

Oddělení vývojové genetiky rostlin

Biofyzikální ústav AV ČR



Prof. Boris Vyskot

RNDr. Roman Hobza, PhD

Doc. Eduard Kejnovský, CsC

RNDr. Bohuslav Janoušek, PhD

Zdeněk Kubát, PhD

Radim Čegan, PhD

BFÚ AV ČR,
Královopolská 135, Brno
www.ibp.cz

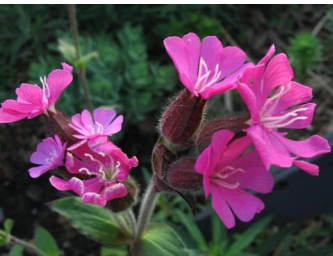
Oddělení vývojové genetiky rostlin

Biofyzikální ústav AV ČR



**Evoluce pohlavních
chromozomů**

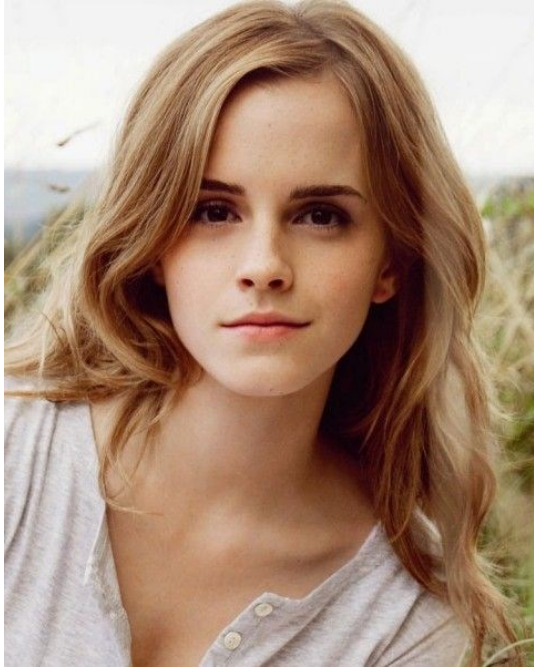
**Repetice a mobilní
elementy**

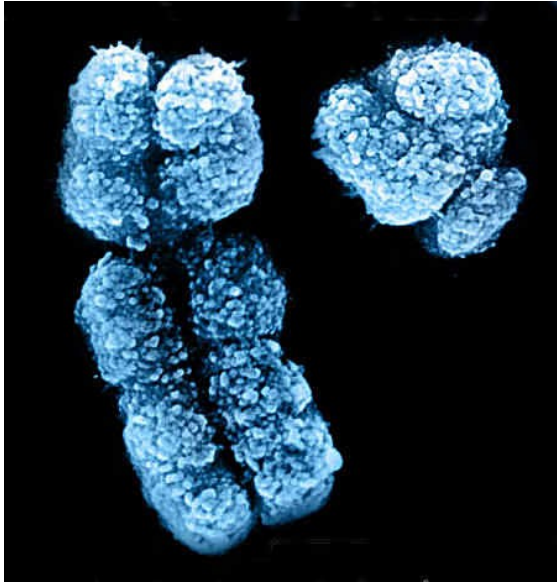
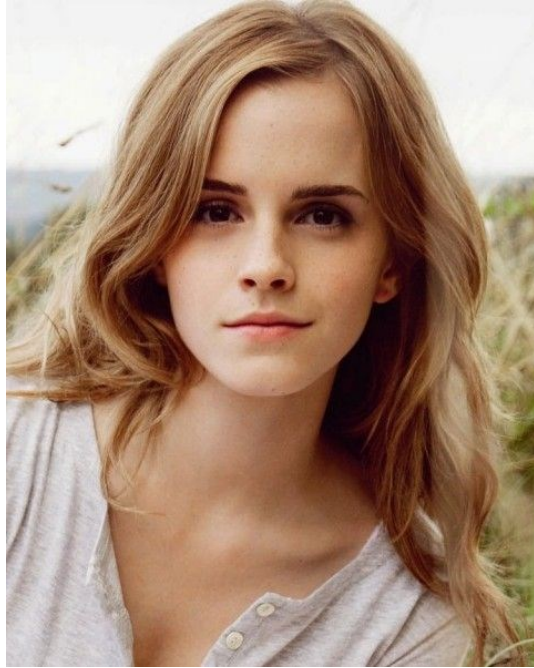


Epigenetické mechanismy

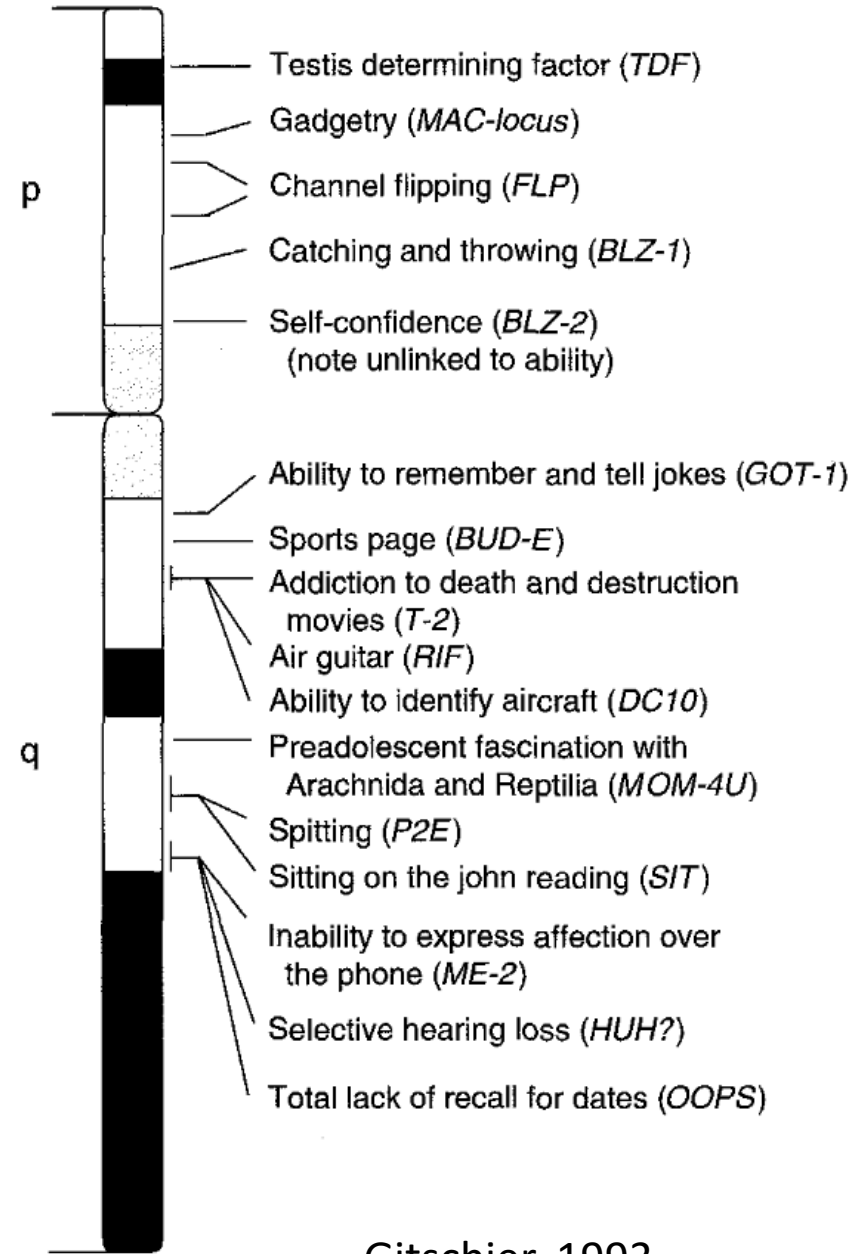
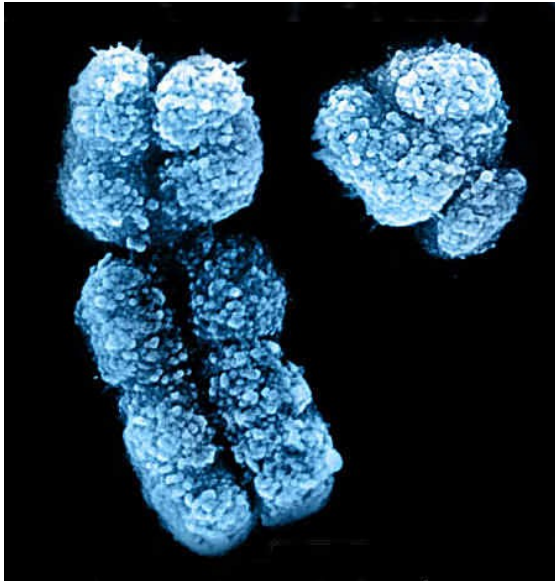
Aplikovaný výzkum

Evoluce determinace pohlaví a pohlavních chromozomů





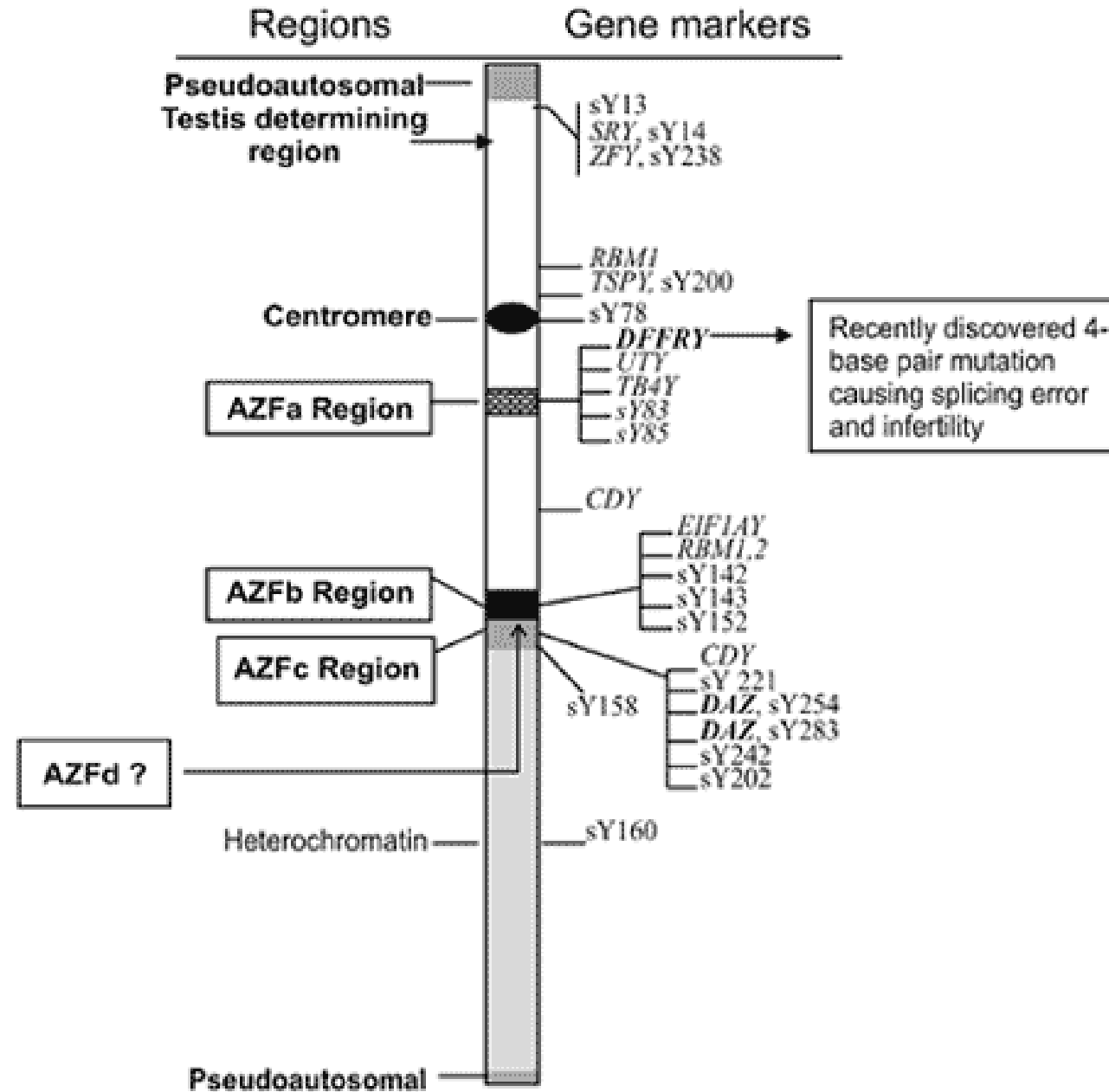
Předpokládané funkce chromozomu Y

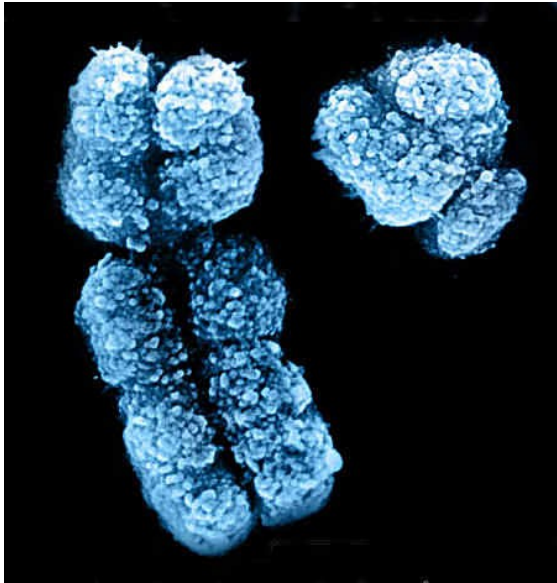
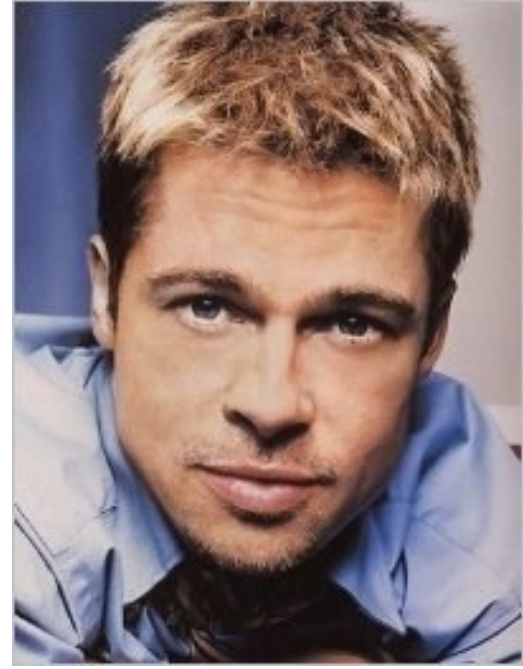


Gitschier, 1993

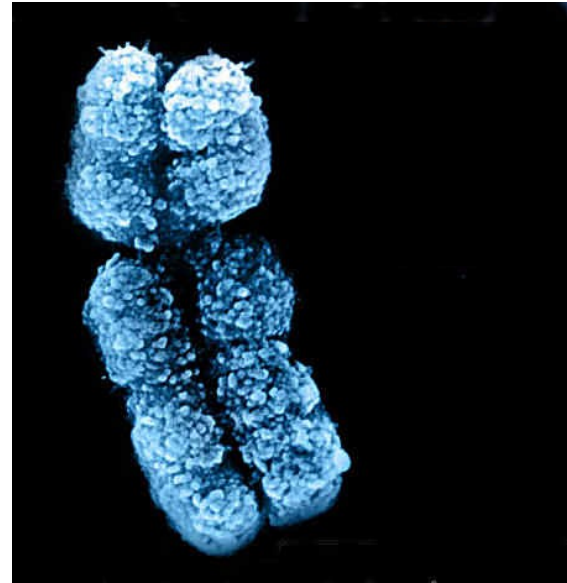
Y Chromosome

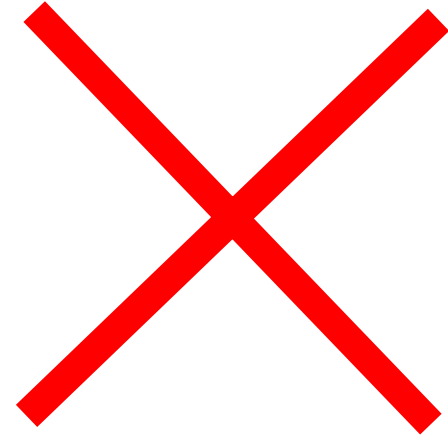
Skutečná struktura chromozomu Y





?







© Sexmise

rod *Silene*



Hermafrodit/ jiný typ
determinace pohlaví



papája



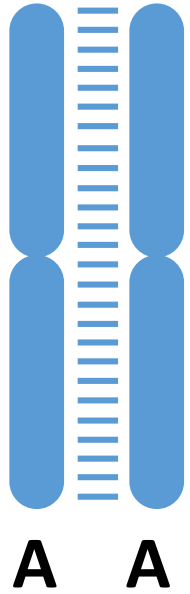
silenka



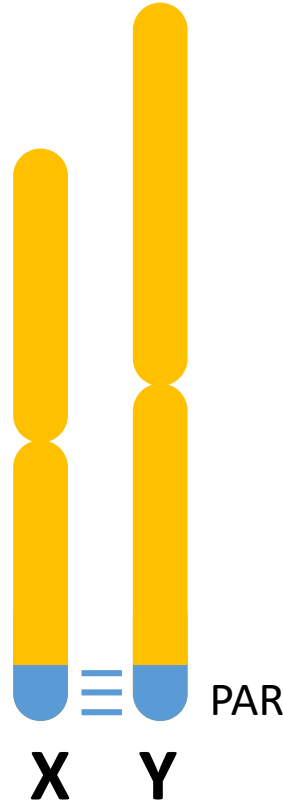
šťovík



človíček



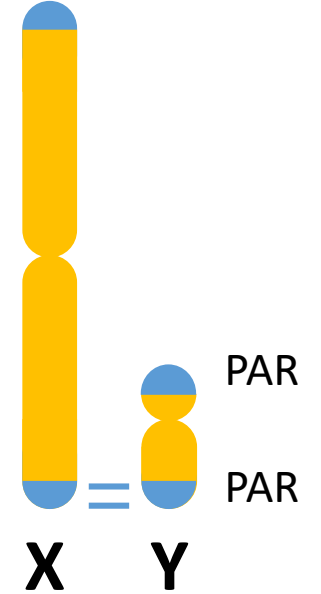
1 mil. let



5 mil. let



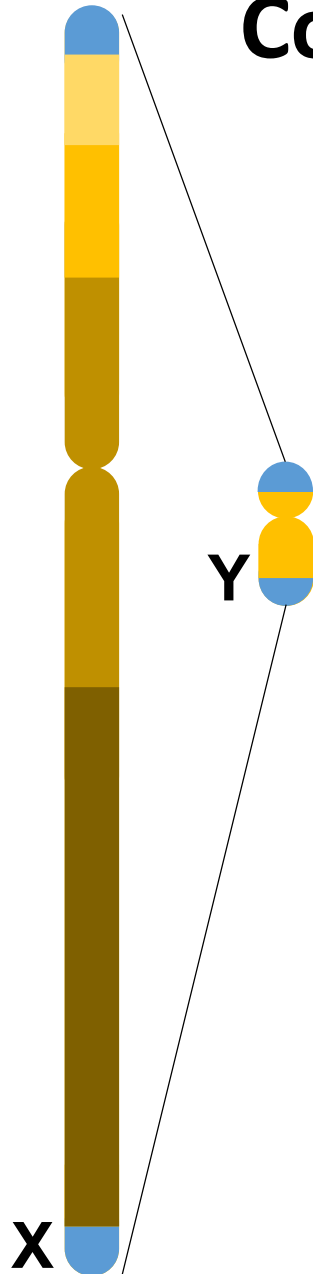
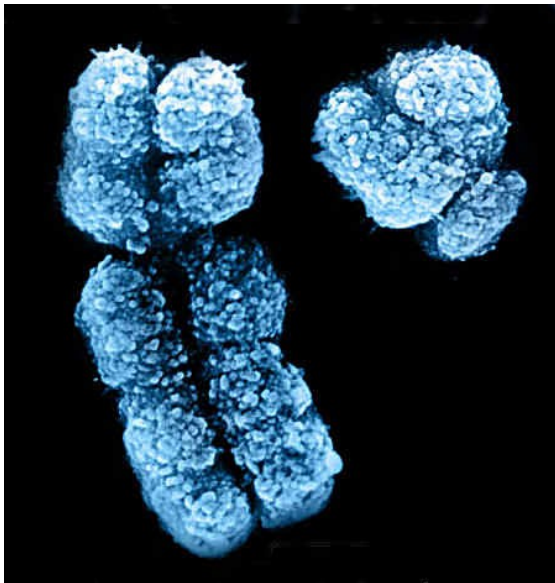
15 mil. let



170 mil. let

Stadia evoluce pohlavních chromozomů

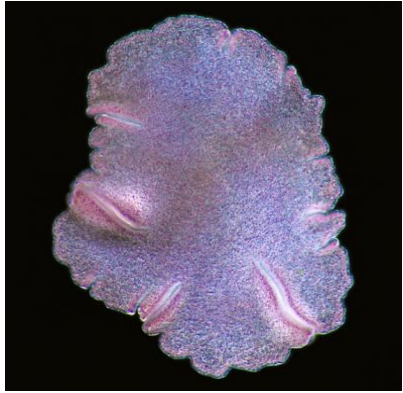
Co se děje s pohlavními chromozomy?



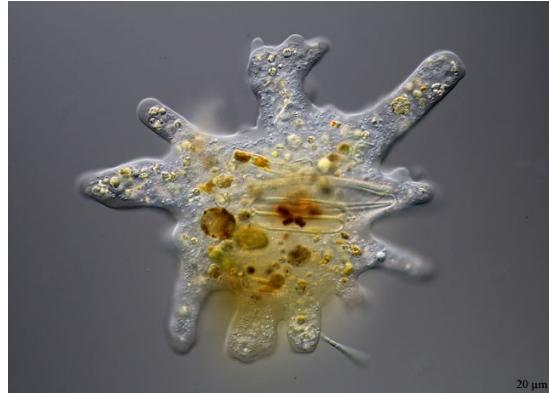
- Mechanismy změny velikosti chromozomu Y
- Geny pro determinaci pohlaví
- Degenerace genů na Y
- Redukce počtu genů na Y
- Kompenzace dávky genů na X

**Mobilní elementy (transpozony)
a
Epigenetika**

Vyberte organismus s největším genomem



Trichoplax adherens



Polychaos dubium



Paris japonica



Genlisea aurea



Pšenice



Drosophila melanogaster



Myš

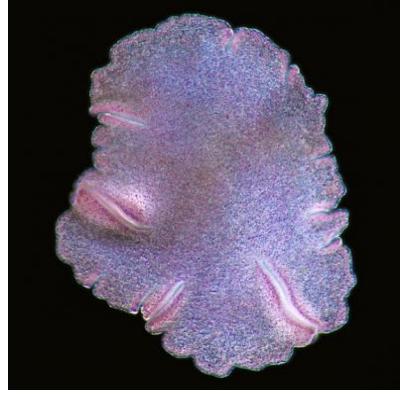


Člověk

Organismy podle velikosti genomu



Genlisea aurea
0,064 Gb / 17 tis genů



Trichoplax adherens
0,098 Gb / 11 tis genů



Drosophila melanogaster
0,14 Gb / 17 tis genů



Myš
2,6 Gb / 20 tis genů



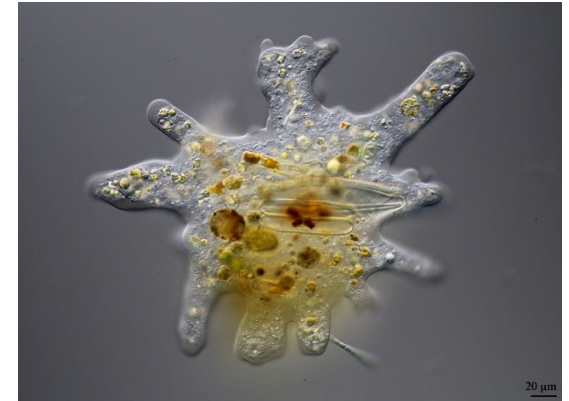
Člověk
3,3 Gb / 20 tis genů



Pšenice
17 Gb / 110 tis genů

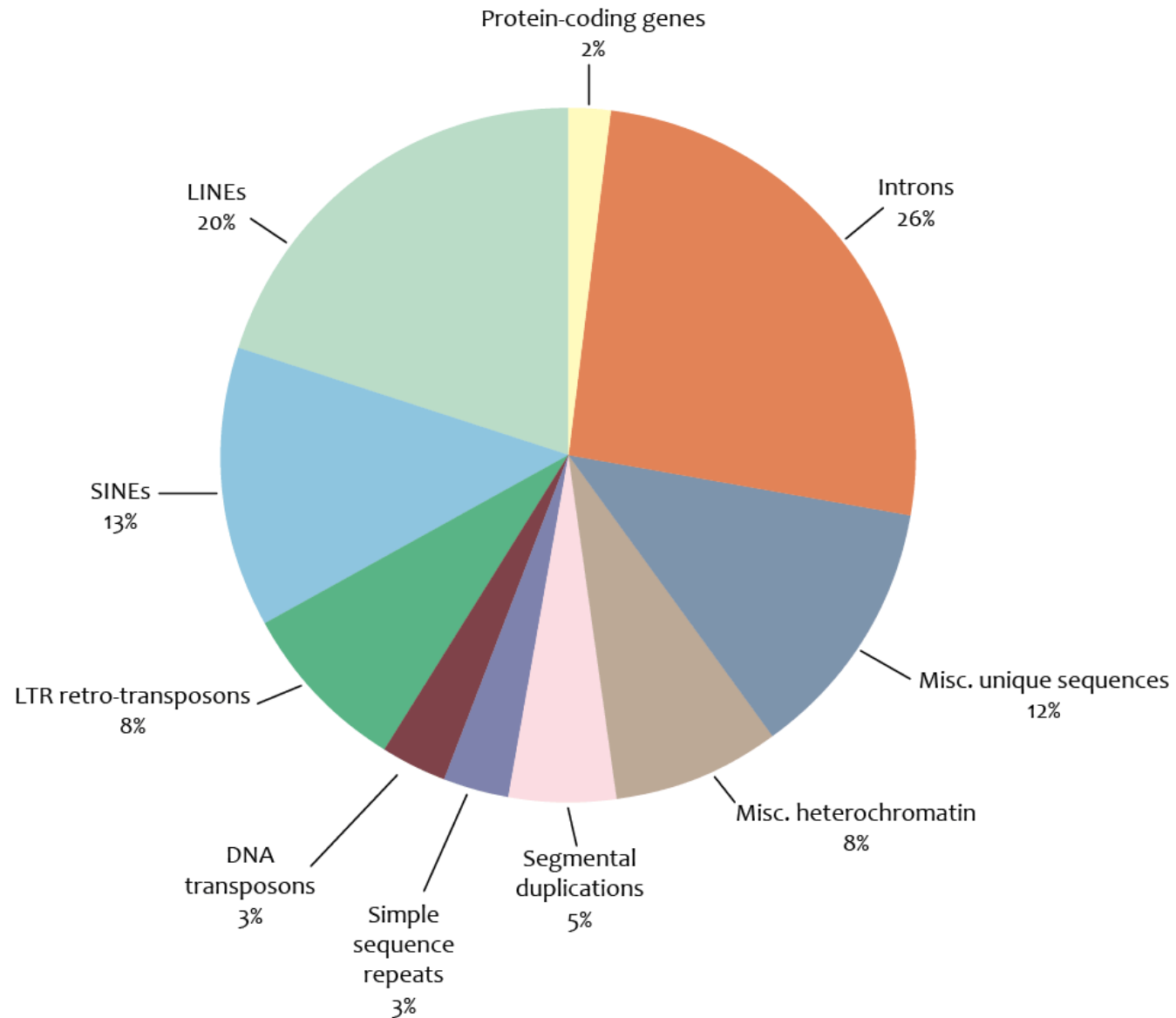


Paris japonica
150 Gb / 17 tis genů



Polychaos dubium
670 Gb (67 Gb)

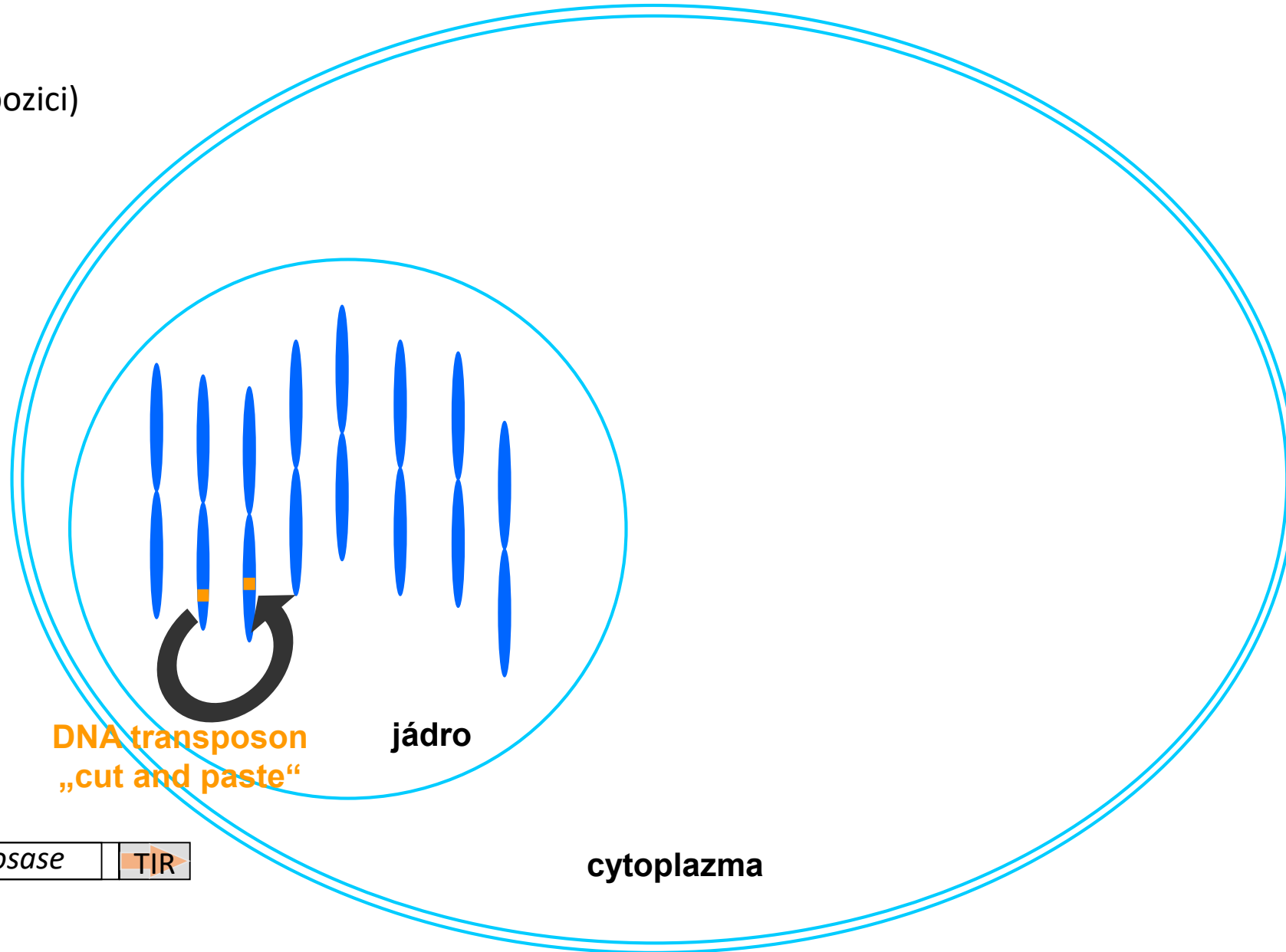
Velikost genomu a komplexita organismu



Člověk:
transpozony 70 %
geny 1-2 %

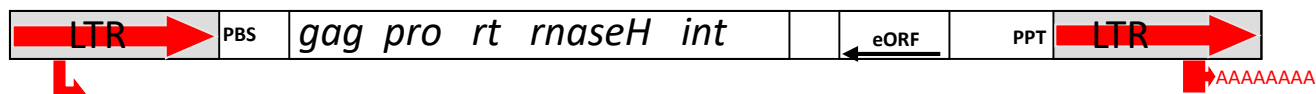
Mobilní elementy

(disponují vlastním
aparátem pro transpozici)



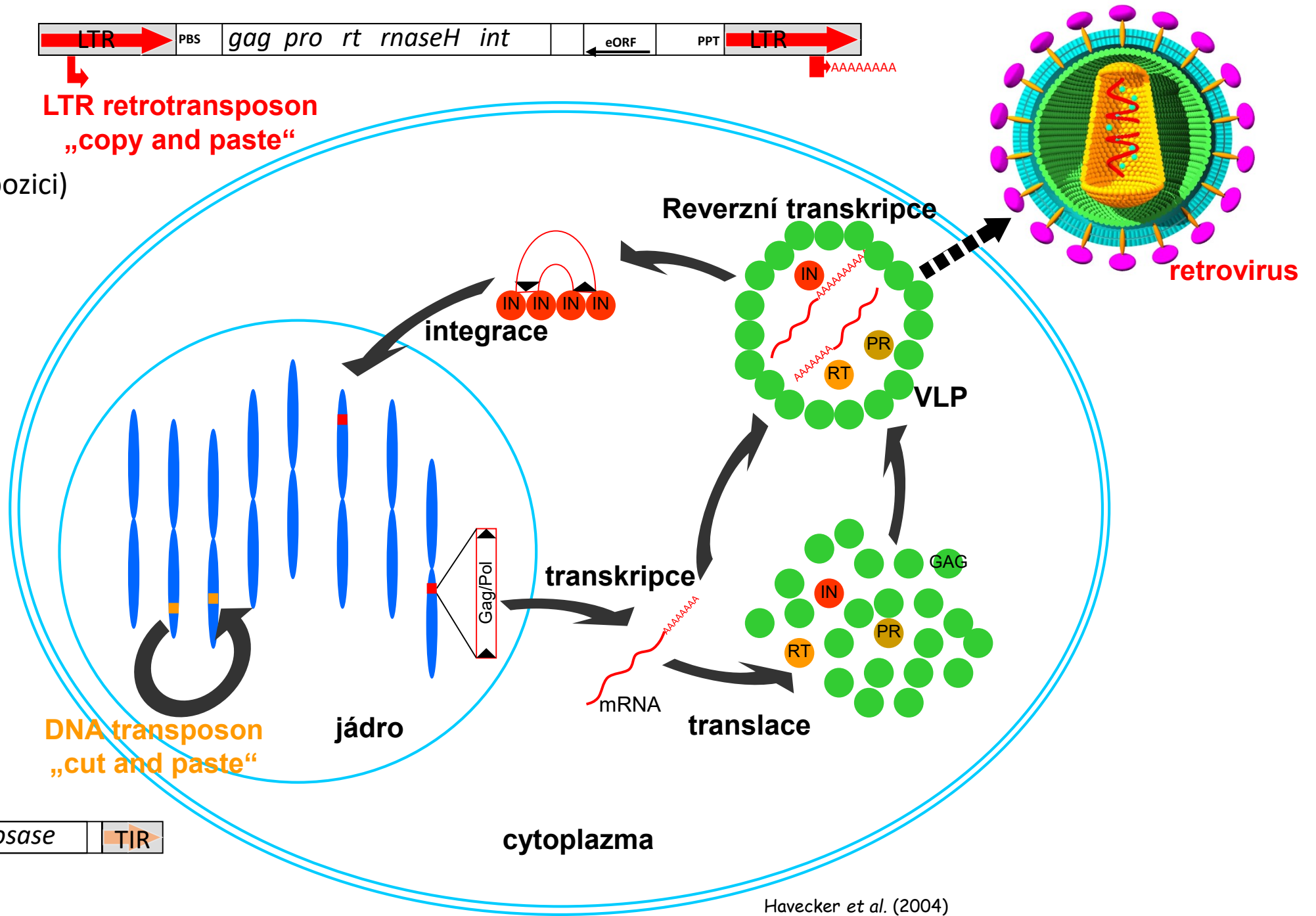
Mobilní elementy

(disponují vlastním aparátem pro transpozici)

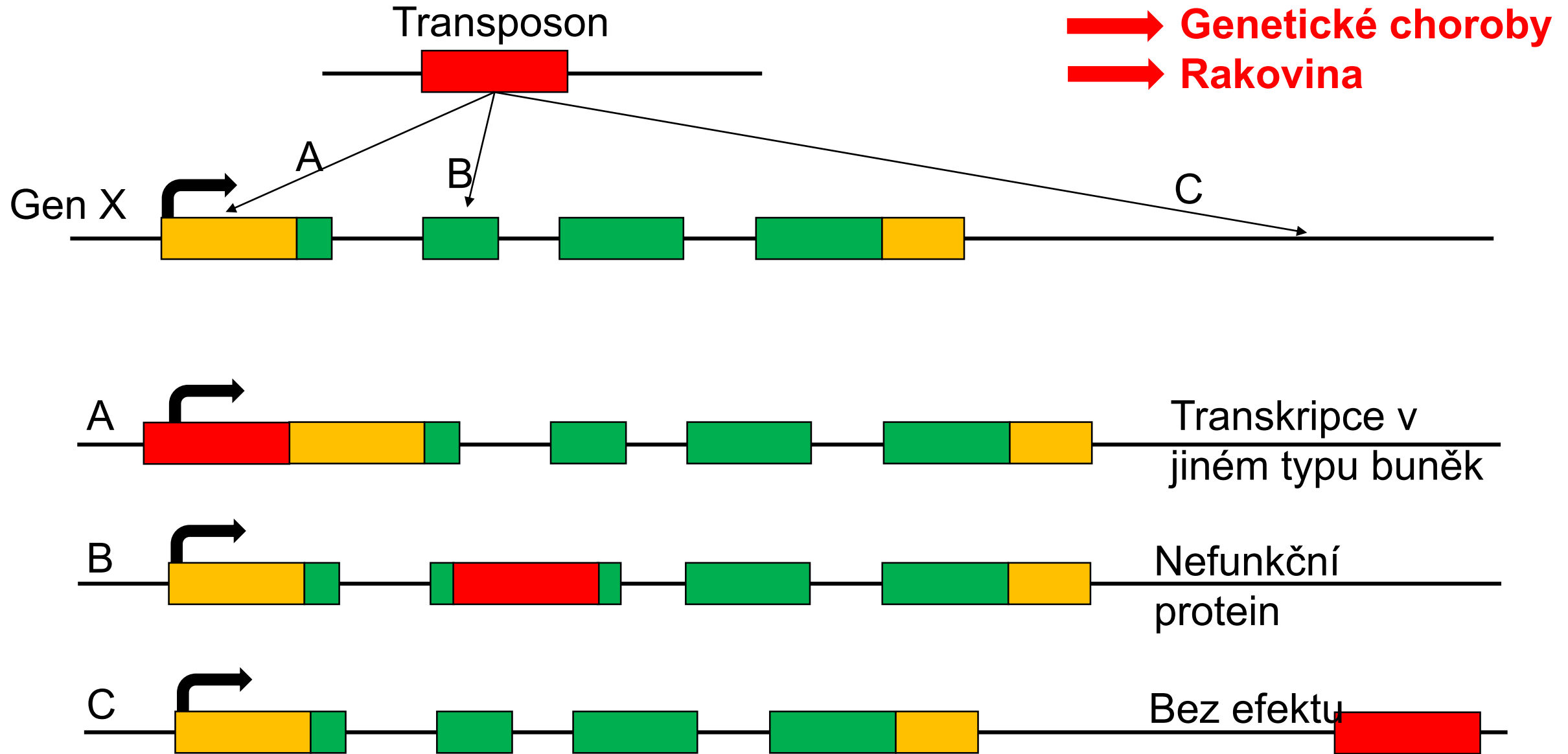


LTR retrotransposon
„copy and paste“

DNA transposon
„cut and paste“



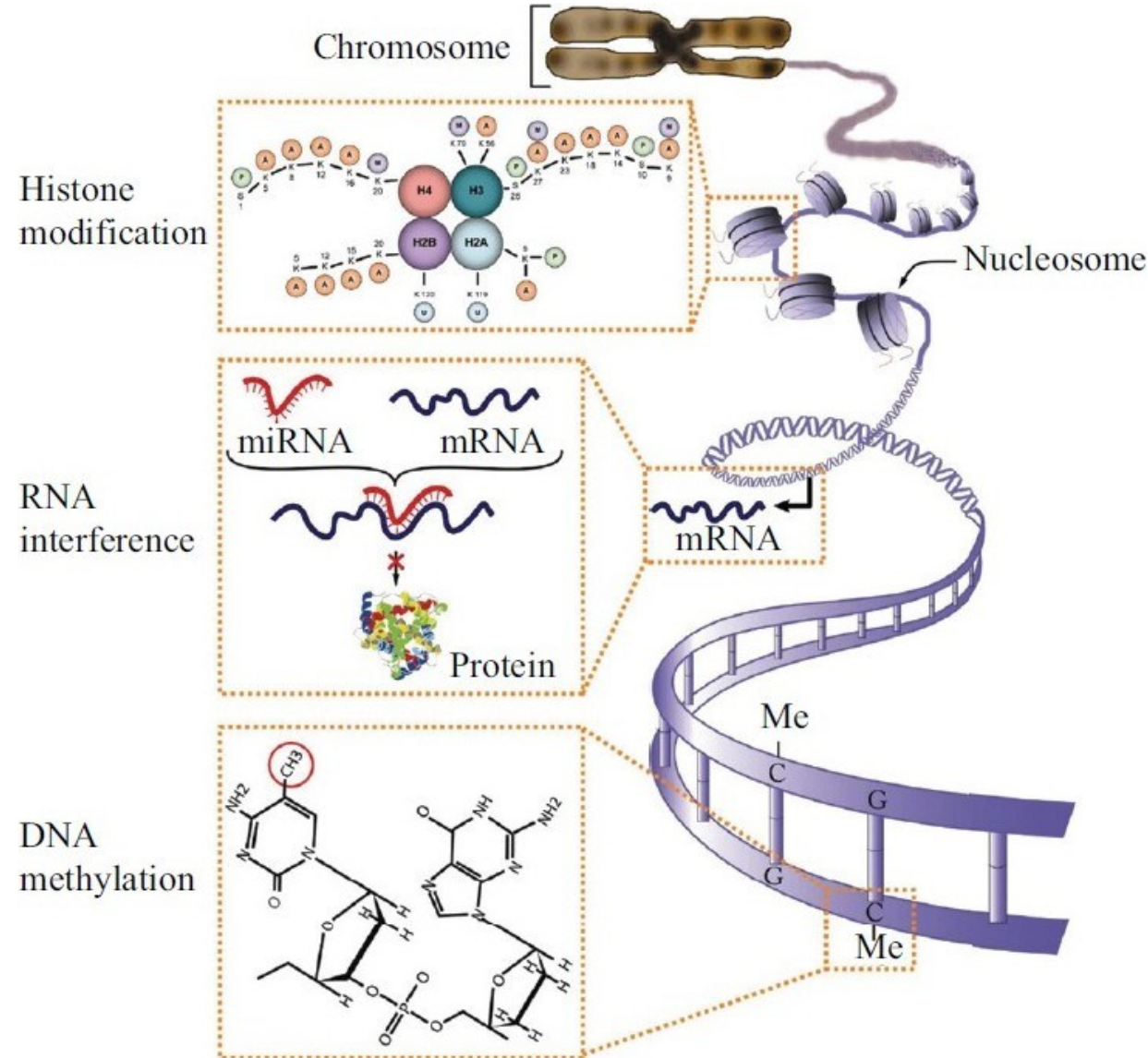
Jaké jsou důsledky aktivity transpozonů?



Jak organizmy své transpozony regulují?

Epigenetické mechanismy

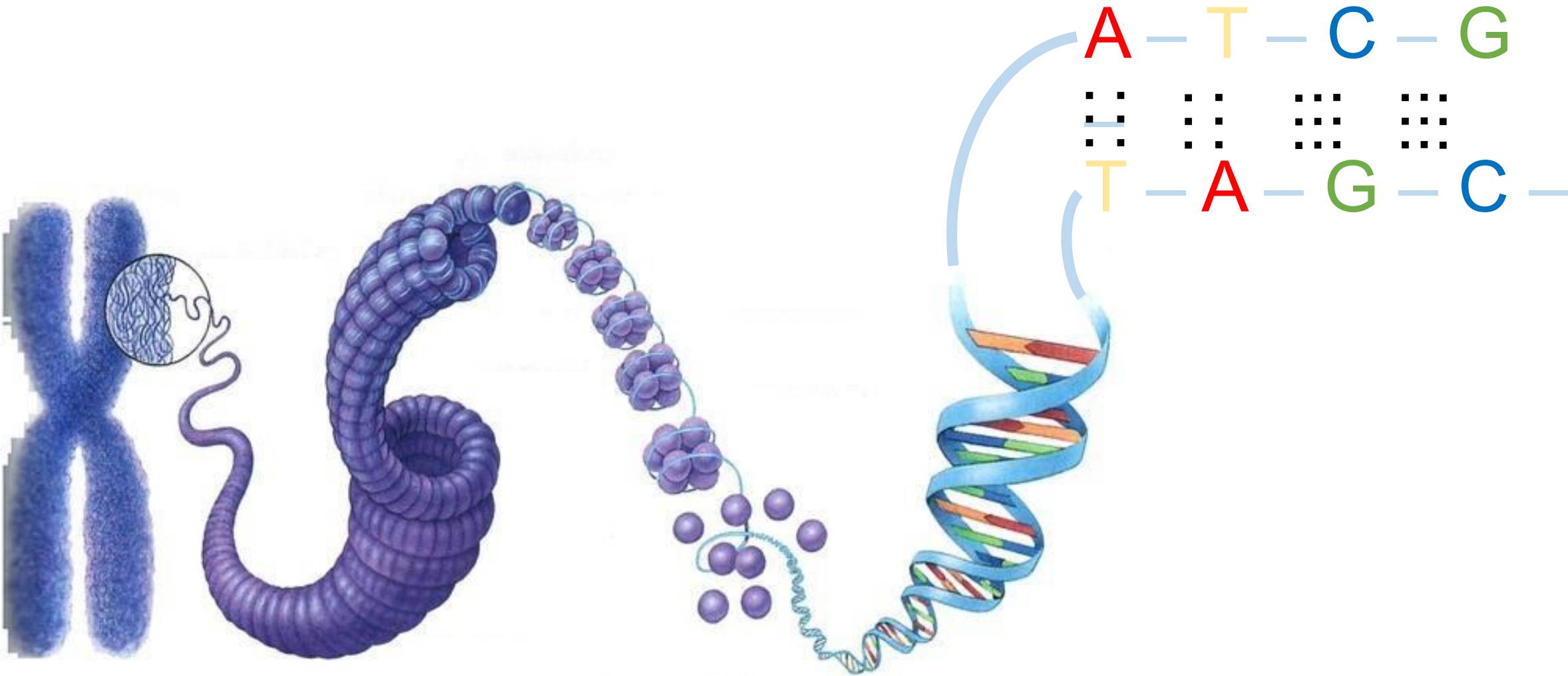
Posttranskripční umlčení



Transkripční umlčení

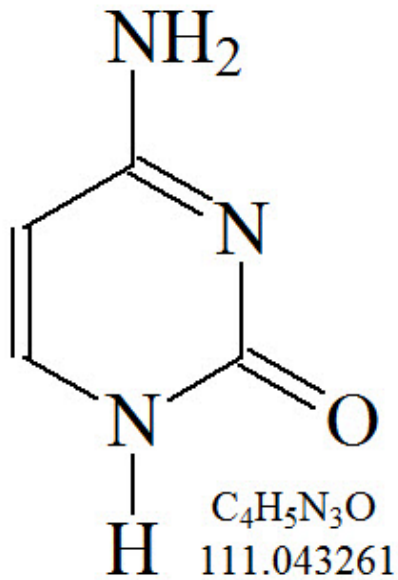
Transkripční umlčení

Methylace DNA

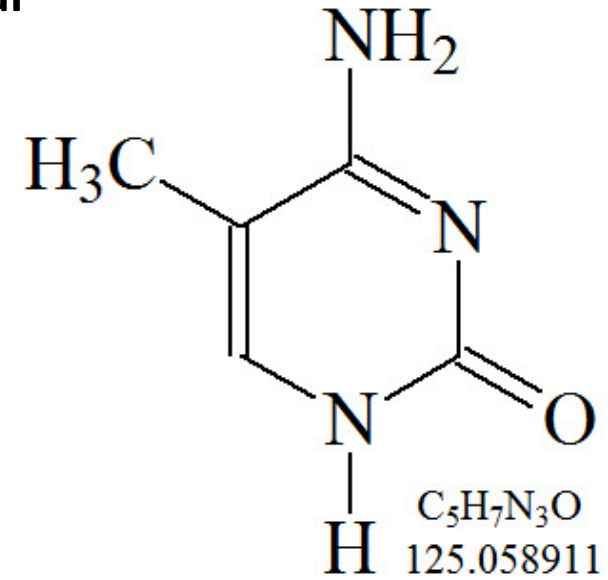
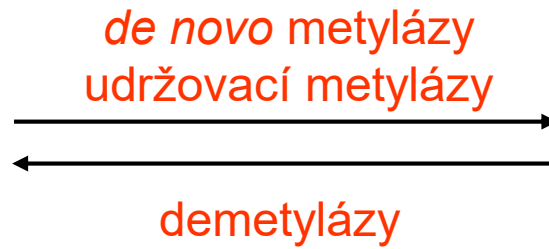


Methylace DNA

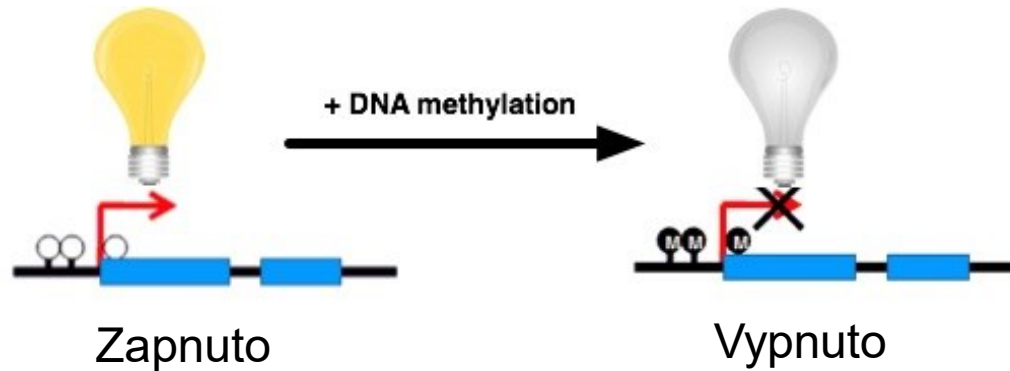
reverzibilní biologický signál

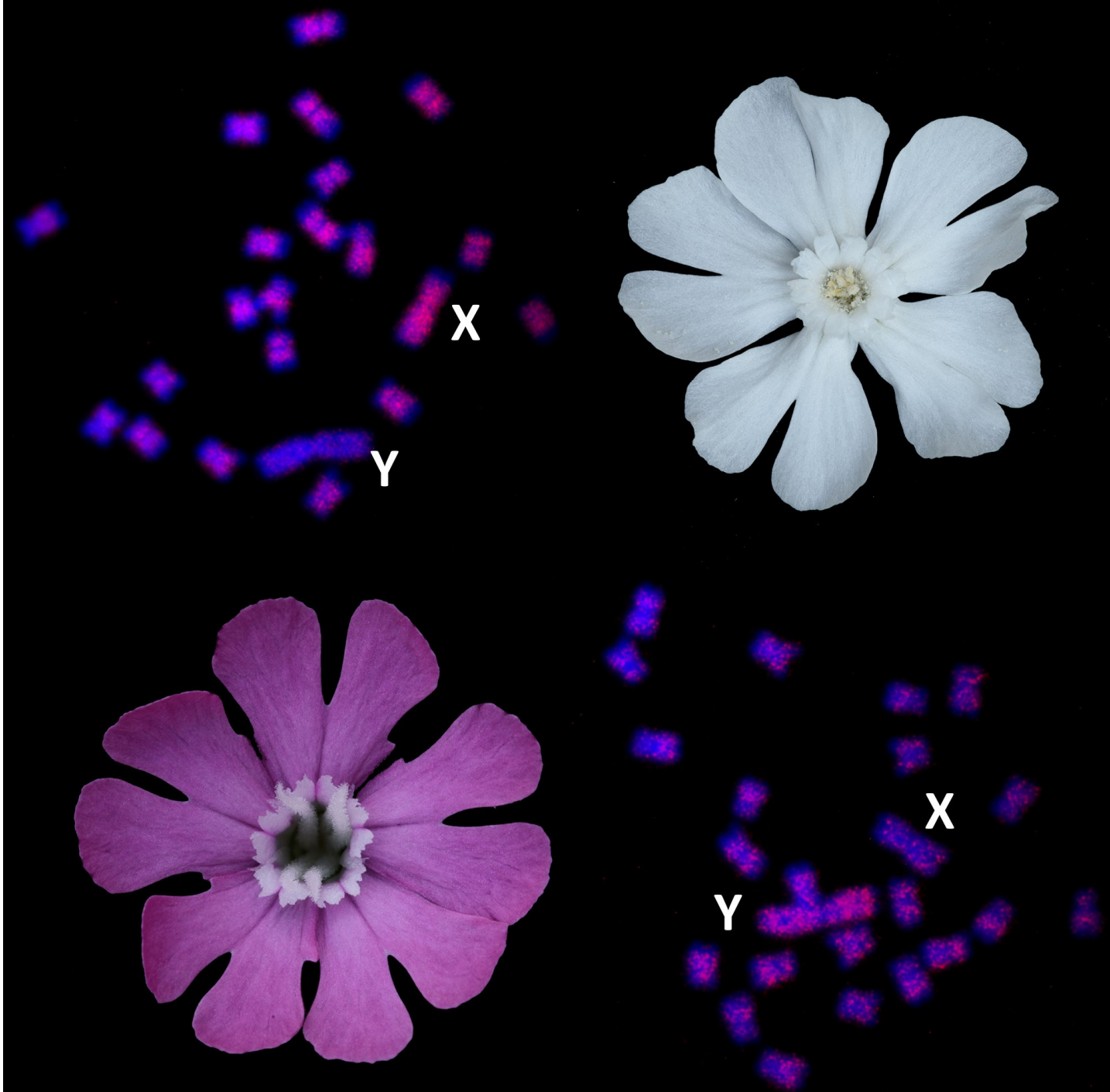


Cytosine



5-Methylcytosine





FISH:

Většina rodin TE má neobvyklou distribuci na pohlavních chromozomech silenky a šťovíku

Distribuce i počet kopií TE v genomus se liší mezi evropskými populacemi téhož druhu

Model

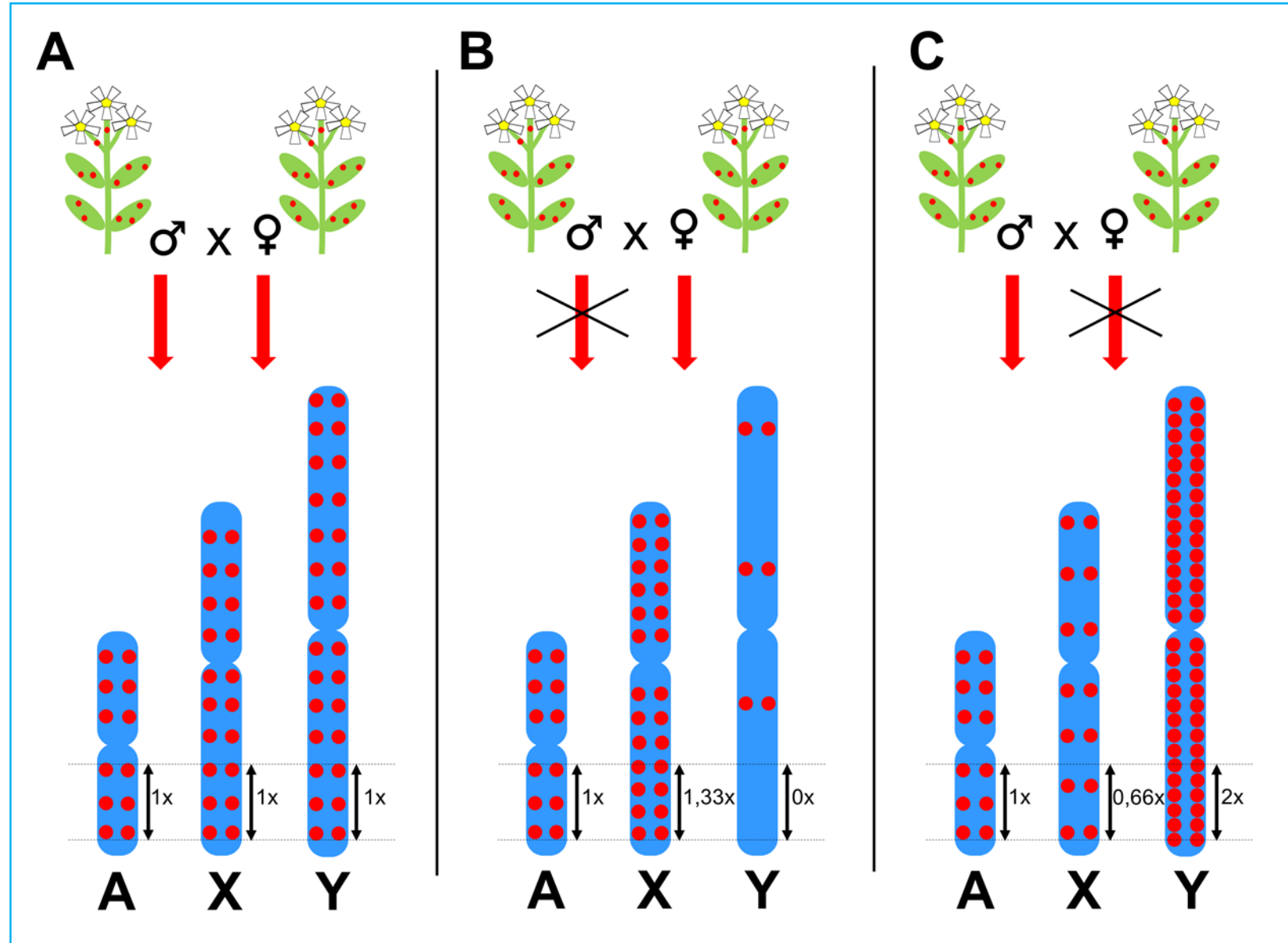
Model pohlavně specifického šíření TE u rostlin

! Prokázali jsme scénář B !

Počítání kopií Ogre CL5 v samčích a samičích genomech:

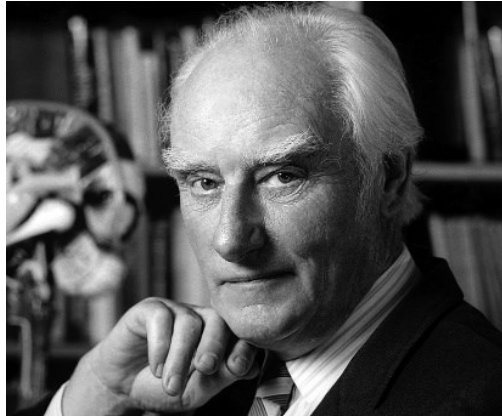
Počet kopií na X je 1,5-2 x vyšší než na A.

Puterova et al. 2018

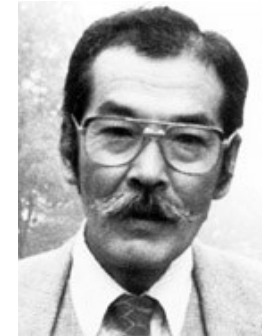


Hobza et al., 2017

Mají transpozony také pozitivní vliv?



Francis Crick: **Transpozony = Junk DNA, parazitická DNA, egoistická DNA (1980)**



Susumu Ohno

Susumu Ohno
Feb. 1, 1928 - Jan 13, 2000

Susumu Ohno – evoluce genovou duplikací (1970)

Transpozony mohou být „domestikovány“

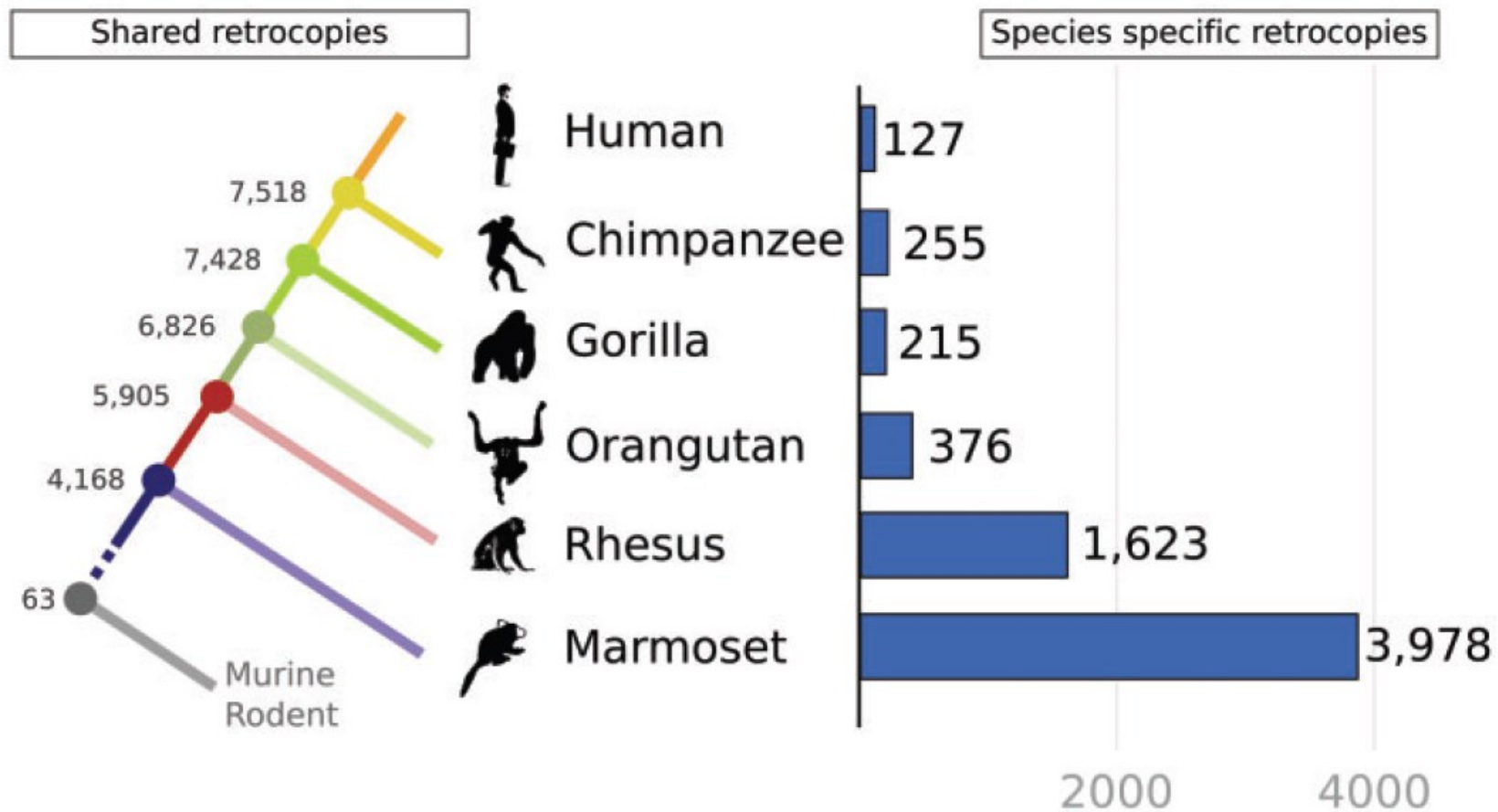
- telomeráza
- telomery drozofily – Het-A, TART
- centromery – CENP-B z DNA transposonů
- imunitní systém – V(D)J rekombinace
- syncytin v placentě (retrovirální env)

Transpozony „přebudovávají“ genom

- přestavby genomu, rekombinace
- duplikace, rodiny, vznik nových genů (Setmar)
- role v segregaci chromosomů, izolace, speciace
- reparace zlomů v DNA
- inaktivace chromosomu X
- tvorba nových regulačních sítí

Transpozony jsou extrémně důležitou evoluční silou!

- Lidský genom obsahuje ~ 8000 retrokopií genů (Navarro, Galante, GBE, 2015)



- Segmentální duplikace zodpovídají za více než 90 % genetické variability mezi lidskými populacemi (Sudmant et al., Science, 2015)

Co bylo dříve – transpozony nebo epigenetické mechanismy?

Konvenční výklad: Epigenetické mechanismy **se vyvinuly na obranu proti transpozonům**.
(Francis Crick – parazitické sekvence)

Prokaryota:

- malé genomy efektivně využité operony
- malé množství transpozonů
- primitivní epigenetické regulační mechanismy určené k rozlišení vlastní od cizorodé DNA

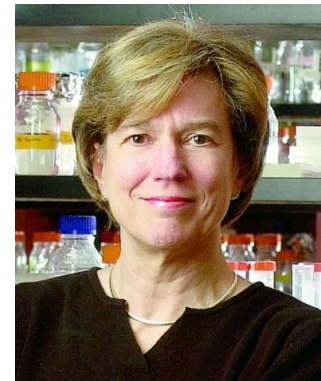
vs.

Eukaryota:

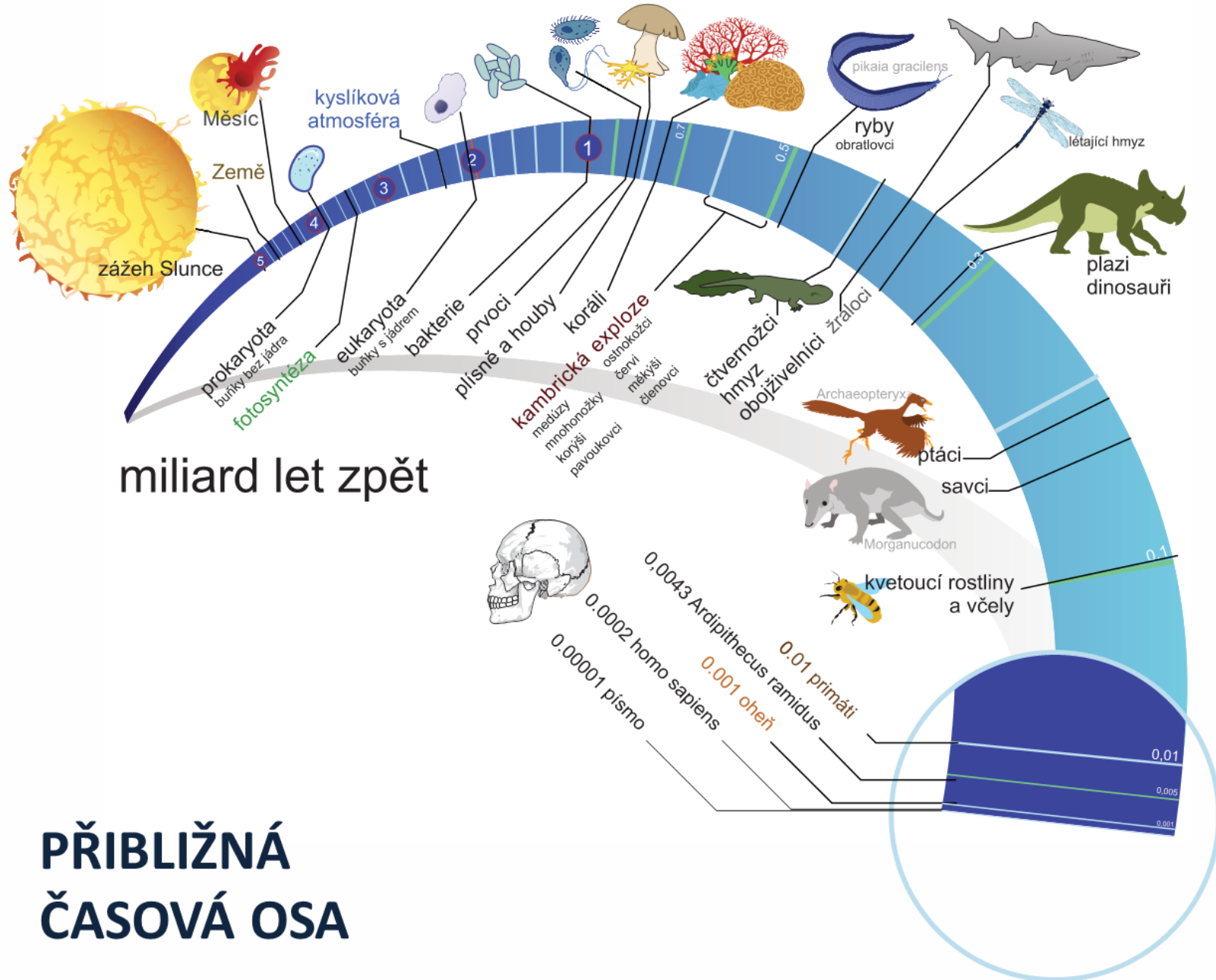
- velké genomy plné repetice
- obrovské počty transpozonů
- složité epigenetické regulační mechanismy

Nekonvenční: Epigenetické mechanismy **umožnily množení transpozonů** v genomech / a duplikace genů, čímž se zvýšil evoluční potenciál organismů a mohly vzniknout složité mnohobuněčné životní formy.

Nina Fedoroff, 2012, Science 338:758-767



Co bylo dříve – transpozony nebo epigenetické mechanismy?



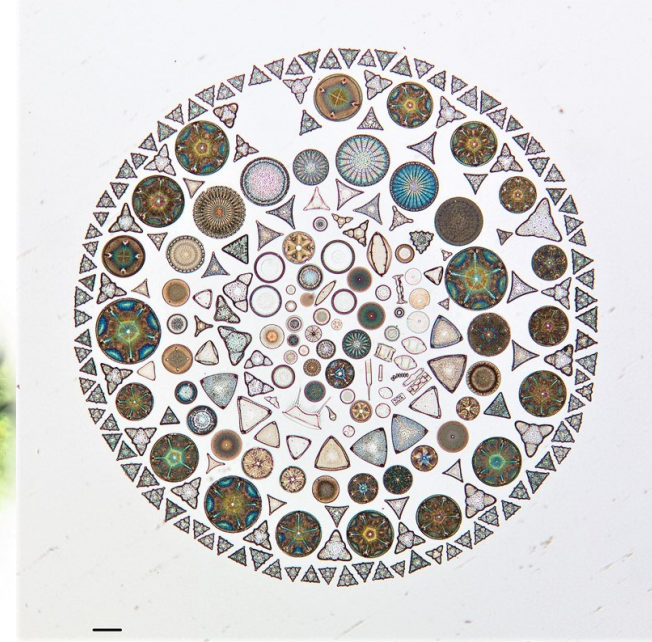
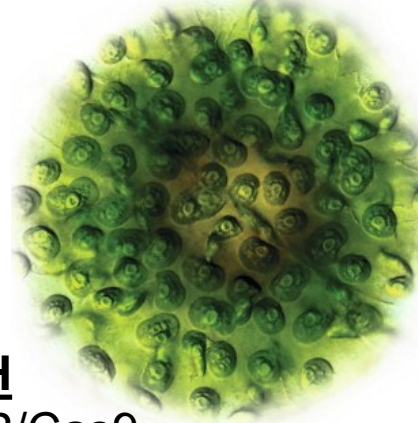


- Mít transpozony je evoluční adaptace – transpozony čekají na svoji příležitost, aby zvýšily genetickou variabilitu svého hostitele v kritickém období
- Všechny pohlavně se množící organismy, které se zbavily TE, nakonec vymřely (třídění z hlediska stability – J. Flegr, J. Toman)

Aplikovaný výzkum (spolupráce)

Ústav výzkumu globální změny AV ČR, Brno (CzechGlobe)

Analýza transkriptomu řas – hledání genů zodpovědných za produkci omega-3 mastných kyselin pro potravinářství



Mikrobiologický ústav AV ČR, Třeboň – CENTRUM ALGATECH

Příprava transgenních a editovaných řas pomocí CRISPR/Cas9 pro produkci omega-3 mastných kyselin



Chmelařský institut s.r.o., Žatec

Co dělá dobrou IPA(u)? Metagenomika svrchně kvašených piv.

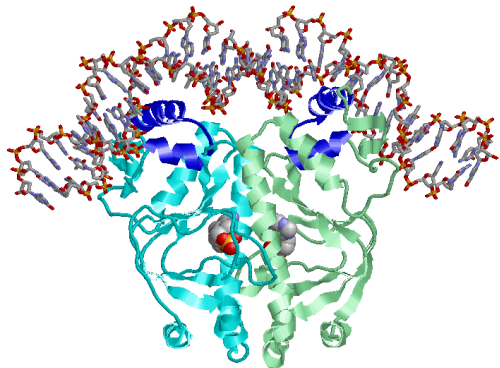


Metody a přístrojové vybavení

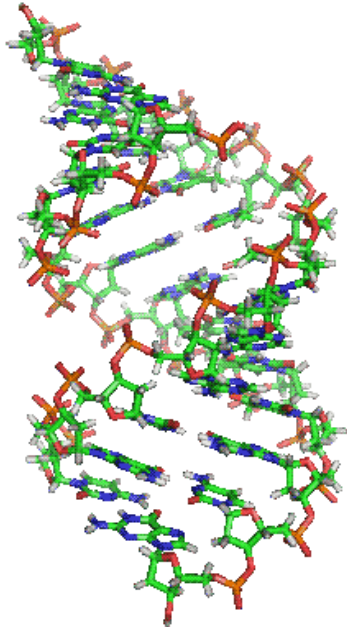
Metody molekulární biologie, genomika práce s DNA a RNA



pipety



enzymy



DNA

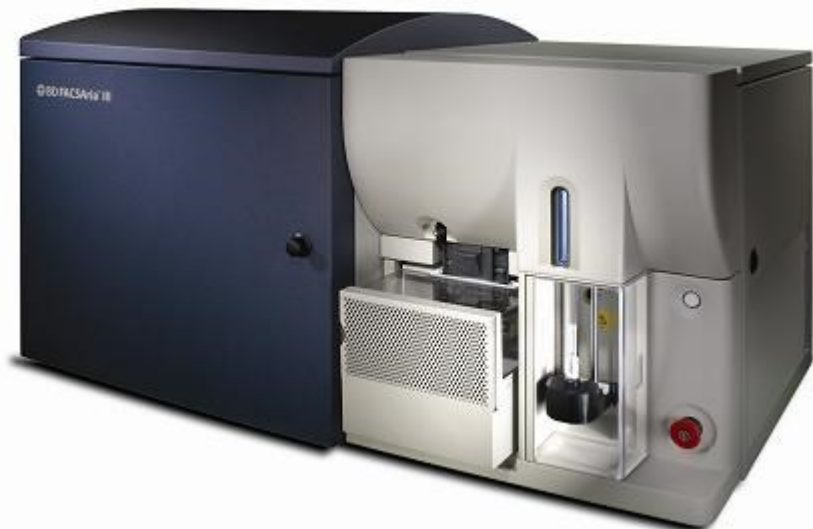
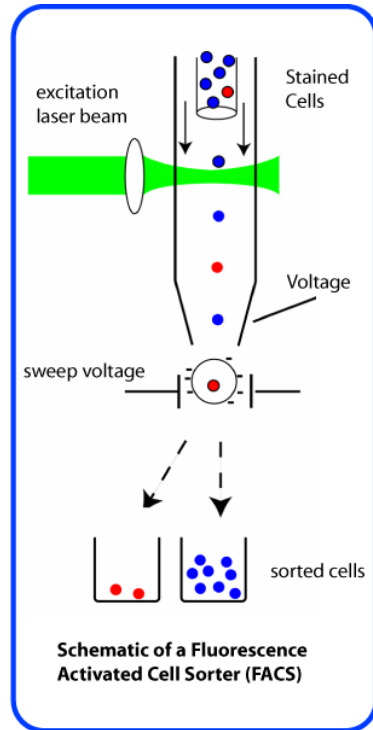


eppendorfky

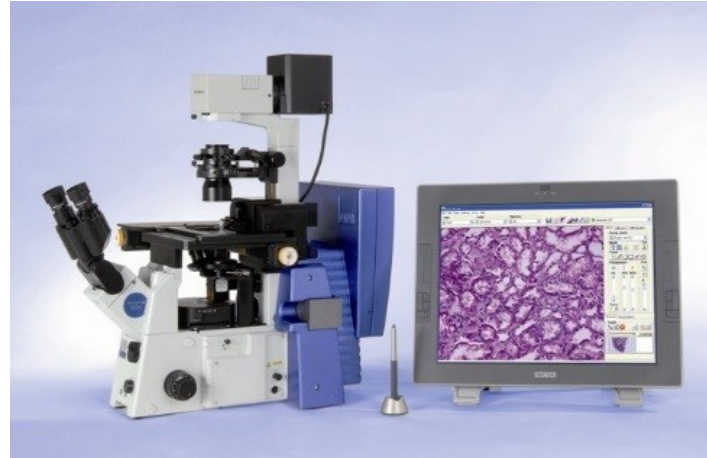


Jak získáváme biologický materiál – chromozomy, malé výřezy pletiv

FACS

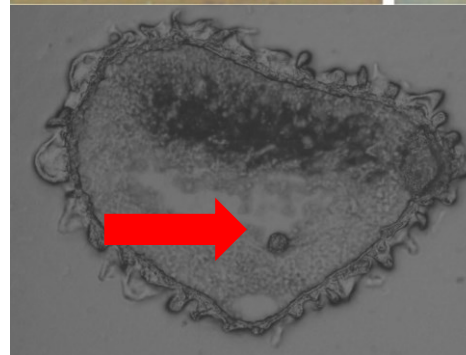
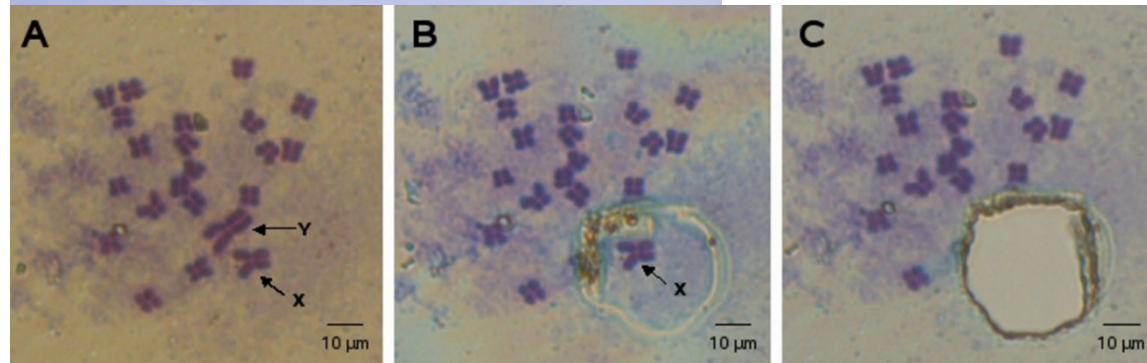


Laserová mikrodisekce



Příprava knihoven pro NGS (RNA-seq, smallRNA-seq, BS-seq)

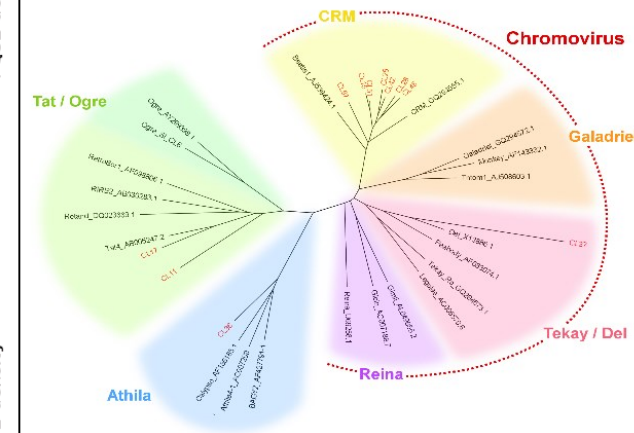
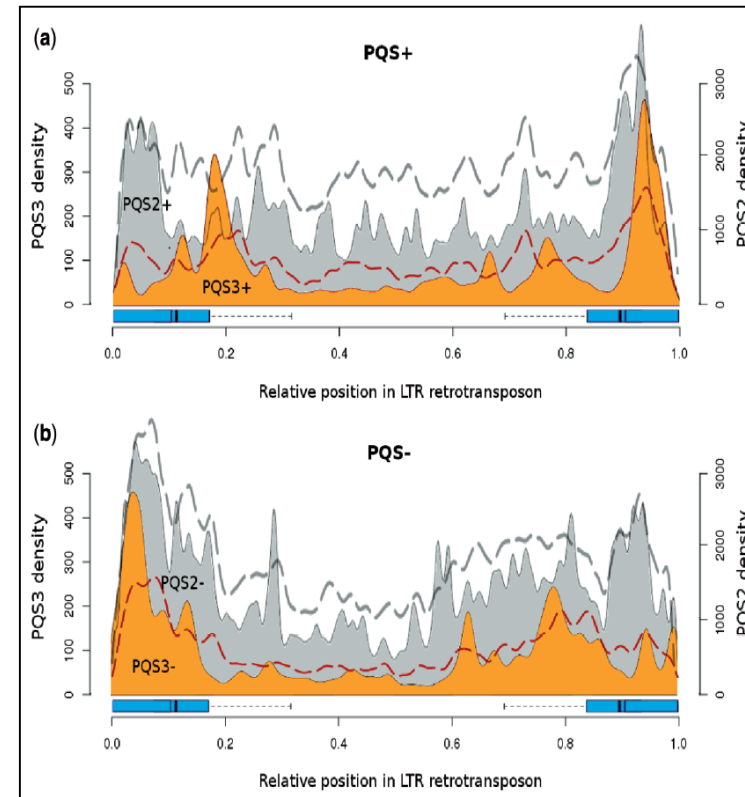
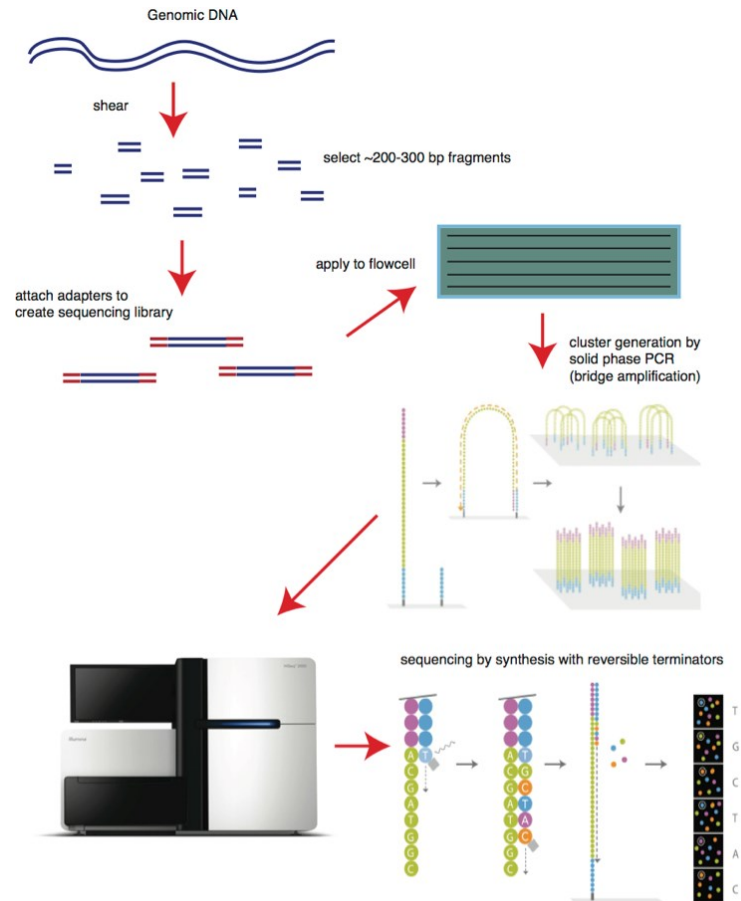
Bioinformatická analýza



Využíváme moderních metod genomiky a bioinformatiky

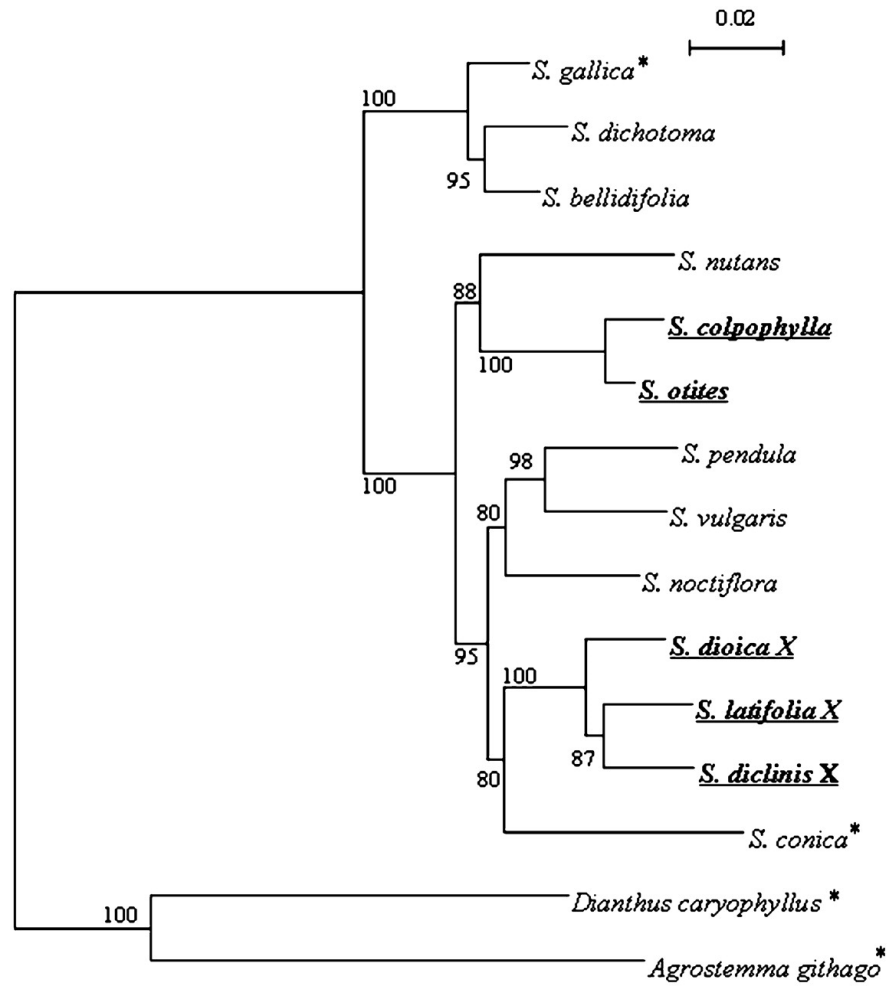
Sekvenace genomu, transkriptomu, metylomu... pomocí sekvenování nové generace (NGS)

Bioinformatické analýzy velkých datových souborů (NGS i osekvenovaných genomů)

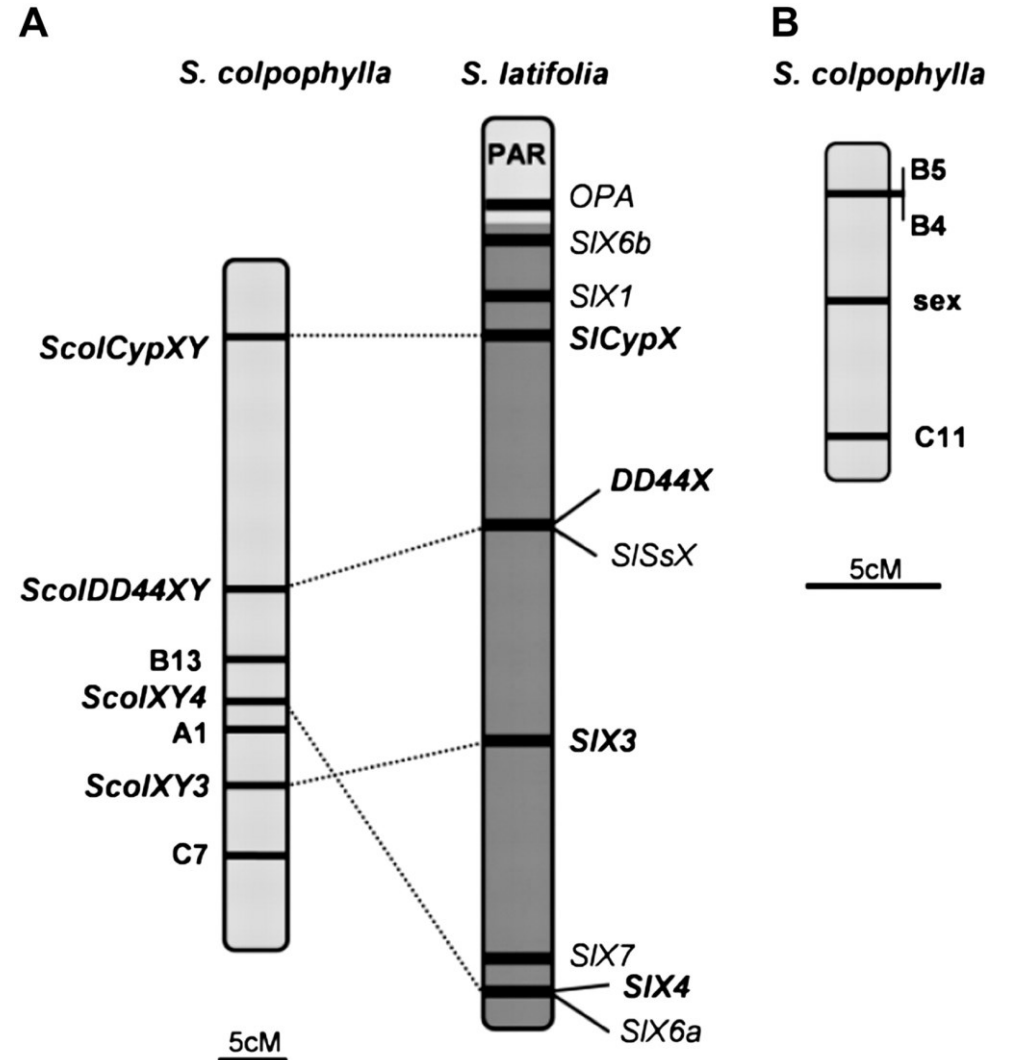


Metody klasické genetiky

Fylogenetické stromy



Genetické mapy



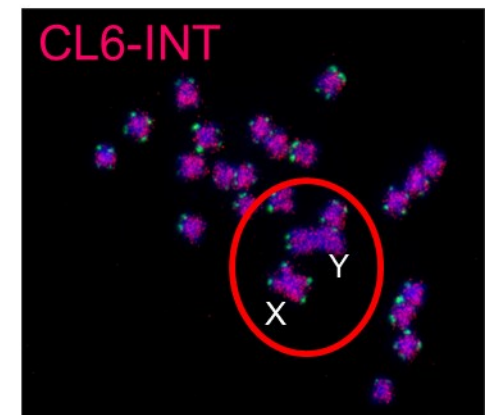
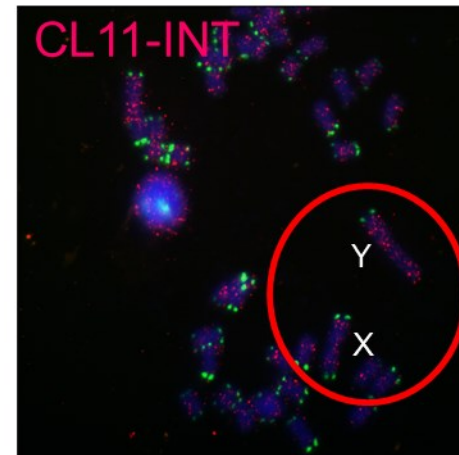
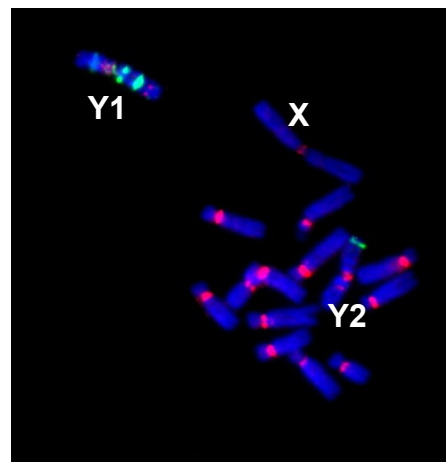
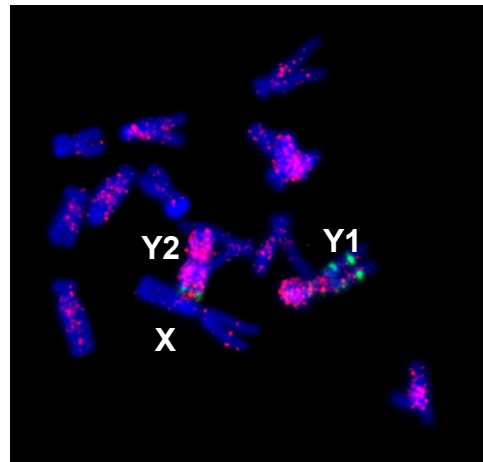
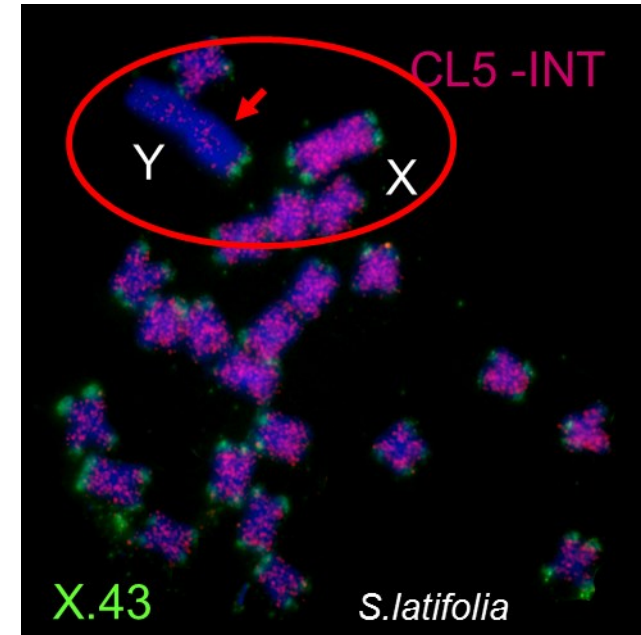
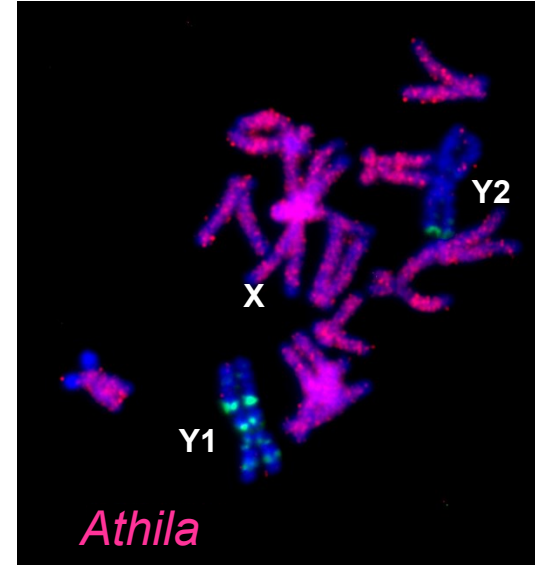
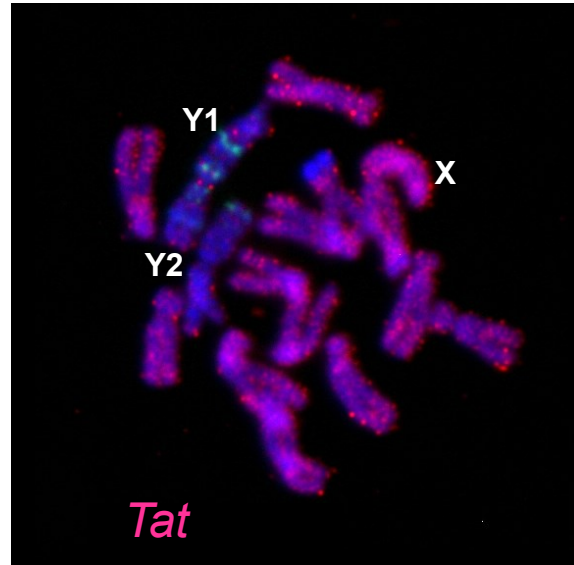
Jak vizualizujeme repetice/ geny v genomu

Fluorescenční *in situ* hybridizace



Provádíme také „single copy FISH“ s velmi krátkými sondami (několik kbp)

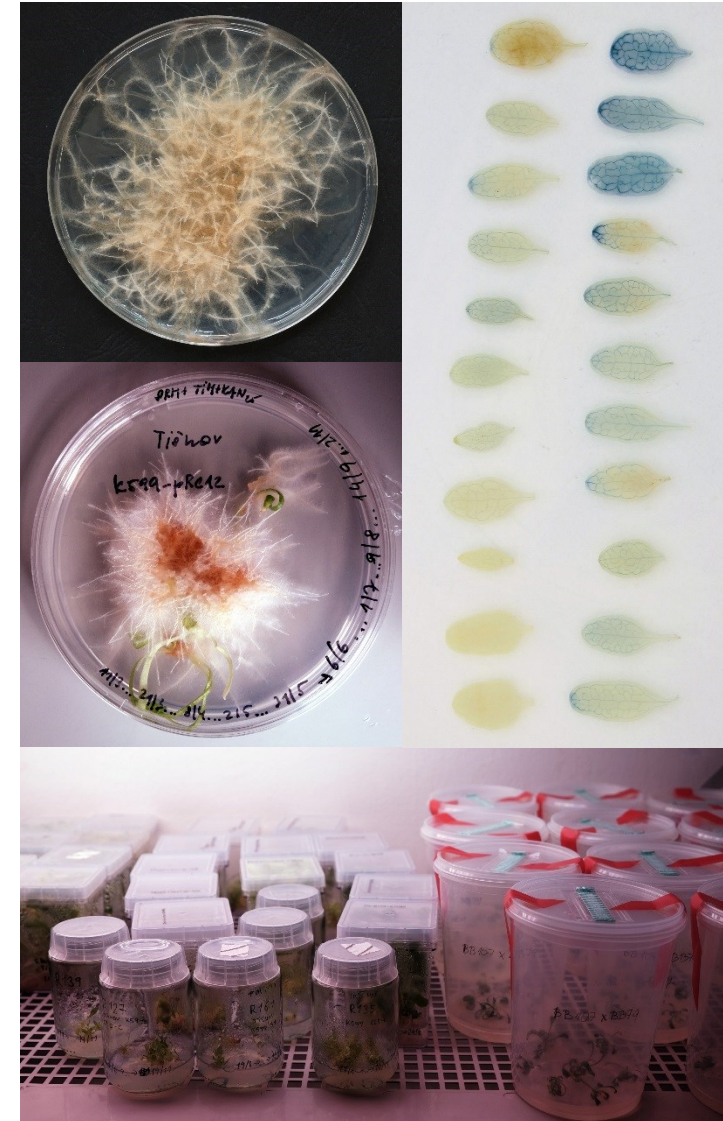
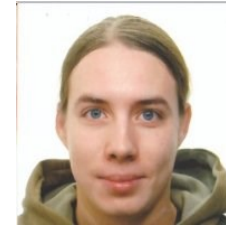
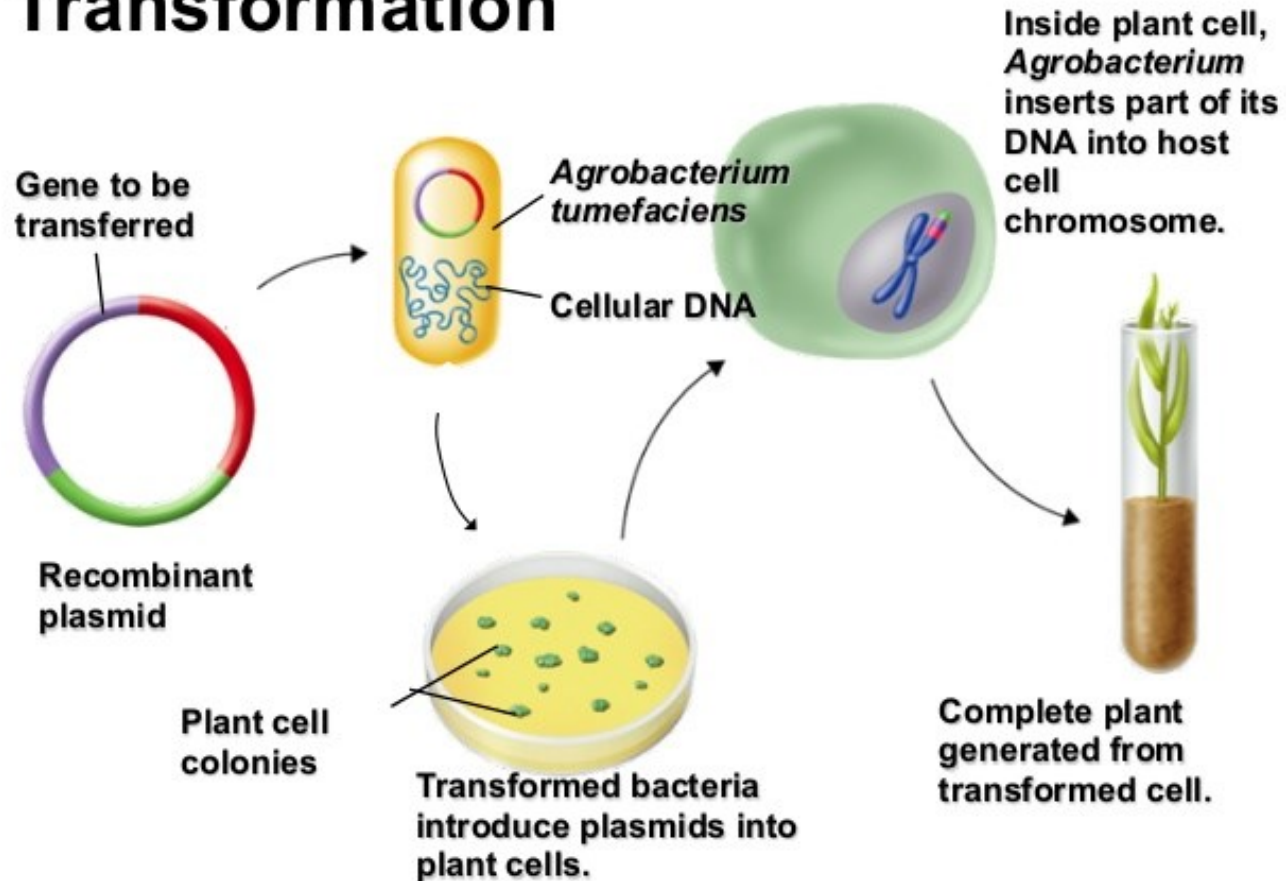
= můžeme určit umístění genů na chromozomech



Jak vytváříme transgenní rostliny

Silenka je první transformovatelná rostlina s heteromorfními pohlavními chromozomy

Transformation

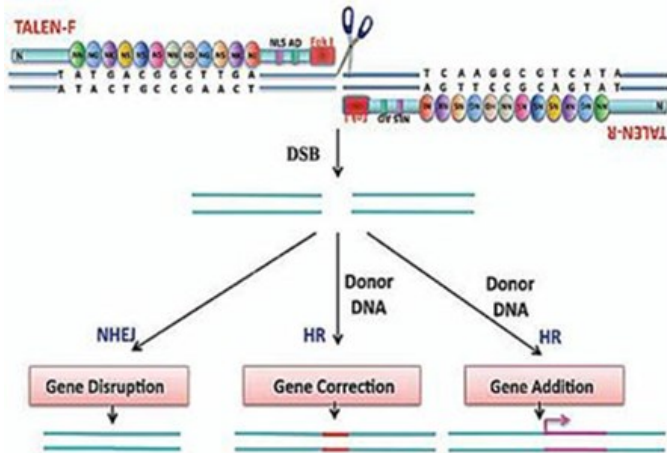


Umíme editovat genom

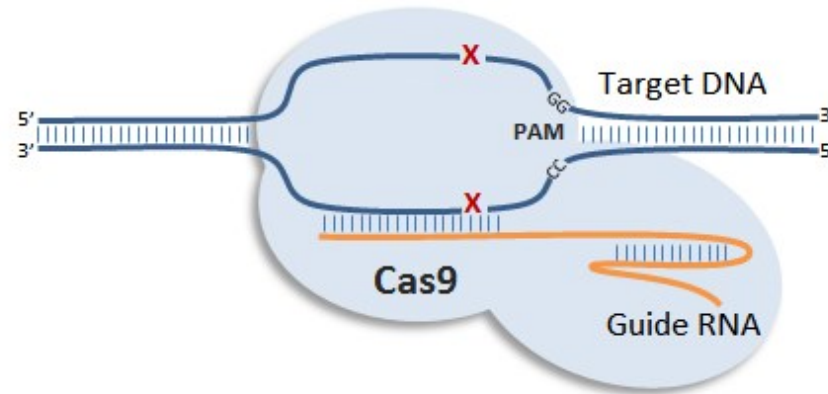
= genové inženýrství, cílená mutageneze



TALEN - mutageneze



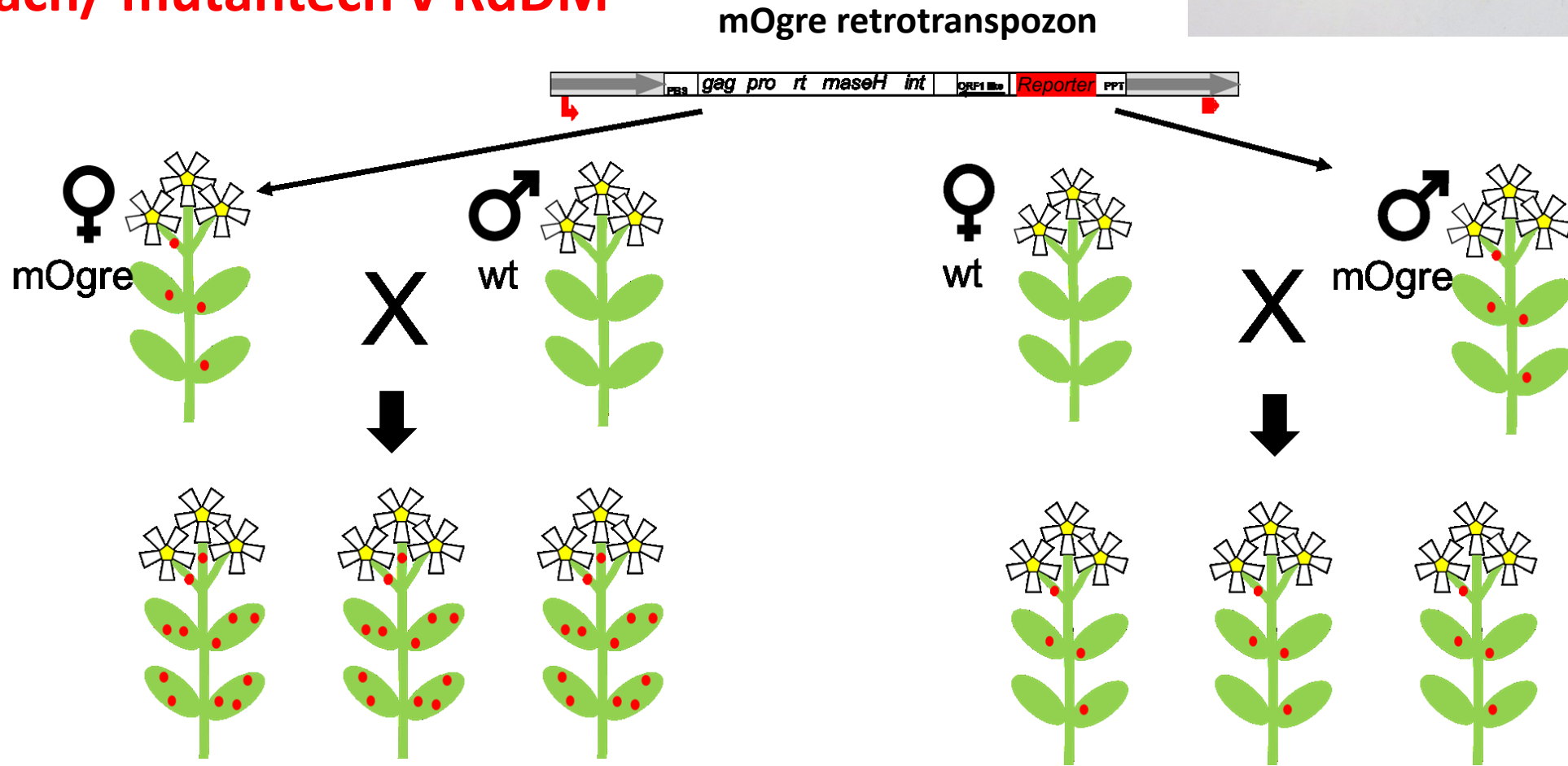
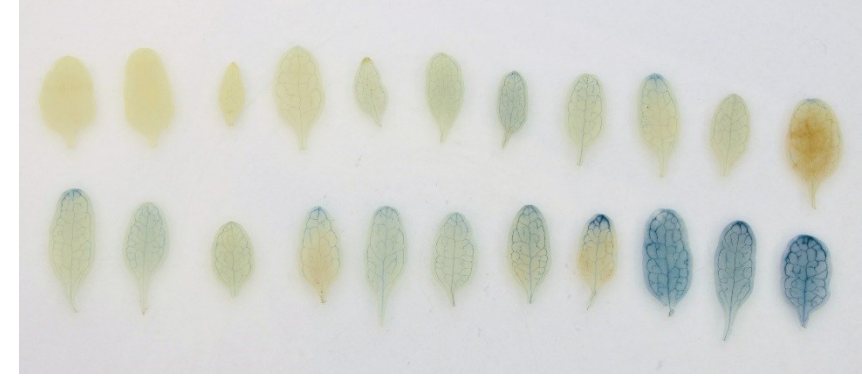
CRISPR/Cas9 - mutageneze



University of Minnesota in Minneapolis

Funkční studie

Transgenerační přenos nových kopií TE ve wild type rostlinách/ mutantech v RdDM



Zahraníční spolupráce



University of Minnesota, USA



University of Illinois, USA



Penn State University, USA



Universidad de Almería, Spain



University of Lyon, France



ETH, Switzerland



IPK Gatersleben, Germany



University of Helsinki, Finland



University of Tokyo, Japan





The 10th International Ph.D. Student Conference on Experimental Plant Biology

Brno, September 3-5, 2012



Oddělení vývojové genetiky rostlin

Biofyzikální ústav AV ČR

kubat@ibp.cz

hobza@ibp.cz

