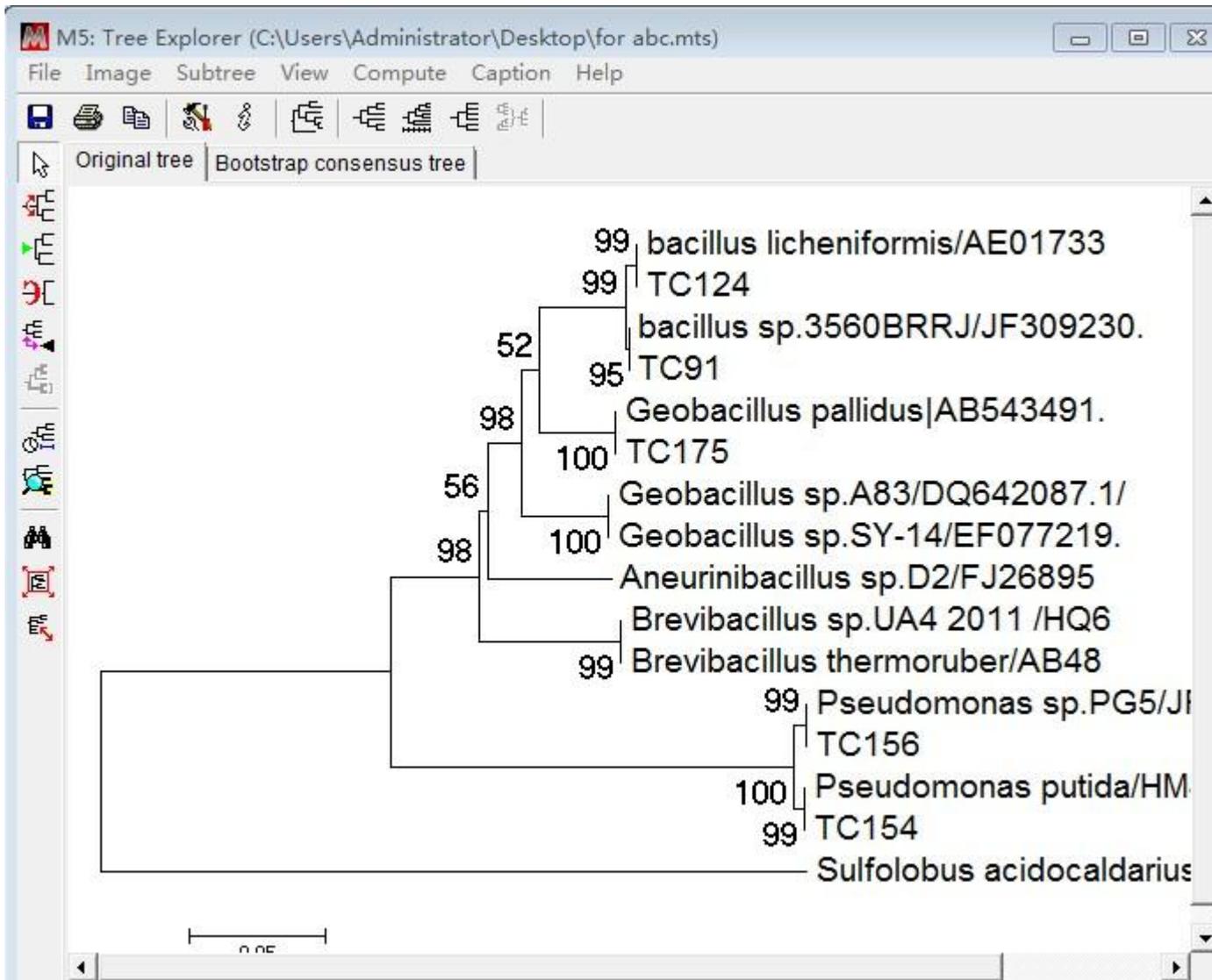


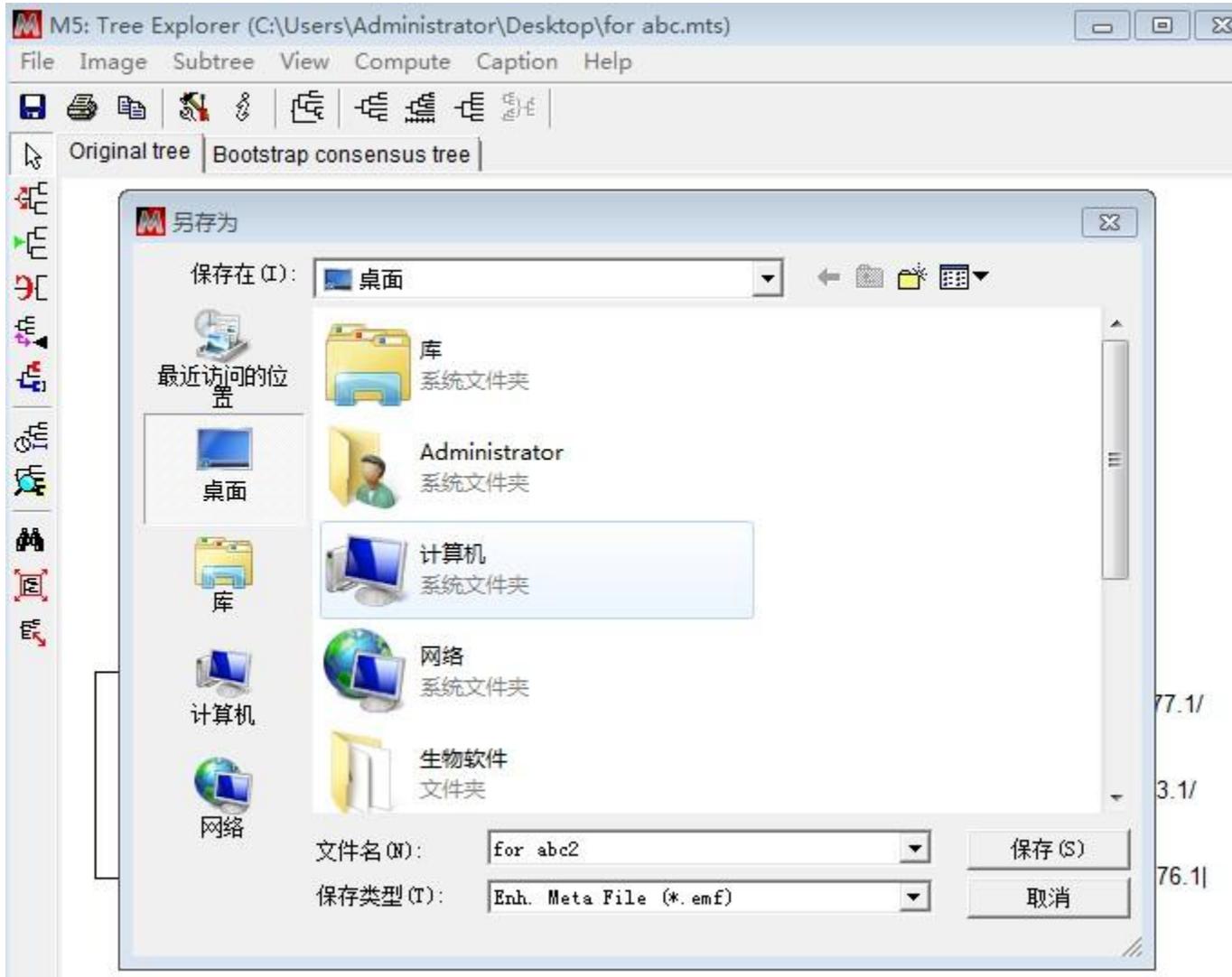


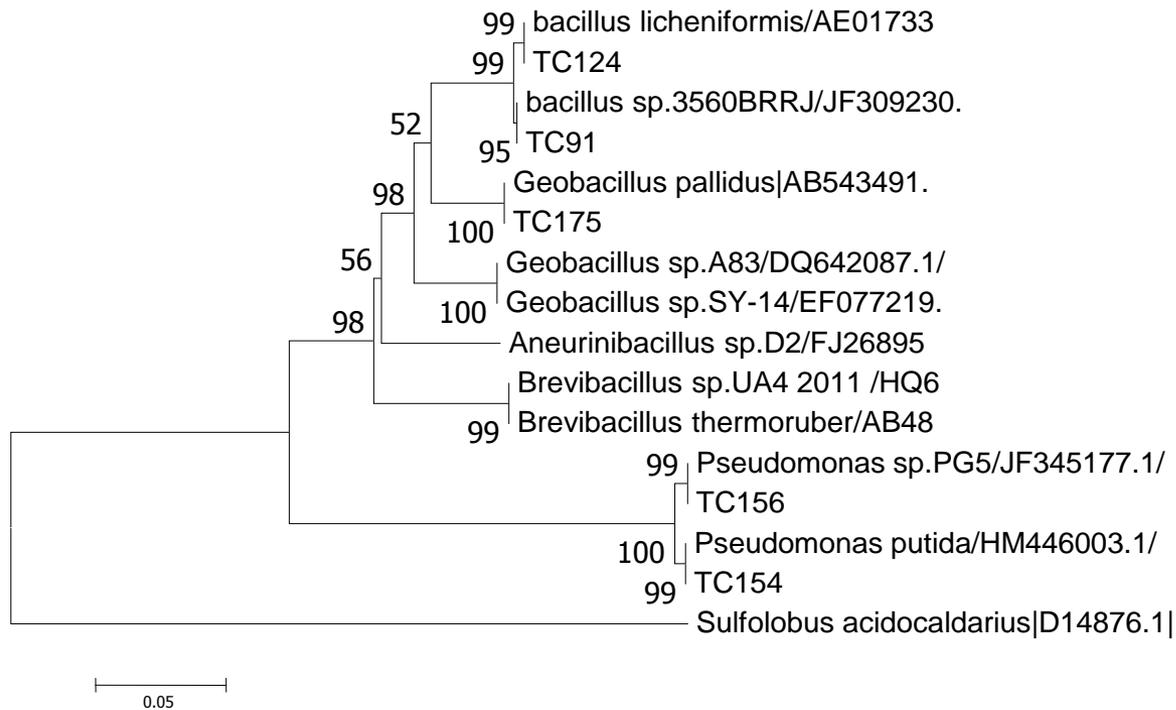
5. 系统发育树构建后的修饰

首先可以通过来对所建树进行修改，然后点击**Image**选择以**EMF**格式保存文件

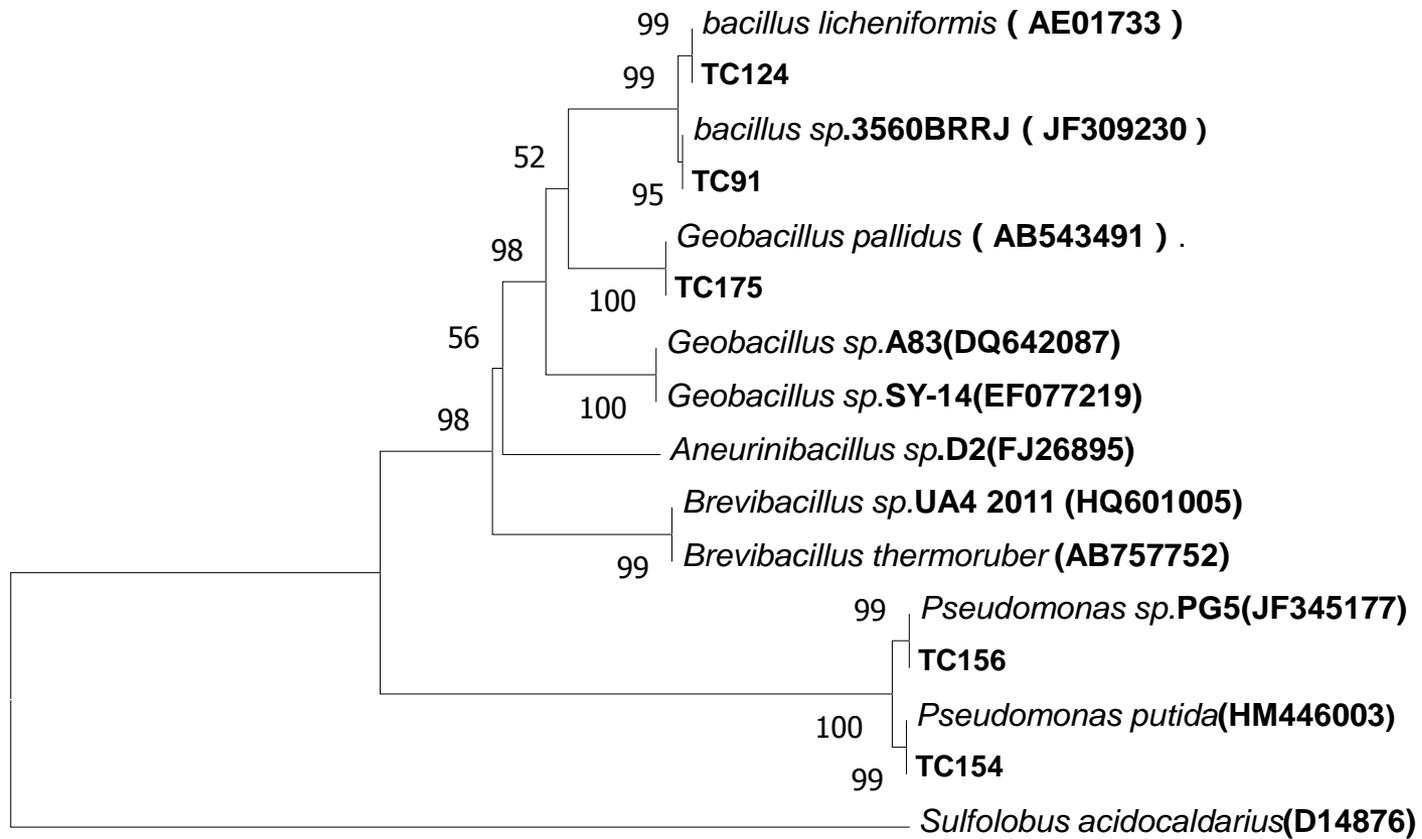








点击右键，编辑图片，然后安装要求更改字体格式（种名斜体，序列号及菌株编号正体加粗）



0.05

6. 总结



谢谢！
