

Загальна гіпотеза еволюції нових генів через дуплікацію старих, за збереження старої функції: книга Оно CNV як стадія еволюції генів (геному), популяційні процеси
Відкриття масштабу CNV в природних популяціях
Механізми дуплікацій (депеций): NAHR, транспозиція
NAHR "runaway process", LINE-транспозони у мишах
Важливі відмінності CNV мутацій від нуклеотидних заміщень: збереження функції і баланс дози генів

Теорія

Neo- and sub-функціоналізація: не потребує адаптивних мутацій

Суб-функціоналізації експресії генів в різних органах (тканинах)

Субфункціоналізація та видоутворення (BDM несумісності)

Адаптивні функції:

Прямий добір на збільшення дози гена

Фіксація гетерозиготних генотипів - перехід від балансуючого добору до 'permanent heterozygosity'

Ампліфікація числа генів як "тимчасова" реакція на тиск добору, із наступною неофункціоналізацією

Гіпотеза маскування: мутація і потік генів: роль частоти рекомбінації

Методи вивчення: тільки відносно "стандарту"

Quantitative / Real-Time PCR, Digital PCR

Array hybridization methods

NextGen sequencing:

Read Depth

Split Read (from Paired-End seq)

Емпіричні результати

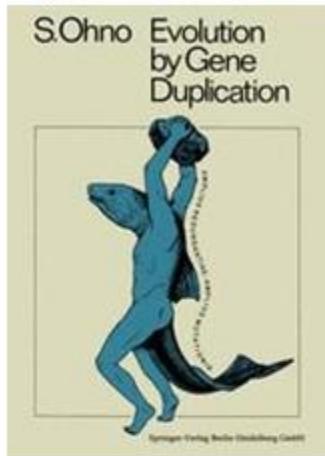
Обсяг прикладів адаптивних дуплікацій: гени амілази у людей та собак, тощо

Перехід до "перманентної гетерозиготності": еволюція стійкості комарів до інсектицидів

Важливість балансу дози генів: дріжджі ?

CNV на ранніх стадіях видоутворення: колюшки, хатні миші ?

CNV в гіbridній зоні мишей

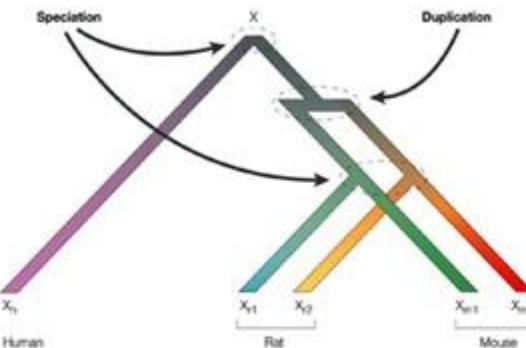


Susumu Ohno 1970



Sequence database searching

Orthology and paralogy

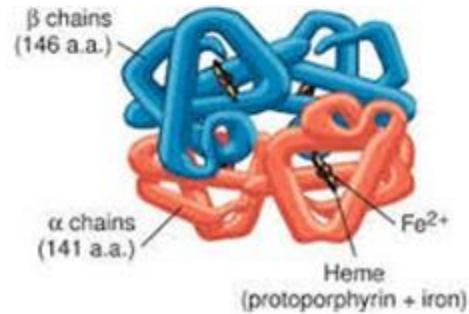
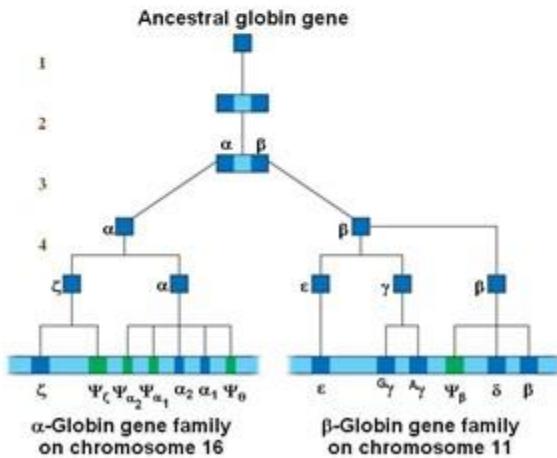


Nature Reviews | Drug Discovery

4

Дуплікація як основний (але не єдиний) механізм

ВИНИКНЕННЯ НОВИХ ГЕНІВ



Published in final edited form as:

Nature. 2006 November 23; 444(7118): 444–454. doi:10.1038/nature05329.

Global variation in copy number in the human genome

Richard Redon^{1,2}, Shumpei Ishikawa^{2,3}, Karen R. Fitch^{3,4}, Lars Feuk^{4,5,6}, George H. Perry^{6,7}, T. Daniel Andrews¹, Heike Fiegler¹, Michael H. Shapero³, Andrew R. Carson^{4,5},



Масштаб CNV в геномі людини :

CNV охоплює ~12% генома

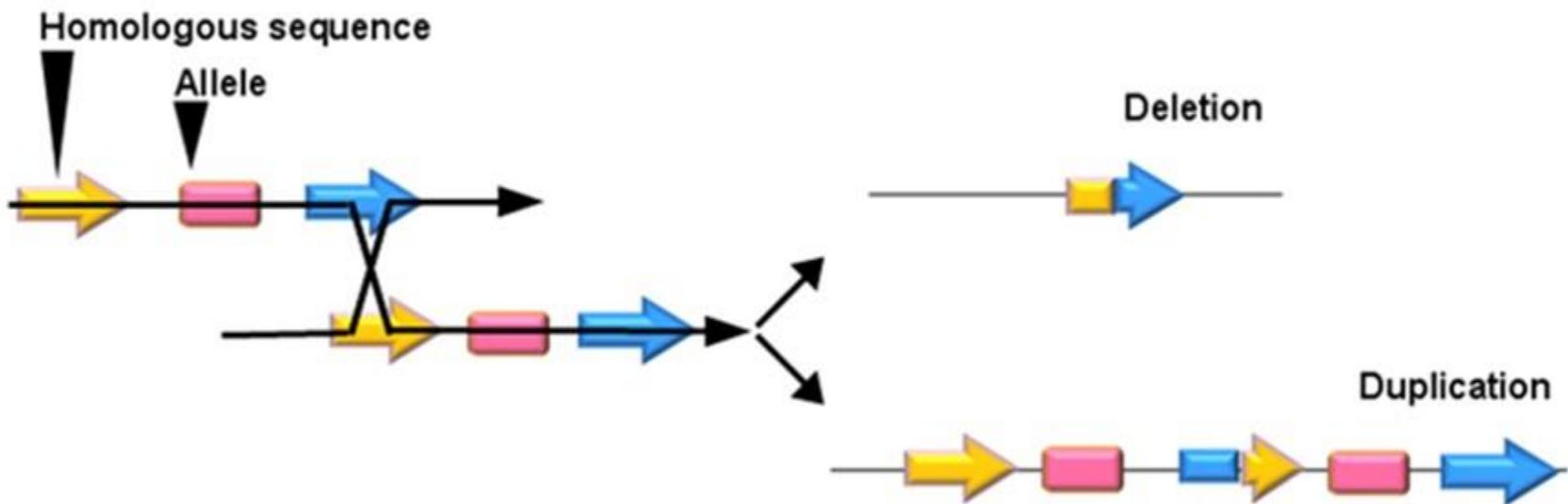
‘junk’ DNA

екзонон, функціональні, регуляторні гени

дві випадково вибрані людини відрізняються по
числу копій ~ 110 генів

Механізми виникнення дуплікацій / делецій

Non-Allelic Homologous Recombination (NAHR)



Механізми дуплікацій / делецій

Ретротранспозиція

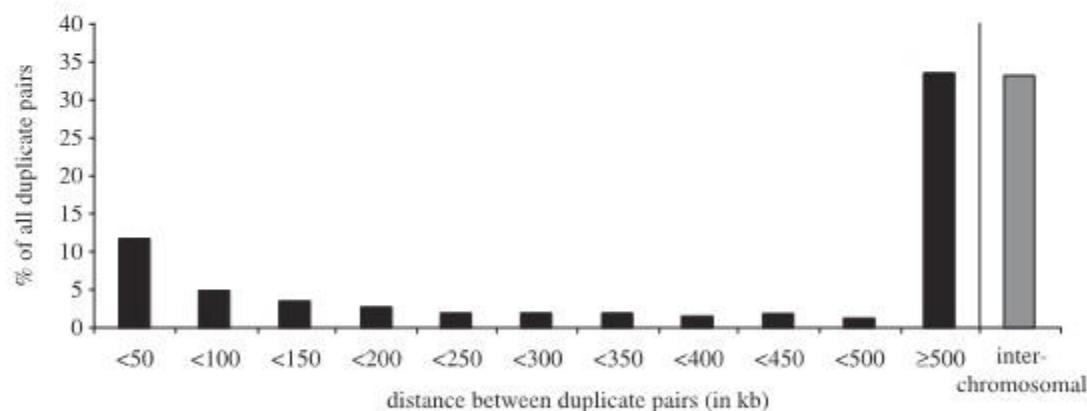
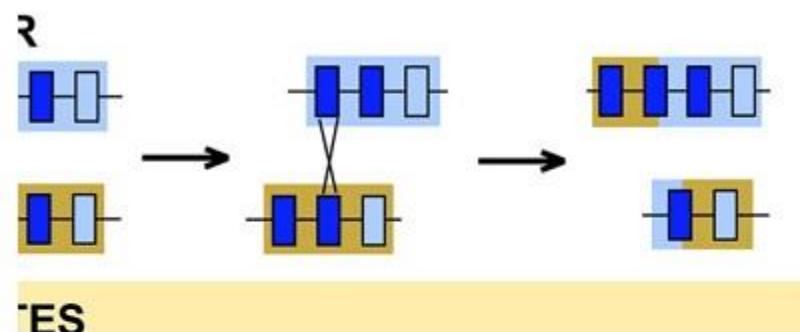


Figure 3. Distances between recent gene duplicates in the human genome formed after the human–macaque split (from data presented in McGrath *et al.* 2009).



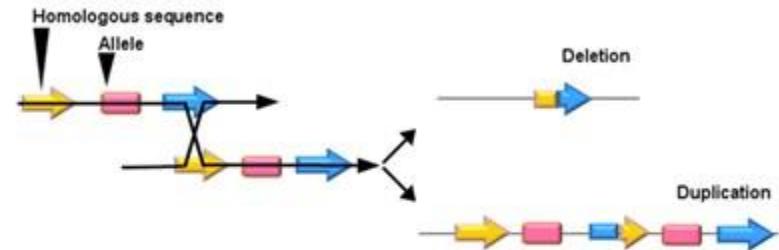
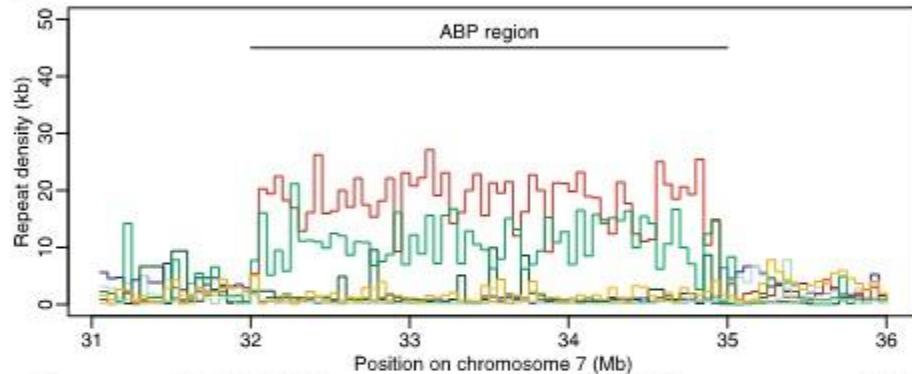
Schrider & Hahn 2010

Механізми дуплікацій / делецій

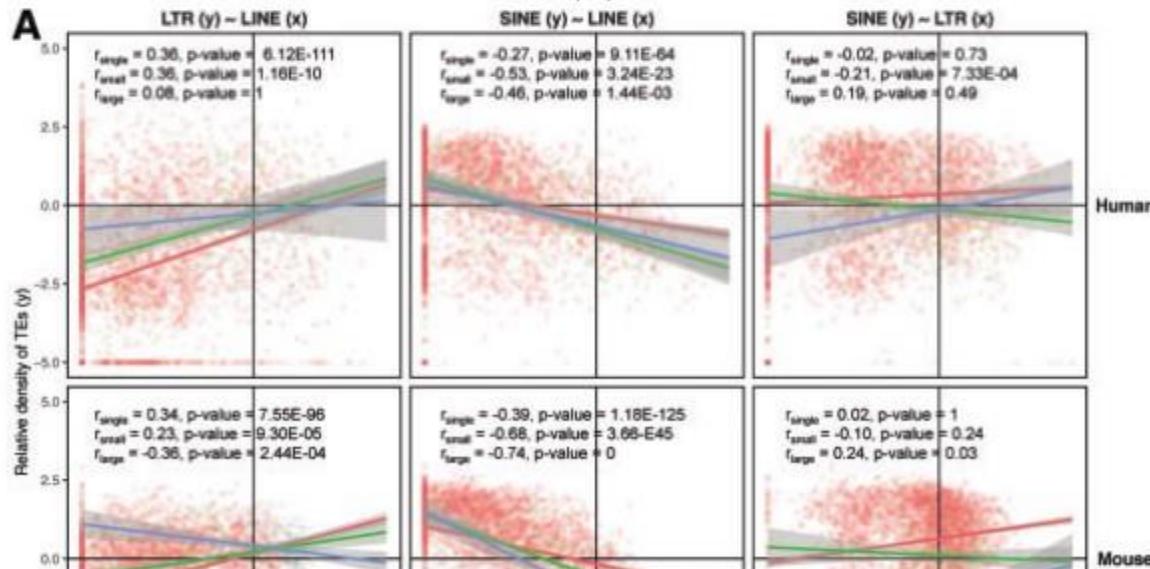
NAHR виникає на довгих, майже ідентичних неалельних локусах

LINE-транспозони у мишій

A



A



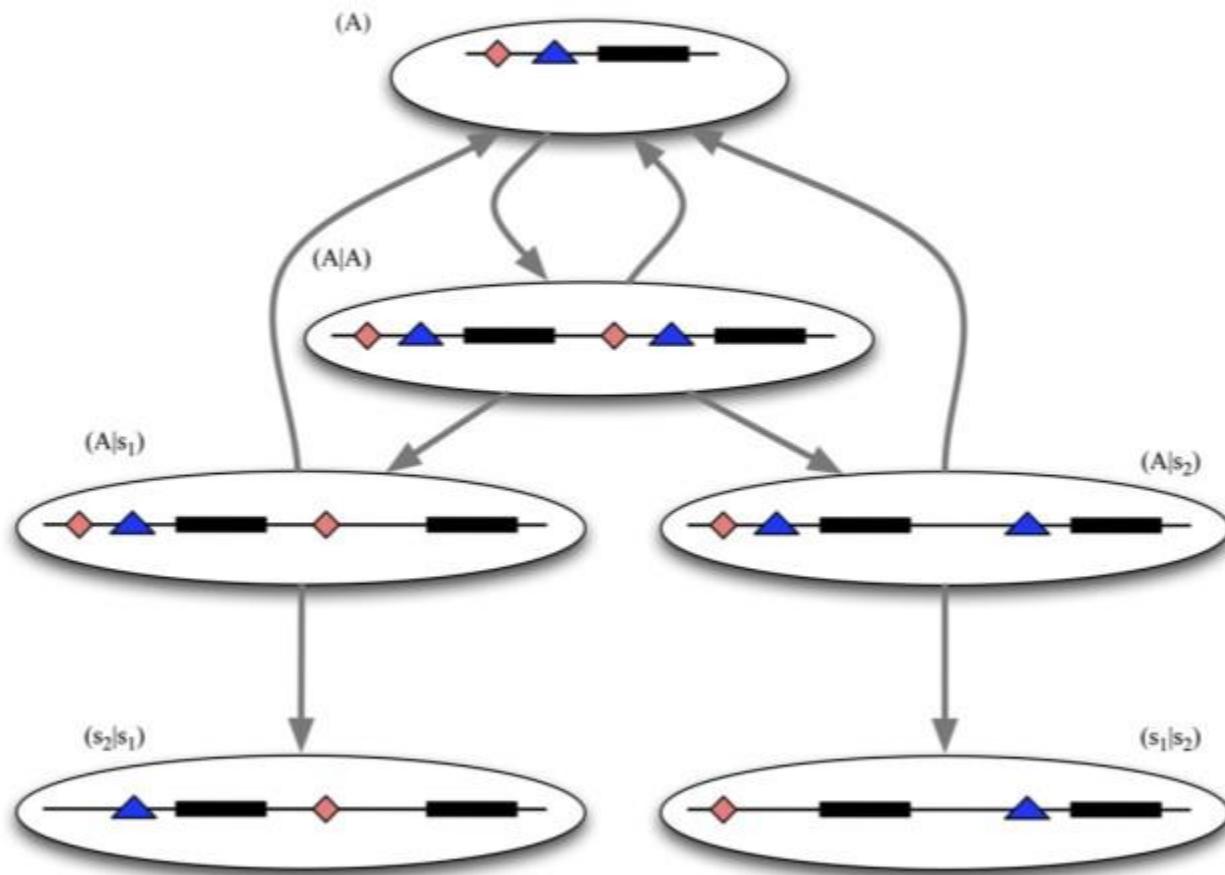
Janousek et al. 2013
Janousek et al. 2016

Теорія

- Нейтральна модель (DDC)
- Потеційна роль у видоутворенні
- Ампліфікація під прямим добором
- Гіпотеза маскування: мутації і потік генів

DDC (Duplication, Degeneration, Complementation)

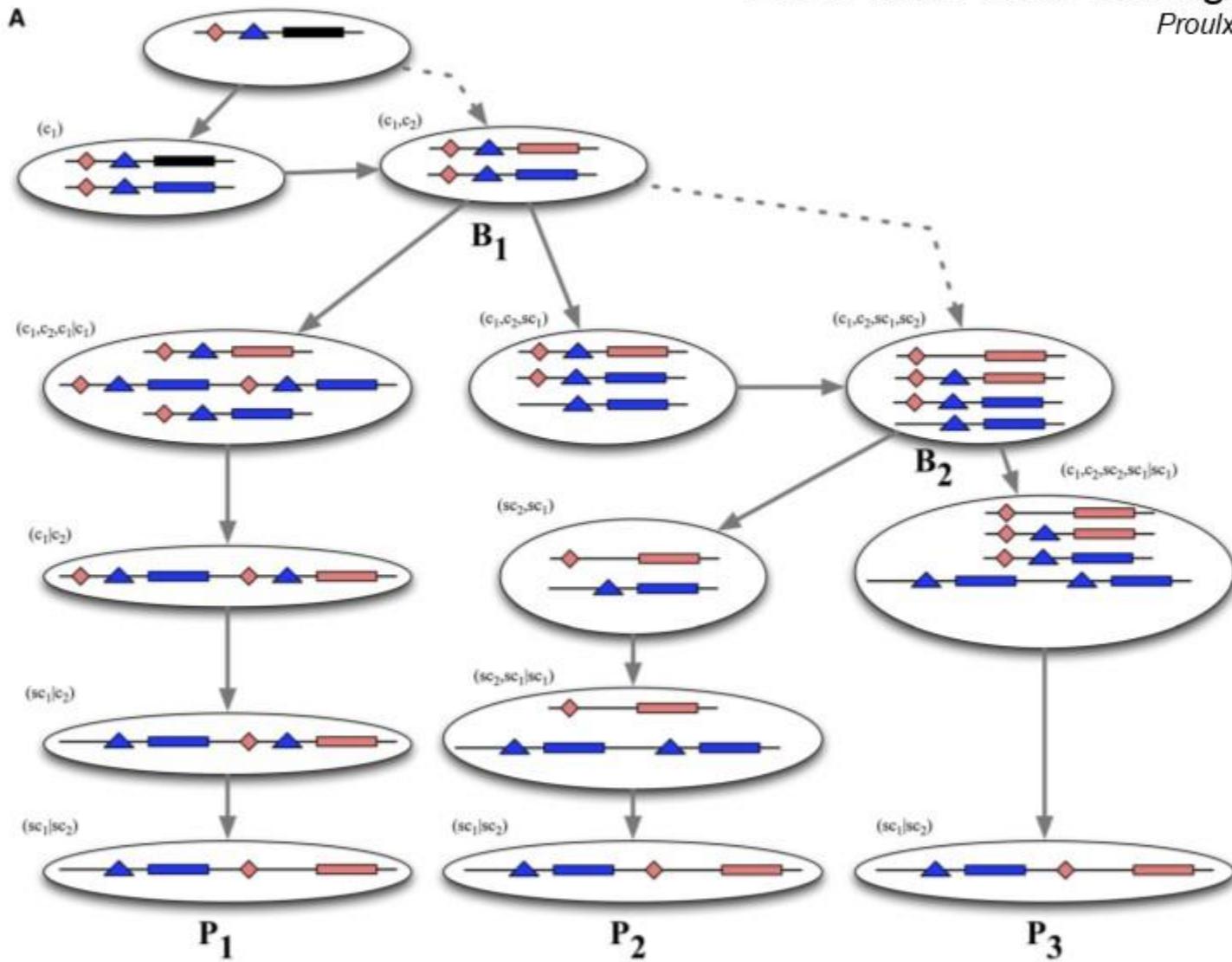
Michael Lynch et al.



e.g. Proulx 2011

DDC with Allelic Divergence

Proulx 2011 ...

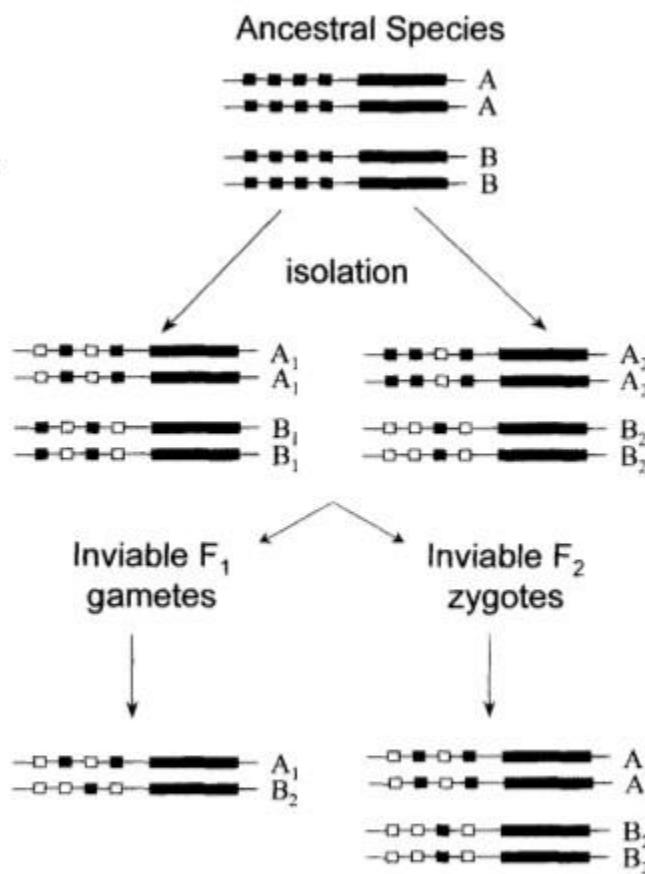
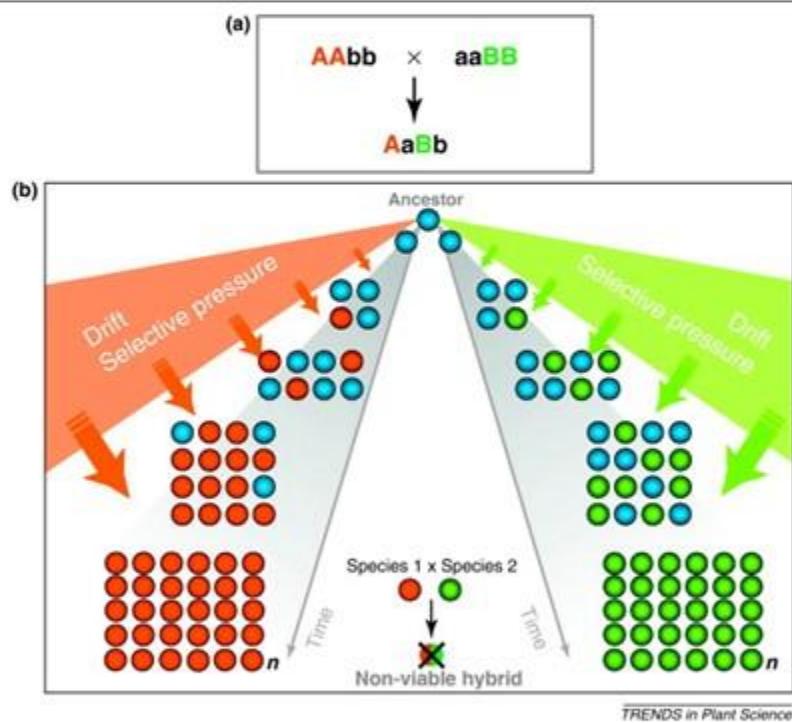


e.g. Proulx 2011

DDC and Evolution of BDM incompatibilities

Michael Lynch et al..

Bateson Dobzhansky Muller incompatibilities

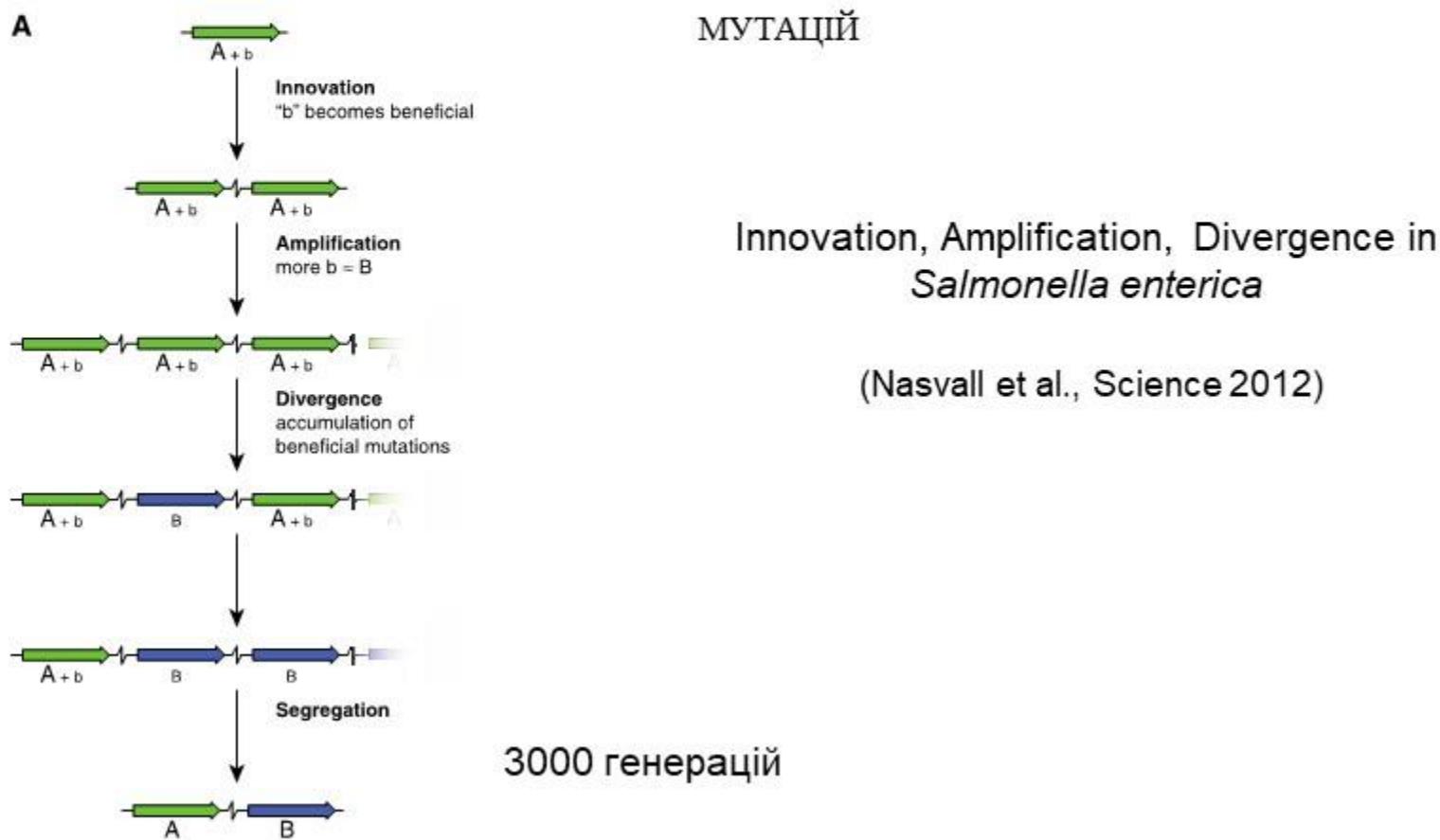


Lynch & Force 2000

ДОБІР НА ЗБІЛЬШЕННЯ ДОЗИ ГЕНА

ПЕРЕХІД ВІД БАЛАНСУЮЧОГО ДОБОРУ ДО “ПЕРМАНЕНТОЇ ГЕТЕРОЗИГТОСТІ”

АМПЛІФІКАЦІЯ ЧИСЛА КОПІЙ ЯК “ТИМЧАСОВЕ РІШЕННЯ” ДО ВИНИКНЕННЯ ЕФЕКТИВНИХ



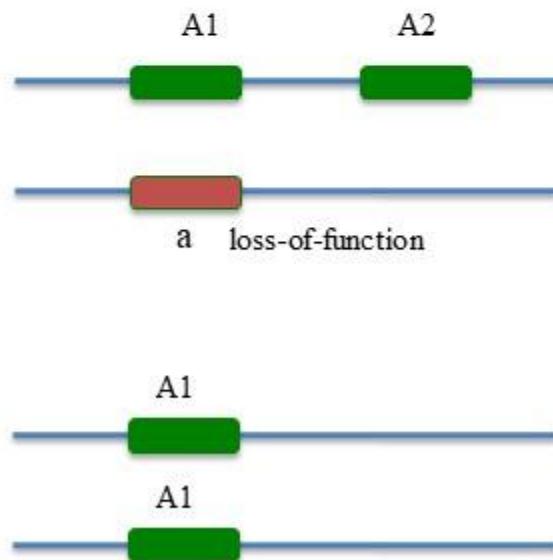
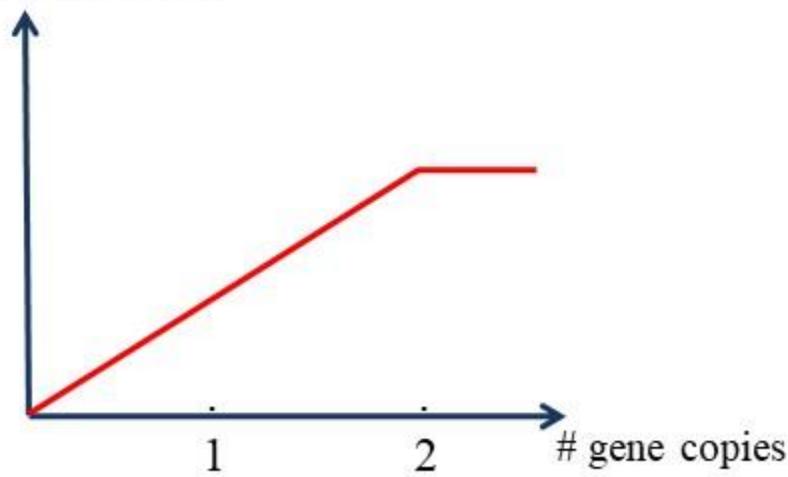
ГІПОТЕЗА МАСКУВАННЯ МУТАЦІЙ



$$\text{mutation rate} = 2\mu$$

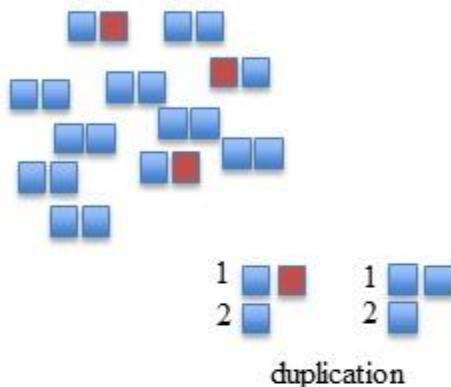
Duplication that restores gene dosage may be preserved

Gene dosage benefit

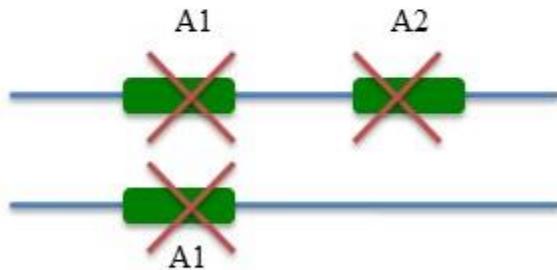
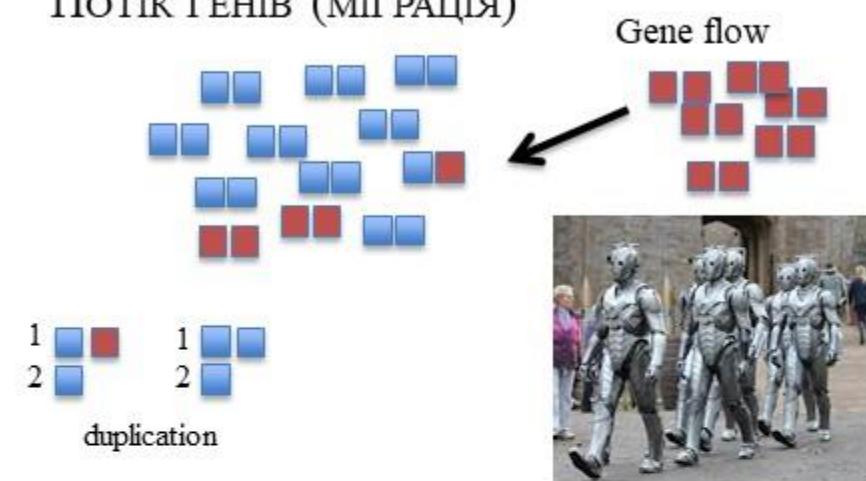


SOURCES OF DELETERIOUS ALLELES:

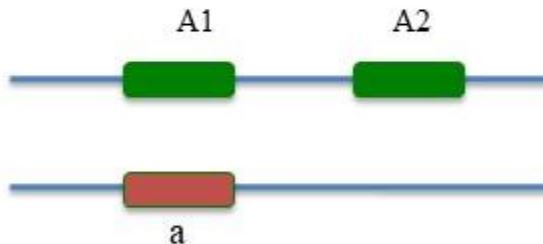
МУТАЦІЯ



ПОТІК ГЕНІВ (МІГРАЦІЯ)



Duplication is prone to mutations



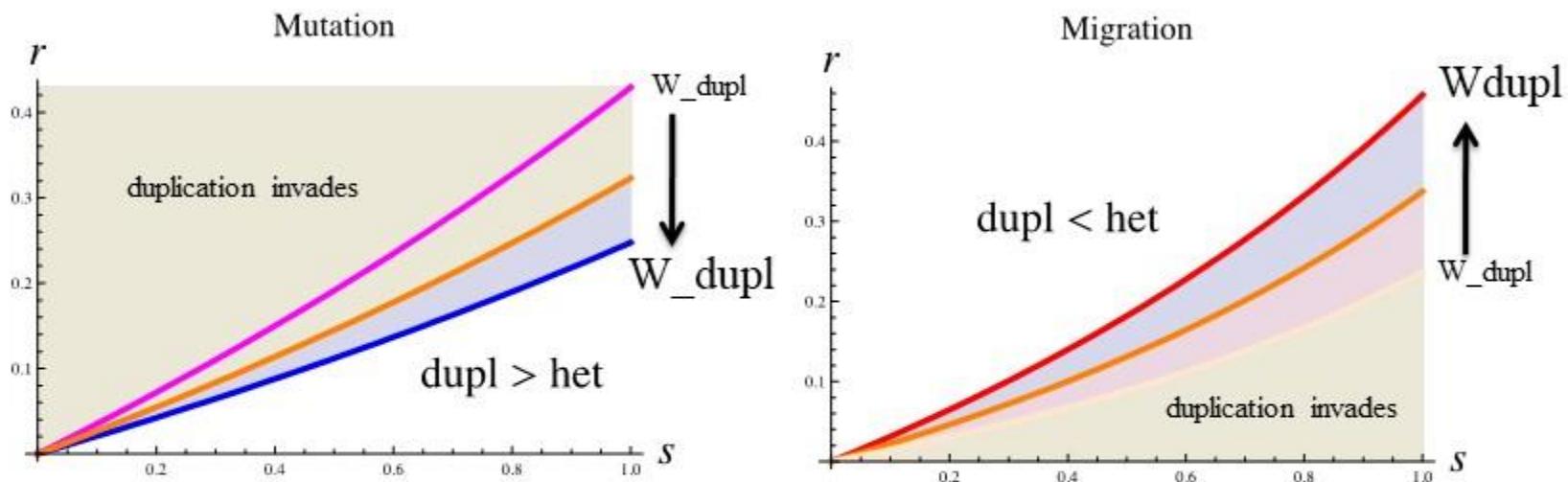
Mutation rate is small relative to migration

Otto, S. P., and P. Yong. 2002. The evolution of gene duplicates. *Adv Genet* 46:451-483.

Yanchukov, A., and S. R. Proulx. 2012. Invasion of gene duplication through masking for maladaptive gene flow. *Evolution* 66:1543-1555.

Parameter space for duplication invasion is much larger in the migration scenario

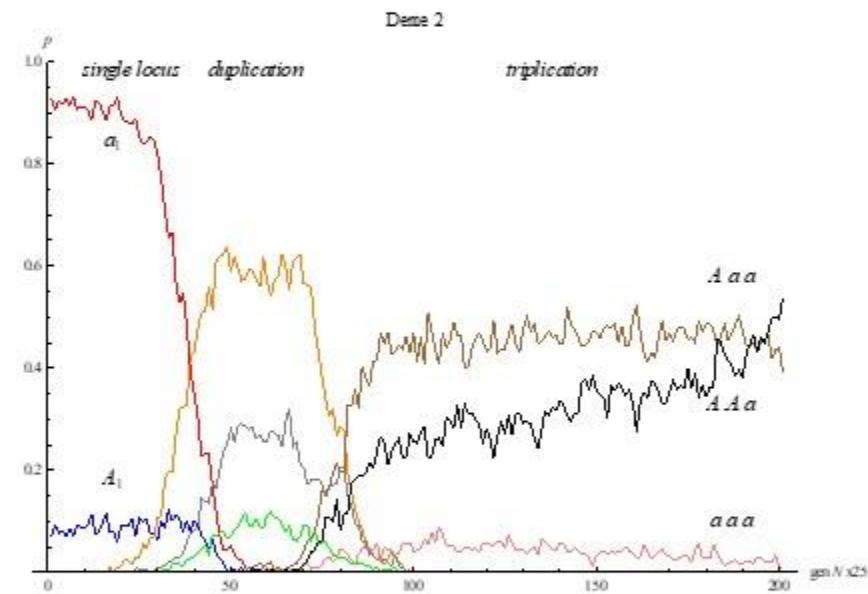
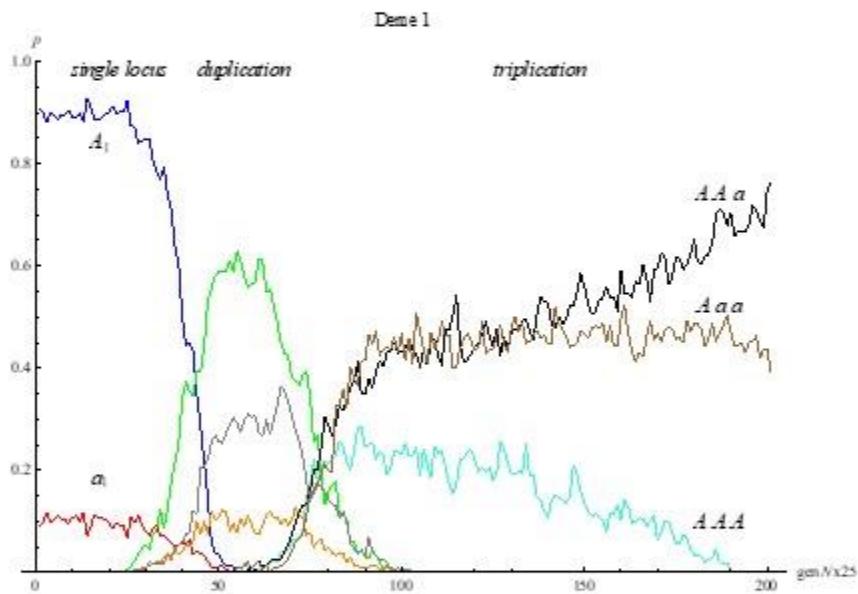
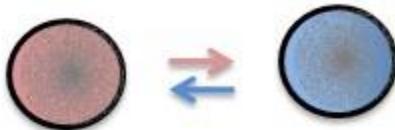
$$W_{\text{duplication}} = \text{het} \times \text{dupl}$$



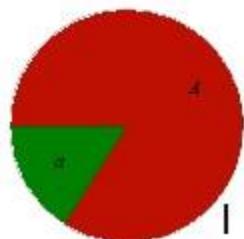
- The above parameter ranges in the mutation and migration scenarios are separated by $\text{dupl} = \text{het}$
 - A duplication masking for **mutation** invades fastest at $r = \frac{1}{2}, \max(\text{dupl} - \text{het})$
 - A duplication masking for **migration** invades fastest at $r = 0, \min(\text{het} - \text{dupl})$

Can the masking duplication be fixed by gene flow?

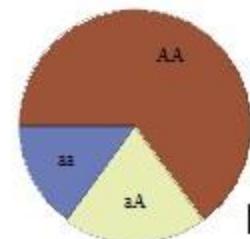
A masks for *a* *a* masks for *A*



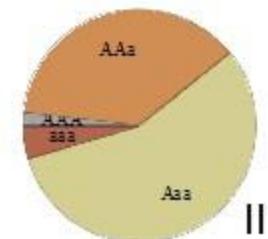
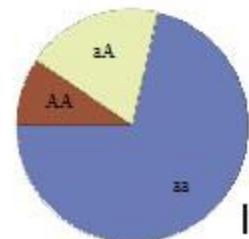
Single copy



First duplication



Second duplication



Методи визначення числа копій

! завжди **відносно** стандарту !!

In-situ visualization

Quantitative / Real-Time PCR, Digital PCR

Array hybridization

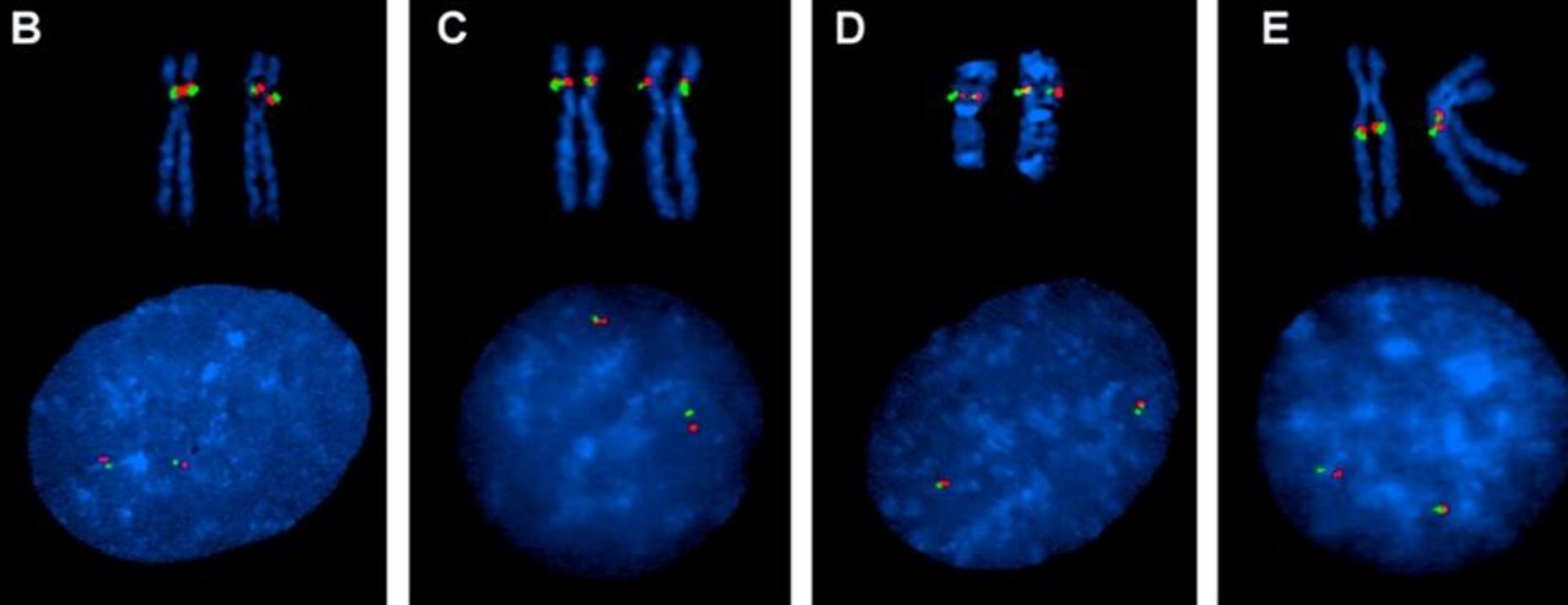
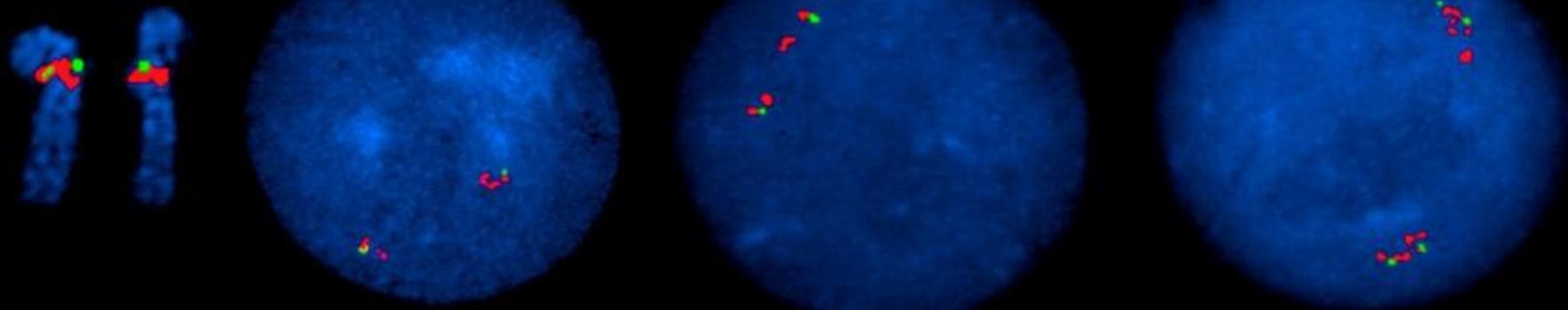
NextGen sequencing:

Read Depth

Split Read (from Paired-End seq)

A

Fig. 3 from Fortna A, Kim Y, MacLaren E, Marshall K, Hahn G, et al.
(2004) Lineage-Specific Gene Duplication and Loss in Human and Great
Ape Evolution. PLoS Biol 2(7): e207



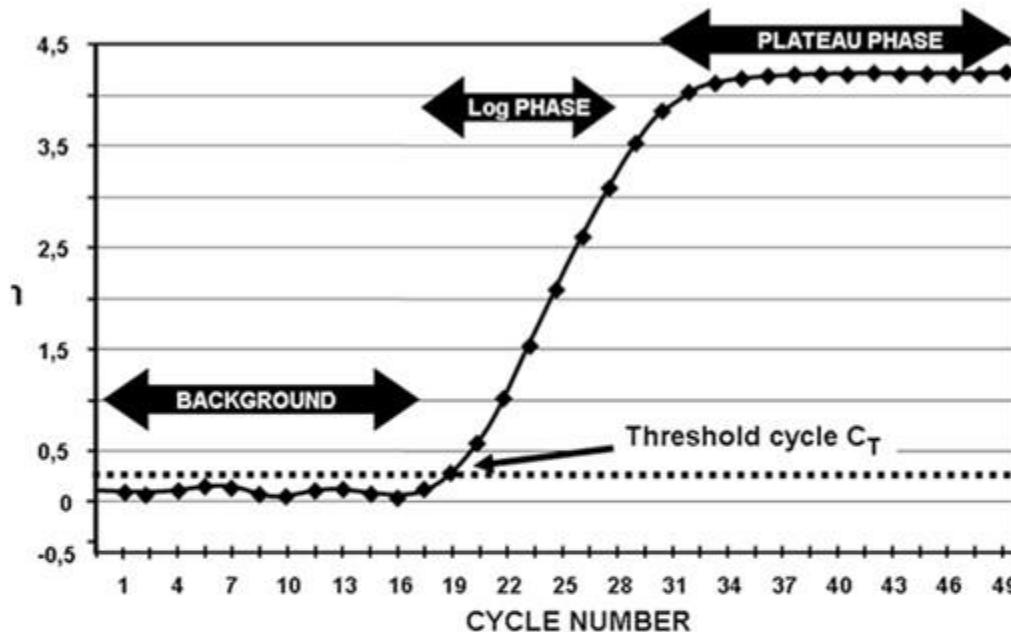


PCR

H₂O

Buffer

- primers
- dNTPS
- Taq polymerase
- DNA template

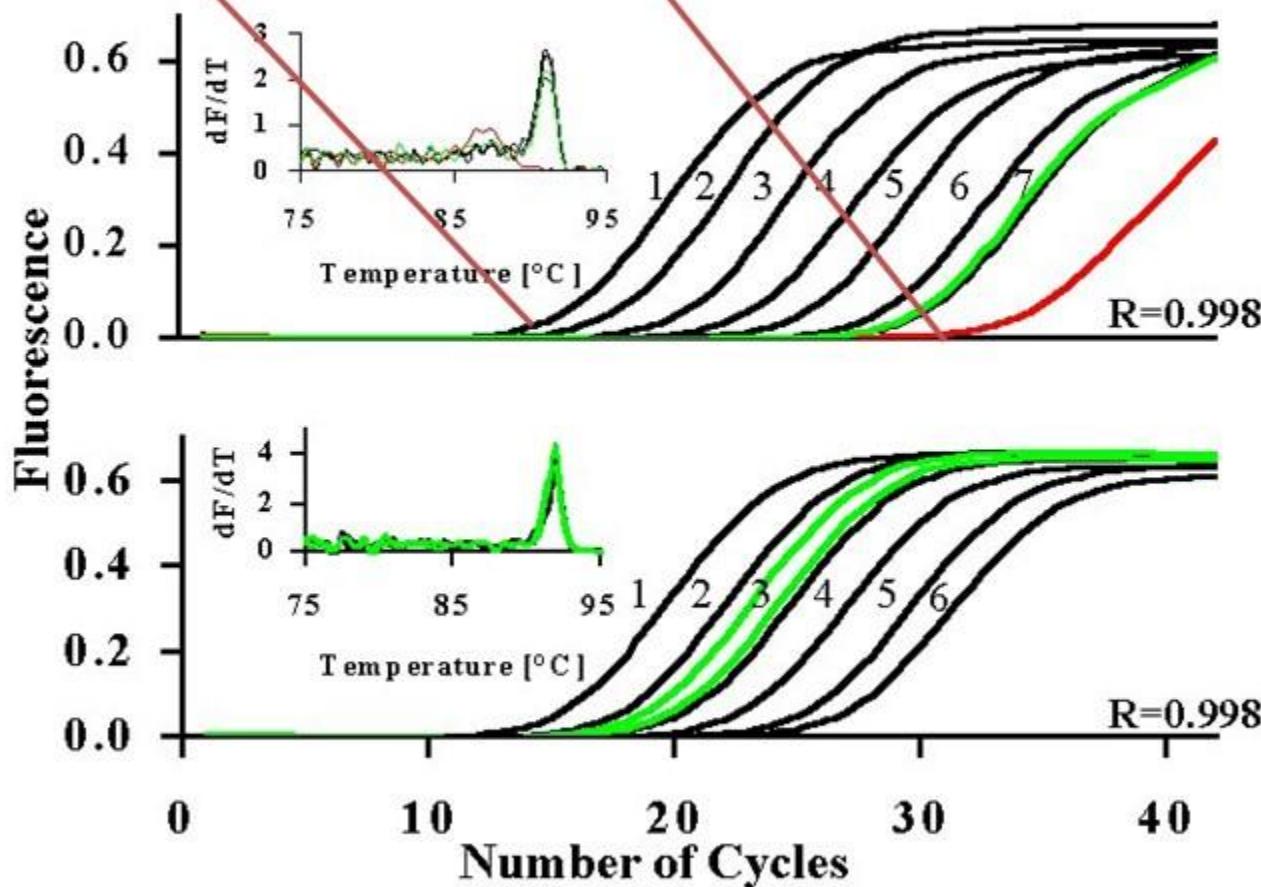


Is used to amplify a short sequence to ***detectable*** quantities..

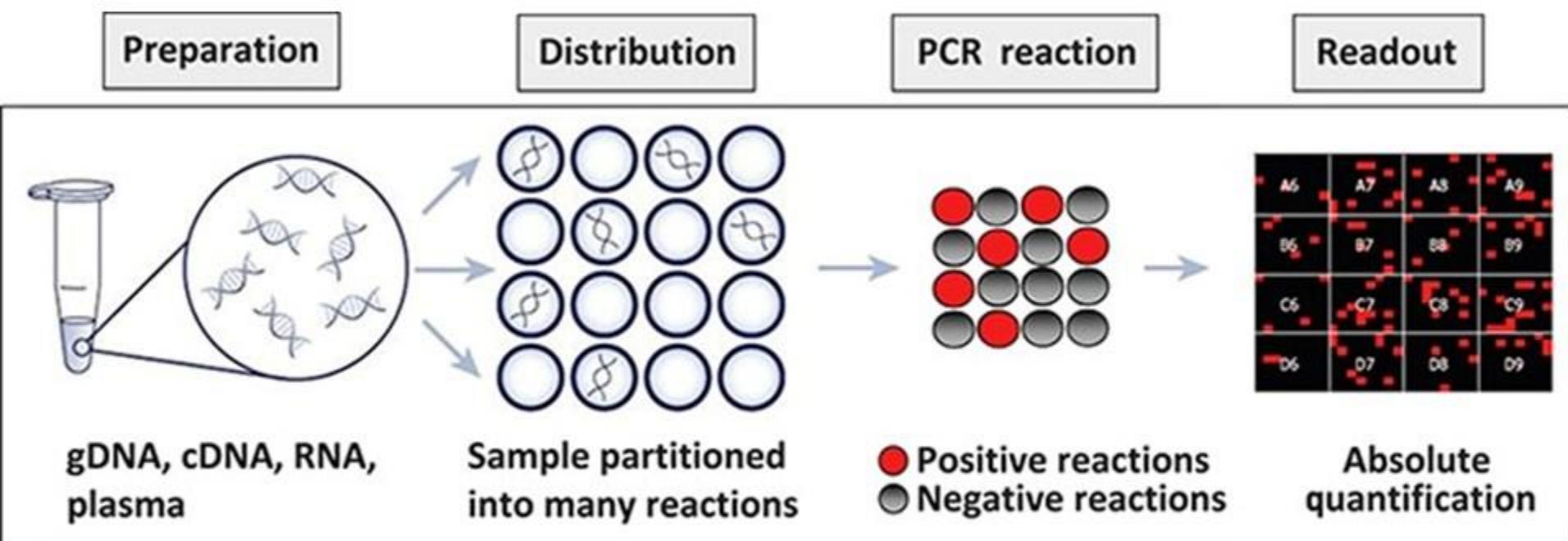
qPCR

Early start (higher template concentration)

Late start (lower template concentration)

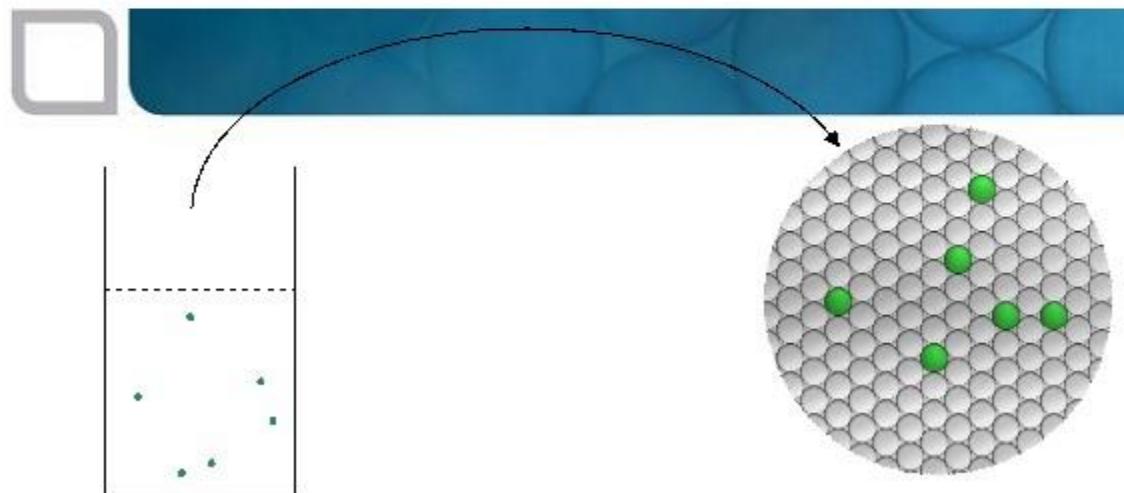
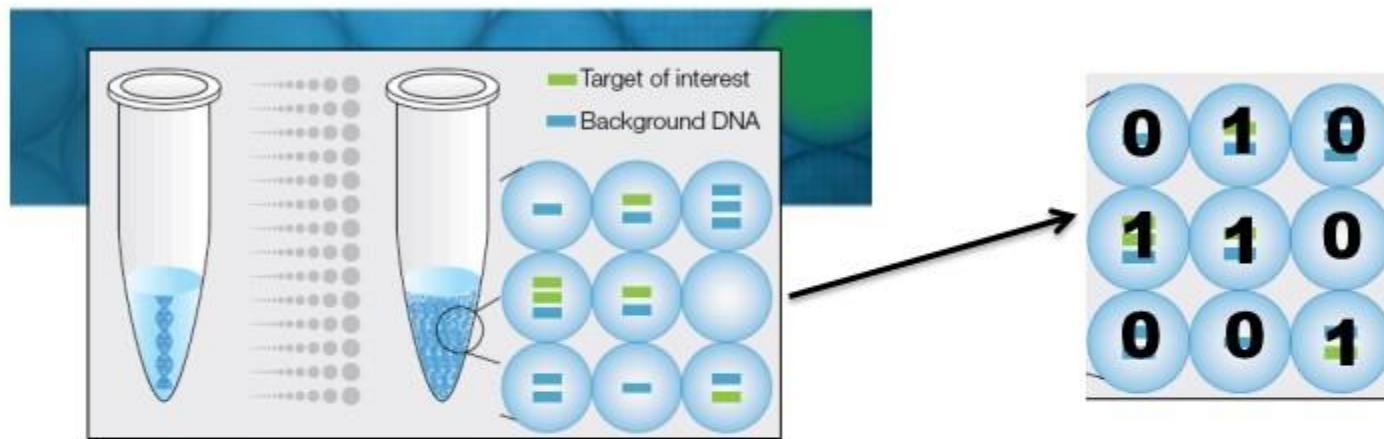


Digital PCR: All current platforms share the same algorithm (this is a Life Techs chip..)

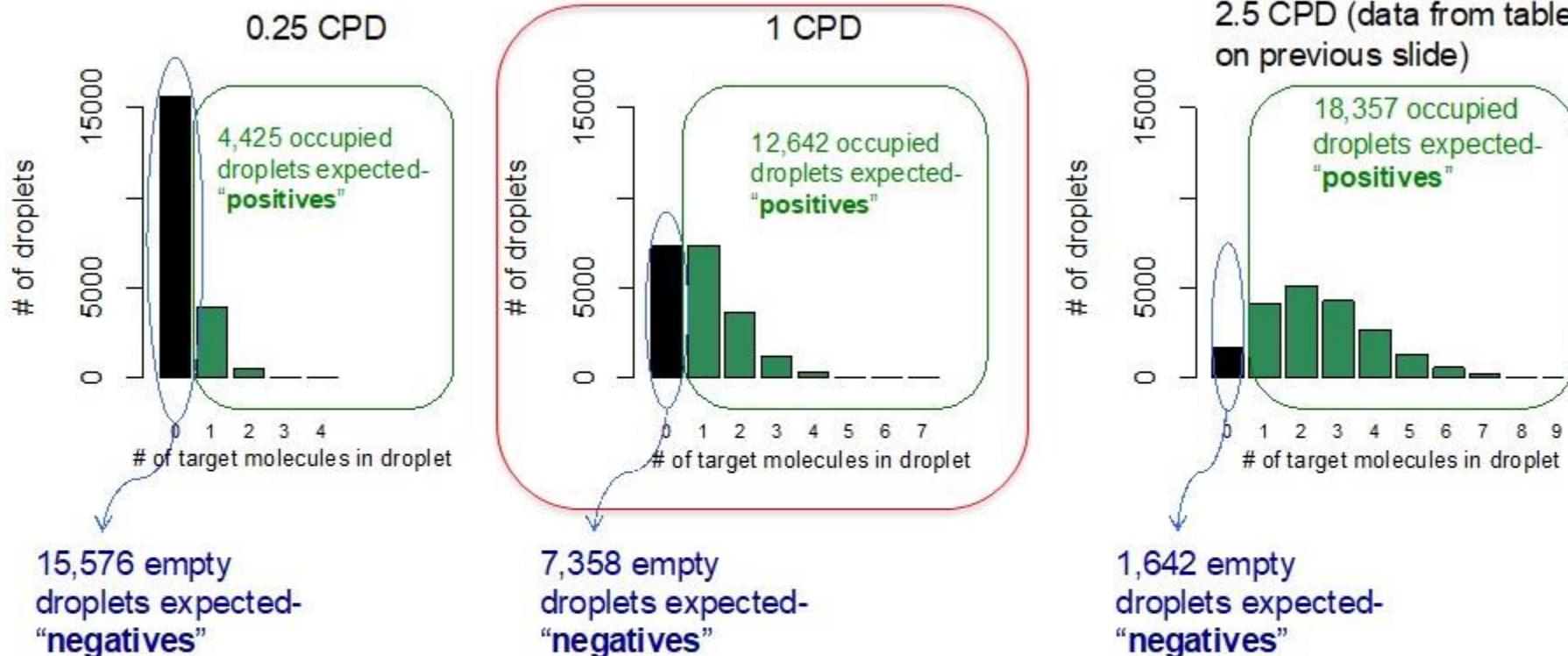


PCR: Why call it **Digital**?

It's all or nothing : **1 or 0**



CPD – Copies Per Droplet



$$k = 0$$

$$p(k) = \frac{\lambda^k}{k!} e^{-\lambda}$$

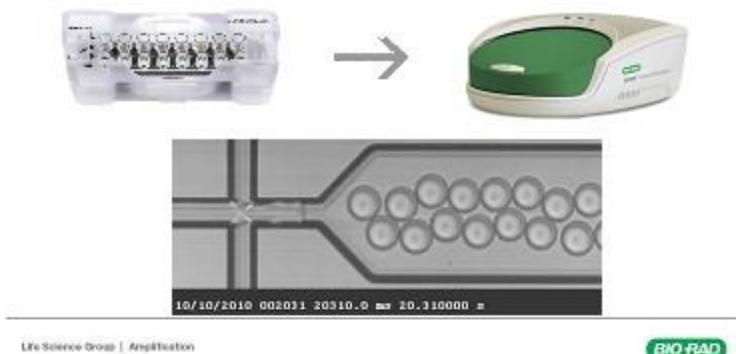
$$p = \frac{N_{neg}}{N_{total}} = \frac{7358}{20000} = 0.3679$$

$$\lambda = .999$$

$$\{7364.95, 7357.59, 3675.11, 1223.81, 305.647\}$$

Bio-Rad QC100/200

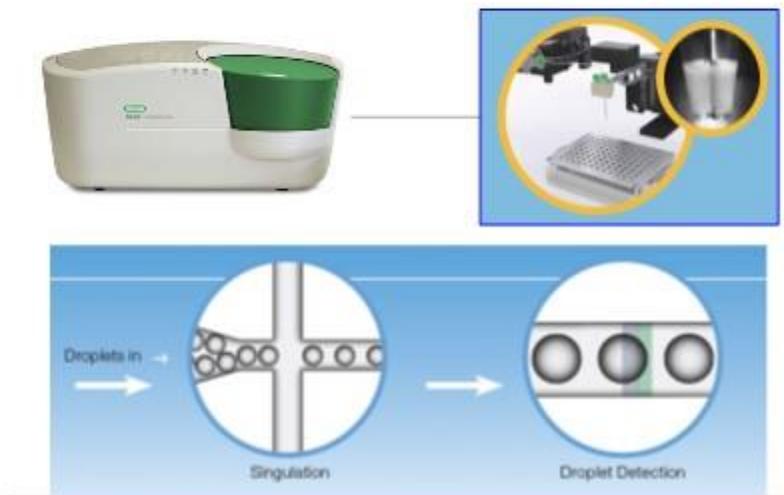
1



2

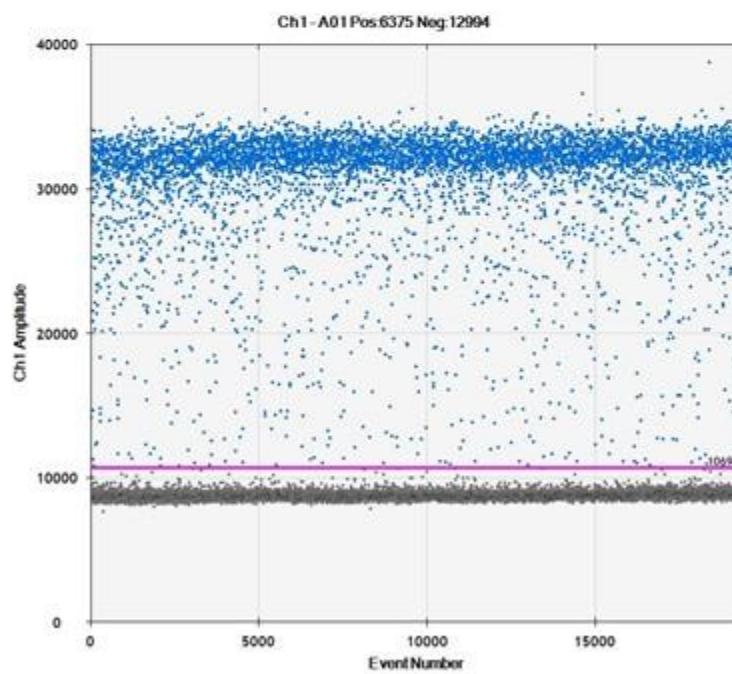
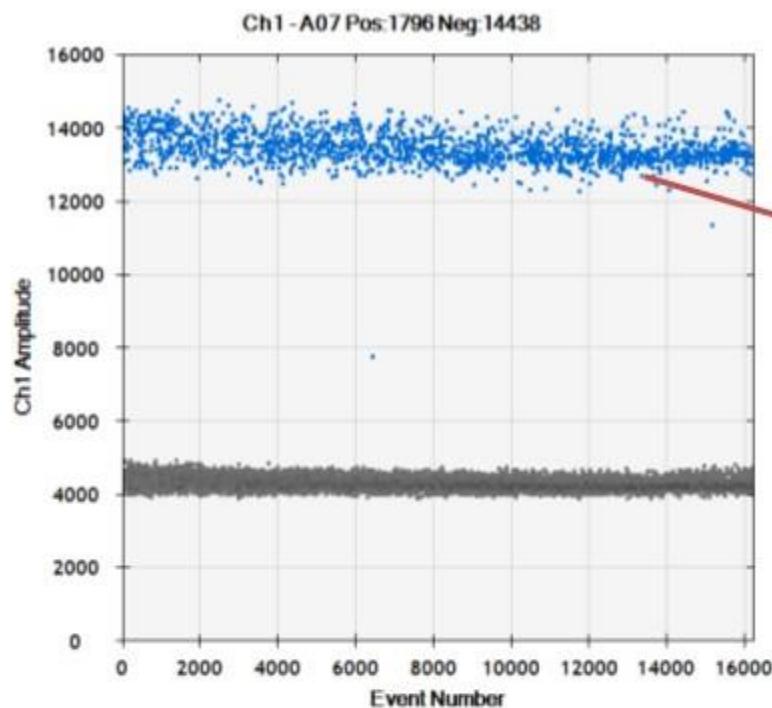


3

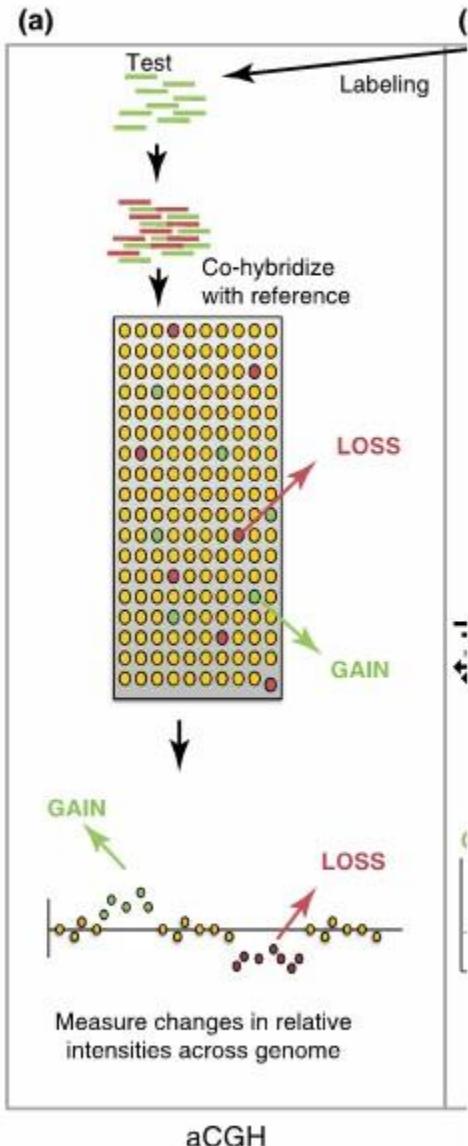


- Two cameras for TaqMan probes
- or indiscriminate DNA dye (Eva-Green)

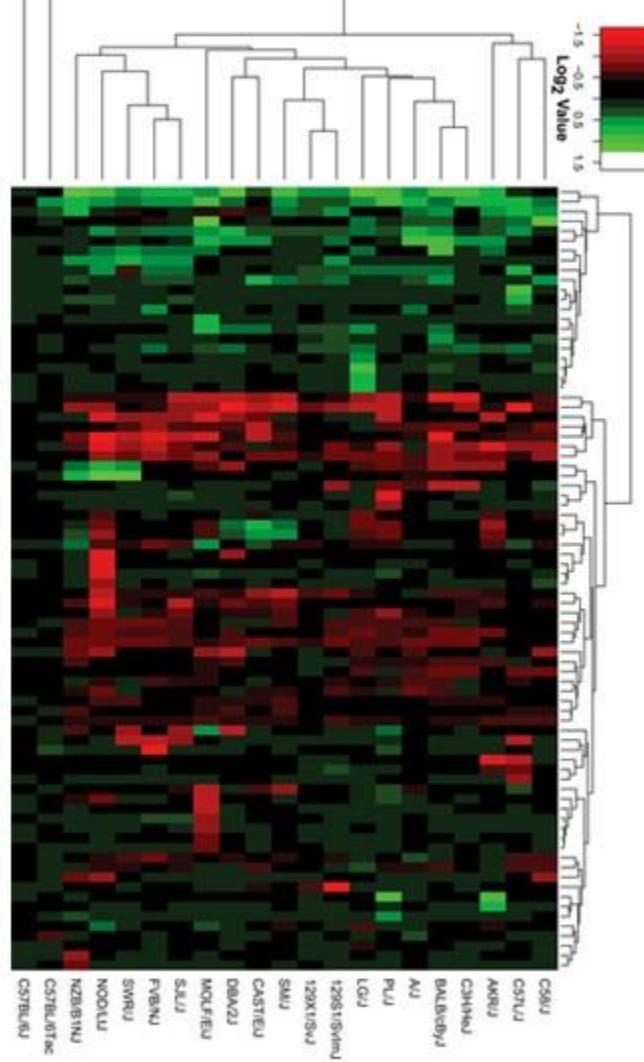
Single target detection



Array Hybridization



Iskow et al. 2012



Graubert TA, et al. 2007 PLoS Genet 3(1):

NextGen

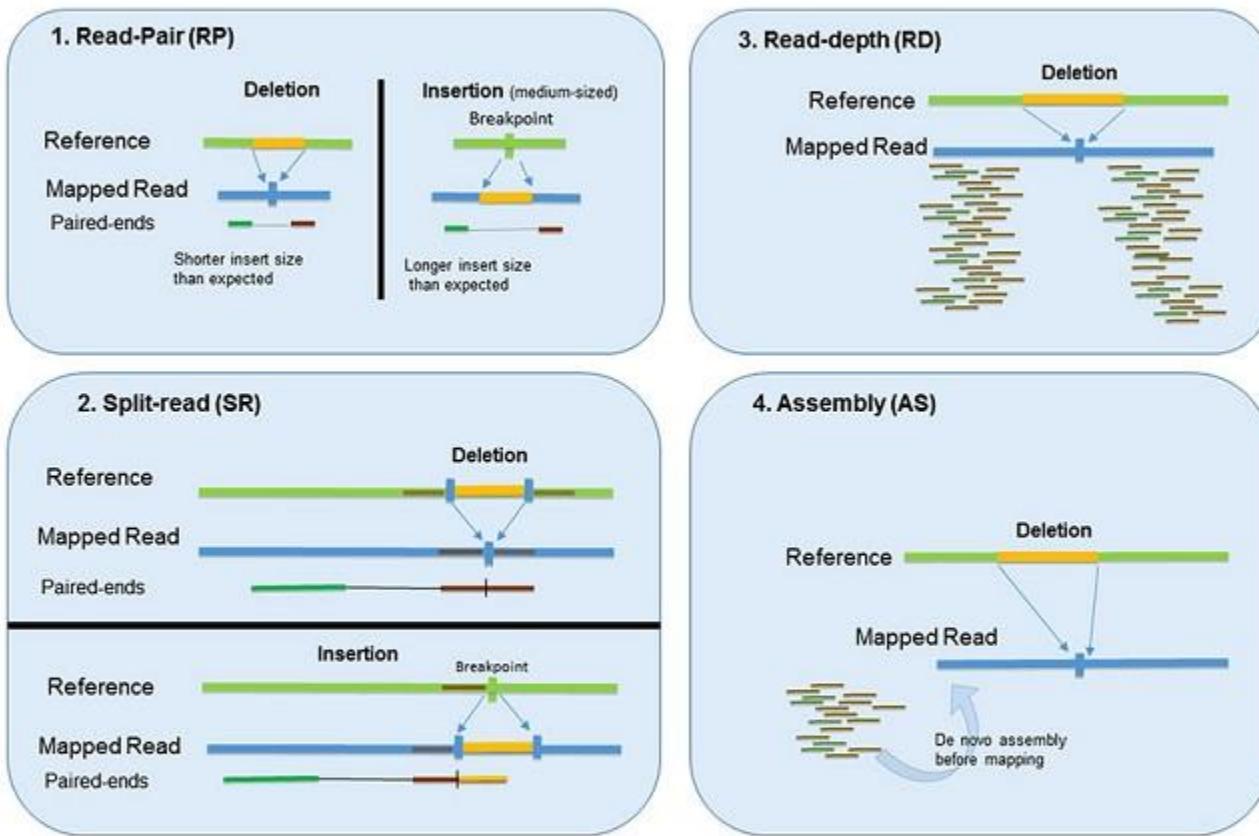


FIGURE 1 | Four main methods for detecting CNVs with NGS data: (1) Read-pair (RP), (2) Split-read (SR), (3) Read-depth (RD), and (4) Assembly based (AS) method.

Емпіричні результати

Прямий добір

Стійкість до інсектицидів у комарів

Наслідки порушення балансу дози генів

CNV на ранніх стадіях видоутворення

CNV в гібридній зоні хатньої миші

Пряний добір на збільшення дози гена

FEBS
Journal

Antifreeze protein gene amplification facilitated niche exploitation and speciation in w olffish

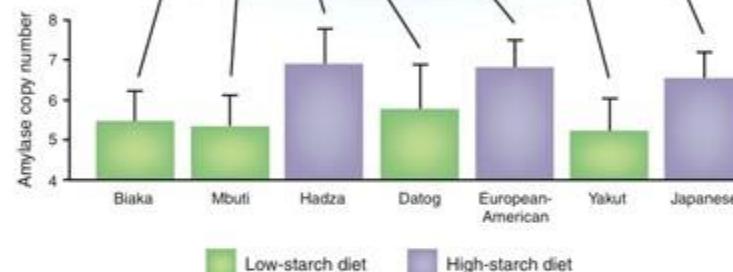
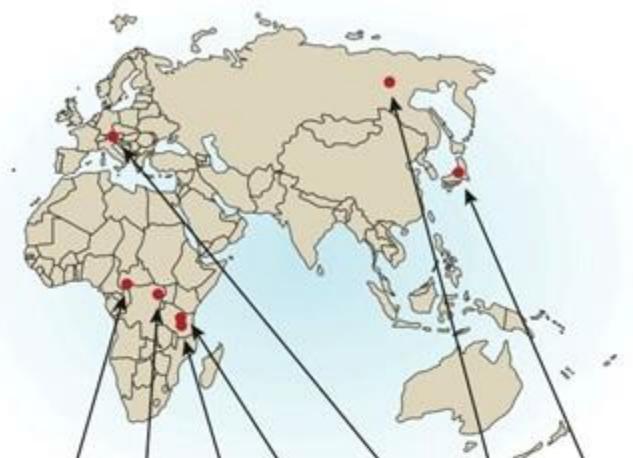
Marioo Depetris^{1,2}, Laura A. Graham³, Oliver L. Davies¹ and Garth L. Fletcher¹

¹ Ocean Biomes, Centre Montréal Université de Montréal, St-Jérôme, QC, Canada

² Department of Biological and Molecular Sciences, Queen's University, Kingston, ON, Canada



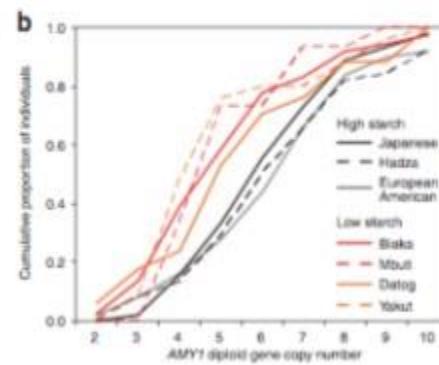
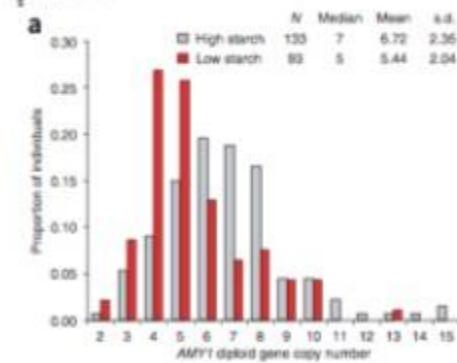
Антіфріз-протеїни у зубатки (*Anarhichas lupus*)



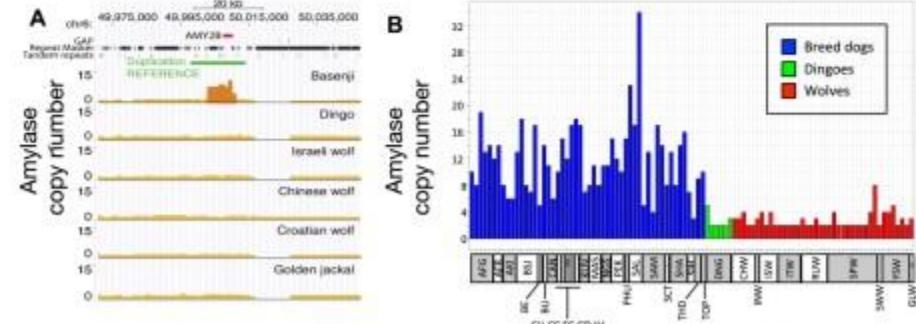
Ген амілази *Amy1* у людей

Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation

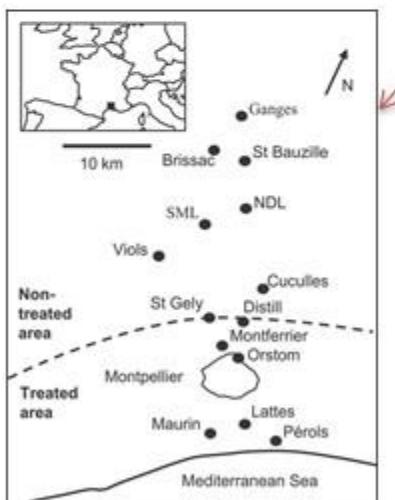
George H. Perry^{1,2}, Nathaniel J. Dominy³, Katrina G. Claw^{1,4}, Arthur S. Lee², Helio Piegas², Richard Reeder¹, John Werner⁵, Fernando A. Villalba⁶, Joana I. Monteiro⁷, Roger Mitton⁸, Nigel P. Carter⁹, Charles Lee^{1,2,10} & Anne C. Stone^{1,2}



Ген амілази *Amy2b* у собак і вовків



Еволюція резистентності до інсектицидів у комарів *CULEX*: Мутаційні заміщення і дуплікації гена *ACE-1*



Labbé, Pierrick, et al. "Forty years of erratic insecticide resistance evolution in the mosquito *Culex pipiens*." PLoS Genetics 3.11 (2007): e205.

ЕВОЛЮЦІЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ДО ІНСЕКТИЦИДІВ у *CULEX PIPiens*

Гаплотипи:

ace-1^S – susceptible allele – **R.I.P.** на оброблених ділянках

ace-1^R – resistant allele – **R.I.P.** на необроблених ділянках, – **R.I.P.** гомозиготи

ace-1^{R1/S1} – перша дуплікація – **R.I.P.** гомозиготи

ace-1^{R2/S2} – друга дуплікація – **R.I.P.** гомозиготи

Гетерозигота:

ace-1^{R1/S1} / ace-1^{R2/S2}

Table 4. Relative Fitness Estimates Fitted Using Summer Clinal Patterns Observed over the Period 1999–2002

Genotype	Relative Fitness Treated Area	Support Limits	Relative Fitness Nontreated Area	Support Limits
(S/S)	0.68	(0.58 – 0.72)	1	Reference
(S/R)	0.68	(0.66 – 0.83)	1	(0.99 – 1)
(R/R)	0.91	(0.80 – 1.02)	0.63	(0.63 – 0.72)
(D ₂ /S) or (D ₃ /S)	0.68	(0.60 – 0.80)	1	(0.99 – 1)
(D ₂ /R) or (D ₃ /R)	1	Reference	0.94	(0.86 – 0.98)
(D ₂ /D ₂) or (D ₃ /D ₃)	0.29	(0.26 – 0.69)	0.43	(0.37 – 0.53)
(D ₂ /D ₃)	0.68	(0.39 – 1.46)	1	(0.65 – 1)

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ І ДУПЛІКАЦІЯ ACE-1 у *ANOPHELES GAMBIAE*

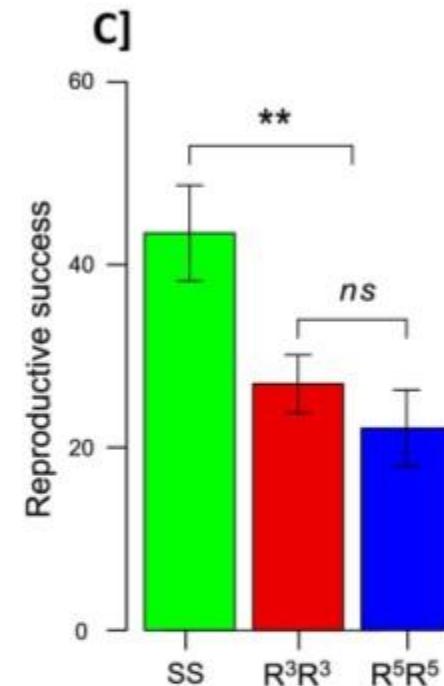
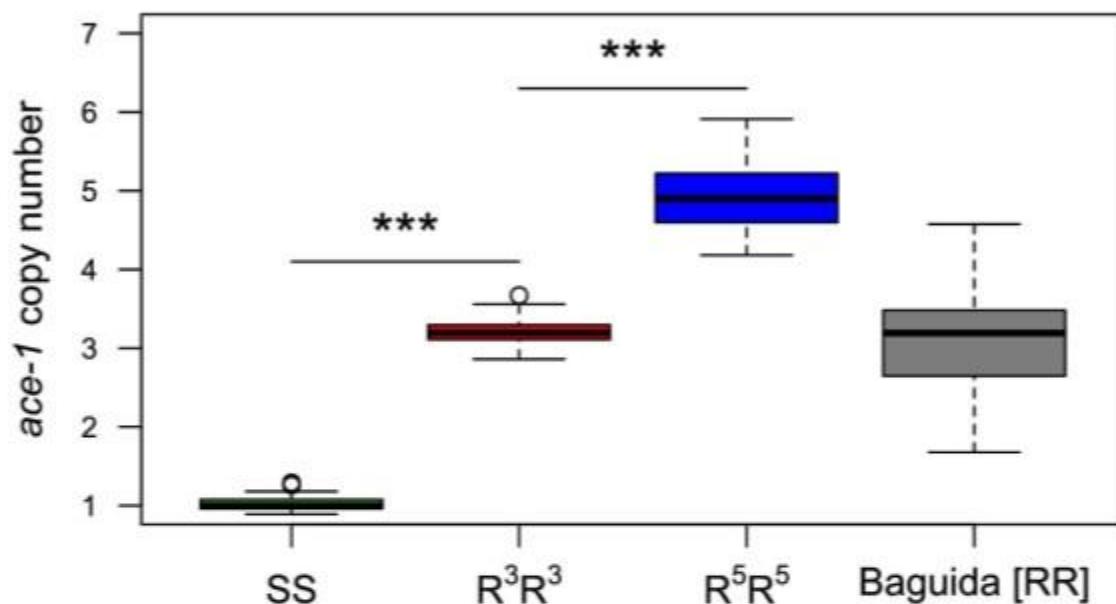
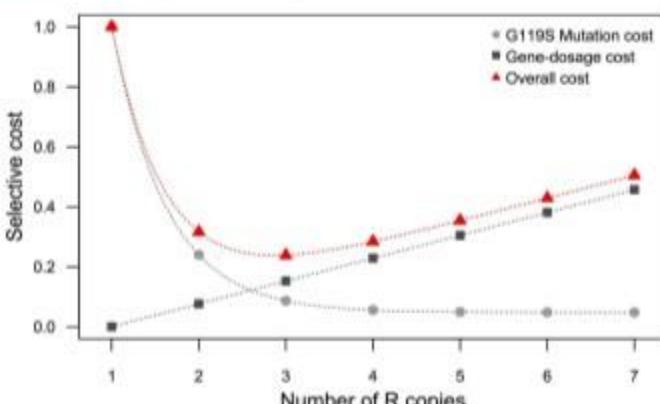


Fig 2. Number of ace-1 copies in KisumuP, AcerkisR³, AgRR5 strains and in the Baguida [RR] population. Boxes indicate ace-1 to Rps7 gene concentration ratios (advanced relative quantification method, LightCycler 480 software 1.5.0). The significance of ratio differences between strains is indicated (***, $p < 0.001$). Underlying data can be found in DRYAD <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.4f7qg>.

RESEARCH ARTICLE

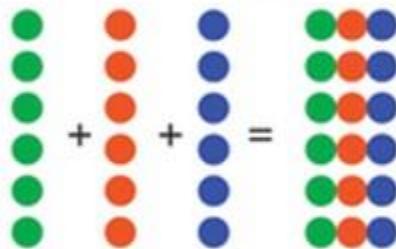
The ace-1 Locus Is Amplified in All Resistant *Anopheles gambiae* Mosquitoes: Fitness Consequences of Homogeneous and Heterogeneous Duplications

Benoit S. Assogba^{1,2,3*}, Pascal Milesi^{1*}, Luc S. Djogbénou², Arnaud Berthomieu¹, Patrick Makoundou¹, Lamine S. Baba-Moussa², Anna-Sophie Fliston-Lavier¹, Khalid Belkhir³, Pierrick Labbé¹, Mylène Weill^{1*}

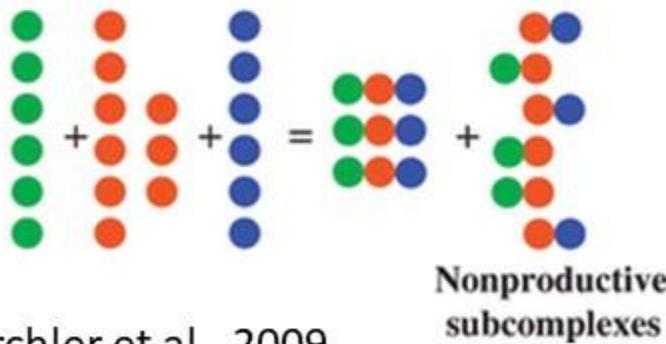


Баланс дози генів: гени із меншою кількістю зв'язків в протеїнових комплексах частіше задіяні в структурних мутаціях та CNV

(a) $A + B + C = A - B - C$



(b) $A + B + C = A - B - C + AB + BC$



Papp et al., Nature 2003

CNV на ранніх стадіях видоутворення

CNV and speciation



OPEN ACCESS

PLOS GENETICS

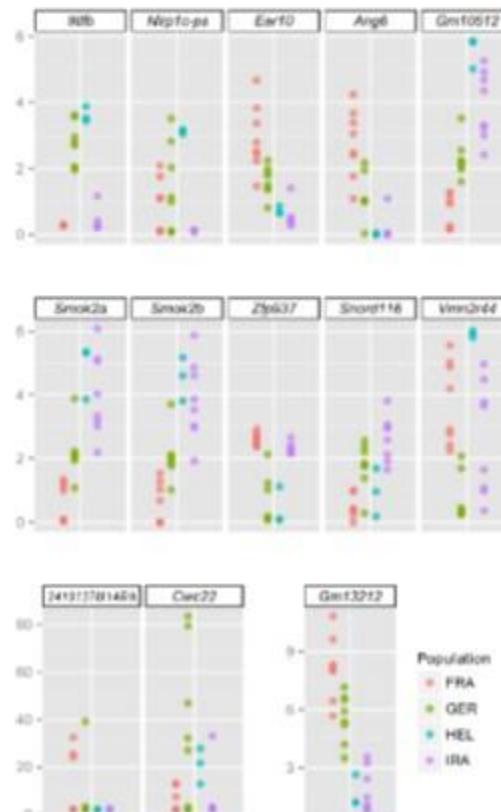
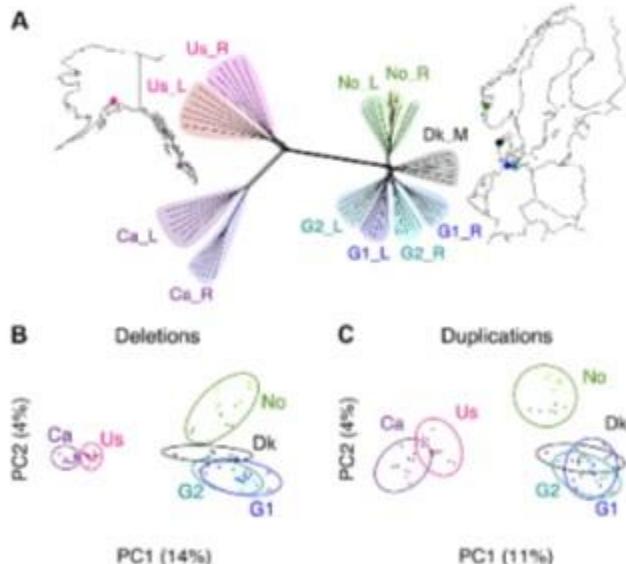
Extensive Copy-Number Variation of Young Genes across Stickleback Populations

Frédéric J. J. Chain^{1,2,3*}, Philine G. D. Feulner^{1,4,5,6}, Mahesh Panchal^{1*}, Christophe Eizaguirre², Irene E. Samonte¹, Martin Kalbe¹, Tobias L. Lenz¹, Monika Stoll⁶, Erich Bornberg-Bauer⁷, Manfred Milinski¹, Thorsten B. H. Reusch¹

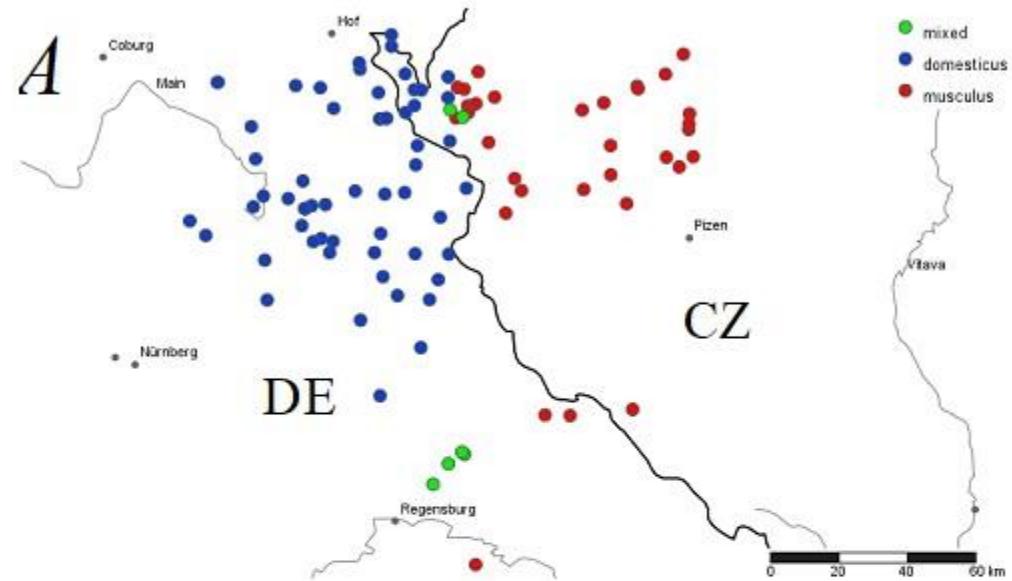
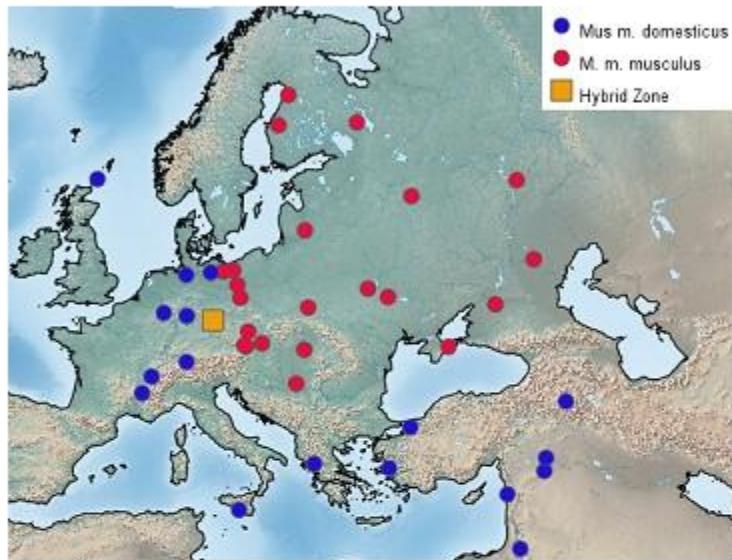
Divergence patterns of genic copy number variation in natural populations of the house mouse (*Mus musculus domesticus*) reveal three conserved genes with major population-specific expansions

Zeljka Pezer,^{1,2} Bettina Harr,¹ Meike Teschke,¹ Hiba Babiker,¹ and Diethard Tautz¹
Max Planck Institute for Evolutionary Biology, 24305 Plön, Germany

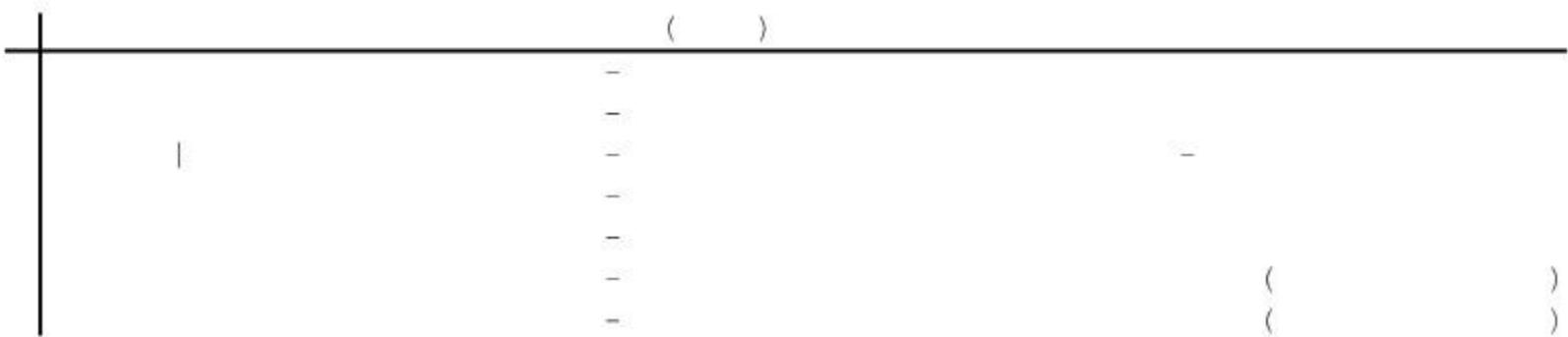
Chain et al., 2015
Pezer et al. 2016



Гібридна зона *Mus m. musculus* і *Mus m. domesticus*

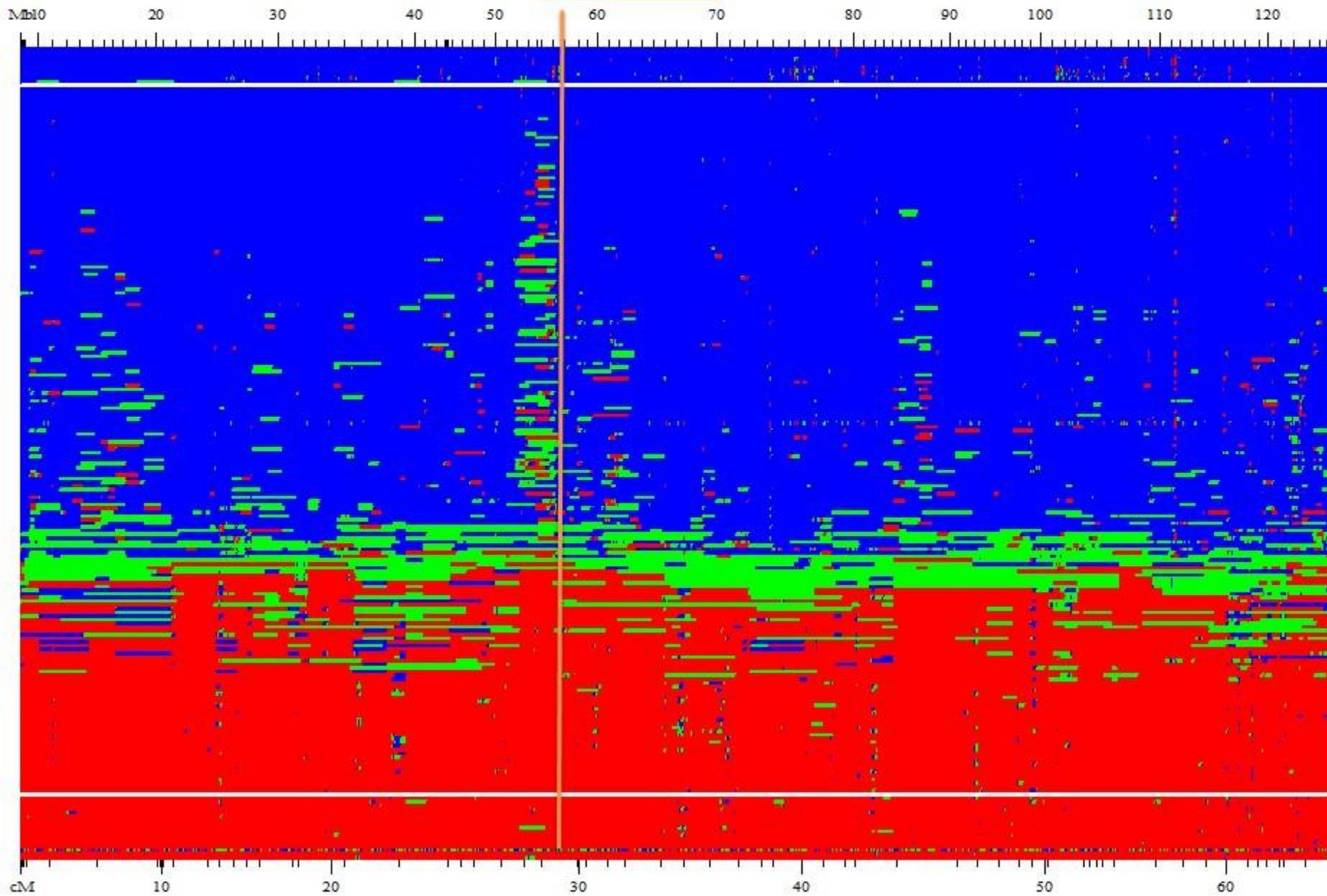


Варіація числа копій 7 генів

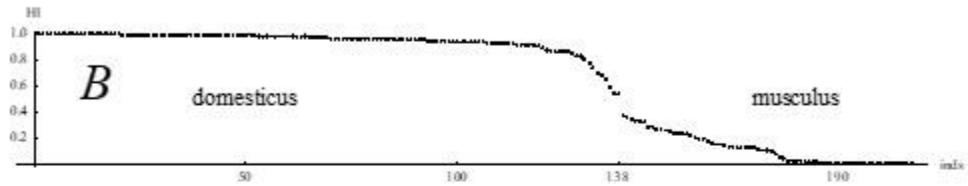


Results & Chromosome 4

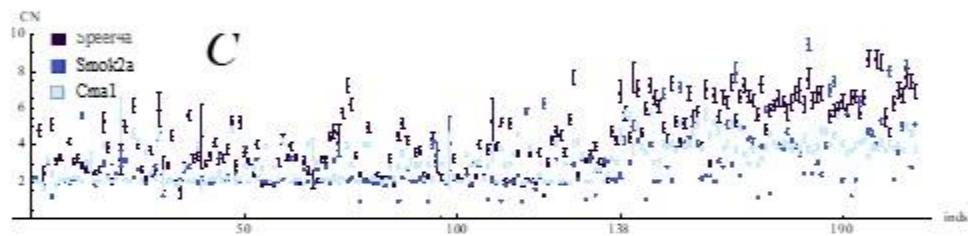
Cma1, Cma2



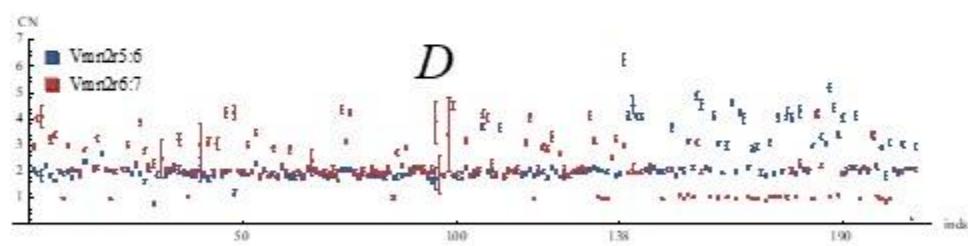
Гібридна зона *Mus m. musculus* і *Mus m. domesticus*



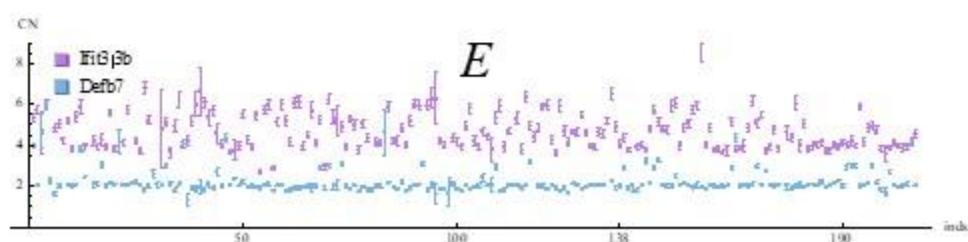
Частка геному *domesticus* / *musculus*



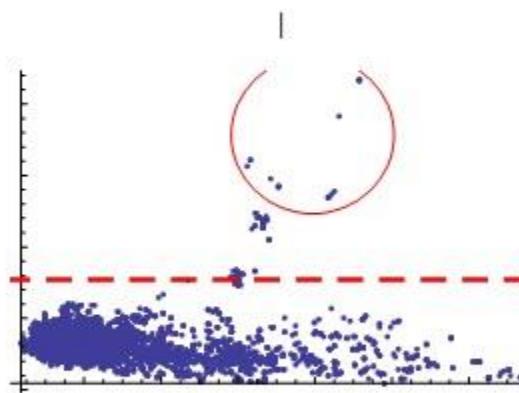
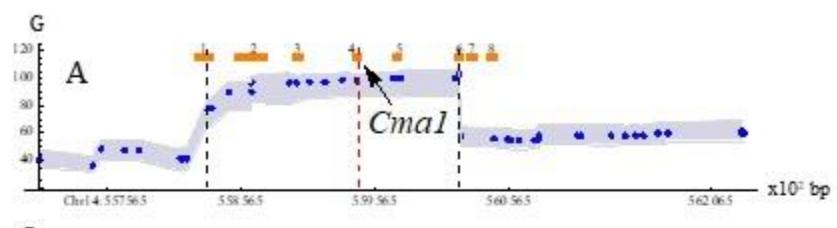
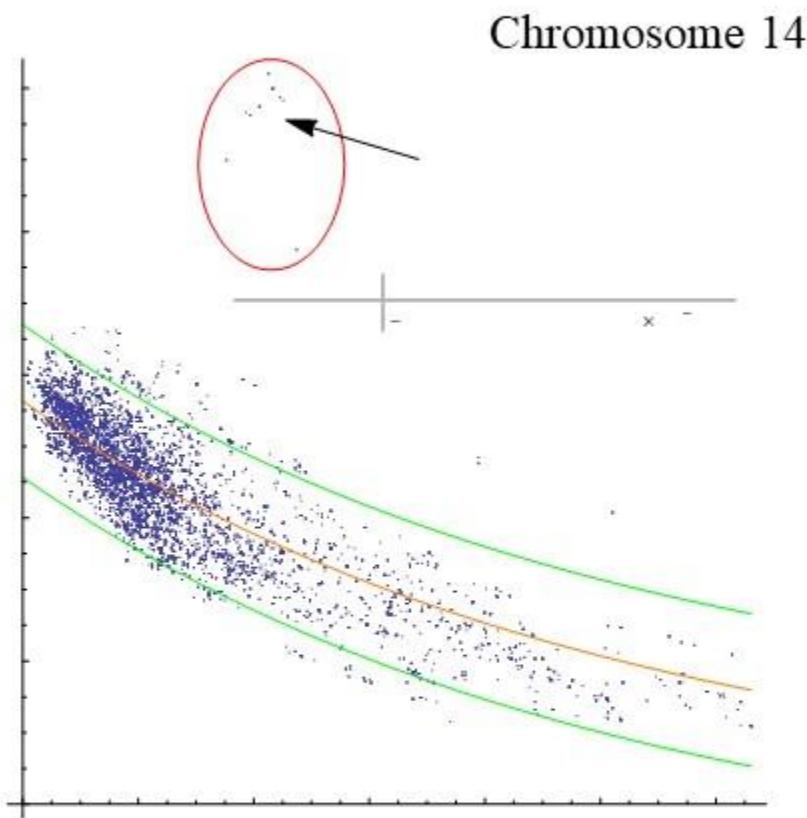
Варіація числа копій: виражені відмінності між підвидами



Варіація числа копій, не пов'язана із підвидами

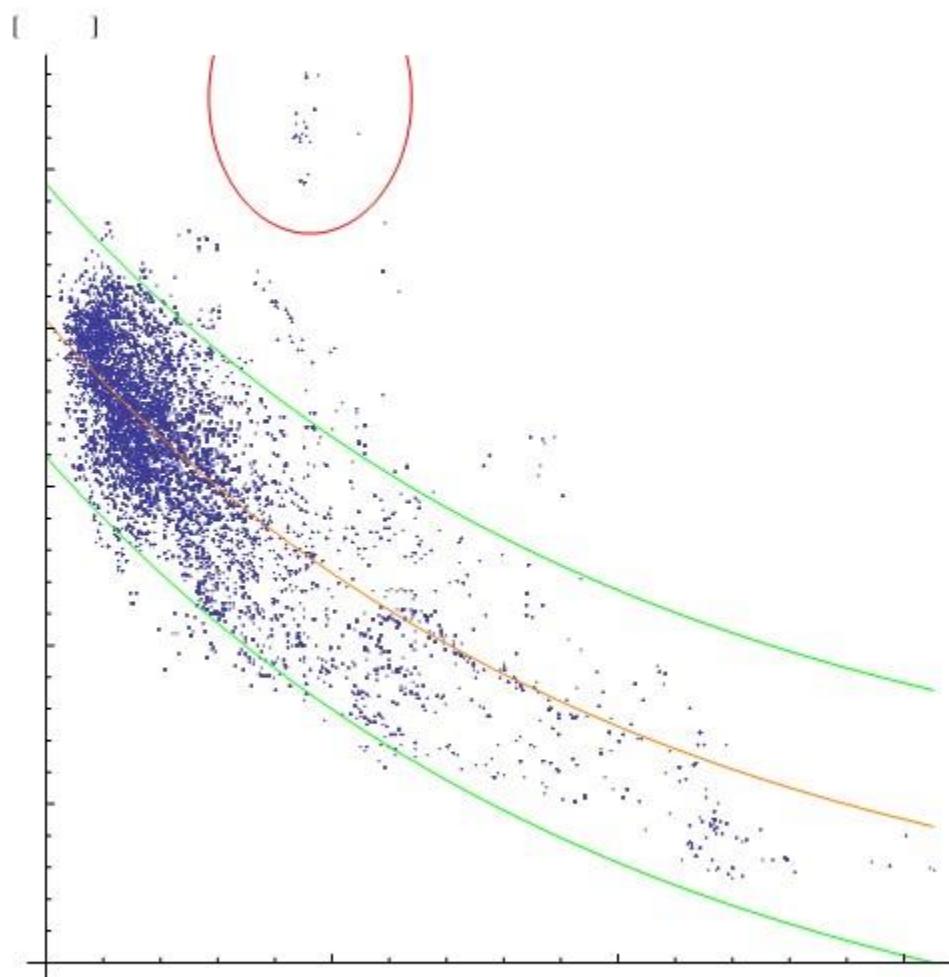


Видоспеціфічні SNP–маркери дозволяють підтвердити позиції копій генів в геномі



... а також визначити потенційні нові позиції копій

Chromosome 2



Дякую за увагу..

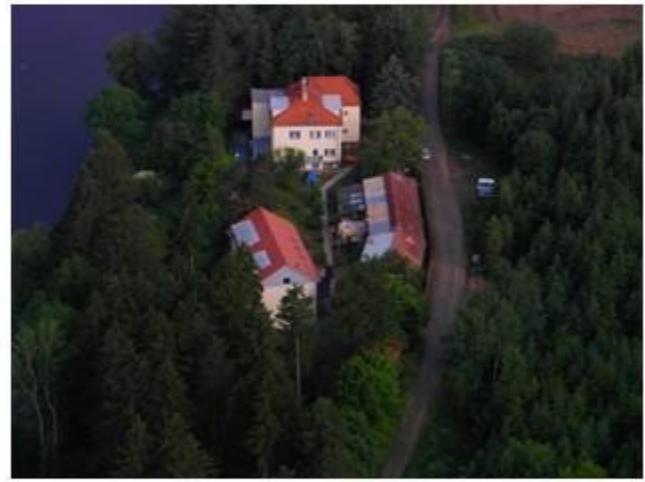


**Institute of Vertebrate Biology
Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i.**
Brno, Květná 8, 603 65

Stuart Baird
Joelle Gouy de Belocq
Milos Macholan
Jaroslav Pialek



Diethard Tautz
Zeljka Pezer
(now in Institut Ruđer Bošković,
Zagreb, Croatia)



The Max Planck Institute for Evolutionary Biology