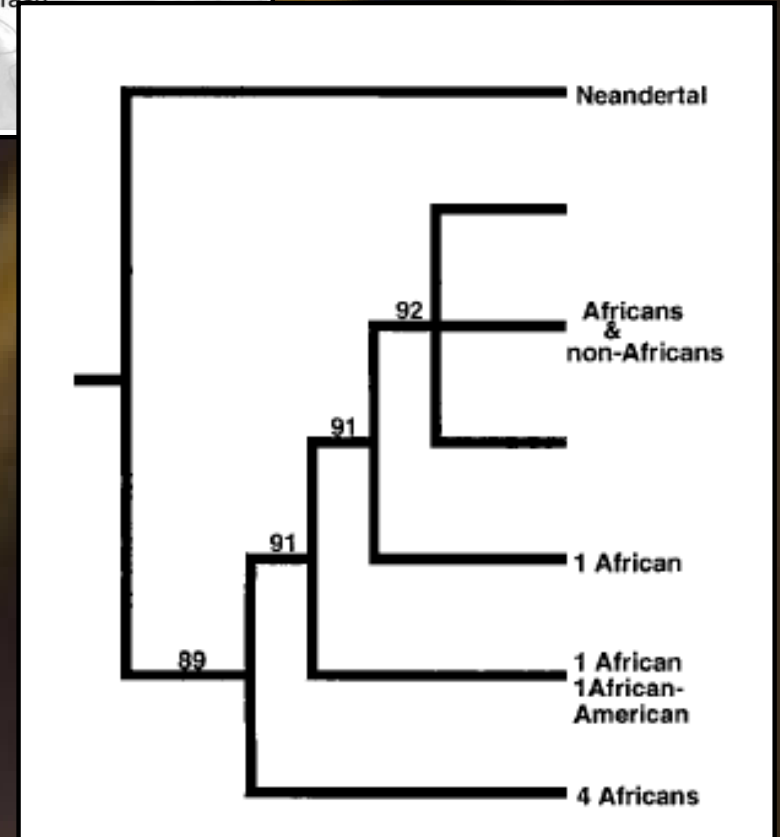
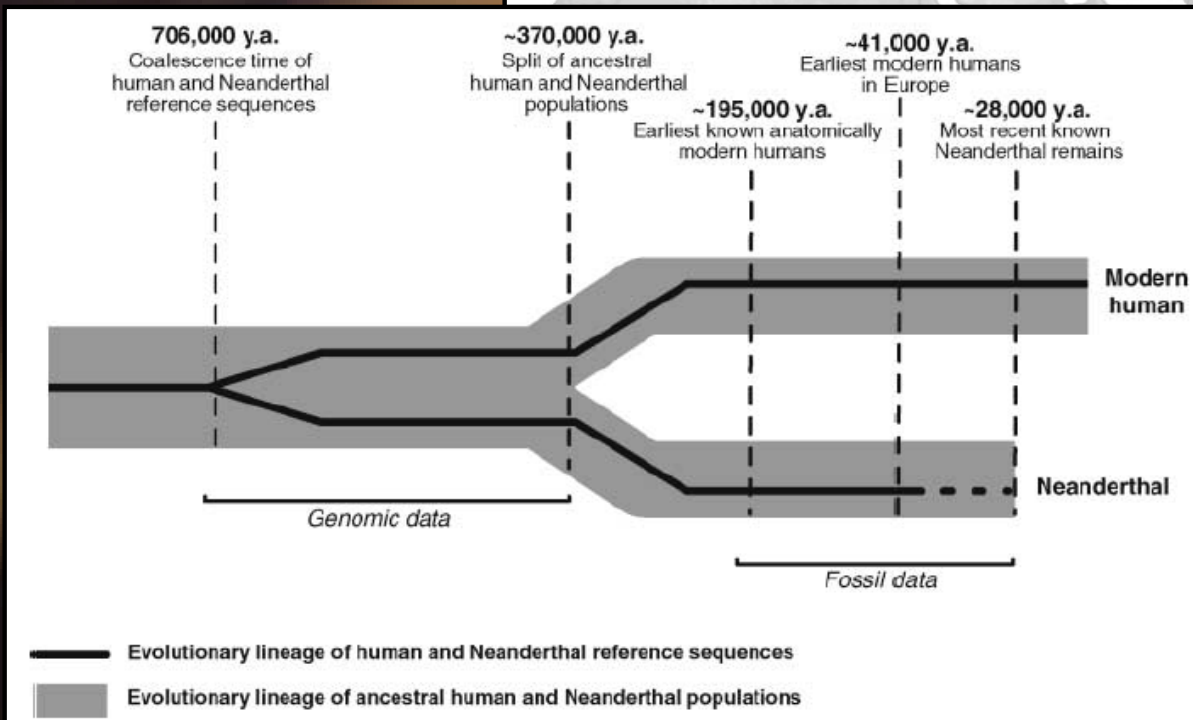
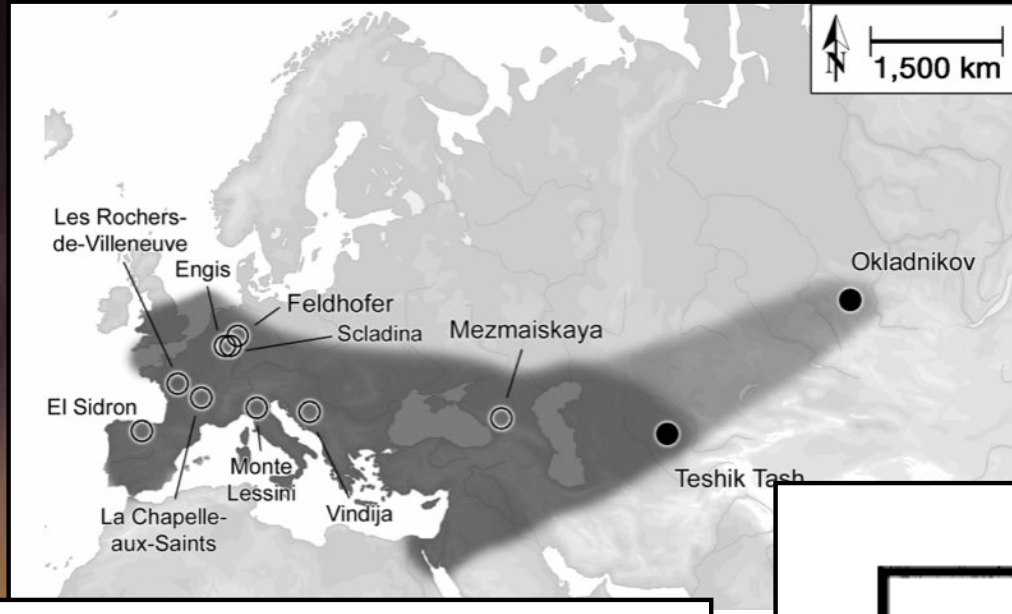


Analýza archaické DNA





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



1) Analýza 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**



problémy:

- často velmi **degradovaná**, zachovány jen fragmenty – používá se proto hlavně mtDNA (velké množství kopií, relativně malá molekula)
 - při nálezů 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:

- oxidativní poškození, modifikace bazí, 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, mikroorganismy
- **fyzikální faktory** - záření
- **chemické faktory** - složení půdy, mikroorganismy

Příklady některých důsledků:

- fragmentace DNA (poškození cukrfosfátové kostry)
- modifikace bazí před izolací DNA
- modifikace bazí 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 zisku 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?

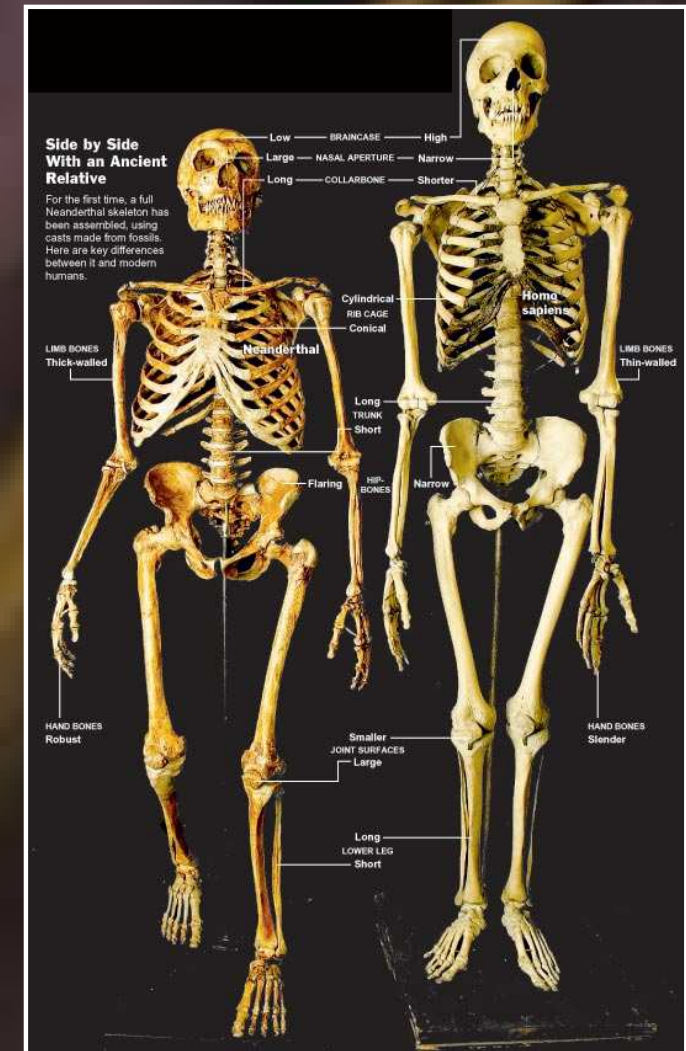
Byli izolovanou skupinou nebo se **křížili s moderním člověkem**?

Máme v naší současné DNA nějaké **neandrtálské geny nebo sekvence**?

Co nám tyto výsledky říkají zajímavého pro naši diskusi o původu moderního člověka?

Kdo byli Neandrtálci?

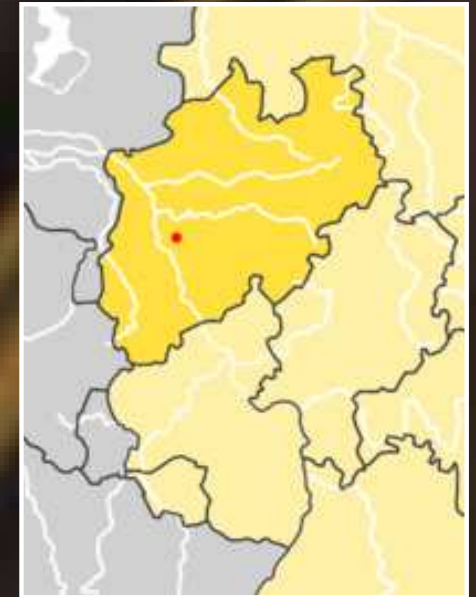
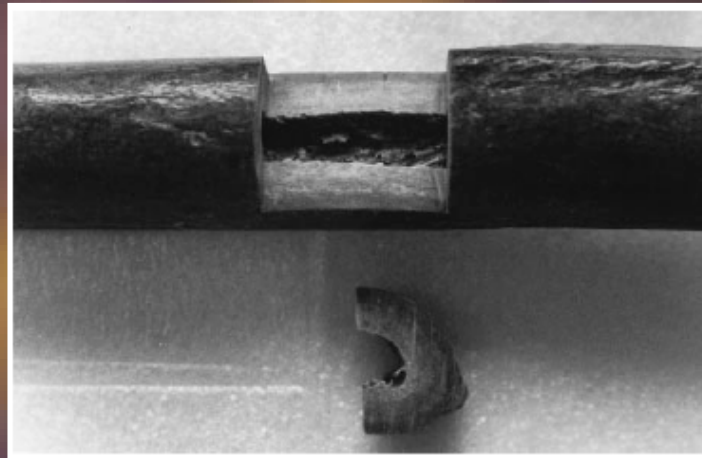
- *Homo neanderthalensis* nebo *Homo sapiens neanderthalensis*
- žili v Evropě před zhruba 400 000 až 30 000 lety a v západní Asii asi před 150 000 lety
- první nález popsán v roce 1856 v údolí Neander v Německu



- nově 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 pažní kosti Neandrtálce z roku 1856 (Mathias Krings *et al.*)



- konkrétně se jednalo o prvně 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

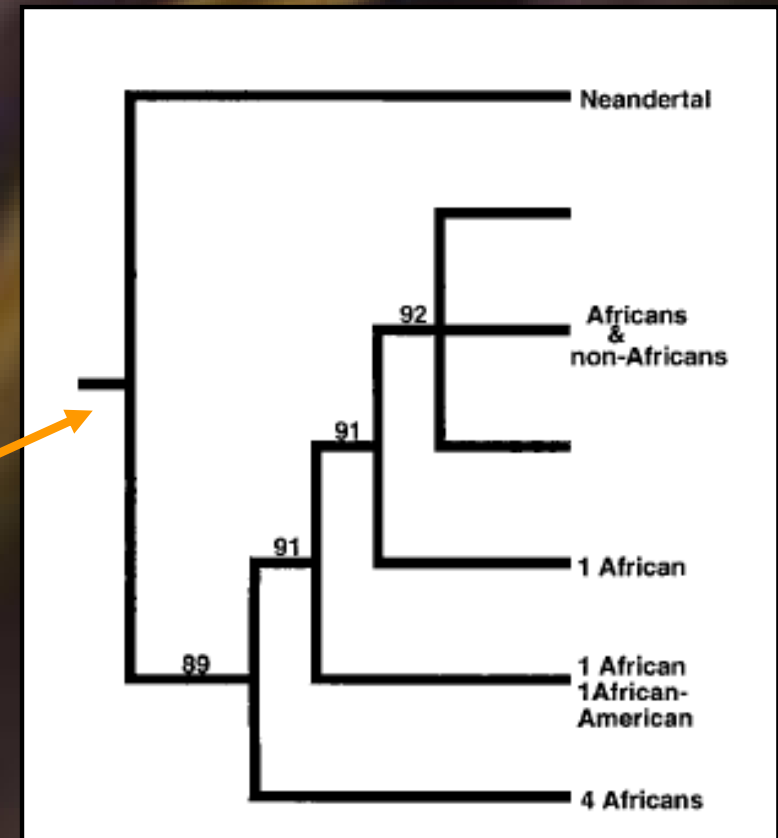
- našli v průměru 27 odlišností (rozdíly kolísaly od 22 do 36 v jednotlivých párových srovnáních)
- jako kontrolu provedli také srovnání sekvencí moderní DNA mezi sebou = průměrně 8 rozdílů (1 až 24)

- 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 %)

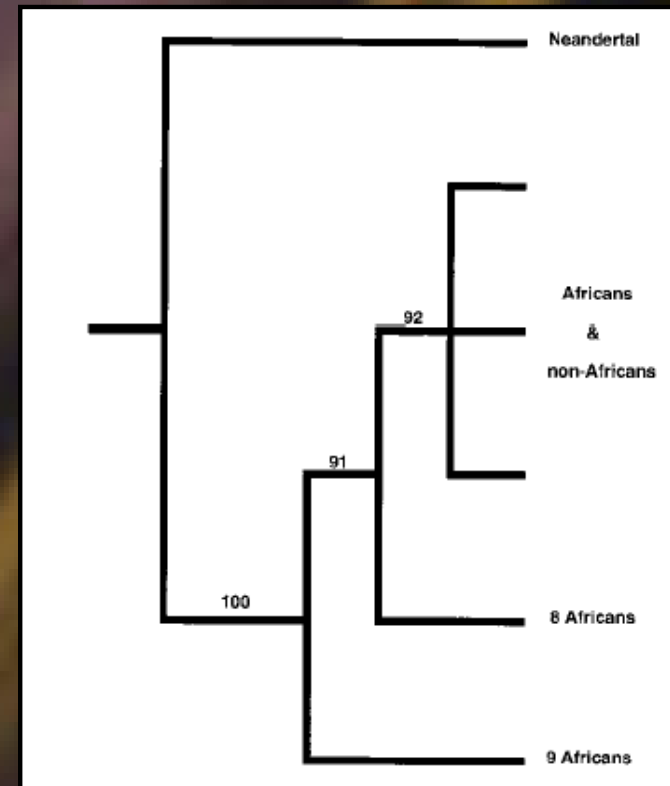
= Neandrtálci se geneticky odlišují od současných lidí

- na základě tohoto srovnání však nelze odpovědět, zda-li byli Neandrtálci 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
- Neandrtálci se v HVRII regionu odlišují od žijících lidí **v průměru na 35 místech** (s rozpětím 29 až 43 rozdílů)



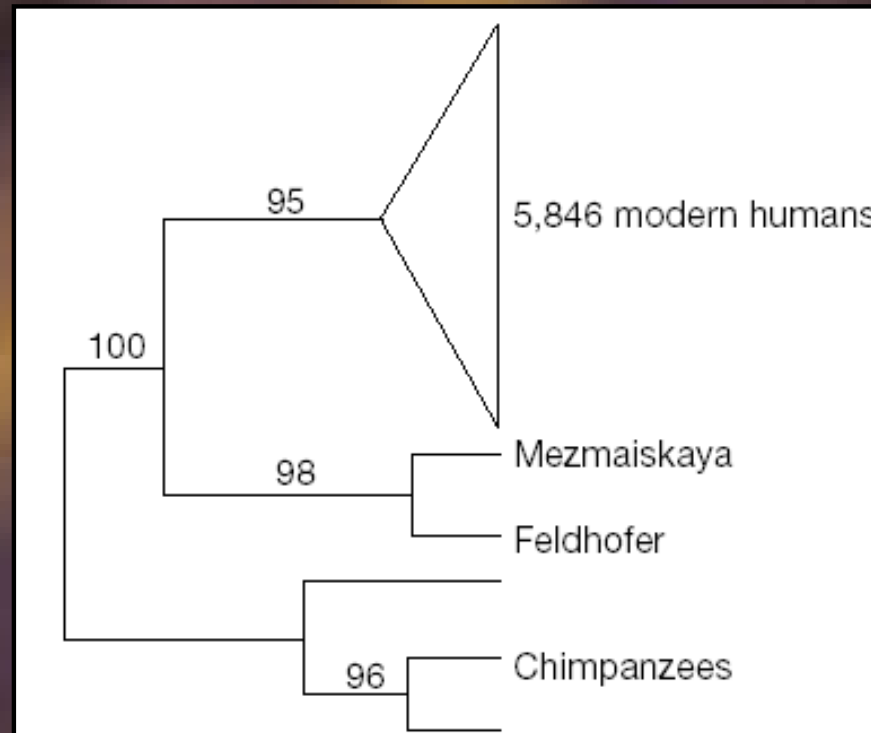


Analýza archaické DNA

- 1) Analýza aDNA člověka
- 2) Analýza první neandrtálské DNA
- 3) Analýza druhé neandrtálské DNA
- 4) Interpretace nalezených výsledků
 - *Byli 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



= i tato neandrtálská mtDNA potvrdila jasnou genetickou odlišnost od DNA současných žijících lidí





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



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 neplodným potomstvem v případě, že se jednalo o tak odlišné druhy, jak se zdá
 - **scénář** však **může být platný jen pro Evropu**, nelze interpretace o nahrazení přenášet i na populace v Asii, kde nic o archaických druzích nevíme
- 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 izolovaní, 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) fosílií 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



Neandrtálec



Cromaňonec



Laura Křížek

současnost

- 40 000 až -30 000 let

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

- mezi Feldhofer a Mezmaiskaya – **12 sekvenčních rozdílů**

x

- 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

= možná by mohli být dva analyzovaní **Neandrtálci jedinci naší evoluční linie**

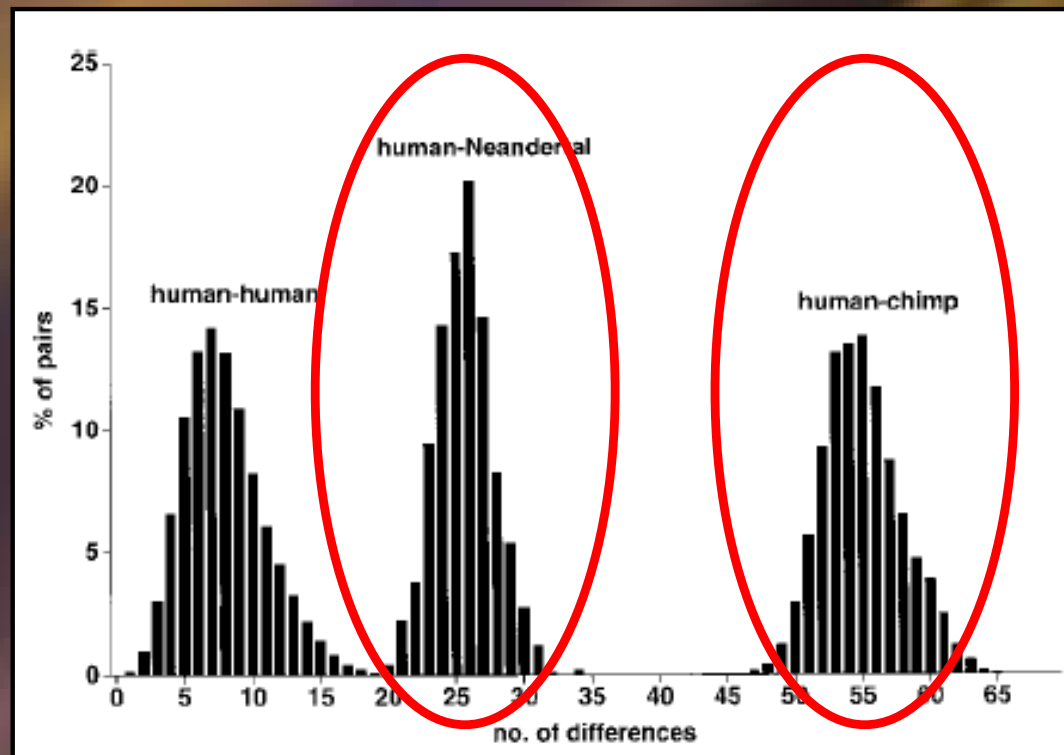
- ovšem nutno pamatovat, že **porovnáváme pouze dvě neandrtálské sekvence**, které ani nepochází z téže doby - Mezmaiskaya je 29 000 let stará a Feldhofer 35 000 až 70 000 let – **značný rozdíl ve stáří může stát za většinou rozdílů, jimiž se liší**

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

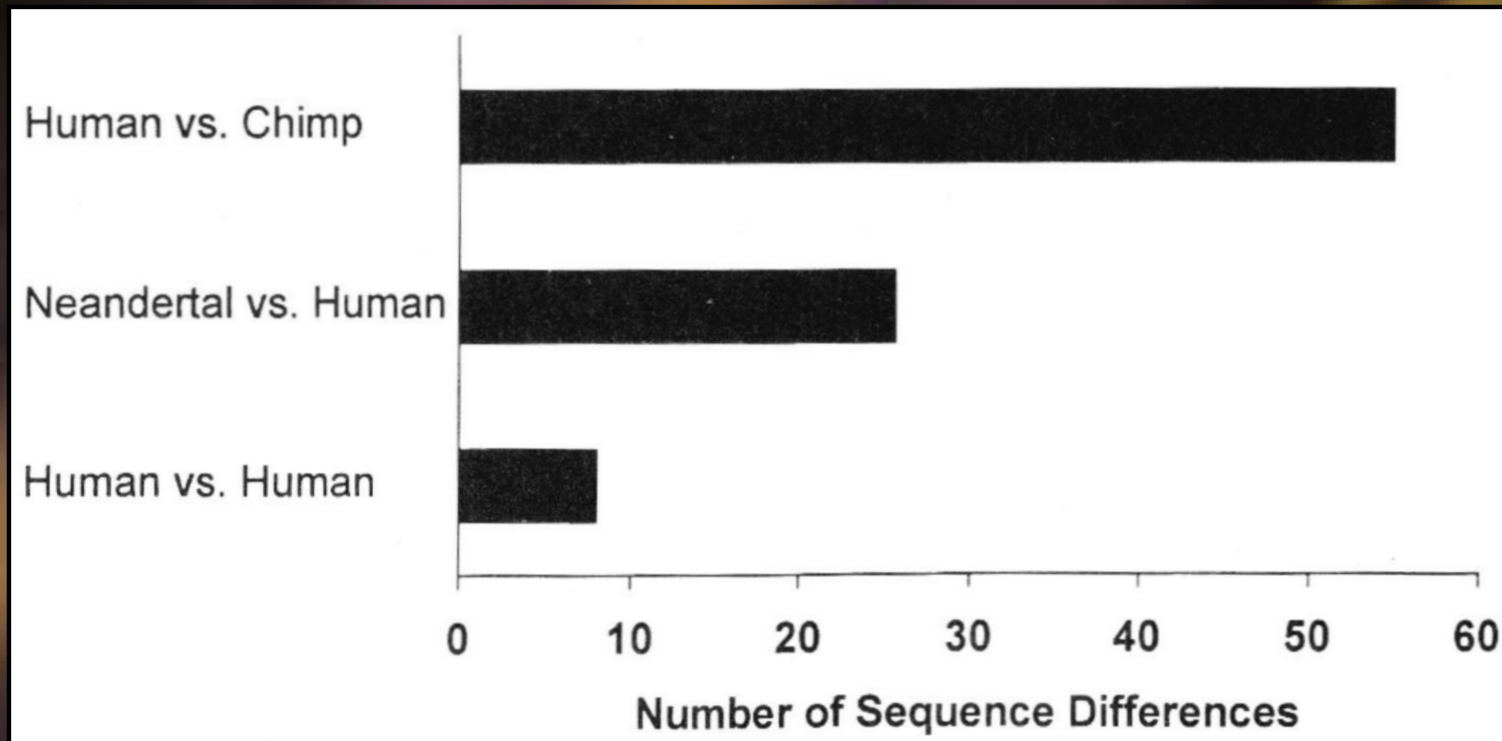
- podle Kringse *et al.* je to v průměru 8,0 změn – **27,2 změn je 3x více**

= Neandrtálci se (na základě dvou / tří sekvencí) spíše zdají být odlišným druhem od žijícího moderního člověka

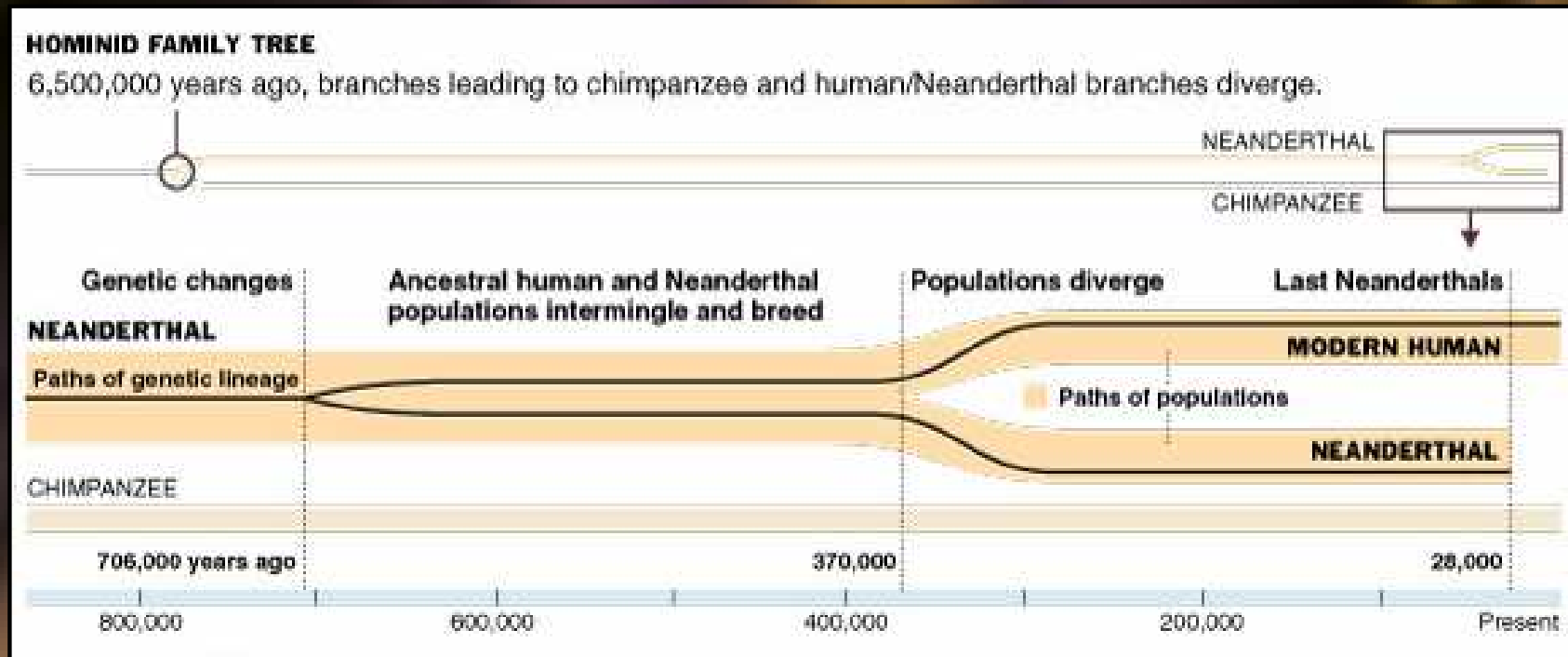
- Krings *et al.* také srovnali **986 sekvencí mtDNA žijících lidí s 16 sekvencemi žijících šimpanzů** (333 pb dlouhá sekvence, která se vyskytuje u obou druhů)
- v této sekvenci našli:
 - v průměru **25,6 rozdílů mezi Feldhoferem a žijícími lidmi (20-34)**
 - v průměru **55,0 rozdílů mezi lidmi a šimpanzi (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

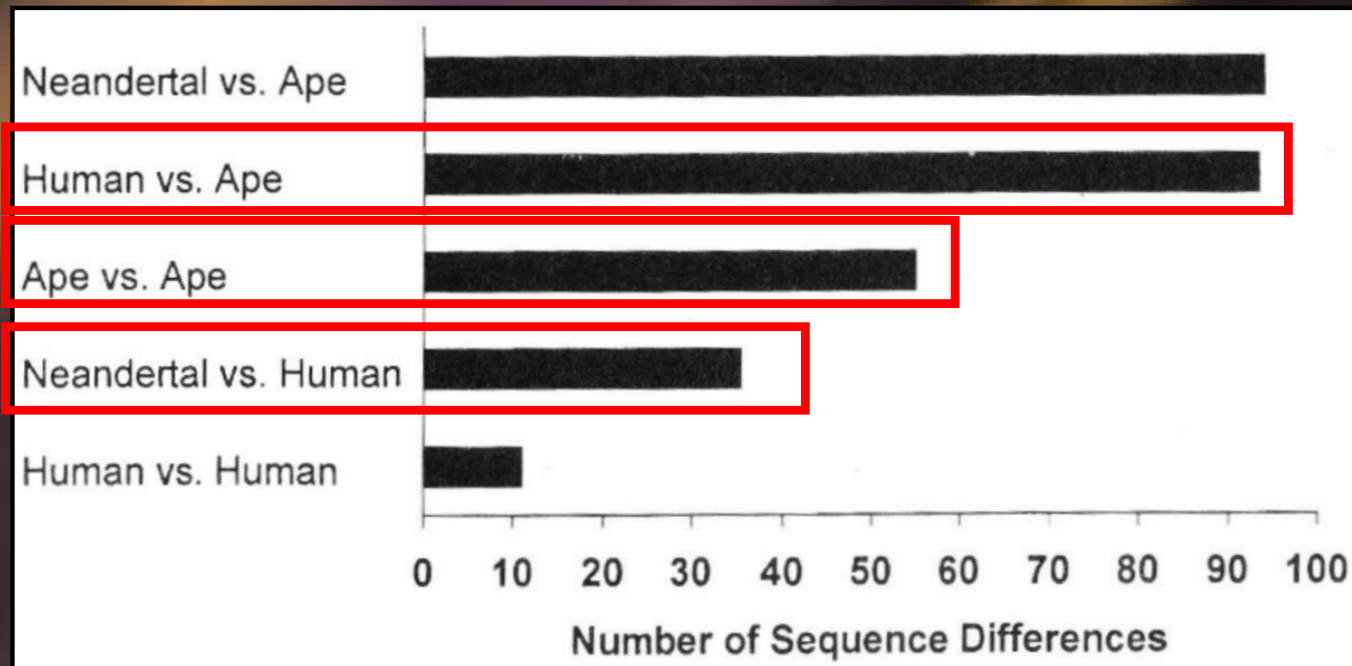


- tento **intermediární** výsledek je **očekávatelný**, protože **šimpanzi se jako druh oddělili od lidí mnohem dříve** (před asi 6 miliony let), zatímco **Neandrtálci se od společného předka odvětvili teprve v průběhu posledního milionu let**



- odhad doby oddělení Neandrtalců 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 **stejně**:
 - rozdíly **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 porovnávány byly dva odlišné druhy – šimpanz a bonobo)
- odhad **stáří MRCA Neandrtalců a moderního člověka** je **317 000 až 741 000 let** (365 000 až 853 000 lety podle [Mezmaiskaya](#))



- 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 vzhledem k počtu rozdílů mezi lidmi a šimpanzi jako dvěma druhy, je zřejmé, že Neandrtálci a moderní člověk představovali spíše dva odlišné druhy. Těmto závěrům nasvědčuje i srovnání s počty rozdílů mezi jednotlivými poddruhy šimpanzů.

- 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 **porovnáваме** **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**

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

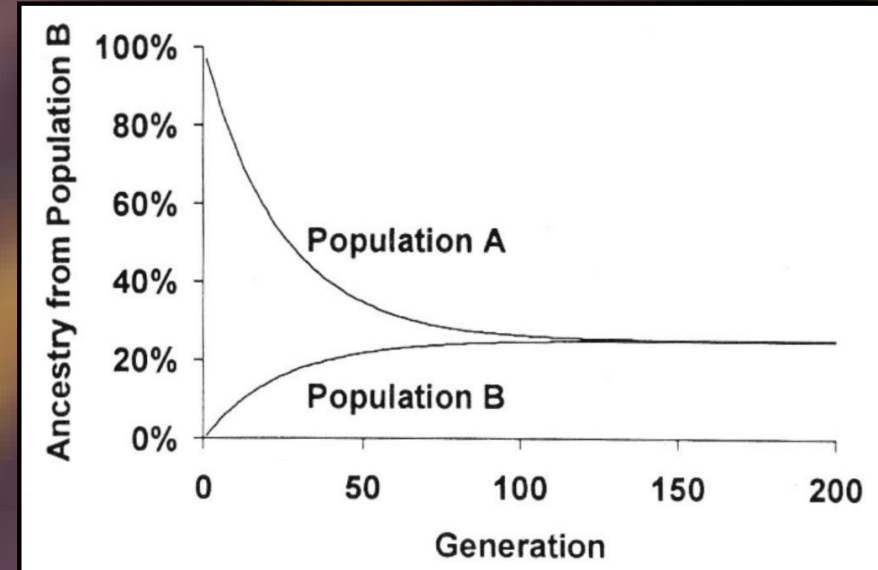
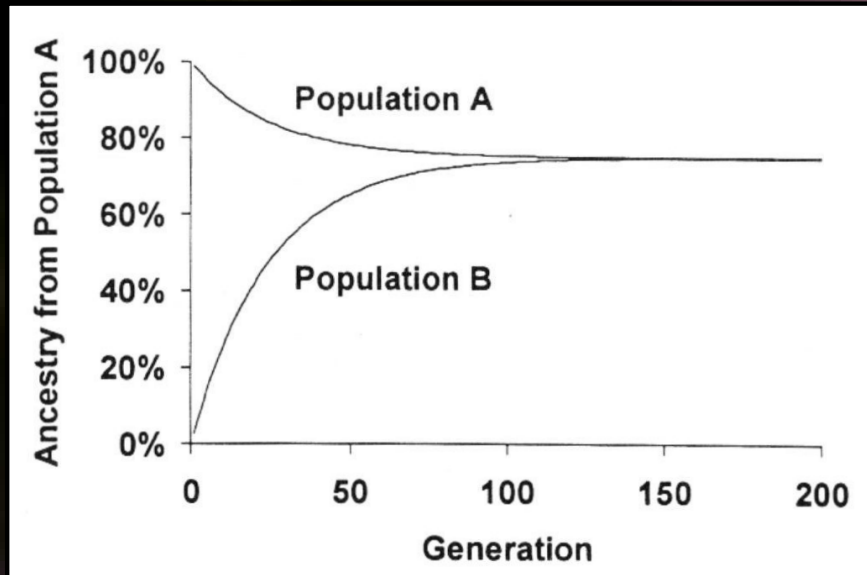
Feldhofer x původní Američani = průměrně 27,4 rozdílů

Feldhofer x Austrálie a Oceánie = průměrně 28,3 rozdílů

- velmi podobné údaje získáme i pro Feldhofer 2 (HVR2) a pro Mezmaiskaya

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

- podstata může být v dostatečně dlouho trvajícím genovém toku

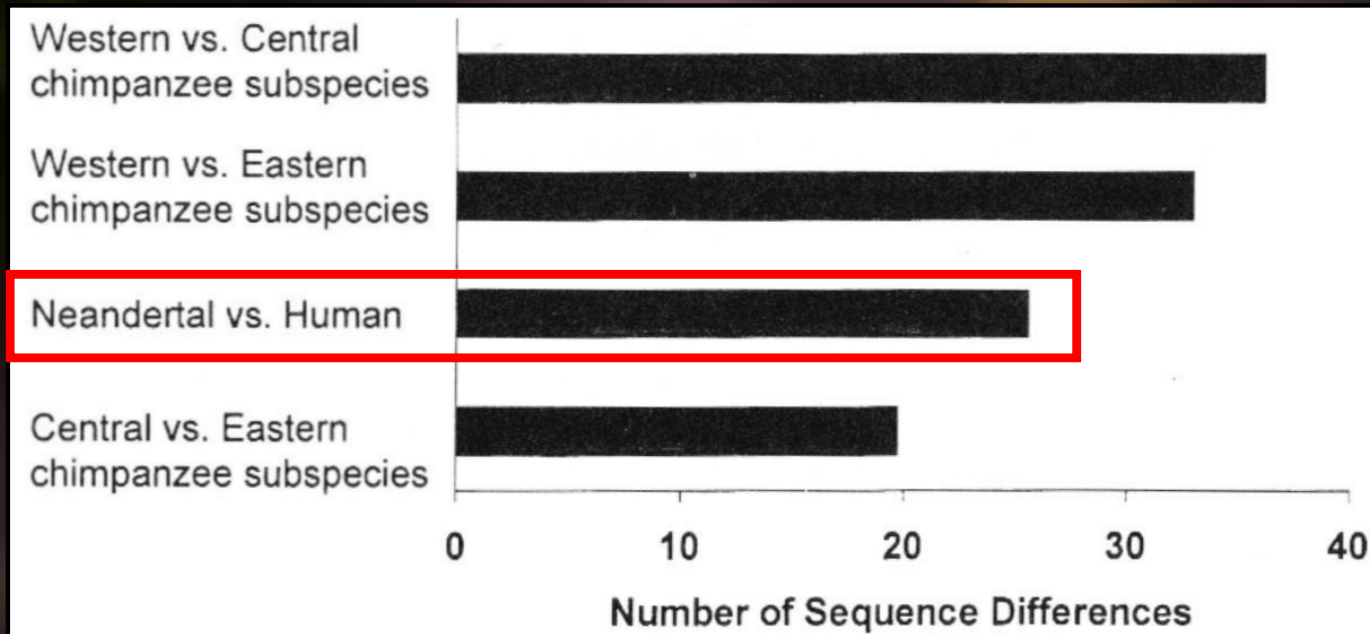


- důsledkem dostatečně dlouho trvajícího genového toku je, že obě populace jsou si téměř podobné
- = totéž mohlo nastat v případě populací moderního člověka, pokud trval genový tok dostatečně dlouho, pak je populace Evropanů stejně odlišná od původní Neandrtálské populace jako populace z ostatních regionů
- = **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*)
- lze najít důkaz této alternativy také v DNA?
- porovnejme si rozdíly mezi jednotlivými poddruhy šimpanze z výsledku Kringse *et al.* (312 pb oblasti HVRI):
 - 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



- 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.

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



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**



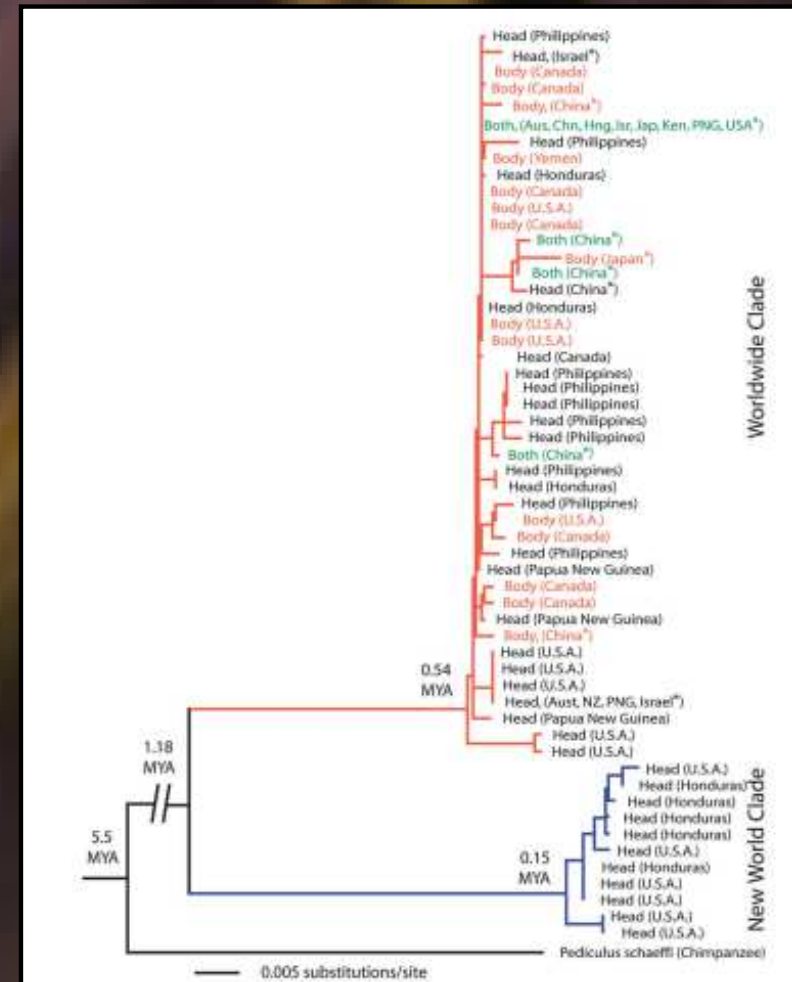
5) Křížili jsme se s Neandrtálci?

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*)
 - **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 nenalézáme stopy po neandrtálských předcích**, což však ještě nemusí znamenat, že jsme se s Neandrtálci ve skutečnosti nekřížili
 - **stopy mohou být smazány genovým tokem** v kombinaci s **působením genetického driftu**, jako bylo prokázáno v případě následující studie australské populace

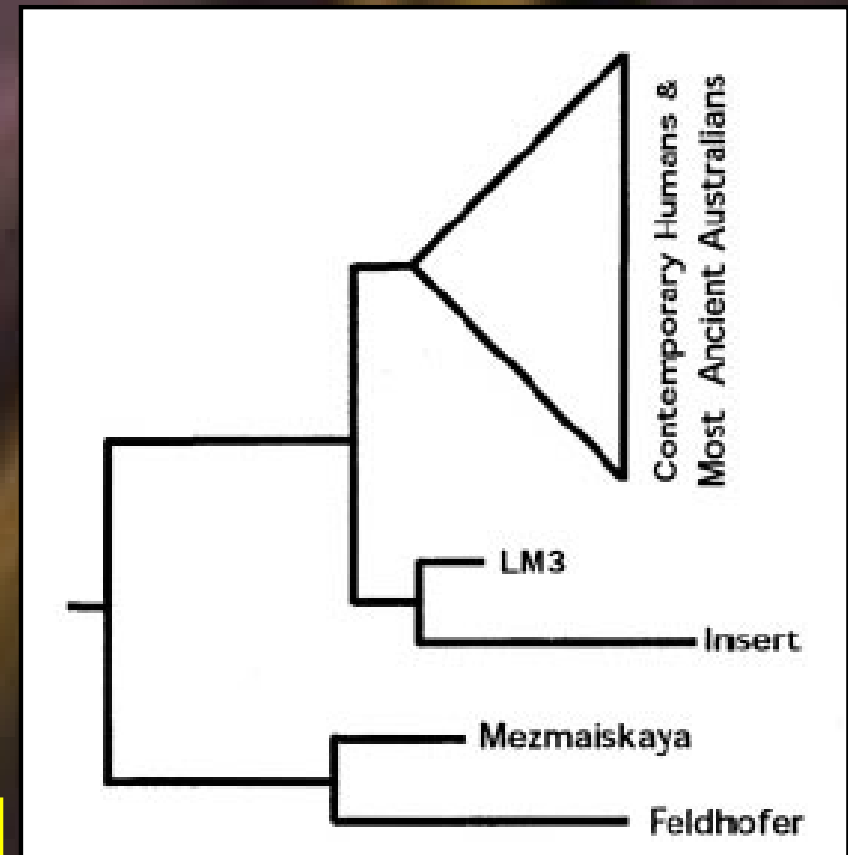
- Gregory Adcock *et al.* (2001) – porovnávali **sekvenci mtDNA izolovanou z australských fosílií**, které obsahovaly i vzorky jedinců **Lake Mungo 3 (LM3)**, předka Australanů žijícího před asi 60 000 lety
- **LM3 má anatomicky moderní znaky a představuje předka žijících australských domorodců**



Sahul – prekontinent Austrálie a Nové Guineje



- Gregory Adcock *et al.* (2001) – porovnávali sekvenci mtDNA izolovanou z australských fosílií, 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 domorodých Australanů = LM3 sekvence **nenalzáme u současných Australanů**
- **původ v populaci LM3 však potvrzuje část mtDNA jedinců LM3**, která se nalézá pouze u některých současných domorodých 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 genetickým driftem, případně selekcí) **z genomu současných potomků zcela ztratit**



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



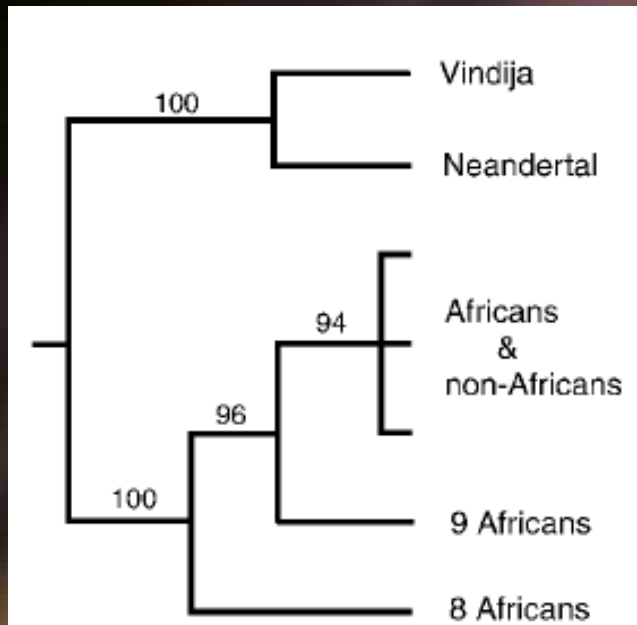
Analýza archaické DNA

- 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) Děnisované – co o nich víme



6) Další nálezy a izolace neandrtálské DNA

- Krings *et al.* (2000) – **jeskyně Vindija v Chorvatsku**, 15 neandrtálských kostí, celkem **7 použitelných vzorků**, analyzován byl jeden vybraný asi 42 000 let starý
- **průměrný počet odlišností oproti současné mtDNA byl 34,9** (předchozí 27, 35 a 23)



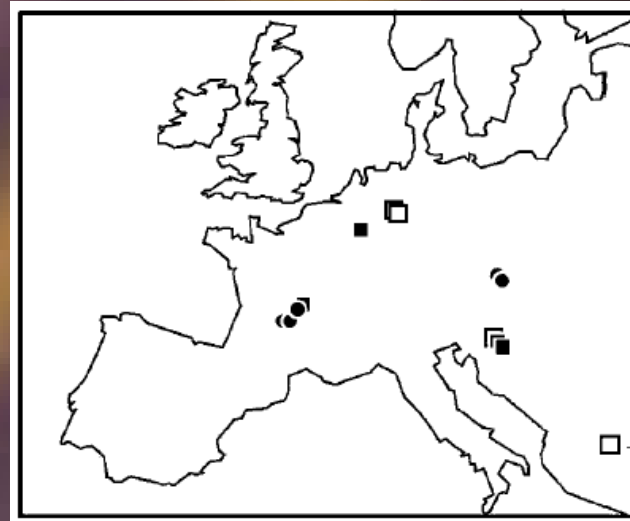
- třetí neandrtálská **sekvence nijak významně nemění závěry učiněné na dvou prvních sekvencích**



- na základě všech analýz je zřejmá velká příbuznost mezi Neandrtálci a zároveň zjevná odlišnost od současného člověka
 - stále chybí důkaz možného křížení s Neandrtálci
 - hypotézy proč nelze najít důkaz o příspěvku neandrtálské DNA do DNA moderního člověka:
 - **přemazání důkazů** (zánik neandrtálských sekvencí) v důsledku genetického driftu a/nebo genového toku
 - sekvence **neandrtálské mtDNA** mohou být **natolik podobné mtDNA současného moderního člověka**, že jsou z analýz **vyloučeny jako možná kontaminace vzorku moderní DNA**
- = **potřeba analyzovat mtDNA ze zástupců moderního člověka, kteří žili v době Neandrtálců** a v jejich DNA hledat možné důkazy o křížení s Neandrtálci

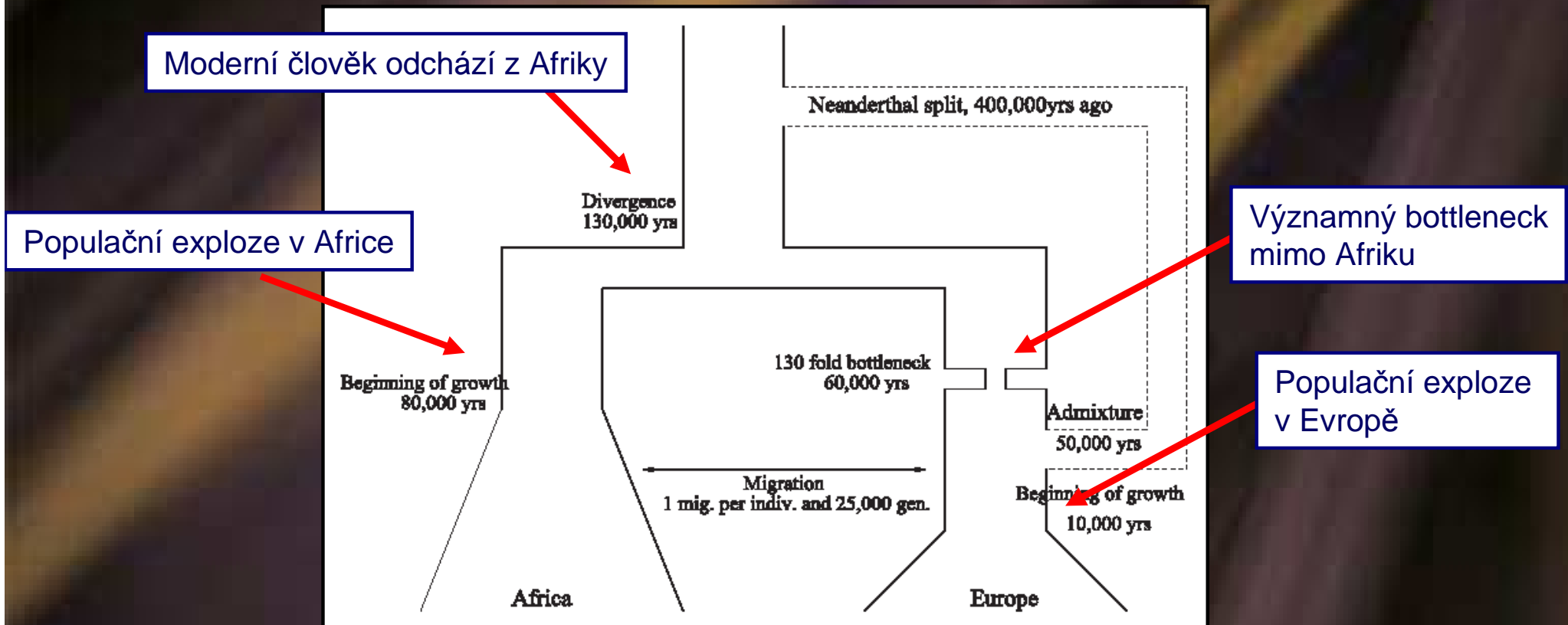
- David Serre *et al.* (2004) - **analyzovali 4 neandrtálské vzorky a 5 vzorků raného moderního člověka**, které byly vhodné pro další analýzy

Neandertal remains
Vindija 77 (Vi-77) (Croatia)
Vindija 80 (Vi-80) (Croatia)
Engis 2 (Belgium)
La Chapelle-aux-Saints (France)
Early modern human remains
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 genofondu 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

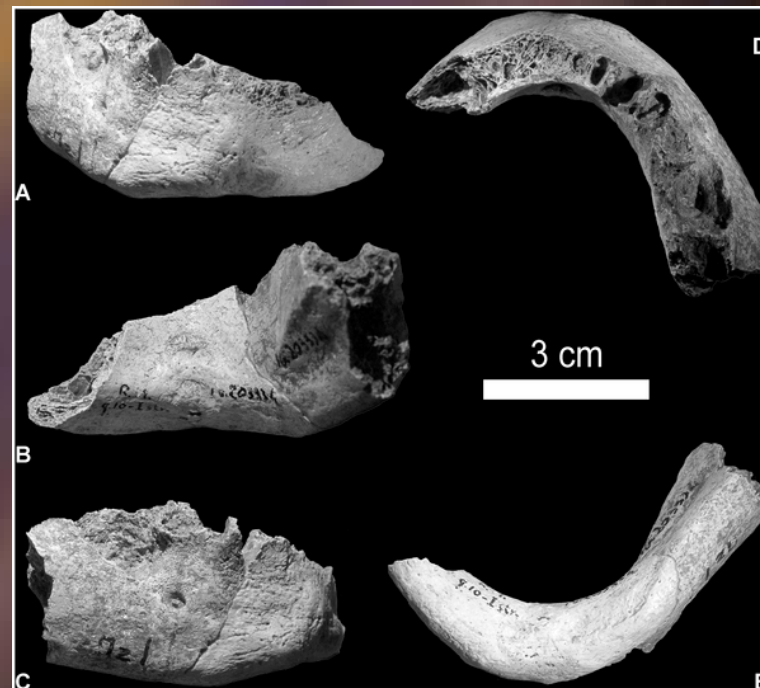
- Vincent Plagnol a Jeffrey Wall (2006, PLoS Genetics) využili **sekvenční data** z „**The Environmental Genome Project**“ a aplikovali nové statistické metody
- jejich **výsledky naznačují** na možnou **příměs** (min. 5 %) archaické DNA v DNA evropských a západoafrických populacích



- bude **potřeba potvrdit** studiem dalších sekvencí

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





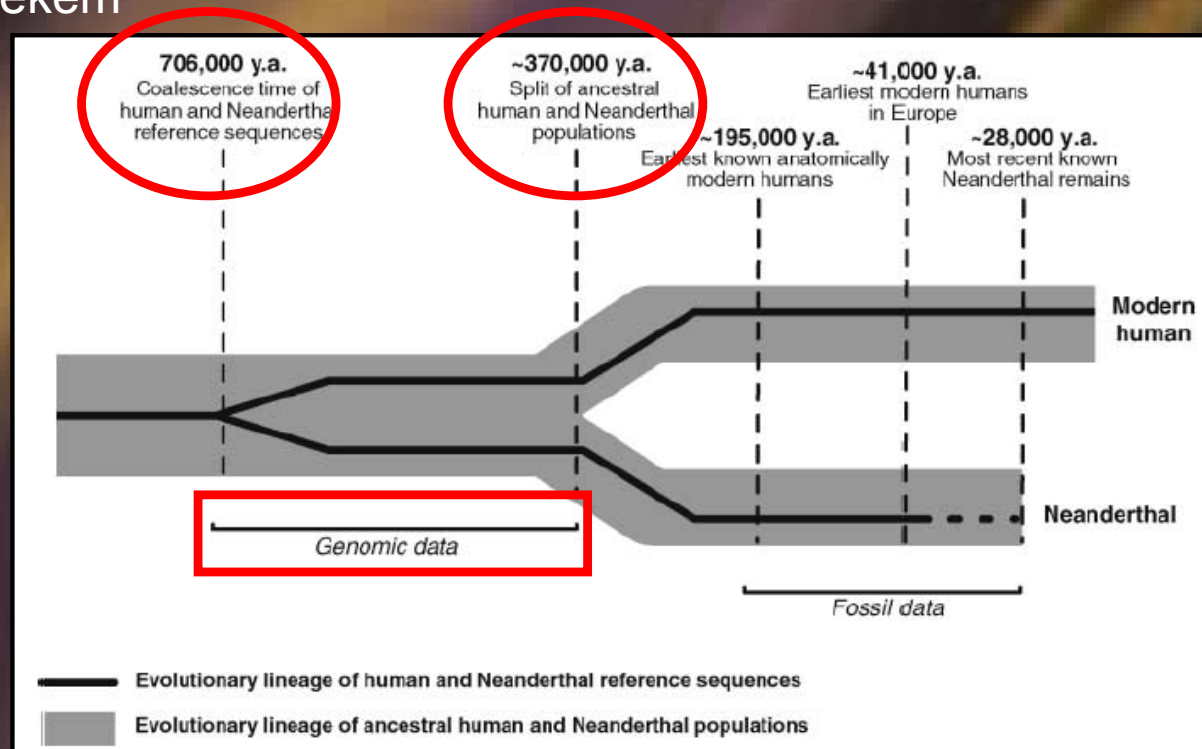
Analýza archaické DNA



- 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**

7) Analýza jaderných sekvencí a sekvencování genomu Neandrtálce

- na počátku 21. století **snahy o sekvencovat**, 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

- Green *et al.* (2006) byli v procesu mapování neandrtálského genomu úspěšnější - **osekvencovali 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

- **v únoru 2009** oznámili S. Pääbo a R. Green **úplné osequencování 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. (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 populace:

- 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

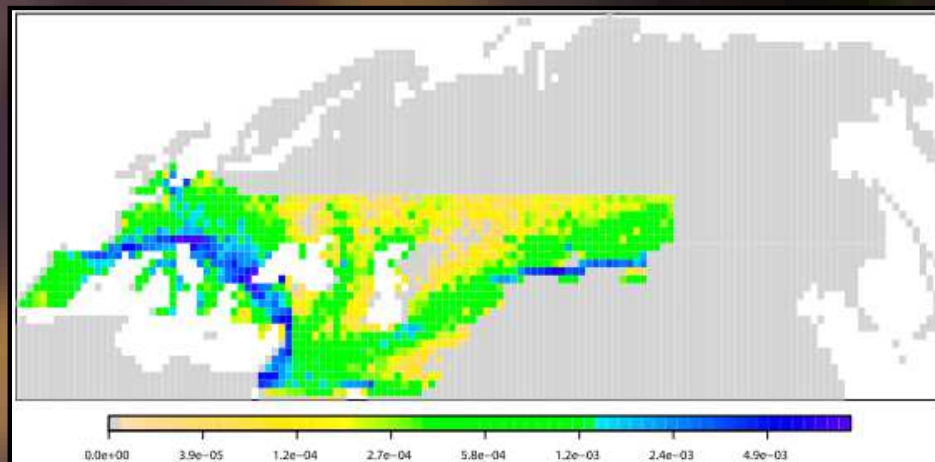
Pokud by křížení probíhalo pouze na Blízkém Východě, pak to ovlivní scénáře migrace z Afriky:

- 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**



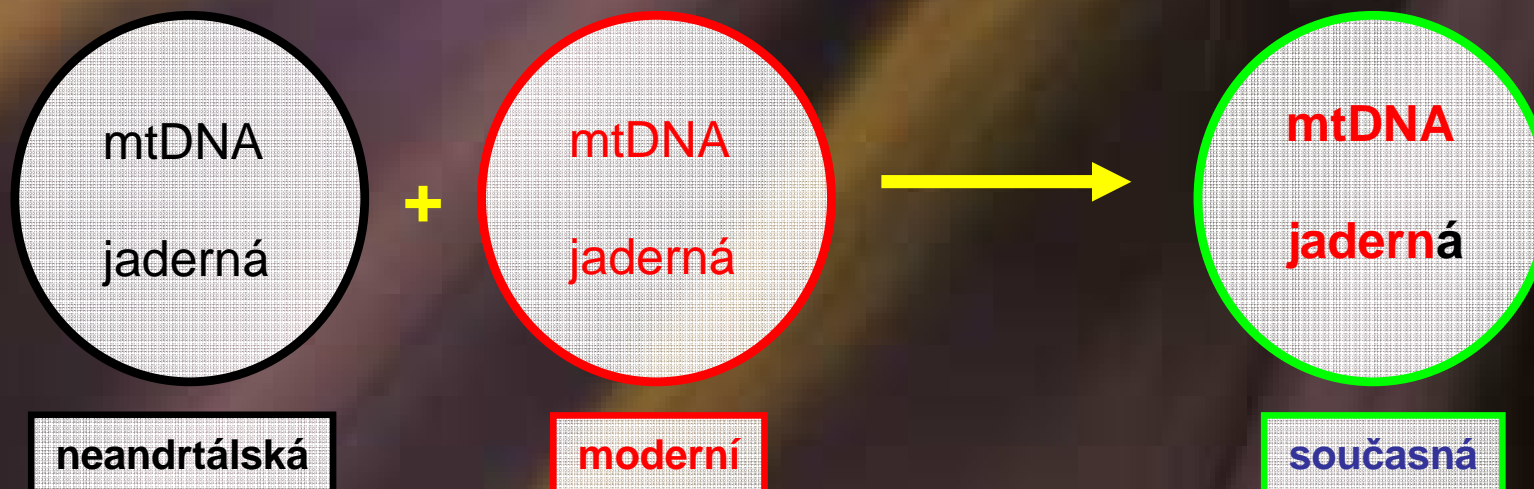
Kde křížení probíhalo

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 osidlování
- nastavili velmi malou úspěšnost hybridů (méně než 2 %) – z důvodu nižší fitness 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



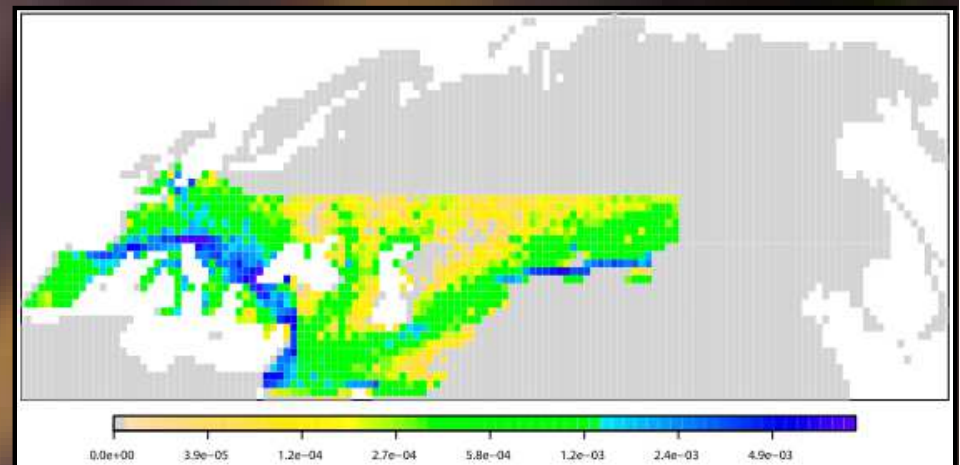
Kde křížení probíhalo

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 místa výskytu Neandrtálců)
- směrem od hybridní zón intenzita klesá, avšak **stopu po křížení lze nalézt po celé Asii a Evropě**

Závěr

- potvrzuje to **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 – snad ukáží další analýzy

První objevení hybridní jedinci podle jaderné DNA



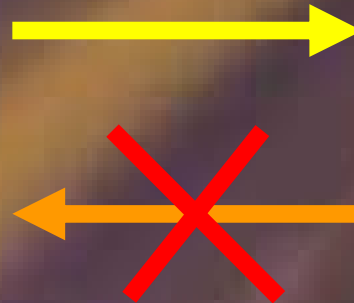
- S. Paabo (konferenční sdělení, 2014) analyzovali **jadernou DNA** stehenní kosti **jedince Ust-Ishim**, stáří asi **45 000 let** = **nejstarší sekvenovaný genom moderního člověka**
- v různých částech genomu **vykazuje mnohem větší příspěvek neandrtálské DNA než je u žijících Evropanů a Asiatů**
- **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

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 nově příchozí populace je malý (v souladu s pozorovanými 1-4 %)

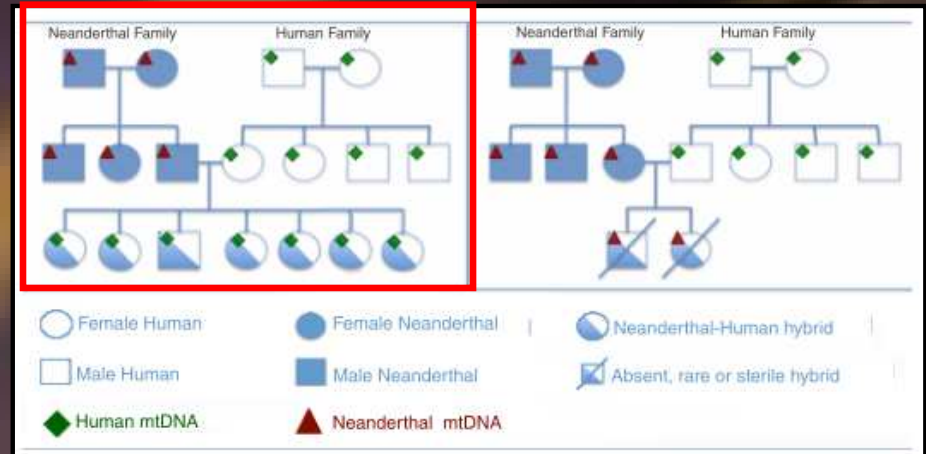
Nenalézáme stopy po genovém toku z moderních populací do populací Neandrtálců

- 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

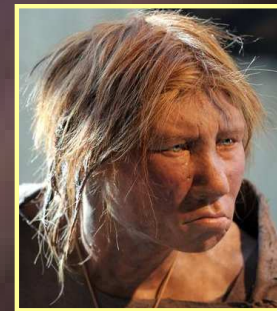
Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA

Mason a Short, 2011

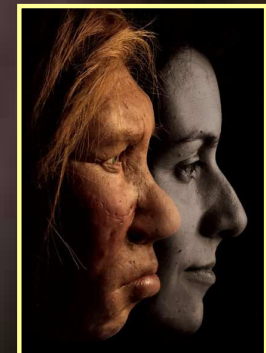
Křížení probíhalo **mezi neandrtálskými muži a moderními ženami** v důsledku pohlavního výběru



moderní
mtDNA



neandrtálská
mtDNA



- **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**

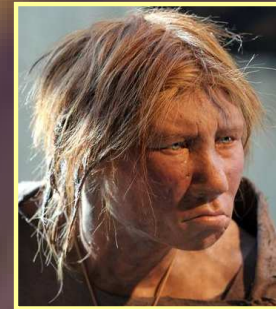
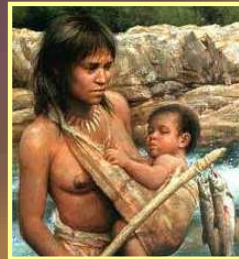
Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA

Mason a Short, 2011

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



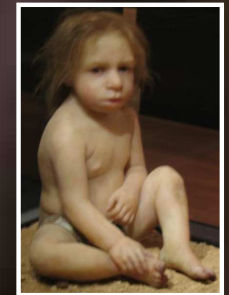
↓ neandrtálský
chr. Y



↓ moderní
chr. Y

• Haldanovo pravidlo

- mezidruhový hybrid 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 – výrazně je snížený příspěvek neandrtálských sekvencí na chr. X v lokusech ovlivňujících tvorbu testes a mužskou fertilitu = **mužští hybridy měli problémy s plodností**

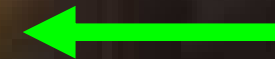
Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA

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:

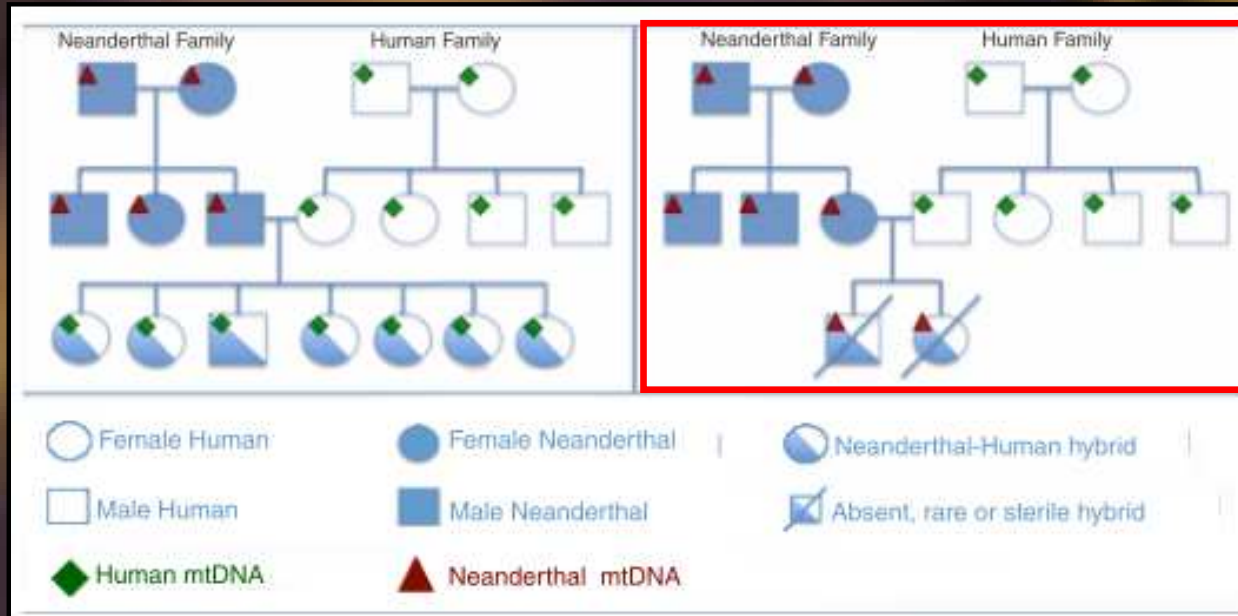
Neandrtálská mtDNA obsahovala vysoké množství „škodlivých“ mutací, které vedlo k zániku těchto linií a proto se nedochovala.

Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA

Mason a Short, 2011

Možnost 3:

Podle poznatků o mezidruhových hybridech je možné, že neandrtálské ženy nebyly schopny s moderními muži rodit fertilní potomstvo.



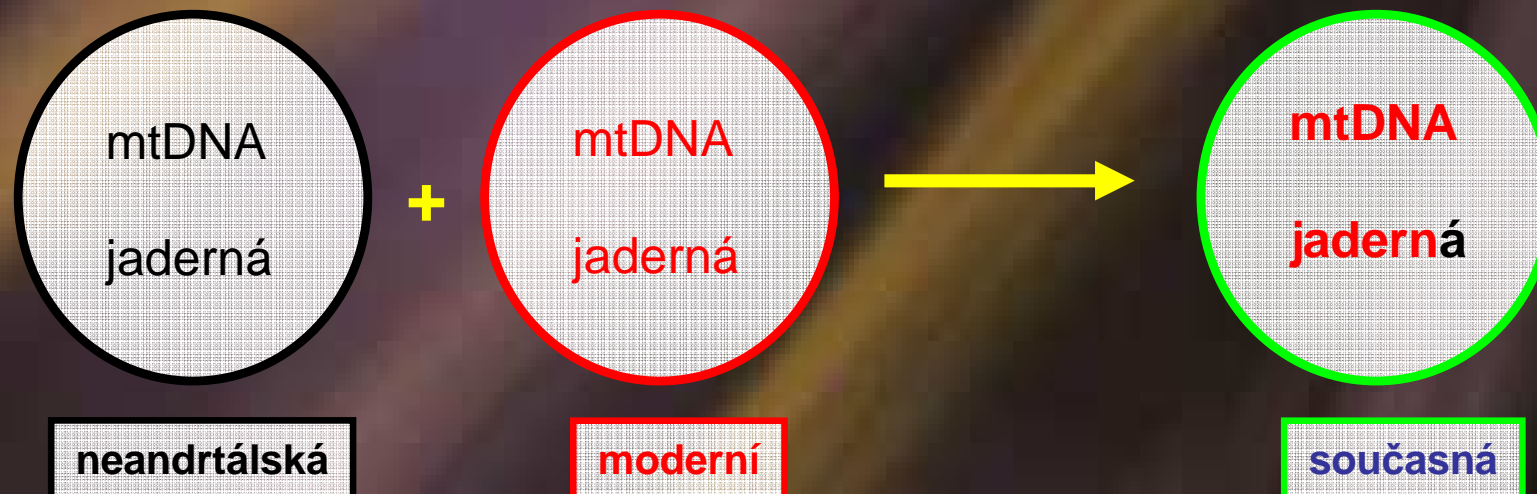
Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA

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

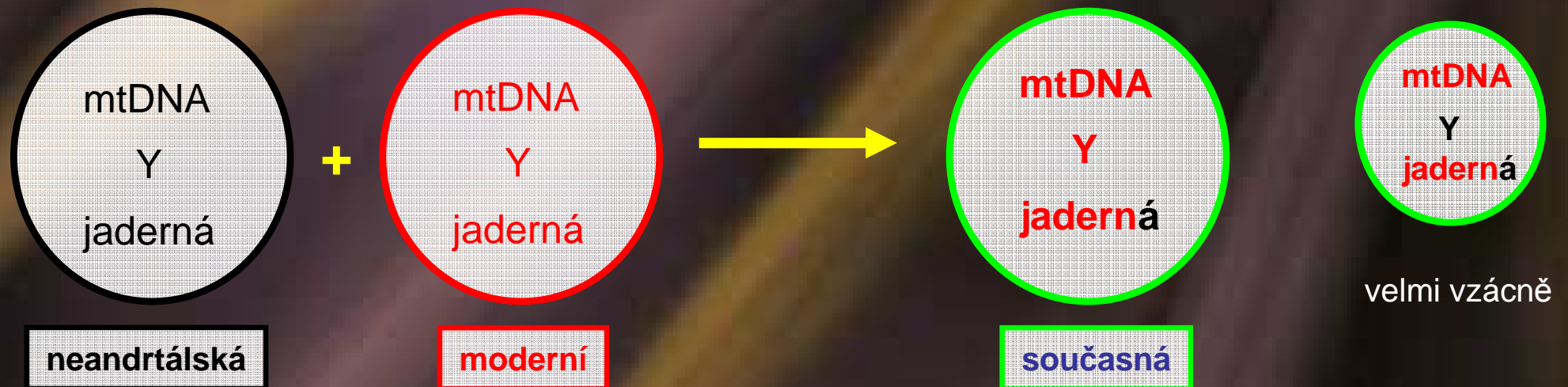
Mason a Short, 2011

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

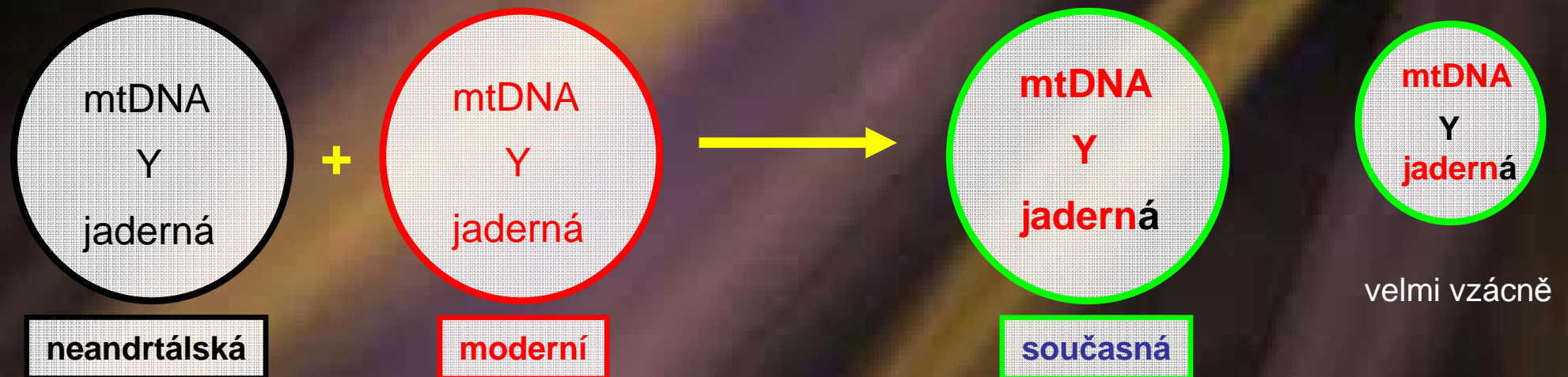


Proč je stopa jen v jaderné DNA a není v mtDNA

Mason a Short, 2011

Možnost 4:

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

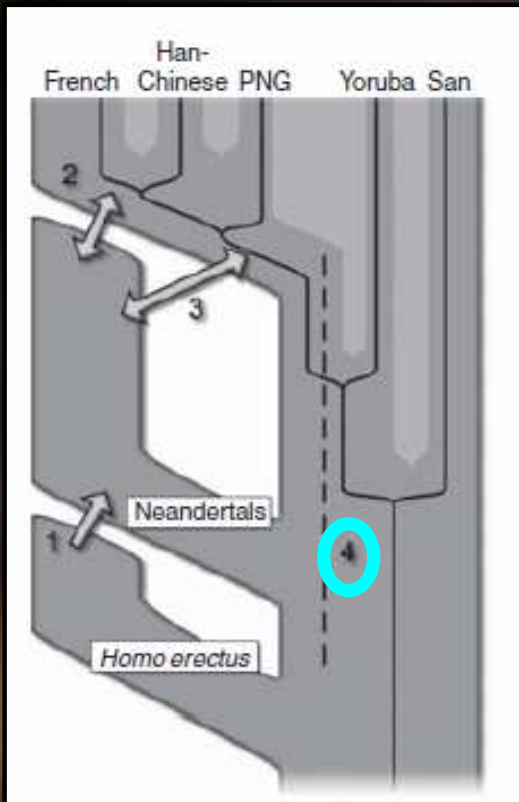


- **k zániku druhé populace nemusí být ani rozdíl ve fitness** (ani jedna z populací nemá výhodu)
- **vyšší fitness moderních populací jen o 1 %** oproti neandrtálským populacím pak **vede k velmi rychlému zániku ve velmi krátkém čase**
 - na **Blízkém Východě měly populace stejnou fitness** – nahrazení 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:

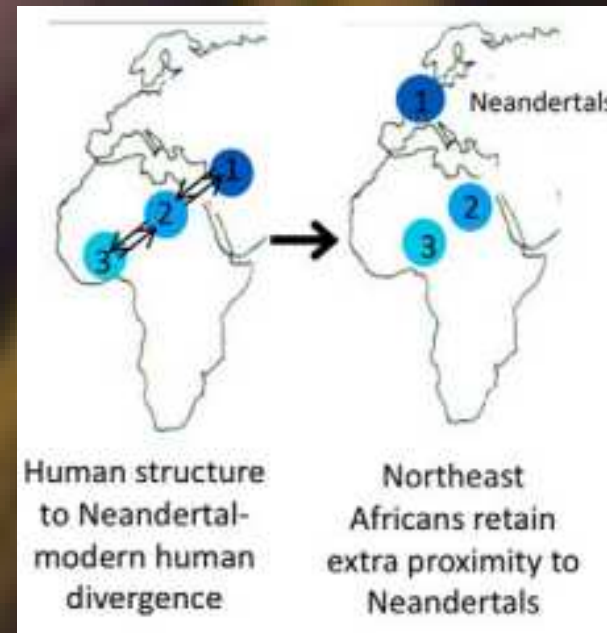
- **bez příměsi archaické DNA** – zakladatelská všech afrických populací
- **s příměsí archaické DNA** – zakladatelská všech mimo-afrických populací

Genový tok před < 100 000 lety



vs.

Ancient structure > 230 000 lety



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

Avšak řada výsledků tuto teorii nepodporuje

Sa'ñchez-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 následovnickými 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
- 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 archaickém původu.

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 Neandrtalců od mtDNA současného člověka je tedy možné vysvětlit jak pomocí modelu nahrazení, tak i modelu 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 mimoafrických populací mohou být pozůstatkem zděděným od archaických populací, ze kterých tyto mimoafrické 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

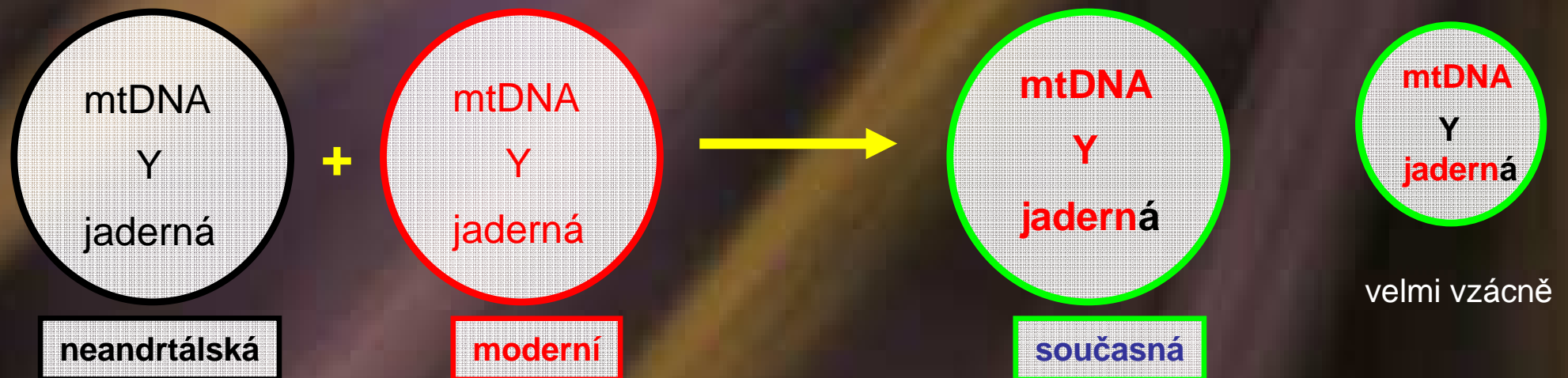


Proč Neandrtálci vyhynuli?

- 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 obstát 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



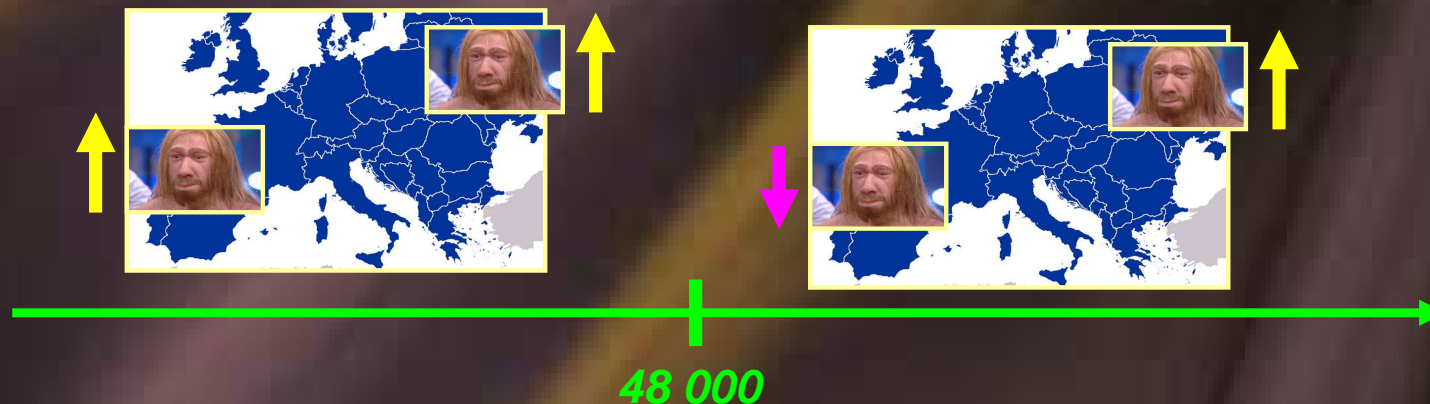
Proč Neandrtálci vyhynuli?

2) Důsledek náhlých klimatických změn

- zejména **Neandrtálci v Evropě byli výborně přizpůsobeni drsným podmínkám dob ledových** = měli by lépe obstát 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

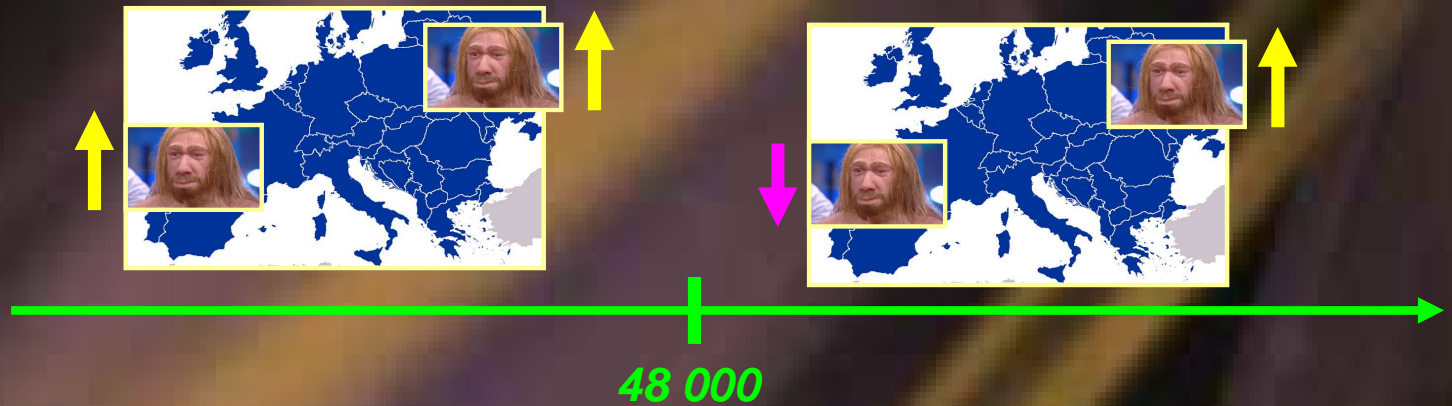
Klimatická změna č. 1

- 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**

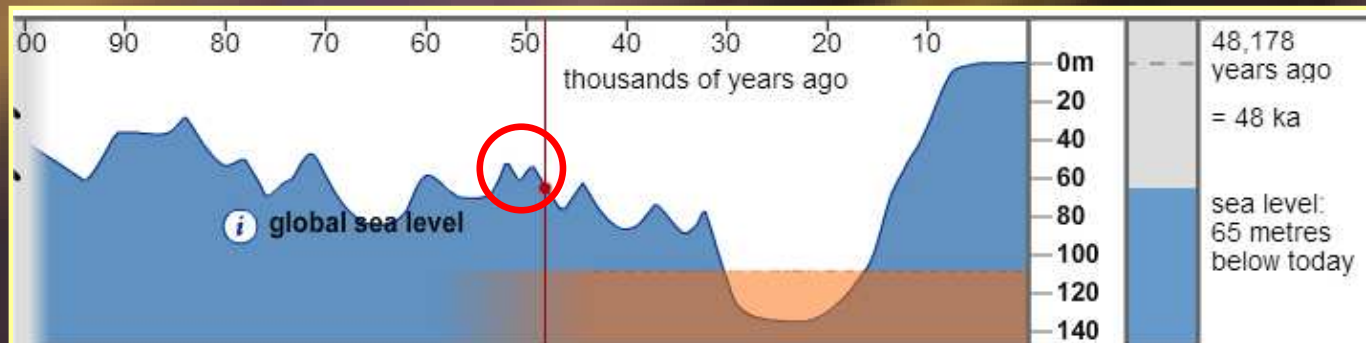


Proč Neandrtálci vyhynuli?

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 mohl to být tak **začátek jejich konce**

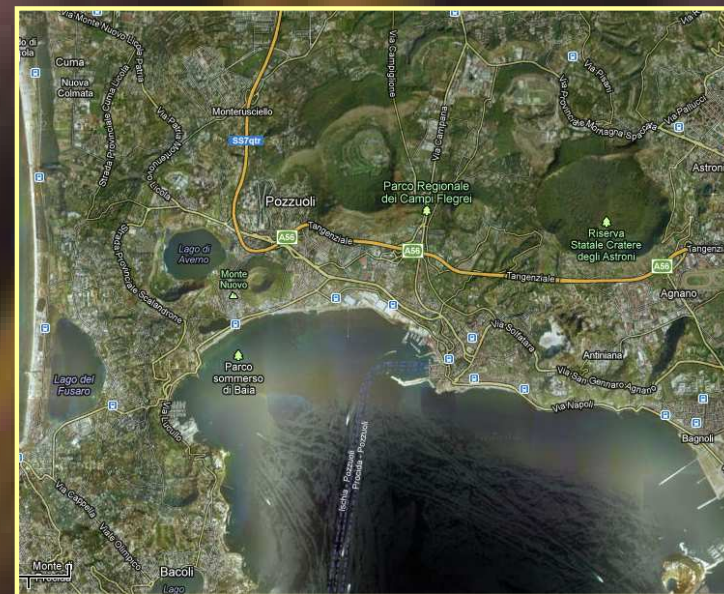
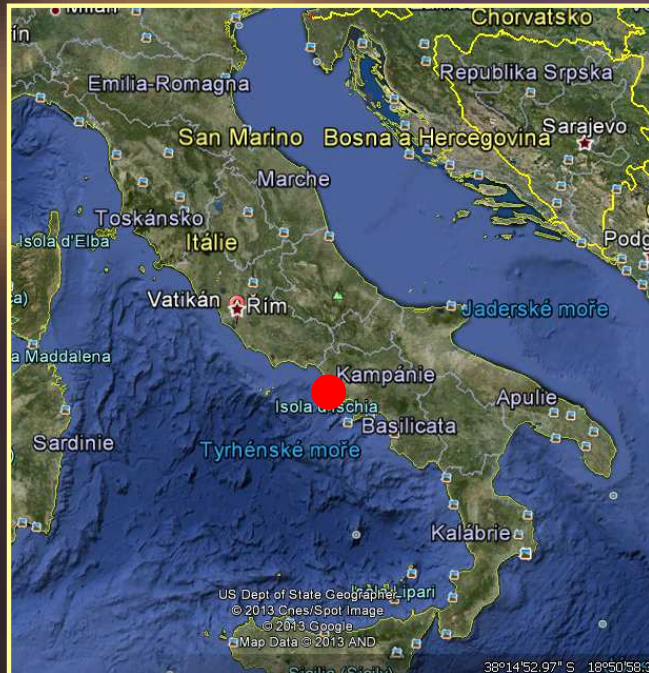
Proč Neandrtálci vyhynuli?

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 km² s následnou vulkanickou zimou



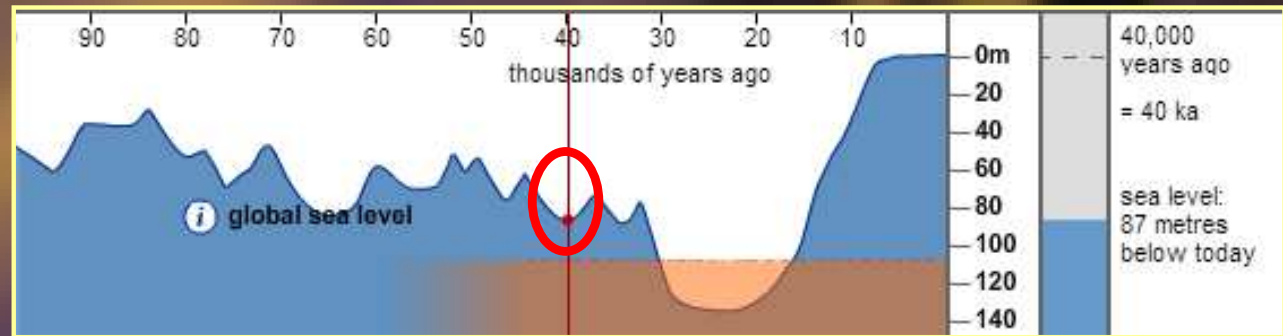
Kaldera o průměru 13 km

Proč Neandrtálci vyhynuli?

2) Důsledek náhlých klimatických změn

Klimatická změna č. 2

- **sopečný popel** pokryl území o rozloze až 300 km² s následnou **vulkanickou zimou**



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



Proč Neandrtálci vyhynuli?

3) Vlivem patogenů

Spongioformní encefalopatie

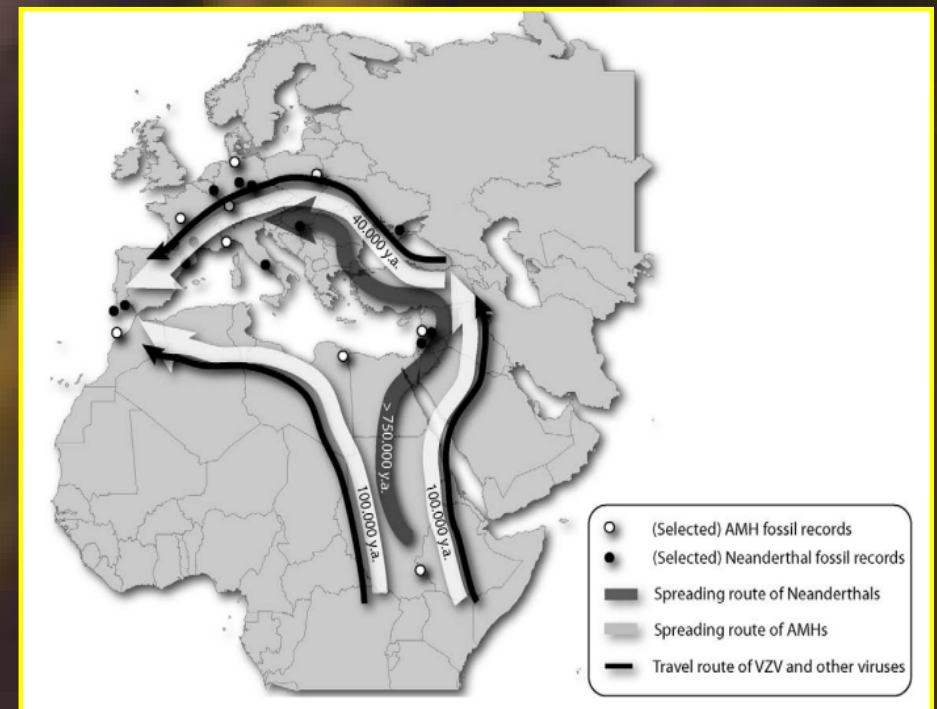
- v důsledku **kanibalismu** se rozšířilo **prionové onemocnění** – není však jisté, jak moc byl kanibalismus rozšířený mezi Neandrtálci
- další přenos také **přes infikované kamenné nástroje**
- Neandrtálci však **žili v malých a izolovaných skupinách** = přenos by tak **asi nebyl příliš významný**
- 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 týkající se kouření také ukazují **především vliv na zdraví u synů v následujících dvou generacích**, jejichž otec byl kuřák



Proč Neandrtálci vyhynuli?

- za vyhynutím Neandrtalců 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-africké podmínky prostředí**

(Sankararaman *et al.* 2014)

- **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 inzulínu 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)

(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 Asiatů 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 Asiatů než Evropanů souhlasí s poznatky 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 nechutnačství 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)



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.



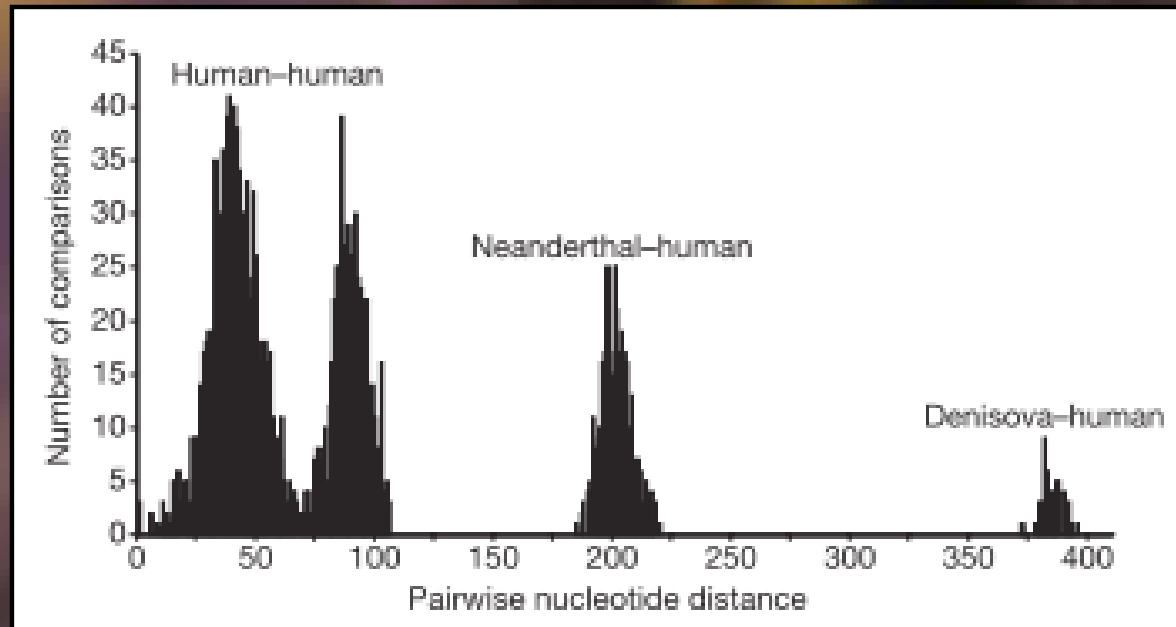
Analýza archaické DNA

- 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 Sibiři, 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 Neandrtalců**

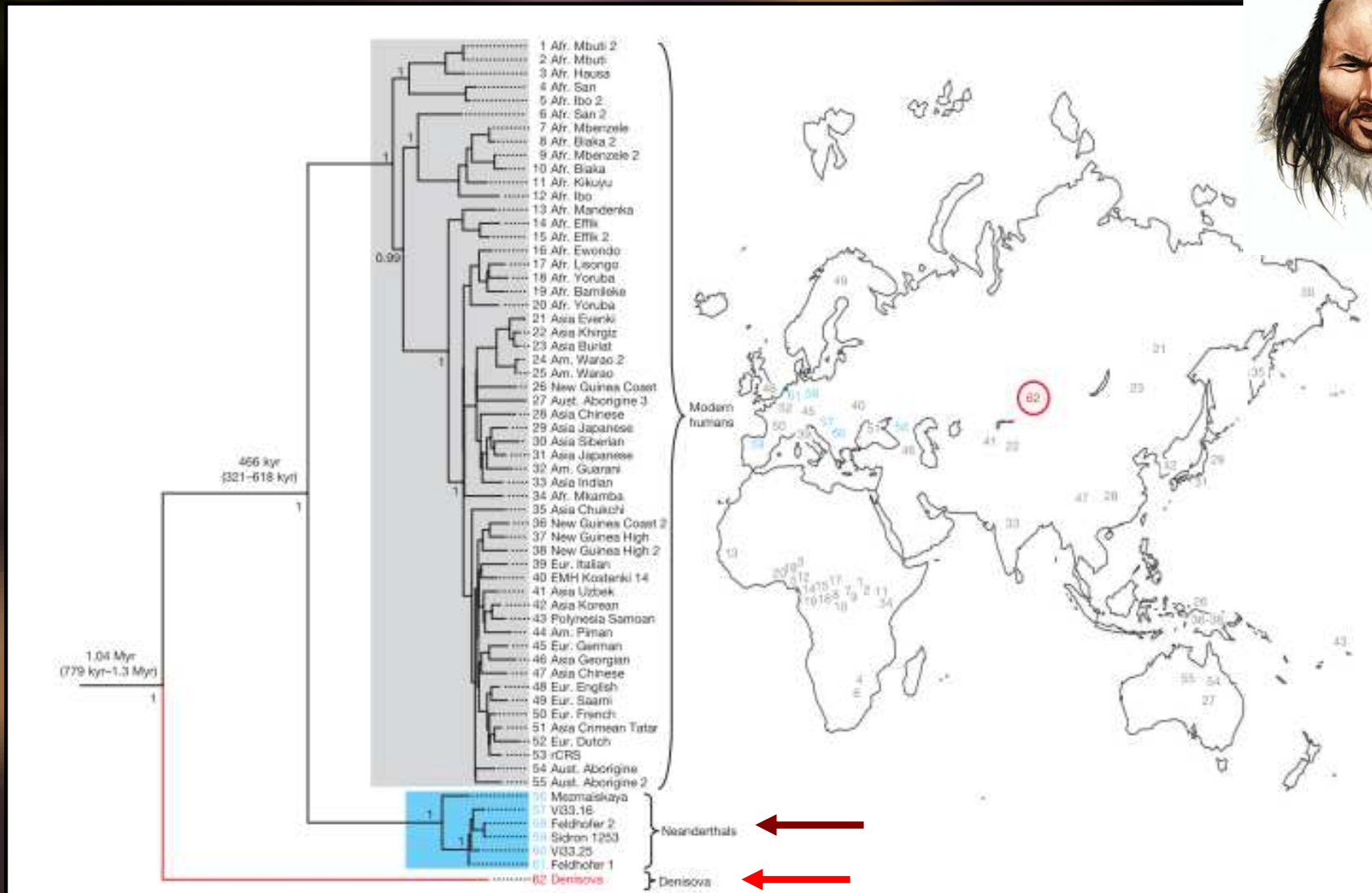


- genetická odlišnost stanovená na základě mtDNA
- potvrzena i na základě morfologie nalezeného zubu (zub patřil jinému jedinci)

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

Děnisované

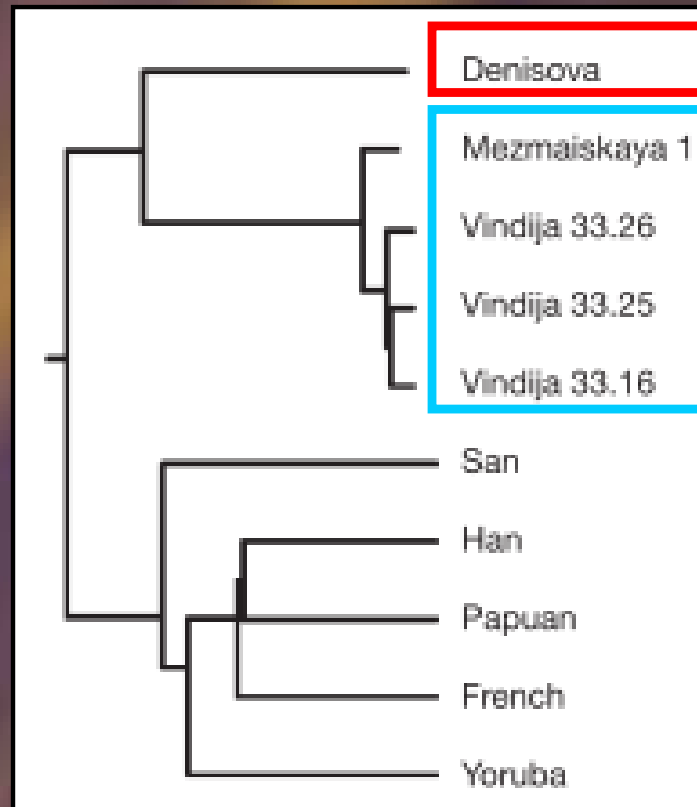
- Děnisované jsou odlišní nejen od moderního člověka, ale i od Neandrtálců



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

Děnisované

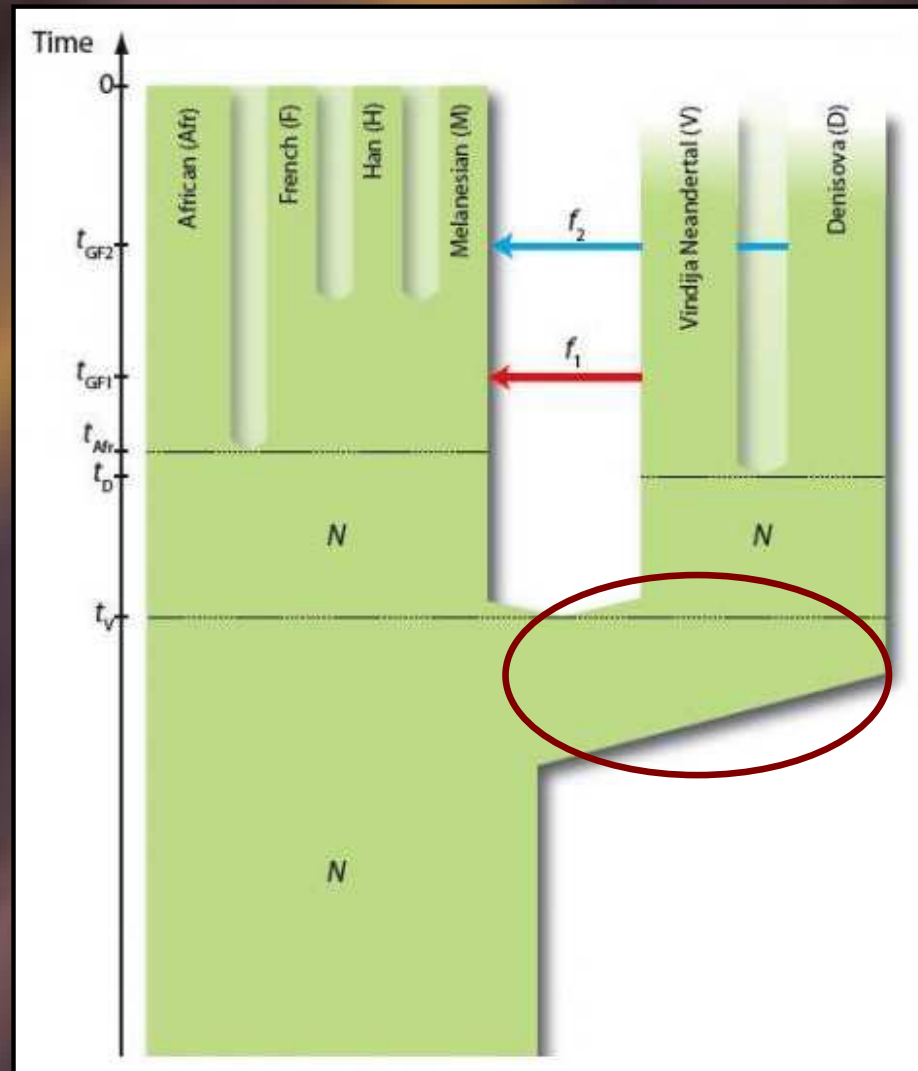
- Děnisované jsou odlišní nejen od moderního člověka, ale i od Neandrtálců
- **potvrzeno analýzou jaderné DNA**



- 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 Děnisovany a moderními Melanésany**
 - nikoliv však mezi Děnisovany a moderními Euroasiaty
 - **Děnisované přispěli 4 – 6 % do genomu současných melanésanů**



společný bottleneck

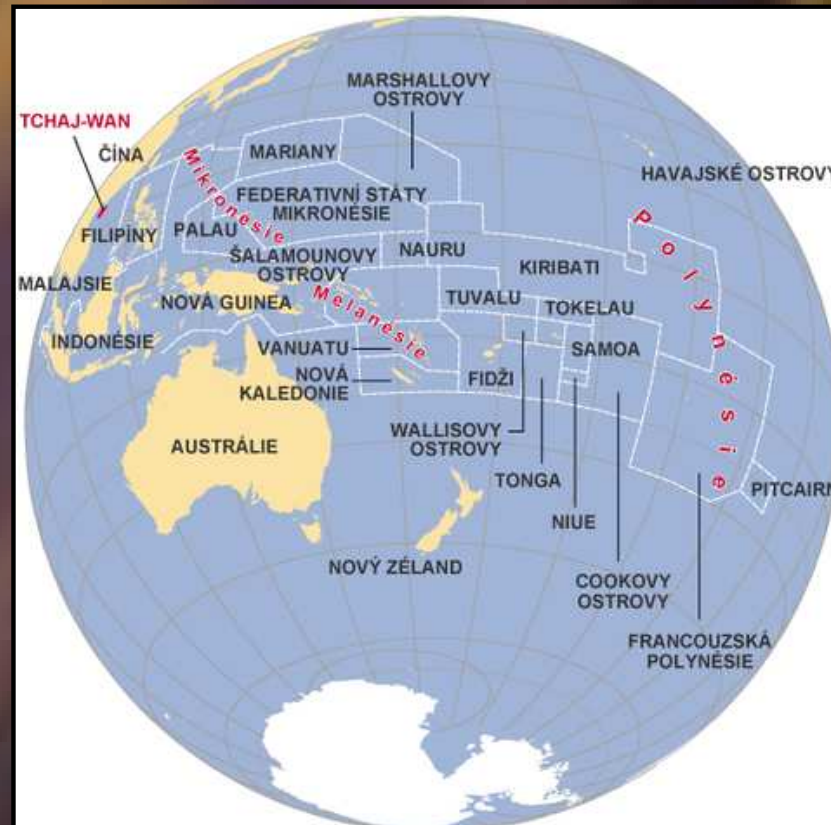
Děnisované

Reich et al., 2011

- **DNA Děnísovanů prokázali u 33 populací Asie a Oceánie:**

- např. u původních obyvatel Austrálie, filipínských Mamanů, východních Indonésanů, obyvatel Papui Nové Guineje, Fidžanů, Polynésanů

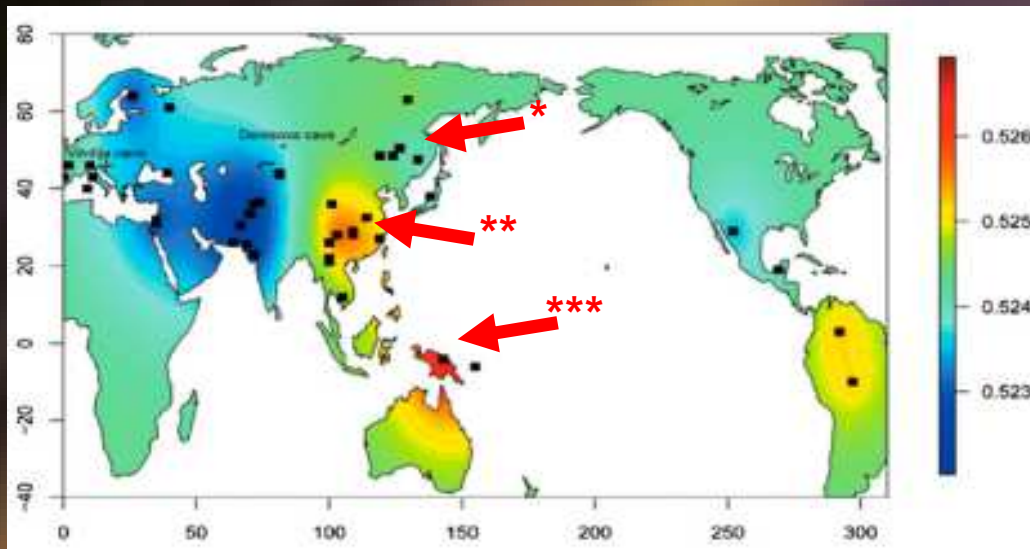
- naopak příměs **neprokázali** u východních asiátů, západních Indonésanů, obyvatel Malajsie (Jehai) a Andamanských ostrovů (Onge)



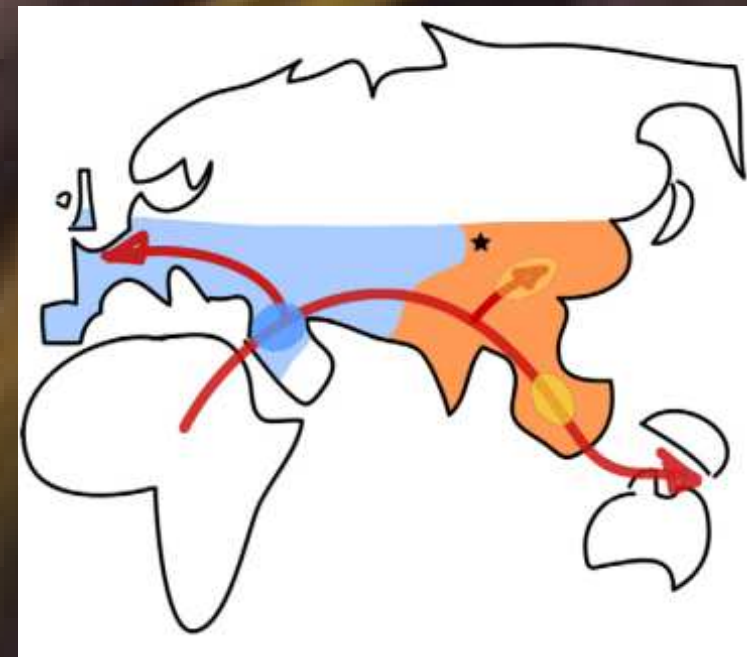
Děnisované

Skoglund a Jakobsson, 2011

- pomocí SNP prokázali, že **alely Děnisovanů jsou i u východních Asiatů***, ale v mnohem **menších četnostech** než v Oceánii
- **křížení** nastalo už v **jihovýchodní Asii** u předka dnešních populací v Oceánii a Východní Asii**



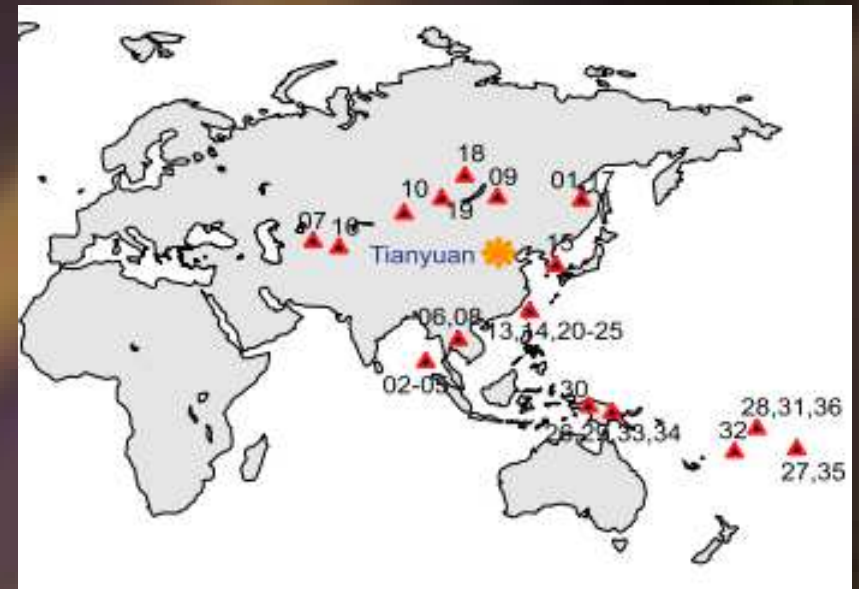
Pozn.: vyšší frekvence děnisovanských alel může být způsobena silnějším genovým posunem - viz Papua Nová Guinea***, Jižní Amerika



Děnisované

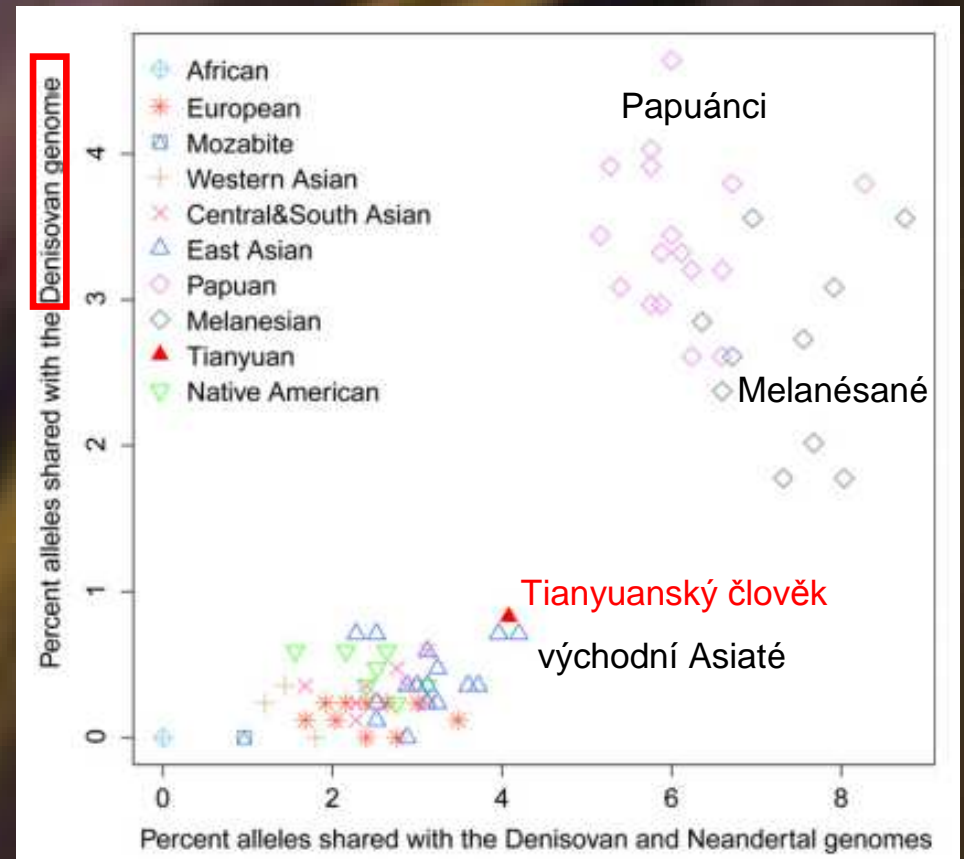
Fu et al., 2013

- **Tianyuanský člověk** (Čína, Peking)
- žil **před 40 až 50 000 lety**
- **předchůdce** všech dnešních asiátů a původních Američanů
- prokázali **příměs neandrtálské DNA**
- **ne**prokázali příměs **děnisovanské DNA**



Východ Asie - dva typy populací

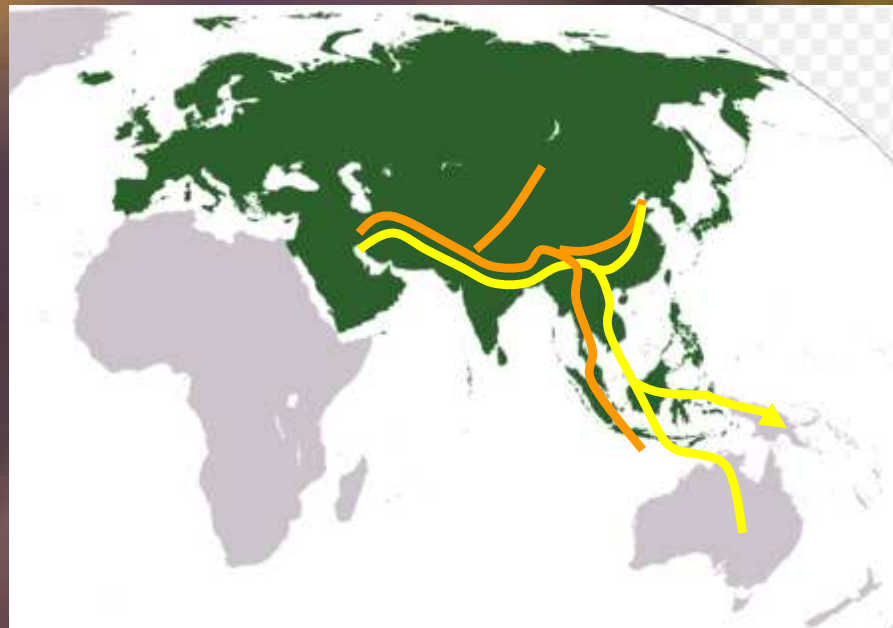
- s příměsí pouze neandrtálské DNA
- s příměsí neandrtálské i děnisovanské DNA



Děnisované

= dle dosavadních poznatků jsou zřejmé minimálně dvě vlny osídleny Asie:

- **první vlna** dorazila až do jihovýchodní Asie a pokračovala v osídlení východu Indonésie, Austrálie a Papui Nové Guineje a některých ostrovů v Pacifiku (křížení s Děnisovany) a stopy vedou i do Východní Asie (Skoglund a Jakobsson, 2011)
- **druhá vlna** osídlila vnitrozemí a východ Asie, západ Indonésie a některé další ostrovy Pacifiku



Děnisované

- Reich et al., 2011
 - analýza DNA – stejnými dvěma vlnami osídlena i Austrálie

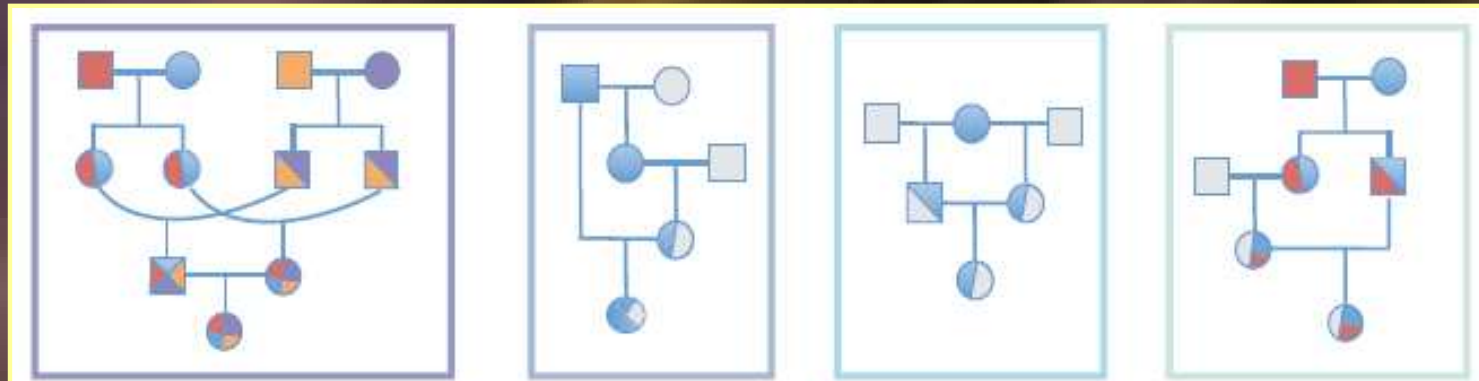
Pozn.: Dingo – minimálně další vlna před asi 5 000 lety



- Irina Pugach et al., 2013 – prokázali genový tok do původních australských populací před 4 230 lety s největší pravděpodobností z Indie

Zajímavost – u Neandrtálců zjištěny příbuzenské sňatky

- genomové sekvenování článku prstu archaické ženy ze Sibiře, jeskyně Děnisovova, stáří asi 50 000 let
- mtDNA kompletně osekvenována – stanoveno, že jde o Neandrtálce
- mtDNA vykazovala vysokou podobnost s mtDNA dítěte z kavkazské jeskyně Mezmaiskaya
- genomová DNA potvrdila, že jde o Neandrtálskou ženu
- stáří společného předka moderního člověka, Neandrtálců a Děnisovanů stanovena na 553 000-589 000 let, společný předek Neandrtálců a Děnisovanů žil před 381 000 lety
- rodiče neandrtálské ženy byli v příbuzenském vztahu ($F=1/8$) – možnosti viz obrázek



Rodiče byli potomky dvojitého sňatku bratrance a sestřenice

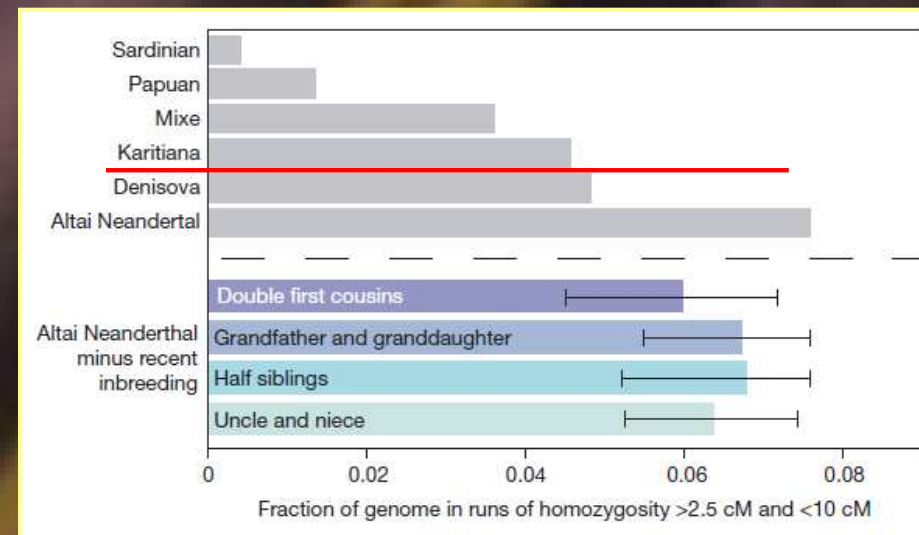
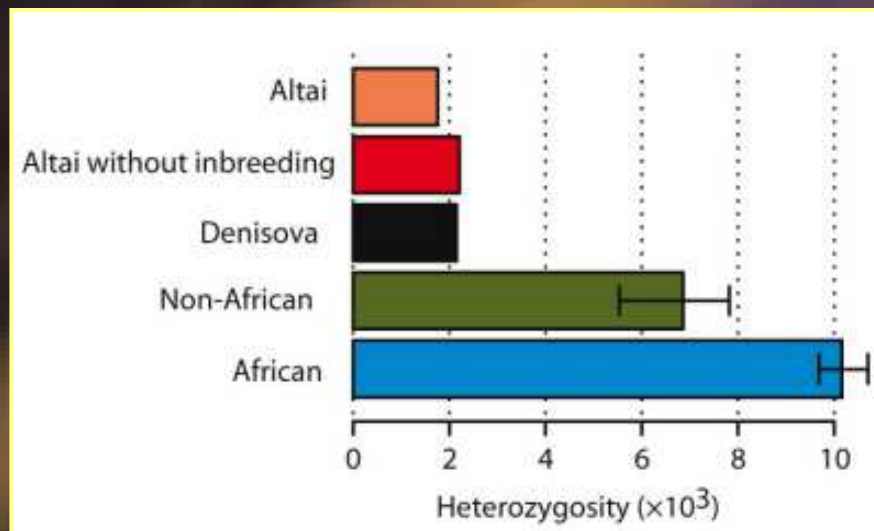
Rodiče byli dědeček a vnučka

Rodiče byli polosourozenci

Rodiče byli Strýc a neteř

Zajímavost – u Neandrtálců zjištěny příbuzenské sňatky

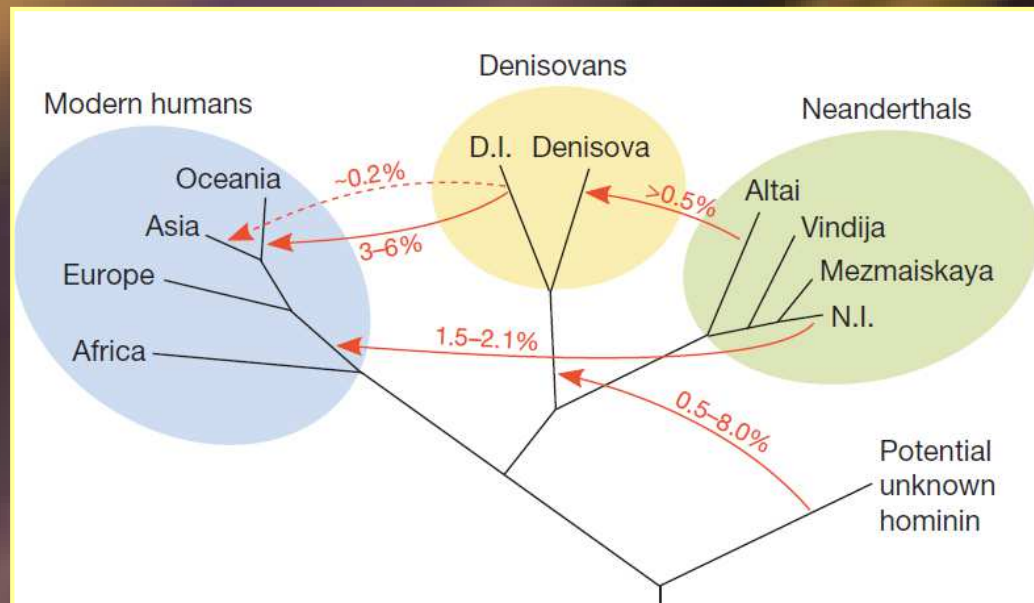
- srovnání sekvencí ukázalo, že **inbriding nebyl u altajských Neandrtálců výjimečný**
- další analýzy ukáží, zda byl inbriding praktikován i Neandrtálci v jiných oblastech



Pokles heterozygotnosti u altajských Neandrtálců
vlivem inbridingu

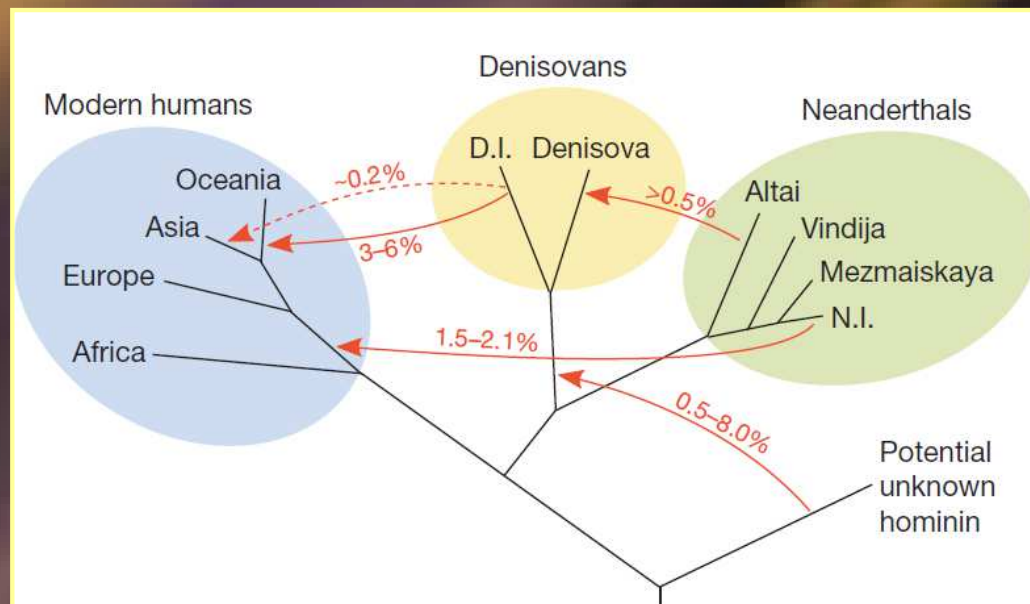
Zajímavost – u Neandrtálců zjištěny příbuzenské sňatky

- Prüfer *et al.* (2014) také **zpřesnili příspěvek neandrtálské DNA** do DNA mimoafrických populací = pohybuje se **mezi 1,5 – 2,1 %**
- tato neandrtálská DNA je přitom **více příbuznější k neandrtálské DNA Mezmaiskaya z Kavkazu** než k sibiřské nebo chorvatské neandrtálské DNA – bude však potřeba ještě ověřit
- zjistili **genový tok altajských Neandrtálců do genomu Děnisovanů** o velikosti minimálně **0,5 %** velikosti genomu Děnisovanů (nejsilnější byl u lokusu HLA a v oblasti shluku genů CRISP na chromozomu 6 – vliv na funkci imunity a spermií)



Zajímavost – u Neandrtálců zjištěny příbuzenské sňatky

- objevili **genový tok** prastaré archaické linie do genomu Děnísovanů
- jednalo se o **dávného předka** před oddělením moderních lidí, Neandrtálců a Děnísovanů
- odhadované **stáří** dle DNA na **0,9 – 1,4 milionů let** (1,1 – 4,0 miliony podle jiných výpočtů)
- **velikost genového toku** od této neznámé archaické linie byla stanovena na **2,7 – 5,8 %** (0,5 – 8,0 % podle jiných výpočtů)
- v oblasti **BOLA2** zjistili u **současných lidí** **zmnožení do 2 – 5 kopií** (oproti archaickým, kde je jen jedna kopie na haploidní sadu) – blízko míst mikrodelece **asociované s opožděným vývojem, mentálním postižením a autismem**
- pracují na katalogu, kde srovnají sekvence moderních lidí, Neandrtálců, Děnísovanů a velkých opic



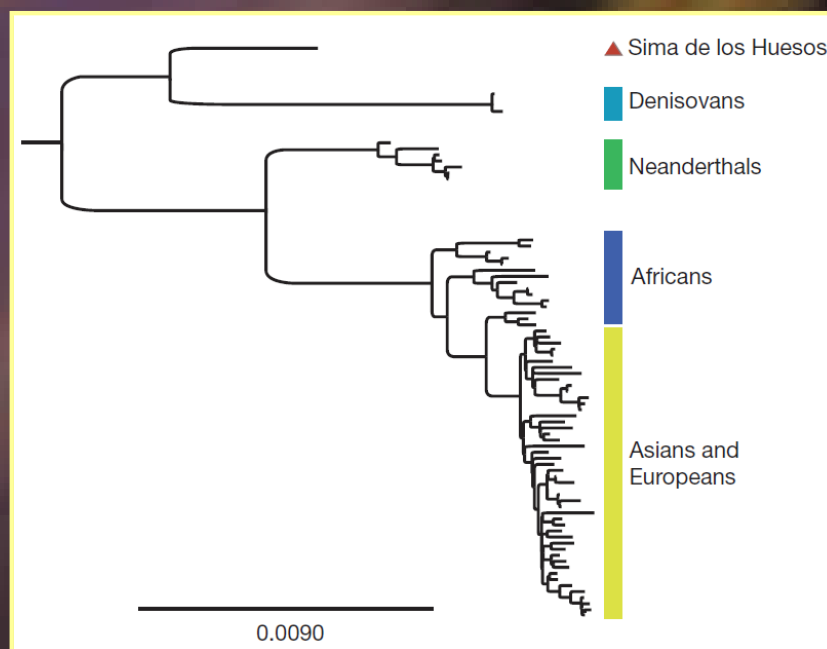
Děnisovanská DNA u pozůstatků z „Jámy kostí“

- jeskynní komplex v Sierra de Atapuerca v severním Španělsku
- v místě „Sima de los Huesos“ – „Jáma kostí“ – kosterní pozůstatky 28 jedinců
- stáří více než 300 000 let
- nesly řadu znaků jako *H. heidelbergensis*, ale také neandrtálských znaků



Děnisovanská DNA u pozůstatků z „Jámy kostí“

- kompletně osekvenována mtDNA
- sekvence vykazuje podobnost s mtDNA Děnisovanů
- stáří linie vedoucí k Sima de los Huesos stanoveno na 400 000 let (datování upřesnila analýza kosterních pozůstatků jeskynního medvěda *Ursus deningeri*)
- na základě předchozí studie se zdá, že by se mohlo jednat o důsledek genového toku předka, který žil před oddělením linií vedoucích k Děnisovanům a to jednak do populací vedoucích k *H. heidelbergensis* a do populací vedoucích k Děnisovanům
- nezbytné bude k potvrzení a osvětlení možných scénářů prozkoumat jadernou DNA – i přes obrovské stáří materiálu naděje na úspěch existuje vzhledem ke speciálním podmínkám v „Jámě kostí“ a zdokonaleným izolačním a sekvenačním metodám



Děnisované

Možné závěry:

- pravděpodobně **existovalo vedle sebe více typů archaických populací** ve stejném čase
- byl prokázán **genový tok do moderních populací** a to v **podobné míře kolem 4 %**
- archaické předchůdce, minimálně **Neandrtálce a Děnisovany**, **musíme zahrnout do naší historie**
 - z biologického hlediska **jsou odlišným poddruhem**
 - **genový tok** byl malý v důsledku křížení pouze v čele migrační vlny a v důsledku větší populace moderního člověka
- **není tím však vyloučen výhradně africký původ moderního člověka**
- tyto závěry:
 - nelze jednoznačně propojit ani s modelem „Out of Africa“, ani s multiregionálním modelem
 - avšak **jsou v souladu např. s předpoklady modelu „Mostly out of Africa“ a Asimilačním modelem**