

**Posiedzenie Komitetu Genetyki i Patologii Molekularnej PAN**

**Warszawa 20 marca 2023**

**Badania genomów wymarłych homininów i ewolucji człowieka:  
Svante Paabo – nagroda Nobla 2022  
w dziedzinie fizjologii i medycyny**

**Ewa Ziętkiewicz, IGC PAN**

## **Nagroda Nobla w dzied. fizjologii i medycyny 2022: szwedzki badacz Svante Pääbo**



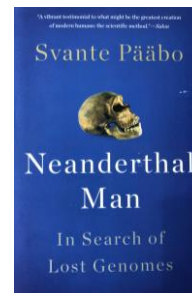
**“za odkrycia dotyczące genomów wymarłych homininów i ewolucji człowieka”**

# Laureat - Svante Pääbo

- Urodz. 1955, Sztokholm, Szwecja
- Matka: estońska biochemiczka Karin **Paabo**
- Ojciec: szwedzki biochemik Sune Bergstrom, również noblista (1982, prostaglandyny)
- **Wielokierunkowa edukacja** (egiptologia, medycyna, biologia molekularna)
- Stopień doktora w 1986, uniwersytet Uppsala (modulacja systemu immunologicznego);
- Postdoc na uniwersytecie w Zurychu (biologia molekularna; zainteresowanie mumiami)
- **1987-90: postdoc na uniwersytecie California, Berkeley; praca z biologiem ewolucyjnym Allanem Wilsonem (genomy wymarłych ssaków)**
- Od 1990 - profesor na uniwersytecie w Monachium
- **1999 założył Instytut Ewolucyjnej Antropologii Maxa Plancka (Leipzig)**
- Od 2020 również afiliacja z Instytutem Nauki i Technologii w Okinawa, Japan
- Autobiografia (nauka i życie prywatne)
- Biseksualność
- Żona - Linda Vigilant (primatolog, genetyk); dwoje dzieci

<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2022/paabo/facts/>

[https://en.wikipedia.org/wiki/Svante\\_Paabo](https://en.wikipedia.org/wiki/Svante_Paabo)



# Svante Pääbo: najważniejsze osiągnięcia

Pääbo opracował technologiczne **metody analizy archaicznego DNA (aDNA)**, stanowiące podwaliny **paleogenetyki**, nowej dyscypliny wykorzystującej dane genetyczne do badania wymarłych gatunków

W 2010 zespół Pääbo odczytał pierwszą **sekwencję genomu neandertalczyka**; w tym samym roku sekwencjonowanie szczątków z Syberii doprowadziło do odkrycia nieznanego gatunku homininów, **człowieka z jaskini Denisowa**

Analiza archaicznych sekwencji wykazała, że po wyjściu **współczesnego *Homo sapiens*** z Afryki miał miejsce przepływ genów (krzyżowanie) **pomiędzy człowiekiem współczesnym a obecnie wymarłymi homininami** (neandertalczykami i denisowianami)

Epokowe odkrycia Pääbo uitorowały drogę dalszym badaniom, przyczyniając się do wyjaśnienia **znaczenia dawnego przepływu genów dla współczesnej fizjologii i zdrowia człowieka**

# **Analiza archaicznego DNA**

# Technologiczne aspekty analizy aDNA

Analiza DNA z próbek takich jak artefakty muzealne czy szczątki kopalne **stanowi spore wyzwanie**

[Hoffreiter... 2001, Pääbo.... 2004, Stiller...2006, Sawyer ...2012, Dabney ... 2013, Skoglund 2013; Brown ...2016]

- Po śmierci, DNA podlega degradacji enzymatycznej (nukleazy)
- Ulega chemicznej modyfikacji związanej z hydrolizą i uszkodzeniami oksydacyjnymi
- Czas i czynniki środowiskowe (wilgotność, temperatura) przyczyniają się do uszkodzeń

W archaicznych próbkach:

- **Niewielka ilość** endogennego DNA
- **Zanieczyszczenie** materiałem pochodzącym z współczesnych gatunków (problem zwłaszcza podczas analizy ludzkiego aDNA)
- aDNA jest zdegradowany do **krótkich fragmentów (50-100 pz)**
- Często **niemożliwa amplifikacja PCR** (crosslinki, przerwanie obu nici)
- Podatność na **błędy sekwencyjne** [Dabney ...2013]
  - Najczęstszy typ błędów w sekwencjonowaniu aDNA to tranzycje CpG-do-TpA powodowane deaminacją reszt 5-metylo C w matrycy; zjawisko to jest odpowiedzialne za podwyższone tempo mutacji w dinukleotydach CpG również w żywych komórkach

# Szybkość mutacji w dinukleotydach CpG

- W żywych komórkach – metylacja C w dinucleotydach CpG (na obu łańcuchach)
- U kręgowców 70-80% C w obrębie CpGs ulega metylacji (wyjątek – wyspy CpG)



Metylacja C (DNA metyltransferaza)

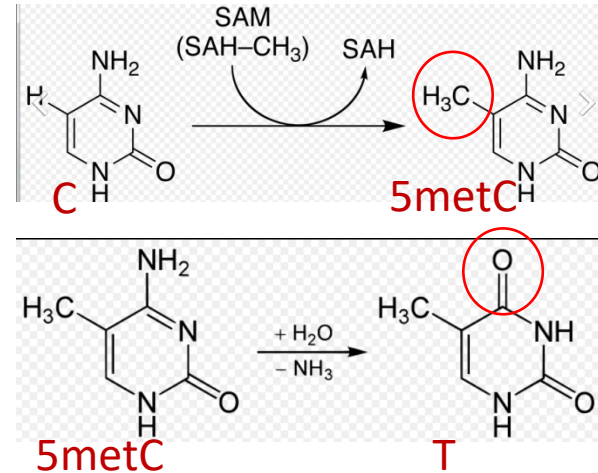


Spontaniczna deaminacja C<sup>met</sup>



Brak naprawy

Replikacja → A w łańcuchu komplement.



- Rezultat – większe tempo mutacji w CpG; mniejsza liczba CpG w genomie (4-5 x mniej niż oczekiwane)

# Podstawowe zasady analizy sekwencji aDNA [Pääbo 2004]

- **Unikanie zanieczyszczeń** (DNA, produkty PCR) – wymagana **dedykowana przestrzeń** laboratoryjna
- **Kontrola i walidacja wyników**
  - Sekwencjonowanie matryc pochodzących z wielu **niezależnych izolacji**; badanie **wielu klonów**; powtórzenie badań **w różnych laboratoriach**
- **Dokładne oznaczenie ilości nadających się do amplifikacji endogennych matryc** w ekstraktach aDNA
  - Np. oznaczenie poziomu racemizacji aminokwasów (zamiana enancjomeru Asparaginy L w D) w kościach/zębach;  $\log D/L < 1/10$  świadczy o dużym prawdopodobieństwie zachowania się w próbie namnażalnych fragmentów DNA
- **Krytyczne podejście do oceny wyników**
  - Nie oczekuje się długich sekwencji
  - Porównanie ortologicznych sekwencji musi mieć sens filogenetyczny
  - Określenie poziomu nagromadzonych modyfikacji aDNA (zwłaszcza tranzycji C>T) może być użyte w **różnicowej analizie endogennego aDNA** i zanieczyszczającego DNA ze źródeł współczesnych



# Dalsze techniczne i analityczne opracowania – podstawa sukcesu w sekwencjonowaniu aDNA

Zespół Paabo opracował **metody zwiększające efektywność izolowania i poprawność analizy sekwencji aDNA**

[D'Abbadie ...2007, Briggs...2007, 2009, 2010, Meier...2008, Burbano ... 2010]

- Wprowadzenie **wysokowydajnego masowego sekwencjonowania** typu shotgun poprzedzonego ilościową oceną bibliotek sekwencyjnych tworzonych z **nanogramowych ilości** materiału
- **Poprawienie jakości sekwencji poprzez uwzględnianie typu możliwych uszkodzeń aDNA** i w miarę możliwości ich modyfikację:
  - usunięcie krzyżowych wiązań (crosslinks) przez zastosowanie PTB (bromek N-fenylacyl tiazolu)
  - enzymatyczne usunięcie reszt U w DNA i naprawa miejsc pozbawionych zasad Pu/Py (uracyl-DNA glikozylaza, endonukleaza VIII)
- Genetyczna inżynieria – skonstruowanie **polimeraz zdolnych do amplifikacji uszkodzonego DNA**
- Technika primer extension capture – **celowane wzbogacanie sekwencji w zdegradowanym DNA**
- Celowane sekwencjonowanie oparte o **hybrydyzację do mikromacierzy**

Współpraca z ekspertami w zakresie **genetyki populacyjnej i analizy sekwencji**:

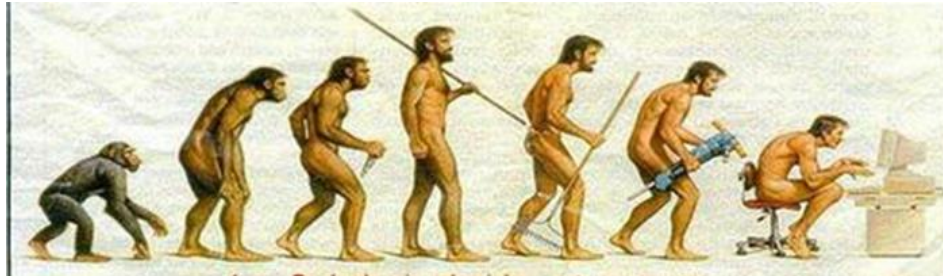
- Znaczenie użycia sekwencji blisko spokrewnionej grupy zewnętrznej (**outgroup**) i odpowiednie **filtrowanie/standardyzacja** danych [Prufer...2010]
- Opracowanie metod **statystycznych wykorzystujących wzory degradacji pośmiertnej DNA**, pozwalających na rozdzielenie endogennych sekwencji aDNA i zanieczyszczających sekwencji współczesnych [Skoglund ...2013]

# Zastosowanie metod analizy aDNA

Grupa Pääbo sekwencjonowała starożytne genomy różnych gatunków: niedźwiedzi jaskiniowych, mamutów, małp...

**Nobel – za sekwencje archaicznego DNA ze szczątków wymarłych homininów, które rzuciły światło na ewolucję człowieka**

# Podłoże systematyczne i archeologiczne



**Homininy** – współczesny człowiek i wszystkie dwunożne istoty człowiekowate (razem z australopitekami, parantropami, ardiopitekami itp.); dawniej grupa określana jako hominidy

- Obecnie hominidy (rodzina człowiekowatych) – małpy człekokształtne (szympansz, goryl; orangutan) i Homo (współcześni i archaiczni)

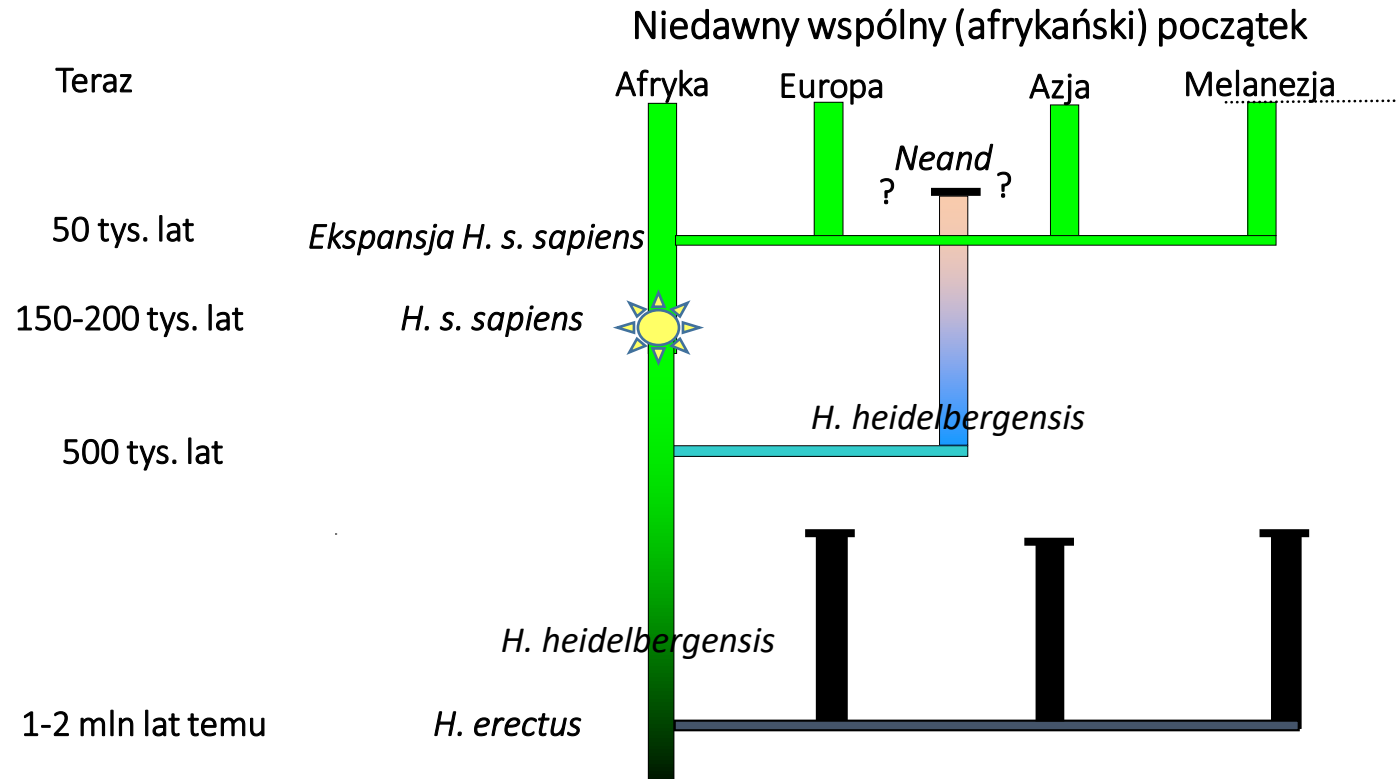
Dane archaeologiczne – datowanie i lokalizacja szczątków homininów:

- ***Homo habilis***; ~2.4-1.4 mln lat temu w Afryce
- ***Homo ergaster***; ~1.8-1.6 mln lat w Afryce
- ***Homo erectus***; ~1.9-1.2 mln lat w Afryce, również w Europie i Azji
- ***Homo heidelbergensis***; w Afryce 1.2 mln lat temu; w Europie 500 tys. lat temu; bezpośredni przodek neandertalczyka, denisowianina, współczesnego człowieka?
- ***Homo sapiens sapiens***, anatomicznie współczesny człowiek (anatomically modern human), pojawił się w Afryce 150-200 tys. lat temu i stamtąd rozprzestrzenił się na inne kontynenty

# Model ewolucji *Homo s. sapiens* – „niedawne wyjście z Afryki”

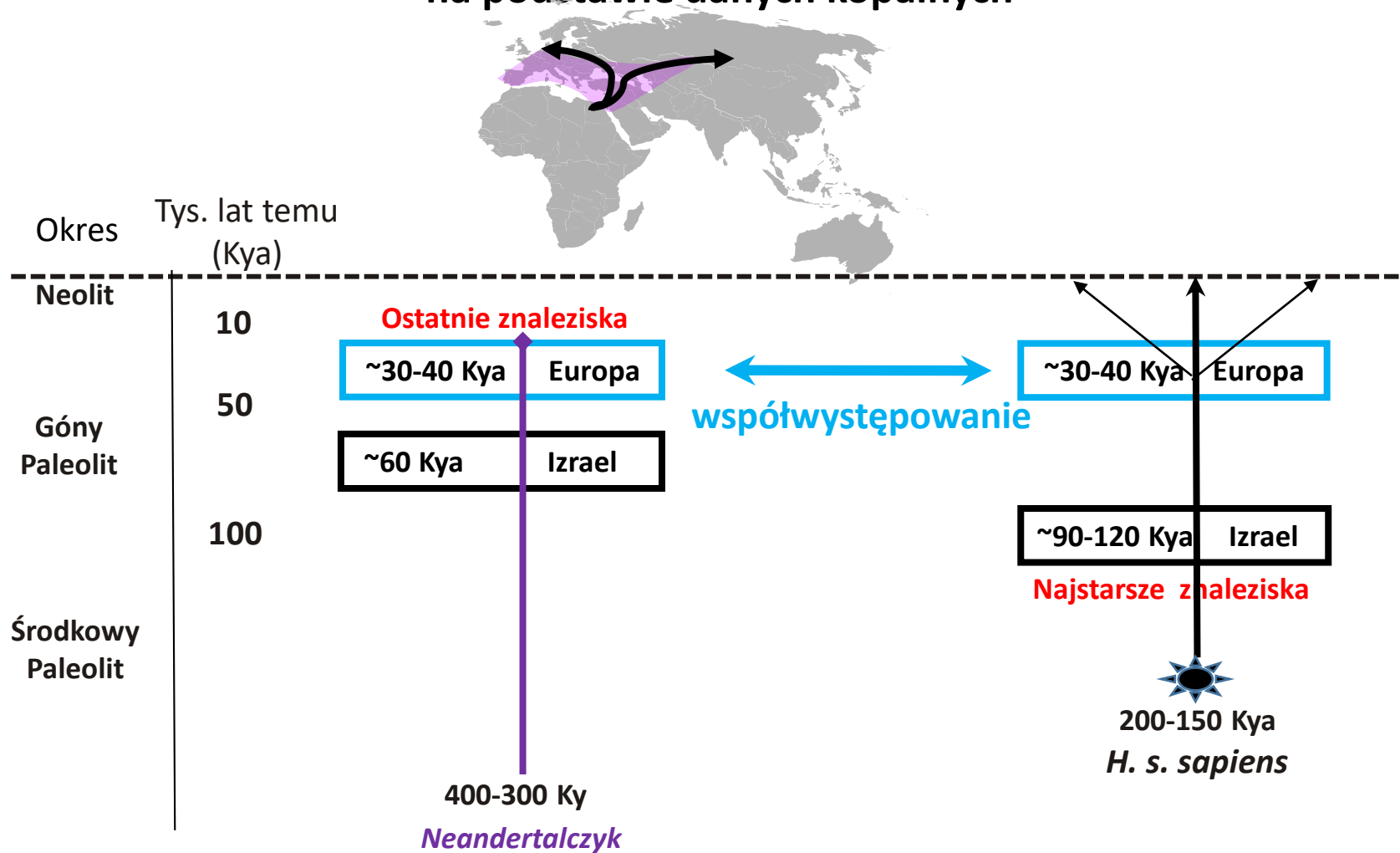
Na podstawie danych archeologicznych połączonych z analizą różnorodności współczesnych populacji ludzkich

- *Homo s. sapiens* (anatomicznie współczesny człowiek) wyewoluował w Afryce 200-150 ~tys. lat temu
- Od ~50 tys. lat temu *Hss* rozpoczął kolonizację innych kontynentów wcześniej zamieszkiwanych przez neandertalczyka, a ~30 tys. lat temu całkowicie zastąpił wcześniejsze formy Homo



Czy dochodziło do krzyżowania pomiędzy Hss a Neandertalczykiem???

# Datowanie występowania neandertalczyka i człowieka współczesnego na podstawie danych kopalnych



- Ostatnie znaleziska szczątków neandertalskich w Europie datowane na 30-40 tys. lat temu
- Takie samo datowanie mają najstarsze znaleziska szczątków Hss w Europie
- **Współwystępowanie w Europie przez 10-20 tys. lat**

# Neandertalczycy a ludzie współcześni

W oparciu o porównania morfologiczne materiału kopalnego, różne teorie dotyczące neandertalczyków:

- byli **bezpośrednimi przodkami** współczesnych Europejczyków
- jako odrębny gatunek **krzyżowali się z nami** i przekazali niektóre geny współczesnym ludziom
- zostali **całkowicie wyparci przez współczesnych**, nie pozostawiając swojego „wkładu” genetycznego

Przed erą paleogenetyki, analiza różnorodności genetycznej współczesnych populacji ludzkich wspierała trzeci scenariusz

Analiza starożytnego DNA, możliwa dzięki pracom Paabo, dostarczyła narzędzi do badania wymarłych homininów i **stopniowo** zmieniła wcześniejsze poglądy

# Sekwencjonowanie fragmentów neandertalskiego mtDNA

Pierwsze dokonania Pääbo [Krings...1997, Krings...1999] – odczytanie częściowej sekwencji mito DNA wyizolowanego z liczącego ~**40 tys. lat** fragmentu kości neandertalczyka znalezionej w Niemczech w 1856 roku

- Genom mitochondrialny jest mały i zawiera tylko część informacji genetycznej w komórce, ale jest obecny w **tysiącach kopii**, co zwiększa szanse na sukces w czytaniu sekwencji
- Sekwencjonowanie klonów krótkich nakładających się produktów PCR
- Porównanie genetycznych różnic pomiędzy sekwencją aDNA a sekwencjami współczesnych ludzi i szympanсів wykazało, że neandertalczycy byli genetycznie odmienni od współczesnych ludzi

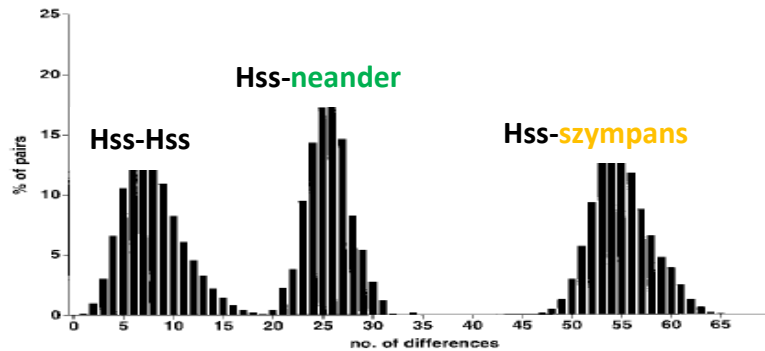
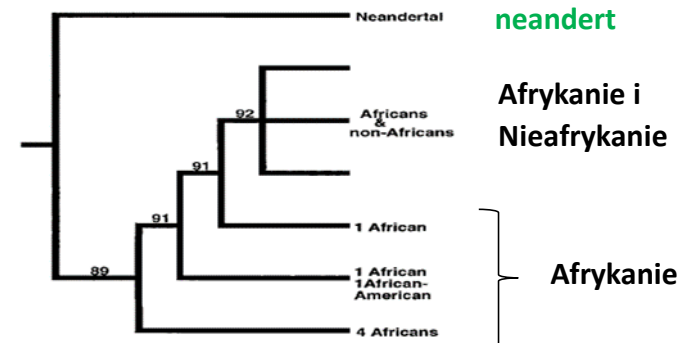


Figure 6. Distributions of Pairwise Sequence Differences among Humans, the Neandertal, and Chimpanzees

~500-600 tys. lat dywergencji

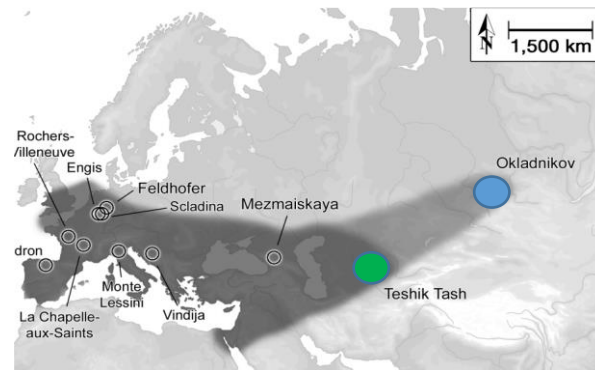


- **Wiek wspólnego przodka mtDNA** neandertalczyków i współczesnych wyliczony z dystansu genetycznego (dywergencji sekwencji): **cztery razy starszy** niż wiek wspólnego przodka mtDNA współczesnych ludzi z różnych części świata

# Kompletna sekwencja neandertalskiego genomu mt

2007 – sekwencja pełnego genomu mt z liczących **40 tys. lat** fragmentów kości neandertalskich znalezionych w **Uzbekistanie** i w jaskini **Okladnikov** w Ałtaju (pd. Syberia) [Krause ..... 2007]

- Zmienność sekwencji tych azjatyckich próbek zgodna ze zmiennością neandertalskiego mtDNA z Europy – rozszerzenie geograficznego zasięgu neandertalczyka określanego na podst. morfologii kości



- Porównanie genetycznych różnic – nie wykazano istotnego udziału sekwencji neandertalczyka w mtDNA współczesnych ludzi (brak krzyżowania)
- Ale: taki udział mógł być **zarty przez dryf genetyczny** lub wynikać z **braku przekazywania genów przez kobiety lub braku płodnego potomstwa** (mtDNA – pojedynczy locus dziedziczony od matki)



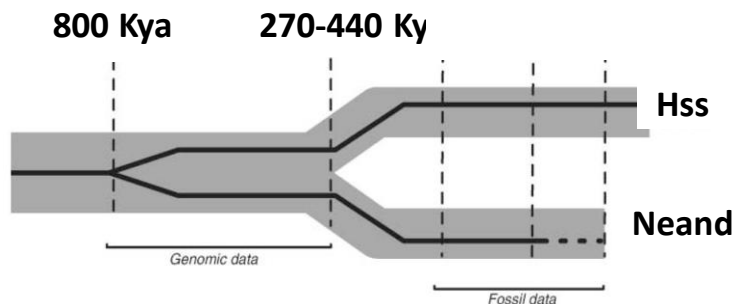
# Sekwencjonowanie genomu jądrowego neandertalczyka

Ograniczona informacja dostarczana przez analizę genomu mt – bodziec dla sekwencjonowania **genomu jądrowego** wymarłych homininów

- 2006 – sklonowanie i sekwencjonowanie wielu niezależnych loci autosomalnych (65,250 bp; metagenomic library, Sanger- i pyro- sequencing) [Noonan ...2006]
- 2010 – pierwsza sekwencja **pełnego genomu neandertalczyka** [Green ... 2010]
  - DNA z kości z Vindija w Chorwacji (x3); także Hiszpania, Niemcy, Rosja
  - Sekwencjonowanie nowej generacji - 454 Life Sciences Corporation
  - Sekwencja: ponad 4 miliardy pz ( $4 \times 10^9$ ); pokrycie genomu 1.3 x

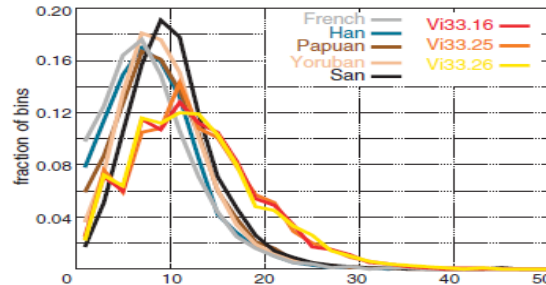


- Porównanie sekwencji genomów Hss i neandertalczyka – wiek **wspólnego przodka sekwencji ~800 tys. lat**
- Rozdzielenie się populacji macierzystych neandertalczyka i Hss – **270-440 tys. lat temu**



# Sekwencjonowanie genomu neandertalczyka cd.

- Wiek **wspólnego przodka sekwencji Hss i Ndt** **~800 tys. lat** i datowanie rozdzielenia się macierzystych populacji obu gatunków zgodne z danymi mtDNA
- **Nowość** – sekwencje neandertalskie mieszczą się w zakresie różnorodności współczesnych populacji ludzkich



- Sekwencje neandertalskie mają więcej wariantów wspólnych z współczesnymi populacjami Euroazjatyckimi niż Afryki
- **1–4% genomu współczesnych ludzi spoza Afryki pochodzi od neandertalczyków**

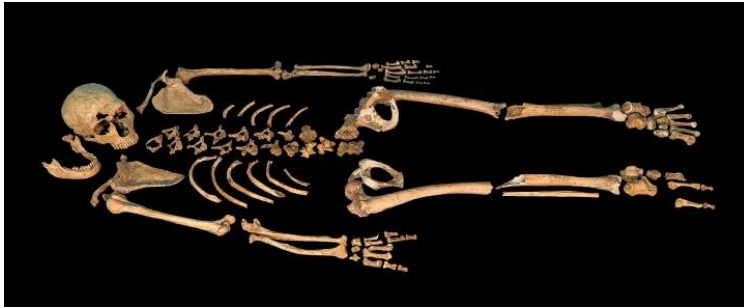
Wniosek:

- **Neanderetalczyki krzyżowali się z przodkami obecnych populacji Euroazjatyckich, ale nie z przodkami Afrykańczyków**
- Oceniany czas: **50-60 tys. lat temu, kiedy pierwsi Hss opuścili Afrykę**

# Denisowianin – pierwszy gatunek homininów zidentyfikowany na podstawie danych genetycznych

2010 – grupa Pääbo opublikowała kolejną sekwencję genomową (pokrycie 1.9 x) z liczącej 40 tys lat. kostki palca przedstawiciela Homo znalezionej w jaskini **Denisova** na Sibirii [Reich ... 2010]

- W przeciwieństwie do neandertalczyków, szczątki denisowian reprezentowane są przez nieliczne drobne kawałki kości i zębów (**morfologiczna identyfikacja niemożliwa**)



- Metoda ZooMS (spektroskopia masowa, analiza kolagenu w szczątkach kostnych) – możliwe przypisanie drobnych fragmentów do określonego rodzaju [Brown ... 2013]
- Dopiero sekwencjonowanie aDNA pozwoliło przypisać szczątki do wymarłego gatunku

# Genom denisowianina

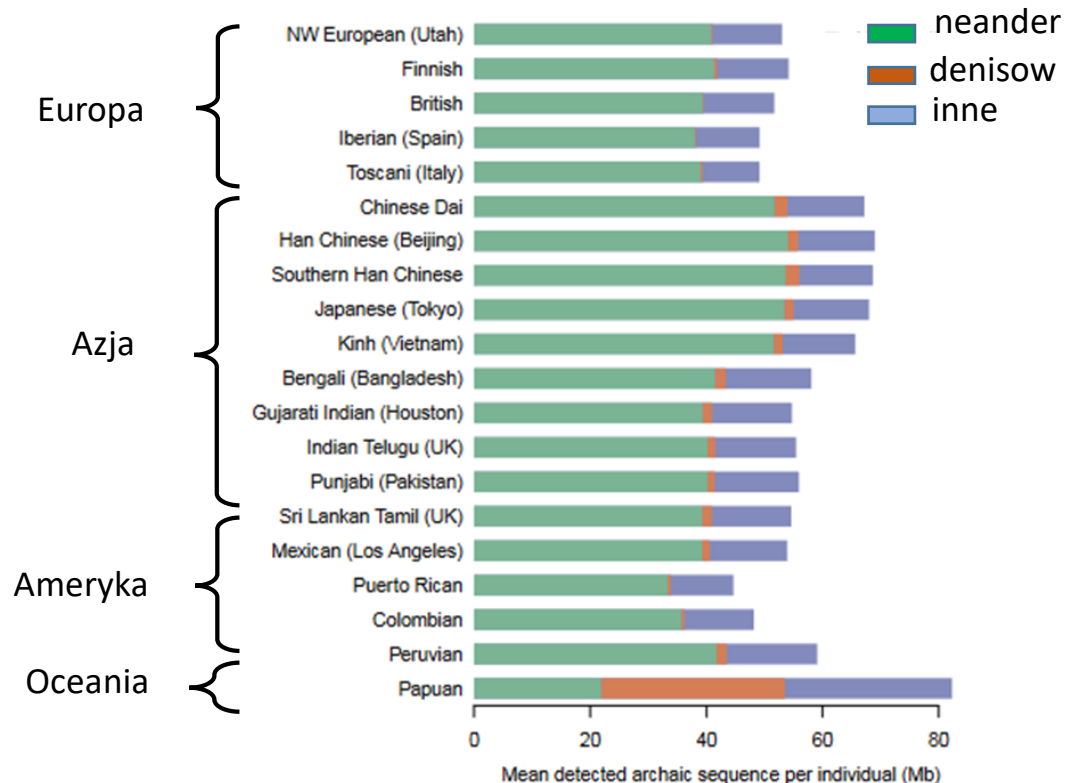
- Analiza sekwencji genomu z kostki znalezionej w jaskini Denisova wykazała, że
  - kość pochodzi ze szkieletu **wymarłego hominina – ale nie neandertalczyka; denisowianin**
  - średnia dywergencja **sekwencji denisowianina i Hss jest podobna do dywergencji Hss-Ndt**
  - denisowianie i neandertalczycy są siostrzanymi grupami (prawdopodobny czas rozdzielenia linii – około 600 tys. lat temu)
- Porównanie ze współczesnymi sekwencjami różnych populacji wykazało, że sekwencje denisowiańskie stanowią
  - **do 6% genomu współczesnych populacji z Nowej Gwinei i 3-5% genomu australijskich aborygenów**
  - są znacznie rzadsze w genomach europejskich
  - **nie ma ich w genomach współczesnych populacji afrykańskich**

Wniosek:

- **Denisowianie krzyżowali się głównie z przodkami współczesnych populacji Melanezji**
- Zasięg występowania Denisowian sięgał prawdopodobnie od Syberii do pd. Azji

# Proporcja domieszek materiału we współczesnych populacjach

- Europejczycy posiadają w swoich genomach głównie sekwencje **neandertalskie**
- Azjaci posiadają w swoich genomach zarówno sekwencje DNA **neandertalskie** jak i **denisowiańskie**
  - Przepływ genów pomiędzy denisowianami a przodkami współczesnych populacji azjatyckich był późniejszy niż pomiędzy neandertalczykami a przodkami wszystkich obecnych populacji euroazjatyckich



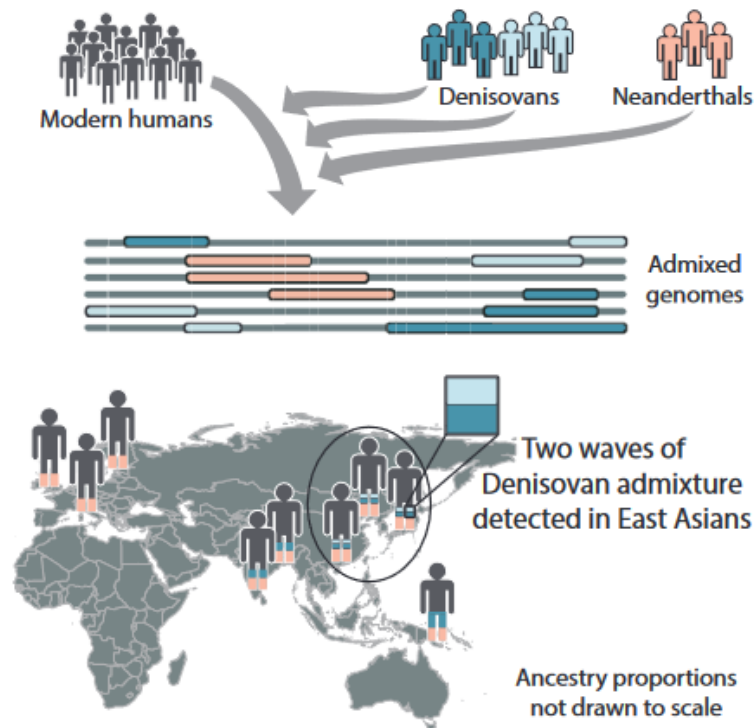
**Figure 5. Mean Amounts of Detected Introgressed Material per Individual, Classified by Affinity to the Altai Neanderthal and Altai Denisovan Genomes**

**Więcej sekwencji aDNA wymarłych homininów i nowe metody  
analizy – dalsze odkrycia i odpowiedzi na nowe pytania**  
(zarówno zespół Paabo jak i niezależne grupy badawcze)

# Dwie fale domieszki denisowian

2018 – nowa metoda analizy sekwencji genomowych (oparta o analizę haplotypów) wykazała, że udział sekwencji wymarłych homininów we współczesnych genomach azjatyckich jest niejednorodny [Browning ... 2018]

- **Populacje ze wsch. Azji** posiadają domieszki sekwencji DNA z **co najmniej dwóch różnych populacji denisowiańskich**
- **Populacje z pd. Azji i Oceanii** posiadają domieszki sekwencje DNA z jednej **populacji denisowiańskiej**

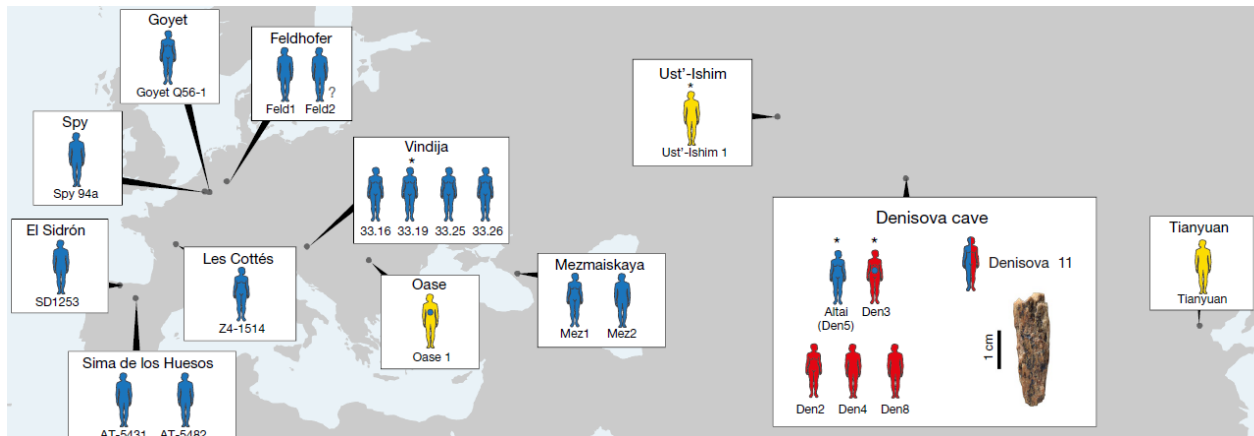


# Przeptyw genów pomiędzy homininami

- Neandertalczycy zamieszkiwali zachodnią a denisowianie wschodnią Eurazję, ale ich zasięgi częściowo się pokrywały
- Oba te gatunki krzyżowały się z anatomicznie współczesnym człowiekiem
- **Czy te archaiczne gatunki krzyżowały się między sobą?**

2018 – sekwencjonowanie kolejnego fragmentu kości z jaskini Denisova [Slon ...2018; Peter 2020]

- Bezpośredni dowód na krzyżowanie – sekwencja pochodziła z potomka **neandertalskiej matki i denisowiańskiego ojca**





# Analiza aDNA – genetyczny wgląd w organizację socjalną grup homininów

2022 - celowane sekwencjonowanie DNA uzyskanego ze szczątków 15 osobników neandertalskich z dwóch miejsc w Altaju (metoda *hybridization capture*, z użyciem długich biotynylowanych sond)

- Obecność długich segmentów homozygotycznych – badane szczątki należały do grup **blisko spokrewnionych osobników**
- Porównanie zmienności sekwencji w chromosomie Y i w mtDNA: **zmienność chr. Y o rząd niższa**

Wnioski:

- Wysoki stopień **wsobnego krzyżowania** (możliwy związek z wyginięciem neandertalczyków)
- Migracja pomiędzy grupami – **przenosiły się głównie kobiety**

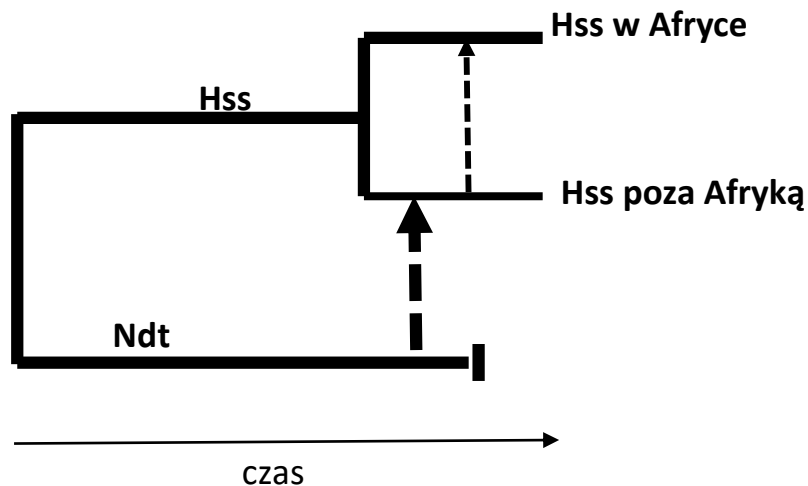
# Neandertalczyk i populacje afrykańskie

Wczesne analizy wskazywały na brak domieszek neandertalskich w obecnych populacjach afrykańskich

- Sekwencje wymarłych form homininów z terenu Afryki niedostępne (brak zachowanego DNA)
- Afrykańskie sekwencje używano jako panel referencyjny nie zawierający archaicznych domieszek; efekt – maskowanie archaicznych sekwencji w innych badanych genomach afrykańskich

Nowa metoda IBDmix (bez użycia referencyjnego panelu, oparta na identyczności filogenetycznej) wykazała **obecność neandertalskich sekwencji również we współczesnych genomach afrykańskich** [Chen ... 2020]

- Taki obraz sugeruje **powrotne migracje do Afryki** współczesnych europejskich populacji Hss (po ich skrzyżowaniu z Ndt)



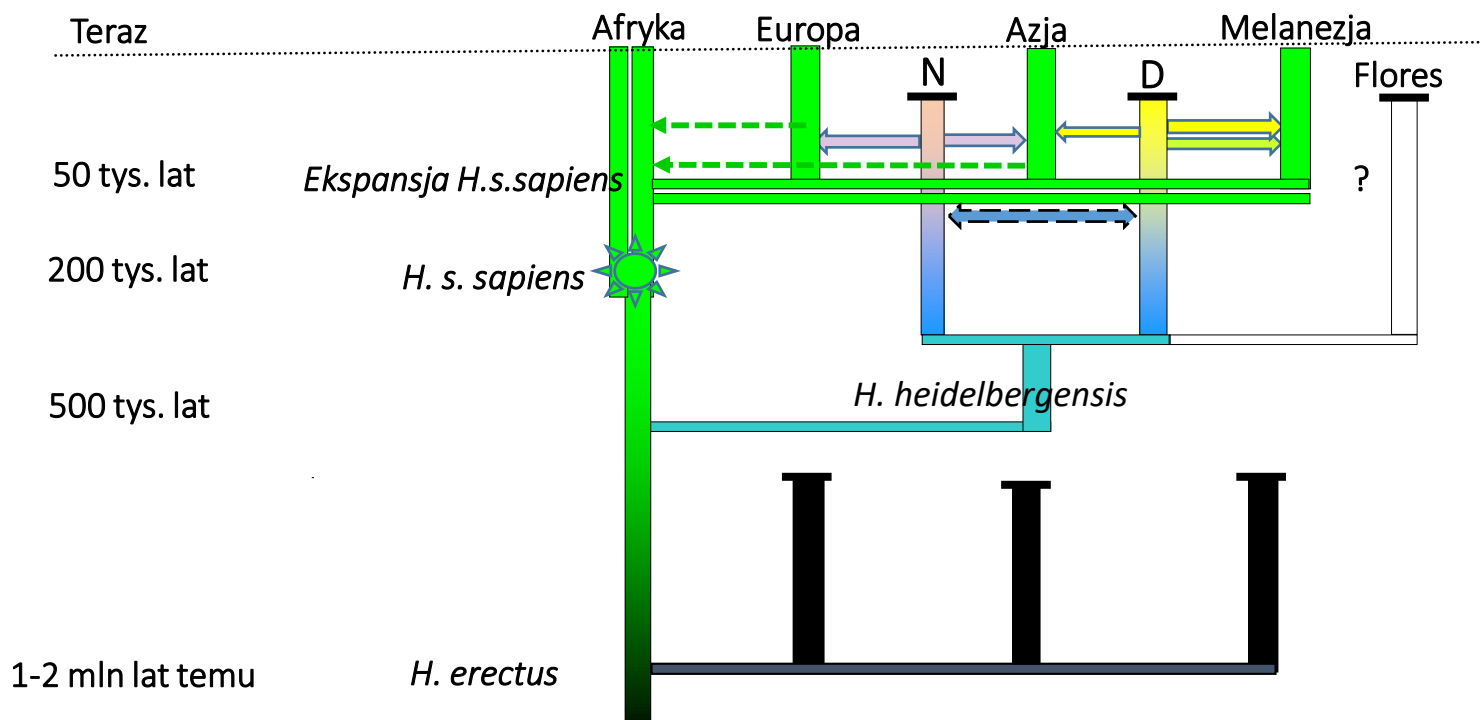
## Podsumowanie danych z porównania sekwencji genomu wymarłych homininów i sekwencji współczesnych populacji ludzkich

- Neandertalczycy krzyżowali się z *Homo s. sapiens* po opuszczeniu przez nich Afryki, w okresie pomiędzy 40 a 30 tys. lat temu, na terenie środkowego Wschodu
- W rezultacie, większość współczesnych populacji nieafrykańskich posiada w genomie 1.5 do 2% sekwencji neandertalskich
- W trakcie kolonizacji Azji współczesny człowiek spotkał denisowian – tu również doszło do przepływu genów (co najmniej dwukrotnie)
- Denisowańskie sekwencje stanowią znaczącą część genomu współczesnych populacji Azji, zwłaszcza Nowej Gwinei (do 6%) i Australii (3-5%)
- Denisowianie i neandertalczycy krzyżowali się zarówno z Hss jak i pomiędzy sobą
- Obecność neandertalskich sekwencji w genomach populacji afrykańskich wynika z powrotnych fali migracji Hss do Afryki (już po introgresji sekwencji neandertalskich)
- Neandertalczycy i denisowianie żyli w niewielkich grupach – podatność na wsojne krzyżowanie

# Udoskonalony model ewolucji *Homo s. sapiens*

- Co najmniej 90% współczesnego genomu odziedziczone od wczesnych Hss, którzy wyewoluowali w Afryce i w kilku falach skolonizowali inne kontynenty uprzednio zamieszkałe przez neandertalczyka i denisowianina
- Rozprzestrzeniający się *Hss* zastąpił wcześniejsze formy homininów, ale w trakcie dziesiątek tys. lat ich współwystępowania doszło do krzyżowania i przepływu genów; **model niepełnego zastąpienia („leaky replacement”)**
- Model uwzględnia powrotne fale migracji do Afryki; niezależną ewolucja populacji afrykańskich; inny gatunek hominina z wyspy Flores

Niedawny wspólny początek z falami introgresji



**Efekty krzyżowania *Hss* z archaicznymi homininami**

# Rola sekwencji odziedziczonych od wymarłych homininów w ewolucji wczesnych populacji Hss

Ocenia się, że kumulatywnie we współczesnych sekwencjach **przetrwało 20-40% neandert. genomu** [Pollen ...2023]

Jednak proporcja **archaicznych sekwencji we współczesnych genomach jest niska** (neandertalskie 1-2%, denisowiańskie 3-6%) i zależy od populacji

- Duża część wprowadzonych w wyniku krzyżowania sekwencji archaicznych homininów, zapewne szkodliwa dla Hss, była eliminowana w toku oczyszczającej selekcji; co ciekawe, w regionach genomu opornych na introgresję sekwencji archaicznych zlokalizowane są niektóre warianty specyficzne dla Hss [Pollen .. 2023]

Część neandertalskich i denisowiańskich sekwencji uległa **pozytywnej selekcji (adaptive introgression)** [Koller ... 2022]

- Niektóre z nich to warianty genów mających bezpośredni **związek z cechami fenotypowymi**
  - Warianty Ndt i Den znajdowane z dużą częstością w ponad 120 miejscach współczesnego genomu związane często z układem odpornościowym i pigmentacją [Gittleman ... 2016]
  - Około 1/4 sekwencji, które ulegały pozytywnej selekcji ma związek z regulacją ekspresji genów

# Związek sekwencji odziedziczonych od wymarłych homininów z fenotypem współczesnych ludzi

- Po wyjściu Hss z Afryki (50 tys. lat temu), domieszka sekwencji wymarłych homininów pomagała wczesnym populacjom ludzkim w **adaptacji do nowych warunków środowiska** (klimat, ekspozycja na UV, patogeny)
- Z drugiej strony, niektóre wprowadzone do ludzkiego genomu warianty archaicznych homininów odpowiadały za cechy, które były **korzystne dla wczesnych ludzi** (w czasie ich ekspansji), ale stały się **szkodliwe we współczesnym środowisku**

Cechy fenotypowe związane z archaicznymi sekwencjami:

- **system immunologiczny**: niektóre allele układu HLA odpowiadają za oporność organizmu na niektóre infekcje i wirusy, ale z drugiej strony powodują podatność na choroby autoimmunizacyjne (np. neandertalski wariant HLA-B51 i choroba Behceta – zapalenie naczyń krwionośnych)
- fenotypy związane z **krążeniem** (koagulacja krwi – korzystna przy zranieniach, niekorzystne skrzepy w krwiobiegu)
- **pigmentacja skóry** (np. geny *OCA2* i *BNC2*) - jasna korzystna dla wit D przy niskim nasłonecznieniu, grubość skóry, struktura włosów; podatność na uszkodzenia skóry związane z ekspozycją na UV
- **cechy neurologiczne, psychiatryczne** (depresja, podatność na nałóg nikotynowy)
- **rytmy dobowe** (typ „sowy”)
- **morfologia kości, zębów, kształt czaszki**
- **metabolizm lipidów i węglowodanów** (np. zmniejszona ekspresja genu transportera tiaminy a dieta uboga w witaminę B1)

## Częstość funkcjonalnych archaicznych sekwencji nie jest jednorodna i różni się w obecnych populacjach ludzkich - przykłady

- **Denisowiański haplotyp** w genie *EPAS1* (adaptacja do dużych wysokości) obecny u większości Tybetańczyków [Zhang ...2020]
- **Archaiczne sekwencje** zawierające gen *OCA2* (związany z kolorem oczu, skóry, włosów) obecne w 62% genomów populacji ze wsch. Azji, a w mniejszym stopniu (20-35%) również w pd. Azji, Europy i Melanezji; słońce; wit D; jasna karnacja;
- **Neandertalski haplotyp w chr12** związany z **obniżonym ryzykiem ciężkiego przebiegu choroby** po zarażeniu SARS-CoV-2 (częsty w populacjach Eurazji i Ameryk; 50% nosicieli); haplotyp neandertalski chroni też przed innymi RNA-wirusami (West Nile, hepatitis, SARS-CoV) [Zeberg ... 2020, 2021]
- **Neandertalski haplotyp w chr3** związany z **podwyższonym ryzykiem ciężkiego przebiegu choroby** po zarażeniu SARS-CoV-2 (częstość nosicieli: ~65% w pd. Azji, ~16% w Europie, brak w Afryce)



# Dlaczego neandertalczycy wymarli?

Brak szczątków neandertalczyka młodszych niż 30 tys. lat wskazuje, że gatunek ten uległ wymarciu w okresie, który odpowiada zasiedleniu Europy przez współczesnego człowieka. Pytanie – dlaczego?

Zmniejszająca się liczebność Ndt (jeszcze przed przybyciem Hss) sprzyjała **długoterminowemu kojarzeniu wsobnemu**, co mogło sprzyjać ujawnianiu się niekorzystnych mutacji, chorobom i wyższej śmiertelności

- W dostępnych sekwencjach neandertalskich i denisowiańskich wykryto homozygotyczne mutacje powodujące  $\beta$ -talasemię (*HBB*), fenyloketonurię (*PAH*), chorobę Canavan (*ASPA*), zespół Brunnera; autyzm/zaburzenia funkcji mózgu/autyzm (*MAOA*) [Toncheva...2023]

Przyczyną zastąpienia Ndt przez współczesnego człowieka była prawdopodobnie **lepsza zdolność adaptacji** do warunków środowiska

Możliwe, że przyczyną przewagi Hss były **genetyczne różnice w funkcjonowaniu mózgu (nie jego wielkość)**, np. związane z liczbą neuronów (białko TKTL1 odpowiedzialne za rozwój neuronów w okresie rozwoju płodowego różni się u Ndt i Hss)

- Do mysich embrionów wprowadzono wersje ludzką i neandertalską białka; myszy z ludzką wersją posiadają w mózgu więcej komórek prekursorowych i więcej neuronów

Czy neandertalczyk posiadał zdolność mowy?

- Teoretycznie tak (budowa szkieletu, wspólny z Hss a inny niż u szympansa wariant genu *FOXP2*)
- Ale w *FOXP2* są inne zmiany powstałe po oddzieleniu się Hss od linii archaicznych homininów – wpływ na regulację ekspresji

# Dalsze perspektywy badawcze związane z odkryciami Paabo

Logiczną kontynuacją poznania sekwencji genomów wymarłych homininów jest próba zrozumienia funkcjonalnych konsekwencji różnic pomiędzy ich genomami a genomem współczesnego człowieka

Dwa kierunki badań:

- Analiza **wariantów pochodzących od wymarłych homininów, które w obecnych populacjach ludzi są bardzo rzadkie**
  - Podejście – poszukiwaniu asocjacji archaicznych sekwencji z chorobami poprzez analizę dużych biobanków posiadających zarówno dane kliniczne jak i genomowe dla tysięcy osób
- Analiza **wpływu genetycznych wariantów, które są nieobecne w genomach Nnd/Den i utrwalone (obecne u wszystkich) w genomie współczesnego człowieka**
  - Podejście – edycja genomu w ludzkich komórkach macierzystych lub modelach zwierzęcych (wstawienie sekwencji wymarłych gatunków) i obserwacja wpływu archaicznych wariantów genów na metabolizm, rozwój i funkcję komórek, tkanek itp.

Nagroda Nobla 2022 nie była zaskoczeniem – przez ponad 20 lat Pääbo otrzymywał liczne prestiżowe nagrody za swoje osiągnięcia

- 1992: Gottfried Wilhelm Leibniz Prize, najwyższa **nagroda naukowa w Niemczech**
- 2000: wybór na członka the Royal Swedish Academy of Sciences
- 2005: Louis-Jeantet Prize for Medicine dla wybitnych naukowców **w dziedzinie biomedycyny**
- 2007: nominacja *Time* magazine's lista **100 najbardziej wpływowych osób roku**
- 2008: Order Pour le Mérite for Sciences and Arts
- 2008: Golden Plate Award - American Academy of Achievement
- 2009: Kistler Prize - Foundation For the Future **za pracę nad izolacją i sekwencjonowaniem starożytnego DNA**
- 2010: Theodor Bücher Medal (FEBS) za wybitne osiągnięcia w dziedzinie **Biochemii i Biologii Molekularnej**
- 2013: Gruber Prize in Genetics za **przełomowe badania w dziedzinie genetyki ewolucyjnej**
- 2015: honoris causa - NUI Galway
- 2016: zagraniczny członek the Royal Society za **znaczący wkład w udoskonalenie wiedzy**
- 2017: Dan David Prize **za wybitny wkład w dziedzinach badań rzucających światło na historię człowieka**
- 2018: Princess of Asturias Awards **za znaczące osiągnięcia w badaniach naukowych**
- 2020 : Japan Prize za **i wybitne osiągnięcia w nauce i technologii przesuwające granice wiedzy i służące pokojowi i dobrobytowi ludzkości**
- 2021: Massry Prize **za istotny wkład do badań biomedycznych**

Znaczenie badań prof. Pääbo jest nie do przecenienia, zarówno dla nauk o ewolucji jak i nauk medycznych i stanowią podłoże dla rozwiązywania dalszych problemów badawczych

Przyznanie nagrody jednemu laureatowi – wyraz uznania dla zaangażowania i entuzjazmu badawczego prof. Pääbo

Trzeba jednak podkreślić, że osiągnięcia Pääbo są rezultatem pracy kierowanego przez niego zespołu i efektem współpracy z licznymi zespołami ekspertów

- Dziękuję za uwagę