

Anna Lorenc

Max Planck Institute for Evolutionary Biology, Plön, Deutschland

Dean Madden [Ed.]

NCBE, University of Reading, UK

För lärare

Evolution hos mammutar

Introduktion

I denna aktivitet undersöks det evolutionära släktskapet mellan den utdöda ullhåriga mammuten (*Mammuthus primigenius*) och moderna elefanter samt andra arter. Fullständiga mitokondrie-DNA (mtDNA) sekvenser används för detta ändamål.

DNA, gammalt och modernt

Den ullhåriga mammuten har varit utdöd i cirka 6 000 år, men arten som använts för kärn-DNA sekvensering var omkring 20 000 år gammal och hade hämtats upp från den sibiriska permafrosten. Valet av mammut, en sådan gammal art, kan tyckas underligt, eftersom det finns många arter som har dött ut inom en relativt sen tid. Exempelvis 'Känguru-vargen' eller Thylacine (*Thylacinus cynocephalus*), dog ut 1936, då det sista djuret dog i Beaumaris Zoo (numera Hobart Zoo), Tasmanien. Det finns hundratals Thylacine-arter bevarade i muséer runt om i världen och även rester av många fler utdöda arter.

Den utdöda känguru-vargen (*Thylacinus cynocephalus*) i Washington D.C. National Zoo, c. 1906. Ett försök att sekvensera Thylacine-genomet övergavs 2005.

Kontakt:
d.r.madden@reading.ac.uk

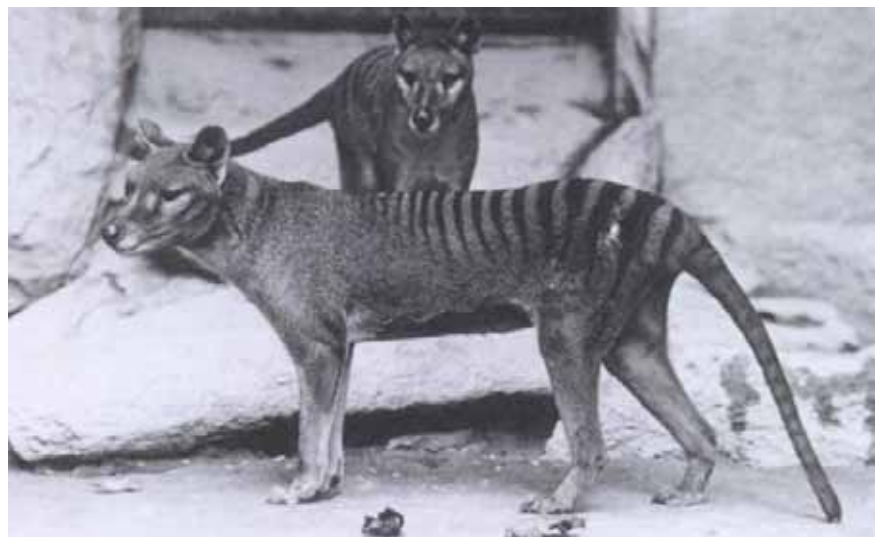


BILD FRÅN: E.J. Keller, Smithsonian Institution archives.

Uppfinningen av polymeras kedjereaktionen (PCR) i mitten av 1980-talet satte igång ett intresse i att återvinna och mångfaldiga DNA från arter, som fanns på muséer. Inte enbart forskarvärlden var intresserad, utan historier som 'Jurassic Park' fångade ett större publikt intresse. Att återuppliva utdöda arter förblir emellertid mycket avlägset — det är omöjligt med vår nuvarande kunskap och teknologi.

Tyvärr sönderdelas DNA snabbt efter döden, speciellt om det förvaras relativt varmt, eller som vanligen sker på muséer, i alkohol. Ett försök att sekvensera genomet från en Thylacine-valp, som fanns bevarad på "Australian Museum" övergavs officiellt av denna orsak. DNA från insidan av ben och från tänder av olika arter har ofta visat sig förorenade med modernt mänskligt och mikrobiologiskt material, även om man har vidtagit noggranna försiktighetsåtgärder.

Medan nyskapande tekniker kan göra, att fler utdöda arter kan sekvenseras i framtiden (till exempel har ett utkast till Neanderthalarens genom rapporterats, Green et al, 2009), har man fram till idag haft bättre lycka när man återvunnit och analyserat relativt korta bitar (~1 700 bp) mitokondrie-DNA (mtDNA) (Miller et al, 2009). MtDNA är inte bara mindre benäget att fragmenteras än kärngenomet, utan det finns också i större mängd och är därför lättare att återvinna (~1 000 kopior av mitokondriegenomet finns i varje cell, jämfört med två kopior av kärngenomet). Dessutom är sådana korta sekvenser lätta för nybörjare och elever med enklare datorer att analysera.

Översiktlig litteratur

The making of the fittest. DNA and the ultimate forensic record of evolution, av Sean B. Carroll (2009) Quercus Books (Paperback) ISBN: 978 1847247247.

En populär redovisning där man lagt tonvikt vid några av de molekylära bevisen för evolutionen.

Reading the story in DNA: A beginner's guide to molecular evolution, av Lindell Bromham (2008) Oxford University Press (Paperback) ISBN: 978 0199290918.

En trevlig textbok om den molekylära evolutionen, som inte förutsätter någon särskild matematisk bakgrund och tar med läsaren från de första grunderna. Trots att den riktar sig till baskurser på universitetet innehåller denna bok tillräckligt med detaljer för doktorander och vissa delar kan utomordentligt väl entusiasmera ungdomar mellan 16–19 år.

Vetenskapliga publikationer

De flesta av dessa dokument är fritt tillgängliga på nätet.

Cooper, A. (2006) The year of the mammoth. *PLoS Biology*, 4(3): e78.

doi: 10.1371/journal.pbio.0040078.

Detta är en grundbok, som är lätt att följa och som sätter sekvenseringen av mammutens mitokondrie-DNA i ett sammanhang och beskriver de metoder som används idag.

Gross, L. (2006) Reading the evolutionary history of the woolly mammoth in its genome. *PLoS Biology*, 4(3): e74.

doi: 10.1371/journal.pbio.0040074.

En enkel skrift som förklarar upptäckterna i Rogaev et al. publikation, på ett språk som 16–19 års studeranden bör kunna förstå.

Miller, W. et al (2008) Sequencing the nuclear genome of the extinct woolly mammoth. *Nature*, 456, 387–390. doi:

10.1038/nature07446

Denna vetenskapliga artikel beskriver, för första gången hur kärngenomet hos en utdöd art sekvenserades.

Rogaev, E.I. et al (2006) Complete mitochondrial genome and phylogeny of pleistocene mammoth *Mammuthus primigenius*.

PLoS Biology, 4(3): e73. doi: 10.1371/journal.pbio.0040073.

Detta är en av de artiklar, som undervisningsövningen i detta nummer baseras på.

Rohland, N. et al (2007) Proboscidean mitogenomics: Chronology and mode of elephant evolution using mastodon as outgroup.

PLoS Biology, 5(8): e207. doi: 10.1371/journal.pbio.0050207.

Sekvensdata från mastodoten hämtades från detta arbete.

Sedwick, C. (2008) What killed the woolly mammoth? *Science in School*, Issue 9, 18–21. Hittas på: www.scienceinschool.org

Andra utdöda arters genom

Green, R.E. et al (2008) A complete Neandertal mitochondrial genome sequence determined by high-throughput sequencing. *Cell*, 134, 416–426. doi: 10.1016/j.cell.2008.06.021

Green, R.E. et al (2009) The Neandertal genome and ancient DNA authenticity. *EMBO Journal*, 28, 2494–2502. doi: 10.1038/emboj.2009.222

Miller, W. et al (2009) The mitochondrial genome sequence of the Tasmanian tiger (*Thylacinus cynocephalus*). *Genome Research*, 19, 213–220. doi: 10.1101/gr.082628.108

Utrustning

Mjukvara

Mjukvaran, *Geneious*, kan laddas ner gratis från: www.geneious.com. Mjukvaran finns tillgänglig för Windows, Macintosh och Linux operationssystem. Endast den fria basversionen av mjukvaran fordras för denna aktivitet

DNA-sekvensdata

För den första övningen, behöver eleverna *Geneious* dokument, som innehåller tre "aligned" DNA-sekvenser (Mammut, Asiatisk elefant och Afrikansk elefant): elephants_and_mammoth.geneious. Detta kan laddas ned från www.dnadarwin-org/casestudies/10/ Man kan också använda data för att tillföra Neandertal-DNA, som en "outgroup" vid framställning av evolutionsträd, vilket också också laddas ner.

För ytterligare aktiviteter, behöver eleverna antingen ladda ner sekvenser från Internet, eller få tillgång till två *Geneious* dokument, som innehåller färdig-"aligned" sekvenser av: Dugong_Hyrax_Mammoth_Elephants.geneious och Plus_Mastodon.geneious.

Elevernas arbetsblad

Eleverna behöver kopior av arbetsbladen sidorna 2–6 för för den inledande övningen. Ytterligare aktiviteter beskrivs på arbetsbladen sidorna 7–12.

Presentationer

För lärare kan QuickTime animeringen och PowerPoint eller Keynote presentationerna vara till hjälp som introduktion till denna övning. QuickTime kan laddas ner gratis från Apple website: www.apple.com/quicktime.

Syfte

Denna övning stärker elevernas förståelse för DNA molekylens struktur och för mutationer. Den introducerar "alignment" principen och uppmuntrar eleverna att jämföra "aligned" mtDNA sekvenser med hjälp av synen och använda statistik framtaget av mjukvaran.

Eleverna skall använda mjukvara till datorer för att finna fylogenin mellan tre närstående slakten som utvecklades i Afrika under Pliocen: *Mammuthus* (mammut); *Elephas* (Asiatiska elefanten) och *Loxodonta* (Afrikanska elefanten).

Ytterligare aktiviteter kan vara undersökning av släktskapet hos två utdöda arter, dugong (*Dugong dugon*) och klippdass (*Procavia capensis*), med elefanter och först fundera över släktskapet mellan den utdöda nordamerikanska mastodonen (*Mammut americanum*) och dessa arter, innan de testar idén genom att använda mtDNA sekvens data.

Sekvenser för dessa ytterligare arter kan laddas ner från GenBank databas och "alignas" av eleverna, eller eleverna kan förses med redan "aligned" sekvenser.

Förkunskaper

Eleverna måste förstå DNA-molekylens uppbyggnad och basparningsmekanismen. De måste också känna till att mitokondrierna har sitt eget DNA och om principerna för "alignment".

Andra användbara källor

Walking with beasts (2002) BBC Worldwide Ltd. Region 2, PAL: två DVDs. 2 Entertain Video. ASIN: B00005UBMG. Hela serien presenterad av Kenneth Branagh. 173 minuter.

En del av program sex, 'Mammoth journey', där mammuten ramlar genom isen ner i en frusen sjö, kan användas som introduktion till denna aktivitet.

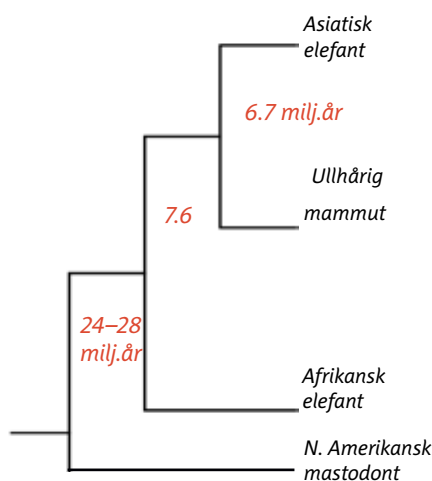
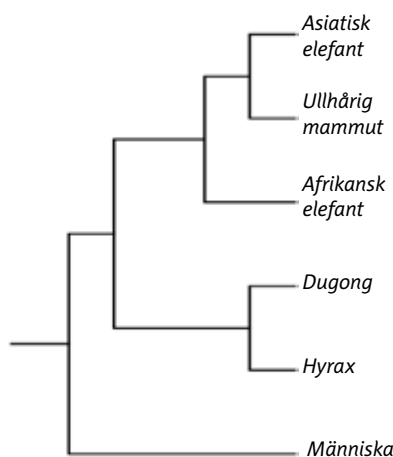
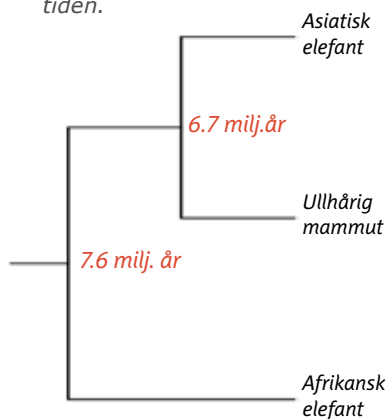
Walking with cavemen (2003) BBC Worldwide Ltd. Region 2+4, PAL: one DVD. 2 Entertain Video. ASIN: B000087LOS.

Slutepisoden, 'The survivors' visar hur mammutar jagades av tidiga människor, men det vetenskapliga innehållet i denna serie har kritiserats.



Skalenliga modeller av asiatiska och afrikanska elefanter och ullhåriga mammutar finns i leksaksaffärer som Toys 'R' Us och ibland i naturhistoriska muséers och science centers presentaffärer. Sådana modeller kan vara användbara när elever i början funderar över möjliga evolutionära släktskap mellan de tre arterna och kan också ge en bättre bild av deras utseende än fotografier och teckningar.

Lägg märke till att den horisontella skalan i dessa diagram inte är proportionellt till tiden.



Svar på arbetsbladets frågor

Sid 3

1. I DNA sekvenser sker förändringar — basparsförändringar från en purin till en annan purin (A → G eller G → A) eller en pyrimidin till en annan pyrimidin (C → T eller T → C) — ofta.
2. Dessa förändringar kan vanligen ske, eftersom de endast fordrar små strukturändringar av baserna.

Sid 6

1. Släktskapen mellan de tre arterna diskuterades under många år, eftersom de fenotypiska (fysiska) bevisen var motsägelsefulla. Ursprungligen var inte heller DNA-bevisen särskilt starka. Den ullhåriga mammuten och den asiatiska elefanten separerade från sin gemensamma anfader för omkring 6.7 miljoner år sedan, kort efter att de separerat från från linjen som ledde till den afrikanska elefanten, för ungefär 7.6 miljoner år sedan. Av denna anledning var alla arternas DNA sekvenser mycket lika, och tämligen långa DNA sekvenser (hela mitokondrie DNA:t) måste sekvenseras innan de evolutionära släktskapen kunde fastställas.
2. Träd C är korrekt.

Sid 9

1. Klippdassen och dugongen är ihopsamlade som en 'outgroup'. Positionen som detta par har i trädet visar att de är närmare besläktade med varandra än med elefanter och mammutar.
2. Trädet visar inte hur nära besläktade paret är med moderna elefanter och med den ullhåriga mammuten. (Redan 1798 misstänkte man emellertid, att klippdassen kunde vara släkt med elefanter, på grund av likheter i skelettet.)
3. Om mänskligt DNA adderas till alignmentgruppen och används till att framställa trädet, skulle människan placeras i en "outgroup", med dugong och klippdass mer besläktade med elefanterna (du kan kontrollera detta, om du vill, genom att använda provet med mänsklig mtDNA sekvens, som erhålls med Geneious — se diagrammet till höger).

Sid 10

1. Den nordamerikanska mastodonten är utseendemässigt mer lik den ullhåriga mammuten än de moderna elefanterna. Platserna där mammuten och mastodontens DNA prov hade hämtats (östra Sibirien och västra Alaska), kan också tyda på ett nära släktskap mellan dessa två arter. Elever kan därför vara frestade att placera den nordamerikanska mastodonten på en gren av trädet nära den ullhåriga mammuten.

Sid 10

1. Elever kanske också grupperar ihop den ullhåriga mammuten och mastodonten.
2. Indicier från mtDNA antyder att utvecklingslinjen som ger upphov till den nordamerikanska mastodonten skilde sig från de moderna elefanterna och den ullhåriga mammuten för 24 - 28 millioner år sedan. Därför är den ullhåriga mammuten närmare släkt med moderna elefanter än med den nordamerikanska mastodonten - utseenden kan vara bedrägliga!