

Molekulárne aspekty evolúcie človeka

Vladimír Ferák

- Evolúcia cicavcov – primátov – ľudoopov – hominíd
- Molekulárne mechanizmy evolúcie
- Dve hypotézy o evolúcii *Homo sapiens*
- Využitie polymorfizmov DNA pri rekonštrukcii evolúcie *H. sapiens*
- mtDNA a Y-DNA a hypotéza „out of Africa“
- Rekonštrukcia osídľovania kontinentov z dát o mt a Y DNA
- „Ancient DNA“ - mtDNA neandertálca

Molekulárna genetika a evolúcia

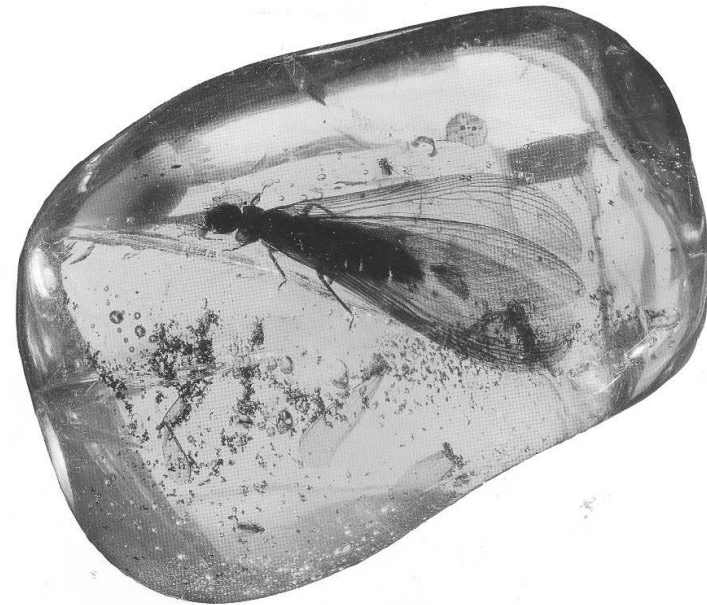
Jedna z možností ako využiť súčasné výsledky molekulárnej genetiky je použiť ich pri štúdiu evolúcie

Gény (resp. ich produkty – RNA a bielkoviny) – slúžia ako historické dokumenty

Táto možnosť využitia sa rýchlo rozširuje v dôsledku súčasného zjednodušenia metód (celogenómového) sekvenovania a možností hromadného stanovovania polymorfizmov DNA

PATTERNS IN EVOLUTION
The New Molecular View

Roger Lewin



Porovnávacia analýza informačných makromolekúl

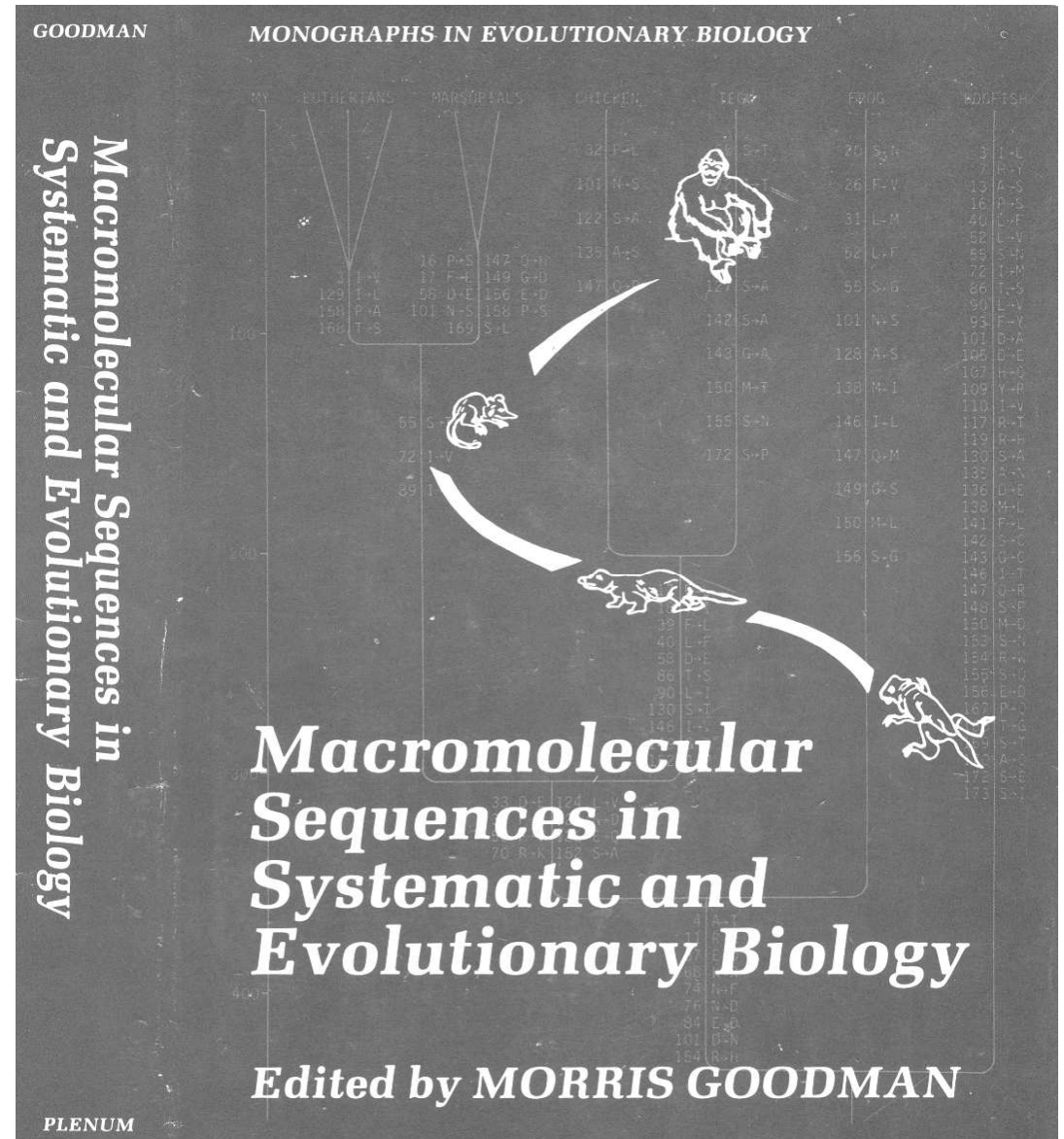
(nukleové kyseliny, bielkoviny)

kvantitatívna miera pre stanovenie
evolučného vzťahu medzi súčasťami
bunky, bunkami, organizmami,
populáciami atď.

Zuckerlandl a Pauling (1965)

*"Molekuly ako dokumenty
evolučnej histórie"*

– molekulárna revolúcia
v (evolučnej) biológii.



Sekvence polypeptidov ako miera evolučnej príbuznosti organizmov – molekuly odrážajú evolučnú vzdialenosť

Počet odlišných aminokyselín v β -reťazci hemoglobínu vo vzťahu k hemoglobínu človeka (celková dĺžka reťazca je 146 aminokyselín)

Druh

človek	0
gorila	1
gibon	2
makak	8
myš	27
žaba	67

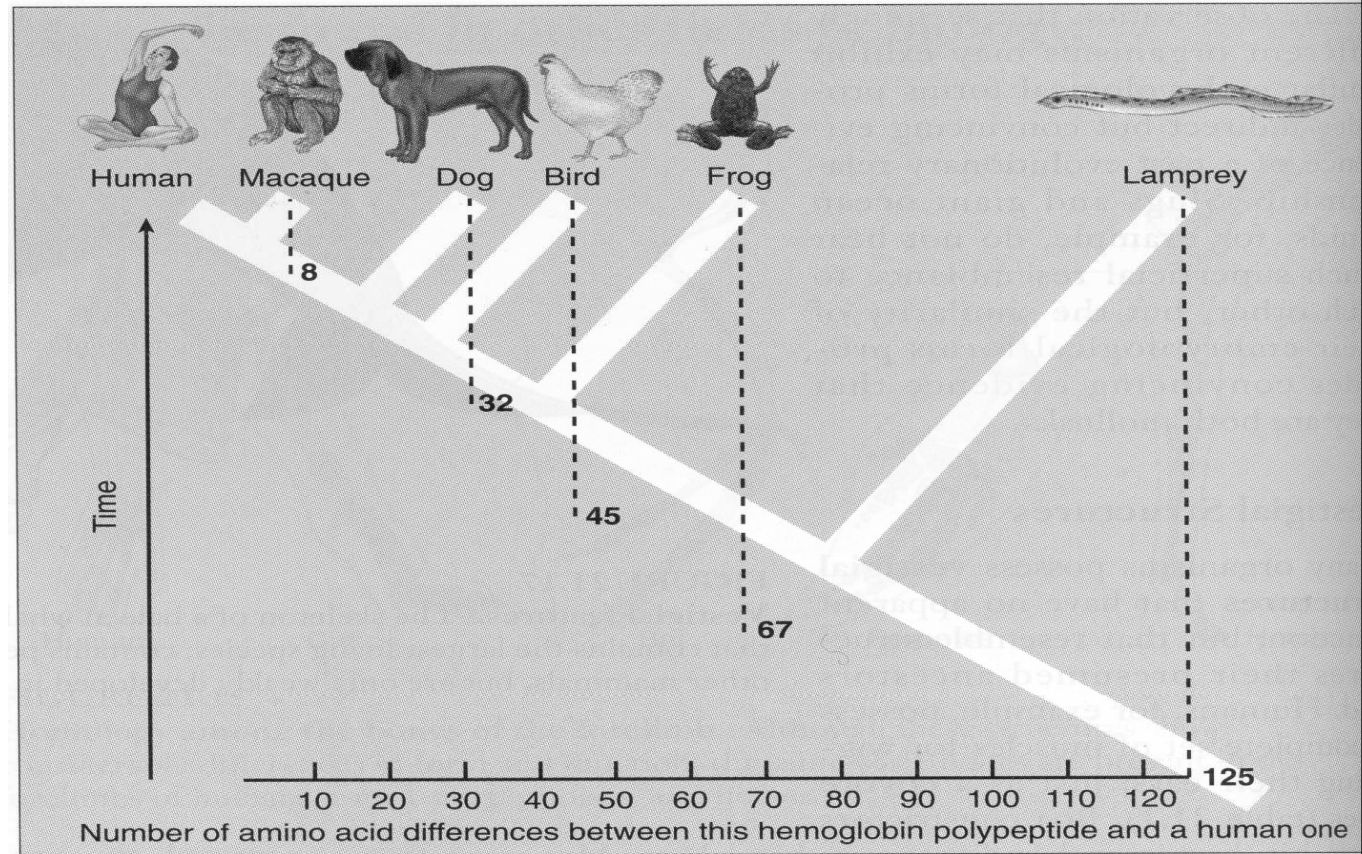
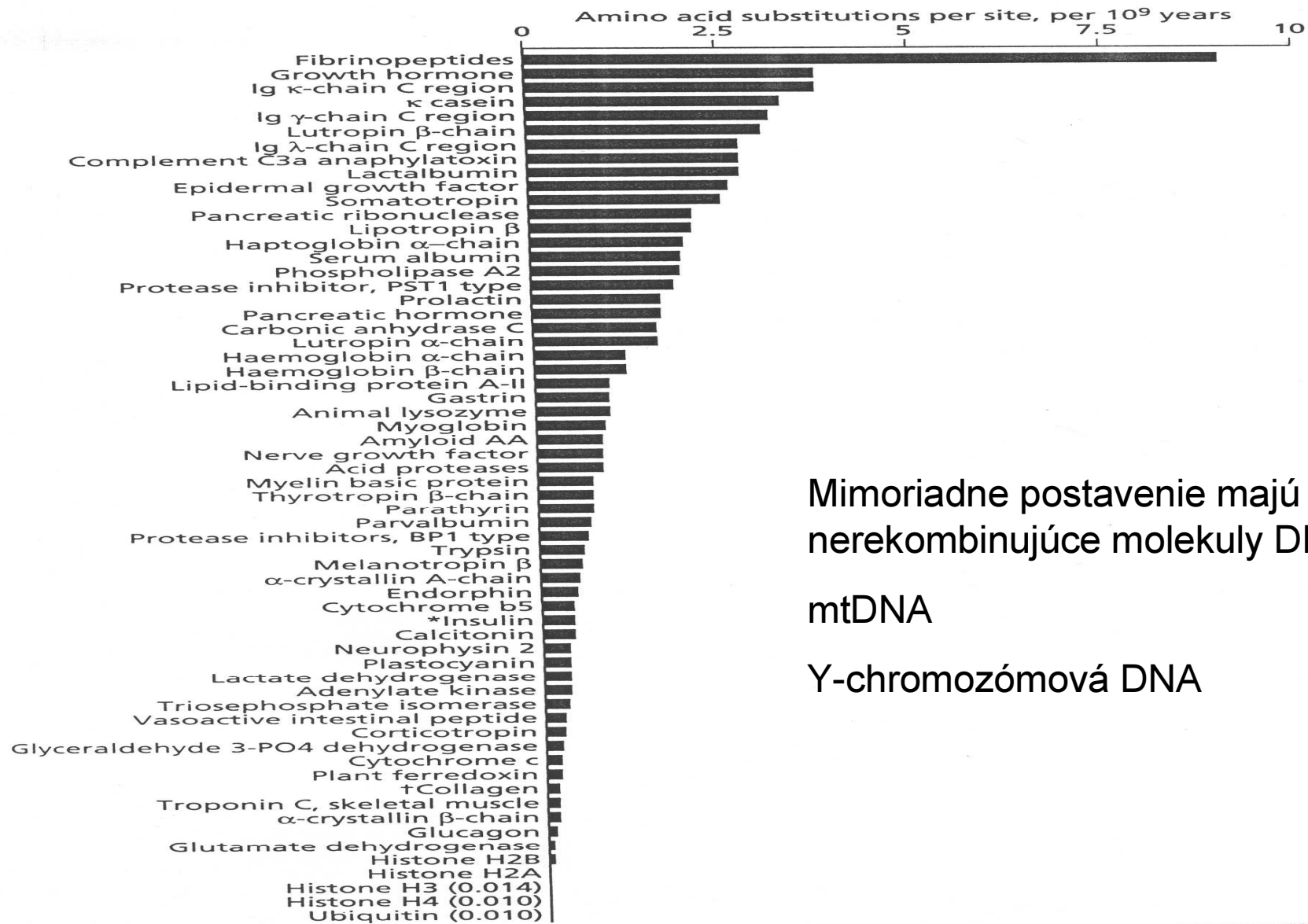


FIGURE 21.18

Molecules reflect evolutionary divergence. You can see that the greater the evolutionary distance from humans (white cladogram), the greater the number of amino acid differences in the vertebrate hemoglobin polypeptide.

Molekulárne chronometre – konkrétne nástroje, ktoré merajú čas v molekulových hodinách



Mimoriadne postavenie majú nerekombinujúce molekuly DNA:

mtDNA

Y-chromozómová DNA

Fig. 7.4 Rates of amino acid substitution for various mammalian proteins. *Excluding guinea pig and coypu, the phylogenetic position of which has been debated (see section 7.4); † Excluding non-repetitive ends. Data from Nei (1987).

„Molekulárny“ pohľad na evolúciu človeka (a ľudoopov)

Sarich, V., Wilson, A.:

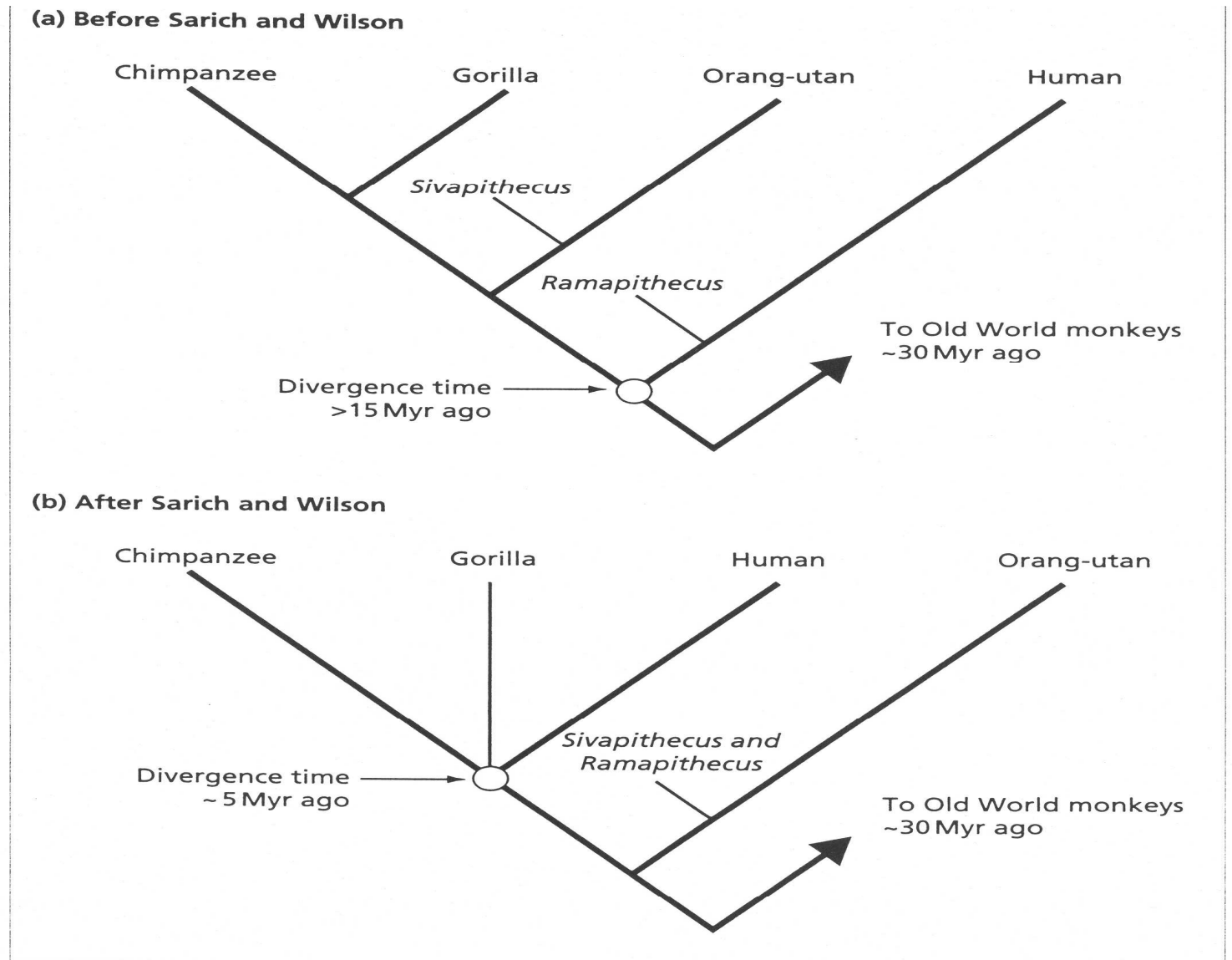
„Genomic evolution in primates“

Science, 179, 1973

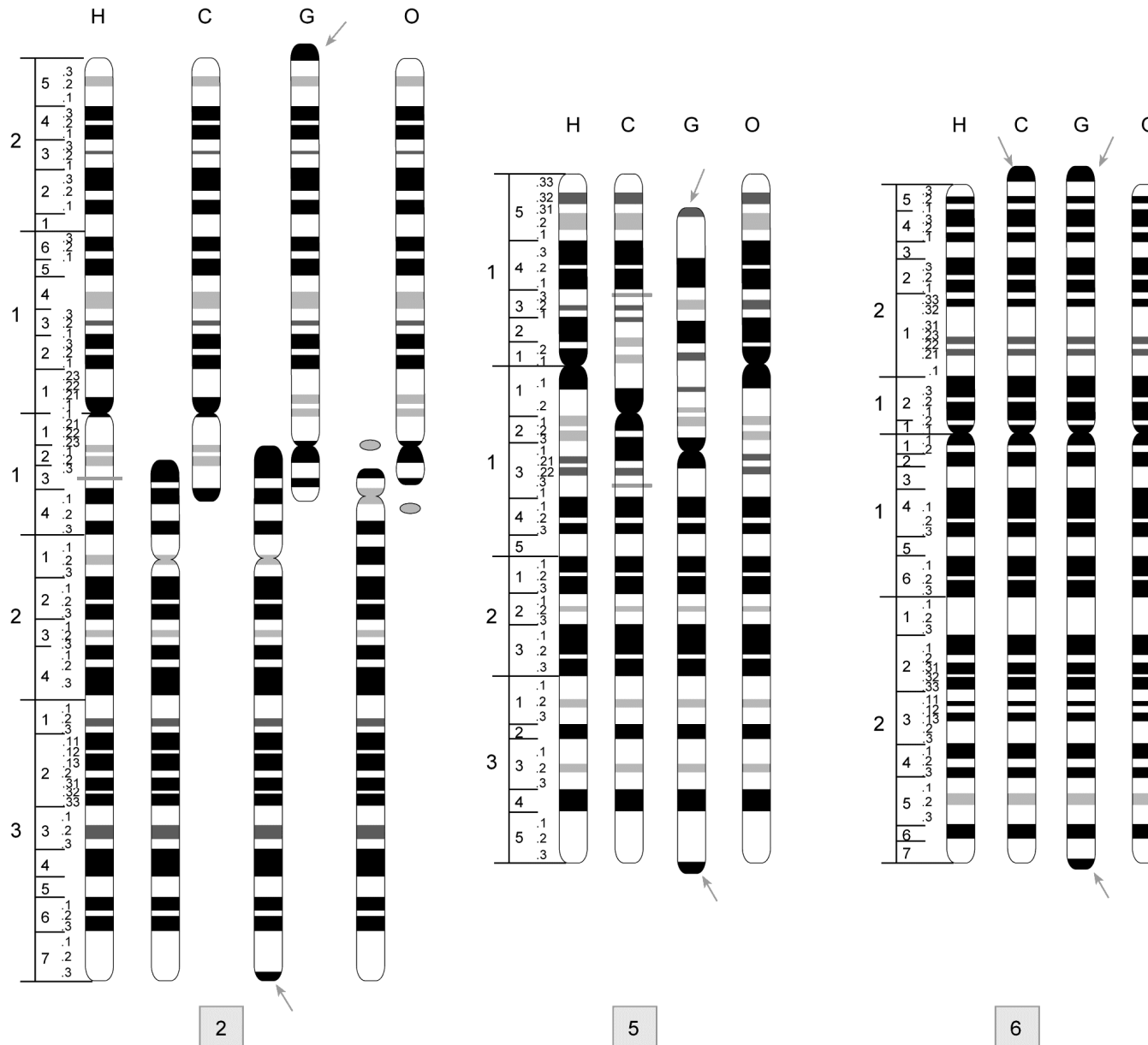
Porovnávali sekvencie polypeptidov; málo dát

Skeptické prijatie...

Skepsa prekonaná až po potvrdení z porovnania chromozómov (Yunis a Prakash, 1982) ale najmä zo sekvencií DNA (90-te roky)



Porovnávacia cytogenetika ľudoopov



H – človek

C – šimpanz

G – gorila

O - orangutan

Yunis a Prakash 1982:

1. Ľudský chr. 2 vznikol centrickou fúziou (Robertsonovou translokáciou) (vedelo sa už dávnejšie)
2. Najbližším príbuzným šimpanza je človek (nie gorila alebo orang)

Evolúcia eukaryotického genómu

archeálne gény ↗

↖ gény eubaktérií

Jadrový genóm eukaryotov

- jednobunkové eukaryonty → komplexné eukaryotické organizmy

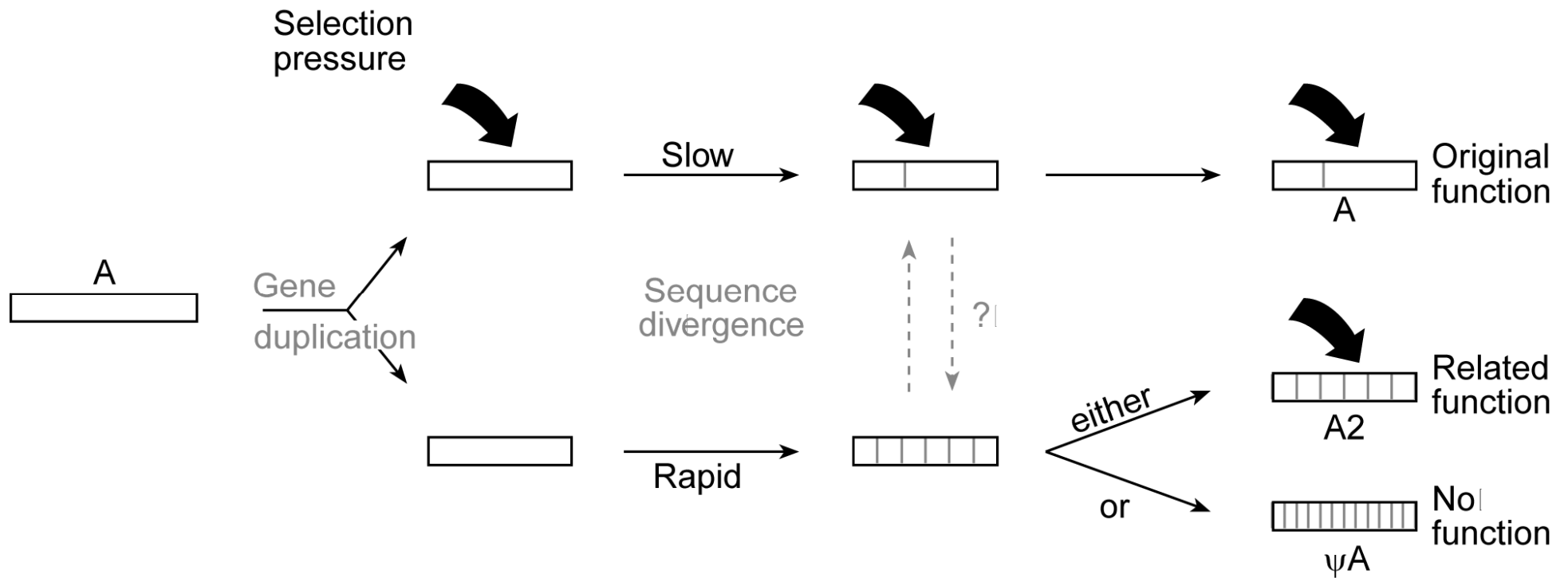
- nárast počtu génov, veľkosti genómu + zmeny v podieloch zastúpenia repetitívnej DNA a kódujúcej DNA

Parameter	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. elegans</i>	Človek
Počet buniek	1	1000	10 ¹⁴
Veľkosť genómu	14 Mb	100 Mb	3000 Mb
Počet génov	6200	~20 000	~25 000
Kódujúca DNA	~20%	~8%	~1,5%

- mechanizmy:

- duplikácie celého genómu (zriedkavé)
- subgenómové duplikácie vedúce k duplikáciám génov a exónov (časté)
- subgenómové duplikácie vedúce k nárastu množstva nekódujúcej DNA (časté)

Evolúcia génovou duplikáciou



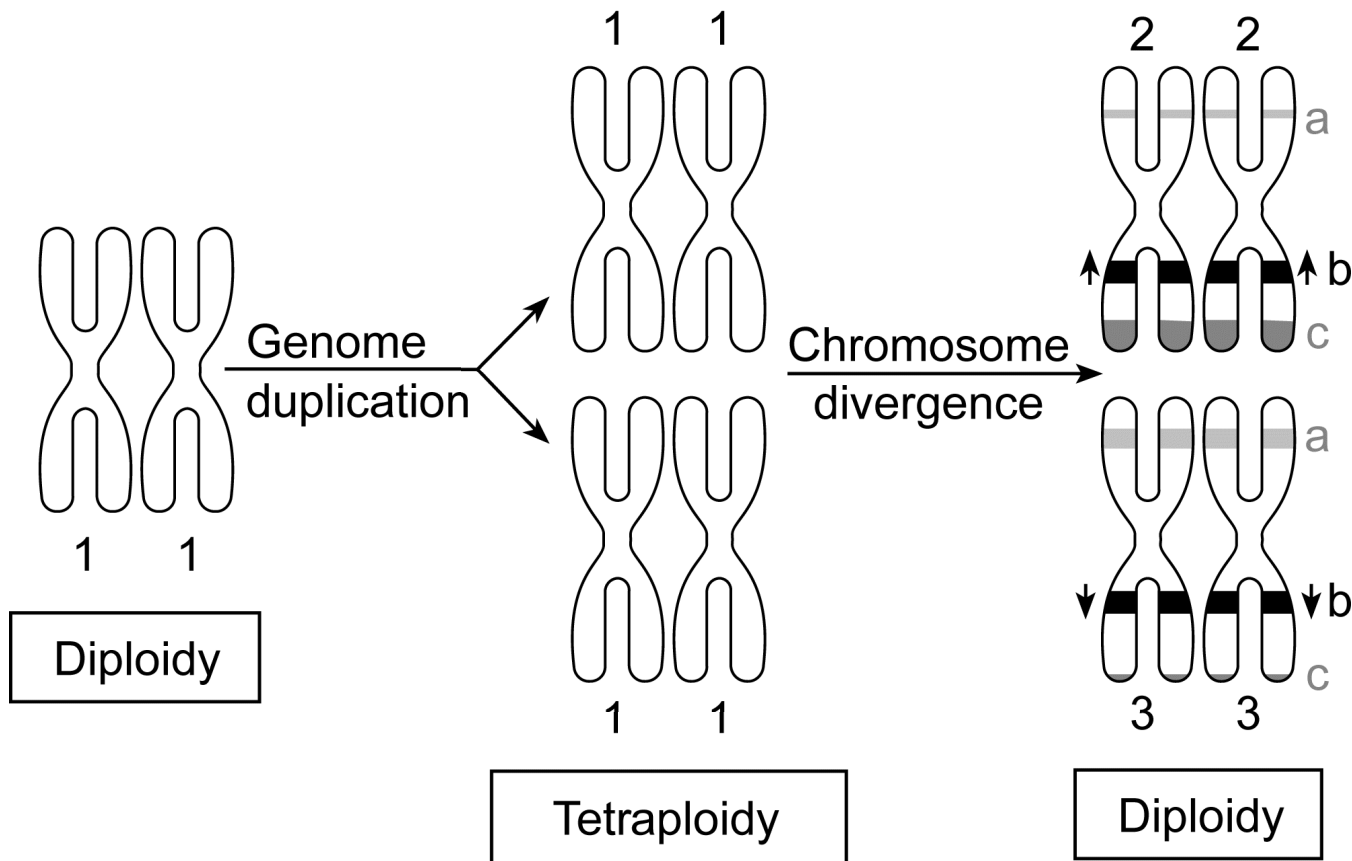
Po génovej duplikácii je pod selekčným tlakom len jedna kópia génu;

druhá môže voľne akumulovať mutácie

→ **pseudogén (ψA)**

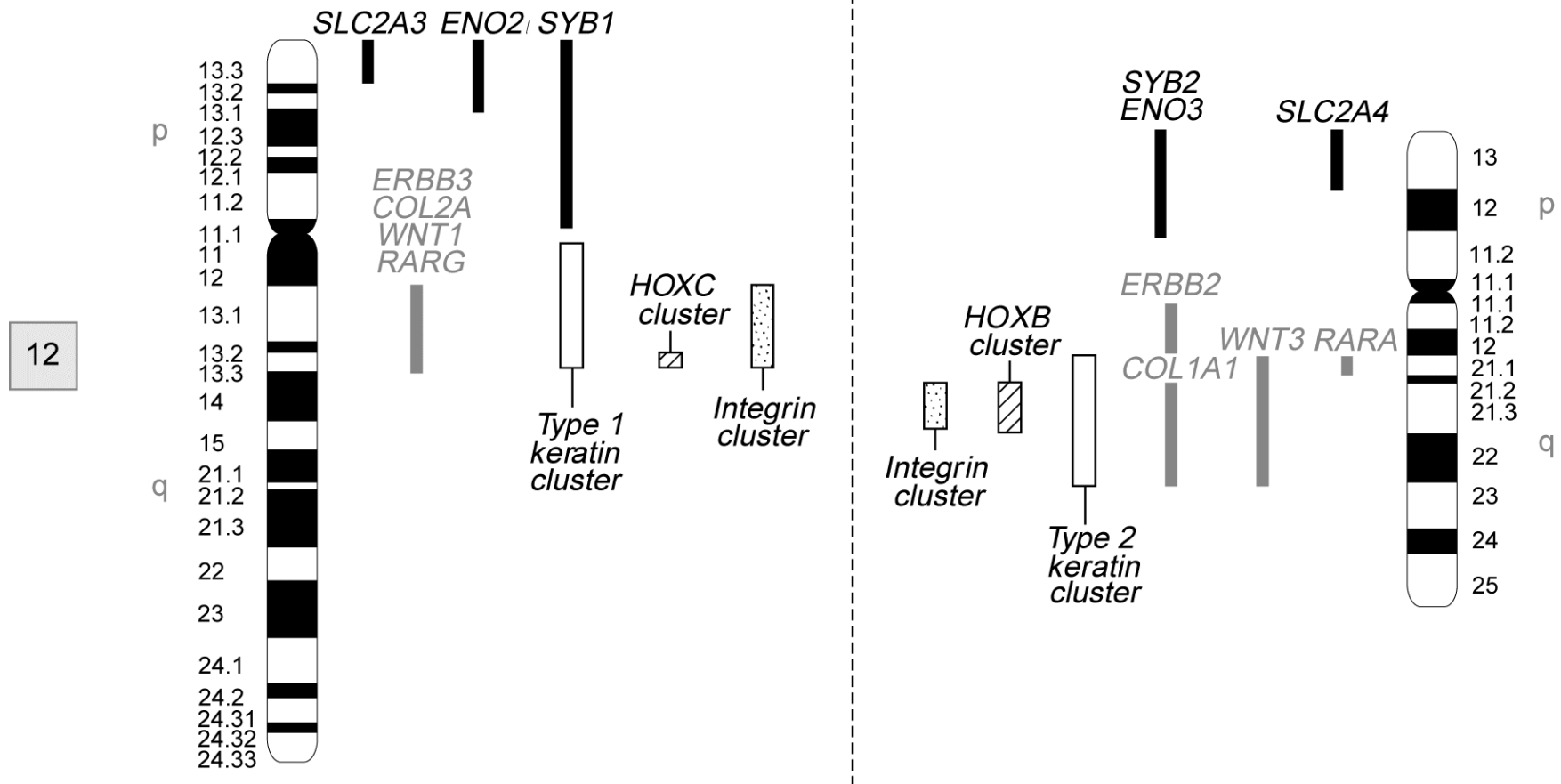
→ **gén s novou funkciou (A2)**

Duplikácia genómu (tetraploidizácia)



- Duplikácia genómu vedie k prechodnej tetraploidii, pokiaľ sa chromozómovou divergenciou neobnoví diploidia
- V línii vedúcej k stavovcom genómová duplikácia pravdepodobne dvakrát

Paralogické segmenty na ľudskom chr. 12 a 17



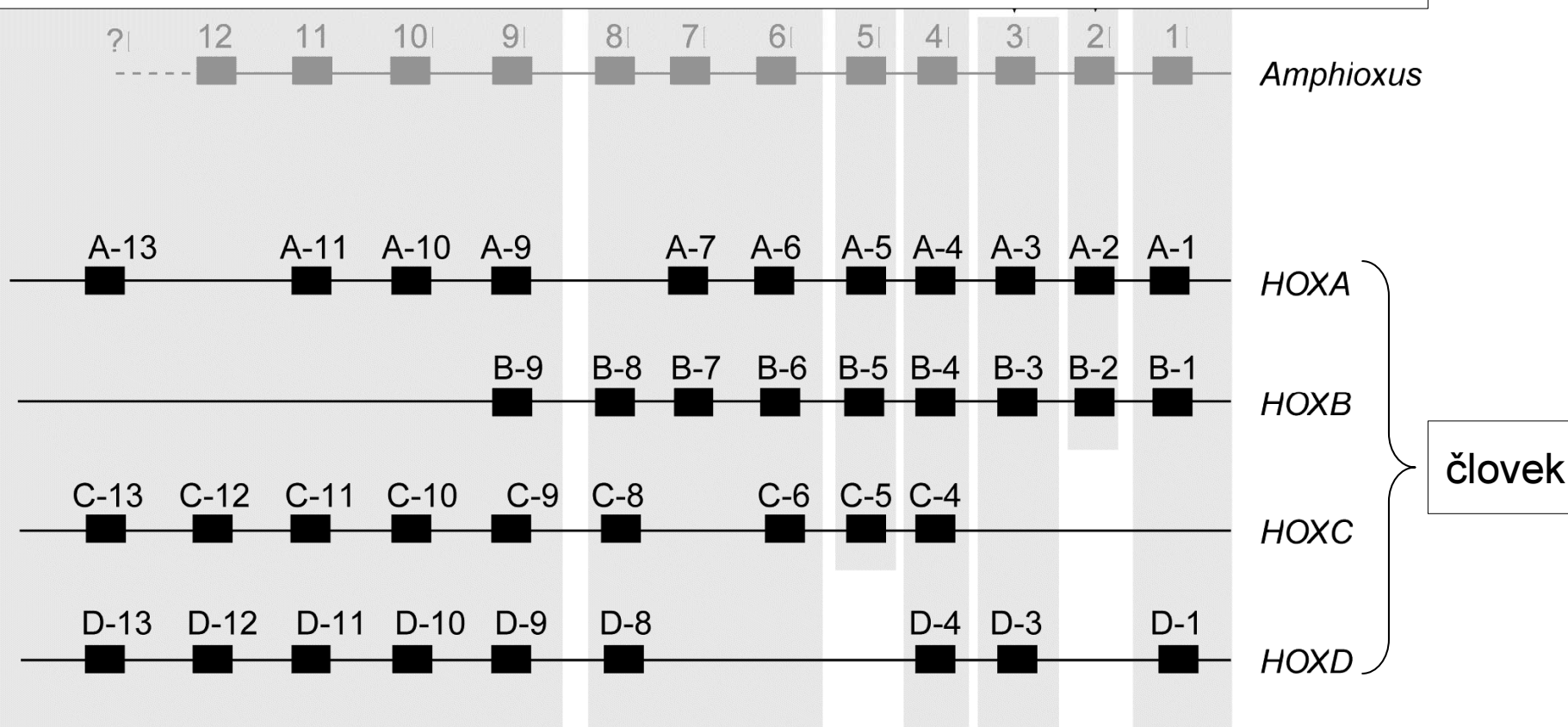
Paralogické segmenty chr. 12 a 17 sú asi pozostatkom dávnej genómvej duplikácie

Organizácia *HOX* génových rodín u cicavcov a *Amphioxus*: dve genómové duplikácie?

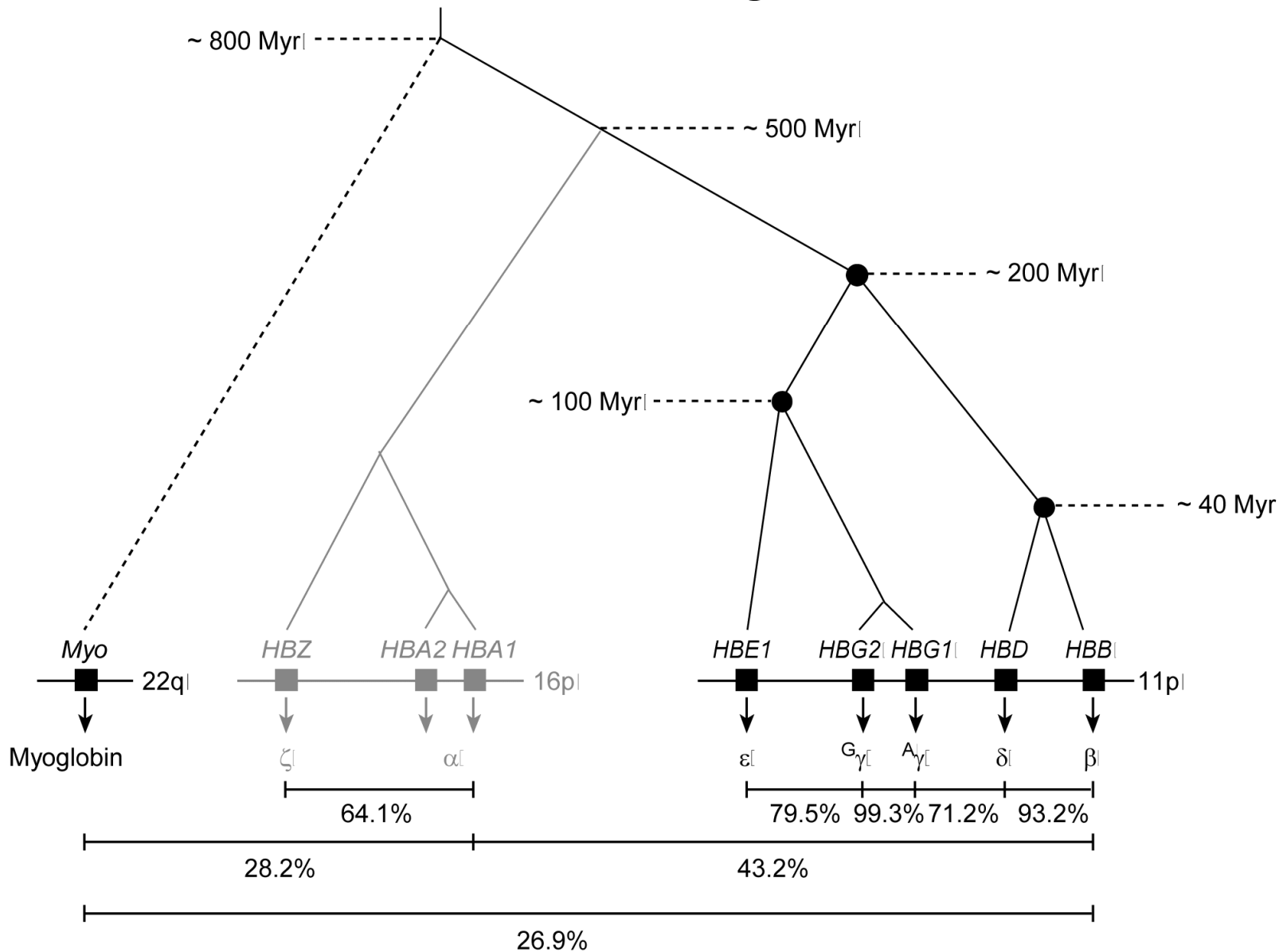
Amphioxus: 12 *HOX* génov v rámci jednej génovej rodiny

Cicavce: 4 *HOX* génové rodiny (na rozličných chromozómoch)

→ zrejme nastali dve tetraploidizácie



Evolúcia a sekvenčná homológia globínových génov



•> globíny kódované génmi jedného klastra vykazujú vyšší stupeň sekvenčnej homológie ako globíny kódované rozličnými klastrami

•> blízka príbuznosť susedných génov v klastrach

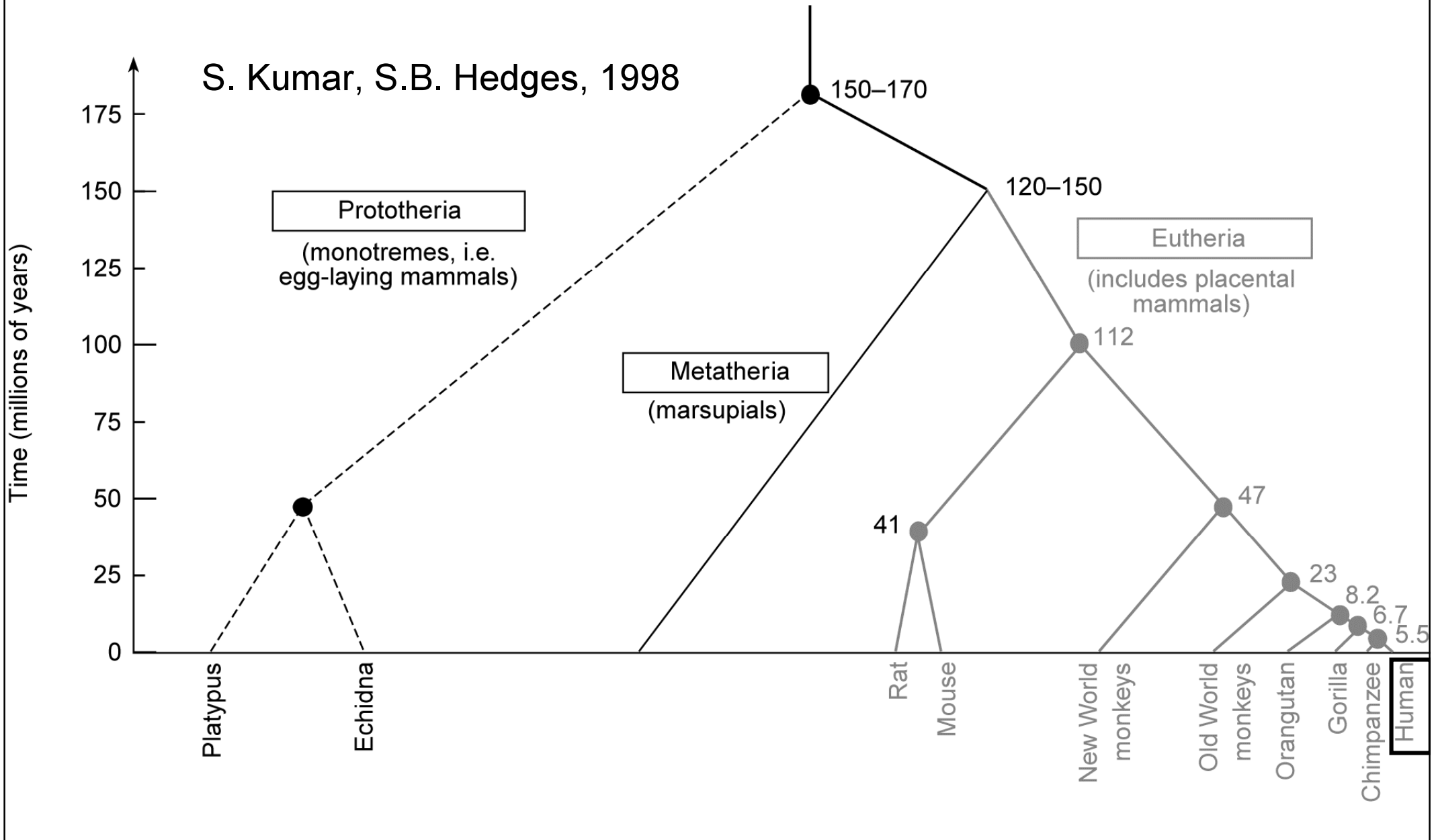
Sekvenčná homológia medzi ortológmi vzdialených druhov väčšia ako medzi génmi toho istého klastra

•> vnútroklastrové výmeny sekvencií medzi globínovými génmi nie časté

•> selekčný tlak

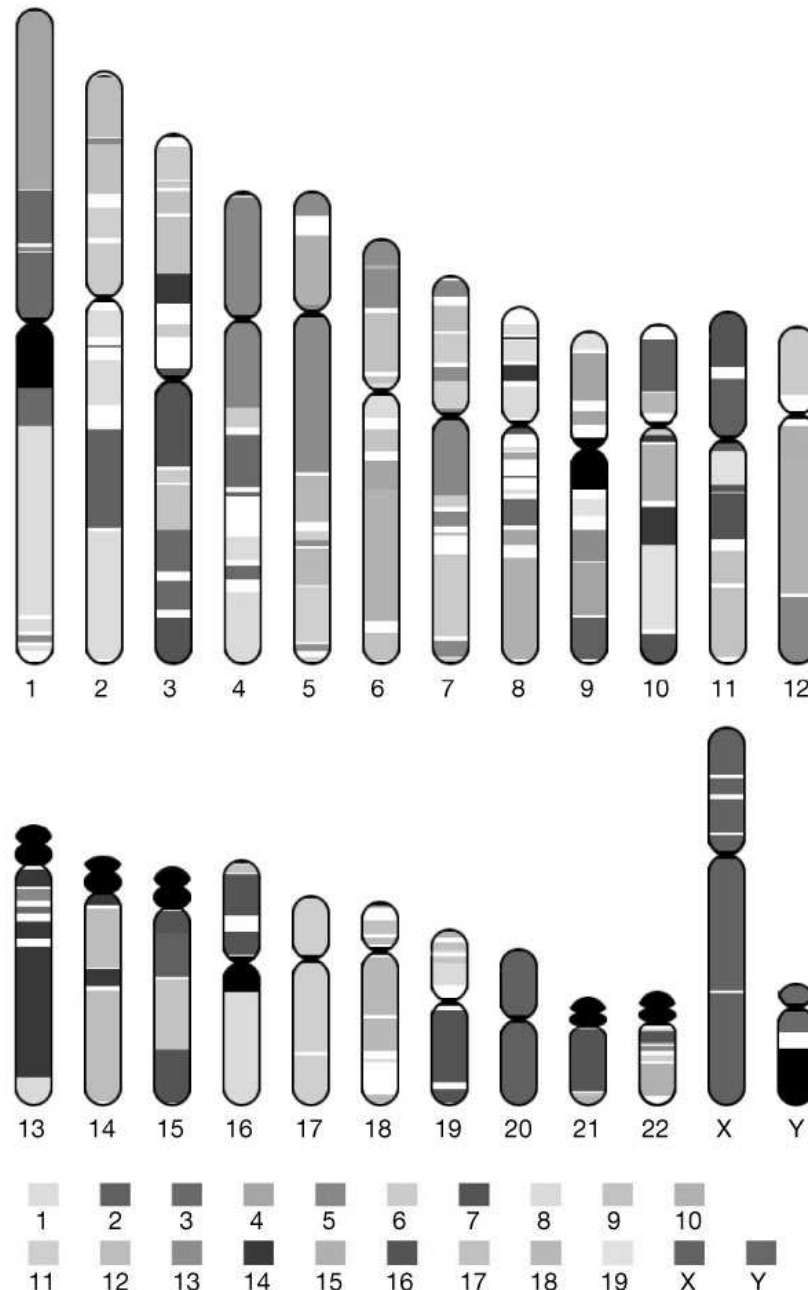
Fylogenéza cicavcov: kombinácia molekulárnych a paleontologických dát

S. Kumar, S.B. Hedges, 1998

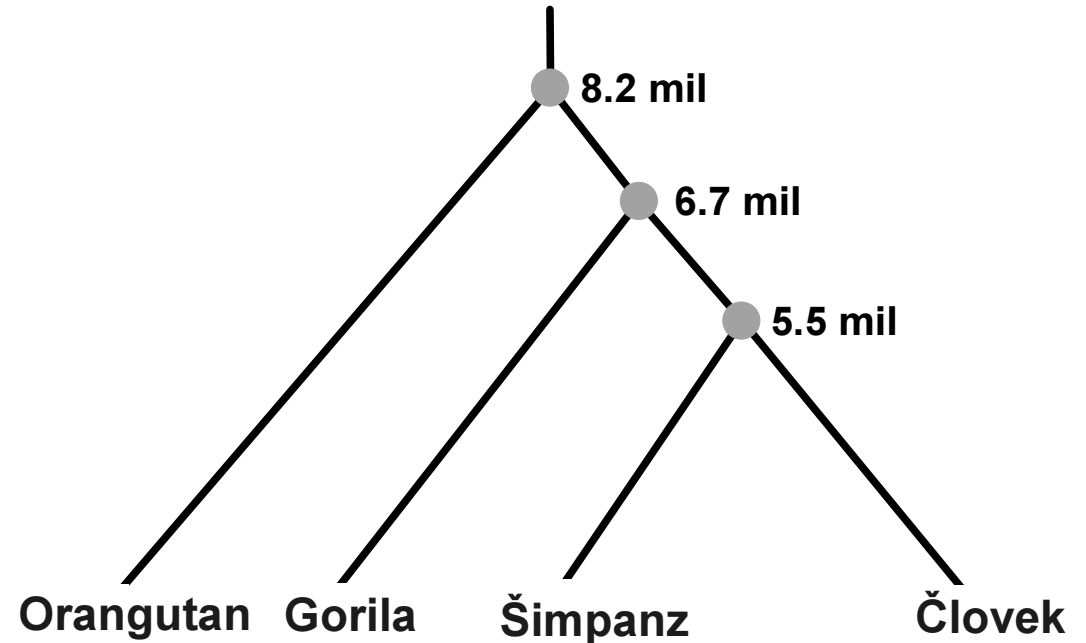


Čím sa odlišujeme od myši?

- veľkosť genómu približne rovnaká (~3000 Mb)
- myš: 20 akrocentrických chrom.;
- človek: 23 chromozómov, prevažne meta- a submetacentrických
- čiastočná konzervácia synténie
- veľkosť exónov ľudských a myších génov takmer identická
- vysoký stupeň sekvenčnej podobnosti polypeptidov (priem. 80-95%)
- rozdiely sú v expresii génov (RNA processing, alternatívne využívanie promótorov), v inaktivácii X chromozómu a v imprintingu



Čím sa odlišujeme od l'udoopov?



◇ len veľmi málo génov človeka nemá ortológ v genóme šimpanza a gorily



nedávna duplikácia génov



obe kópie ~ sekvenčne identické, preto ◇ bez podstatného podielu na anatomických a vývojových rozdieloch medzi človekom a veľkými opicami

Sekvenčná homológia medzi ortologickými sekvenciami človeka a ľudoopov

	Divergencia (%)
Človek – šimpanz	1.7 (4.0)
Človek – gorila	1.8 (?)
Človek – orangutan	3.3 (?)

Sekvenčná homológia medzi ortologickými sekvenciami β -globínovej rodiny

v zátvorke: celogenómová, vrátane drobných duplikácií a delécií

- rodiny vysoko repetitívnych tandemových sekvencií sa vyvíjajú rýchlo (alfoidná DNA)
- vysoko repetitívne rozptýlené DNA elementy *Alu* rodiny
AluJ (~55 mil rokov), *Sb1* (PV, HS), *Sb2* (špecifická pre človeka)

Čím sa odlišujeme od ľudoopov?

- omnoho menšia genetická variabilita pozorovaná u človeka než u ostatných primátov (⇐ štúdie génov lokalizovaných v rôznych oblastiach genómu)
 - ľudská populácia prešla relatívne nedávno genetickým bottleneckom, ktorým sa značná časť predtým existujúcej variability stratila

Molekulárne aspekty evolúcie druhu *Homo sapiens*

- Mitochondriálna a Y chromozómová DNA a ich využitie pri rekonštrukcii evolúcie *H. sapiens*
- mtDNA a Y-DNA a hypotéza „out of Africa“
- Rekonštrukcia osídľovania kontinentov z dát o mt a Y-DNA
- „Ancient DNA“ - mtDNA neandertálca

Nástroje štúdia evolúcie *H.sapiens* - mtDNA a Y-DNA

- Nepodstupujú rekombináciu, polymorfizmy sú prenášané spolu a tvoria haplotyp so samostatnou históriou
- Dedia sa uniparentálne, poskytujú možnosť sledovať individuálne maternálne/paternálne línie – migrácie ľudských skupín
- Mutačná rýchlosť ideálna pre relatívne krátku evolúciu moderného človeka, umožňuje datovanie recentných udalostí, napr. osídľovania kontinentov a populačných migrácií

Prenos mtDNA, Y-chromozálnej DNA a autozomálnej DNA

Pred 5 generáciami mal každý jedinec $2^5 = 32$ predkov, z nich len od jedného zdedil Y, od jedného mtDNA, ale od všetkých autozomálnu DNA

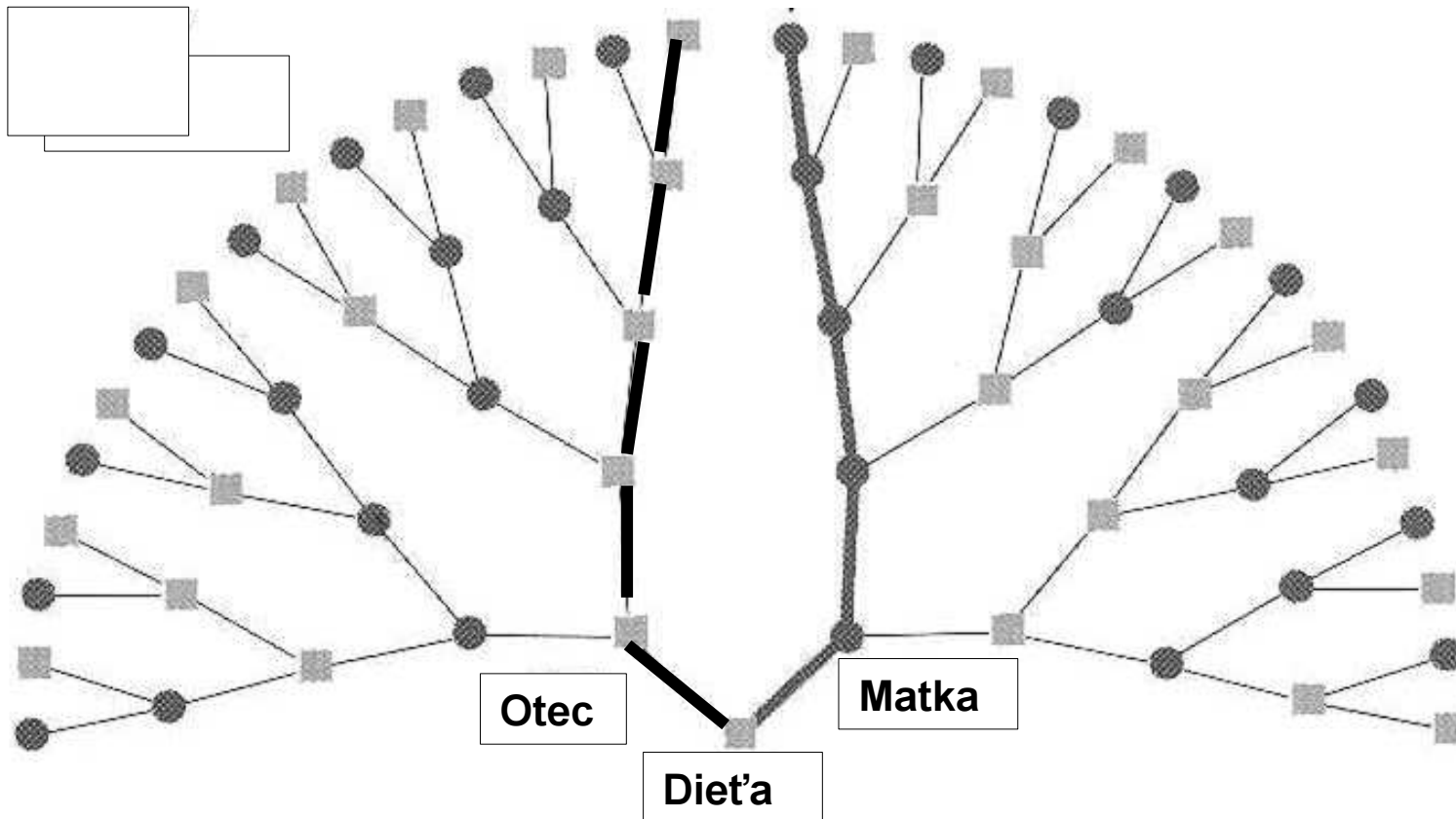
mtDNA a Y-DNA: žiadna rekombinácia



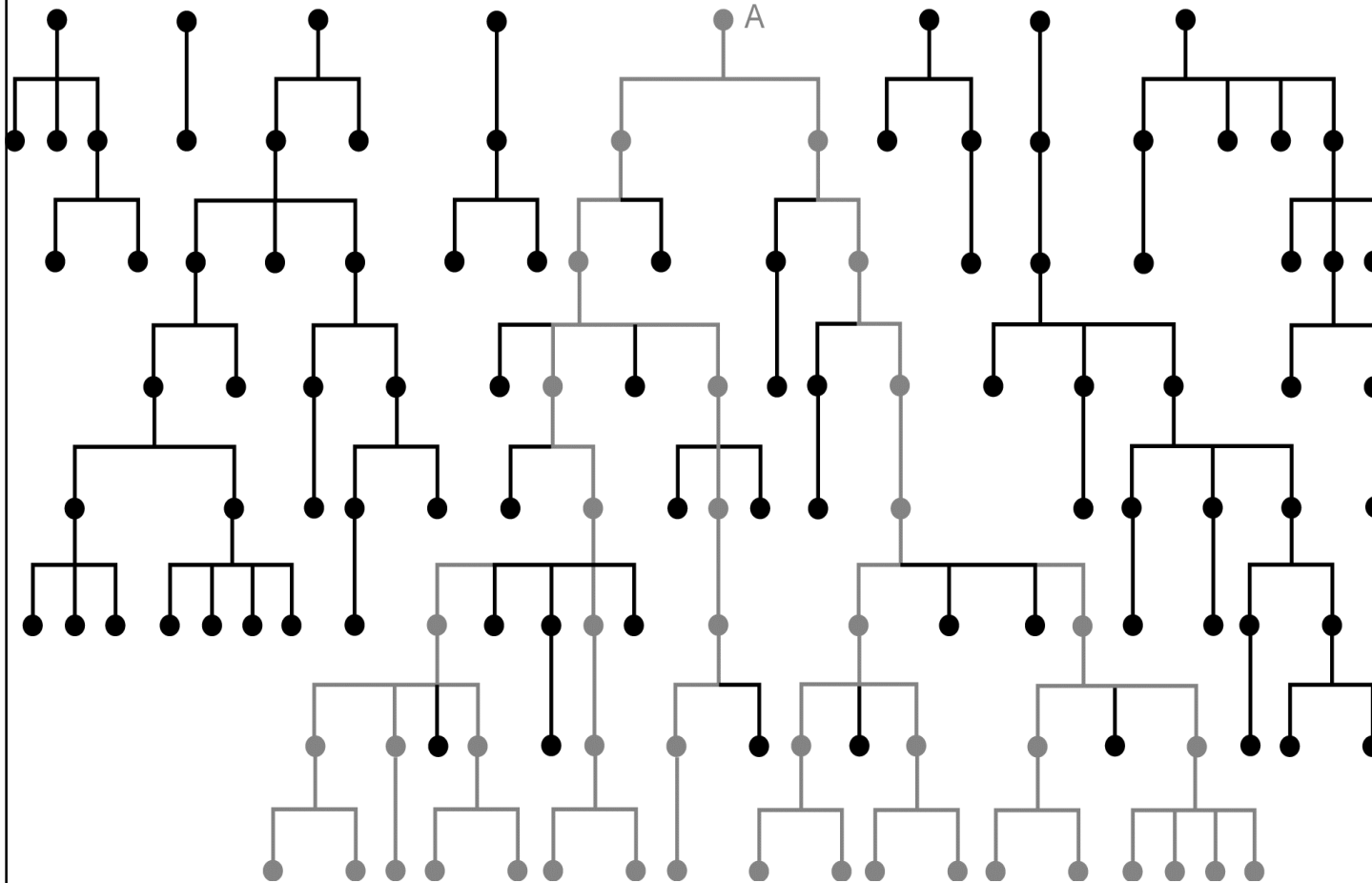
prenos „*en bloc*“ cez generácie



Každý má práve jedného Y-predka a jedného mt predka v každej predošlej generácii

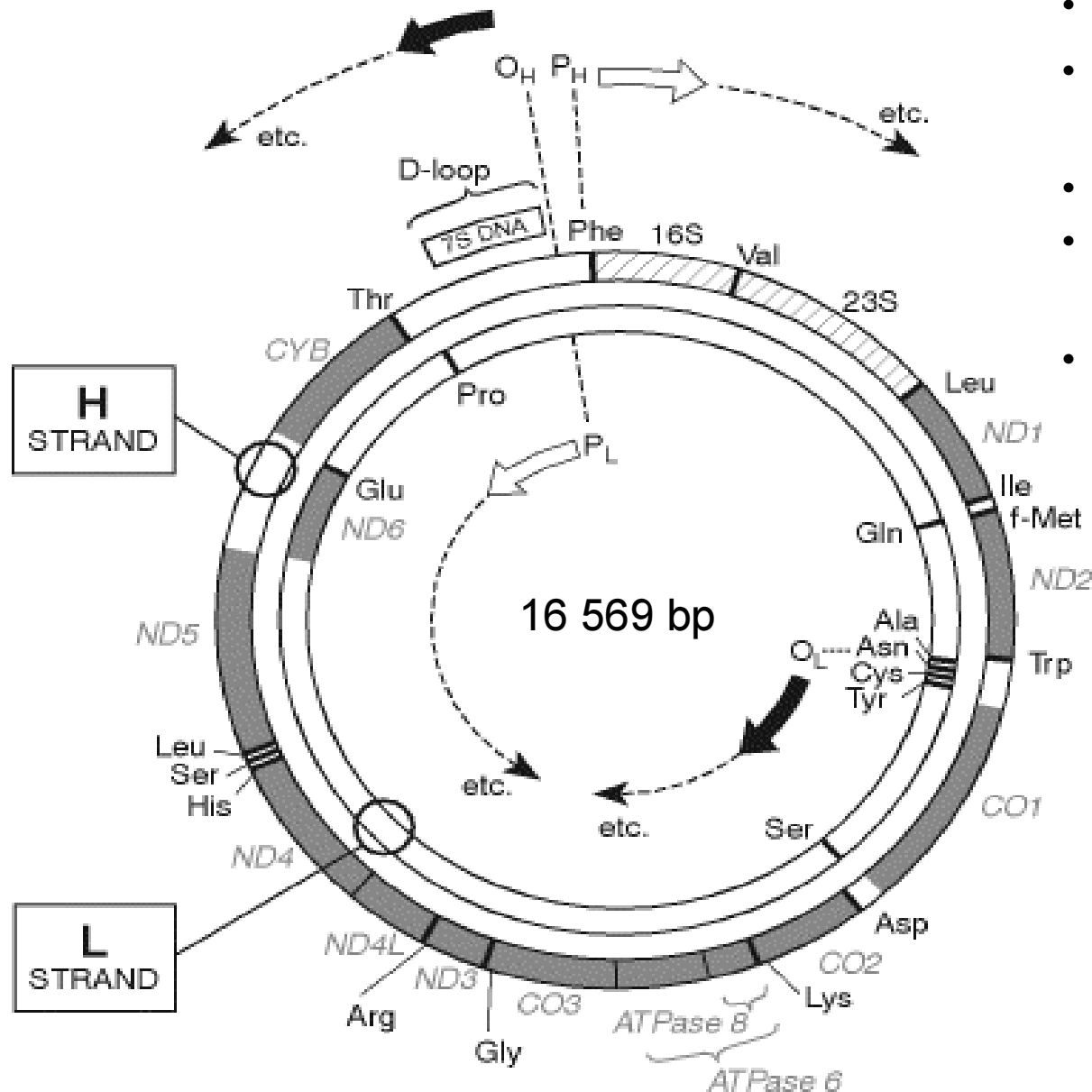


Koalescencia línií mtDNA a Y-DNA

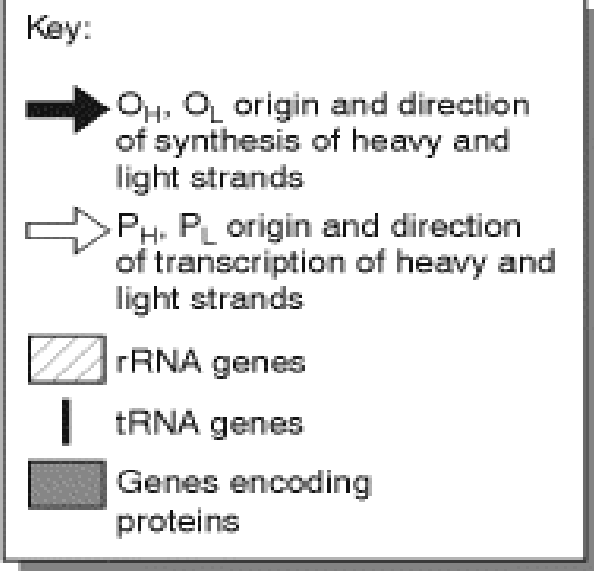


- Možno nájsť spoločného predka pre členov akejkoľvek populácie/taxónu
- V každej generácii dôjde k zániku a naopak k zmnoženiu niektorých línií
- Po čase v rovnovážnej populácii prevládne mt/Y DNA odvodené od jedného spoločného predka

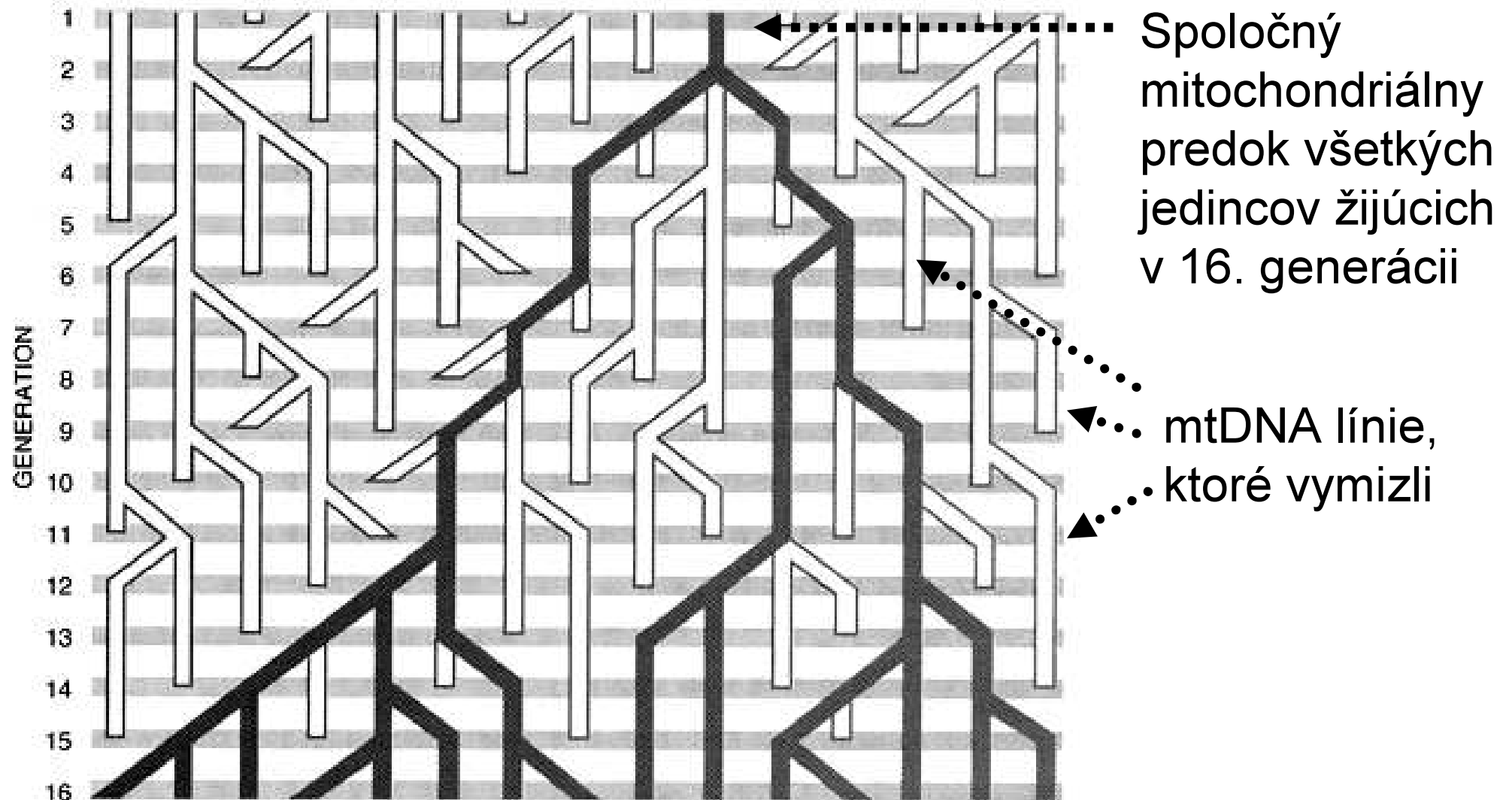
Štruktúra ľudskej mtDNA



- cirkulárna, 2-vláknová, 16 569 bp
- 1/200 000 veľkosti jadrového genómu
- niekoľko 100-1000 kópií na bunku
- Kódujúce oblasti - 93 % 37 tesne usporiadaných génov
- Kontrolná oblasť - 7 % približne 1200bp hypervariabilné segmenty HVSI (CRS: np 16024-16383) a HVSI (np 57-372)

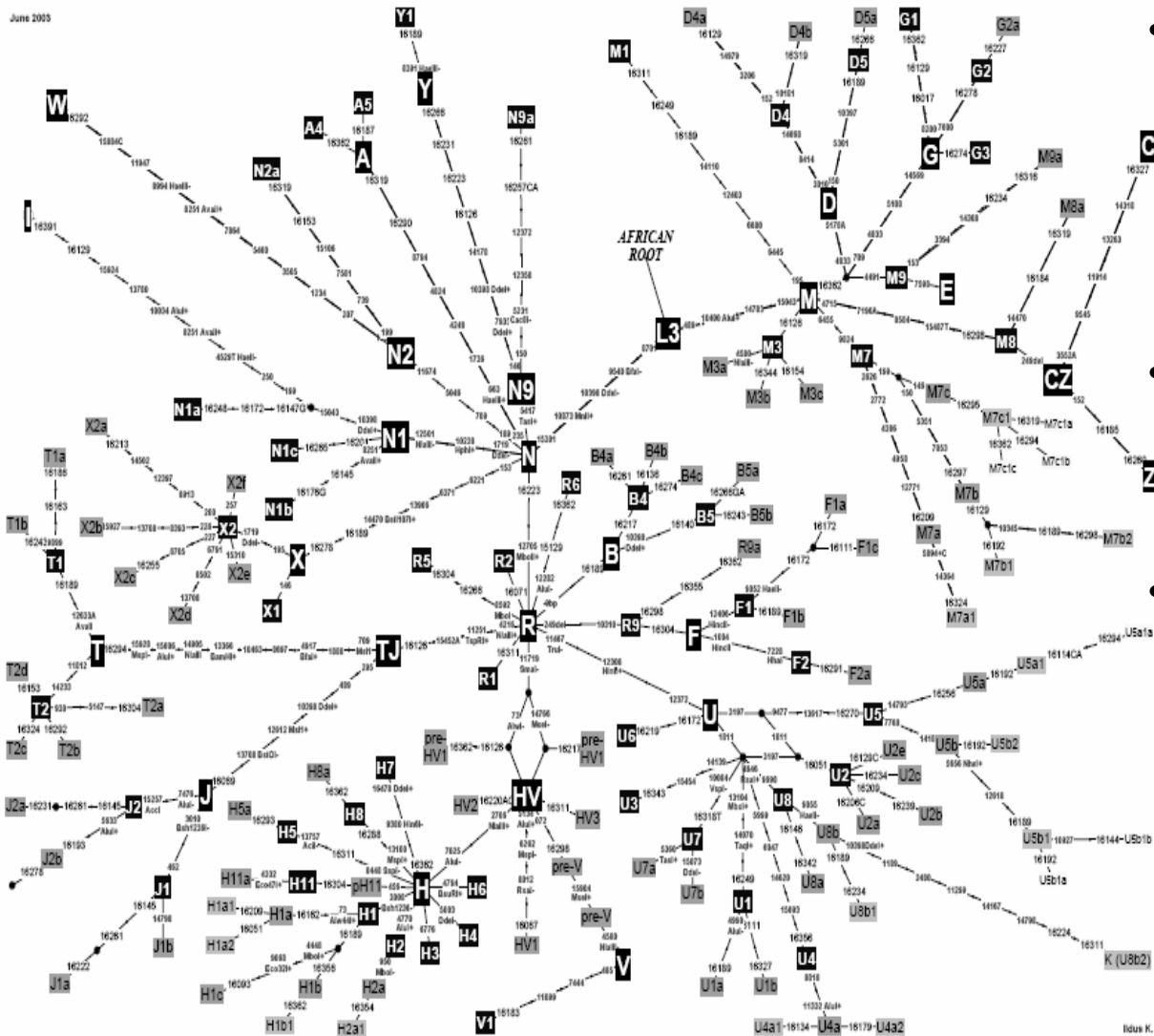


Koalescencia mtDNA línií



Markery mtDNA

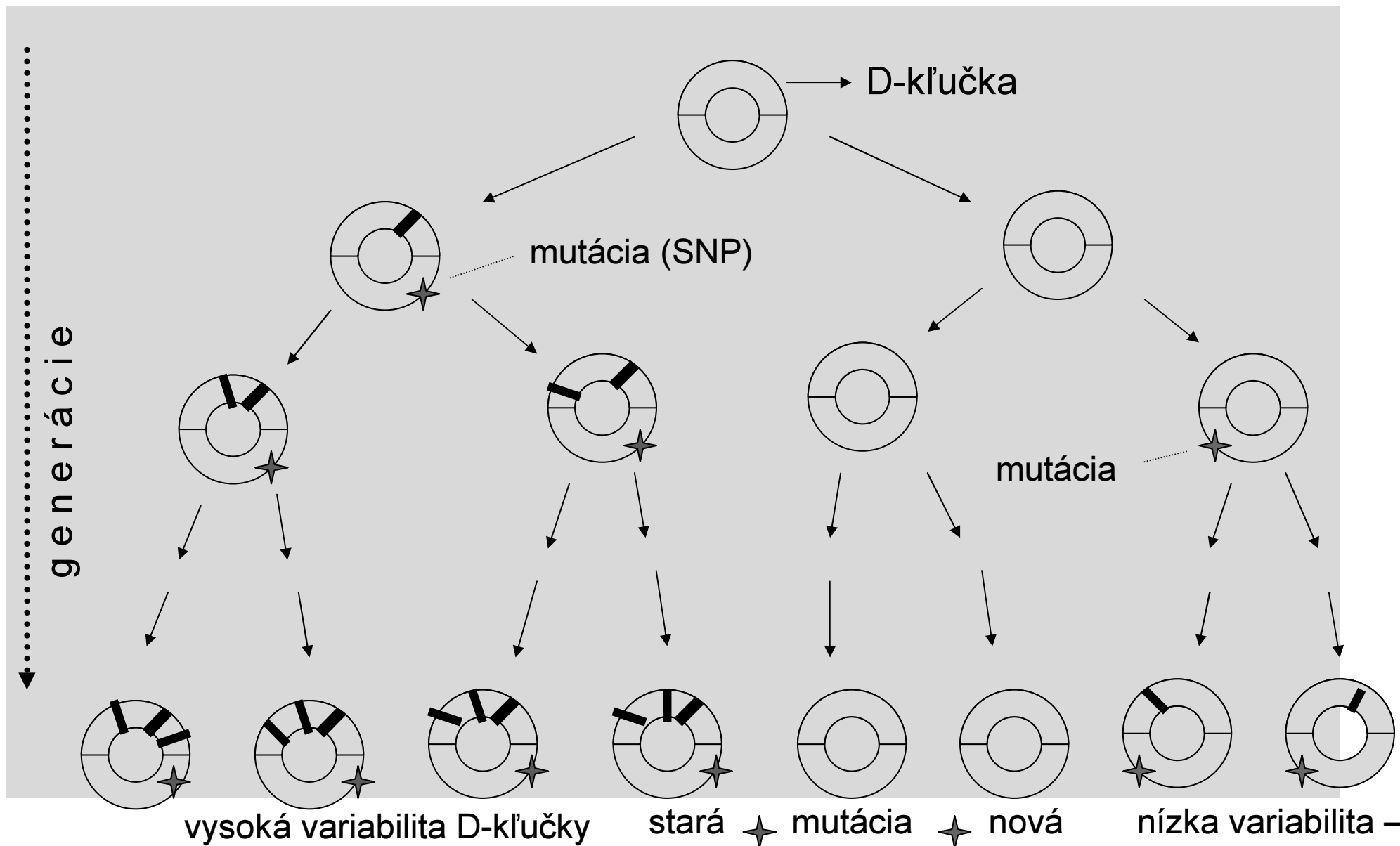
June 2005



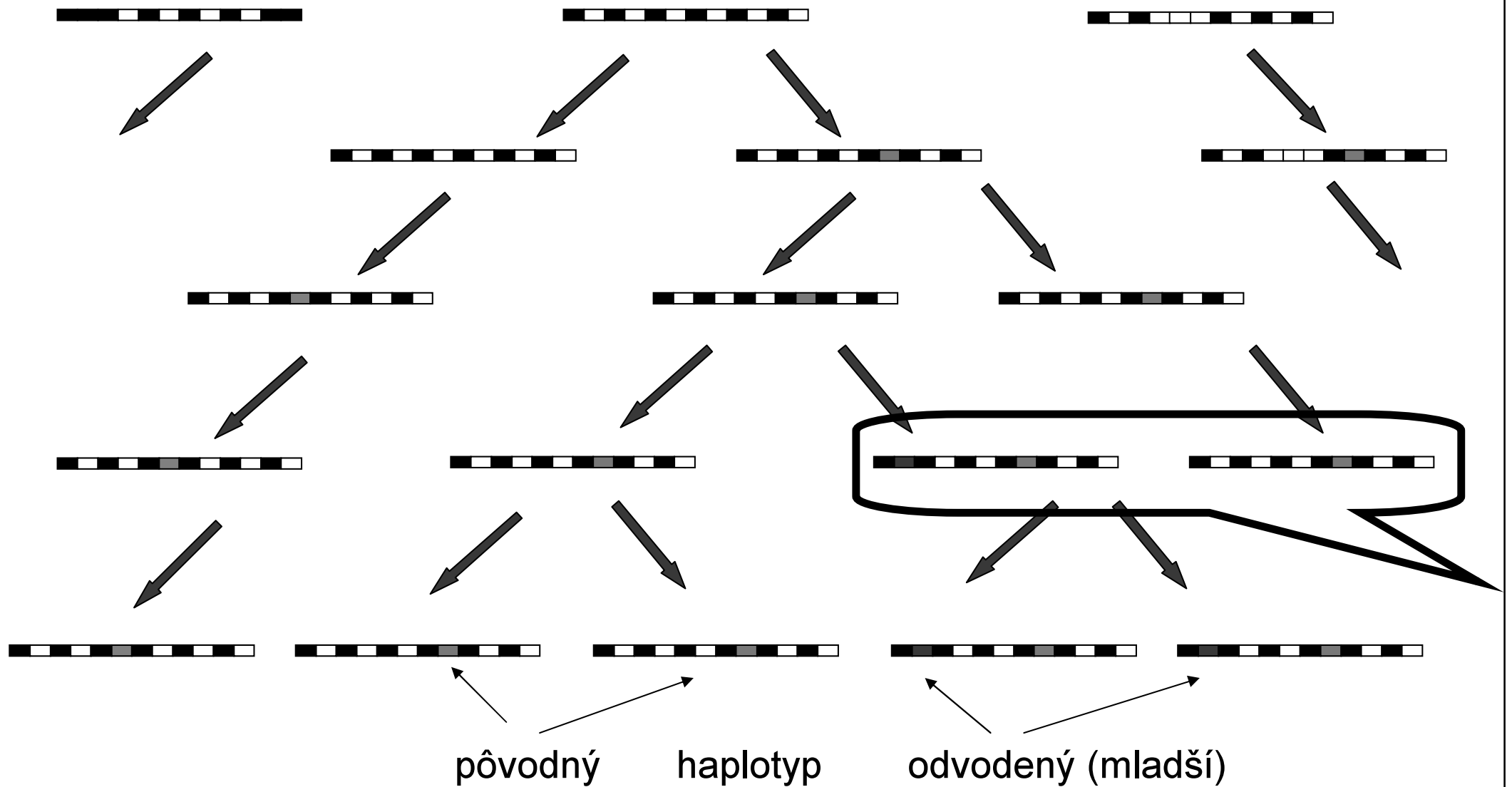
- SNP a indel polymorfizmy v kódujúcej oblasti (definujú haploskupinu) a v kontrolnej oblasti (HVSI a II – definujú haplotyp)
- Celková mutačná rýchlosť je asi 10x vyššia ako v jadrovej DNA, výrazne varíruje v rámci molekuly
- Synonymické pozície a oblasti HVSI,II sa menia 5-10x rýchlejšie ($1,4 \times 10^{-6}$ /bp/gen.) ako nesynonymické np génových oblastí, tRNA a rRNA gény ($3,4 \times 10^{-7}$ /bp/generácia)

Idoux K.

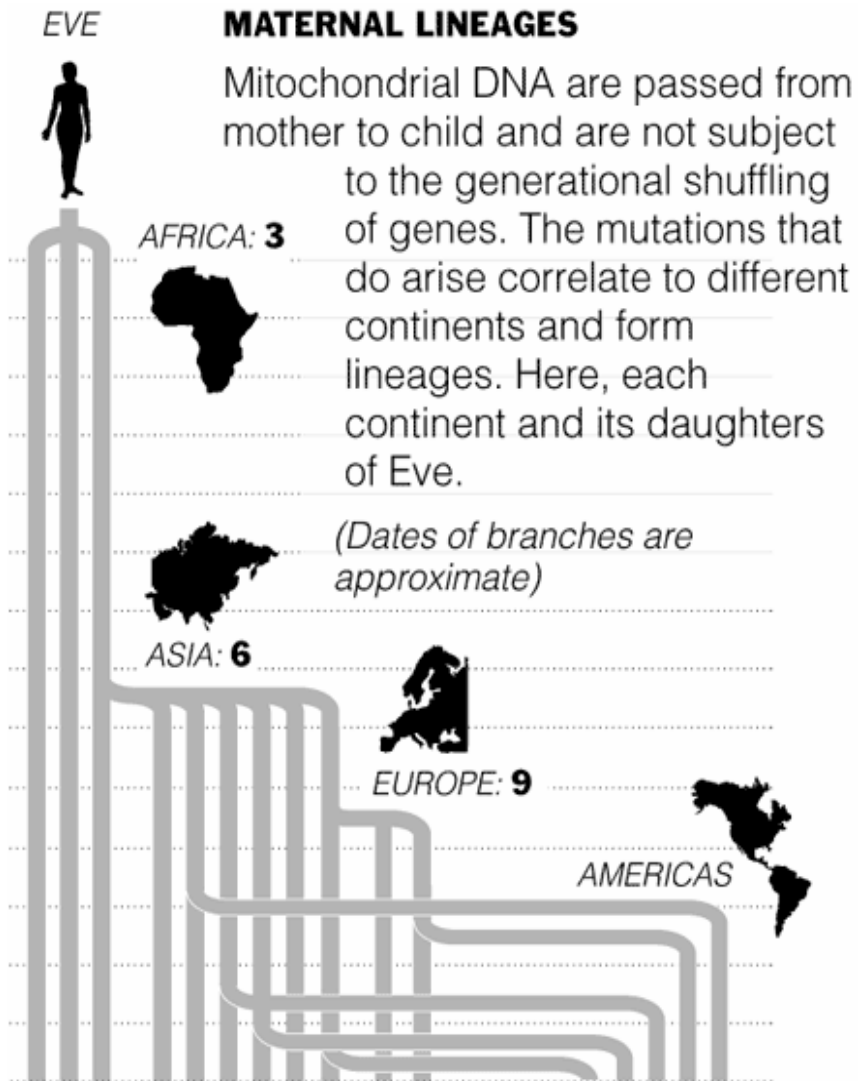
Odhad veku mtDNA mutácie pomocou variability D-kľučky u jej nositeľov



Vznik variability mtDNA (haplotypov)



Haploskupiny mtDNA



Hlavné haploskupiny sú definované len niekoľkými mutáciami v sekvencii mtDNA a ich výskyt vykazuje kontinentálnu špecificitu:

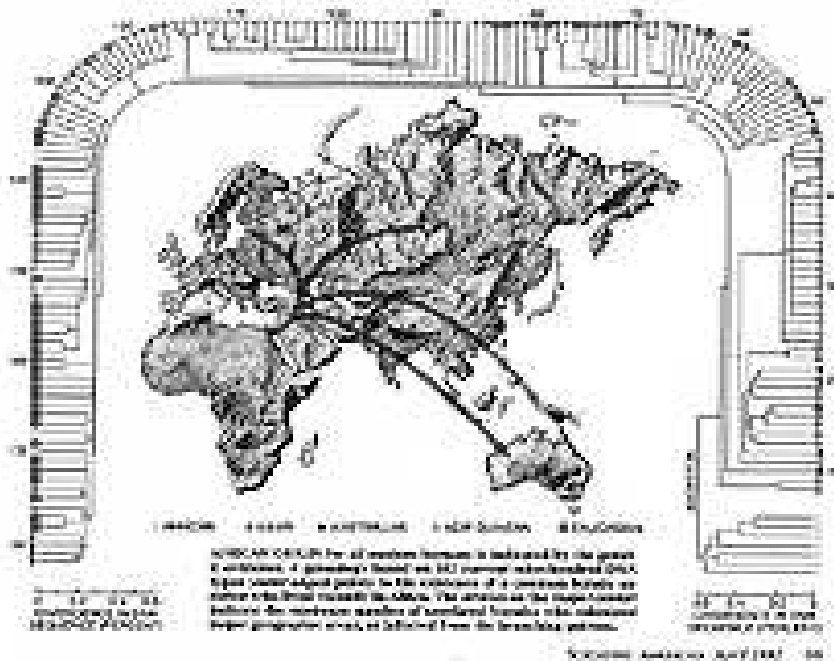
- 3 v Afrike (L1, L2, L3)
- 7 v Ázii a Oceánii odvodené z ancestrálnej línie M: A, B, C, D, E, F, G
- 9 v Európe, 7 hlavných, tzv. Eviných dcér: H - Helena, J - Jasmine, K - Katrine, T - Tara, U – Ursula, V - Valda, X – Xenia
- 4 v Amerike: A, B, C, D – relatívne recentné osídlenie z Ázie

„Mitochondrial Eve“/ „out of Africa“

Rebecca L. Cann, Mark Stoneking & Allan C. Wilson
"Mitochondrial DNA and Human Evolution" Nature,
325 (1987), 31-6

Allan C. Wilson & Rebecca L. Cann
„The Recent African Genesis of Humans“ Scientific
American (April 1992), 22-27

**„...all humans today can be traced along maternal
lines of descent to a woman who lived about
200,000 years ago, probably in Africa. Modern
humans arose in one place and spread
elsewhere.“**



- súčasná variabilita mtDNA je najväčšia medzi africkými populáciami
- všetky ostatné mtDNA typy sú odvodené od pôvodných haploskupín nájdených v Afrike
- za predpokladu rovnomernej mutačnej rýchlosti došlo k rozdeleniu hlavných línií približne pred 140 000 – 200 000 r.

Dve hypotézy o pôvode *Homo sapiens*

1. Multiregionálna hypotéza

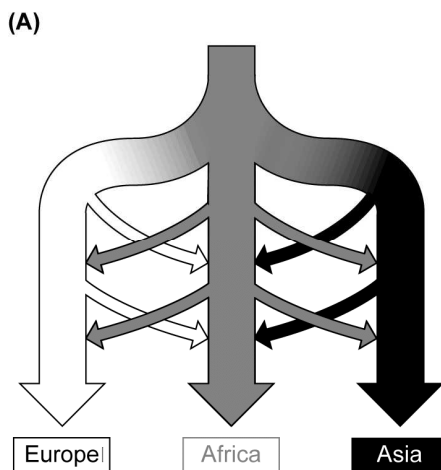
2. „Out of Africa“

- spoločný predok všetkých dnešných ľudí žil v Afrike približne pred 150 000 rokmi

posledný spoločný predok pre africké a neafrické mtDNA Y-DNA žil pred asi 100 000 rokmi – migrácia anatomicky moderných do Ázie a Európy pred cca 60 – 40 tis. rokmi

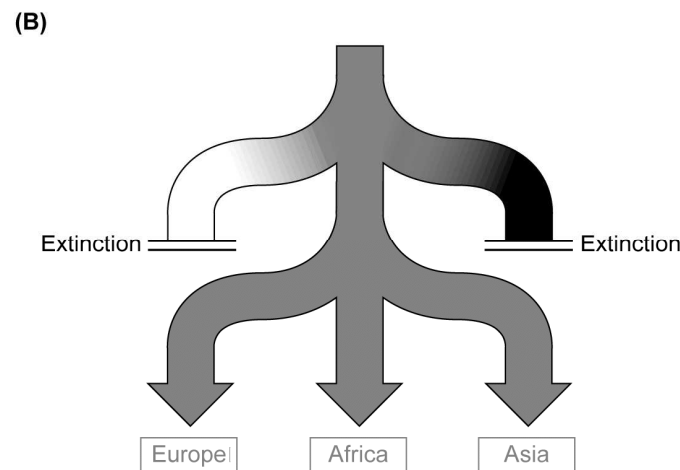
- nahradenie populácií *H. erectus* moderným *H. sapiens* afrického pôvodu

multiregionálna

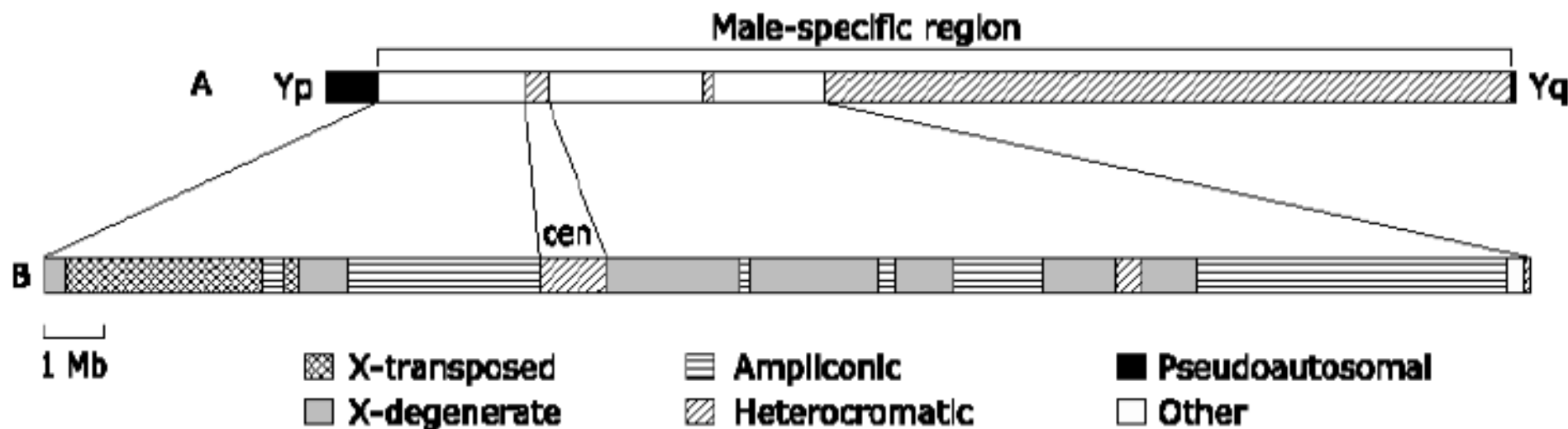


výsledky štúdia mtDNA a Y-DNA sú navzájom veľmi podobné (hoci nie vždy úplne identické)

„out of Africa“

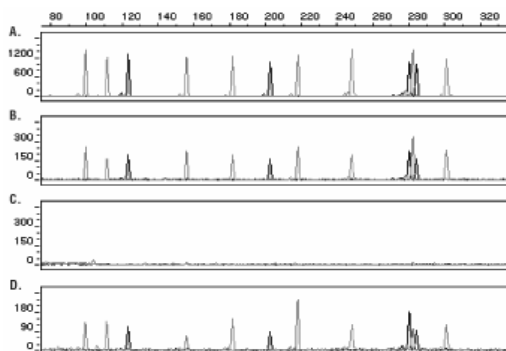
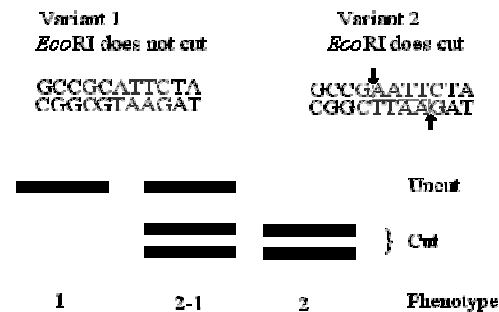
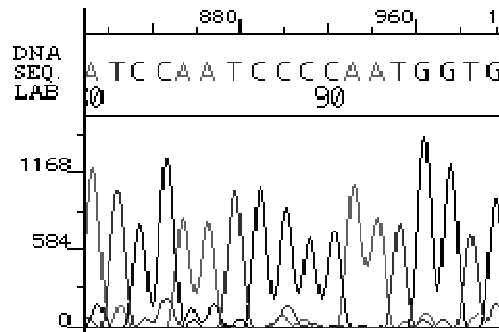


Ľudský Y-chromozóm



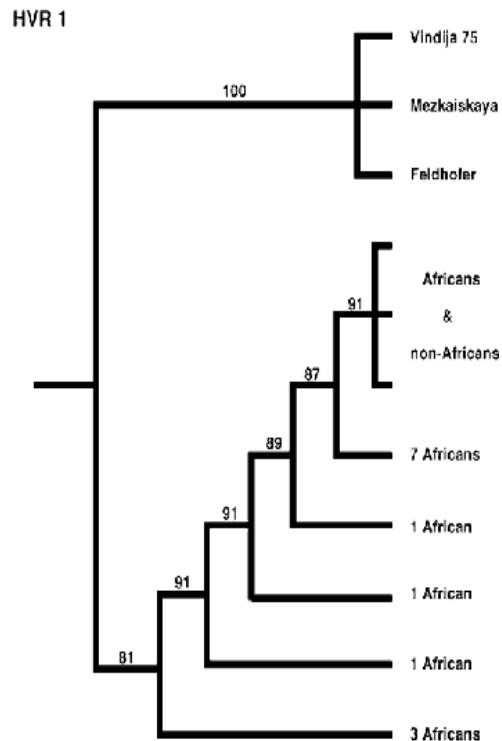
- 60 Mb dlhá lineárna molekula DNA
- 95% predstavuje NRY/NRPY – non-recombining region/portion of Y)
- Heterochromatín: 6 rôznych typov sekvencií v tandemových zoskupeniach
- Euchromatín: X-transponované, X-degenerované a amplikonické segmenty
- 156 transkripčných jednotiek, 27 proteínových rodín (12 vo všetkých tkanivách, 11 špecifických pre *testes*)

Laboratórne metódy klasifikácie mtDNA a Y-DNA

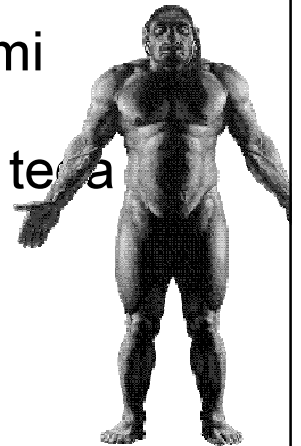


- Sekvenovanie hypervariabilných úsekov mtDNA : HVS I a II, niektorých SNP markerov mtDNA aj Y-DNA, sekvenovanie celého mt genómu
- Analýza RFLP/dHPLC markerov typu SNP (prítomnosť resp. neprítomnosť štiepneho miesta definuje ancestrálne alebo odvodené štádium daného lokusu) pre mtDNA aj Y-DNA; in-del mutácie - priama separácia na agarózovom géli (YAP, 12f2) – Y-DNA
- multiplex fluorescenčná fragmentová analýza STR polymorfizmov, multiplex SNaPshot analýza bodových polymorfizmov mtDNA a Y-DNA

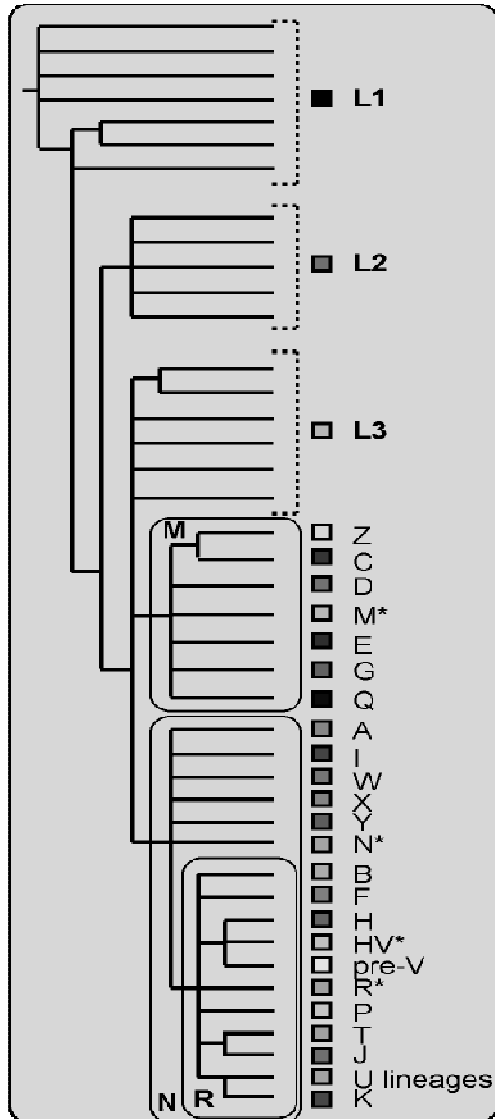
H. sapiens vs. *H. neanderthalensis*



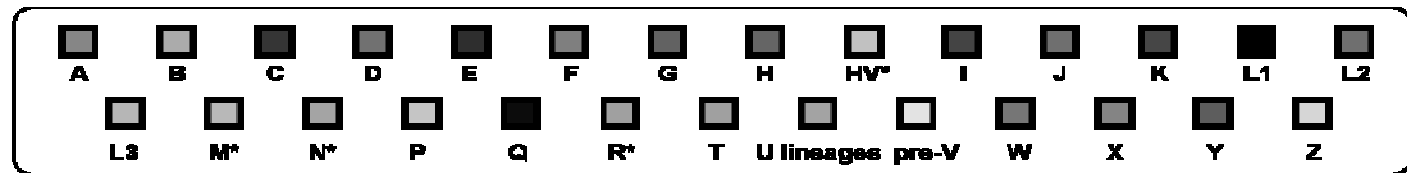
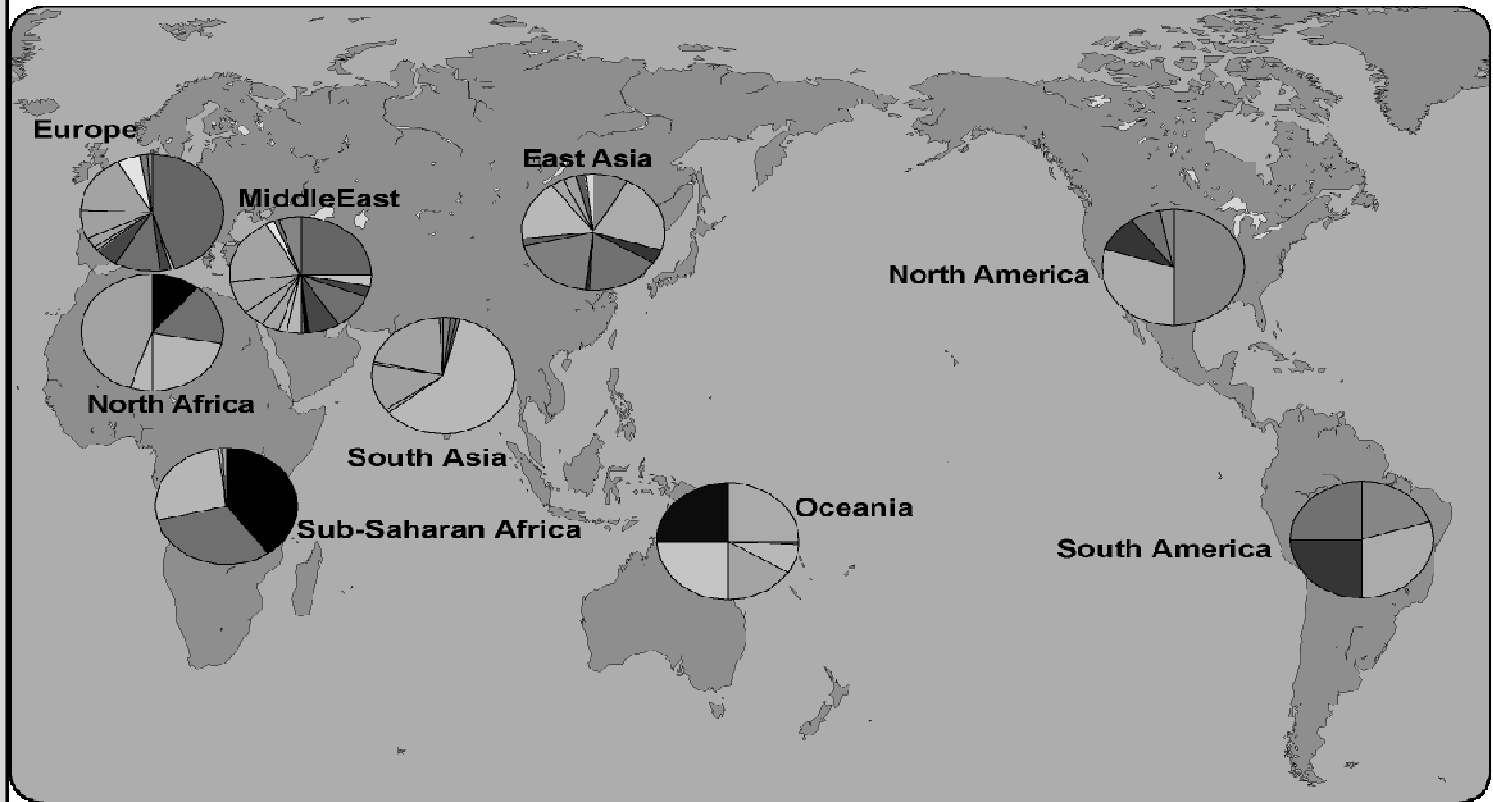
- *Homo neanderthalensis*, v Európe žil pred približne 300 000 až 28 000 r.
- spoločná koexistencia s anatomicky moderným *H. sapiens* trvala približne 30 000 rokov
- mtDNA izolovaná fosílnych vzoriek neandertálcov vykazuje v D-kľučke mtDNA 3,5 - 7 % divergenciu oproti *H. sapiens*
- nízka variabilita v rámci mtDNA neandertálcov napriek rôzne lokalizovaným a datovaným vzorkám
- spoločný mtDNA predok *H. sapiens* a *H. neanderthalensis* žil približne pred 500 000 rokmi
- zrejme nedochádzalo k vzájomnému kríženiu a teda neandertálec je bočnou vývojovou vetvou, ktorá nezanechala stopy v našom genofonde



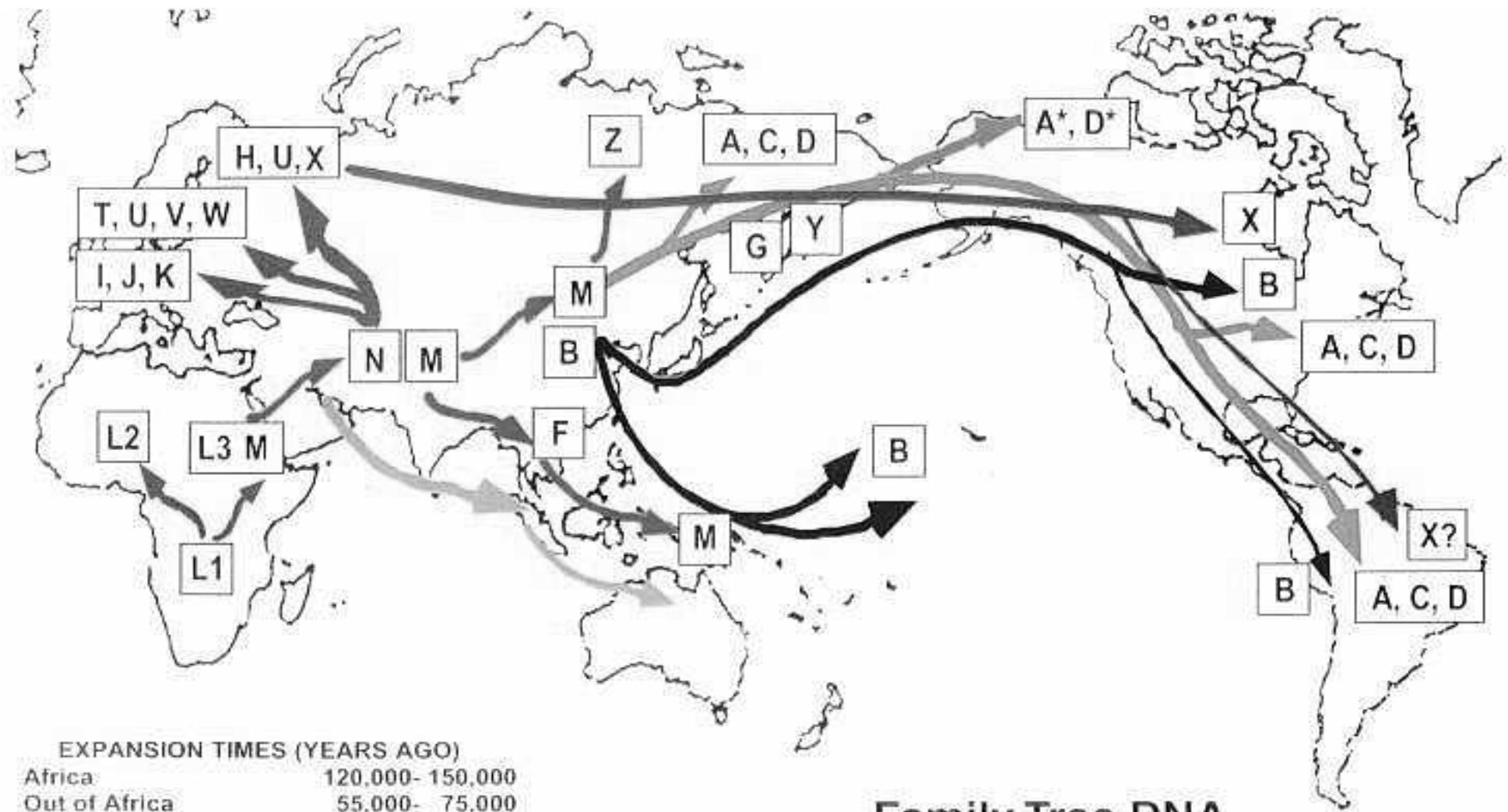
Distribúcia haploskupín mtDNA



mtDNA haplogroup distribution



Rozšírenie hlavných línií (haploskupín) mtDNA

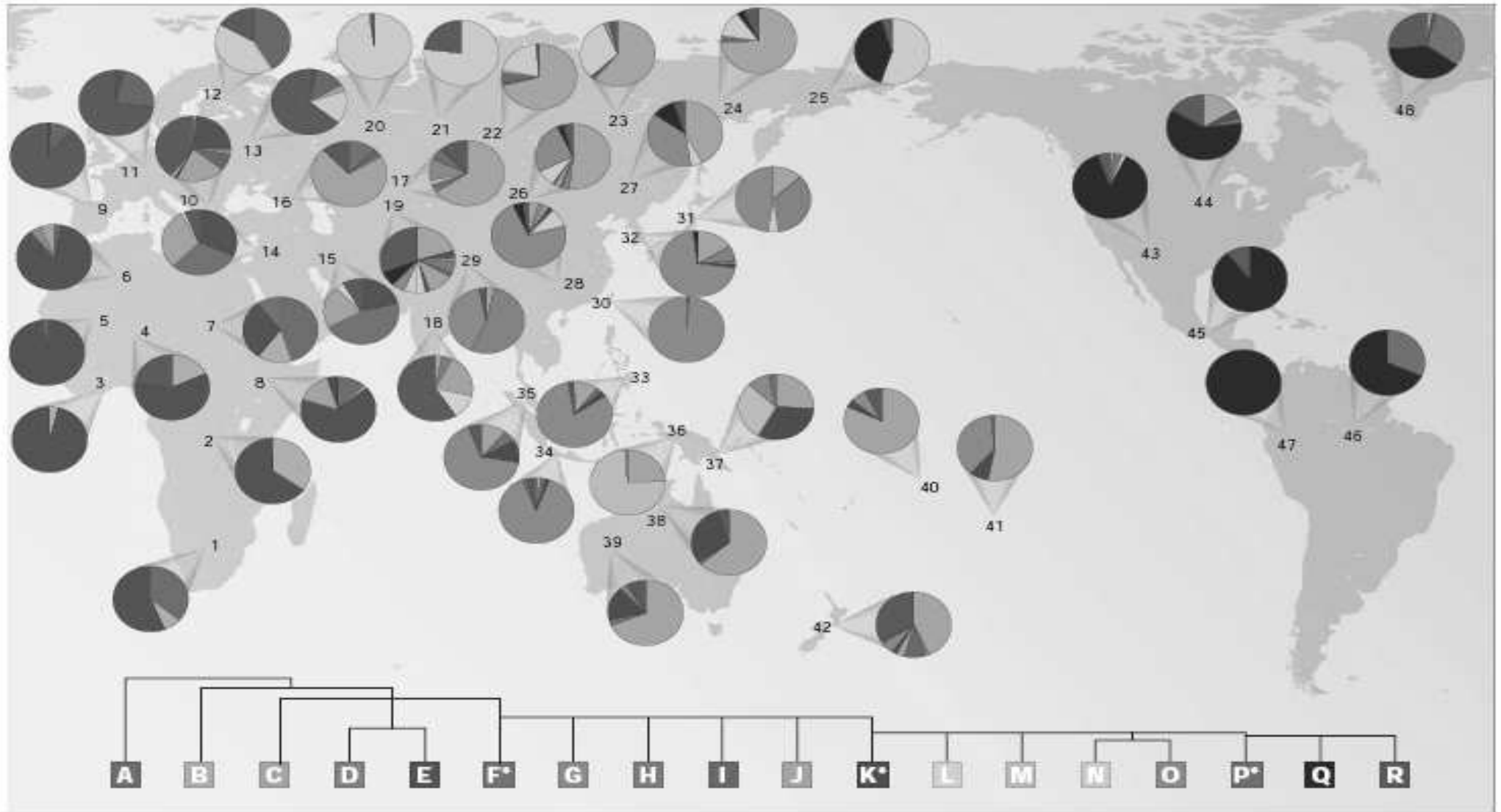


EXPANSION TIMES (YEARS AGO)

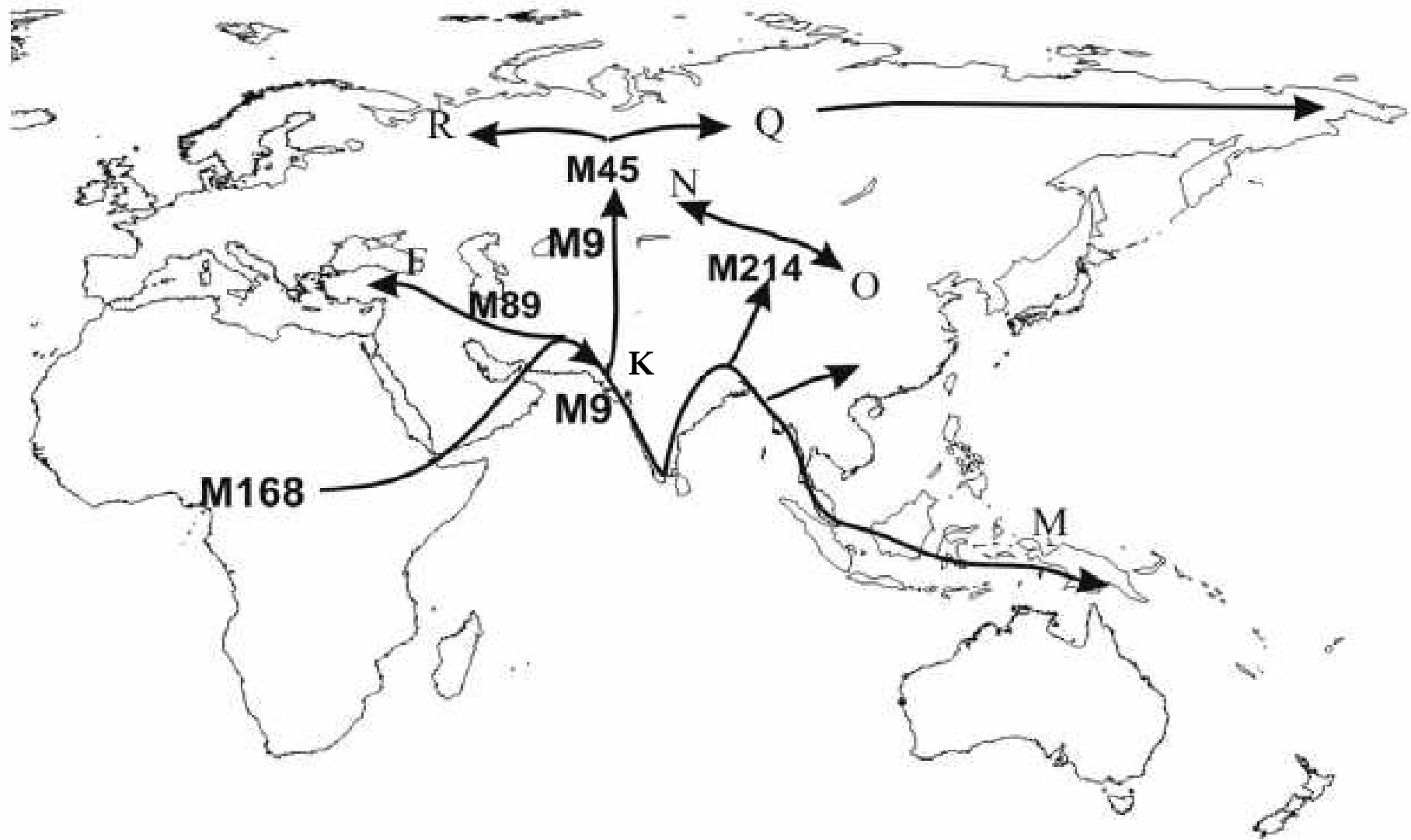
Africa	120,000- 150,000
Out of Africa	55,000- 75,000
Asia	40,000- 70,000
Australia/PNG	40,000- 60,000
Europe	35,000- 50,000
Americas	15,000- 35,000
Na-Dene/Esk/Aleuts	8,000- 10,000

**Family Tree DNA
mtDNA Migrations Map**

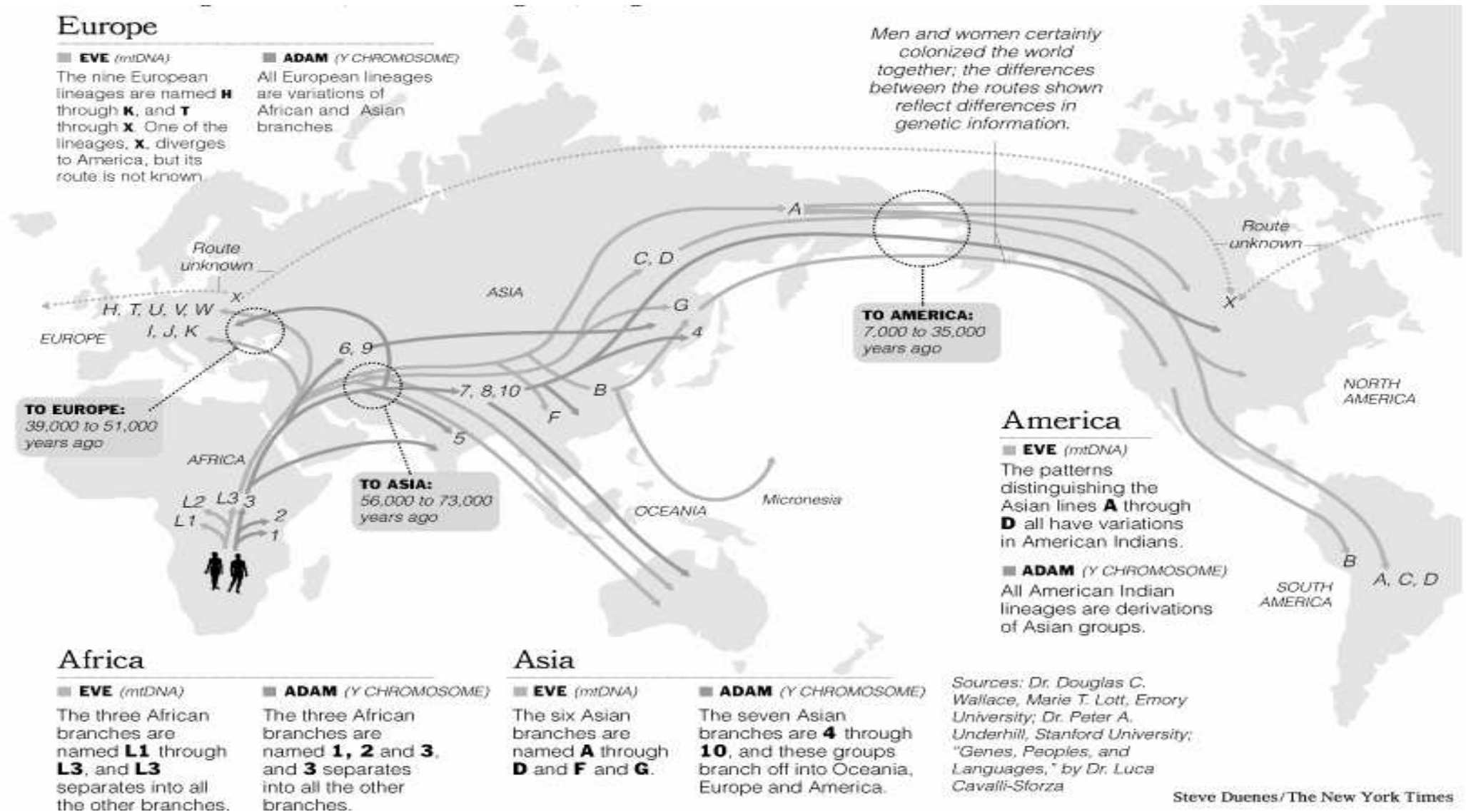
Distribúcia haploskupín chromozómu Y



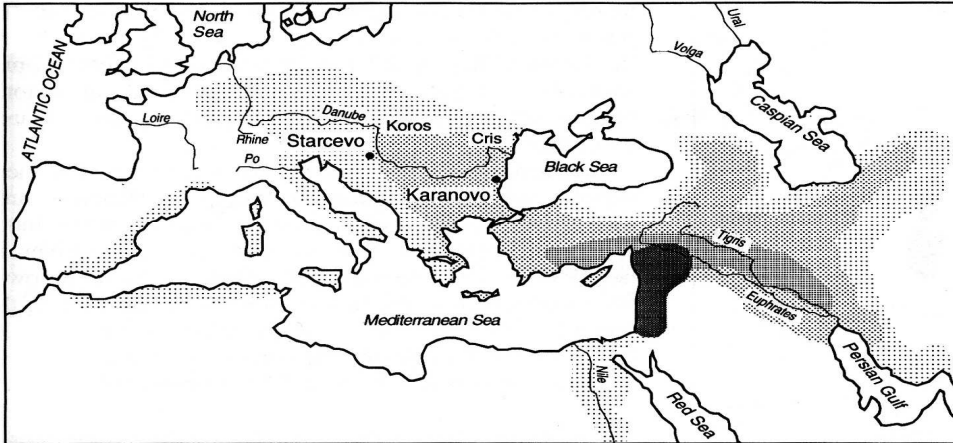
Šírenie hlavných línií chromozómu Y z Afriky



Osídľovanie kontinentov – podľa mtDNA a Y-DNA



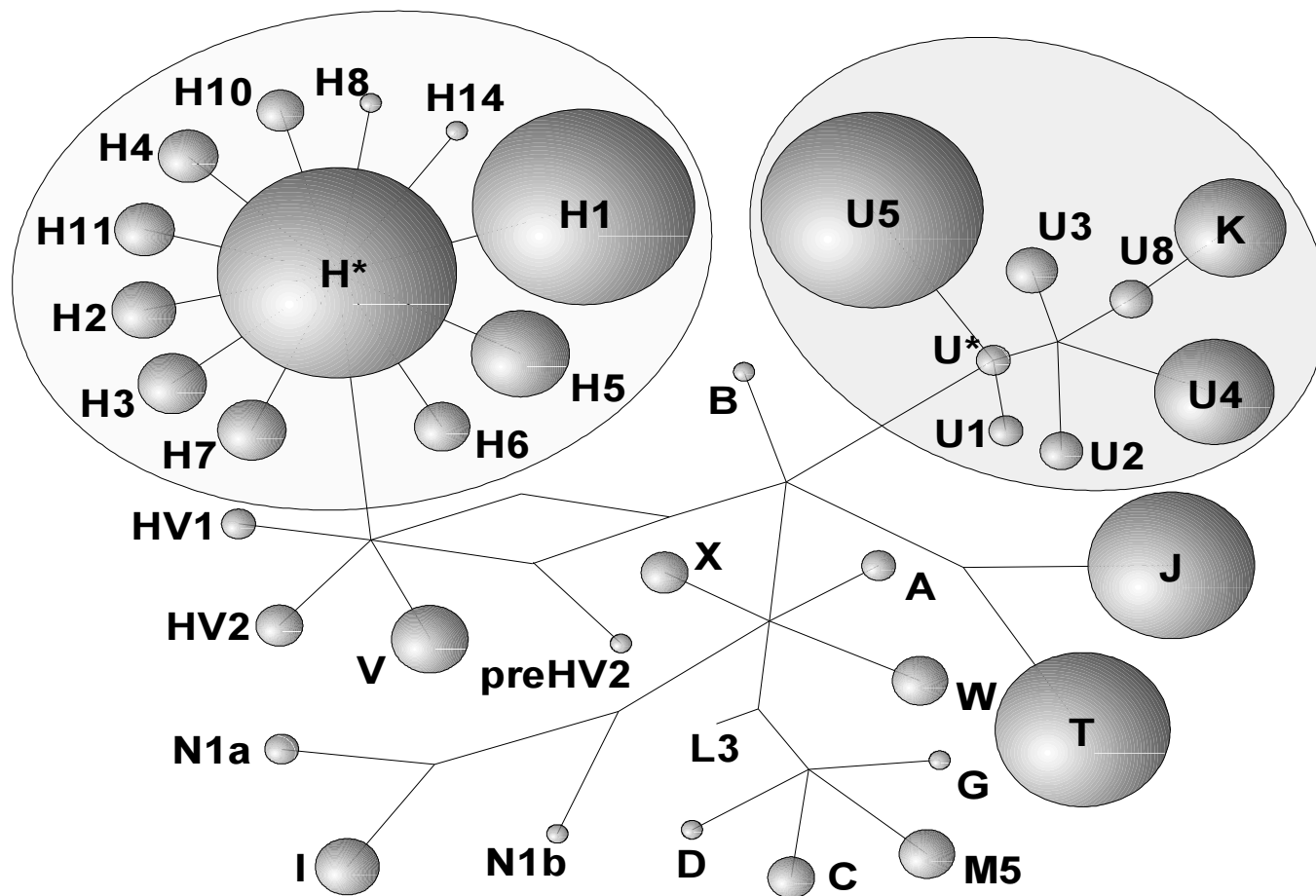
Neolitické osídlenie Európy



približne pred 12 000 rokmi z oblasti Blízkeho Východu – v Európe nastalo vytlačanie lovecko - zberačských spoločenstiev roľníckymi - neolit

- väčšina mt a Y haploskupín je datovaných na 35 000 – 50 000 BP, „mladšie“ haploskupiny majú len asi 20 %-ný podiel v mtDNA a Y-DNA variabilite európskej populácii – to sú haplotypy neolitického (a neskoršieho) pôvodu
- neolitická migračná vlna predstavuje teda prevažne šírenie kultúry a spôsobu života (obrábanie pôdy, domestikácia rastlín a zvierat), nie šírenie ľudí

Haploskupiny mtDNA v slovenskej populácii



Hg	#	%
A	2	0,52
B	1	0,26
C	4	1,05
D	1	0,26
G	1	0,26
H	162	42,41
HV1	2	0,52
HV2	4	1,05
pre-HV2	1	0,26
I	8	2,09
J	32	8,38
K	19	4,97
M5	6	1,57
N1a	2	0,52
N1b	1	0,26
T	34	8,90
U	81	21,20
V	11	2,88
W	6	1,57
X	4	1,05

Závery zo štúdia mtDNA a Y-DNA

- Relatívne recentný a monocentrický pôvod anatomicky moderných *H. sapiens*
- *H. neanderthalensis* pravdepodobne nevstúpil do vývojovej línie človeka
- Šírenie archeologických kultúr, resp. technológie, jazyka alebo etnicity nemusí vždy znamenať migráciu veľkých skupín jej nositeľov
- Genetické vzdialenosti medzi populáciami korešpondujú viac s geografickými vzdialenosťami ako s lingvistickými, či etnickými
- Slovenská populácia je typická stredoeurópska populácia s menšími genetickými vzdialenosťami k iným slovanským populáciám a ku geografickým susedom

Závěrečný súhrn

- Molekuly DNA slúžia ako živé kroniky
- Molekulárna genetika podstatným spôsobom rozširuje paletu nástrojov, ktorými je možné analyzovať príbuzenské vzťahy medzi ľudskými populáciami v súčasnosti aj v dávnej či nedávnej minulosti
- Molekulárna genetika sa svojim vplyvom neobmedzuje na medicínu, ale prestupuje všetkými oblasťami života, a významne tým ovplyvňuje nielen skúmanie života, ale aj život sám.

- Bolo pre mňa ct'ou prednášať genetiku v Mendelovom meste
- Bolo pre mňa potešením spoznať sympatických študentov Prírodovedeckej fakulty Masarykovej univerzity, ktorým
 - ďakujem za pozornosť, ktorú venovali mojej prednáške
 - prajem príjemné prežitie blížiacich sa sviatkov
 - želám veľa úspechov pri skúškach – a v celom ďalšom profesijnom živote

