**UNIWERSYTET ŚLĄSKI**

**Wydział Biologii i Ochrony Środowiska**

Justyna Sosna

# Ewolucja genomu człowieka

Praca licencjacka wykonana
w Katedrze Genetyki
pod kierunkiem dr M. Gaj

**Katowice, 2005**

*Pragnę złożyć serdeczne podziękowania*
*Panu prof. dr hab. M. Małuszyńskiemu*
*za pomoc udzieloną w trakcie pisania pracy.*

*Szczególne podziękowania składam*
*Panu dr M. Gaj*
*za nieocenioną pomoc,*
*wyrozumiałość i życzliwość.*

# Spis treści


**1**. Wstęp…… 1

**2.** Ewolucja *Hominidae*……..... 3

**2.1.** Dendrogramy ewolucji *Homo*……. 3

**2.2.** Teoria "pożegnania z Afryką"……. 10

**2.3.** Teoria „pożegnania z Afryką 2"…….. 15

**2.4.** Teoria „multiregionalna"……. 16

**2.5.** Hipoteza „wulkanicznej zimy"……..... 17

**3.** . Genetyczna architektura ewolucji genomu człowieka……..…..... 20

**3.1**. Duplikacje…….…….. 21

**3.1.1**. Hipoteza „2R"……. 22

**3.1.2**. Generowanie duplikacji…….. 24

**3.1.3**. Nowa funkcja zduplikowanych genów……... 25

**3.1.4**. Ewolucyjny los zduplikowanych genów…… 25

**3.2**. Mutacje……... 26

**3.3.** Rearanżacje……. 28

**3.3.1.**Tasowanie eksonów……. 32

**3.4.** Elementy ruchome…….. 33

**3.5.** Ewolucja zespołowa…… 35

**4.** Ewolucja chromosomów płci u człowieka…… 40

**5.** Zmienność mtDNA i pochodzenie nowoczesnych ludzi…….. 47

**6**. Niekodujące bloki DNA w ewolucji……. 50

**7.** Wykorzystanie sekwencji DNA w badaniu historii ludzkości…….. 52

**8.** Teoria koalescencji…… 57

**9.** W poszukiwaniu genów człowieczeństwa…… 58

**9.1.** Hipoteza różnic w regulacji genów……. 60

**9.2.** Hipoteza „im mniej tym więcej" (the 'less-is-more')……. 61

**9.3.** Przykłady genów różniących *Homo sapiens* i *Pan troglotydes*..... 62

**10.** Zakończenie…… 64

Streszczenie……..…… 66

Summary……... 67

Załącznik 1...……. 68

Załącznik 2....……. 69

Załącznik 3...……. 70

Literatura……... 71

# **1.** Wstęp

Różnorodne dyscypliny takie jak antropologia, archeologia, demografia, lingwistyka i biologia starają się zapewnić wzajemnie uzupełniające się propozycje odpowiedzi na pytania o ewolucję rodu *Homo sapiens sapiens*. Rekonstrukcja ewolucji człowieka wymaga historycznych i statystycznych opracowań. Jeszcze do niedawna było to zadaniem mammologów i paleontologów. Tradycyjna filogeneza ssaków oparta była na analizie szkieletów wykopaliskowych i innych cechach anatomicznych skamieniałości. Jednakże w przeciągu ubiegłych kilku lat badawczym problemom ewolucyjnych powiązań w obrębie naczelnych stawiają czoło nowe dyscypliny – systematyka molekularna, sekwencjonowanie genomów i cytogenetyka porównawcza (Olson i Varki, 2003). Najnowsze kompilacje danych dziesiątek tysięcy par zasad sekwencji DNA, analizy insercji i delecji, klas elementów powtórzonych i chromosomowych asocjacji stają się precyzyjną dokumentacją historii powstania i ekspansji rodu ssaków (Murphy i inni, 2004). Nauką analizującą ewolucję genomu, bazującą na wiedzy o organizacji genomów wymarłych gatunków, zajmuje się genomika porównawcza. Ten relatywnie nowy zakres filogenetyki odkrywa przed badaczami potencjał dla analiz ewolucyjnych. Oprócz tego, że dziedzina ta stała się potężnym narzędziem dla objaśniania historii ewolucji chromosomów, jej istotą jest odkrywanie sekwencji kodujących, niekodujących elementów, ich funkcjonalnego znaczenia, przez co tworzenia genetycznych baz danych. Realne stało się rozwiązywanie dawnych kontrowersji filogenetycznych, udoskonalanie hipotez, potwierdzanie teorii ewolucji ludzi i innych kręgowców. Minione dekady postępu w genetyce molekularnej to zwiastun nowej ery badań ewolucyjnych, szczególnie badań ewolucji człowieka i jego przodków. A sfinalizowanie projektu poznania ludzkiego genomu (Załącznik 1), pozwoliło na gwałtowne przyśpieszenie rozwoju nowej gałęzi nauki – genomiki ewolucyjnej (Li i inni, 2001).

Dzięki nowym metodom można podjąć badania, dotyczące ewolucyjnej historii ludzkich genów i ich sekwencji regulatorowych. Komputerowe analizy ludzkiego genomu ustalają liczbę genów, elementów powtórzonych, rozległości duplikacji genów i kompozycyjnej heterogeniczności w ludzkim genomie a także rozmiaru procesu tasowania domen. Kluczowy jest niedostatek dowodów na sukcesywną specjację, będącą wynikiem ponad 13 milionów lat ewolucji *Hominidae*. Dane ze skamieniałości wskazują jedynie, że było wiele linii *Homo*, ale tylko jedna z nich przetrwała. Ponadto nie jest możliwe jednoznaczne określenie ważnych funkcjonalnie mutacji w sekwencji DNA sprzed milionów

lat, które doprowadziły do powstania anatomicznie nowoczesnego człowieka. Należy się zadowolić wnioskowaniem na podstawie ostatniego wspólnego przodka (LCA – last common ancestor) szympansów i ludzi w celu analizowania kumulatywnych efektów na przestrzeni ponad 5 milionów lat ewolucji linii *H. sapiens*.

Genomy naczelnych dywergowały w czasie a większość ze zmian w sekwencjach, różniących spokrewnione gatunki, jest neutralna selekcyjnie lub nie przyczynia się do powstania funkcjonalnych czy fenotypowych zmian. Wielkim wyzwaniem jest oszacowanie liczby i zidentyfikowanie genów, w których zmiany doprowadziły do ewolucji specyficznych dla ludzi cech. Co różni ludzi od małp naczelnych i wczesnych hominidów? W których hominidach i kiedy w czasie ewolucji pojawiły się cechy i zachowanie charakterystyczne dla gatunku *Homo*? Obecnie tajemnica powstania gatunku ludzkiego wykracza poza opis i genezę cech *Homo*, skupiając się na analizie genetycznych mechanizmów leżących u podstaw powstawania i ewolucji *H. sapiens sapiens*.

Celem pracy jest ukazanie genomu człowieka jako zorganizowanego systemu modułów podlegającego zmianom ewolucyjnym. Wykazanie, że systematyczne i spontaniczne zmiany ewolucyjne w architekturze genomu człowieka powstały na drodze wielu rearanżacji w genetycznych modułach, a „inżynieria ewolucyjna" pozwala wyjaśnić jak losowe i nieprzypadkowe działania w genomie, są odpowiedzią na krytyczne czynniki środowiskowe. Opisano teorie wyjaśniające podłoże różnic w genomie człowieka i jego najbliższych krewnych – szympansów oraz przedstawiono hipotezy dotyczące pochodzenia ludzi.

# **2.** Ewolucja *Hominidae*

## **2.1.** Dendrogramy ewolucji *Homo*

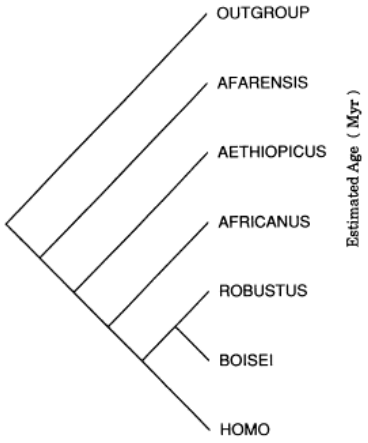
Ewolucja „nowoczesnych" cech nie była liniowym, addytywnym procesem, a poglądy na jej tempo są modyfikowane w oparciu o skamieniałości, będące dowodami, których rzetelność i prawdziwość jest nieustannie weryfikowana przez nowe znaleziska. Na podstawie tych danych próbuje się odpowiedzieć na trzy kluczowe zagadnienia ewolucji hominidów. Co różni hominidy od małp? Czym różni się współczesny człowiek od wczesnych hominidów? Jaki był ostatni wspólny przodek hominidów i szympansa? (Caroll, 2003). Powszechnie w naukach przyrodniczych do przedstawienia zależności ewolucyjnych oraz podobieństw między organizmami stosuje się dendrogramy. Przykładem przedstawionych w tym rozdziale dendrogramów są kladogramy i filogramy. Kladogramy, wykorzystują dane na temat morfologii organizmów, nie uwzględniając czasu pojawiania się nowych linii ewolucyjnych. Jednym z przykładów jest kladogram (Ryc. **2.1.**1) sporządzony na podstawie analizy siedemdziesięciu siedmiu cech dotyczących morfologii czaszki (McHenry, 1994).

*A. afarensis*- „Lucy"

*A. africanus* – "Mr Ples"

*A. robustus* –„Eurydice"

*A. boisei* – "Nutcracker man"

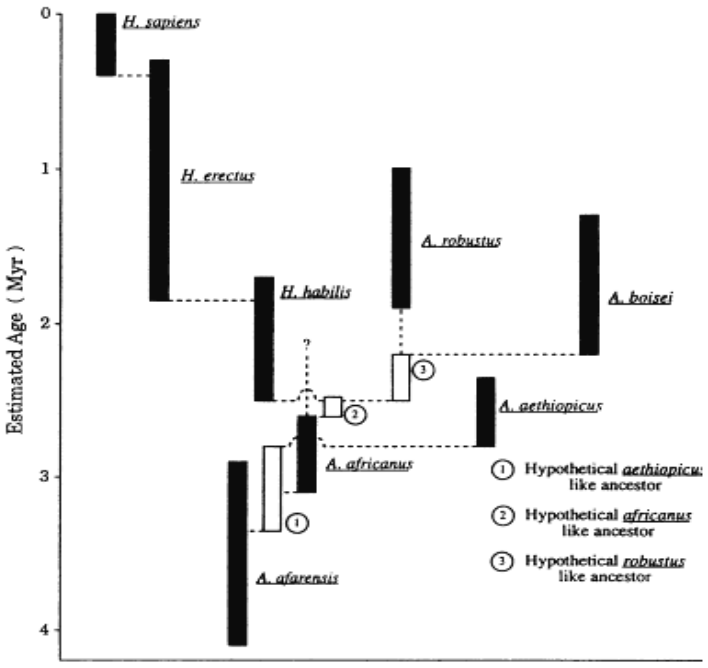



Ryc. **2.1.**1 Najbardziej uproszczony kladogram (A) przedstawiający pochodzenie rodzaju *Homo*. *A. aethiopicus* i *A. afarensis* to siostrzane grupy dla pozostałych hominidów. *A. robustus* i *A. boisei* to najbardziej zróżnicowana siostrzana grupa *Homo* (McHenry, 1994) Przykłady szczątek kopalnych *A. afarensis, A. africanus, A. robustus, A. boisei* (Foley, 2004b).

.

Filogram, czyli drzewo genealogiczne ukazuje hipotetyczne pokrewieństwo i ewolucję taksonów, a czasem również ich podobieństwo morfologiczne. W przeciwieństwie do kladogramów, długość gałęzi, a czasem również kąt pomiędzy nimi, określa tempo przemian ewolucyjnych taksonów. Często analizy filogenetyczne hominidów są tworzone w oparciu o

tempo i zmienność cech takich jak dwunożność, konfiguracja zębów i encefalizacja (Ryc. **2.1.**2).



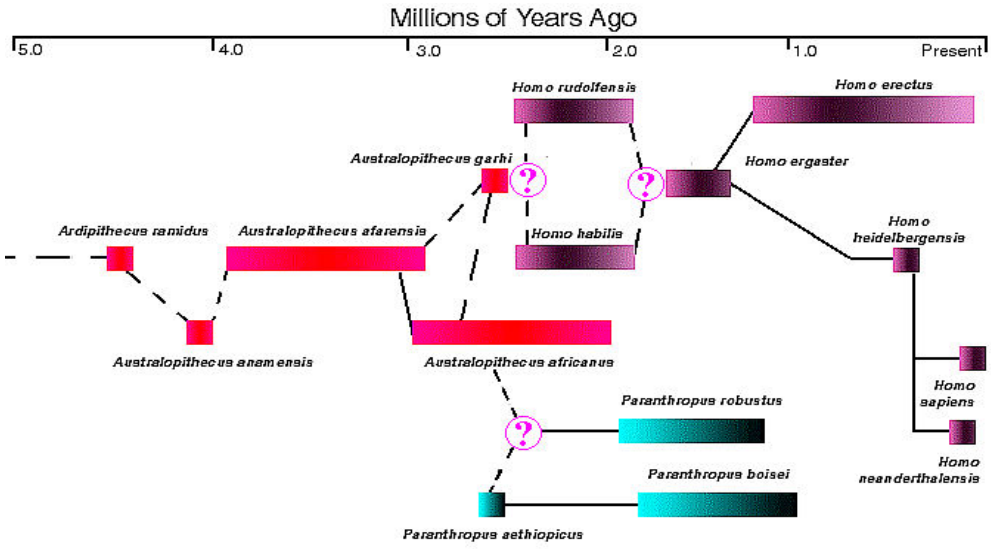

Ryc**. 2.1.**2 Jedno z najprostszych filogenetycznych drzew (B) wykonane na podstawie kladogramu (A) wskazuje, że *Australopithecus afarensis* to najbardziej prymitywny hominid, z którego wywodzi się przodek wszystkich późniejszych hominidów (McHenry, 1994).

Szybkie tempo odkryć paleontologicznych oraz rozwój geochronologii dostarczają nowych danych, pokazując, iż wzór morfologicznych zmian w linii hominidów był mozaikowy. Pojęcie hominidów odnosi się do członków rodziny *Hominidae* – obejmując wszystkie gatunki z linii ludzi począwszy od oddzielenia się od ostatniego wspólnego przodka z małpami afrykańskimi (LCA- last common ancestor). Hominidy są włączone w nadrodzinę wszystkich małp –*Hominoidea,* których członkowie są nazywani hominoidami. (Tabela **2.1.**1). Mimo iż skamieniałości hominidów nie są kompletne a dane archeologiczne są fragmentaryczne, to dostarczają one wystarczających dowodów na ewolucję w tej grupie. Wnioskowanie o pokrewieństwie człowieka z innymi małpami naczelnymi takimi jak szympans, goryl, orangutan w oparciu o anatomię porównawczą jest mylące, gdyż każdy z tych gatunków to niezależna linia ewolucyjna.

Tab. **2.1.**1 Graficzna ilustracja podziału taksonomicznego rzędu naczelnych. Czerwone znaczniki ilustrują punkty rozgałęzienia poszczególnych grup. Szympansy i goryle to taksony siostrzane (Patterson, 2002)

| Order | Suborder | Infraorder | Superfamily | Family | Subfamily | Tribe | Groups |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| PRIMATES | Prosimians [ classification within Prosimirnians is not yet well resolved ] | | | | | | Loris Lemurs Tarsiers |
| | Anthropoidea | Platyrrhini | | | | | New World Monkeys |
| | | Catarrhini | Cercopithecoidea | | | | Old World Monkeys |
| | | | Hominoidea | Hylobatidae | | | Gibbons |
| | | | | Hominidae | Ponginae | | Orang |
| | | | | | Homininae | Panini | Gorilla Chimps |
| | | | | | | Hominini | Humans |

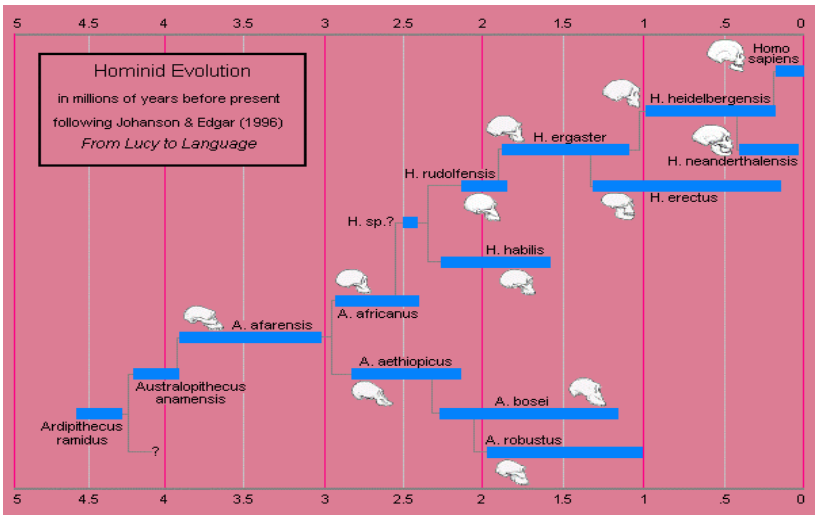
Hominidy to nazwa nadana dwunożnym naczelnym, obejmująca wszystkie wymarłe gatunki należące do rodzaju *Australopithecus* oraz *Homo*. Pojęcie homininów obejmuje jedynie gatunki z rodzaju *Homo* (Ryc. **2.1.**3) (Kennedy, 2003). Rezultatem tych zmian klasyfikacyjnych jest to, iż nowocześni ludzie i wszyscy wymarli przodkowie linii ewolucyjnej *Homo* są opisywani pod pojęciem hominini, zamiast, jak to było we wcześniejszej klasyfikacji, jako hominidzi




Ryc. **2.1.**3 Kladogram pochodzenia hominidów i homininów. (Anonymous, 2005a).

Często jednakże w ujęciu kladystycznym istnieją odstępstwa od sposobu identyfikacji pokrewieństw ewolucyjnych. Badania skamieniałości oraz genetycznych markerów ewolucji na przestrzeni ubiegłych 10 lat zaowocowały stworzeniem czytelnego kladogramu naczelnych. Od początku powstania lineuszowskiej systematyki klasycznej nauka stara się grupować wszystkie żywe organizmy w sztywne kategorie taksonomiczne. Jednakże ten

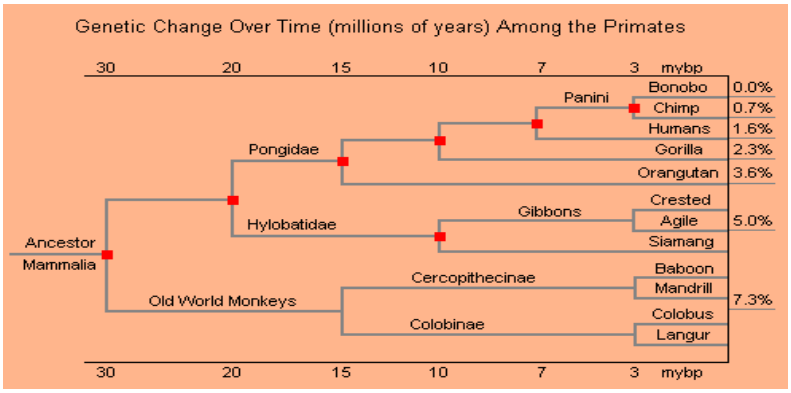
sposób klasyfikowania gatunku jest nieefektywny, gdyż nie obejmuje wszystkich podziałów jakie nowoczesna nauka jest w stanie wyróżnić. Niestety, mimo iż odkryto wiele skamieniałości hominidów nie można z całkowitą pewnością wskazać na ewolucyjne powiązanie między tymi gatunkami (Ryc**. 2.1.**4).



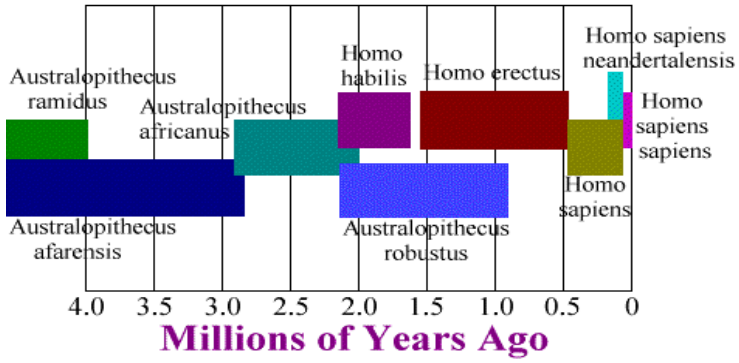

Ryc. **2.1.**4 Przypuszczalne kierunki ewolucji gatunków *Homo*. Filogram ukazuje dyskusyjne i niepotwierdzone przez innych naukowców pochodzenie *H. sapiens* i *H. neanderthalensis* z *H. heidelbergensis* (Patterson, 2002).

Wraz z odkrywaniem coraz większej ilości skamieniałości, pokrewieństwa tych samych gatunków *Homo* rozpatrywane przez różnych autorów mogą się od siebie różnić na przykład ustaleniami powiązań przodek/potomek. Przykładem takich różnic w ujęciach kladysytycznych są Ryc. **2.1.**3 i Ryc. **2.1.**4.

Ustalania pokrewieństw dokonuje się coraz częściej w oparciu o kombinację cech taksonomicznych, reprezentujących kladystyczne spojrzenie na gatunek oraz nowoczesnych metod badań molekularnych. Z tego powodu graficzne prezentacje ewolucji *Homo* różnią się od siebie pod wieloma względami. Przykładem może być Tab. **2.1.**1, w której szympansy i goryle stanowią odrębną grupę a ludzie są taksonem siostrzanym. Natomiast na Ryc. **2.1.**5 ludzie i szympansy należą do jednej gałęzi a goryle do grupy siostrzanej.



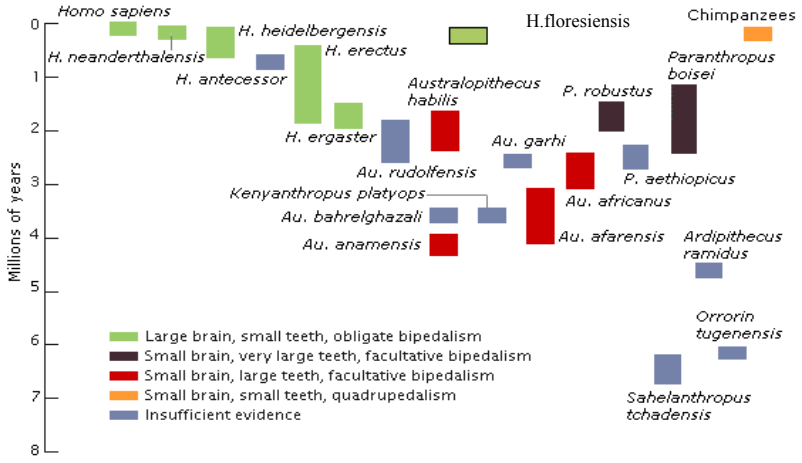

Ryc**. 2.1.**5 Kladogram ukazujący pokrewieństwa w rzędzie naczelnych. Na podstawie *The third chimpanezze* Jared Diamonda, 1992. Bardziej dokładne analizy genetyczne różnorodnych fragmentów genomu np. mtDNA, chromosomów X albo Y lub specyficznych grup genów, mogą zmienić odległości poszczególnych gałęzi, ale nie powiązania pokrewieństw (Patterson, 2002).




Ryc. **2.1.**6 Graficzna prezentacja chronologii pojawiania się poszczególnych gatunków przodków człowieka (Anonymous, 2005b).

Skonstruowane kladogramy często odzwierciedlają wątpliwości naukowców dotyczące pochodzenia gatunków lub wskazują na obszary w historii ewolucji *Homo*, o których niewiele wiadomo bądź nie ma dostatecznych danych. Kladogram na Ryc. **2.1.**6 ukazuje przerwę ewolucyjną pomiędzy *H. habilis* a *H. erectus*. Na poprzednich kladogramach te dwa gatunki zazębiają się w granicach czasowych (Ryc. **2.1.**2) lub ujmowane są jako osobne linie ewolucyjne (Ryc. **2.1.**4). W powyższym ujęciu *H. sapiens sapiens* jest potomkiem *H. sapiens* i *H. neanderthalensis,* co jest podważane przez wielu paleontologów a na pewno nie zostało potwierdzone przez badania porównawcze mtDNA (Jacobs, 2000c, Wong, 2001).

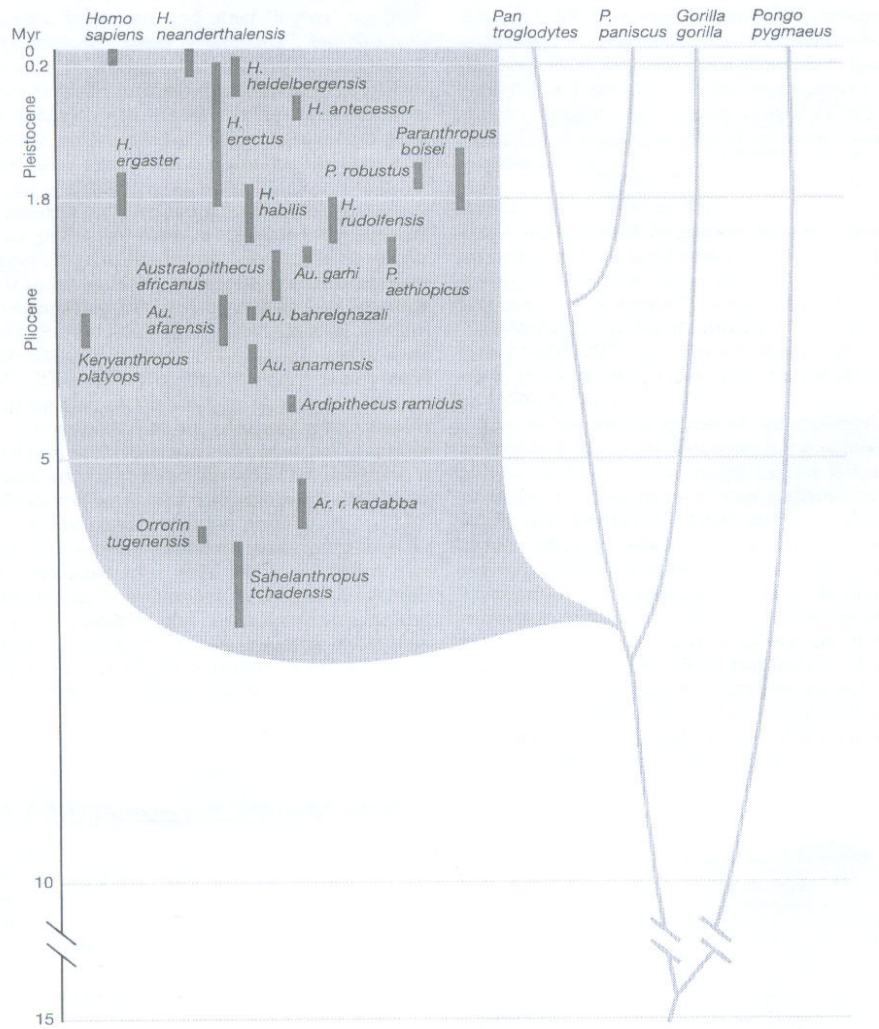
Wraz z rozwojem technik badawczych i kolejnymi odkryciami paleontologicznymi drzewo genealogiczne rodzaju *Homo* stopniowo rozrastało się, ukazując coraz bardziej skomplikowany zarys ewolucji. Ryc. **2.1.**7 ilustruje wiele najnowszych odkryć paleontologicznych, w tym najbardziej prymitywnego członka rodziny człowieka – *Sahelanthropus tchadensis* sprzed 7 milonów lat, zwanego: Toumad albo „nadzieja życia" (Wong, 2002), a także *H. floresiensis* zwanego ze względu na swą wielkość „Hobbitem".




Ryc. **2.1.**7 Diagram szacujący czasowy zasięg istnienia poszczególnych gatunków hominidów. Na diagramie zamieszczono wszystkie do tej pory opisane gatunki hominidów (Foley, 2004a, zmodyfikowane).

Filogenetyczne powiązania między ludźmi a małpami, są tworzone na podstawie technik rekombinacji genomowego DNA, analizy mtDNA, mapowania genów, sekwencjonowania genomów. Badania molekularne wspomagane są procedurami statystycznych PAUP i GEODIS. Często tworzenie drzew filogenetycznych przeprowadza się w oparciu o nie kodujące sekwencje na przykład β-globinowych zgrupowań genów (β-globin gene cluster) zawierających pseudogeny (Goodman, 1999).

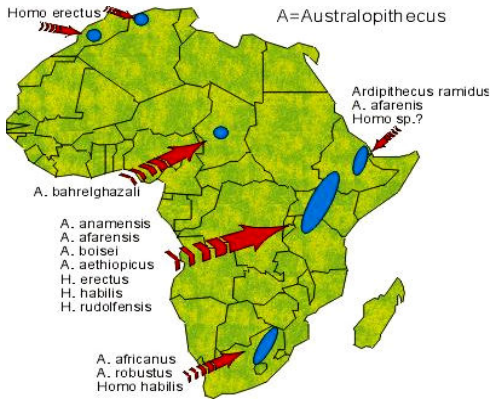
Paleontolodzy datowali powstanie linii *Homo* na podstawie szczątek kopalnych na około 25 milionów lat. Zegary molekularne porównujące tempo mutacji głównie punktowych i zmian w genomie gatunków spokrewnionych, przy założeniu że jest to stałe tempo, wskazują, że dywergencja, czyli rozejście się linii ewolucyjnych ludzi i małp miała miejsce 5 - 7 milionów lat temu (Ryc. **2.1.**8) (Caroll, 2003), a dywergencja afrykańskich małp i orangutanów 14 - 15 milionów lat temu (Ayala i Escalante, 1996, Olson i Varki, 2003).




Ryc. **2.1.**8 Drzewo filogenetyczne hominidów. Filogenetyczne powiązania w obrębie hominidów są nieznane. Nieznany jest LCA szympansów i ludzi. *S. tchadensis* jest najstarszym przodkiem, który żył krótko po rozdzieleniu się linii szympansów i ludzi. (Caroll, 2003).

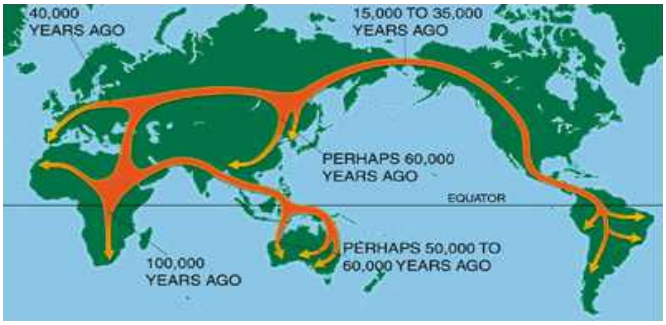
## **2.2.** Teoria “pożegnania z Afryką”

Około 100 000 lat temu można było wyróżnić morfologicznie zróżnicowane grupy homininów. W Afryce i Środkowym Wschodzie – *H. sapiens,* w Azji – *H. erectus,* w Europie – *H. neanderthalensis.* Jednakże 30 000 lat temu taksonomiczna różnorodność zanika, pozostaje tylko jeden gatunek *H. sapiens sapiens.* Istnieje kilka hipotez wyjaśniających pochodzenie ludzi. Jedna z nich opracowana w 1976 roku przez amerykańskiego antropologa Wiliama Howellsa zwana ‘Garden of Eden’ albo ‘Noah’s Ark’ opiera się na założeniu, że populacje nowoczesnych anatomicznie ludzi – *H. sapiens,* powstały w jednym miejscu (Stringer, 2005). Początkowo Howells nie sprecyzował tego miejsca, lecz późniejsze znaleziska archeologiczne oraz badanie mitochondrialnego DNA współczesnych ludzi przeprowadzone w 1988 roku przez Thomasa D. Kochera wskazują jednoznacznie na Afrykę jako kolebkę ludzkości (Jacobs, 2000b) (Ryc. **2.2.**1).



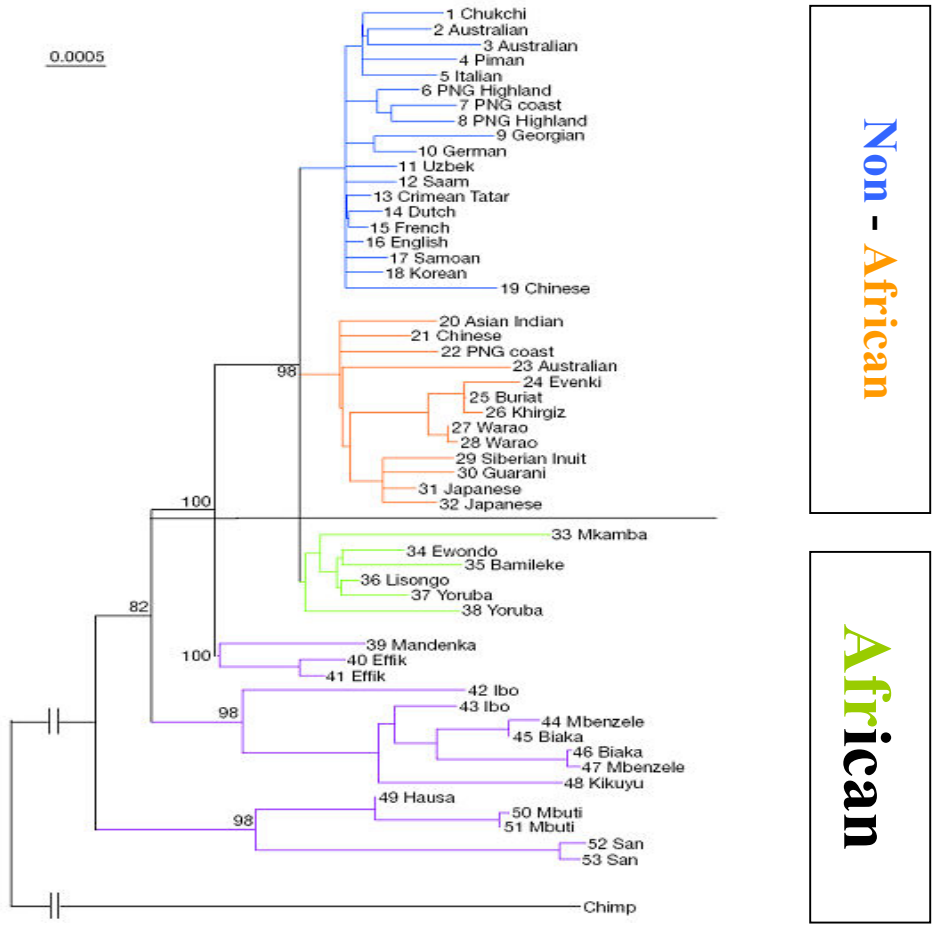

Ryc**. 2.2.**1 Miejsca znalezienia kopalnych szczątek naczelnych (Wilson i Cann, 1992).

Hipoteza ‘out of Africa’ zakłada, że człowiek współczesny nie był jedynym gatunkiem, który skolonizował Azję i Australię. Znacznie wcześniej bo 1,7 miliona lat temu Afrykę opuścił *H. erectus.* (Ayala i Escalante, 1996, Cavalli-Sforza i Feldman, 2003). (Ryc. **2.2.**2). *H. sapiens* na „podbój” świata wyruszył 100 000 lat temu, kolonizując wszystkie kontynenty wciągu 80 000 lat.




Ryc. **2.2**.2 Migracje *H. sapiens* zgodnie z teorią 'out of Africa'(Wong, 2003). Populacja *H. sapiens* zaczęła zwiększać liczebność około 50 000–40 000 tal temu. Przemieszczenia *H. sapiens* w kierunku północy są powiązane z końcem okresu zlodowacenia około 75 000 lat temu (O'Neil, 2005). Wyróżnia się dwie rundy migracji: południową, gdy osiągnął Oceanię 40 000–60 000 lat temu oraz północną przez Środkowy Wschód, Arabię, Persję do centralnej Azji, w kierunku Chin i Japonii. Około 35 000–30 000 lat temu duże populacje myśliwsko–zbierackie przemieściły się w kierunku północno wschodniej Syberii. Możliwe, że 30 000, a na pewno nie później niż 15 000 lat temu migrowali do Ameryki Północnej przez cieśninę Beringa (Cavalli-Sforza i Feldman, 2003).

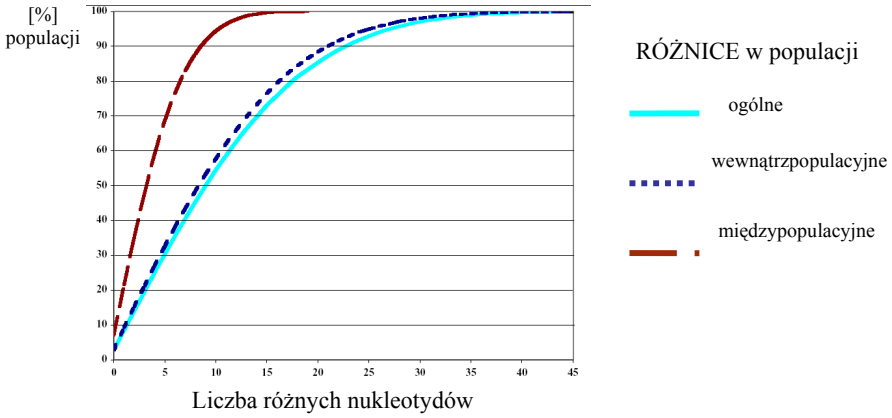
Koncepcja „pożegnania z Afryką" zakłada, że dzisiejsze populacje ludzi to efekt specjacji w pojedynczej populacji, która z czasem zastąpiła lub wyparła wszystkie inne istniejące w tym czasie populacje. Konsekwencją tego zdarzenia jest niski stopień różnorodności genetycznej wśród ludzi. Powstawanie regionalnej („rasowej") zmienności było procesem ciągłym, który miał miejsce po rozproszeniu populacji, stąd brak ciągłości pomiędzy cechami *H. sapiens* a *H. erectus* (Stringer, 2005). Za poparciem tej hipotezy przemawiają dowody dostarczone z badań molekularnych nad mtDNA. Szacowania na podstawie zmienności w mtDNA człowieka wskazują, że współczesny *H. sapiens sapiens* jest potomkiem niewielkiej populacji liczącej zaledwie 10 000 osobników.




Ryc.**2.2.**3 Filogram ilustrujący pokrewieństwa, bazujący na sekwencjach całego mtDNA (Ingman i inni, 2000).

Na podstawie badań mtDNA zidentyfikowano cztery główne grupy ludzi: trzy z nich składają się z populacji pochodzenia afrykańskiego, o największej zmienności genetycznej potwierdzających teorię afrykańskiego pochodzenia ludzi (Ryc. **2.2.**3). Czwarta grupa, składająca się z trzech podgrup, jednej afrykańskiej i dwóch zawierających populacje euroazjatyckie, australijskie i amerykańskie. Pochodzenie tej zróżnicowanej grupy jest zgodne z hipotezą ‘out of Africa’, zakładającej, że Australijczycy, Azjaci, Europejczycy oraz ludzie Nowego Świata mają wspólny afrykański rodowód. Dokładne analizy tych grup mogą dostarczyć wiadomości na temat historycznych migracji ludności. Na przykład zmienność mtDNA wśród afrykańskich i nie-afrykańskich populacji wskazuje na odrębną historię tych dwóch grup. Występowała nierówna dystrybucja populacji afrykańskiej o stałym rozmiarze oraz ekspansja populacji nie-afrykańskiej (Ingman i inni, 2000). Ponadto u Afrykanów stwierdzono najwyższy poziom różnorodności mtDNA, co dowodzi, że człowiek nowoczesny „zamieszkuje” Afrykę najdłużej ze wszystkich kontynentów, co tym samym potwierdza afrykański rodowód współcześnie żyjących ludzi (Wong, 2003).

Analizy DNA potwierdzają, że genetyczne różnice miedzy populacjami są mniejsze niż różnice wewnątrz danej populacji. 85% wszystkich zanalizowanych zmian w 14 populacjach, reprezentujących ludność wszystkich kontynentów to zmiany wewnątrzpopulacyjne, tylko 5-7% to różnice międzypopulacyjne (Cavalli-Sforza i Feldman 2003), stąd też nie ma wystarczających genetycznych podstaw do podziału ludzi na tzw. „rasy" (Ryc.**2.2.**4). Stosunkowo niedawne w skali ewolucji powstanie gatunku *H. sapiens sapiens* z małej założycielskiej grupy, poddanej działaniu dryfu genetycznego i efektowi wąskiego gardła, jest powodem tak dużej genetycznej homogeniczności (Olson, 2001).



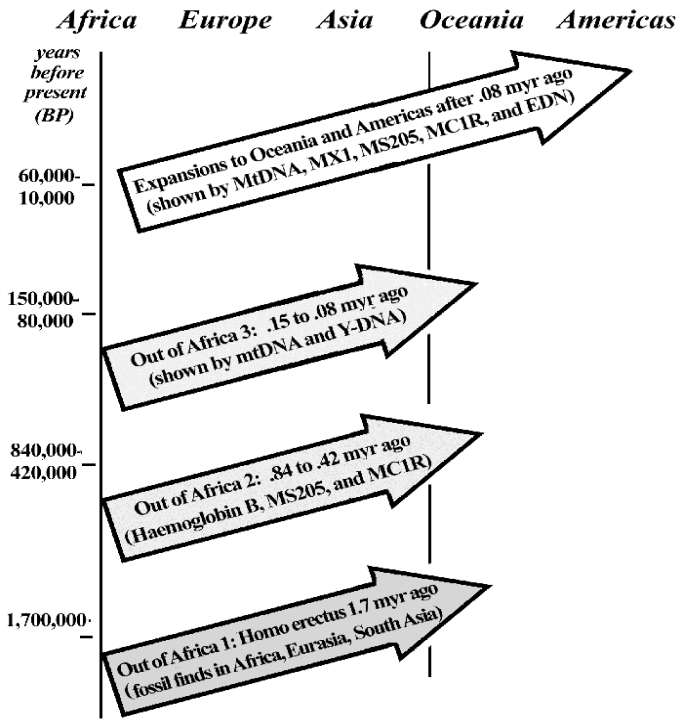

Ryc. **2.2.**4 Zróżnicowanie ogólne, wewnątrz- i międzypopulacyjne zobrazowane za pomocą ilości różniących nukleotydów. Ilość nukleotydów różniących genomy osobników z różnych populacji jest mniejsza niż ilością nukleotydów różniących genomy osobników pochodzących z jednej populacji (Carey, 2000).

Model 'out of Africa' jest podważany kilkoma stwierdzeniami:

- Po migracji *H. erectus* z Afryki różne populacje ewoluowały niezależnie, czasem, na przykładzie Neandertalczyków, w osobne gatunki.
- *H. sapiens* wyparł inne populacje ludzkie podczas migracji, z pominięciem procesu krzyżowania miedzy populacjami.
- Zróżnicowanie nowoczesnych anatomicznie ludzi to relatywnie niedawny fenomen (Johanson, 2001**).**
- Hipoteza 'out of Africa nie wyklucza teorii multiregionalnej, która też zakłada, że przodek ludzi żył w Afryce (Wong, 2003).

Po zanalizowaniu danych z dziesięciu różnych haplotypów mtDNA, chromosomu Y a także haplotypów chromosomu X oraz regionów autosomalnych DNA Alan Templeton opublikował teorię głoszącą, ze po początkowym rozprzestrzenieniu się *H. erectus* 1,7 milionów lat temu były jeszcze co najmniej dwie główne migracje (Ryc. **2.2.**4). Za tą teorią przemawiają szczątki kopalne np. Lake Mungo 3, datowane na 60 000 lat, czyli dwukrotnie starsze niż inne wykopaliska australijskie (Wong, 2003). Templeton wykluczył

także model wypierania populacji, wskazując na możliwość powszechnego krzyżowania się między populacjami.

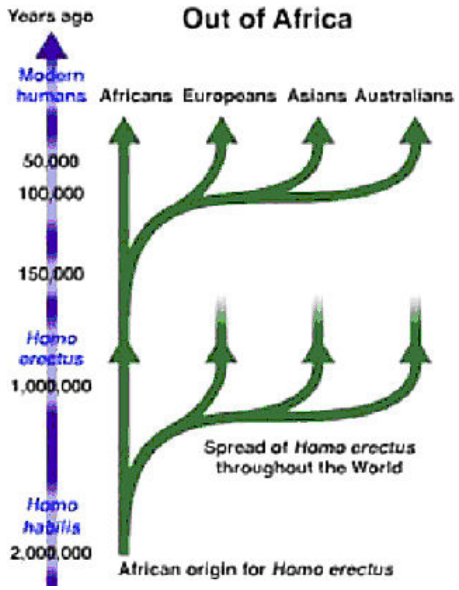



Ryc**. 2.2.**4 Trzy zdarzenia 'out of Africa' według modelu A. Templetona. Jeden z głównych okresów migracji miał miejsce 840 000–4200 000 lat temu, gdy *H. erectus* ewoluował w archaiczny *H. sapiens.* Analizy uzyskane za pomocą statystycznych procedur modelowania drzew filogenetycznych dowodzą, że ekspansja ta była związana z krzyżowaniem wewnątrz populacji a nie modelem wypierania poprzednich populacji (Athena Publications, 2003 za Templeton, A.R., 2002, "Out of Africa again and again."). Akceptacja tego modelu stworzy możliwości sporządzenia trejażu nowego modelu – multiregionalnej ciągłości i krzyżowania się, zmuszając jednocześnie do zrewidowania wcześniejszych interpretacji badań np. dotyczących integracji *H. erectus* i *H. neanderthalensis*, prowadzącej w prostej linii do powstania współczesnych ludzi (Athena Publications, 2003).

W 2001 roku porównano mtDNA z kości najstarszych australijskich szczątków kopalnych z dziewięcioma innymi australijskimi skamieniałości oraz dwoma przedstawicielami gatunku *H. neanderthalensis* z mtDNA współcześnie żyjących ludzi. Analizy dowiodły istnienia odrębnej australijskiej linii *H. sapiens*, na długo przed przybyciem afrykańskiej fali populacji migracyjnych. Wyniki tych badań podważają teorię 'out of Africa' (O'Neil, 2005 za New Scientist January 2001).

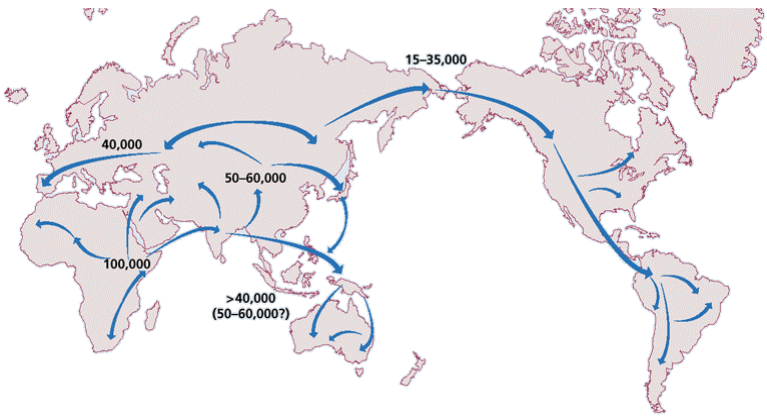
## **2.3.** Teoria „pożegnania z Afryką 2”

Teoria ‘out of Africa 2’ zwana jest też modelem wypierania populacji przodków przez bardziej zaawansowanych ewolucyjnie potomków (the replacement model) lub teorią niedawnego pochodzenia ludzi z Afryki (the recent African genesis of humans) (Jacobs, 2000b) została zaproponowana przez Christophera Stringera i Petera Andrewsa (O'Neil, 2005).




Ryc. **2.3.**1 Ilustracja teorii „pożegnania z Afryką.”(Science Museum, 2005).

Około 100 000 lat temu mało liczna populacja nowoczesnych anatomicznie ludzi, szacunkowo 1 000 osobników najprawdopodobniej ze wschodniej Afryki rozprzestrzeniła się na cały kontynent afrykański. Około 40-60 000 lat temu nastąpiła druga fala migracji do Azji, skąd nastąpiła ekspansja na pozostałe kontynenty (Ryc. **2.3.**1).




Ryc. **2.3**.2 Migaracja nowoczesnych *H. sapiens* (Cavalli-Sforza i Feldman, 2003).

Według tej teorii drugiej rundzie migracji anatomicznie nowoczesnych ludzi – *H. sapiens sapiens* afrykańskiej linii, miało towarzyszyć wyparcie rdzennych populacji *H. erectus* czy archaicznych *H. sapiens* populacji wschodnioazjatyckich i neandertalskich, bez udziału procesu wymiany genów między populacjami, wszystkie linie nie-afrykańskie wymarły (Ayal i Escalante, 1996). Analizy molekularne genów □-globin, których powstanie datowane jest na 200 000 lat temu, wskazują na szerszą dystrybucję tych genów wśród populacji azjatyckich niż afrykańskich. Tym samym badania te podważają teorię, że mniej niż 50 000 lat temu afrykańskie populacje *H. sapiens* wyparły wschodnioazjatyckie populacje archaicznych form *H. sapiens* (O'Neil, 2005). Niektóre wersje hipotezy wypierania populacji przodków przez bardziej zaawansowanych ewolucyjnie potomków biorą pod uwagę przepływ genów. Nawet dla najbardziej zagorzałych zwolenników teorii - Wilsona i Cann sposób wyparcia archaicznych populacji *Homo* pozostaje zagadką. Brany bywa pod uwagę także uwagę czynnik infekcyjny, który jak np. dżuma zdziesiątkował ¾ populacji Europejczyków w ciągu kilku lat (Jacobs, 2000b).

Badania mtDNA przeprowadzone w 2002 roku wskazują, że przez co najmniej 600 000 lat występowało krzyżowanie się populacji ludzi, żyjących w Azji, Europie i Afryce. Wyniki tych analiz potwierdzają, iż model wypierania populacji przodków przez bardziej zaawansowanych ewolucyjnie potomków (the replacement model) jest nieprawidłowy. Potwierdzona została kilkukrotna migracja ludzi z Afryki, ale najnowsze modele zakładają ekspansję populacji na drodze krzyżowania a nie wypierania przodków (O'Neil, 2005 za Nature 2002)**.**

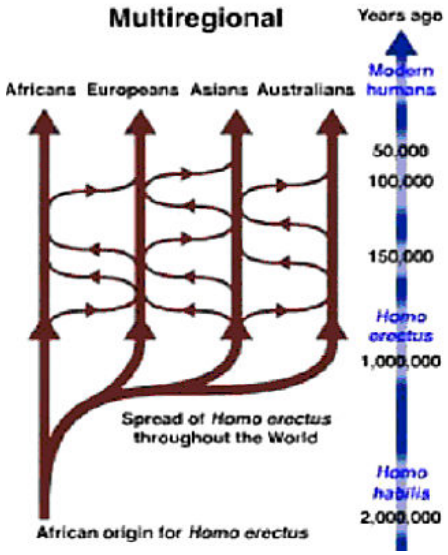
## **2.4.** Teoria „multiregionalna”

Hipotezą alternatywną do wcześniejszych jest teoria ogłoszona przez Wolpoffa i Thorne’a zwana „multiregionalną” lub policentryczna, głosząca, że wszystkie żyjące dziś populacje ludzi powstały z populacji *H. erectus*, które opuściły Afrykę około 1 miliona lat temu, na różnych kontynentach ewoluowały równolegle w *H. sapiens sapiens* (Cavalli-Sforza i Feldman, 2003).

Model opierał się na założeniach:

- Pewien poziom przepływu genów miedzy geograficznie oddzielonymi populacjami zapobiegł specjacji po rozproszeniu się populacji.

- Regionalna zmienność populacji zwana też rasami jest wynikiem naturalnej selekcji w populacjach.
- Pojawienie się *H. sapiens* nie było ograniczone do jednego rejonu, lecz nastąpiło w wielu miejscach, w których żył *H. erectus* (Johanson, 2001).



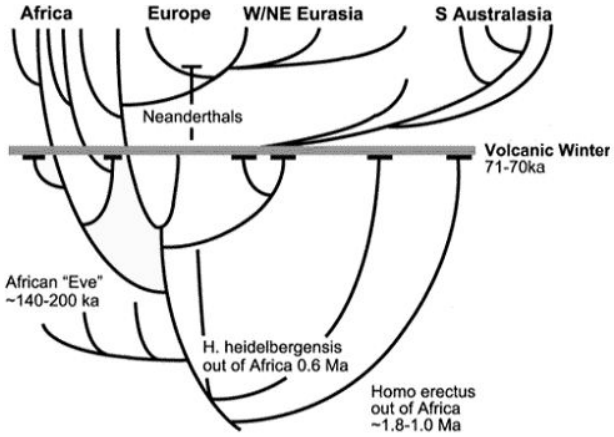

Ryc. **2.4**.1 Ilustracja modelu wypierania populacji (Science Museum, 2005).

Krzyżowanie między populacjami w konsekwencji prowadziłoby do powstania nowych alleli genów, czego do tej pory nie udało się odkryć. Ponadto relatywnie mała zmienność między populacjami ludzkimi w stosunku do zmienności wewnątrzpopulacyjnej, wskazuje na istnienie małolicznej populacji 100-200 000 lat temu (Cavalli-Sforza i Feldman, 2003). Populacja narażona była na efekt wąskiego gardła. Zdarzenie to miało miejsce tak niedawno (w skali ewolucji), że nie zdążyły się nagromadzić zmiany w genomie człowieka stąd tak niewielki polimorfizm.

## **2.5.** Hipoteza „wulkanicznej zimy”

Hipoteza “wulkanicznej zimy”, stworzona przez Stanley’a H. Ambrose, nawiązuje do teorii niedawnego „wyjścia” ludzi z Afryki (the recent African genesis of humans) i wyjaśnia paradoks afrykańskiego pochodzenia przy równoczesnym tak dużym zróżnicowaniu fenotypowym ludzi, które teoretycznie nie powinno istnieć ze względu na jednolitość fenotypową afrykańskich populacji przodków. Pod pojęciem “wulkanicznej zimy” rozumie się najzimniejsze milenium ostatniego glacjału. Zjawisko to było wynikiem erupcji wulkanu Toba na Sumatrze. Nastąpił gwałtowny wyrzut pyłów do stratosfery na wysokość 17 km, co

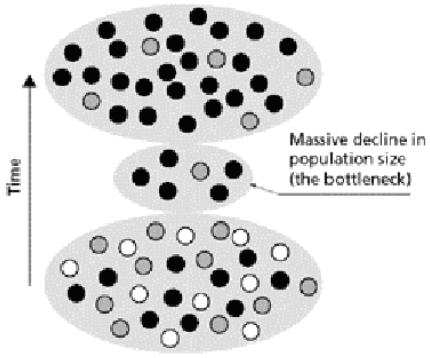
spowodowało obniżenie transmisji promieniowania słonecznego, oziębienie klimatu na całej ziemi, długotrwałe, kilkuletnie opady mgły kwasu siarkowego, pokrycie powierzchni ziemi 6 metrową warstwą pyłu wulkanicznego, deforestację, a w konsekwencji zachwianie łańcuchów pokarmowych i stopniowe wymieranie gatunków, w tym *Homo* sp. Zakłada się, że „wulkaniczna zima" zredukowała liczebność rodzaju *Homo* do tego stopnia, że znaczący w czasie rozwoju populacji stał się efekt założyciela, dryf genetyczny i lokalne adaptacje (Jacobs, 2000a). Wszystkie te czynniki doprowadziły do gwałtownych zmian w populacjach, które przetrwały w niekorzystnych warunkach środowiskowych, a tym samym jest to powód dzisiejszego zróżnicowania populacji. Wybuch wulkanu Toba spowodował nagłe wyróżnicowanie współczesnych populacji zaledwie w ciągu 70 000 lat zamiast stopniowo na przestrzeni kilku milionów lat (Ambrose, 1998).




Ryc. **2.5.**1 Kladogram ukazujący wpływ „wulkanicznej zimy" na ewoluujące gatunki *Homo* – efekt wąskiego gardła w populacjach w późnym Pleistocenie (Ambrose, 1998).

„Wulkaniczna zima" wywołała trwający około 1 000 lat efekt wąskiego gardła w populacjach *Homo* zasiedlających wszystkie kontynenty (Ryc. **2.5.**1) (Ambrose, 1998). Teoria ta tłumaczy afrykańskie pochodzenie *Homo,* będące wynikiem schronienia się znacznej części populacji w tym krytycznym czasie, w tropikalnym i sprzyjającym, afrykańskim klimacie, czego rezultatem jest obecny wysoki poziom różnorodności genetycznej wśród Afrykanów.

Powyższe fakty wskazują, że *Homo sapiens* jest gatunkiem, który powstał stosunkowo niedawno z populacji, która około 200 000 lat temu została poddana gwałtownej redukcji liczebności, przeszła przez wąskie gardło (Ryc. **2.5**.2).




Ryc. **2.5.**2 Graficzna ilustracja redukcji liczebności populacji – obserwowany efekt wąskiego gardła w postaci zmiany częstości alleli w populacji (Anonymous, 2003).

# **3**. Genetyczna architektura ewolucji genomu człowieka

Mutacje, duplikacja sekwencji i rearanżacje chromosomowe to główne siły, dzięki którym ewoluuje genom człowieka (Samonte i Eichler, 2002). Opracowano 6 głównych koncepcji, które ustalają modelowy system, odnoszący się do potencjalnej architektury ewolucji genomu człowieka (Caroll, 2003):

- Zmiany są ciągłe, ilościowe cechy są zazwyczaj poligeniczne. Analizy wykazały, że u ludzi > 50% zmienności jest poligeniczna.
- Tempo ewolucji cech człowieka nie dostarcza informacji o liczbie genów, które ewoluowały. Analizy procesów selekcji w warunkach laboratoryjnych i wewnątrzspecyficznej dywergencji wskazują, że intensywność selekcji i charakterystyka dziedziczenia spełniają większą rolę w modelowaniu tempa ewolucji niż genetyczna złożoność cech, które tej ewolucji mają podlegać. Rozważana jest możliwość istnienia stałej zmienności cech. Obserwowane tempo ewolucji pod wpływem naturalnej selekcji jest dużo wolniejsze niż potencjalnie możliwe. Nawet fenotypowo niezmienne cechy podlegają genetycznym zmianom.
- Morfologiczne zmiany i dywergencja są kojarzone ze zmianami w genach regulujących rozwój. Analizy wskazują, że morfologiczna ewolucja to produkt zmian w genach regulatorowych i genetycznych sieciach regulacji na przykład czynników transkrypcyjnych i sygnałów transdukcji.
- Mutacje odpowiedzialne za zmienność genomu często zachodzą w niekodujących regionach regulatorowych. Wykazano, że nieaddytywne interakcje między miejscami różnych locus mogą być wyjaśnieniem zróżnicowania alleli.
- Występuje koordynacja miedzy genami odpowiedzialnymi za wewnątrzspecyficzną zmienność i wewnątrzgatunkową dywergencję. Odkryto loci zaangażowane jednocześnie w proces wewnątrz- i międzygatunkowych zmienności. Analizy zmienności genomowej u ludzi mogłyby dostarczyć w takim przypadku informacji na temat historii ewolucji człowieka.

Głównym zadaniem jest identyfikacja specyficznych zmian, które są biologicznie znaczące. Istnieją 3 główne genetyczne zadania, które naukowcy starają się zgłębić aby poznać ewolucję genomu człowieka:

1. Jak wiele genów jest zaangażowanych w powstanie anatomii, fizjologii i zachowania *H. sapiens sapiens*?

2. Które specyficzne geny odpowiadają za poszczególne cechy człowieka?
3. Jaki typ zmian miał wpływ na przebieg procesu ewolucji rodzaju *Homo* np. duplikacje, substytucje, ewolucja sekwencji regulatorowych? (Caroll, 2003).

Odkrywanie ważnych korelacji miedzy hyperzmiennymi regionami genomu i fenotypowymi różnicami ma zasadnicze znaczenie w rozumieniu natury cech człowieka (Samonte i Eichler, 2002).

## **3.1**. Duplikacje

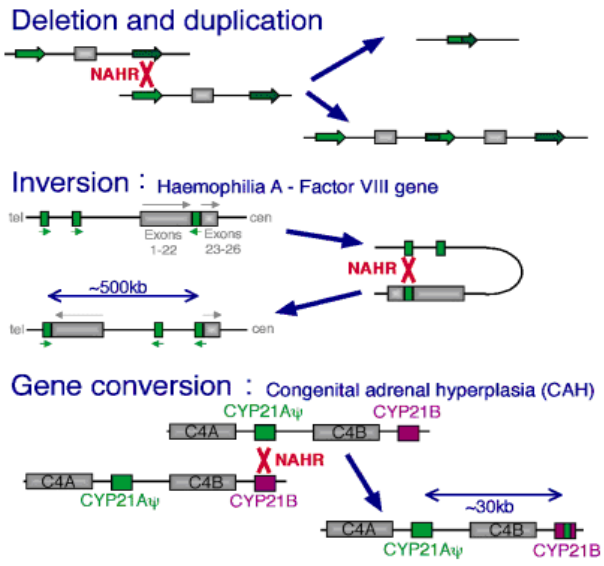
Organizacja i architektura duplikacji ma szerokie implikacje w rozumieniu ewolucji i funkcji genomu człowieka (Samonte i Eichler, 2002). W genomie człowieka można wyróżnić duplikacje powstałe gwałtownie –'big-bang mode', czyli duplikacje na szeroką skalę w genomie i duplikacje powstałe w sposób ciagły – 'continuous mode', czyli duplikacje na małą skalę (Gu i inni, 2003). We wczesnych etapach ewolucji duplikacje na dużą i małą skalę miały wpływ na ewolucję tkankowej specyficzności i współczesnej hierarchii rodzin genów człowieka (Gu i inni, 2003).

Tandemowe duplikacje lokalnych rejonów genomu, będące wynikiem nierównomiernego crossing-over, ulegają gwałtownej homogenizacji, na skutek konwersji genów. Powstają dzięki temu zgrupowania rodzin genów. Przykładami jest rodzina genów immunoglobulin i glikoprotein ciążowych (Jerzmanowski, 2002).

Analizy potwierdziły, że duplikacja genów i dywergencja prowadzą do szybkiego różnicowania genomów gatunków na szeroką skalę (Olson i Varki, 2003). Stwierdzono, że około 5,3% euchromatyny człowieka stanowią szczególnego rodzaju duplikacje segmentowe długości >1 kb, w 90% wykazujące identyczność sekwencji (Olson i Varki, 2003, Collins, 2004). Duplikacje te występują w rejonach subtelomerowych i pericentromerowych. Duplikacje segmentowe, unikatowe dla naczelnych, mogły i mogą przyczynić się do pojawienia się nowych genów.

Powtarzalne sekwencje w genomie człowieka prowadziły do powstawania nowej funkcji genów w czasie ewolucji naczelnych. Jednym z przykładów duplikacji specyficznej dla linii człowieka jest duplikacja i translokacja genu protokadheryny (zaangażowanej np. w rozwój asymetryczności mózgu, lateralizację językową) z chromosomu X na chromosom Y po oddzieleniu się linii człowieka od LCA szympansów i ludzi (Olson i Varki, 2003).

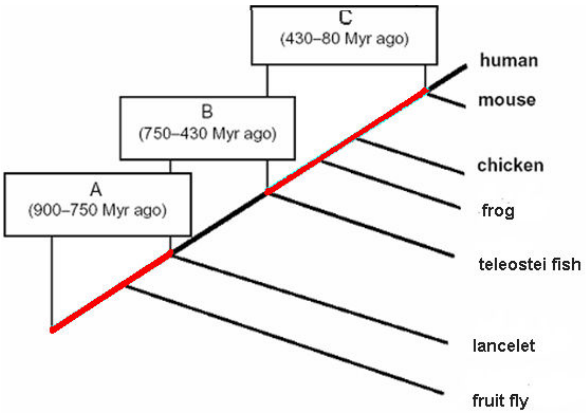
Duplikacje segmentowe mogą być mylone podczas mejozy z sekwencjami allelicznymi, a tym samym powodują nieallelliczną homologiczną rekombinację –NAHR (Non-Allelic Homologous Recombination), prowadzącą do niestabilności genetycznej i w konsekwencji do chorób np. pląsawicy Huntingtona czy ataksji rdzeniowo-móżdżkowej (Liao, 2003). NAHR może powodować crossing-over, który z kolei może powodować zaburzenia takie jak – delecje (np. męska sterylność), duplikacje (np. Charcot–Marie choroba zębów) i inwersje (np. hemofilia). NAHR może generować także konwersję genu, przez wprowadzenie pseudogenu w gen podlegający ekspresji (np. wrodzony rozrost kory nadnerczy) (Ryc. **3.1.**1).




Ryc. **3.1.**1 Duplikacje, delecje, inwersje i konwersja genów powodowana przez NAHR (Hurles, 2004).

## **3.1.1**. Hipoteza „2R”

W 1970 roku Susumu Ohno zaproponował teorię, że w linii prowadzącej do powstania kręgowców nastąpiła jedna lub więcej rund duplikacji całego genomu, prowadzących do wzrostu złożoności tych organizmów. Koncepcja twierdzi, że doszło do powstania ogniwa pośredniego w postaci tetraploida, po którym nastąpił powrót do stanu disomii (Jerzmanowski, 2002). Najbardziej znana wersja tej hipotezy twierdzi, że były **2 r**undy duplikacji stąd nazwa hipotezy – 2R. Najprawdopodobniej zdarzenia te miały miejsce bezpośrednio przed i bezpośrednio po dywergencji linii prowadzącej do kręgowców z linii bezkręgowców (Hokamp i inni, 2003). Duplikacje w linii *Homo* ilustruje Ryc. **3.2.1.**1.




Ryc. **3.1.1**.1 Filogenetyczne drzewo ilustrujące zdarzenia duplikacji w linii prowadzącej do *Homo.* W czasokresie B nastąpiło rozdzielenie linii kręgowców i bezkręgowców. W linii człowieka wystąpiły dwie rundy duplikacyjne – czasokres A i C (Gu i inni, 2003).

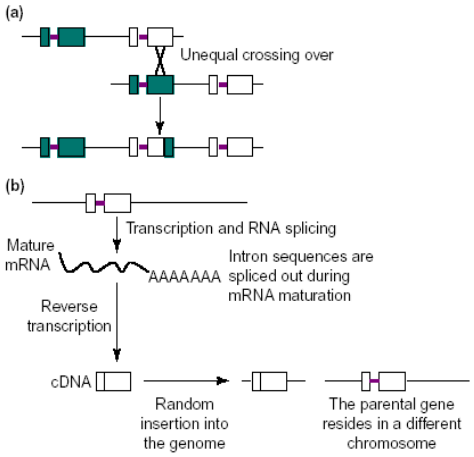
Za potwierdzeniem tej teorii przemawia zasada „jeden do czterech", która zakłada, że powinny być 4 geny ortologiczne w genomie kręgowca na określony 1 gen bezkręgowca. Ortologi to homologiczne geny powstałe w procesie specjacji u przedstawicieli różnych gatunków (Spring, 1997, Womack, 2004). Odkryto te tetralogi (poczwórne ortologi) na wszystkich 23 chromosomach człowieka. Przykładem jest kwadryplikacja zgrupowania genów *Hox* a także geny keratyny, kolagenu i kinazy tyrozynowej (Spring, 1997). W genomie kręgowców znajdują się 4 kolinearne zgrupowania a w genomie bezkręgowców tylko jedno (Hokamp i inni, 2003). Kolejnym dowodem jest istnienie paralogicznych genów, zgrupowanych w podobny sposób w różnych częściach genomu. Paralogi to homologiczne geny powstałe w procesie duplikacji u przedstawicieli jednego gatunku. (Spring, 1997, Womack, 2004). Przykładem takiego zjawiska w genomie człowieka są paralogiczne regiony na chromosomach: 1, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 19 (Hokamp i inni, 2003).

Analizowano 1 739 duplikacji w genomie człowieka i udowodniono, że wystąpiły dwie fale duplikacji w powiązaniu z jednym zamierzchłym komponentem duplikacji. I fala reprezentuje ekspansję rodzin genów głównie w linii naczelnych na drodze segmentowej lub tandemowej duplikacji. Przykładem rodziny genów, które uległy segmentowej duplikacji na chromosomie 16 jest rodzina genów *morpheus,* której ekspansja jest specyficzna dla linii ewolucyjnej człowieka (Caroll, 2003). Fala II ukazuje gwałtowny wzrost ilości genów paralogicznych podczas wczesnych etapów ewolucji kręgowców. Komponent zamierzchły to duplikacje, które miały miejsce podczas ewolucji *Metazoa* lub wcześniej (Gu i inni, 2003). Mimo, że długotrwała ewolucja kręgowców mogła zatrzeć wiele historycznych detali, można stworzyć scenariusz ewolucji. Od początku ewolucji strunowców, duplikacje na małą skalę (tandemowe lub segmentowe) zapewniały ciągłe powstawanie nowych genów paralogicznych

– około 3–5 zdarzeń duplikacyjnych na milion lat. W ostatniej fazie ewolucji wśród naczelnych tempo duplikacji wzrosło – około 10 zdarzeń duplikacyjnych na milion lat (Gu i inni, 2003).

## **3.1.2**. Generowanie duplikacji

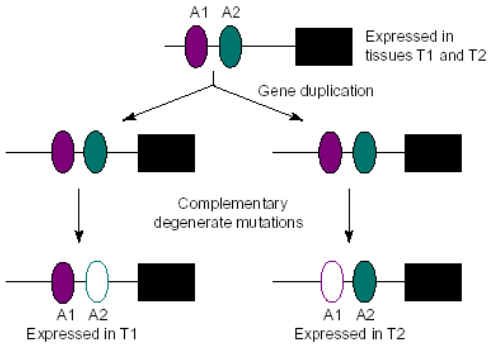
Duplikacja genów jest wynikiem nierównomiernego crossing-over, retropozycji, chromosomowej albo genomowej duplikacji. Nierównomierne crossing-over (Ryc. **3.1.2.**1a) generuje tandemowe duplikacje położone na jednym chromosomie. W zależności od miejsca crossing-over duplikacja może obejmować cały gen, część genu albo kilka genów, wraz z intronami. Zduplikowane geny powstałe w procesie retropozycji (Ryc. **3.1.2.**1b) charakteryzują się brakiem intronów i sekwencji regulatorowych, obecnością poly-A sekwencji i krótkich flankujących powtórzeń. Analizy genomu człowieka wykazały też obecność segmentowych duplikacji o długości 1-200 kb o nieznanym mechanizmie powstawania (Zhang, 2003).




Ryc. **3.1.2**.1 Dwa modele duplikacji genów. a) nierównomierny crossing-over, b) retropozycja (Zhang, 2003).

## **3.1.3**. Nowa funkcja zduplikowanych genów

Geny o identycznej funkcji są niestabilne w genomie, dlatego ważnym aspektem w ewolucji zduplikowanych genów jest ich subfunkcjonalizacja, rozumiana jako przejecie przez nowo powstały gen części funkcji genu „rodzicielskiego" (Zhang 2003). Subfunkcjonalizacja jest rozumiana przez podział ekspresji po duplikacji genu, która może prowadzić do funkcjonalnej specjalizacji, gdy jeden z genów wykazuje większe przystosowanie (Ryc. **3.1.3.**1) (Zhang 2003).




Ryc. **3.1.3**.1 Podział ekspresji po duplikacji genu, uzyskanie tkankowej specyficzności przez geny (Zhang 2003).

Jedną z najważniejszych konsekwencji duplikacji genu jest powstanie nowej funkcji. Przykładem są geny RNazy A, immunoglobulin, glikoprotein ciążowych, *EDN* (eosinophil-derived neurotoxin) i *ECP* (eosinophil cationic protein), geny które powstały w procesie duplikacji w linii hominoidów (Samonte i Eichler, 2002, Zhang 2003,). Mechanizm substytucji zróżnicowanej liczby aminokwasów prowadzi do neofunkcjonalizacji genów. Częściej niż neofunkcjonalizacja, w nowopowstałym genie dochodzi do wykształcenia podobnej funkcji. Przykładem są ludzkie geny opsyn, powstałe przez duplikację w linii hominoidów (Samonte i Eichler, 2002).

## **3.1.4**. Ewolucyjny los zduplikowanych genów

Modele sił ewolucyjnych mających wpływ na zduplikowane geny:

- Po duplikacji genu przypadkowe mutacje są utrwalone w nowopowstałym genie. Występuje ograniczenie funkcji genu. Utrwalone mutacje mogą prowadzić do zmiany funkcji genu, gdy zmienią się warunki środowiskowe.

- Po duplikacji genu neutralne substytucje kreują nowe, funkcjonalnie geny. Pozytywna selekcja przyśpiesza utrwalanie nowych mutacji i wzmacnia wagę nowej funkcji genów.
- Początkowo gen ma podwójną funkcję. Duplikacja genu prowadzi do przejęcia każdej z funkcji przez osobne geny nowopowstałe, późniejsze substytucje pod wpływem pozytywnej selekcji prowadzą do udoskonalenia funkcji.

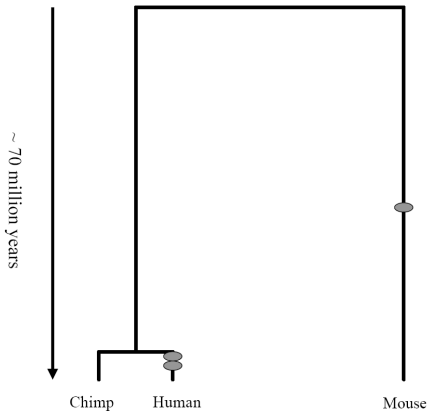
Duplikacje w genomie człowieka miały ciągły wpływ na jego ewolucję przez 35 milionów lat (Samonte i Eichler, 2002). Duplikacje dostarczają nowego materiału do mutacji, dryfu i selekcji. Pozbawiony duplikacji genom człowieka, pozbawiony byłby równocześnie plastyczności adaptacyjnej do zmiennych warunków środowiskowych, ponieważ w diploidalnym organizmie diploidalnym istniałyby tylko dwa allele w każdym locus. Duplikacje prowadzą do gatunkowo specyficznych funkcji genów, zapewniają dywergencję gatunków (Zhang 2003). Zduplikowane genomowe sekwencje często prowadzą do akumulowania pseudogenów (Samonte i Eichler, 2002), częściej niż do powstawania funkcjonalnych genów (Long, 2001). Duplikacje różnorodnych genów i pseudogenizacja w geograficznie izolowanych populacjach ludzi mogła prowadzić do izolacji reprodukcyjnej i specjacji (Zhang 2003).

## **3.2**. Mutacje

W 1968 roku M. Kimura ogłosił „neutralną teorię" molekularnej ewolucji zakładającą, że największą ilość mutacji stanowią mutacje neutralne lub szkodliwe, lecz różnice między gatunkami są spowodowane głównie mutacjami neutralnymi, gdyż szkodliwe są efektywnie redukowane w populacji przez redukcję osobników, które mutację szkodliwą posiadają. Poziom polimorfizmu w populacji jest odzwierciedleniem tempa nabywania neutralnych mutacji. Obszary genomu charakteryzujące się niewielkim poziomem polimorfizmu to obszary kodujące ważne funkcjonalne elementy, geny podstawowego metabolizmu (Wall, 2005). Z niedawnymi duplikacjami związane są polimorfizmy strukturalne genomu człowieka obejmujące delecje i insercje. Z perspektywy ewolucyjnej takie odcinki liczące od 54 kb do 5Mb mogą prowadzić do powstawania bariery dla krzyżowania (Jerzmanowski, 2002).

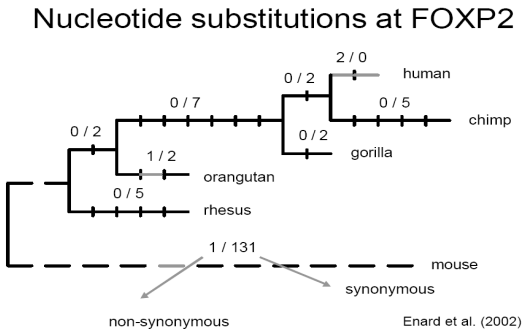
Mutacja 2,4 miliona lat temu u naczelnych w genie głównego białka mięśni szczęk – MYH16 mogła być bezpośrednim powodem zaprzestania rozwoju kości twarzy, co spowodowało powiększanie rozmiarów mózgoczaszki, a tym samym było początkiem

intensywnej ewolucji *Homo* (Hopkin, 2004). Przykładem mutacji, która miała donośne znaczenie w ewolucji człowieka była zaledwie dwuaminokwasowa, w porównaniu z gorylami i szympansami i trójaminokwasowa w porównaniu z myszami, zmiana w genie czynnika transkrypcyjnego *FOXP2* (forkhead winged-helix box protein 2) (Ryc. **3.2.**1 i Ryc. **3.2.**2), mającym funkcjonalny wpływ na kontrolę mięśni krtani, języka i ust, a w konsekwencji na powstanie mowy u ludzi (O'Neill, 2005).




Ryc. **3.2.**1 Niesynonimiczne substytucje w *FOXP2* (Wall, 2005).

Zmiany w *FOXP2* mają tak duże znaczenie ewolucyjne i funkcjonalne, gdyż jest to gen kodujący czynnik transkrypcyjny, który kontroluje ekspresję innych genów. Nie można jednak sądzić, że *FOXP2* był jedynym genem podlegającym selekcji, który odpowiadał za powstanie mowy (Caroll, 2003).

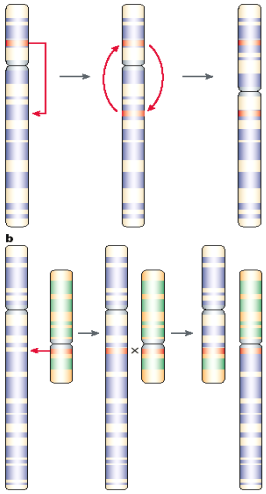



Ryc. **3.2.**2 Substytucje synonimiczne i niesynonimiczne w *FOXP2 w* linii prowadzącej do *Homo* (Wall, 2005).

Wykazano niespotykany stopień ewolucyjnej plastyczności w genomach człowieka i jego najbliższych krewnych. Badania hominoidowej rodziny genów *morpheus*, wykazały że w jej eksonach występuje większe tempo mutacji niż w intronach. Potwierdzono, że największa ilość aminokwasowych substytucji miała miejsce po specjacji linii ludzi, szympansów i goryli z linii orangutanów (Samonte i Eichler, 2002).

## **3.3.** Rearanżacje

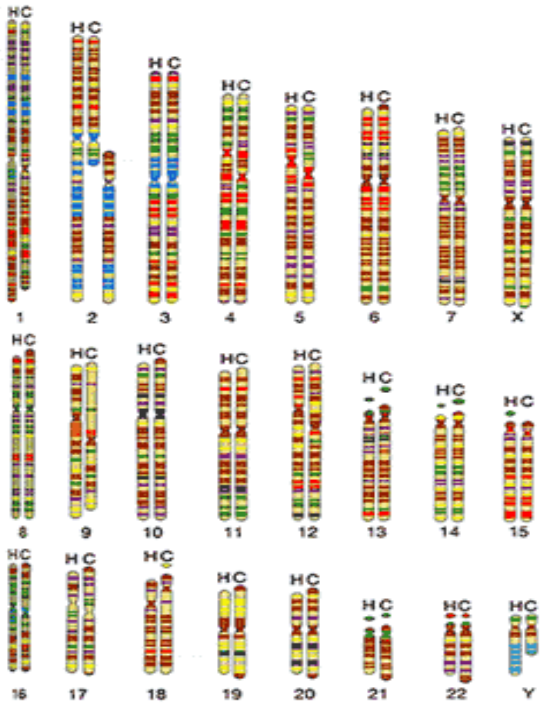
Analizy rearanżacji genomowych w badaniu ewolucji pod kątem molekularnym zostały zapoczątkowane w 1938 przez Dobzhansky'ego i Sturtevanta (Pevzner i Tesler, 2003). Ponieważ ewolucja kariotypu na szeroką skalę zachodzi wolniej niż ewolucja pojedynczych nukleotydów, chromosomowe rearanżacje mogą stać się ważnymi „odciskami palców" w śledzeniu ewolucji genomu człowieka. Naukowcy zdają sobie sprawę z tego, że rearanżacje zawierają wiele ewolucyjnych sekretów i są niesłychanie ważne w rozumieniu genomowej plastyczności i unikalności (Murphy i inni 2004). Liczba rearanżacji, która musiała zajść w najbardziej prawdopodobny sposób między dwoma genomami to odległość genomowa (Pevzner i Tesler, 2003, Murphy i inni, 2004). Sekwencje o wysokiej homologii są predysponowane do nierównomiernej rekombinacji, która prowadzi do chromosomowych rearanżacji na dużą skalę takich jak duplikacje, delecje, inwersje, translokacje, fuzje, deficjencje. Możliwe jest, że duplikacje odgrywają rolę w strukturalnych rearanżacjach różniących chromosomy naczelnych (Samonte i Eichler, 2002). Duplikacje predysponują chromosomy naczelnych do rearanżacji przez dostarczanie szablonów dla nieallelicznych homologicznych rekombinacji (Ryc. **3.3.**1) (Samonte i Eichler, 2002).




Ryc.**3.3.**1 Chromosomowe rearanżacje powodowane przez duplikacje. a) hipotetyczna pericentryczna inwersja, która pojawiła się na skutek duplikacji, kreującej dwa bloki homologicznych sekwencji. Rekombinacja między tymi blokami może prowadzić do powstania genetycznej bariery specjacyjnej. b) hipotetyczna translokacja, która pojawiła się jako rezultat duplikacji wewnątrzchromosomowej, po której następuje niealleliczna rekombinacja homologiczna (Samonte i Eichler, 2002).

Porównawcze analizy prążków G w chromosomach ujawniły, że 18 z 23 par chromosomów człowieka jest identycznych z chromosomami wspólnych hominoidowych przodków (Samonte i Eichler, 2002) (Ryc. **3.3.**2). Dokonano porównania chromosomów czterech spokrewnionych gatunków – człowieka, szympansa, goryla i orangutana. Pomijając

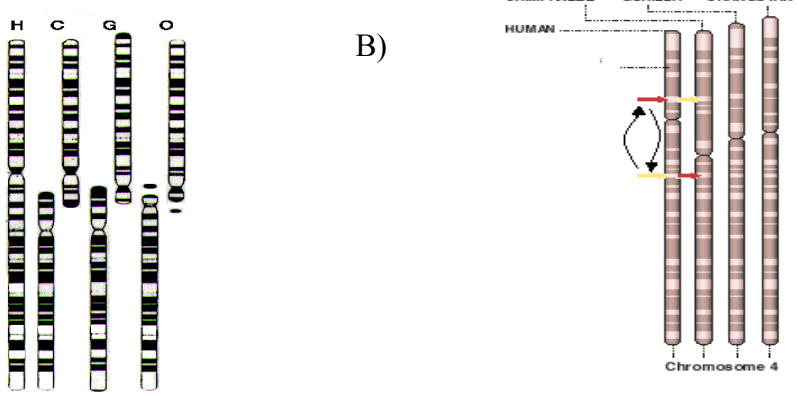
różnice w heterochromatynie, chromosomy 6, 13, 19, 21, 22 i X u wszystkich czterech gatunków posiadają identyczne wzory prążkowe. Chromosomy 3, 11, 14, 15, 18, 20 i Y wyglądają tak samo w trzech z czterech gatunków (u człowieka, goryla i szympansa), a chromosomy 1, 2, 5, 7, i 16 są podobne u dwóch gatunków. Chromosomy 4 i 17 są różne u wszystkich czterech gatunków (Williams, 2005).




Ryc. **3.3.**2 Kariotypy człowieka i szympansa, obrazujące podobieństwo we wzorze prążków (Pauli, 2005).

Najwięcej w genomie człowieka jest pericentrycznych inwersji – 9. Przykłady pericentrycznych inwersji na chromosomach – 1, 4, 5, 9, 12, 15 i 16 człowieka i szympansa (Samonte i Eichler, 2002, Marques-Bonet i inni, 2004). Mniej niż inwersji w genomie człowieka jest chromosomowych translokacji – 5. Na przykład u człowieka wykryto translokację, będącą odpowiednikiem translokacji chromosomów 5 i 17 u orangutana. 4 insercje. 1 telomerowa fuzja – chromosom 2 u człowieka powstał w procesie telomerowej fuzji chromosomu 12 i 13 szympansa (Ryc. **3.3.**3).

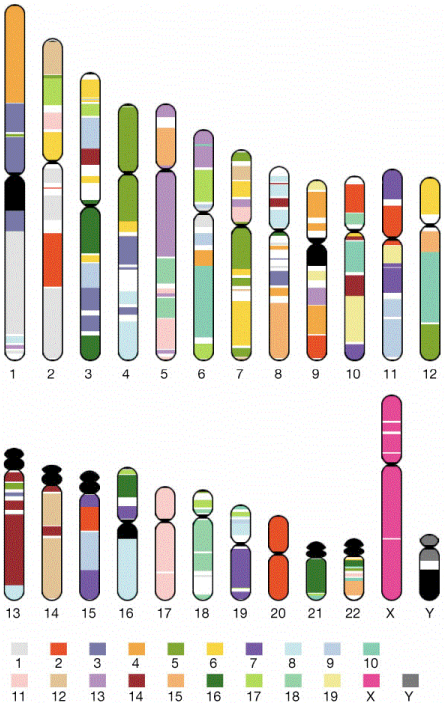
A) B)




**Ryc. 3.3.**3 A) Chromosom 2 człowieka i jego analogi u małp naczelnych (Williams, 2005). B) Wzór prążków ukazuje jak podobne są chromosomy naczelnych. Strzałki wskazują segmenty w chromosomie szympansa, które uległy inwersji w toku ewolucji. (Wades, 2002).

Analizy chromosomu 2 człowieka wykazały, że znajduje się w nim tzw. „pustynia genowa", będąca dowodem pochodzenia chromosomu 2 z fuzji dwóch chromosomów przodków naczelnych. Największą „pustynię genów" zidentyfikowano w chromosomie 4 człowieka. Regiony tych chromosomów nazywają się „pustyniami genowymi", gdyż są pozbawione jakichkolwiek sekwencji kodujących, lecz zachowały konserwatywność sekwencji podczas ewolucji ssaków i ptaków, co może świadczyć o ważnej roli „pustyń genowych" podczas ewolucji genomu kręgowców (NIH/NHGR, 2005). Biologiczne znaczenie tych różnic w genomie naczelnych jest niewyjaśnione, sugeruje się tworzenie genetycznych barier, prowadzących do specjacji.

W genomie człowieka wyróżnia się mikrorearanzacje (intrachromosomal), czyli rearanżacje nie przekraczające 1Mb, lokalnych podobnych sekwencji lub markerów w blokach syntenii oraz makrorearanżacje (interchromosomal), czyli rearanżacje zmiany orientacji lub kolejności bloków syntenii (Pevzner i Tesler, 2003, Murphy i inni, 2004). Genom człowieka przejawia bloki syntenii – częściowe lub całkowite zachowanie kolejności genów, będące obrazem bliskiego spokrewnienia ewolucyjnego człowieka z badanym gatunkiem (Ryc. **3.3.**4). Analizy bloków syntenii wykazały, że tzw. breakpionts czyli „gorące miejsca rearanżacji" mają duży wpływ na ewolucję chromosomów (Murphy i inni, 2004). Bloki syntenii reprezentują obszary ciągłego podobieństwa między analizowanymi genomami (Pevzner i Tesler, 2003). Pełen zestaw syntenicznych bloków w genomie człowieka pozwoliłby na rozwiązanie kontrowersyjnych kwestii w konstruowaniu ewolucyjnego drzewa naczelnych, pozwoliłby na rekonstrukcję genomów przodków, oszacowanie czasu dywergencji linii przodków.

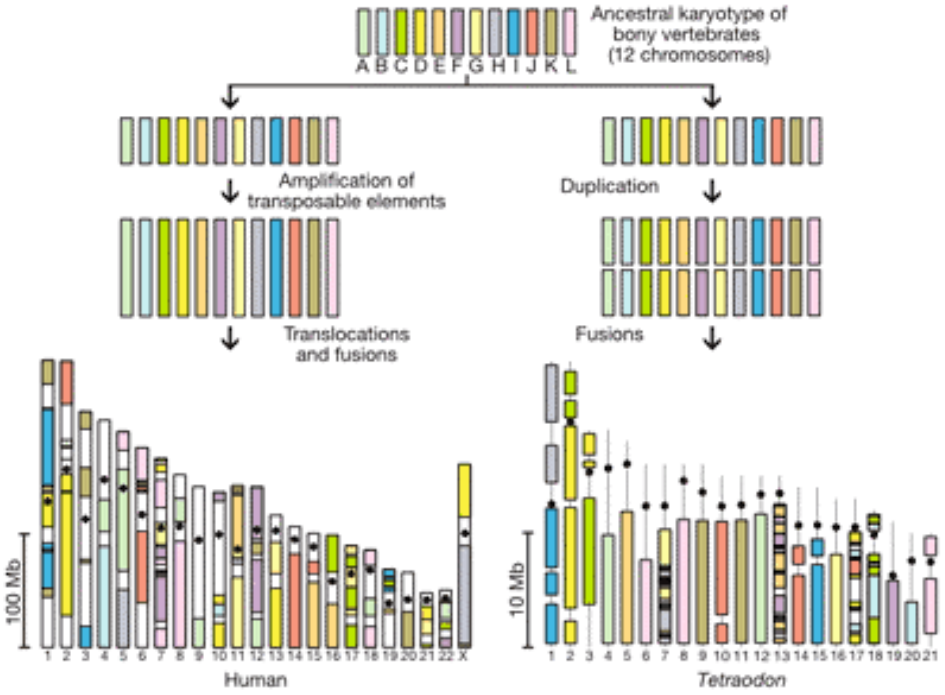



**Ryc. 3.3.**4 Regiony chromosomów człowieka homologiczne do regionów chromosomów myszy zobrazowane za pomocą kolorów. Dla przykładu cały chromosom 20 człowieka jest homologiczny do regionu chromosomu 2 myszy i prawie cały chromosom 17 człowieka jest homologiczny do regionu chromosomu 11 myszy. Najczęściej segmenty poszczególnych chromosomów człowieka są homologiczne do różnych chromosomów myszy (Anonymous, 2005c).

Na przykład między chromosomami człowieka i myszy wykryto 245 rearanżacji, na podstawie czego szacuje się 83 miliony lat ewolucji tych dwóch gatunków od czasu oddzielenia się od ostatniego wspólnego przodka (Pevzner i Tesler, 2003). Dopiero poznanie sekwencji genomów co najmniej 3 organizmów spokrewnionych z człowiekiem, pozwoliłoby na ustalenie „oryginalnych" bloków syntenii, a tym samym kariotypu przodka człowieka (Pevzner i Tesler, 2003).

Przodek kręgowców, posiadający 12 par chromosomów, dał początek dwóm liniom – zwierzętom czworonożnym i rybom. Kompozycja chromosomów człowieka jest oparta na dystrybucji genów ortologicznych do genów *Tetraodon.* Linia ludzi charakteryzuje się intensywną amplifikacją elementów transpozonowych, LINE, SINE i sekwencji niekodujących, co doprowadziło do powstania genomu o rozmiarach 3 Gb, w którym znajduje się zaledwie 20-25.000 genów (Collins, 2004). Złożoność i mozaikowość segmentów w ludzkich chromosomach wskazuje na częstotliwość rearanżacji (Myers, 2004).

Na podstawie prowadzonych badań porównawczych genomu *H. sapiens sapiens* i *Tetraodon nigraviridis* – kolcobrzucha ustalono schemat ewolucji genomu kręgowców (Ryc. **3.3.**5).




Ryc. **3.3.**5 Ewolucja genomu człowieka na podstawie analizy porównawczej genomów. 90 segmentów w genomie człowieka zostało porównane z 44 u *Tetraodon.* (Myers, 2004).

## **3.3.1.**Tasowanie eksonów

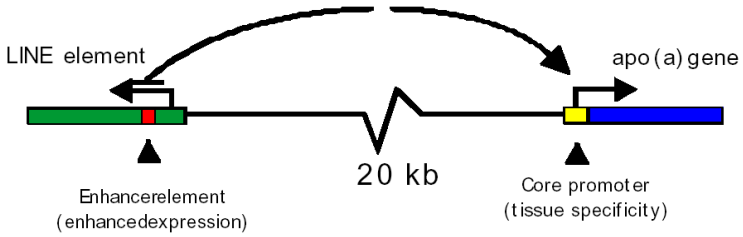
Znaczącym procesem w ewolucji nowych genów jest tasowanie eksonów. Mechanizmem tego procesu kreowania nowej struktury genów jest jeden z typów rekombinacji niehomologicznej (Long, 2001**)**. Nowa kombinacja eksonów w różnych genach, reprezentująca podjednostki w funkcjonalnej strukturze, może podlegać rekombinacji niehomologicznej i ewoluować w geny o nowej funkcji. Introny w takich genach przyśpieszają formowanie nowych kombinacji, wpływając na ewolucję protein. Pierwszym zidentyfikowanym przykładem powstawania funkcjonalnych białek na drodze tasowania eksonów był receptor lipoproteiny o niskiej gęstości (LDL). Szacuje się, że setki rodzin genów powstało w wyniku tego mechanizmu (Long, M. 2001). Aby zrozumieć proces tasowania eksonów w perspektywie ewolucji, klasyfikuje się domeny w dwie kategorie: „stare domeny" – są to domeny wspólne dla *Eucaryota* i *Procaryota* oraz „nowe domeny" – specyficzne dla zwierząt wielokomórkowych (Kaessmann i inni 2002). Aby ocenić rolę tasowania eksonów w kreowaniu złożoności ludzkiego genomu, analizuje się rozmieszczenie intronów w kodujących sekwencjach domen ludzkich białek. Sugeruje się, że tasowanie eksonów w pierwszej kolejności angażuje proces rearanżacji strukturalnej i funkcjonalnej domen białkowych, ze względu na symetryczność intronów, które zawierają. Ponadto

odkryto, że domeny flankowane przez specyficzny rodzaj symetrycznych intronów, zwiększyły drastycznie swoją ilość w genomie człowieka, z powodu procesu tasowania eksonów (Kaessmann i inni, 2002). Przykładami genów powstałych w procesie tasowania eksonów są geny chimeralne. *PMCHL1* łączy koniec 3' kodującego regionu *PMCHL2* z sąsiadującym z nim intronem, prowadząc do wytworzenia chimeralnej struktury, aktywnej funkcjonalnie w jądrach i mózgu. Innym przykładem jest chimeryczne białko powstałe przez fuzję transkryptu genów *Kua* i *UEV* (Long, 2001). Uogólniając tasowanie domen to rekombinacja eksonów, kodujących domeny, za pośrednictwem intronów (Kaessmann i inni 2002). Porównawcze analizy całego genomu ludzi i innych *Eucaryota* sugerują, że złożoność ludzkiego genomu jest związana z architekturą domen, kodowaną przez geny.

## **3.4.** Elementy ruchome

Retropozycja jest postrzegana jako „narzędzie" ewolucji funkcji nowych genów a nie tylko martwy koniec ewolucji, będący konsekwencją powstawania pseudogenów (Long, M. 2001). Obecność i aktywność elementów ruchomych (TE) podczas ewolucji genomu człowieka stała się źródłem ewolucyjnej elastyczności genomu, a tym samym sukcesu ewolucyjnego gatunku *H. sapiens sapiens.* Badania wielu gatunków dostarczyły dowodów, że TE posiadają umiejętność zmiany strukturalnej architektury genomu gospodarza bez uszkadzania normalnego funkcjonowania komórek somatycznych. Genom człowieka tak jak inne genomy *Eucaryota* może więc trwać w stanie dynamicznej równowagi, z potencjalnie ogromnymi zmianami w rozmiarze genomu, balansowanymi przez mechanizmy metylacji i samoregulacji transpozonów (Kidwell i Lisch, 2000). Retropozycja może prowadzić do tworzenia chimerycznych genów z pobliskich sekwencji kodujących lub niekodujących. Przykładem powstania w procesie retropozycji takiego specyficznego dla naczelnych genu jest gen *BC200*, który powstał przez insercję 7SL RNA w unikalną sekwencję genomową (Long, 2001). Analizy wykazały, TE są odpowiedzialne za kreowanie różnorodności białek przez zmianę ich funkcji. Przykładem jest ludzki *DAF* (decay accelerating factor), który zawiera dużą ilość *Alu* elementów, dzięki czemu nowo powstałe, przez insercję *Alu,* białko posiada odmienny koniec karbonylowy, a tym samym inną lokalizację komórkową i funkcję. Wykazano, że sekwencje ludzkiego genomu pochodzące z transpozonów DNA są liczne i budują minimalnie 1% ludzkiego genomu. Przykładem przejęcia funkcji komórkowej przez ruchomy element jest CENP-B, białko centromerowe, które pochodzi ze zidentyfikowanego w genomie człowieka transpozonu *pogo* (Smit i Riggs, 1996). Duże znaczenie w ewolucji

ludzkiego genomu mają też retroelementy. Wpływają na regulację genów przez ekspresję genów retrowirusowych, powodują genomowe rearanżacje, są źródłem nowych regulatorowych sekwencji, zaburzają funkcje genu (Khodosevich i inni, 2002). Ponad 42% ludzkiego genomu to retrolelementy: 13% *LINE*, 21% *SINE*, 8% *LTR* elementy. Najbardziej liczną grupą retrotranspozonów w genomie człowieka są powtórzenia *Alu* – około 1 miliona kopii każdy długości 300 bp. Inną ważną klasą są powtórzenia L1 w liczbie około 50 000 kopii i łącznej długości około 7 000 bp. Oba typy retrotranspozonów są aktywne, gdyż generują *de novo* mutacje w genomie człowieka (Anonymous, 2005c). Bardzo ciekawą ewolucyjnie grupą ruchomych elementów LTR są ludzkie *ERV* – retrowirusy endogenne. Niektóre z tych prowirusów zachowały aktywne otwarte ramki odczytu, stąd można u ludzi wykryć ich specyficzną tkankowo aktywność. Przykładem jest białko Env – syncytyna, kodowana przez *ERV-W*. Ekspresja tego genu w łożysku bierze udział w formowaniu syncytotrofoblastu. Aktywność *ERV-W* w całej linii naczelnych tłumaczy różnice w biologii łożyska naczelnych i innych ssaków (Khodosevich i inni, 2002). Wykryto specyficzne dla *H. sapiens sapiens ERV: HERV-K, HS-a* i *HS-b*, które są wciąż aktywne transkrypcyjnie (Khodosevich i inni, 2002). Podobnie jak w poprzednim przykładzie te *ERV* mogą mieć wpływ na ekspresję przyległych genów, przyczyniając się do ewolucji genomu człowieka i do zmian na poziomie fenotypowym. Elementy LTR mają możliwość nabywania nowych funkcjonalnych uprawnień przez specyficzne mutacje – mogą stać się promotorami, wzmacniaczami (Ryc. **3.4.**1) albo w ich sekwencjach mogą pojawić się alternatywne miejsca cięcia czy miejsca wiązania czynników transkrypcyjnych. Przykładem jest mutacja w *HERV-W* pomiedzy TATA-box i CCAAT-box, dzięki czemu *ERV* formuje sekwencje wiążącą dla Sp1 (Khodosevich i inni, 2002). Obecność elementów ruchomych w genomie człowieka dramatycznie zmieniło ekspresję wielu genów. Przykładem działanie TE jako źródła regulatorowych zmian w genomie człowieka jest gen apolipoproteiny (Ryc. **3.4.**1) (Kidwell i Lisch, 2000).

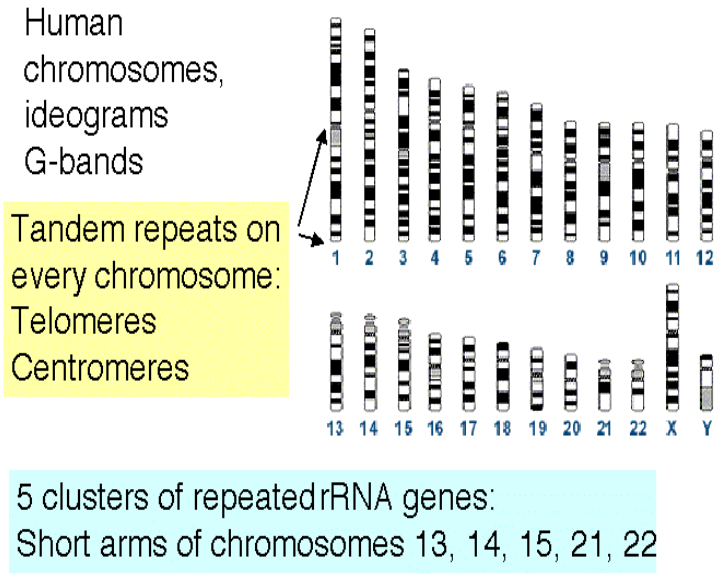



Ryc. **3.4.**1 Wzmacniacz (czerwony) genu *apo(a)* (niebieski) zlokalizowany jest w odległości 20 kb od miejsca startu transkrypcji wewnątrz ruchomego elementu *LINE* (zielony). TE stał się integralną częścią regulacji genu gospodarza. Tkankowa specyficzność genu zapewniona jest przez promotor (żółty) (Kidwell i Lisch, 2000).

Na podstawie ilościowej zawartości elementów retropozonowych w genomie człowieka (7/16 genomu) określono czas ich pojawienia się w genomie na 200 milionów lat temu, aczkolwiek nie można wykluczyć wcześniejszego procesu retropozycji (Brosius, 2003).

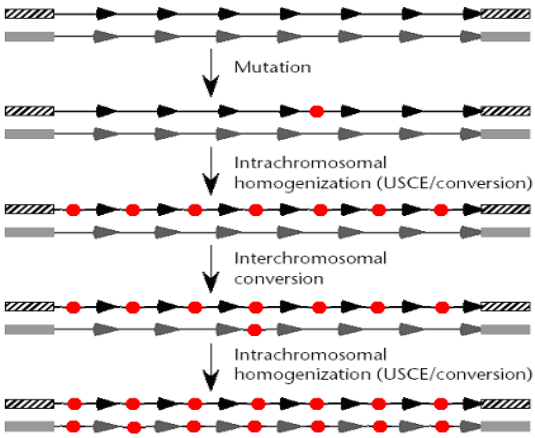
## **3.5.** Ewolucja zespołowa

Ewolucja zespołowa to proces genetyczny, w którym powtarzalne sekwencje DNA są homogenizowane, tak że sekwencje rodzin wielogenowych w obrębie gatunku wykazują wyższy stopień podobieństwa niż homologiczne rodziny genów między różnymi gatunkami. Genetyczne interakcje między kopiami paralogów w genomie mogą prowadzić do homogenizacji (Liao, 2003). Teoria ewolucji zespołowej wyjaśnia, w jaki sposób paralogi genów zachowują te same funkcje po duplikacji. Wyjaśnieniem jest konwersja genów, w której paralogi zachowują podobną funkcję i sekwencję (Zhang, 2003). Nie zostało potwierdzone, czy wszystkie sekwencje powtórzone podlegają zespołowej ewolucji, jednak na pewno temu procesowi podlegają wielogenowe rodziny, kodujące główne komponenty komórkowe na przykład geny kodujące histony, ubikwitynę i białka szoku cieplnego a także wiele niekodujących sekwencji powtórzonych, takich jak satelity (Liao, 2003). Przykładem takich fragmentów w genomie człowieka jest rodzina genów rybosomalnego DNA (Ryc**. 3.5.**1).



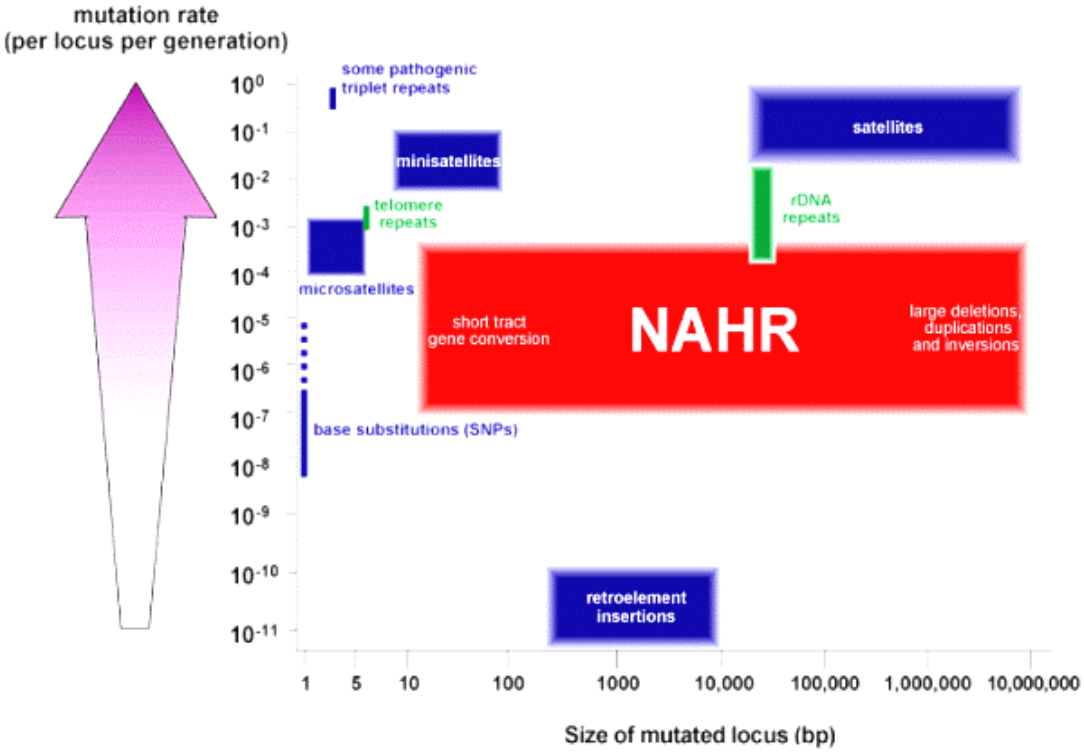

Ryc. **3.5.**1 Idiogram chromosomów *H. sapiens sapiens* (Anonymous, 2005c).

Około 500 kopii sekwencji ludzkiego rDNA jest niezmiernie homogeniczne, wskazując, że podlegały ewolucji zespołowej. Innym przykładem tandemowo powtórzonych sekwencji DNA, podlegających ewolucji zespołowej są α-satelity heterochromatyny centromerowej. Homogenizacja tych rejonów centromerowych jest chromosomowo specyficzna i rozciąga się na długości 3-4 Mb (Ryc. **3.5.**1). Za proces zespołowej ewolucji odpowiedzialny jest mechanizm rekombinacji DNA, a szczególnie proces niekompletnej konwersji genów, a nie proces dokładnego zastąpienia całej sekwencji za pomocą mechanizmu „wycięcia i wklejenia" (Liao, 2003). Takie fragmenty podlegają niesamowicie często zmienności genetycznej, mogą się zmieniać z pokolenia rodzicielskiego na potomne (Ryc. **3.5.**2). Zjawisko to tłumaczone jest mechanizmem nierównomiernego crossing-over chromatyd siostrzanych, które też z kolei prowadzi do homogenizacji sekwencji. Zduplikowane sekwencje podlegają zespołowej ewolucji. Jednakże znaczące zmiany mogą wpłynąć na utratę homologiczności sekwencji, które w konsekwencji będą podlegać niezależnej ewolucji (Liao, 2003). Za wyjaśnieniem teorii zespołowej ewolucji przemawia fakt, że sekwencje rodzin genów muszą być utrzymywane jako homogeniczne, by homogeniczne czynniki transkrypcyjne tych genów móc zgrupować w funkcjonalne kompleksy. Efektem negatywnym zespołowej ewolucji jest przyśpieszenie różnicowania wśród populacji i izolacja gatunków.




Ryc. **3.5.**2 Mechanizm zespołowej ewolucji tandemowo powtórzonych genów. Na ilustracji ukazano tandemowe powtórzenia na dwóch różnych chromosomach. Gatunkowo specyficzne mutacje (czerwone punkty) mogą powstać po specjacji i mogą być eliminowane bądź rozproszone w wielu kopiach w tandemowych powtórzeniach, przez wewnątrzchromosomowe rekombinacje, takie jak wewnątrzchromatynowa konwersja lub nierównomierne crossing-over chromatyd siostrzanych. Konwersja genów między dwoma homologami prowadzi do rozproszenia mutacji i ewentualnej homogenizacji w obrębie gatunku (Liao, 2003).

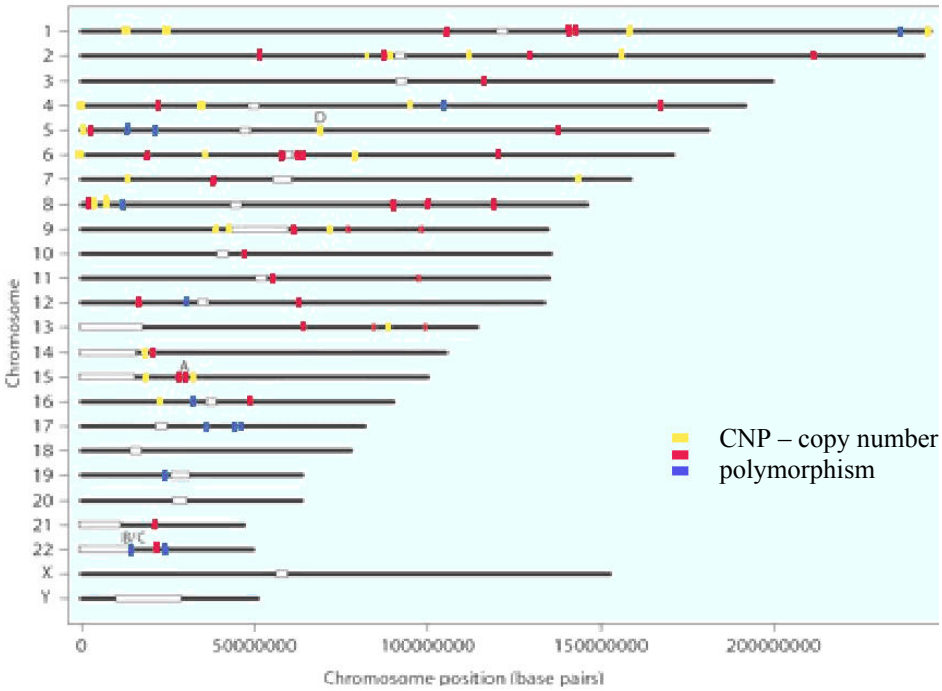
Polimorfizm wykazywany przez sekwencje podlegające zespołowej ewolucji, jest tworzony w oparciu o mutacje synonimiczne bądź ciche. Przykłady polimorfizmu strukturalnego w genomie człowieka (Ryc. **3.5.**3).




Ryc. **3.5.**3 Markery polimorfizu strukturalnego i zmienności w genomie człowieka (Hurles, 2004).

Genom nowo narodzonego osobnika *H. sapiens sapiens* zawiera około 100 nowych mutacji, które stanowią zmienność genomową charakterystyczną dla tej jednostki (Liao, 2003). Część genomu to tzw. "hot spots" – gorące miejsca zmienności, charakteryzujące się setkami możliwych zmian w sekwencji DNA, inne części genomu są „stabilne" i nie wykazują zmienności osobniczej. W sumie około 99,9 % genomu jest wspólna dla dwóch nie spokrewnionych osobników *H. sapiens sapiens* (Anonymous, 2005d). Największa ilość zmian występuje w regionach DNA, które nie wywołują zmian fenotypowych i mogą kumulować się w genomie bez powodowania uszkodzeń.

Dotychczas odkryto 76 kopi „polimorfizmów o szerokim zakresie" tzw. CNP (copy number polymorphism), których pojawienie się wpływ na rozwój i funkcjonowanie organizmu (Ryc. **3.5.**4). Polimorfizmy te zaangażowane są między innymi w powstawanie charakterystycznych dla gatunku *Homo* schorzeń takich jak choroby neurologiczne, nowotwory i otyłość. Pośród 70 genów powiązanych z nowo zidentyfikowanymi CNP znajdowały się geny zaangażowane w rozwój neurologiczny czy schorzenia takie jak: syndrom Cohena, leukemia i odporne na leki formy raka piersi. Ponadto niektóre CNP są identyfikowane dla genów związanych z „normalnym" fenotypem np. dla receptora neuropeptydu Y4, który jest zaangażowany w regulację wagi ciała i łaknienie (Sherwood, 2004).

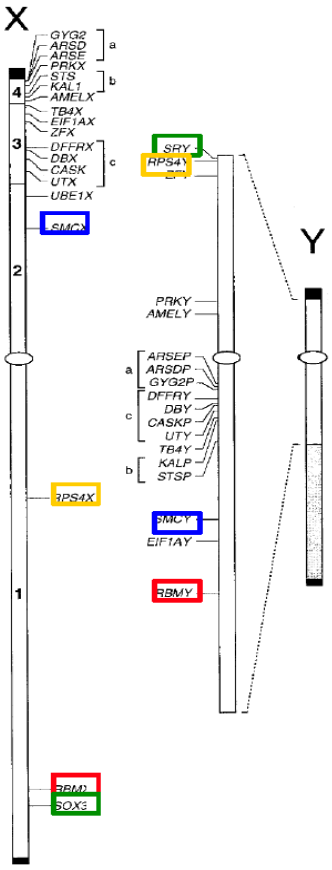



Ryc. **3.5.**4 CNP zidentyfikowane w ludzkich chromosomach (Sherwood, 2004).

Analizowanie mechanizmów powstawania nowych genów w genomie człowieka, poznanie całości architektonicznej genomu człowieka pozwoli zrewidować spojrzenie naukowców na proces ewolucji człowieka jako ciągu powiązanych ze sobą zdarzeń. Jedna z teorii, opublikowana przez Jacobsa w 1977 roku, opisuje ewolucję nowych funkcji i struktur genomowych jako proces „drutowania", ciągłego naprawiania. Jest to pogląd głoszący, że ewolucja nie działa jak dobry inżynier, który zawsze chce wykonać pracę najwyższej jakości, zgodnie z doskonałym planem i specjalnymi, selekcjowanymi materiałami, lecz ewolucja to tzw. „mechanik", który używa wszystkich materiałów, które są dostępne, posługuje się przy tym prymitywnymi narzędziami a efekty jego pracy są dalekie od doskonałości, lecz funkcjonalne.

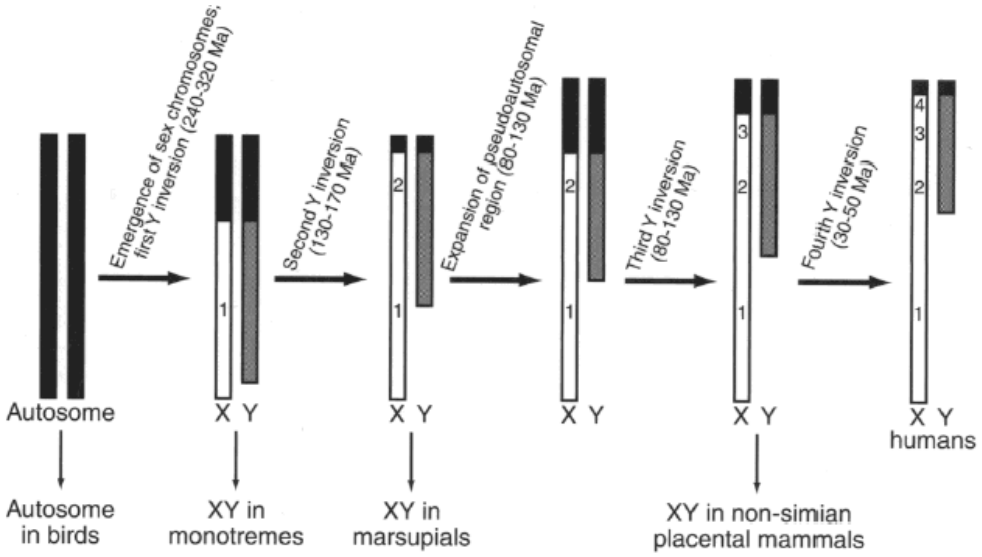
# **4.** Ewolucja chromosomów płci u człowieka

Chromosomy X i Y wyewoluowały z pary autosomów dawnego przodka kręgowców 320-240 milionów lat temu. Mutacja w jednaj z kopii autosomu, spowodowała, że przekształcił się on w chromosom Y, a z zarodków dziedziczących ten chromosom powstawały samce natomiast z pozostałych samice (Jegalian i Lahn, 2003). U *Homo sapiens sapiens* występują 22 pary autosomów i 1 para chromosomów płci. Chromosomy XX u osobników żeńskiej płci genetycznej i chromosomy XY u osobników o męskiej płci genetycznej. Dowody na pochodzenie chromosomów X i Y u człowieka ze wspólnej pary autosomów to: podobne końce chromosomów zdolne do rekombinacji – PAR (pseudoautosomal region), obecność w nierekombinującym z chromosomem X odcinku chromosomu Y genów, będących odpowiednikami genów z chromosomu X. Zaburzenie rekombinacji między X a Y jest spowodowane inwersją fragmentu chromosomu Y, które powstało w procesie ewolucji u dawnego przodka ssaków (Ryc. **4.**1). Zanikanie procesu rekombinacji było procesem wieloetapowym na przestrzeni 200 milionów lat (Graves, 2000).



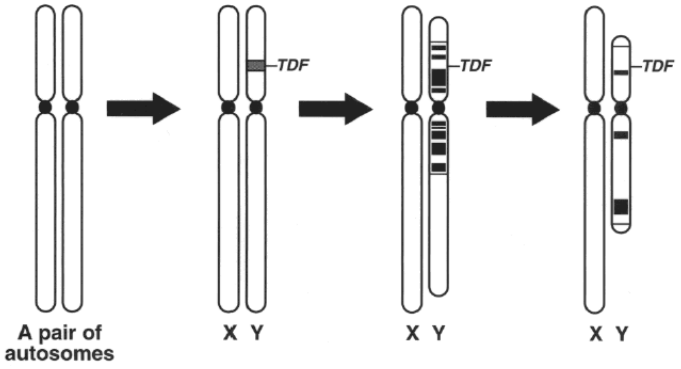

Mnożąc stopień rozbieżności sekwencji chromosomów X i Y przez szacunkowe tempo zmian obliczono, że pierwsza inwersja, która spowodowała zatrzymanie rekombinacji, miała miejsce 320 - 240 milionów lat temu. Kolejna inwersja miała miejsce 170 - 130 milionów lat temu, przed rozdzieleniem się linii torbaczy i łożyskowców. Trzecia inwersja wystąpiła 130 - 190 milionów lat temu, przed różnicowaniem się ssaków łożyskowych. Ostatnia inwersja 50 - 30 milionów lat temu wystąpiła po wyodrębnieniu się linii ewolucyjnej małp wąskonosych, przed rozdzieleniem się linii małp naczelnych i człowieka (Ryc. **4.**2.) (Jegalian i Lahn, 2003, Sherman i Silber, 2005).

Ryc. **4.**1 Zaznaczone kolorami przykłady genów które uległy inwersji w chromosomie Y w stosunku do chromosomu X (Gontarz, 2005 za Lahn, B.T. and D.C. Page. 1999. Science **286:** 964-967).




Ryc. **4.**2 Schemat ewolucji chromosomów płci człowieka z autosomów (Sherman i Silber, 2005).

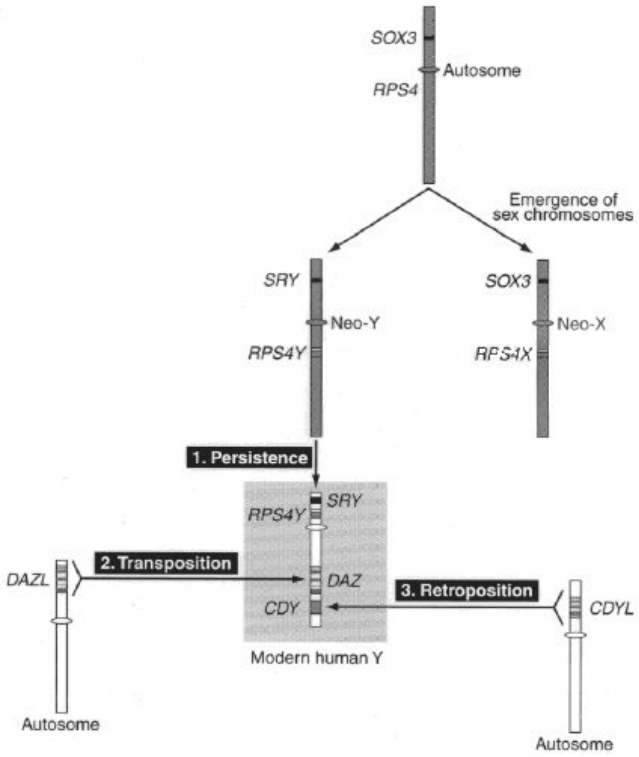
Pozostałością chromosomu przodka ssaków sprzed 170 milionów lat w ludzkim chromosomie X jest region XCR (X conserved region). Mapowanie porównawcze genomów torbaczy i łożyskowców wskazało, że XCR wcześniej stanowiło część autosomu, co potwierdza hipotezę, że chromosomy płci powstały z autosomów. Większość chromosomu Y powstała przez addycję fragmentów innych chromosomów do chromosomów płci (Ryc**. 4.**3).




Ryc. **4.**3 Model powstania chromosomu Y jako ulegającego genetycznej erozji chromosomowi X. Podczas ewolucji, większość genów chromosomu X przodka zanikała z powodu braku rekombinacji między chromosomami X i Y. Obszar TDF (testis determining factor) nie podlegał rekombinacji z chromosomem X, przez co powstał specyficzny chromosom Y (Sherman i Silber, 2005).

Przykładem zdarzenia formującego chromosom w obecnym kształcie jest gen *CDY,* który posiada homologi w chromosomie 6 i zintegrował się z chromosomem Y w procesie retropozycji (Graves, 2000). Pierwotne i dodane do chromosomu Y w toku ewolucji fragmenty innych chromosomów uległy gwałtownej redukcji pod względem rozmiaru i zawartości genów, z tego względu przeciwnie niż XCR, region konserwatywny chromosomu Y (YCR- Y conserved region) zniknął (Graves, 2000). Chromosom Y jest reliktem

niezróżnicowanych proto- X/Y chromosomów, które powstały z autosomów, a ponadto wszystkie geny w chromosomie Y pochodzą z genów z chromosomu X, które później w toku ewolucji nabyły funkcji regulacji spermatogenezy i determinacji płci. Dowodem jest specyficzny dla chromosomu Y gen *SRY*, który powstał przez ewolucję genu *SOX3* z chromosomu X (gen *SOX3* wykazuje ekspresję specyficzną tkankowo w centralnym układzie nerwowym i listwie płciowej) (Ryc. **4.**5). Chromosom Y nabył z autosomów w toku ewolucji wiele genów związanych z męską płodnością a wiele z tych genów nabyło nowe funkcje związane z determinacją płci męskiej (Ryc. **4.**5) (Jegalian i Lahn, 2003).

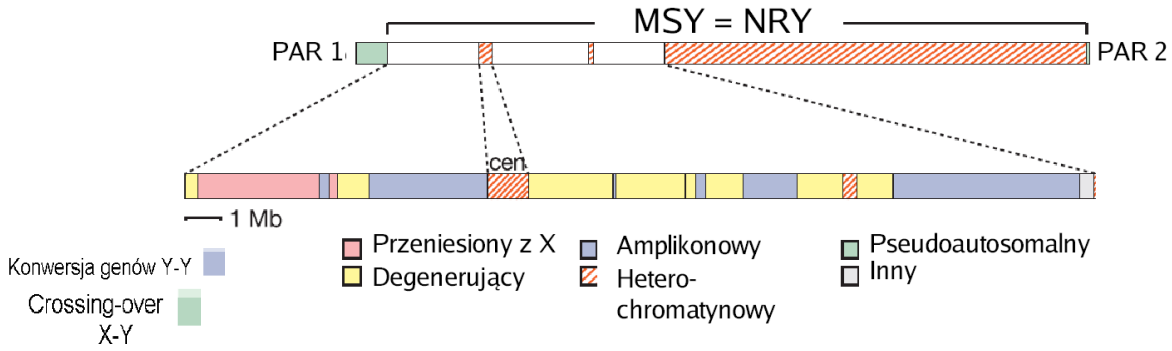



Ryc. **4.**5 Geny kontrolujące spermatogenezę ewoluowały w procesie transpozycji lub retropozycji z autosomów w chromosom Y. Geny przeniesione z autosomów do chromosomu Y – *DAZ, CDY.* Gen przeniesiony z chromosomu X do chromosomu Y – *RBM* (niezaznaczone). *RPS4X* i *RPS4Y* to homologiczna para genów posiadająca równoważne funkcje regulacji metabolizmu („housekeeping" genes). *RPS4X* to przykład jednego z genów, który nie ulega inaktywacji podczas procesu kompensacji i nie ulega przekształceniu w heterochromatynę podczas tworzenia ciałka Barra (Sherman i Silber, 2005).

Geny w chromosomie Y zostały nazwane samolubnymi genami (meiotic drivers), sprawiającymi, że chromosom Y będzie trafiał do więcej niż połowy plemników, a tym samym będzie to zwiększać liczebność kopii „samolubnych genów" w populacji. Zaistniała konieczność zatrzymania wymiany alleli „samolubnych genów" między chromosomem X a Y, gdyż jest to sposób na dziedziczenie genów męskiej płodności z pominięciem chromosomu X samicy, który mógłby bez szkody dla siebie „zgubić" dane geny (Jegalian i Lahn, 2003, Panczykowski, 2005). Jednakże utrata regionów w chromosomie Y i rearanżacje są związane

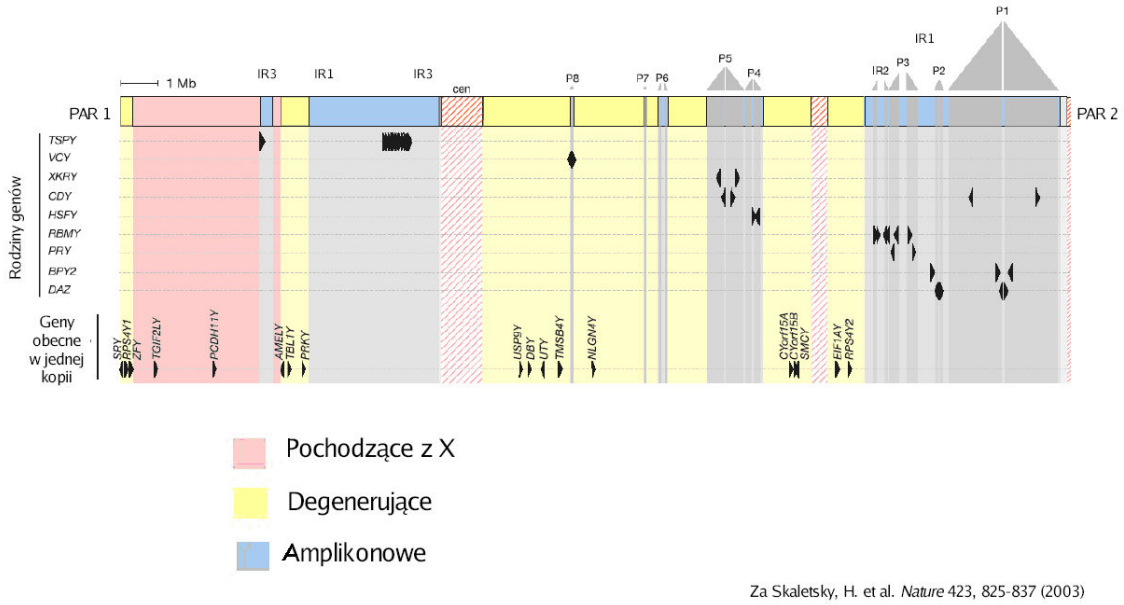
z powstawaniem u mężczyzn nowotworów takich jak rak pęcherza moczowego, nowotwory sznurów płciowych w gonadach, nowotwory płuc i przełyku (Quintana-Murci i inni, 2001).

Chromosom Y degeneruje, tracąc średnio 3–6 genów w ciągu 1 miliona lat. Chromosom Y posiada jednakże wysoką przewagę ewolucyjną, gdyż ze względu na budowę palindromową potrafi ulegać konwersji i prowadzić proces naprawy sekwencji ulegających genetycznej erozji. Szacuje się, że jeżeli proces ten zawiedzie lub okaże się mało efektywny, to za 10 milionów lat chromosom Y nie będzie funkcjonalny w genomie człowieka (Załoga, 2004). 95% chromosomu Y to NRY (non-recombining region of Y) zwany też MSY (male specyfic region) składający się z 3 grup genów: X - transponowanych, X – zdegenerowanych i amplikonowych (Ryc. **4.**6). Chromosomy X i Y posiadają regiony PAR (pseudoautosomal region), które podlegają procesowi crossing – over (Ryc. **4.**6).




Ryc. **4.**6 Schematyczna budowa i charakterystyka regionów chromosomu Y (Gontarz, 2005).

Sekwencje X – transponowane to efekt niedawnego przeniesienia tych sekwencji z chromosomu X. Sekwencje amplikonowe to najliczniejsza grupa genów, zgrupowana jako sekwencje palindromowe (Ryc. **4.**7 i Tab. **4.**1). Geny w obszarze nierekombinującym chromosomu Y nie uległy zmianom (99, 9% homologii), gdyż są genami metabolizmu podstawowego tzw. „housekeepig" genes (Graves, 2000).




Za Skaletsky, H. et al. *Nature* 423, 825-837 (2003)

Ryc. **4.**7 Rozmieszczenie genów w chromosomie Y (Gontarz, 2005).
Tab. **4.**1 Charakterystyka klas genów w chromosomie Y (Bartnik, 2003, zmienione)

| Klasy sekwencji | Cechy charakterystyczne | Dł. (Mb) | Liczba genów | Ekspresja |
|---|---|---|---|---|
| Przeniesione z X | 99% homologii do X | 3,4 | 2 | Ekspresja w jądrach i mózgu płodu i dorosłego |
| Degenerujące | Homologi z X, geny i pseudogeny jednokopijne | 8,6 | 16 | Większość powszechnie eksprymowana |
| Amplikonowe | Duże podobieństwo do innych sekwencji w MSY | 10,2 | 60 (9 rodzin), | Wyłącznie lub głównie w jądrach |

Jednorodność kopii amplikonowych (99,9% identyczności) to sposób na utrzymanie w procesie ewolucji, za pomocą mechanizmu konwersji, bowiem nie zidentyfikowano procesu rekombinacji chromosomu Y samego z sobą, elementów, które są potrzebne do utrzymania płci męskiej (Bartnik, 2003). Uważa się, że w razie degeneracji chromosomów płci z autosomów powstaną nowe chromosomy płci, które będą zawierać geny, które w procesie ewolucji przejmą funkcję determinacji płci (Graves, 2000).

Kobiety mają dwa chromosomy X, mężczyźni - X dziedziczony po matce i chromosom Y pochodzący od ojca. U kobiet geny obu chromosomów płciowych ulegają ekspresji. W chromosomie X, który ulega kondensacji do heterochromatyny i staje się tzw. ciałkiem Barra nawet 25 proc. genów, czyli 200-300 genów może być aktywnych. Przykład genu nie ulegającego przekształceniu w heterochromatynę jest *RPS4X* (Ryc. **4.**5). Oznacza to, że aż 1% ludzkiego genomu działa inaczej u kobiet niż u mężczyzn. Statystycznie taka sama

różnica występuje między genomem *Homo sapiens sapiens* a *Pan troglotydes* - tłumaczy prof. Huntington Willard z Duke University (Wojtasiński, 2005). Ponadto chromosom Y okazał się „słabym", „cherlawym" chromosomem w porównaniu z chromosomem X, gdyż obecność chromosomu płci u *H. sapiens sapiens* nie jest jednoznaczna z determinacją płci męskiej. Uszkodzenie genów kodujących receptor dla insuliny, brak enzymu 5-α-reduktazy 2 lub aktywnej postaci hormonu dihydrotestosteronu sprawia, że mimo genotypu 46 XY, taki osobnik jest fenotypową kobietą (Załoga, 2004).

Analizy porównawcze genomów różnych zwierząt wykazały, że ssaczy chromosom X jest najbardziej konserwatywnym chromosomem, zachowującym niezmieniony rozmiar, zawartość i kolejność genów (Kohn i inni, 2004). Ludzki chromosom X składa się z trzech ewolucyjnych warstw. Istnieją dwie teorie powstania chromosomu X u ludzi. Pierwsza: warstwy 1 i 3 były obecne w chromosomie przodka kręgowców i podległy rozszczepieniu w genomie przodka zwierząt czworonożnych i powtórnej fuzji w genomie przodka łożyskowców. Alternatywą jest koncepcja, że warstwa 1 i 3 początkowo były odseparowane i dwa razy uległy niezależnej fuzji – w genomie łożyskowców i w genomie przodków ryb kostnoszkieletowych. Warstwa 2 powstała przez dodanie fragmentu chromosomu do poprzednich warstw chromosomu X w genomie przodka kręgowców (Kohn i inni, 2004).

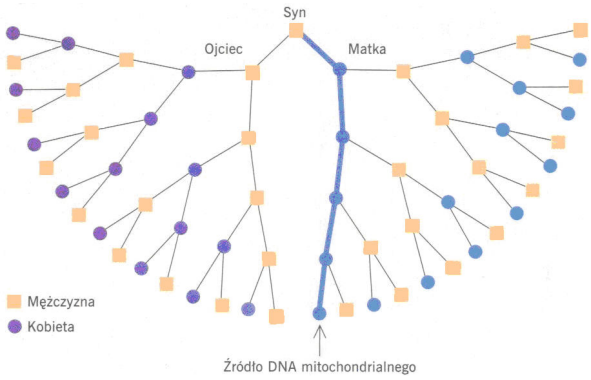
Chromosom Y okazał się jednym ze źródeł haplotypu, służącego do tworzenia genealogicznych drzew pochodzenia człowieka. Markery polimorfizmu w chromosomie Y: insercje, delecje, substytucje, mikrosatelity i minisatelity służą do obrazowania unikalnych molekularnych zdarzeń w ewolucji człowieka, są markerami charakterystycznymi dla grup ludzi, mogą służyć do tworzenia filogenetycznych powiązań grup ludzi i ich geograficznej dystrybucji (Quintana-Murci i inni, 2001). Różne haplotypy chromosomu Y, zgrupowane w haplogrupy, reprezentują kolejne gałęzie drzewa rodowego, różniące się mutacjami, które pojawiły się w czasie ewolucji. Wyznaczono haplotyp chromosomu Y, który jest przodkiem wszystkich istniejących na świecie haplotypów chromosomu Y. Mężczyznę, który jest przodkiem obecnych haplotypów Y i żył w populacji około 100 000 osobników nazwano "Y – chromosomowym Adamem" (Jobling, 2003). Analizy wykazały, że zgodnie z hipotezą 'out of Africa', najstarsza haplogrupa chromosomy Y pochodzi z afrykańskiej populacji, co dowodzi afrykańskiego pochodzenia *H. sapiens sapiens.* W przeciwieństwie do pozostałych części genomu człowieka, wykazujących niewielkie zróżnicowanie między populacjami, większość haplogrup wykazuje geograficznie ograniczoną dystrybucję a profil haplogrup poszczególnych populacji jest charakterystyczny i wyróżniający dla danej populacji. Zjawisko zaostrzenia zróżnicowania między chromosomami Y jest spowodowane tendencją małego

tempa migracji mężczyzn, gdyż po założeniu rodziny to kobieta zazwyczaj przemieszcza się do miejsca przebywania partnera (Jobling, 2003). Poliginia, wysoki wskaźnik umieralności u mężczyzn także doprowadziły do zmniejszenia zmienności wewnątrzpopulacyjnej chromosomu Y (Seielstad i inni, 1998).

## **5.** Zmienność mtDNA i pochodzenie nowoczesnych ludzi

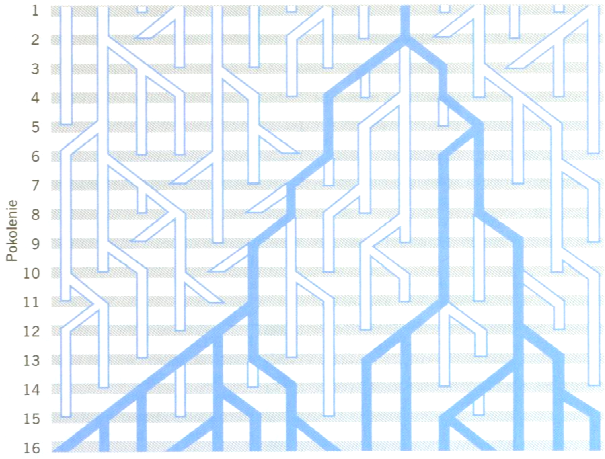
W każdej komórce ciała człowieka znajdują się tysiące kopii dwuniciowego mitochondrialnego DNA. Dostępność tak dużej ilości kopii sprawia, że mtDNA jest materiałem genetycznym najczęściej izolowanym i analizowanym ze szczątek archeologicznych. Dzięki brakowi rekombinacji i matczynemu sposobowi dziedziczenia mtDNA, stało się podstawą konstrukcji ewolucyjnej historii linii rodzaju *Homo.* Badania polimorfizmu mtDNA ograniczyły się głównie do fragmentu zwanego D-loop (D-pętlą), która stanowi 7% mitochondrialnego genomu (Załącznik 2). Przyczyna wyboru tej sekwencji leży w wysokiej częstotliwości występowania substytucji, dzięki czemu można analizować relatywnie krótkie odcinki DNA, wyznaczyć różnice miedzy blisko spokrewnionymi sekwencjami (Ingman, 2005). Tempo procesu substytucji w mtDNA jest 5 – 10 razy wyższe niż w jądrowym DNA, a tym samym zapewnia więcej informacji niż jądrowe DNA na temat niedawnych ewolucyjnych zdarzeń (Ingman i Gyllensten, 2001), ponadto większość mutacji w mtDNA ma charakter neutralny, nie zaburza funkcji organellum, więc nie podlega eliminacji na drodze doboru naturalnego. Wadą badania zmienności mtDNA jest ograniczona ilość wykrywanych polimorfizmów, a tym samym dwuznaczność i niejasności w konstruowaniu relacji filogenetycznych. Ponadto mtDNA posiada tylko po jednym locus dla 37 genów: 13 polipeptydów, 22 transportowych RNA, 2 rybosomalnych RNA. Dlatego jego rola informatywna jest ograniczona i może służyć do odzwierciedlenia genetycznej historii ewolucji kobiet (Ingman i Gyllensten, 2001). Inne wady badania zmienności D-loop mitochondrailnego DNA to: obecność mutacji powrotnych .i tzw. „gorących miejsc' mutacji, które wpływają na zafałszowanie wyników zmienności mtDNA, a także substytucja równoległa, obecna w tych samych miejscach w genomie mitochondrialnym w niespokrewnionych liniach osobników (Ingman, 2005).

Dane zawarte w DNA mitochondrialnym pozwalają określić mateczne linie rodowe wszystkich żyjących dziś osób aż do ich wspólnego przodka (Ryc. **5.**1).




Ryc. **5.**1 Rodowód jednej osoby. Rodowód mitochondrialny tej osoby prowadzi tylko do jednej osoby w każdym pokoleniu przodków (Cann i Wilson, 2003).

Wykazano, że mtDNA z populacji afrykńskich jest bardziej zróżnicowany niż w każdej innej porównywanej populacji, co potwierdza afrykańskie pochodzenie populacji przodków wszystkich dzisiejszych populacji. Afrykańskie pochodzenia przodków, poparte analizami mtDNA zwane jest hipotezą „mitochondrialnej" lub „afrykańskiej Ewy" (Ryc. **5.**2) (Anonymous, 2005e).




Ryc. **5.**2 Rodowód 15 kobiet z jednej populacji. W każdym pokoleniu część linii żeńskich wygasa, inne się rozwijają. W końcu jedna z linii matczynych wypiera pozostałe, wskazując pochodzenie geograficzne i genetyczną sekwencję haplotypu mtDNA. Kobieta, która dała początek tej populacji może zostać nazwana „mitochondrailną" Ewą. Pozostałe „mitochondrialne linie" wygasły, jeśli nie było w nich potomstwa żeńskiego (Cann i Wilson, 2003).

Populacja, z której pochodziła "mitochondrialna Ewa" to tylko jedna z populacji, które dostarczały potomstwa w każdym pokoleniu. Każda z innych kobiet żyjących w owym czasie mogła "włączyć" przez synów swój unikalny genom w dziedzictwo populacji. Analizy wykazały, że wśród 10-20% obecnej populacji można wyróżnić co najmniej 2 typy mtDNA (Wieland, 1998).

Badania mtDNA potwierdziły także korelację między środowiskiem życia – niszą ekologiczna a korzystnymi mutacjami, które są dowodami na pozytywną selekcję zmieniającej się sekwencji genomu. Na przykład jedna z mutacji w mtDNA spowodowała, że oddychanie tlenowe w mitochondriach stało się bardziej efektywne, a mitochondria zaczęły wytwarzać większą ilość ATP. Mutacja ta, pozwalająca na przystosowanie się do ekstremalnie chłodnego klimatu przez zwiększoną produkcję ciepła, została zidentyfikowana wśród 75% badanej populacji, zamieszkujących rejony arktyczne (Anonymous, 2005e).

# **6**. Niekodujące bloki DNA w ewolucji

Niekodujące bloki DNA były często pomijane w analizowaniu molekularnych aspektów ewolucji. Analizy nie podlegającej translacji części genomu wykazały ślady naturalnej selekcji. Odrzucenie poglądu, że niekodujące bloki DNA są zgrupowaniem nieznaczących sekwencji, tzw. „junk" DNA, może zrewolucjonizować pogląd na sposób i mechanizmy ewolucji genomu.

Ważne w aspekcie ewolucji genomu człowieka jest zrozumienie mechanizmów i funkcjonalności sekwencji niekodujacych, które stanowią 98-99% genomu (Gaffney i Keightley, 2004). Wykryto, że w regionach wewnątrzgenowych, intronowych, rejonach flankujących i nie podlegających translacji (UTR – **u**n**t**ranslated **r**egion) genów, często powiązanych z eksonami i sekwencjami regulatorowymi, zachowana jest znaczna konserwatywność sekwencji niekodujących. Rozważa się, czy te CNG (conserved non-genic sequences), świadczące o ograniczeniach selekcyjnych informują też o funkcjonalności niekodującego DNA w genomie człowieka na poziomie strukturalnym i regulacji genów. Większość sekwencji CNG ulokowana jest w regionach ubogich w pary GC, a tym samym o niższej częstotliwości mutacji, co też może być wyjaśnieniem zachowania konserwatywności przez CNG sekwencje. Zachowanie konserwatywności sekwencji wśród różnych grup zwierząt może być rezultatem selektywnej optymalizacji funkcji, gdyż sekwencje neutralne powinny były ulegać przypadkowym mutacjom, czego nie obserwuje się dla sekwencji CNG. Natomiast z całą pewnością naturalnej selekcji w czasie ewolucji genomu człowieka podlegają sekwencje intronowe. Potwierdzenie funkcjonalności tych sekwencji wiązałaby się z odnalezieniem w nich sekwencji regulatorowych, nie odkrytych do tej pory eksonów kodujących białka, genów niekodujacego RNA (ncRNA) i innych funkcjonalnych sekwencji nietranskrybowanych. Analizy za pomocą algorytmów przewidujących kodujące struktury w nieznanej sekwencji, ujawniły możliwość istnienia w nich niewielkiej liczby genów kodujących białka. Jednakże hipoteza ukrytych lub nieopisanych eksonów w sekwencjach CNG została odrzucona a za przyczynę konserwatywności tych sekwencji uważa się syntenicznośc (Gaffney i Keightley, 2004).

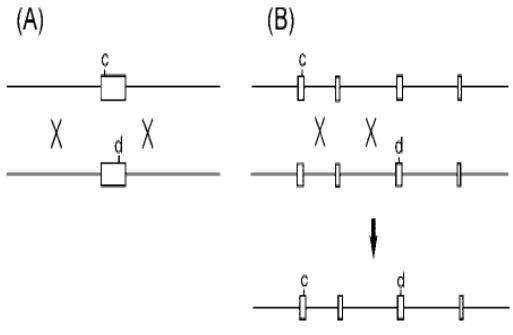
W 1985 roku Cavalier-Smith ogłosił hipotezę, że introny to „junk" DNA, nie pełniące funkcji w genomie (Fedorova1 i Fedorov, 2003). Powstała wtedy koncepcja intronów jako „samolubnego" DNA. Niepodważalnie wszystkie elementy świata molekuł na bazie węgla, muszą posiadać pewną „samolubność" by przetrwać pod presją naturalnej selekcji,

a późniejsze analizy genomów wykazały, że teoria „junk" DNA nie może zostać potwierdzona w stosunku do intronów.

Wykazano, że introny posiadają wiele funkcji regulatorowych i biorą udział w ewolucji genów. Wykazano, że jedna z grup intronów – spliceosomalne introny pełnią istotne role w ewolucji genów: posiadają elementy regulatorowe transkrypcji, biorą udział w splicingu, są enhacerami mejotycznego crossing-over wewnątrz sekwencji regulatorowych, zastępują eksony podczas procesu tasowania sekwencji genetycznych (Fedorova1 i Fedorov, 2003). A jednym z niepodważalnych dowodów funkcjonalności intronów było wykazanie, że drugi intron ludzkiego genu apolipoproteiny B jest wymagany do ekspresji tego genu w wątrobie (Fedorova1 i Fedorov, 2003). Sekwencje intronowe mogą ewoluować szybciej niż niekodujące sekwencje w pobliżu eksonów, co świadczy o podleganiu przez introny procesowi pozytywnej selekcji, a tym samym jest kolejnym dowodem na funkcjonalność intronów. W genomie człowieka przypada około 6-7 intronów na 1 gen i stanowią średnio 95% pierwotnego transkryptu (Mattick i Gagen, 2001).

W elementach promotorowych genów duża część sekwencji to regiony niekodujące, zapewniające źródło pojawienia się w czasie ewolucji nowych elementów regulujących ekspresję genów. Dla przykładu: pojawienie się 8-nukleotydowego elementu regulatorowego w sekwencji genomowej wynosi średnio $4^8 = 6.5 \times 10^4$ mutacji punktowych. Biorąc pod uwagę, że tempo mutacji jest wolne – około $10^{-8}$ na jedno miejsce w genomie w czasie 1 generacji, pojawienie się takiego elementu regulatorowego w jednym osobniku generacji 6 milionowej wynosi $10^{-3}$. W następnym pokoleniu pojawi się już u 10 osobników. Z tego względu niekodujące regiony genomu są źródłem materiału dla ewolucji elementów regulatorowych promotorów (Fedorova1 i Fedorov, 2003).

Najbardziej istotną funkcją intronów w procesie ewolucji jest zwiększenie tempa mejotycznego crossing-over wewnątrz sekwencji kodujących, co jest ważnym procesem w przyśpieszeniu ewolucji genomu (Ryc. **6.**1)




Ryc. **6.**1 A) Mejotyczne crossing-over w genie pozbawionym intronów. Crossing-over zachodzi najczęściej poza sekwencjami kodującymi. B) Mejotyczne crossing-over w genie zawierającym introny. Crossing over często pojawia się w sekwencjach intronowych. Introny rozpowszechniają niekodujące sekwencje z regionów promotorowych do regionów kodujących, dlatego prawdopodobieństwo crossing-over miedzy kodującymi regionami genu wzrasta. Nastąpiła translokacja genów na jeden chromosom. c, d – rodzicielskie allele genów (Fedorova1 i Fedorov, 2003).

# **7.** Wykorzystanie sekwencji DNA w badaniu historii ludzkości

Rozwój molekularnej wiedzy na temat ewolucji człowieka jest uzależniony od trzech sposobów analizy podstaw ewolucyjnej dywergencji gatunków:

- analizy grup blisko spokrewnionych gatunków,
- sekwencjonowania DNA ze skamieniałości,
- charakterystyki genetycznej zmienności w obrębie gatunku (Olson i Varki, 2003).

W przypadku genomu człowieka każda z powyższych strategii wydaje się mieć pewne wady i ograniczenia wynikające z braku blisko spokrewnionego gatunku siostrzanego czy niedoskonałości narzędzi i metod badań.

W 1997 roku zespół ekspertów pod kierownictwem Svante Pããbo z Instytutu Ewolucyjnej Antropologii Maksa Plancka w Lipsku po raz pierwszy wyizolował mtDNA z kości Neandertalczyka i poddał go szczegółowej interpretacji (Wong, 2002). Taka analiza „DNA skamieniałości" z wymarłych linii *Homo* pozwala na kreowanie koncepcji ewolucji naczelnych, ale jego potencjał wyjaśniania zdarzeń ewolucyjnych jest ograniczony. Limituje go mała ilość próbek zredukowana w zasadzie do mało zróżnicowanego haplotypu mtDNA. Perspektywy rozszerzenia tego typu analiz o biologicznie informatywne próbki jądrowego DNA, izolowanego ze skamieniałości wymarłych linii *Homo,* wydają się być niewielkie ze względu na chemiczną niestabilność DNA (Olson i Varki, 2003) i obecnie dostępne niewystarczająco efektywne techniki i narzędzia sporządzania takich próbek (Womack, 2004).

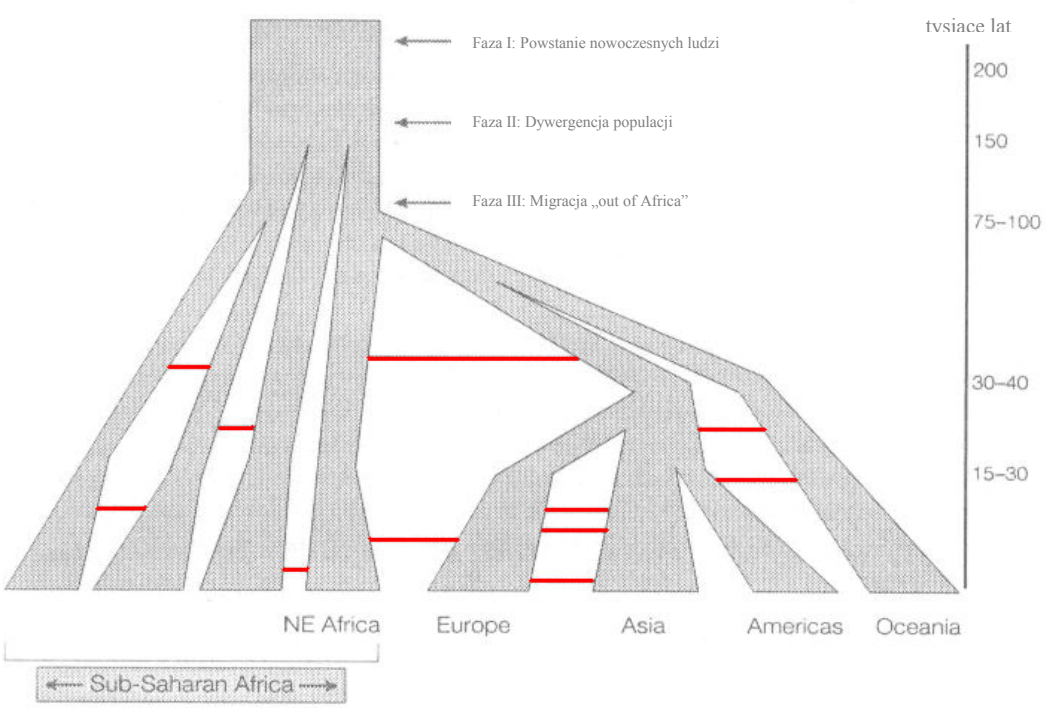
Obecność molekularnej zmienności wśród populacji ludzkich została po raz pierwszy zademonstrowana w 1919 roku przez Hirszfelda i Hirszfelda, w naukowej publikacji, opisującej pierwszy odkryty gen człowieka, determinujący grupy krwi ABO. R.A. Fisher wskazał, że ewolucja może być zrekonstruowana przez analizę w populacji genotypów z wieloma loci na chromosomach i sposobu ich dziedziczenia. Termin haplotyp dla kombinacji alleli z wieloma loci w chromosomie został wprowadzony przez Ceppelini'ego w badaniach nad głównym kompleksem odpowiedzi tkankowej (MHC - major histocompatibility complex). Immunologiczne metody badań pozostawały jedyną satysfakcjonującą techniką dla wykrywania zmienności genetycznej do czasu wprowadzenia przez Paulinga elektroforezy jako narzędzia analizy zmienności w badaniach mutacji genów hemoglobiny (Cavalli-Sforza i Feldman, 2003). Pierwsza książka na temat frekwencji alleli w populacji została

opublikowana w 1954 roku, w której lista ograniczona była do serologicznej zmienności. Dopiero rozwój metody PCR od 1986 roku sprawił, że stała się możliwa generalna analiza zmienności DNA. Natomiast rozwój zautomatyzowanego sekwencjonowania DNA we wczesnych latach 90-tych XX wieku wytyczył kierunek systematycznych badań zmienności genomu w aspekcie ewolucyjnej biologii człowieka. Niemniej jednak molekularne markery zapewniły, wcześniej nieosiągalne, odpowiedzi na pytania o ewolucję człowieka, migracje i historyczne powiązania rozdzielonych populacji ludzkich. Mimo, że analizy genetycznych zmienności człowieka zapewniają wgląd w procesy ważne podczas ostatnich etapów ewolucji genomu człowieka na przykład rozwój mowy, sztuki, skomplikowanych narzędzi, rzadko pozwalają na analizę dawniejszych zdarzeń ewolucyjnych. Większość z historii przodków ludzi została „wymazana" z puli genów, gdy specyficzne dla ludzi allele zostały rozproszone w populacji (Olson i Varki, 2003).

Sekwencje DNA dostarczają bardziej szczegółowych danych do analiz filogenetycznych rodzajów, zmienności wśród gatunku niż jakiekolwiek dane archeologiczne czy paleontologiczne. Natomiast znajomość historii ewolucyjnej człowieka pozwoli poznać wzory wariacji i użyć ich do identyfikacji alleli lub genotypów predysponowanych do określonych chorób (Tishkoff i Williams, 2002).

Początkowo analizy skupiały się na porównywaniu zmian w sekwencjach DNA indywidualnych jednostek i badaniu w DNA miejsc segregacji w obrębie populacji, na podstawie których wyznaczano zmiany w rozmiarze badanych populacji. Na podstawie badania sekwencji mtDNA udało się oszacować czas i wyznaczyć rozpowszechnienie różnych haplotypów, kierunek ekspansji nowoczesnych ludzi w Europie (Emerson i inni, 2001). Statystyczne podsumowanie różnic w genomie człowieka przyczyniło się także do porównawczej analizy tempa rozpowszechnienia różnych typów HIV-1 (human immmunodeficiency virus type 1).

Analizy polimorfizmów a także zmienności mtDNA, chromosomu Y i X wskazują, że afrykańskie populacje są najbardziej zróżnicowanymi populacjami założycielskimi. Tym samym badania DNA potwierdziły model 'out of Africa' pochodzenia ludzi (Ryc. **7**.1) (Tishkoff i Williams, 2002).

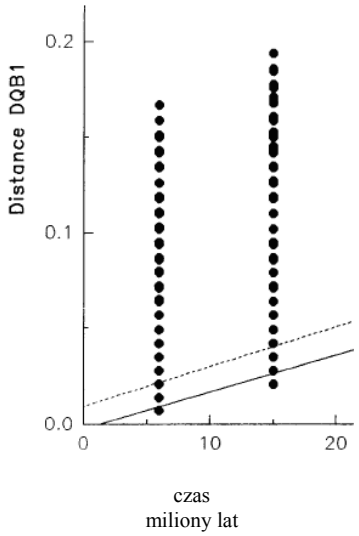



Ryc. **7.**1 Model demograficznej historii populacji *H. sapiens sapiens*. Północnowschodnie populacje afrykanskie dywergowały wcześnie z populacji subsaharyjskich. Mała część populacji północnowschodniej migrowała z Afryki około 100 000 lat temu i gwałtownie rozprzestrzeniła się na pozostałe rejony Ziemi. Filogenetyczne analizy mtDNA i Y chromosomu wskazują, że większość linii przodków to specyficzne linie afrykańskie, z której dywergowały wszystkie linie nieafrykanskie. Afrykańskie linie posiadają największą ilość specyficznych haplotypów autosomalnych, mtDNA, X-chromosomowych i Y-chromosomowych. Linia nieafrykańska posiada jedynie część genetycznej różnorodności prezentowanej przez populacje afrykańskie, co jest potwierdzeniem genetycznego wąskiego gardła oraz efektu założyciela i redukcji genetycznej zmienności podczas ekspansji ludzi z Afryki na inne kontynenty. Czerwone linie obrazują przepływ genów. (Tishkoff i Williams, 2002).

Mitochondrialne DNA oraz chromosom Y są wykorzystywane do badania pochodzenia *H. sapiens sapiens* i wyjaśniania filogenetycznych powiązań. Różnice w rozrodzie i tempie migracji mężczyzn i kobiet wpływają na geograficzny wzór i różnorodność genetyczną chromosomu Y i mtDNA. Na podstawie porównawczej analizy geograficznej dystrybucji SNP (single nucleotide polymorfizm) DNA mitochondrialnego, autosomalnego i chromosomu Y wyznaczono, że uzyskane rozbieżności w tempie mutacji DNA (tempo mutacji dla mtDNA było 10-20 razy większe niż autosomalnego lub Y DNA) świadczą o istnieniu zjawiska polygynii, zwiększonego tempa śmiertelności wśród mężczyzn, zwiększonej tendencji do migracji kobiet, a także naturalnej, zrównoważonej selekcji, która selektywnie „wymiatała" niektóre wzory zmienności chromosomu Y (Seielstad i inni, 1998). Analizy DNA populacji *H. sapiens sapiens* z całego świata dostarczają danych na temat rozmiaru populacji w czasie, tempa wzrostu lub spadku liczebności populacji, migracji i wzrostu liczebności w podzielonych populacjach (Emerson i inni, 2001). Informacje na temat ilości zdarzeń mutacyjnych w genomie i ich kolejności sekwencji pozwalają szacować rozmiar populacji w

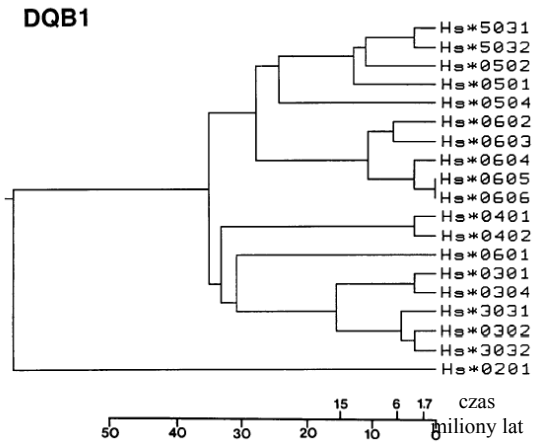
określonym przedziale czasowym. Analiza ewolucji określonych fragmentów genomu człowieka np. polimorfizmów krótkich tandemowych powtórzeń – mikrosatelitów lub polimorfizmu pojedynczych nukleotydów, pozwala na opisanie demograficznej historii ludzkości (Emerson i inni, 2001). Na podstawie analiz zmienności autosomalnego DNA oszacowano, że założycielska populacja liczyła około 10 000 osobników a analizy mtDNA wskazują, że było to około 5 000 osobników (Tishkoff i Williams, 2002).

Na podstawie analizy ewolucji kilku polimorficznych loci genów np. MHC (major histocompatibility complex) czy genu *BQB1*, można wnioskować o wielu wydarzeniach w dziejach ewolucji rodzaju *Homo*. Badania te pozwalają oszacować liczebność populacji założycielskiej, śledzić tempo zmian polimorficznych, wskazywać hipotetyczny czas zaistnienia wąskiego gardła populacji założycielskiej. Badania mtDNA i chromosomu Y oraz autosomalnych polimorfizmów mikrosatelitarnych potwierdziły zaistnienie wąskiego gardła populacji założycielskiej (Ayala i Escalante, 1996). Na podstawie badań czasu dywergencji alleli dwóch gatunków można określić czas dywergencji tych gatunków, przy założeniu, że czas rozdziału linii dwóch gatunków jest niewiele krótszy od czasu dywergencji alleli. Na takiej podstawie dokonano przydatnych oszacowań czasu dywergencji orangutanów i ludzi na 15 milionów lat (Ryc.**7.**2) (Ayala i Escalante, 1996).




Ryc. **7.**2 Wykres ilustruje zależność genetycznych różnic między parami alleli- tempa ewolucji *DQB1* w stosunku do czasu dywergencji dwóch gatunków. Na tej podstawie określono na 6 milionów lat czas dywergencji gatunków *Homo - Pan, Homo - Gorlla, Pan - Gorilla*. Na 15 milionów lat określono czas dywergencji gatunków *Pongo - Homo* (Ayala i Escalante, 1996, zmodyfikowane).

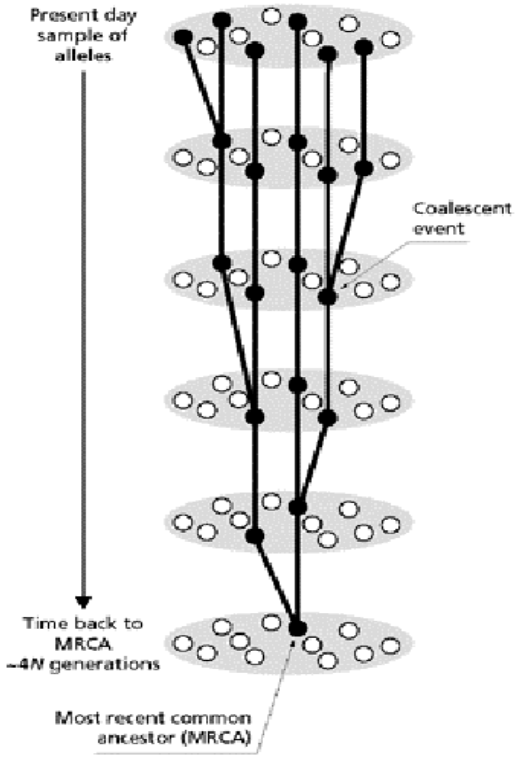
Na podstawie zmienności między allelami można oszacować czas i kolejność powstania konkretnych alleli (Ryc.**7.**3).




Ryc.**7.**3 Genealogia 19 *DBQ1* ludzkich alleli. Genealogia sugeruje, że 7 linii alleli powstało 15 milionów lat temu. 12 linii alelli dywergowało z wcześniejszych linii 6 milionów lat temu (Ayala i Escalante, 1996).

# **8.** Teoria kolalescencji

Teoria koalescencji weryfikuje genealogiczne powiązania między genami. Zgodnie z tą teorią, wszystkie allele obecne w danej puli muszą pochodzić z pojedynczego allelu (Ayala i Escalante, 1996) (Ryc. **8.**1). Dla neutralnych alleli w przypadkowo kojarzonej populacji można określić czas koalescencji alleli lub liczbę osobników w generacjach. Na podstawie przykładowej liczby genów, matematyczny aspekt teorii koalescencji jest w stanie oszacować liczbę odległych genów, które istniały w określonym czasie, w określonej liczbie generacji. I tak na przykładzie polimorfizmu *HLA* (human leucocyte antigene) i szacowanej ilości zmian mutacyjnych w przeliczeniu na znaną liczbę generacji obliczono, że założycielska populacja *H. sapiens sapiens* musiała liczyć około 131 000 osobników. Podobne wyniki otrzymano dla analiz polimorfizmu genu *DRB1* – populacja przodków miała szacowany rozmiar 100 000 osobników (Ayala i Escalante, 1996).




Ryc. **8.**1 Schemat zdarzenia koalescencji w populacji (Anonymous, 2003).

# **9.** W poszukiwaniu genów człowieczeństwa

Powstało wiele hipotez tłumaczących unikalność ludzi, większość proponująca jako wytłumaczenie nowe aspekty zachowania i czynniki środowiskowe takie jak: dwunożność, wykształcenie mowy, używanie narzędzi, rozwój społeczności, kooperatywność podczas polowań, używanie ognia, przygotowywanie pożywienia, zmiana sposobu odżywiania, gwałtowne zmiany klimatyczne. *H. sapiens sapiens* wyróżnia się także kilkoma aspektami biologii rozrodu takimi jak: obecność menopauzy, wzrost gruczołów piersiowych poza okresem laktacji, owulacja bezrujowa. Z drugiej strony genetyczne procesy takie jak rearanżacje chromosomowe, duplikacje sekwencji, obecność elementów ruchomych miały wpływ na genomy przodków *Homo*, dzięki czemu doszło do wykształcenia nowych adaptacji środowiskowych i unikalnych dla człowieka cech. Analizy genomu człowieka pod względem jego unikalności mogą dostarczyć podstaw do rozumienia genetycznych mechanizmów chorób, biologii reprodukcji i procesu ewolucji człowieka. Wytłumaczenie fenomenu człowieczeństwa wymaga poznania genetycznych etapów ewolucji genomu człowieka, a pewne ślady takiej ewolucji, swoiste „odciski palców" są ukryte w genomie człowieka i „czekają" na rozszyfrowanie. Najprawdopodobniej w powstaniu unikalnych cech ludzkich uczestniczy proces utrzymania cech przodków w kombinacji z unikalnymi dla linii ludzi genetycznymi zmianami (Gagneux i Varki, 2001).

Różnice między małpami naczelnymi a człowiekiem obejmują różnice cytogenetyczne w typie i liczbie powtórzonych sekwencji DNA, obfitości i dystrybucji elementów ruchomych, inaktywacji specyficznych genów, zmianach w sekwencji genów, duplikacjach, polimorfizmie pojedynczych nukleotydów (SNP), różnicach w ekspresji genów, splicingu mRNA (Gagneux i Varki, 2001).

Jakie typy zmian i których genów są znaczące dla powstania gatunku? Poszukuje się zmian genetycznych w linii człowieka, które mogłyby być odpowiedzialne za specyficzne dla ludzi cechy. W tym celu w National Human Genome Research Institue of the US National Institutes of Health pracuje się nad sekwncjonowaniem genomu najbliższego krewniaka człowieka - szympansa, z którym dzieliliśmy wspólnego przodka około 5 milionów lat temu. Sekwencje genomu szympansa będą wykorzystane do porównania z sekwencjami genomu człowieka, a sekwencje genomu innych małp naczelnych mogą potwierdzić uzyskane wyniki (Gagneux i Varki, 2001). Sekwencjonowanie genomu człowieka kreuje możliwość poznania genów zaangażowanych w tworzenie różnic miedzy *Homo* a *Pan.* Różnice w sekwencji aminokwasów człowieka i szympansa wynoszą <1% (Tab. **9.**1). Genomy ludzi

i szympansów są identyczne w około 99.2%, w najbardziej konserwatywnych rejonach genomów identyczność wzrasta do 99.5% (Whitfield, 2003). Podaje się także zróżnicowanie sekwencji genomowych szympansa i człowieka wynosi około 1, 24% (Marques-Bonet i inni, 2004).

Tab. **9.**1 Procent dywergencji w poszczególnych sekwencjach człowiekiem a szympansa (Wall, 2005)

| TYP SEKWENCJI | DYWERGENCJA [%] |
|---|---|
| kodujące | 0,45 |
| niekodujące | 0,22 |
| 5' UTR | 1,12 |
| 3' UTR | 0,86 |
| introny | 1,20 |
| międzygenowe | 1,28 |
| cały genom | 1,24 |

Oszacowano, że człowieka i szympansa różni około 150-350 transkryptów. W ciągu 90 milionów lat dywergencji od linii gryzoni, ludzi różni 1675 genów, (genom człowieka jest identyczny w 88% z genomem myszy) a począwszy od linii szympansów w ciągu 6 milionów lat, powstało około 110 różnic w genach (Brosius, 2003). W genomie człowieka znaleziono 233 geny bakterii. Nie znaleziono tych bakteryjnych genów w DNA *Saccharomyces cerevisiae, Caenorhabditis elegans* i *Drosophila melanogaster,* co zaprzecza pochodzeniu tych genów od wspólnego prokariotycznego przodka. Analizy porównawcze wykazały, że te ortologi genów oprócz bakterii, są obecne tylko w genomach kręgowców. Jest to dowód na „pojawienie się" bakteryjnych genów w genomie człowieka na skutek procesu poziomego transferu genów z genomu bakterii do genomu ich gospodarzy - kręgowców. Badania wykazały, że komórki człowieka mogą wykorzystywać geny bakteryjne m.in. do obrony przed stresem (Kossobudzki, 2001, Nolan, 2001). Została określona procentowa dystrybucja genów człowieka w genomach innych organizmów (Załącznik 3). Nastąpiło kilka specyficznych dla linii ludzi zmian w genomie: telomeryczna fuzja, między chromosomem 12 i 13 szympansa, prowadząca do powstania chromosomu 2 człowieka, pericentryczna inwersja chromosomu 1 i 18 oraz redystrybucja heterochromatyny w kilku chromosomach, jednakże rejony euchromatynowe zachowują w dużym stopniu podobieństwo we wzorze rozmieszczenia w obu genomach (Gagneux i Varki, 2001, Olson i Varki 2003). Istnieją także dowody na wewnątrzchromosomowe wymiany odcinków peryferycznych □-satelitów (tandemowo powtórzone sekwencje, zlokalizowane w rejonach centromerowych) (Gagneux i Varki, 2001). Zadaniem naukowców jest opowanie, na podstawie dostępnych danych, hipotez wyjaśniających molekularne podłoże mechanizmów, które doprowadziły do zmian ewolucyjnych.

## **9.1.** Hipoteza różnic w regulacji genów

Hipoteza zaproponowana w 1975 roku przez King i Wilsona, zakłada, że fenotypowa dywergencja ludzi i szympansów jest związana z regulacją genów bądź powstawaniem nowych genów głównie w procesach tasowania eksonów, retrotranspozycji czy duplikacji genów, a nie stopniowymi zmianami w strukturze czy funkcji genów u obu gatunków (McConkey, 2001). Założenie to opiera się na przekonaniu, że niewielkie różnice w sekwencji aminokwasów są niewystarczające do wytłumaczenia i wyjaśnienia różnic fenotypowych. Nieznaczne zmiany w sekwencjach czynników transkrypcyjnych są wystarczające by zmieniać ekspresję licznych genów, powodować ogromne różnice rozwojowe. Niektóre specyficzne ludzkie SNP mogą być znaczące w rozumieniu ewolucji człowieka, szczególnie jeśli są ulokowane w rejonie wzmacniaczy genów, powodując zmiany w ekspresji genu (Gagneux i Varki, 2001). Wadą tej teorii jest brak możliwości oszacowania jaki procent zmian w pojedynczym białku jest w stanie generować zmiany fenotypowe. Heterochronia, proces w którym nowe formy i funkcje są kreowane przez zmiany ekspresji genu jest istotny w ewolucji cech człowieka (Gagneux i Varki, 2001). Eksperymentalne badania dowodzą, że jest możliwe określenie korelacji między zmianami w sekwencji genomowej a wzorem ekspresji genu, funkcją genu, dzięki czemu będzie można wyszczególnić znaczące zmiany, które towarzyszyły ewolucji człowieka. Część zmian fenotypowych jest zależna od różnic w czasie, poziomie i wzorze ekspresji genów. Przykładem jest zróżnicowany poziom działania transtyretyny u ludzi i szympansów. Ilościowa zmiana tego białka w organizmie jest skorelowana z wpływem na różnorodność fenotypową, przez wpływ na rozwój mózgu, funkcje i rozwój czaszki, a także tempo metabolizmu. Tak niewielkie zmiany doprowadziły do dywergencji gatunków (Olson i Varki 2003). Innym przykładem genu o zróżnicowanej ekspresji jest gen białka relaksyny, które pełni wiele funkcji w sercu czy mózgu a także w tkankach związanych z procesem reprodukcji. U ludzi gen relaksyny wykazuje ekspresję w prostacie, łożysku i ciałku żółtym (corpus luteum) a u szympansów jedynie w ciałku żółtym (Gagneux i Varki, 2001). Mniej niż 1% różnic miedzy osobnikami *H. sapiens sapiens* pojawia się w sekwencjach kodujących, co sugeruje, że główna zmienność fenotypowa między osobnikami i gatunkami wynikaja z kontroli „architektury" genów a nie z faktu istnienia różnych genów. Dla kontrastu wprowadza się porównanie genomu człowieka z genomem bakterii *Escherichia coli.* U bakterii różnice osobnicze wynoszą 20% genomu, co sugeruje, że różnice osobnicze wynikają z różnic w sekwencji genów a nie ich regulacji (Mattick i Gagen, 2001). Powyższe fakty prowadzą do konkluzji, że ewolucja dodatkowych złożonych

atrybutów, przy założeniu jednakowej organizacji, dzieje się poprzez tworzenie nowych interakcji, które powstały z czasowych i przestrzennych segregacji podobnych komponentów (Mattick i Gagen, 2001).

## **9.2.** Hipoteza „im mniej tym więcej" (the 'less-is-more')

Hipoteza sformułowana w 1999 roku przez Olsona, kładąca nacisk na wagę mutacji prowadzących do utraty funkcji przez geny, zwłaszcza w liniach, które niedawno w skali czasu ewolucyjnego, dywergowały. Hipoteza zakłada, że wszystkie efekty mutacji w genach, kodujących regulatorowe, strukturalne i katalityczne funkcje dowodzą, że ludzie to „zdegenerowne małpy". Ludzie to tzw. „neoteniczne małpy" ze względu na wydłużony proces dojrzewania fizycznego i mentalnego oraz zależności od form rodzicielskich (Gagneux i Varki, 2001). Na przykład maksymalny rozmiar mózgu osiągany jest przez szympansy w wieku 7 lat a przez ludzi w wieku 15 lat. Zjawisko to tłumaczy ekspansywny rozwój i osiąganie dużych rozmiarów przez mózg człowieka. Zakłada się, że ekspresja genów różniących ludzi i małpy naczelne ma miejsce przed narodzinami (Gagneux i Varki, 2001).

Wielką zaletą tej hipotezy jest założenie „genetycznej utraty" jako mechanizmu ewolucji fenotypu gatunku, przez doprowadzenie do dywergencji na drodze redukowania genów. Ponadto jeśli nabycie nowej, małoznaczącej funkcji przez gen ma duże znaczenie dla ewolucji gatunku, to utrata tej funkcji wiąże się z jeszcze bardziej skomplikowanymi innowacjami genetycznymi, a tym samym ewolucyjnymi. Jest prawie pewne, że do pewnego stopnia utrata genów w linii człowieka powoduje różnice między ludźmi a szympansami. Przykładem jest brak syntezowania na powierzchni komórki kwasu slajowego (N-glykolyneuraminowego kwasu Neu5Gc) oraz prekursora tego kwasu w linii ludzi, w odróżnieniu do linii innych naczelnych, które tej zdolności nie utraciły. U ludzi nie dochodzi do produkcji Neu5Gc z powodu insercji *Alu,* czyli inaktywacji genu *CMAH* - CMP–Neu5Ac hydroksylazy, determinującego przekształcenie Neu5Ac (kwasu N-acetyloneuraminowego) w Neu5Gc. Do tej pory nie wiadomo jakie konsekwencje ma ta zmiana dla *H. sapiens sapiens,* począwszy od zmiany podatności na patogeny a na rozwoju mózgu skończywszy (Gagneux i Varki, 2001). Można mnożyć przykłady z genomu człowieka, które w czasie jego ewolucji miały konsekwencje biochemiczne: *V10* gen ludzkiego T-komórkowego receptora γ locus, gen *OR 912-93* oraz gen I typu keratyny włosowej, receptory zmysłu słuchu. Wiele chorób człowieka związanych jest z utratą funkcji przez geny np. fenyloketonuria, rak piersi czy włókniak torbielowaty. Ewolucja wielu rodzin genów takich jak: immunoglobulin,

receptorów słuchu czy antygenów głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC) ma swoja genezę w procesie duplikacji, po której następuje utrata funkcji przez gen. Proces ten zwany jest hipotezą „narodzin i śmierci" (birth-and-death) (Gagneux i Varki, 2001).

## **9.3.** Przykłady genów różniących *Homo sapiens* i *Pan troglotydes*

Różnice mogą leżeć w genie kontrolującym rozwój mózgu albo w genach odpowiedzialnych za genezę specyficznych dla ludzi chorób takich jak: Alzheimer, AIDS czy malaria (Pearson, 2003a). Przykładem jest gen *D4* kodujący białko receptora dopaminy. Szympansy i goryle mają 12 nukleotydową delecję odcinka tego genu, co mogło wpłynąć znamiennie na zróżnicowanie rozwoju układu nerwowego tych małp naczelnych i ludzi. Niektóre specyficzne ludzkie SNP mogą być znaczące w rozumieniu ewolucji człowieka, szczególnie jeśli są ulokowane w rejonie wzmacniaczy genów, powodując zmiany w ekspresji genu (Gagneux i Varki, 2001). Wspomniany wcześniej przykład genu *FOXP2* (rozdział 3.2.), ilustruje, jak dwie zmiany w sekwencji tego genu w genomie szympansa, zapobiegają artykulacji dźwięków przez szympansy, uniemożliwiając rozwój mowy (Pearson, 2003b). Ludzie z mutacją w tym genie mają problemy z mową i gramatyką (Pearson, 2002). Ważnymi genami różniącymi ludzi od szympansów, są geny związane z odbieraniem wrażeń zmysłowo- węchowych czy słuchowych. Około 50 genów jest zaangażowanych w odbieranie wrażeń słuchowych, ale u ludzi ponad połowa jest niefunkcjonalna. Około 80 genów, kodujących enzymy trawienne, różni genom człowieka od genomu szympansa, co wskazuje jak zmieniała się dieta ludzi (Whitfield, 2003). Istnieje kilka dobrze znanych polimorfizmów w populacji *H. sapiens sapiens*, które są nieobecne w genomie szympansa: grupy krwi MN, ABO (szympansy maja tylko grupę krwi A i O, a goryle tylko grupę krwi B), inaktywacja receptora CCR5 chemokininy u niektórych ludzi, a także allel hepatoglobiny, kodujący unikalny dla ludzi alfa 2 peptyd (Gagneux i Varki, 2001). Loci polimorficznych genów wykazują zmienność, dlatego są kandydatami do wyjaśnienia różnic miedzy *Homo* a innymi gatunkami. Procesy generujące polimorfizmy mogą być wskazówkami mechanizmów, przyczyniających się do powstawania gatunków. Z drugiej strony brak polimorfizmu może świadczyć o istnieniu selekcji „oczyszczającej" genu, który stał się unikalny, ważny w procesie ewolucji ludzi (Gagneux i Varki, 2001).

# **10.** Zakończenie

Ewolucjonizm syntetyczny zakłada, że wszystkie zjawiska ewolucji to efekt interakcji środowiska życia osobników i sił ewolucyjnych takich jak dobór naturalny, dryf genetyczny, mutacje, rekombinacje. Analizy genomu dotyczą powszechności i znaczenia adaptacji, roli mutacji i mechanizmu specjacji w aspekcie gradualizmu czyli stopniowości przemian ewolucyjnych.

Nie mniej jednak naukowy tacy jak J. A. Shapiro (Shapiro, 2003) twierdzą, że genom to przedmiot „inżynierii ewolucyjnej". W genomie zachodzą odmiennie niż w procesie gradualizmu, bardziej regularne i usystematyzowane procesy zmian prowadzące do tworzenia nowych skomplikowanych adaptacji.

Dostępność w genomie różnego rodzaju genetycznych elementów modulujacych i rearanżujących takich jak miejsca regulatorowe, elementy powtarzalne, elementy ruchome, introny, domeny chromatynowe, są głównym źródłem zmian genomowych. Proces „ewolucyjnej inżynierii" prowadzi do określonych zmian w rearanżacji różnorodnych genomowych modułów, dzięki czemu genom może by lokalnie, regionalnie i miejscowo zmieniany, nabywając nowych cech architektonicznych. „Ewolucyjna inżynieria" wyjaśnia jak nowe struktury powstały w toku ewolucji. Naukowcy spekulują, czy w procesie powstawania gatunku *H. sapiens sapiens* i innych gatunków takie przeobrażanie się genomu jest ważniejsze od stopniowych zmian w białkach.

W niniejszej pracy przedstawiono rolę i znaczenie obu procesów – genetycznej inżynierii i stopniowych zmian w białkach jako odpowiedzialnych za ewolucję genomu *Homo.*

Ewolucja tworzy historyczny zapis przeobrażeń w genomie organizmów, które odniosły sukces w przystosowywaniu się do zmieniających się warunków. Gwałtowny rozwój biologii molekularnej dostarczył dowodów na poziomie molekularnym, dotyczących zagadnień molekularnych interakcji, systematycznych, ciągłych, precyzyjnych przemian w organizacji genomu człowieka. Znane są podstawowe cechy tworzące strukturę i zarządzające ewolucją genomu.

Większość zmian ewolucyjnych w genomie człowieka pojawiła się na skutek amplifikacji i rearanżacji istniejących wcześniej modułów. Wiele białek jest formowanych przez rearanżację i kombinację konserwatywnych domen. Powstawanie nowych funkcji opiera się na zasadzie precyzyjnej „inżynierii", a także w wyniku przypadkowych procesów molekularnych. Funkcjonalne moduły takie jak domeny, miejsca regulatorowe, zgrupowania

genów homeoboxu, fragmenty chromosomów wykazują tendencję do duplikacji w procesie ewolucji. Wagę duplikacji całego genomu w procesie ewolucji genomu organizmów podkreśla hipoteza „2R".

Główne zmiany zachodzą dzięki zróżnicowaniu w dystrybucji i zawartości elementów powtórzonych, dzięki czemu może dochodzić do zmian funkcji genów bez zmian w sekwencjach kodujących. Zmiany te tłumaczą jak przy braku zróżnicowania materiału genetycznego – na przykładzie genomu człowieka i szympansa, może dochodzić do adaptacyjnych zmian w różnych taksonomicznych grupach i do różnicowania morfologicznego spokrewnionych gatunków.

Zmiany na dużą skalę w genomie człowieka pojawiały się gwałtownie w odpowiedzi na zmiany środowiskowe. Odzwierciedlają one tempo i wskazują na kierunek procesów ewolucyjnych. Zmiany w sekwencjach wspólnych dla genomu człowieka i innych spokrewnionych organizmów powstały na drodze wielokrotnych rearanżacji. Nieznane są mechanizmy komórkowej kontroli lub wpływu na rearanżacje genomowe, powodujące powstanie unikalnych cech człowieka. Znane są jedynie pojedyncze przykłady genów różniących ludzi od najbliższego krewniaka – szympansa.

Analizy porównawcze zmienności genomu osobników *H. sapiens sapiens* pochodzących z tej samej populacji, pochodzących z różnych populacji i materiału genetycznego pochodzącego od przodków *Homo* prowadzi do poznania historii migracji ludzi, pokrewieństwa poszczególnych populacji, rozwikłania zagadnień demograficznych populacji przodków, określenia tempa zmian ewolucyjnych, zmian w genach odpowiedzialnych za generowanie chorób, rozwiązania kontrowersji na tle rasowym.

Niewątpliwie istnieje wiele niewyjaśnionych zagadnień dotyczących ewolucji człowieka, które zostaną zgłębione przez molekularne analizy genomu człowieka.

# Streszczenie

Zrozumienie genetycznych podstaw cech, które różnią ludzi od innych naczelnych jest jednym z największych wyzwań dla współczesnej genomiki ewolucyjnej. Genetyczna architektura genomu człowieka jest źródłem dowodów na unikalne zdarzenia molekularne w ewolucji człowieka. Analizy pozwoliły odkryć i sklasyfikować zmiany w milionach par zasad ludzkiego genomu, które przyczyniły się do ewolucji cech człowieka po specjacji linii *Homo* i *Pan* 5–7 milionów lat temu. Trzy modele pochodzenia ludzkości: 'out of Africa', model "wypierania" i model „multiregionalny" przedstawiają różnorodne teorie i założenia, dotyczące chronologicznego porządku, czasu zdarzeń, przyczyn powstania danych cech hominidów. Ewolucja ludzi przedstawia ciąg powtórzonych zdarzeń specjacyjnych i morfologicznych zmian, począwszy od hominidowych przodków przez *Australopithecus* do *Homo habilis*, *H. erectus, H. sapiens.*

Dane na temat różnych rodzajów zmienności DNA w populacji człowieka zwiększają wiedzę, dotyczącą biologii rozwoju, medycyny i historii *H. sapiens sapiens*. Haploidalne markery uzyskane z mitochondrialnego DNA i chromosomu Y przyczyniły się do kreowania i uzupełnienia modelu pochodzenia i genetycznej ewolucji współczesnych ludzi. Mitochondrialne DNA i chromosom Y zostały użyte do analiz wąskiego gardła w populacji, efektu założyciela, tempa migracji i liczebności osobników w populacji przodków. Molekularne analizy zaczynają dostarczać potencjalnych danych do badań ewolucyjnych np. wspólnej ewolucji, duplikacji segmentowych, bloków syntenii, elementów ruchomych, niekodujących sekwencji.

Porównanie genomu człowieka z genomem najbliższego żyjącego krewnego – szympansa może dostarczyć hipotez na temat molekularnych zdarzeń, które podlegały ewolucyjnym zmianom. Biolodzy molekularni rozpatrują ewolucję ludzkiego genomu albo jako proces zmian w genomie człowieka, dotyczących regulacji rozwoju lub jako proces „genetycznych strat" w linii człowieka.

Nowa wizja ewolucji ludzkiego genomu to idea procesu powstawania funkcjonalnego zestawu kompleksów w genomie, w wyniku rearanżacji komponentów w niefunkcjonalnych częściach genomu. Jest to wizja „ewolucyjnej inżynierii" zamiast regularnego i stopniowego procesu zmian. Prawdopodobnie genomika porównawcza stanie się potężnym narzędziem w wyjaśnianiu ewolucyjnej historii chromosomów, poznawaniu organizacji ludzkiego genomu, przyśpieszy prace badawcze odkrywające ewolucyjną historię genów i sekwencji regulatorowych genomu człowieka.

## Summary

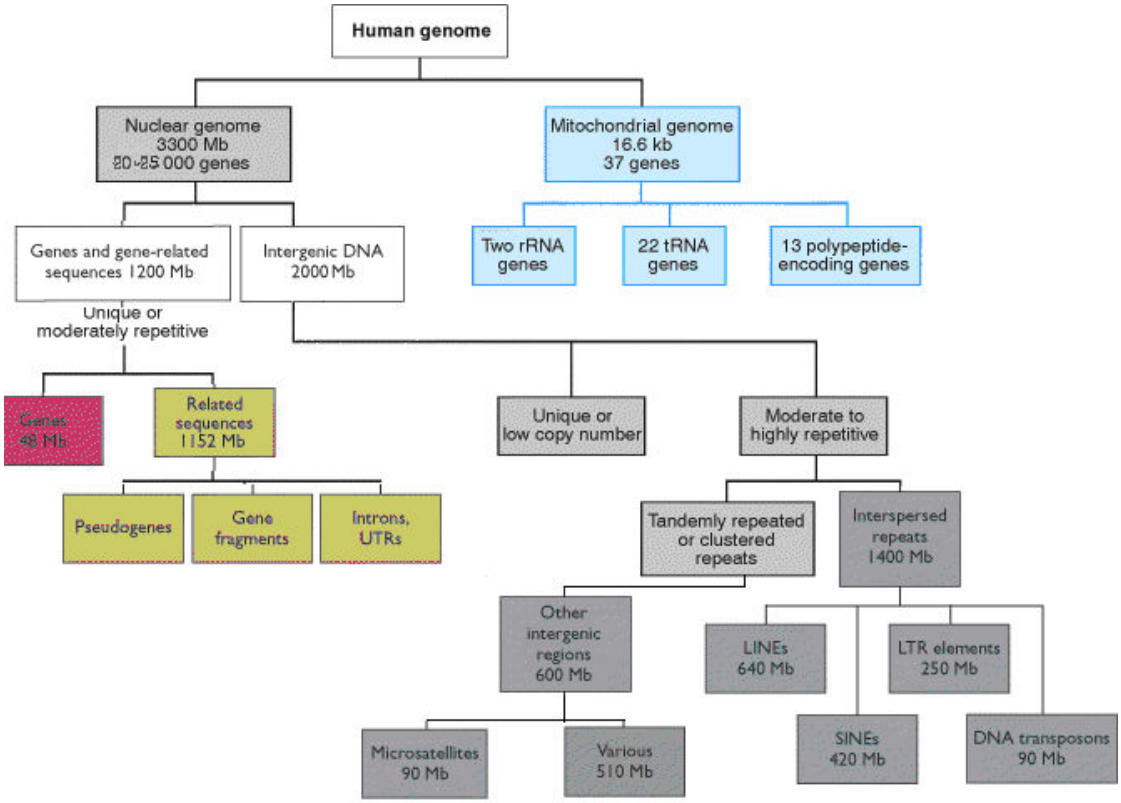
Understanding the genetic basis of thetraits that distinguish human from other primates is the one of the greatest challenges in evolutionary genomics. The genetic architecture of human genome develops evidences for unique molecular events in human evolution. Analyses have to discover and classify changes in millions of base-pairs of human genome which contributed to the evolution of human features after separation of the *Pan* and *Homo* lineages 5–7 millions years ago. Three models of hominin origin – 'out of Africa', 'replacement model', 'multiregional model', describe inferences about the chronological order, time events and causes of the evolution of hominin characters. Human evolution exhibits repeated speciations and morphological changes from hominoid ancestors through *Australopithecus* to *Homo habilis, H. erectus* and *H. sapiens.*

Data on various kinds of DNA variation in human population increase the knowledge of developmental biology, medicine and history of *H. sapiens sapiens.* Haploid markers from mitochondrial DNA and the Y chromosome have supported and supplemented the model for genetic origin and evolution of modern humans. Mitochondrial DNA and the Y chromosome have been used in the study of population bottlenecks, founder event speciation, migration rate and estimating the number of individuals in ancestral population. Molecular analyses are beginning to reveal the potential data for evolutionary studies from e.g. concerted evolution, segmental duplication genome rearrangements, synteny blocks, transposable elements, non-coding sequences.

Genome comparisons with human closest relative – chimpanzee will develop hypotheses about the molecular events that underline evolutionary change. Molecular biologists consider the evolution of human genome either as crucial genetic changes in human genome involve developmental regulation, or the 'genetic loss' on the human lineage.

The new evolutionary vision of human genome is the idea that much of the creative assembly of complex genome might be proceed by rearranging components in the functionally redundant part of the genome. This is a vision of 'evolutionary engineering' instead of regular and gradual process of change. Probably the comparative genomics will be a powerful tool for elucidating the evolutionary history of chromosomes, exploiting changes in human genome organization. Evolutionary genomic will greatly accelerate the research work toward revealing evolutionary history of human genes and regulatory sequences.

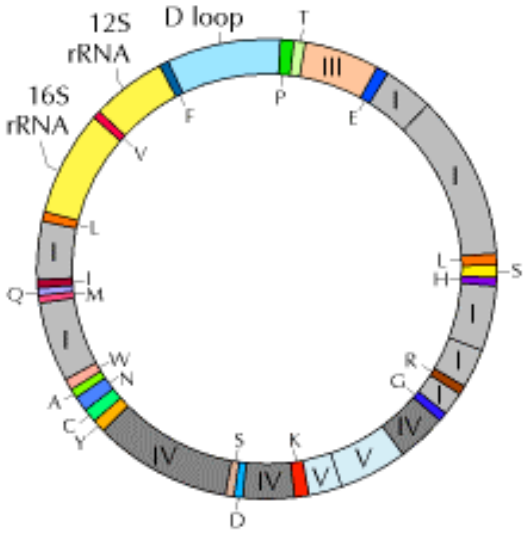
Załącznik 1.




Ryc. 1 Schematyczna klasyfikacja sekwencji w genomie człowieka (Strachan i Read, 1999, Brown, 2002, zmodyfikowane).

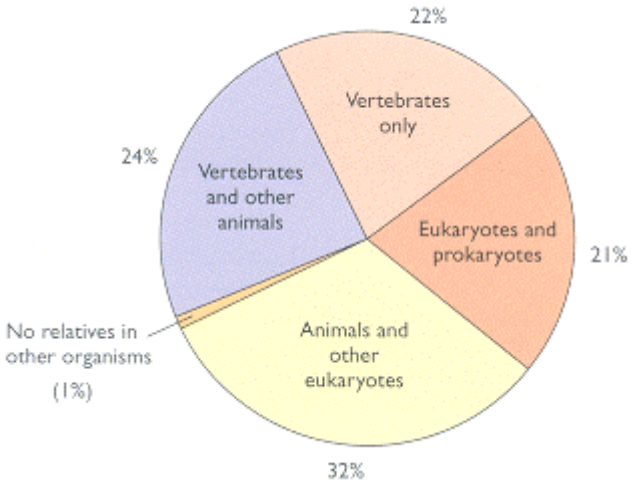
W lutym 2001 roku International Human Genome Sequencing Consortium and Celera Genomics opublikowały szkice sekwencji ludzkiego genomu. Opublikowane sekwencje miały ok. $3{,}2 \cdot 10^9$ bp. Liczbę genów szacowano na 20 – 25 000. Ludzki genom jest zgrupowany w 22 parach chromosomów o zakresie długości od 279 – 48 Mbp i dwóch chromosomach płci: X – długości 163 Mbp i Y – długości 51 Mbp (Lesk, 2005).

Załącznik 2.




Ryc. 2. Mitochondrialny genom człowieka. Genom zawiera sekwencje kodujące 13 białek-komponentów kompleksu oddechowego I, II, III, IV oraz geny dla 12S i 16S rRNA oraz geny dla 22 tRNA. Region D-loop (D - pętla) zawiera sekwencje miejsca rozpoczęcia replikacji i promotora transkrypcji. We wszystkich genach brak intronów. A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, R, Q, S, T, V, W, Y – geny dla tRNA.(Cooper, 2000).

# Załącznik 3.




Ryc. 3. Procentowa dystrybucja genów człowieka w genomach innych organizmów. Pokrewieństwo między kategoriami genów człowieka i kategoriami genów innych grup organizmów. Geny zostały skategoryzowane zgodnie z pełnioną funkcją. Na przykład 22% sklasyfikowanych ludzkich genów jest specyficzna dla kręgowców, 24% specyficzna dla kręgowców i innych zwierząt. (Brown, 2002).

# Literatura


Ambrose, S.H. 1998. Late pleostocene human population bottleneck volcanic winter and differentiation of modern humans. Extract from "Journey of Human Evolution" **34**: 623-651

Ayala, F.J., and A.A. Escalante. 1996. The evolution of human populations: a molecular perspective. Molecular Phylogenetics and Evolution **5**(1): 188–201

Bartnik, E. 2003. A jednak Y się trzyma! Wiedza i życie. Wydanie specjalne **3**: 102-103

Brosius, J. 2003. The contribution of RNAs and retroposition to evolutionary novelties. Genetica **118**: 99–116

Cann, R.L. and A.C. Wilson. Afrykański rodowód ludzkości. Świat Nauki Wydanie specjalne **3**: 56-63

Caroll, S. B. 2003. Genetics and the making of *Homo sapiens.* Nature **422**: 849-857

Cavalli-Sforza, L.L. and M.W. Feldman. 2003. The application of molecular genetic approaches to the study of human evolution. Nature Genetics, Supplement **33**: 266-275

Emerson, B.C., E. Paradis and C. Thebaud. 2001. Revealing the demographic histories of species using DNA sequences. Trends in Ecology & Evolution **16**(17): 707-716

Fedorova1, L. and A. Fedorov. 2003. Introns in gene evolution.Genetica **118**: 123–131

Gaffney, D.J. and P.D. Keightley. 2004. Unexpected conserved non-codnig DNA blocks in mammals. Trends in Genetics **20**(8): 332-336

Gagneux, P. and A. Varki. 2001. Genetic differences between humans and great apes. Molecular Phylogenetics and Evolution **18**(1): 2–13

Goodman, M. 1999. The Genomic Record of Humankind's Evolutionary Roots. Am. J. Hum. Genet. **64**:31–39

Gu, X., Y. Wang and J. Gu. 2003.Age distribution of human gene families shows significant roles of both large- and small-scale duplications in vertebrate evolution. Nature Genetics **31**: 205-209

Hokamp, K., A. McLysaght and K.H. Wolfe. 2003. The 2R hypothesis and the human genome sequence. Journal of Structural and Functional Genomics **3:** 95–110

Ingman, M. and U. Gyllensten. 2001. Analysis of the comlete human mt DNA genome: methodology and inferences for human evolution. The Journal of Heredity **92**(6): 454-461

Ingman, M., H. Kaessmann, S. Pããbo, and U. Gyllensten. 2000. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. Nature **408**: 708-713

Jegalian, K., and B.T. Lahn. 2003. Dlaczego Y jest taki dziwny? Świat Nauki Wydanie specjalne **3**: 96- 102

Jerzmanowski, A. 2002. Biologia w erze pogenomowej. Kosmos **51**(254):1-4

Kaessmann, H., S. Zöllner, A. Nekrutenko and W-H. Li. 2002. Signatures of domain shuffling in the human genome. Genome Research **12**:1642–1650

Khodosevich, K., Y. Lebedev and E. Sverdlov. 2002. Endogenous retroviruses and human evolution. Comparative and Functional Genomics **3**: 494-498

Kidwell, M.G. and D.R. Lisch. 2000. Transposable elements and host genome evolution. Trends Ecol Evol. **15**(3): 95-99

Kohn, M., H. Kehrer-Sawatzki, W. Vogel and J.A.M. Graves. 2004. Wide genome comparisions reveal the origins of the human X chromosome. Trends in Genetics **20**: 598-603

Li, W-H., Z. Gu, H. Wang, and A. Nekrutenko. 2001. Evolutionary analyses of the human genome. Nature **409:** 847-849

Liao, D. 2003. Concerted evolution. Nature Encyclopedia of the human genome 1: 938-942

Long, M. 2001. Evolution of novel genes. Curr Opin Genet Dev. **11**(6): 673-80

Marques-Bonet T., M. Caceres, J. Bertranpetit, T.M. Preuss, J.W. Thomas and A. Navarro. 2004. Chromosomal rearrangements and the genomic distribution of gene-expression divergence in humans and chimpanzees. Trends in Genetics **20**(11): 524-529

Mattick, J.S. and M.J. Gagen. 2001. The evolution of controlled multitasked gene networks: the role of introns and other noncoding RNAs in the development of complex organisms. Mol. Biol. Evol. **18**(9): 1611–1630

McHenry, H.M. 1994. Tempo and mode in human evolution**.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA **91**(15): 6780–6786

Murphy, W.J., P.A. Pevzner and S.J. O'Brien. 2004. Mammalian phylogenomics comes of age. Trends in Genetics **20**(12): 631-639

Olson, M.V. and A. Varki. 2003. Sequencing the chimpanzee genome: insights into human evolution and disease. Nature Reviews Genetics **4**: 20-28

Pevzner, P. and G. Tesler. 2003. Genome rearrangements in mammalian evolution; lessons from human and mouse genomes. Genome Research **13**: 37-45

Quintana-Murci, L., C. Krausz and K. McElreavey. 2001. The human Y chromosome: function, evolution and disease. Forensic Science International **118**: 169-181

Samonte, R.V. and E.E. Eichler. 2002. Segmental duplications and the evolution of the primate genome. Nature Reviews Genetics **3**: 65-72

Seielstad, M.T., E. Minch and L.L. Cavalli-Sforza. 1998 Genetic evidence for higher female migration rate in humans. Nature Reviews Genetics **20**: 278-280

Smit, A.F.A., and A.D. Riggs. 1996. *Tiggers* and other DNA transposon fossils in the human genome. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. USA **93**: 1443-1448

Spring, J. 1997. Vertebrate evolution by interspecipic hybrisidation – are we polyploid? Federation of European Biochemical Societies **400**: 2-8

Tishkoff, S.A. and S.M. Williams. 2002. Genetic analysis of african populations: human evolution and complex disease. Naturte **3**: 611-621

Womack, J.E. 2004. Exploiting our knowledge of genome evolution: the past, present and future of comparative genomics. AgBiotechNet Proceedings **4**: 1-5

Wong, K. 2003. Powikłany rodowód. Świat Nauki **3**: 54-55

Załoga, M.T. 2004. Mężczyzna to kobieta. Wiedza i życie **4**: 36-39

Zhang, J. 2003. Evolution by gene duplication: an update. Trends in Ecology and Evolution **18**(6): 292-298

Źródła internetowe:

Anonymous, 2003. Bioinformatics problems in medicine related to physiology and quantitative traits. web.mit.edu/10.555/www/notes/April1_v1.pdf

Anonymous, 2005a. Early human phylogeny. www.mnh.si.edu/anthro/humanorigins/index.htm

Anonymous, 2005b. www.wsu.edu:8001/vwsu/gened/learn-modules/top_longfor/timeline/timeline.html

Anonymous, 2005c. Chapter 4. Genomes and chromosomes. www.personal.psu.edu/faculty/r/c/rch8/workmg/Genome_Chromo_Chpt4.htm

Anonymous, 2005d. Concept of genome variation. cats.med.uvm.edu/cats_teachingmod/microbiology/courses/human_genome/hgp_future/3_2_fut_hgp_vary.html

Anonymous, 2005e. sci.waikato.ac.nz/evolution/HumanEvolution.shtml

Athena Publications, 2003. Recent Finds in Archaeology. Athena Review: **3**(2) www.athenapub.com/outafr3.htm

Brown, T.A. 2002. Genomes. 2nd edition. www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?call=bv.View..ShowSection&rid=genomes.box.5303 www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=genomes.figgrp.5503

Carey, G. 2000. Chapter 14: Human Evolution. psych.colorado.edu/hgss/hgsschapters/HGSS_Chapter14.pdf

Cooper, G.M. 2000. The cell –a molecular approach. 2nd edition. www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=cooper.figgrp.1630

Collins, F.S. 2004. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature **431**: 931-45 www.wellcome.ac.uk/en/genome/thegenome/hg01n014.html by Wellcome Trust Sanger Institute

Foley, J. 2004a. Hominid species. www.talkorigins.org/faqs/homs/species.html

Foley, J. 2004b. Prominent hominid fossils. www.talkorigins.org/faqs/homs/specimen.html

Gontarz, R. 2005. Czy grozi nam seksmisja? zguw.ibb.waw.pl/~knbm/pdf/seksmisja.pdf

Graves, J.A.M. 2000. Human Y chromosome, sex determination, and spermatogenesis a feminist view. Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction (from 31 July to 3 August 1999) at Washington State University. Biology of Reproduction **63**: 667-676 www.biolreprod.org/cgi/reprint/63/3/667/b.pdf

Hopkin, M. 2004. Jaw-dropping theory of human evolution. www.nature.com/nsu/040322/040322-9.html

Hurles, M. 2004. www.sanger.ac.uk/Teams/Team29/

Ingman, M. 2005. Mitochondrial DNA clarifies human evolution. www.actionbioscience.org/evolution/ingman.html

Jacobs, J.Q. 2000a. Population bottlenecks and volcanic winter. www.jqjacobs.net/anthro/paleo/genome.html

Jacobs, J.Q. 2000b. The recent African genesis of humans. www.jqjacobs.net/anthro/paleo/genome.html

Jacobs, J.Q. 2000c. Neanderthal DNA sequencing. www.jqjacobs.net/athro/paleo/neanderthal.htm

Jobling, M.A. 2003. Lands of our fathers: Y-chromosome diversity and the histories of human populations. www.wellcome.ac.uk/en/genome/genesandbody/hg07f003.html

Johanson, D. 2001. Origins of Modern Humans: Multiregional or Out of Africa? www.actionbioscience.org/evolution/johanson.html#Primer

Kennedy, E. 2003. The search for Adam's ancestors. dialogue.adventist.org/index.htm

Kossobudzki, P. 2001. Oto człowiek! Wiedza i życie **4** www.wiz.pl/2001/01042400.asp

Lesk, A. 2005. Introduction to Bioinformatics. Chapter 2: Genome organization and evolution. Second edition: 96-98 www.oup.com/uk/booksites/content/0199277877/lesk_ch02.pd**f**

McConkey, E. H. 2001.Genomes, developmental patterns of gene expression, and human origins. www.uchicago.edu/aff/mwc-amacad/biocomplexity/conference_papers/mcconkey.pdf

Myers, P.Z. 2004. Pufferfish and ancestral genomes. Pharangula. pharyngula.org/index/weblog/pufferfish_and_ancestral_genomes

NIH/National Human Genome Research Institute. 2005. Researchers Discover Largest 'Gene Deserts'; Find New Clues To Ancestral Chromosome Fusion. Scientists analyze chromosomes 2 and 4. www.sciencedaily.com/releases/2005/04/050411092429.htm /www.wellcome.ac.uk/en/genome/thegenome/hg01n019.html

Nolan, J. 2001. Human genome sequence. www.tulane.edu/~biochem/lecture/723/humgen.html

O'Neil, D. 2005. Early Modern Homo sapiens. anthro.palomar.edu/homo2/

O'Neill, M.D. 2005. Language gene may be linked to development of modern humans. www.biobeat.com

Olson, S. 2001. The genetic archaeology of race. The Atlantic Monthly **287** www.theatlantic.com/subscribe

Panczykowski, M. 2005. Koguty i kury znoszące ich jaja czyli ewolucja płci. mpancz.webpark.pl/sex.htm

Pauli, F. 2005. Understanding genetics. The Tech Museum of Innovation. www.thetech.org/genetics/ask.php?id=69

Patterson, B. 2002. Transitional human fossils. Six million years of human ancestry. members.aol.com/darwinpage/hominid.htm

Pearson, H. 2002. Gene explains dumb apes. www.nature.com/nsu/020812/020812-6.html

Pearson, H. 2003a. Chimp genome draft completed. www.nature.com/nsu/031208/031208-9.html

Pearson, H. 2003b. Chimps expose humanness. www.nature.com/nsu/030428/030428-3.html

Science Museum, 2005. Who am I? The first humans. www.sciencemuseum.org/uk-exhibitions-genes-images-1-3-2-1-0-0-0-0-0-0-0/jpg.htm

Shapiro, J.A. 2003. A 21st Century View of evolution. shapiro.bsd.uchicago.edu/index3.html?content=genome.html

Sherman, J. and M.D. Silber. 2005. Genetics of male infertility: evolution of the X and Y chromosome and transmission of male infertility to future generations. www.infertile.com/inthenew/sci/xyevol.pdf

Sherwood, P. 2004. Researchers uncover surprising degree of large-scale variation in the human genome**.** Implications Seen for Cancer, Neurological Disorders, and Other Diseases www.cshl.org/public/releases/images/Sebat1new.jpg&imgrefurl=http://www.cshl.org/public/releases/genome.html

Strachan, T. and A.P. Read. 1999. Human Molecular Genetics 2. 2nd edition. www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=hmg.figgrp.644

Stringer, C. 2005. Genetics & Genealogy: Out of Africa and the Eve Hypothesis. Article 20 Evolution: www.ramsdale.org/dna18.htm#TOP

Wades, N. 2002. Similarities found in mouse genes and human's. www.nytimes.com/2002/12/05/science/05MOUS.html

Wall J. 2005. Molecular evolution. bioweb.usc.edu/documents/bisc502-wall_021405.pdf

Whitfield, J. 2003. Genome scan shows human-chimp differences. www.nature.com/nsu/031208/031208-15.html

Wieland, C. 1998. A shrinking date for 'Eve'. Creation Ex Nihilo Technical Journal **12**(1):1–3 www.answersingenesis.org/Home/Area/Magazines/technical.asp

Williams, R. 2005. Comparison of the human and great ape chromosomes as evidence for common ancestry. www.gate.net/~`rwms/EvoEvidence.html

Wilson, A.C. and Cann, R.L. 1992. The "Out of Africa" Hypothesis. The Recent African Genesis of Humans. www.geocities.com/palaeoanthropology/OutofAfrica.html

Wojtasiński, Z., J. Stradowski i M. Florek. 2005. Mężczyzna szympansem kobiety. Wprost **1170** www.wprost.pl/ar/?O=76090

Wong, K. 2001. The modern human origins morass. www.sciam.com/article.cfm?articleID=0009EA76-8C30-1C75-9B81809EC588EF21

Wong, K. 2002. Meet the oldest member of the human family. www.sciam.com/article.cfm?articleID=000B16B6-AA5E-1D2C-97CA809EC588EEDF