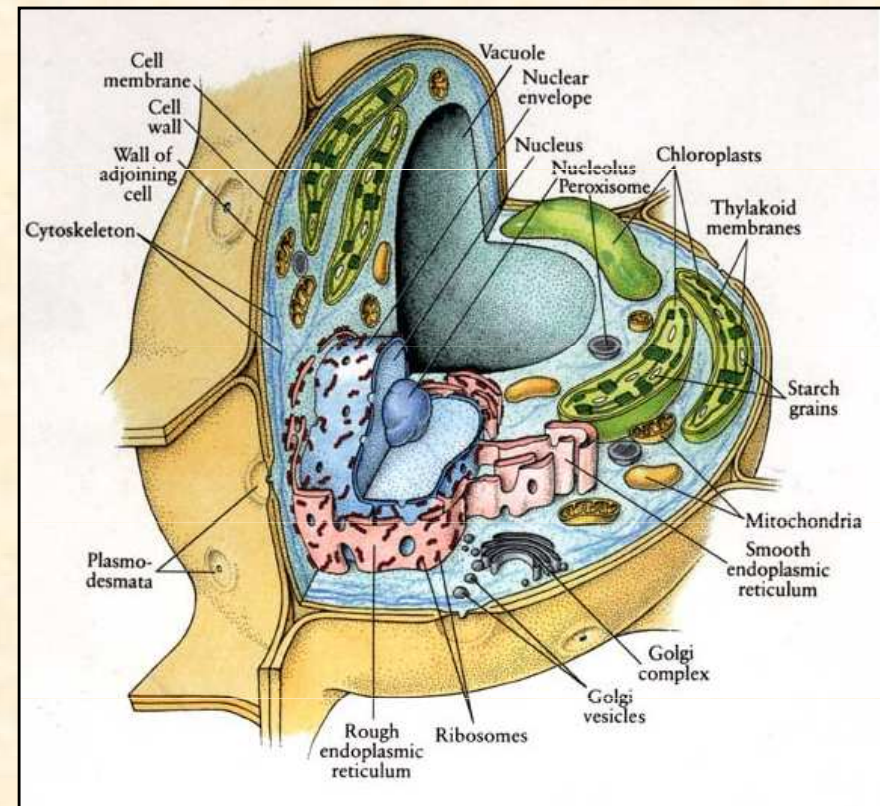
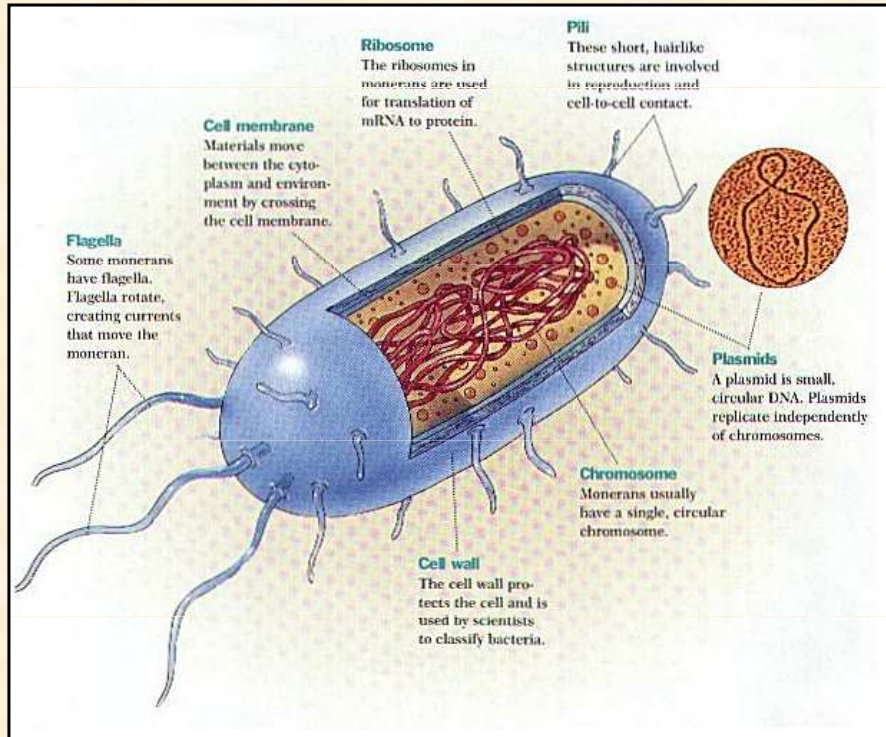


Obsah

- Velikosti genomů u prokaryot
- Minimální genom a miniaturizace genomu
- Velikost genomů u eukaryot a paradox hodnoty C
- Globální zvýšení velikosti genomu, polyploidizace
- Negenová DNA
- Repetitivní charakter eukaryotického genomu
- Regionální zvětšení genomu
- Distribuce genů v genomu
- Evoluce chromosomů
- Přestavby a pořadí genů
- GC obsah u bakterií a chirochory
- Mozaiková struktura genomu obratlovců, izochory
- Genomové projekty

Definice genomu

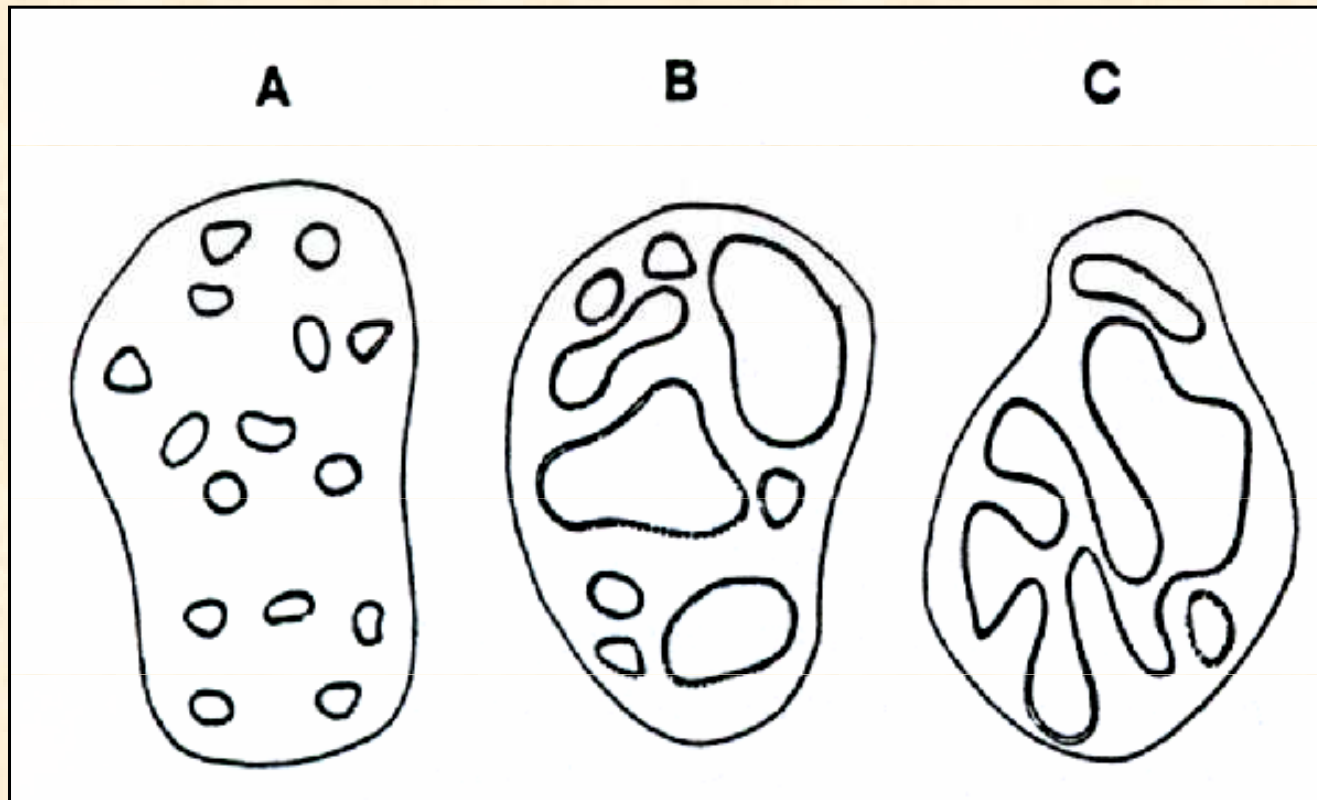
- celková genetická informace organismu
- u autonomních forem života vždy v DNA
- **prokaryota**: cirkulární chromosom + plazmidy
- **eukaryota**: chromosomy v jádře, mitochondrie a chloroplasty



První genomy - vznik fúzováním malých kružnic DNA

(Trifonov 1995)

- první genomy: lineární nebo cirkulární?
- malé kružnicové DNA genomy, disperzní genom
- fúzování, geny jako autonomní DNA,
- počty kopií statisticky stejné - podobné přenosům plazmidů



Fáze:

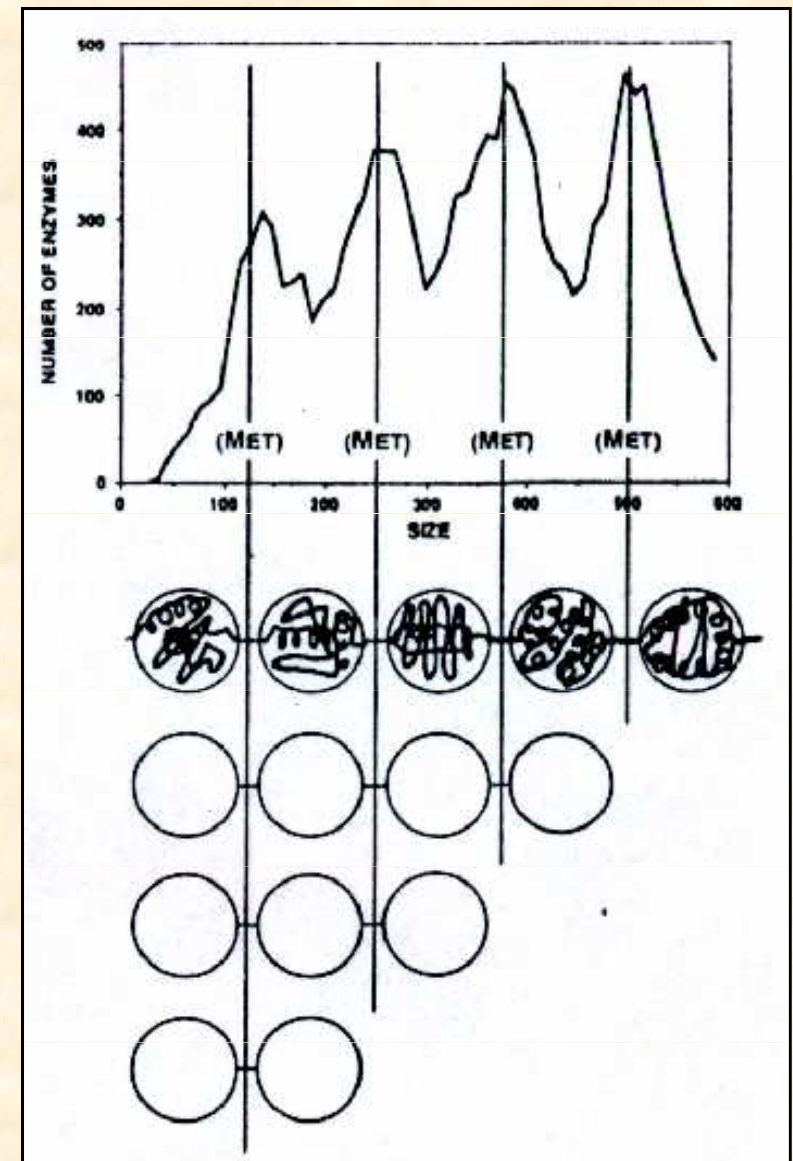
- A. pregenomická
- B. rekombinační
- C. genomická

První genomy - vznik fúzováním malých kružnic DNA

(Trifonov 1995)

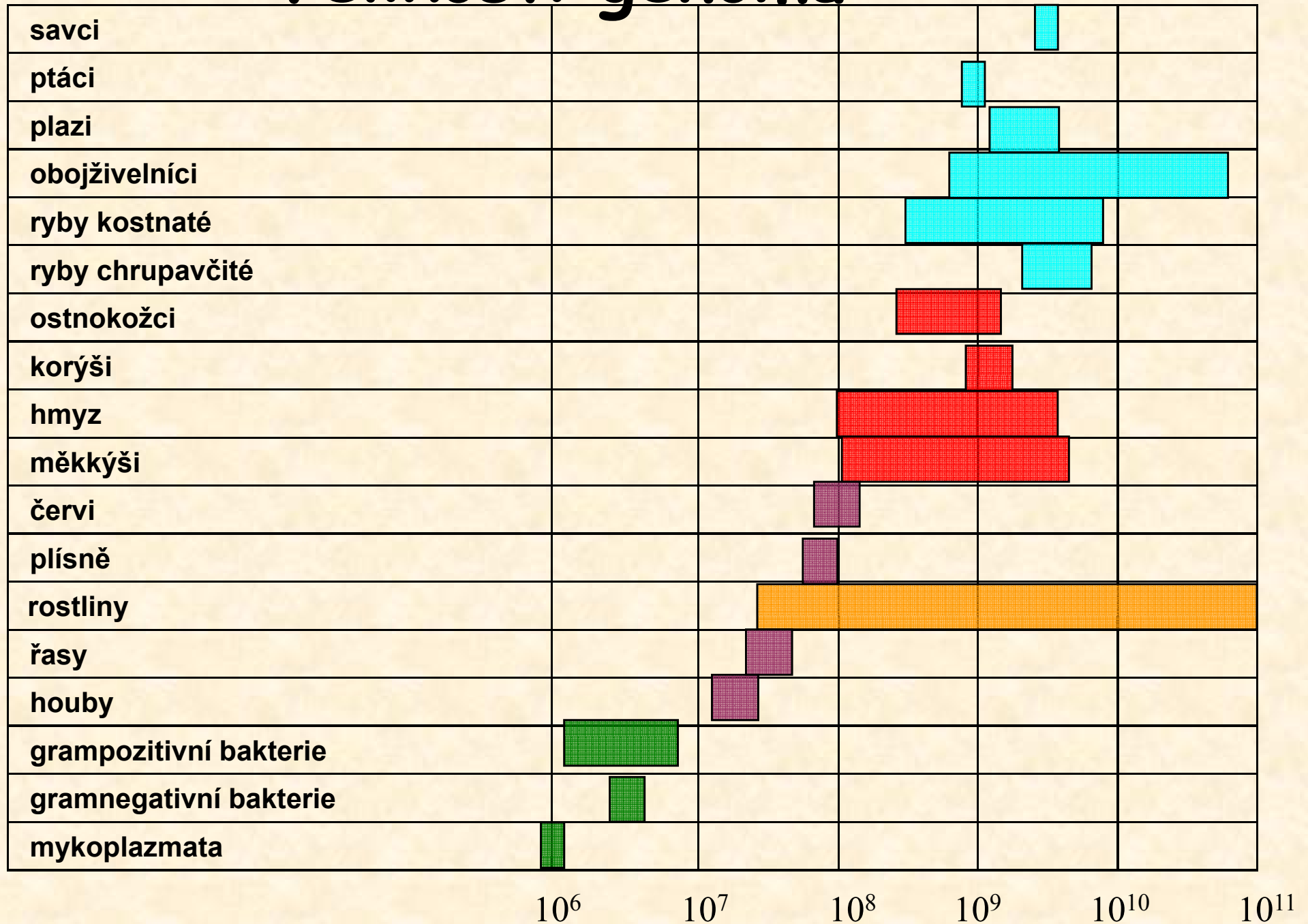
Důkazy:

- **periodicita** délek proteinů (123AK u prokaryot, 152 AK u eukaryot)
- nejsnazší **cirkularizace** 350-450bp
- periodicita výskytu **Met**
- pozůstatkem **extrachromosomální DNA** - 10% genomu
- **mobilní** elementy, lyzogenní fágy, genomy organel, horizontální přenos
- replikace genů a satelitů prostřednictvím eccDNA



VELIKOST GENOMU

Velikosti genomů



Paradox hodnoty C

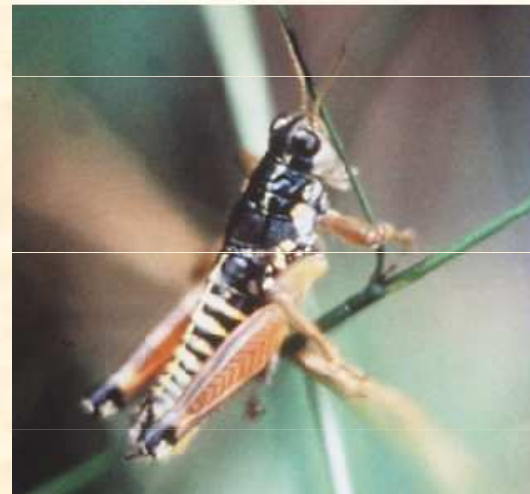
Definice:

- velikost genomu organismu **není v korelaci** s komplexitou organismu (*H. sapiens* 200x menší genom než *Amoeba dubia*)
- obsah kódující DNA podobný, příčinou je **nekódující DNA**, sobecká DNA



180 Mb

Drosophila melanogaster

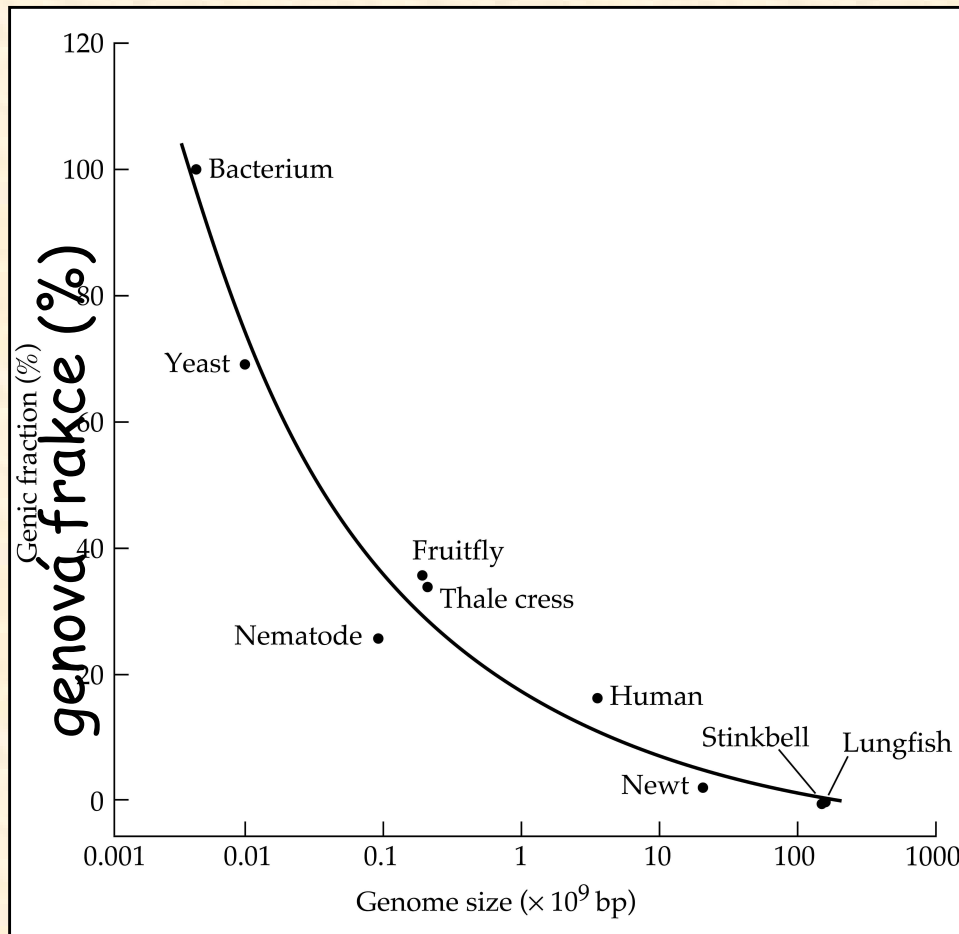


18,000 Mb

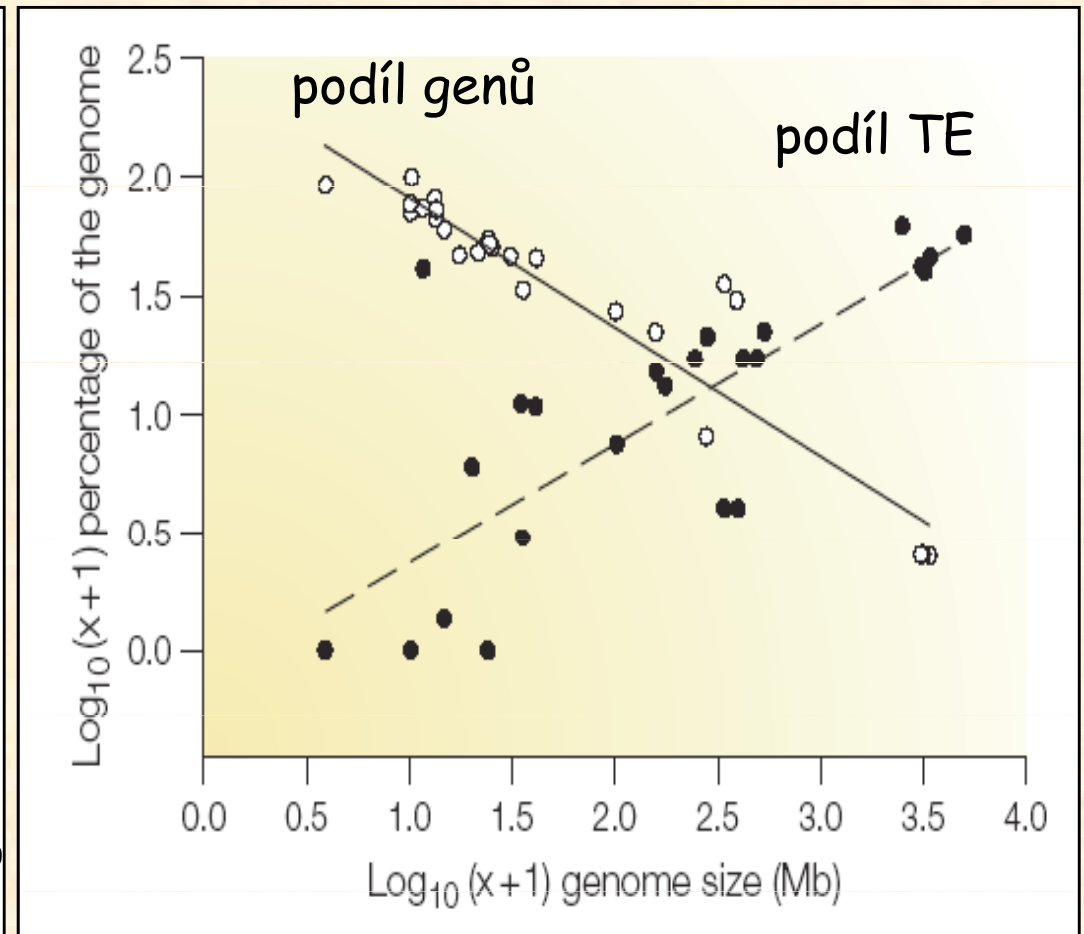
Podisma pedestris

Skutečnost, že genomy eukaryot se liší až 80,000-krát -
snad největší výzva pro genomové holisty

Klíč k řešení paradoxu hodnoty C se nachází v negenových oblastech



velikost genomu



velikost genomu

Hlavní komponenty eukaryotického genomu

Kódující části genů:

- u prokaryot tvoří většinu genomu
- u eukaryot méně, člověk 24 000 genů - 1.5%

Introny:

- původně považovány za příčinu C-paradoxu,
- tvoří většinu genů

Pseudogeny:

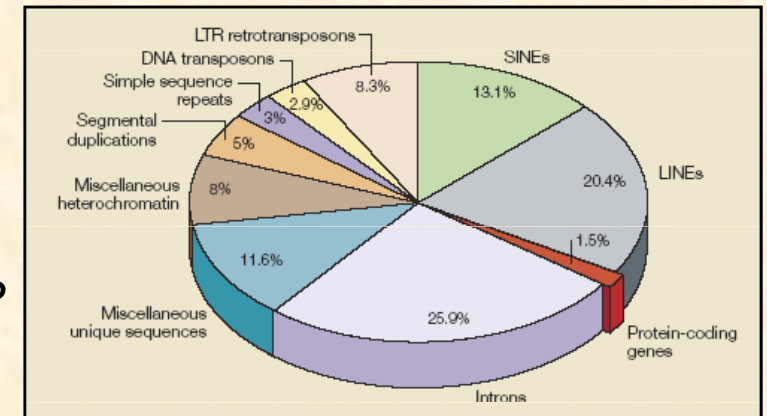
- klasické, retropseudogeny,
- 19000 člověk, 14000 myš, 51 kur, 33 kvasinka, 176 drosophila

Mobilní elementy:

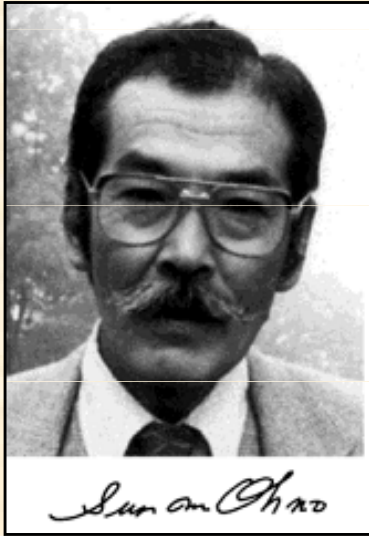
- LTR, nonLTR - SINE, LINE, DNA transposony-MITE

Numt, Nupt:

- inserce promiskuitní DNA



Velikosti genomů a zbytečná DNA



„The majority of the genome consisted of now-extinct genes”

- Susumu Ohno

“Triumphs as well as failures of nature's past experiments appear to be contained in our genome”

- Susumu Ohno

„The evolution of the large-scale features of the genome is one of the most difficult, perhaps the most difficult, question in evolutionary biology”

- Maynard Smith

Velikosti genomů prokaryot

- **Bakteriální genom: 6×10^5 - 10^7 (=0.6-10Mb)**
nejmenší známý: *Mycoplasma genitalium* (480 genů kódujících proteiny, 3 rRNA geny, 37 tRNA genů)
- **Velikost genomů prokaryot je zhruba úměrná počtu genů**
- **Procesy ovlivňující velikost bakteriálního genomu:**
Genová duplikace, malé delece a inserce, transpozice, horizontální přenos, ztráta genů v parazitických liniích, atd.

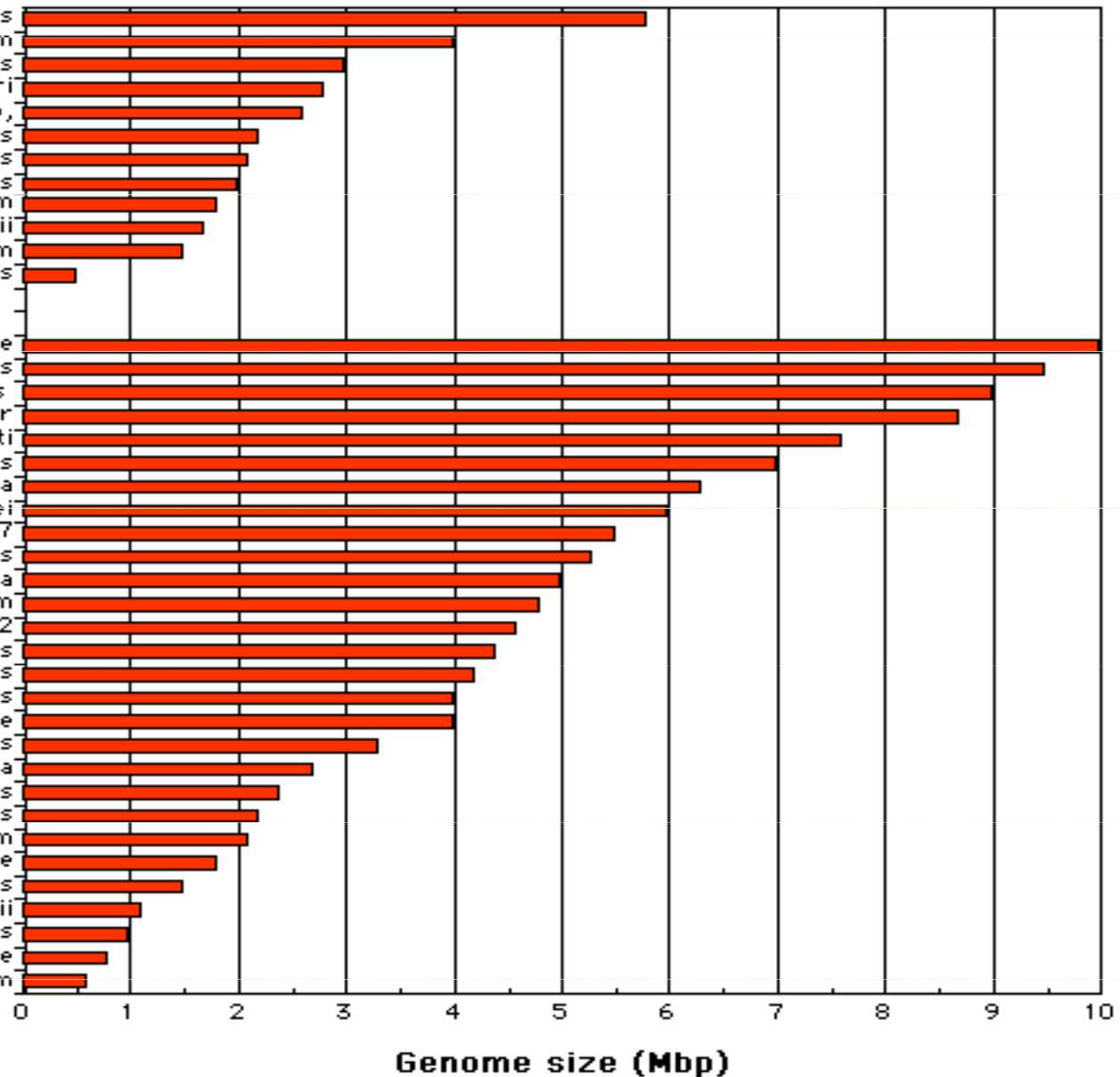
Velikosti genomů prokaryot

Archaea:

Methanosarcina acetivorans
Halobacterium salinarium
Sulfolobus solfataricus
Methanosarcina barkeri
Halobacterium sp,
Archaeoglobus fulgidus
Pyrococcus furiosus
Ferroplasma acidarmanus
Methanobacterium thermoautotrophicum
Methanococcus jannaschii
Thermoplasma acidophilum
Nanoarchaeum equitans

Bacteria:

Nostoc punctiforme
Myxococcus xanthus
Gemmata obscuriglobus
Streptomyces coelicolor
Mesorhizobium loti
Mycobacterium smegmatis
Pseudomonas aeruginosa
Burkholderia pseudomallei
Escherichia coli O157:H7
Agrobacterium tumefaciens
Pseudomonas putida
Salmonella typhimurium
Escherichia coli K-12
Mycobacterium tuberculosis
Bacillus subtilis
Caulobacter crescentus
Vibrio cholerae
Deinococcus radiodurans
Xylella fastidiosa
Lactococcus lactis
Neisseria meningitidis
Chlorobium tepidum
Haemophilus influenzae
Aquifex aeolicus
Rickettsia prowazekii
Geobacter sulfurreducens
Mycoplasma pneumoniae
Mycoplasma genitalium



EXTRÉMNÍ GENOMY

Minimální velikost genomu



Minimal Genome Project

Press Release

Scientists at TIGR Uncover the Minimal Number of Cellular Genes Needed for Life

Co je život?

Strategie: 1. odstranění či inaktivace genů
2. syntéza minimálního genomu

2105-2107 (1999)

TIGR
Databases

What's
New

About
TIGR

TIGR
Faculty

Minimální velikost genomu

„One day a scientist will drop gene number 297 into a test tube, then number 298, then 299... and presto: what was not alive a moment ago will be alive now. The creature will be as simple as life can be. But it will still be life. And humans will have made it, in an ordinary glass tube, from off-the-shelf chemicals...”

- Hayden, 1999:

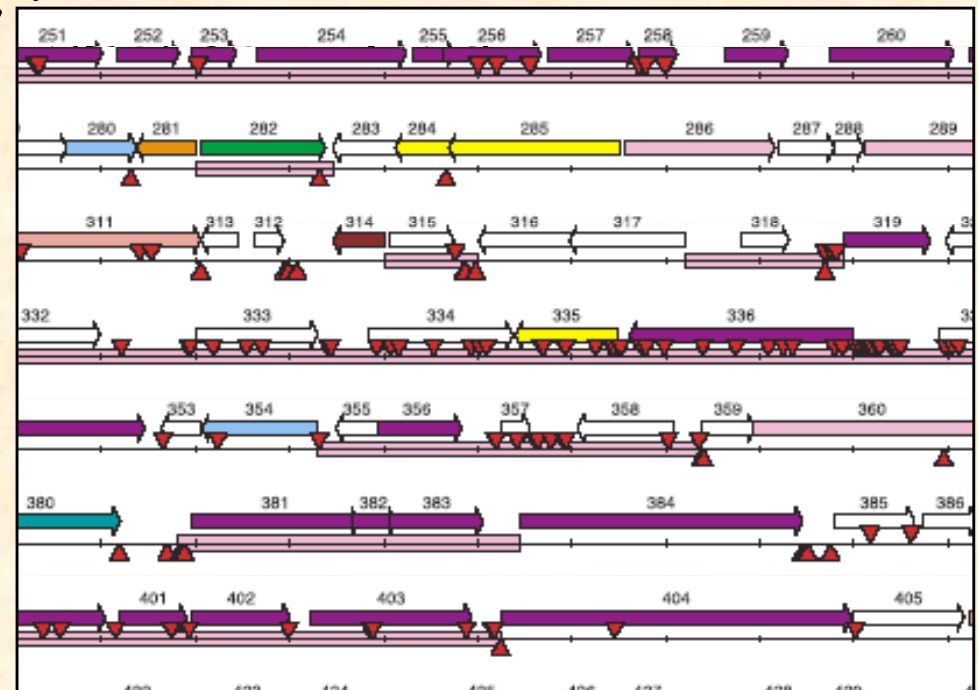
"Minimální" genom - Mycoplasma

580 kb genom/ 480 genů pro proteiny/ 37 genů pro tRNA
2209 inzercí transpozonů/ ve 140 genech
1354 míst, kde inzerce nebyla letální
265-350 genů nepostradatelných (glykolýza)
180-215 genů postradatelných
100 genů má neznámou funkci!!!
různý vliv inzercí podle polohy

Global Transposon Mutagenesis and a Minimal Mycoplasma Genome

Clyde A. Hutchison III,^{1,2*} Scott N. Peterson,^{1††} Steven R. Gill,¹
Robin T. Cline,¹ Owen White,¹ Claire M. Fraser,¹
Hamilton O. Smith,^{1†} J. Craig Venter^{1†§}

Mycoplasma genitalium with 517 genes has the smallest gene complement of any independently replicating cell so far identified. Global transposon mutagenesis was used to identify nonessential genes in an effort to learn whether the naturally occurring gene complement is a true minimal genome under laboratory growth conditions. The positions of 2209 transposon insertions in the completely sequenced genomes of *M. genitalium* and its close relative *M. pneumoniae* were determined by sequencing across the junction of the transposon and the genomic DNA. These junctions defined 1354 distinct sites of insertion that were not lethal. The analysis suggests that 265 to 350 of the 480 protein-coding genes of *M. genitalium* are essential under laboratory growth conditions, including about 100 genes of unknown function.



“Minimální” genom: *Bacillus subtilis* život s 271 geny

4100 genů

192 genů zcela **nepostradatelných**
na bohatém prostředí: zpracování
informace, buněčná stěna,
energie

79 genů **podstatných**

Jen 4% genů má **neznámou** funkci

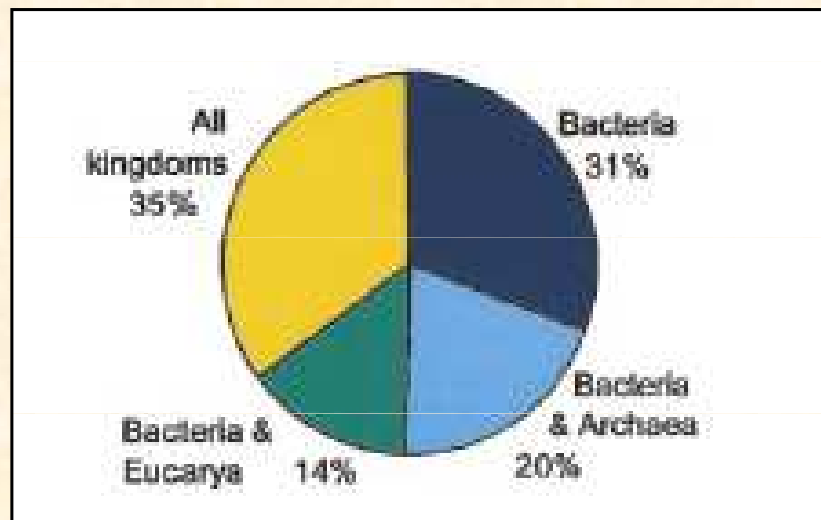


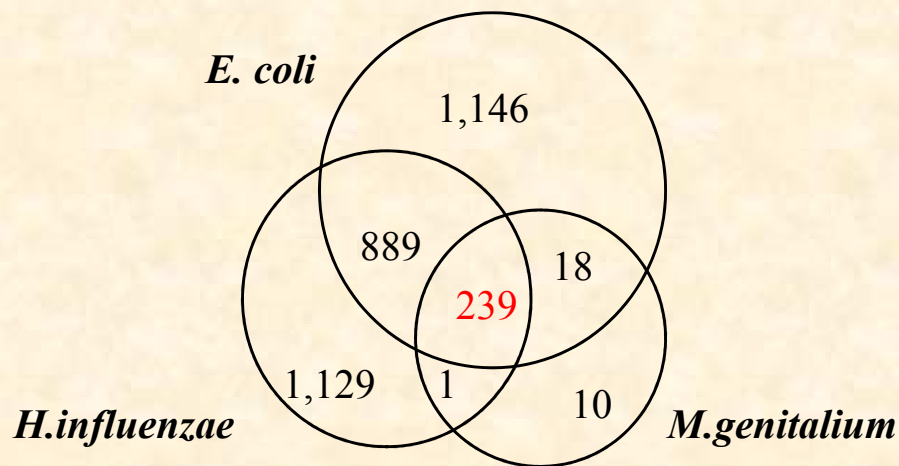
Table 2. *B. subtilis* essential genes

DNA metabolism	27
Basic replication machinery	16
Packaging and segregation	9
Methylation	2
RNA metabolism	14
Basic transcription machinery	4
RNA modification	6
Regulation	4
Protein synthesis	95
Ribosomal proteins	52
Aminoacyl-tRNA synthetases	24
Translation factors	10
Protein folding and modification	3
Protein translocation	6
Cell envelope	44
Membrane lipids	16
Cell wall	28
Cell shape and division	10
Glycolysis	8
Respiratory pathways	22
Isoprenoids	8
Menaquinone	8
Cytochrome biogenesis	3
Thioredoxin	3
Nucleotides	10
Cofactors	15
CoA	1
Folate	3
NAD	4
S-Adenosylmethionine	1
Iron-sulfur cluster	6
Other	15
Unknown	11
Total	271

Minimální velikost genomu: (a) Analytický přístup

- (Mushegian a Koonin, 1996):

Srovnání kompletních bakteriálních genomů:



- Translation
- Replication
- Transcription
- Recombination and DNA repair
- Chaperone-like proteins
- Anaerobic metabolism
- Lipid or cofactor biosynthesis
- Transmembrane transporter
- Some unknown function

[Překrývající se ortologní geny (239)] + [přesun neortologních genů] – [geny specifické pro parazitické bakterie nebo funkční redundance] = 256 genes

Minimální velikost genomu:

(b) Experimentální přístup

- (Itaya, 1995):

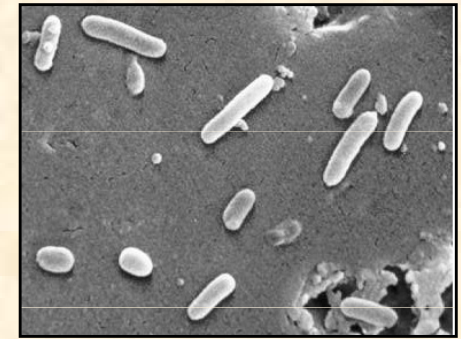
Knock-out 79 náhodně vybraných genů *Bacillus subtilis*:

- pouze 6 letálních, 73 je postradatelných → 7.5% (6/79) genomu je nepostradatelných
- *B.subtilis* genome: $4.2 \times 10^6 \text{bp} \times 7.5\% = 3.2 \times 10^5 \text{bp}$
Průměrná velikost genu je 1.25kb, takže minimální velikost genomu ≈ 254 genů

Největší prokaryotické genomy

Pseudomonas aeruginosa (bakterie):

- 5500 genů
- přes 6 Mb
- přirozeně rezistentní k antibiotikům (ochranný obal)
- R-faktor, žije ve společenství jiných bakterií, konjugace
- lidský patogen (kožní n., močové, dýchací a trávicí cesty)



Nostoc punctiforme (sinice):

- 7432 ORF
- 8.9 Mb
- repetice, transpozony
- fotoautotrofní, také fakultativně heterotrofní
- možnost symbiózy s rostlinami i houbami

Repetice <i>N.p.</i>		Sites in genome
AATGACH (STRR2)		
AATGACA		69
AATGACT		63
AATGACC		39
AATTCCC (STRR4)		
AATTCCC		41
AATGCCC		37
AATTACG (STRR5)		
		45
AdTCCCC (STRR1)		
ATTCCCC		39
AATCCCC		19
AGTCCCC		15
AGCAGGGG (STRR6)		
		29
AAAATTC (STRR7)		
		13

Velikosti genomů eukaryot

- Eukaryotický genom: $8.8 \times 10^6 \sim 6.9 \times 10^{11}$
(8.8Mb - 690Gb)

Nejmenší známý: *Saccharomyces cerevisiae* a jiné houby

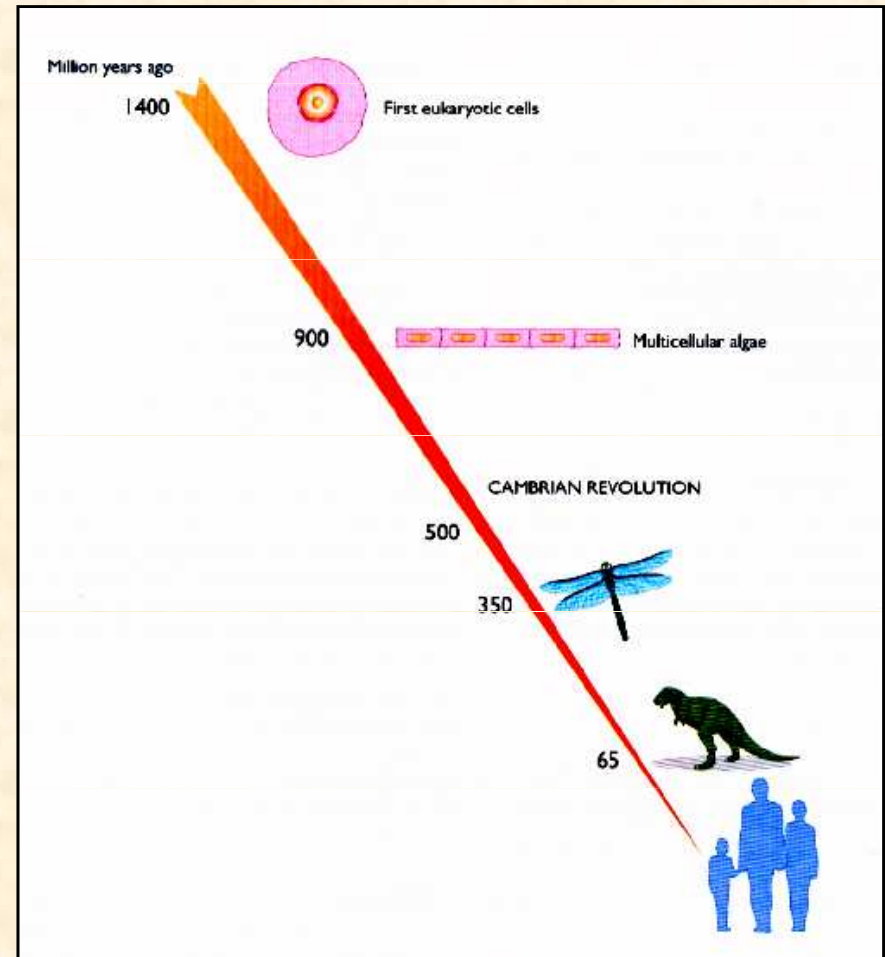
- Velikosti eukaryotických genomů NEjsou úměrné počtu genů nebo komplexitě organismu

ZMĚNY VE VELIKOSTI GENOMU

Zvětšení genomu

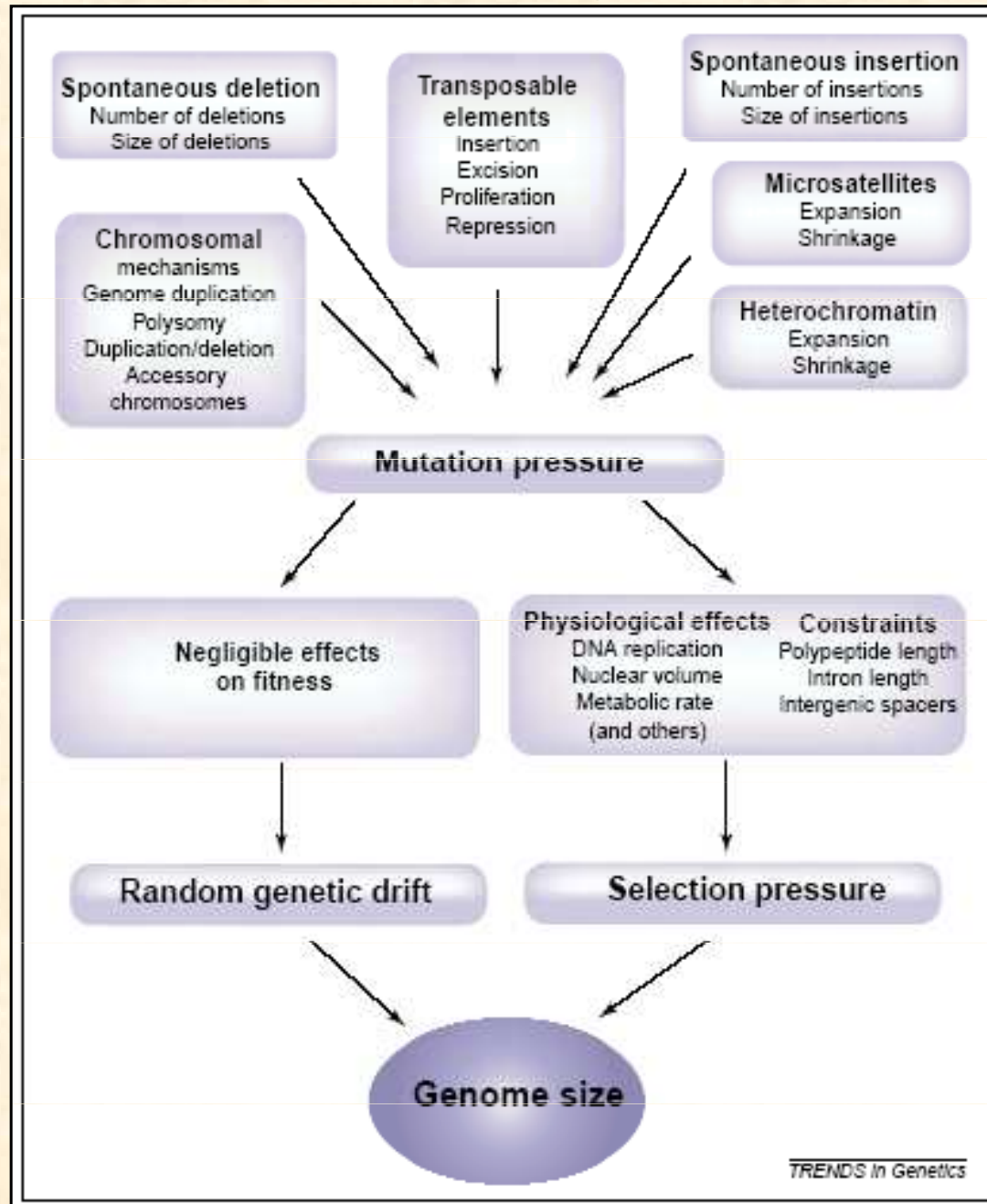
- celkové zvětšení:
polyploidizace (duplikace celého **genomu**)
- duplikace části genomu,
zmnožení počtu **chromosomů**
- duplikace **genů** a skupin genů

- amplifikace **transpozonů**
- inserce **virové DNA**
- inserce **organelové DNA**
- expanze (mikro)**satelitů**



Vzrůstající komplexita živých forem byla doprovázena vzrůstem velikosti genomů a počtu genů

Evoluční síly ovlivňující velikost genomu



Změny ve velikosti genomů: plynulé nebo skoky?

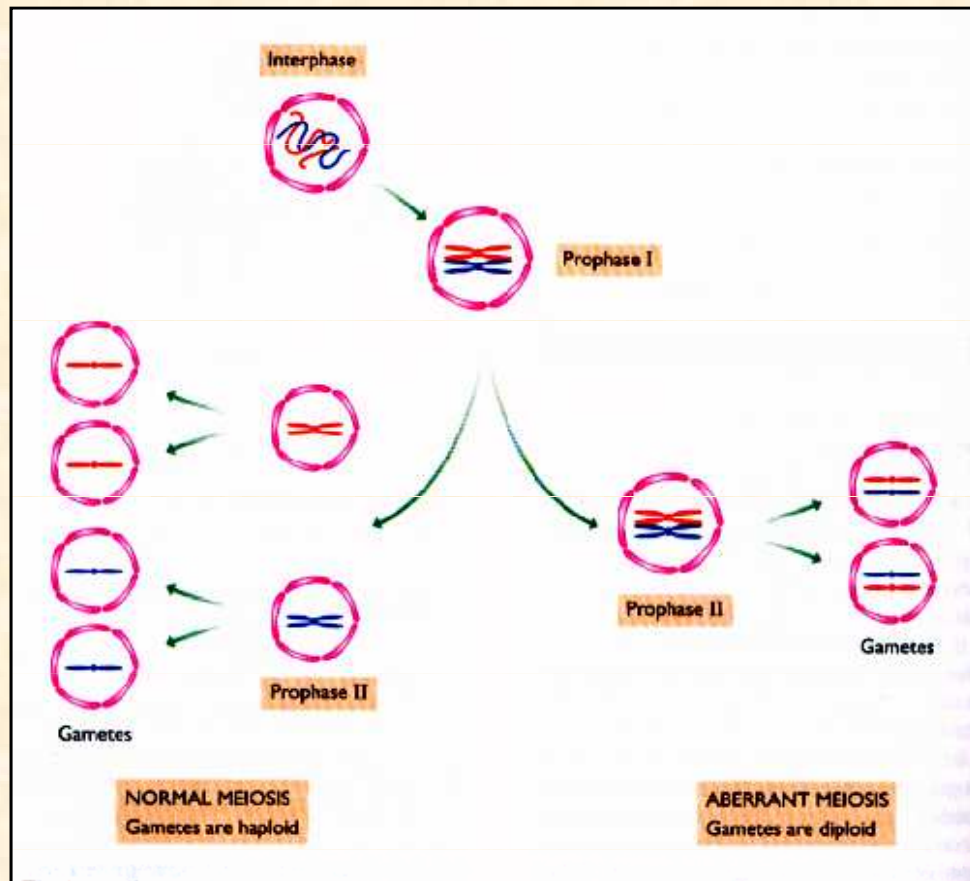
Plynulost:

- savci, ptáci, kostnaté ryby
- postupná akumulace nebo delece, malé segmenty DNA
- normální distribuce velikostí genomů v těchto skupinách
- podíl jedinečných sekvencí konstantní, mění se spolu se změnou velikosti genomu, je dán velikostí intronů

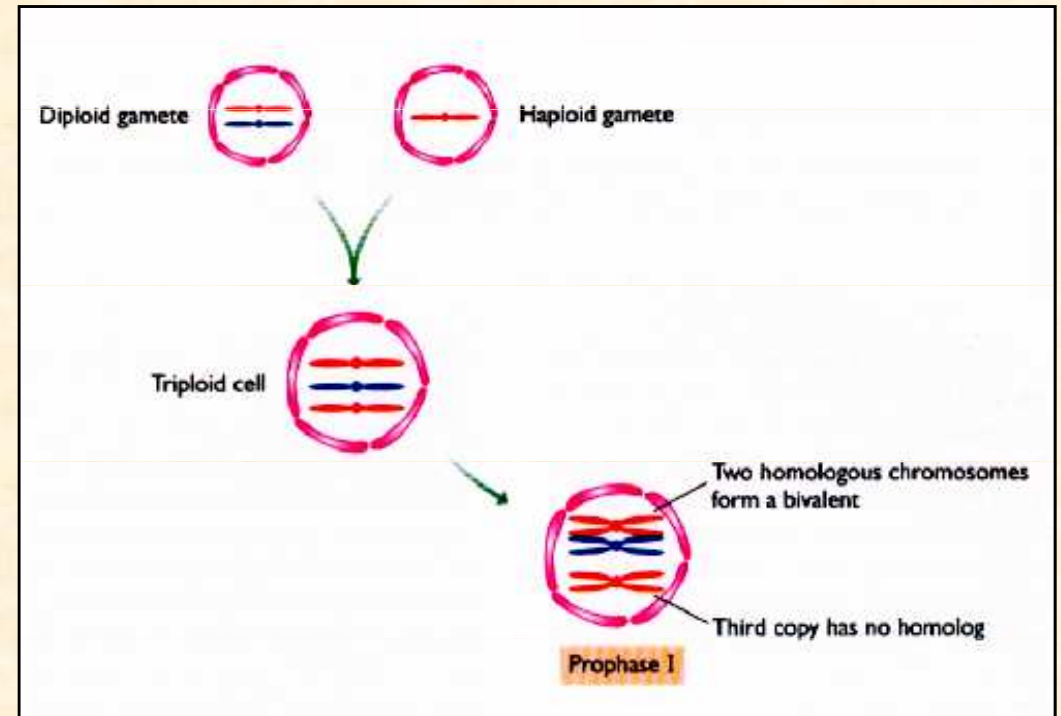
Skoky (kvantové změny):

- bezobratlí, rostliny (50% nahosemenných je polyploidní), výjimečně obratlovci
- polyplodizace, přídavná replikace některého chromosomu, kryptopolyploidizace (koordinovaná replikace všech repetitivních sekvencí v genomu - *Chironomus*)
- kvantové rozdíly mezi blízkými příbuznými, velké rozdíly ve velikostech genomů

Růst velikosti genomu: Polyploidizace



Chyba v meioze vede k
diploidním gametám



Fúze diploidní a haploidní
gamety vede k triploidnímu
jádru, triploidní organizmus je
však sterilní

Celkové zvětšení genomu

- **Polyploidizace (duplikace celého genomu):**
 - Autopolyploidie:** multiplikace jedné základní sady chromosomů, jeden organizmus, chyba při meioze (růže...)
 - Allopolyploidie:** kombinace geneticky odlišných sad chromosomů (pšenice...)
 - Kryptopolyploidie:** dávná polyploidizace, organizmus se jeví jako diploidní, přestavby - delece, translokace..., kvasinka, obratlovci, obilniny, odhalení až sekvenací
- **Duplikace části genomu:**
 - chromosomů** - polysomie (trisomie), většinou letální, genová imbalance, evolučně irelevantní
 - genů nebo skupin genů**

Výhody a nevýhody polyploidů

Definice, vznik - chyba nebo indukce, živočichové - partenogeneze, rostliny - **fertilní** ($4n$, $8n$) vs. **sterilní** hybridy ($3n$, tetra+di)

Skoková (kvantová) změna velikosti genomu - nadějně **monstrum** musí najít partnera

Schopnost obsazovat **nová prostředí**, převládá v evoluci rostlin, i u obratlovců

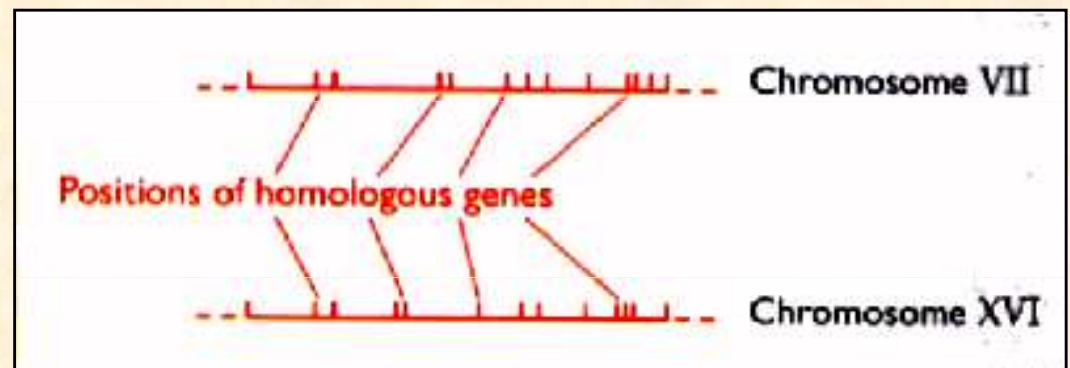
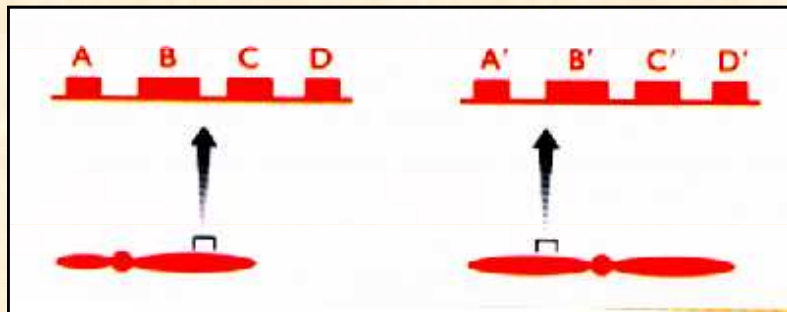
Noví polyploidi - nestabilní - radikální **přestavby** genů - rychlá diverzifikace - **speciace** (změněný počet chromosomů vede k reprodukční izolaci)

Multiplikace klíčových genů v regulaci vývoje - multiplikace klastrů homeotických genů vedla k enormní diverzitě druhů ryb

Genom **kvasinky**: Polyploidizace nebo duplikace segmentů?

- 54 nepřekrývajících se duplikovaných oblastí
- 50 z nich si zachovalo stejnou orientaci vzhledem k centroméře
- nebyla nalezena žádná triplikovaná oblast, přičemž 7 oblastí by bylo očekáváno dle Poissonova rozložení
- příbuzné druhy bez duplikace - *Kluveromyces waltii* a *Ashbya gossypii*
- 457 genových párů - 17% se vyvíjí rychleji než jejich homology u *K. waltii*

→ Duplikace jsou výsledkem tetraploidie spíše než postupných regionálních duplikací

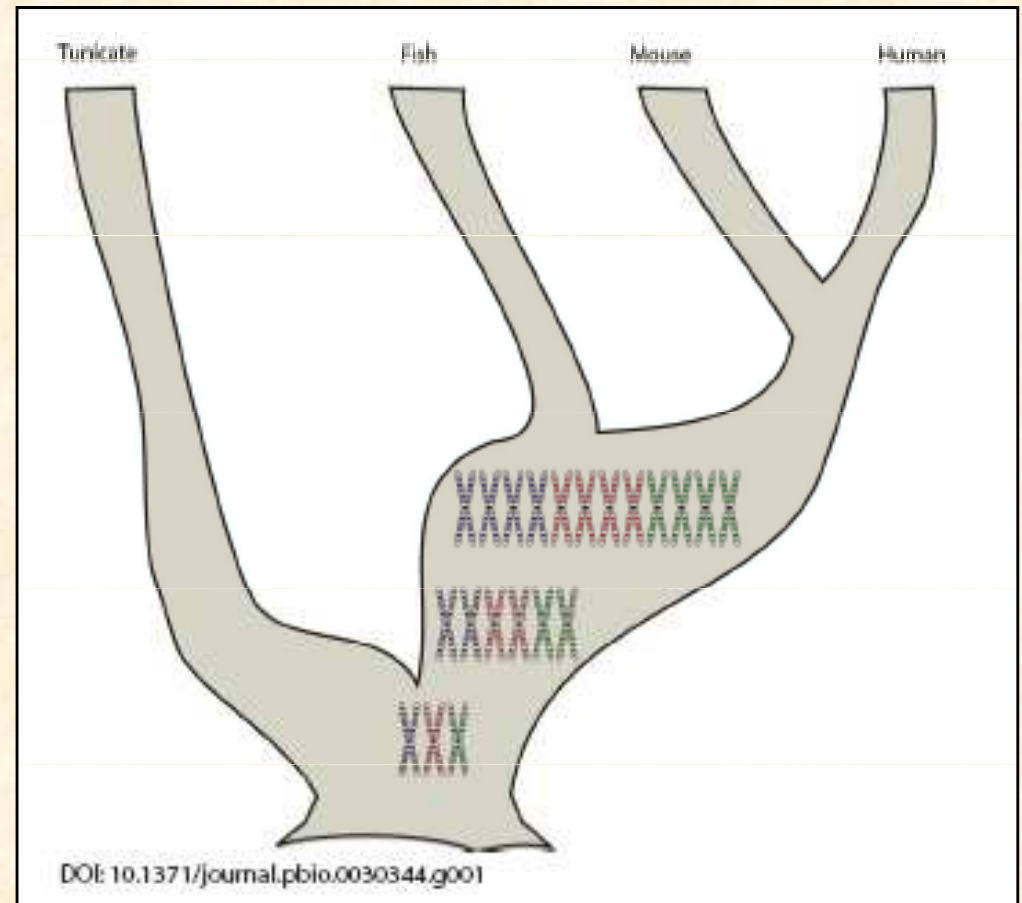


Polyploidizace v linii obratlovců

S. Ohno:

- dvě genomové duplikace u obratlovců - hypotéza „2R“ (2 rounds)
- některé genové rodiny mají 4 členy u obratlovců a jednu u bezobratlých
- srovnání ježovky (bezobratlý) s obratlovcem (člověkem, myší a rybou Fugu)
- v genomu člověka dlouhé segmenty ve čtyřech kopiích podél všech chromosomů

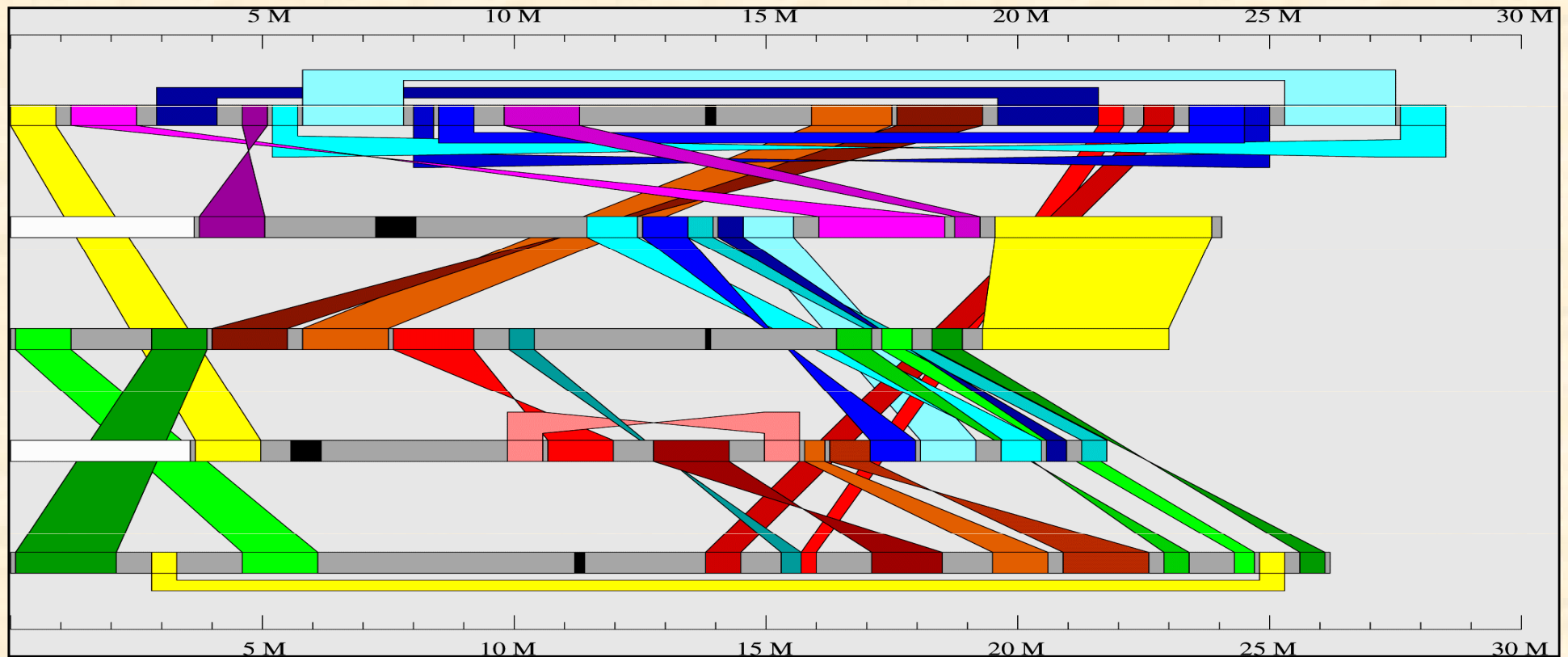
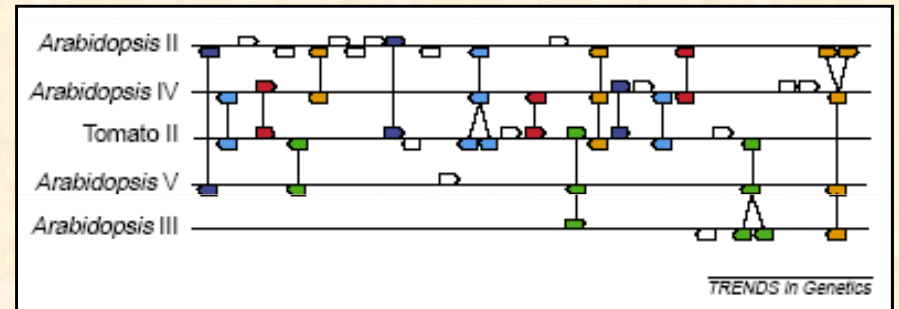
→ Duplikace genomu před 450 mil let napomohla vzrůstu komplexity a diverzifikaci obratlovců



Polyploidizace u rostlin

Arabidopsis:

- duplikace před 200 a 80 mil. let
- možná i více než 4 genomové duplikace
- asi 60% genomu leží v duplikovaných segmentech
- 50% genů v nich je konzervováno



Polyploidní plodiny

- tetraploidi: kukuřice, bavlna, brambor, zelí



- hexaploidi: pšenice, chrysan téma



- oktoploidi: jahodník



Genomová obezita u rostlin - jednosměrný proces?

Teorie sobecké DNA (Dawkins, 1976)
- jediným cílem DNA je se replikovat

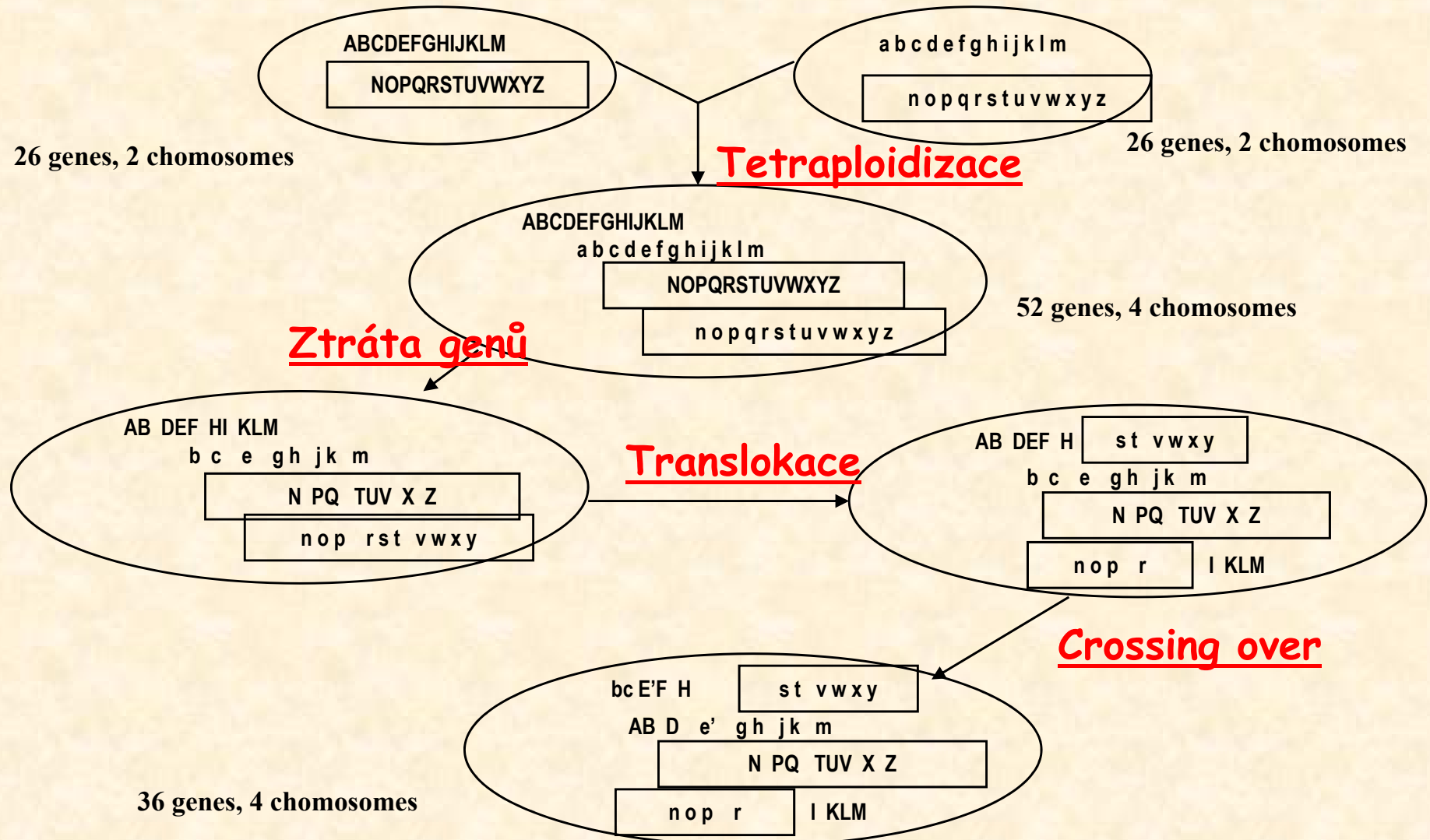
Dva modely:

- pouze růst genomů
- růst i zmenšování genomů

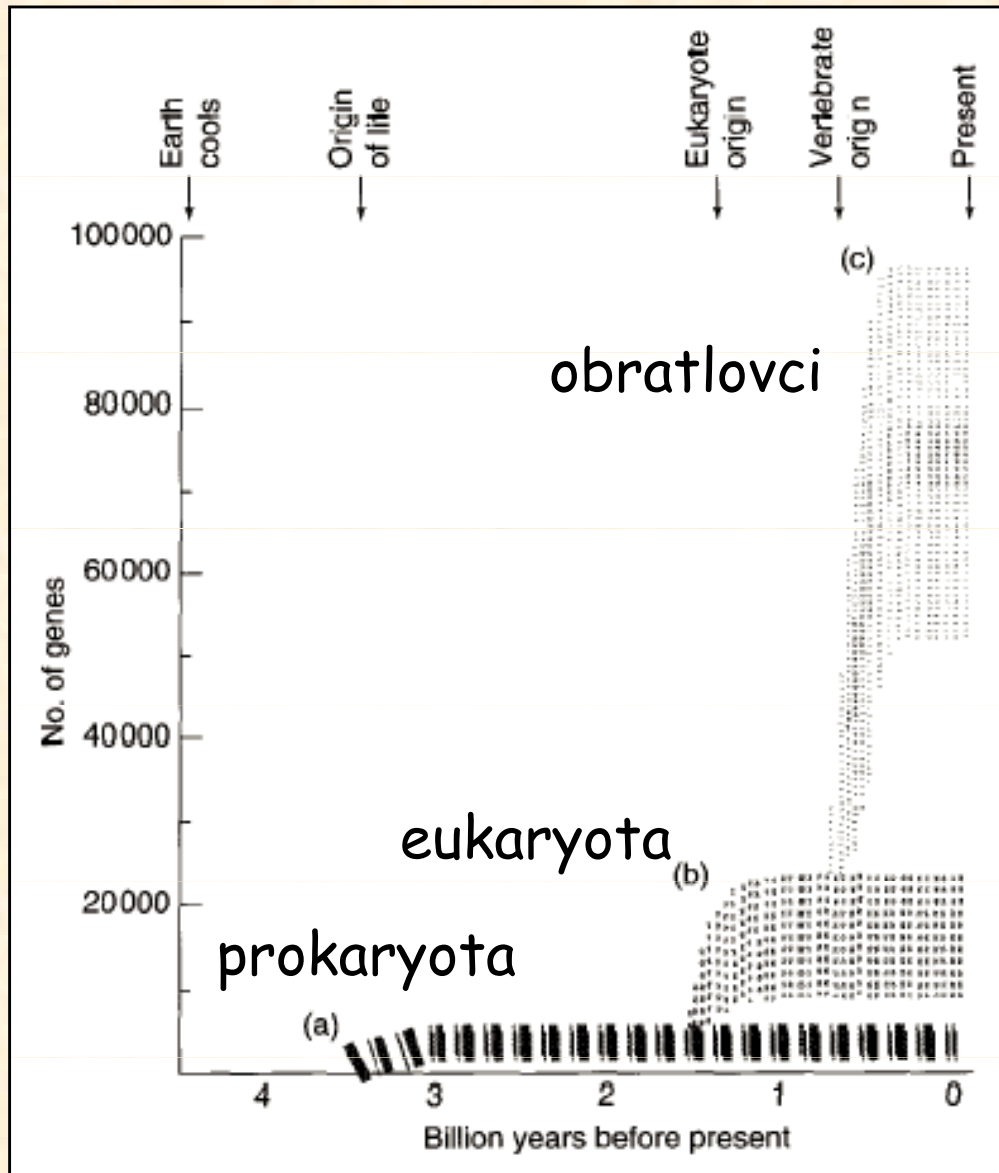
Limity růstu genomů:

- **fitness** hostitele
- mechanismy potlačující amplifikaci - **metylace**
- mechanismy odstraňování repeticí - **rekombinace**
 - nonLTR u *Laupala* x *Drosophila* - rychlost delecí
 - BARE - 42x více solo LTR než vnitřních částí
 - rekombinace uvnitř i mezi elementy
 - selekce na kratší LTR, solo LTR nejdelší

Počet genů a evoluce duplikovaného genomu



Vzrůst počtu genů, potlačení šumu a biologická komplexita



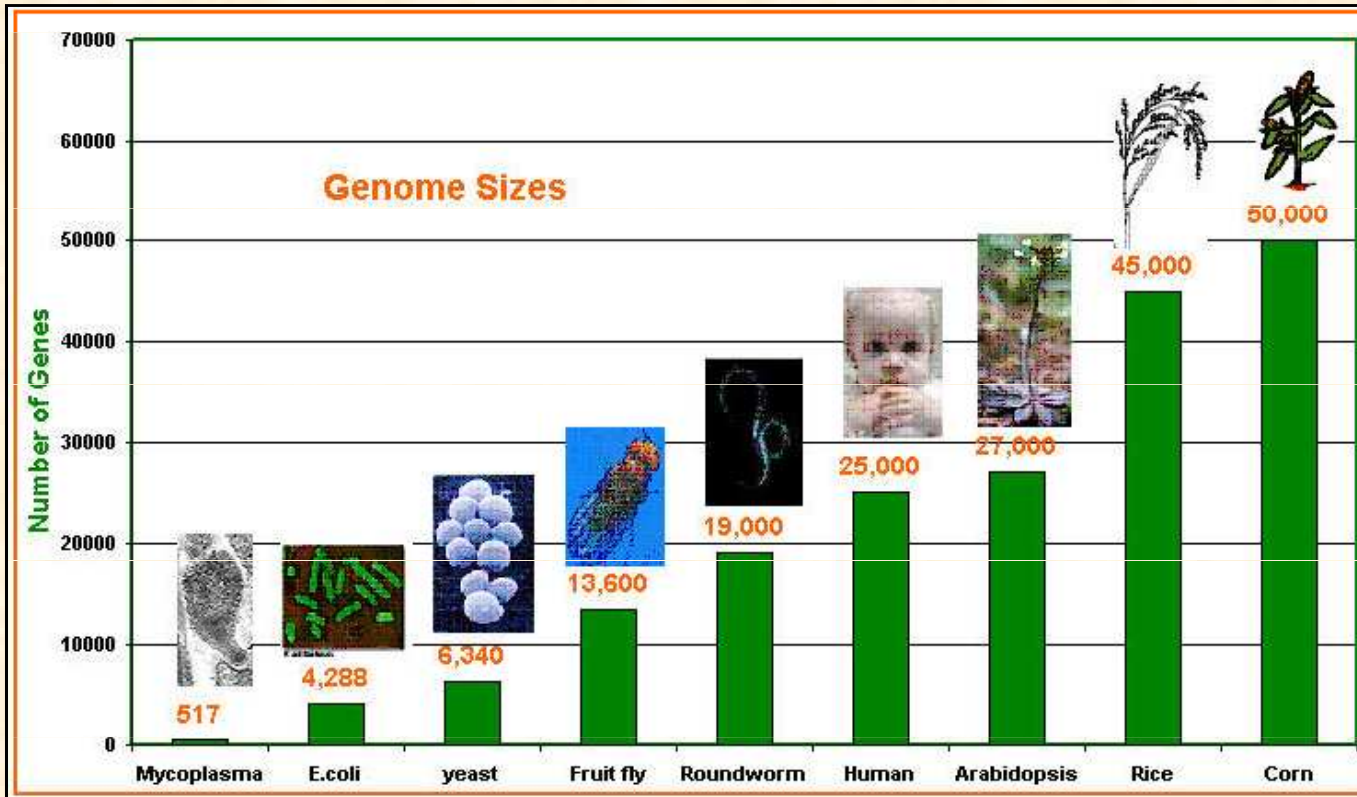
Prokaryota/eukaryota:

Potlačení šumu - **separace**
transkripce a translace,
jaderná membrána a
histony

Obratlovci:

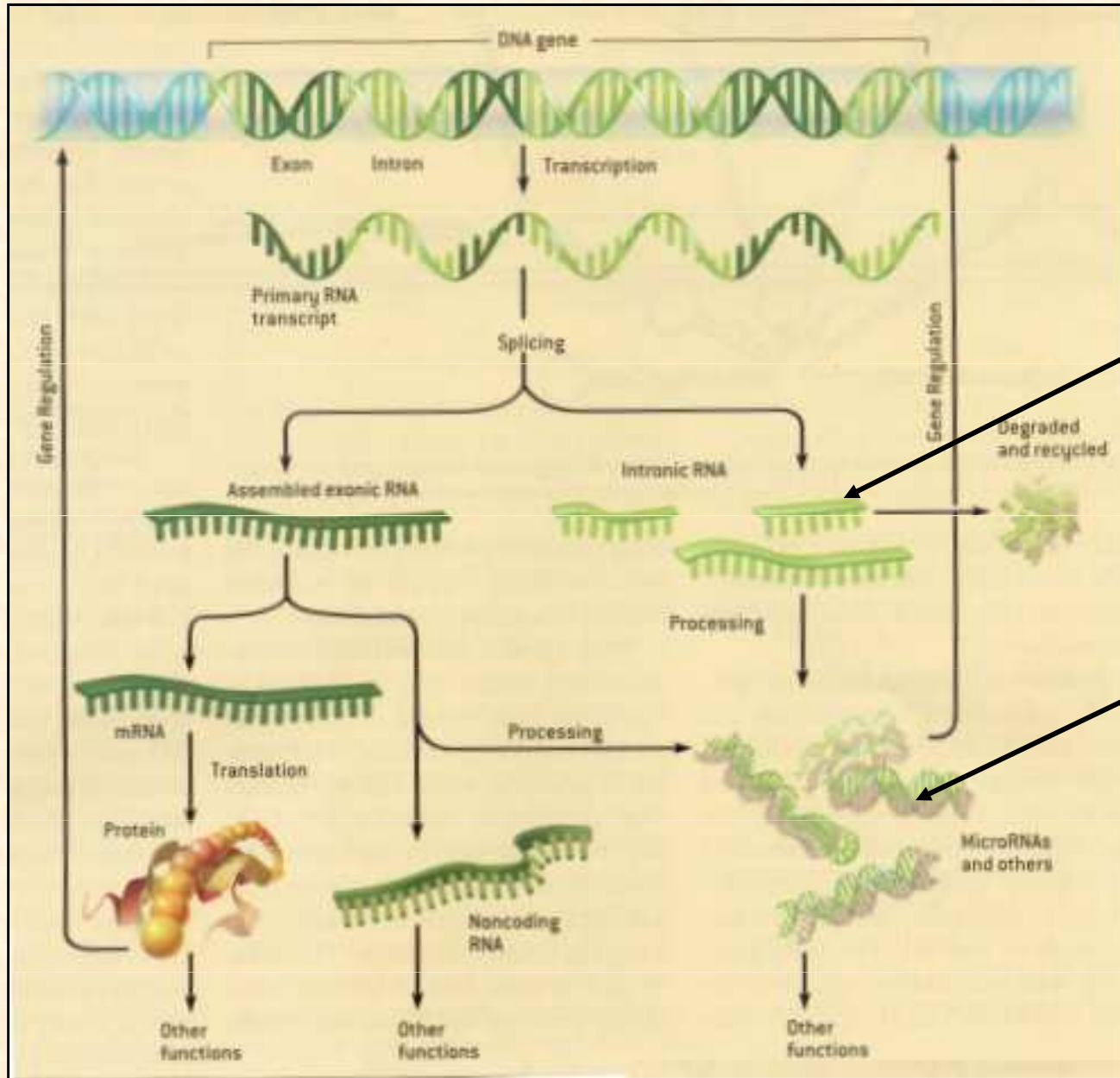
Potlačení šumu - **metylace**
genů, mobilních elementů a
duplikátů

Komplexita vzniká snadno, kontroluje se ale obtížně



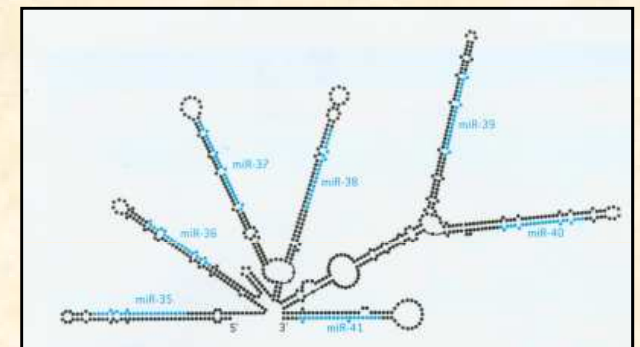
- **Komplexita** organismu **nekoreluje** s **počtem genů** kódujících proteiny (rýže má více genů než člověk)
- „Zbytečná“ DNA může kódovat RNA s různými **regulačními** funkcemi
- Geny-ostrovů v moři regulačních sekvencí

Nekódující DNA: Regulační systém na bázi RNA?



introny

MicroRNA



Regulační systém na bázi RNA

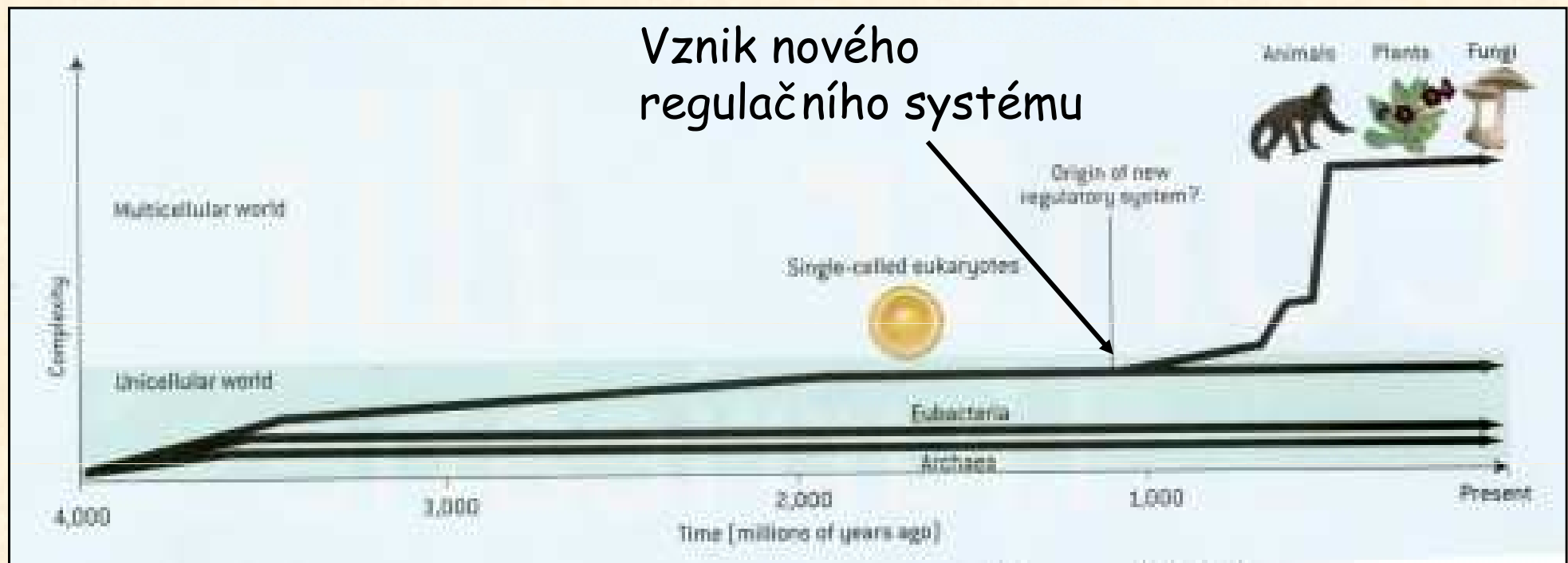
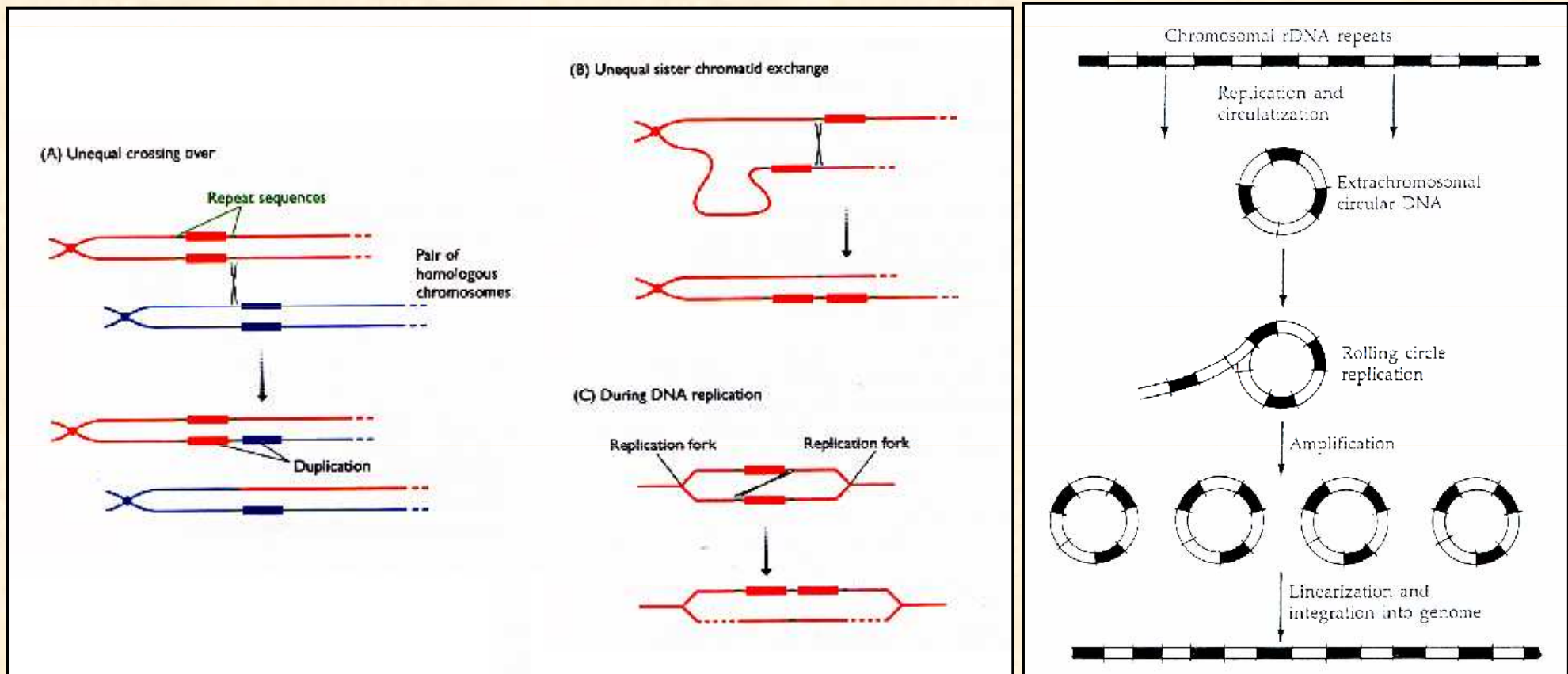


Figure 3 | A simplified biological history of the Earth. This graph is intended to present an overview. Some dates are still being debated and the abscissa ('complexity') has an arbitrary scale. Life appeared on Earth approximately 4,200 million years ago (mya), either arising as, or quickly streaming into, three main kingdoms — the eukarya, the bacteria and the archaea. Life remained unicellular, or at best colonial, for at least 3,000 million years. The common ancestor of the animals, plants and fungi is thought to have arisen approximately 1,200 mya, around the time at which the mitochondria entered the lineage through a rickettsial-like endosymbiont, an event that is postulated to have also brought with it type II self-splicing introns⁷⁵. Whether or not these events were coincidental, the incidence of introns (and other non-coding sequences) correlates with the complexity of the organism after that point. In the Cambrian period (~520 mya), complex animal life exploded in an event known as the metazoan radiation, in which recognizable ancestors of all modern phyla appeared only in a single strata of rock⁷⁸. What restrained the appearance of organized multicellular organisms for so long? Was it environmental or biochemical factors (such as oxygen tension and oxidative energy metabolism), or a primitive genetic operating system?

Mechanismy zvětšení genomů

- Duplikativní (retro)transpozice
- Nerovnoměrný (unequal) crossing-over
- Replikační klouzání (Replication slippage)
- Genová amplifikace (rolling circle replication)



NEKÓDUJÍCÍ DNA a VELIKOST GENOMU

Teorie úlohy nekódující DNA: adaptivní role vs. sobecká DNA

- Jaké evoluční síly produkují „zbytečnou“ DNA?
- Jaká je role „zbytečné“ DNA?
- Proč selekce toleruje „zbytečnou“ DNA?

Adaptivní role:

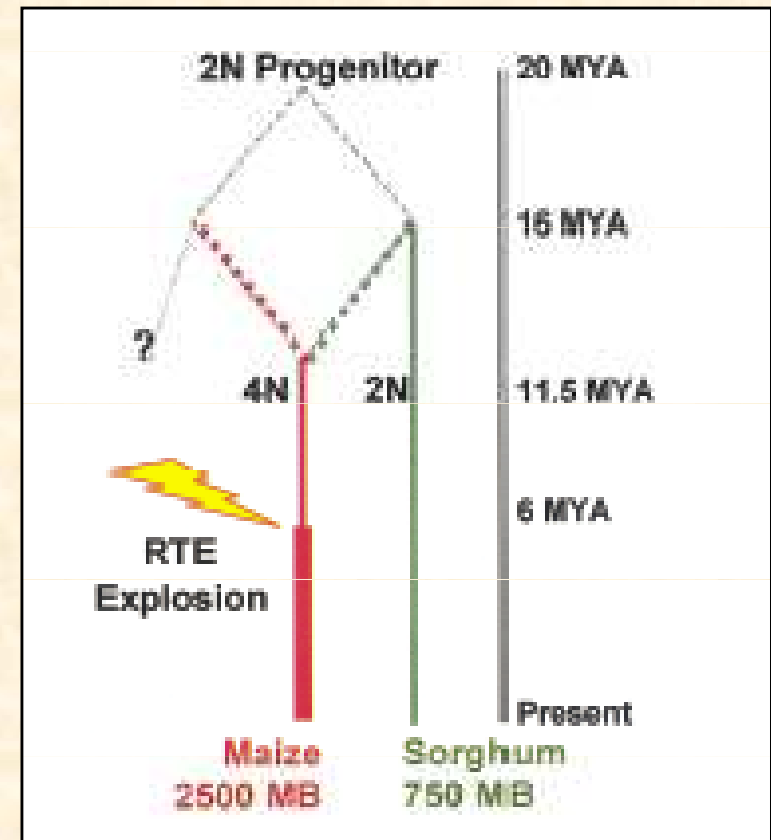
vliv nadbytečné DNA na fenotyp, vliv na velikost jádra a buňky, ochrana kódujících sekvencí před mutacemi, pufování koncentrace regulačních proteinů

Sobeká DNA (junk DNA):

Parazitické sekvence, mobilní elementy, fixace genetickým driftem, velikost genomu je tolerovatelné maximum závisující na ekologických a vývojových potřebách organismu

Big Bang v genomu kukuřice

- polyploidizace
- amplifikace transpozonů a retroelementů
- Exploze před 6 mil let
- Více inzercí do mezigenových oblastí
- Exponenciální růst mezigenových vzdáleností



Závislost velikosti genomu na zeměpisné šířce a nadmořské výšce

- korelace mezi velikostí genomu a teplotním režimem
- větší genomy nebo **polyploidi**:
 - arktické lososovité ryby
 - zooplankton arktických jezer (*Daphnia*, *Bosmina*)
 - rostliny v polárních oblastech
 - populace v teplých oblastech jsou diploidní

Obsah DNA je proměnlivý i v rámci jedince

Zvýšení obsahu DNA - endopolyploidie a polytenie:

- drosophila - polytenní chromosomy ve slinných žlázách
- *Daphnia* - tkáňově-specifické rozdíly v ploidii, 2-2048C, vliv na morfologii hlavy indukovanou predátorem
- *Bombyx mori* - 1 000 000 ploidní buňky žláz produkujících hedvábí
- korelace ploidie a velikosti buňky

Snížení obsahu DNA v somatických buňkách:

- nematoda, bičíkovci, dvoukřídlí,
- např. *Cyclops strenuus* - somatické b. mají 5% obsahu DNA oproti oplozenému vajíčku
- vysvětlení z hlediska **sobecké DNA** - delece DNA ze slepé somatické linie a ne ze zárodečné linie, jak repetitivní DNA může tak významně ovlivnit genetické mechanismy svého hostitele
- změna obsahu DNA během života jako odpověď na stimuly - rozpor s Darwinismem

Vliv velikosti genomu na fenotyp

Velikost genomu koreluje s:

+

- velikostí jádra
- velikostí buňky (nucleotypic effect)
- dobou mitózy a meiózy
- minimální generační dobou
- velikostí semen
- odpovědí letniček vůči CO_2
- dobou vývoje embrya u mloků

-

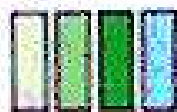
- rychlostí bazálního metabolismu u obratlovců (negativní korelace)
(malý genom ptáků a netopýrů - rychlý metabolismus při letu, velký genom ryb - estivace za hypoxických podmínek)
- morfologickou komplexitou mozků u žab a mloků (negativní korelace)

GEOGRAFIE GENOMU

Uspořádání genů v genomech



KEY



Tandem repeats



Centromere-associated tandem repeats



Telomeric and sub-telomeric repeats



Dispersed *Ty1/copia* retroelements and microsatellites

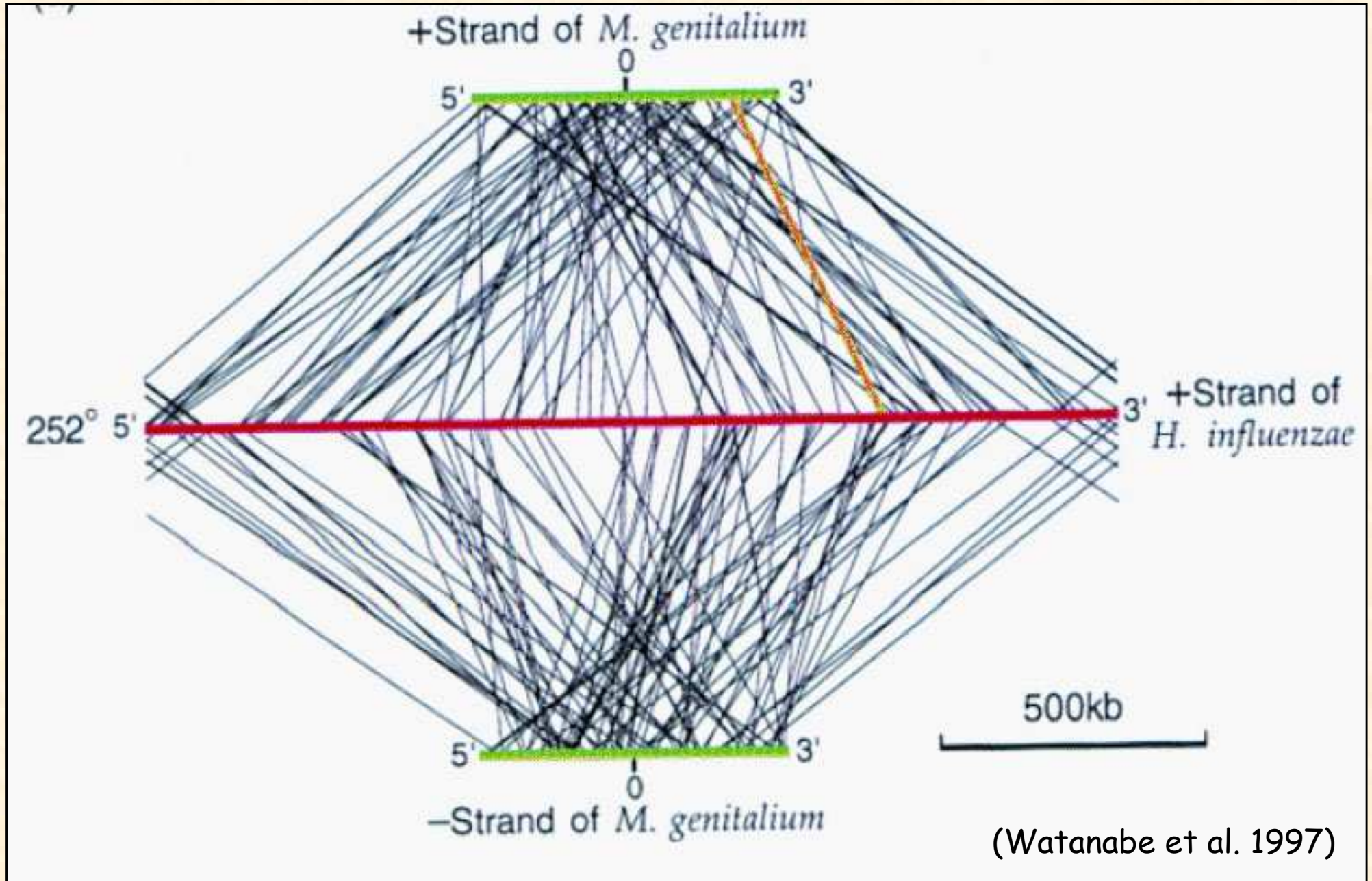


LINEs

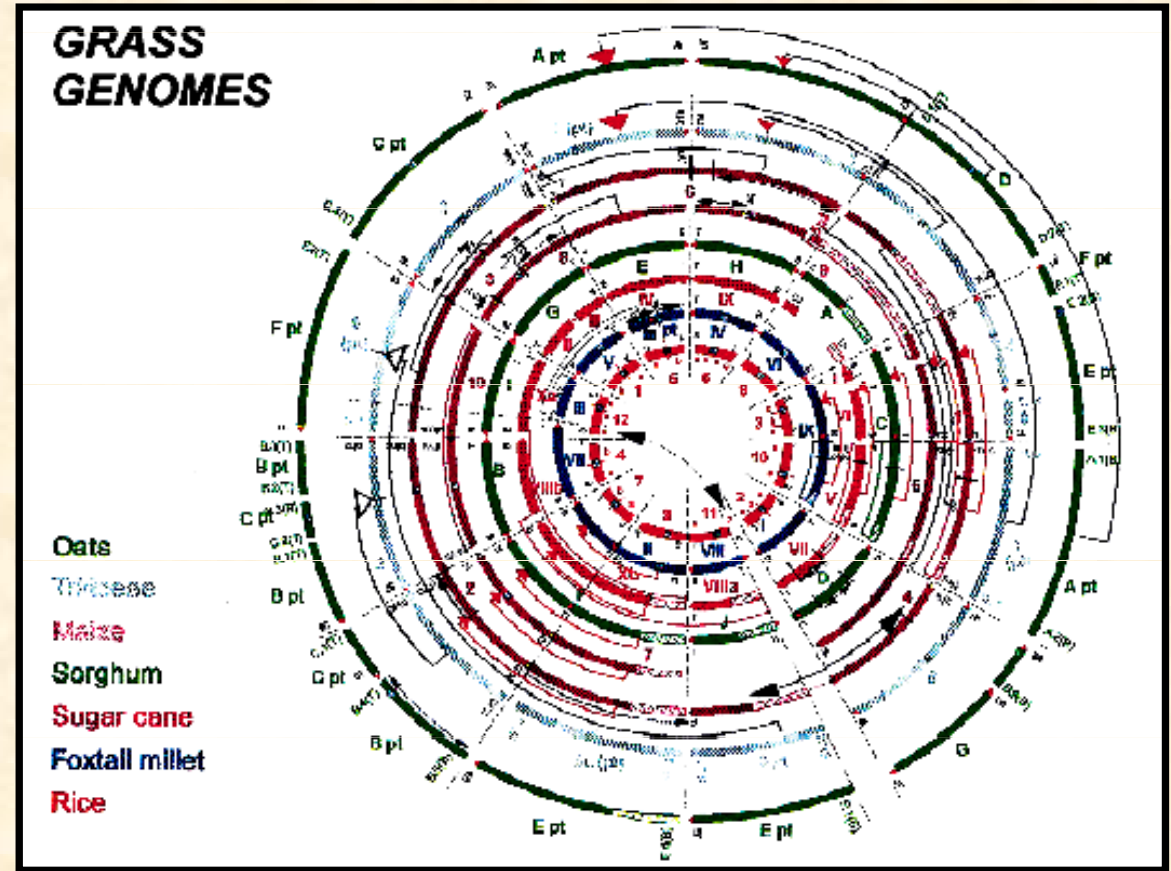
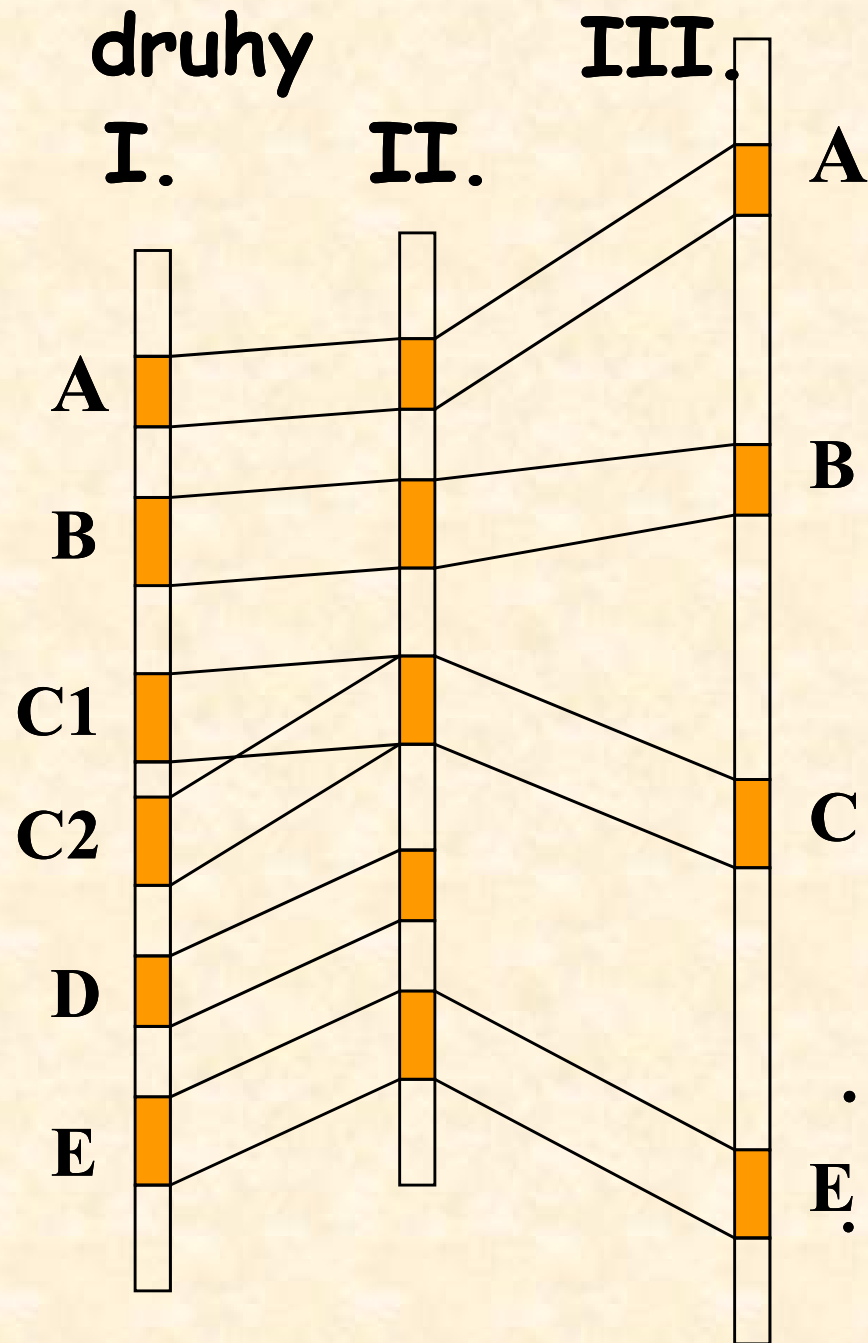


Single and low-copy sequences including genes

Přestavby pořadí genů u bakterií



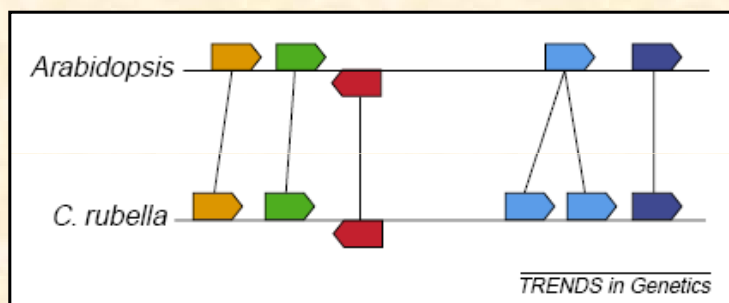
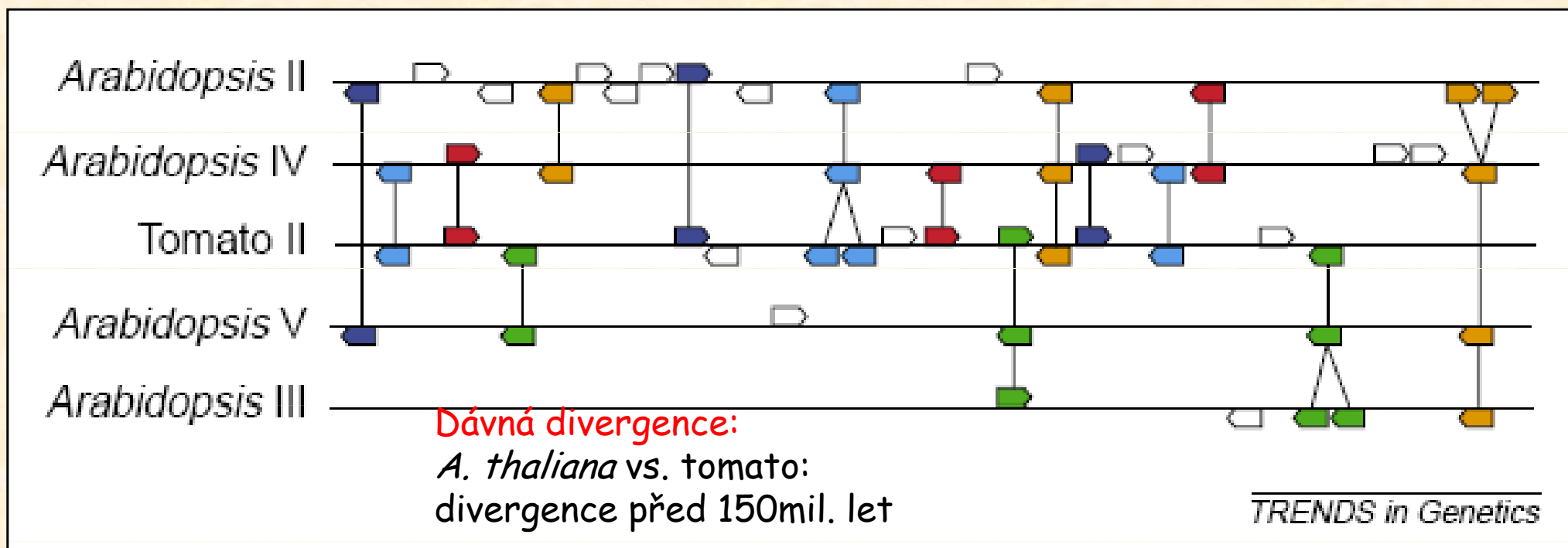
Syntenie - konzervativita pořadí genů



- high conservation of gene sequences and order
- E • no homologies of intergenic sequences

Makro- vs. mikro- kolinearita

- konzervativita v dlouhých úsecích
- mikrostruktura více dynamická, mix s jinými geny
- polyploidie urychlí evoluci mikrostruktury
- změny již u prvních generací syntetického alotetraploida u Brassica



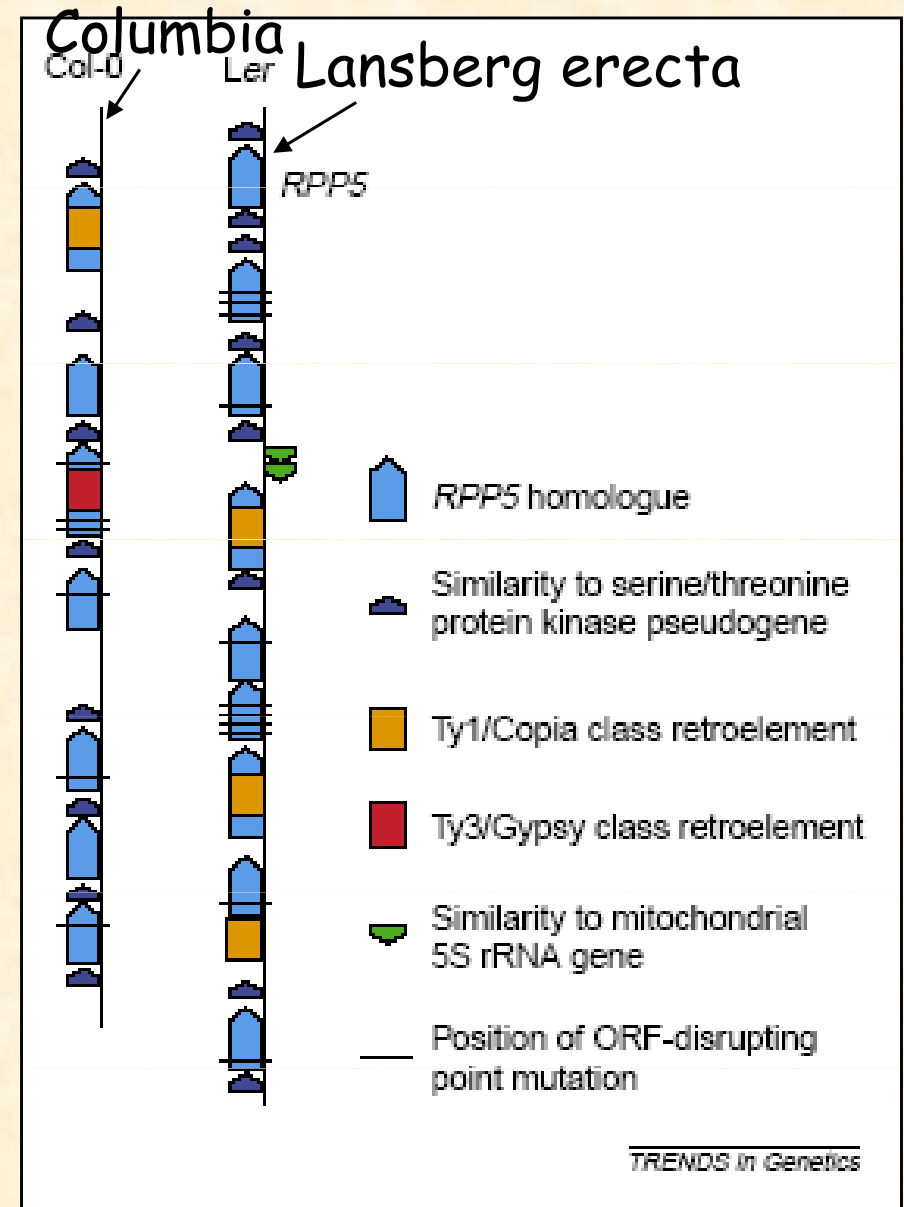
Nedávná divergence:
A. thaliana vs. *Capsella rubella*:
divergence před 6.2-9.8 mil. let

(Bancroft, 2001)

Rychlá evoluce oblasti rezistence k patogenu

(Bancroft, 2001)

- gen „RPP5“ - rezistence k *Perenospora parasitica*
- rozdíly mezi A.t. **ekotypy** Lansberg erecta a Columbia
- většinou pseudogeny
- tandemové duplikace a nerovnoměrný crossing-over je mechanismem rychlé evoluce



Počty chromosomů u různých druhů

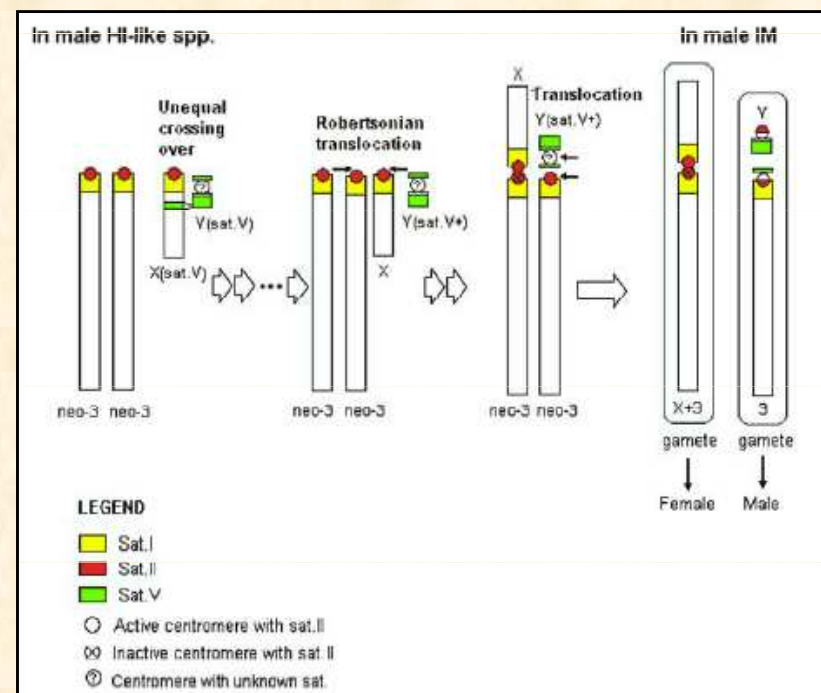
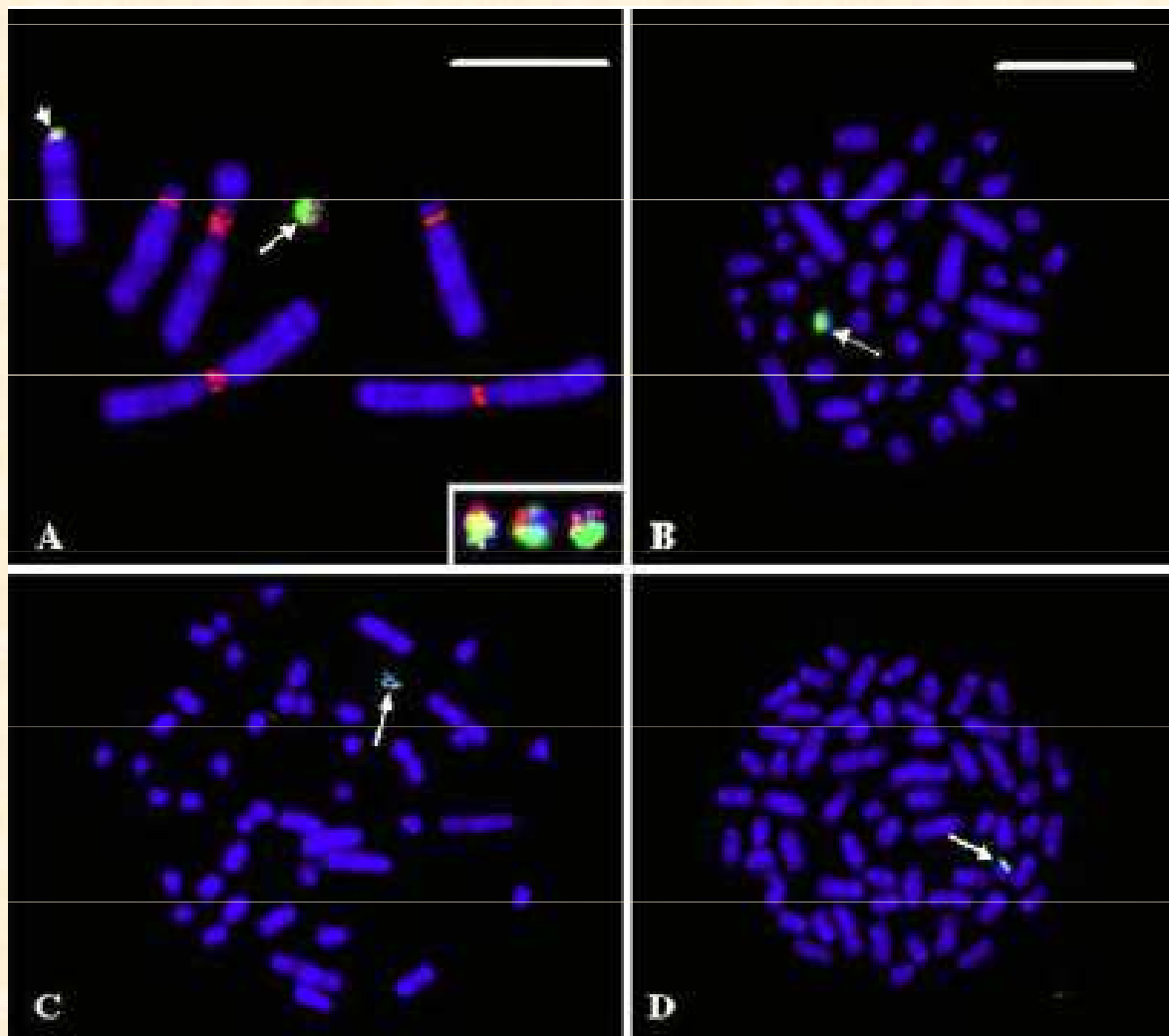
Common Name	Species	Diploid number	Common Name	Species	Diploid number
Animals (2n)			Plants (2n)		
Human	<i>Homo sapiens</i>	46	Corn	<i>Zea mays</i>	20
Monkey	<i>Macaca mulatta</i>	42	Potato	<i>S. tuberosum</i>	48
Dog	<i>Canis familiaris</i>	78	Green algae	<i>A. mediterranea</i>	20
Cat	<i>Felis domesticus</i>	38			
Mouse	<i>Mus musculus</i>	40	Fungi (2n)		
Frog	<i>Rana pipiens</i>	26	Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	32
Fruit fly	<i>Drosophila melanogaster</i>	8	Fungi (1n)		
Flatworm	<i>Planaria torva</i>	16	Mold	<i>Penicillium species</i>	4

Extrémisté:

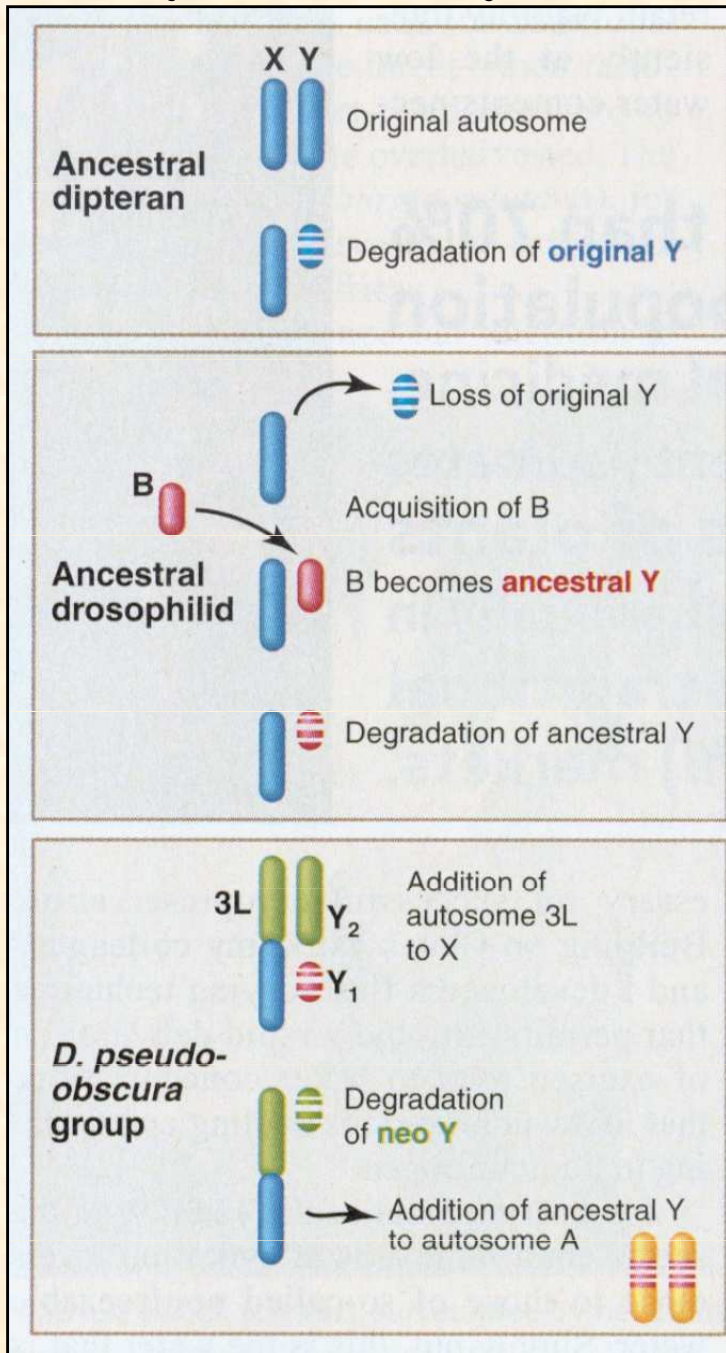
mravenec *Myrmecia pilosula* - 1 pár, samec 1 chromosom
 kapradina *Ophioglossum reticulatum* - 630 párů

Různé počty chromosomů u blízce příbuzných druhů jelíneků *Muntiacus*

různé druhy



Recyklace pohlavních chromosomů u drozofily



První Y chromosom: „original Y“:
- vymizel před více než 60 mil. lety

Druhý Y chromosom: „ancestral Y“:
- párování B chromosomu s X chromosomem ~ 60 mil years ago
- získání užitečných genů z autosomů
- degenerace

Třetí Y chromosom: „neo Y“
- fúze X s autosomem
- připojení ancestrálního Y na A
- opět degenerace neo-Y

B chromosomy - parazité

Definice: přídavné postradatelné chromosomy přítomné v některých jedincích některých populací určitých druhů, které zřejmě vznikly z A chromosomů

Vlastnosti B chromosomů:

1. postradatelnost
2. původ z A chromosomů, odlišnost od A chromosomů
3. nerekombinují
4. neúčastní se meiózy, nemendelovská dědičnost

Historie:

Wilson (1906) - „extra“ chromosomy u hmyzu *Metapodius*

Stevens (1908) - u brouka *Diabrotica*

Kuwada (1915) - kukuřice

Rozšíření: 10 druhů hub, 1300 rostlin, 500 živočichů

Převaha u určitých taxonů - Compositae, Graminae, Liliaceae,

Orthoptera, např. u hmyzu Orthoptera ~ u 10-15% druhů

B chromosomy - parazité

Vznik: aneuploidie, ze sex chromosomů (i naopak), z jiných druhů

Počet:

- vyjíměčně více než 3-4 B chromosomy, rozdíly mezi populacemi i mezi jedinci
- extrémy: 50 u *Pachyphytum fittkai*, 34 u kukuřice, 26 u *Fritillaria japonica*, 24 u myši *Apodemus peninsulae*
- mitoticky stabilní - stejný počet v buňkách téhož jedince

Velikost a struktura:

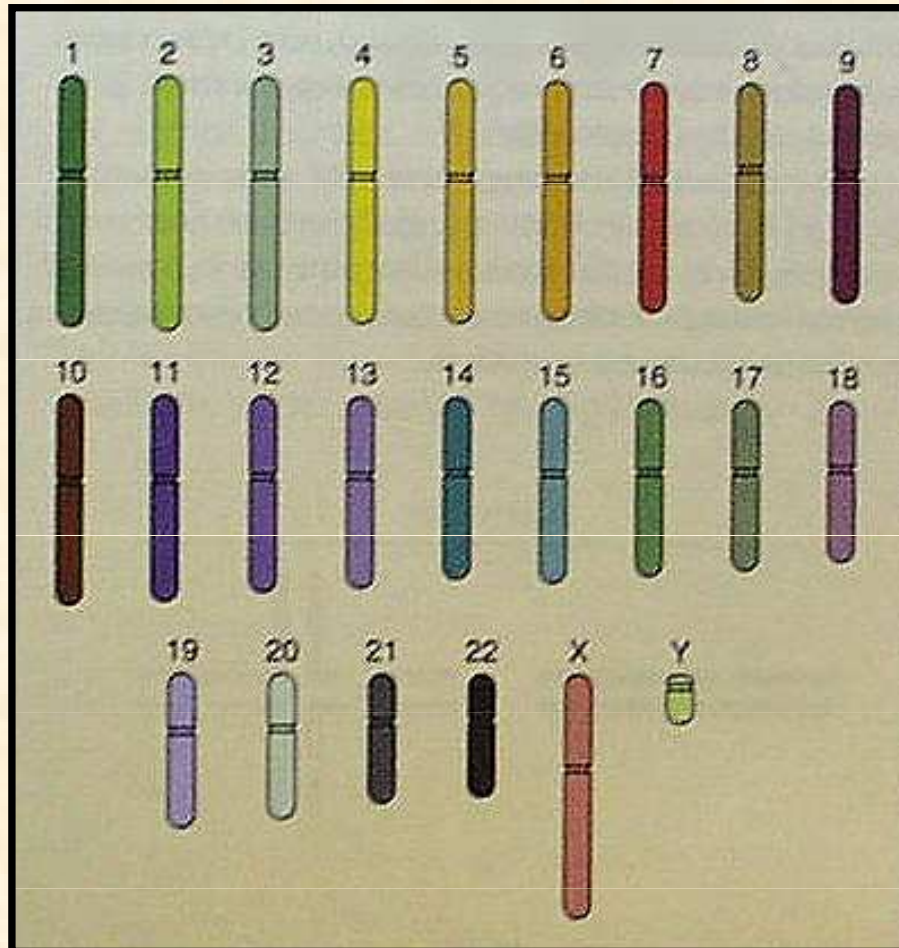
- velikost průměrných chromosomů, extrémy - největší (ryba *Astyanax scabripinnis*) nebo nejmenší (myš *Reithrodontomys megalotis*)
- metacentrické nebo akrocentrické, heterochromatické,
- obsahují repetice, satelitní DNA, rDNA, transpozony (mikrodisekce a PCR), nerekombinují

Chování v meióze:

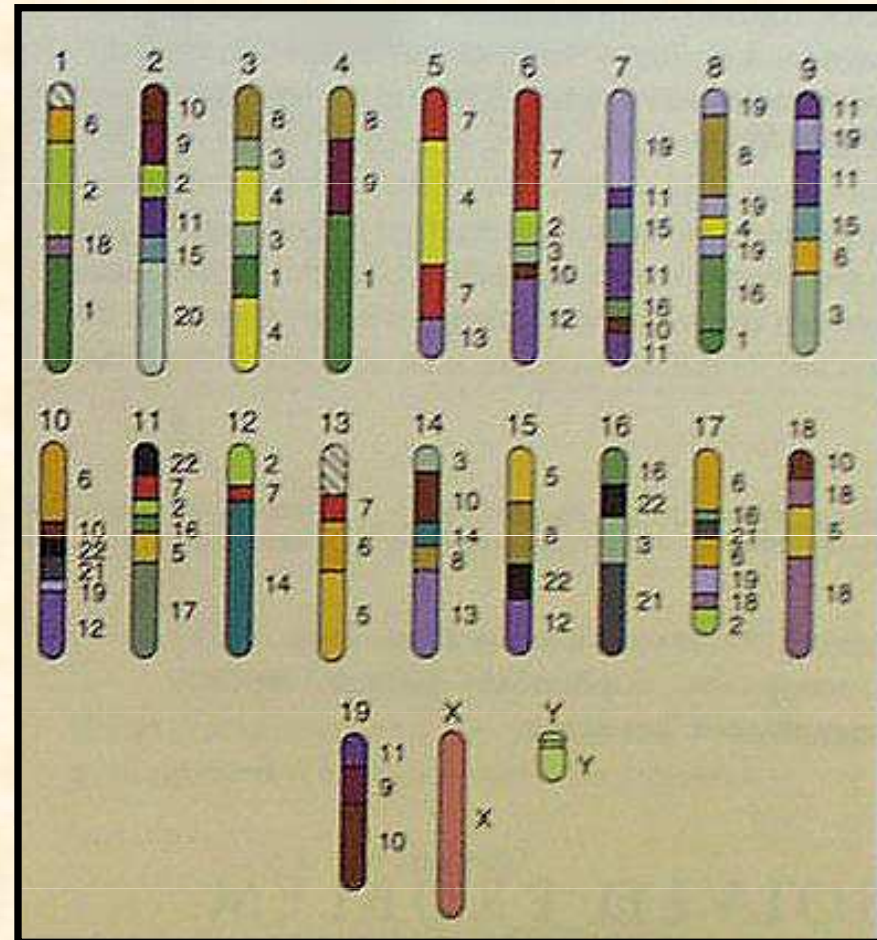
- nepárujíc se s partnerem, univaletní, segregují přednostně k určitému pólu, podobnost s pohlavními chromosomy, MSCI,

Srovnání lidských a myších chromosomů

člověk

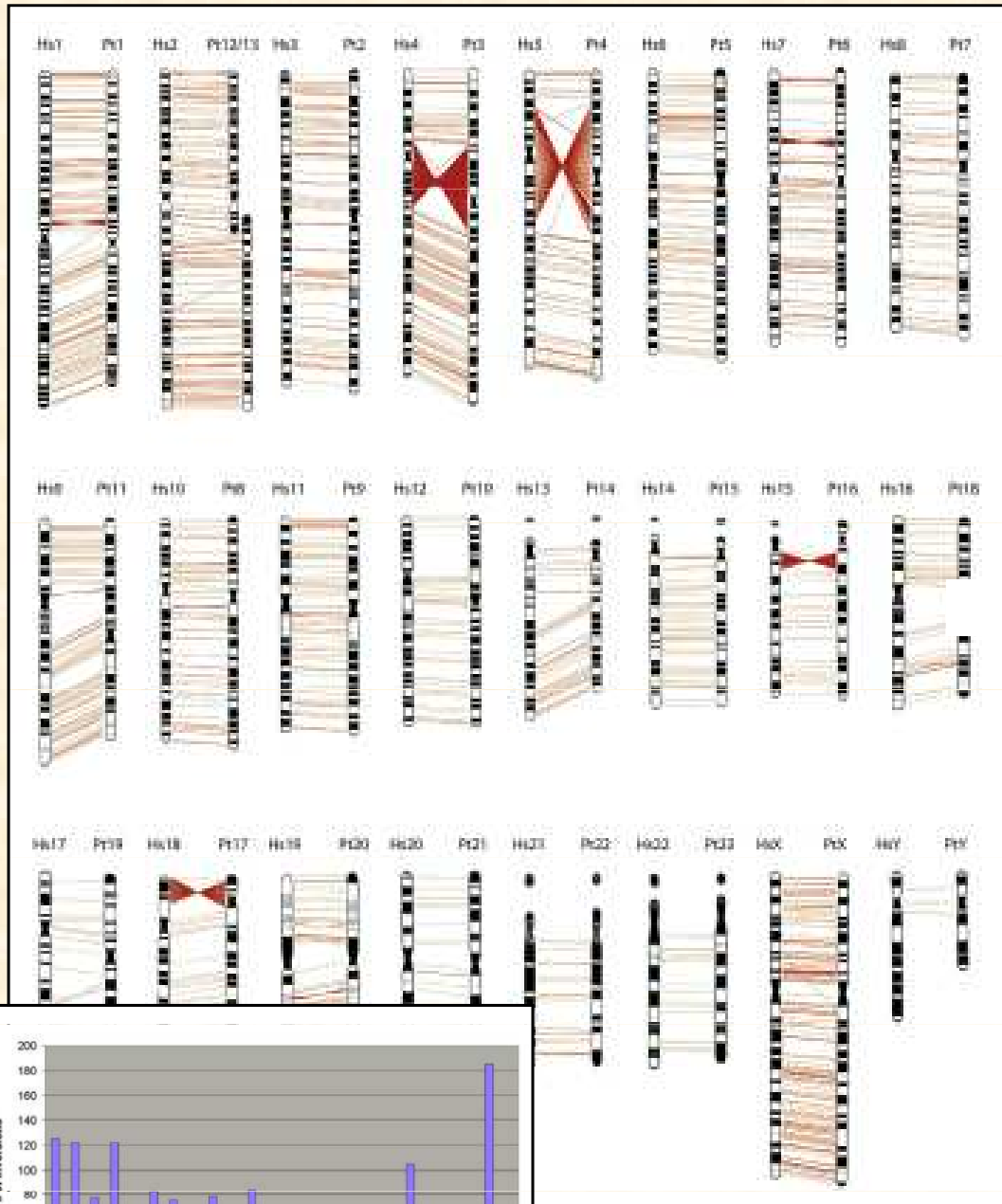


myš



Od evoluční divergence došlo k četným přestavbám, které umístily bloky genů do různých kombinací.

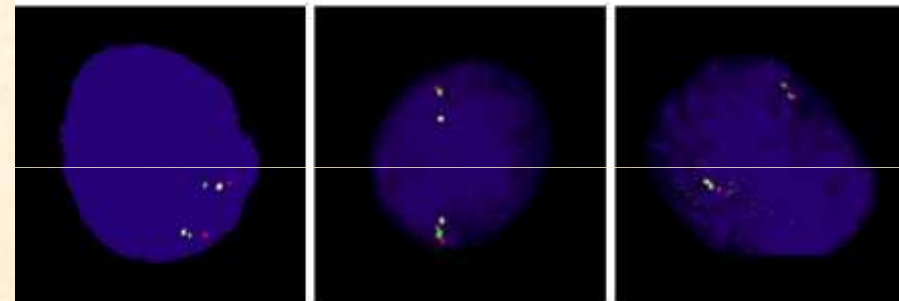
Inverze v genomech člověka a šimpanze



Human
B. 7p22 region

Chimpanzee

Gorilla

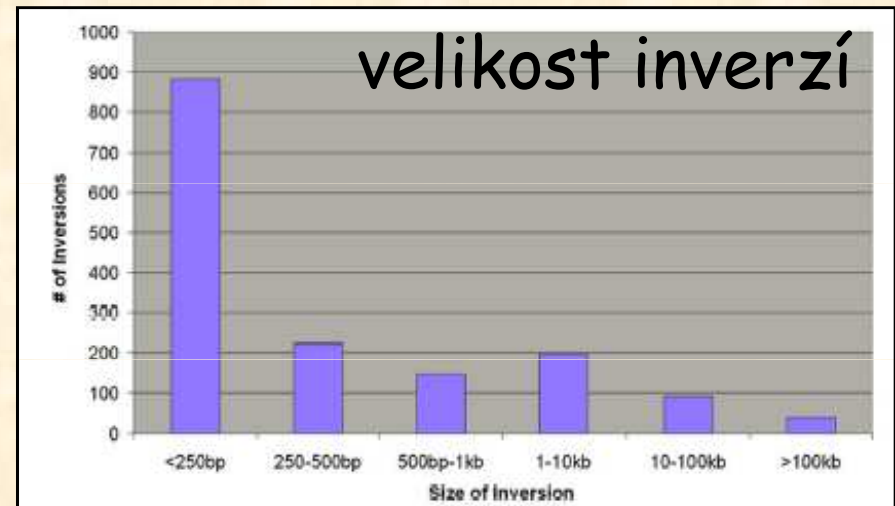
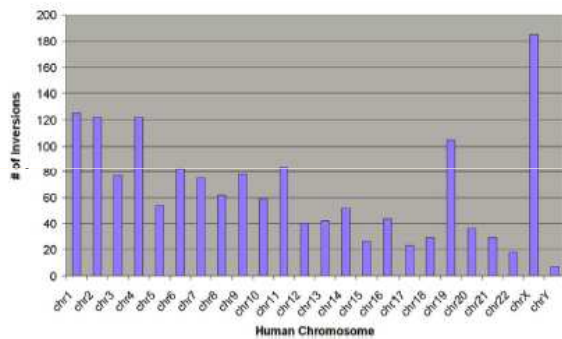


Human

Chimpanzee

Gorilla

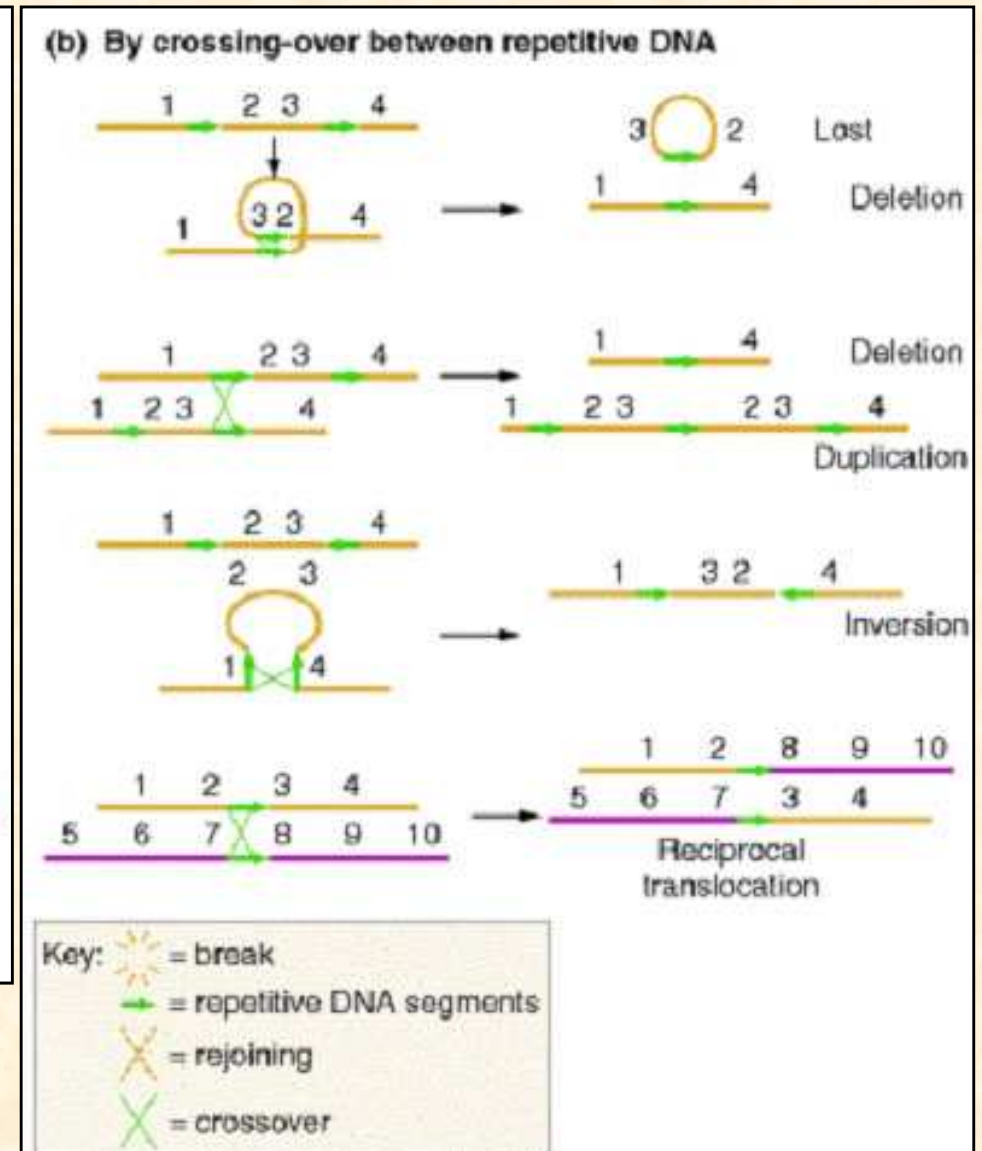
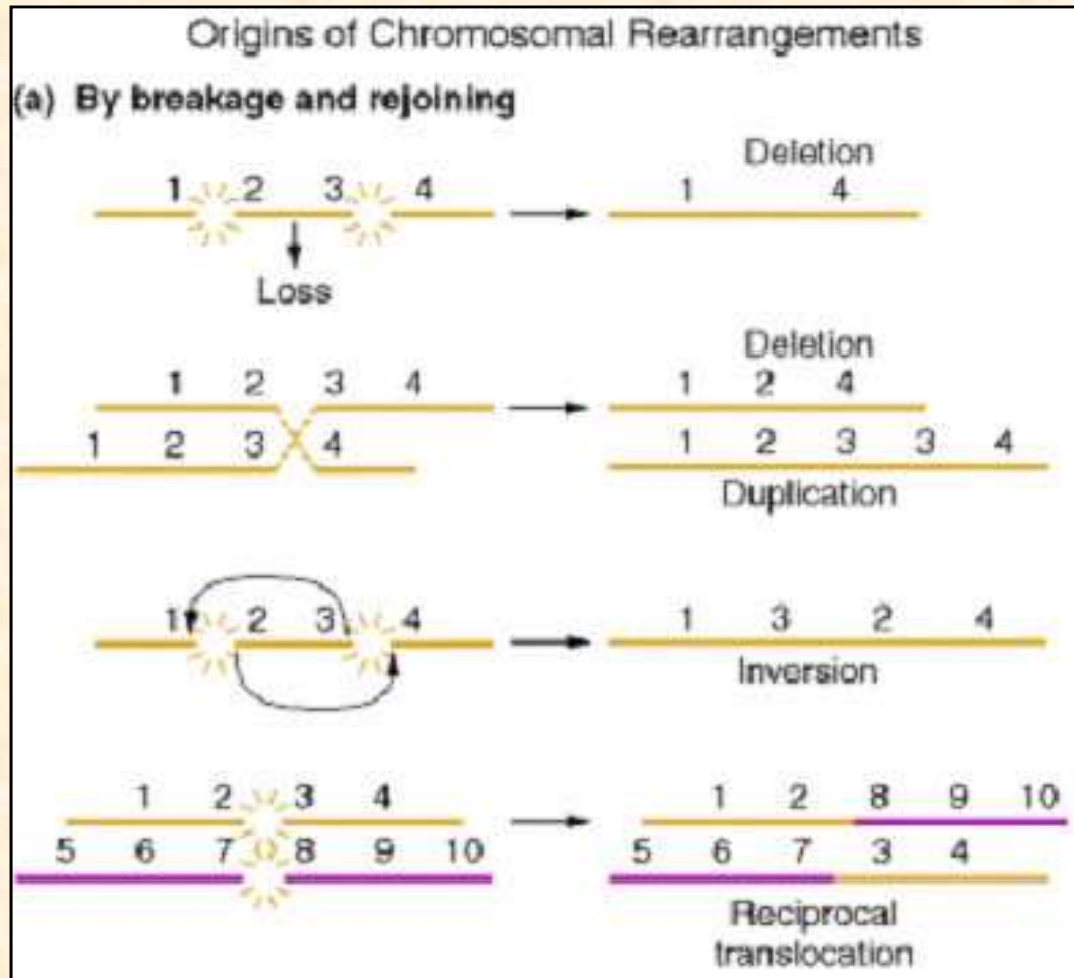
Člověk: červená-žlutá-zelená
Šimpanz a gorila: červená-zelená-žlutá



Chromosomové přestavby

zlom a znovuspojení

rekombinace mezi repetitivními



(Introduction to Genetic Analysis. 7th ed)

Griffiths, Anthony J.F.; Gelbart, William M.; Miller, Jeffrey H.; Lewontin, Richard C.

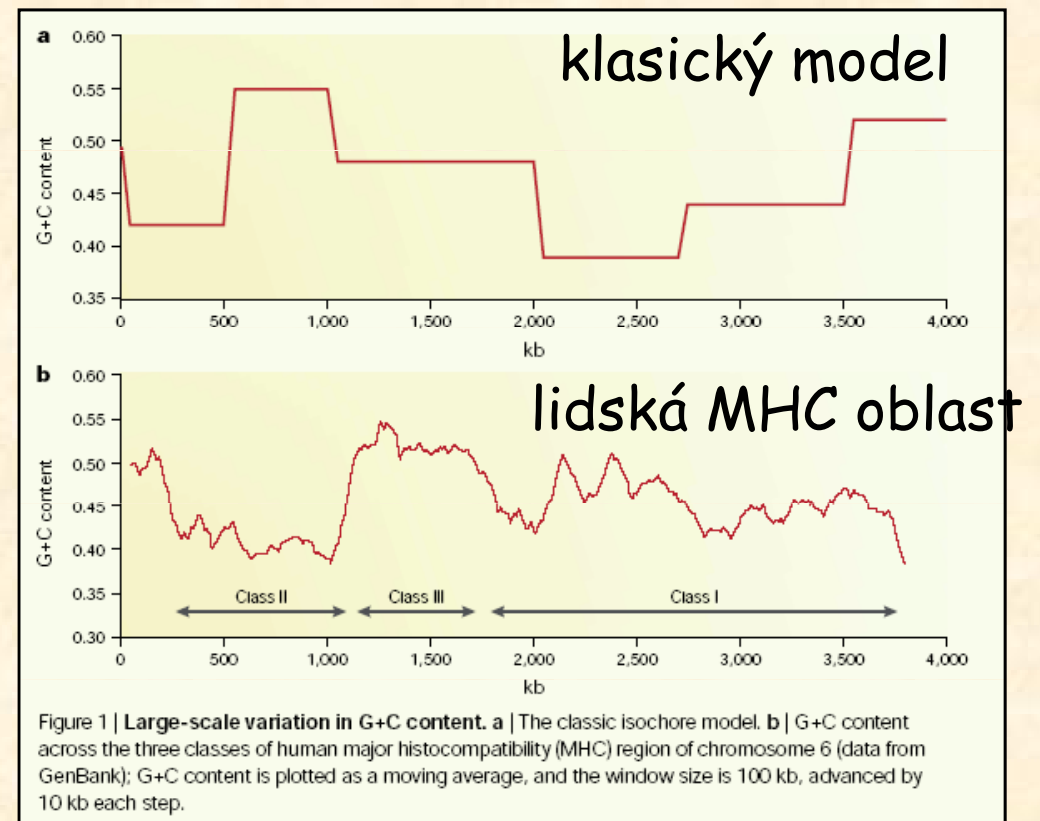
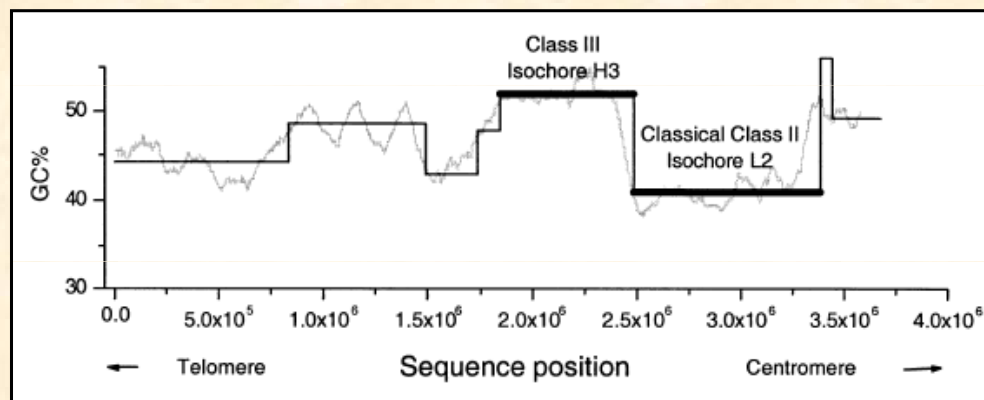
Izochorový model organizace genomu

Isochory: bloky genomové DNA (stovky kb-Mb) s charakteristickým GC-obsahem, ostrý přechod

- fragmentace genomové DNA na fragmenty 30-100kb
- separace fragmentů podle obsahu bází
- shlukování do skupin s diskrétními GC-obsahy, u člověka typy L1, L2, H1, H2 a H3 (GC nejbohatší, tvoří jen 3% ale obsahuje 25% genů)
- Mozaiková struktura genomu obratovců a rostlin

Původ izochor:

1. Výsledek mutací?
2. Výsledek selekce?
3. Genová konverze?



Procesy vedoucí ke tvorbě izochor

1. Mutační bias:

- včleňování nukleotidů při replikaci je ovlivněno koncentrací volných nukleotidů, ta se mění během b. cyklu
- **koncentrace** nukleotidů závisí na poloze v jádře
- různé části genomu **replikovány** v různou dobu
- příčinou izochor je různá účinnost **reparace** DNA
- izochory jsou důsledkem **deaminace** cytosinu (C-U), častější v AT-bohatých oblastech, jejich růst

2. Selektce:

- izochory jsou výsledkem selektce, proč na repetících?
- selektce na úrovni **teplotní stability** DNA a zastoupení **AK**

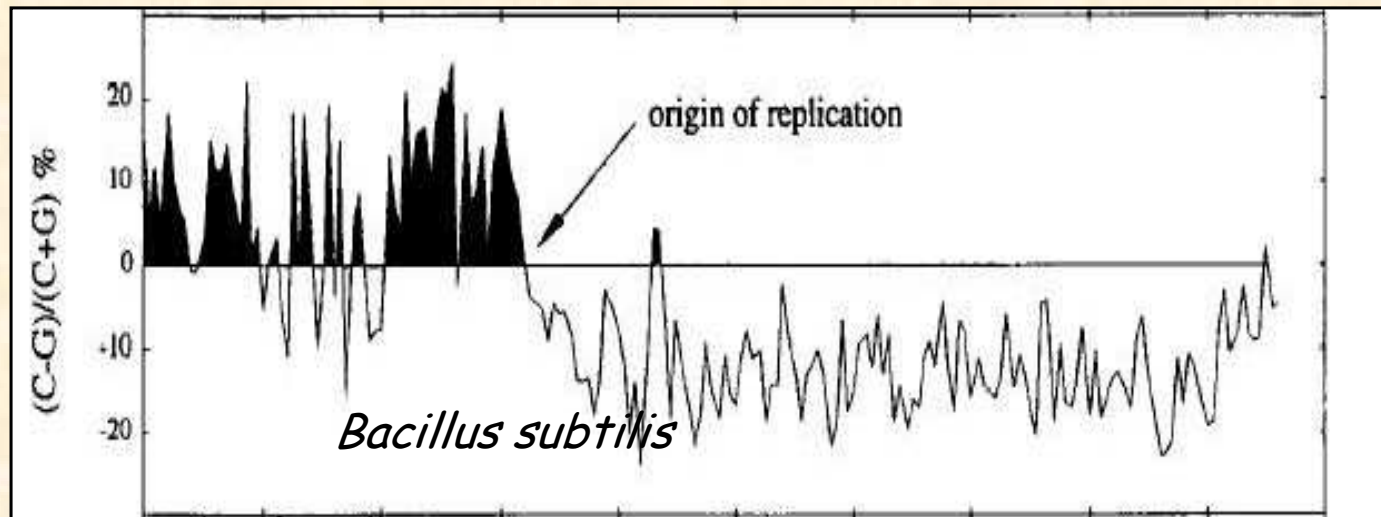
3. Genová konverze (biased gene conversion, BGC):

- rekombinace, heteroduplex, reparace, bias, konverze
- korelace mezi frekvencí rekombinace a obsahem GC

Další zajímavé struktury v genomu: chirochory

Chirochory:

- různý obsah bází v komplementárních vláknech bakteriální DNA
- oblasti s homogenním zastoupením bází v jednom vlákně
- korelace s polohou replikačního počátku

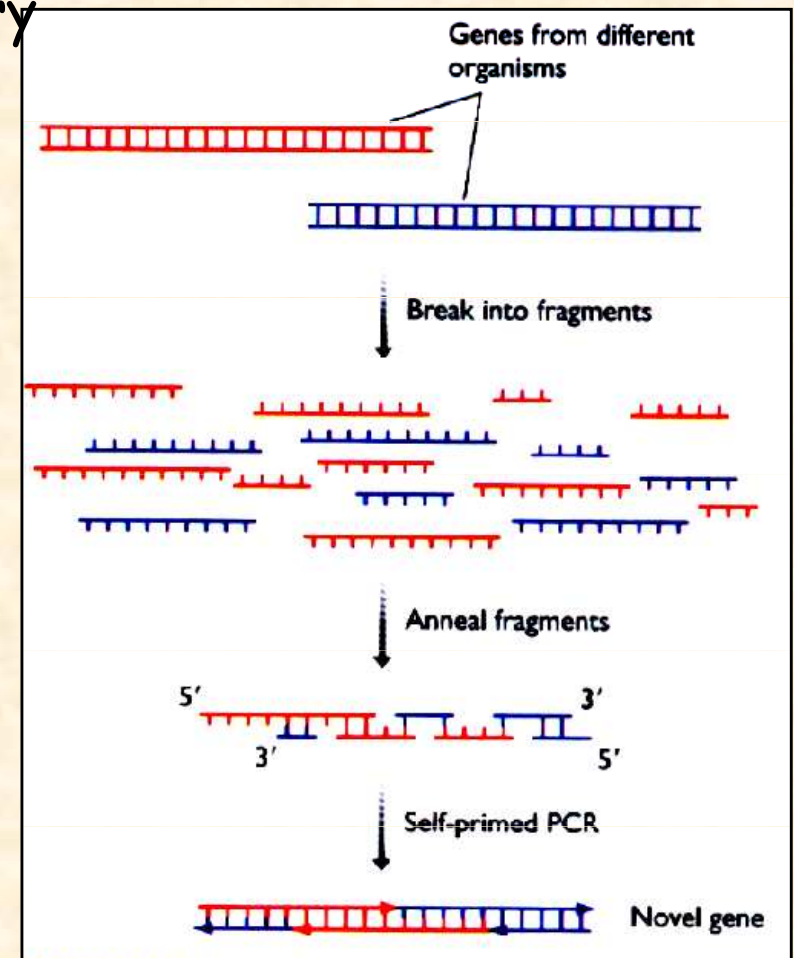


Jak studovat evoluci genomu?

- Simulace evoluce „*in silico*”
- Evoluční experimenty „*in laboratory*”
 - SELEX experimenty - ribozymy, aptamery
 - selekce bakterií
 - řízená evoluce *in vitro*

- tvorba rekombinantních proteinů
- mix klonovaných genů
- fragmentace a self-priming PCR
- cephalosporinase enzym
- rezistence k moxalactamu
- Citrobacter, Enterobacter aj.
- 0.75ug/ml --- 200ug/ml (250x)

řízená evoluce



GENOMOVÉ PROJEKTY

První genomové projekty - začátek éry genomiky

1977: první kompletní genom (virus) -
bakteriofág phiX174 (5 386 bp)
Sanger et al., Nature 265, 687-695.

1995: první kompletní genom autonomního organismu -
bakterie *Haemophilus influenzae* (1.38 Mb)
Fleischmann et al., Science 269, 496-512.

1996: první eukaryotický organismus -
kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*
Goffeau et al., Science 274, 563-567.



Genomové projekty



1996: *Saccharomyces cerevisiae* (12 Mb/ 6548 genes)



1998: *Caenorhabditis elegans* (97 Mb/19 099 genů)

2000: *Drosophila melanogaster*
(137 Mb/13 500 genů)



Mus musculus
(3 300 Mb)



2000: *Arabidopsis thaliana*
(125 Mb/25 500 genů)



Jak zjistit stav genomových projektů



GOLD[™] Genomes OnLine Database v 2.0



Contact: Genomesonline	Last Update: January 31, 2006	Location www.genomesonline.org
	Search GOLD : 1945 genome projects	28 Metagenomes
340 Published Complete Genomes	989 Prokaryotic Ongoing Genomes	588 Eukaryotic Ongoing Genomes

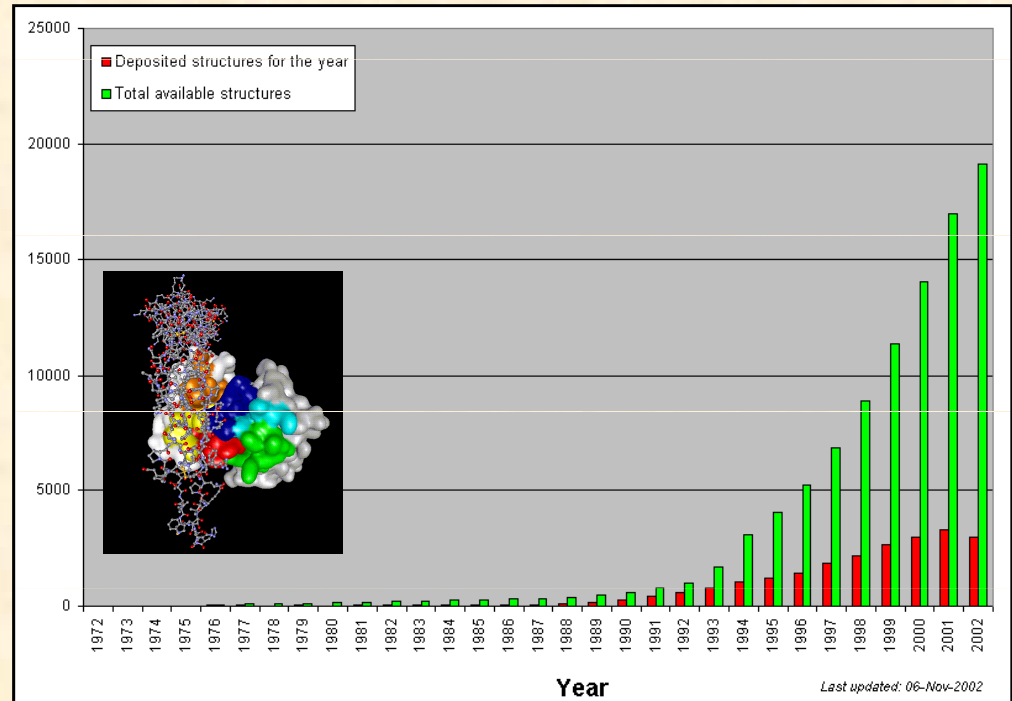
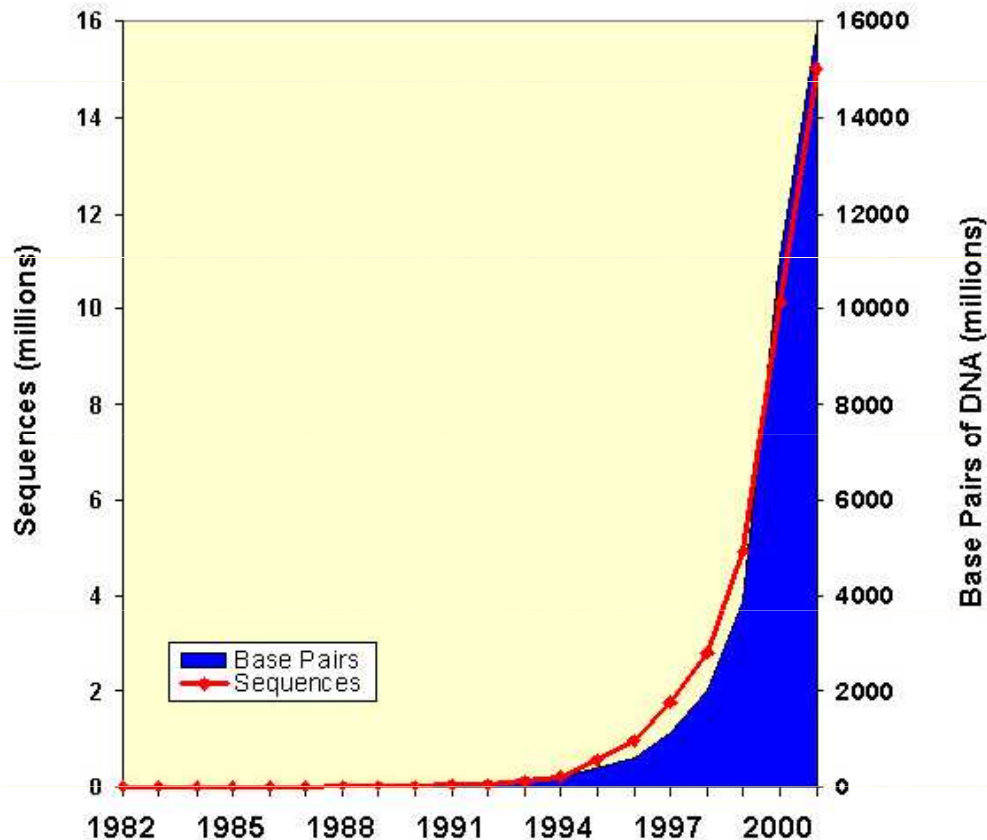
<http://www.genomesonline.org/>

Objem dat v databázích roste exponenciálně

>60 000 000 000 bp
>55 000 000 sekvencí

> 20 000 struktur

Growth of GenBank



~ 165 000 organizmů

Hlavní databáze

Genbank - sekvence DNA, veřejně přístupná

SWISS-PROT - sekvence proteinů, popis funkce,
struktury domén

dbEST - sekvence cDNA z různých organismů

REBASE - restriktázy a metylázy

PEDANT - kompletní nebo parciální sekvence genomů

PDB - 3D koordináty makromolekulárních struktur

REPBASE - repetitivní sekvence

Genomové sekvenační projekty

únor 2006

340 ukončených projektů:

19 archea
175 bakterie
28 eukaryota

975 probíhajících projektů:

989 prokaryota
588 eukaryota
28 archea

Ukončené eukaryotické genomy:

protozoa: *Plasmodium falciparum* (23 Mb)

fungi: *Saccharomyces cerevisiae* (12 Mb)

Neurospora crassa (43 Mb)

nematodes: *Caenorhabditis elegans* (97 Mb)

insects: *Drosophila melanogaster* (137 Mb)

Anopheles gambiae (278 Mb)

fish: *Ciona intestinalis* (117 Mb)

mammals: *Homo sapiens* (2900 Mb)

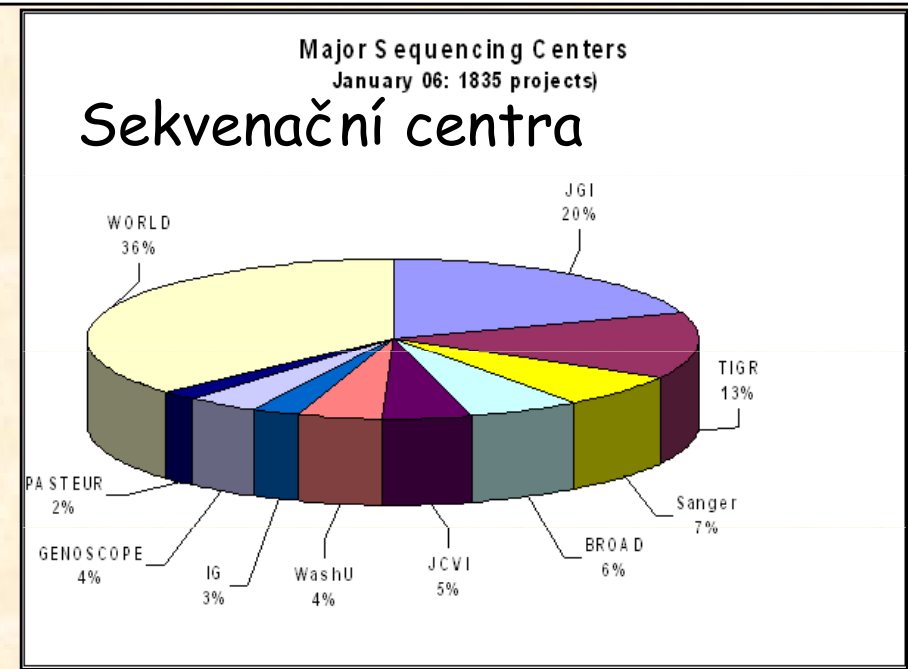
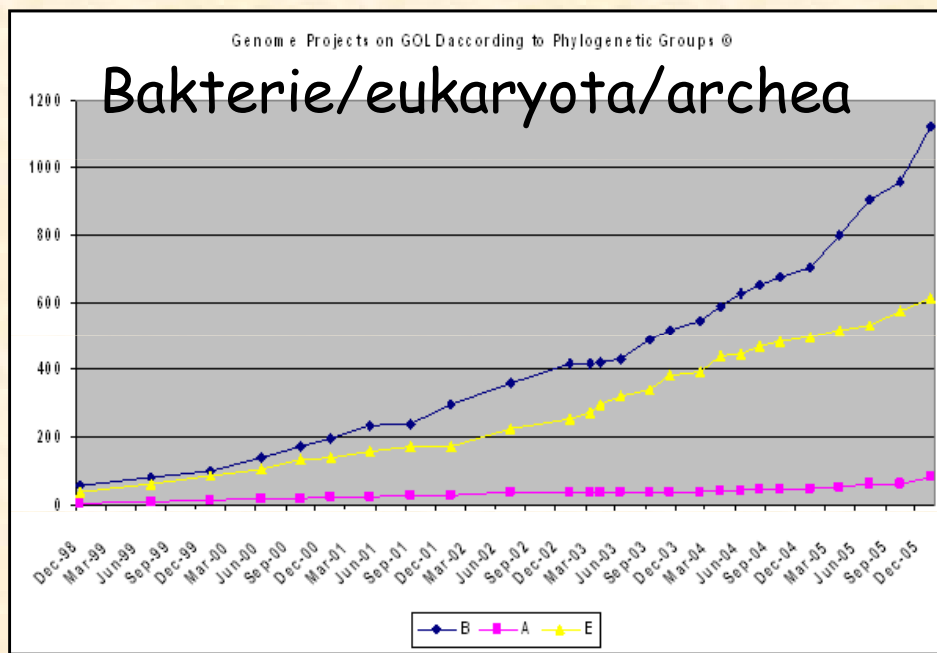
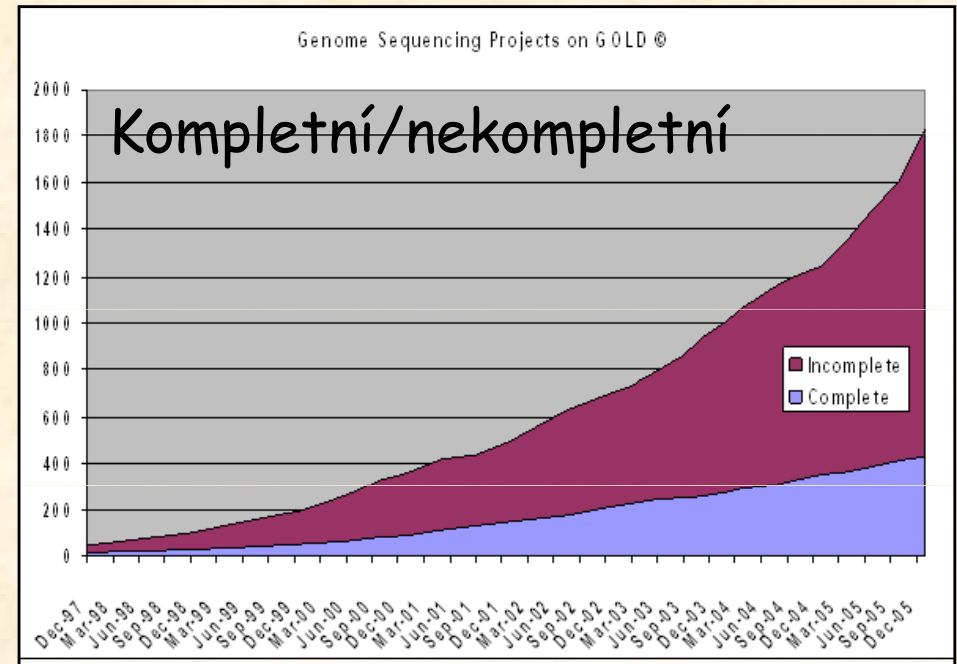
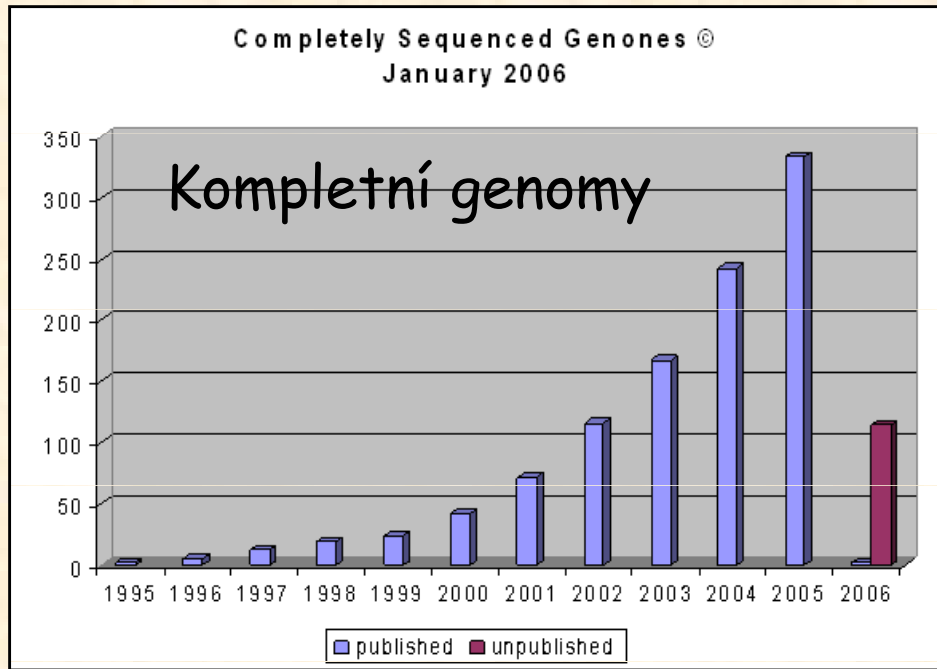
Mus musculus (3300 Mb)

Rattus norvegicus (2750 Mb)

plants: *Arabidopsis thaliana* (115 Mb)

Oryza sativa (420 Mb)

Genomové sekvenační projekty



Sekvenování lidského genomu

