

Molekulárne aspekty evolúcie človeka

Vladimír Ferák

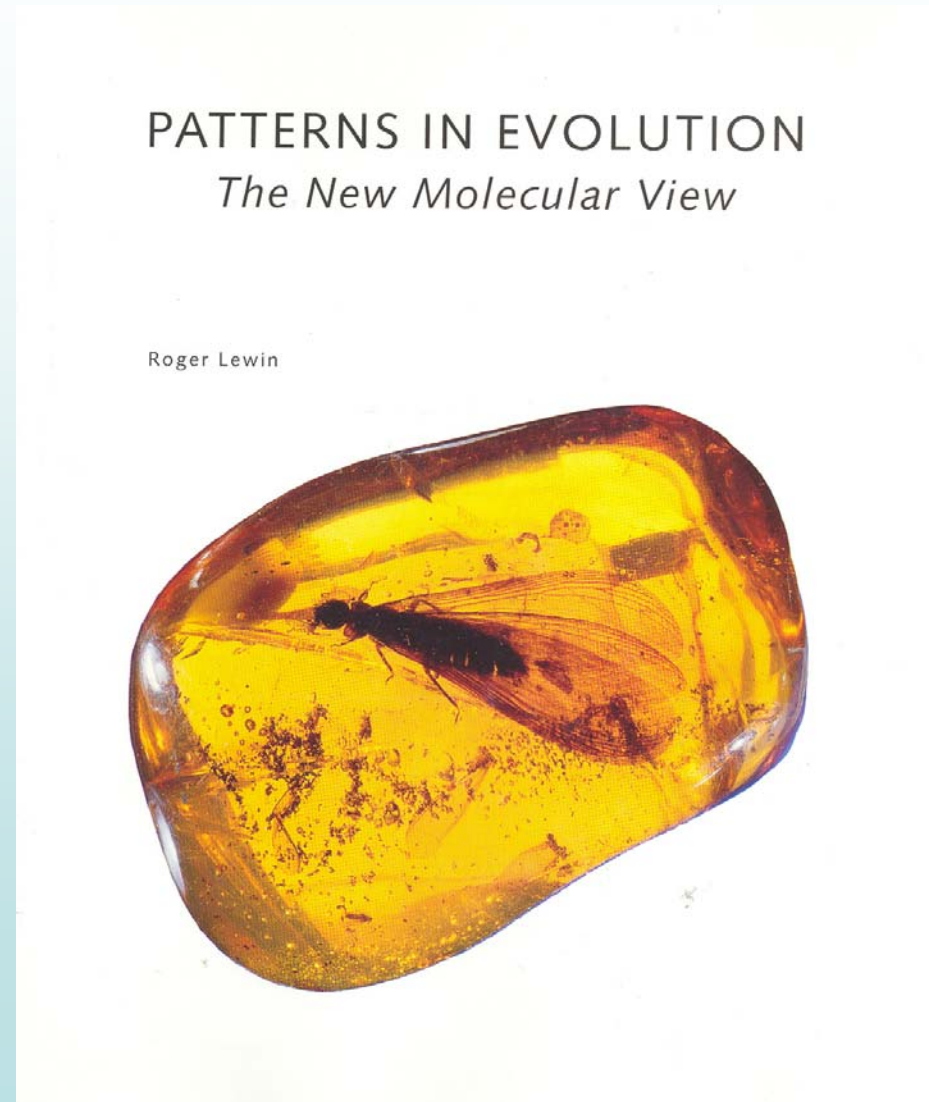
- Evolúcia cicavcov – primátov – ľudoopov – hominíd
- Molekulárne mechanizmy evolúcie
- Dve hypotézy o evolúcii *Homo sapiens*
- Využitie polymorfizmov DNA pri rekonštrukcii evolúcie *H. sapiens*
- mtDNA a Y-DNA a hypotéza „Out of Africa“
- Rekonštrukcia osídľovania kontinentov z dát o mtDNA a Y DNA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



Porovnávacia analýza informačných makromolekúl

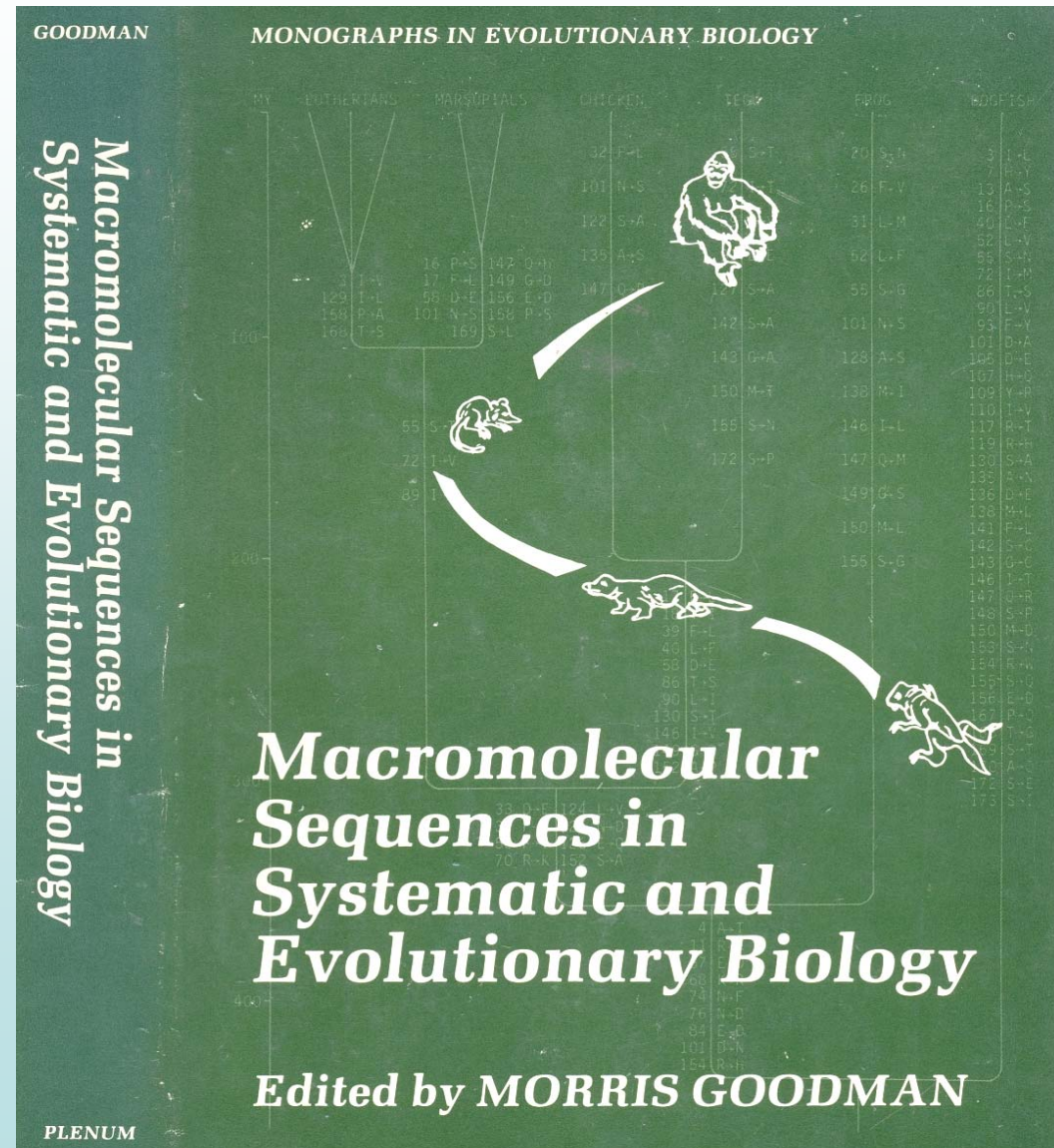
(nukleové kyseliny, bielkoviny)

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)

<u>Druh</u>	<u>počet odlišností</u>
človek	0
gorila	1
gibon	2
makak	8
myš	27
žaba	67

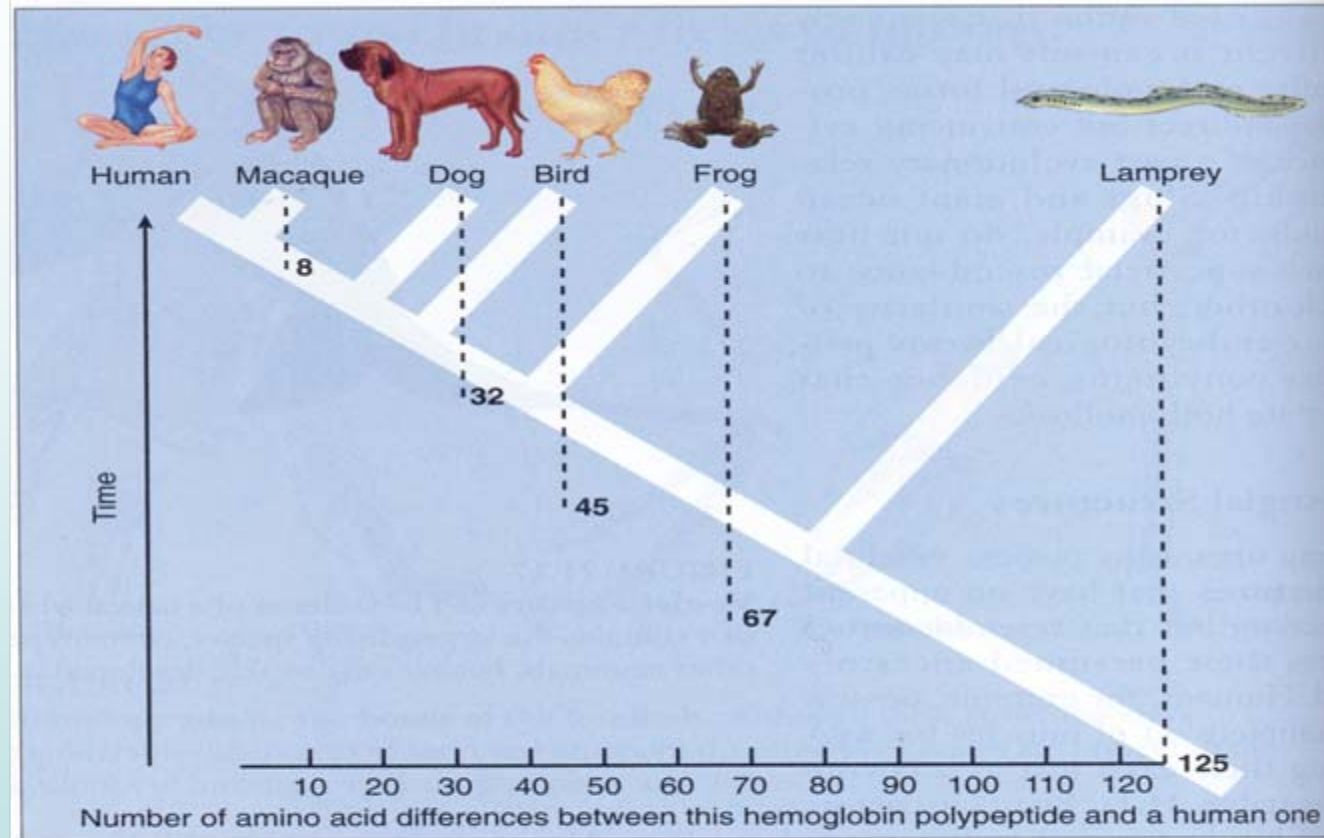
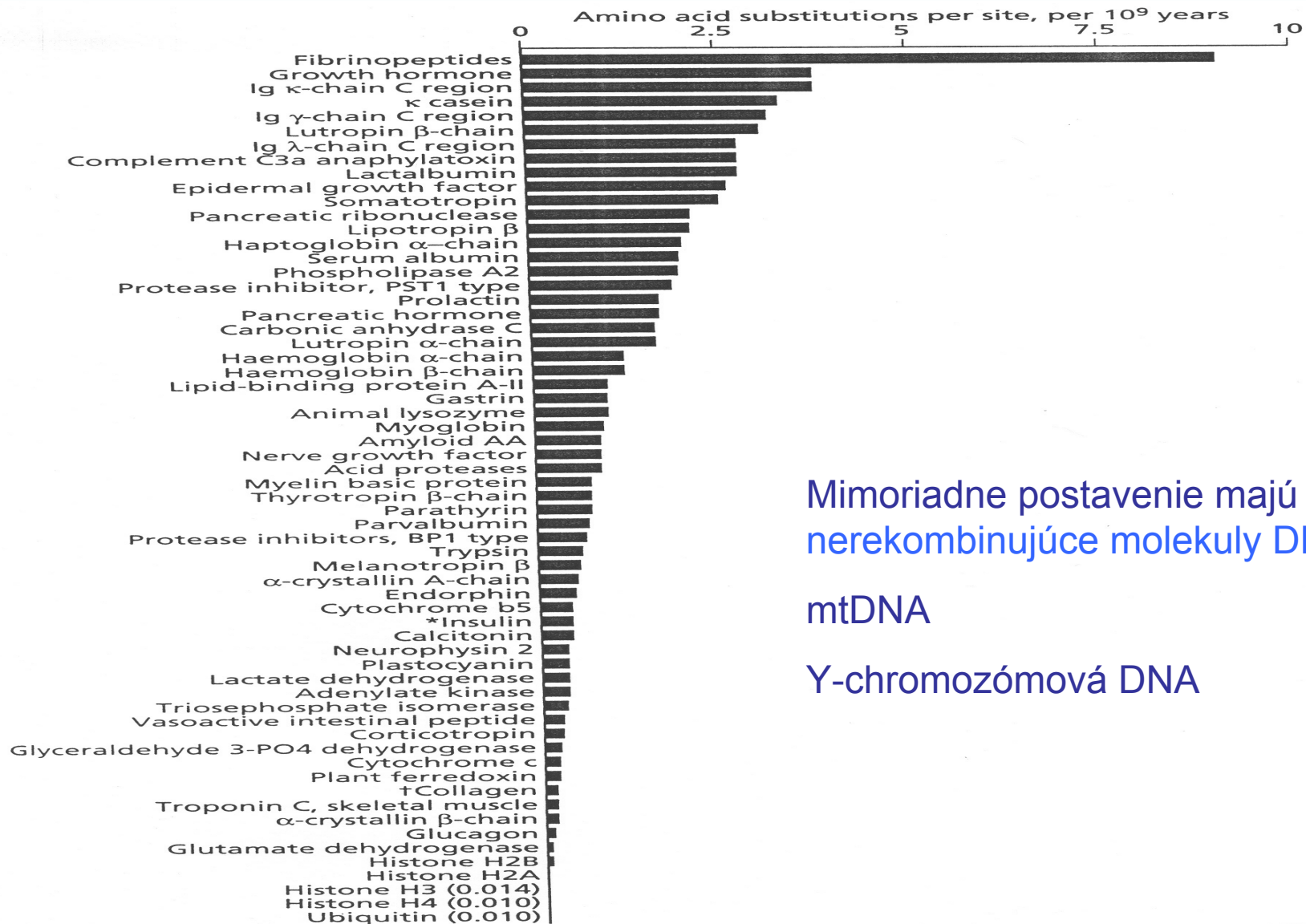


FIGURE 21.18

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)

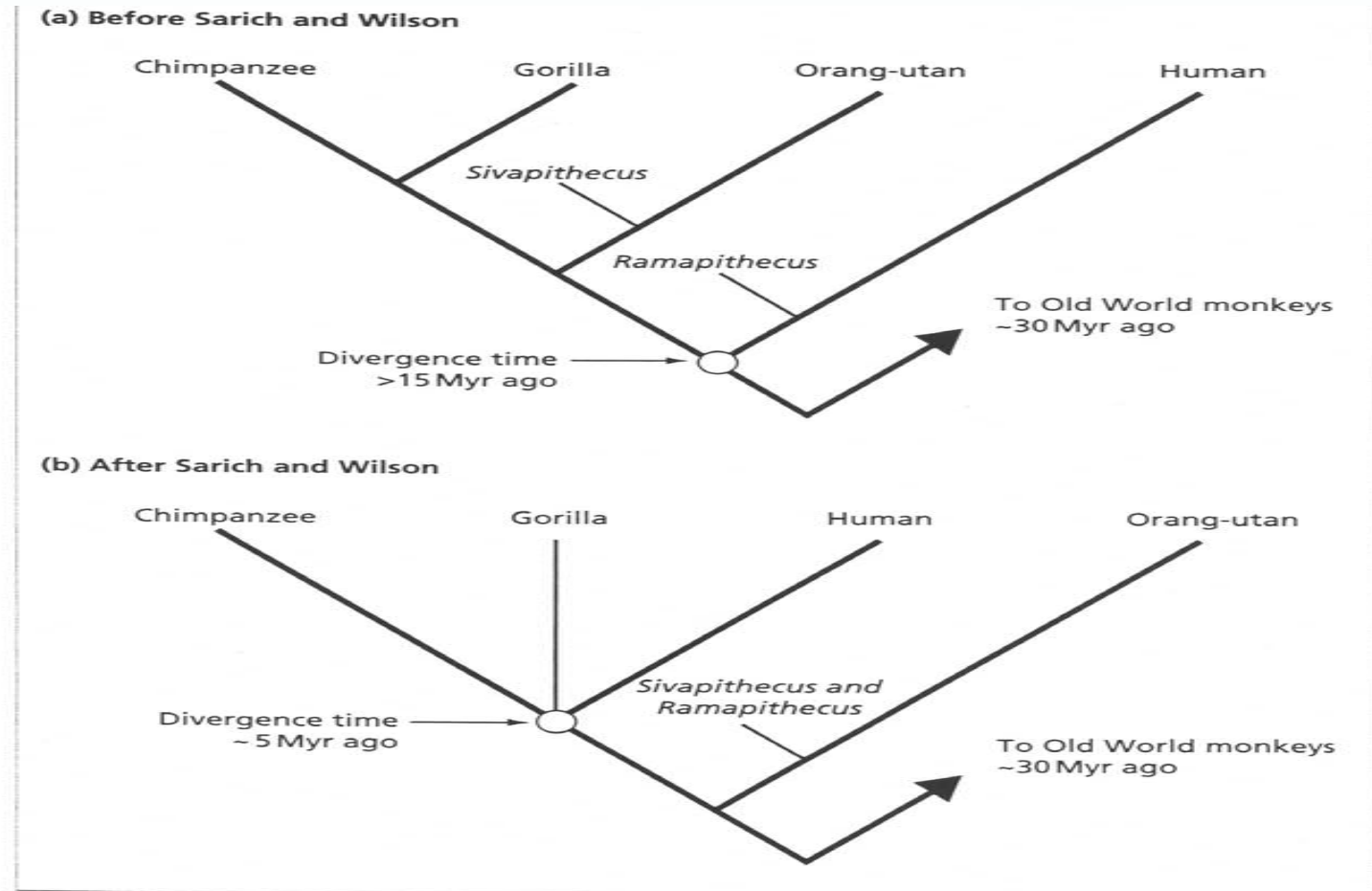
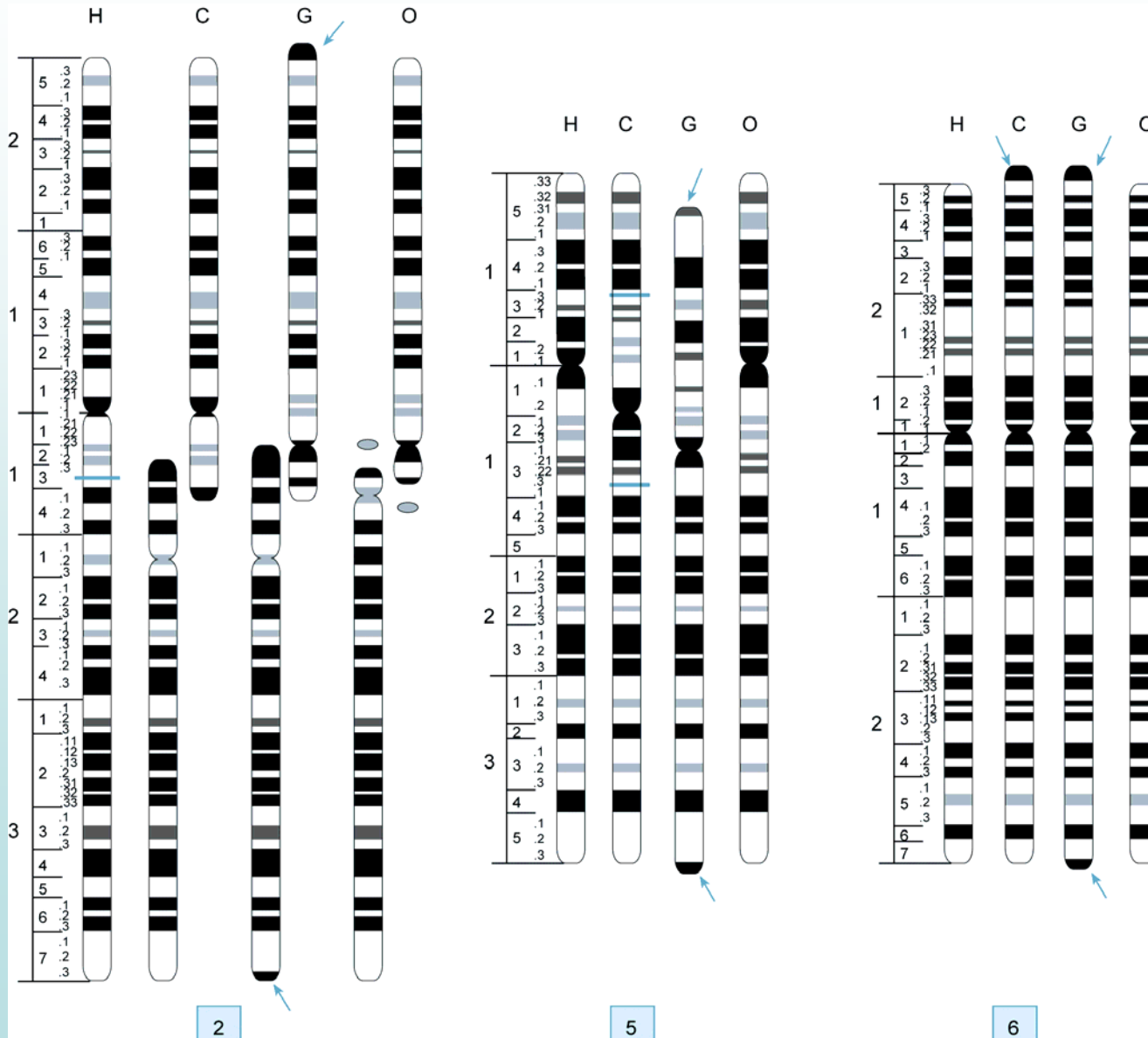
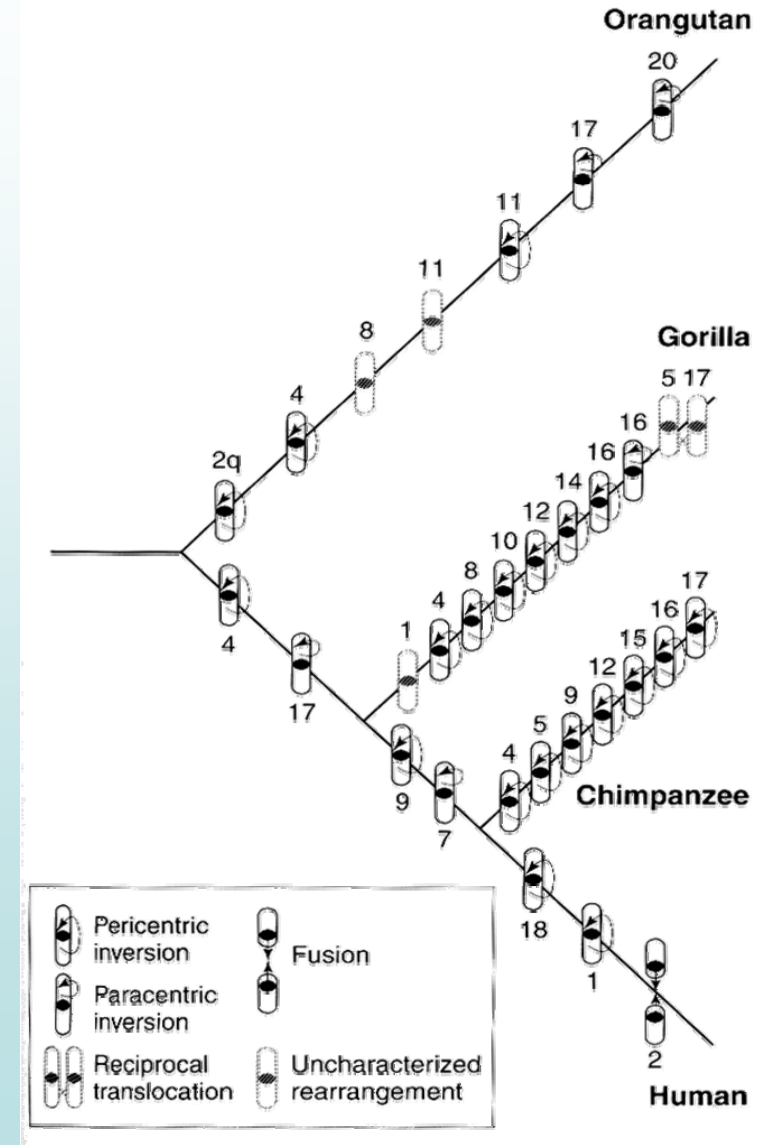
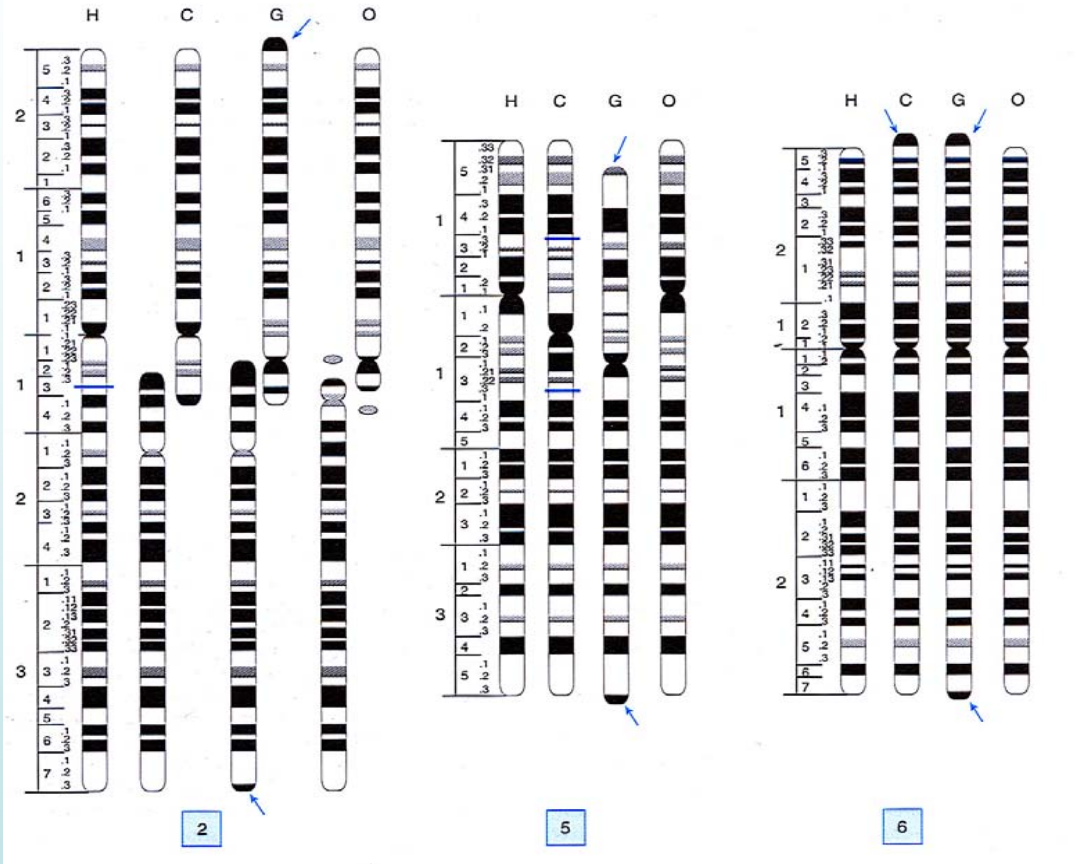


Fig. 1.3 How molecular data changed the picture of human origins. Tree (a) depicts the commonly held view of primate relationships during the 1960s, while tree (b) was that produced by Sarich and Wilson using immunological (serum albumin) distances. This tree, along with a divergence time of approximately 5 million years, has subsequently been confirmed using other molecular data, although human and chimpanzee now appear to be more closely related to each other than either is to the gorilla.

Porovnávacia cytogenetika ľudoopov

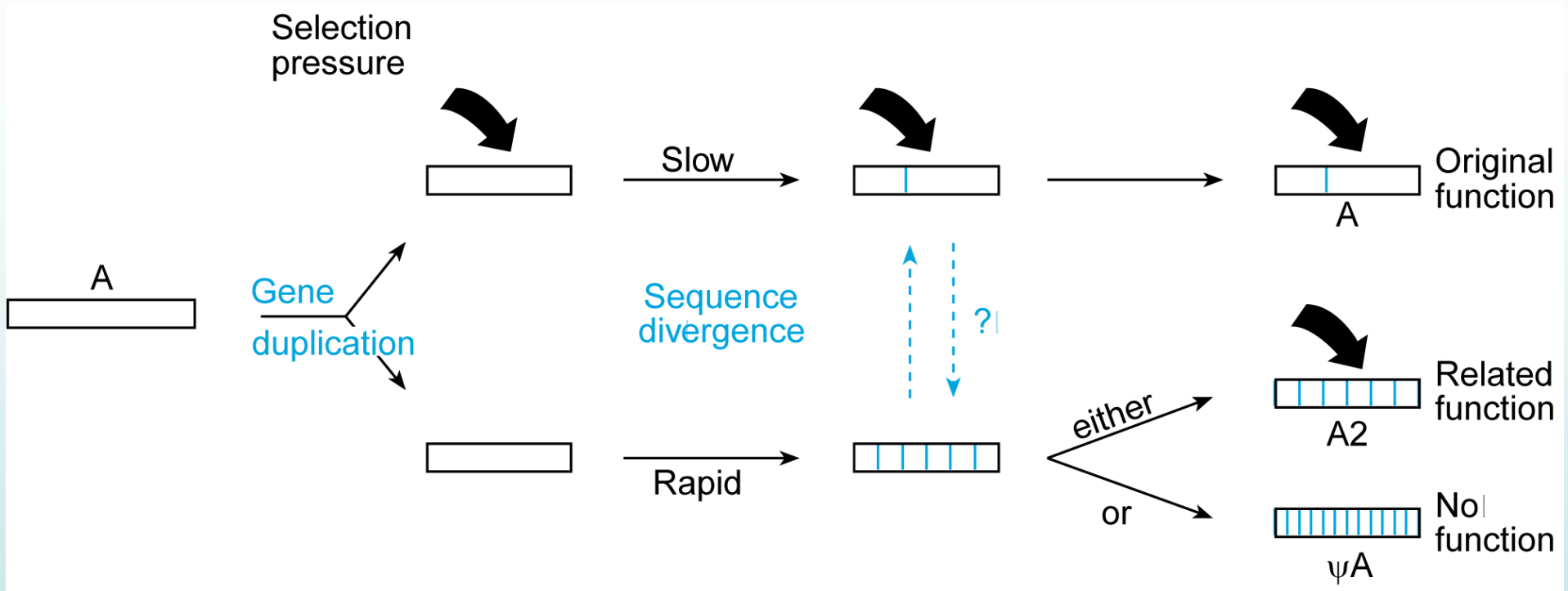


Porovnávacia cytogenetika ľudoopov a človeka



- Šimpanz-C, gorila-G, orangutan-O: $2n=48$ chrom.
- *H. sapiens*: $2n=46$ chrom.
- Ľudský chrom.č.2 vznikol Robertsonovou translokáciou
- Nezhody v niektorých C-prúžkoch + inverzie, recipročné translokácie, Robertsonova translok.

Evolúcia génovej duplikácie



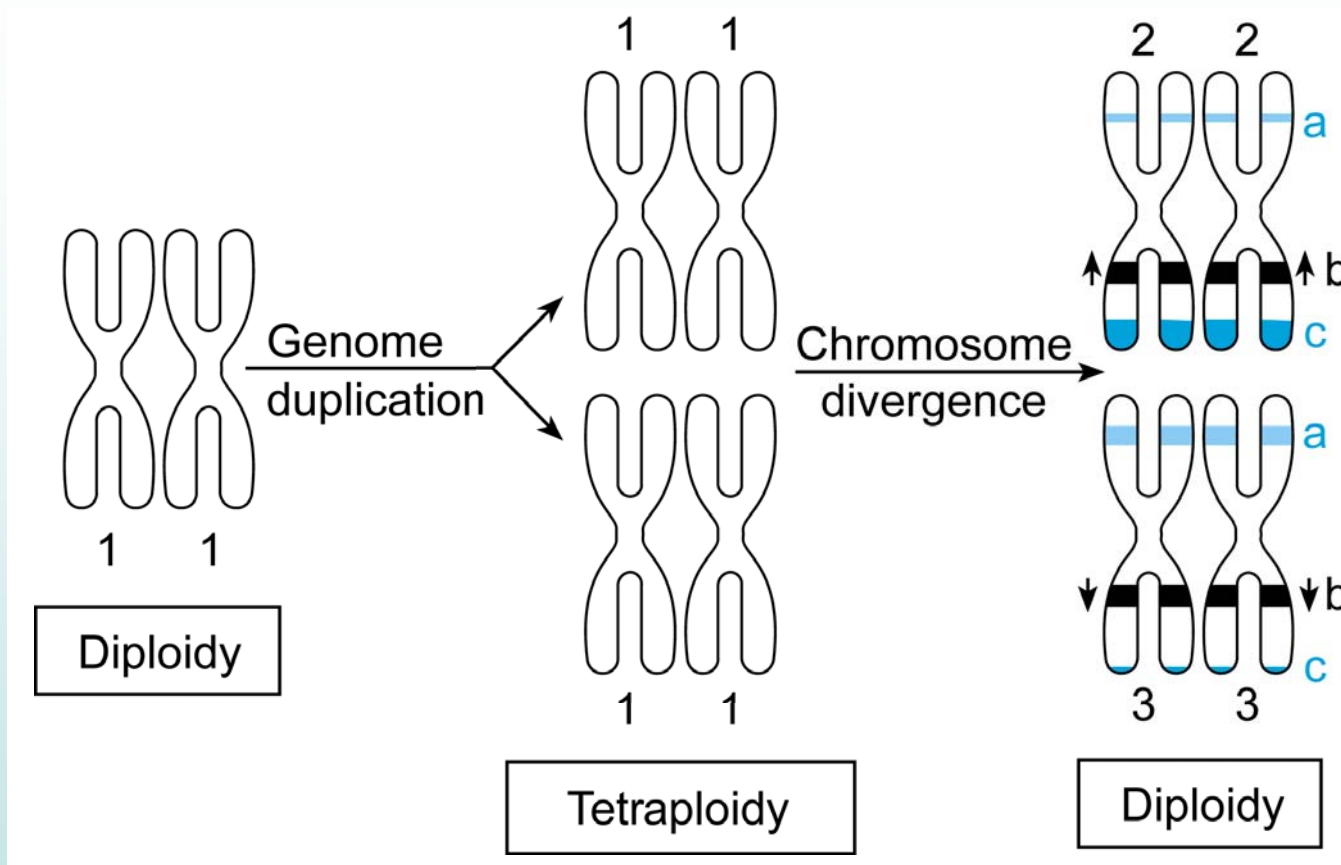
Po génovej duplikácii je pod selekčným tlakom len jedna kópia génu;

druhá môže voľne akumulovať mutácie

→ **pseudogén (ψA)**

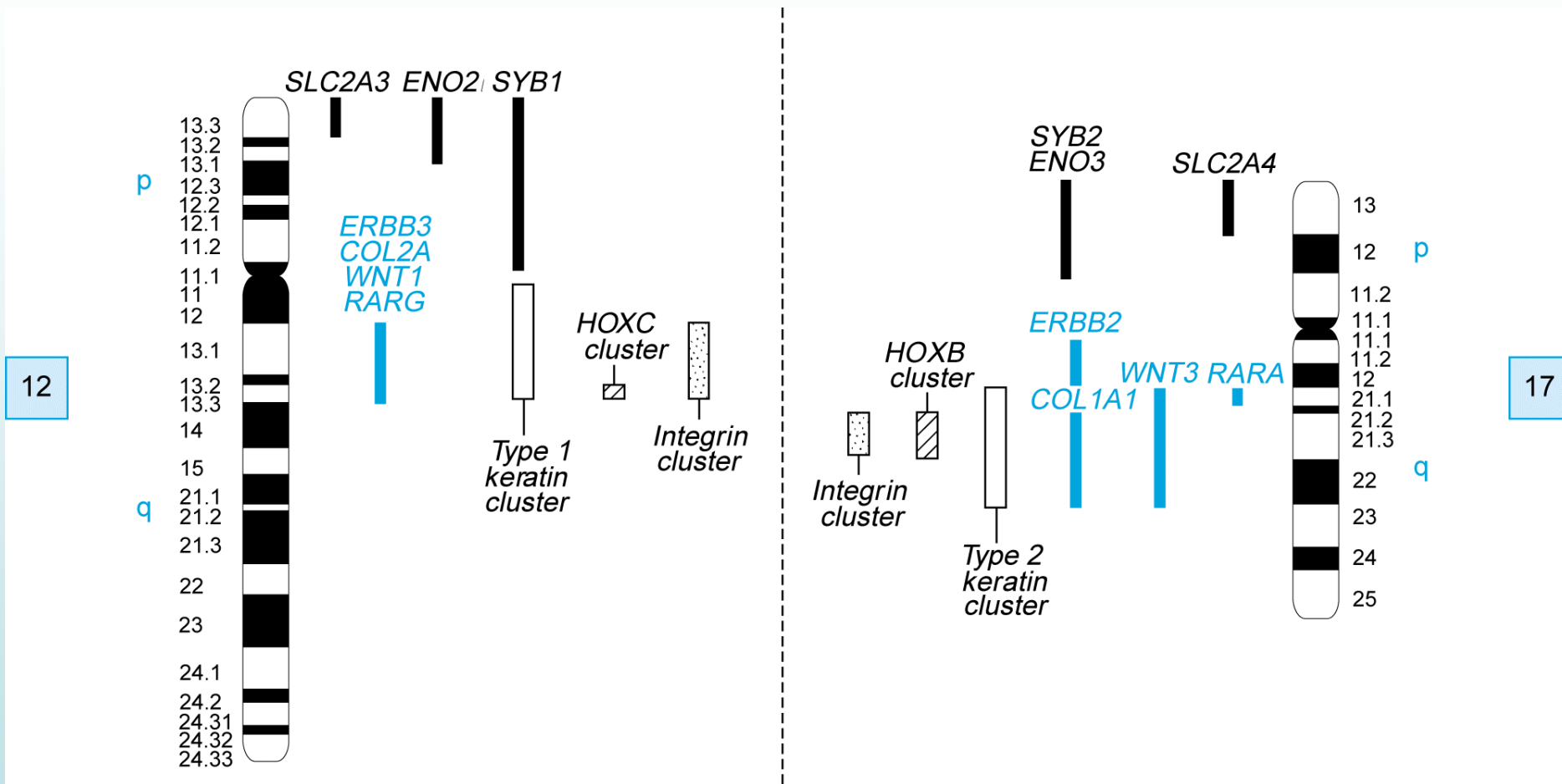
→ **gén s novou funkciou (A2)**

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



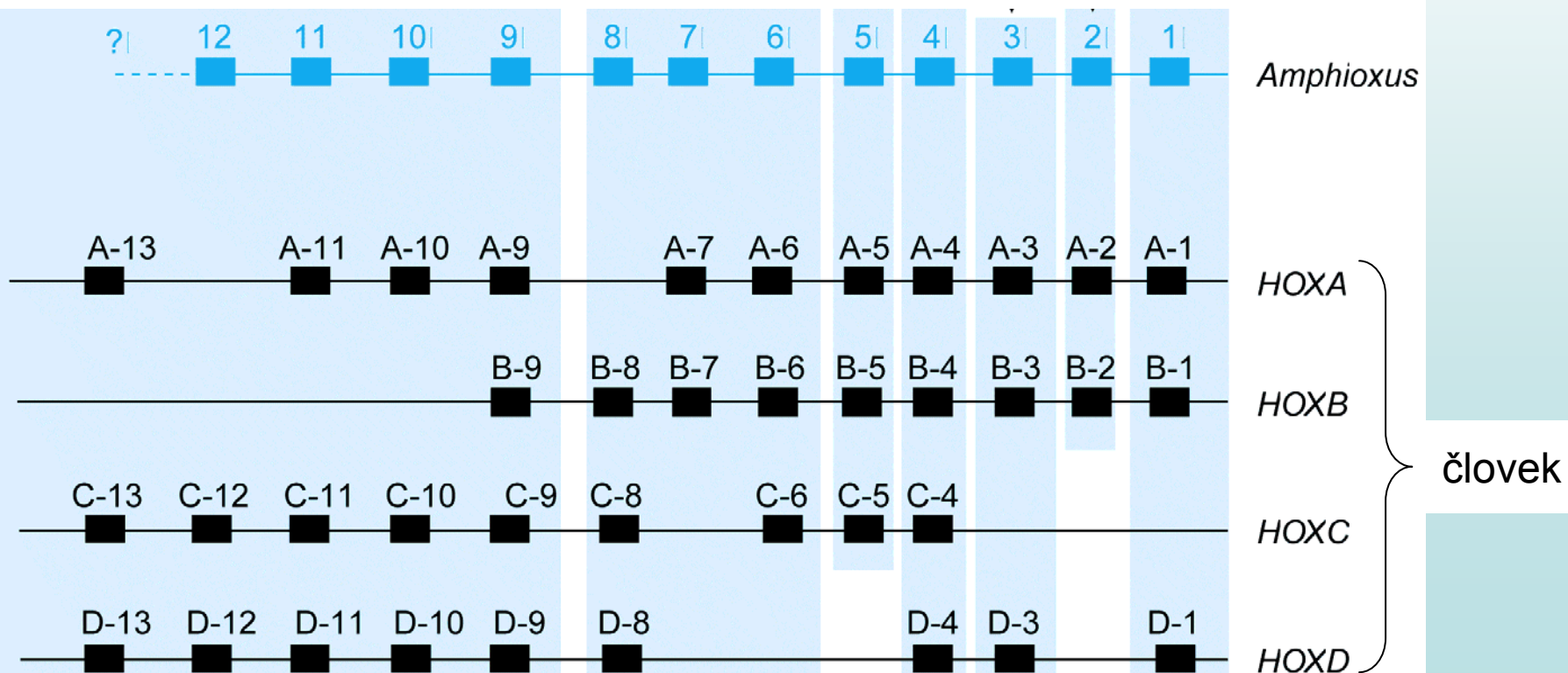
Paralogické segmenty chr. 12 a 17 sú asi pozostatkom dávnej genómovej duplikácie

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

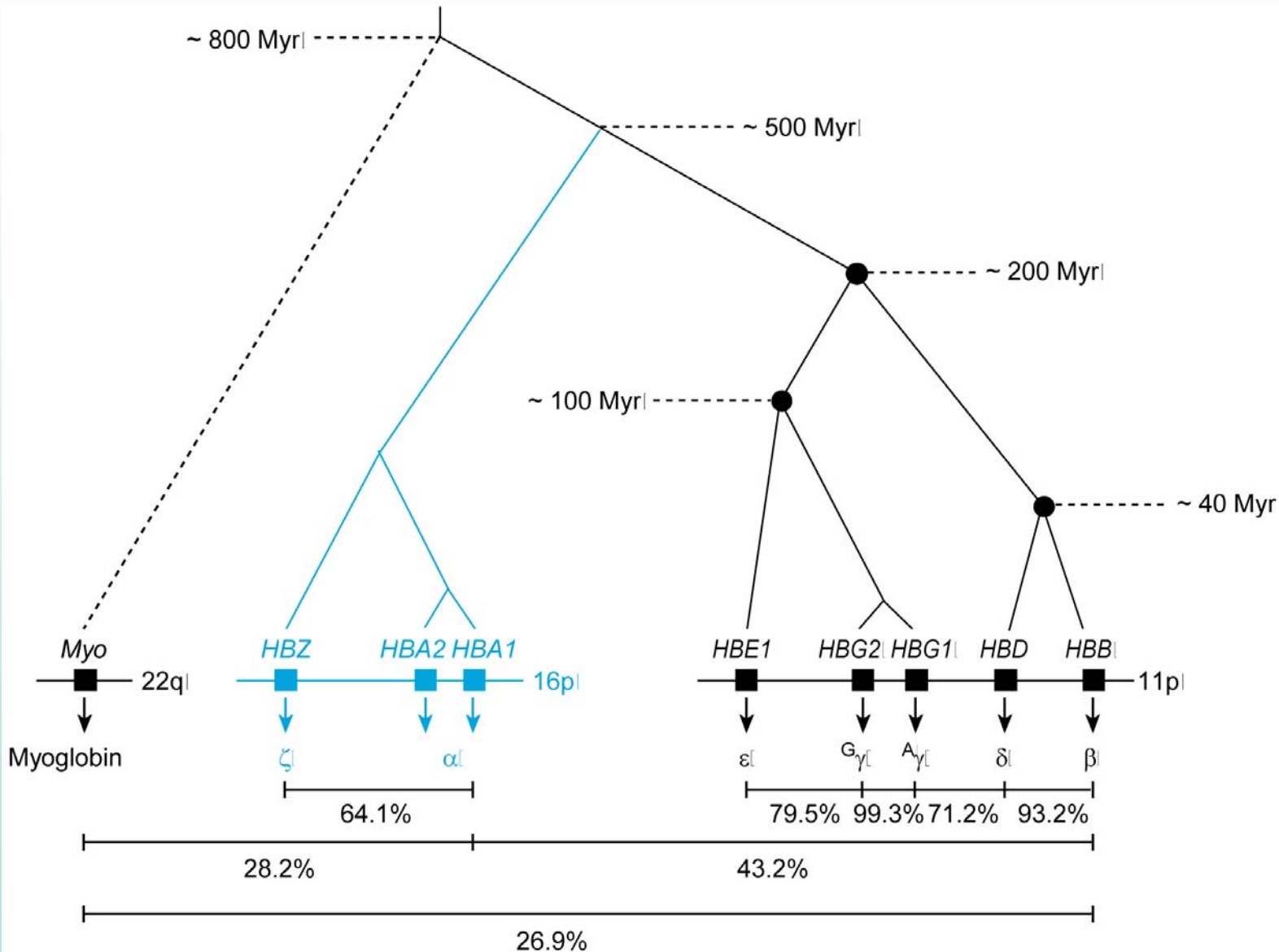
Amphioxus: 12 *HOX* génov v rámci jednej génovej rodiny

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

→ zrejme nastali dve tetraploidizácie



Evolúcia a sekvenčná homológia globínových génov



→ globíny kódované génmi jednej rodiny vykazujú vyšší stupeň sekvenčnej homológie ako globíny kódované rozličnými rodinami

→ blízka príbuznosť susedných génov v génovej rodine

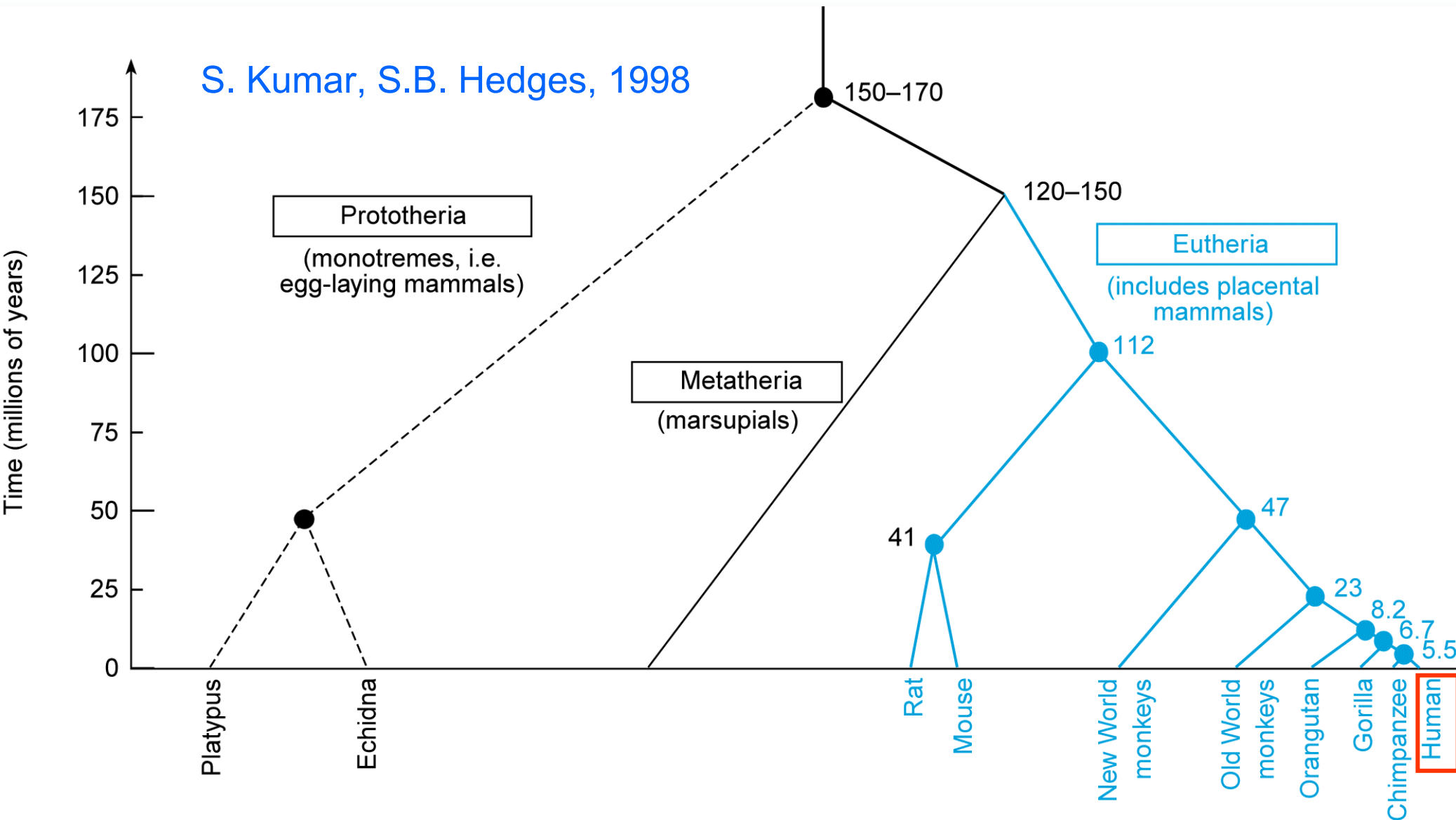
Sekvenčná homológia medzi ortológmi vzdialených druhov väčšia ako medzi génmi tej istej génovej rodiny:

→ výmeny sekvencií medzi globínovými génmi v rámci rodiny nie sú časté

→ selekčný tlak

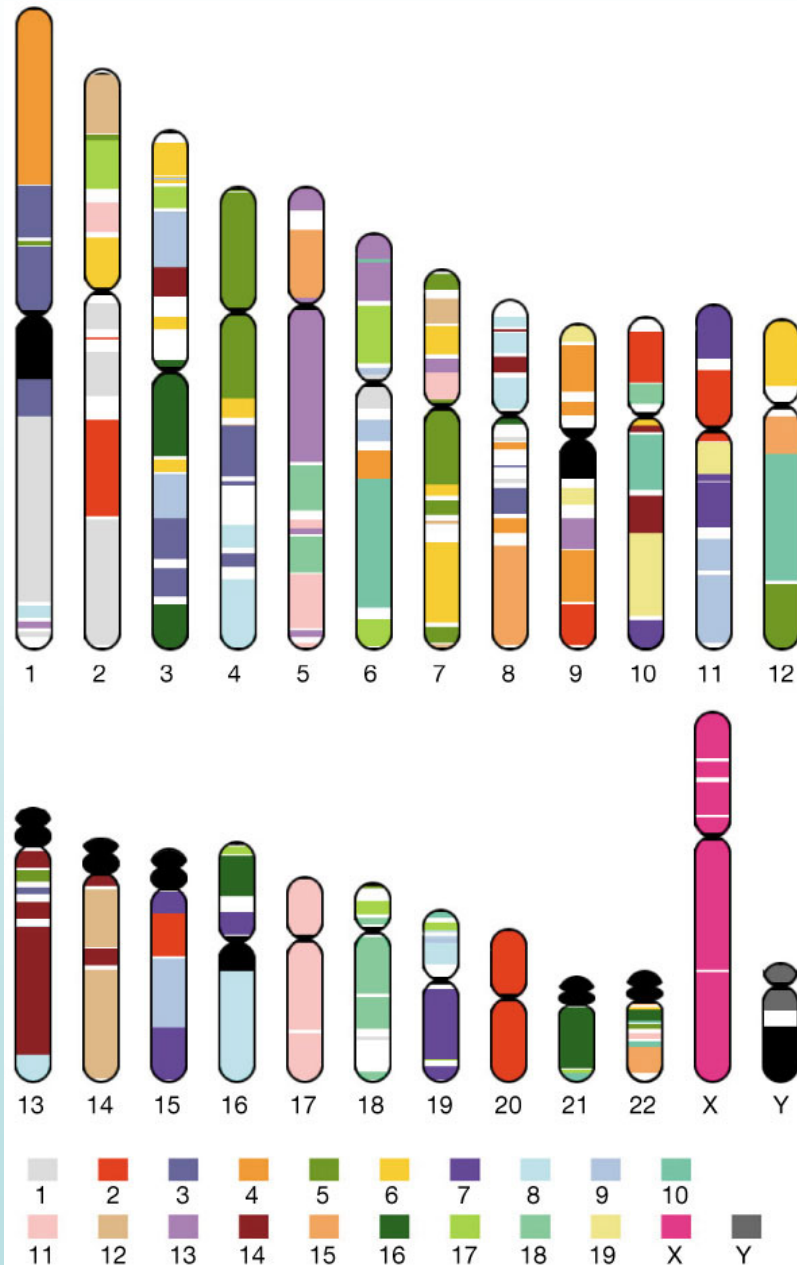
Fylogenéza cicavcov: kombinácia molekulárnych a paleontologických dát

S. Kumar, S.B. Hedges, 1998

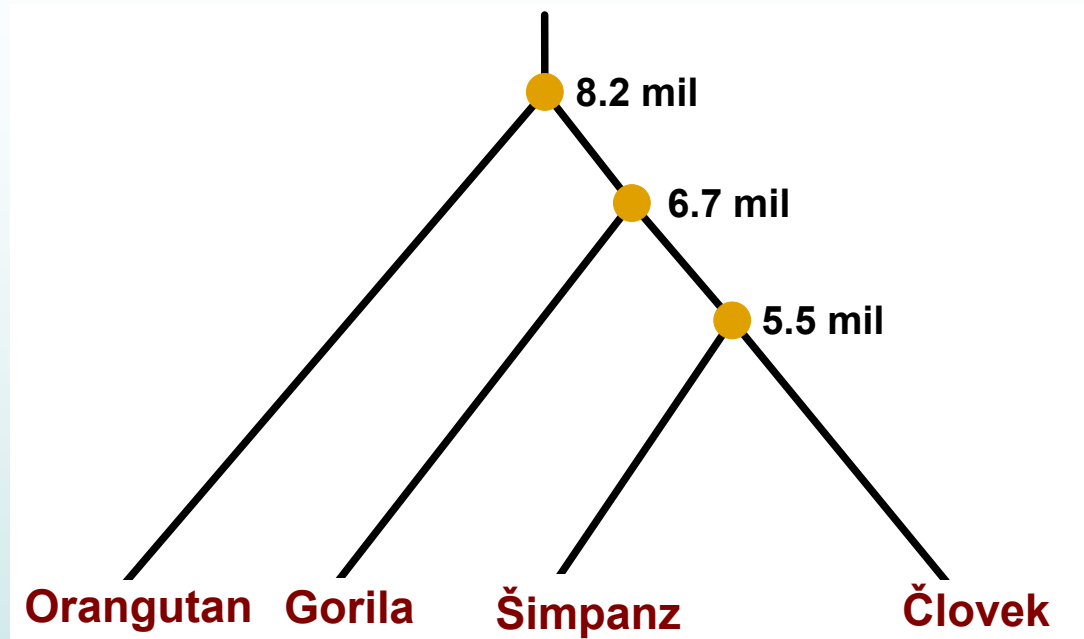


Čím sa odlišujeme od myši?

- 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 ľudoopov?



◇ 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
- „Bottleneck“ asi nastal pred rádovo niekoľko 100 000 rokmi (možno len 200 000) a prežilo ho len rádovo stovky až tisíce jedincov

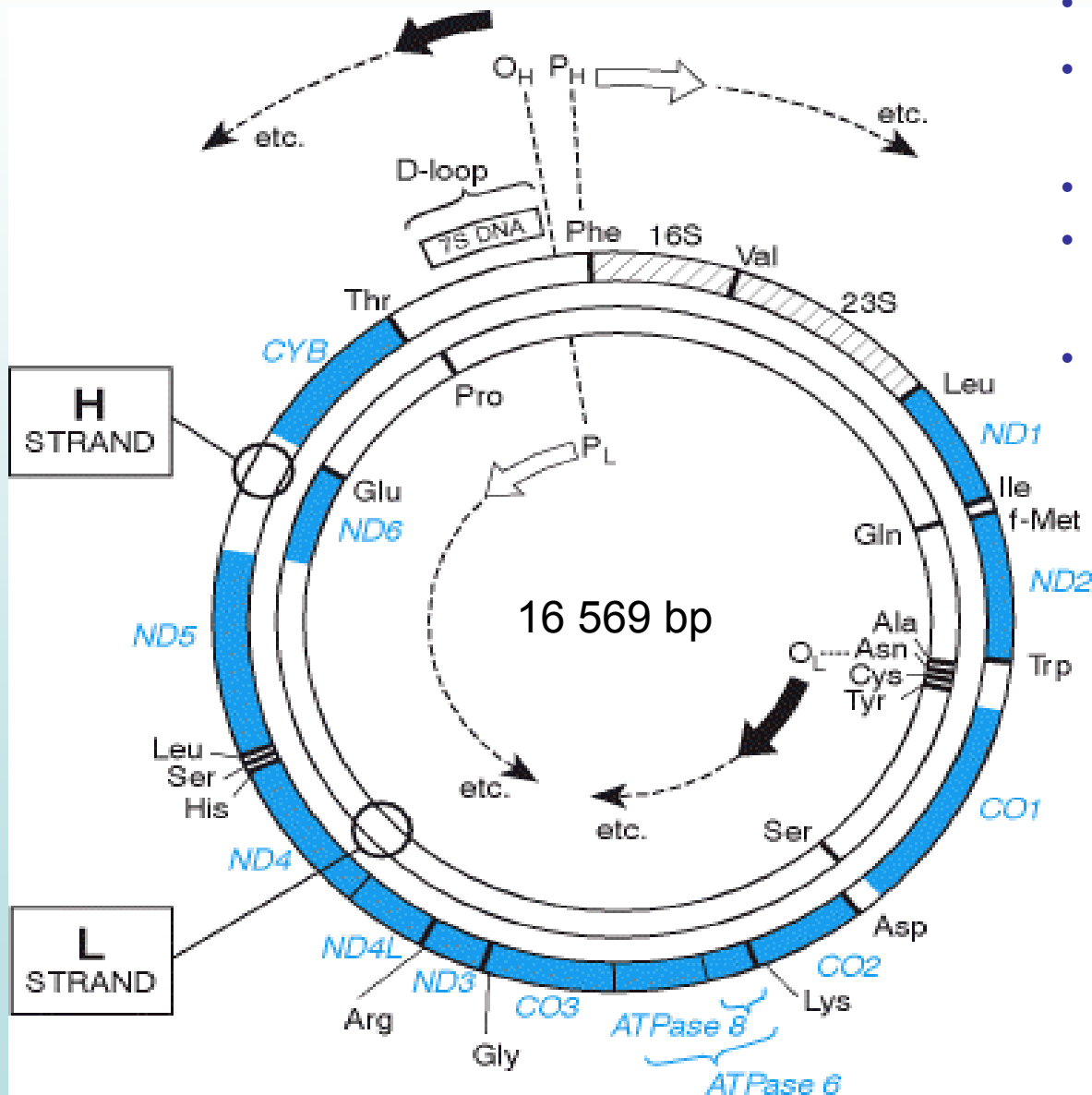
Molekulárne aspekty evolúcie druhu *Homo sapiens*

- 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 mtDNA 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 (majú v sebe zapísanú vlastnú genealógiu)
- 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

Štruktúra ľudskej mtDNA

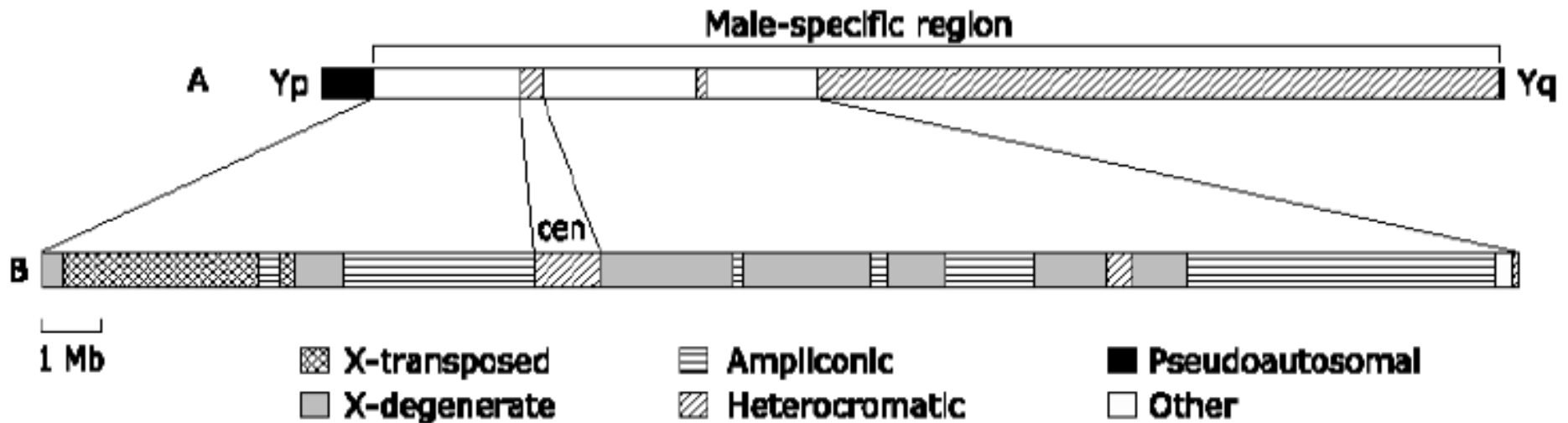


- cirkulárna, 2-vláknová, 16 569 bp
- 1/200 000 veľkosti jadrového genómu
- niekoľko 100-1000 kópií na bunku
- Kódujúce oblasti - 93 % 37 tesne usporiadaných génov
- Kontrolná oblasť - 7 % približne 1200bp hypervariabilné segmenty HVSI (CRS: np 16024-16383) a HVSII (np 57-372)

Key:

- ➔ O_H, O_L origin and direction of synthesis of heavy and light strands
- ➔ P_H, P_L origin and direction of transcription of heavy and light strands
- ▨ rRNA genes
- | tRNA genes
- Genes encoding proteins

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*)

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

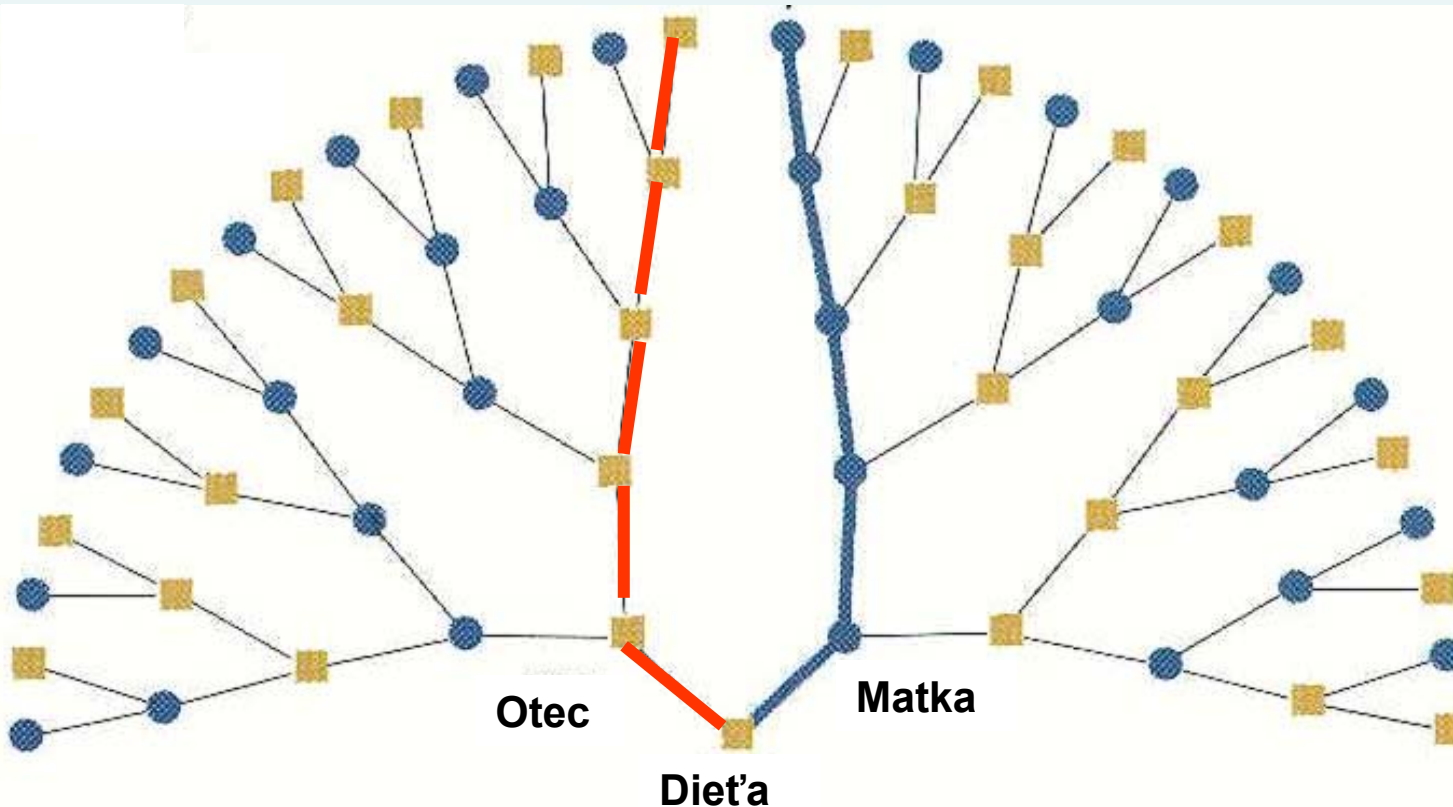
mtDNA a Y-DNA: žiadna rekombinácia



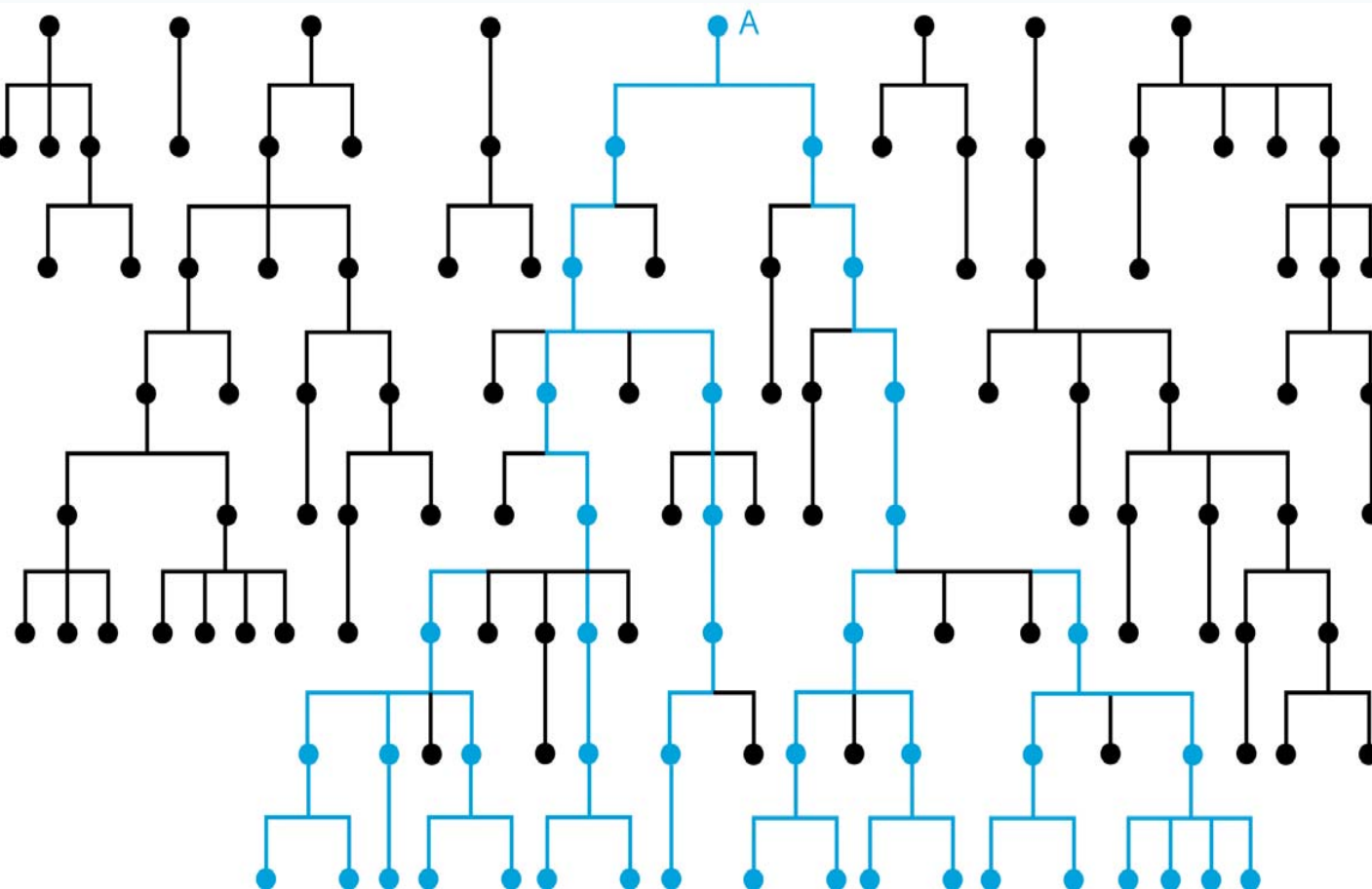
prenos „en bloc“ cez generácie



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

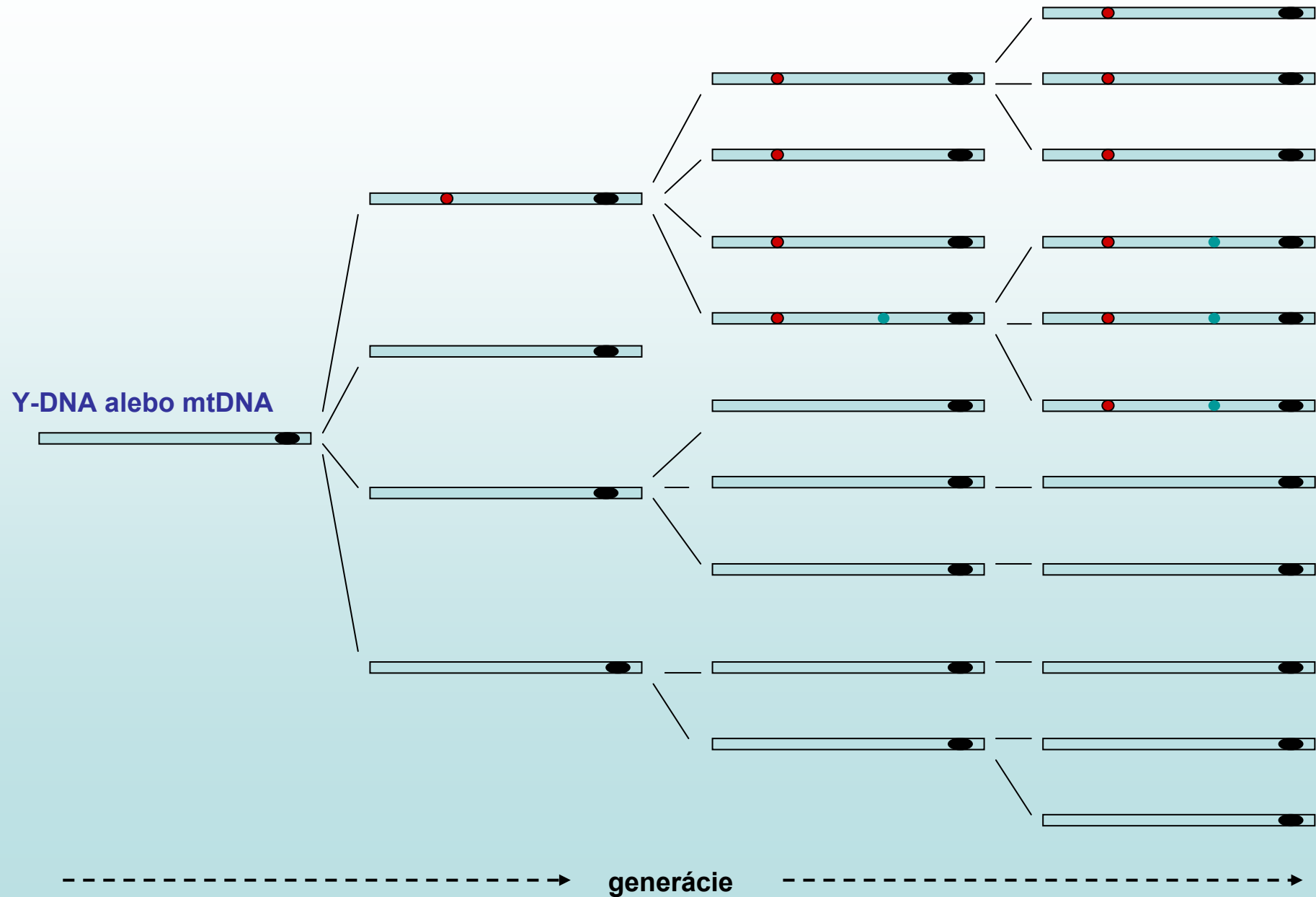


Koalescencia línií mtDNA a Y-DNA

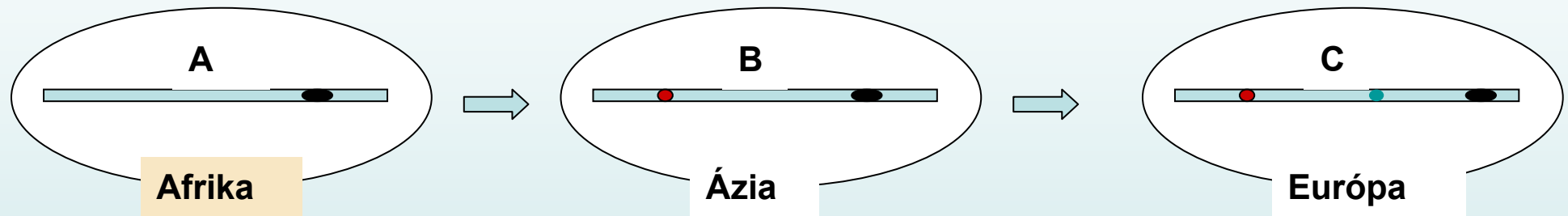


- Možno nájsť spoločného predka pre členov akejkoľvek populácie/taxónu
- V každej generácii dôjde k zániku a naopak k zmnoženiu niektorých línií
- Po čase v rovnovážnej populácii prevládne mt/Y DNA odvodené od jedného spoločného predka

Mutácie a ich postupnosť

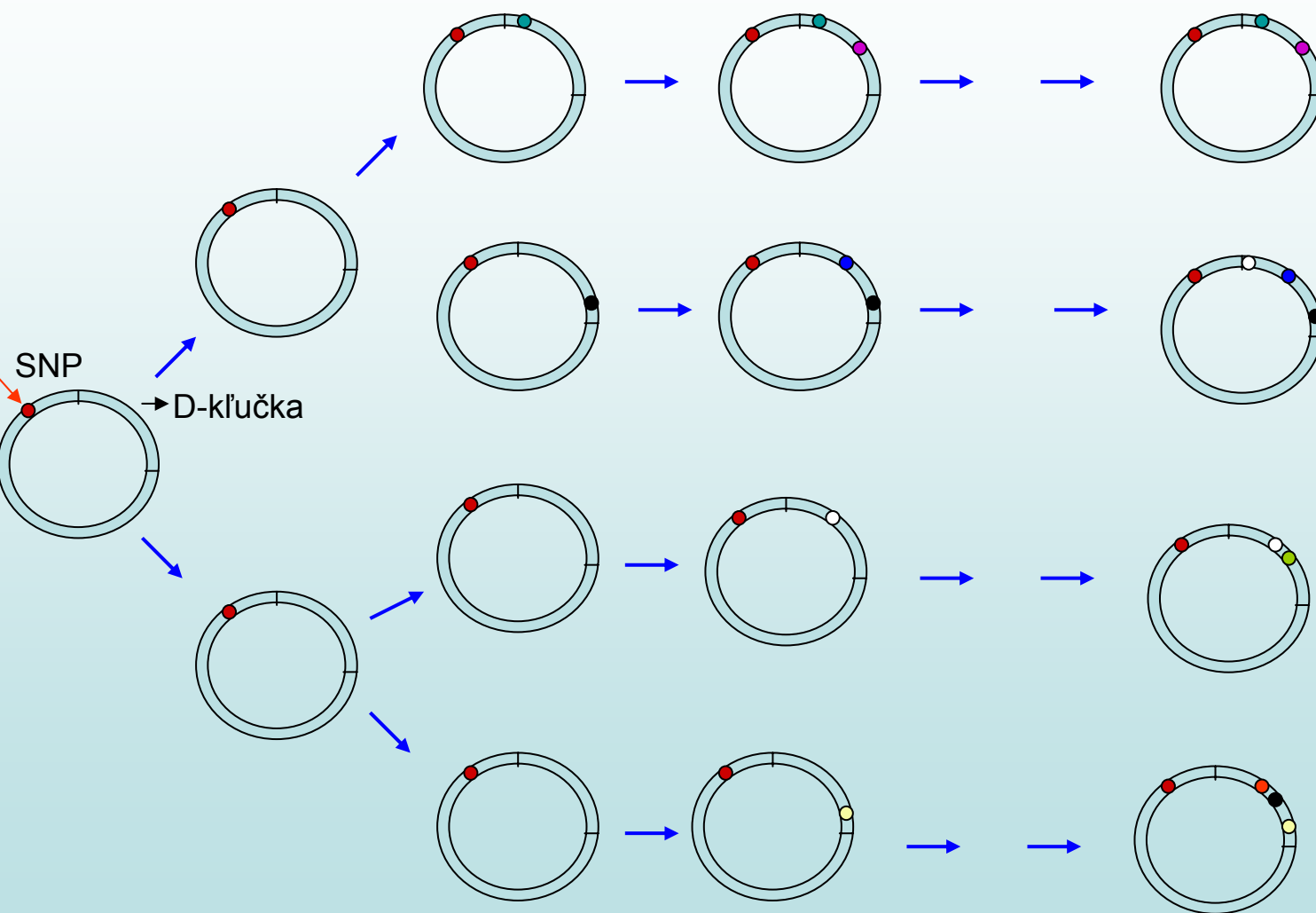


Mutácie a migrácia



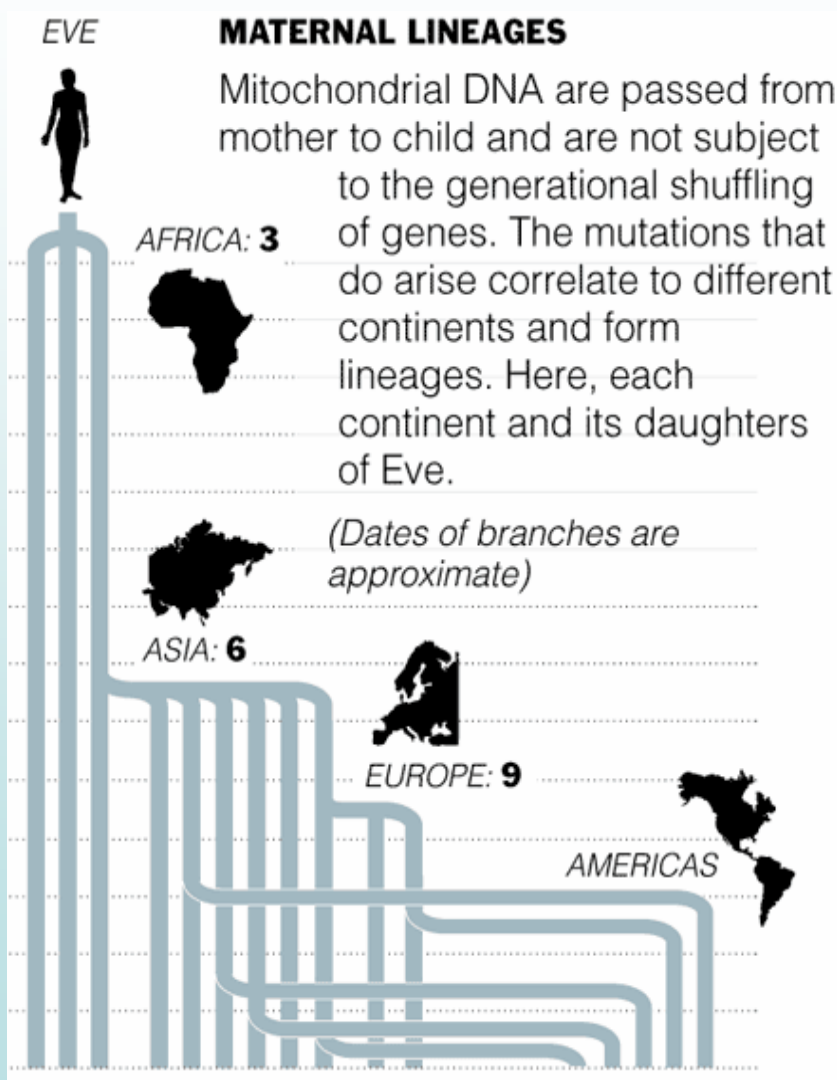
- Ak vieme, že haplotyp B je odvodený od A a haplotyp C od B, pričom jednotlivé haplotypy sa nachádzajú na uvedených kontinentoch, migrácia populácií prebiehala v smere, znázornenom šípkami
- V praxi sa častejšie sleduje migrácia haploskupín ako migrácia haplotypov
- Možné problémy: spätné mutácie; spätná migrácia

Odhad veku mutácie na mtDNA



S pribúdajúcimi generáciami od mutácie (SNP) vzrastá variabilita v sekvenci mitochondriálnej D-kľučky medzi nositeľmi tejto mutácie

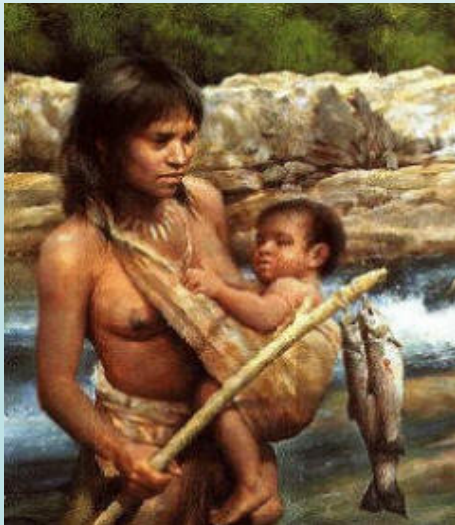
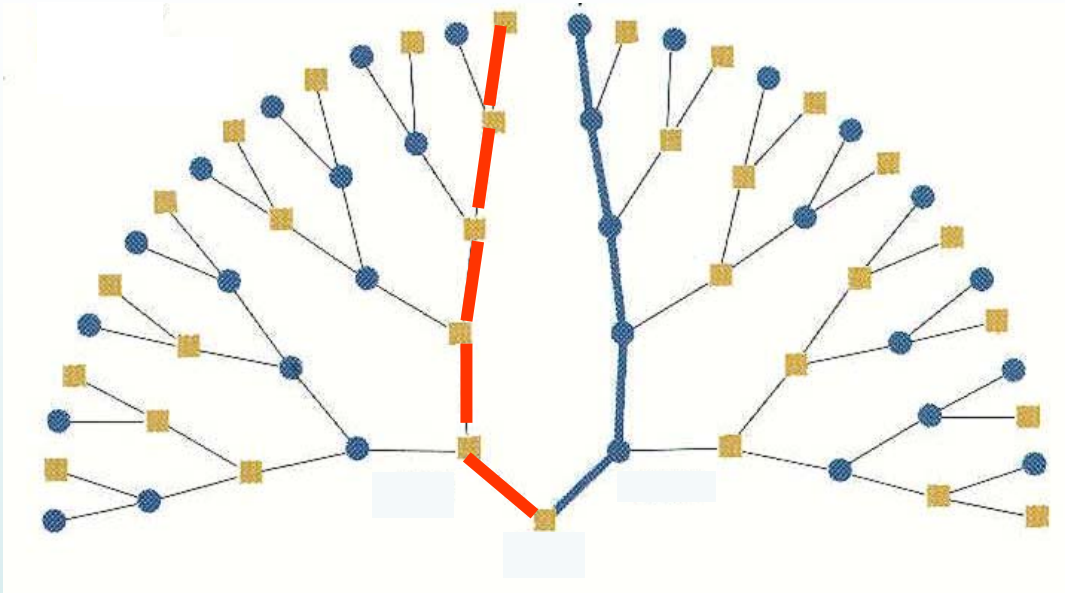
Haploskupiny mtDNA



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

Mitochondriálna DNA a „mitochondriálna Eva“



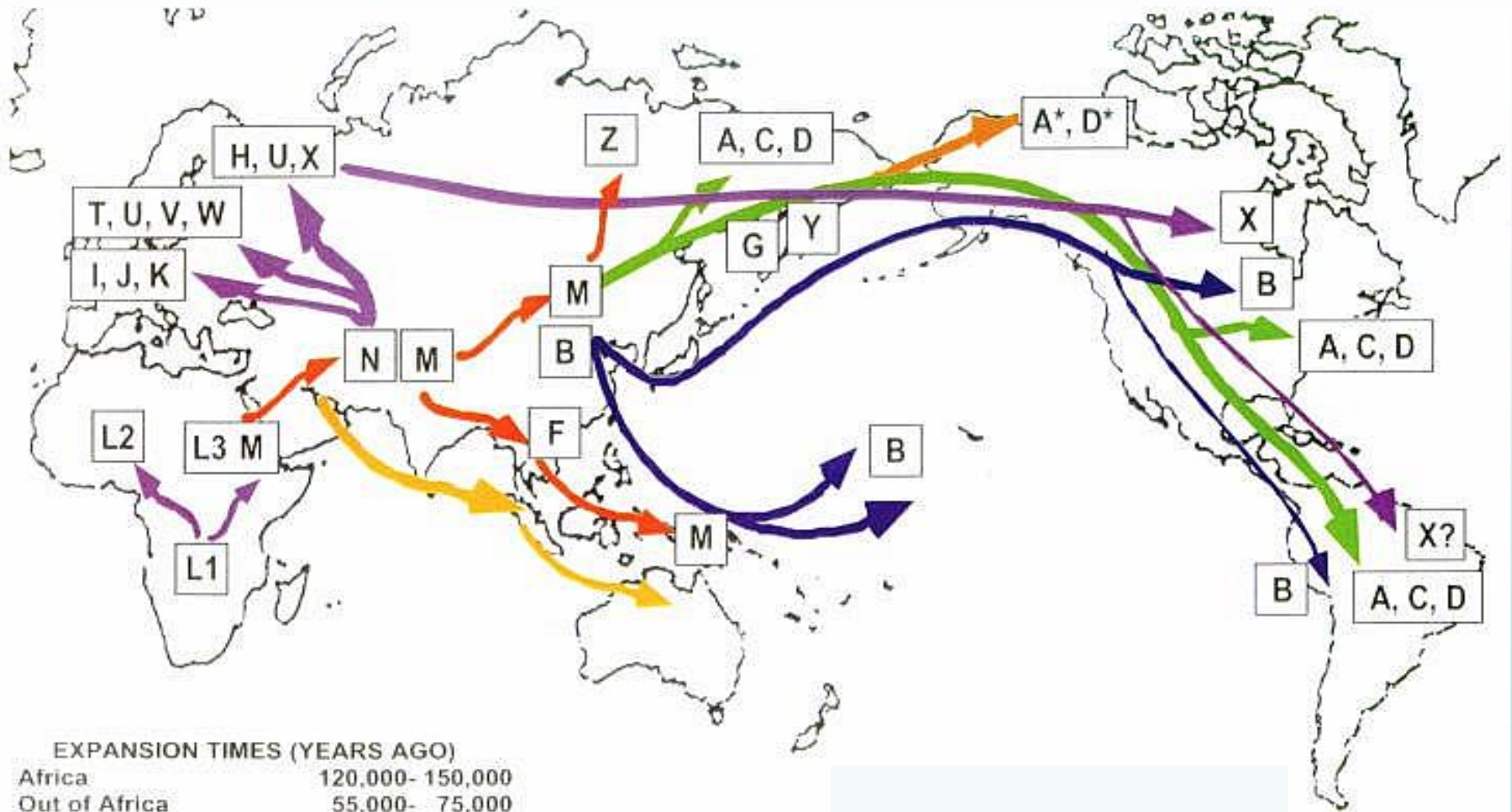
- to umožňuje sledovať mtDNA línie ďaleko do minulosti až k spoločnej mtDNA „pramatke“ – **„mitochondriálna Eva“** – žila pred cca 150 000 rokmi v Afrike

- mtDNA sa prenáša len po materskej línii
- možno sledovať prenos cez generácie „po praslici“
- každý má v ktorejkoľvek predchádzajúcej generácii len jedného (ženského) predka od ktorého zdedil mtDNA
- postupom generácií sa v mtDNA pomaly hromadia mutácie

len jej mtDNA sa zachovala dodnes

- štúdium mtDNA umožňuje rekonštruovať osídľovanie kontinentov (napr. aj Európy)

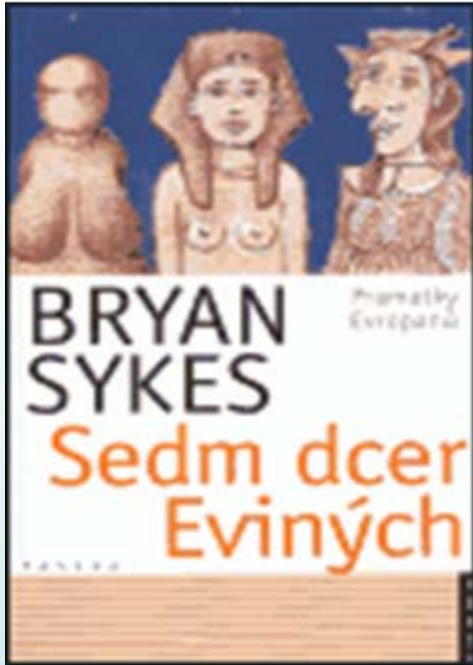
Rozšírenie hlavných línií mtDNA



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

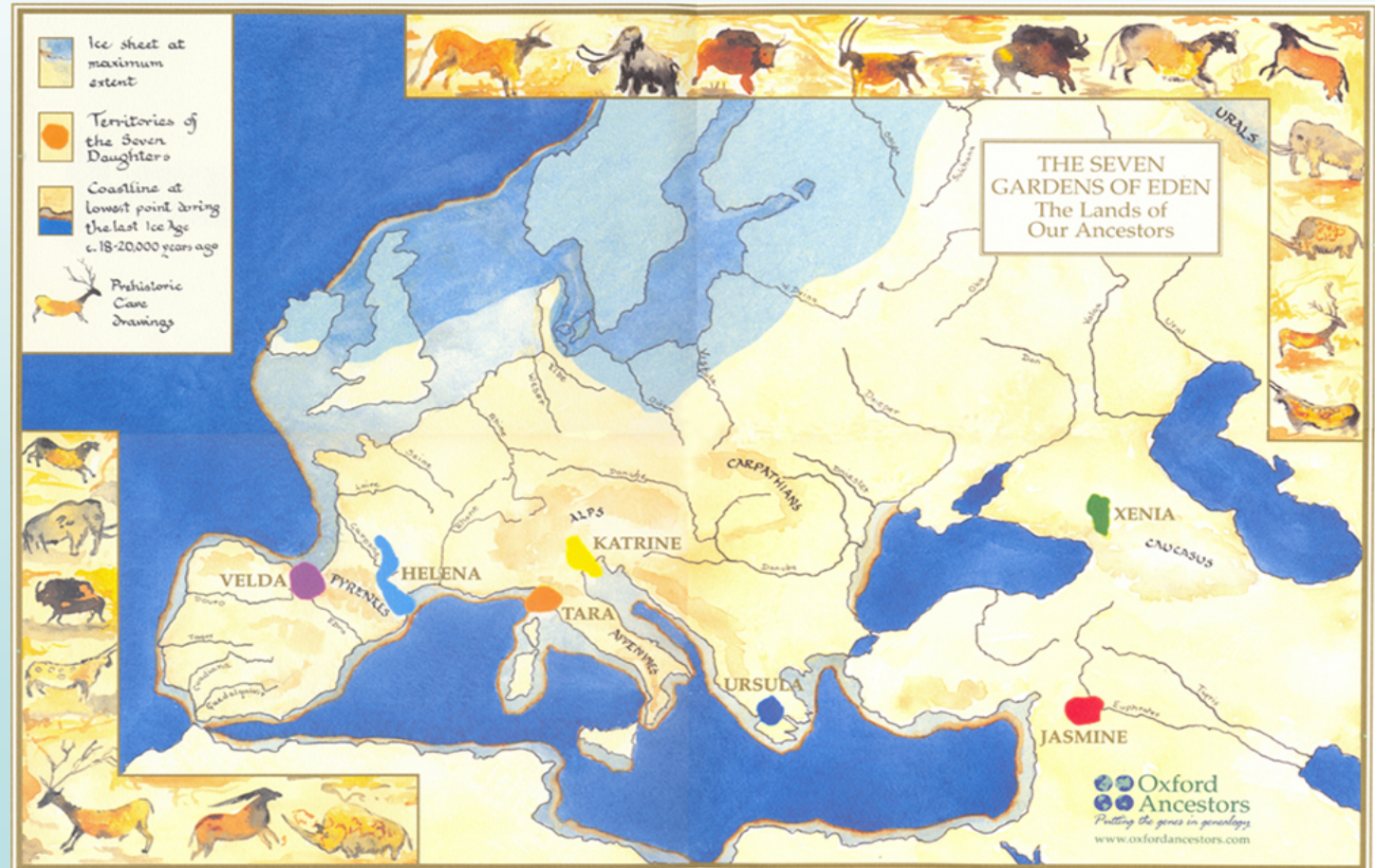
„Mitochondriálna Eva“ a jej „sedem dcér“ v Európe



V Európe je 7 hlavných haploskupín mtDNA:
H, J, K, T, U, V, X – sedem „Eviných dcér“

H, J,

Príslušnosť ku „klanu“ možno určiť testom DNA



Helena 20 000 r. **47%**

Jasmína 10 000 r. **20%**

Katarína 15 000 r. **6%**

Tara 17 000 r. **9%**

Uršula 45 000 r. **11%**

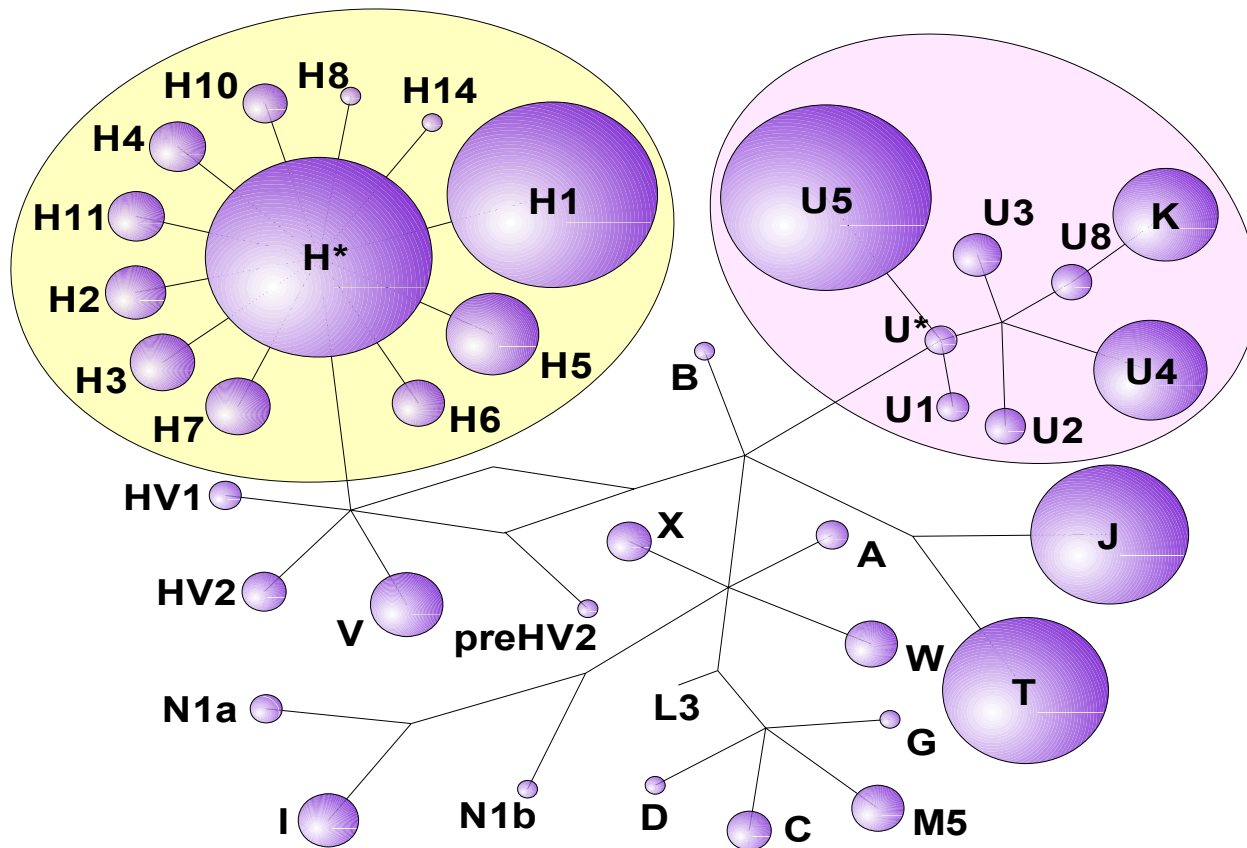
Velda 17 000 r. **5%**

Xénia 25 000 r. **2%**

„Sedem dcér Eviných“ na Slovensku

Tracing the maternal genetic roots of Slovaks – a phylogeographic analysis of mitochondrial DNA variability in Slovak population

Zuzana Koledová



Hs	%	vek (r.)
H	42%	21 000
J	8%	10 000
K	5%	20 200
T	9%	44 500
U	26%	57 000
V	3%	?
X	1%	25 000

Záver: ako inde v Európe

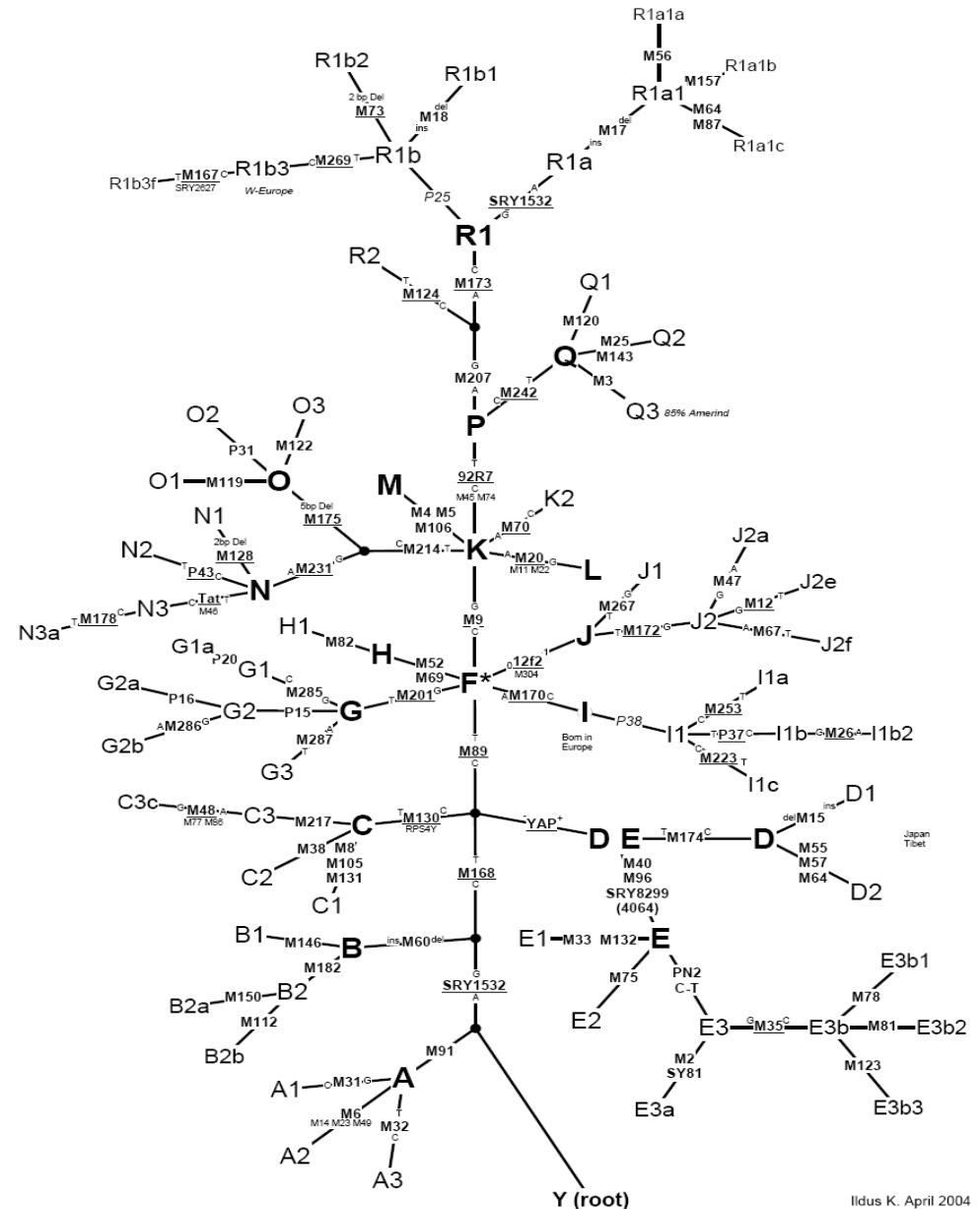
Markery na chromozóme Y

Bialelické markery (binárne)

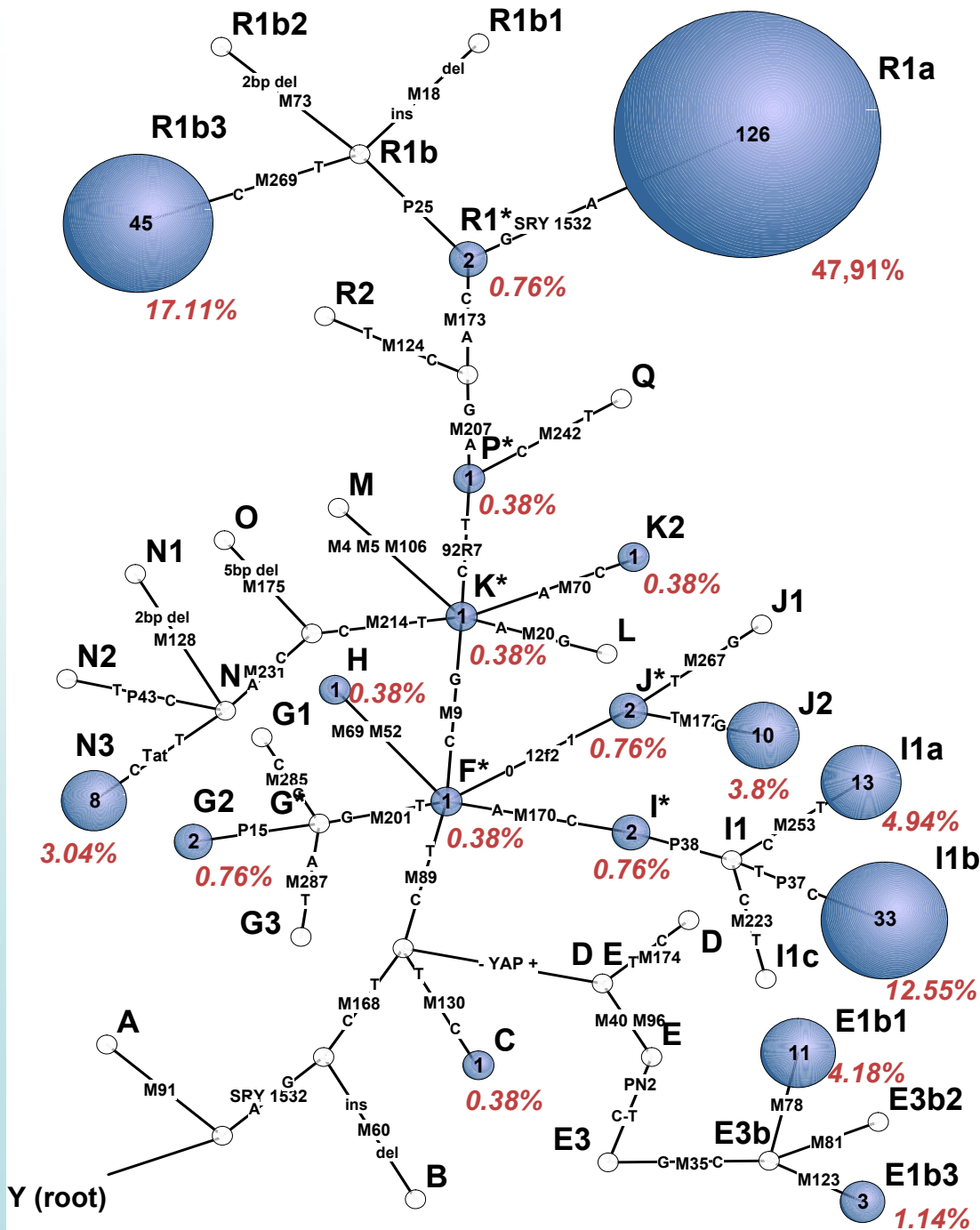
- SNP, inzerčno-delečné polymorfizmy, vyskytli sa v evolúcii len raz – definujú jednotlivé **haploskupiny**
- Nízka mutačná rýchlosť (10^{-8} /báza/generácia)
- Ancestrálne/odvodené štádium

Multialelické markery

- Mikrosatelity - **STR** polymorfizmy (menej ako 10bp) a minisatelity - **VNTR** polymorfizmy (10-100bp)
- Vysoká mutačná rýchlosť (až 10^{-4} /generáciu)
- Počet opakovaní – definuje **haplotyp**
- stanovenie diverzity, odhad veku haploskupiny

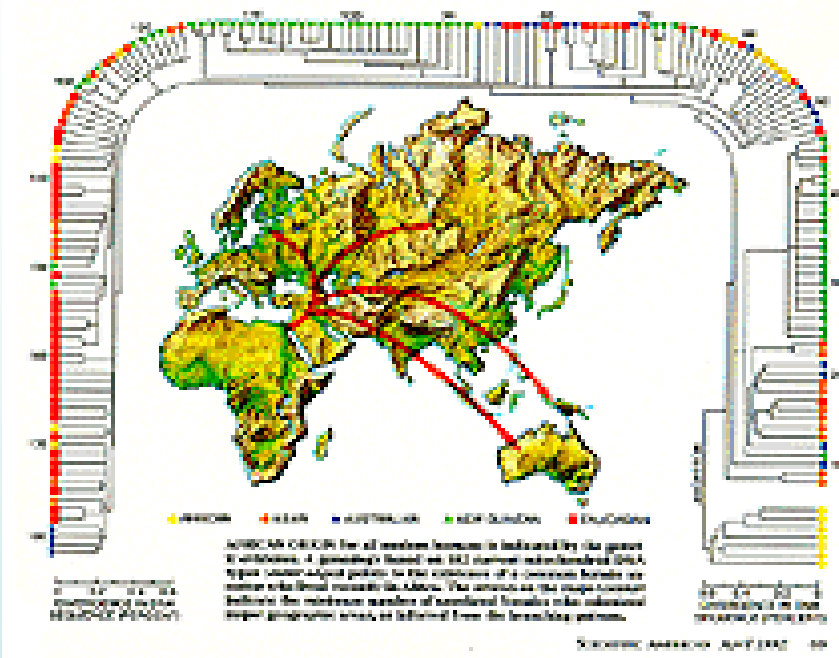


Hlavné Y-DNA línie v slov. populácii



- Najčastejšou líniou je R1a, ktorá je aj najčastejšia v Európe spolu s R1b (65%)
- Spoločný predok R1 žil pred 35 -40 000 rokmi
- Línia I – 22 % - pôvod z oblasti Balkánu - 22 000 rokov
- Línie J a E, ktoré sa považujú za markery neolitickej migrácie, majú početnosť cca 10%
- Línia N3 – 3 % (severná a východná Európa)

„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“

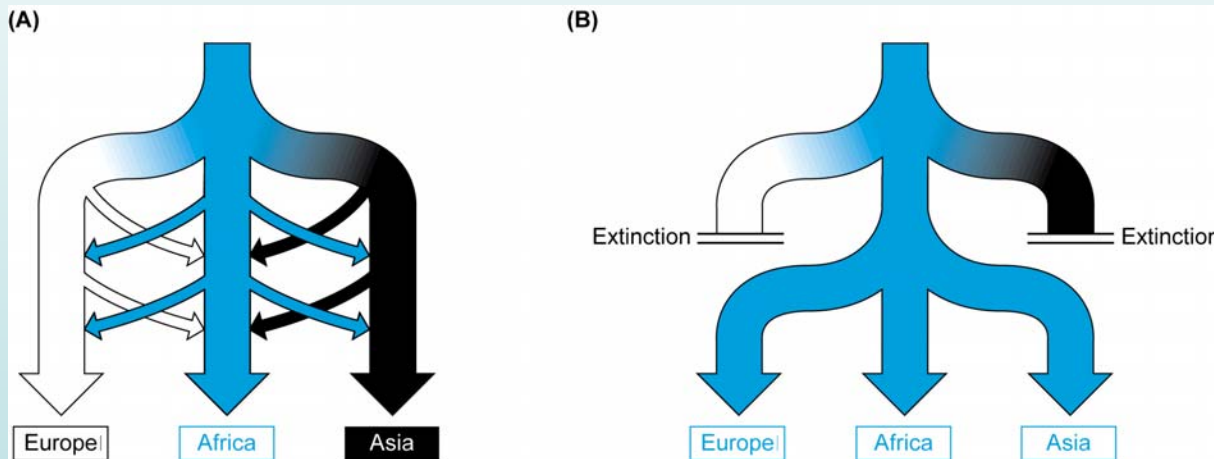
- spoločný predok všetkých dnešných ľudí žil v Afrike približne pred 150 000 rokmi

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

„out of Africa“

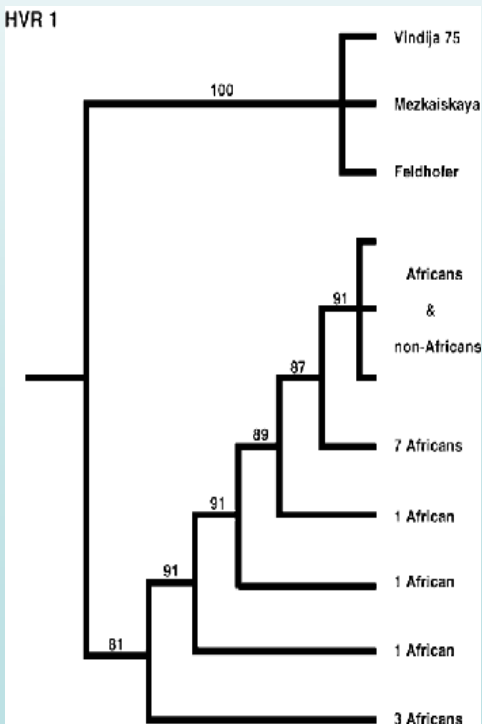


výsledky štúdia mtDNA a Y-DNA sú navzájom veľmi podobné (hoci nie vždy úplne identické)

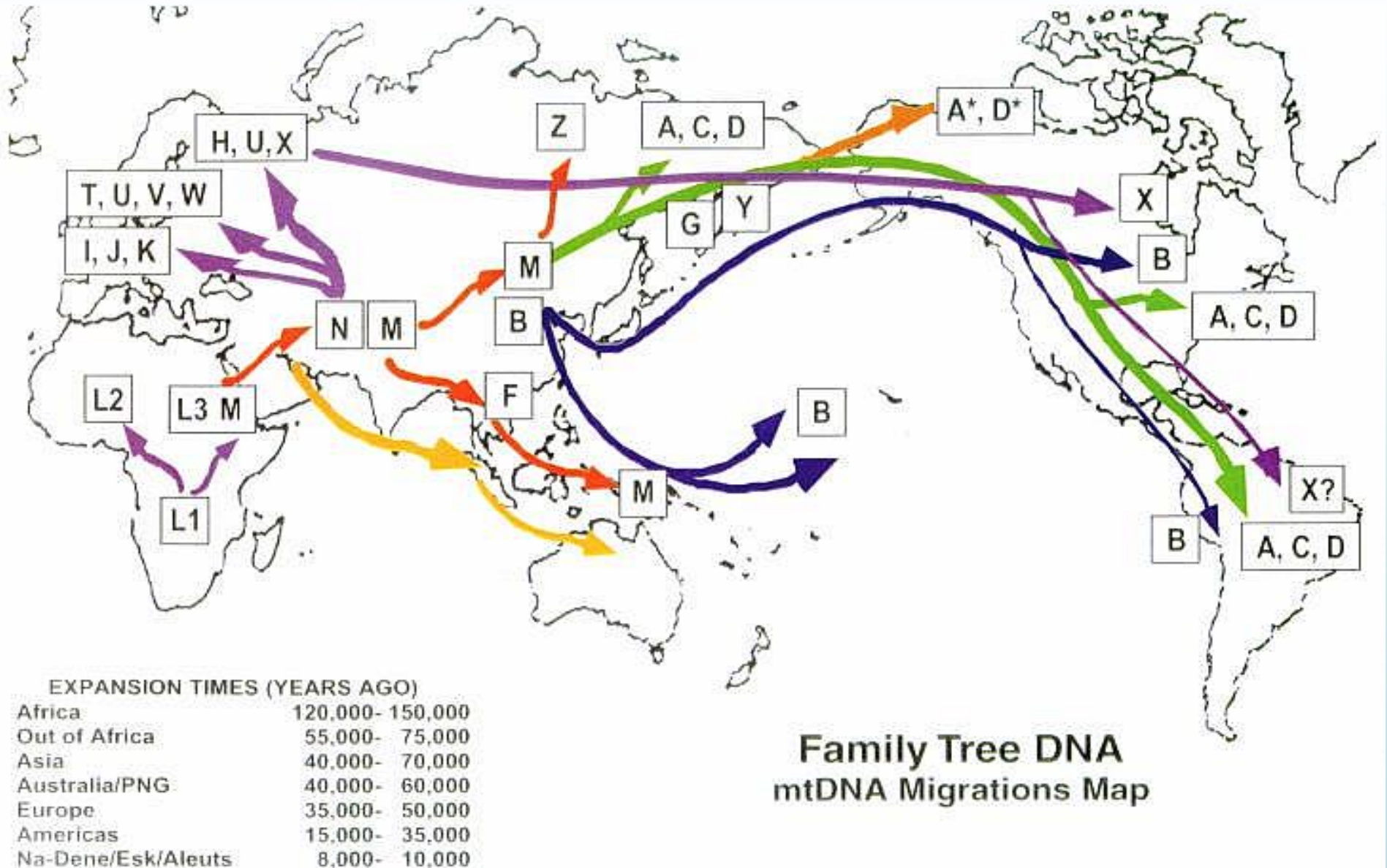
H. sapiens vs. *H. neanderthalensis*



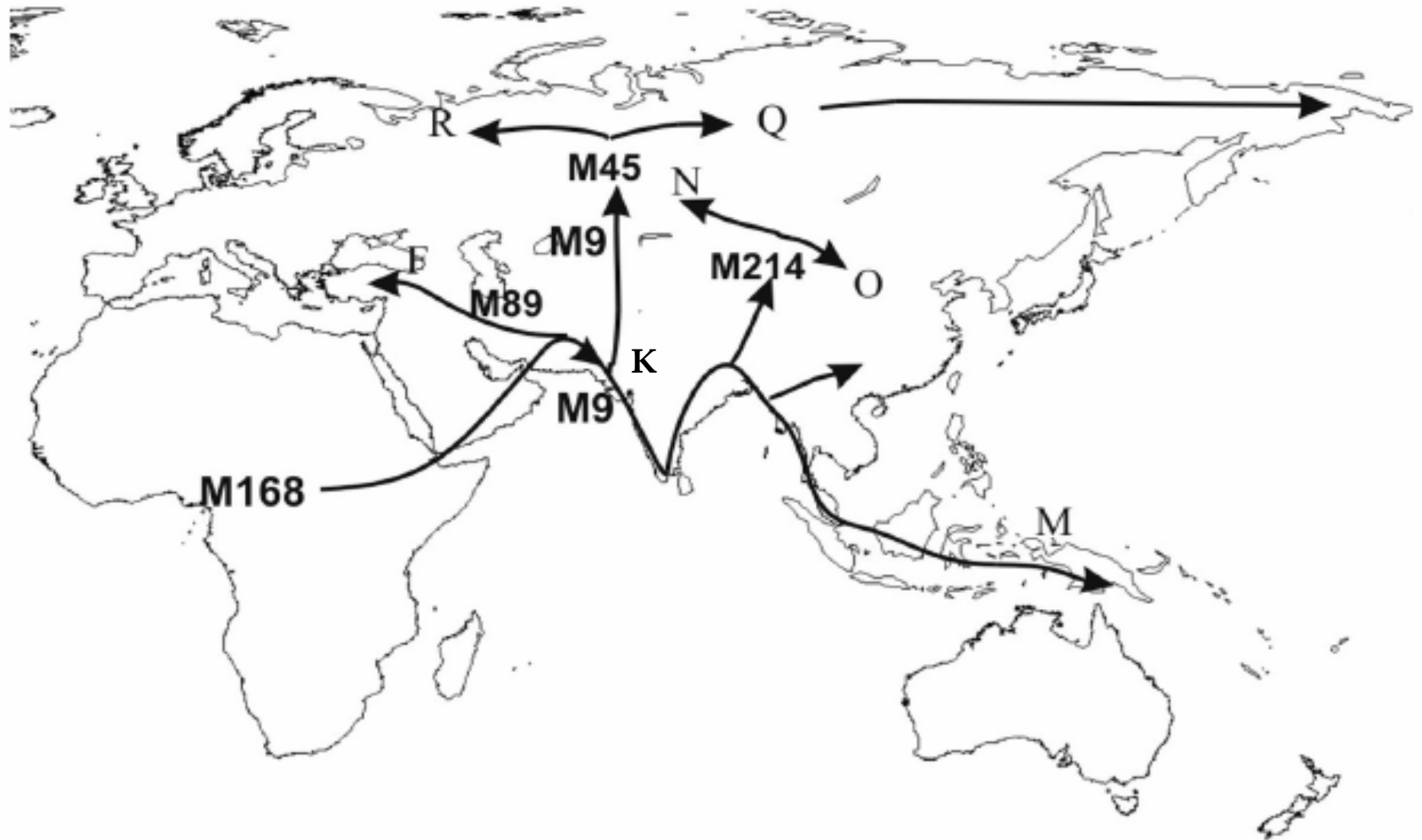
- *Homo neanderthalensis*, v Európe žil pred približne 300 000 až 28 000 r.
- spoločná koexistencia s anatomicky moderným *H. sapiens* trvala približne 30 000 rokov
- mtDNA izolovaná fosílnych vzoriek neandertálcov vykazuje v D-kľučke mtDNA 3,5 - 7 % divergenciu oproti *H. sapiens*
- nízka variabilita 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 jebočnou vývojovou vetvou, ktorá nezanechala stopy v našom genofonde



Rozšírenie hlavných línií (haploskupín) mtDNA



Šírenie hlavných línií chromozómu Y z Afriky



Osídľovanie kontinentov – podľa mtDNA a Y-DNA

Europe

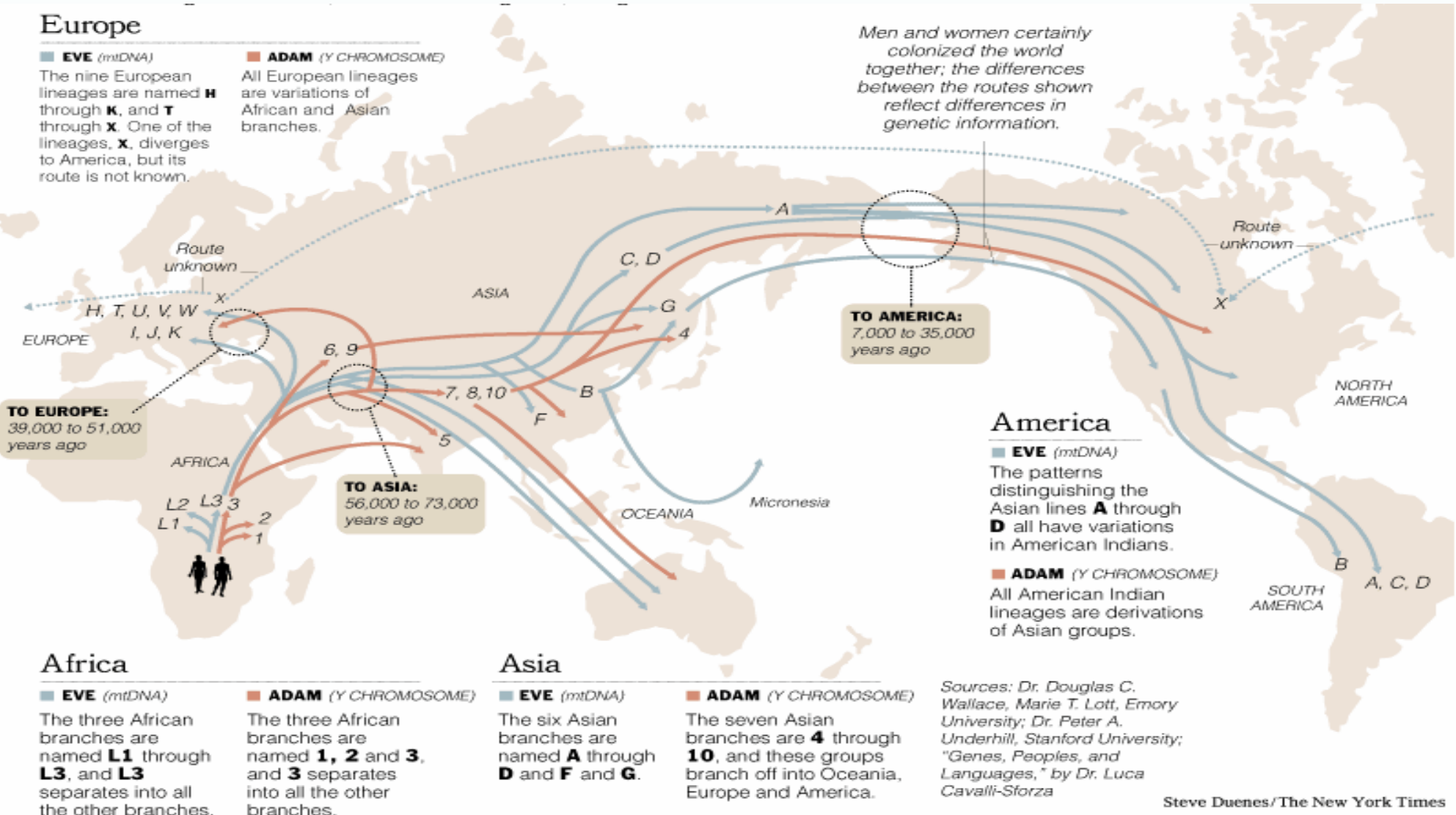
EVE (mtDNA)

The nine European lineages are named **H** through **K**, and **T** through **X**. One of the lineages, **X**, diverges to America, but its route is not known.

ADAM (Y CHROMOSOME)

All European lineages are variations of African and Asian branches.

Men and women certainly colonized the world together; the differences between the routes shown reflect differences in genetic information.



Africa

EVE (mtDNA)

The three African branches are named **L1** through **L3**, and **L3** separates into all the other branches.

ADAM (Y CHROMOSOME)

The three African branches are named **1**, **2** and **3**, and **3** separates into all the other branches.

Asia

EVE (mtDNA)

The six Asian branches are named **A** through **D** and **F** and **G**.

ADAM (Y CHROMOSOME)

The seven Asian branches are **4** through **10**, and these groups branch off into Oceania, Europe and America.

America

EVE (mtDNA)

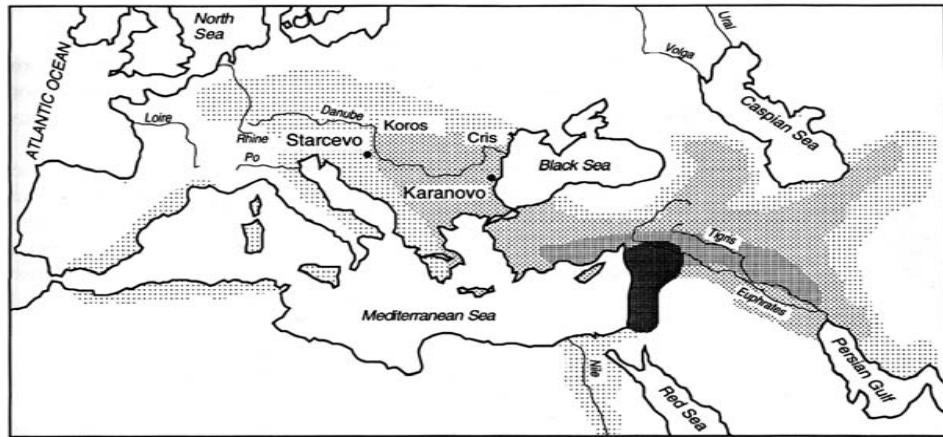
The patterns distinguishing the Asian lines **A** through **D** all have variations in American Indians.

ADAM (Y CHROMOSOME)

All American Indian lineages are derivations of Asian groups.

Sources: Dr. Douglas C. Wallace, Marie T. Lott, Emory University; Dr. Peter A. Underhill, Stanford University; "Genes, Peoples, and Languages," by Dr. Luca Cavalli-Sforza

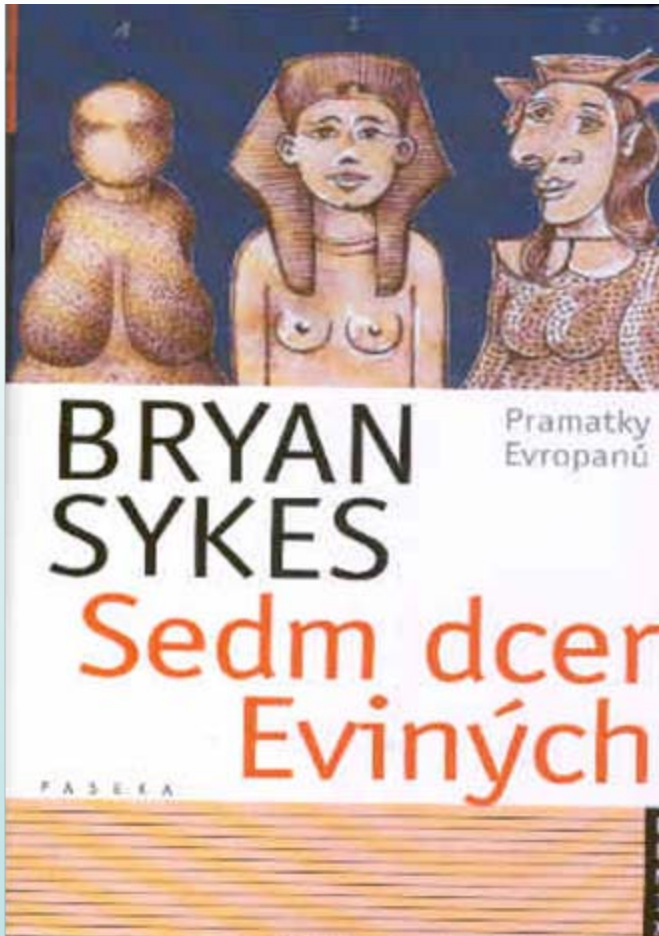
Neolitické osídlenie Európy



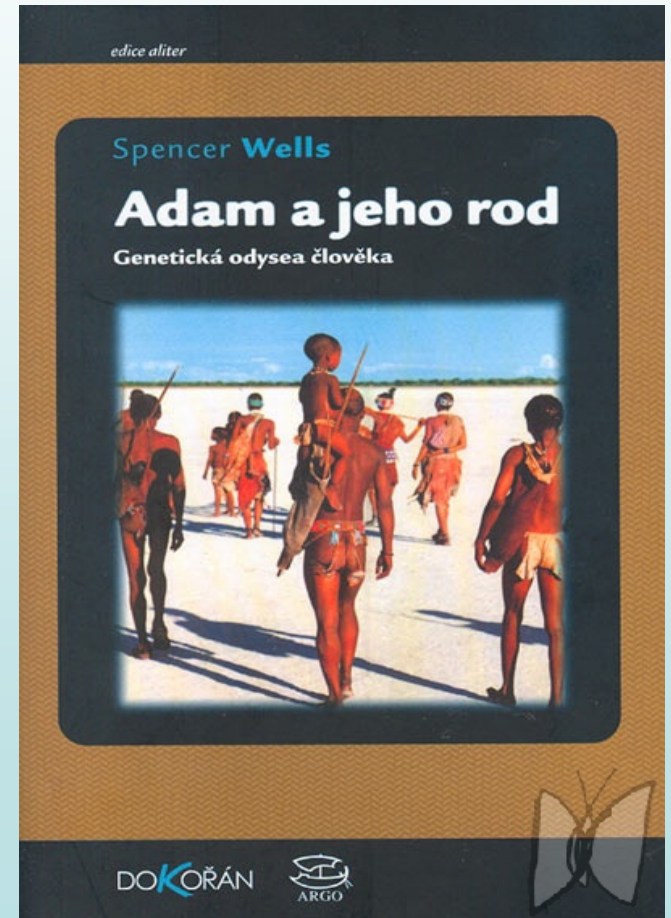
približne pred 12 000 rokmi z oblasti Blízkeho Východu – v Európe nastalo vytlačanie lovecko - zberačských spoločenstiev roľníkymi - neolit

- 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

Prečítajte si



Bryan Sykes:
Sedm dcer Eviných
Vyd. Paseka



Spencer Wells:
*Adam a jeho
rod*
Vyd. Argo

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 oblastami 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

