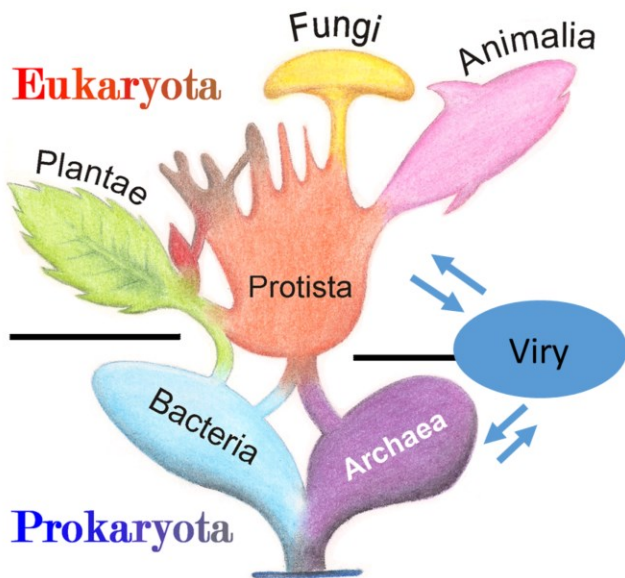
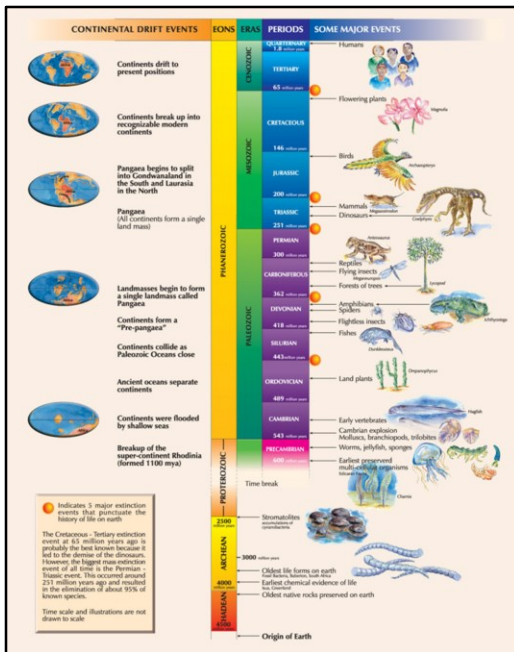


Evoluce genomu a karyotypu



Velikost genomů

organism	genome size (base pairs)	protein coding genes	number of chromosomes
model organisms			
model bacteria <i>E. coli</i>	4.6 Mbp	4,300	1
budding yeast <i>S. cerevisiae</i>	12 Mbp	6,600	16
fission yeast <i>S. pombe</i>	13 Mbp	4,800	3
amoeba <i>D. discoideum</i>	34 Mbp	13,000	6
nematode <i>C. elegans</i>	100 Mbp	20,000	12 (2n)
fruit fly <i>D. melanogaster</i>	140 Mbp	14,000	8 (2n)
model plant <i>A. thaliana</i>	140 Mbp	27,000	10 (2n)
moss <i>P. patens</i>	510 Mbp	28,000	27
mouse <i>M. musculus</i>	2.8 Gbp	20,000	40 (2n)
human <i>H. sapiens</i>	3.2 Gbp	21,000	46 (2n)
viruses			
hepatitis D virus (smallest known animal RNA virus)	1.7 kb	1	ssRNA
HIV-1	9.7 kbp	9	2 ssRNA (2n)
influenza A	14 kbp	11	8 ssRNA
bacteriophage λ	49 kbp	66	1 dsDNA
Pandoravirus salinus (largest known viral genome)	2.8 Mbp	2500	1 dsDNA
organelles			
mitochondria - <i>H. sapiens</i>	16.8 kbp	13 (+22 rRNA +2 rRNA)	1
mitochondria - <i>S. cerevisiae</i>	86 kbp	8	1
chloroplast - <i>A. thaliana</i>	150 kbp	100	1
bacteria			
<i>C. ruddii</i> (smallest genome of an endosymbiont bacteria)	160 kbp	182	1
<i>M. genitalium</i> (smallest genome of a free living bacteria)	580 kbp	470	1
<i>H. pylori</i>	1.7 Mbp	1,600	1
<i>Cyano bacterium S. elongatus</i>	2.7 Mbp	3,000	1
methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (MRSA)	2.9 Mbp	2,700	1
<i>B. subtilis</i>	4.3 Mbp	4,100	1
<i>S. cellulosum</i> (largest known bacterial genome)	13 Mbp	9,400	1
archaea			
<i>Nanoarchaeum equitans</i> (smallest parasitic archaeal genome)	490 kbp	550	1
<i>Thermoplasma acidophilum</i> (flourishes in pH=1)	1.6 Mbp	1,500	1
<i>Methanocaldococcus</i> (<i>Methanocaldococcus</i>) <i>jamesonii</i> (from ocean bottom hydrothermal vents; pressure >200 atm)	1.7 Mbp	1,700	1
<i>Pyrococcus furiosus</i> (optimal temp 100°C)	1.9 Mbp	2,000	1
eukaryotes - multicellular			
pufferfish <i>Fugu rubripes</i> (smallest known vertebrate genome)	400 Mbp	19,000	22
poplar <i>P. trichocarpa</i> (first tree genome sequenced)	500 Mbp	46,000	19
corn <i>Z. mays</i>	2.3 Gbp	33,000	20 (2n)
dog <i>C. familiaris</i>	2.4 Gbp	19,000	40
chimpanzee <i>P. troglodytes</i>	3.3 Gbp	19,000	48 (2n)
wheat <i>T. aestivum</i> (hexaploid)	16.8 Gbp	95,000	42 (2n=6x)
marbled lungfish <i>P. aethiopicus</i> (largest known animal genome)	130 Gbp	unknown	34 (2n)
herb plant <i>Panicum japonicum</i> (largest known genome)	150 Gbp	unknown	40 (2n)

Viry, organely

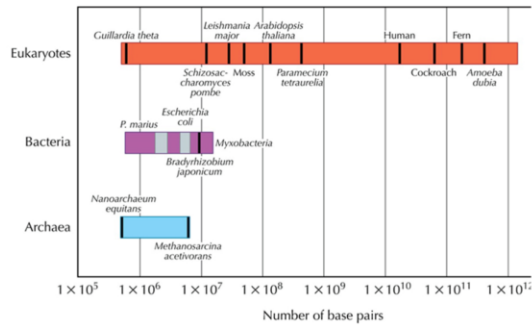
Miniaturní genomy (tisíce bp = kb)
Vysoká hustota genů
10-100 genů (bakteriofágové)

Bakterie

Malé genomy (miliony bp = Mb)
Vysoká hustota genů
Cca 5000 genů (*E. coli*)

Eukaryota

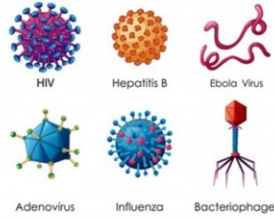
Velké genomy (miliardy bp = Gb)
Nízká hustota genů
Cca 20000 genů (člověk)



Genomy virů

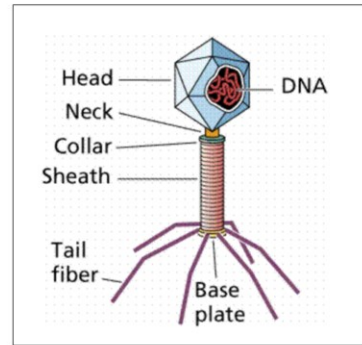
viruses			
hepatitis D virus (smallest known animal RNA virus)	1,7 Kb	1	ssRNA
HIV-1	9,7 kbp	9	2 ssRNA (2n)
influenza A	14 kbp	11	8 ssRNA
bacteriophage λ	49 kbp	66	1 dsDNA
<i>Pandoravirus salinus</i> (largest known viral genome)	2,8 Mbp	2500	1 dsDNA

- genomy malé, kompaktní
- efektivní využití
- ss/ds DNA
- ss RNA
- kombinace DNA a RNA

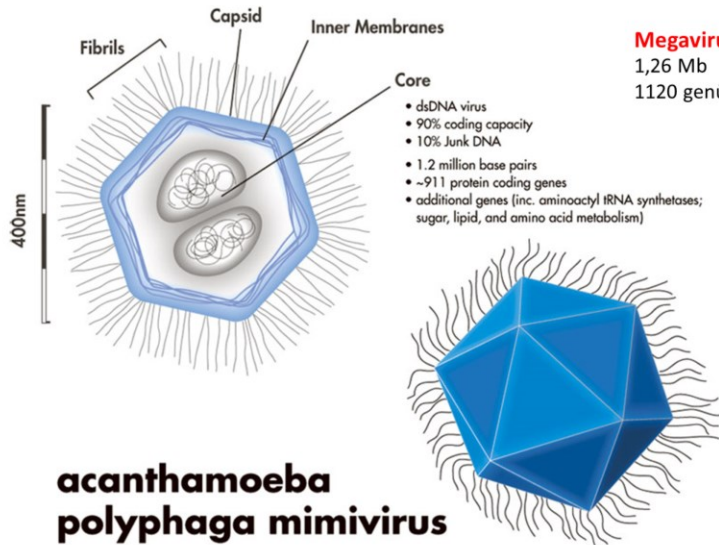


Viry nejsou monofyletickou skupinou entit
 - různé viry mají různý původ, proto i rozdílné genomy
 z hlediska obsahu genů a kódující molekuly

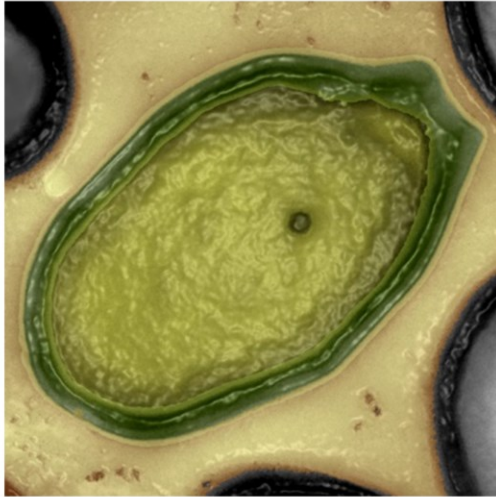
Virus (bakteriofág)
 ~ 50 kb ~ stovky genů



Extrémní genomy: Mimivirus (APMV)



Extrémní genomy: Pandoravirus salinus



- 2,47 Mb
- 2556 genů
- „parazité“ améb
- Jen 6 % genů má homologie v genech jiných org. – nová větev života?
- Životní cyklus podobný jako u ostatních virů – závislí na hostiteli v replikaci DNA a syntéze proteinů

Genomy eubakterií a archeí

bacteria			
<i>C. ruddii</i> (smallest genome of an endosymbiont bacteria)	160 kbp	182	1
<i>M. genitalium</i> (smallest genome of a free living bacteria)	580 kbp	470	1
<i>H. pylori</i>	1.7 Mbp	1,600	1
Cyanobacteria <i>S. elongatus</i>	2.7 Mbp	3,000	1
methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (MRSA)	2.9 Mbp	2,700	1
<i>B. subtilis</i>	4.3 Mbp	4,100	1
<i>S. cellulorum</i> (largest known bacterial genome)	13 Mbp	9,400	1
archaea			
<i>Nanoarchaeum equitans</i> (smallest parasitic archaeal genome)	490 kbp	550	1
<i>Thermoplasma acidophilum</i> (flourishes in pH<1)	1.6 Mbp	1,500	1
<i>Methanocaldococcus (Methanococcus) jannaschii</i> (from ocean bottom hydrothermal vents; pressure >200 atm)	1.7 Mbp	1,700	1
<i>Pyrococcus furiosus</i> (optimal temp 100°C)	1.9 Mbp	2,000	1



- genomy malé, kompaktní
- efektivní využití, operony, polycistronní
- kruhová genomová dsDNA + plasmidy
- *Carsonella ruddii* – nejmenší genom endosymbiotické bakterie (160 kb, 182 genů)
- *Mycoplasma genitalium* – nejmenší genom volně žijící (parazitické) bakterie (580 kb, 470 genů)
- *Sorangium cellulosum* – největší genom, půdní bakterie (13 Mb, 9400 genů)



E. coli
~ 4,7 mil bp
~ 4500 genů

Genomy eukaryot

Jaderný genom

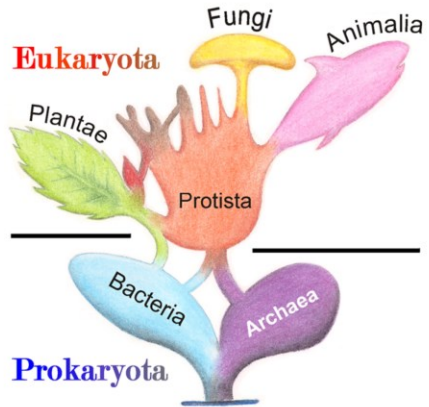
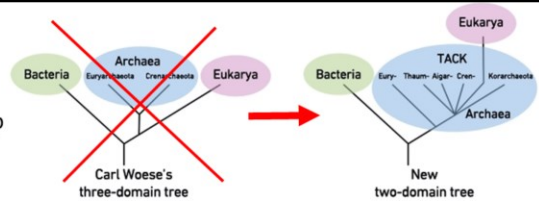
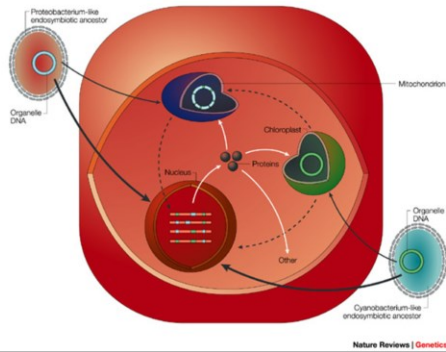
chromozomy z DNA, tisíce genů, monocistronní, Mbp-Gbp

Mitochondriální genom

kruhová DNA, desítky genů, desítky-stovky kbp

Plastidový genom

kruhová DNA, desítky genů, desítky-stovky kbp



Endosymbiotický vznik eukaryot

Endosymbióza cca -2 miliardy let (1,5; 1,2?) → vznik eukaryotické buňky

Archea (= jádro) + alfa-proteobakterie (= mitochondrie)

Reakce na vzrůstající koncentraci kyslíku v atmosféře → silný selekční tlak zvýhodňoval novou eukaryotickou buňku

Primární Endosymbióza cca -1,2 (0,9?) mld let → vznik fotosyntetizujících eukaryot (červené a zelené řasy)

Eukaryota + cyanobakterie (= plastidy)

Sekundární Endosymbióza → vznik cryptophyta, chlorarachniophyta

Eukaryota + eukaryota (červená, zelená řasa)

Eukaryota:

-Jaderné procesy jsou podobné archeálním

-Cytoplazmatické a organelové procesy podobné eubakteriím

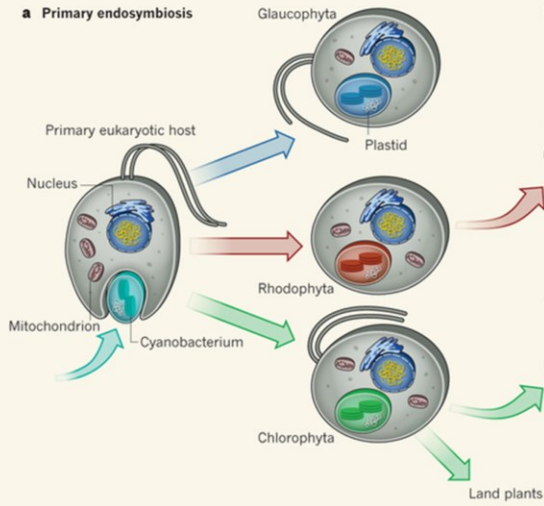
-Genový transfer z organel do jádra, většinu kódujících funkcí časem převzalo centrální jádro

-Časové zařazení vzniku eukaryotické buňky je velmi orientační kvůli nejasným fosilním záznamům, někdy se uvádí první eukaryota až před 1,5 miliardami let nebo dokonce 800 miliony lety

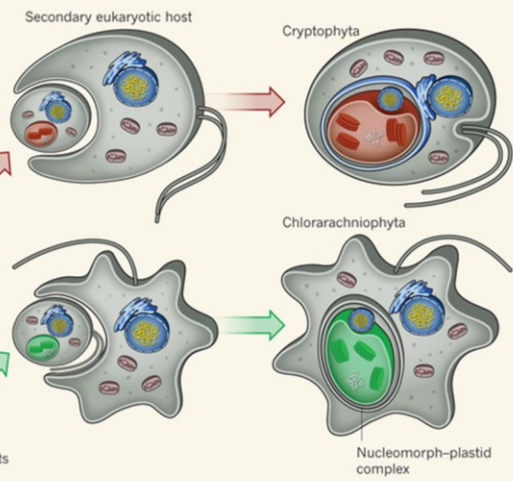
-První mnohobuněčná eukaryota prokazatelně až před 600 miliony lety (Ediakara)

Primární a Sekundární endosymbióza

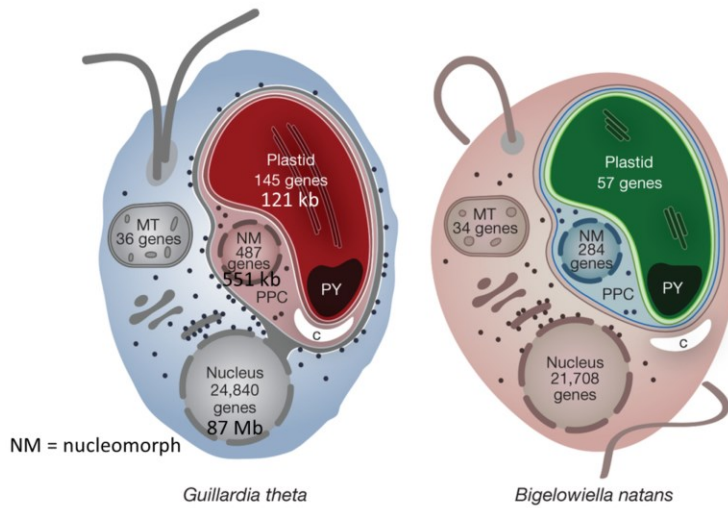
a Primary endosymbiosis



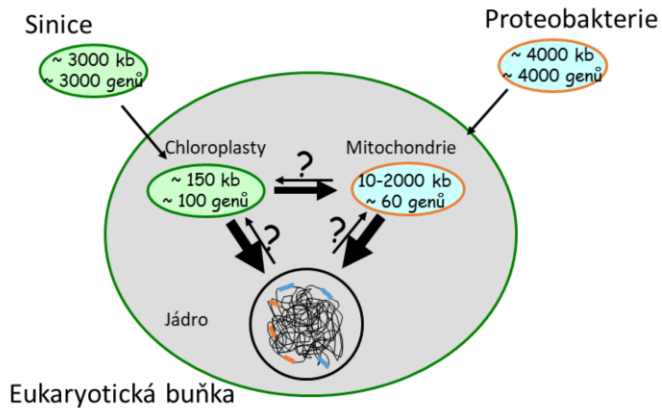
b Secondary endosymbiosis



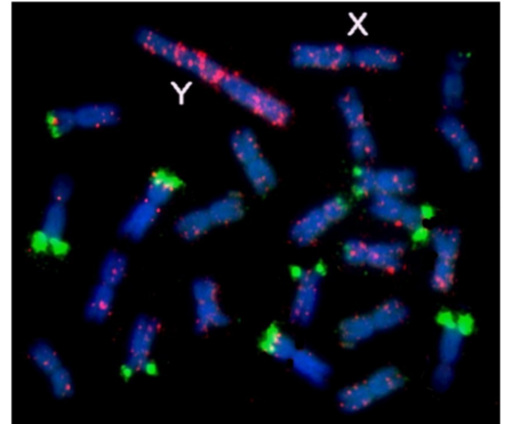
Extrémní genomy: sekundární endosymbióza – *Guillardia theta*



Endosymbióza a promiskuitní DNA

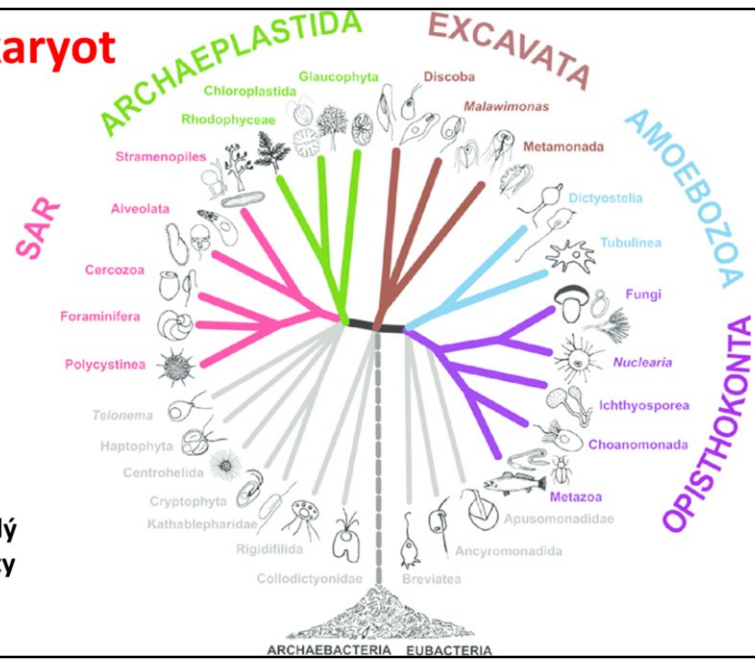


Chloroplastová DNA se hromadí na chromosomu Y u *Silene latifolia*



- Jaká DNA se akumuluje na Y? Zjistili jsme, že promiskuitní plastidová DNA
- Dovolte odbočku: organely byly původně volně žijící bakterie, po endosymbioze (vznik eukaryotické b.) přenos genů do jádra
- U člověka také akumulace mitochondriální DNA na Y

Genomy eukaryot



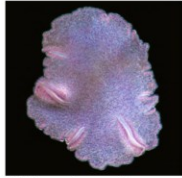
Mnolibuněčnā eukaryota tvoří jen malý zlomek celkové diverzity eukaryot!

Genomy mnohobuněčných eukaryot živočichů a rostlin

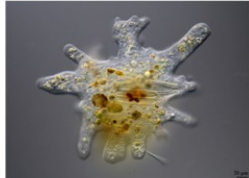


**Evoluce velikosti, složení
a funkcí genomu**

Vyberte organismus s největším genomem



Trichoplax adherens



Polychaos dubium



Paris japonica



Genlisea aurea



Pšenice



Drosophila melanogaster



Myš

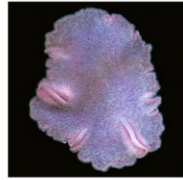


Člověk

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



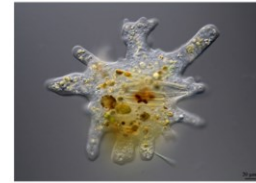
Člověk
3,3 Gb / 20 tis genů



Pšenice
17 Gb / 110 tis genů



Paris japonica
150 Gb / 17 tis genů



Polychaos dubium
670 Gb (67 Gb)

Počet bazí = hmotnost v pg $\times 0,978 \times 10^9$

Největší známý genom – *Polychaos dubium* (Amoebozoa) – 737 pg, 670 Gbp, pravděpodobně technická chyba, ve skutečnosti genom až 10x menší

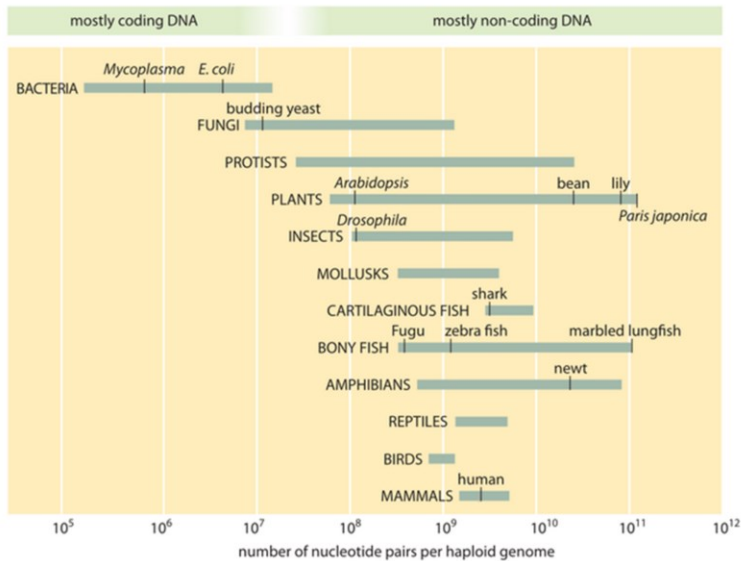
Největší rostlinný genom *Paris japonica* (Melanthiaceae) – 133 Gbp

Největší obratlovčí genom bahník východoafrický (*Protopterus aethiopicus*, 130 Gbp, 132,8 pg)

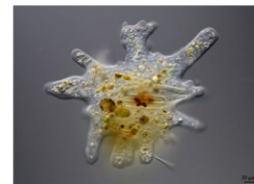
Nejmenší živočišný genom – *Trichoplax adherens* (Placozoa) – 0,04 pg

Nejmenší genom krytosemenných rostlin – *Genlisea margaretae* (Lentibulariaceae) - 0,0648 pg, 63,4 Mbp

Paradox hodnoty C



Paradox hodnoty C = velikost genomu organismu není v korelaci s komplexitou organismu např. jednobuněčná měňavka (*Amoeba dubia*) má 200x větší genom než člověk



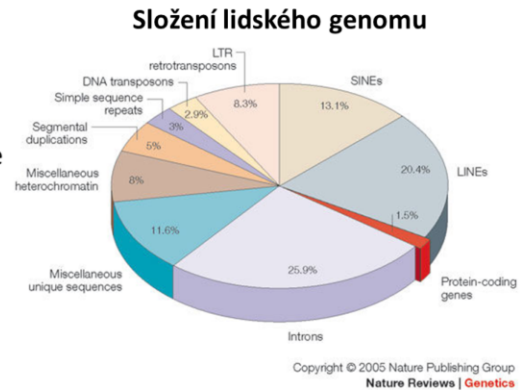
Eukaryotní genom obsahuje mnoho různých sekvencí, z nichž jen velmi malá část kóduje proteiny. Přesto je většina genomu aktivní, přičemž její aktivita spočívá v regulaci exprese protein kódujících genů (regulační sekvence, netranslatované části genů) a v produkci RNA, která reguluje aktivitu genů (miRNA), mobilních elementů (piRNA) a lokální strukturu chromatinu (endogenní siRNA) nebo má strukturní funkci (rRNA, tRNA, snoRNA ...). Řada různých RNA je asociovaná s regulačními sekvencemi genů nebo se strukturami chromosomu, které jsou nezbytné pro jejich fungování (centromery), tzv. dlouhá nekódující RNA (lncRNA) se podílí např. na inaktivaci chromosomu X u savců nebo regulaci telomer. Odhaduje se, že cca 80% lidského genomu je přepisováno do RNA, přičemž exony protein kódujících genů zaujímají jen 1,5% genomu.

Fakt, že eukaryotní genomy neobsahují jen protein kódující geny, je znám už dlouhou dobu. První indicie pochází z počátku 70. let 20. století, kdy C.A. Thomas, Jr. při měření velikosti genomu různých eukaryot zjistil, že velikost genomu některých méně složitých organismů je mnohem větší než těch složitějších, což ho vedlo k formulování tzv. **paradoxu hodnoty C** („Velikost haploidního genomu neodpovídá komplexitě organismu“). Příkladem platnosti tohoto výroku je *Polychaos dubium* (Amoebozoa), organismus s největším

známým genomem (737 pg, 670 Gbp), který je 200x větší než lidský. Mezi obratlovci má největší genom bahník východoafrický (*Protopterus aethiopicus*, 130 Gbp, 132,8 pg), typicky velké genomy mají krytosemenné rostliny (největší rostlinný genom *Paris japonica* (Melanthiaceae) –133 Gbp). Teprve později se přišlo na to, že velké části genomu zabírají mobilní elementy a tandemové repetice, které pro nositele nemají (zdánlivě) žádný význam a tyto složky byly dlouho považovány za odpadní (junk) DNA, v případě mobilních elementů za sobeckou DNA. Jak je zmíněno výše, řada tandemových repetit má regulační i strukturní funkci a je pro fungování genomu důležitá. Mobilní elementy, podle současného stavu vědění, se skutečně šíří po genomu na úkor hostitele a pro jedince jsou spíše zdrojem nepříjemností, ale z dlouhodobého hlediska jsou důležité pro evoluci genomu (delece/duplikace DNA mezi různě lokalizovanými kopiemi ME prostřednictvím nerovnoměrného crossing-overu, delece/duplikace okolí ME při transpozici) a vznik nových genů (adaptace genů a regulačních sekvencí ME pro účely hostitele, vznik retrogenů, ...).

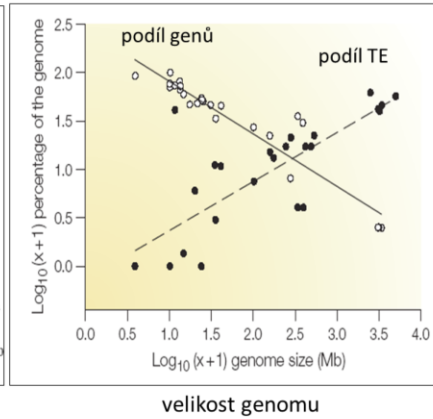
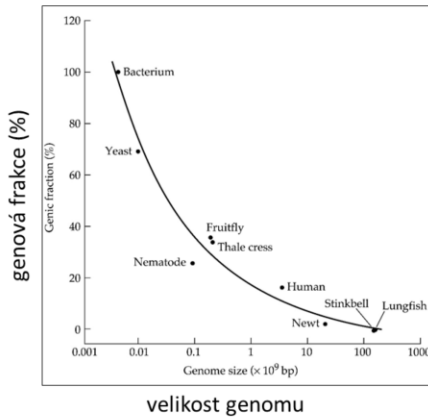
Složení genomu eukaryot

- **Exony** protein kódujících genů – v eukaryotních genomech zaujímají velmi malou část
- **Introny**
- **Regulační sekvence** – promotory, enhancery, ...
- **Unikátní nekódující DNA** – nerepetitivní sekvence přepisované do RNA (miRNA, piRNA, siRNA, ...)
- **Repetitivní DNA:**
 - tandemové repetice
 - mobilní elementy (transpozony)
 - genové klastry (rRNA, ...)



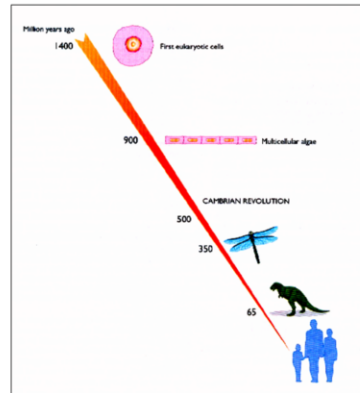
U eukaryot tvoří repetitivní sekvence 50-90% genomu. Podíl jednotlivých typů repeticí (tandemové repetice vs. transpozony) se může výrazně lišit.

Klíč k řešení paradoxu hodnoty C se nachází v negenových oblastech



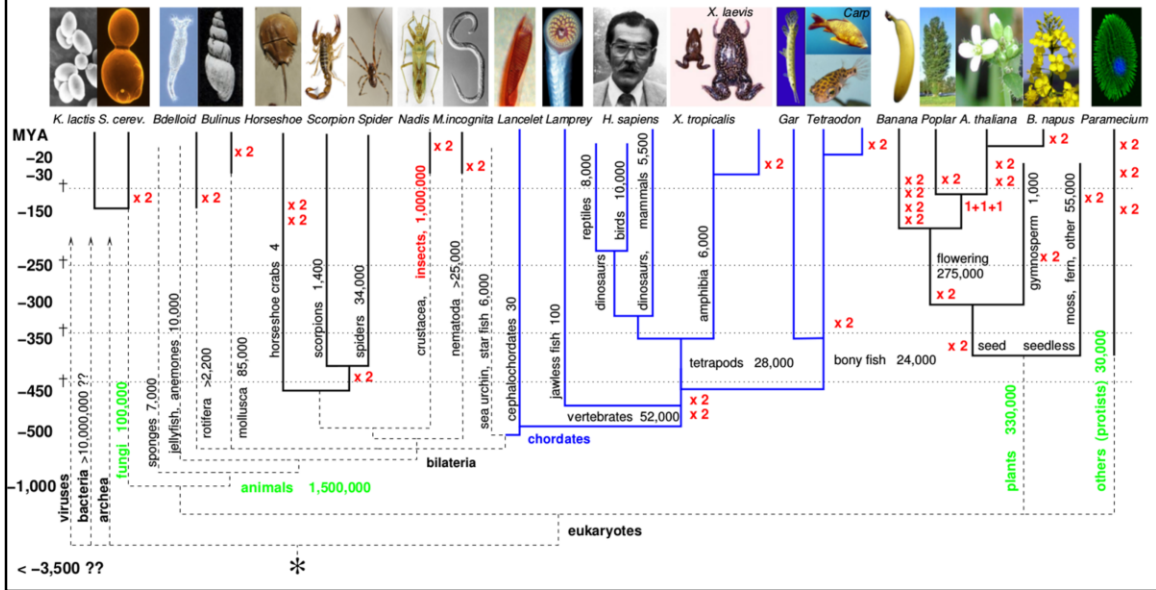
Mechanismy změn velikosti genomu

- Polyploidizace (duplikace genomu)
- Inzerce/delece/duplikace genů nebo částí genomu
- Mobilní elementy a satelity



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

Duplikace genomu v historii eukaryot



Duplikace genomu v historii obratlovců

Duplikace genomu obvykle následována masovou speciací (2x na bázi obratlovců, další u Teleostei + další u některých skupin obratlovců (drápatky, lososovití,...)

Počty druhů obratlovců (celkem 62 tisíc)

Savci – cca 5,5 tis

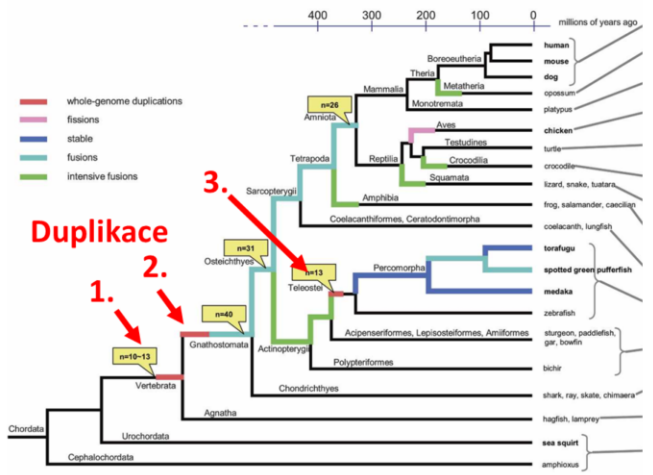
Ptáci – cca 10 tis

Plazi – cca 9 tis

Obojživelníci – cca 6,5 tis

Ryby - > 31 tis

Průměrná doba přežívání genů vzniklých duplikací genomu je mnohem vyšší než u lokálních duplikací genomu (duplikace celých drah)



Polyploidizace hrály a hrají významnou roli v evoluci rostlin, u živočichů jsou její výskyty vzácnější. Skupina, v jejíž historii prokazatelně došlo k duplikaci genomu, dokonce 2x, jsou obratlovci. První kolo duplikace genomu proběhlo u společného předka všech obratlovců, druhé kolo na bázi čelistnatců. U společného předka ryb došlo k třetímu kolu duplikace genomu. Duplikace celého genomu poskytne obrovské množství nadbytečných genů, z nichž některé mutacemi získají nové funkce, což může vést až ke speciaci. Proto duplikace genomu může být jednou z příčin, proč jsou ryby druhově nejbohatší skupinou obratlovců.

Obrázek z Nakatani et al. 2007

Segmentální duplikace

- Duplikace kratších (stovky bp až desítky kb) unikátních sekvencí s i bez obsahu genů
- Tandemové uspořádání nebo rozptýlené v genomu
- Množství se liší mezi druhy (drosophila málo – člověk mnoho)
- Segmentální duplikace zodpovídají za více než 90 % genetické variability mezi lidskými populacemi (Sudmant et al., Science, 2015)
- V nedávné historii člověka se fixovaly duplikace nesoucí geny se selekční výhodou – imunitní reakce, olfaktorické rozpoznávání, odbourávání xenobiotik, reprodukce, proliferace neuronů (velikost mozku), gen pro amylázu AMY1 (3x více než šimpanz, strava bohatá na škrob).

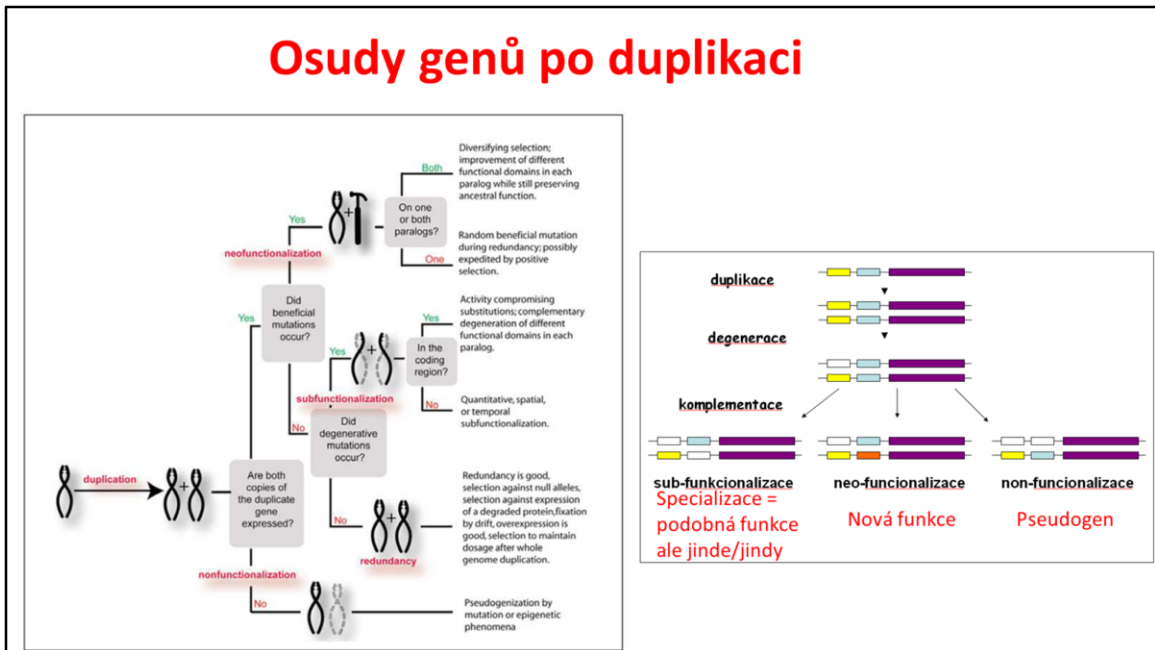
Table 1 | SD content of sequenced animal genomes

	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	Human	Mouse	Rat	Chicken	Chimpanzee*
SDs of >1 kb	4.3%	1.2%	5.2%	2.7%	1.6%	2.7%	N.D.
SDs of >10 kb	0.7%	0.1%	4.5%	2.2%	1.5%	0.3%	N.D.
SDs of >20 kb	N.D.	N.D.	4.0%	1.7%	0.9%	0.0%	~4.8%
Genome size	97	123	2,866	2,506	2,566	1,040	2,866

Data taken from REFS 2,7 for pairwise segmental duplications (SDs) with >90% identity. *Given the fragmented nature of SDs in the draft chimpanzee genome, the duplication content can only be estimated indirectly on the basis of human duplication content, adjusting for detected differences in SD compared with chimpanzee whole-genome shotgun sequencing*. DNA not assigned to a chromosome was not included in these calculations. Consequently, in other genomes the estimate of recent duplication might rise as the quality of the sequence assembly improves. N.D., not determined. Bailey & Eichler, NRG, 2006

Lokální duplikace (segmental duplications, SDs) jsou části DNA, které se v genomu ve dvou nebo několika málo kopiích, a to buď tandemově za sebou, nebo rozptýleně na různých místech v genomu. SDs jsou běžnou součástí řady genomů a mohou i nemusejí obsahovat geny. U primátů se vyskytují mnohem hojněji než např. u drozofily nebo háďátka a patrně měly pro rozvoj primátů velký význam. Geny v SDs primátů se často účastní imunitní reakce, olfaktorického rozpoznávání, odbourávání xenobiotik a reprodukce, čili napomáhají adaptaci na nové zdroje potravy a na nové patogeny. Příkladem je expanze genu pro amylázu (AMY1) u člověka. Tento gen kóduje enzym z počátku metabolické dráhy škrobu a glykogenu. Tohoto genu má člověk 3x víc než šimpanz (a stejně tak i jeho produktu), což je pravděpodobně adaptace na množství potravy bohaté na škrob v zemědělských kulturách. Některé geny, duplikované v lidské linii, hrají roli v proliferaci neuronů a mají tak patrně vliv na velikost mozku člověka.

Osudy genů po duplikaci



Duplikované geny může potkat řada osudů. Nejpravděpodobnější je to, že jedna z kopií je vyřazena mutací a gen je změněn na pseudogen. To může být žádoucí, pokud samostatně duplikovaný gen (vs. polyploidizace) narušuje rovnováhu genových produktů, které spolu interagují, např. v metabolické dráze. Gen může být vyřazen buď mutací v kódující oblasti (záměna nukleotidů, delece, inserce), nebo degenerací regulačních faktorů, epigenetickou inaktivací nebo fungováním MEs. Pokud jsou zachovány obě kopie, mohou existovat obě bez změny, pokud je výhodné mít dvě kopie takového genu (např. jako pojistka proti škodlivým mutacím nebo pokud je výhodné mít více genového produktu, např. geny pro histony nebo rRNA). Jedna z kopií genu může díky mutaci získat novou funkci (neofunkcionalizace). Případně může jedna nebo obě kopie ztratit některou z funkcí, které měl původní gen (subfunkcionalizace), čili dojde ke specializaci, kdy každá z kopií zastává jednu z funkcí původního genu, případně se mohou obě kopie exprimovat na různých místech nebo v jiném čase.

Evans 2008

Evoluce ztrátou genů

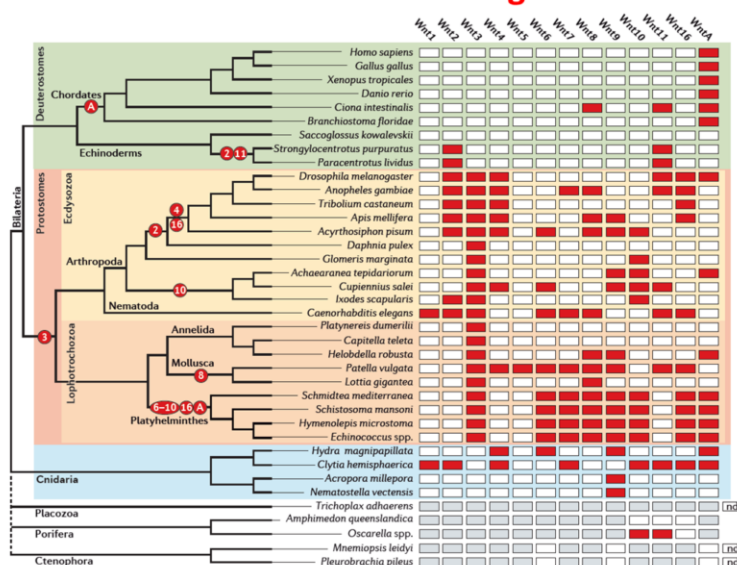


Figure 1 | The wingless (Wnt) family: a paradigmatic example of the pervasiveness of gene loss during metazoan evolution. In the past decade, the accumulation of fully sequenced genome data from various species has revealed great

Duplikace genomu nebo segmentální duplikace následovaná vznikem nových funkcí duplikovaných genů je jedním z hlavních předpokladů evoluce. U mnoha organismů následně dochází ke ztrátám původních nebo duplikovaných genů, což urychlí divergenci organismů a vznik nových druhů.

Obrázek z Albalat a Cañestro, 2016, Nature review genetics.

Figure 1 | The wingless (Wnt) family: a paradigmatic example of the pervasiveness of gene loss during metazoan evolution. In the past decade, the accumulation of fully sequenced genome data from various species has revealed great heterogeneity in the dynamics of gene loss within different animal groups. In ecdysozoans, for instance, not all insects show the same rate of gene loss, and European honeybees (*Apis mellifera*) seem to have retained more genes than other insects (for example, species of fly and mosquito in the Diptera order)²⁰⁶. The finding, for instance, of an active DNA CpG methylation toolkit (that is, *Dnmt1*, *Dnm3a*, *Dnmt3b* and *Mdb*) in honeybees was particularly remarkable, as it has been lost in most other insects^{207,208}. To date, the red flour beetle (*Tribolium castaneum*) has preserved the largest number of patchy orthologues that are also present in humans but that were lost in all other sequenced insects²⁰⁹. The genomes of crustaceans and myriapods

showed less gene loss, and these groups conserved more universal bilaterian genes than insects^{151,210}. In lophotrochozoans, gene loss propensity is also heterogeneous among species. Mollusc gastropods, such as *Lottia gigantea* or annelids, such as *Capitella teleta* or *Helobdella robusta*, seem to have rates of gene retention similar to those in deuterostomes⁸, whereas other lophotrochozoans, such as the flatworm *Schmidtea mediterranea*, have lost approximately 40% of the ancestral gene families^{8,171}. Extensive gene loss (red boxes) has affected all Wnt gene subfamilies (1 to 11; 16 and A) throughout all metazoantaxa. Some gene losses seem to be ancestral (red circles) and thereby probably relevant for the evolution of entire groups (for example, ancestral loss of Wnt3 in the stem protostome). Other gene losses seem to occur recurrently in diverse lineages and show a patchy distribution (for example, Wnt11 loss in some chordates, echinoderms, arthropods, nematodes, molluscs and sponges). Controversial animal phylogenies (dashed tree branches)^{211,212} or uncertain gene orthologies (nd) hinder the ability to determine whether the absence of Wnt families in most basal metazoans (grey boxes) is due to gene losses or to gene gains. References for the list of Wnt genes in each species are supplied in Supplementary information S3 (box).

Polyplodie

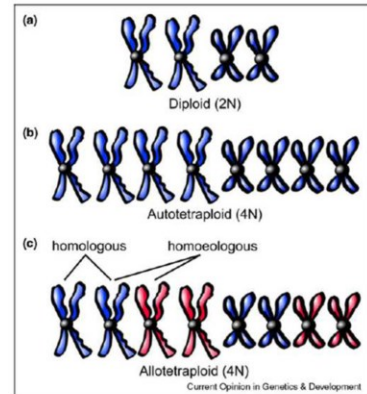
Pojmy z hlediska původu:

Autopolyploidie (polyplodizace v rámci druhu = jen 1 druh genomu)

Allopolyploidie (polyplodizace mezidruhovou hybridizací = 2 a více druhů genomu)

Allopolyploidie je zřejmě výhodnější:

- Dva různé genomy = více alel a proteinových interakcí
- Dochází k heteróznímu efektu, hybridy mají širší ekologický záběr než rodičovské druhy, mají vyšší rezistenci k parazitům než rodiče

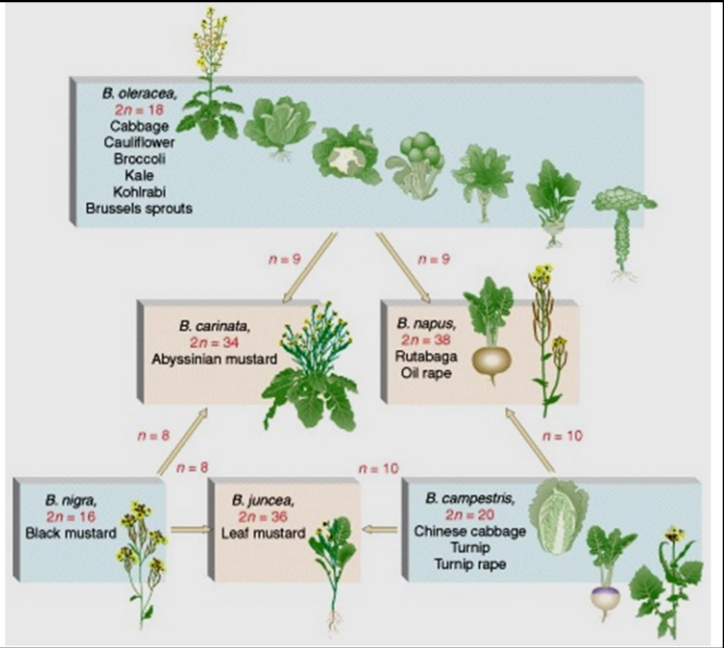


Homologní vs. homeologní chromosomy

Podle toho, zda došlo k duplikaci genomu v rámci druhu nebo při mezidruhové hybridizaci, rozlišujeme dva typy ploidii: autopolyploidie – v rámci druhu, vzniklý polyplod obsahuje jen jeden typ genomu, a allopolyploidie – hybridizací vznikne jedinec s různými rodičovskými genomy.

Allo- i autopolyploidie způsobují ihned po vzniku masivní epigenetické změny a s tím spojenou vyšší aktivitu mobilních elementů, oba typy ploidii poskytují materiál k neofunkcionalizaci, atd. Ale allopolyploidie je zdá se výhodnější než autopolyploidie, protože dva různé genomy poskytují více alel, více proteinových interakcí, dochází k heteróznímu efektu, hybridy mají širší ekologický záběr než rodičovské druhy, vykazují vyšší rezistenci k parazitům než jeden nebo oba rodičovské druhy.

Allotetraploidie brukvovitě



Změna regulace genomu u polyplloidů

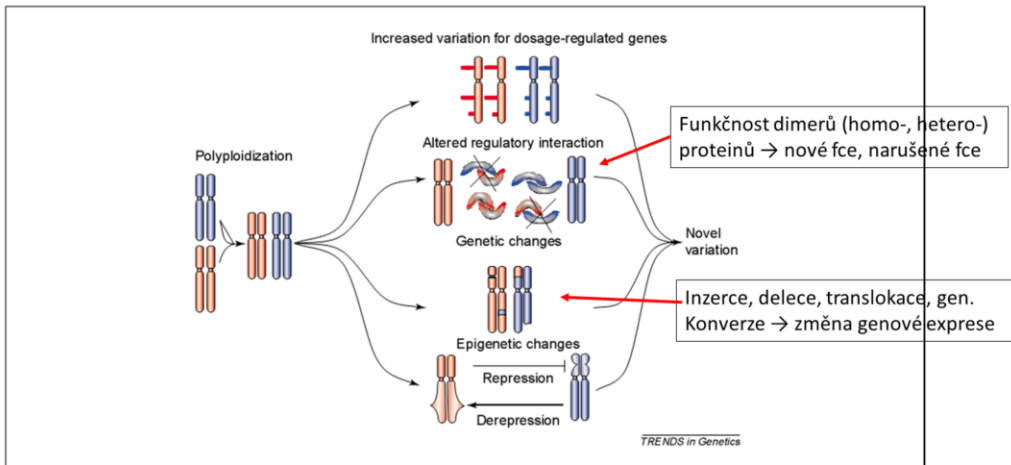


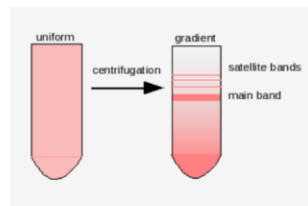
Fig. 4. Potential causes of novel variation in polyploids. The merger of chromosomes from two diploid genomes (red and blue) into a tetraploid genome can cause (1) increased variation of dosage-regulated gene effects and expression (magnitudes of allelic effects and expression shown by size of blocks for three loci); (2) altered regulatory interactions (trans-acting regulatory factors shown as dimeric proteins, with heterodimers not functioning properly); (3) genetic changes affecting gene expression (e.g. insertions, deletions, translocations and gene conversions); and (4) epigenetic changes (repression or derepression of gene expression caused by genome interaction of chromatin modeling factors, which could also trigger movement of transposable elements).

Tandemové repeticce = Satelity

Jednotka (= monomer) se opakuje n-krát za sebou

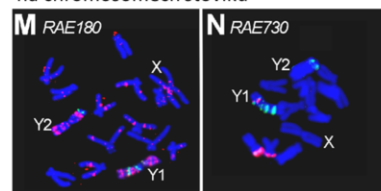


Satelity – objeveny při hustotní gradientové centrifugaci - tvoří satelitní proužek kvůli jinému složení bází.



- Přítomny ve všech genomech (prokaryota i eukaryota)
- Klasifikace:
 - **Satelite** – významná složka genomu (i > 50%), tvoří bloky heterochromatinu, délka monomerů i >2 kbp
 - **Minisatelite** – 0,5-30 kbp, délka monomeru 10-100 bp
 - **Mikrosatelite** – krátké úseky, délka monomeru ≤6 bp

Typické rozložení tandemových repetic na chromosomech šťovíku



Strukturní a regulační funkce, expanze mikrosatelitů u některých chorob

Tandemové repeticce, neboli satelity, byly objeveny při hustotní gradientové centrifugaci (density gradient centrifugation), kdy díky jinému složení bází tvořily tzv. satelitní proužky, lišící se od hlavního proužku se zbytkem genomu. Jak název napovídá, jejich jednotky (tzv. monomery) jsou uspořádány tandemově za sebou, na rozdíl od mobilních elementů, které jsou rozptýleny po genomu. Často, ale ne vždy, se od dalších částí genomu liší složením bází (AT- nebo GCbohaté). Podle jejich množství v genomu se dělí na klasické satelity, mini- a mikrosatelity (Sumner 2003). Klasické satelity zabírají významnou část genomu (i více než 50%) a tvoří viditelné bloky heterochromatinu, ve kterých se ale mohou vyskytovat i různé typy satelitů spolu s dalšími sekvencemi. Délka jejich monomeru může být i několik kbp. Často se vyskytují v centromerách,

kde jsou klíčové pro jejich fungování (Sumner 2003).

Minisatelity zabírají 0,5-10 kbp úseky a délka monomerů je 10-100 bp. Mikrosatelity zabírají

krátké úseky genomu a jejich monomery jsou maximálně 6 bp dlouhé. Byly nalezeny ve všech

zkoumaných genomech, nacházejí se i v kódujících sekvencích a jejich expanze může způsobit

různá onemocnění (např. Huntingtonova chorea). Délka a množství mini- a mikrosatelitů je mezi

jedinci a druhy poměrně variabilní, ale dostatečně stálá pro fylogenetické a populační studie,

variabilita mikrosatelitů v lidském genomu se používá jako tzv. DNA fingerprinting pro identifikaci

jedince (kriminalistické účely) a pro paternitní testy.

Hustotní gradientová centrifugace – metoda k separaci různých molekul DNA (např. virové

partikule, DNA fragmenty o různém složení bazí. Ultracentrifugace se provádí za vysokých otáček

několik hodin v hustotním gradientu sacharózy nebo chloridu cesného (CsCl). Stejně dlouhé

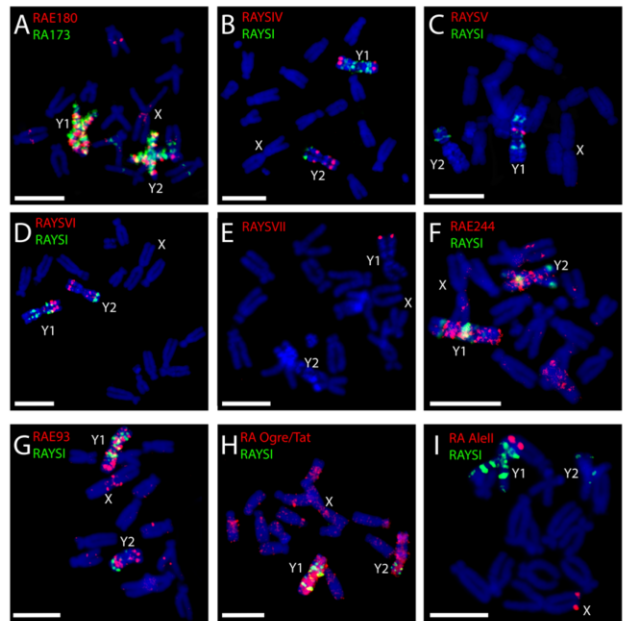
fragmenty DNA lišící se složením bazí jsou centrifugací rozděleny. Fragment s vyšším podílem

lehkých AT párů je blíže ose než fragment s více těžkých GC párů.

Satelitey – kde?

Expandují v nerekombinujících částech
genomu – například chromozomy Y

- > slouží jako substrát pro inzerce TE
- > zrychlení genetické degenerace Y



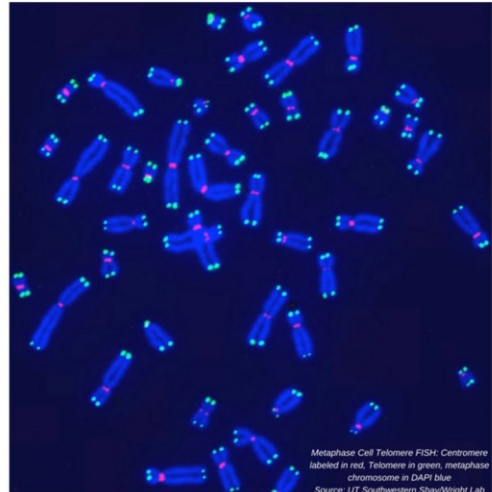
Tandemové repetice - funkce

Strukturní:

- Centromery (např. alfa satelitní DNA v centromerách primátů)
- Telomery (např. (TTTAGGG)_n u většiny rostlin)

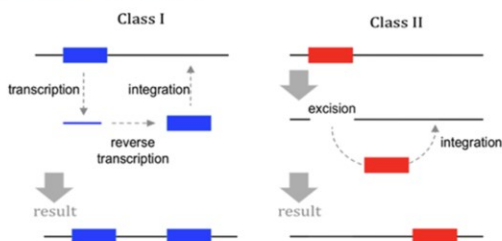
Regulační:

- Řada satelitů je transkribována do RNA (lncRNA, siRNA) -> modulace chromatinu, regulace transkripce genů
- Tkáňově a časově specifická transkripce
- Některé satelity mají promotory a vazebná místa pro proteiny (CENP-B box v alfa satelitní DNA – interakce s centromerickým proteinem B – formování kinetochoru)



Mobilní elementy (transposable elements = TEs)

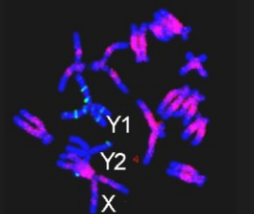
- Schopné samostatného pohybu v genomu
- Typy mobilních elementů:
- **Třída I – retrotransposony** (copy-and-paste, replikace přes RNA)
- **Třída II – DNA transposony** (cut-and-paste)



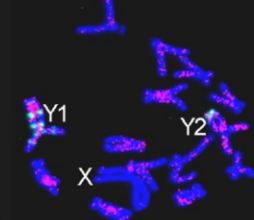
- Pro jedince spíše negativní – insercemi TE může být narušena funkce genů
- Klíčoví hráči v evoluci genomu (vznik nových genů, přestavby chromosomů, ...)
- Často součást heterochromatinu

TEs na chromosomech šťovíku

E *Maximus/SIRE - CL18*



I *Athila - CL41*



Mobilní elementy (ME) jsou úseky DNA schopné samostatného pohybu po genomu. Enzymy, které jsou k tomu potřeba, si ME z velké části kódují vlastními geny. Dělí se na dva základní podtypy:

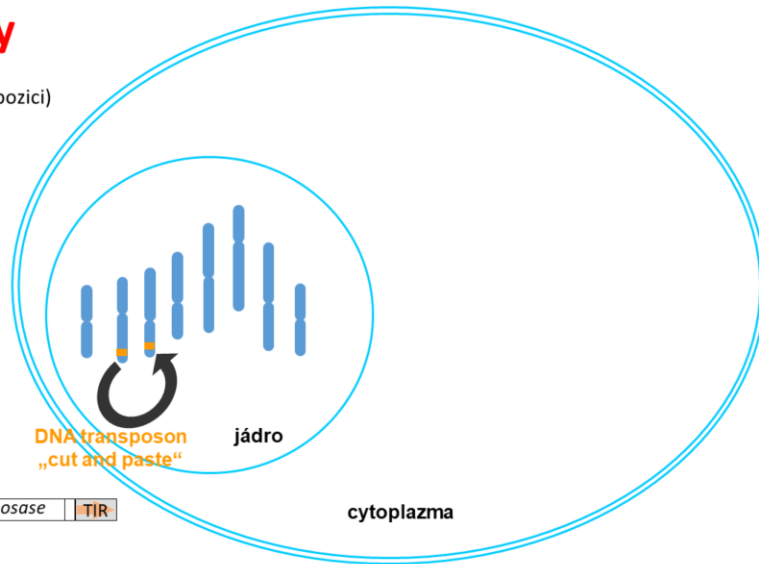
Třída I - retrotransposony, které se nejprve přepíší do RNA, které je potom zpětně přeložena do cDNA (complementary DNA) enzymem reverzní transkriptázou a ta drůto cDNA je následně vložena na jiné místo v genomu (tzv. mechanismus copy-and-paste).

Třída II – DNA transposony – vyštěpí se z původního místa a skočí na jiné (tzv. mechanismus cut-and-paste). Pokud se toto děje během replikace DNA, dojde k duplikaci transposonu.

Mobilní elementy jsou někdy označovány jako tzv. sobecká DNA, protože ke svému množení využívají zdroje buňky, ale nic jí nepřinášejí. Pro jedince je pohyb ME po genomu spíše negativní, protože může vyřadit geny (posun čtecího rámce) nebo měnit jejich expresi (vložení do promotoru, poskytnutím vlastního promotoru, ...). Z dlouhodobého hlediska jsou ale ME důležité pro evoluci genomu (vznik nových genů, ektopická rekombinace mezi ME v různých částech genomu, ...).

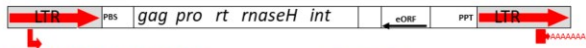
Mobilní elementy

(disponují vlastním
aparátem pro transpozici)

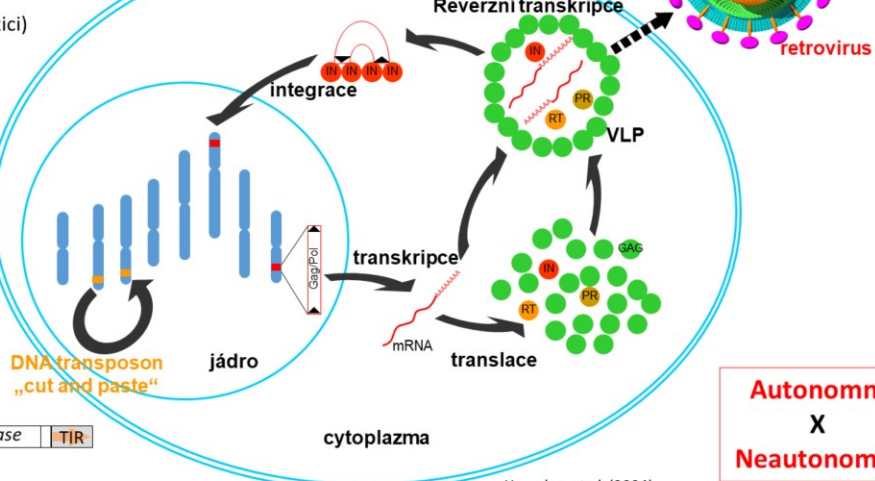


Mobilní elementy

(disponují vlastním aparátem pro transpozici)



LTR retrotranspon
„copy and paste“

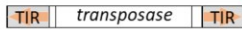


DNA transpon
„cut and paste“

jádro

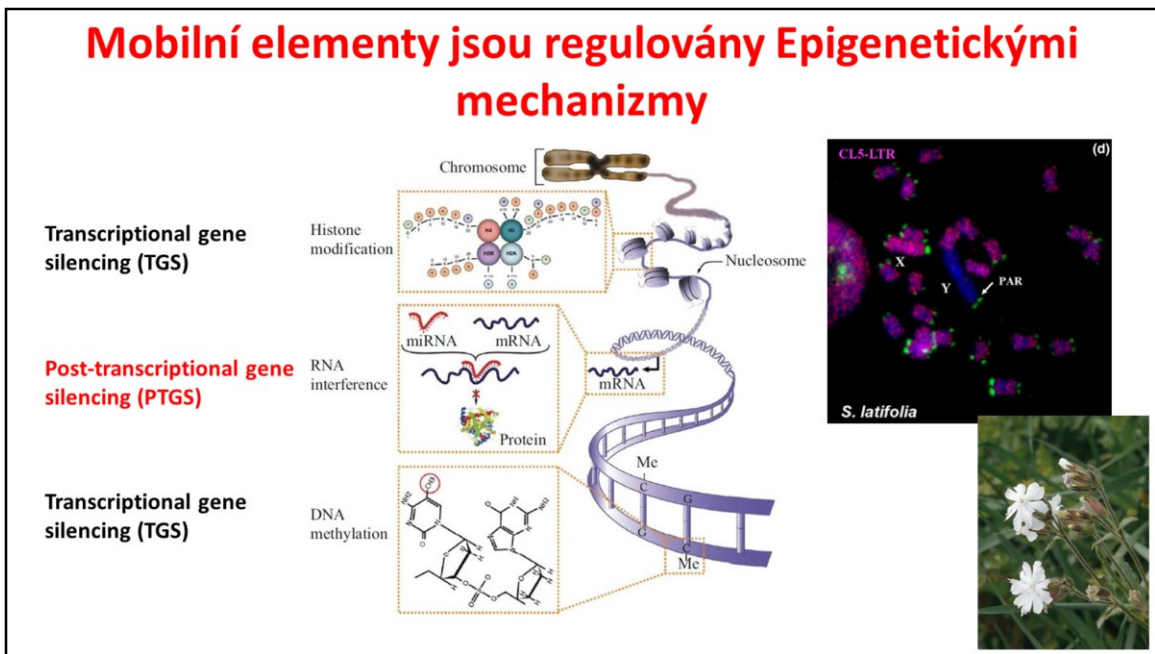
cytoplazma

Autonomní
X
Neautonomní



Havecker et al. (2004)

Mobilní elementy jsou regulovány Epigenetickými mechanismy



Epigenetické mechanismy = modifikují DNA a histony pomocí chemických značek.

RNAi (RNA interference) = interakce mezi DNA, RNA a proteiny, kde jsou prostředníkem (jakousi signální molekulou) krátké molekuly RNA – tzv. small RNA. Small RNA je mnoho typů, liší se mechanismem vzniku a účinku, a také délkou
 Základní členění small RNA:

miRNA = micro RNA, vznikají z tzv. miRNA genů, které se přepisují do RNA s vlásenkovou sekundární strukturou, regulují geny, ale mohou regulovat i TE.

siRNA = short interfering RNA, vznikají především z TE (ale i z genů) – z mRNA nebo z lncRNA (long non-coding RNA), regulují především TE, ale i geny. Small RNA řídí mnoho vnitrobuněčných procesů pomocí:

Posttranskripční umlčení (PTGS) = degradace mRNA na základě komplementarity

Transkripční umlčení (TGS) = metylace DNA na základě komplementarity, metylace DNA je prvním krokem heterochromatinizace → následuje modifikace histonů, vazba chromatinových remodelerů atd.

PTGS a TGS jsou vzájemně provázány a ovlivňují se prostřednictvím small RNA = produkty PTGS (rozštěpané molekuly RNA) mohou řídit metylaci DNA. Small RNA jsou mobilní, mohou být posílány mezibuněčnými spoji nebo vodivými pletivy rostlin a ovlivňovat metabolismus v jiné části organismu. Byl například

prokázán přenos small RNA z kořene do naroubované části rostliny, small RNA produkované v podpůrných buňkách chrání buňky zárodečné dráhy před TE u živočichů (piRNA = piwi-interacting RNAs) i rostlin, zajišťují „imunitu“ rostlin vůči virům...

→ Epigenetické regulace = široký pojem, který se používá pro širokou škálu dějů včetně takových, které svou podstatou neodpovídají definici epigenetiky, tedy zahrnuje i RNAi, jelikož RNAi v důsledku vede k epigenetickým modifikacím.

Vliv mobilních elementů na evoluci genomu

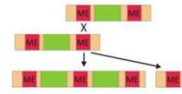
Krátkodobě spíše destruktivní (letální změny GI)

- inzerční mutagenese
- přestavby chromozomů ektopickou rekombinací

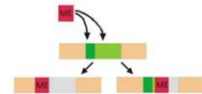
Dlouhodobě důležité pro evoluci genomu (neutrální a prospěšné změny GI)

- přestavby chromozomů ektopickou rekombinací – duplikace -> vznik nového genetického materiálu pro další použití
- modulace transkripce přilehlých genů
- Exonizace genů (exony často TE, vznik alternativního sestřihu)
- Vznik retrogenů
- Domestikace součástí TE nebo jejich genů
- ...

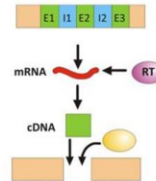
Ektopická rekombinace



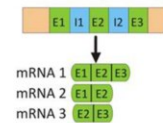
Inzerční mutagenese



Vznik retrogenů



Exonizace genu



Mobilní elementy mění fenotyp

Navalina

Tarocco

Maro (B)

Jingxian

Vložení LTR retroelementu před gen *Ruby* mění jeho expresi → vznik krvavých pomerančů

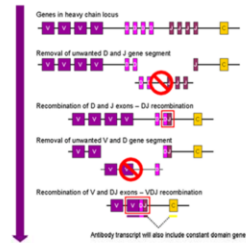
Příklady vlivu mobilních elementů na fenotyp

- Změna zbarvení pomerančů některých „krvavých“ odrůd je způsobena vložením LTR retrotransposonu před gen *Ruby*. LTR tak změni expresi genu, který se jinak v dužnině exprimuje jen omezeně.
- Bílé zbarvení a některé barvy hroznů vinné révy jsou způsobeny pohybem ME *Gret1* poblíž genu *VvmybA1*. Je-li tento gen mobilním elementem přerušen, je výsledkem bílé zbarvení, pokud ME zase odejde, změni se okolí genu, což změni jeho expresi. Výsledkem je jiné (červené) zbarvení.
- Změna zbarvení zrn kukuřice je dána pohybem mobilních elementů. Právě na kukuřici byly díky tomuto fenoménu mobilní elementy objeveny (jejich objevitelka Barbara McClintock za svou práci obdržela Nobelovu cenu za medicínu).
- Johann Gregor Mendel používal při svých pokusech i variantu hrachu, která produkuje svrasklá semena. Tento fenotyp je rovněž způsoben mobilním elementem.

Domestikace transpozonů – příklady

Rag1 (recombination-activating protein 1)

- domestikovaná transpozázá
- klíčový gen pro imunitní systém čelistnatců
- zahajuje V(D)J rekombinaci během dozrávání B- a T-buněk → zajišťuje obrovskou variabilitu imunoglobulinů a T-receptorů

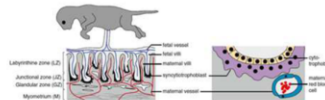


Telomeráza

- domestikovaná reverzní transkriptáza
- prodlužuje telomery u většiny eukaryot

Syncytiny

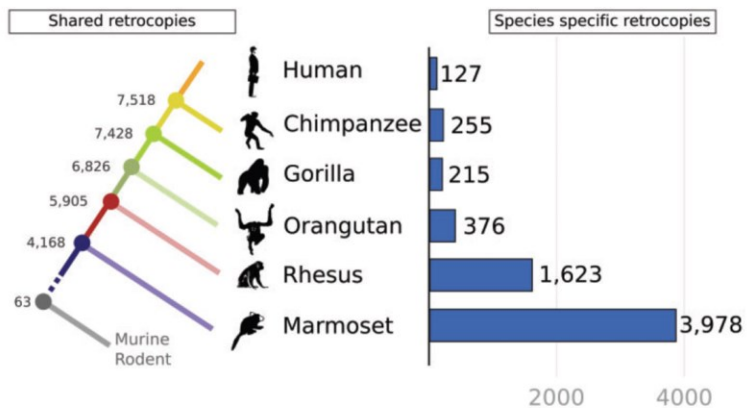
- domestikované obalové proteiny HERV-W
- fúze buněk v syncytiotrofoblastu placenty
- u savců 4 nezávislé domestikace



Některé staré domestikace už nezjistíme (ME už neexistuje)

1/3 lidských genů jsou retrogeny

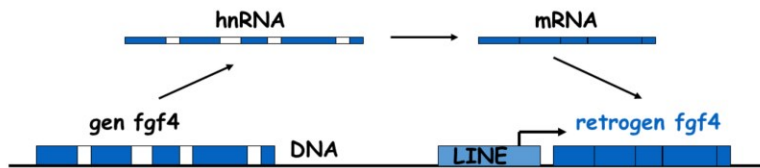
Lidský genom obsahuje ~ 8000 retrokopíí genů (Navarro, Galante, GBE, 2015)



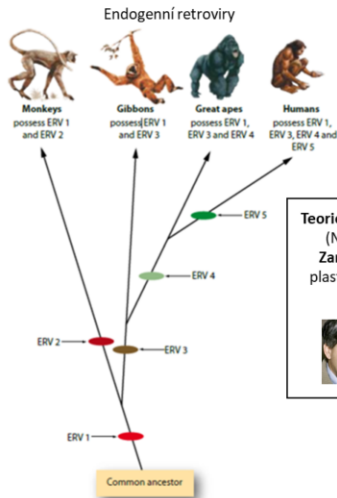
Retrogen způsobil krátkonohost u psů

Science 325, 995 (2009)

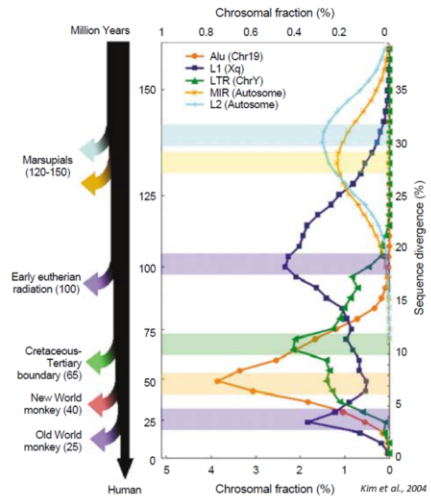
- chondrodysplazie (krátkonohost)



Explozivní amplifikace transpozonů doprovází velké evoluční události (speciaci)



Teorie přerušovaných rovnováh
 (N. Eldredge, S. J. Gould)
Zamrzlá evoluce – střídání
 plastických a „zamrzlých“ fází
 (J. Flegl)



Inaktivace pohlavního chromosomu X

Inaktivační centrum

- proximální část X (Xq13)
- chromosomy X spolu během inaktivace komunikují

Inaktivace řízena genem *Xist*

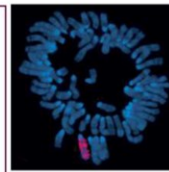
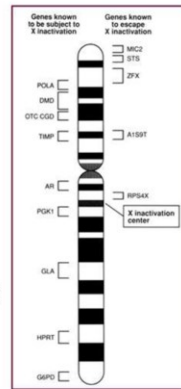
- exprimován pouze u inaktivovaného X
- produkuje *Xist* lncRNA, ta akumulována po celé délce X
- *Xist* RNA dává signál k inaktivaci
- *Xist* RNA nasedá na LINEs

Vlastní inaktivace zabezpečena zejména

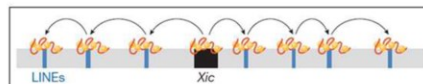
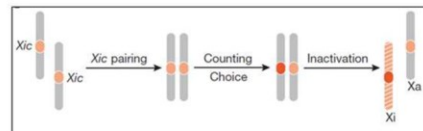
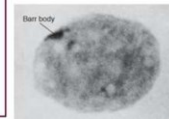
- metylací N-konce histonu H3
- metylací DNA
- globální hypoacetylaci histonu H4

Následky inaktivace

- pozdní replikace inaktivovaného X
- represe transkripce na X (s výjimkou několika genů/segmentů)



Chromosomy myši s chromosomem X pokrytým *Xist* RNA



Na počátku embryonálního vývoje před nástupem vlastní inaktivace musí buňka zjistit, jaký je její poměr A:X, pokud 1, je potřeba zvolit, který chromosom bude inaktivován. Počítání i inaktivace je řízena oblastí Xic (X-inactivation centre), které obsahuje řadu regulačních elementů včetně *Xist*. Jakmile je rozhodnuto o tom, který X bude inaktivován, začne se na tomto chromosomu transkribovat dlouhá nekódující *Xist* RNA, která se rozprostře po celém chromosomu a umlčí ho. Pokud je *Xist* přenesen na autosom, provede jeho umlčení, ale to je méně efektivní. *Xist* tedy nepotřebuje žádné sekvence, které by byly jen na X. Ukazuje se, že cílovými sekvencemi *Xist* jsou mobilní elementy LINEs, které se na X vyskytují hojněji než na autosomech. Pokusy s buňkami s tranlokací t(X;4) ukázaly, že inaktivace se zastavuje na hranicích X a 4 a koreluje s prudkým poklesem koncentrace LINEs.

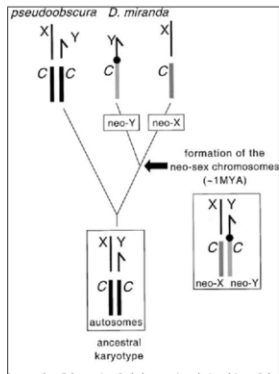
Rozprostření *Xist* RNA je následováno odloučením RNA polymerázy II od chromosomu, ztrátou euchromatinových epigenetických značek, provedením represivních epigenetických modifikací (methylace H3, hypoacetylace H4 a methylace DNA). Inaktivované X vytvoří Barrovo tělíčko poblíž jaderné membrány, replikuje se později než zbytek genomu a až na několik segmentů není exprimováno.

Jak vzniká kompenzace dávky genů na neo-X drosofil?



Neo-X chromozom u *Drosophila miranda* starý 1,5 milionu let právě prochází evolucí kompenzace dávky genů.

- 1) Helitron ISX nese funkční ale neoptimální motiv, který je rozpoznáván MSL.
- 2) Helitron ISX (mobilní element) se včleňuje na různá místa chromozomu neo-X.
- 3) V jednom z inzertovaných ISX došlo k výhodné mutaci – vznikl optimální motiv pro vazbu MSL.
- 4) Nealelická genová konverze nyní homogenizuje jednotlivé inserce ISX a přenáší tak výhodnou mutaci na další ISX včleněné do neo-X.
- 5) Selektce upřednostňuje jedince s co největším počtem těchto výhodných mutací.



MSL = male specific lethal complex.
Rozpoznává GC bohatý motiv na X a řídí zdvojnásobení transkripce X genů u samců.

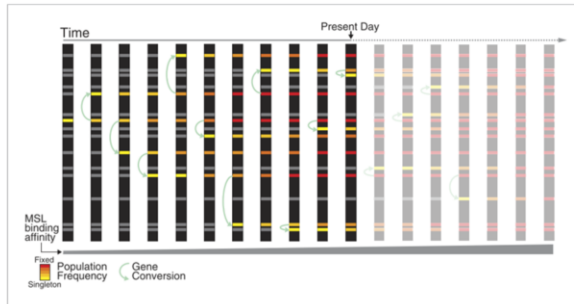


Figure 6. Non-allelic gene conversion spreads refining mutations among TE-derived MSL recognition motifs. Shared polymorphism of the TT haplotype among ISX insertions suggests a model where a mutation that refines regulatory activity arose once at a single TE-derived regulatory element, and spread across elements via non-allelic gene conversion. Over evolutionary time, such a mutation spreads in two dimensions: horizontally among TE-derived regulatory elements and vertically through the population, until it is fixed across elements and across individuals. The TT haplotype is at the midpoint of this process. Across ISX insertions, it is fixed, absent, and polymorphic, in approximately equal proportions.

Transpozony a evoluce genomu

Francis Crick – ústřední dogma molekulární biologie: DNA → RNA → Proteiny

Transpozony = Junk DNA



Susumu Ohno – evoluce genomu duplikací (1970)

Susumu Ohno

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

Transpozony mohou být „domestikovány“

- telomery drozofily – Het-A, TART
- centromery – CENP-B z DNA transponů
- imunitní systém – V(D)J rekombinace

Turning junk into gold

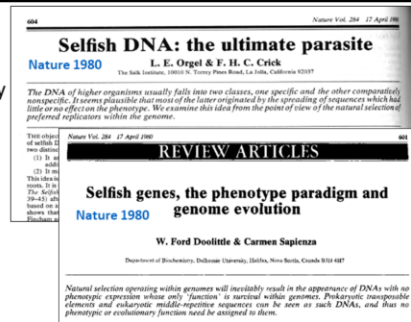


Transpozony „přebudovávají“ genom

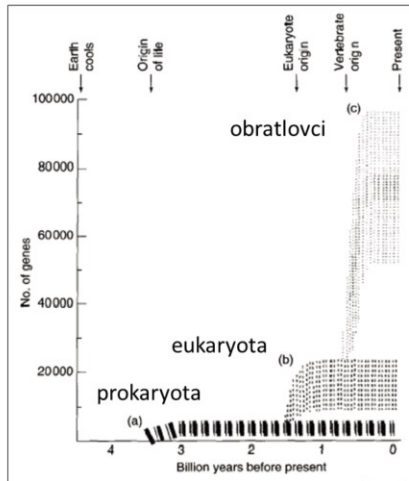
- přestavby genomu, rekombinace
- duplikace, rodiny, vznik nových genů (Setmar)
- role v segregaci chromosomů, izolace, speciace
- reparace zlomů v DNA
- inaktivace chromosomu X
- tvorba nových regulačních sítí

Transpozony jsou extrémně důležitou evoluční silou
Pravidlo 3K:

konflikt → kompromis → kooperace



Vzrůst počtu genů, potlačení šumu a biologická komplexita byly umožněny...



RNAi

heterochromatinizace

metylace DNA (RdDM)

histony + modifikace

miRNA regulace genové exprese

=epigenetické mechanismy pro regulaci
genomových komponent

Co umožnilo explozivní vznik mnohobuněčných organismů?

Prokaryota:

primitivní epigenetické regulační mechanismy
malé genomy efektivně využité operony
malé množství transpozonů
pouze jednobuněčné formy

vs.

Eukaryota:

složité epigenetické regulační mechanismy
velké genomy plné repetice a transpozonů
epigenetické umlčování genů a transpozonů
mnohobuněčné formy s diferencovanými buňkami

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

Nekonvenční: Epigenetické mechanismy prvotně sloužily k regulaci genové exprese. Umožnily duplikace genů, **množení transpozonů** v genomech, čímž se zvýšil evoluční potenciál organismů a mohly vzniknout složité mnohobuněčné životní formy s **velkými genomy**.

Nina Fedoroff, 2012, Science 338:758-767



Lze se zbavit transpozonů?



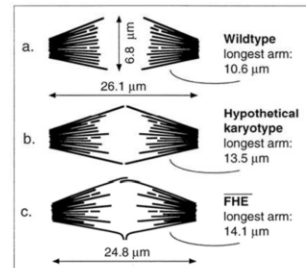
- Mít transpozony je evoluční adaptace – transpozony čekají na svoji příležitost, aby zvýšily genetickou variabilitu svého hostitele v kritickém období
- Všechny pohlavně se množící organismy, které se zbavily TE, nakonec vymřely (třídění z hlediska stability – J. Flegr, J. Toman)

Evoluce karyotypu

(počet, tvar, velikost chromozomů)

Velikost chromozomů má své limity

- Obvyklá délka mezi 1 a 10 μm
- **Horní limit** – raménko delší než $\frac{1}{2}$ osy dělicího vřeténka – sesterské chromatidy se nemohou rozejít -> přetrženy dělicí se buňkou
- **Spodní limit** – velmi malé špatný rozchod v meióze – nedostatek crossing-overů a chiasmat?



Velikost chromosomů se pohybuje mezi 1 mm do více než 10 mm. U jedno- a dvouděložných rostlin se ukázalo, že pokud je raménko chromosomu delší než polovina osy dělicího vřeténka, způsobuje to problémy v telofázi. Důvodem je to, že se sesterské chromatidy zcela nerozejdou a formující se přepážka je roztrhne. Krátké chromosomy se často špatně rozcházejí v meióze. Důvod není jasný, ale může to být nedostatek/absence crossing-overů a následně chiasmat, které normálně napomáhají udržet u sebe homology do anafáze I. Schubert 2007, 1997

Počet chromozomů - minimální

- Jednobuněčná eukaryota – obvykle 1 chromozom

- Mnohobuněčná eukaryota:



Myrmecia pilosula „Jack jumper ant“, Austrálie: $n=1$

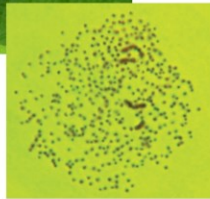


Haplopappus gracilis, Asteraceae, Severní Amerika: $n=2$

Počet chromozomů - maximální



Polyommatus atlanticus:
n = cca 220



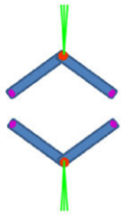
Hadiłka neboli hadí jazyk
Ophioglossum reticulatum:
n = cca 530



Horní limit počtu chromozomů je závislý na kapacitě dělicího vřeténka – dostatečný počet mikrotubulů omezen objemem buňky

Typ a tvar chromozomů

Monocentrické x

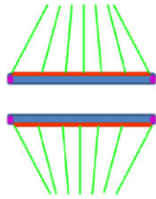


Obratlovci, většina bezobratlých a rostlin

Více crossing-overů -> vyšší variabilita potomků

Citlivé na zlomy chromozomů -> zastavení v G2 -> letální

Holocentrické

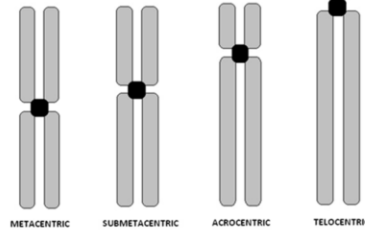


Asi ¼ bezobratlých, 3% rostlinných druhů

Málo crossing-overů -> pomalejší adaptace

Vysoká odolnost proti UV, gama, kosmickému záření

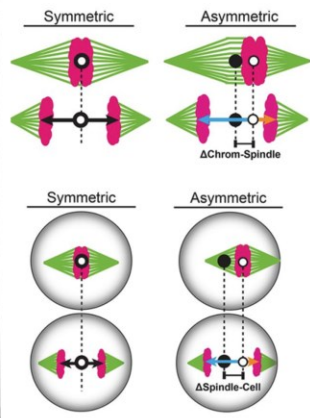
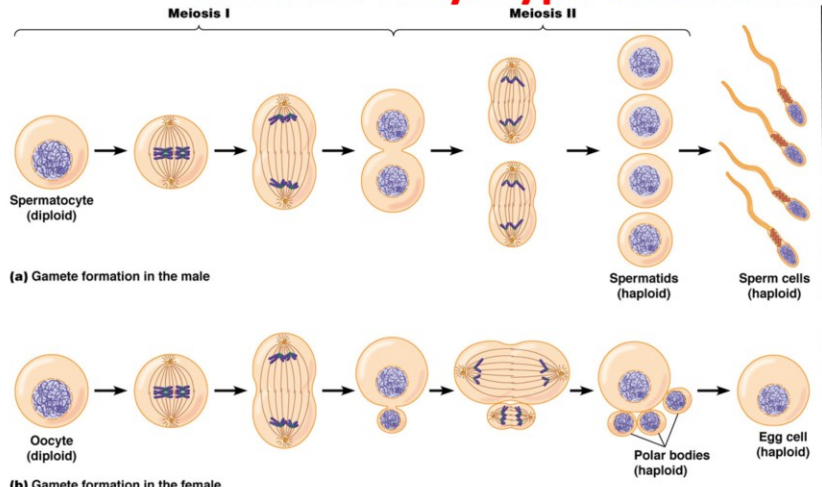
Monocentrické



V karyotypu druhu obvykle převažují buď metacentrici nebo akrocentrici – Proč?

Tvar chromozomů zřejmě nepřináší evoluční výhody/nevýhody

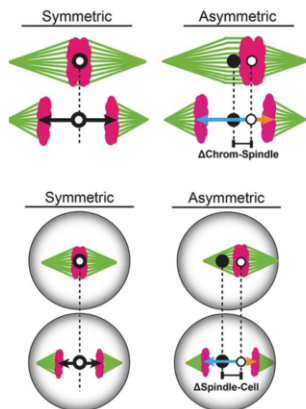
Evolve karyotypu a meiotický tah



© 2012 Pearson Education, Inc.

Evoluce karyotypu a meiotický tah

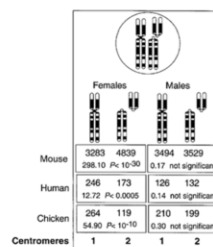
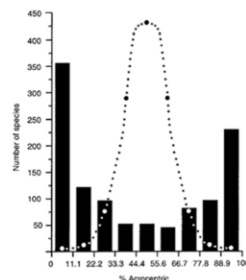
Asymetrické dělicí vřeténko hraje roli jen v samičí meióze



Asymetrické vřeténko -> přednostně kratší/delší chromozomy do vajíčka

-> Karyotyp savců je převážně tvořen z meta- nebo akrocentriků

Možnost změny orientace vřeténka Prokázána u myši, dvě subpopulace, cca 500 let



Vznik nového druhu je často provázen změnami v karyotypu. Studium karyotypů 1170 savčích druhů ukázalo, že většina z nich se skládá buď převážně z akrocentrických nebo převážně z metacentrických chromosomů, zatímco jen málo druhů má karyotyp složený z podobného počtu meta- a akrocentriků. Mechanismem, kterým vzniká karyotyp složený převážně z jednoho druhu chromosomů, je zřejmě meiotický drive v samičí meióze. Základem pro něj je fakt, že samičí meióza je asymetrická (jen jedna buňka ze čtyř produktů se stane gametou). Dalším předpokladem je asymetrické dělicí vřeténko, jehož jeden pól je schopnější v chytání centromer. Pokud dojde k Robertsonovské translokaci (která je poměrně častá, např. u člověka k ní dochází u 0,1% meióz), tak zfúzovaný chromosom má větší šanci dostat se k pólu, který je méně efektivní v chytání centromer než jeho dva homology (samozeřejmě vznikají i nebalancované gamety, ale to je většinou fatální). Pokud je tento pól na straně, ze které vznikne vajíčko, bude mít karyotyp tohoto (budoucího) druhu tendenci shromažďovat metacentrické chromosomy (vzniklé Robertsonovskou translokací), pokud na straně, ze které vznikne pólová buňka, budou se do vajíčka přednostně dostávat akrocentrici.

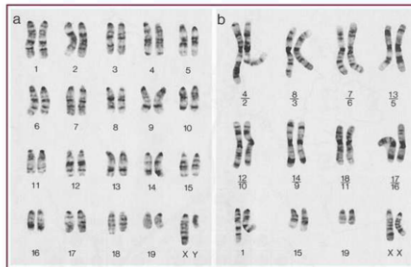
U člověka, myši a kura byla v samičí meióze skutečně pozorována tendence shromažďovat buď akrocentriky (myš) nebo metacentriky (člověk, kur) ve

vajíčkách, zatímco v samčí meióze se chromosomy rozcházely náhodně. Na obrázku jsou uvedeny počty balancovaných gamet vyprodukovaných samčími a samičími nositeli balancované Robertsonovské translokace. Horní řádek uvádí počty gamet, dolní výsledek χ^2 s P testující hypotézu, že distribuce chromosomů je náhodná.

Orientace vřeténka se občas změní, což vysvětluje dramaticky odlišné karyotypy u některých příbuzných druhů (myš, munžak). U myši (*Mus musculus*) byla změna pozorována u populací, které byly izolovány teprve před 500 lety! Molekulární podstata drivu není známa.

De Villena a Sapienza (2001) Genetics

Evolve karyotypu a meiotický tah + Robertsonské translokace



Myš domácí – 2 poddruhy

Mus musculus musculus – původní karyotyp $2n=40$ akrocentrických chromozomů

Mus musculus domesticus – fúze chromozomů $\rightarrow 2n=22-38$

Inverze chromozomů -> speciace

Drosophila pseudoobscura a *D. persimilis*

- odděleny před cca 500 tisíci let

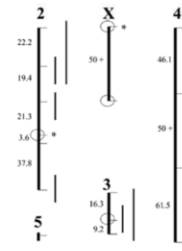
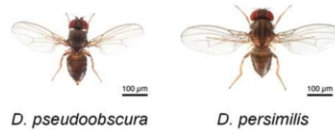
- Liší se 4 inverzemi

- V přírodě tvoří hybridy X málo (tvorba prezygotické izolace – rozdílná vibrace křídel při námluvách)

- Samci v F1 jsou sterilní

- Zkoumána genetická podstata inviability/sterility hybridních samců, dysfunkce ve dvoření se samicím, úspěch v páření a samicí preference.

- Všechny znaky zamapovány do inverzí na chromosomech X a 2.



Inverze jsou typem chromosomálních aberací, které mohou být důležité pro evoluci druhu. U jedinců, kteří jsou heterozygotní pro inverzi, se homologní chromosomy nemohou párovat a rekombinovat, takže alely genů v inverzi zůstávají pohromadě.

U řady druhů platí, že jejich hybridní mají sníženou fitness, jsou sterilní nebo nejsou životaschopní, takže příslušníci těchto druhů mají vyvinuté mechanismy, jak poznat správného partnera. Pokud se druhy odlišují určitými znaky, je výhodné, aby tyto znaky byly ve vazbě s geny, které umožňují rozpoznávání těchto znaků. Inverze je způsob, jak příslušné geny do vazby dostat.

Příkladem tohoto jsou dva druhy drozofil, *Drosophila pseudoobscura* a *D. persimilis*, které v přírodě tvoří hybridy (málo), ale hybridní samci jsou sterilní. Oba druhy se liší 4 chromosomálními inverzemi. Byla zkoumána genetická podstata sterility hybridních samců, samčí úspěch v páření, hybridní inviabilita, dysfunkce v dvoření se samicím (druhy se liší např. vibrací křídel při námluvách) a samicí preference samců vlastního druhu. Všechny znaky byly zamapovány do invertovaných oblastí na chromosomech X a 2.

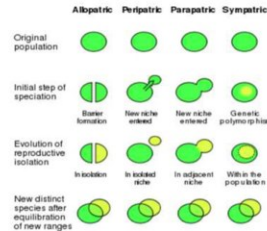
Noor et al. 2001

Inverze chromozomů u drosophil

Výskyt inverzí u sympatrických druhů drozofil vs. absence u alopatrických druhů → role v izolaci sympatrických druhů?

Table 2. Relative abundance of homosequential *Drosophila* taxa vs. those bearing inversion differences compared by sympatry (sym)/allopatty (allo) and genetic distance

		Patry*	D ¹	Sterility ^a
<i>Drosophila</i> species/subspecies not differing by one or more inversions				
<i>heteroneura</i>	<i>planitibia</i>	allo	0.134	0.500
<i>differens</i>	<i>planitibia</i>	allo	0.138	0.500
<i>planitibia</i>	<i>silvestris</i>	allo	0.191	0.500
<i>pseudoobscura</i> Bogota	<i>pseudoobscura</i> USA	allo	0.194	0.250
<i>sechellia</i>	<i>simulans</i>	allo	0.280	0.500
<i>simulans</i>	<i>sechellia</i>	allo	0.280	0.500
<i>mauritiana</i>	<i>simulans</i>	allo	0.300	0.500
<i>mauritiana</i>	<i>sechellia</i>	allo	0.320	0.500
"aldrichi" ^{ns}	<i>mulleri</i>	sym	1.051	1.000
<i>Drosophila</i> species differing by one or more inversions				
<i>flavomontana</i>	<i>laticola</i>	allo	0.180	0.500
<i>borealis</i>	<i>montana</i>	sym	0.210	0.500
<i>arizonae</i>	<i>mojavensis</i> baja	sym	0.212	0.250
<i>flavomontana</i>	<i>montana</i>	sym	0.290	0.500
<i>borealis</i>	<i>flavomontana</i>	sym	0.380	1.000
<i>persimilis</i>	<i>pseudoobscura</i>	sym	0.410	0.500



Teorii o roli inverzí ve speciaci podporuje i fakt, že sympatricky se vyskytující druhy drozofil (čili druhy vyskytující se na stejném území) se často liší inverzemi, (hodí se jim mít ve vazbě geny pro odlišující znaky a geny pro rozpoznávání těchto znaků, viz předchozí snímek), zatímco alopatrické druhy, tedy druhy, které jsou odděleny překážkou, takže se nemohou fyzicky potkávat, se inverzemi téměř neliší (nepotřebují si vyvíjet mechanismy, kterými se příslušníci různých druhů rozpoznávají).

Noor et al. 2001

Fenotyp vs. velikost genomu

Velikost genomu ovlivňuje:

- 1) Velikost buňky (pozitivně)**
- 2) Komplexitu organismu (negativně při zachování velikosti těla)**
- 3) Rychlost metabolismu (negativně)**
- 4) Rychlost buněčného dělení (negativně)**
- 5) Rychlost diferenciacce buněk (negativně)**

Velikost genomu ovlivňuje komplexitu mozku

Ocasatí obojživelníci mají jednodušší mozek než většina žab a ostatní obratlovci

- U obojživelníků byla testována korelace mezi velikostí genomu a komplexitou mozku
- Druhy s velkým genomem -> velké buňky - > jednodušší mozek
- Obojživelníci mají ancestrálně malé genomy – genom nezávisle mnohokrát zvětšen -> sekundární zjednodušení mozku



Bombina orientalis
(velké buňky – jednoduchý mozek)

vs.

Xenopus laevis
(malé buňky – komplexní mozek)



Salamandra salamandra



Thorius narisovalis

Nejjednodušší mozky
mají malé druhy mloků



Je známo, že ocasatí obojživelníci mají jednodušší mozek než např. žáby a ostatní obratlovci. Roth et al. porovnávali komplexitu mozku a velikost genomu u žab a ocasatých, a zjistili, že velikost buněk u žab negativně koreluje s komplexitou mozku, neboli čím větší genom (a tedy i buňka), tím jednodušší je mozek. Důvodem zřejmě je, že z velkých buněk při zachování velikosti těla nelze poskládat komplexní mozek. U ocasatých obojživelníků mají nejjednodušší mozky nejmenší druhy salamandrů.

Roth et al. 1994

Miniaturizace těla a velikost jádra

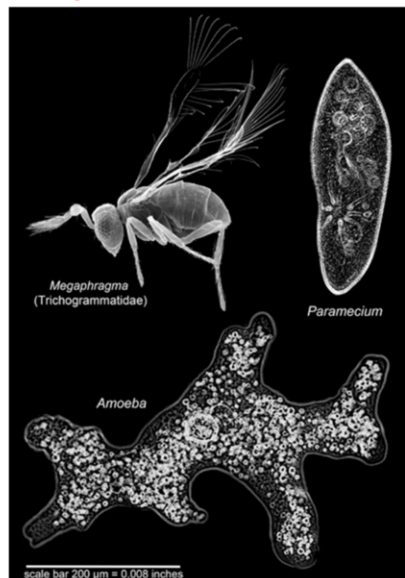
Megaphragma mymaripenne (Blanokřídli)

Jeden z nejmenších létajících druhů hmyzu (0,2 mm)

-Larva se vyvíjí ve vajíčkách třásněnek (maličká ->miniaturizace)

-Během metamorfózy zmenšení objemu těla

-asi 100x méně neuronů než včela, 95 % neuronů bezjaderných



Velikost mozku je při miniaturizaci těla limitujícím faktorem, protože počet buněk musí být dostatečný, aby umožnil příjem a zpracování smyslových vjemů, řídil komplexní chování, atd., takže počet buněk lze redukovat jen do určité míry. Zároveň je velikost buněk ovlivněna velikostí genomu a tím jádra, které u některých druhů hmyzu zabírá až 90% neuronu.

Megaphragma mymaripenne je parazitická vosička (Hymenoptera), třetí nejmenší druh létajícího hmyzu (0,2 mm) srovnatelný svou velikostí s jednobuněčnými organismy (na obrázku s trepkou velkou, *Paramecium caudatum*, a měňavku velkou, *Amoeba proteus* ve stejném měřítku). Larva se vyvíjí ve vajíčkách třásněnek, imago žije cca 5 dní. Během přeměny na imago dochází k výraznému zmenšení objemu těla včetně nervové soustavy, která je tvořena o dva řády menším počtem neuronů než např. u včely. Navíc je 95% zbaveno jádra, což umožňuje další zmenšení.

Polilov 2012

Malý genom -> rychlejší metabolismus

Ptáci mají menší genom než savci – vliv metabolismu?

Ptáci

- > dobří letci -> malý genom
- > špatní letci -> variabilní velikost



Savci

- > netopýři -> malý genom
- > ostatní savci -> větší a variabilní velikost



Pravděpodobné vysvětlení:

- Malý genom -> malá buňka -> velký poměr povrch/objem buňky
- > lepší výměna plynů -> rychlejší metabolismus výhodný při aktivním způsobu života



Mechanismus: redukce délky intronů, množství transpozonů...

Měřením genomů se ukázalo, že v rámci amniot mají ptáci a plazi průměrně menší genomy než savci. Společný předek skupiny Sauropsida (plazi a ptáci) měl menší genom než společný předek savců, čili malý genom byl přítomen ještě před vznikem letu, ale u létajících druhů došlo k další redukci. Důvodem je patrně potřeba rychlého metabolismu, spojeného s aktivním letem, pro který jsou výhodné malé buňky. U těch je totiž větší povrch vůči objemu výhodnější poměr povrch/objem, což umožňuje rychlejší výměnu plynů.

Teorii o vlivu aktivního letu na redukci genomu podporuje i fakt, že v rámci savců mají malý genom netopýři.

Wright et al. 2014

Zhang a Edwards 2012

Extrémní genomy: miniaturní genom eukaryotických parazitů - Encephalitozoon

E. cuniculi

2,9Mb

1999 genů

Parazitická spájkivá houba (mikrosporidie)
Encefalitozoonóza králíků

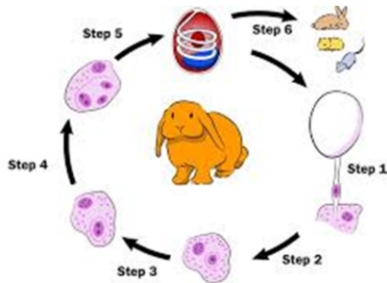
E. intestinalis

2,3Mb

1833 genů

Vznik redukcí genomu *E. cuniculi*

-Některé parazitické organismy jsou jednodušší než jejich neparazitické předkové
-Zjednodušování je spojeno se ztrátou genů



Shrnutí

- Endosymbiotický původ eukaryotických organismů a organel s vlastními genomy
- Organismy mají různě velké genomy, neodpovídá komplexitě těl → paradox C
- Mechanismy změn velikosti genomu: polyploidizace, indely, expanze repeticí a TE → vše významné v evoluci genomu a speciaci
- Důsledky zvětšeného genomu: velké buňky, zjednodušení orgánů, pomalejší metabolismus, pomalé dělení buněk → selekce na malé genomy u ptáků a letounů
- Evoluce karyotypu – velikost, tvar a počet chromosomů
- Strukturní aberace chromosomů – inverze – role ve speciaci