

Eduard Kejnovský + Roman Hobza

EVOLUČNÍ GENOMIKA:

OD VZNIKU ŽIVOTA PO GENOM ČLOVĚKA

Evoluční genomika 2017:

- 21.2. - Vznik života
- 28.2. - Svět RNA a první genomy
- 7.3. - Historie genomiky
- 14.3. - Strategie a metody genomiky
- 21.3. - Evoluce genomů
- 28.3. - Evoluce genů
- 4.4. - Dynamika genomů
- 11.4. - Lidský genom a evoluce člověka
- 18.4. - Velikonoce
- 25.4. - Evoluce sexuality I.
- 2.5. - Evoluce sexuality II.
- 9.5. - Polyploidizace
- 16.5. - Malé RNA
- 23.5. - Diskuse a test

Brno, jaro 2017

OSNOVA

1. Kosmologická předehra
2. Vznik života
3. První genetické systémy a vznik genetického kódu

KOSMOLOGICKÁ PŘEDEHRA

Mýty a náboženství

Albert Einstein - teorie relativity, první rovnice pro vesmír

Alexander Friedmann (1922) - rovnice nemají statické řešení, smršťování nebo rozpínání vesmíru

Edwin Hubble (1929) - rudý posun ve spektrech vzdálených galaxií, úměrný vzdálenosti, vesmír se rozpíná

George Gamow (1948) - původ těžších prvků, vyšší hustota na počátku, existence počátku, „big bang“ (**Fred Hoyle**)

Penzias a Wilson (1964) - reliktní záření, 2.7K, izotropní

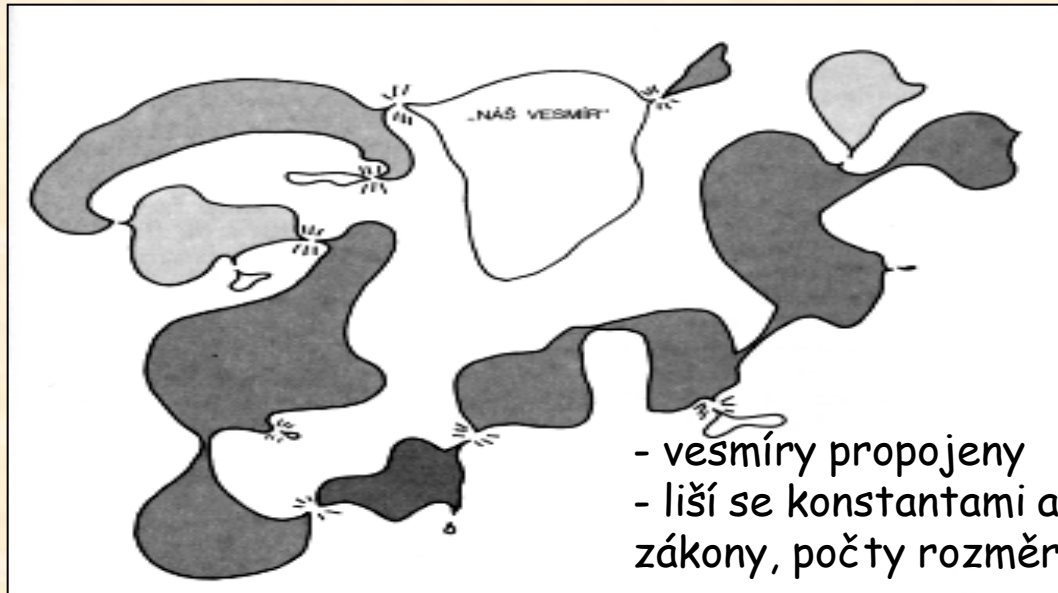
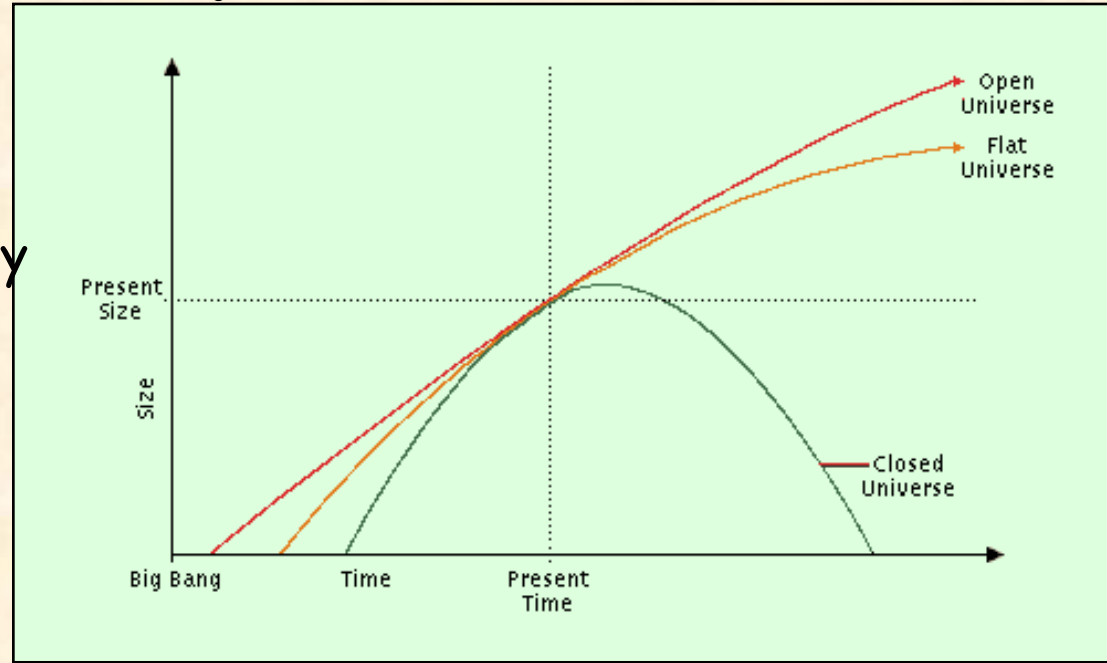
Velký třesk a rozpínání vesmíru

Velký třesk (Big bang):

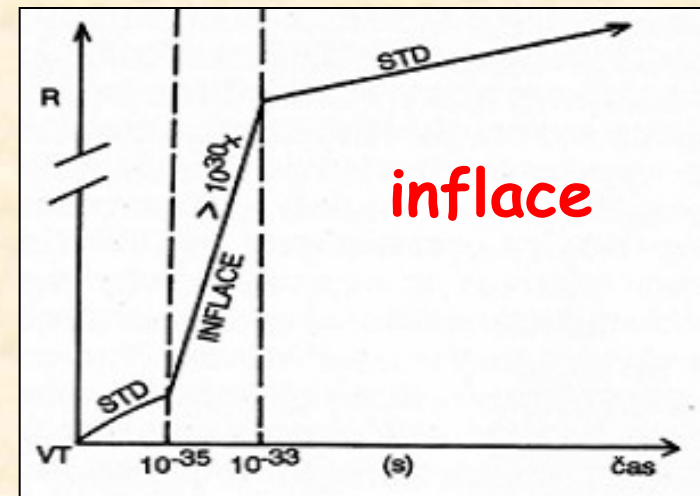
- singularita
- neplatí fyzikální zákony
- vznik prostoru, času a hmoty
- reliktní záření, inflace

Otázka vzniku času:

- Aristoteles
- křesťanství
- kosmologie
- teorie strun



- vesmíry propojeny
- liší se konstantami a zákony, počty rozměrů



Temná hmota, temná energie

Antropický princip



Fyzika totiž zjistila, že existence života na Zemi je téměř zázrakem. Stačilo by, aby fyzikální konstanty vesmíru byly jen nepatrně odlišné a hmota ani život, jak je známe, by nevznikly. Vlastnosti vesmíru jsou přesně a jemně vyladěné právě tak, že na Zemi mohl vzniknout život a nakonec člověk. Téměř se zdá, že vesmír vznikl proto, aby mohla inteligentní bytost vzniknout. V USA dal antropický princip podnět ke vzniku nového kreacionistického hnutí, "**Intelligent Design**".

Zrodil se tak tzv. **antropický princip**, který zformuloval v r.1973 kosmolog Brandon Carter ve dvou verzích:

"Slabá" verze konstatuje skutečnost, že svět je právě takový, že na něm mohl vzniknout život. *"Povaha vesmíru a naše místo v něm jsou slučitelné s naší existencí jako pozorovatelů"*. Prostě tu jsme, protože tu můžeme být.

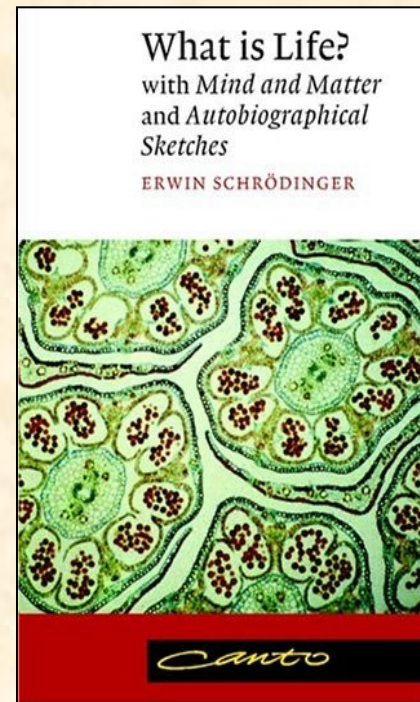
"Silná" verze říká, že do základů vesmíru byly vloženy takové specifické informace, aby v něm **zákonitě inteligentní život musil** vzniknout.

VZNIK ŽIVOTA

Co je život?

Definice NASA:

- otevřený systém
- replikace
- samosestavování
- evoluce



Atributy života:

- reprodukce, metabolismus, růst, adaptace, odpověď na podněty, aj.
- život a druhý zákon termodynamiky

Life is
commitment
competition
stage
award ceremony
management
game

Life is an Adventure... Dare it.
Life is a Love... Enjoy it.
Life is a Tragedy... Face it.
Life is a Struggle... Fight it.
Life is a Promise... Fulfill it.

Life is ten percent what happens to you and ninety percent how you respond to it.

Lou Holtz

Kdy začíná?

Klasická a moderní abiogeneze

Aristoteles - život má původ v neživé hmotě

Francesco Redi (1668) - zabránil larvám klást vajíčka a z masa larvy nevznikaly, „omne vivum ex ovo“

Antoni van Leeuwenhoek (1683) objevil bakterie

Lazzaro Spallanzani (1768) - bakterie pocházejí také ze vzduchu a mohou být zničeny varem

Louis Pasteur (1862)- mikroorganismy přítomny v organických materiálech, sterilizace

Woehler (1828) - syntéza močoviny, kvantifikace energie při reakcích, není prostor pro vitální sílu, redukcionismus

Moderní abiogeneze:

- vznik života na Zemi sérií postupných kroků

- stavební kameny (AK, báze) → polymery → buňka

- různé hypotézy (svět RNA, Miller, panspermie)

Oponenti - falzifikovatelnost, malá pravděpodobnost

Rozdíl mezi klasickou a moderní abiogenezí:

- frekvence vzniku života

- složitost vznikajících organismů



Vitalistická filozofie - dělila přírodu na živou a neživou, vyloučila abiogenezi

Redukcionismus - odmítá rozdíl mezi anorganickou a organickou hmotou, složité věci lze vysvětlit jednoduššími, řada fyzika-chemie-biologie-sociologie, Dawkins

Moderní teorie chemické evoluce a podmínky na Zemi v době vzniku života



A.I. Oparin (1924) - složité molekulární struktury vznikly z jednodušších

Haldane (1928) - život vzešel z primordiální polévky, úloha UV záření

H. Urey - atmosféry ostatních planet jsou redukující

Více různých teorií:

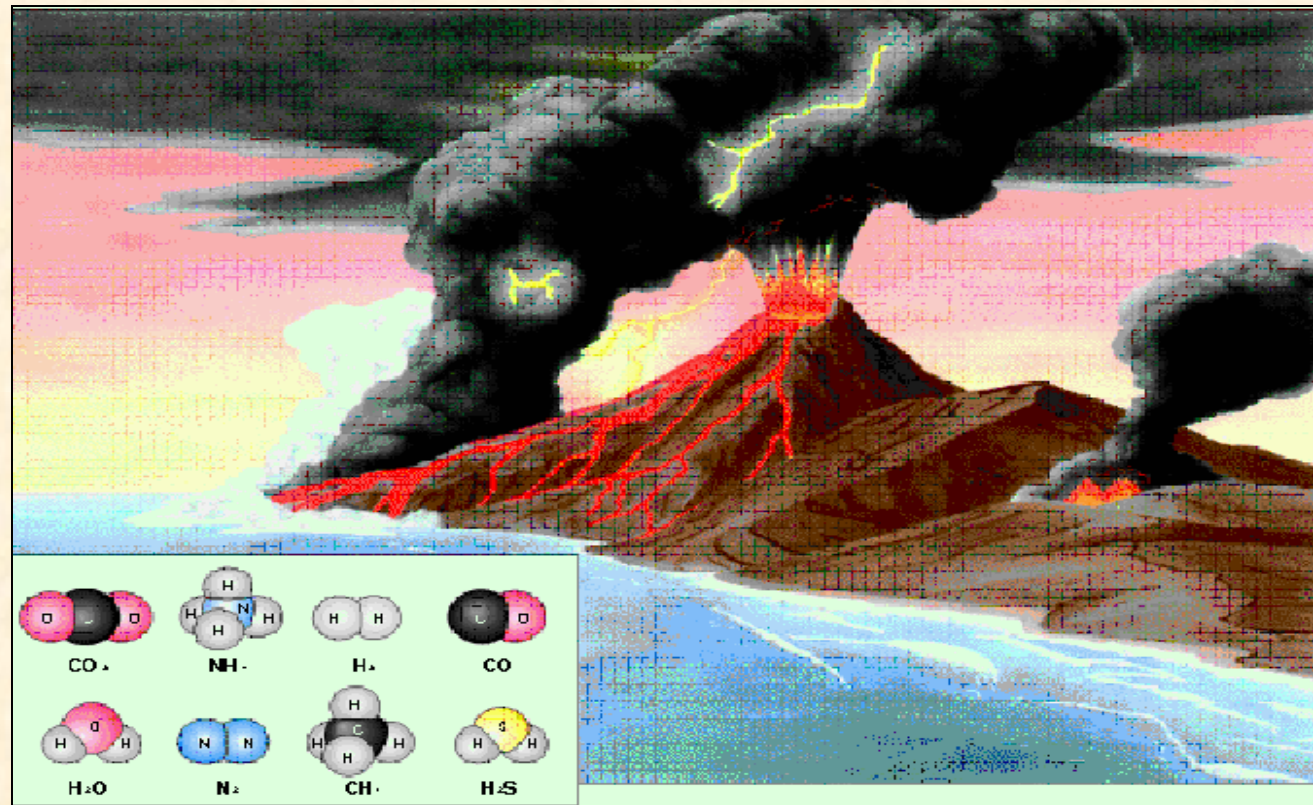
svět RNA, protenoidy, Millerovy experimenty, panspermie aj.

Poloha Země (4.5 mld)

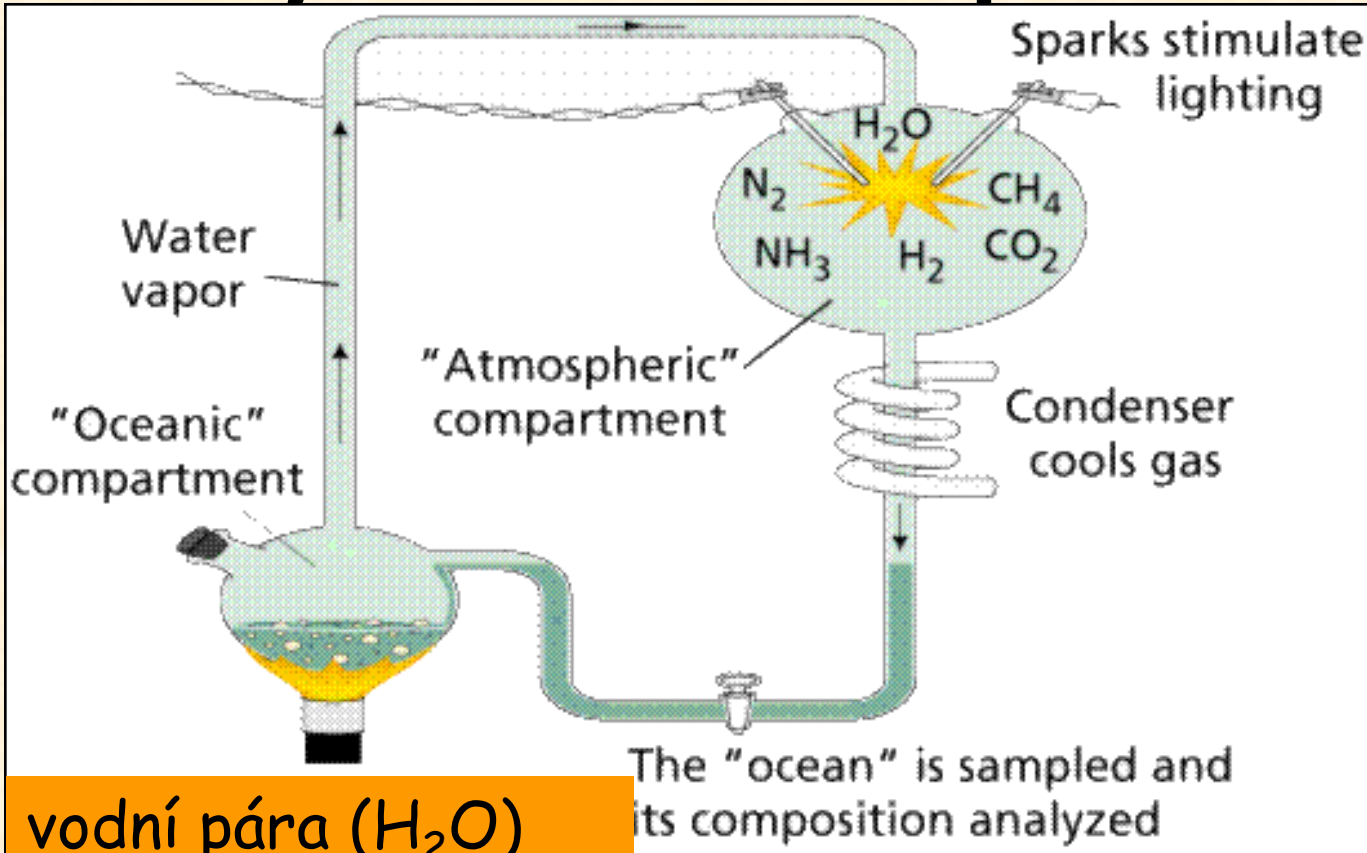
Sopečná činnost a
atmosféra

Po zchlazení moře
(před 4 mld)

Život před 3.8mld



Urey-Millerův experiment



Modifikace:

1. Pyrosyntéza
2. UV záření
3. tlakově vlny
4. kosmické záření
5. radioaktivita
6. sluneční vítr

vodní pára (H_2O)
amoniak (NH_3)
metan (CH_4)
vodík (H_2)
dusík (N_2)
oxid uhličitý (CO_2)

Výsledek:

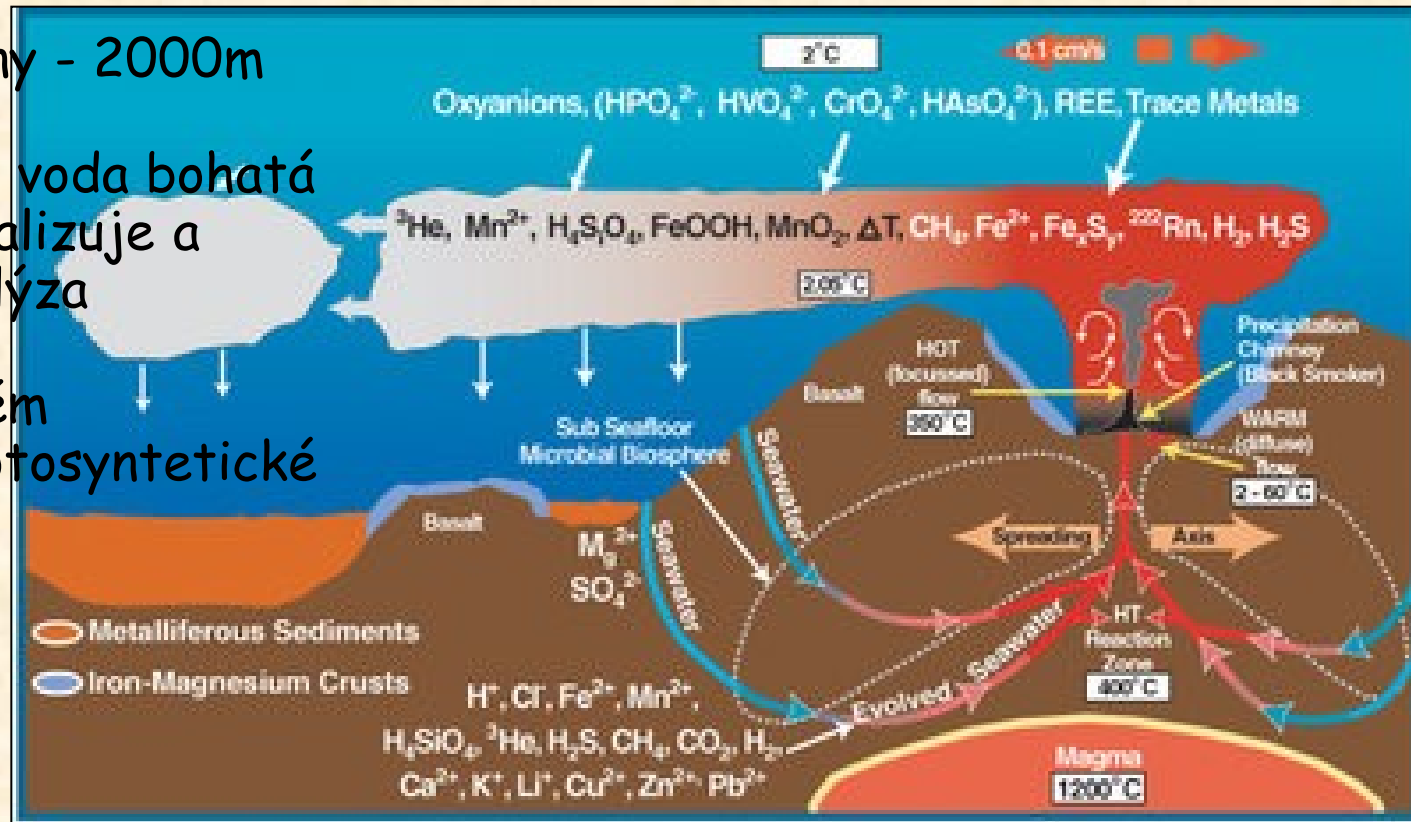
20 AK, 5 bází, hlavní cukry

Námítky a současný pohled

1. atmosféra nebyla redukující, 2. kyslík z fotolýzy vody a hornin, 3. problém - kyslík byl jedem

Vznik života v podmořských sopkách

- podmořské komíny - 2000m
- vyvěrá přehřátá voda bohatá na minerály, krystalizuje a sedimentuje, katalýza
- zvláštní ekosystém (extremofilové, fotosyntetické bakterie)



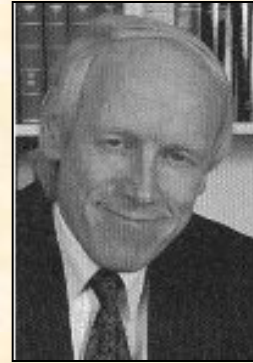
Teorie „hluboké horké biosféry“

- první život se vyvinul hluboko pod povrchem Země
- dnešní bakterie několik kilometrů pod povrchem
- možnost života na jiných planetách nebo měsících

Teorie světa sulfidů kovů (Wachtershauser, 1980)

jednoduchý
metabolismus
předcházet genetice

- za přítomnosti **sulfidů kovů** vznikají složitější uhlíkaté sloučeniny
- reakce vytvářející energii využitelnou pro další reakce cyklů
- vzrůstá složitost **cyklů**
- reakce neprobíhaly ve volném oceánu ale **na povrchu minerálů** (pyrit)
- důležitá role **kyseliny octové** - jednoduchá kombinace C+H+O, dodnes klíčové postavení v metabolismu
- 1997: smíchal CO, H₂S, NH₃, NiS, FeS **při 100°C** a získal **AK a peptidy**
- podmínky podobné blízkosti podmořských sopek



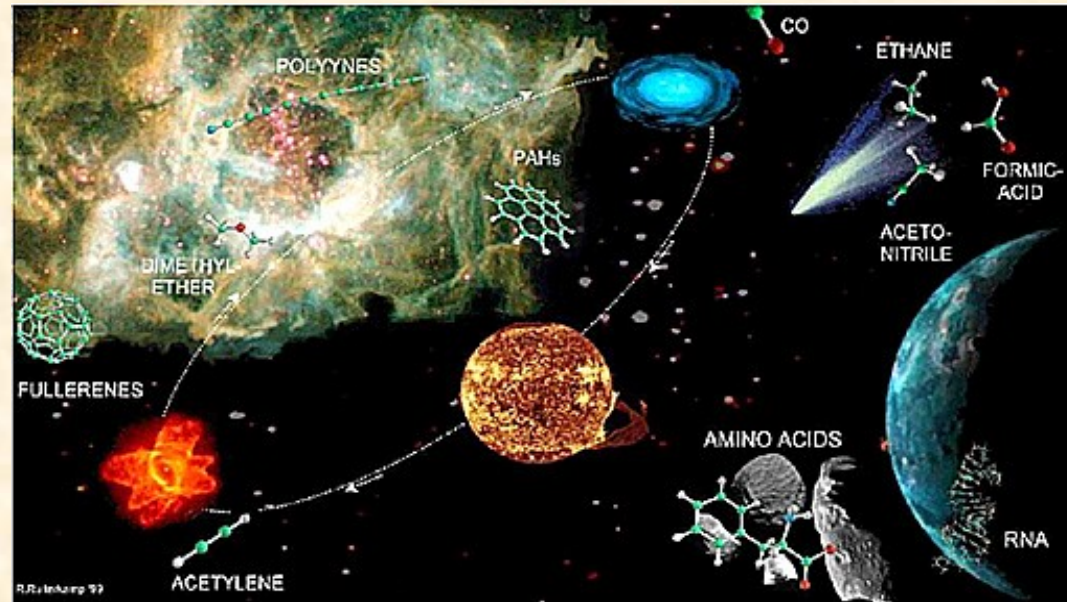
Potíže teorií vzniku života:

vznik na povrchu Země - jedovatý kyslík rozkládá organické látky
vznik na dně oceánů - RNA je nestabilní při vysokých teplotách

—————> Vznik života v mělkých lagunách na povrchu

Panspermie: Přišel život z vesmíru?

- Anaxagoras (5. stol. př.n.l.): zárodky života rozptýleny po celém vesmíru
- Lord Kelvin, Arrhenius (1908): panspermie
- Sir Fred Hoyle, Crick: řízená panspermie



Vesmír je bohatý na organické látky

Komety:

- mohou přenášet organické látky, Hyakutake - methan

Meteority:

- denně na Zemi dopadá až 150 tun organického materiálu, dříve více

- prebiotické reakce v mělkých lagunách

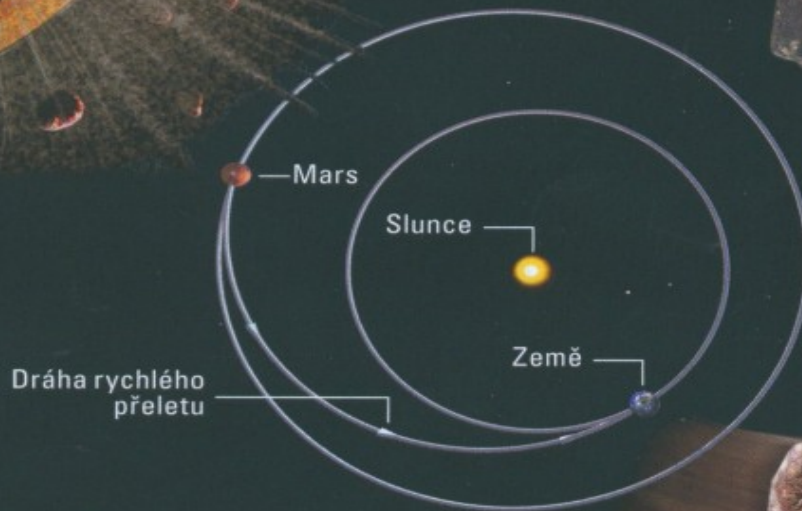
- objev aromatických polycyklických uhlovodíků (PAH) v okolí mrtvých hvězd

- glycin v mezihvězdném prachu

Chondrity - nejstarší kamenné meteority, obsahují chondruly s organickými látkami, Murchison - 64 druhů AK, jen 8 „pozemských“ AK

Vždy jednou za několik milionů let do Marsu narazí asteroid nebo kometa s energií, která postačuje k vymrštění hornin, jež mohou uniknout z dosahu přitažlivosti červené planety a nakonec se dostat na Zemi. Pokud se před miliardami let vyvinul na Marsu život, lze si představit, že horniny s biologickými materiály podnikly vesmírnou pouť dostatečně rychle a přenesly život na Zemi.

Dokonce i velmi prudké nárazy mohou vymrstit horniny a prachové částice z povrchové vrstvy Marsu bez toho, aby je zahřály na teplotu neslučitelnou s životem.



Většina hornin spojených se Zemí strávila ve vesmíru dlouhou dobu. Nejznámější marsovský meteorit, ALH84001 (nahore), putoval vesmírem 15 milionů let. Ale z každých deseti miliónů předmětů/objektů se jeden dostane na Zemi za méně než jeden rok, a je tak jen velmi krátce vystaven meziplanetárnímu záření.

Meziplanetární expres

Při vstupu do atmosféry Země by se zahřál povrch meteoritu, ale ne jeho vnitřek. Jakékoli mikroby v nitru horniny by přežily. Prachové částice by se vyhnuly přílišnému zahřátí tím, že jejich rychlost by se snižovala postupně.

Bakterie - vesmírní kolonizátoři?

Streptococcus mitis:

- náhodně zavléčen na Měsíc (Surveyor3) a po 31 měsících zpět (Apollo12) a byl životaschopný

Deinococcus radiodurans:

- 15 000 Gy/ 37% životaschopnost
- člověk 10 Gy, *E. coli* 60 Gy

bakteriální spóry:

- odolnost, konformace A-DNA
- izolace bakterií z trávicího traktu hmyzu zalitého v jantaru (25-40 mil. roků)
- solné vrstvy (New Mexico) - bakterie 300 mil let



Extremofilové

Acidophile: An organism with an optimum **pH** level at or below pH 3.

Aerobe: requires **O₂** to survive.

Alkaliphile: An organism with optimal growth at pH levels of 9 or above.

Anaerobic: does not need O₂ to survive.

Endolith: An organism that lives inside rocks.

Halophile: An organism requiring at least 0.2M of **NaCl** for growth.

Hypolith: An organism that lives inside rocks in cold deserts.

Mesophile: An organism that thrives in temperatures between 15-60 °C.

Metalotolerant: capable of tolerating high levels of heavy metals, such as **copper**, **cadmium**, **arsenic**, and **zinc**.

Microaerophilic: requires levels of O₂ that are lower than atmospheric levels.

Oligotroph: An organism capable of growth in nutritionally limited environments.

Piezophile: An organism that lives optimally at high hydrostatic **pressure**. See also **Barophile**

Psychrophile: An organism that can thrive at temperatures of 15 °C or lower.

Radioresistant: resistant to high levels of ionizing **radiation**.

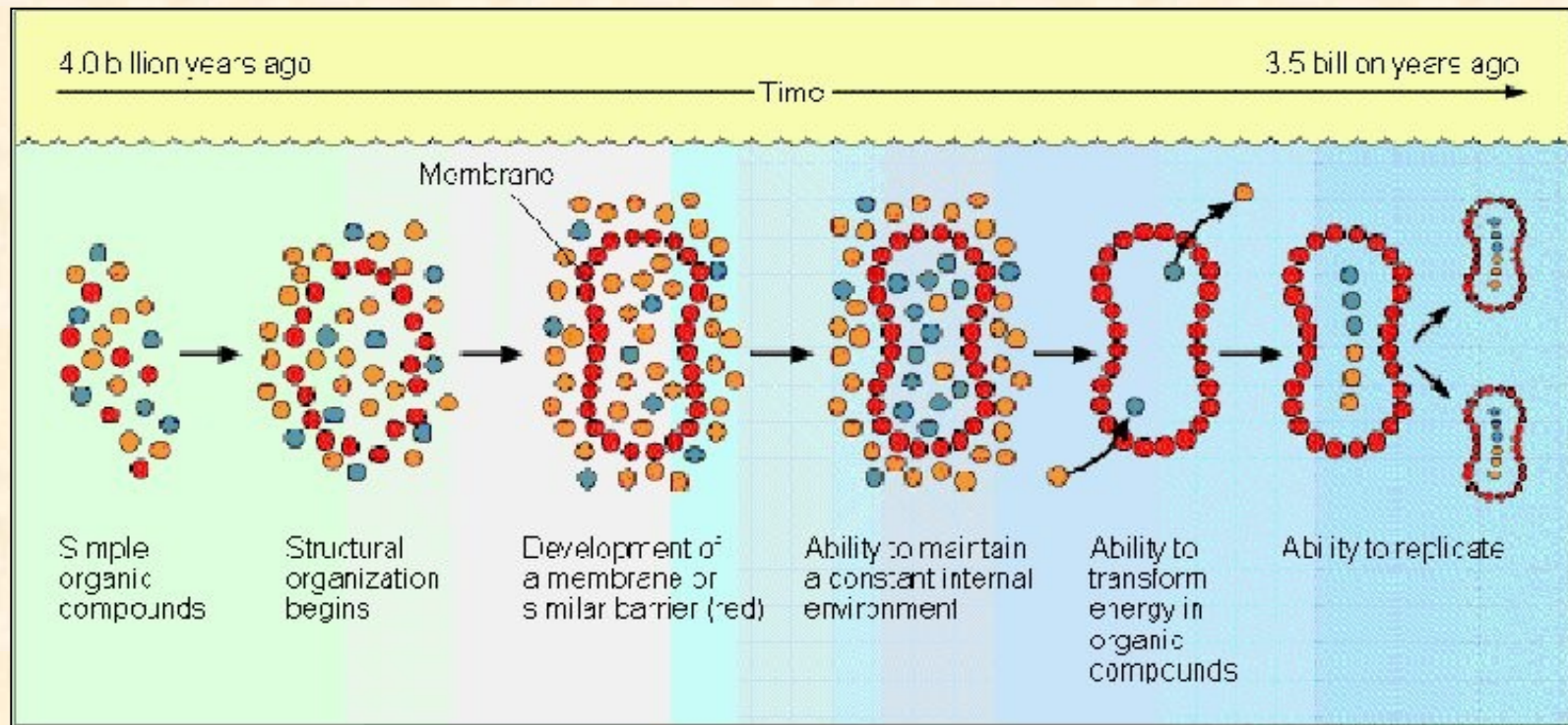
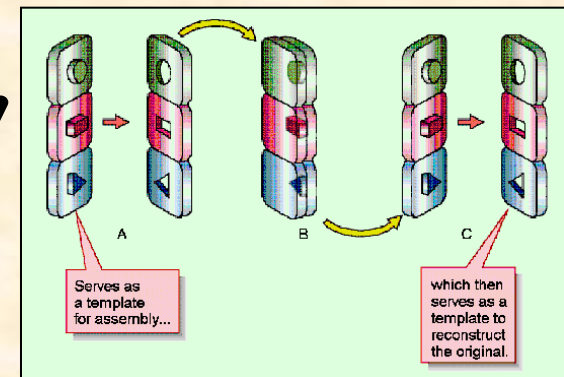
Thermophile: An organism that can thrive at temperatures between 60-80 °C.

Xerotolerant: requires water to survive

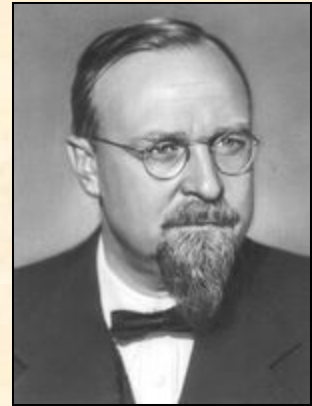
PRVNÍ GENETICKÉ SYSTÉMY A VZNIK GENETICKÉHO KÓDU

První genetické systémy

1. Proteiny - koacerváty a mikrosféry
2. Nukleové kyseliny - genová teorie a ribozymy
3. Proteiny i nukleové kyseliny - genetický kód
4. Jiný princip - PNA, polycyklické aromatické uhlovodíky, jíly

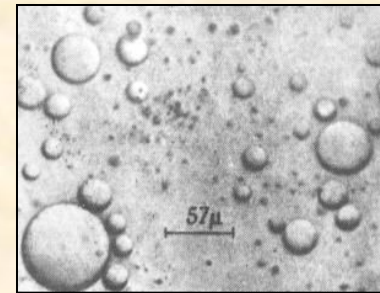


Na počátku byly pouze **proteiny**:



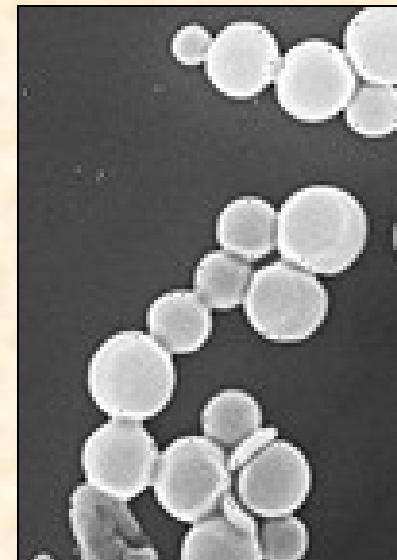
1. Oparinovy koacerváty

- aminokyseliny vznikají snadněji než báze NK
- primitivní modely buňky
- hromadění produktů, reakce, růst, dělení
- vznikají v koloidních roztocích
- problém ředění



2. Foxovy mikrosféry

- otázka původu enzymatických molekul
- vznikají z protenoidů = polymery vzniklé kondenzací aminokyselin
- pořadí AK v těchto polymerech je náhodné
- některé mohou vykazovat katalytickou funkci



Na počátku byly pouze nukleové kyseliny

- genová hypotéza

Co bylo dříve

- DNA nebo proteiny?



- RNA je genetický materiál i katalyzátor postuloval Crick 1968
- katalyticky aktivní RNA - **RIBOZYM** (Cech 1982)
- RNA svět (W. Gilbert 1986)
- vznik genetického kódu a proteosyntézy jednoduché polymery - replikátory, **RNA**

evoluce

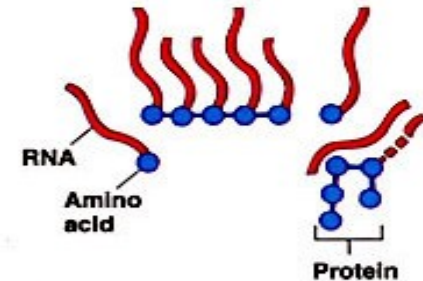
složitá biochemie: **DNA** - RNA - **protein**



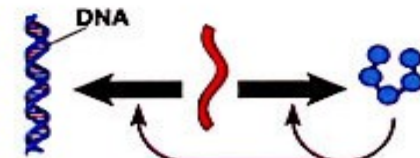
[A] RNA forms



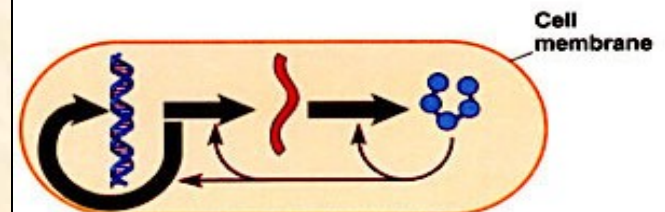
[B] Ribozymes catalyze RNA replication



[C] RNA catalyzes protein synthesis



[D] RNA encodes both DNA and protein

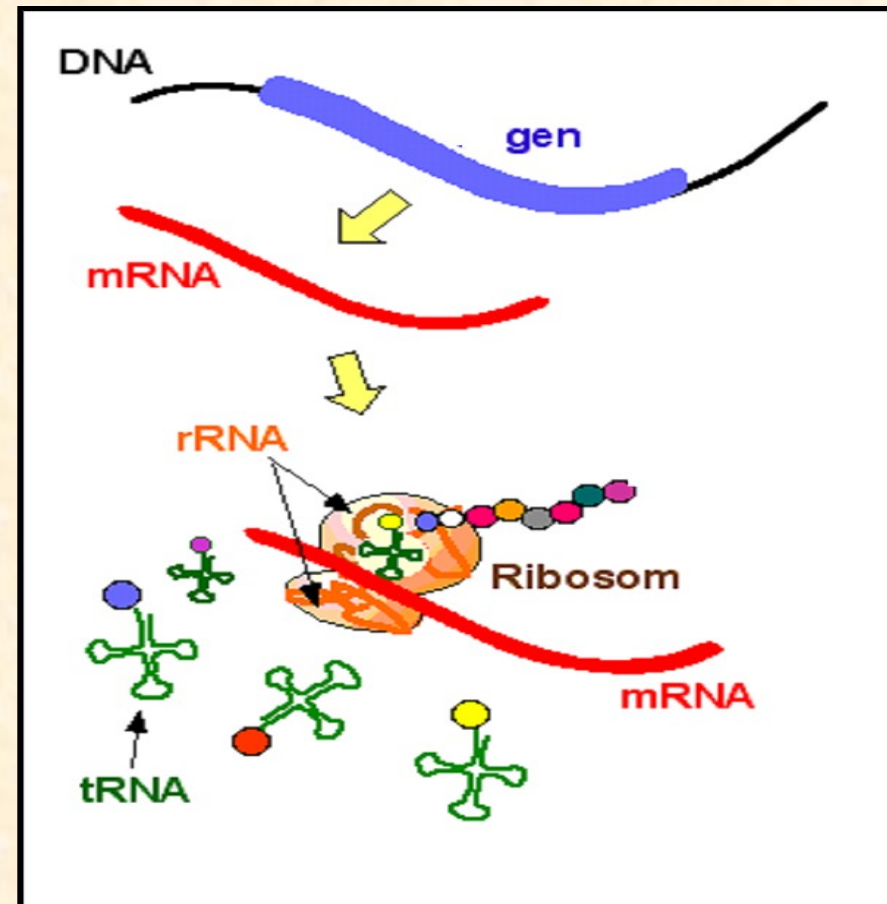


[E] Proteins catalyze cell activities

Na počátku byly proteiny i nukleové kyseliny (**koevoluce**)

VZNIK GENETICKÉHO KÓDU

1. Unikátní vysoce nepravděpodobná **událost** („frozen accident“)
2. Postupný **vývoj**
3. Produkt rozumné **bytosti** - nesplňuje kritérium vědecké hypotézy (ověřitelnosti)



Důkazy postupné evoluce genetického kódu

- Minimalizace **chyb**
- Přímé **interakce** AK s kodony
- AK kódované podobnými kodony jsou syntetizované stejnými **biochemickými** dráhami

GC model

Nejstarší triplety **GXC**
Gly, Ala, Val, Asp
 glycinové hodiny
 mutační expanze

Stejně AK v prebiotické syntéze, v prakódu i v meteoritech

	U	C	A	G
U	UUU Phe UUC Phe UUA Leu UUG Leu	UCU Ser UCC Ser UCA Ser UCG Ser	UAU Tyr UAC Tyr UAA TER UAG TER	UGU Cys UGC Cys UGA TER UGG Trp
C	CUU Leu CUC Leu CUA Leu CUG Leu	CCU Pro CCC Pro CCA Pro CCG Pro	CAU His CAC His CAA Gln CAG Gln	CGU Arg CGC Arg CGA Arg CGG Arg
A	AUU Ile AUC Ile AUA Ile AUG Met	ACU Thr ACC Thr ACA Thr ACG Thr	AAU Asn AAC Asn AAA Lys AAG Lys	AGU Ser AGC Ser AGA Arg AGG Arg
G	GUU Val GUC Val GUA Val GUG Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAU Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly

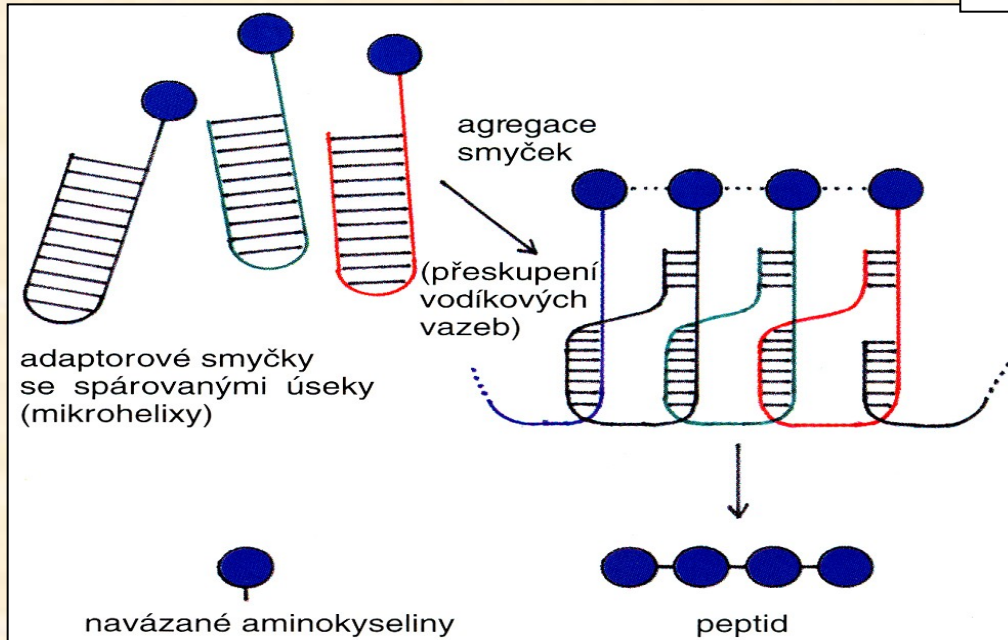
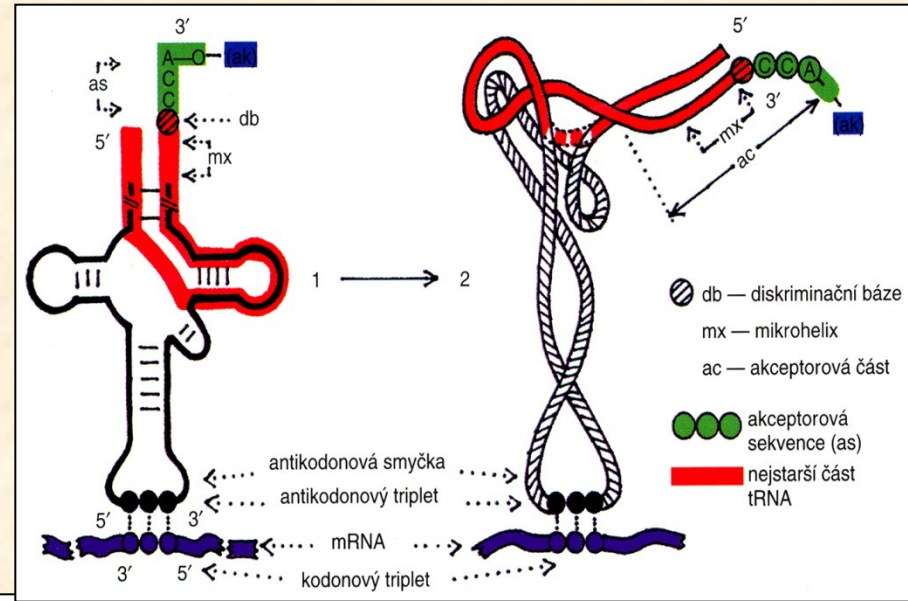
 Acidic	 Amide	 Hydroxyl containing
 Alkyl	 Aromatic	 Sulfur containing
 Alkyl	 Basic	 STOP

Odchytky od standardního kódu

tRNA: nejstarší biomakromolekula

Možný vznik tRNA

- replikace RNA genomů s náhodným počátkem, fosilie - fág Q β
- výhodný počátek na 3' konci, mikrohelix
- vazba AK stabilizuje replikázový komplex,
- po replikaci odštěpení vlásenek \rightarrow předchůdce tRNA
- dle homologie se řadí vedle sebe \rightarrow kondenzace AK



Nekódovaná syntéza peptidů

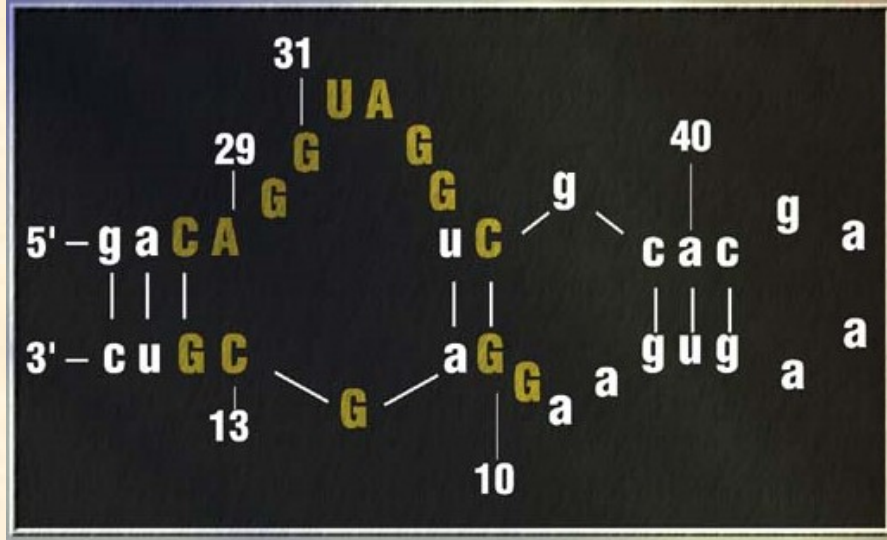
Adaptorové smyčky

Diferenciace RNA na genotyp (komplementární vlákna) a fenotyp (adapitory)

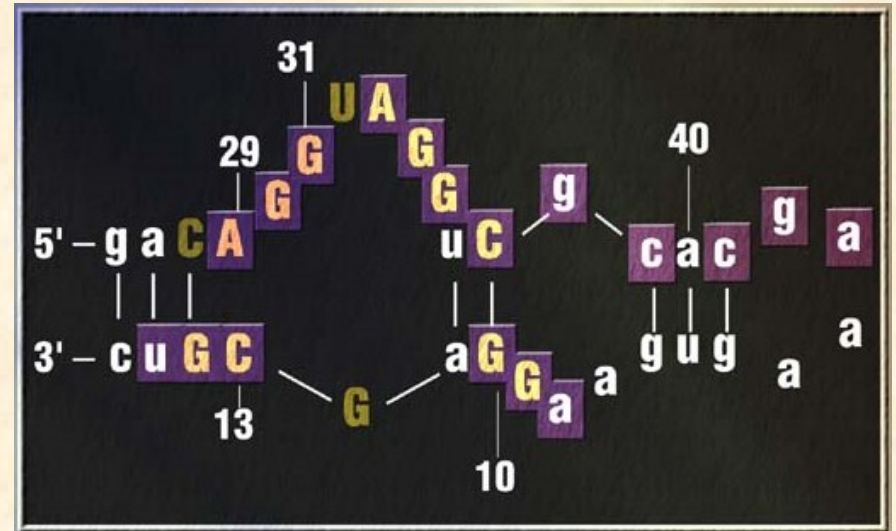
Změna terciální a kvartérní struktury adaptorů mohla vytvořit podmínky pro vznik peptidové vazby

Aptamery a genetický kód

- SELEX experimenty
- aptamerové RNA silně se **váží** na arginin obsahují argininové **kodony** (Schostak)
- na počátku **přímé interakce** AK a RNA (kodonů)
- složitý translační aparát (tRNA) až pozdějším výdobytkem

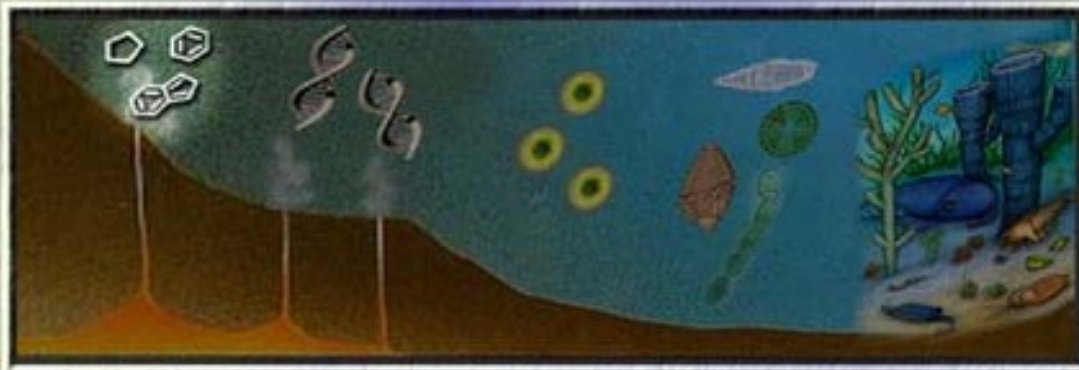


Báze **váží** arginin (zeleně)



Argininové **kodony** (AGG)

Stejné AK v prebiotické syntéze, v prakódu i v meteoritech



Same amino acids in prebiotic syntheses, meteorites

Most common α -amino acids present in code

Some curiously absent from code — maladaptive?

Amino Acid	Gly	Ala	Asp	Glu	Pro	Val	Ser	ILTK	X
Spark Tube	++	++	+	+	+	+	+	+	-
HCN Polymerization	++	++	++	+	?	-	-	-	-
Murchison Meteorite	++	++	+	+	++	+	-	-	-
Nakhla Meteorite	++	++	+	++	-	-	+	-	-



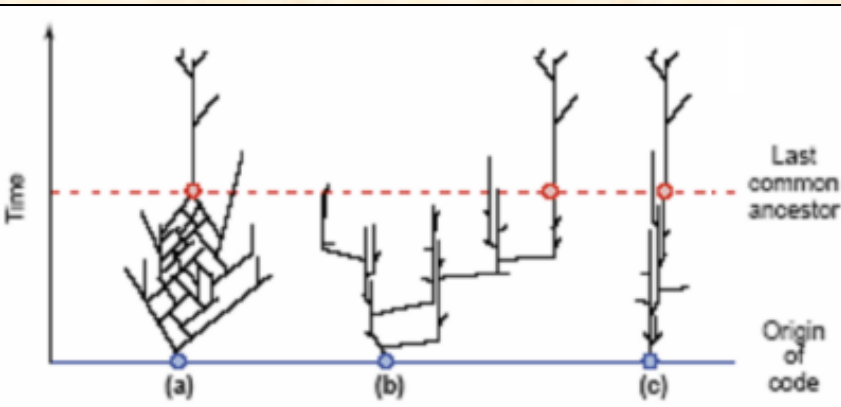
Did prebiotic conditions influence the amino acid repertoire?

Weber & Miller (1981), Wong & Bronskill (1979), Kvenwolden et al. (1970, 1971), Glavin et al. (1999)

Odchyly od univerzálního genetického kódu

- AK → jiná AK
- AK → nonsense
- Stop → AK

mt kvasinek, obratlovců, ostnokožců aj.



(a) Nuclear variants

	U	C	A	G
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys
	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA TER UAG TER	UGA TER UGG Trp
C	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg
	CUA Leu CUG Leu	CCA Pro CCG Pro	CAA Gln CAG Gln	CGA Arg CGG Arg
A	AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser
	AUA Ile AUG Met	ACA Thr ACG Thr	AAA Lys AAG Lys	AGA Arg AGG Arg
G	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly
	GUA Val GUG Val	GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly

Gln (red box): Diplomonada, Acetabularia, Some ciliates, Other ciliates

Cys/Trp (red box): Euplozea, Mycoplasma, Spiroplasma

Ser (yellow box): Caridea, Saccharomyces

Nonsense (grey box): Mycoplasma, Spiroplasma

Nonsense (grey box): Micrococci

(b) Mitochondrial variants

	U	C	A	G
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys
	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA TER UAG TER	UGA TER UGG Trp
C	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg
	CUA Leu CUG Leu	CCA Pro CCG Pro	CAA Gln CAG Gln	CGA Arg CGG Arg
A	AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser
	AUA Ile AUG Met	ACA Thr ACG Thr	AAA Lys AAG Lys	AGA Arg AGG Arg
G	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly
	GUA Val GUG Val	GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly

Various (red box): Some chlorophytes (UAG = Leu), Some chlorophytes (UAG = Ala), Platyhelminths (UAA = Tyr)

Tip (red box): Ancestral mitochondrion, Dicyclotulus, Plants, Chondrus crispus, Some prymniophytes

Thr (yellow box): Yeast

Nonsense (grey box): Yeast

Nonsense (grey box): Caridea, Protozoa (skpa)

Various (grey box): Bilateria (Ser), Drosophila (nonsense), Vertebrates (Gly), Tunicates (TER)

Met (yellow box): Yeast, Tapeworms, Echinodermata

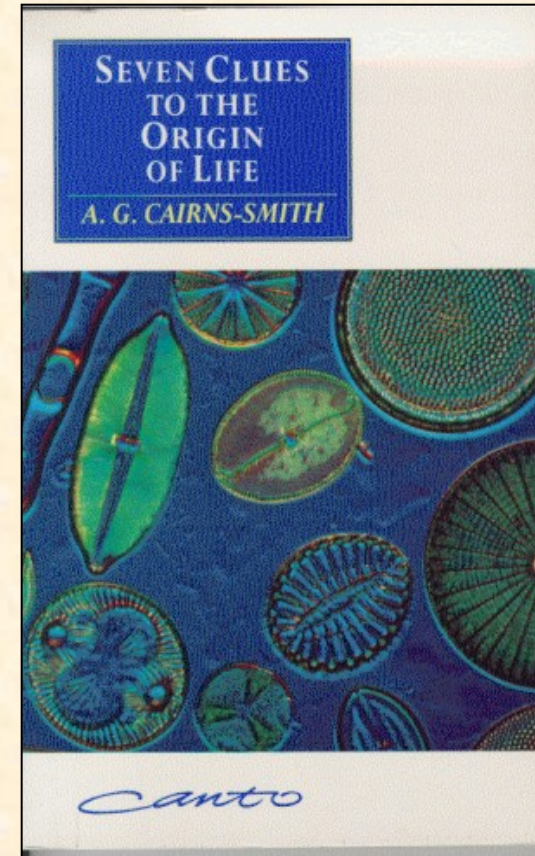
Asn (yellow box): Platyhelminths, Echinodermata

Jiný organizační princip: Teorie jílů

Alexander Graham Cairns-Smith (1985):
„Seven Clues to the Origins of Life“

- anorganické křemičitanové látky tvořící krystaly
- replikace
- mutace
- šíření do okolí, sedimentace
- obdoba přírodního výběru

Problém **přechodu** („takeover“) od jílů
k nukleovým kyselinám, teorie není
široce akceptována



Život na bázi křemíku?

Důvody pro křemík:

- vyšší stabilita, možnost života při vyšších teplotách
- ve vesmíru velmi rozšířen
- v periodické tabulce leží pod uhlíkem, podobná chemie
- váže čtyři vodíky (SiH_4 , silan), tvoří polymery (silikony), kde se střídají Si-O (podobně jako C-O tvoří polyacetaly)

Nevýhody:

- je větší a proto hůře tvoří dvojně a trojně vazby
- dlouhé řetězce méně stabilní
- silany jsou velmi reaktivní s vodou

Další prvky a rozpouštědla

Fosfor:

- může tvořit dlouhé polymery
- velmi reaktivní, stabilnější v kombinaci s dusíkem
- P-N vazbu tvoří různé sloučeniny i cyklické

Síra místo kyslíku - některé bakterie

Rozpouštědla:

Čpavek:

- rozpouští většinu organických látek i některé kovy
- normální tlak: kapalný při -79 až -33°C
- při 60 atm: kapalný při -77 až $+98^{\circ}\text{C}$
- podmínky pod povrchem měsíce Titanu

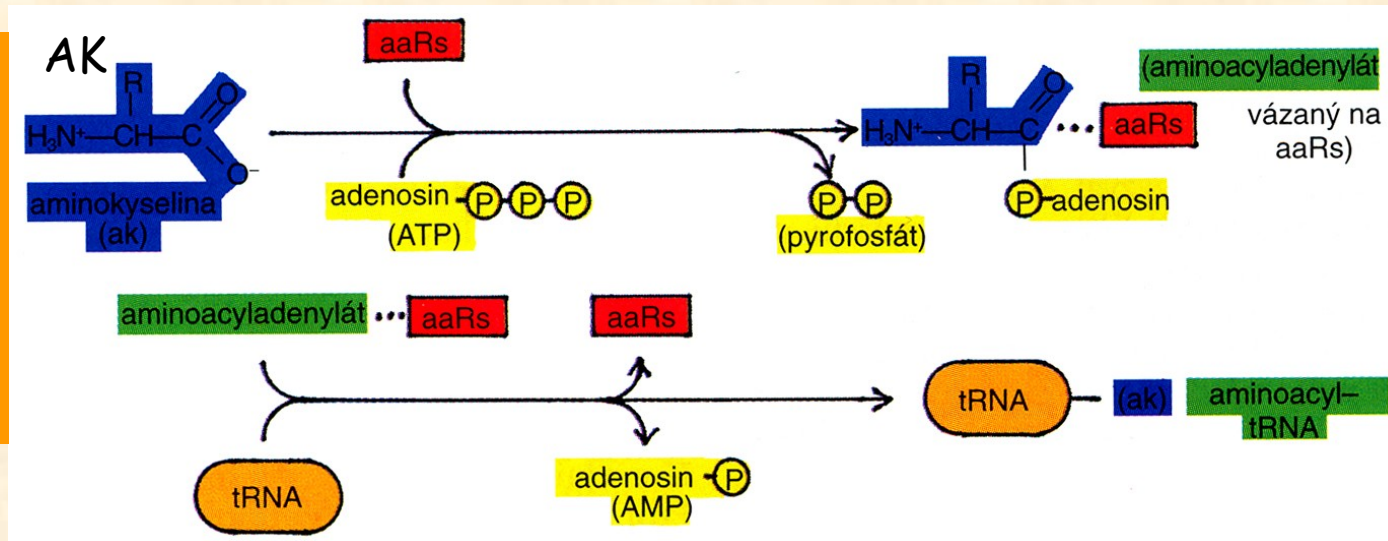
KONEC

Inkorporace bílkovin do RNA světa

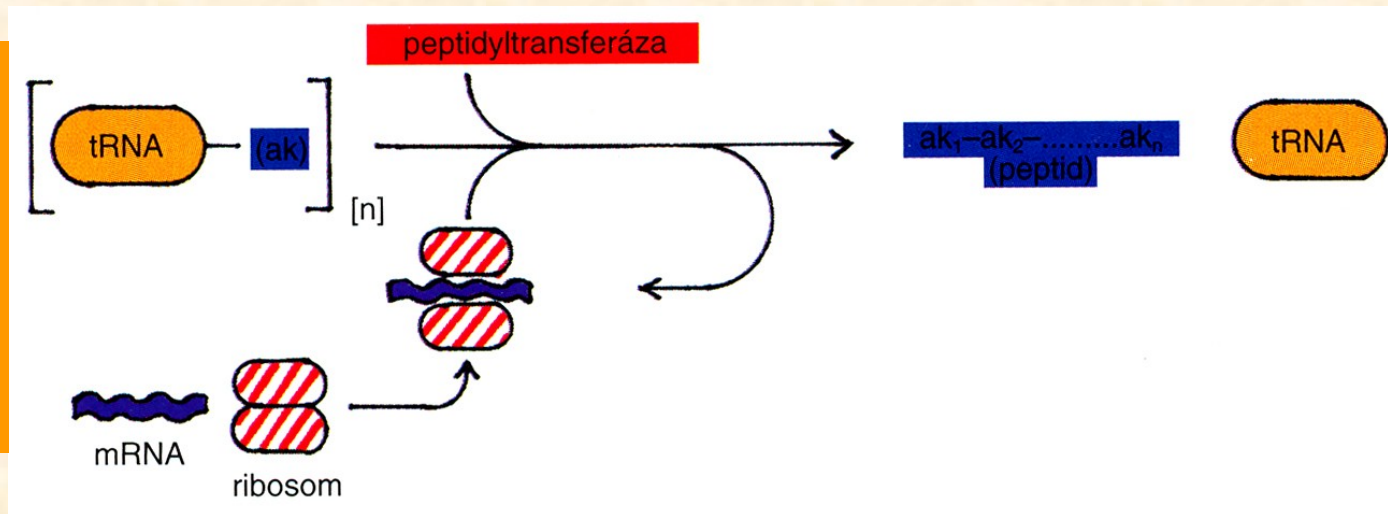
Dvoukroková syntéza bílkovin:

1. $AK + ATP \rightarrow AK-AMP$
2. $AK-AMP + tRNA \rightarrow AK-tRNA$

Aktivace tRNA, aminoacyl-tRNA syntetasa, mohl být ribozym, bez templátu, operační kód



Kondenzace aminokyselin, peptidyltransferasa, je ribozym, podle templátu, genetický kód



Předchůdce tRNA: poučení od fága Q β



Experiment - Sol Spiegelman (1967):

- RNA fága Q β +replikáza
 - přenosy a zkracování času
 - 4500bp \rightarrow 218bp
 - zachováno místo pro replikázu
 - vlásenka na 3'-konci genomové RNA viru
- Q β dodnes nese adaptér -CCA

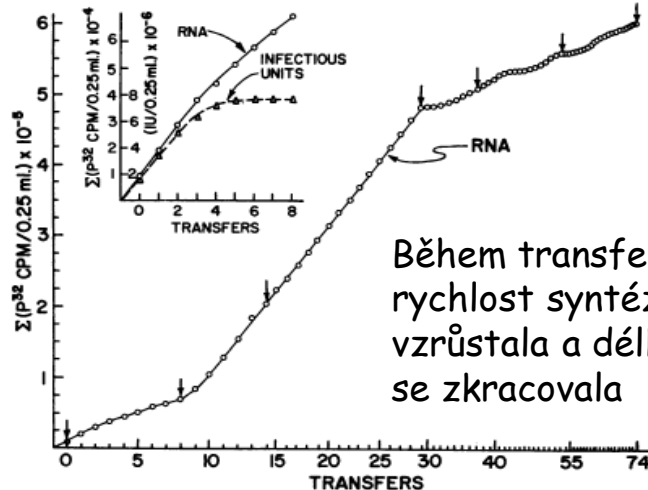
AN EXTRACELLULAR DARWINIAN EXPERIMENT WITH A SELF-DUPLICATING NUCLEIC ACID MOLECULE*

By D. R. MILLS,† R. L. PETERSON, AND S. SPIEGELMAN

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY, UNIVERSITY OF ILLINOIS, URBANA

Communicated May 18, 1967

Struktury nebo vlastnosti vzniklé v ranějších evolučních etapách bývají v modifikované podobě použity později k jiným účelům



Během transferů rychlost syntézy RNA vzrůstala a délka RNA se zkracovala

Fig. 1.—Serial transfer experiment. Each 0.25-ml standard reaction mixture^a contained 40 μ g of Q β replicase purified through CsCl and sucrose centrifugation, and (P³²) UTP (uridine triphosphate) at a specific activity such that 4,000 cpm corresponds to μ g of synthesized RNA. The first reaction (0 transfer) was initiated by the addition of 0.2 μ g ts-1 (temperature-sensitive RNA) and incubated at 35°C for 20 min, whereupon 0.02 ml was drawn for counting and 0.02 ml was used to prime the second reaction (1st transfer) and so on. After the first 13 reactions, the incubation periods were reduced to 15 min (transfers 14–29). Transfers 30–38 were incubated for 10 min. Transfers 39–52 were incubated for 7 min, and transfers 53–74 were incubated for 5 min. The arrows above transfers (0, 8, 14, 29, 37, 53, and 73) indicate where 0.01–0.1 of product was removed and used to prime reactions for sedimentation analysis on sucrose (see Figs. 2–5). The inset examines both infectious and total RNA. The results show that biologically competent RNA ceases to appear after the 4th transfer.

Syntéze peptidů předcházely jiné funkce aminokyselin = aminoacylace, mohl to být předstupeň aktivace tRNA. Vznik operačního kódu

Spiegelman monstrum

De Novo syntéza RNA pomocí Qbeta replikázy

Evolve genetického kódu: Antagonistické nebo komplementární síly?

