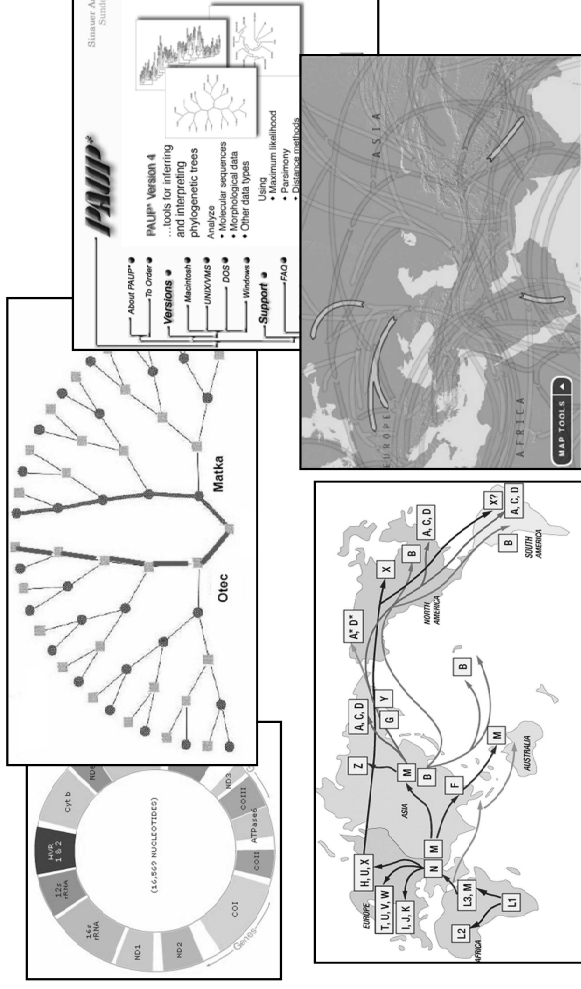


Hledání našeho společného předka



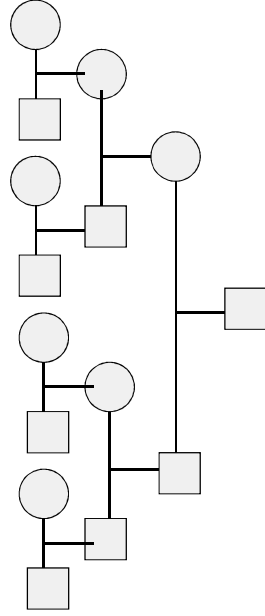
Hledání našeho společného předka

- 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

Hledání našeho společného předka

Jak to, že máme společného předka?

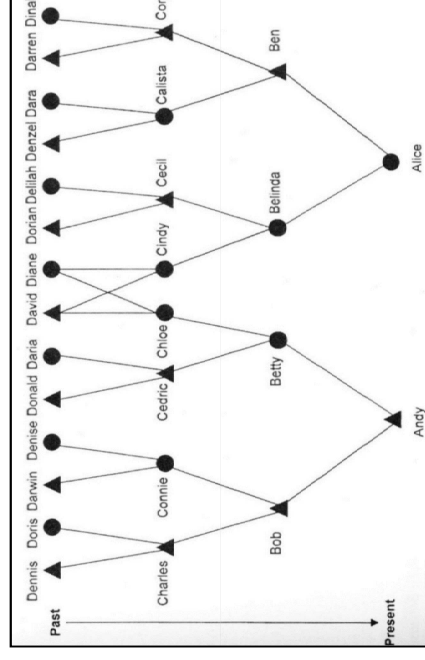
- každý máme dva společné předky v předchozí generaci = rodiče
- v další generaci 4 (babičky a dědečky, prarodiče) a v další již 8 (prababičky a pradědečky, praprarodiče), atd.
- počet předků v generaci n je tedy 2^n



- 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 $7,0 \times 10^9$)

Hledání našeho společného předka

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

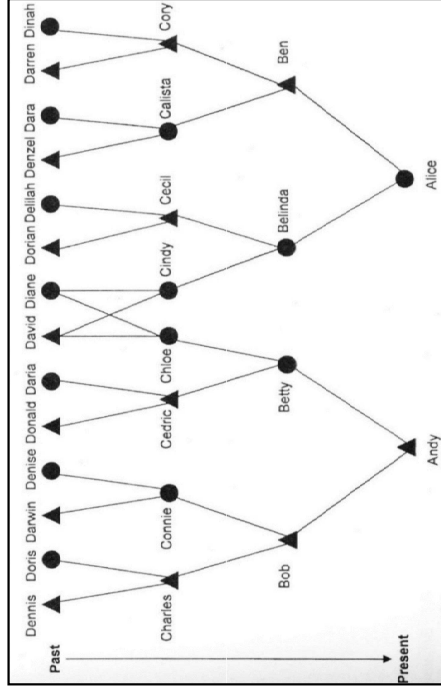


místo $2^4 = 16$, je to jen 14

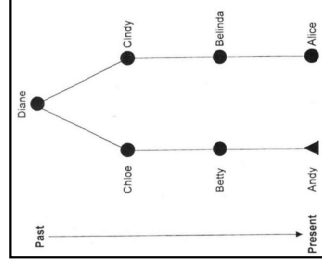
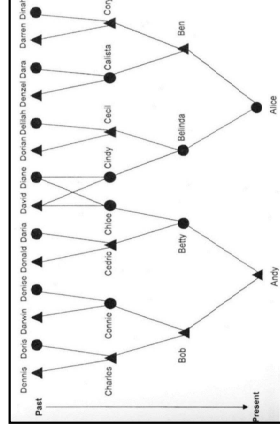
- čím jdeme **více do historie**, tím častěji budeme narážet na příbuzenská propojení a **počet předků se tak bude dít a dít výrazněji snižovat**

Hledání našeho společného předka

- 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.

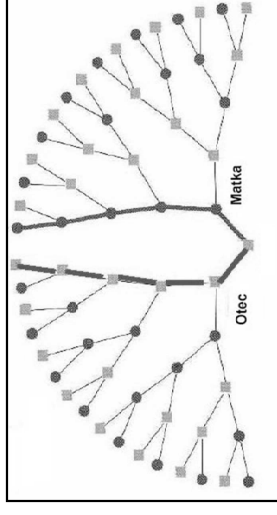


- počet takto studovaných příbuzných se nám výrazně zmenší

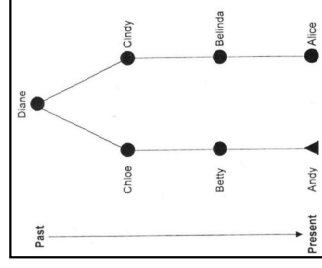
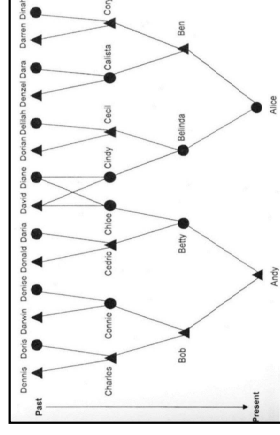


Hledání našeho společného předka

- 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)

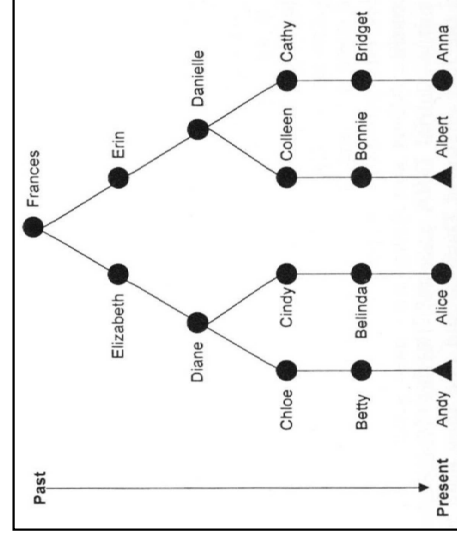
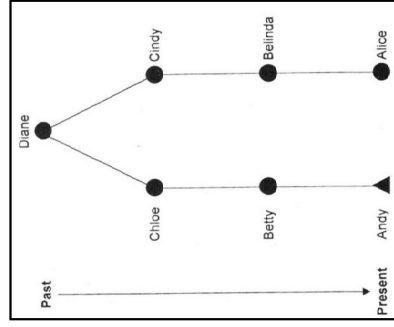


- počet takto studovaných příbuzných se nám výrazně zmenší



Hledání našeho společného předka

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



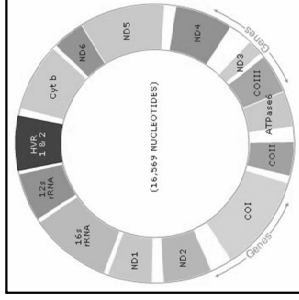
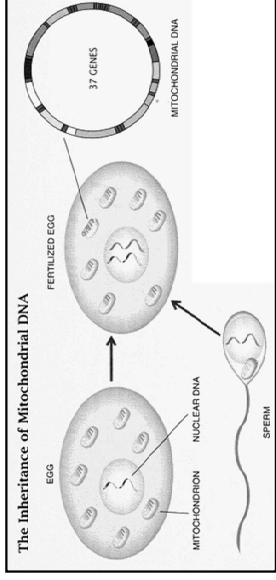
- obdobná situace u rozsáhlejšího rodokmene méně příbuzných jedinců

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

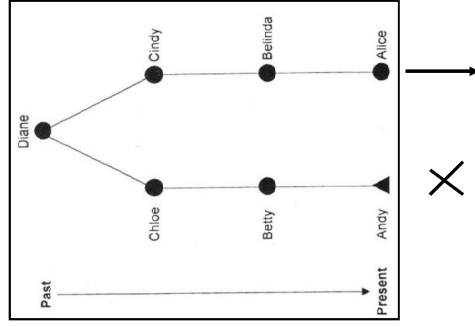
Hledání našeho společného předka

Mitochondriální DNA (mtDNA) člověka



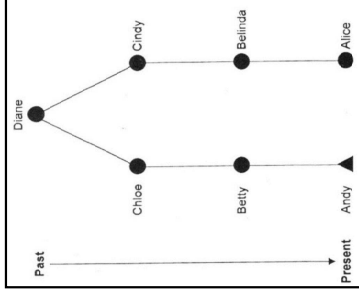
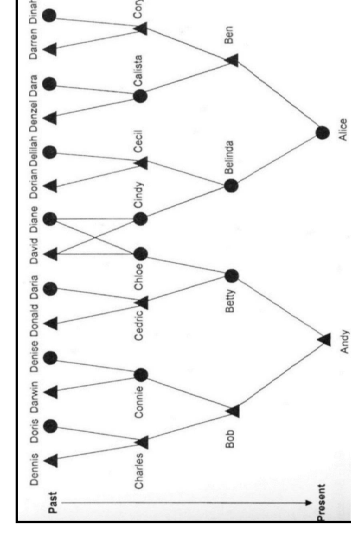
- součástí mitochondrií
- kruhová molekula DNA o průměrné velikosti 16 569 pb, dnes známe kompletní sekvenci
- 5-10 molekul v jedné organelle, 1 000 až 10 000 mitochondrií v buňce
- 37 různých genů, dědí se jako celek

- **neprobíhá rekombinace, mění se pouze procesem mutace**
- **vysoká mutační rychlost** (až 10násobná oproti jaderné DNA)
- **maternální dědičnost**



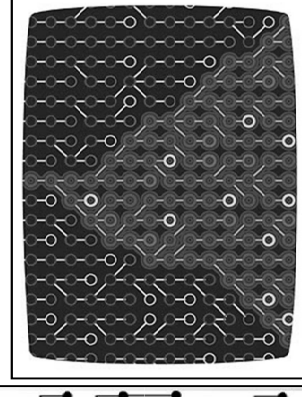
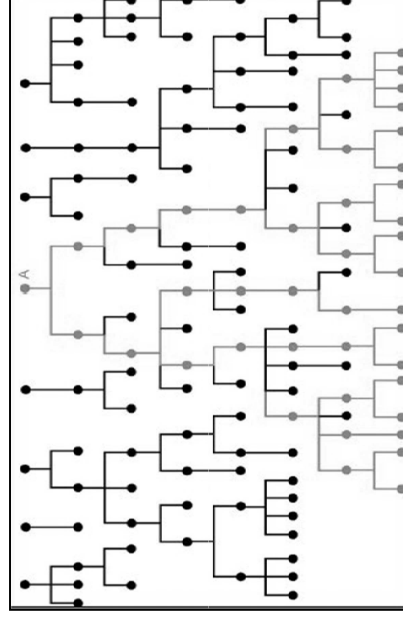
- Andy a Alice, mají pouze jediného předka – neboli jejich **společným předkem je Diana**, žijící před třemi generacemi
- v další generaci se mtDNA tohoto společného předka bude předávat už pouze v rodokmenu Alice, protože Andy jako muž mtDNA do dalších generací nepředává
- stejně tak se přenos zastaví,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

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



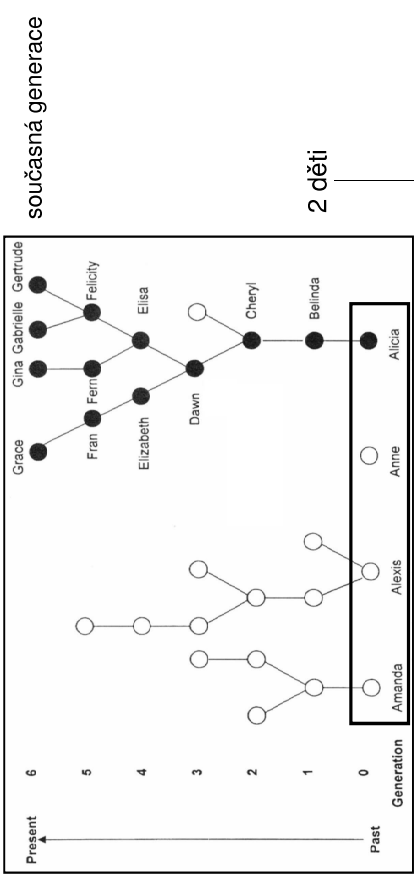
Hledání našeho společného předka

Hledání našeho společného předka



- vzhledem k tomu, že dostupnému **zanikání a předávání mtDNA** pouze přes ženskou linii, jsme nakonec schopni v daleké minulosti dospět až k jedině ženě – společnému předku, jejíž mtDNA se přenášela nejdéle – „**pramátí Eva**“
- některé mtDNA linie tak zanikají a jiné se přenášejí 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 obrazy

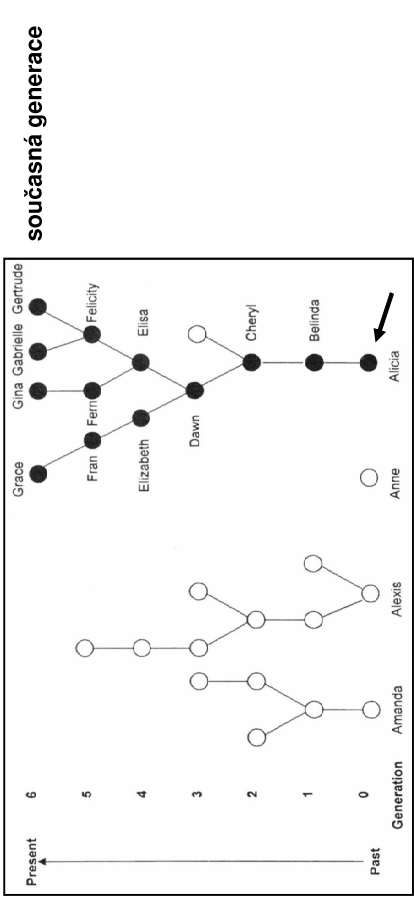
Hledání našeho společného předka



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

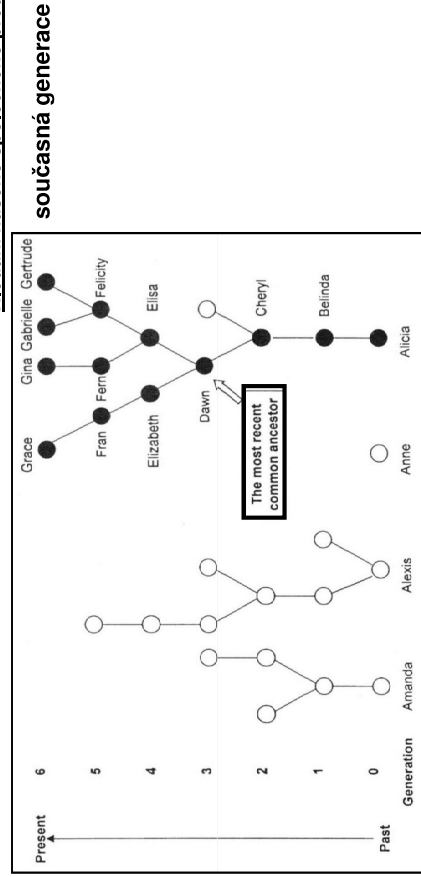
- simulaci začínáme někde v minulosti se čtyřmi ženami – Amandou, Alexis, Anne a Alicí
- každé se narodí dvě děti (C-chlapec, D-děvče)
- mtDNA Ann zaniká – má pouze chlapce
- u ostatních žen se přenáší do další generace, protože mají alespoň jedno děvče

Hledání našeho společného předka



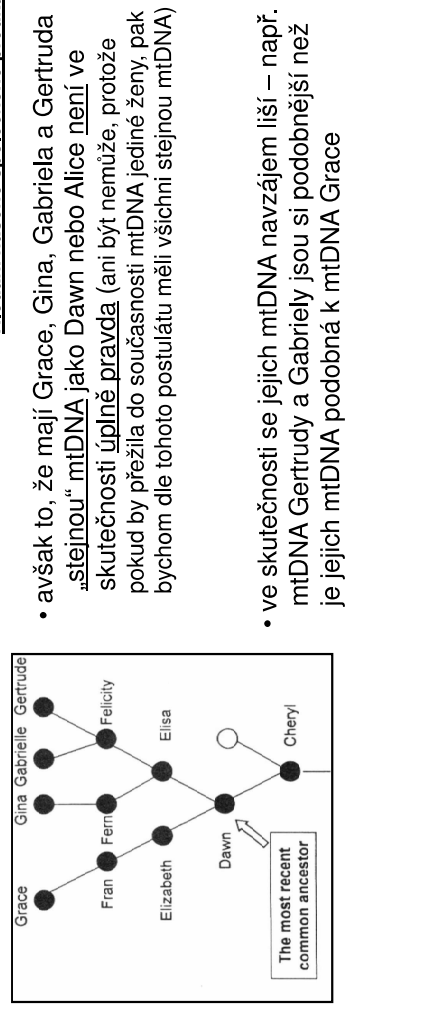
- v každé generaci se pak situace opakuje
- po šesti generacích vidíme, že se zachovala mtDNA pouze Alice, jejíž potomci měli v každé generaci alespoň jednu dceru
- u Grace, Giny, Gabriely a Gertrudy nalezneme „stejnou“ mtDNA jakou měla Alice

Hledání našeho společného předka



- 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)

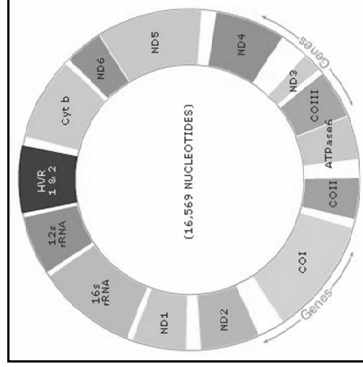
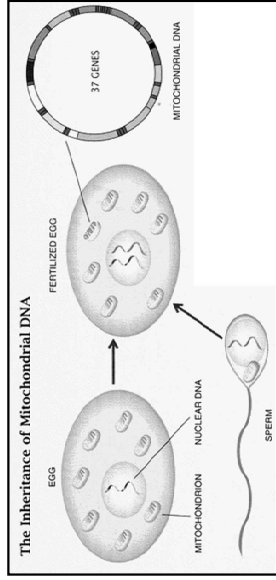
Hledání našeho společného předka



- 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

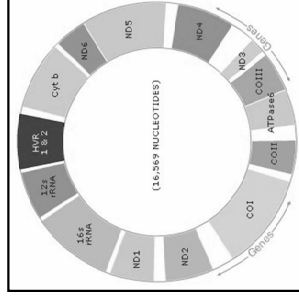
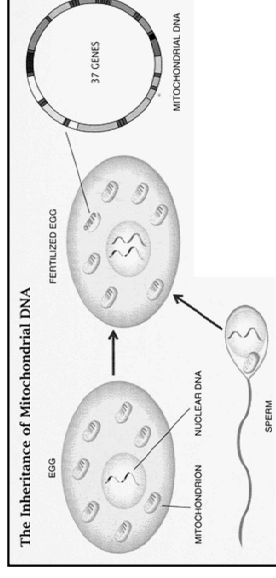
Hledání našeho společného předka



Kde v mtDNA mutace hledáme:

- kódující region x kontrolní region HVR (regulace replikace mtDNA, HVSI a HVSI1)
- kódující region – lze analyzovat pomocí RFLP, specifickou sadou restričních enzymů
- kontrolní region – variabilita studována přímým sekvencováním

Hledání našeho společného předka



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**

Hledání našeho společného předka

Haplotypy x haploskupiny

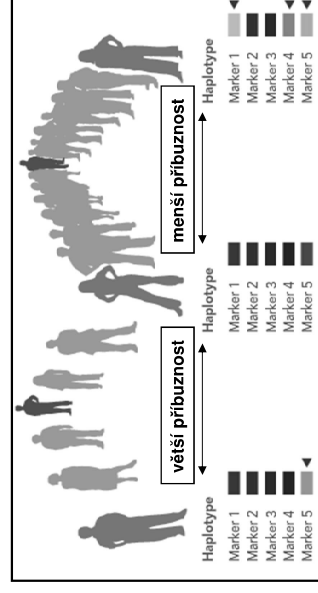
Lze si to přiblížit na analogii se značkou aut:

- na světě existuje mnoho automobilek – Škoda, Ford, Honda apod.
- každá vyrábí mnoho různých modelů – např. Škodovka – Fabia, Octavia; Honda – Civic, Accord = **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)**



Hledání našeho společného předka

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)



Hledání našeho společného předka



Haploskupiny lidské mitochondriální DNA (mtDNA)

Poslední společný předek (mtDNA)	
L0	L1
L2	L3 L4 L5 L6 L7
M	N
CZ D E G O A I	R S W X Y
C Z	B F ^{pre-HV} ^{pre-JT} P UK
	HV ^{pre-HV} JT U K
	H V J T

Haploskupiny chromozómu Y lidské DNA (Y-DNA)

Poslední společný předek (Y-DNA)	
A	DR
B	CR
C DE	F
D E	G H U K
	I J L M NO P
	N O Q R

Hledání našeho společného předka

Haplotypy x haploskupiny

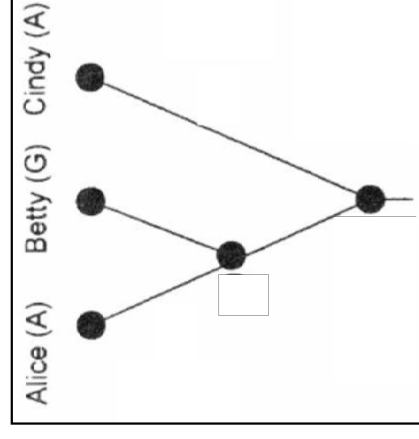
- na základě haplotypů a haploskupin jsme schopni určit, ke které linii daní jedinci **náleží** (hledáme příbuznost na základě rozdílů a podobností) = **identifikace společného předka**
- již víme - **selektivně neutrální mutace** – v čase se hromadí konstantní rychlostí = **molekulární hodiny**
- podle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

Hledání našeho společného 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

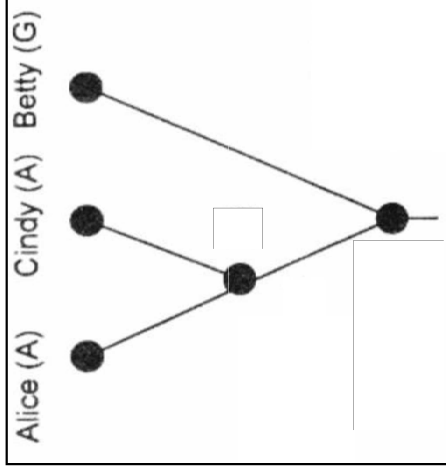
Variant 1



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

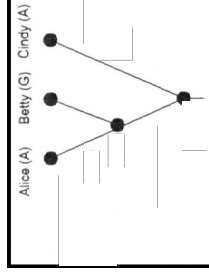
Hledání našeho společného předka

Varianta 2



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

Hledání našeho společného předka

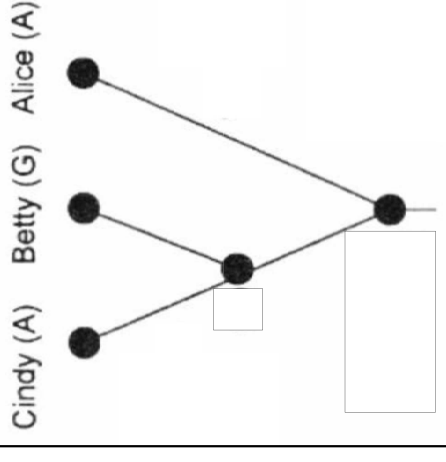


- Alice i Cindy nesou obě stejný nukleotid A, zatímco Betty má ve stejném místě G
- první možností je, že v minulosti došlo k jedné mutační události, kdy se pravděpodobně A zaměnil za G nebo naopak G za A
- druhou možností je, že již oba nukleotidy jsou mutací nějakého jiného nukleotidu = dvě mutační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

Ockhamova břitva – budeme uvažovat jednu mutační událost

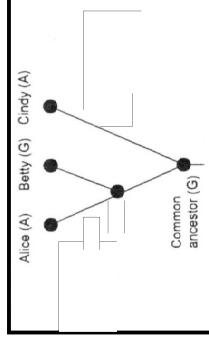
Hledání našeho společného předka

Varianta 3



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

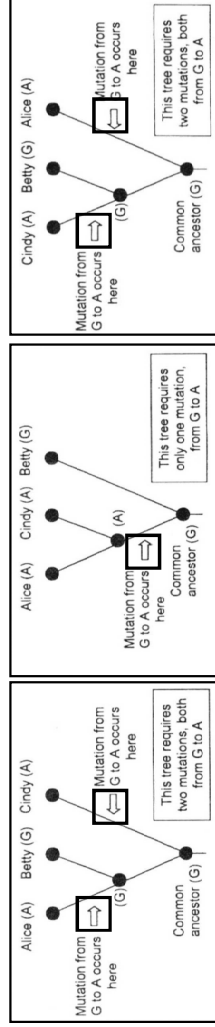
Hledání našeho společného předka



Který z těchto stromů je nejpravděpodobnější 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 blízké příbuzné skupiny jedinců („outgroup“) – pro člověka je např. nejvhodnější šimpanz
- hypotetické srovnání se šimpanzi DNA nám odhalí, že původní je base G
- v našich třech uvažovaných stromech tedy máme nastaveno, že společný předek všech tří žen měl ve své sekvenci G

Hledání našeho společného předka



Který z těchto stromů je nejpravděpodobnější správný?

- první strom – Alice a Betty mají společného předka, který se odštěpil ze společného předka se Cindy
- víme, že původní byl v sekвени 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 postačí jediná mutační událost, která nastala u společného předka Alice a Cindy
- u třetího stromu opět potřebujeme dvě mutační události

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

Hledání našeho společného předka

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

např. Linda Vigilant a kol. analyzovali 135 mtDNA sekvenčí, 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)

The screenshot shows the PAUP software interface. The main menu includes: About PAUP, Versions, Microsites, UNIX/MS, DOS, Windows, Support, PAUP, Tech webpage, Downloads, Known problems, and Mail me. The main window displays a phylogenetic tree with various taxa and their relationships.

Hledání našeho společného předka

- takto však ve skutečnosti nepostupujeme, změna jediné báze v jedné sekвени je málo informativní – **vycházíme z mnoha změn na různých místech a také u většího vzorku jedinců**

- například pokud bychom analyzovali sekvenční rozdíl v jiné sekвени, mohl by jako pravděpodobnější vyjít např. strom č. 1

- pokud však budeme uvažovat více sekvenčí, 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 sekvenče (každá sekvenče od jednoho jedince), pak jsou 3 možné stromy, ale při 4 odlišných **sekvenčích** už je počet možných **stromů 15** atd.

Počet DNA sekvenčí	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	$2,8 \times 10^{76}$

Hledání našeho společného předka

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

např. u společného předka máme sekвени CAGT, ale následně došlo ke dvěma změnám – u jedné linie mutoval A na C a v jiné následně linii A na T = máme tedy dvě následovnícké linie se sekvenčí 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

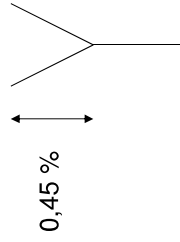
- po úspěšné konstrukci vývojového stromu se dále snažíme odpovědět na otázku:

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 %.



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 osídili svět podle mtDNA a chromozomu Y
- 7) Další analýzy a co z toho vyplývá
- 8) Haploskupiny mtDNA a chromozomu Y v ČR

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“)

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 poskytl 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

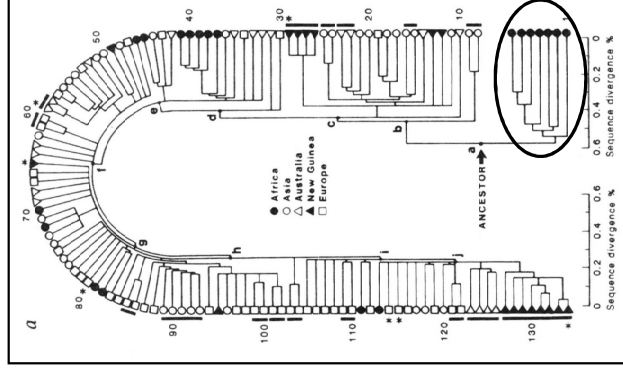
- společný africký předek je však v souladu jak s hypotézou nahrazení, tak i s multiregionálním modelem
- dávný africký předek (*Homo erectus*) je zřejmý v obou modelech
- avšak africký model počítá s ještě jedním mladším předkem
- oba základní modely se tedy liší názorem na to, **jak a kdy** k tomu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

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

Hledání našeho společného předka



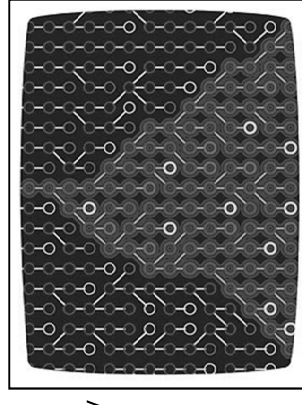
Výsledek 2

- 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**

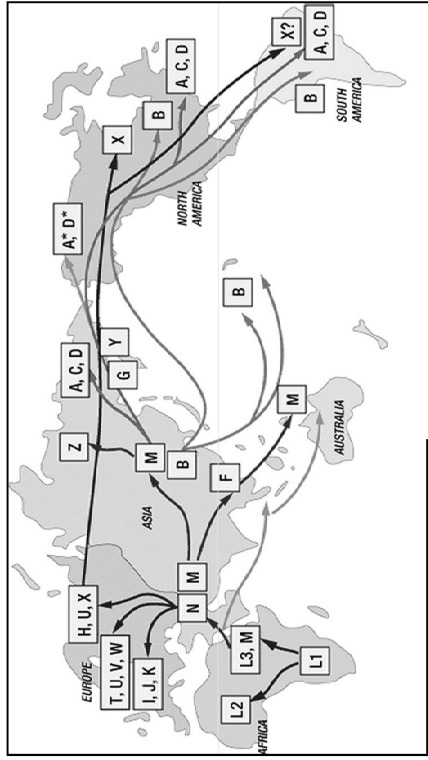


mtDNA moderních lidí pochází od společného předka, který žil v Africe před zhruba 200 000 lety.

- 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 polevku, 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



Hledání našeho společného předka



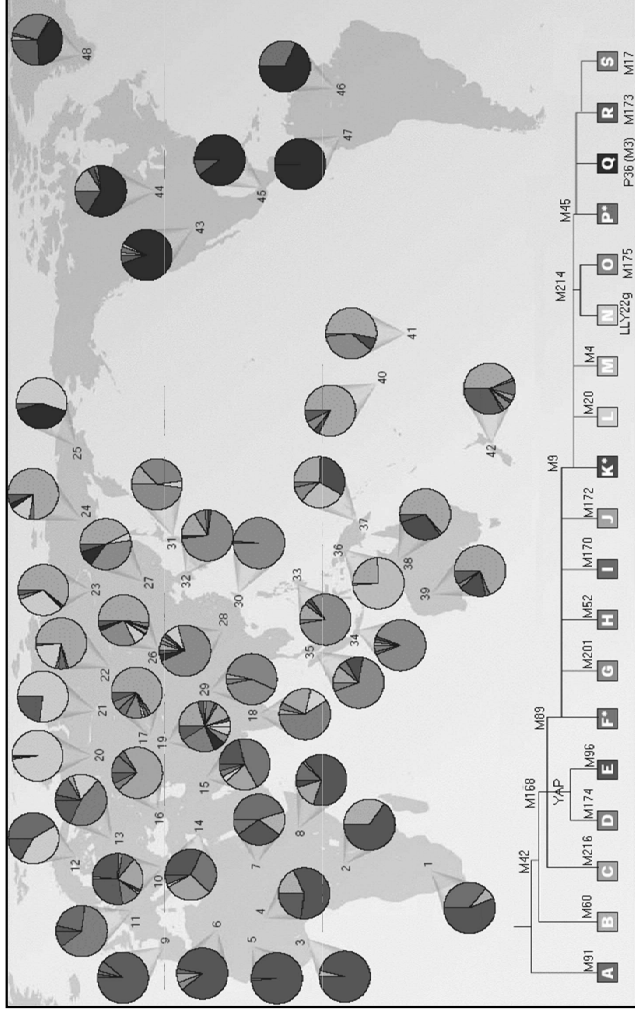
3 v Africe (haploskupiny L1, L2 a L3)

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 - Xentie)

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

Hledání našeho společného předka

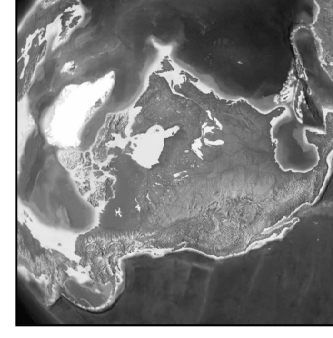


Problém č. 1

Analyza 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



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**Analyza 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 Bantuským jazykem **stejně velká jak v jaderném genomu, tak i v mtDNA a chromozomu Y** (důsledek jen dvě století probíhající migrace)
- **může mít vliv** – např. jihoaasijské 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**
 - **staří 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 bp
 - **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. 1**Analyza 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 Bantuským jazykem **stejně velká jak v jaderném genomu, tak i v mtDNA a chromozomu Y** (důsledek jen dvě století probíhající migrace)
- **může mít vliv** – např. jihoaasijské 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**

- 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**)

Závěr 1 – o původu

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

Závěr 2 – datování

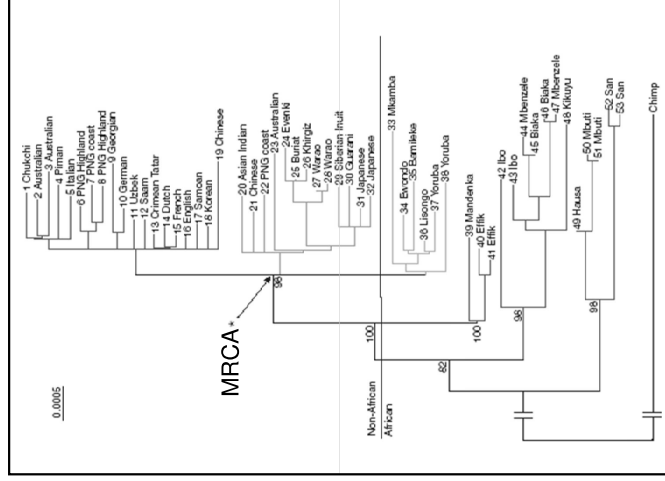
- **MRCA před 221 500 až 121 500 let, průměr 171 500 let**
(odchylka je dána výrazně odlišnou mutační rychlostí v kontrolní a kódující oblasti)

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

Ingman a kol. 2000 (Nature)



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 inzercce, delece, amplifikace = bereme v úvahu **veškerý mutační tlak** – dříve prezentované výsledky jsou tedy reprezentativnější = **námítku lze zamítnout**

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)

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 fosilii orangutana)

Nové metody:

- **na základě celogenomového mapování u novorozenců 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)

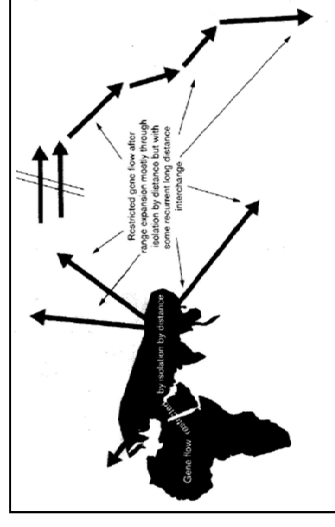
- rychlost mutací u mikrosatelitů
 - **1 mutace na 1,2 miliardy až 1 mutace na 2,0 miliardy** bází za rok
- rychlost mutací studiem rodokmenů
 - **1,24 mutace na 1 milion** bází za rok (3x rychlejší)

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 podpoře modelu Out of Africa

- A) **odlišnost afrických populací** od ostatních nemusí být důsledkem nahrazení, ale příčinou může být **omezovaný genový tok** v důsledku **prostorové izolace**
- jsou-li populace příliš vzdálené, neprobíhá genový tok a výsledek vypadá jako při nahrazení jedné populací jinými



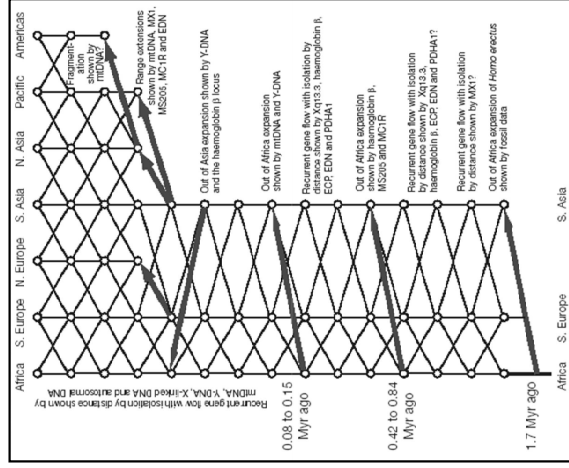
Templeton 1997, Current Opinion in Genetics & Development

- 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**

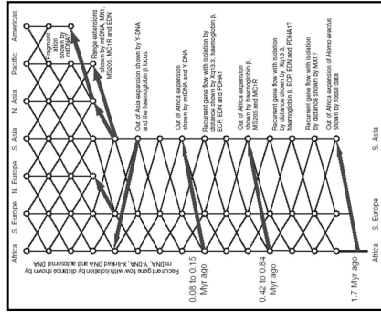
- první expanze proběhla před 1,7 miliony let – *Homo erectus*
- druhá vlna před 800 až 400 000 lety
 - a) expanze *Homo heidelbergensis* (předek neandrtálců)
 - nebo
 - b) možná migrace jiného předka neandrtálců a moderního člověka
- třetí vlna před asi 150 000 lety



Názory proti modelu Out of Africa

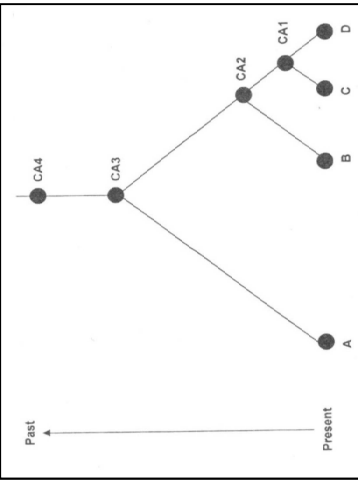
Templetonovy výsledky svědčí o **opakovaném genovém toku** (expanze z Afriky a následné křížení) v průběhu posledních 2 milionů let:

- podporují africké genetické kořeny = moderní člověk se mohl rozšířit z Afriky, avšak nejen odtud = Eva mohla žít kdekoli
- 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 výpočtu:



- Př.: sledujeme 4 mtDNA sekvence A, B, C a D, vzájemné genealogické sekvenci vazby mezi nimi jsou vyjádřeny jako CA1, CA2 a CA3 označují společné předky, místo koalescence (splnutí)
- 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**

Názory proti podpoře modelu Out of Africa

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

Přepočítání 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
- přepočít údaje 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 výpočtu:

- 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

4) Spolehlivost maternální dědičnosti mtDNA:

- některé studie naznačují, že mtDNA může být významnou měrou přenašena 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 **meziidruhových hybridních** myši
 - mtDNA **nebyla ve všech tkáních**
 - **v další generaci už pouze samičí mtDNA**= pravděpodobně jen důsledek meziidruhového 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**

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

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

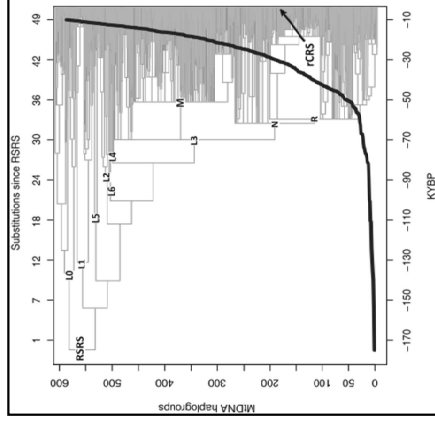
- cílem je vytvořit celosvětovou, rozsáhlou, veřejně přístupnou databázi mtDNA
- u každého vzorku je primárním sekvencováním analyzována oblast HVS-I a dále 22 SNP v kódující oblasti

- 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

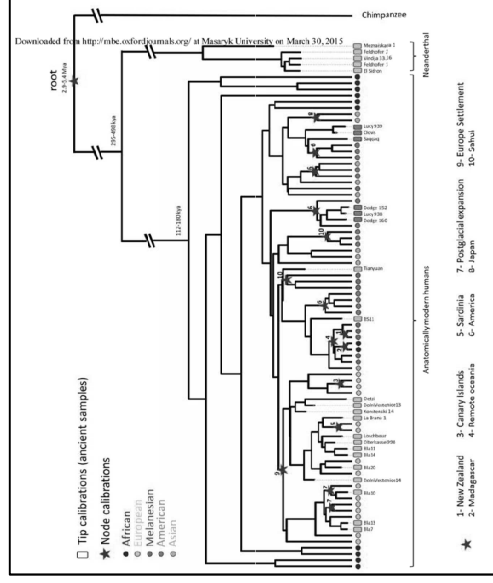
Výsledky dalších aktuálních studií mtDNA



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 výpočtu (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 nevhodou studiá pouze evoluce ženské části populací.