

Justyna HERDA

Sekcja Filozofii Przyrody KUL
LublinTEORIA EWOLUCJI MOLEKULARNEJ W UJĘCIU
MOTOO KIMURY

WPROWADZENIE

Teoria ewolucji biologicznej niesie wiele problemów, które wywołują żywe zainteresowanie zarówno przyrodników, jak i filozofów. Koncepcja Darwina była pierwszą naukową propozycją, która przedstawiała mechanizmy procesu przemian ewolucyjnych. Nie uniknęła ona jednak pewnych niejasności i trudności, których nie była w stanie rozwiązać. W związku z pojawiającymi się trudnościami interpretacyjnymi powstawały kolejne ujęcia procesu ewolucji. Miał na to także ogromny wpływ rozwój nowych dyscyplin biologicznych, takich jak: genetyka, paleontologia, biologia molekularna.

Jedną z interesujących filozoficznie propozycji stanowi koncepcja mutacji neutralnych, wysunięta pod koniec lat 60. przez japońskiego ewolucjonistę Motoo Kimurę¹. Autor neutralistycznej teorii ewolucji molekularnej urodził się w Okazaki. Zmarł 13 listopada 1994 roku w dniu swoich 70. urodzin². Po ukończeniu studiów z zakresu cytogenetyki, Kimura podjął tematykę matematycznej strony genetyki

*UWAGA: Tekst został zrekonstruowany przy pomocy środków automatycznych; możliwe są więc pewne błędy, których sygnalizacja jest mile widziana (obi@opoka.org). Tekst elektroniczny posiada odrębną numerację stron.

¹M.R. Dietrich, *The origins of the neutral theory of molecular evolution*, Journal of the History of Biology 27 (1994), ss. 21-59.

²M. Nei, *Motoo Kimura (1924-1994)*, Molecular Biology and Evolution 12 (1995), ss. 719-722.

populacyjnej. W 1949 roku zdobył zatrudnienie w Narodowym Instytucie Genetyki w Mishima, gdzie najpierw zajął się zagadnieniami stochastycznej teorii genetyki populacyjnej³. Zaangażował się w debatę między A. Fisherem i S. Wrightem, wyjaśniając relację między skutkami działania dryfu genetycznego i doboru naturalnego. Napisał na ten temat artykuł, który został opublikowany w 1954 roku w *Genetics*⁴. Szybko stał się on światowym liderem w dziedzinie matematycznej genetyki populacyjnej. Był postrzegany jako następca Fishera, Wrighta i Haldane'a.

Najbardziej znaczącym wkładem Kimury jest propozycja, że wiele substytucji nukleotydów w procesie ewolucyjnym stanowi wynik neutralnych lub prawie neutralnych mutacji. Los takich mutacji określany jest przez dryf genetyczny, który polega na przypadkowej zmianie częstości występowania w populacji danych alleli. Kimura traktuje polimorfizm białek i DNA jako przejściowe stadium ewolucji molekularnej i odrzuca pogląd, że większość takich polimorfizmów jest przystosowująca i utrzymywana w populacji przez naturalną selekcję.

TEORIA MUTACJI NEUTRALNYCH

Od momentu powstania teorii ewolucji mocno utrwalił się pogląd, że pozytywna selekcja determinuje tempo i kierunek ewolucji, natomiast przypadkowy dryf genetyczny odgrywa w procesach rozwoju gatunków nieznaczną rolę. Zgodnie z tym punktem widzenia mutacje selektywnie neutralne występują w populacji z częstotliwością ekstremalnie niską, jeśli w ogóle się zdarzają. Wśród darwinistów wszelkie zmiany istotne w przebiegu ewolucji są postrzegane jako adaptacyjnie korzystne⁵. Należy jednak zauważyć, że darwinowska selekcja oddziałuje raczej na poziomie form i funkcji, czyli na poziomie fenotypu.

³M.W. Nachman, *The legacy of Motoo Kimura*, Bioscience 46 (1996), ss. 221-222.

⁴Nei 1995 s. 719.

⁵M. Kimura, *How genes evolve; a population geneticist's view*, Annals of Genetics 19 (1976), ss. 153-168.

Działanie doboru w niewielkim stopniu dotyczy tego, jak taka forma i funkcja są przekazywane genetycznie⁶.

Teoria mutacji neutralnych M. Kimury zakłada, że podstawowym mechanizmem ewolucji molekularnej jest przypadkowy dryf genetyczny, który w głównej mierze określa los selektywnie neutralnych mutacji⁷. Innymi słowy, intensywność selekcji włączonej w proces ewolucji jest tak słaba, że nie ma ona znaczącego wpływu na zmiany ewolucyjne na poziomie cząsteczek. Poza tym mutacje o charakterze neutralnym nie ujawniają się fenotypowo, a więc kontrola selekcyjna tego rodzaju zmian jest niemożliwa, lub na tyle mało efektywna, że nie jest brana pod uwagę⁸.

Teoria neutralistyczna, podkreślając rolę odgrywaną przez mutacje selektywnie neutralne, nie utrzymuje, że wszystkie mutacje mają charakter obojętny⁹. W porównaniu z ilością mutacji pojawiających się w puli genowej populacji, tylko niewielki procent z nich zostaje utrwalony. Większość powstających mutantów ma charakter negatywny i jest eliminowana z populacji przez dobór naturalny¹⁰.

PRAWIDŁOWOŚCI EWOLUCJI MOLEKULARNEJ WEDŁUG M. KIMURY

Obraz ewolucji wyłaniający się z badań molekularnych wydaje się nie odpowiadać oczekiwaniom neodarwinistów¹¹. Prawidłowości ewolucyjnych zmian, które były obserwowane na poziomie fenotypu nie mają ścisłego zastosowania na poziomie genotypu. Kimura zauważa tu kilka zasadniczych różnic. Pierwsza z nich dotyczy zjawiska pole-

⁶M. Kimura, *The Neutral Theory of Molecular Evolution*, Cambridge University Press, London, UK 1983, s. 62.

⁷Kimura 1983 s. 34; por. U. Bastolla, M. Porto, H.E. Roman, M. Vendruscolo, *Connectivity of neutral networks, overdispersion, and structural conservation in protein evolution*, *Journal of Molecular Evolution* 56 (2003), ss. 243-254.

⁸A. Urbanek, *Rewolucja naukowa w biologii*, Wiedza Powszechna, Warszawa 1973, s. 201.

⁹Kimura 1976 s. 153.

¹⁰Kimura 1983 s. 35; por. Bastolla i in. 2003 s. 243.

¹¹J.L. King, T.H. Jukes, *Non-darwinian evolution*, *Science* 164 (1969), ss. 788-797.

gającego na tym, że w określonym rodzaju białka tempo, w którym aminokwasy są zastępowane przez inne jest w przybliżeniu takie samo w wielu liniach rozwojowych organizmów¹². Kolejna dotyczy tego, że substytucje wydają się być raczej przypadkowe, niż wykazywać jakąś powtarzalność. Ostatnia to obserwacja, że całkowite tempo zmian na poziomie DNA jest bardzo wysokie w porównaniu z substytucją mutanta i wynosi przynajmniej jedną zasadę nukleotydową na genom, na każde dwa lata w rozwoju ewolucyjnym ssaków¹³.

Kimura podaje pięć istotnych cech ewolucji molekularnej¹⁴.

(1) Dla każdego białka tempo ewolucji, z punktu widzenia substytucji aminokwasów, jest w przybliżeniu stałe na rok i na miejsce (*site*) dla różnych linii rozwojowych, pod warunkiem, że funkcja i struktura trzeciorzędowa pozostają niezmienione. Jest to zasada zegara molekularnego sformułowana po raz pierwszy przez E. Zuckerkandla i L. Paulinga¹⁵.

(2) Funkcjonalnie mniej ważne cząsteczki lub części cząsteczek ewoluują szybciej, niż te ważniejsze. Prawdopodobieństwo mutacji nie będącej szkodliwą, a więc będącej selekcyjnie neutralną jest większe w cząsteczkach pełniących mniej ważne funkcje i dlatego zmiany te mają większą szansę utrwalenia w populacji przez przypadkowy dryf genetyczny¹⁶. Wynika to z silniejszego ograniczenia selekcyjnego w przypadku bardziej istotnych cząsteczek, np. histon *H4*.

(3) Te substytucje, które są mniej zdyskredytowane¹⁷ do istniejącej struktury i funkcji cząsteczki (substytucje konserwatywne) pojawiają się częściej w ewolucji, niż te bardziej zdyskredytowane. Jedną z naj-

¹²Bastolla 2003 s. 243.

¹³M. Kimura, *The neutral theory of molecular evolution*, Scientific American 5 (1979), ss. 94-101, 104.

¹⁴Kimura 1983 s. 98-113; por. W.J.H. Kunicki-Goldfinger, *Hipoteza neutralnych mutacji i ewolucja molekularna*, Kosmos A 1 (1979), ss. 33-48.

¹⁵Por. G.J. Morgan, *Emile Zuckerkandl, Linus Pauling, and the molecular evolutionary clock, 1959-1965*, Journal of the History of Biology 2 (1998), ss. 155-178.

¹⁶Kimura 1983 s. 103.

¹⁷Substytucje mniej zdyskredytowane w mniejszym stopniu wpływają na zmianę lub nawet zniszczenie dotychczasowej funkcji białka.

bardziej interesujących sytuacji są synonimiczne substytucje¹⁸, które pojawiają się przy trzeciej pozycji kodonu.

(4) Pojawienie się nowego genu, przejawiającego nowe funkcje, musi zawsze być poprzedzone powieleniem genu. Duplikacja genu odgrywa ważną rolę w ewolucji. Istnienie dwóch kopii tego samego genu umożliwia jednemu z nich gromadzenie mutacji i w ostateczności przekształcenie się w nowy, zmieniony gen, podczas gdy druga kopia zachowuje dotychczasowe funkcje, które są konieczne dla przetrwania gatunku w danych warunkach. Gen gromadzący mutacje jest w takiej sytuacji osłonięty przed działaniem doboru naturalnego przez normalny (niezmieniony) jego odpowiednik¹⁹.

(5) Selekcyjna eliminacja zdecydowanie szkodliwych mutantów oraz losowe utrwalanie wybiórczo neutralnych lub łagodnie szkodliwych mutantów pojawia się w ewolucji o wiele częściej, niż pozytywna darwinowska selekcja zdecydowanie korzystnych zmian.

POLIMORFIZM MOLEKULARNY

Losowe utrwalenie mutacji nie wywołujących efektów fenotypowych prowadzi do pojawienia się w puli genowej danej populacji różnych zmienionych odpowiedników danego genu, czego skutkiem z kolei jest obserwowany w świecie ożywionym polimorfizm. Polimorfizm występuje zarówno na poziomie genów, jak również białek²⁰. W każdym pokoleniu powstaje pewna liczba mutacji (presja mutacyjna)²¹ o charakterze neutralnym. Większość z nich ulega przypadkowej eliminacji, tylko nieliczne osiągają częstość 1,0 (utrwalenie),

¹⁸Substytucje synonimiczne to takie, które nie powodują zmian aminokwasowych w kodowanym białku. Są to tzw. ciche substytucje.

¹⁹Kimura 1983 s. 104.

²⁰Por. M. Kimura, T. Ohta, *Protein polymorphism as a phase of molecular evolution*, Nature 229 (1971), ss. 467-469.

²¹T. Ohta, *Mutational pressure as the main cause of molecular evolution and polymorphism*, Nature 252 (1974), ss. 351-354.

jednak w każdym momencie populacja pozostaje polimorficzna²². Według neutralistów polimorfizm białka jest fazą przejściową ewolucji molekularnej²³. Dzięki tej wielopostaciowości populacja posiada potencjalne szanse przystosowania się do nowych warunków środowiska. Poza tym polimorfizm i ewolucja to, według nich, dwa aspekty tego samego zjawiska, będącego wynikiem przypadkowego dryfu genetycznego i neutralnych mutacji²⁴. Wiadomo obecnie, że około 30 gatunków z rodzaju *Drosophila* „wykazuje polimorfizm pod względem rozmaitych typów inwersji chromosomowych.”²⁵ Przykładem polimorfizmu białek może być dehydrogenaza alkoholowa (*Adh*) u *Drosophila melanogaster*. W przypadku tego gatunku powszechnie występują w locus *Adh* dwa polimorficzne allele: *F* (szybki w terminach elektroforetycznej mobilności) i *S* (wolny). Określane są one jako *Adh^F* i *Adh^S*²⁶.

Potwierdzeniem istnienia znacznej zmienności cząsteczek wśród organizmów może być hemoglobina — białko mające bardzo zmienną strukturę molekularną. Mimo to stała dysocjacji tlenu u różnych gatunków ssaków jest raczej niezmienna. Dowodzi to, że większość różnic międzygatunkowych ma charakter selekcyjnie obojętny. Znaczna ilość zmian pojawiających się w zewnętrznej części cząsteczki to zmiany nieszkodliwe. W wyniku badań populacji ludzkiej (jej europejskiej części) pod względem zmienności cząsteczek hemoglobiny znaleziono wśród 8000 badanych dziesięć polimorficznych wariantów polipeptydu. Okazało się, że w populacji ludzkiej istnieje aż pięć milionów wariantów *hemoglobiny A*. Stwierdzono, że z 2217, teoretycznie możliwych substytucji aminokwasu w łańcuchach α i β hemoglobiny, je-

²²Por. J. Szweykowski, *Ewolucyjna teoria obojętnych mutacji (neutralistyczna) profesora Motoo Kimury*, Kosmos A 3 (1987), ss. 375-394; Kimura 1983 s. 34-35.

²³Kimura 1979 s. 94; por. T. Ohta, *The nearly neutral theory of molecular evolution*, Annual Review of Ecology and Systematics 23 (1992), ss. 263-286.

²⁴W.H. Li, *Kimura's contributions to molecular evolution*, Theoretical Population Biology 2 (1996), ss. 146-153.

²⁵E.B. Ford, *Genetyka ekologiczna*, tł. K. Zaćwilichowska, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1967, s. 201.

²⁶Kimura 1983 s. 261.

dynie 700 spowodowałyby zmianę rozpoznawaną przez naturalną selekcję²⁷.

MUTACJE JAKO PODSTAWOWY CZYNNIK EWOLUCJI

Zasadniczymi czynnikami ewolucji na poziomie molekularnym są mutacje. Teoria neutralistyczna, jako teoria ewolucji molekularnej, oparta jest na fakcie istnienia zmian mutacyjnych (tu o charakterze neutralnym) w materiale genetycznym²⁸. Przyczyniają się one do wzrostu polimorfizmu cząsteczkowego w populacji. Zdarzające się neutralne izoallele świadczą, że nie istnieje jedna optymalna forma dla każdego genu w danym momencie czasu ewolucyjnego.

Teoria neutralistyczna nie zakłada, że wszystkie zdarzające się zmiany mutacyjne mają charakter neutralny. Jednakże znaczenie mutacji przystosowawczo obojętnych potwierdza fakt, że różnice między różnymi taksonami nie mają tylko charakteru przystosowawczego. Najczęściej występujące mutacje są selekcyjnie niekorzystne i w stosunkowo krótkim czasie następuje ich eliminacja. Mutacje korzystne natomiast są zjawiskiem tak rzadkim, że Kimura pomija je w rozważaniach nad ewolucją molekularną.

Pojawienie się zmutowanych alleli w populacji i ich dalszy los może mieć dwojaki charakter. Większość takich mutantów jest eliminowana z populacji w czasie trwania niewielkiej liczby pokoleń. Niewielka tylko część z tych zmutowanych form może rozszerzyć się w populacji i osiągnąć częstość 100% (utrwalenie) w wyniku działania przypadkowych czynników²⁹. Dla zachowania allelu w wyniku przypadkowego dryfu genetycznego nie jest konieczne, aby był on ściśle neutralny. Istotna jest tu raczej wielkość selekcyjnej korzyści lub niekorzyści wyznaczona przez współczynnik selekcji (s). Jeśli ów współczynnik jest mniejszy, niż odwrotność dwóch efektywnych wiel-

²⁷King, Jukes 1969 s. 788.

²⁸Por. King, Jukes 1969 s. 788

²⁹M. Kimura, *The neutral theory of molecular evolution and polymorphism*, Scientia (Milan) 112 (1977), ss. 687-707.

kości populacji $|s| < 1/(2N_e)$, wtedy los takich mutacji jest określany przez przypadkowy dryf. Dla mutacji prawie neutralnych (nieznacznie szkodliwych) $|s| \ll 1/(2N_e)$.³⁰

W obrębie tak wielkiej liczby możliwych zmian mutacyjnych prawdopodobieństwo mutacji nie będącej szkodliwą, a mającej charakter neutralny jest większe w mniej ważnych funkcjonalnie cząsteczkach i częściach cząsteczek i dlatego te mutacje mają większą szansę bycia utrwalonymi w populacji w wyniku przypadku³¹. To prawdopodobieństwo jest także wyższe, jeśli mutacja jest konserwatywna, np. zmiana synonimiczna. Natura konserwatywnych substytucji potwierdza fakt, że im mniejsza różnica między dwoma aminokwasami, tym wyższe prawdopodobieństwo, że są one raczej selekcyjnie równoważne niż, że zmutowana forma ma charakter szkodliwy.

Tempo występowania mutacji dla neutralnych alleli wynosi $v=141 \times 10^{-9}$ na pokolenie, lub $v_x=1,4 \times 10^{-7}$, co w przybliżeniu stanowi 1/7 całkowitego przyjętego tempa mutacji, tj. $v_T=10^{-6}$.³² Pozostała część to mutacje niekorzystne, usuwane przez dobór naturalny. Tempo utrwalania selekcyjnie neutralnych mutantów jest takie samo, jak tempo pojawiania się mutacji neutralnych w przeliczeniu na gametę.

Kimura twierdzi, że istnieje zasadnicza różnica między mutacją genu na osobniczym poziomie a substytucją mutantą na poziomie populacyjnym. Aminokwasowe różnice między poszczególnymi gatunkami są wyrazem substytucji mutantą, a nie pojedynczych mutacji genu³³. Poza tym jedynie substytucje form mutantą w populacji mają bezpośredni wpływ na przebieg ewolucji molekularnej³⁴. Według

³⁰Kimura 1983 s. 44.

³¹Por. Kimura 1976 s. 153.

³²Kimura 1983 s. 102. $v=v_T \times f_0$, gdzie v_T stanowi całkowite tempo mutacji, natomiast f_0 to ułamek molekularnych zmian o charakterze neutralnym, reszta jest zdecydowanie szkodliwa. Pominięto korzystne mutacje ze względu na ich znikomą częstość. Por. M. Kimura, *Preponderance of synonymous changes as evidence for the neutral theory of molecular evolution*, Nature 267 (1977), ss. 275-276.

³³Kimura 1983 s. 36.

³⁴Kimura 1983 s. 52.

twórcy teorii neutralistycznej najwięcej substytucji mutanta dostrzeganych w wyniku porównawczych badań białek i kolejności nukleotydów jest wynikiem przypadkowego utrwalania selekcyjnie neutralnych lub prawie neutralnych mutacji³⁵. Jedną z najbardziej interesujących sytuacji są synonimiczne substytucje pojawiające się przeważnie przy trzeciej pozycji kodonu (patrz tab. 1). Kimura³⁶ zauważył, że około 2/3 przypadkowych substytucji nukleotydów na trzeciej pozycji kodonu ma charakter podstawień synonimicznych, ponieważ dla danej kombinacji zasad w pierwszej i drugiej pozycji zmiana przy trzeciej pozycji jest całkowicie synonimiczna w prawie połowie przypadków, ale tylko częściowo synonimiczna w drugiej połowie. Substytucje nukleotydowe przy pierwszej i drugiej pozycji prowadzą zazwyczaj do zmiany aminokwasu w łańcuchu polipeptydowym. Kimura obliczył przybliżone tempo synonimicznych substytucji na trzeciej pozycji kodonu. Wielkość ta wynosi $K'_S=2,6 \times 10^{-9}$ na miejsce, na rok³⁷. Synonimiczne substytucje wykazują interesującą właściwość. Mianowicie, tempo ich pojawiania się jest stosunkowo wysokie i, co ważniejsze, jest w przybliżeniu równe w przypadku różnych genów³⁸.

Interesujące własności substytucji o charakterze neutralnym oraz ich udział w procesie ewolucji molekularnej wynikają z badań porównawczych pseudogenów³⁹ z ich normalnymi odpowiednikami. Substytucje pojedynczych zasad oraz delecje i insercje nukleotydów występują w bardzo wysokim tempie w przypadku pseudogenów. W przeciwieństwie do konserwatywnego rodzaju zmiany, która charakteryzuje ewolucję wielu normalnych genów, zasadowe substytucje w pierwszej i drugiej pozycji kodonu w pseudogenach pojawiają się tak często, jak te na trzeciej pozycji.

³⁵Kimura 1977 s. 275.

³⁶Kimura 1983 s. 154; por. King, Jukes 1969 s. 788.

³⁷Kimura 1983 s. 175.

³⁸Kimura 1983 s. 156.

³⁹Pseudogeny są to regiony DNA, które wykazują widoczną homologię z funkcjonalnymi genami, ale nie posiadają zdolności wytwarzania funkcjonalnego produktu ze względu na istniejące w nich zmiany mutacyjne. Geny te, według Kimury, gromadziły mutacje w takim tempie, w jakim się one pojawiały. Por. Kimura 1983 s. 179.

MECHANIZM EWOLUCJI — UTRWALANIE MUTACJI

Ewolucja na poziomie morfologicznym i funkcjonalnym jest skutkiem procesu naturalnej selekcji działającej poprzez przystosowujące zmiany w DNA. Nie istnieje jednak w związku z tym konieczność, aby wszystkie lub większość zmian w DNA o znaczeniu ewolucyjnym była spowodowana działaniem doboru naturalnego⁴⁰.

Głównymi mechanizmami ewolucji na poziomie molekularnym są: presja mutacyjna⁴¹ (ang. *mutational pressure*) i przypadkowy dryf genetyczny⁴². Formy mutantów utrzymywane są w populacji dzięki zaistnieniu równowagi między ciśnieniem mutacyjnym a losową eliminacją⁴³. Nie oznacza to, że dobór naturalny nie odgrywa żadnej roli w przebiegu ewolucji. Działanie darwinowskiej selekcji polega głównie na eliminowaniu szkodliwych mutantów (selekcja negatywna) i stabilizacji danego stanu (selekcja stabilizująca). Jeśli dany mutant posiada 1% selekcyjnej korzyści, to ma tylko 2%-ową szansę, by zostać utrwalonym. W pozostałych 98% przypadków zostanie usunięty z puli genowej populacji⁴⁴.

Najistotniejszym i odgrywającym podstawową rolę w ewolucji mechanizmem jest więc przypadkowy dryf genetyczny⁴⁵. Kimura określa ów dryf jako przypadkowe wahanie częstości genu w populacji spowodowane przez przypadkowe łączenie gamet w procesie rozmnażania⁴⁶.

⁴⁰Kimura 1977 s. 275.

⁴¹Presja mutacyjna (ciśnienie mutacyjne) jest to zdolność do mutowania danego genu. Por. K. Kloskowski, *Syntetyczna teoria ewolucji a neutralizm i punktualizm*, *Studia Philosophiae Christianae* 28 (1992), ss. 31-51. Gdyby ciśnienie mutacyjne stanowiło główną przyczynę ewolucyjnej zmiany, wtedy górny limit tempa ewolucyjnego byłby określony przez całościowe tempo mutacji. Por. Kimura 1983 s. 115.

⁴²Kimura 1983 s. 34.

⁴³Kloskowski 1992 s. 31.

⁴⁴Kimura 1983 s. 35.

⁴⁵Według Łomnickiego dryf genetyczny polega na zmianach w częstości genów, będących skutkiem zdarzeń losowych. Działanie przypadkowego dryfu jest najsilniejsze w małych izolowanych populacjach. Por. A. Łomnicki, *Modele genetyki populacyjnej*, w: H. Krzanowska, A. Łomnicki, J. Rafiński, *Wprowadzenie do genetyki populacji*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1982, ss. 46-138.

⁴⁶Kimura 1977 s. 687.

W populacji rozmnażającej się płciowo jedynie osobniki w fazie reprodukcyjnej dostarczają gamety do rozmnażania i tylko niektóre z tych gamet wezmą faktycznie udział w tworzeniu następnego pokolenia. Suma fluktuacji w częstości genu jest większa w mniejszej populacji, a więc działanie losowego dryfu jest najsilniejsze w populacjach o małym rozmiarze.

Skuteczność dryfu genetycznego zależy więc od wielkości danej populacji. Nie chodzi tutaj o faktyczną wielkość populacji (N), ale o efektywną wielkość populacji (N_e)⁴⁷ czyli o rzeczywisty udział członków populacji w procesie rozmnażania (tworzenia nowego pokolenia)⁴⁸. Płeć występująca w mniejszej liczbie ma znaczący wpływ na kształtowanie efektywnej wielkości populacji. Jeśli populacja składa się z równej liczby samic i samców, wtedy $N_e=N$ ⁴⁹. Jeśli natomiast liczba samic jest dużo większa od liczby samców, wtedy $N_e=4N_m$ ⁵⁰. Efektywna wielkość populacji zależy ponadto od wielu czynników: (1) ilości wydanego potomstwa względem pokolenia rodzicielskiego, (2) faktycznej wielkości populacji, (3) stałości liczby osobników w populacji, (4) zachodzenia lub nie zachodzenia na siebie pokoleń, (5) liczby bardziej lub mniej izolowanych populacji i kontaktów między nimi⁵¹.

Działanie dryfu genetycznego staje się bardziej widoczne, dzięki zjawisku duplikacji genów⁵². Duplikacja prowadzi do powstania określonej liczby kopii danego genu⁵³. „Wtedy wytwarza się niezwykle

⁴⁷ *Koncepcja efektywnej wielkości populacji została wprowadzona przez Wrighta w 1931 roku. Por. Kimura 1983 s. 40.*

⁴⁸ Por. Szweykowski 1987 s. 375; por. <http://depts.washington.edu/genetics/courses/genet453/2001/summaries/summary-jan31.html> 2003.01.20. 49 Łomnicki 1982 s. 106-108.

⁴⁹ Łomnicki 1982 s. 106-108.

⁵⁰ Kimura 1983 s. 40.

⁵¹ Kimura 1983 s. 42.

⁵² Kimura 1983 s. 107. Mechanizmy duplikacji — zob. Urbanek 1973 s. 206.

⁵³ Por. L. Stebbins, F.J. Ayala, *The evolution of darwinism*, Scientific American 1 (1985), ss. 72-82. Ważność zjawiska duplikacji podkreśla Ohta. Por. T. Ohta, *Pattern of nucleotide substitutions in growth hormone prolactin gene family: a paradigm for evolution by gene duplication*, Genetics 134 (1993), ss. 1271-1276.

korzystna sytuacja, umożliwiającą różnicowanie się genów w nowym lub nawet kilku nowych kierunkach, przy zachowaniu pierwotnych funkcji pełnionych przez gen podlegający duplikacji.”⁵⁴ Pozwala to na utrwalenie mutantów o charakterze nieznacznie szkodliwym w danych warunkach, które (tj. mutanty) mogą wykazywać korzystne cechy w przypadku przystosowywania do nowych warunków⁵⁵.

Dryf genetyczny określa los w populacji wszystkich zmian mutacyjnych, dla których $|s| < 1/(2N_e)$ lub $|s| \ll 1/(2N_e)$, a więc neutralnych i prawie neutralnych⁵⁶. Działanie losowego dryfu przejawia się w przypadkowym eliminowaniu większości pojawiających się zmutowanych alleli oraz utrwalaniu pozostających form. Jeśli zdarzają się mutacje neutralne i dryf genetyczny działa wystarczająco długo, wówczas przebudowie ulegnie pula genowa populacji⁵⁷.

Istotna jest kwestia czasu potrzebnego dla utrwalenia mutantu, a więc osiągnięcia przez niego częstości 100% w populacji. Załóżmy, że początkowa częstość zmutowanego allelu to p . Dla selekcyjnie neutralnego mutantu, jeśli $p=1/2N$, to średnia liczba pokoleń aż do stanu utrwalenia wynosi około $t=4N_e$ ⁵⁸. Dla selekcyjnie korzystnych mutantów długość czasu potrzebnego dla utrwalenia jest krótsza. Istnieje więc zasadnicza różnica między szybkością utrwalenia mutacji o określonym charakterze przystosowawczym i mutacji neutralnych. W przypadku tych pierwszych szybkość utrwalenia k zależy od efektywnej wielkości populacji N_e , współczynnika selekcji s oraz częstości mutowania w przeliczeniu na gametę i na pokolenie. Wynika z tego, że szybkość utrwalenia takich mutacji pozostaje pod kontrolą doboru naturalnego. W przypadku mutacji obojętnych owa szybkość zależy

⁵⁴Urbanek 1973 s. 205.

⁵⁵„Zreplikowane geny mogą być zwolnione z presji selekcyjnej, w terminologii neutralistów zniesiona zostaje w stosunku do nich bariera selekcji negatywnej. Mutacje w takim zduplikowanym genie mogły się więc gromadzić niezależnie od selekcji.” Kunicki-Goldimger 1979 s. 33.

⁵⁶Li 1996 s. 146.

⁵⁷Kimura 1979 s. 94.

⁵⁸Kimura 1979 s. 94; por. Kloskowski 1992 s. 31.

wyłącznie od częstości pojawiania się mutacji, pozostaje więc poza kontrolą naturalnej selekcji⁵⁹.

TEMPO EWOLUCJI MOLEKULARNEJ

Jedną z podstawowych cech ewolucji molekularnej, jak zauważyliśmy już wcześniej, jest to, że dla danego białka tempo zmian ewolucyjnych, w terminach substytucji mutanta, jest w przybliżeniu stałe w przeliczeniu na rok i na miejsce dla różnych linii rozwojowych, pod warunkiem, że funkcja i struktura trzyczłonowa cząsteczki pozostają niezmienione⁶⁰. Przybliżona stałość tempa wskazuje, że podstawą ewolucyjnych zmian jest presja mutacyjna⁶¹.

Historia ewolucyjna kręgowców dowodzi, że ważną rolę w ewolucji fenotypowej odgrywają zmieniające się warunki środowiska. Postęp w ewolucji następuje głównie w wyniku odpowiedzi organizmów na owe zmiany⁶². Natomiast ewolucja z punktu widzenia substytucji mutanta jest całkowicie niezależna od uwarunkowań środowiskowych. Tempo takiej ewolucji określane jest przez funkcję i strukturę cząsteczek.

Kimura odróżnia tempo ewolucji z punktu widzenia substytucji mutanta i tempo zmiany w częstotliwości pojedynczego zmutowanego allelu. To pierwsze (oznaczone przez k) jest określane przez ustalenie liczby substytucji aminokwasu (albo nukleotydu) w stosunkowo długim przedziale czasu, np. miliony lat. Natomiast drugi rodzaj tempa (oznaczone przez Δp) jest mierzone przez pojawiające się zmiany w krótkim okresie czasu, np. wiek⁶³. Tempo ewolucji w terminach substytucji mutanta (k) dla alleli neutralnych jest niezmiennie w odniesieniu do rozmiaru populacji (N_e). Jednak dla selekcyjnie korzyst-

⁵⁹Urbanek 1973 s. 180-181.

⁶⁰Kimura 1979 s. 94

⁶¹Ohta 1974 s. 351.

⁶²Kimura 1983 s. 61.

⁶³Kimura 1983 s. 162. Dla ustalenia zmian ewolucyjnych na poziomie molekularnym istotne jest tempo określane w terminach substytucji mutanta.

nych alleli k wzrasta wraz ze wzrostem rozmiaru populacji⁶⁴. Ponadto w przypadku mutantów obojętnych tempo substytucji jest takie samo, jak tempo ich pojawiania się w populacji, $k=v$ ⁶⁵. Natomiast, biorąc pod uwagę substytucje korzystnych zmian $k=4N_e s v$ ⁶⁶.

Dzięki porównawczym badaniom przeprowadzonym na homologicznych białkach między spokrewnionymi organizmami można było ocenić ewolucyjne tempo w terminach substytucji aminokwasów. Okazało się, że tempo pojawiania się mutacji wewnątrz gatunków w biegu ewolucji jest dużo wyższe, niż poprzednio sądzono⁶⁷. Otrzymane tak wysokie wartości dowodzą, że większość zdarzających się mutacji musi mieć charakter neutralny⁶⁸. Osiągane wartości dla hemoglobiny i cytochromu c dają ewolucyjne tempo w przybliżeniu równe jednej substytucji na 28×10^6 lat dla polipeptydu o długości łańcucha rzędu 100 aminokwasów⁶⁹. Ponadto ujawniono bardzo wysokie całkowite tempo zmian w ewolucji ssaków wynoszące co najmniej jedną substytucję zmutowanego nukleotydu w przeliczeniu na genom, co dwa lata.

Tempo rozwoju ewolucyjnego może być wyznaczone zarówno przez oszacowanie substytucji nukleotydów, jak też aminokwasów. Twierdzi się, że tempo przeciętnej ewolucyjnej zmiany wynosi 16×10^{-10} ($1,6 \times 10^{-9}$) substytucji na kodon, na rok⁷⁰. Biorąc pod uwagę substytucje aminokwasowe średnie tempo ewolucji jest rzędu 10^{-9} substytucji aminokwasów na miejsce, na rok we wszystkich liniach kręgowców⁷¹. Wielkość tę określa Kimura jako 1 pauling⁷². Średnie

⁶⁴Kimura 1983 s. 163.

⁶⁵Por. Schlenke <http://www.esb.utexas.edu/ngerardo/Evolution/EVOKimura.htm> 2003.01.20.

⁶⁶Kimura 1979 s. 94.

⁶⁷Kimura 1977 s. 687.

⁶⁸M. Kimura, *Evolutionary rate at the molecular level*, Nature 129 (1968), ss. 624-626.

⁶⁹Kimura 1968 s. 624.

⁷⁰King, Jukes 1969 s. 788.

⁷¹Innymi słowy, przyjmuje się, że wrodzone tempo substytucji wynosi 10^{-9} na miejsce, na rok. Por. Kimura 1983 s. 72.

⁷²Kimura, Ohta 1971 s. 467.

tempo dla większości białek, jak wynika z powyższych oszacowań, to 1,6 paulinga, podczas gdy tempo dla cytochromu *c* to około 0,3 paulinga⁷³. Jeśli przez K_{aa} oznaczymy średnią liczbę substytucji aminokwasów na miejsce między dwoma porównywanymi polipeptydami, wtedy tempo ewolucyjnej zmiany (w terminach podstawień aminokwasów) jest dane przez $k_{aa}=K_{aa}/(2T)$, gdzie T to liczba lat, które minęły od ewolucyjnej rozbieżności dwóch linii rozwojowych od wspólnego przodka⁷⁴. Natomiast tempo nukleotydowej substytucji w przeliczeniu na miejsce, na rok może być otrzymane przez $k_{nuc}=k/(2T)$, gdzie k to tempo substytucji mutanta⁷⁵.

Jeśli badania wykazałyby, że większa część różnic między dwoma gatunkami pochodzącymi od wspólnego przodka na poziomie DNA wynika z przystosowującej ewolucji, wtedy powinno się oczekiwać, że pierwsze dwie pozycje nukleotydowe kodonu zmieniałyby się szybciej, niż trzecia, ponieważ synonimiczne substytucje nie mogą mieć charakteru przystosowującego. Jednak, jeśli rozbieżność DNA w ewolucji obejmowałaby przypadkowe utrwalenie neutralnych mutacji, wtedy trzecia pozycja kodonu powinna zmieniać się szybciej⁷⁶. Obserwacje potwierdzają drugi z powyższych przypadków. Obliczenia wykazują, że w cistronach kodujących dla łańcuchów α i β hemoglobiny tempo substytucji mutanta jest wyższe w trzeciej pozycji kodonu, niż w pierwszej i drugiej. Tempo w trzeciej pozycji jest zbliżone do tempa substytucji mutanta w przeliczeniu na locus dla fibrynopeptydu A, który jest jedną z najszybciej zmieniających się cząsteczek i wynosi około $k_{aa}=(4,9) \times 10^{-9}$. Tempo ewolucyjne w przeliczeniu na rok w trzech pozycjach kodonu wynosi odpowiednio: $K_1=1,6 \times 10^{-9}$, $K_2=1,1 \times 10^{-9}$, $K_3=3,3 \times 10^{-9}$. Natomiast dla synonimicznych zmian $K'_S=2,8 \times 10^{-9}$.

⁷³Kimura, Ohta 1971 s. 467.

⁷⁴Kimura 1983 s. 70.

⁷⁵Kimura 1977 s. 687.

⁷⁶King, Jukes 1969 s. 788.

⁷⁷Kimura 1977 s. 687.

⁷⁸Kimura 1983 s. 172.

TEMPO ZMIAN EWOLUCYJNYCH OKREŚLONYCH GENÓW I BIAŁEK

Kimura wyznaczył ewolucyjne tempo w terminie substytucji aminokwasów dla niektórych białek (patrz tab. 2).

Jak widać z powyższej tabeli najbardziej zmiennymi białkami są fibrynopeptydy, natomiast najmniej zmieniają się w trakcie ewolucji histony. Są to białka pełniące bardzo istotne funkcje. Histon *IV* łączy się z DNA w jądrze i kontroluje ekspresję informacji genetycznej. Ocena średniego ewolucyjnego tempa w trzecich pozycjach kodonu w genie dla histonu *IV* wynosi $k_{nuc}=(3,7\pm 1,4)\times 10^{-9}$, co odpowiada $k_{aa}=0,006\times 10^{-9}$. Interesujące jest, że w przypadku tej cząsteczki synonimiczne substytucje mutanta zdarzają się w najwyższym znanym tempie, mimo faktu, że substytucje aminokwasów zdarzają się w najniższym tempie⁷⁹. Kimura porównał histon *IV* dwóch gatunków: *S. purpuratus* i *L. pictus* (patrz tab. 3). Oszacował, na podstawie zmian w trzeciej pozycji kodonu dla histonu *IV*, że dystans ewolucyjny tych gatunków jest równy $K_3=0,44\pm 0,163$ ⁸⁰. Zakładając $T=6\times 10^7$ otrzymujemy $k_3=(3,7\pm 1,4)\times 10^{-9}$ ⁸¹. Jest to wynik zgodny z przyjętym tempem substytucji na trzeciej pozycji kodonu różnych białek.

Najszybsze zmiany ewolucyjne obserwuje się w przypadku pseudogenów⁸². Jest to spowodowane tym, że nie podlegają one żadnym selekcyjnym ograniczeniom. Substytucje zdarzają się w ich przypadku w takim samym tempie, w jakim pojawiają się pojedyncze mutacje. Ponadto substytucje zasadowe w pierwszej i drugiej pozycji kodonu występują tak często, jak w trzeciej⁸³. Kimura, powołując się na badania porównawcze ewolucji odpowiednich pseudogenów my-

⁷⁹Kimura 1977 s. 275; por. Li 1996 s. 146.

⁸⁰Kimura 1983 s. 174.

⁸¹Kimura 1983 s. 174.

⁸²Por. Schlenke <http://www.esb.utexas.edu/ngerardo/Evolution/EVOKimura.htm> 2003.01.20.

⁸³Kimura 1983 s. 179-180.

szy i królika prowadzone przez Miyata i Hayashidag⁸⁴, stwierdza, że tempo synonimicznej substytucji wynosi $K_S=6,6\times 10^{-9}$ oraz tempo substytucji obliczone dla wszystkich trzech pozycji kodonu jest równe $K_0=12,6\times 10^{-9}$ na miejsce, na rok. Są to dużo wyższe wartości, niż odpowiednio w przypadku genów funkcjonalnych. Ponadto $K_0/K_S=1,19$. Oznacza to, że tempo substytucji mutanta (a tym samym tempo ewolucji) jest 1,19 razy wyższe w przypadku pseudogenów, niż tempo synonimicznych substytucji funkcjonalnych genów⁸⁵. Widać więc, że w normalnych funkcjonalnych genach istnieją pewne selekcyjne ograniczenia i nie wszystkie synonimiczne mutacje mają charakter selekcyjnie neutralnych. Badania Li⁸⁶ i innych wykazały, że tempo substytucji na locus w pseudogenach wynosi $K_0=4,6\times 10^{-9}$. Jest to wartość niższa, niż ta ustalona przez Miyata i Hayashida, mimo to jest to jedna z najwyższych wartości, jakie dotąd zanotowano⁸⁷.

MUTACJE, DOBÓR NATURALNY I FILOZOFIA

W XX wieku zaznaczył się ogromny postęp w dziedzinie nauk biologicznych. Pojawiły się nowe fakty, które miały wielki wpływ na dalszy rozwój teorii ewolucyjnych. W związku z tym mocno już ugruntowany neodarwinizm musiał zostać poddany rewizji. Pierwszym krokiem na tej drodze była propozycja Kimury oparta na mechanizmie neutralnych mutacji i losowego dryfu genetycznego⁸⁸. Koncepcja Kimury wskazuje, że syntetyczna teoria ewolucji nie ma charakteru skończonego i zamkniętego oraz stanowi dla niej pewną alternatywę poznawczą. Teoria neutralistyczna stanowiła w znacznej mierze nowatorskie, w stosunku do ówczesnego, ujęcie procesu ewolucji. Jej pojawienie się wywołało ożywioną dyskusję w świecie naukowym, która trwa także obecnie. Jednak można już teraz powiedzieć, że pojawienie

⁸⁴Kimura 1983 s. 181.

⁸⁵Kimura 1983 s. 181.

⁸⁶Kimura 1983 s. 182

⁸⁷Kimura 1983 s. 182.

⁸⁸Ohta 1992 s. 263.

się teorii mutacji obojętnych stanowi jedno z ważniejszych wydarzeń w rozwoju biologii ewolucyjnej w drugiej połowie XX wieku⁸⁹.

Teoria neutralistyczna Kimury stanowi jedną z wielu propozycji wyjaśnienia procesu ewolucji. U podstaw tej koncepcji leży założenie, że podstawianie nukleotydów w materiale genetycznym w trakcie ewolucji jest rezultatem przypadkowego utrwalania neutralnych zmian mutacyjnych w wyniku dryfu genetycznego raczej, niż działania darwinowskiej selekcji⁹⁰. Istniejąca zmienność genetyczna dowodzi, według Kimury, tego, że znaczna większość różnic genetycznych nie wpływa na zmianę szansy przeżycia i wydania potomstwa⁹¹.

Kimura podkreśla, że prawidłowości ewolucji molekularnej są wyraźnie różne od analogicznych — dotyczących ewolucji na poziomie fenotypowym. Darwinowska naturalna selekcja oddziałuje na fenotypy, które stanowią końcowy efekt działania genu, podczas gdy przypadkowy dryf istnieje na poziomie molekularnym.

Biorąc pod uwagę istnienie mutacji przystosowawczo obojętnych i działającego na nie przypadku, neutraliści w prosty sposób wyjaśniają procesy ewolucyjne, ich tempo oraz istniejącą zmienność. Dzięki temu teoria neutralistyczna ukazuje spójny i przekonujący obraz przebiegu zmian ewolucyjnych.

„Reasumując powiemy, że badania molekularne potwierdzają istnienie mutacji neutralnych i ich ogromną rolę w procesie ewolucji (molekularnej). W konsekwencji znaczenie działania doboru naturalnego w rozumieniu dotychczasowym musi ulec zmianie. [...] Dzięki odkryciu mutacji neutralnych okazało się [...], że działanie doboru naturalnego nie jest uniwersalne.”⁹² Wpływa to w istotny sposób także na filozoficzne pojmowanie mechanizmów ewolucji, gdyż tradycyjne

⁸⁹Szweykowski 1987 s. 375.

⁹⁰Kloskowski 1992 s. 31; por. Schlenke <http://www.esb.utexas.edu/ngerardo/Evolution/EVOKimura.htm> 2003.01.20.

⁹¹Por. U. Bastolla, M. Porto, H.E. Roman, M. Vendruscolo, *Lack of self averaging in neutral evolution of proteins*, Physical Review Letters 20 (2002), ss. 208101-1 — 208101-4.

⁹²K. Kloskowski, *Zagadnienie determinizmu ewolucyjnego. Studium biofilozoficzne*, Gdańsk 1990, s. 111.

ujęcia, w których przypisywano główną rolę doborowi naturalnemu; wymagają uwzględnienia roli mutacji genetycznych.