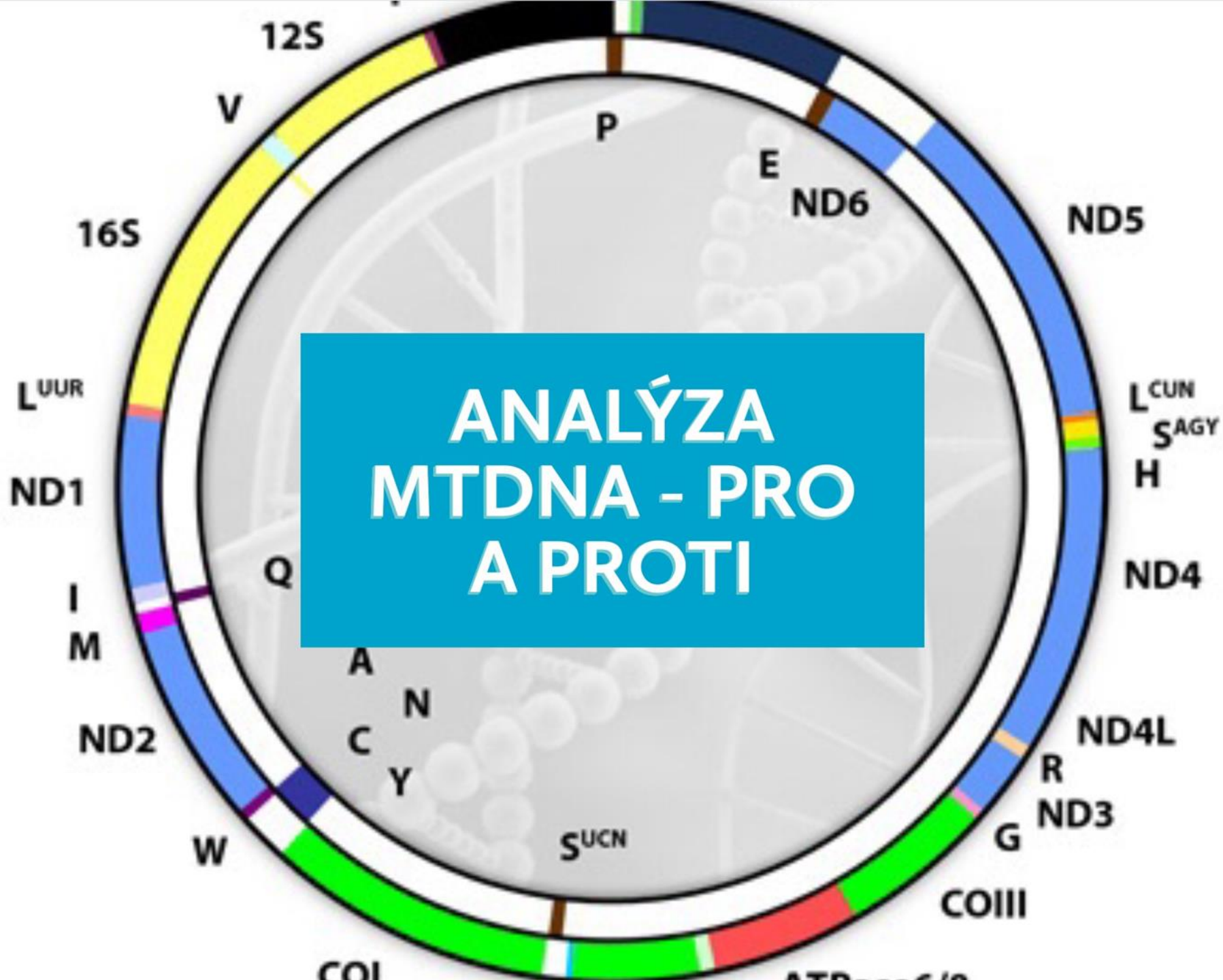


ANALÝZA MTDNA - PRO A PROTI



Analýza mtDNA - pro a proti

- 1) Názory proti výsledkům analýzy mtDNA**
- 2) Názory proti modelu Out of Africa**

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

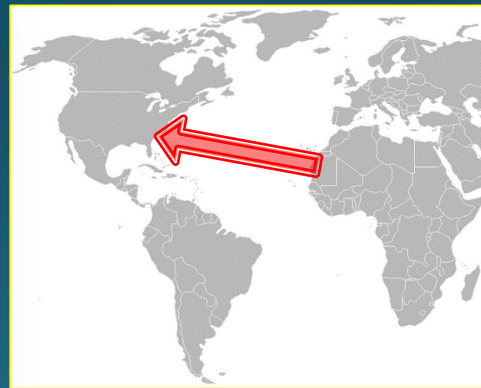


Zajímavost – ani s chromozomem X to není lehké

- u současných Afroameričanů je v případě chromozomu X větší příspěvek afrického původu, než bychom očekávali ($1/3$ od mužů + $2/3$ od žen)

pravděpodobně důsledek asymetrických sexuálních kontaktů:

- četnějších mezi americkými otrokáři a africkými otrokyněmi = větší příspěvek ženského X
- převaha mužů mezi otroky = příspěvek mužského X je větší než $1/3$



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.***
 - použili i šimpanzí mtDNA („outgroup“)
 - **odhadnutá mutační rychlost** od současného člověka ke společnému předku **byla 2,87 %** odlišností (v předchozí výpočty 2 až 4 %)
 - **stáří společného předka moderního člověka mezi 166 000** (předek se šimpanzem žil před 4 miliony let) **až 249 000 lety** (předek před 6 miliony let)
 - s průměrem kolem **208 000 let** (x Cann *et al.* s průměrem kolem 214 000 let)

Problém č. 2

Přesnost datování – odhad mutační rychlosti

- **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 sekvenční 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)**

Problém č. 2

Přesnost datování – odhad mutační rychlosti

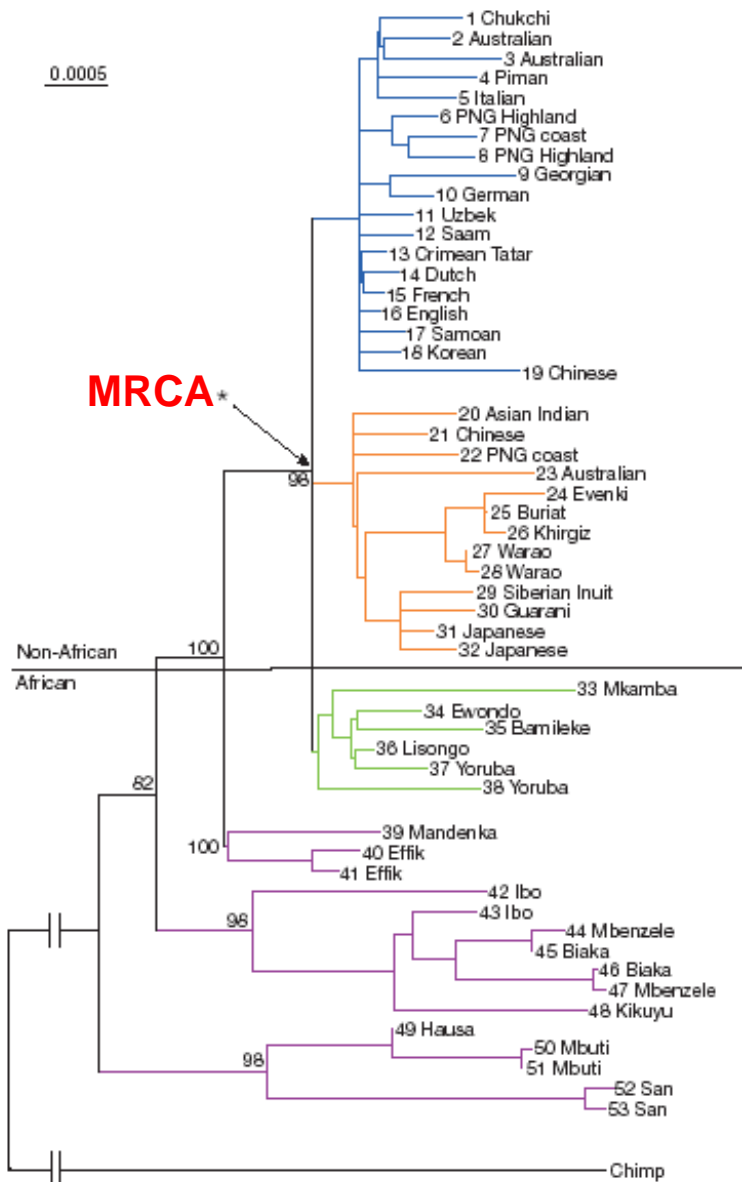
- první studie z roku 1987, Cann *et al.*
 - kalibrace pomocí **archeologických dat**
 - četnost mutací **2 - 4 % za milion let**
 - **stáří Evy** 285 000 - 143 000 let, průměr je **214 000 let**

- 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.***
 - použili i šimpanzí mtDNA („outgroup“)
 - **odhadnutá mutační rychlost** od současného člověka ke společnému předku **byla 2,87 %** odlišností (v předchozí výpočty 2 až 4 %)
 - **stáří společného předka moderního člověka mezi 166 000** (předek se šimpanzem žil před 4 miliony let) **až 249 000 lety** (předek před 6 miliony let)
 - s průměrem kolem **208 000 let** (x Cann *et al.* s průměrem kolem 214 000 let)

Problém č. 2

Přesnost datování – odhad mutační rychlosti

- **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 sekvenční 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 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.)

Analýza mtDNA - pro a proti

- 1) **Názory proti výsledkům analýzy mtDNA**
- 2) **Názory proti modelu Out of Africa**

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

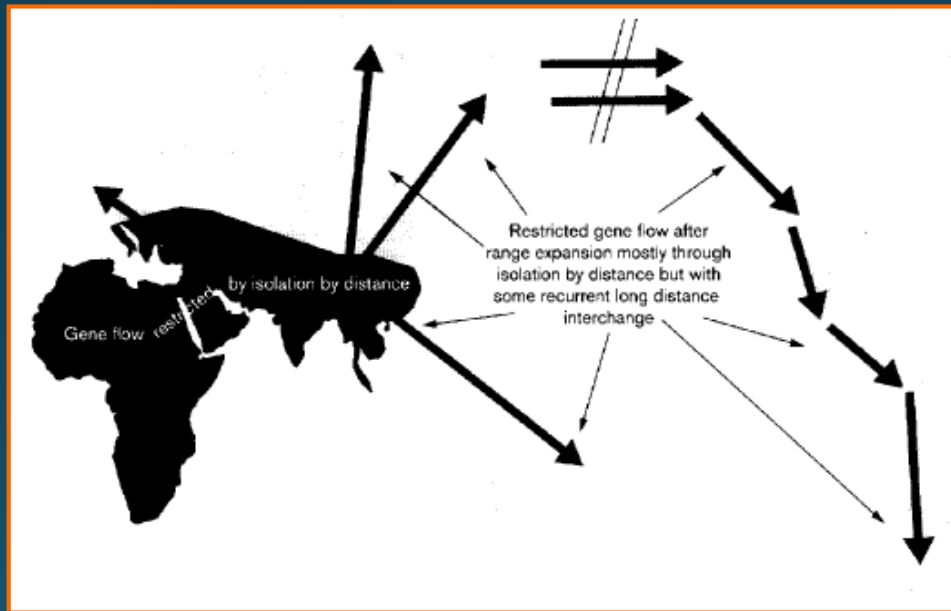
Otázka interpretace genetických stromů (Alan Templeton, 1993, 1997, 1998)

- získané genetické stromy nemusí odpovídat populačním stromům
 - avšak řada studií až do současnosti ukazuje na vysokou korelaci mezi genetickými a populačními údaji = **námitku 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 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



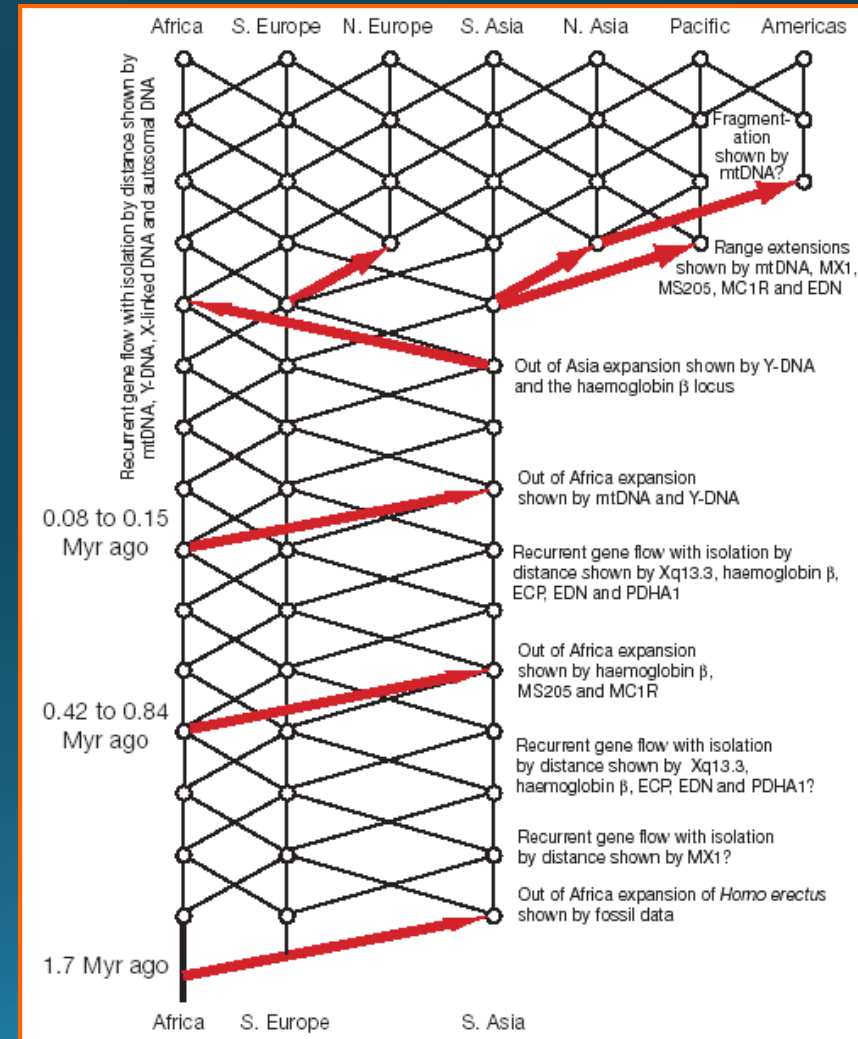
Templeton 1997, Current Opinion in Genetics & Development

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 modelu Out of Africa

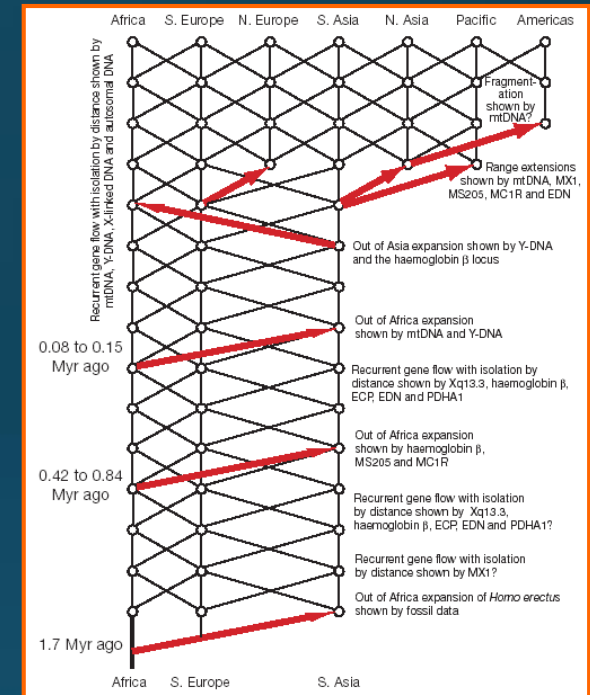
- Templeton (2002) dále uvádí, že jeho nové analýzy genetických stromů (kombinuje až 10 různých znaků) ukazují na **několik migrací z Afriky s neustálým genovým tokem**
- **první expanze** proběhla před 1,7 miliony let – *Homo erectus*
- **druhá vlna** před 800 až 400 000 lety
 - a) expanze *Homo heidelbergensis*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



Názory proti modelu Out of Africa

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

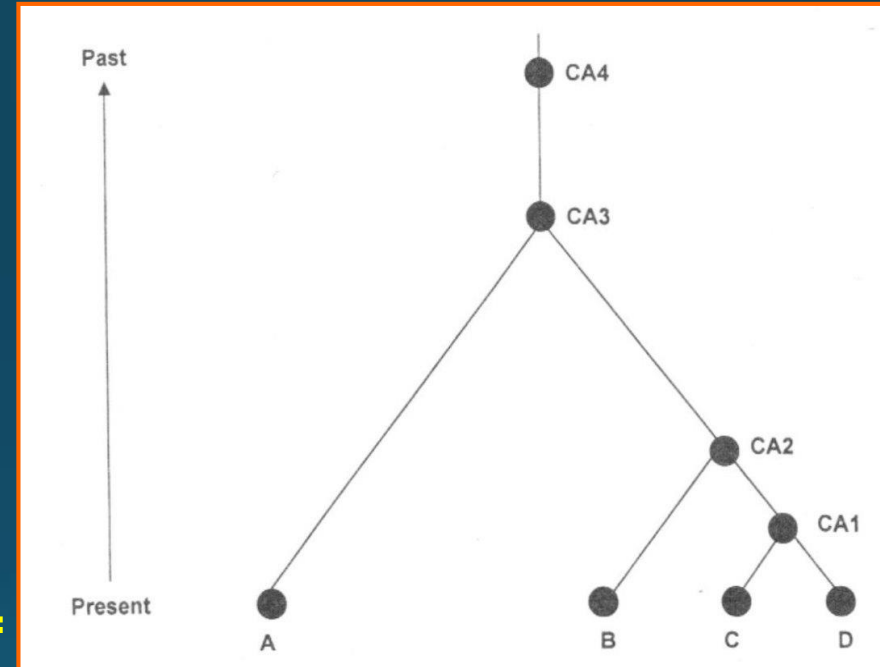
- podporují africké genetické kořeny = moderní člověk se mohl rozšířit z Afriky, avšak nejen odtud = **Eva mohla žít kdekoliv**
- do jisté míry **podporuje multiregionální model**
 - opakované migrace s genovým tokem vedou ke stejnému výsledku, tedy africkému původu, přestože je původ ve skutečnosti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



Názory proti 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 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 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 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 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**