Каната Селиме Руслановна
Студентка первого медицинского факультета
Медицинская академия им. С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения «Крымский Федеральный Университет им. В.И. Вернадского»; tanzcool@online.ua

Сатаева Татьяна Павловна
Доцент, к.м.н.
Кафедра биологии медицинской
Медицинская академия им. С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения «Крымский Федеральный Университет им. В.И. Вернадского»; tanzcool@online.ua

Филогеография митохондриальной ДНК

Аннотация

Исследования изменчивости мтДНК развиваются в русле филогеографического подхода, который позволяет с помощью методов филогенетического анализа классифицировать монофилетические кластеры ДНК и оценивать степень и время дивергенции последовательностей ДНК внутри кластеров. Филогеографический анализ находит широкое применение и в исследованиях митохондриальных болезней, поскольку на основе знаний о распределении мутаций мтДНК в популяциях человека (т.е. в норме) можно более адекватно оценить степень патогенности мутаций, наблюдаемых у больных, а также исследовать предпосылки возникновения патологических мутаций на фоне различных филогенетических групп мтДНК .

Ключевые слова: митохондриальная ДНК, гаплогруппа, гены, секвенирование.

Известно, что митохондрии – это двух мембранные органеллы, которые являются энергетическими станциями клетки, производя аденозинтрифосфат. Митохондрии имеют свою ДНК, которая имеет виддвуспиральнозамкнутой кольцевой молекулы

Она состоит из 16569 нуклеотидных пар. МтДНК кодирует 2 рибосомальные РНК, 22 транспортных РНК и 13 субъединиц ферментов дыхательной цепи. Принцип построения мтДНК заключается в максимальной экономии: в ней почти отсутствуют интроны, а экзоны почти соприкасаются или даже слабо перекрываются. МтДНК имеет ряд особенностей: по сравнению с ядерной ДНК она наследуется по материнской линии и в ней отсутствуют рекомбинации.

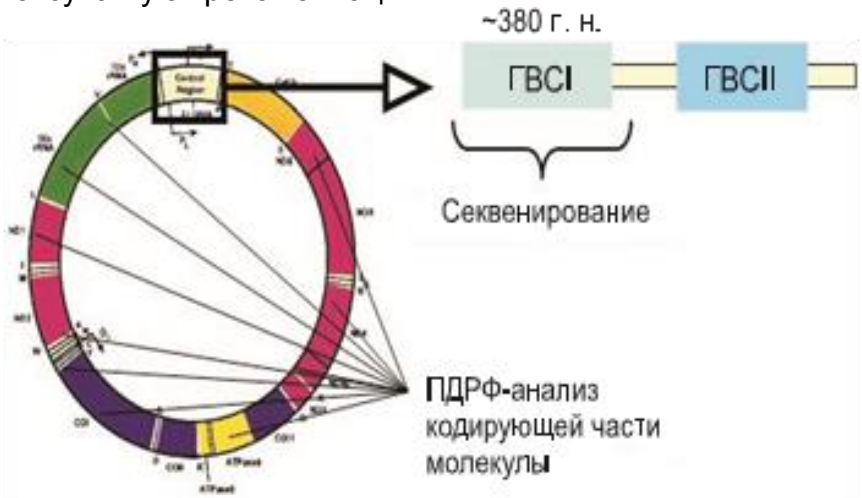

Рис. 1. Карта мтДНК человека.

МтДНК открылив 1963 году Маргит Насс и Сильвен Насс,и независимо от них – в 1964 году Эллен Харлсбруннер, Ханс Туппи и Готтфрид Шац [1].

У человека и у многих других организмов передается мтДНК только по материнской линии. В яйцеклетке насчитываетсяв несколько десятков раз больше митохондрий, чем сперматозоид, обычно их не более десяти. Сперматозоид человека содержит одну митохондрию, закрученную в спираль. Кроме того, что количество митохондрий в яйцеклетке не равно количеству митохондрий в сперматозоиде, после оплодотворения обычно происходит разрушение митохондрий сперматозоида. В 1999 году ученыеобнаружили, что митохондрии сперматозоида помечены убиквитином (белком-меткой, которая ведет к разрушению отцовских митохондрий в зиготе). Следовательно, зигота содержит только материнские митохондрии. Можно сделать вывод, что человек наследуетмитохондрии только по материнской линии.Это обуславливает то, что мутации, которыеоднажды возникли в мтДНК, сохраняются и передаются неизменными в ряду поколений как единый локус, представленный множеством аллелей – гаплотипов. Определенные группы гаплотипов соответствуют определенным группам сцепления между конкретными мутациями (т. е. гаплогруппам) [2].

МтДНК не устойчива, её скорость мутирования довольно высока, поэтому эта ДНК служит прекрасным объектом для определения эволюционного родства людей.Самой изменчивой частью митохондриального генома человека является главная некодирующая область или контрольный регион, имеющий протяженность 1122 п.н., в котором распологаются гипервариабельные сегменты 1 (ГВС1) и 2 (ГВС2) мтДНК. Для определения эволюционного родства определяют последовательности мтДНК у разных видов и сравнивают их с помощью специальных компьютерных программ. После чего получают эволюционное древо для исследуемых видов. Благодаря исследованию мтДНК человека стало возможным определение «митохондриальной Евы», которая является предпологаемой прародительницей всех людей. Так же стало возможным определение путей миграции и судеб популяций человека со стороны матери [3].

Эволюция всех разновидностей мтДНК современных людей ведет к единственной «праматери». Проведены множественные анализы по изучению мтДНК. Вот одно из исследований (назовем его условно – первым) – для этого была взята тотальная ДНК, полученная из разных биологических тканей (крови, плацентарной ткани,волосяных луковиц), которые были взяты у 2922 представителей 33 популяций 27 этнических групп Западной, Центральной, Восточной и Северной Азии и Восточной Европы. Образцы биологических тканей брались у людей здоровых, которые не были родственниками в трех поколениях, согласно сведениям предварительного опроса и после получения разрешения. Изменчивость мтДНК человека исследовалась с использование комбинированного анализа (анализа изменчивости нуклеотидных последовательностей некодирующих сегментов и рестрикционного полиморфизма кодирующих участков мтДНК) и анализа нуклеотидных последовательностей целых митохондриальных геномов. Всего в исследовании проанализирован ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) мтДНК у 2922 человек, нуклеотидные последовательности ГВС1 и ГВС2 были определены у 2843 и 1786 человек, соответственно. Нуклеотидные последовательности молекул мтДНК определены у 286 человек.Также было проанализировано генеалогическое древо для 182 различных типов мтДНК от 241 индивида. Этодревоимеет две главные ветви, которые вели в Африку. Следовательно, мтДНК всех людей происходит от одной женщины-предка (правильнее говорить о небольшом числе женщин одной популяции) [5].

С помощью исследования мтДНК можно доказать то, что корни человека берут свое начало из Африки, атакжеможно определить дату его происхождения. Дата появления митохондриальной праматери была определенас помощью сравнительного анализа мтДНК современного человека ишимпанзе (второй анализ). Зная, что темп мутационной дивергенции равен 2 – 4 % за млн. лет, то можно определить время разделения двух

ветвей, современного человека ишимпанзе. Случилось это около 5 – 7 млн лет назад (темп мутационной дивергенции считают постоянным).

Генетики анализируя мтДНК разных популяций предположили, что популяция предков разделилась на три группы еще до выхода из Африки, которые дали начало монголоидной, европеоидной и африканскойрасам (трем современным расам мира). Полагают, что случилось это около 60 – 70 тысяч лет назад [6].

Все генетические корни человека ведут в Африку, предковая группа человека состояла из 100 тыс. человек, потом был период уменьшения численности в 10 раз, именно это время генетики считают временем объединения разных линий – датой точки коалесценции (так называемое время прохождение через “бутылочное горлышко”). Генетики предполагают, что вид *Homo sapiens* появился в это время. А антропологи считают, что 2 млн. лет назад –дата появления человека.

Если древо мтДНК человечества нарисовать,выходит следующее:

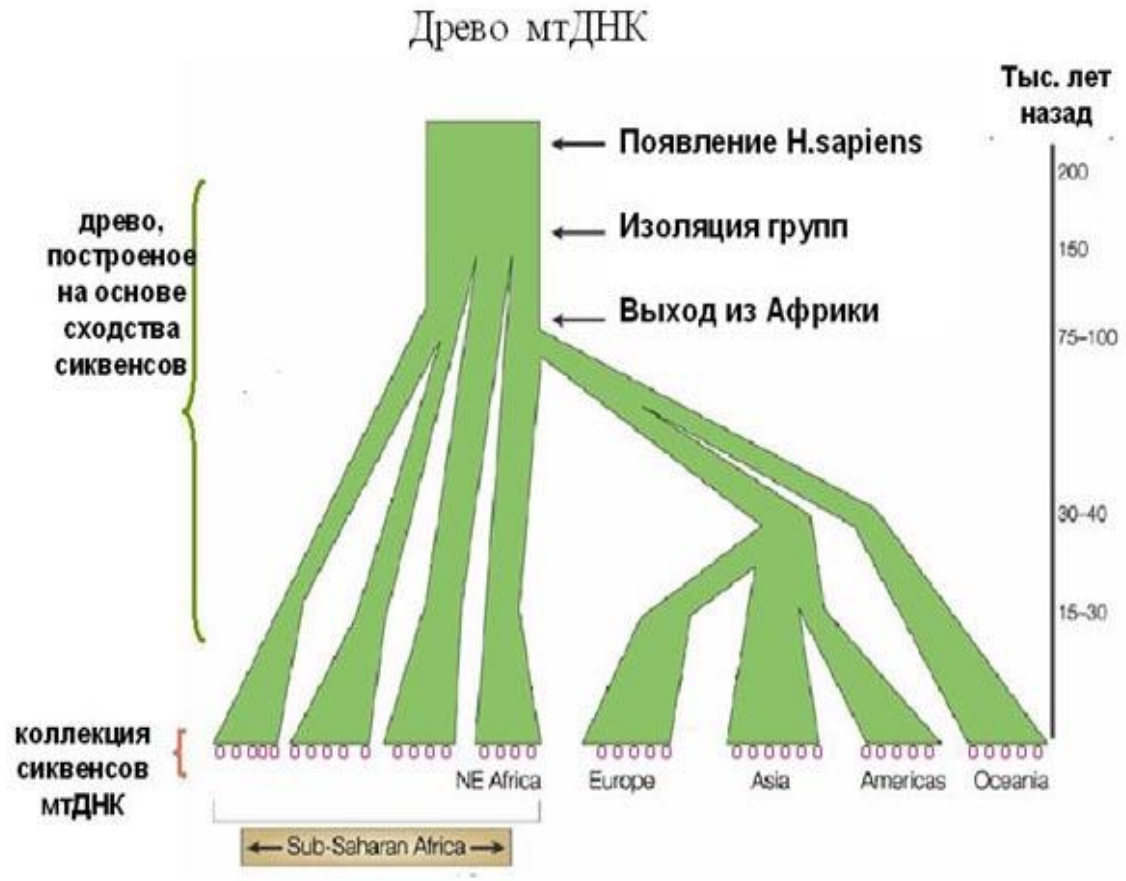

Рис. 2. Схема древа мтДНК человечества.

Красные кружочки – это мтДНК современных людей, но древо – предполагаемое, т. к.имеется очень мало образцов мтДНК древних людей.

Вначале ветви на древе, которые сейчас живут в Африке, отделились. Затем отделилась ветвь от одной из африканских ветвей, которая ушла в Азию. Там часть этой популяцииушла в Австралию и Океанию, а оставшаяся– разделилась на европейскую и азиатскую ветки. Отделилась от азиатской группа, которая ушла в Америку. Даты на рисунке соответствуют количеству накопившихся мутаций мтДНК.

Если на географическую карту наложить это древо, тогда узнаем, как и когда расселились люди по Земле. Корень древа в Африке, потом ветвь уходит в Азию, потом от азиатской ответвились все европейские линии мтДНК.

Хронологическая последовательность событий такова: люди произошли в Африке (точное место определить невозможно, но самые древние линии встречаются у некоторых этнических групп в Танзании и Субсахарской Африке (у бушменов и

готтентотов)). Потом они разделились на группы, одна из которых приблизительно 90 000 лет назад вышла в Восточное Средиземноморье (Левант), которая вымерла полностью. Раньше считалось, что из Африки люди вышли через Левант, это на самом деле не так: первая попытка выхода около 90 000 лет назад оказалась неудачной – люди вымерли, и территория была заселена неандертальцами, которые потом тоже вымерли. Люди выходили из Африки при потеплении, вслед за животными, на которых они охотились, и за растениями, которые они ели. В благоприятных условиях численность популяции росла, и они расселялись на новые территории [7].

Через Южную Аравию осуществилась следующая попытка выхода из Африки. Преимущества этого пути заключалось в получении бесконкурентного источника питания – моллюсков (их раковину практически никто из животных не может разбить).Они вышли около 80 000 лет назад, а 74 000 лет назад извергся вулкана Тоба, что сталопричиной экологической катастрофы – похолоданию по сценарию “ядерной зимы”, и здесь все люди вымерли.Слой пепла, оставшегося после этого извержения, достигает 3 метров. И, видимо, люди здесь вымерли, потому что потом территория Индии повторно заселялась с двух сторон.Потомлюди начали заселятьтерриторию Юго-Восточной Азии, которая была очень благоприятной для проживания. Тут береговая линия была другой, не такой, как сейчас, водные промежутки были не очень большими, и, скорее всего, люди уже умели плавать на плотах. Около 60 000 лет назад добрались людидо Австралии, около 50 000 появились они и в Европе, а затем была освоена вся Евразия,во время потепления. Считают, что первая волна заселения Америки былаоколо 25 000 лет назад была. Тогда туда можно было пройти по суше. На месте Берингова пролива была суша Берингия. Эта первая волна вызывает очень много споров – была ли она на самом деле или нет. А вторая волна расселения была 12-15 тыс. лет назад, которая уже никаких сомнений не вызывает (есть археологические данные, которые подтверждают этот факт) [8].

Около 10-11 тысяч лет назад появляется земледелие на Ближнем Востоке. Плотность населения земледельцев была в 10 раз больше плотности населения охотников-собирателей. И эти земледельцы начинают расселяться во все стороны; идет вторая волна заселения территорий, на которые уже живут охотники-собиратели.

Когда люди расселялись по разным направлениям, они становились географически изолированными популяциями, и в них накапливались мутации, которые давали начало новым генетическим линиям. Но в какие-то периоды они смешивались.

Расселяясь по земле, люди оставляли по земле генетический след расселения, потому что, если какие-то мутации были частыми у африканских линий, то когда люди уходили, накапливались другие мутации, чем дальше они уходили, тем больше их накапливалось. Есть определенный градиент частоты разных аллелей по долготе – это и есть след расселения. Генетические различия между разными популяциями могут быть связаны с адаптацией к факторам внешней среды, таким как климат, природные условия или к особенностям питания и типу хозяйства (производящее или присваивающее), к эндемичным инфекциям и некоторым другим факторам [1, 4].

В настоящее время не установленна корреляция мтДНК и физического проявления каких либо наследственных признаков (то есть тот или иной тип мтДНК не равно тому или иному набору расовых, национальных или иных признаков).

В палеоантропологии и популяционной генетике используют мтДНК, что дает возможность по-новому взглянуть на историю этногенеза народов. В каждом из живущих на земле народов преобладают мтДНК того или иного типа (гапплогруппы). Изучение мтДНК показывает большую близость и общее происхождение европейских народов.МтДНК каждого человека относится к той или иной гаплогруппе. Гаплогруппа (в популяционной генетике человека — науке, изучающей генетическую историю человечества) — группа схожих гаплотипов, имеющих общего предка, у которого в обоих гаплотипах имела место одна и та же мутация — однонуклеотидный полиморфизм.

А. Торрони с соавторами в 1993 году в работах, посвященных изучению происхождения коренного населения Америки заложили основы универсальной номенклатуры мтДНК. Тогда же предложили для построения филогенетических деревьев использовать буквенную номенклатуру. Сегодня буквенная номенклатураявляется общепринятой и широко используется генетиками, основанная на использовании как ПДРФ-анализа, так и прямого поиска мутаций в ГВС1 и ГВС2 путем секвенирования, является. Мутации, определяющие гаплогруппы, обозначаются буквенным и цифровым индексами. При этом основные ветви с обнаружением новых мутаций в митохондриальном геноме разделяются на более мелкие, что позволяет выявлять специфические особенности популяций человека в тех или иных регионах мира, отличающие их друг от друга по женской линии. Субклады, располагающиеся внутри мажорных гаплогрупп, обозначаются цифрами. Надежность классификации зависит от количества имеющейся информации об изменчивости мтДНК, и, естественно, в идеале необходима информация о нуклеотидных последовательностях целых митохондриальных геномов, относящихся к разным филогенетическим группам. Накопленные к настоящему времени данные в области популяционной митохондриальной геномики (секвенировано уже около 17 тыс.митохондриальных геномов позволили существенно улучшить представления о топологии филогенетического дерева мтДНК человека и детализировать классификацию мтДНК с учетом данных о региональных особенностях эволюции митохондриального генома. К настоящему времени разработана детальная классификация гаплогрупп мтДНК (a e, aer, 2009 [3].

По современным данным, филогенетическое дерево мтДНК человека представлено двумя крупными дочерними ветвями – L0 и L1′2′3′4′5′6 (L1′5. L1′5 распространена более широко, в нее входят почти все обнаруженные линии мтДНК. Все разнообразие неафриканских гаплогрупп, за исключением тех, что были привнесены миграциями в течение последних нескольких тысяч лет, в том числе с интенсивной работорговлей, сводится к вариациям внутри базальной гаплогруппы L3, разделившейся впоследствии на две ветви. Эти события произошли, предположительно, около 60000–65000 лет назад в районе между Восточной Африкой и Персидским заливом. Важно отметить, что в распределении гаплогрупп мтДНК наблюдается выраженная региональная специфичность. Ветви 0, U и , а также минорные ветви гаплогруппы (1, 2 и X объясняют большую часть разнообразия мтДНК в Европе, в то время как в восточно-евразийский пул мтДНК-гаплогруппа и специфичная для Азии макрогаплогруппа M привносят примерно одинаковый вклад. Данная классификация постоянно обновляется, что позволяет рассматривать различия между популяциями с высокой степенью филогенетического разрешения [5, 7].

Изучение изменчивости митохондриального генома в настоящее время проводится с использованием комбинированного подхода – выявления однонуклеотидных замен мтДНК классическим методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов ДНК (ПДРФ в сочетании с изучением нуклеотидной последовательности ГВС1 и ГВС2 главной некодирующей области мтДНК. Такой подход выявил важную особенность мтДНК, имеющую значение для изучения молекулярной эволюции. В частности, установлено, что определенным группам рестрикционных типов мтДНК, ключевые мутации которых расположены в различных участках молекулы, соответствуют вполне определенные типы нуклеотидных последовательностей гипервариабельного участка мтДНК. Эта особенность молекул мтДНК имеет важное значение для изучения молекулярной эволюции, поскольку разнообразие митохондриального генофонда хранит в себе множество их комбинаций, по которым можно проследить изменения молекул мтДНК во времени и классифицировать молекулярные изменения в приложении к эволюции популяций. Последовательное накопление мутаций позволяет отслеживать историю индивидов к так называемой точке коалесценции, т. е. некоему общему предку.

Зная скорость мутирования, можно рассчитать время коалесценции – время, когда у индивидов был общий предок. По спектру гаплотипов мтДНК в популяции можно проследить эволюционные взаимосвязи между древними и вновь возникающими гаплотипами и более того, реконструировать генетическую историю женского генофонда популяции [8].

В отличие от локусов ядерной ДНК, где эволюционные изменения прослеживаются главным образом по вариабельности частот различных аллелей в популяциях, митохондриальная ДНК дает возможность восстановить действительную филогению, т. е. последовательность возникновения носителей различных мт-гаплотипов в эволюционном ряду. Филогенетические взаимосвязи между гаплотипами изображаются в виде дерева, имеющего корень, ствол, более древние большие ветви и мелкие веточки, возникшие в относительно недавнем прошлом. Корень гаплотипов мтДНК человека был выявлен исходя из сравнения с последовательностью мтДНК шимпанзе. Для большего удобства отсчет ведется не от предполагаемой предковой популяции, а от последовательности митохондриального генома человека, так называемой кембриджской референсной последовательности (r – ambrige reeree euee).

Дальнейшее построение сети зависит от числа гаплотипов. Реконструкция эволюционного древа с учетом времени коалесценции линий и в совокупности с географическими, палеонтологическими и археологическими данными составляет основу филогеографического подхода, который в последнее время получил широкое распространение в исследованиях происхождения человека, рас и отдельных этносов.

Список цитируемой литературы:

1. Б.А. Малярчук, М.В. Деренко. Филогеографические аспекты изменчивости митохондриального генома человека // Вестник ВОГиС. – 2006. - Том 10, № 1. - С. 41-56
2. Э.К. Хуснутдинова. Этногеномика // Вавиловский журнал генетики и селекции.
3. Филогеографический анализ митохондриальной ДНК ногайцев.Oct. 18th, 2013 at 2:07 PM (http://stelleri.livejournal.com/286015.html)
4. Howell N., Kubacka I., Mackey D.A. // Am. J. Hum. Genet. - 1996. - V. 59.- P. 501.
5. Ingman M., Kaessmann H., Paabo S., Gyllensten U. // Nature. - 2000. -ьV. 408. -P. 708.
6. Johnson M.J., Wallace D.C., Ferris S.D., Ratazzi M.C., Cavalli-Sforza L.L. // J. Mol. Evol. - 1983. - V. 19. - P. 255.
7. Nachman M.W., Brown W.M., Stoneking M., Aquadro C.F. // Genetics. - 1996. - V. 142. - P. 953.
8. Ovchinnikov I.V., Gotherstrom A., Romanova G.P., Kharitonov V.M., Liden K., Goodwin W. // Nature. - 2000. - V. 404. - P. 490.

Kanata Selime Ruslanovna
Student of the first medical faculty
Medical Academy. S.I. Georgievsky of Federal State Autonomous Educational Institution
"Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky "; tanzcool@online.ua

Sataeva Tatiana Pavlovna
Associate Professor, Ph.D.
Department of Medical Biology
Medical Academy. S.I. Georgievsky of Federal State Autonomous Educational Institution
"Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky "; tanzcool@online.ua

Phylogeography of mitochondrial DNA

Summary

Studies of the variability of mtDNA are developing along the lines of the phylogeographic approach, which allows to use phylogenetic analysis methods in order to classify monophyletic DNA clusters and to estimate the degree and time of divergence of DNA sequences within clusters. Phylogeographical analysis is widely used in studies of mitochondrial diseases, because, based on knowledge of the distribution of mutations in mtDNA in human populations (ie, normal), it is possible to more adequately assess the degree of pathogenicity of mutations observed in patients, and also to investigate the prerequisites of pathological mutations on Background ´different phylogenetic groups of mtDNA.

Key words: mitochondrial DNA, haplogroup, genes, sequencing