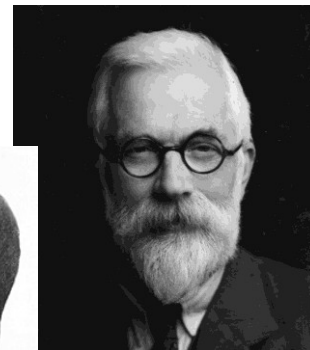
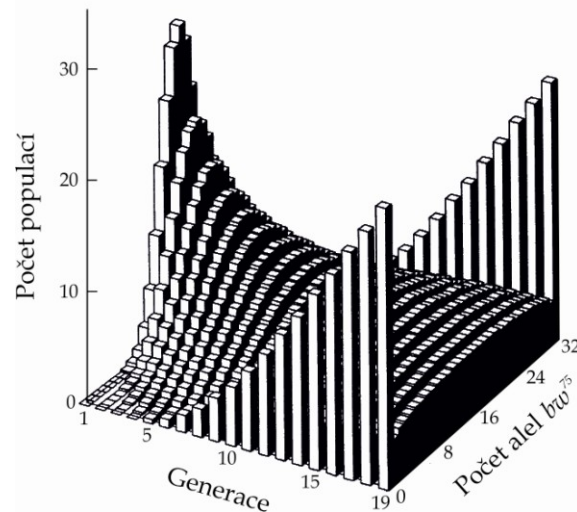
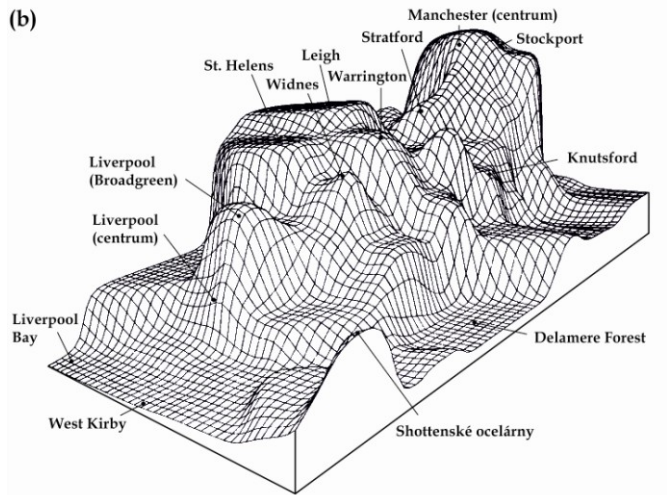


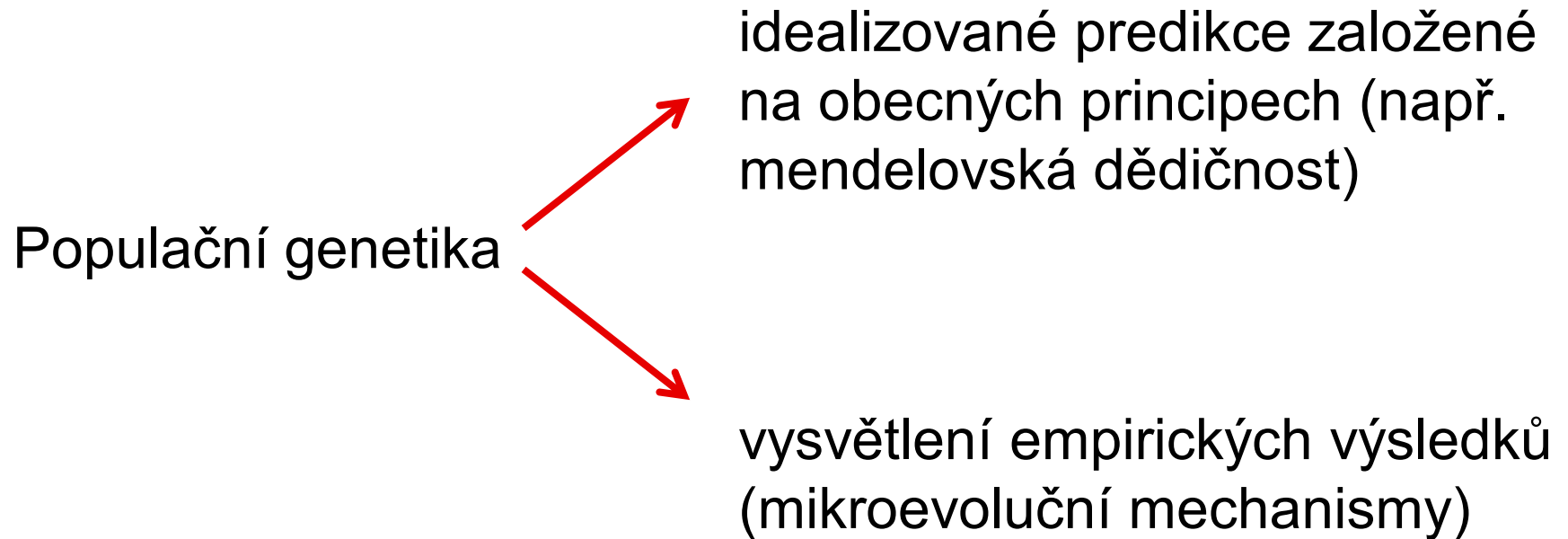
# MECHANISMY MIKROEVOLUCE



Mikroevoluce = vznik a osud genetické variability na druhové a nižší úrovni → děje a mechanismy v populacích

Evoluce = genetická změna populací v čase a prostoru

Evoluce = změna frekvence alel v populacích



### 3 základní premisy populační genetiky:

1. DNA se replikuje
2. DNA mutuje a rekombinuje
3. Fenotypy vznikají interakcí DNA a prostředí

**HARDYHO-  
WEINBERGŮV  
ZÁKON**



# Co je to gen?

## 1. Počátky vývoje pojmu gen

*Za vznik nového vědeckého oboru se obvykle pokládá formulace několika základních zákonů a vytvoření základních pojmů, které rozdělí ve-*

*později „znovuobjevní“. Zásahu o založení nového oboru jim však po právu cizinci nepřestili, částečně asi i proto, že tehdy ieš-*

**VLADIMÍR  
VONDREJS**

**gen** = jednotka dědičné informace  
... dodnes problém s vymezením

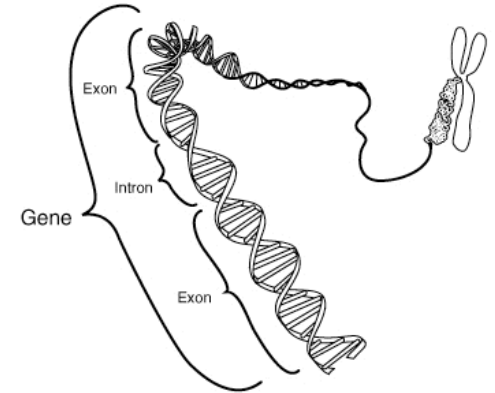
**lokus** = pozice genu nebo části sekvence

**alela** = alternativní forma sekvence DNA na daném lokusu

**genom** = soubor všech genů jedince (jaderný, mitochondriální...)

**genotyp** = soubor alel jednoho nebo více lokusů jedince

**haplotyp** (**haploidní genotyp**) = kombinace alel na různých částech sekvence DNA, které jsou přenášeny společně



## Genetická architektura:

počet lokusů (popř. jejich pozice v genomu)

počet alel na lokus

frekvence mutací (mutační rychlost)

způsob a pravidla dědičnosti

jeden lokus – např. autozom, X, Y, mtDNA

více lokusů – smíšený zp. dědičnosti, z. kombinace alel, rekombinace

# Co je to vlastně populace?

T. Dobzhansky, E. Mayr:

populace jako společný **genofond** (*gene pool*)

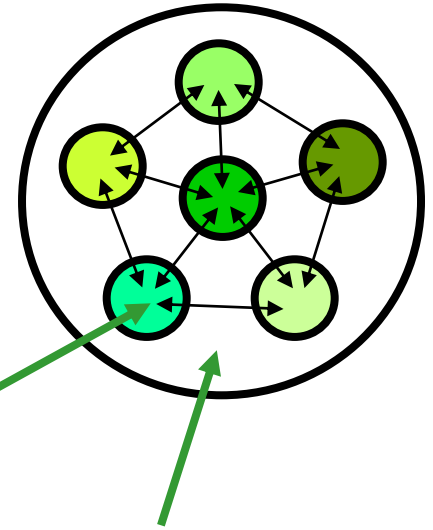
1. soubor sdílených genů/alel
2. soubor potenciálních gamet produkovaných všemi příslušníky populace

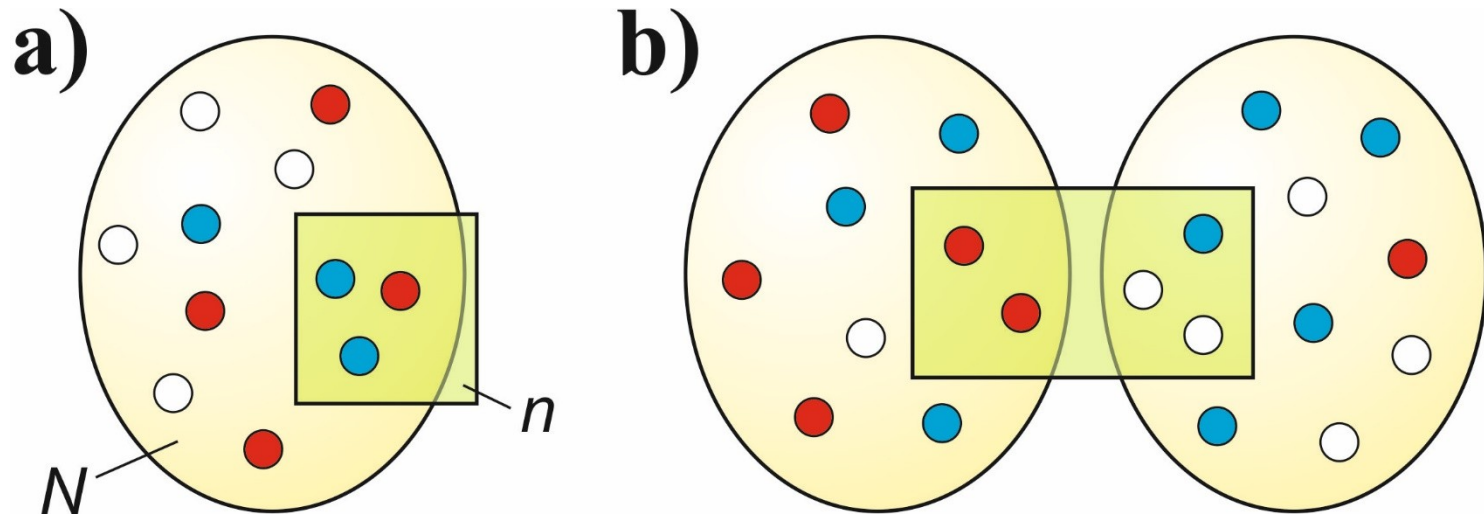
lokální populace (subpopulace, démy)

globální populace, metapopulace

populace přírodní, experimentální, zemědělské, modelové

Kromě genů/gamet lokální populace sdílejí i **system páření/párování** (*system of mating*)

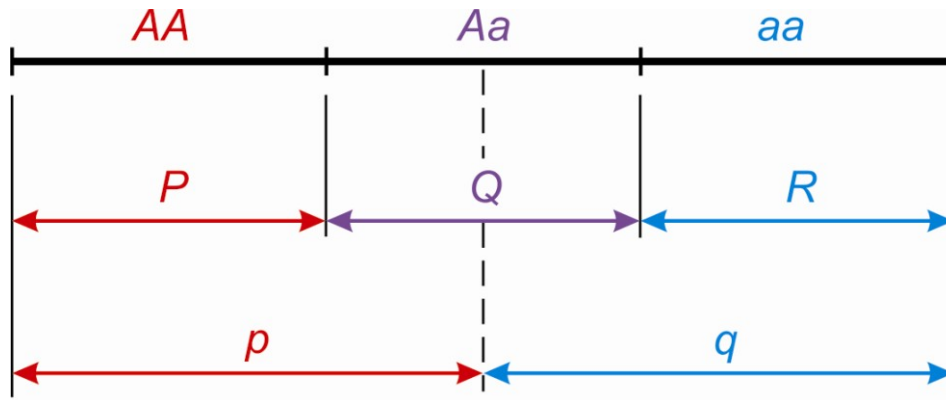




Populační vzorek  $\neq$  populace!



# Genotypové a alelové frekvence

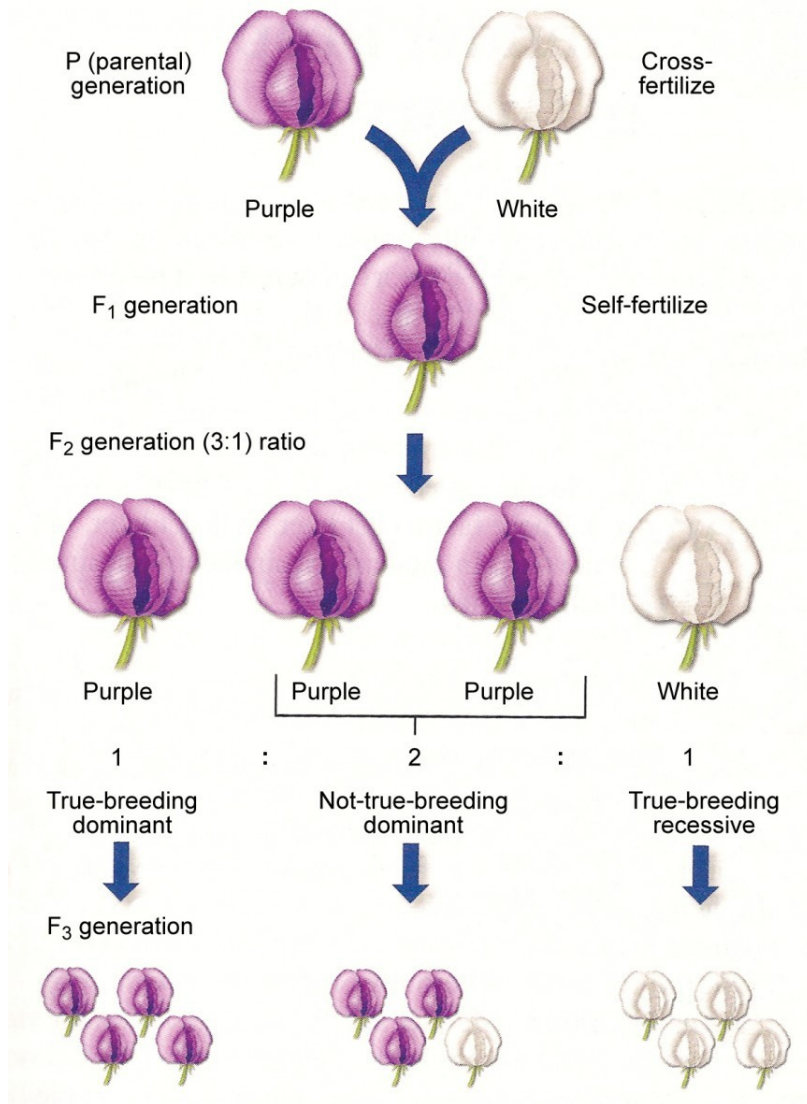


Relativní četnosti = frekvence: genotypové:  $P (f_{AA})$ ,  $Q (f_{Aa})$ ,  $R (f_{aa})$   
 alelové (genové):  $p (A)$ ,  $q (a)$

$$f_{AA} + f_{Aa} + f_{aa} = 1$$

$$p + q = 1$$

Genotyp	$A_1A_1$	$A_1A_2$	$A_2A_2$	Celkem
Četnost	$n_1$	$n_2$	$n_3$	$N$
Frekvence	$f_{AA} = n_1/N$	$f_{Aa} = n_2/N$	$f_{aa} = n_3/N$	
	$p = (2n_1 + n_2)/2N$		$q = (n_2 + 2n_3)/2N$	



Proč v přírodě nepozorujeme mendelovské poměry 3:1?

# Proč v přírodě nepozorujeme mendelovské poměry 3:1?



brachydaktylie



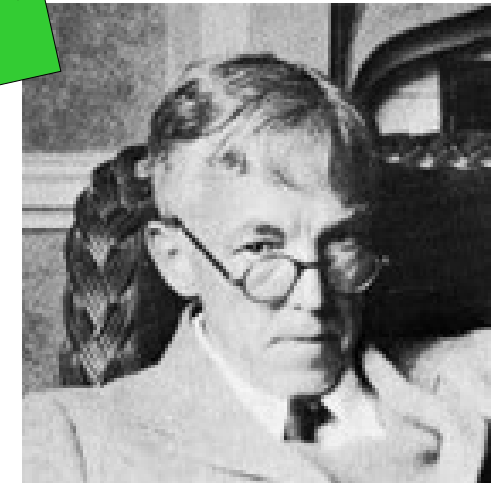
brachydaktylie =  
dominantní  
mendelovský znak

Reginald C. Punnett



G. Udny Yule

Měli bychom  
pozorovat 3× víc lidí  
postižených než  
nepostižených!



G. H. Hardy

# HARDYHO-WEINBERGŮV ZÁKON

1908



Godfrey Harold Hardy  
(1877-1947)



Wilhelm Weinberg  
(1862-1937)

# Hardyho-Weinbergův model

## Mechanismy produkce gamet (genetická architektura):

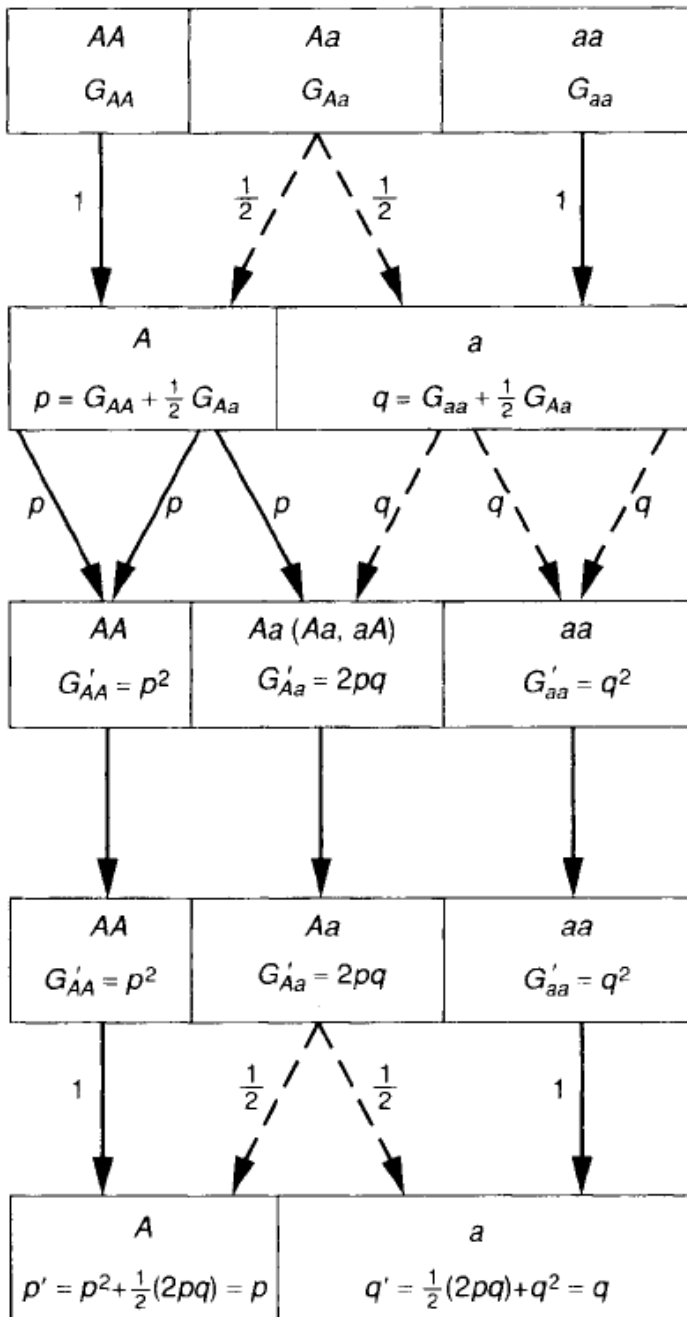
- diploidní organismy
- jeden autozomální lokus
- 2 alely
- žádné mutace
- mendelovská segregace (1:1)

## Mechanismy spojování gamet (populační struktura):

- system páření → náhodné oplození (panmixie)
- velikost populace → nekonečná
- genetická výměna → žádná (absence toku genů)
- věková struktura → žádná (diskrétní generace)

## Mechanismy vývoje fenotypů:

- všechny genotypy mají stejné fenotypy z hlediska schopnosti replikace DNA (absence selekce)



Adultní populace

mechanismus produkce gamet (z. o segregaci)

Genofond (pop. gamet)

mechanismus spojení gamet (náhodné oplození)

Populace zygot

mechanismus vývoje fenotypu (žádný účinek na viabilitu, repr. úspěšnost nebo fertilitu)

Adultní pop. další generace

mechanismus produkce gamet (z. o segregaci)

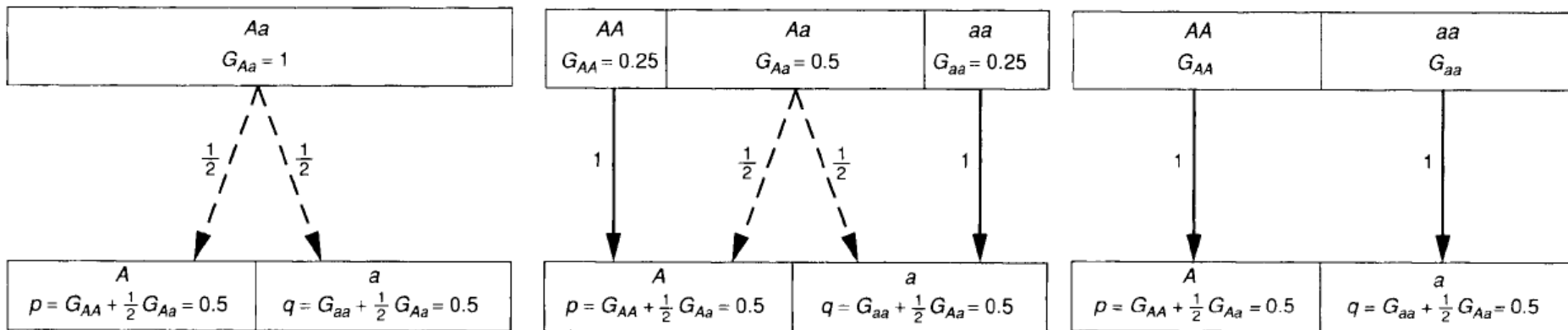
Genofond příští generace

$$g_j = \sum_{\text{genotypy}} \text{Pr.}(\text{produkce gamety } j \text{ genotypem } k) \times \text{frekvence genotypu } k$$

frekvence gamety  
typu  $j$  v genofondu

známe-li zákony dědičnosti, z frekvencí  
genotypů můžeme vypočítat frekvence alel

Pr. produkce gamety  $A$  z  $AA = 1 \dots$  z  $Aa = \frac{1}{2} \dots$  z  $aa = 0$   
Pr. produkce gamety  $a$  z  $AA = 0 \dots$  z  $Aa = \frac{1}{2} \dots$  z  $aa = 1$







různé adultní populace mohou  
produkovat stejný genofond gamet

⇒ genotypové frekvence  
*nejsou* jedinečně určeny  
frekvencemi gamet\*)

\*) matematicky: ze 2 proměnných nelze odvodit 3 proměnné!

⇒ musíme přidat další  
informaci → populační  
struktura (panmixie)!

# Hardyho odvození:

		Samčí gamety	
		Alela	Frekvence
Samičí gamety	Alela	A	a
	Frekv.	p	q
A	p	 AA $p \times p = p^2$	 Aa $p \times q = pq$
	q	 aA $q \times p = qp$	 aa $q \times q = q^2$

Frekvence v zygotech:

$$AA: G_{AA}' = p^2$$

$$Aa: G_{Aa}' = pq + qp = 2pq$$

$$aa: G_{aa}' = q^2$$

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

Pop. gamet efektivně nekonečná  $\Rightarrow$  výběr 1. gamety neovlivní výběr 2. gamety

V nekonečné pop. pravděpodobnost jevu = frekvence tohoto jevu



## Weinbergovo odvození:

při náhodném párování Pr. 2 genotypů v páření = součin jejich frekvencí

Párování	Frekvence páru	Pravděpodobnost zygot		
		AA	Aa	aa
AA x AA	$f_{AA} \times f_{AA} = f_{AA}^2$	1	0	0
AA x Aa	$f_{AA} \times f_{Aa} = f_{AA}f_{Aa}$	1/2	1/2	0
Aa x AA	$f_{Aa} \times f_{AA} = f_{Aa}f_{AA}$	1/2	1/2	0
AA x aa	$f_{AA} \times f_{aa} = f_{AA}f_{aa}$	0	1	0
aa x AA	$f_{aa} \times f_{AA} = f_{aa}f_{AA}$	0	1	0
Aa x Aa	$f_{Aa} \times f_{Aa} = f_{Aa}^2$	1/4	1/2	1/4
Aa x aa	$f_{Aa} \times f_{aa} = f_{Aa}f_{aa}$	0	1/2	1/2
aa x Aa	$f_{aa} \times f_{Aa} = f_{aa}f_{Aa}$	0	1/2	1/2
aa x aa	$f_{aa} \times f_{aa} = f_{aa}^2$	0	0	1

$$f'_{AA} = f_{AA}^2 + 1/2[2f_{AA}f_{Aa}] + 1/4f_{Aa}^2 = [f_{AA} + 1/2f_{Aa}]^2 = p^2$$

$$f'_{Aa} = 1/2[2f_{AA}f_{Aa}] + 2f_{AA}f_{aa} + 1/2f_{Aa}^2 + 1/2[f_{Aa}f_{aa}] = 2[f_{AA} + 1/2f_{Aa}][f_{aa} + 1/2f_{Aa}] = 2pq$$

$$f'_{aa} = 1/4f_{Aa}^2 + 1/2[2f_{Aa}f_{aa}] + f_{aa}^2 = [f_{aa} + 1/2f_{Aa}]^2 = q^2$$

# HARDYHO-WEINBERGŮV ZÁKON

1. Frekvence alel z generace na generaci stálé  
= Hardyho-Weinbergova rovnováha

2. HW rovnováhy dosaženo už po 1 generaci náhodného křížení

## Zobecnění:

geny vázané na X:

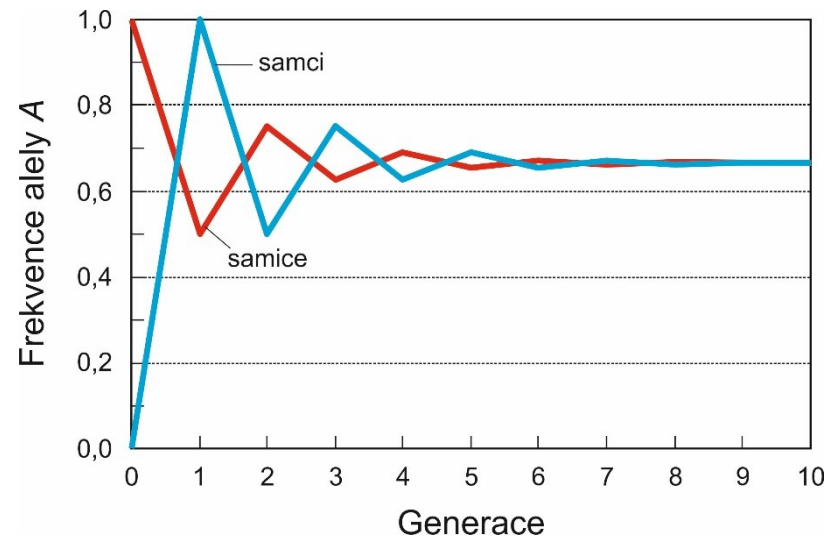
$$\text{samice: } p^2 + 2pq + q^2$$

$$\text{samci: } p + q$$

více alel:

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

$$\text{obecně } p_i^2 + 2p_{ij}$$



# HARDYHO-WEINBERGŮV ZÁKON

Punnett



brachydaktylie

$p^2 + 2pq : q^2$   
není důvod pro poměr  
postižených a  
nepostižených 3:1

Recesivní letální alela  $a$  → 2 fenotypové kategorie:

$AA + Aa$  → bez projevu choroby

$aa$  → choroba se projeví

⇒ nemůžeme určit, kolik jedinců je nositelem choroby

ale předpokládáme-li HW, pak frekvence nemocných (můžeme spočítat) je  $q^2$  a

$$\hat{q} = \sqrt{f_{aa}}$$

$$\Rightarrow \text{frekvence nositelů choroby} = 2(1 - \hat{q})\hat{q}$$

## Př.: fenylketonurie (PKU)

frekvence výskytu PKU v České republice je 1 : 9000, tj. zhruba 0,00011.

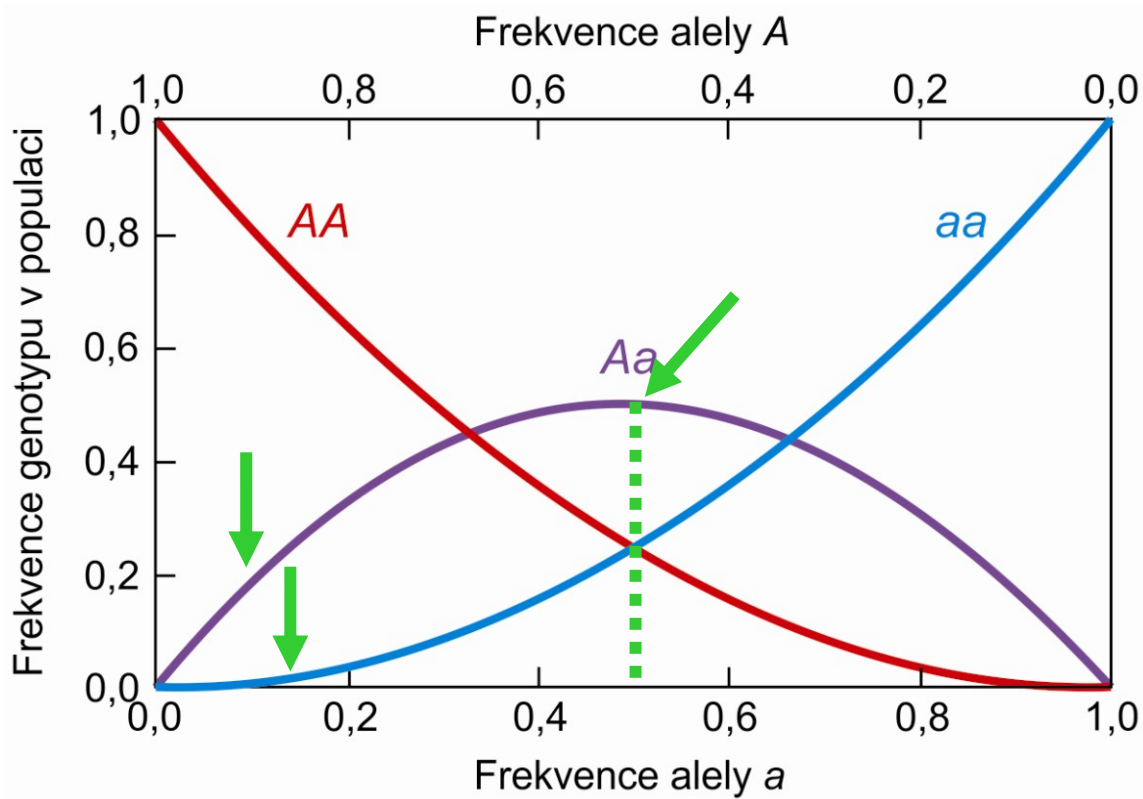
Jaké procento lidí jsou tzv. přenašeči?

Vydeme-li z HW zákona, je frekvence homozygotů  $f_{aa} = q^2$ , frekvence alely  $a$  je tudíž  $q = \sqrt{0,00011} = 0,01049$ .

$$2pq = 2(1 - q)q = 0,02076.$$

To znamená, že v České republice se vyskytují zhruba 2 % přenašečů fenylketonurie. K roku 2011 10 562 214 občanů  $\Rightarrow$  u nás přibližně 220 tisíc přenašečů PKU

## Frekvence vzácných alel:



heterozygoti nejfrekventovanější při  $p = q = 0,5$

$f_{Aa}$  se snižuje rychlostí  $2pq$

$f_{aa}$  rychlostí  $q^2 \Rightarrow$  zvyšování  $f_{Aa}/f_{aa} \rightarrow$  vzácná alela „schována“  
v heterozygotním stavu

# Příčiny neplatnosti H-W rovnováhy:

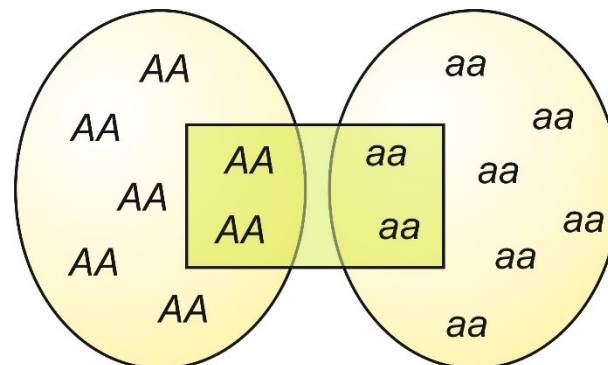
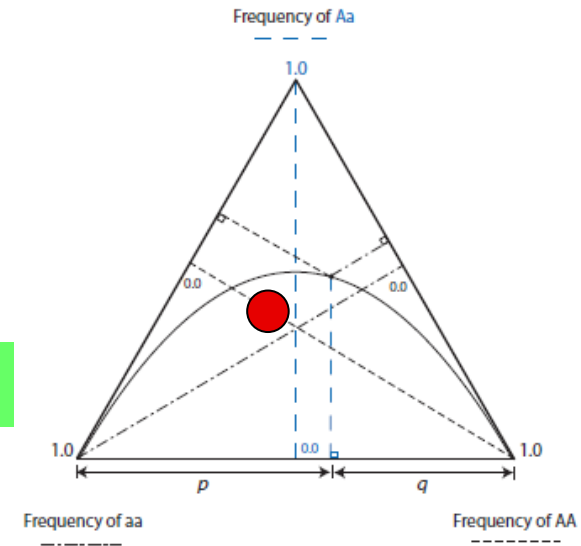
## Metodické příčiny:

nulové alely  
„allelic dropout“

## Neplatnost některého z předpokladů H-W modelu:

### Snížení heterozygotnosti:

selekce proti heterozygotům  
nenáhodné páření (inbreeding, asortativní páření)  
strukturovanost populace (rozdílné frekvence alel, Wahlundův efekt)



# Příčiny neplatnosti H-W rovnováhy:

## Metodické příčiny:

nulové alely  
„allelic dropout“

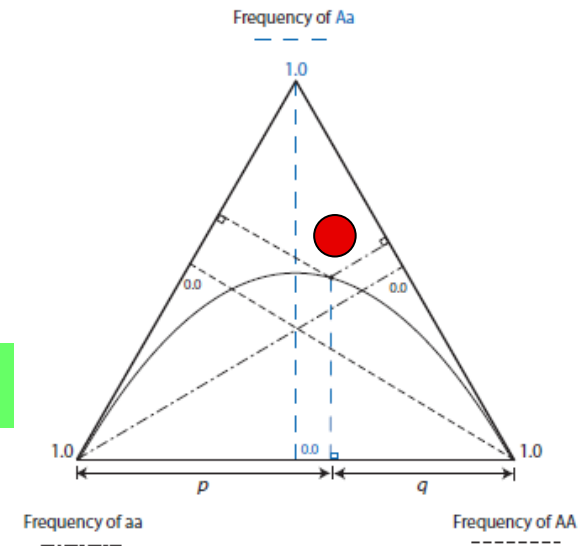
## Neplatnost některého z předpokladů H-W modelu:

### Snížení heterozygotnosti:

selekce proti heterozygotům  
nenáhodné páření (inbreeding, asortativní páření)  
strukturovanost populace (rozdílné frekvence alel, Wahlundův efekt)

### Zvýšení heterozygotnosti:

selekce podporující heterozygoty  
nenáhodné páření (outbreeding, negativní asortativní páření)  
migrace  
mutace



# H-W NA VÍCE LOKUSECH

blízkost lokusů = **vazba**

**frekvence rekombinací  $r$**

místo 3 genotypových kategorií → 10

1 lokus → jedinec může předat jen gamety získané od rodičů

více lokusů → může předat i jiné, např:

rodiče  $AB \times ab \rightarrow AB/ab \dots$  gamety  $AB, ab$  s  $Pr. = \frac{1}{2}(1 - r)$

ale i gamety  $Ab, aB$  (s  $Pr. \frac{1}{2}r$ ), které se u rodičů nevyskytují

⇒ 2 definice genofondu (1. = soubor genů sdílených v populaci,

2. populace potenciálních gamet produkovaných všemi adultními jedinci)

*nejsou v případě rekombinace ekvivalentní*

nutno znát, jak  
je genofond  
definován!

**Může dojít k evoluci?**



## H-W NA VÍCE LOKUSECH

Př.: frekvence gamety  $AB$  v počátečním genofondu ( $g_{AB}$ ) a následující generaci ( $g'_{AB}$ ):

$$g'_{AB} = g_{AB} - rD \quad \text{kde } D = g_{AB}g_{ab} - g_{Ab}g_{aB} = \text{vazebná nerovnováha}$$

... podobně i pro ostatní typy gamet

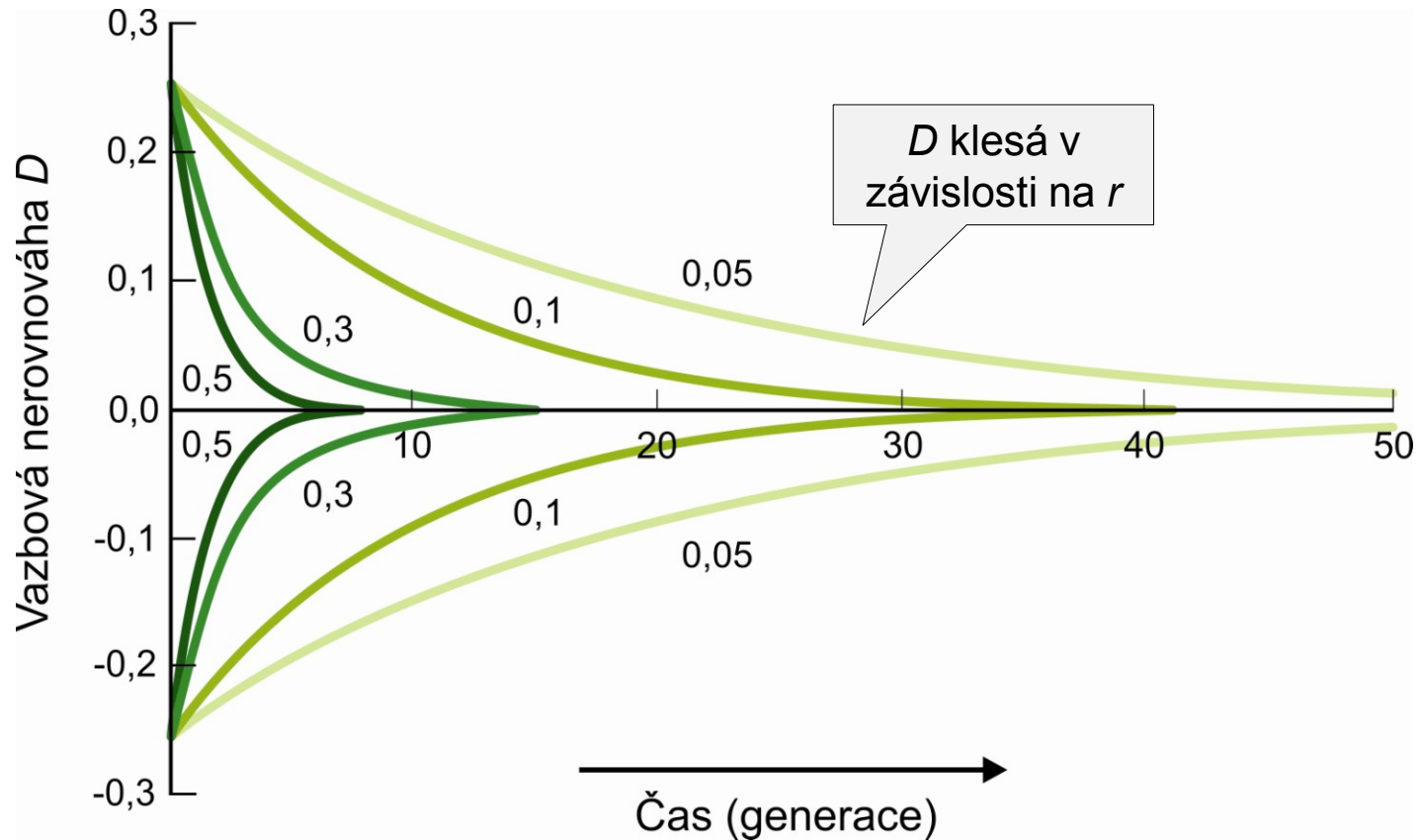
jestliže  $r > 0$  (tj. dochází k rekombinaci) a  $D \neq 0$  (existuje vazba)

pak platí  $g_{xy} \neq g'_{xy} \Rightarrow$  **dochází k evoluci!**

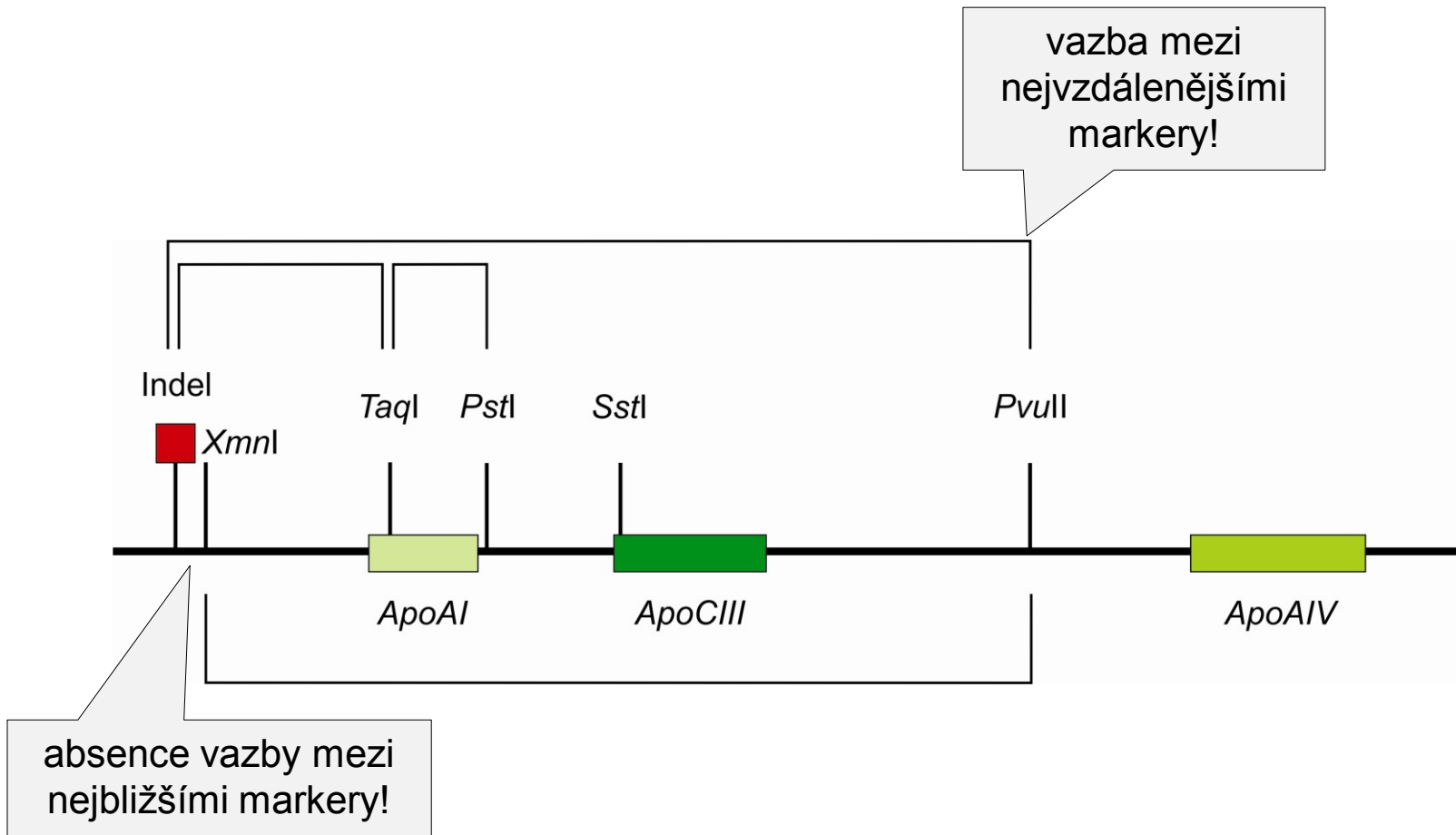
naopak při  $r = 0$  multilokusový model  $\rightarrow$  jednolokusový

k rekombinaci může dojít i *uvnitř* genu  $\sim$  jako mutace (tj. vznik nové alely)

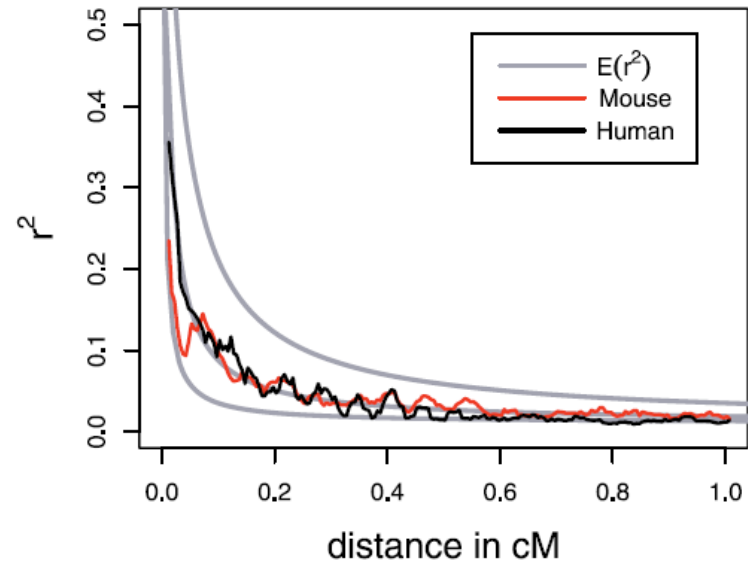
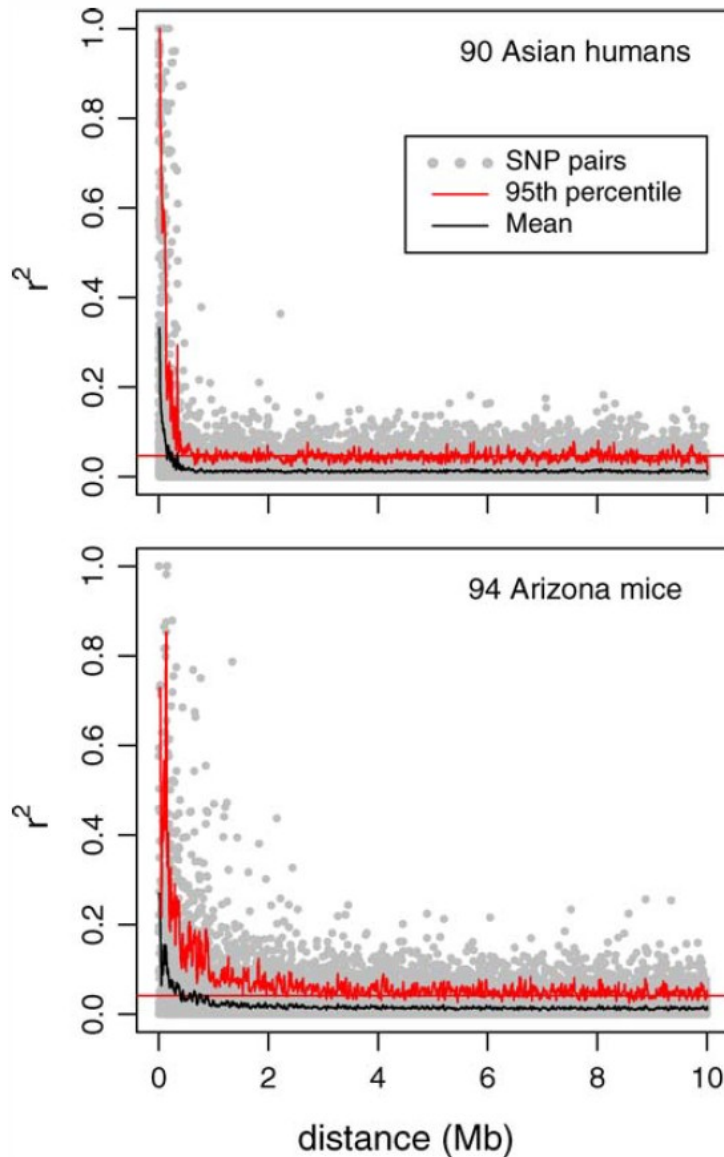
## vztah $D$ a rekombinace $r$ :



Pozor! vazebná nerovnováha nemusí přesně odrazet fyzickou blízkost/vzdálenost lokusů!!



# Laurie et al. (2007): pokles $D$ se vzdáleností u člověka a myši



**Figure 4.** Mean LD in 94 Arizona Mice and 90 Asian Humans, Evaluated in a Sliding Window of 0.025 cM

The data are the same as in Figure 2, but physical distance has been converted to genetic distance using genome-wide averages of cM/Mb. The expected value of  $r^2$  for a sample size of  $n$  diploids is calculated as  $E(r^2) = (1 / (1 + 4N_e c)) + (1 / n)$ , where  $N_e$  is effective population size and  $c$  is recombination rate (converted to cM for plotting by the Kosambi mapping function). In this case,  $n = 92$  and  $N_e = 1,000, 3,000,$  or  $10,000$  (from top to bottom).

doi:10.1371/journal.pgen.0030144.g004

člověk: 1 cM ~ 1 Mb

myš: 1 cM ~ 2 Mb

## Příčiny vazebné nerovnováhy:

absence rekombinace (např. inverze)

nenáhodnost oplození

selekce

recentní mutace

vzorek směsí 2 druhů s různými frekvencemi

recentní splynutí 2 populací

omezená velikost populace (náhodné kolísání frekvencí alel)

vazebná nerovnováha  
nemusí být mezi lokusy na  
stejném chromozomu!

u mnoha organismů crossing-over důležitý pro správný průběh meiózy  
(aspoň 1 c-o na chromozom, jinak vznik aneuploidíí)

ženy s > c-o → > dětí

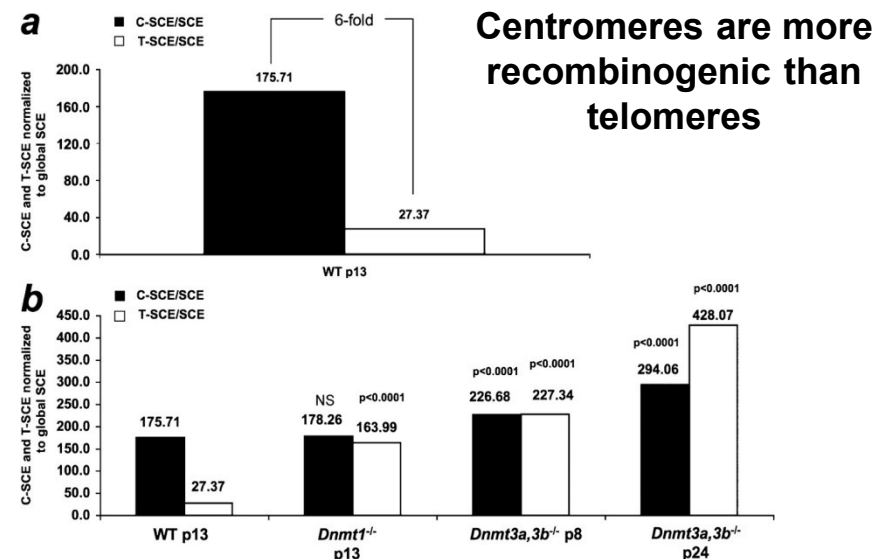
děti starších žen → > rekombinací

obecně častější u centromery, méně u telomer (neplatí pro všechny chromozomy,  
druhové rozdíly – např. u cibule naopak)

malé chromozomy > frekvence rekombinací

### rekombinační „hotspots“:

- u člověka ~25 000
- chybí u *Drosophila* a *Caenorhabditis elegans*
- častý vznik a zánik
- zánik 1 místa často kompenzován zvýšenou aktivitou sousedního místa

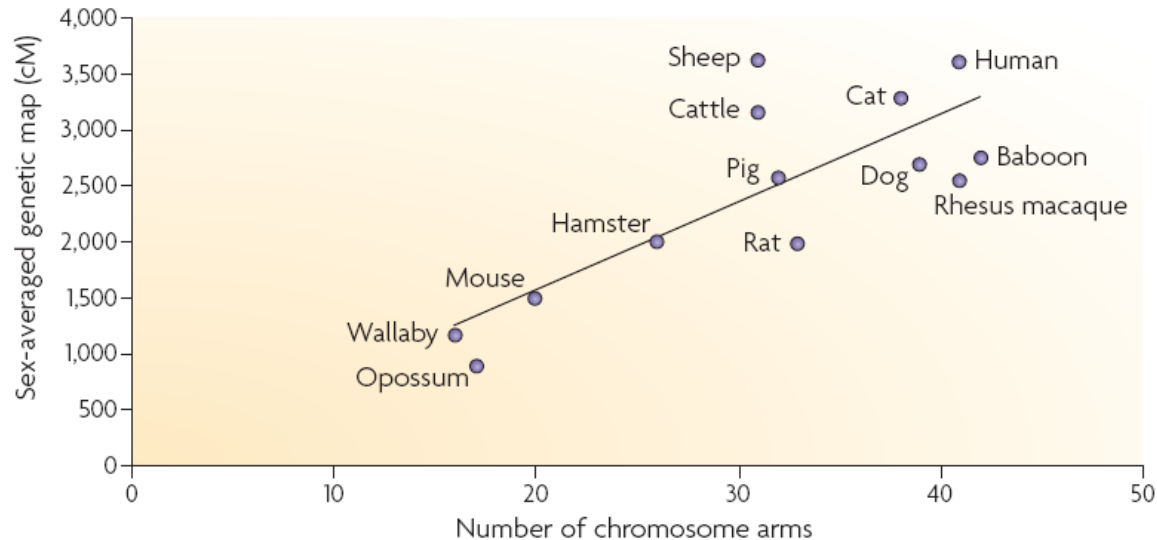


## rozdíly v míře rekombinace mezi pohlavími:

- **Haldaneovo-Huxleyovo pravidlo**: pokud jedno pohlaví nerekombinuje, jde o pohlaví heterogametické
- pokud rekombinují obě pohlaví, u samic většinou více rekombinací (člověk 1,7x, myš 1,3x)

## rozdíly mezi druhy:

- druhy s více malými chromozomy → více rekombinací než druhy s menším počtem velkých chromozomů
- korelace s počtem ramen: více rekombinací v karyotypech s velkým množstvím chrom. ramen (aspoň 1 c-o/rameno, aby nedocházelo k aneuploidii?)



# Rekombinace a polymorfismus:

absence rekombinace  $\Rightarrow$  **hitchhiking** (genetický draft)

Důsledkem je buď

**selekční smetení** (*selective sweep*)

pozitivní selekce

častější výskyt vzácných alel

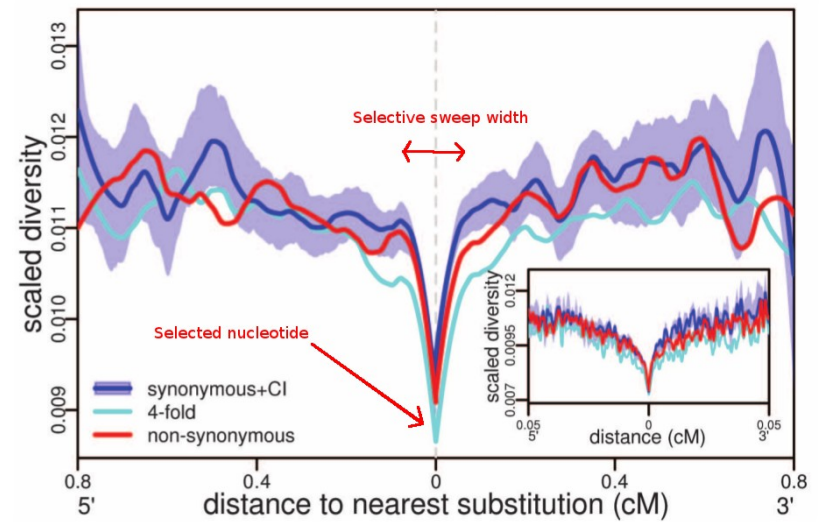
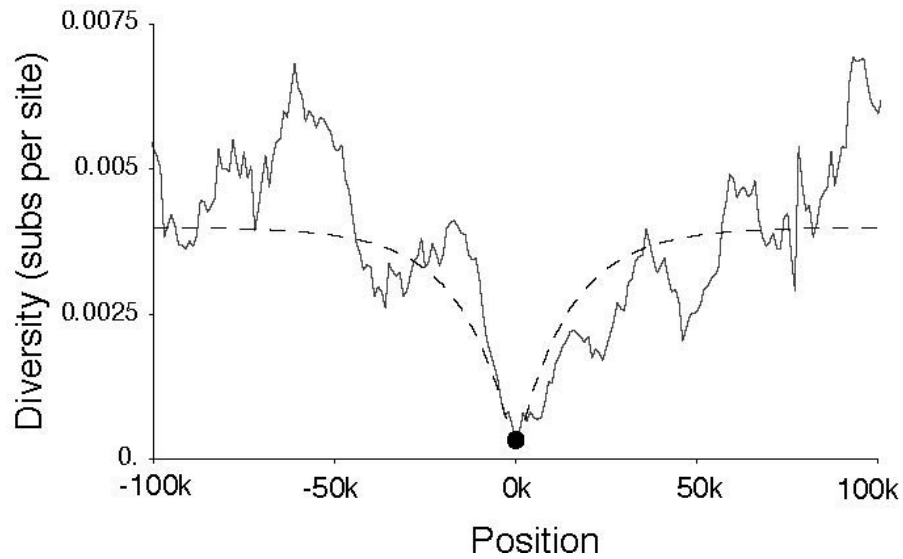
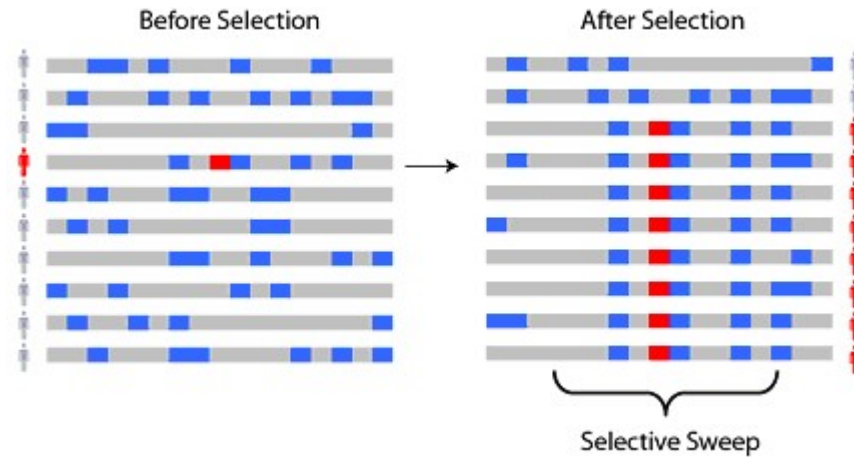
nebo

**selekce na pozadí** (*background selection*)

negativní selekce

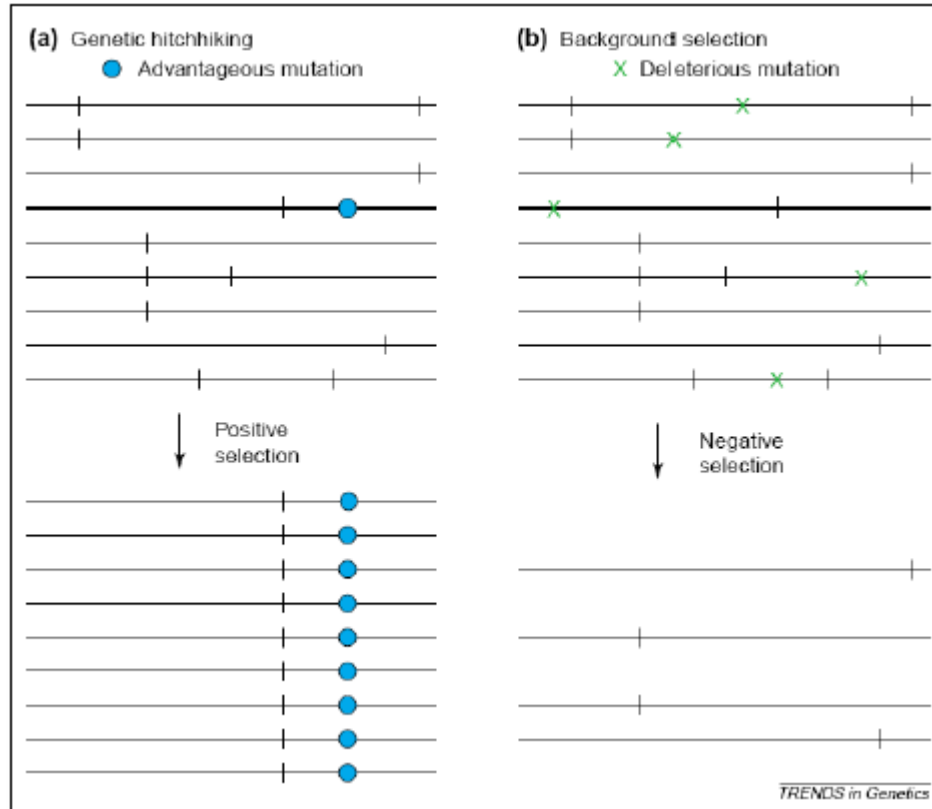
$\Rightarrow$  lokální ztráta polymorfismu



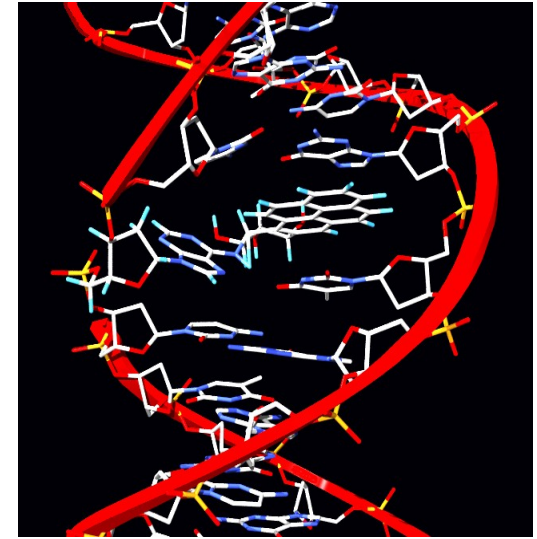
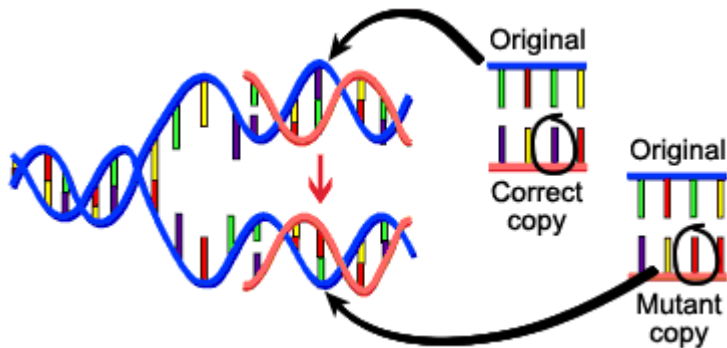


# Genomic insights into positive selection

Shameek Biswas and Joshua M. Akey



# MUTACE



podle škodlivosti/prospěšnosti účinku:

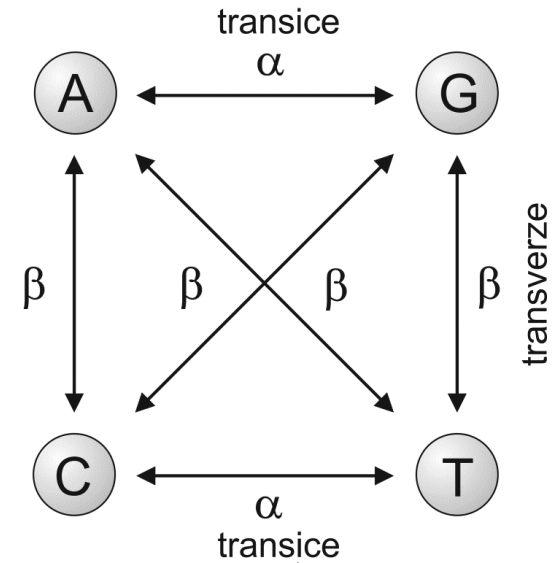
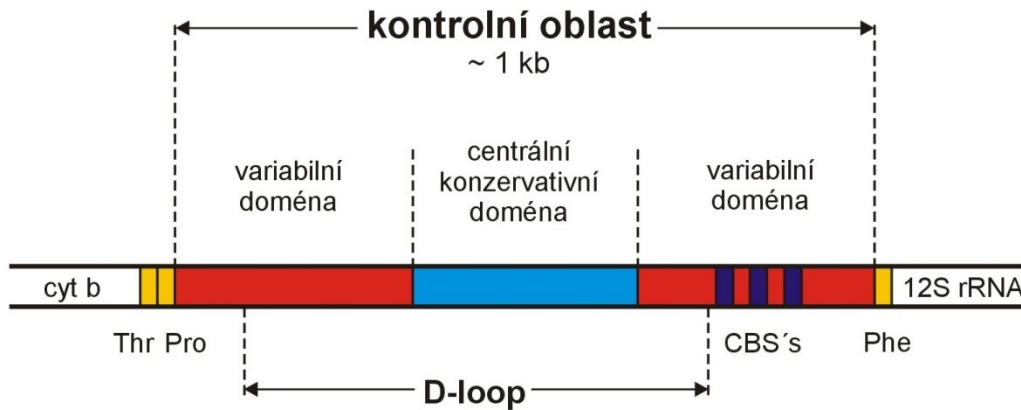
prospěšné  
škodlivé  
neutrální

podle rozsahu: genové/bodové  
chromozomové  
genomové

zpětné mutace: frekvence zpravidla 10× nižší

# Bodové mutace

## 1. substituce (transice, transverze)



2x méně možných transicí,  
ale ve skutečnosti mnohem  
víc (2–10x) než transverzí

nekódující oblasti

synonymní

GTC → GTA  
Val → Val

} = „tiché“ (*silent*) substituce

nesynonymní (záměnové)

měníci smysl (*missense*)

nesmyslné (*nonsense*)

GTC → TTC

Val → Phe

AAG → TAG

Lys → ochre (stop)

2.

inzerce

delece

ACGGT → ACAGGT

ACGGT → AGGT

} =

indels

→

posunutí čtecího  
rámce

## Chromozomové mutace (chr. přestavby)

inverze

pericentrické

paracentrické

translokace

fúze a disociace

(robertsonské translokace)

reciproké translokace celých ramen (WART)

delece

duplikace

inzerce

# Genomové mutace

## -ploidie (polyploidie)

především rostliny

u živočichů méně (bezobratlí, ryby, obojživelníci)

během evoluce obratlovců došlo ke 2 kolům duplikace celého genomu (2R-hypotéza)

polyploidní jedinci zpravidla větší (zvýšený objem buněk)

liché násobky genomu → problémy v meióze ⇒ reprodukční bariéra  
(ne vždy – např. triploidní skokani)

**autopolyploidie:** kombinace dvou stejných genomů

fúze buněk

endoreplikace

abortivní buněčný cyklus

**alopolyploidie:** kombinace dvou různých genomů

fúze diploidních gamet

polyspermie

# Genomové mutace

## -zomie (monozomie, trizomie)

- většinou neslučitelné se životem
- **monozomie**: jediná životaschopná = X0 (Turnerův syndrom)
- **trizomie**: nerovnováha dávky genů (zvýšená exprese trizomického páru)
- životaschopné trizomie : XXY, XXX, XYY, Patau syndrom (chr. 13), Edwardsův s. (chr. 18), Downův s. (chr. 21)

## rekurentní (opakované) mutace → mutační tlak:

počáteční frekvence  $A = p_0 (= 1)$

mutace  $A \rightarrow a$

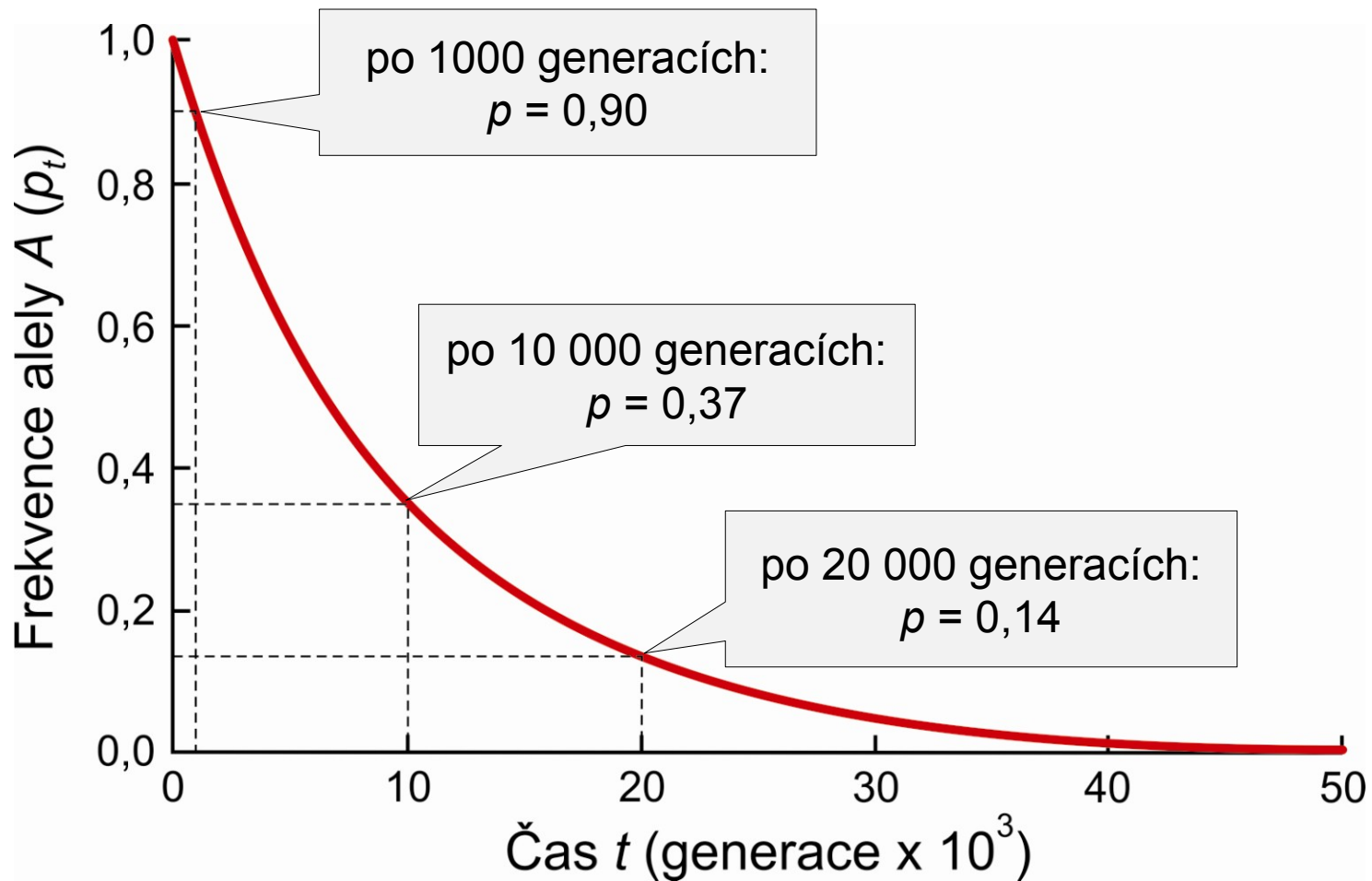
frekvence  $A$  v čase  $t = p_t$

mutační rychlost =  $\mu$  (např.  $10^{-4}$ )

$$p_1 = p_0(1 - \mu)$$

$$p_2 = p_1(1 - \mu) = p_0(1 - \mu)(1 - \mu) = p_0(1 - \mu)^2 \dots p_t = p_0(1 - \mu)^t$$





$$p_t = p_0 (1 - \mu)^t$$

doba nutná ke snížení frekvence  $A$  na polovinu =  $t_{1/2}$

$$t_{1/2} = \ln(1/2) / \ln(1 - \mu) \approx 0,6931 / \mu$$

$\Rightarrow$  při  $\mu = 10^{-4}$   $t_{1/2} \approx 6931$  generací; při  $\mu = 10^{-5}$   $t_{1/2} \approx 69\,310$  generací;

při  $\mu = 10^{-6}$   $t_{1/2} \approx 693\,100$  generací atd.

$\Rightarrow$  změna frekvence alely mutací velmi pomalá

## Mutační rychlost ( $\mu$ )

mutace náhodné co do účinku, nenáhodné co do pozice a rychlosti

transice > transverze

mutační „hotspots“: CpG u živočichů (metylovaný C  $\rightarrow$  T); TpT prokaryot  
„SOS reakce“ bakterií, minisatelity (VNTR), mikrosatelity (STR)

mtDNA > jad. DNA

pohlavní chromozomy > autozomy: Y > Z > A > X > W

vliv blízkosti počátku replikace, centromery, telomery, repetitivních sekvencí,  
intenzity transkripce

studenokrevní živočichové: > t  $\Rightarrow$  >  $\mu$

RNA viry (HIV), paraziti

protilátky, imunoglobuliny

>  $\mu$  somatických mutací

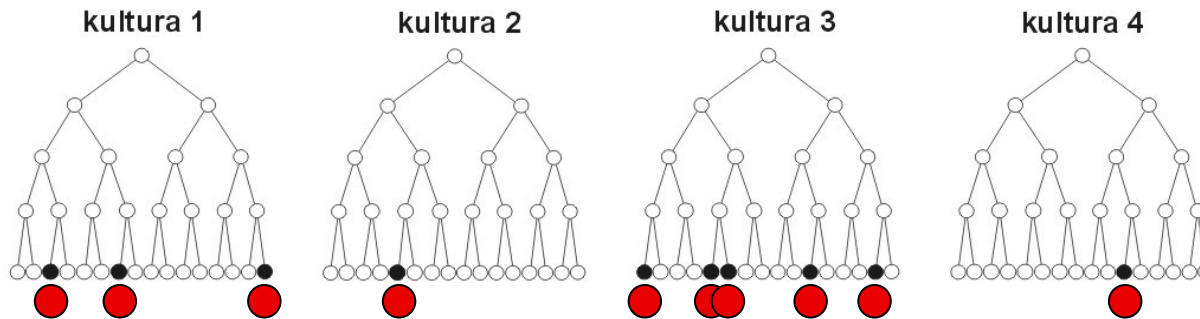
samci > samice: člověk 6x, hlodavci, liška: 2x ... více buněčných dělení  
v zárodečných buňkách

# Adaptivní (směřované) mutace?

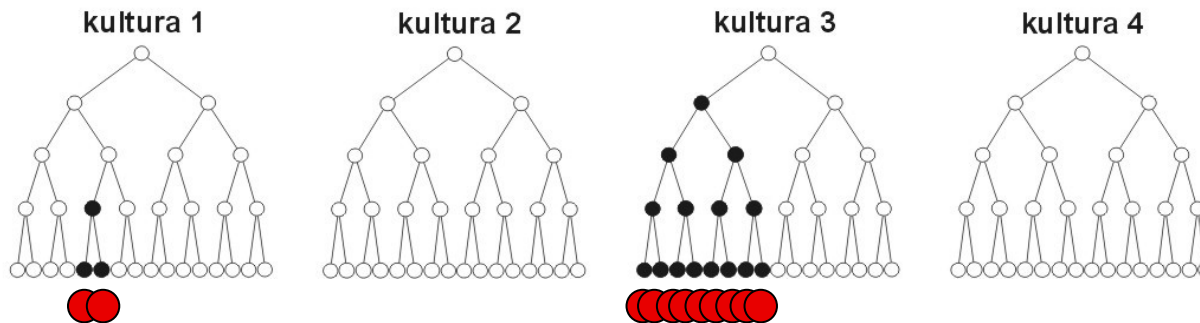
Max Delbrück, Salvador Luria (1943):  
flukтуаční test



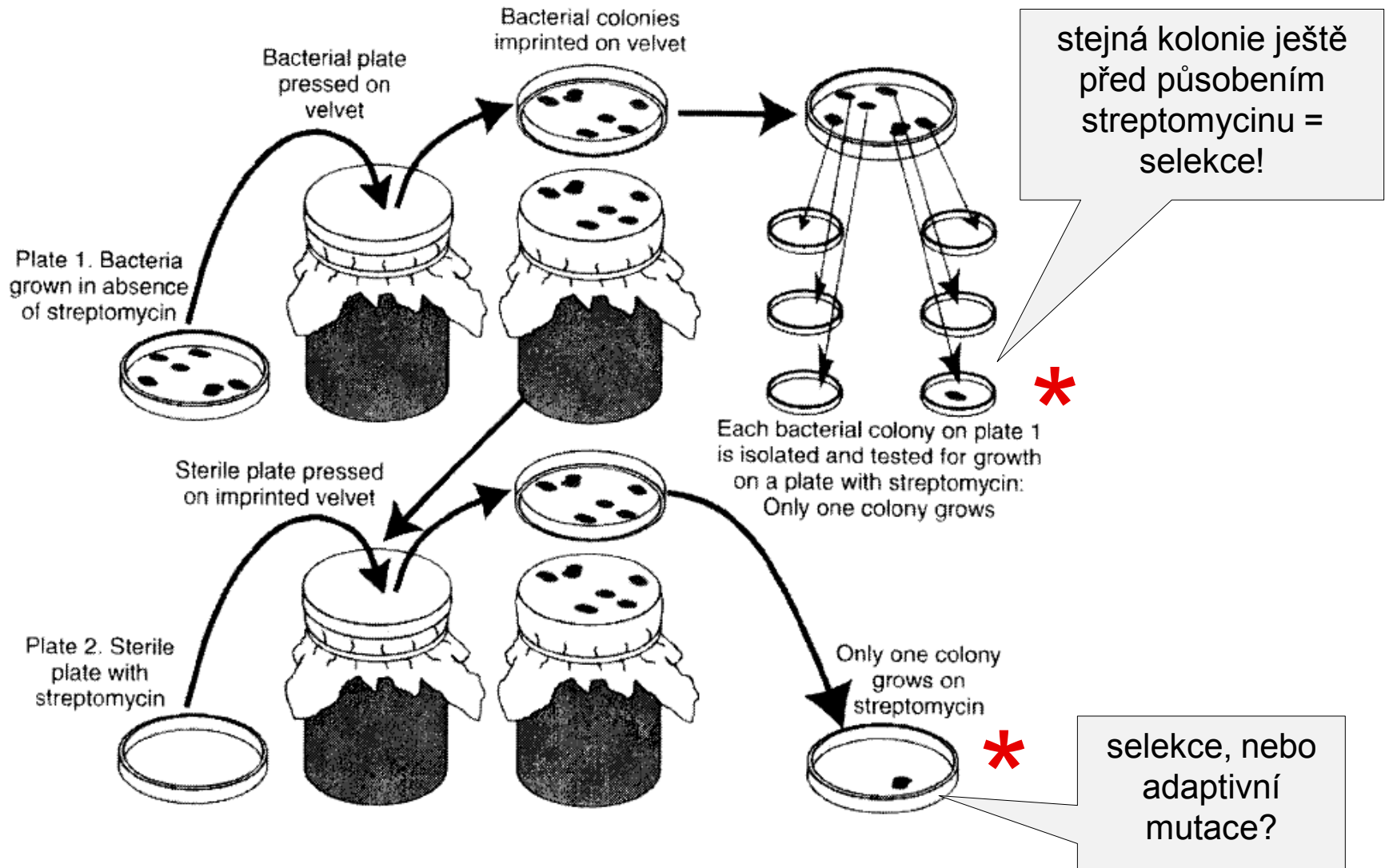
(a) mutace vyvolané prostředím



(b) náhodné mutace



# Joshua a Esther Lederberg (1952): replica plating



\* = kolonie s odpovídající si polohou na původní misce