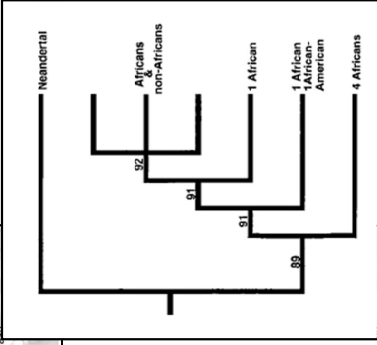
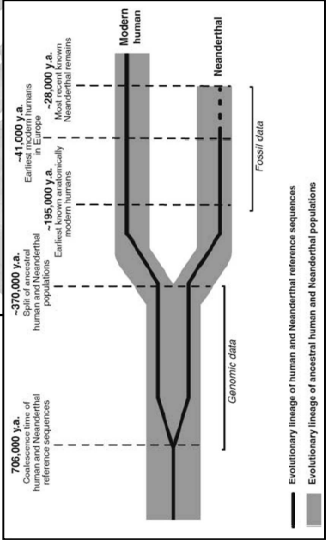
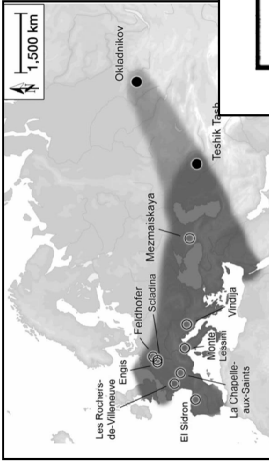




## Analyza archaické DNA



## Analyza archaické DNA



- 1) Analyza aDNA člověka
- 2) Analyza první neandrtálské DNA
- 3) Analyza druhé neandrtálské DNA
- 4) Interpretace nalezených výsledků  
- *Byli Neandrtálci odděleným druhem nebo byli odlišným poddruhem a jsou součástí naší vlastní historie?*
- 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?
- 6) Další nálezy a izolace neandrtálské DNA
- 7) Analyza jaderných sekvencí a sekvenování genomu Neandrtálce
- 8) Proč Neandrtálci vyhynuli?
- 8) Děnisované – co o nich víme

## 1) Analyza aDNA člověka

- doposud byla řeč o analýze DNA současných, žijících lidí a populací
- nyní se budeme zabývat analýzou tzv. **ancient DNA (aDNA)**
- nejčastěji se získává z kostí nebo zubů

### **problém:**

- často velmi degradovaná, zachovány jen fragmenty – používá se proto hlavně mtDNA (velké množství kopií, relativně malá molekula)
- při nálezu a odběru potřeba zamezit kontaminaci moderní (současnou) DNA
- největší úspěšnost u nálezů několik až desítek tisíc let starých
- používá se řada více či méně účinných izolačních metod, v poslední době především komerčně dostupných izolačních sad (tzv. kitů)

- analýza je možná díky PCR – zvýšení velmi nízké koncentrace DNA získané po izolaci do analyzovatelného množství, amplifikace jen konkrétního úseku

### **příčinou problémů jsou nejčastěji:**

- oxidační poškození, modifikace bází, křížové vazby
- kontaminace současnou DNA



- izolace a analýza je vzhledem k uvedeným problémům mnohem obtížnější než v případě analýzy současné DNA (její použití je ve studiích běžnější)

### **Co ovlivňuje kvalitu DNA?**

- **biologické faktory** - nukleázy v odumírajících buňkách, mikroorganizmy
- **fyzikální faktory** - záření
- **chemické faktory** - složení půdy, mikroorganizmy

### **Příklady některých důsledků:**

- fragmentace DNA (poškození cukrfosfátové kostry)
- modifikace bází před izolací DNA
- modifikace bází v průběhu PCR (lze ovlivnit částečně výběrem polymerázy)

**Tyto procesy bohužel nelze ovlivnit!**



### Jak lze problémy alespoň částečně překonat?

= zabránit degradaci a kontaminaci již při odběru a analýze

- ochranné pomůcky, speciální postupy, maximální sterilita prostředí, nástrojů, pomůcek a roztoků
- systém negativních kontrol (bez aDNA)
- systém opakování = min. dva odběry, dvě oddělené izolace, dvě oddělená opakování PCR, nejlépe ve dvou různých laboratořích
- systém pozitivních kontrol
  - kontrolní amplifikace již potvrzeného specifického úseku pro aDNA
  - kontrolní amplifikace sekvence charakteristické pro moderní DNA nebo osoby pracující v laboratoři
- > 1000 molekul DNA templátu aDNA
- nová generace polymeráz – amplifikují i fragmentovanou a modifikovanou aDNA (Shapiro, 2008)
- izolovat DNA jen z kostí s vysokým obsahem aminokyselin = vysoká úspěšnost získu kvalitní DNA (Poinar et al., 1996; Serre et al., 2004)



### Analýza archaické DNA

- 1) Analýza aDNA člověka
- 2) Analýza první neandrtálské DNA
- 3) Analýza druhé neandrtálské DNA
- 4) Interpretace nalezených výsledků  
- *Byli Neandrtálci odděleným druhem nebo byli odlišným poddruhem a jsou součástí naší vlastní historie?*
- 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?
- 6) Další nálezy a izolace neandrtálské DNA
- 7) Analýza jaderných sekvencí a sekvenování genomu Neandrtálce



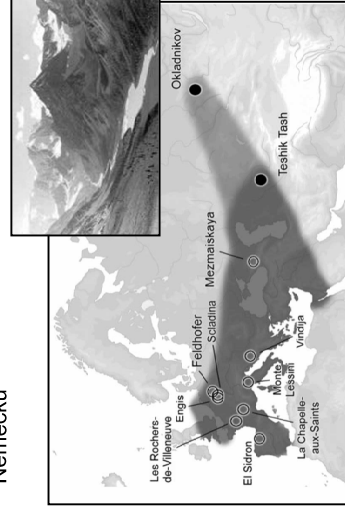
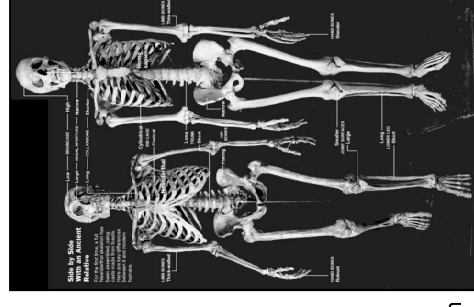
- 8) Proč Neandrtálci vyhynuli?
- 8) Děnisované – co o nich víme

### Analýzou mtDNA neandrtálce se pokusíme odpovědět na často kladené otázky:

- Byli Neandrtálci odlišným druhem nebo patří do vývojové linie moderního člověka?
- Byli izolovanou skupinou nebo se křížili s moderním člověkem?
- Máme v naší současné DNA nějaké neandrtálské geny nebo sekvence?
- Proč Neandrtálci zanikli?
- Co nám tyto výsledky říkají zajímavého pro naši diskuzi o původu moderního člověka?

### Kdo byli Neandrtálci?

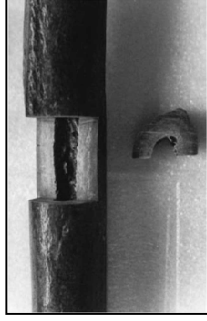
- *Homo neanderthalensis* nebo *Homo sapiens neanderthalensis*
- žili v Evropě před zhruba 400 000 až 30 000 lety a v západní Asii asi před 150 000 lety
- první nález popsán v roce 1856 v údolí Neander v Německu



- nové na základě DNA analýz byl jejich výskyt prokázán dokonce i v Centrální Asii a na jihu Sibíře (Krause et al., 2007)

## 2) Analýza první neandrtálské DNA

- v roce 1997 byla poprvé získána aDNA – izolace mtDNA z paňní kosti Neandrtálce z roku 1856 (Mathias Krings *et al.*)



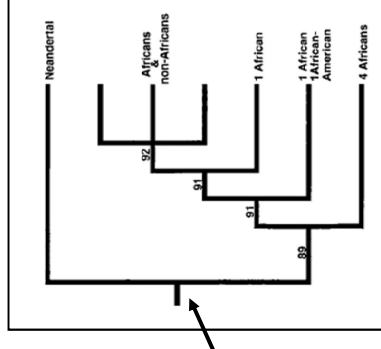
- konkrétně se jednalo o první nalezené pozůstatky Neandrtálského člověka v jeskyni **Feldhofer** v údolí Neander v Německu, žil před zhruba 35 000 až 70 000 lety (Larsen *et al.*, 1998)
- Kringsovi a kol. se podařilo analyzovat sekvenci dlouhou 378 pb (HVR1)
- porovnali tuto sekvenci s 994 různými sekvencemi **žijícího** moderního člověka, provedli párová porovnání a hledali odlišnosti mezi neandrtálskou a moderní DNA

- našli v průměru 27 odlišností (rozdíly kolísaly od 22 do 36 v jednotlivých párových srovnáních)
- jako kontrolu provedli také srovnání sekvencí moderní DNA mezi sebou = průměrně 8 rozdílů (1 až 24)

- průměrný počet rozdílů v neandrtálské DNA byl tedy asi **3x větší** oproti rozdílům v současné DNA (podíl vzorků s rozdíly 23 a 24 v moderní DNA tvořil jen 0,002 %)

= **Neandrtáci se geneticky odlišují od současných lidí**

- na základě tohoto srovnání však nelze odpovědět, zda-li byli Neandrtáci zcela oddělenou vývojovou linií



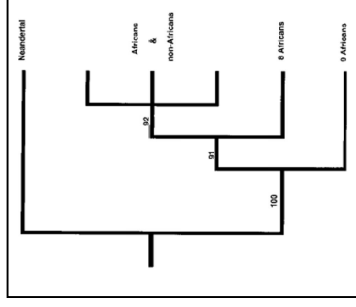
550 000 až 690 000 let

- později Krings *et al.* (1999) izolovali DNA z dalšího jedince z lokality **Feldhofer**

- vedle HVR1 se podařilo získat ještě 340 pb dlouhou sekvenci z hypervariabilního regionu (HVRII)

- získané výsledky byly velmi podobné výsledkům z roku 1997

- Neandrtáci se v HVRII regionu odlišují od žijících lidí v průměru na 35 místech (s rozpětím 29 až 43 rozdílů)



## Analýza archaické DNA

- 1) Analýza aDNA člověka
- 2) Analýza první neandrtálské DNA
- 3) Analýza druhé neandrtálské DNA
- 4) Interpretace nalezených výsledků  
- *Byli Neandrtáci odděleným druhem nebo byli odlišným poddruhem a jsou součástí naší vlastní historie?*
- 5) Křížili jsme se s Neandrtáci?
- 6) Další nálezy a izolace neandrtálské DNA
- 7) Analýza jaderných sekvencí a sekvenování genomu Neandrtálce
- 8) Proč Neandrtáci vyhynuli?
- 8) Děnisovaně – co o nich víme



#### 4) Interpretace nalezených výsledků

##### ***Byli Neandrtálci odděleným druhem nebo jsou součástí naší vlastní historie?***

- jasná odlišnost neandrtálské mtDNA potvrzuje závěry na základě fosilních nálezů, tedy že Neandrtálci jsou odlišní

##### **Existují dva názory:**

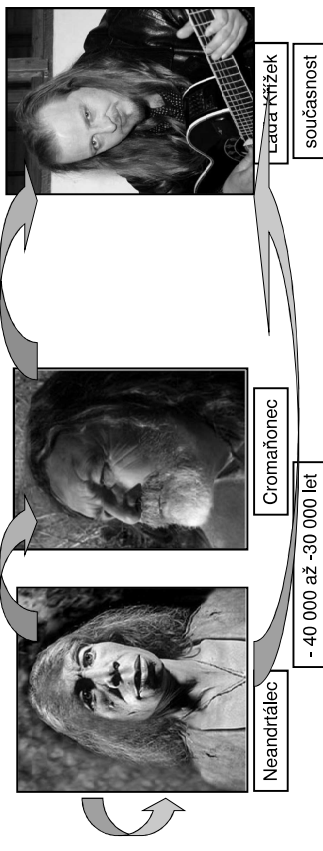
- 1) Neandrtálci byli odlišným druhem, který byl kompletně nahrazen moderním člověkem po jeho příchodu do Evropy.
  - tento názor však nevylučuje možnost kulturních i sexuálních kontaktů, i když asi s neploidním potomstvem v případě, že se jednalo o tak odlišné druhy, jak se zdá
- 2) Druhou možností je, že Neandrtálci nebyli odlišným druhem, ale byli součástí jedné vývojové linie, jak předpokládá multiregionální model.
  - pokud byli Neandrtálci součástí jedné vývojové linie, pak by měl existovat genový tok mezi Neandrtálci a dalšími archaickými populacemi
  - pokud nebyli reprodukčně izolováni, pak musíme jejich stopy objevit také v DNA současných lidí

Abychom mohli podrobit zkoumání tyto dvě hypotézy na základě genetických údajů, pak potřebujeme mít k dispozici sekvence DNA:

- 1) žijících lidí
- 2) Neandrtálců
- 3) fosilií anatomicky moderních lidí

Pak je potřeba prozkoumat genetické a evoluční vztahy:

- ✓ - neandrtálských populací mezi sebou
- ✓ - neandrtálských populací a populací současného člověka
- neandrtálských populací a populací starověkého moderního člověka z doby Neandrtálců
- populací starověkého moderního člověka a žijícího moderního člověka



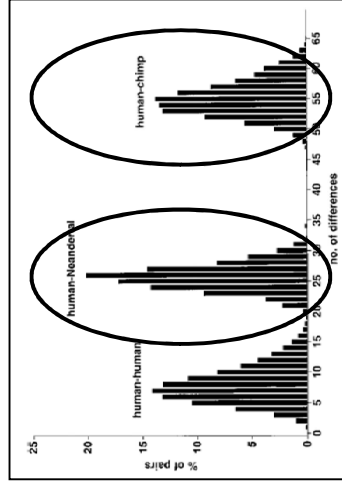
##### ***Interpretace genetických údajů dvou neandrtálských jedinců ve srovnání s DNA žijícího člověka.***

- mezi Feldhofer a Mezmaiskaya – **12 sekvenčních rozdílů**
- v rámci populace žijícího člověka v Evropě najdeme v průměru **5,3 rozdílů** (u Asiatů 6,3)
- 12 rozdílů (jako neandrtálci mezi sebou) má jen méně než 1 % žijících Evropanů
  - = je tu statisticky významný rozdíl v počtu odlišností v rámci současné žijící populace Evropanů a nežijících Neandrtálců (mezi 5,3 a 12 rozdílů)
- oproti tomu uvnitř současné africké populace je četnost rozdílů mezi jedinci v průměru **8,4**
- 12 rozdílů má 37 % žijících Afričanů
  - = v porovnání s Neandrtálci statisticky nevýznamný rozdíl
  - = odlišnosti mezi Neandrtálci navzájem jsou podobné jako mezi současnými Afričany
- ovšem nutno pamatovat, že **porovnáваме pouze dvě neandrtálské sekvence**, které ani nepochází z téže doby - Mezmaiskaya je 29 000 let stará a Feldhofer 35 000 až 70 000 let – značný rozdíl ve stáří může stát za většinou rozdílů, jimiž se liší

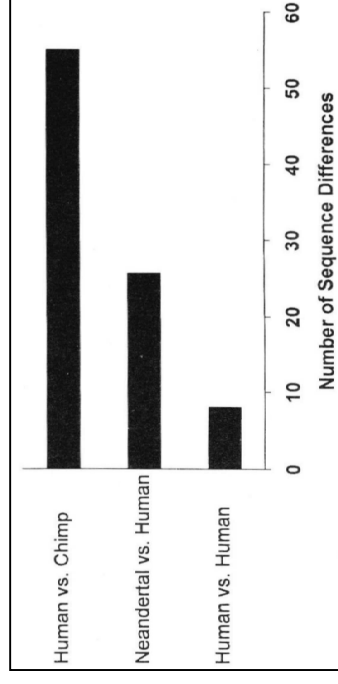
##### ***Jak velkou odlišnost bychom očekávali, pokud by byli Neandrtálci stejný druh jako moderní člověk?***

- podle Kringse et al. je to v průměru 8,0 změn – **27,2 změn je 3x více**
- = **Neandrtálci se (na základě dvou / tří sekvencí) spíše zdají být odlišným druhem od žijícího moderního člověka**

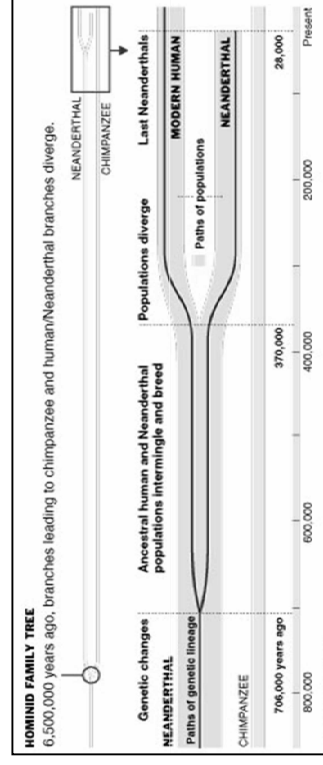
- Krings *et al.* také srovnali 986 sekvencí mtDNA žijících lidí s 16 sekvencemi žijících šimpanzů (333 pb dlouhá sekvence, která se vyskytuje u obou druhů)
- v této sekvenci nalezli:
  - v průměru 25,6 rozdílu mezi Feldhoferem a žijícími lidmi (20-34)
  - v průměru 55,0 rozdílu mezi lidmi a šimpanzi (46-67)
- mezi Neandrtálci a žijícími lidmi je i v této sekvenci opět trojnásobný rozdíl (25,6/8,0 = 3,2) a asi poloviční rozdíl oproti odlišnosti mezi žijícími lidmi a šimpanzi (25,6/55,0 = 0,47)



- na obrázku jsou výsledky zachyceny graficky:
- Neandrtálci jsou geneticky odlišní od současných lidí, avšak tato odlišnost není tak velká, jako je odlišnost mezi současnými lidmi a šimpanzi



- tento intermedinární výsledek je očekávatelný, protože šimpanzi se jako druh oddělili od lidí mnohem dříve (před asi 6 miliony let), zatímco Neandrtálci se od společného předka odvětvili teprve v průběhu posledního milionu let

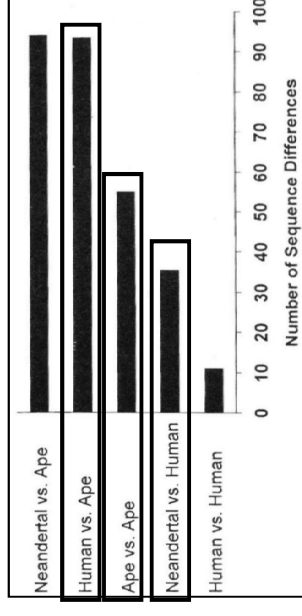


- odhad doby oddělení Neandrtálců a moderního člověka na základě molekulárních hodin (kalibrace 4-5 milionů MRCA člověk-šimpanz) – **550 000 až 690 000** (v souladu s paleoantropologickými odhady)
- platí samozřejmě za předpokladu, že Neandrtálci byli odlišným druhem, v opačném případě údaje vypovídají o historii mtDNA, nikoliv o historii dávných populací člověka

- stejné analýzy byly provedeny také pro druhou mtDNA Feldhofer

- výsledky (viz obrázek) byly stejné:

- rozdíl mezi neandrtálskou DNA a DNA žijících lidí jsou větší než rozdíly mezi žijícími lidmi, ale menší než rozdíly mezi lidmi a opicemi (zde šimpanz i bonobo)
- odlišnost mezi Neandrtálci a lidmi je také menší než odlišnost mezi zkoumanými opicemi (avšak porovnávané byly dva odlišné druhy – šimpanz a bonobo)
- odhad stáří MRCA Neandrtálců a moderního člověka je 317 000 až 741 000 let (365 000 až 853 000 lety podle Mezmaiskava)



- odhad stáří společného předka obou neandrtálských zástupců je mezi 151 000 až 352 000 lety

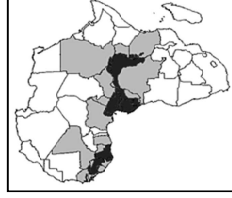
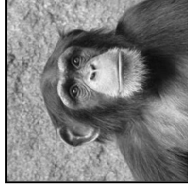
- Krings *et al.* však získali zajímavé výsledky i porovnáním sekvenčních odlišností v 312 pb dlouhé sekvenci mtDNA uvnitř jednotlivých poddruhů šimpanzů

- průměrný počet rozdílů byl v rámci jednotlivých poddruhů:

*Pan troglodytes schweinfurthii* (východní poddruh) = 7,9 rozdílů

*P. troglodytes troglodytes* (centrální poddruh) = 14,6 rozdílů

*P. troglodytes verus* (západní poddruh) = 21,8 rozdílů



- průměrný počet rozdílů mezi Neandrtálci a současnými lidmi (25,6) je tedy **větší** než je průměrný počet rozdílů v rámci jednotlivých poddruhů šimpanzů

**Závěr:**

**Srovnáme-li tedy počet rozdílů v mtDNA mezi Neandrtálci a mezi současnými lidmi s vzhledem k počtu rozdílů mezi lidmi a šimpanzi jako dvěma druhy, je zřejmé, že Neandrtálci a moderní člověk představovali spíše dva odlišné druhy.**

**Rozmanitost Neandrtálské DNA ve vztahu k regionálním populacím**  
aneb platnost multiregionálního modelu (Neandrtálci jsou poddruhem) stále žije

- porovnáme-li HVRI sekvenci prvního zástupce z Feldhoferu s DNA žijících lidí jednotlivých kontinentálních populací, získáme následující údaje:

Feldhofer x Evropani = průměrně 28,2 rozdílů

Feldhofer x Afričani = průměrně 27,2 rozdílů

Feldhofer x Asiati = průměrně 27,7 rozdílů

Feldhofer x původní Američani = průměrně 27,4 rozdílů

Feldhofer x Austrálie a Oceánie = průměrně 28,3 rozdílů

- velmi podobné údaje získáme i pro Feldhofer 2 (HVRII) a pro Mezmaiskaya

= odlišnost Neandrtálců je od všech regionálních populací stejná (neplatí pro genomovou DNA – viz později), jinými slovy nenalézáme tu očekávanou větší podobnost s Evropany v případě platnosti multiregionálního modelu

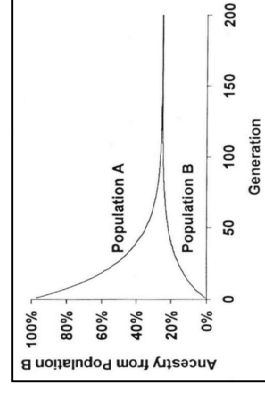
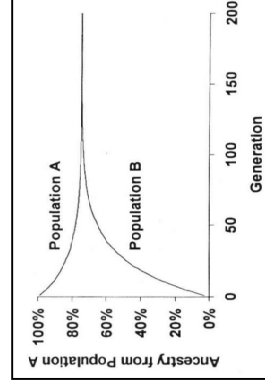
- podstata může být v dostatečně dlouho trvajícím **genovém toku**

- podle některých tak získané výsledky **potvrzují model nahrazení** – Neandrtálci a moderní člověk představují odlišné druhy, které se oddělily od společného předka (možná *H. heidelbergensis*) v období středního Pleistocénu

- !!! avšak musíme mít na paměti, že porovnávané sekvence, které se liší stářím o několik desítek tisíc let (rozdíl mezi neandrtálskou a současnou DNA)

= velký rozdíl v sekvencích tak může být odrazem působení genového posunu za dobu zhruba 40 000 let (Nordborg, 1998)

- navíc jde o stále malý počet analyzovaných sekvencí



- důsledkem dostatečně dlouho trvajících genového toku je, že obě populace jsou si téměř podobné

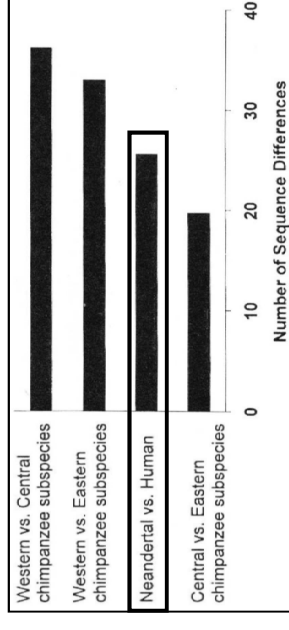
= totéž mohlo nastat v případě populací moderního člověka, pokud trval genový tok dostatečně dlouho, pak je populace Evropanů stejně odlišná od původní Neandrtálské populace jako populace z ostatních regionů

= **oba modely** (nahrazení i multiregionální) **mohou tedy vést ke stejnému výsledku**

### Byli tedy Neandrtálci odlišným poddruhem?

- pokud by Neandrtálci s námi sdíleli stejnou vývojovou linii (podle multiregionalistů), pak by jejich genetická odlišnost mohla nasvědčovat tomu, že byli odlišným poddruhem než je moderní člověk
- podle některých antropologů *Homo sapiens neanderthalensis* x *Homo sapiens sapiens* (poddruhy moderního člověka *Homo sapiens*)
- *Ize najít důkaz této alternativy také v DNA?*
- porovnejme si **rozdílly mezi jednotlivými poddruhy šimpanze** z výsledku Kringse *et al.* (312 pb oblasti HVR1):
  - mezi centrálním a východním poddruhem = průměrně 19,7 rozdílů
  - mezi západním a východním poddruhem = průměrně 33,0 rozdílů
  - mezi západním a centrálním poddruhem = průměrně 36,2 rozdílů
- mezi Neandrtálci a žijícími lidmi = průměrně 25,6 rozdílů

Prokázanou odlišnost mtDNA Neandrtalců v porovnání s DNA současného člověka je možné prozatím vysvětlit jak pomocí modelu nahrazení, tak i modelu multiregionálního.



- **počet rozdílů mezi Neandrtálci a žijícími lidmi je menší než mezi dvěma ze tří poddruhů šimpanzů**

Neandrtálci a žijící moderní člověk mohou představovat odlišné poddruhy v rámci stejného druhu.



### Analýza archaické DNA

- 1) Analýza aDNA člověka
- 2) Analýza první neandrtálské DNA
- 3) Analýza druhé neandrtálské DNA
- 4) Interpretace nalezených výsledků  
- *Byli Neandrtálci odděleným druhem nebo byli odlišným poddruhem a jsou součástí naší vlastní historie?*
- 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?
- 6) Další nálezy a izolace neandrtálské DNA
- 7) Analýza jaderných sekvencí a sekvenování genomu Neandrtálce
- 8) Proč Neandrtálci vyhynuli?
- 8) Děnisovaně – co o nich víme





## 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?

- 1) Vůbec jsme se nekřížili – málo pravděpodobné, kontakty byly (ukazuje na to mtDNA vši)

## O vších a lidech

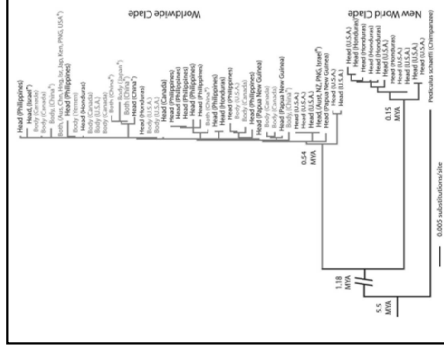
(Reed et al., 2004)

- Zkoumána rozmanitost v mtDNA vši člověka, především vši vlasové
- parazit specificky vázaný na svého hostitele



• předpokládalo se, že:

- archaická veš zanikla s archaickými populacemi (archaická veš)
- existuje pouze veš adaptovaná na moderního člověka (moderní veš)



- v genomu současné vši však byly nalezeny stopy 2 linií vši

- identifikovány 2 fylogenetické větve
  - linie vyskytující se po celém světě
  - linie vyskytující se pouze v Evropě a Americe

## O vších a lidech

- obě linie mají společného předka starého 1,8 milionu let

### • jedna větev

- tato linie rozšířená po celém světě
- je koadaptací na moderního člověka
- prošla bottleneckem a následnou expanzí před asi 110 000 lety
- veš vlasová i veš šatní

### • druhá větev

- pouze v populacích Evropy a Nového světa
- původní archaická veš (hostitelem zřejmě *H. erectus* a *H. neanderthalensis*)
- nevymřela se svým hostitelem
- koadaptovala se na nového hostitele – moderního člověka
- pouze veš vlasová
- nevykazuje ani bottleneck, ani expanzi = přešla na již bohatě zastoupeného hostitele

Druhá linie představuje prastarou archaickou veš, která přešla z archaického člověka na člověka moderního jako nového hostitele.

Mezi archaickým a moderním člověkem musel existovat velmi těsný kontakt.

## 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?

- 1) Vůbec jsme se nekřížili – málo pravděpodobné, kontakty byly (ukazuje na to mtDNA vši)
- 2) Křížili jsme se, ale nevznikalo plodné potomstvo (odlišné druhy)
- 3) Křížili jsme, ale neandrtálská DNA (sekvence nebo geny) z genofondu vymizela
- 4) Křížili jsme se a dost hojně, důkazy by měli být v DNA tehdejších moderních a současných lidí

- pouze bod 4) dokazuje křížení a neandrtálskou příměs, body 2) a 3) křížení nevylučují

V současné mtDNA však nenalézáme stopy po neandrtálských předcích.

- to však ještě nemusí znamenat, že jsme se s Neandrtálci ve skutečnosti nekřížili

## 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?

V současné mtDNA však nenalézáme stopy po neandrtálských předcích.

- to však ještě nemusí znamenat, že jsme se s Neandrtálci ve skutečnosti nekrížili

Stopy po křížení mohou být:

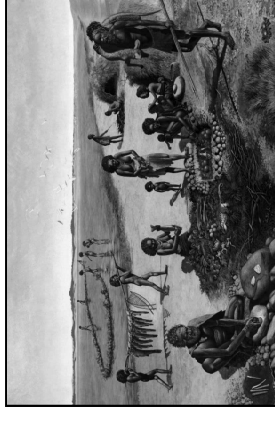
- **smazány** dlouhotrvajícím genovým tokem – sekvence neandrtálské mtDNA jsou tak podobné současné moderní mtDNA, že je považujeme za kontaminaci nebo je vůbec neodlišíme
- **odstraněny** působením genového posunu
- a/nebo **přemístěny** do genomu jaderného, jak bylo prokázáno v případě následující studie australské populace

- Gregory Adcock *et al.* (2001) – porovnávali sekvenci mtDNA izolovanou z australských fosilií, které obsahovaly i vzorky jedinců Lake Mungo 3 (LM3), předka Australanů žijícího před asi 60 000 lety

- LM3 má anatomicky moderní znaky a představuje předka žijících australských domorodců



Sahul – prekontinent Austrálie a Nové Guineje

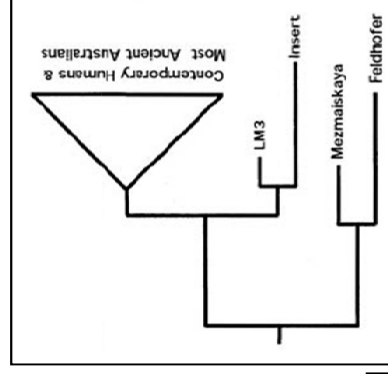


- Gregory Adcock *et al.* (2001) – porovnávali sekvenci mtDNA izolovanou z australských fosilií, které obsahovaly i vzorky jedinců Lake Mungo 3 (LM3), předka Australanů žijícího před asi 60 000 lety

- LM3 má anatomicky moderní znaky a představuje předka žijících australských domorodců
- mtDNA je však odlišná od současných domorodců Australanů = LM3 sekvence nenalézáme u současných Australanů

- původ v populaci LM3 však potvrzuje část mtDNA jedinců LM3, která se nalézá pouze u některých současných domorodců Australanů a to jako inzerce **na chromozomu 11**

- tato analýza ukazuje, že studované sekvence mtDNA jsou příliš malým zlomkem genetické informace, který se může v průběhu evoluce člověka (v důsledku genového toku v kombinaci s genovým posunem, případně selekcí) z genomu současných potomků zcela ztratit



**Odpověď na otázku ohledně křížení musíme hledat v dalších sekvencích (viz později).**

## Analýza archaické DNA

- 1) Analýza aDNA člověka
- 2) Analýza první neandrtálské DNA
- 3) Analýza druhé neandrtálské DNA



- 4) Interpretace nalezených výsledků

- *Byli Neandrtálci odděleným druhem nebo byli odlišným poddruhem a jsou součástí naší vlastní historie?*

- 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?

- 6) Další nálezy a izolace neandrtálské DNA

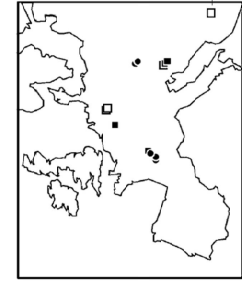
- 7) Analýza jaderných sekvencí a sekvenování genomu Neandrtálce

- 8) Proč Neandrtálci vyhynuli?

- 8) Děnisovaně – co o nich víme



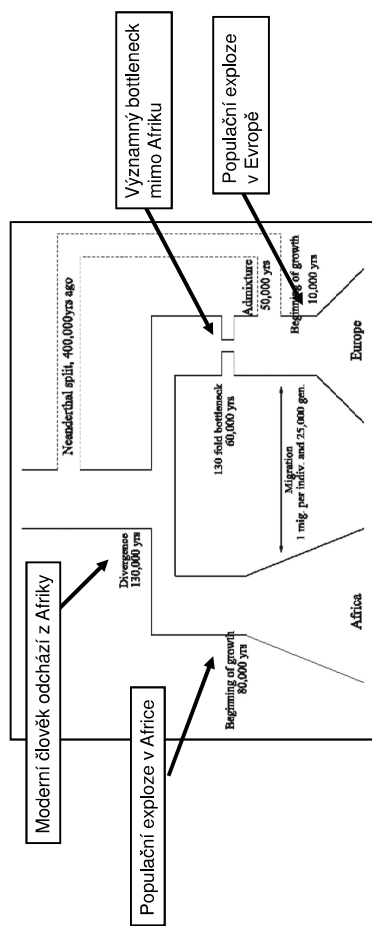
- David Serre *et al.* (2004) - analyzovali 4 neandrtálské vzorky a 5 vzorků raného moderního člověka, které byly vhodné pro další analýzy



<b>Neanderthal remains</b>
Vindija 77 (VI-77) (Croatia)
Vindija 80 (VI-80) (Croatia)
Engis 2 (Belgium)
La Chapelle-aux-Saints (France)
<b>Early modern human remains</b>
Mladeč 25c (Czech Republic)
Mladeč 2 (Czech Republic)
Cro-Magnon (France)
Abri Pataud (France)
La Madeleine (France)

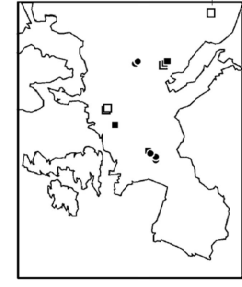
- žádná z pěti sekvencí raného moderního člověka **neobsahovala** charakteristickou **neandrtálskou sekvenci** (a to ani tzv. přechodné formy z Mladeče)
- na základě těchto výsledků lze tedy **vyloučit masivní příspěvek** neandrtálské DNA do genofundu moderního člověka (při  $N_e = 10\ 000$  lze vyloučit více než 10% příspěvek)
- nelze však vyloučit malý příspěvek (5% a méně), tedy ojedinělé křížení vzhledem k počtu zkoumaných vzorků, přestože ani přechodné formy tomu nenasvědčují

- Vincent Plagnol a Jeffrey Wall (2006, PLoS Genetics) využili sekvenční data z „The Environmental Genome Project“ a aplikovali nové statistické metody
- jejich výsledky naznačují na možnou **příměš** (min. 5%) archaické DNA v DNA evropských a západoafrických populací



- bude potřeba potvrdit studiem dalších sekvencí

- David Serre *et al.* (2004) - analyzovali 4 neandrtálské vzorky a 5 vzorků raného moderního člověka, které byly vhodné pro další analýzy



<b>Neanderthal remains</b>
Vindija 77 (VI-77) (Croatia)
Vindija 80 (VI-80) (Croatia)
Engis 2 (Belgium)
La Chapelle-aux-Saints (France)
<b>Early modern human remains</b>
Mladeč 25c (Czech Republic)
Mladeč 2 (Czech Republic)
Cro-Magnon (France)
Abri Pataud (France)
La Madeleine (France)

- žádná z pěti sekvencí raného moderního člověka **neobsahovala** charakteristickou **neandrtálskou sekvenci** (a to ani tzv. přechodné formy z Mladeče)
- na základě těchto výsledků lze tedy **vyloučit masivní příspěvek** neandrtálské DNA do genofundu moderního člověka (při  $N_e = 10\ 000$  lze vyloučit více než 10% příspěvek)
- nelze však vyloučit malý příspěvek (5% a méně), tedy ojedinělé křížení vzhledem k počtu zkoumaných vzorků, přestože ani přechodné formy tomu nenasvědčují

### Condemi *et al.*, 2013

- analyzovali čelist z roku 1957 (Riparo Mezzena, Monti Lessiny, SV Itálie, Verona)
- oblast brady morfologicky vykazuje neandrtálské i moderní znaky
- mtDNA je neandrtálská
- autoři spekulují, že je to **možná hybridní jedinec** – bude vyžadovat další analýzy



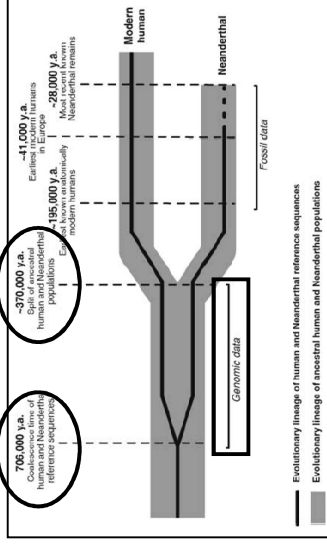
### Analýza archaické DNA

- Analýza aDNA člověka
- Analýza první neandrtálské DNA
- Analýza druhé neandrtálské DNA
- Interpretace nalezených výsledků  
- *Byli Neandrtálci odděleným druhem nebo byli odlišným poddruhem a jsou součástí naší vlastní historie?*
- Křížili jsme se s Neandrtálci?
- Další nálezy a izolace neandrtálské DNA
- Analýza jaderných sekvencí a sekvenování genomu Neandrtálce
- Proč Neandrtálci vyhynuli?
- Děnisované – co o nich víme



## 7) Analýza jaderných sekvencí a sekvencování genomu Neandrtálce

- na počátku 21. století snahy **osekvencovat**, co největší část jaderného genomu Neandrtálce – projekt **mapování neandrtálského genomu**
- Noonan *et al.* (2006) – zkonstruovali metagenomickou knihovnu z fragmentů DNA různých Neandrtálců – získali celkem **65 250 pb**
- na základě údajů spočítali dobu, kdy se Neandrtálci oddělili od společného předka s moderním člověkem



- dále zjistili, že se Neandrtálci liší od moderního člověka pouhým 0,5 % dědičné informace v analyzované sekvenci (zlomek oproti 3 miliardám) – podobnost lze dále využít

## • v únoru 2009 oznámili S. Pääbo a R. Green **úplné osekvcování genomu Neandrtálce**

- pracují na přípravě DNA knihoven dalších 5 různých neandrtálských vzorků pro finální srovnání celých genomů neandrtálce a moderního člověka



Svante Pääbo

- Green *et al.* (2006) byli v procesu mapování neandrtálského genomu úspěšnější - osekvcovali **přes 1 milion pb** (Vindija), tj. asi 0,03 % genomu člověka
- stáří společného předka Neandrtálců a moderního člověka (oddělení sekvencí) odhadli na 500 000 let
- jejich výsledky také naznačují možný **genový tok mezi moderními lidmi a Neandrtálci** - a to především mužů z populací moderního člověka do populací Neandrtálců (bude však potřeba potvrdit dalšími analýzami)



Svante Pääbo

## • Green *et al.* (2010) porovnali genom neandrtálců a současných moderních lidí

- 3 jedinci z jeskyně Vindija (Chorvatsko) – stáří jedinců 38 000 až 45 000 let
- 5 zástupců současných moderních lidí – po jednom z populací:
  - Sanů (Jižní Afrika)
  - Yoruba (Západní Afrika)
  - Papua-Nová Guinea (Oceánie)
  - Hanů (Čína, Východní Asie)
  - Francie (Západní Evropa)
- zkoumali podobnosti mezi Neandrtálci a moderními lidmi



### Výsledky:

- Neandrtálci jsou si významně podobnější s mimoafrickými populacemi než s populacemi africkými
- ukazuje na křížení (genový tok) mezi Neandrtálci a moderními lidmi mimo Afriku
- **genový tok** probíhal v době **před 50 000 až 80 000 lety**
- tedy v době, kdy moderní člověk opustil Afriku
- příspěvek neandrtálských sekvencí do genomu neafrického moderního člověka je asi 1 až 4 %

### Kde křížení probíhalo

Green *et al.* (2010) před 50 000 až 80 000 lety  
Reich *et al.* (2010) před 50 000 až 80 000 lety

#### 1) Na Blízkém Východě po migraci z Afriky

nasvědčuje tomu o něco větší podobnost mezi Neandrtálci a Asiaty než mezi Neandrtálci a Evropany

to však může být důsledek:

- menšího genového toku do evropských populací (velikost příchozích moderních populací do Evropy byla po populační explozi větší než v Asii – viz kapitola „Velikost populace našich předků“)
- stopy v Evropě částečně smazány pozdější silnou migrací související s rozvojem zemědělství



### Kde křížení probíhalo

Green *et al.* (2010) před 50 000 až 80 000 lety  
Reich *et al.* (2010) před 50 000 až 80 000 lety

#### 1) Na Blízkém Východě po migraci z Afriky

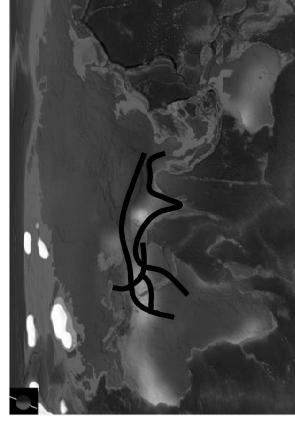
Pokud by křížení probíhalo pouze na Blízkém Východě, pak to ovlivní scénáře migrace z Afriky:

a) křížení s moderními lidmi po první migraci před asi 100 000 lety – málo pravděpodobné

b) osídlení proběhlo **severní cestou** přes Arabský poloostrov

- **migrace přes Africký roh** podél pobřeží by pak ale neměla obsahovat neandrtálskou DNA

c) křížení až s moderními lidmi, kteří oblast Levant **znovu osídlili před asi 50 000 lety** – podporuje aktuální studie (Hershkovitz *et al.*, 2015) morfologie lebky jedince nalezeného v oblasti Levant (jeskyně Manot, Izrael) – podrobnosti viz e-skripta „Zajímavosti a aktuální“



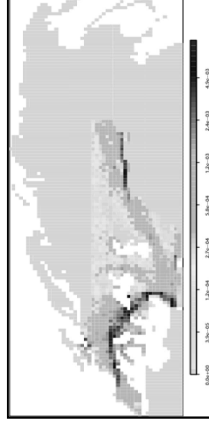
### Kde křížení probíhalo

Green *et al.* (2010) před 50 000 až 80 000 lety  
Reich *et al.* (2010) před 50 000 až 80 000 lety

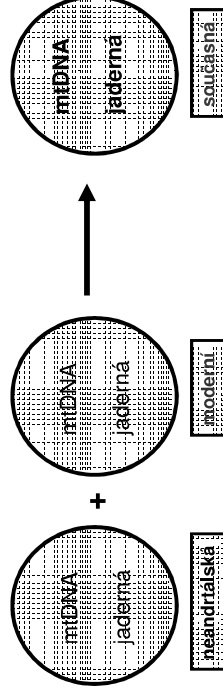
#### 2) Křížení probíhalo po dobu celé migrace

(Currat a Excoffier, 2011)

- křížení neproběhlo jen na Blízkém Východě, ale i v Asii a Evropě
- obrázek ukazuje počítačovou simulaci úspěšnosti křížení v průběhu osídlování
- autoři nastavili velmi malou úspěšnost hybridů (méně než 2 %) – z důvodu nižší fitness a/nebo výběrového oplození (viz dále)

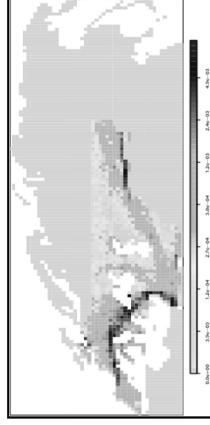


- 10 000 simulací – v žádné nebyla na konci příměs neandrtálské mtDNA, naopak zjištěna malá příměs jaderné neandrtálské DNA = odpovídá reálným pozorováním



### Kde křížení probíhalo

Green *et al.* (2010) před 50 000 až 80 000 lety  
Reich *et al.* (2010) před 50 000 až 80 000 lety



### 2) Křížení probíhalo po dobu celé migrace (Currat a Excoffier, 2011)

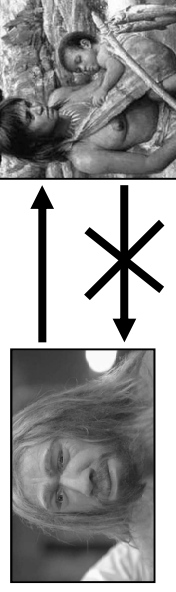
- křížení je nejsilnější na začátku migrační vlny (modrá barva) = 2 hybridní zóny
  - jedna sahá z Blízkého Východu z Anatólie až do Španělska
  - druhá je v centrální Asii (nejzazší místo výskytu Neandrtálců)
- směrem od hybridní zón intenzita klesá, avšak stopu po křížení lze nalézt po celé Asii a Evropě

### Závěr

- potvrzuje křížení v oblasti Blízkého Východu
- naznačuje možnost křížení i v rámci Evropy a Asie – důkazem by byla odlišná neandrtálská příměs v Evropě od Asie – populace Neandrtálců v Evropě a Asii by se měly odlišovat – možná ukáží další analýzy

### Směr křížení

Genový tok jen z populace Neandrtálců do populací moderního člověka



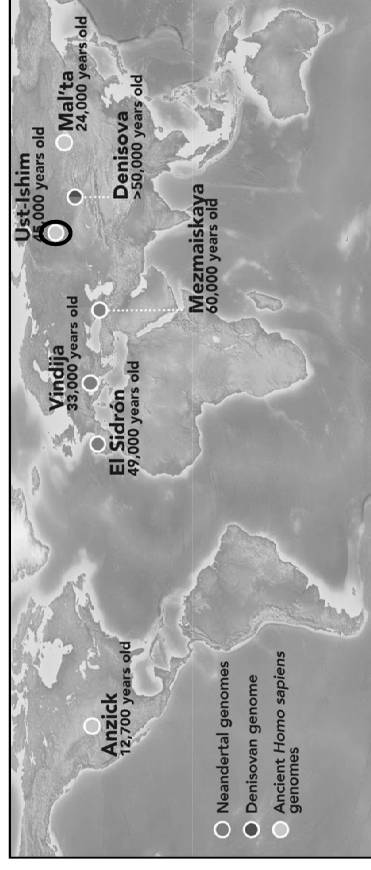
= důsledek směru migrace - postupu moderních lidí do archaických populací

- ke křížení dochází jen na čele migrace („surf“ genů)
- kolonizace je poměrně rychlá
- příspěvek původní populace do nové přichodící populace je malý (v souladu s pozorovanými 1-4 %)

Nenalézáme stopy po genovém toku z moderních populací do populací Neandrtálců

- archaická populace je asimilována, DNA zaniká
- moderní DNA v archaických vzorcích je považována za kontaminaci
- pokud se křížili jen na Blízkém Východě, pak v DNA evropských Neandrtálců stopy po tomto směru ani být nemohou

### První objevení hybridní jedinci podle jaderné DNA



- Fu *et al.* (2014) analyzovali jadernou DNA stehenní kosti jedince Ust-Ishim (Sibiř), stáří asi 45 000 let = nejstarší sekvenovaný genom moderního člověka
- v různých částech genomu vykazuje mnohem větší příspěvek neandrtálské DNA než je u žijících Evropanů a Asiátů
- neandrtálská DNA je také lokalizována v souvislejších (větších) sekvenčních fragmentech

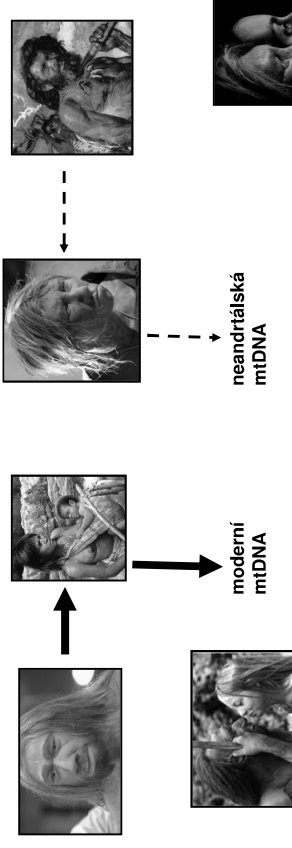
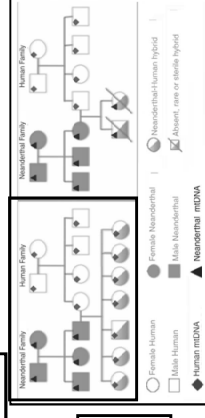
= jedinec žil v době brzy po křížení s Neandrtálci

= odhad doby křížení – před 50 000 až 60 000 let (45 000 ± 7 000 až 13 000 let)

### Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA

Mason a Short, 2011

Křížení probíhalo mezi neandrtálskými muži a moderními ženami v důsledku pohlavního výběru



- robustnější neandrtálští muži byli v jasné výhodě při výběru ze strany moderních žen (robustnější fenotyp byl pro moderní ženy atraktivnější)
- naopak pro drobnější moderní muže mohly být robustní neandrtálské ženy nepřitažlivé

**Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA**

Mason a Short, 2011

Proč však není významně zastoupen neandrtálský chromozom **Y**, když otcové byli Neandrtálci



**Haldanovo pravidlo**

- mezdruhová hybridní heterogametického pohlaví buď zcela chybí, jsou vzácní nebo sterilní
- u člověka platí pro hybridy mužského pohlaví
- příčinou je vysoká mutační rychlost genu SRY a hemizygotní stav
- **potomci ženského pohlaví jsou tedy u kříženců mnohem častější**
- Sankararaman et al. 2014 – pozorovali výrazně snížený příspěvek neandrtálských sekvencí na chr. X v lokusech ovlivňujících tvorbu testes a mužskou fertilitu = mužští hybridní měli problémy s plodností

**Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA**

Mason a Short, 2011

**Možnost 1:**  
Vliv pohlavního výběru v kombinaci s Haldanovým pravidlem (viz předchozí).

Pokud budeme uvažovat i křížení v opačném směru, tedy mezi moderními muži a neandrtálskými ženami

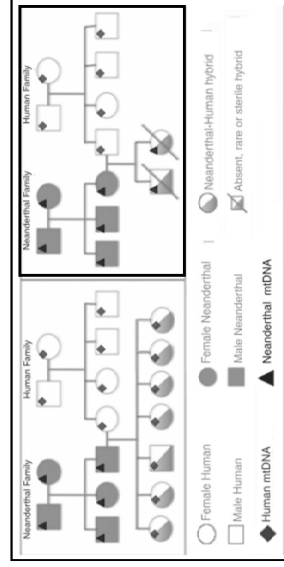


**Možnost 2:**  
Neandrtálská mtDNA obsahovala vysoké množství „škodlivých“ mutací, což vedlo k zániku těchto linií a proto se nedochovávala.

**Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA**

Mason a Short, 2011

**Možnost 3:**  
Podle poznatků o mezidruhových hybridcích je možné, že neandrtálské ženy nebyly schopny s moderními muži rodit fertillní potomstvo.

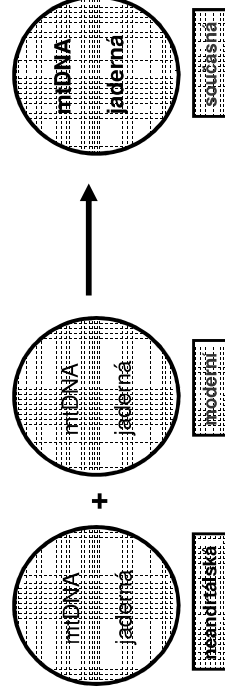


**Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA**

Mason a Short, 2011

**Možnost 4:**  
Neandrtálské matky (s mtDNA) vychovávaly své potomky v neandrtálských populacích a jejich mtDNA zanikla společně s neandrtálskými populacemi.

- viz dříve - mtDNA jedné populace může být po křížení kompletně nahrazena mtDNA druhé křížící se populace, zatímco její část jaderné DNA může být zachována (Serva, 2006)





**Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA**

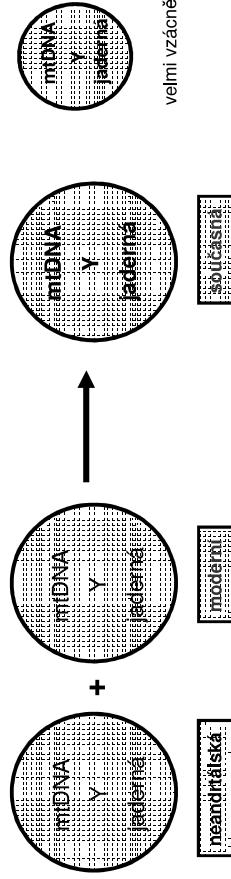
Mason a Short, 2011

**Možnost 4:**

**Neandrtálské matky (s mtDNA) vychovávaly své potomky v neandrtálských populacích a jejich mtDNA zanikla společně s neandrtálskými populacemi.**

**Neves a Serva (2012) toto potvrdili jinou simulací:**

- po křížení se zachová jen jedna linie **mtDNA** a chromozomu **Y**, část jaderné DNA však zůstane z druhé populace zachována
- navíc v 89 z 96 simulací byla zachována linie mtDNA a chromozomu Y ze stejné populace

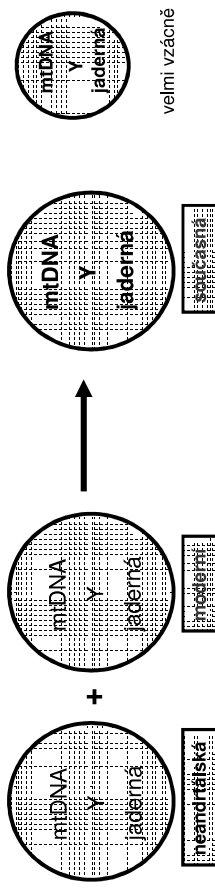


**Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA**

Mason a Short, 2011

**Možnost 4:**

**Neandrtálské matky (s mtDNA) vychovávaly své potomky v neandrtálských populacích a jejich mtDNA zanikla společně s neandrtálskými populacemi.**



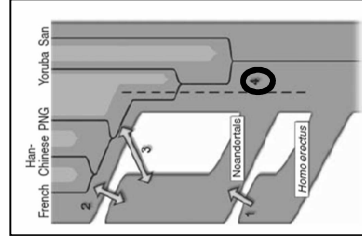
- k zániku druhé populace nemusí být ani rozdíly ve **fitness** (ani jedna z populací nemá výhodu)
- vyšší fitness moderních populací jen o 1 % oproti neandrtálským populacím pak vede k velmi rychlému zániku ve velmi krátkém čase
- **na Blízkém Východě měly populace stejnou fitness** – nahrazení bylo pomalé
- v Evropě bylo nahrazení naopak velmi rychlé = **pravděpodobně byli moderní lidé v nějaké mírné výhodě**

**Neandrtálská příměs není výsledkem křížení, ale struktury původních afrických populací (ancient substructure theory)**

Green et al. (2010)

**Pravděpodobné scénáře genového toku vysvětlující zjištěný příspěvek neandrtálské DNA do genomu moderního člověka**

- 1 – genový tok probíhal z archaické populace (např. *H. erectus*) do populace Neandrtálců = větší podobnost Neandrtálců s euroasijskými populacemi
- 2 – genový tok mezi Neandrtálci a ranými formami moderního člověka v Evropě a/nebo Západní Asii
- 3 – genový tok mezi Neandrtálci a předky mimoafrických populací (nejpravděpodobnější scénář)
- 4 – mimoafrické populace mají svůj původ v prastaré africké subpopulaci (mají neandrtálské sekvence), která osídlila Asii a Evropu (také v souladu se zjištěnými údaji)

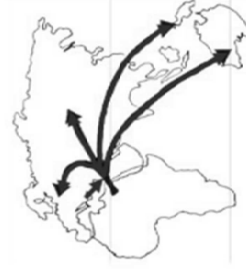


**Neandrtálská příměs není výsledkem křížení, ale struktury původních afrických populací (ancient substructure theory)**

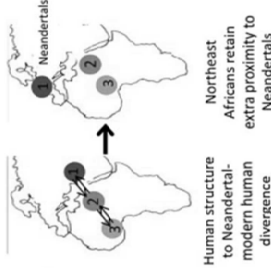
**V Africe byly dvě geneticky odlišné zakladatelské populace moderního člověka:**

- bez příměsi archaické DNA – zakladatelská všech afrických populací
- s příměsí archaické DNA – zakladatelská všech mimo-afrických populací

**Genový tok před < 100 000 lety**



**Ancient structure > 230 000 lety**



### Neandrtálská příměs není výsledkem křížení, ale struktury původních afrických populací (ancient substructure theory)

**Avšak řada výsledků tuto teorii nepodporuje**

#### Sánchez-Quinto et al., 2012 (780 000 SNP)

- prokázali příměs neandrtálské DNA v severoafrických populacích
- příměs se zvyšuje u populací se zvyšujícím se severoafrickým lovecko-sběračským původem
- významně větší podobnost k neandrtálským populacím vykazují populace s větší příměsí euroasijské DNA (oproti populacím se subsaharskou příměsí)

#### Henn et al., 2012 (730 000 SNP)

- stáří severoafrických populací je 12 000 – 40 000 let – teorie „back to Africa migration“

• existují africké populace, které mají příměs archaické DNA

- tyto populace vykazují příměs euroasijských populací, která koreluje s velikostí příměsí neandrtálské DNA
- nenalezeny africké populace s neandrtálskou DNA, které by měly pouze africký původ

**= svědčí spíše pro genový tok s Neandrtálci na Blízkém Východě**

### Neandrtálská příměs není výsledkem křížení, ale struktury původních afrických populací (ancient substructure theory)

**Avšak řada výsledků tuto teorii nepodporuje**

#### Sankararaman et al., 2012 (podle rekombinační nerovnováhy v SNP)

- severoafrické populace jsou následovníckými populacemi, které se jako první křížili s Neandrtálci na Blízkém Východě před 37 000 až 86 000 lety
- je to možné? co říkají kosterní pozůstatky na Blízkém Východě:
  - před asi 100 000 lety moderní člověk (jeskyně Skhul a Qafzeh)
  - před asi 70 000 lety Neandrtálci (jeskyně Tabun)
  - před asi 50 000 lety se znovu objevuje moderní člověk
- = ke křížení v daném období mohlo dojít (viz nová studie Hershkovitz et al., 2015)
- navíc výsledky analýz (rekombinační nerovnováhy) také potvrzují teorii křížení

#### Hammer et al., 2011 (61 nekódujících autozomálních sekvencí)

- ve 3 sledovaných subsaharských populacích (2 lovecko-sběračské a 1 zemědělská) nenašli neandrtálskou příměs
- **našli však stopu po křížení** (rekombinační nerovnováha – nebyla by v případě ancient substructure teorie) **s doposud neurčenou archaickou populací před 10 000 až 40 000 lety o velikosti mezi 0,5 až 2,0 %.**

**Zejména rekombinační nerovnováha potvrzuje teorii o genovém toku než archaickým původem.**

### Neandrtálská příměs není výsledkem křížení, ale struktury původních afrických populací (ancient substructure theory)

**Avšak řada výsledků tuto teorii nepodporuje**

#### Sánchez-Quinto et al., 2012 (780 000 SNP)

- prokázali příměs neandrtálské DNA v severoafrických populacích
- příměs se zvyšuje u populací se zvyšujícím se severoafrickým lovecko-sběračským původem
- významně větší podobnost k neandrtálským populacím vykazují populace s větší příměsí euroasijské DNA (oproti populacím se subsaharskou příměsí)

#### Henn et al., 2012 (730 000 SNP)

- stáří severoafrických populací je 12 000 – 40 000 let – teorie „back to Africa migration“

• existují africké populace, které mají příměs archaické DNA

- tyto populace vykazují příměs euroasijských populací, která koreluje s velikostí příměsí neandrtálské DNA
- nenalezeny africké populace s neandrtálskou DNA, které by měly pouze africký původ

**= svědčí spíše pro genový tok s Neandrtálci na Blízkém Východě**

### Neandrtálská příměs není výsledkem křížení, ale struktury původních afrických populací (ancient substructure theory)

**Avšak řada výsledků tuto teorii nepodporuje**

#### Sankararaman et al., 2012 (podle rekombinační nerovnováhy v SNP)

- severoafrické populace jsou následovníckými populacemi, které se jako první křížili s Neandrtálci na Blízkém Východě před 37 000 až 86 000 lety
- je to možné? co říkají kosterní pozůstatky na Blízkém Východě:
  - před asi 100 000 lety moderní člověk (jeskyně Skhul a Qafzeh)
  - před asi 70 000 lety Neandrtálci (jeskyně Tabun)
  - před asi 50 000 lety se znovu objevuje moderní člověk
- = ke křížení v daném období mohlo dojít (viz nová studie Hershkovitz et al., 2015)
- navíc výsledky analýz (rekombinační nerovnováhy) také potvrzují teorii křížení

#### Hammer et al., 2011 (61 nekódujících autozomálních sekvencí)

- ve 3 sledovaných subsaharských populacích (2 lovecko-sběračské a 1 zemědělská) nenašli neandrtálskou příměs
- **našli však stopu po křížení** (rekombinační nerovnováha – nebyla by v případě ancient substructure teorie) **s doposud neurčenou archaickou populací před 10 000 až 40 000 lety o velikosti mezi 0,5 až 2,0 %.**

**Zejména rekombinační nerovnováha potvrzuje teorii o genovém toku než archaickým původem.**

### Neandrtálská příměs není výsledkem křížení, ale struktury původních afrických populací (ancient substructure theory)

**Avšak řada výsledků tuto teorii nepodporuje**

#### Lohse and Frantz, 2014

- sekvenční analýza se zaměřením na četnost mutací v nerekombinujících oblastech
- **výsledky:**
  - zamítají model „Ancestral structure in Africa“
  - naopak velmi silně a jednoznačně podporují křížení s Neandrtálci v Eurasii
  - s četností přenosu 3,4 - 7,3 %

### Shrnutí

- podle počtu rozdílů v mtDNA mezi Neandrtálci a současnými lidmi je zřejmé, že Neandrtálci a moderní člověk mohli představovat odlišné druhy
- avšak na základě některých analýz (porovnání s rozmanitostí mezi poddruhy šimpanzů) je možné, že moderní člověk a člověk neandrtálský představují dva poddruhy v rámci druhu *Homo sapiens*
- odlišnost mtDNA Neandrtálců od mtDNA současného člověka je tedy možné vysvětlit iak pomocí modelu nahrazení, tak i modelem multiregionálního
- neandrtálské mitochondriální sekvence nebyly prokázány v mtDNA ani současného, ani raného moderního člověka
- výsledek však nevylučuje křížení a příměs neandrtálské DNA – sekvence mohly být z genofondu moderního člověka eliminovány
- analýza jaderných sekvencí a genomové mapování neandrtálské DNA dokázaly příměs neandrtálské DNA v genomu mimoafrických populací moderního člověka (1 - 4% příspěvek) = Neandrtálci jsou našimi předky, s nimiž jsme se křížili

## Shrnutí

- křížení s Neandrtálci probíhalo v období před 50 000 až 80 000 lety, tedy poté, kdy moderní člověk migruje z Afriky
- k prvnímu křížení docházelo na Blízkém Východě a pravděpodobně v menší míře pak dále v Asii a Evropě
- zjištěný směr genového toku z neandrtálských do moderních populací s moderní mtDNA, chromozomem Y a jen malou příměsí neandrtálské jaderné DNA je pravděpodobně výsledkem:
  - pohlavního výběru
  - v kombinaci se sníženou vitalitou a fertilitou mužských kříženců
  - a sníženou fitness potomků neandrtálských žen a moderních mužů
- zatím nelze s určitostí vyloučit, že neandrtálské sekvence v genomu moderního člověka mimoafričských populací mohou být pozůstatkem zděděným od archaických populací, ze kterých tyto mimoafričské populace vznikly (ancient substructure theory) a nemusí tak být důkazem pro křížení – na základě zvyšujícího se počtu aktuálních analýz je ovšem tato možnost čím dál méně pravděpodobnější



## Analýza archaické DNA

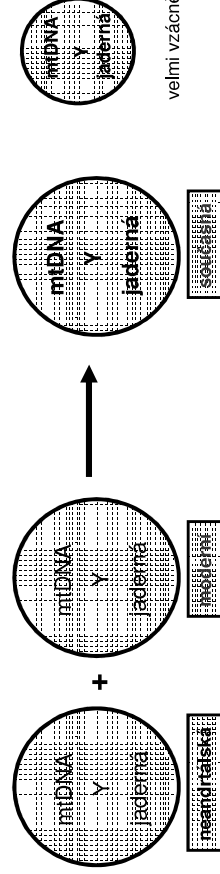
- 1) Analýza aDNA člověka
- 2) Analýza první neandrtálské DNA
- 3) Analýza druhé neandrtálské DNA
- 4) Interpretace nalezených výsledků  
- *Byli Neandrtálci odděleným druhem nebo byli odlišným poddruhem a jsou součástí naší vlastní historie?*
- 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?
- 6) Další nálezy a izolace neandrtálské DNA
- 7) Analýza jaderných sekvencí a sekvenování genomu Neandrtálce
- 8) Proč Neandrtálci vyhynuli?
- 8) Děnisované – co o nich víme

## Proč Neandrtálci vyhynuli?

- možných scénářů je více – uvedeme si jen některé

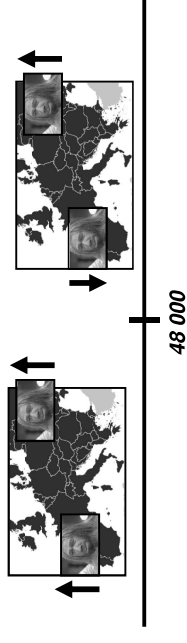
### 1) Důsledek asimilace populacemi moderního člověka

- uvedeno výše – po splynutí s populacemi moderního člověka se již dále nemuseli účastnit na rozmnožování nebo ve vzájemné konkurenci nemuseli obstat o zdroje potravy
- **dle počítačových simulací je genetická asimilace (a zánik) velmi rychlá a účinná** a to i tehdy, pokud nemá asimilující populace žádnou větší výhodu



## Klimatická změna č. 1

- k ní odkazují přímo genetické poznatky
- **evropští Neandrtálci starší 48 000 let** jsou v mtDNA mnohem rozmanitější (mají v mtDNA více mutací) než například moderní člověk
- avšak **západoevropští Neandrtálci mladší 48 000 let** mají náhle **genetickou rozmanitost** mnohem menší než východoevropští Neandrtálci a než všichni evropští Neandrtálci starší 48 000 let



## Proč Neandrtálci vyhynuli?

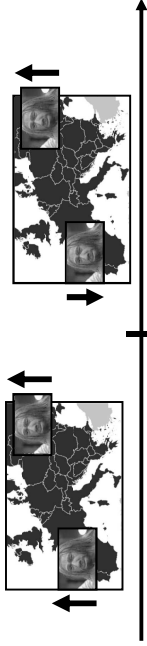
### 2) Důsledek náhlých klimatických změn

- zejména **Neandrtálci v Evropě byli výborně přizpůsobeni drsným podmínkám dob ledových** = měli by lépe obstat v konkurenci s nepřizpůsobeným moderním člověkem
- **něco je muselo oslabit** – pravděpodobně kombinace více faktorů
- existují dvě klimatické události, které by se zánikem Neandrtálců mohly souviset

48 000

## Proč Neandrtálci vyhynuli?

### Klimatická změna č. 1



- v tomto období se tedy **muselo něco odehrát na podstatné části území Evropy** = něco, co jejich **populaci výrazně zdecimovalo**
  - období je v překryvu s **klimatickou epizodou rychlého a krátkého ochlazení** („Marine isotope stage three“) - mělo významný dopad právě na klima západní Evropy
- 
- někteří Neandrtálci přežívají toto období v **refugiích** (jako malé izolované populace)
  - **vedlo k poklesu jejich rozmanitosti**
  - **tito Neandrtálci pak již byli na další změny mnohem citlivější a mohli to být tak začátek jejich konce**

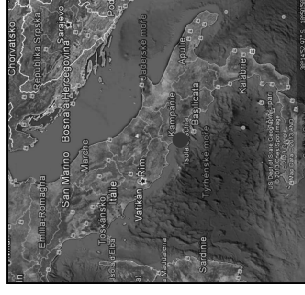
## Proč Neandrtálci vyhynuli?

### 2) Důsledek náhlých klimatických změn

- do takto oslabených populací Neandrtálců pak přichází před 45 000 až 40 000 lety silné populace moderního člověka

### Klimatická změna č. 2

- **před asi 40 000 lety** dochází k **masivnímu sopečnému výlevu na Flegrejských polích** (v oblasti dnešní západní Itálie)
- největší vulkanická erupce ve Středomoří za posledních 200 000 let
- **sopečný popel** pokrýl území o rozloze až 300 km<sup>2</sup> s následnou **vulkanickou zimou**



Kaldera o průměru 13 km

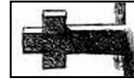
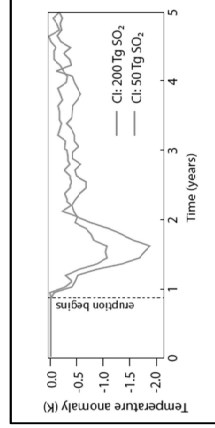
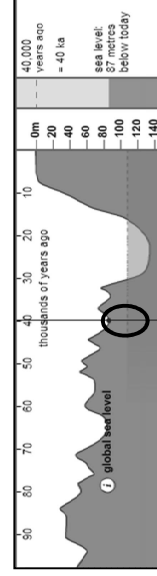
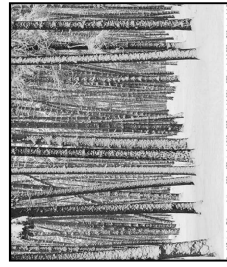


## Proč Neandrtálci vyhynuli?

### 2) Důsledek náhlých klimatických změn

### Klimatická změna č. 2

- **sopečný popel** pokrýl území o rozloze až 300 km<sup>2</sup> s následnou **vulkanickou zimou** - nejméně 2 roky s poklesem globální teploty o 2 až 4 °C (Black *et al.*, 2015)



- pravděpodobně **dokončuje zánik neandrtálských populací v Evropě**

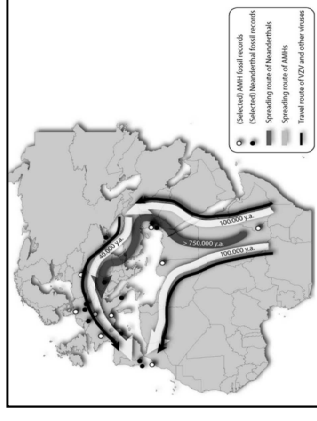
## Proč Neandrtálci vyhynuli?

### 3) Vlivem patogenů

### Spongioformní encefalopatie

- v důsledku **kanibalismu** se rozšířilo **příionové onemocnění** – není však jisté, jak moc byl kanibalismus rozšířený mezi Neandrtálci
- další přenos také přes infikované kamenné nástroje
- Neandrtálci však **žili v malých a izolovaných skupinách** = přenos by tak **asi nebyl příliš významný**
- mohlo přispět k zániku maximálně několika skupin (pokud vůbec – důkazy nejsou)

Underdown, 2008



### Africký patogen moderních lidí

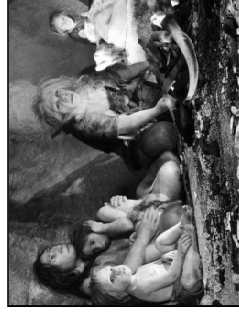
- Neandrtálci se dobře přizpůsobili **euroasijským patogenům**
- moderní člověk se dobře přizpůsobil **africkým**
- po kontaktu s moderními lidmi se **Neandrtálci potkávají s patogeny pro ně novými**
- jedním z **vážných kandidátů** jsou viry z rodiny **Herpesviridae**

Wolff and Greenwood, 2010

### Proč Neandrtálci vyhynuli?

#### 4) Vliv polutantů prostředí

- **těžké kovy, saze a další zplodiny z kouře** (např. dioxiny), které Neandrtálci vdechovali během pobytu v jeskynních a skalních přístřešcích
- to mělo krátkodobý, ale i dlouhodobý **účinek na jejich zdraví a zejména pak u dětí**, které dýchají rychleji než dospělí a jsou tak vystaveny větším dávkám
- vedlo to od **podráždění očí a kůže**, přes **rozedmu plic** až k **nádorům**
- nezanedbatelný je také u dětí vliv na některé další orgány, jako je jejich vyvíjející se mozek a jiné orgány nebo **negativní vlivy na imunitní systém** apod.
- současné studie lýkající se kouření také ukazují **především vliv na zdraví u synů** v následujících dvou generacích, jejichž otec byl kuřák



Stermer, 2006

### Proč Neandrtálci vyhynuli?

- za vyhynutím Neandrtálců stojí s největší pravděpodobností složitý komplex většího množství ekologických, klimatických, zdravotních a sociokulturních vlivů
- nejzásadnější dopad však zřejmě měly příčiny 1) a 2)
- varianty 3) a 4) jsou málo pravděpodobné, i když mohly mít svůj podíl



### Zajímavost – neandrtálský odkaz v našich genech

V genomu moderního člověka nalezeny geny a mutace neandrtálského původu

- **geny pro keratinová filamenta** obsahují významnou příměs neandrtálských sekvencí
  - keratin v kůži, nehtech a vlasech – ochrana vůči patogenům, vodě a chladu
  - neandrtálské alely tak pravděpodobně pomohly moderním lidem s adaptací na chladné mimo-atrické podmínky prostředí
- **geny zapojené do lipidového katabolismu**
  - u populací s evropským původem jsou 3x častější, s nalezeným vlivem pozitivní selekce
  - neandrtálské alely měly pro moderního člověka v evropské oblasti zjevnou selekční výhodu
  - neandrtálské alely ovlivňují sekreci inzulinu a ukládání tuku
  - pravděpodobně jim v současnosti "vděčíme" za obezitu, cukrovku, vysokou hladinu cholesterolu a ve výsledku za srdečně-cévní choroby (jsou častější právě u populací s evropským původem, oproti Neandrtálcům se tolik nehýbeme, máme dostatek potravy a žijeme v interglaciálu)

(Sankaranarayanan et al. 2014)

(Khrameeva et al. 2014)

### Zajímavost – neandrtálský odkaz v našich genech

V genomu moderního člověka nalezeny geny a mutace neandrtálského původu

- **další archaické sekvence zapojené do lipidového metabolismu**
  - nalezeny v populaci mexických indiánů s cukrovkou 2. typu
  - tento haplotyp asociovaný s DM 2. typu se u původních Američanů vyskytuje s více než 50% četností
  - v populacích východních Asiátů pouze s četností 10 %
  - a v populacích Evropanů a Američanů jen velmi vzácně
- sekvence má archaický původ – pravděpodobně důsledek křížení s Neandrtálci
- vysoká četnost u původních Američanů pravděpodobně důsledek genového posunu
- vyšší příměs u Asiátů než Evropanů souhlasí s poznatkami o křížení

## Zajímavost – neandrtálský odkaz v našich genech

V genomu moderního člověka nalezeny geny a mutace neandrtálského původu

- mutace v genu **FOXP2** (řeč a paměť)
- mutace v genu **ABO** (skupina 0)
- mutace v genu **TAS2R38** (citlivost/necitlivost na hořkou chuť PTC (u neandrtálských kostí starých 48 000 let nalezena stejná mutace způsobující nechutnaučství jako u moderního člověka)
- nalezeny některé alely s neandrtálským původem pro onemocnění jako:
  - diabetes 2. typu
  - lupus
  - Crohnova choroba
  - biliární cirhóza
  - závislost u kuřáků

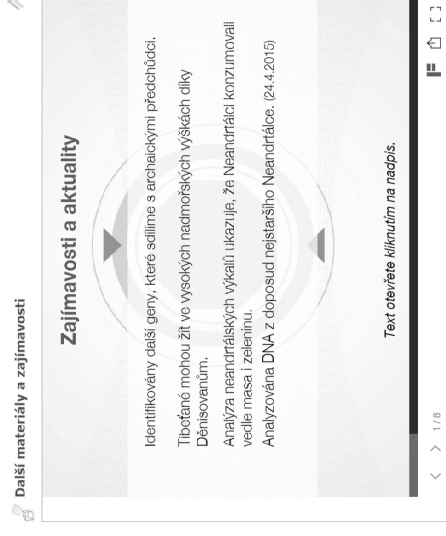
(Sankararaman et al. 2014)



- gen **MC1R** (zrzavost, odlišné mutace od moderního člověka)

## Zajímavost – neandrtálský odkaz v našich genech

Další sekvence, u nichž byl zkoumán archaický původ – viz e-skripta, „Zajímavosti a aktuality“.



## Shrnutí

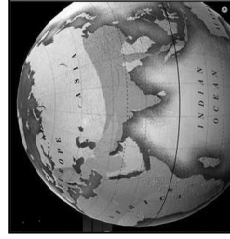
### Kapitola Out of Africa x Multiregionální model

Neandrtálská DNA

x

✓\*

\*avšak není úplně v souladu ani s multiregionálním modelem – příspěvek je malý a ukazuje spíše na křížení než vývoj z archaických populací



Asimilační model – vychází z modelu „Out of Africa“ a obohacuje ho o křížení s archaickými populacemi.

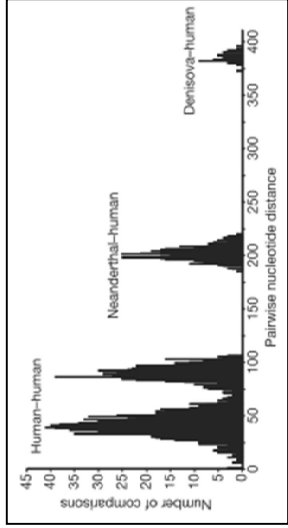
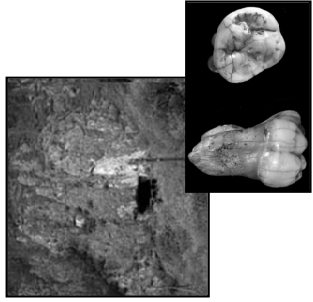


## Analýza archaické DNA

- 1) Analýza aDNA člověka
- 2) Analýza první neandrtálské DNA
- 3) Analýza druhé neandrtálské DNA
- 4) Interpretace nalezených výsledků  
- *Byli Neandrtálci odděleným druhem nebo byli odlišným poddruhem a jsou součástí naší vlastní historie?*
- 5) Křížili jsme se s Neandrtálci?
- 6) Další nálezy a izolace neandrtálské DNA
- 7) Analýza jaderných sekvencí a sekvenování genomu Neandrtálce
- 8) Proč Neandrtálci vyhynuli?
- 8) Děnisované – co o nich víme

### 8) Děnisované

- v době, kdy se na území Asie a Evropy potkávali Neandrtálci a první moderní lidé, pobýval na území Asie ještě **další archaický typ\* populace** – „**Děnisované**“
- tento odlišný typ archaického člověka byl **identifikován pouze na základě jediného nalezeného článku prstu pomocí mtDNA a jaderné DNA, žena** - Jižní Sibiř, Altaj, Děnisovova jeskyně, stáří mezi 50 000 až 30 000 lety (Krause *et al.*, 2010)
- **Děnisované jsou odlišní** nejen od moderního člověka, ale i od **Neandrtálců**

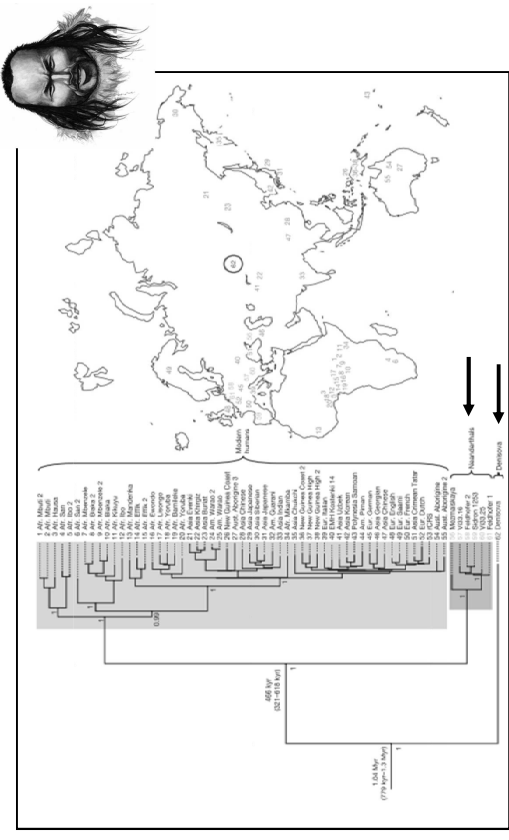


- **genetická odlišnost** stanovená na základě mtDNA
- potvrzena i na základě morfologie nalezeného zubu (zub patří jinému jedinci)

\* nelze použít termín druh, termín poddruh může být nepřesný = raději jsem použil termín „odlišný typ populace“

### Děnisované

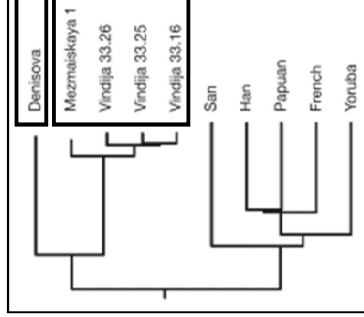
- **Děnisované jsou odlišní** nejen od moderního člověka, ale i od **Neandrtálců**



Fylogenetický strom odrážející podobnost mtDNA mezi současnými populacemi moderního člověka, Neandrtálci a Děnisované.

### Děnisované

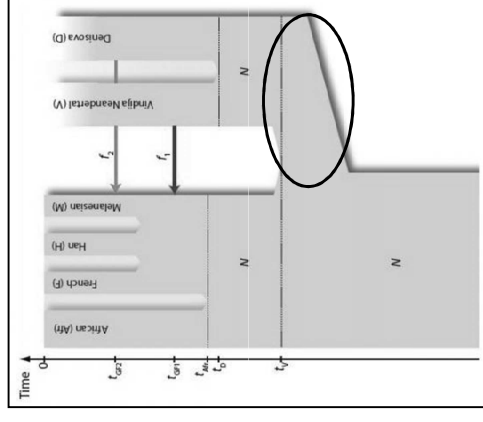
- **Děnisované jsou odlišní** nejen od moderního člověka, ale i od **Neandrtálců**
- potvrzeno analýzou **jaderné DNA**



- analýza jaderné DNA ukázala (Krause *et al.*, 2010):
  - **společnou historii s Neandrtálci**
  - prokázala, že jsou **jejich sesterskou populací**

### Děnisované

- analýza jaderné DNA ukázala (Krause *et al.*, 2010):
  - **na genový tok**, který probíhal **mezi Děnisovými a moderními Melanésy**
  - nikoliv však mezi Děnisovými a moderními Euroasiaty
  - **Děnisované přispěli 4 – 6 % do genomu současných melanésanů**



společný bottleneck





