Eduard Kejnovský + Roman Hobza

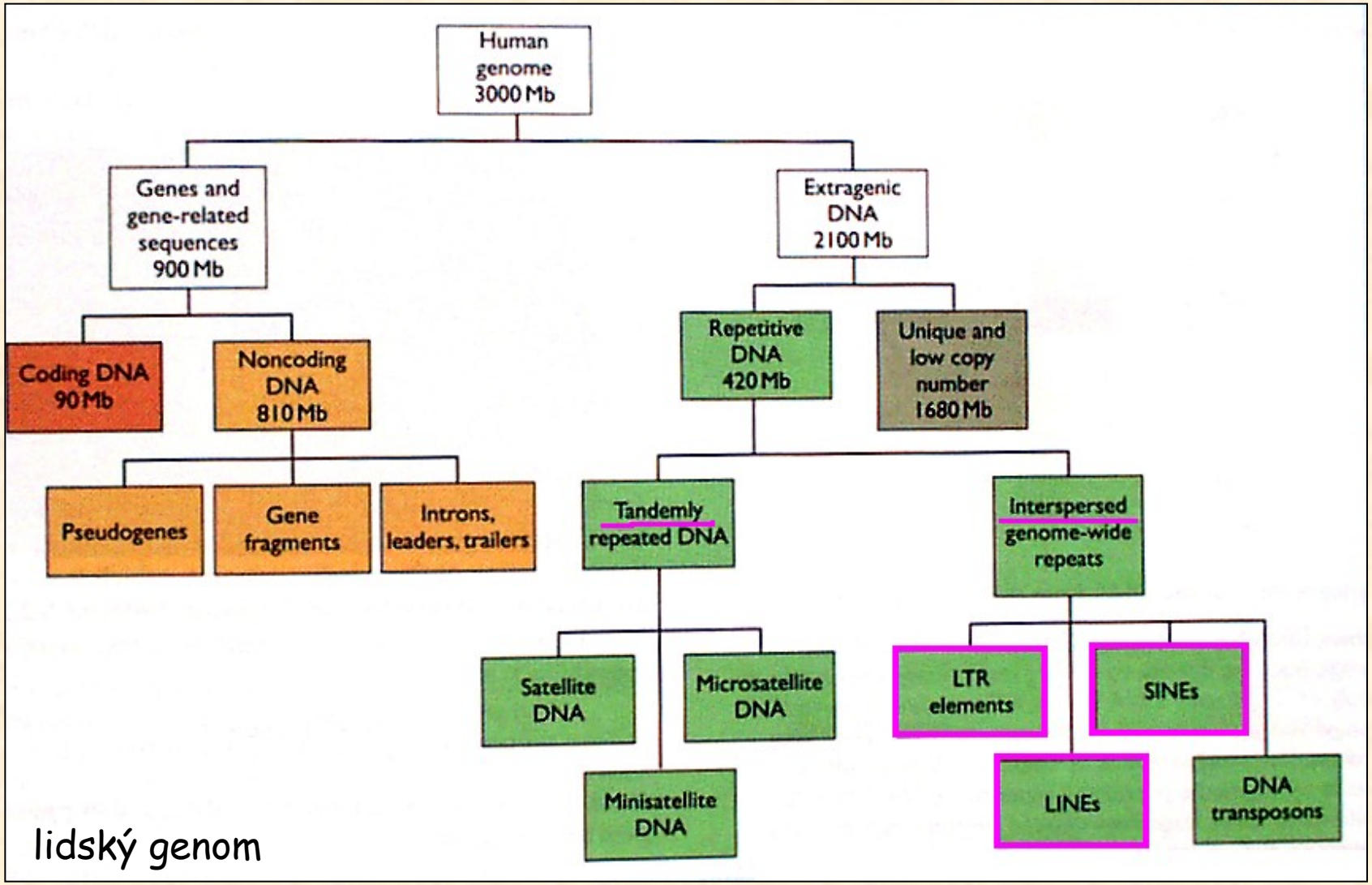
EVOLUČNÍ GENOMIKA:

V. DYNAMIKA GENOMŮ

OSNOVA

1. Retroelementy a retrotranspozice
2. Základní typy retroelementů
3. DNA transposony
4. Chromosomální distribuce transposonů
5. Funkce transposonů
6. Transposony užitečné pro hostitele: Domestikace TE
7. Explosivní amplifikace transposonů v evoluci savců
8. Tandemové repetice
9. Promiskuitní DNA

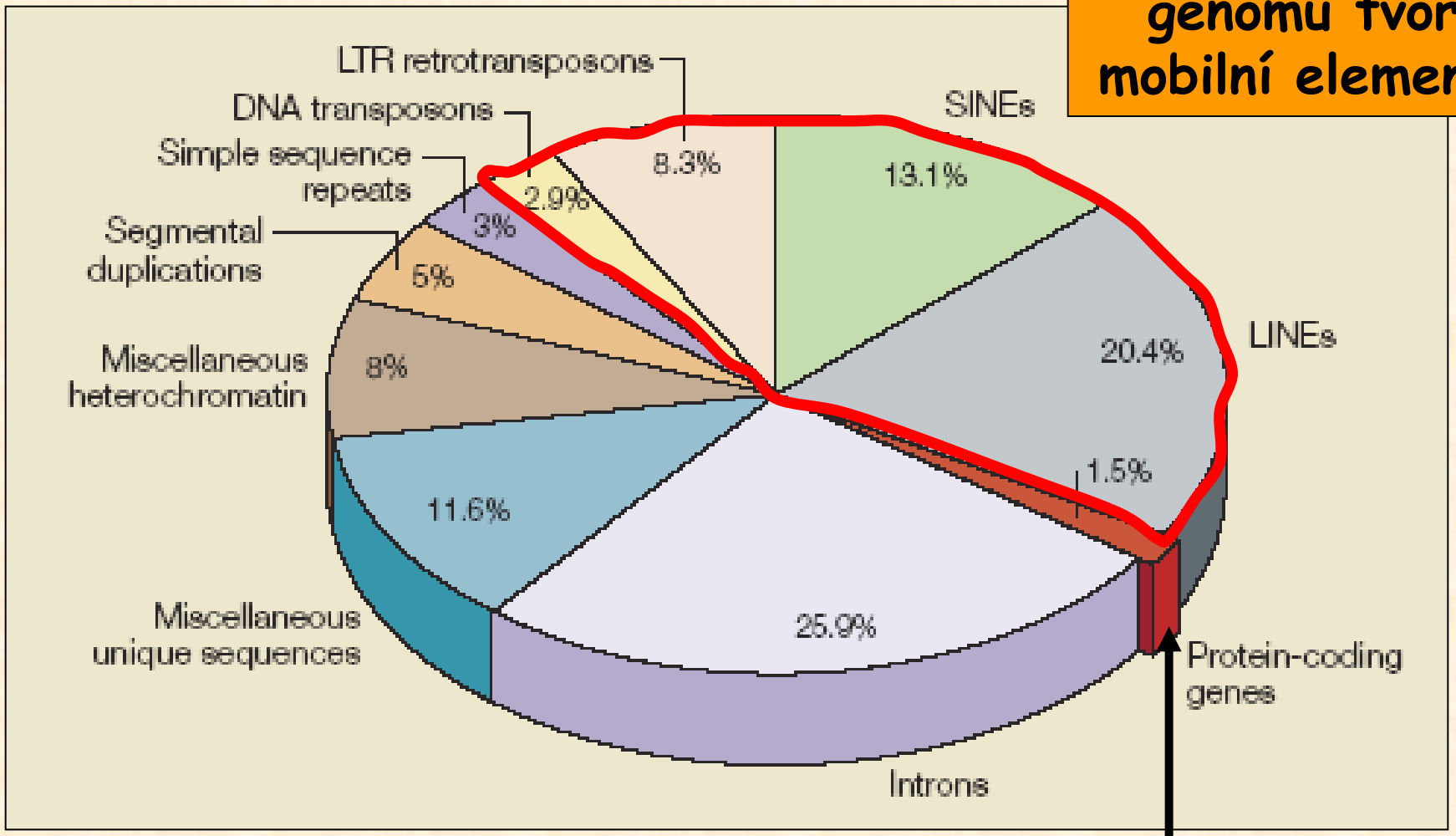
Podstatnou část genomů tvoří opakující se úseky DNA (repetice)



lidský genom

Většinu našeho genomu tvoří mobilní elementy

45-70% lidského genomu tvoří mobilní elementy



Geny (exony) – 1.5%

Téměř polovinu lidského genomu tvoří mobilní elementy!!!

Classes of interspersed repeat in the human genome

			Length	Copy number	Fraction of genome
LINEs	Autonomous	ORF1 ORF2 (pol) AAA	6–8 kb	850,000	21%
SINEs	Non-autonomous	A B AAA	100–300 bp	1,500,000	13%
Retrovirus-like elements	Autonomous	gag pol (env)	6–11 kb	450,000	8%
	Non-autonomous	(gag)	1.5–3 kb		
DNA transposon fossils	Autonomous	transposase	2–3 kb	300,000	3%
	Non-autonomous		80–3,000 bp		

20 až > 1 500 000 kopií

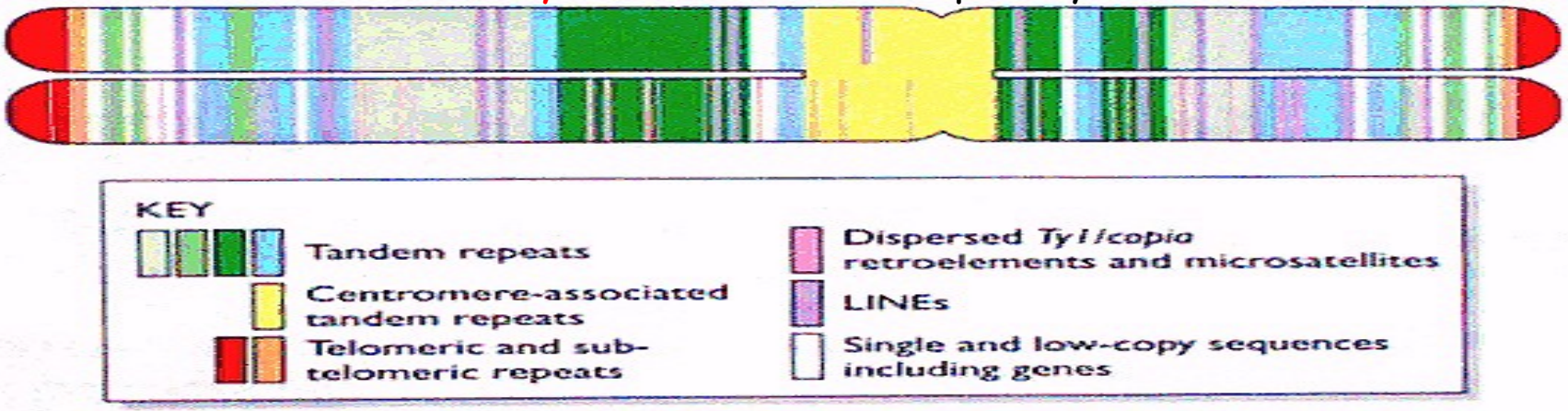
Eukaryotické genomy: geny plovoucí po moři retrotransposonů
Endogenní retroviry – otisky dávných infekcí primátů

Genom jako ekosystém elementů
Koevoluce transposonů a hostitele

pravidlo „3C" : conflict → compromise → cooperation

Interakce TE: parasitismus, kompetice, kooperace

Chromosomální niky kolonizované transposony:



Selekce nebo cílené včleňování?

RETROELEMENTY A RETROTRANSPOZICE

Co jsou retroelementy?

- **Retroelementy** = sekvence DNA nebo RNA obsahující gen pro enzym reverzní transkriptázu (katalyzuje přepis RNA do DNA).

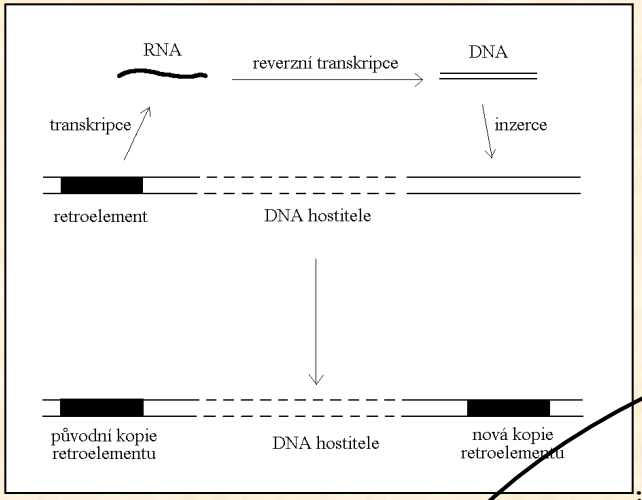
  Širší definice zahrnuje veškeré sekvence vzniklé reverzní transkripcí RNA do DNA.

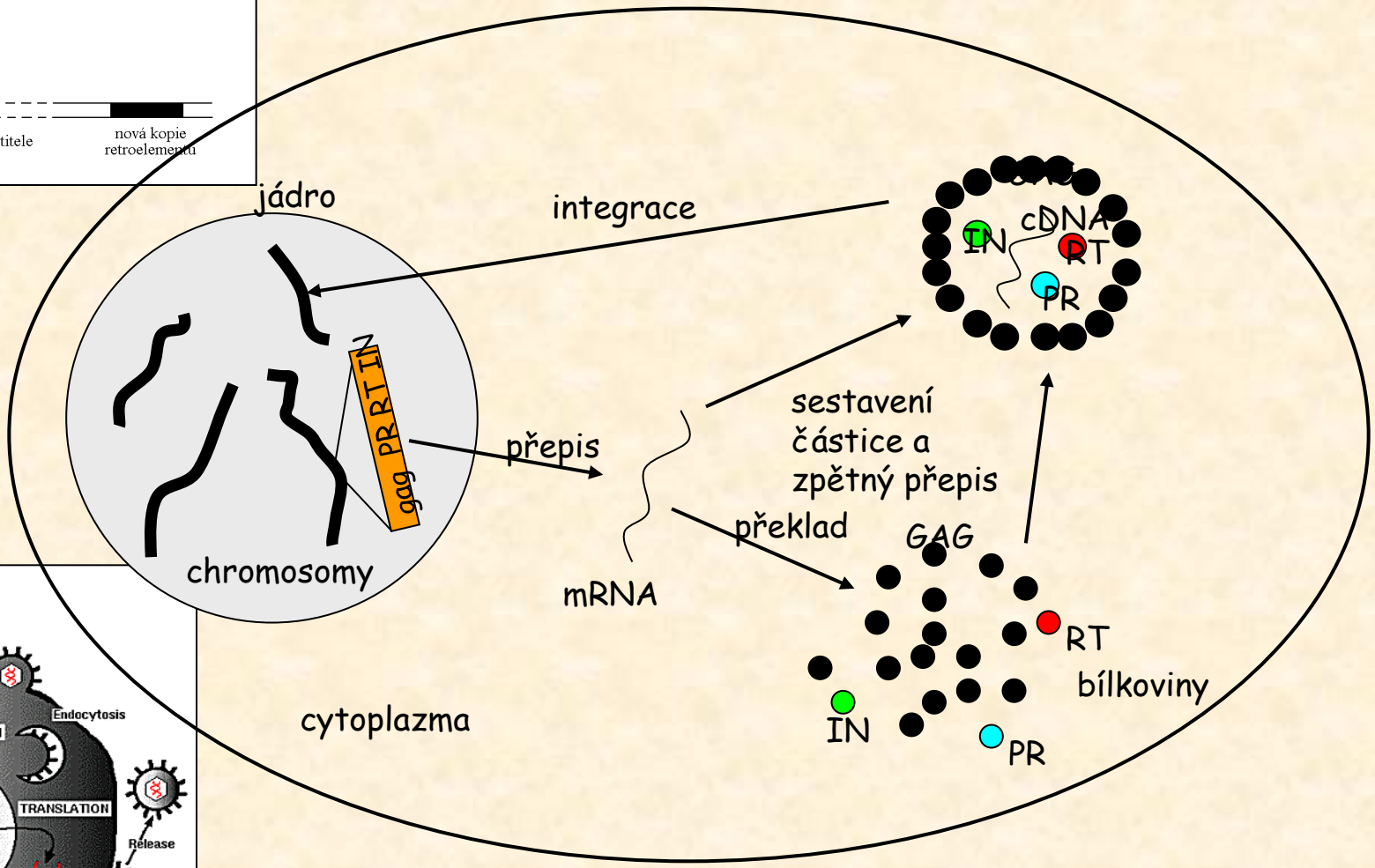
  Po genomech se šíří procesem retropozice.

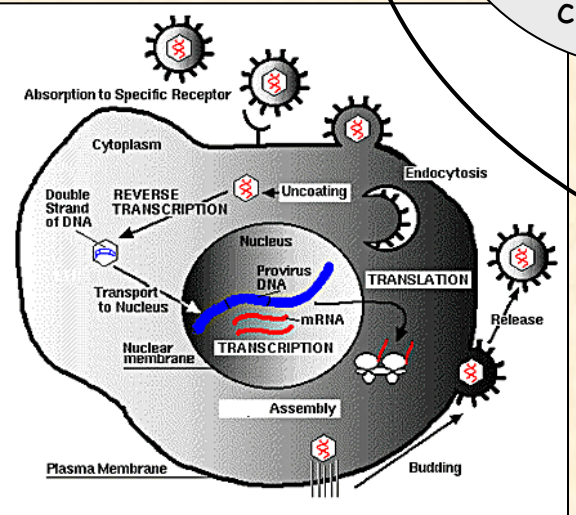
- **Retropozice** = přesun genetického materiálu z jednoho místa v genomu do místa jiného prostřednictvím RNA intermediátu. Má vždy duplikativní charakter.

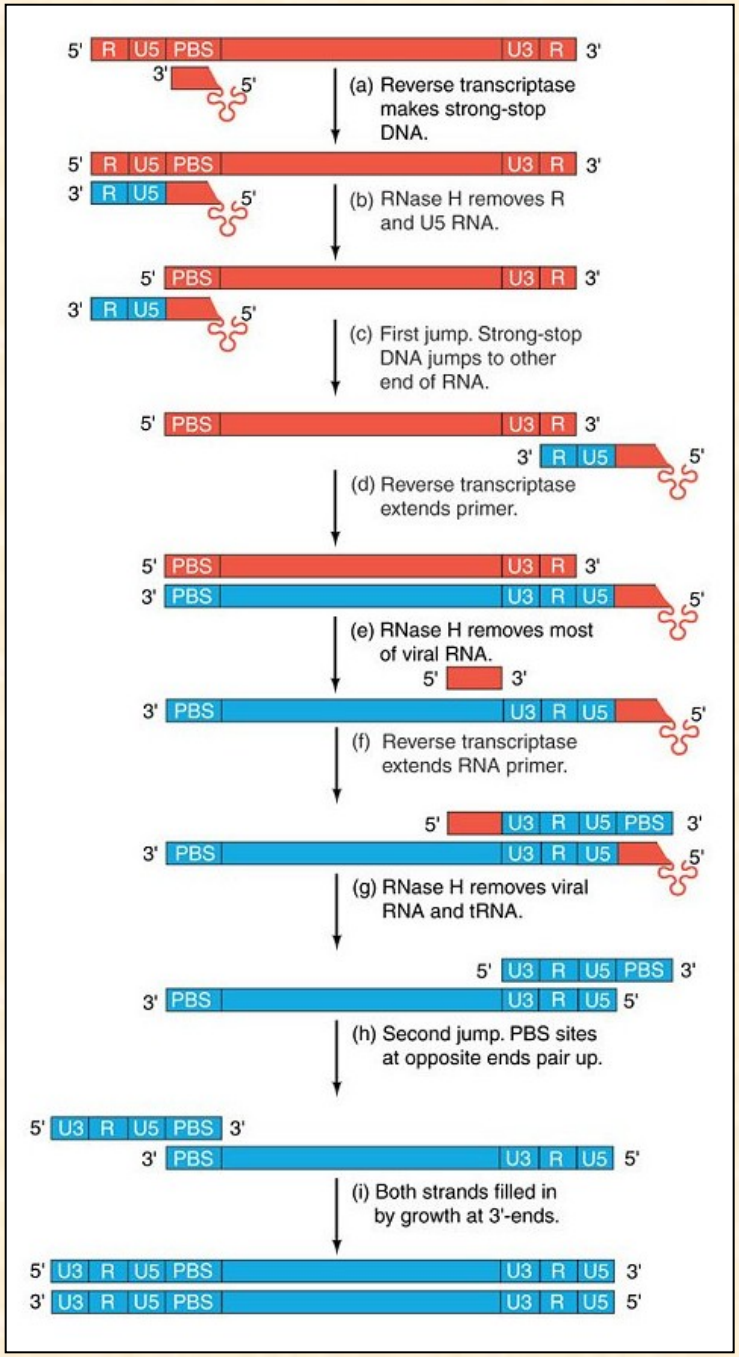
Jsou retroelementy relikty světa RNA? Podporuje to jejich struktura, konzervativní mechanismus replikace a všudypřítomnost.

Životní cyklus retrotransposonů a retrovirů



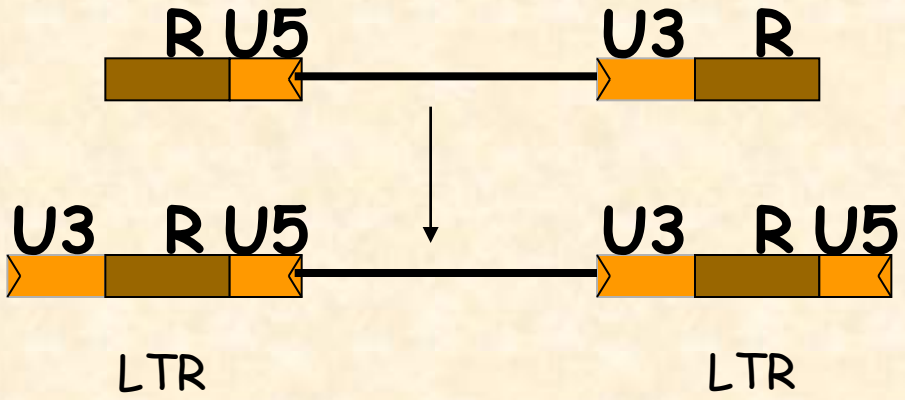






Reverzní transkripce

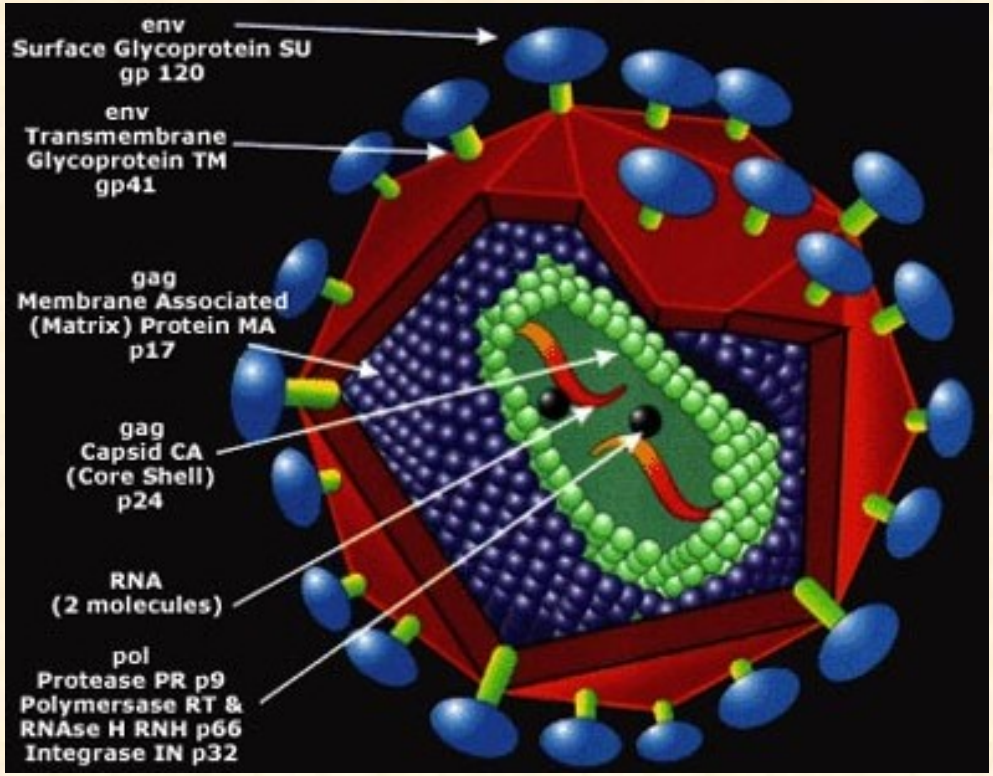
- nasednutí primeru tRNA a extenze
- odstranění RNA oblasti R a U5
- první přeskok a extenze
- odstranění většiny RNA RNázouH
- zbyde primer a extenze
- odstranění zbytku virové RNA a tRNA
- druhý přeskok a dosyntetizování



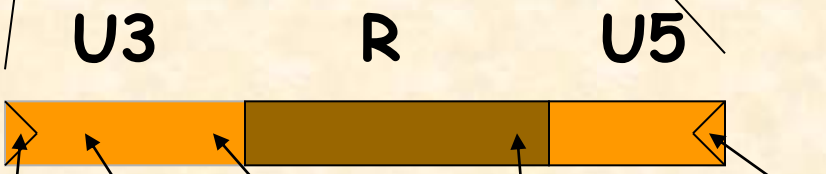
ZÁKLADNÍ TYPY RETROELEMENTŮ

Retroviry - obecné schéma

gag, pol, env ..... geny
LTR ... dlouhé koncové repetice
PBS .... místo vazby primeru
PR ..... proteáza
INT .... integráza
RT ..... reverzní transkriptáza
PPT ..... polypurinový úsek
> ..... přímé repetice



LTR:



krátká obrácená repetice
promotor
zesilovače transkripce
polyadenylační signál
krátká obrácená repetice

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

Retrotranspozony - obecné schéma

(a) Typ Ty3-gypsy:

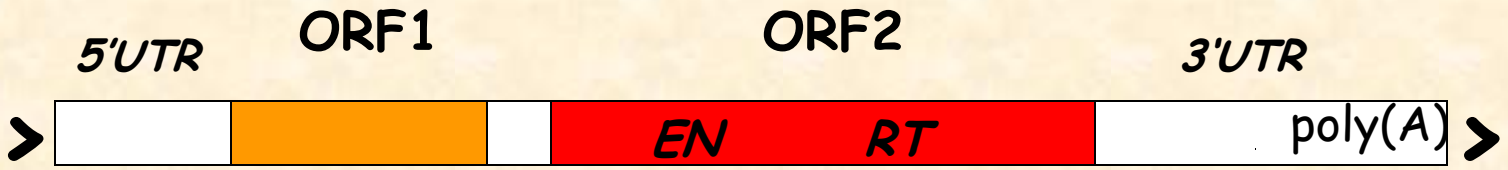
gag, pol, env ..... geny
LTR ... dlouhé koncové repetice
PBS .... místo vazby primeru
PR ..... doména kódující proteázu
INT .... doména kódující integrázu
RT ..... doména kódující reverzní transkriptázu
PPT ..... polypurinový úsek
> ..... přímé repetice

(b) Typ Ty1-copia:

Retropozony

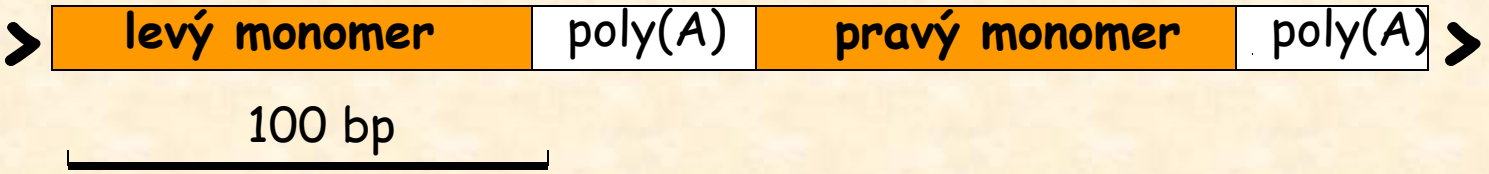
(polyA, nonLTR retroelementy)

(a) LINE (L1):



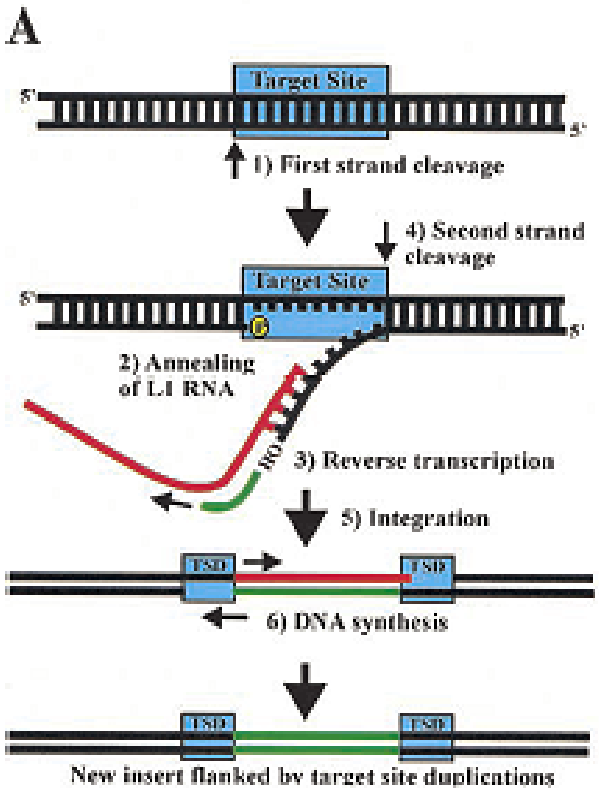
ORF1 ..... protein vážící RNA
EN ..... doména kódující endonukleázu
RT ..... doména kódující reverzní transkriptázu
5'UTR ..... netranslatovaná oblast na 5' konci
3'UTR ..... netranslatovaná oblast na 3' konci
poly(A) ..... polyadeninový úsek
> ..... přímé repetice

(b) SINE (sekvence Alu):

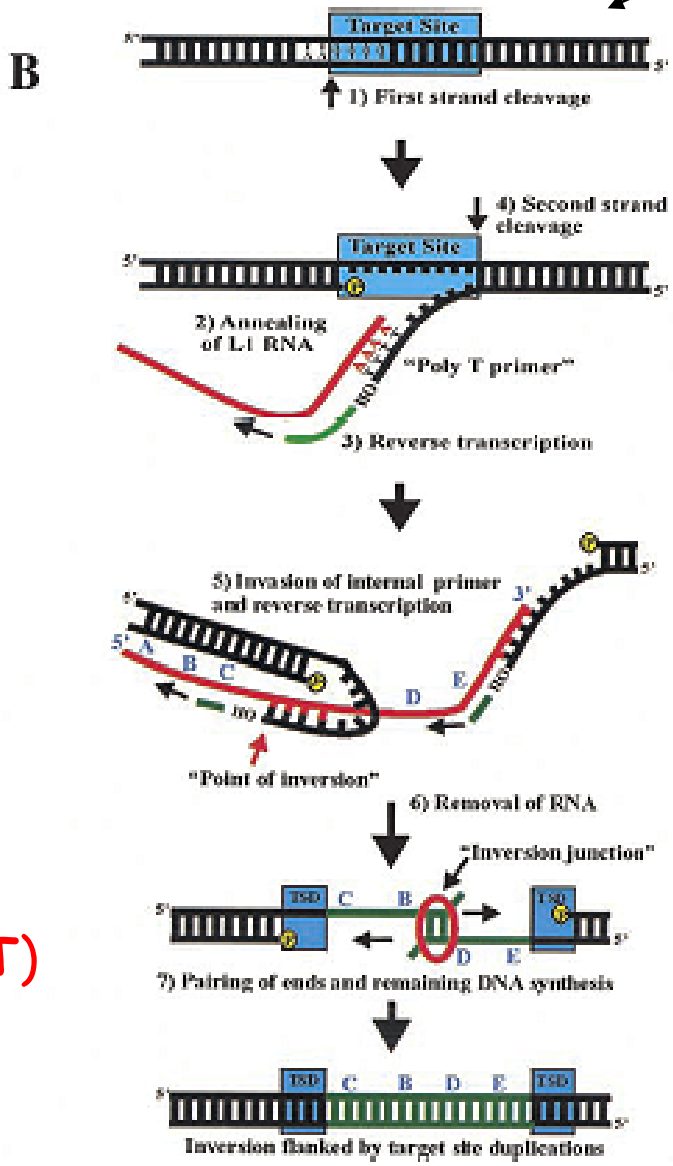


Včleňování LINE elementů

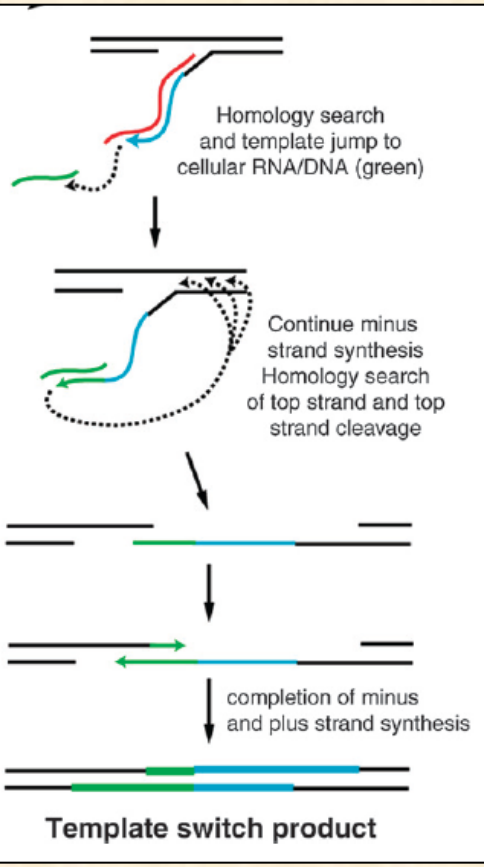
Twin priming:
mechanizmus **tvorby inverzí**



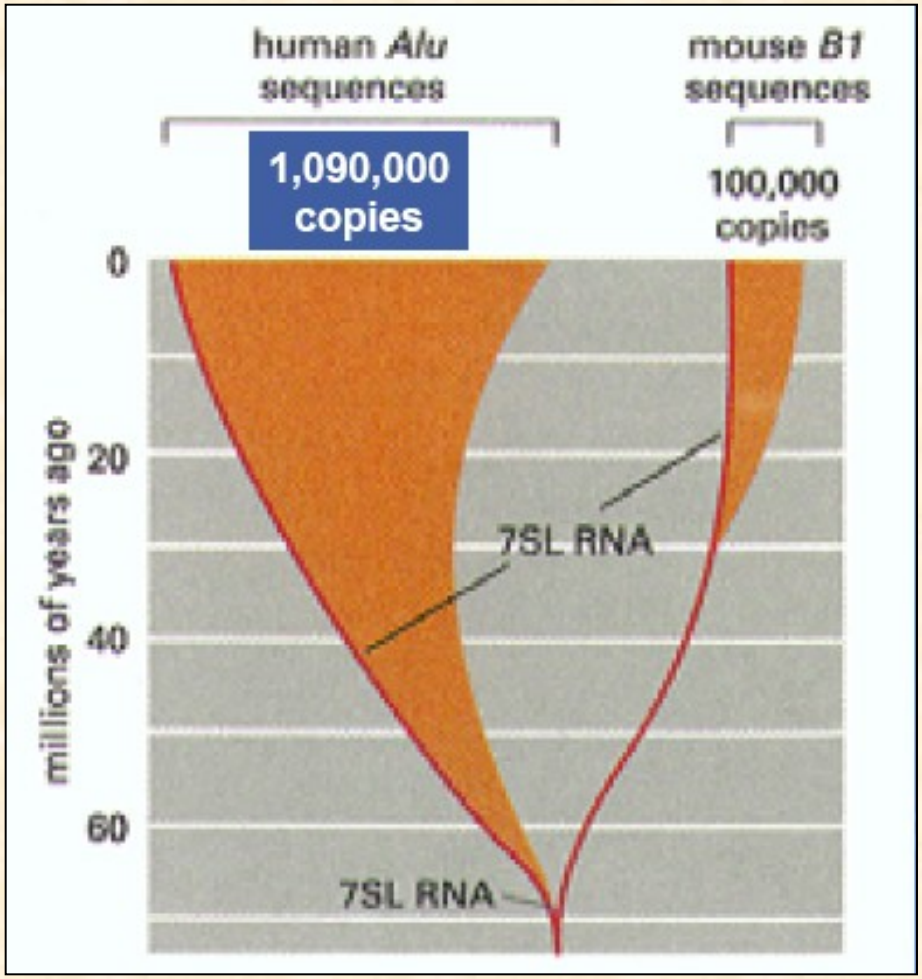
TPRT (target-primed RT)



Template switch



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 inzerce – u každého 200 narozeného jedince

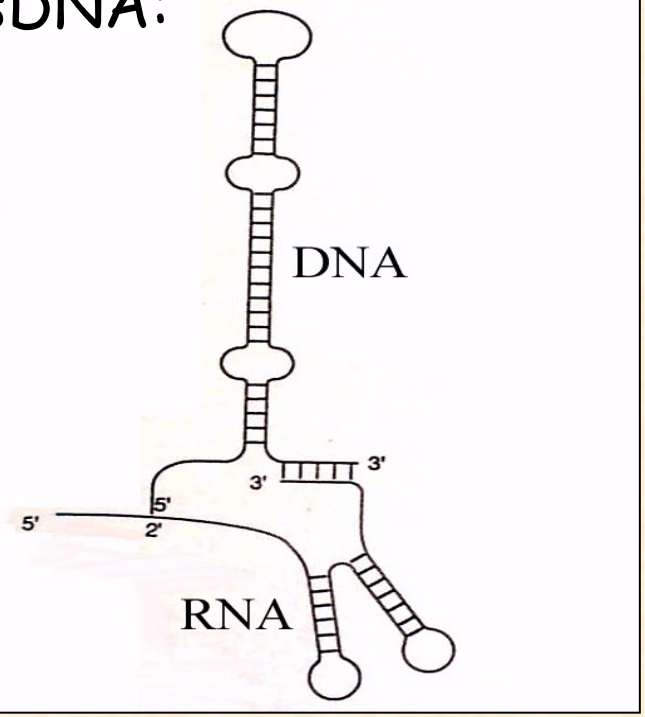
- transkripce z promotorů RNApolIII (uvnitř oblasti)

- reverzní transkripce zajišťována RT poskytovanou LINE elementy

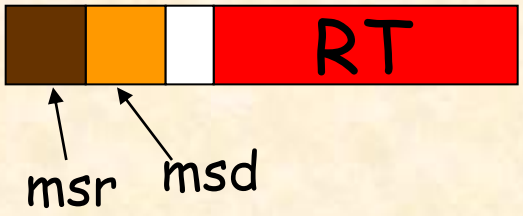
- genová konverze

Retrony - primitivní retroelementy bakterií

msDNA:



retron:



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

msDNA (=multicopy single-stranded)
- intermediáty extrachromosomálního replikačního cyklu nebo abortivní produkty intermediátů

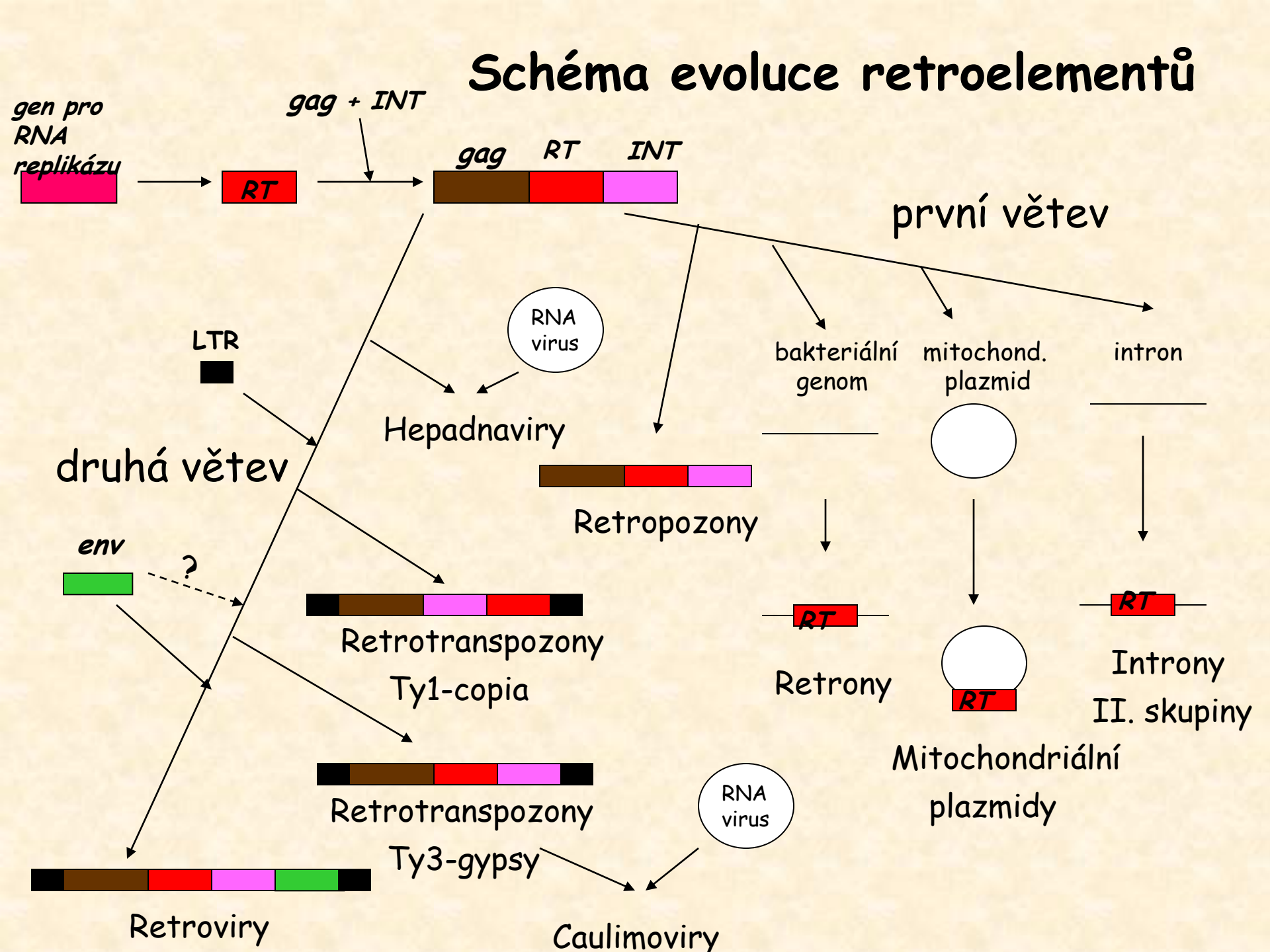
Prokaryotické retroelementy:

1. Kódují jediný RT protein s jedinou enzymatickou aktivitou (doménu).
Ostatní aktivity (proteáza, integráza, endonukleáza) retroelementy v průběhu evoluce získaly od hostitele (jako onkogeny retrovirů)

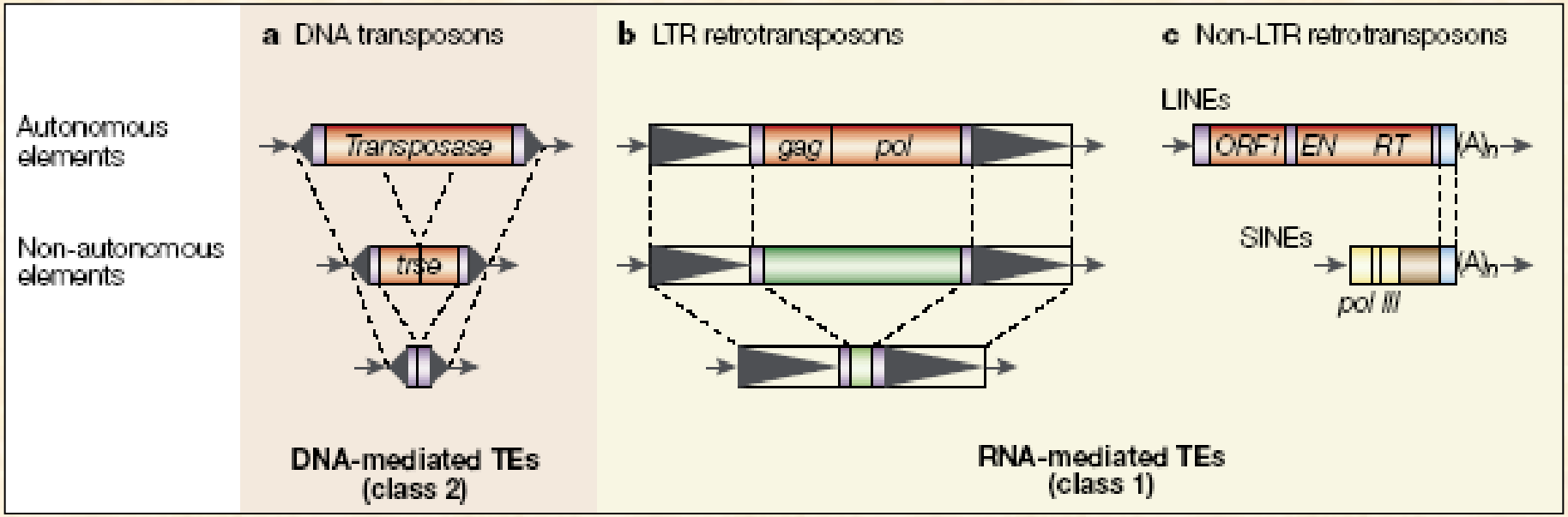
2. RT prokaryot provádí syntézu nezávislou na primeru podobně jako RNA polymeráza (předchůdce RT)

3. Prokaryotické RT jsou podobné RdRP (RNA-directed RNA polymerase), RT eukaryotických retroelementů jsou méně příbuzné

Schéma evoluce retroelementů



Paraziti parazitů: Neautonomní elementy tvoří většinu. Balancovaná rovnováha



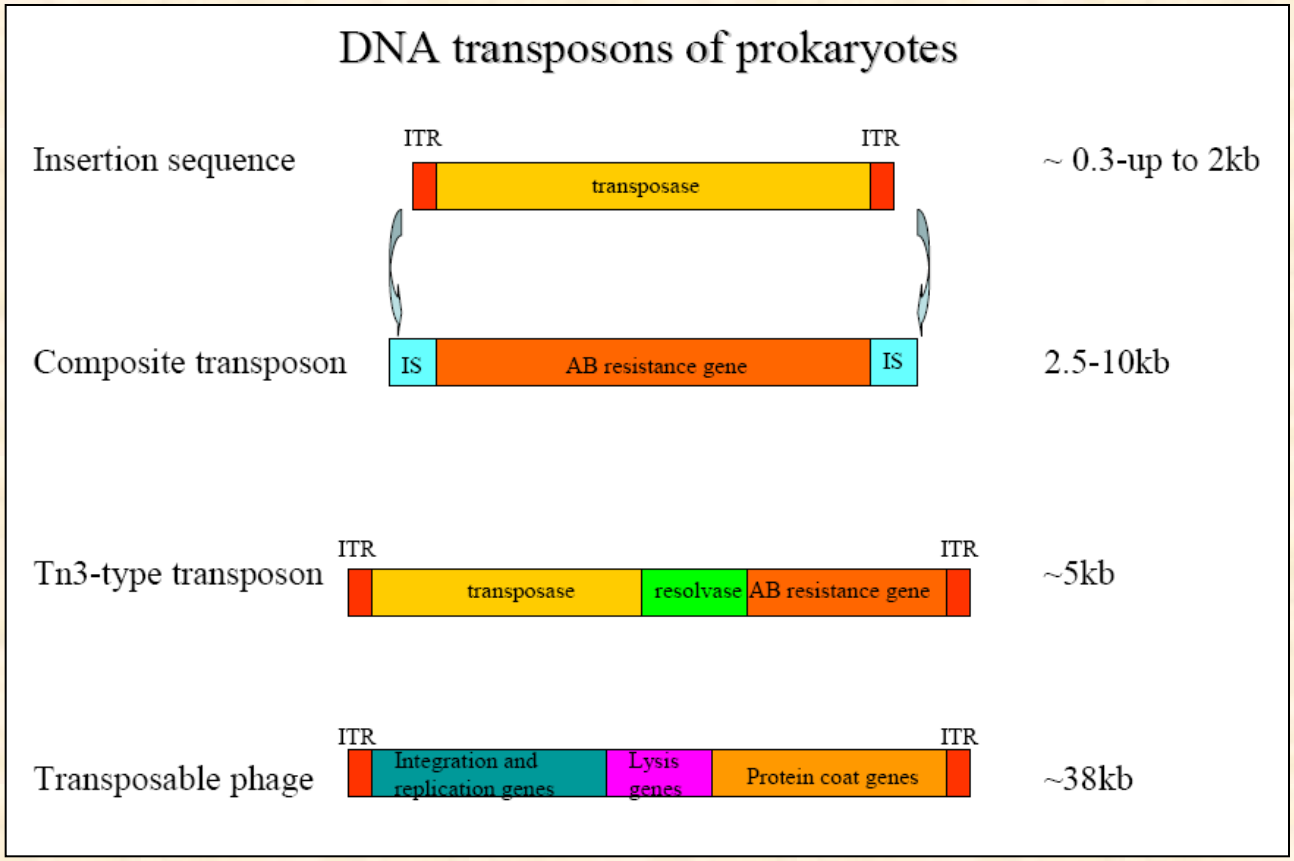
Vybalancovaná rovnováha mezi autonomními (A) a neautonomními (N) elementy:

- 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 mechanizmy restrikce: metylace a heterochromatinizace

DNA TRANSPOSONY

DNA transposony

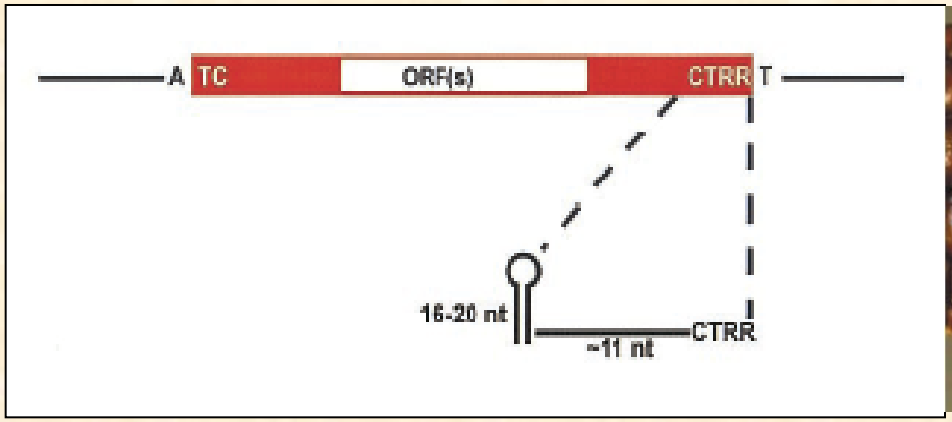
1. Prokaryotické:
- IS elementy
- Tn elementy_



2. Eukaryotické:
- Ac a Ds elementy – autonomní a neautonomní u kukuřice
- P elementy – hybridní dysgeneze u drozofily (samci P+ a samice P-)
- Tc1/mariner – u *C. elegans* (Tc1) a drozofily (Mariner)

Helitrony – nedávno objevené transposony využívající mechanismus otáčející se kružnice

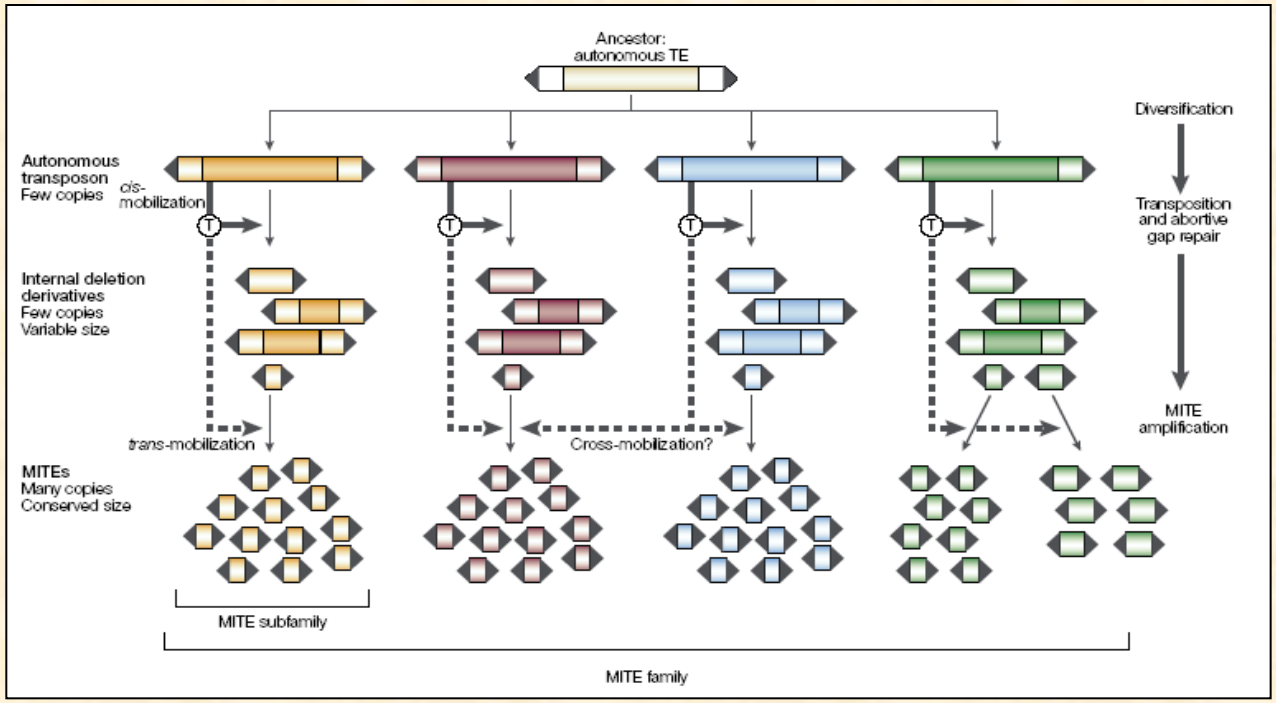
- replikace mechanizmem otáčivé kružnice (jako plazmidy, ss fágy, geminiviry)
- výskyt u eukaryot - 2% genomu *A.thaliana*, *C. elegans*, také v *Oryza sativa*
- nedělají duplikaci cílové sekvence (TSD)
- cílená inzerce do AT dinukleotidu
- začínají 3'-AT a končí CTRR-5', nemají TIR
- konzervace palindromu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



MITE elementy

- rostlinné ekvivalenty lidských Alu, délka: 125 - 500bp
- neautonomní elementy (master = DNA TE Mariner)
- 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)

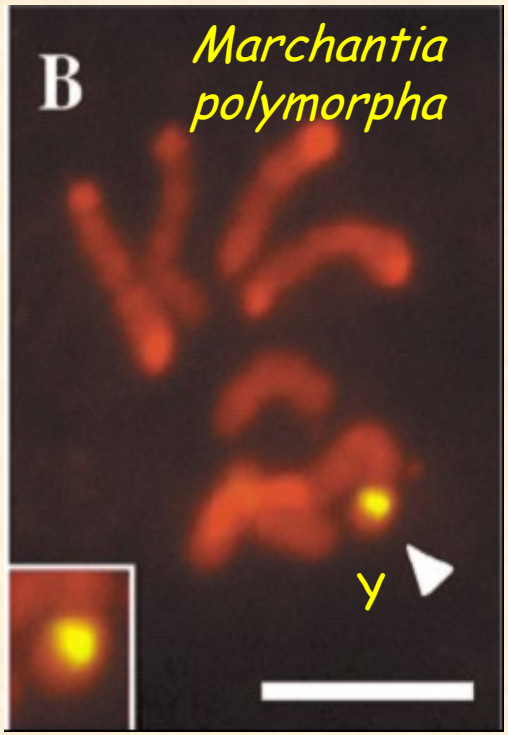


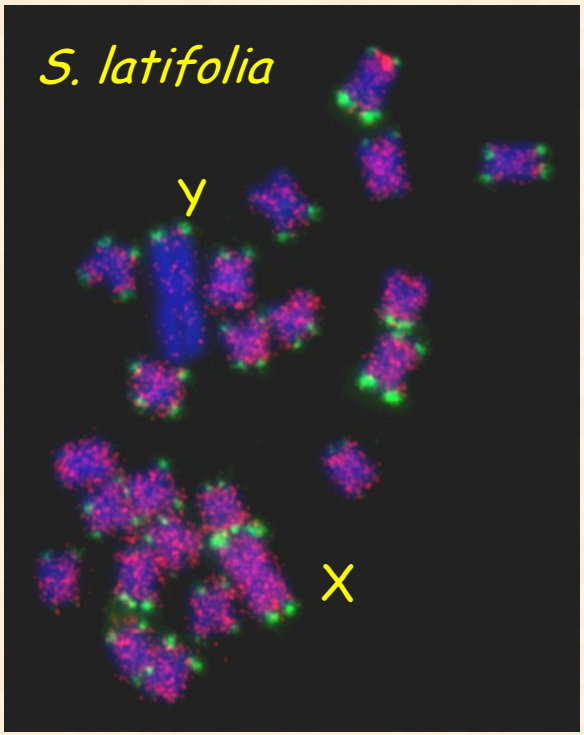
CHROMOSOMÁLNÍ DISTRIBUCE TRANSPOSONŮ

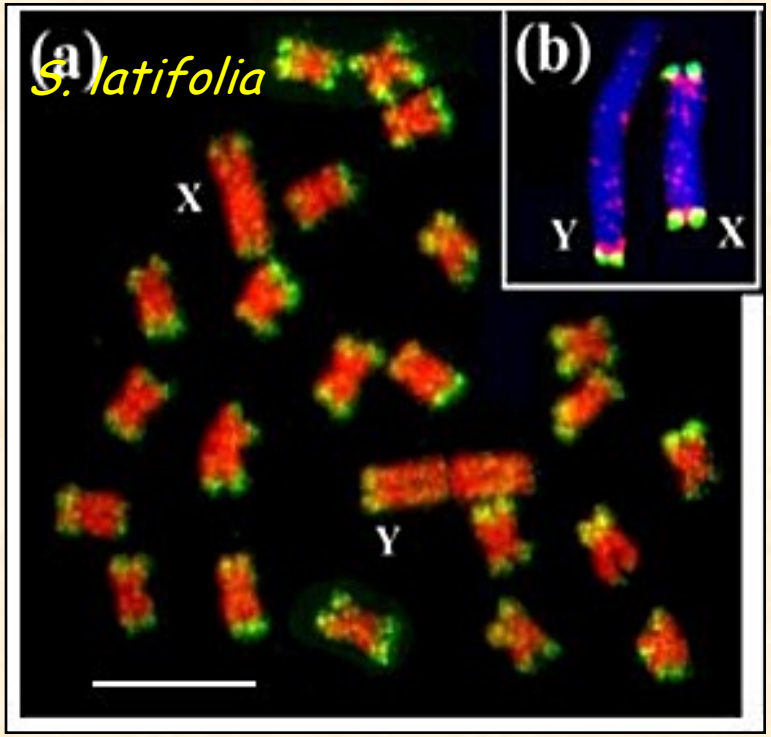
Chromozomální distribuce retroelementů

Selekce nebo cílené včleňování?

- 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, Silene latifolia*







Inzerční specificita a inzerce retroelementů do heterochromatinu

- inzerce není náhodná (retroviry)
- role INT – targeting domain (TD)
- interakce s proteiny chromatinu
- inženýrství (nové specifity), genová terapie
- „local hopping" DNA TE

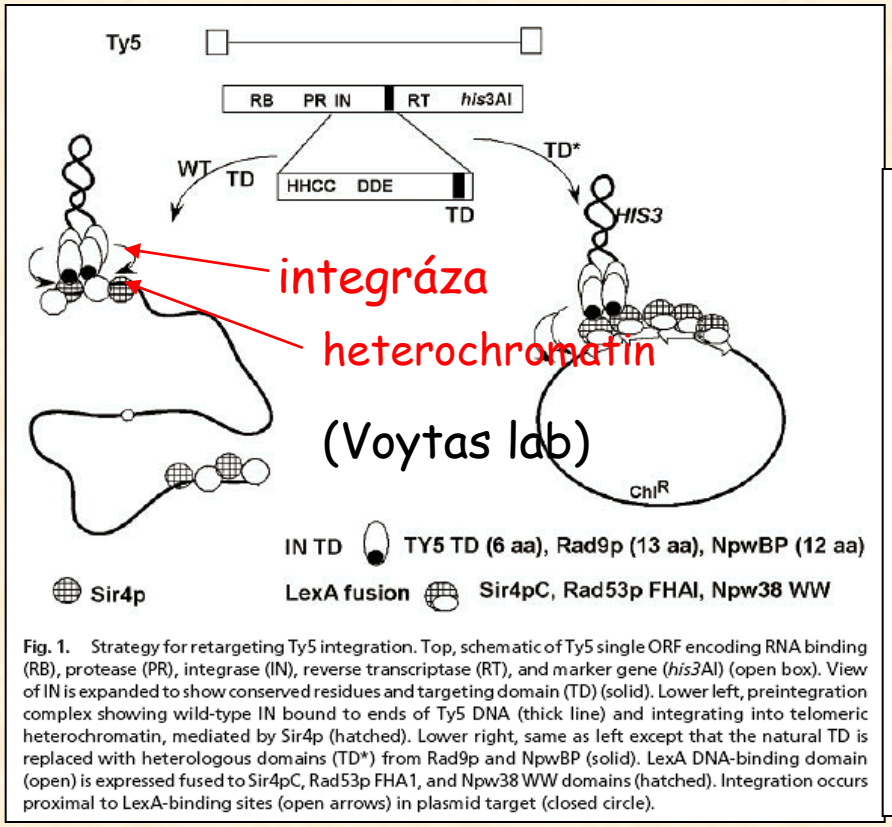
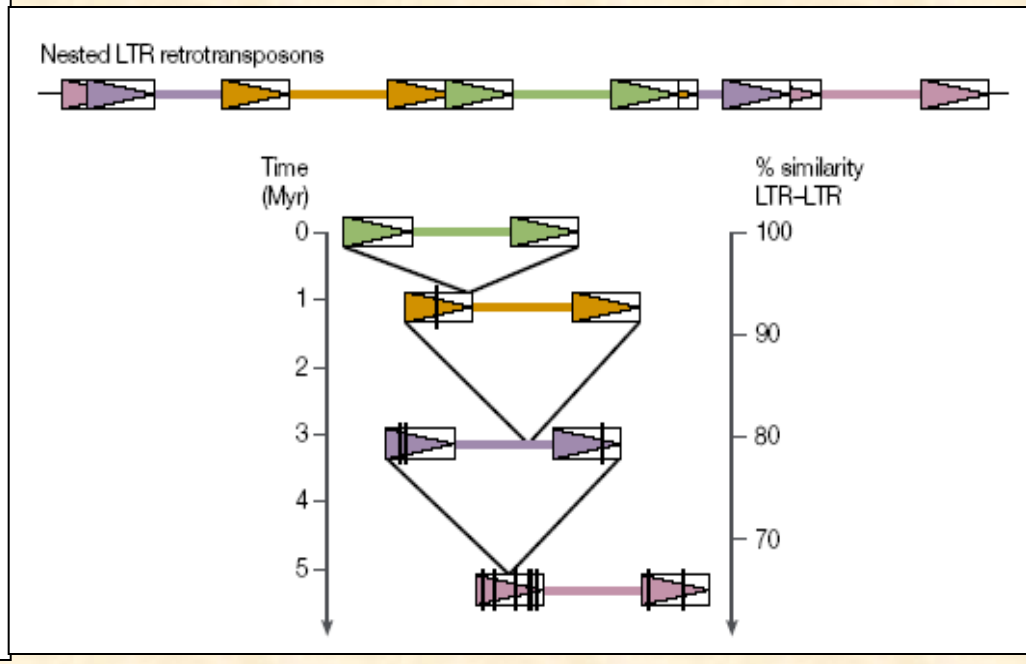


Fig. 1. Strategy for retargeting Ty5 integration. Top, schematic of Ty5 single ORF encoding RNA binding (RB), protease (PR), integrase (IN), reverse transcriptase (RT), and marker gene (*his3*AI) (open box). View of IN is expanded to show conserved residues and targeting domain (TD) (solid). Lower left, preintegration complex showing wild-type IN bound to ends of Ty5 DNA (thick line) and integrating into telomeric heterochromatin, mediated by Sir4p (hatched). Lower right, same as left except that the natural TD is replaced with heterologous domains (TD*) from Rad9p and NpwBP (solid). LexA DNA-binding domain (open) is expressed fused to Sir4pC, Rad53p FHA1, and Npw38 WW domains (hatched). Integration occurs proximal to LexA-binding sites (open arrows) in plasmid target (closed circle).

Inzerce retroelementů do již existujících retroelementů



Metoda „transposon display“ – detekce nových inzercí transposonů

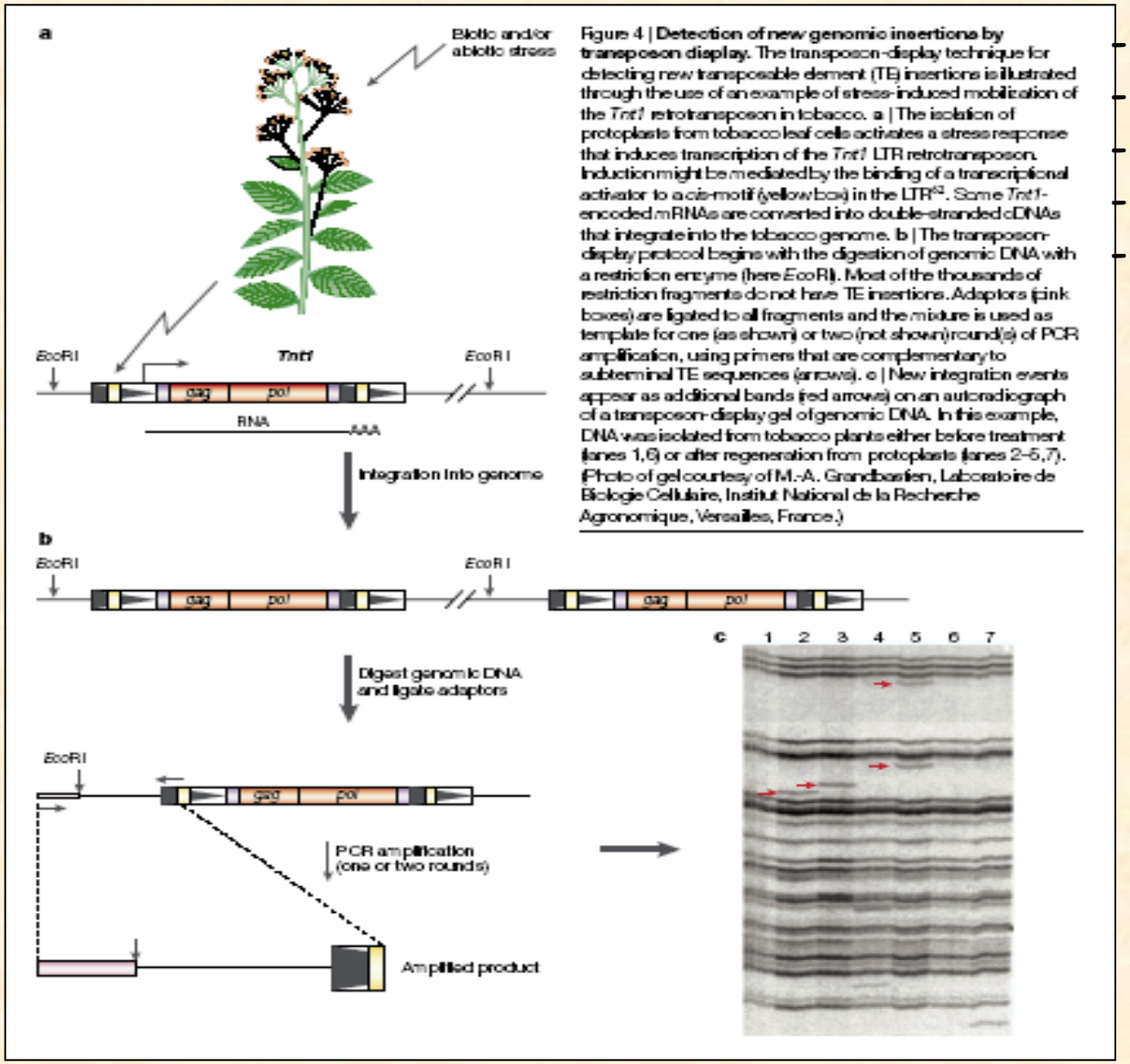


Figure 4 | Detection of new genomic insertions by transposon display. The transposon-display technique for detecting new transposable element (TE) insertions is illustrated through the use of an example of stress-induced mobilization of the *Tnt1* retrotransposon in tobacco. a | The isolation of protoplasts from tobacco leaf cells activates a stress response that induces transcription of the *Tnt1* LTR retrotransposon. Induction might be mediated by the binding of a transcriptional activator to a *cis*-motif (yellow box) in the LTR[62]. Some *Tnt1*-encoded mRNAs are converted into double-stranded cDNAs that integrate into the tobacco genome. b | The transposon-display protocol begins with the digestion of genomic DNA with a restriction enzyme (here *Eco*RI). Most of the thousands of restriction fragments do not have TE insertions. Adaptors (pink boxes) are ligated to all fragments and the mixture is used as template for one (as shown) or two (not shown) round(s) of PCR amplification, using primers that are complementary to subterminal TE sequences (arrows). c | New integration events appear as additional bands (red arrows) on an autoradiograph of a transposon-display gel of genomic DNA. In this example, DNA was isolated from tobacco plants either before treatment (lanes 1,6) or after regeneration from protoplasts (lanes 2–5,7). (Photo of gel courtesy of M.-A. Grandbastien, Laboratoire de Biologie Cellulaire, Institut National de la Recherche Agronomique, Versailles, France.)

- indukce transpozice stresem
- štěpení genomické DNA
- ligace adaptorů
- PCR okolní oblasti
- nové bandy

FUNKCE TRANSPOSONŮ

Vliv TE na fenotyp

604 Nature Vol. 284 17 April 1980

Selfish DNA: the ultimate parasite

Nature 1980

L. E. Orgel & F. H. C. Crick
The Salk Institute, 10010 N. Torrey Pines Road, La Jolla, California 92037

The DNA of higher organisms usually falls into two classes, one specific and the other comparatively nonspecific. It seems plausible that most of the latter originated by the spreading of sequences which had little or no effect on the phenotype. We examine this idea from the point of view of the natural selection of preferred replica

THE object of this sh
of selfish DNA. A p
two distinct properti
(1) It arises whe
additional cop
(2) It makes no sp
This idea is not new.
roots. It is sketched
The Selfish Gene (p
39–45) after P. M.
based on a Symposi
shows that it was
Fincham and one of

Nature Vol. 284 17 April 1980 601

REVIEW ARTICLES

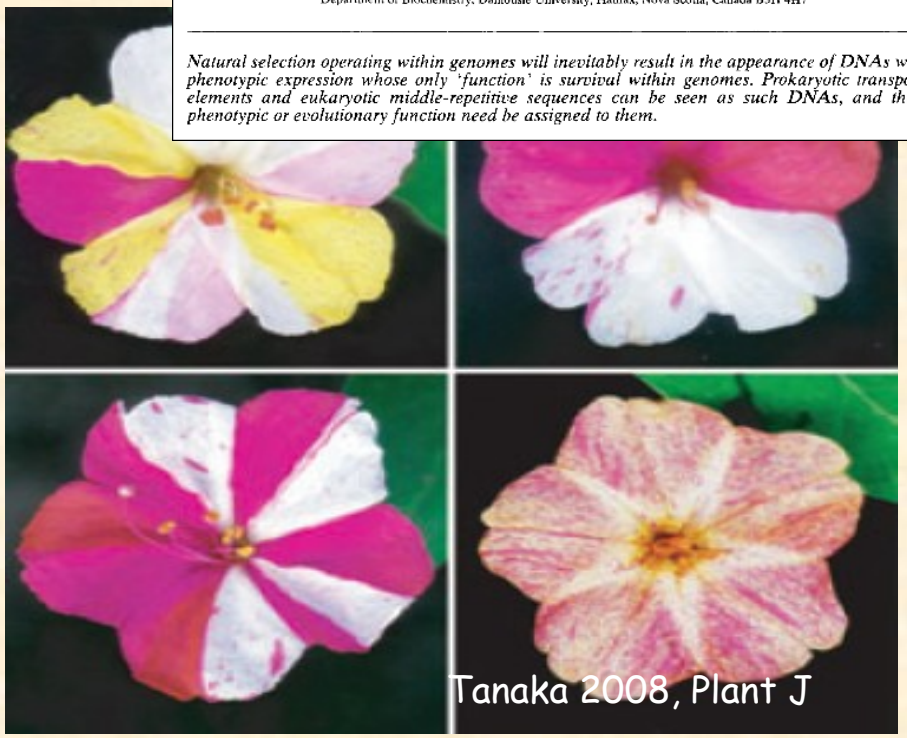
Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution

Nature 1980

W. Ford Doolittle & Carmen Sapienza

Department of Biochemistry, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada B3H 4H7

Natural selection operating within genomes will inevitably result in the appearance of DNAs with no phenotypic expression whose only 'function' is survival within genomes. Prokaryotic transposable elements and eukaryotic middle-repetitive sequences can be seen as such DNAs, and thus no phenotypic or evolutionary function need be assigned to them.



Tanaka 2008, Plant J

Vol 443|5 October 2006 nature

NEWS & VIEWS FEATURE

Nature 2006

GENETICS

Junk DNA as an evolutionary force

Christian Biémont and Cristina Vieira

Transposable elements were long dismissed as useless, but they are emerging as major players in evolution. Their interactions with the genome and the environment affect how genes are translated into physical traits.

PIXOLOGICA/ALAMY

Xiao 2008, Science

Transposony: Parazité nebo pomocníci?

hypotézy: parazité x významný činitel v evoluci

V průběhu evoluce dochází ke koadaptaci transposonů a hostitele

Negativní vliv transposonů na hostitele:
- vyplývá z povahy RE (sobecká a parazitická DNA)
- choroby
- mutabilita – stochastické ale regulované „mutageny"

Obranné mechanizmy hostitele:
- Metylace DNA
- RNA interference

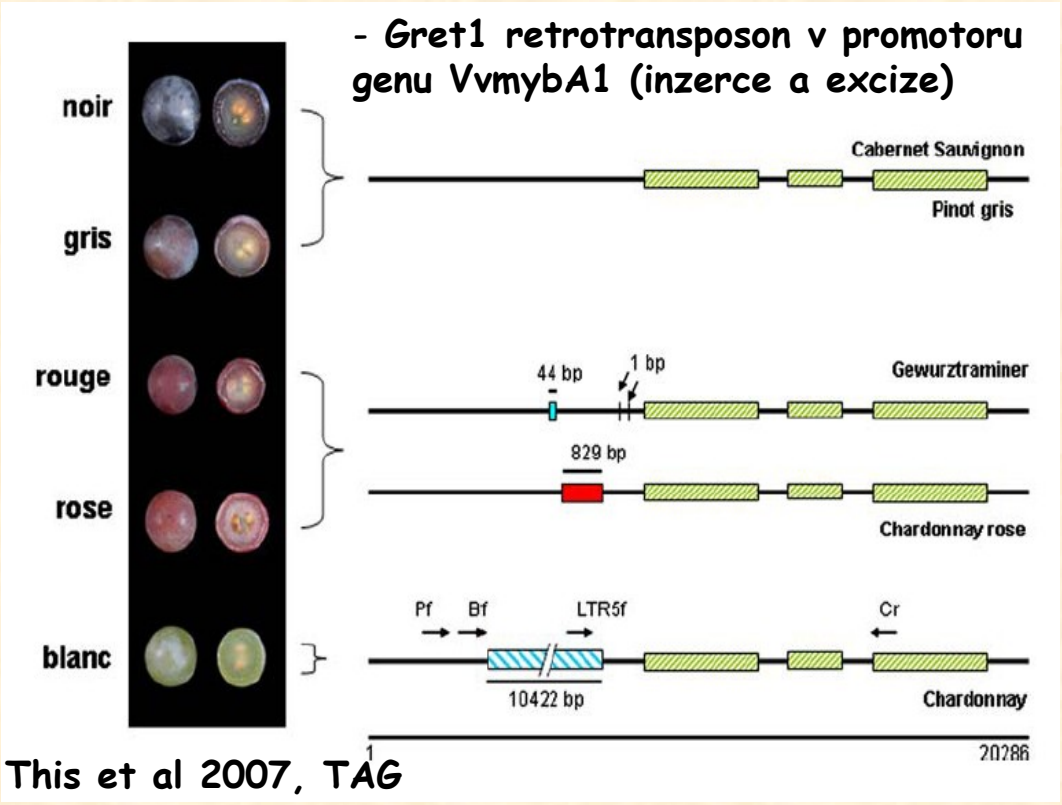
EXPERIMENT: Umlčování transposonů metylací a reaktivace jejich aktivity u mutanta se sníženou metylací DNA:

- Aktivní retrotransposon *Tto1* vnesen z tabáku do *Arabidopsis*
- Zvýšení počtu kopií a následná metylace a umlčení
- Vnesení *Tto1* do *ddm1* mutanta
- Snížení metylace *Tto1* a transkripční a transpoziční aktivita

(Hirochika et al 2000 Plant Cell)

Mechanizmy transposonu minimalizující jejich vliv na hostitele:
- včleňování do heterochromatinu
- odstraňování elementů rekombinací

Barva hroznů vína je způsobena transposony



This et al 2007, TAG

Theor Appl Genet (2007) 114:723–730
DOI 10.1007/s00122-006-0472-2

ORIGINAL PAPER

Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*

Patrice This · Thierry Lacombe ·
Molly Cadle-Davidson · Christopher L. Owens

Barva myší a epigenetický stav transposonů

Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome

R. Keith Slotkin and Robert Martienssen

Abstract | Overlapping epigenetic mechanisms have evolved in eukaryotic cells to silence the expression and mobility of transposable elements (TEs). Owing to their ability to recruit the silencing machinery, TEs have served as building blocks for epigenetic phenomena, both at the level of single genes and across larger chromosomal regions. Important progress has been made recently in understanding these silencing mechanisms. In addition, new insights have been gained into how this silencing has been co-opted to serve essential functions in 'host' cells, highlighting the importance of TEs in the epigenetic regulation of the genome.

Slotkin 2007, NatRevGenet

- IAP transposon v promotoru -> exprese Agouti -> žlutá myš
- metylace IAP -> žádná exprese -> hnědá myš
- mezistavy (epigenetický stav, PEV)

Retrotransposons as epigenetic mediators of phenotypic variation in mammals

Emma Whitelaw[1] & David J.K. Martin[2]

Whitelaw and Martin 2001, NatureGenet

Zvrásnění semen hrachu jsou způsobeno transposony

Cell, Vol. 60, 115–122, January 12, 1990, Copyright © 1990 by Cell Press

The Wrinkled-Seed Character of Pea Described by Mendel Is Caused by a Transposon-like Insertion in a Gene Encoding Starch-Branching Enzyme

Madan K. Bhattacharyya, Alison M. Smith, T. H. Noel Ellis, Cliff Hedley, and Cathie Martin
John Innes Institute
and AFRC Institute of Plant Science Research
Colney Lane
Norwich, NR4 7UH
United Kingdom

r (rugosus) lokus:
rr – zvrásněné semeno
RR, Rr – kulaté semeno

- Ac/Ds DNA transposon

Bhattacharyya et al 1990, Cell

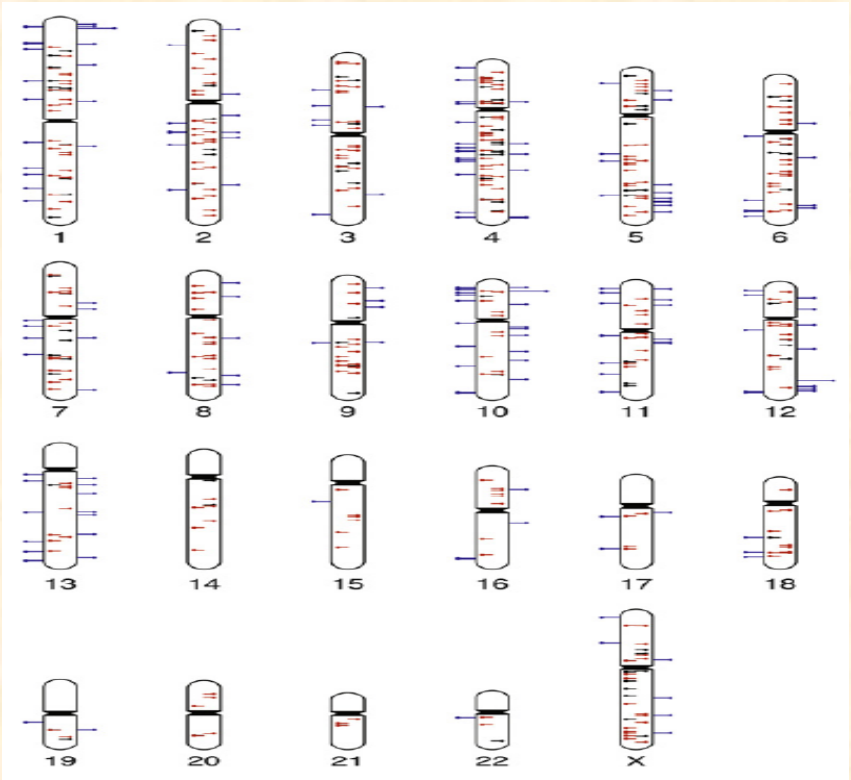
Transposony stojí v pozadí variability lidské populace

NIH Public Access
Author Manuscript
Cell. Author manuscript; available in PMC 2011 June 25.

Published in final edited form as:
Cell. 2010 June 25; 141(7): 1171–1182. doi:10.1016/j.cell.2010.05.026.

Mobile Interspersed Repeats Are Major Structural Variants in the Human Genome

Cheng Ran Lisa Huang[1,2], Anna M. Schneider[3], Yunqi Lu[1,2], Tejasvi Niranjan[1,2], Peilin Shen[3], Matoya A. Robinson[1], Jared P. Steranka[1,2], David Valle[1], Curt I. Civin[4,6], Tao Wang[1], Sarah J. Wheelan[4,5], Hongkai Ji[5], Jef D. Boeke[2,4,*], and Kathleen H. Burns[1,3,4]



Huang et al 2010, Cell

Transposony a lidské nemoci

většina lidského genomu
je transkribována

↓

hypometylace Alu/LINE elementů
(TE+epigenetický kód)

↓

zvýšení „Aluomu/LINEomu"
nádorových buňkách

↓

inzerce do tumorsupresorových genů
+ rekombinační přestavby genomu

↓

stárnutí a rakovina

Kejnovský
Vesmír 2013/4

Skákající geny
v mozku a v rakovinných buňkách

EDUARD KEJNOVSKÝ

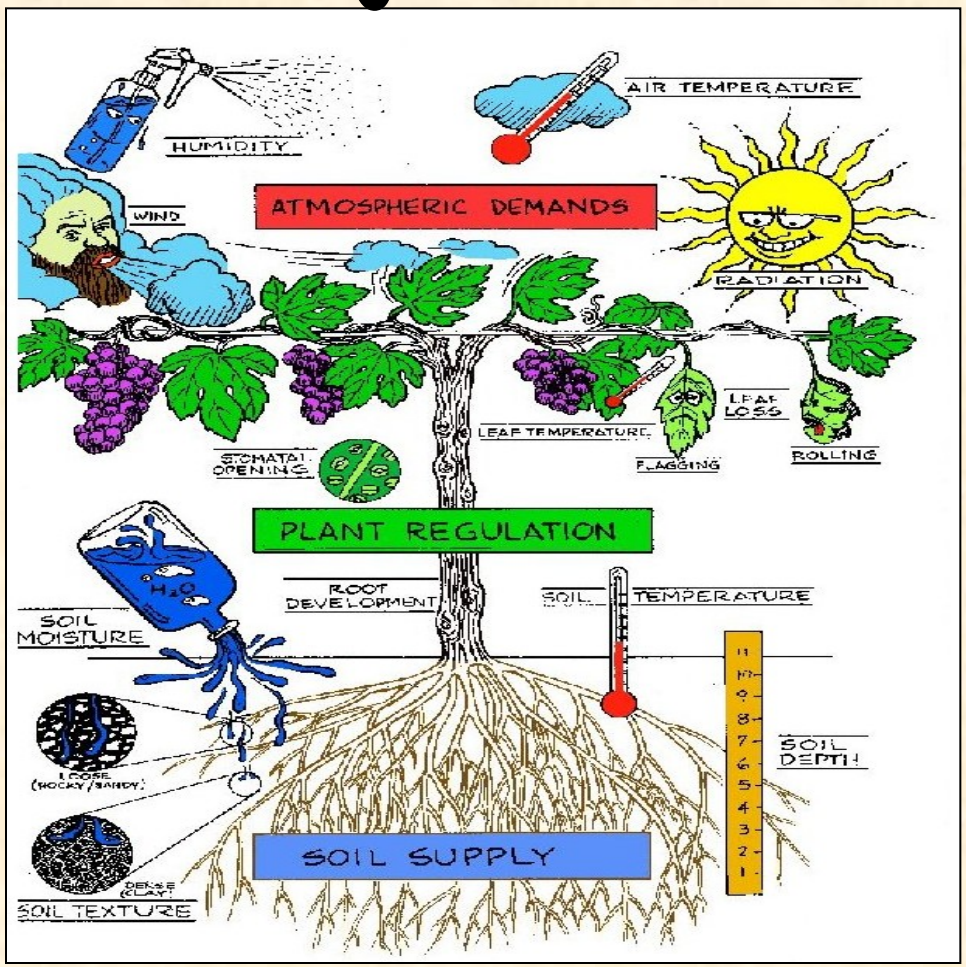
Geny tvoří jen malou část naší genetické informace (genomu). Naopak transposony – úseky DNA přemisťující se po genomu z místa na místo, populárně označované jako „skákající geny" – představují více než polovinu genomu člověka (viz Vesmír 2000/5, 2009/9). Již desítky let vedou vědci debaty o původu a úloze těchto evolučně velmi úspěšných genetických entit. Zatímco dříve se na transposony nahlíželo jako na pouhé genomové parazity, jejichž jediným cílem je se v genomu namnožit, v poslední době je stále jasnější, že jsou mnohdy prospěšné, mluví se dokonce o „domestikaci" transposonů. Ptát se ale po jejich smyslu je podobné jako se ptát po úloze jakékoliv genetické mutace – může být škodlivá nebo užitečná, záleží na časovém a prostorovém kontextu.

V našem genomu jsou nejpočetnější skupinou transposonů takzvané retrotransposony L1 a Alu, které skáčou do nových míst v genomu prostřednictvím molekul RNA, za-

- využití v diagnostice a terapii

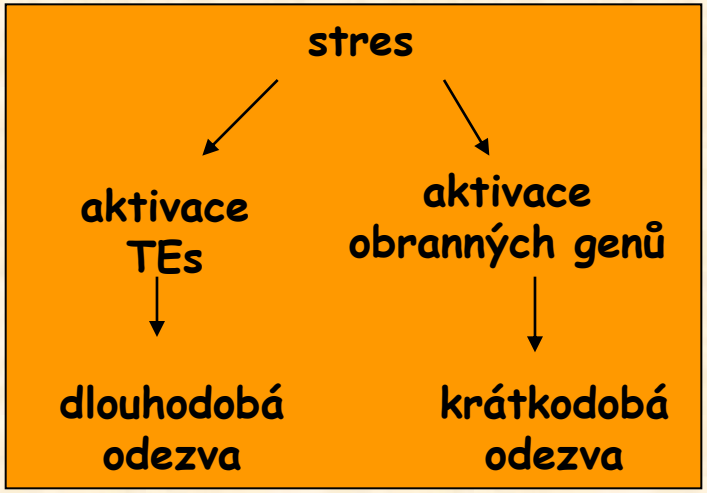
- vazebné místo p53 je odvozené z TE

Aktivace transposonů stresem je běžná u rostlin



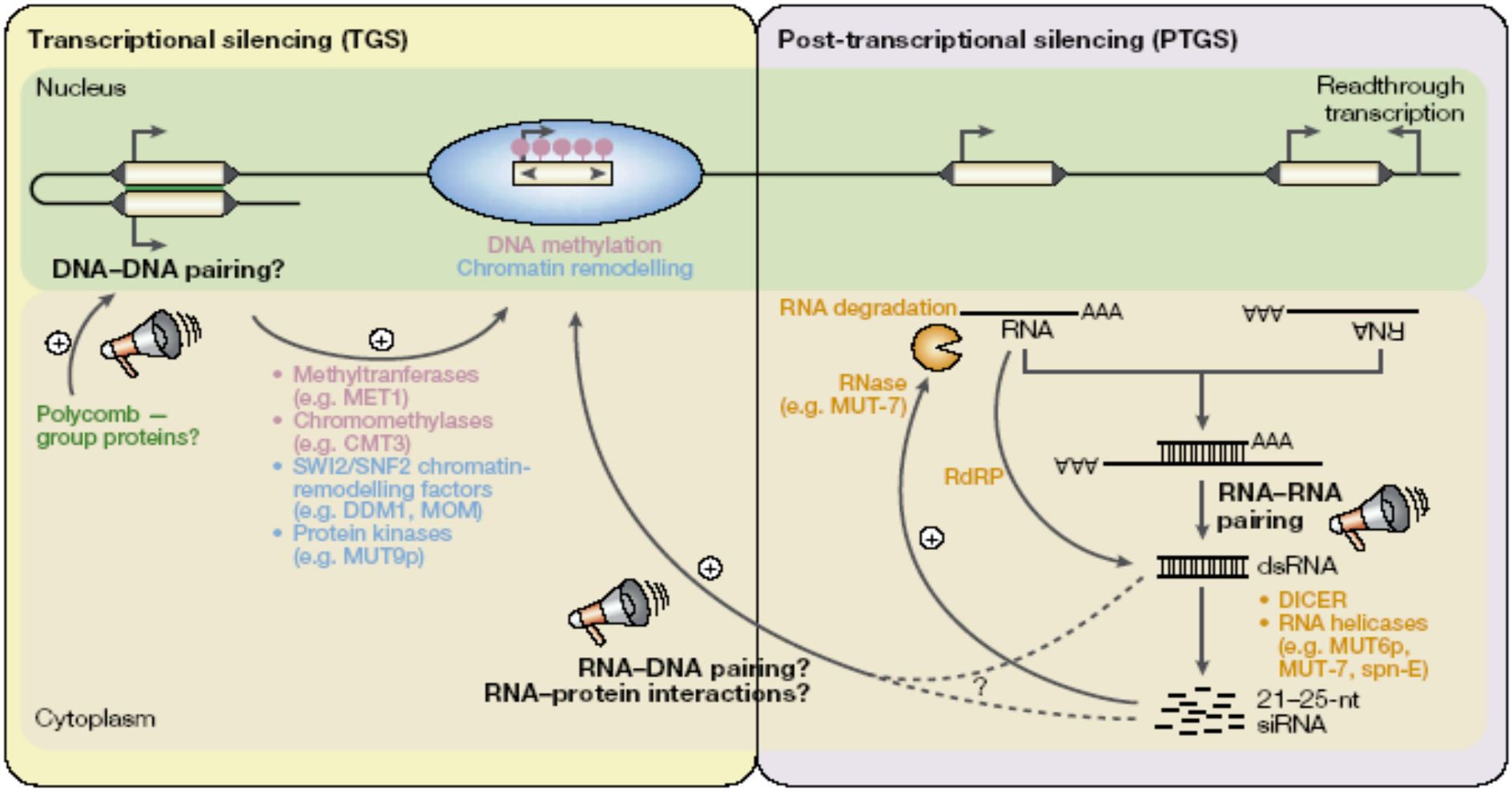
Stres
↓
aktivace TE
↓
rozkolísání genomu
↓
adaptace

TE + epigenetický kód



Sucho, UV záření, poškození, kultivace in vitro, …
2 hypotézy proč stres aktivuje TEs
(oslabený hostitel x variabilita a adaptace)

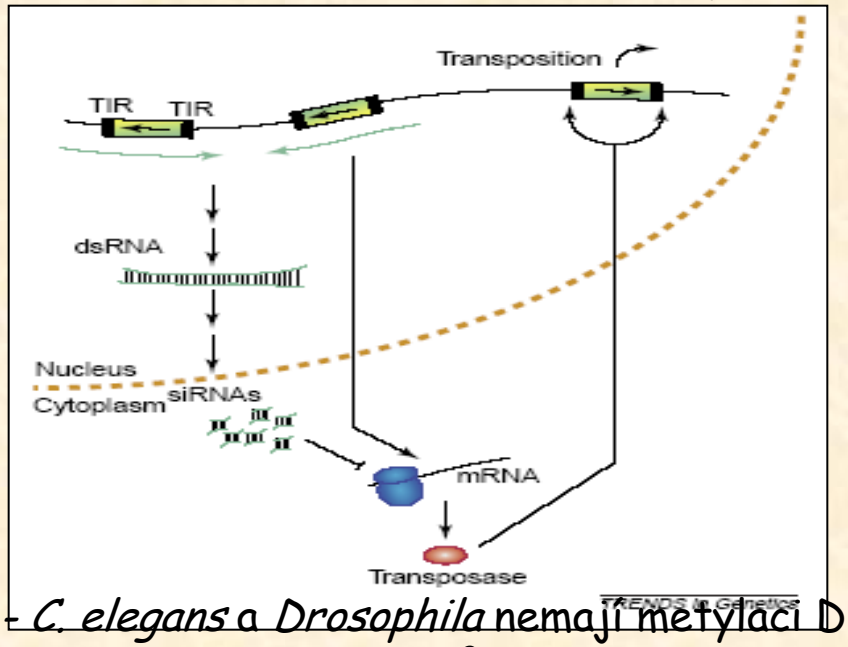
Umlčování transposonů: transkripční i posttranskripční (metylace a RNAi)



Transkripční umlčování – metylace promotorů TE

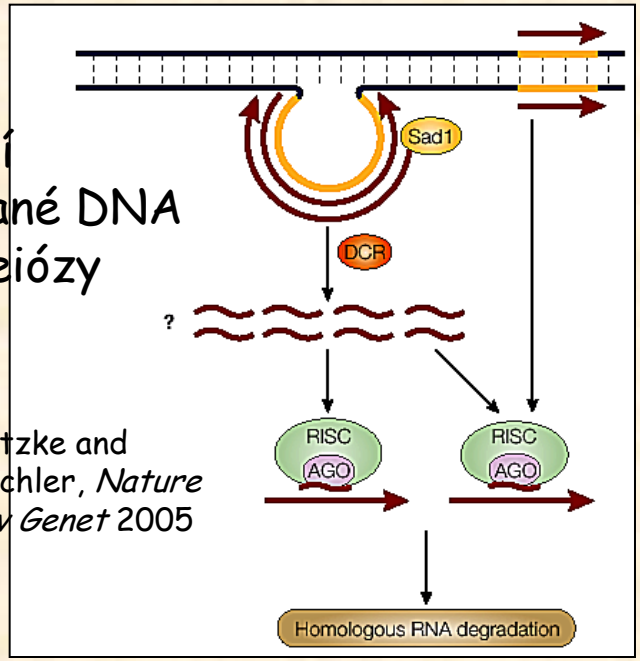
Posttranskripční umlčování – sekvenčně specifická degradace RNA v cytoplazmě

Umlčování transposonů mechanizmem RNAi

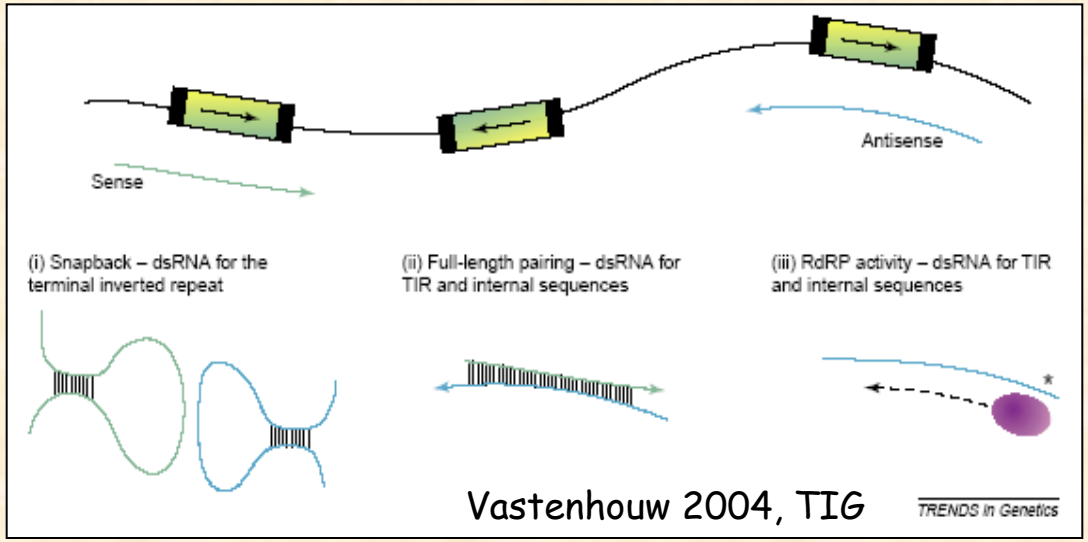


- *C. elegans* a *Drosophila* nemají metylaci DNA
- Umlčování transposonů je zajišťováno pomocí RNAi

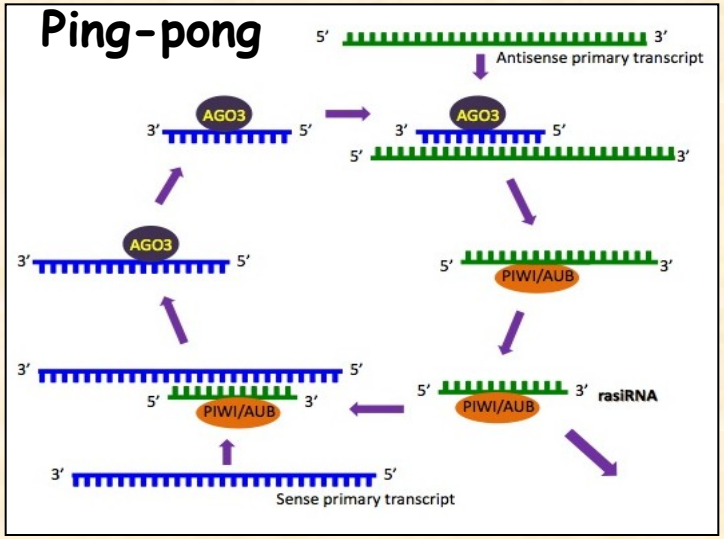
Umlčování nespárované DNA během meiózy



Matzke and Birchler, *Nature Rev Genet* 2005



Vastenhouw 2004, TIG

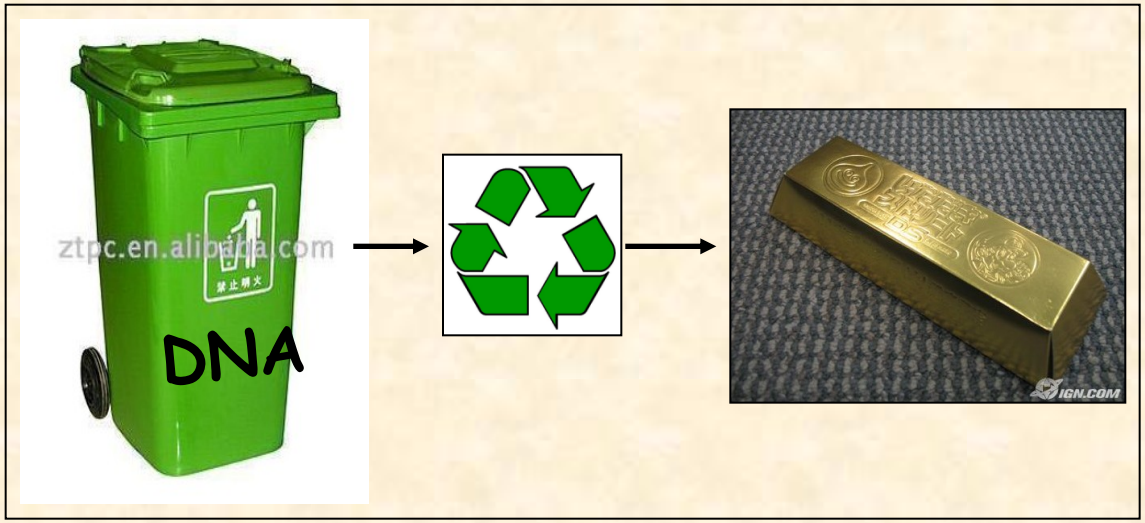


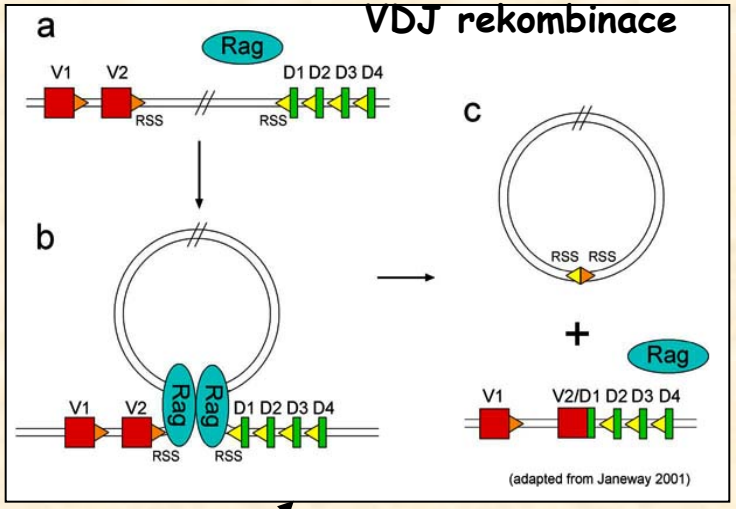
TRANSPOSONY UŽITEČNÉ PRO HOSTITELE

DOMESTIKACE TRANSPOSONŮ

Recyklace transposonů
„Turning junk into gold“

Existuje mnoho příkladů domestikace transposonů





Domestikace TE a jejich pozitivní vliv na hostitele:

- telomery drozofily – Het-A, TART
- centromery – CENP-B z DNA transposonů
- imunitní systém – V(D)J rekombinace
- duplikace, rodiny, vznik nových genů (Setmar)
- reparace zlomů v DNA
- inaktivace chromosomu X
- úloha v regulačních sítích

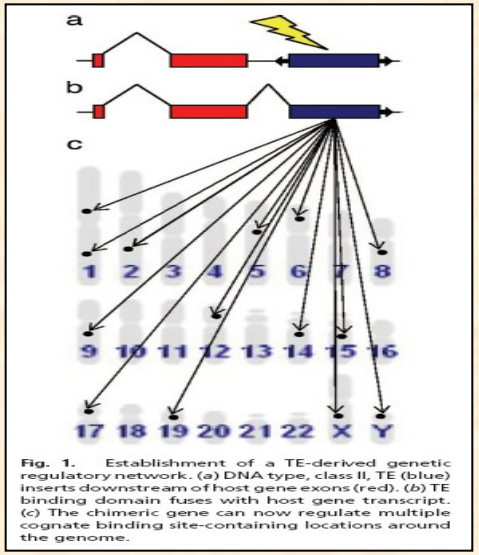
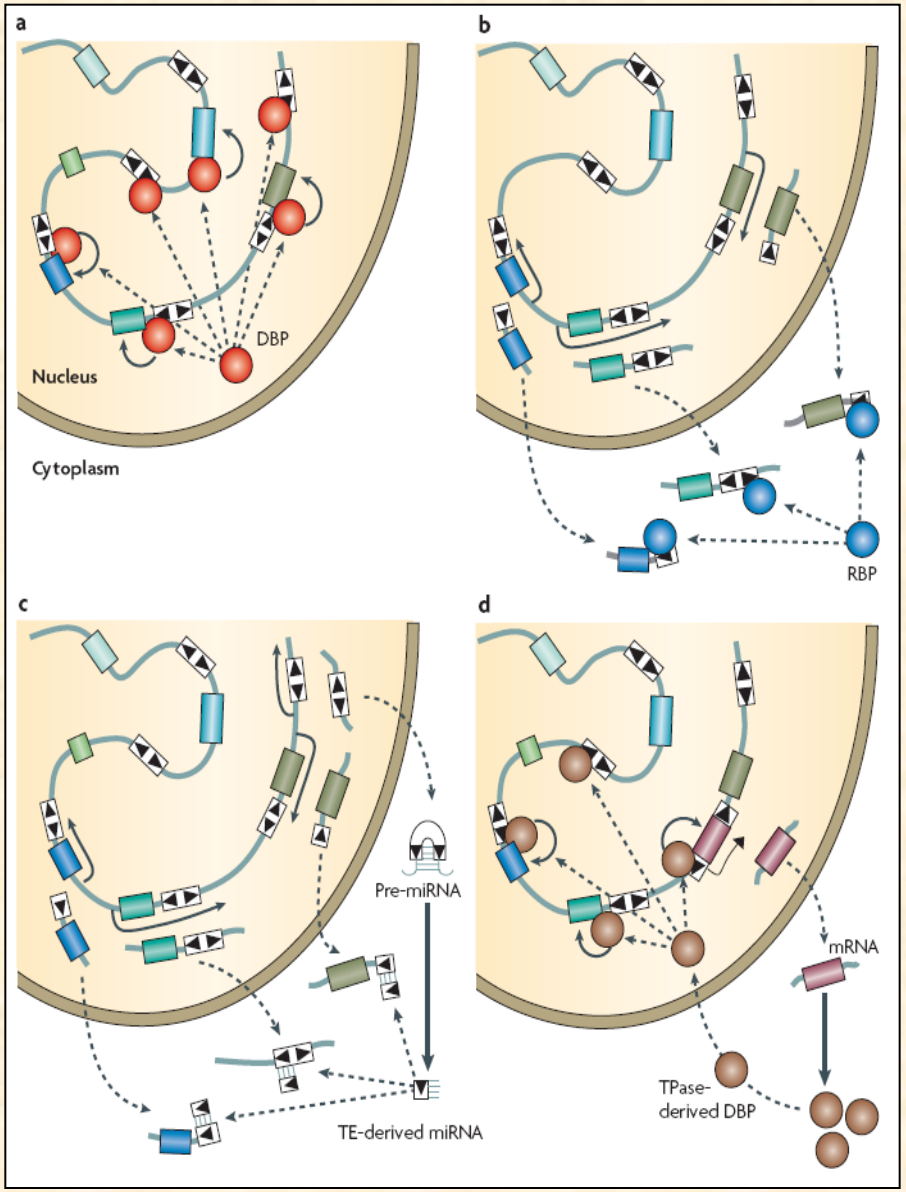


Fig. 1. Establishment of a TE-derived genetic regulatory network. (a) DNA type, class II, TE (blue) inserts downstream of host gene exons (red). (b) TE binding domain fuses with host gene transcript. (c) The chimeric gene can now regulate multiple cognate binding site-containing locations around the genome.

Role transposonů v regulačních sítích

DNA-binding protein=TF odvozený z TE
Regulace transkripce

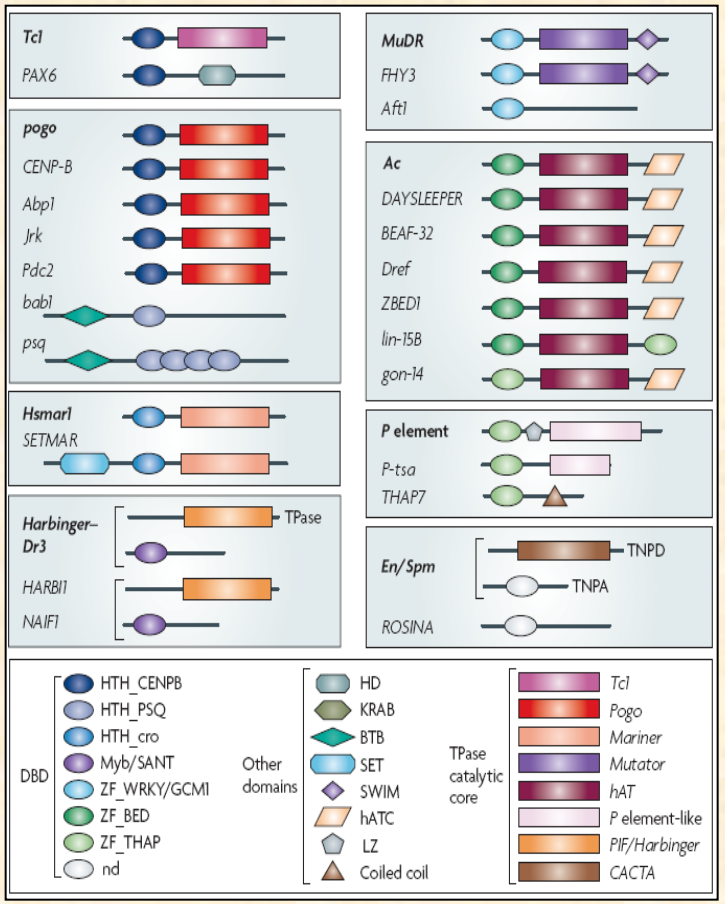
Regulace pomocí miRNA odvozených z TE



RNA-binding protein reguluje posttranskripčně

CNE/UCE/enhancery z TE (10 000)

Transkripční faktory odvozené z TE:



Feschotte (2008)
Nat. Rev. Genet. 9, 397

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*

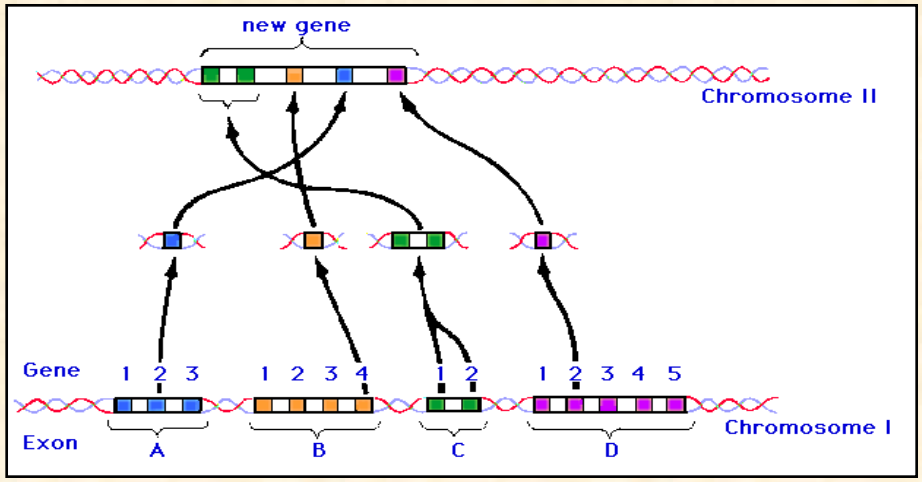
SK Lal and LC Hannah

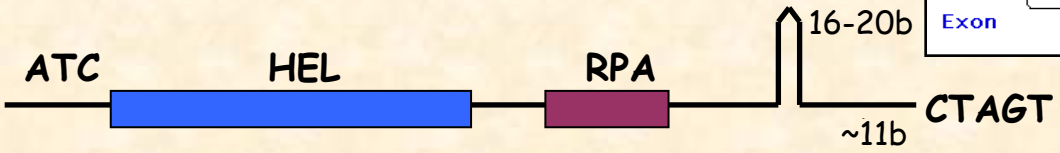
Heredity (2005) **95**, 421–422. doi:10.1038/sj.hdy.6800764; published online 12 Octobe

Treasures in the attic: Rolling circle transposons discovered in eukaryotic genomes

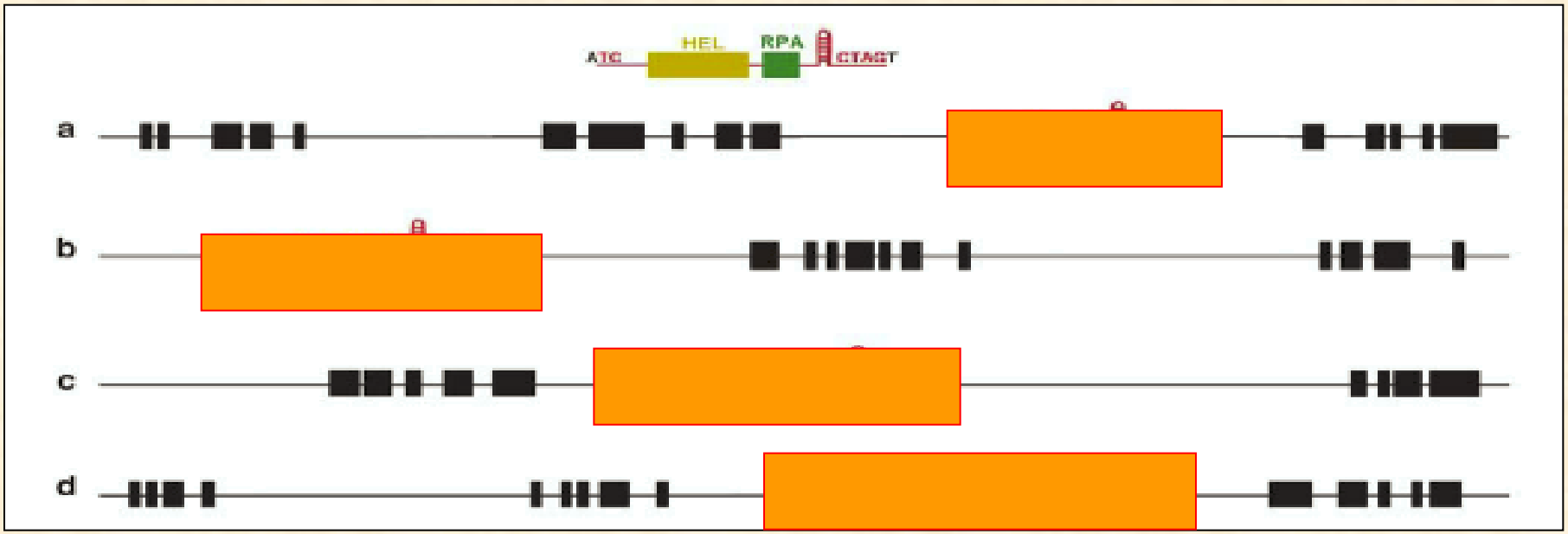
Cédric Feschotte and Susan R. Wessler*

Departments of Botany and Genetics, University of Georgia, Athens, GA 30602

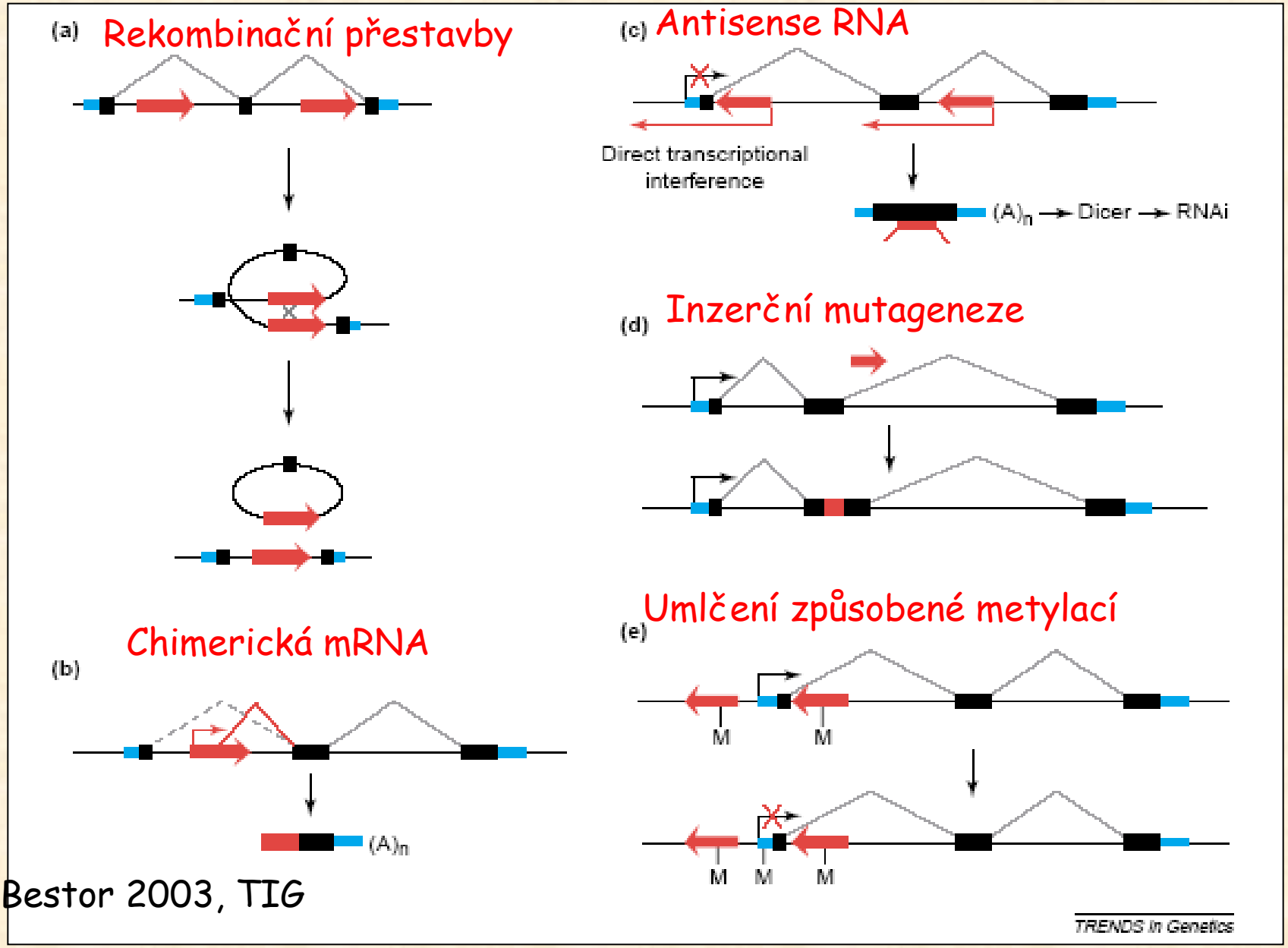




Journey of Helitrons (non-autonomous) through maize genome and capturing genes:



Vliv transposonů na genom



Bestor 2003, TIG

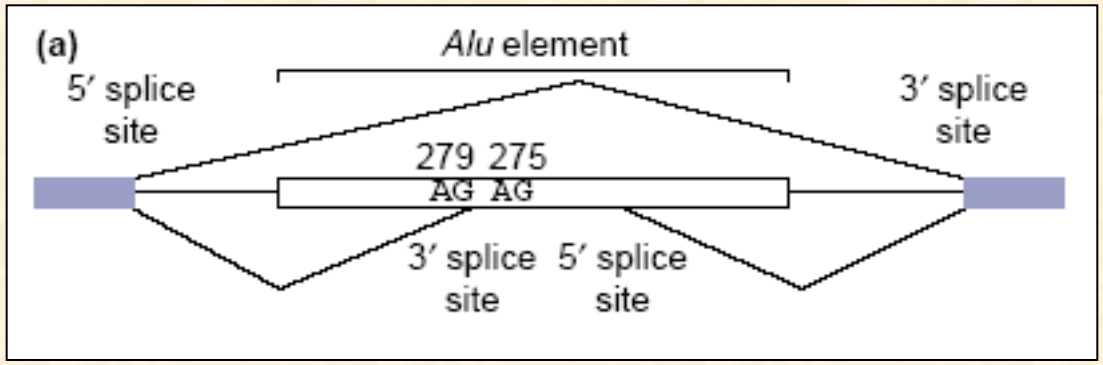
LINE elementy – významný hráč v genomu člověka

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

LINE hrají roli v šíření signálu při inaktivaci chromosomu X (Barr body)

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: druhově-specifický alternativní sestřih
- exony: konstitutivní (konzervativní) a alternativní (majoritní a minoritní)

Vznik alternativních exonů:
- duplikace exonů, mutace existující intronové sekvence,
- z Alu elementů (5% lidských alternativních exonů)

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

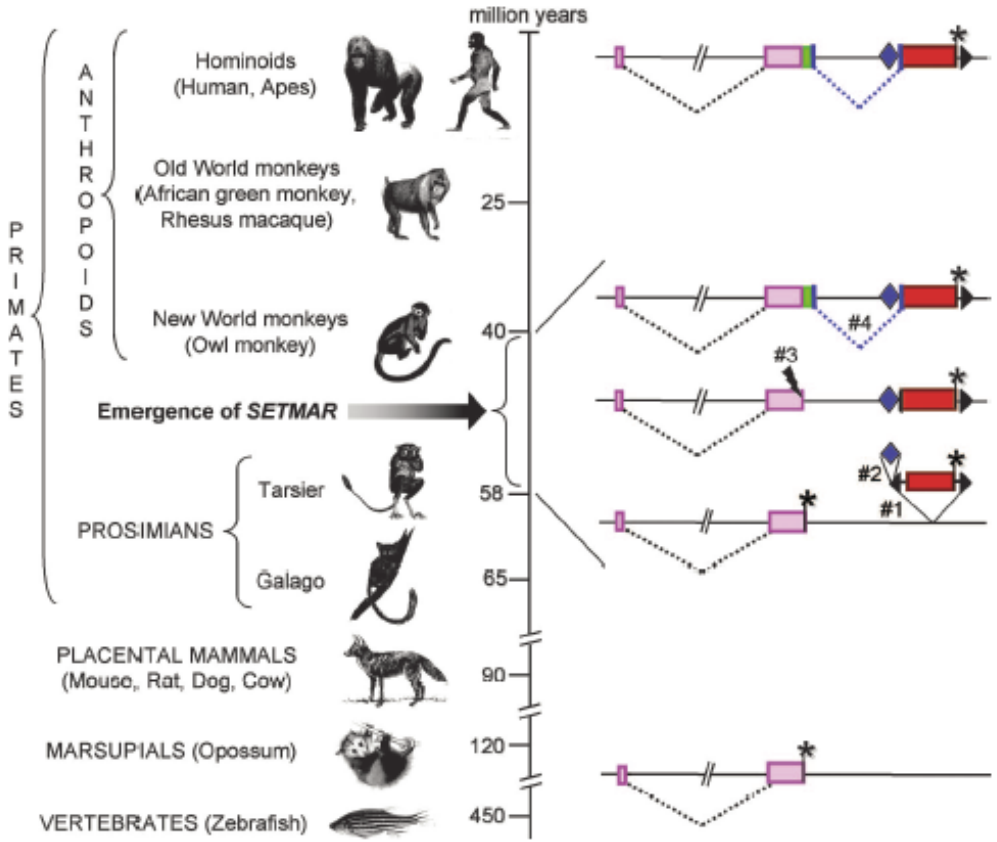


Fig. 1. Milestones leading to the birth of *SETMAR*. The structure of the *SETMAR* locus (*Right*) and a simplified chronology of the divergence time of the species examined relative to hominoid primates (*Left*) are shown. Pink boxes represent the two *SET* exons, which are separated by a single intron (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 *Alu*Sx 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.

- zrušení stop
- vznik nového stop
- exonizace
- degenerace TIRu
- vznik intronu
- DNA vazebná doména Tn zachována
- TIR místa v genomu

Retrogen způsobil krátkonohost u psů

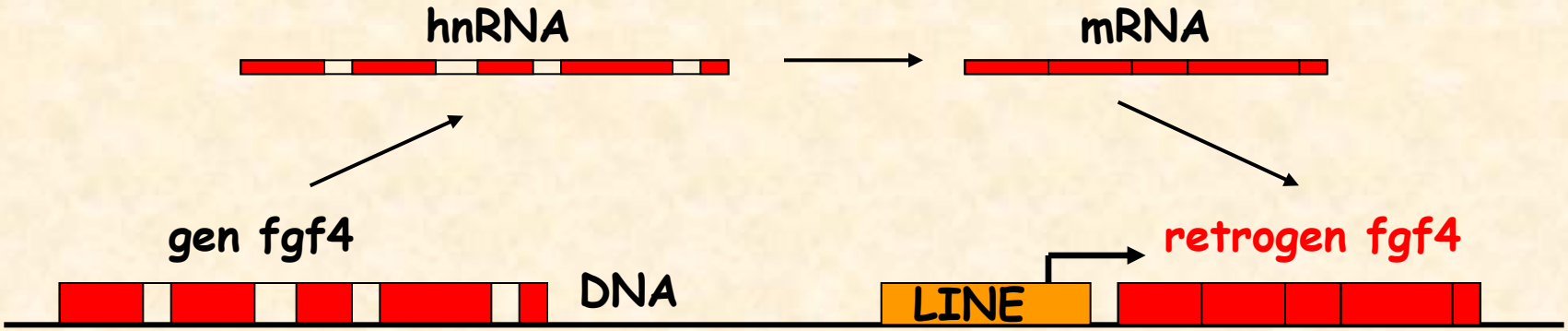
Science 325, 995 (2009)

- **chondrodysplasie (krátkonohost)**

jediná evoluční událost

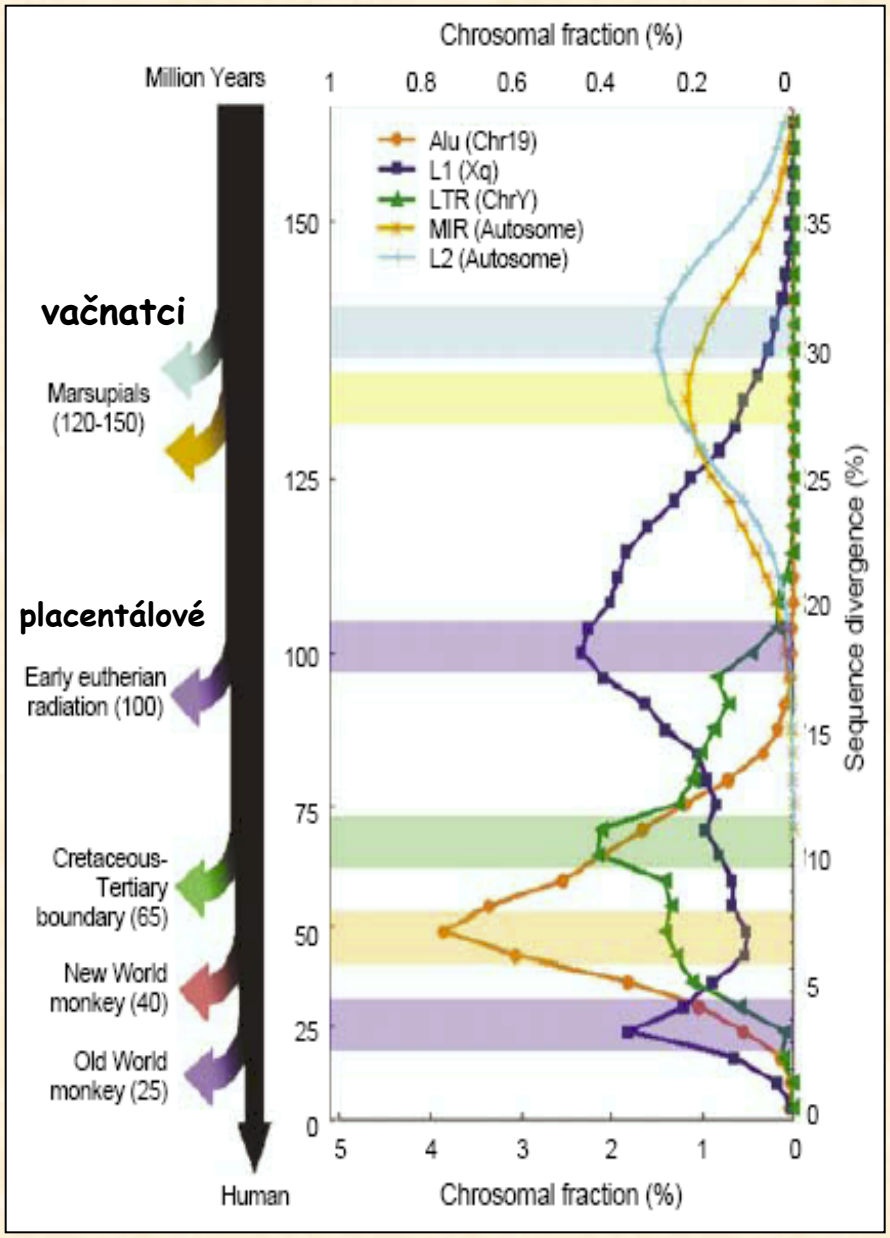
↓

změna fenotypu

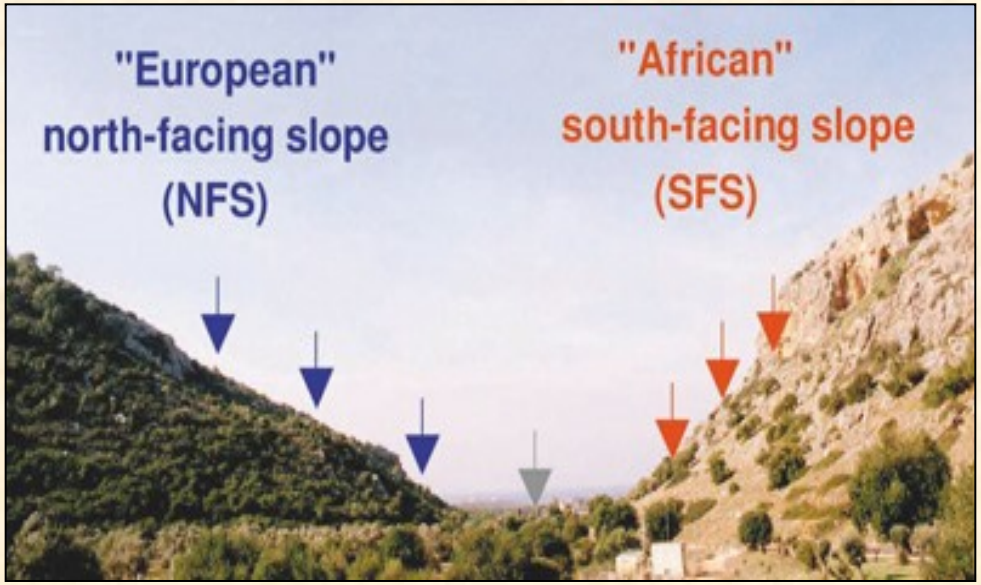


EXPLOSIVNÍ AMPLIFIKACE TRANSPOSONŮ V EVOLUCI SAVCŮ

Explosivní amplifikace transposonů a speciace



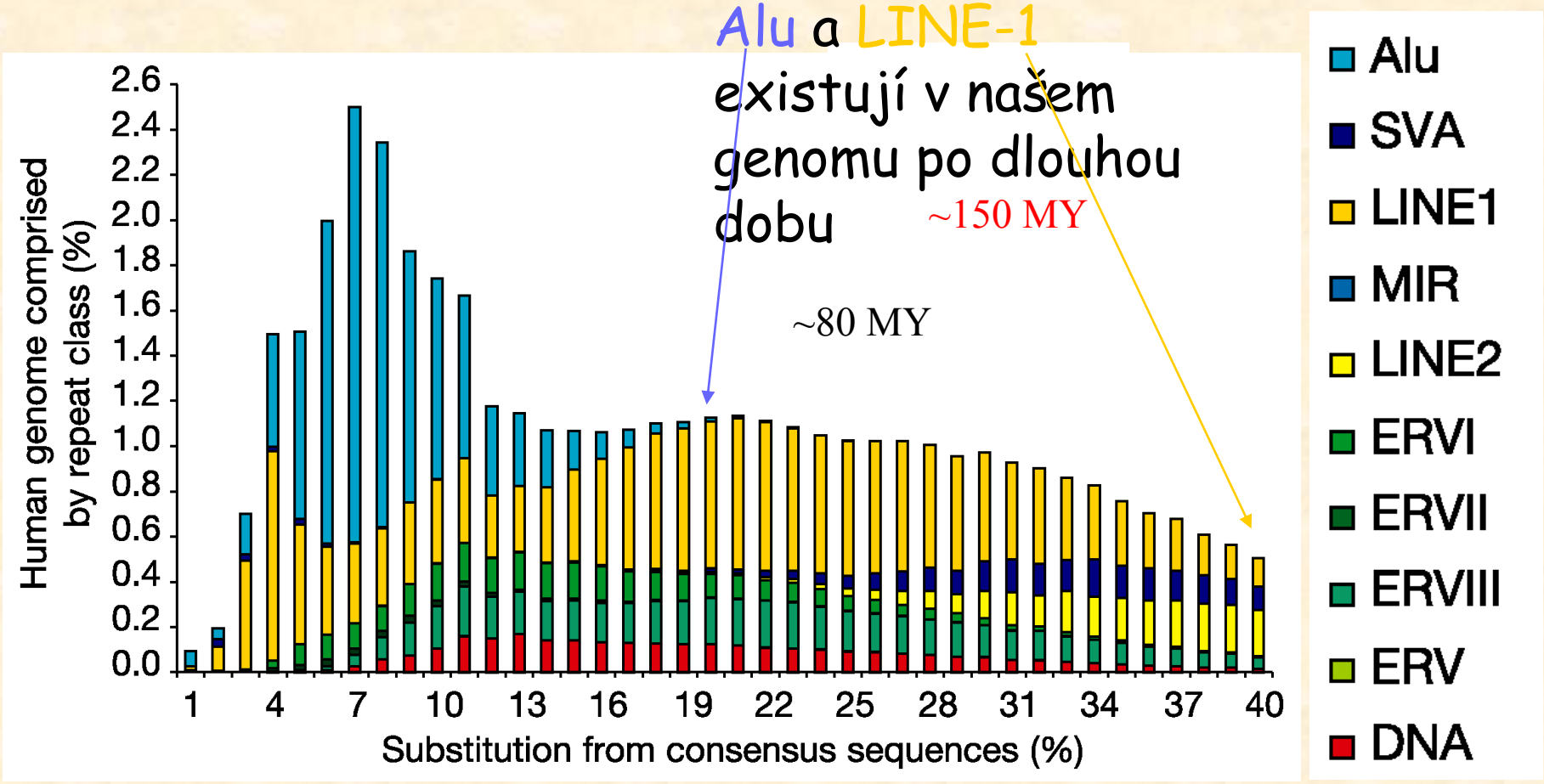
Evoluční kaňon (Israel):



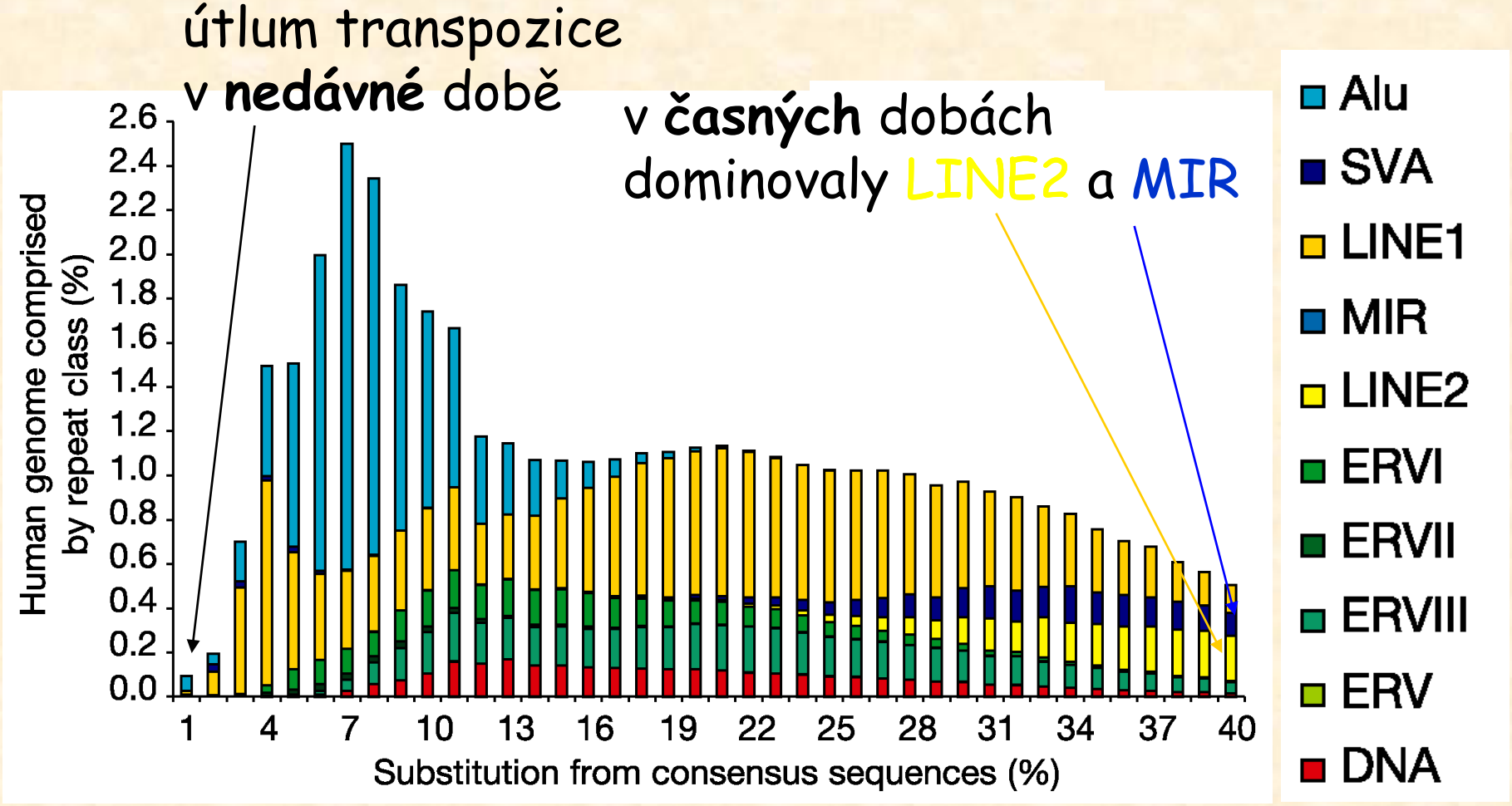
3x více BARE TE na jižním svahu (ječmen)

Mezidruhová hybridizace aktivuje TEs
- „destrukce" silencingu

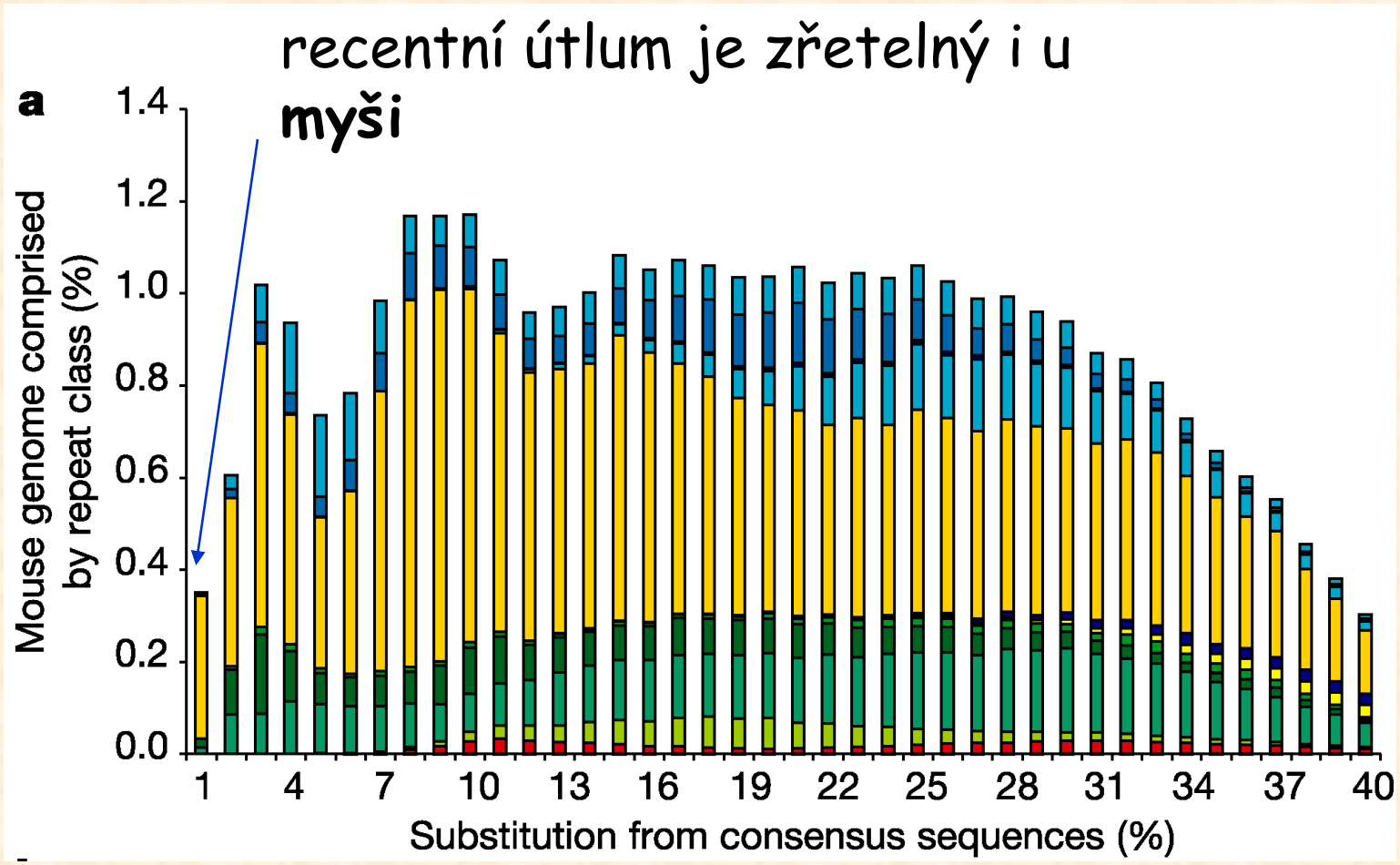
Korelace mezi expanzemi transposonů a oddělováním větví savců



Korelace mezi expanzemi transposonů a oddělováním větví savců



Dynamika transposonů v evoluci myši

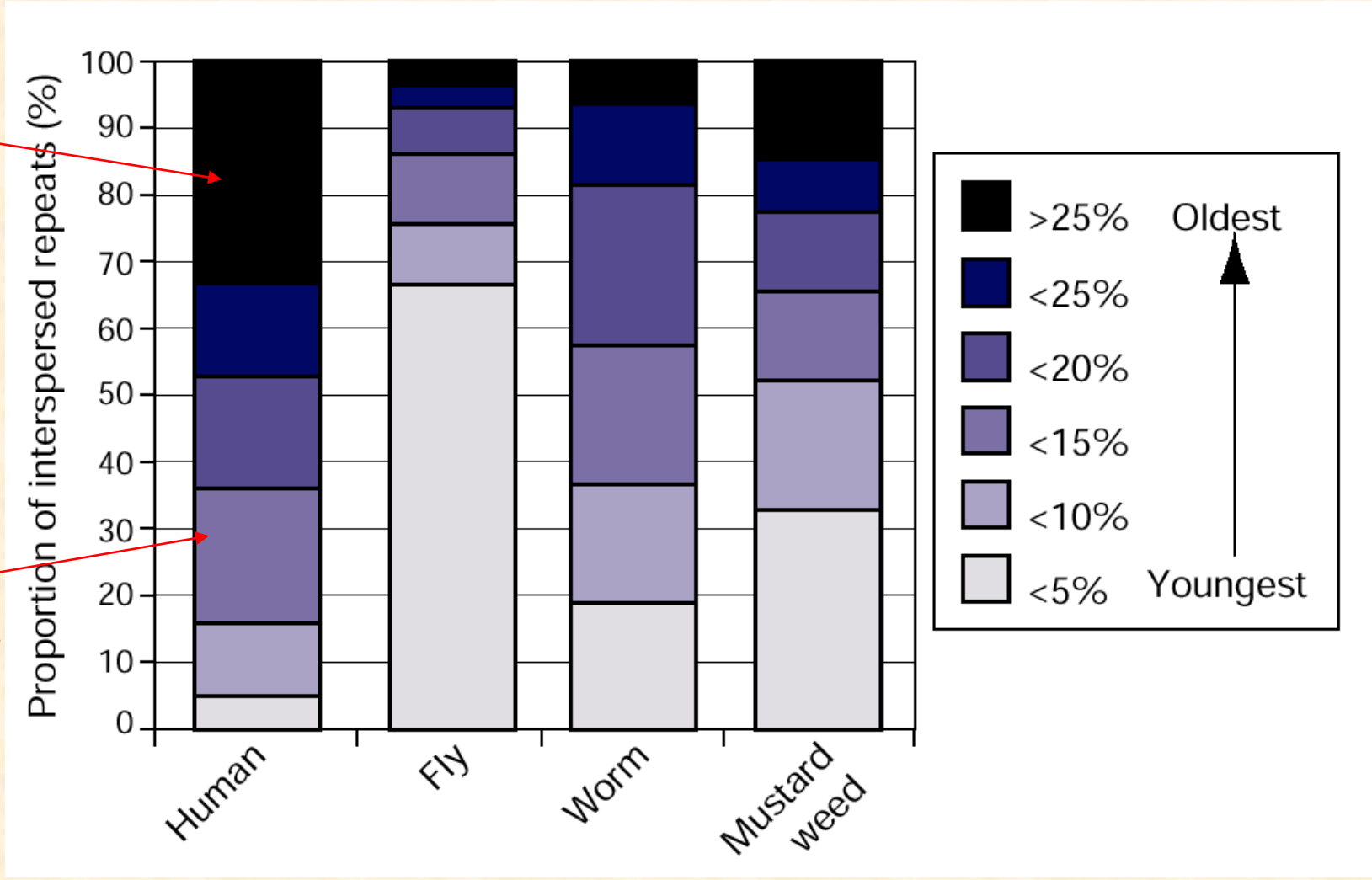


MGSC. Nature (2002) **420** 520-562

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

staré

mladé



Srovnání stáří transpozonů v eukaryotických genomech

„Bez transposonů bychom zde nebyli a živý svět by pravděpodobně vypadal velmi odlišně." Susan Wessler

„Retrotransposony nemohou být zcela sobecké, protože hostitelský genom i vědci je využívají ke svému vlastnímu prospěchu." :-)
Jeffrey Bennetzen

Co je naše a co cizí?

Dnes je tedy nepochybné, že transpozony nejsou jen parazitické elementy v našich genomech. Podstatně zvyšují evoluční potenciál svých hostitelů. Pomáhají nám přežít a adaptovat se na měnící se podmínky. Někdy mám pocit, že si transpozony své hostitele tvoří k obrazu svému, tvarují celý genom včetně genů podle svých potřeb jako místo pro své přežívání. Spíše však jde o krásnou ukázku logiky evoluce, která funguje cestou záplatování, bez plánu. K své tvorbě používá vše, co je po ruce, ať jsou to třeba parazitické elementy. Můžeme zde vůbec mluvit o cizorodých elementech a hostitelích? Co je naše a co je cizí? Vždyť celý náš genom včetně našich transpozonů jsme přece my.

Paraziti, nebo pomocníci?

Skákající geny a evoluce

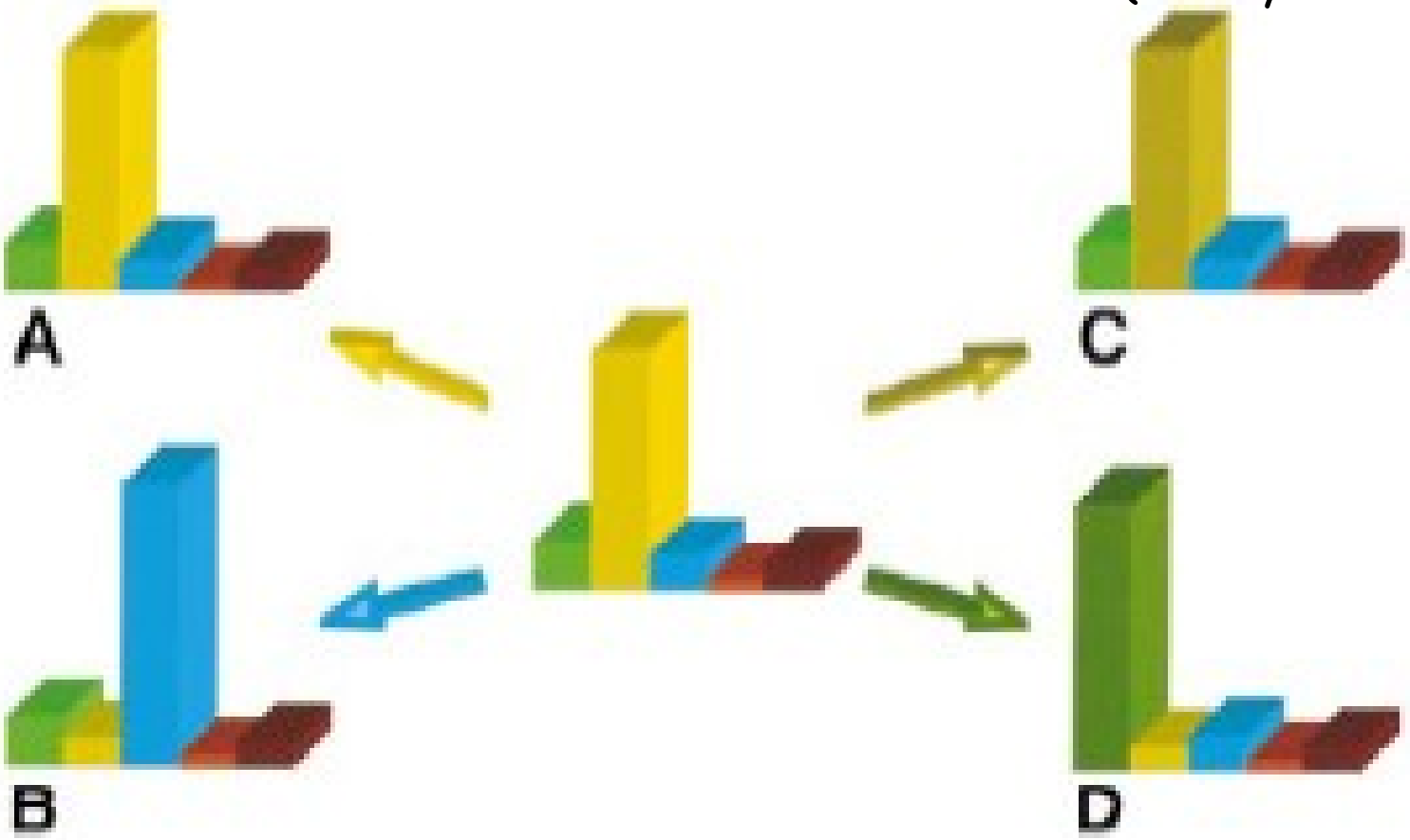
Kejnovský
Vesmír 2009/9

TANDEMOVÉ REPETICE

Tandemové repetice, „knihovna" satelitní DNA

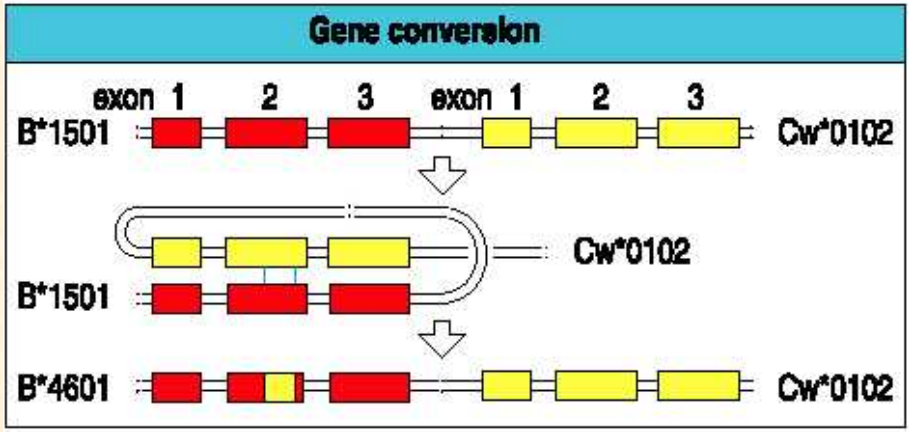
Đ.Ugarković and M.Plohl

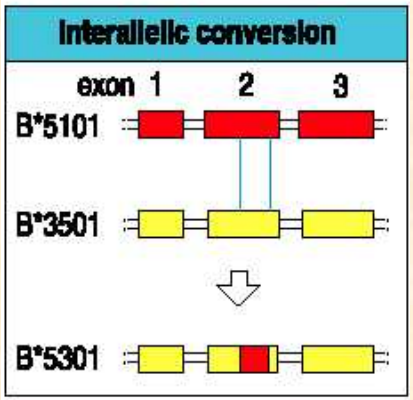
Hlavní parametry:
- počet kopií (změna v B a D)
- sekvence DNA (změny C a D)



Evoluce tandemových repeticí

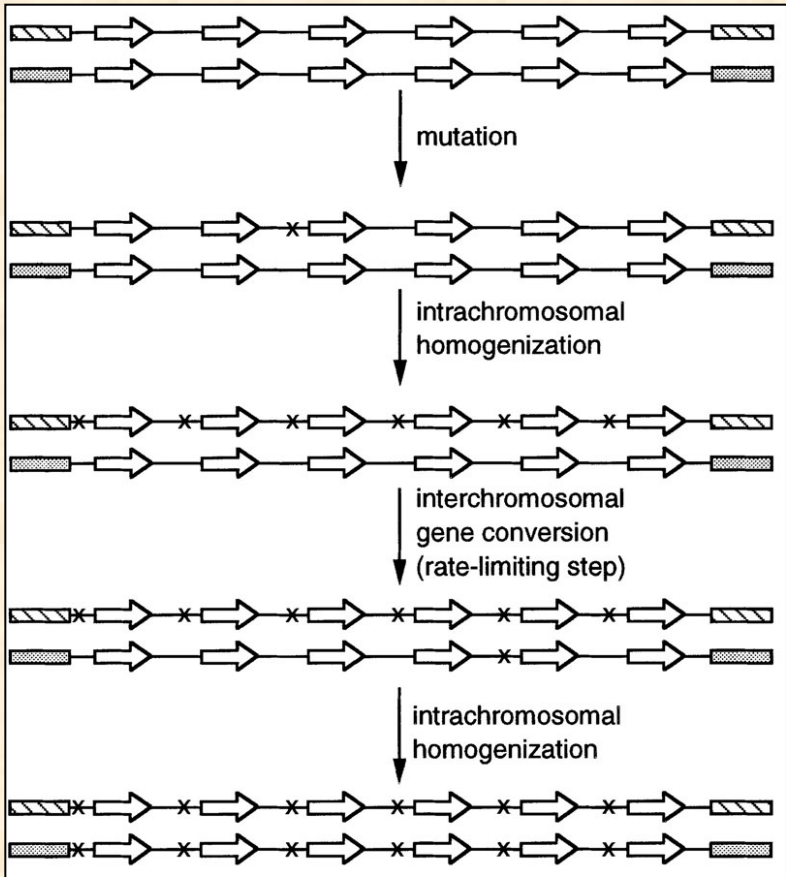
Evoluce v koncertu (concerted evolution)
Genová konverze
Nerovnoměrný crossing-over
Evoluce satelitních sekvencí – skládání ze segmentů





Genová konverze

- interchromosomální
- intrachromosomální



Genová konverze transposonů na pohlavních chromosomech

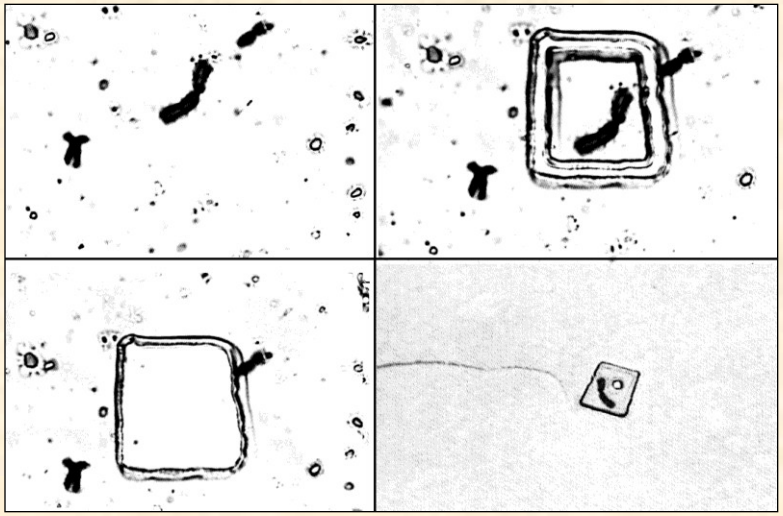
Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Gene 390 (2007) 92–97
GENE
SECTION
EVOLUTIONARY GENOMICS
www.elsevier.com/locate/gene
ELSEVIER

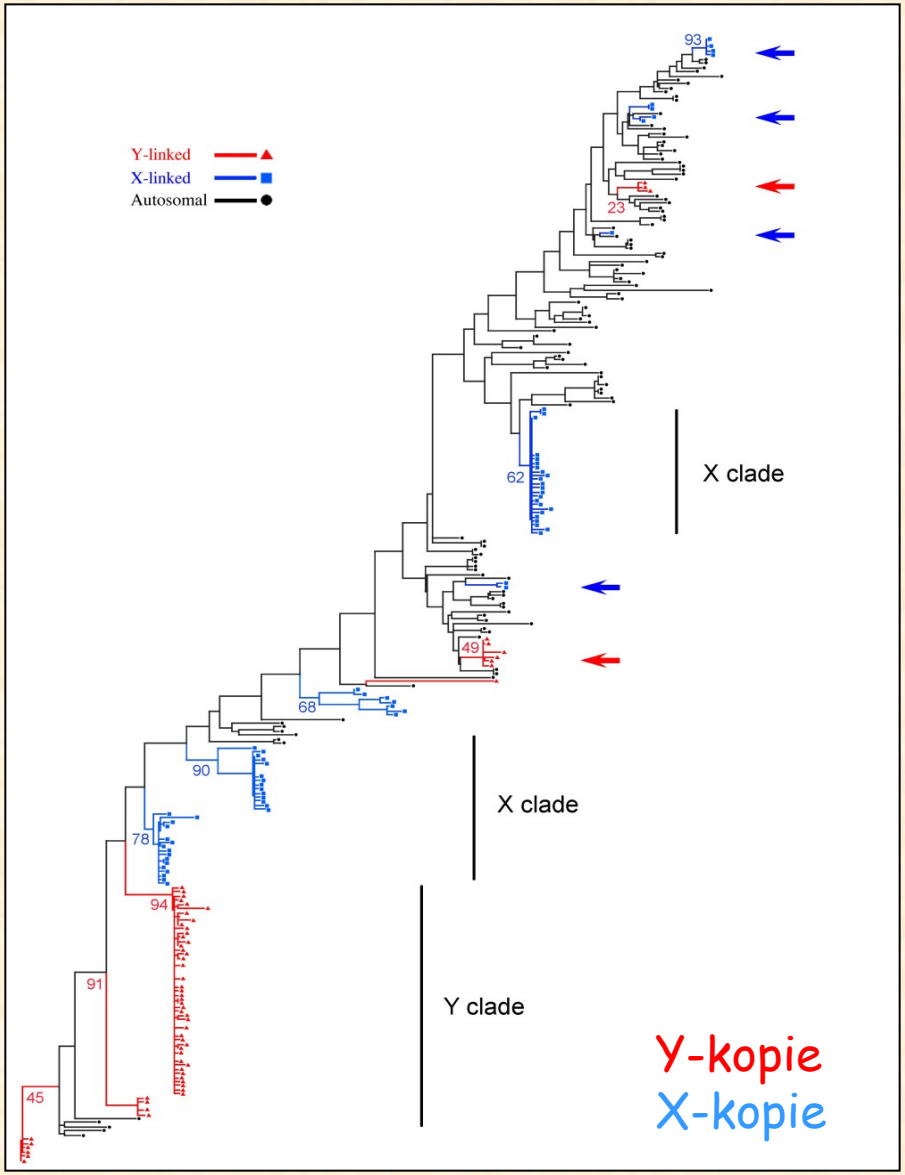
High intrachromosomal similarity of retrotransposon long terminal repeats: Evidence for homogenization by gene conversion on plant sex chromosomes?

Eduard Kejnovsky [a,*], Roman Hobza [a], Zdenek Kubat [a], Alex Widmer [b], Gabriel A.B. Marais [c], Boris Vyskot [a]

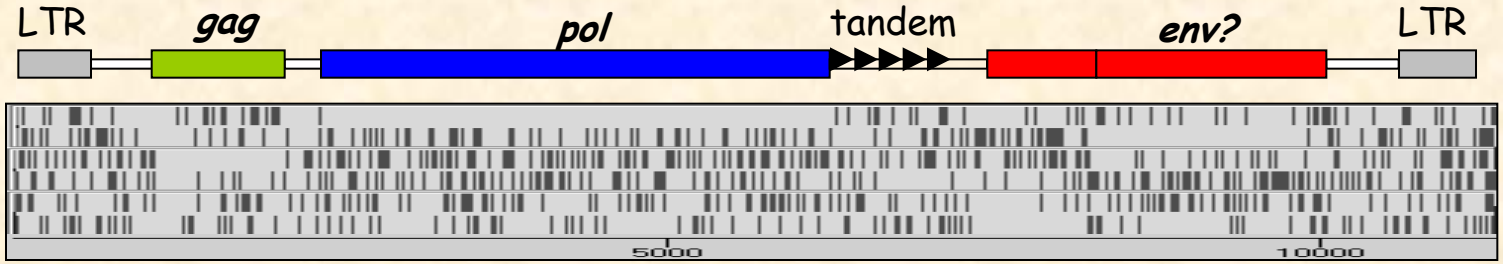
mikrodisekce chromosomů Y a X

PCR amplifikace TE na mikrodisektovaných chromosomech



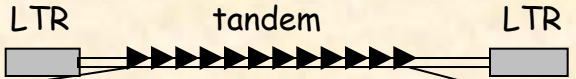


Satelity mohou vznikat i z retroelementů



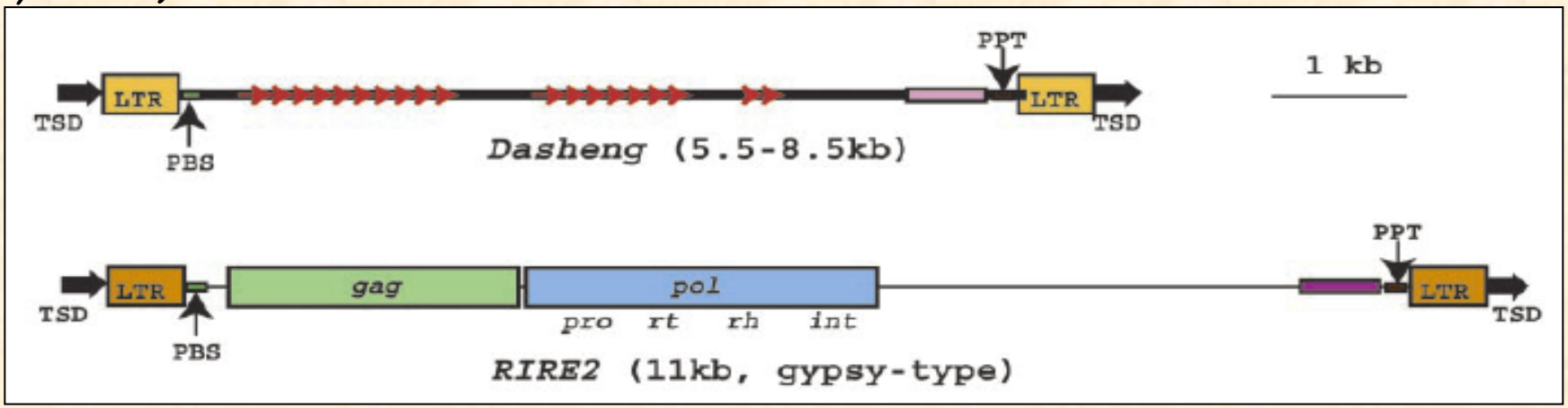
Retand element (*Silene latifolia*)

- **NON-AUTONOMOUS ELEMENT (3.7 kb)**




```
monomer1    GTAAATACAATCGAGCCGAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AACCGGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 67
monomer2    AAAGATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCCGGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 67
monomer3    GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCCGGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 67
monomer4    GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCCGGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 67
monomer5    GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCCGGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 67
monomer6    GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCCGGGAGTGACGGGGGAACAAGCCG 67
monomer7    GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCG---------GCCAA----AGCCGGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 58
monomer8    GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACTTCGGCCGA----AGCCAGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 67
monomer9    GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCTAA----AGCCGGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 67
monomer10   AAAGATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCCGGGAATGACGGGGGAATGAGCCG 67
monomer11   AAAGATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCTAA----AGCCGGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG 67
monomer12   GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCTAATTAAAACCGAGGGCGACGGGGGAACGAGCCG 71
              * **  ********** ********          **  *   * **  *   **********  *****
```

Dasheng element (*Oryza sativa*)



PROMISKUITNÍ DNA

ENDOSYMBIOTIC GENE TRANSFER: ORGANELLE GENOMES FORGE EUKARYOTIC CHROMOSOMES

Jeremy N. Timmis, Michael A. Ayliffe‡, Chun Y. Huang* and William Martin§*

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) – cp DNA v mt genomu

"Endosymbiotic gene transfer is ubiquitous…
… at frequencies that were previously unimaginable".

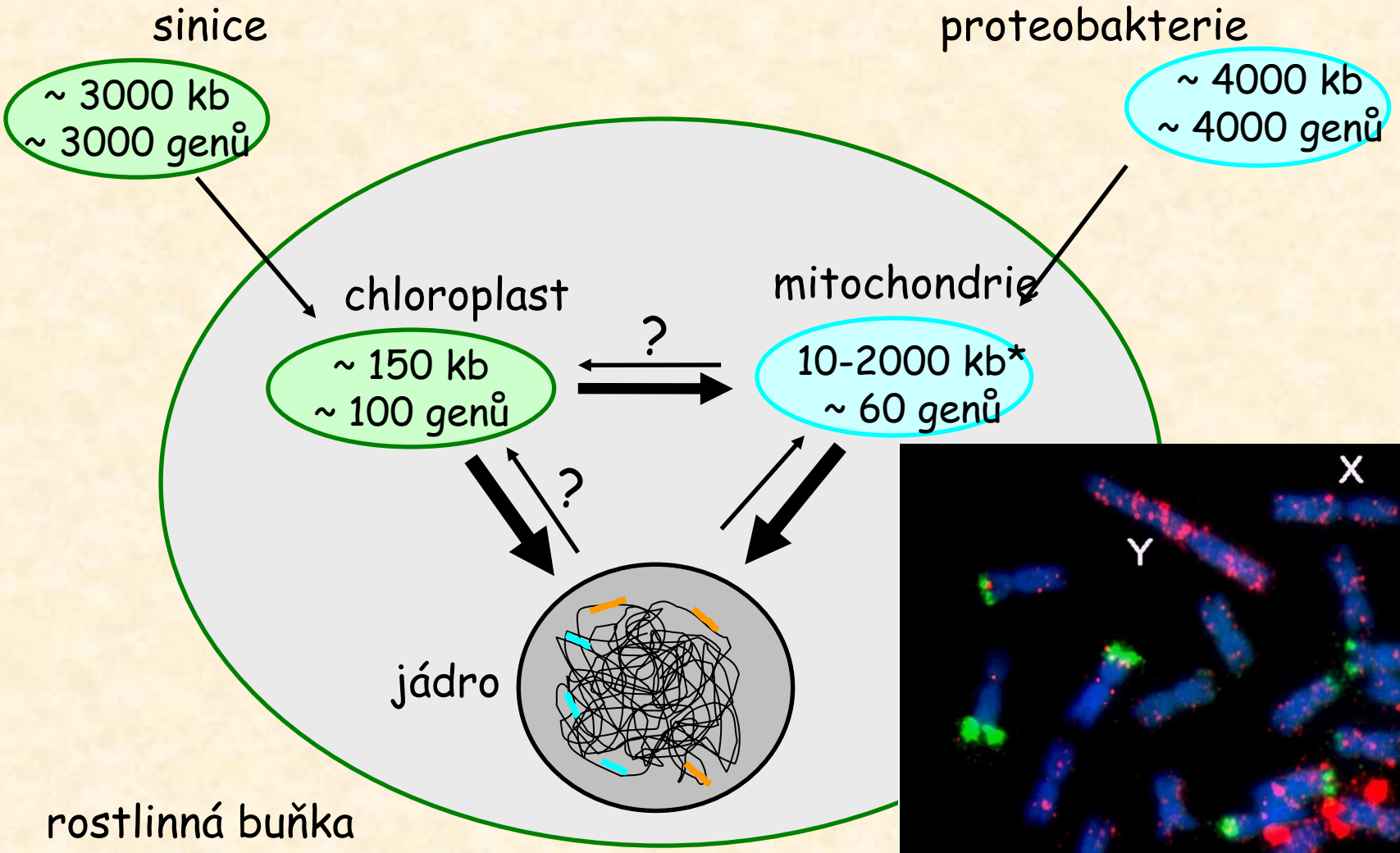
Nature Reviews Genetics, 2004

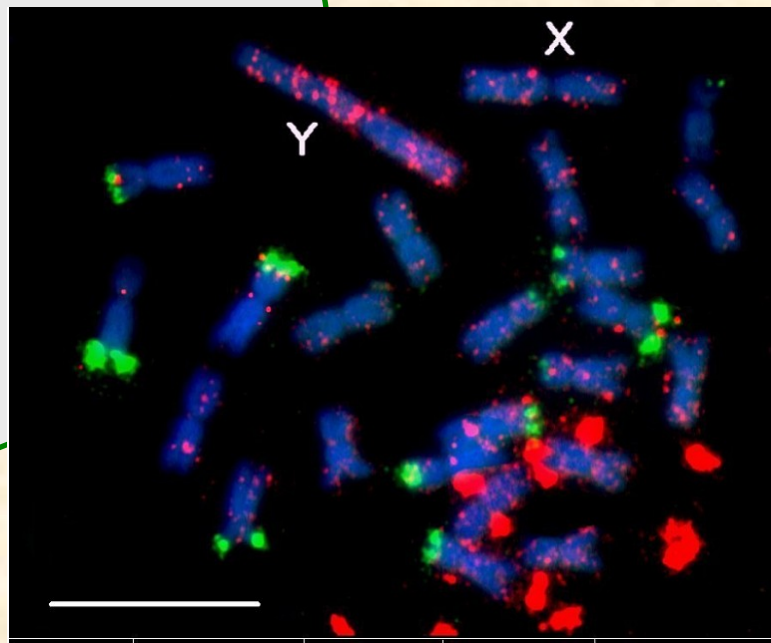
Organelové genomy – pozůstatky prokaryot

(a) **chloroplast**
20-200 kb
20-200 proteinů
progenitor - **cyanobacteria** (Synechocystis)
3.6 Mb
3000 proteinů

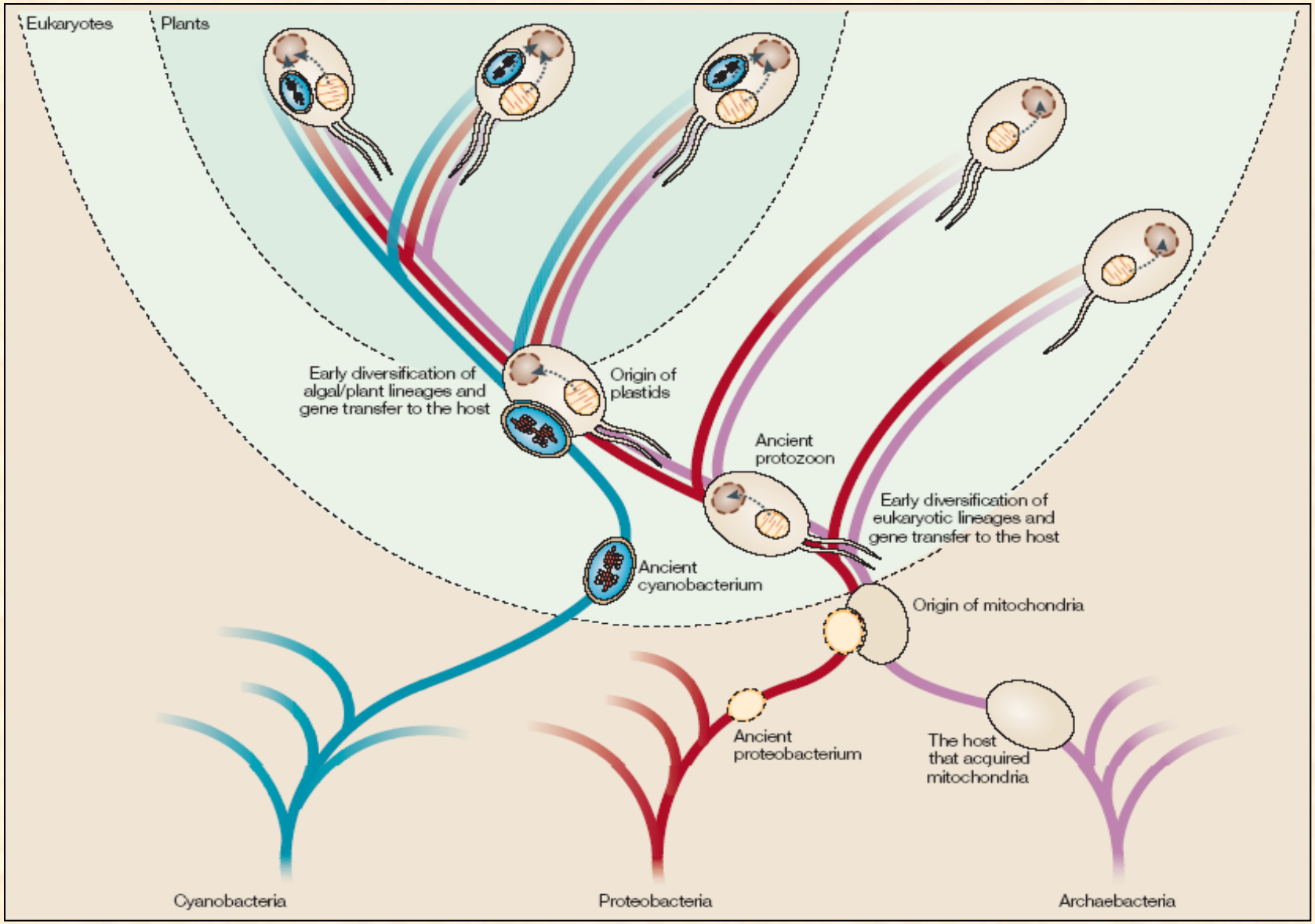
(b) **mitochondrie**
6-400 kb
3-67 proteinů
progenitor - **alpha-proteobacteria** (Mesorhizobium loti)
7 Mb
6 700 proteinů

Promiskuitní DNA
Endosymbioza a tok genů do jádra





Endosymbiotická evoluce a strom života

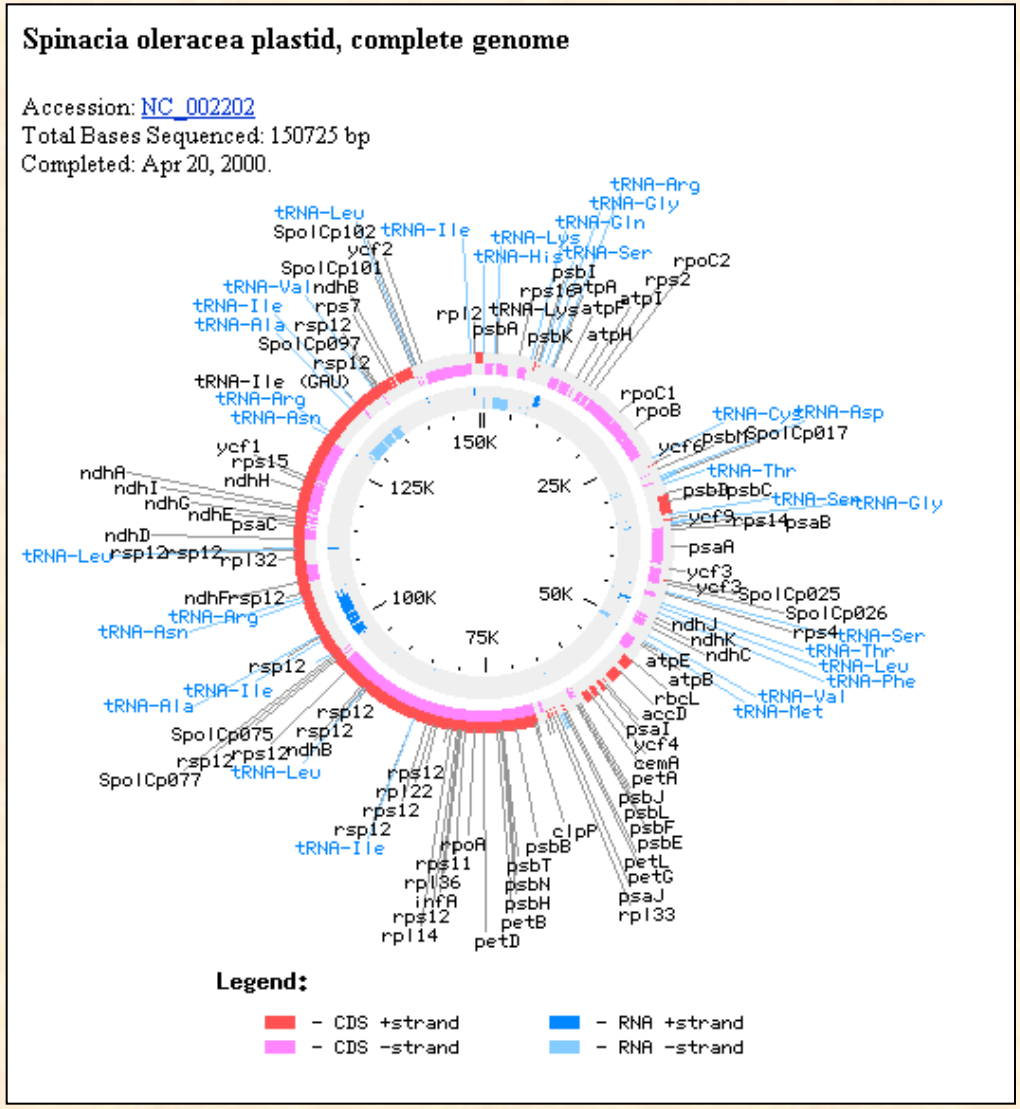


Velikosti organelových a prokaryotických genomů

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

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

Typický chloroplastový genom

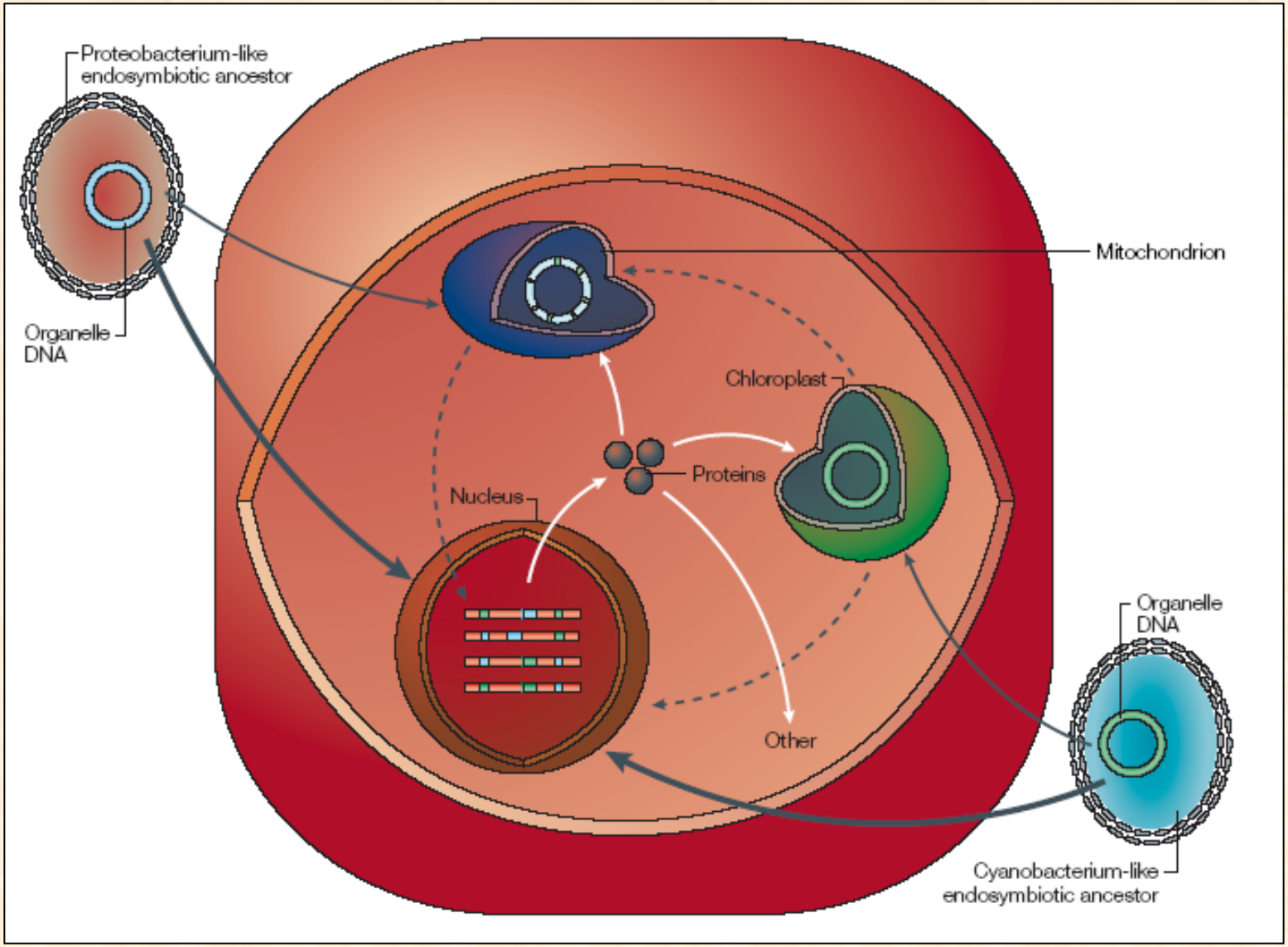


velikost: ~ 150 kb
LSC (large single copy) – 80 kb
SSC (small single copy) – 20 kb
IR (inverted repeats) – 25 kb

118 genů:

- 85 proteiny
  - photosystem I and II
  - cytochrome
  - ATP synthase
  - Rubisco
  - NADH dehydrogenase
  - ribosomal proteins
  - RNA polymerase
- 29 tRNA
- 4 rRNA

Endosymbiotický genový přenos: - transport genů, reimport proteinů



Mechanizmy 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 nesestřiženou 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:

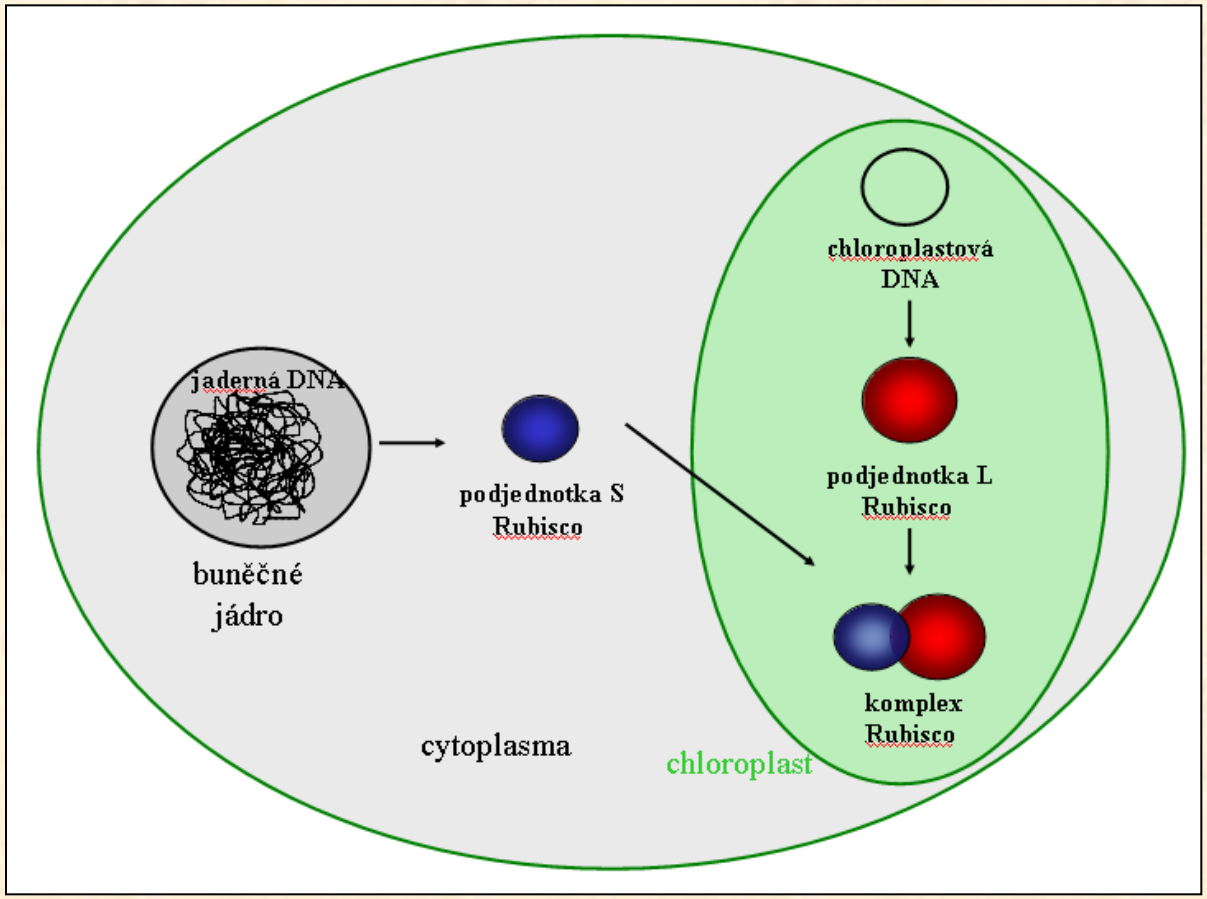
Parazité: - specializace na intracelulární prostředí
- ztráta genů

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:

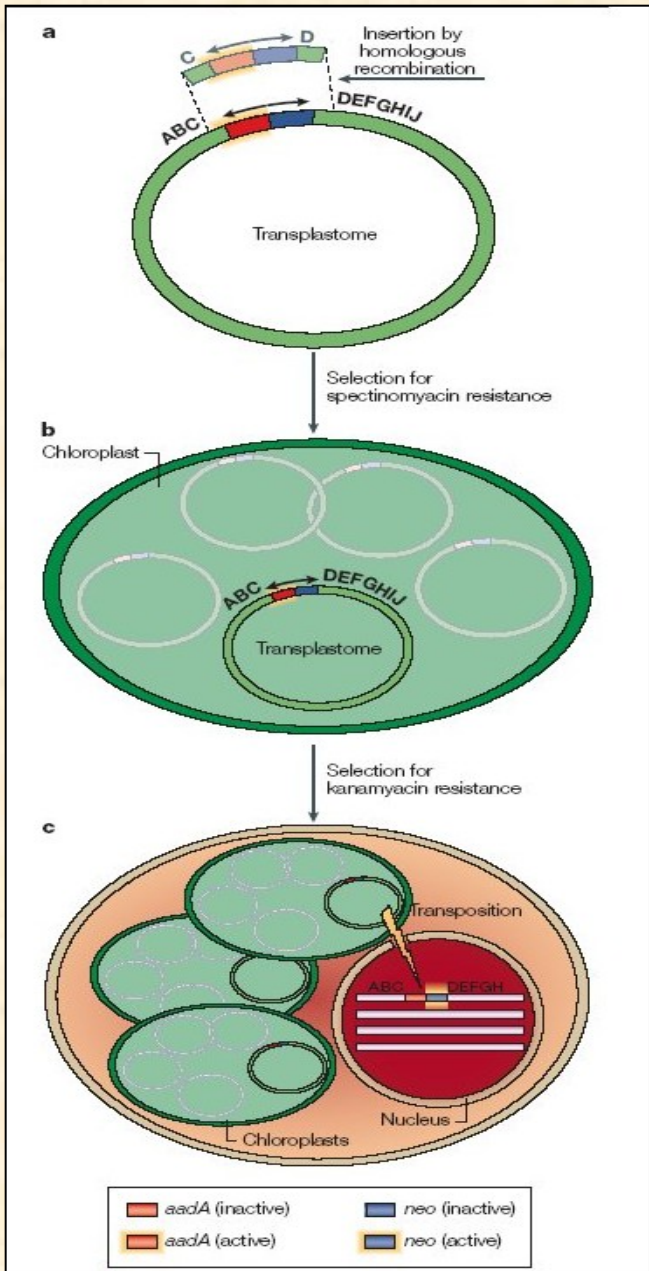
- asexualita
- poškozující zplodiny metabolismu
- selekce na malé genomy

Kompenzující faktory (u rostlin)

- polyploidie
- reparace DNA

Genový přenos z organel do jádra v reálném čase

EXPERIMENT:
- exprese/rezistence jen po přenosu do jádra

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