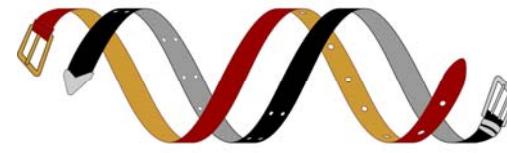




Учебно-Научный Центр



Биоинформатика



Все мы немножко неандертальцы

Михаил Гельфанд

ИППИ РАН и ФББ МГУ

Животное внутри нас

Зоологический музей МГУ, 1 IV 2015



Владимир Ив. Якунин –
президент ОАО РЖД,
зав. каф. гос. политики
факультета
политологии МГУ.
СПбГУ, 17 марта 2015 г.

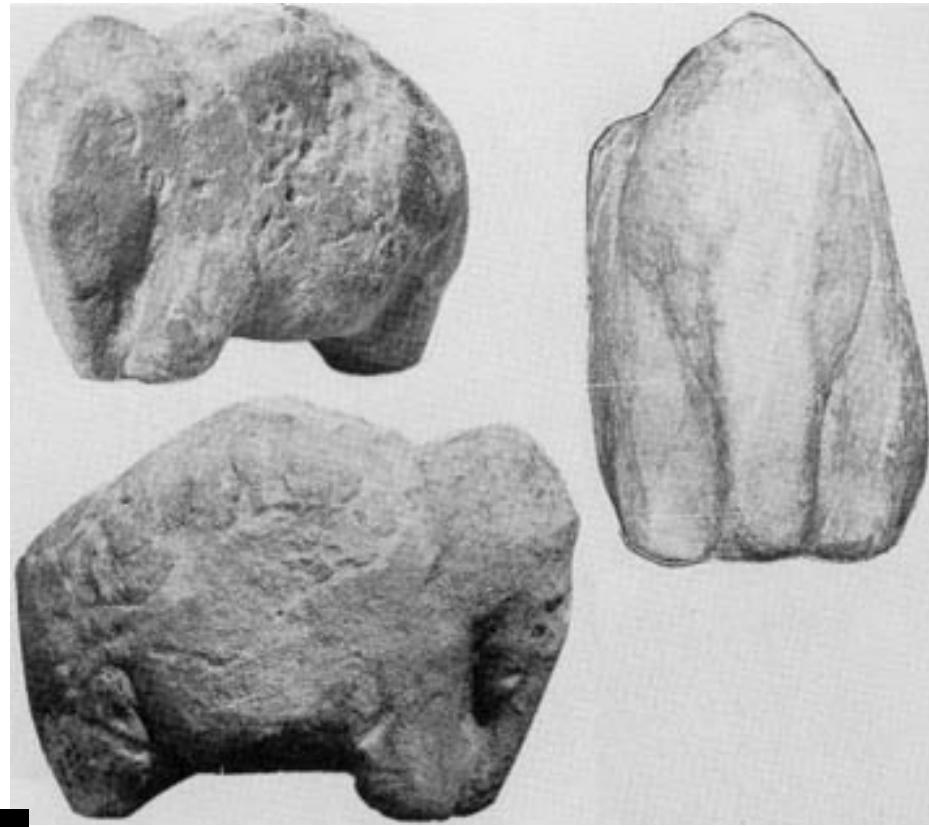
Я совершенно случайно включил канал "Культура", где с ужасом узнал, что неандертальцы, которых я считал своими прямыми родственниками, таковыми не являются. Оказывается, неандертальцы жили параллельно с людьми! ... Вопрос мироустройства для меня серьезным образом поколебался.



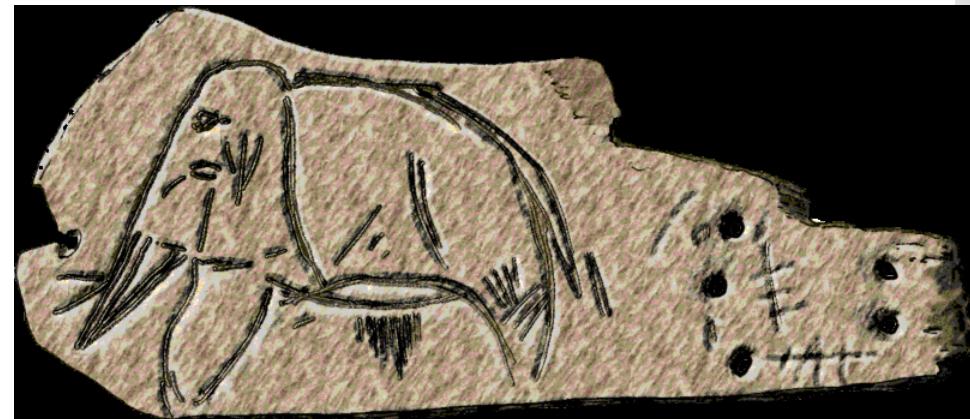
Сначала мамонты



Пещера Руффиньяк (Франция)



Новое Авдеево (Курская обл.)



Малъта (Иркутская обл.)

Мамонтенок Люба

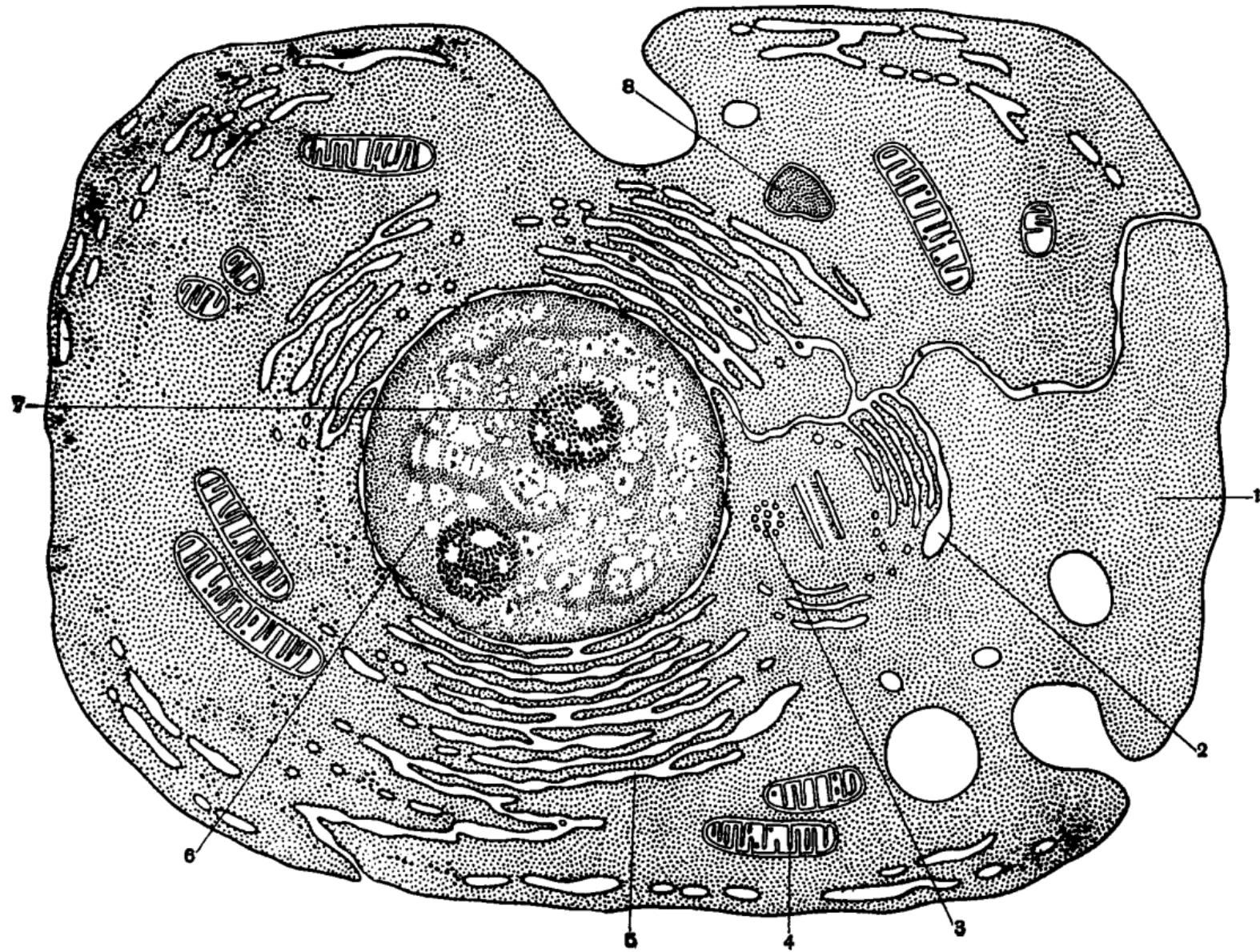


Молочный мамонтенок, утонула в глинистой массе на берегу реки ~40 тысяч лет назад

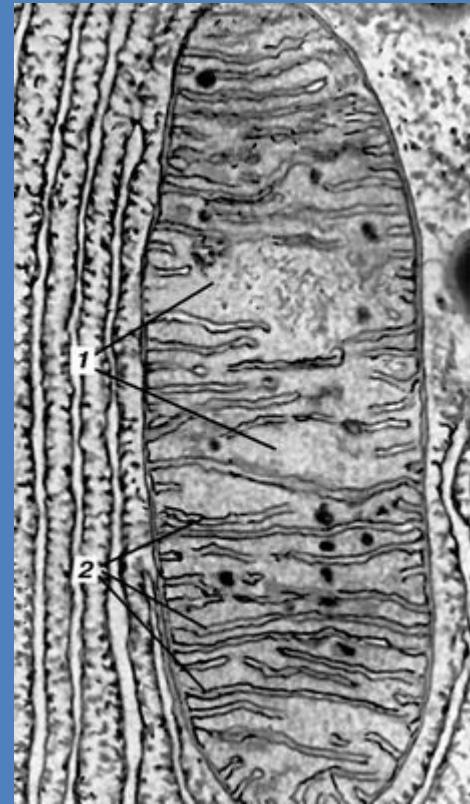
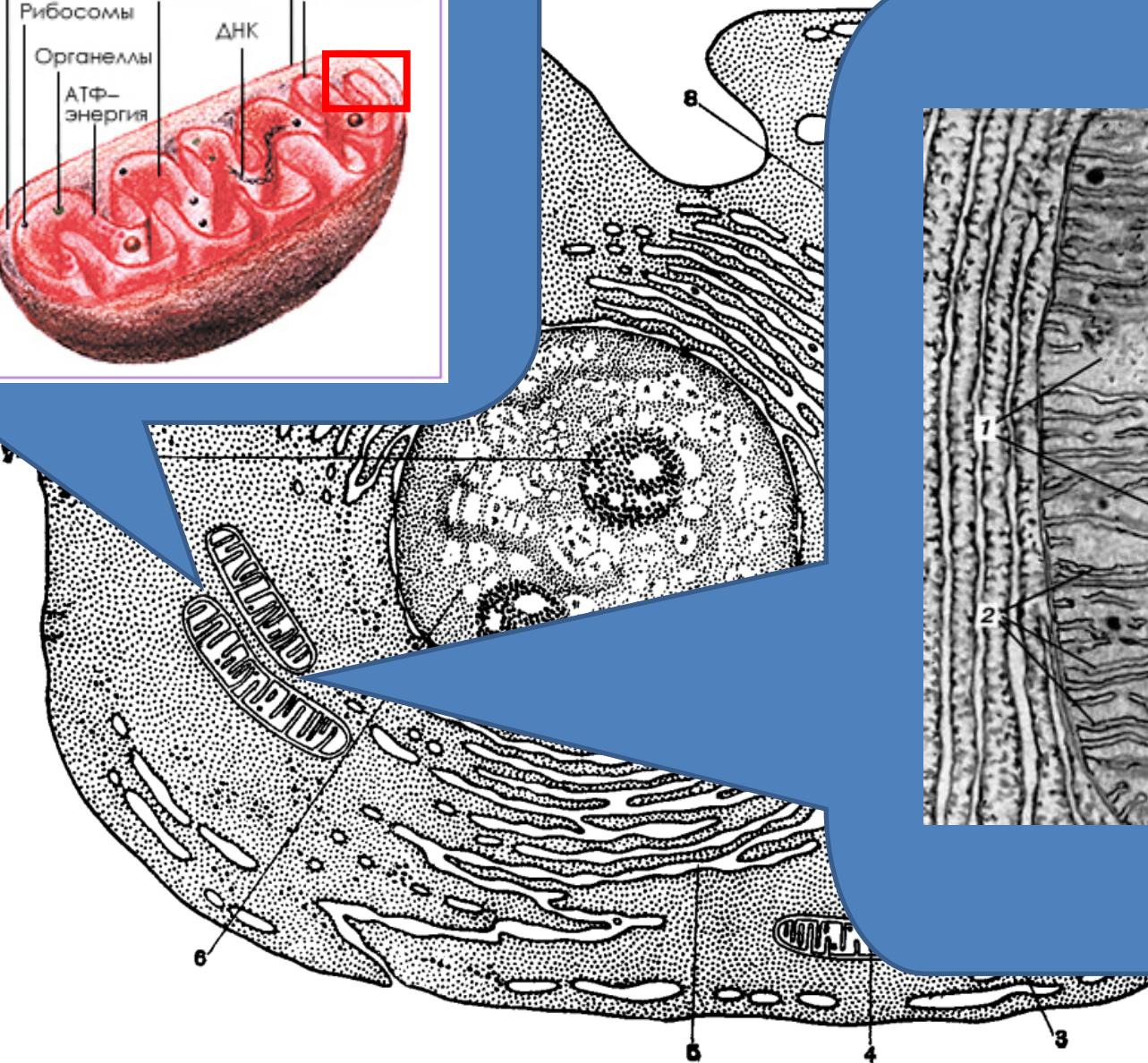
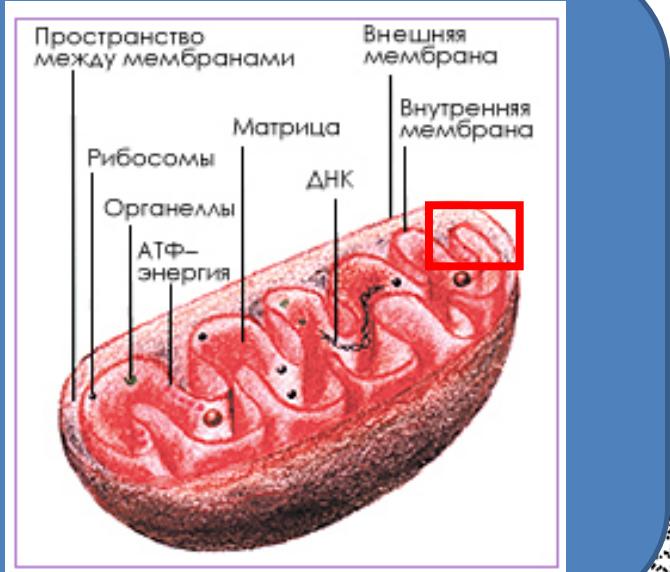
Коллеги и бизон



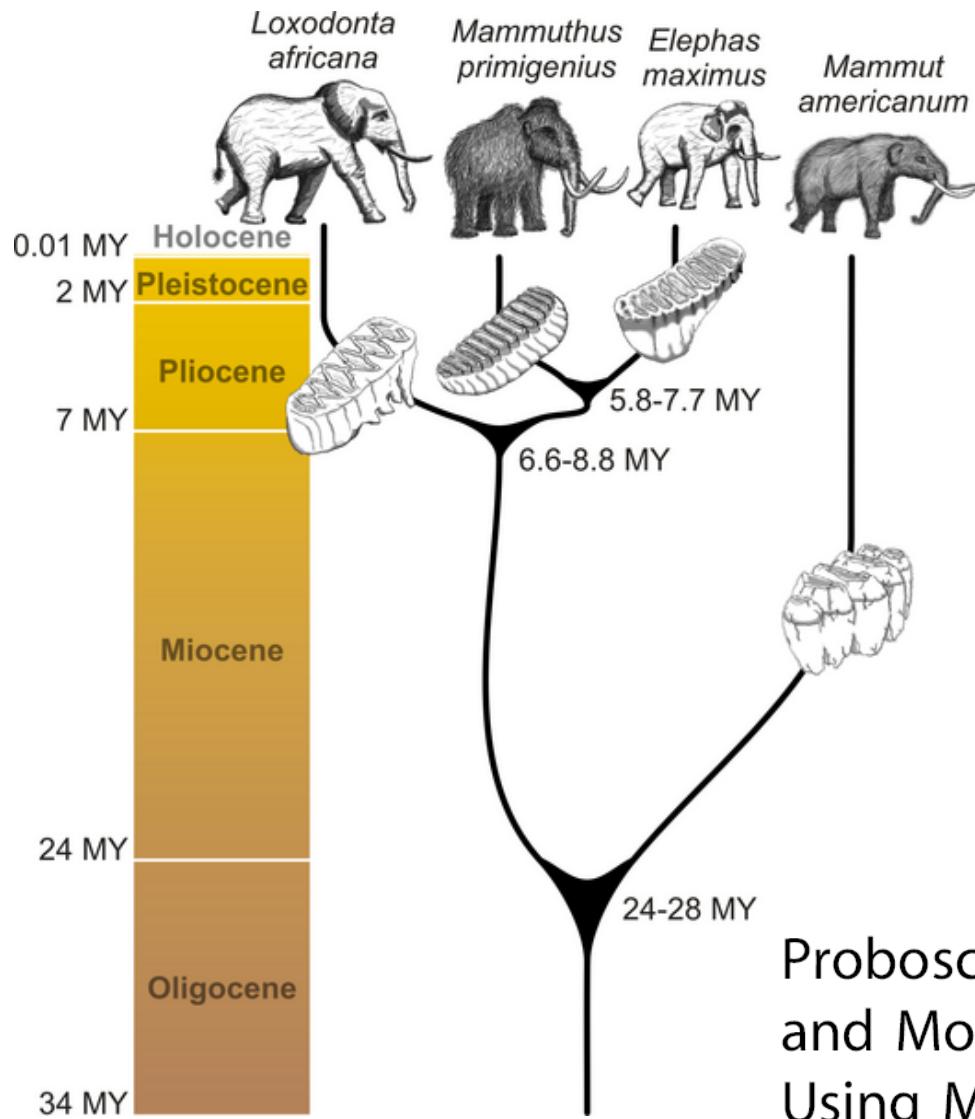
Митохондрии



Митохондрии

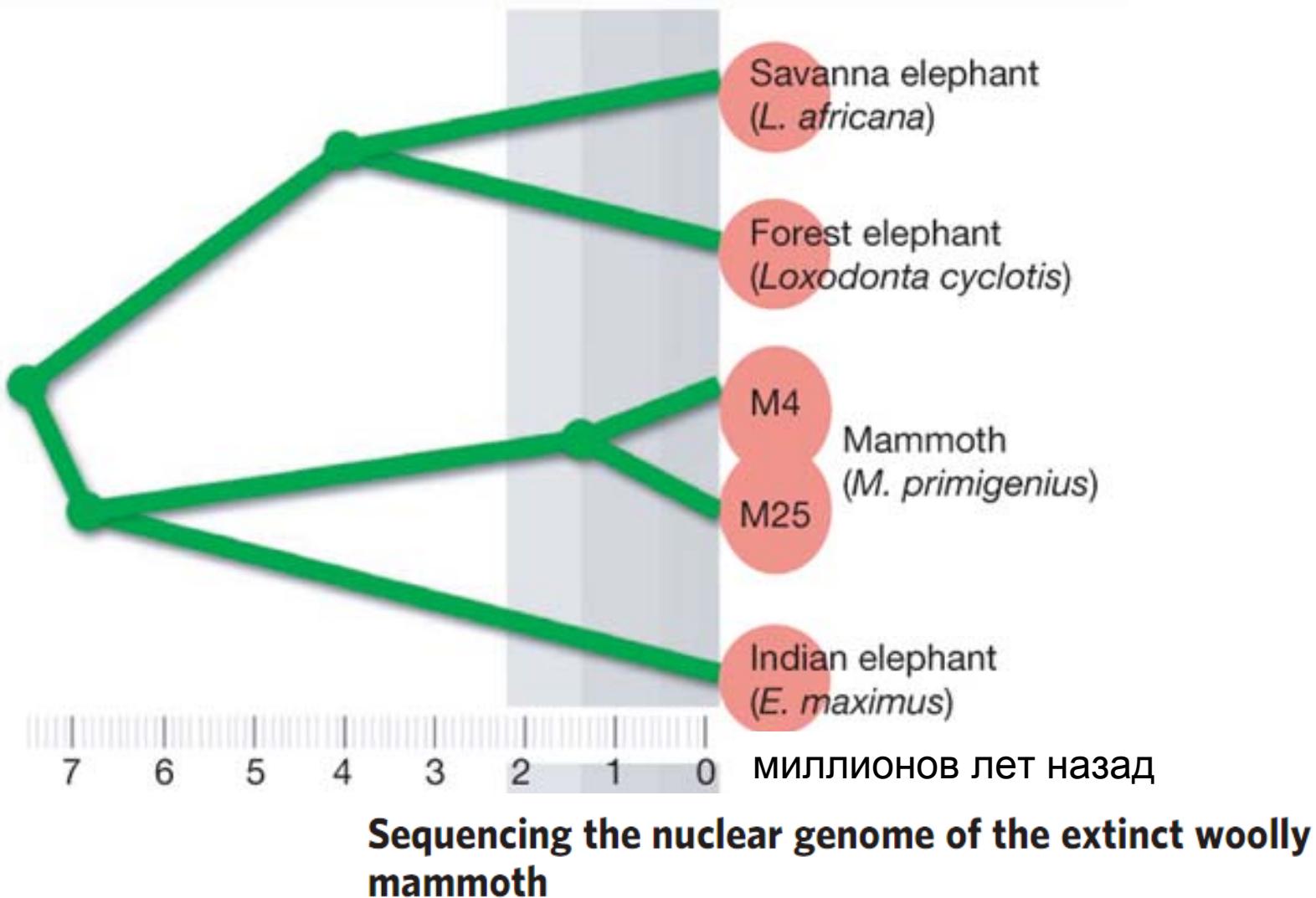


Слоны, мамонт и мастодонт

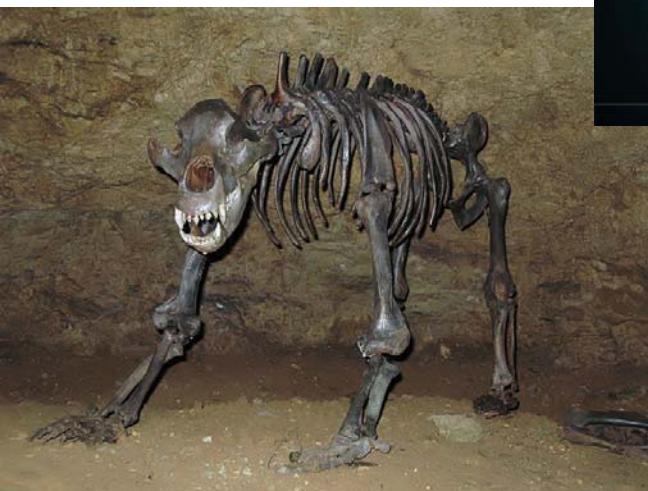


Proboscidean Mitogenomics: Chronology
and Mode of Elephant Evolution
Using Mastodon as Outgroup

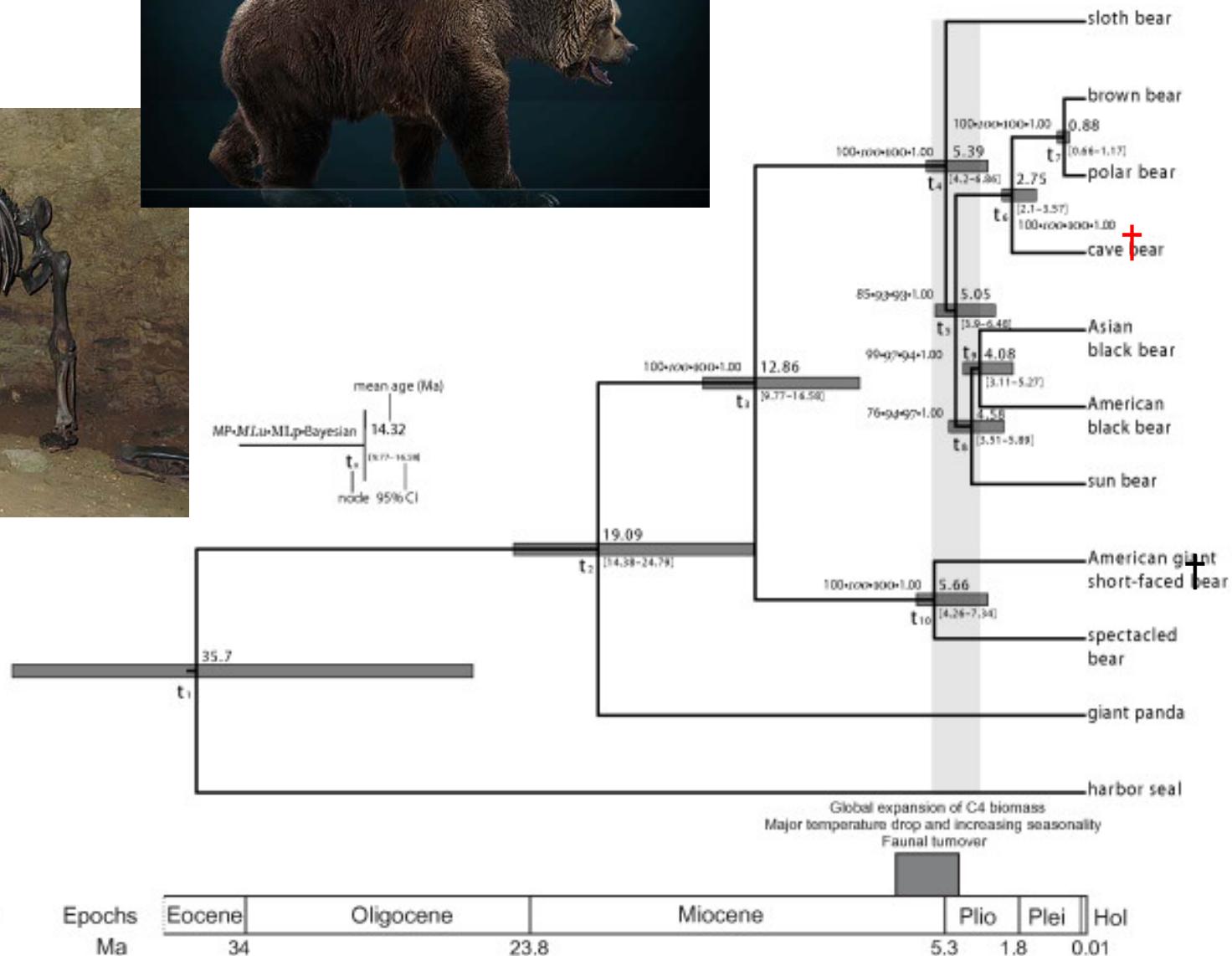
Мамонты и слоны



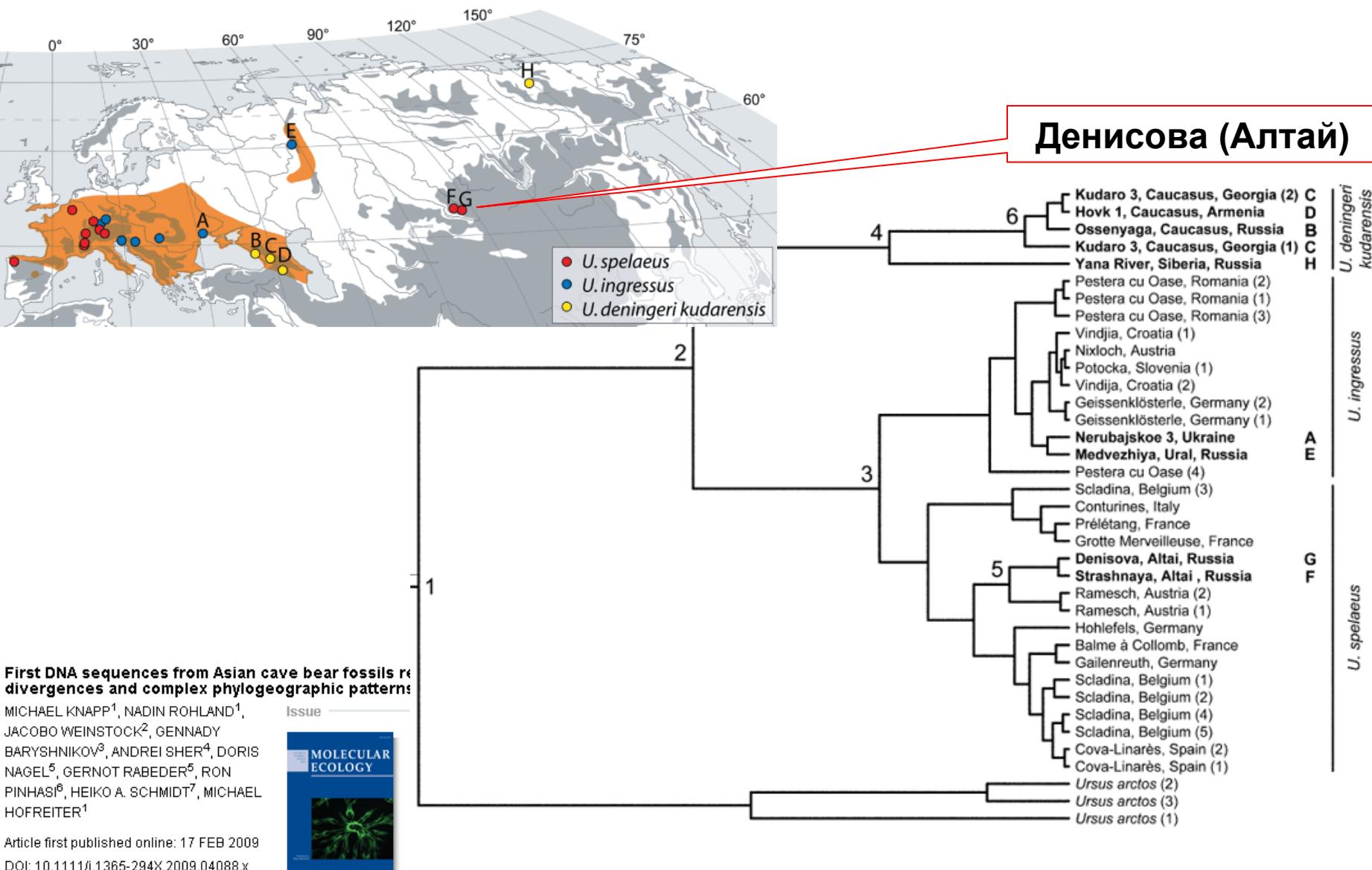
Webb Miller¹, Daniela I. Drautz¹, Aakrosh Ratan¹, Barbara Pusey¹, Ji Qi¹, Arthur M. Lesk¹, Lynn P. Tomsho¹, Michael D. Packard¹, Fangqing Zhao¹, Andrei Sher^{2,†}, Alexei Tikhonov³, Brian Raney⁴, Nick Patterson⁵, Kerstin Lindblad-Toh⁵, Eric S. Lander⁵, James R. Knight⁶, Gerard P. Irzyk⁶, Karin M. Fredrikson⁷, Timothy T. Harkins⁷, Sharon Sheridan⁷, Tom Pringle⁸ & Stephan C. Schuster¹



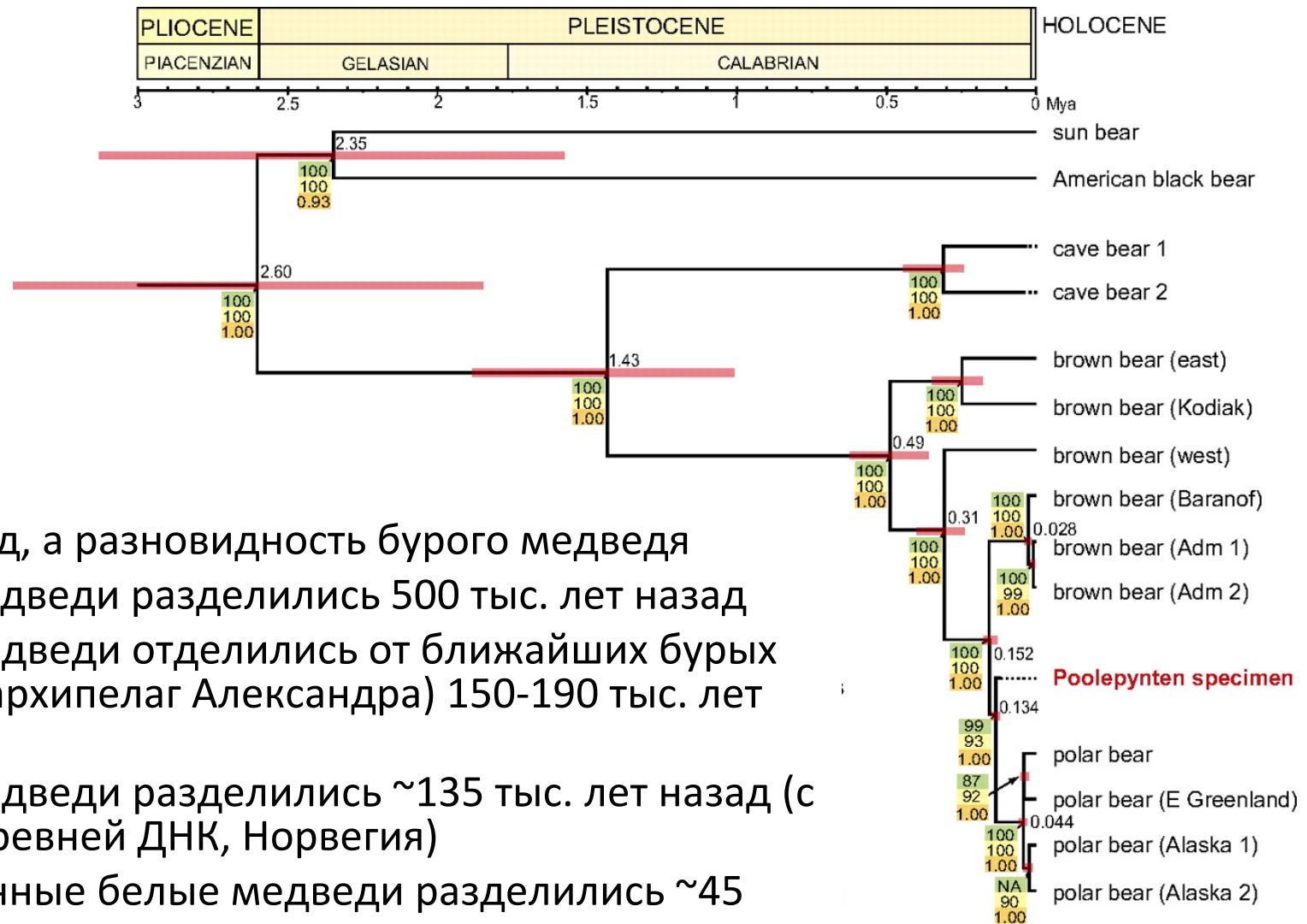
Ursus spelaeus



Три (пещерных) медведя



Белый медведь – митохондриальная история



- Это не вид, а разновидность бурого медведя
- Бурые медведи разделились 500 тыс. лет назад
- Белые медведи отделились от ближайших бурых (Аляска, архипелаг Александра) 150-190 тыс. лет назад
- Белые медведи разделились ~135 тыс. лет назад (с учетом древней ДНК, Норвегия)
- Современные белые медведи разделились ~45 тыс. лет назад

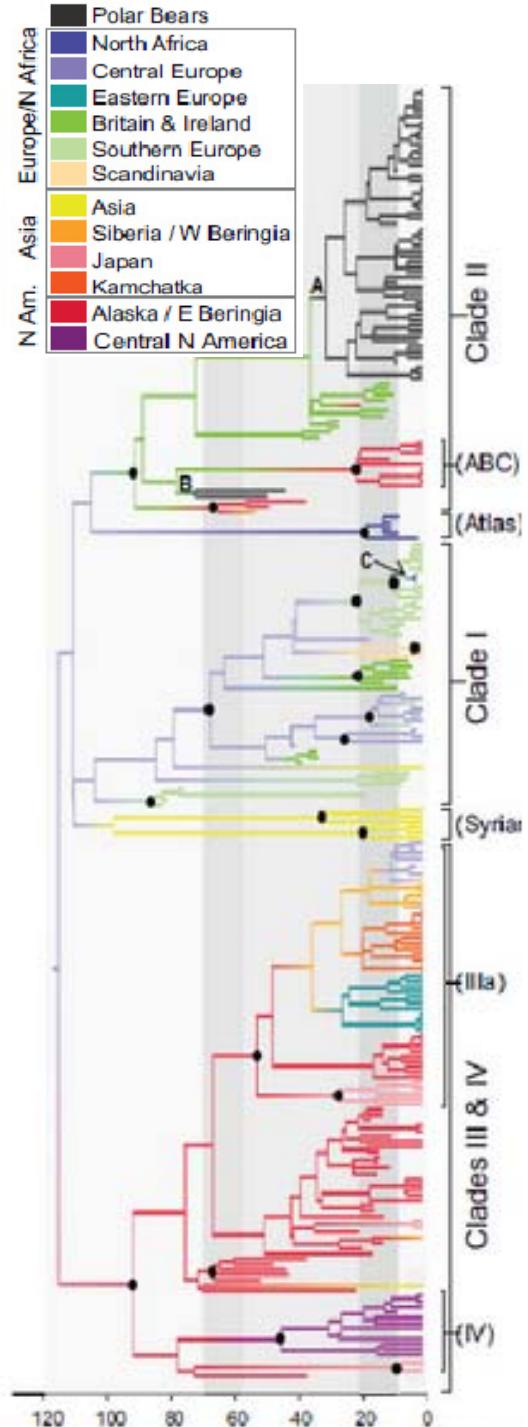
На самом деле: интрогрессия митохондриальной ДНК бурого медведя

- Древняя митохондриальная ДНК белого медведя (Шпицберген, 130-110 тыс. лет; Северная Норвегия, 115 тыс. лет) не похожа на современную.
- Современные – потомки ирландской матери.



Edwards et al.
7 July 2011

Current
Biology



Неандертальцы

МИТОХОНДРИИ – с 1997 года

Cell. 1997 Jul 11;90(1):19-30.

Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans.

Krings M, Stone A, Schmitz RW, Krainitzki H, Stoneking M, Pääbo S.

Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA

Richard E. Green¹, Johannes Krause¹, Susan E. Ptak¹, Adrian W. Briggs¹, Michael T. Ronan², Jan F. Simons², Lei Du², Michael Egholm², Jonathan M. Rothberg², Maja Paunovic^{3,†} & Svante Pääbo¹

Vol 444 | 16 November 2006 | doi:10.1038/nature05336

Received 14 July; accepted 11 October 2006.

Sequencing and Analysis of Neanderthal Genomic DNA

James P. Noonan,^{1,2} Graham Coop,³ Sridhar Kudaravalli,³ Doug Smith,¹ Johannes Krause,⁴ Joe Alessi,¹ Feng Chen,¹ Darren Platt,¹ Svante Pääbo,⁴ Jonathan K. Pritchard,³ Edward M. Rubin^{1,2*}

65 тысяч п.о.,
но аккуратнее

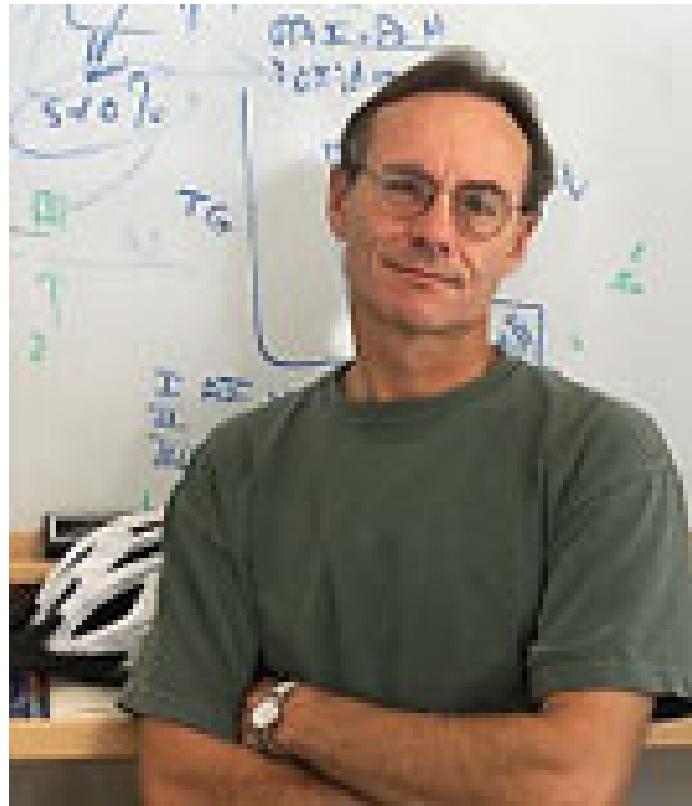
SCIENCE VOL 314 17 NOVEMBER 2006

16 June 2006; accepted 17 August 2006

Svante Pääbo

Department Evolutionary Genetics,
Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology



A portrait photograph of Eddy Rubin, a middle-aged man with dark hair and glasses, wearing a green t-shirt. He is standing in front of a whiteboard with various scientific sketches and text, including "max. B.L.", "S=0%", "Tc", "T", "L", and "R".

Eddy Rubin

Joint Genome Institute, DOE



Проблемы

- **Rubin:** Lack of evidence for admixture between humans and Neanderthals... the maximum likelihood estimate for the **Neanderthal contribution to modern genetic diversity is zero**. However, the 95% CI for this estimate ranges from 0 to 20%, so a definitive answer to the admixture question **will require additional Neanderthal sequence data**.
- **Pääbo:** High level of derived alleles in the Neanderthal is incompatible with the simple population split model estimated in the previous section, given split times inferred from the fossil record. This may suggest gene flow between modern humans and Neanderthals. Given that the Neanderthal X chromosome shows a higher level of divergence than the autosomes (R.E.G., unpublished observation), **gene flow may have occurred predominantly from modern human males into Neanderthals**. **More extensive sequencing of the Neanderthal genome is necessary** to address this possibility.

Inconsistencies in Neanderthal Genomic DNA Sequences

PLOS GENETICS

October 2007 | Volume 3 | Issue 10 | e175

Jeffrey D. Wall*, Sung K. Kim

Received July 2, 2007; Accepted August 28, 2007; Published October 12, 2007

Our reanalyses of the data from these studies show that they are not consistent with each other and point to **serious problems with the data quality in one of the studies**, possibly due to modern human DNA contaminants and/or a high rate of sequencing errors.



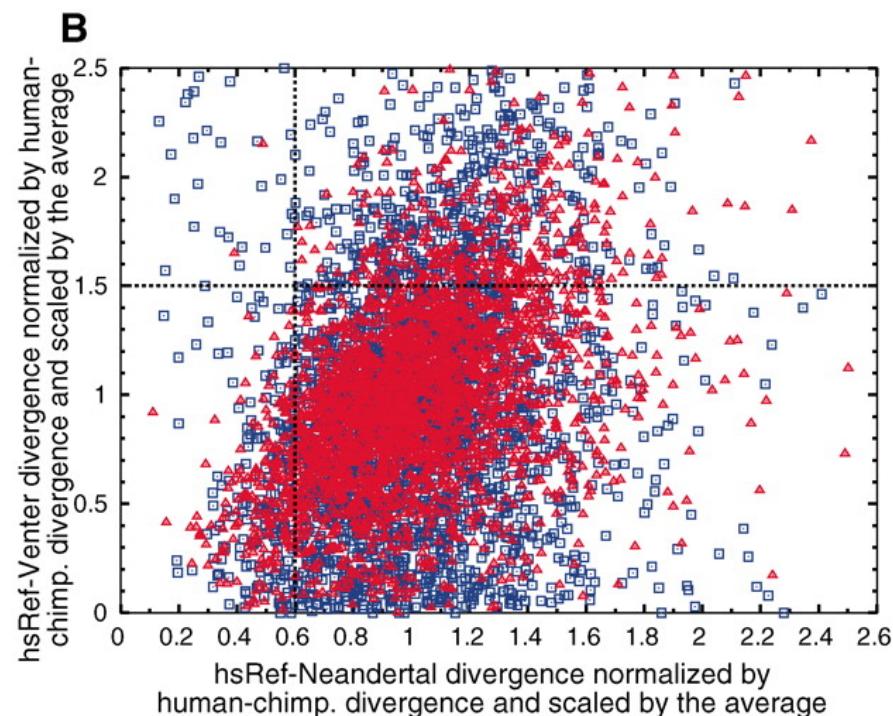
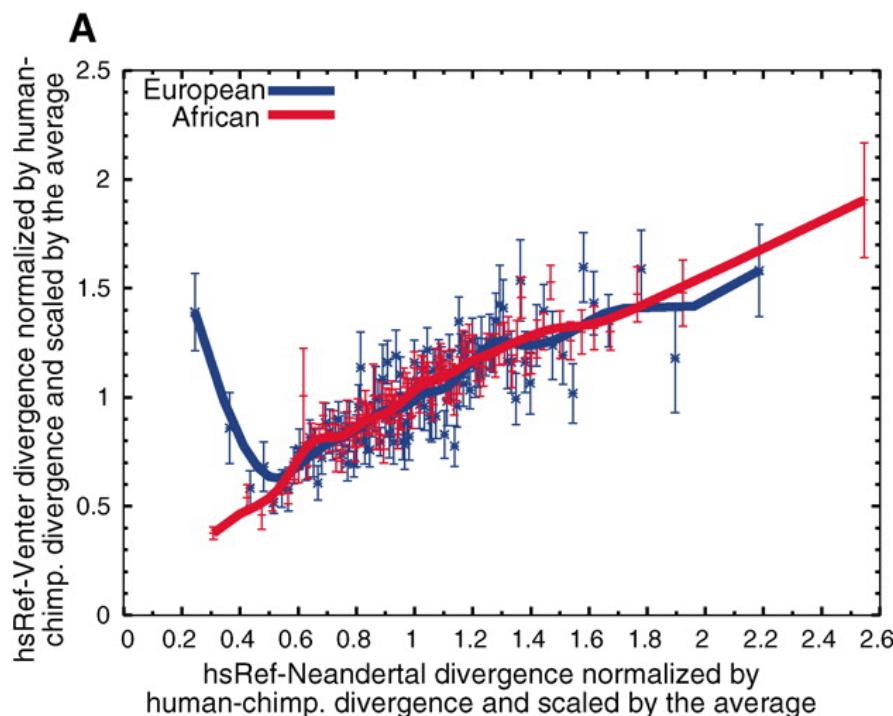
Неандерталец – 2010

Samples and sites from which DNA was retrieved

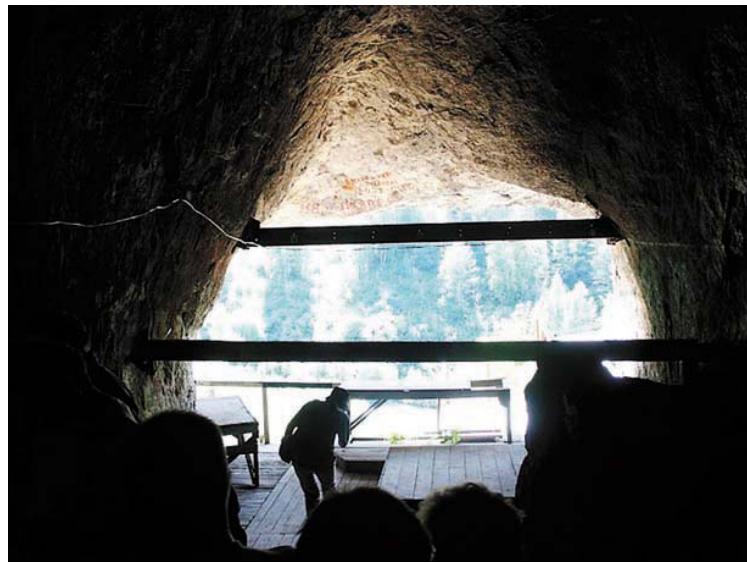
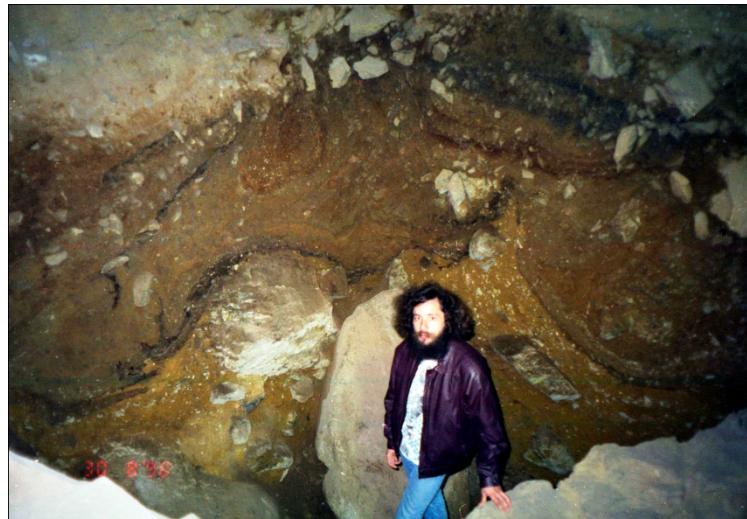


Неандерталец – 2010

Segments of Neandertal ancestry in the human reference genome

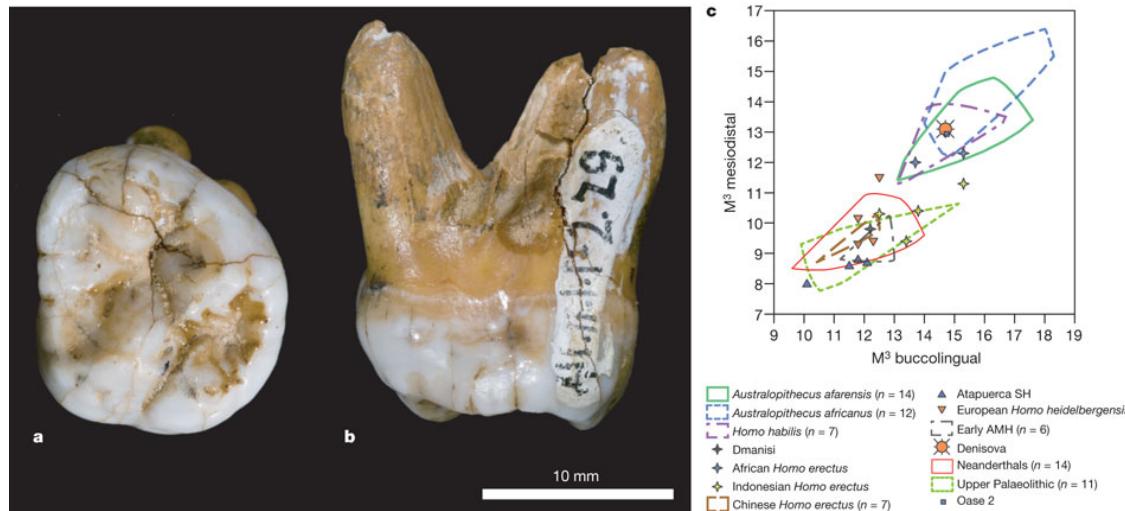


Денисова пещера (1998, 2004)

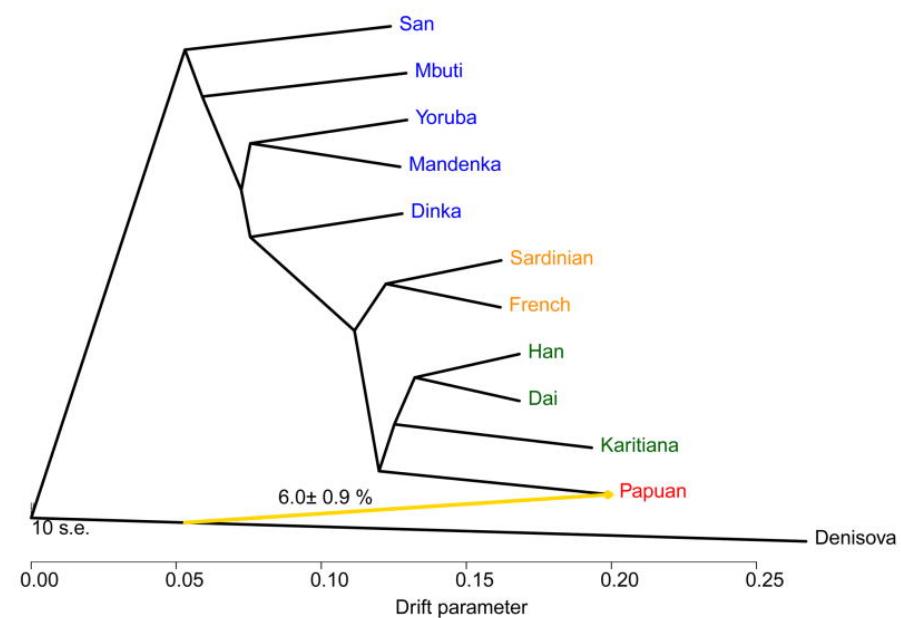
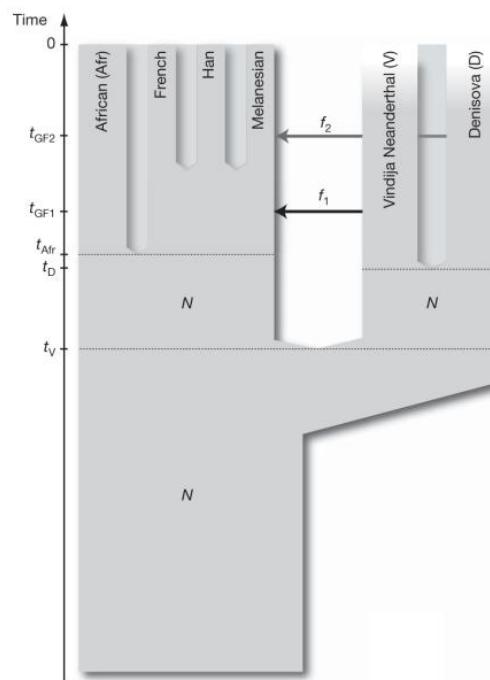
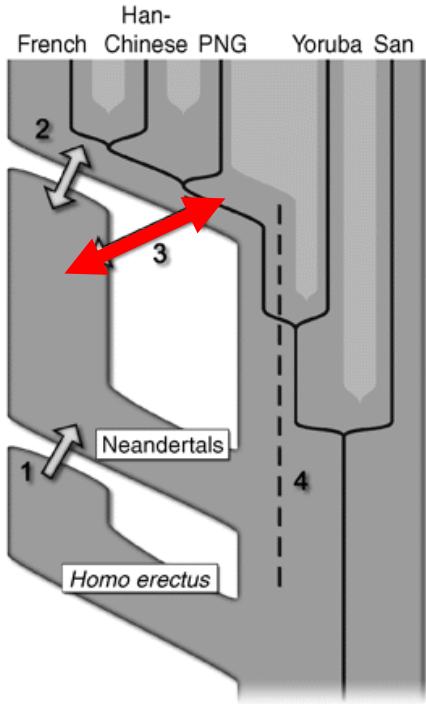


Денисовец – 2010

Morphology of the Denisova molar



Итак, интрогрессия



Неандерталец – 2010:
евроазиаты: 1–4%
(древняя популяционная
структура – тоже
возможно)

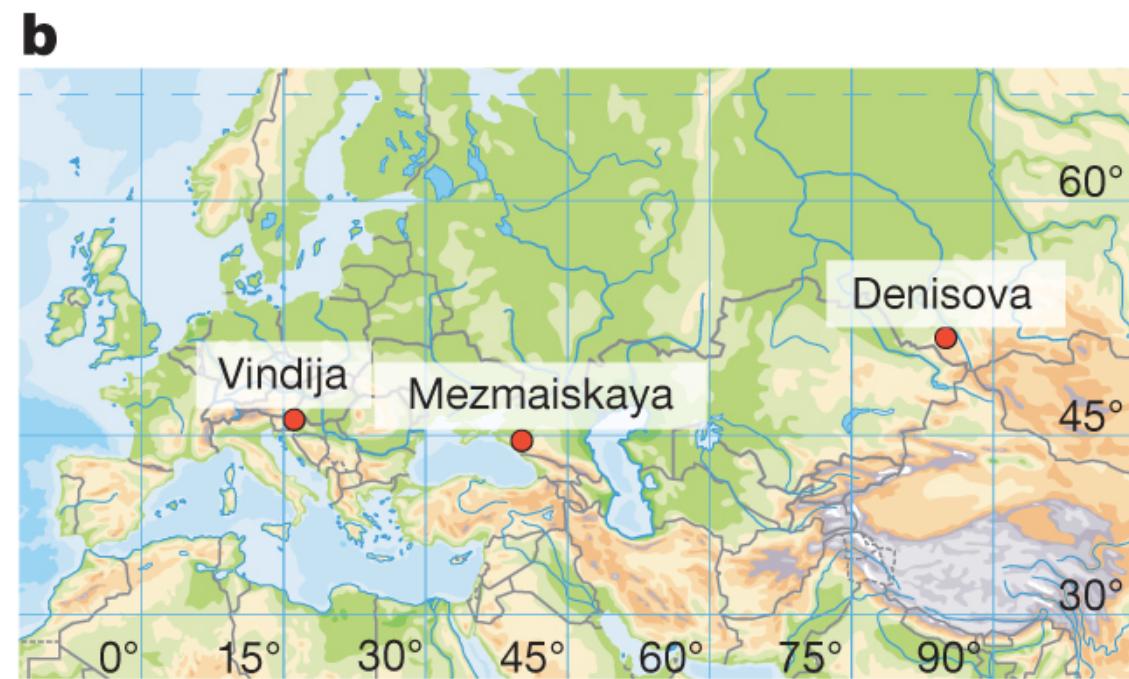
Денисовец – 2010:
Евроазиаты: 2.5%
от неандертальца,
дополнительно у
папуасов 4.8% от
денисовца

Денисовец – 2012:
Папуасы: 6% всего, по 3% от
неандертальца и денисовца



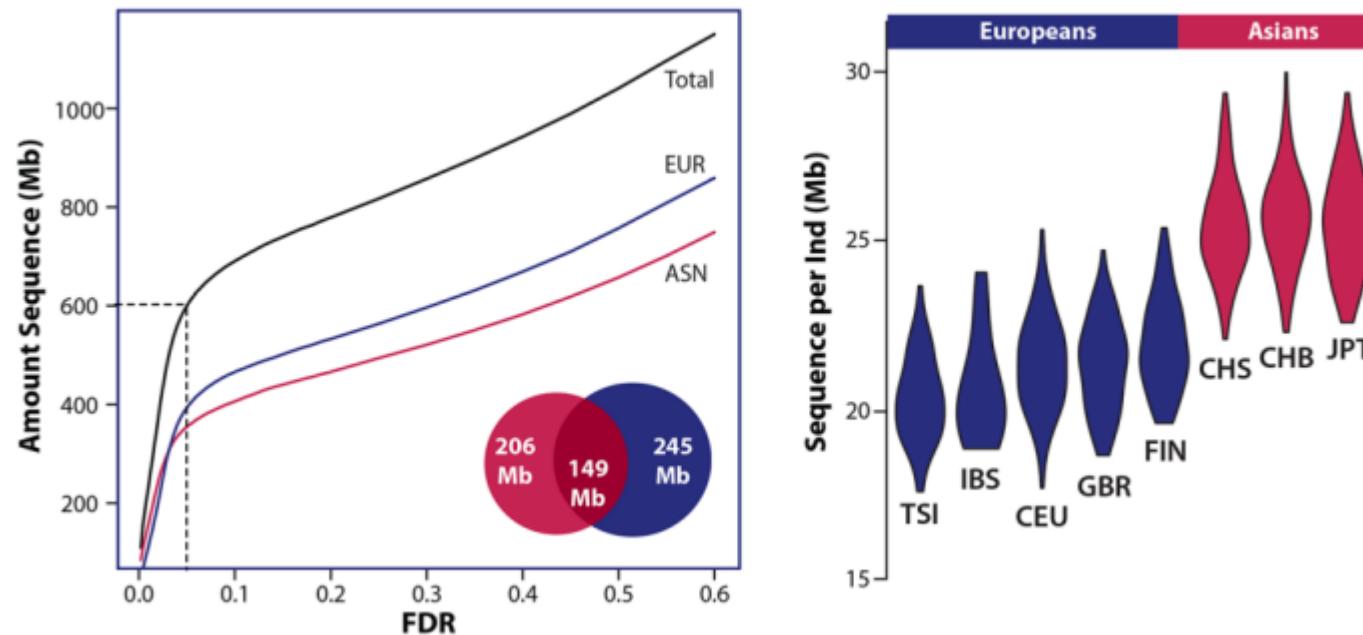
Алтайский неандерталец – 2014

Toe phalanx and location of Neanderthal samples for which genome-wide data are available

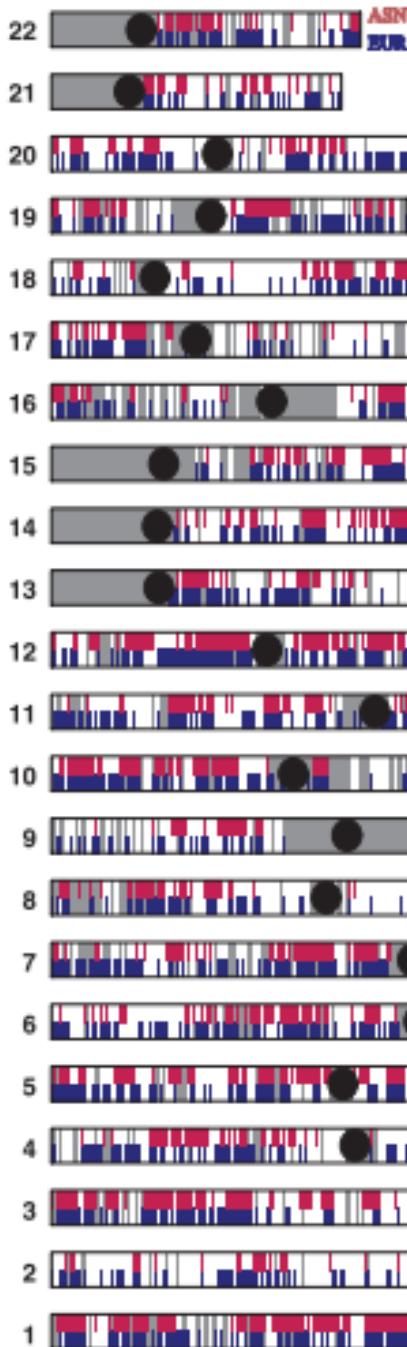




Восстанавливаем неандертальца по костям последовательностям



- 20% генома N при FDR=5% (*где-то написано, что 70%*)
- Средняя длина гаплотипа 57 Кб
- 26% генов имеют хотя бы один неандертальский экзон
- У азиатов - больше

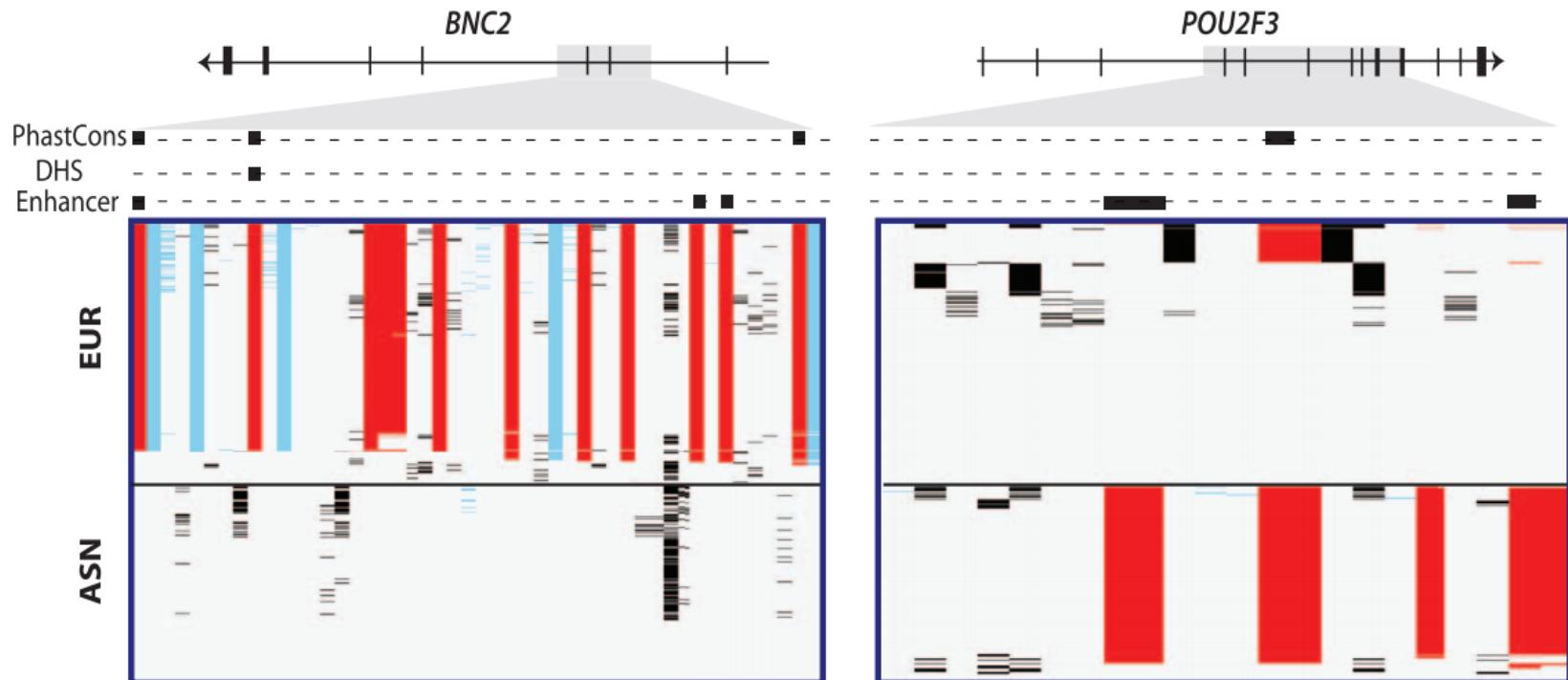


Распределение по геному

- красный – азиаты
- синий – европейцы

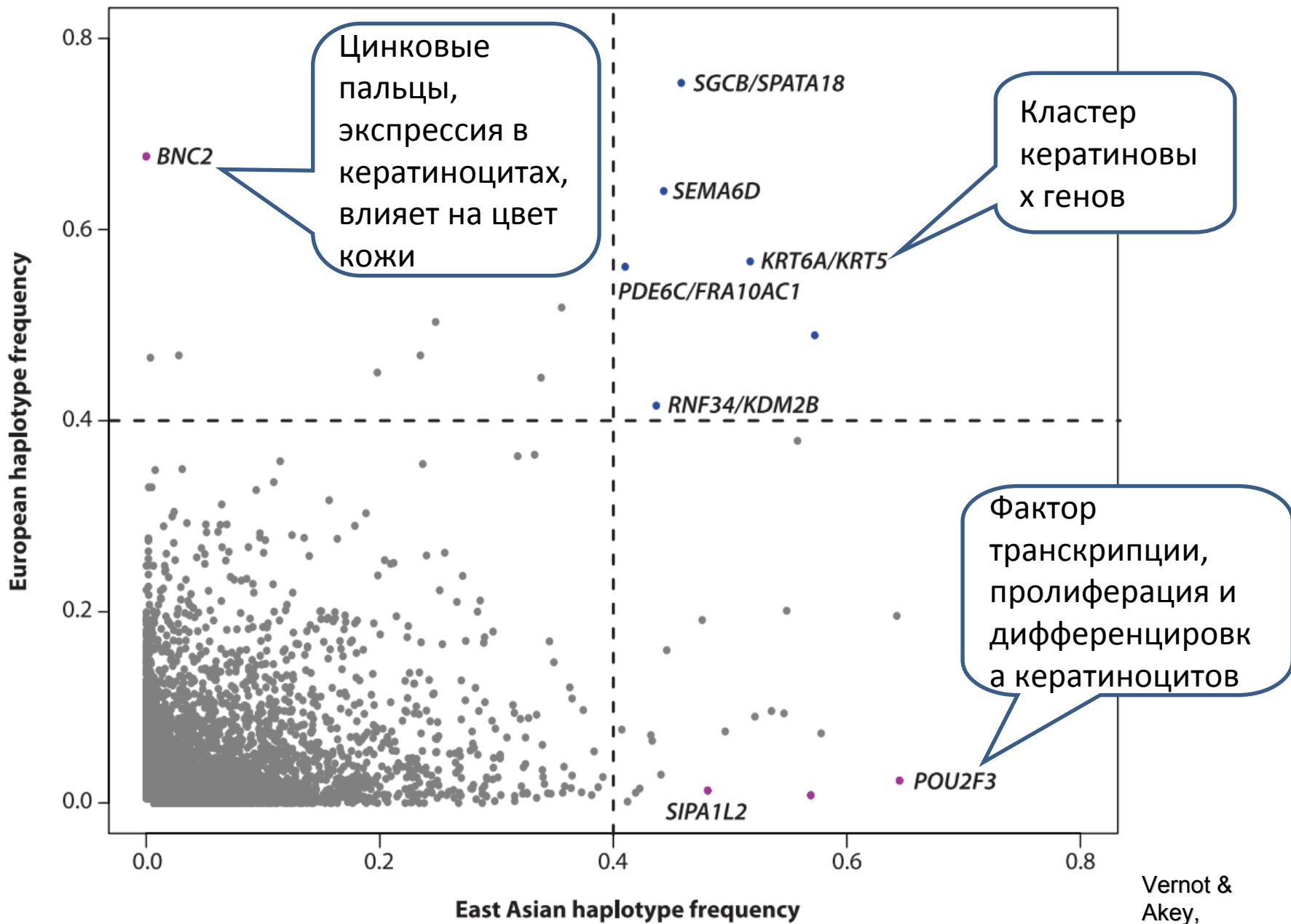
Дополнительный поток
неандертальских
аллелей в геном
азиатов

Примеры



- красный – как в N-reference
- голубой – не как в N-reference
- DHS – сайт, гиперчувствительный к ДНКазе I

Дифференциальная интроверсия



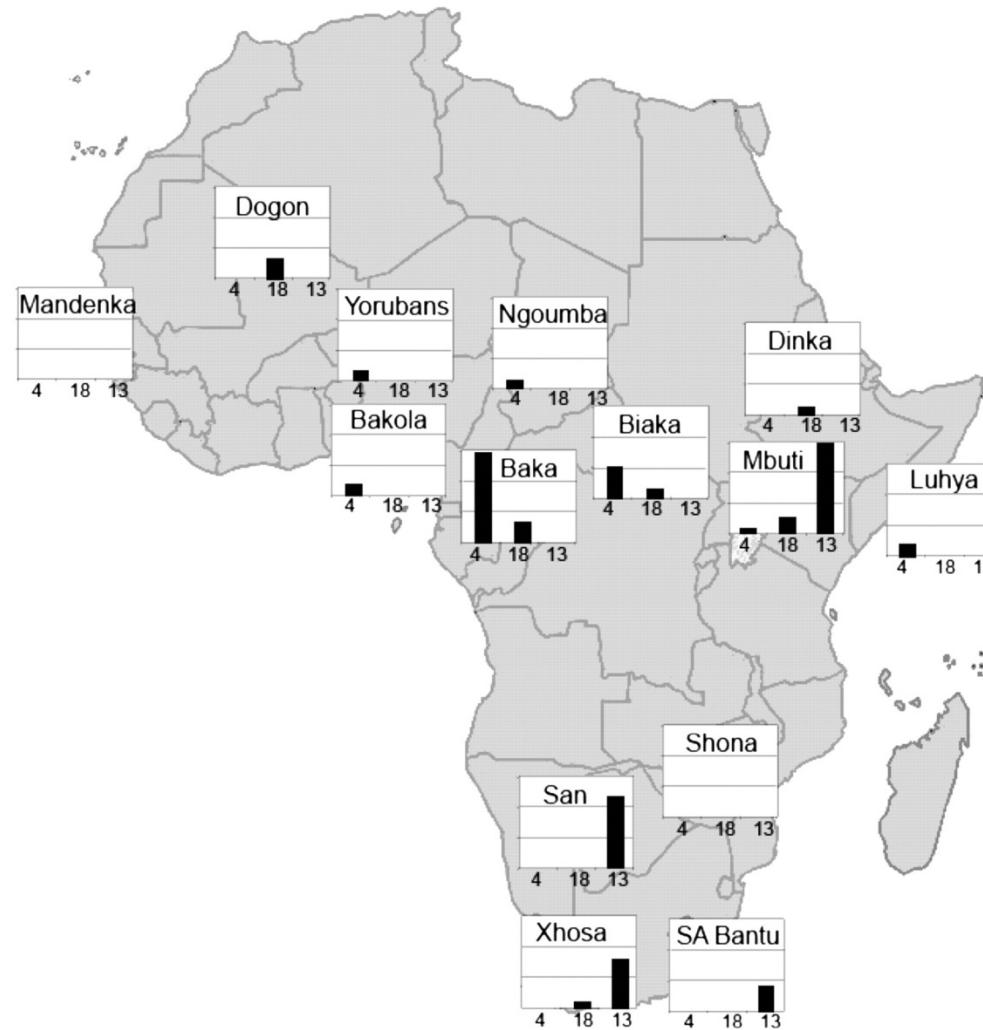
А у африканцев ничего не завалялось?

Сравнивать не с чем, поэтому:

- Строим модель популяционной структуры и истории
- Рассматриваем сетку параметров
- Вычисляем статистики и сравниваем с наблюдаемыми

Три области

Frequency of introgressive variants within three sequenced regions in an expanded sample of ≈ 500 sub-Saharan Africans



4q: 31.4 Кб

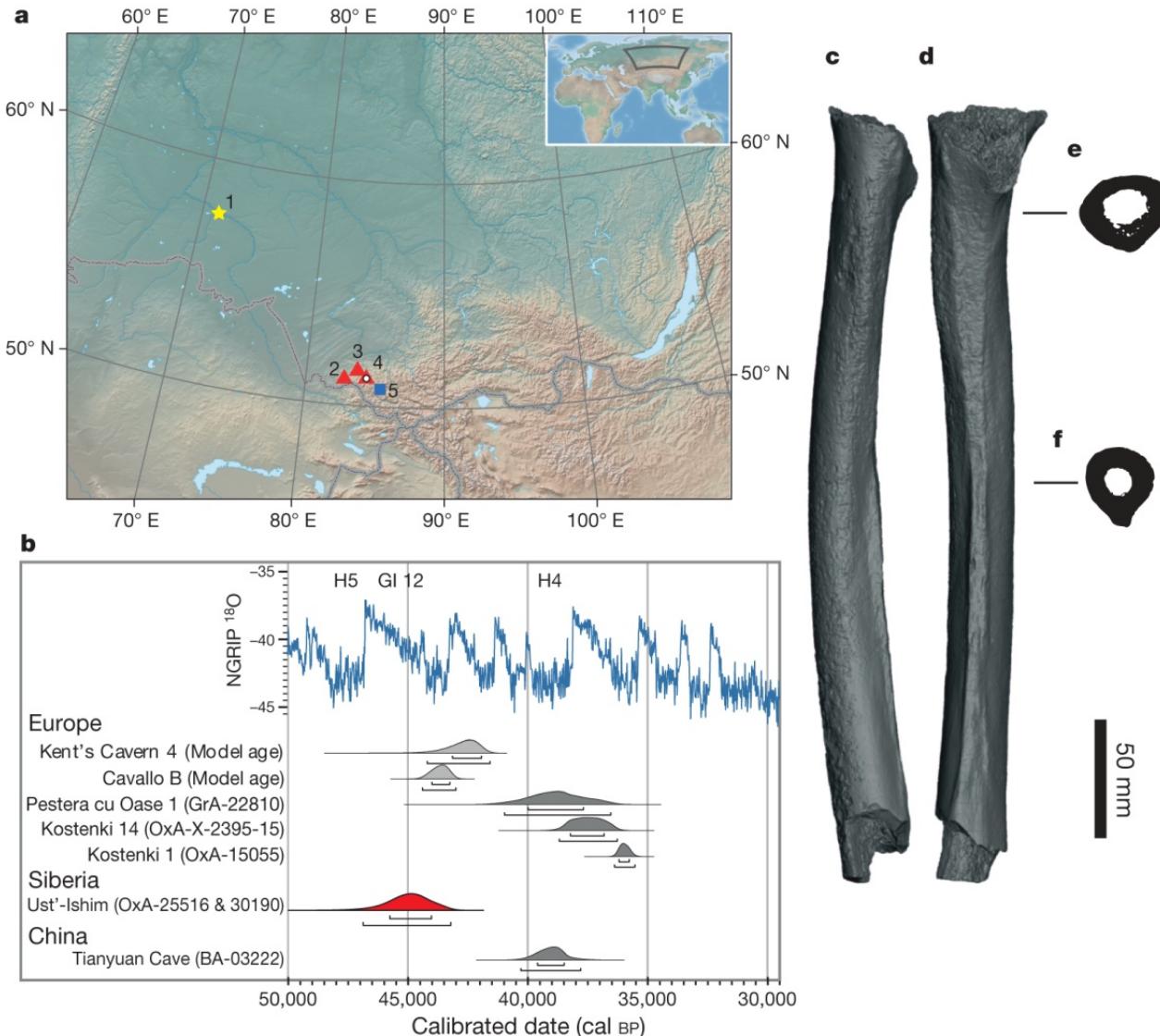
18q: (?)

13q: 14 Кб



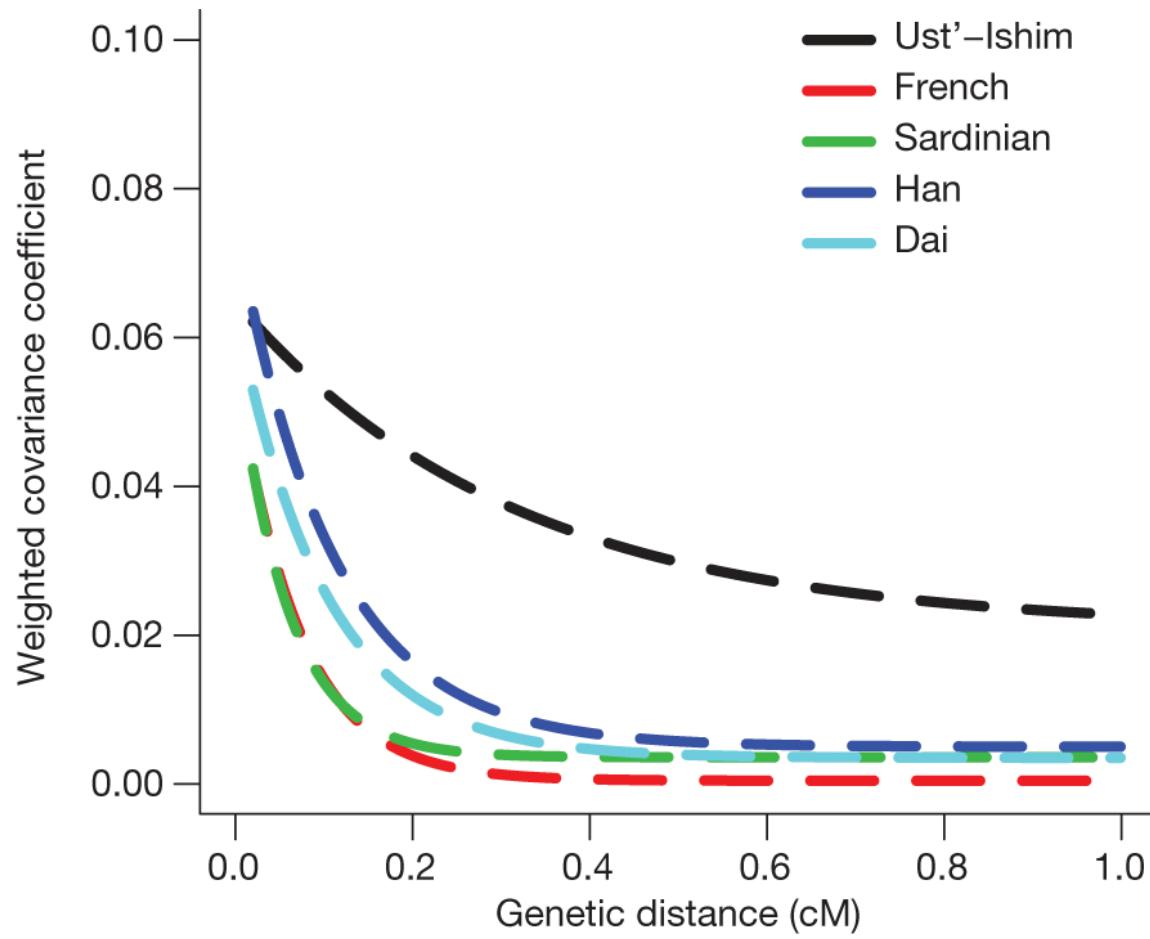
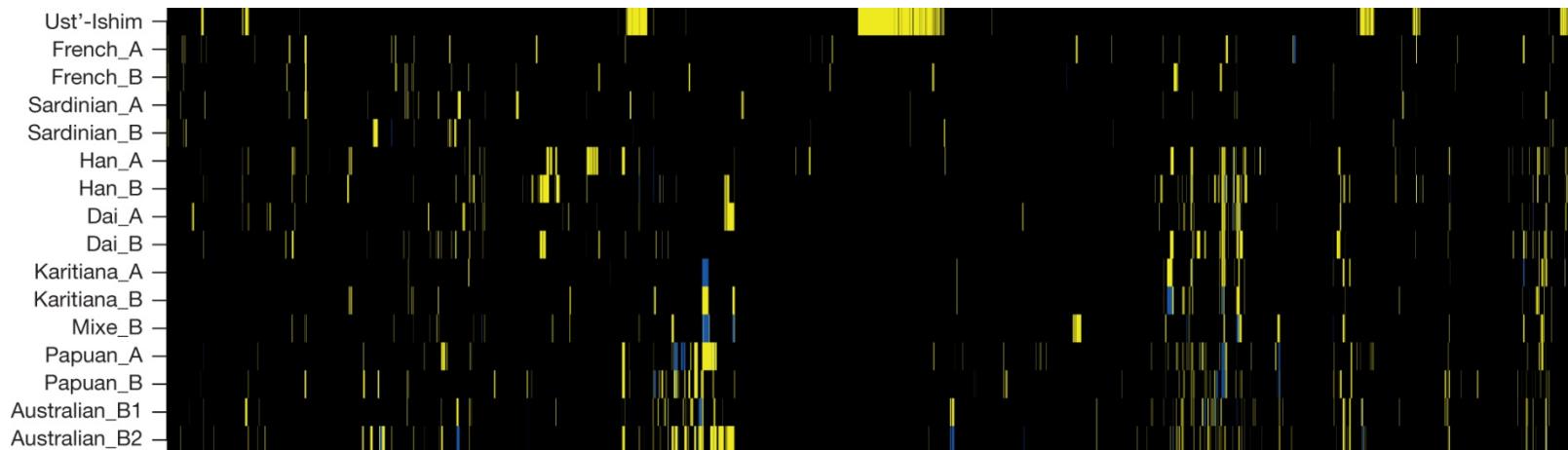
Древние кроманьонцы. 1. Усть-Ишим

Geographic location, morphology and dating



Что там нашлось

- $2.3 \pm 0.3\%$ неандертальских аллелей
 - У азиатов 1.7–2.1%
 - У европейцев 1.6–1.8%
- Нет специфических денисовских аллелей
- Неандертальские гаплотипы в ~1.8-4.2 раза длиннее, чем в современных геномах
 - Интрагрессия случилась за 232-430 поколений до усть-ишимца
 - Т.е. 50–60 тыс. лет назад



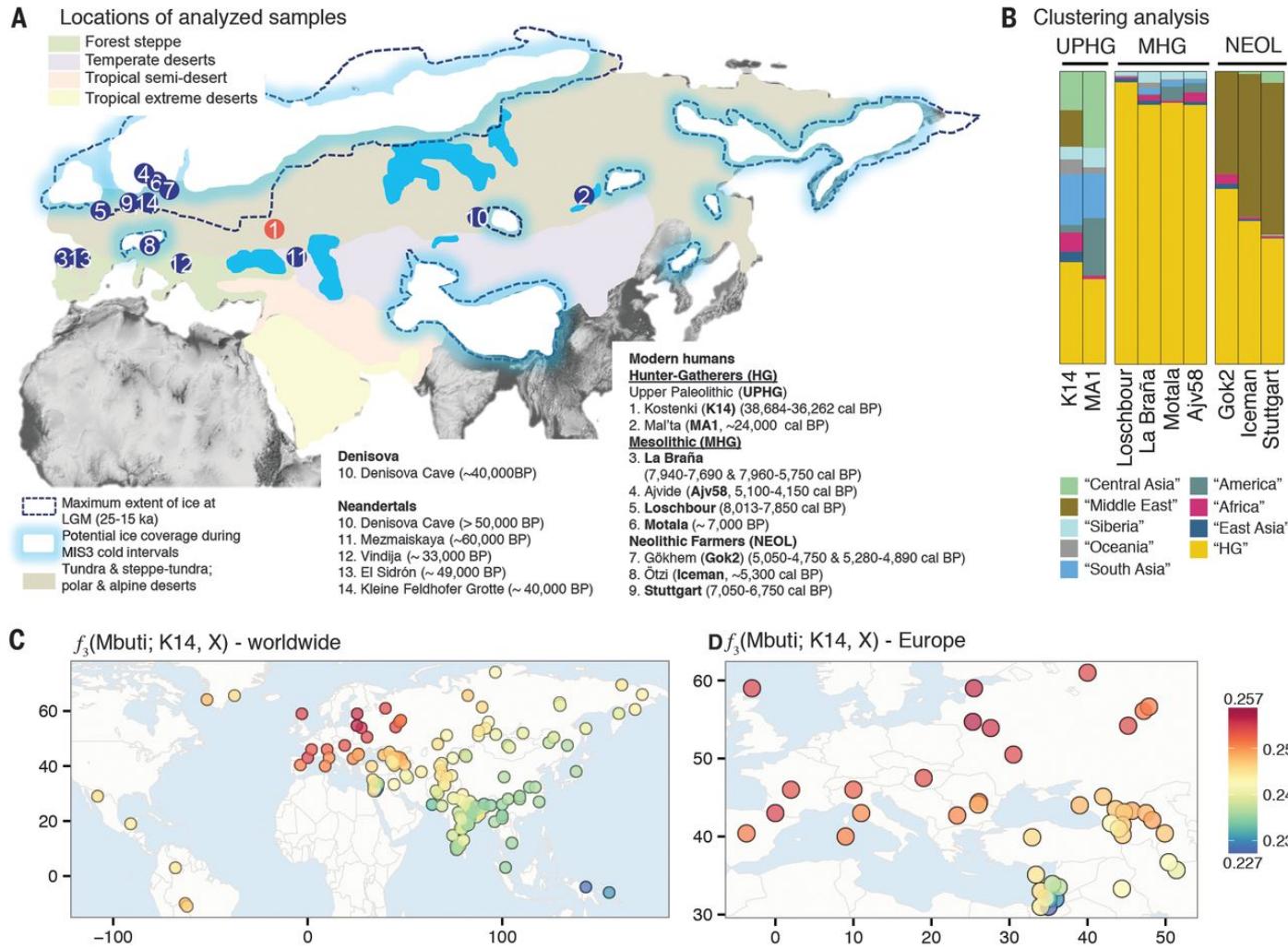
Regions of Neanderthal ancestry on chromosome 12 in the Ust'-Ishim individual and fifteen present-day non-Africans. African genomes carry the ancestral allele and the Neanderthal genome carries the derived allele

Exponentially fitted curves showing the decay of pairwise covariance for variable positions where Africans carry ancestral alleles and the Neanderthal genome carries derived alleles



Древние кроманьонцы. 2. Костенки

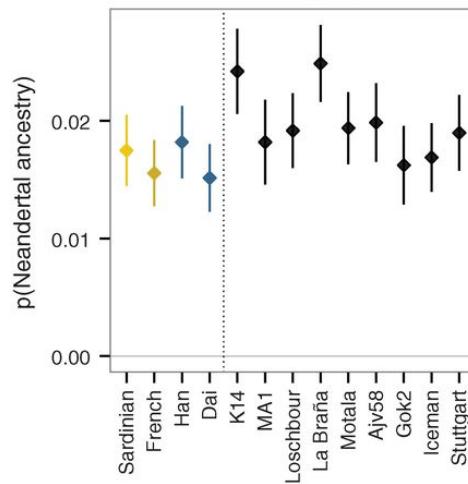
Geographic location, admixture proportions and shared drift



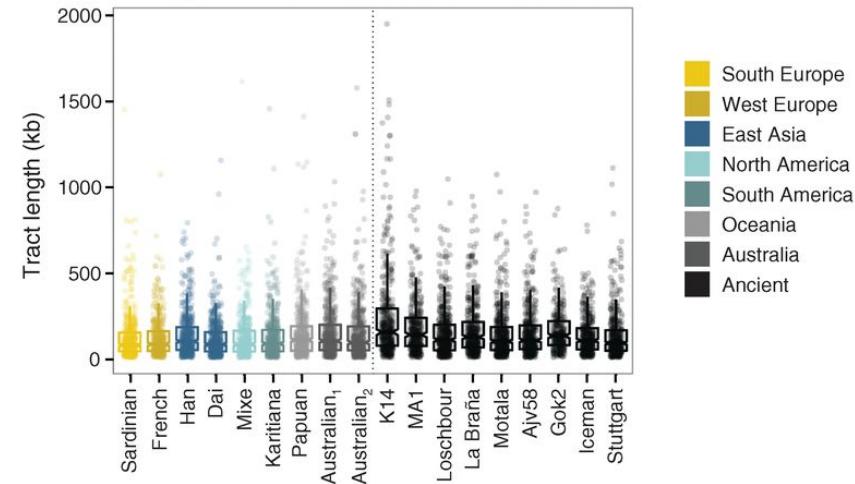


Neandertal admixture in K14 other ancient genomes

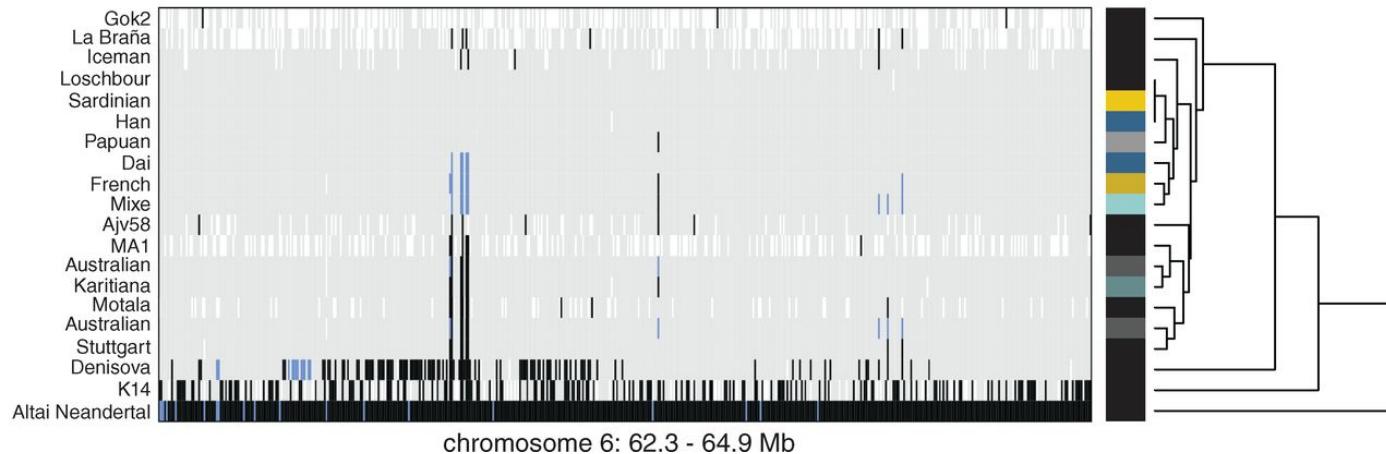
A Neandertal admixture proportion



B Tract length distribution



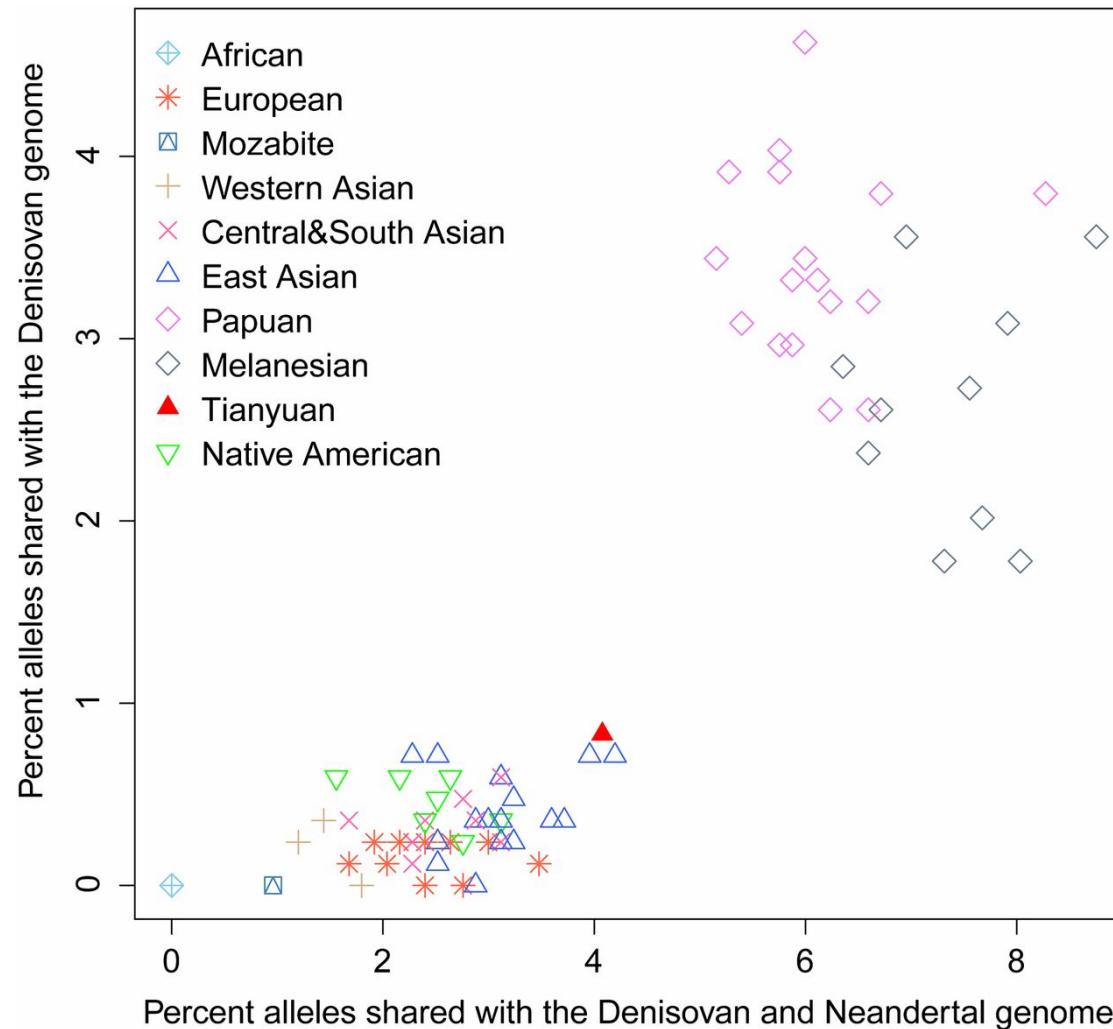
C Neandertal allele sharing





3. Пещера Тяньянь, Китай, 40 тыс. лет назад

Proportion of alleles shared with the Neandertal and Denisovan genomes for the Tianyuan and present-day individuals

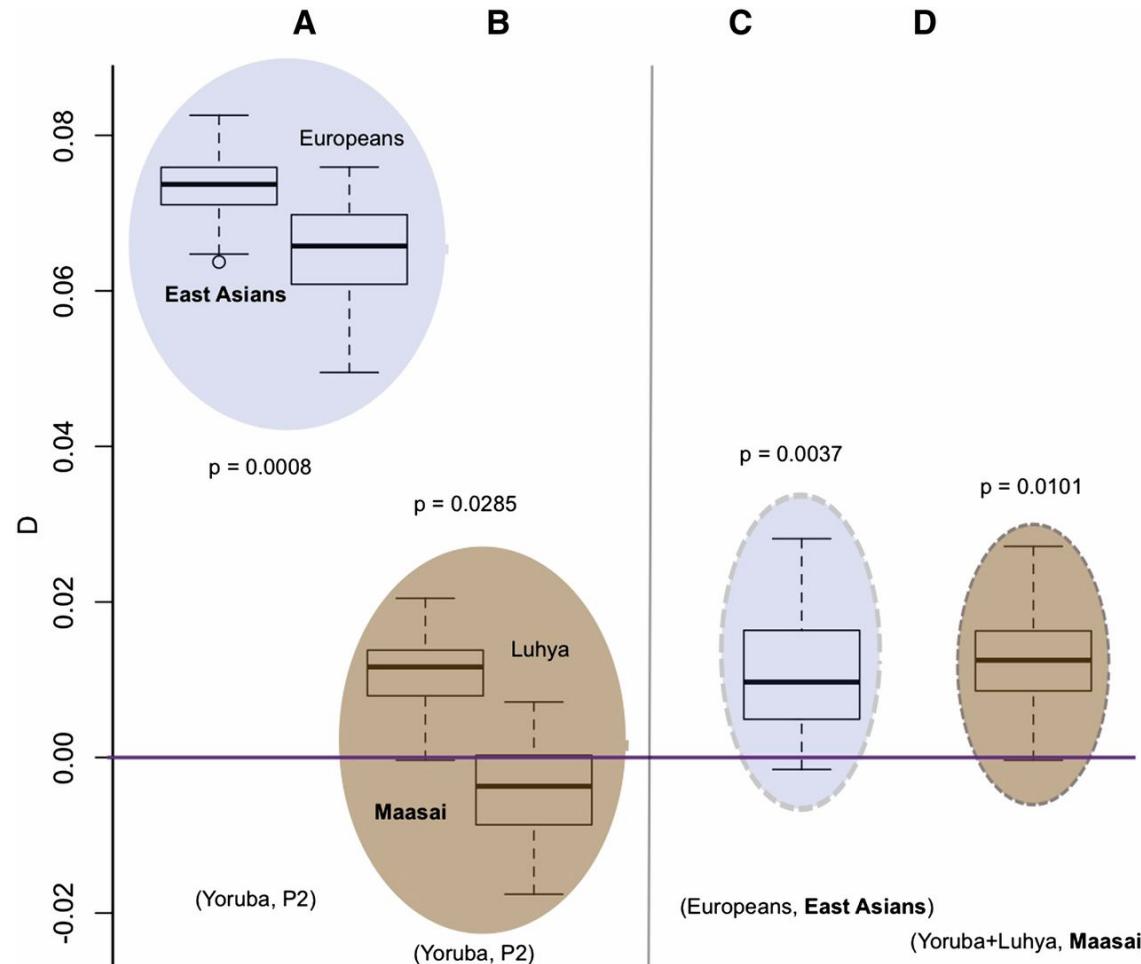




У восточных азиатов больше неандертальских аллелей, чем у европейцев

Summary of significance tests for average values of D .

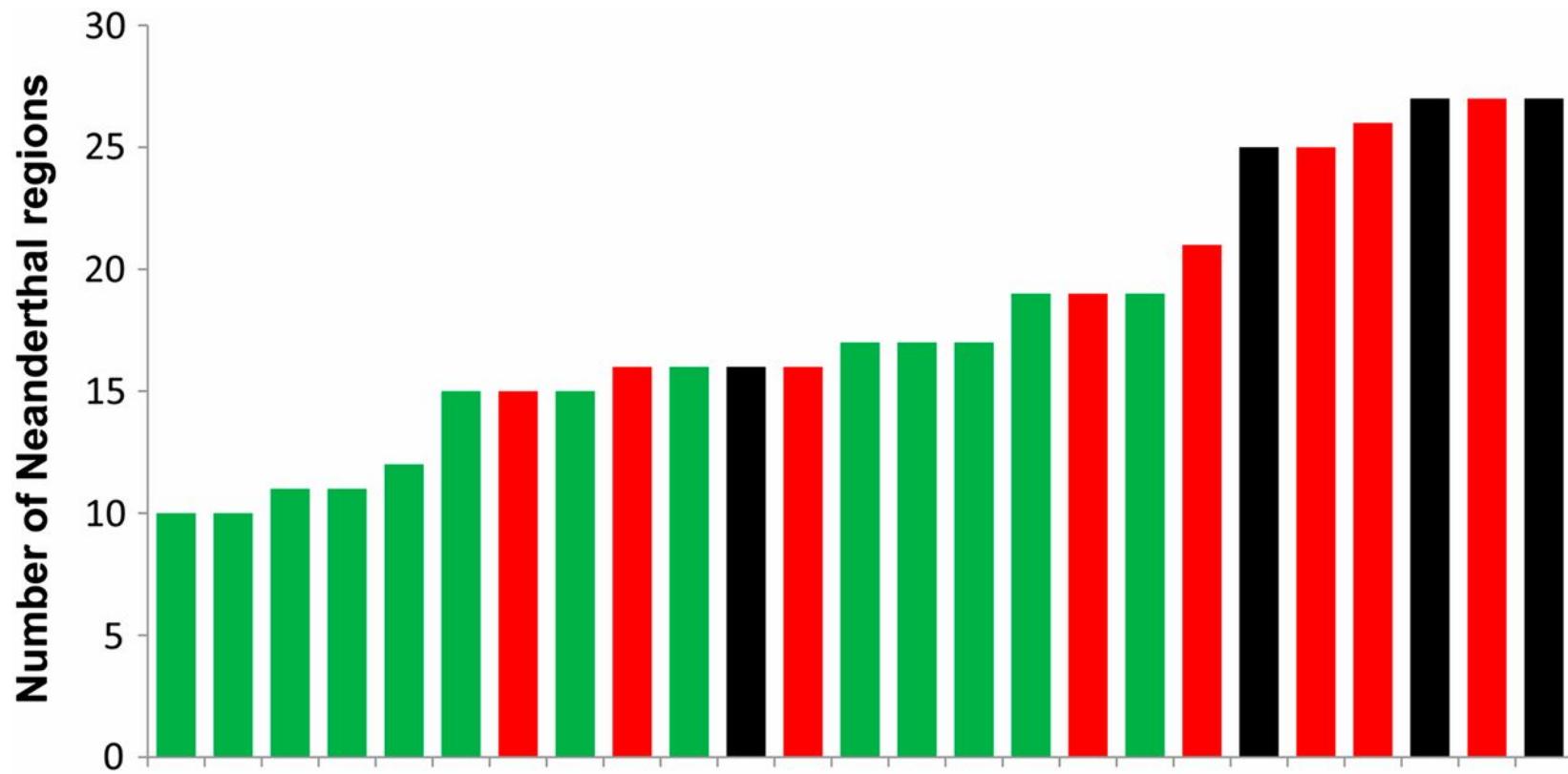
Positive values indicate that 2nd seq. is more similar to the Neanderthal genome than 1st seq.





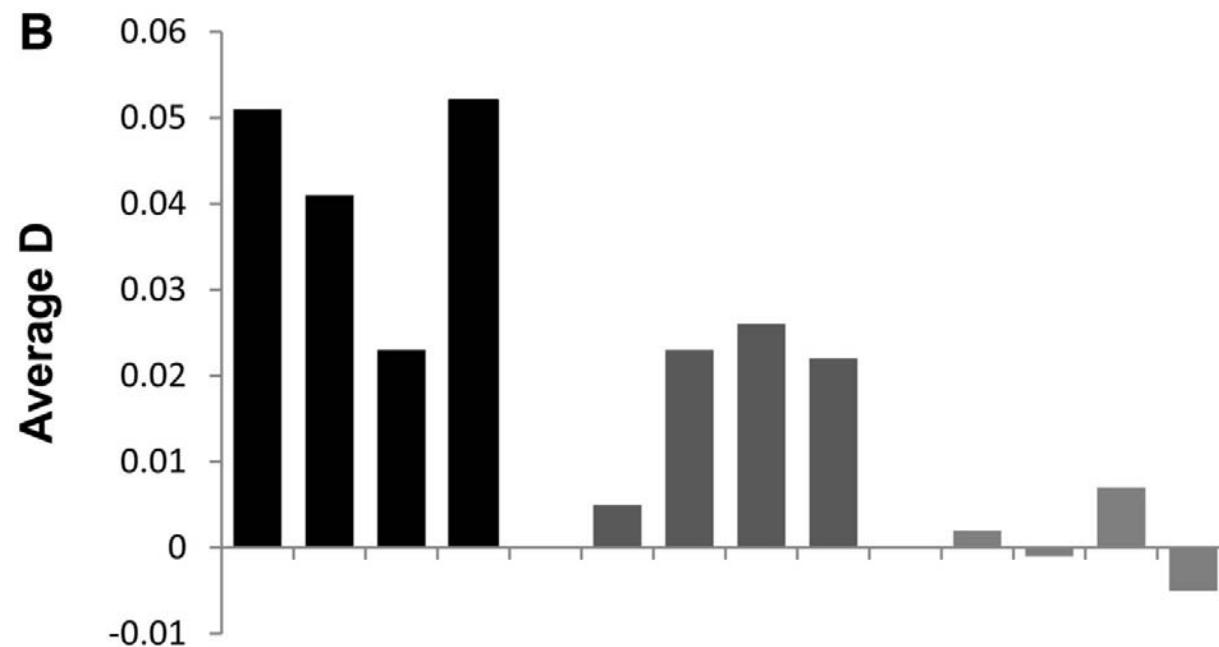
Европейцы менее неандертальцы, чем азиаты

Distribution of the number of putative Neanderthal regions for each Eurasian individual





Масаи (Сев. Африка) – занос неандертальских аллелей из Европы

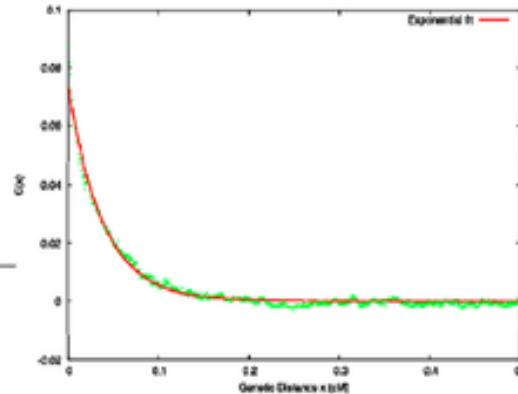
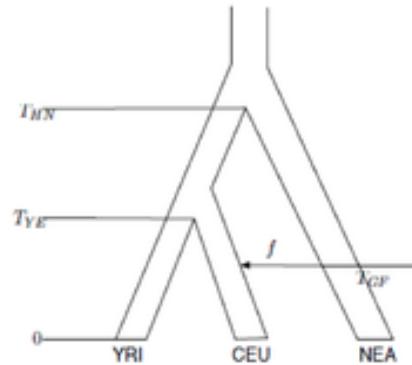


Среднее D , если видим 2 – 1 – 0 неафриканских аллея в области

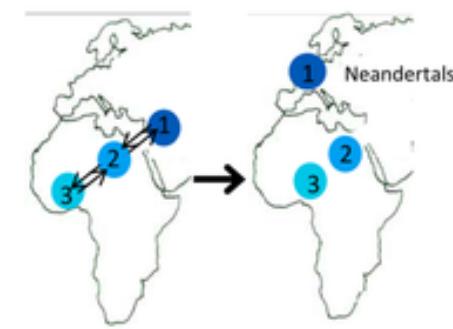
Когда? – модель

Linkage disequilibrium patterns expected due to recent gene flow and ancient structure

(a) Gene flow <100,000 years ago

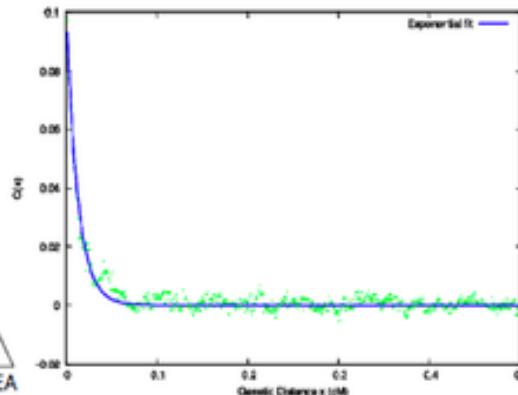
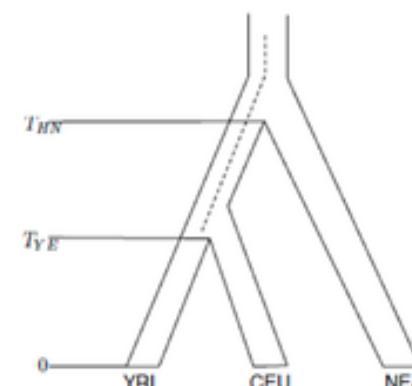


(b) Ancient structure >230,000 years ago



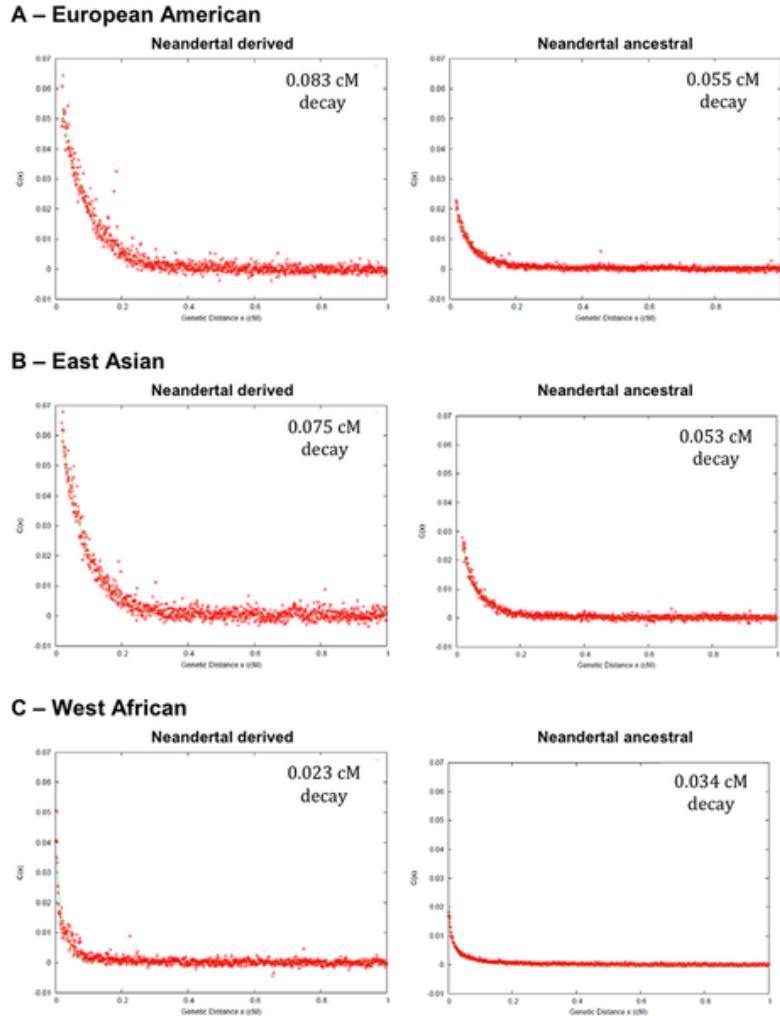
Human structure
to Neandertal-
modern human
divergence

Northeast
Africans retain
extra proximity to
Neandertals



37-86 тыс. лет назад, вероятнее всего 47-65 тыс. лет назад

Decay of LD for SNPs with minor allele frequency $\leq 10\%$



Sankararaman S, Patterson N, Li H, Pääbo S, Reich D (2012) The Date of Interbreeding between Neandertals and Modern Humans. *PLoS Genet* 8(10): e1002947

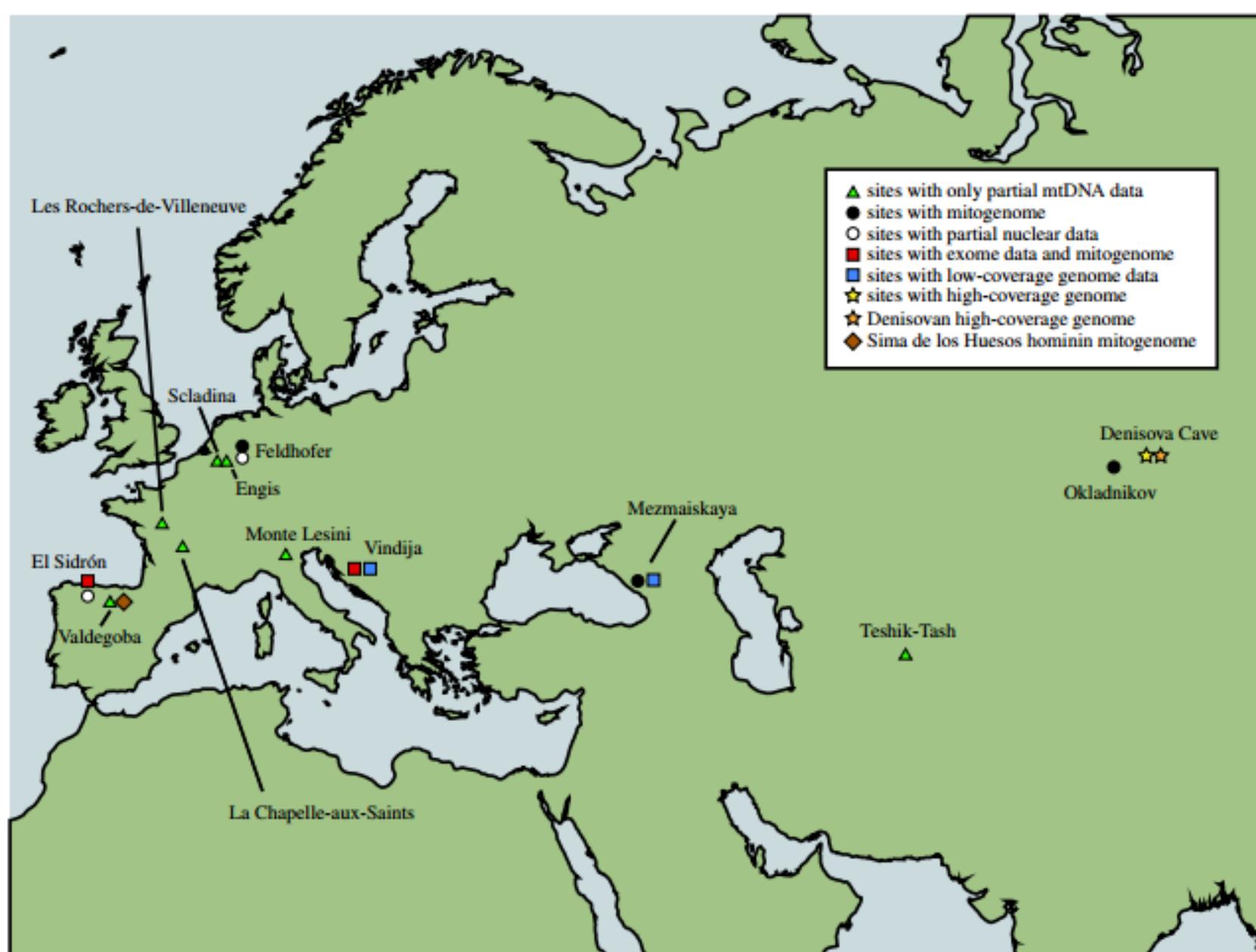
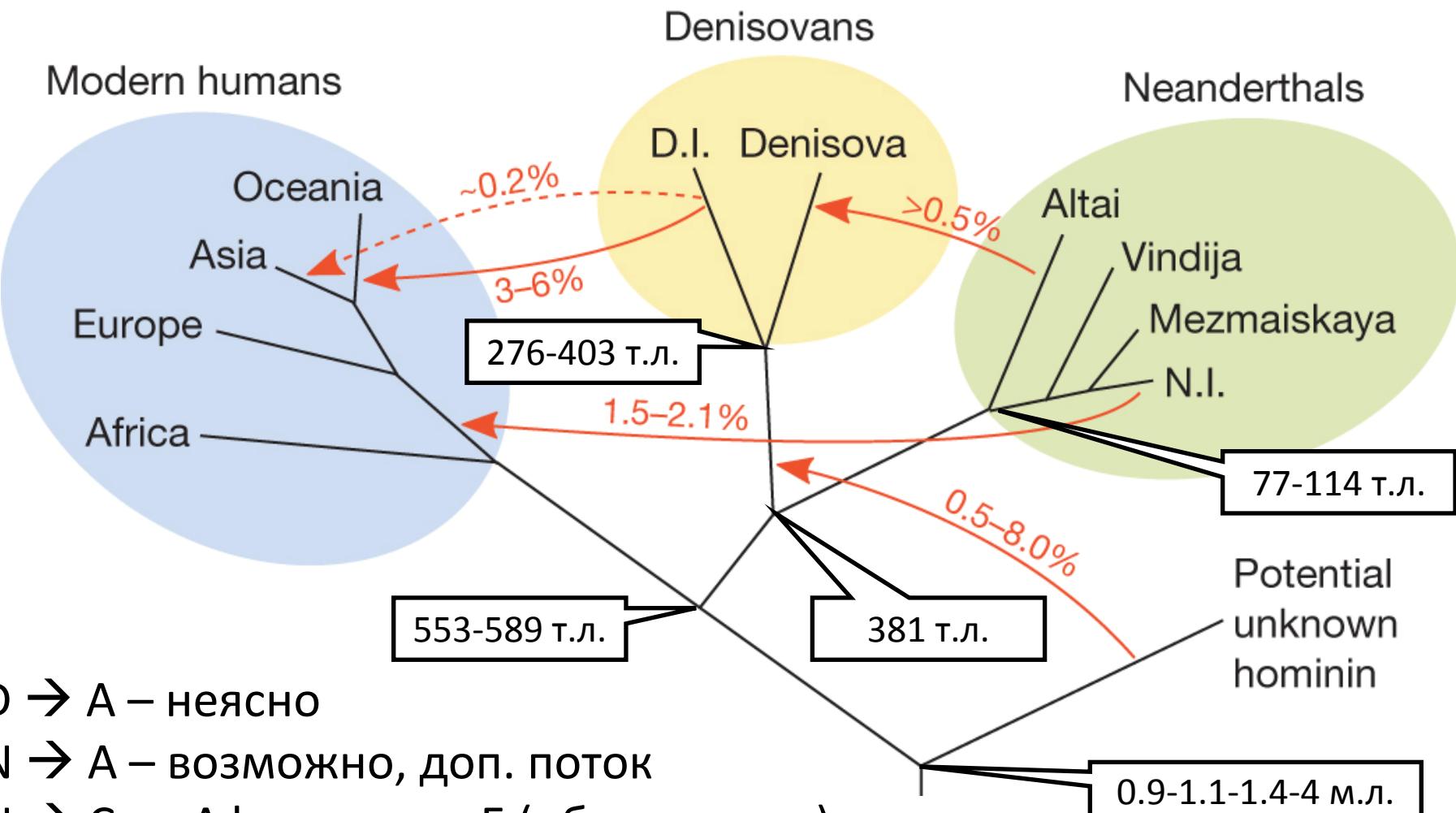


Figure 1. Geographical map showing Neanderthal and Denisovan sites with different types of genetic data (partial mitochondrial, complete mitogenomes, exomes, partial nuclear data or complete genomes) retrieved.



Неандерталец – 2014

A possible model of gene flow events in the Late Pleistocene



D → A – неясно

N → A – возможно, доп. поток

N → Сев. Афр. – через Е (обсуждается)

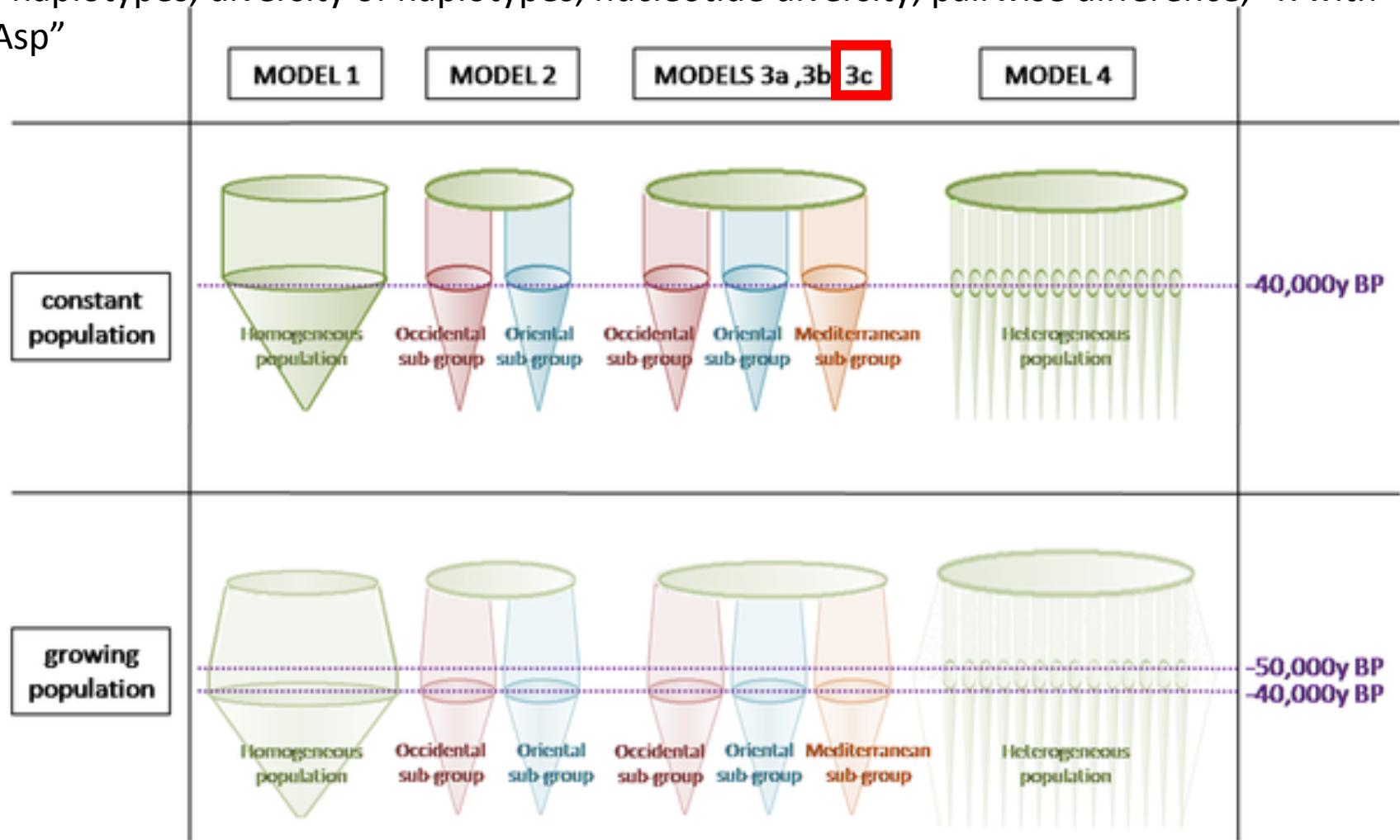
Алтайский неандерталец моложе денисовца

Популяции – по митохондриям

Schematic presentation of the six models

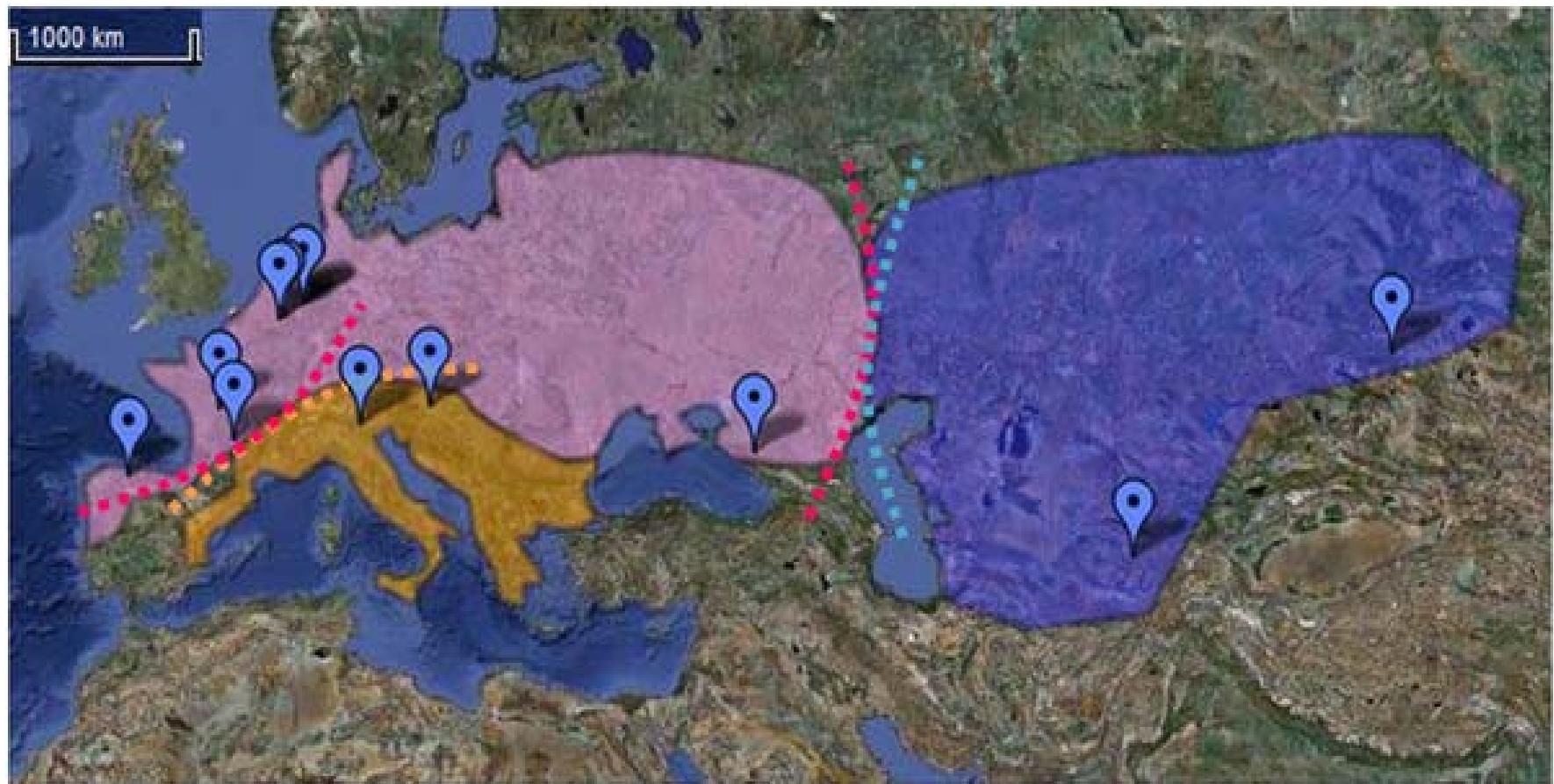
Моделируем, считаем статистики, сопоставляем с наблюдаемыми. Статистики:

of haplotypes, diversity of haplotypes, nucleotide diversity, pairwise difference, “K with DNAsp”



Fabre V, Condemi S, Degioanni A (2009) Genetic Evidence of Geographical Groups among Neanderthals. PLoS ONE 4(4): e5151.

Три популяции неандертальцев

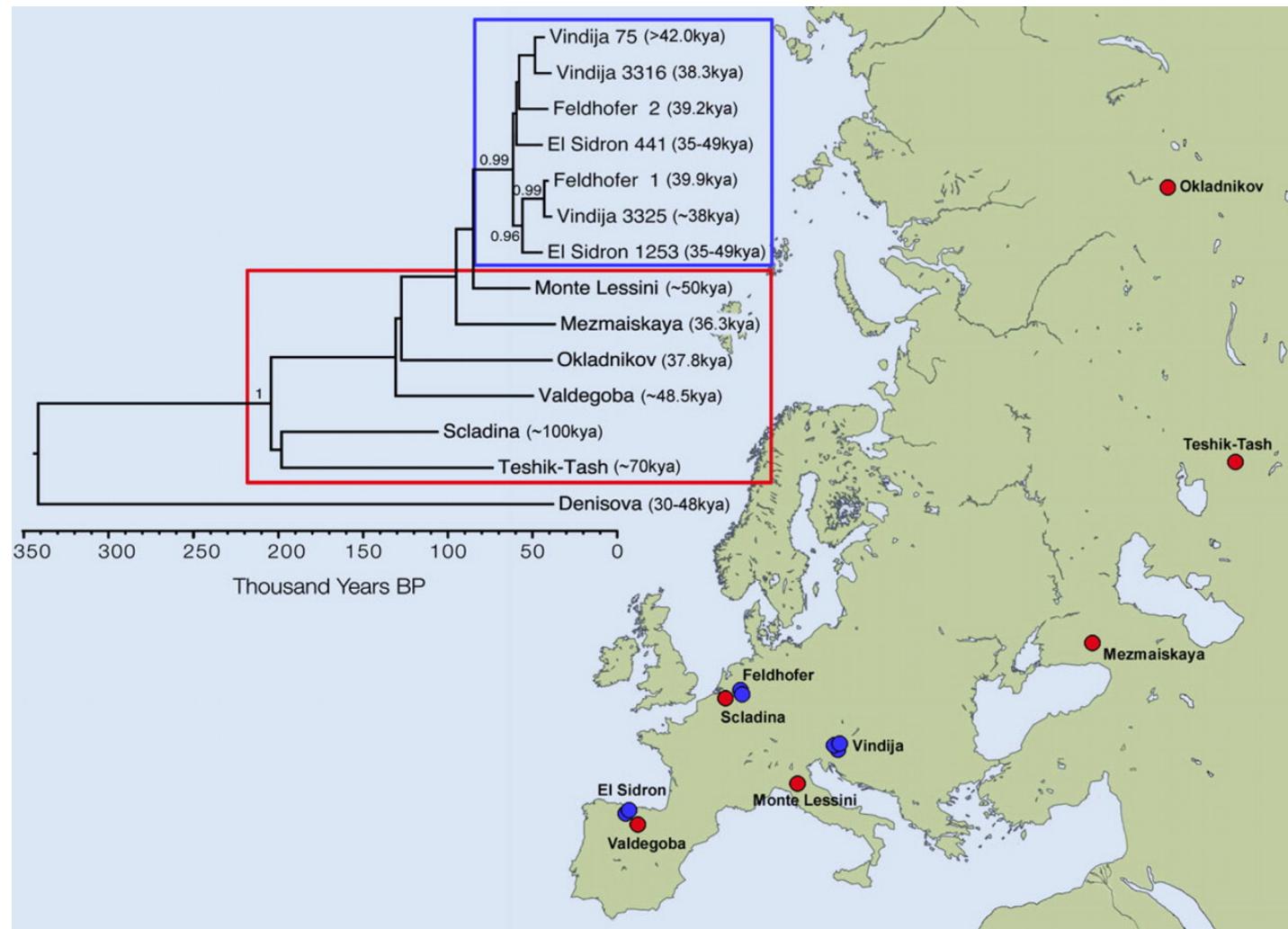


Fabre V, Condemi S, Degioanni A (2009) Genetic Evidence of Geographical Groups among Neanderthals. PLoS ONE 4(4): e5151.



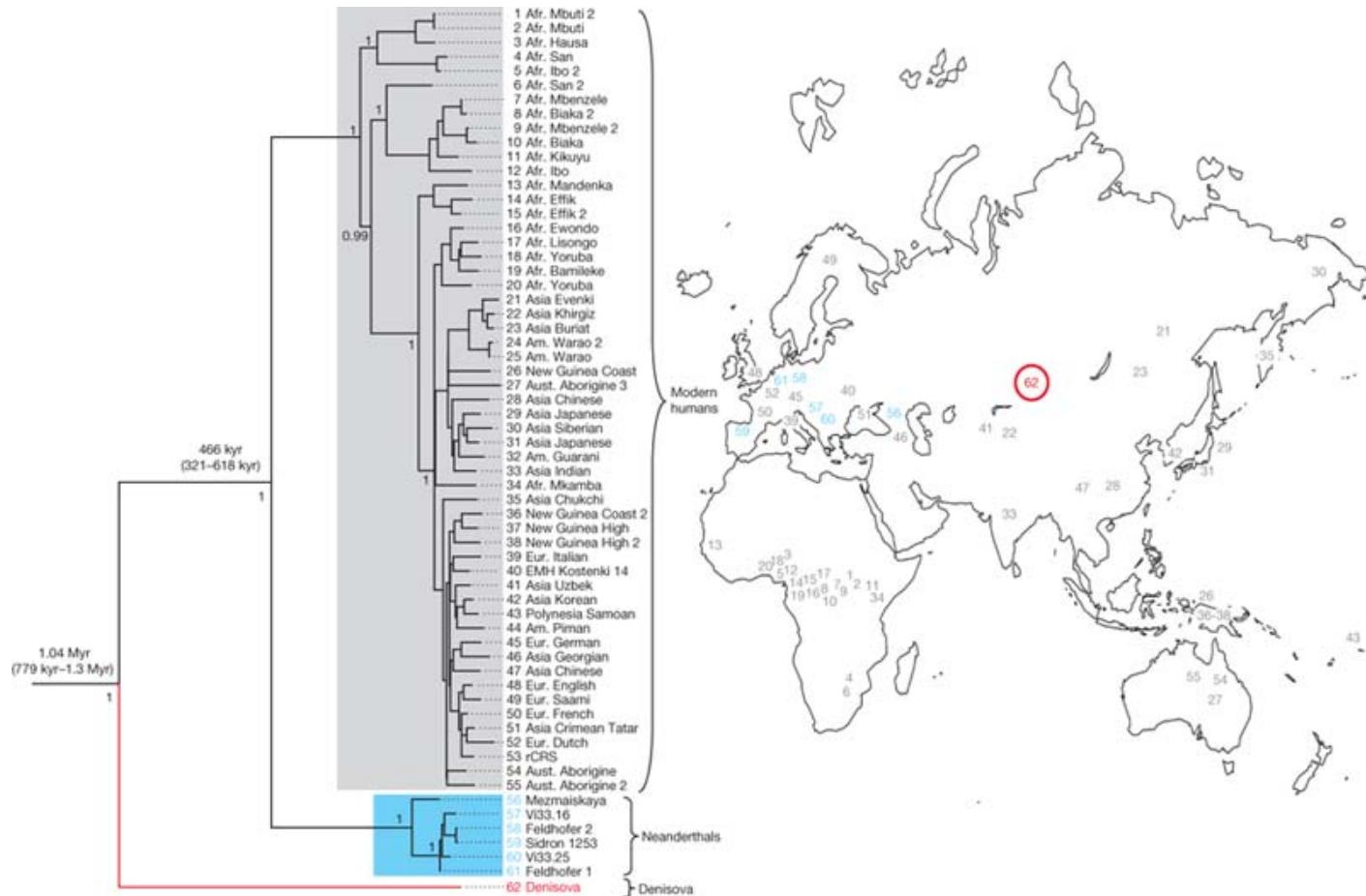
Bottleneck в Европе >48 тыс. лет назад

Phylogenetic relationships and geographic distribution of neandertals



Митохондрия денисовца

Phylogenetic tree of complete mtDNAs



Атапуерка, Сима де лос Уэсос

Location of the Middle Pleistocene site of Sima de los Huesos (yellow) as well as Late Pleistocene sites that have yielded Neanderthal DNA (red) and Denisovan DNA (blue)

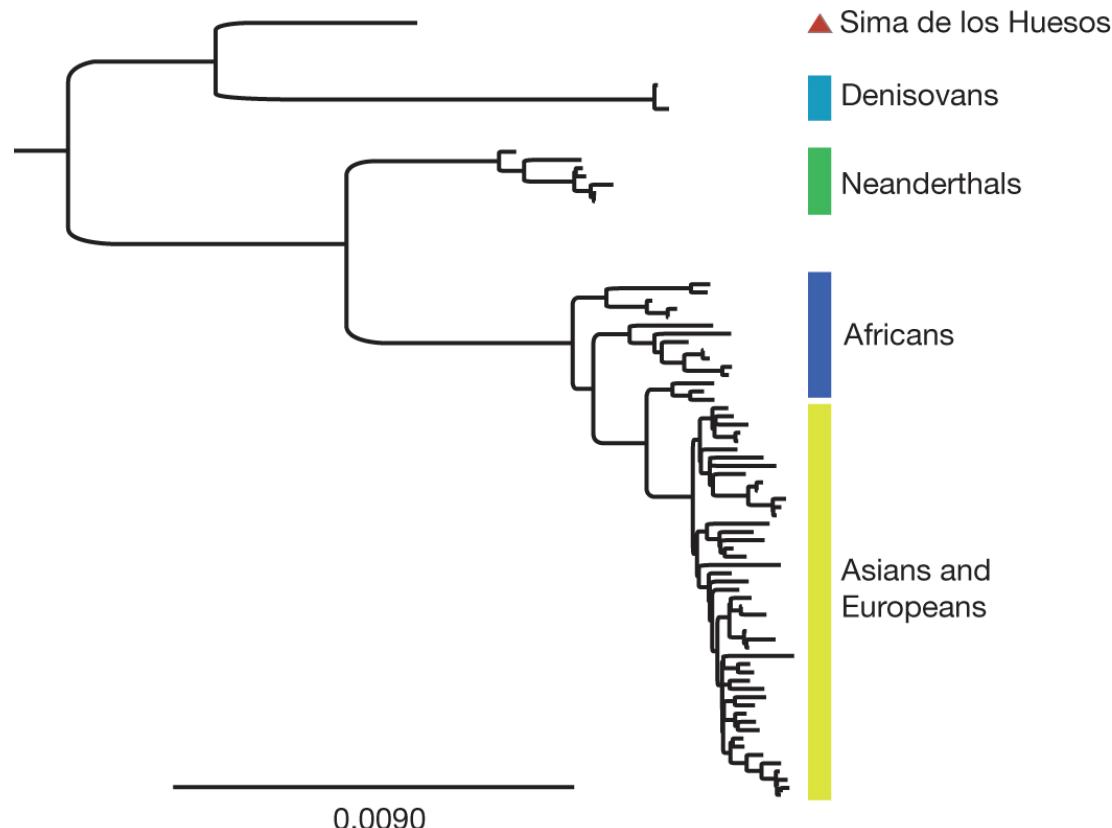


400 тысячи лет

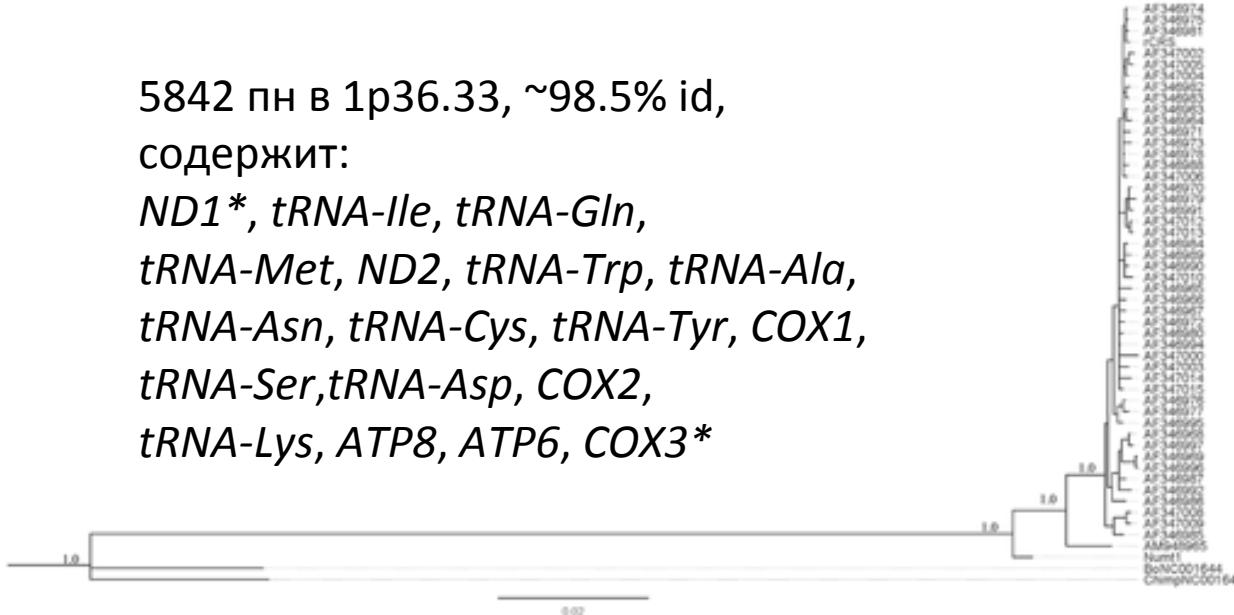
Femur XIII reassembled from three parts after sampling



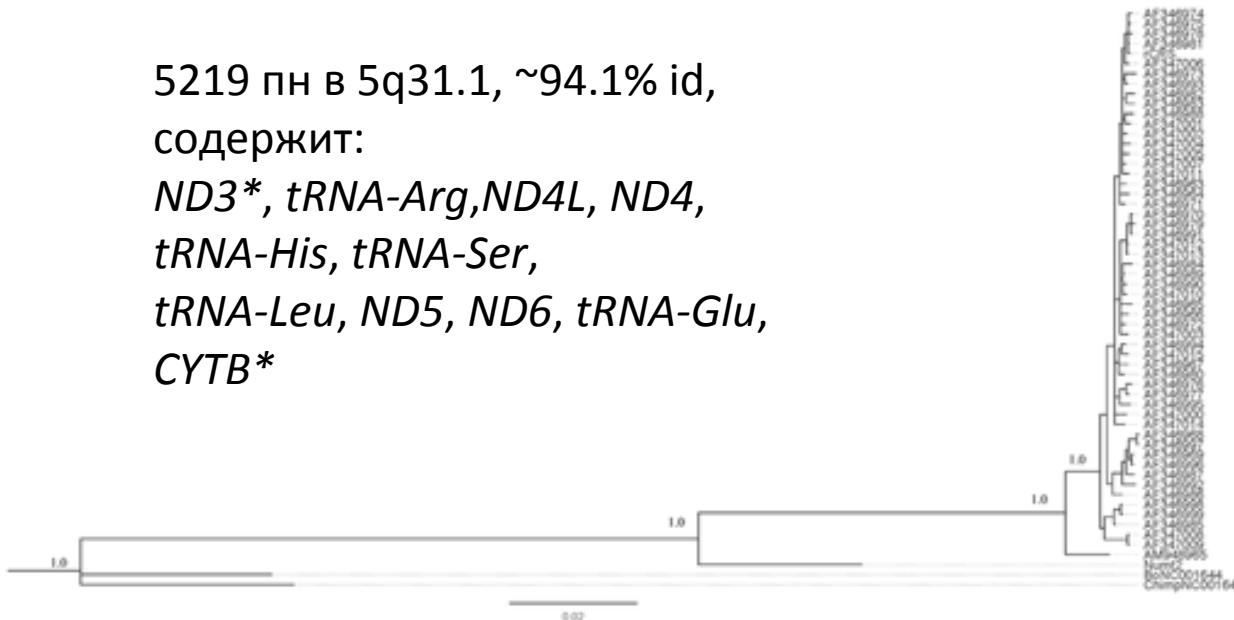
Bayesian phylogenetic tree of hominin mitochondrial relationships based on the Sima de los Huesos mtDNA sequence determined using the inclusive filtering criteria



5842 пн в 1р36.33, ~98.5% id,
содержит:
*ND1**, *tRNA-Ile*, *tRNA-Gln*,
tRNA-Met, *ND2*, *tRNA-Trp*, *tRNA-Ala*,
tRNA-Asn, *tRNA-Cys*, *tRNA-Tyr*, *COX1*,
tRNA-Ser, *tRNA-Asp*, *COX2*,
tRNA-Lys, *ATP8*, *ATP6*, *COX3**



5219 пн в 5q31.1, ~94.1% id,
содержит:
*ND3**, *tRNA-Arg*, *ND4L*, *ND4*,
tRNA-His, *tRNA-Ser*,
tRNA-Leu, *ND5*, *ND6*, *tRNA-Glu*,
*CYTB**



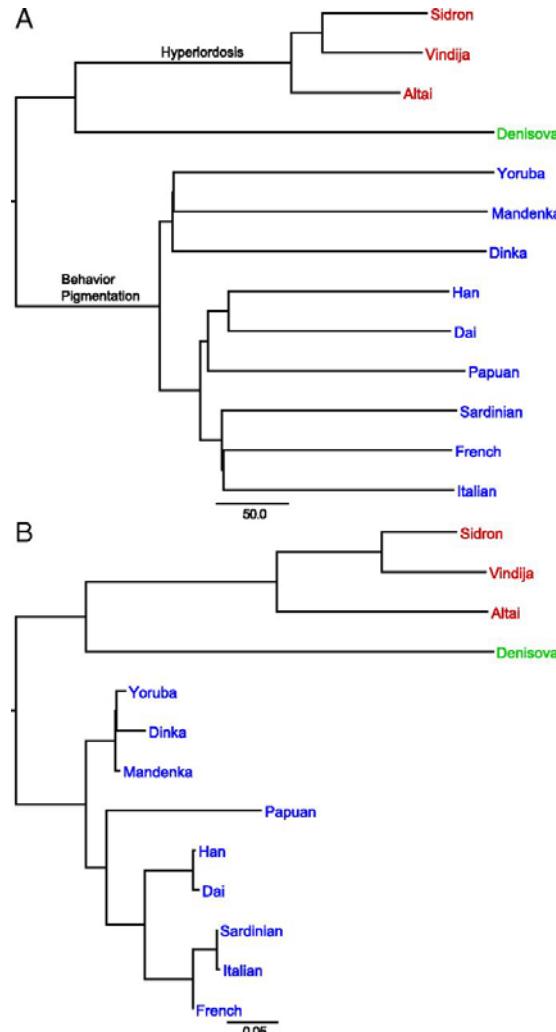
NUMTs: фрагменты митохондриаль- ного генома, встроившиеся в ядерный

Ovchinnikov IV, Kholina OI (2010) Genome Digging: Insight into the Mitochondrial Genome of Homo. PLoS ONE 5(12): e14278.



Популяционная генетика на экзомах

Neighbor-joining trees based on (A) the number of pairwise differences and (B) on pairwise F_{ST} values



Маленькое разнообразие в группах, большое между группами

- Меньше гетерозиготность (различий на Кб)

Эль Сидрон	0.143
Виндия	0.127
Алтай	0.113
Африка	0.507
Европа	0.387
Азия	0.358

- Более длинные участки гомозиготности
- Больше различия (F_{ST}) между популяциями

**Бутылочное горлышко =>
ослабление отрицательного отбора**

- Больше производных аллелей
- Больше вредных (PolyPhen) аллелей

Функциональное обогащение среди изменившихся генов

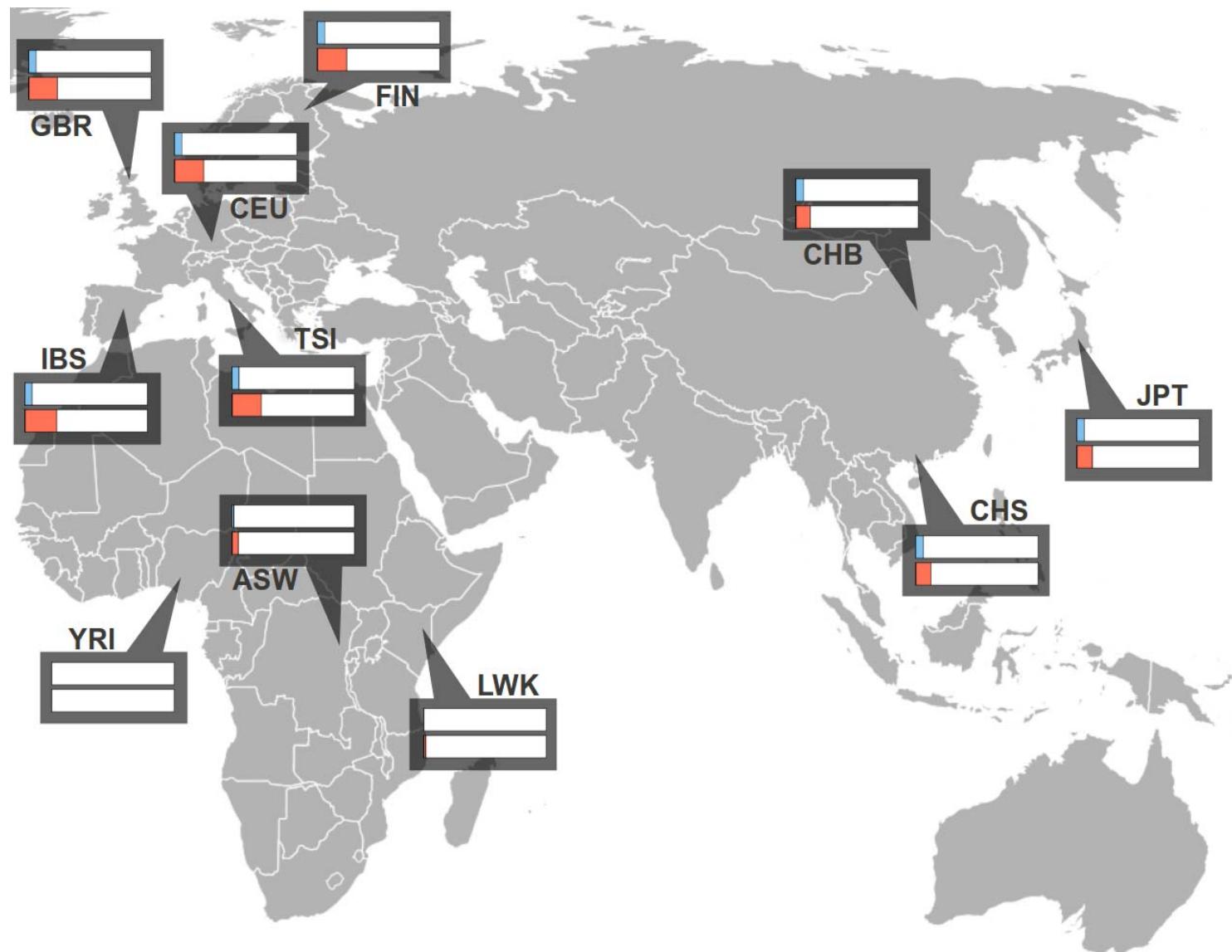
- Неандертальцы + Денисовцы (общий предок)
 - Метаболизм
 - Сердечно-сосудистая система
 - Оволосение
 - Морфология
- Неандертальцы
 - Гиперлордоз
- Кроманьонцы
 - Пигментация
 - высокие частоты производных аллелей вне Африки, низкие в Африке
 - Поведение (зарегистрировано всюду)
 - Гиперактивность, агрессия

Популяционная генетика денисовцев

- Низкая гетерозиготность (0.022%, т.е. 1/5 гетерозиготности африканцев, 1/4-1/3 гетерозиготности азиатов и европейцев)
- Но нет очень длинных участков гомозиготности – стало быть, не инбридинг.



Неандертальские аллеи – в генах липидного катаболизма



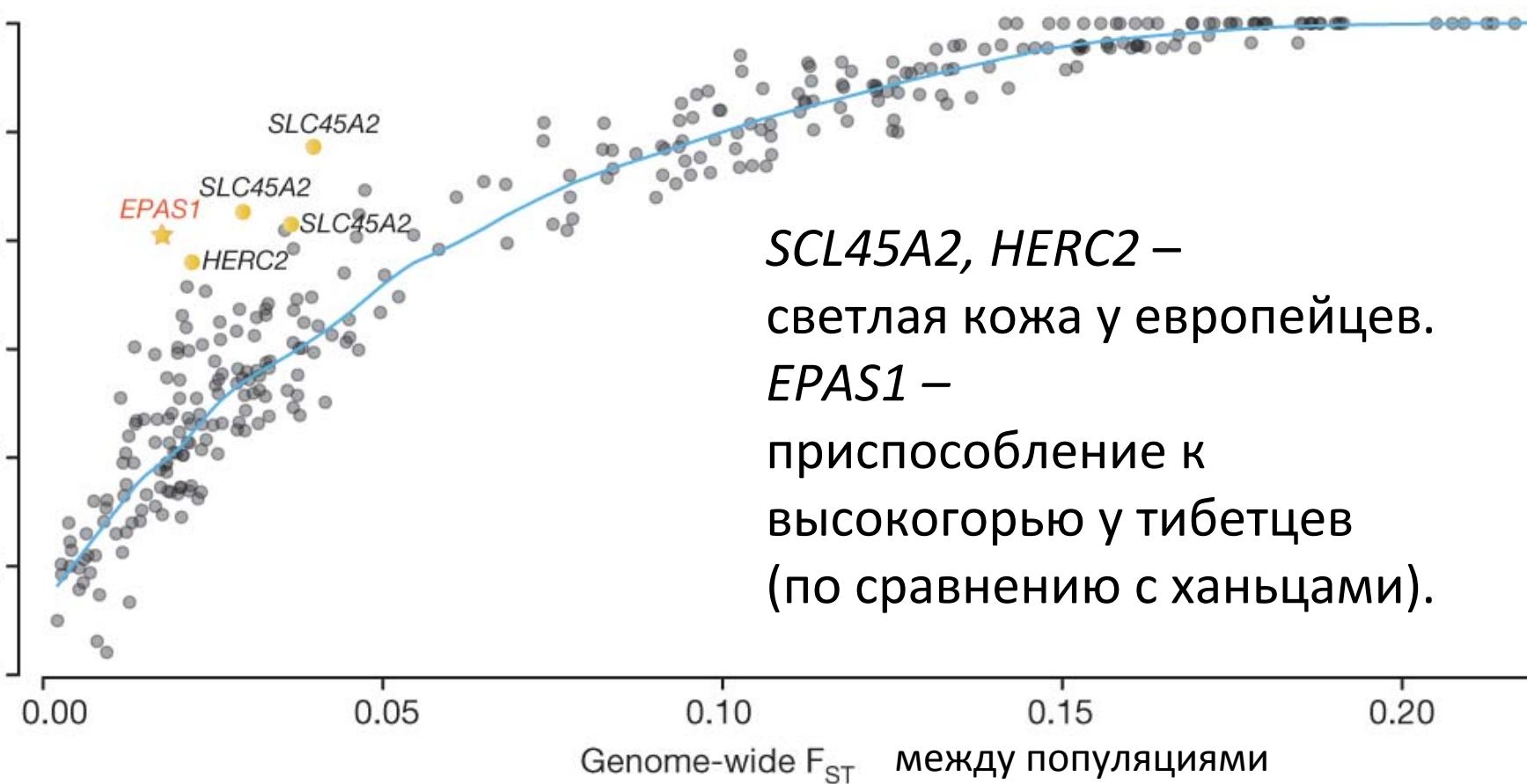


Приспособление к высокогорью у тибетцев

Genome-wide F_{ST} versus maximal allele frequency difference

Междур аллелями

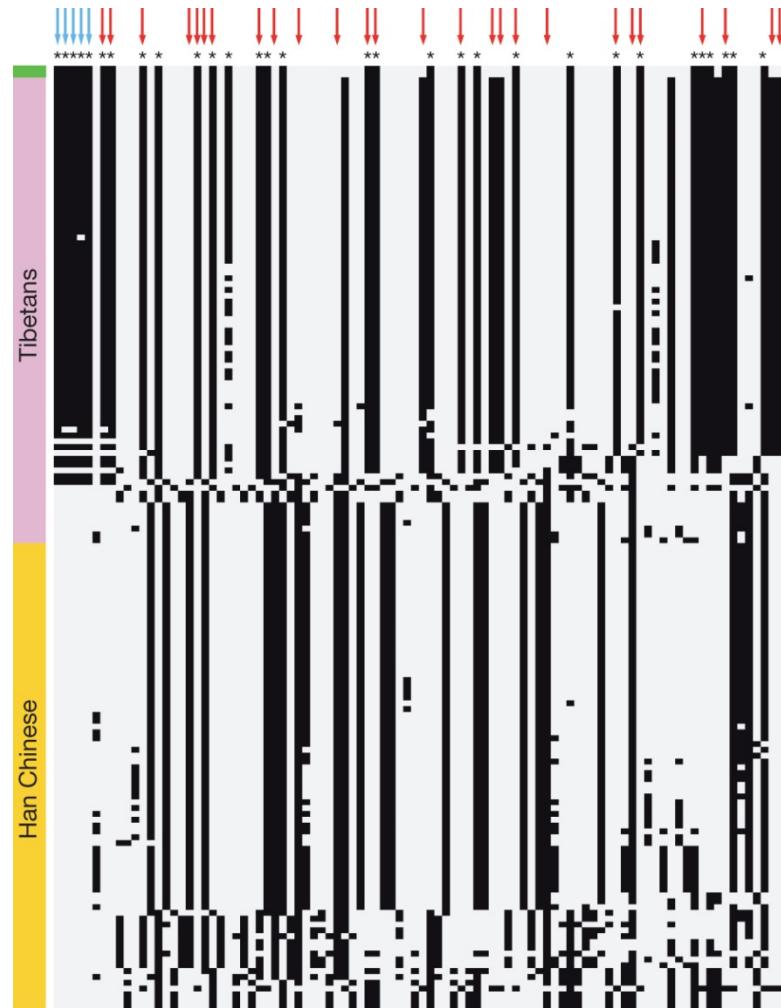
Maximum frequency difference



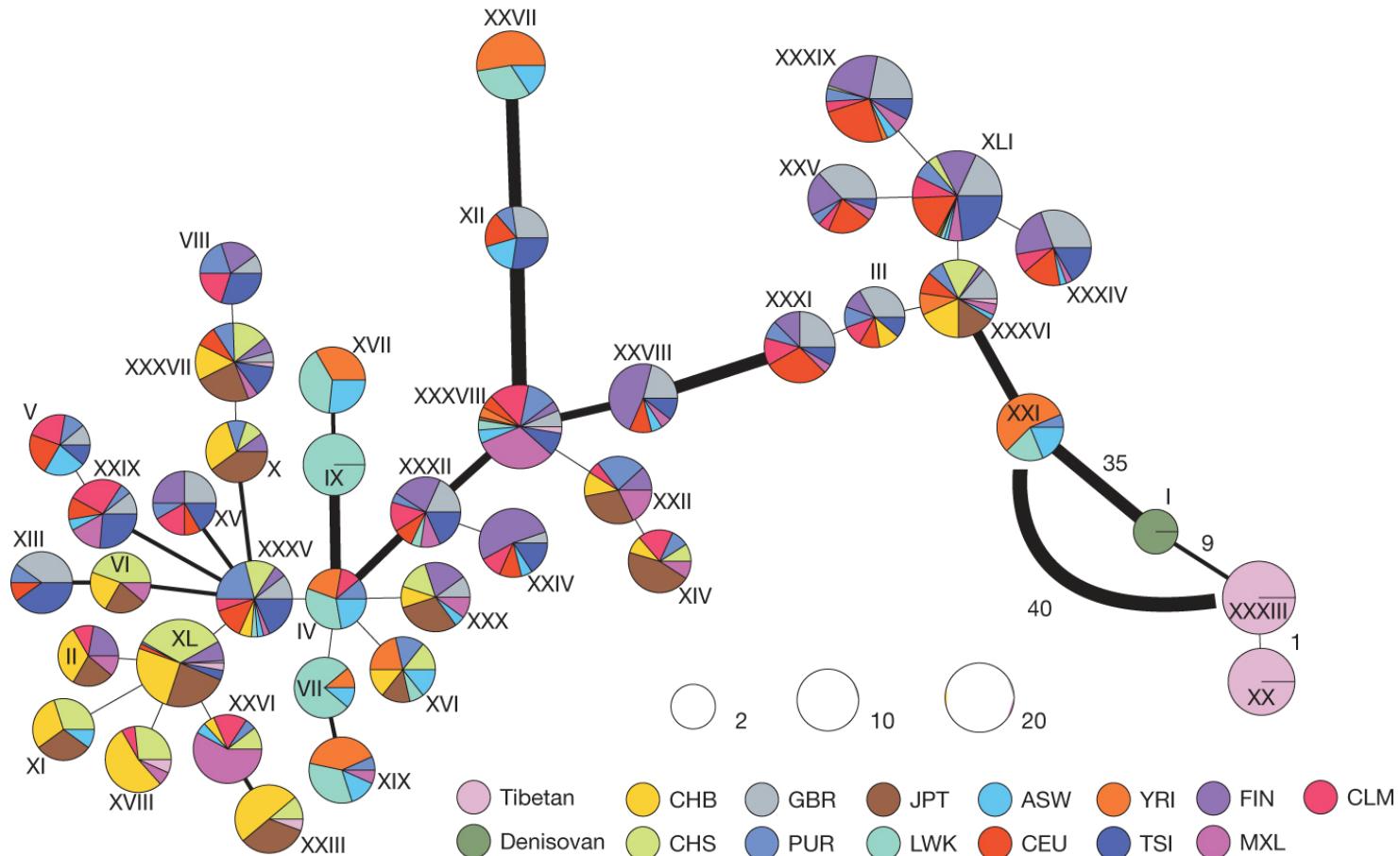


Денисовский фрагмент в тибетских геномах

Haplotype pattern in a region defined by SNPs that are at high frequency in Tibetans and at low frequency in Han Chinese



A haplotype network based on the number of pairwise differences between the 40 most common haplotypes



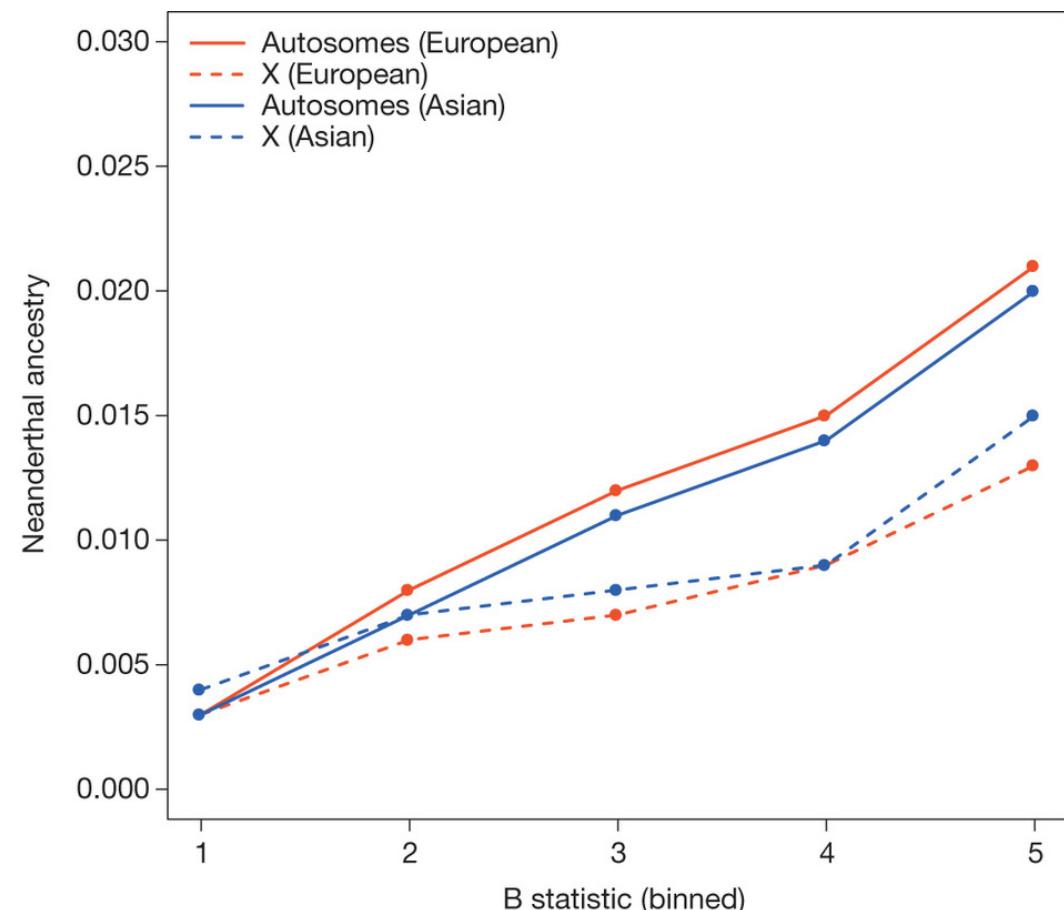


Пустыни (10Мб, <0.1% Н)

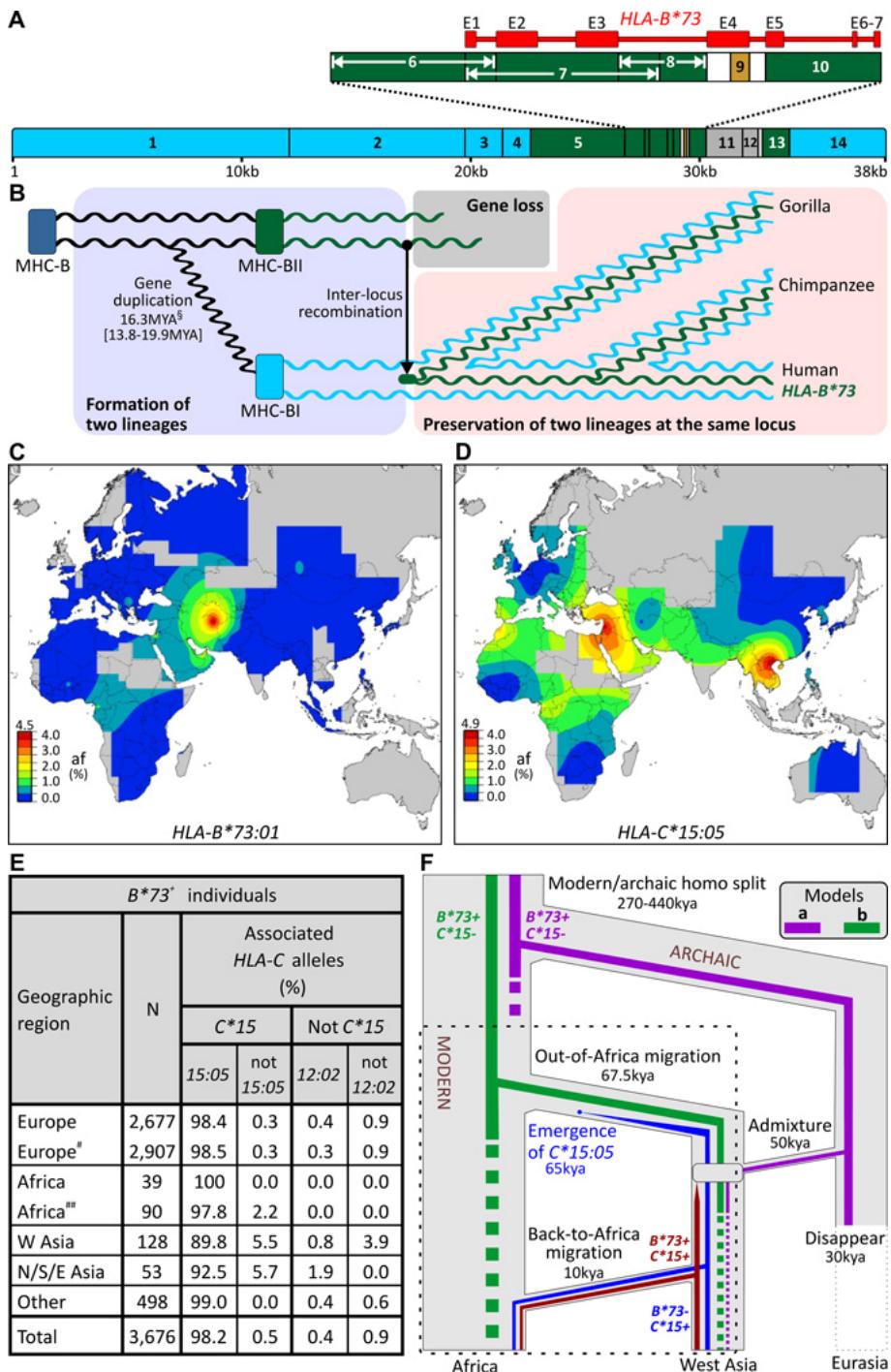
- 4 у европейцев, 14 у азиатов
- Обогащены функциональными элементами (по В-статистике, McVicker et al., 2009)
- Их много на X-хромосоме (reduced male fertility / male hybrid sterility?)
 - И действительно, в пустынях много генов, специфично экспрессирующихся в семенниках

Наоборот, локусы генов кератиновых филаментов обогащены неандертальскими аллелями.

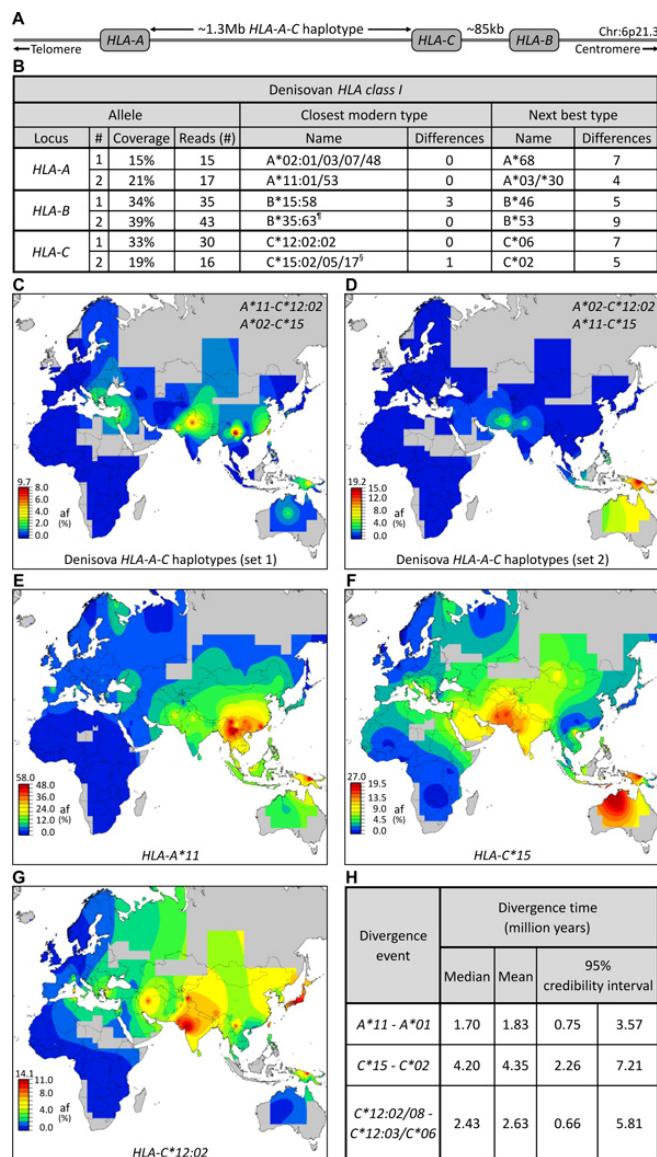
Некоторые неандертальские аллели определяют предрасположенность к болезням



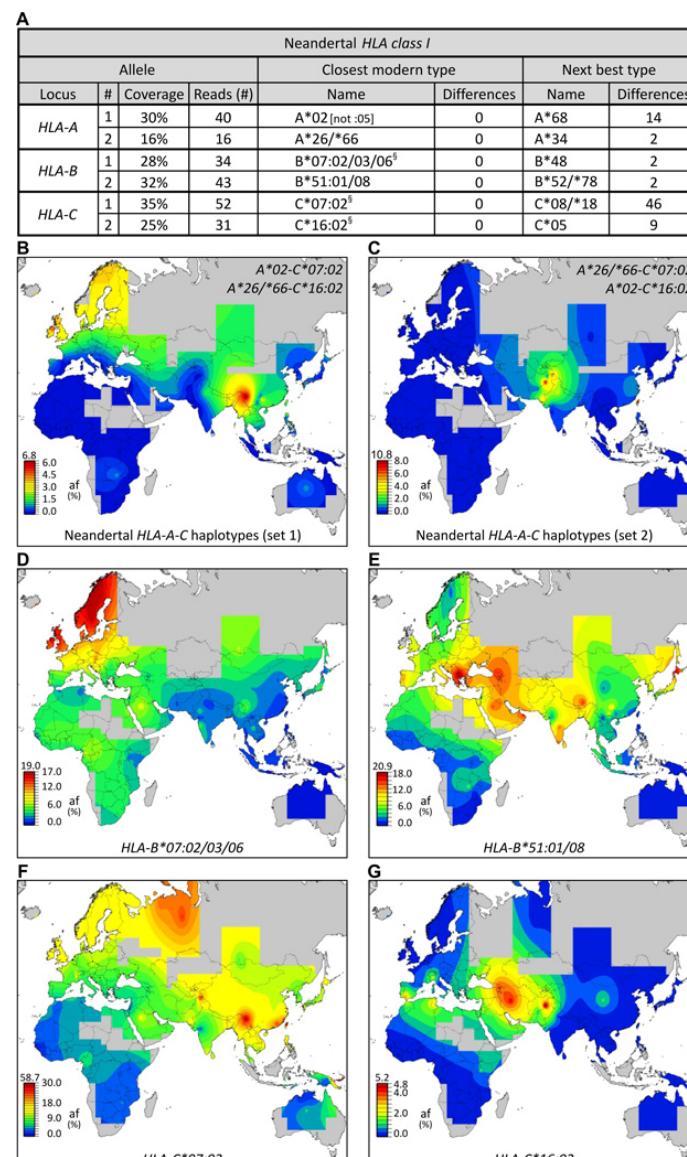
Иммунная система – HLA class I. Аллель *HLA-B*73* пришел от денисовцев (в Западной Азии)



Денисовские аллели в Океании и Австралии



Неандертальские аллели в Евразии



Что ещё мы про них знаем

- Неандертальцы:
 - Светлая кожа, рыжие волосы, светлые глаза (рецептор меланокортина *MCR1*) (Lalueza-Fox et al., *Science*, 2007)
 - Чувствовали горький вкус / тиофенилкарбамид (Эль Сидрон – PAV/AVI гетерозиготность по рецептору *TAS2R38*) (Lalueza-Fox et al., *Biol. Lett.*, 2009)
 - Однако потеря (как и у нас) рецепторов *TAS2R62* и *TAS2R64* (Perry et al., *J. Hum. Evol.*, 2015)
 - Группа крови 0 (Lalueza-Fox et al., *BMC Evol. Biol.*, 2008)
 - Патрилокальность (Эль Сидрон) (Lalueza-Fox et al., *PNAS*, 2011)
- Денисовцы
 - Темная кожа, коричневые волосы
- Денисовцы и неандертальцы
 - Нет дупликации амилазы (Perry et al., *J. Hum. Evol.*, 2015)
 - LEPR – адаптация к холоду (бурый жир); не та мутация, что у азиатов (Sazzini et al., *Heredity*, 2014)

Что (ещё) у нас от них

- STAT2 / врожденный иммунитет (5% в Евразии, 54% в Меланезии – и от неандертальцев / 80 т.л., и от денисовцев – от кого-то более раннего?) (Mendez et al., Am. J. Hum. Genet., 2012)
- Кластер OAS (185 Кб, 125 т.л. от неандертальцев; 7 Кб в Меланезии – от денисовцев) (Mendez et al., MBE, 2012, 2013)
- Инtron в гене дистрофина *dys44*, X-хромосома (Yotova et al., MBE, 2011)
- Потеря функции *MC1R*, цвет кожи – 5% у европейцев, 30% у азиатов, 60-70% у тайваньцев (Ding et al., MBE, 2014a)
- *HYAL2*, чувствительность к ультрафиолету – 50-65% у азиатов (Ding et al., MBE, 2014b)
- *SLC16A11*, фактор риска, диабет 2 типа (SIGMA, Nature, 2014)

Что у нас особенного: *FOXP2*

Фактор транскрипции, мутации влияют на развитие речи

• Neandertals share with modern humans two evolutionary changes in *FOXP2*. In Neandertals, these changes lie on the common modern human haplotype, which previously was shown to have been subject to a selective sweep.

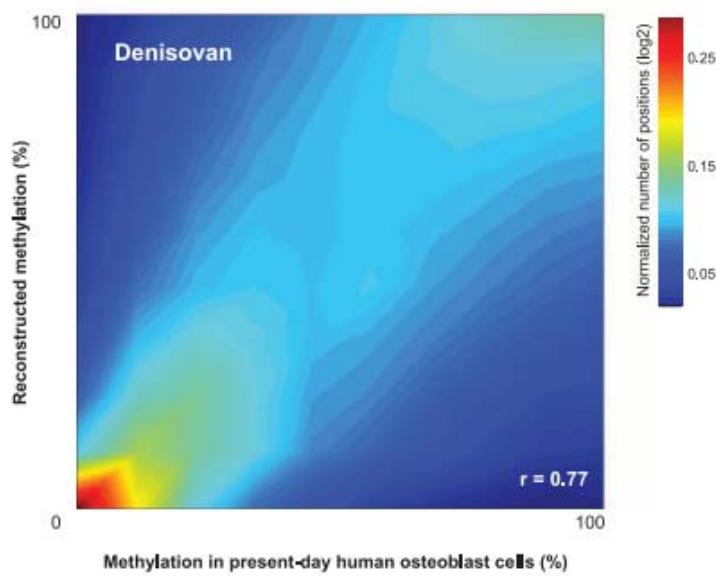
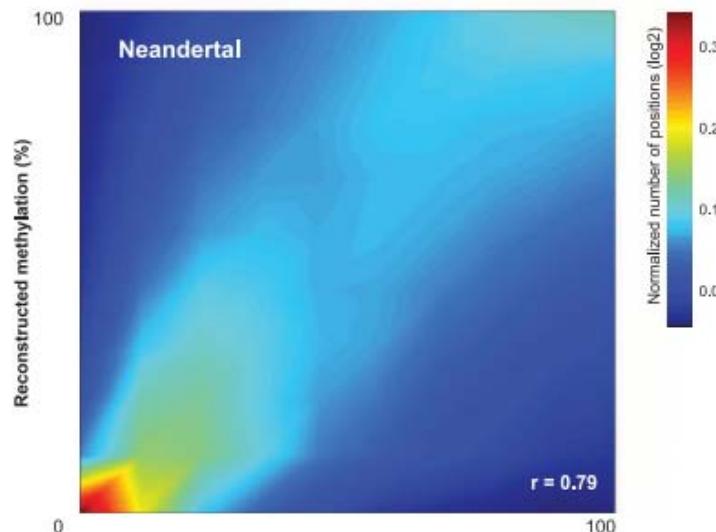
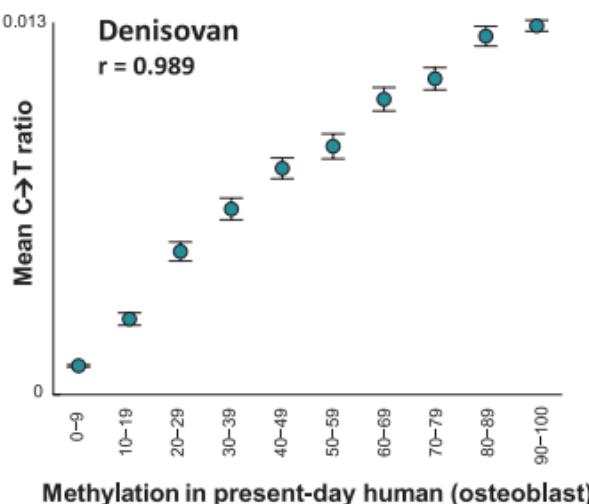
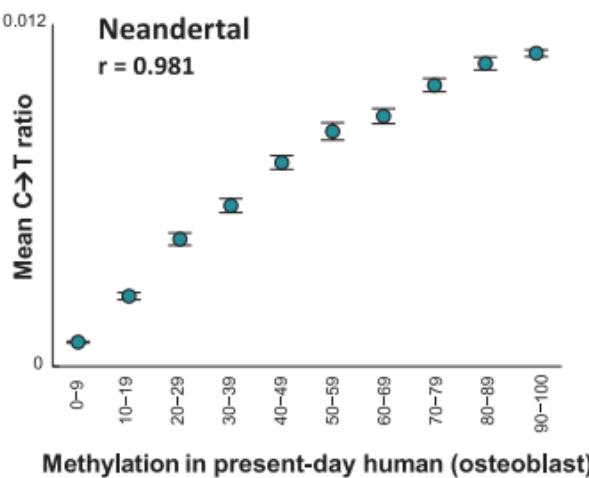
- (Krause et al., Curr. Biol., 2007)
- У кроманьонцев: substitution in intron 8 that affects a binding site for the transcription factor POU3F2, which is highly conserved among vertebrates. The derived allele of this site is less efficient than the ancestral allele in activating transcription from a reporter construct.
- (Maricic et al., MBE, 2012)

• В большой области, где лежит *FOXP2*, избегаются неандертальские аллели

- (Vernot & Akey, Science, 2014)
- “Neanderthals did speak, but *FOXP2* doesn't prove it”
- (Johansson, Behav. Brain Sci., 2013)

Метилирование

C → U, removed. mC → T, retained



Дифференциальное метилирование. HOXD

