

Streszczenie

Główny układ zgodności tkankowej (MHC) odgrywa kluczową rolę w odporności adaptacyjnej. Koduje on białka odpowiedzialne za prezentację antygenów limfocytom T, wyzwalając adaptacyjną odpowiedź immunologiczną. Geny MHC są podzielone na dwie funkcjonalne klasy. MHC-I rozpoznaje antygeny wewnątrzkomórkowe, takie jak białka kodowane przez geny wirusów, podczas gdy MHC-II rozpoznaje patogeny zewnątrzkomórkowe, takie jak bakterie lub pasożyty. Obie klasy są wysoce zmienne i reprezentują najbardziej polimorficzne geny zuchwoców. Im wyższy polimorfizm MHC, tym szersze spektrum rozpoznawanych patogenów. Do tej pory zidentyfikowano ponad 36 000 unikalnych alleli u najlepiej zbadanego gatunku - człowieka. Ekstremalny polimorfizm MHC wynika z dwóch czynników: częstych duplikacji genów i retencji znacznego polimorfizmu alleli poszczególnych genów MHC. Pierwszy z czynników powoduje różnice w liczbie genów MHC między gatunkami i między haplotypami w obrębie gatunku oraz przyczynia się do współdzielenia tych samych alleli między zduplikowanymi genami. Tworzy to złożoną strukturę regionu MHC z wieloma genami obu klas, gdzie pojedynczy gen często wykazuje wysoki polimorfizm, który częściowo pokrywa się z polimorfizmem innych genów MHC.

Długotrwała retencja polimorfizmu genów MHC jest możliwa dzięki doborowi równoważącemu działającemu na te geny. Chociaż konkretne mechanizmy są nadal przedmiotem naukowej debaty, nie ma wątpliwości, że dobór jest napędzany poprzez wyścig zbrojeń między gospodarzami a patogenami. W odpowiedzi na adaptacje patogenów, przedmiot doboru ulega zmianom, które uniemożliwiają utrwalenie się pojedynczego allelu MHC. W rezultacie wiele alleli MHC utrzymuje się w populacji, zwykle w niskiej częstości, zapewniając rezerwuar alleli MHC, który może być wykorzystany jako źródło zmienności genetycznej dla przyszłych adaptacji. Jednakże, aby allel długotrwale utrzymał się w populacji lub był przedmiotem doboru, musi się najpierw w niej pojawić. Istnieją trzy możliwe źródła nowych alleli MHC: mutacje de novo, rekombinacja i konwersja genów z udziałem istniejących alleli oraz introgresja. Uważa się, że introgresja adaptacyjna jest zjawiskiem powszechnym i może być głównym źródłem nowych funkcjonalnych wariantów MHC. Jej rola w kształtowaniu zmienności MHC pozostaje jednak słabo poznana.

Introgresja to proces wymiany genów między różnymi, ale blisko spokrewnionymi gatunkami. Występuje w obszarach znanych jako strefy hybrydowe, gdzie gatunki zwykle spotykają się po okresie izolacji i produkują żywe i często płodne potomstwo. Wytworzone hybrydy, zwykle o obniżonym dostosowaniu w porównaniu z gatunkami rodzicielskimi, mogą przenosić geny

obcego pochodzenia na tło genetyczne gatunku rodzicielskiego w procesie krzyżowania wstecznego. Przeniesienie neutralnego wariantu zależy w dużej mierze od stopnia izolacji nagromadzonej przed wtórnym kontaktem, z mniejszymi szansami na neutralną introgresję między gatunkami, które oddzieliły się wcześniej.

Introgresja adaptacyjna jest szczególnym przypadkiem introgresji, w którym przeniesiony wariant genu podlega doborowi pozytywnemu. Teoria przewiduje, że niezależnie od siły nagromadzonej bariery, transfer korzystnych genów jest tylko nieznacznie opóźniony w porównaniu z nieograniczonym przepływem genów. Łatwość transferu genów, częste występowanie stref hybrydowych i wyraźna przewaga selektywna nowych wariantów MHC sugerują, że adaptacyjna introgresja jest głównym czynnikiem przyczyniającym się do obserwowanego znacznego polimorfizmu MHC. Mimo, że kilka badań postulowało adaptacyjną introgresję MHC w poszczególnych strefach hybrydowych, do tej pory brakowało analizy porównawczej badającej na szeroką skalę częstość występowania tego procesu.

Niniejsza praca ma na celu sprawdzenie częstości występowania adaptacyjnej introgresji MHC u kręgowców. W celu przetestowania tego w ramach analizy porównawczej, wykorzystuje ona wiele, gęsto próbkowanych stref hybrydowych. Takie podejście pozwoliło nam na poszukiwanie powtarzalnych wzorców introgresji MHC i bezpośrednie porównanie jej tempa z ogólnogenomowym (neutralnym) tempem introgresji. Zastosowaliśmy cztery niezależne testy dostosowane do specyfiki regionu MHC: test randomizacyjny, porównanie poziomu dzielonego polimorfizmu MHC pomiędzy izolowanymi gatunkami i gatunkami o zachodzących zasięgach oraz kliny geograficzne i genomowe. Test randomizacyjny posłużył do sprawdzenia zwiększonego dzielenia polimorfizmu MHC pomiędzy gatunkami w pobliżu stref kontaktu, ale poza zasięgiem ogólnogenomowej introgresji. Porównanie gatunków izolowanych i sąsiadujących testowało częstość i łatwość występowania introgresji MHC. Kliny geograficzne testowały, czy kliny MHC są szersze niż kliny ogólnogenomowe. Wreszcie, kliny genomowe sprawdzały, czy tempo zmiany w przynależności gatunkowej szacowanej na podstawie MHC było niższe w stosunku do przynależności gatunkowej szacowanej na podstawie markerów ogólnogenomowych.

Poniżej przedstawiam trzy rozdziały, które poruszają kwestię adaptacyjnej introgresji MHC. Pierwszy analizuje sześć stref hybrydowych pomiędzy gatunkami traszek z rodzaju *Triturus*, drugi koncentruje się na sześciu strefach hybrydowych między jaszczurkami z rodzaju *Podarcis*, ostatni, natomiast, zawiera analizę porównawczą introgresji MHC w 29 strefach hybrydowych należących do wszystkich głównych grup kręgowców. Dla wszystkich badanych

stref hybrydowych zsekwencjonowaliśmy geny MHC, przeanalizowaliśmy ich zmienność i zebraliśmy ogólnodostępne, opublikowane szacunki przynależności gatunkowej określone na podstawie markerów ogólnogenomowych. Aby sprawdzić, czy poziom introgresji MHC jest wyższy niż poziom neutralnej introgresji, co wskazywałoby na jej adaptatywność, bezpośrednio porównaliśmy poziom introgresji pomiędzy genami MHC a markerami ogólnogenomowymi.

Sześć gatunków trasek z rodzaju *Triturus* należących do dwóch odrębnych kladów: trasek grzebieniastych i marmurkowych tworzy sześć stref hybrydowych przedstawionych w pierwszym rozdziale. Cztery z nich zamieszkują Półwysep Bałkański i Anatolię (grzebieniaste), podczas gdy pozostałe zamieszkują Europę Zachodnią (marmurkowe). Nasze analizy wykazały znacznie mniejszą zmienność MHC-II z wyłącznie jednym funkcjonalnym locus. Ponadto zmienność MHC u trasek marmurkowych była ogólnie niższa niż u trasek grzebieniastych. Wykryliśmy powszechny sygnał introgresji MHC oraz przesłanki sugerujące jej adaptatywność. Introgresja MHC została wykryta nawet w strefie hybrydowej, gdzie nie wykryto ogólnogenomowej introgresji. Dodatkowo, wykazaliśmy zwiększone podobieństwo alleli MHC między gatunkami o sąsiadujących zasięgach, w porównaniu do gatunków izolowanych geograficznie, jednocześnie uwzględniając efekt czasu dywergencji pomiędzy gatunkami. Co ciekawe, porównanie klas MHC sugerowało również zwiększone tempo introgresji MHC-I.

Siedem gatunków iberyjskich jaszczurek z rodzaju *Podarcis*, analizowanych w drugim rozdziale przedstawia bardziej jednolity obraz. Wszystkie są blisko spokrewnione i zajmują podobne nisze ekologiczne. Zmienność obu klas MHC była porównywalna. Podobnie jak w pierwszym rozdziale, znaleźliśmy dowody na wszechobecną introgresję MHC i mocne przesłanki świadczące o jej adaptatywności. Ponownie, podobnie jak w przypadku trasek z rodzaju *Triturus*, stwierdziliśmy zwiększone dzielone alleli MHC między gatunkami o sąsiadujących zasięgach. W przeciwieństwie do poprzednich wyników, nie stwierdziliśmy różnic w poziomie introgresji między klasami MHC. Zamiast tego znaleźliśmy pewne wzorce asymetrycznej introgresji MHC, które, jak przypuszczamy, były spowodowane różnicami w poziomie zmienności MHC między hybrydującymi gatunkami.

Ostatni rozdział łączy w sobie wyniki z dwóch poprzednich rozdziałów analizowane wspólnie z dziewięcioma dodatkowymi systemami (rodzajami) należącymi do wszystkich głównych grup kręgowców. Dla każdego systemu niezależnie przetestowaliśmy introgresję MHC, a następnie wspólnie przeanalizowaliśmy wyniki testów przy użyciu metod metaanalitycznych.

Zaobserwowaliśmy znaczne różnice w zmienności MHC między rodzajami, ale podobną zmienność MHC dla gatunków w obrębie rodzaju. Nasze analizy dostarczyły dowodów na adaptatywną introgresję MHC, potwierdzoną przez każdy z zastosowanych testów. Nie stwierdziliśmy różnic w tempie introgresji pomiędzy klasami MHC. Wreszcie, wykryliśmy dowody na asymetrię introgresji MHC w kierunku gatunków o niższej zmienności MHC.

Podsumowując, niniejsza praca dostarcza pierwszych porównawczych dowodów na powszechność adaptacyjnej introgresji MHC. Wykazaliśmy, że proces introgresji MHC może być głównym źródłem nowych wariantów MHC, potwierdzając wysuwaną od dawna hipotezę. Ponadto nasza praca rodzi nowe pytania dotyczące wpływu poszczególnych wariantów MHC na dostosowanie osobników oraz procesów stojących za asymetryczną introgresją MHC. Przedstawione metody mogą być również stosowane w badaniach introgresji adaptacyjnej w innych systemach genetycznych podlegających doborowi równoważącemu, takich jak geny samoniezgodności u roślin. Wierzę, że jest ta praca stanowi ważny wkład w zrozumienie procesu introgresji i ma bezpośrednie znaczenie dla immunologii ewolucyjnej, biologii konserwatorskiej i badań nad specjacją.