

Populace a genetická variabilita

doc. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.

urban@mendelu.cz



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genetika populací

- Popis genetické struktury populací a zákonitosti jejich změn
- Genetika populací
 - - **kvalitativních znaků**
 - - **kvantitativních znaků** (Genetika kvantitativních znaků)
- Mendelistická genetika
- Matematicko-statistické metody

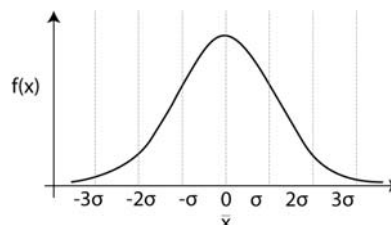
Základní pojmy genetiky populací

- **Co je genetik populací?**
 - **genetika populací** studuje vyskytující se **genetické rozdíly mezi organizmy** ~ genetická variance
- **Co jsou populace?**
 - **lokální skupina jedinců stejného druhu žijící v určitém prostředí, kteří se mezi sebou pohlavně rozmnožují a jejichž genetické založení vytváří genofond** ~ **Mendelovská populace**
- **Genofond**
 - **Sada genetické informace přenášená jedinci populace**
- Časovým měřítkem v genetice populací je **generační interval** (období, které uplyne od narození předka do narození jeho potomka)
- **Efektivní velikost populace** – velikost ideální panmiktické populace, ve které by genetické procesy (např. změny ve frekvenci alel vlivem selekce či driftu) probíhaly stejnou rychlostí jako v dané reálné populaci.

Diverzita fenotypová

- Jedinci se mezi sebou liší ve fenotypu a to v mnoha vlastnostech
- Genetika populací se zabývá fenotypovou diverzitou a to zejména diverzitou způsobenou rozdíly v genotypech
- Genetická variabilita existuje ve většině populací
- **Kontinuální variabilita - normální rozdělení pravděpodobnosti (Gaussovo)**

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$$



- **Diskrétní variabilita – mendelistická**
–fenotypový rozdíl vyplývající ze segregace alel jednoho genu

Variance genetická

- **Genetická variabilita** je v populacích, když se vyskytuje více než jedna alela v lokusu.
- Takováto populace je segregující nebo-li polymorfní na tom daném lokusu.
- Některé lokusy jsou fixované > všichni jedinci populace jsou homozygotní ve stejné alele.
- V přirozených populacích je genetická variabilita vždy, ale ne pro všechny vlastnosti nebo lokusy.
- Variabilita mezi populacemi stejného druhu > **genetická rozrůzněnost** (*genetic differentiation*).
- Dvě populace mohou být fixovány pro dvě různé alely stejného lokusu.

Variabilita = polymorfismus

- ? Jak poznáme v populaci genetickou variabilitu?

Morfologická variabilita – tvar listu, rohatost

Chromozomální polymorfismus – inverze, delece, translokace, ...

Proteinový polymorfismus – změny sekvencí aminokyselin mohou vést ke změnám fyzikálních vlastností proteinů (enzymy)

Polymorfismus sekvence DNA – místa rozpoznání restričními endonukleázami, nukleotidové rozdíly, SNP, microarray...

Cíle genetiky populací

- **Genetika populací má tři vzájemně propojené cíle:**
 - Vysvětlit původ a zachování genetické variance.
 - Vysvětlit modely a organizaci genetické variance.
 - Pochopit mechanismy, které zapříčiňují změny ve frekvencích alel a genotypů.
- **Genetika populací kvalitativních znaků se pak zabývá:**
 - popis frekvence alel a genotypů
 - popisem změn ve frekvencích alel a genotypů v čase (genetické změny v populacích za generaci)
 - analýzou faktorů vedoucí ke změnám alelových a genotypových frekvencí
 - určením, jakou měrou tyto faktory mění frekvence alel a genotypů.

Popis struktury populace

- Genetická data populace mohou být vyjádřena jako frekvence alel a genotypů
- Každý gen má nejméně dvě alely ([diploidní organismy](#))
- Součet všech frekvencí alel v populaci může být považován za charakteristiku populace (genofond)
- V populaci mohou být frekvence alel různých genů velmi odlišné
- Dvě populace stejného biologického druhu nemusí mít stejné frekvence genotypů a alel

populace	<i>MM</i>	<i>MN</i>	<i>NN</i>	<i>M</i>	<i>N</i>
<i>Grónsko</i>	0,835	0,156	0,009	0,92	0,08
<i>Island</i>	0,312	0,515	0,173	0,57	0,43

Symbolika označení

- model lokusu se **2 alelami**
 - **A & a** \Rightarrow 3 genotypy
- rozsah populace **N**
- frekvence absolutní (**velká písmena**) a relativní (**malá písmena**)
- frekvence vyjadřuje pravděpodobnost výskytu

Výpočet frekvencí genotypů

absolutní frekvence

$$AA \quad D$$

$$Aa \quad H$$

$$aa \quad R$$

$$D + H + R = N$$

relativní frekvence

$$d = \frac{D}{N}$$

$$h = \frac{H}{N}$$

$$r = \frac{R}{N}$$

$$d + h + r = 1$$

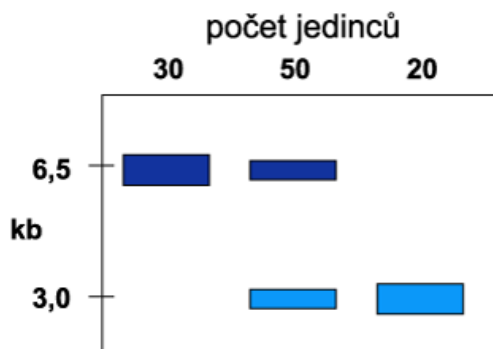
Výpočet frekvencí alel

	absolutní frekvence	relativní frekvence	
A	$P = 2D + H$	$p = \frac{2D + H}{2N} = \frac{P}{2N}$	$p = d + \frac{1}{2}h$ $q = r + \frac{1}{2}h$
a	$Q = 2R + H$	$q = \frac{2R + H}{2N} = \frac{Q}{2N}$	
$P + Q = 2N$		$p + q = 1$	

$$p = f(A) = f(AA) + \frac{1}{2}f(Aa)$$

$$q = f(a) = f(aa) + \frac{1}{2}f(Aa)$$

Využití dat molekulární genetiky



- p = frekvence fragmentů 6,5 kb v populaci $\sim f(A)$
- q = frekvence fragmentů 3,0 kb v populaci $\sim f(a)$

- $d = 30/100 = 0,30$
- $h = 50/100 = 0,50$
- $r = 20/100 = 0,20$

- $p = [(2 \cdot 30) + 50]/200 = 0,55$
 - $= 0,30 + 0,50/2 = 0,55$
- $q = [(2 \cdot 20) + 50]/200 = 0,45$
 - $= 0,20 + 0,50/2 = 0,45$

Příklad

- **M 1789; MN 457; N 89** \Rightarrow **N = 2335**
- 1. absolutní frekvence genotypové
 - MM = 1789 (*D*); MN = 457 (*H*); NN = 89 (*R*)
- 2. relativní frekvence genotypové:
- $d = 1789/2335 = 0,766$; $h = 457/2335 = 0,196$; $r = 89/2335 = 0,038$
- 3. absolutní frekvence alel
- $P = (2 \cdot 1789 + 457) = 4035$ $Q = (2 \cdot 89 + 457) = 635$
- 4. relativní frekvence alel
- $p = 3578/4670 = 0,864$ $q = 635/4670 = 0,136$
- $p = (2 \cdot 1789 + 457)/4670 = 0,864$ $q = (2 \cdot 89 + 457)/4670 = 0,136$
- $p = 0,766 + 0,196/2 = 0,864$ $q = 0,038 + 0,196/2 = 0,136$

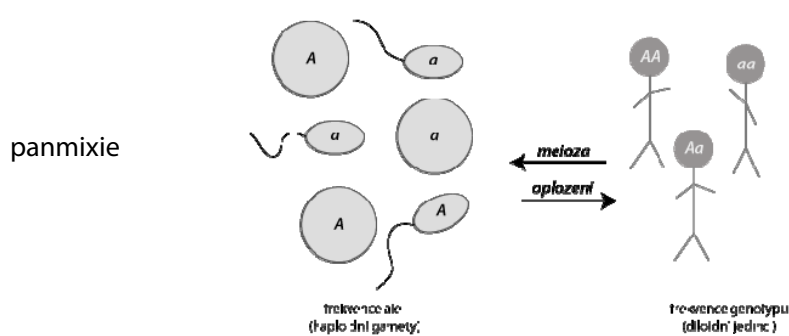
Hardy-Weinbergův zákon genetické rovnováhy (HWE)

- H. a W. jej objevili na sobě nezávisle v r. 1908
- HWE předpovídá, jak budou přenášeny frekvence alel z generace na generaci za specifických podmínek ...
- Velká **panmiktická** populace je v průběhu generací v rovnováze, tj. **nemění se její genetická struktura**, tzn. genové a genotypové četnosti jsou konstantní z generace na generaci

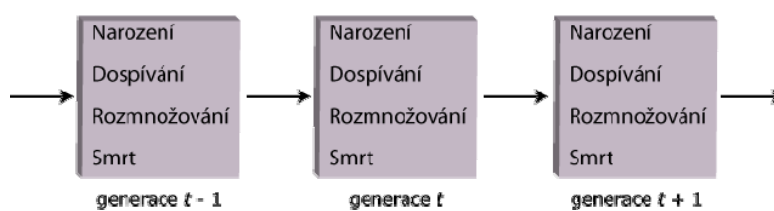
Předpoklady platnosti HWE

- nekonečně velká (dostatečně)
- panmixie (náhodné páření)
- nepůsobí evoluční síly (selekce, migrace, mutace)
- všichni jedinci mají stejnou plodnost
- nejsou rozdíly ve frekvencích alel mezi pohlavími
- nepřekrývající se populace
- geny na autozomech
- diploidní organismy

- ? Co spojuje generace ?



Nepřekrývající se generace



Odvození H.-W. zákona

•Schéma křížení

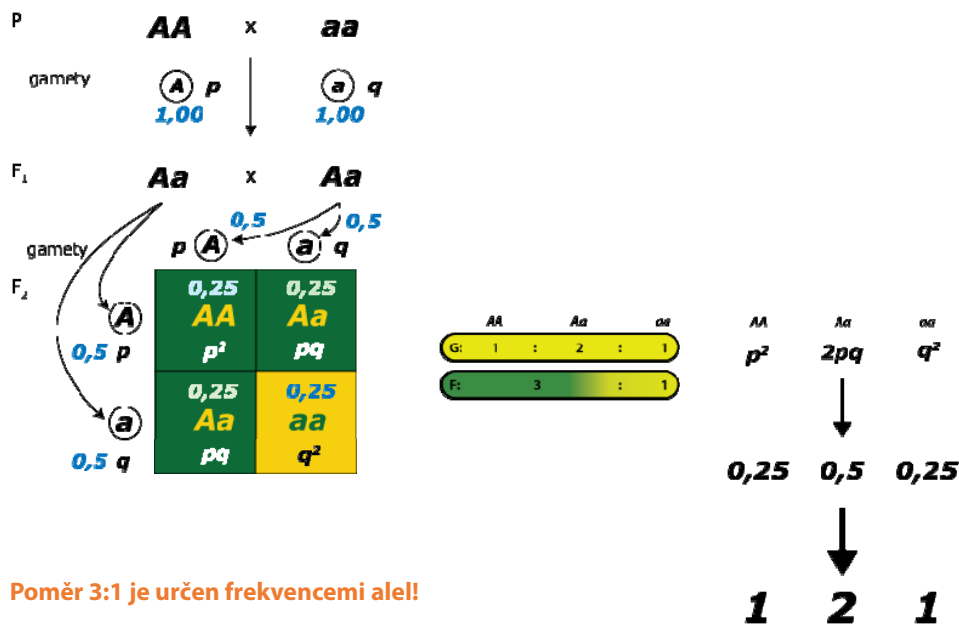
Spermie	Vajíčka	
	$p \sim A$	$q \sim a$
$p \sim A$	$p^2 \sim AA$	$pq \sim Aa$
$q \sim a$	$pq \sim Aa$	$q^2 \sim aa$

- Matematické vyjádření pro 1 gen - 2 alely

$$(A + a)^2 = 1AA + 2Aa + 1aa = N$$

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Mendel a populace



Důkaz HWE

Frekvence zygot (potomstvo)

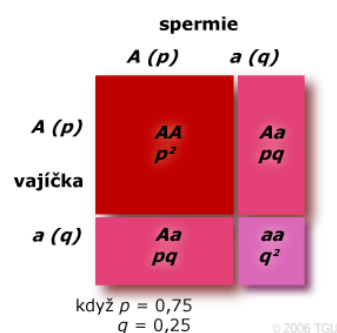
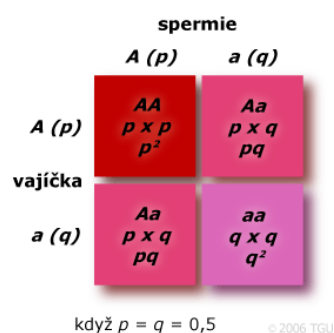
páření	frekvence páření (rodičů)	AA	Aa	aa
AA x AA	D^2	1	0	0
AA x Aa	2DH	1/2	1/2	0
AA x aa	2DR	0	1	0
Aa x Aa	H^2	1/4	1/2	1/4
Aa x aa	2HR	0	1/2	1/2
aa x aa	R^2	0	0	1
Celkem v další generaci		D'	H'	R'

$$D' = D^2 + 2DH/2 + H^2/4 = (D + H/2)^2 = p^2$$

$$H' = 2DH/2 + 2DR + H^2/2 + 2HR/2 = 2(D + H/2)(Q + H/2) = 2pq$$

$$R' = H^2/4 + 2HR/2 + R^2 = (R + H/2)^2 = q^2$$

- Za předpokladu platnosti podmínek HWE je frekvence homozygotů AA (D' u potomků) p^2 , frekvence aa (R') je q^2 a frekvence heterozygotů Aa (H') je $2pq$.



Lze určit frekvenci alely u potomků – důkaz: $p' = p$

$$\begin{aligned}
 p' &= P' + \frac{H'}{2} \\
 &= p^2 + \frac{2pq}{2} \\
 &= p^2 + pq \\
 &= p(p + q) \\
 &= p
 \end{aligned}$$

• důkaz, že za H.-W. předpokladů zůstávají frekvence alel a genotypů stejné napříč generacemi --> **mendelistická dědičnost nemění sama o sobě frekvence alel**. Tato situace se nazývá **Hardy-Weinbergova rovnováha (HWE)**.

• pokud se genotypové frekvence změnily beze změny frekvence alel, pak se **frekvence genotypů vrátí na hodnoty za HWE za jednu generaci náhodného páření**.

• Jestliže evoluční síly změní frekvence alel, pak **nová HWE nastane s genotypovými frekvencemi, odpovídajícími novým frekvencím alel** (nové p a q tvoří nové p^2 , $2pq$ a q^2), opět za jednu generaci náhodného páření.

Jedna frekvence alel – více frekvencí genotypů

- Pouze v 1 případě je populace v genetické rovnováze!

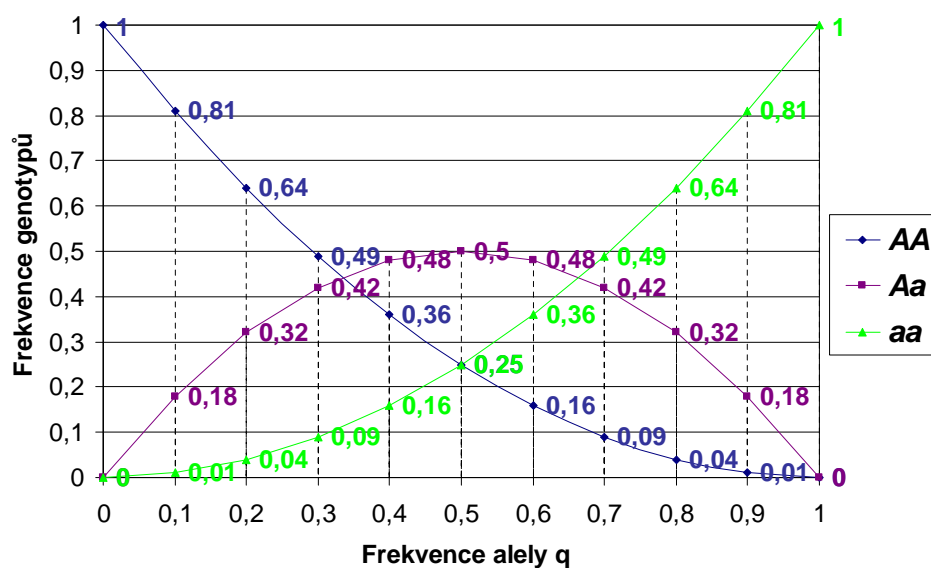
$f(AA)$	$f(Aa)$	$f(aa)$	$p(A)$	$q(a)$
0,60	0,40	0,00	0,80	0,20
0,61	0,38	0,01	0,80	0,20
0,64	0,32	0,04	0,80	0,20
0,70	0,20	0,10	0,80	0,20
0,75	0,10	0,15	0,80	0,20
0,80	0,00	0,20	0,80	0,20

- Pouze je-li populace v genetické rovnováze, lze odvodit frekvenci genotypů z frekvencí alel dle

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Grafické znázornění H.W.E.

- Vztah frekvence genotypů a alel q ($p = 1 - q$)



Testování Hardy-Weinbergovy rovnováhy

- Rovnovážný genetický stav v populaci nastává, když platí **konkordátní (souhlasného) rozložení genotypů**, vycházející ze základní rovnice genetické rovnováhy:

$$p^2 \cdot q^2 = \left(\frac{2pq}{2} \right)^2 \approx d.r = \left(\frac{h}{2} \right)^2$$

$$\frac{2pq}{\sqrt{p^2 \cdot q^2}} = 2,00 \approx \frac{h}{\sqrt{d.r}} = 2,00$$

Relativní počet homozygotů je roven relativnímu počtu heterozygotů

Genotypové sekvence rovnovážného stavu jsou plně určovány frekvencemi alel, tedy rovnováha genová předchází rovnováze genotypové

Testování Hardy-Weinbergovy rovnováhy

Populace je v genetické rovnováze, když frekvence genotypů pozorovaných **P** (skutečných) se statisticky neliší od frekvencí genotypů za genetické rovnováhy **O** (očekávané).

Na vyhodnocení se používá statistický **test dobré shody** – χ^2 (chí kvadrát) test:

$$\chi_{n-p-1}^2 = \sum \frac{(P - O)^2}{O}$$

Vypočítaná hodnota se porovnává s tabulkovou hodnotou pro příslušnou pravděpodobnost (95 a 99 %) a stupně volnosti. Stupně volnosti se zjistí podle: **df** = počet tříd dat - počet parametrů odhadovaných z dat - 1 = **n - p - 1**.

Důkaz genetické rovnováhy

$$\chi_{n-p-1}^2 = \sum \frac{(P - O)^2}{O}$$

P – pozorované absolutní frekvence genotypů

O – očekávané absolutní frekvence genotypů

df = počet tříd dat - počet parametrů odhadovaných z dat - 1 = **n - p - 1**

Hladina významnosti	Stupně volnosti				
	1	2	3	4	5
0,05	3,84	5,99	7,81	9,48	11,07
0,01	6,35	9,21	11,34	13,27	15,08

H_0 – není rozdíl mezi četnostmi P a O

$\chi_{\text{vypoč.}}^2 > \chi_{\text{tab.}}^2$ ~ Je průkazný rozdíl mezi pozorovanými a očekávanými četnostmi a **H_0 se zamítá**. Pak populace pro daný lokus **není** v genetické rovnováze.

$\chi_{\text{vypoč.}}^2 < \chi_{\text{tab.}}^2$ ~ Je shoda mezi pozorovanými a očekávanými četnostmi a **H_0 se nezamítá**. Pak populace pro daný lokus **je** v genetické rovnováze.

Důsledky H.W. rovnováhy

Frekvence alel předpovídají frekvence genotypů

V rovnováze se frekvence alel a genotypů nemění

Rovnováha je dosažena za 1 generaci panmixie

⇒ složení populace je nenáhodné

⇒ populace je složena tak, aby se zopakovala

$$2 \text{ alely: } (p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

$$3 \text{ alely: } (p + q + r)^2 = p^2 + 2pq + q^2 + r^2 + 2pr + 2qr = 1$$

$$N \text{ alel: } (p_1 + p_2 + p_3 + \dots + p_n)^2 = 1$$

χ^2 test dobré shody

$$\chi_{n-p-1}^2 = \sum \frac{(P-O)^2}{O}$$

Testování genetické rovnováhy				χ^2 test (test dobré shody)
	SS (p^2)	FS ($2pq$)	FF (q^2)	Σ
Pozorované frekvence <i>(absolutní)</i>	66	20	14	100
Očekávané frekvence <i>(relativní)</i>	0,5776	0,3648	0,0576	1,00
Očekávané frekvence <i>(absolutní)</i>	57,76	36,48	5,76	100
$d = (P - O)$	8,24	-16,48	8,24	
$\chi^2 = \frac{(P - O)^2}{O}$	1,176	7,445	11,788	20,408