

Curso de Evolución 2023
Facultad de Ciencias
Montevideo, Uruguay

<http://eva.fcien.universidad.edu.uy/>

<https://www.youtube.com/@CursoEvolucion/videos>

10. Evolución molecular. Tasas y patrones de evolución a nivel proteico y nucleotídico. Relojes moleculares. Seleccionismo y neutralismo. Análisis de la selección a nivel molecular.



Contexto histórico: Hace poco tiempo que empezamos a conocer en profundidad el grado de variabilidad de las poblaciones naturales

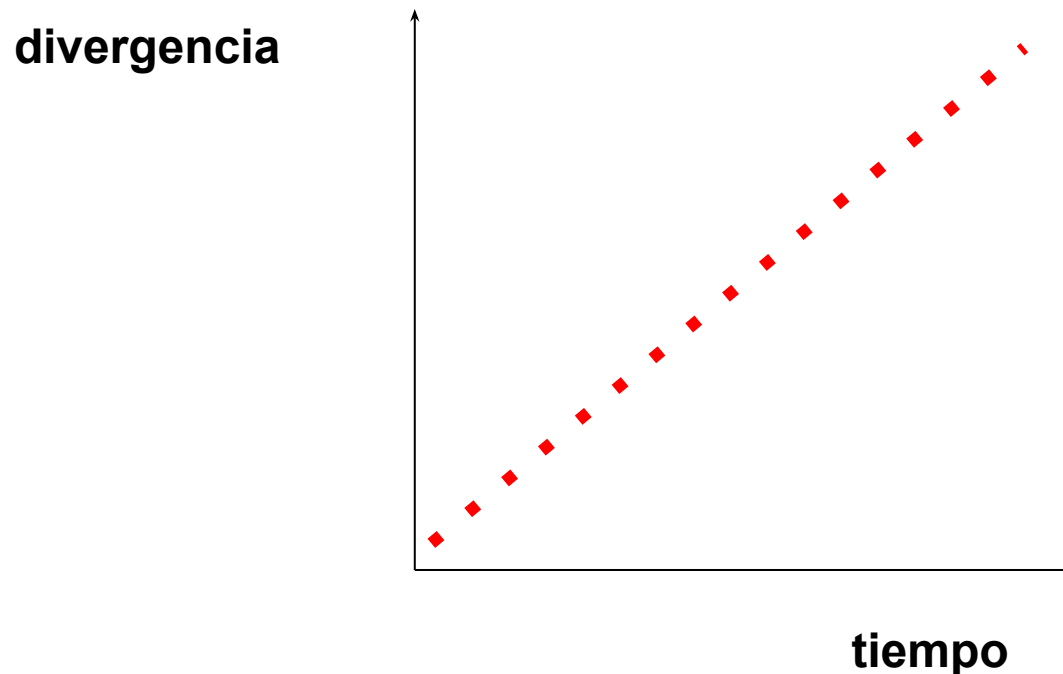
- Las primeras secuencias de proteínas a fines de década de 1950.
- Primeros estudios de variabilidad alozímica en la segunda mitad de década de 1960.
- Las primeras secuencias de ADN recién a fines de década de 1970.

- Primera sorpresa: las poblaciones naturales son mucho más variables de lo que se esperaba.
- Para la teoría sintética, solamente algunas clases de selección (por ej., selección a favor de heterocigotas) podían mantener polimorfismos.
- Segunda sorpresa: divergencia de secuencias de proteínas proporcional al tiempo aproximado de divergencia entre especies.
- La evolución morfológica, mejor conocida, es errática en su ritmo.
- Tercera sorpresa: la tasa de evolución guarda relación inversa con la importancia funcional del gen, región, o clase de cambio considerada

Teoría neutral de la evolución molecular

procura dar cuenta de tres “observaciones” de la década del 60

1. el reloj molecular (divergencia molecular proporcional al tiempo de separación de las especies). “Las moléculas como documentos históricos (Zuckerkandl y Pauling, 1965)



Para cualquier macromolécula dada los cambios se acumulan a la misma tasa en todos los linajes evolutivos

Un ejemplo:

evolución de
alfa-globinas

marco filogenético y
temporal

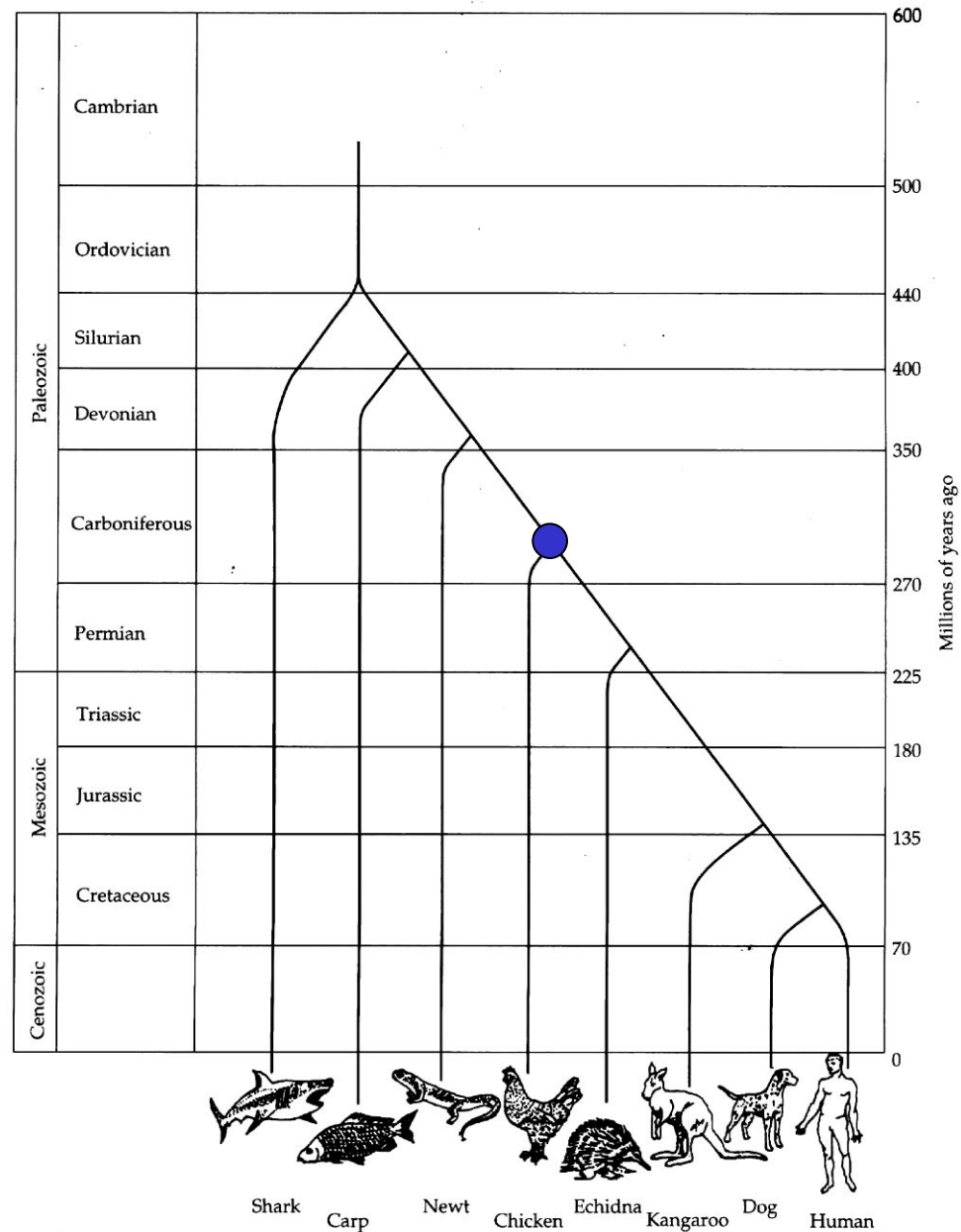


Figure 8.6 Phylogenetic relationships among eight vertebrate species and their approximate times of evolutionary divergence. (From Kimura 1983.)

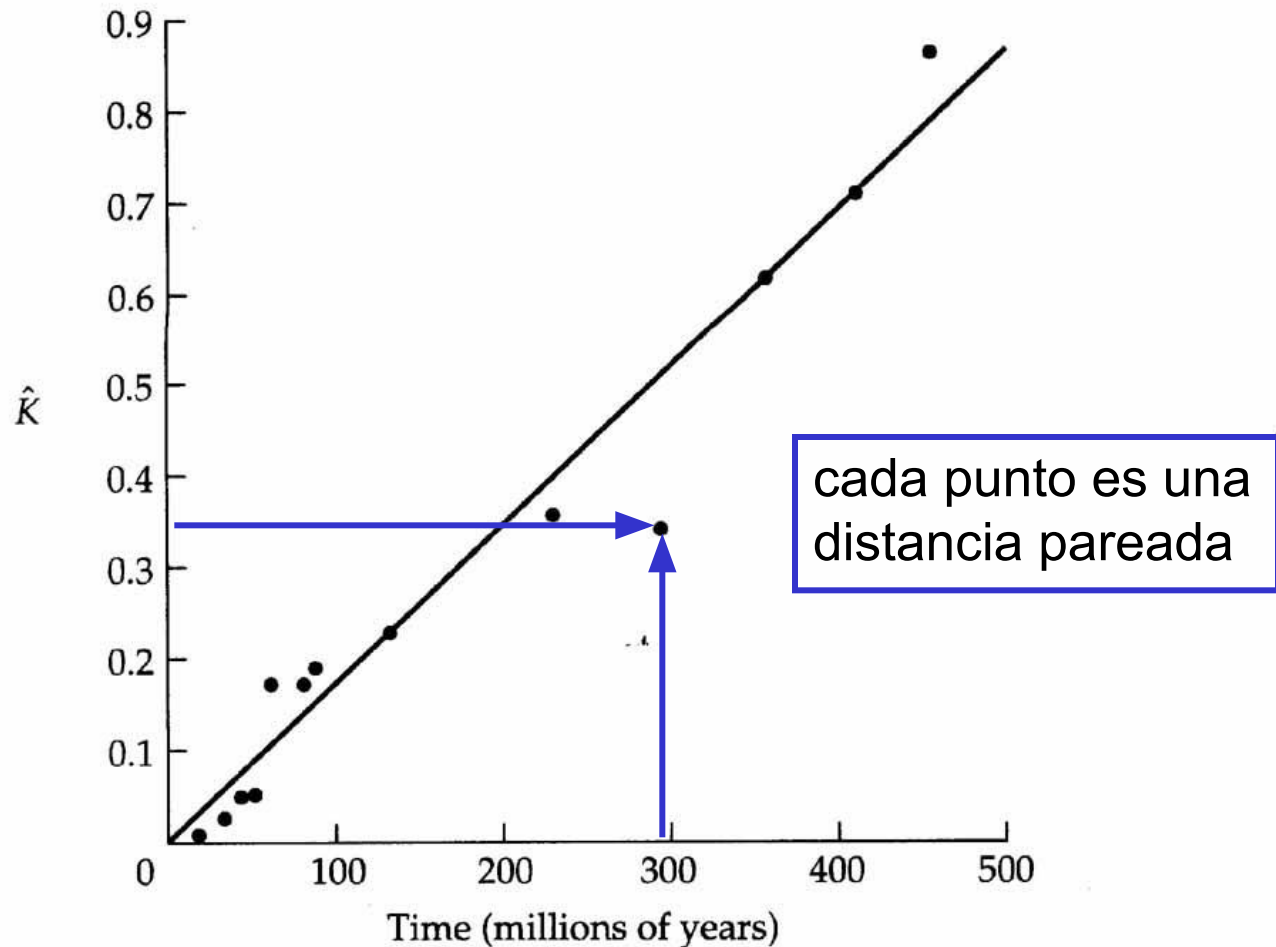


Figure 8.7 Relation between estimated number of amino acid substitutions in α -globin ($\hat{K}$) between pairs of the vertebrate species in Figure 8.6, against time since each pair diverged from a common ancestor. The straight line is expected based on a uniform rate of amino acid substitution during the entire period. (From Kimura 1983.)

Teoría neutral de la evolución molecular

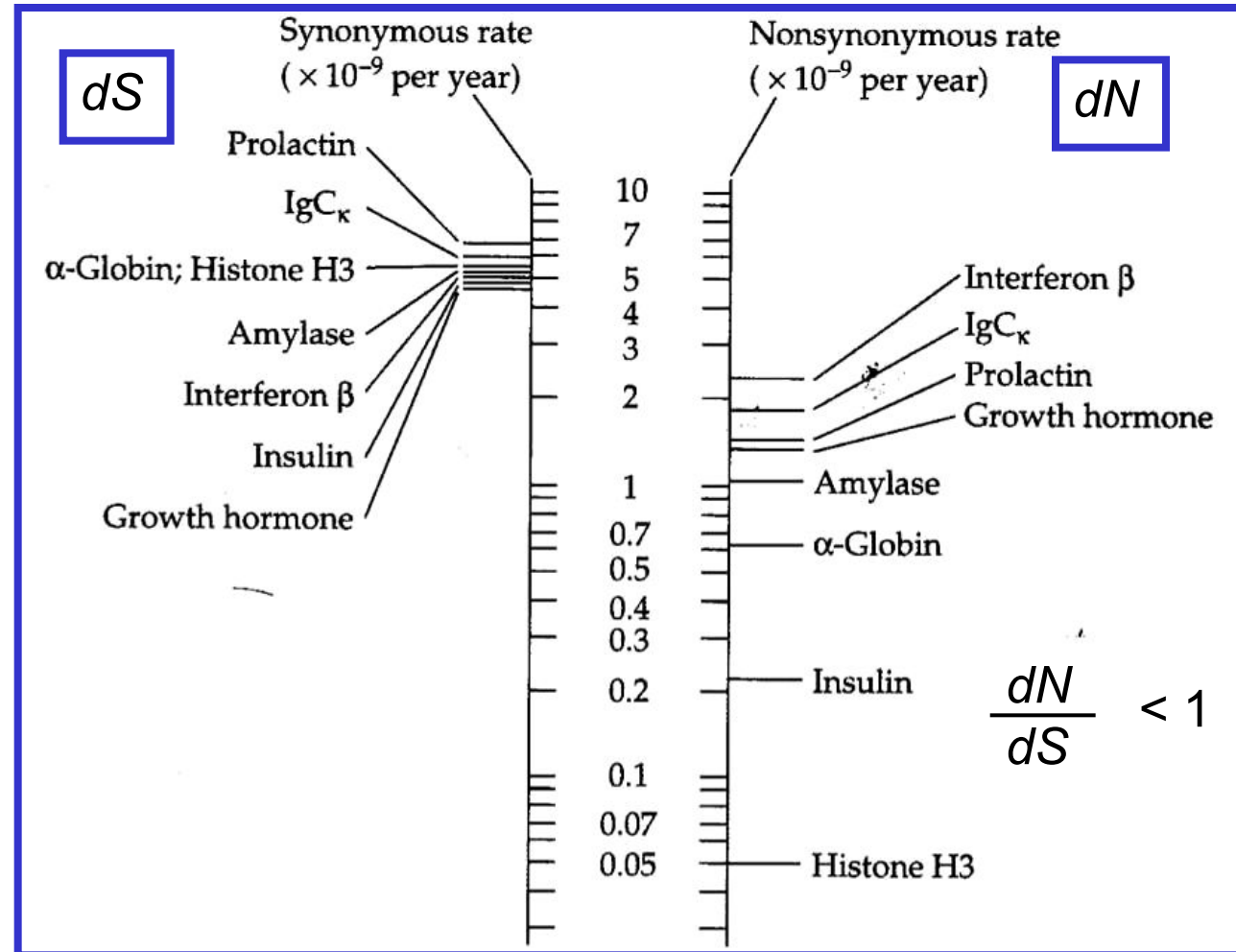
procura dar cuenta de tres “observaciones” de la década del 60

2. la tasa de evolución guarda relación inversa con la importancia funcional del gen, región, o clase de cambio considerada

Comparando muchos genes de mamíferos:

Tasas de sustitución sinónimas mayores que tasas de sustitución no sinónimas.

Tasas no sinónimas mucho más variables entre genes que las sinónimas.



Teoría neutral de la evolución molecular

procura dar cuenta de tres “observaciones” de la década del 60

3. altos niveles de polimorfismo revelado por electroforesis de proteínas entre 15 y 50% de los genes estudiados resultaron polimórficos

enzima ADH en *Drosophila* (dimérica)



FF

SS

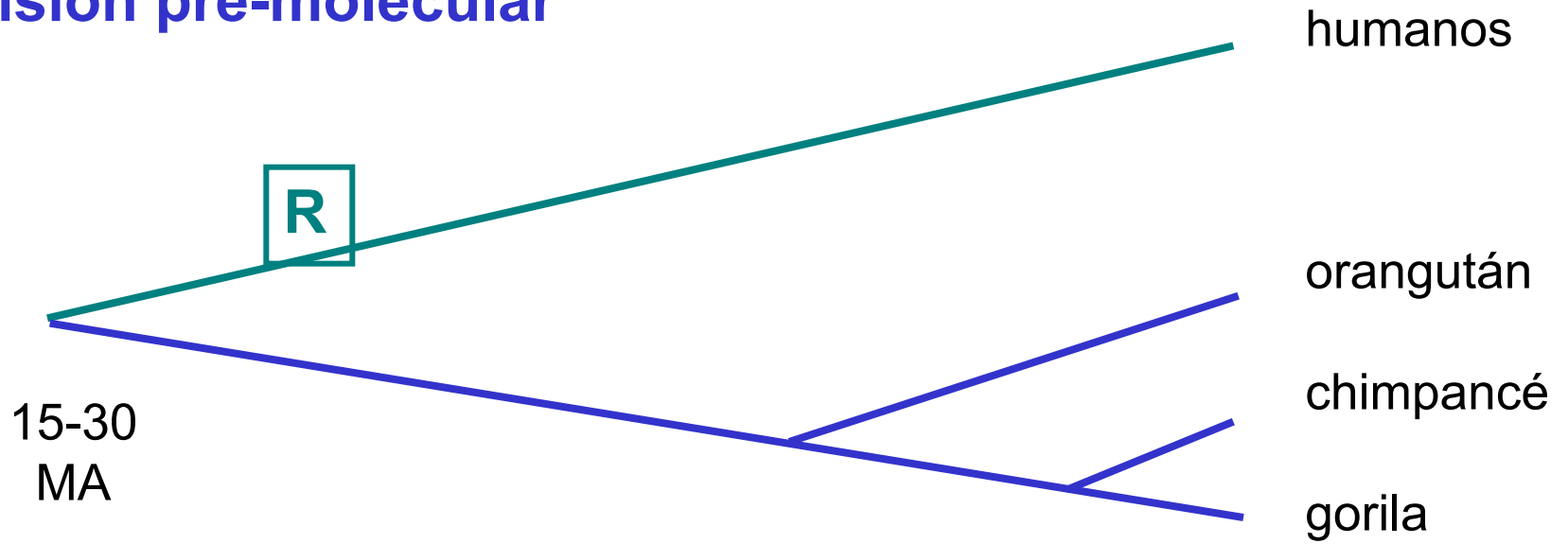
FS

Consolidación del campo de la evolución molecular

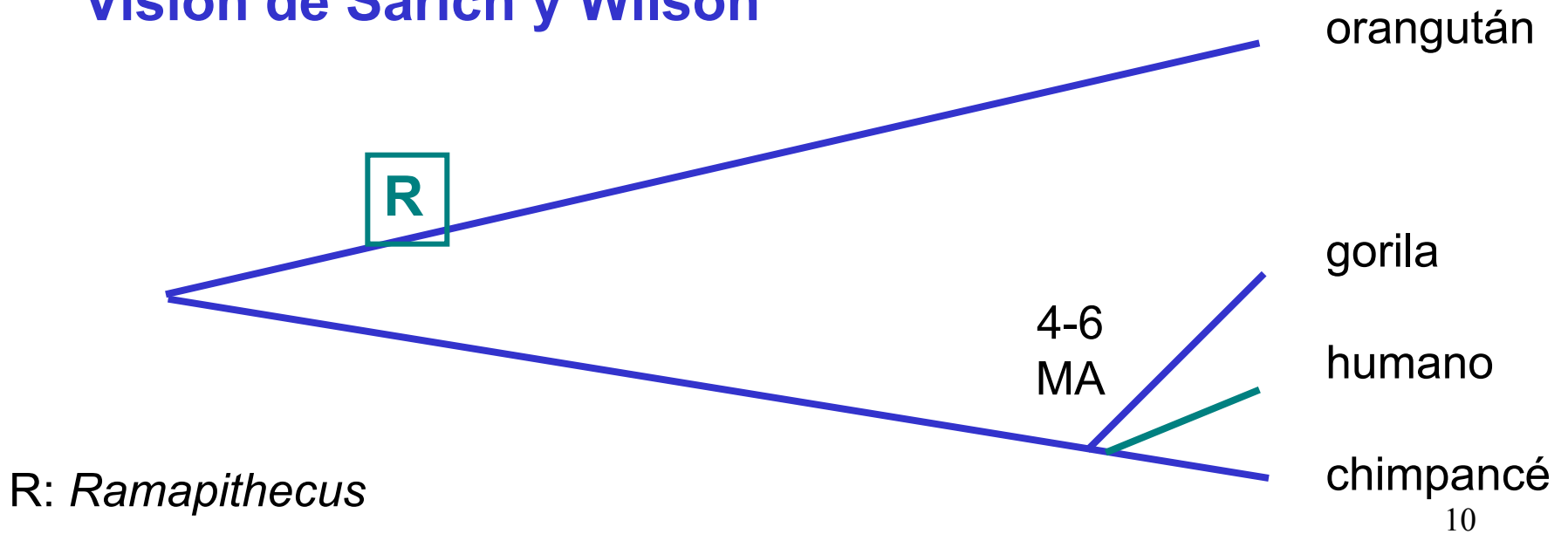
Sarich y Wilson (1965-1966)

1. Correlación entre divergencia en secuencias proteicas y “distancias inmunológicas.”
2. Validación del reloj molecular en mamíferos.
3. Aplicación a humanos y otros primates. Primera filogenia basada en datos moleculares.

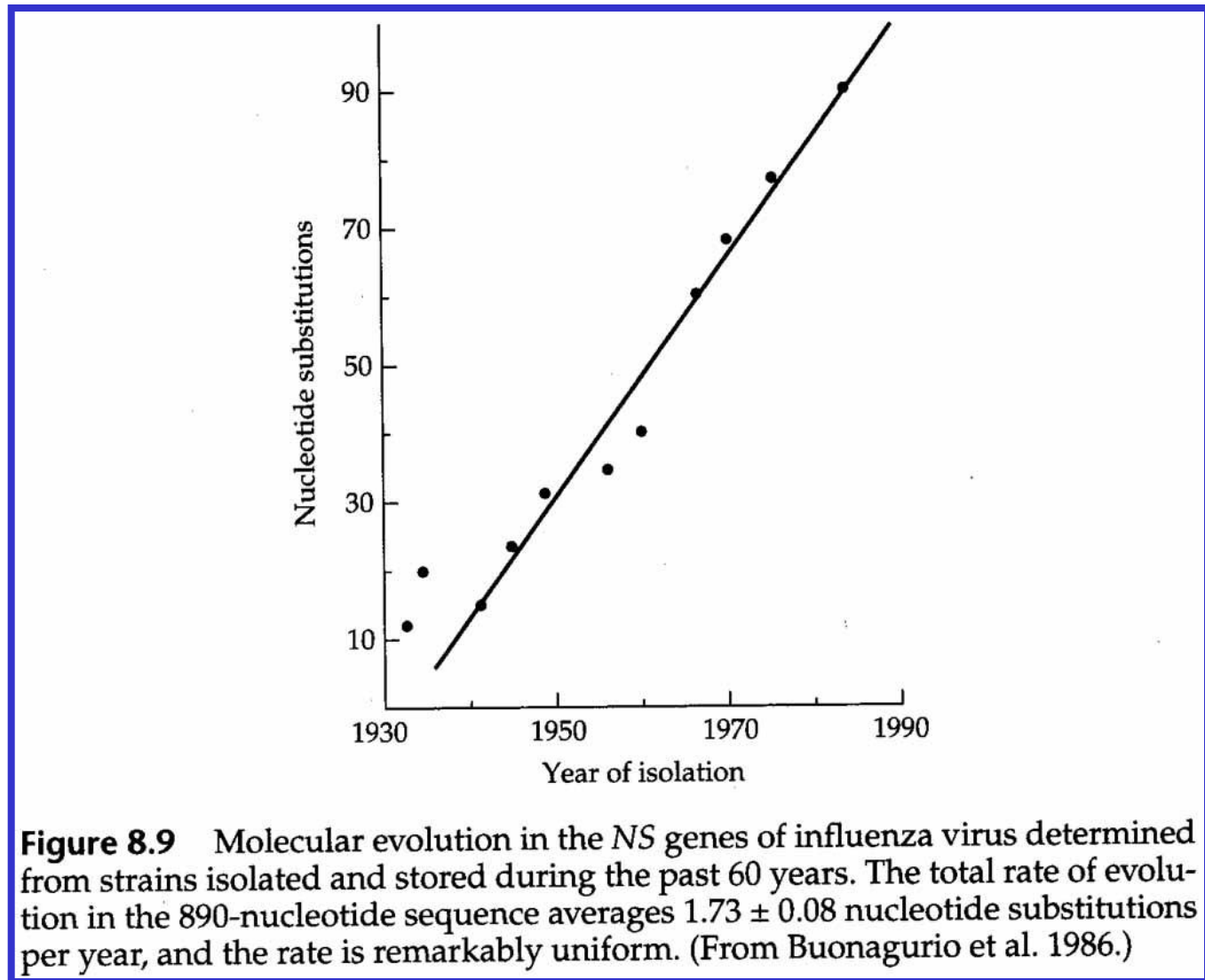
Visión pre-molecular



Visión de Sarich y Wilson



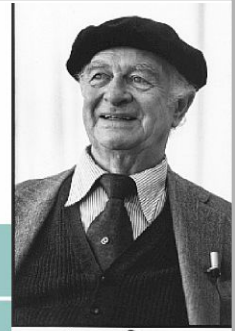
Reloj molecular en virus: la evolución en tiempo real



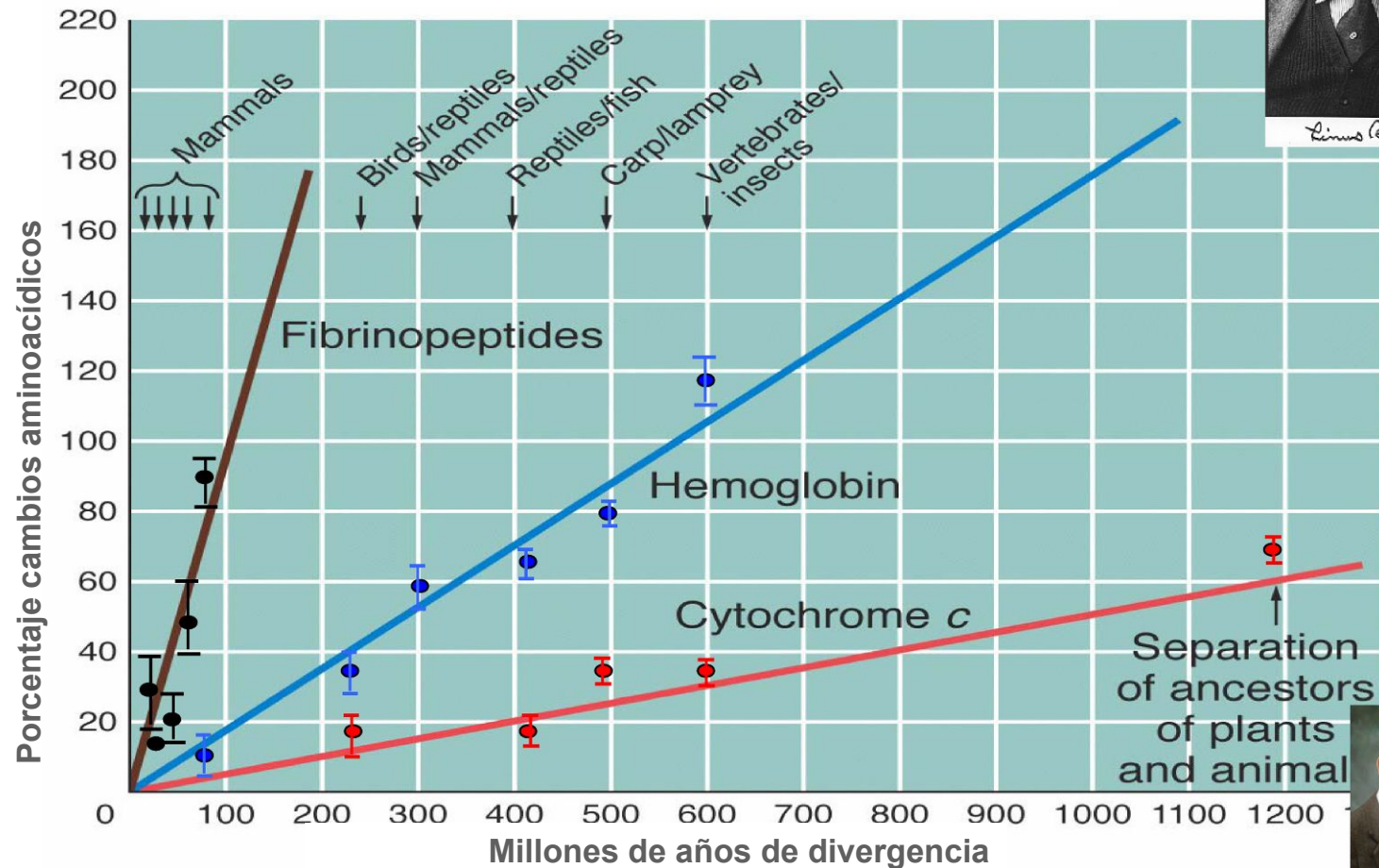
1. Cada gen tiene una tasa característica:
--relación entre función y variabilidad

El Reloj Molecular

Zuckerkandl y Pauling 1965



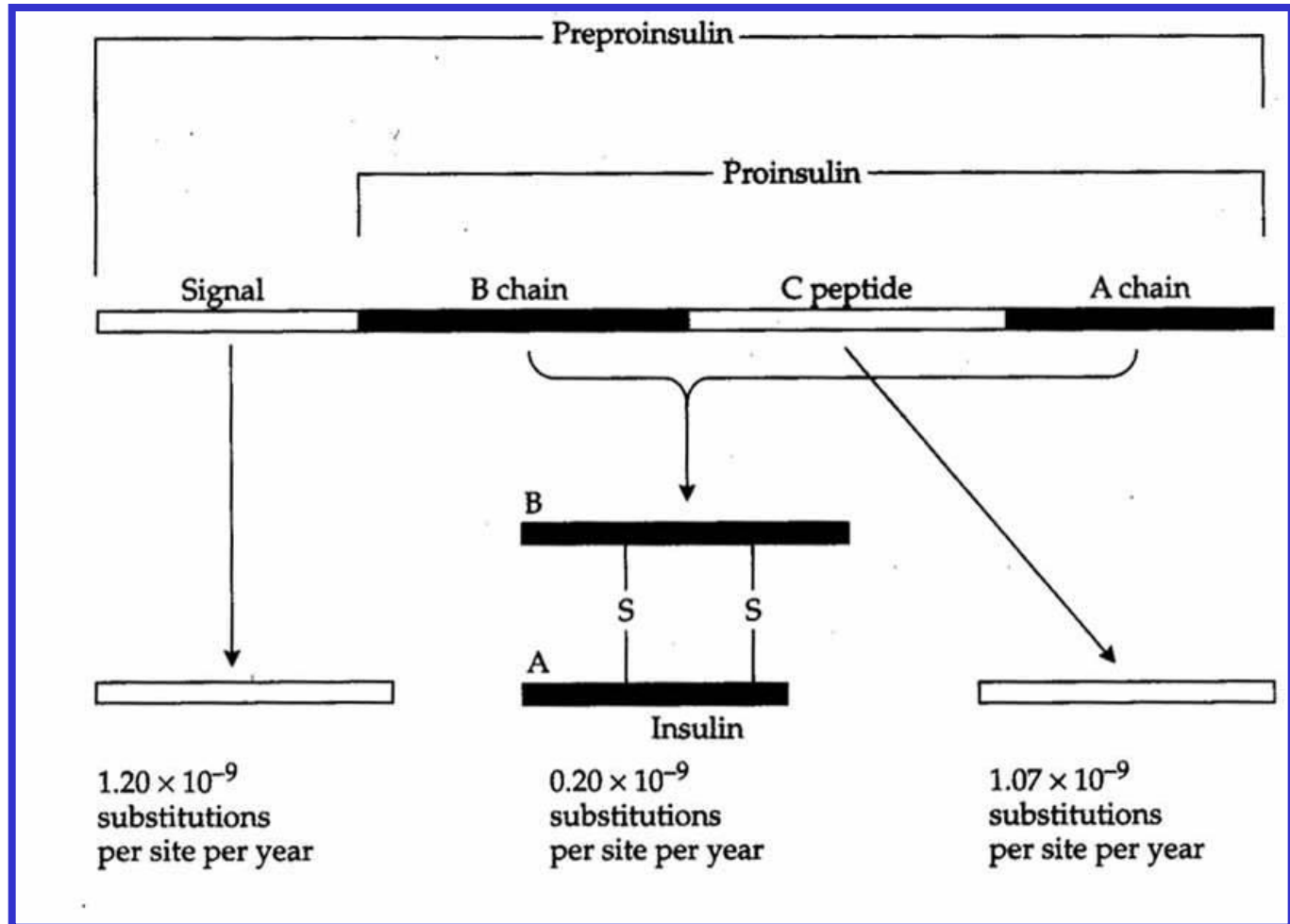
Linus Pauling



.....Emile Zuckerkandl

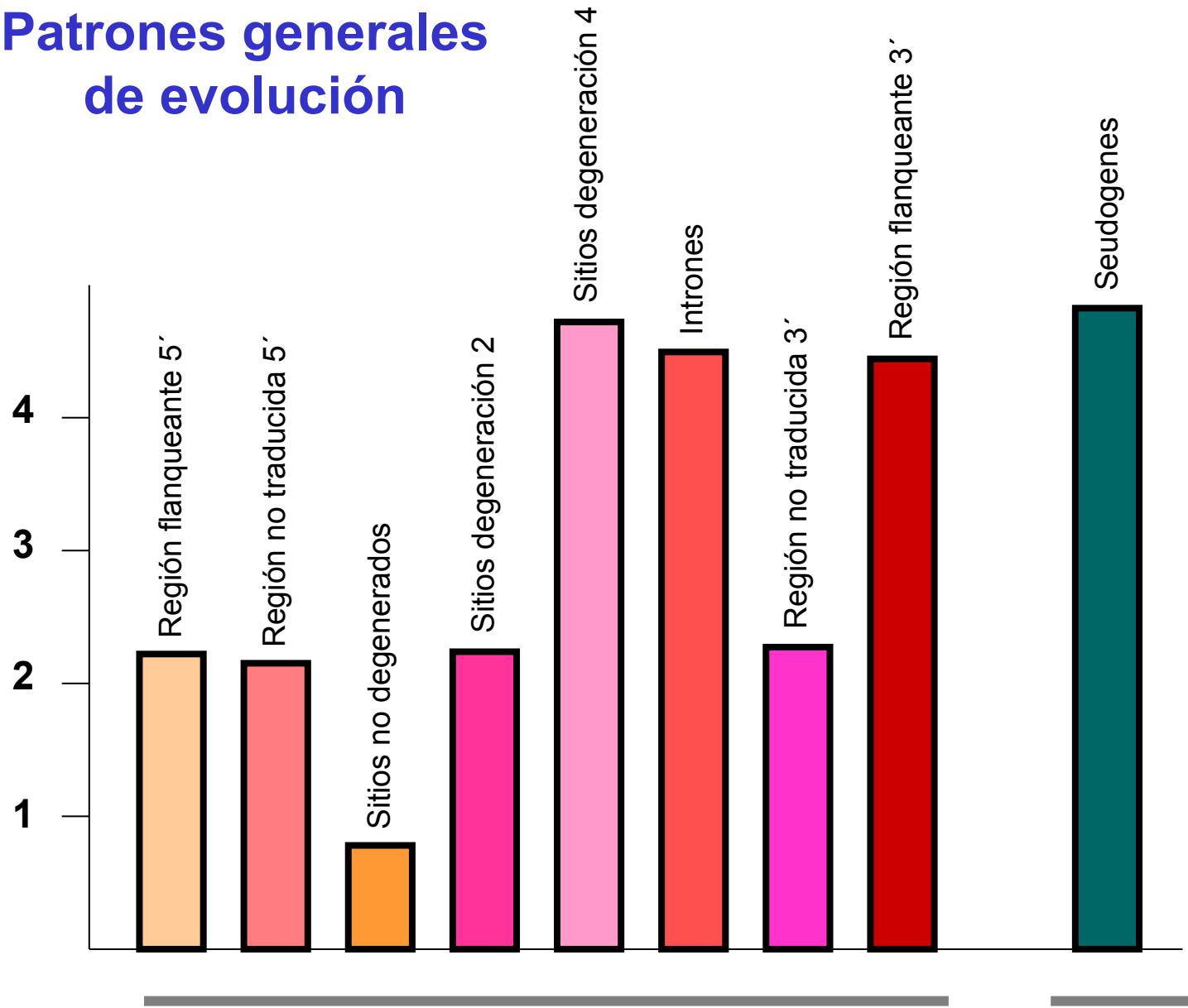
2. Cada región tiene una tasa característica
-- relación entre función y variabilidad

Cambios no sinónimos en insulina



Patrones generales de evolución

Sustituciones por sitio nucleotídico cada 10⁹ años



REGIONES GENICAS

SEUDOGENES¹⁴

Tasas de sustitución transicional y transversional promedio en sitios de degeneración 0, 2 o 4, para muchos genes codificantes de mamíferos.

Tipo de sustitución	niveles de degeneración		
	0	2	4
transición	0.40	1.86	2.24
transversión	0.38	0.38	1.47
TOTAL	0.78	2.24	3.71

Tasas en sustituciones por sitio por 10^9 años.

Grandes patrones de evolución molecular

Los pseudogenes, intrones, y regiones no codificantes, evolucionan más rápido.

Dentro de las regiones codificantes, los sitios no degenerados son los que presentan menores tasas de sustitución.

Existe una relación inversa aparente entre tasa de evolución e importancia funcional.

¿Puede la selección natural dar cuenta de estos patrones?

Motoo Kimura (1968): sí... pero basta con selección purificadora: teoría neutral de la evolución molecular

Se conocen muchas desviaciones del reloj molecular

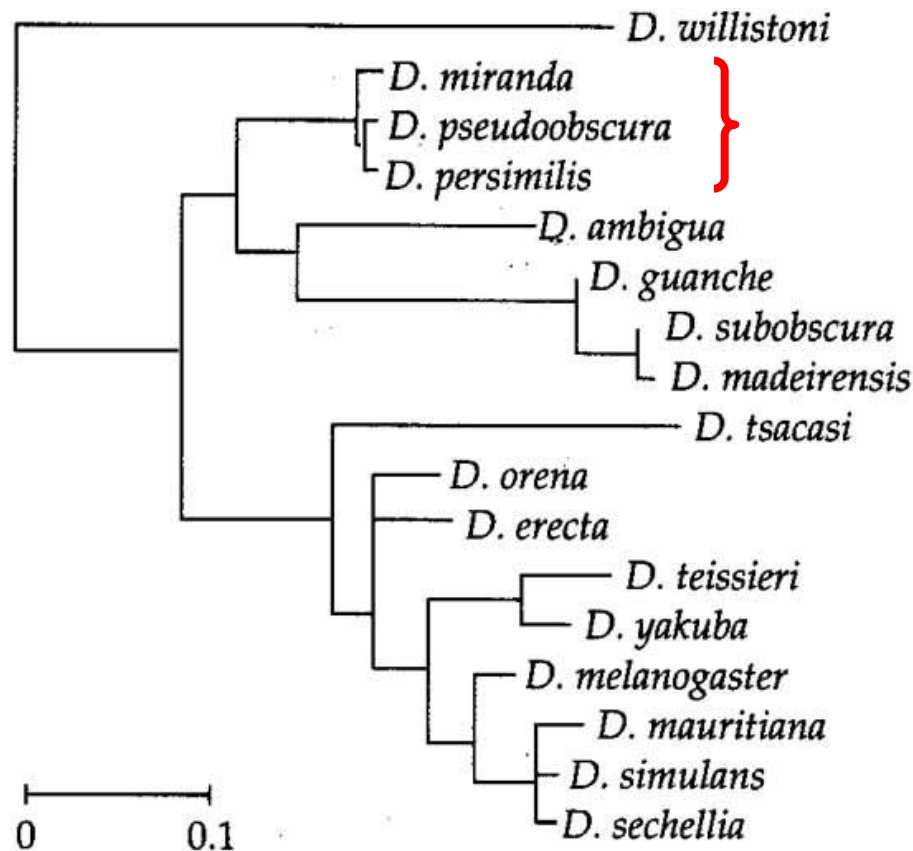
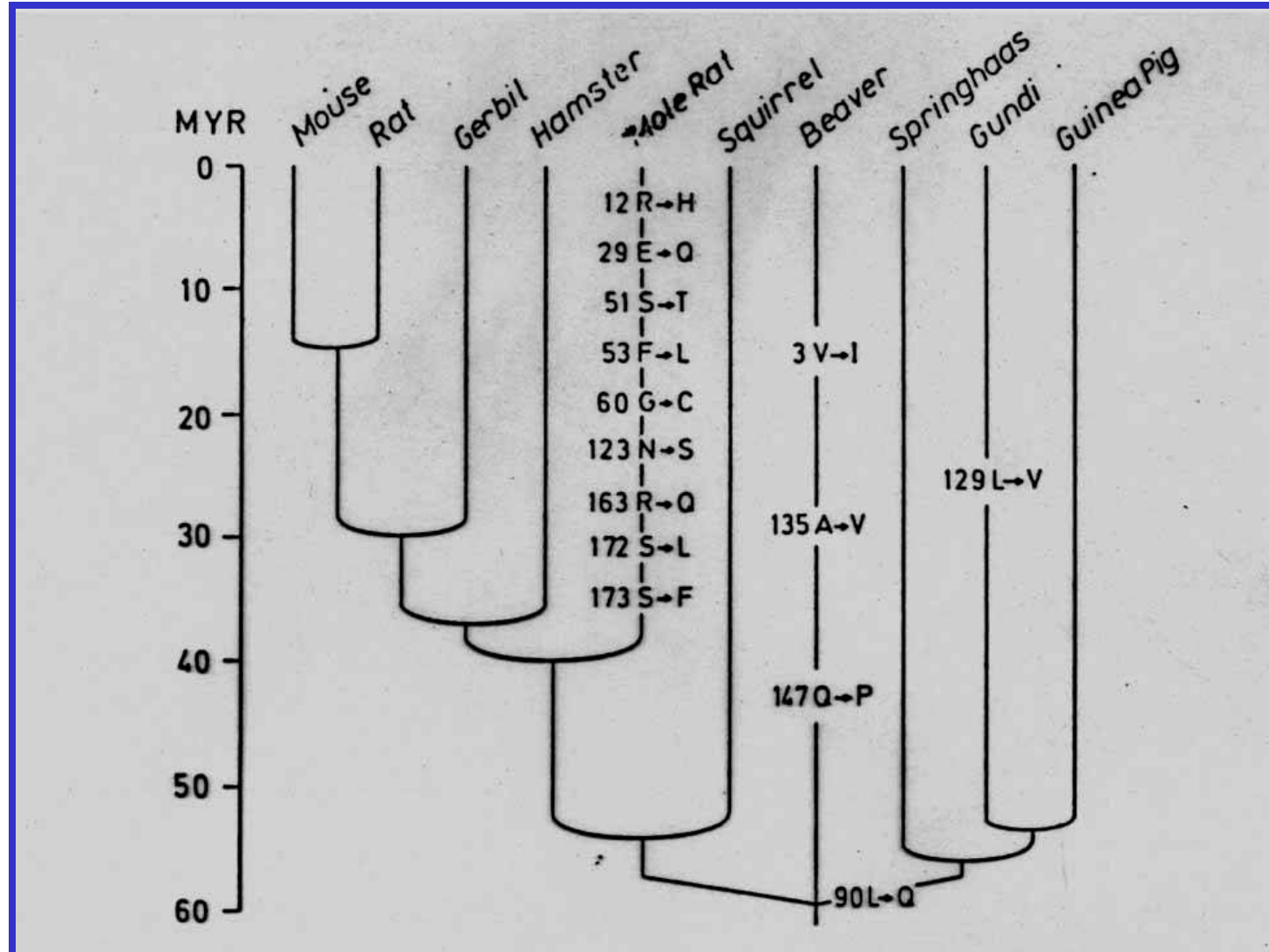


Figure 8.10 Gene genealogy of *Drosophila* *Adh* sequences showing a significant slow-down of substitutions in the *pseudoobscura* clade. (After Takezaki et al. 1995.)

Relajamiento de restricciones funcionales: alfa cristalina



Que dice la evidencia?

- La hipótesis del reloj molecular ha probado ser cierta en algunos casos, pero no en otros.
- Definitivamente no existe un reloj universal.
- Los relojes locales, aún aproximados, son extremadamente útiles. Ejemplos de aplicaciones:
 - <http://timetree.org/>
 - <https://nextstrain.org/>

Variación de tasas entre linajes

Se han propuesto tres factores que no son mutuamente excluyentes:

- **La eficiencia del sistema de reparación podría diferir entre linajes**
- **El efecto del tiempo generacional**
- **La hipótesis de la tasa metabólica**
- **Y nos resta explorar la posibilidad de selección positiva actuando sobre el cambio molecular**

¿Puede la selección natural dar cuenta de estos patrones?

1. reloj molecular
2. tasas de evolución en relación inversa de importancia funcional
3. altos niveles de polimorfismo poblacional

Motoo Kimura (1968): sí... pero basta con selección purificadora: teoría neutral de la evolución molecular

TEORÍA NEUTRAL DE LA EVOLUCIÓN MOLECULAR

Propuesta por Kimura (1968) y King y Jukes (1969)

Originalmente para proteínas

- La mayoría de las **sustituciones** (no todas las mutaciones, sino aquellas que se fijan en la evolución) y de los **polimorfismos** alélicos que se encuentran en las poblaciones son neutros.

Principales postulados de la teoría neutral

- la amplia mayoría de las mutaciones que resultan en cambios aminoacídicos son deletéreas
- por lo tanto, serán eliminadas por la selección purificadora
- la amplia mayoría de las mutaciones que perduran (polimorfismos, sustituciones) son neutras

La teoría neutral tiene dos aspectos bien diferentes

- es una teoría explicativa de la evolución de proteínas
- es una teoría deductiva del comportamiento de mutaciones estrictamente neutras en la evolución
- el segundo componente es:
 - la hipótesis nula para estudios empíricos
 - extensible a cualquier tipo de mutación estrictamente neutra

La teoría neutral NO propone

- que la mayoría de las mutaciones sean neutras
- que la selección natural no es importante en la evolución molecular

Más aún, la teoría NO puede dar cuenta de las tres observaciones antes mencionadas sin invocar a la selección natural

1. reloj molecular esperado para sust. neutras
2. tasas son función inversa de selección purificadora
importancia funcional
3. altos niveles de equilibrio entre mutaciones neutras
polimorfismo poblacional y deriva

Tipo de mutación	Neutralismo	Seleccionismo
Deletérea	la mayoría	la mayoría
de las que restan...		
Neutra	la mayoría	muy pocas
Ventajosa	muy pocas	la mayoría

La diferencia fundamental entre ambas hipótesis radica en la cantidad relativa de mutaciones neutras y favorables, una vez eliminadas las deletéreas.

La Teoría Neutral **NO descarta a la selección natural, simplemente le da un papel más limitado:**

SELECCIONISMO

- invoca a la Selección Purificadora para explicar la pérdida de mutaciones desventajosas.
- invoca a la Selección Positiva para explicar los polimorfismos y la fijación de mutaciones ventajosas.

NEUTRALISMO

- invoca a la Selección Purificadora para explicar la pérdida de mutaciones desventajosas.
- Invoca a la Deriva Genética para explicar los polimorfismos y la fijación de mutaciones neutras.

Algunos resultados (deductivos) de la teoría (para alelos estrictamente neutros)

- la probabilidad de fijación de un alelo es igual a su frecuencia
 - el equilibrio dinámico entre deriva y mutación neutral es función de $\theta=4N\mu$ (de hecho, nuestro análisis de deriva y mutación se enmarca en la teoría neutral).
 - la tasa de sustitución es igual a la tasa de mutación neutral (y es, por tanto, independiente del tamaño poblacional):
 - si tasa de mutación neutral es μ
 - prob. de mutación por generación = $2N \mu$
 - prob. de fijación = frec. inicial = $1/2N$
- tasa de evolución $k = 2N \mu \times 1/2N = \mu$

Más resultados (deductivos) de la teoría (para alelos estrictamente neutros)

- el tiempo medio entre eventos de fijación es $1/\mu$ (consecuencia del punto anterior y, una vez más, independiente del tamaño poblacional)
- el tiempo esperado de fijación de un alelo desde su aparición por mutación es $4N$ (de hecho, lo demostramos usando el coalescente)
- un corolario importante de la teoría neutral es que, aún cuando la evolución de un gen esté dictada por la selección positiva, una clase particular de cambios (aquellos estrictamente neutros) se fijará con una tasa igual a la correspondiente tasa de mutación

Otros aspectos importantes de la teoría neutral

- el polimorfismo en las poblaciones y las sustituciones filogenéticas son manifestaciones (a dos escalas diferentes) de los mismos procesos:
 - mutación
 - selección purificadora
 - comportamiento de variantes estrictamente neutras
- finalmente, las teorías neutrales deberían ser amadas por los seleccionistas, ya que les dicen exactamente qué predicciones (tomadas como hipótesis nulas) deben rechazar. (Kreitman: *“la teoría neutral ha muerto; larga vida a la teoría neutral”*)

¿Cómo se explica la adaptación?

- La teoría neutral no sugiere que la deriva explica todo el cambio evolutivo.
- La selección positiva es el único proceso capaz de producir adaptación, por lo que la teoría neutral simplemente no puede descartar su existencia.
- Pero a nivel molecular, ADN y proteínas, sería la deriva genética quien determina el destino de la mayor parte de las variantes que llegarán a la fijación.

Estudio de la adaptación al nivel molecular

- el debate entre seleccionismo y neutralismo se ha transformado en una discusión sobre la **importancia relativa** de distintas clases de selección
- existen métodos diversos para poner a prueba hipótesis adaptativas a nivel molecular
- los patrones generales de cambio molecular tienen una “forma general” compatible con el neutralismo
- recordemos que los cambios neutrales pueden acompañar la evolución adaptativa (“haciendo dedo”)
- estudios genómicos recientes sugieren que, en *Drosophila*, hasta un 35 % de los codones pueden estar evolucionando al influjo de la selección positiva, en humanos un 9%, en *A.thaliana* aún menos.

Evolución adaptativa a nivel molecular

Un ejemplo de selección direccional: lisina espermática en moluscos

genes implicados en el reconocimiento
óvulo-espermio y el aislamiento reproductivo

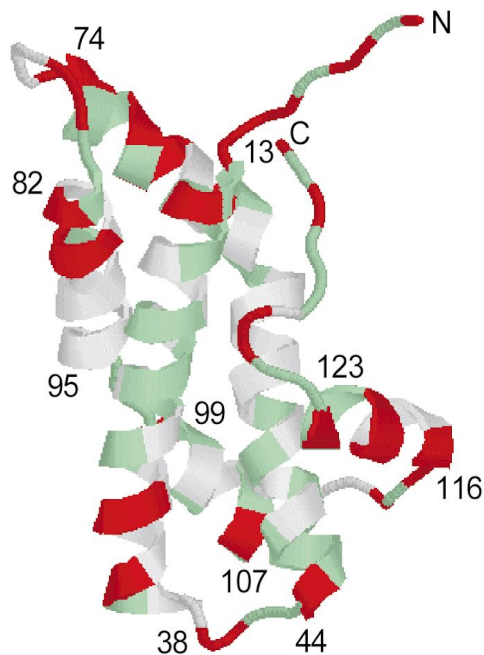
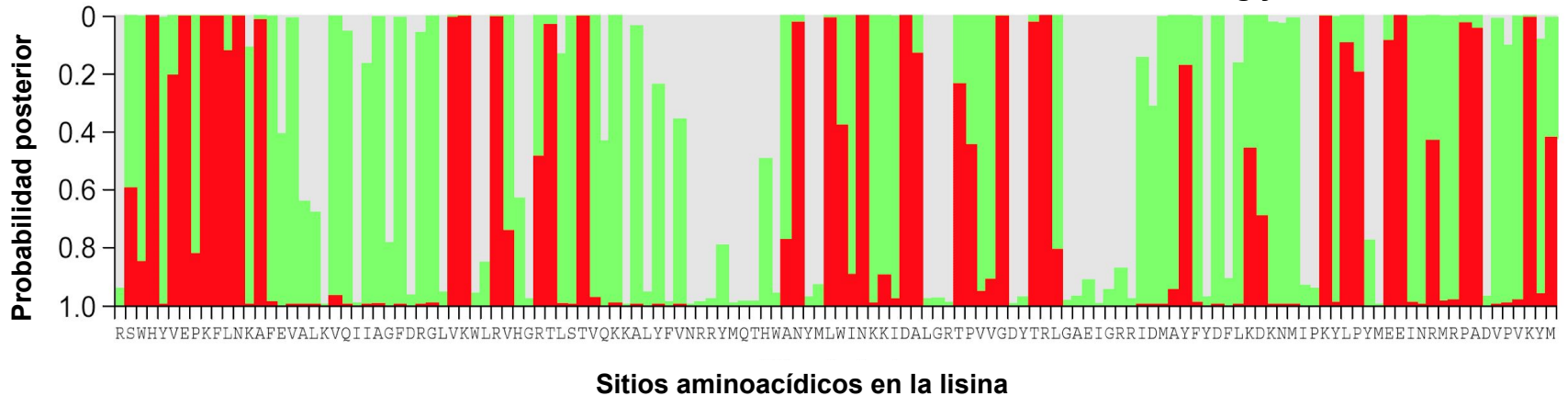
Evaluar ω : dN/dS



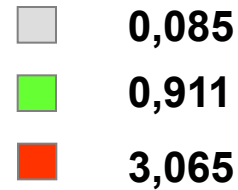


LISINA ESPERMÁTICA EN ABALONES

Yang y Bielawski 2000



dN/dS

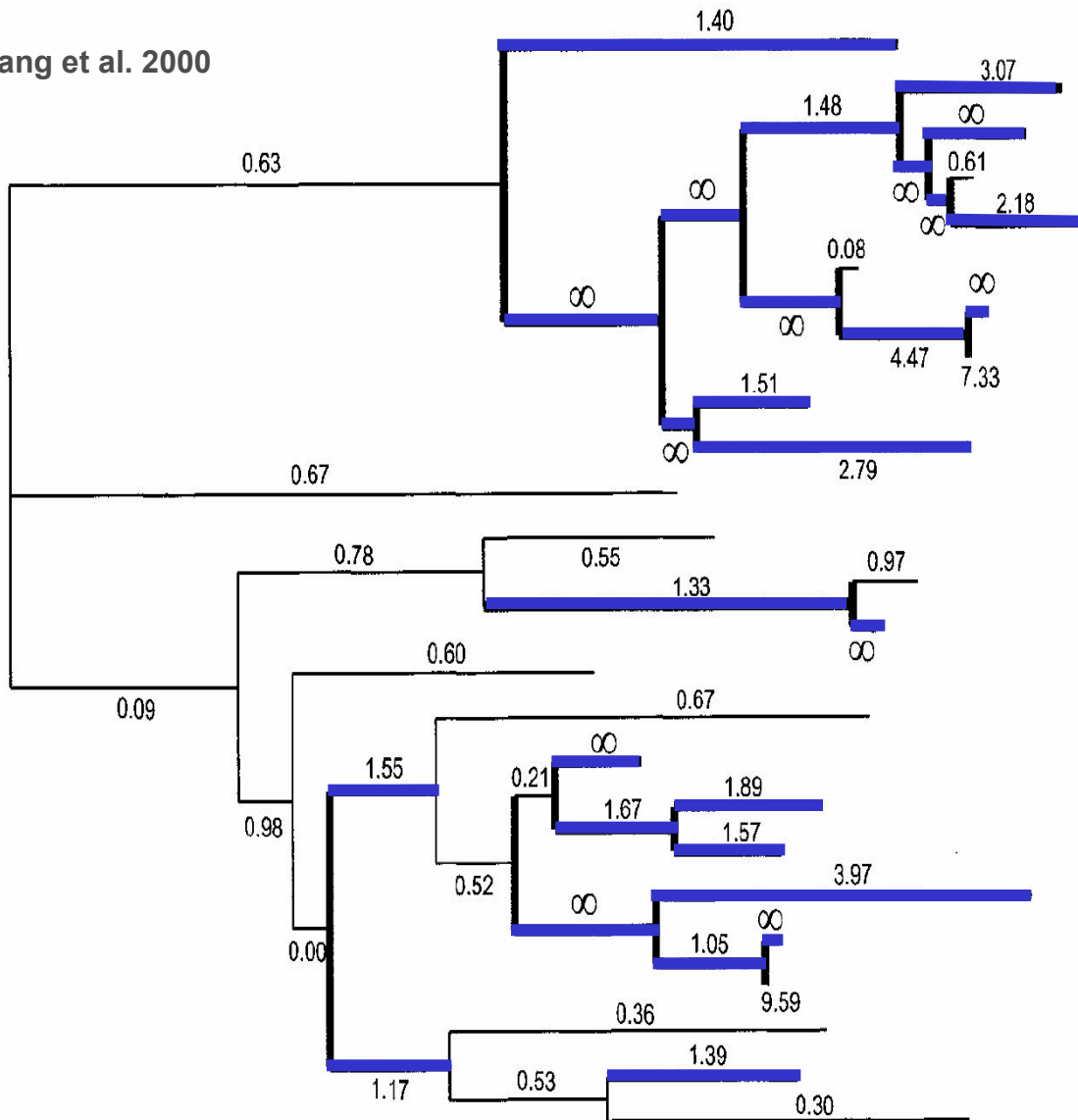


Los sitios seleccionados positivamente,
se agrupan en los extremos de la estructura tridimensional

LISINA ESPERMÁTICA EN ABALONES

$dN/dS > 1$ (selección positiva)

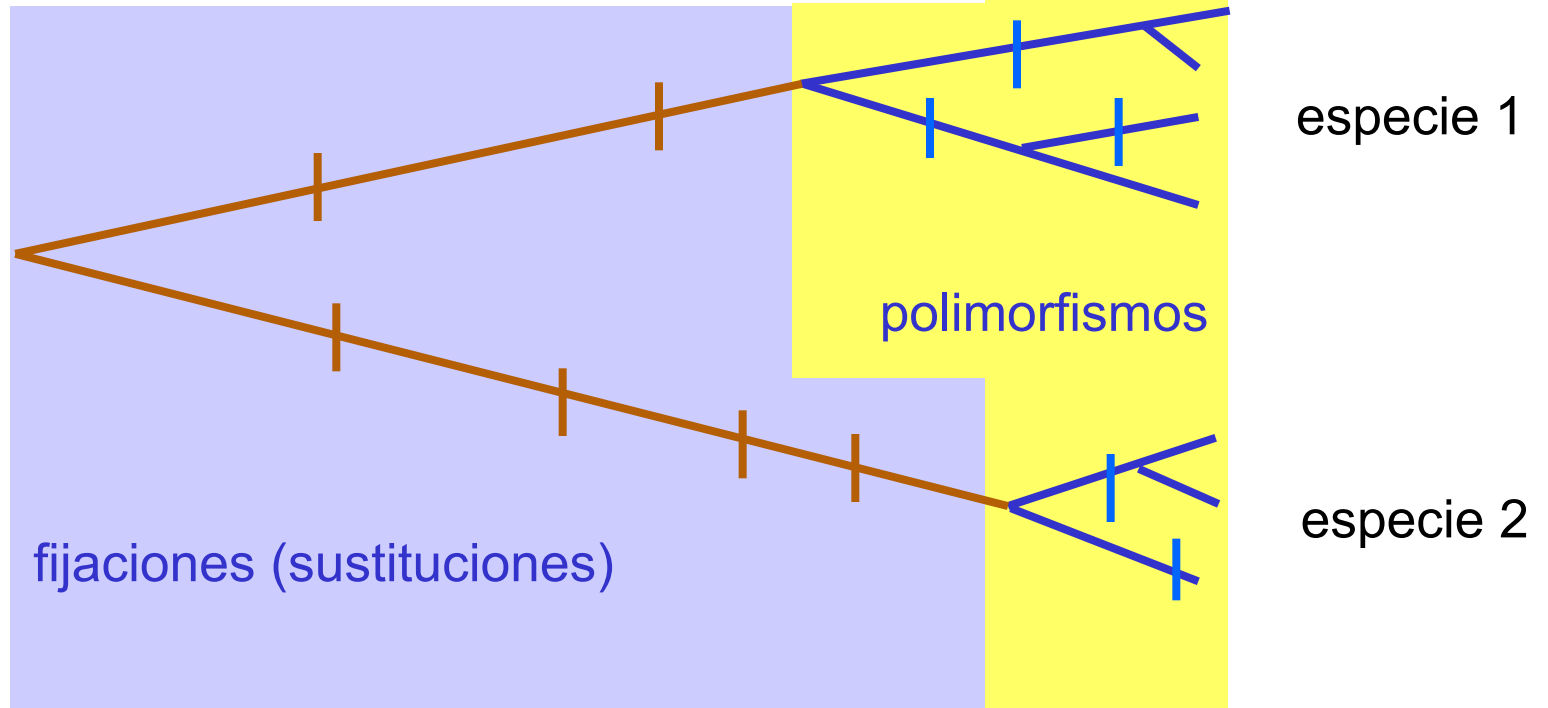
Yang et al. 2000



diferente entre linajes y entre sitios...

Adaptación a nivel molecular:

Prueba (test) de McDonald-Kreitman (1991)



g	g	a	c	t	a	t	especie 1
.	.	.	.	c	g	.	
a	t	g	t	.	.	c	especie 2
a	t	g	t	.	.	.	
a	t	g	t	.	.	.	

Adaptación a nivel molecular:

Prueba de McDonald-Kreitman (1991)

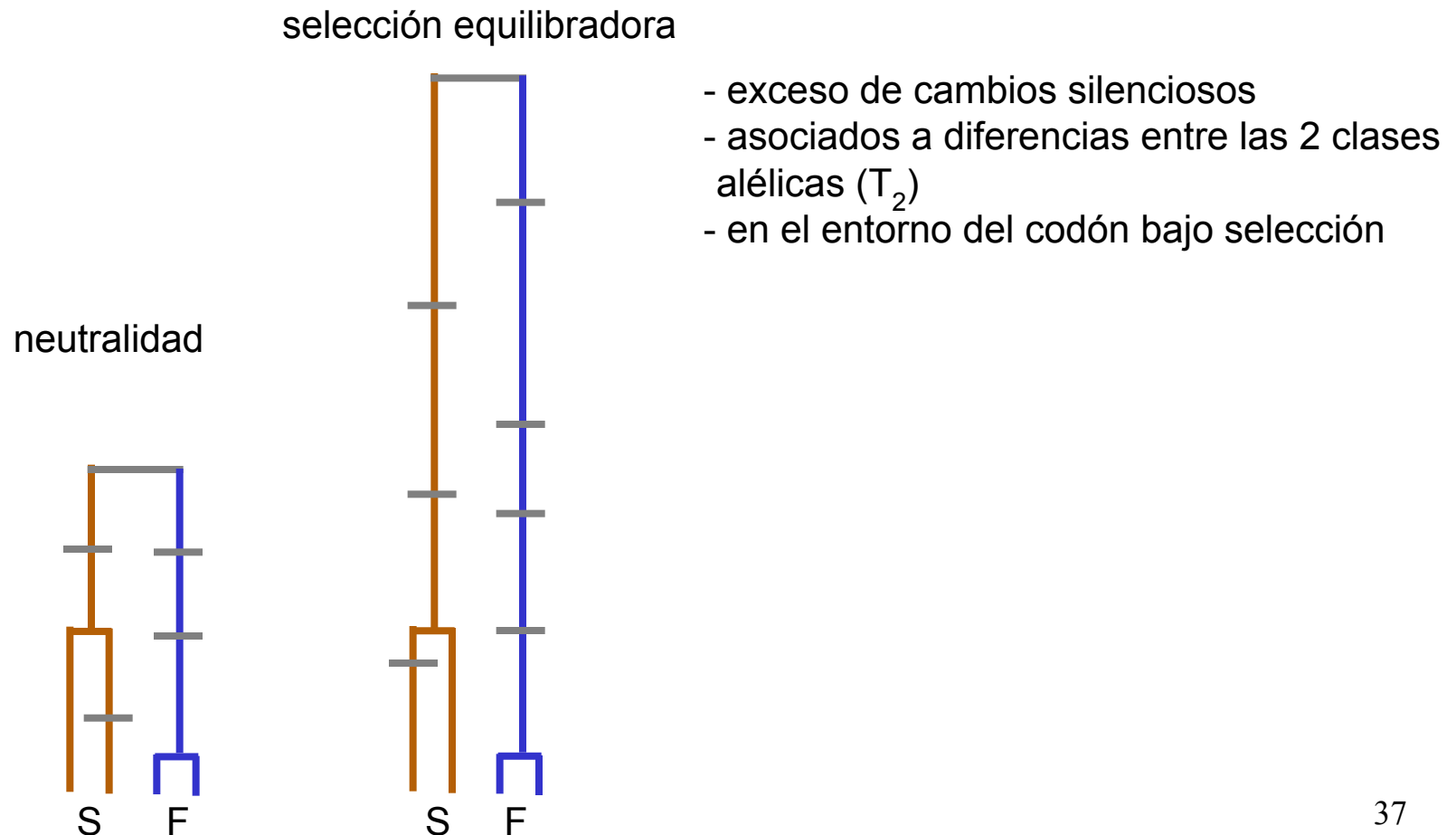
Trabajo original: 3 especies de *Drosophila*
gen de la enzima ADH

Cambios	Fijaciones	Polimorfismos
No sinónimos	7	2
Sinónimos	17	42

sugieren un exceso de fijaciones no sinónimas
(selección direccional)

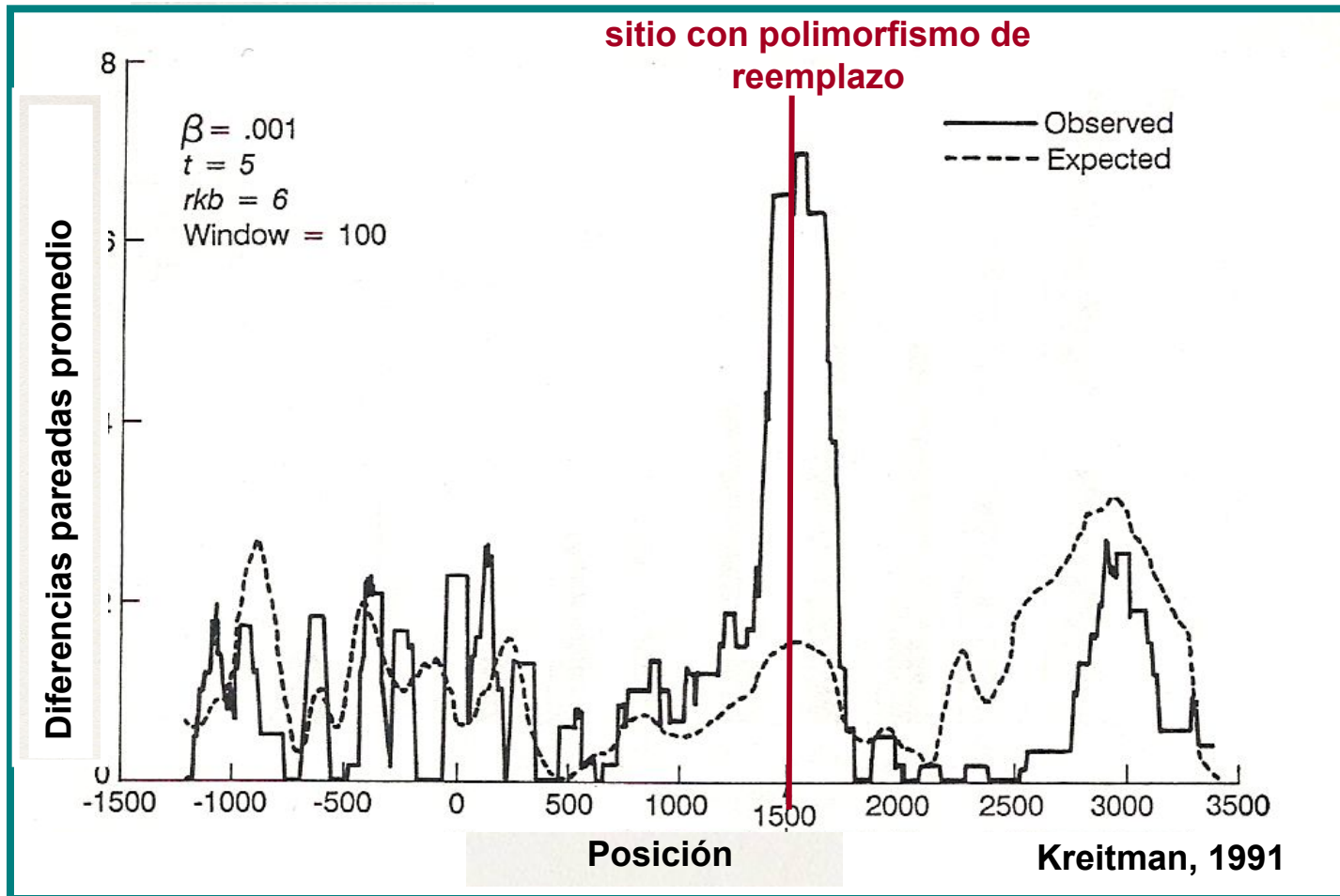
Polimorfismos balanceados

- si son de larga data, se extiende T_2 más allá de lo esperado por azar
- los polimorfismos neutros se asocian a estas ramas largas
- pero la recombinación “borra” ese efecto si nos alejamos del sitio sometido a selección



Adaptación a nivel molecular

Polimorfismo en la enzima ADH



11 alelos de la enzima ADH en *D. melanogaster*

Pruebas (tests) de selección

Desvíos del equilibrio HWE

Un solo gen no podemos discriminar otras violaciones de modelo HWE

$\omega = dN/dS$, relación entre cambios de reemplazo y sinónimos

1) Nivel filogenético. Si $\omega > 1$, es evidencia de selección postiva
Puede ser por rama, por sitio o por rama y sitio

2) Nivel poblacional / filogenético. Test de **McDonald-Kreitman**
Si ω se mantiene constante dentro y entre poblaciones
(polimorfismos y sustituciones respectivamente)

Polimorfismo balanceado

Exceso de mutaciones neutras en torno al polimorfismo de reemplazo

Síntesis

- como modelo deductivo, la teoría neutralista representa un aporte fundamental para entender cómo ocurre la evolución por mutación, selección purificadora, y deriva
- unifica en un mismo modelo los polimorfismos poblacionales y las sustituciones filogenéticas
- es la base de las hipótesis nulas que, por contraste, permiten detectar desviaciones del neutralismo estricto (evolución cuasi-neutra, selección positiva)
- aún las regiones sobre las que actúa la selección positiva, las mutaciones neutras (o cuasi-neutras) “hacen dedo” y se acumulan a las tasas esperadas

Síntesis

- existe evidencia creciente del papel de la selección positiva en los polimorfismos y las sustituciones
- los modelos cuasi-neutros involucran regímenes selectivos más diversos (y por ello son más realistas que el neutralismo estricto)
- una visión evolutiva resulta esencial para entender la composición del genoma, la diversidad de distintas regiones, la evolución viral, la evolución de resistencias a herbicidas, antibióticos.....
- ... las aplicaciones en el campo crecen, al igual que se vuelven más evidentes los desafíos que presenta