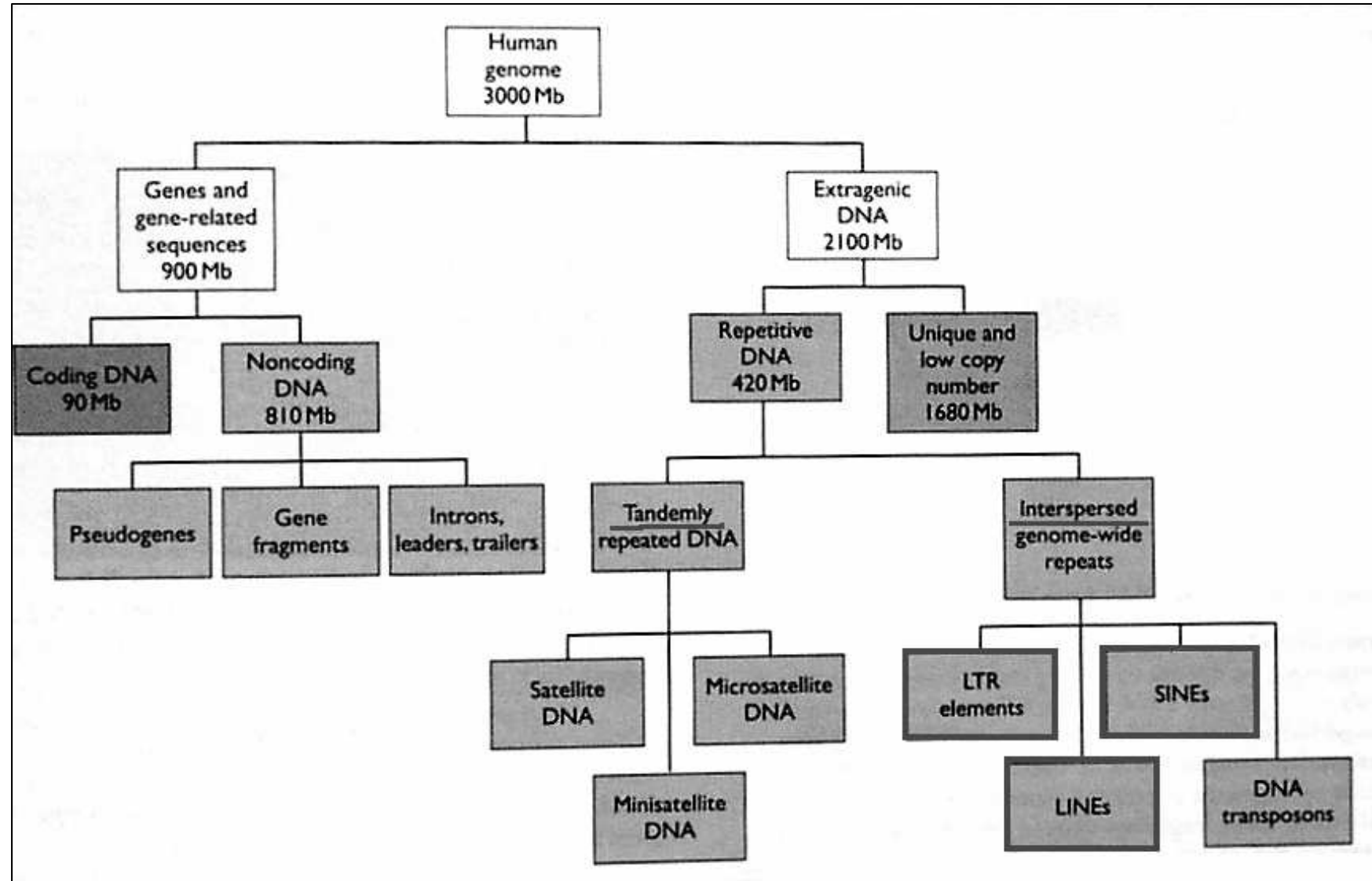


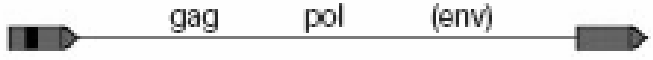





# Mobilní elementy jsou podstatnou součástí lidského genomu



# Mobilní elementy jsou podstatnou součástí lidského genomu

Classes of interspersed repeat in the human genome

			Length	Copy number	Fraction of genome
LINEs	Autonomous		6–8 kb	850,000	21%
SINEs	Non-autonomous		100–300 bp	1,500,000	13%
Retrovirus-like elements	Autonomous		6–11 kb	450,000	8%
	Non-autonomous		1.5–3 kb		
DNA transposon fossils	Autonomous		2–3 kb	300,000	3%
	Non-autonomous		80–3,000 bp		

# Reverzní transkriptáza v moderních genomech

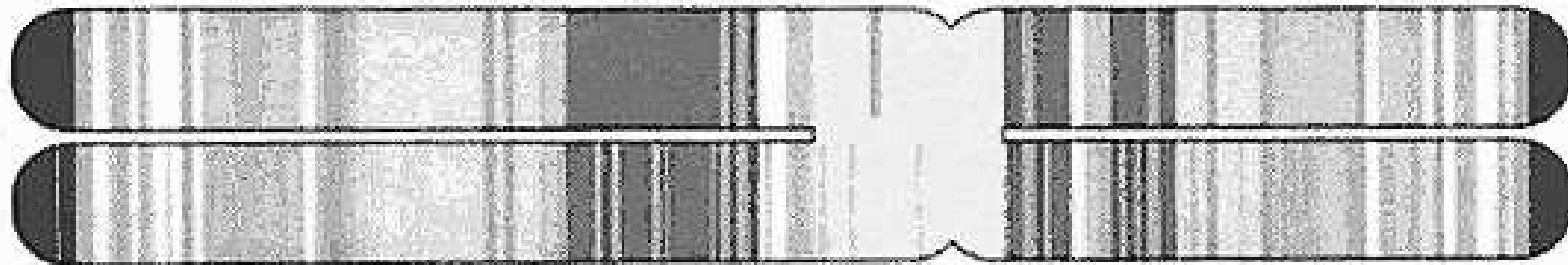
	Number of copies (× 1,000)	Total number of bases in the draft genome sequence (Mb)	Fraction of the draft genome sequence (%)	Number of families (subfamilies)
SINEs	1,558	359.6	13.14	
Alu	1,090	290.1	10.60	1 (~20)
MIR	393	60.1	2.20	1 (1)
MIR3	75	9.3	0.34	1 (1)
LINEs	868	558.8	20.42	
LINE1	516	462.1	16.89	1 (~55)
LINE2	315	88.2	3.22	1 (2)
LINE3	37	8.4	0.31	1 (2)
LTR elements	443	227.0	8.29	
ERV-class I	112	79.2	2.89	72 (132)
ERV(K)-class II	8	8.5	0.31	10 (20)
ERV (L)-class III	83	39.5	1.44	21 (42)
MaLR	240	99.8	3.65	1 (31)
DNA elements	294	77.6	2.84	
hAT group				
MER1-Charlie	182	38.1	1.39	25 (50)
Zaphod	13	4.3	0.16	4 (10)
Tc-1 group				
MER2-Tigger	57	28.0	1.02	12 (28)
Tc2	4	0.9	0.03	1 (5)
Mariner	14	2.6	0.10	4 (5)
PiggyBac-like	2	0.5	0.02	10 (20)
Unclassified	22	3.2	0.12	7 (7)
Unclassified	3	3.8	0.14	3 (4)
Total interspersed repeats		1,226.8	44.83	

**Téměř polovinu lidského genomu tvoří mobilní elementy**

**20 až > 1 000 000 kopií**

**Eukaryotické genomy: geny plovoucí po moři retrotransposonů (Bushman 2002)**

# Distribuce repetitivních sekvencí v rostlinném chromosomu

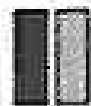


## KEY



Tandem repeats

Centromere-associated tandem repeats



Telomeric and sub-telomeric repeats



Dispersed *Ty1/copia* retroelements and microsatellites



LINEs



Single and low-copy sequences including genes

# RETROELEMENTY

1. Úvod
2. Základní typy retroelementů
3. Původ a evoluce retroelementů
4. Funkce retroelementů

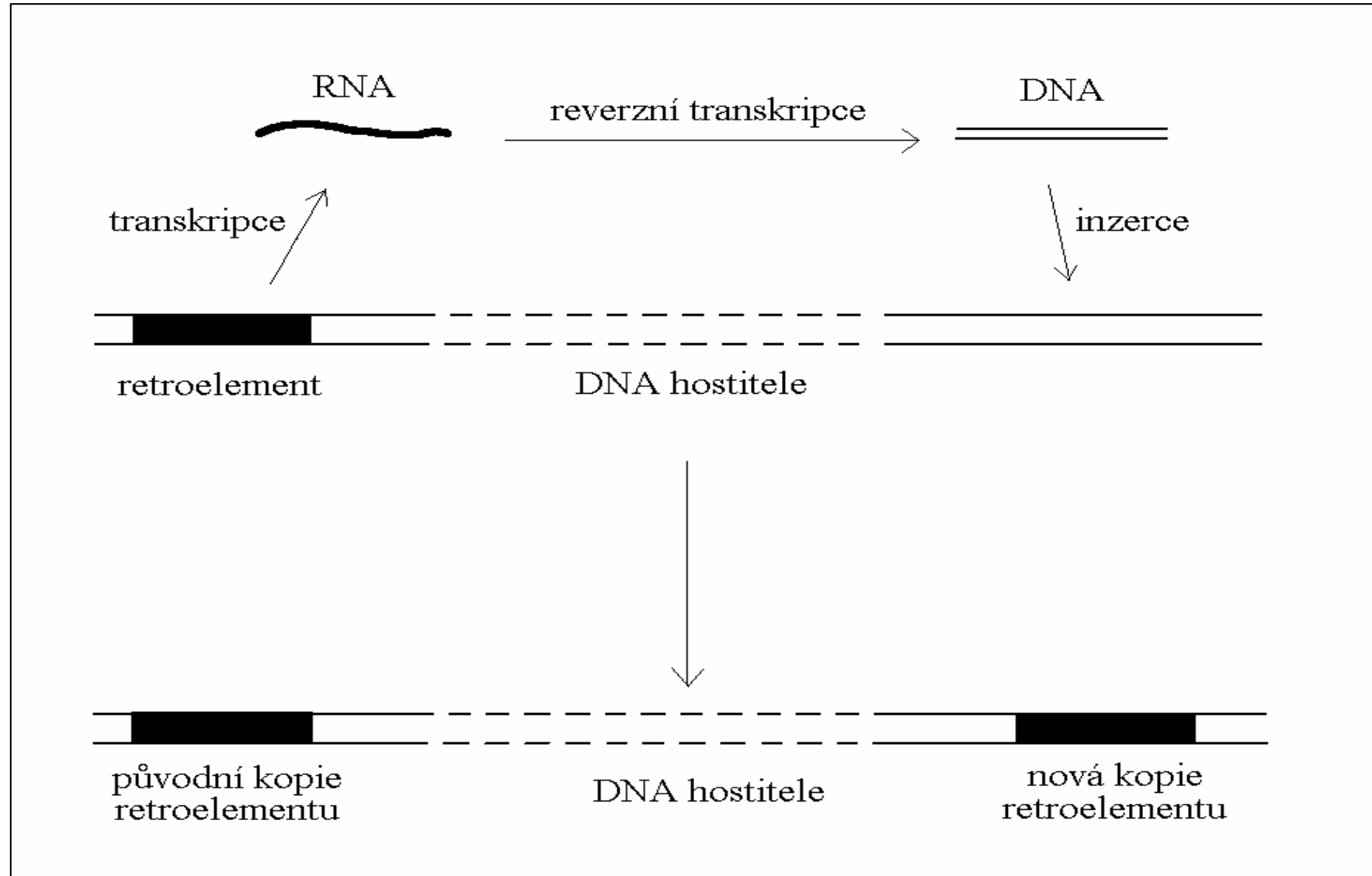
# Úvod

- RNA svět -----> DNA svět  
význam reverzní transkripce (při vzniku DNA i dnes)
- retroelementy - relikty RNA světa (struktura, replikační mechanismy, všudypřítomnost)
- úloha v evoluci genomů,  
RT - nejhojnější gen kódující protein v lidském genomu

# Co jsou retroelementy?

- **Retroelementy** = sekvence DNA nebo RNA obsahující gen pro enzym reverzní transkriptázu (katalyzuje přepis RNA do DNA).  
Širší definice zahrnuje veškeré sekvence vzniklé reverzní transkripcí RNA do DNA.  
Po genomech se šíří procesem retropozice.
- **Retropozice** = přesun genetického materiálu z jednoho místa v genomu do místa jiného prostřednictvím RNA intermediátu. Má vždy duplikativní charakter.

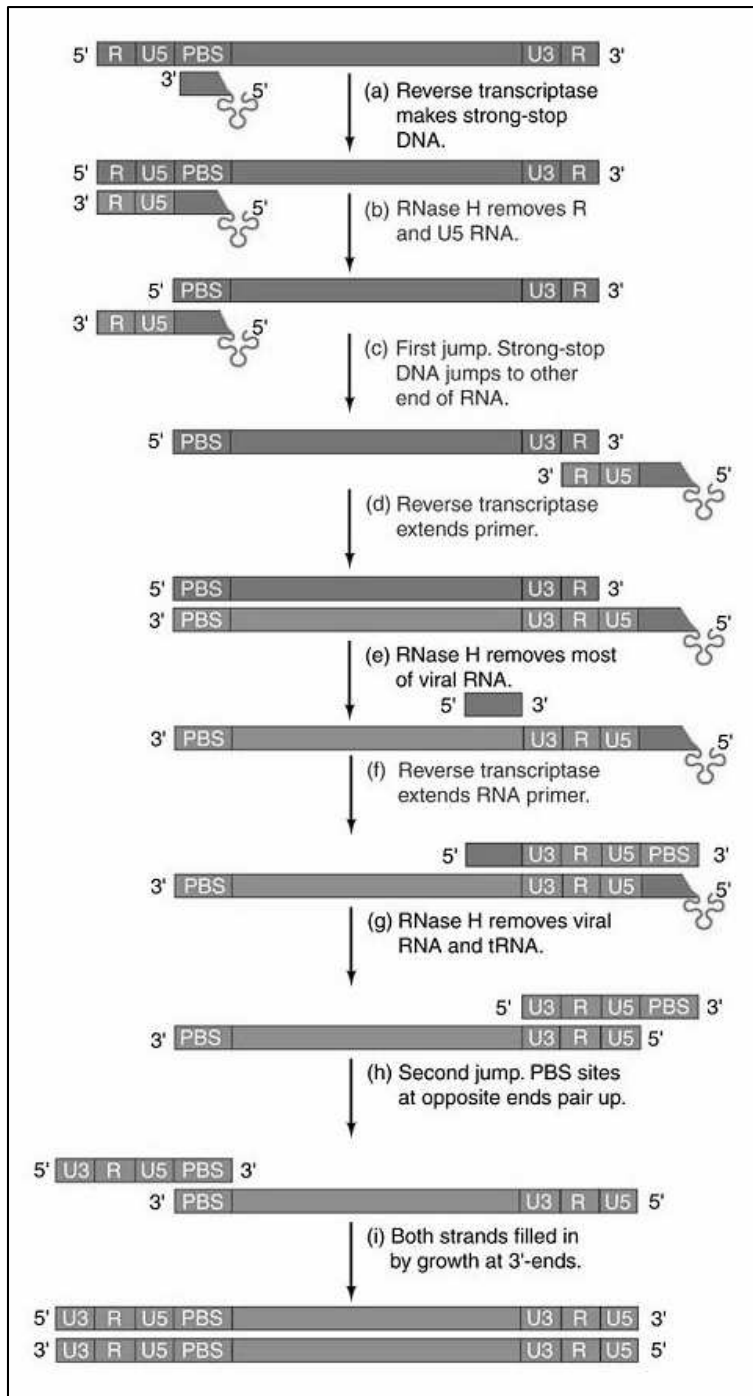
# Schéma retropozice



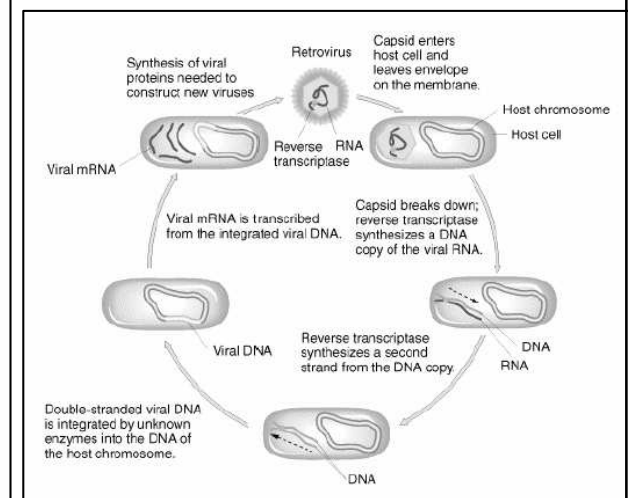
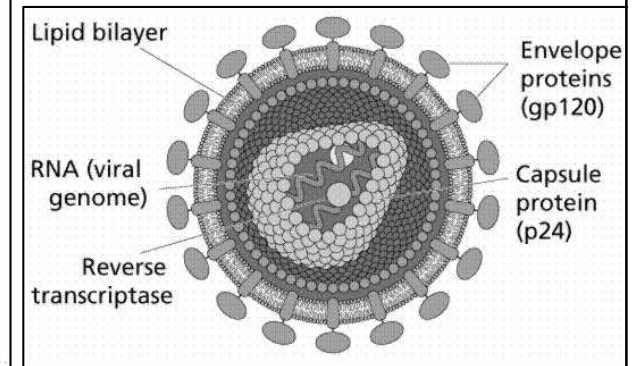
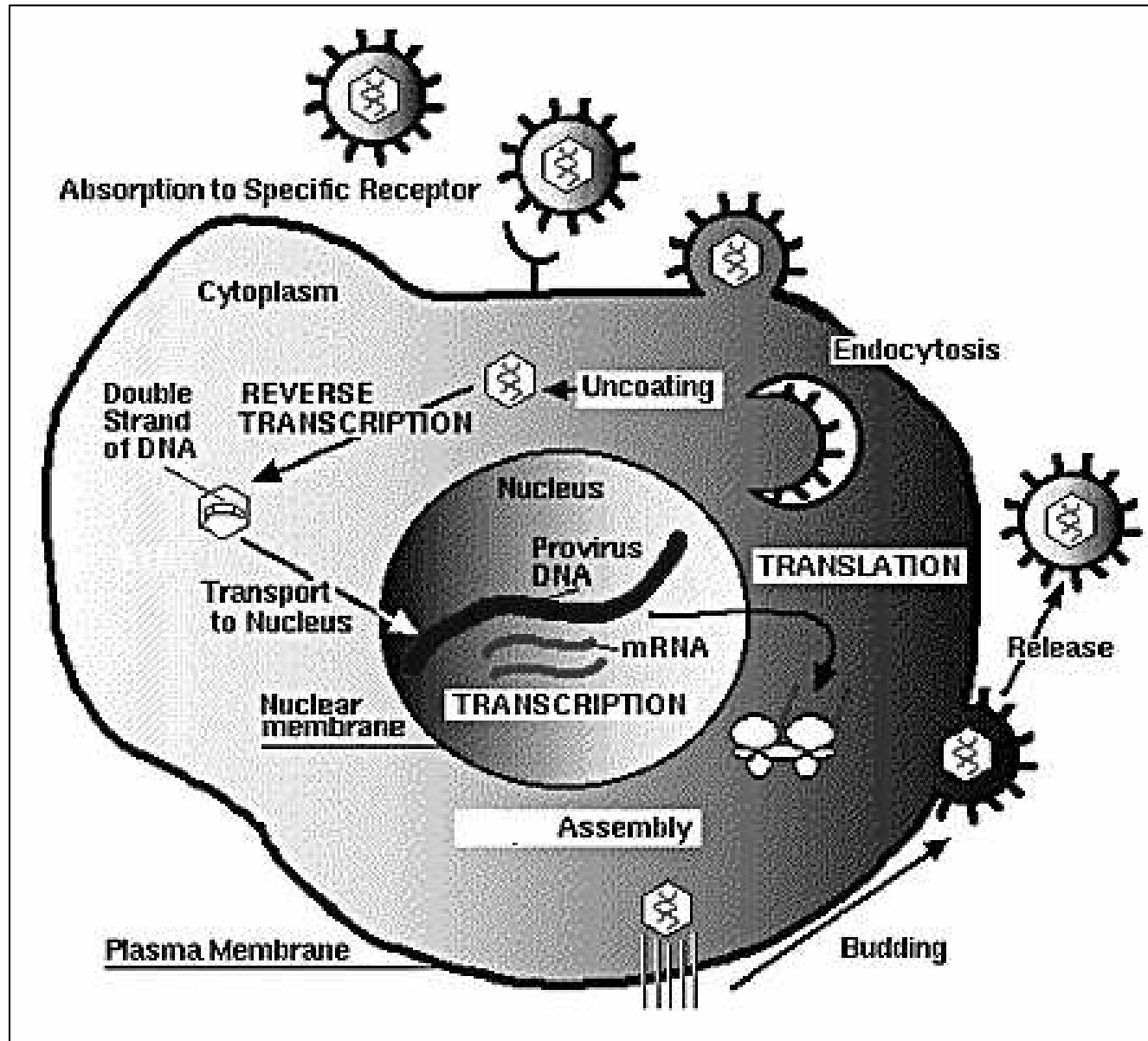


# Reverzní transkripce

- nasednutí primeru tRNA a extenze
- odstranění RNA oblasti R a U5
- první přeskok a extenze
- odstranění většiny RNA RNázouH
- zbyde primer a extenze
- odstranění zbytku virové RNA a tRNA
- druhý přeskok a dosyntetizování



# Replikační mechanismus retrovirů



1. Úvod

2. Základní typy retroelementů

3. Původ a evoluce retroelementů

4. Funkce retroelementů

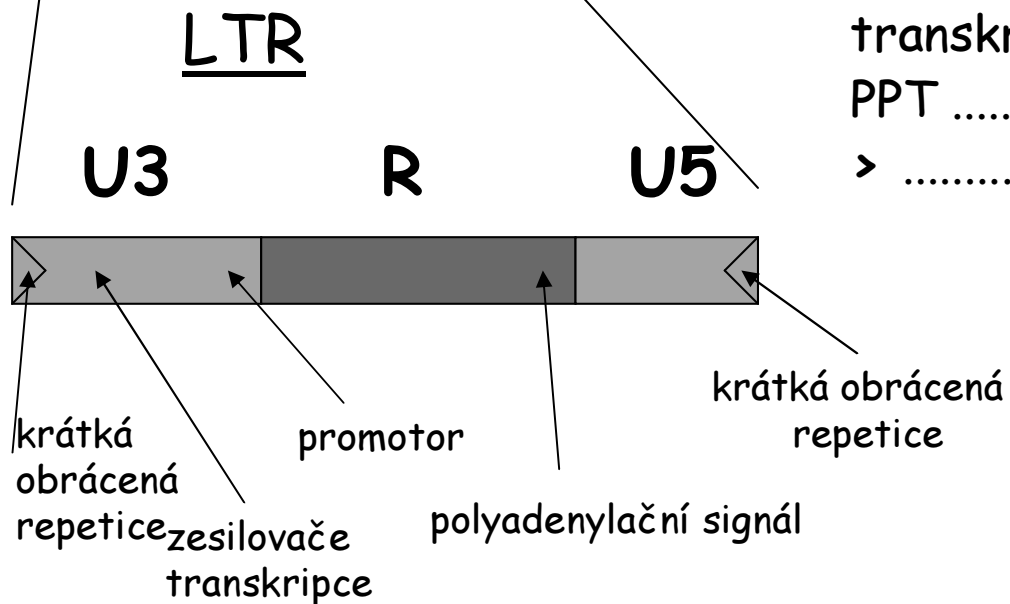
# Typy retroelementů

<i>TYP RETROELEMENTU</i>	Gen pro reverzní transkriptázu	Retropozice (integráza)	Dlouhé koncové repetice (LTR)	Tvorba virionu
<b>Retroviry</b>	+	+	+	+
<b>Pararetroviry</b>	+	-	-	+
<b>Retrotranspozony</b>	+	+	+	-
<b>Retropozony</b>	+	+	-	-
<b>Retrony</b>	+	-	-	-
<b>Mitochondriální plazmidy</b>	+	-	-	-
<b>Introny II. skupiny</b>	+	-	-	-
<b>Telomery</b>	-	-	-	-
<b>Retrogeny</b>	-	-	-	-
<b>Retropseudogeny</b>	-	-	-	-
<b>Retrosekvence</b>	-	-	-	-

# Retroviry - obecné schéma



gag, pol, env ..... geny  
 LTR ... dlouhé koncové repetice  
 PBS .... místo vazby primeru  
 PR ..... doména kódující proteázu  
 INT .... doména kódující integrázu  
 RT ..... doména kódující reverzní transkriptázu  
 PPT .... polypurinový úsek  
 > ..... přímé repetice



U3 ... jedinečná sekvence na 3' konci  
 R ..... repetitivní sekvence  
 U5 ... jedinečná sekvence na 5' konci

# Retrotranspozony - obecné schéma

(a) Typ Ty1-copia:



gag, pol, env ..... geny  
LTR ... dlouhé koncové repetice  
PBS ... místo vazby primeru  
PR ..... doména kódující proteázu  
INT .... doména kódující integrázu  
RT ..... doména kódující reverzní  
transkriptázu  
PPT ..... polypurinový úsek  
> ..... přímé repetice

(b) Typ Ty3-gypsy:



# Retropozony

(polyA, nonLTR retroelementy)

(a) LINE (L1):



1 kb

ORF1 ..... protein vážící RNA

EN ..... doména kódující endonukleázu

RT ..... doména kódující reverzní  
transkriptázu

5'UTR ..... netranslatovaná oblast na 5' konci

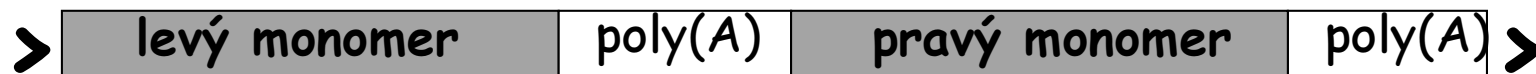
3'UTR ..... netranslatovaná oblast na 3' konci

PPT ..... polypurinový úsek

poly(A) ..... polyadeninový úsek

> ..... přímé repetice

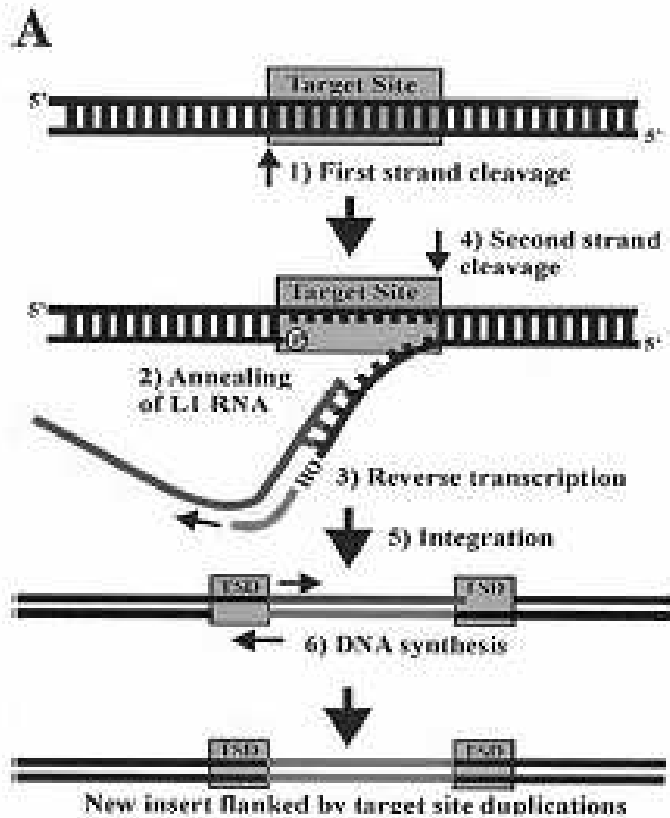
(b) SINE (sekvence Alu):



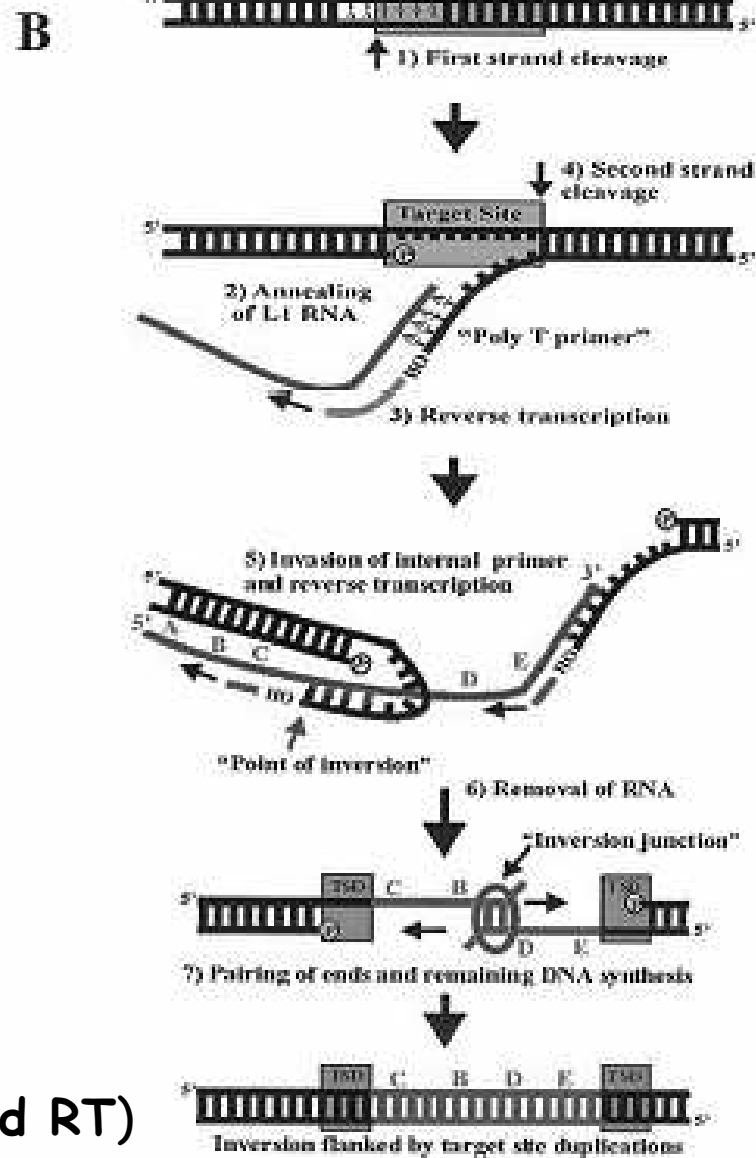
100 bp

# Včleňování LINE elementů

Twin priming:  
mechanismus tvorby inverzí



TPRT (target-primed RT)

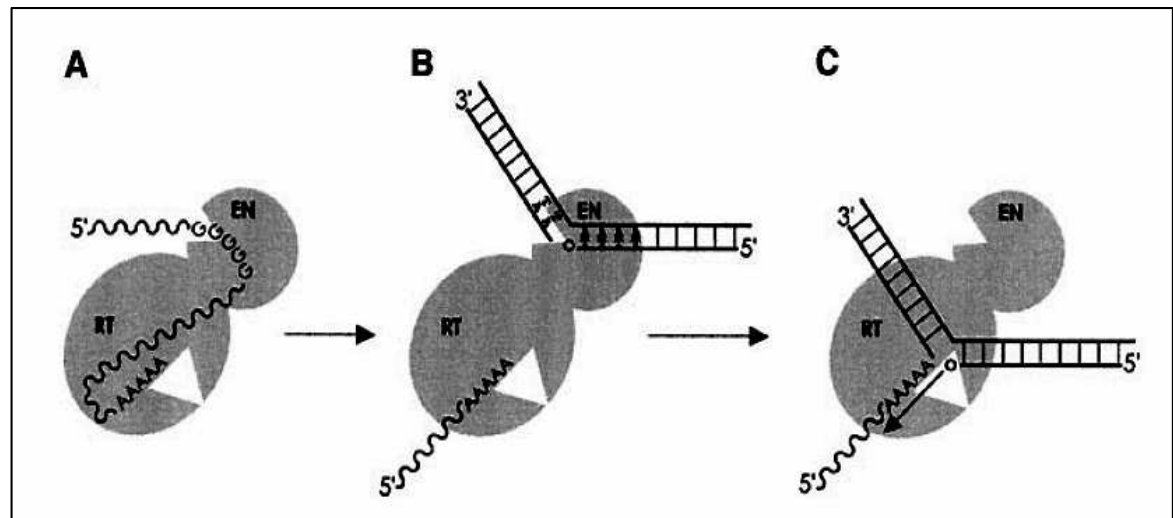




# LINE elementy - významný hráč v genomu člověka

- vliv na velikost genomu u primátů (struktura)
- místa homologií pro genovou konverzi a rekombinaci
- včleňuje se do genu a narušují kódující sekvence, nemoci (funkce)
- přeskupování oblastí, exon shuffling, zkráceny na 5' konci - nedosyntetizovány
- zacelují místa chromosomových zlomů (reparace)
- nedávná aktivita u primátů, rozdíly mezi druhy i uvnitř druhů (evoluce)

Včleňování mechanismem TPRT  
(target primed reverse transcription)



# LINE elementy a inaktivace chromosomu X

- 2x větší hustota LINE-1 (L1) elementů na chromosomu X
- nejvíce v místě centra inaktivace chromosomu X (Xq13-Xq21)
- geny, které unikají inaktivaci (10%) obsahují méně L1 elementů
- L1 slouží k šíření inaktivačního signálu z centra (Xist gen)
- po připojení autosomu ke chromosomu X se signál šíří po autosomu do 100Mb
- přenesení genu Xist na autosom vede k šíření signálu - Xist RNA pokryje i autosom
- L1 jako vazebná místa Xist RNA!!!
- u drozofily za šíření signálu kompenzace dávky genu (zvýšení exprese samčího X) také zodpovídají RNA-proteinové komplexy
- L1 elementy jako zesilovače/přenašeče (booster, way station) šíření inaktivačního signálu
- zejména zvýšená hustota L1 mladších 100 mil let - vznik inaktivace chromosomu X (XCI) v linii savců před oddělením Metatheria a Eutheria

(Lyon 2000, PNAS, Bailey 2000, PNAS)

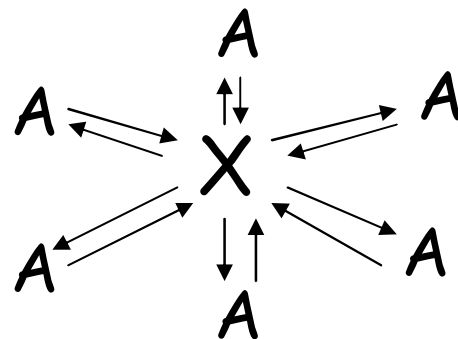
# Chromosom X - křižovatka pohybu genů

## 1. Únik genů z chromosomu X je ovlivněn jeho inaktivací (Xi):

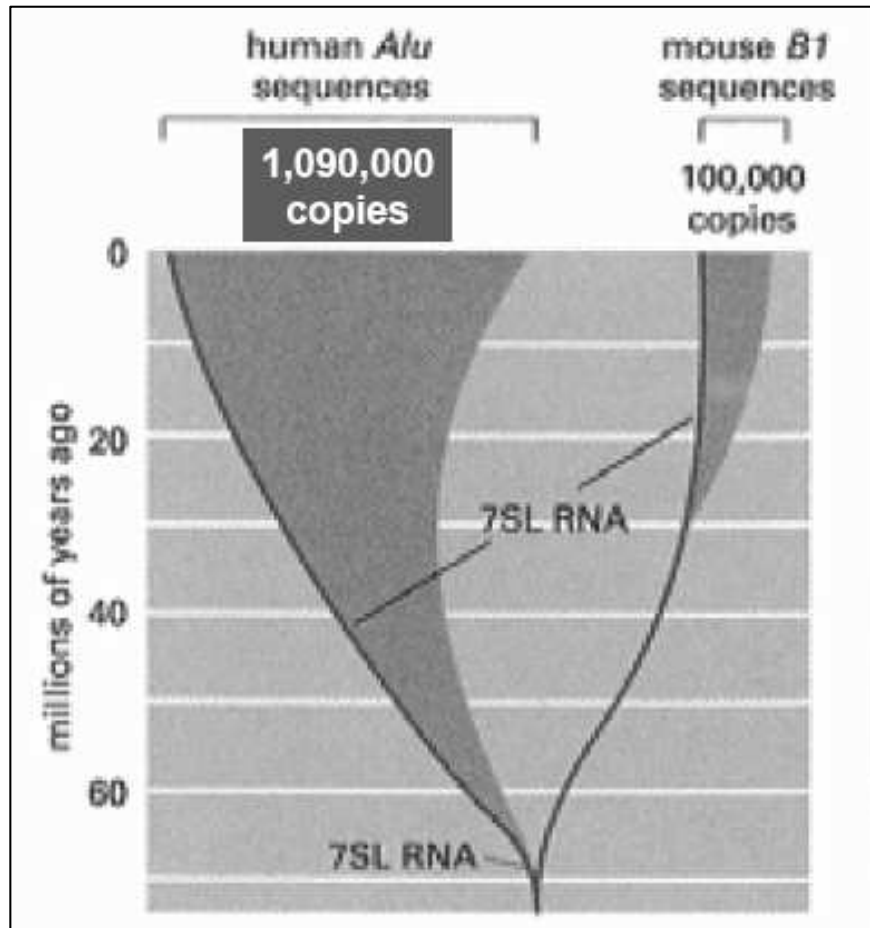
- meiotická inaktivace pohlavních chromosomů (MSCI) - sex chromosomu kondenzovány v samčí meióze, „sex body“, „XY body“, aby nedocházelo k rekombinaci mezi nehomologickými chromosomy, geny na XY tedy transkripčně suprimovány
- proto backup genů na autosomech, přenos retropozicí (compensatory hypothesis)

## 2. Přenos genů na chromosom X:

- přednostní včleňování i selekce
- L1 elementy i retropseudogeny, L1 mašinerie
- recesivní geny výhodné pro samce a dominantní geny výhodné pro samice



# Alu elementy - nejhojnější retroelementy lidského genomu

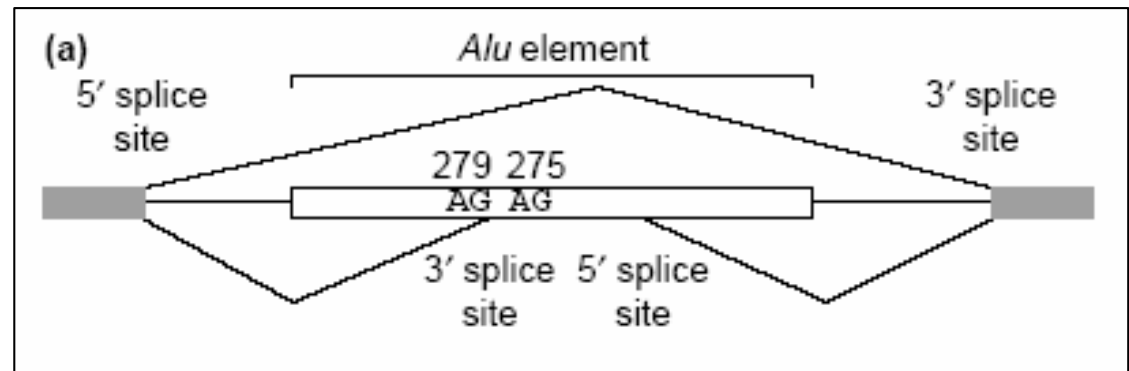


- odvozeny z 7SL RNA genu kódujícího podjednotku signální rozpoznávací částice (přenos proteinů přes membrány a začleňování do membrán)

- Alu inserce - u každého 200 narozeného jedince

# Alu elementy a alternativní sestřih

- Alu elementy tvoří 10% lidského genomu (>1 milion)
- 5% lidských alternativních exonů je odvozeno z Alu elementů



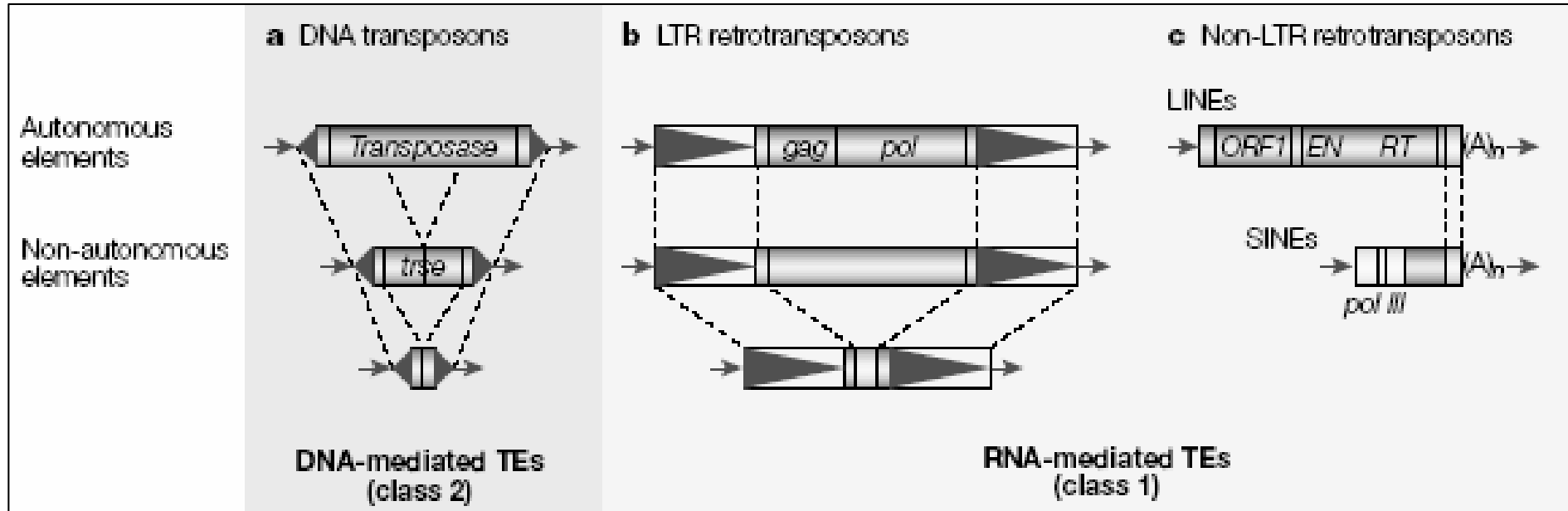
## Alternativní sestřih:

- 40-60% lidských genů má alternativní sestřih
- rozdíl mezi člověkem a myší:
- 30 000 genů, fenotypové rozdíly způsobeny druhově-specifickým alternativním sestřihem
- exony - konstitutivní (konzervativní) a alternativní
- alternativní exony - majoritní a minoritní formy

## Vznik alternativních exonů:

- duplikace exonů,
- inserce transposonu nebo retroviru,
- mutace existující intronové sekvence,
- z Alu elementů (5% lidských alternativních exonů)

# Paraziti parazitů: Neautonomní elementy tvoří většinu. Balancovaná rovnováha

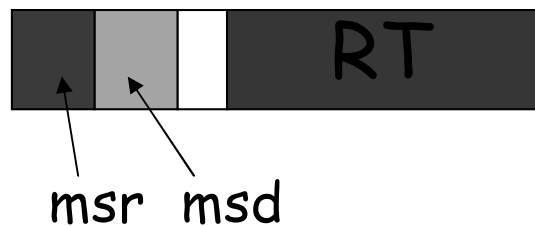


**Vybalancovaná rovnováha mezi autonomními (A) a neautonomními (N) elementy:**

- přílišná úspěšnost neautonomních vede k záhubě
- titrace transpozázy neautonomními vede k omezením aktivity
- inhibice nadprodukcí
- koevoluce A a N řízena kompeticí o RT
- koevoluce endogenních a exogenních retrovirů - rezistence k infekci
- další mechanismy restrikce: metylace a heterochromatinizace

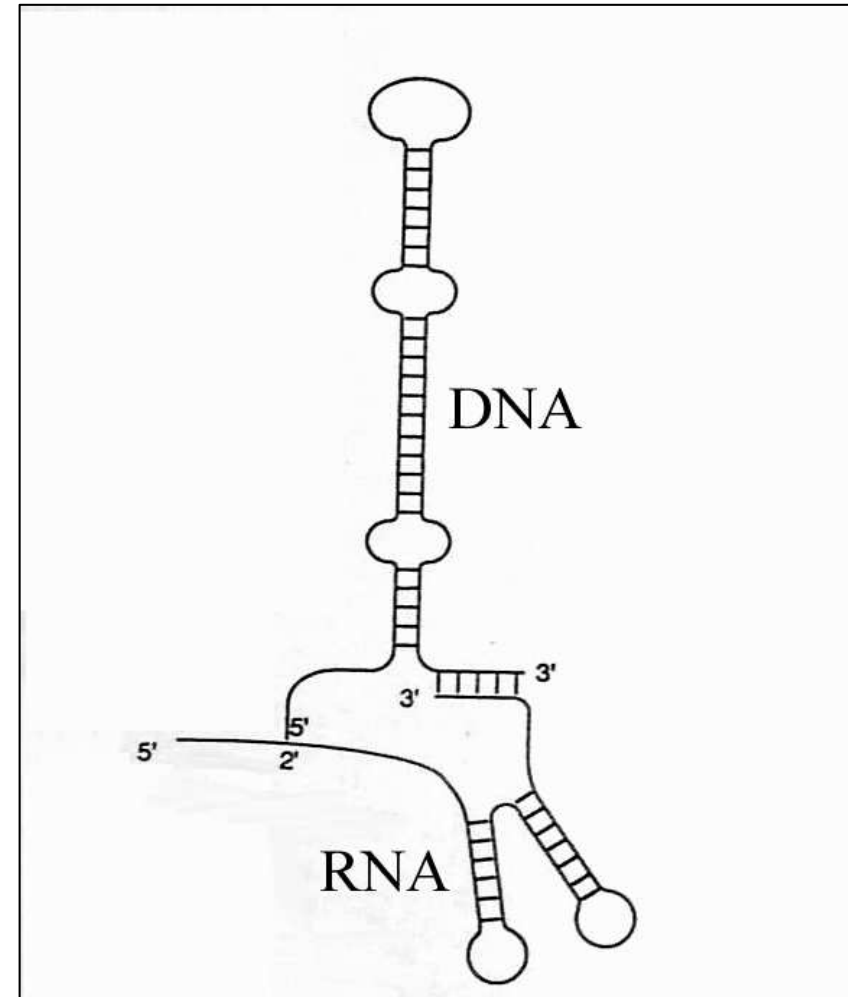
# Retrony - primitivní retroelementy bakterií

(a) retron:



msr ... gen kódující RNA složku  
msd ... gen kódující DNA složku  
RT ..... gen pro reverzní transkriptázu

(b) msDNA:



# Retroelementy prokaryot jsou starobylé

1. Kódují jediný RT protein s jedinou enzymatickou aktivitou. Ostatní aktivity (proteáza, integráza, endonukleáza) u retrotransposonů a retrovirů byly získány od hostitele (jako onkogeny retrovirů)
2. RT prokaryot provádí syntézu nezávislou na primeru podobně jako RNA polymeráza (předchůdce RT)
3. Prokaryotické RT jsou podobné RdRP (RNA-directed RNA polymerase), RT eukaryotických retroelementů jsou méně příbuzné
4. Telomeráza (starobylý eukaryotický enzym) je podobná prokaryotickým RT a RT retroposonů

## Typy prokaryotických retroelementů:

1. Retrony
2. Retroplasmidy
3. Retrointrony (introny II. skupiny)



# Další primitivní retroelementy

## 1. Mitochondriální (retro)plazmidy:

dsDNA plazmidy, v mitochondriích hub, kódují RT, replikace procesem transkripce-reverzní transkripce, homologie s tRNA, sekundární struktury na 3'konci, hairpiny

## 2. Introny II. skupiny:

u bakterií a v organelách hub, řas a rostlin, kódují RT, samosestřih, „reverzní sestřih“ do RNA bez intronu a reverzní transkripce

## 3. Telomery:

u eukaryot, kompenzace zkracování chromozomů, telomeráza - homologie s RT, vlastní RNA templát

1. Úvod

2. Základní typy retroelementů

3. Původ a evoluce retroelementů

4. Funkce retroelementů

# Původ a evoluce retroelementů

## 1. Původní genomy byly tvořeny molekulami RNA

- myšlenka RNA jako předchůdce DNA (Crick, 1968)
- všudypřítomnost RNA (viz Relikty světa RNA)
- objev ribozymu (Cech, 1986) - uložení i realizace informace
- reverzní transkriptáza (Temin, 1970), homologie s RNA replikázami a telomerázami
- všudypřítomnost retroelementů, různá struktura a mechanismus replikace, tRNA a sekundární struktury při převedení informace z RNA do proteinů i do DNA

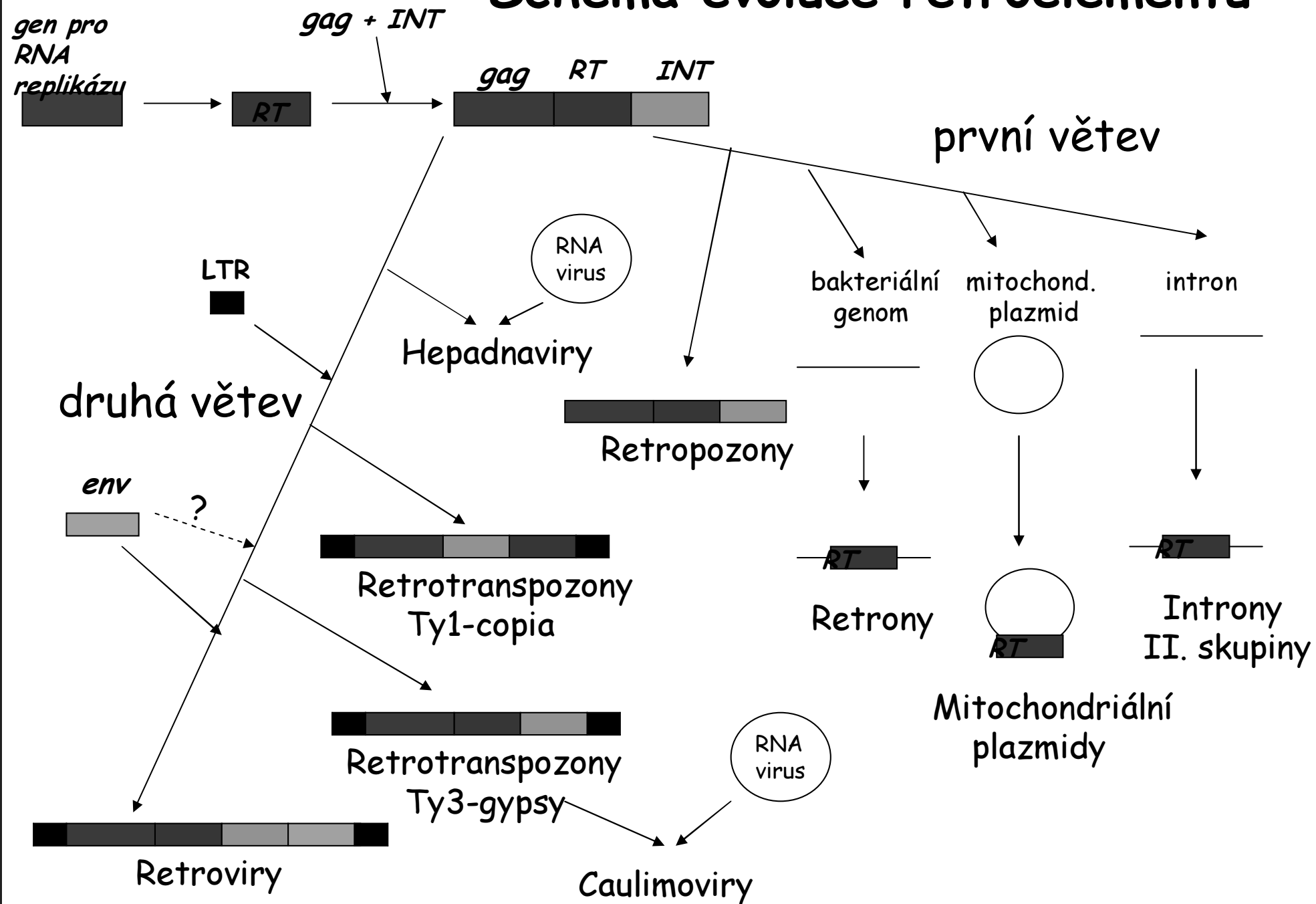
## 2. Hledání společného předka všech retroelementů

- příbuznost retroelementů, evoluční strom
- progenitor - jednoduchá struktura a všudypřítomnost
- dvě alternativní hypotézy:
  - (a) retrony (nejjednodušší, codon usage - včleněny dávno)
  - (b) retropozony (největší diverzita sekvencí RT, všudypřítomné)

## 3. Dvě hlavní evoluční větve retroelementů (OBR)

- první větev: retroelementy bez LTR, jednodušší struktura
- druhá větev: retroelementy s LTR, složitější struktura, příbuznější jsou retroviry, Ty3-gypsy a caulimoviry, vzdálenější jsou Ty1-copia a hepadnaviry

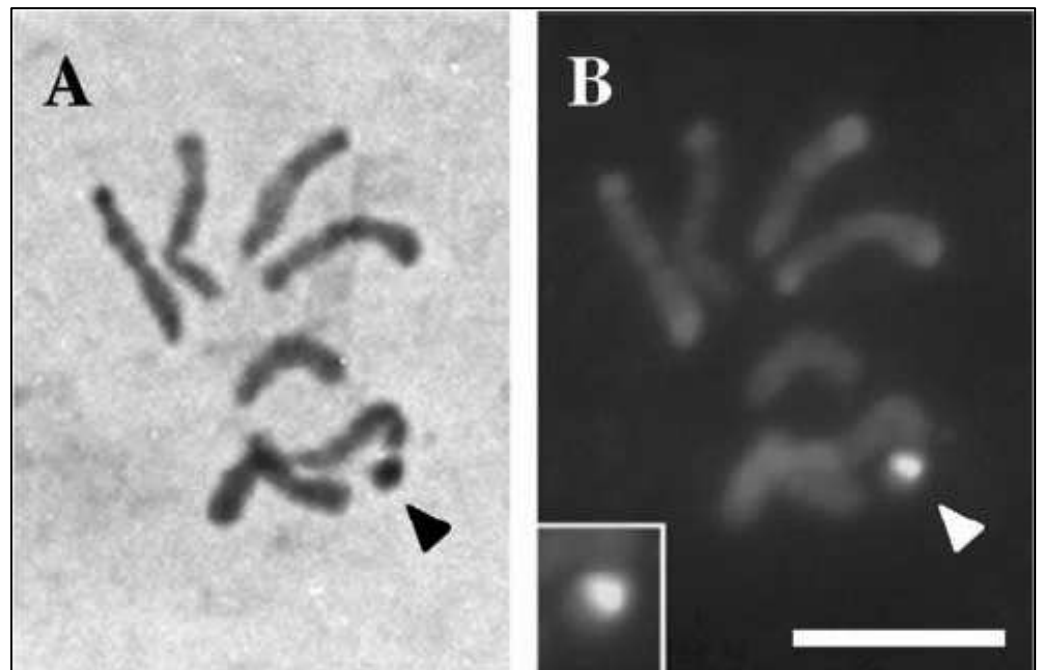
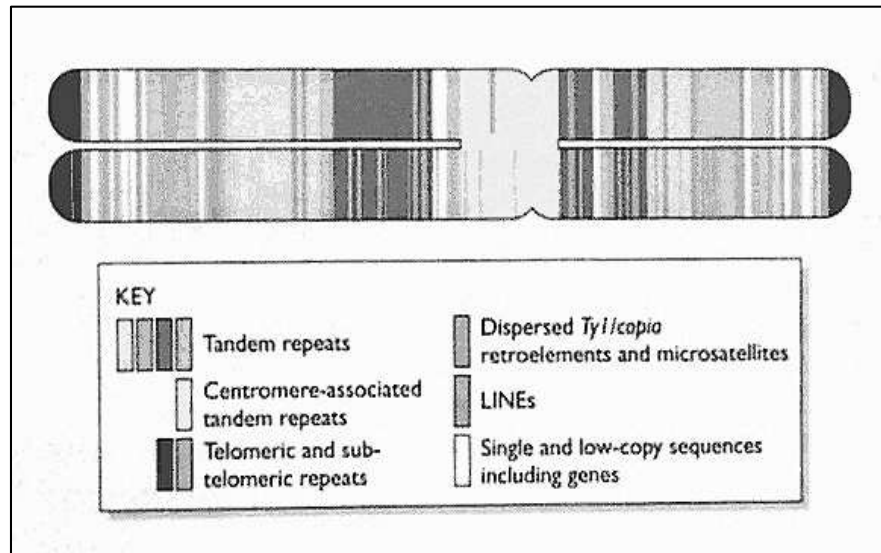
# Schéma evoluce retroelementů



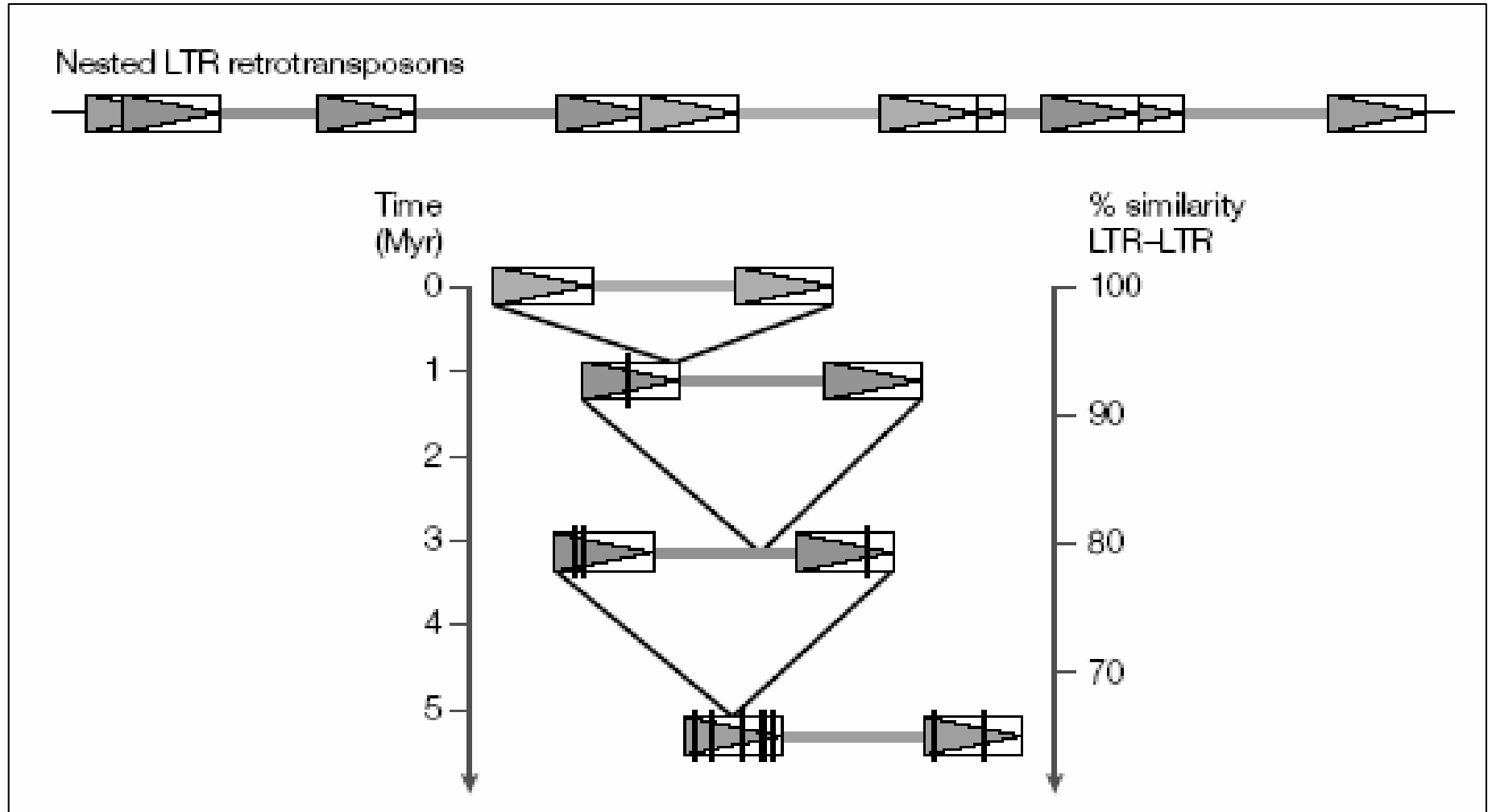
# Chromozomální distribuce retroelementů

- výskyt na všech chromozomech (hybridizace *in situ*)
- místa s vyšší koncentrací retroelementů i bez retroelementů
- retroelementy v heterochromatinu i euchromatinu, hřbitovy RE
- sex chromozomy - akumulace na chromozomu Y u *D. miranda*, *Cannabis sativa*, *Marchantia polymorpha*
- naše experimenty: Dochází k akumulaci retroelementů na Y chromozomu u *S. latifolia* (FISH)?

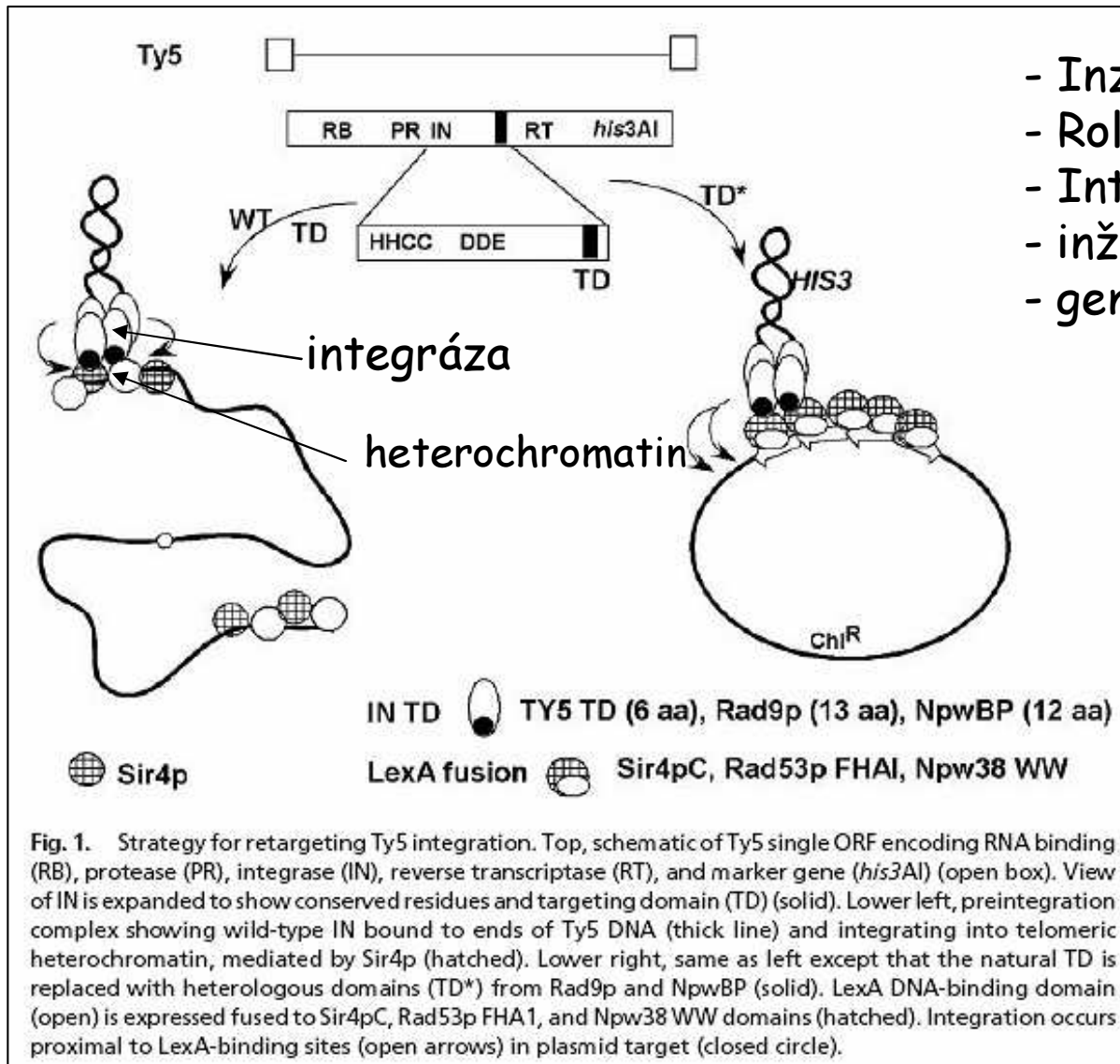
*Marchantia polymorpha*



# Inzerce retroelementů do již existujících retroelementů



# Inzerční specifita a inserce retroelementů do heterochromatinu

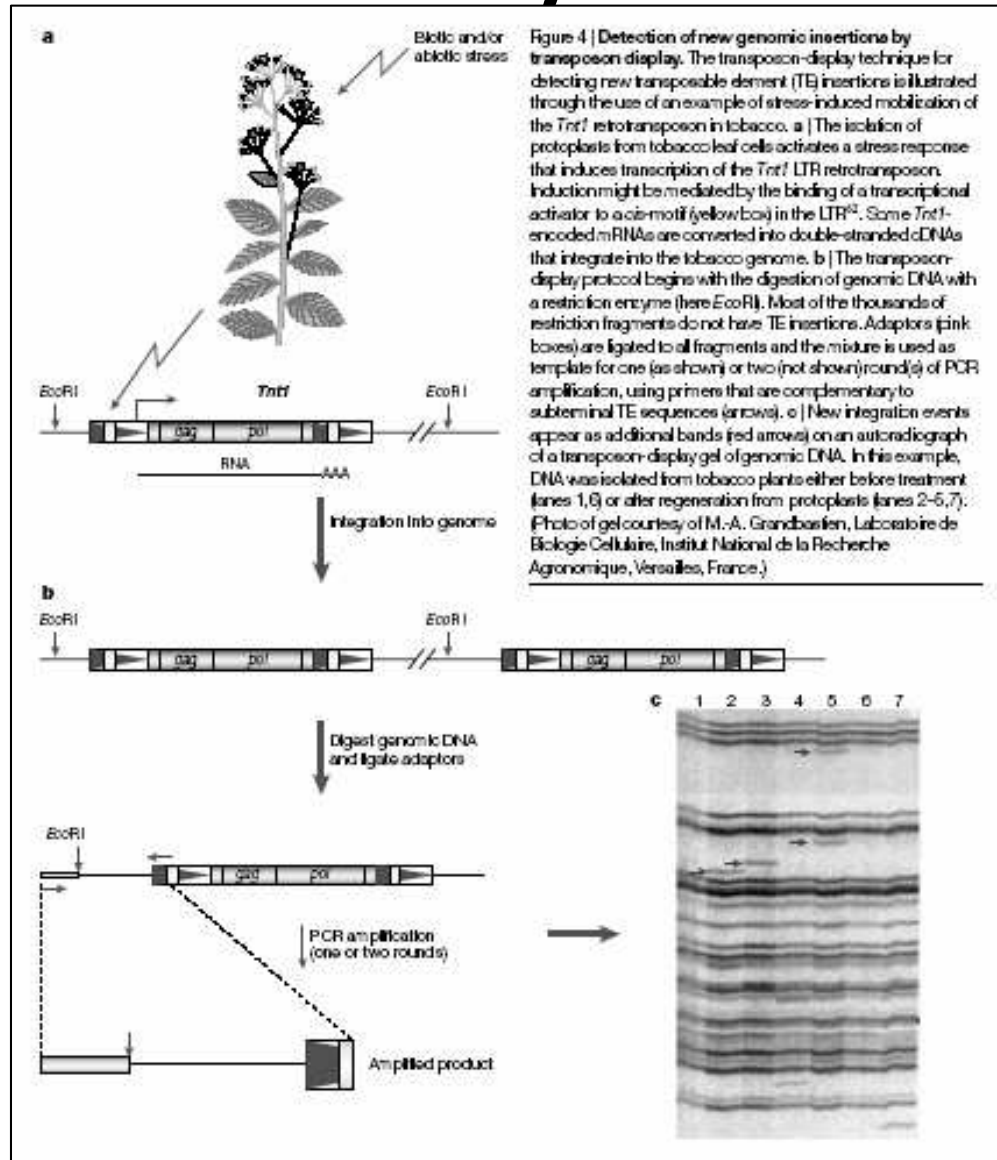


- Inzerce není náhodná (retroviry)
- Role IN - targeted domain (TD)
- Interakce s proteiny chromatinu
- inženýrství (nové specifity)
- genová terapie

(Voytas lab)



# Metoda „transposon display“ - detekce nových inzercí transposonů



- Indukce transpozice stresem
- Štěpení genomické DNA
- PCR okolní oblasti
- Nové bandy

1. Úvod

2. Základní typy retroelementů

3. Původ a evoluce retroelementů

4. Funkce retroelementů

# Funkce retroelementů

## 1. Koadaptace retroelementů a hostitele

- alternativní hypotézy - parazité x významný činitel v evoluci, slučitelnost hypotéz, koadaptace, vliv na hostitele
- pravidlo 3K: konflikt-kompromis-kooperace (ekologie genomu)
- Mutabilita - stochastické ale regulované
- místo inzerce retroelementu do genomu - exony, introny, regulační sekvence, LTR, RE, sekvenční specificita
- regulace počtu kopií retroelementů v genomu - obranné mechanismy hostitele, metylace, rekombinace,

## 2. Negativní vliv retroelementů na hostitele

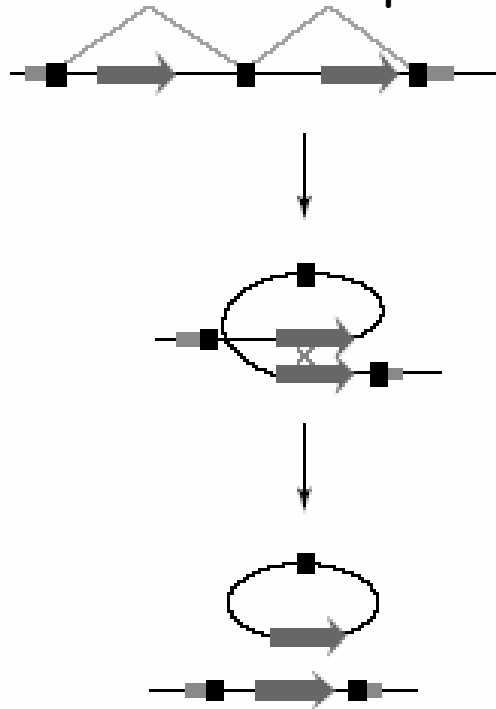
- sobecká a parazitická DNA
- choroby (hemofilie, rakovina), L1, Alu
- příčinou inzerce nebo rekombinace (mezi Alu)

## 3. Pozitivní vliv retroelementů na hostitele

- přestavby genomu, rekombinace
- duplikace, genové rodiny, vznik nových genů (SETMAR aj.)
- telomery drozofily
- imunitní systém

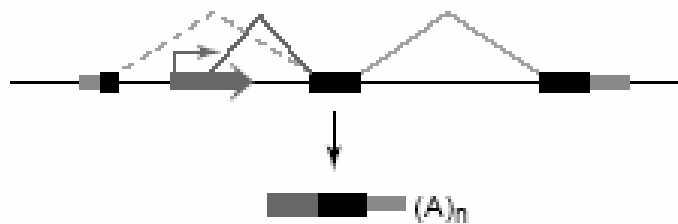
# Poškození genomu transposony

(a) Rekombinační přestavby

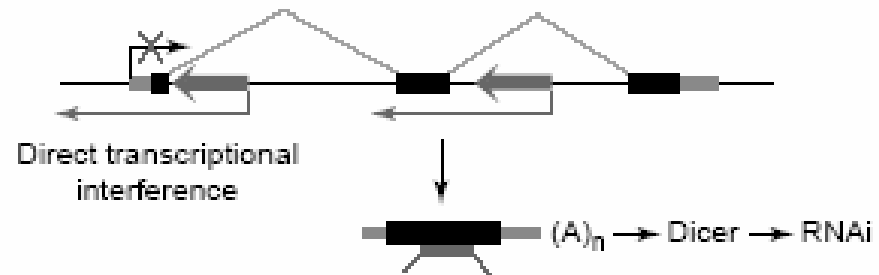


Chimerická mRNA

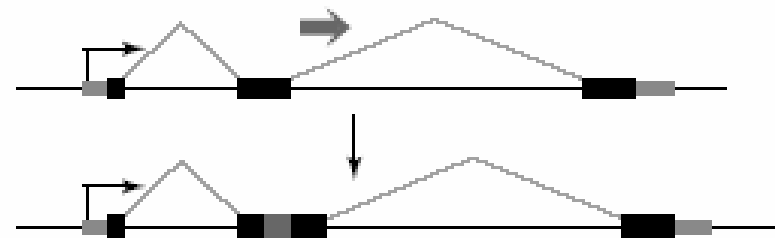
(b)



(c) Antisense RNA

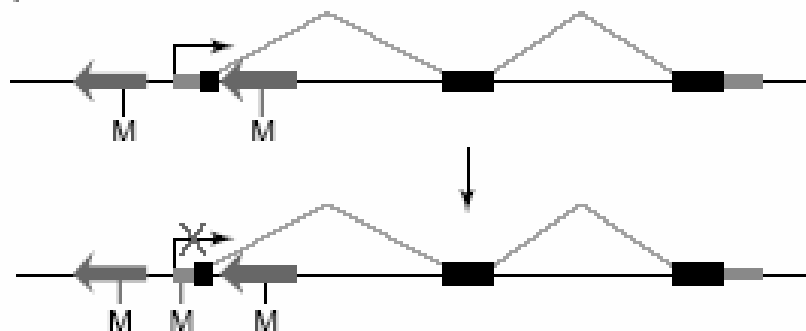


(d) Inzerční mutagenéze



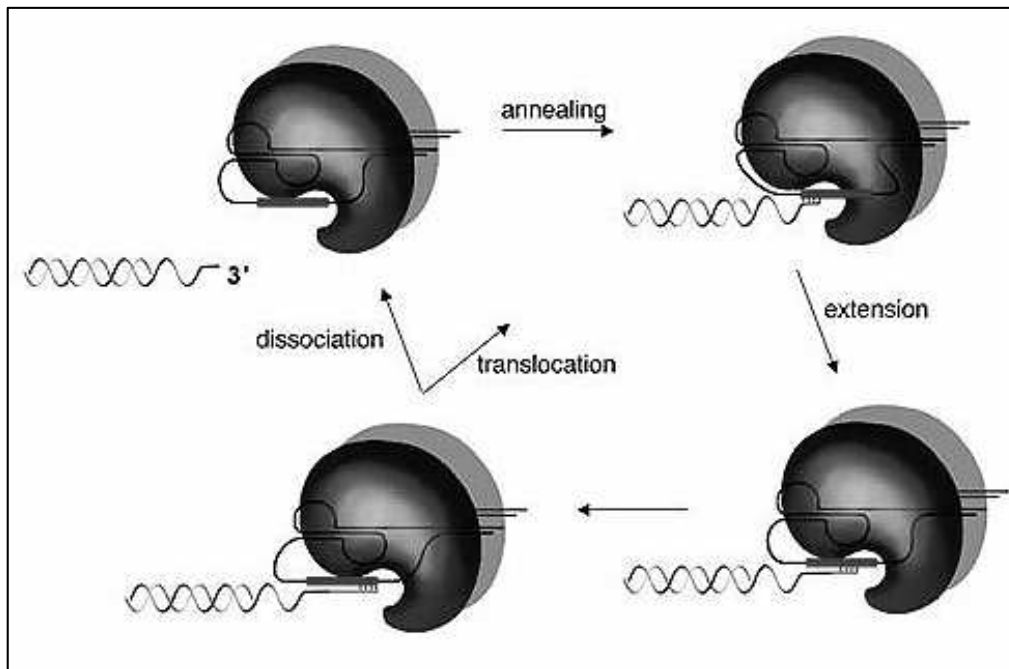
(e) Umlčení způsobené metylací

(e)



# Retrotransposony mohou nahradit telomery u drozofily

- Het-A a TART retrotransposony u drozofily
- stále trvající přechod ze světa RNA do DNA,
- TE jako „genome builders“
- L1 RT tvoří cDNA sekvenčně nespecificky i z buněčných genů
- L1 zaceluje zlomy v DNA



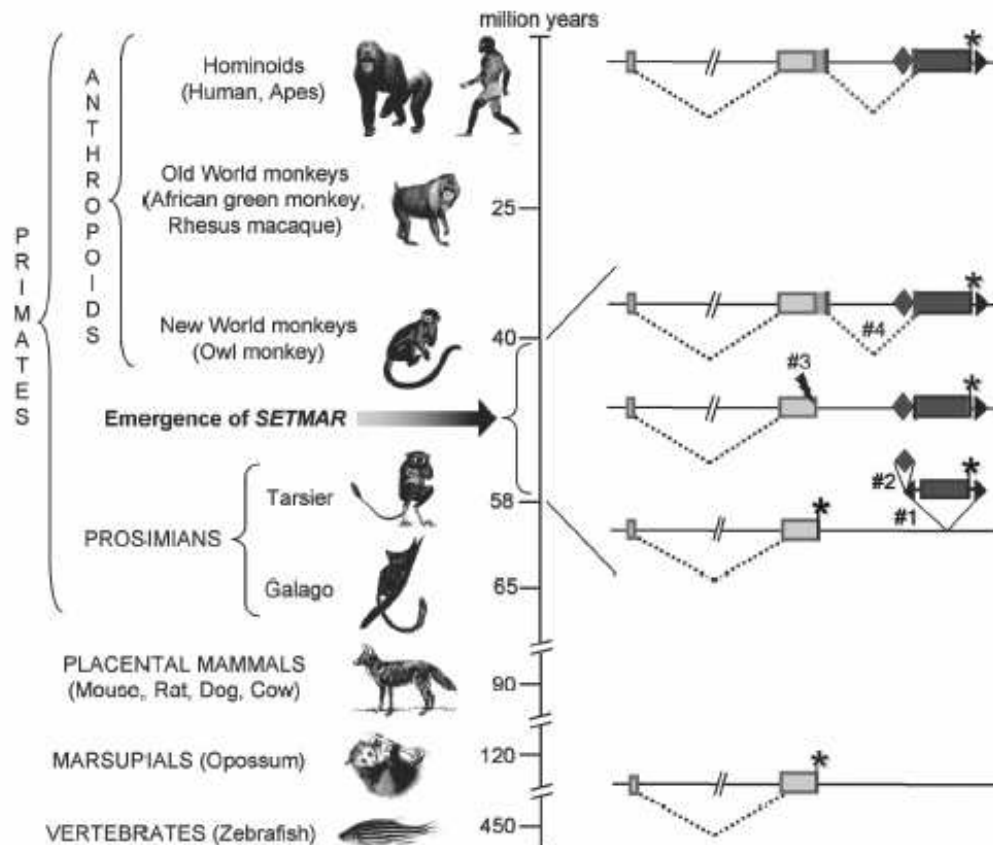
- homologie mezi RT a telomerázou

(Science 276, 561, 1997)

# Původ genu SETMAR - „recyklace“ transposonu

Birth of a chimeric primate gene by capture of the transposase gene from a mobile element

Richard Cordaux\*, Swalpa Udit†, Mark A. Batzer\*, and Cédric Feschotte†\*



Histon  
metyltransferáza +  
transpozáza

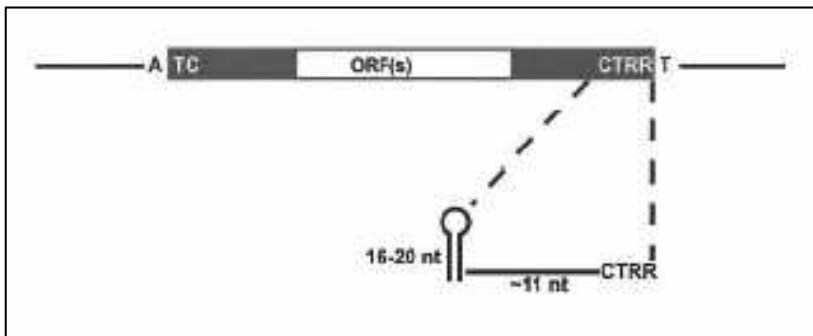
Exonizace  
nekódující sekvence  
a vznik intronu

50 mil let

Fig. 1. Milestones leading to the birth of *SETMAR*. The structure of the *SETMAR* locus (Right) and a simplified chronology of the divergence time of the species examined relative to hominoid primates (Left) are shown. Pink boxes represent the two *SET* exons, which are separated by a single intron (interrupted black line) and form a “*SET*-only” gene whose structure is conserved in all nonanthropoid species examined and terminated with a stop codon (\*) located at a homologous position (except in cow; see Fig. 2a). The *Hsmar1* transposon (event 1) was inserted in the primate lineage, after the split between tarsier and anthropoids, but before the divergence of extant anthropoid lineages. The transposon is shown here with its TIRs (black triangles) and transposase coding sequence (red box). The secondary *Alu5x* insertion within the TIR of *Hsmar1* (event 2) is represented as a blue diamond. The position of the deletion removing the stop codon of the “*SET*-only” gene (event 3) is indicated as a lightning bolt. The *de novo* conversion from noncoding to exonic sequence is shown in green, the creation of the second intron is represented as a dashed blue line (event 4), and the splice sites are shown as thick blue lines.

# Helitrony - nedávno objevené transposony využívající mechanismus otáčející se kružnice

- replikace mechanismem otáčivé kružnice (RC, podobně jako plazmidy, jednořetězcové fágy, rostlinné geminiviry)
- výskyt u eukaryot - 2% genomu *A. thaliana*, *C. elegans*, také v *Oryza sativa*
- nedělají duplikaci cílové sekvence (TSD)
- cílená inserce do AT dinukleotidu
- začínají 3'-AT a končí CTRR-5', nemají TIR
- konzervace palindromu před 3'CTRR (sekvence není konzervativní)
- většina elementů je neautonomní (0.5-3kb)
- méně hojné dlouhé Helitrony (5.5-15kb)
- kódující proteiny pro RC replikaci: helikázu (HEL), nukleázu/ligázu a proteiny vážící jednořetězcovou DNA (RPA)
- mechanismus tvorby neautonomních elementů nejasný
- Helitrony jako evoluční spojovník mezi prokaryotickými RC elementy a geminiviry (potomci geminivirů integrovaných do genomů časných eukaryot)





# Helitrony putují po genomu a sbírají geny

www.nature.com/hdy

## NEWS AND COMMENTARY

Plant genomes

### Massive changes of the maize genome are caused by *Helitrons*

SK Lal and LC Hannah

*Heredity* (2005) **95**, 421–422. doi:10.1038/sj.hdy.6800764; published online 12 October 2005

## Rolling-circle transposons in eukaryotes

Vladimir V. Kapitonov\* and Jerzy Jurka

Genetic Information Research Institute, 2081 Landings Drive, Mountain View, CA 94043

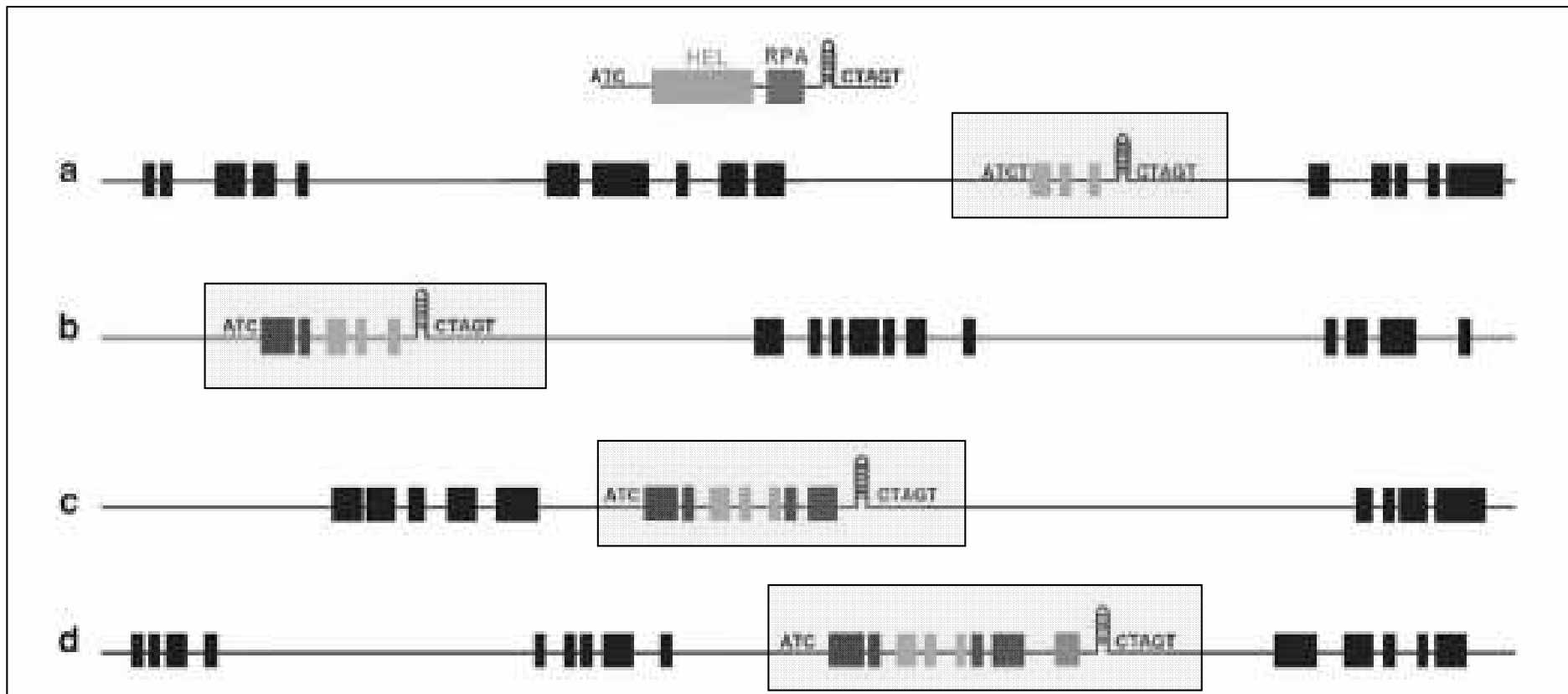
Communicated by Margaret G. Kidwell, University of Arizona, Tucson, AZ, May 29, 2001 (received for review April 10, 2001)

All eukaryotic DNA transposons reported so far belong to a single category of elements transposed by the so-called “cut-and-paste” mechanism. Here, we report a previously unknown category of eukaryotic DNA transposons, *Helitron*, which transpose by rolling-circle replication. Autonomous *Helitrons* encode a 5'-to-3' DNA helicase and nuclease/ligase similar to those encoded by known rolling-circle replicons. *Helitron*-like transposons have conservative 5'-TC and CTRR-3' termini and do not have terminal inverted repeats. They contain 16- to 20-bp hairpins separated by 10–12 nucleotides from the 3'-end and transpose precisely between the 5'-A and T-3', with no modifications of the AT target sites. Together with their multiple diverged nonautonomous descendants, *Helitrons* constitute ~2% of both the *Arabidopsis thaliana* and *Caenorhabditis elegans* genomes and also colonize the *Oryza sativa* genome. Sequence conservation suggests that *Helitrons* continue to be transposed.

and best illustrated by a recent study of *Sleeping Beauty*, a Tc1-like transposon from fish (13), reconstructed from its inactive copies and demonstrated to be transpositionally active in a test tube. Another much more ancient example is a PiggyBac-like DNA transposon, *Looper*, discovered in the human genome [V.V.K. and J.J., *Rebase Update* (1998) www.girinst.org/Rebase.Update.html], whose consensus sequence is based on a multiple alignment of the inactive copies, which are ~100 million years old. All genomic copies of *Looper* are mutated to the extent that no traces of its transposase could be detected at the sequence level. However, the transposase re-emerged from the virtual background noise after reconstructing the consensus sequence.

#### Materials and Methods

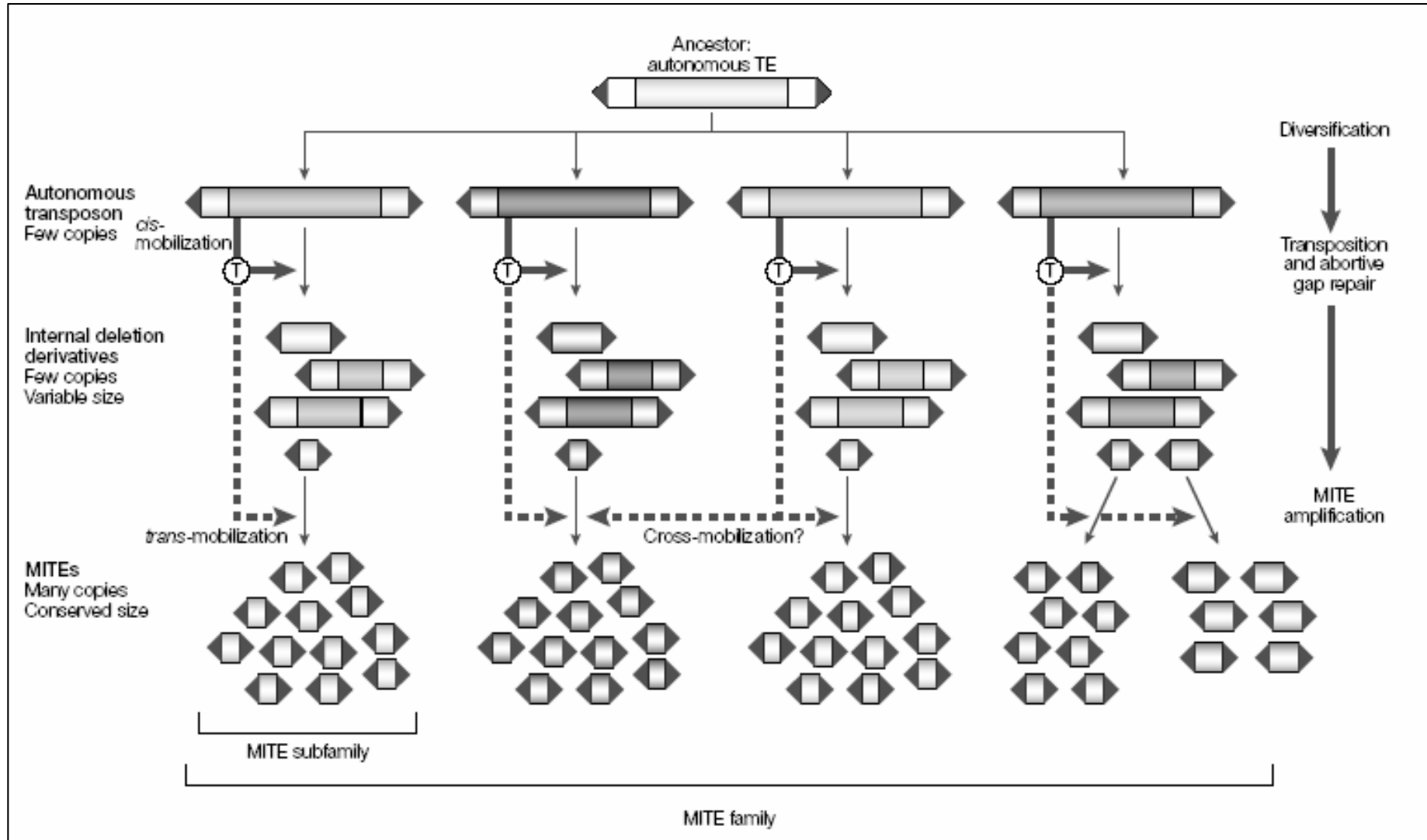
**Computational Analysis.** TEs reported in the manuscript were identified by running DNA sequences of prospective TEs against



# MITE elements

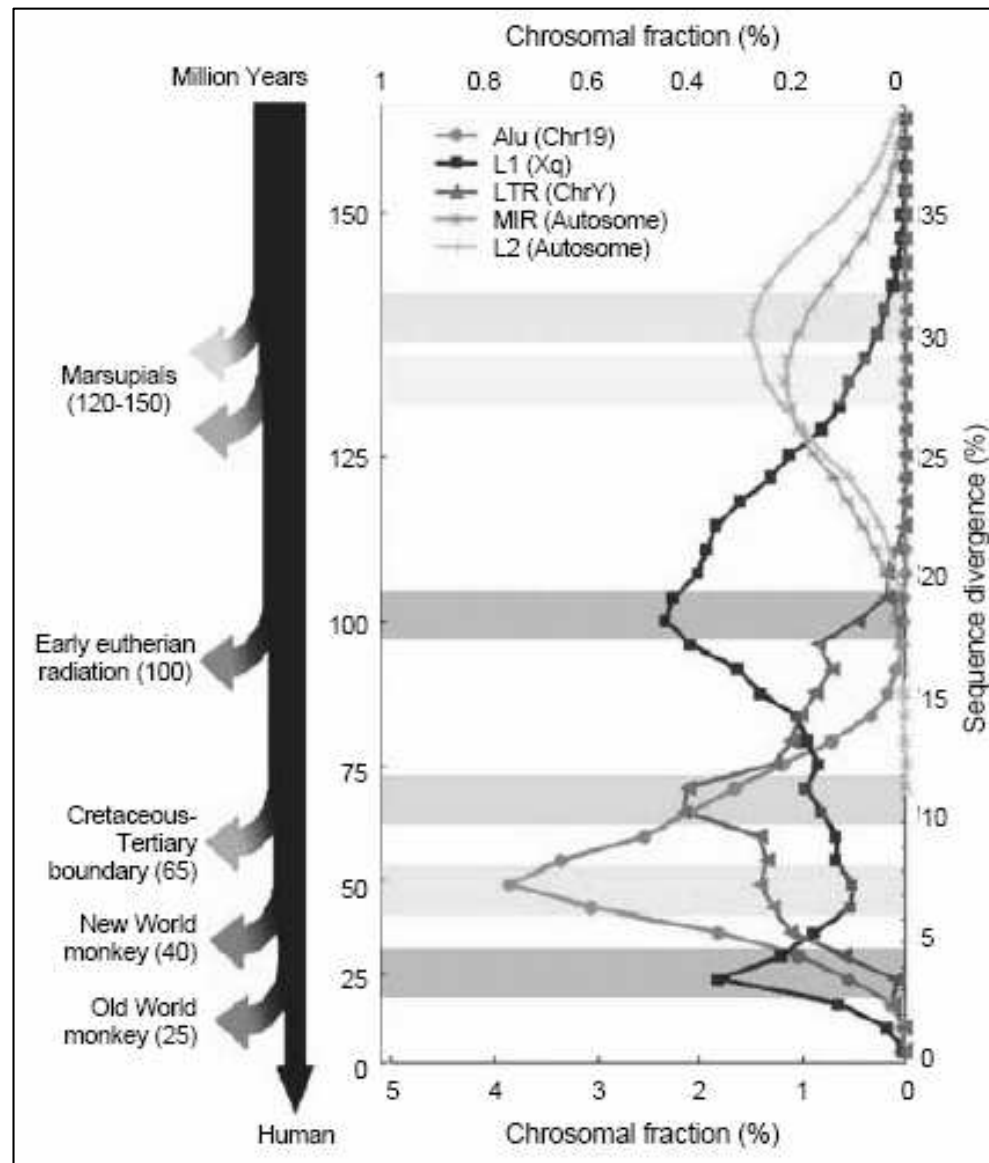
- rostlinné ekvivalenty lidských Alu
- neautonomní elementy (master = DNA TE Mariner)
- malá velikost: 125 - 500bp
- obrácené koncové repetice (TIR) - konzervativní 10-15 bp
- AT-bohaté (~72% *Stowaway*)
- tvoří sekundární struktury DNA (hairpins)
- preference cílového místa - TA(A)
- asociace s geny - v intronech, poblíž 5' nebo 3' konců genů
- rodiny:
  - *Stowaway* (jednoděložné, dvouděložné, živočichové)
  - *Tourist* (trávy)
  - *Emigrant, Alien, Heartbreaker, Bigfoot, ...* (rostliny)

# MITE elementy



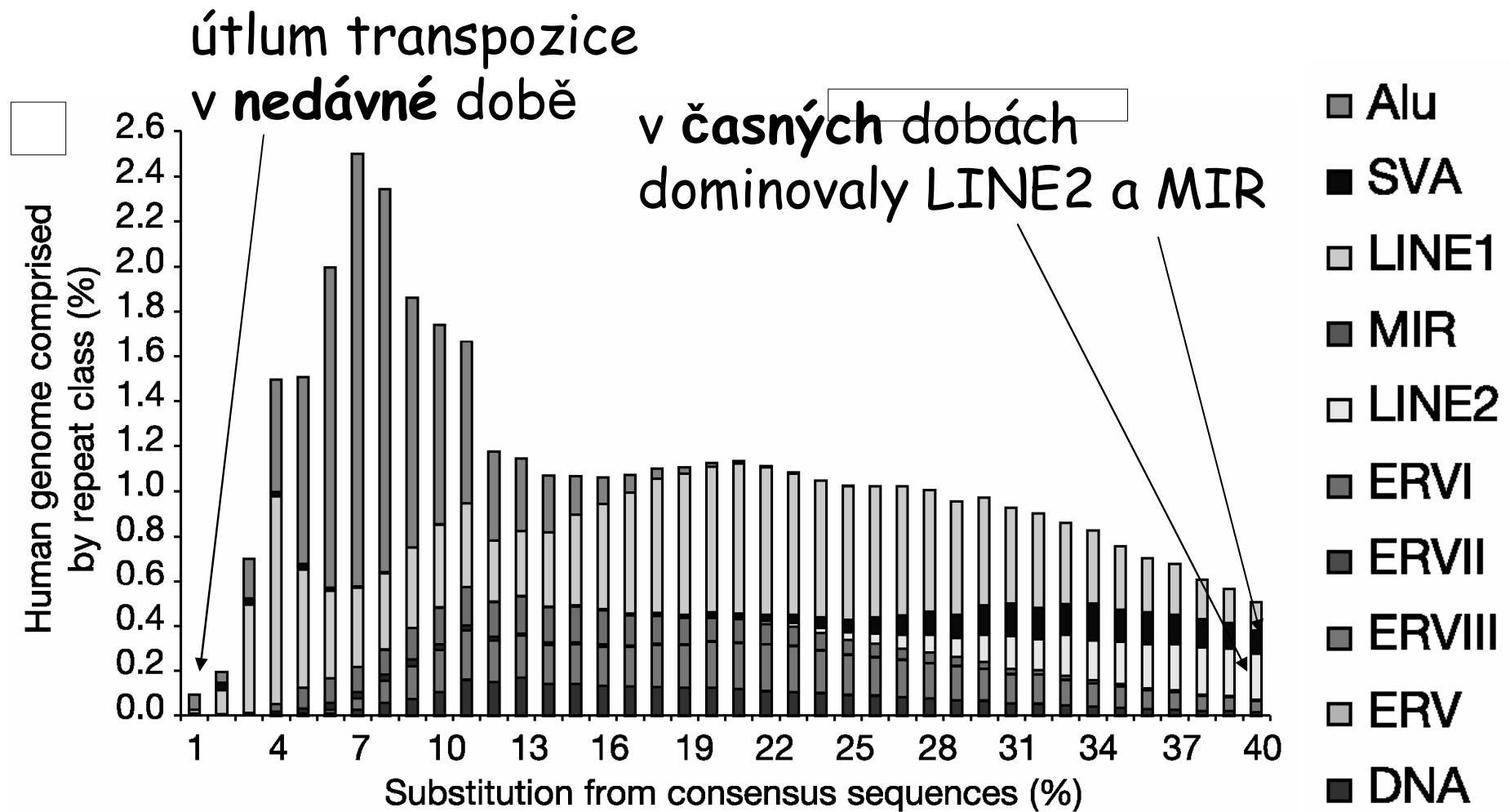
**EXPLOSIVNÍ AMPLIFIKACE  
TRANSPOSONŮ V EVOLUCI  
HOMINIDŮ**

# Korelace mezi expanzemi transposonů a oddělováním větví savců

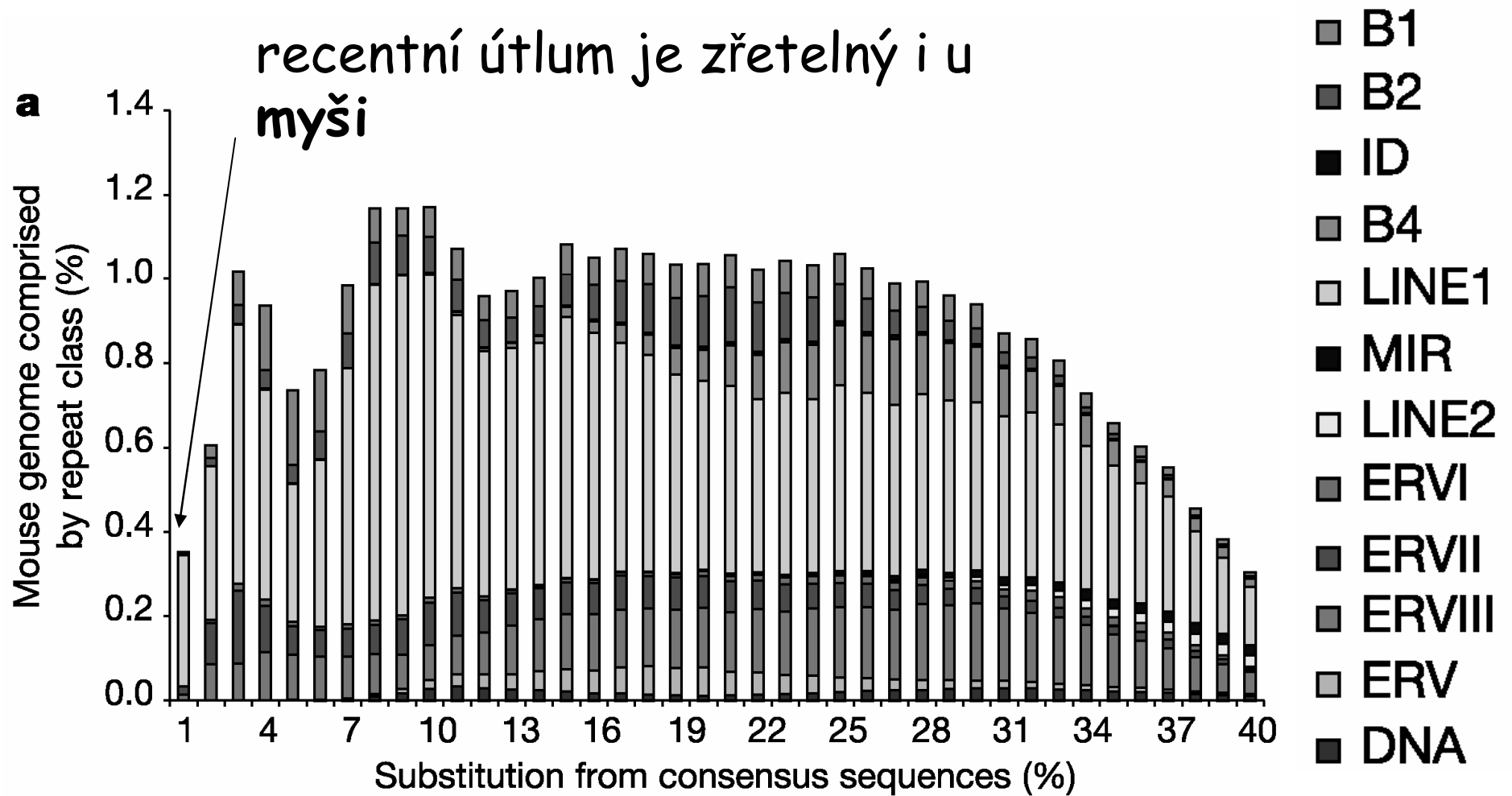




# Korelace mezi expanzemi transposonů a oddělováním větví savců

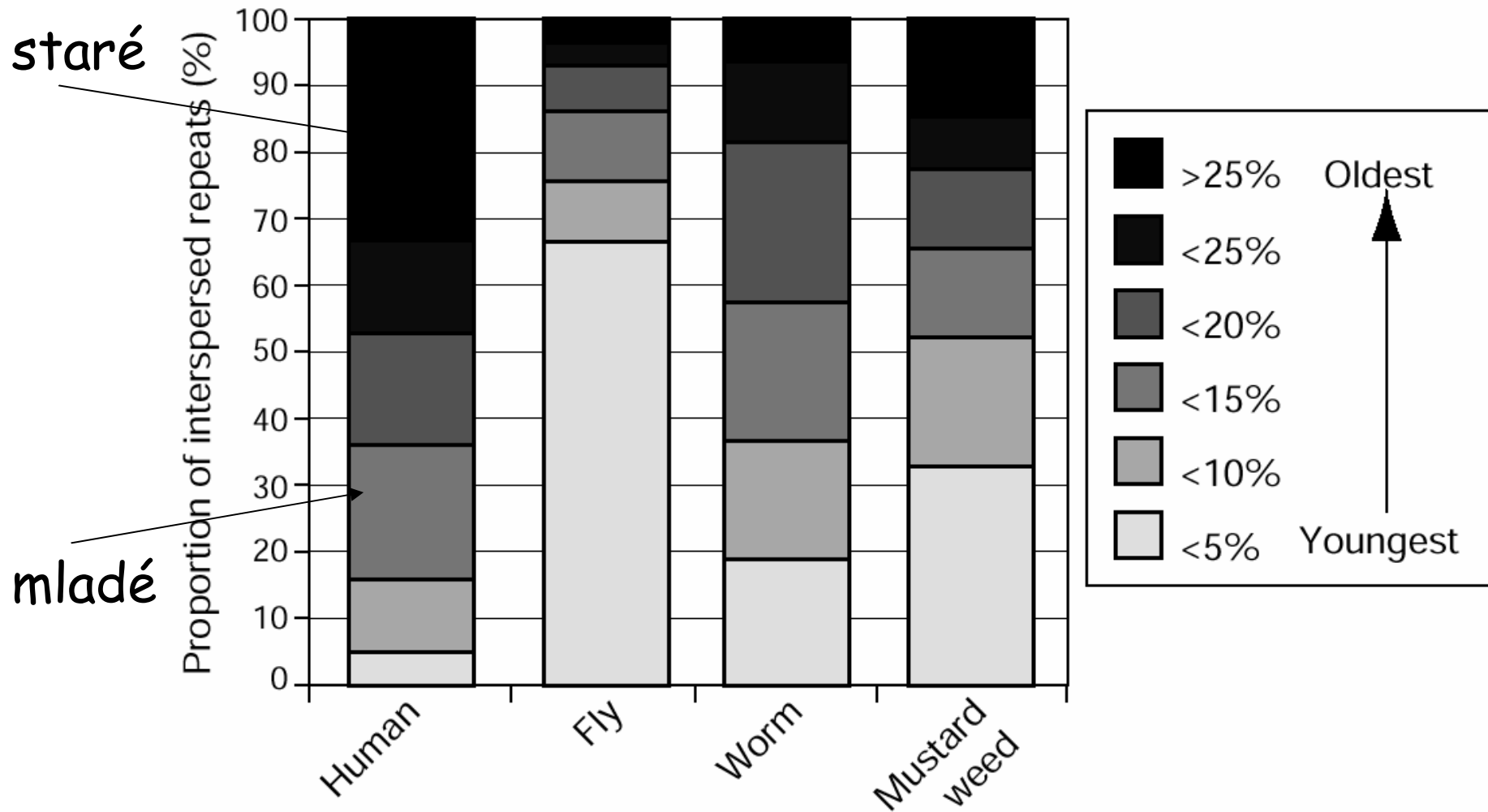


# Dynamika transposonů v evoluci myši





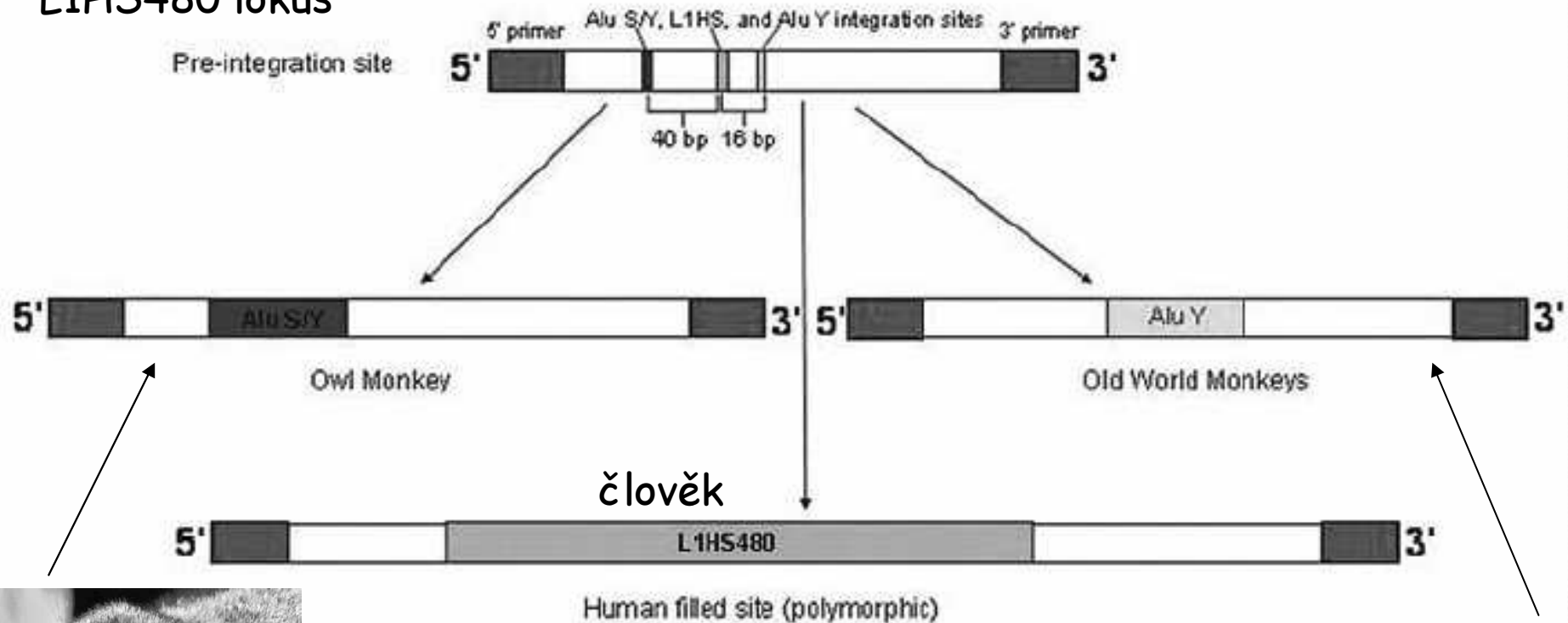
# Lidský genom je plný starých transposonů zatímco transposony v jiných genomech jsou mladší



Srovnání stáří transpozónů v eukaryotických genomech

# Různá místa včlenění retroelementů u různých větví primátů

L1HS480 lokus



lemuři

## Retroviry PTERV1:

- u Afrických (šimpanz a gorila)
- chybí u člověka a Asijských (orangutan, gibbon)

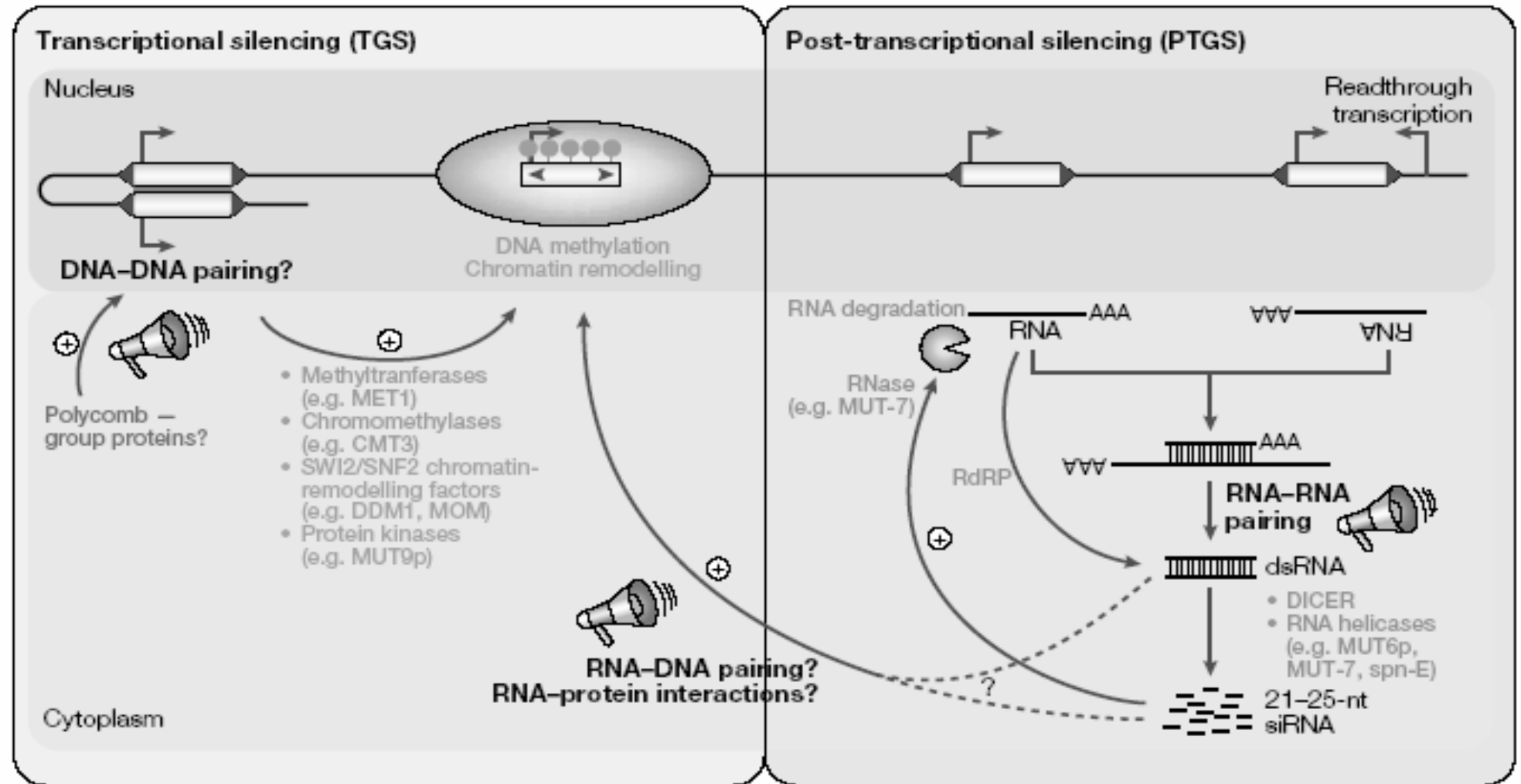




# UMLČOVÁNÍ TRANSPOSONŮ

Metylace DNA  
Metylace histonu H3 (lyzin 9)  
Deacetylace histonů  
RNA interference

# Umlčování transposonů: transkripční i posttranskripční (metylace a RNAi)

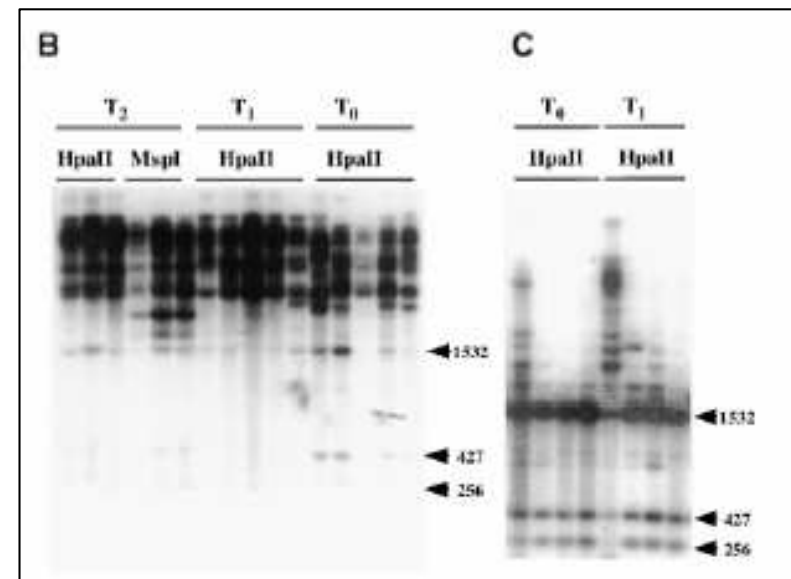
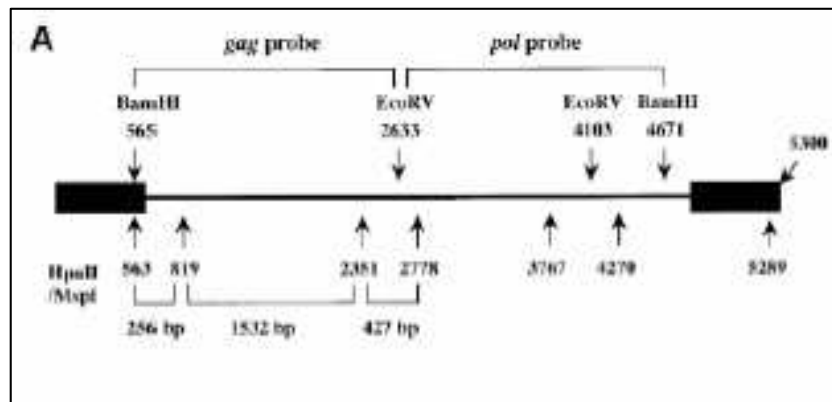


Transkripční umlčování - metylace promotorů TE

Posttranskripční umlčování - sekvenčně specifická degradace RNA v cytoplasmě

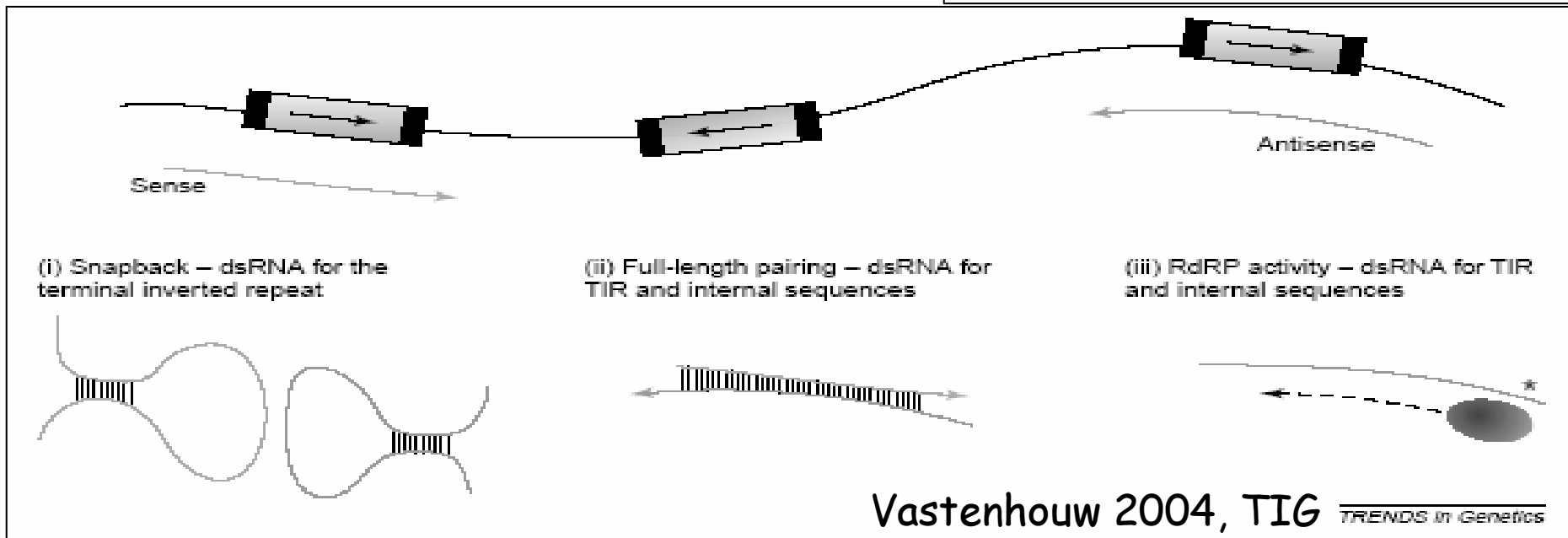
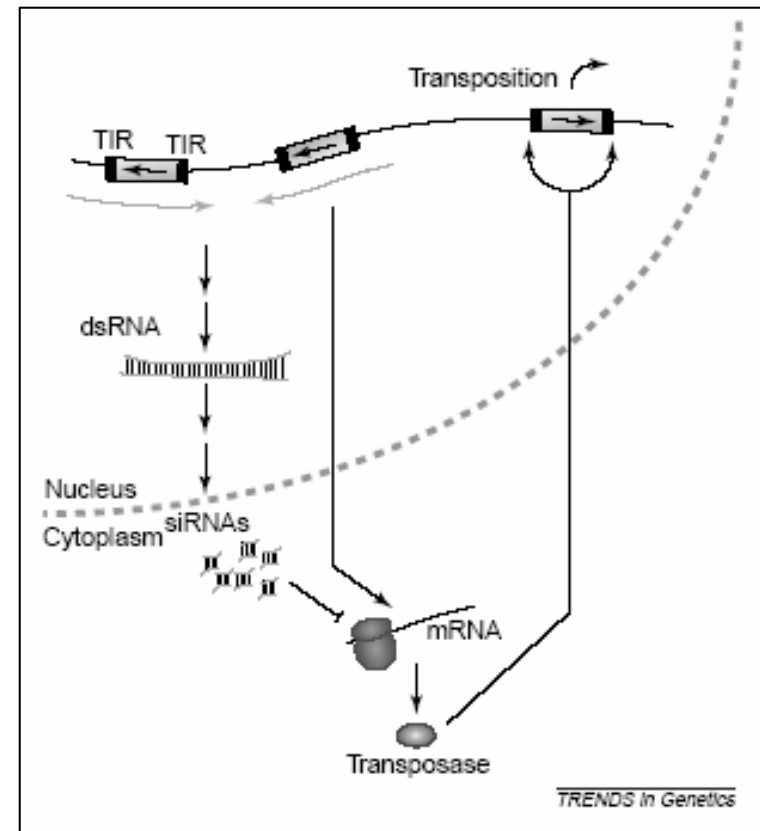
# Umlčování transposonů metylací a reaktivace jejich aktivity u mutanta se sníženou metylací DNA:

- Aktivní retrotransposon *Tto1* vnesen z tabáku do *Arabidopsis*
- Ověřena transpozice (obnovení delece v LTR)
- Zvýšení počtu kopií a následná metylace a umlčení (MspI / HpaII)
- Zkřížení s *ddm1* mutantem - vnesení *Tto1* do *ddm1* mutanta
- Snížení metylace *Tto1* a transkripční a transpoziční aktivita



# Umlčování transposonů mechanizmem RNAi

- *Caenorhabditis elegans* a *Drosophila* nemají metylaci DNA
- Umlčování transposonů je zajišťováno pomocí RNAi



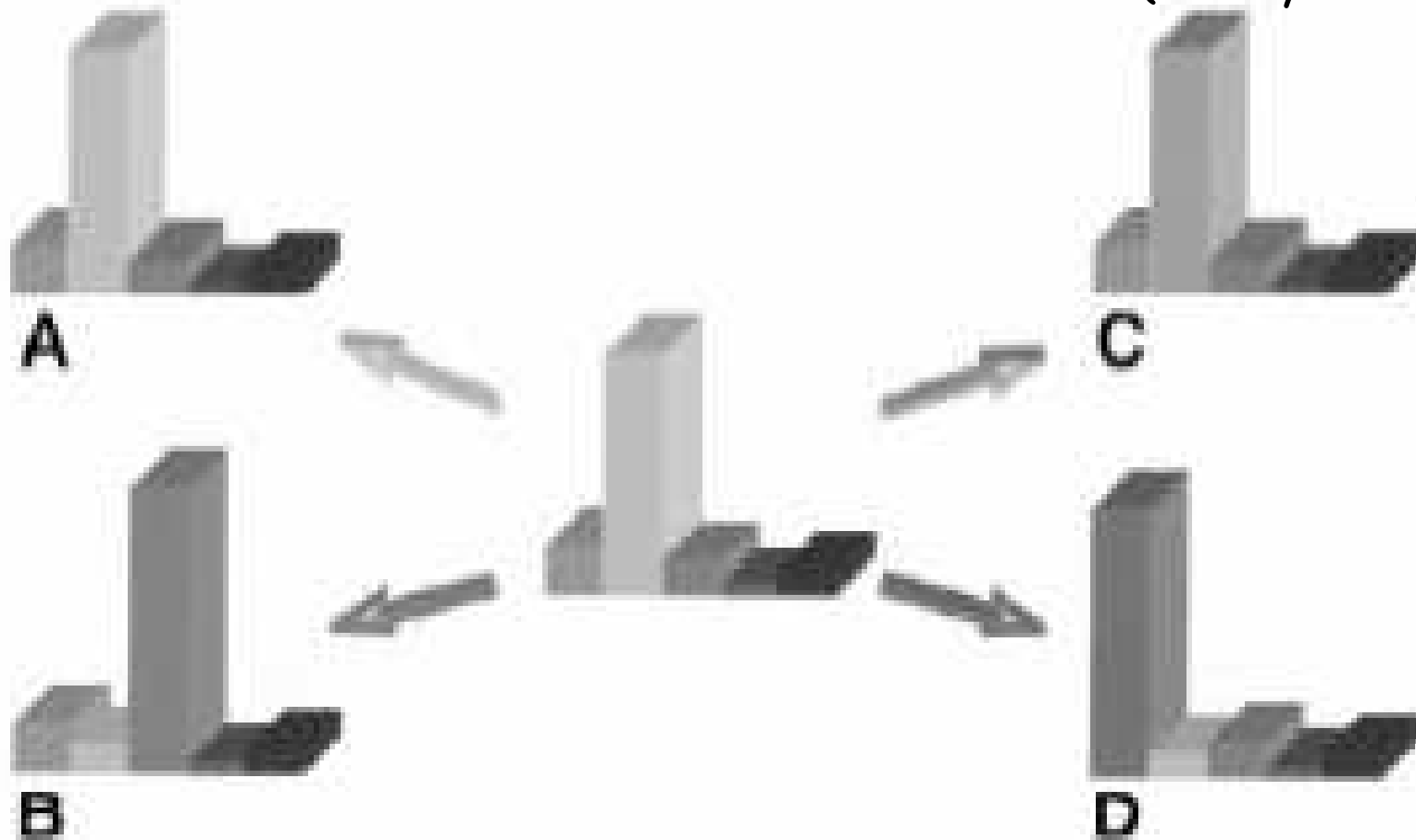
TANDEMŮVÉ REPETICE

# Tandemové repetice, „knihovna“ satelitní DNA

Đ. Ugarković and M. Plohl

Hlavní parametry:

- počet kopií (změna v B a D)
- sekvence DNA (změny C a D)





# Evoluce tandemových repeticí

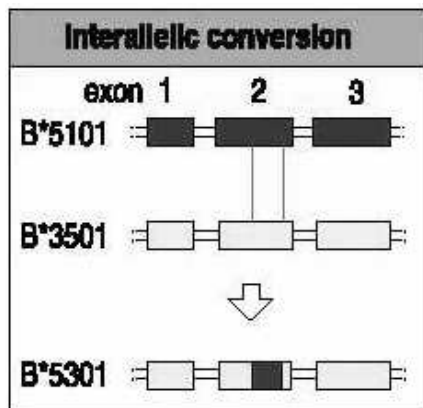
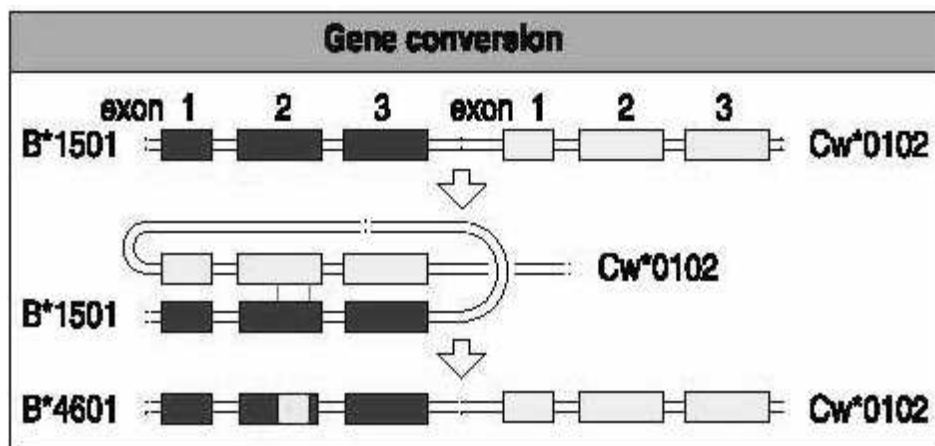
Evoluce v koncertu (concerted evolution)

Genová konverze

Molekulární tah (molecular drive)

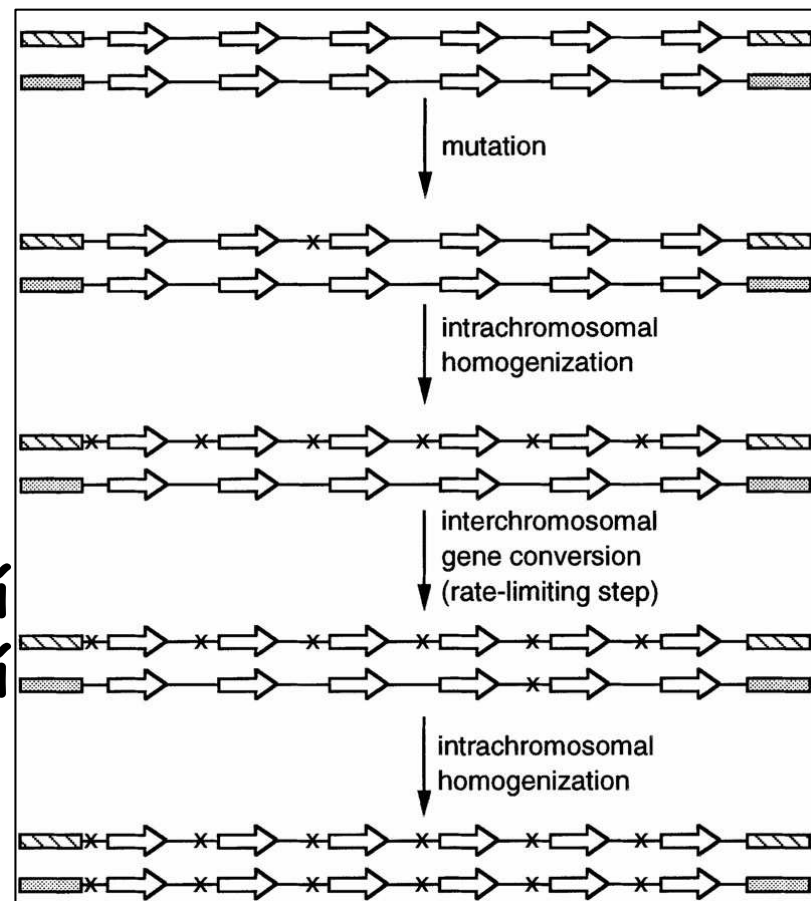
Nerovnoměrný crossing-over

Evoluce satelitních sekvencí - skládání ze segmentů

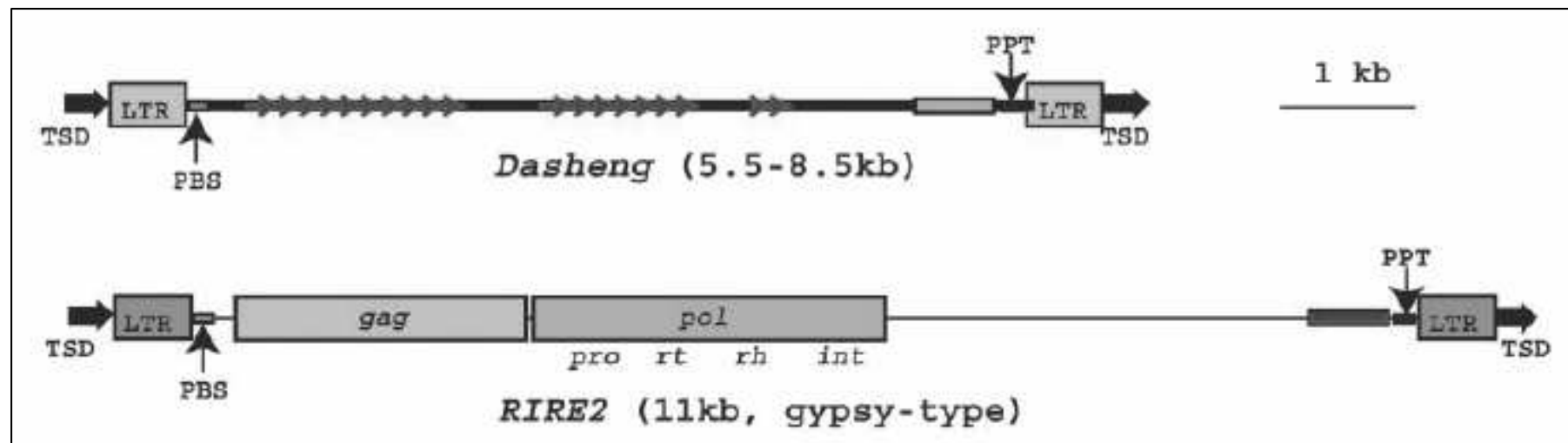
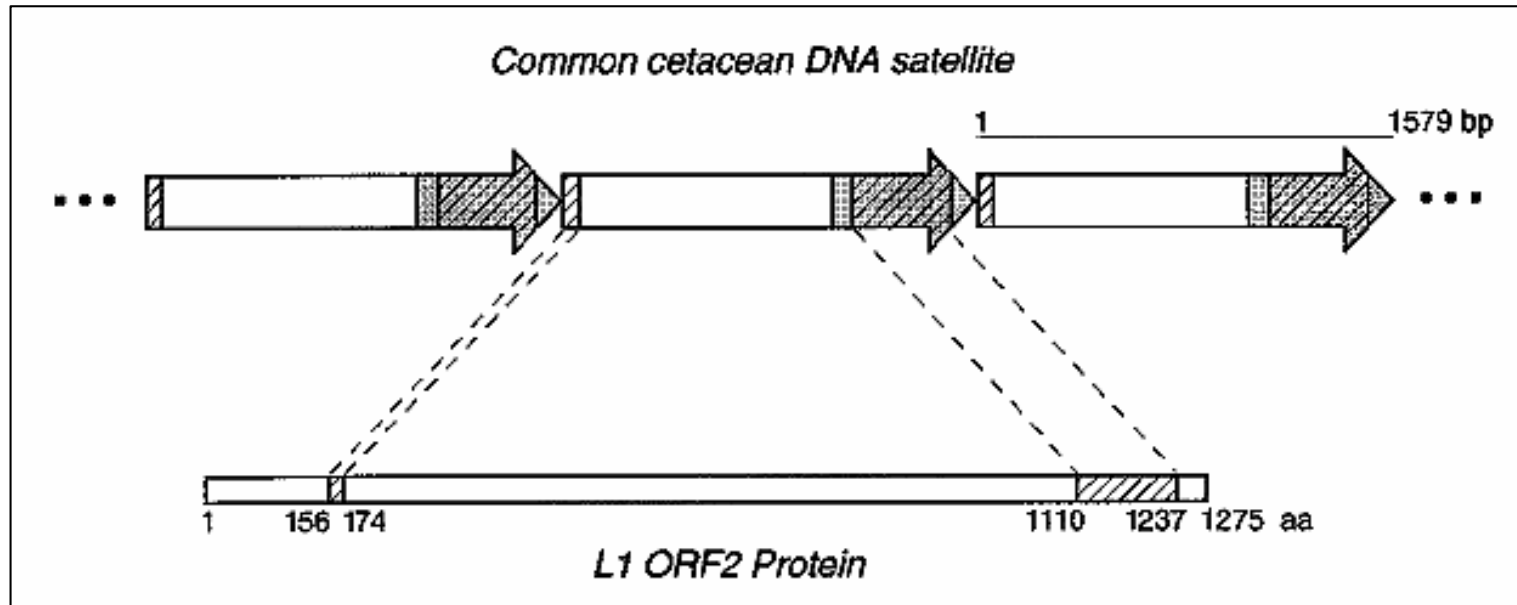


**Genová konverze**

- interchromosomální
- intrachromosomální



# Satelity mohou vznikat i z retroelementů



**PROMISKUITNÍ DNA**

# ENDOSYMBIOTIC GENE TRANSFER: ORGANELLE GENOMES FORGE EUKARYOTIC CHROMOSOMES

*Jeremy N. Timmis<sup>\*</sup>, Michael A. Ayliffe<sup>‡</sup>, Chun Y. Huang<sup>\*</sup> and William Martin<sup>§</sup>*

Genome sequences reveal that a deluge of DNA from organelles has constantly been bombarding the nucleus since the origin of organelles. Recent experiments have shown that DNA is transferred from organelles to the nucleus at frequencies that were previously unimaginable. Endosymbiotic gene transfer is a ubiquitous, continuing and natural process that pervades nuclear DNA dynamics. This relentless influx of organelle DNA has abolished organelle autonomy and increased nuclear complexity.

**“Promiscuous DNA” (Ellis, 1982)**

**“Endosymbiotic gene transfer is ubiquitous...  
... at frequencies that were previously unimaginable”.**

Nature Reviews Genetics, 2004

# Organelové genomy - pozůstatky prokaryot

## (a) chloroplast

20-200 kb

20-200 proteinů

progenitor - **cyanobacteria** (*Synechocystis*)

3.6 Mb

3000 proteinů

## (b) mitochondrie

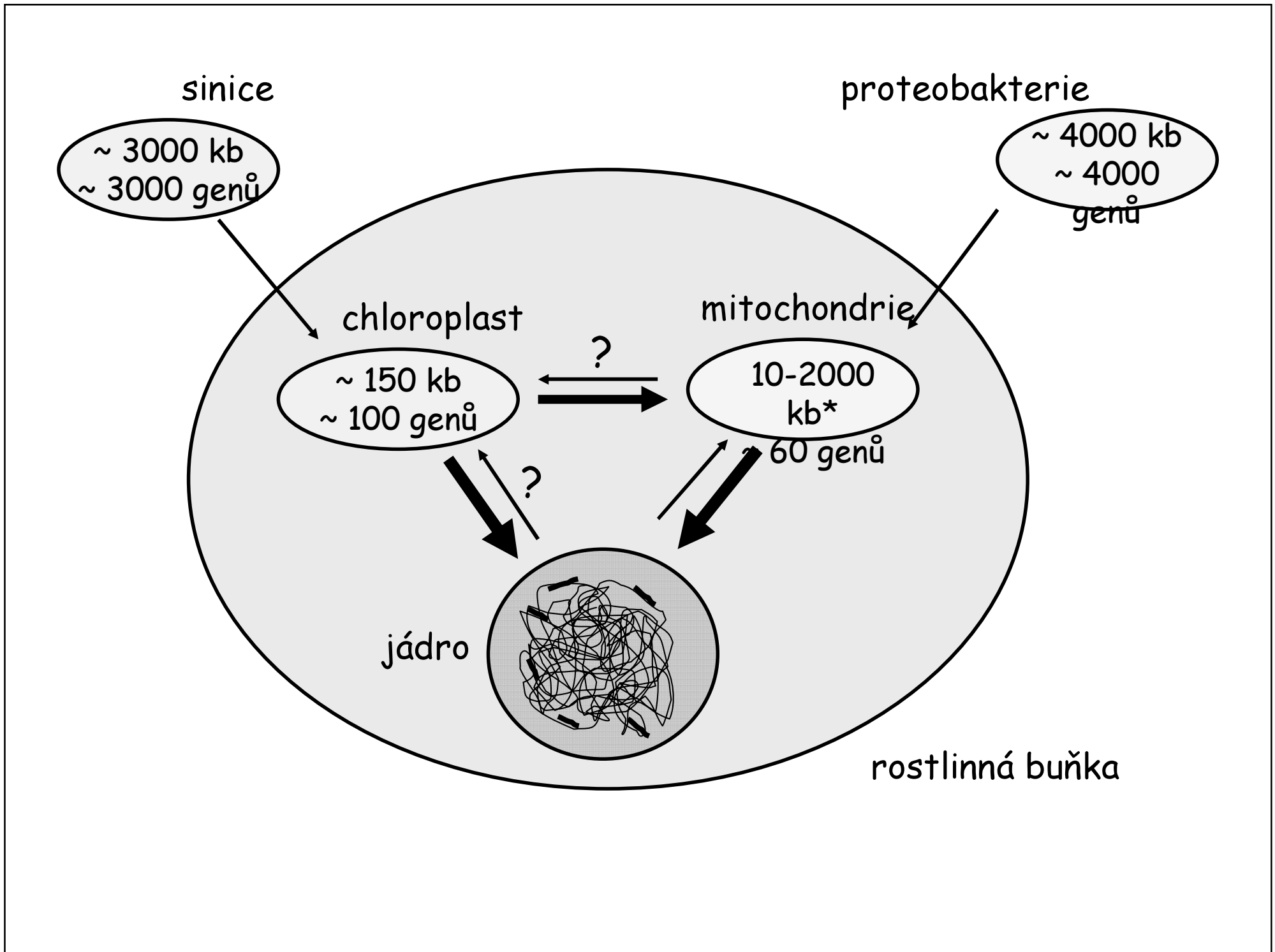
6-400 kb

3-67 proteinů

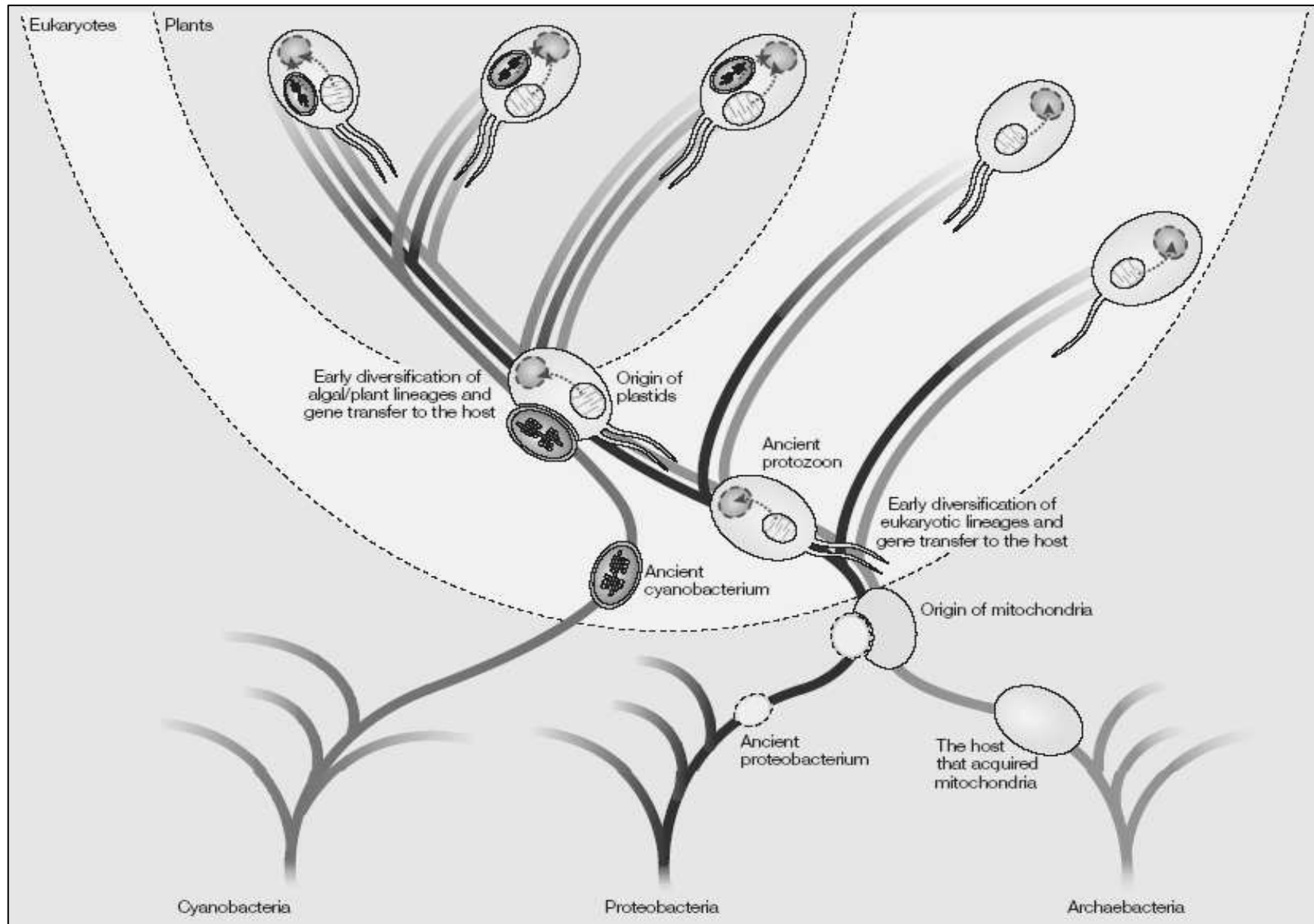
progenitor - **alpha-proteobacteria** (*Mesorhizobium loti*)

7 Mb

6 700 proteinů



# Endosymbiotická evoluce a strom života



# Velikosti organelových a prokaryotických genomů

Genome	Length [kbp]	Number of protein-coding genes
<b>Algae</b>		
cp <i>Porphyra purpurea</i>	191	200
cp <i>Cyanidium caldarium</i>	165	197
cp <i>Guillardia theta</i>	122	148
cp <i>Cyanophora paradoxa</i>	136	136
cp <i>Odontella sinensis</i>	120	124
cp <i>Euglena gracilis</i>	143	58
<b>Land plants</b>		
cp <i>Marchantia polymorpha</i>	121	84
cp <i>Chlorella vulgaris</i>	151	78
cp <i>Nicotiana tabacum</i>	156	76
cp <i>Oryza sativa</i>	134	76
cp <i>Zea mays</i>	140	76
cp <i>Pinus thunbergii</i>	120	69
<b>Non-phosynthetic plastids</b>		
cp <i>Toxoplasma gondii</i>	35	26
cp <i>Eimeria tenella</i>	35	28
cp <i>Epifagus virginiana</i>	70	21
<b>Cyanobacteria</b>		
<i>Synechocystis</i> sp.	3573	3168
<i>Prochlorococcus marinus</i>	1660	1884
<i>Nostoc</i> PCC 7120	6413	5368
<i>Nostoc punctiforme</i>	~9000	~7400
<b>Plants and algae</b>		
mt <i>Pylaiella littoralis</i>	59	52
mt <i>Marchantia polymorpha</i>	187	41
mt <i>Laminaria digitata</i>	38	39
mt <i>Cyanidioschyzon merolae</i>	32	34
mt <i>Arabidopsis thaliana</i>	367	31
mt <i>Chondrus crispus</i>	26	25
mt <i>Scenedesmus obliquus</i>	43	20

Genome	Length [kbp]	Number of protein-coding genes
<b>Various protists and fungi</b>		
mt <i>Reclinomonas americana</i>	69	67
mt <i>Melanimonas jakobiformis</i>	47	49
mt <i>Naegleria gruberi</i>	50	46
mt <i>Rhodomonas salina</i>	48	44
mt <i>Dictyostelium discoideum</i>	56	40
mt <i>Phytophthora infestans</i>	38	40
mt <i>Acanthamoeba castellanii</i>	42	36
mt <i>Cafeteria roenbergensis</i>	43	34
mt <i>Monosiga brevicollis</i>	77	32
mt <i>Physerum polycephalum</i>	63	20
mt <i>Harpochytrium</i> sp	24	14
mt <i>Candida albicans</i>	40	13
mt <i>Cryptococcus neoformans</i>	25	12
mt <i>Plasmodium falciparum</i>	6	3
<b>Anaerobic mitochondria</b>		
mt Hydrogenosomes*	0	0
<b><math>\alpha</math>-proteobacteria</b>		
<i>Caulobacter crescentus</i>	4017	3767
<i>Mesorhizobium loti</i>	7596	7281
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	~9100	~8300
<b>Yeast</b>		
(nuclear)	13,469	6,327



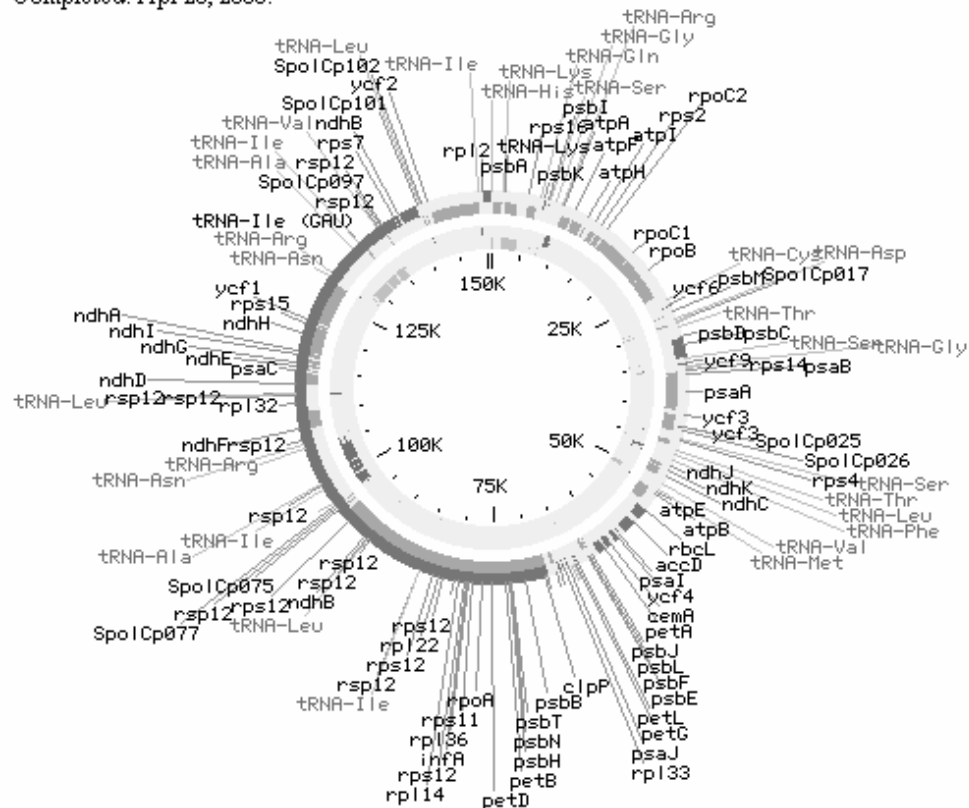
# Typický chloroplastový genom

## Spinacia oleracea plastid, complete genome

Accession: [NC\\_002202](#)

Total Bases Sequenced: 150725 bp

Completed: Apr 20, 2000.



### Legend:

- - CDS +strand
- - RNA +strand
- - CDS -strand
- - RNA -strand

velikost: ~ 150 kb

LSC (large single copy) - 80 kb

SSC (small single copy) - 20 kb

IR (inverted repeats) - 25 kb

118 genů:

85 proteiny

photosystem I and II

cytochrome

ATP synthase

Rubisco

NADH dehydrogenase

ribosomal proteiny

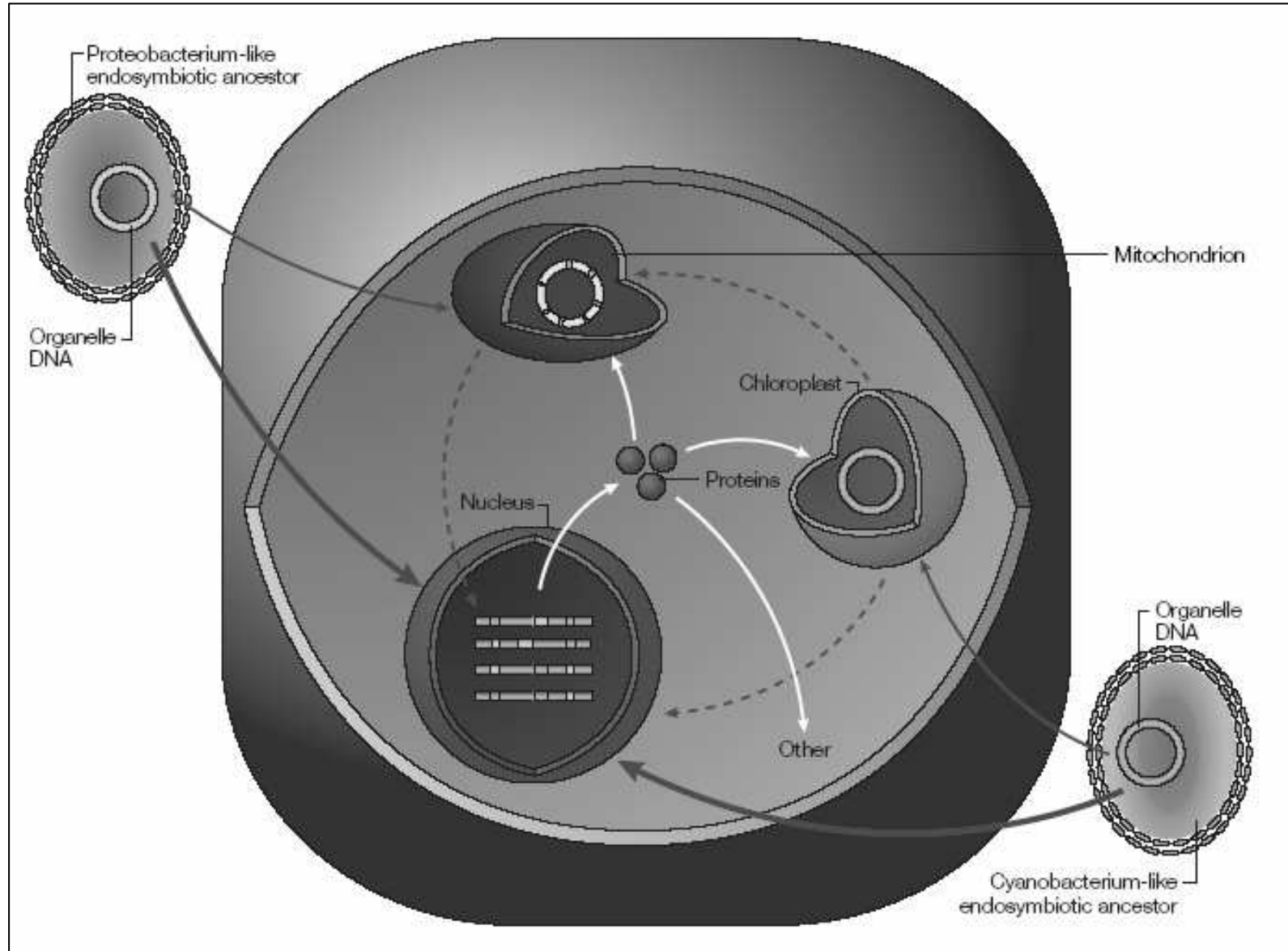
RNA polymerase

29 tRNA

4 rRNA

# Endosymbiotický genový přenos:

- transport genů, reimport proteinů



# Mechanismy genového přenosu

1. Přenos velkých kusů DNA ("bulk DNA" hypothesis)  
intergenové spacery, introns  
experimenty u kvasinek  
>100kb
2. Přenos prostřednictvím cDNA ("cDNA intermediates")  
přenesená DNA je sestřižena a editována  
rekombinace sestřižené mtDNA s neseestřiženou mtDNA  
heterogenita velikostí mtDNA

# Proč některé geny zůstávají v organelách?

## 1. Hydrophobicita

- hydrofóbní proteiny jsou těžko importovány do organel

## 2. Řízení redoxního stavu

- organely řídí expresi genů, které kódují komponenty jejich elektronového transportu, jejich lokalizace je výhodnější v organelách

## Zmenšení genomů u organel a parazitů:

Parazité: - specializace na intracelulární prostředí  
- ztráta genů

Organely: - export genů do jádra hostitele  
- import produktů

# Některé geny se přenášejí do jádra dříve jiné později

**Nejdříve** - regulační funkce

(sigma factor of RNAPolymerase, gamma subunit  
of ATPase)

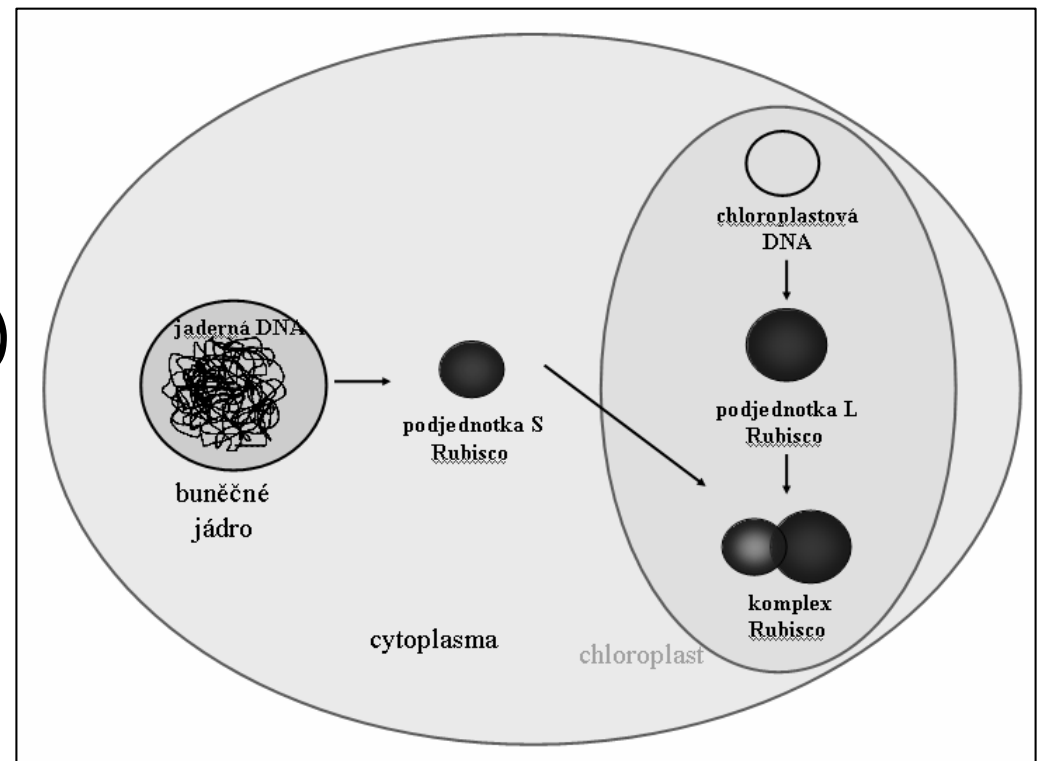
**Poslední** - translace

- respirace

**Rubisco:**

katalýza - v plastidu (rbcL)

regulace - v jádře (rbcS)



## **Kam se přenesená DNA integruje?**

- žádné důkazy preferovaných sekvencí či částí chromosomů

## **Sekvenční proměnlivost promiskuitní DNA**

>95% identity svědčí o velké obměně organelových sekvencí

## **Faktory vedoucí k degeneraci sekvencí:**

- asexualita
- poškozující zplodiny metabolismu
- selekce na malé genomy

## **Kompenzující faktory (u rostlin)**

- polyploidie
- reparace DNA

# Genový přenos z organel do jádra v reálném čase

## Frekvence přenosu:

- v gametách - 1 : 16 000
- v somatických buňkách - 1 : 5 million

## Příčina rozdílu (300x):

- programovaná degenerace plastidů při vývoji pylových zrn zvyšuje frekvenci přenosu

