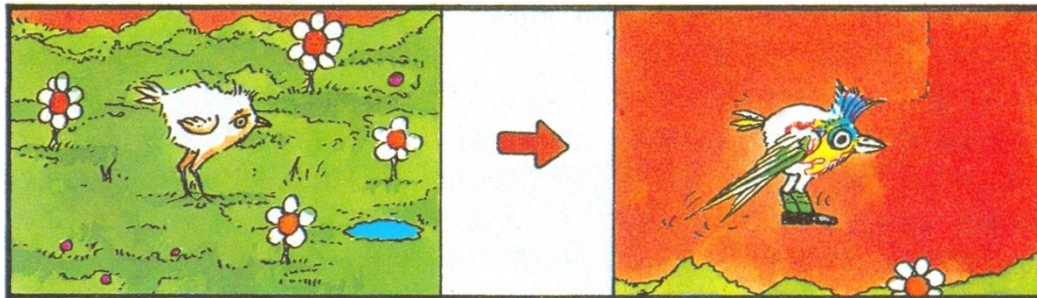
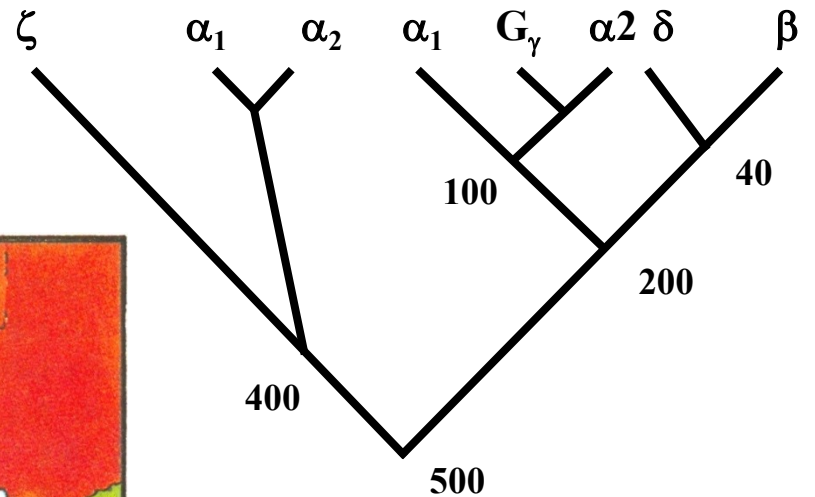
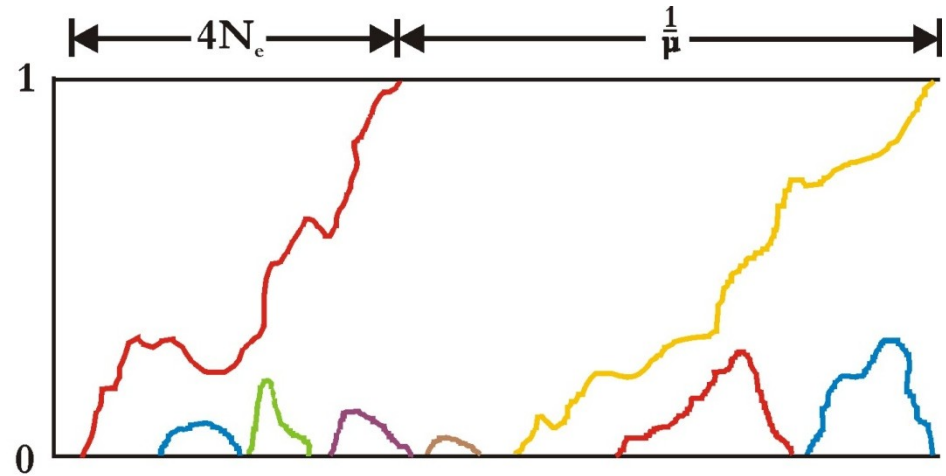


MOLEKULÁRNÍ EVOLUCE



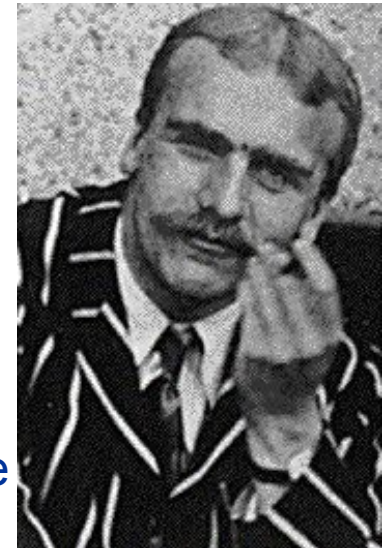
Substituční zátěž a selekční náklady

substitute = nahrazení jedné alely jinou (tj. fixace nově vzniklé alely)

jestliže se jedinec během svého života nerozmnoží, označujeme to jako jeho genetickou smrt

J.B.S. Haldane (1957):

prospěšná mutace → fixace výhodné alely a nahrazení alely nevýhodné dokud původní alela existuje v populaci, průměrná fitness nižší než fitness maximální

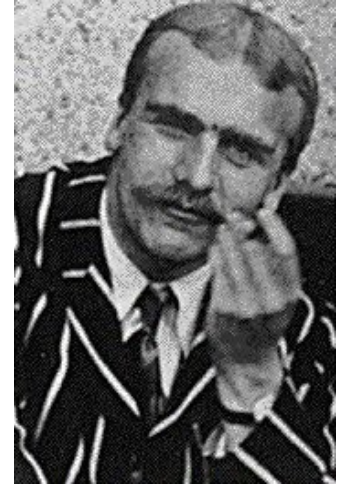


J.B.S. Haldane

substituční zátěž^{*)}: $L = 1 - \bar{w}$ při $\bar{w} = w_{\max}$ $L = 0$

obecně

$$L = \frac{w_{\max} - \bar{w}}{w_{\max}}$$



měří, do jaké míry je průměrný jedinec v populaci méně zdatný než nejlepší genotyp

vyjadřuje pravděpodobnost, že průměrný jedinec zemře před svou reprodukcí

^{*)} mutační zátěž: vznik nevýhodné alely; segregační zátěž: náklady na homozygoty při superdominanci (zvýhodnění heterozygotů)

Selekční náklady:

Nahrazení jedné alely v populaci za druhou si můžeme představit jako „selektivní smrt“ původní alely

Čím je intenzita selekce vyšší, tím větší množství původní (nevýhodnější) alely je v každé generaci z populace vyřazeno („zemře“)

Pokud by selekce byla příliš silná, mohla by způsobit extinkci celé populace \Rightarrow nutná nadprodukce potomstva

např. jestliže poměr nepřeživších a přeživších alel 0,1/0,9 každý přeživší jedinec by musel vyprodukovat 1 1/9 potomstva,
ale jestliže poměr 0,999/0,001 \rightarrow ~1000 potomků navíc!

Haldane: horní limit selekčních nákladů \approx substituce 1 genu/300 generací

\Rightarrow **evoluce nemůže probíhat moc rychle, selekční náklady by byly příliš vysoké**

64 kodonů

20 aminokyselin

		Second position					
		U	C	A	G		
First position (5'-end)	U	UUU <i>phe</i>	UCU	UAU <i>tyr</i>	UGU <i>cys</i>	U	Third position (3'-end)
		UUC	UCC <i>ser</i>	UAC	UGC	C	
		UUA	UCA	UAA <i>Stop</i>	UGA <i>Stop</i>	A	
		UUG	UCG	UAG <i>Stop</i>	UGG <i>trp</i>	G	
C	CUU <i>leu</i>	CCU	CAU <i>his</i>	CGU	U	U	
	CUC	CCC <i>pro</i>	CAC	CGC	C		
	CUA	CCA	CAA <i>gln</i>	CGA	A		
	CUG	CCG	CAG	CGG	G		
A	AUU	ACU	AAU <i>asn</i>	AGU <i>ser</i>	U	C	
	AUC <i>ile</i>	ACC <i>thr</i>	AAC	AGC	C		
	AUA	ACA	AAA <i>lys</i>	AGA <i>arg</i>	A		
	AUG <i>met</i>	ACG	AAG	AGG	G		
G	GUU	GCU	GAU <i>asp</i>	GGU	U	C	
	GUC <i>val</i>	GCC <i>ala</i>	GAC	GGC	C		
	GUA	GCA	GAA <i>glu</i>	GGA	A		
	GUG	GCG	GAG	GGG	G		

Initiation Termination

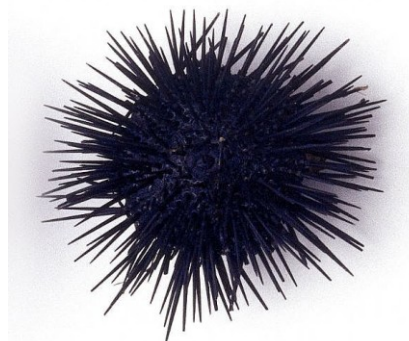
nadbytek synonymních nukleotidových záměn → hlavně na 3. pozici

M. Kimura (1977): sekvence mRNA člověka a králíka →
z 53 nukleotidových pozic 6 rozdílů, z nich jen 1 nesynonymní
× teoreticky by pouze 24 % rozdílů mělo být synonymních



podobně M. Grunstein (1976):

evoluční rychlost histonu H4 u 2 druhů mořských ježovek
84 bp mtDNA → 9 z 10 rozdílů synonymních



NEUTRÁLNÍ TEORIE MOLEKULÁRNÍ EVOLUCE

Moderní syntéza: debata selekce vs. drift

začátek 60. let 20. stol. → sekvence aminokyselin v proteinech

1966: elektroforéza proteinů

Richard Lewontin a Jack Hubby - *Drosophila pseudoobscura*;

Harry Harris - člověk

→ vysoká úroveň polymorfismu

Data získaná do konce 60. let naznačovala, že:

Rychlost molekulární evoluce je příliš vysoká

Rozsah genetické proměnlivosti v populacích je příliš vysoký

... obojí by vyžadovalo vysoké selekční náklady \Rightarrow
polymorfismus nemůže být udržován selekcí

Evoluce na molekulární úrovni probíhá konstantním tempem

Vyšší evoluční rychlost u funkčně méně důležitých částí
molekuly, v nekódujících oblastech a v pseudogenech

Proč v populacích tak velký polymorfismus?

Motoo Kimura: protože jsou alely neutrální, trvá mnoho generací než nová mutace dospěje k fixaci – během té doby je populace nutně polymorfní = přechodný polymorfismus

Často během přechodu k fixaci dojde v dané alele k další mutaci ⇒ v dostatečně velké populaci bude v každém okamžiku velké množství variability

Populace je v rovnováze driftu a mutace



M. Kimura

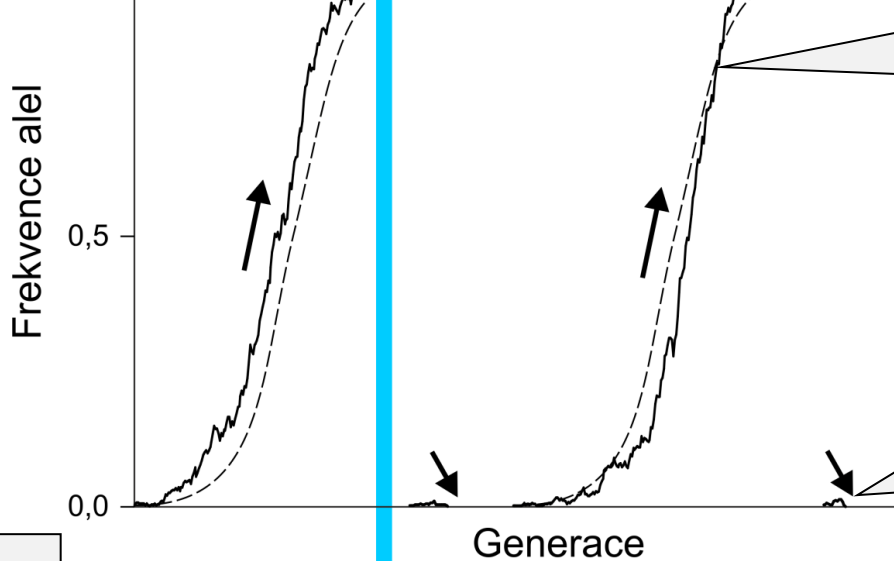
M. Kimura (1968)

J.L. King & T.H. Jukes (1969)



neutrální teorie
molekulární evoluce

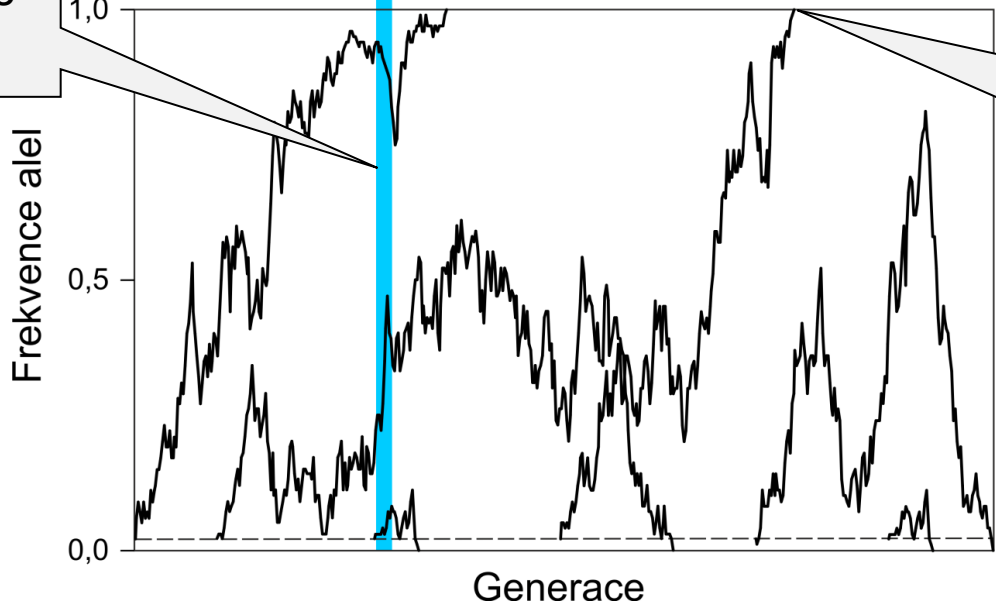
většinou jen 1 alela
v populaci



rychlá fixace
výhodné mutace

rychlá eliminace
nevýhodné mutace

současná existence
několika alel

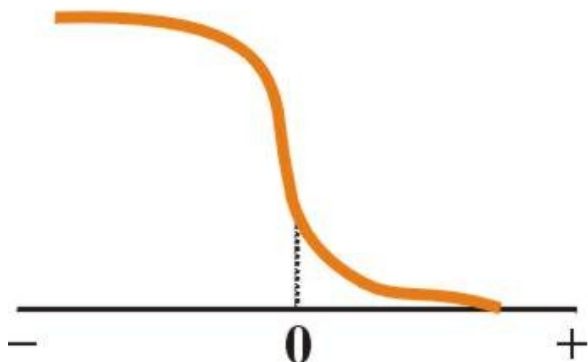


neutrální alela
se fixuje
náhodně

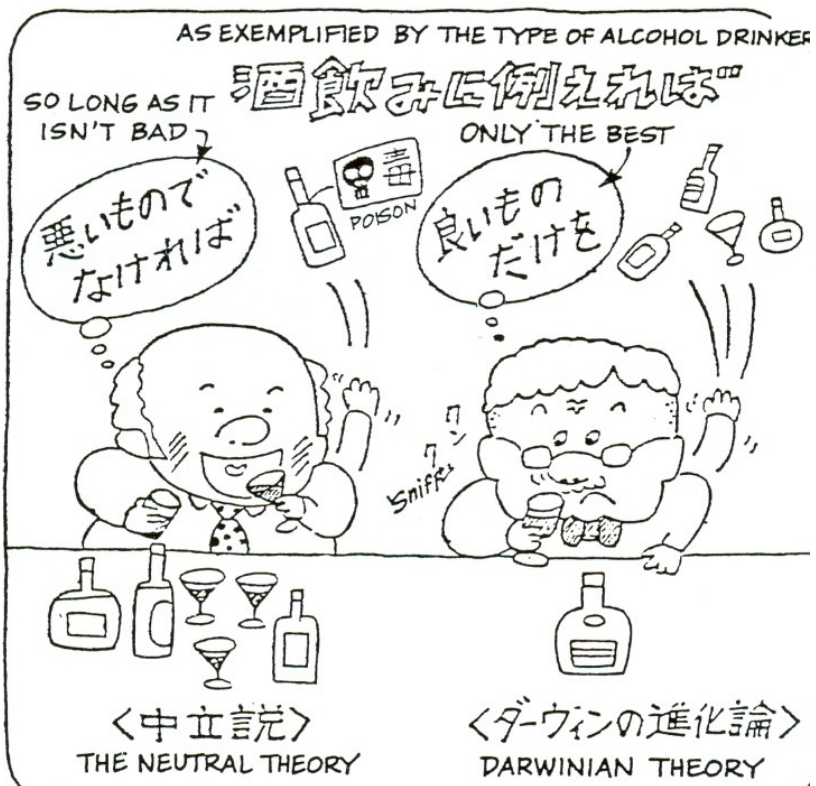
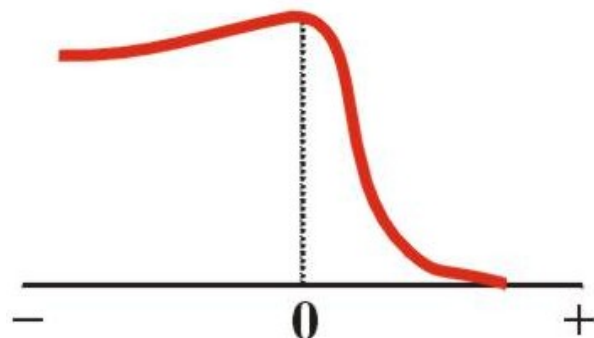
Základní postuláty neutrální teorie:

1. většina substitucí alel v populaci je neutrální (\Rightarrow drift)

selekcionismus

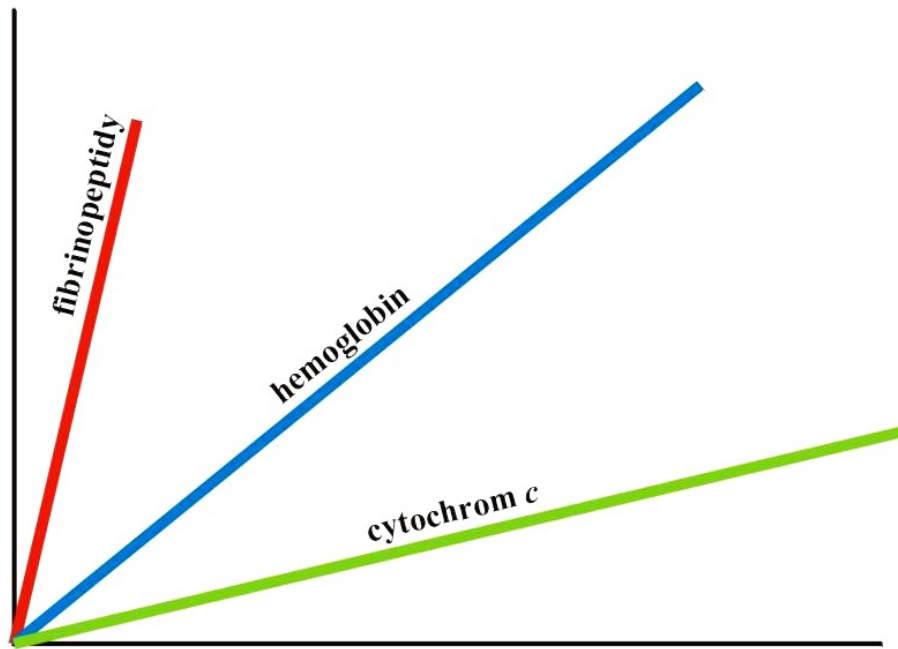


neutralismus



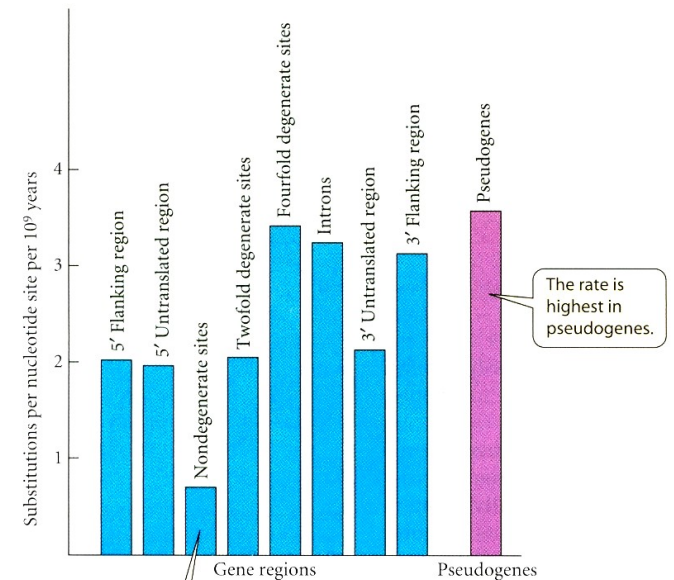
2. evoluční rychlost u různě důležitých proteinů se liší

Počet substitucí aminokyselin na 100 molekul



Doba divergence (miliony let)

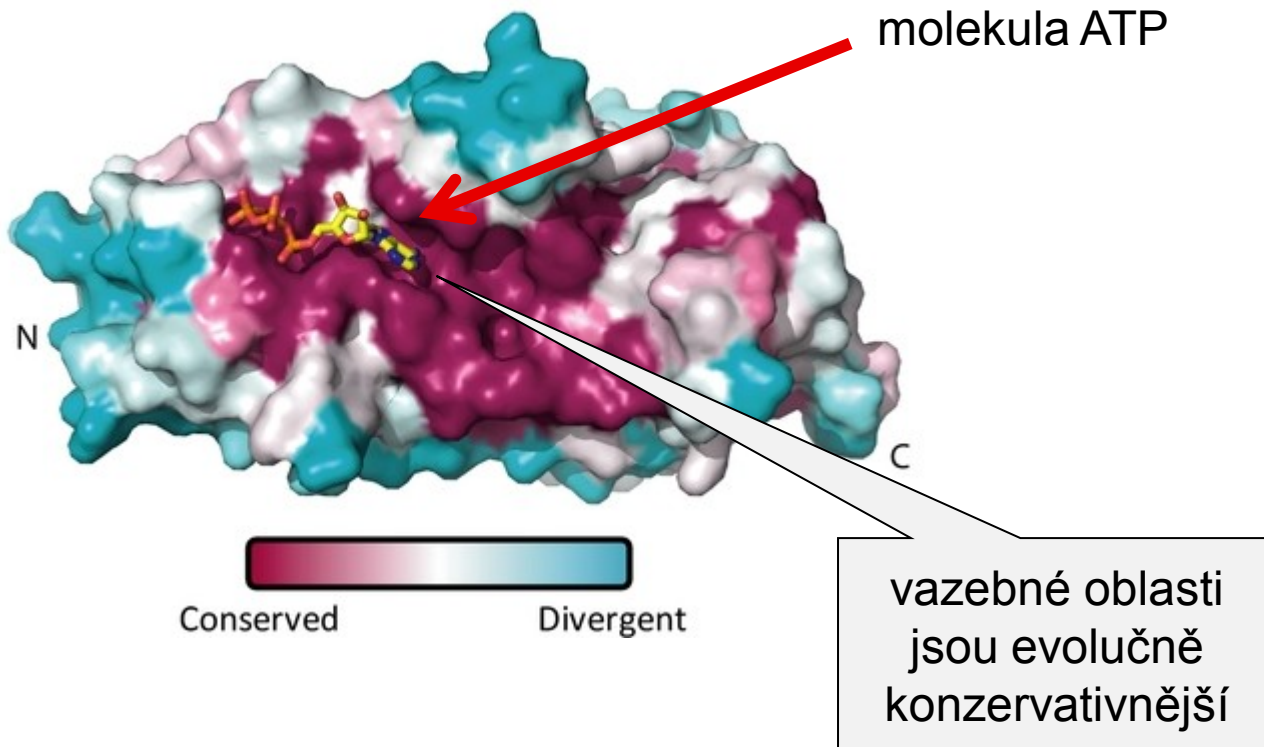
fibrinopeptidy	8,3
pankreatická ribonukleáza	2,1
lyzozym	2,0
alfa-globin	1,2
inzulin	0,44
cytochrom c	0,3
histon H4	0,01



Nucleotide substitution rates are lowest at nongenerate nucleotide positions, in which any mutation alters the amino acid specified.

3. rozdílná evoluční rychlost na různých částech proteinu (vazebná místa × strukturní oblasti)

Př.: transient receptor potential vanilloid (TRPV) channel protein:



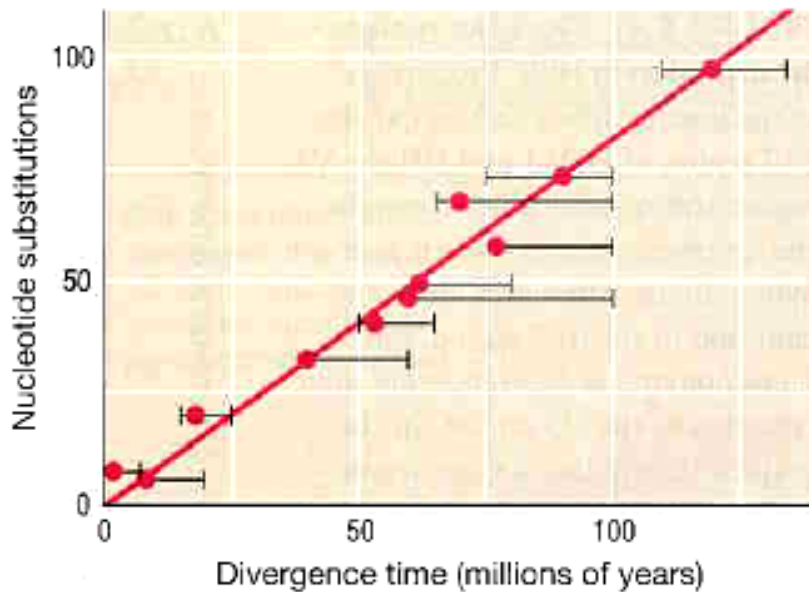
4. rozdílná evoluční rychlost na jednotlivých místech kodonu

Table 4. Relative frequencies of different types of mutational substitutions in a random protein-coding sequence.

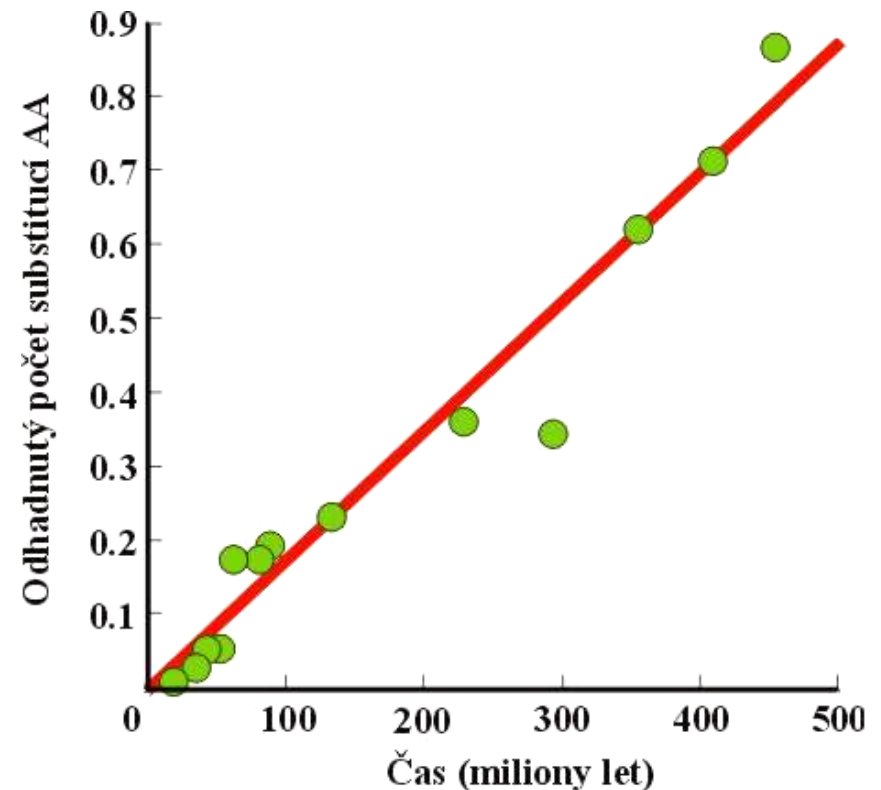
Substitution	Number	Percent
Total in all codons	549	100
Synonymous	134	25
Nonsynonymous	415	75
Missense	392	71
Nonsense	23	4
Total in first position	183	100
Missense	166	91
Nonsense	9	5
Total in second position	183	100
Missense	176	96
Nonsense	7	4
Total in third position	183	100
Missense	50	27
Nonsense	7	4

5. rychlost evoluce daného proteinu u různých druhů přibližně konstantní

Wilson (1977), savci, 7 proteinů:



Kimura (1983), obratlovci, α -globin:



převážně se netýká morfologických, fyziologických a behaviorálních znaků

nemůže vysvětlit vznik adaptací

mnoho škodlivých mutací, ty však rychle eliminovány selekcí

selekce působí i na molekulární úrovni, avšak většina mutací má velmi malý účinek na fitness \Rightarrow důležitá role driftu

Haldaneův odhad selekčních nákladů je nadhodnocený:

selekce většinou měkká, ne tvrdá

frekvenčně závislá selekce místo superdominance

selekce nepůsobí na jednotlivé lokusy odděleně (epistáze)

Teoretické principy neutrální teorie:

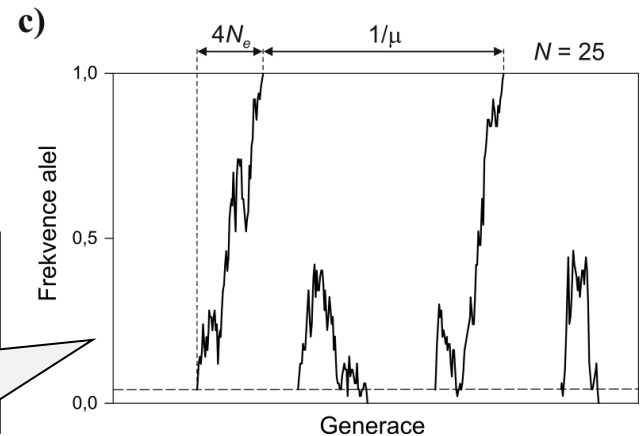
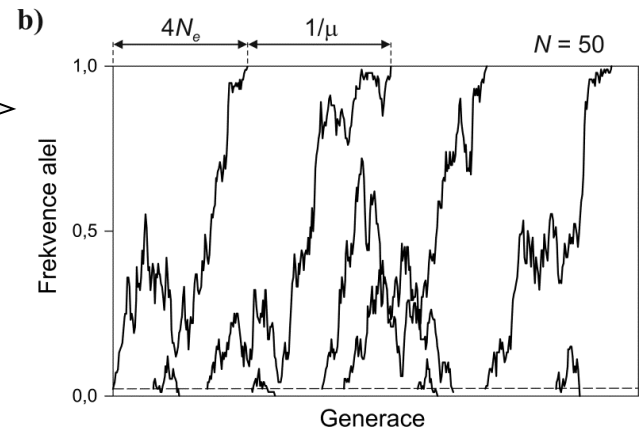
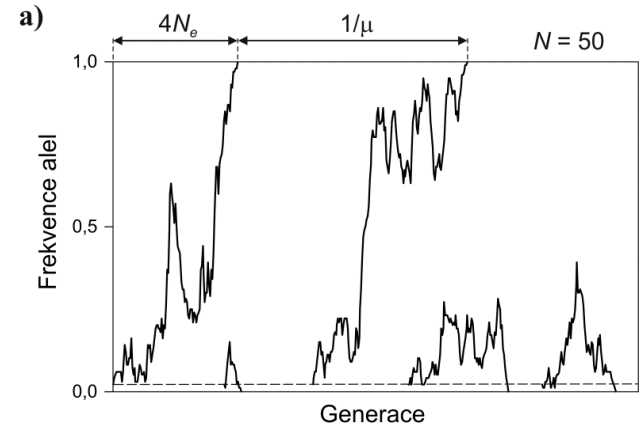
Průměrná doba fixace nové mutace
 $= 4N_e$

Průměrný interval mezi fixacemi
 $= 1/\mu$

středně velká
populace:
frekventovanější
mutace

V malé populaci rychlejší fixace, ale
delší interval mezi fixacemi:

malá populace:
mutace málo
frekventované



Teoretické principy neutrální teorie:

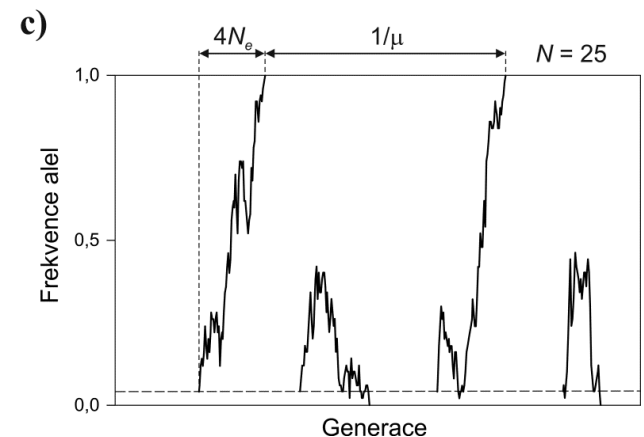
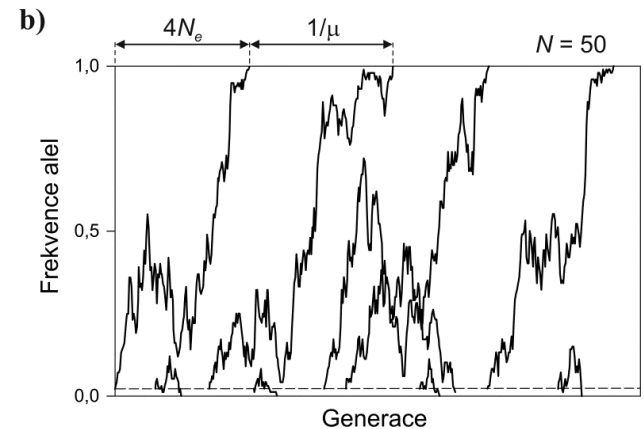
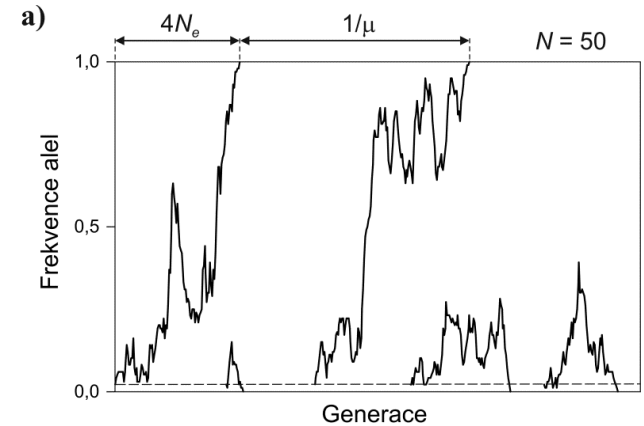
Pravděpodobnost fixace nové mutace
 $= 1/(2N_e)$

Průměrný počet neutrálních mutací/generaci
 $= 2N_e\mu$

Frekvence substituce (nahrazení jedné
alely za jinou v populaci):

$$1/(2N_e) \times 2N_e\mu = \underline{\mu}$$

⇒ rychlost neutrální evoluce není
závislá na N_e , ale jen na frekvenci
neutrálních mutací μ !



Teoretické principy neutrální teorie:

Průměrná rovnovážná heterozygotnost:

$$\frac{\theta}{\theta + 1}, \text{ kde } \theta = 4N_e\mu$$

větší populace
⇒ vyšší
heterozygotnost

neustálý vznik nových mutací ⇒ zvýšení proměnlivosti

× její eroze driftem

⇒ neustálé nahrazování jedné alely za druhou

Dochází k rovnováze mutace a driftu ⇒ polymorfismus
(na rozdíl od rovnováhy mutace a selekce) je přechodný

Frekvence neutrálních substitucí:

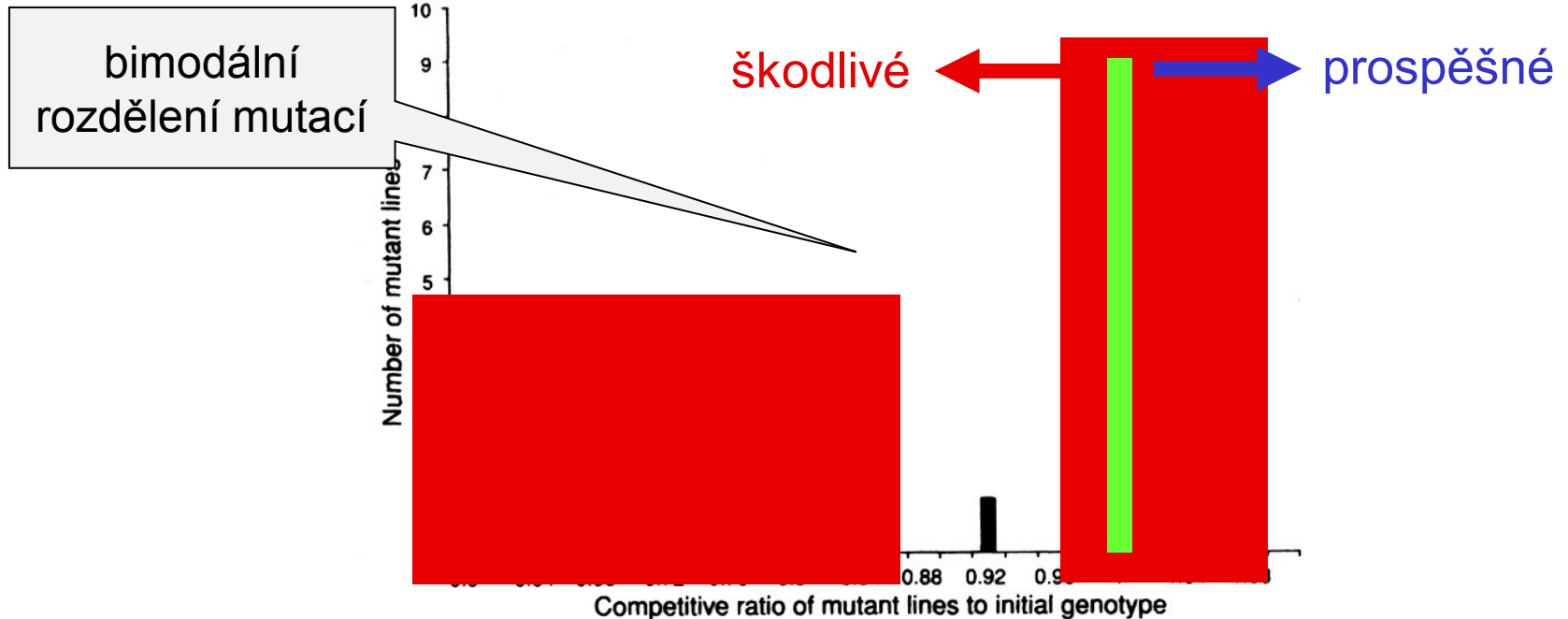
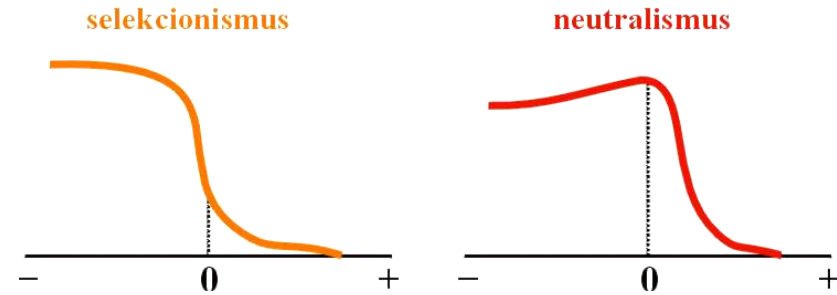
Zeyl & DeVisser (2001):

kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*

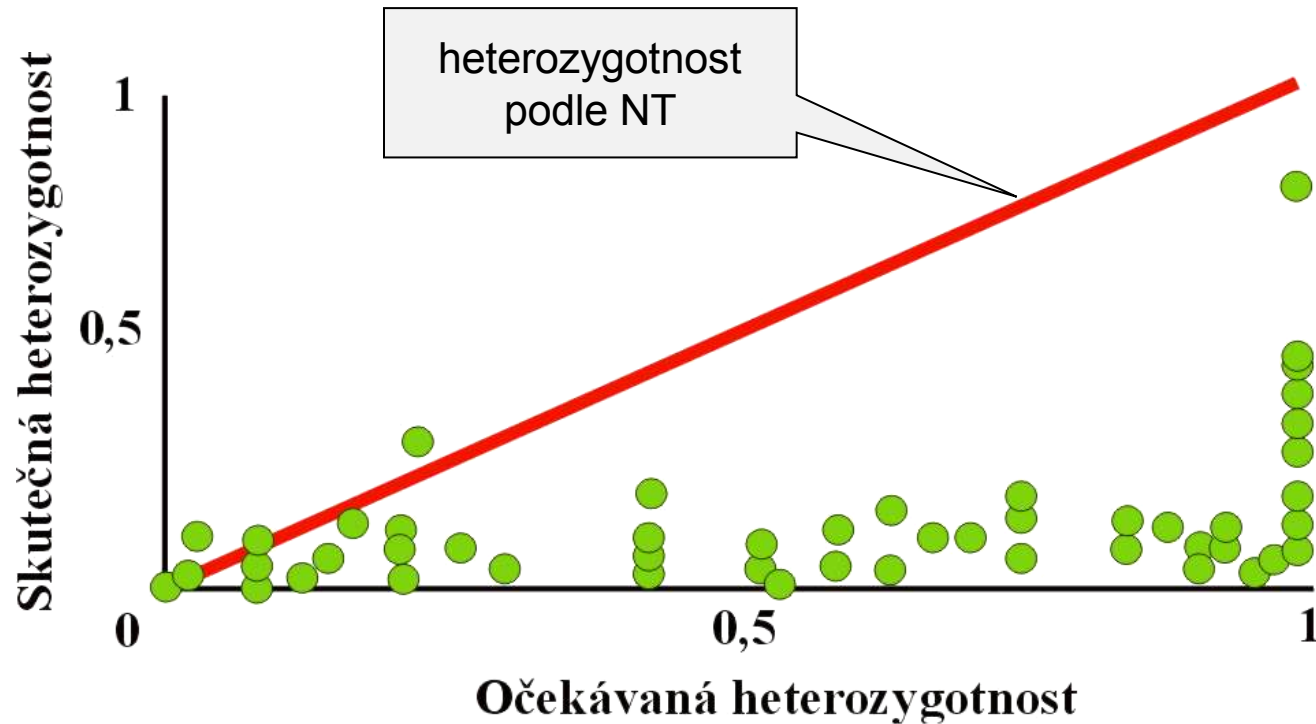
50 replikací populace,

1 jedinec v každé generaci

experiment nezachycuje extrémně škodlivé mutace (letalita)

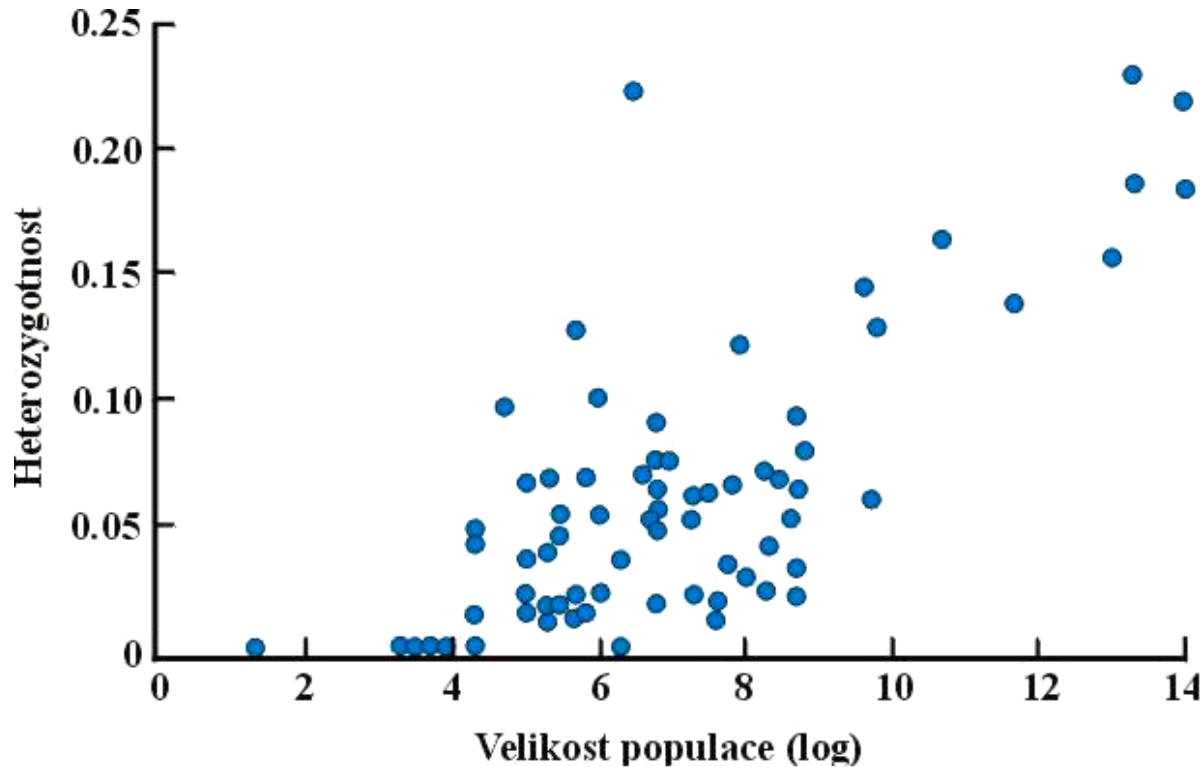


Test neutrální teorie: rozsah heterozygotnosti



Skutečná heterozygotnost nižší, než předpokládá NT

Test neutrální teorie: rozsah heterozygotnosti



Vzhledem k obrovskému rozsahu populačních velikostí je rozsah heterozygotností příliš malý

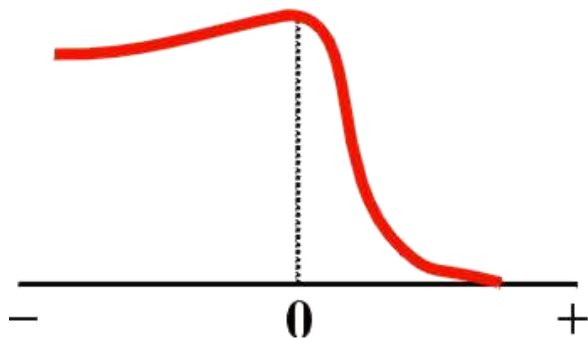
Odchytky měření rozsahu heterozygotnosti od predikcí se snažila vysvětlit **Tomoko Ohtová**:

mírně škodlivé mutace
(*slightly deleterious mutations, SDM*)

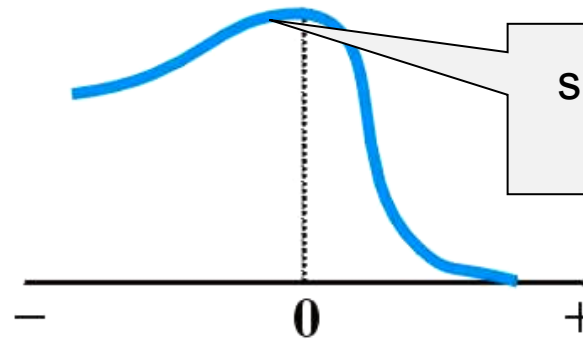


v malých populacích
se chovají jako efektivně
neutrální alely

neutralismus



mírně škodlivé mutace



substituce i mírně
škodlivých alel

Pravděpodobnost fixace neutrální, výhodné a škodlivé mutace:

Př.: Jaká je pravděpodobnost fixace mutace v populaci o $N_e = 1000$?

neutrální mutace ($s = 0$):	$P = 0,05\%$
výhodná mutace ($s = 0,01$):	$P = 20\%$
výhodná mutace ($s = 0,001$):	$P = 2\%$
škodlivá mutace ($s = -0,001$)	$P = 0,004\%$

čím víc $s \rightarrow 0$,
tím vyšší
„neutralita“

Z toho plyne, že

- 1) všechny výhodné mutace nemusí být v populaci zafixovány
- 2) Naopak s malou pravděpodobností mohou být zafixovány i škodlivé mutace

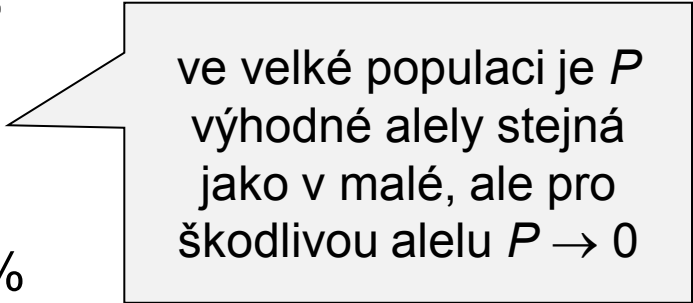
Jaká je pravděpodobnost fixace mutace v populaci o $N_e = 10\ 000$?

neutrální mutace ($s = 0$): $P = 0,005\%$

výhodná mutace ($s = 0,01$): $P = 20\%$

výhodná mutace ($s = 0,001$): $P = 2\%$

škodlivá mutace ($s = -0,001$): $P = 2 \cdot 10^{-17}\%$



ve velké populaci je P
výhodné alely stejná
jako v malé, ale pro
škodlivou alelu $P \rightarrow 0$

Závěr:

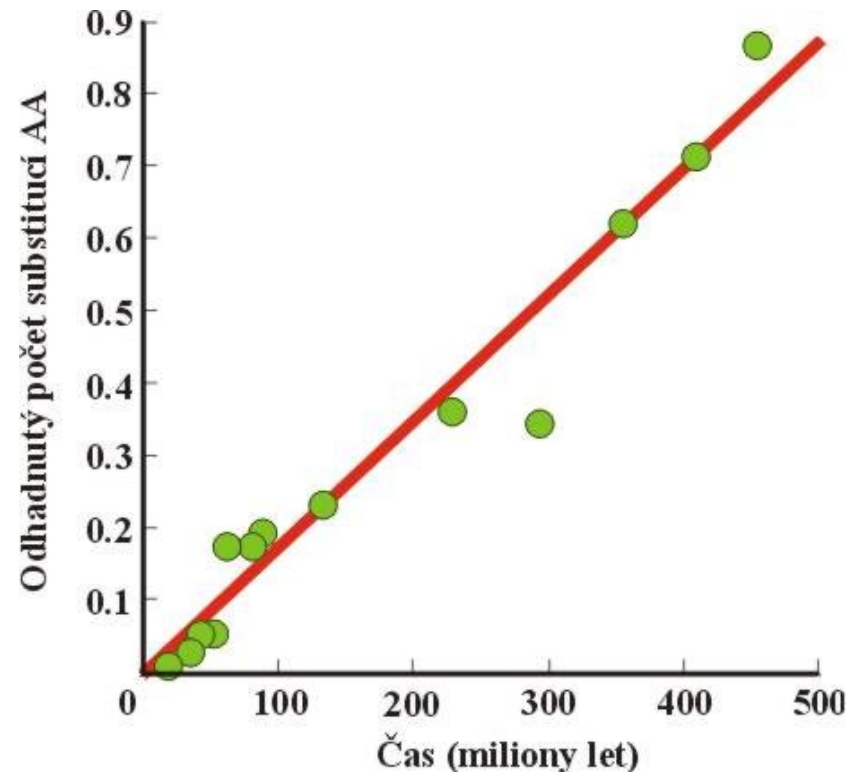
- 1) ve velkých populacích hraje mnohem větší roli selekce a naopak s klesající velikostí roste relativní význam driftu
- 2) existuje nepřímá úměra mezi škodlivostí mutace a velikostí populace: čím se škodlivost alely blíží nule, tím větší může být populace, ve které se může fixovat (drift převýší negativní selekci) a naopak, čím je selekce proti škodlivé mutaci silnější, tím menší musí být populace, aby drift hrál určující roli
- 3) To znamená, že v malých populacích se mírně škodlivé mutace chovají jako efektivně neutrální

MOLEKULÁRNÍ HODINY

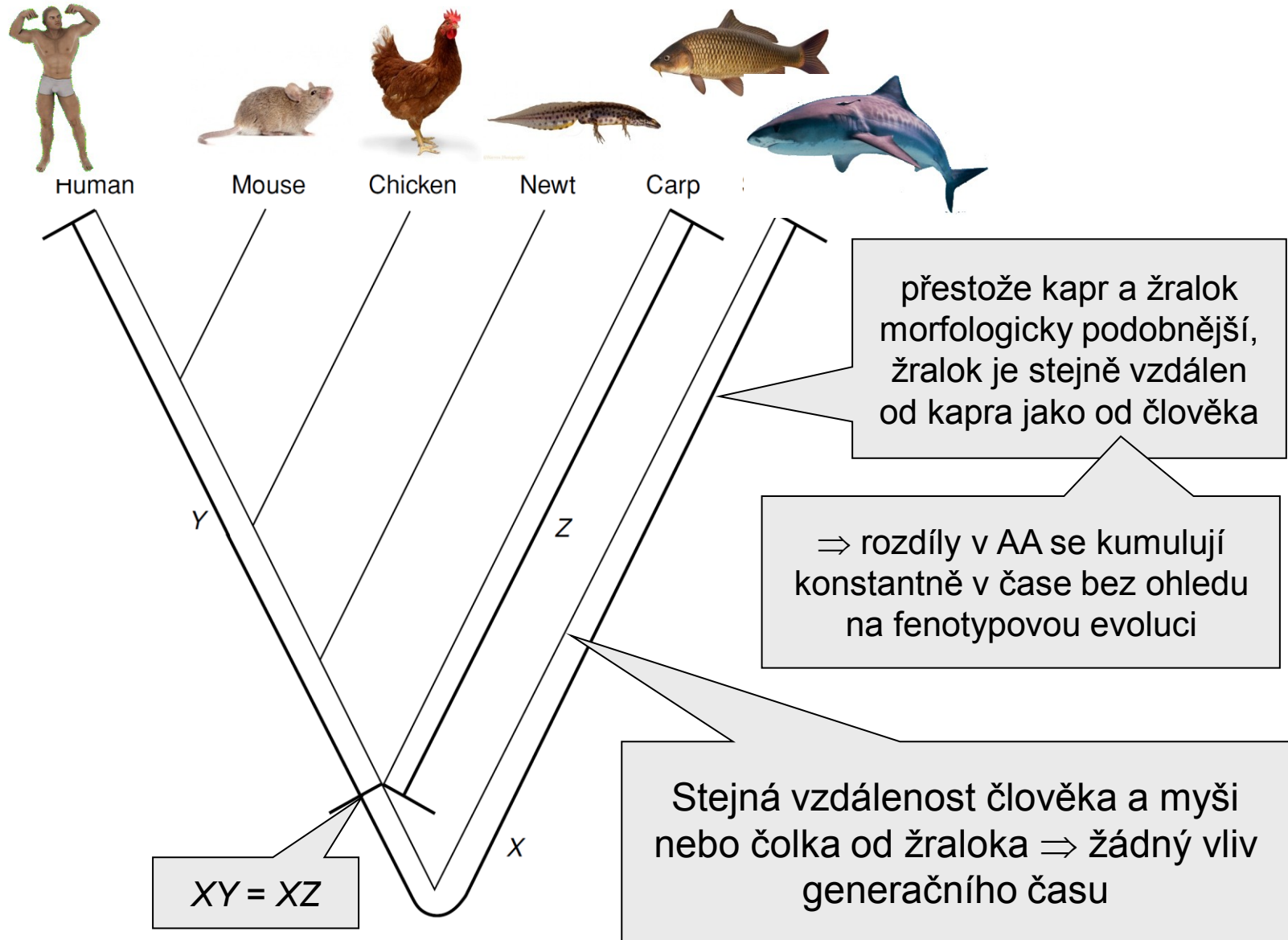
Zuckerlandl & Pauling (1962-65)

rychlost substitucí AA nebo nukleotidů je konstantní

efekt generační doby:
závislost na absolutním
nebo generačním čase?



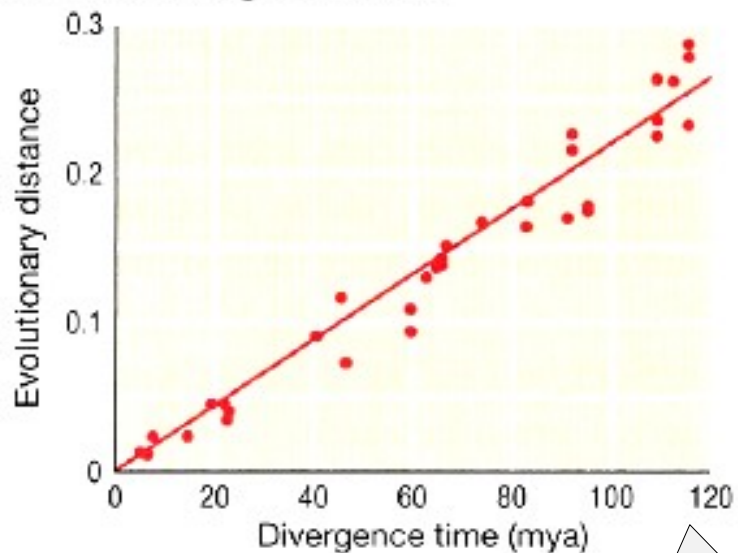
sekvence AA α -řetězce hemoglobinu 6 druhů obratlovců:



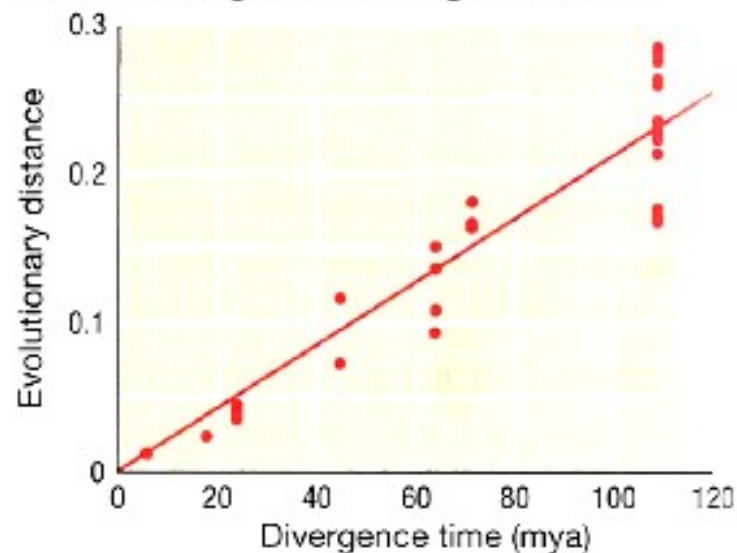
Generační, nebo absolutní čas?

Akumulace neutrálních substitucí u placentálních savců:

A Fossil divergence dates

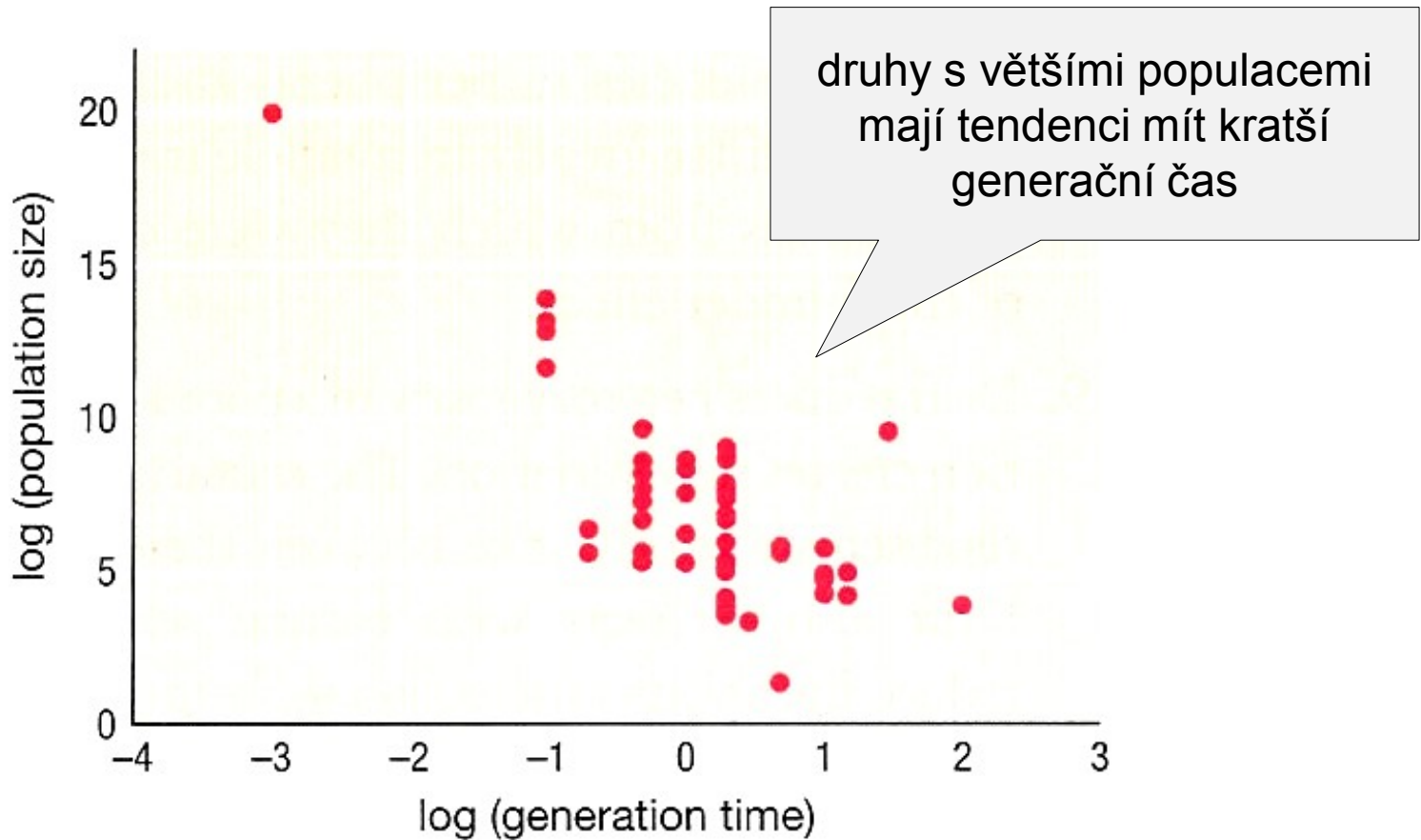


B Molecular genetic divergence dates



obě datovací metody ukazují
téměř konstantní tempo
nezávislé na generačním
čase

Velikost populace a generační čas:

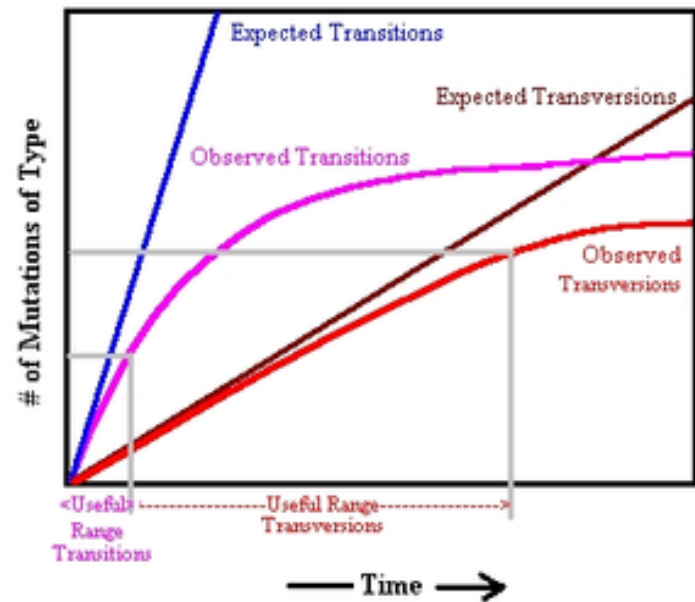
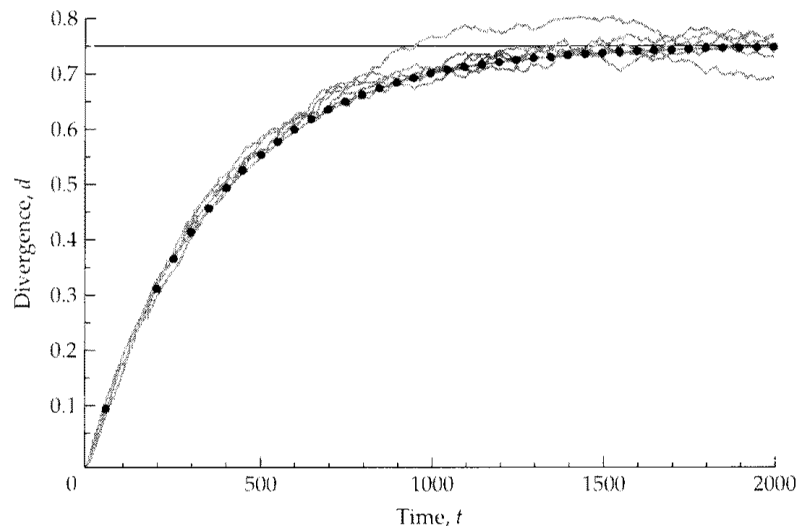


⇒ možné vysvětlení závislosti na absolutním čase: v menších populacích dochází k substituci i mírně škodlivých alel

Molekulární hodiny ale „netikají“ u různých skupin stejně

např. kytovci < „sudokopytníci“ < primáti < myšovití hlodavci
u primátů opice Starého světa > „lidoopi“ > člověk

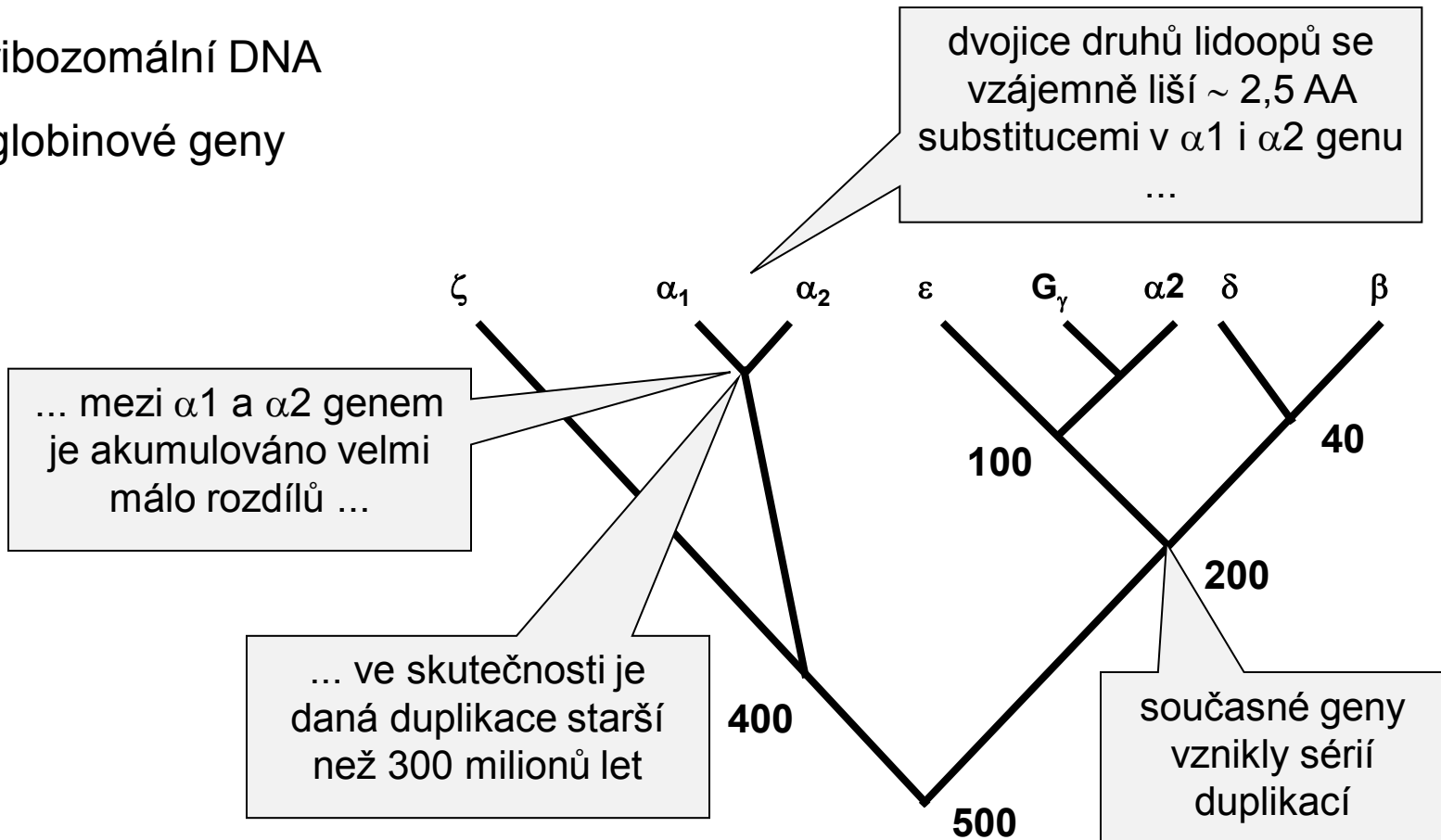
Problém saturace sekvencí:



→ použití vhodného evolučního modelu („narovnání“ křivky)
metoda relaxovaných molekulárních hodin

SPOJENÁ EVOLUCE A MOLEKULÁRNÍ TAH

ribozomální DNA
globinové geny

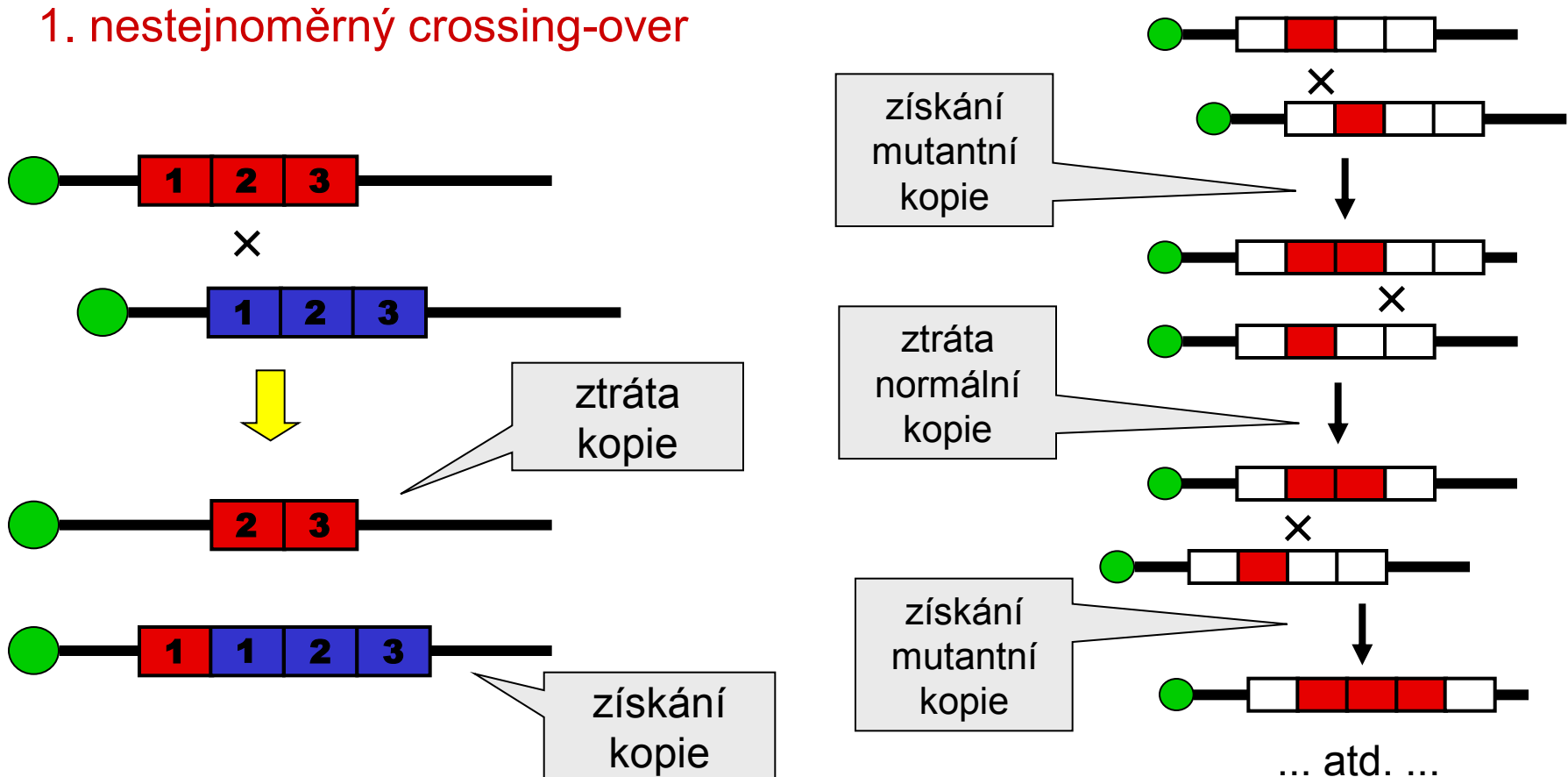


⇒ molekulární hodiny v tomto případě neplatí, geny se nevyvíjí nezávisle – evoluce je spojená

Gabriel Dover (1982): **Molekulární tah** (*molecular drive*)
mechanismus odlišný od selekce a driftu

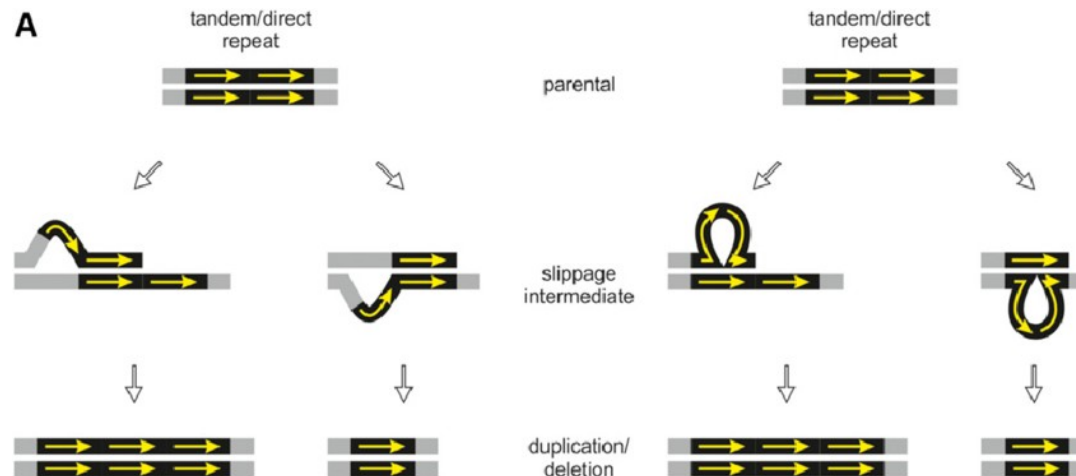
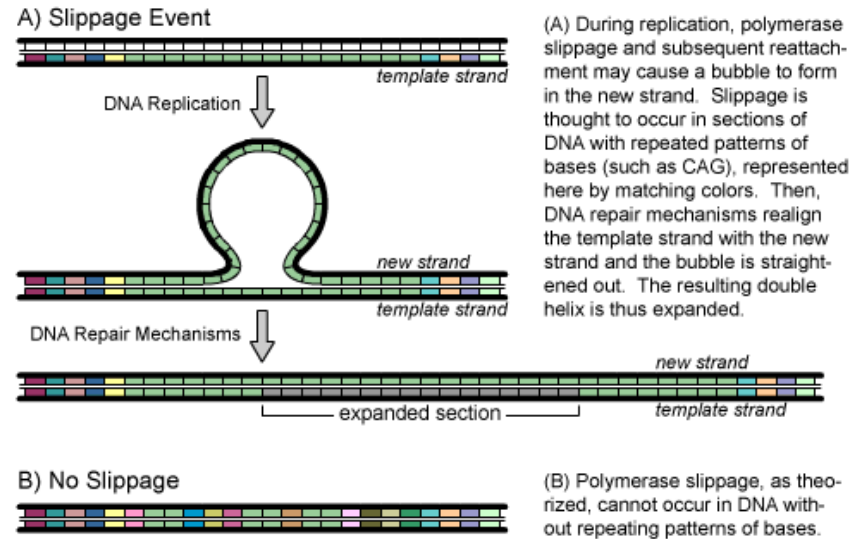
Mechanismy spojené evoluce:

1. nestejný crossing-over

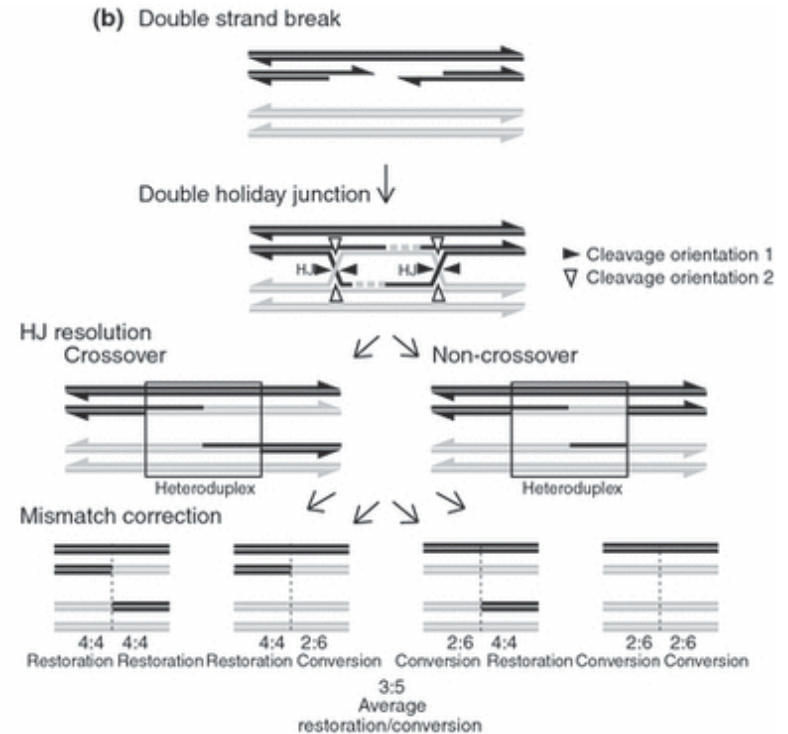
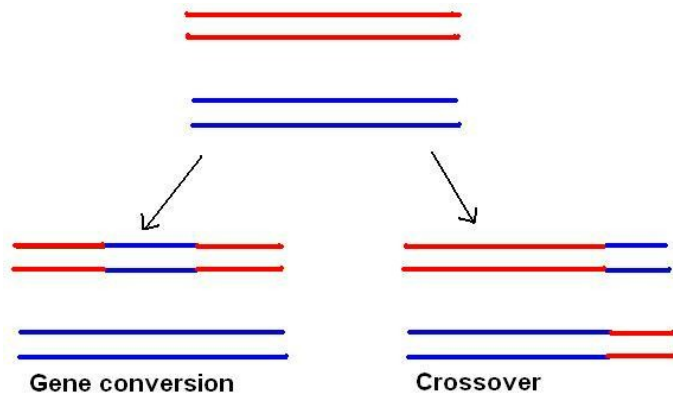


2. sklouznutí nukleotidového řetězce (slippage)

Figure Q-5: The Polymerase Slippage Model



3. genová konverze



Závěr:

důsledkem nestejnoměrného crossing-overu a sklouznutí řetězce je změna počtu kopií

důsledkem nestejnoměrného c-o a genové konverze je homogenizace sekvencí