

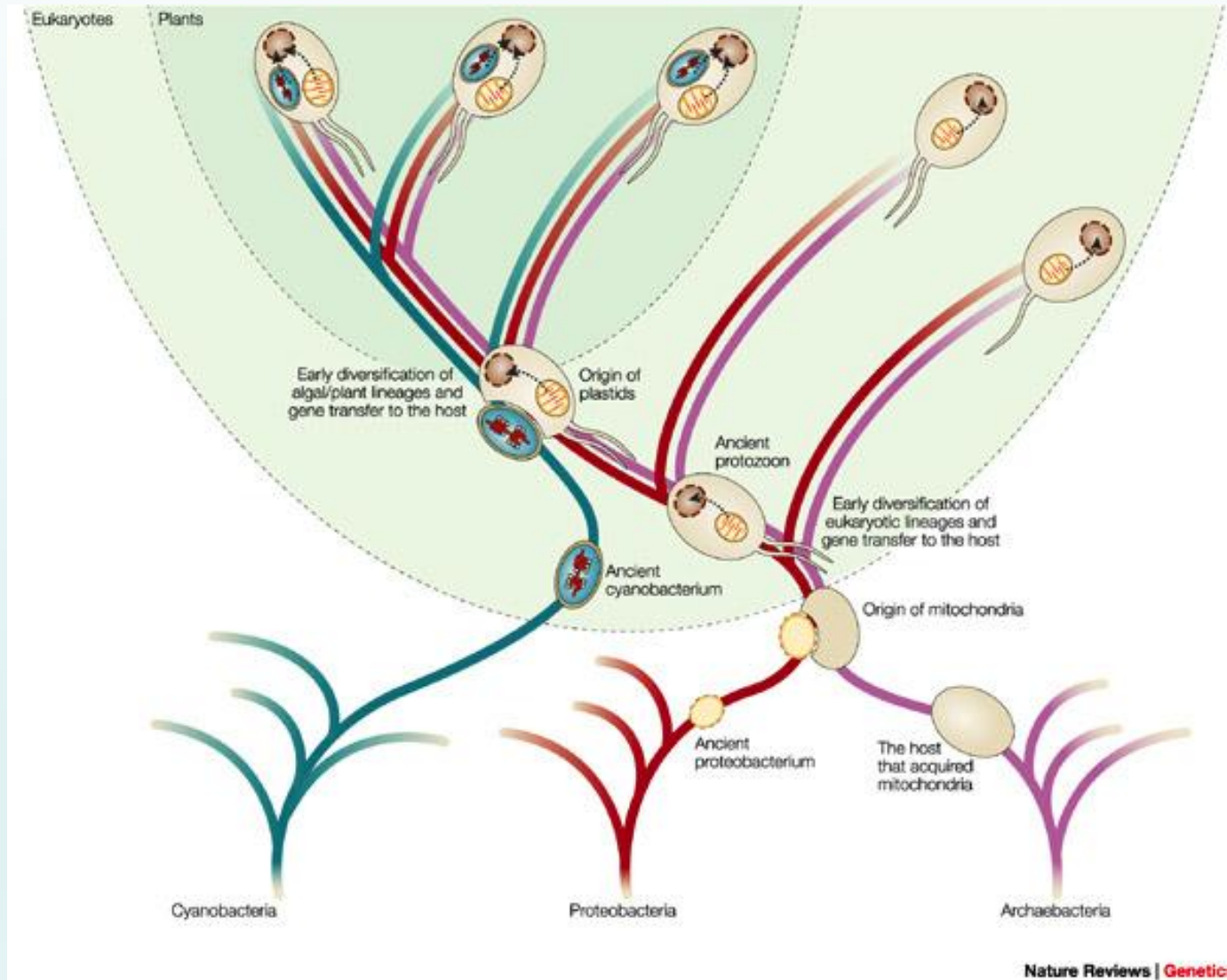
A humán mitokondriális genom:

Evolúció, mutációk, polimorfizmusok,
populációs vonatkozások



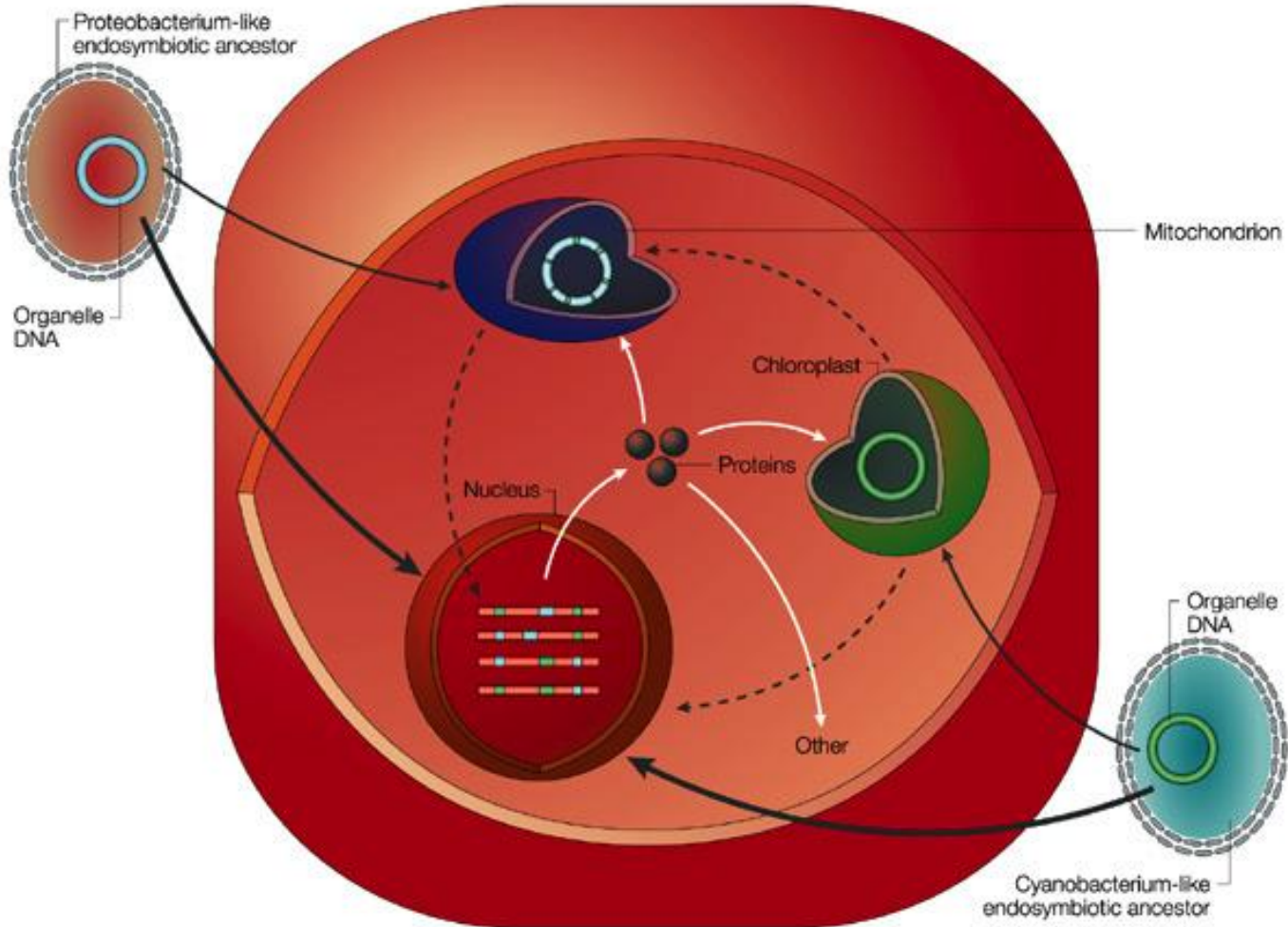
Egyed Balázs
ELTE Genetikai Tanszék

Endoszimbiotikus gén-transzfer



(Timmis et al., 2004, *Nat Rev Gen*)

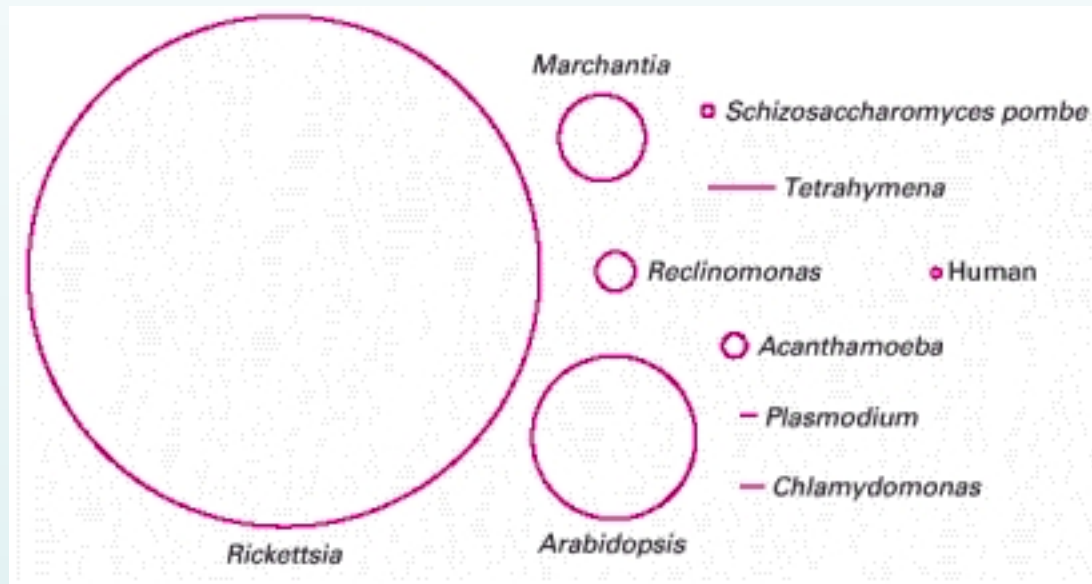
Endoszimbiotikus gén-transzfer



Nature Reviews | Genetics

(Timmis et al., 2004, *Nat Rev Gen*)

A mitokondriális genom mérete különböző csoportokban



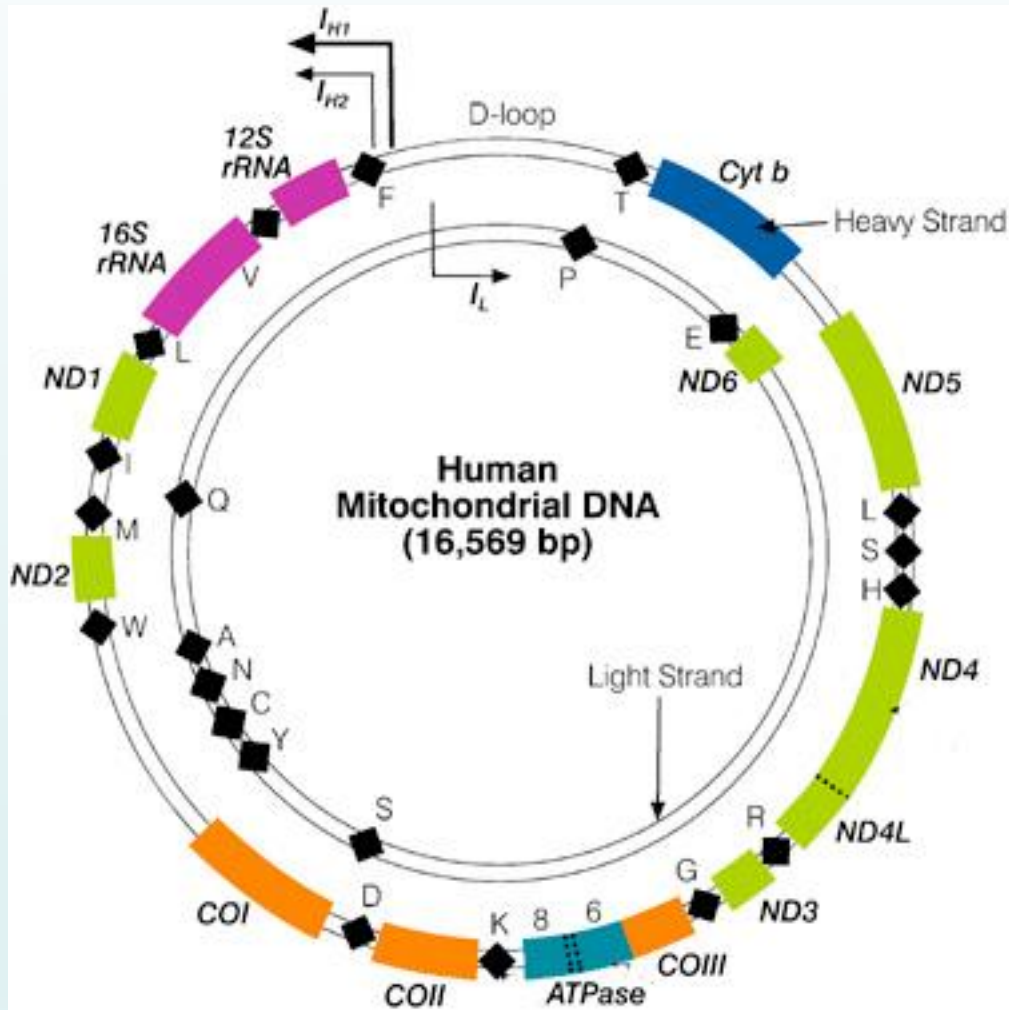
- a mitokondriális genomok mérete 6000 bp (*Plasmodium falciparum*) és 300,000 bp (egyres növények) között változik

- többségük cirkuláris, de akad lineáris is

- az állatok (Eumetazoa) mtDNS mérete eléggé stabil, kb. 16,500 bp

- a referenciaként használt *Rickettsia* genom kb 1.1 millió bp hosszú

A humán mitokondriális genom



- dupla szálú, cirkuláris DNS molekula, ami mindkét szálán kódol:
H - „heavy” és
L - „light” szálak

- emberek esetében
16,569 bp hosszú

- 37 gént kódol

- 13 az oxidatív foszforilációban játszik szerepet, a többi tRNS és rRNS

- minden mitokondriális mátrixban több kópia található

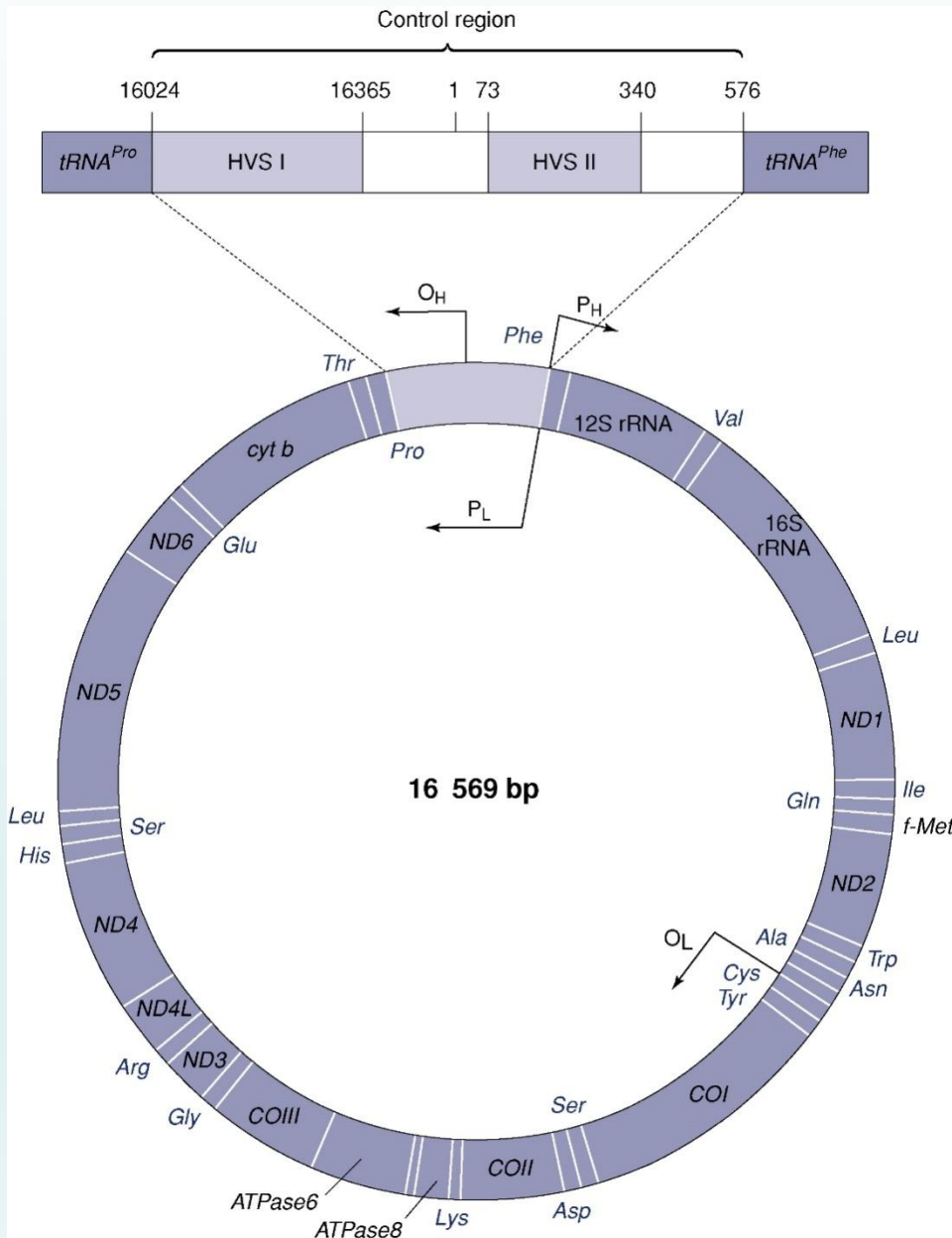
A mtDNS translációs kódja bizonyos csoportokban különbözik az “univerzális kódtól”

MITOCHONDRIAL CODES					
CODON	“UNIVERSAL” CODE	MAMMALS	INVERTEBRATES	YEASTS	PLANTS
UGA	STOP	<i>Trp</i>	<i>Trp</i>	<i>Trp</i>	STOP
AUA	Ile	<i>Met</i>	<i>Met</i>	<i>Met</i>	Ile
CUA	Leu	Leu	Leu	<i>Thr</i>	Leu
AGA } AGG }	Arg	<i>STOP</i>	<i>Ser</i>	Arg	Arg

*Italics and color shading indicate that the code differs from the “Universal” code.

- növényekben és a legnagyobb mtDNS genomot hordozó protozoa *Reclinomonas* fajokban az mtDNS kódja is “univerzális”
- a STOP → Trp változás hasonlít az egyes baktériumokban leírtakhoz
- valószínűleg az mtDNS-ben kódolt kisszámú gén jobban tolerálja egy-egy ritka kodon megváltozását

A humán mitokondriális genom



Sejten belüli nagy kópiaszám (~1000)

Maternális öröklésmentet:

- Rekombináció hiánya

Emelkedett mutációs ráta:

- DNA védelem és repair

Kódoló Szakaszok: 37 gén

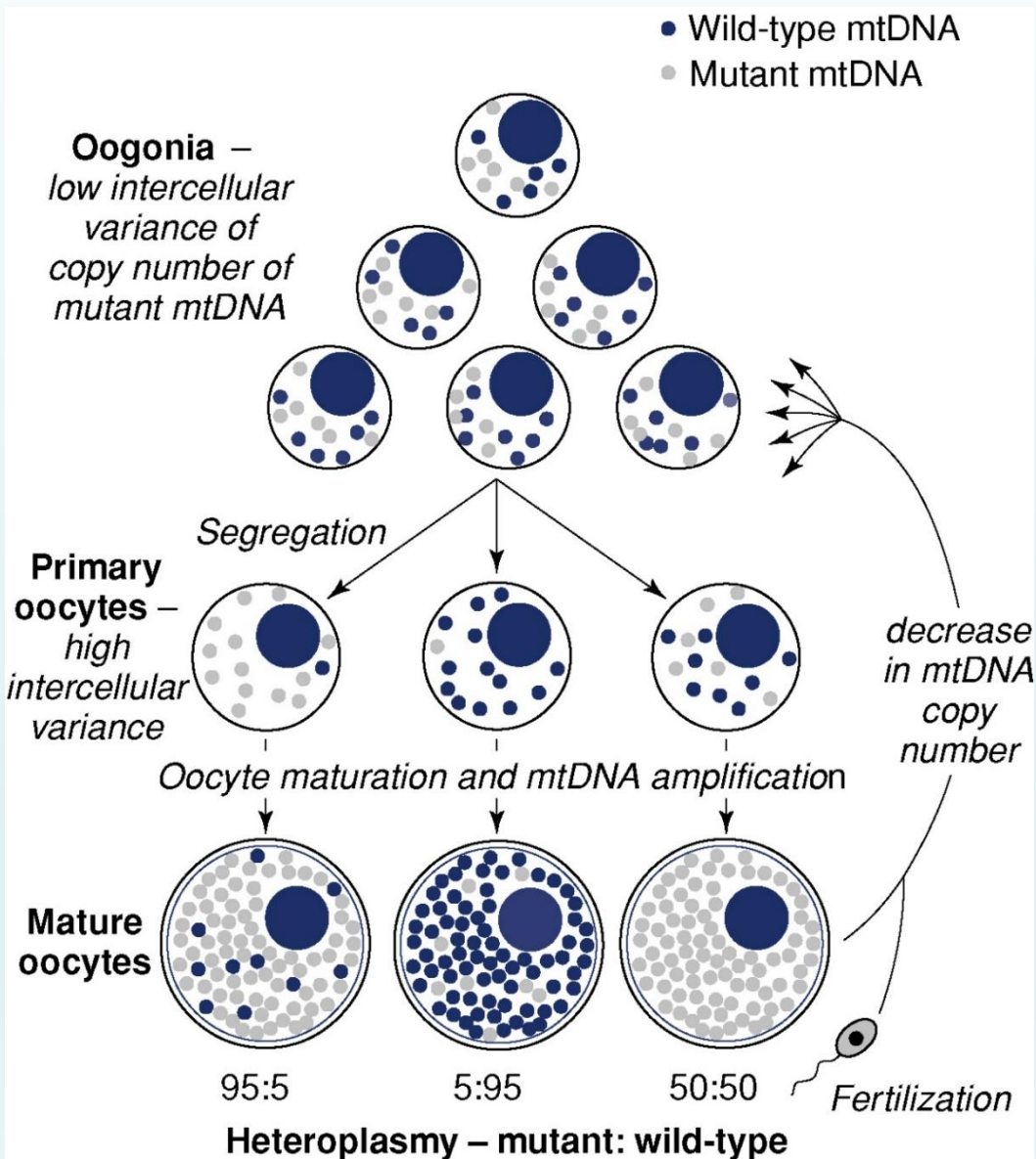
Kontroll Régió v. D-loop (~1120 bp):

- Hipervariábilis szakaszok (HVS1, HVS2)

Cambridge referencia szekvencia

Heteroplazmia, mutációs hot-spots

Mitokondriális DNS mutációk: heteroplazmia



Deléció: mitokondriális eredetű betegségek (anyai)

- MITOMAP

Szubsztitúció: ált. neutrális

Mutációs ráta: non-uniform

$10^{-6} - 10^{-7}$ / bp / generation

Mutációs hot-spotok

Citoplazmikus szegregáció:

„bottleneck”
(palacknyak effektus)

Heteroplazmia - homoplazmia:
szövet- és módszer specifikus

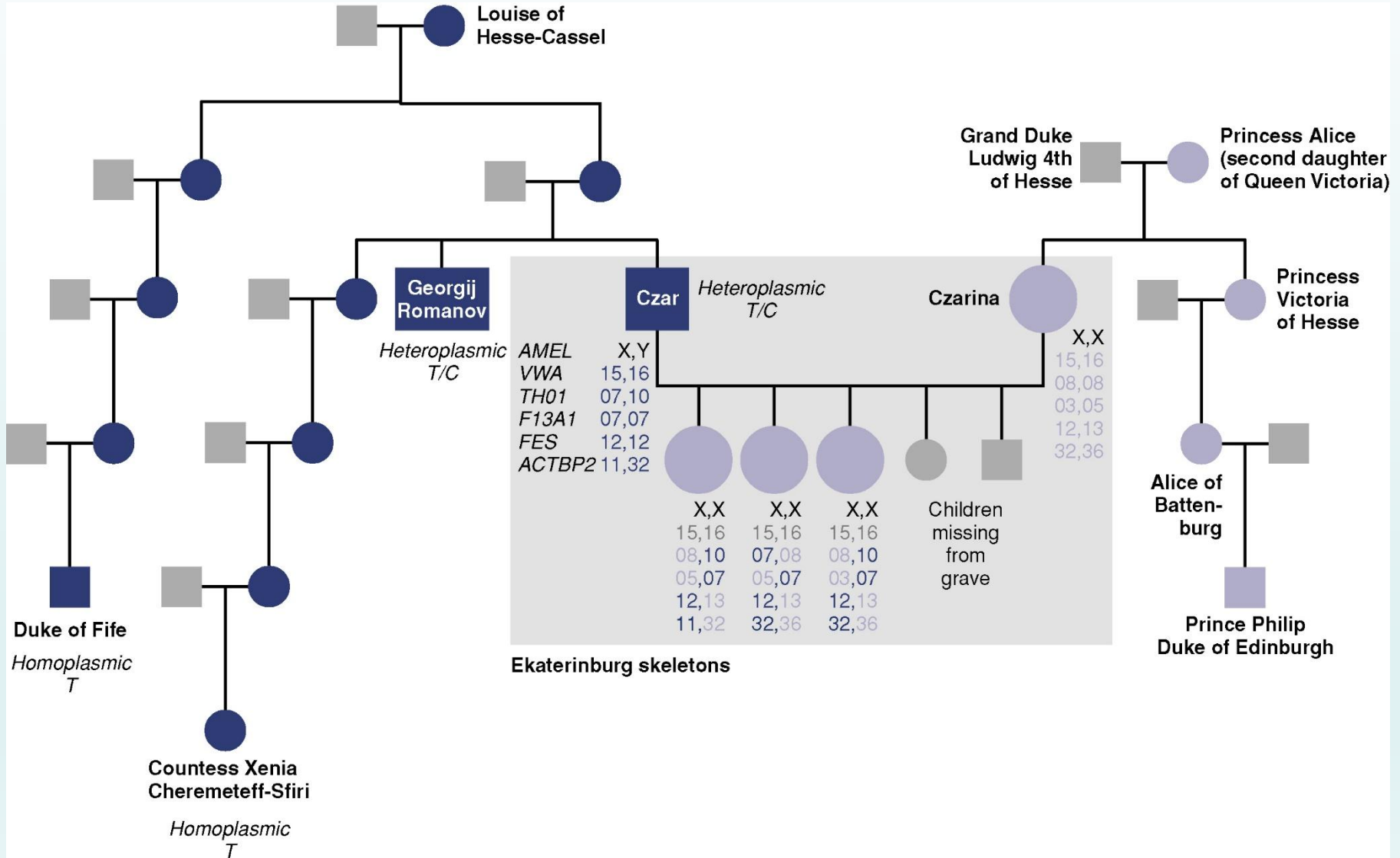
Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis

Peter Gill¹, Pavel L. Ivanov², Colin Kimpton¹, Romelle Piercy¹, Nicola Benson¹, Gillian Tully¹, Ian Evett¹, Erika Hagelberg³ & Kevin Sullivan¹

Nine skeletons found in a shallow grave in Ekaterinburg, Russia, in July 1991, were tentatively identified by Russian forensic authorities as the remains of the last Tsar, Tsarina, three of their five children, the Royal Physician and three servants. We have performed DNA based sex testing and short tandem repeat (STR) analysis and confirm that a family group was present in the grave. Analysis of mitochondrial (mt) DNA reveals an exact sequence match between the putative Tsarina and the three children with a living maternal relative. Amplified mtDNA extracted from the remains of the putative Tsar has been cloned to demonstrate heteroplasmy at a single base within the mtDNA control region. One of these sequences matches two living maternal relatives of the Tsar. We conclude that the DNA evidence supports the hypothesis that the remains are those of the Romanov family.



A Romanovok maradványainak azonosítása molekuláris genetikai módszerrel



Mitokondriális DNS: PCR és szekvenálási stratégia

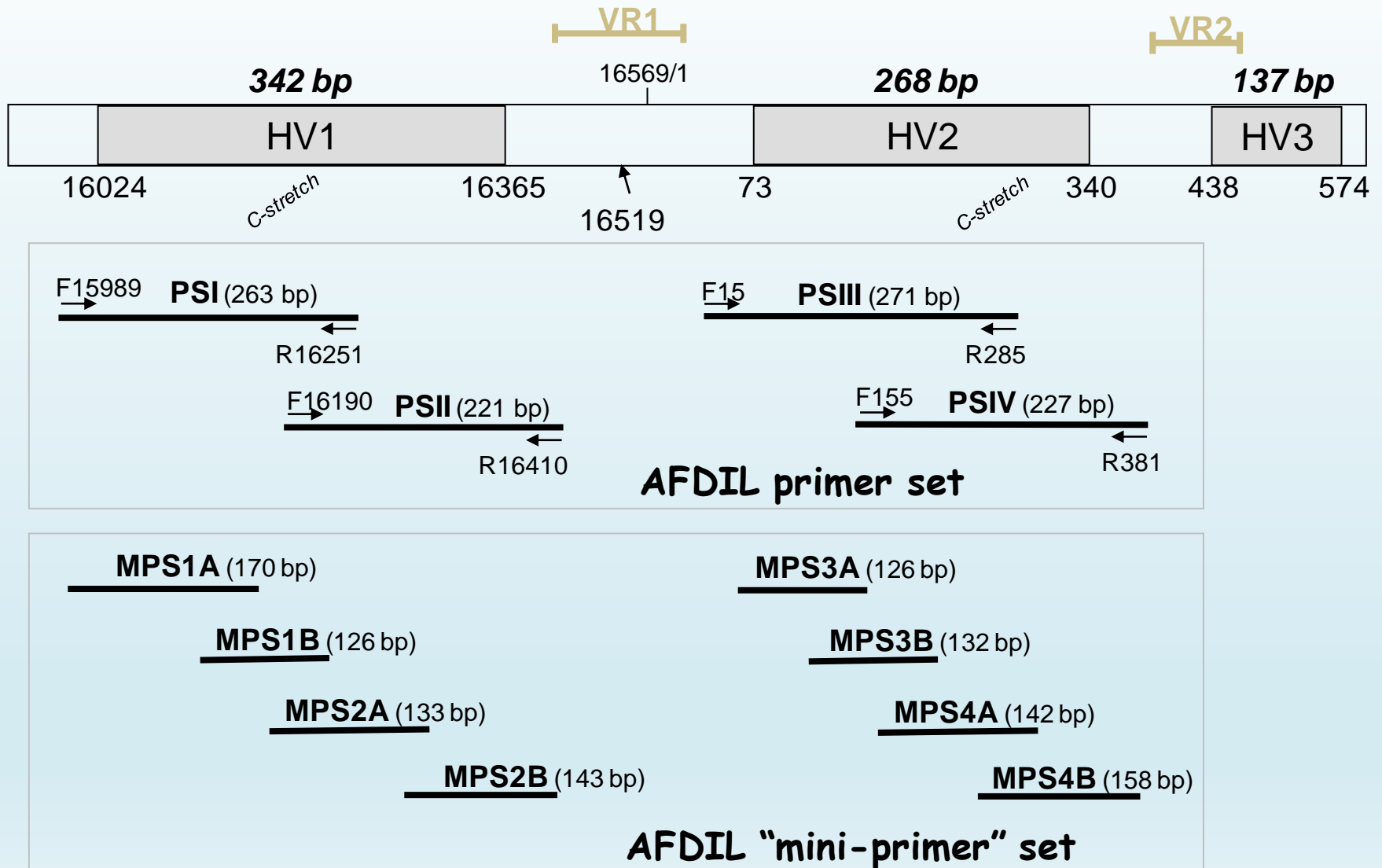


Figure 10.3, J.M. Butler (2005) *Forensic DNA Typing*, 2nd Edition © 2005 Elsevier Academic Press

EMPOP: mtDNA szekvencia adatbázis

empop.org/modules/haplotype/

Version: 2.1, Release: 6

Welcome egyedb! Logout

EMPOP

- Home
- Contribute
- Help
- Imprint
- Contact
- Terms of use

Query

Tools

Account

Input Summary

Type

Sample Info

Query	Range	Profile
<input type="text"/>	<input type="text" value="16024-576"/>	<input type="text" value="16129A 93G 263G 315.1C"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Options

Match type pattern literal

Number of differences displayed

Disregard InDels in length variants at positions 16193 309 455 573

Source Forensic (10869) Literature (5252)

SEARCH

endorsed by



© 1999-2012



www.empop.org

EMPOP

- Home
- Contribute
- Help
- Imprint
- Contact
- Terms of use

- Query
- Tools
- Account

Input | **Summary**

Results Identification: d3d282a3fd917b56b101259843bb8a760b033543

Search execution date: 2012-02-16 22:15:47 UTC

Sample Info: not specified

Type: string-based search: haplotype as differences to rCRS

Options: Match type: **pattern**
 Maximum differences displayed: **5**
 Disregard InDels in length variants at positions: **16193 309 455 573**

Source: **Forensic data (9052/10869)**
Literature data (1789/5252)

Query: 16024-576 G16129A A93G A263G -315.1C

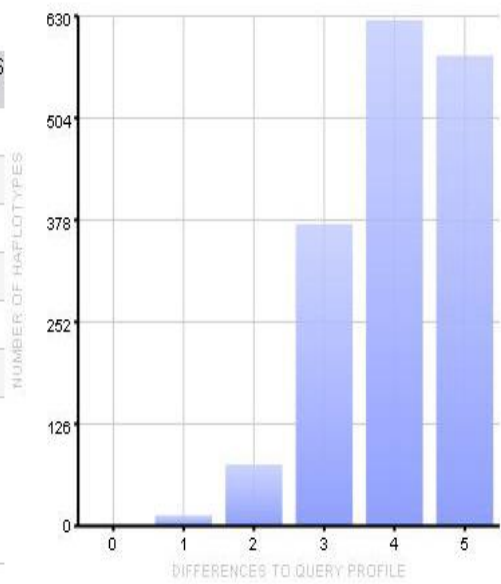
Geographic affiliation: Metapopulation:

DIFFERENCES TO QUERY PROFILE	NUMBER OF HAPLOTYPES	CUMULATIVE NUMBER OF HAPLOTYPES
0	0	0
1	1	1
2	76	77
3	373	450
4	625	1075
5	581	1656
6+	9185	10841

Frequency estimates

P_{Uc} **0.000e+0** [2.710e-20 ; 3.542e-4]

P_{N+1} **9.223e-5** [1.628e-5 ; 5.224e-4]



Counting Method

Cytochrome b gén: filogenetikai analízisek

4 sp cytb

Bases Overview Ruler Options Find

Canine/cytb/... #1 aaca t c t c t t e t t g a t g a a a c t t e g g a t c c t t a c t a g g a g t a t g e t t g a t t c t a c a g a t c t a a c a g g t t a t t c t t a g c t a t g e a c t a
Capreolus cy... #1 aaca t c t c t t e t t g a t g a a a c t t e g g t t e c c t e t t a g g c a t e t g e e t a a t e t t g e a a a t e c t a a c a g g e c t g t t c t t a g e a a t a c a t t a
Cervus elaph... #1 a a t a t t t c a t c c t g a t g a a a t t e g g c t c a t t a c t a g g a g t e t g t e t a a t c c t a c a a a t c c t e a c a g g e c t a t t c c t a g e g a t a c a c t a
Human/cytb/c... #1 aaca t c t c t t e t t g a t g a a a c t t e g g e t c a c t e c t t g g e g e e t g e e t g a t e c t e e a a a t e a c c a c a g g a c t a t t c c t a g e c a t g e a c t a
#1 aaca t c t c t t e t t g a t g a a a c t t e g g e t c m y t m c t a g g m g t e t g e e t r a t c c t a c a a a t c c t m a c a g g e c t a t t c y t a g e n a t r e a c t a
.....
.....

Canine/cytb... #90 t a c a t e g g a c a c a g e c a c a g e t t t t t c a t c a g t e a c c e c a c a t e t g e c g a g a c g t t a a c t a c g g e t g a a t t a t c e g e t a t a t g c a c g c a a
Capreolus c... #90 a c a t e a g a c a c a a c a a c a g e t t t e t c a t c a g t t a c a c a c a t t g t e g a g a c g t a a a t t a c g g a t g a g t t a t t e g e t a t c t a c a t g c a a
Cervus elap... #90 t a c a t e t g a t a c a a t a a c a g e a t t e t c e t c t g t a c e c c a t a t e t g t e g a g a t g t e a a t t a t g g e t g a a t t a t t g a t a t a t a c a c g c a a
Human/cytb/... #90 c t e a c c a g a g e c t e a a c e g c e t t t t c a t c a a t e g e c c a c a t c a c t e g a g a c g t a a a t t a t g g e t g a a t c a t e c e t a c c t t c a e g c a
#90 y a c a t e a g a c a c a a c a a c a g e t t t y t e a t c a g t e a c c e c a c a t c t g t e g a g a c g t a a a t t a y g g e t g a a t t a t y c e t a t m t a c a e g c a a
.....
.....

Canine/cyt... #179 a t g g e c t t e c a t a t t c t t t a t e t g c e t a t t e c t a c a t g t a g g a e g a g g e c t a t a t a e g g a t e c t a t g : t a t t e a t : a g a a a c a t g a a
Capreolus ... #179 a e g g a c a t c e a t a t t c t t t a t t g e e t a t t e a t e a c a g t a g g e g a g g e c t a t a c t a e g g a t e c t a t a : t a t t e c t : a g a a a c a t g a a
Cervus ela... #179 a c g g g c a t e a a t a t t t t c a t e t g t e t a t t e a t a c a t g t a g g e g a g g e c t g t a c t a e g g a t e a t a c t t t t e : t : a g a g a c a t g a a
Human/cytb... #179 a t g g e c t e a a t a t t c t t t a t e t g c e t e t t e c t a c a c a t e g g e g a g g e c t a t a t a e g g a t e a t t t e : t e t a c : t e a g a a a c t g a a
#179 a y g g e c a t e m a t a t t c t t t a t e t g c e t a t t e m t a c a y g t a g g e g a g g e c t a t a y t a e g g a t e m t a t a : t a t t c : t : a g a a a c a t g a a
.....
.....

Page #1

Canine/cyt... #268 a c a t t g g : a a t t g t a c t a t t a t t e g e a a c c a t a g e c a c a g e a t t e a t g g g e t a t g t a c t a c c a t g a g g a c a a a t a t e a t t e t g a
Capreolus ... #268 a c a t t g g : a g t a g t e c t a c t a t t t a c c g t t a t a g c a a c a g e c t t e a t a g g e t a e g t e c t g c c c t g a g g a c a a a t a t e a t t e t g a
Cervus ela... #268 a c a t e g g : a g t a g t t e t t e t a t t t a c a g t t a t a g c e a c a g e a t t e g t a g g a t a t g t e c t a c c a t g a g g a c a a a t a t e a t t e t g a
Human/cytb... #268 a c a t e g g e a t t a : t e c t e c t g e t t g e a a c t a t a g c a a c a g e c t t e a t a g g e t a t g t e c t e c c e g t g a g g a c a a a t a t e a t t e t g a
#268 a c a t y g g : a g t a g t e c t a c t a t t t r c a r y t a t a g c m a c a g e m t t e a t a g g e t a t g t e c t a c c a t g a g g a c a a a t a t e a t t e t g a
.....
.....

Gén: 1140 bp / PCR: 358 bp / Átlagos eltérés: 70 bp / 4 faj

Genomok evolúciója 16S rRNA szekvenciák alapján

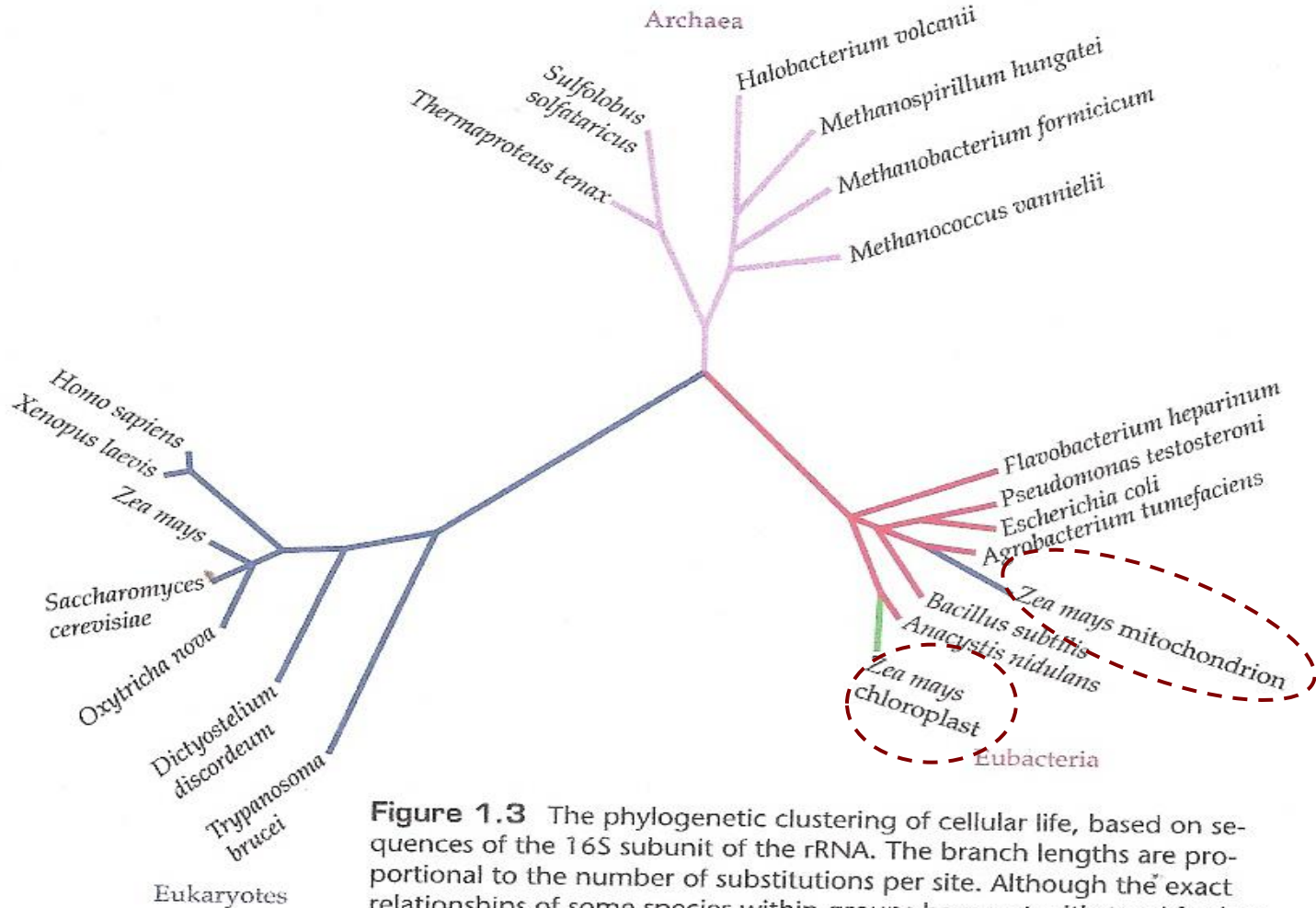
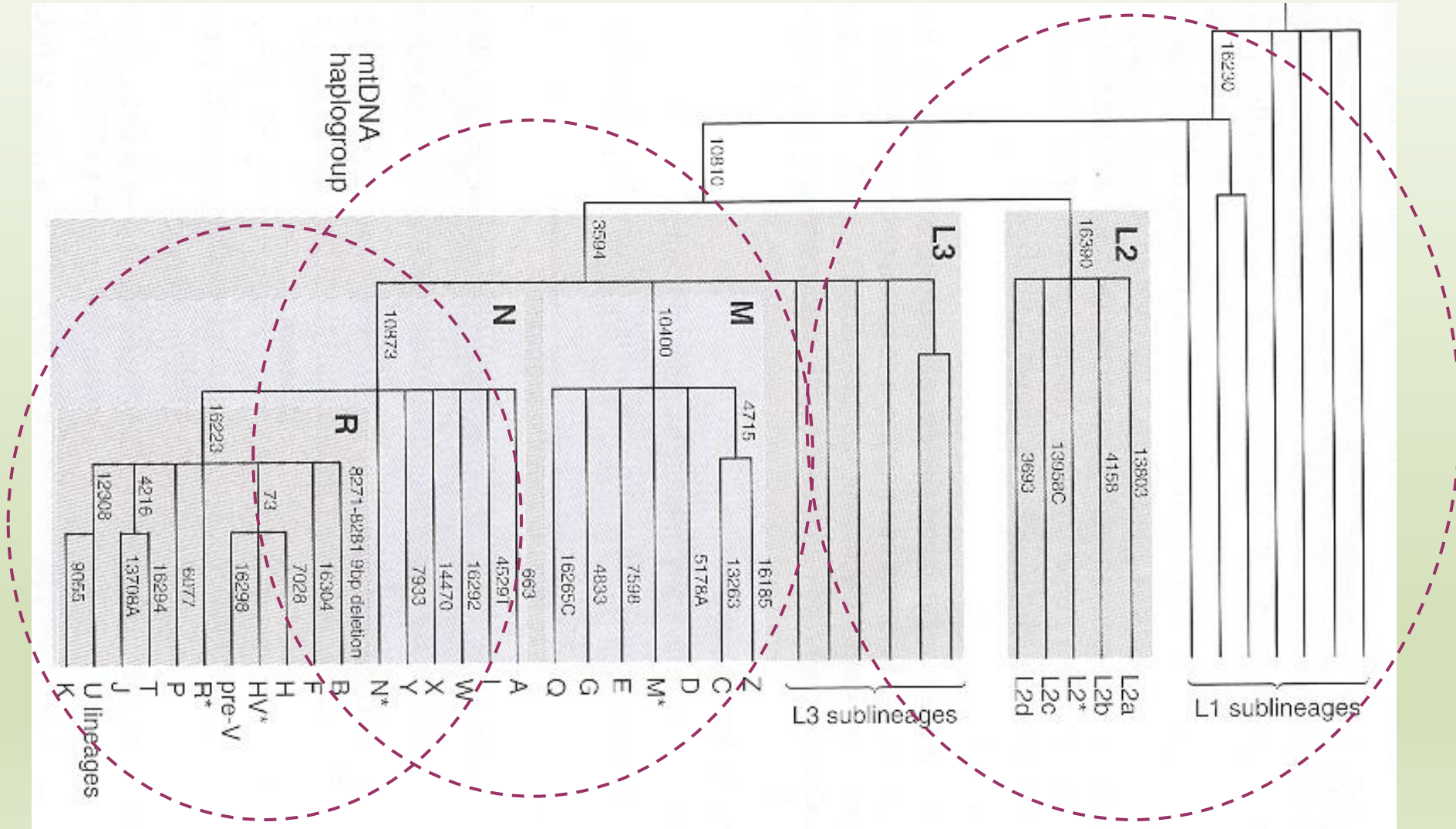


Figure 1.3 The phylogenetic clustering of cellular life, based on sequences of the 16S subunit of the rRNA. The branch lengths are proportional to the number of substitutions per site. Although the exact relationships of some species within groups have not withstood further scrutiny, the distinct nature of the three major domains is well accepted. The presence of mitochondrial and chloroplast sequences in the eubacterial lineage provides compelling evidence for the eubacterial ancestry of these organelles. The tree is unrooted, as the position of the most recent common ancestor of the three major groups is not identified. (Modified from Pace et al. 1986.)

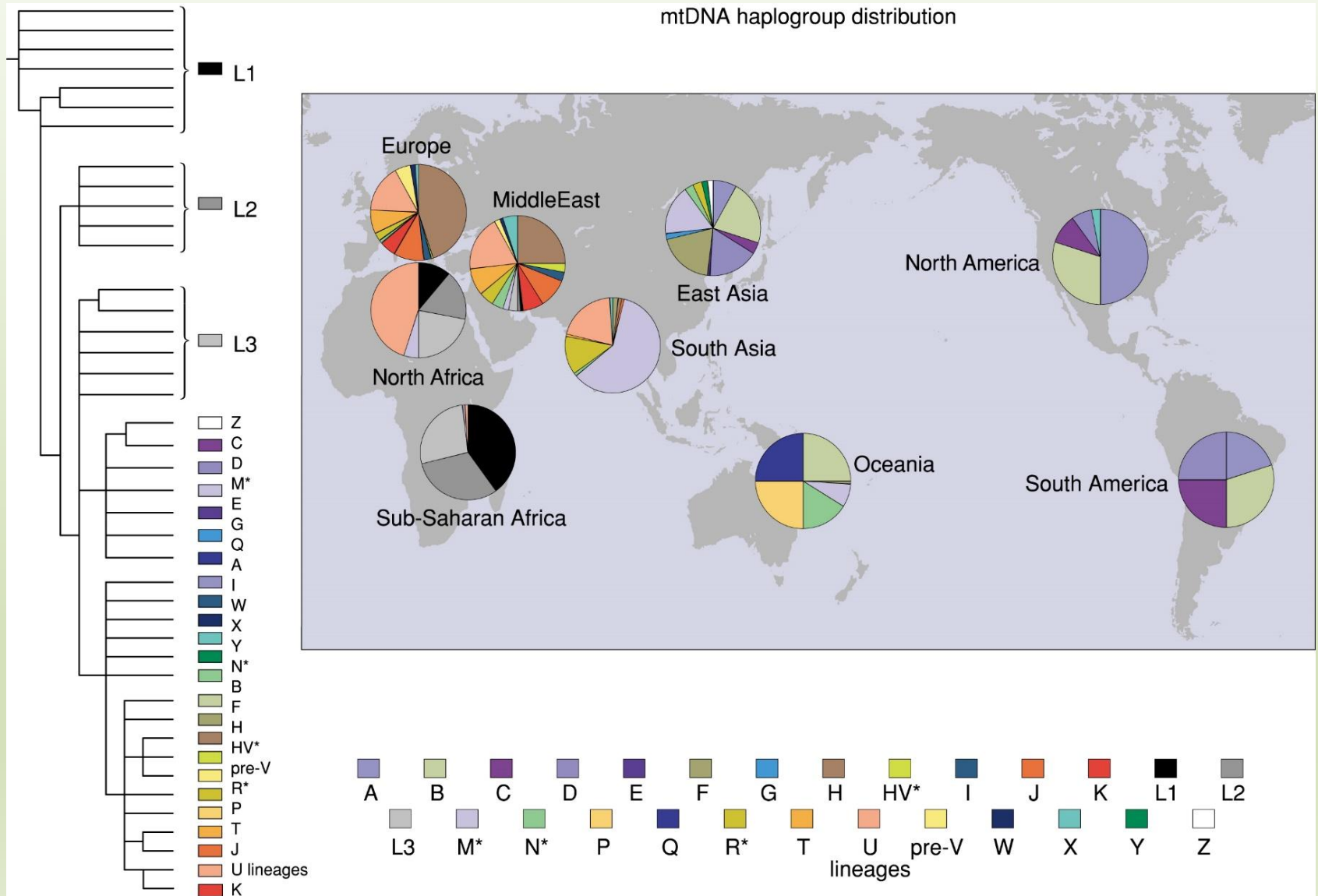
Woese and Fox, 1977

Woese et al., 1990

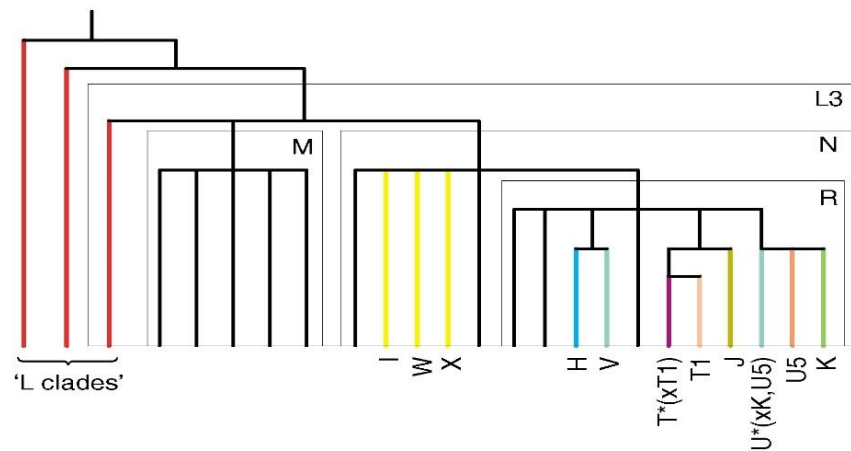
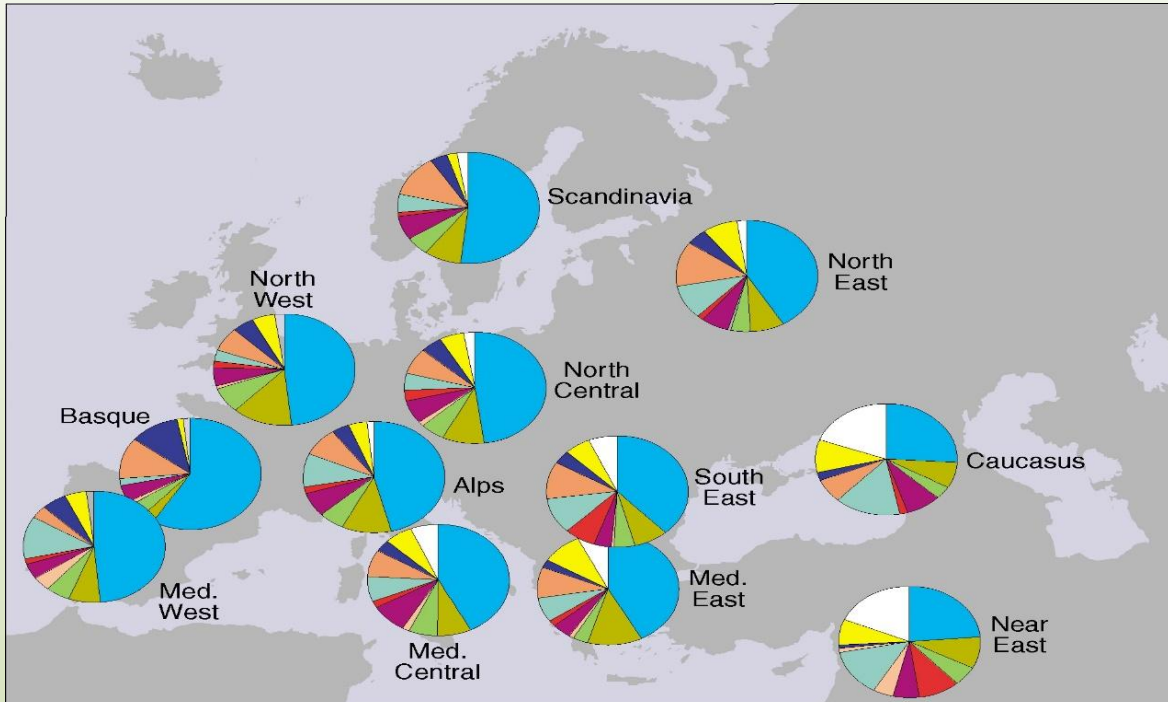
A fő mitokondriális DNS leszármazási vonalak



A fő mitokondriális DNS haplocsoportok eloszlása



A fő mitokondriális DNS haplocsoportok eloszlása a nyugat-eurázsiai kontinensen



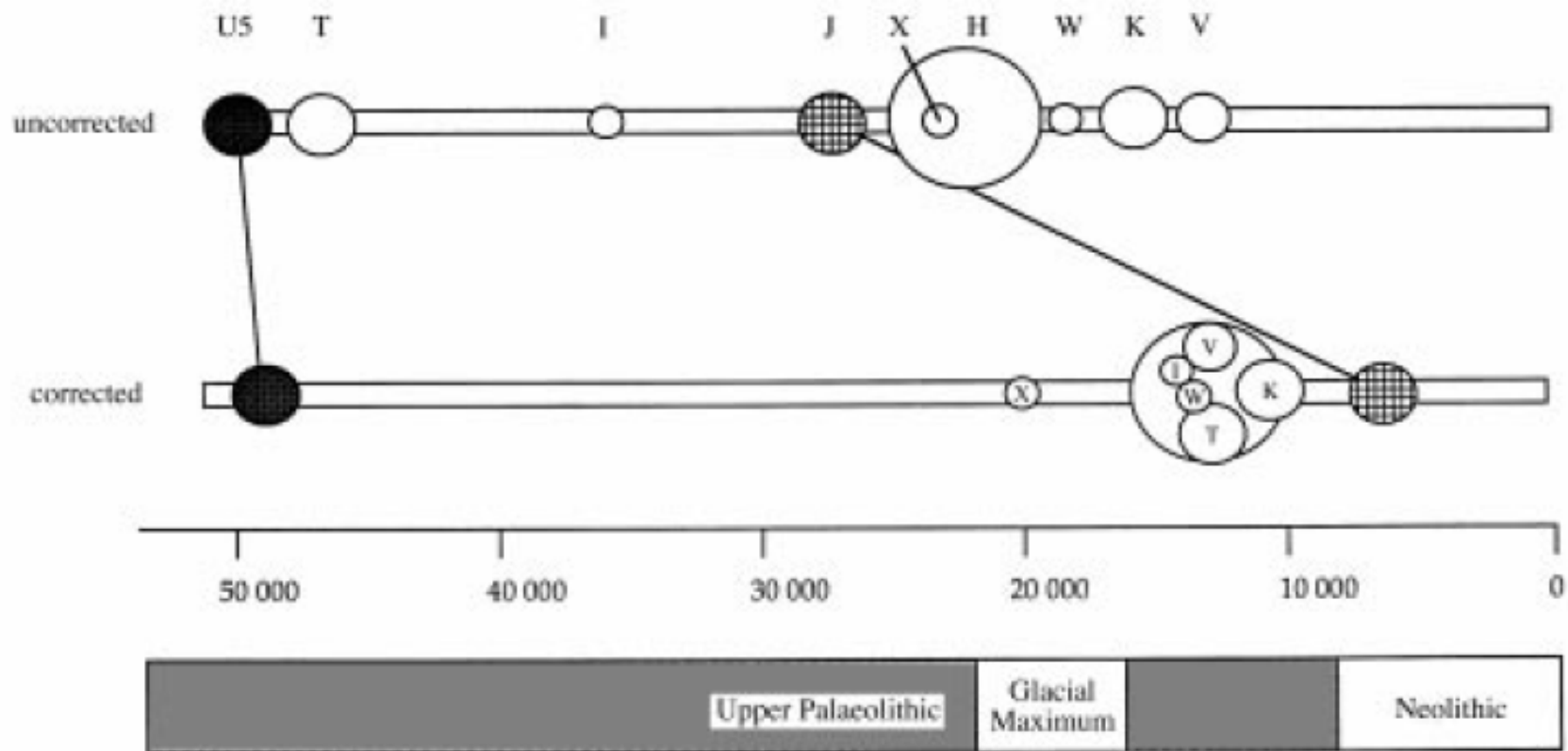


Figure 10. Uncorrected and corrected divergence times for the European clusters. Areas of circles are proportional to cluster frequencies.

component	dates (BP)	main associated clusters	contribution to modern gene pool
Neanderthal	300 000	unclassified	0%
Early Upper Palaeolithic	50 000	U5	10%
Late Upper Palaeolithic	11 000–14 000	H, V, I, W, T, K	70%
Neolithic	8500	J (+ more of H, T, K?)	20%

Magyarországi előzmények: első populációs felmérések a HVR-I és HVR-II régióra

Table 3. *MtDNA haplogroup frequencies*

	Finns ¹	Skolt Saami	Inari Saami	Erzas	Csángós	Hungarians
H	0.42(44)	0	0.02(2)	0.36(21)	0.37(25)	0.37(29)
I	0.01(1)	0	0	0.07(4)	0.01(1)	0
J	0.08(9)	0	0.04(5)	0.14(8)	0.10(7)	0.17(13)
K	0.03(3)	0	0	0.03(2)	0.06(4)	0.04(3)
M	0.03(3)	0.10(5)	0.05(6)	0.02(1)	0	0
T	0.05(5)	0	0	0.09(5)	0.12(8)	0.03(2)
U	0.22(23)	0.38(19)	0.66(84)	0.19(11)	0.22(15)	0.17(13)
V	0.04(4)	0.52(26)	0.17(21)	0.05(3)	0.06(4)	0.04(3)
W	0.06(6)	0	0	0	0.03(2)	0.05(4)
X	0.04(4)	0	0	0.02(1)	0.01(1)	0.01(1)
Others or?	0.04(4)	0	0.07(9)	0.02(2)	0.01(1)	0.12(9)
Total	106	50	127	58	68	77

Lahermo et al., 2000.

Az mtDNS preV- és V-változatainak gyakorisága az ismert európai és néhány egyéb minták

Európai minták	Esetszám	V	preV
Albán	199	0,5	1,5
Angol	293	2,4	1,0
Baszk	97	12,4	0,0
Bolgár	81	0,0	1,2
Csángó	68	0,0	4,4
Cseh	89	4,5	1,1
Magyar	194	3,1	3,6*
Erra (mordvin)	58	3,4	0,0
Észt	148	0,7	0,0
Finn	236	2,5	0,0
Francia	56	7,1	0,0
Görög	208	1,4	0,5
Holland	21	4,8	0,0
Horvát (szigetek)	447	5,6	1,1
Ír, nyugati	88	5,7	1,1
Német, bajor	33	3,0	3,0
Német, szász	632	2,7	1,4
Német, kevert	157	4,5	0,6
Olasz	240	1,7	0,8
Orosz	144	3,5	1,4
Portugál	54	3,7	0,0
Skót	733	3,4	0,1
Spanyol	293	2,0	2,7
Számi (lapp, skolt)	50	52,0	0,0
Számi (lapp, inari)	127	7,1	0,0

Czeizel, 2003.

Előzmények: magyar etnikumú populációs minta felmérése a kódoló régió polimorf pontjain

Table 1

Haplogroup frequencies in the Hungarian, Finnish, Swedish, Tuscan and Italian populations

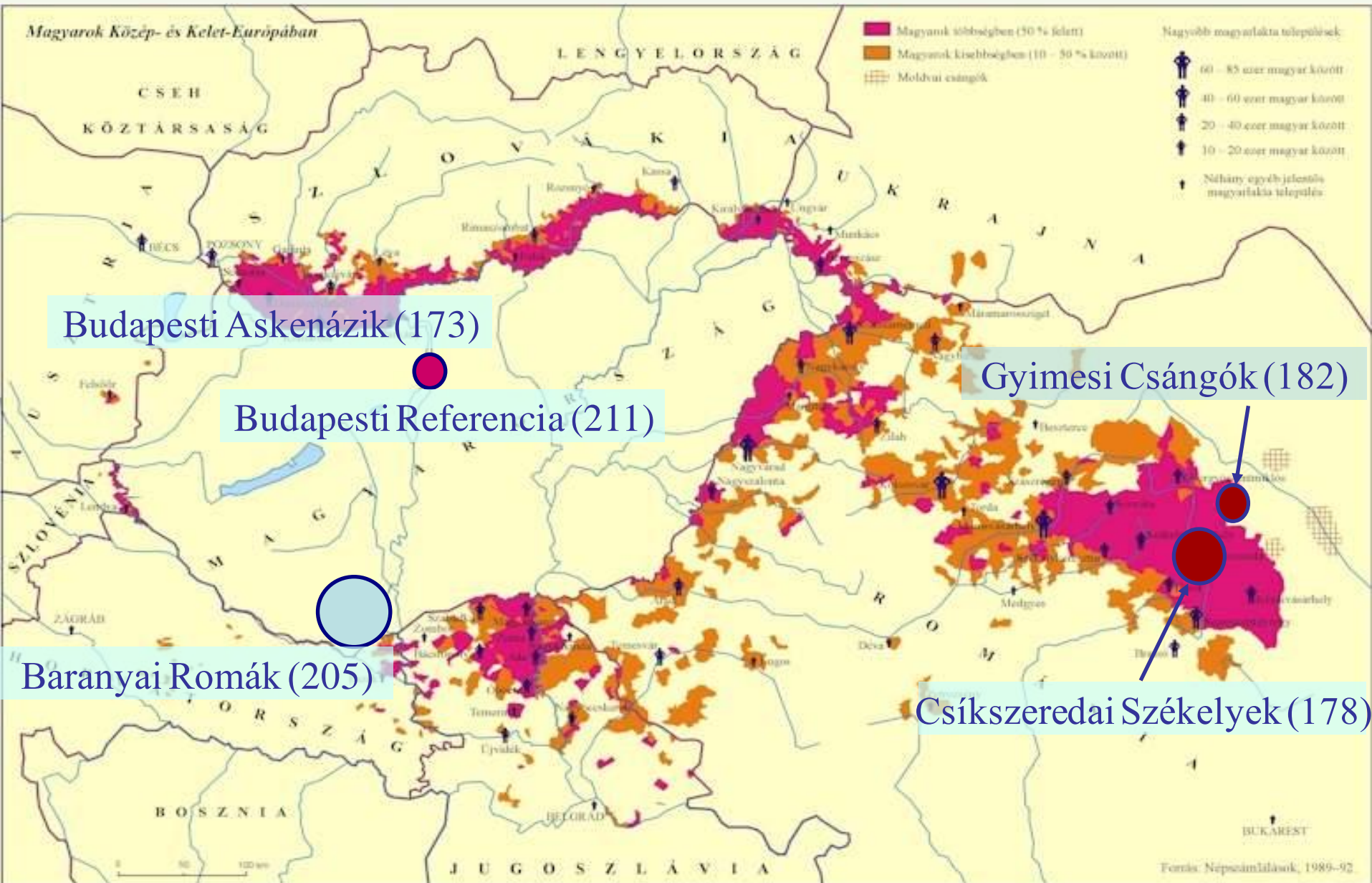
Haplo group	Hungarians (%)	Finnish* (%)	Swedish* (%)	Tuscans* (%)	Italians** (%)
H	18 (32.8)	20 (40.8)	15 (40.5)	20 (41.7)	33 (33.3)
I	1 (1.8)	1 (2.0)	0	2 (4.2)	4 (4.0)
J	9 (16.5)	7 (14.3)	1 (2.7)	7 (14.6)	7 (7.1)
K	8 (14.6)	2 (4.1)	5 (13.5)	3 (6.3)	8 (8.1)
T	1 (1.8)	3 (6.1)	8 (21.6)	5 (10.4)	9 (9.1)
U	2 (3.6)	8 (16.3)	6 (16.2)	5 (10.4)	22 (22.2)
V	1 (1.8)	2 (4.1)	2 (5.4)	0	5 (5.1)
W	2 (3.6)	2 (4.1)	0	1 (2.1)	2 (2.0)
X	4 (7.2)	2 (4.1)	0	4 (8.3)	3 (3.0)
M	3 (5.5)	1 (2.0)	0	0	NA
B	2 (3.6)	0	0	0	NA
Other	4 (7.2)	1 (2.0)	0	1 (2.1)	6 (6.1)
Total	55 (100.0)	49 (100.0)	37 (100.0)	48 (100.0)	99 (100.0)

* Data from Torroni et al. 1996.

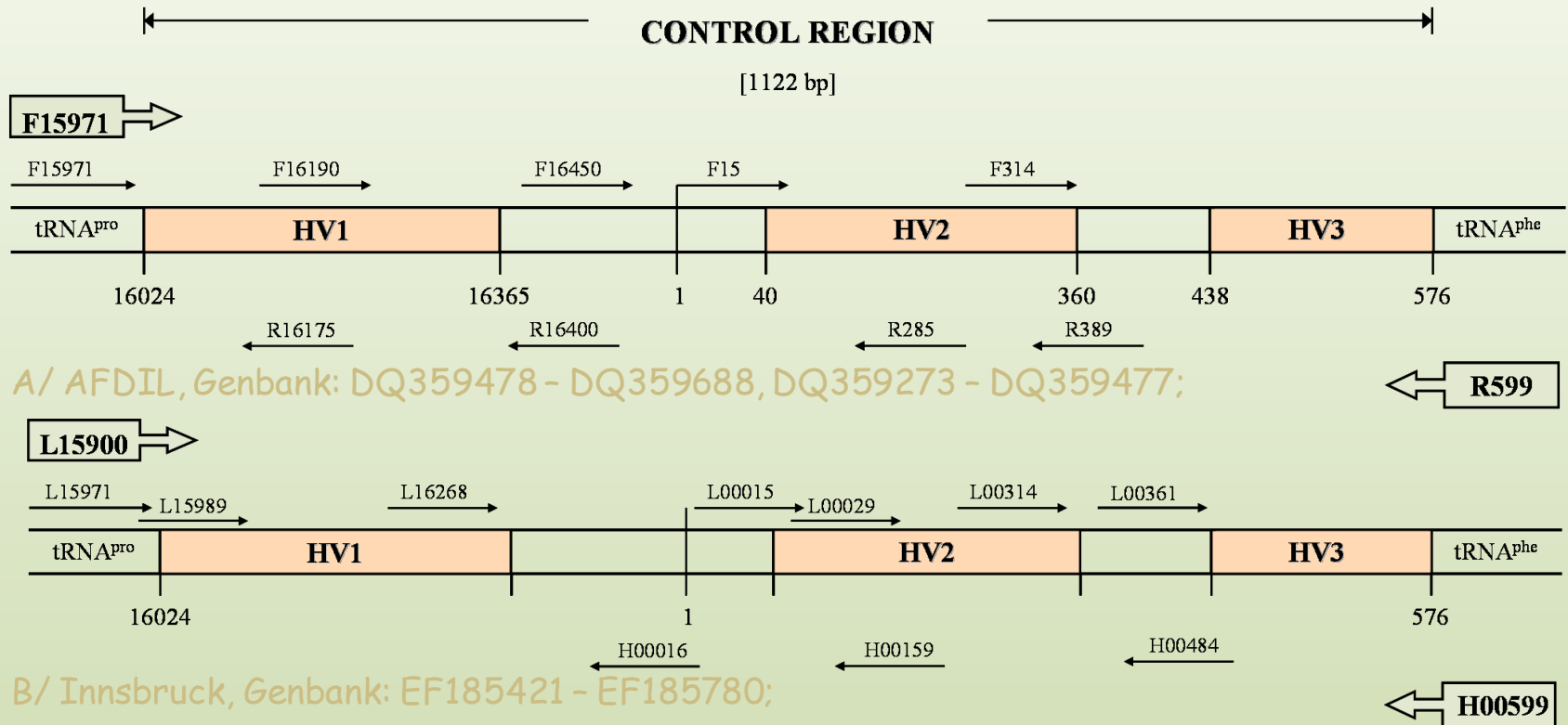
** Data from Torroni et al. 1997.

NA: not available

Magyarországi és magyar etnikumok populációs felmérése



Alkalmazott PCR amplifikálás és szekvenálási stratégiák a populációs felmérés során



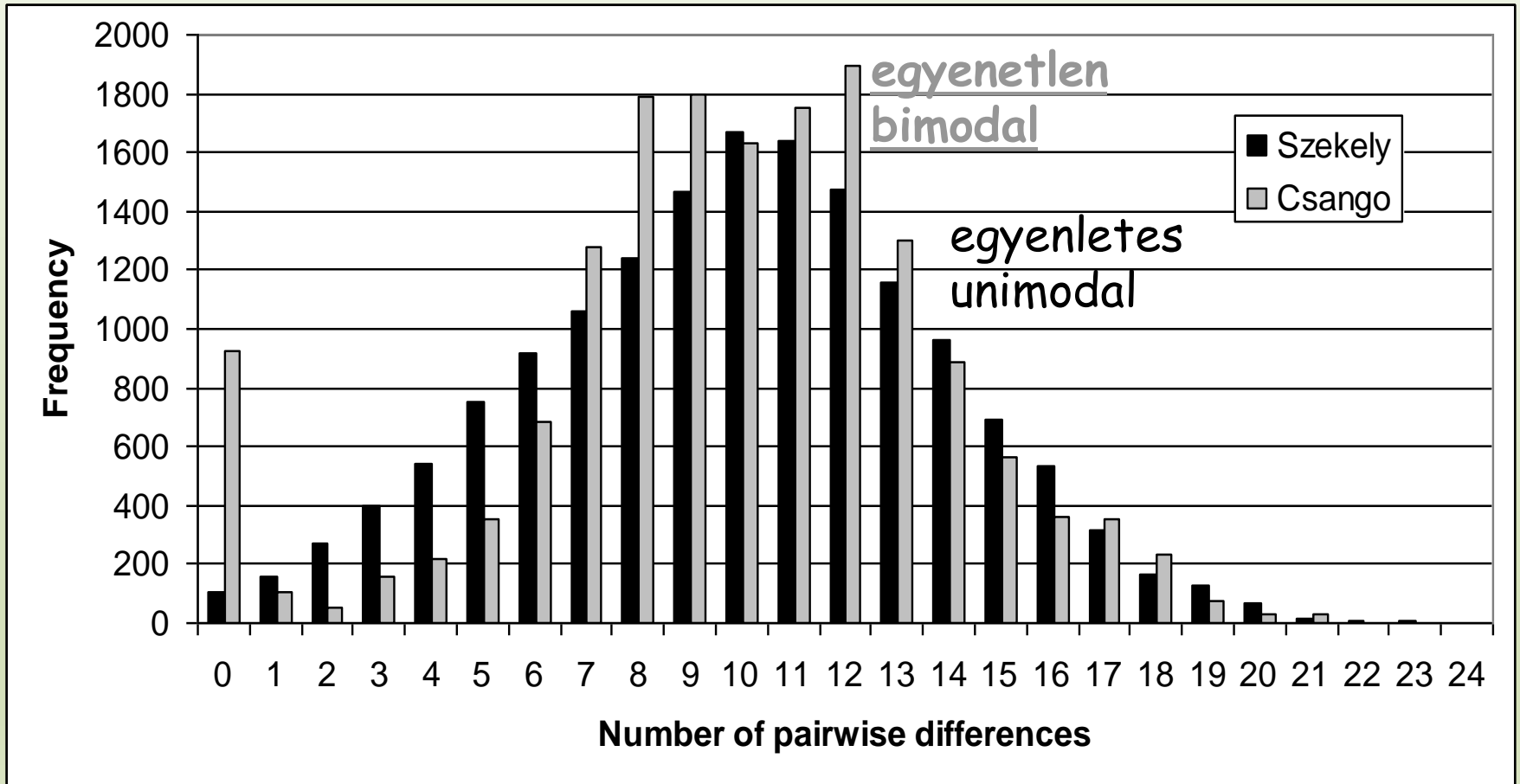
- mtDNS kontroll régió szekvenciák és haplotípusok minőség ellenőrzése
- Megbízható mtDNS szekvencia adatbázis felépítése
- EMPOP (<http://www.empop.org>); Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>)

Mitokondriális DNS Kontroll Régió diverzitási paraméterek a magyar populációban

Statisztikai paraméter (1121 bp)	BuCa (n=211)	BaRo (n=205)	Székely (n=178)	Csángó (n=182)
Polimorf pontok	183	109	176	123
Tranzíciók	158	96	152	104
Transzverziók	12	3	11	7
Megfigyelt haplotípusok	180 (167 unique)	57 (33)	135 (105)	84 (59)
Véletlen egyezési valószínűség (RMP)	1,00%	8,97%	1,04%	5,55%
Haplotípus-párok átlagos eltérése	9,5	9,8	10,8	10,7
Genetikai diverzitás	0,995	0,915	0,995	0,949

* A polycitozinszálak C inzercióit a 16193, 309 és 573 nukleotid pozíciókban kihagyva a számításokból

Szekvencia-párok között megfigyelt eltérések száma az erdélyi populációkban



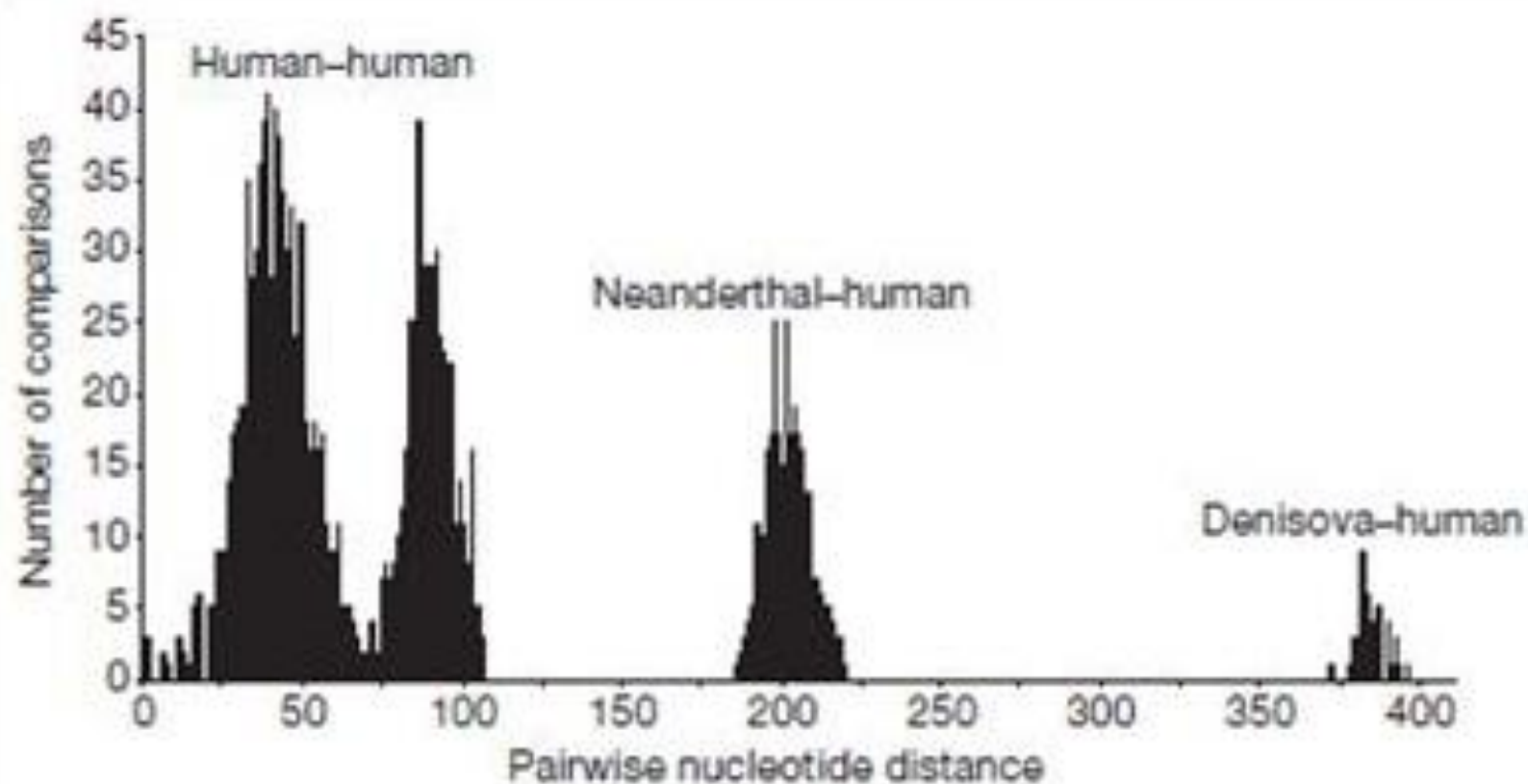


Figure 2 | Distribution of pairwise nucleotide differences. Pairwise nucleotide differences from all pairs of complete mtDNAs from 54 present-day and one Pleistocene modern human, six Neanderthals and the Denisova hominin are shown.

Leggyakoribb mtDNS haplotípusok a magyar populációs mintákban

Budapest Caucasians (211):

263G-315.1C-16519C (6.6 %; H1)

Csíkszeredai Székelyek (178):

1. 263G-315.1C-16519C (3.9 %; H1)

2. 263G-315.1C-16172C-16173T-16519C (3.9 %; H*)

Gyimesi Csángók (182):

1. 73G-146C-152C-263G-315.1C-498del-16224C-16311C-16519C (19.2%; K1c)

2. 73G-185A-189G-263G-295T-315.1C-462T-489C-16069T-16126C (8.2%; J1)

Budapesti Askenázi (173):

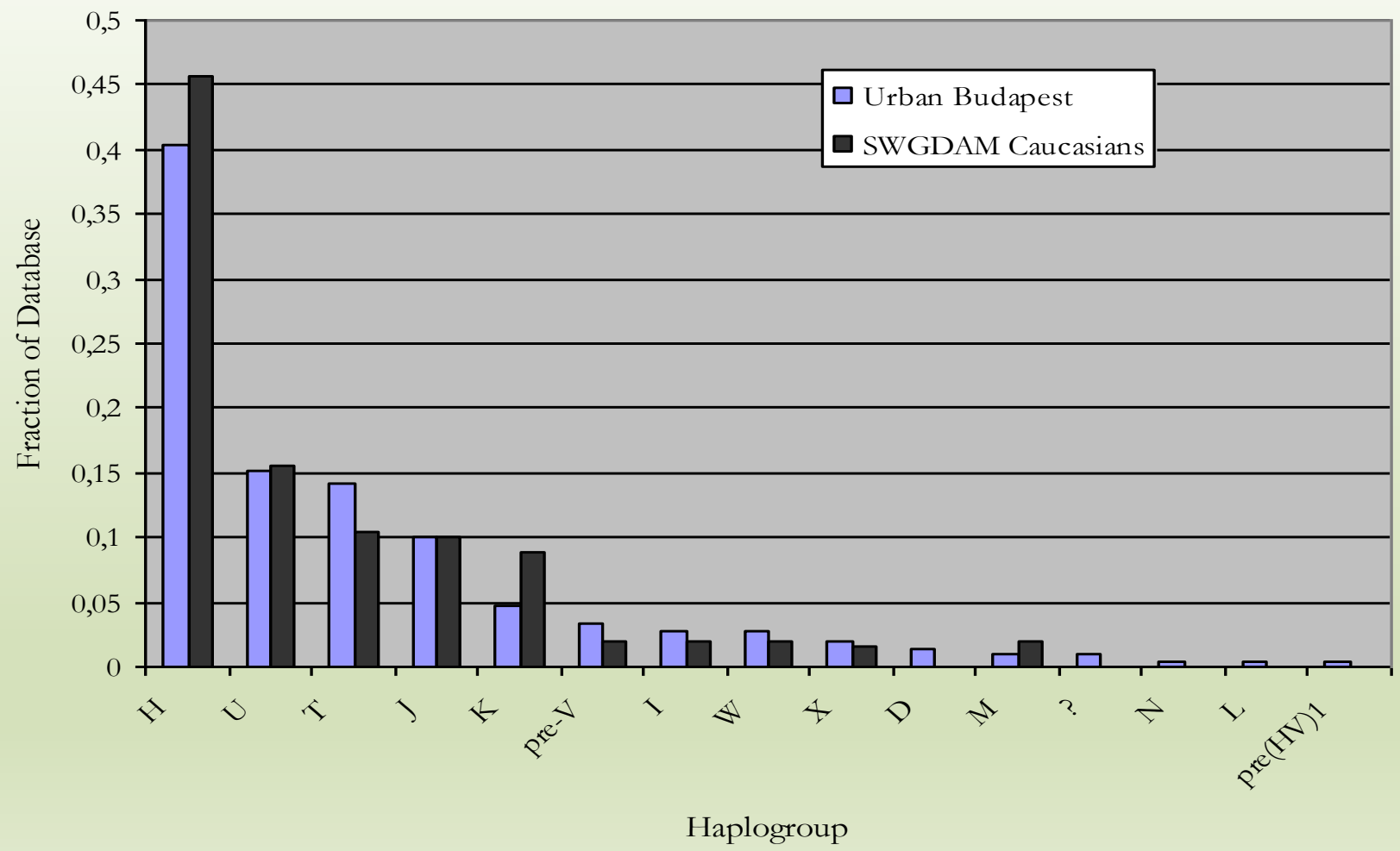
73G-114T-263G-315.1C-497T-16224C-16234T-16311C-16519C (11%; K1a)

Baranya Roma (205):

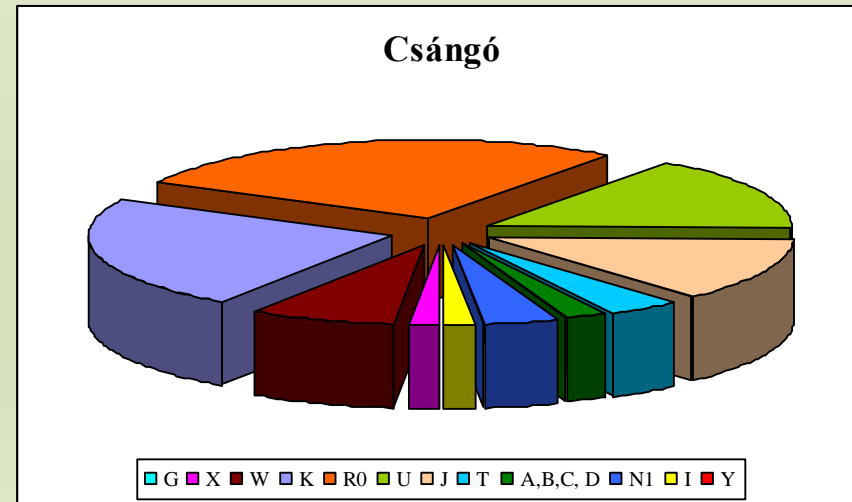
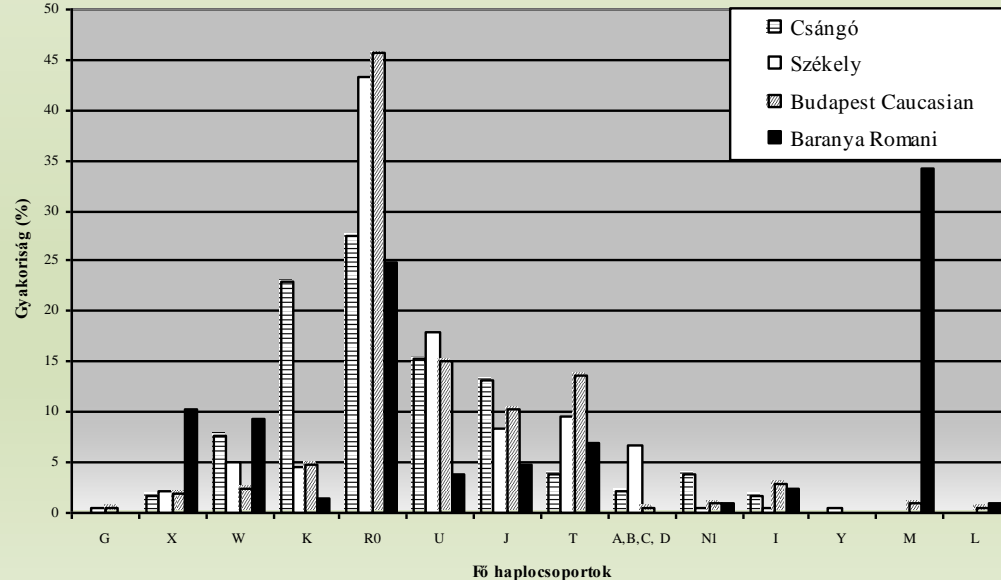
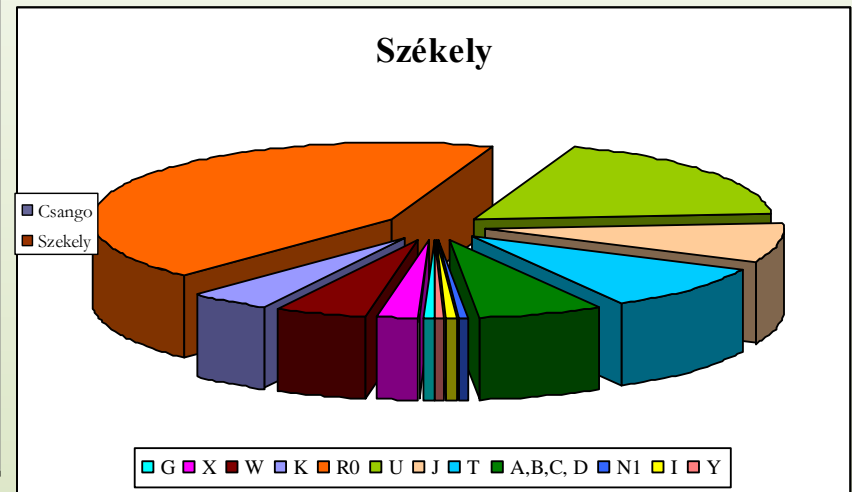
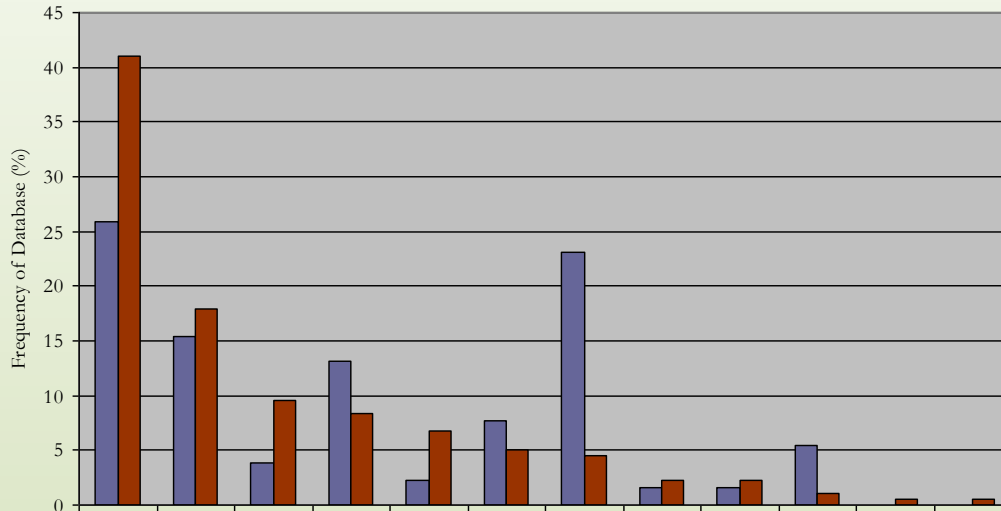
73G-263G-315.1C-489C-524.1A-524.2C-16129A-16223T-16291T-16298C-16519C (M5a; 23.9 %)

mtDNS haplocsoport eloszlás a Budapest környéki referencia populációs mintában

"Caucasian" Haplogroup Frequencies



mtDNS haplocsoport eloszlás a székely és a gyimesi csángó populációk mintákban



Genetikai struktúráltság: mtDNS haplotípusok AMOVA analízise a magyar populációkban

P / F_{ST}	Gyimesi Csángó	Csíkszereda Székely	Budapesti Referencia	Baranya Roma
Gyimesi Csángó	-	0,024*	0,025*	0,101*
Csíkszereda Székely	0,000	-	0,001	0,070*
Budapesti Referencia	0,000	0,240	-	0,081*
Baranya Roma	0,000	0,000	0,000	-

* A populáció-párok között megfigyelt F_{ST} értékek szignifikáns eltérést mutatnak a $P = 0,05$ szignifikancia szinten.

Teljes variancia: 5,2 % vezethető vissza populációk közötti eltérésekre.

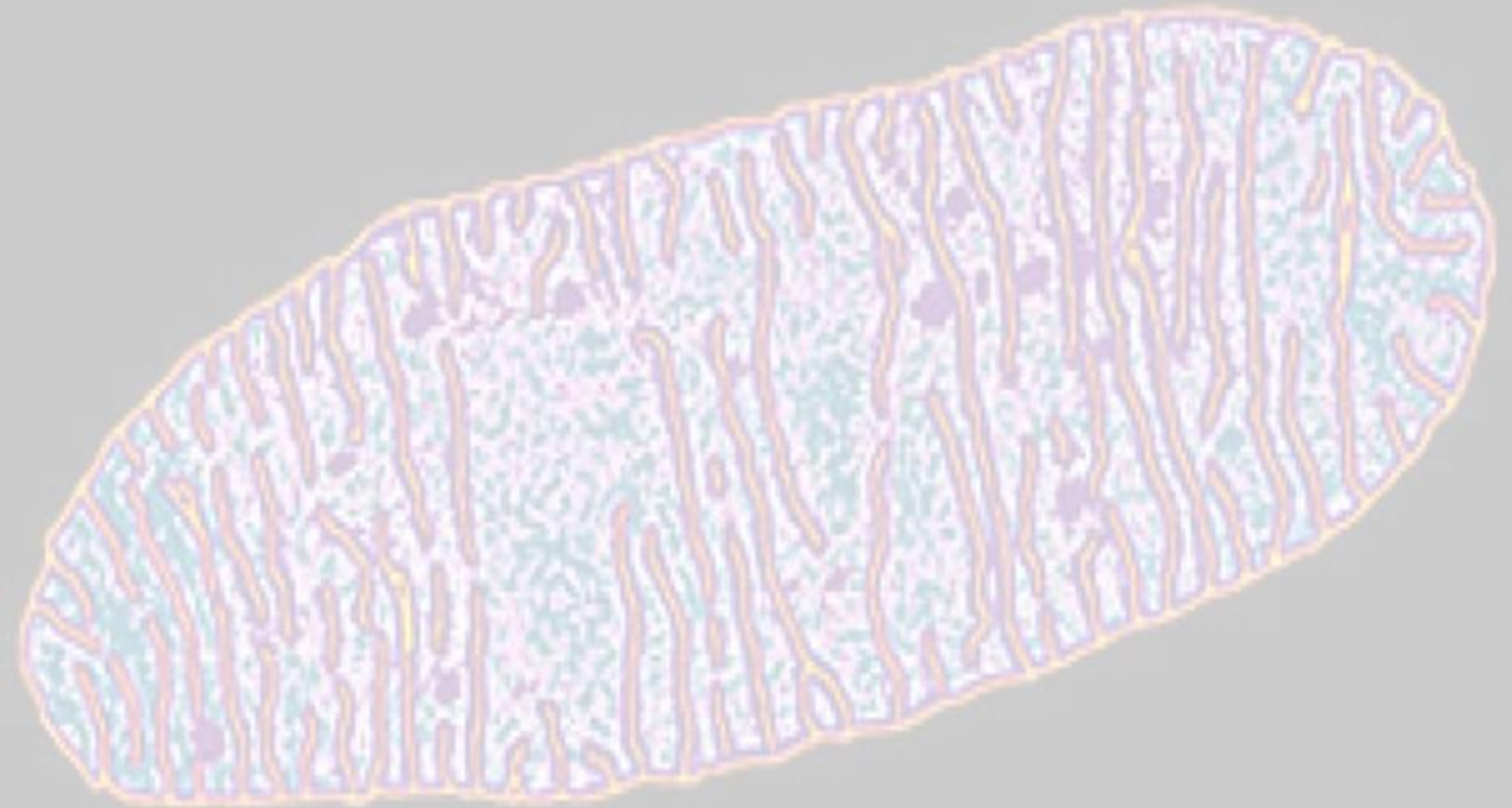
Genetikai struktúráltság az erdélyi populációs minták és balkáni adatok között (AMOVA)

P / Φ_{ST}	Csángó	Székely	Greek	Macedonia
Csángó	-	0,026	0,027	0,027
Székely	$<10^{-3}$	-	0,001	0,001
Greek	$<10^{-3}$	0,131	-	0,000
Macedonia	$<10^{-3}$	0,178	0,373	-

Következtetések

- A Budapest környéki referencia mintacsoport mtDNS kontroll régió szekvencia variabilitása nem tér el az európai népességben megfigyelt átlagos adatoktól.
- A székely populáció genetikai összképe beleillik ugyanebbe a nyugat-eurázsiai mtDNS variabilitásba.
- Az ázsiai eredetű mitokondriális haplocsoportok (A, B, C, G, Y) viszonylag nagy aránya a székely népességben erőteljes ázsiai invázió indikátora, vagy pedig a keleti eredet bizonyítéka lehet.
- A gyimesi csángó népesség mitokondriális DNS kompozíciója lényegesen eltér a többi magyar populációtól, amit alapító hatás és genetikai sodródás események magyarázhatnak.
- Tekintetbe véve a megfigyelt genetikai szubstruktúrálódást a populációk között, a populációs adatok csak korlátozott módon vonhatók össze egy nagy populációs adatbázisba.

Köszönöm a figyelmet!



Egyed Balázs
ELTE Genetikai Tanszék