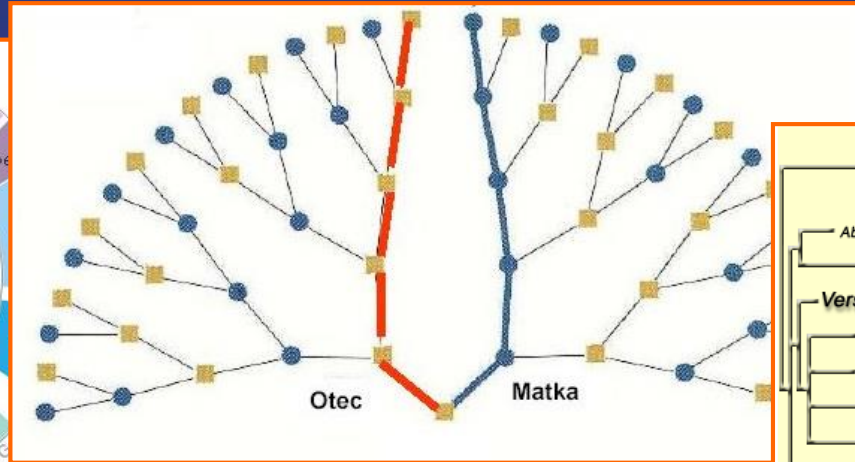
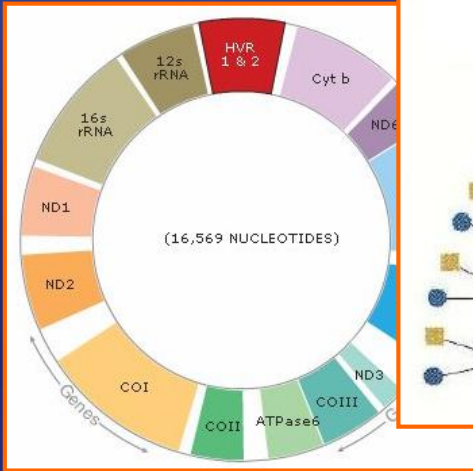


Hledání našeho společného předka



PAUP*
Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA

About PAUP*
 To Order
Versions
 Macintosh
 UNIX/VMS
 DOS
 Windows
Support
 FAQ

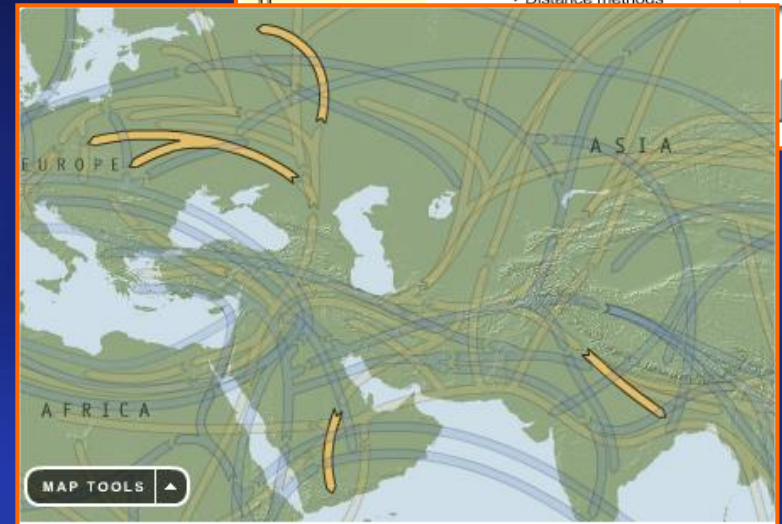
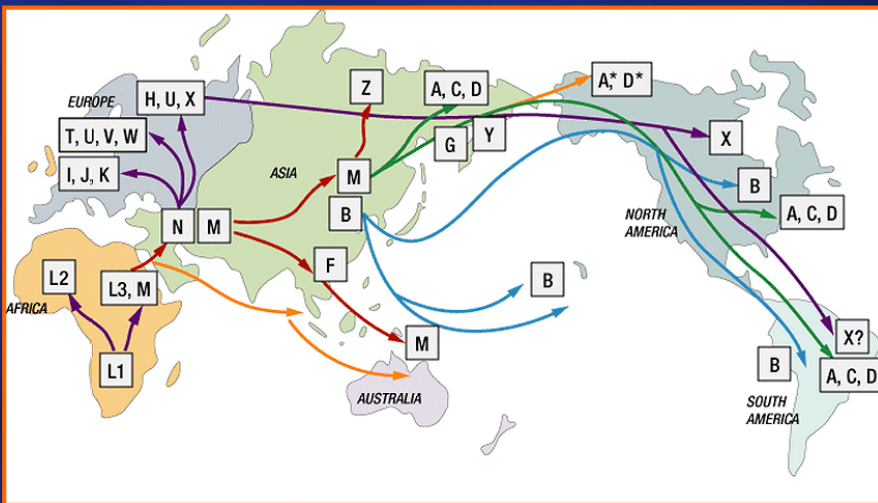
PAUP* Version 4
...tools for inferring and interpreting phylogenetic trees

Analyze

- Molecular sequences
- Morphological data
- Other data types

Using

- Maximum likelihood
- Parsimony
- Distance methods

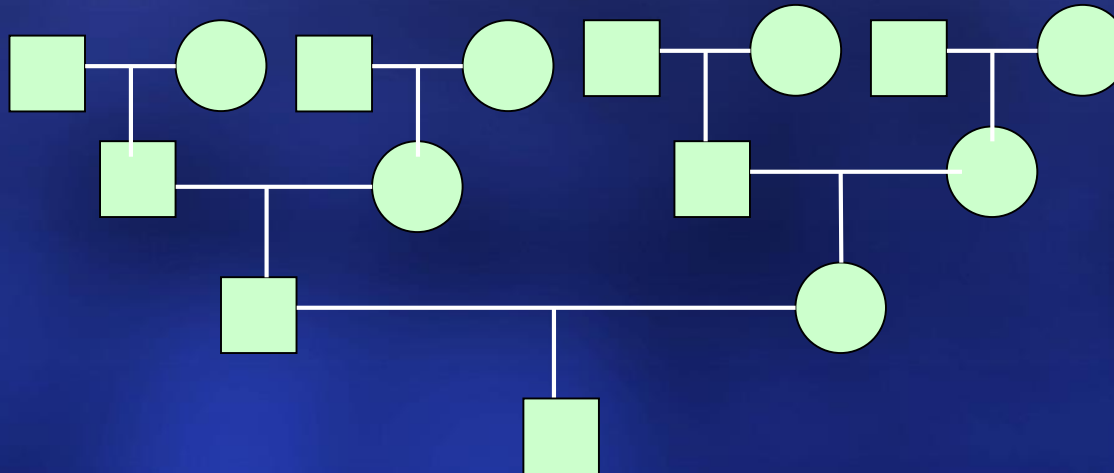


Hledání našeho společného předka

- 1) Jak to, že máme společného předka
- 2) Metodika výzkumu mtDNA
- 3) Analýza mtDNA – mitochondriální Eva, kdy a kde žila
- 4) Problémy a názory proti
- 5) Analýza chromozomu Y
- 6) Jak jsme osídlili svět podle mtDNA a chromozomu Y
- 7) Další analýzy a co z toho vyplývá
- 8) Haploskupiny mtDNA a chromozomu Y v ČR

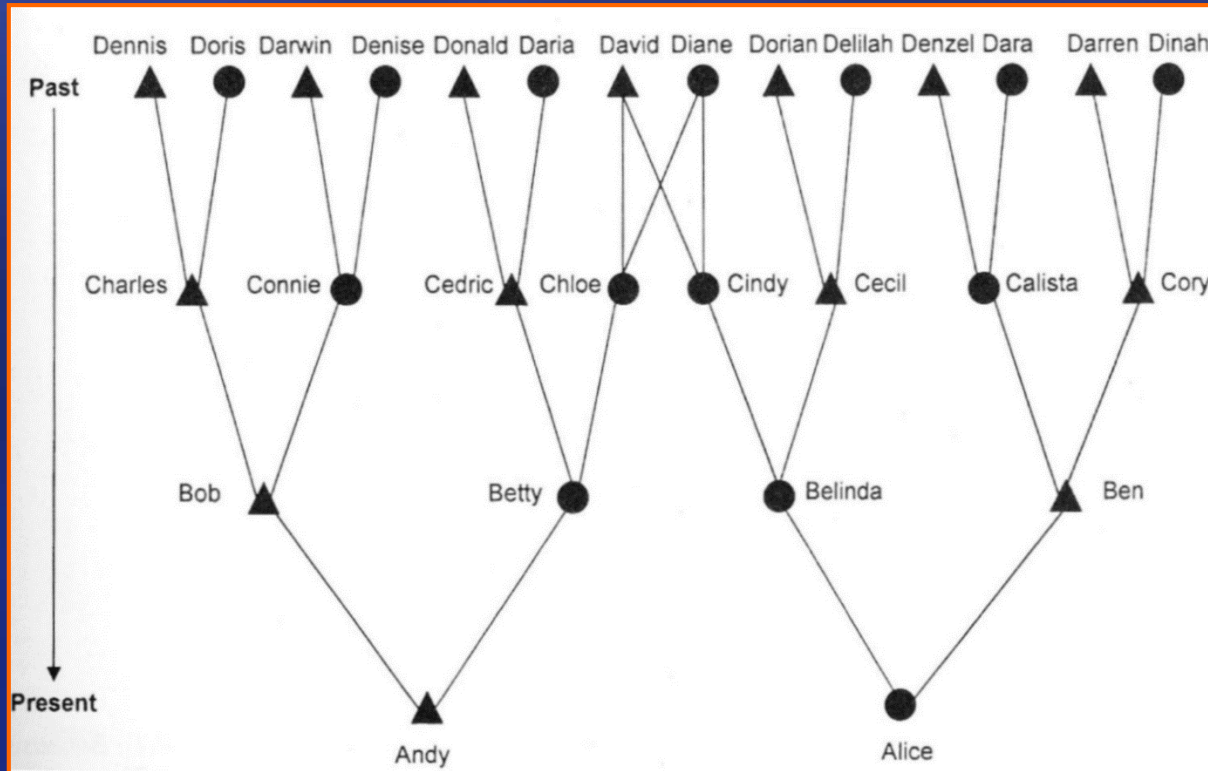
Jak to, že máme společného předka?

- každý máme **dva společné předky v předchozí generaci** = rodiče
- **v další generaci 4** (babičky a dědečky, prarodiče) a v další již 8 (prababičky a pradědečky, praprarodiče), atd.
- počet předků **v generaci n je tedy 2^n**



- pokud bychom sledovali například 40. generaci (asi 1000 let zpátky), pak by předků bylo v této 40. generaci $2^{40} = 1,09 \times 10^{12}$
- **tolik lidí však ještě na planetě Zemi ani nežilo** (dnes žije asi $7,0 \times 10^9$)

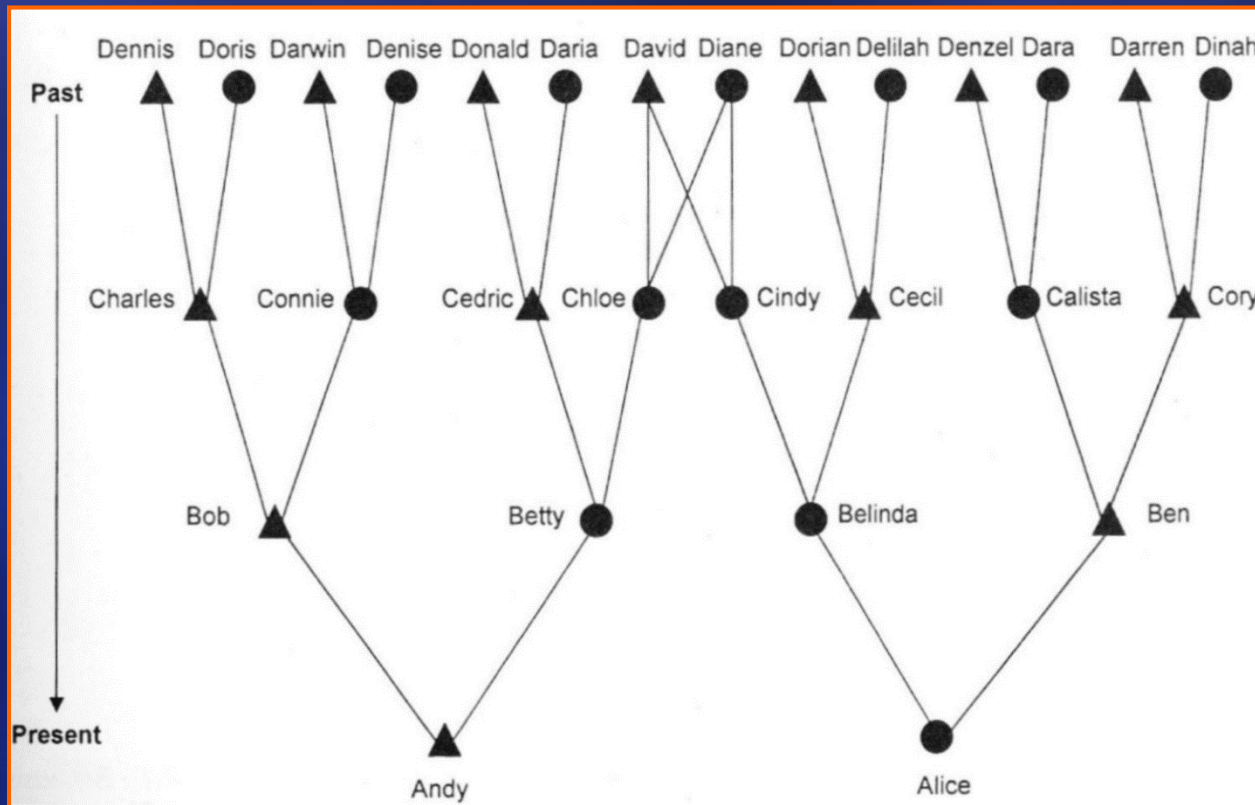
- ve skutečnosti, čím více jdeme zpátky, tím je pravděpodobnější, že nějakí dva mí předci si byli příbuzní a tím se **počet předků snižuje**, např.



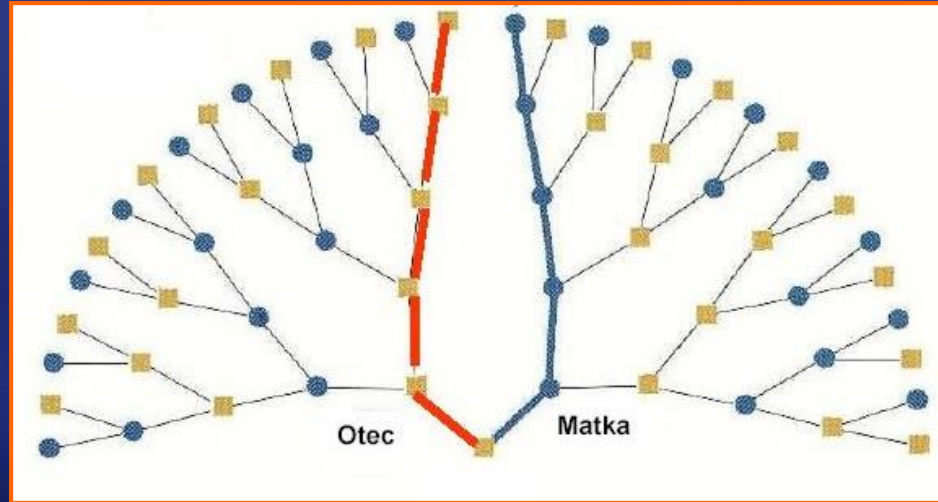
místo $2^4 = 16$, je to jen 14

- Čím jdeme **více do historie**, tím častěji budeme narážet na příbuzenská propojení a **počet předků se tak bude dál a dál výrazněji snižovat**

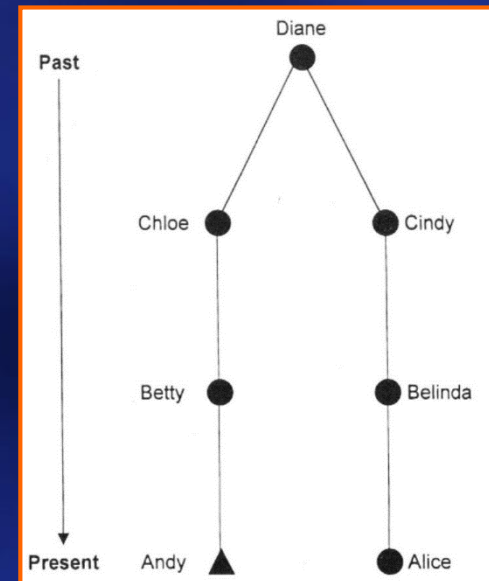
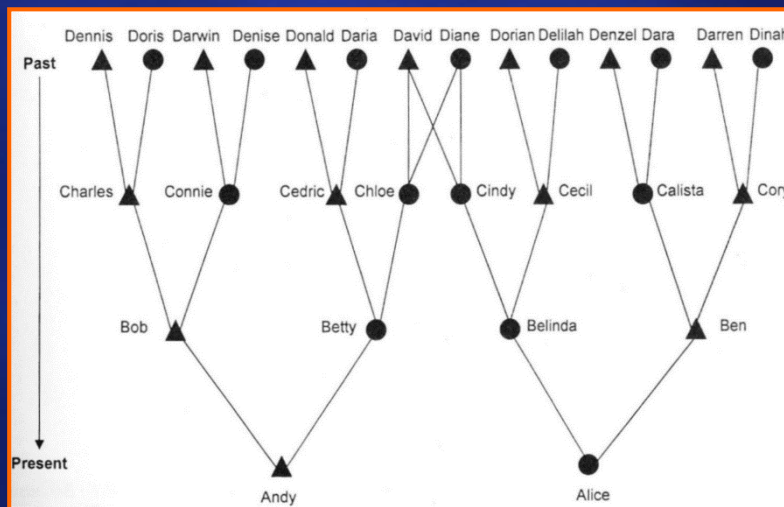
- ovšem **hledat příbuznost studiem** všech předků v rodokmenu např. studiem **jaderné DNA by bylo velmi složité** – každý jedinec dostane polovinu genetické informace od své matky a otce a stejně tak oni mají polovinu od své matky a otce atd.



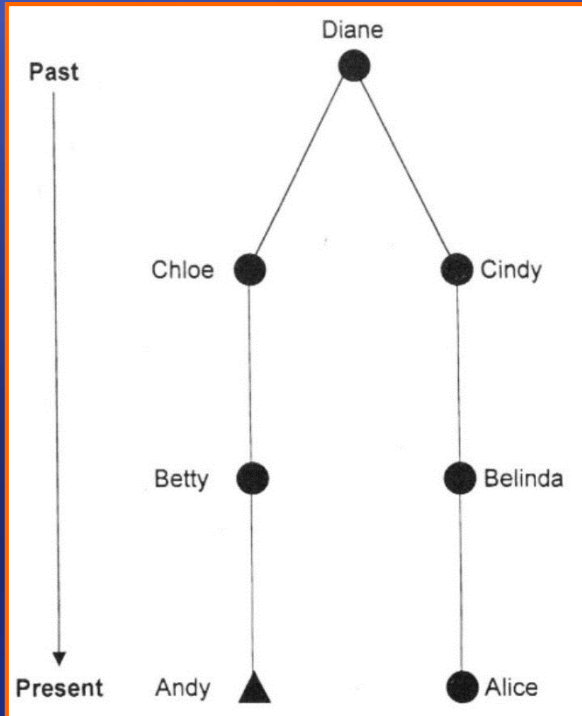
- proto k těmto studiím s výhodou **využíváme mtDNA**, kterou každý jedinec získává **jen od matky** (modrá kolečka) a nebo **chromozom Y**, který dědí **pouze synové od svých otců** (žluté čtverečky)



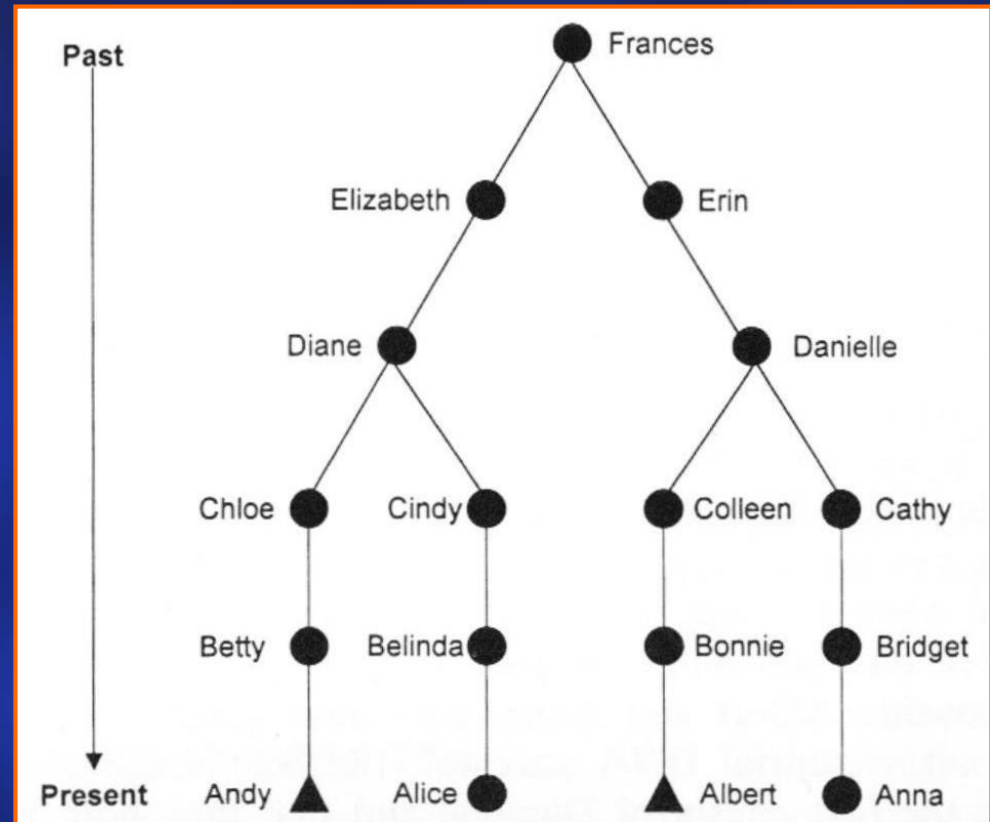
- **počet** takto studovaných **příbuzných se nám výrazně zmenší**



- Andy a Alice tak mají, co se týče mtDNA, pouze jediného předka – neboli jejich **společným předkem je Diane**, žijící před třemi generacemi



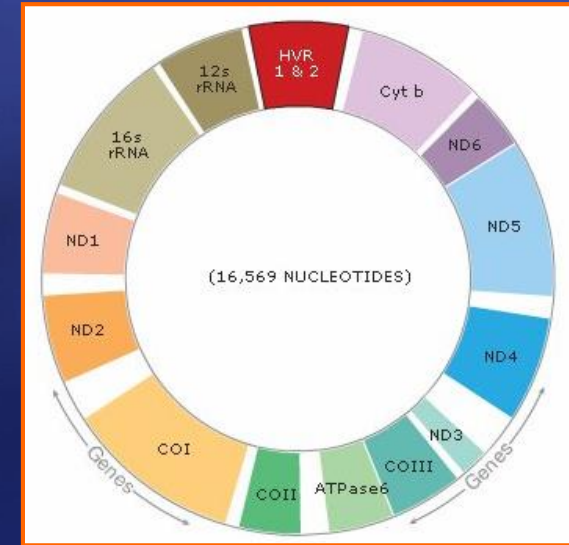
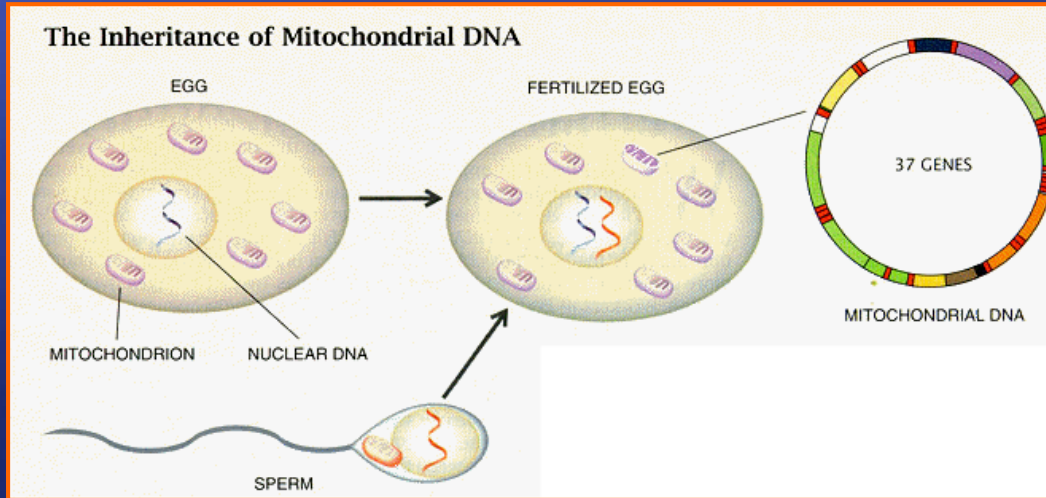
- obdobná situace u rozsáhlejšího rodokmene méně příbuzných jedinců



Hledání našeho společného předka

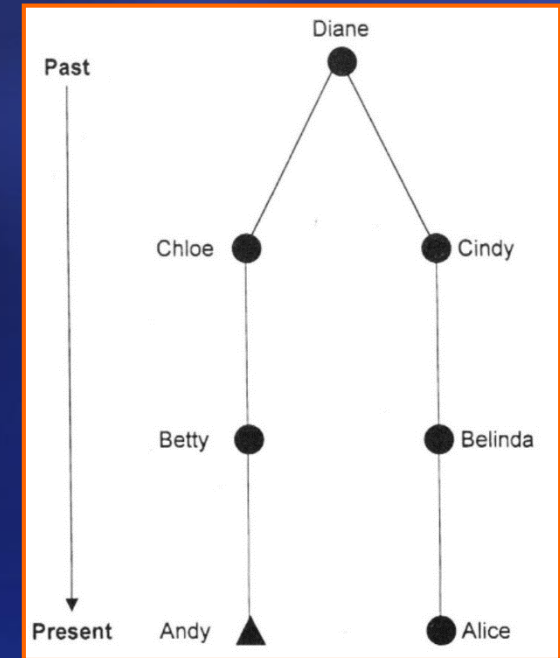
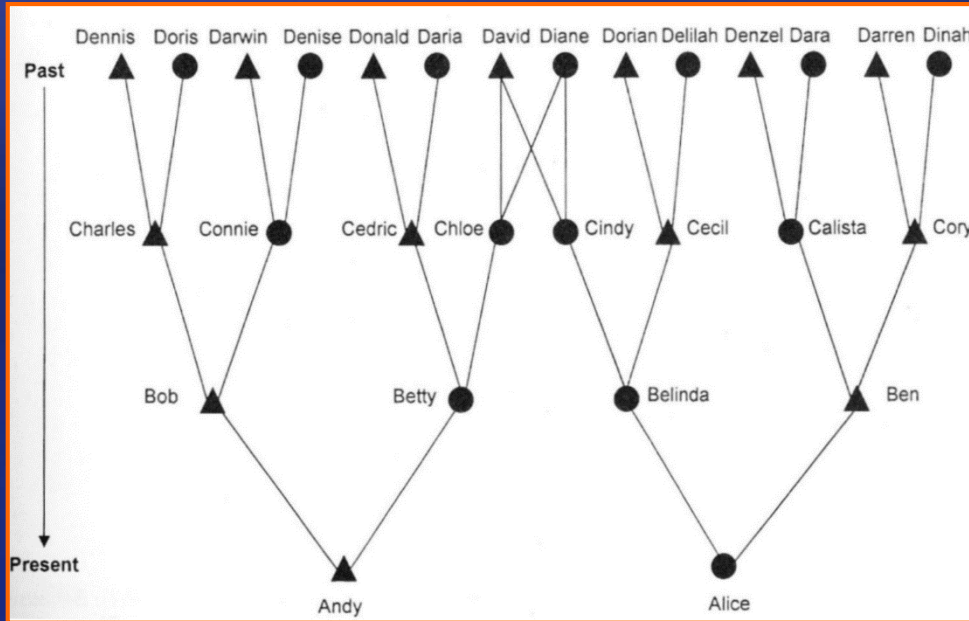
- 1) Jak to, že máme společného předka
- 2) Metodika výzkumu mtDNA
- 3) Analýza mtDNA – mitochondriální Eva, kdy a kde žila
- 4) Problémy a názory proti
- 5) Analýza chromozomu Y
- 6) Jak jsme osídlili svět podle mtDNA a chromozomu Y
- 7) Další analýzy a co z toho vyplývá
- 8) Haploskupiny mtDNA a chromozomu Y v ČR

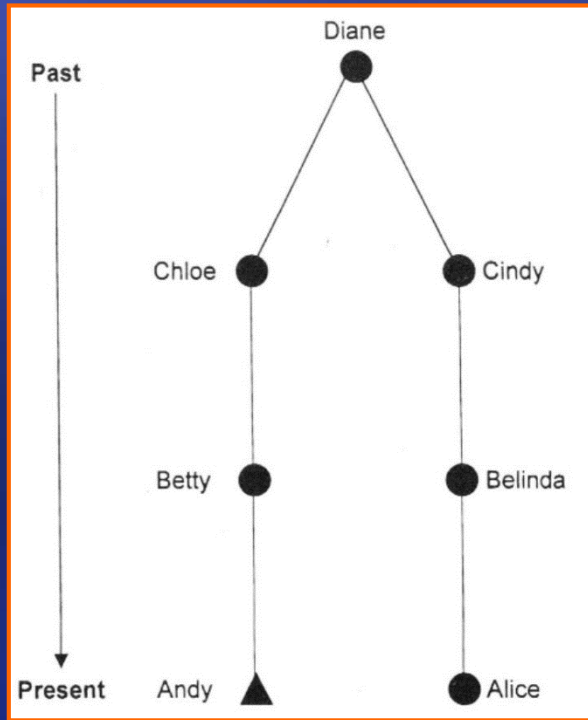
Mitochondriální DNA (mtDNA) člověka



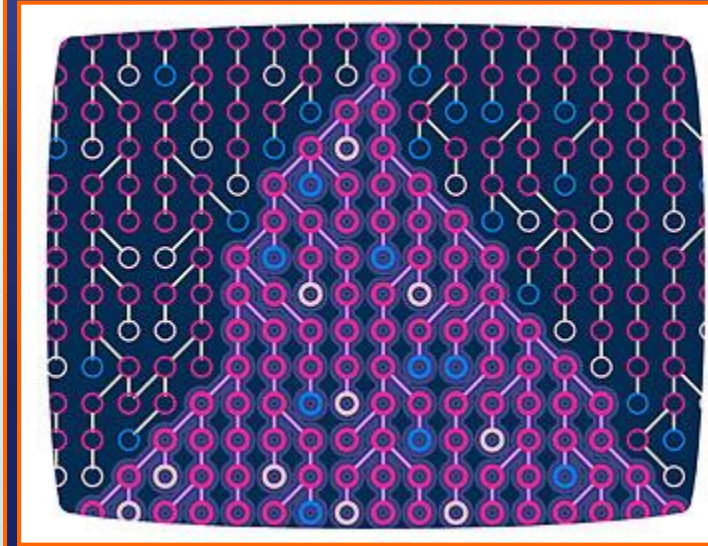
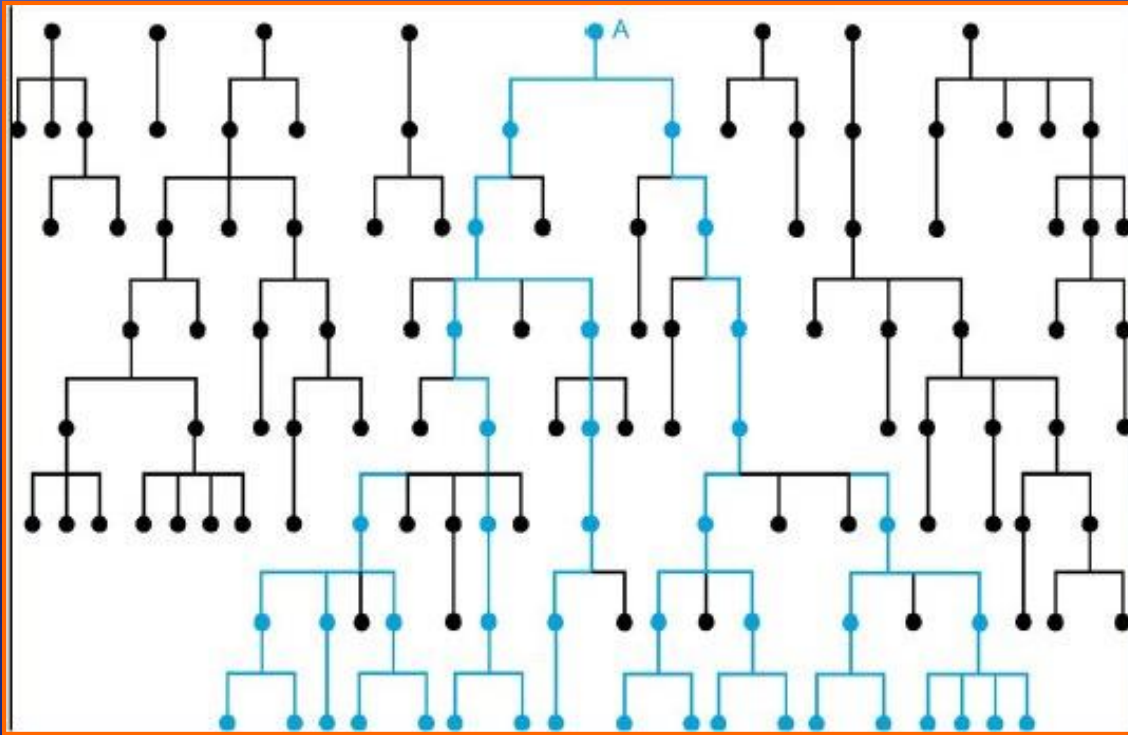
- součástí mitochondrií
- kruhová molekula DNA o průměrné velikosti 16 569 pb, dnes **známe kompletní sekvenci**
- 5-10 molekul v jedné organele, 1 000 až 10 000 mitochondrií v buňce
- 37 různých genů, dědí se jako celek
- **neprobíhá rekombinace, mění se pouze procesem mutace**
- **vysoká mutační rychlost** (až 10násobná oproti jaderné DNA)
- **maternální dědičnost**

- **maternální dědičnost** výrazně zmenší počet studovaných příbuzných



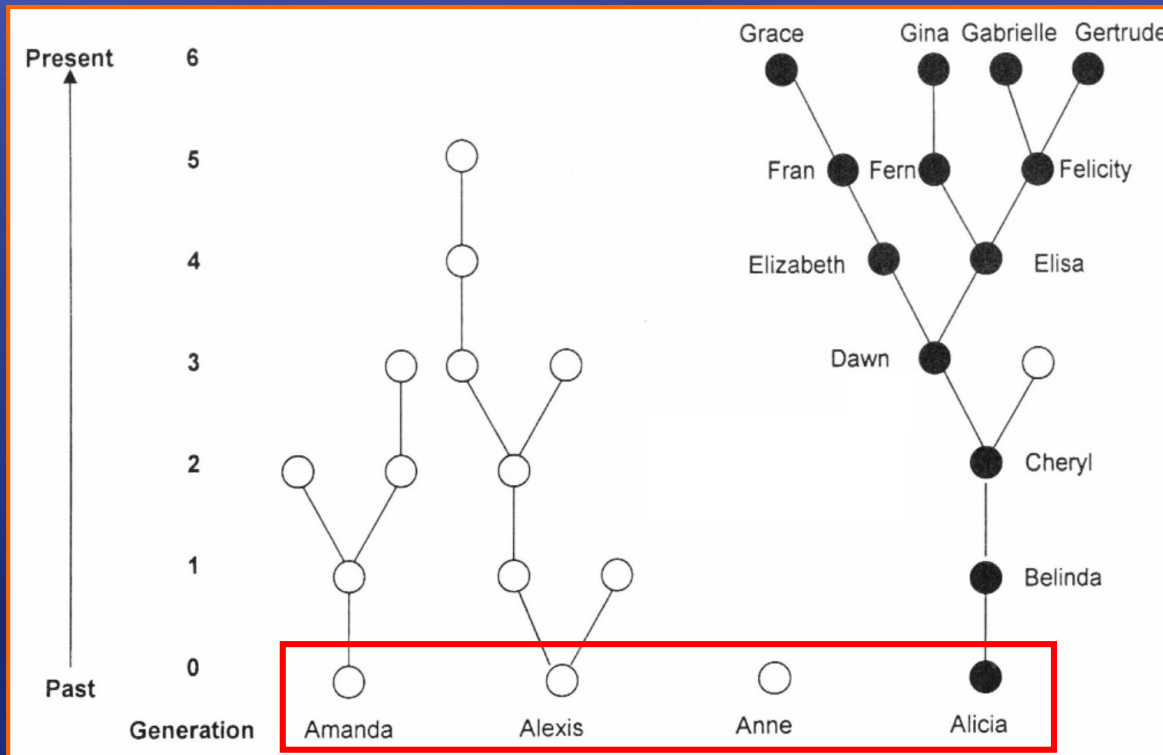


- Andy a Alice, mají pouze jediného předka – neboli jejich **společným předkem je Diana**, žijící před třemi generacemi
- v další generaci se mtDNA tohoto společného předka bude předávat už pouze v rodokmenu Alice, protože Andy jako **muž mtDNA do dalších generací nepředává**
- stejně tak se přenos zastaví, pokud Alice bude mít pouze syny



- vzhledem k tomuto postupnému **zanikání** a **předávání mtDNA** pouze přes **ženskou linii**, jsme nakonec schopni v daleké minulosti dospět až k jediné ženě – společnému předku, jejíž mtDNA se přenášela nejdéle – „**pramátka Eva**“
- některé mtDNA linie tak zanikají a jiné se přenáší dál a „pomnožují“
- díky tomu při pohledu ze současnosti do minulosti sledujeme tzv. **koalescenci** = **splyvání linií mtDNA**
- systém zanikání a splyvání mtDNA linií ukazuje následující obrázek

Hledání našeho společného předka



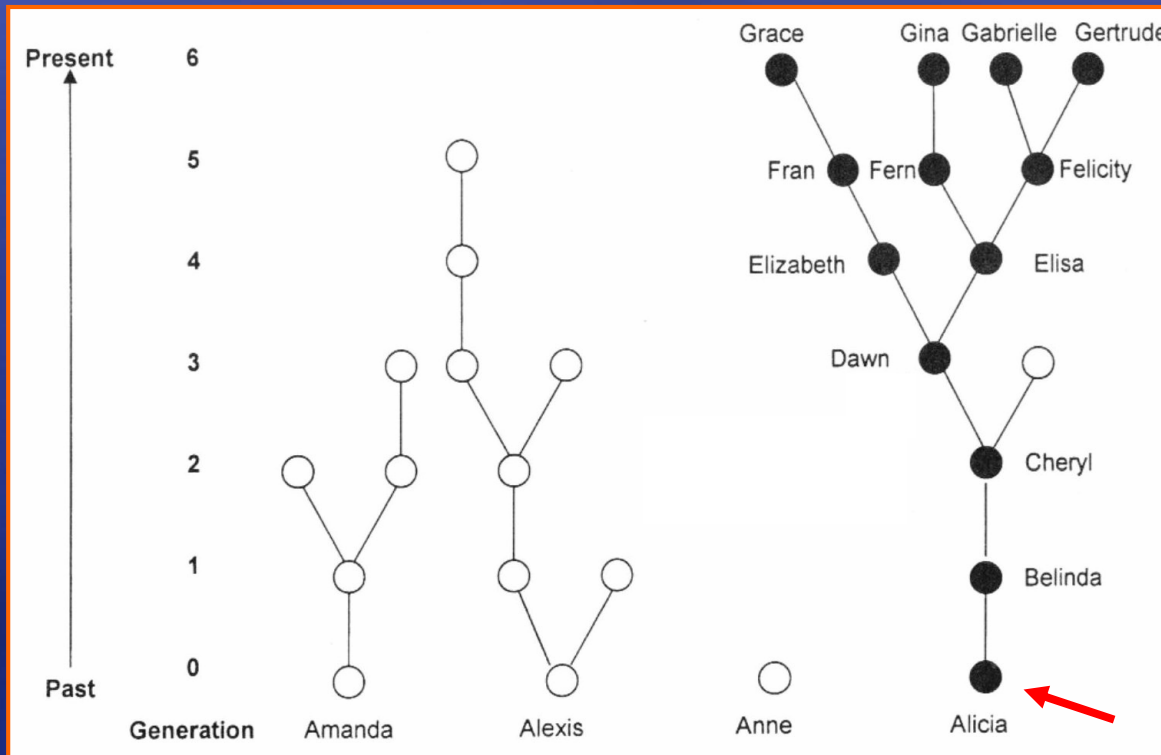
současná generace

2 děti

← pravděpodobnost

25 % 1D+1C
25 % 2D
25 % 2C
25 % 1D+1C

- simulaci začínáme někde v minulosti se čtyřmi ženami – **Amandou, Alexis, Anne a Alicí**
- každé se narodí dvě děti (C-chlapec, D-děvče)
- **mtDNA Ann zaniká** – má pouze chlapce
- u ostatních žen se přenáší do další generace, protože mají alespoň jedno děvče



současná generace

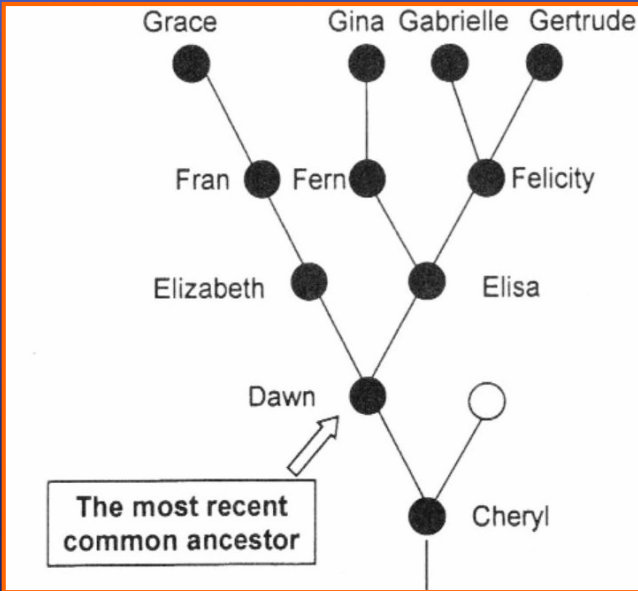
- v každé generaci se pak situace opakuje
- po šesti generacích vidíme, že **se zachovala mtDNA pouze Alice**, jejíž potomci měli v každé generaci alespoň jednu dceru
- u **Grace, Giny, Gabriely a Gertrudy** nalezneme „stejnou“ mtDNA jakou měla Alice



současná generace

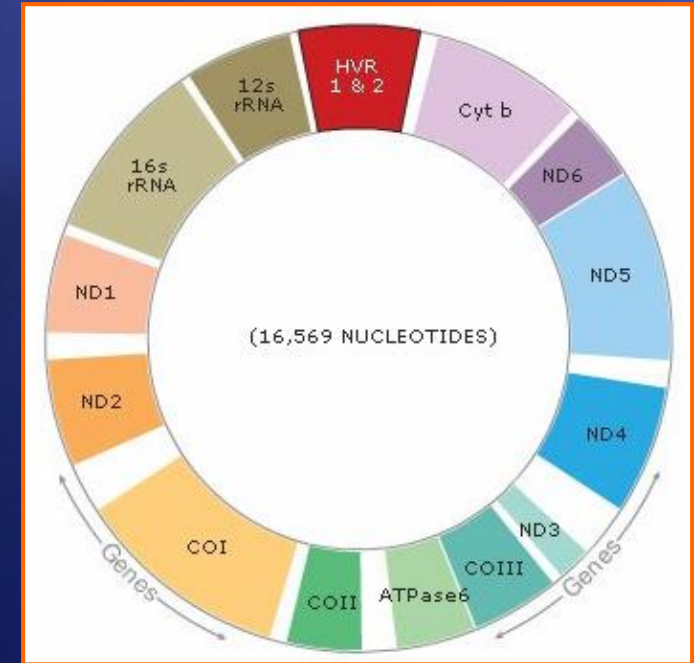
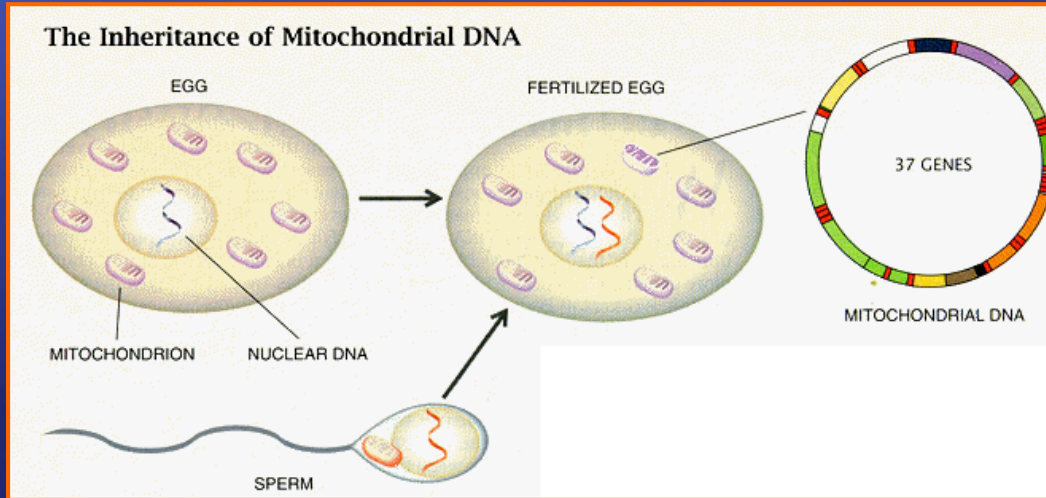
- zachovala se pouze mtDNA Alice, přičemž pomocí mtDNA můžeme zjistit, že **nejbližším společným předkem** Grace, Giny, Gabriely a Gertrudy **byla Dawn** (MRCA – most recent common ancestor)

Hledání našeho společného předka



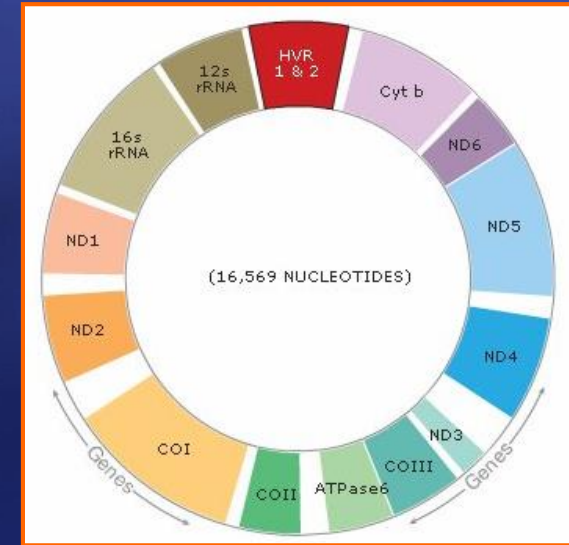
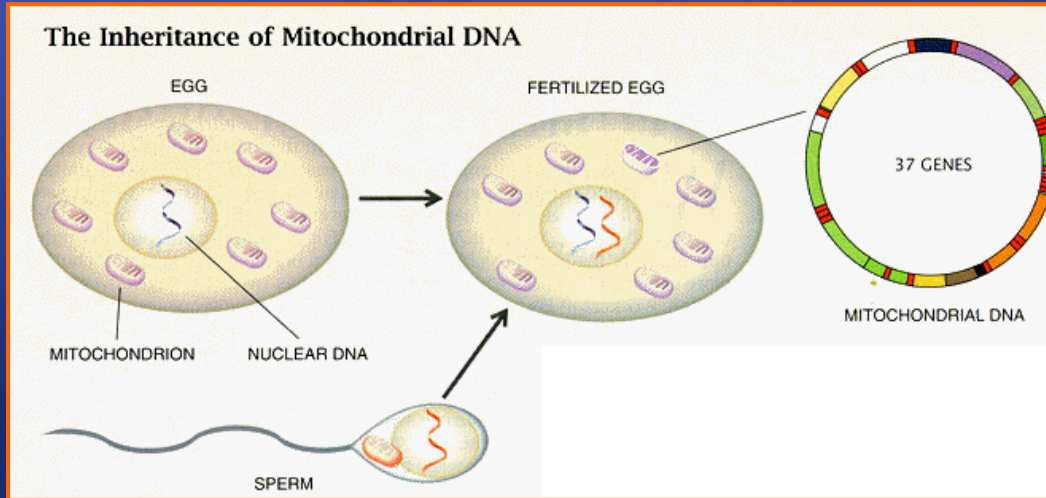
- avšak to, že mají Grace, Gina, Gabriela a Gertruda „stejnou“ mtDNA jako Dawn nebo Alice není ve skutečnosti úplně pravda (ani být nemůže, protože pokud by přežila do současnosti mtDNA jediné ženy, pak bychom dle tohoto postulátu měli všichni stejnou mtDNA)
- ve skutečnosti se jejich mtDNA navzájem liší – např. mtDNA Gertrudy a Gabriely jsou si podobnější než je jejich mtDNA podobná k mtDNA Grace

- to, čím se mtDNA těchto žen liší, jsou náhodné mutace, které v ní vznikly
- jakmile se tedy objeví v mtDNA nějaká mutace, tato je pak dále předávána v dané linii
- čím je tato linie starší, tím více mutací se v ní nahromadí



Kde v mtDNA mutace hledáme:

- kódující region x kontrolní region HVR (regulace replikace mtDNA, HVSI a HVSII)
- **kódující region** – lze analyzovat pomocí RFLP, specifickou sadou restričních enzymů
- **kontrolní region** – variabilita studována přímým sekvencováním



Co v mtDNA zkoumáme:

- některé mutace se předávají na potomky vždy spolu = **haplotyp** = určují tedy dědičnou linii
- některé haplotypy jsou si podobnější (sdílejí stejné mutace) a ukazují na společného příbuzného předka – tyto haplotypy se sdružují do tzv. **haploskupin**

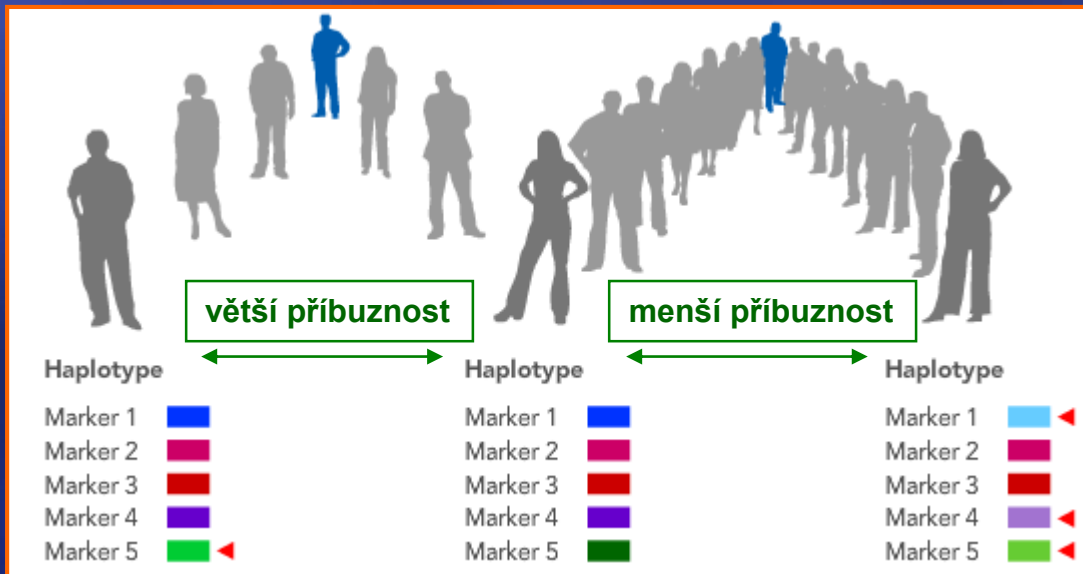
Haplotypy x haploskupiny

Lze si to přiblížit na analogii se značkou aut:

- na světě existuje mnoho automobilek – Škoda, Ford, Honda apod.
- každá vyrábí mnoho různých modelů – např. Škodovka – Fabia, Octavia; Honda – Civic, Acord = **tyto modely představují jednotlivé haplotypy**
- některá tato auta různých značek jsou vybavena **například klimatizací** nebo GPS navigací (nesou podobné mutace) – **jsou si tedy v tomto podobnější a tvoří haploskupiny (např. malé vozy x limuzíny)**



Haplotypy x haploskupiny



Haplotyp

- sestava mutací
- **podobnější haplotypy sdílejí příbuznější jedinci**



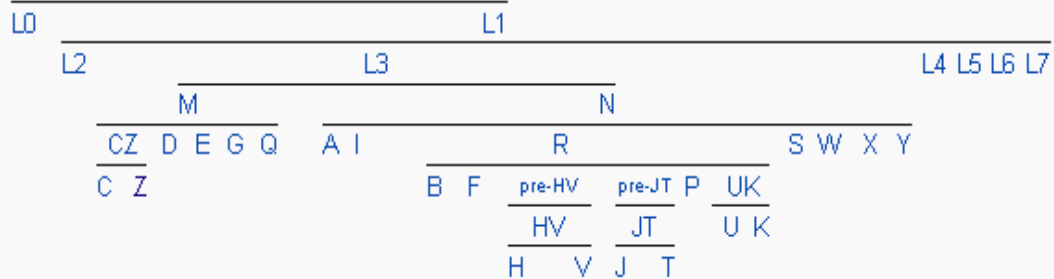
Haploskupina

- příbuzné haplotypy sdílejí stejné nebo podobné sestavy mutací
- tvoří haploskupinu
- **mají svůj geografický původ** (vzhledem k původnímu předkovi)



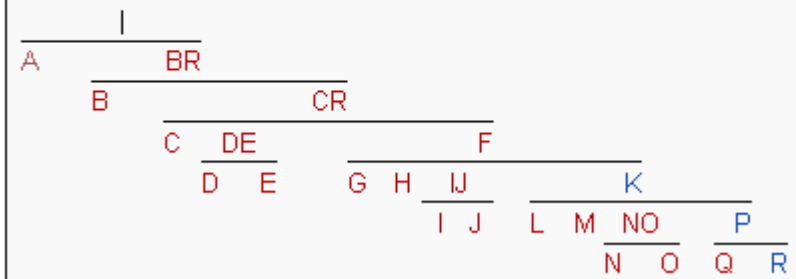
Haploskupiny lidské mitochondriální DNA (mtDNA)

Poslední společný předek (mtDNA)



Haploskupiny chromozómu Y lidské DNA (Y-DNA)

Poslední společný předek (Y-DNA)



Haplotypy x haploskupiny

- na základě haplotypů a haploskupin jsme schopni určit, **ke které linii daní jedinci náleží** (hledáme příbuznost na základě rozdílů a podobností) = **identifikace společného předka**
- již víme - **selekčně neutrální mutace** – v čase se hromadí konstantní rychlostí = **molekulární hodiny**
- podle počtu těchto mutací lze také odvodit **stáří sledované linie, předka**

Problémy:

- stanovit podobnost (příbuznost) mezi jedinci na základě rozdílů v sekvenci nemusí být vždy úplně jednoduché (viz následující příklad)
- ukážeme si na příkladu tří žen – Alice, Betty a Cindy, u nichž známe část nějaké sekvence mtDNA a víme, že se liší mezi sebou v jednom nukleotidu

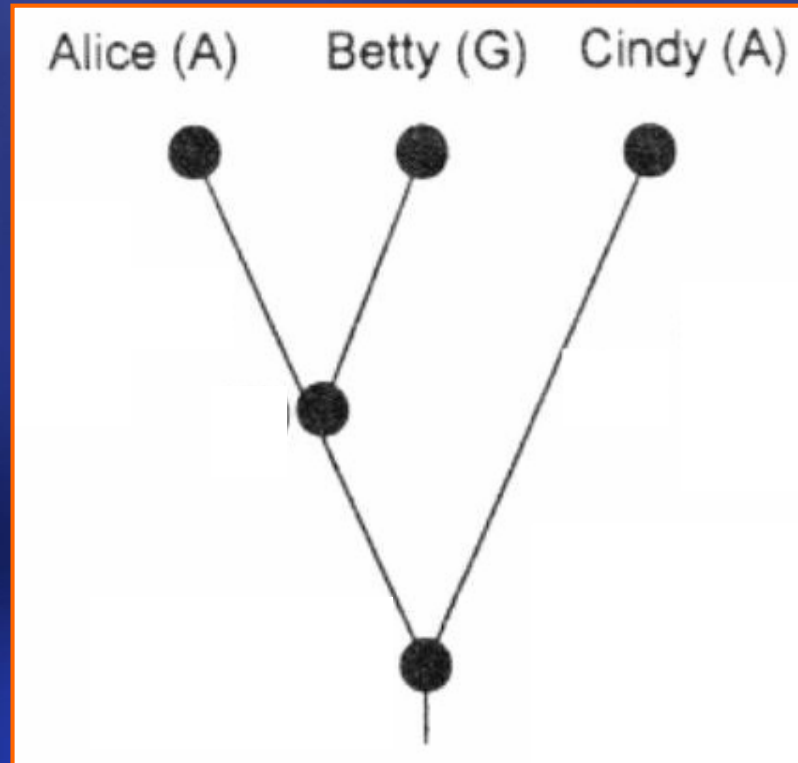
Alice (A)

Betty (G)

Cindy (A)

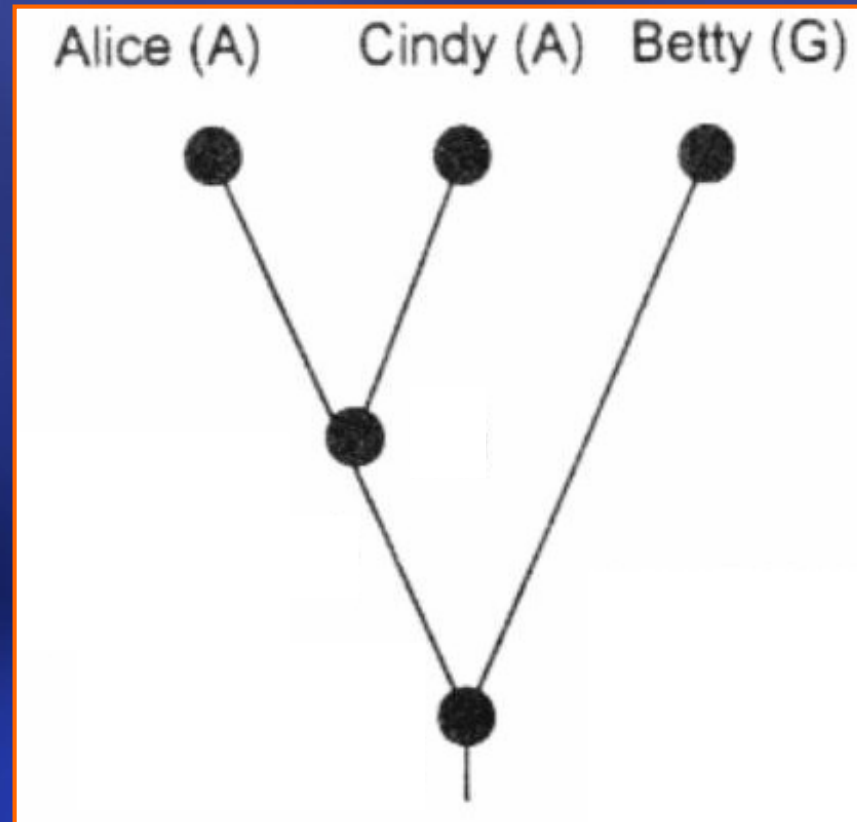
- existují tři možnosti (vývojové stromy), které ukazují, jak k těmto odlišnostem (mutaci) mohlo dojít

Varianta 1



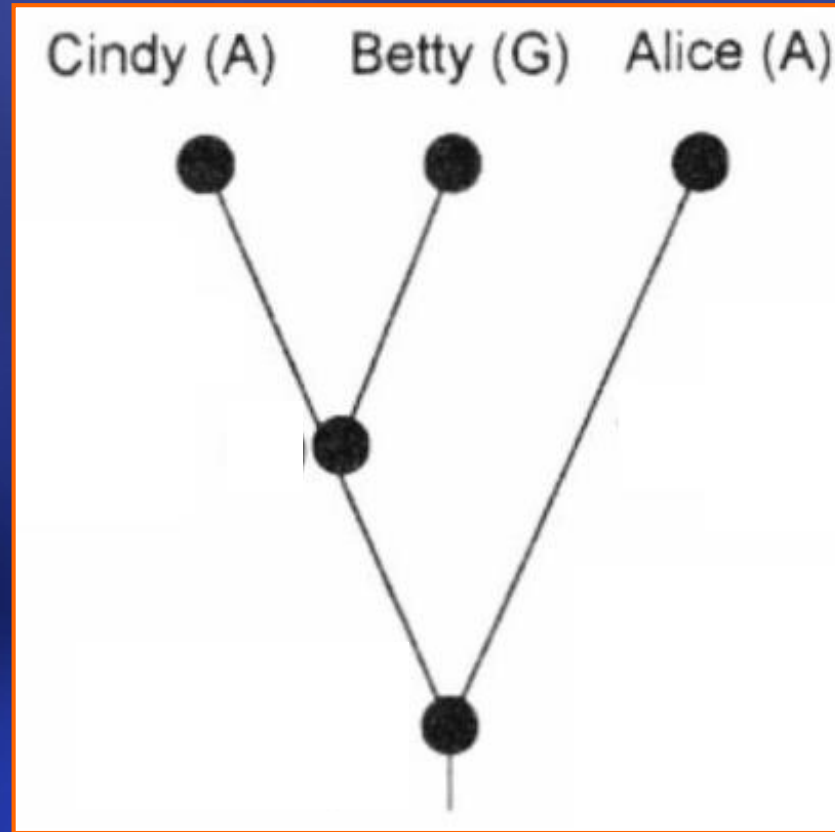
Alice a Betty jsou si podobnější (příbuznější) než je každá z nich k Cindy

Varianta 2



Alice a Cindy jsou si podobnější (příbuznější) než je každá z nich k Betty

Varianta 3



Betty a Cindy jsou si podobnější (příbuznější) než je každá z nich k Alici

Alice (A) Betty (G) Cindy (A)



Alice (A) Cindy (A) Betty (G)



Cindy (A) Betty (G) Alice (A)

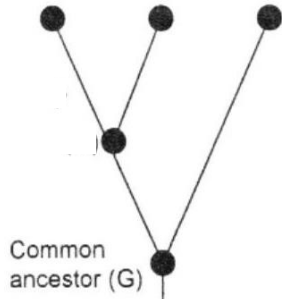


Který z těchto stromů je nejpravděpodobněji správný?

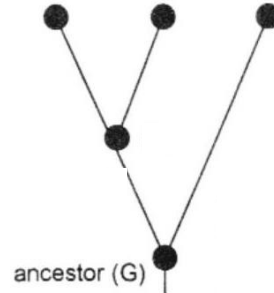
- Alice i Cindy nesou obě stejný nukleotid A, zatímco Betty má ve stejném místě G
- **první možností** je, že v minulosti došlo k **jedné mutační události**, kdy se pravděpodobně A zaměnil za G nebo naopak G za A
- **druhou možností** je, že již oba nukleotidy jsou mutací nějakého jiného nukleotidu = **dvě mutační události**

Ockhamova břitva – budeme uvažovat jednu mutační událost

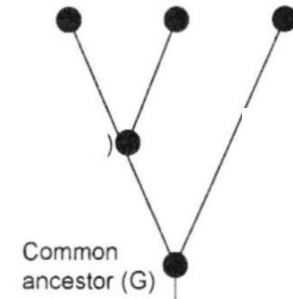
Alice (A) Betty (G) Cindy (A)



Alice (A) Cindy (A) Betty (G)

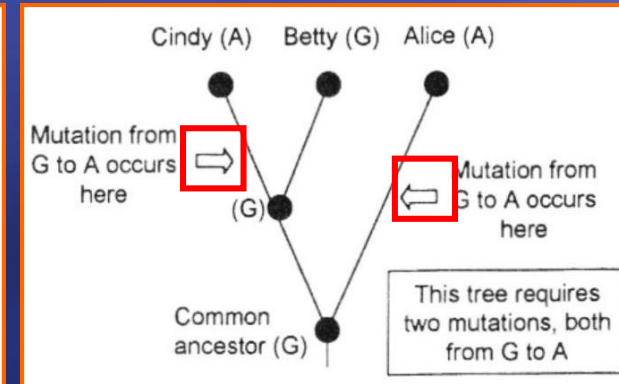
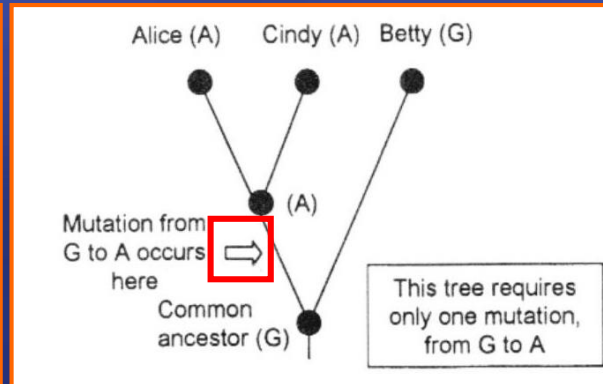
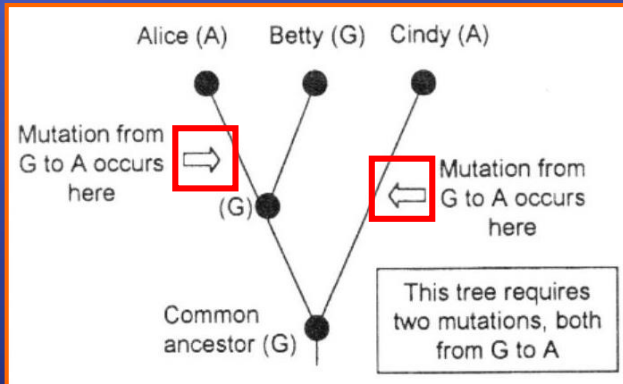


Cindy (A) Betty (G) Alice (A)



Který z těchto stromů je nejpravděpodobněji správný?

- abychom mohli konstruovat strom, musíme vědět, **kdo byl společným předkem** všech tří lidí, tak budeme vědět, **který nukleotid je původní a který je mutovanou formou**
- jak to můžeme zjistit – **nejvhodnější metodou je sekvencování** nějaké jiné **blízce příbuzné skupiny jedinců** („outgroup“) – pro člověka je např. nejvhodnější šimpanz
- hypotetické srovnání se šimpanzí DNA nám odhalí, že **původní je baze G**
- v našich třech uvažovaných stromech tedy máme nastaveno, že **společný předek všech tří žen měl ve své sekvenci G**



Který z těchto stromů je nejpravděpodobněji správný?

- **první strom** – Alice a Betty mají společného předka, který se odštěpil ze společného předka se Cindy
- víme, že původní byl v sekvenci G = muselo zde dojít ke **dvěma odděleným mutačním událostem** – v obou případech mutoval G na A
- pro vysvětlení **druhého stromu**, kde mají Alice a Cindy společného předka, který vzniknul ze společného předka s Betty, nám stačí **jediná mutační událost**, která nastala u společného předka Alice a Cindy
- u **třetího stromu** opět potřebujeme dvě **mutační události**

Ockhamova břitva nám říká, že **nejpravděpodobnější** je to jednodušší, tedy **strom č. 2**

- takto však ve skutečnosti nepostupujeme, změna jediné báze v jedné sekvenci je málo informativní – **vycházíme z mnoha změn na různých místech a také u většího vzorku jedinců**
 - například pokud bychom analyzovali sekvenční rozdíl v jiné sekvenci, mohl by jako pravděpodobnější vyjít např. strom č. 1
- pokud však budeme uvažovat **více sekvencí**, pak nám ale **geometrickou řadou narůstá počet možných stromů**, s nimiž musíme počítat – celková analýza je velmi náročná a složitá
 - např. máme 3 jedince a 3 odlišné sekvence (každá sekvence od jednoho jedince), pak jsou 3 možné stromy, ale při **4 odlišných sekvencích** už je počet možných **stromů 15** atd.

Počet DNA sekvencí	Počet možných stromů
3	3
4	15
5	105
6	945
7	10 395
8	135 135
9	2 027 025
10	4 459 425
20	$8,2 \times 10^{21}$
50	$2,8 \times 10^{76}$

- většinou však analyzujeme **stovky sekvencí** – počet možných stromů je pak **astronomický**

např. Linda Vigilant a kol. analyzovali **135 mtDNA sekvencí**, jejichž rozdíly vedly až k **10^{267} možných stromů**

- jakkoliv **rozumně velký vzorek** nám vždy bude generovat takový počet možných stromů, které nejsme schopni analyzovat ani pomocí moderní výpočetní techniky
- avšak byly vytvořeny **programy**, které umí vyhledat a pracovat se **skupinou statisticky nejpravděpodobnějších stromů** – nejpoužívanějším je **PAUP** (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, D. Swofford)

PAUP*
Sinauer Associates
Sunderland, MA

- About PAUP*
- To Order
- Versions
 - Macintosh
 - UNIX/VMS
 - DOS
 - Windows
- Support
 - FAQ
 - Tech exchange
 - Downloads
 - Known problems
 - Mailing list

PAUP* Version 4
...tools for inferring and interpreting phylogenetic trees

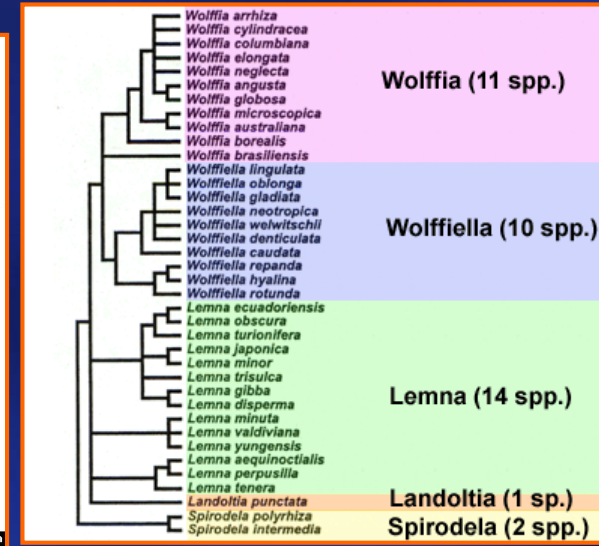
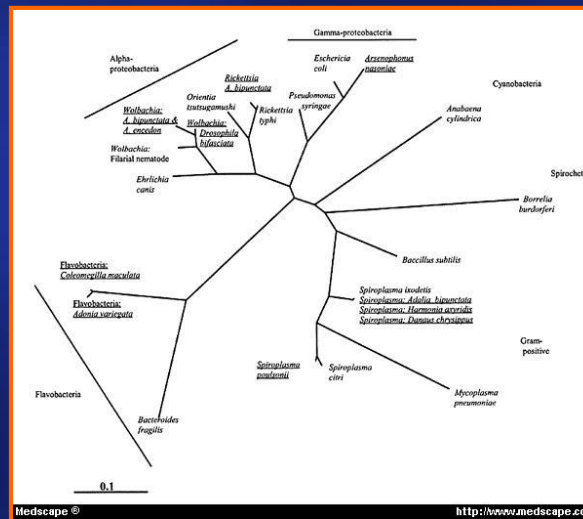
Analyze

- Molecular sequences
- Morphological data
- Other data types

Using

- Maximum likelihood
- Parsimony
- Distance methods

Getting Started | Purchase PAUP*



- z pohledu analýzy dat je tu však **ještě jeden problém** – vícenásobné substituce, kdy v jedné sekvenci proběhne více změn

např. u společného předka máme **sekvenci CAGT**, ale následně došlo ke dvěma záměnám – **u jedné linie mutoval A na C** a **v jiné následné linii A na T** = máme tedy dvě následovnické linie se sekvencí **CCGT** a **CTGT**

porovnáme-li tyto dvě linie, vypadá to **jakoby šlo o jednu mutační událost** – C na T nebo T na C, **ve skutečnosti však jde o dvě mutace ve stejném místě** – to může vést k **podhodnocení výsledků** – PAUP a podobné programy však umí tento **problém také vyřešit**

- po úspěšné konstrukci vývojového stromu se dále snažíme odpovědět na otázku:

Kdy žil společný předek?

- na základě fylogenetického stromu **dokážeme odhadnout počet genetických změn** pro každou skupinu, při znalosti **průměrné mutační rychlosti na generaci** je pak možné lehce **dopočítat počet generací ke společnému předku** (viz dříve molekulární hodiny, zde aplikujeme uvnitř druhu)

Ilustrační příklad:

Zcela hypoteticky - víme, že **průměrná sekvenční odlišnost** mezi žijícími lidmi a kmenem vývojového stromu **je 0,45 %**.



Ilustrační příklad:

- pokud je **průměrná mutační rychlost 3 % za 50 000 generací**, což je **0,00006 % na generaci**
- pak můžeme odhadnout dobu od společného předka jako $0,45 / 0,00006 =$
= 7 500 generací
- budeme-li uvažovat **28 let na generaci**, pak je výsledek $7\,500 \times 28 =$ **210 000 let zpátky**
- **výsledek** však, jak vidíme, hodně **záleží na správnosti hodnot, které do výpočtu vstupují** (o tom bude řeč ještě později)

Nyní se tedy již můžeme podívat, na co přišli ve svém převratném článku Cann, Stoneking a Wilson (Nature, 1987, „**Mitochondrial DNA and human evolution**“)

Hledání našeho společného předka

- 1) Jak to, že máme společného předka
- 2) Metodika výzkumu mtDNA
- 3) Analýza mtDNA – mitochondriální Eva, kdy a kde žila
- 4) Problémy a názory proti
- 5) Analýza chromozomu Y
- 6) Jak jsme osídlili svět podle mtDNA a chromozomu Y
- 7) Další analýzy a co z toho vyplývá
- 8) Haploskupiny mtDNA a chromozomu Y v ČR

Co bylo zjištěno – kde a kdy Eva žila

- Cann a kol. analyzovali **mtDNA 147 lidí** (145 izolováno z placenty z USA, Austrálie, Nová Guinea), jako zdroj kromě placenty lze využít také např. vlasy
- **každý vzorek** byl na základě informací příbuzných **přidělen do jedné skupiny podle geografického původu**
 - **sub-saharská Afrika, kavkazsko** (zahrnující Evropu, Severní Afriku a Blízký Východ), **Východní Asie, Austrálie** (původní obyvatelé) a **Nová Guinea** (původní obyvatelé)
- k analýze použili **12 restrikčních enzymů** (průměrně připadlo **370 restrikčních míst na osobu**)
- v některých případech poskytlo štěpení různých mtDNA shodné výsledky – tyto vzorky proto byly z analýzy vyloučeny = **analyzováno** tak bylo **133 jedinečných mtDNA**
- **analýza pomocí PAUP**, bez systému „outgroup“ pro stanovení kmene stromu (nebyla k dispozici mtDNA šimpanze)

Výsledek 1

- získaný strom obsahuje dva významné shluky:

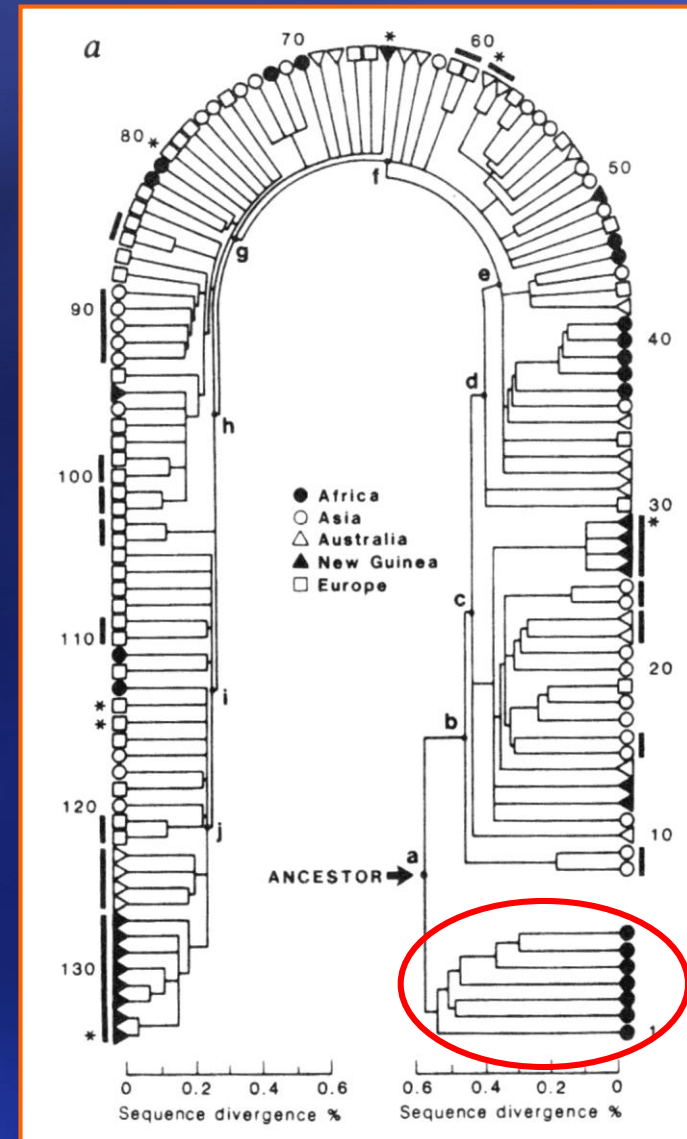
- 1) zástupci se sub-saharským předkem
- 2) ostatní regiony včetně Afriky

= s největší pravděpodobností byl **společný předek z Afriky**

= druhé vysvětlení je méně pravděpodobnější a vyžadovalo by **opakované oboustranné migrace mezi Afrikou a ostatními kontinenty**

- společný africký předek je však v souladu jak s hypotézou nahrazení, tak i s multiregionálním modelem
- dávný africký předek (*Homo erectus*) je zřejmý v obou modelech
- avšak africký model počítá s ještě jedním mladším předkem
- oba základní modely se tedy liší názorem na to, **jak a kdy** k tomu došlo

Hledání našeho společného předka



- Cann a kol. se na základě odhadu četnosti mutací v mtDNA a sledované variability pokusili o výpočet, **kdy došlo k oddělení** od tohoto společného předka
- vycházeli z rozdílů v četnostech mutací domorodých obyvatel Nové Guineje a Austrálie – **kalibrace pomocí archeologických dat**, známe dobu, kdy předchůdci kolonizovali tyto světy
- vypočítaná četnost je v průměru **2 – 4 % rozdílů za milion let** (zhruba odpovídá četnosti změn vypočítané u řady druhů obratlovců)



- vypočítali, že **společný předek žil před 285 000 lety** (2 % na milion let) až **143 000 lety** (při divergenci 4 % za milion let) = **průměrný odhad tedy je 214 000 let**

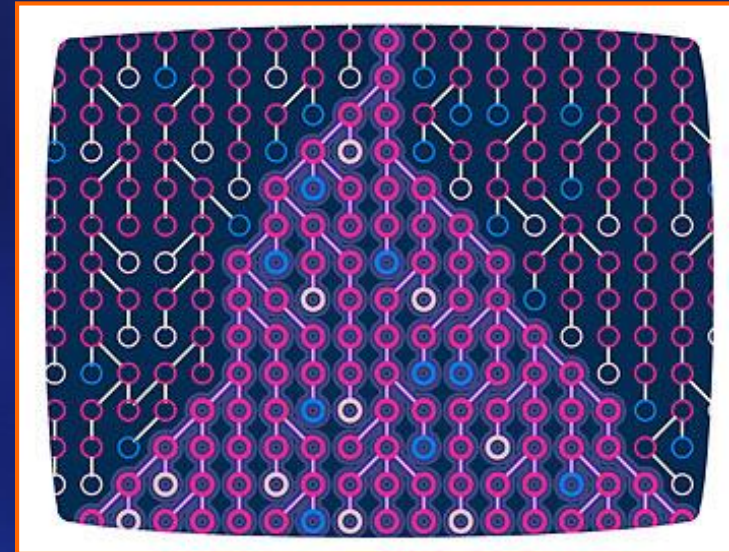
mtDNA moderních lidí pochází od společného předka, který žil v Africe před zhruba 200 000 lety.

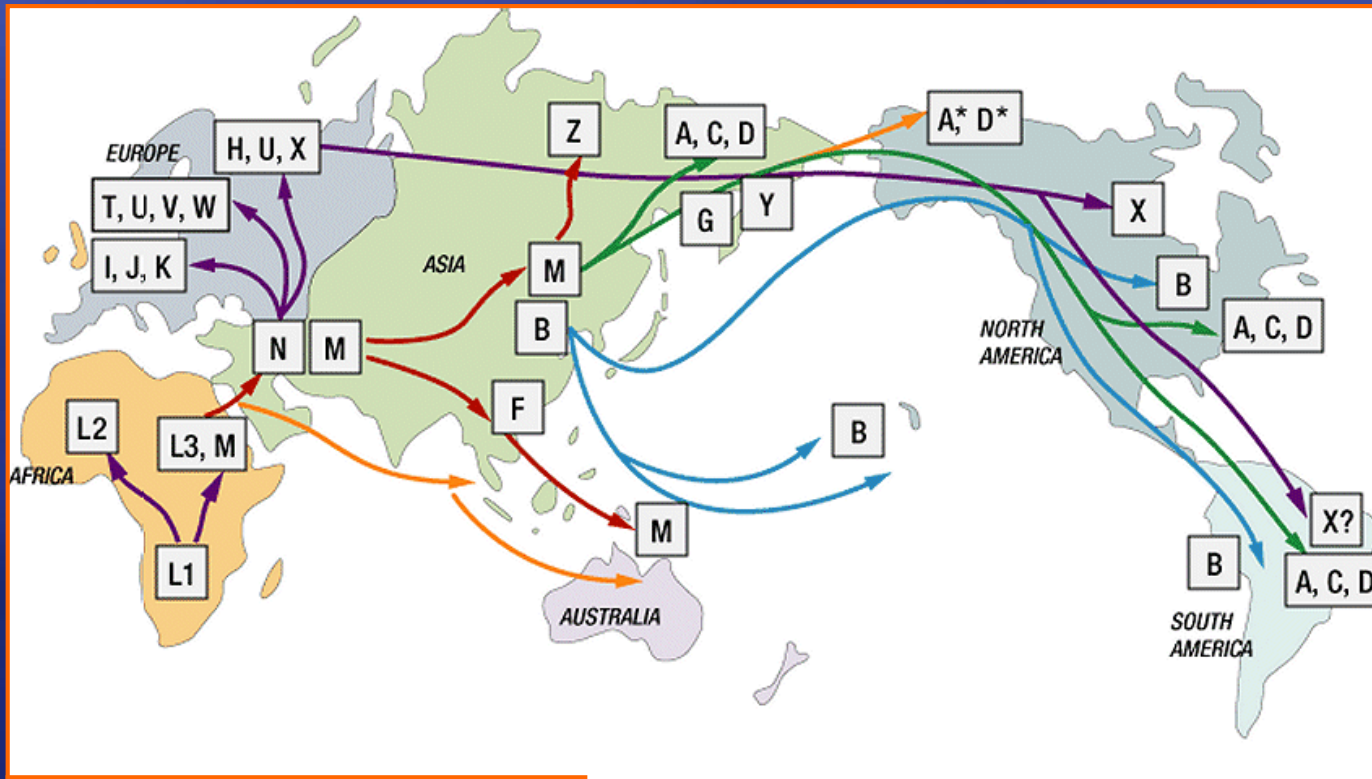
? *Co se stalo s mtDNA předků, kteří v té době žili mimo Afriku?*

- podle všeho byl *H. erectus* mimo Afriku zcela nahrazen moderním člověkem bez vzájemného křížení, jinak bychom našli nějaké starší stopy v mtDNA

mtDNA moderních lidí pochází od společného předka, který žil v Africe před zhruba 200 000 lety.

- tento společný předek, žena, začala být nazývána **Evou** nebo **mitochondriální Evou** na základě srovnání s biblickým původem lidí v Evě a Adamovi
- avšak pozor, ve skutečnosti **neexistovala** v té době v Africe **pouze jediná Eva**, ale těchto Ev, **předchůdkyň bylo** zcela logicky určitě několik **stovek nebo tisíce**
 - z Afriky expandovala řada malých populací, avšak postupem času mtDNA linie ostatních předchůdkyň zanikaly (neměly dcery, zanikaly populace apod.) až se do současnosti zachovala mtDNA té jediné africké předchůdkyně (viz dříve recept na impalí polévku, nebo stejně jako zanikají ženská jména)
- každá z dalších (mladších) předchůdkyň nám zanechala část své mtDNA v té naší = můžeme tak provést další dělení podle geografického původu (viz sedm dcer Eviných) a stopovat tak např. postupné osidlování Evropy těmito mladšími předchůdkyněmi současného člověka





EXPANSION TIMES (years ago)

Africa	120,000 - 150,000
Out of Africa	55,000 - 75,000
Asia	40,000 - 70,000
Australia/PNG	40,000 - 60,000
Europe	35,000 - 50,000
Americas	15,000 - 35,000
Na-Dene/Esik/Aleuts	8,000 - 10,000

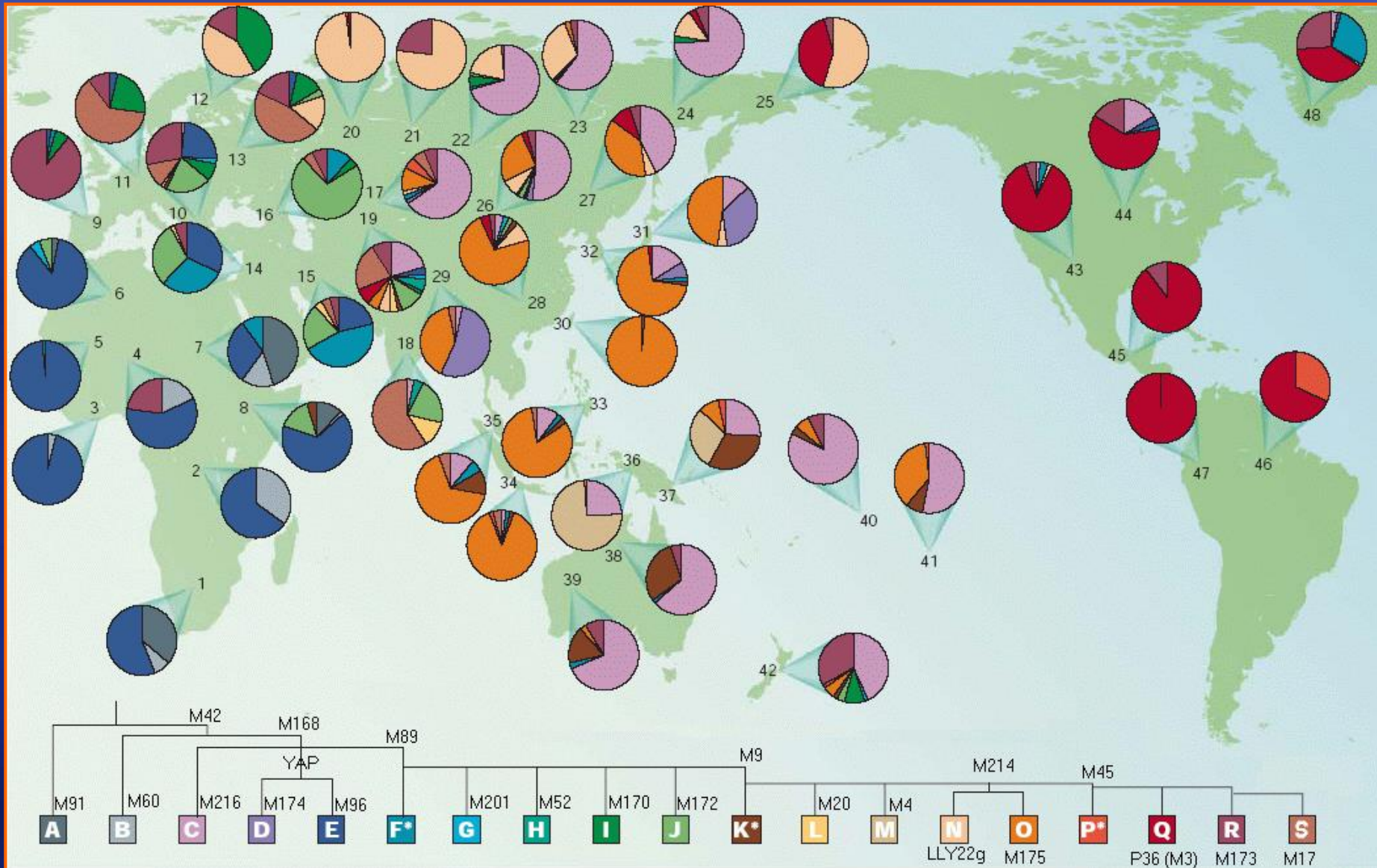
3 v Africe (haploskupiny L1, L2 a L3)

7 v Asii (odvozené od společné předchůdkyně z Afriky označované jako M: A, B, C, D, E, F a G)

9 v Evropě, z toho 7 tzv. hlavních (H - Helena, J - Jasmina, K - Kateřina, T - Tara, U - Uršula, V - Valda a X - Xenie)

4 v Americe - A, B, C, D (nedávné osídlení z Asie)

Hledání našeho společného předka



Hledání našeho společného předka

- 1) Jak to, že máme společného předka
- 2) Metodika výzkumu mtDNA
- 3) Analýza mtDNA – mitochondriální Eva, kdy a kde žila
- 4) Problémy a názory proti
- 5) Analýza chromozomu Y
- 6) Jak jsme osídlili svět podle mtDNA a chromozomu Y
- 7) Další analýzy a co z toho vyplývá
- 8) Haploskupiny mtDNA a chromozomu Y v ČR

Problém č. 1

Analýza mtDNA u nepůvodních obyvatel (osídlenců po migraci)

např. studium mtDNA Afroameričanů

- přesnost datování je ovlivněna rovnoměrným zastoupením sňatků žen Američanek s muži Afričany a sňatků žen Afričanek s Američany
- pak je i rovnoměrně zastoupená mtDNA obou původních skupin – můžeme sledovat nejen dávný původ mtDNA v Africe, ale také modernější původ těchto prokřížených populací v Africe a Evropě – lze tak vystopovat jejich původ



Problém č. 1

Analýza mtDNA u nepůvodních obyvatel (osídlenců po migraci)

Poměr příspěvku mužů a žen při osidlování oblastí:

- **nemusí mít vliv** – např. populace Siddi v Indii, kde je **velikost příspěvku** populací mluvících Bantuzským jazykem **stejně velká jak v jaderném genomu, tak i v mtDNA a chromozomu Y** (důsledek jen dvě století probíhající migrace)
- **může mít vliv** – např. jihoasijské populace Santhal a Munda mluvící austroasijskými jazyky
 - **jihovýchodoasijský** původ vykazují pouze v sekvencích chromozomu Y
 - **mt linie** vykazují větší podobnost se sousedními **indickými** populacemi



Problém č. 2

Přesnost datování – odhad mutační rychlosti

- první studie z roku 1987, Cann *et al.*
 - kalibrace pomocí **archeologických dat**
 - četnost mutací **2 - 4 % za milion let**
 - **stáří Evy** 285 000 - 143 000 let, průměr je **214 000 let**

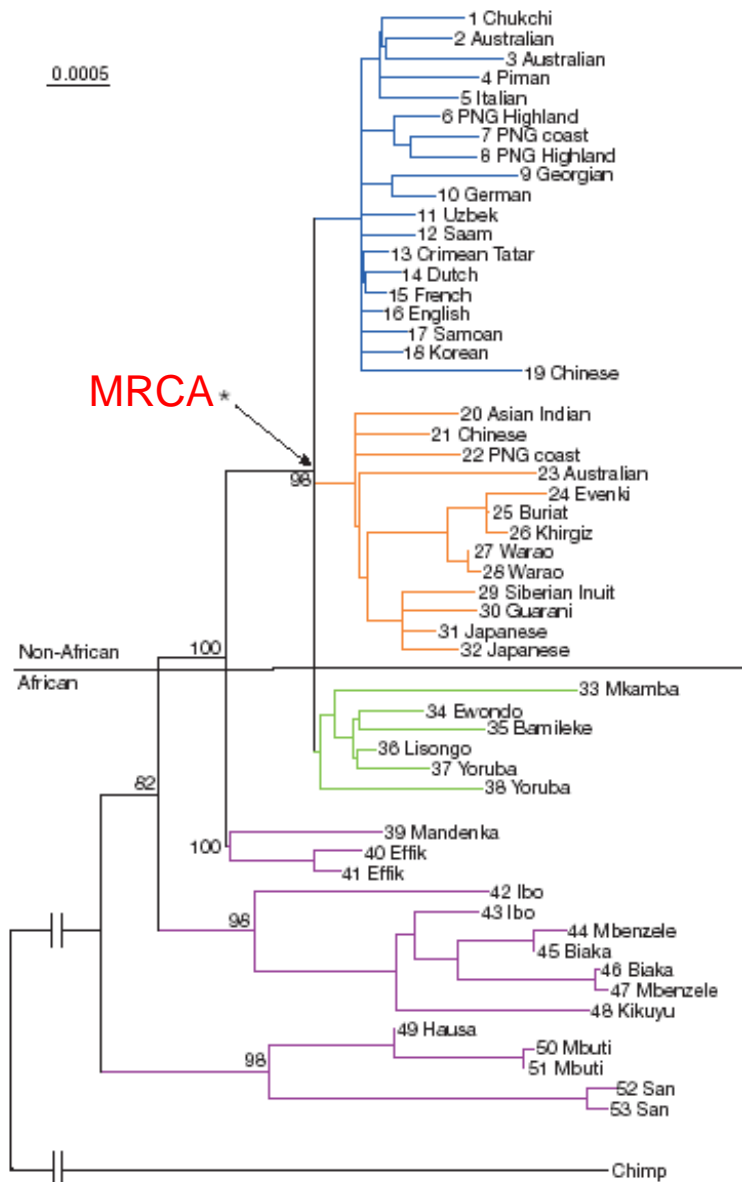
- Linda Vigilant *et al.*, 1991 - zkoumali nukleotidovou sekvenci v kontrolním regionu mtDNA o délce 1 122 pb
 - **získali velmi podobný strom jako Cann *et al.***
 - dospěli k **přesnější hodnotě mutační rychlosti**, použili navíc šimpanzí mtDNA pro stanovení kořene stromu („outgroup“)
 - zjistili 69,2 % odlišností ve studované šimpanzí a lidské sekvenci
 - **17,3 % změn na milion let**
 - **odhadnutá mutační rychlost** od současného člověka ke společnému předku **byla 2,87 %** odlišností (v předchozí výpočty 2 až 4 %)
 - tedy průměrná rychlost změn (kalibrace přes šimpanzí DNA) je
 - $2,87 / 17,3 = 0,166$ za milion let (předek se šimpanzem žil před 4 miliony let)
 - až $2,87 / 11,5 = 0,2496$ (předek se šimpanzem žil před 6 miliony let)

Problém č. 2

Přesnost datování – odhad mutační rychlosti

- vypočítané stáří společného předka moderního člověka se tak pohybovalo mezi 166 000 až 249 000 lety, s průměrem kolem 208 000 let (x Cann *et al.* s průměrem kolem 214 000 let)
 - výsledky získané Lindou Vigilantovou s kol. byly tedy téměř shodné a systém datování i výsledky těchto analýz začaly být uznávány za platné
 - současně je zřejmé, že **analýzy mtDNA podporují hypotézu o africkém původu moderního člověka**, multiregionální model předpokládá předchůdce mnohem staršího (chyba není v datování)
-
- Ingman *et al.*, 2000
 - studovali nejenom sekvence kontrolní oblasti (tvoří méně než 7 % mtDNA)
 - **do studií zařadili i kódující oblast** mtDNA
 - a pro potvrzení výsledků nově také jaderný genom v podobě části chromozomu X (**oblast Xq13.3**)

Ingman a kol. 2000 (Nature)



Závěr 1 – o původu

- na obrázku jsou výsledky analýzy pouze kódující části mtDNA
- potvrzeny předchozí závěry o africkém původu

Závěr 2 – datování

- **MRCA před 221 500 až 121 500 let, průměr 171 500 let**
(odchylka je dána výrazně odlišnou mutační rychlostí u kontrolní a kódující oblasti)

Závěr 3 – chromozom X

- **analýza sekvence chromozomu X (Xq13.3) – $479\,000 / 3^* = 159\,666$ vs. 171 500 u mtDNA**
- potvrzuje výsledky získané u mtDNA

* u chromozomu X musíme počítat s 3x větší efektivní velikostí populace

Problém č. 2

Přesnost datování – **variabilita mutační rychlosti**

(Christopher Wills, 1995)

- existuje například **rozdíl v četnosti tranzicí** (purin za purin, pyrimidin za pyrimidin) a **transverzí** (purin za pyrimidin a naopak)
- **četnost tranzicí je** mnohem **vyšší** než je četnost **transverzí = četnost transverzí** je pro časování **vhodnější** (rychlost transverzí je v průměru 3,32)
- použitím mutační rychlosti transverzí lze dospět k závěru, že **mtEva žila před 436 000 až 806 000 lety** (zahrneme-li do odhadu 95% interval spolehlivosti, pak je rozmezí mezi 336 000 až 889 000 lety)

Eva tak mohla žít mnohem dříve, což by mohlo být v částečném souladu s multiregionálním modelem.

Při analýzách **však bereme v úvahu všechny typy mutací**, a to nejen substituce, ale také inserce, delece, amplifikace = bereme v úvahu **veškerý mutační tlak** – dříve prezentované výsledky jsou tedy reprezentativnější = **námítku lze zamítnout**

Problém č. 2

Přesnost datování – kalibrace molekulárních hodin

- **původní** metoda **kalibrace podle fosilních nálezů**
 - **1 mutace na 1,0 miliardu** bází za rok (kalibrace podle fosilií orangutana)

Nové metody:

- **na základě celogenomového mapování u novorozených dětí** (např. islandská studie – novorozenec má kolem 36 spontánních mutací, které nezdědil po rodičích)
 - **1 mutace na 2,0 miliardy** bází za rok (o polovinu pomalejší rychlost)
- rychlost mutací u mikrosatelitů
 - **1 mutace na 1,2 miliardy až 1 mutace na 2,0 miliardy** bází za rok
- rychlost mutací studiem rodokmenů
 - **1,24 mutace na 1 milion** bází za rok (3x rychlejší)

Poznámka:

- kalibraci je potřeba provádět podle typu zvolených analýz a markerů
- mutační rychlost stanovená v krátkém časovém úseku (např. z rodokmenů) nemusí odpovídat té dlouhodobé (vliv purifikujícího výběru apod.)

Názory proti modelu Out of Africa

- přestože řada prací i z nedávné doby dále potvrzuje získané výsledky, zmíníme si i názory proti Africkému původu člověka vycházející z mtDNA

1) Výsledky mtDNA vůbec nemusí svědčit o Africkém původu moderního člověka

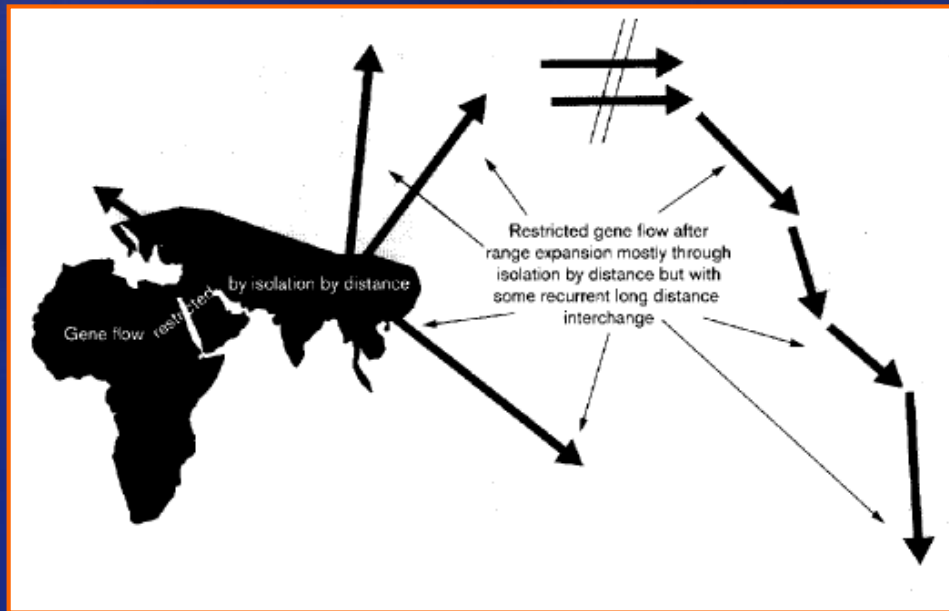
Otázka interpretace genetických stromů (Alan Templeton, 1993, 1997, 1998)

- získané genetické stromy nemusí odpovídat populačním stromům
 - avšak řada studií až do současnosti ukazuje na vysokou korelaci mezi genetickými a populačními údaji = **námítku lze zamítnout**
- rozdělení mtDNA na africkou a neafrickou nemusí odrážet reálné rozdělení populací (neboli geografická asociace tohoto rozdělení nemusí představovat ono následné nahrazení expandující africkou populací)

Názory proti podpoře modelu Out of Africa

A) **odlišnost afrických populací** od ostatních nemusí být důsledkem nahrazení, ale příčinou může být **omezený genový tok** v důsledku **prostorové izolace**

- jsou-li populace příliš vzdálené, neprobíhá genový tok a výsledek vypadá jako při nahrazení jedněch populací jinými



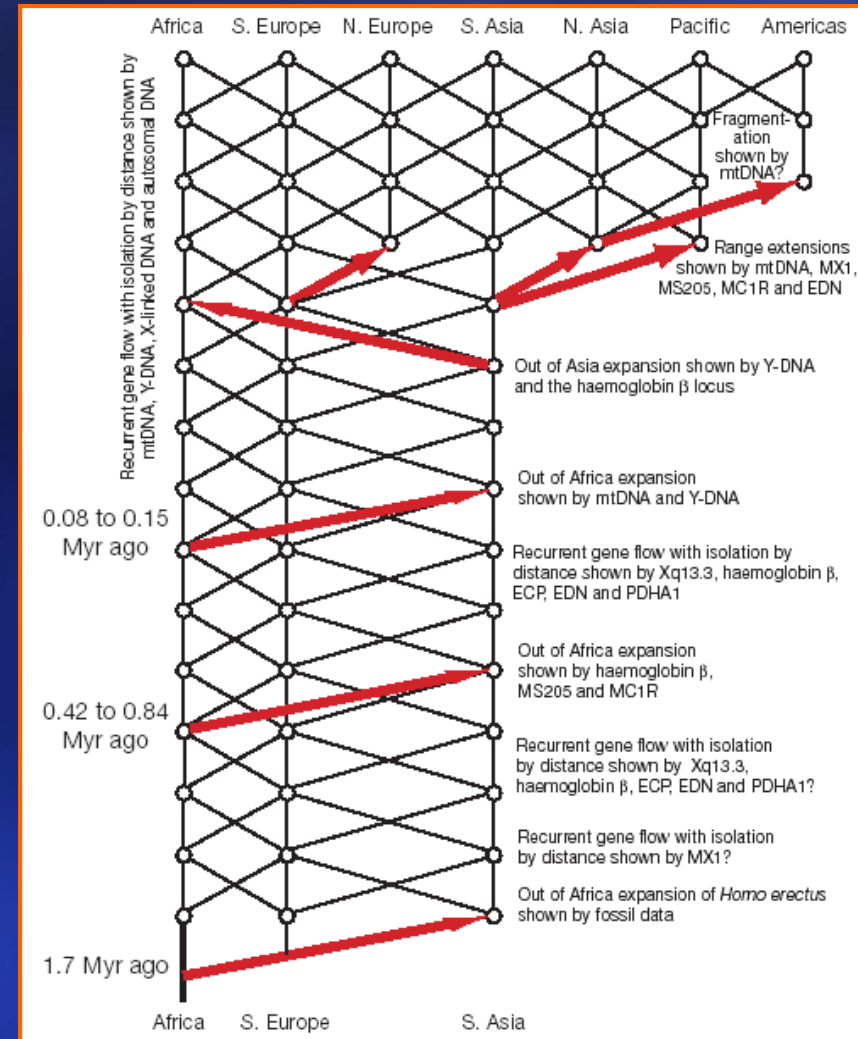
Templeton 1997, Current Opinion in Genetics & Development

B) dle Templetona **neexistuje důkaz o expanzi africké populace mimo Afriku**

- **africké stopy přítomné ve všech populacích** jsou spíše **důsledkem stálého genového toku** mezi geograficky blízkými oblastmi v uplynulých několika stech tisících letech (africké znaky se tak do těchto populací rozšířily)

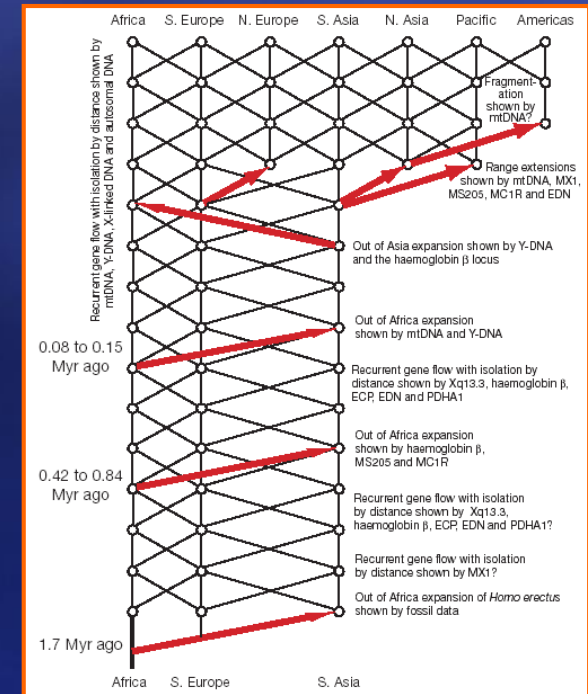
Názory proti podpoře modelu Out of Africa

- Templeton (2002) dále uvádí, že jeho nové analýzy genetických stromů (kombinuje až 10 různých znaků) ukazují na **několik migrací z Afriky** („Out of Africa again and again“) **s neustálým genovým tokem**
- **první expanze** proběhla před 1,7 miliony let – *Homo erectus*
- **druhá vlna** před 800 až 400 000 lety
 - a) expanze *Homo heidelbergensis* (předek neandrtálce)
nebo
 - b) možná migrace jiného předka neandrtálce a moderního člověka
- **třetí vlna** před asi 150 000 lety



Templetonovy výsledky svědčící o **opakovaném genovém toku** (expanze z Afriky a následné křížení) v průběhu posledních 2 milionů let:

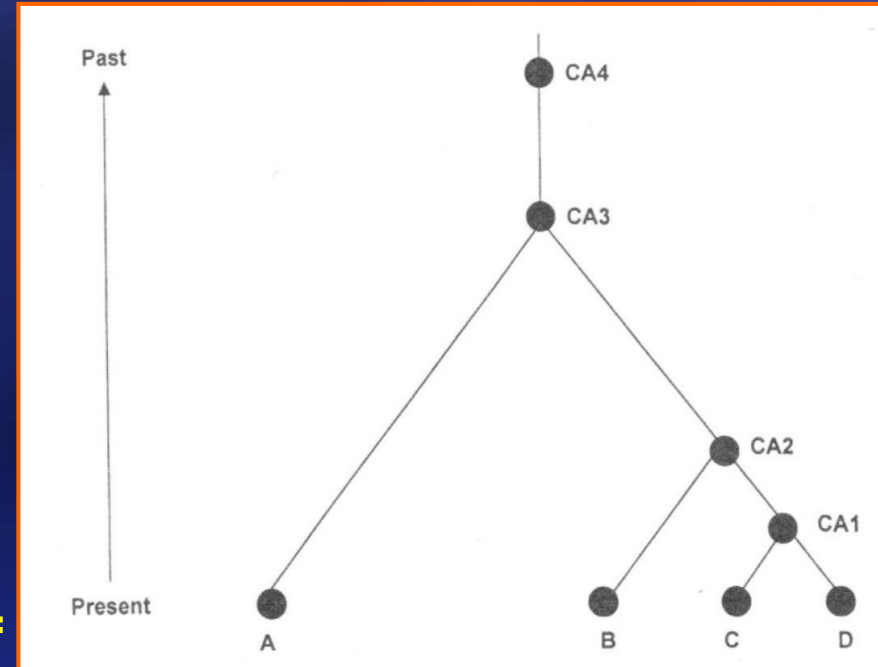
- podporují africké genetické kořeny = moderní člověk se mohl rozšířit z Afriky, avšak nejen odtud = **Eva mohla žít kdekoliv**
- do jisté míry **podporuje multiregionální model**
 - opakované migrace s genovým tokem vedou ke stejnému výsledku, tedy africkému původu, přestože je původ ve skutečnosti multiregionální
- **plně však nepodporuje ani jeden ze dvou modelů**
- uznáván jako další model „**Out of Africa again and again**“



Názory proti podpoře modelu Out of Africa

2) Vliv velikosti populace (genetického driftu) na přesnost výpočtů:

- Př.: sledujeme 4 mtDNA sekvence A, B, C a D, vzájemné **genealogické sekvenční vazby** mezi nimi jsou vyjádřeny jako CA1, CA2 a CA3 označují společné předky, místo koalescence (splynutí)
- většinou nás zajímá tzv. **nejbližší společný předek (MRCA)**, Most Recent Common Ancestor), což je v našem případě CA3
- množství rozdílů odráží **rychlost splývání = odhad stáří MRCA**
- **rychlost** s jakou jednotlivé linie splývají je však **ovlivněna** také **velikostí populace** = splývání je rychlejší v menších populacích (jedinci jsou si tam podobnější než v populacích větších)



Názory proti podpoře modelu Out of Africa

2) Vliv velikosti populace (genetického driftu) na přesnost výpočtů:

Přepočtení údajů o době objevení se Evy z původních dat kolektivu Cannové *et al.*,
(při 2% mutační rychlosti)

- zjištěná průměrná hodnota **290 000 let** byla podobná odhadu Cann *et al.*
- avšak po započítání vlivu genového posunu (velikosti populace)
= dostáváme interval **152 000 až 473 000 let**
(oproti původnímu 143 000 až 285 000, rozsah 142 000 let)

= **dost velký rozsah** (300 000 let) – je typický pro tento přístup, protože na variabilitu má právě významný vliv působící genový posun
- přepočtení údajů Vigilantové *et al.*
102 000 až 256 000 (4 miliony let od oddělení šimpanze)
153 000 až 389 000 (pro 6 milionů let) = tj. 225 000 let
(oproti původnímu 166 000 až 249 000)

Názory proti podpoře modelu Out of Africa

2) Vliv velikosti populace (genetického driftu) na přesnost výpočtů:

- vliv genového posunu je nezanedbatelný na přesnost výpočtu
- avšak údaje jsou velmi daleko od afrického předka starého 2 miliony let

I po korekcích na velikost populace zůstává podpora modelu nahrazení.

Poznámka:

- vezmeme-li v úvahu i **Templetonův model „Out Africa again and again“**
- pak je po přepočtech **výrazná podpora** pro něj (druhá migrační vlna před 400 000 až 800 000 lety; ??*Homo heidelbergensis*??)

Názory proti podpoře modelu Out of Africa

3) Vliv přírodního výběru

- pokud vycházíme z fenotypové variability, pak je nutné si uvědomit do jaké míry je podobnost mezi dvěma populacemi odrazem společného předka (původu) a do jaké míry je výsledkem **konvergence v důsledku přírodního výběru**
- budeme-li uvažovat o mutacích v mtDNA jako o **evolučně neutrálních**, pak **lze vliv přírodního výběru zanedbat**
- v opačném případě:
 - museli bychom vědět, jak velká část rozmanitosti žijících populací byla **smazána** působením přírodního výběru v neprospěch „škodlivých mutací“
 - jinak by byly naše údaje **podhodnoceny a společný předek by tak žil mnohem dříve než se nyní domníváme**

Názory proti podpoře modelu Out of Africa

4) Spolehlivost maternální dědičnosti mtDNA:

- některé studie naznačují, že mtDNA může být významnou měrou přenášena také od mužů a může zde probíhat také rekombinace (Shitara *et al.*, 1998; Awadalla *et al.*, 1999)
- pokud by to tak bylo, pak získané výsledky jsou velmi vratké

avšak:

- ad.: Shitara *et al.* - testováno na mezidruhových hybridech myší
 - mtDNA nebyla ve všech tkáních
 - v další generaci už pouze samičí mtDNA= pravděpodobně jen důsledek mezidruhového křížení
- ad.: Awadalla *et al.* - později se objevuje několik článků, které **závěry** Awadalla *et al.* **zpochybnily** - chyby v datech, metodách analýzy a interpretační zmatky

= **dědičnost mtDNA však asi bude ještě potřeba spolehlivě prověřit**

V současné době probíhá tzv. „**Genographic Project**“
(www.nationalgeographic.com/genographic) [odkaz](#)

NATIONAL GEOGRAPHIC Already Have An Account? [Sign In](#) >

THE GENOGRAPHIC PROJECT ABOUT NEWS RESULTS BUY THE KIT RESOURCES ▾

The Human Story

Join The Project To Learn About Your Story

Since its launch in 2005, National Geographic's Genographic Project has used advanced DNA analysis and worked with indigenous communities to help answer fundamental questions about where humans originated and how we came to populate the Earth. Now, cutting-edge technology is enabling us to shine a powerful *new* light on our collective past. By participating in the latest phase of this real-time scientific project, you can learn more about yourself than you ever thought possible. You will also help support the Genographic Legacy Fund, which works to conserve and revitalize indigenous cultures around the world.

Using Ancient DNA to Uncover the Hidden History of Patagonia

Genographic Project scientists head to the southern tip of Chile to analyze dozens of ancient human skeletons to gain a better sense of the country's earliest known settlers and our shared ancient ancestry.

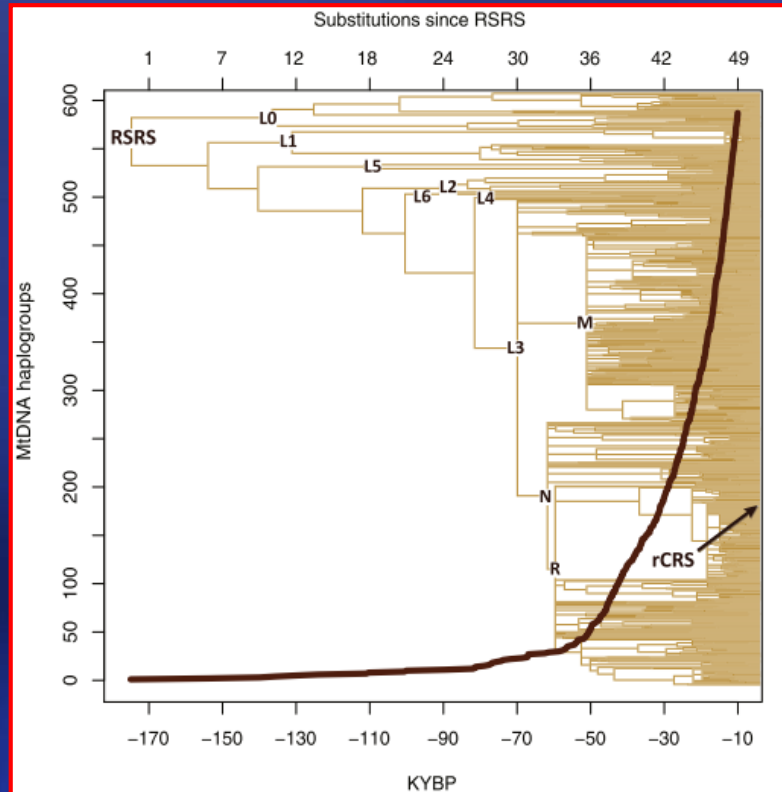
[Learn More](#)

705 343 PARTICIPANTS IN THE GENOGRAPHIC PROJECT

IN OVER 140 COUNTRIES

- cílem je vytvořit celosvětovou, rozsáhlou, veřejně přístupnou databázi mtDNA
- u každého vzorku je přímým sekvencováním analyzována oblast HVS-I a dále 22 SNP v kódující oblasti
- projekt byl spuštěn začátkem roku 2005
- na začátku se do něj přihlásilo přes 188 000 dobrovolníků a více než 55 000 také zaslalo svoji DNA pro analýzu mtDNA nebo MSY (studium variability chromozomu Y), zatím převládají vzorky z USA a Západní Evropy (95 % databáze)
- v polovině roku 2007 (Behar *et al.*, 2007) bylo analyzováno již 78 590 různých mtDNA
- spuštěn projekt 2.0
 - analyzuje se 150 000 markerů v kompletní DNA
 - umožňuje popsat vlastní dávnou historii mateřskou, otcovskou
 - migrační vlny
 - zjišťuje příměs neandrtálské a děnisovanské DNA
 - analyzováno již téměř 581 000 vzorků DNA

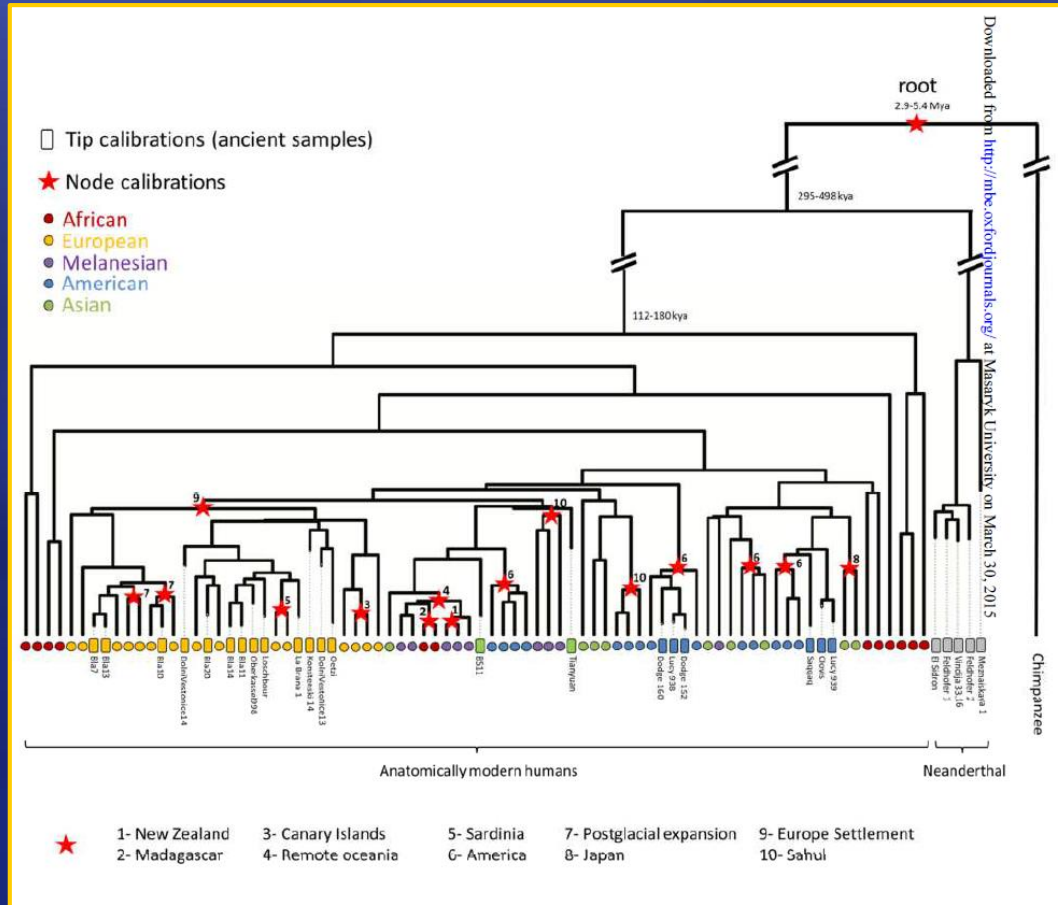
Výsledky dalších aktuálních studií mtDNA



Behar *et al.*, 2012

- **Behar *et al.* - 18 843 kompletních sekvencí mtDNA** (z toho je 8 216 z dobrovolnické genealogické databáze Family Tree DNA = zejména západní euroasijský původ)
- jako „**outgroup**“ poprvé použita **mtDNA Neandrtálce**
- **stáří společného předka** moderního člověka přepočteno na ~ **177 000 let**

Výsledky dalších aktuálních studií mtDNA

Rieux *et al.*, 2014

- **Rieux *et al.*** – využili nejnovější údaje o **mutační rychlosti** (substitucí), do jejíž výpočtů (vedle lidské a šimpanzí) byla **zahrnuta i mutační rychlost** stanovená **v archaických sekvencích** (celkem 146 archaických mitochondriálních genomů)
- **stáří společného předka** moderního člověka přepočteno na ~ **143 000 let** (112 000 – 180 000 let)

Celkový závěr

mtDNA lze použít jako bohatý zdroj genetických informací pro evoluční studie, avšak s nevýhodou studia pouze evoluce ženské části populací.