

EFOP-3.4.3-16-2016-00014

MOLEKULÁRIS ÖKOLÓGIA: NEUTRÁLIS VÁLTOZÁS

AP4_TTIK Kárpát-medencei oktatási tér
kialakítása**PÉNZES ZSOLT**
MARKÓ BÁLINT

SZÉCHENYI 2020

MAGYARORSZÁG
KORMÁNYAEurópai Unió
Európai Szociális
Alap

BEFEKTETÉS A JÖVŐBE

A molekuláris ökológia előadások célja a molekuláris módszerek néhány alkalmazási lehetőségének bemutatása ökológiai és evolúcióbio-lógiai problémák megfogalmazásában/megválaszolásában. Kérdéseink populációkra, fajokra vonatkoznak – például populációk izolációjának mértéke, egy invazív faj eredete, leszármazási kapcsolatok. A válasz keresése során a molekuláris módszerek eszközként szolgálnak.

Az előadáson a populáció neutrális változatosságát meghatározó folyamatokat (mutáció és genetikai sodródás) tárgyaljuk.

Neutrális változás

- Allél és genotípus gyakoriság változás – oka?
 - folyamatok, a változást meghatározó tényezők
- Neutrális (semleges) genetikai változatosság – alapeset
 - változatok – azonos *várható* hozzájárulás a következő generációhoz
 - mutáció (eredet) és sodródás (terjedés)
- Sodródás (drift) – változatok gyakoriságának véletlenszerű fluktuációja
 - eltérő (szaporodó) utódszám a genotípustól függetlenül, mendeli szegregáció randomitása, stb.
 - gyakorisága nőhet vagy csökkenhet egyik generációról a másikra – nem irányított folyamat (vö. szelekció)
 - előző generációktól (korábbi történettől), egyéb folyamatoktól (pl. szelekció), környezettől független
 - sok generáció → jelentős tényező lehet
 - természetes populációk vizsgálata, kísérletes bizonyítékok (pl. Buri 1956), számítógépes szimulációk, formális modellek

Egy ideális populációban egy autoszómás lokuszon az allél és genotípus gyakoriság nem változik. Egy természetes populációban gyakran nem ezt tapasztaljuk, generációról generációra a genotípus, vagy az allél és így a genotípus gyakoriság is módosul. Célunk ennek a generációról generációra történő **változásnak az értelmezése** modellek segítségével. A **modellekkel** betekintést nyerhetünk a változatosságot formáló folyamatokba, a változás irányát és mértékét, a változás sebességét meghatározó tényezőkbe.

Neutrális genetikai változatosságból indulunk ki, vagyis olyan (SNP, mikroszatellit marker) lokuszokat vizsgálunk, amely változatosságától a túlélés, a reprodukív siker független. Ekkor egy zárt populációban a változatosságot a neutrális mutáció és a véletlenszerű sodródás (drift) formálja. Az ezektől független populációk közötti génáramlás és a természetes szelekció következményeit külön tárgyaljuk.

Mutáció új változatok (allélok) megjelenését eredményezi, míg a **sodródás (drift)** a terjedés, a populáción belüli allél és genotípus gyakoriság generációról generációra történő változásának egy alapvető tényezője, amely minden természetes populációt és minden lokuszt érint. Célunk betekintést nyerni e két folyamatba.

Sodródás

- Elvi példa: ligeti csiga változatok mintázattól független mortalitása
- Heterozigóta (Aa) szülők – utódok genotípusa?
 - utódok elméleti (*várt*) genotípus eloszlása: $AA:1, Aa:2, aa:1$ arány
 - de < 4 utód: nem *realizálódhat* (vagy pl. 101 utód)
 - 1. utód: $1/4$ eséllyel AA
 - 2. utód: $1/4$ eséllyel AA , az előzőtől függetlenül \rightarrow mindkettő AA $1/4^2$ valószínűséggel
 - 4 utód AA : $1/4^4 = 1/256$ (0,4%) eséllyel
 - 4 utód aa : azonos ($1/256$) eséllyel
- Sodródás minden természetes populációban
- Genetikai sodródás: az allél gyakoriság fluktuációja a populációban
 - így a genotípus gyakoriság is változik – pl. random kombinálódással...
 - random minta a szülő populáció allélkészletéből

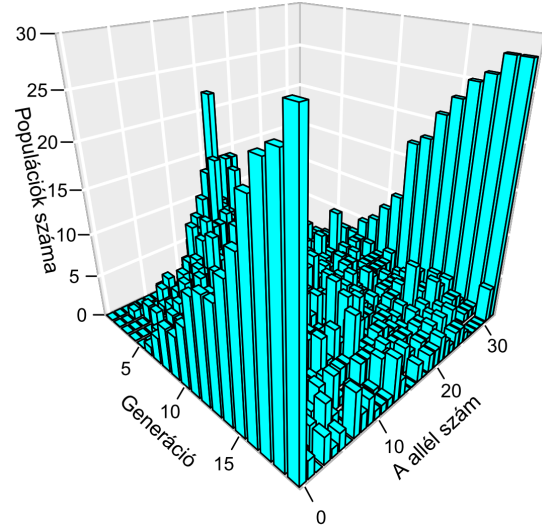
Sodródás (drift) alatt az egyes változatok gyakoriságának generációról generációra történő véletlenszerű változását értjük a populációban. Például tételezzük fel, hogy egy populációban kezdetben azonos a ligeti csiga sárgás és barnás változatának a gyakorisága, pl. legyen 10-10 egyed mindegyikből. Ha a véletlen folytán 2 sárga és 4 barna elpusztul, a gyakoriság értékek a színtől függetlenül módosulnak, 8 és 6 (57 és 43%) sárga illetve barna egyed marad. Ha a következő napon, az előző naptól függetlenül a maradék 6 barna is elpusztul, eltűnik ez a változat a populációból. Ezzel a populáció változatossága megszűnik, mivel csak sárga egyedek maradnak. Mindez a sárga változattal is megtörténhetett volna, pl. egy másik populációban. A példában a gyakoriság változás oka a véletlenszerű, **kérdéses tulajdonságtól független mortalitás** – vagyis a populáció minden egyedének azonos a túlélési esélye.

Az allél gyakoriságok is véletlenszerű fluktuációt mutathatnak a populációban, ezt **genetikai sodródásnak** nevezzük. Ez a változás a populáció korábbi állapotától, a környezettől és egyéb evolúciós tényezőktől független. Véletlenszerű allél kombinálódást feltételezve (lásd ideális populáció) a genotípus gyakoriság is változik.

Genetikai sodródás

Allél gyakoriság változás, $f_A(t)$ – *D. melanogaster* (Buri 1956)

- szem szín marker,
a genotípus azonosítható,
mendeli allél (A)
- 107 populáció,
19 generáció
- minden populációra:
8 hím és 8 nőstény
véletlenszerűen kiválasztva
($N = 16$, konstans)
0 – 32 db A allél
 $f_A(0) = 0,5$
- allél fixálódás a populációkban



Igazolható, hogy a véletlenszerű fluktuáció következtében előbb-utóbb az egyik allél **fixálódni** fog, ennek következtében a változatosság megszűnik (és a populáció minden egyede homozigóta lesz a kérdéses allélra a lokuszon). A véletlennek köszönhetően a különböző populációkban eltérő allélok fixálódhatnak, populációk genetikai **divergenciáját** eredményezve.

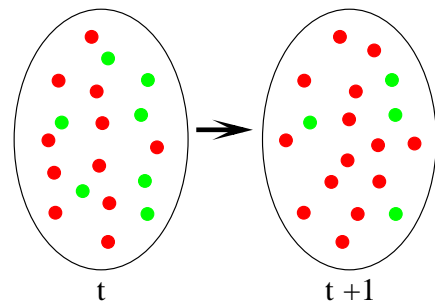
A genetikai sodródás logikáját Buri (1956) kísérlete látványosan illusztrálja. Egy generációt minden populációban 16, az előző utódaik közül véletlenszerűen kiválasztott 8 hím és 8 nőstény egyed alkotta. Jelölje $f_A(t)$ az A allél gyakoriságát egy adott t időpontban (generációban) a populációban az adott lokuszon. Kezdetben ($t = 0$) ez minden populációban azonos volt ($f_A(0) = 0,5$, így 16 db A allél van mind a 107 populációban). Azon populációk aránya, ahol egyik (A) vagy másik (a) allél fixálódott ($f_A = 1$ vagy $f_a = 1$, 32 db allél) fokozatosan nő. Ezzel a kérdéses populáció változatossága megszűnik, és ez így is marad a továbbiakban – a már elveszett allél megjelenésére nincs mód a zárt populációban pusztán sodródás hatására. Érdemes kiemelni, hogy a fixálódott populációk felében egyik, másik felében a másik allél fixálódott és minden populációt figyelembe véve az allél gyakoriság változatlan. Ennek magyarázatára visszatérünk.

Wright-Fisher modell

- Modellek a genetikai sodródás leírására – általános eredmények
- A Wright-Fisher (WF) modell
 - haploid, ivartalan szaporodás → diploid ivaros dinamika közelítése
 - diszkrét generációk, nincs átfedés
 - konstans populáció méret: $2N$ (de haploid!)
 - allél másolatok random mintázása az előző generációból (= függetlenül, azonos valószínűséggel egy nagy génkészletből)
 - utód generáció: binomiális eloszlás ($2N$ és f_A paraméterek)
- WF populáció két generációja
- $2N = 18$
- A allélra:

$$f_A(t) = 7/18$$

$$f_A(t + 1) = 4/18$$
- a random mintázás következtében



Diploid populációban az allél gyakoriság változásának egy kézenfekvő biológiai magyarázata az, hogy a heterozigóta szülők egy ivarsejtje azonos eséllyel hordozza az egyik vagy másik allélt, vagyis egy utód 50% eséllyel kapja a kérdéses szülő adott allélját (lásd heterozigóta szülők utódainak genotípus eloszlását).

Egyszerűsítsük le a problémát egy nagy haploid populációra, ahol az utódgeneráció allél készlete egy random minta a szülői populáció allél készletéből, feltételezve hogy a populáció mérete nem változik és a szülő és utód populációk elkülönülnek (diszkrét dinamika), a populációk között nincs átfedés. Bármely egyedi allél azonos eséllyel választható ki ebben a populációban, függetlenül attól, hogy korábban hány alkalommal és milyen allélt választottunk. Ekkor egy adott típusú allél (pl. A) kiválasztásának valószínűsége konstans és azonos a populációbeli gyakoriságával (f_A). Két allél esetén adott számú ($0, 1, \dots, 2N$), mondjuk A allél kiválasztásának valószínűsége közvetlenül is meghatározható (binomiális eloszlás). Generációról generációra ismételve az eljárást definiáljuk a **Wright-Fisher (WF) modellt**, ami ugyan számos egyszerűsítést tartalmaz, de általában jó közelítése az összetettebb allél gyakoriság változást leíró diploid modellnek. A populáció méret jelölése is erre a közelítésre utal ($2N$).

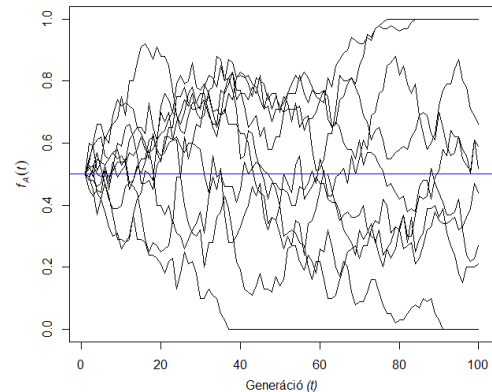
Wright-Fisher modell

- Formális eredmények – konstans várható allél gyakoriság

$$E[f_A(t+1)] = f_A(t)$$

- Egy realizáció – nagy valószínűséggel változik
- Sok generáció – fixálódik ($f_A(t) = 1$) vagy elveszik ($f_A(t) = 0$)

- WF modell szimulációja
- $2N = 100$
- 100 generáció
- 10 populáció
- $f_A(0) = 0,5$ minden populációban
- $E[f_A(t)] = 0,5$ – populációk **átlaga**



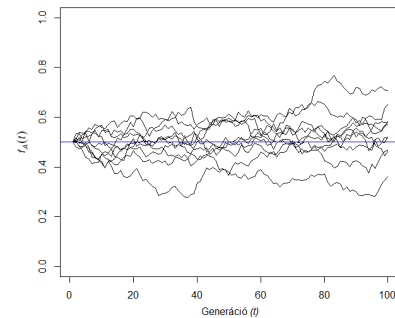
Azt várhatnánk, hogy ha minden egyed azonos eséllyel járul hozzá a következő generációhoz, a gyakoriság nem változik. Sokszor megismételve a kísérletet (vagy számos párhuzamos populációt vizsgálva) hozzávetőleg ezt is kaptuk a Buri kísérletben, de a populáció **átlagos** allél gyakoriságára. Az egy populációra **várt** (gyakoriság nem változik) elméleti és a ténylegesen **realizálódott** (tapasztalt) eloszlás (egyik változat elterjedésével a változatosság megszűnt) különbözhet. Még ha realizálódhat is a várt mintázat (lásd pl. a heterozigóta szülők utódainak genotípus eloszlását, 4 db utódra realizálódhatna az 1:2:1 arány), nagy lehet a valószínűsége egy alternatív történetnek, populáció dinamikának.

A WF modellben a várható allél gyakoriság (jele $E[f_A]$) elméleti úton is meghatározható (a binomiális eloszlás várható értéke), az allél gyakoriság nem változik – hiszen az adott allél kiválasztásának esélye azonos minden generációban.

A WF modell **számítógépes szimulációja** a várt és tényleges populáció történet közötti különbséget szemlélteti. Az allél gyakoriság az egyes populációkban fluktuál, előbb-utóbb egyik allél fixálódik. 4 populációban a szimuláció 100 generációja alatt ez be is következett.

Genetikai sodródás – a populáció mérete

- Heterozigóta (Aa) szülők, sok utód – utódok genotípusa?
 - csak AA homozigóta utódok valószínűsége csökken (pl. 10 utód: $9,5 * 10^{-7}$)
 - sok utóddal a várható 1:2:1 genotípus eloszlást közelíti
- Sodródás minden természetes (véges méretű) populációban
 - jelentősége kizárólag a populáció méretének függvénye – kis populációban gyorsabb változás (nagyobb mértékű generációnként)
 - pl. WF modell, f_A 0,5 \rightarrow 0,3 gyakoriság változás valószínűsége egy generáció alatt?
 - $2N = 10$: 0,12; $2N = 100$: $2,3 * 10^{-5}$; $2N = 1000$: $5,1 * 10^{-38}$
- WF modell szimulációja
- $2N = 1000$
- 100 generáció
- 10 populáció
- $f_A(0) = 0,5$ minden populációban
- $E[f_A(t)] = 0,5$ – populációk **átlaga**



Genetikai sodródás következtében tehát egy allél idővel fixálódni fog, függetlenül a környezettől, allél állapottól és a populáció korábbi történetétől. De milyen gyorsan következik ez be, vagyis milyen gyors az evolúciós változás a random fluktuáció következtében? A változás mértéke kizárólag a **populáció méretének** a függvénye. A ligeti csiga elvi példában ha a populációt 100 egyed alkotná (nem 10 db ahogy korábban) mindkét változattól, akkor 2 sárga illetve 4 barna egyed elpusztulásával a változatok aránya hozzávetőleg 51 ill. 49% lenne. Minél nagyobb a populáció, annál kisebb a sodródás hatása, a gyakoriság változás mértéke egyik generációról a másikra. Heterozigóta szülők utódainak genotípus eloszlása is annál jobban közelíti a várt elméleti 1:2:1 eloszlást, minél nagyobb az utódszám. A WF modellben a sodródás hatását könnyen számszerűsíthetjük is. Összehasonlítva a 10, 100 és 1000 egyedből álló populációt a 20%-os eltérés valószínűsége egy lépésben 0,5 gyakoriságból kiindulva 0,12, $2,3 * 10^{-5}$, illetve $5,1 * 10^{-38}$. A számítógépes szimulációk is azt szemléltetik, hogy az egyes populációk közötti különbségek jóval lassabban növekednek ha nagyok a populációk (a binomiális eloszlás varianciájával leírható) – de nő a különbség és előbb-utóbb minden populációban egyik allél fixálódik.

Genetikai sodródás természetes populációkban

- Drift hatása természetes populációkban számos formában – változatosság csökkenése, allél fixálódás és vesztes kis populációkban
- Palacknyak hatás – kis populáció méret egy rövid idő intervallumban
 - pl. északi elefántfóka (*Mirounga angustirostris*)
 - palacknyak kb. 100 éve (2-20 egyed, vadászat)
 - ma kb. 175 ezer egyed
 - genetikai változatosság (Weber et al 2000):
 - ma: 2 mtDNS haplotípus, $H = 0,41$ ($n > 100$)
 - múzeumi egyedek a palacknyak előtti időszakból: több haplotípus, $H = 0,9$
- Alapító hatás – palacknyak az izoláció kezdetén
- Fragmentáció – természetvédelem

A sodródás hatása egyéb folyamatoktól független (pl. szelekció). Mivel a változás mértéke a különböző tényezők együttes hatásának függvénye, nagy populációban gyakran elhanyagolható, ha a változatosság nem neutrális. Kis populációban azonban általában számolnunk kell vele. A változatosságot csökkenti, ami számos formában jelentkezhet egy természetes populációban.

Ha a populáció mérete ideiglenesen lecsökken, mint például az északi elefántfóka esetén, a genetikai sodródás hatása felerősödik, a genetikai változatosság csökken. Allélok fixálódhatnak (amennyiben elegendően tartós ehhez az alacsony populáció méret) és veszhetnek el a populációból az egyes lokuszokon. Az északi elefántfóka mtDNS szekvencia változatosságát vizsgálva a genetikai változatosság jelentős csökkenése volt kimutatható (a változatosság heterozigotitással (H) jellemezve). A jelenséget **palacknyak hatásnak** nevezzük, melyet számos tényező, így az élőhely fragmentációja is előidézhethet.

Hasonló módon, egy populáció alapítás, kolonizációs esemény (mondjuk egy szigeten) is gyakran kis populációnak tulajdonítható. A kolonizáló egyedek izolálódnak a forrás populációtól. Ekkor a palacknyak a populáció alapításra vonatkozik, ez az **alapító hatás**.

Mutációk

- Drift: változatosság megszűnik – de új allél mutációval
- Számos mutáció típus, pl. pontmutációk, indel, inverzió, transzlokáció
- Modellek
 - 2 allél (mutáció jelenléte és hiánya) gyakran elegendő
 - mutáció típusok, több mutáció – specifikus modell kell
- Hatása az allél gyakoriságra (WF modell, két allél)
 - pl. $a \rightarrow A$ mutáció, μ mutációs ráta minden generációban

$$E[f_A(t+1)] = f_A(t) + \mu f_a(t)$$

- egyirányú változás, csak mutáció – A allél fixálódik, sebessége μ függvénye
- kétirányú változással stabil egyensúly

$$f_A = \frac{\mu_{a \rightarrow A}}{\mu_{a \rightarrow A} + \mu_{A \rightarrow a}}$$

- pl. $\mu_{a \rightarrow A} = \mu_{A \rightarrow a}$ esetén $f_A = f_a = 0,5$

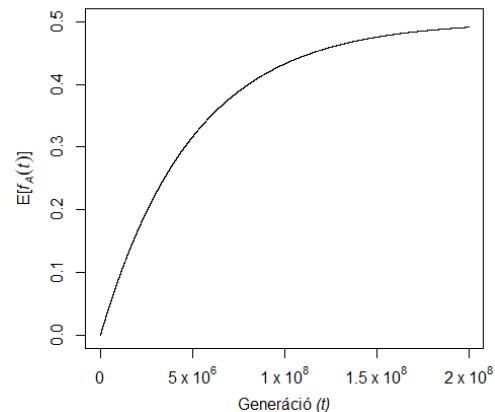
Az északi elefántfóka populációk genetikai változatossága várhatóan növekedni fog, ehhez azonban idő kell. A változatosságot növelő folyamat egy lokuszon a zárt populációban a **mutáció**, amely egy allél változat megjelenését eredményezi. A mutációknak számos típusa van molekuláris természet alapján, azonban gyakran elegendő két típus (A és a) elkülönítése az evolúciós változás követéséhez. A mutáció megléte és hiánya alapján teszünk köztük különbséget.

Allél gyakoriságra gyakorolt hatásának értelmezéséhez tételezzük fel, hogy az a allél generációnként μ valószínűséggel módosul A -ra a WF modellben. Ekkor A várható gyakorisága ($E[f_A]$) generációról generációra (t -ről $t+1$ -re) μf_a értékkel nő. A állapota nem változhat a modellben. Ekkor A fixálódni fog, a folyamat sebessége kizárólag μ függvénye. A μ paramétert **mutációs rátának** nevezzük.

Ha A is mutálódhat (mutációs rátája legyen $\mu_{A \rightarrow a}$), mindkét allél fennmarad az egyensúlyi populációban (vagyis ezt elérve arányuk már nem változik a populációban). Arányuk egyensúlyban kizárólag a mutációs ráták függvénye, függetlenül a kezdeti ($t = 0$) allél gyakoriságtól. Például ha a két mutációs ráta azonos, mindkét allél gyakorisága 0,5 lesz.

Mutációs ráta

- Mutációs ráta – a változás sebessége
 - változó (élőlények, genom régiók)
 - eukarióták kis átlagos értéke (pl. magasabbrendűek pontmutációi: $10^{-7} - 10^{-9}$ nagyságrend)
 - lassú konvergencia – drift és szelekció szerepe jelentősebb, terjedés tekintetében elhanyagolható
- allél gyakoriság változás
- $f_A(0) = 0$
- $\mu_{a \rightarrow A} = \mu_{A \rightarrow a} = 10^{-8}$
- csak mutációval $> 10^8$ generáció alatt éri el a populáció az egységűt



A gyakorlatban a mutációra sokszor úgy tekintünk, mint egy egyedi eseményre, mert kicsi a bekövetkezési esélye. De a mutációs ráta (μ) egy időegységre (esetünkben generációra) vonatkoztatott, változás esélyére vonatkozó érték, amely ilyen módon az evolúciós változás sebességét jellemzi a populációban kizárólag mutáció hatására. μ értékében jelentős különbségek vannak az élőlények és genom régiók között. Magasabbrendű eukarióták pontmutációira ez alacsony, $10^{-7} - 10^{-9}$ körüli érték átlagosan. Ahogy az ábra is szemlélteti, az allél gyakoriság változás csak mutációval nagyon lassú folyamat, ezért egyéb tényezőknek (genetikai sodródás, természetes szelekció) jóval nagyobb lesz a jelentősége a gyakoriság változás tekintetében. További gyakran alkalmazott elméleti egyszerűsítés a kisebb időléptékű vizsgálatokban, hogy egy pozíció csak maximum egyszer módosulhat.

Molekuláris markerek kiválasztásánál a lokusz mutációs rátája fontos szempont. Például a mikroszatellit mutációs rátája magas lehet molekuláris sajátosságai következtében, ezért néhány generáció alatt is módosulhat. Ennek következtében a változatossága nagy a populációban és generációs léptékű folyamatok követésére is alkalmas. Nagyobb időléptékben kisebb eséllyel változó markereket használunk.

Ellenőrző kérdések

- 1 Mikor tekintjük a változatosságot neutrálisnak?
- 2 Mit értünk sodródás alatt?
- 3 Milyen következménnyel jár a genetikai sodródás a populáció változatosságára?
- 4 Mi a populáció egyensúlyi állapota csak genetikai sodródás hatására?
- 5 Mitől függ a genetikai sodródás hatása (változás sebessége)?
- 6 Mit értünk palacknyak hatás alatt?
- 7 Melyek a Wright-Fisher modell feltételei?
- 8 Mekkora lesz egy 0,2 gyakoriságú allél várható gyakorisága a következő generációban a Wright-Fisher modell alapján?
- 9 Miért fontos a mutáció evolúciós szempontból?

**JELEN TANANYAG A SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEMEN
KÉSZÜLT AZ EURÓPAI UNIÓ TÁMOGATÁSÁVAL. PROJEKT
AZONOSÍTÓ: EFOP-3.4.3-16-2016-00014**

SZÉCHENYI 



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE