

Genomska filostratigrafija

Librenjak, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:116609>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

GENOMSKA FILOSTRATIGRAFIJA
GENOMIC PHYLOSTRATIGRAPHY

SEMINARSKI RAD

Lucija Librenjak

Prediplomski studij molekularne biologije

Mentor: izv. prof. dr. sc. Damjan Franjević

Zagreb, 2018. godina

SADRŽAJ

1. UVOD	3
2. O METODI	4
3. PRIMJENE METODE	7
3.1. <i>De novo</i> evolucija gena	7
3.2. Model pješčanog sata	8
3.3. Evolucijsko porijeklo regulacijskih funkcija ljudske nekodirajuće RNA	12
3.4. Evolucija oksidativne fosforilacije	13
3.5. Evolucijsko porijeklo zametnih listića	14
3.6. Evolucija organskih sustava	16
3.7. Evolucijsko porijeklo gena povezanih s bolestima kod ljudi	19
4. LITERATURA	22
5. SAŽETAK	27
6. SUMMARY	28

1. UVOD

“You can't even begin to understand biology, you can't understand life, unless you understand what it's all there for, how it arose - and that means evolution.”

Richard Dawkins

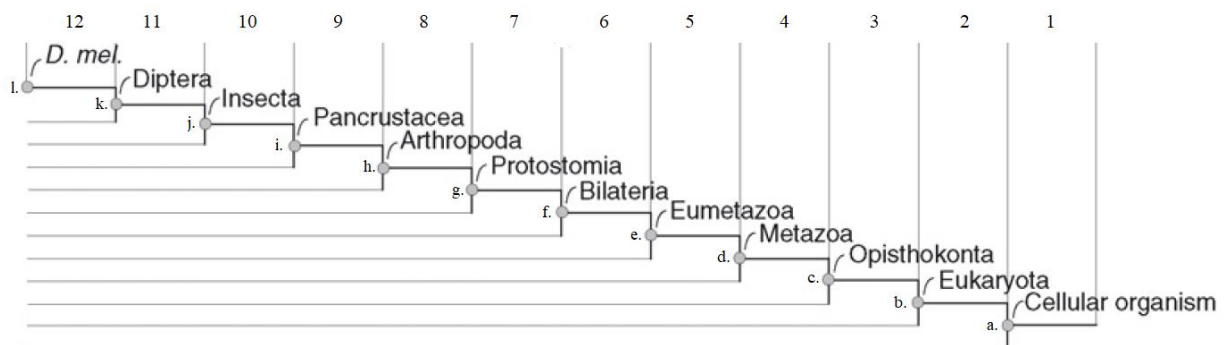
Evolucijski su procesi često vrlo složeni. Za objašnjenje evolucijskog fenomena u okviru mikroevolucije proučavaju se procesi koji se odvijaju unutar vrsta. Makroevolucija, često definirana kao “evolucija iznad razine vrste” podrazumijeva evoluciju fenotipskih promjena i porijeklo svojstava koja su dovela do pojave, izumiranja ili diversifikacije viših taksona (Futuyma, 2005). Makroevolucijski događaji tradicionalno su proučavani analizom fosila, komparativnom morfologijom i tzv. evo-devo pristupom. Danas je evolucijsku povijest moguće rekonstruirati i uz pomoć komparativne genomike metodom genomske filostratigrafije. Takav pristup istraživanju makroevolucije razvio je hrvatski znanstvenik Tomislav Domazet-Lošo s Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu.

Pri predstavljanju metode 2007. godine Domazet-Lošo između ostalog navodi: “U ovom izlaganju pokazujem, koristeći genomske i ekspresijske podatke vinske mušice, da je grupiranjem gena ovisno o njihovom evolucijskom nastanku moguće otkriti otiske važnih adaptivnih događaja u evolucijskoj povijesti životinja.” Upravo je prema svrstavanju gena odabrane vrste unutar filogenetski definiranih skupova tzv. filostratuma metoda dobila ime. Filostratumi zapravo predstavljaju različite periode evolucijske prošlosti. Rezultati daljnjih statističkih analiza interpretiraju se biološki i evolucijski kako bi se uočili mogući evolucijski trendovi. Od njena otkrića, metodom genomske filostratigrafije objašnjeno je evolucijsko porijeklo i određena starost različitih genskih obitelji kod životinja i biljaka povezanih s njihovom morfologijom i biološkim procesima koji se odvijaju unutar njih. Ipak, osim na prihvatanje u znanstvenim je krugovima metoda naišla i na kritike.

2. O METODI

Metoda genomske filostratigrafije originalno je razvijena za procjenu starosti gena pomoću programa koji prepoznaju homologije od kojih se najčešće koristi BLAST (eng. *Basic Local Alignment Search Tool*) – osnovni alat za pretragu i lokalno sravnjivanje sekvenci (Domazet-Lošo i sur. 2007). Pojave novih sekvenci povezuju se s određenim filogenetičkim čvorovima na temelju BLAST analize setova genoma “žarišnih” (eng. *focal*) tj. čvorišnih taksona (Domazet-Lošo i sur. 2017). Kada se u različitim vrstama otkriju homolozi nekog gena, njegova starost izjednačava se sa starošću posljednjeg zajedničkog pretka svih vrsta kod kojih je homolog nađen (Moyers i Zhang 2017). Ovakva tzv. filostratum klasifikacija ili klasifikacija na konzervacijskoj razini, omogućava izdvajanje mlađih sekvenci čiji se homolozi mogu naći kod blisko srodnih vrsti (često nazivane taksonomski ograničenim ili *orphan* sekvencama), od starijih sekvenci koje su očuvane kod jako udaljenih vrsta (Tautz i Domazet-Lošo 2011). Postupkom stratifikacije geni se svrstavaju u genomske “filostratume”, skupove koji su definirani početnom filogenijom, a predstavljaju različite periode vremena (Slika 1.). Nakon definiranja filogenetskog stabla i filostratuma slijedi statistička analiza podataka vezanih za pojedine gene (Domazet-Lošo i sur. 2007) u svrhu čega se prebrojavaju različite ekspresije gena unutar pojedinih filostratuma koje će biti zastupljene više (eng. *over-representation*) ili manje (eng. *under-representation*) od očekivanog. Statistički značajna odstupanja ukazuju na različite adaptivne tendencije (Božičević 2009) i objašnjavaju određene evolucijske trendove (Domazet-Lošo i sur. 2007).

Iako se može koristiti za svaki tip sekvenci, genomska se filostratigrafija najčešće koristi u proučavanju evolucije gena, transkripata ili otvorenih okvira čitanja (eng. *open reading frame*, *ORF*). Moguća je detekcija gena koji su nastali duplikacijom postojećeg gena nakon čega bi slijedila divergencija, ali i gena koji su evoluirali *de novo* (Domazet-Lošo i sur. 2017). Filostratigrafija se primjenjuje na sve gene u genomu kako bi se izradila genomska filostratigrafska mapa (Slika 5.). Nakon raspodjele po filostratumima prema filogenetskoj pojavi njihovih gena utemeljitelja (eng. *founder genes*) slijedi provjera povezanosti između procijenjene starosti gena i različitih svojstava gena (Moyers i Zhang 2017), npr. onih povezanih s bolestima (Domazet-Lošo i Tautz 2008), njihovoj evolucijskoj stopi (Albà i Castresana 2005) ili stopi i obrascu genske ekspresije (Domazet-Lošo i sur. 2007, Carvunis i sur. 2012). Takva korelacija starosti i svojstva često se koristi u istraživanjima vezanim za porijeklo i evoluciju gena (Moyers i Zhang 2017).



Slika 1. Dvanaest filostratuma i dvanaest žarišnih taksona za filostratigrafsku mapu vinske mušice *Drosophila melanogaster*:

- a. **stanični organizmi**
- b. **Eukaryota** – eukarioti
- c. **Opisthokonta** – objedinjuje carstva Animalia i Fungi
- d. **Metazoa** - mnogostaničari
- e. **Eumetazoa** – pravi mnogostaničari
- f. **Bilateria** – bilateralni organizmi
- g. **Protostomia** – prvouste
- h. **Arthropoda** – člankonošci
- i. **Pancrustacea** – obuhvaća rakove (Crustacea) i šestonošce (Hexapoda)
- j. **Insecta** - kukci
- k. **Diptera** – dvokrilci
- l. ***Drosophila melanogaster***

(Izvor: Domazet-Lošo i sur. 2007)

Kompleksnost prave evolucije teško je prikazati simulacijama pa se u pitanje dovodi točnost BLAST analiza tj. same metode genomske filostratigrafije. BLAST je neophodan alat u mnogim analizama: od procjene sličnosti gena do filogenetike, filogenomike i filostratigrafije. Takve analize koriste p- i E-vrijednosti kao odraz sličnosti sekvenci kako bi testirale hipoteze vezane uz homologiju, ortologiju, vrijeme nastanka ili nestanka *de novo* gena te širenje ili sužavanje obitelji gena. Unatoč mnogim oprečnim saznanjima, razni testovi pretpostavljaju da više E-vrijednosti znače manju filogenetičku udaljenost među sekvencama. E-vrijednost interpretira se kao očekivani broj slučajnih sravnjivanja između upitnog i nekog nesrodnog slijeda s najmanje jednakom kvalitetom kao sravnjivanje izračunato pomoću BLAST-a. Što je E-vrijednost viša, očekuje se veći broj slučajnih sravnjivanja za dane parametre. Uz više E-vrijednosti vežu se niže p-vrijednosti koje su povezane s odbacivanjem nul-hipoteze da je sravnjivanje između sljedova slučajno. Pri donošenju zaključaka o filogenetskim vezama važna je pravilna interpretacija ovih vrijednosti (Smith i Pease 2016). Osim mogućih problema s interpretacijom rezultata, poznata su i neka ograničenja BLAST analiza. Same homologije često nisu prepoznate jer je BLAST dizajniran za detekciju sličnosti, a ne homologije DNA ili proteinskih sekvenci, a homologija ne podrazumijeva uvijek prepoznatljivu sličnost. Takvoj su pogrešci najpodložniji visoko divergentni homolozi kratkih i brzo-evoluirajućih sekvenci (Moyers i Zhang 2015). Osim lažno-negativnih rezultata, ponekad se javljaju i lažno-pozitivni prema kojima BLAST podudaranja pokazuju nehomologne sekvence. Domazet-Lošo i sur. (2017) navode da su filostratigrafske analize otporne na pojavljivanje takvih pogrešaka.

3. PRIMJENE METODE

3.1. *De novo* evolucija gena

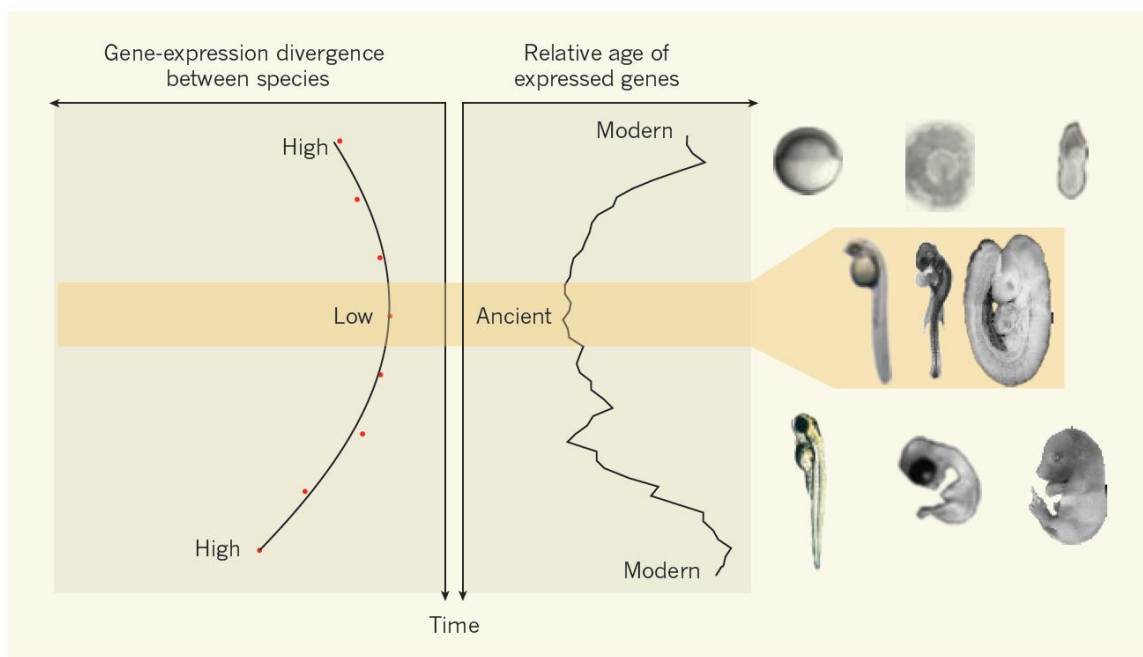
U znanstvenim se krugovima dugo smatralo da evoluciju gena primarno pokreću duplikacije i mehanizmi reorganizacije (Tautz i Domazet-Lošo 2011). Japansko-američki genetičar i evolucijski biolog Susumu Ohno u svojoj knjizi „*Evolution by gene duplication*“ 1970. godine navodi da su duplikacije gena i genoma osnovne sile koje osiguravaju genetski materijal za povećanje kompleksnosti tijekom evolucije (Meyer i Peer 2002). Njegovu je ideju dalje razradio i Francis Jacob te je ona postala opće prihvaćena u znanstvenoj zajednici. Znači li to onda da su se svi elementi koji grade gene pojavili odjednom i zatim se izmiješali kako bi tvorili novitete? Unutar svake evolucijske linije nalaze se i tzv. *orphan* geni koji pokazuju suprotno. Njihove homologe ne nalazimo u drugim evolucijskim linijama, a evolucijsko porijeklo još im nije dobro poznato, iako predstavljaju do jedne trećine svih genoma, uključujući bakterijske, arhejske i genome faga. Smatra se da su *orphan* geni osobito važni za interakciju s okolišem te za razvojne adaptacije karakteristične za određene taksone. *Orphan* geni mogu nastati duplikacijom i reorganizacijom nakon čega slijedi brza divergencija. Dodatni mehanizam nastanka je *de novo* evolucija iz nekodirajućih regija genoma čime se neprekidno uvodi materijal za evoluciju novih funkcija gena što može biti važno za specifične adaptacije nekog taksona. Nasumične kombinacije sekvenci tvore funkcionalna mjesta za primjerice, regije inicijacije transkripcije, *splice* mjesta ili poliadenilacijska mjesta koja mogu stvoriti procesirani RNA transkript. Takva RNA prvotno bi funkcionirala kao *antisense* ili strukturna RNA koja bi s vremenom stekla otvoreni okvir čitanja (eng. *open reading frame*, *ORF*) nakon čega bi mogla eksprimirati novi protein. Iako su *orphan* geni uočeni već kod pojave prvih istraživanja genoma, tek je sada moguće praćenje njihovog porijekla. Budući da je dostupan velik broj potpuno sekvenciranih genoma različitih taksona, moguće je u filogenetičkom kontekstu odrediti je li neki gen evoluirao isključivo unutar jedne linije (Tautz i Domazet-Lošo 2011). Genomska filostratigrafija povezivanjem osnivačkih gena (*orphan* gena iz kojih su nastale nove obitelji gena u linijama potomaka) s određenim trenutkom u evoluciji i statističkom evaluacijom makroevolucijskih trendova (Domazet-Lošo i sur. 2007) može identificirati sve *orphan* gene su doveli do određenog proširenja genoma (Tautz i Domazet-Lošo 2011).

3.2. Model pješčanog sata

Proučavanje i povezivanje ontogenije s filogenijom tema je s dugom poviješću. Još je 1828. godine Karl von Baer, često smatran ocem embriologije, zaključio kako embriji različitih vrsta mogu biti vrlo slični. Kasnije je uočeno kako se najmlađi embriji različitih vrsta često razlikuju, a zatim konvergiraju prema sličnom obliku (opisao već von Baer, a danas koristimo izraz filotipska faza) prije nego što ponovno divergiraju prema postizanju raznolikosti odraslih oblika (Prud'homme i Gompel 2010). Takav obrazac morfološke divergencije tijekom embriološkog razvoja među vrstama prati oblik pješčanog sata pri čemu najuži dio predstavlja filotipsku fazu (Doboule 1994). Model pješčanog sata dosad je bio pomalo kontroverzan, djelomično zato što se temeljio na subjektivnim usporedbama sličnosti životinjskih oblika (Olaf i sur. 2003, Hazkani-Covo i sur. 2005, Richardson i sur. 1997). Molekularne dokaze postojanja filotipske faze kod kukaca i kralježnjaka nedavno su iznijeli Kalinka i sur. (2010) te Domazet-Lošo i Tautz (2010) (Slika 2.).

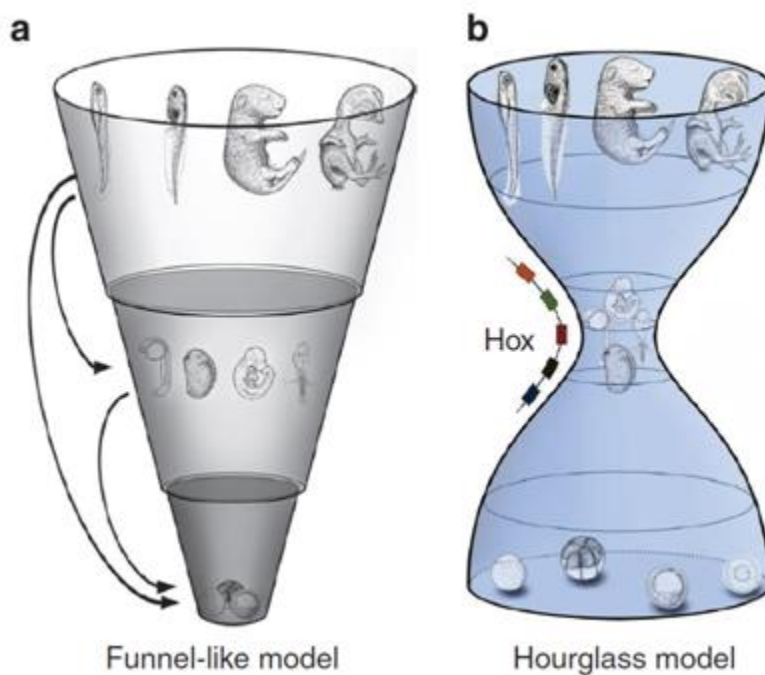
Budući da je razvoj oblika organizma upravljan ekspresijom gena, Kalinka i sur. (2010) navode da bi se morfološke varijacije među vrstama mogle odražavati na dinamiku ekspresije gena. Tu ideju testirali su mjerenjem tj. kvantifikacijom razina genske ekspresije tijekom embriogeneze šest udaljenih vrsta vinske mušice. Statistička analiza dobivenih podataka otkriva da je divergencija genske ekspresije najniža, odnosno evolucijski stabilnija u filotipskoj fazi kod kukaca.

Krenuvši od pretpostavke da evolucija novih gena omogućuje pojavu razvojnih noviteta, Domazet-Lošo i Tautz (2010) genomskom filostratigrafijom mjere doprinos svakog filostratuma ukupnoj genskoj ekspresiji u različitim fazama životnog ciklusa ribe zebrice kako bi u svakom trenutku razvojnog ciklusa mogli procijeniti relativnu starost transkriptoma. Što je indeks starosti transkriptoma (eng. *transcriptome age index*, *TAI*) viši, transkriptom je mlađi. TAI povezuje starost gena s razinom njegove ekspresije u danom stadiju razvoja. Pokazno je da se geni različitog evolucijskog porijekla eksprimiraju u različito vrijeme. Ekspresija evolucijski najstarijeg transkriptoma obilježava filotipsku fazu, dok raniji i kasniji stadiji eksprimiraju mlađe transkriptome.



Slika 2. Razvojni pješčani sat dobiven komparativnom genomikom. Filotipska faza označena je narančasto; ta faza prema Kalinki i sur. (2010) pokazuje minimalnu divergenciju ekspresije gena (lijeva krivulja), a prema Domazet-Loši i Tautzu (2010) ekspresiju najstarijeg transkriptoma (desna krivulja) (Izvor: Prud'homme i Gompel 2010)

Iako se razlikuju, oba pristupa identificiraju ekspresiju gena u filotipskoj fazi kao ekspresiju najstarijeg seta gena koji je maksimalno očuvan među vrstama. Otkriće filotipske faze oživljava neka starija razmatranja veze između embrionalnog razvoja (ontogenije) i evolucije (filogenije) (Prud'homme i Gompel 2010). 1872. godine njemački je biolog Ernst Haeckel formulirao svoj biogenetski zakon tvrdeći da je ontogenija rekapitulacija filogenije (Levit i sur. 2015). Haeckelov zakon predstavlja koncept prema kojem se najveća očuvanost sličnosti među vrstama pojavljuje u najmlađim stadijima embriogeneze što se može prikazati modelom lijevka (eng. *funnel-like model*) prema kojem se raznolikost javlja dodatno i progresivno tijekom embriogeneze (Irie i Kuratani 2010). Gotovo 150 godina nakon Haeckela jasno je da ontogenija očito nije rekapitulacija filogenije, ali su ta dva procesa povezana (Prud'homme i Gompel 2010). Aktualan model pješčanog sata predviđa očuvanost stadija organogeneze (filotipska faza) tijekom kojeg se uspostavljaju različiti induktivni signalni putevi (Irie i Kuratani 2010), uključujući Hox gene (Doboule 1994) što vodi prema očuvanosti plana tijela (eng. *body plan*) kod životinja (Slika 3.).

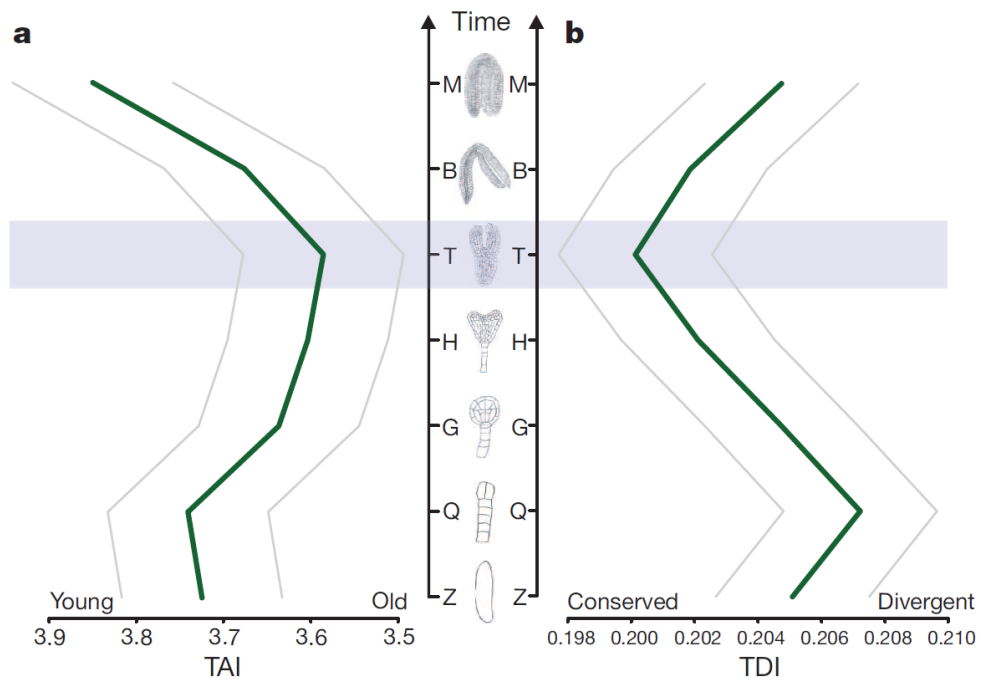


Slika 3. Dva modela razvoja: **a.** Model lijevka

b. Model pješčanog sata

(Izvor: Irie i Kuratani 2010)

Iako uglavnom istraživani kod životinjskih vrsta, model pješčanog sata može se primijeniti i kod biljaka što ukazuje na konvergentnu evoluciju takvog obrasca razvoja. Životinje i biljke potječu od zajedničkog jednostaničnog pretka, a višestaničnost i razvoj embriogeneze evoluirale su nezavisno u obje linije. Model pješčanog sata *Arabidopsis thaliana* ustanovljen je na temelju indeksa starosti transkriptoma (eng. *transcriptome age index*, *TAI*) i indeksa divergencije transkriptoma (eng. *transcriptome divergence index*, *TDI*). Oba profila ukazuju na torpedo stadij kao filotipsku fazu u kojoj se eksprimira najstariji i najočuvaniji transkriptom (Quint i sur. 2012) (Slika 4.). Tada dolazi do uspostavljanja polarnih osi i inicijacije apikalnog meristema izdanka i korijena (Lau i sur. 2012). Torpedo stadij ugrubo označava i prijelaz s morfogeneze na zrelu fazu. Morfogeneza uključuje uspostavu plana organizacije embrija, a sazrijevanje ekspanziju stanica i nakupljanje skladišnih makromolekula potrebnih za klijanje sjemenke i rast mlade biljke (Park i Harada 2008).



Slika 4. Model pješčanog sata kod biljaka pokazuje torpedo stadij (T) kao filotipsku fazu (označeno sivo)

a. TAI (indeks starosti transkriptoma) profil

b. TDI (indeks divergencije transkriptoma) profil

(Izvor: Quint i sur. 2012)

3.3. Evolucijsko porijeklo regulacijskih funkcija ljudske nekodirajuće RNA

Sve ribonukleinske kiseline koje ne kodiraju za proteine općenito se smatraju nekodirajućim RNA molekulama (eng. *noncoding RNAs*, *ncRNAs*). Genomi sisavaca kodiraju za više nekodirajućih RNA nego kodirajućih mRNA molekula (Nelson i Cox 2013). Od svih ncRNA molekula kod eukariota, mikro RNA (eng. *microRNA*, *miRNA*) i duge nekodirajuće RNA (eng. *long ncRNA*, *lncRNA*) glavni su regulatori ekspresije gena. Nesavršenim sparivanjem baza, najčešće s 3' netranslatiranom regijom (eng. *untranslated region*, *UTR*) ciljane mRNA, mikro ribonukleinske kiseline inhibiraju translaciju i ubrzavaju degradaciju mRNA molekula. Duge nekodirajuće RNA molekule eksprimiraju se s mnogo lokusa u genomu, tkivno su specifične, a ekspresiju gena mogu modulirati i epigenetički i na razini transkripcije (Morris i Mattick 2014).

Evolucijsko porijeklo regulacijskih funkcija animalnih nekodirajućih RNA molekula nije dobro istraženo. Filostratigrafska strategija otkrivanja evolucijske povijesti tih molekula fokusira se na njihove protein-kodirajuće mete (eng. *protein coding targets*) nasuprot dotadašnjim filostratigrafskim analizama evolucije individualnih gena ili evolucijskog obogaćivanja setova gena uključenih u razne biološke procese. Iako postoji odmak u pojavljivanju samih nekodirajućih RNA molekula i njihovih meta, rezultati impliciraju na početak regulacije mikro RNA molekulama ciljanjem 3' i 5' UTR kod eukariota, a ciljanjem kodirajuće sekvence (eng. *coding sequence*, *CDS*) kod Opisthokonta. Mogući scenarij koji bi objasnio mlađe porijeklo CDS regulacije je da je mehanizam evoluirao kasnije kao dodatna pomoć u bržoj i učinkovitijoj regulaciji gena ciljanih miRNA molekulama na njihovim 3' i 5' krajevima. Porijeklo regulacije dugim nekodirajućim RNA molekulama detektirano je najkasnije, kod Eumetazoa, a frekvencija ekspresije gena naročito je izražena kod kralježnjaka. Povezivanje dugih nekodirajućih RNA s pojavom Eumetazoa čini se logičnim budući da su lncRNA tkivno specifične, a Eumetazoa su prvi organizmi kod kojih se pojavljuju prava, specijalizirana tkiva. Eumetazoa je filostratum kod kojeg mete i miRNA i lncRNA pokazuju visoku frekvenciju ekspresije nakon čega, smanjenjem ekspanzije miRNA kontrole, lncRNA preuzima veću ulogu u novo evoluiranim putevima skroz do kralježnjaka (Sherafatian i Mowla 2017).

3.4. Evolucija oksidativne fosforilacije

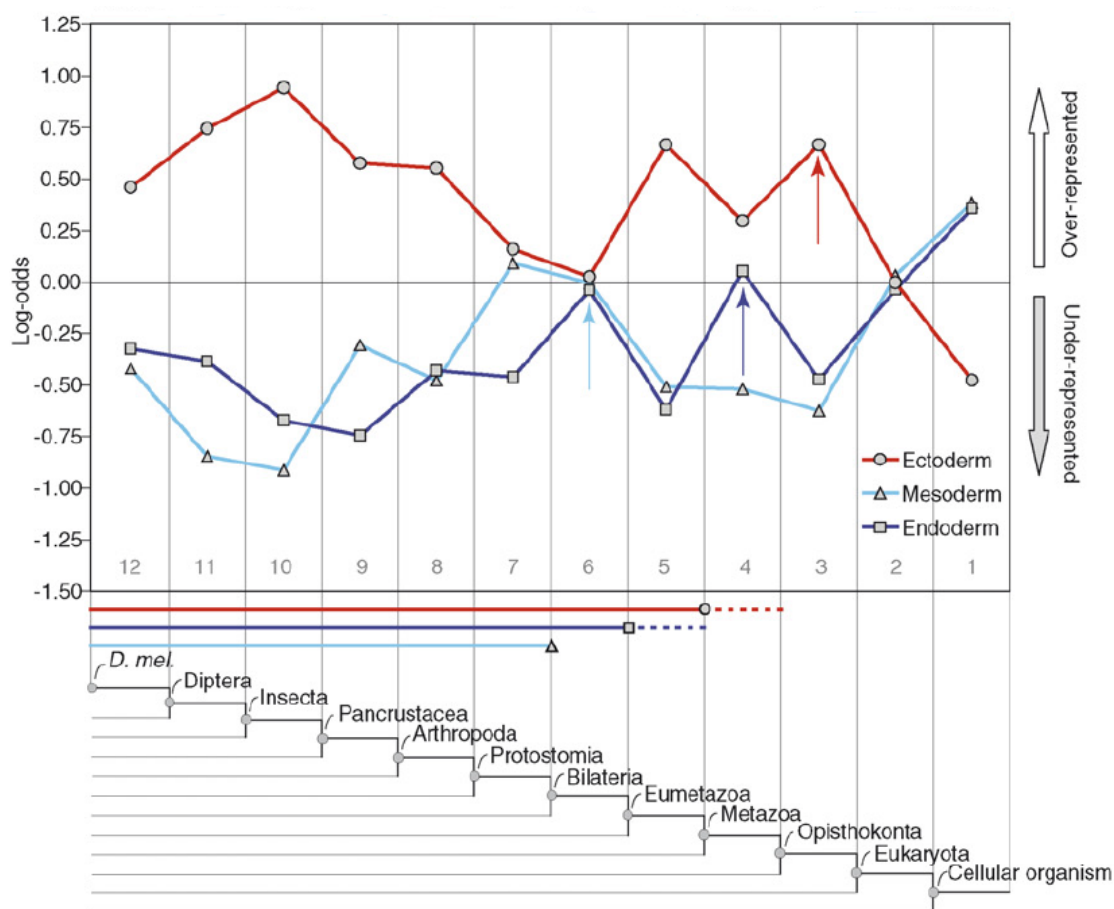
Oksidativna fosforilacija (eng. *oxidative phosphorylation*, *OXPHOS*) je biokemijski put u kojem je prijenos visokoenergetskih elektrona iz donora elektrona (NADH i FADH₂) do molekuskog kisika spregnut sa stvaranjem elektrokemijskog gradijenta preko unutarnje membrane mitohondrija koji se onda koristi za sintezu ATP-a. U usporedbi s dva ATP-a dobivena glikolizom, odnosno četiri dobivena u ciklusu limunske kiseline, oksidativna fosforilacija osigurava najveći udio aerobne energije u stanici: 34-36 molekula ATP-a po molekuli glukoze (Nelson i Cox 2013). U procesu sudjeluje više od stotinu proteina organiziranih u pet velikih kompleksa ugrađenih u unutarnju membranu mitohondrija. Kompleksi I-IV tvore lanac prijenosa elektrona, a kompleks V je ATPaza F-tipa (Watt i sur. 2010).

Koristeći pristup genomske filostratigrafije otkriveni su glavni makroevolucijski prijelazi u oksidativno fosforilacijskom putu kod Metazoa te njihova povezanost s povećanjem koncentracije kisika tijekom Zemljine prošlosti. Veliki broj OXPHOS gena, uključujući gene koji kodiraju za proteine nositelje kemijskih reakcija, ali i pomoćne proteine potrebne za sastavljanje OXPHOS kompleksa, smješten je unutar prvog filostratuma, prije pojave eukariota što bi značilo da su bakterije imale potpun put oksidativne fosforilacije prije no što je uveden u eukariote prilikom endosimbiotskog događaja. Period pojave gena iz prvog filostratuma odgovara periodu najvećeg povećanja koncentracije kisika u Zemljinoj prošlosti što je vjerojatno utjecalo na evoluciju oksidativne fosforilacije. Zanimljivo je da geni iz drugog filostratuma (porijeklo eukariota) ne pokazuju visoku frekvenciju ekspresije iako odgovaraju endosimbiotskom događaju. Geni koji su se pojavili naknadno, uglavnom u trećem i sedmom filostratumu, kodiraju za pomoćne proteinske podjedinice uključene u finu regulaciju OXPHOS puta (Jasek 2012). Treći filostratum odgovara pojavi Opisthokonta prije otprilike 1642-1240 milijuna godina (Bhattacharya, 2009), dok se sedmi povezuje s pojavom Bilateria kada biosferom, umjesto mikroorganizama, počinju dominirati životinje (Butterfield, 2011). Smatra se da je tu tranziciju izazvao veliki porast koncentracije kisika u atmosferi i plitkim vodama s 1% na gotovo 100% današnje koncentracije. Također, duboki ocean koji je do tada predstavljao anoksičan okoliš, napokon postaje potpuno oksigeniran (Canfield 2007, Sessions i sur 2009). S povećanom koncentracijom, moguća je difuzija kisika na veće udaljenosti što je omogućilo evoluciju većih višestaničnih organizama.

3.5. Evolucijsko porijeklo zametnih listića

Početkom 19. stoljeća njemački je znanstvenik Heinz Christian Pander, često smatran i ocem embriologije, proučavajući pileće embrije otkrio tri zametna listića – specifične regije embrija iz kojih se razvijaju specifični organski sustavi. Ektoderm daje osnovu za površinski sloj kože (epidermu i njene derivate) te središnji i periferni živčani sustav. Iz endoderma nastaju probavna cijev i s njom povezani organi. Između ektoderma i endoderma nalazi se mezoderm iz kojeg se razvijaju krv, srce, bubrezi, gonade, kosti i mišići. Organizmi čiji embriji imaju ova tri zametna listića nazivaju se triploblastičnima. Kod nekih koljena, kao što su spužve, žarnjaci i rebraši, pravi mezoderm izostaje pa se oni smatraju diploblastičnim životinjama (Gilbert 2000).

Evolucijsko pojavljivanje osnivačkih gena koji bi mogli imati ulogu u razvoju tri zametna listića može se pratiti filostratigrafskim analizama. Jedinstvene fluktuacije u obliku šiljaka (eng. *peaks*) i prekida frekvencije ekspresije karakteristika na filostratigrafskoj mapi raspoređene u postupnoj progresiji ektoderm – endoderm – mezoderm ukazuju na moguće evolucijsko porijeklo zametnih listića. Porast u frekvenciji ekspresije karakteristika koje bi mogle biti povezane s porijeklom ektoderma javlja se u trećem filostratumu, odnosno kod posljednjeg zajedničkog pretka (eng. *last common ancestor*, *LCA*) velike monofiletičke skupine "superkladija" Opisthokonta. Ektodermalni šiljak u trećem filostratumu sugerira da je već taj posljednji zajednički predak Opisthokonta pokazivao neki oblik višestaničnosti. Endodermalni se šiljak pojavljuje u četvrtom filostratumu što filogenetički odgovara grani između čvora koji predstavlja takson Opisthokonta i onog koji predstavlja Metazoa tj. mnogostanične životinje. Napokon, mezodermalni šiljak u šestom filostratumu (internodij između Eumetazoa i Bilateria) podupire ideju da je mezoderm inovacija pravih mnogostaničara s bilateralno simetričnom građom (Domazet-Lošo i sur. 2007) (Slika 5.). Prema trenutačno jedinom fosilu iz perioda kasnog Ediakarija, nazvanog *Kimberella* (Glaessner i Daily 1959) starost najstarijeg poznatog triploblastnog organizma procjenjuje se na oko 555.3 milijuna godina (Martin i sur. 2000).



Slika 5. Filostratigrafska mapa:

Fluktuacije u frekvenciji ekspresije za ektoderm (crveni kružići), endoderm (tamno plavi kvadratići) i mezoderm (svjetlo plavi trokutići). Ispod mape su pune vodoravne linije (crvena, tamno i svjetlo plava) koje pokazuju tradicionalni pogled na prvu pojavu zametnih listića u evoluciji i dvanaest genomskih filostratuma koji odgovaraju filogenetičkim internodijima i obilježavaju setove osnivačkih gena kod *D. melanogaster* (Izvor: Domazet-Lošo i sur., 2007)

3.6. Evolucija organskih sustava

Organski sustavi kod životinja današnji su oblik i funkciju stekli adaptacijama na makroevolucijskoj razini pa je metodom genomske filostratigrafije moguće analizirati evolucijski razvoj genskih ekspresija koje ih određuju.

Epidermalni sustav evoluirao je kod posljednjeg zajedničkog pretka (eng. *last common ancestor, LCA*) Metazoa. Epiderm u užem smislu, odvojen od trahealnog sustava i proksimalnih dijelova probavila, neprestano je u komunikaciji s vanjskim okolišem pa je konstantni selekcijski pritisak uzrokovao značajne adaptivne promjene još od pojave prvih protostomičnih životinja (sedmi filostratum). Različiti tipovi zaštitnog sloja (kutikule) nekoliko su puta konvergentno evoluirali tijekom kasnijih razdoblja u evoluciji (Božičević 2009), iako su metabolički putevi za sintezu kutikularnih spojeva kao što su hitin, kolagen i dr. bili prisutni i prije pojave Metazoa (Schmidt-Rhaesa 2007). Fleksibilna kutikula zajedno s različitim stanicama izvedenim iz epidermalnih (mišićne, osjetne, potporne, žljezdane i dr.) omogućila je velik broj specifičnih prilagodbi ovog organskog sustava kod različitih skupina životinja (Božičević 2009).

Živčane stanice evoluirale su kod LCA Eumetazoa. Već se kod žarnjaka zapaža trend stvaranja koordinacijskih centara i stanica specifičnog što se smatra oblikom središnjeg živčanog sustava (eng. *central nervous system, CNS*) (Koizumi 2007). Unutar Eumetazoa javlja se prijelaz s multipolarnih stanica na dobro definirane živce, sinapse između živčanih stanica postaju jednosmjerne, s jasno definiranom presinaptičkom i postsinaptičkom stanicom (Schmidt-Rhaesa 2007). Kod Bilateria se javlja potreba za specijaliziranim perifernim živčanim sustavom (eng. *peripheral nervous system, PNS*) pa se povećanje frekvencije ekspresije povezanih osnivačkih gena pojavljuje kod LCA Bilateria (šesti filostratum), ali i kod LCA Arthropoda (osmi filostratum) i LCA Insecta (deseti filostratum). Kada se ova metoda primijeni na regije mozga, geni za cijeli mozak, prednji mozak (uključujući diencephalon i telencephalon), srednji mozak i stražnji mozak pojavljuju se kod kopljače, iako naznake pojavljivanja gena za razvoj srednjeg mozga postoje i kod Metazoa i kralježnjaka (Šestak i Domazet-Lošo 2015). U pitanje se često dovodi redoslijed pojavljivanja osjetila u kambrijskom okolišu (Parker 2011, Plotnick 2010). Analiza gena uključenih u razvoj senzoričkih struktura kod kralježnjaka pokazala je da su geni za razvoj očiju tj. osjeta vida evoluirali prvi (Šestak i sur. 2013) što potvrđuju i fosilni nalazi člankonožaca iz ranog kambrija (Lee i sur. 2011).

Uobičajena pretpostavka u evolucijskom modelu razvoja oka je: prvo mrežnica, kasnije leća (Nilsson i Pelger 1994) s čime se slaže i filostratigrafska mapa gena ribe zebrice (*Danio rerio*); geni za razvoj mrežnice pojavljuju se kod LCA Bilateria i značajnije kod LCA Deuterostomia, a oni za razvoj mrežnice kod LCA kralježnjaka. Geni povezani s olfaktornim sustavom i osjetom sluha pojavljuju se kod plaštenjaka (Šestak i sur. 2013).

Iako se život pojavio u anoksičnim uvjetima, preživljavanje mnogih organizama ovisi o kisiku pa tako i o evoluciji **respiratornih sustava** koji omogućavaju opskrbu kisikom iz okoliša. Bioraznolikost i veličina tijela mijenjale su se zajedno s promjenama udjela kisika u atmosferi tijekom Zemljine prošlosti koje su omogućile i prelazak života iz vode na kopno i u zrak, ponekad i obratno. Proširenje naseljivih staništa zahtijeva upotrebu različitih struktura za izmjenu plinova kao što su koža, škrge, traheje, pluća te njihova prijelazna stanja pa je njihov evolucijski razvoj tekao u smjeru stjecanja adaptacija koje su omogućile veću difuzijsku površinu, tanje respiratorne membrane, finiju regulaciju i reduciranu štetnost disanja (Hsia i sur. 2013). Pomoću genomskih i ekspresijskih podataka vinske mušice (*Drosophila melanogaster*) praćena je makroevolucija trahealnog sustava. Sukladno saznanjima o strukturi ovog sustava kod različitih skupina Arthropoda, filostratigrafske analize pokazuju visoko odstupanje od očekivane vrijednosti frekvencije ekspresija za traheole kod LCA Insecta (deseti filostratum), dok značajan signal trahealnog sustava kod LCA Pancrustacea (deveti filostratum) ukazuje na moguću vezu između traheja i škrge. Bliska veza između rakova i kukaca potvrđena je i ranije molekularno-biološkim istraživanjima (Schultz i Regier 2000, Giribet i Ribera 2000, Nardi i sur. 2003), a moguće je da traheje u kukaca i škrge u rakova dijele zajedničko porijeklo (Franch-Marro i sur. 2006). Značajni signali na filostratigrafskoj mapi javljaju se i unutar mlađih filostratuma (nakon Insecta) što ukazuje na nastavak selekcijskog pritiska u razvoju elaboriranijih verzija trahealnih sustava (Božičević 2009).

Za **cirkulatorni (optjecajni) sustav** važne su primarne i sekundarne tjelesne šupljine. Ipak, distribucija i prijenos tjelesnih tekućina učinkovitiji su kada se odvijaju unutar ograničenih sustava u obliku dobro definiranih žila (Schmidt-Rhaesa 2007). Skupine Mollusca, Annelida i Deuterostomia (izuzevši Tunicata) pokazuju tendenciju prelaska od otvorenih prema zatvorenim sustavima koji ipak zaobilazi skupinu Arthropoda budući da je njihov optjecajni sustav slabo razvijen. Prema filostratigrafskoj mapi vinske mušice (*D. Melanogaster*) većina esencijalnih genskih ekspresija optjecajnoga sustava javlja se već pojavom prvih staničnih organizama (prvi filostratum) i u većini filostratuma prati trendove za cjelokupni mezoderm.

Statistički značajno odstupanje u zastupljenosti ekspresija u pozitivnom dijelu krivulje za optjecajni sustav zajedno sa srcem unutar šestog filostratuma pokazuje da je u genom LCA Bilateria ušao relativno velik broj novih gena i tu se, vezano za srce, vjerojatno dogodila neka važna adaptacija (Božičević 2009).

Za samu funkciju, ali i evoluciju **mišića** važan je sustav aktin-miozin prisutan kod svih eukariota, iako su molekule blisko srodne aktinu pronađene i kod nekih prokariota. Prokarioti sa stabilnim gradivnim elementima citoskeleta vjerojatno su imali prednost u endosimbiotskom "gutanju" drugih stanica (Hartman i Fedorov 2002). Potporu ovoj hipotezi pridaju i rezultati filostratigrafskih analiza mišićnog sustava *D. melanogaster* koji jedini pozitivni signal sa statističkom značajnošću pokazuju kod pojave prvih stanica (prvi filostratum) (Božičević 2009). Izolirane "mišićne" stanice javljaju se kod ranih Metazoa, a dalje se razvijaju prema tkivnom nivou; kao epitelno-mišićne stanice kod većine Cnidaria, odnosno u obliku kontinuiranog sloja mišića ispod superepidermalnog izvanstaničnog matriksa kod Bilateria (Schmidt-Rhaesa 2007). Životinje s čvrstim potpornim sustavom kao što je kutikula kod Arthropoda ili endoskelet kod Chordata razvile su specilizirane mišićne sustave. Ipak, unutar mlađih filostratuma kod *D. melanogaster* frekvencije ekspresija manje su od očekivanih vrijednosti što sugerira slabo pojavljivanje novih, odnosno oslanjanje mišićnog sustava na filogenetski najstarije gene (Božičević 2009).

Evolucija **probavila** jedna je od prvih posljedica višestaničnosti koja je omogućila razvoj specijaliziranih stanica (Stainer 2005). Metazoa, prvi višestanični organizmi razlikuju se od kolonijalnih Protista po razvoju putem embriogeneze koja uključuje proces gastrulacije (Leys i Eerkes-Medrano 2005). Gastrulacijom nastaje višeslojni embrij, a stvaranje zametnih listića obično znači i stvaranje probavila (Stainer 2005). Rezultati filostratigrafske analize probavnog sustava *D. Melanogaster* ukazuju da je većina gena za nastanak probavila bila prisutna kod pretka Metazoa (četvrti filostratum), iako se pravo probavilo vjerojatno pojavilo jedan filostratum kasnije (Božičević 2009). Budući da se probavni trakt uočava kod Cnidaria i Ctenophora, općenito se i smatra da je probavilo u pravom smislu evoluiralo kod LCA Eumetazoa (Schmidt-Rhaesa 2007). Manja frekvencija ekspresija probavnog sustava unutar tog filostratuma mogla bi se objasniti pojavom malog broja ekspresija koje su nedostajale za potpunu izgradnju probavila. Do pojave neočekivano velikog broja novih ekspresija došlo je pak kod nastanka Protostomia (organizama kod kojih se na mjestu prausta razvijaju usta), unutar sedmog filostratuma što se može povezati s pojavom prohodnog probavila i njegove podjele na prednji, srednji i stražnji dio (Božičević 2009).

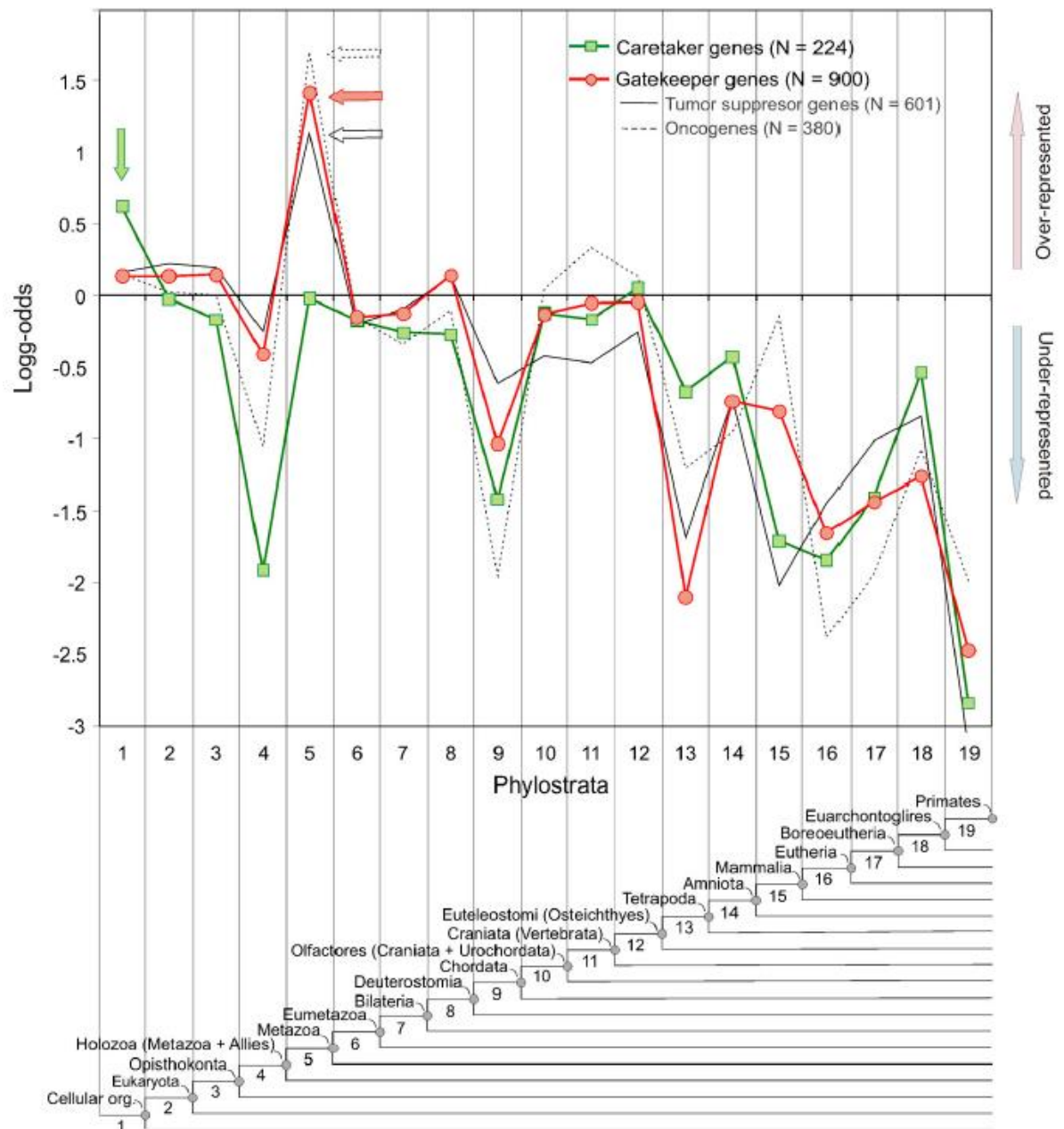
3.7. Evolucijsko porijeklo gena povezanih s bolestima kod ljudi

Nekoliko tisuća gena u ljudskom genomu povezano je s nasljednim bolestima kod ljudi. Porijeklo otprilike 60% od 22 845 promatranih ljudskih gena povezanih s nasljednim bolestima može se filostratigrafski pratiti još od prve pojave života i eukariotskih stanica (prvi i drugi filostratum). Ti geni uglavnom predstavljaju osnovne stanične funkcije, kao što su metabolički procesi i regulacija transkripcije. Drugo pojavljivanje osnivačkih gena veže se uz pojavu višestaničnosti, nešto prije kambrijske eksplozije (šesti filostratum) kada su se pojavili signalni procesi, primjerice oni vezani uz G-proteine. Pojavljivanja manjeg broja gena, onih povezanih s imunošću, očita su i u vrijeme pojave riba koštunjača odnosno tetrapoda (jedanaesti i dvanaesti filostratum) te viših sisavaca (šesnaesti filostratum). Otprilike 13% promatranih gena u ljudi pojavili su se unutar ili nakon petnaestog filostratuma pa se smatraju *orphan* genima sisavaca. Geni uključeni u spermatogenezu i keratinizaciju javljaju se oko pojave primata (devetnaesti filostratum). Većina promatranih gena povezana je s monogenским bolestima koje se očito najviše oslanjaju na filogenetski stare, a rijetko imaju veze s filogenetski mlađim genima (Domazet-Lošo i Tautz 2008). Već je ranije pokazano da mutacije koje uzrokuju bolest imaju tendenciju pojavljivanja na očuvanim mjestima u proteinima (Miller i Kumar 2001). Teoretski bi mogli pretpostaviti da će se, zbog utjecaja na fitness, mutacije koje uzrokuju bolest, a pojavile su se rano u evoluciji biti izgubljene tijekom vremena. Budući da to nije slučaj, mogli bi zaključiti da su nasljedne bolesti neizbježna sastavnica života. Ipak, moguća je praktična upotreba ovih saznanja u biomedicinskim istraživanjima. Budući da se 90% promatranih gena pojavilo prije LCA Bilateria, bilo bi opravdano kao modele za proučavanje funkcije tih gena koristiti i organizme koji su evolucijski jako udaljeni od ljudi, kao što su primjerice oblići ili kukci. Preporuka za razumijevanje konteksta bioloških procesa u koje su geni uključeni je korištenje modelnog organizma koji predstavlja evolucijsku razinu na kojoj su se ti geni pojavili (Domazet-Lošo i Tautz 2008).

Geni povezani s bolestima i oni povezani s nastankom raka čine različite razrede gena, ali imaju sličnu makroevolucijsku povijest. Filostratigrafsko praćenje gena povezanih s nastankom raka predlaže poveznicu s pojavom višestaničnosti unutar Metazoa. Višestaničnost predstavlja kompleksan fenotip i smatra se jednom od glavnih evolucijskih tranzicija (Grosberg i Strathmann 2007).

Smatra se da je nastanak raka determiniran serijom mutacija s rakom povezanih gena te da do nekoliko tisuća gena može doprinijeti razvoju tumora (Stratton i sur. 2009). Ovisno o doprinosu

progresiji raka, razlikuju se dvije velike grupe gena: čuvari (eng. *caretakers*) i vratari (eng. *gatekeepers*) koji se dalje dijele na onkogene i tumor supresorske gene (Kinzler i Vogelstein 1997). Mutacije *caretaker* gena povećanjem stope mutacije i genomske nestabilnosti, indirektno potiču progresiju tumora što povećava i šansu pojave mutacija u *gatekeeper* genima. Mutacije u *gatekeeper* genima promjenom stanične diferencijacije, rasta i stope smrtnosti direktno potiču progresiju tumora. Filostratigrafska odstupanja sugeriraju dva ključna događaja u pojavi gena povezanih s rakom: pojava prve stanice te uspostava stabilnog oblika višestaničnosti kod Metazoa (Domazet-Lošo i Tautz 2010) što je zasigurno bila ključna inovacija koja je zahtijevala mnoge adaptivne promjene, odnosno regrutaciju novih gena (Grosberg i Strathmann 2007). Neočekivano odstupanje unutar prvog filostratuma vezan uz porijeklo prvih stanica vjerojatno je povezano s podjelom gena na *caretaker* i *gatekeeper* gene. *Caretaker* geni mogli su evoluirati ranije jer je njihova generalna stabilnost važna za stanicu, a neovisna o postojanju višestaničnosti. *Gatekeeper* geni su pak uključeni u funkcije vezane uz kooperativnost među stanicama (onkogeni) ili prevenciju širenja tumorskih stanica (tumor supresorski geni) pa je logično njihovo pojavljivanje kod pojave višestaničnosti (Domazet-Lošo i Tautz 2010).



Slika 6. Statistička analiza *caretaker* i *gatekeeper* gena na filostratigrafskoj mapi čovjeka

4. LITERATURA

- Albà MM, Castresana J. 2005. Inverse Relationship Between Evolutionary Rate and Age of Mammalian Genes. *Molecular Biology and Evolution* **22**, 598–606.
- Butterfield NJ. 2011. Animals and the invention of the Phanerozoic Earth system. *Trends Ecology and Evolution* **26**, 81-87.
- Božičević V. 2009. Filostratigrafska analiza evolucijskog nastanka organskih sustava kod višestaničnih životinja
- Canfield DE, Poulton SW, Narbonne GM. 2007. Late-Neoproterozoic deep-ocean oxygenation and the rise of animal life. *Science* **315**, 92-5.
- Carvunis A-R, Rolland T, Wapinski I, Calderwood MA, Yildirim MA, Simonis N, Charlotiaux B, Hidalgo CA, Barbette J, Santhanam B. 2012. Proto-genes and de novo gene birth. *Nature* **487**, 370–374.
- Doboule D. 1994. Temporal colinearity and the phylotypic progression: a basis for the stability of a vertebrate Bauplan and the evolution of morphologies through heterochrony. *Development* (Suppl.), 135-142.
- Domazet-Lošo T, Carvunis A., Mar Albà M., Sebastijan Šestak M, Bakarić R, Neme R, Tautz D. 2017. No evidence for phylostratigraphic bias impacting inferences on patterns of gene emergence and evolution. *Molecular Biology and Evolution* **34**, 843-856.
- Domazet-Lošo T, Tautz D. 2010. A phylogenetically based transcriptome age index mirrors ontogenetic divergence patterns. *Nature* **468**, 815-818.
- Domazet-Lošo T, Tautz D. 2008. An Ancient Evolutionary Origin of Genes Associated with Human Genetic Diseases. *Molecular Biology and Evolution* **25**, 2699–2707.
- Domazet-Lošo T, Brajković J, Tautz D. 2007. A phylostratigraphy approach to uncover the genomic history of major adaptations in metazoan lineages. *Trends in Genetics* **23**, 533-539.

- Franch-Marro X, Martin N, Averof M, Casanova J. 2006. Association of tracheal placodes with leg primordia in *Drosophila* and implications for the origin of insect tracheal systems. *Development* **133**, 785-790.
- Futuyma, D. 2005. *Evolution*. First Edition. Sinauer Associates, p.501.
- Gilbert SF. 2000. *Developmental biology*. Sixth Edition. Sinauer Associates.
- Giribet G, Edgecombe GD, Wheeler WC. 2001. Arthropod phylogeny based on eight molecular loci and morphology. *Nature* **413**, 157-161.
- Glaessner MF, Daily, B. 1959. The geology and Late Precambrian fauna of the Ediacara fossil reserve. *Records of the South Australian Museum* **13**, 369–401.
- Grosberg RK, Strathmann RR. 2007. The evolution of multicellularity: a minor major transition. *Annu Rev Ecol Syst* **38**, 621-654.
- Hartman H, Fedorov A. 2002. The origin of the eukaryotic cell: a genomic investigation. *PNAS* **99**, 1420-1425.
- Hazkani-Covo E, Wool D, Graur D 2005. In search of the vertebrate phylotypic stage: A molecular examination of the developmental hourglass model and von Baer's third law. *Journal of Experimental Zoology Part B* **304**, 150–158.
- Hsia C, Schmitz A, Lambertz M, Perry S, Maina J. 2013. Evolution of Air Breathing: Oxygen Homeostasis and the Transitions from Water to Land and Sky. *Comprehensive Physiology* **3**, 849-915.
- Irie N, Kuratani S. 2011. Comparative transcriptome analysis reveals vertebrate phylotypic period during organogenesis. *Nature Communications* **2**
- Jasek S. 2012. *Evolution of Oxidative Phosphorylation*
- Kalinka A, Varga K, Gerrard D, Preibisch S, Corcoran D, Jarrells J, Ohler U, Bergman C, Tomancak P. 2010. Gene expression divergence recapitulates the developmental hourglass model. *Nature* **468**, 811-814.
- Kinzler KW, Vogelstein B. 1997. Gatekeepers and caretakers. *Nature* **386**, 761-763.

- Koizumi O. 2007. Nerve ring of the hypostome in hydra: is it an origin of the central nervous system of bilaterian animals? *Brain, Behavior and Evolution* **69**, 151-159.
- Lau S, Slane D, Herud O, Kong J, Jürgens G. 2012. Early embryogenesis in flowering plants: setting up the basic body pattern. *Annual Review of Plant Biology* **63**, 483–506.
- Lee MSY, Jago JB, García-Bellido DC, Edgecombe GD, Gehling JG, Paterson JR. 2011. Modern optics in exceptionally preserved eyes of Early Cambrian arthropods from Australia. *Nature* **474**, 631–634.
- Levit G, Hossfeld U, Olsson, L. 2015. Alexei Sewertzoff and Adolf Naef: revising Haeckel's biogenetic law. *History and Philosophy of the Life Science* **36**, 357-370.
- Leys SP, Eerkes-Medrano D. 2005. Gastrulation in Calcareous Sponges: In Search of Haeckel's Gastraea. *Integrative and Comparative Biology* **45**, 342-351.
- Martin M, Grazhdankin DV, Bowring SA, Evans DA, Fedonkin MA, Kirschvink JL. 2000. Age of Neoproterozoic Bilateral Body and Trace Fossils, White Sea, Russia: Implications for Metazoan Evolution. *Science* **288**, 841-845.
- Meyer A, Van de Peer Y. 2003. 'Natural selection merely modified while redundancy created' - Susumu Ohno's idea of the evolutionary importance of gene and genome duplications. *Journal of Structural and Functional Genomics* **3**, 7-9.
- Miller MP, Kumar S. 2001. Understanding human disease mutations through the use of interspecific genetic variation. *Human Molecular Genetics* **10**, 2319–2328.
- Morris KV, Mattick JS. 2014. The rise of regulatory RNA, *Nature Reviews Genetics* **15**, 423
- Moyers B, Zhang J. 2017. Further Simulations and Analyses Demonstrate Open Problems of Phylostratigraphy. *Genome Biology and Evolution* **9**, 1519-1527.
- Moyers B, Zhang J. 2015. Phylostratigraphic Bias Creates Spurious Patterns of Genome Evolution. *Molecular Biology and Evolution* **32**, 258–267.
- Nardi F, Spinsanti G, Boore JL, Carapelli A, Dallai R, Frati F. 2003. Hexapod origins: monophyletic or paraphyletic?. *Science* **299**, 1887-1889.

- Nelson DL, Cox MM. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry*, Sixth Edition. W. H. Freeman.
- Nilsson DE, Pelger S. 1994. A pessimistic estimate of the time required for an eye to evolve. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **256**, 53–58.
- Olaf RPB, Jonathan EJ, Richardson M. 2003. Inverting the hourglass: quantitative evidence against the phylotypic stage in vertebrate development. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **270**, 341-346.
- Park S, Harada JJ. 2008. Arabidopsis embryogenesis. *Methods in Molecular Biology*. **427**, 3–16
- Parker AR. 2011. On the origin of optics. *Optics & Laser Technology* **43**, 323–329.4
- Plotnick RE, Dornbos SQ, Chen J. 2010. Information landscapes and sensory ecology of the Cambrian Radiation. *Paleobiology* **36**. 303–317.
- Prud'homme B and Gompel N. 2010. Genomic hourglass. *Nature* **468**, 768-769.
- Quint M, Drost H, Gabel A, Ullrich K, Bönn M, Grosse I. 2012. A transcriptomic hourglass in plant embryogenesis. *Nature* **490**, 98-101.
- Richardson M, Hanken J, Gooneratne M, Pieau C, Raynaud A, Selwood L, Wright G. 1997 . There is no highly conserved embryonic stage in the vertebrates: implications for current theories of evolution and development. *Anatomy and Embryology* **196**, 91-106.
- Schmidt-Rhaesa A. 2007. *The evolution of organ systems*. Oxford University Press, Oxford.
- Shultz JW, Regier JC. 2000. Phylogenetic analysis of arthropods using two nuclear protein-encoding genes supports a crustacean + hexapod clade. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **267**, 1011-1019.
- Sessions AL, Doughty DM, Welander P V, Summons RE, Newman DK. 2009. The continuing puzzle of the great oxidation event. *Current biology* **19**, 567-74.

- Sherafatian M, Mowla S. 2017. The origins and evolutionary history of human non-coding RNA regulatory networks. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology* **15**, 1750005.
- Smith S, Pease J. 2016. Heterogeneous molecular processes among the causes of how sequence similarity scores can fail to recapitulate phylogeny. *Briefings in Bioinformatics* **18**, 451-457.
- Stainier DYR. 2005. No organs left behind: Tales of gut development and evolution. *Science* **307**, 1902-1904.
- Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. 2009. The cancer genome. *Nature* **458**, 719-724.
- Šestak M, Domazet-Lošo T. 2015. Phylostratigraphic Profiles in Zebrafish Uncover Chordate Origins of the Vertebrate Brain. *Molecular Biology and Evolution* **32**, 299-312.
- Šestak M, Božičević V, Bakarić R, Dunjko V, Domazet-Lošo T. 2013. Phylostratigraphic profiles reveal a deep evolutionary history of the vertebrate head sensory systems. *Frontiers in Zoology* **10**, 18.
- Tautz D, Domazet-Lošo T. 2011. The evolutionary origin of orphan genes. *Nature Reviews Genetics* **12**, 692–702.
- Watt IN, Montgomery MG, Runswick M J, Leslie AGW, Walker JE. 2010. Bioenergetic cost of making an adenosine triphosphate molecule in animal mitochondria. *PNAS* **107**, 16823–7.

<https://web.math.pmf.unizg.hr/~karaga/losho.doc> (Preuzeto dana 17.7.)

5. SAŽETAK

Makroevolucija, često definirana kao “evolucija iznad razine vrste”, tradicionalno se proučava analizom fosila, komparativnom morfologijom ili tzv. evo-devo pristupom. Korištenjem komparativne genomike moguće je rekonstruirati evolucijsku povijest na dodatnoj razini, metodom genomske filostratigrafije. Genomsku filostratigrafiju razvio je Tomislav Domazet-Lošo s Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu. Ova novija statistička metoda koristi se za povezivanje evolucijskog porijekla obitelji osnivačkih gena s određenim makroevolucijskim tranzicijama. Pretpostavka je da će porijeklo složenih fenotipskih inovacija biti udruženo s pojavom takvih osnivačkih gena čiji se potomci mogu pronaći u danas živućim organizmima. Suština metode je podjela genoma u tzv. filostratume – skupine gena definiranih na temelju njihovog evolucijskog porijekla. Ovom je metodom postalo moguće identificirati sve *orphan* gene koji su doveli do postojećih genoma unutar evolucijskih linija, ali i pratiti važne makroevolucijske adaptacije kao što su pojava zametnih listića ili porijeklo gena povezanih uz nastanak raka. Također, genomska filostratigrafija potvrdila je postojanje filotipske faze u razvoju životinja i biljaka. Ipak, mogu li računalne simulacije stvarno obuhvatiti pravu kompleksnost evolucije?

6. SUMMARY

Macroevolution, which is often defined as “evolution above the species level”, is traditionally studied by fossil analysis, comparative morphology or evo-devo approaches. With the use of comparative genomics one can nowadays reconstruct the evolutionary history on additional level of analysis by genomic phylostratigraphy. Genomic phylostratigraphy was developed by Tomislav Domazet-Lošo at the Ruđer Bošković Institute in Zagreb, Croatia. This novel statistical method is used to correlate the evolutionary origin of founder gene families to particular macroevolutionary transitions. It is assumed that the origin of complex phenotypic innovations will be accompanied by the emergence of such founder genes, the descendants of which can still be traced in extant organisms. Method is based on the genome division into *phylostrata* - classes of genes according to their evolutionary origin in the history of life. With this method it has become possible to identify all orphan genes within the evolutionary lineages that have led to a particular extant genome and to trace the origin of major macroevolutionary adaptations such as emergence of germ layers or origin of cancer genes. Also, genomic phylostratigraphy confirmed the existence of phylotypic stage in animal and plant development. However, how well can computer simulations really capture the true complexity of evolution?