

Wstęp do filogenetyki molekularnej

Krzysztof Turowski



Co to jest filogeneza?

- Filogeneza (z gr. *filos* – gatunek, ród i *genesis* – pochodzenie) to droga rozwoju rodowego, pochodzenie i zmiany ewolucyjne grupy organizmów, zwykle gatunków
- Termin wprowadzony przez Ernsta Haeckela w 1866 roku
- Filogenetyka ma na celu ustalenie relacji pokrewieństwa gatunków, zarówno istniejących, jak i wymarłych
- Informacje mogą zostać przedstawione w postaci «drzewa genealogicznego» zwanego **drzewem filogenetycznym**

Drzewo filogenezy jako struktura danych

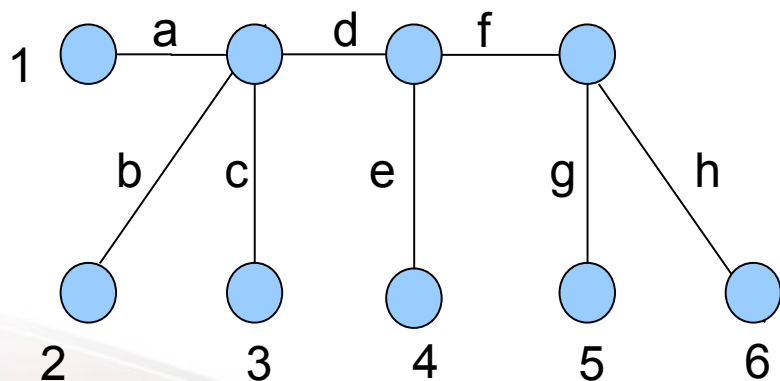
- Drzewo filogenetyczne T można rozumieć jako strukturę danych o pewnych szczególnych własnościach:
 - Posiada wyróżniony zbiór $L(T)$ (mocy n) – zbiór gatunków żyjących obecnie
 - Każdy liść ma przyporządkowaną unikalną etykietę – na ogół jest to liczba ze zbioru $\{1, 2, \dots, n\}$ albo nazwa: «rododendron», «świerząb» itp.
- Wyróżniane szczególne rodziny drzew:
 - Ze względu na wyróżniony korzeń: nieukorzenione, ukorzenione
 - Ze względu na ilość rozgałęzień: binarne
- Najbardziej naturalną reprezentacją drzew filogenetycznych jest graf $T = (V, E)$
 - Drzewo nie zawiera z reguły wierzchołków wewnętrznych stopnia 2, gdyż nie niosą one żadnych informacji
 - Zbiór liści drzewa T jest równy $L(T)$

Drzewa nieukorzenione – opis

- Drzewo nieukorzenione możemy opisać w postaci grafu:
 - Wierzchołki wewnętrzne $V(T) \setminus L(T)$ to wspólni przodkowie
- Możliwy jest również opis zbiorami:
 - **Rozbicie** zbioru L – dowolna para $\{A, B\}$ spełniająca warunki:
 - $\emptyset \subset A \subset L, \emptyset \subset B \subset L, A \cap B = \emptyset, A \cup B = L$
 - Rozbicie jest **trywialne**, gdy $|A| = 1$
 - Rozbicia $\{A, B\} \neq \{C, D\}$ dla zbioru L są **zgodne**, gdy dokładnie jeden zbiór spośród: $A \cap C, A \cap D, B \cap C, B \cap D$ jest pusty
 - **Rodzina zgodnych rozbić** $\delta(T)$ dla drzewa T o liściach L zawiera wszystkie rozbicia powstałe przez usunięcie pewnej krawędzi z T
- Okazuje się, że zgodna rodzina rozbić δ zawierająca wszystkie rozbicia trywialne $\{v, L \setminus \{v\}\}$ dla $v \in L$ jednoznacznie określa topologię nieukorzenionego drzewa T , które spełnia $\delta(T) = \delta$
 - Bez uwzględnienia wierzchołków stopnia 2

Drzewa nieukorzenione – przykład

- Drzewo T :



- Rodzina zgodnych rozbić $\delta(T)$:

- Od krawędzi a: $\{1\}, \{2, 3, 4, 5, 6\}$
- Od krawędzi b: $\{2\}, \{1, 3, 4, 5, 6\}$
- Od krawędzi c: $\{3\}, \{1, 2, 4, 5, 6\}$
- Od krawędzi d: $\{1, 2, 3\}, \{4, 5, 6\}$
- Od krawędzi e: $\{4\}, \{1, 2, 3, 5, 6\}$
- Od krawędzi f: $\{1, 2, 3, 4\}, \{5, 6\}$
- Od krawędzi g: $\{5\}, \{1, 2, 3, 4, 6\}$
- Od krawędzi h: $\{6\}, \{1, 2, 3, 4, 5\}$

- Oba powyższe opisy są równoważne i przejścia między nimi można dokonać w czasie liniowym

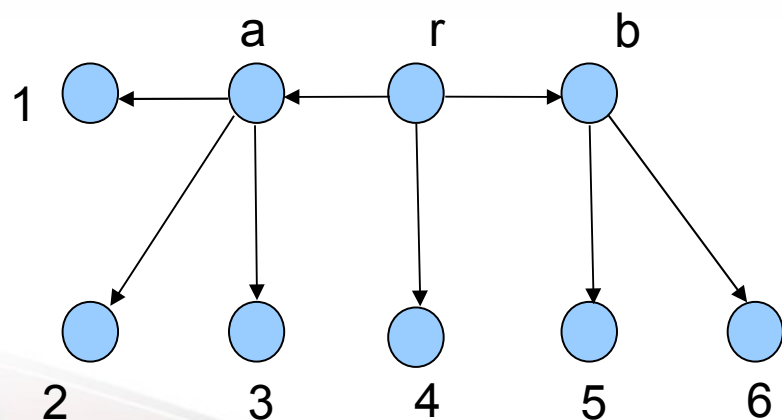
- usunięcie rozbitcia (nietrywialnego) = ściągnięcie krawędzi (wewnętrznej)
- dodanie rozbitcia (nietrywialnego, zgodnego) = rozdzielenie wierzchołka (wewnętrznego) na dwa połączone krawędzią

Drzewa ukorzenione – opis

- **Korzeń** – wyróżniony wierzchołek wewnętrzny r , przedstawiający najstarszego przodka grupy
- Drzewo ukorzenione również możemy opisać:
 - Za pomocą grafu
 - Za pomocą zbiorów
- W grafie przedstawiającym drzewo ukorzenione można zorientować wszystkie krawędzie od korzenia w kierunku liści
- **Klaster** – zbiór liści $A \subseteq L(T)$ będących potomkami wierzchołka w drzewie T (wraz z nim samym)
 - Klaster A jest **trywialny** jeśli $|A| = 1$ lub $A = L(T)$
 - Klastry A, B są **zgodne**, jeśli $A \subseteq B$, $B \subseteq A$ lub $A \cap B = \emptyset$
- Zgodny zbiór klastrów $\delta(T)$ odpowiadających wszystkim wierzchołkom drzewa T określa jednoznacznie jego topologię

Drzewa ukorzenione – przykład

- Drzewo T :



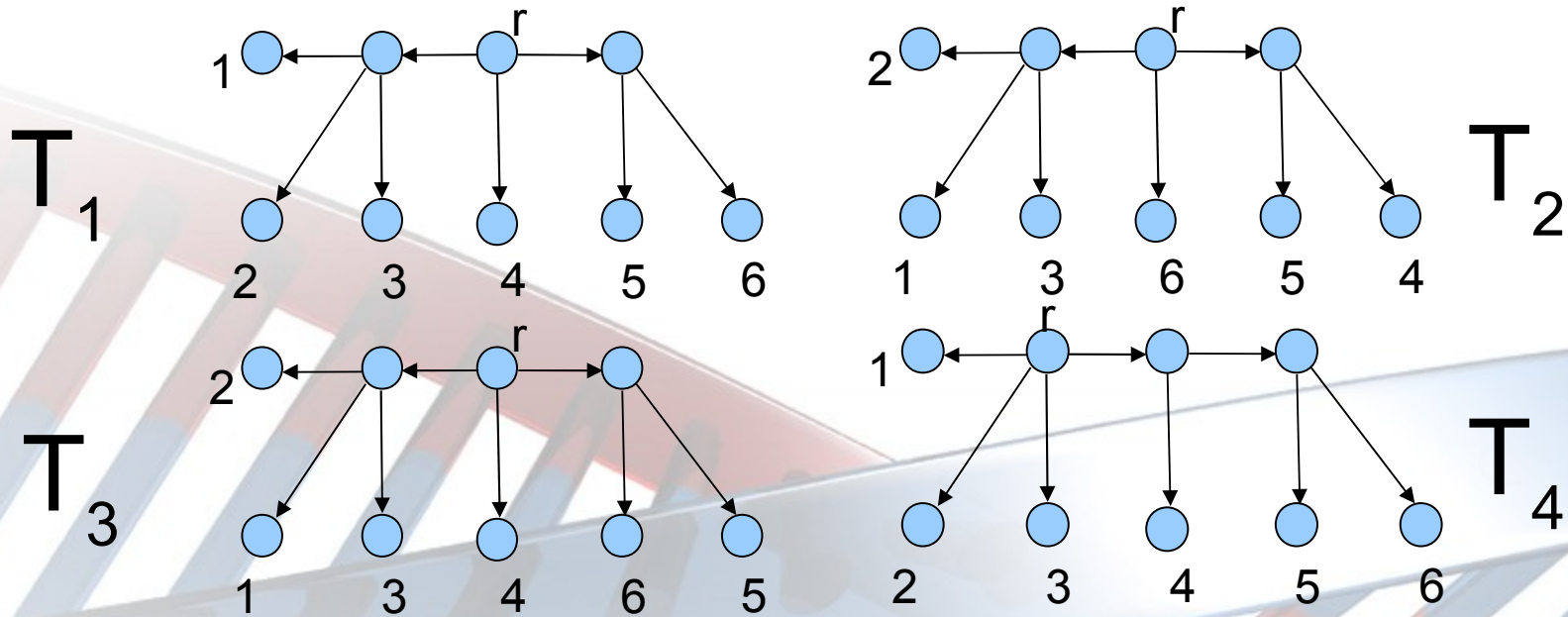
- Zbiór klastrów $\delta(T)$:

- Od wierzchołka r : $\{1, 2, 3, 4, 5, 6\}$
- Od wierzchołka a : $\{1, 2, 3\}$
- Od wierzchołka b : $\{5, 6\}$
- Od wierzchołka 1 : $\{1\}$
- Od wierzchołka 2 : $\{2\}$
- Od wierzchołka 3 : $\{3\}$
- itd.

- I te opisy są równoważne, również między nimi można dokonać przejścia w czasie liniowym
 - usunięcie klastra (nietrywialnego) = ściągnięcie krawędzi (wewnętrznej)
 - dodanie klastra (nietrywialnego, zgodnego) = rozdzielenie wierzchołka wewnętrznego na dwa, połączone krawędzią

Równoważność drzew

- Drzewa filogenetyczne T_1 i T_2 są równoważne, gdy:
 - Grafy odpowiadające T_1 i T_2 są izomorficzne
 - Izomorfizm zachowuje etykiety przyporządkowane liściom (tj. odwzorowuje liść z T_1 o etykiecie 1 w liść z T_2 o etykiecie 1 itd.)
 - Dla drzew ukorzenionych: izomorfizm zachowuje odwzorowanie korzenia r_1 w korzeń r_2



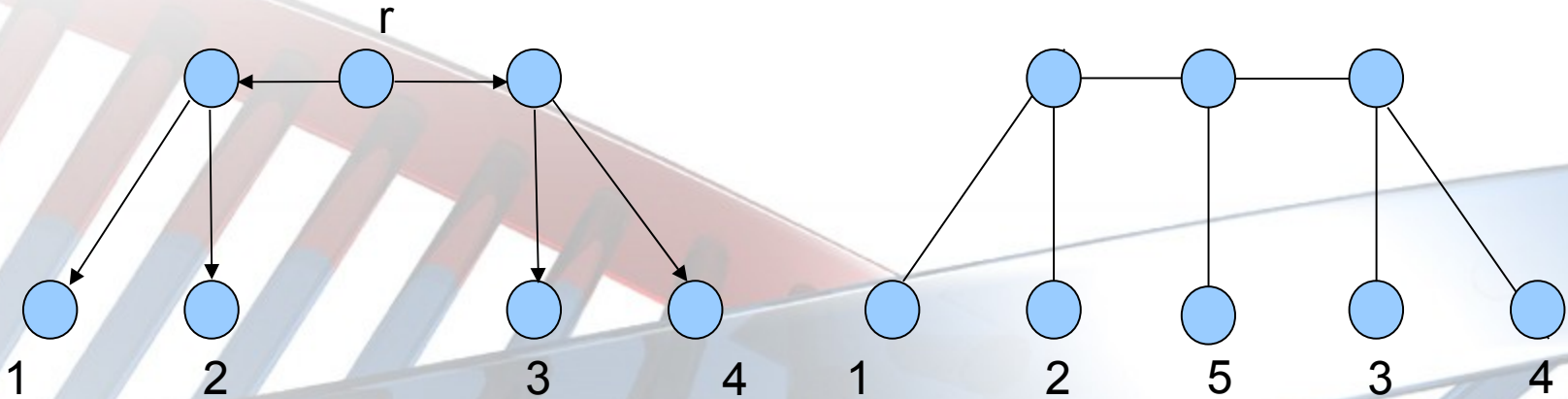
- T_1 i T_2 są równoważne, gdy mają równe rodziny rozbić/klastrów

Drzewa binarne

- Niosą najwięcej informacji o przebiegu ewolucji
- W drzewie binarnym ukorzenionym:
 - $\deg(r) = 2$ ($\text{outdeg}(r) = 2$)
 - Dla dowolnego wierzchołka wewnętrznego $v \neq r$ zachodzi $\deg(v) = 3$ ($\text{indeg}(v) = 1$ i $\text{outdeg}(v) = 2$)
- Drzewo binarne ukorzenione o n liściach ma:
 - $n - 1$ wierzchołków wewnętrznych
 - $2n - 2$ krawędzi
- W drzewie binarnym nieukorzenionym każdy wierzchołek wewnętrzny ma stopień 3
- Drzewo binarne nieukorzenione o n liściach ma:
 - $n - 2$ wierzchołków wewnętrznych
 - $2n - 3$ krawędzi

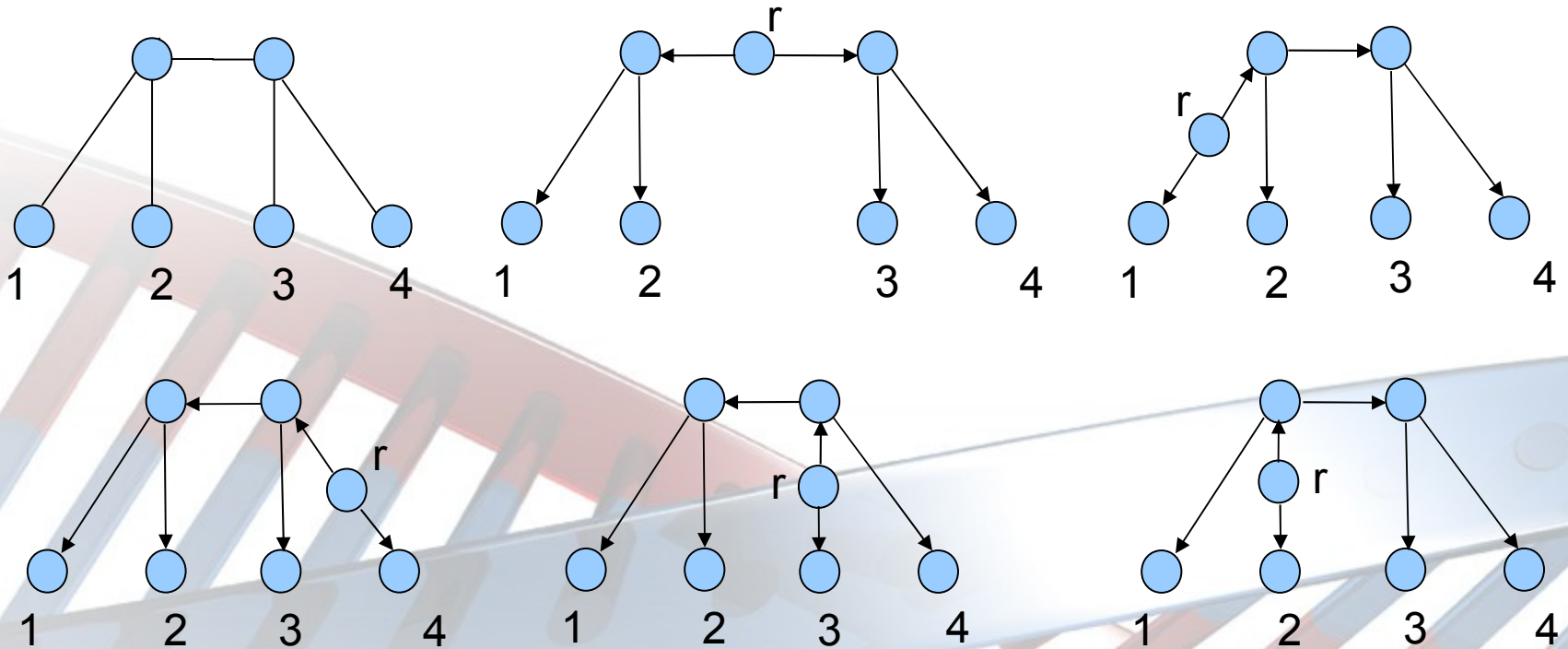
Drzewa binarne – c.d.

- Pytanie: Ile istnieje różnych (tj. nierównoważnych) drzew binarnych o n liściach?
- Każde drzewo binarne ukorzenione o n liściach odpowiada dokładnie jednemu drzewu binarnemu nieukorzenionemu o $n + 1$ liściach
 - Wystarczy do korzenia dołączyć nowy liść



Drzewa binarne – c.d.

- Każde drzewo binarne nieukorzenione o n liściach odpowiada $2n - 3$ drzewom binarnym ukorzenionym o n liściach
 - Umieszczając korzeń na dowolnie wybranej krawędzi drzewa otrzymujemy drzewo ukorzenione



Tempo wzrostu

- Oznaczenia:
 - $U(n)$ – liczba ukorzenionych drzew binarnych o n liściach
 - $N(n)$ – liczba nieukorzenionych drzew binarnych o n liściach
- Spełnione równości:
 - $N(n + 1) = U(n)$
 - $U(n) = (2n - 3)N(n)$
- Warunek początkowy: $U(2) = 1$
- Rozwiązując tak postawiony układ otrzymujemy, że:
 - $N(n) = (2n - 5)!! = 1 \cdot 3 \cdot \dots \cdot (2n - 5)$
 - $U(n) = (2n - 3)!! = 1 \cdot 3 \cdot \dots \cdot (2n - 3)$
- Liczba drzew rośnie superwykładniczo wraz ze wzrostem n :
 - Dla $n = 10$: $N(n) \approx 2$ mln
 - Dla $n = 20$: $N(n) \approx 2.2 \times 10^{20}$

Drzewa nieukorzenione i ukorzenione – porównanie

Drzewa nieukorzenione:

- Graf nieskierowany lub rodzina zgodnych rozbić $d(T)$
- Drzewo binarne o n liściach ma $2n - 2$ wierzchołków
- Istnieje $(2n - 5)!!$ różnych drzew binarnych o n liściach

Drzewa ukorzenione:

- Graf skierowany lub rodzina klastrów $d(T)$
- Wyróżniony wierzchołek korzenia r : wspólny przodek i informacja o zależnościach czasowych
- Drzewo binarne o n liściach ma $2n - 1$ wierzchołków
- Istnieje $(2n - 3)!!$ różnych drzew binarnych o n liściach

Cechy filogenetyczne

- Dane źródłowe:
 - Cechy opisowe: «ma pióra», «chodzi, podpierając się kłykciami» «ma skrzydła»
 - Niefunkcjonalne fragmenty DNA (np. markery)
 - Regulowanie ekspresji protein przez inne proteiny
- Cechy opisowe mogą nieść niewiele informacji, szczególnie gdy kilka gatunków niezależnie wykształciło daną własność
- Najważniejszymi badanymi cechami są cechy binarne i nieodwracalne:
 - Mutacje i indele są losowe, prawdopodobieństwo odwrócenia się cechy jest znikome
 - Równie małe jest prawdopodobieństwo, że u dwóch gatunków niezależnie pojawi się jednakowa zmiana

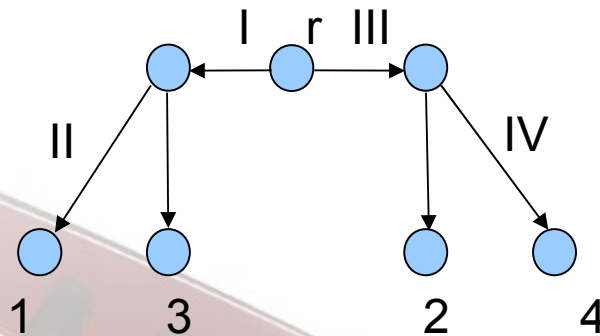
Problem doskonałej filogenezy

- Dla n obiektów i m cech można wyznaczyć macierz M przedstawiającą przynależność cech do obiektów
 - $M(p, i) = 1$ – obiekt p posiada cechę i , 0 – brak cechy
- Problem doskonałej filogenezy (*perfect phylogeny*).
Czy dla danej macierzy binarnej M rozmiaru $n \times m$ istnieje drzewo filogenetyczne (ukorzenione) spełniające własności:
 - Każdy z n obiektów odpowiada dokładnie jednemu liściowi z T
 - Każda z m cech odpowiada dokładnie jednej krawędzi z T
 - Dla każdego obiektu p cechy odpowiadające krawędziom na drodze od korzenia do p oznaczają cechy występujące w p

Problem doskonałej filogenezy

- Przyjmowane są z reguły dodatkowe założenia, wynikające z biologicznych obserwacji:
 - Korzeń odpowiada obiektowi, który nie posiada żadnej z m cech
 - Nie istnieje w drzewie ścieżka, na której dwukrotnie modyfikowana jest jedna cecha – cechy są nieodwracalne
- Nie każda macierz ma odpowiadające drzewo filogenetyczne:

	I	II	III	IV
1	1	1	0	0
2	0	0	1	0
3	1	0	0	0
4	0	0	1	1



Brak drzewa
filogenetycznego

	I	II	III	IV
1	1	1	0	0
2	0	1	1	0
3	1	0	0	0
4	1	0	1	1

Poszukiwanie drzewa doskonałej filogenezy

- Dla ułatwienia wykonajmy wstępne przetwarzanie:
 - Traktując każdą kolumnę (cechę) M jako liczbę binarną należy posortować kolumny nierosnąco przy użyciu sortowania pozycyjnego – otrzymana macierz będzie oznaczana M'
 - Oczywiście rozwiązanie problemu dla M i M' jest identyczne
- Oznaczmy przez O_i zbiór obiektów, które posiadają cechę odpowiadającą i -tej kolumnie w macierzy M'
- Lemat 1. Jeśli $O_i \subset O_j$, to $i > j$
- Twierdzenie. Macierzy M odpowiada pewne drzewo filogenetyczne T wtwg. dla dowolnych $1 \leq i, j \leq n$ zachodzi jeden z przypadków: $O_i \supseteq O_j$, $O_i \subseteq O_j$, $O_i \cap O_j = \emptyset$

Dowód «w prawą stronę»

- Dowód. W przeciwnym razie istniałyby elementy $x \in O_i \setminus O_j$, $y \in O_j \setminus O_i$, $z \in O_i \cap O_j$ i w drzewie T musiałyby istnieć ścieżki:
 - Od r do x : zawierająca e_i , ale nie e_j
 - Od r do y : zawierająca e_j , ale nie e_i
 - Od r do z : zawierająca e_i i e_j
- Dla dowolnych dwóch krawędzi odpowiadających cechom i, j zachodzi dokładnie jedna z trzech możliwości:
 - Krawędź e_i leży na ścieżce od krawędzi e_j do korzenia
 - Krawędź e_j leży na ścieżce od krawędzi e_i do korzenia
 - Dla pewnego wierzchołka v krawędzie e_i i e_j leżą w różnych poddrzewach wyznaczonych przez krawędzie wychodzące z v

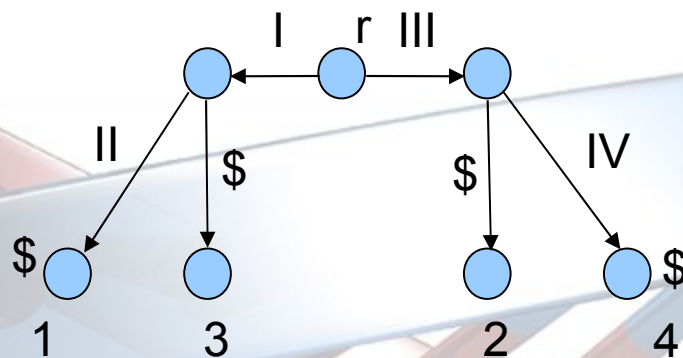
Dowód «w lewą stronę»

- Dowód konstrukcyjny – poprawność tworzenia drzewa
- Rozważmy dowolne obiekty p i q
- Niech $k = \max \{1 \leq i \leq n: M'(p, i) = M'(q, i) = 1\}$
 - Oczywiście $M'(p, k) = M'(q, k) = 1$
- Zauważmy, że jeśli dla pewnego $i < k$ zachodzi $M'(p, i) = 1$, to równocześnie $M'(q, i) = 1$
 - Ponieważ $M'(p, k) = M'(p, i) = 1$, to $p \in O_i \cap O_k \neq \emptyset$
 - Ponieważ $i < k$, to z założenia dowodu wynika, że $O_k \subseteq O_i$
 - Skoro $O_k \subseteq O_i$ i $M'(q, k) = 1$, to $M'(q, i) = 1$
- Ponieważ również można zamienić p i q miejscami mamy:
 - $M'(p, i) = M'(q, i)$ dla $i \leq k$
 - $M'(p, i) = M'(q, i)$ dla $i > k$ tylko gdy $M'(p, i) = M'(q, i) = 0$

Przykład działania algorytmu

- Dla zapewnienia, że żaden ciąg cech obiektu ($M'(p, i)$) nie jest prefiksem ciągu cech innego obiektu ($M'(q, i)$), dodaje się znak końca \$
 - To zapewnia, że wszystkie obiekty z M odpowiadają liściom w T
- Wystarczy zbudować z powstałych ciągów dla każdego obiektu p drzewo słownikowe
 - Każde dwa ciągi dla p i q mają wspólne początkowe k znaków
 - Powyżej k -tego znaku żaden znak nie pojawia się w p i q naraz
- Przykład:

	I	II	III	IV
1	1	1	0	0
2	0	0	1	0
3	1	0	0	0
4	0	0	1	1



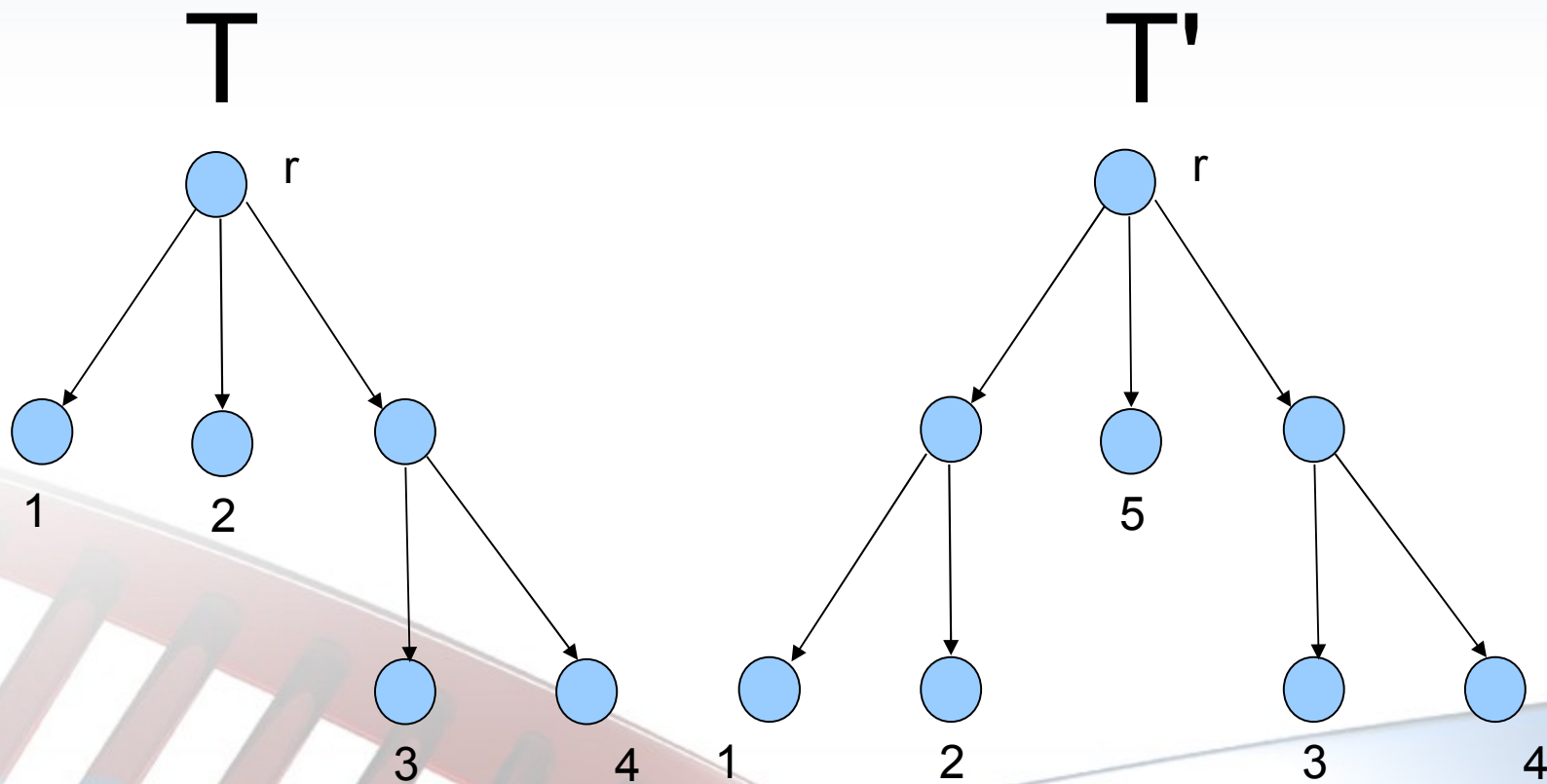
Algorytm doskonałej filogenezy

- Można skonstruować następujący algorytm rozwiązania:
 - Traktując każdą kolumnę (cechę) M jako liczbę binarną posortuj kolumny nierosnąco przy użyciu sortowania pozycyjnego. Nazwij posortowaną macierz M'
 - Dla każdego rzędu (obiektu) w M' wyznacz ciąg cech obecnych w obiekcie
 - Zbuduj drzewo słownikowe T w oparciu o n ciągów cech z kroku poprzedniego
- T jest drzewem doskonałej filogenezy dla M
- Algorytm da się zaimplementować, aby działał w czasie $O(mn)$

Operacje na drzewach

- Operacja ściągnięcia:
 - Usunięcie krawędzi z drzewa i utożsamienie jej końców
 - Operacja ta definiuje częściowy porządek w uniwersum drzew
 - Operacją odwrotną jest operacja rozszerzenia: podział wierzchołka na dwa, połączone krawędzią
- Drzewo T' **rozszerza** drzewo T , gdy T może być skonstruowane poprzez pewną liczbę operacji ściągnięcia wykonaną na drzewie T'
 - Drzewo T' zawiera wszystkie informacje, które znajdują się w drzewie T
 - Drzewo T można otrzymać z pewnego poddrzewa indukowanego w T' , wyznaczonego poprzez najkrótsze ścieżki łączące liście $L(T)$ oraz ściągnięcie wierzchołków stopnia 2

Przykład drzewa rozszerzającego

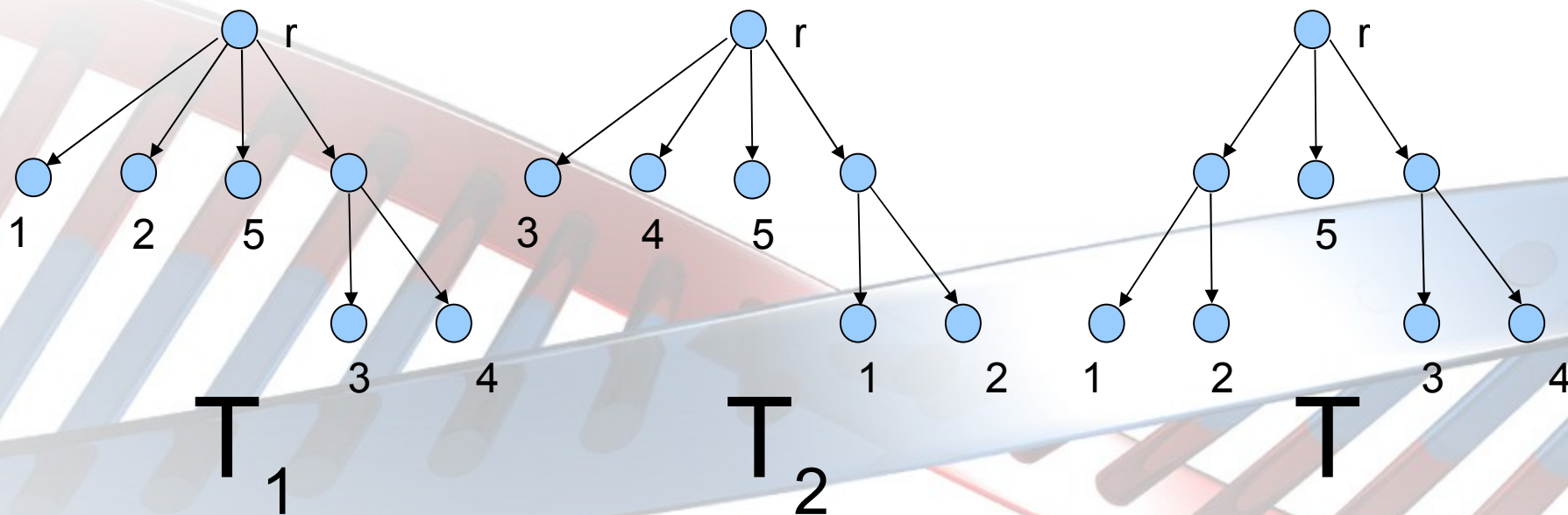


Problem kompatybilności zbioru drzew

- Mając dany pewien zestaw drzew można szukać drzewa zawierającego wszystkie informacje zawarte w rodzinie drzew
- Problem: Dla rodziny drzew $F = \{T_1, T_2, \dots, T_k\}$ poszukiwane jest drzewo T rozszerzające wszystkie drzewa z F
 - Problemem jest również pytanie o samo istnienie drzewa kompatybilnego T – czyli o kompatybilność rodziny drzew
- Jeśli drzewa mają ten sam zbiór liści, to problem jest w P: wystarczy zbadać zgodność rozbić/klastrów $\delta(T_i)$
- W ogólnym przypadku:
 - Dla drzew ukorzenionych problem jest wielomianowy
 - Dla drzew nieukorzenionych problem jest NP-trudny dla $|T_i| > 3$

Algorytm kompatybilności zbioru drzew

- Dla przypadku rodziny drzew o tym samym zbiorze liści można zastosować metodę klastrową/rozbiciową:
 - Należy sprawdzić zgodność klastów lub rodziny rozbić dla zbioru $\delta(T) = \cup_{T_i \in F} \delta(T_i)$ – jeśli jest zgodna, to odpowiednie drzewo filogenetyczne istnieje
 - Istnieje odpowiednia metoda bazująca na macierzach, ale rozwiązanie jest zdecydowanie mniej oczywiste



Drzewa nieukorzenione i ukorzenione – porównanie

Drzewa nieukorzenione:

- Graf nieskierowany lub rodzina zgodnych rozbić $d(T)$
- Drzewo binarne o n liściach ma $2n - 2$ wierzchołków
- Istnieje $(2n - 5)!!$ różnych drzew binarnych o n liściach
- Problem kompatybilności rodziny drzew jest NP-trudny
 - Przy założeniu o jednakowym zbiorze liści problem jest wielomianowy

Drzewa ukorzenione:

- Graf skierowany lub rodzina klastrów $d(T)$
- Wyróżniony wierzchołek korzenia: wspólny przodek i informacja o zależnościach czasowych
- Drzewo binarne o n liściach ma $2n - 1$ wierzchołków
- Istnieje $(2n - 3)!!$ różnych drzew binarnych o n liściach
- Problem kompatybilności rodziny drzew jest P

Drzewo konsensusu pełnego

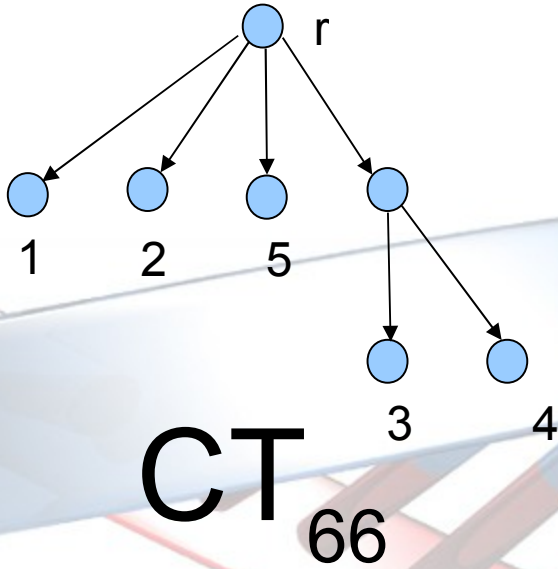
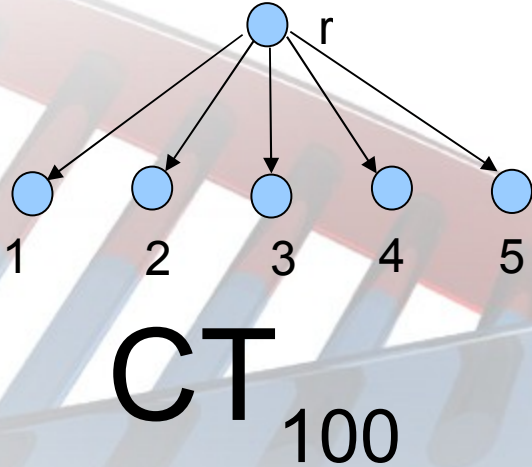
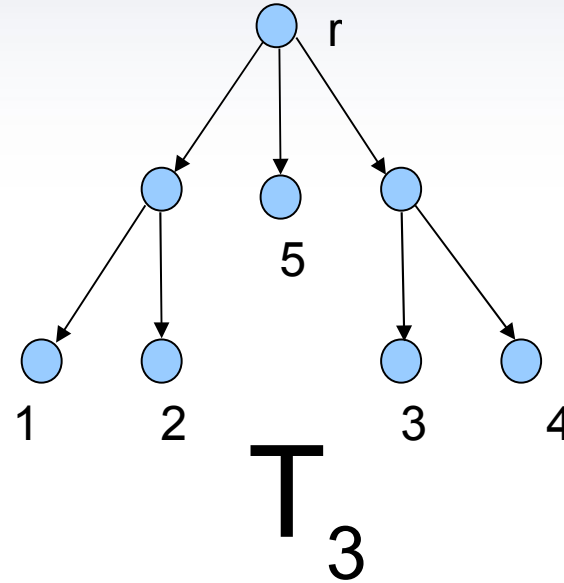
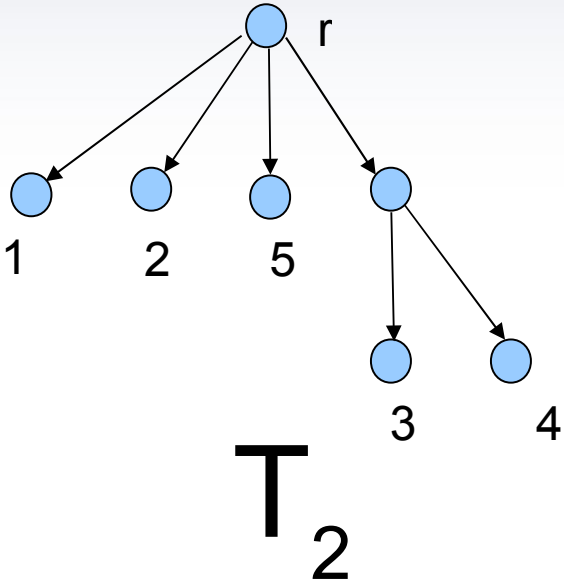
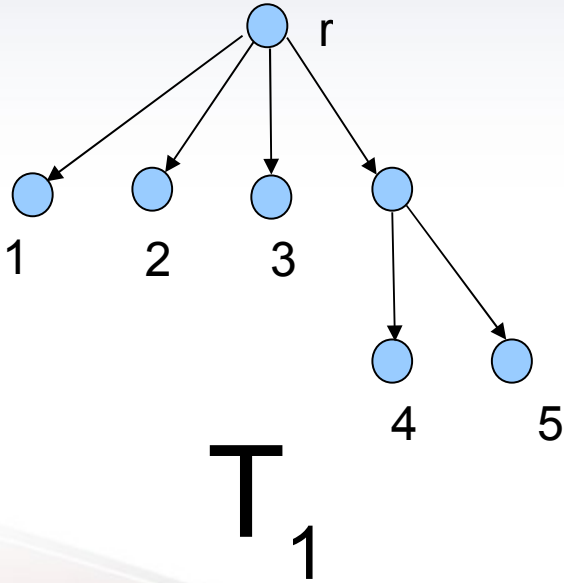
- Czasem cel jest inny: zamiast konstruować drzewo zawierające wszystkie informacje zależy nam na wydobyciu informacji potwierdzonych przez wszystkie drzewa
- Problem: Dla rodziny drzew ukorzenionych $F = \{T_1, T_2, \dots, T_k\}$ poszukiwane jest drzewo CT zawierające wspólne informacje dla całej rodziny F
- **Drzewo konsensusu dokładnego (pełnego)** definiujemy jako drzewo zawierające tylko te klastry, które są wspólne dla wszystkich drzew z rodziny: $\delta(CT) = \bigcap_{T \in F} \delta(T)$
 - Skoro dla każdego drzewa T zachodzi $\delta(CT) \subseteq \delta(T)$, to zbiór klastrów $\delta(CT)$ także jest zgodny
 - Zatem zbiór klastrów $\delta(CT)$ jednoznacznie wyznacza T

Analogicznie, podobny problem dla drzew nieukorzenionych rozwiązać można biorąc wspólne zgodne rozbicia

Drzewo konsensusu częściowego

- Czasem jednak wystarcza poszukiwanie tylko informacji, które występują w pewnej części drzew
- Problem: Dla rodziny drzew ukorzenionych $F = \{T_1, T_2, \dots, T_k\}$ poszukiwane jest drzewo CT_x zawierające wspólne informacje dla co najmniej $X\%$ drzew z rodziny F
- **Drzewo konsensusu częściowego (X -procentowego)** definiujemy jako drzewo zawierające tylko te klastry, które są wspólne dla co najmniej $X\%$ drzew z rodziny F
 - Oczywiście konsensus 100-procentowy jest tożsamy z konsensusem pełnym

Drzewo konsensusu częściowego – przykład



Drzewo konsensusu częściowego – c.d.

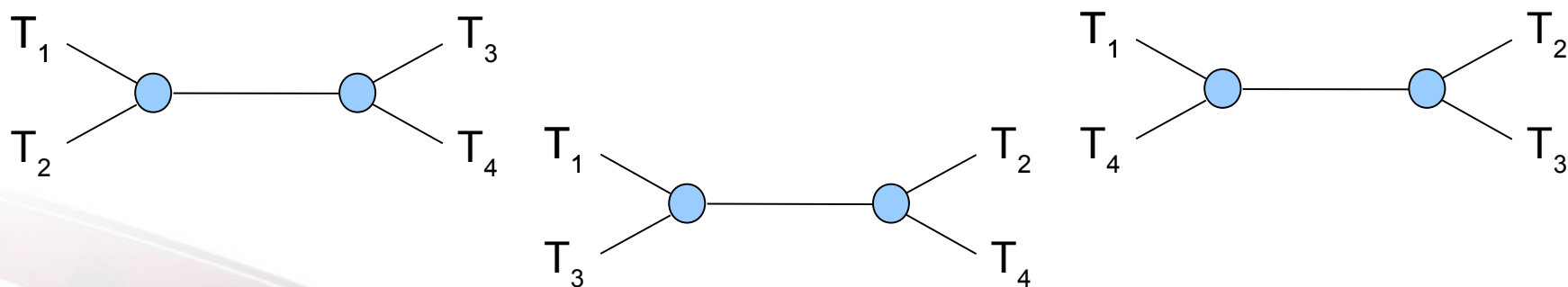
- Okazuje się, że dla $X \leq 50$ rodzina klastrow $\delta(CT_X)$ może nie być zgodna
 - Skoro rodzina nie jest zgodna, to nie odpowiada ona żadnemu drzewu filogenetycznemu
- Dla $X > 50$ nie ma takiego problemu:
 - Załóżmy, że pewien klaster A należy do $\delta(CT_X)$
 - Każde $\delta(T_i)$ jest zgodne: dowolny klaster B niezgodny z A nie może wystąpić w żadnym drzewie T_i , w którym występuje A
 - Drzew niezawierających A jest $(100 - X)\%$, czyli mniej niż $X\%$: B na pewno nie pojawi się w drzewie konsensusu
- Oznacza to, że drzewo konsensusu ma sens dla $X > 50$, stąd mowa jest o drzewach konsensusu większościowego

Metryki dla drzew filogenetycznych

- Ze względów praktycznych warto zdefiniować metrykę na rodzinie drzew T o n liściach poetykietowanych liczbami $1, 2, \dots, n$
 - Metryki wymagają m.in. metody przeszukiwania gradientowego lub inne heurystyki bazujące na badaniu sąsiedztwa drzewa
- Metryka podziałów (*Splits, RF, Robinson-Foulds*)
 - Dla dwóch drzew T_1 i T_2 ich odległość jest definiowana jako liczba operacji rozszerzenia/ściągnięcia wymaganych do przejścia od T_1 do T_2
 - Inna definicja określa odległość jako $|\delta(T_1) - \delta(T_2)|$ czyli moc XORa na rodzinach rozbić $\delta(T_1)$ i $\delta(T_2)$
 - Zaleta: Bardzo łatwe obliczanie odległości między drzewami
 - Wada: Dużo drzew w niewielkiej odległości

Metryki dla drzew filogenetycznych

- Zamiana najbliższych sąsiadów (*Nearest Neighbour Intechange*)
 - Dla dowolnej krawędzi wewnętrznej operacja polega na zamianie dwóch poddrzew wg schematu:



- Metryka zamiany sąsiadów
 - Dla dwóch drzew T_1 i T_2 ich odległość jest definiowana jako minimalna liczba operacji zamiany sąsiadów wymaganych do przejścia od T_1 do T_2
 - Zamiana sąsiadów odpowiada wstawieniu i usunięciu pojedynczej krawędzi
 - Każde drzewo ma $2n - 6$ sąsiadów

Metryki dla drzew filogenetycznych

- Przesadzanie poddrzew (*Subtree Pruning and Regrafting*)
 - Wybór i usunięcie krawędzi $e = \{a, b\}$ dzielącej drzewo na 2 drzewa A i B
 - Usunięcie b z B
 - Wybranie krawędzi w B i utworzenie na niej wierzchołka c
 - Połączenie a i c nową krawędzią
- Metryka przesadzania poddrzew
 - Dla dwóch drzew T_1 i T_2 ich odległość jest definiowana jako minimalna liczba operacji zamiany sąsiadów wymaganych do przejścia od T_1 do T_2

Metryki dla drzew filogenetycznych

- Bisekcje i złączenia (*Tree Bisection Reconnection*)
 - Wybór i usunięcie krawędzi $e = \{a, b\}$ dzielącej drzewo na 2 drzewa A i B
 - Usunięcie a z A i b z B
 - Wybranie krawędzi w A i utworzenie na niej wierzchołka c
 - Wybranie krawędzi w B i utworzenie na niej wierzchołka d
 - Połączenie c i d nową krawędzią
- Metryka bisekcji i złączeń
 - Dla dwóch drzew T_1 i T_2 ich odległość jest definiowana jako minimalna liczba operacji zamiany sąsiadów wymaganych do przejścia od T_1 do T_2
- Ostatnie trzy metryki wywodzą się z metod definiowania sąsiedztwa w uniwersum drzew
 - Ich wadą jest brak efektywnego algorytmu obliczającego $d(T_1, T_2)$

THE END

Prezentacja w wersji:|EB.final[2010]PptRip[PI]-Xtreme

Nowa jakość prezentacji.

Slajdy zostały specjalnie dopasowane do Twojej wersji filmu.