

UNIVERZITA KARLOVA v PRAZE

Přírodovědecká fakulta
Studijní program Biologie
Studijní obor Biologie



Martin Těšický

Mezidruhový polymorfismus imunitních genů u volně žijících zvířat
Trans-species polymorphism in immune genes at wildlife animals

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Michal Vinkler, Ph.D.

Praha 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 4. května 2014

Martin Těšický

Abstrakt

Mezidruhový polymorfismus (TSP) je popisován jako výskyt identických či podobných alel u příbuzných druhů. TSP nezahrnuje případy, kdy podobnost vznikla konvergencí, popisuje pouze situace, kdy byl sdílený polymorfismus dceřiných druhů zděděn od společného předka. Neutrální TSP je běžným jevem doprovázejícím speciáci a s narůstající dobou od divergence obvykle vymizí. Z hlediska evoluce imunitního systému a zajištění rezistence hostitele proti parazitům je mnohem důležitější tzv. balancovaný TSP. U funkčně významných lokusů imunitních genů může být dlouhodobě udržován desítky milionů let mechanismem balancující selekce. Tato práce shrnuje soudobé poznatky o TSP imunitních genů především u volně žijících živočichů. Zabývá se evolučními faktory ovlivňujícími šíři a dobu perzistence TSP, evolučními mechanismy zdánlivě připomínajícími TSP a obtížemi stanovení TSP. Většina studií zabývajících se TSP se soustřeďuje pouze na popis sekvencí vazebných míst klasických genů hlavního histokompatibilního komplexu (*MHC I* a *MHC II*). Naše znalosti o dalších imunitních genech, u nichž můžeme potenciálně předpokládat TSP, obzvláště u genů vrozené imunity, jsou pak naprosto nedostatečné. I u nejlépe prozkoumaných *MHC* chybějí rozsáhlé komparativní studie s dostatečným počtem jedinců na druh, které by se snažily postihnout skutečnou šíři a stáří TSP na vybrané taxonomické škále a korelovat ji s určitými evolučními a ekologickými faktory.

Klíčová slova: imunogenetika, imunitní geny, hlavní histokompatibilní komplex, MHC, selekce, mezidruhový polymorfismus, TSP

Abstract

Trans-species polymorphism (TSP) is described as the occurrence of identical or similar alleles in related species, excluding cases where the similarity arose by convergence. In TSP the alleles are inherited from ancestor to the descendant species. Neutral TSP is frequent in closely related newly diverged species and it gradually disappears. Considering evolution of immune system and host-pathogen interaction, balanced long-lasting TSP is much more important. Balanced TSP in immune-related genes is maintained by the mechanism of balancing selection and commonly persists for millions of years. In my thesis I map the contemporary knowledge on TSP in immune-related genes, focusing mainly on wild animals. The chief emphasis is given to evolutionary mechanisms influencing the width and age of TSP, distinguishing TSP from other TSP-like evolutionary patterns and methodical difficulties with the assignment of TSP. Presently, most articles dealing with TSP concentrate only on genotyping the Major histocompatibility loci (*MHC I* and *MHC II*), especially in the peptide binding region. Our knowledge concerning other immune genes with putative TSP is, therefore, insufficient. Most importantly, this is true for innate immunity genes. More effort should be given to comparative large-scale well-sampled studies which focus on the width and age of TSP in different taxa and its correlation with different ecological and evolutionary traits.

Key words: immunogenetics, immune genes, major histocompatibility complex, MHC, selection, trans-species polymorphism, TSP

Jazyková poznámka

V textu své práce používám mnohé termíny a zkratky přejaté z angličtiny. Ačkoliv jsem si vědom jisté jazykové rozpolcenosti předkládané práce, imunogenetika a evoluční genetika patří mezi moderní progresivní obory, jejichž názvosloví molekul pochází převážně právě z jazyka anglického. U mnohých odborných termínů doposud neexistují ustálené české ekvivalenty, proto se raději uchyluji k použití originálních anglických názvů, případně používám jejich počeštěné varianty. Při opakování odborných termínů často využívám jejich zažité zkratky, v případě množného čísla pak ponechávám původní koncovku „-s“. Pro tyto účely je k práci připojen seznam všech použitých zkratk. Za jazykovou nejednotnost se tedy omlouvám, ale s ohledem na obsah práce je tato forma vhodnější než zavedení nových českých termínů, které jinde v současné literatuře nemají ekvivalenty.

Poděkování

Chtěl bych poděkovat svému školiteli Dr. Michalu Vinklerovi za konstruktivní návrhy, cenné připomínky a přátelský přístup při vypracování této bakalářské práce. Rád bych také poděkoval své přítelkyni a rodině za všestrannou podporu a Evě Ullrichové za pomoc s jazykovou úpravou práce.

Seznam zkratek

ABS	oblast vázající antigen (<i>antigen binding site</i>)
AK	aminokyselina
APC	antigen prezentující buňka (<i>antigen presenting cell</i>)
AvBDs	ptačí β - defensiny (<i>avian beta defensins</i>)
BCR	receptor B lymfocytů pro antigen (<i>B-cell receptor</i>)
bp.	pár nukleotidů (<i>pair basis</i>)
CLRs	C-lektinové receptory (<i>C-type lectin receptors</i>)
DAMPs	„vnitřní struktury nebezpečí“ (<i>damaged associated molecular patterns</i>)
DC	dendritická buňka (<i>dendritic cell</i>)
DGGE	<i>Denaturing Gradient Gel Electrophoresis</i>
dsRNA	dvouřetězcová RNA (<i>double-stranded RNA</i>)
ER	endoplazmatické retikulum (<i>endoplasmatic reticulum</i>)
H2	hlavní histokompatibilní komplex u myši
GA	Golgiho aparát (<i>Golgi apparatus</i>)
HDPs	host defense peptidy
HLA	(lidský) hlavní histokompatibilní komplex (<i>human leukocyte antigens</i>)
LMP	<i>low molecular weight proteasome</i>
MHC	hlavní histokompatibilní komplex (<i>major histocompatibility complex</i>)
N_e	efektivní velikost populace
NK	„přirozený zabijed“ (<i>natural killer</i>)
NLRs	NOD-like receptory (<i>nucleotide-binding oligomerization domain receptors</i>)
non-PBR	zbylá část receptoru bez vazebného místa, opak viz PBR
PBR	peptid-vazebné místo (<i>peptid-binding region</i>)
PRRs	pattern recognition receptory
PSMB8	<i>proteasome subunit beta type 8 gene</i>
RFLP	polymorfismus délky restričních fragmentů (<i>restriction fragment length polymorphism</i>)
RIM	reprodukčně-izolační mechanismy (bariéry)
RLSs	RIG-like receptory (<i>retinoic acid-inducible gene-I-like receptors</i>)
SI	sekvenční identita (<i>sequence identity</i>)
SNP	jednonukleotidový polymorfismus (<i>single nucleotide polymorphism</i>)
SSCP	<i>Single Strand Conformation Polymorphism</i>
TAP	TAP pumpa (<i>transporters associated with antigen processing</i>)
TBS	vazebné místo transkripčního faktoru (<i>transcription binding site</i>)
Tc	cytotoxický T lymfocyt
TCR	receptor T lymfocytů pro antigen (<i>T-cell receptor</i>)
Th ₁	pomocný T lymfocyt typu 1
Th ₂	pomocný T lymfocyt typu 2
TLRs	Toll-like receptory
TRIM5 α	<i>tri-partite motif protein 5, α- isoform</i>
TSP	mezidruhový polymorfismus (<i>trans-species polymorphism</i>)

Obsah

Seznam zkratek.....	vi
1 Úvod.....	1
1.1 Parazitismus, jeho evoluce a evoluce imunitního systému.....	1
1.2 Genetický polymorfismus.....	2
1.3 Mechanismy udržování genetického polymorfismu.....	3
2 Trans-species polymorfismus (Mezidruhový polymorfismus).....	5
2.1 Neutrální TSP.....	6
2.2 Balancovaný (long-lasting) TSP.....	7
2.3 Kvantifikace a šíře TSP.....	8
2.4 Význam TSP pro mapování fylogenetických vztahů.....	8
2.5 Evoluční mechanismy projevující se podobně jako TSP.....	9
3 Balancovaný TSP u imunitních genů.....	12
3.1 Geny asociované s adaptivní imunitou.....	12
3.1.1 Hlavní histokompatibilní komplex (MHC).....	12
3.1.1.1 MHC I.....	12
3.1.1.2 MHC II.....	13
3.1.1.3 Stavba MHC genového klastru a jeho polymorfismus.....	13
3.1.1.4 Generování MHC polymorfismu.....	15
3.1.1.5 TSP u antigen prezentujících MHC.....	15
Savci.....	16
Ptáci.....	21
Plazi.....	23
Obojživelníci.....	24
Ryby.....	25
3.1.1.6 PSMB8.....	26
3.1.1.7 IGVH.....	28
3.1.1.8 C α	29
3.2 Geny asociované s vrozenou imunitou.....	29
3.2.1 Host defense peptidy.....	29
3.2.2 Oligoadenylát syntetáza (OASs).....	30
3.2.3 TRIM5 α	30
4 Závěr.....	31
5 Seznam literatury.....	32

1 Úvod

1.1 Parazitismus, jeho evoluce a evoluce imunitního systému

Parazitismus je považován za nejrozšířenější typ ekologického vztahu na Zemi. Podle ekologické definice je parazit chápán jako organismus získávající živiny z jednoho či několika málo hostitelů, kterým způsobuje újmu a snižuje tak jejich fitness, ale obvykle je nezabíjí. Parazité tvoří jednotnou taxonomickou skupinu. Parazitismus se vyvinul nezávisle mnohokrát mezi jednobuněčnými a mnohobuněčnými organismy i viry (Schmid–Hempel 2011). Parazité na své hostitele vytvářejí silný selekční tlak a snaží se překonat nejrůznější obranné mechanismy hostitele, jejichž účelem je redukovat ztráty na fitness způsobené právě ze strany parazitů. Dochází tak k těsnému koevolučnímu vztahu mezi parazitem a hostitelem a k neustálým závodům ve zbrojení, které obecně popisuje hypotéza Červené královny (*Red Queen hypothesis*) (van de Valen 1973, podle Flegr 2009) a na genetické úrovni modely „*gen for gen*“ a „*matching alleles*“ (Agrawal and Lively 2002). Jednou z nejzásadnějších evolučních inovací, díky nimž dokážou hostitelé čelit parazitům, byl vznik imunitního systému. Imunitní systém slouží k udržení homeostázy, a jeho funkcí je tedy zajištění integrity organismu nejen prostřednictvím ochrany proti potenciálně nebezpečným látkám exogenního i endogenního původu, ale také zajištěním autotolerance a imunitního dohledu, neurosekrece, hormonálního řízení a celé řady dalších funkcí (Murphy 2012; Schmid–Hempel 2011). Tradičně se imunitní systém rozděluje na imunitu vrozenou a získanou, přičemž tato hranice je neostrá. Vrozená (nespecifická) imunita je evolučně starší, antigenně nespecifická a zajišťuje rychlou primární imunitní odpověď v řádu minut až hodin. Získaná (adaptivní) imunita je ve svém tradičním pojetí evoluční novinkou obratlovců, je antigenně specifická, má imunitní paměť a vyznačuje se relativně opožděným nástupem v řádu dní (Schmid–Hempel 2011; Murphy 2012). Oba typy imunity zahrnují buněčné (celulární) i látkové (humorální) mechanismy. Buněčné mechanismy vrozené imunity zahrnují NK-buňky (*natural killers*) uplatňující se při antivirové obraně, bazofily (mastocyty) chránící proti mnohobuněčným parazitům a fagocyty – neutrofilny, eosinofily a monocyty a jejich tkáňovou formu – makrofágy. Fagocytóza jako hlavní efektorový mechanismus vrozené imunity zahrnuje rozpoznání vnějších a vnitřních signálů nebezpečí, tzv. *patogen associated molecular patterns* (PAMPs) a *damaged associated molecular patterns* (DAMPs) pomocí solubilních i membránových forem receptorů – tzv. Pattern recognition receptorů (PRRs), např. Toll-like receptory (TLRs), RIG-like receptory (RLRs; *retinoic acid-inducible gene-I-like receptors*), NOD-like receptory (NLRs; *nucleotide-binding oligomerization domain receptors*), C-lektininové receptory (CLRs; C-type lectin receptors) (Meylan et al. 2006; Mogensen 2009; Takeuchi and Akira 2010). Následně dojde k enkapsulaci mikroorganismu do vakuoly (fagozomu) a jeho splynutí s endozomy obsahujícími proteolytické či hydrolytické enzymy a antimikrobiální proteiny. Poté dochází k tvorbě baktericidních kyslíkových a chlornanových intermediátů a dochází tak k oxidačnímu vzplanutí (Danilova 2006).

Humorální mechanismy vrozené imunity zahrnují především komplement s chemotaktickou, opsonizační a osmolytickou funkcí a sérové proteiny krevní plazmy. Patří sem ale také nespecifická mechanická, chemická a antimikrobiální ochrana povrchu těla a sliznic (Danilova 2006; Murphy 2012).

Buněčné komponenty získané imunity představují složité mechanismy založené hlavně na B lymfocytech a T lymfocytech. Molekuly hlavního histokompatibilního komplexu (MHC; *major histocompatibility complex*) jsou stěžejní molekuly adaptivní imunity, které mají schopnost na svém povrchu vázat fragmenty endogenních a exogenních peptidů a prezentovat je T lymfocytům. MHC I molekuly se podílejí především na prezentaci endogenních antigenů a exogenních antigenů intracelulárních parazitů, zatímco MHC II prezentují především antigeny z extracelulárních parazitů (Jeffery and Bangham 2000; Klein et al. 2007; Neefjes et al. 2011). Komplex MHC-oligopeptid rozeznávají přes svůj T buněčný receptor (TCR; *T-cell receptor*) T lymfocyty různých typů, jež můžeme zjednodušeně rozdělit podle typu koreceptoru a funkce na $CD8^+$ (především cytotoxické, Tc) a $CD4^+$ (především pomocné, Th) T lymfocyty (Murphy 2012). Humorální složka adaptivní imunity je zajišťována protilátkami, které jsou produkovány B lymfocyty (Schmid–Hempel 2011; Murphy 2012). Jedná se o solubilní imunoglobuliny několika izotypů (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM). Protilátky se s různou afinitou vážou k antigenům a jejich hlavní funkcí je opozice a neutralizace (Schmid–Hempel 2011; Murphy 2012).

Jako odpověď na nové genotypy parazitů vznikají nové alely imunitních genů hostitele, které přispívají k nárůstu alelické variability a vzniku funkčního polymorfismu pro zajištění efektivní imunitní obrany hostitele (Schmid–Hempel 2011). V některých případech se pro zajištění obranyschopnosti využívají už osvědčené alelické varianty od mateřského druhu a v případě, že dceřině druhy sdílejí obdobné spektrum parazitů a nové alely se při zajištění obranyschopnosti opět osvědčí, mohou dlouhodobě perzistovat u dceřiných druhů i desítky milionů let a procházet v téměř nezměněné podobě několika koly speciací. Tento unikátní mechanismus je popisován jako mezidruhový, tj. (trans-species) polymorfismus (TSP) (Arden and Klein 1982; Klein 1987; Klein et al. 1998; Klein et al. 2007).

Cílem této bakalářské práce je shrnout soudobé poznatky o TSP u genů vrozené a získané imunity, a to především u volně žijících zvířat. Dílčí cíle pak jsou: (1) Zjistit u jakých genů byl TSP identifikován, (2) zjistit, zda se liší doba a šíře perzistence TSP mezi jednotlivými geny a taxony, (3) pokusit se identifikovat faktory, které vlastnosti TSP ovlivňují, (4) upozornit na možná úskalí výzkumu a interpretace TSP a pokusit se nastínit, jakým směrem by měl výzkum v této oblasti směřovat.

1.2 Genetický polymorfismus

Genetický polymorfismus je dlouhodobý výskyt minimálně dvou alel v populaci v takových frekvencích, jež nemohou být vysvětleny opakovaným vznikem dané mutace (King et al. 2006). Z hlediska typu molekulární změny na úrovni DNA rozlišujeme několik typů bodových mutací (Flegr 2009): substituce (tzv. jednonukleotidový polymorfismus; *single nucleotide polymorphism* – SNP), inzerce, delece, translokace, inverze, duplikace apod. Většina nově vzniklých mutací je eliminována

účinnými reparačními mechanismy a ty, které přetrvávají, se nejčastěji objevují v nekódujících oblastech. Z hlediska vlivu na fitness a účinku selekce jsou pak mnohé tyto mutace neutrální (Nei 1983). Naopak mutace v kódujících oblastech genu, které určují pořadí aminokyselin (AK) v polypeptidu, tedy v primární struktuře peptidu, mohou mít vliv na výslednou terciární a kvartérní strukturu proteinu (Flegr 2009). Podle míry vlivu mutace na fenotyp rozdělujeme mutace v kódujících oblastech na substituce synonymní (*samesense*), substituce se změnou smyslu (*missense*) a substituce nesmyslné (*nonsense*) (Flegr 2009). Vzhledem k degenerovanosti genetického kódu se jednobodová substituce v tripletu na AK sekvenci proteinu nemusí projevit. Ačkoliv bývají synonymní substituce obvykle selekčně neutrální, pro organismus může mít vliv, zda je daná AK kódována tripletem vzácné nebo hojné tRNA. Synonymní mutace mají proto vliv na genovou expresi (Gorlov et al. 2006) a v poslední době se ukazuje také vliv na náchylnost k řadě onemocnění (Sauna and Kimchi-Sarfaty 2011). Mutace se změnou smyslu (*missense*) mohou být konzervativní, je-li původní AK nahrazena jinou AK s podobnými chemicko-fyzikálními vlastnostmi. V takovém případě je vliv na terciární a kvartérní strukturu proteinu minimální nebo žádný. Vyšší vliv na výslednou konformaci proteinu obvykle způsobují radikální *missense* mutace vložím nepodobné, nekonzervativní AK. Výrazný dopad na fenotyp mají nesmyslné (*nonsense*) mutace, v jejichž důsledku dojde k předčasné terminaci translace (Flegr 2009). Drastické změny ve fenotypu může rovněž vyvolat posunová mutace (*frameshift*), např. vložení cytosinu do *NOD2* je asociováno s náchylností ke Crohnově chorobě (Ogura et al. 2001).

Vzhledem k zaměření této práce se budu v následujícím oddíle věnovat udržování genetického polymorfismu především na příkladech imunitních genů, přestože níže uvedené principy mají obecnou platnost.

1.3 Mechanismy udržování genetického polymorfismu

Většina autorů pro udržování polymorfismu v populacích uvádí dva hlavní mechanismy: (1) parazity zprostředkovanou selekci a (2) pohlavní výběr. Protichůdné empirické výsledky z různých studií pro podporu jednotlivých hypotéz však naznačují, že na udržování genetické variability se podílí více mechanismů zároveň a mezi hypotézami neexistují ostré hranice, ale spíše plynulý přechod (Hughes and Yeager 1998; Meyer and Thomson 2001; Penn 2002). Parazity zprostředkovaná selekce vychází z koevolučního zápasu mezi hostiteli a parazity a je zprostředkována balancující selekcí, a to nejméně dvěma jejími mechanismy: (a) selekcí ve prospěch heterozygotů (*heterozygote advantages hypothesis*) a (b) negativní frekvenčně závislou selekcí (*negative frequency depending selection*) neboli hypotézou vzácné alely (*rare advantageous*) (Hughes and Yeager 1998; Milinski 2006), případně ještě (c) „časoprostorově oddělenou selekcí“ (*fluctuating selection, space-time selection*) (Meyer and Thomson 2001; Spurgin and Richardson 2010). K negativní frekvenčně závislé selekci dochází v případě, že selekční hodnota určité alely negativně koreluje s její frekvencí v populaci. Frekvence určitých alel se v populaci vyskytují v určitých ekvilibriích. Se stoupající frekvencí v populaci se alela stává pro svého nositele nevýhodnou, což vede ke snížení fitness jejího nositele a k poklesu frekvence

alely v populaci. Vzácná alela potom naopak způsobí zvýšení fitness svým nositelům (Hughes and Yeager 1998). Empirické důkazy pro působení frekvenčně závislé selekce v imunitních genech pocházejí z asociací konkrétních *MHC I* a *II* alel k úplné či částečné rezistenci proti infekčním onemocněním, např. Epstein-Barr-viru, hepatitidě B, tuberkulóze (Hughes and Yeager 1998; Jeffery and Bangham 2000; Sommer 2005). Časoprostorově oddělená selekce se liší od frekvenčně závislé selekce tím, že hodnota fitness se mění jako funkce s frekvencí patogena (a míře vystavení hostitele k parazitaci), zatímco při frekvenčně závislé frekvenci je hodnota fitness úměrná výskytu alely v populaci (Meyer and Thomson 2001).

K selekci ve prospěch heterozygotů dochází v případech, kdy je fitness heterozygotů vyšší než fitness recesivního i dominantního homozygota. Například heterozygoti v *MHC* jsou mnohdy díky většímu počtu *MHC* alel schopni prezentovat T-lymocyům vyšší spektrum antigenů a tím odolávat širšímu spektru patogenů (Hughes and Yeager 1998; Jeffery and Bangham 2000; Wegner et al. 2004). Empirická podpora je doložena mnoha příklady, např. heterozygoti lososa *Oncorhynchus tshawytscha* v *MHC IIB* po experimentální infekci virem IHNV (*infectious hematopoietic necrosis virus*) měli o 8,5 % nižší mortalitu než homozygoti, podobně také při infekci rybobomorkou *Myxobolus cerebralis* (Arkush et al. 2002). Dále výhoda *MHC* heterozygotů platí pro živoroďenku západní (*Poeciliopsis occidentalis*) po infekci žábrohlistem *Gyrodactylus turnbulli* (Hedrick et al. 2001), pro myš domácí (*Mus musculus*) infikovanou různými kmeny salmonely (Penn et al. 2002).

Mezi hypotézy udržování genetické variability prostřednictvím pohlavního výběru patří hypotéza *disassortative mating* (*negative-assortative mating*) založená na olfaktorické diskriminaci *MHC* genů (Hughes and Yeager 1998; Meyer and Thomson 2001). Samice si volí partnera komplementárního ke svému genotypu (tzv. *complementary genes - hypothesis*). U *MHC* genů tak kombinace obou odlišných rodičovských *MHC* haplotypů zajišťuje vyšší variabilitu u potomků a tím i vyšší pravděpodobnost úspěšné imunitní odpovědi proti širšímu spektru patogenů (Mays and Hill 2004). Tato hypotéza byla empiricky potvrzena např. u lidí (Milinski and Wedekind 2001), u lemuru (Huchard et al. 2013) či strnadce skvrnitého (*Passerculus sandwichensis*) (Freeman-Gallant et al. 2003). Existuje také možnost selekce založené už na úrovni interakce matka-plod (*maternal-fetal interactions*), kdy se zvyšuje pravděpodobnost přežití u plodu s odlišnými *MHC* alelami matky (odlišné alely otce a matky) (Kamath and Getz 2011). U některých organismů může hrát variabilita imunitních genů také roli při individuálním rozpoznání a uplatňovat se také při příbuzenské selekci (*kin selection*) či vyhýbání se inbreedingu (*inbreeding avoidance*) založených na olfaktorické diskriminaci (Penn 2002), např. u slonů (Archie et al. 2010; Archie et al. 2007) či buňňáků (Strandh et al. 2011).

Na udržování polymorfismu se také nepřímo podílí evoluční svezení se (evoluční draft, *hitch-hiking effect*). Lokusy ležící na stejném chromozomu v těsné blízkosti se nacházejí v genové vazbě, takže je u nich výrazně potlačena pravděpodobnost rekombinace. Působí-li selekce na jeden z lokusů v genové vazbě, alely tohoto lokusu mohou ovlivňovat frekvenci i selekčně neutrálních nebo i mírně škodlivých alel přilehlých lokusů. (Hughes and Yeager 1998; Kelly and Wade 2000). Pokud na jeden z lokusů působí balancující selekce, mechanismem evolučního draftu se bude udržovat vysoká variabilita i v okolních lokusech, které balancující selekci samy nepodléhají, a může tak docházet

k „*hitch-hikingu*“ neutrálního polymorfismu (Kamau and Charlesworth 2005), např. vystavení exonu 2 *MHC II DRB* genu silné selekci ve vazebném místě peptidu (PBR; *peptide-binding region*) působí na přetrvání značného polymorfismu v nevazebném místě peptidu (non-PBR; *non-peptide-binding region*) exonu 2, méně pak na přilehlé introny (Hughes and Yeager 1998). Opačný vliv na míru polymorfismu okolních lokusů má naopak selekce na pozadí (*background selection*) v případě působení negativní selekce a selekční vymetení (*selection sweep*) v případě působení pozitivní selekce a následné fixace alely (Charlesworth and Guttman 1996).

Selekce je proces semideterministický a působí především v dostatečně velkých populacích (Flegr 2009). Na udržování genetické variability má ale vliv také populační a metapopulační dynamika závislejší na velikosti a struktuře populace. Genetický drift je pak proces stochastický, často způsobující redukci genetické variability a jeho intenzita je závislá na efektivní velikosti populace (N_e). Genetický drift se týká především malých izolovaných populací, případně také početně malých fluktuujících subpopulací, do nichž je metapopulace rozdělena (Flegr 2009). Ochuzenou imunologickou variabilitu a přítomnost velmi nízkého počtu často vzájemně divergovaných *MHC alel* vykazují např. ostrovní druhy postižené efektem zakladatele (*founder effect*) v porovnání s blízkými přítomnými druhy žijícími na pevnině, např. rákosník seychelský (*Acrocephalus sechellensis*) (Richardson and Westerdahl 2003), tučňák galapážský (*Spheniscus mendiculus*) (Bollmer et al. 2007) či blízké příbuzné druhy laločnickovitých *Philesturnus rufusater* a *Philesturnus carunculatus* (Sutton et al. 2013). Kromě ochuzení variability spojené s kolonizací a malou velikostí N_e zakládající populace také tyto druhy opakovaně trpěly efektem hrdla láhve (*bottle-neck*) při demografických fluktuacích. Předpokládá se, že *bottle-neck* redukoval *MHC* variabilitu některých severovýchodních druhů přežvýkavců vystavených výrazným klimatickým oscilacím. Ačkoliv jsou jejich dnešní populace dostatečně velké pro působení *bottle-necku*, některé *MHC* lokusy jsou monomorfní či oligomorfní, jako např. *MHC II DRB* geny pižmoně severního (*Ovibos moschatus*) či soba polárního (*Rangifer tarandus*) (Mikko et al. 1999). Podobný účinek může mít také fragmentace biotopu, např. pro *DRB* lokus u pandy velké (*Ailuropoda melanoleuca*) (Wan et al. 2006) či nadměrný lov u bizona amerického (*Bison bison*) na *DRB3* lokus (Mikko et al. 1997). Výrazné snížení N_e potom může vést k nárůstu homozygotů, k inbreedingu a inbrední depresi a ztrátě fitness (Crnokrak and Roff 1999).

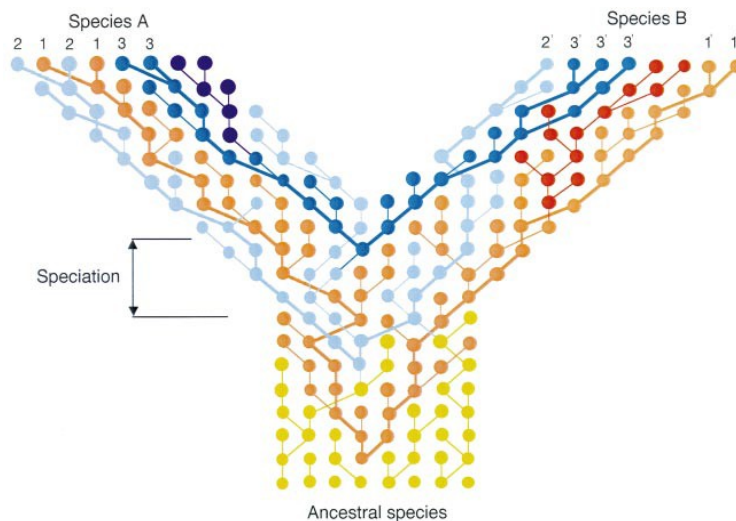
2 Trans-species polymorfismus (Mezidruhový polymorfismus)

Mezidruhový polymorfismus (TSP; *trans-species polymorfismus*) je popisován jako výskyt podobných alel u příbuzných druhů (Klein et al. 1987; Klein et al. 1998; Klein et al. 2007). TSP nezahrnuje případy, kdy podobnost vznikla konvergencí, ale popisuje pouze situace, kdy byl sdílený polymorfismus dceřiných druhů zděděn od jejich společného předka. TSP lze tedy definovat jako výskyt stejné nebo podobné alely daného genu (případně alelické linie) u příbuzných druhů, přičemž tyto transspecifické alely sdílené mezi druhy jsou si navzájem příbuznější než transspecifické alely v porovnání s ostatními alelami vyskytujícími se pouze v rámci jednotlivých druhů.

Zjednodušeně můžeme rozlišit dvě základní formy TSP. Bezprostředně po speciaci nově vzniknuvší druhy mezi sebou sdílejí množství zejména neutrálních alel, které obvykle důsledkem akumulace bodových mutací a rekombinace s narůstající dobou od divergence postupně vymizí, tzv. neutrální (transientní) TSP (Nagl et al. 1998). Z hlediska evoluce imunitního systému a především z pohledu evoluční imunogenetiky je však mnohem důležitější tzv. balancovaný (*long-lasting*) TSP týkající se funkčně významných genů, který může být mezi druhy dlouhodobě udržován především mechanismem balancující selekce (Klein et al. 1998; Klein et al. 2007). Proto bude tomuto druhu polymorfismu věnován v následujících pasážích větší prostor.

Obr. č. 1: Koncept trans-species polymorfismu

Každý řádek bodů znázorňuje „*gene pool*“ jedné generace, každý kruh představuje jeden gen, odlišné barvy symbolizují různé alely. Propojení znázorňuje ascendentní-descendentní vztah, tenká čára znázorňuje koalescenci alel v dosud existující generaci. Světle modrá, tmavě modrá a oranžová barva znázorňují alelické linie 1, 1', 2, 2' a 3, 3', které vznikly už u ancestrálního druhu a byly předány speciaci dvěma dceřiným druhům A a B. Červená a fialová barva znázorňují linie unikátní pro oba dceřiné druhy vzniklé až po speciaci (Klein et al. 1998).



2.1 Neutrální TSP

Bezprostředně po speciaci je veškerý polymorfismus sdílen od předka a jeho frekvence s narůstající dobou od divergence klesá (fixace alel, akumulace bodových mutací). Míra přetrvávání neutrálního polymorfismu navíc závisí na N_e , očekávaná rychlost fixace neutrálních alel je totiž $4N_e$ generací, a tedy ve větší populaci může neutrální TSP přetrvávat déle (Kimura 1968; Klein et al. 1998). Za jistých okolností (např. velká populace a rychlá speciace, během nichž se nestihnou alely fixovat či vymizet) tak neutrální TSP může překonat několik speciačních událostí (Nagl et al. 1998). Existuje však také možnost dlouhodobého udržování neutrálního TSP mechanismem evolučního draftu, a to pokud se alela nachází v blízkosti selekčně významného lokusu (viz kap. 1.3). Vhodný model pro studium neutrálního TSP představují druhy, které recentně prodělaly či prodělávají rychlou adaptivní radiaci, např. cihlidy Viktoriina jezera (Klein et al. 1998; Nagl et al. 1998; Samonte et al. 2007). Ačkoliv jsou tyto druhy

behaviorálně, morfologicky a především troficky diferenciované, na úrovni jaderných a mitochondriálních genů vykazují tak extrémně malé mezidruhové sekvenční rozdíly, že nelze rozlišit jednotlivé druhy. Proto se někdy souhrnně označují tzv. *haplochromine species flock*. Univerzálně rozšířený je pak neutrální TSP, který byl detekován ve všech náhodně vybraných lokusech, např. v intronech, 3'UTR, glukosa-6-fosfatáze (*G6P*), aktinu a v dalších genech (Nagl et al. 1998). U cihlid 6 druhů rodu *Haplochromis* Viktoriina jezera a okolních kráterových jezer míra neutrálního TSP odrážela dobu divergence mezi druhy (Samonte et al. 2007). Genotypizace na úrovni jaderných markerů (*Hag*, *Tyr*, *Opnlhws* a *SINE1357*) a mitochondriálního *CR* (*control region*) ukázala u 2 druhů kráterových jezer (*H. luloto*, *H. nshere*) druhově specifické alely se stopami ancestrálního polymorfismu (divergence od společného předka všech druhů 165 a 82,5 tis. let). *H. rockribensis* (divergence 42,5 tis. let) se jako jediný druh Viktoriina jezera odlišoval druhově specifickými substitucemi v *CR* a vykazoval nižší počet sdílených haplotypů. Přetrvávání nerozlišeného polymorfismu a extrémní míry TSP mezi dalšími druhy Viktoriina jezera (divergence 13,75 tis. let) tak pomáhá kontinuální hybridizace a zdá se, že genový tok samotný může být dostatečný pro účinnou homogenizaci druhů (Samonte et al. 2007).

Podobně byl funkčně neutrální TSP zjištěn v genu pro α -enolázu u 2 druhů alkounků (Walsh and Friesen 2003), které od sebe divergovaly 2,8 mil. let.

2.2 **Balancovaný (long-lasting) TSP**

Balancovaný polymorfismus se týká funkčně významných lokusů nacházejících se dlouhodobě pod vlivem balancující selekce (Klein 1987; Klein et al. 1998; Klein et al. 2007). Kromě imunitních genů byl TSP popsán také u vysoce polymorfních *S*-genů kódujících tzv. *self-incompatibility system* u krytosemenných rostlin. Jeho hlavní funkcí je vytvářet prezygotickou bariéru bránící autogamii a možné inbrední depresi (Hiscock et al. 1996; Hiscock and McInnis 2003). TSP v těchto v *S*-genech byl detekován např. v čeledi brukvovitých (Brassicae) (Dwyer et al. 1991), v čeledi lilkovitých (Solenaceae), kde je udržovaný až 70 mil. let (Ioerger et al. 1990; Richman et al. 1996). Obdobnou funkci jako *S*-geny mají také párovací lokusy hub, u nichž byl TSP také detekován (Lukens et al. 1996). Dále byl balancovaný TSP detekován v *CSD* genu (*complementary sex determiner*), který u blanokřídlých (Hymenoptera) určuje pohlaví. (Heimpel and de Boer 2008; Lechner et al. 2014) a také u ABO krevního systému primátů. Nicméně stále se vedou spory, zda mezi hominoidy a opicemi Nového světa tento stav není spíše důsledkem konvergence než TSP (Kermarrec et al. 1999; Martinko et al. 1993; OhUigin et al. 1997; Segurel et al. 2012).

Koncept TSP poprvé popsal u *MHC* genů a následně rozvíjel česko-americký imunogenetik Jan Klein jako alternativní hypotézu pro vysvětlení vysokého polymorfismu v *MHC* a zároveň pro vysvětlení existence některých vysoce divergovaných alel v rámci druhu (Klein 1987). První experimentální důkaz TSP přinesli Arden and Klein (1982) na H2 antigenu u třech poddruhů myši domácí pomocí metody *tryptic peptid mapping*: *M. musculus molossinus* a *M. m. castaneus* a *M. m. domesticus* sdílely po imunizaci biochemicky nerozlišitelné sérologické alomorfy (produkty *MHC*

genů) na různých místech světa. V případě konvergence by identické alomorfy musely vzniknout nezávisle za krátkou dobu, přibližně za 1–2 mil. let asi na 10 místech světa, takže autoři se přiklonili k hypotéze sdílení alomorf od společného předka a jejich předání druhům dceřiným. Definitivní potvrzení TSP v MHC přinesli až Figueroa et al. (1988) DNA sekvenováním, kteří zjistili TSP jak u vybraných druhů myší, tak i mezi myší a potkanem (*Rattus norvegicus*). Další experimentální důkazy TSP pocházely ze serologických alomorf, postupně však byly nahrazeny kvalitativně pokročilejšími sekvenačními metodami. Přesto byly v minulosti rozsáhlejší soubory dat zpracovávány levnějšími a méně přesnými metodami, např. RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), SSCP (*Single Strand Conformation Polymorphism*) a DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*), které často nejsou schopny rozlišit alely lišící se substitucemi v několika párech bazí (bp; *pair bases*) (Babik 2010). Nízká rozlišovací schopnost těchto metod může ovlivnit detekci TSP, zejména pak identifikaci identických alel.

2.3 Kvantifikace a šíře TSP

Kvantifikace míry TSP je založena na základně nekonzistentní topologie mezi genovým fylogenetickým stromem (*gene tree*) a druhovým stromem (*species tree*). Jako *species tree* musíme zvolit reprezentativní neutrální lokus (ideálně mnoho lokusů či celogenomová data), který není objektem selekce (Edwards et al. 1997; Garrigan and Hedrick 2003). Pokud se alely vyvíjejí neutrální evolucí, genetický drift postupně eliminuje většinu ancestrálních alel u dceřiných druhů. Můžeme tak předpokládat vyšší frekvenci konspecifických alel vytvářející monofylum (Edwards et al. 1997). V případě působení silné balancující selekce však nedojde k signifikantní ztrátě zděděných alel a tyto perzistující alely pak vytvářejí transspecifické klastry a inkongruence mezi fylogenetickými stromy. Jeden ze způsobů, jak kvantifikovat inkongruence mezi „*gene tree*“ a „*species tree*“ je spočítat (hluboké) mezidruhové koalescenční události a porovnat je s jednoduchým modelem balancující selekce (Edwards et al. 1997). Mezidruhové koalescenční události jsou definovány jako případy, ve kterých alely či alelické linie nalezené v jednom druhu můžeme přiřadit společnému předku alel nalezeném v jiném druhu (Edwards et al. 1997), např. metodou „*reconcile tree*“ (Page and Charleston 1997). Když proti sobě zrcadlově nakreslíme *gene tree* a *species tree* a spojíme k sobě příslušné větve, dostaneme tzv. *tanglegram*. Překřížené spojnice pak reprezentují mezidruhové koalescenční události c . Pod vlivem neutrality (úplná shoda *gene tree* a *species tree*) očekáváme $c = N - 1$ koalescenčních událostí, kde N je počet druhů. Mezidruhové koalescenční události $c > N - 1$ pak mohou reprezentovat TSP (Edwards et al. 1997) za předpokladu, že zanedbáme konvergenci, introgresi alel a vyhneme se přítomnosti paralogů (Edwards et al. 1997; Garrigan and Hedrick 2003; Page and Charleston 1997).

2.4 Význam TSP pro mapování fylogenetických vztahů

Ačkoliv byl dříve TSP považován za přitěžující faktor komplikující fylogenetické analýzy, protože genové rodokmeny neodpovídaly fylogenetickým stromům druhů na základě mtDNA (tj. inkongruence mezi *gene tree* a *species tree*), postupem času se TSP stal užitečným nástrojem pro studium populační

demografie, speciace druhů a formování reprodukčně izolačních bariér (RIM) (Klein et al. 1998; Klein et al. 2007; Nagl et al. 1998; Samonte et al. 2007; Vincek et al. 1997). Hlavní výhoda TSP totiž spočívá v tom, že TSP prochází speciací a má potenciál odhalit typ a fázi speciace, např. na základě srovnání míry perzistence neutrálního a balancovaného TSP (Klein et al. 1998; Klein et al. 2007).

Balancovaný TSP v MHC se díky své hluboké koalescenci alel uplatňuje při studiu populační demografie v časovém měřítku milionů let, avšak vzhledem ke komplexitě a dynamice MHC komplexu a působení selekce je potřeba k výsledkům přistupovat obezřetně (Klein et al. 2007). Z hlediska koevolučního zápasu parazit–hostitel se perzistence balancovaného TSP u imunitních genů uplatňuje při rozpoznání patogena a zajištění rezistence proti určitým genotypům parazita. Uplatňuje se tak při udržování a generování genetické variability imunitních genů (Klein et al. 2007).

Naopak neutrální TSP charakterizuje mělká koalescence a je vhodný pro studium populační dynamiky v horizontu méně než 1 mil. let. Jeho interpretace je méně komplikovaná, často má tendenci být univerzálně rozšířený a je vhodný pro studium evolučně mladých blízce příbuzných druhů. N_e je důležitým parametrem ovlivňujícím přetrvávání TSP. Ze stejného důvodu je tedy TSP důležitým zdrojem informací o intenzitě genového toku a o velikosti populace před speciací, v průběhu speciace a po speciaci (Klein et al. 2007; Nagl et al. 1998; Samonte et al. 2007). Dále se TSP může uplatnit při popisu charakteru divergencí druhů. Speciace totiž probíhá často tak rychle, že fylogenetické stromy založené na fixaci mutace nemají možnost rozdělit speciaci do více kroků. Nicméně mělo by být možné použitím diferenční segregace alelických linií různých genů v objevujících se druzích a na základě rozdílů v alelických frekvencích odhalit fylogenetické vztahy u vznikajících druhů a určit charakter speciace (bifurkace, multifurkace, star-shaped fylogeneze apod.) (Klein et al. 1998).

2.5 Evoluční mechanismy projevující se podobně jako TSP

Existuje několik možných mechanismů, díky nimž můžeme nalézt identické nebo podobné alely u různých druhů a které bývají občas nesprávně identifikovány jako TSP v širším významu. V nejjednodušším případě může k vysoké sekvenční identitě (SI; *sequence identity*) alel u různých organismů dojít (1) náhodou – tj. náhodnými bodovými mutacemi. Tato možnost se obvykle považuje za nulovou hypotézu.

Další běžný způsob může představovat (2) hybridizace a introgrese alel do genomu jiného druhu (Bollmer et al. 2007). Hybridizace a občasný genový tok je typický zejména pro evolučně mladé či speciující druhy, u nichž ještě nejsou plně vyvinuty RIM. Mísení alel hybridního původu a TSP původu najdeme u druhů recentně podstupujících adaptivní radiaci, např. u Darwinových pěnkav (Sato et al. 2011; Vincek et al. 1997) či cihlid rodu *Haplochromis* východoafrických jezer (Samonte et al. 2007). K občasné hybridizaci však může docházet i u blízce příbuzných druhů, k jejichž divergenci došlo před několika miliony let. (Bollmer et al. 2007) navrhuje pro původ identické MHC II DRB alely tučňáka galapážského (*Spheniscus mendiculus*) a tučňáka magelanského (*S. magellanicus*) hybridizaci (avšak srovnej s Kikkawa et al. 2009). Podobně i původ některých sdílených transspecifických MHC I, MHC II DRA a MHC II DQB alel kytovců je přisuzován hybridizaci. U kytovců jsou totiž hybridizace

s životaschopným potomstvem častější než u ostatních savců a přítomnost hybridů byla *ex situ* a *in situ* na základě mtDNA potvrzena (Xu et al. 2009). K introgresi *MHC* alel také pravděpodobně došlo i mezi čolkem obecným (*Lissotriton vulgaris*) a čolkem karpatským (*L. montandoni*) (Wegner and Eizaguirre 2012) a mezi pstruhem žlutohrdlým (*Oncorhynchus clarki*) a pstruhem duhovým (*O. mykiss*) (Aguilar and Garza 2007). Populace sympatricky žijících blízce příbuzných druhů mohou sdílet vyšší frekvenci transspecifických alel než populace alopatrické, jak se ukázalo v *DAB1* a *DAB3* genech ostroretok (Seifertova and Simkova 2011).

Hlavní faktor způsobující mezidruhovou podobnost např. u *MHC* sekvencí představuje konvergence (3). Konvergence je chápána jako proces, ve kterém dochází k nezávislému vývoji podobných trendů jako výsledek adaptace na podobné prostředí či ekologickou niku (Klein et al. 2007). Ačkoliv bývá konvergence u savčích *MHC* genů poměrně častá zejména u vzdálenějších druhů, její detekce bývá obtížná (Yeager and Hughes 1999). Konvergence byla detekována např. v PBR *MHC Ib* primátů a hlodavců (Yeager et al. 1997), v exonu 2 *MHC II DRB* genu u člověka a opic Nového světa (Kriener et al. 2000). Dále ji potvrdili v exonu 2 také Kriener et al. (2001) v *MHC II DRB*, *DQA*, *DQB* a *DPB* genech u opic Nového světa a Starého světa a objevila se i mezi dalšími čeleděmi savců (Yeager and Hughes 1999).

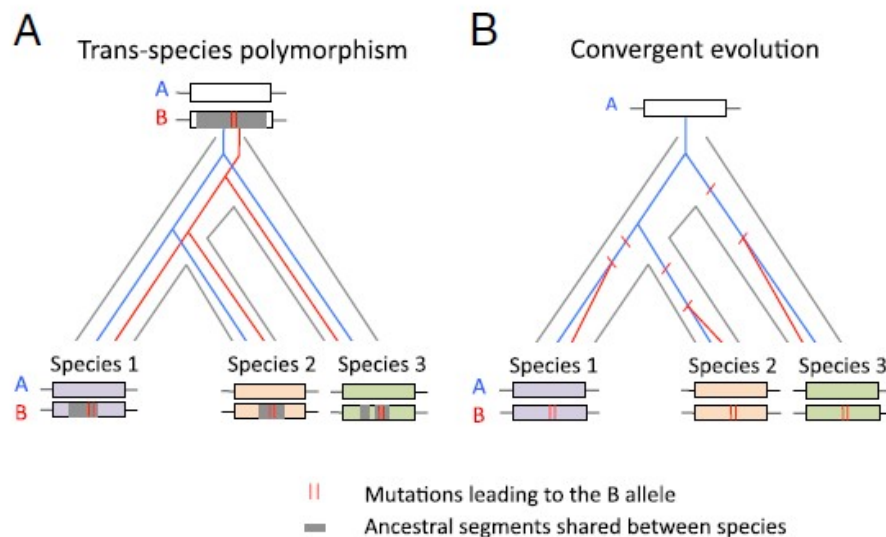
Odlišení konvergence od TSP můžeme nejjednodušeji provést sestrojením fylogenetického stromu nebo koalescencí alelických linií (Klein et al. 1998; Klein et al. 2007). V případě konvergence vzniká nový znak nezávisle v několika evolučních liniích a daný znak není přítomný u jejich nejbližšího společného předka (obr. č. 2). Ve většině případů však nemáme k dispozici informace o nejbližším společném předkovi. Konvergence se obvykle týká krátkých funkčně významných míst, např. sekvencí kódujících motivy PBR *MHC* na rozdíl od non-PBR (Hughes and Yeager 1998). Liší-li se topologie fylogenetických stromů exonu 2 sestrojených zvláště pro PBR a non-PBR, může se jednat o signál konvergentní evoluce (Musolf et al. 2004; Xu et al. 2009). Další možnosti spočívají ve srovnání sekvencí exonů a intronů, přičemž introny obvykle nebývají objektem selekce. V případě nekonzistentní topologie fylogenetických stromů sestavených zvláště na základě exonů a intronů, se může jednat o konvergenci (Klein et al. 1998; Kriener et al. 2000; Kundu and Faulkes 2007). Podobně jako introny mohou sloužit také exony, na něž nepůsobí konvergentní evoluce, např. exon 3 kódující transmembránovou α_2 doménu klasických *MHC II* genů (Kriener et al. 2001). Máme-li k dispozici pouze krátký fragment exonu kódujícího PBR, např. exon 2 u *MHC II*, nabízí se možnost srovnání zastoupení synonymních a nesynonymních pozic. Pokud jsou sekvence konvergentní, synonymní SNPs by neměly být předmětem stejné selekce jako nesynonymní a měly by reflektovat historickou divergenci alel a tyto rozdíly by měly být mezi konvergentními alelami patrné (Li et al. 2011).

Další mechanismus vytvářející vysokou sekvenční podobnost alel u různých druhů představuje (4) „*concerted evolution*“ (zahrnující především genovou konverzi a nereciproční rekombinaci – *crossing over*) (Hess and Edwards 2002; Nei and Rooney 2005), která se týká i dlouhých úseků na úrovni celých exonů a intronů. Poměrně rozšířená je u obojživelníků (Bos and Waldman 2006; Kiemnec-Tyburczy et al. 2012) a ptáků (Burri et al. 2008; Li et al. 2011), kde značná část nových alel vzniká právě díky tomuto mechanismu. Vzhledem k intralokusové a interlokusové rekombinaci mezi

introny, exony a zároveň mezi exony i introny dochází k homogenizaci sekvencí (Nei and Rooney 2005), kdy se postupně ztrácí ortologie mezi lokusy (Li et al. 2011). Určení ortologie sekvencí komplikuje „concerted evolution“ mezi paralogy, např. u taxonů s vysokou dynamikou MHC – u pěvců s mnohonásobnými duplikacemi lokusů, kde existuje i 10 lokusů *MHC IIB* (Anmarkrud et al. 2010). Genová konverze pak mezi paralogy ztěžuje určení příslušnosti alely k danému lokusu a potom komplikuje stanovení šíře a zejména stáří TSP (Alcaide et al. 2007). Navíc recentní genová duplikace může zamaskovat projev „concerted evolution“ (Wei et al. 2010). Určení správného vztahu mezi lokusy (paralogie x ortologie) je pak zásadní pro odhadnutí stáří alelické linie a šíře TSP i mezi vzdáleněji příbuznými druhy, např. nad úroveň rodu – *trans-genus* polymorfismus, *trans-family* polymorfismus, *trans-order* polymorfismus. „Concerted evolution“, ačkoliv se obvykle vlastně nevymyká z definice TSP, je vydělena především proto, že výrazně ovlivňuje šíři a perzistenci TSP a řada autorů ji odlišuje od hypotézy TSP, protože vlastně „rozpouští“ starý TSP, ale může vytvářet i nový. Nicméně jako paralelní evoluce může vést k podobným výsledkům – k vzniku podobných alel u příbuzných druhů, které je nezdědily od společného předka, ale např. díky podobným rekombinačním „hotspots“ u nich došlo nezávisle k obdobnému řešení.

Obr. č. 2: Rozdíl mezi hypotézou TSP a konvergentní evolucí

Populace různých druhů obtaženy šedou barvou, alelické linie A a B jsou vyznačeny červeně a modře. Podle hypotézy TSP jsou divergence mezi alelickými liniemi A a B hlubší než divergence druhů a druhy společně sdílejí krátký ancestrální segment. Žádný z výše zmíněných vztahů neplatí pro konvergentní evoluci (Segurel et al. 2012)



Divergované alely z různých lokusů několika druhů mohou vytvářet ve fylogenetickém stromu zdání TSP, ačkoliv se jedná o ortologický vztah (Alcaide et al. 2007; Sin et al. 2012b). Tento problém je u MHC o to naléhavější, že dochází k poměrně rychlým a nezávislým duplikacím lokusů i u blízce příbuzných druhů (Hess and Edwards 2002) či dokonce mezi různými populacemi téhož druhu (Stiebens et al. 2013) a paralogický vztah lokusů může nadhodnocovat odhad šíře TSP a dobu perzistence alelických linií. Zejména pak studie, které mají jen nízký počet jedinců na druh

s opakovanými duplikacemi lokusů a snaží se postihnout širší TSP v porovnání se vzdálenými druhy, tento problém často opomíjejí.

3 Balancovaný TSP u imunitních genů

3.1 Geny asociované s adaptivní imunitou

3.1.1 Hlavní histokompatibilní komplex (MHC)

MHC (*major histocompatibility complex*) je polygenní komplex převážně vysoce polymorfních genů se stěžejní rolí v adaptivní imunitě u čelistnatých obratlovců (Gnathostomata). Tyto geny kódují glykoproteiny exprimované na povrchu cytoplazmatické membrány imunitních i neimunitních buněk. Mají schopnost na svém povrchu vázat fragmenty peptidů parazitů a tělu vlastních buněk. Komplex MHC-peptid následně svým T-buněčným receptorem (TCR) rozpoznávají příslušné T lymfocyty a spouští adekvátní imunitní odpověď (Jeffery and Bangham 2000; Klein et al. 2007; Neefjes et al. 2011).

MHC, u lidí nazývaný také HLA (*human leukocyte antigens*), u myši H2 komplex, se dělí na 2 hlavní třídy: MHC glykoproteiny I. třídy (MHC I) přítomné na všech jaderných buňkách organismu a MHC glykoproteiny II. třídy (MHC II), které se za fyziologických podmínek nacházejí pouze na buňkách prezentujících antigen (APC; *antigen presenting cell*), tj. dentritické buňky (DC; *dendritic cell*), monocyty, makrofágy a B lymfocyty. Existují tři typy klasických MHC I: HLA-A,-B,-C, homologické molekuly u myši se nazývají H2-K,-D,-L. Mezi neklasické typy MHC I patří HLA-E,-F,-G a též molekuly ze skupiny CD1. Tyto molekuly jsou exprimovány jen v některých typech buněk a mají specifické funkce. U lidských MHC II existují tři izotypy: DR, DQ a DP, u myši pak nalezneme pouze 2 homology, I-A a I-E (Jeffery and Bangham 2000). Každý izotyp pak obsahuje *A* a *B* geny kódující α a β doménu PBR *MHC II*: *DRA/DRB*, *DQA/DQB* a *DPA/DPB*. Kromě toho existují také neklasické MHC II, např. u primátů: DMA, DMB, DNA a DQB, ležící v MHC II komplexu, které se uplatňují při zajištění vazby peptidu na MHC II (Bontrop et al. 1999).

3.1.1.1 MHC I

MHC I se skládají z transmembránového řetězce α složeného ze 3 podjednotek (α_1 , α_2 , α_3) a s ním nekovalentně spojeného β -mikroglubulinu. α_1 a α_2 podjednotky vytvářejí vazebné místo pro peptidy (PBR, *peptide binding region*). PBR má ve spodní části rýhu s vazebnými smyčkami a je na obou koncích uzavřeno do poměrně rigidní struktury. Toto PBR je schopno vázat fragmenty peptidů o délce 8–10 (11) AK pocházejících buď z peptidů produkovaných buňkou (endogenní peptidy), anebo se jedná o zbytky intracelulárních parazitů žijících v cytosolu (exogenní peptidy), např. viry nebo intracelulární bakterie. Navázané antigeny jsou následně rozeznány pomocí TCR CD8⁺ T lymfocytů, tj. cytotoxickými T lymfocyty (T_c) nebo NK- buňkami (*natural killers*) (Hughes and Yeager 1998; Neefjes et al. 2011). K syntéze a finálnímu seskládání MHC I řetězců dochází na membráně

endoplasmatického retikula (ER; *endoplasmic reticulum*). Ke štěpení peptidů pro prezentaci na MHC dochází v proteasomu (viz dále). Peptidové fragmenty z proteasomu jsou z cytoplazmy do ER transportovány ATPázovou TAP pumpou (*Transporters associated with antigen processing*). K navázání peptidového fragmentu na MHC I dochází za účasti TAP, tapasinu a chaperoninů přímo v lumen ER. Následně je celý komplex MHC-peptid z ER transportován sekretorickou drahou přes Golgiho aparát (GA; *Golgi apparatus*) a exocytózou umístěn až na cytoplazmatickou membránu (Hughes and Yeager 1998; Neefjes et al. 2011).

3.1.1.2 MHC II

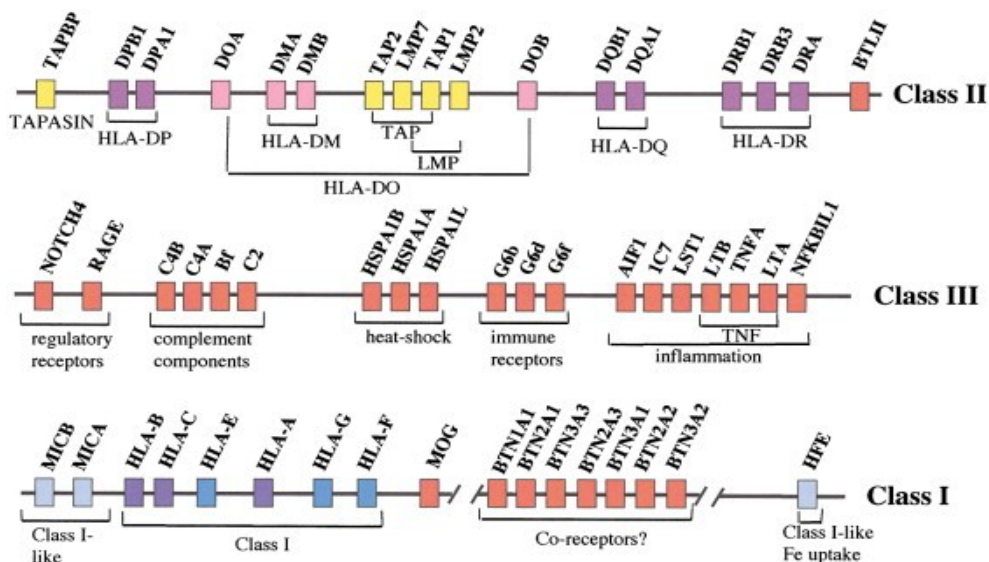
MHC II se skládají ze dvou nekovalentně asociovaných podjednotek α (α_1 , α_2) a β (β_1 , β_2). N-terminální domény obou řetězců – α_1 a β_1 vytvářejí společné vazebné místo pro peptidy. Ve srovnání s PBR MHC I je toto vazebné místo na obou koncích otevřené a může tak vázat delší fragmenty peptidů – obvykle o délce 15–35 AK. Tyto fragmenty peptidů pocházejí nejčastěji z extracelulárních patogenů. Navázané antigeny jsou následně rozeznány přes TCR $CD4^+$ T lymfocyty (Hughes and Yeager 1998). Intracelulární bakterie žijící ve vezikulech (ER, GA, endozom atd.), např. mykoplazmy, jsou po fúzi s lysozomy degradovány pomocí proteáz a hydroláz obsažených ve vezikulech. Fragmenty jejich peptidů jsou prezentovány na MHC II $CD4^+$ Th₁ lymfocytům. Th₁ následně spouští prozánětlivou odpověď, která finálně vede až k aktivaci a oxidačnímu vzplanutí makrofágů (Murphy 2012). Extracelulárně žijící patogeny nebo jejich metabolity jsou internalizovány fagocytózou a fragmenty jejich peptidů jsou prezentovány na MHC II $CD4^+$ Th₂ lymfocytům. Th₂ následně spouští protilátkovou odpověď vyznačující se aktivací B lymfocytů a sekrecí sekretorických protilátek (Hughes and Yeager 1998; Neefjes et al. 2011). Na rozdíl od MHC I mají molekuly MHC II v průběhu sekretorické dráhy v ER a v GA v PBR navázaný invariantní řetězec (též CLIP protein), který brání vazbě nežádoucích endogenních proteinů do vazebného místa pre-MHC II. Endozomy s rozštěpenými pohlcenými peptidy fúzí s vezikulem odštěpeným z GA, nesoucím pre-MHC II komplex. V kyselém pH endozomu dochází k proteolýze a disociaci CLIP od PBR a na jeho místo se pak mohou k α_1 , β_1 podjednotkám vázat naštěpené fragmenty peptidů. Komplex MHC II – peptid je tak připraven pro prezentaci TCR na cytoplazmatické membráně buněk (Hughes and Yeager 1998; Neefjes et al. 2011). Existuje však možnost zkřížené prezentace, tzv. *cross presentation*, kdy se endogenní peptidy a exogenní peptidy intracelulárních parazitů vážou na MHC II a peptidy extracelulárních parazitů se vážou na MHC I (Neefjes et al. 2011; Vyas et al. 2008).

3.1.1.3 Stavba MHC genového klastru a jeho polymorfismus

Klasické MHC proteiny jsou vysoce polymorfní na vnitrodruhové i mezidruhové úrovni především v PBR a tato variabilita reflektuje variabilitu v příslušných genech (Hughes and Yeager 1998; Klein et al. 2007). Kromě toho je celý MHC genový komplex vysoce polygenní a zahrnuje u člověka a myši více než 200 genů. MHC komplex leží u člověka na chromozomu 6, zatímco u myši na chromozomu 17. Geny pro β -mikroglobulin a invariantní řetězec leží u obou druhů na odlišných chromozomech

mimo hlavní genový klastř (Murphy 2012). Někdy je samostatně rozlišován ještě MHC III klastř, kde jsou rovněž kódovány imunologicky významné molekuly. Jedná se např. o geny pro komplementové proteiny C4 a C2 a faktor B a cytokiny TNF- α a lymfokiny LTA a LTB. Ve všech třech hlavních MHC komplexech leží celá řada genů s jinou než imunologickou funkcí, případně některé geny mají zároveň více funkcí a mohou být vystaveny odlišným selekčním tlakům (Murphy 2012). Kromě toho celý genový komplex obsahuje mnoho pseudogenů (Trowsdale 2011). MHC je totiž exemplárním příkladem „*birth and death*“ modelu evoluce (Nei and Rooney 2005; Piontkivska and Nei 2003), při němž se střídají nepravidelné fáze kontrakce a expanze. Dochází k dynamickým přestavbám celého komplexu duplikacemi a vznikem paralogů, intralokusovými a interlokusovými rekombinacemi, genovými konverzemi a naopak dochází ke ztrátám (deleci) jiných lokusů, vznikem pseudogenů, takže se u některých lokusů rychle ztrácí ortologie.

Obr. č. 3: Genetická organizace imunologicky významných genů v MHC komplexu u člověka. Klasické MHC I vyznačeny tmavě modře, neklasické modře a ostatní světle modře. Klasické MHC II vyznačeny fialově, neklasické růžově (převzato dle Trowsdale 2001).



U člověka má každý jedinec 3 izotypy klasických MHC I a 3 izotypy klasických MHC II. Vzhledem k extrémnímu polymorfismu MHC je jen velmi nízká pravděpodobnost, že budou u jedince nalezeny ve stejném lokusu na homologickém chromozomu identické alely, takže většina jedinců je pro MHC lokusy heterozygotní. Navíc repertoár vazby peptidů k MHC je zvýšen kodominancí MHC alel (Murphy 2012).

V populaci se vyskytují desítky až stovky alelických forem jednotlivých izotypů (Klein et al. 2007). Už jedny z prvotních studií zabývající se MHC polymorfismem metodou „serologického typingu“ u 2 poddruhů myši domácí: *Mus musculus musculus* a *Mus musculus domesticus* odhalili, že dokonce v každé malé subpopulaci (děmu) existuje více než 24 alel jak u *MHC I*, tak i u *MHC II*, jiné alely jsou navíc v odlišných děmech, takže celkový počet alel na těchto lokusech je v řádu stovek (shrnutí v Klein et al. 2007). Jednotlivé alelické formy se liší substitucí jedné nebo několika AK v PBR

či bezprostředním okolí. Každá alela může vázat pouze několik typů peptidů, důležité je, aby tyto antigeny sdílely stejné AK v klíčových pozicích. Mezi různými alelami může být jistý překryv ve vazbě antigenů, avšak primárně má každá alela odlišnou selektivitu pro vazbu klíčových AK (Klein et al. 2007).

Na úrovni individua, populace i druhu se tak vytvářejí charakteristické protektivní peptidické slovníky pro účelné rozpoznání patogenů (Klein et al. 2007). Polymorfismus v *MHC* genech a konkrétní alely jsou u lidí asociovány s více než 100 různými infekčními onemocněními, imunodeficiencemi, autoimunitními onemocněními, rakovinou apod. (Jeffery and Bangham 2000; Trowsdale 2011).

3.1.1.4 Generování MHC polymorfismu

Bylo navrženo několik mechanismů, jak je vysoký polymorfismus generován. Počáteční hypotéza založena na (1) nezvykle vysoké mutační rychlosti *MHC* genů, tj. teorie neutrální evoluce (Kimura 1968) už je překonána. Srovnání synonymních substitucí reflektující mutační rychlost u *MHC* a jiných genů ukázalo, že mutační rychlost *MHC* genů je paradoxně nižší než u jiných genů obratlovců (Jeffery and Bangham 2000; Klein et al. 2007). O obecné důležitosti (2) genové konverze pro generování *MHC* polymorfismu se vedou spory. Genová konverze totiž může mít na sekvence homogenizující i heterogenizující (diverzifikující) efekt (Hess and Edwards 2002; Jeffery and Bangham 2000; Klein et al. 2007). Záleží také na intenzitě rekombinace a délce konvertované sekvence. (3) Hypotéza TSP předpokládá, že N_e nově vzniknuvšího druhu byla dostatečně velká na to, aby unikla *MHC bottle-necku* a výrazně se tak redukovala *MHC* variabilita (na úrovni neutrálních markerů zůstává *bottle-neck* často patrný). Velká část *MHC* alel tak po speciaci nevzniká de novo, ale perzistuje od ancestrálního druhu a může procházet přes několik speciálních událostí. Čas uplynulý od speciace je totiž u řady druhů příliš nízký na vygenerování dostatečného polymorfismu jinými mechanismy (Klein 1987; Klein et al. 1998; Klein et al. 2007). (4) Intralokusová a interlokusová rekombinace (Murphy 2012) je v některých případech velmi obtížně rozlišitelná. Hraje významnou roli např. u obojživelníků a kostnatých ryb (Bos and Waldman 2006; Zhao et al. 2013). (5) Pozitivní a disruptivní selekce se na molekulární úrovni vyznačuje převahou nesynonymních substitucí nad synonymními ($d_N > d_S$) a byla zjištěna v PBR *MHC I* a *II* genů, naopak ve zbytku genů (non-PBR) je tento poměr obvykle opačný ($d_N < d_S$) a často se uplatňuje purifikující selekce (Hughes and Yeager 1998; Piertney and Oliver 2006; Yeager and Hughes 1999). (6) V současné době se většina autorů domnívá, že na generování dostatečné šíře *MHC* polymorfismu se podílí různou měrou kombinace několika mechanismů, např. kombinace selekce, driftu a genové konverze, tzv. „smíšené hypotézy“ (např. Murphy 2012).

3.1.1.5 TSP u antigen prezentujících MHC

Cílovými úseky imunogenetických studií bývají nejčastěji domény α_1 a α_2 u *MHC I* (tj. PBR oblast), které jsou kódovány exonem 2 a 3, a domény α_1 a β_1 u *MHC II* (PBR), jež jsou kódovány exonem 2 dvou různých genů, které jsou většinou označovány *A* a *B* (Babik et al. 2010). *MHC IIA* kóduje

α -podjednotku a *MHC IIB* kóduje β -podjednotku, která je však mnohem variabilnější. Proto je mnohem intenzivněji studován gen *MHC IIB*, který zajišťuje udržování většiny MHC polymorfismu (Bos and DeWoody 2005; Musolf et al. 2004; Otting et al. 2002). Tyto úseky přímo fyzicky interagují s parazitárními strukturami a obvykle jsou tak vystaveny silné pozitivní selekci (tj. v PBR $d_N / d_S > 1$). Proto je nejvíce příkladů popsáno právě v těchto krátkých exponovaných úsecích; úseků kódujících transmembránovou α_3 doménu a přilehlých intronů se TSP týká jen výjimečně.

Savci

Koncept TSP je asi nejlépe dokumentován u exonu 2 *MHC II* u primátů, kopytníků a hlodavců. Doba perzistence *MHC I* alelických linií je výrazně kratší než u *MHC II* genů. Jednotlivé klasické MHC izotypy se rovněž liší ve variabilitě a míře divergence alelických linií stejně tak jako v době perzistence detekovatelného TSP.

MHC I

TSP v klasických *MHC I* genech je popsán mezi mnoha druhy primátů, např. v *MHC I -A, -B, -C* mezi blízkými příbuznými tamarinem sedlovým (*Saguinus fuscicollis*) a tamarinem pinčím (*Saguinus oedipus*) či člověkem a šimpanzem (*Pan troglodytes*) (Piontkivska and Nei 2003). Doba perzistence alelických linií *MHC I* u primátů je prokazatelně mnohem kratší v porovnání s *MHC II* geny, avšak názory na datování vzniku alelických linií nejsou ustálené. Klein et al. (1998) odhadují stáří alelických linií *HLA -A, -B, -C* na 18, 22 a 20 mil. let, i když jiným odhadem dostali vyšší stáří. Piontkivska and Nei (2003) odhadli stáří nejstarších alelických linií *HLA -A, -B, -C* u člověka na 14–19, 10–15 a 13–17 mil. let. Také v případě neklasického *MHC I -E* byl detekován TSP v podobě sdílení identických alel exonu 2 a 3 mezi makaky (*Macaca*), vzdáleněji pak i s kočkodanem (*Cercopithecus aethiops*) (Alvarez et al. 1997). V PBR byl překvapivě vyšší poměr d_S / d_N , což spolu s málo divergovanými alelami naznačuje evoluční stabilitu tohoto lokusu (Alvarez et al. 1997). Je to v kontrastu s klasickými *MHC I -A, -B, -C*, na které v PBR působí silná pozitivní selekce (Klein et al. 1998). Další příklad TSP v neklasických *MHC I -G* exonu 2 (nikoliv v intronu 2) se ukázal v rámci skupin orangutanovitých (Pongidae) a kočkodanovitých (Cercopithecinae) (Castro et al. 1996). V případě orangutanovitých se TSP v exonu 3 neobjevil, v rámci kočkodanů bylo přítomné transspecifické klastrování, nicméně tento exon obsahoval STOP kodóny. Nepřítomnost hypervariabilních oblastí a dalších typických sekvenčních motivů typických pro antigen-prezentující *MHC* geny ukazuje na jinou funkci těchto neklasických *MHC Ib* genů (Castro et al. 1996). Kromě primátů byl TSP v exonu 2 klasických *MHC I* (*MHC Ia*) genech detekován také v dalších taxonomických skupinách: u medvědovitých (Ursidae) mezi pandou velkou (*Ailuropoda melaneuca*) a medvědem hnědým (*Ursus actor*) ve formě sdílení 1 alelické linie (divergence 12 mil. let) (Kuduk et al. 2012), v rámci kočkovitých šelem (Felidae) (Castro-Prieto et al. 2011), mezi jezevcem lesním (*Meles meles*) a druhy psovitých (Canidae), medvědovitých a pravými tuleni (Phocinae), tzv. *trans-family* polymorfismus (Sin et al. 2012a). Naopak sekvence relativně konzervativních α_2 a α_3 domén TSP mód evoluce nesdílely a byly pravděpodobně zhomogenizovány „concerted evolution“ (Sin et al. 2012a). Enormní míru TSP u kytovců exonu 2 *MHC I* jako první

zjistili Xu et al. (2008), kteří však sdílený polymorfismus nejdříve nesprávně popsali jako konvergenci. Nicméně sestavením fylogenetického stromu zvláště pro PBR a non-PBR a zahrnutí dalších sekvencí na celkových 11 druhů 5 čeledí delfinocovití (Lipotidae, Platanistidae, Pontoporiidae) sviňuchoviti (Phocoenidae), delfinovití (Delphinidae) a narvalovití (Monodontidae) Xu et al. (2009) konvergenci vyvrátili. Z celkových 76 zjištěných alel nejméně 3 lokusů 8 identických alel bylo sdíleno zejména mezi blízkce příbuznými druhy, další alelické linie vykazovaly transspecifický mód i mezi čeleděmi a nadčeleděmi, tzv. *trans-family* polymorfismus. U některých blízkce příbuzných druhů mohlo dojít ke sdílení alel také díky hybridizaci a možné introgresi (Xu et al. 2009).

MHC II

TSP u *MHC II* byl postupně zjištěn na nejrůznějších lokusech *MHC II*. U nejvariabilnějšího genu *DRB* (nejdivergovanější; mnohonásobně zduplikovaný) existenci TSP postupně detekovala u primátů v exonu 2 řada studií: mezi člověkem a šimpanzem (Brandle et al. 1992; Mayer et al. 1992), člověkem a gorilou (*Gorilla*) (Kupfermann et al. 1992) a vzdáleně také s makakem rhezem (*Macaca mulatta*) (Sliereendregt et al. 1994; Sliereendregt et al. 1992), mezi mnoha druhy primátů včetně sdílení identických alel mezi blízkce příbuznými druhy (Gaur et al. 1997), mezi langurem tibetským (*Rhinopithecus roxellana*) a dalšími primáty (Luo and Pan 2013), také u méně variabilního lokusu *DPAI* v exonu 2 mezi člověkem a šimpanzem či orangutanem, šimpanzem a člověkem (Otting and Bontrop 1995) či v exonu 2 *DPBI* u makaků (Sano et al. 2006; Sliereendregt et al. 1995). U nejvariabilnějšího *MHC II DRB* genu primátů se zpočátku odhadovala perzistence alelických linií předcházející nejen divergenci opic Starého světa a opic Nového světa – asi 47 mil. let (Martin 1993), ale také primátů a poloopic. U některých alelických linií se soudilo na perzistenci až 60–80 mil. let (Figueroa et al. 1994). Nicméně později Kriener et al. (2000) upozornil na sdílený polymorfismus exonu 2 *MHC II DRB* genu mezi opicemi Nového a Starého světa vzniklý konvergentní evolucí. Vzhledem k době odhadované divergence opic Nového a Starého světa toto zjištění podle nich může mít dalekosáhlé důsledky na interpretaci šíře TSP mezi vzdáleněji příbuznými skupinami (pro více než 30–40 mil. let). Podobný evoluční mód také pro další geny ukázali Kriener et al. (2001) v navazující studii pro *DQA*, *DQB* a *DRA* lokusy na základě nesouhlasné topologie fylogenetických stromů exonu 2 a exonu 3. Zdá se nepravděpodobné, aby stáří alelických linií opic Nového a Starého světa bylo s výjimkou 1–2 alelických linií výrazně starší než 30 mil. let a předcházelo tak jejich divergenci. To implikuje na výrazné přehodnocení šíře TSP a také na nutnost přejmenování některých alelických linií (Kriener et al. 2001). Mezi alelickými liniemi opicemi Nového a Starého světa tak není ortologický, ale paralogický vztah a k nezávislé expanzi *MHC II* genů došlo v každé linii nezávisle (Kriener et al. 2001; Kriener et al. 2000). Rozsáhlý TSP v exonu 2 v rámci opic Nového a Starého světa byl samozřejmě nalezen na různých úrovních (Kriener et al. 2001). K podobnému evolučnímu módu exonu 2 *DQB* u primátů dopěli také (Otting et al. 2002). Existence alelických linií *DQBI*06* a *DQBI*15* lokusu *DQBI* sdílených širokým spektrem druhů, a to i nepříbuzných, ukazuje, že divergence *DQBI* předchází speciaci hominoidů a opic Nového světa a ukazuje se, že vysoce polymorfní *DQBI* lokus je starý více než 35 mil. let. Naopak jiné alelické linie jsou evolučně mladé sdílené a jen malým počtem druhů,

případně druhově specifické. Např. alelická linie *DQBI*2*, stará více než 7 mil. let, byla sdílena pouze mezi člověkem a gorilou, *DQBI*04* byla druhově specifická jen pro člověka; její možný vznik se datuje 0,2 mil. let. Alelická linie *DQBI*17* byla zase široce sdílena mezi blízce příbuznými druhy makaků – 8 alel mezi makakem jávským (*Macaca fascicularis*) a makakem rehezem a 2 alely makakem jávským a makakem medvědí (*Macaca arctoides*). K obdobným závěrům v rodě makak v exonu 2 *DQB* genu dospěl také Yao et al. (2013), kde 11 z 23 (48 %) popsaných alel makaka tibetského (*Macaca arctoides*) bylo sdíleno v identické podobě se 3 ostatními druhy makaka. Nezvykle dlouhou perzistenci TSP popsali Go et al. (2002), kteří charakterizovali exon 2 *MHC II DRB* lokusu (202 bp) u lemuru (Lemuriformes). U 66 jedinců 4 čeledí, 8 rodů a 15 druhů identifikovali 137 alel tohoto lokusu. Nalezli enormní míru sdílení identických alel nejen mezi rody, ale i mezi čeleděmi – až 17 identických alel sdílených mezi čeleděmi, tzv. *trans-family* polymorfismus. Vzhledem k odhadované divergenci čeledí – 38–47 mil. let (Yoder et al. 1996) tak některé identické alely perzistují více než 40 mil. let, což je silně v rozporu s *DRB* alelami u opic Nového a Starého světa, kde je sdílení identických alel mezi rody vzácné a trvá jen několik mil. let, viz např. Otting et al. (2002). Pro takto extrémně dlouhou perzistenci alel autoři navrhuji kombinaci dvou faktorů: (1) Na homogenizaci alel se mohla podílet rekombinace, neboť u lemura ve srovnání se šimpanzem se ukázala vyšší frekvence rekombinace. (2) Podle hypotézy Satta et al. (1999) rozdíl v obsahu CG páru na 3. pozici kodónu ovlivňuje rychlost synonymní substituce a u lemura byl zjištěn obsah CG párů v této pozici 95 %, zatímco u šimpanze pouze 85–90 %. Rychlost synonymní substituce totiž negativně koreluje s obsahem CG párů na 3. pozici kódonu, protože většina substitucí je G → C nebo C → G, pak pravděpodobnost mutace z G nebo C na A či T je nižší (Go et al. 2002; Satta et al. 1999). Stejně tak 12 detekovaných alelických linií u několika jedinců ksukola ocaseého (*Daubentonia madagascariensis*), jediného druhu čeledi ksukolovitých (Daubentoniidae) a bazálního druhu Lemuriformes, k jehož divergenci došlo asi 55 mil. let od společného předka makiovitých (Cheirogaleidae), Megaladapidae, lemurovitých (Lemuridae) a indriovitých (Indriidae) (Yoder et al. 1996), vykazovalo mód *trans-family* polymorfismu s druhy zahrnutými v předcházející studii (Go et al. 2005). U 4 alelických linií exonu 2 *DQB* u několika jedinců se TSP neprokázal, nicméně autoři poukazují na nutnost provedení další analýzy (Go et al. 2005).

Jako zcela podhodnocené oblasti z hlediska významu polymorfismu a TSP se ukazují promotorové oblasti regulující expresi imunitních genů, obzvláště u regionů s lokalizovanými významnými transkripčními vazebnými místy (TBSs; *transcription binding site*). V *MHC II DQA* 5' upstream promotorové oblasti bylo právě na základě TBSs (typicky o délce 7–14 bp) u 80 jedinců 9 druhů primátů identifikováno 47 unikátních haplotypů (270 bp), které byly široce sdíleny mezi jednotlivými druhy (Loisel et al. 2006). Doplnující analýza exprese in vitro u 12 detekovaných *DQA* promotorových haplotypů šimpanze bonobo (*Pan paniscus*) navíc ukázala signifikantní odlišnosti v míře exprese vloženého reportérového genu (luciferázy) a funkční význam polymorfismu 5'DQA promotorové oblasti (Loisel et al. 2006).

Také u sudokopytníků máme nejlepší doklady o TSP u nejvariabilnějšího *MHC II DRB* genu exonu 2. TSP byl detekován u blízce příbuzných druhů ve formě častého sdílení alelických linií *DRB3* genu mezi bizonem americkým (*Bison Bison*) a turem (*Bos taurus*) (divergence asi 1,5 mil. let) (Mikko

et al. 1997), mezi 2 poddruhy buvolovce pestrého (*Damaliscus pygargus*) (Van der Walt et al. 2001), mezi buvolem domácím (*Bubalus bubalis*), buvolem africkým (*Syncerus caffer*) a turem domácím (*Bos taurus*) (Sena et al. 2003), v *DRB* genech mezi ovčí aljašskou (*Ovis dali*), ovčí tlustorohou (*O. canadensis*) a ovčí domácí (*O. aries*) (Worley et al. 2006), ve formě sdílení téměř identických alel mezi kamzíkem horským (*Rupicapra rupicapra*) a kamzíkem pyrenejským (*Rupicapra pyreneica*) (divergence asi 1,6 mil. let) včetně sdílení diverzifikovanějších alelických linií s dalšími druhy čeledi Caprinae (Mona et al. 2008), ve formě sdílení identických alel *DRB1* a *DQA* genů mezi prasetem domácím (*Sus scrofa* f. *domestica*) a prasetem divokým (*Sus scrofa*) (domestikace v různých centrech asi před 9 tis. let) (Moutou et al. 2013), dále také mezi jelencem běloocasým (*Odocoileus virginianus*) a srncem obecným (*Capreolus capreolus*) (Van Den Bussche et al. 1999) a *DRB3* genech 10 převážně evropských druhů přežvýkavců lišících se v míře polymorfismu *MHC* genů (mono-, oligo- a polymorfismus) (Mikko et al. 1999). TSP byl mezi těmito přežvýkavci spíše řídké rozšířen a byl omezen pouze mezi blízkými příbuznými druhy. Výjimku představovaly alelické linie jelena, které vytvářely v rámci jelenovitých (Cervidae) několik klastrů. Za relativně méně rozšířeným TSP podle mého názoru mohou demografické změny – opakovaný *bottle-neck* u některých druhů v klimaticky nepříznivých oblastech (Mikko et al. 1999). TSP v exonu 2 u sudokopytníků se samozřejmě týká také dalších lokusů, např. *DQB1*, *DQB3* a *DQB4*, (naopak u *DQB2* a *DQB5* se neobjevil), jak bylo zjištěno mezi turem domácím a buvolem domácím (Sena et al. 2011), u *DQA1* lokusů mezi ovčí a krávou (Zhou and Hickford 2004) a pravděpodobně i ve variabilnějším *DQA2* lokusu mezi ovci, kozami a skotem (Zhou et al. 2005). Velmi vysoká míra TSP byla nalezena také v již zmíněné studii kytovců (vnitřní skupině sudokopytníků) v exonu 2 *MHC I* (11 druhů), *MHC II DRA* (12 druhů) a *DRB* genů (28 druhů) (Xu et al. 2009). Z celkových 101 divergovaných alel *DRB* genů bylo 7 identických alel sdílených aspoň 2 druhy, z 28 nalezených *DRA* alel byla sdílena 1 identická alela mezi 9 druhy z čeledi sviňuchovitých, delfínovitých a delfínovcovitých. Většina identických alel byla nalezena v rámci čeledí, tj. sdílena mezi blízkými příbuznými druhy. Některé identické alely nebo velmi podobné alely byly sdíleny i mezi čeleděmi a nadčeleděmi, tzv. *trans-family* polymorfismus (Xu et al. 2009). Značnou konzervativitu *DRA* lokusu také potvrzuje perzistence alelické linie společné ovci domácí (*Ovis aries*) s přímorožci (*Oryx*) a buvolovcem (*Alcephalus*) a udržované dle odhadované divergence více než 30 mil. let (Ballingall et al. 2010). *DRA* lokusy jsou často evolučně konzervovány – nezřídka bývají monoforní, a proto se jen zřídka stávají cílem imunogenetických studií (Ballingall et al. 2010; Kamath and Getz 2011). Podobně jako v jiných studiích větší genetickou diverzitu, vyšší počet alel, SNPs a nukleotidovou diverzitu než *DRA* vykazoval *DQA* lokus u lichokopytníků v čeledi koňovitých (Equide). Přesto obvykle konzervativní *DRA* lokus vykazoval nezvykle vysokou diverzitu, ačkoliv se nacházel pod vlivem purifikující selekce (Janova et al. 2009; Kamath and Getz 2011). V rámci koňovitých se TSP v *DRA* a *DQA* ukázal jako velmi rozšířený. U *DRA* lokusu bylo identifikováno celkově u 7 druhů 28 alel, z nichž 15 alel bylo sdíleno dohromady mezi 6 druhy. U *DQA* lokusu bylo identifikováno celkově 42 alel, z nichž 8 alel bylo dohromady sdíleno mezi 4 druhy (Janova et al.

2009). Podle Kamath and Getz (2011) za takto vysokou variabilitou a TSP může stát poměrně vysoké vystavení parazitaci ze strany nematod a jiných parazitů či pohlavní výběr.

Je zajímavé, že velká komparativní studie exonu 2 *MHC II DQB* u 33 terestrických savců a marinních savců – kytovců (Cetacea), sudokopytníků a primátů ukázala, že u marinních druhů vyjma kosticovců (Mysticetes) je působení balancující selekce celkově slabší a variabilnější a že marinní druhy vykazují také nižší míru TSP (Villanueva-Noriega et al. 2013). Autoři si takový způsob působení selekce vysvětlují rozdílným šířením infekcí mezi populacemi terestrických a marinních druhů, což je podle McCallum et al. (2004) dáno odlišnou mírou izolovanosti habitatů v obou typech prostředí. Ačkoliv 23 z celkových 25 nalezených transspecifických událostí vyskytlo na úrovni rodu a druhu (*trans-species, trans-genus*), nalezená alela mezi hrochem obojživelným (*Hippopotamus amphibius*) a vorvaňovcem (*Mesoplodon europaeus*) s SI 94 % svědčí o *trans-order* polymorfismu perzistujícím více než 50 mil. let (Thewissen et al. 2007). Nicméně stejně jako autoři se domnívám, že pro obecnější závěry je nutno provést podobné komparativní studie pro různé lokusy u různých taxonomických skupin, a především zohlednit „*sampling effect*“ pro pochopení vlivu environmentálních faktorů, demografických změn a fylogeneze na evoluci MHC.

Jedny z prvních experimentálních důkazů o existenci TSP na H2 pocházejí právě od hlodavců mezi druhy myši (Arden and Klein 1982) a mezi myší a potkanem (Figuroa et al. 1988). U hlodavců byl široce sdílený TSP detekován v exonu 2 *MHC II DRB* (Musolf et al. 2004) mezi myšicí lesní (*A. sylvaticus*) a myšicí křovinnou (*A. flavicolis*) (divergence 3–4 mil. let) a po zahrnutí dalších hlodavců ve formě sdílení alelických linií i přes 10–15 mil. let, v *MHC II DRB* a *DQA* exonu 2, a to i s přilehlým intronem 2 u 18 druhů rodu tukotuko (*Ctenomys*) (divergence před více než 3 mil. let) (Cutrera and Lacey 2007), v exonu 2 zduplikovaného *DQA* lokusu mezi hryzcem vodním (*Arvicola terrestris*), normíkem rudým (*Clethrionomys glaeolus*) a hrabošem polním (*Microtus arvalis*) (divergence před 6–8 mil. let) (Bryja et al. 2006), mezi 2 poddruhy myši domácí v *H2-Aa (MHC IIA)* a *H2-Eb (MHC IIB)*. Je zajímavé, že v tomto případě byl variabilnější *H2-Aa* lokus, ačkoliv u ostatních savců je MHC IIA gen (*DRA* lokus) konzervativnější (viz výše). Přesto zastoupení TSP se ukázalo 2x nižší v porovnání s *H2-Eb*. Výjimečně dlouhá perzistence TSP v exonu 2 *MHC II DRA* ve formě sdílení téměř identických alel a alelických linií i mezi vzdáleně příbuznými druhy byla zjištěna u rypošů (Bathyergidae) (divergence před 40–48 mil. let) (Kundu and Faulkes 2007). Jedno z možných vysvětlení (Kundu and Faulkes 2007) je evoluční vymetení (*selection sweep*) (viz. kapt. 1.3). Působením pozitivní selekce na PBR jsou selektovaná nesynonymní místa pod vlivem balancující selekce, která způsobí díky evolučnímu draftu vymetení postupně vznikajících synonymních pozic v jejich sousedství. Za uniformitou těchto *DRA* alel také může stát relativně uniformní set parazitů těchto hystrikomorfních subteránních hlodavců (Kundu and Faulkes 2007).

U zajícovců (Lagomorpha) byl detekován široce rozšířený TSP v *MHC II DQA* v exonu 2 mezi zajícem evropským (*Lepus europaeus*) a králíkem divokým (*Oryctolagus cuniculus*) navzdory relativně dlouhé divergenci (odhad 9-20 mil. let) (de Bellocq et al. 2009) a mezi dalšími 6 druhy zajíců (Koutsogiannouli et al. 2009). Za široce dispergovaným TSP alelických linií může stát expozice široce sdílenému spektru makroparazitů, především pak helmintů (de Bellocq et al. 2009).

U šelem byl TSP zjištěn v exonu 2 *MHC II DQA* v rámci medvědovitých (Kuduk et al. 2012), v *DRB* genu v rámci medvědovitých (Ursidae) mezi mez 7 druhů 3 rodů *Ursus*, *Tremarctos* a *Ailuropoda* (Goda et al. 2010; Kuduk et al. 2012). Z toho dokonce 2 alelické linie *Aime-DRB*06* a **07* jsou sdíleny s kočkovitými (Felidae) (Goda et al. 2010; Wan et al. 2006) a perzistují možná až 35 mil. let. V rámci psovitých šelem (Califf et al. 2013) byl zjištěn značný TSP připisovaný intenzivní parazitaci mezi hyenou žíhanou (*Hyaena hyaena*) a hyenou skvrnitou (*Crocuta Crocuta*) (divergence pravděpodobně před 8,6 mil. let) v exonu 2 *MHC II DRB*, *DQB* a *DQB* (Califf et al. 2013), v exonu 2 *DRB1* genu mezi psem (*Canis lupus f. familiaris*), kojotem (*Canis latrans*) a vlkem mexickým (*Canis lupus baileyi*) a vlkem obecným (*Canis lupus*) (Hedrick et al. 2000), exonu 2 *DQAI*, *DQB1* a *DRB* lokusů u obdobných druhů IPD-MHC Database (2014), v rámci lasicovitých (Musteloidae) v exonu 2 *MHC DRB* mezi norky (Becker et al. 2009), jezevcem lesním (*Meles meles*) a jezevcem americkým (*Taxidoea taxus*) *DRB* a *DQA* (divergence asi 16- 20 mil. let) a také s dalšími medvědovitými a psovitými (tzv. *trans-family* polymorfismus) (Sin et al. 2012b). Rovněž v čeledi kočkovitých (Felidae) je TSP běžným jevem (O'Brien and Yuhki 1999; Wei et al. 2010). Vzhledem k relativně mladému původu a velké divergenci současných druhů (asi 10–15 mil. let) však ve srovnání s dalšími taxony neperzistuje příliš dlouhou dobu (O'Brien and Yuhki 1999; Wei et al. 2010). Sdílení alelických linií exonu 2 *MHC II DRB2*, *DRB3*, *DRB5* ale nikoliv *DRB1* a *DRB4* bylo zjištěno např. mezi kočkou domácí (*Felis silvestris f. catus*), ocelotem (*Leopardus pardalis*) a margayem (*Leopardus wiedii*). Naopak jiné lokusy byly druhově specifické *DRB6* (margay) či *DRB7* (ocelot), což naznačuje střední divergenci způsobenou rekombinacemi a mutacemi těchto dvou druhů, které sdílely společného předka před 4-6 mil. let, shrnuto v (O'Brien and Yuhki 1999).

Z dalších taxonomických skupin byl značný TSP detekován u slonů v exonu 2 a intronu 2 *MHC II DQA* genu mezi slonem africkým (*Loxodonta africana*) a slonem indickým (*Elephas maximus*) (Archie et al. 2010). Naopak u netopýrů byla míra detekovaného TSP v exonu 2 *MHC II DRB* genů velmi nízká a týkala se prakticky jen 2 blízce příbuzných druhů (Schad et al. 2012). To nasvědčuje na nezávislý mód evoluce těchto vysoce zduplikovaných lokusů u netopýrů.

Ptáci

U kura domácího (*Gallus gallus*) je genový MHC klastr obsažený ve dvou samostatných regionech (BF/BL a Rfp-Y) oddělených organizátory jádérka (NOR, *nuclear organization region*) (Kaufman 2013; Kaufman et al. 1999a; Kaufman et al. 1999b). Je velmi kompaktní, málo polygenní a dominantně se exprimuje vždy jen 1 gen klasických *MHC I* a *MHC II* (tzv. „*minimal essential MHC*“) (Kaufman 2013; Kaufman et al. 1999a; Kaufman et al. 1999b). Existuje velmi těsná asociace některých haplotypů k infekčním onemocněním, např. k Markově chorobě, RSV, infekcím vyvolaným eimeriemi, salmonelou či stafylokokem (Lamont 1998). Další odlišnosti od saveců spočívají v umístění TAP pump v blízkosti *MHC I* a v relativně krátkých intronech a malých intergenetických vzdálenostech (Kaufman 2013; Kaufman et al. 1999a; Lamont 1998). BF/BL oblast obsahuje jen 19 genů na 97 kbp dlouhém úseku. Kóduje 2 klasické geny: *MHC I* (*BF1* a *BF2*) a *MHC II* (β podjednotka kódována *MHC IIB* - *BLB1* a *BLB2*). Později objevený Rfp-Y (*restriction fragment pattern*) také obsahuje klasické geny

MHC I (2 *YF* geny) a *MHC II* (3 geny *MHC IIB* – *YLB*) (Kaufman et al. 1999a; Kaufman et al. 1999b). Po objevení „*minimal essential MHC*“ u kura domácího a dalších hrabavých ptáků se předpokládala podobná stavba MHC komplexu i u dalších druhů. Moderní druhy skupiny Neoaves však mají mnohem komplexnější strukturu MHC a navíc existují výrazné rozdíly i v rámci jednotlivých řádů (Hess and Edwards 2002; Sato et al. 2011). V přímém kontrastu s „*minimal essential MHC*“ modelem hrabavých pak stojí *MHC* geny některých pěvců. Dochází k rozsáhlým přestavbám celého komplexu, jako jsou mnohonásobné duplikace, ztráty genů, vznik pseudogenů či častá rekombinace (Hess and Edwards 2002; Richardson and Westerdahl 2003; Sepil et al. 2013). Například u slavíka modráčka (*Luscinia svecica*) bylo popsáno 11 lokusů PBR *MHCI*, z toho však téměř 31 % detekovaných alel představovaly pseudogeny (Anmarkrud et al. 2010), až 16 lokusů a 862 alel u *MHC I* bylo zjištěno u sýkory koňadry (*Parus major*) (Sepil et al. 2013). Proto je obtížné homologizovat tyto geny u nemodelových druhů s ortology kura. Navíc u řady druhů se doposud nepodařilo identifikovat Rfp-Y.

MHC I

První důkaz přítomnosti TSP u ptáků přinesli Richardson and Westerdahl (2003) u dvou druhů blízce příbuzných rákosníků v exonu 3 *MHC I*: rákosníka velkého (*Acrocephalus arundinaceus*) a rákosníka seychelského (*A. sechellensis*), vzácného ostrovního endemita, který prošel na přelomu 50. a 60. let silným *bottle-neckem*. Celkově identifikovali ve všech lokusech u 354 jedinců rákosníka velkého 67 alel a u 485 jedinců rákosníka seychelského jen 10 alel. Alely rákosníka seychelského byly náhodně rozptýleny mezi sekvencemi rákosníka velkého, což ukazuje na enormní míru TSP. Podobnou frekvenci TSP u zduplikovaných *MHC I* lokusů ukázali Serrano-Vela et al. (2009) mezi americkými blízce příbuznými druhy – čížkem severoamerickým (*Carduelis pinus*) a čížkem černým (*C. atrata*). Tyto druhy navíc sdílely identické alely s evropským čížkem lesním (*C. spinus*).

MHC II

Bollmer et al. (2007) jako první upozornili na TSP v exonu 2 *MHC II*, a to u tučňáků rodu *Spheniscus* pomocí DGGE. Kromě toho tučňák galapážský (*S. mendiculus*) a tučňák magellanský (*S. magellanicus*) sdíleli dokonce 1 alelu (157 bp fragment exonu 2) identickou. Areály těchto sesterských druhů se v přírodě překrývají a oba druhy spolu vzácně mohou hybridizovat, takže místo TSP autoři přisuzují původ této alely introgresi (Bollmer et al. 2007). Transpecifický mód evoluce v *MHC DRB-like* v úseku (exonu 1,2 a 3, tj. 622 bp.) udržovaný balancující selekcí po více než 4 mil. let u 4 alopatrických druhů rodu *Spheniscus* dále potvrdili přímým sekvenováním Kikkawa et al. (2009). Mezi dalšími druhy se TSP neprokázal. (Kikkawa et al. 2009). Dále byl TSP v *MHC IIB* genech nalezen mezi alkounkem nejmenším (*Aethia pusilla*) a alkounkem chocholatým (*A. cristatella*) opět v hypervariabilním exonu 2 kódujícím PBR (Walsh and Friesen 2003), mezi buřňákem modravým (*Halobaena caerulea*) a buřňákem útlozobým (*Pachyptila belcheri*) (divergence asi 25 mil. let), nikoliv však v *MHC I* (Strandh et al. 2011). V čeledi volavkovitých (Ardeidae) bude TSP pravděpodobně značně rozšířený. Ačkoliv (Li et al. 2011) analyzoval širší oblast exonu 2 (část intronu 2 a exonu 3) v *MHC IIB* genech u 10 druhů čeledi volavkovitých pouze u 1 jedince na druh, identifikovali v obou genových klastrech *DAB1* a *DAB2* několik sekvencí příbuznějších mezidruhově. Dvě sekvence byly dokonce sdíleny

v identické podobě. Naopak v exonu 3 ani intronu 2 TSP nebyl v těchto úsecích detekován. *DAB1* a *DAB2* lokusy byly částečně zhomogenizovány „concerted evolution“ mezi *DAB1* a *DAB2* (Li et al. 2011). Obdobná situace byla zjištěna také mezi 14 evropskými druhy sov (Strigiformes) (Burri et al. 2008). Naopak srovnání exonu 2 *MHC IIB* u 26 druhů dravců ukázalo na existenci TSP pouze u blízce příbuzných druhů (Alcaide et al. 2007). Na rozdíl od exonu 2 sekvence exonu 3 a intronu 2 nekódující PBR nebyly vystaveny působení balancující selekce, transspecifický mód evoluce nesdílely a mohly tak podstoupit divergenci a duplikaci. Proto je možné použít k určení historie *DAB1* a *DAB2* genů a identifikaci jejich ortologů (Alcaide et al. 2007; Burri et al. 2008; Li et al. 2011). U některých druhů se na homogenizaci sekvencí podílela „concerted evolution“ a sekvence tak vyvážely monofyletické klastry. Postspeciační duplikace však může zamaskovat i recentní projev „concerted evolution“ (Alcaide et al. 2007). Nicméně pro vyvození obecných závěrů je především nutno výrazně zvýšit počty zahrnutých jedinců na druh.

Mezi pěvci byl TSP detekován v exonu 2 *MHC IIB* mezi slavíkem tmavým (*Luscinia luscinia*) a slavíkem modráčkem (*Luscinia svecia*) ve formě rozsáhlého sdílení identický alel (Anmarkrud et al. 2010) a také mezi 4 druhy šatovníků čeledi Drepanidae v obou zjištěných genových klastrech (Jarvi et al. 2004). Jeden klastr byl značně divergovaný a polymorfní, druhý naopak značně konzervovaný s velmi nízkou variabilitou a zahrnoval také sekvence některých druhů strnadovitých (Emberizidae). Tento vysoce konzervativní klastr může být reminiscencí na Rfp-Y region u kura (Kaufman et al. 1999b). Extrémní míra TSP je charakteristická pro druhy nacházející se ve fázi adaptivní radiace, proto není překvapením (Klein et al. 1998; Nagl et al. 1998; Samonte et al. 2007), že vysokou míru TSP zjistili Vincek et al. (1997) v exonu 2 *DRB* genů u 8 druhů Darwinových pěnkav (*Geospiza*) a následně také Sato et al. (2011) v mnohem větším měřítku. Dokonce některé alely exonu 2 byly sdíleny také mezi dalšími příbuznými pěvci z Jižní a Střední Ameriky. V samotném rodu *Geospiza* byl TSP natolik rozšířen, že celá skupina vytvářela na úrovni MHC geneticky nediferenciovanou populaci (Sato et al. 2011). Vzhledem k předpokládané kolonizaci Galapág nejméně 30, spíše však 50–100 jedinci před asi 2,8 mil. let je tak tento TSP dlouhodobě udržován balancující selekcí více než 2,8 mil let (Vincek et al. 1997).

Plazi

Na rozdíl od „ptačích Archosaurních plazů“ jsou naše znalosti o stavbě a evoluci *MHC* genů plazů výrazně limitovány, takže i počet popsáných příkladů TSP těchto genů je nízký a je omezen pouze na 3 studie zabývající se klasickými *MHC I* geny. Na možný rozsáhlý TSP *MHC Ia* plazů upozornili Stiebens et al. (2013), kteří u karety pravé (*Eretmochelys imbricata*) objevili existenci výrazně divergovaných alelických *MHC* linií, které klastrovaly napříč několika rody plazů. To naznačuje možný TSP. Nicméně se ukázala i přítomnost některých fylogeografických ras lišících se i v počtu *MHC Ia* lokusů (Stiebens et al. 2013). TSP v exonu 3 *MHC I* u krokodýlů v rámci rodů a čeledí ukázali Jaratlerdsiri et al. (2014). Zatímco 3 druhy z čeledi Iguanidae: leguán mořský (*Amblyrhynchus cristatus*), leguán galapážský (*Conolophus subcristatus*) a leguán zelený (*Iguana iguana*) na úrovni *MHC I* genů u α_1 a α_2 domén byly výrazně diverzifikované a vykazovaly transspecifický mód evoluce,

v případě non-PBR α_3 domény byly naopak konzervované (Glaberman and Caccone 2008), což je v souladu i s jinými pracemi.

Obojživelníci

Studiu MHC komplexu obojživelníků byla věnována menší pozornost než MHC savců, ptáků a ryb (Zhao et al. 2013). Jeho diverzifikace je způsobena frekventovanou interlokusovou a intralokusovou rekombinací (Kiemnec-Tyburczy et al. 2012), např. u drápatky vodní (*Xenopus laevis*) až 30 % MHC Ia alel pocházelo z intralokusové rekombinace (Bos and Waldman 2006). Na rozdíl od savců s retikulárním modelem rekombinace (Hughes et al. 1993) se rekombinace u obojživelníků děje orientovaně, např. mechanismem „*exon shuffling*“ exonu 2 s exonem 3 a 4 (Zhao et al. 2013). Časté genové duplikace a polyploidizace včetně alopolyploidizace často podmiňují speciaci a hrají důležitou roli i při evoluci MHC (Kiemnec-Tyburczy et al. 2012). Antigenně specifická vysoce polymorfní PBR mohou ležet jinde než u člověka (Kiemnec-Tyburczy et al. 2010). Počty lokusů MHC genů se liší nejen v rámci čeledí, ale i mezi druhy, např. u MHC Ia má většina druhů 1-3 lokusy (Zhao et al. 2013), u MHC IIB genů byly u skokana *Odorrana tormota* zjištěny nejméně 4 lokusy (Shu et al. 2013). Z několika příkladů TSP zejména v exonu 2 kódujících MHC II β_1 doménu a MHC Ia genů se dá usuzovat, že TSP je u obojživelníků běžný jev.

Analýza MHC Ia exonu 2, 3, 4 kódujících α_1 , α_2 , α_3 domény u drápatky vodní (*Xenopus laevis*) a srovnání s dalšími druhy rodu *Xenopus* – drápatkou tropickou (*X. tropicalis*) a drápatkou ugandskou (*X. ruwenzoriensis*) ukázaly v exonu 2 vysokou míru TSP na rozdíl od sekvencí kódujících zároveň α_2 a α_3 domény, které kladují spíše v rámci druhu. Vzhledem k časné divergenci drápatky tropické od obou druhů (50–81 mil. let) to poukazuje na abnormálně dlouhou perzistenci MHC I alel TSP u obojživelníků (Bos and Waldman 2006). Evoluce MHC Ia drápatek se v mnohém podobá evoluci lososovitých ryb spíše než evoluci savců: (1) chybí extrémní polymorfismus srovnatelný např. s primáty, (2) MHC Ia alelické linie jsou udržovány déle, např. primáti nesdílejí žádnou identickou alelu mezi druhy staršími než 35 mil. let a (3) rekombinace se týká jen krátkých úseků a probíhá spíše intergenově, interlokusově (Bos and Waldman 2006). Podobný evoluční mód – TSP v polymorfních PBR doménách (α_1 – exon 2, α_2 – exon 3), ale nikoliv v konzervativnější transmembránové α_3 – doméně (exon 4) ukázala charakterizace 6 středoamerických a severoamerických druhů žab náležících do čeledí rosníčkovití (Hylidae), rosněnkovití (Centrolenidae) a skokanovití (Ranidae) (Kiemnec-Tyburczy et al. 2012). K podobným závěrům dospěl také Zhao et al. (2013) pro stejné úseky srovnáním druhů *Rhacophorus omeimontis* a *Polypedates megacephalus* z čeledi létavkovitých (Rhacoporidae). Dvě zjištěné starobylé MHC Ia alelické linie pravděpodobně pocházejí z doby před divergencí Ranidae/Racophoridae a Hylidae/Centrolenidae a pokud se divergence mezi čeleděmi odehrála před 69–72, respektive před 68–91 mil. let (Roelants et al. 2011), pak nejstarší alelické linie MHC Ia u obojživelníků perzistují více než 70 mil. let (Zhao et al. 2013), což je výrazně déle než u MHC I a MHC II u savců (Klein et al. 1998).

Také v MHC II genech kódujících β_1 doménu byl detekován TSP, konkrétně u 7 druhů neoarktických skokanů rodu *Rana* (Kiemnec-Tyburczy et al. 2010). Kiemnec-Tyburczy et al. (2010)

detekovali celkově u 7 jedinců ve 2 lokusech 13 alel exonu 2, z nichž 4 alely byly transspecifické. Sekvence exonu 2 byly opět výrazně divergovanější než sekvence intronu 2, na jehož homogenizaci se mohla podílet rekombinace nebo genetický drift. Možný transspecifický původ alely *MHC IIB* u skokanů *Odorrana tormota* spolu s *R. clamitans* dále ukazuje Shu et al. (2013).

Ryby

U kostnatých ryb (Teleostei) leží MHC I a MHC II na rozdíl od ostatních tetrapod a paryb na separátních chromozomech (Aguilar and Garza 2007; Bingulac Popovic et al. 1997; Sato et al. 2000). V kontrastu se savci odlišně selekční tlaky v obou regionech způsobují vyšší míru TSP a delší přežívání alelických linií u *MHC I* než u *MHC II* (Aguilar and Garza 2007; Shum et al. 2001) Podobně jako u obojživelníků důležitou roli v diverzifikaci hrají duplikace (Ottova et al. 2005), intralokusové a interlokusové rekombinace a *exon shuffling* (Kiryu et al. 2005).

MHC I

Na různou míru koalescence a TSP *MHC Ia* genů u různých α -domén u lososovitých ryb upozornili Kiryu et al. (2005). Nejnižší míra TSP byla zjištěna u málo polymorfní transmembránové α_3 domény; sdílena byla pouze v rámci lososovitých mezi pstruhem duhovým (*Oncorhynchus mykiss*) a lososy (*Salmo salar* a *S. trutta*). Naopak nejhlubší divergenci alelických linií a nejširší TSP zjistili Kiryu et al. (2005) u α_1 domény mezi řády lososotvárných (Salmoniformes) a máloostných (Cypriniformes) (divergence asi 145 mil. let), tzv. *trans-order* polymorfismus. U α_1 domény 4 z 8 identifikovaných alelických linií (α_1 II, V, VI a VII) byly sdíleny s kaprovitými (Cypridinae; kapr obecný, *Cyprinus carpio*, dánío pruhované, *Danio rerio*), 1 linie α_1 – VII se sumečkem *Silurus punctatus* a 1 linie α_1 – I s medakou japonskou (*Oryzias latipes*) a živorodkou duhovou (*Poecilia reticulata*). Pouze 2 alelické linie α_1 -III a IV byly specifické pro lososovité (Kiryu et al. 2005). V případě α_2 domény byla pouze 1 alelická linie α_2 -II sdílena s kaprovitými. Široce rozšířený TSP různě divergovaných *MHC I* α_1 a α_2 alel u lososovitých mezi lososem obecným (*Salmo salar*), a pstruhem obecným (*S. trutta*) a pstruhem duhovým (*O. mykiss*) také popsal O'Farrell et al. (2013), dále také Liu and Ely (2010) u 4 severoamerických druhů morčáků rodu *Morone*. Pravděpodobně nejdelší perzistence alelických linií u *MHC* byla zjištěna u α_1 a α_2 domén (α_3 druhově specifické) v řádu jeseterů (Acipenseriformes) mezi veslonosem americkým (*Polyodon spathula*) a jeseterem čínským (*Acipenser sinensis*) dle odhadované divergence delší než 184 mil. let (Wang et al. 2010).

MHC II

Vysoká míra TSP u *MHC IIB* u 11 střeoevropských druhů kaprovitých z podčeledí Leuciscinae, Gobioninae, Tincinae, Cyprininae byla prokázána v *DAB1* a *DAB3* lokusech. TSP byl rozšířen v obou exprimovaných lokusech v polymorfnějším exonu 2 (129 bp fragment) zejména v rámci podčeledí, méně pak v případě homogenizovanějšího exonu 3 (174 bp fragment) nacházejícího se pod vlivem purifikující selekce (Ottova et al. 2005). Další případy detekovaného TSP se týkají pouze *MHC IIB* genu mezi jelcem tlušťem (*Squalius cephalus*) a cejnem velkým (*Abramis abra*) (Seifertova and Simkova 2011), u původní ostroretky stěhovavé (*Chondrostoma nasus*) a invazivní ostroretky

oblohavé (*Parachondrostoma toxostoma*) na sympatrických a alopatrických lokalitách JV Francie v *DAB1* a *DAB3* genech (Simkova et al. 2013). Vyšší frekvence transspecifických alel *DAB1* a *DAB3* genu v sympatrických populacích byla dána vzájemnou introgresí *MHC* alel obou druhů. Zjištění hybridů navíc měli unikátní rekombinantní alely lišící se od rodičovských druhů (Simkova et al. 2013). Další TSP v exonu 2 *MHC IIA* (*DAA* a *DBA*) a polymorfnějším *MHC IIB* (*DAB*) genů (nikoliv však intronu) byl zjištěn mezi 3 druhů dáníí (*Danio*) (Graser et al. 1996). Přesto se nedalo spolehlivě odlišit hluboce divergované alelické linie od dalších lokusů. Podobná situace platila také pro 4 morfotypy exonu 2 *MHC IIB* (nikoliv intronu 2) u palem (*Barbus intermedius komplex*). Tzv. „*barbel species flock*“ zahrnuje 14 endemických morfotypů a obývá etiopské jezero Tana od jeho vzniku před 5 mil. let. (Dixon et al. 1996). Podobně jako cihlidy (Nagl et al. 1998) také tyto druhy prodělaly adaptivní radiaci, nicméně absence TSP v intronu pravděpodobně naznačuje delší dobu divergence.

Srovnání exonu 2 *MHC IIB* u relativně vysokého počtu jedinců (11 druhů lososovitých ryb 3 rodů: *Oncorhynchus*, *Salmo* a *Salvelinus*) ukázalo odlišnou míru přetrvávání TSP. Zatímco v rodech *Salmo* a *Salvelinus* nebyly alely jednotlivých druhů druhově odlišené (= velký TSP), v rodě *Oncorhynchus* 5 ze 7 druhů hostilo druhově specifické alely vyjma pstruha žlutohrdlého (*O. clarkii*) a pstruha duhového (*O. mykiss*). Pro vysvětlení vysoké míry TSP se nabízí odlišná demografie populací (opakované působení *bottle-necku*). Populace rodů *Salmo* a *Salvelinus* jsou podobně jako pstruh duhový a žlutohrdlý zároveň anadromní i residentní a jejich variabilita zůstala zachována na rozdíl od spíše čistě anadromního rodu *Oncorhynchus* (Aguilar and Garza 2007). Kvůli *bottle-necku* bylo u 142 jedinců ohroženého pstruha gílského (*Oncorhynchus gilae gilae*) identifikováno pouze 5 alel exonu 2 *MHC IIB*, přesto nalezené alely zaujímaly transspecifický mód evoluce s alelami pstruha duhového a lososa nerky (*O. nerka*) (Peters and Turner 2008). Srovnání exonů 2 obvykle méně konzervativního a málo studovaného *MHC IIA* – *DAA* genu a *MHC IIB* – *DAB* u 3 druhů lososovitých: pstruha obecného, lososa nerky a pstruha duhového ukázalo přítomnost pouze jednoho lokusu obou genů a srovnatelnou míru TSP obou genů omezeného pouze na rod *Salmo* (Stet et al. 2002). V případě alelických linií TSP přetrvával v *MHC IIB* mezi podčeleděmi Cyprinae a Leuciscinae asi 27,7 mil. let (divergence obou podčeledí) (Ottova et al. 2005). Naopak absence perzistence *MHC IIB* alelických linií mezi rody *Oncorhynchus*, *Salmo* a *Salvelinus*, k jejichž vzájemné divergenci došlo před 15–20 mil. let, naznačuje jiný evoluční mód u lososovitých a mnohem kratší perzistenci TSP (Aguilar and Garza 2007).

3.1.1.6 PSMB8

Gen *PSMB8* (*proteasome subunit β -type 8 gene*) kóduje katalytickou podjednotku β -prstence proteasomu určující specifitu štěpení proteinů (Miura et al. 2010). Multikatalytický komplex proteasomu je součástí ubiquitin-degradační dráhy proteinů a podílí se také na „*processingu*“ peptidů vystavovaných na MHC. Proteasom obsahuje 28 podjednotek, které vytváří celkovou cylindrickou strukturu složenou ze 4 prstenců (2 vnější α -prstence a 2 vnitřní β -prstence, každý obsahující 7 α nebo β podjednotek (Unno et al. 2002). Některé geny proteasomu, např. *PSMB9* (*LMP2, bli*) a *PSMB8*

(*LMP7,b5i*), jsou lokalizovány v MHC I genovém klastru a jejich zvýšená exprese je indukována při virových infekcích interferony (např. IFN- γ) za vzniku imunoproteasomu (Murphy 2012). *Knock-out PSMB8* genu myši ukázal sníženou expresi *MHC I* a následně také redukovanou antigenní prezentaci (Fehling et al. 1994).

Neobvyklý TSP *PSMB8* genu zjistili Miura et al. (2010) u 7 druhů kostnatých ryb rodu medaka (*Oryzias*), u kterých může být udržován nejméně 30–60 mil. let. U 612 AK dlouhé sekvence exonu 1–6 *PSMB8* získali dohromady pouze 2 vzájemně divergované alelické linie: *PSMB8N* a *PSMB8d* (SI 80 %). Tyto alelické linie se lišily především neobvyklými substitucemi v 31. a 53. pozici vytvářející S1 kapsu. U 5 druhů byly nalezeny obě varianty alelických linií, nicméně frekvence byla větší u *PSMB8N*. Obdobný transspecifický dimorfismus se týkal také 13 druhů drápatek rodu *Xenopus* (Nonaka et al. 2000). U většiny druhů Nonaka et al. (2000) zjistili také přítomnost 2 vysoce divergovaných linií *PSMB8*, jejichž diverzifikace předcházející speciaci započala asi před 80 mil. let. Naopak dimorfismus *PSMB8* u žraloků byl způsoben genovou duplikací – jedná se o paralogy, jak zjistil Kandil et al. (1996) a následně sekvenováním potvrdil Tsukamoto et al. (2012).

Pro katalytickou funkci této podjednotky imunoproteasomu je klíčový polymorfismus AK pozice 31, která zajišťuje nukleofilní atak a proteolytické štěpení. Tsukamoto et al. (2012) proto rozdělují dvě alelické linie (případně paralogy) na funkční typy: A – typ *PSMB8* obsahuje v AK pozici 31 Ala/Val. Tyto malé AK vytváří širokou otevřenou S1 kapsu umožňující štěpení objemných aromatických AK; má chymotrypsinovou aktivitu. F – typ *PSMB8* obsahuje v AK pozici 31 Phe/Tyr, S1 kapsa je mnohem užší a umožňuje štěpení pouze malých hydrofobních AK; má elastázovou aktivitu.

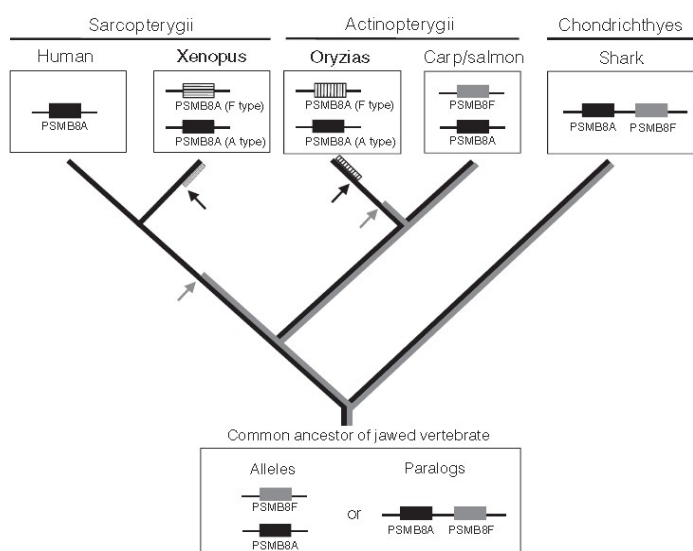
Tsukamoto et al. (2012) potvrdili dichotomii alelických linií genu *PSMB*; *PSMBF* a *PSMBA*, které perzistují mezi bazálními liniemi kostnatých ryb (máloostnými a lososotvárnými) více než 300 mil. let, tzv. *trans-order* polymorfismus. Doba přetrvávání alelického dimorfismu *PSMB8* je extrémně dlouhá a ukazuje na výraznou balancující selekci, která pravděpodobně reflektuje potencionální výhodu tohoto genu. Důležitost tohoto dimorfismu navíc podtrhuje fakt, že před zánikem alelické linie *PSMB8F* došlo opakovaně ke vzniku funkčního analogu z *PSMB8A* pravděpodobně mechanismem genové konverze nebo homologické rekombinace mezi sekvencemi kódujícími většinu *PSMB8* vyjma S1 kapsy. Homogenizace většiny sekvence *PSMB8F* prostřednictvím *PSMB8A* vedla ke vzniku F-typu *PSM8A*. Další hypotéza počítá se ztrátou *PSMB8* dimorfismu, přechodným monomorfismem a opětovným náhodným nezávislým vznikem dimorfismu (obr. č. 4) (Tsukamoto et al. 2012). Oba mechanismy umožňují obnovení chymotrypsinové i elastázové proteolytické aktivity, což je ukázáno u rodu *Oryzias* (Miura et al. 2010) a *Xenopus* (Nonaka et al. 2000). Navíc u obou těchto rodů jsou obě linie (F- a A-typ *PSMB8*) sdíleny u většiny druhů a dlouhodobě udržovány jako TSP.

Na příkladu *PSM8* genu jsem chtěl ilustrovat perzistenci TSP, jeho ztrátu, opakovaný vznik a opět následné udržování v rámci fylogenetického stromu na různých úrovních taxonů čelistnatých obratlovců, a to vždy pouze ve dvou alelických liniích. Jedná se o jedinečný příklad doposud nejdéle známého perzistujícího TSP. Tento TSP přetrvává na několika úrovních: u chrupavčitých ryb (Chondrichthyes) a kostnatých ryb přes 500 mil. let (možná paralogie), mezi máloostnými

a lososotvárnými přes 300 mil. let, tzv. *trans-order* polymorfismus, v rámci rodů *Oryzias* přes 30–60 mil. let a u rodu *Xenopus* přes 80 mil. let.

Obr. č. 4: Předpokládaná evoluční historie dichotomických alelických linií sekvencí *PSMB8* genu.

Fylogenetický strom reprezentuje fylogenetické vztahy skupiny Gnathostomata u alelické linie *PSMB8A* a *PSMB8F*. Linie *PSMB8A* a *PSMB8F* vznikly jako alelické linie nebo paralogy u společného předka Gnathostomat. Chondrichthyes obsahují tyto alelické linie nebo paralogy, zatímco bazální linie Teleostei, Cypriniformes a Salmoniformes obsahují už pouze alelické linie těchto genů. Ke ztrátě alelické linie *PSMB8F* došlo nejméně dvakrát, vyznačeno šedou šipkou u vyšších Teleostei a Tetrapodů. Následně však nejméně dvakrát u rodu *Oryzias* a *Xenopus* nezávisle vznikly funkčně analogické *F*-typy *PSMB8A*, které opět vnášejí dichotomický mód evoluce a funkčně nahrazují ztracenou linii *PSMB8F*, označeno černými šipkami (převzato a upraveno podle Tsukamoto et al. 2012).



3.1.1.7 IGVH

IGVH geny kódují těžký řetězec imunoglobulinů, který se spolupodílí na zajištění specifity vazebného místa protilátek (ABS; *antigen binding site*). Kromě *VH* genů účastnících se přímo VDJ přeskupení mohou také ostatní *VH* geny včetně pseudogenů sloužit jako zdroj variability pro následné hypersomatické mutace vzniklé rekombinací a genovou konverzí (Su and Nei 1999).

U skupiny zajícovců (Lagomorpha) byla zjištěna značná variabilita *IGVH* sekvencí a existence divergovaných alelických linií (haplotypů) perzistující přes 20 mil. let a předcházející divergenci králíka (*Oryctolagus cuniculus*) a zajíce (rod *Lepus*) (Esteves et al. 2005). Prvotní doklady o TSP u zajícovců byly podpořeny sérologickou cross-reaktivitou mezi sérologickými alotypy (Hornig et al. 1980). Sérologická cross-reaktivita však představuje chabý důkaz fylogenetického stavu pro zjištění TSP (Esteves et al. 2005; Pinheiro et al. 2011). (1) Může záviset na nahrazení jen několika AK, které se pak mohou stát antigenními (možná konvergence). (2) Allo-antiséra navíc mohou vykazovat plesiomorfni charakter. U králíka byly historicky zjištěny 3 serologické typy = *VHa* alotypy – *a1*, *a2*, *a3*. Pozdější sekvenování odhalilo, že tyto *VHa* alotypy stejně jako nově identifikovaný haplotyp *VHa*-

a4 přísluší k *VH1* genům, které králík majoritně využívá při VDJ rekombinaci (Esteves et al. 2005). Sekvenování *VH1* genů zajíce polního (*L. europaeus*) a zajíce iberského (*L. granatensis*) ukázalo existenci 2 vzájemně velmi divergovaných haplotypů – *a2L* a *sL* u obou druhů. Přitom *a2L* haplotyp vykazoval sérologický motiv králíka *VHa* – *a2* a tyto sekvence obou druhů zajíců byly mezi sebou promíchány a spolu s králíčím *VHa* – *a2* vytvářely transspecifický klastr. Králíčí alotypy byly navíc vysoce divergované, *VHa* intraalelické vzdálenosti se ukázaly 1,5x vyšší než rozdíly mezi konsenzuální sekvencí *VHa-a2* (králík) a *a2L* (zajíc). Toto zjištění dále podporuje hypotézu TSP a existenci *VHa* linií u jejich společného předka 16-24 mil. let (Esteves et al. 2005), podle některých odhadů až 50 mil. let (Su and Nei 1999).

3.1.1.8 *Cα*

Cα gen kóduje konstantní oblast těžkého řetězce IgA. *Cα IgA* gen se dlouho považoval za konzervativní, avšak později byla u opic Nového světa v tomto lokusu objevena vysoká variabilita (Kawamura et al. 1990). Sumiyama et al. (1998) detekovali TSP metodou PCR-SSCP v exonu 2 mezi 8 druhy makaků z celkových 14 zahrnutých druhů primátů. Tento exon kóduje tzv. pantovou oblast a vykazoval vysokou míru vnitrodruhové a mezidruhové variability včetně insercí a delecí. Pro vysvětlení vysokého polymorfismu byly navrženy dvě hypotézy: (1) vysoká variabilita v pantové oblasti zvyšuje rozpoznávaný repertoár antigenů na ABSs, protože umožňuje vyšší flexibilitu vazby obou ABSs k epitopům. (2) Dle Sumiyamy et al. (1998) pravděpodobnější hypotéza vysvětluje hypervariabilitu v pantové oblasti jako nezbytnou podmínku pro zajištění správné funkce IgA, neboť právě na tento úsek sekreční IgA působí bakteriální proteázy, viz např. Male (1979). Mezidruhový původ některých alel u makaka dále potvrdili přímým sekvenováním Sumiyama et al. (2002).

3.2 Geny asociované s vrozenou imunitou

3.2.1 Host defense peptidy

Host defense peptidy (HDPs) jsou malé diverzifikované evolučně původní antimikrobiální peptidy, jejichž hlavní funkcí je zajištění primární imunitní odpovědi proti patogenům. Uplatňují se také při imunomodulacích, ontogenetickém vývoji či při hojení ran (Cuperus et al. 2013; Ganz 2003). Ptačí HDPs můžeme zjednodušeně rozdělit na defensiny, cathelicidiny a LEAP-2 (*liver expressed antimicrobial peptides 2*) (Cuperus et al. 2013); u savců byla identifikována řada dalších typů často druhově specifických HDPs (Ganz 2003).

β -defensiny jsou amfipatické kationické CYS-bohaté peptidy, které sdílejí konzervativní disulfidické můstky v β -listu v pozicích CYS¹-CYS⁵, CYS²-CYS⁴ a CYS³-CYS⁶. Jsou sekretovány epiteliálními buňkami mnoha tkání a neutrofilů. Pozitivně nabitě β -defensiny interagují s negativně nabitými komponentami cytoplazmatické membrány bakterií a hub, pomocí hydrofobních residuí se zanořují do cytoplazmatické membrány patogena a způsobují její disrupci (Cuperus et al. 2013; Ganz 2003). Hellgren a Sheldon (2011) se zaměřili na popis variability exonu 3 u 9 genů β -defensinové

rodiny (AvBDs, *avian beta defensin loci*) u 20 evropských druhů pěvců (po 2 jedincích na druh). TSP byl podle autorů prokázán mezi sýkorou koňadrou (*Parus major*) a sýkorou modřinkou (*Cyniastes caerulus*) v genu *AvBD12* s nesynonymními SNPs. Pro vyvození dalších závěrů je především nutno zvýšit počet jedinců na druh (Hellgren and Sheldon 2011).

3.2.2 Oligoadenylát syntetáza (OASs)

Oligoadenylát syntetázy (*Oligoadenylate synthetases*, OASs) jsou interferony (IFNs) – indukované enzymy zajišťující obranu nejen proti virovým infekcím, ale podílí se také na regulaci růstu, diferenciaci, genové exprese či apoptózy (Hovanessian and Justesen 2007). RNA dependentní 2'-5' OASs po aktivaci IFNs vytváří z ATP oligoadenylát (2-5A), který aktivuje endoribonukleázu RNAázu L. Ta následně vede k nespecifické degradaci dsRNA (Hovanessian and Justesen 2007). U genu *OAS1b* bylo u myši (*M. musculus*) zjištěno, že určité varianty tohoto genu zajišťují rezistenci proti flavavirovým infekcím, např. West Nile viru (Mashimo et al. 2002; Perelygin et al. 2002), žluté horečky, horečky Dengue a dalším (Ferguson et al. 2008). TSP ve vysoce variabilním genu *OAS1b* byl detekován u 6 evropských druhů myši. Sestrojením fylogenetického stromu na základě intronu 4 a 5 a 3'UTR byly u všech druhů detekovány dvě vzájemně velmi divergované alelické linie staré nejméně 3 mil. let a vzniklé ještě před rozdělením *M. musculus* a *M. famulus* před 2,8 mil. let. Tzv. „*major resistance alleles*“ zajišťují rezistenci proti širšímu spektru flavavirových genotypů než „*minor resistance alleles*“ a tyto dvě skupiny alel jsou dlouhodobě udržovány balancující selekcí (Ferguson et al. 2008). Zajímavé je, že balancující selekce se netýká N-koncové domény, která přímo interaguje s virovou dsRNA, ale týká se pravděpodobně pouze C-koncové domény – CFK motivu, který je zodpovědný za tetramerizaci a je důležitý při vazbě interleukinových receptorů (Ferguson et al. 2008). Také u hominoidů byly v genu *OAS1* tentokrát podle RNA-vazebního místa detekovány 2 hluboce divergované alelické linie (haplotypy), jejichž vznik předchází divergenci šimpanzů, goril a lidí (asi 8,6 mil. let) a mohou být udržovány balancující selekcí nejméně 13,6 mil. let. Tyto dvě linie se zachovaly ve srovnatelné frekvenci u středoafričských poddruhů šimpanze, u západoafričských poddruhů byly podobně jako u lidí pravděpodobně v souvislosti s rozdílnou demografií ztraceny (Ferguson et al. 2012).

3.2.3 TRIM5 α

TRIM5 α (*tri-partite motif protein 5, α - isoform*) je nejdelší isoforma restričního retrovirového faktoru, který po vstupu retroviru do cytosolu interferuje s kapsidovými proteiny a brání tak virové reverzní transkripci (Johnson and Sawyer 2009; Stremlau et al. 2004). U opic Starého a Nového světa zajišťuje rezistenci k řadě retrovirů, např. u některých opic Starého světa rezistenci k HIV (Johnson and Sawyer 2009). Stejně jako MHC geny je velmi variabilní a jeho evoluce byla u savců poznamenána fázemi přerušované pozitivní selekce včetně expanzí, duplikací a delecí (Johnson and Sawyer 2009). Proto je tento gen od svého objevení intenzivně studován (Stremlau et al. 2004). TRIM5 α se skládá z C-terminální SPRY/ B30.2 domény, RING domény, a B-box2a coiled-coil (CC) domény, přičemž C-koncová doména určuje specifitu restrikce.

U makaka rhézus bylo identifikováno u *TRIM5α* 6 alel, z nichž nejvíce SNPs leželo v úseku C-terminální SPRY/ B30.2 domény, která určuje specifitu restrikce. Alely u druhu makaka rhézus vytvářely dva divergované klastry, mezi něž spadaly také alely makaka asámského (*M. assamensis*) a makaka jávského (*M. fascicularis*) Autoři předpokládají široký TSP v případě zahrnutí vyššího počtu jedinců na druh (Newman et al. 2006). Také v porovnání s kočkodanem byly některé SNPs CC a SPRY/ B30.2 sdíleny a prokazatelně vykazovaly transspecifický mód evoluce (Newman et al. 2006). Pro vysvětlení variability v CC bylo navrženo několik mechanismů. (1) Předpokládá se, že variabilita v CC by mohla korigovat některé mutace v SNPs B30.2 domény, např. v případě heterozygotnosti, a mohla by tak vysvětlovat kontextovou podmíněnost některých SNPs. (2) Může být důsledkem adaptace na různé retroviróvé infekce. (3) Variabilita v CC doméně brání antagonistickému faktoru produkovanému virem v inaktivaci *TRIM5α* (Johnson and Sawyer 2009). Další příklad TSP byl detekován v intronu 1 *TRIM5α* mezi člověkem a šimpanzem a je udržován balancující selekcí 4–7 mil. let. Bioinformatická analýza ukázala na možný funkční význam tohoto TSP (Cagliani et al. 2010).

4 Závěr

Balancovaný (*long lasted*) TSP je u imunitních genů v současnosti znám prakticky výhradně ve variabilních úsecích genů kódujících proteiny bezprostředně interagující s patogenními strukturami (tj. PBR MHC, vazebné místo protilátek, katalytické místo enzymu zajišťující specifitu štěpení bakteriálních struktur apod.). Nejlépe je TSP zdokumentován u klasických *MHC I* a *MHC II* genů, zejména pak u *MHC IIB* genů primátů, kopytníků a hlodavců. Doba perzistence a šíře TSP se liší mezi jednotlivými taxony a lokusy (*trans-species*, *trans-genus*, *trans-family*, *trans-order polymorphism*) a je ovlivňován především působením selekce a genetického driftu (např. *bottle-neck* snižuje spektrum sdílených transspecifických alel u blízce příbuzných druhů). Perzistence alelických linií klasických *MHC II* je obvykle delší než u *MHC I* a pohybuje se v řádu desítek milionů let pro alelické linie, pro identické alely je to pak obvykle mnohem méně. Nejdéle perzistující TSP (více než 300 mil. let) byl detekován v genu pro katalytický enzym imunoproteasomu *PSMB8* mezi lososotvárnými a máloostnými. Ačkoliv se zdá kvantifikace míry (frekvence) TSP metodicky jednoduchá (inkongruence mezi genovým stromem, *gene tree*, a druhovým stromem, *species tree*), u MHC s „*birth and death*“ modelem evoluce naráží na problém s určením vztahu ortologie a paralogie mezi lokusy (divergované alely z různých lokusů několika druhů vytváří ve fylogenetickém stromu zdání TSP), což má značný dopad na určení stáří alelické linie a šíře TSP. Poměrně recentní duplikace může nadsadit odhad TSP, stejně jako častá genová konverze a nerekiproční rekombinace (*concerted evolution*). U blízce příbuzných druhů s doposud plně nevytvořenými RIM komplikuje stanovení TSP hybridizace a občasná jednostranná i oboustranná introgrese alel. Populace sympatricky žijících blízce příbuzných druhů mohou sdílet vyšší frekvenci transspecifických alel než populace alopatrické. To může být buďto v důsledku introgrese, anebo lokální adaptace (rozlišit tyto dvě možnosti je možné na základě neutrálních substitucí). Dalším komplikujícím faktorem pro posouzení šíře a stáří TSP zejména u vzdáleněji příbuzných druhů je konvergentní evoluce. Řada autorů, kteří se pokoušeli stanovit míru TSP u vzdáleněji příbuzných druhů

(nad úrovní *trans-family* polymorfismu), hypotézu konvergentní evoluce netestovala, což může zkreslovat naše závěry o době trvání a šíři TSP na úrovni alelických linií starších než 30–40 mil. let. V neposlední řadě míru zastoupení TSP v jednotlivých taxonech nelze spolehlivě posoudit z důvodu nerovnoměrného vzorkování a publikačního zkreslení (*publication bias*). Velká část studií má poměrně malý dataset (jen několik druhů nebo jen velmi malý počet jedinců na druh, nejčastěji 1–5) a sekvenovala pouze fragment funkčního lokusu. Zahrnutí celého exonu může výrazně zvýšit počet detekovaných alel, tj. délka fragmentu exonu či intronu ovlivní počet alel, a tudíž možná i detekci TSP. Problematický je také úzus používání termínu TSP. Kromě prací na MHC není v řadě studií vlastní termín TSP ani zmíněn, přestože jej autoři detekovali, což komplikuje kompilace dat. V současné době chybí především velké komparativní studie s dostatečným počtem jedinců na druh, které by se snažily postihnout skutečnou šíři TSP na určité taxonomické škále a snažily se jej korelovat s významnými evolučními a ekologickými faktory. Velmi nadějným projektem v této oblasti je postupně se rozvíjející anotovaná *Immuno Polymorphism Database* (IPD 2014). Ta však v současné době shromažďuje především sekvence HLA člověka a MHC domestikovaných druhů zvířat (v určité míře jsou však k dispozici také sekvence volně žijících primátů, psovitých a kočkovitých šelem). Bylo by zajímavé experimentálně testovat, zda obecně rozšířené transspecifické alely zajišťují rezistenci proti širokému spektru (sdílených) parazitů či zda existují specifické alely přizpůsobené lokálním selekčním tlakům různých parazitů. Zajímavá je také otázka, zda vzhledem k částečné redundanci alel u *MHC* genů (více vazebných motivů váže s různou afinitou tutéž parazitární strukturu) jsou tyto transspecifické alely důležitější než ostatní, což by mohlo mít i značný epidemiologický význam. Polymorfismus genů vrozené imunity je však mnohem méně studovaný navzdory tomu, že patrně až polovina funkční variability pro vysvětlení imunologického fenotypu jedince neleží v MHC (Acevedo-Whitehouse and Cunningham 2006). Jako ideální kandidáty pro další výzkum TSP v imunitních genech se jeví například PRRs (např. TLRs, RLSs, NLRs, CLR), antimikrobiální peptidy (např. defensiny, cekopsiny, ovotransferiny), cytokiny, virové restriční faktory (TRIM5 α) nebo promotorové oblasti řídící expresi imunitních genů. Obecně pak můžeme balancovaný TSP očekávat v polymorfních lokusech s funkčně významnými vzájemně divergovanými alelami nacházejícími se pod vlivem balancující selekce

5 Seznam literatury

- Acevedo-Whitehouse K, Cunningham AA (2006) Is MHC enough for understanding wildlife immunogenetics? *Trends in Ecology & Evolution* 21:433-438
- Agrawal A, Lively CM (2002) Infection genetics: gene-for-gene versus matching-alleles models and all points in between. *Evolutionary Ecology Research* 4:79-90
- Aguilar A, Garza JC (2007) Patterns of historical balancing selection on the salmonid major histocompatibility complex class II beta gene. *Journal of Molecular Evolution* 65:34-43
- Akiyama KY, Yokota KY, Kagawa S, Shimbara N, Tamura T, Akioka H, Nothwang HG, Noda C, Tanaka K, Ichihara A (1994) cDNA cloning and interferon-gamma down regulation of proteasomal subunit X a subunit Y. *Science* 265:1231-1234
- Alcaide M, Edwards SV, Negro JJ (2007) Characterization, polymorphism, and evolution of MHC class IIB genes in birds of prey. *Journal of Molecular Evolution* 65:541-554
- Alvarez M, MartinezLaso J, Varela P, DiazCampos N, GomezCasado E, VargasAlarcon G, GarciaTorre C, ArnaizVillena A (1997) High polymorphism of Mhc-E locus in non-human primates: Alleles with identical exon 2 and 3 are found in two different species. *Tissue Antigens* 49:160-167

- Anmarkrud JA, Johnsen A, Bachmann L, Lifjeld JT (2010) Ancestral polymorphism in exon 2 of bluethroat (*Luscinia svecica*) MHC class II B genes. *Journal of Evolutionary Biology* 23:1206-1217
- Archie EA, Henry T, Maldonado JE, Moss CJ, Poole JH, Pearson VR, Murray S, Alberts SC, Fleischer RC (2010) Major histocompatibility complex variation and evolution at a single, expressed DQA locus in two genera of elephants. *Immunogenetics* 62:85-100
- Archie EA, Hollister-Smith JA, Poole JH, Lee PC, Moss CJ, Maldonado JE, Fleischer RC, Alberts SC (2007) Behavioural inbreeding avoidance in wild African elephants. *Molecular Ecology* 16:4138-4148
- Arden B, Klein J (1982) Biochemical comparison of major histocompatibility complex molecules from different subspecies of *Mus musculus* - Evidence for trans-specific evolution of alleles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences* 79:2342-2346
- Arkush KD, Giese AR, Mendonca HL, McBride AM, Marty GD, Hedrick PW (2002) Resistance to three pathogens in the endangered winter-run chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): effects of inbreeding and major histocompatibility complex genotypes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59:966-975
- Babik W (2010) Methods for MHC genotyping in non-model vertebrates. *Molecular Ecology Resources* 10:237-251
- Ballingall KT, Rocchi MS, McKeever DJ, Wright F (2010) Trans-Species Polymorphism and Selection in the MHC Class II DRA Genes of Domestic Sheep. *Plos One* 5:10
- Becker L, Nieberg C, Jahreis K, Peters E (2009) MHC class II variation in the endangered European mink *Mustela lutreola* (L. 1761)-consequences for species conservation. *Immunogenetics* 61:281-288
- BingulacPopovic J, Figueroa F, Sato A, Talbot WS, Johnson SL, Gates M, Postlethwait JH, Klein J (1997) Mapping of Mhc class I and class II regions to different linkage groups in the zebrafish, *Danio rerio*. *Immunogenetics* 46:129-134
- Bollmer JL, Vargas FH, Parker PG (2007) Low MHC variation in the endangered Galapagos penguin (*Spheniscus mendiculus*). *Immunogenetics* 59:593-602
- Bontrop RE, Otting N, de Groot NG, Doxiadis GGM (1999) Major histocompatibility complex class II polymorphisms in primates. *Immunological Reviews* 167:339-350
- Bos DH, DeWoody JA (2005) Molecular characterization of major histocompatibility complex class II alleles in wild tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*). *Immunogenetics* 57:775-781
- Bos DH, Waldman B (2006) Evolution by recombination and transspecies polymorphism in the MHC class I gene of *Xenopus laevis*. *Molecular Biology and Evolution* 23:137-143
- Brandle U, Ono H, Vincek V, Klein D, Golubic M, Grahovac B, Klein J (1992) Transspecies evolution of MHC-DRB haplotype polymorphism in primates - Organization of DRB genes in the chimpanzee. *Immunogenetics* 36:39-48
- Bryja J, Galan M, Charbonnel N, Cosson JF (2006) Duplication, balancing selection and trans-species evolution explain the high levels of polymorphism of the DQA MHC class II gene in voles (*Arvicolinae*). *Immunogenetics* 58:191-202
- Burri R, Hirzel HN, Salamin N, Roulin A, Fumagalli L (2008) Evolutionary patterns of MHC class IIB in owls and their implications for the understanding of avian MHC evolution. *Molecular Biology and Evolution* 25:1180-1191
- Cagliani R, Fumagalli M, Biasin M, Piacentini L, Riva S, Pozzoli U, Bonaglia MC, Bresolin N, Clerici M, Sironi M (2010) Long-term balancing selection maintains trans-specific polymorphisms in the human TRIM5 gene. *Human Genetics* 128:577-588
- Califf KJ, Ratzloff EK, Wagner AP, Holekamp KE, Williams BL (2013) Forces shaping major histocompatibility complex evolution in two hyena species. *Journal of Mammalogy* 94:282-294
- Castro MJ, Morales P, FernandezSoria V, Suarez B, Recio MJ, Alvarez M, MartinVilla M, ArnaizVillena A (1996) Allelic diversity at the primate Mhc-G locus: Exon 3 bears stop codons in all Cercopitheciinae sequences. *Immunogenetics* 43:327-336
- Castro-Prieto A, Wachter B, Melzheimer J, Thalwitzer S, Sommer S (2011) Diversity and Evolutionary Patterns of Immune Genes in Free-Ranging Namibian Leopards (*Panthera pardus pardus*). *Journal of Heredity* 102:653-665
- Charlesworth B, Guttman DS (1996) Reductions in genetic variation in *Drosophila* and *E-coli* caused by selection at linked sites. *Journal of Genetics* 75:49-61
- Crnokrak P, Roff DA (1999) Inbreeding depression in the wild. *Heredity* 83:260-270
- Cuperus T, Coorens M, van Dijk A, Haagsman HP (2013) Avian host defense peptides. *Developmental and Comparative Immunology* 41:352-369
- Cutrer AP, Lacey EA (2007) Trans-species polymorphism and evidence of selection on class II MHC loci in tuco-tucos (*Rodentia* : *Ctenomyidae*). *Immunogenetics* 59:937-948
- Danilova N (2006) The evolution of immune mechanisms. *Journal of Experimental Zoology Part B-Molecular and Developmental Evolution* 306B:496-520

- de Bellocq JG, Suchentrunk F, Baird SJE, Schaschl H (2009) Evolutionary history of an MHC gene in two leporid species: characterisation of Mhc-DQA in the European brown hare and comparison with the European rabbit. *Immunogenetics* 61:131-144
- Dixon B, Nagelkerke LAJ, Sibbing FA, Egberts E, Stet RJM (1996) Evolution of MHC class II beta chain-encoding genes in the Lake Tana barbel species flock (*Barbus intermedius* complex). *Immunogenetics* 44:419-431
- Dwyer KG, Balent MA, Nasrallah JB, Nasrallah ME (1991) DNA sequences of self-incompatibility genes from *Brassica campestris* and *Brassica Oleracea* - Polymorphism predating speciation. *Plant Molecular Biology* 16:481-486
- Edwards SV, Chesnut K, Satta Y, Wakeland EK (1997) Ancestral polymorphism of Mhc class II genes in mice: Implications for balancing selection and the mammalian molecular clock. *Genetics* 146:655-668
- Esteves PJ, Lanning D, Ferrand N, Knight KL, Zhai SK, van der Loo W (2005) The evolution of the immunoglobulin heavy chain variable region (IgV(H)) in Leporids: an unusual case of transspecies polymorphism. *Immunogenetics* 57:874-882
- Fehling HJ, Swat W, Laplace C, Kuhn R, Rajewsky K, Muller U, Vonboehmer H (1994) MHC CLASS-I expression in mice lacking the proteasome subunit LMP-7. *Science* 265:1234-1237
- Ferguson W, Dvora S, Fikes RW, Stone AC, Boissinot S (2012) Long-Term Balancing Selection at the Antiviral Gene OAS1 in Central African Chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 29:1093-1103
- Ferguson W, Dvora S, Gallo J, Orth A, Boissinot S (2008) Long-term balancing selection at the West Nile virus resistance gene, *Oas1b*, maintains transspecific polymorphisms in the house mouse. *Molecular Biology and Evolution* 25:1609-1618
- Figueroa F, Gunther E, Klein J (1988) MHC polymorphism predating speciation. *Nature* 335:265-267
- Figueroa F, Ohuigin C, Tichy H, Klein J (1994) The origin of the primate MHC-DRB genes and allelic lineages as deduced from the study of Prosimians. *Journal of Immunology* 152:4455-4465
- Flegr J (2009) *Evoluční biologie*. 2nd ed. Praha: Academia. 569 p. ISBN 978-80-200-1767-3
- Freeman-Gallant CR, Meguerdichian M, Wheelwright NT, Sollecito SV (2003) Social pairing and female mating fidelity predicted by restriction fragment length polymorphism similarity at the major histocompatibility complex in a songbird. *Molecular Ecology* 12:3077-3083
- Fruh K, Gossen M, Wang KN, Bujard H, Peterson PA, Yang Y (1994) Displacement of housekeeping proteasome subunits by MHC encoded LMPs - A newly discovered mechanism for modulating the multicatalytic proteinase complex. *Embo Journal* 13:3236-3244
- Ganz T (2003) Defensins: Antimicrobial peptides of innate immunity. *Nature Reviews Immunology* 3:710-720
- Garrigan D, Hedrick PW (2003) Perspective: Detecting adaptive molecular polymorphism: Lessons from the MHC. *Evolution* 57:1707-1722
- Gaur LK, Nepom GT, Snyder KE, Anderson J, Pandarpurkar M, Yadock W, Heise ER (1997) MHC-DRB allelic sequences incorporate distinct intragenic trans-specific segments. *Tissue Antigens* 49:342-355
- Glaberman S, Caccone A (2008) Species-specific evolution of class I MHC genes in iguanas (Order : Squamata; subfamily : Iguaninae). *Immunogenetics* 60:371-382
- Go Y, Rakotoarisoa G, Kawamoto Y, Shima T, Koyama N, Randrianjafy A, Mora R, Hirai H (2005) Characterization and evolution of major histocompatibility complex class II genes in the aye-aye, *Daubentonia madagascariensis*. *Primates* 46:135-139
- Go Y, Satta Y, Kawamoto Y, Rakotoarisoa G, Randrianjafy A, Koyama N, Hirai H (2002) Mhc-DRB genes evolution in lemurs. *Immunogenetics* 54:403-417
- Goda N, Mano T, Kosintsev P, Vorobiev A, Masuda R (2010) Allelic diversity of the MHC class II DRB genes in brown bears (*Ursus arctos*) and a comparison of DRB sequences within the family Ursidae. *Tissue Antigens* 76:404-410
- Gorlov IP, Kimmel M, Amos CI (2006) Strength of the purifying selection against different categories of the point mutations in the coding regions of the human genome. *Human Molecular Genetics* 15:1143-1150
- Graser R, Ohuigin C, Vincek V, Meyer A, Klein J (1996) Trans-species polymorphism of class II Mhc loci in danio fishes. *Immunogenetics* 44:36-48
- Hedrick PW, Kim TJ, Parker KM (2001) Parasite resistance and genetic variation in the endangered Gila topminnow. *Animal Conservation* 4:103-109
- Hedrick PW, Lee RN, Parker KM (2000) Major histocompatibility complex (MHC) variation in the endangered Mexican wolf and related canids. *Heredity* 85:617-624
- Heimpel GE, de Boer JG (2008) Sex determination in the Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*. Annual Reviews, Palo Alto
- Hellgren O, Sheldon BC (2011) Locus-specific protocol for nine different innate immune genes (antimicrobial peptides: beta-defensins) across passerine bird species reveals within-species coding variation and a case of trans-species polymorphisms. *Molecular Ecology Resources* 11:686-692

- Hess CM, Edwards SV (2002) The evolution of the major histocompatibility complex in birds. *Bioscience* 52:423-431
- Hiscock SJ, Kues U, Dickinson HG (1996) Molecular mechanisms of self-incompatibility in flowering plants and fungi different means to the same end. *Trends in Cell Biology* 6:421-428
- Hiscock SJ, McInnis SM (2003) The diversity of self-incompatibility systems in flowering plants. *Plant Biology* 5:23-32
- Hornig WJ, Papagiannes E, Dray S, Rodkey LS (1980) Expression of cross-reacting determinants of the immunoglobulin heavy chain variable region a3 allotype in *Oryctolagus* and *Lepus*. *Molecular Immunology* 17:111-117
- Hovanessian AG, Justesen J (2007) The human 2'-5' oligoadenylate synthetase family: Unique interferon-inducible enzymes catalyzing 2'-5' instead of 3'-5' phosphodiester bond formation. *Biochimie* 89:779-788
- Huchard E, Baniel A, Schliehe-Diecks S, Kappeler PM (2013) MHC-disassortative mate choice and inbreeding avoidance in a solitary primate. *Molecular Ecology* 22:4071-4086
- Hughes AL, Hughes MK, Watkins DI (1993) Contrasting roles of interallelic recombination at the HLA-A and HLA-B loci. *Genetics* 133:669-680
- Hughes AL, Yeager M (1998) Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates. *Annual Review of Genetics* 32:415-435
- Ioerger TR, Clark AG, Kao TH (1990) Polymorphism at the self incompatibility locus in Solenaceae predates speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87:9732-9735
- Janova E, Matiasovic J, Vahala J, Vodicka R, Van Dyk E, Horin P (2009) Polymorphism and selection in the major histocompatibility complex DRA and DQA genes in the family Equidae. *Immunogenetics* 61:513-527
- Jaratlerdsiri W, Isberg SR, Higgins DP, Ho SYW, Salomonsen J, Skjodt K, Miles LG, Gongora J (2014) Evolution of MHC class I in the Order Crocodylia. *Immunogenetics* 66:53-65
- Jarvi SI, Tarr CL, McIntosh CE, Atkinson CT, Fleischer RC (2004) Natural selection of the major histocompatibility complex (Mhc) in Hawaiian honeycreepers (Drepanidinae). *Molecular Ecology* 13:2157-2168
- Jeffery KJM, Bangham CRM (2000) Do infectious diseases drive MHC diversity? *Microbes and Infection* 2:1335-1341
- Johnson WE, Sawyer SL (2009) Molecular evolution of the antiretroviral TRIM5 gene. *Immunogenetics* 61:163-176
- Kamath PL, Getz WM (2011) Adaptive molecular evolution of the Major Histocompatibility Complex genes, DRA and DQA, in the genus *Equus*. *Bmc Evolutionary Biology* 11:16
- Kamau E, Charlesworth D (2005) Balancing selection and low recombination affect diversity near the self-incompatibility loci of the plant *Arabidopsis lyrata*. *Current Biology* 15:1773-1778
- Kandil E, Namikawa C, Nonaka M, Greenberg AS, Flajnik MF, Ishibashi T, Kasahara M (1996) Isolation of low molecular mass polypeptide complementary DNA clones from primitive vertebrates - Implications for the origin of MHC class I-restricted antigen presentation. *Journal of Immunology* 156:4245-4253
- Kaufman J (2013) Antigen processing and presentation: Evolution from a bird's eye view. *Molecular Immunology* 55:159-161
- Kaufman J, Jacob J, Shaw I, Walker B, Milne S, Beck S, Salomonsen J (1999a) Gene organisation determines evolution of function in the chicken MHC. *Immunological Reviews* 167:101-117
- Kaufman J, Milne S, Gobel TWF, Walker BA, Jacob JP, Auffray C, Zoorob R, Beck S (1999b) The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex. *Nature* 401:923-925
- Kawamura S, Omoto K, Ueda S (1990) Evolutionary hypervariability in the hinge region of the immunoglobulin alpha chain gene. *Journal of Molecular Biology* 215:201-206
- Kelly JK, Wade MJ (2000) Molecular evolution near a two-locus balanced polymorphism. *Journal of Theoretical Biology* 204:83-101
- Kermarrec N, Roubinet F, Apoil PA, Blancher A (1999) Comparison of allele O sequences of the human and non-human primate ABO system. *Immunogenetics* 49:517-526
- Kiemiec-Tyburczy KM, Richmond JQ, Savage AE, Lips KR, Zamudio KR (2012) Genetic diversity of MHC class I loci in six non-model frogs is shaped by positive selection and gene duplication. *Heredity* 109:146-155
- Kiemiec-Tyburczy KM, Richmond JQ, Savage AE, Zamudio KR (2010) Selection, trans-species polymorphism, and locus identification of major histocompatibility complex class II beta alleles of New World ranid frogs. *Immunogenetics* 62:741-751

- Kikkawa EF, Tsuda TT, Sumiyama D, Naruse TK, Fukuda M, Kurita M, Wilson RP, LeMaho Y, Miller GD, Tsuda M, Murata K, Kulski JK, Inoko H (2009) Trans-species polymorphism of the Mhc class II DRB-like gene in banded penguins (genus *Spheniscus*). *Immunogenetics* 61:341-352
- Kimura M (1968) Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* 217:624-&
- King RC, Stansfield, WD Mulligan, PK (2006) A dictionary of genetics. 7th ed.. Oxford: Oxford University Press: 596 p. ISBN 13 978-0-19-530762-7
- Kiryu I, Dijkstra JM, Sarder RI, Fujiwara A, Yoshiura Y, Ootake M (2005) New MHC class Ia domain lineages in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) which are shared with other fish species. *Fish & Shellfish Immunology* 18:243-254
- Klein J (1987) Origin of major histocompatibility complex polymorphism - The transspecies hypothesis. *Human Immunology* 19:155-162
- Klein J, Sato A, Nagl S, O'HUigin C (1998) Molecular trans-species polymorphism. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:1-+
- Klein J, Sato A, Nikolaidis N (2007) MHC, TSP, and the origin of species: From immunogenetics to evolutionary genetics. *Annual Review of Genetics*. Annual Reviews, Palo Alto
- Koutsogiannouli EA, Moutou KA, Sarafidou T, Stamatis C, Spyrou V, Mamuris Z (2009) Major histocompatibility complex variation at class II DQA locus in the brown hare (*Lepus europaeus*). *Molecular Ecology* 18:4631-4649
- Kriener K, O'HUigin C, Klein J (2001) Independent origin of functional MHC class II genes in humans and New World monkeys. *Human Immunology* 62:1-14
- Kriener K, O'HUigin C, Tichy H, Klein J (2000) Convergent evolution of major histocompatibility complex molecules in humans and New World monkeys. *Immunogenetics* 51:169-178
- Kuduk K, Babik W, Bojarska K, Sliwinska EB, Kindberg J, Taberlet P, Swenson JE, Radwan J (2012) Evolution of major histocompatibility complex class I and class II genes in the brown bear. *Bmc Evolutionary Biology* 12:14
- Kundu S, Faulkes CG (2007) A tangled history: patterns of major histocompatibility complex evolution in the African mole-rats (Family : Bathyergidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 91:493-503
- Kupfermann H, Mayer WE, Ohuigin C, Klein D, Klein J (1992) Shared polymorphism between gorilla and human major histocompatibility complex DRB loci. *Human Immunology* 34:267-278
- Lamont SJ (1998) The chicken major histocompatibility complex and disease. *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties* 17:128-142
- Lechner S, Ferretti L, Schoning C, Kinuthia W, Willemsen D, Hasselmann M (2014) Nucleotide Variability at Its Limit? Insights into the Number and Evolutionary Dynamics of the Sex-Determining Specificities of the Honey Bee *Apis mellifera*. *Molecular Biology and Evolution* 31:272-287
- Li L, Zhou XP, Chen XL (2011) Characterization and Evolution of MHC Class II B Genes in Ardeid Birds. *Journal of Molecular Evolution* 72:474-483
- Liu JX, Ely B (2010) Evolution of an MHC class Ia gene fragment in four North American Morone species. *Journal of Fish Biology* 76:1984-1994
- Loisel DA, Rockman MV, Wray GA, Altmann J, Alberts SC (2006) Ancient polymorphism and functional variation in the primate MHC-DQA1 5' cis-regulatory region. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:16331-16336
- Lukens L, Yicun H, May G (1996) Correlation of genetic and physical maps at the A mating-type locus of *Coprinus cinereus*. *Genetics* 144:1471-1477
- Luo MF, Pan HJ (2013) MHC II DRB variation and trans-species polymorphism in the golden snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*). *Chinese Science Bulletin* 58:2119-2127
- Male CJ (1979) Immunoglobulin A1 protease production by *Hemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*. *Infection and Immunity* 26:254-261
- Martin RD (1993) Primate origins - plugging the gaps. *Nature* 363:223-234
- Martinko JM, Vincek V, Klein D, Klein J (1993) Primate ABO glycosyltransferases - Evidence for transspecies evolution. *Immunogenetics* 37:274-278
- Mashimo T, Lucas M, Simon-Chazottes D, Frenkiel MP, Montagutelli X, Ceccaldi PE, Deubel V, Guenet JL, Depres P (2002) A nonsense mutation in the gene encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetase/L1 isoform is associated with West Nile virus susceptibility in laboratory mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:11311-11316
- Mayer WE, Ohuigin C, Zaleskarutzynska Z, Klein J (1992) Transspecies origin of MHC-DRB polymorphism in the chimpanzee. *Immunogenetics* 37:12-23
- Mays HL, Hill GE (2004) Choosing mates: good genes versus genes that are a good fit. *Trends in Ecology & Evolution* 19:554-559
- McCallum HI, Kuris A, Harvell CD, Lafferty KD, Smith GW, Porter J (2004) Does terrestrial epidemiology apply to marine systems? *Trends in Ecology & Evolution* 19:585-591

- Meyer D, Thomson G (2001) How selection shapes variation of the human major histocompatibility complex: a review. *Annals of Human Genetics* 65:1-26
- Meylan E, Tschopp J, Karin M (2006) Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature* 442:39-44
- Mikko S, Roed K, Schmutz S, Andersson L (1999) Monomorphism and polymorphism at Mhc DRB loci in domestic and wild ruminants. *Immunological Reviews* 167:169-178
- Mikko S, Spencer M, Morris B, Stabile S, Basu T, Stormont C, Andersson L (1997) A comparative analysis of Mhc DRB3 polymorphism in the American bison (*Bison bison*). *Journal of Heredity* 88:499-503
- Milinski M (2006) The major histocompatibility complex, sexual selection, and mate choice. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. Annual Reviews, Palo Alto
- Milinski M, Wedekind C (2001) Evidence for MHC-correlated perfume preferences in humans. *Behavioral Ecology* 12:140-149
- Miura F, Tsukamoto K, Mehta RB, Naruse K, Magtoon W, Nonaka M (2010) Transspecies dimorphic allelic lineages of the proteasome subunit beta-type 8 gene (PSMB8) in the teleost genus *Oryzias*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:21599-21604
- Mogensen TH (2009) Pathogen Recognition and Inflammatory Signaling in Innate Immune Defenses. *Clinical Microbiology Reviews* 22:240-+
- Mona S, Crestanello B, Bankhead-Dronnet S, Pecchioli E, Ingrosso S, D'Amelio S, Rossi L, Meneguz PG, Bertorelle G (2008) Disentangling the effects of recombination, selection, and demography on the genetic variation at a major histocompatibility complex class II gene in the alpine chamois. *Molecular Ecology* 17:4053-4067
- Moutou KA, Koutsogiannouli EA, Stamatis C, Billinis C, Kalbe C, Scandura M, Mamuris Z (2013) Domestication does not narrow MHC diversity in *Sus scrofa*. *Immunogenetics* 65:195-209
- Murphy K. (2012) *Janeway's immunobiology*. 8th ed. New York : Garland Science 868 p. ISBN 978-0-8153-4243-4.
- Musolf K, Meyer-Lucht Y, Sommer S (2004) Evolution of MHC-DRB class II polymorphism in the genus *Apodemus* and a comparison of DRB sequences within the family Muridae (Mammalia : Rodentia). *Immunogenetics* 56:420-426
- Nagl S, Tichy H, Mayer WE, Takahata N, Klein J (1998) Persistence of neutral polymorphisms in Lake Victoria cichlid fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:14238-14243
- Neefjes J, Jongsma MLM, Paul P, Bakke O (2011) Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nature Reviews Immunology* 11:823-836
- Nei M. (1984) Genetic polymorphism and the role of mutation in evolution In: Koehn PK, Nei M. (eds) *Evolution of genes and proteins*. 165-190 p.
- Nei M, Rooney AP (2005) Concerted and birth-and-death evolution of multigene families. *Annual Review of Genetics*. Annual Reviews, Palo Alto
- Newman RM, Hall L, Connole M, Chen GL, Sato S, Yuste E, Diehl W, Hunter E, Kaur A, Miller GM, Johnson WE (2006) Balancing selection and the evolution of functional polymorphism in Old World monkey TRIM5 alpha. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:19134-19139
- Nonaka M, Yamada-Namikawa C, Flajnik MF, Du Pasquier L (2000) Trans-species polymorphism of the major histocompatibility complex-encoded proteasome subunit LMP7 in an amphibian genus, *Xenopus*. *Immunogenetics* 51:186-192
- O'Brien SJ, Yuhki N (1999) Comparative genome organization of the major histocompatibility complex: lessons from the Felidae. *Immunological Reviews* 167:133-144
- O'Farrell B, Benzie JAH, McGinnity P, de Eyto E, Dillane E, Coughlan J, Cross TF (2013) Selection and Phylogenetics of Salmonid MHC Class I: Wild Brown Trout (*Salmo trutta*) Differ from a Non-Native Introduced Strain. *Plos One* 8:14
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nunez G, Cho JH (2001) A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411:603-606
- OhUigin C, Sato A, Klein J (1997) Evidence for convergent evolution of A and B blood group antigens in primates. *Human Genetics* 101:141-148
- Otting N, Bontrop RE (1995) Evolution of the major histocompatibility complex DPA1 locus in primates. *Human Immunology* 42:184-187
- Otting N, de Groot NG, Doxiadis GGM, Bontrop RE (2002) Extensive Mhc-DQB variation in humans and non-human primate species. *Immunogenetics* 54:230-239

- Ottova E, Simkova A, Martin JF, de Bellocq JG, Gelnar M, Allienne JF, Morand S (2005) Evolution and trans-species polymorphism of MHC class II beta genes in cyprinid fish. *Fish & Shellfish Immunology* 18:199-222
- Page RDM, Charleston MA (1997) From gene to organismal phylogeny: Reconciled trees and the gene tree species tree problem. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 7:231-240
- Penn DJ (2002) The scent of genetic compatibility: Sexual selection and the major histocompatibility complex. *Ethology* 108:1-21
- Penn DJ, Damjanovich K, Potts WK (2002) MHC heterozygosity confers a selective advantage against multiple-strain infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:11260-11264
- Perelygin AA, Scherbik SV, Zhulin IB, Stockman BM, Li Y, Brinton MA (2002) Positional cloning of the murine flavivirus resistance gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:9322-9327
- Peters MB, Turner TF (2008) Genetic variation of the major histocompatibility complex (MHC class II beta gene) in the threatened Gila trout, *Oncorhynchus gilae gilae*. *Conservation Genetics* 9:257-270
- Piertney SB, Oliver MK (2006) The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex. *Heredity* 96:7-21
- Pinheiro A, Lanning D, Alves PC, Mage RG, Knight KL, van der Loo W, Esteves PJ (2011) Molecular bases of genetic diversity and evolution of the immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV) gene locus in leporids. *Immunogenetics* 63:397-408
- Piontkivska H, Nei M (2003) Birth-and-death evolution in primate MHC class I genes: Divergence time estimates. *Molecular Biology and Evolution* 20:601-609
- Richardson DS, Westerdahl H (2003) MHC diversity in two *Acrocephalus* species: the outbred Great reed warbler and the inbred Seychelles warbler. *Molecular Ecology* 12:3523-3529
- Richman AD, Uyenoyama MK, Kohn JR (1996) Allelic diversity and gene genealogy at the self-incompatibility locus in the solanaceae. *Science* 273:1212-1216
- Roelants K, Haas A, Bossuyt F (2011) Anuran radiations and the evolution of tadpole morphospace. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:8731-8736
- Samonte IE, Satta Y, Sato A, Tichy H, Takahata N, Klein J (2007) Gene flow between species of Lake Victoria haplochromine fishes. *Molecular Biology and Evolution* 24:2069-2080
- Sano K, Shiina T, Kohara S, Yanagiya K, Hosomichi K, Shimizu S, Anzai T, Watanabe A, Ogasawara K, Torii R, Kulski JK, Inoko H (2006) Novel cynomolgus macaque MHC-DPB1 polymorphisms in three South-East Asian populations. *Tissue Antigens* 67:297-306
- Sato A, Figueroa F, Murray BW, Malaga-Trillo E, Zaleska-Rutczynska Z, Sultmann H, Toyosawa S, Wedekind C, Steck N, Klein J (2000) Nonlinkage of major histocompatibility complex class I and class II loci in bony fishes. *Immunogenetics* 51:108-116
- Sato A, Tichy H, Grant PR, Grant BR, Sato T, O'HUigin C (2011) Spectrum of MHC Class II Variability in Darwin's Finches and Their Close Relatives. *Molecular Biology and Evolution* 28:1943-1956
- Satta Y, Kupfermann H, Li YJ, Takahata N (1999) Molecular clock and recombination in primate Mhc genes. *Immunological Reviews* 167:367-379
- Sauna ZE, Kimchi-Sarfaty C (2011) Understanding the contribution of synonymous mutations to human disease. *Nature Reviews Genetics* 12:683-691
- Schad J, Voigt CC, Greiner S, Dechmann DKN, Sommer S (2012) Independent evolution of functional MHC class II DRB genes in New World bat species. *Immunogenetics* 64:535-547
- Segurel L, Thompson EE, Flutre T, Lovstad J, Venkat A, Margulis SW, Moysé J, Ross S, Gamble K, Sella G, Ober C, Przeworski M (2012) The ABO blood group is a trans-species polymorphism in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:18493-18498
- Seifertova M, Simkova A (2011) Structure, diversity and evolutionary patterns of expressed MHC class IIB genes in chub (*Squalius cephalus*), a cyprinid fish species from Europe. *Immunogenetics* 63:167-181
- Sena L, Schneider MPC, Brenig B, Honeycutt RL, Womack JE, Skow LC (2003) Polymorphisms in MHC-DRA and -DRB alleles of water buffalo (*Bubalus bubalis*) reveal different features from cattle DR alleles. *Animal Genetics* 34:1-10
- Sena L, Schneider MPC, Brenig BB, Honeycutt RL, Honeycutt DA, Womack JE, Skow LC (2011) Polymorphism and gene organization of water buffalo MHC-DQB genes show homology to the BoLA DQB region. *Animal Genetics* 42:378-385
- Sepil I, Lachish S, Sheldon BC (2013) Mhc-linked survival and lifetime reproductive success in a wild population of great tits. *Molecular Ecology* 22:384-396
- Serrano-Vela JI, Reguera R, Abd-El-Fatah S, Gomez-Prieto P, Parga-Lozano C, Arnaiz-Villena A (2009) MHC in wild Eurasian and North American goldfinches shows natural low polymorphism and transpecies evolution. *Tissue Antigens* 73:469-469

- Shu YL, Hong P, Yang YW, Wu HL (2013) An Endemic Frog Harbors Multiple Expression Loci With Different Patterns of Variation in the MHC Class II B Gene. *Journal of Experimental Zoology Part B-Molecular and Developmental Evolution* 320:501-510
- Shum BP, Guethlein L, Flodin LR, Adkison MA, Hedrick RP, Nehring RB, Stet RJM, Secombes C, Parham P (2001) Modes of salmonid MHC class I and II evolution differ from the primate paradigm. *Journal of Immunology* 166:3297-3308
- Schmid – Hampel P (2011) *Evolutionary parasitology: the integrated study of infections, immunology, ecology, and genetics*. Oxford : Oxford University Press .516 p. ISBN 978-0-19-922949-9
- Simkova A, Civanova K, Gettova L, Gilles A (2013) Genomic Porosity between Invasive *Chondrostoma nasus* and Endangered Endemic *Parachondrostoma toxostoma* (Cyprinidae): The Evolution of MHC IIB Genes. *Plos One* 8:16
- Sin YW, Dugdale HL, Newman C, Macdonald DW, Burke T (2012a) Evolution of MHC class I genes in the European badger (*Meles meles*). *Ecology and Evolution* 2:1644-1662
- Sin YW, Dugdale HL, Newman C, Macdonald DW, Burke T (2012b) MHC class II genes in the European badger (*Meles meles*): characterization, patterns of variation, and transcription analysis. *Immunogenetics* 64:313-327
- Slierendregt BL, Otting N, Kenter M, Bontrop RE (1995) Allelic diversity at the MHC-DP locus in rhesus macaque (*Macaca mulatta*). *Immunogenetics* 41:29-37
- Slierendregt BL, Otting N, Vanbesouw N, Jonker M, Bontrop RE (1994) Expansion and contraction of rhesus macaque DRB by duplication and deletion. *Journal of Immunology* 152:2298-2307
- Slierendregt BL, Vannoort JT, Bakas RM, Otting N, Jonker M, Bontrop RE (1992) Evolutionary stability of transspecies of major histocompatibility complex class II DRB lineages in humans and rhesus monkeys. *Human Immunology* 35:29-39
- Spurgin LG, Richardson DS (2010) How pathogens drive genetic diversity: MHC, mechanisms and misunderstandings. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 277:979-988
- Stet RJM, de Vries B, Mudde K, Hermsen T, van Heerwaarden J, Shum BP, Grimholt u (2002) Unique haplotypes of co-segregating major histocompatibility class II A and class II B alleles in Atlantic salmon (*Salmo salar*) give rise to diverse class II genotypes. *Immunogenetics* 54:320-331
- Stiebens VA, Merino SE, Chain FJJ, Eizaguirre C (2013) Evolution of MHC class I genes in the endangered loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) revealed by 454 amplicon sequencing. *Bmc Evolutionary Biology* 13:11
- Strandh M, Lannefors M, Bonadonna F, Westerdahl H (2011) Characterization of MHC class I and II genes in a subantarctic seabird, the blue petrel, *Halobaena caerulea* (Procellariiformes). *Immunogenetics* 63:653-666
- Stremmler M, Owens CM, Perron MJ, Kiessling M, Autissier P, Sodroski J (2004) The cytoplasmic body component TRIM5 α restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. *Nature* 427:848-853
- Su C, Nei M (1999) Fifty-million-year-old polymorphism at an immunoglobulin variable region gene locus in the rabbit evolutionary lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:9710-9715
- Sumiyama K, Kawamura S, Takenaka O, Ueda S (1998) A high sequence variety in the immunoglobulin C α hinge region among old world monkeys. *Anthropological Science* 106:31-39
- Sumiyama K, Saitou N, Ueda S (2002) Adaptive evolution of the IgA hinge region in primates. *Molecular Biology and Evolution* 19:1093-1099
- Sutton JT, Robertson BC, Grueber CE, Stanton JAL, Jamieson IG (2013) Characterization of MHC class II B polymorphism in bottlenecked New Zealand saddlebacks reveals low levels of genetic diversity. *Immunogenetics* 65:619-633
- Takeuchi O, Akira S (2010) Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell* 140:805-820
- Thewissen JGM, Cooper LN, Clementz MT, Bajpai S, Tiwari BN (2007) Whales originated from aquatic artiodactyls in the Eocene epoch of India. *Nature* 450:1190-U1
- Trowsdale J (2001) Genetic and functional relationships between MHC and NK receptor genes. *Immunity* 15:363-374
- Trowsdale J (2011) The MHC, disease and selection. *Immunology Letters* 137:1-8
- Tsukamoto K, Miura F, Fujito NT, Yoshizaki G, Nonaka M (2012) Long-Lived Dichotomous Lineages of the Proteasome Subunit Beta Type 8 (PSMB8) Gene Surviving More than 500 Million Years as Alleles or Paralogs. *Molecular Biology and Evolution* 29:3071-3079
- Unno M, Mizushima T, Morimoto Y, Tomisugi Y, Tanaka K, Yasuoka N, Tsukihara T (2002) The structure of the mammalian 20S proteasome at 2.75 angstrom resolution. *Structure* 10:609-618
- Van Den Bussche RA, Hofer SR, Lochmiller RL (1999) Characterization of Mhc-DRB allelic diversity in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) provides insight into Mhc-DRB allelic evolution within Cervidae. *Immunogenetics* 49:429-437

- *Van Valen, L. 1973. A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*. 1-30 podle Flegr J (2009) *Evoluční biologie*. 2nd ed. Praha: Academia. 569 p. ISBN 978-80-200-1767-3
- Van der Walt JM, Nel LH, Hoelzel AR (2001) Characterization of major histocompatibility complex DRB diversity in the endemic South African antelope *Damaliscus pygargus*: a comparison in two subspecies with different demographic histories. *Molecular Ecology* 10:1679-1688
- Villanueva-Noriega MJ, Baker CS, Medrano-Gonzalez L (2013) Evolution of the MHC-DQB exon 2 in marine and terrestrial mammals. *Immunogenetics* 65:47-61
- Vincek V, Ohuigin C, Satta Y, Takahata N, Boag PT, Grant PR, Grant BR, Klein J (1997) How large was the founding population of Darwin's finches? *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 264:111-118
- Vyas JM, Van der Veen AG, Ploegh HL (2008) The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nature Reviews Immunology* 8:607-618
- Walsh HE, Friesen VL (2003) A comparison of intraspecific patterns of DNA sequence variation in mitochondrial DNA, alpha-enolase, and MHC class II B loci in auklets (*Charadriiformes* : *Alcidae*). *Journal of Molecular Evolution* 57:681-693
- Wan QH, Zhu L, Wu H, Fang SG (2006) Major histocompatibility complex class II variation in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *Molecular Ecology* 15:2441-2450
- Wang DQ, Zhong L, Wei QW, Gan XN, He SP (2010) Evolution of MHC class I genes in two ancient fish, paddlefish (*Polyodon spathula*) and Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *Febs Letters* 584:3331-3339
- Wegner KM, Eizaguirre C (2012) New(t)s and views from hybridizing MHC genes: introgression rather than trans-species polymorphism may shape allelic repertoires. *Molecular Ecology* 21:779-781
- Wegner KM, Kalbe M, Schaschl H, Reusch TBH (2004) Parasites and individual major histocompatibility complex diversity - an optimal choice? *Microbes and Infection* 6:1110-1116
- Wei K, Zhang ZH, Wang XF, Zhang WP, Xu X, Shen FJ, Yue BS (2010) Lineage pattern, trans-species polymorphism, and selection pressure among the major lineages of feline Mhc-DRB peptide-binding region. *Immunogenetics* 62:307-317
- Worley K, Carey J, Veitch A, Coltman DW (2006) Detecting the signature of selection on immune genes in highly structured populations of wild sheep (*Ovis dalli*). *Molecular Ecology* 15:623-637
- Xu SX, Chen BY, Zhou KY, Yang G (2008) High similarity at three MHC loci between the baiji and finless porpoise: Trans-species or convergent evolution? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:36-44
- Xu SX, Ren WH, Li SZ, Wei FW, Zhou KY, Yang G (2009) Sequence Polymorphism and Evolution of Three Cetacean MHC Genes. *Journal of Molecular Evolution* 69:260-275
- Yao YF, Zhao JJ, Dai QX, Li JY, Zhou L, Wang YT, Ni QY, Zhang MW, Xu HL (2013) Identification and characterization of the major histocompatibility complex class II DQB (*MhcMath-DQB1*) alleles in Tibetan macaques (*Macaca thibetana*). *Tissue Antigens* 82:113-121
- Yeager M, Hughes AL (1999) Evolution of the mammalian MHC: natural selection, recombination, and convergent evolution. *Immunological Reviews* 167:45-58
- Yeager M, Kumar S, Hughes AL (1997) Sequence convergence in the peptide-binding region of primate and rodent MHC class II molecules. *Molecular Biology and Evolution* 14:1035-1041
- Yoder AD, Cartmill M, Ruvolo M, Smith K, Vilgalys R (1996) Ancient single origin for Malagasy primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:5122-5126
- Zhao MA, Wang YZ, Shen H, Li CL, Chen C, Luo ZH, Wu H (2013) Evolution by selection, recombination, and gene duplication in MHC class I genes of two Rhacophoridae species. *Bmc Evolutionary Biology* 13:13
- Zhou H, Hickford JGH (2004) Allelic polymorphism in the ovine DQA1 gene. *Journal of Animal Science* 82:8-16
- Zhou H, Hickford JGH, Fang Q (2005) Polymorphism of the DQA2 gene in goats. *Journal of Animal Science* 83:963-968

Webové zdroje:

IPD 2014 Immuno polymorphism database [Cit 15. 4.2014] (dostupná z URL: <https://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc>)

IPD-MHC 2014 Immuno polymorphism database – MHC [Cit 15. 4.2014] (dostupné z URL: <http://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/dla/distribution-ů.html>)

* značí sekundární citace