

# A földi élet törzsfájának rekonstuálása genomik változások alapján 2

Ari Eszter

ELTE eScience RET & Genetikai Tanszék

# Törzsfa-rekonstrukció ritka genomik változások alapján

Rokas, A. & Holland, P. W. H. (2000). Rare genomic changes as a tool for phylogenetics. *Trends in Ecology & Evolution*, **15**(11), 454-459.

## ■ ritka genomik változások

(rare genomic changes, RGCs):

- intron inzerció, delécio
- retropon beépülése
- jelző szekvenciák jelenléte
- a mitokondrium és a kloroplastisz génsorrendjének változása
- génduplikáció
- genetikai kód megváltozása
- genom szintű átrendeződések
- az egész genom multiplikációja

# A molekuláris filogenetikai módszerek által nem megfelelően kezelt jelenségeknek

- A problémák nagy részének oka:  
a módszerek többsége csak az egyszerű  
pontmutációt használja fel a leszármazás  
megállapítására.
  - Ezeknél nem tudhatjuk, hogy melyek az ősi és melyek  
a leszármaztatott jellegek.
- nem megfelelően kezelt jelenségeknek:
  - nukleotidok konvergens evolúciója
  - site-onként és leszármazási vonalanként változó  
szubsztitúciós ráta
  - mutációk telítődése a variábilis site-okon
  - az egyes site-ok egymástól nem független  
szubsztitúciója
  - molekuláris szintű funkcionális kényszerek stb...

```
*****  *****  **
Cebu_a  TGGTATATAGTTTAAAC-AA
Homo_s  TGGTATATAGTTTAAAC-AA
Pan_tr  TGGTATATAGTTTAAAT-AA
Pan_pa  TGGTACATAGTTTAAAC-AA
Gorill  TGGTACATAGTTTAAAC-AA
Pong_p  TGGTAAATAGTTTAAAC-AA
Pong_a  TGGTAAATAGTTTAAAC-AA
Hylo_1  TGGTAAAGTAGTTTAAAGCTAA
ruler  1.....10.....20
```

# Az RGC (ritka genomi változás) markerek tulajdonságai

- Nagyarányú genomi mutációk
- Csak egyes különleges kládokra jellemzőek
- Általában egy vagy nagyon kevés mutáció eredménye
- Többnyire evolúciósan konzervatívak, így filogenetikailag informatívak
- A filogenetikai információ független forrásai
- Kevésbé érinti őket a szekvencia szintű információkból nyert filogenetikát sújtó problémák sokasága
- Gond: maguknak a ritka genomi változásoknak a detektálása és identifikációja
- Vannak protokollok, melyeket direkt az RGC-k egyes fajtáinak (de nem az összesnek) a feltárására fejlesztettek ki.
- Az nem valószínű, hogy a ritka genomi változások használata egy egészen új filogenetikát nyit meg előttünk, de mindenképpen hasznos információhoz juttatnak bennünket a taxonok leszármazását illetően, mikor a szekvencia alapú módszerek elégtelen eredményeket szolgáltatnak.

# Filogenetikailag érdekes RGC markerek 1

Marker	Milyen taxonómiai szintre alkalmazható	Homoplázia szint	Mely taxonokra alkalmazható
Intronok inzerciója/deléciója	Tág határok között	Alacsony	Eukarióták
Retropozonok (SINE, LINE)	Rendeken belül	0 vagy nagyon alacsony	Állatok
Jelző szekvenciák	Tág határok között	Nem tudjuk, de felismerhető	Minden élőlény

- Retropozonok: olyan transzpozábilis elemek, melyek RNS-re való átíródással majd reverz transzkripcióval helyeződnek át a genomban.
  - SINE (short interspersed element), rövid közbeszúrt elem: a retropozonok olyan különleges osztálya, melynek tagjai elvesztették azt a képességüket, hogy önmagukat áthelyezzék, az áthelyeződéshez a LINE osztály tagjait használják.
  - LINE (long interspersed element), hosszú közbeszúrt elem: olyan retropozon osztály, melynek tagjai képesek önmagukat áthelyezni.
- Jelző szekvenciák (Signature sequences): olyan közös konzervatív inzerciók vagy deléciók, melyek fehérje- vagy RNS génekben találhatóak.

# Filogenetikailag érdekes RGC markerek 2

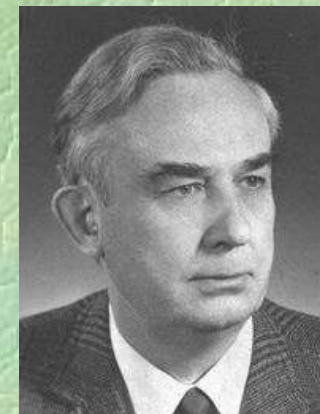
Marker	Milyen taxonómiai szintre alkalmazható	Homoplázia szint	Mely taxonokra alkalmazható
Mitokondriális genetikai kód változatok	A törzstől az osztályig	Alacsony vagy mérsékelt	Eukarióták
Sejtmagbéli genetikai kód változások	Törzsek között	Alacsony vagy mérsékelt	Minden élőlény
Mitokondriális génsorrend változások	Tág határok között (a törzstől a családig)	Alacsony vagy mérsékelt az állatokban; Magas a növényekben, gombákban és egysejtűekben	Eukarióták
Kloroplasztisz génsorrend változások	Családok között	Alacsony	Növények
Génduplikációk	Tág határok között	Nem ismert	Minden élőlény
Komparatív citogenetika	Törzseken belül	Nem ismert	Minden élőlény (prokariótákban gyakori a horizontális géntranszfer)

- Komparatív citogenetika: a kromoszómaszerkezetek összehasonlító vizsgálata

# Az RGC-k, mint „hennigi” markerek

*Willi Hennig*, a kladisztikai módszertan atyja a filogenetikai eljárásokra is nagy hatást gyakorolt.

- Rámutatott, hogy csak a közös leszármaztatott tulajdonságok (szünapomorfiák) használhatóak a közös eredet bizonyítására.
  - A szünapomorfiák feltérképezése a kladisztikai törzsfarekonstrukció lényege.
- A kladisztikai analízis fő gátja a homopláziák megjelenése.
  - Azon a karakterek, melyek egy ritka evolúciós esemény révén jöttek létre sokkal kevésbé vannak homopláziával sújtva.
- Annak ellenére, hogy az RGC-k előfordulásának gyakoriságára csak becslésekkel rendelkezünk, megállapíthatjuk, hogy a nagyarányú genomi változások meglehetősen ritka evolúciós események, és mint ilyen csak szórványosan érinti őket a konvergens evolúció.
  - A ritka genomi változások jó karakterek lehetnek a közös eredetet tisztázása során.



# A „halak” törzsfája intron izerciók és deléciók alapján 1

Venkatesh, B., Ning, Y. & Brenner, S. (1999). Late changes in spliceosomal introns define clades in vertebrate evolution. *PNAS*, **96**(18), 10267-10271.

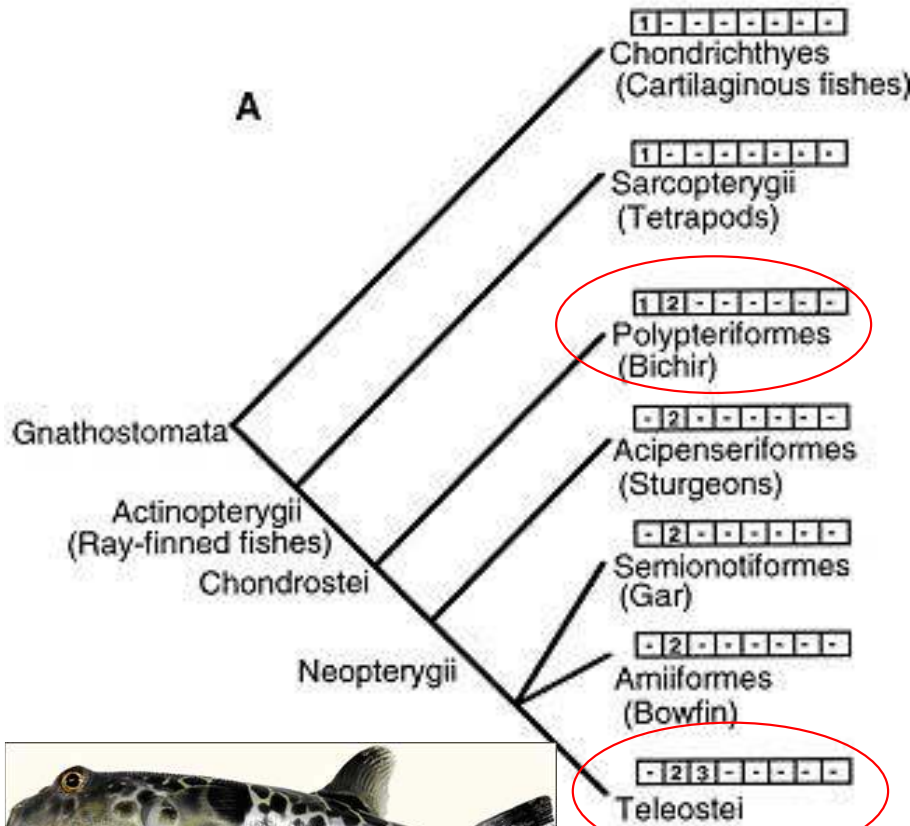
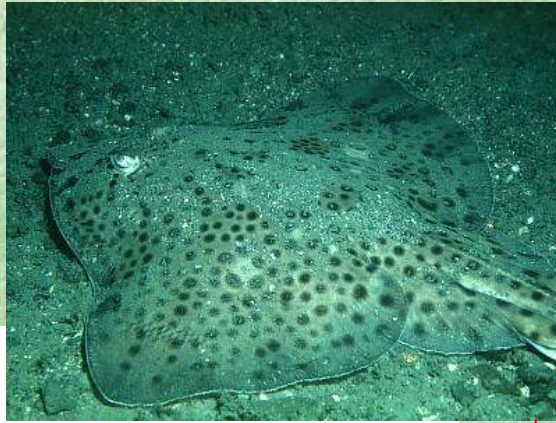
- 5 génben 7 olyan intront észleltek a japán gömbhalban (fugu, *Takifugu rubripes*), melynek nem találták meg a homológjait emlősökben.
- Ősi típusú gerinchúros fajok (láncsahalak, ráják, ősi emlős fajok) rodopszin génjében pedig négy olyan intront találtak, melyek a gömbhalból hiányoztak.
- Ennek a tizenegy intronnak az esetleges jelenlétét vagy hiányát számos úszósugaras halban (*Actinopterygii*) megvizsgálták, hogy az evolúciós viszonyaikat tisztázzák.
  - Az intronok közül csak egynél találtak homopláziára utaló jeleket.
- Tisztázódott a zománcos halak (bichir, *Polypterus*) bazális helye a törzsfán, annak ellenére, hogy az eddigi molekuláris filogenetikai vizsgálatok csődöt mondtak a csoport leszármazását illetően.

*Actinopterygii*:





# A „halak” törzsfája intron izerciók és deléciók alapján 2



porcos halak

tüdős és bolytosúszós halak

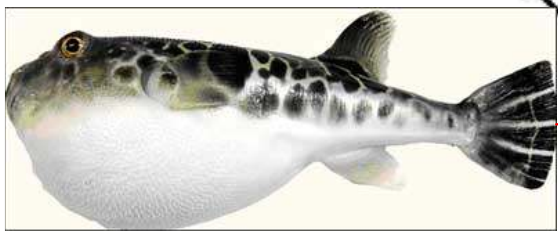
zománcos halak

tokalakúak

kajmánhalak

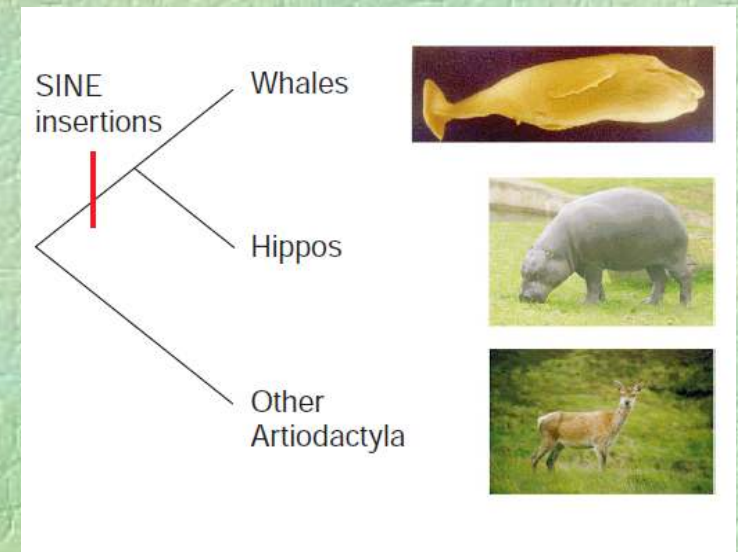
iszaphalak

valódi csontoshalak



# Retroponon inzerciók

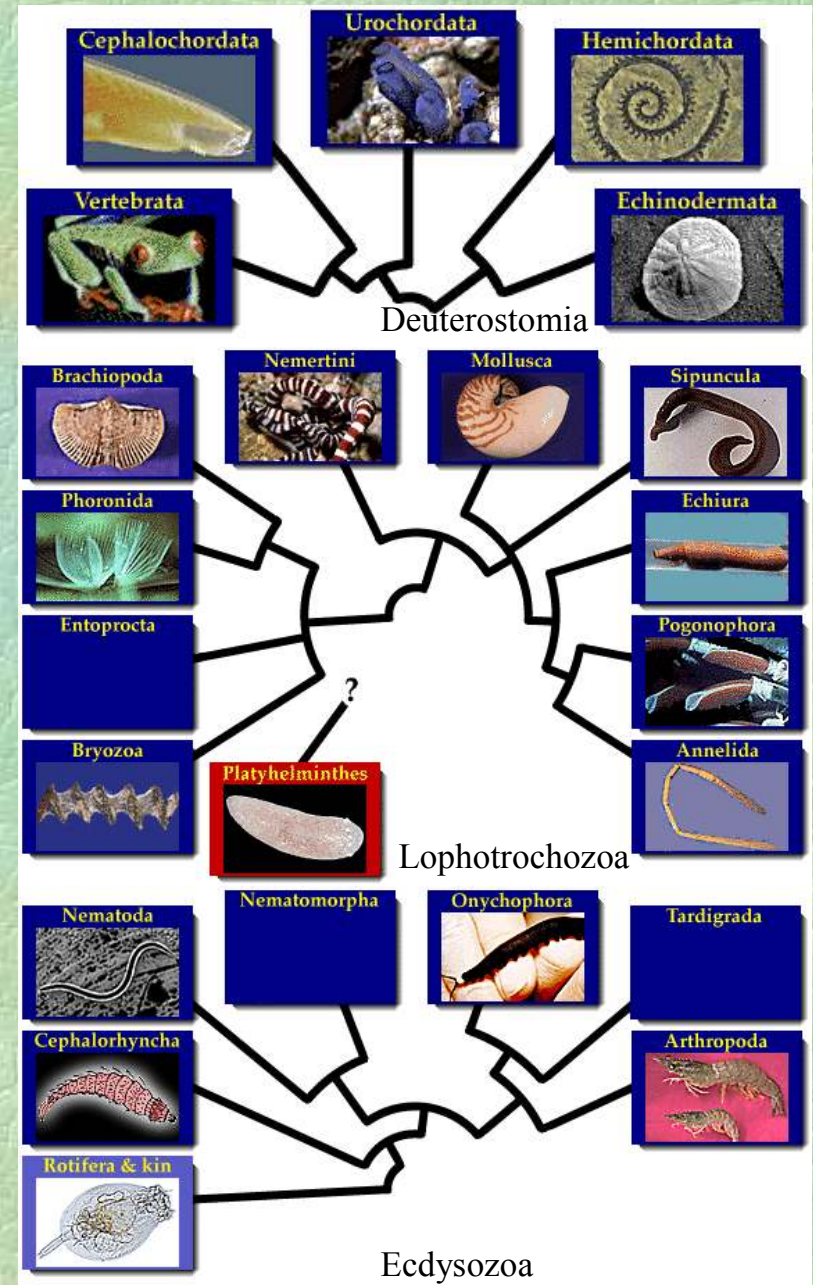
- A SINE elemek:
  - különösen jól használhatók a filogenetikai elemzésekhez, mert a beépülésük majdnem teljesen random és irreverzibilis
  - a legtöbb eukarióta genomban elég elterjedtek
  - jelenlétük vagy hiányuk az integrált részek közötti PCR amplifikációval is vizsgálható.
- A SINE elemek számos meggyőző érvet szolgáltatottak amellet, hogy a bálnák és a vízilovak közeli rokonok.
- A SINE elemek használatának ellenzői azzal érvelnek, hogy az inzerciójuk nem egymástól függetlenül történik (egyszerre számos SINE elem szokott beépülni különböző helyekre), de a függetlenség hiánya valószínűleg az összes vizsgálható karakterre érvényes.
- A LINE elemek nemcsak a törzsfa topológiájának megállapítására, hanem azok időbeli skálázására is használhatóak.
  - A LINE elemek olyan gyorsan változó hibás kópiák, melyek visszamaradtak a genomban és neutrálisan evolválódtak, így törzsfa-rekonstrukcióhoz jól alkalmazhatóak.



# Jelző szekvenciák 1

Aguinaldo, A. M. A., Turbeville, J. M., Linford, L. S., Rivera, M. C., Garey, J. R., Raff, R. A. & Lake, J. A. (1997). Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature*, **387**(6632), 489-493.

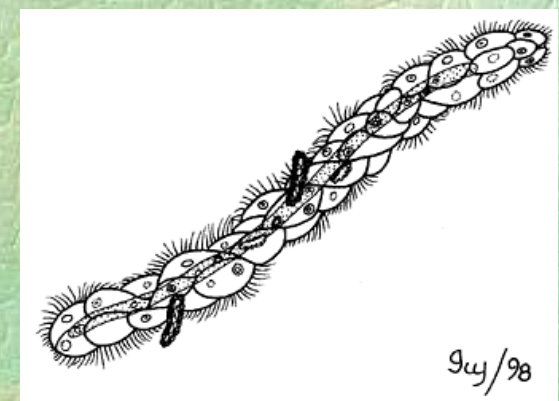
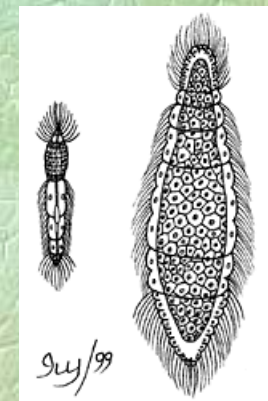
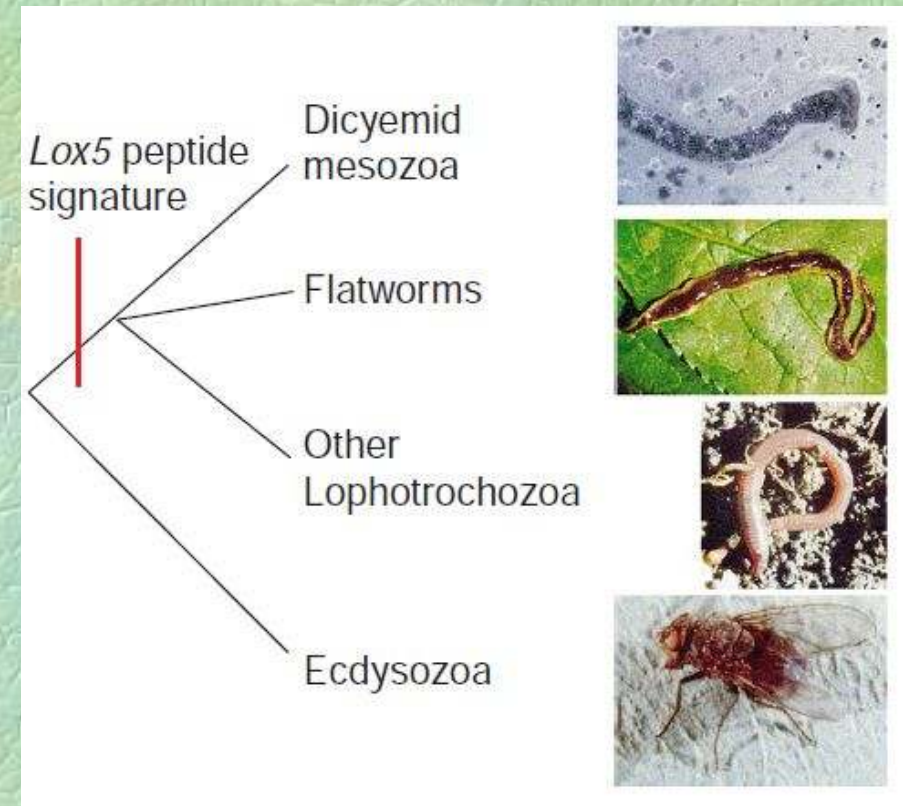
- *Jelző szekvenciák (Signature sequences): olyan közös konzervatív inzerciók vagy deléciók, melyek fehérje- vagy RNS génekben találhatóak.*
- 18S rRNS gének vizsgálatával kimutatták, hogy az állatok filogenetikailag 3 nagy csoportra oszthatóak:
  - *Deuterostomiára* (újszájúak) [ide tartoznak pl a gerincesek, tüskésbőrűek],
  - *Lophotrochozoákra* (spirális bordázódású törzsek) [pl: puhatestűek, gyűrűsférgek] és
  - *Ecdysozoákra* (vedlő állatok) [pl: fonálférgek, ízeltlábúak]



# Jelző szekvenciák 2

sejthalmazosok

- A Hox gén jelző szekvenciák által is erősen támogatott az összajú gerinctelenek *Lophotrochozoákra* és *Ecdysozoákra* való elkülönítése.
  - Mind a 3 állat kládnál található olyan Hox gén, mely kizárólag a rá jellemző, vagyis egyedi.
  - Ezek az egyedi Hox gének génduplikáció útján keletkeztek, majd függetlenül evolválódtak tovább.
- A sejthalmazosok (*Mesozoák*, lábasfejűek endoparazitái) Hox génjeinek vizsgálata rámutatott, hogy a *Mesozoák* a *Lophotrochozoákhoz* tartoznak.
  - Annak ellenére, hogy a korábbi morfológiai és 18s rRNS vizsgálatok kudarcot vallottak a csoport leszármazásának kiderítésében.



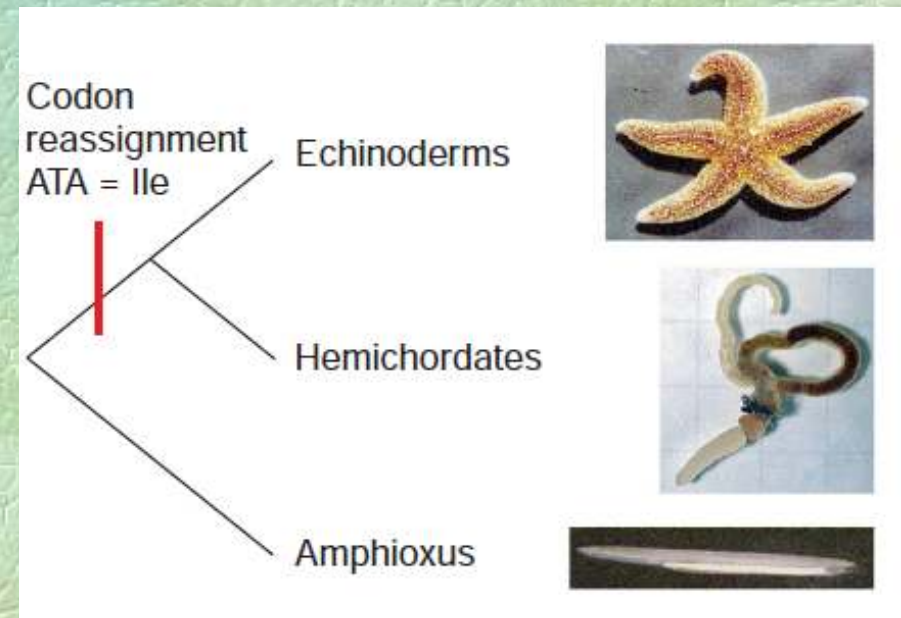
# Változások a genetikai kódban

- Számos olyan élőlényt ismerünk, amely az univerzálístól kicsit eltérő genetikai kódszótárt használ.
  - Ezen eltérések kitűnő filogenetikai markerek lehetnek.
  - Például a *Giardiát* (sárkányképű ostoros) kivéve az összes *Diplomonas*-nál megfigyelhető, hogy a TAA és a TAG glutamint kódol (az univerzális kódszótárban lévő STOP helyett), ebből arra az egyéb technikák által is alátámasztott következtetésre juthatunk, hogy a sárkányképű ostoros a *Diplomonas*-ok egy korán levált ágán helyezkedik el.
  - De bizonyos zöldalgákban és a csillósokban is ugyanilyen kód-eltérést találtak, ez pedig homopláziára utal.
- A kód-eltérések legnagyobb tárházát a mitokondriumokban lehet megfigyelni. A kloroplasztiszokban ezidáig semmilyen deviációt nem találtak.
- Egy mitokondriális kód-eltérés alapján állapították meg, hogy ellentétben a korábbi elképzelésekkel a félgerinchúrosok (*Hemichordata*) a tüskésbőrűek és nem az előgerinchúrosok közelebbi rokonai.
  - Igaz, hogy ez a kodon mutáció a csalánozóknban is függetlenül megjelent.

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

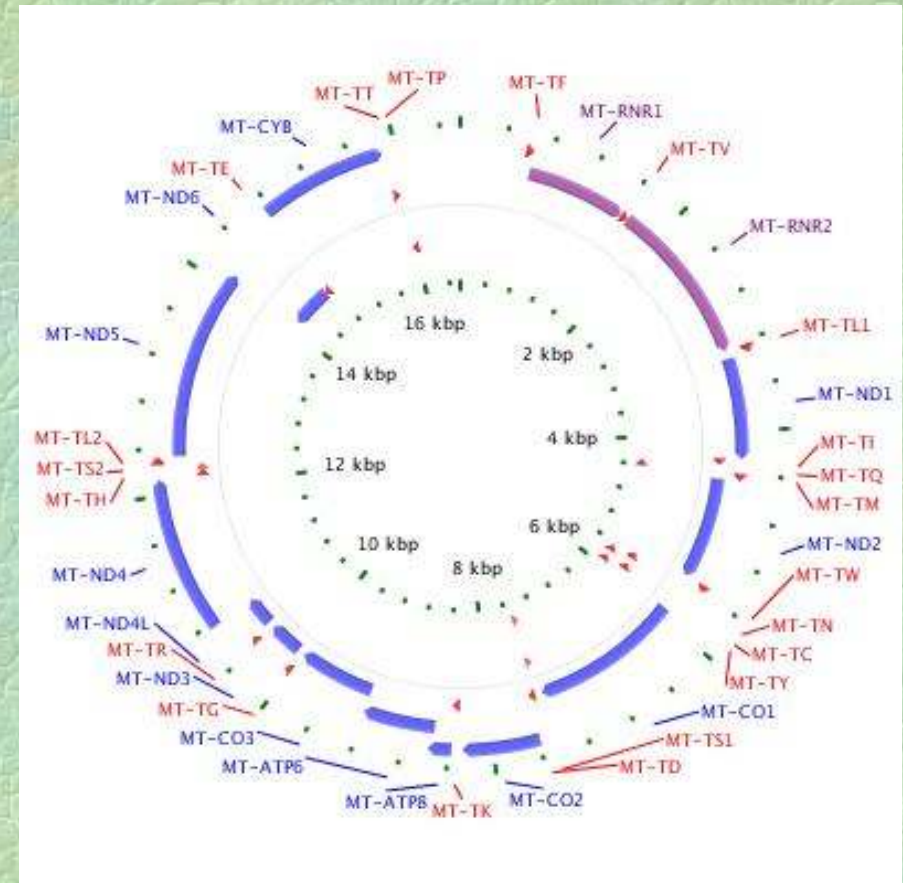


Metamonada:  
*Giardia sp.*



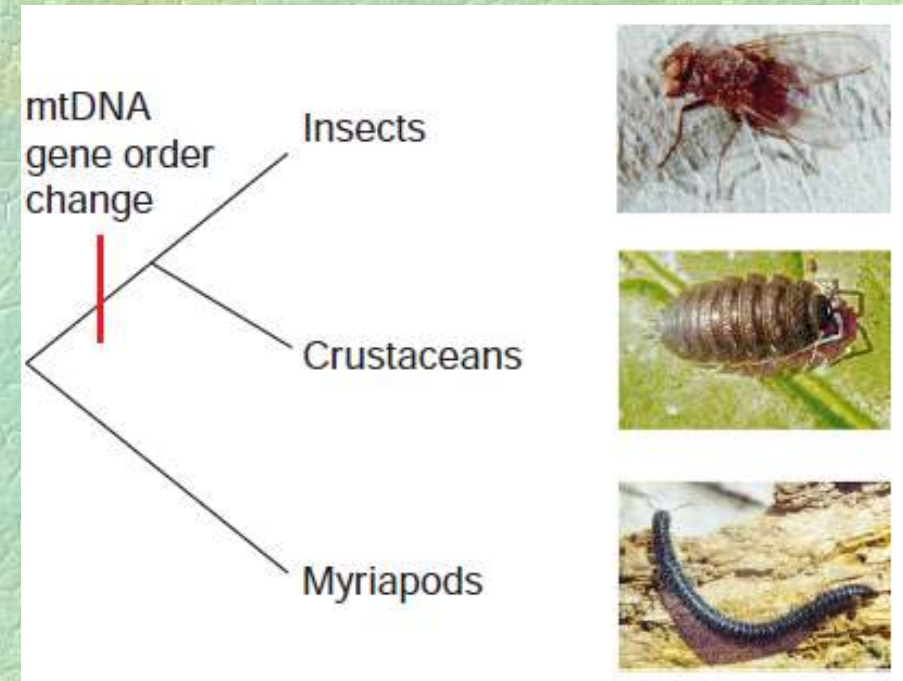
# Változások a mitokondrium génsorrendjében 1

- Jó filogenetikai marker lehet a génsorrendek változása a cirkuláris genomokban
  - pl a mitokondriumban és a kloroplasztiszban
- Ritka inverziók, transzlokációk és duplikációk
- Általában számos szomszédos gén vett részt benne
- Az érintett szakaszok meglehetősen komplexek
  - a pontos visszamutációk, illetve a konvergens evolúciós események nagyon ritkák
- Az egyik legjobb filogenetikai markernek ezek a génsorrend-változások tekinthetők.



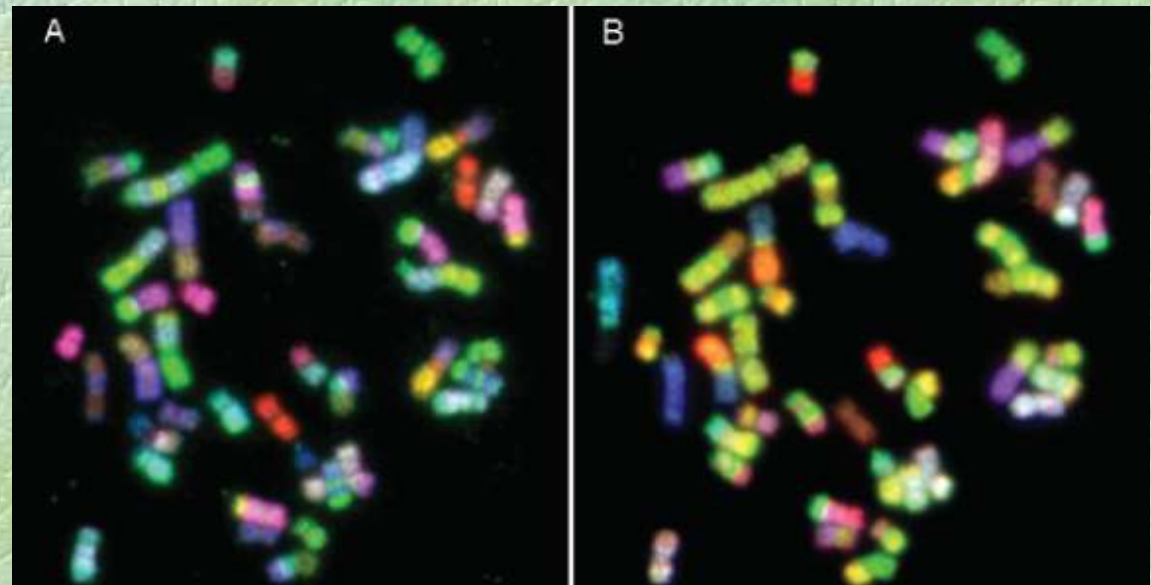
# Változások a mitokondrium génsorrendjében 2

- A rovarok, soklábúak és rákok filogenetikai kapcsolatát RGC-kkel vizsgálva rájöttek, hogy annak ellenére, hogy a soklábúak és a rovarok több látszólag szünapomorf bélyeggel rendelkeznek, ezek valójában homopláziák és a rovarok tulajdonképpen a rákok közelebbi rokonai.
  - Ezt egy rovarokra és rákokra jellemző, de a soklábúakból, a csáprágósokból és az karmos féreglábúak hiányzó ritka mitokondriális tRNS transzlokáció támasztotta alá.
- Arra vonatkozóan, hogy az említett mitokondriális genom átrendeződések meglehetősen ritka események akad egy kivétel: a csigák (*Gastropoda*) mitokondriális DNS-e, amely extrém módon variábilis.

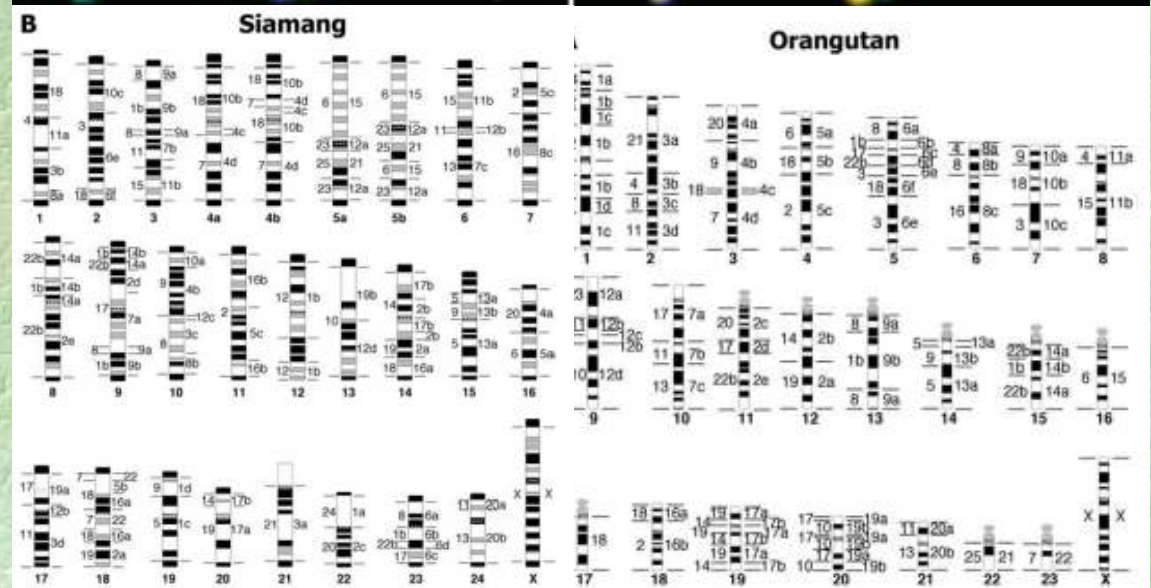


# A kromoszómaszerkezetek összehasonlító vizsgálata (komparatív citogenetika)

- Multicolor-FISH (fluorescent in situ hybridization)



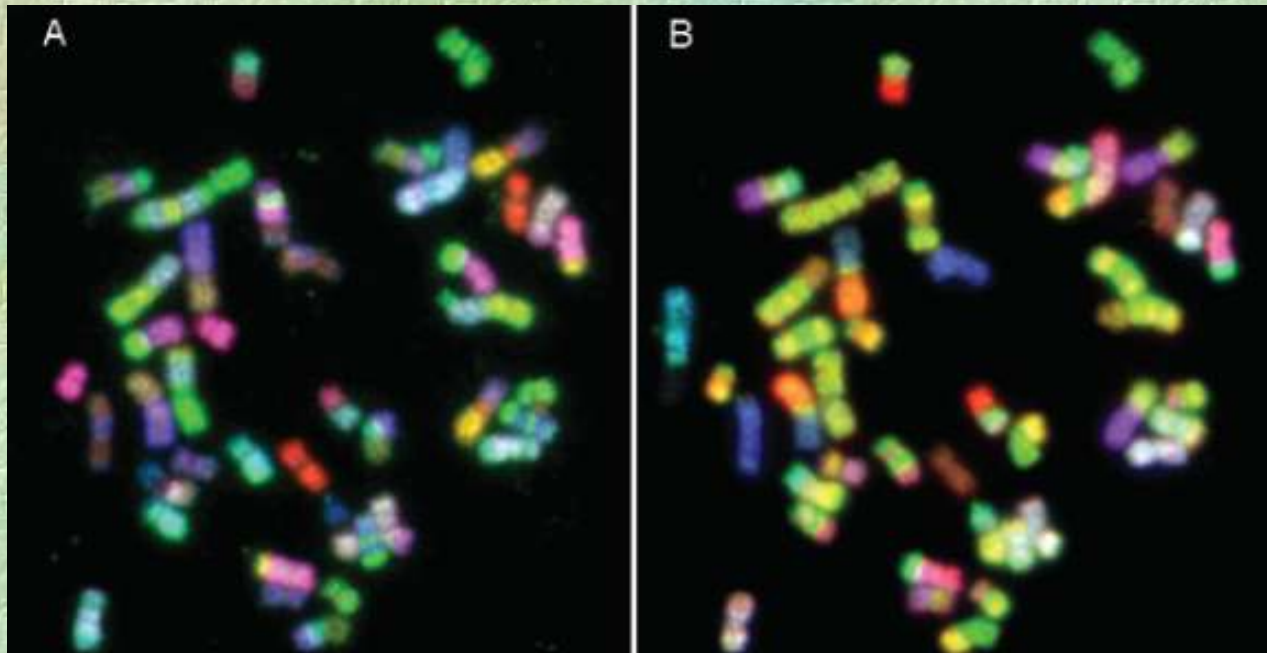
- Hagymományos festés: Giemsa

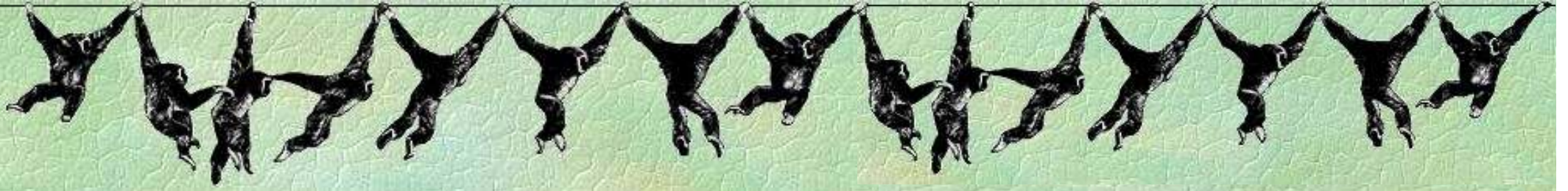




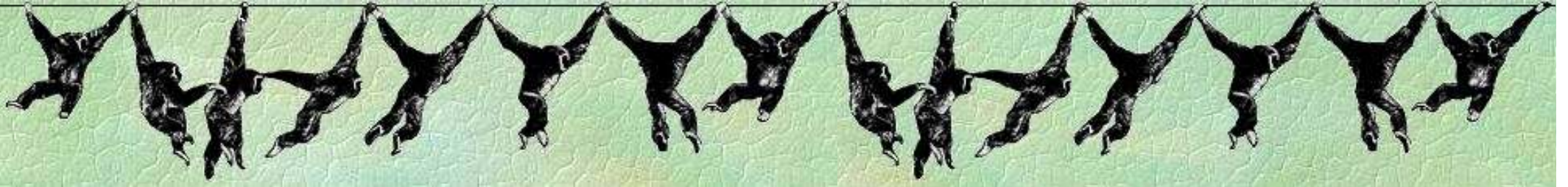
A **FISH** technika filogenetikai felhasználásának lehetőségei:  
*A gibbonok kromoszómális evolúciójának vizsgálata*

Müller, S., Hollatz, M. & Wienberg, J. (2003). Chromosomal phylogeny and evolution of gibbons (Hylobatidae). *Human Genetics*, 113(6), 493-501.



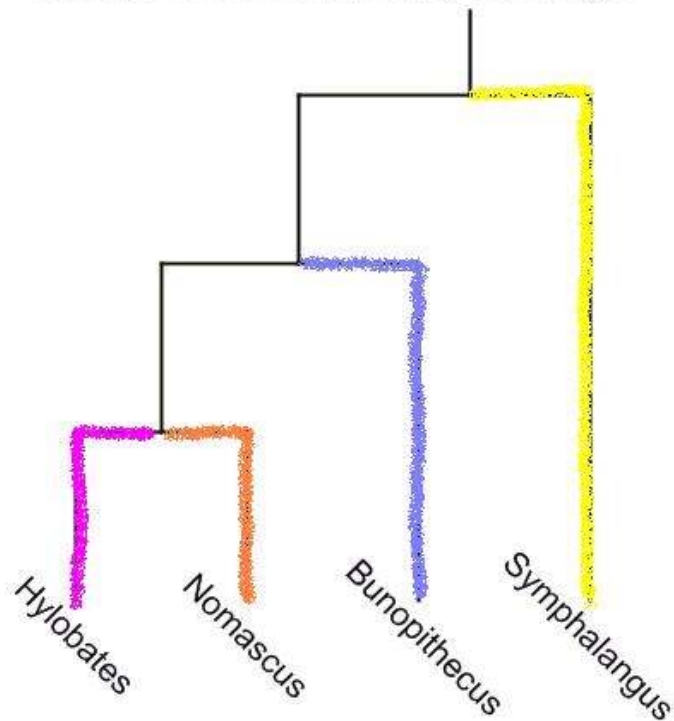


- A gibbonok kromoszómaszámuk alapján négy nembe sorolhatók:
  - *Bunopithecus hoolock*, hulok gibbonnak 38,
  - *Hylobates* gibbon nemnek 44,
  - *Symphalangus syndactylus*, sziamangnak 50
  - *Nomascus* bóbitás gibbon nemnek 52 a diploid kromoszómaszáma.
- A nagy emberszabásúak kromoszóma számai:
  - csimpánzok, gorilla, orángután: 48,
  - ember: 46

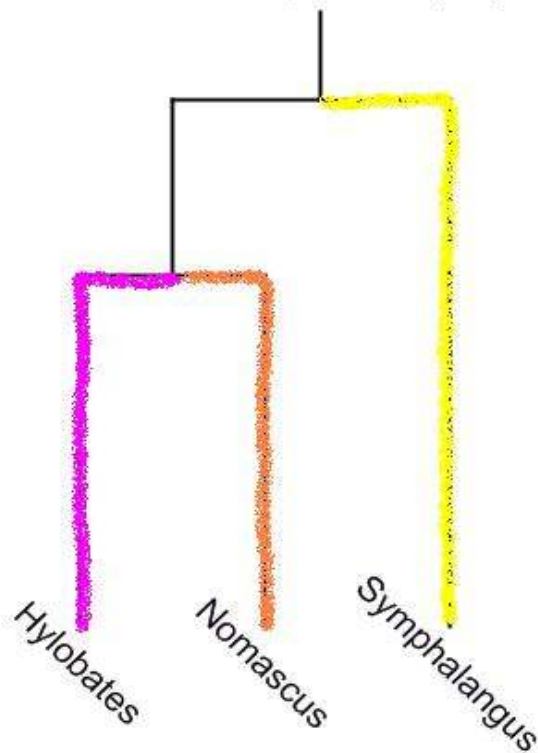


## A gibbon evolúció ellentmondásos hipotézisei publikált adatok alapján

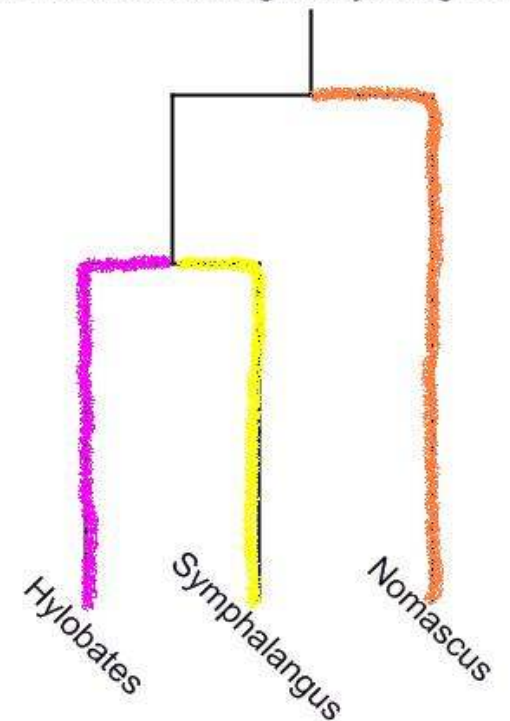
Chivers 1972. Kranimetriá, morfológia



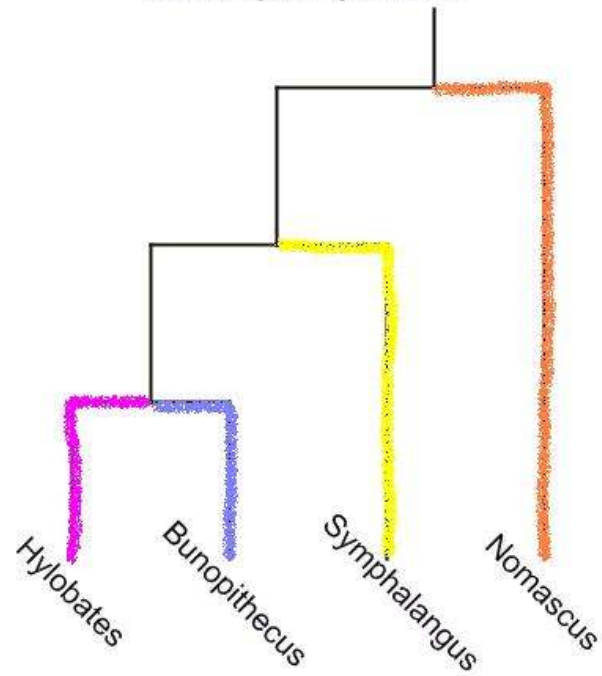
Garza 1992. Maximum parsimony Cyt b



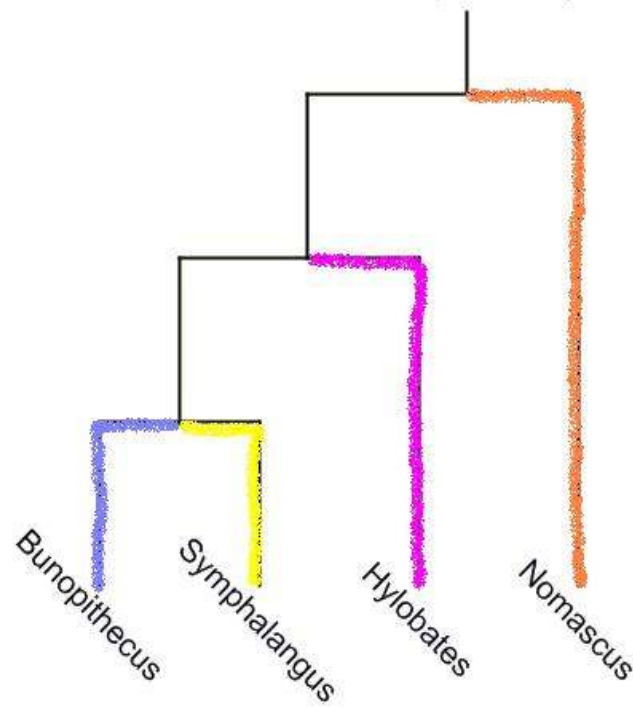
Hayashi 1995. Maximum parsimony,  
maximum likelihood, neighbor joining mitDNS



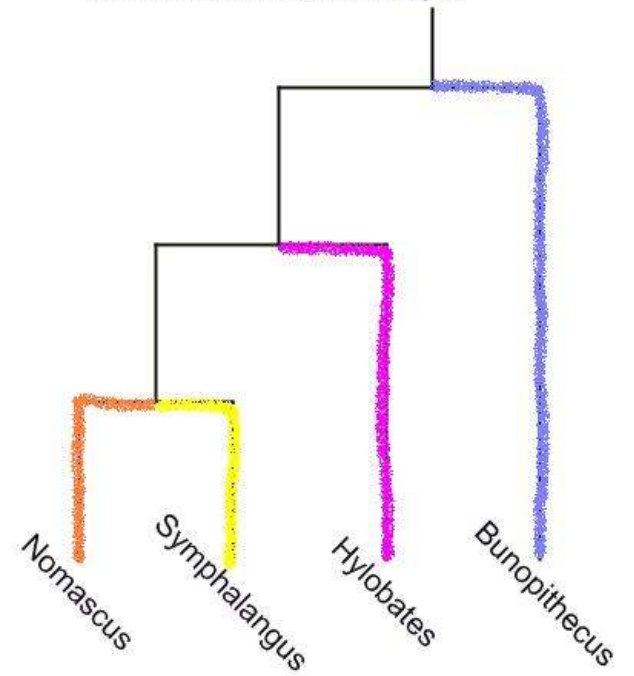
Roos & Geissmann 2001. Maximum likelihood, neighbor joining mitDNS



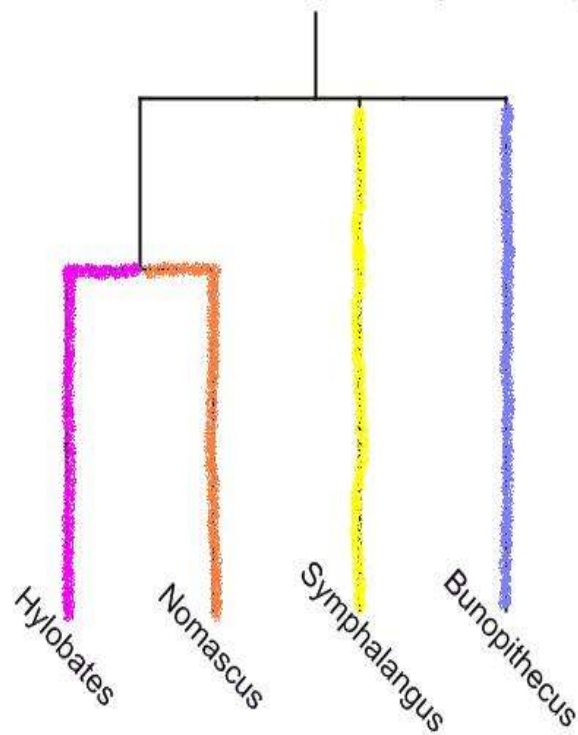
Roos & Geissmann 2001. Maximum parsimony mitDNS



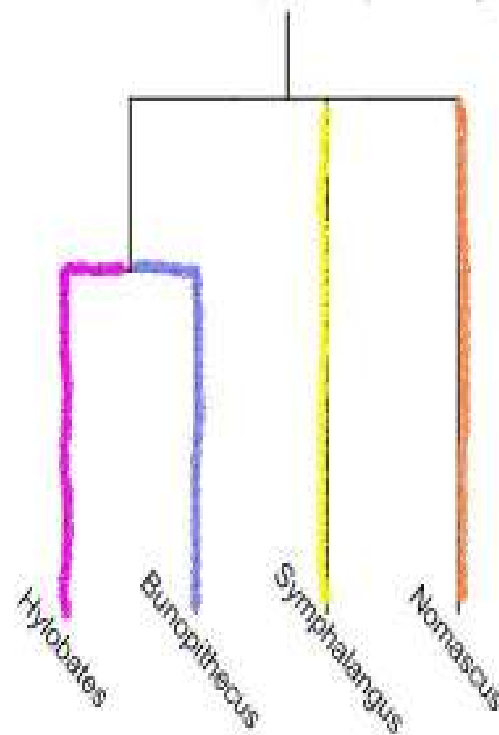
Müller 2003. Maximum parsimony kromoszóma-festés alapján



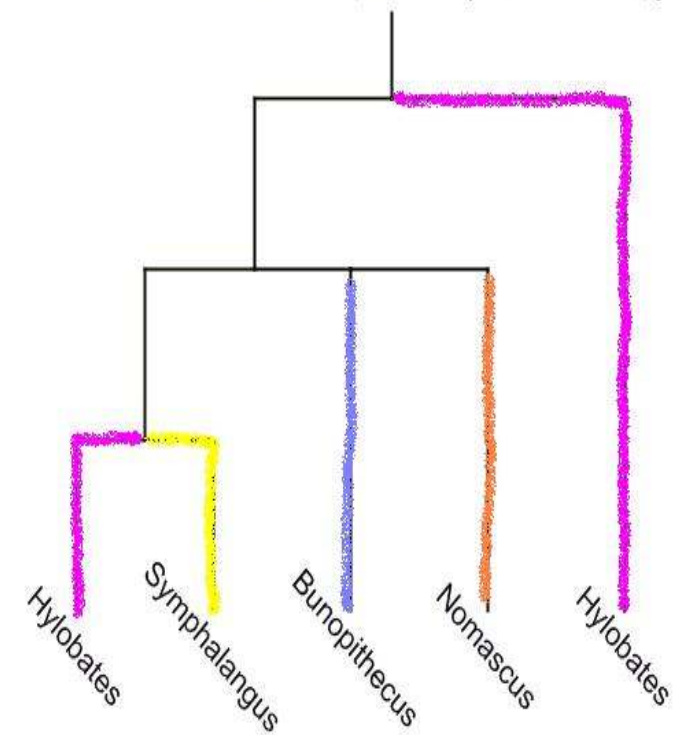
Geissmann 2001. Maximum parsimony ének alapján



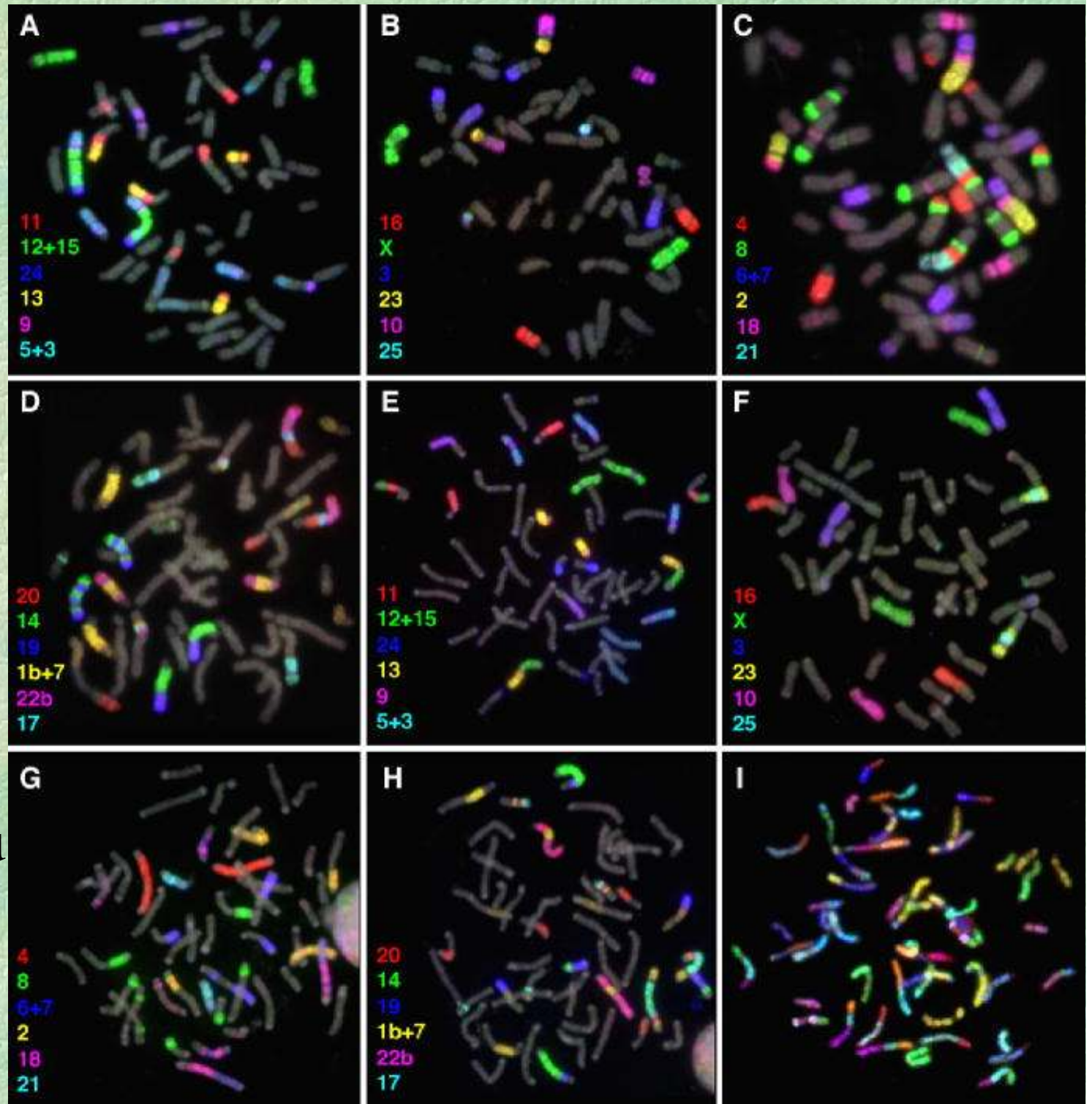
Geissmann 2001. Maximum parsimony morfológia alapján



Geissmann 2002. Maximum parsimony szőr szín alapján

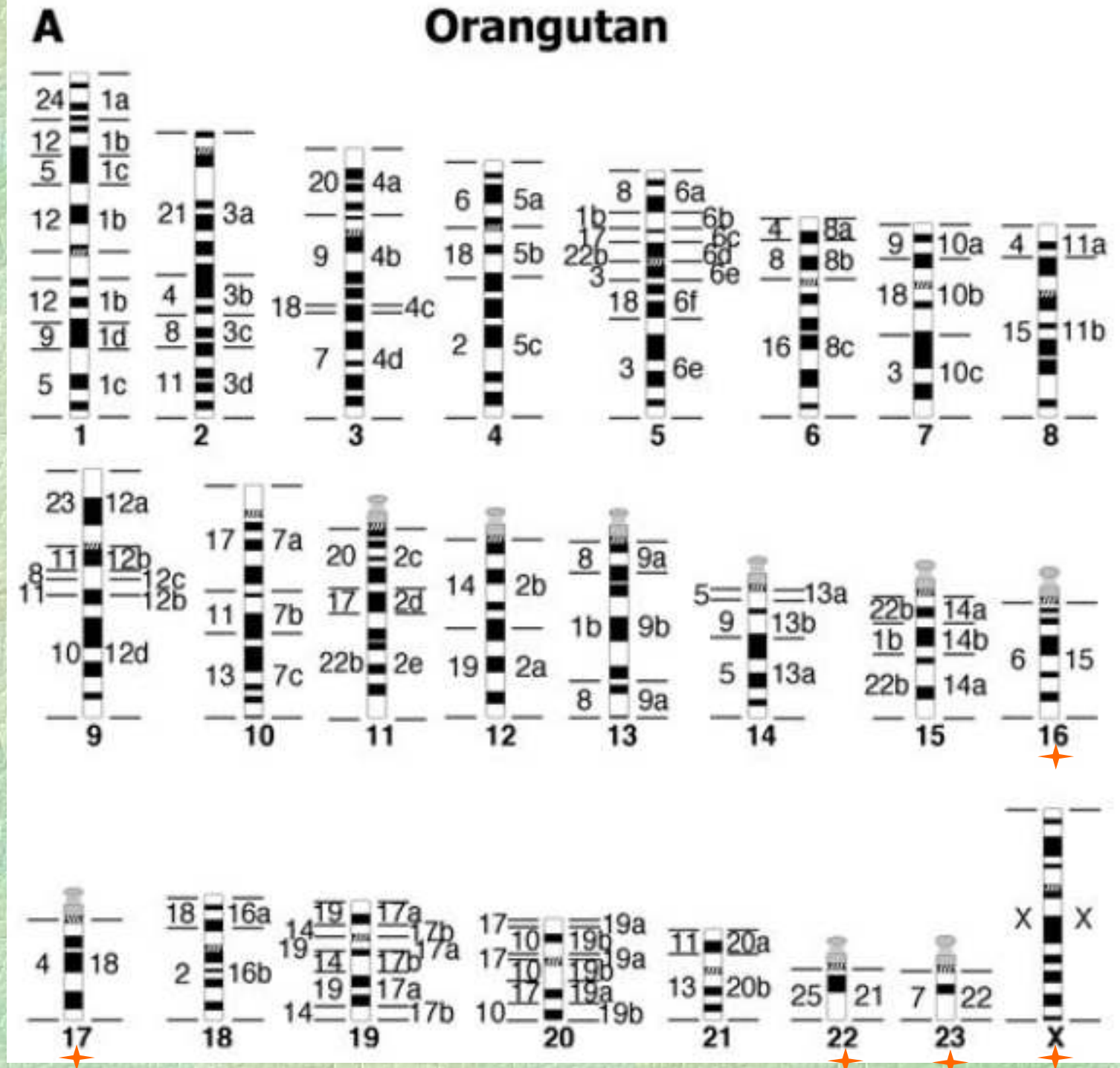


FISH 6 fehér  
barkójú bóbitás  
gibbonra  
(*Nomascus*)  
specifikus próba  
alapján A-D  
orángután, E-H  
sziamang  
metafázisra és  
viszonyításképpen  
az emberi 24 színű  
próba sziamang  
metafázison: I

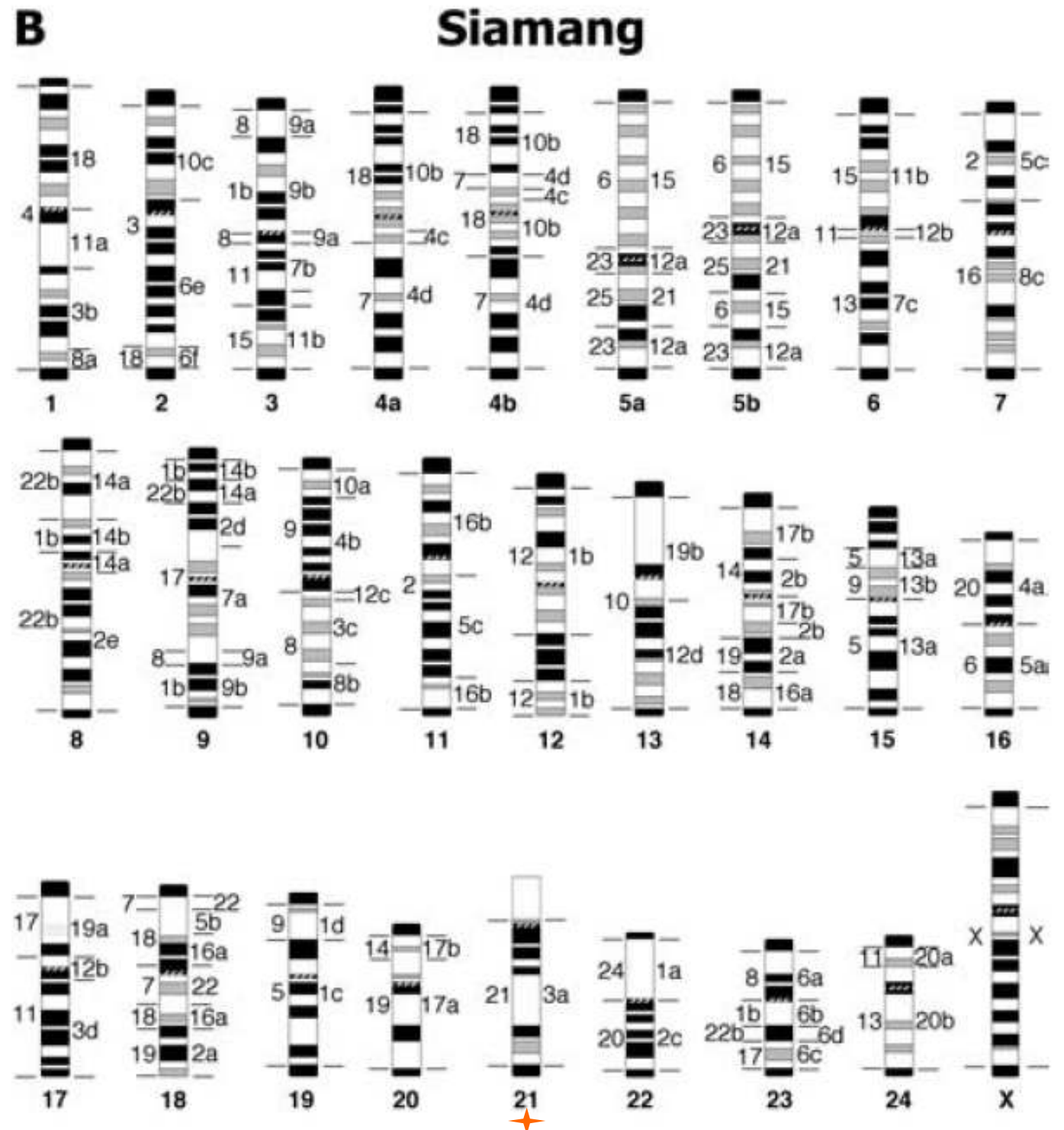


A bóbitás gibbon  
 (*Nomascus*)  
 specifikus próbák  
 76 kromoszóma-  
 szegmens  
 homológra osztják  
 az orángután  
 kariotípusát.

(G-sávozás)  
 balra: bóbitás  
 gibbon  
 jobbra: ember  
 homológ  
 kromoszóma  
 régiói



A sziamang  
 (*Symphalangus*)  
 kromoszómáit pedig  
 83 kromoszóma-  
 szegmens homológra  
 osztják a bóbitás  
 gibbon (*Nomascus*)  
 specifikus próbák.  
 (G-sávozás)  
 balra: bóbitás gibbon  
 jobbra: ember  
 homológ kromoszóma  
 régiói



# A gibbonok kromoszóma átrendeződései alapján rajzolt törzsfa

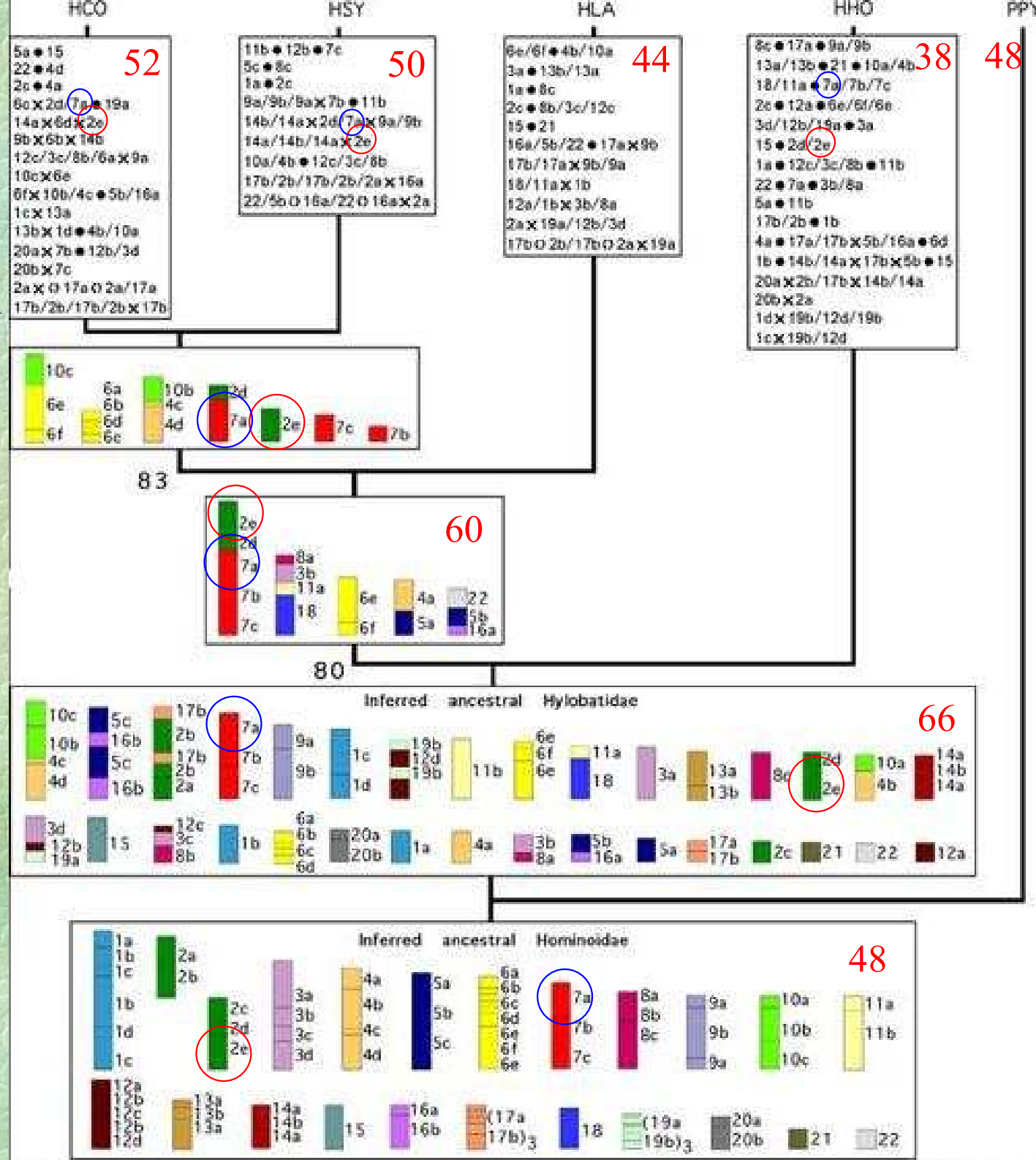
**HCO:** fehér barkójú bóbitás gibbon  
*Nomascus concolor*

**HSY:** sziamang  
*Symphalangus syndactylus*

**HLA:** fehérkezű gibbon  
*Hylobates lar*

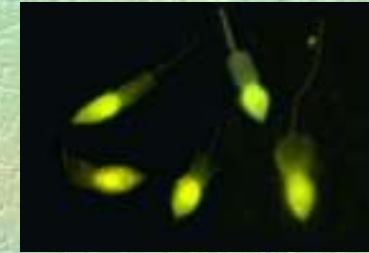
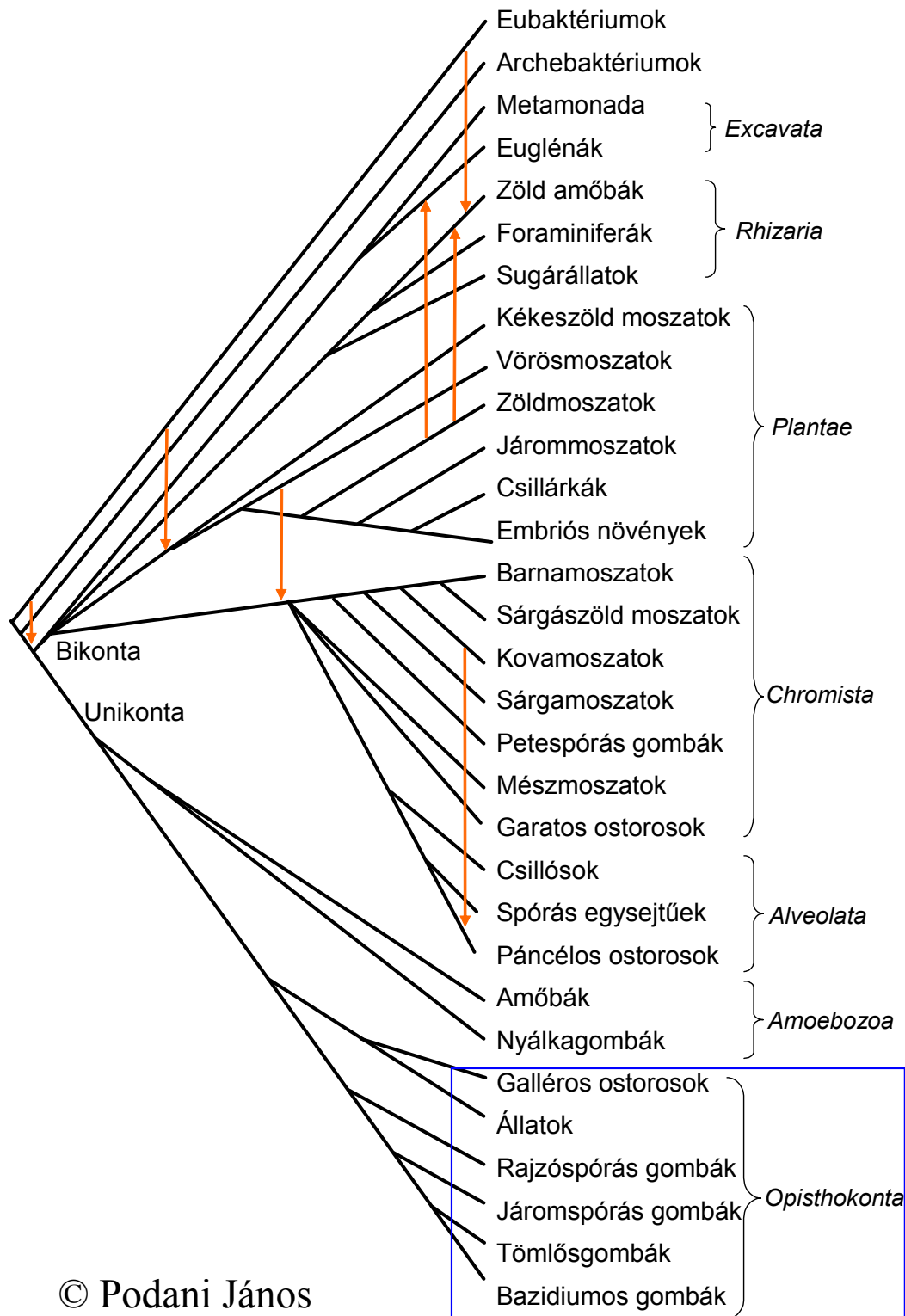
**HHO:** hulok gibbon  
*Bunopithecus hoolock*

**PPY:** orángután  
*Pongo pygmaeus*





# Az állatok (*Animalia*, *Metazoa*) törzsfája



Galléros ostorosok  
(*Choanozoa*)



Állatok (*Animalia*)



Rajzospórás gombák  
(*Chytridiomycota*)



Járomspórás gombák  
(*Zygomycota*): *Mucor sp.*

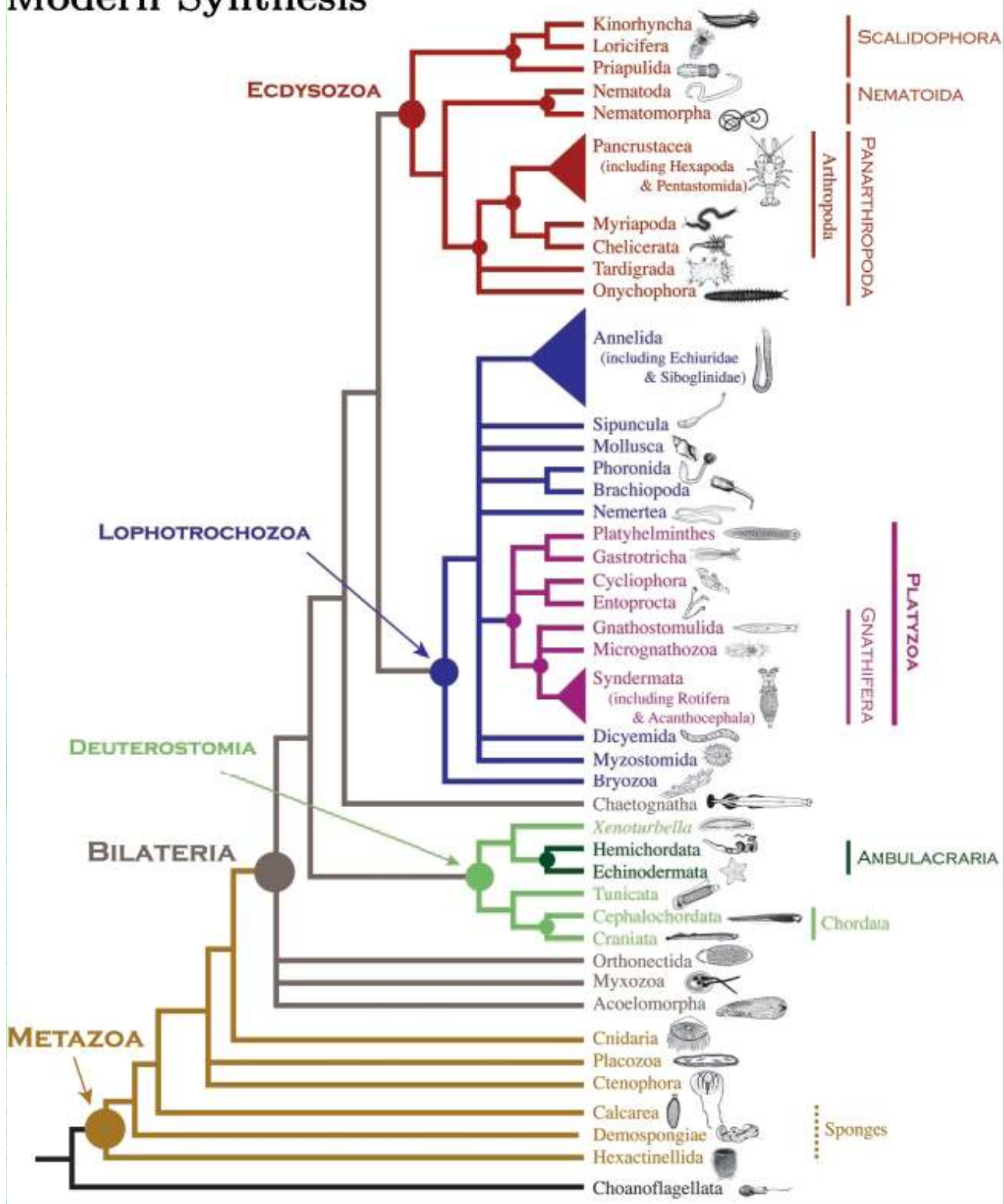


Tömlősgombák  
(*Ascomycota*):  
*Morchella esculenta*

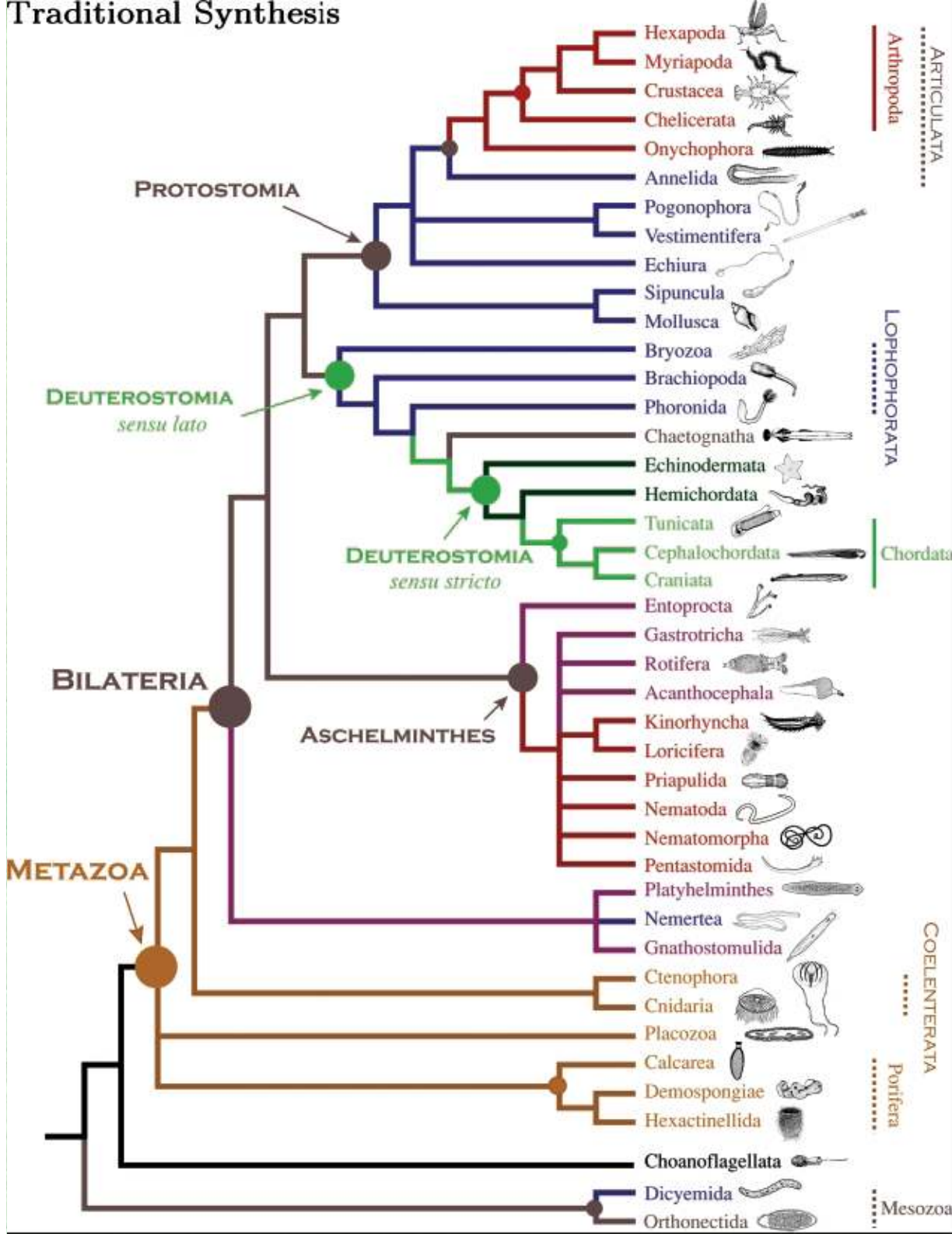


Bazidiumos gombák  
(*Basidiomycota*):  
*Amanita phalloides*

# Modern Synthesis

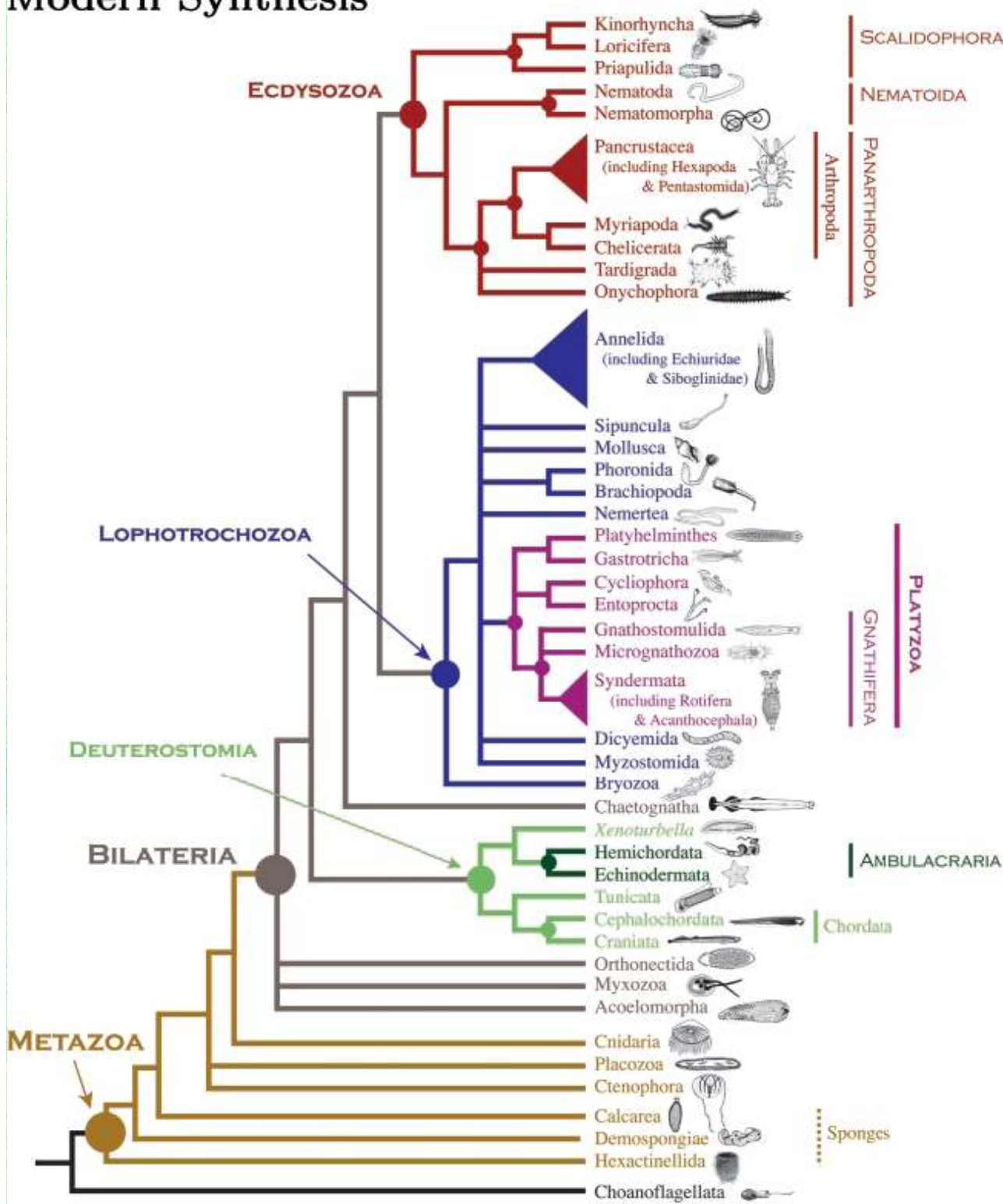


- K. M. Halanych: The new view of animal phylogeny. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2004. 35:229–56
- Elsősorban a 18S rRNS nukleáris génszekvenciáinak elemzésén alapszik, de sok egyéb adatot is bevontak:
  - riboszóma nagy alegységének nukleáris génjét
  - Hox géneket
  - a mitokondrium génsorrendjének változásait
  - konkatenált mitokondriális géneket
  - a miozin II nehézlánc génjét.



# A tradícionális megközelítés

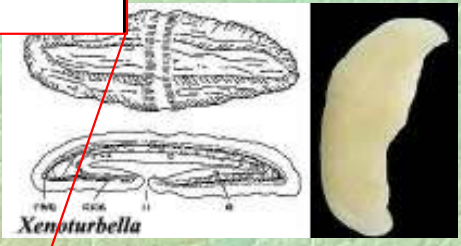
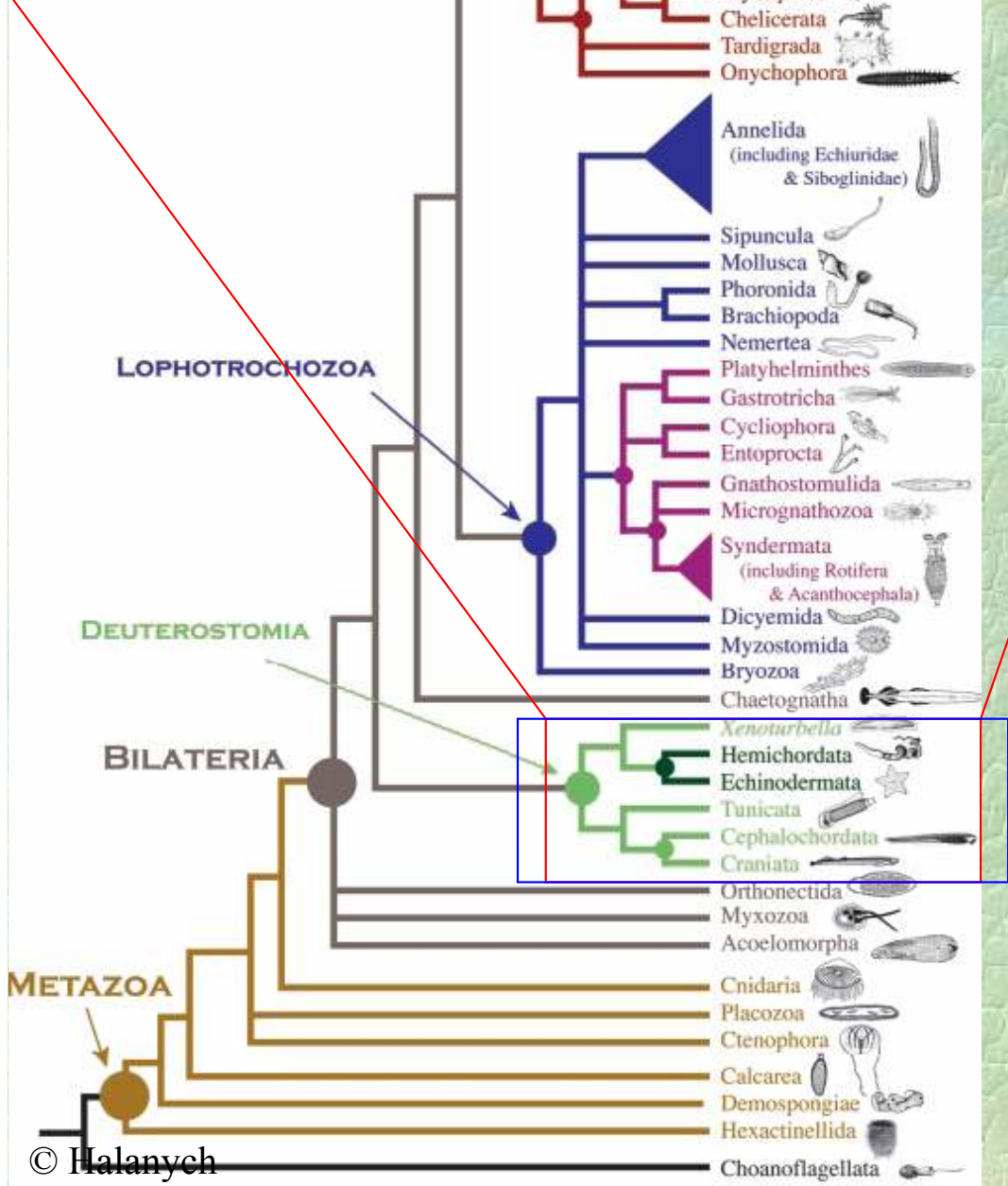
- A „Modern szintézissel” nem mindenki ért egyet, mert radikálisan más, mint az eddig használatos csoportosítások, pl.: elveti az *Acoelomata* (testüreg nélküliek) és *Articulata* (szelvényesek) szupertörzseket, és arra utal, hogy a néhány látszólag egyszerű élőlény, mint pl.: a laposférgek vagy a sejthalmazosok csak másodlagosan egyszerűsödtek le.



## Az új megközelítés

- Az *Animalia* elnevezés mellett egyre elterjedtebb a *Metazoa* megjelölés.
- A bilaterális állatok monofiletikussága és a *Bilatérián* belül található három klád:
  - az újszájúak (*Deuterostomia*),
  - a spirális bordázódásúak (*Lophotrophozoa*)
  - és a vedlő állatok (*Ecdysozoa*) elképzelést egyre több molekuláris és morfológia adat támasztja alá.
- Az állatok a galléros ostorosokkal alkotnak monofiletikus csoportot, így a *Choanoflagelláták* segítségével gyökereztetjük a *Metazoa* törzsfáját.

# Újszájúak (Deuterostomia)



*Xenoturbella*



félgerinchúrosok  
*Hemichordata*



tüskésbőrűek  
*Echinodermata*



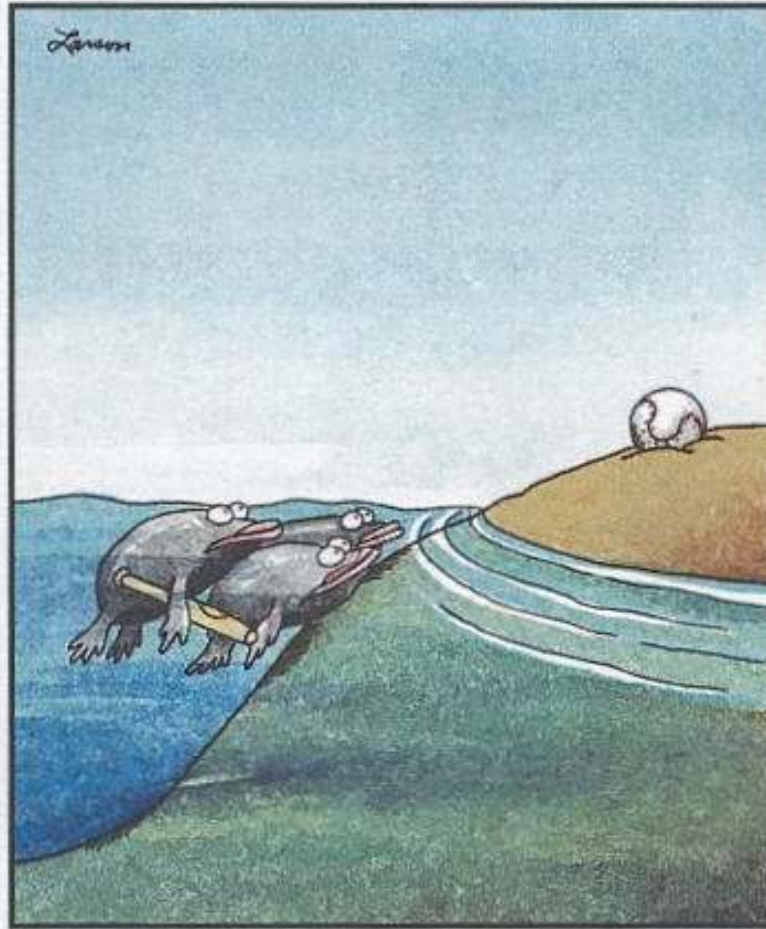
előgerinchúrosok  
*Tunicata (Urochordata)*



fejgerinchúrosok  
*Cephalochordata*

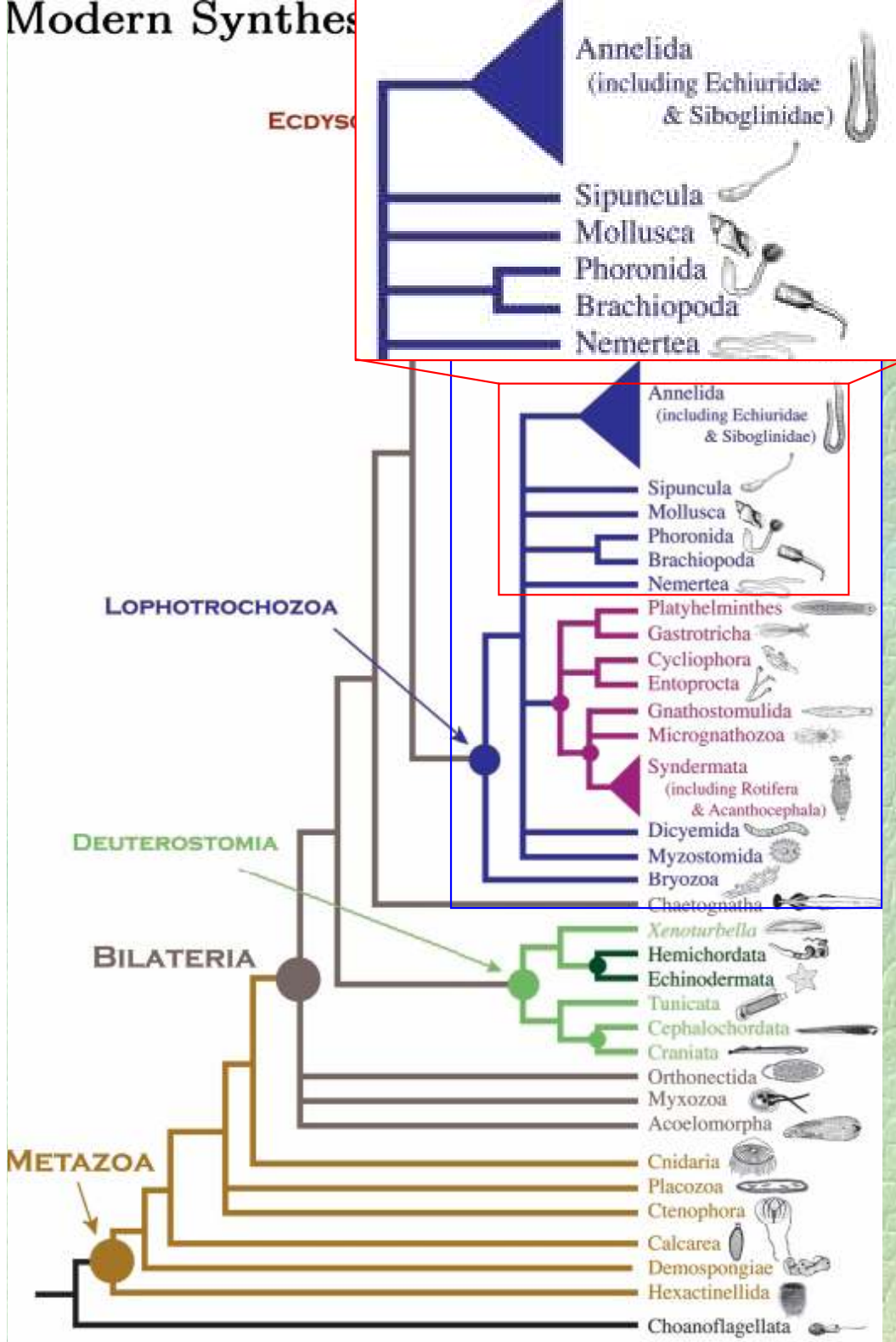


gerincesek  
*Craniata (Vertebrata)*



Great moments in evolution

# Modern Synthes



# Spirális barázdálódásúak (Lophotrochozoa) 1



gyűrűsférgék  
*Annelida*



fecskendőférgék  
*Sipuncula*



puhatestűek  
*Mollusca*



csöves tapogatószok  
*Phoronida*



ormányosférgék  
*Echiura*

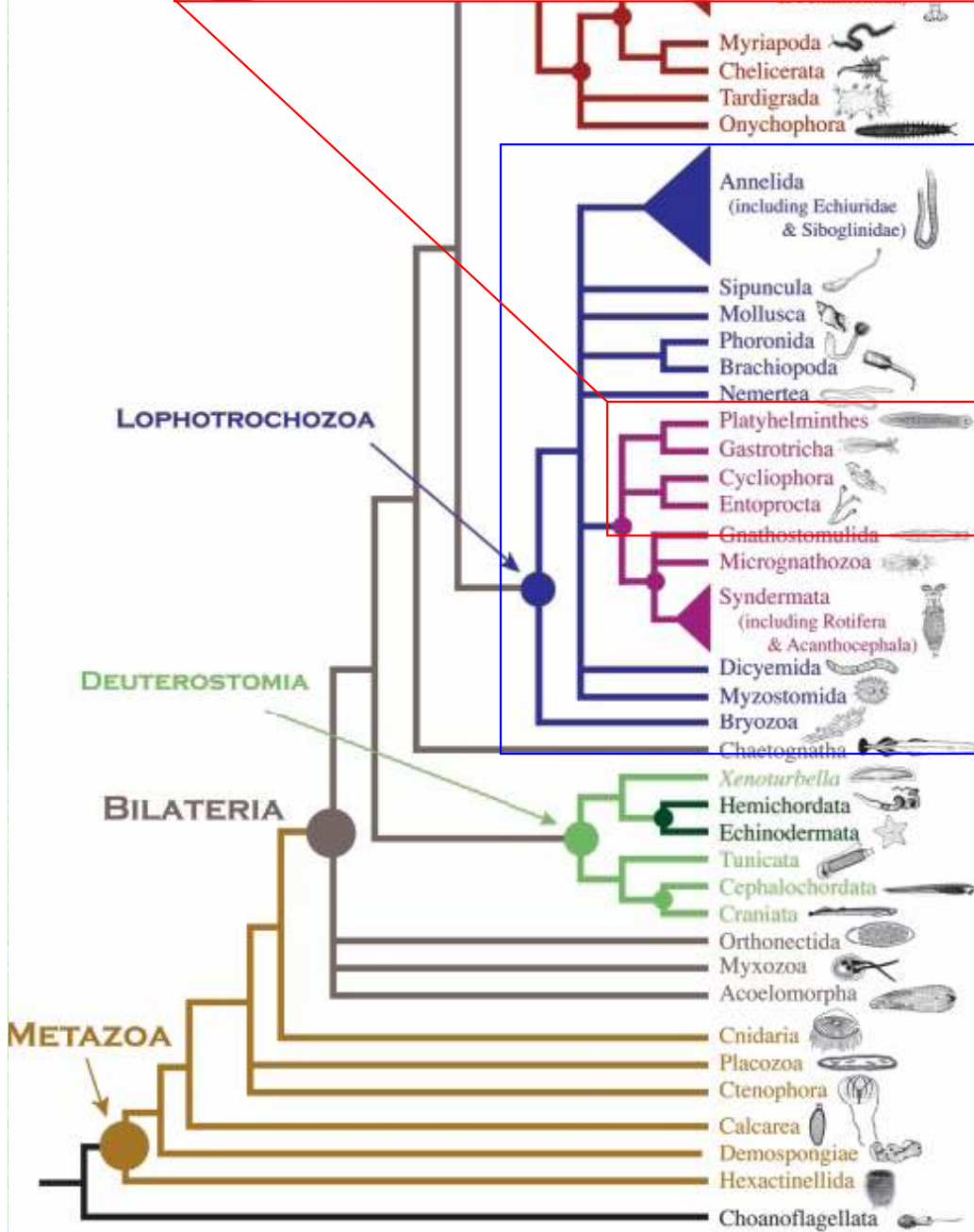


pörgekarúak  
*Brachiopoda*

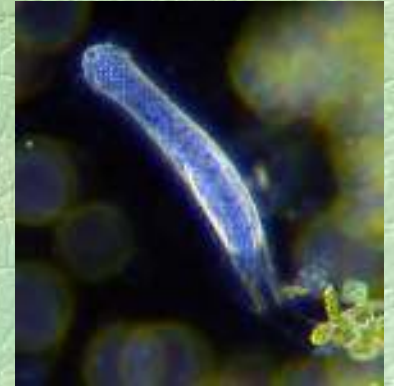
Modern



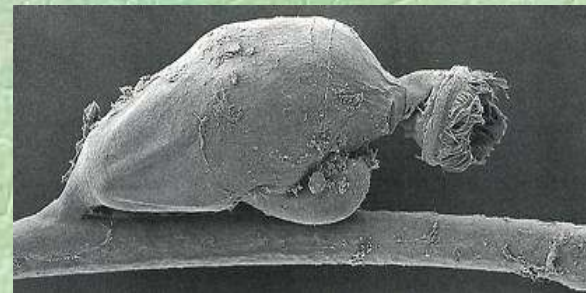
# Spirális barázdálódásúak (Lophotochozoa) 2



laposférgek  
*Platyhelminthes*



csillóshasúak  
*Gastrotricha*  
(Mesozoák)



*Cycliophora*



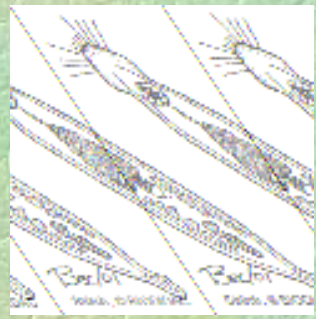
nyelesférgek  
*Entoprocta*



Modern S



# Spirális barázdálódásúak (Lophotochozoa) 3



állkapcsos férgek  
*Gnathostomulida*



*Micrognathozoa*



*Dicyemida*



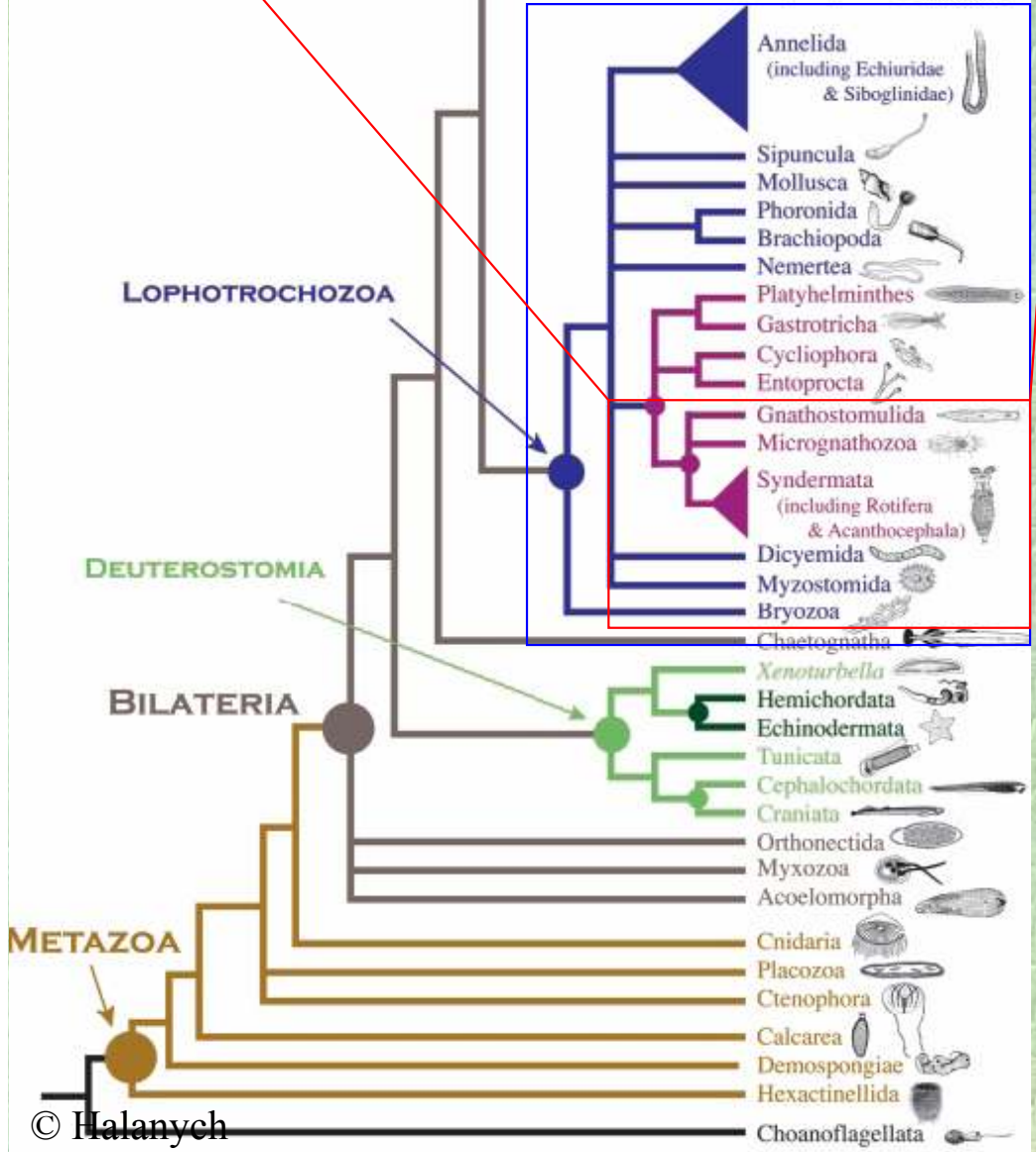
kerekes és buzogányfejű  
férges *Syndermata*



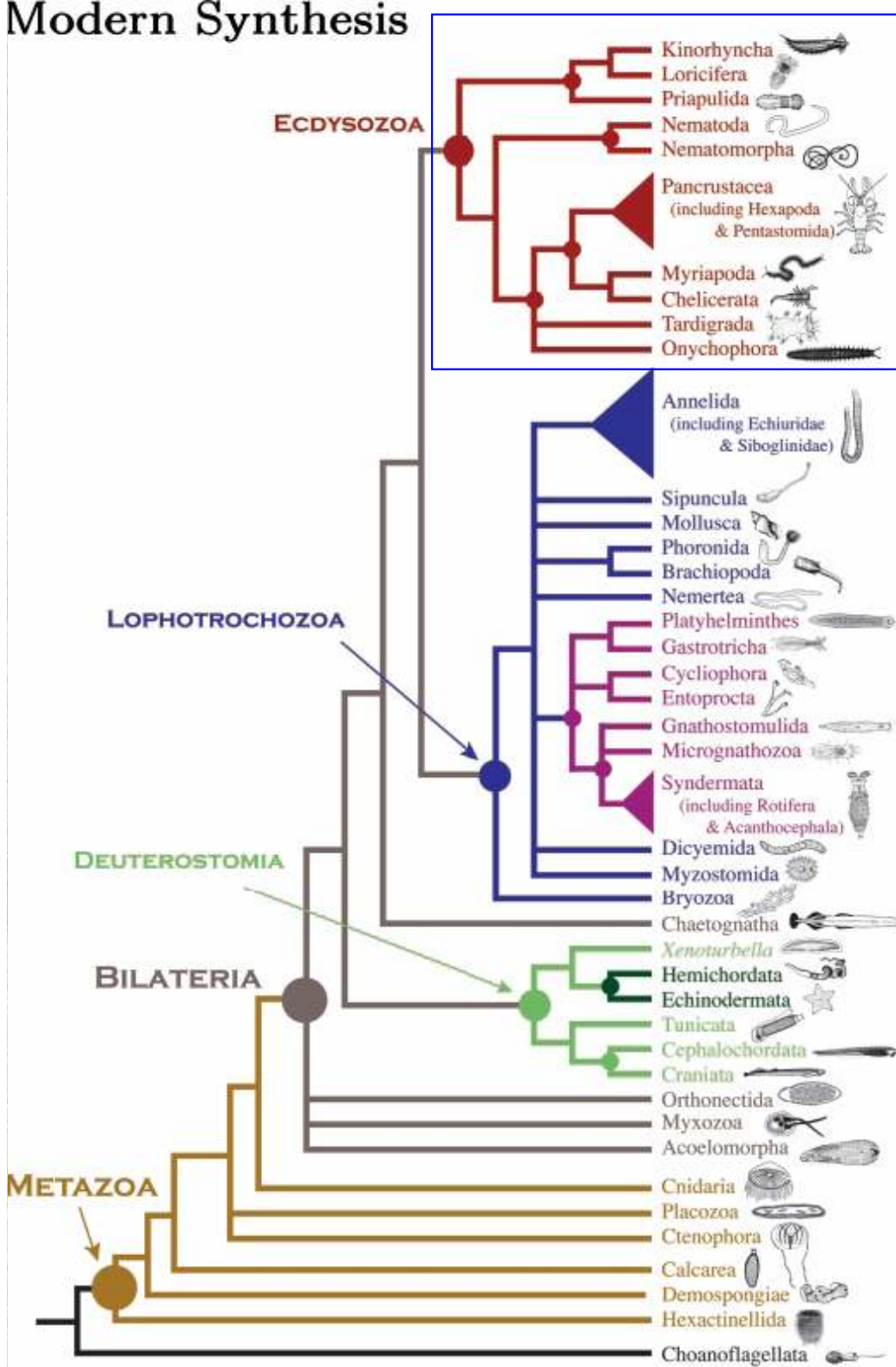
korongférges  
*Myzostomida*



mohaállatkák  
*Bryozoa*



# Modern Synthesis



## Vedlő állatok (*Ecdysozoa*)



fonálférgék *Nematoda*



húrférgék *Nematomorpha*



öslégcsövesek *Onychophora*



medveállatkák *Tardigrata*



ízeltlábúak *Arthropoda*



# Köszönöm a figyelmet!

