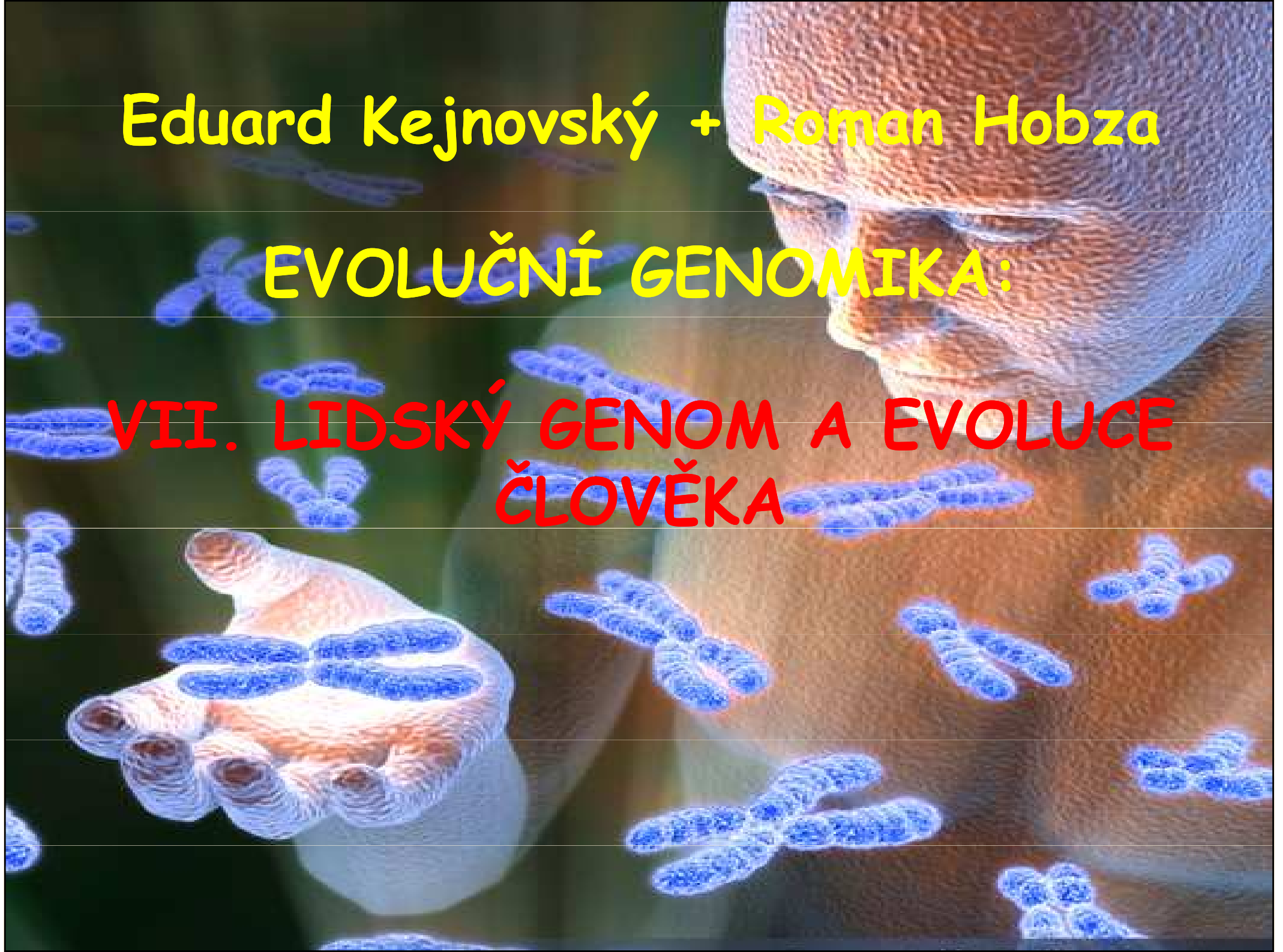


Eduard Kejnovský + Roman Hobza

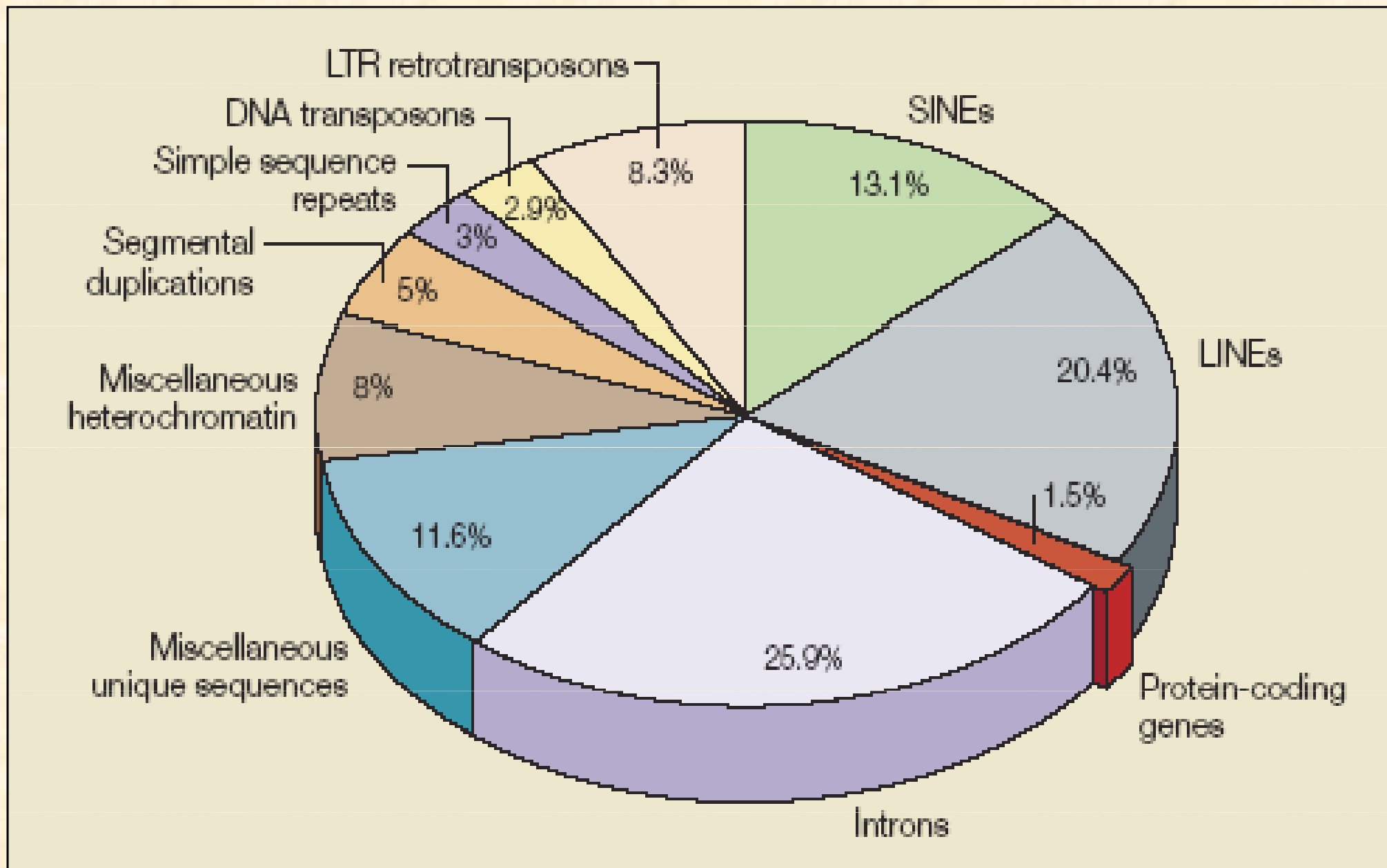
EVOLUČNÍ GENOMIKA:

VII. LIDSKÝ GENOM A EVOLUCE
ČLOVĚKA



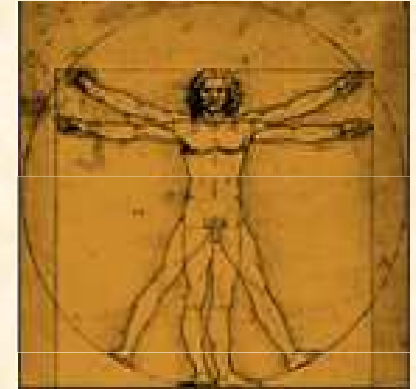
GENOM ČLOVĚKA

Struktura genomu člověka



Sekvenování lidského genomu

National Human Genome Research Institute (NHGRI), NIH
 Human Genome Project (HGP)
 1990-2003, pětileté plány



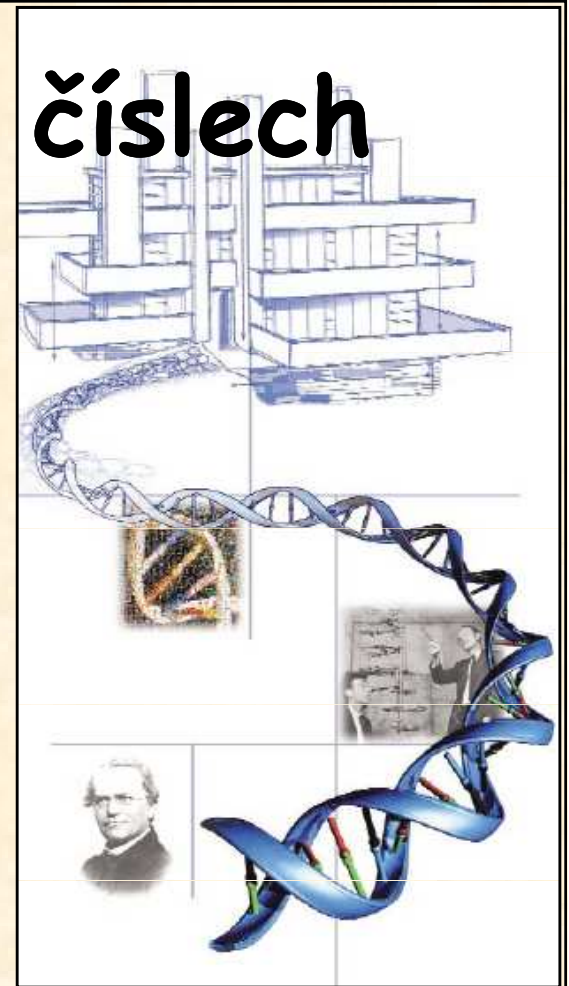
National Human Genome Research Institute
 National Institutes of Health
 Department of Health and Human Services
 and
 Office of Science
 U.S. Department of Energy

Human Genome Project Goals

Area	Goal	Achieved	Date
Genetic Map	2- to 5-cM resolution map (600 - 1,500 markers)	1-cM resolution map(3,000 markers)	September 1994
Physical Map	30,000 STSs	52,000 STSs	October 1998
DNA Sequence	95% of gene-containing part of human sequence finished to 99.99% accuracy	99% of gene-containing part of human sequence finished to 99.99% accuracy	April 2003
Capacity and Cost of Finished Sequence	Sequence 500 Mb/year at < \$0.25 per finished base	Sequence >1,400Mb/year at <\$0.09 per finished base	November 2002
Human Sequence Variation	100,000 mapped human SNPs	3.7 million mapped human SNPs	February 2003
Gene Identification	Full-length human cDNAs	15,000 full-length human cDNAs	March 2003
Model Organisms	Complete genome sequences of <i>E. coli</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>C. elegans</i> , <i>D. melanogaster</i>	Finished genome sequences of <i>E. coli</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>C. elegans</i> , <i>D. melanogaster</i> , plus whole-genome drafts of several others, including <i>C. briggsae</i> , <i>D. pseudoobscura</i> , mouse and rat	April 2003
Functional Analysis	Develop genomic-scale technologies	High-throughput oligonucleotide synthesis DNA microarrays Eukaryotic, whole-genome knockouts (yeast) Scale-up of two-hybrid system for protein-protein interaction	1994 1996 1999 2002

Lidský genom ve faktech a číslech

- Velikost genomu ~ 3 164 700 kb
- Počet genů ~ 20-25 000
- Velikost průměrného genu ~ 3000bp
- Téměř všechny báze jsou stejné (~99.9%) u všech lidí
- Funkce u více než 50% genů není známá
- Méně než 2% genomu kóduje proteiny
- 50% genomu tvoří repetice
- Během posledních 50 mil let silný pokles aktivity TE
- Genově bohaté oblasti jsou GC-bohaté, repetice AT-bohaté
- Náhodná distribuce genově-bohatých oblastí, oddělené repeticemi
- Chrom.1 má nejvíce genů (2968) a chrom. Y nejméně (231)



Srovnání lidského genomu s genomy jiných organismů

- Genové **ostrovky** u člověka versus homogenní distribuce genů u jiných organismů
- 3x **více proteinů** než D.m. nebo C.e. díky alternativnímu sestřihu (35-60% genů)
- Stejně genové rodiny jako u D.m., C.e., rostlin, ale počet **členů rodin** expandoval
- Větší **podíl repeticí** - C.e. (7%), D.m. (3%), A.t. (11%)

Další rysy lidského genomu:

Expanze genových rodin a rozdíly v negenových oblastech

RNA nekódující proteiny:

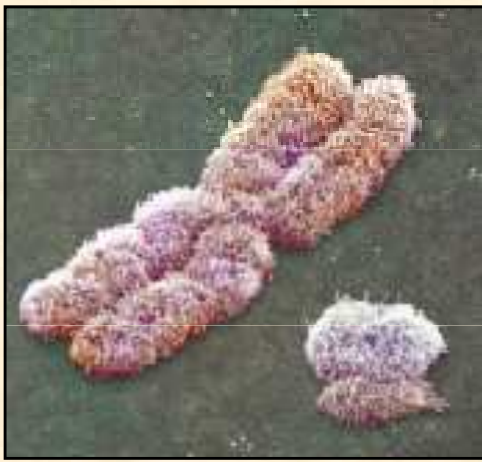
- mnoho transkriptů nekódujících proteiny a s neznámou funkcí
- „transfrags“ - transkribované fragmenty genů, role v reorganizaci chromatinu nebo regulace dostupnosti polymeráz či TF, role antisense transkriptů v regulaci genové exprese
- přes 800 miRNAs

Ultrakonzervativní elementy:

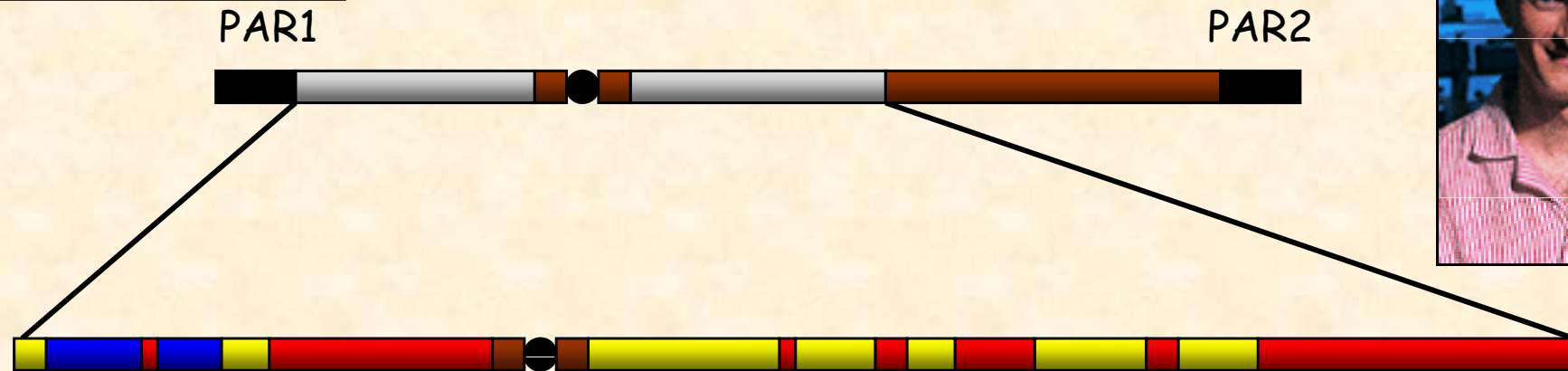
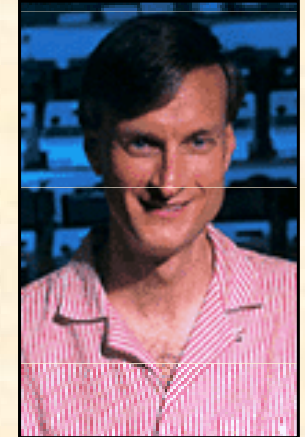
- 481 UCEs delších 200bp, 100% identita mezi člověkem, myší a potkanem
- UCE jsou enhancery genů

Genomová struktura:

- nepotvrzena opakovaná polyploidizace v historii, 45% repeticí, duplikace






Lidský chromosom Y: „Sál plný zrcadel“



Palindromy:

- 3 000 000 bází dlouhé
- 99.9% identita

-  Homologní oblasti mezi X a Y
-  Duplikativní přenos z X
-  Palindromy

Srovnání genomu člověka a šimpanze

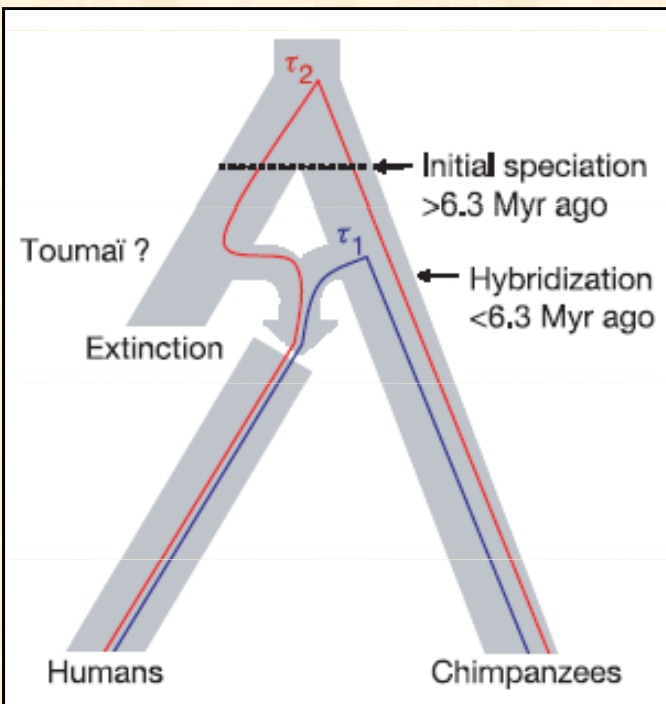
Genetic evidence for complex speciation of humans and chimpanzees

Nick Patterson¹, Daniel J. Richter¹, Sante Gnerre¹, Eric S. Lander^{1,2} & David Reich^{1,3}

The genetic divergence time between two species varies substantially across the genome, conveying important information about the timing and process of speciation. Here we develop a framework for studying this variation and apply it to about 20 million base pairs of aligned sequence from humans, chimpanzees, gorillas and more distantly related primates. Human-chimpanzee genetic divergence varies from less than 84% to more than 147% of the average, a range of more than 4 million years. Our analysis also shows that human-chimpanzee speciation occurred less than 6.3 million years ago and probably more recently, conflicting with some interpretations of ancient fossils. Most strikingly, chromosome X shows an extremely young genetic divergence time, close to the genome minimum along nearly its entire length. These unexpected features would be explained if the human and chimpanzee lineages initially diverged, then later exchanged genes before separating permanently.

Conservation of Y-linked genes during human evolution revealed by comparative sequencing in chimpanzee

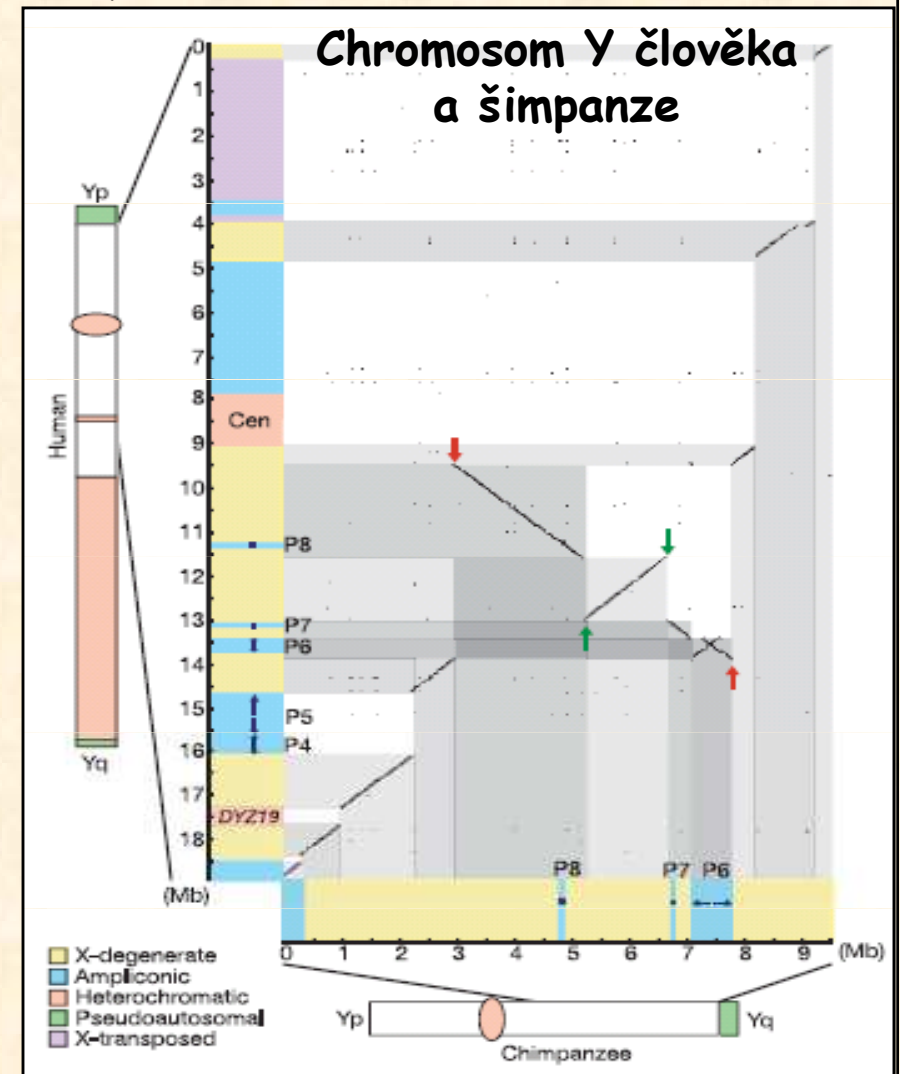
Jennifer F. Hughes¹, Helen Skaletsky¹, Tatyana Pyntikova¹, Patrick J. Minx², Tina Graves², Steve Rozen¹, Richard K. Wilson² & David C. Page¹



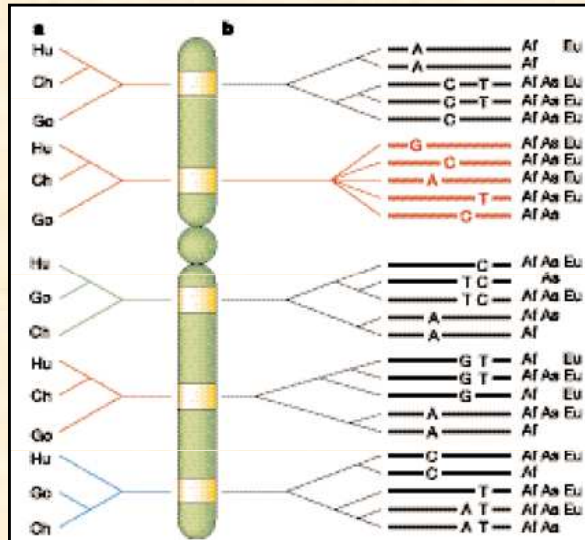
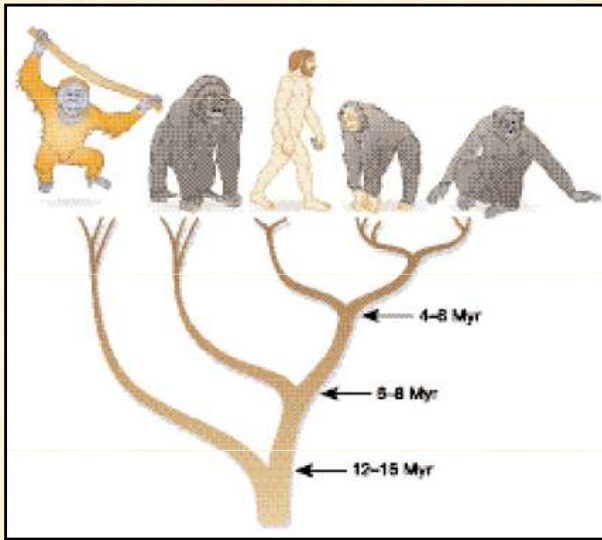
1.23% rozdíl

- speciace ~ 6.3 mil
- následné křížení
- větší podobnost chromosomu X

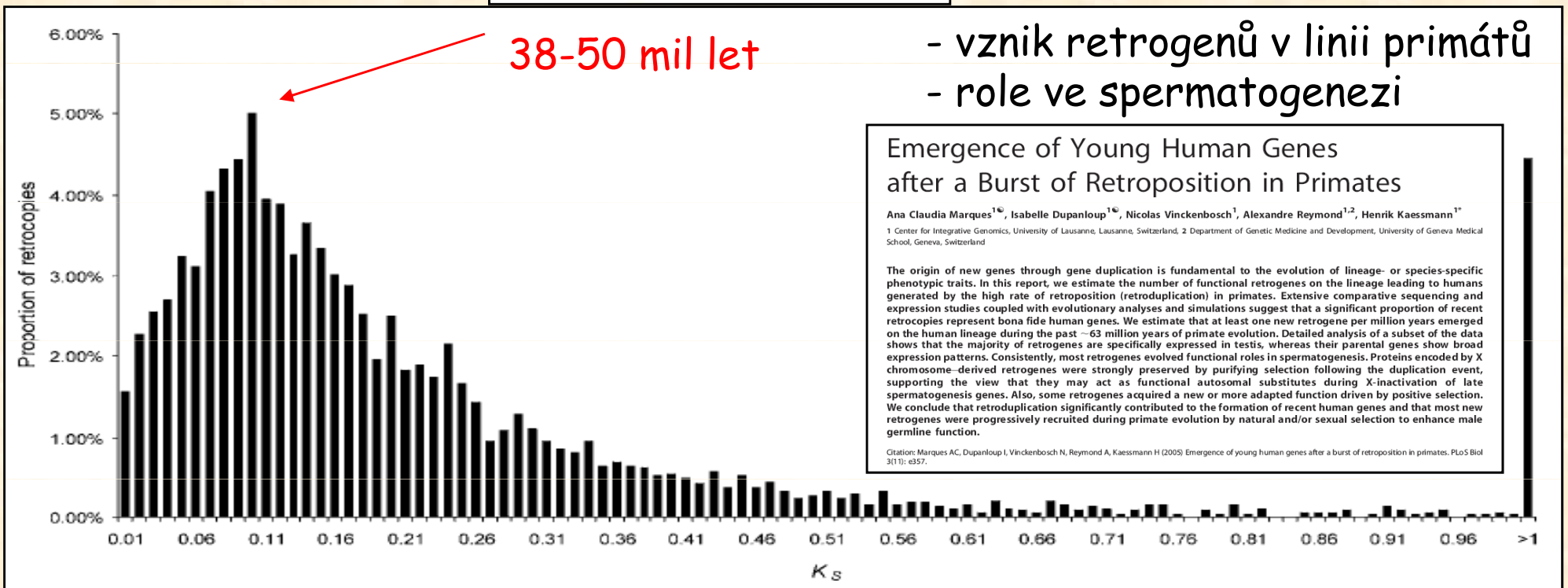
- Genové duplikace
- Expanze transposonů
- Mutace
- Posttranskripční a translační modifikace
- Odlišné používání genů (alternativní promotory a alternativní sestřih)



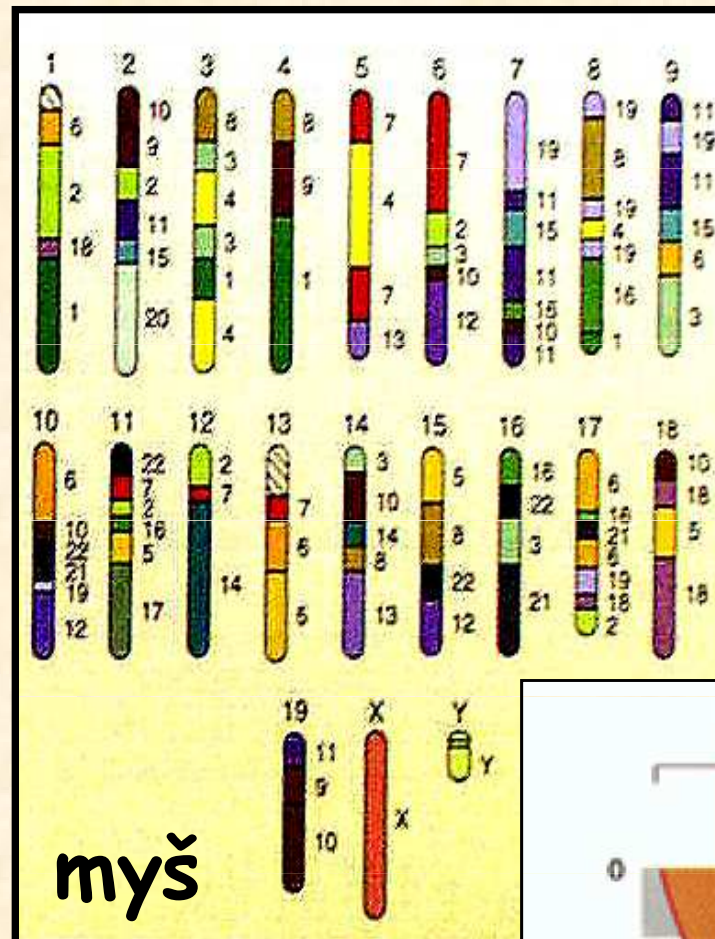
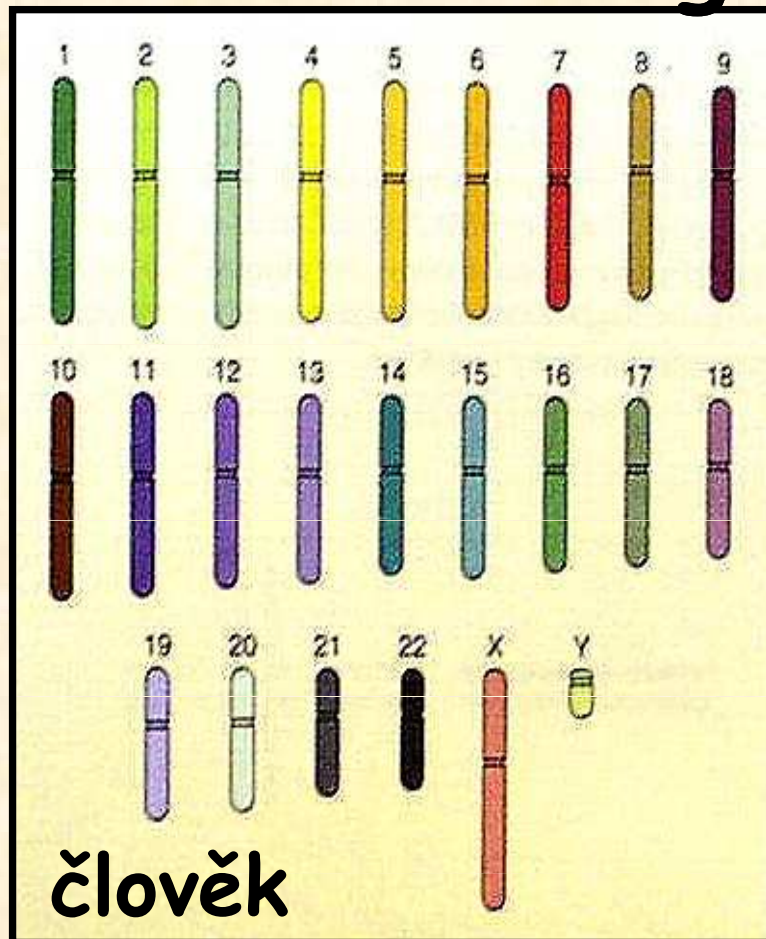
Mozaikovitá struktura genomu: Některé oblasti bližší šimpanzovi a jiné gorile



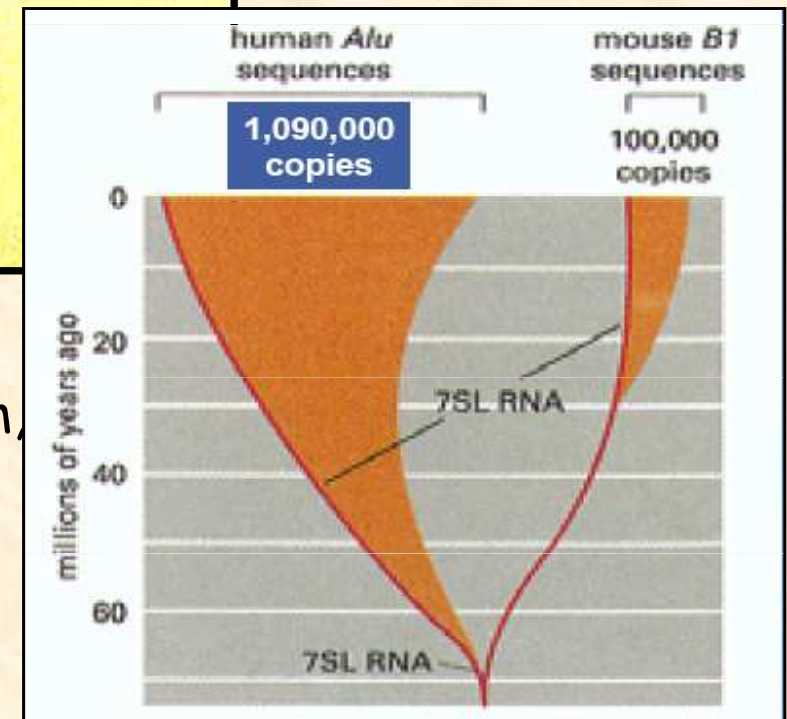
“...genomes, like organisms, have an anatomy. But is this anatomy the consequence of selection, or is it a by-product of another cellular process?”



Srovnání genomu člověka a myši



- Od evoluční divergence došlo k četným přestavbám, které umístily bloky genů do různých kombinací.
- Konzervativita chromosomu X.



Dystrofinový gen - obří gen

79 exonů, nejdelší známý gen, 14kb mRNA
2.5 Mb dlouhý (0.1% genomu)



Gen „Metuzalém“

- alela genu *daf-2*, Island
- 6x delší život u červa *C. elegans*
- Metuzalém žil 969 let
- není důvod pro selekci na dlouhověkost



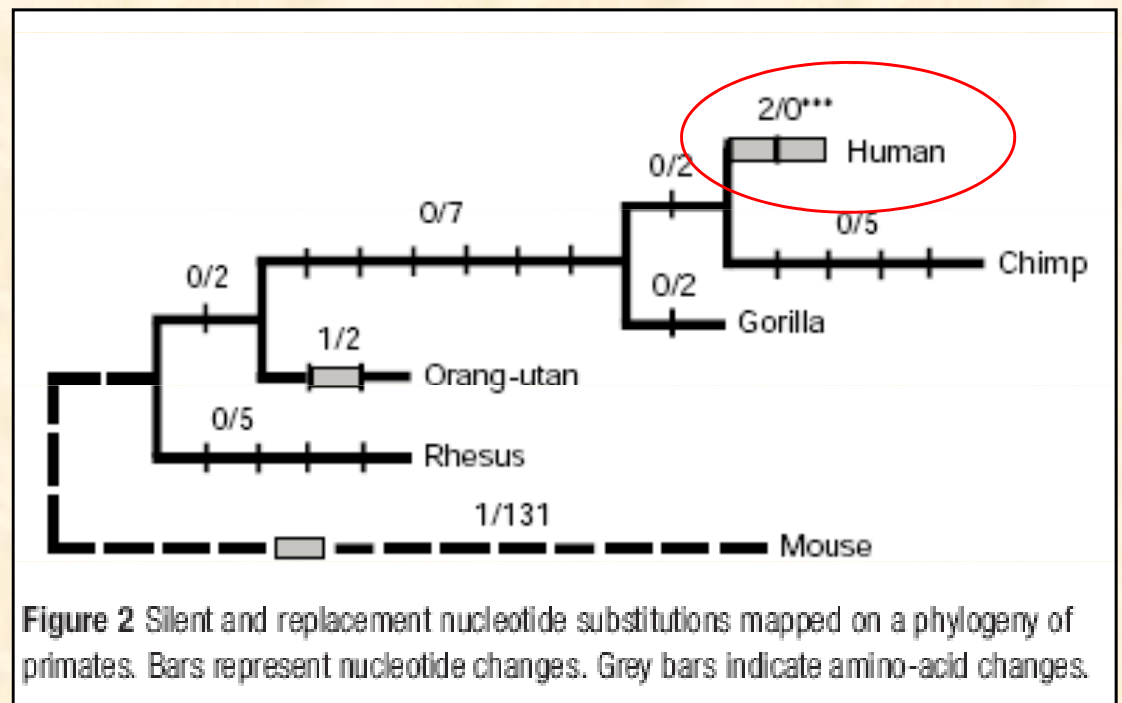
FOXP2 - důležitý lidský gen

(forkhead box P2)

- důležitá pro rozvoj řeči, mutace v rodinách s poruchou řeči
- souvislost s chápáním pojmů, gramatika, kreativita, kultura
- existuje i u jiných zvířat,
- nová lidská forma vznikla před 200 000 let
- délka 14 063 bp
- divergenece od šimpanze 0.87%, orangutana 2.5%
- lidská forma přítomná u Neandertálce (S. Paabo)

Molecular evolution of *FOXP2*, a gene involved in speech and language

Wolfgang Enard*, Molly Przeworski*, Simon E. Fisher†, Cecilia S. L. Lai†, Victor Wiebe*, Takashi Kitano*, Anthony P. Monaco† & Svante Pääbo*



**BUDOUCNOST
VÝZKUMU LIDSKÉHO
GENOMU**

Variabilita a mutace

- 99.9% identita mezi jedinci
- 1.4 milionů polymorfních míst (SNP) - vazba na choroby
- 2x více mutací v zárodečné linii muže než ženy

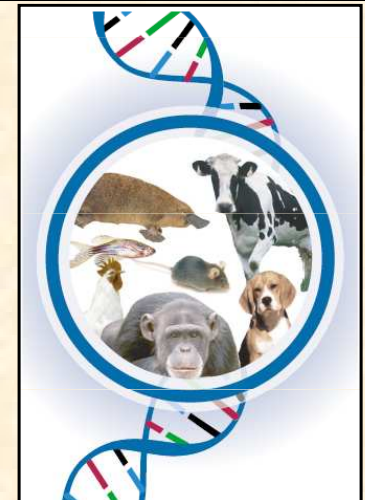
Budoucnost výzkumu lidského genomu

„Now this is not the end. It is not even the beginning of the end. But it is, perhaps, the end of the beginning.” Winston Churchill (1942)

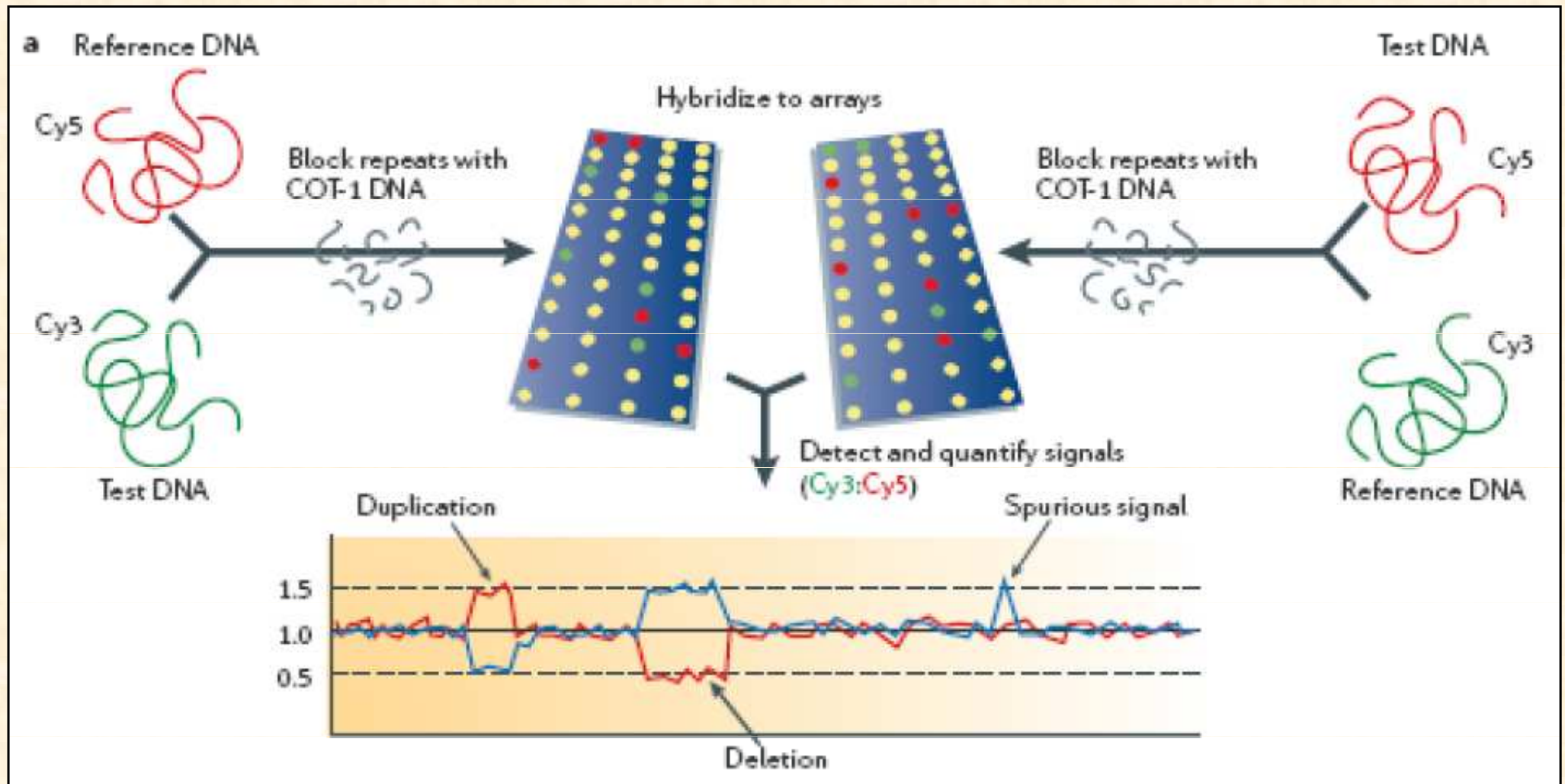
- Transkriptomika - exprese genů, za různých podmínek
- Proteomika - exprese a funkce proteinů, dopady pro design léčiv
- Komparativní genomika - srovnání s jinými organizmy
- Polymorfismus mezi jedinci (genetic variation program)
- ELSI - (ethical, legal and social implications) - 10 mil \$ /rok
- Zdraví, společnost, vzdělávání ...



Fig 2 The future of genomics rests on the foundation of the Human Genome Project.



Rozdíly mezi jedinci



Comparative genomic hybridization (CGH)

Farmakogenomika a personální medicína

Současnost - design léků na průměrného pacienta, masová výroba, avšak „Jedna velikost bot nepadne všem“

Pomalá metabolizace (vedlejší účinky) x rychlá metabolizace (žádné účinky)

Vedlejší účinky léků (adverse drug reactions, ADR): > 2mil případů, 100 000 úmrtí v USA (rok 1994)

Budoucnost - farmakogenomika, test v dětství, dědičné varianty v genech určují reakci na léky

Single nucleotide polymorphism (SNP, snips) - genetické varianty, katalogizace, anotace, dbSNP, microarray data (Geo)

DNA čipy - skríníng 200 000 SNPů/několik hodin (200\$) → výběr léků

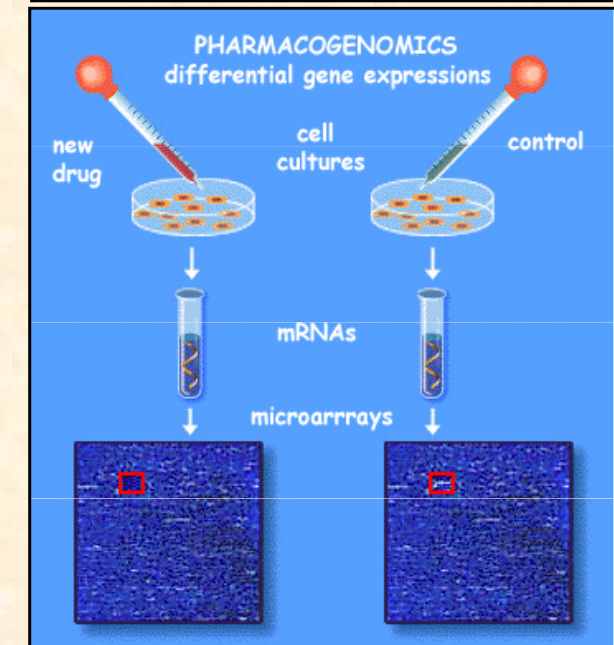
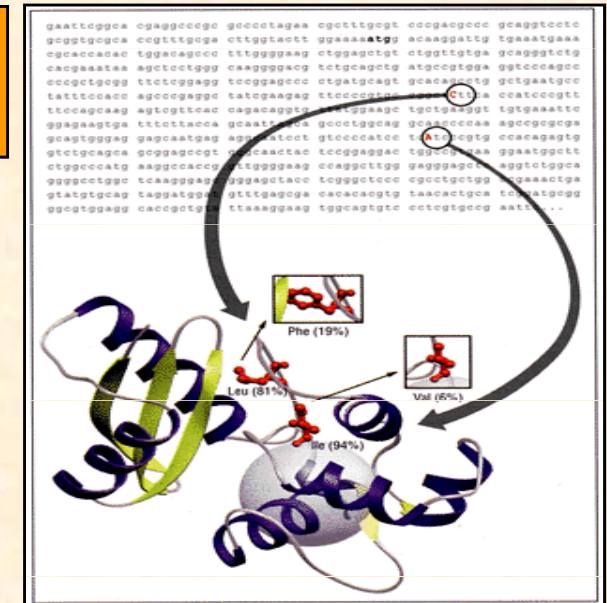
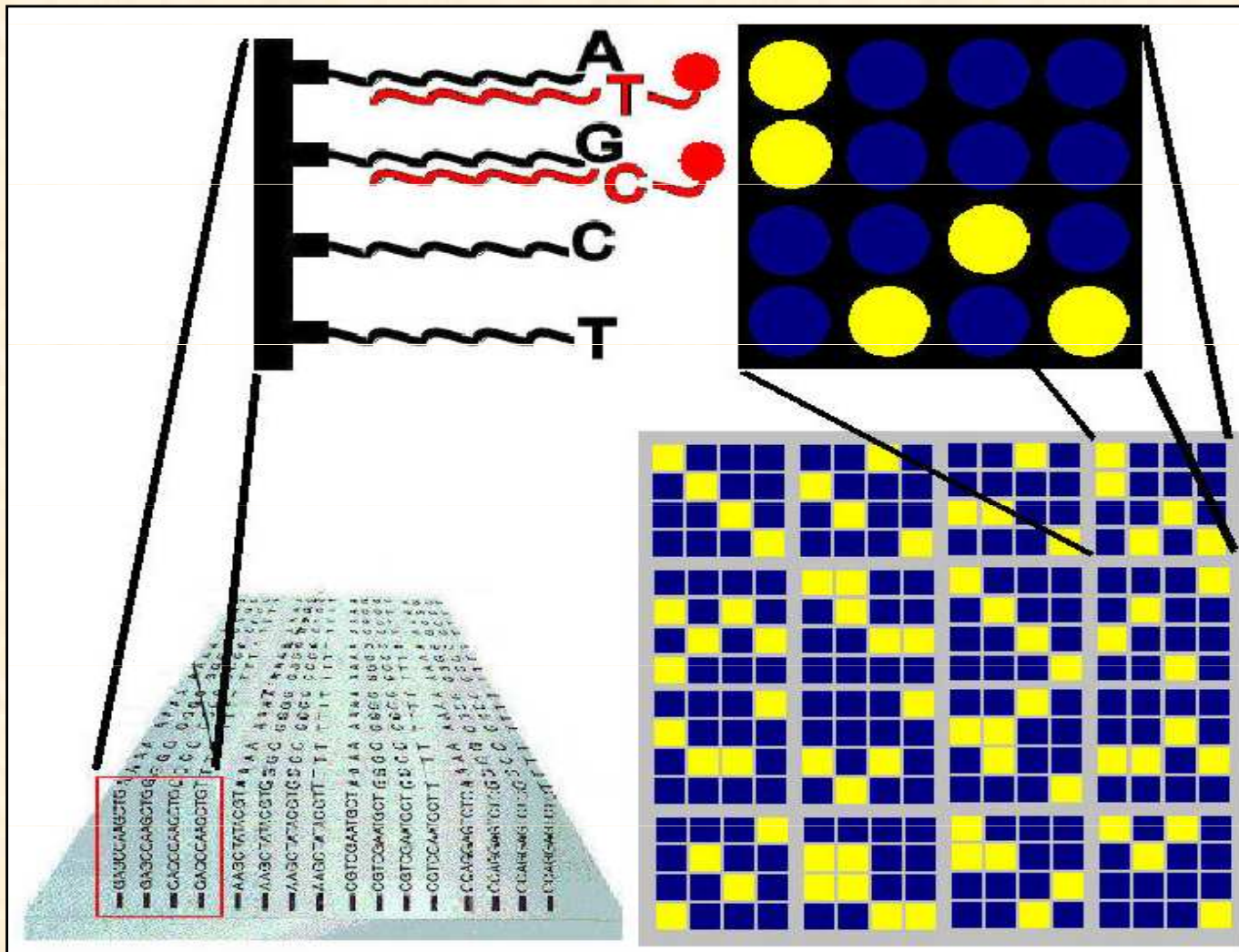
Levnější - klinické testy na menších skupinách, pacient se nevrací k lékaři pro další léky na vyzkoušení kvůli žádnému efektu nebo nežádoucím účinkům

Etické otázky: léky na míru (tailor-made drugs) dražší, nezájem farmaceutických firem (menší objemy výroby), neochota pojišťoven platit za lidi s genetickými testy indikující potřebu drahých léků na míru. Prohloubení propasti mezi rozvinutým a rozvojovým světem. Dostupnost všem.

Farmakogenomika studuje, jak varianty v lidském genomu ovlivňují odpověď na léčbu. Umožní vytvářet léky „na míru“ podle znalosti konkrétního genomu pacienta. Minimalizují se tak nežádoucí vedlejší účinky.

DNA čipy (DNA chips, DNA microarrays)

Pomocí DNA čipů lze určit, které varianty genů/sekvencí DNA člověk obsahuje a podle toho zacílit léčbu.



Genová terapie

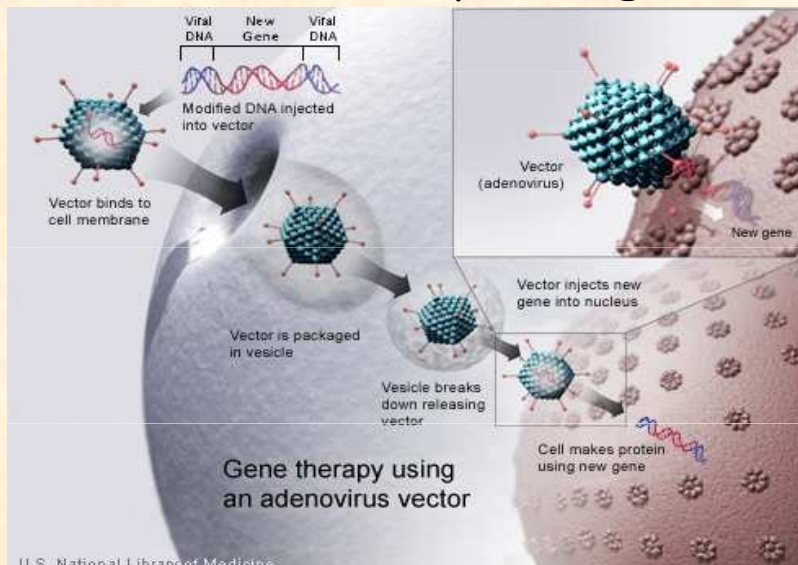
Genová terapie je rychle se rozvíjející obor medicíny, kdy jsou geny zaváděny do těla (genomu) jedince s cílem vyléčit nemoc.

Dědičné nemoci - jeden gen (srpková anémie, barvoslepost), polygenní (většina nemocí - diabetes, epilepsie, astma, maniodepresivní choroba, schizofrenie)
Škodlivý gen: recesivní (cystická fibróza), dominantní (Huntingtonova chorea), na chromosomu X (hemofílie)

PODMÍNKY ÚSPĚCHU:

- dobré pochopení problému, identifikace genu
- metoda vnesení, typ buněk, vektor (viry), stabilní integrace
- opravovány jen geny v **somatických buňkách**, nahrazen špatný gen nebo vnesen nový gen s funkcí vyléčit nemoc.

Do 15 let - všechny monogenní nemoci ~ 5% u dětí



Experiment (Cavazzana-Calvo, 2000):
léčba imunodeficiencie způsobené mutací genu na chromosomu X, děti uzdraveny, ale 2 z 10 dětí onemocněly leukémií, virový vektor aktivoval onkogen.

DNA vakcinace

DNA vakcinace je ochrana proti nemocem (viry, bakterie, paraziti) pomocí geneticky upravených molekul DNA s cílem vyvolat imunitní odpověď.

Vakcíny:

První generace - oslabené formy celých organismů

Druhá generace - definované proteinové antigeny (i rekombinantní)

Třetí generace - upravené plasmidové DNA, které produkují specifické proteiny

Metody vnášení DNA do organismu:

Injekce do svalů nebo do kůže - trvalá nebo dlouhodobá exprese, rychlé rozšíření po těle, nevýhodou velké množství potřebné DNA (10 μ g-1mg)

Genové dělo - bombardování buněk částicemi zlata nebo wolframu, stačí malé množství DNA (0.2-20 μ g), avšak potřeba inertní částice

Tlaková injekce - několik mm pod kůží, větší množství DNA (300 μ g), bez částic, DNA se rozbíjí, nižší exprese a imunitní odpověď.

Další metoda - nanesení aerosolu na sliznice.

Množství vnášené DNA je 10x menší u myši než u primátů.

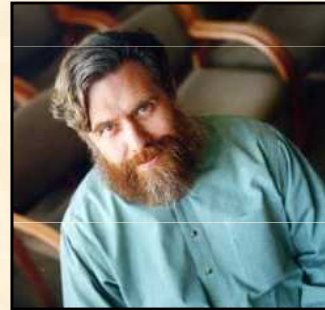
Metoda má vliv na to, jaký typ buněk se aktivuje - T-buňky (TH1, TH2), T-killer, T-helper, protilátky.

Projekt „osobního genomu“ (personal genome project, PGP)

„Budeme pročitat svůj genom jako když plánujete cestu a hledáte případné objížďky (predispozice pro nemoci)..“

„Vidíme, že znalost našeho vnitřního vesmíru je tak podmanivá...“

... zahájí éru medicíny šité na míru každému jednotlivci“
George M. Church



PGP-10

Back row (left to right): James Sherley, Misha Angrist, John Halamka, Keith Batchelder, Rosalynn Gill. **Front row** (left to right): Esther Dyson, George Church, Kirk Maxey. **Not shown:** Stan Lapidus and Steven Pinker.

Projekt osobního genomu:

- sekvenace 100 000 dobrovolníků (1% genomu bohatou na geny)
- hledání korelace mezi genetickými a tělesnými vlastnostmi
- cílem cena do 1000 USD během několika let (faktory: čas, technologie, cena)
- axiomy: automatizace práce + otevřenost dat
- předpokladem je vývoj novějších technologií sekvenování: 454 Life Sciences, Solexa (Illumina), SOLiD (Applied Biosystems), aj.

Aspekty osobní genomiky:

- Zdravotní hlediska
- Rodokmen
- Obavy ze zneužití (pojišťovny, zaměstnavatel, soudy, školy, agentury pro adopci, vláda, konkurence, zločinci)

**ETICKÉ A PRÁVNÍ
ASPEKTY SEKVENACE
LIDSKÉHO GENOMU**

Patentování genů aneb kdo vlastní naše geny?

Patentovatelný objev nebo nápad musí být umělý, ne zcela zřejmý, nový a užitečný. Nelze patentovat zákony přírody.

1790: „first patent act“

1889: rostliny, i uměle pěstované jsou produktem přírody a nelze je tudíž patentovat (pokus patentovat vlákninu izolovanou z rostlin)

1930: lze patentovat nové odrůdy rostlin (kongres USA)

1948: spojování bakterií není objev, nelze patentovat (Nejvyšší soud USA)

1981: spor Diamond vs. Chakrabarty - umělá bakterie likvidující ropné skvrny - geneticky modifikovaná (fúze), nepřítomná v přírodě

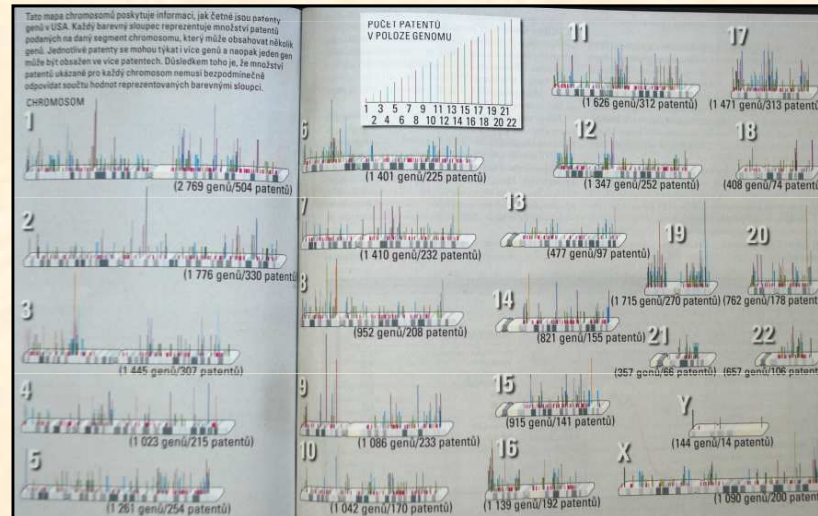
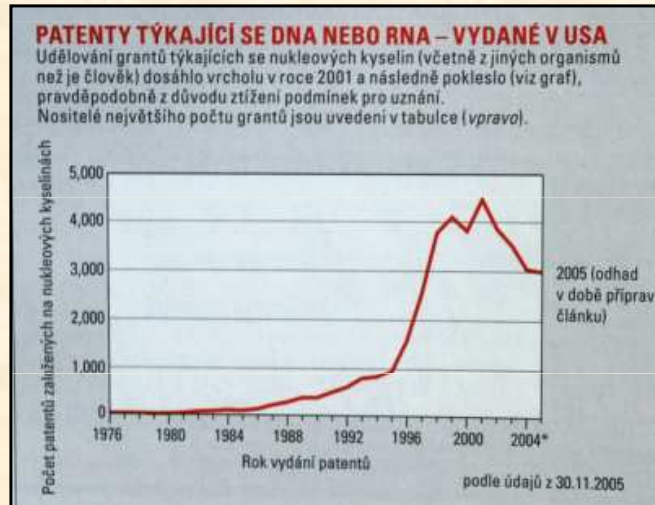
1996: Bermudská pravidla - sekvence genomů musí být volně dostupné

2005: zamítnut návrh na patent na lidskou chiméru, aby zabránili tvorbě hybridů

Patentovány geny, izolované úseky DNA samostatně neexistující v přírodě.

2005: přes 4 000 genů z ~24 000 je spojeno s patentem, např. firma Incyte vlastní 10% genů

NEJVĚTŠÍ DRŽITELÉ PATENTŮ	POČET PATENTŮ†
Kalifornská univerzita	1,018
Vláda USA	926
Sanofi Aventis	587
GlaxoSmithKline	580
Incyte	517
Bayer	426
Chiron	420
Genentech	401
Amgen	396
Human Genome Sciences	388
Wyeth	371
Merck	365
Applera	360
Texaská univerzita	358
Novartis	347
Univerzita Johnse Hopkinse	331
Pfizer	289
Massachusettská všeob. nemocnice	287
Novo Nordisk	257
Harvardova univerzita	255
Stanfordova univerzita	231
Lilly	217
Affymetrix	207
Cornellova univerzita	202
Salk Institute	192
Kolumbijská univerzita	186
Wisconsinská univerzita	185
Massachusettský technický institut	184



Francis Collins, NIH

ELSI, Pojišťovny

Studium etických právních a sociálních otázek (ELSI) je součástí sekvenace lidského genomu, HGP.

Obava ze zneužití (eugenika - USA, Německo)
3-5% rozpočtu (10mil \$).

Čtyři priority:

1. Poctivost (fairness) - svoboda od diskriminace na bázi genotypu
2. Soukromí (privacy) - kontrola jedince nad svým genotypem, volba odhalení
3. Poskytování zdravotní péče
4. Vzdělání (education)

Pojišťovny:

- nutnost rovné hry (analogie loterie) - stejné informace, spravedlivá smlouva.

Proč by pojišťovny nemohly znát kromě fenotypových i genotypové parametry?

Obava **pojištěnce** - že bude pojišťovna chtít jeho testy a zdraží pojistné

Obava **pojišťovny** - že se pojištěnec dozví o budoucí nemoci a vysoce se pojistí

např. Huntingtonova chorea - znát počet CAG repetit, pojišťovací hra možná, změna s časem.

Zaměstnavatelé:

Např. povolání pilota:

- argument zaměstnavatele - chci znát riziko jeho infarktu, platím pojištění, bezpečnost
- argument žadatele - nyní jsem zcela zdravý, nenesu vinu na predispozici

Etické otázky související s HGP

Karl Popper: „*Jakýkoliv pokus vytvořit nebe na zemi zplodí peklo*“

Lze vytvořit z lidí anděly nebo alespoň zabránit, aby se z nich stávali d'áblové? Člověk není redukovatelný na své geny a výchovu. I když poznáme „chemický vzorec člověka“ stále nás bude překvapovat.

Filosofické důsledky sekvenování lidského genomu

Neudržitelnost rasismu:

- všichni lidé jsou si příbuznější než jsou si navzájem příbuzní šimpanzi v rezervaci Gombe, jakíkoliv dva lidé - 99.9% podobnost
- jedinečnost individua a universalita lidstva

Člověk je tvor spolupracující:

- jeden druh z mnoha, antropocentrismus nahrazen ekocentrismem, jsme součástí sítě života,
- složení našich těl je kooperující: mitochondrie v našich buňkách, 45% TE v našem genomu

Co je člověk?

- stavebnice pozůstatků v nás přežívajících, dříve samostatných bytostí

Genový doping a „designer baby“

Dříve: Výběr vhodného partnera
Nyní: Znalost lidského genomu
+ asistovaná reprodukce/PGD

↓
vliv na vlastnosti dětí

Co si můžeme dovolit?

Můžeme vybrat zdravá embrya?

Můžeme vybrat pohlaví (zaplatili jsme si, Aviedo 1997: pohlaví ale není nemoc)?

Můžeme zlepšit vlastnosti dítěte (výšku, paměť)?

Čím se liší plastická chirurgie od genové změny?

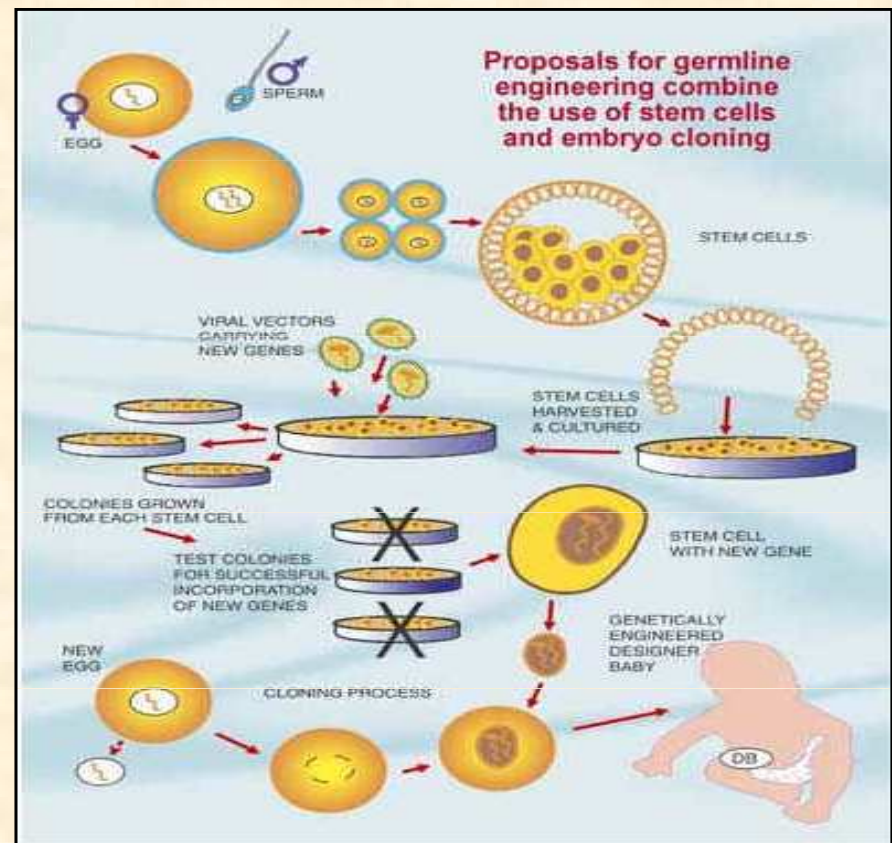
Když investujeme do environmetálních faktorů (knihy, vzdělání, výchova), proč neinvestovat do genetických faktorů?

Vznikne novodobá genetická aristokracie a třída genetických proletářů?

Klasický doping u sportovců je zakázaný, a co genový doping? Jak prokázat?

Budou rodiče odsuzováni za narození postiženého dítěte?

Genový doping jen pro nejbohatší? Vznik nového darwinismu?



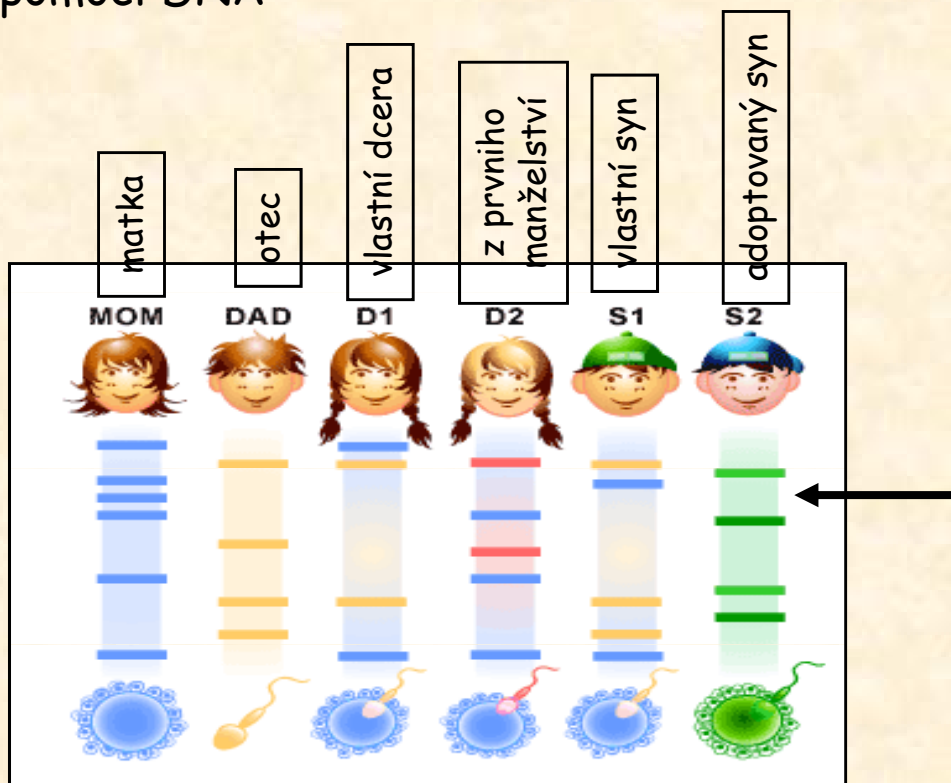
DNA databáze FBI

(Combined DNA Indexing System = CODIS)

CODIS (1994 Kongres USA) - FBI databáze, obsahuje ~6 milionů vzorků DNA, přibývá až 40 000 každý měsíc, dříve jen u usvědčených zločinců, nyní širší záběr.

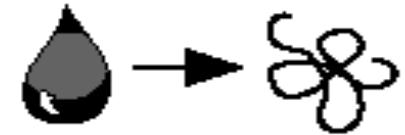
Forezní laboratoře v USA - genetický fingerprint usvědčených zločinců

Ministerstvo obrany USA - vzorky tkání vojáků pro pozdější identifikaci pomocí DNA

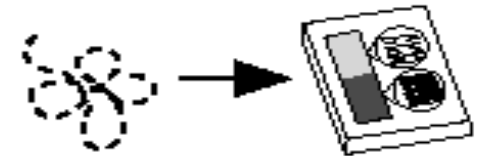


THE PROCESS OF DNA FINGERPRINTING

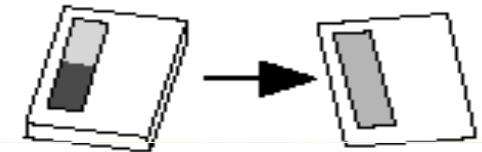
1. The process begins with a blood or cell sample from which the DNA is extracted.



2. The DNA is cut into fragments using a restriction enzyme. The fragments are then separated into bands by electrophoresis through an agarose gel.



3. The DNA band pattern is transferred to a nylon membrane.



4. A radioactive DNA probe is introduced. The DNA probe binds to specific DNA sequences on the nylon membrane.



5. The excess probe material is washed away leaving the unique DNA band pattern.

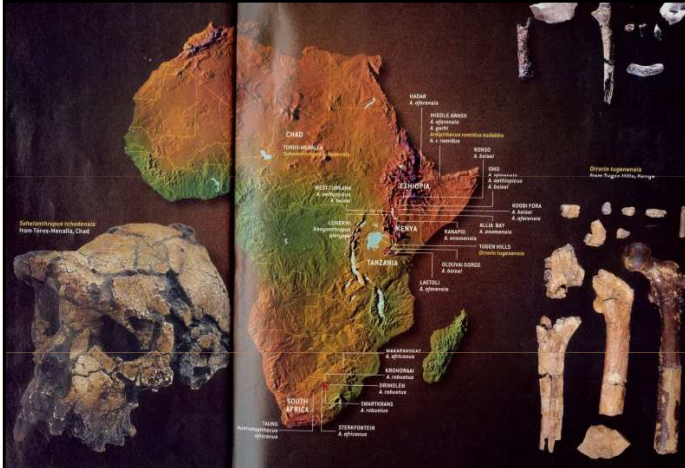


6. The radioactive DNA pattern is transferred to X-ray film by direct exposure. When developed, the resultant visible pattern is the DNA FINGERPRINT.

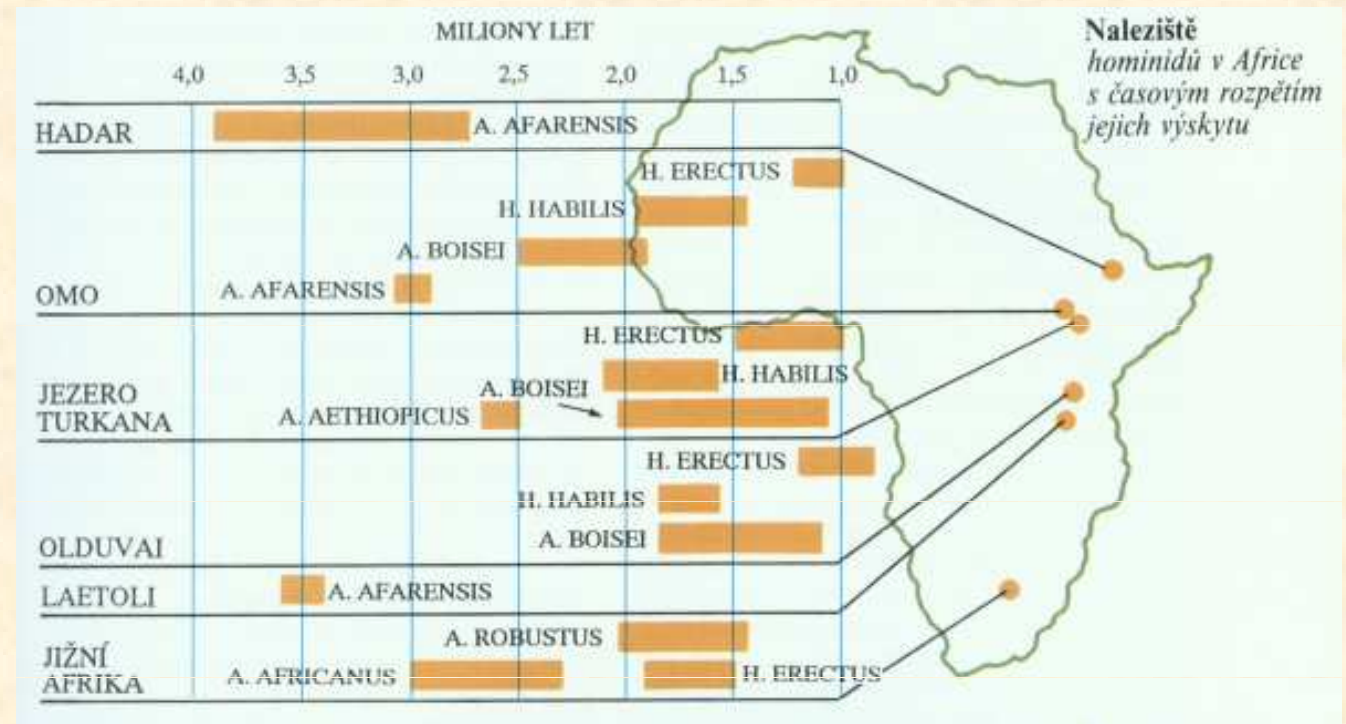
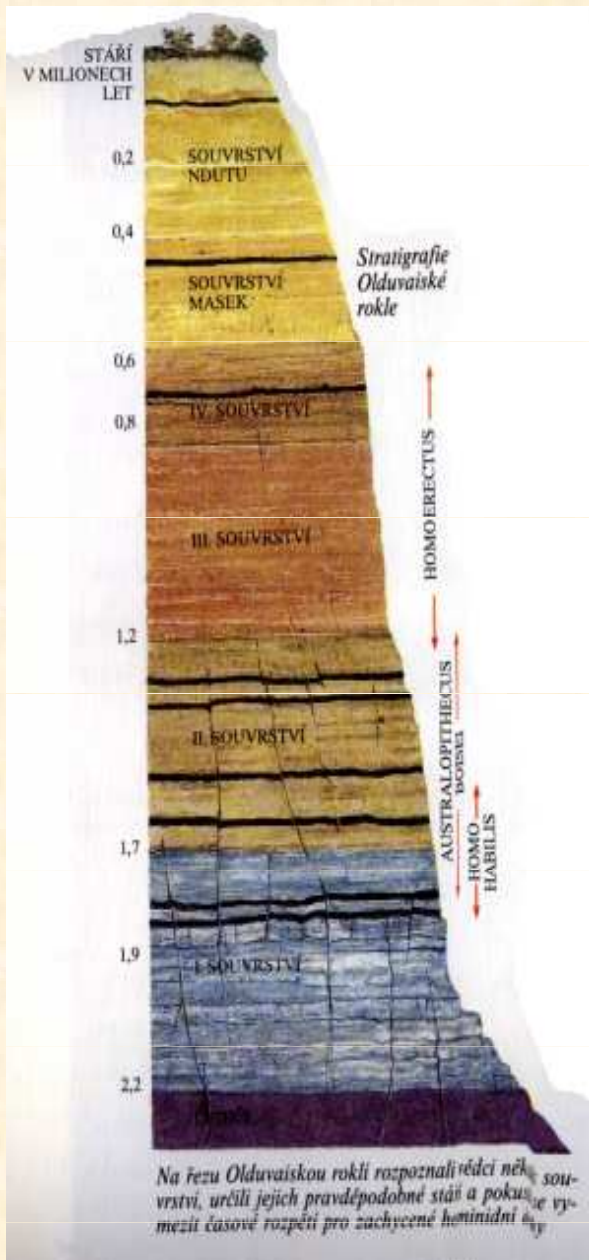


EVOLUCE ČLOVĚKA

Nálezy nejstarších hominidů:



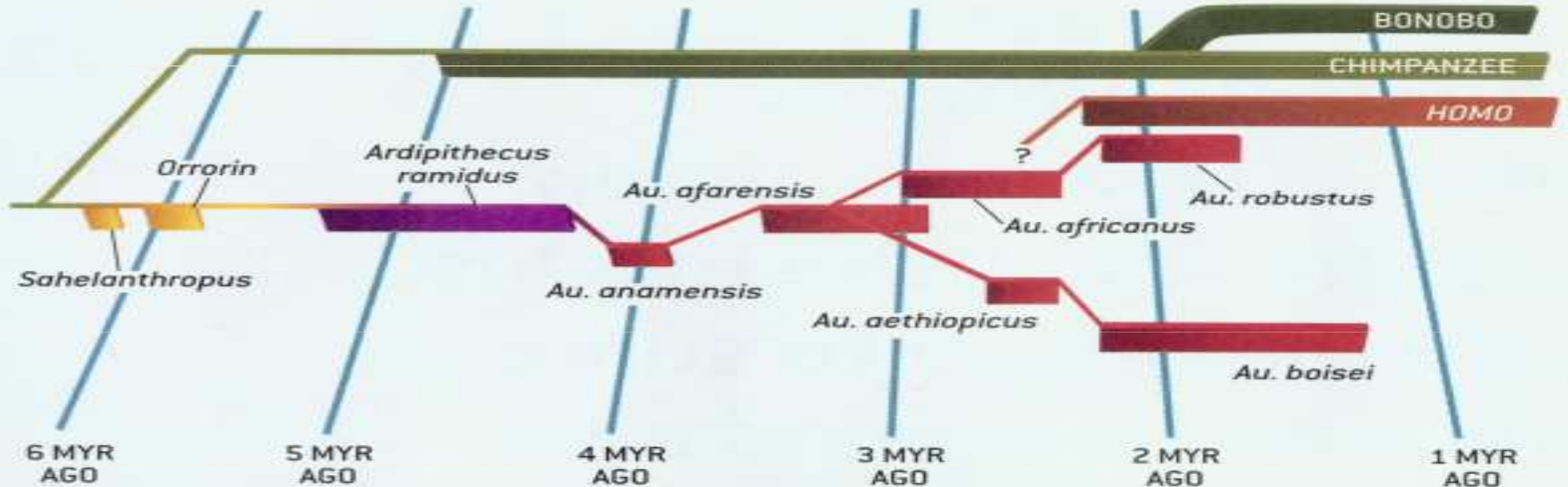
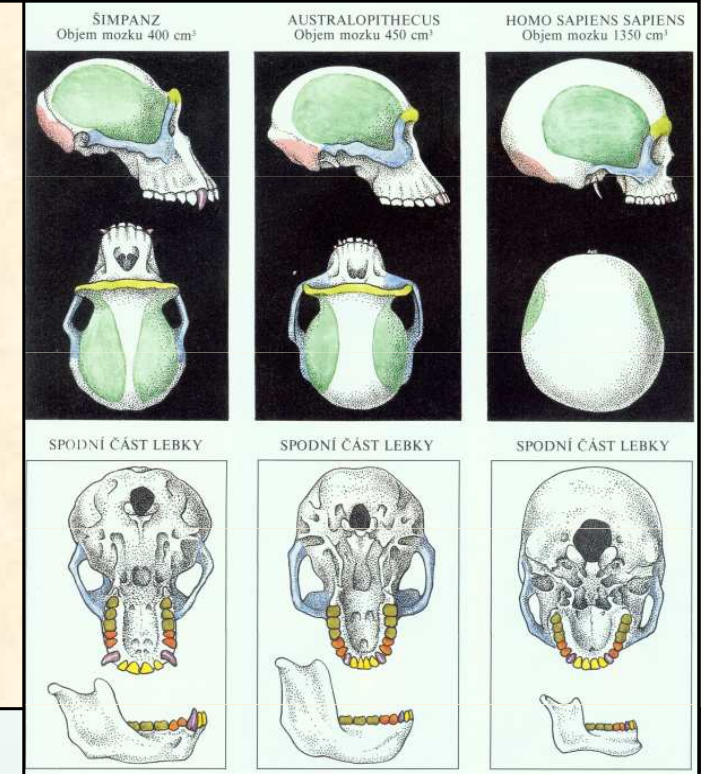
Naleziště hominidů v Africe



- * Olduvajská rokle (Tanzanie)
- * Hadar (Etiopie)
- * jezero Turkana (Kenya)
 - **současně** zde žily **4 druhy hominidů!!!**
- * řeka Omo (Etiopie)
- * Laetoli (Tanzánie)

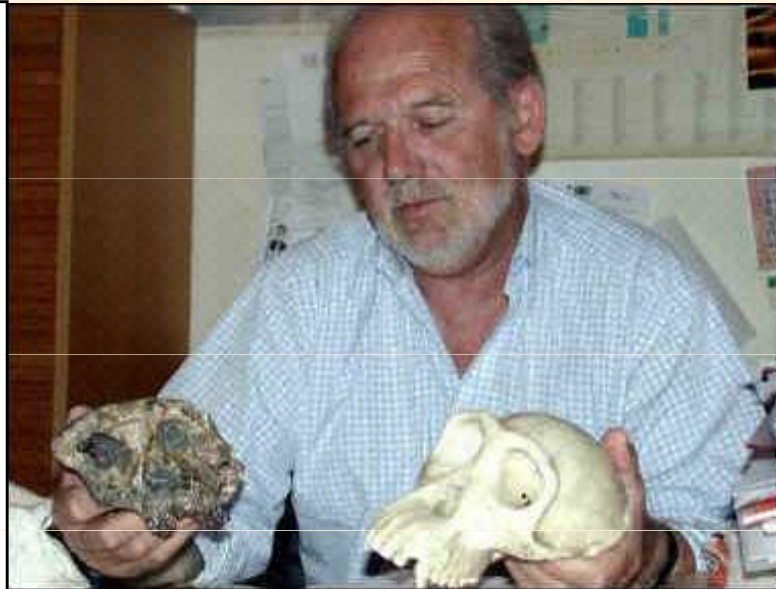
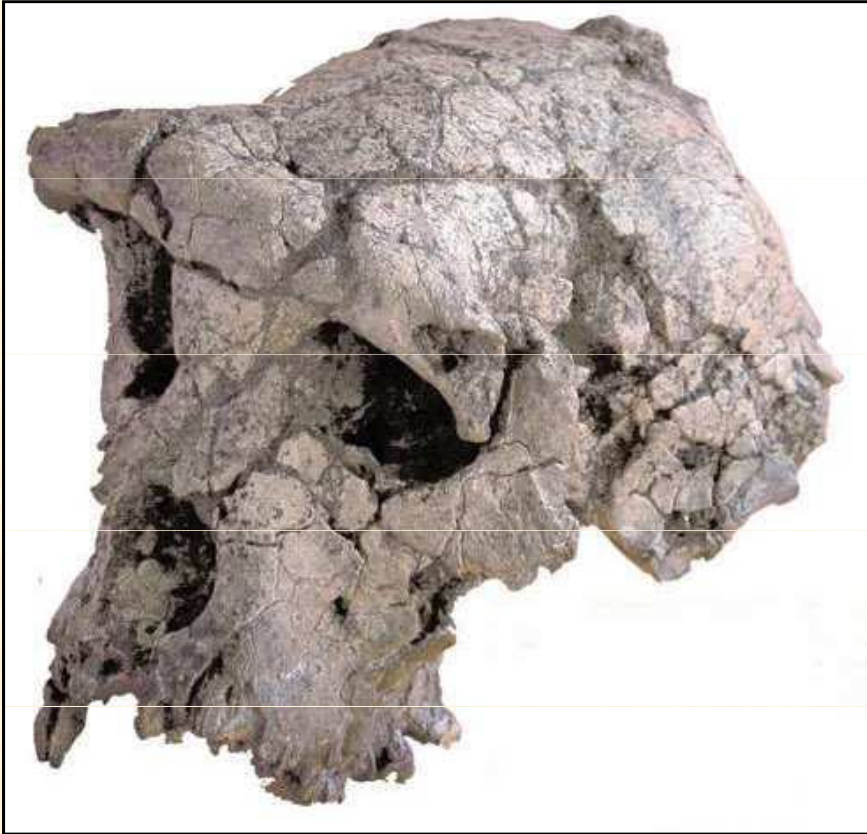
Oddělení větví hominidů a šimpanzů: před 6-7 miliony let

Za 35 mil. let vzniklo 84 druhů hominidů
Za 8 mil. let vzniklo 16 druhů hominidů



FAMILY TREE of the hominid *Australopithecus* (red) includes a number of species that lived between roughly 4 million and 1.25 million years (Myr) ago. Just over 2 Myr ago a new genus, *Homo* (which includes our own species, *H. sapiens*), evolved from one of the species of *Australopithecus*.

Sahelanthropus (Toumai): stáří 6-7 mil.let



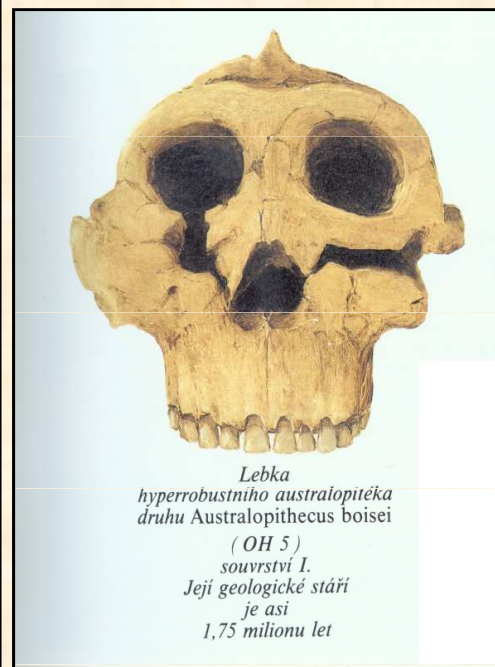
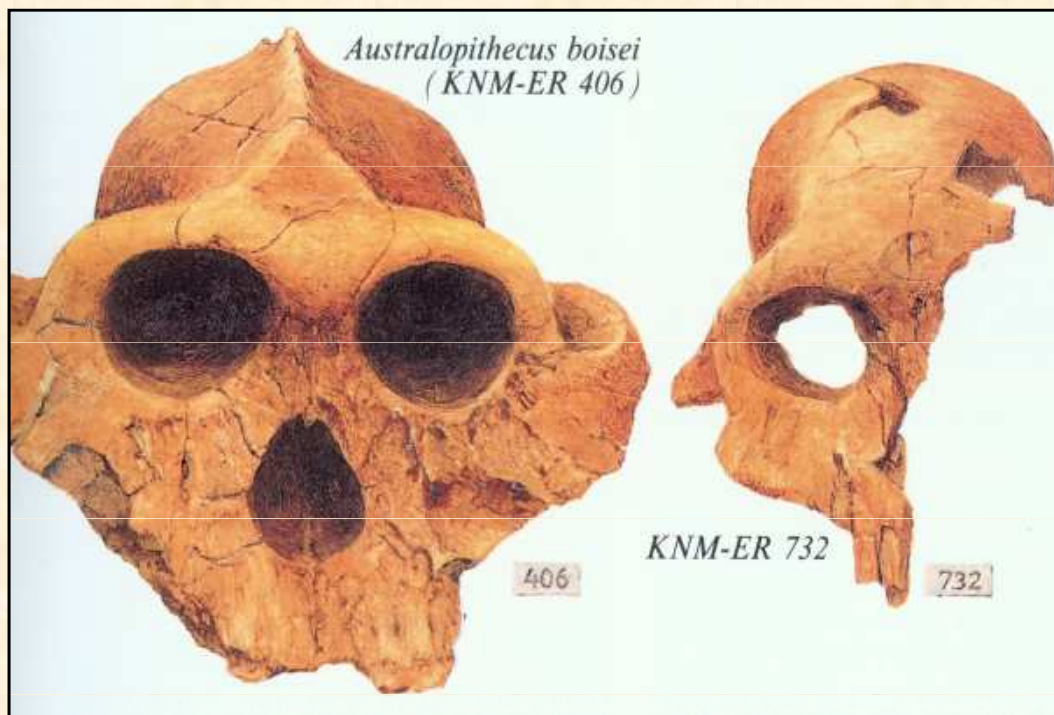
- Mozkována 340-360cm³
- Bipedie
- Nejstarší předek člověka po oddělení větví vedoucích k šimpanzům a člověku

Sahelanthropus tchadensis: 6 mil. let
(Čad, Michel Brunet, 2002 Nature)

Orrorin tugenensis: 5.8 mil let

Ardipithecus kadabba: 5.6-5.8 mil let

Australopithecus: 4 mil. - 1 mil.

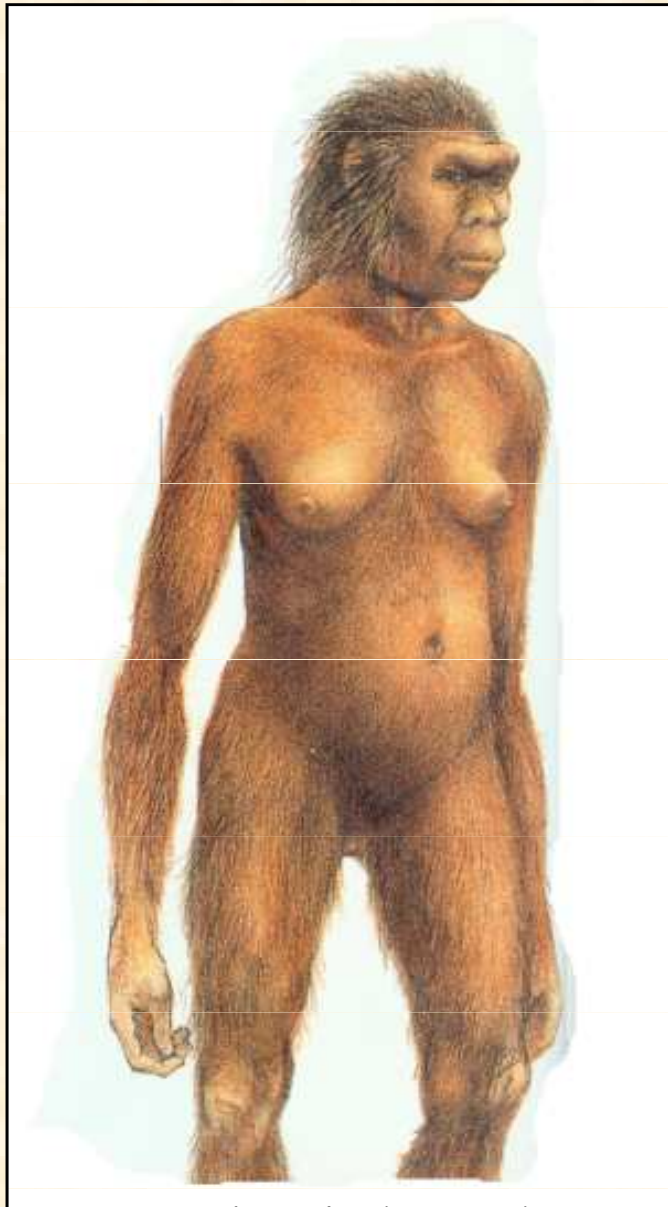


Lucy = *A. afarensis*
(3.5-3 mil)

- mozková 35% moderního člověka
- výška 120-140cm, pohlavní dimorfismus (až 50% rozdíl)
- frugivorní (pojídal ovoce), možná omnivorní (všežravec), žil v savanách

robustní - *A. robustus* 1-2 mil
 A. boisei 1-2 mil
gracilní - *A. afarensis* = Lucy ... 3.5-3 mil
 A. africanus 2-3 mil

Homo habilis: 2.5 mil. - 1.5 mil.



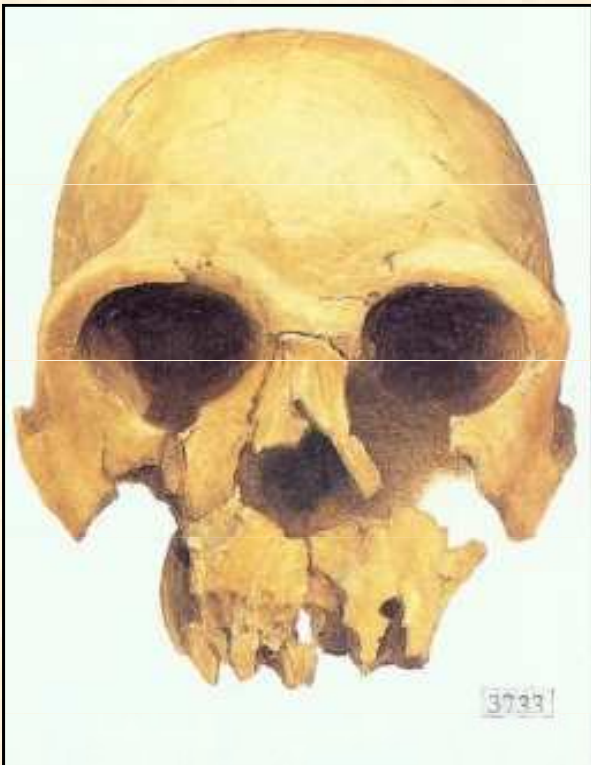
H. habilis (OH62):
„Žena roku 1987“, 1.8 mil let

- Olduvajská rokle (Tanzánie, Mary a Louis Leakey)
- Jezero Turkana (Kenya)
- poloviční mozkovna
- primitivní nástroje, lovec, sběrač



Homo erectus: 2 mil. - 0.3 mil.

- Velká mozkovna (850-1100cm³)
- Vysoký (180cm), pohlavní dimorfismus (30% rozdíl)
- Používal oheň, plaval na vorech, primitivní „řeč“, poprvé malé rovnostářské skupiny, složitější nástroje, lov ve velkém měřítku
- Jezero Turkana, Java, Čína



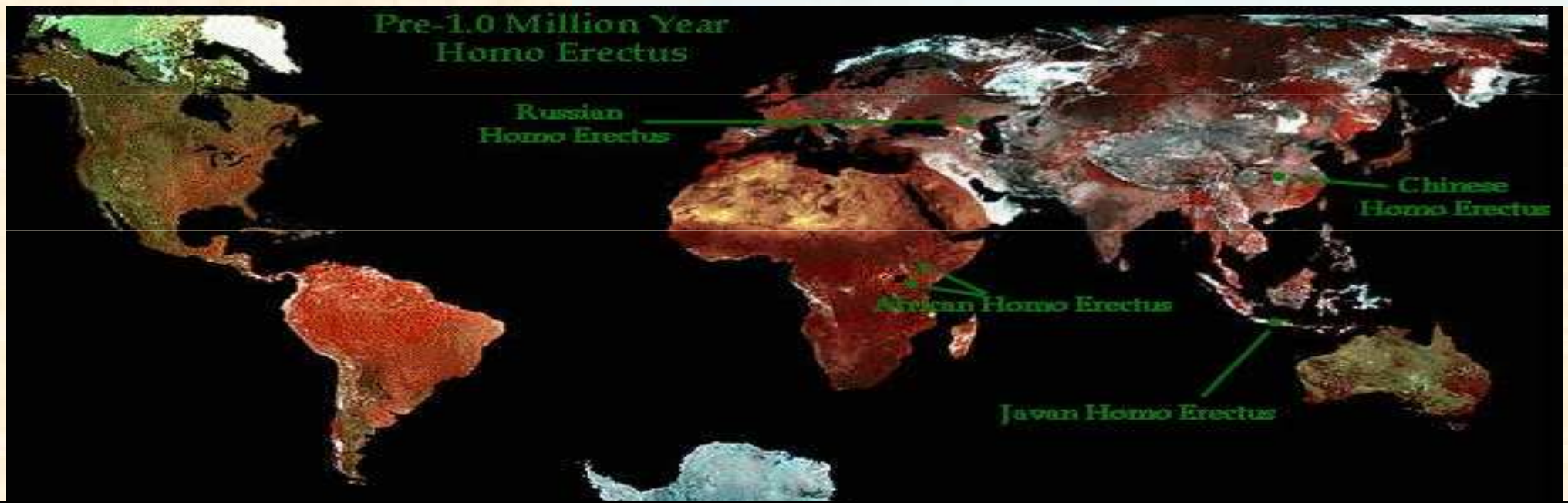
Ve svrchní části souvrství II se našly acheulské nástroje. Jde o dvoulicí nástroje, které předcházely pěstním klinům. Jejich geologické stáří se odhaduje na 1,2–1,1 miliónu let. Zhotovovaly se obíjením jader. Některé sloužily jako řeznické nástroje, jiné možná k drčení tuhých plodů a hlíz

Homo erectus: první expanze člověka (1.8 mil)

- první překročil hranice afrického kontinentu
- používal oheň



AFRICAN EXODUS began as soon as *H. erectus* evolved, around 1.8 million years ago, probably in part because it needed a larger home range than that of its smaller-bodied predecessors.

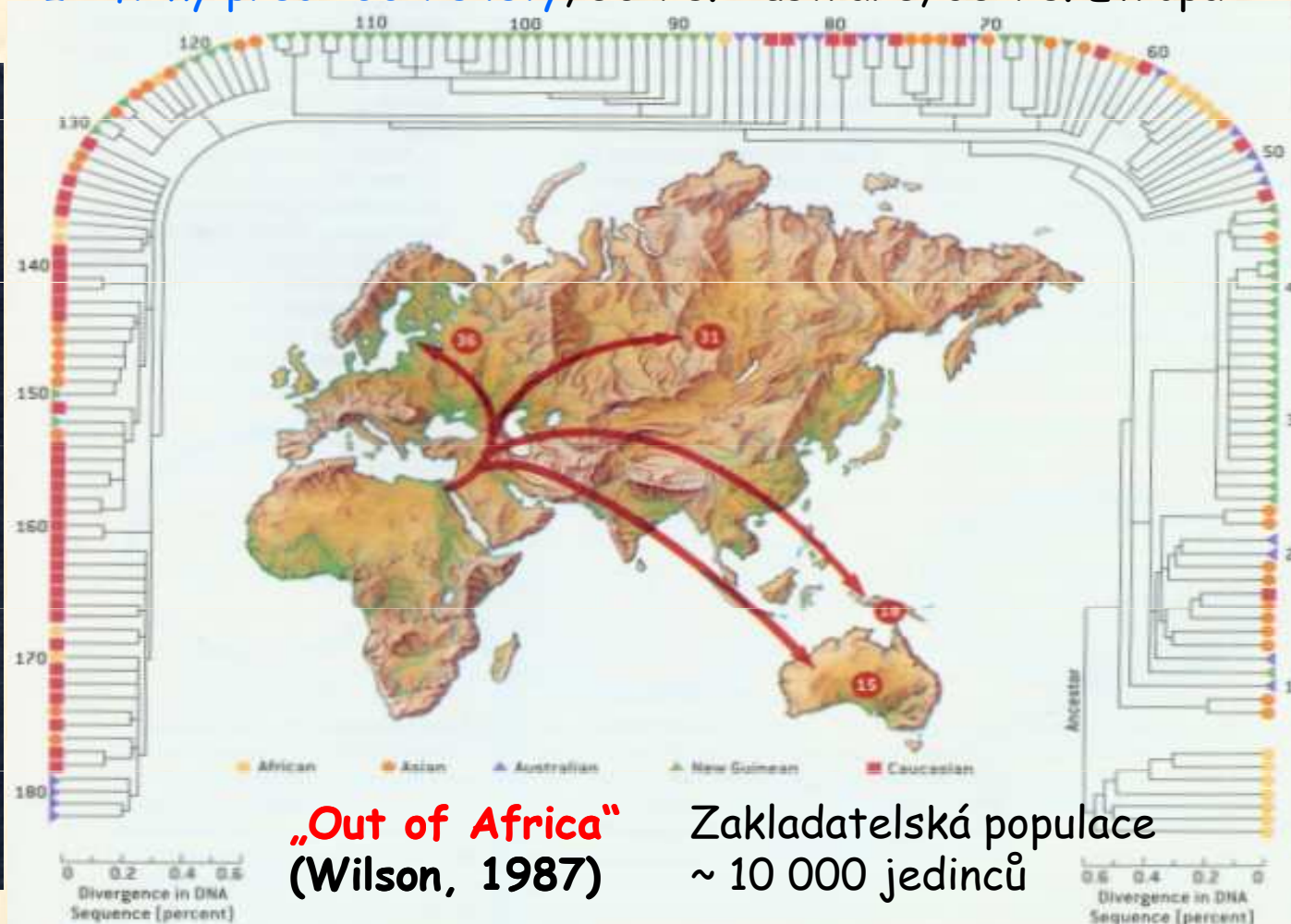
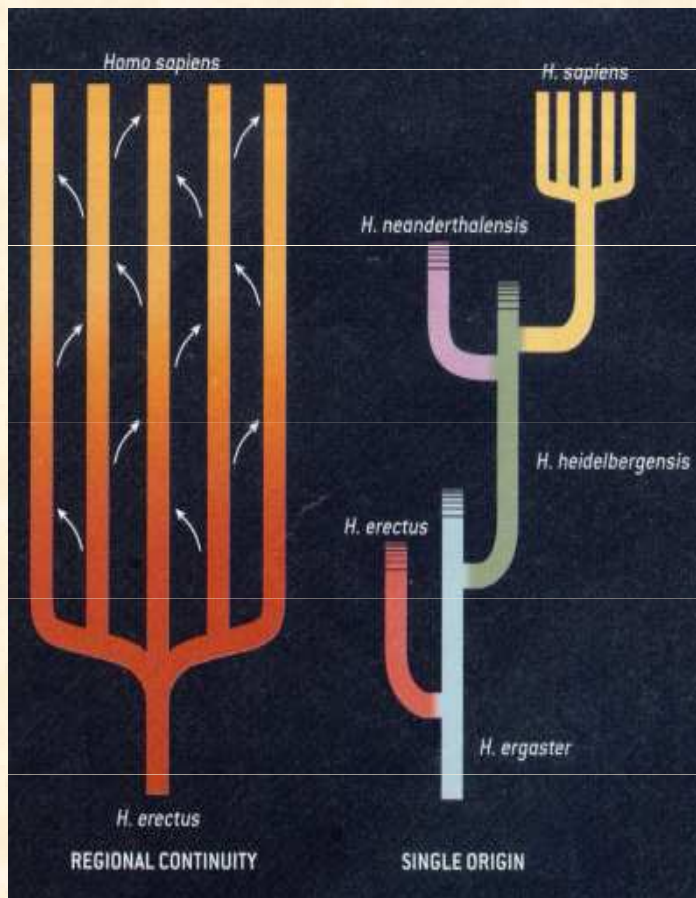
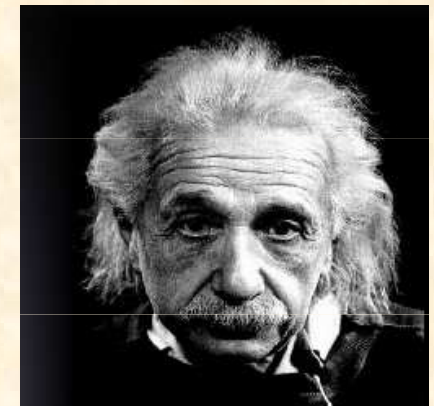


Homo sapiens: vznik před 500 000 - 250 000 lety

Hypotézy: „multiregionální“ a „Out of Africa“

Multiregionální hypotéza
(teorie svícnu, polycentrická hypotéza) (Wolpoff)

- mtDNA 182 lidí
- 2 větve - africká a neafrická
- max 0.6% rozdíly, 3 mutace/500bp, 1 rozdíl ~ 10 000 let
- z Afriky před 100 tis lety, 50 tis. Austrálie, 35 tis. Evropa



**„Out of Africa“
(Wilson, 1987)**

Zakladatelská populace
~ 10 000 jedinců

Homo sapiens: vznik před 500 000 - 250 000 lety

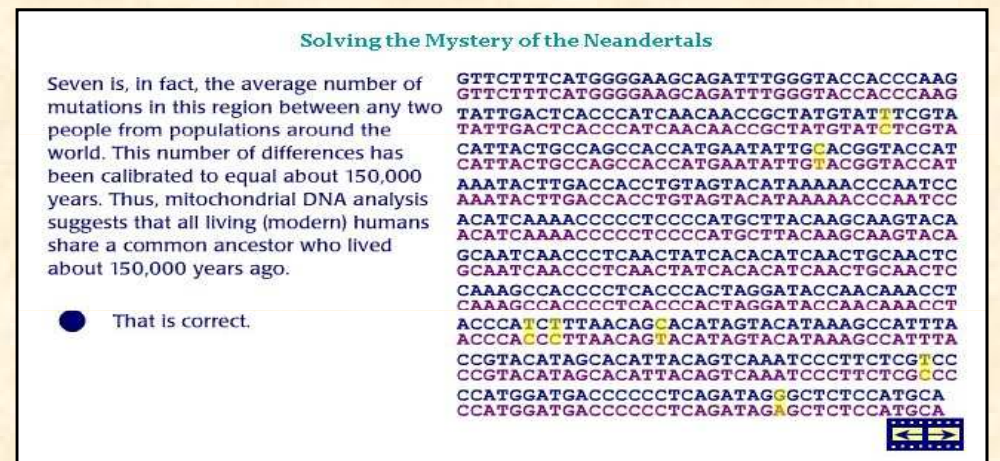
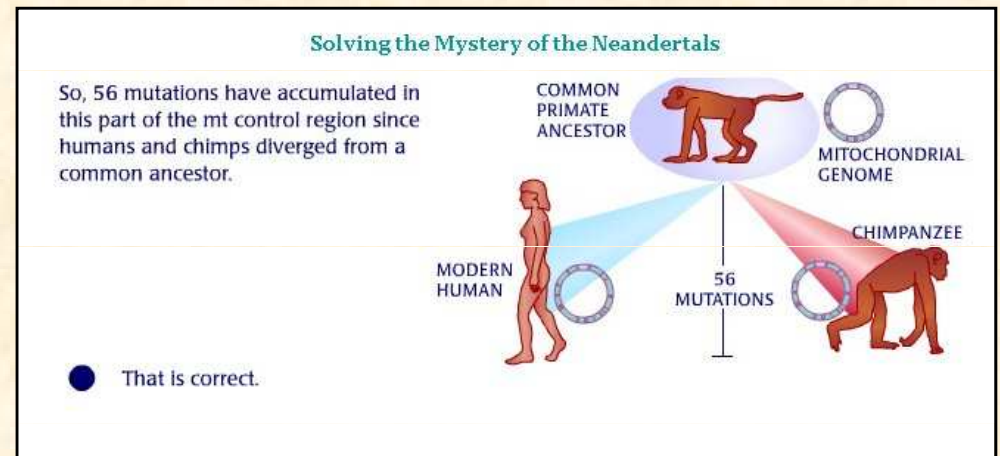
Teorie:

1. multiregionální (polycentrická, teorie svícnu, Howells, Harvard; M. Wolpoff):
 - H. erectus se vyvinul v H. sapiens v různých částech světa nezávisle, tok genů mezi větvemi
2. "Out of Africa" (Noemova archa, Willson, Cal. Univ. Berkley):
 - H. erectus nahrazen moderním člověkem, který se rozšířil z Afriky před 100 000 lety
3. Hybridní model (Stringer):
 - mísení starousedlíků a příchozích

Rozdíly v mtDNA jako měřítko evoluční divergence

mtDNA:

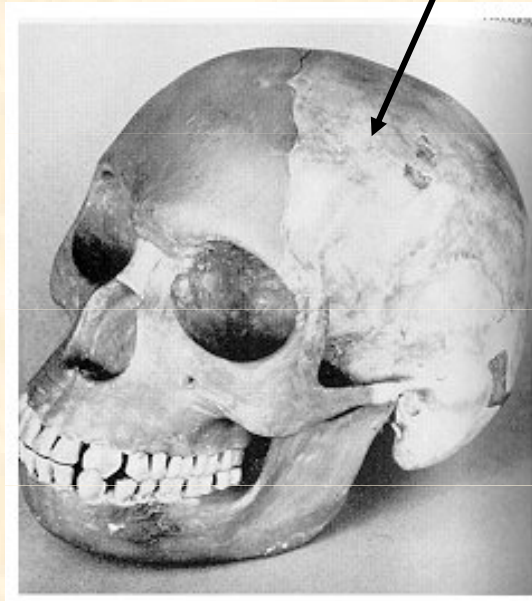
- vyšší rychlost mutací
- nemá reparační systémy
- nepodléhá rekombinacím



Nejstaší Evropan: Eoanthropus a podvod z Piltdownu

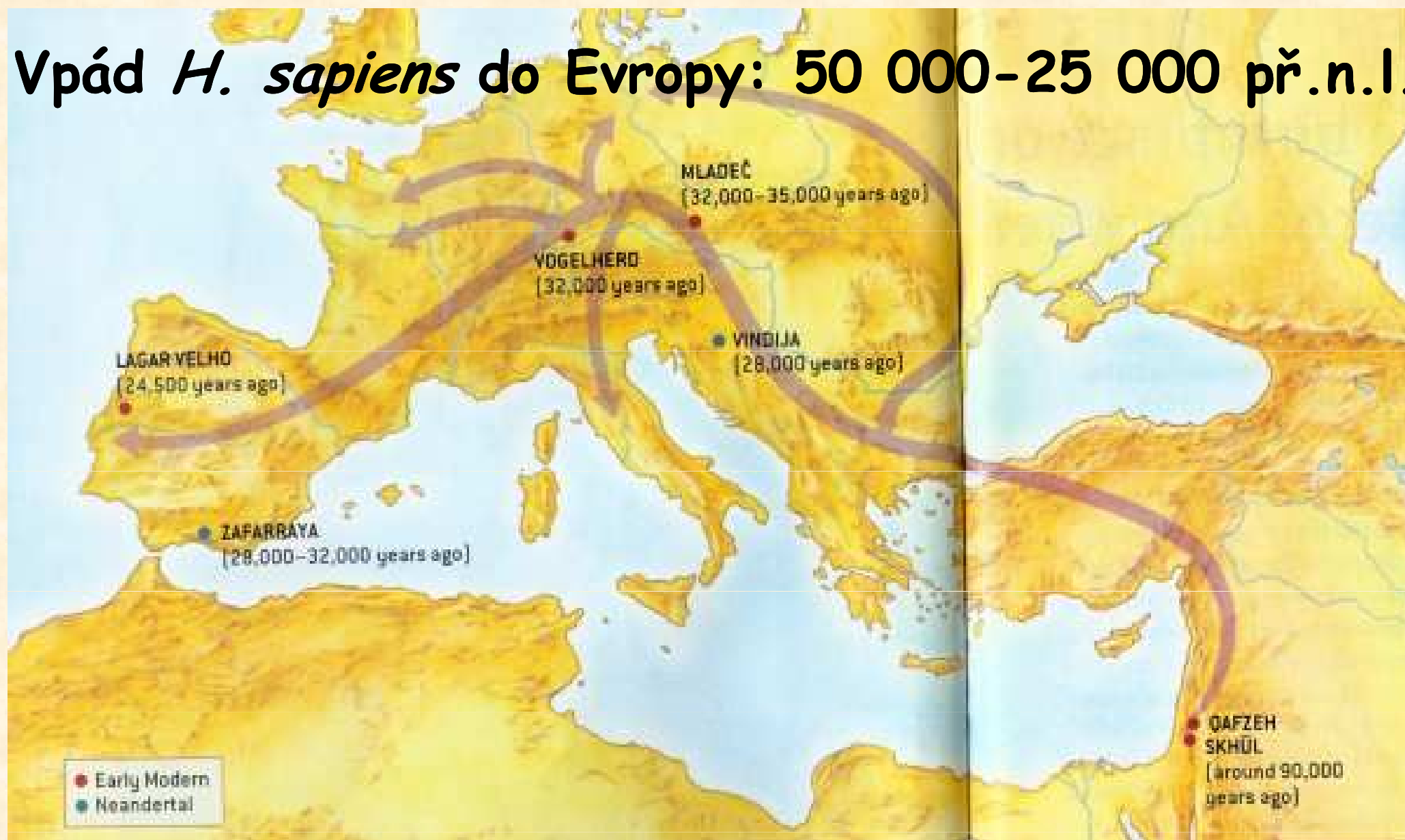
- lidská mozkovna a opičí čelist, nejstarší Evropan?
- 1915 - Ch. Dawson - *Eoanthropus dawsonii*
- 1953 - Kenneth P. Oakley - odhalení podvodu
 - fluorová metoda (starší kosti - více fluoru)

Woodwardova rekonstrukce
mezičlánku mezi člověkem a
opicí (stáří asi 500,000 let)



**Skutečný první evropan:
1993 - Boxgrove (Sussex)
stáří 500 000 let**

Vpád *H. sapiens* do Evropy: 50 000-25 000 př.n.l.



Molekulární archeologie

- studium dávných organizmů pomocí DNA - lidé, zvířata i rostliny
- evoluce člověka, domestikace zvířat i rostlin
- extrakce ze zbytků - kosti, zuby, tkáně, vlasy i fosilie
- amplifikace fosilní DNA metodou PCR, sekvenace a evoluční stromy

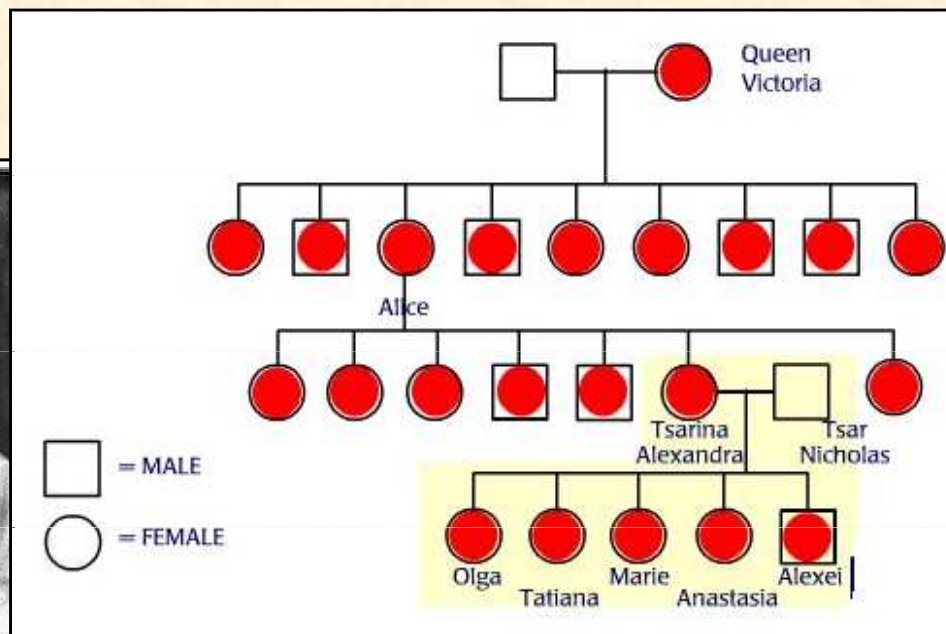
Problémy:

1. degradace DNA, úspěch závisí na prostředí nálezu - klimatu, nejlepší suché a chladné
2. kontaminace - opatření, chirurgický odběr kostí

Úspěchy:

DNA z mamuta, magnolie (20 mil let), egyptských mumií, Ötztalský muž

Po stopách Romanovců (1613-1917)



1918 - poprava
1991 - PCR
1998 - pohřeb

vzorky DNA -
žijící kníže z
Edinburgu



Svante Paabo: „Neandertálci nejsou našimi předky“

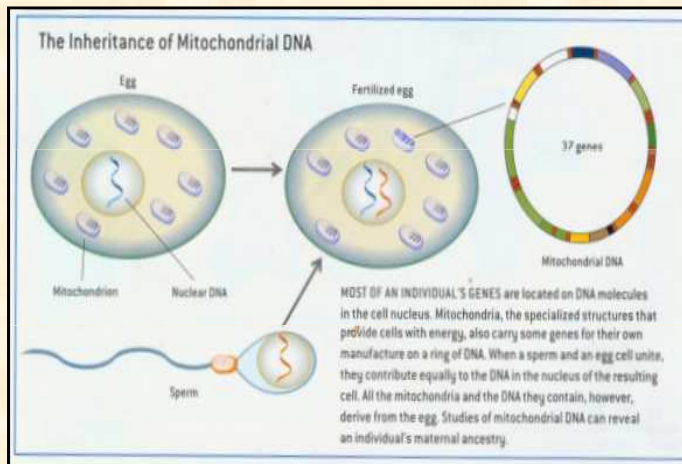
Krings et al. 1997: Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 90, 19-30.

- sekvenována mtDNA neandertálce, 454
- rozdíly mezi mtDNA dnešních lidí a neandertálců jsou větší než mezi dnešními populacemi (26 rozdílů vs. 3 rozdíly v 500 bp mtDNA)

Křížení *H. neanderthalensis* s *H. sapiens*?
Různý počet chromosomů (46x48) a tudíž neplodné potomstvo?

- šimpanz a gorila má 24 párů,
- fúze po oddělení neandertálce?
- kůň a osel - 64x62 chromosomů

Neandertálci žili před
230 000-29 000 lety



Svante Paabo: Sekvenování Neandertálce - 454 sekvenování

nature

Vol 444 | 16 November 2006 | doi:10.1038/nature05336

ARTICLES

Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA

Richard E. Green¹, Johannes Krause¹, Susan E. Ptak¹, Adrian W. Briggs¹, Michael T. Ronan², Jan F. Simons², Lei Du², Michael Egholm², Jonathan M. Rothberg², Maja Paunovic^{3,†} & Svante Pääbo¹

Neanderthals are the extinct hominid group most closely related to contemporary humans, so their genome offers a unique opportunity to identify genetic changes specific to anatomically fully modern humans. We have identified a 38,000-year-old Neanderthal fossil that is exceptionally free of contamination from modern human DNA. Direct high-throughput sequencing of a DNA extract from this fossil has thus far yielded over one million base pairs of hominoid nuclear DNA sequences. Comparison with the human and chimpanzee genomes reveals that modern human and Neanderthal DNA sequences diverged on average about 500,000 years ago. Existing technology and fossil resources are now sufficient to initiate a Neanderthal genome-sequencing effort.

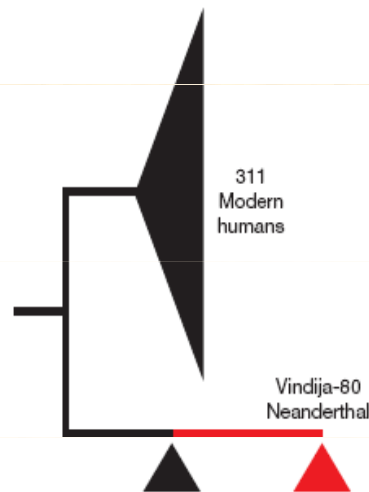


Figure 3 | Schematic tree relating the Vi-80 Neanderthal mtDNA sequences to 311 human mtDNA sequences. The Neanderthal branch length is given with uncorrected sequences (red triangle) and after correction of sequences via independent PCRs (black triangle). Chimpanzee and bonobo sequences (not shown) were used to root the neighbour-joining tree. Several substitution models (Kimura 2-parameter, Tajima-Nei, and Tamura 3-parameter with uniform or gamma-distributed ($\gamma = 0.5-1.1$) rates) yielded bootstrap support values for the human branch from 72–83%.

Diverzita Neandertálců a dnešních lidí je srovnatelná

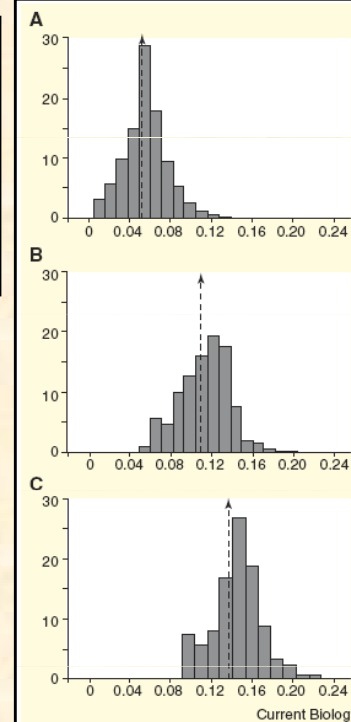


Figure 2. Pairwise distance distribution between modern humans and Neanderthals.

Neanderthals help to tell our story

The availability of Neanderthal genomic sequence data is allowing us to date key events in our own evolution.

So far, only one gene has been convincingly associated with human language and speech — forkhead box P2 (FOXP2). Despite being a highly conserved gene, the human and chimpanzee versions differ at two positions in exon 7, and these substitutions have been implicated in our unique ability for speech.

Krause et al. found both substitutions in two Spanish Neanderthal samples. Further, they concluded that, for both substitutions, at least one of the individuals was homozygous for the derived allele that is predominant in modern populations.

Next, the authors analysed the Neanderthal samples for evidence of a selective sweep close to exon 7 of FOXP2 that, from modern human genetic diversity data, was previously proposed to have occurred within the past 200,000 years. Seven polymorphic regions from the intronic region upstream of exon 7 were successfully amplified from the Neanderthal samples and, for six of these, all products from both Neanderthals represented the derived allele. These results suggest that the selective sweep in the FOXP2 region began before the split from the human-Neanderthal common ancestor, which existed 300,000 to 400,000 years ago — much earlier than previously thought.

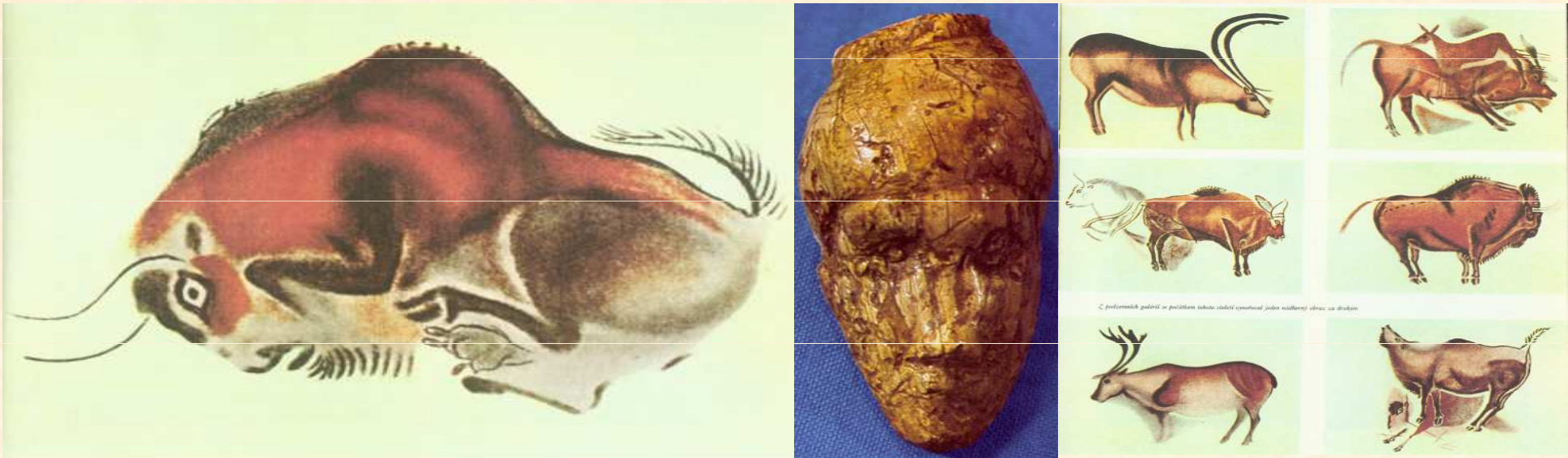
So, Neanderthal sequences can provide a useful tool to investigate our own evolution, making the extreme care that must be taken when retrieving genetic information from ancient samples worthwhile.

Carrie Patis

Moderní člověk-umělec: Paleolit-mousterian, aurignacian ...

„Velký skok vpřed“ (před 50 000 let):

- abstraktní myšlení, plánování, inovace, symbolické chování
- oblékání, pohřbívání, skalní kresby, rafinované pasti a lov



Floreský člověk - Hobit

Nálezy v jeskyni Liang Bua:

- 2003 (LB1), později 8 jedinců
- mezi nejstarší a nejmladší kostrou 80 000 let
- nejmladší jen 12 000 let

Nový druh nebo nemoc:

- mozek jen 380 cm³,
- nejde o patologické jedince (microcephalus)
- velikost mozku a inteligence, nástroje a oheň
- ostrovní fenomén

Rodokmen:

- *H. sapiens* do Austrálie před 45 000 lety
- střet s *H. sapiens* (jako neandertálci)
- živé legendy - Ebu Gogo, poslední setkání před 100 lety, mýty o malých lidech u indiánů, australanů

