

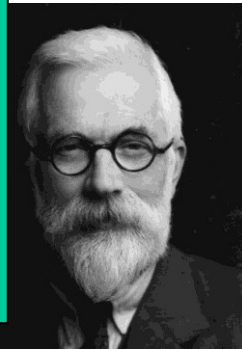
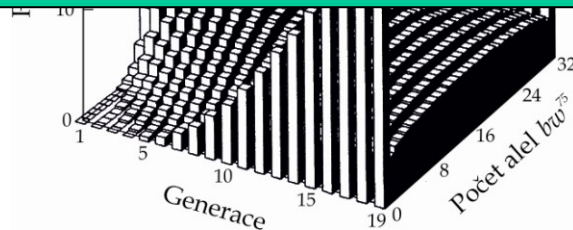
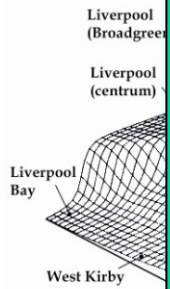
MECHANISMY

MIKROEVOLUCE

genetika speciace

Fst, Dxy, islands of divergence

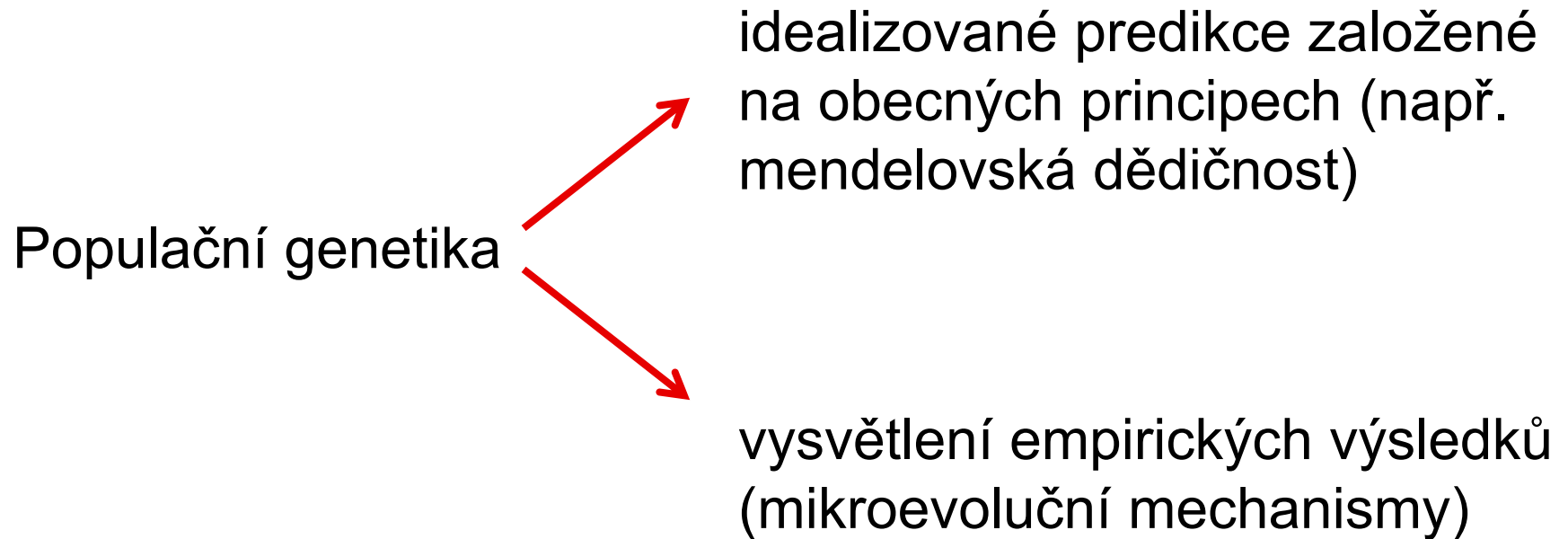
(b)



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

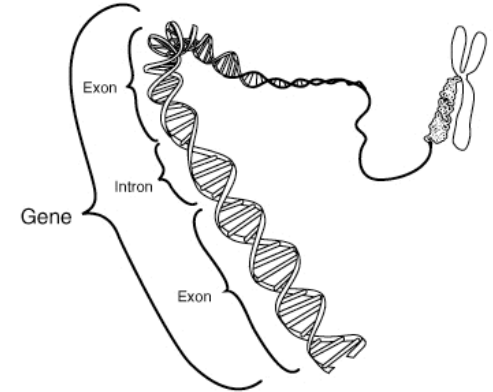
lokus = pozice genu nebo části sekvence

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*)

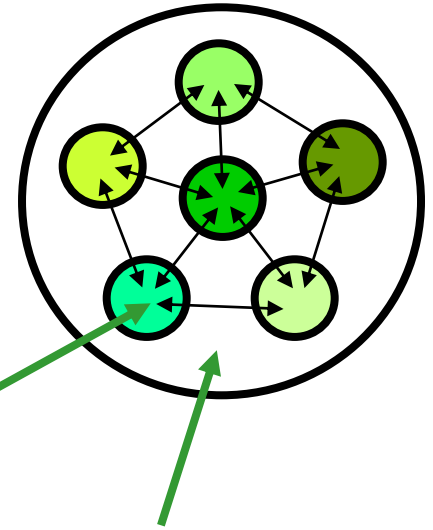
1. soubor sdílených genů/alel
2. soubor potenciálních gamet produkovaných všemi příslušníky populace

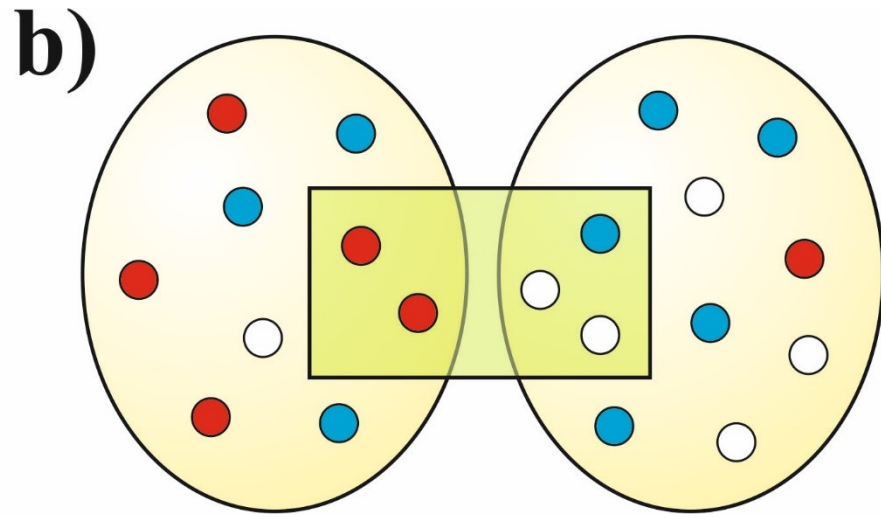
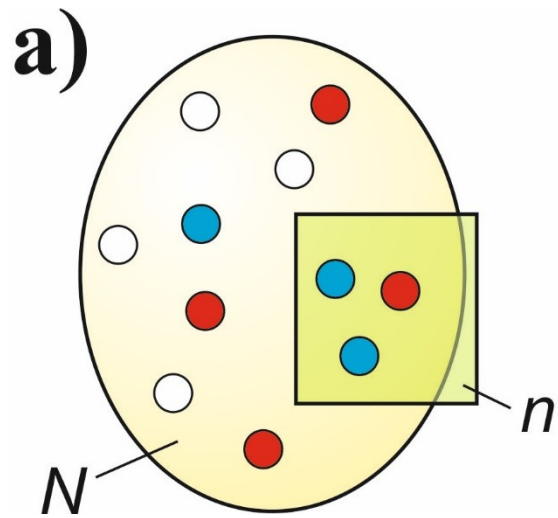
lokální populace (subpopulace, démy)

globální populace, metapopulace

populace přírodní, experimentální, zemědělské, modelové

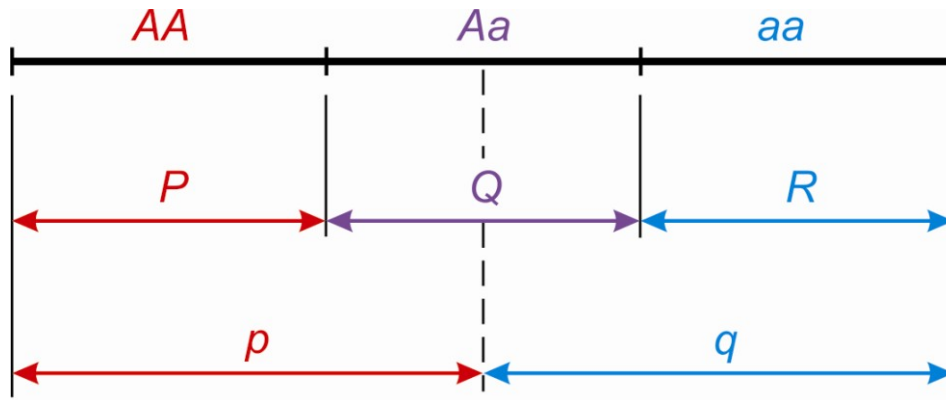
Kromě genů/gamet lokální populace sdílejí i **systém páření** (*system of mating*)





Populační vzorek \neq populace!

Genotypové a alelové frekvence

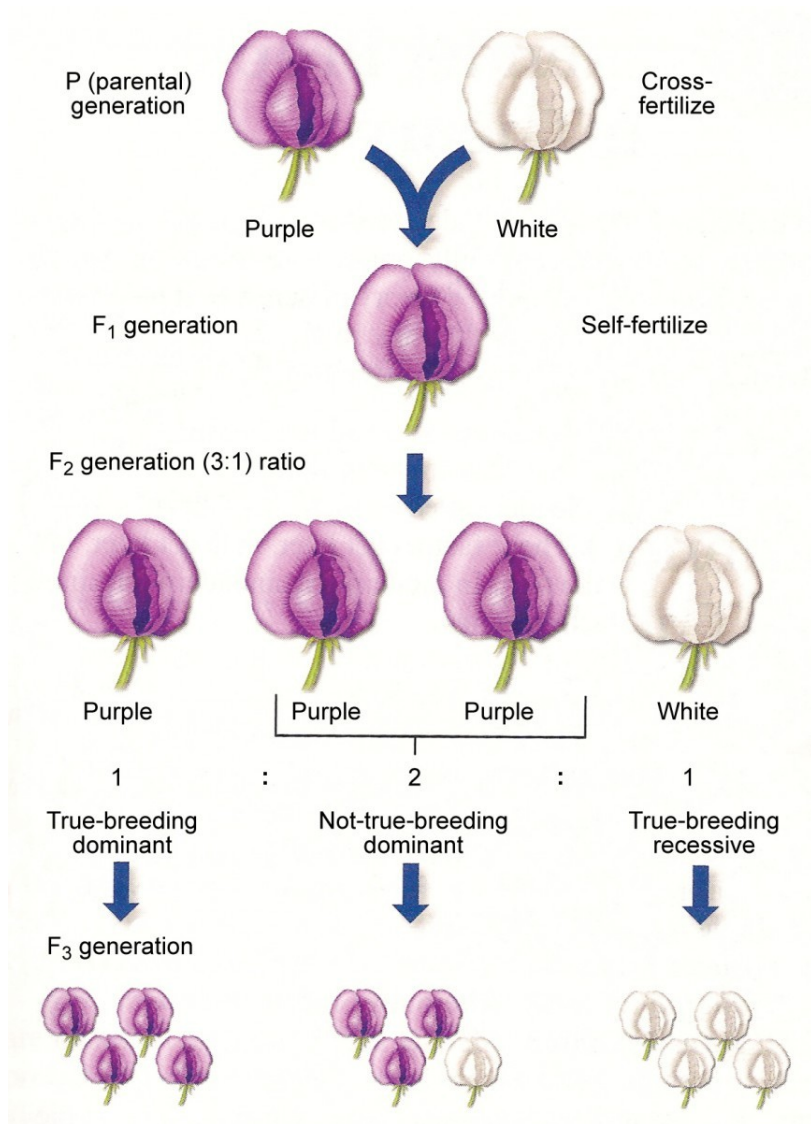


Relativní četnosti = frekvence: genotypové: $P (f_{AA})$, $Q (f_{Aa})$, $R (f_{aa})$
 alelové (genové): $p (A)$, $q (a)$

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

$$p + q = 1$$

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?

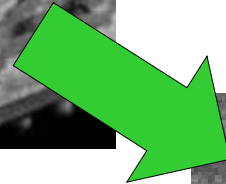


brachydaktylie



brachydaktylie =
dominantní
mendelovský znak

Reginald C. Punnett



Měli bychom
pozorovat 3× víc lidí
postižených než
nepostižených!

G. Udny Yule



G. H. Hardy

HARDYHO-WEINBERGŮV ZÁKON

1908



Godfrey Harold Hardy
(1877-1947)



Wilhelm Weinberg
(1862-1937)

Hardyho-Weinbergův model

Mechanismy produkce gamet (genetická architektura):

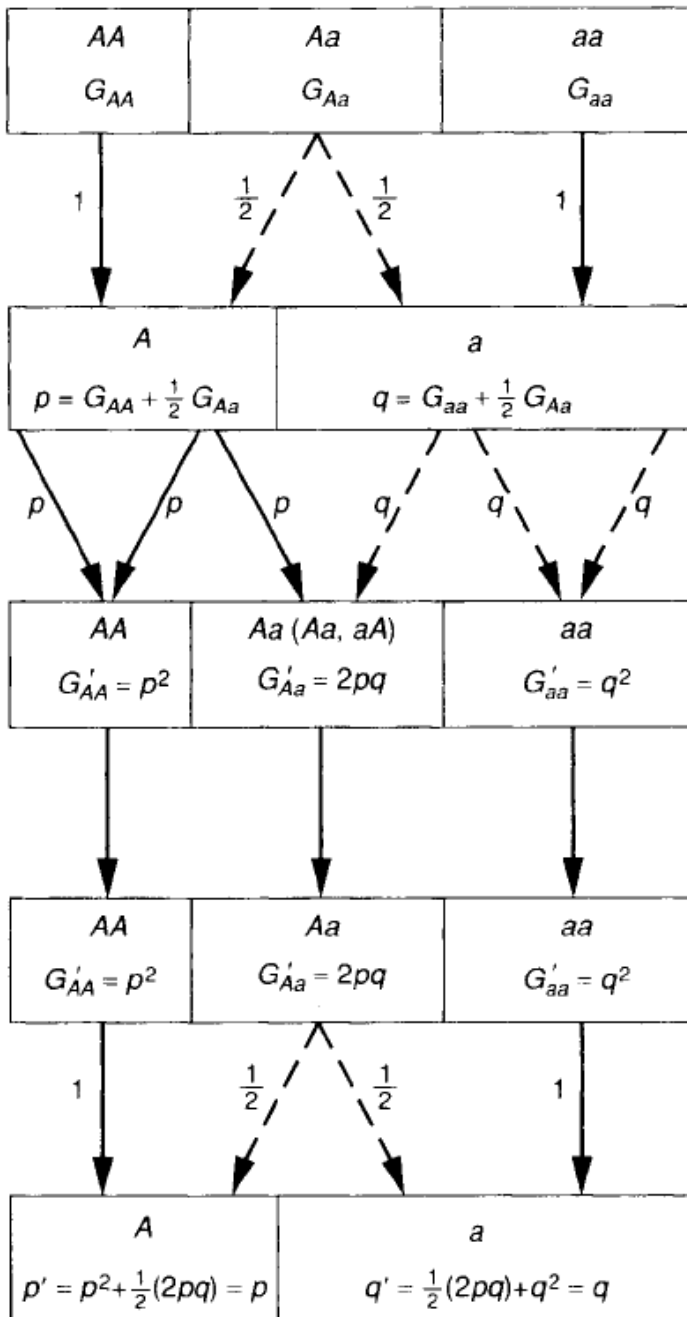
- diploidní organismy
- jeden autozomální lokus
- 2 alely
- žádné mutace
- mendelovská segregace (1:1)

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)

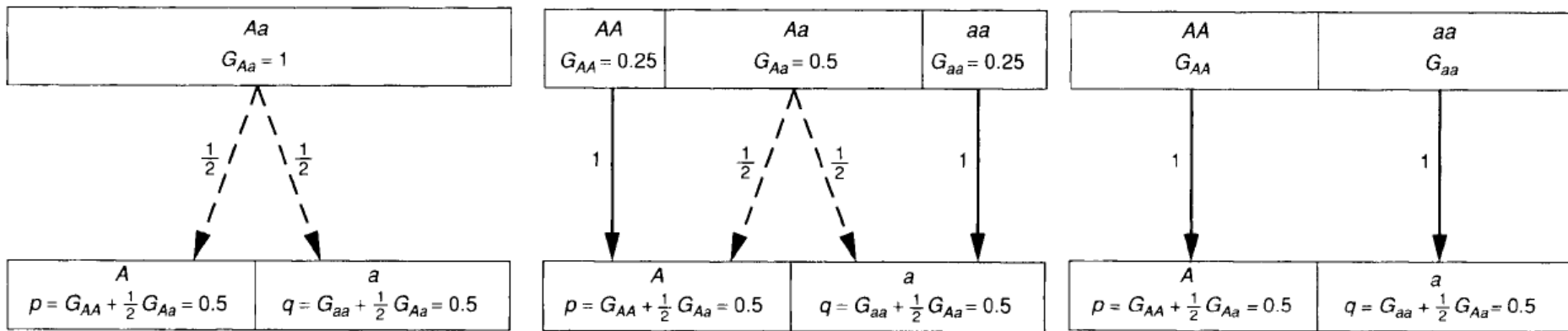
Genofond příští generace

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

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

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

$$(a + b)^2 = a^2 + 2ab + b^2$$

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

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

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:

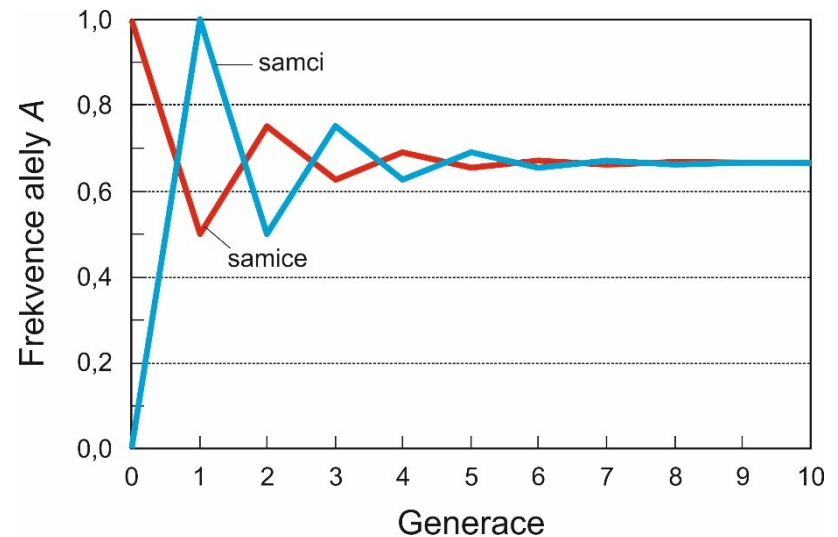
$$\text{samice: } p^2 + 2pq + q^2$$

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

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

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

⇒ 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.

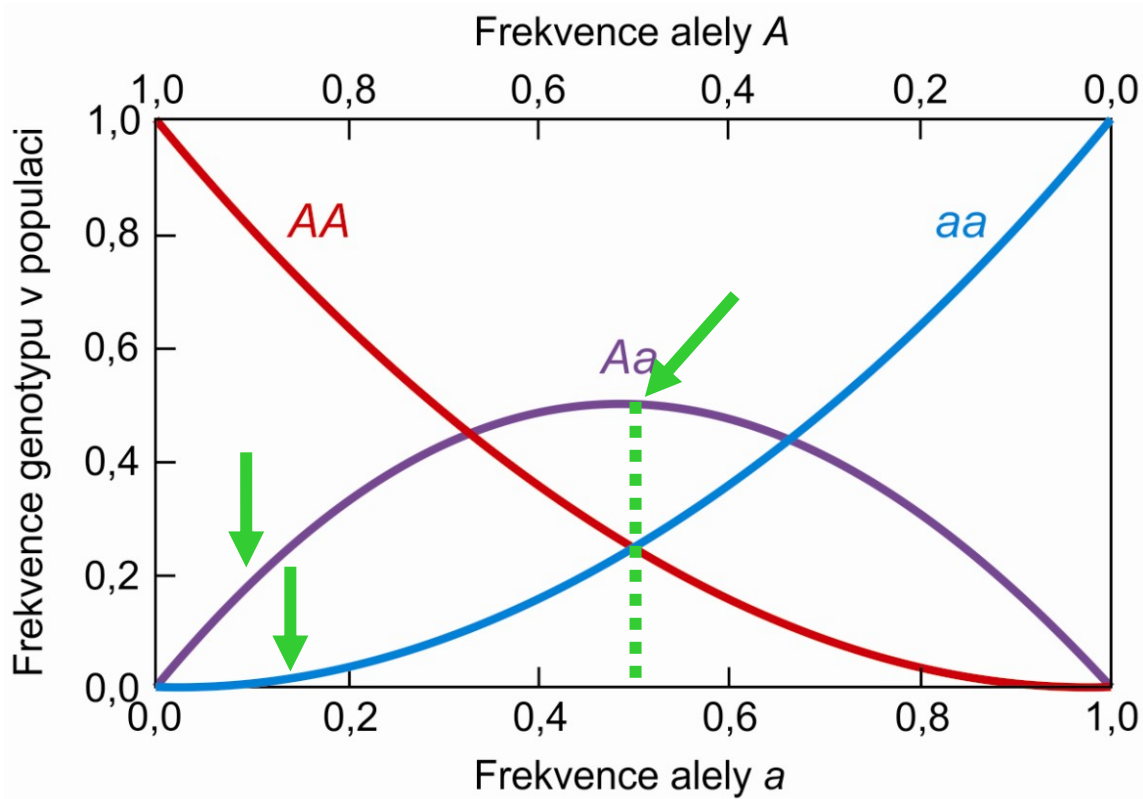
Jaké procento lidí jsou tzv. přenašeči?

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“

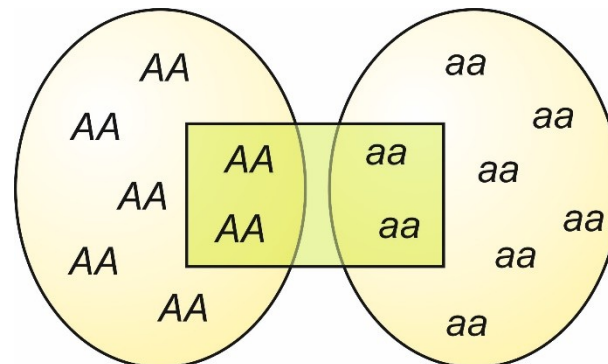
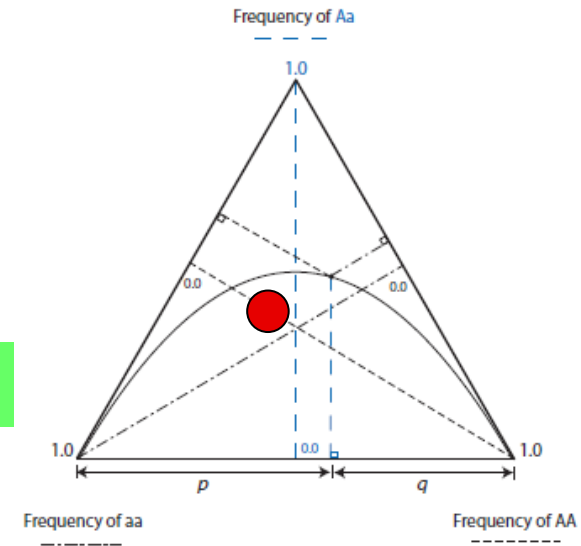
Neplatnost některého z předpokladů H-W modelu:

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“

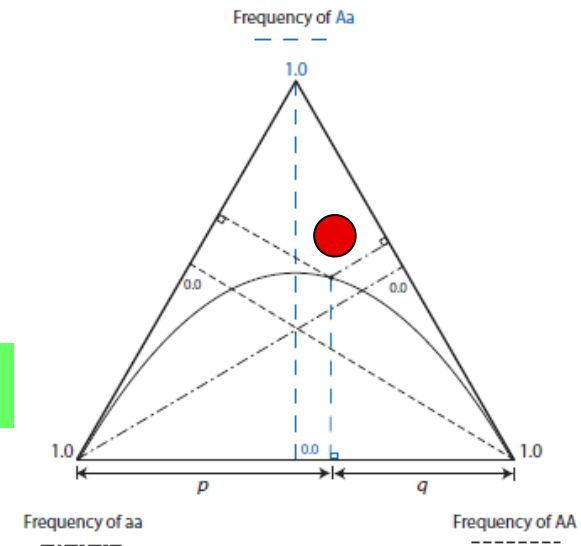
Neplatnost některého z předpokladů H-W modelu:

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

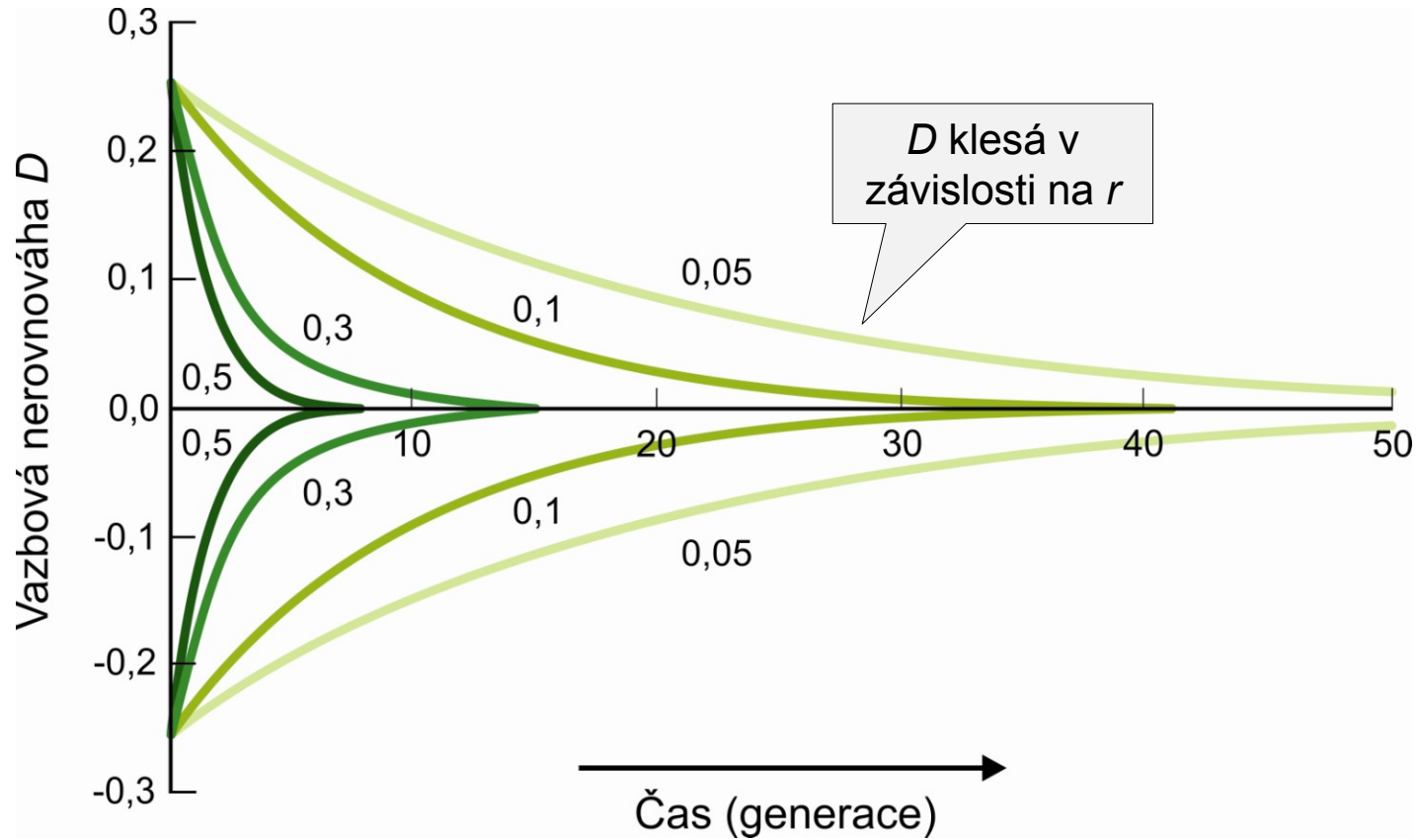
jestliže $r > 0$ (tj. dochází k rekombinaci) a $D \neq 0$ (existuje vazba)

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

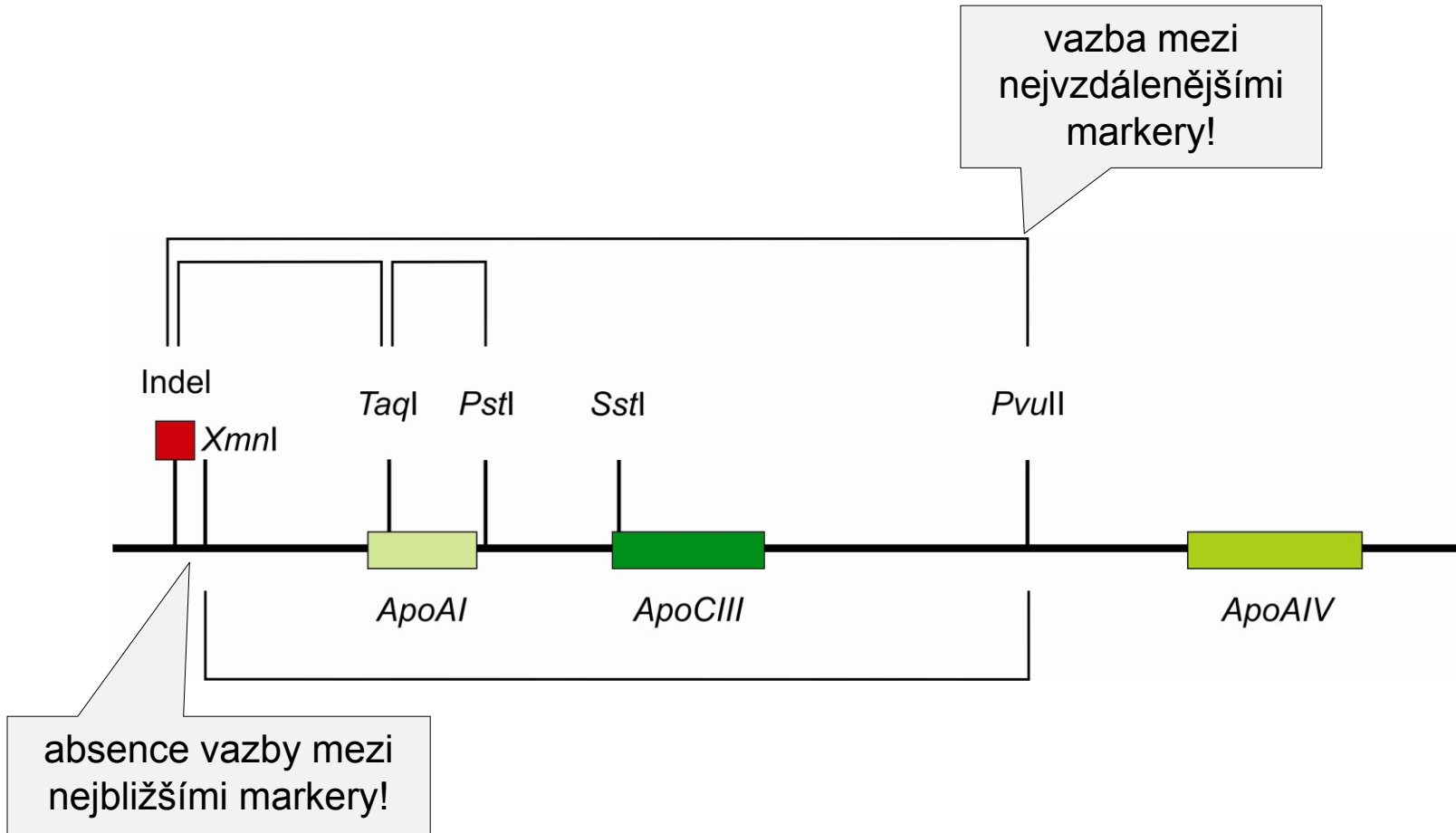
naopak při $r = 0$ multilokusový model \rightarrow jednolokusový

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

vztah D a rekombinace r :



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



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

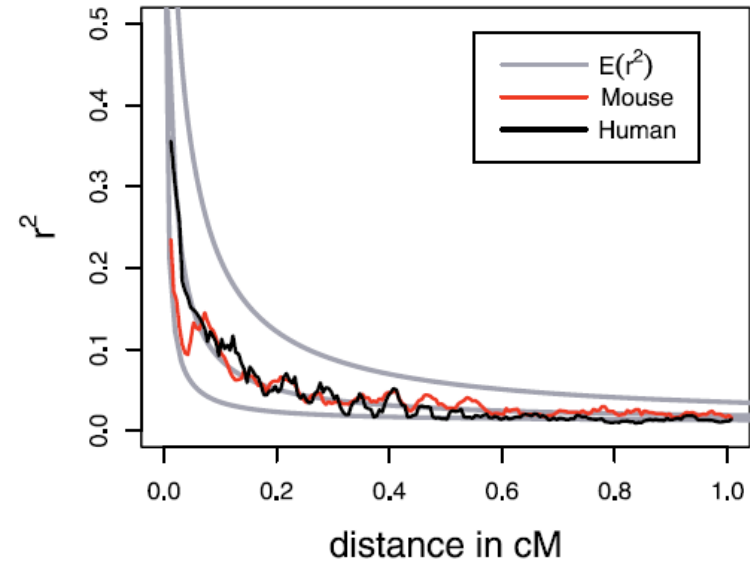
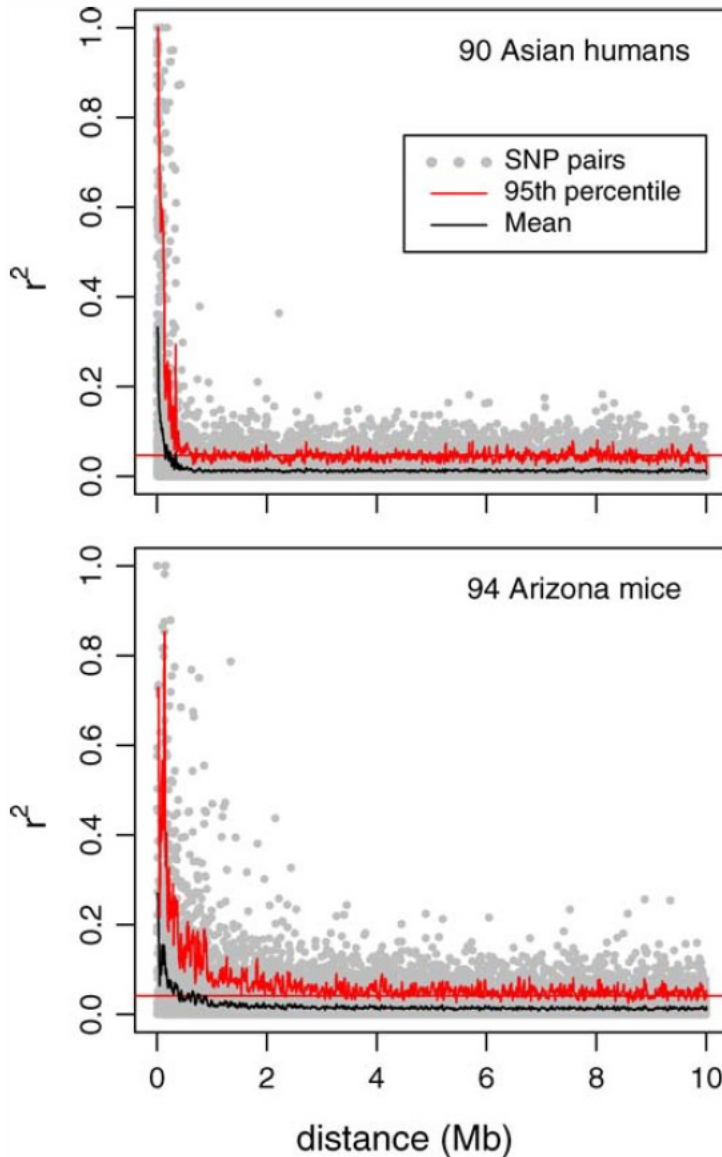


Figure 4. Mean LD in 94 Arizona Mice and 90 Asian Humans, Evaluated in a Sliding Window of 0.025 cM

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 aneuploidií)

ženy s > c-o → > dětí

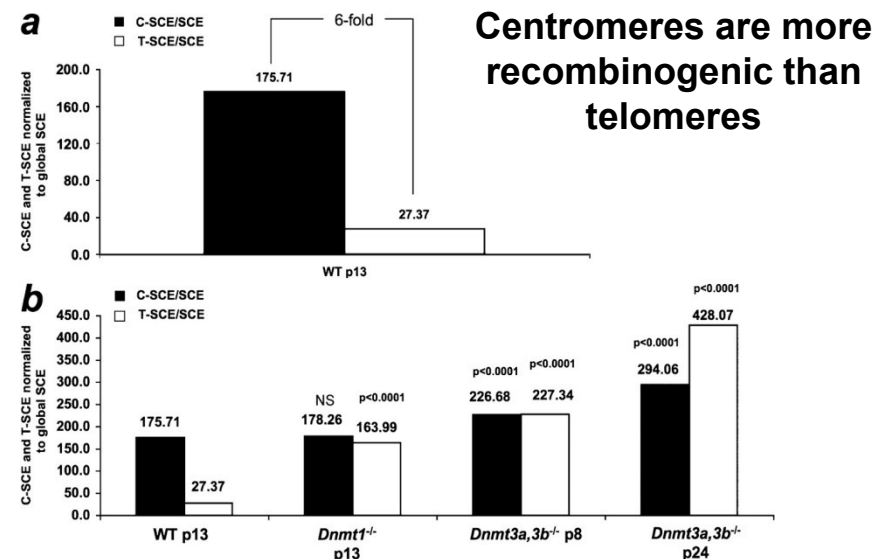
děti starších žen → > rekombinací

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

malé chromozomy > frekvence rekombinací

rekombinační „hotspots“:

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

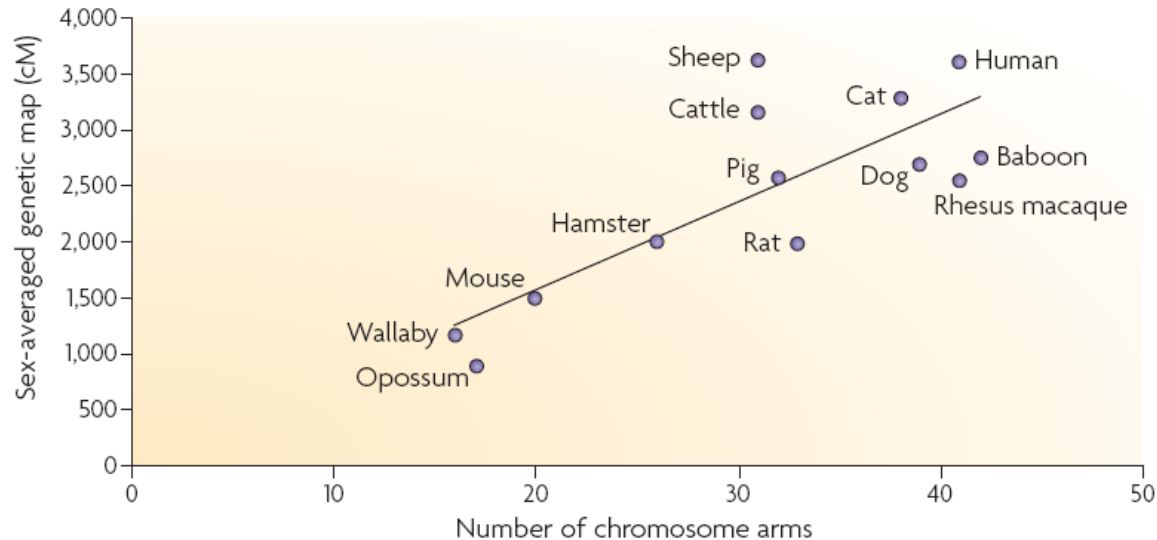


rozdíly v míře rekombinace mezi pohlavími:

- **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 aneuploidiím?)



Rekombinace a polymorfismus:

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

Důsledkem je buď

selekční smetení (*selective sweep*)

pozitivní selekce

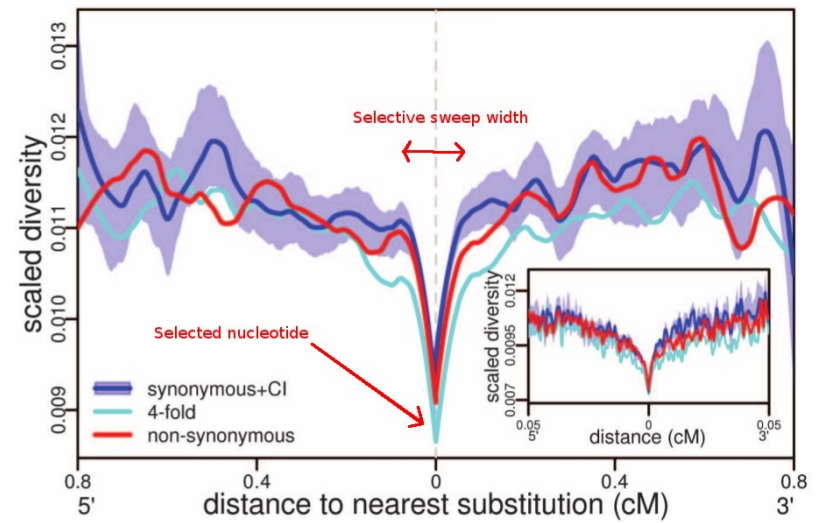
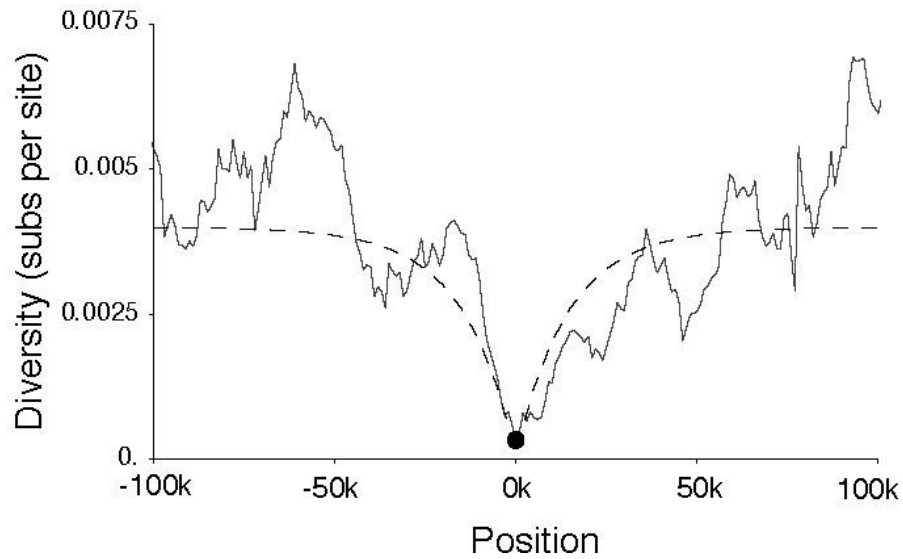
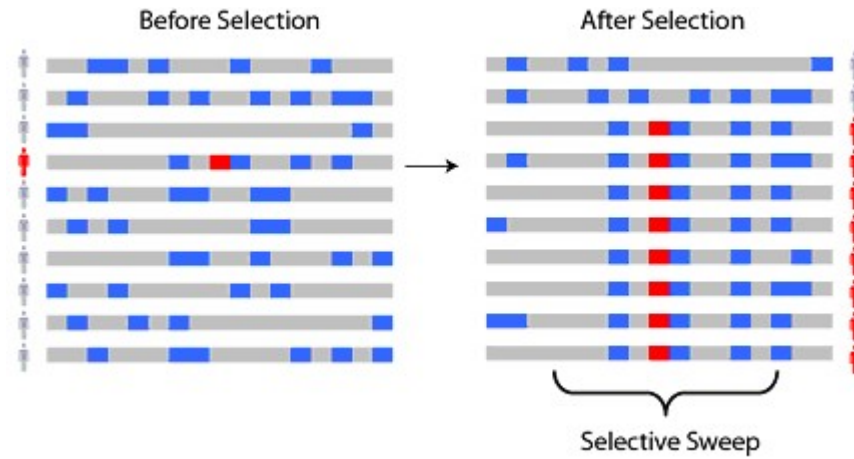
častější výskyt vzácných alel

nebo

selekce na pozadí (*background selection*)

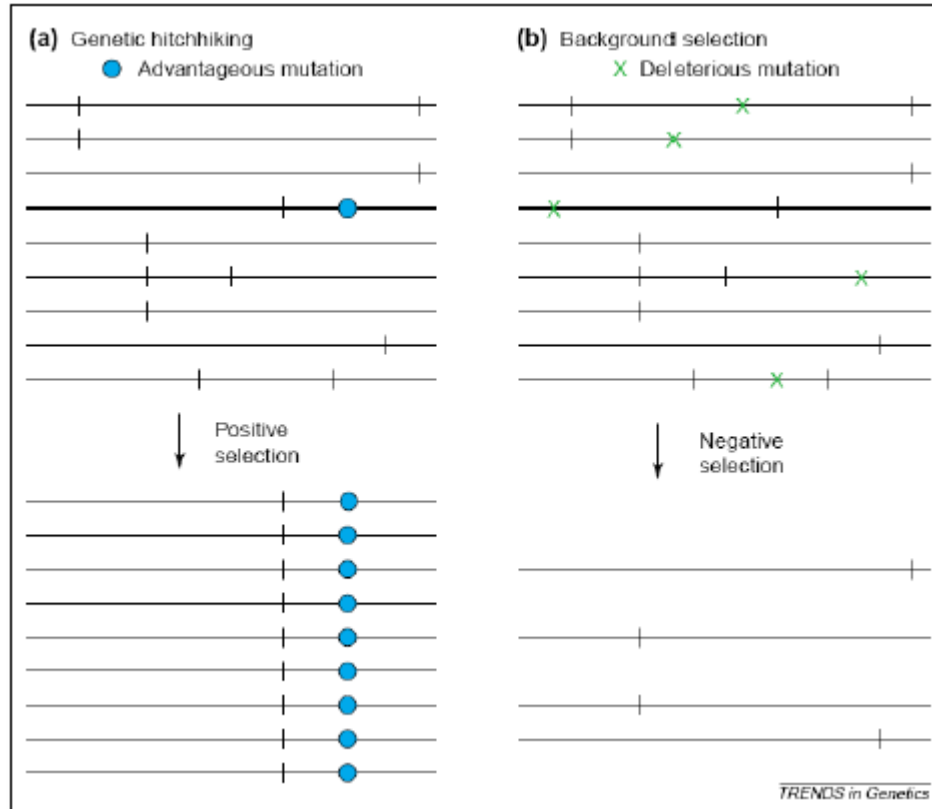
negativní selekce

\Rightarrow lokální ztráta polymorfismu



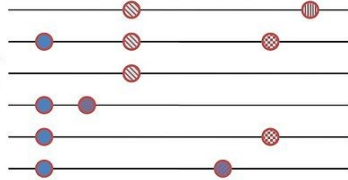
Genomic insights into positive selection

Shameek Biswas and Joshua M. Akey

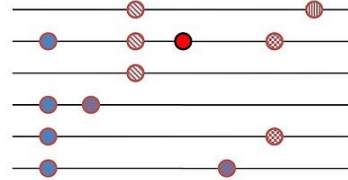


Hard selective sweep with recombination

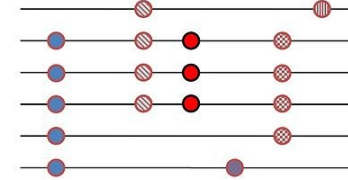
1. Six sequences from a population. Each line represents a DNA sequence and each dot is a neutral mutation, present in one or more sequences.



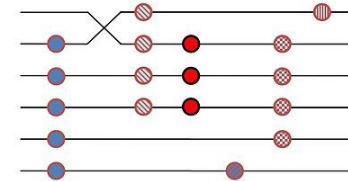
2. A beneficial mutation occurs (bright red dot on the second sequence).



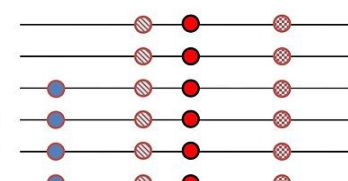
3. The beneficial mutation increases in frequency in the population, and so does the genomic background it is associated with.



4. A recombination event creates a new combination (the beneficial mutation is no longer always associated with the blue neutral mutation).

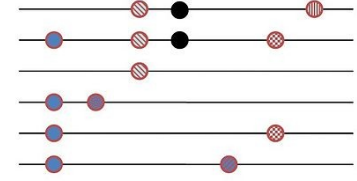


5. The beneficial mutation is fixed in the population. Close to the beneficial mutation there is now no genetic variation left, all sequences look the same. Three neutral mutations have hitchhiked along with the beneficial mutation and reached high frequency.

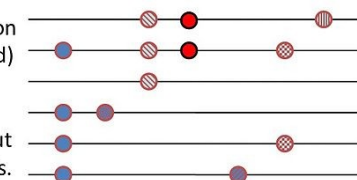


Soft selective sweep from standing genetic variation

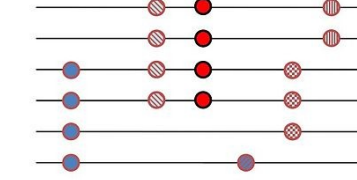
1. Six sequences from a population. Each line represents a DNA sequence and each dot is a neutral mutation, present in one or more sequences.



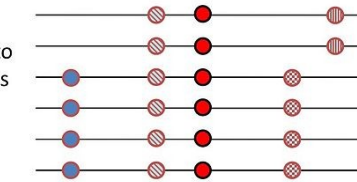
2. A previously neutral mutation (black) becomes beneficial (red) because of an environmental change. The mutation is associated with two similar, but different genomic backgrounds.



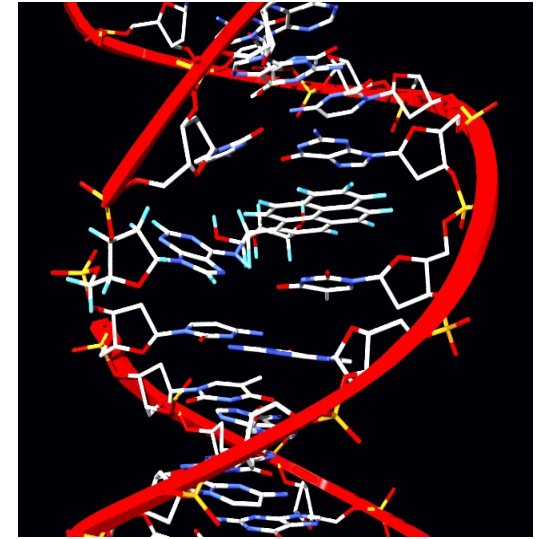
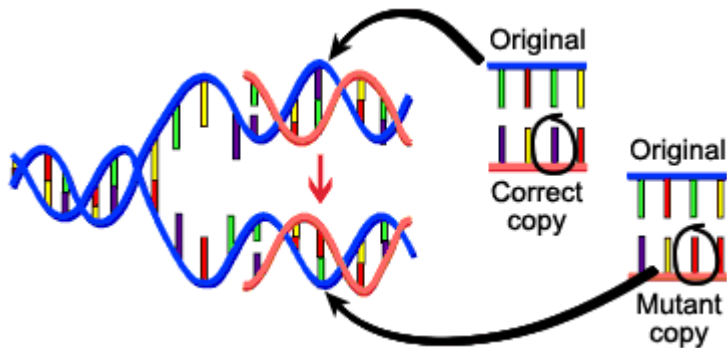
3. The beneficial mutation increases in frequency in the population, and so does the genomic background it is associated with.



4. The beneficial mutation is fixed in the population. Close to the beneficial mutation there is some genetic variation left.



MUTACE



podle škodlivosti/prospěšnosti účinku:

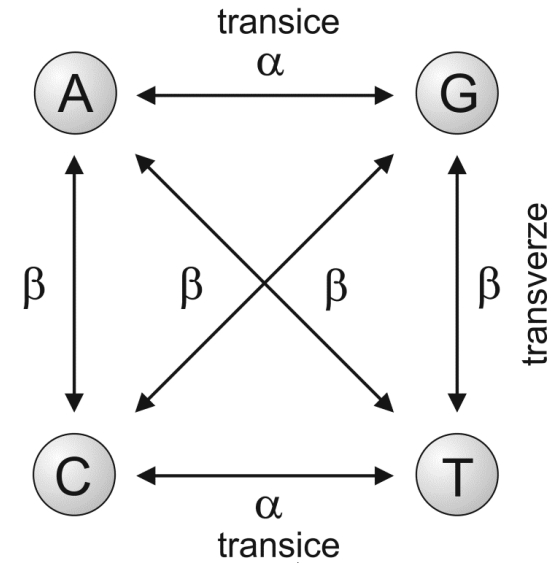
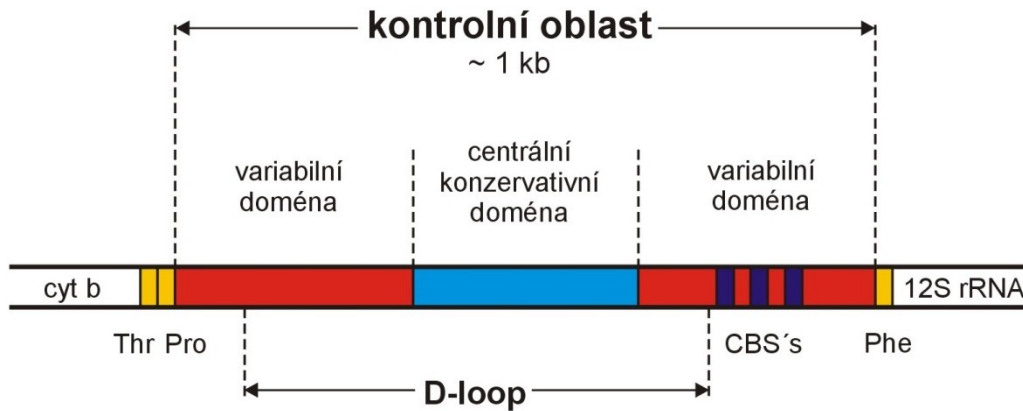
prospěšné
škodlivé
neutrální

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)

měnící 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 $A = p_0 (= 1)$

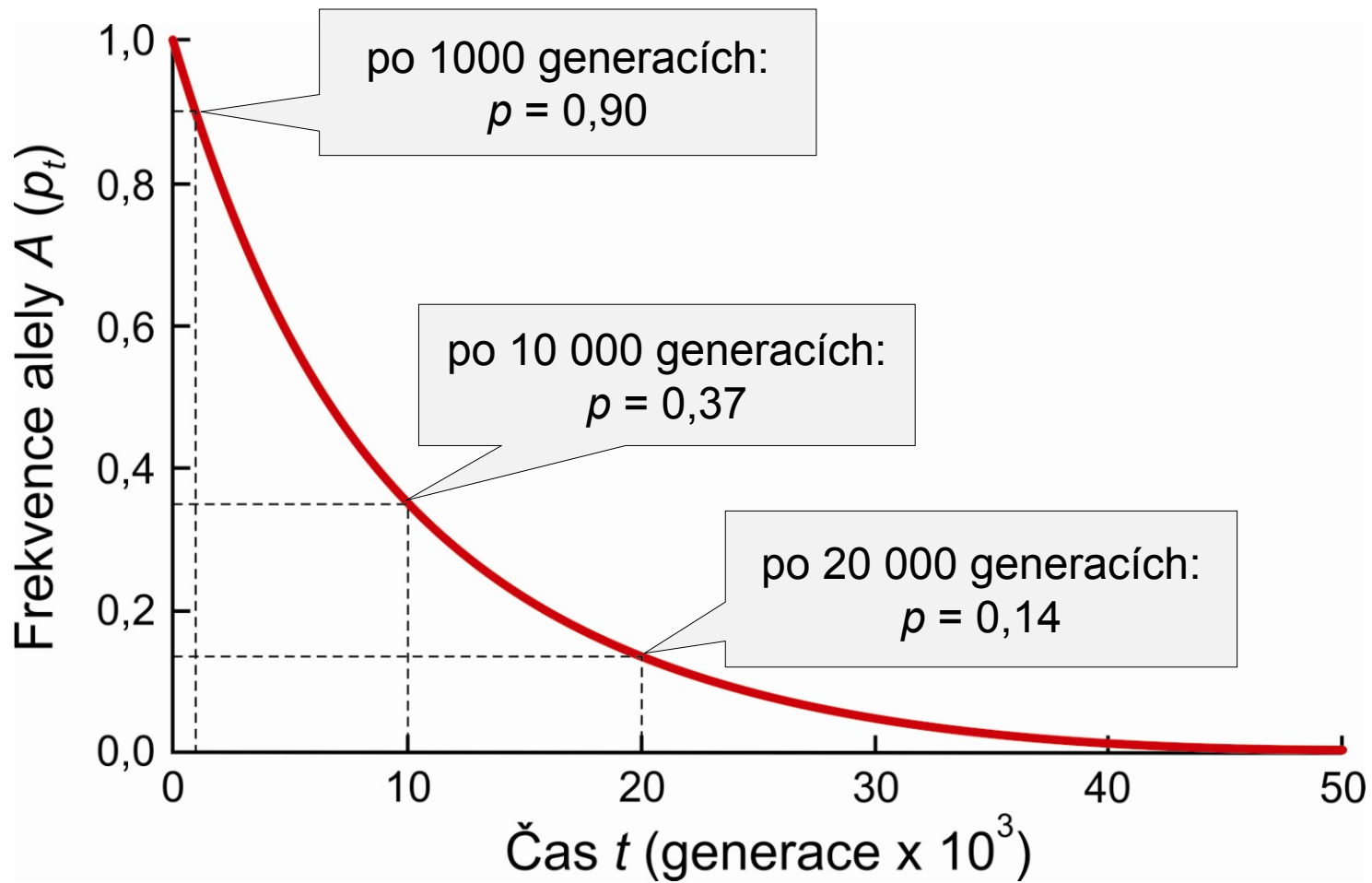
mutace $A \rightarrow a$

frekvence A v čase $t = p_t$

mutační rychlost = μ (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 (μ)

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 > μ

RNA viry (HIV), paraziti

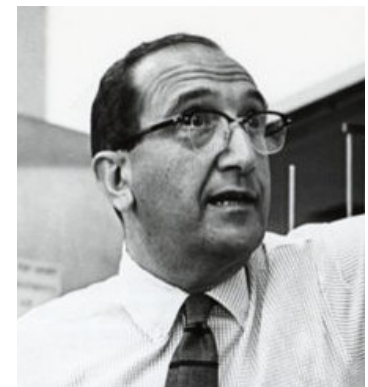
protilátky, imunoglobuliny

> μ somatických mutací

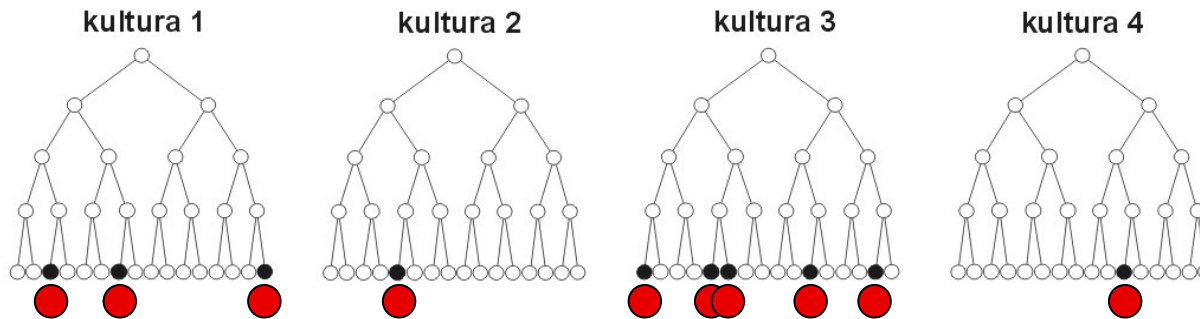
samci > samice: člověk 6x, hlodavci, liška: 2x ... více buněčných dělení
v zárodečných buňkách

Adaptivní (směřované) mutace?

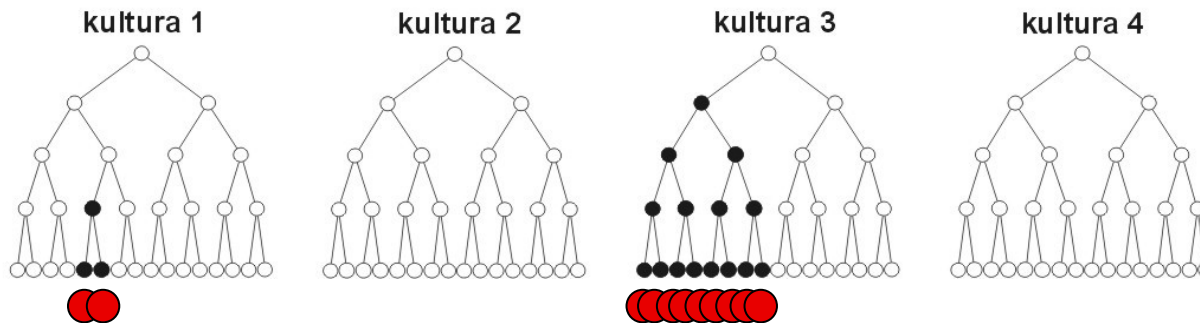
Max Delbrück, Salvador Luria (1943):
flukтуаční test



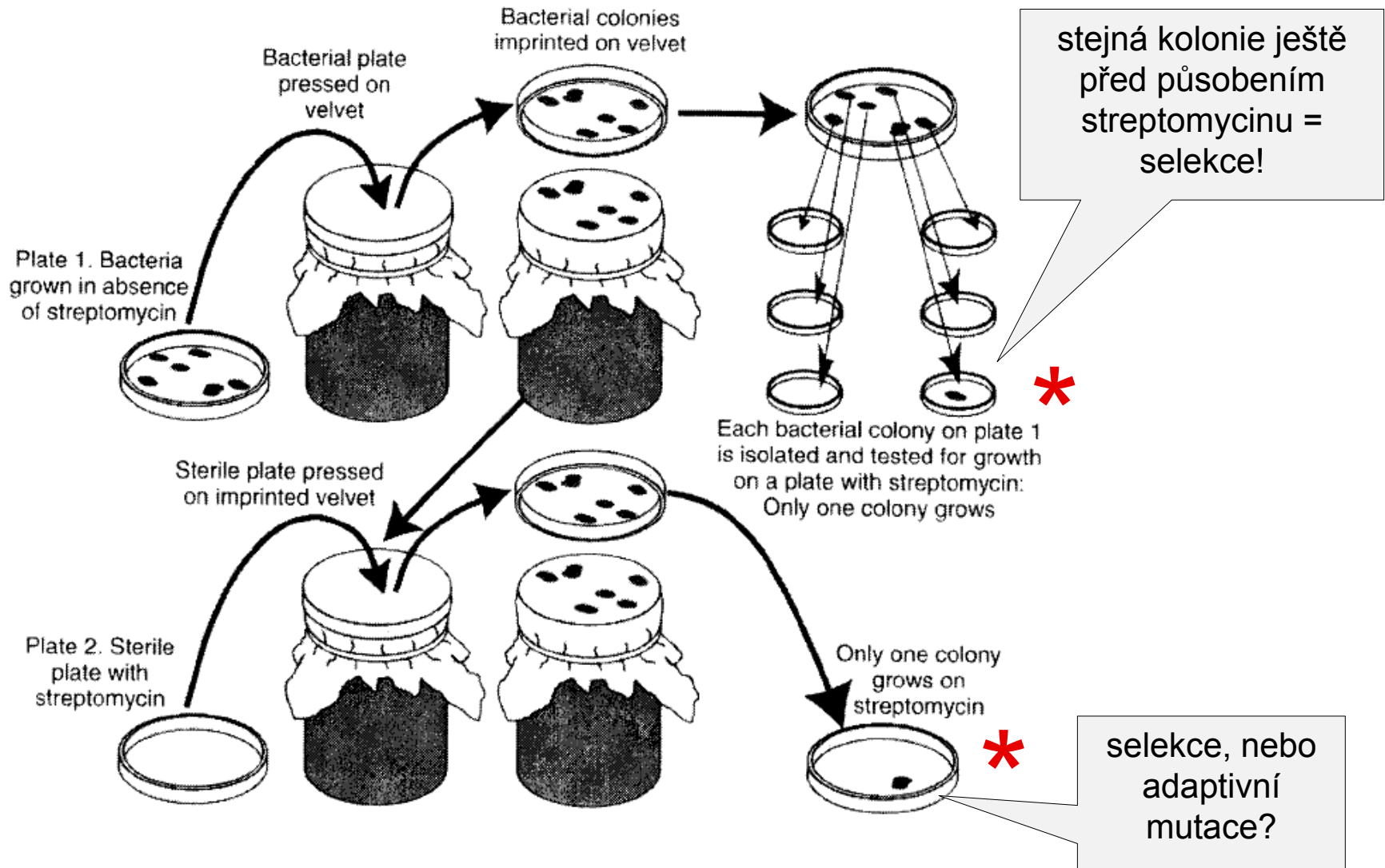
(a) mutace vyvolané prostředím



(b) náhodné mutace



Joshua a Esther Lederberg (1952): replica plating



* = kolonie s odpovídající si polohou na původní misce