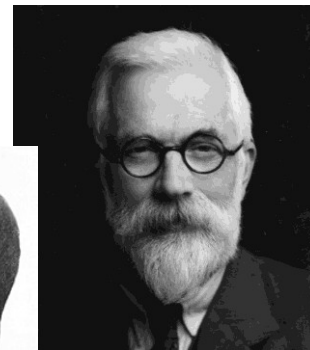
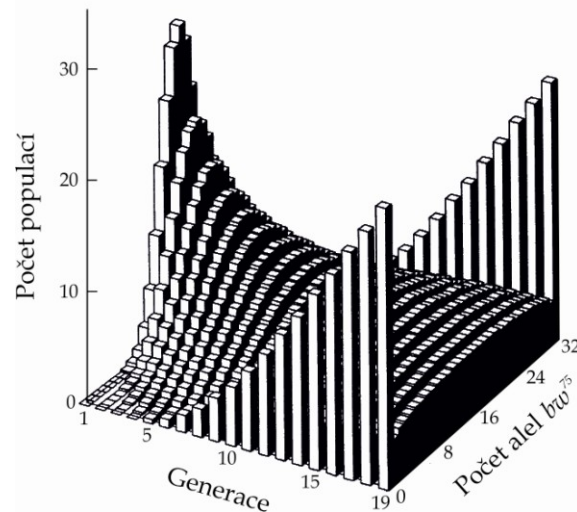
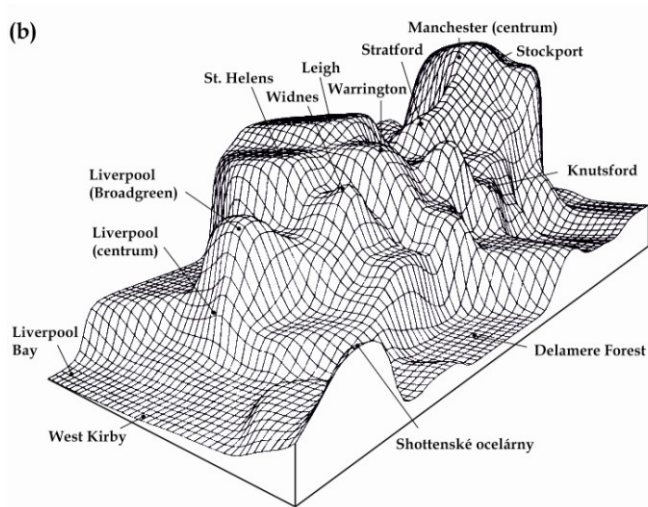


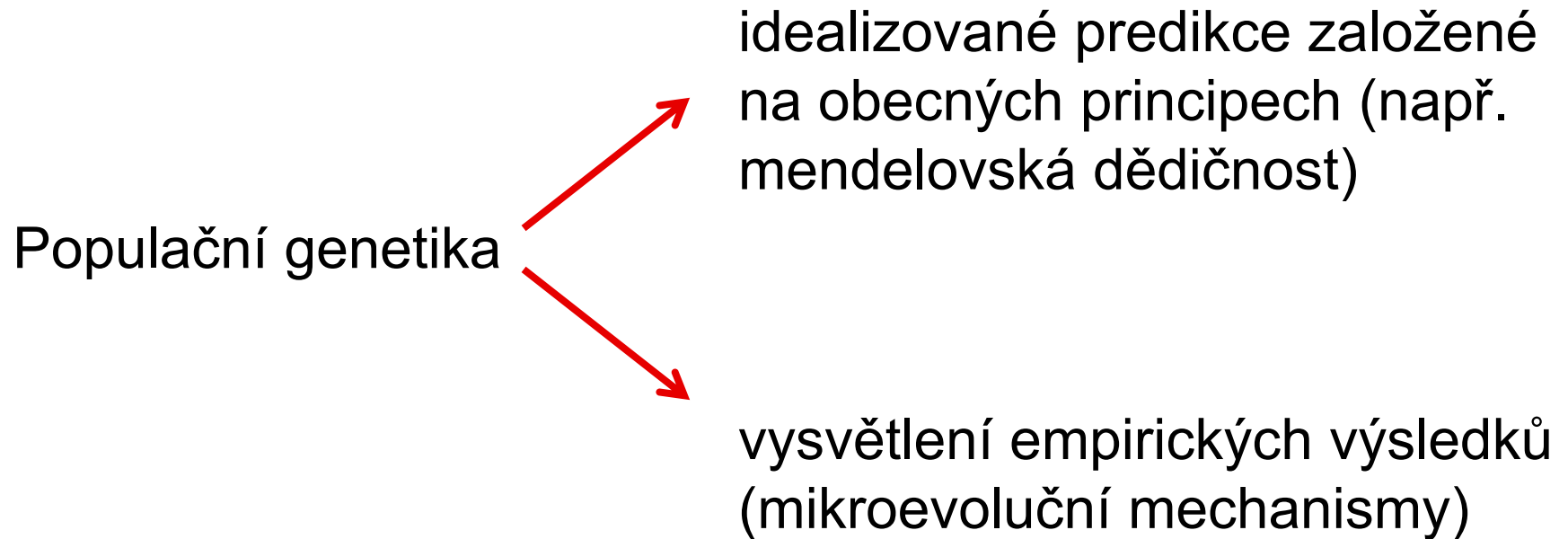
MECHANISMY MIKROEVOLUCE



Mikroevoluce = vznik a osud genetické variability na druhové a nižší úrovni → děje a mechanismy v populacích

Evoluce = genetická změna populací v čase a prostoru

Evoluce = změna frekvence alel v populacích



3 základní premisy populační genetiky:

1. DNA se replikuje
2. DNA mutuje a rekombinuje
3. Fenotypy vznikají interakcí DNA a prostředí

**HARDYHO-
WEINBERGŮV
ZÁKON**



Co je to gen?

1. Počátky vývoje pojmu gen

Za vznik nového vědeckého oboru se obvykle pokládá formulace několika základních zákonů a vytvoření základních pojmů, které rozdělí ve-

později „znovuobjevní“. Zásahu o založení nového oboru jim však po právu cizinci nepřestili, částečně asi i proto, že tehdy ieš-

**VLADIMÍR
VONDREJS**

gen = jednotka dědičné informace
... dodnes problém s vymezením

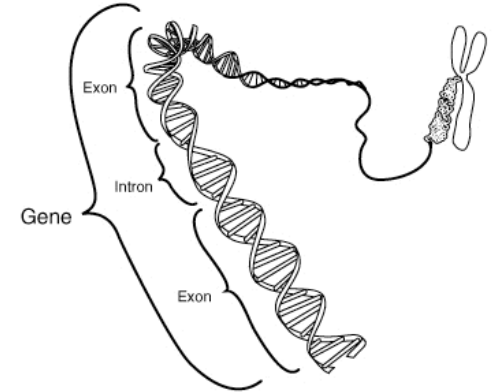
lokus = pozice genu nebo části sekvence

alela = alternativní forma sekvence DNA na daném lokusu

genom = soubor všech genů jedince (jaderný, mitochondriální...)

genotyp = soubor alel jednoho nebo více lokusů jedince

haplotyp (**haploidní genotyp**) = kombinace alel na různých částech sekvence DNA, které jsou přenášeny společně



Genetická architektura:

počet lokusů (popř. jejich pozice v genomu)

počet alel na lokus

frekvence mutací (mutační rychlost)

způsob a pravidla dědičnosti

jeden lokus – např. autozom, X, Y, mtDNA

více lokusů – smíšený zp. dědičnosti, z. kombinace alel, rekombinace

Co je to vlastně populace?

T. Dobzhansky, E. Mayr:

populace jako společný **genofond** (*gene pool*)

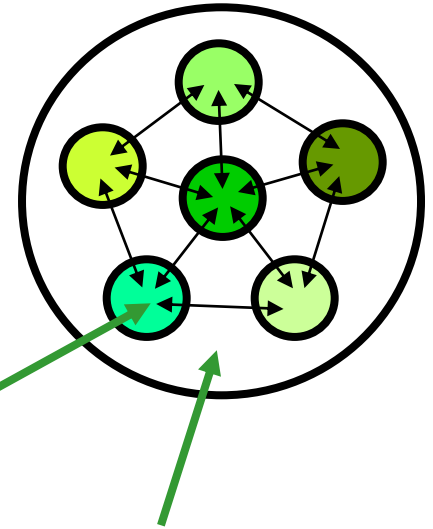
1. soubor sdílených genů/alel
2. soubor potenciálních gamet produkovaných všemi příslušníky populace

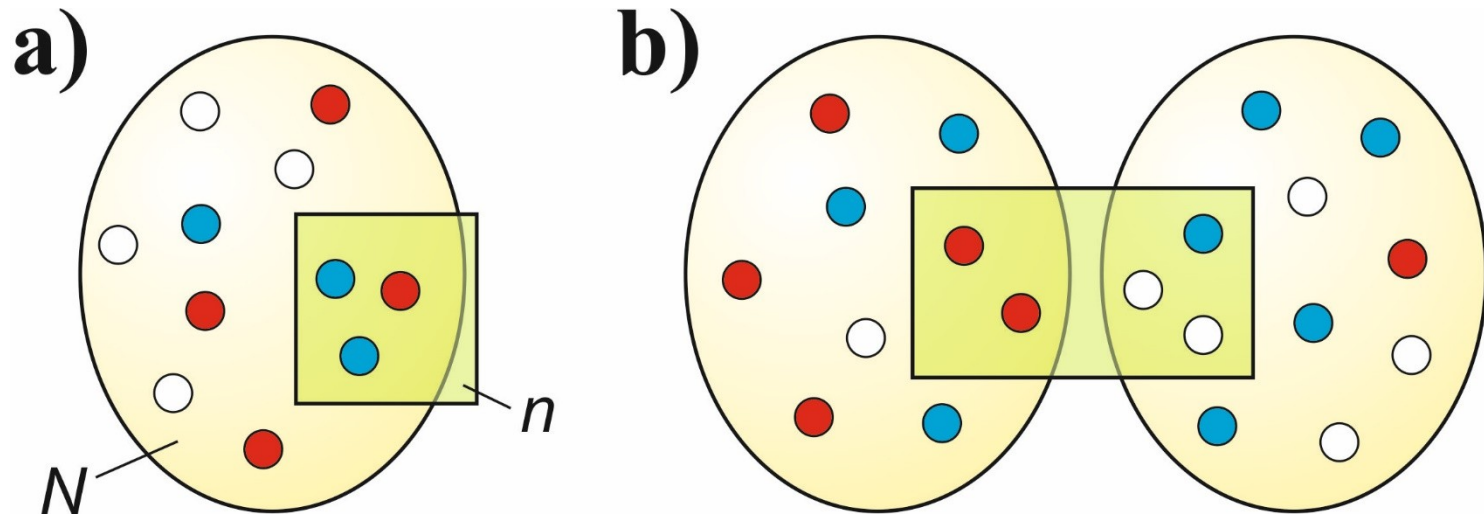
lokální populace (subpopulace, démy)

globální populace, metapopulace

populace přírodní, experimentální, zemědělské, modelové

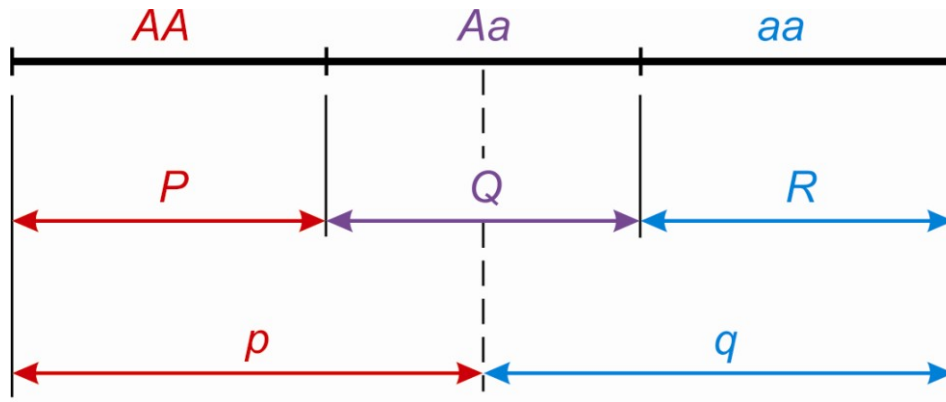
Kromě genů/gamet lokální populace sdílejí i **system páření/párování** (*system of mating*)





Populační vzorek \neq populace!

Genotypové a alelové frekvence

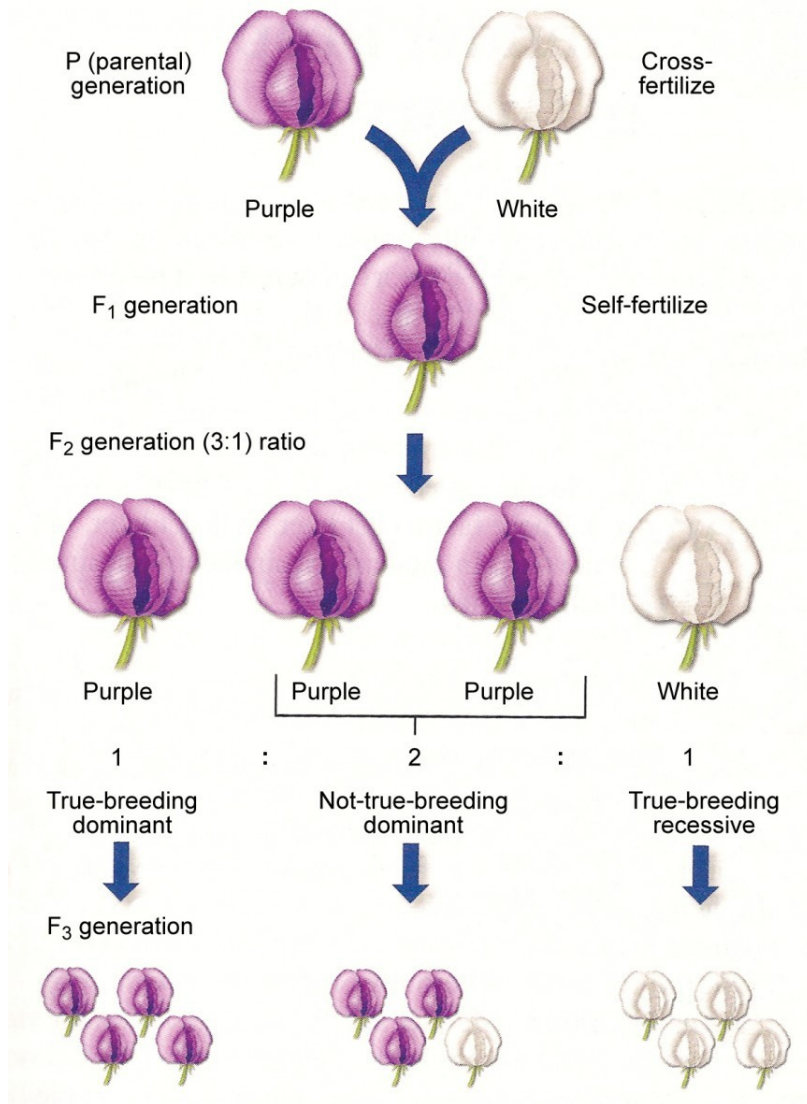


Relativní četnosti = frekvence: genotypové: P (f_{AA}), Q (f_{Aa}), R (f_{aa})
 alelové (genové): p (A), q (a)

$$f_{AA} + f_{Aa} + f_{aa} = 1$$

$$p + q = 1$$

Genotyp	A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2	Celkem
Četnost	n_1	n_2	n_3	N
Frekvence	$f_{AA} = n_1/N$	$f_{Aa} = n_2/N$	$f_{aa} = n_3/N$	
	$p = (2n_1 + n_2)/2N$		$q = (n_2 + 2n_3)/2N$	



Proč v přírodě nepozorujeme mendelovské poměry 3:1?

Proč v přírodě nepozorujeme mendelovské poměry 3:1?



brachydaktylie



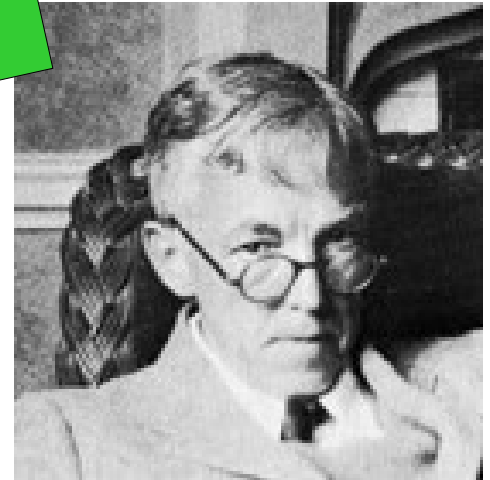
brachydaktylie =
dominantní
mendelovský znak

Reginald C. Punnett



Měli bychom
pozorovat 3× víc lidí
postižených než
nepostižených!

G. Udny Yule



G. H. Hardy

HARDYHO-WEINBERGŮV ZÁKON

1908



Godfrey Harold Hardy
(1877-1947)



Wilhelm Weinberg
(1862-1937)

Hardyho-Weinbergův model

Mechanismy produkce gamet (genetická architektura):

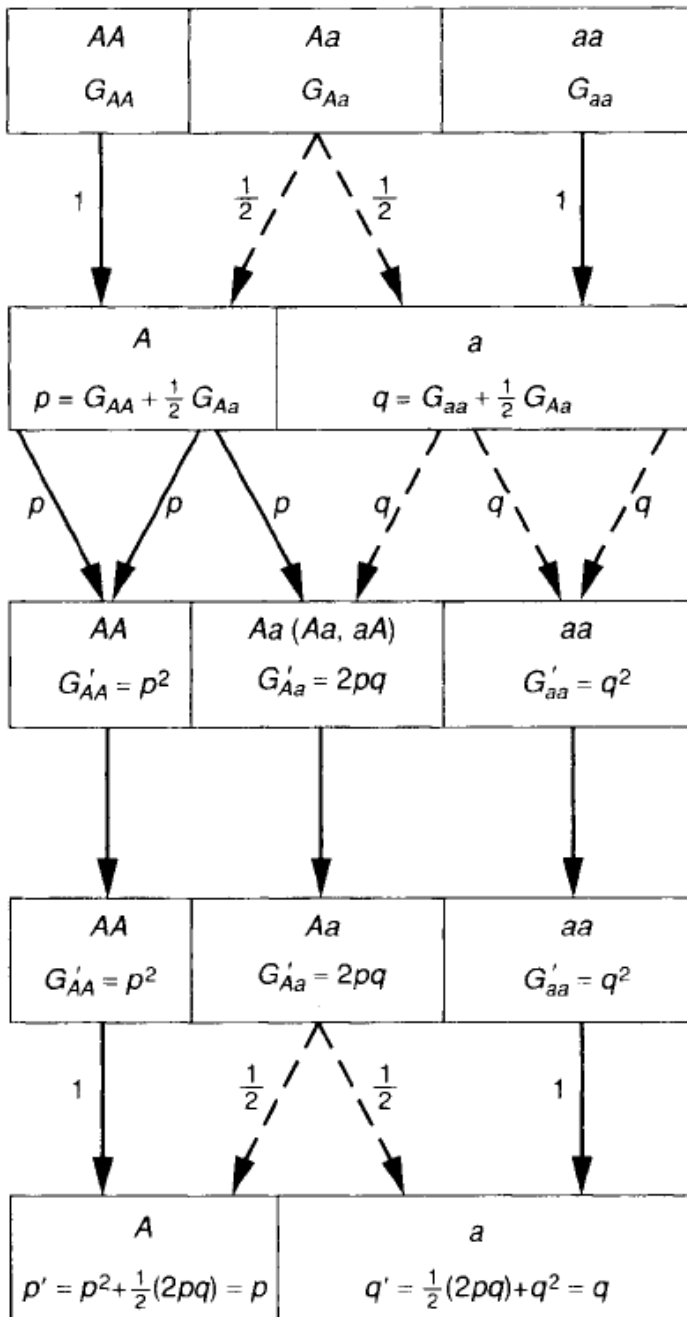
- diploidní organismy
- jeden autozomální lokus
- 2 alely
- žádné mutace
- mendelovská segregace (1:1)

Mechanismy spojování gamet (populační struktura):

- system páření → náhodné oplození (panmixie)
- velikost populace → nekonečná
- genetická výměna → žádná (absence toku genů)
- věková struktura → žádná (diskrétní generace)

Mechanismy vývoje fenotypů:

- všechny genotypy mají stejné fenotypy z hlediska schopnosti replikace DNA (absence selekce)



Adultní populace

mechanismus produkce gamet (z. o segregaci)

Genofond (pop. gamet)

mechanismus spojení gamet (náhodné oplození)

Populace zygot

mechanismus vývoje fenotypu (žádný účinek na viabilitu, repr. úspěšnost nebo fertilitu)

Adultní pop. další generace

mechanismus produkce gamet (z. o segregaci)

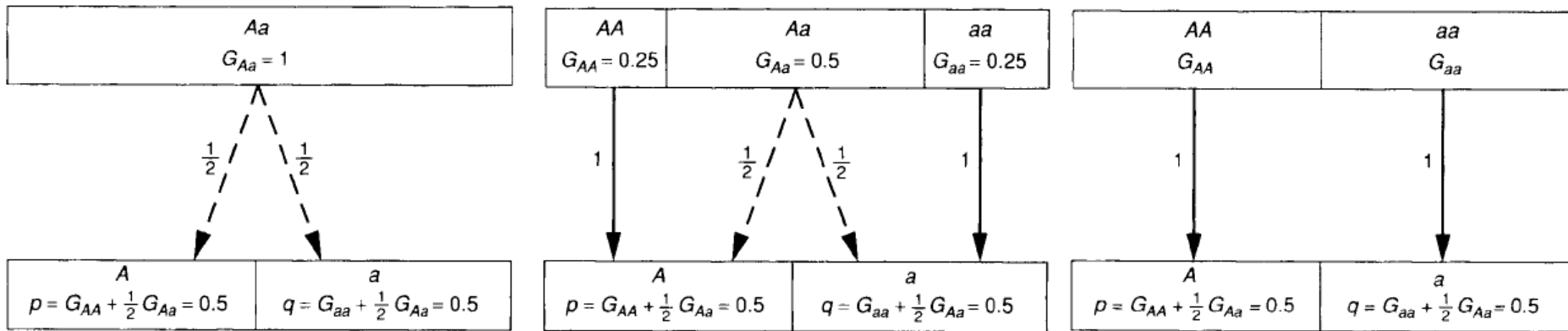
Genofond příští generace

$$g_j = \sum_{\text{genotypy}} \text{Pr.}(\text{produkce gamety } j \text{ genotypem } k) \times \text{frekvence genotypu } k$$

frekvence gamety
typu j v genofondu

známe-li zákony dědičnosti, z frekvencí
genotypů můžeme vypočítat frekvence alel

Pr. produkce gamety A z $AA = 1 \dots$ z $Aa = \frac{1}{2} \dots$ z $aa = 0$
Pr. produkce gamety a z $AA = 0 \dots$ z $Aa = \frac{1}{2} \dots$ z $aa = 1$







různé adultní populace mohou
produkovat stejný genofond gamet

⇒ genotypové frekvence
nejsou jedinečně určeny
frekvencemi gamet*)

*) matematicky: ze 2 proměnných nelze odvodit 3 proměnné!

⇒ musíme přidat další
informaci → populační
struktura (panmixie)!

Hardyho odvození:

		Samčí gamety	
		Alela	Frekvence
Samičí gamety	Alela	A	a
	Frekv.	p	q
A	p	 AA $p \times p = p^2$	 Aa $p \times q = pq$
	q	 aA $q \times p = qp$	 aa $q \times q = q^2$

Frekvence
v zygotech:

$$AA: G_{AA}' = p^2$$

$$Aa: G_{Aa}' = pq + qp = 2pq$$

$$aa: G_{aa}' = q^2$$

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Pop. gamet efektivně nekonečná \Rightarrow výběr 1. gamety neovlivní výběr 2. gamety

V nekonečné pop. pravděpodobnost jevu = frekvence tohoto jevu

Weinbergovo odvození:

při náhodném párování Pr. 2 genotypů v páření = součin jejich frekvencí

Párování	Frekvence páru	Pravděpodobnost zygot		
		AA	Aa	aa
AA x AA	$f_{AA} \times f_{AA} = f_{AA}^2$	1	0	0
AA x Aa	$f_{AA} \times f_{Aa} = f_{AA}f_{Aa}$	1/2	1/2	0
Aa x AA	$f_{Aa} \times f_{AA} = f_{Aa}f_{AA}$	1/2	1/2	0
AA x aa	$f_{AA} \times f_{aa} = f_{AA}f_{aa}$	0	1	0
aa x AA	$f_{aa} \times f_{AA} = f_{aa}f_{AA}$	0	1	0
Aa x Aa	$f_{Aa} \times f_{Aa} = f_{Aa}^2$	1/4	1/2	1/4
Aa x aa	$f_{Aa} \times f_{aa} = f_{Aa}f_{aa}$	0	1/2	1/2
aa x Aa	$f_{aa} \times f_{Aa} = f_{aa}f_{Aa}$	0	1/2	1/2
aa x aa	$f_{aa} \times f_{aa} = f_{aa}^2$	0	0	1

$$f'_{AA} = f_{AA}^2 + 1/2[2f_{AA}f_{Aa}] + 1/4f_{Aa}^2 = [f_{AA} + 1/2f_{Aa}]^2 = p^2$$

$$f'_{Aa} = 1/2[2f_{AA}f_{Aa}] + 2f_{AA}f_{aa} + 1/2f_{Aa}^2 + 1/2[f_{Aa}f_{aa}] = 2[f_{AA} + 1/2f_{Aa}][f_{aa} + 1/2f_{Aa}] = 2pq$$

$$f'_{aa} = 1/4f_{Aa}^2 + 1/2[2f_{Aa}f_{aa}] + f_{aa}^2 = [f_{aa} + 1/2f_{Aa}]^2 = q^2$$

HARDYHO-WEINBERGŮV ZÁKON

1. Frekvence alel z generace na generaci stálé
= Hardyho-Weinbergova rovnováha
2. HW rovnováhy dosaženo už po 1 generaci náhodného křížení

Zobecnění:

geny vázané na X:

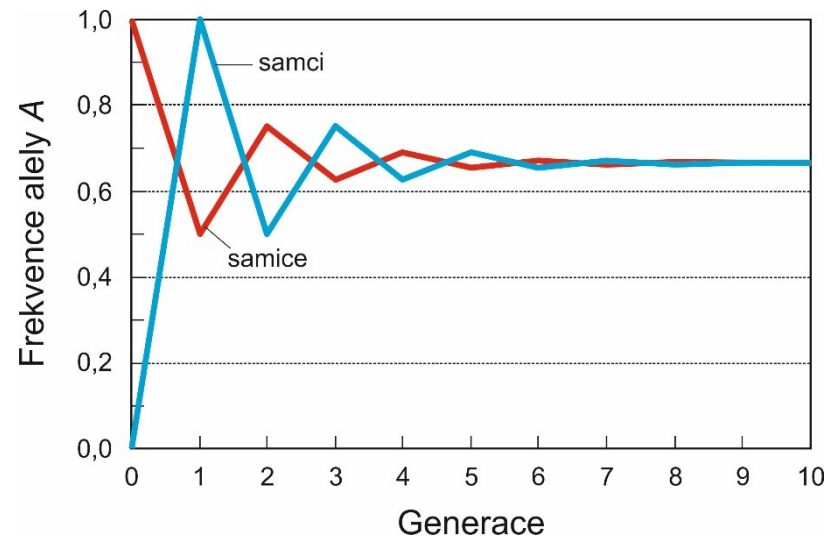
$$\text{samice: } p^2 + 2pq + q^2$$

$$\text{samci: } p + q$$

více alel:

$$3 \text{ alely: } p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2qr$$

$$\text{obecně } p_i^2 + 2p_{ij}$$



HARDYHO-WEINBERGŮV ZÁKON

Punnett



brachydaktylie

$p^2 + 2pq : q^2$
není důvod pro poměr
postižených a
nepostižených 3:1

Recesivní letální alela a → 2 fenotypové kategorie:

$AA + Aa$ → bez projevu choroby

aa → choroba se projeví

⇒ nemůžeme určit, kolik jedinců je nositelem choroby

ale předpokládáme-li HW, pak frekvence nemocných (můžeme spočítat) je q^2 a

$$\hat{q} = \sqrt{f_{aa}}$$

⇒ frekvence nositelů choroby = $2(1 - \hat{q})\hat{q}$

Př.: fenylketonurie (PKU)

frekvence výskytu PKU v České republice je 1 : 9000, tj. zhruba 0,00011.

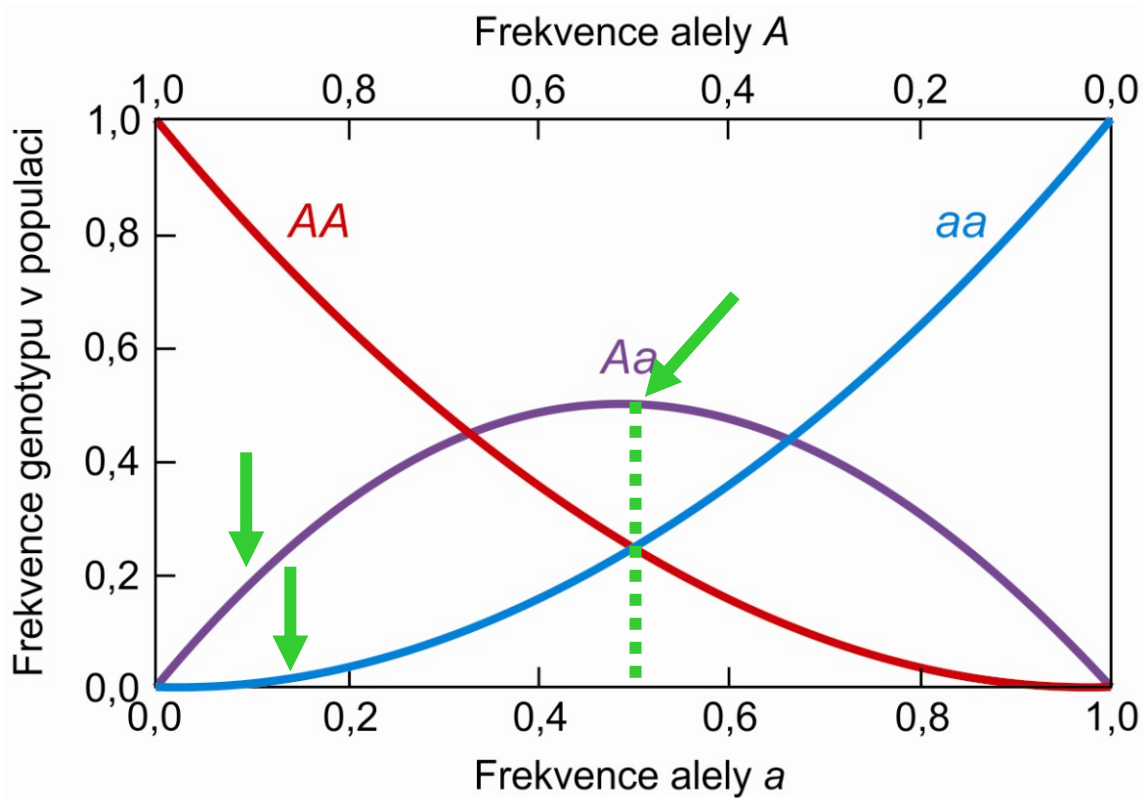
Jaké procento lidí jsou tzv. přenašeči?

Vydeme-li z HW zákona, je frekvence homozygotů $f_{aa} = q^2$, frekvence alely a je tudíž $q = \sqrt{0,00011} = 0,01049$.

$$2pq = 2(1 - q)q = 0,02076.$$

To znamená, že v České republice se vyskytují zhruba 2 % přenašečů fenylketonurie. K roku 2011 10 562 214 občanů \Rightarrow u nás přibližně 220 tisíc přenašečů PKU

Frekvence vzácných alel:



heterozygoti nejfrekventovanější při $p = q = 0,5$

f_{Aa} se snižuje rychlostí $2pq$

f_{aa} rychlostí $q^2 \Rightarrow$ zvyšování $f_{Aa}/f_{aa} \rightarrow$ vzácná alela „schována“
v heterozygotním stavu

Příčiny neplatnosti H-W rovnováhy:

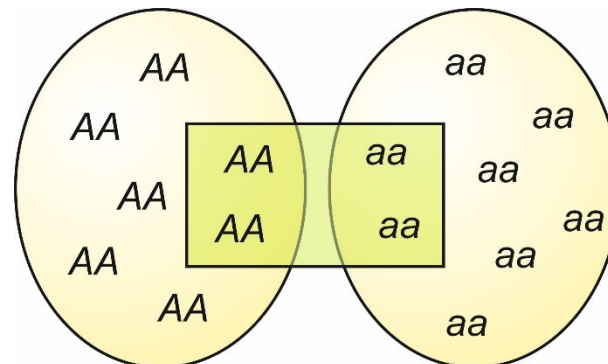
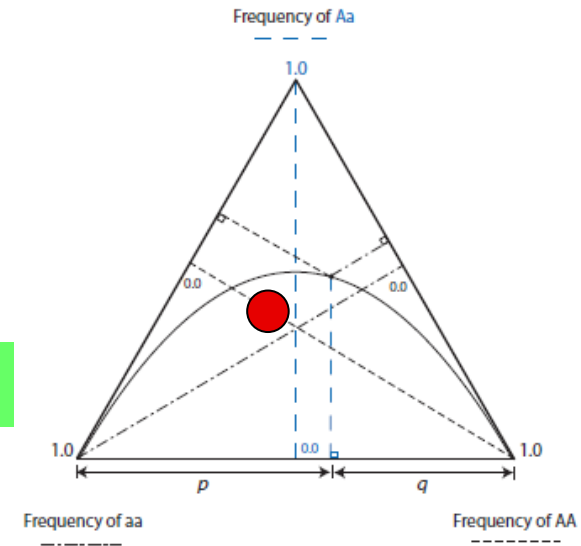
Metodické příčiny:

nulové alely
„allelic dropout“

Neplatnost některého z předpokladů H-W modelu:

Snížení heterozygotnosti:

selekce proti heterozygotům
nenáhodné páření (inbreeding, asortativní páření)
strukturovanost populace (rozdílné frekvence alel, Wahlundův efekt)



Příčiny neplatnosti H-W rovnováhy:

Metodické příčiny:

nulové alely
„allelic dropout“

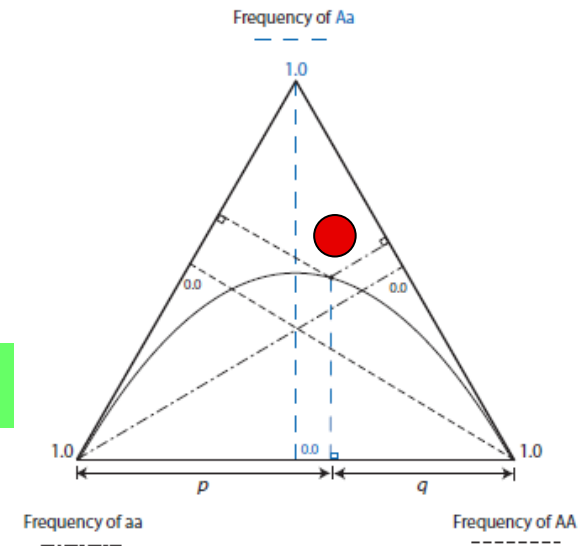
Neplatnost některého z předpokladů H-W modelu:

Snížení heterozygotnosti:

selekce proti heterozygotům
nenáhodné páření (inbreeding, asortativní páření)
strukturovanost populace (rozdílné frekvence alel, Wahlundův efekt)

Zvýšení heterozygotnosti:

selekce podporující heterozygoty
nenáhodné páření (outbreeding, negativní asortativní páření)
migrace
mutace



H-W NA VÍCE LOKUSECH

blížkost lokusů = **vazba**

frekvence rekombinací r

místo 3 genotypových kategorií → 10

1 lokus → jedinec může předat jen gamety získané od rodičů

více lokusů → může předat i jiné, např:

rodiče $AB \times ab \rightarrow AB/ab \dots$ gamety AB, ab s $\text{Pr.} = \frac{1}{2}(1 - r)$

ale i gamety Ab, aB (s $\text{Pr.} \frac{1}{2}r$), které se u rodičů nevyskytují

⇒ 2 definice genofondu (1. = soubor genů sdílených v populaci,

2. populace potenciálních gamet produkovaných všemi adultními jedinci)

nejsou v případě rekombinace ekvivalentní

nutno znát, jak
je genofond
definován!

Může dojít k evoluci?

H-W NA VÍCE LOKUSECH

Př.: frekvence gamety AB v počátečním genofondu (g_{AB}) a následující generaci (g'_{AB}):

$$g'_{AB} = g_{AB} - rD \quad \text{kde } D = g_{AB}g_{ab} - g_{Ab}g_{aB} = \text{vazebná nerovnováha}$$

... podobně i pro ostatní typy gamet

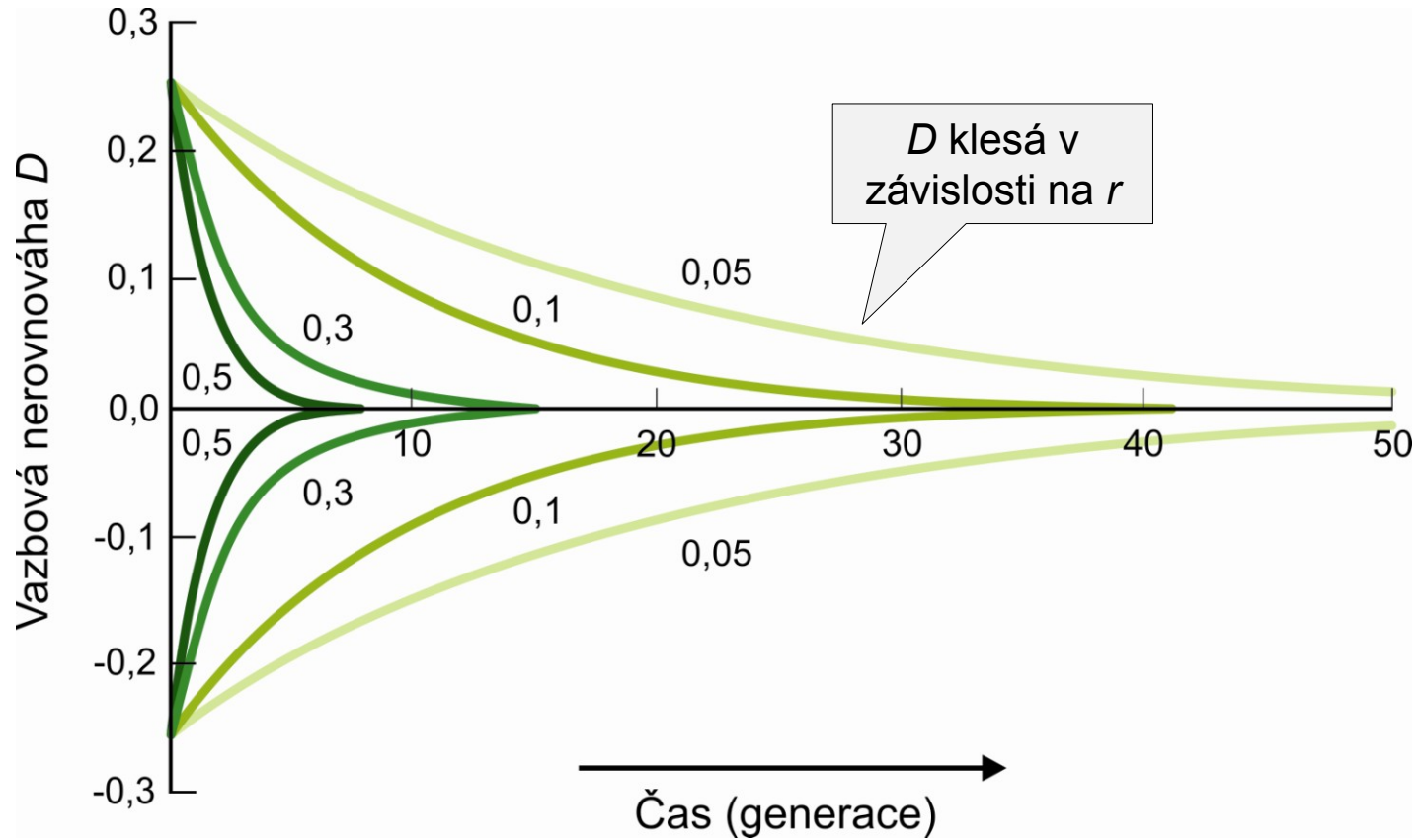
jestliže $r > 0$ (tj. dochází k rekombinaci) a $D \neq 0$ (existuje vazba)

pak platí $g_{xy} \neq g'_{xy} \Rightarrow$ **dochází k evoluci!**

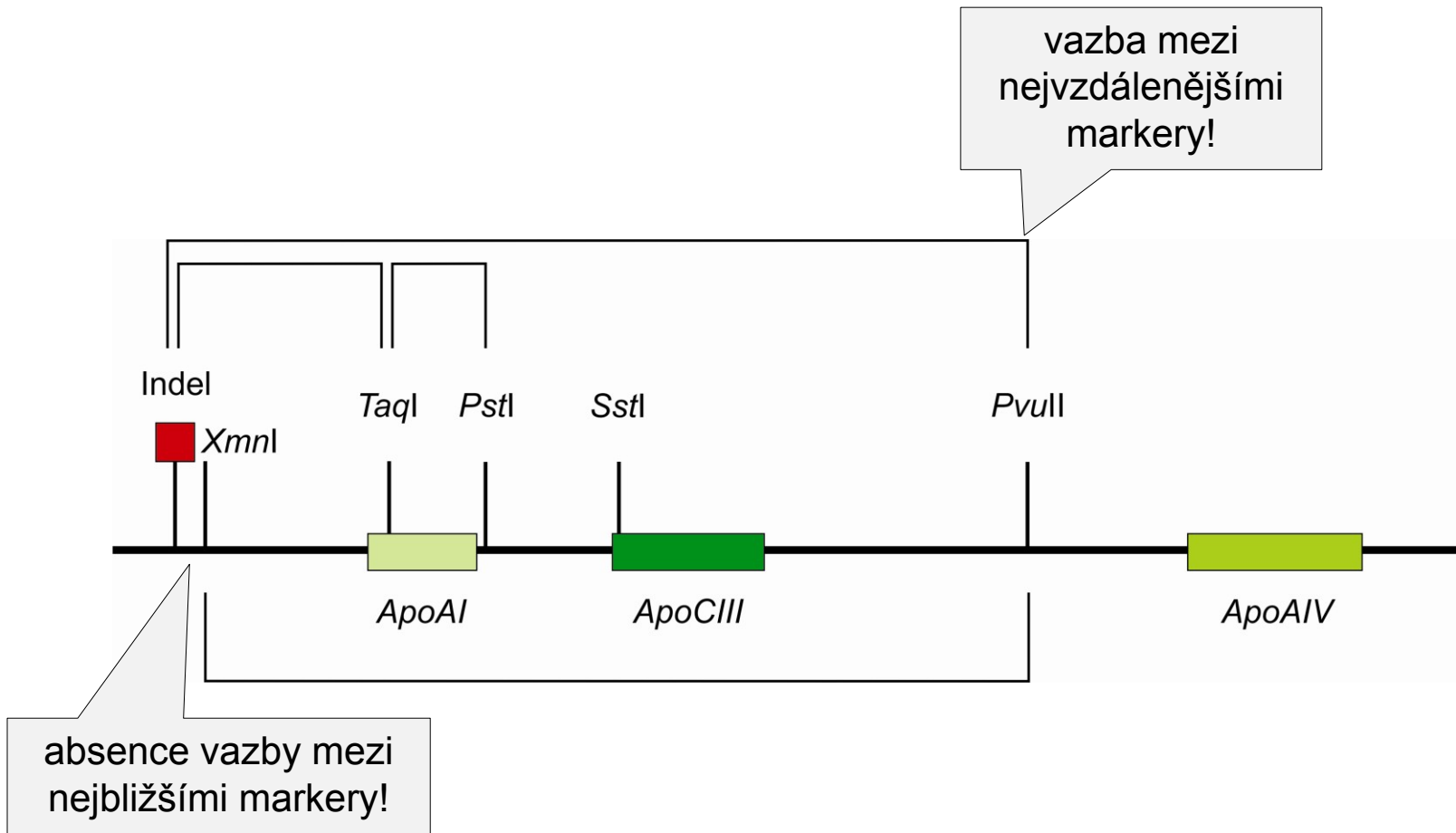
naopak při $r = 0$ multilokusový model \rightarrow jednolokusový

k rekombinaci může dojít i *uvnitř* genu \sim jako mutace (tj. vznik nové alely)

vztah D a rekombinace r :



Pozor! vazebná nerovnováha nemusí přesně odrážet fyzickou blízkost/vzdálenost lokusů!!



Laurie et al. (2007): pokles D se vzdáleností u člověka a myši

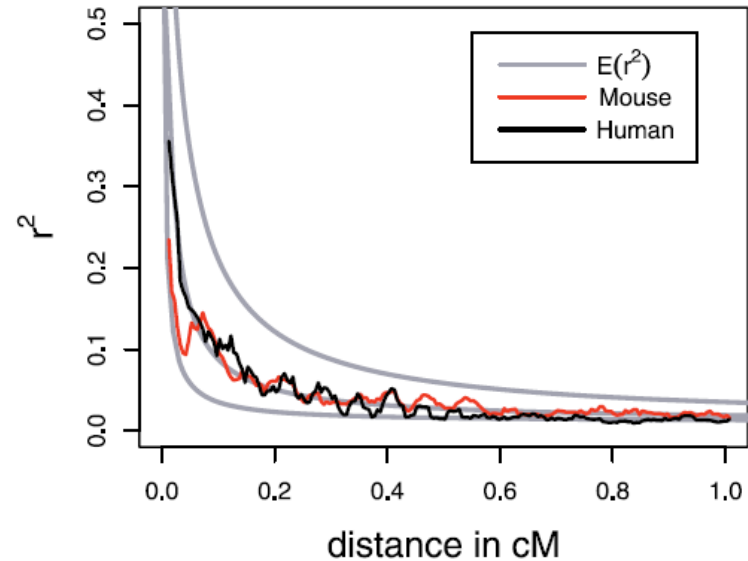
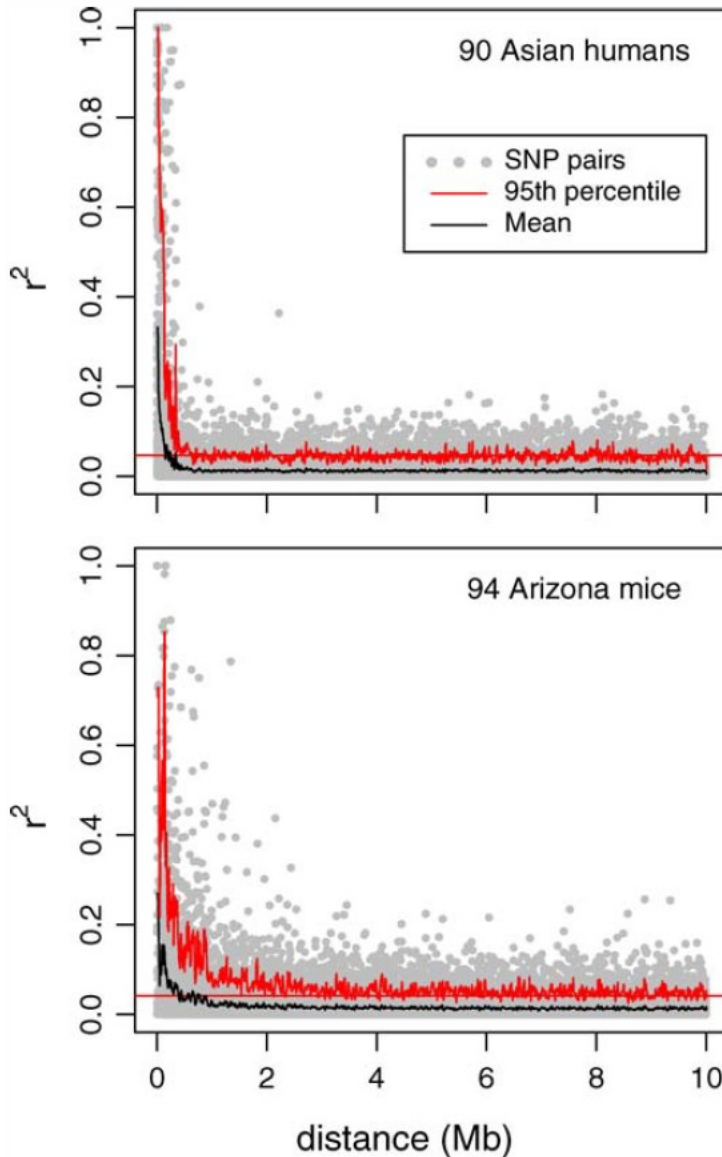


Figure 4. Mean LD in 94 Arizona Mice and 90 Asian Humans, Evaluated in a Sliding Window of 0.025 cM

The data are the same as in Figure 2, but physical distance has been converted to genetic distance using genome-wide averages of cM/Mb. The expected value of r^2 for a sample size of n diploids is calculated as $E(r^2) = (1 / (1 + 4N_e c)) + (1 / n)$, where N_e is effective population size and c is recombination rate (converted to cM for plotting by the Kosambi mapping function). In this case, $n = 92$ and $N_e = 1,000, 3,000,$ or $10,000$ (from top to bottom).

doi:10.1371/journal.pgen.0030144.g004

člověk: 1 cM ~ 1 Mb

myš: 1 cM ~ 2 Mb

Příčiny vazebné nerovnováhy:

absence rekombinace (např. inverze)

nenáhodnost oplození

selekce

recentní mutace

vzorek směsí 2 druhů s různými frekvencemi

recentní splynutí 2 populací

omezená velikost populace (náhodné kolísání frekvencí alel)

vazebná nerovnováha
nemusí být mezi lokusy na
stejném chromozomu!

u mnoha organismů crossing-over důležitý pro správný průběh meiózy
(aspoň 1 c-o na chromozom, jinak vznik aneuploidíí)

ženy s > c-o → > dětí

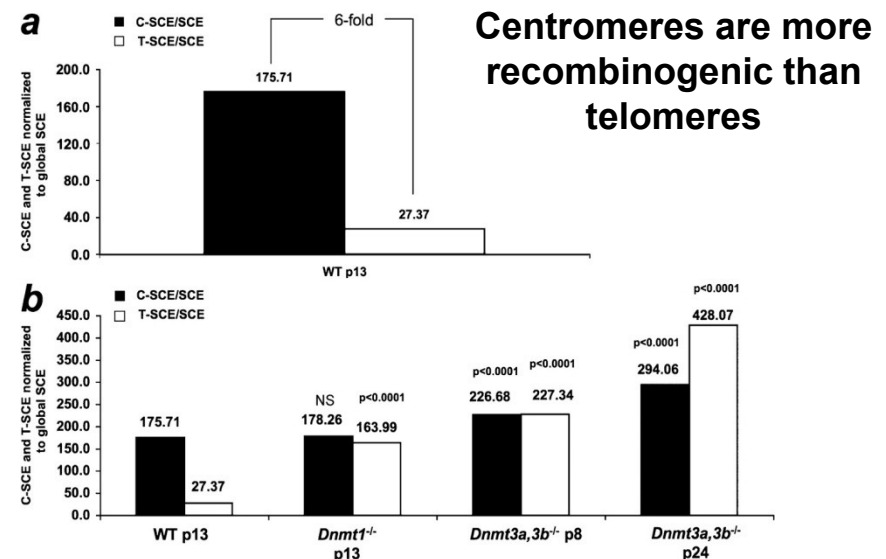
děti starších žen → > rekombinací

obecně častější u centromery, méně u telomer (neplatí pro všechny chromozomy,
druhové rozdíly – např. u cibule naopak)

malé chromozomy > frekvence rekombinací

rekombinační „hotspots“:

- u člověka ~25 000
- chybí u *Drosophila* a *Caenorhabditis elegans*
- častý vznik a zánik
- zánik 1 místa často kompenzován zvýšenou aktivitou sousedního místa

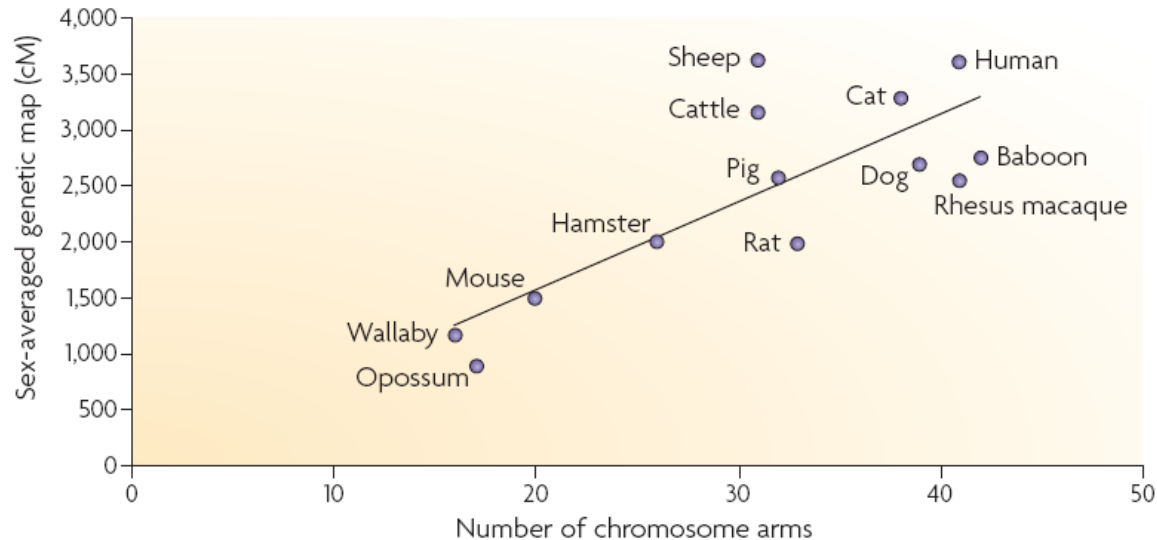


rozdíly v míře rekombinace mezi pohlavími:

- **Haldaneovo-Huxleyovo pravidlo**: pokud jedno pohlaví nerekombinuje, jde o pohlaví heterogametické
- pokud rekombinují obě pohlaví, u samic většinou více rekombinací (člověk 1,7x, myš 1,3x)

rozdíly mezi druhy:

- druhy s více malými chromozomy → více rekombinací než druhy s menším počtem velkých chromozomů
- korelace s počtem ramen: více rekombinací v karyotypech s velkým množstvím chrom. ramen (aspoň 1 c-o/rameno, aby nedocházelo k aneuploidii?)



Rekombinace a polymorfismus:

absence rekombinace \Rightarrow **hitchhiking** (genetický draft)

Důsledkem je buď

selekční smetení (*selective sweep*)

pozitivní selekce

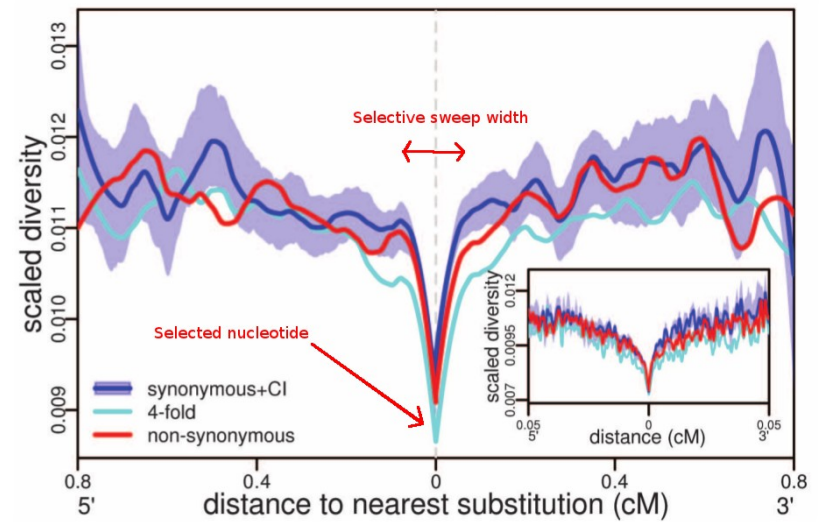
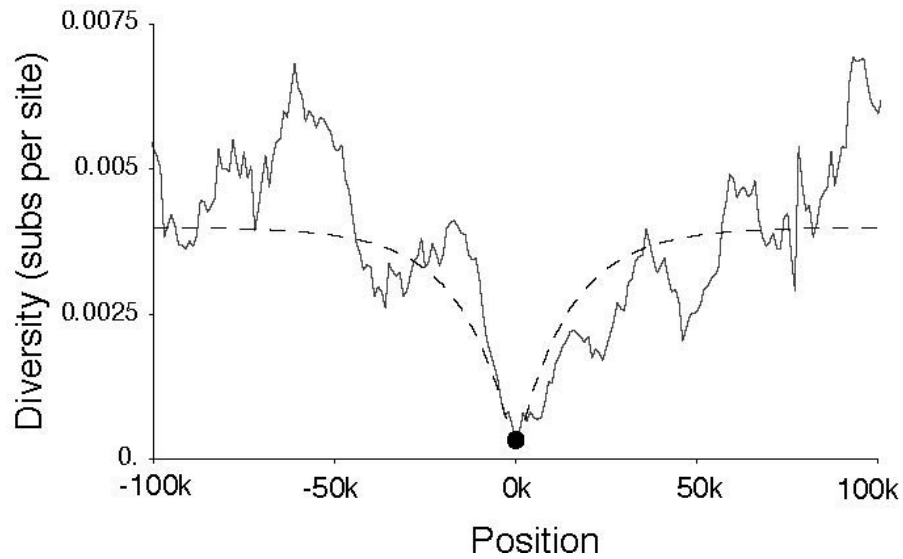
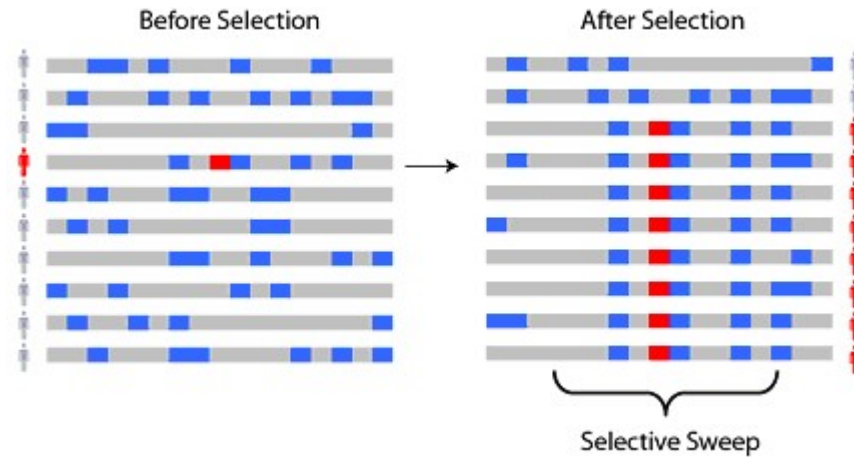
častější výskyt vzácných alel

nebo

selekce na pozadí (*background selection*)

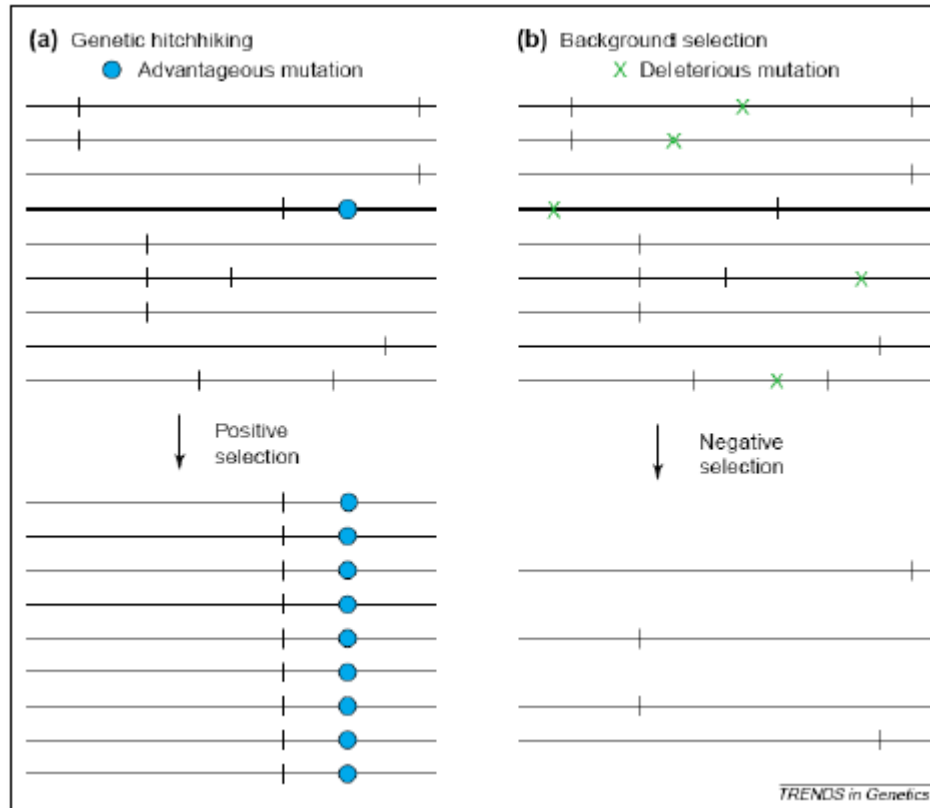
negativní selekce

\Rightarrow lokální ztráta polymorfismu

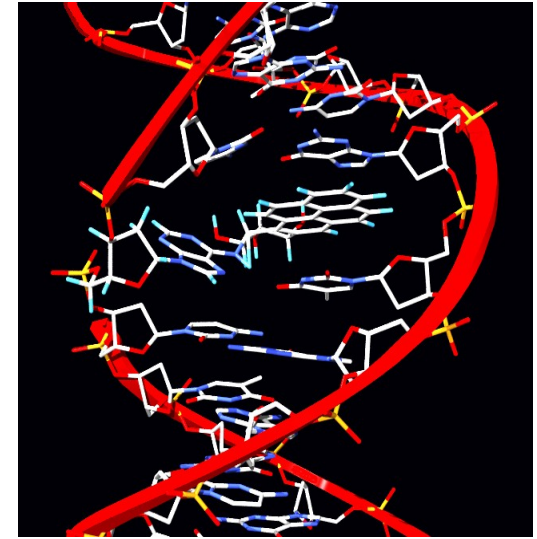
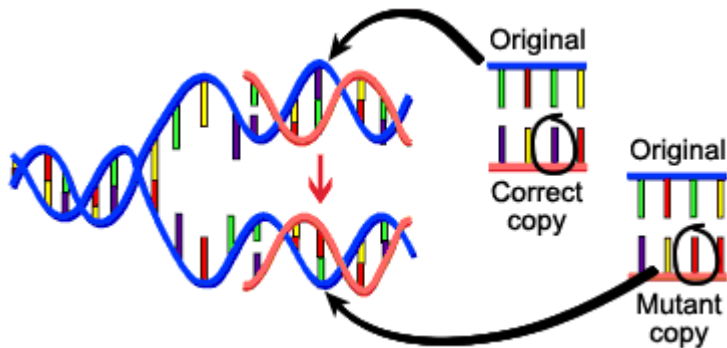


Genomic insights into positive selection

Shameek Biswas and Joshua M. Akey



MUTACE



podle škodlivosti/prospěšnosti účinku:

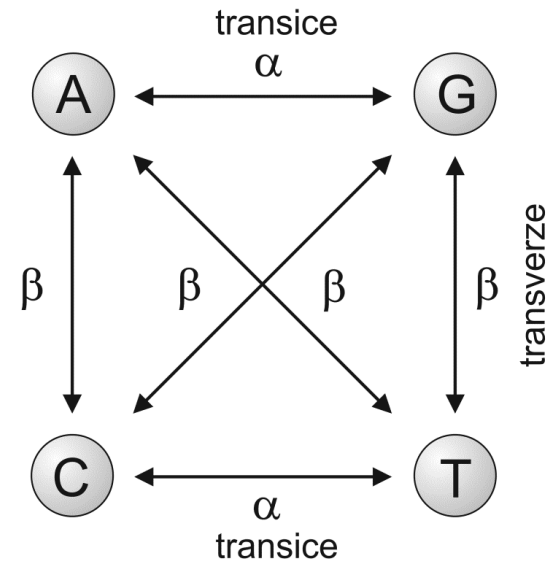
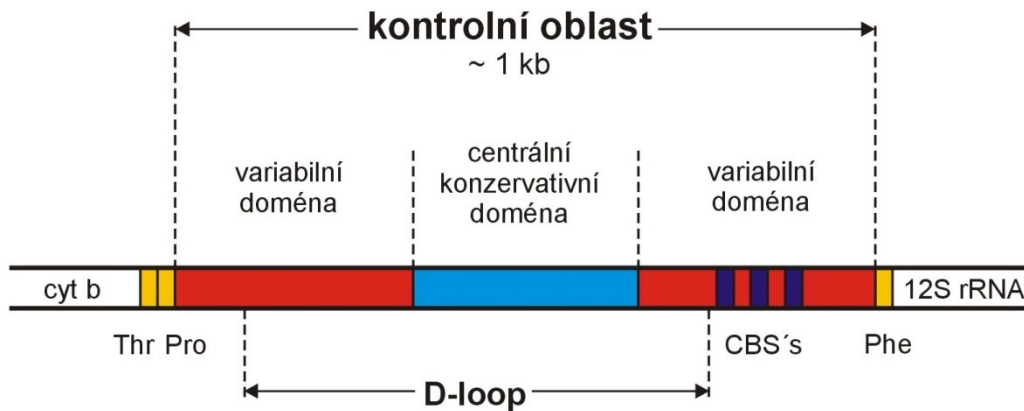
prospěšné
škodlivé
neutrální

podle rozsahu: **genové/bodové**
chromozomové
genomové

zpětné mutace: frekvence zpravidla 10× nižší

Bodové mutace

1. substitute (transice, transverze)



2x méně možných transicí,
ale ve skutečnosti mnohem
víc (2–10x) než transverzí

nekódující oblasti

synonymní

GTC → GTA
Val → Val

} = „tiché“ (*silent*) substitute

nesynonymní (záměnové)

měnící smysl (*missense*)

nesmyslné (*nonsense*)

GTC → TTC

Val → Phe

AAG → TAG

Lys → ochre (stop)

2.

inzerce

delece

ACGGT → ACAGGT

ACGGT → AGGT

}

= indels

→ posunutí čtecího
rámce

Chromozomové mutace (chr. přestavby)

inverze

pericentrické

paracentrické

translokace

fúze a disociace

(robertsonské translokace)

reciproké translokace celých ramen (WART)

delece

duplikace

inzerce

Genomové mutace

-ploidie (polyploidie)

především rostliny

u živočichů méně (bezobratlí, ryby, obojživelníci)

během evoluce obratlovců došlo ke 2 kolům duplikace celého genomu (2R-hypotéza)

polyploidní jedinci zpravidla větší (zvýšený objem buněk)

liché násobky genomu → problémy v meióze ⇒ reprodukční bariéra (ne vždy – např. triploidní skokani)

autopolyploidie: kombinace dvou stejných genomů

fúze buněk

endoreplikace

abortivní buněčný cyklus

alopolyploidie: kombinace dvou různých genomů

fúze diploidních gamet

polyspermie

Genomové mutace

-zomie (monozomie, trizomie)

- většinou neslučitelné se životem
- **monozomie**: jediná životaschopná = X0 (Turnerův syndrom)
- **trizomie**: nerovnováha dávky genů (zvýšená exprese trizomického páru)
- životaschopné trizomie : XXY, XXX, XYY, Patau syndrom (chr. 13), Edwardsův s. (chr. 18), Downův s. (chr. 21)

rekurentní (opakované) mutace → mutační tlak:

počáteční frekvence $A = p_0 (= 1)$

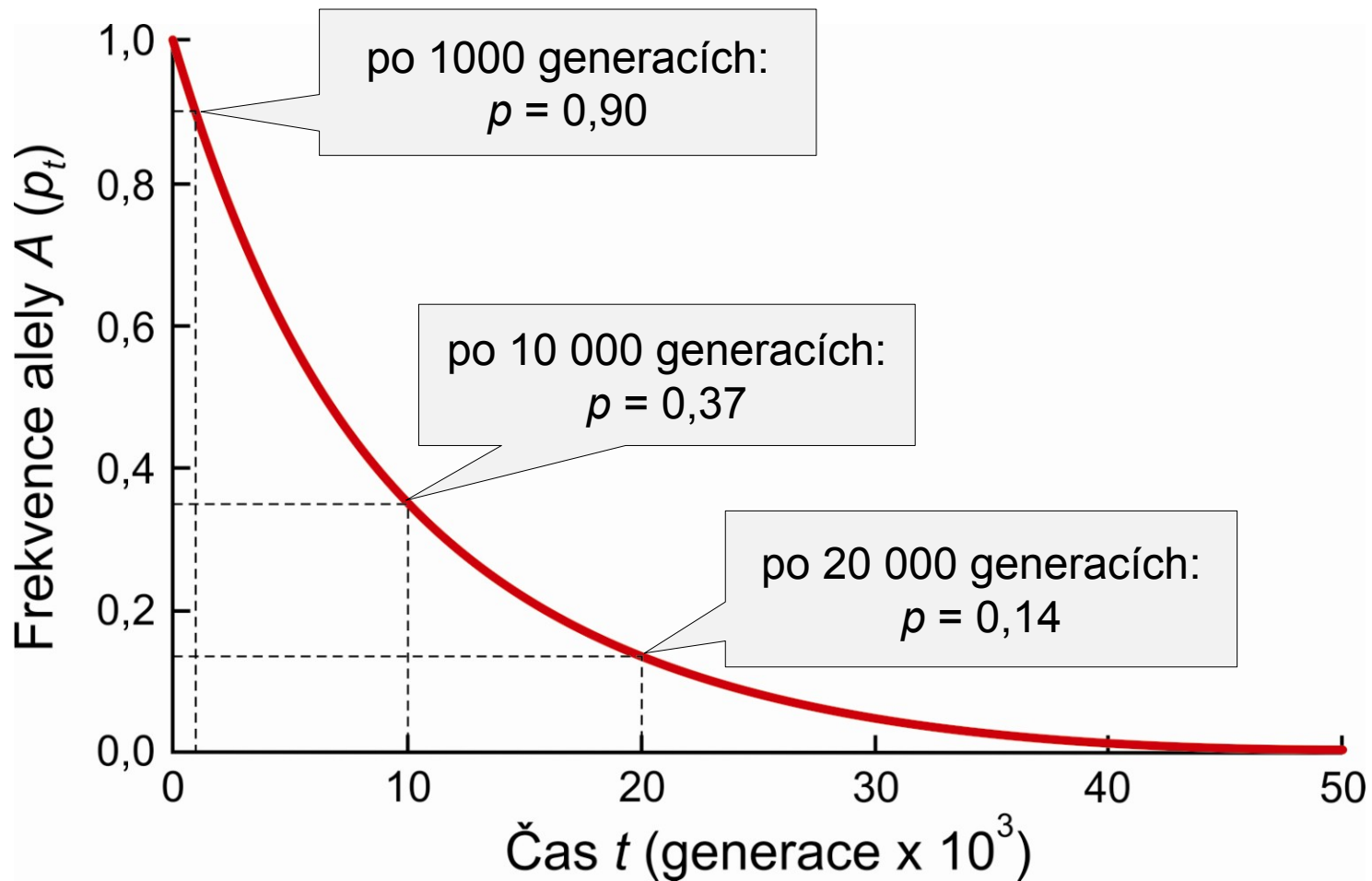
mutace $A \rightarrow a$

frekvence A v čase $t = p_t$

mutační rychlost = μ (např. 10^{-4})

$$p_1 = p_0(1 - \mu)$$

$$p_2 = p_1(1 - \mu) = p_0(1 - \mu)(1 - \mu) = p_0(1 - \mu)^2 \dots p_t = p_0(1 - \mu)^t$$



$$p_t = p_0 (1 - \mu)^t$$

doba nutná ke snížení frekvence A na polovinu = $t_{1/2}$

$$t_{1/2} = \ln(1/2) / \ln(1 - \mu) \approx 0,6931 / \mu$$

\Rightarrow při $\mu = 10^{-4}$ $t_{1/2} \approx 6931$ generací; při $\mu = 10^{-5}$ $t_{1/2} \approx 69\,310$ generací;
při $\mu = 10^{-6}$ $t_{1/2} \approx 693\,100$ generací atd.

\Rightarrow změna frekvence alely mutací velmi pomalá

Mutační rychlost (μ)

mutace náhodné co do účinku, nenáhodné co do pozice a rychlosti

transice > transverze

mutační „hotspots“: CpG u živočichů (metylovaný C \rightarrow T); TpT prokaryot
„SOS reakce“ bakterií, minisatelity (VNTR), mikrosatelity (STR)

mtDNA > jad. DNA

pohlavní chromozomy > autozomy: Y > Z > A > X > W

vliv blízkosti počátku replikace, centromery, telomery, repetitivních sekvencí,
intenzity transkripce

studenokrevní živočichové: > t \Rightarrow > μ

RNA viry (HIV), paraziti

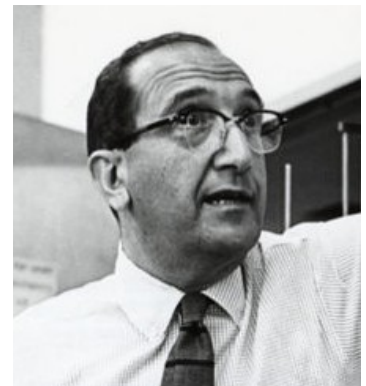
protilátky, imunoglobuliny

> μ somatických mutací

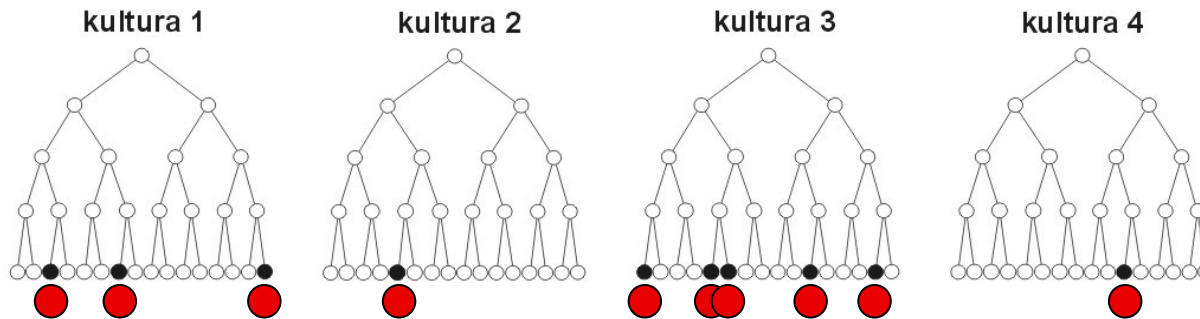
samci > samice: člověk 6x, hlodavci, liška: 2x ... více buněčných dělení
v zárodečných buňkách

Adaptivní (směřované) mutace?

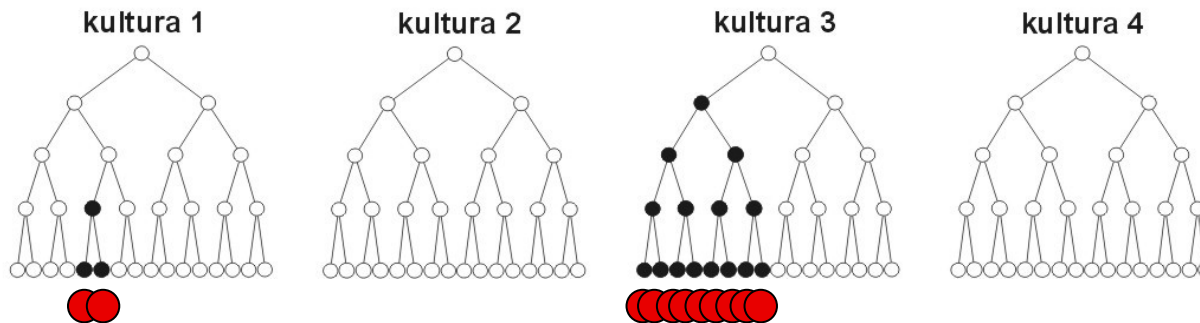
Max Delbrück, Salvador Luria (1943):
flukтуаční test



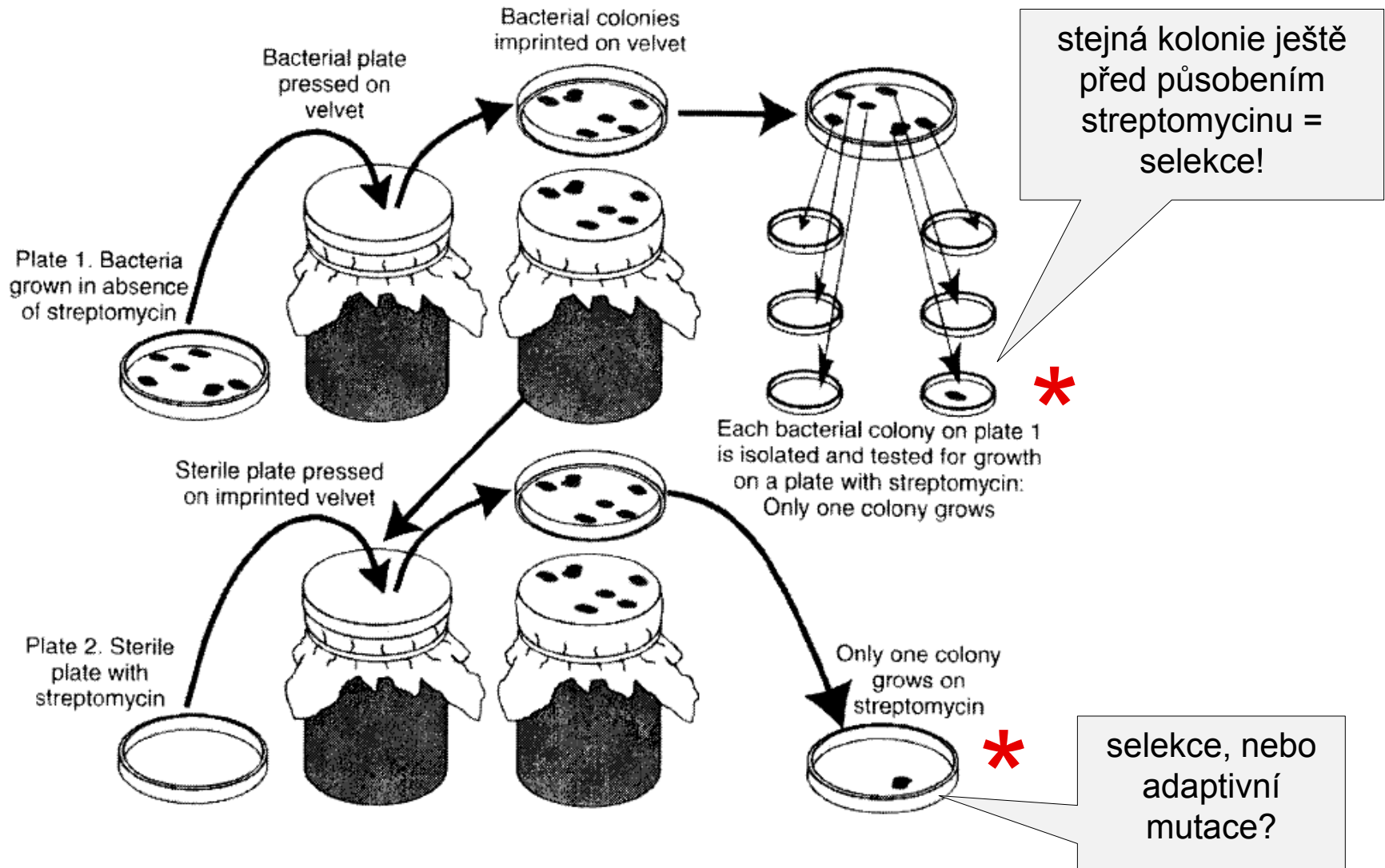
(a) mutace vyvolané prostředím



(b) náhodné mutace



Joshua a Esther Lederberg (1952): replica plating



* = kolonie s odpovídající si polohou na původní misce