

Evolucija kompleksa gena tkivne podudarnosti: model nastanka i nestanka gena

Bašić, Mila

Undergraduate thesis / Završni rad

2011

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/um:nbn:hr:217:459127>

Rights / Prava: [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Zavod za molekularnu biologiju

SEMINARSKI RAD

Evolucija kompleksa gena tkivne podudarnosti: model nastanka i nestanka gena

Evolution of the major histocompatibility complex: birth-and-death evolution model

Mila Bašić

Mentor:

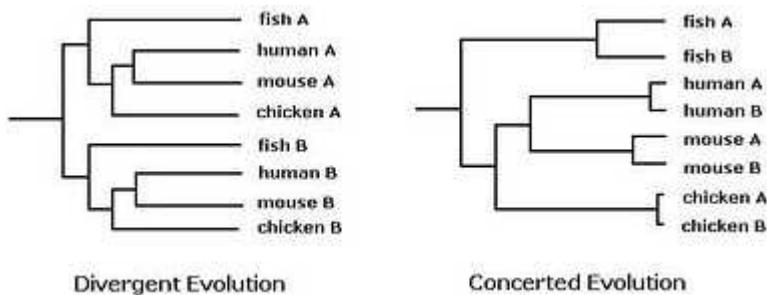
doc. dr. sc. Ana Galov

Zagreb, srpanj 2011.

1. UVOD

Multigenske porodice su one iji lanovi potje u od zajedni kog pretka, a imaju istu ili sli nu funkciju i DNA slijed. Do 1970. godine smatralo se da lanovi multigenske porodice evoluiraju na na in da se geni dupliciraju i zatim evoluiraju neovisno jedan o drugom i tako stje u nove funkcije. Svaki od dupliciranih gena ima zasebnu filogeniju, ali su one sli ne (slike 1 i 2). Taj model je nastao na temelju prouavanja , , i lanaca hemoglobina i mioglobin. Nazvan je modelom divergentne evolucije.

Oko 1970. godine, proučavajući ponavljači geni koji kodiraju rRNA roda *Xenopus* uočeno je da su nukleotidni sljedovi intergenskih regija slični unutar jedne vrste nego između dviju srodrune vrste. To nije bilo moguće objasniti pomoću dotadašnjeg modela. Uveden je novi model evolucije multigenskih porodica koji uzrok sličnosti nalazi u usklađenosti evolucije gena (Liao 1999). Zato geni nemaju dvije nezavisne filogenije i slični su unutar vrste, u usporedbi s srodnim istim porodicama gena u drugim vrstama (slike 1 i 2). Taj model nazvan je modelom usklađene evolucije (engl. *concerted evolution*) (Nei i sur. 2005). Primjer za evoluciju gena prema tom modelu je evolucija rRNA ili snRNA gena (Nei i sur. 2005).

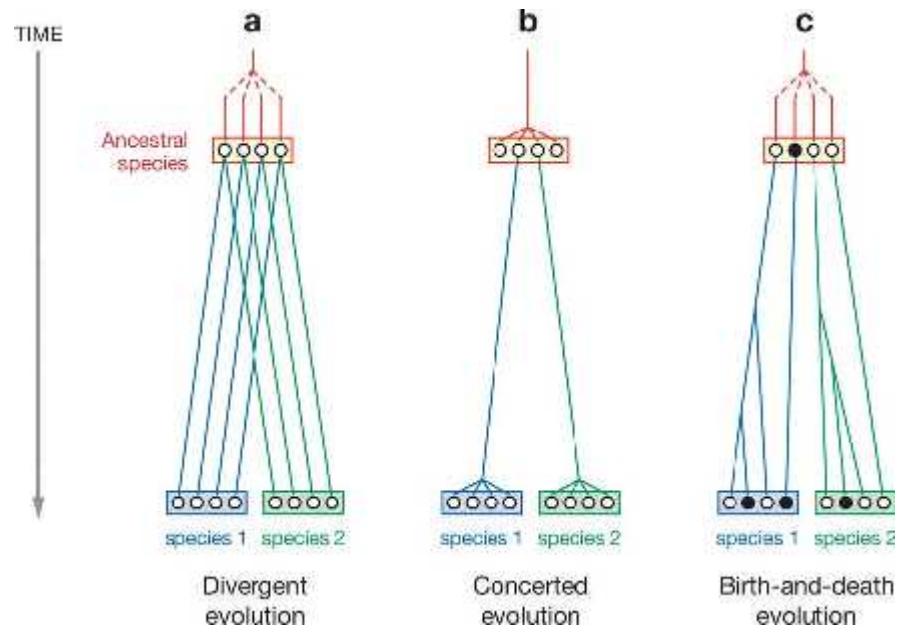


Slika 1. Prikaz filogenije prema divergentnom modelu i prema modelu usklađene evolucije

(preuzeto s <http://sandwalk.blogspot.com/2007/01/evolution-of-gene-families.html>)

Nakon uvo enja tog modela, kako je otkriveno sve više multigenskih porodica ija je evolucija pratila upravo taj model, primijenjen je i na prou avanje evolucije gena koji

kodiraju MHC molekule. Međutim, kod evolucije tih gena, taj model nije generalno primjenjiv. Javila se potreba za uvođenjem novog modela koji je kombinacija modela divergentne evolucije i usklađene evolucije. Nazvan je modelom nastanka i nestanka gena (engl. *birth-and-death*) (slika 2). Novi geni posljedica su duplikacija i kao takvi nalikuju jedan na drugog, kao i u modelu usklađene evolucije. Neki od tih gena se 'sačuvaju', odnosno nastane novi gen, a neki se deletiraju ili inaktiviraju delecijskim mutacijama, odnosno gen 'nestane'. Stoga je broj gena u porodici ostati isti. Delecije i inaktivacije gena objašnjavaju zašto se neki geni prisutni u pretku ne pojavljuju u vrstama koje su evoluirale iz tog pretka, a neki od 'sačuvanih' gena su mnogo sličniji nego što se očekuje prema modelu usklađene evolucije (Nei i sur. 1997). I danas postoje polemike oko toga koji model je ispravan - usklađene evolucije ili nastanka i nestanka gena.



Slika 2. Tri različita modela evolucije gena multigenskih porodica, bijeli krugovi predstavljaju funkcionalne gene, a crni pseudogene (Nei i sur. 2005).

2. KOMPLEKS GENA TKIVNE PODUDARNOSTI KOD OVJEKA- HLA (engl. *human leukocyte antigen*)

2.1. Uloga MHC molekula

Osnovna komponenta humoralne imunosti su protutijela koja pružaju zaštitu preko izvanstani nih teku ina. Međutim, što je s antigenima koji se nalaze unutar stanica? Za takvu zaštitu odgovorna je stanicama posredovana imunost i ja su osnovna komponenta limfociti T koji preko svojih receptora (TCR, engl. *T cell receptors*) prepoznaju peptidne fragmente antiga. Ti peptidni fragmenti antiga vezani su preko posebnih antigen predno nih molekula, nazvanih MHC molekule, koje su izražene na površini antigen predno nih stanica (APC, engl. *antigen presenting cells*). Limfociti T, odnosno TCR, prepoznaju te peptidne fragmente samo ako su vezani na MHC molekule na površini APC iako dođe do bliske međustanične interakcije (Male i sur. 2003).

2.2. Podjela

Postoje dvije vrste MHC molekula, to su MHC molekule skupine I (skraćeno MHC-I) i MHC molekule skupine II (skraćeno MHC-II) (Male i sur. 2003). MHC molekule su antigen predno ne molekule koje vežu kratke peptidne fragmente antiga. Peptidni fragmenti koje vežu MHC-I nastali su djelovanjem proteaza u citosolu. Prijenos fragmenata iz citosola u lumen endoplazmatske mrežice vrše prijenosni proteini. U lumenu se uz pomoć nekoliko proteina formirati MHC-I-antigenski kompleks. Kompleks se u slučaju prisutnosti antiga biti prenesen na površinu stanice ne membrane Golgijskim sklopolom.

MHC-II, s druge strane, prezentiraju peptidne fragmente nastale djelovanjem vezikularnih proteaza. Spajanjem vezikula koje nose MHC-II i endosoma, koji sadrže fragmentirane peptide antiga, formira se MHC-II-antigenski kompleks. Spajanje se takođe događa u lumenu endoplazmatske mrežice (Andreiss i sur. 2004).

Duljine fragmenata antiga koje predno uđu kroz se od osam do deset aminokiselina za MHC-I i 13-24 aminokiselina za MHC-II. Vezno mjesto MHC-II molekula otvorenije je

od veznog mesta MHC-I molekula što je uzrok sposobnosti vezanja duljih fragmenata (Male i sur. 2003).

2.3. Gra a

MHC-I gra ene su od teškog glikoziliranog lanca (45 kDa) nekovalentno povezanog s α_2 -mikrotubulinom (α_2 m), tako er polipeptidnim lancem (12 kDa). Teški glikozilirani lanac sastoje se od 3 ekstracelularne domene (α_1 , α_2 , α_3 , svaka po ~90 aminokiselina), transmembranske domene (~25 aminokiselina) i citoplazmatskog repa (30-40 aminokiselina) (slika 3). Tri izvanstani ne domene su te koje su glikozilirane. Tre a domena, α_3 , nekovalentno povezuje teški lanac s α_2 m. α_1 i α_2 domene teškog lanca tvore antigen-vežu e mjesto; platformu 8 antiparalelnih lanaca koje podupiru dva heliksa. Aminokiseline koje tvore antigen-vežu e mjesto uzrok su visoke polimorfnosti (visoke strukturne raznolikosti) i velikih razlika u obliku utora na koji se antigen veže (Male i sur. 2003).

MHC-II gra ene su od teškog lanca (30-34 aminokiselina) i lakog (26-29 aminokiselina) lanca koji su nekovalentno vezani. Razlika u molekularnoj masi proizlazi iz razli ite glikoziliranosti. β_1 , β_2 i β_1 su N-glikozilirani, dok β_2 domena nije. Izvanstani na regija sastoji se od dvije domene (β_1 i β_2 kod lanca, te β_1 i β_2 kod lanca) na koje se nadovezuju transmembranska (~30 aminokiselina) i citoplazmatska regija (10-15 aminokiselina), sli no kao i kod molekula skupine I (Male i sur. 2003) (slika 3).

Strukturno gledaju i gra u MHC-I i MHC-II, uo ava se sli nost u gra i β_3 domene MHC-I i β_2 i β_2 domena MHC-II koje sve skupa strukturno nalikuju konstantnoj regiji imunoglobulina. Gledaju i cjelokupnu trodimenzionalnu strukturu, MHC-I i MHC-II su dosta sli ne (Male i sur. 2003).

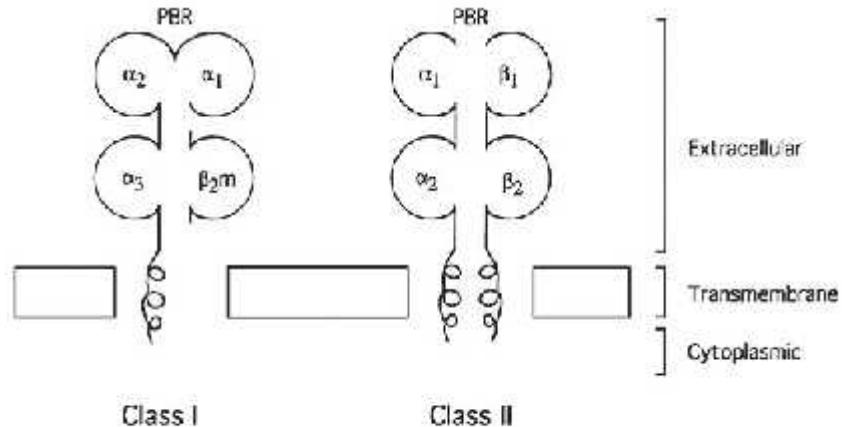


Figure 7. Schematic presentation of the structure of MHC class I and class II molecules. PBR = peptide-binding region. (Reprinted, with permission, from the Annual Review of Genetics, Vol. 29 ©1998 by Annual Reviews; www.annualreviews.org).

Slika 3. Prikaz građe MHC molekula (preuzeto s http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2006/vol4-5/gmr0218_full_text.htm)

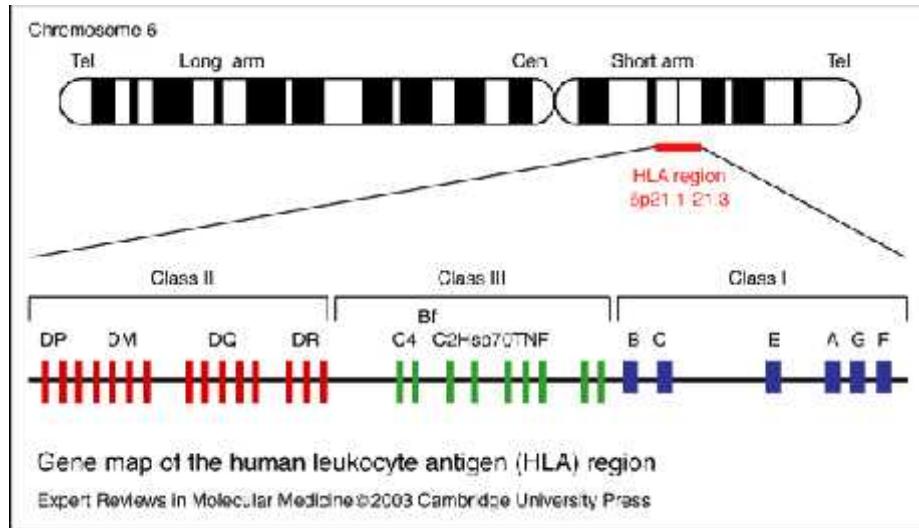
2.4. Genski lokusi

HLA zauzima dio kromosoma 6, segment od ~4,000 kilobaza (kb) koje predstavljaju 84 gena, od kojih ~15 kodira MHC-I, ~19 kodira MHC-II (Klein i sur. 1993) (slika 4).

Geni koji kodiraju MHC-I skupljeni su u klaster i zauzimaju regiju dugu ~2,000 kb, dok geni koji kodiraju MHC-II, koji su takođe skupljeni u klaster, zauzimaju nešto krađu u regiju dugu ~1,000 kb. Postoji i regija od ~1,000 kb koja se nalazi između regija koje kodiraju MHC-I i MHC-II i zbog toga se naziva MHC-III (Klein i sur. 1993).

Glavna tri genska lokusa MHC-I su I lokusi: HLA-A, HLA-B i HLA-C, pri čemu svaki kodira teški lanac klase I MHC-I (Male i sur. 2003), dok je β₂-mikrotubulin (β_{2m}) kodiran genom koji se nalazi izvan MHC regije (Nei i sur. 1997).

Geni koji kodiraju MHC-II (najmanje 6 lanaca i 10 lanaca) nalaze se u regiji HLA-D, a glavna tri genska lokusa su slijedeća: DP, DR i DQ, koji kodiraju barem jedan i barem jedan lanac (Male i sur. 2003).



Slika 4. Raspoloženi HLA genskih lokusa (preuzeto s

http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM5_07/S1462399403005957sup002.htm)

2.5. Polimorfizam

Jedno od glavnih obilježja MHC molekula jest izrazito visok stupanj polimorfizma. Unutar odreene MHC molekule, bilo skupine I ili II, polimorfizam je ograničen na odreene regije. Kod MHC-I to su tri regije α_1 i α_2 domene. α_2 domena je, čini se, više konzervirana. Kod MHC-II polimorfizam ovisi o podregiji i polipeptidnom lancu.

Većina polimorfnih aminokiselina, kod obje skupine molekula, ograničene su na vrh molekula oko antigen-vežućeg mesta, tako da polimorfizam utječe na sposobnost MHC molekula da vežu različite peptidne fragmente različitih antigena i proširuje spektar antigenskih fragmenta koje mogu prezentirati (Male i sur. 2003).

3. EVOLUCIJA GENA MULTIGENSKIH PORODICA

3.1. Uskla ena evolucija

Iznena uju e veliku frakciju genoma zauzimaju repetitivne sekvence. One su ve inom nekodiraju e regije, a manjim dijelom kodiraju e. Neovisno o svojstvu kodiranja pokazuju zajedni ko, neo ekivano svojstvo da evoluiraju uskla eno, stoga nije neo ekivano da je i evolucija MHC molekula prou avana na tom modelu evolucije (Liao 1999). Prepostavlja se da su uzrok evolucije spontane mutacije koje se dogode u jednom genu, ali se prenesu na sve gene porodice tako da geni i dalje evoluiraju uskla eno. Glavni mehanizmi uskla ene evolucije su nejednoliki krosingoveri ili genska konverzija. Genska konverzija je vrsta nerecipro ne rekombinacije u kojoj se segment gena kopira, 'obrati' u drugi, a molekularni mehanizam do danas nije razjašnjen. I nejednoliki krosingover i genska konverzija imaju sli ni efekt. Jedina je razlika što nejednoliki krosingover ima za posljedicu pove anje ili smanjenje broja gena, dok genska konverzija ne. Brojni su problemi vezani uz ovaj model evolucije kod gena MHC molekula. Mala je vjerojatnost da se genska konverzija doga a izme u dva diferencirana lokusa u to no odre eno vrijeme u evoluciji. (Nei i sur. 2005). Tako er, kada bi geni evoluirali modelom uskla ene evolucije, o ekivali bi da aleli svakog polimorfnog lokusa ne tvore nužno monofletski klaster u filogeneti kom stablu, što isto nije slu aj (Nei i sur. 2005). Nije iznena uju e, stoga, što se pojavio drugi model koji objašnjava evoluciju gena ove multigenske porodice. Iako nisu sporne pojave krosingovera i genske konverzije, ono što je sporno jest njihova u stalost i utjecaj na evoluciju gena koji kodiraju MHC molekule. Ipak, postoje i danas autori koji zagovaraju ovaj model evolucije (Nei i sur. 2005).

3.2. Model nastanka i nestanka gena

Jedna od prvih zamjerki teoriji uskla ene evolucije bila je što neki geni unutar multigenske porodice nisu nužno sli niji genima unutar iste vrste, nego nalikuju genima drugih vrsta. Neki autori zato smatraju da je evolucija multigenske porodice MHC molekula tekla prema modelu nastanka i nestanka gena prema kojem su novi nastanu duplikacijama, a dio njih 'nestane', bilo inaktivacijom ili delecijom. (Nei i sur. 1997). 'Nestanak' gena može biti nasumi an, a može

biti i posljedica selekcije. Taj model objašnjava zašto nekih gena nema u nekim vrsta koje potje u od istog zajedni kog pretka, a oni prisutni, 'sa uvani', su mnogo sli niji nego što se o ekuje prema modelu uskla ene evolucije. Sve u estalija otkrivanja sljedova DNA u razli itim vrstama omogu ila su brojne filogeneti ke analize. One su, primjerice, vršene nad ljudskim genomom, ali i onim gorila, impanzi itd. Filogeneti ke analize pokazale su da je evolucijski obrazac razli it od onog koji bi bio o ekivan modelom uskla ene evolucije; razli ite porodice ili rodovi sisavaca nemaju 'prave' ortologne gene. Ortogni geni su homologni geni u razli itim vrstama koji su donekle sli ni jer potje u iz posljednjeg zajedni kog pretka (Nei i sur. 2005). Nakon razdvajanja dvije nove vrste iz posljednjeg zajedni kog pretka, imale su razli itu evoluciju, što je uzrok razli itosti u slijedu DNA. Jedino logi no objašnjenje za tu pojavu jest nastanak odnosno nestanak gena koji su odlike ovog modela. On ujedno objašnjava i visoki postotak inaktiviranih gena, pseudogena, u itavoj MHC regiji (Nei i sur. 2005). Za visok stupanj polimorfnosti ponu eno je drugo objašnjenje – hipoteza heterozigotne prednosti. Selekcija vrši se nad antigen-vežu em mjestu MHC molekula, što je alternativa teoriji da je za to zasluzna genska konverzija. Na elo hipoteze heterozigotne prednosti jest da su heterozigoti višeg fitnesa od homozigota. U ovom slu aju, heterozigoti e biti sposobni obraniti se od dvije razli ite vrste patogena, a homozigoti samo od jedne. Zato e heterozigoti imati viši stupanj preživljjenja - viši fitnes (Nei i sur. 2005). Ipak, ta saznanja ne isklju uju mogu nost uklju enosti genske konverzije ili nejednolikog krosingovera u evoluciji gena MHC molekula, ali ini se da je taj doprinos zanemarivo mali. Nisu geni koji kodiraju MHC molekule jedini koji pokazuju ovaj obrazac evolucije. U tu skupinu ubrajamo i ostale imunoglobulinske gene i njima srodne gene, gene olfaktornih receptora, gene feromonskih receptora i gene zaslužne za sintezu feromona (Nei i sur. 2005).

4. ZAKLJUČAK

Studije o evoluciji gena koji kodiraju MHC molekule uglavnom se svode na razmatranje dva modela evolucije: model usklađene evolucije i model nastanka i nestanka gena. Iako postoje dokazi koji idu u prilog oba modela, model nastanka i nestanka gena bolje odgovara obrascu evolucije gena koji kodiraju MHC molekule. Iako je mehanizam modela usklađene evolucije, nejednoliki krosingover i genska konverzija, dokazan, ne postoje dokazi da su ti događaji značajni u evoluciji gena koji kodiraju MHC molekule kao takvih, odnosno, njihov doprinos je zanemarivo mali. Istraživanja su pokazala da je model nastanka i nestanka gena vjerojatniji, tj. bolje odgovara obrascu evolucije, što je dokazano sve više im filogenetičkim analizama koje se vrše nad brojnim vrstama.

Ipak, i danas postoje autori koji zagovaraju teoriju usklađene evolucije. Za razrješenje ove polemike važno je napraviti jednoznačnu studiju evolucijskih modela gena imunološkog sustava. Sredom, kolika ina podataka o DNA sekvencama svakodnevno raste, uglavnom zbog projekata sekvenciranja genoma koje se provodi nad različitim organizmima. Sigurno je da će s novim saznanjima, s više sekvenciranih regija iz različitih vrsta biti lakše dokući kako je tekla evolucija gena koji kodiraju MHC molekule, ali i ostalih gena multigeničkih porodica u genomu.

5. LITERATURA

1. Igor Andreiss, Drago Batini , Filip ulo, Danka Gr evi , Matko Maruši , Milan Taradi, Dora Višnji , 2004. Imunologija. Šesto izdanje. Medicinska naklada, Zagreb.
2. Etienne Joly, 2006. Various hypotheses on MHC evolution suggested by the concerted evolution of CD94L and MHC class Ia molecules, *Biology direct.* **1**:3.
3. Jan Klein, Colm O'hUigin, Felipe Figueroa, Werner E. Mayer, and Dagmar Klein, 1993. Different Modes of Mhc Evolution in Primates. *Mol. Biol. Evol.* **12**, 48-59.
4. Daiqing Liao, 1999. Concerted Evolution: Molecular Mechanism and Biological Implications. *Am. J. Hum. Genet.* **64**, 24-30.
5. David Male, Jonathan Brostoff, David Roth, and Ivan Roitt 2003. Immunology. 7th edition. Alden Group, Oxford.
6. Masatoshi Nei and Alejandro P. Rooney, 2005. Concerted and Birth-and Death Evolution of Multigene Families. *Annu Rev Genet.* **39**, 121-152.
7. Masatoshi Nei, Xun Gu, and Tatyana Sitnikova, 1997. Evolution by the birth-and-death process in multigene families of the vertebrate immune system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 7799-7806.
8.
http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM5_07/S1462399403005957sup002.htm
9. http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2006/vol4-5/gmr0218_full_text.htm
10. <http://sandwalk.blogspot.com/2007/01/evolution-of-gene-families.html>

6. SAŽETAK

MHC molekule važna su komponenta imunosti. Njihova uloga jest predo avanje fragmenata antigena limfocitima T. Geni koji kodiraju MHC molekule lanovi su multigenske porodice. To zna i da imaju zajedni ko porijeklo i sli nog su DNA slijeda. MHC regija podijeljena je na tri regije, regiju koja kodira MHC molekule skupine I, regiju koja kodira MHC molekule skupine II, a izme u se nalazi tzv. MHC regija III. Evolucija gena multigenskih porodica, kao što su porodica rRNA gena, histona, imunoglobulinska porodica, porodica MHC molekula, prou avana je ve dugi niz godina, pa su se tako javili razli iti modeli koji objašnjavaju njihovu evoluciju. Neko se vrijeme smatralo da su geni koji kodiraju MHC molekule evoluirali prema modelu uskla ene evolucije. Prema tom modelu uzrok evolucije su spontane mutacije koje se kopiraju i šire po porodici gena nizom uzastopnih nejednolikih krosingovera ili genskom konverzijom. Iako prisutnost tih pojave nije upitna, nema dokaza da su ti doga aji dovoljno u estali i važni da su uzrok evolucije itave porodice. Geni koji kodiraju MHC molekule, ini se, evoluirali su prema modelu nastanka i nestanka gena gdje geni nastaju duplikacijama. Neki se geni 'sa uvaju', a neki se deletiraju ili inaktiviraju, odnosno nestanu. Filogeneti ke analize, koje se danas vrše zahvaljuju i sve ve em broju sekvenciranih sljedova DNA u razli itim vrstama, potvr uju upravo taj obrazac evolucije. Dalnjim sekvenciranjem gena koje kodiraju MHC molekule u što više razli itih vrsta može se dobiti potpunija slika evolucije tih gena, ali i gena multigenskih porodica op enito.

7. SUMMARY

The MHC molecules are important part od immunity. Their function is presenting peptide fragments of antigens to T-cells. Genes coding for the MHC are a part of the multigene family. This means that they are of the same origin and have a similar DNA sequence. MHC region is divided in three regions, one that codes for MHC-I, second that codes for MHC-II and the third one, MHC-III, which is positioned between the first two regions. Evolution of multigene families, like the rRNA genes, histone genes, immunoglobulin gene family, MHC gene family, has been studied for a long time, consequently different models explaining their evolution appeared. For a certain time, it was believed that the evolution of the MHC followed a pattern called concerted evolution. According to this model, the cause of evolution are spontaneous mutations arising in a repeat unit and are then spread rapidly throughout the multigene family by unequal crossing-over or gene conversion. Although these occurrences are not questionable, there is no evidence that they are occurring often enough or even important enough to have a role in gene evolution of the entire multigene family. The MHC genes apparently evolved following birth-and-death evolution, where new genes are created by gene duplication. While some genes are maintained for a long time, others are deleted or become nonfunctional by deleterious mutations. Phylogenetic analyses, which are run thanks to an increasing number of identified DNA sequences in different species, confirm this model od evolution. Continued application of phylogenetic analysis produces not only a broader picture of evolution of these genes, but also evolution of multigene families in general.