

Eduard Kejnovský + Roman Hobza

EVOLUČNÍ GENOMIKA:

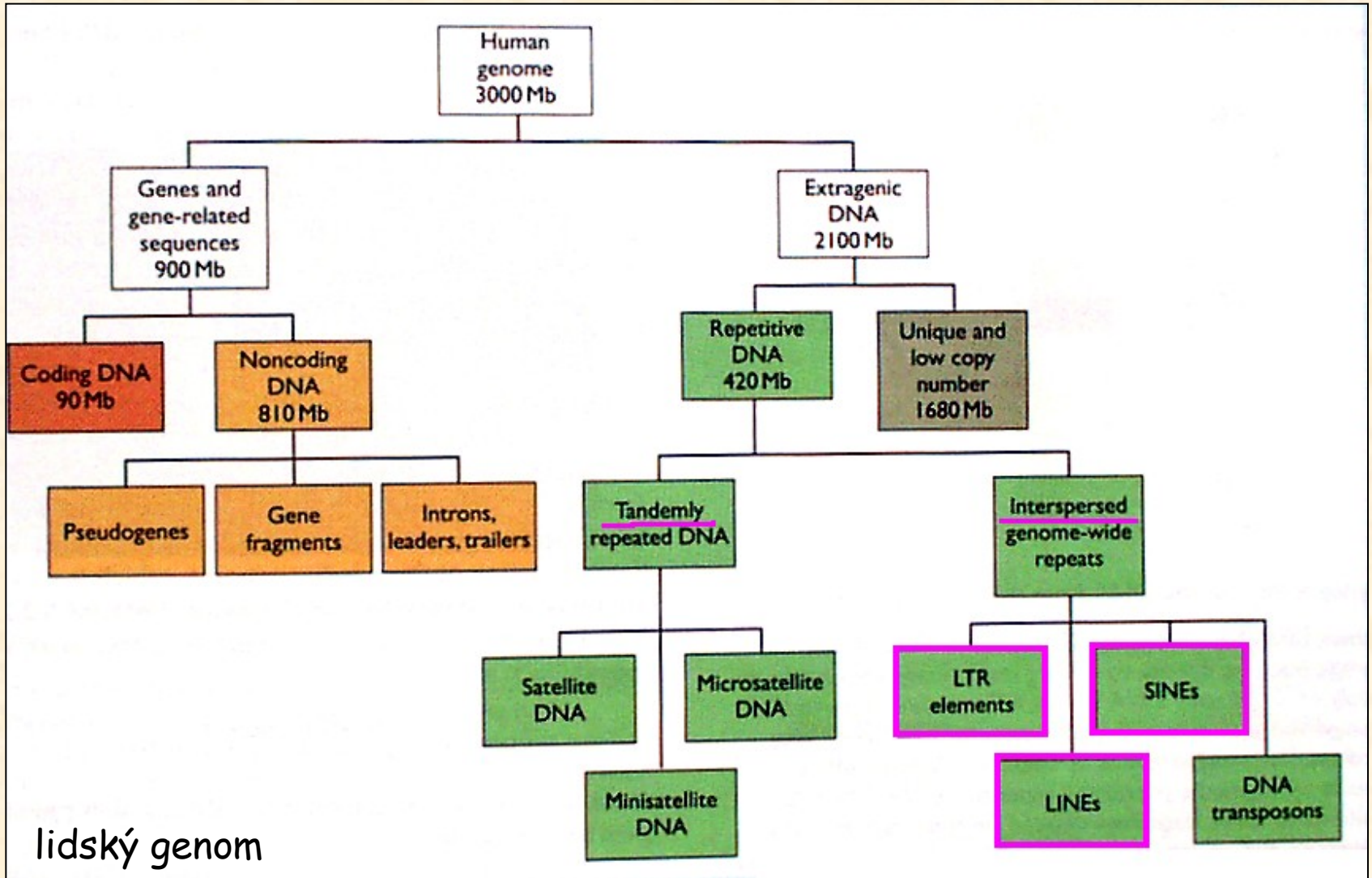
V. DYNAMIKA GENOMŮ



OSNOVA

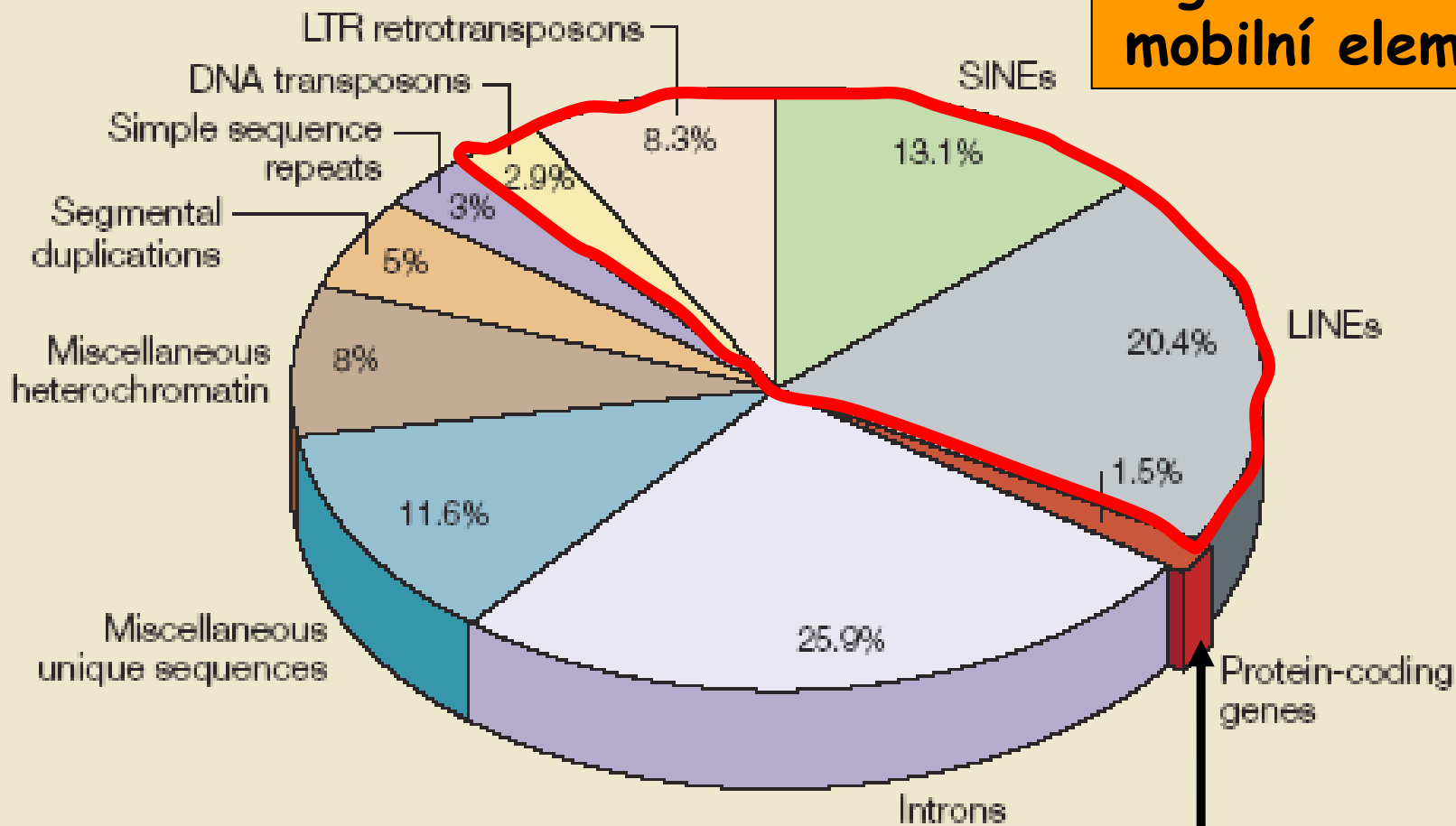
1. Retroelementy a retrotranspozice
2. Základní typy retroelementů
3. DNA transposony
4. Chromosomální distribuce transposonů
5. Funkce transposonů
6. Transposony užitečné pro hostitele: Domestikace TE
7. Explosivní amplifikace transposonů v evoluci savců
8. Tandemové repetice
9. Promiskuitní DNA

Podstatnou část genomů tvoří opakující se úseky DNA (**repetice**)



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

20 až > 1 500 000 kopií

Eukaryotické genomy: geny plovoucí po moři retrotransposonů

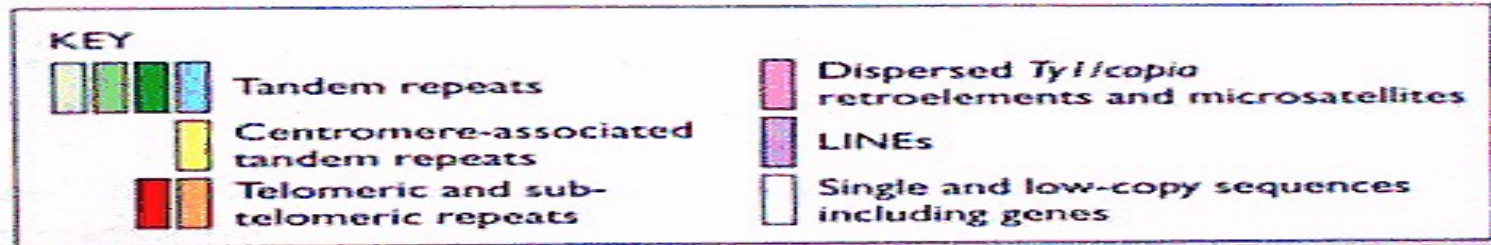
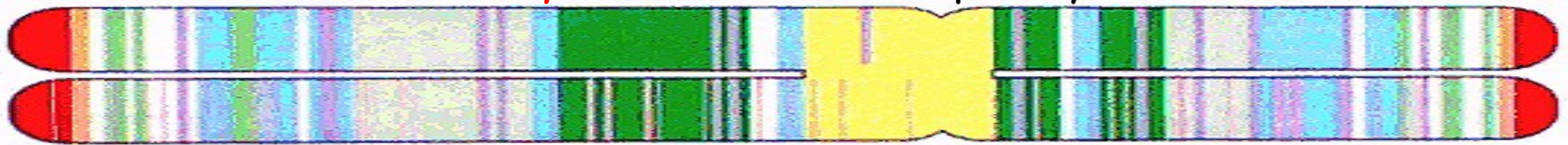
Endogenní retroviry - otisky dávných infekcí primátů

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?



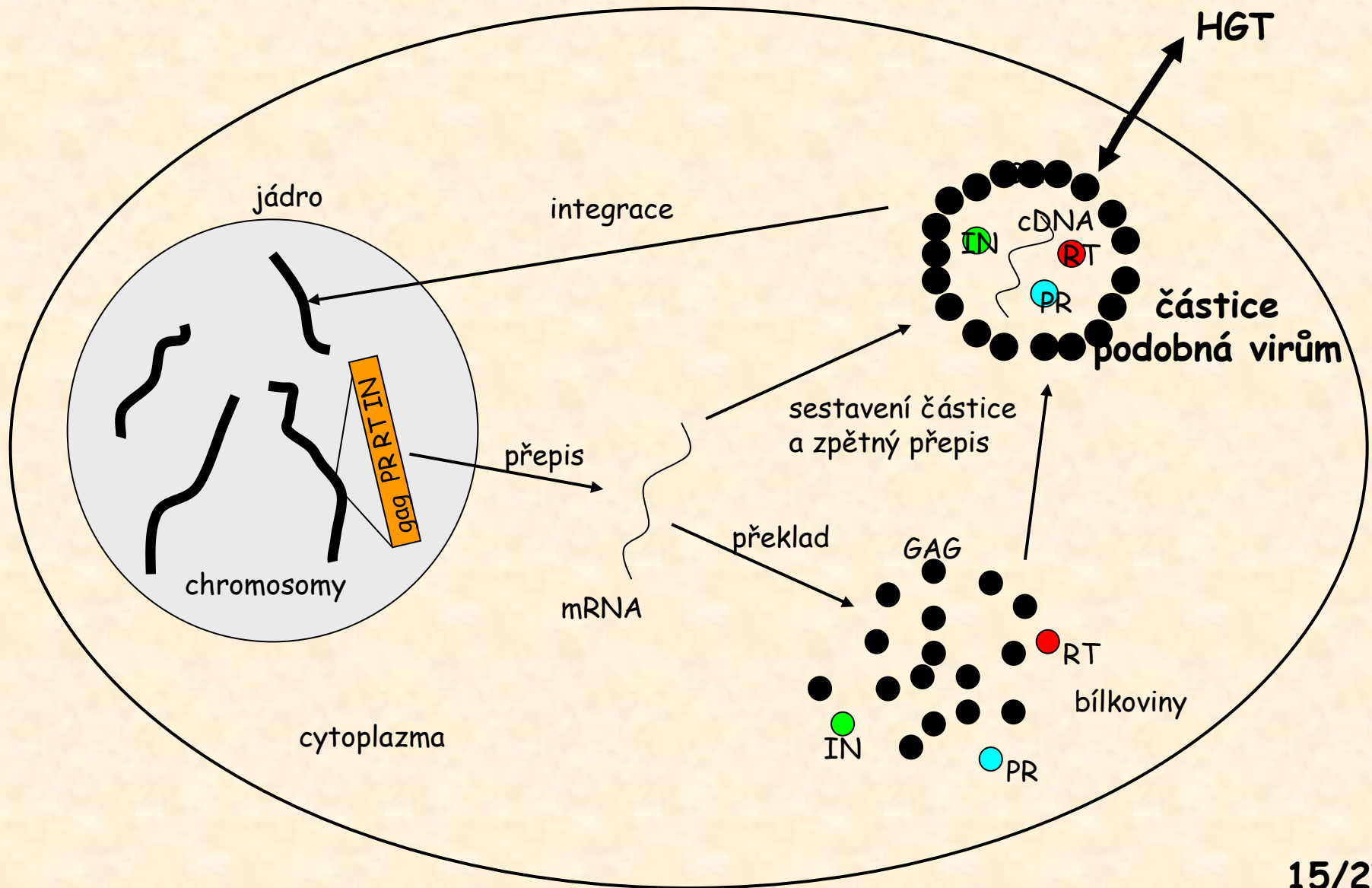
RETROELEMENTY A RETROTRANSPOZICE

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.

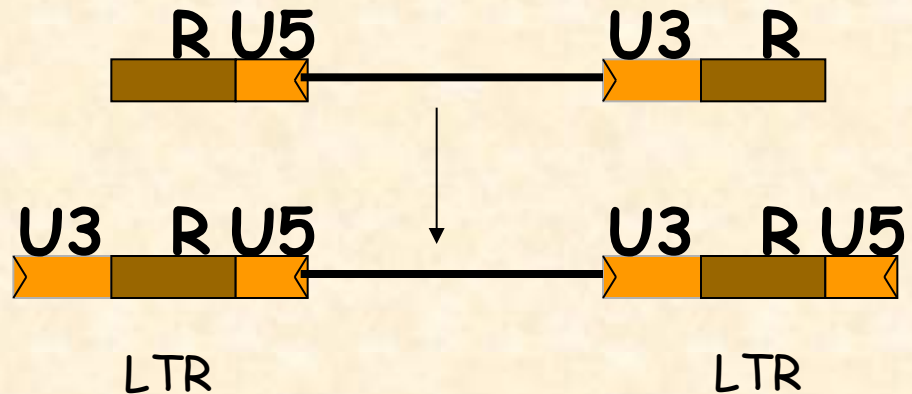
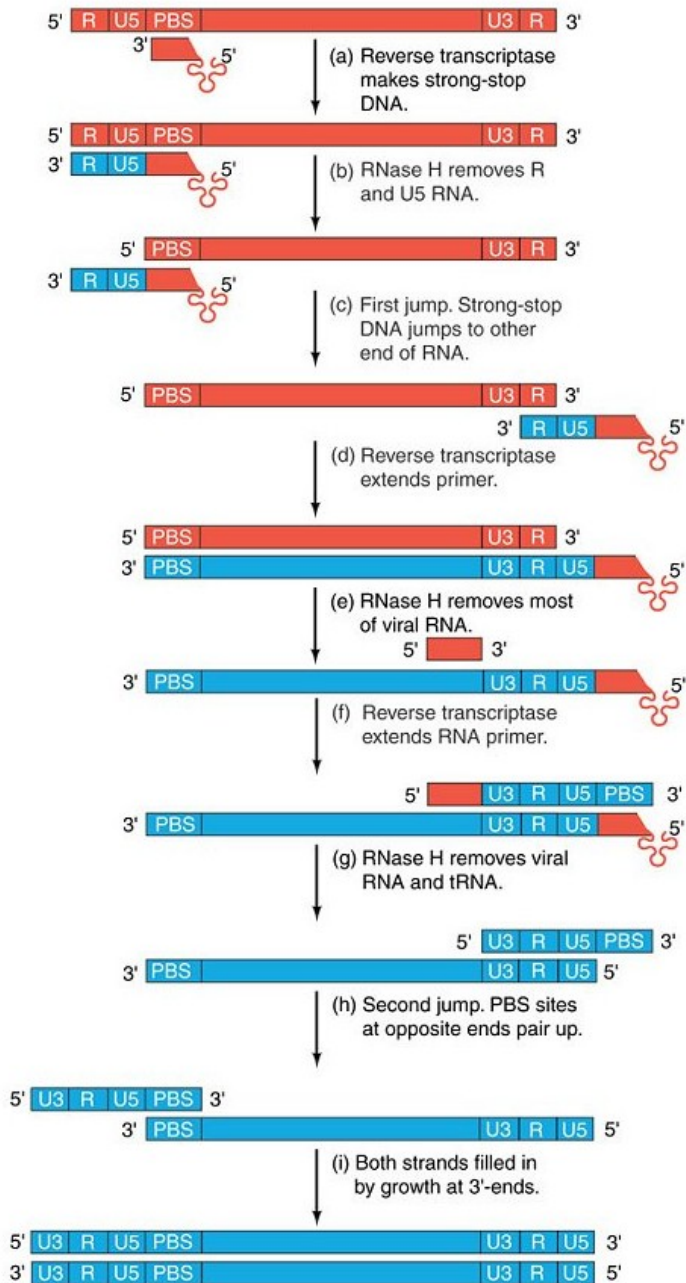
Jsou retroelementy relikty světa RNA?
Podporuje to jejich struktura, konzervativní mechanismus replikace a všudypřítomnost.

Životní cyklus LTR retrotransposonů



Reverzní transkripce

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



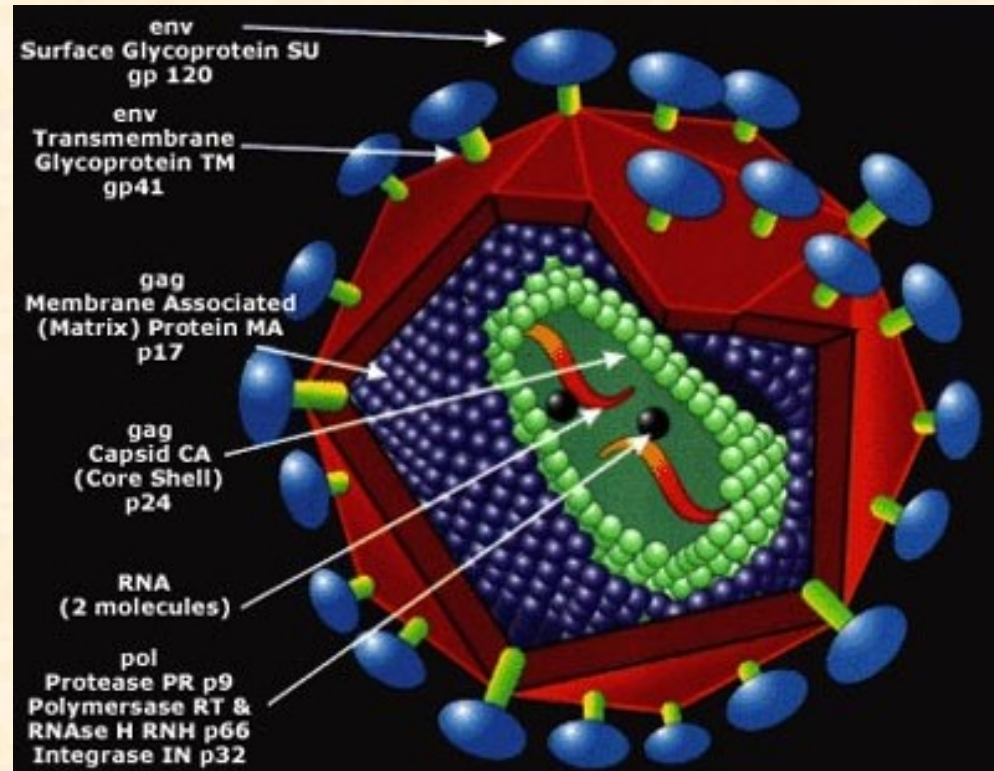
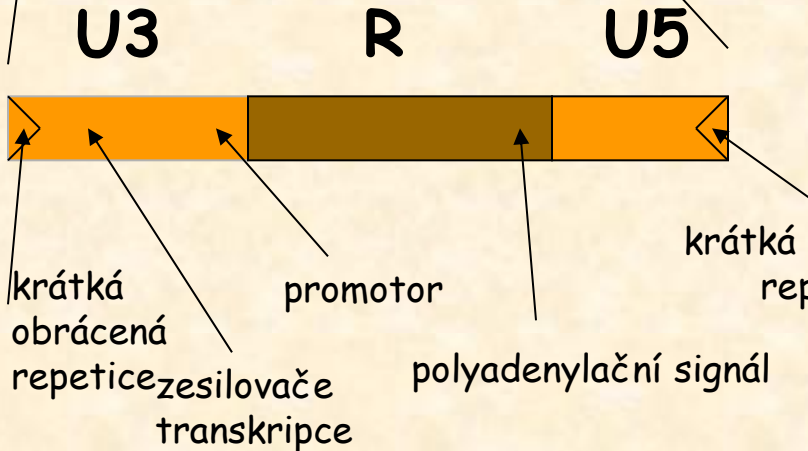
ZÁKLADNÍ TYPY RETROELEMENTŮ

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:



- 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)

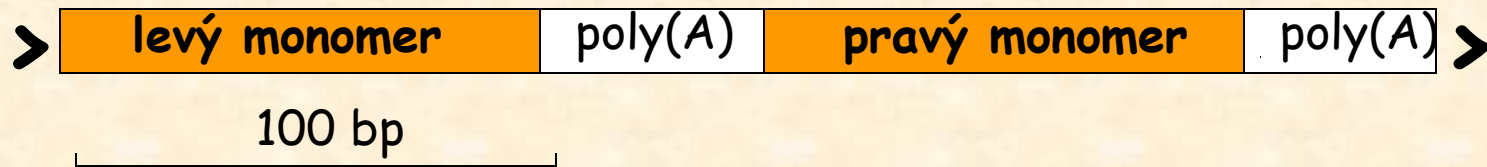
(a) LINE (L1):



1 kb

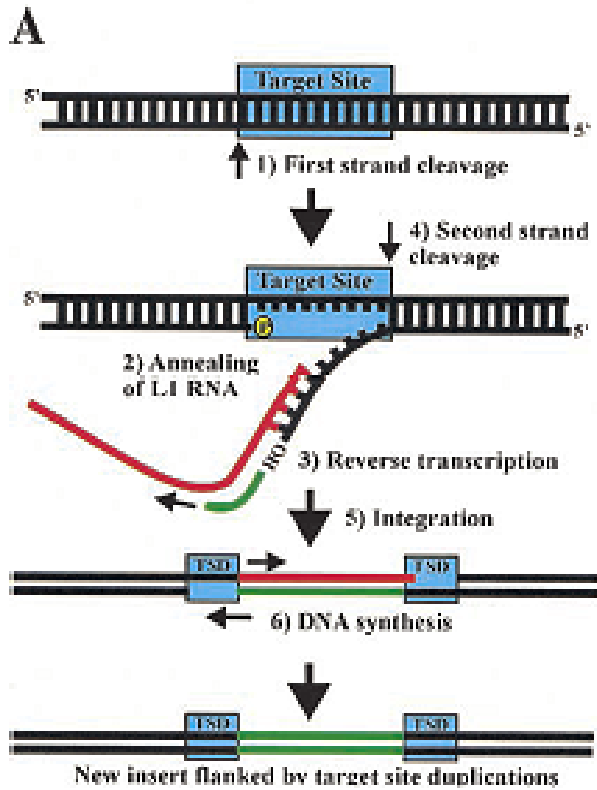
ORF1 protein vážící RNA
EN doména kódující endonukleázu
RT doména kódující reverzní transkriptázu
5'UTR netranslatovaná oblast na 5' konci
3'UTR netranslatovaná oblast na 3' konci
poly(A) polyadeninový úsek
> přímé repetice

(b) SINE (sekvence Alu):

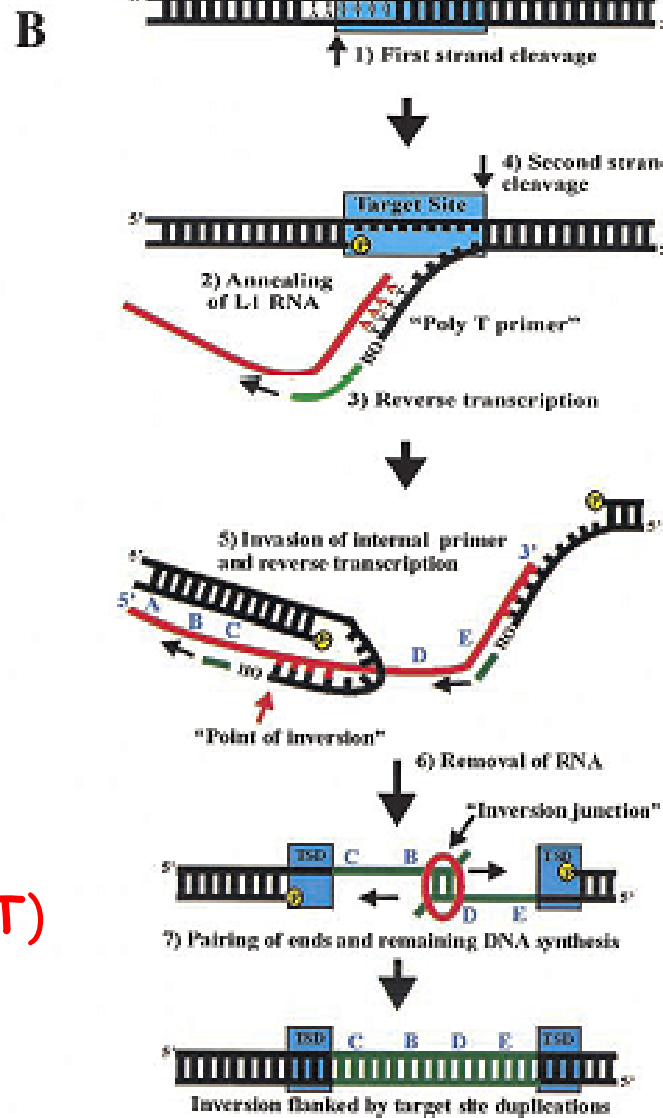


Včleňování LINE elementů

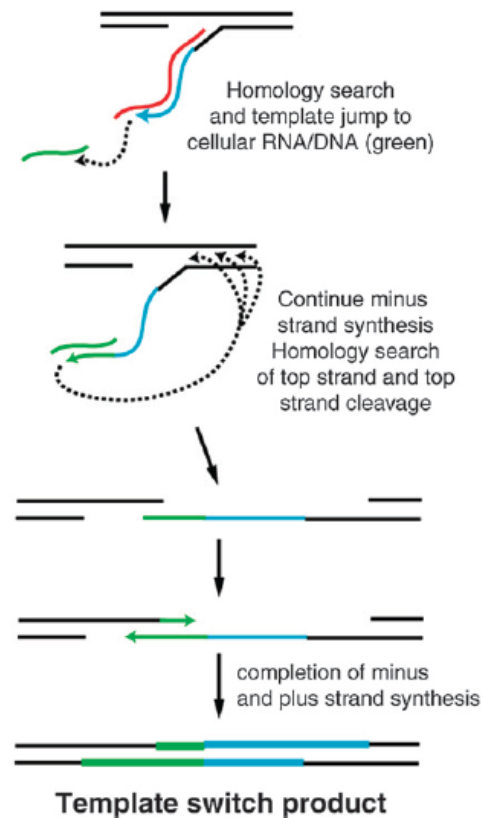
Twin priming:
mechanismus tvorby inverzí



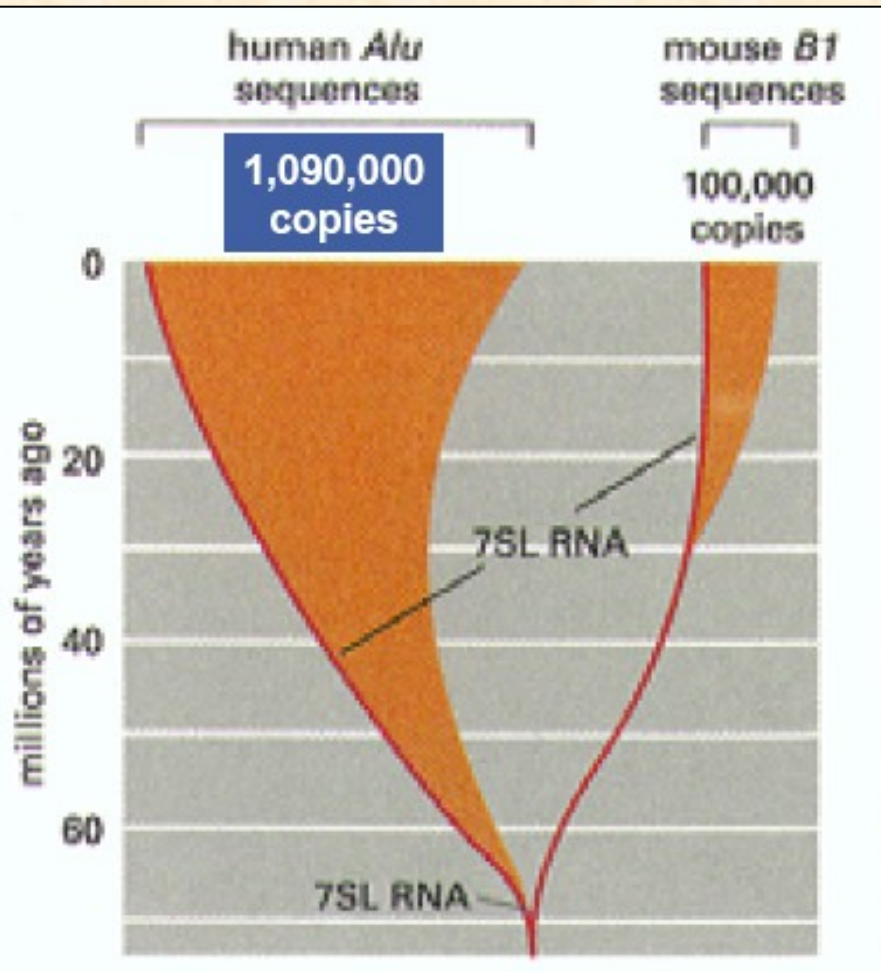
TPRT (target-primed RT)



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 inserce - u každého 200 narozeného jedince

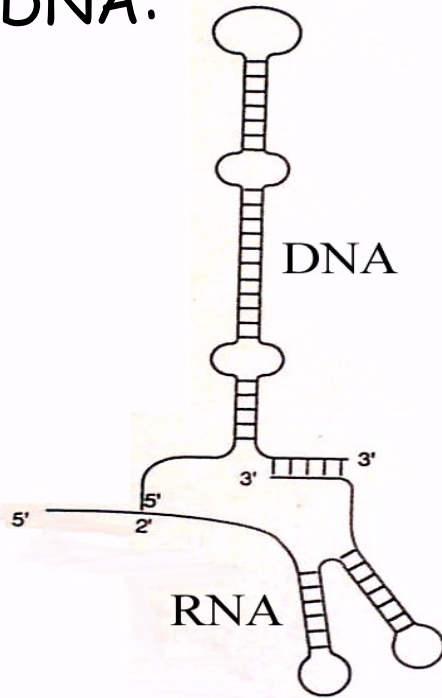
- transkripce z promotorů RNAPolIII (uvnitř oblasti)

- 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:

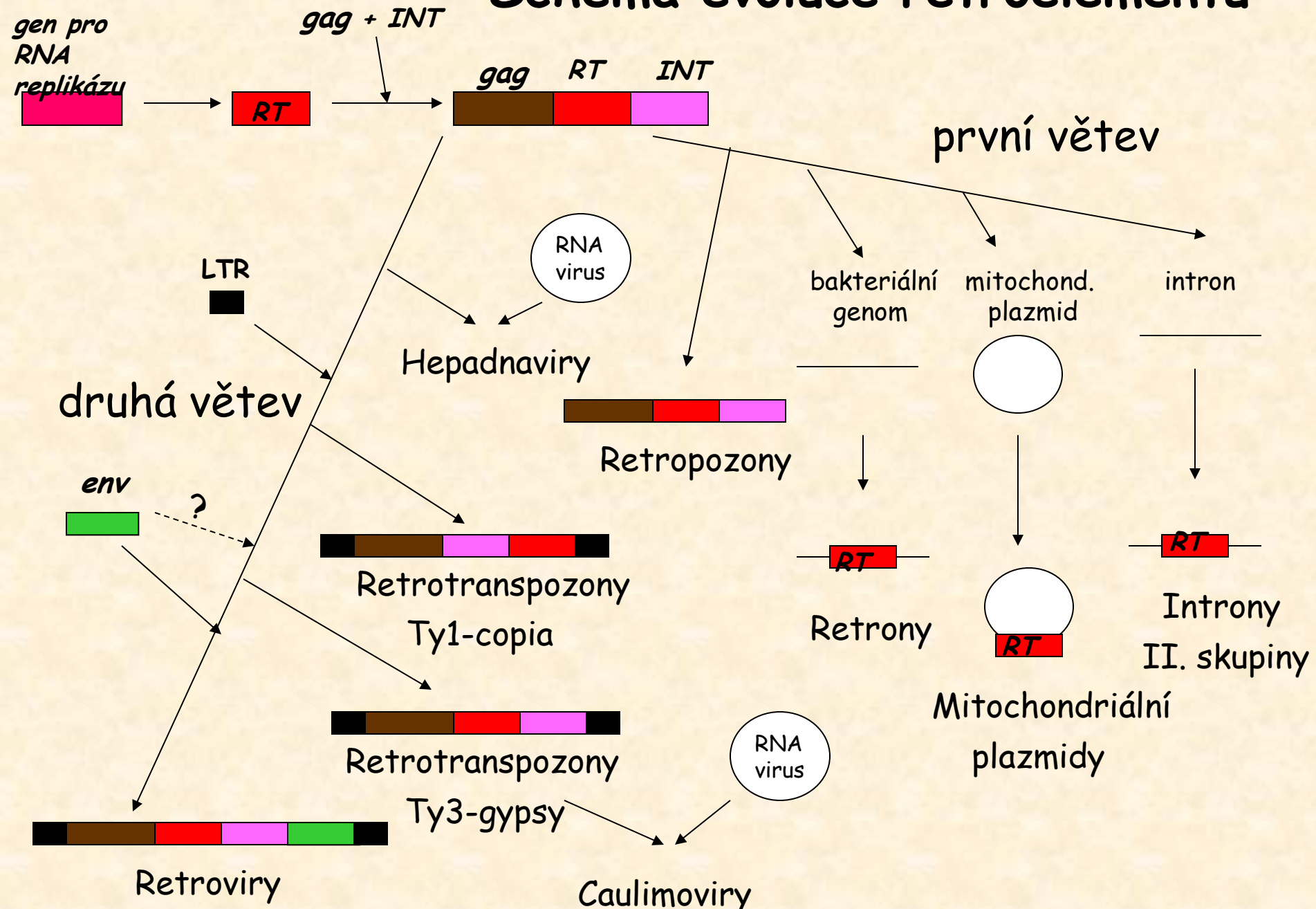
1. Kódují **jediný RT protein** s jedinou enzymatickou aktivitou (doménu).

Ostatní aktivity (proteáza, integráza, endonukleáza) retroelementy v průběhu evoluce získaly **od hostitele** (jako onkogeny retrovirů)

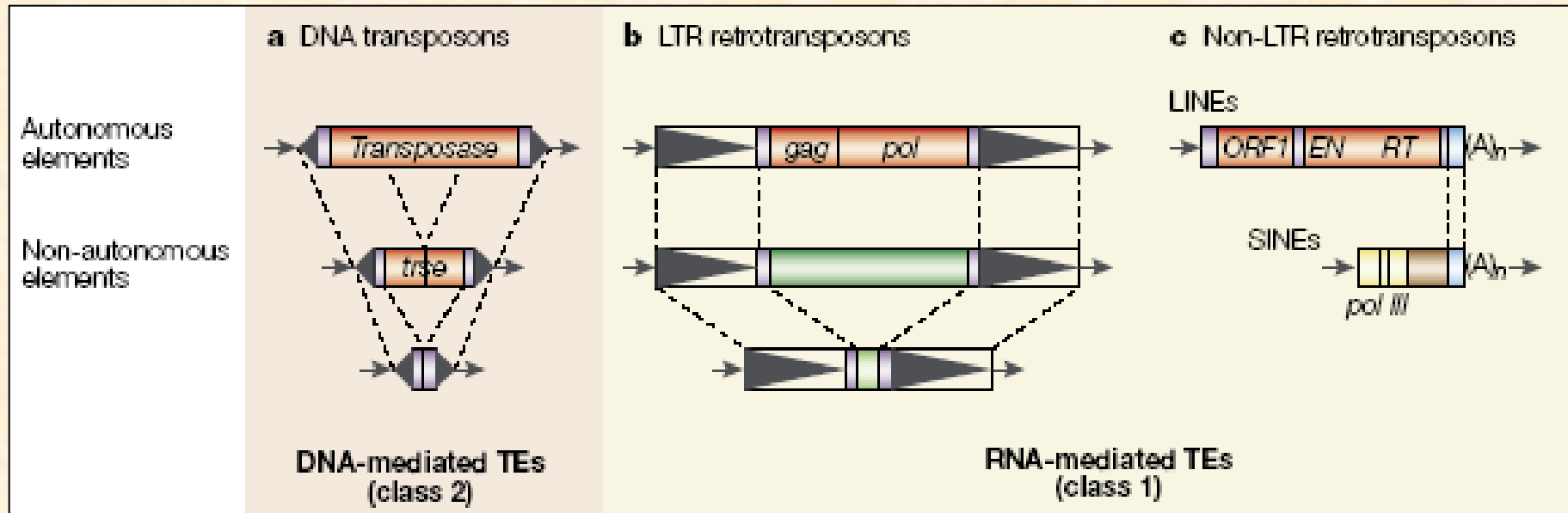
2. RT prokaryot provádí syntézu **nezávislou na primeru** podobně jako RNA polymeráza (předchůdce RT)

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:

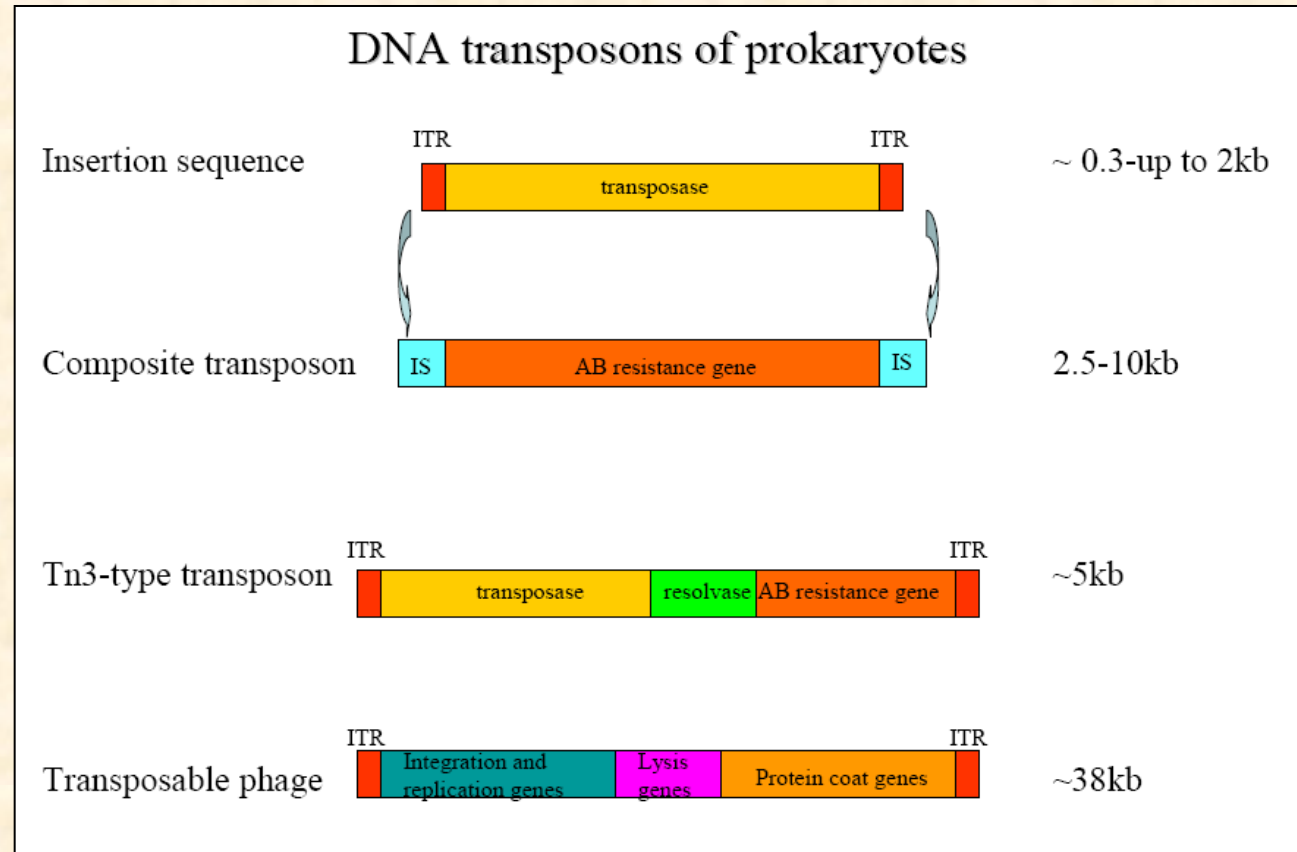
- přílišná úspěšnost neautonomních vede k záhubě
- titrace transpozázy neautonomními vede k omezením aktivity
- inhibice nadprodukcí
- **koevoluce A a N** řízena kompeticí o RT
- koevoluce endogenních a exogenních retrovirů - rezistence k infekci
- další mechanismy restrikce: metylace a heterochromatinizace

DNA TRANSPOSONY

DNA transposony

1. Prokaryotické:

- IS elementy
- Tn elementy_

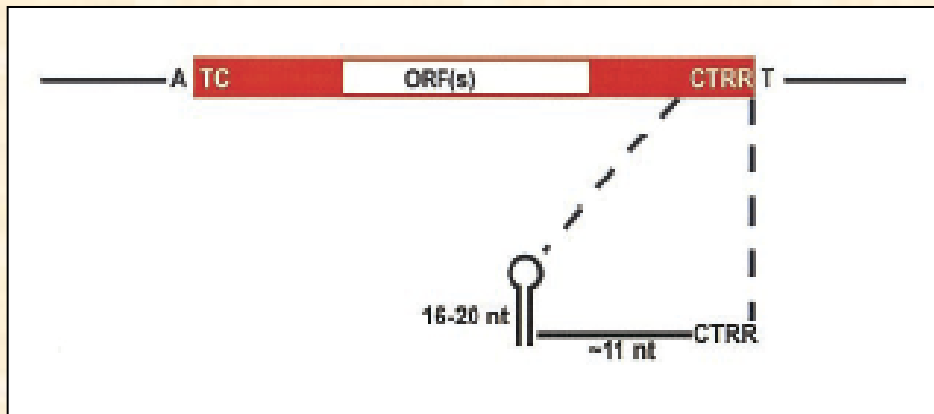


2. Eukaryotické:

- 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 mechanismem 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 inserce do AT dinukleotidu
- začínají 3'-AT a končí CTRR-5', nemají TIR
- konzervace palindromu před 3'CTRR (sekvence není konzervativní)
- většina elementů je neautonomní (0.5-3kb), vzácné dlouhé Helitrony (5.5-15kb)
- kódující proteiny pro RC replikaci: helikázu (HEL), nukleázu/ligázu a proteiny vážící jednořetězcovou DNA (RPA)
- mechanismus tvorby neautonomních elementů nejasný
- Helitrony jako evoluční spojovník mezi prokaryotickými RC elementy a geminiviry (potomci geminivirů integrovaných do genomů časných eukaryot)

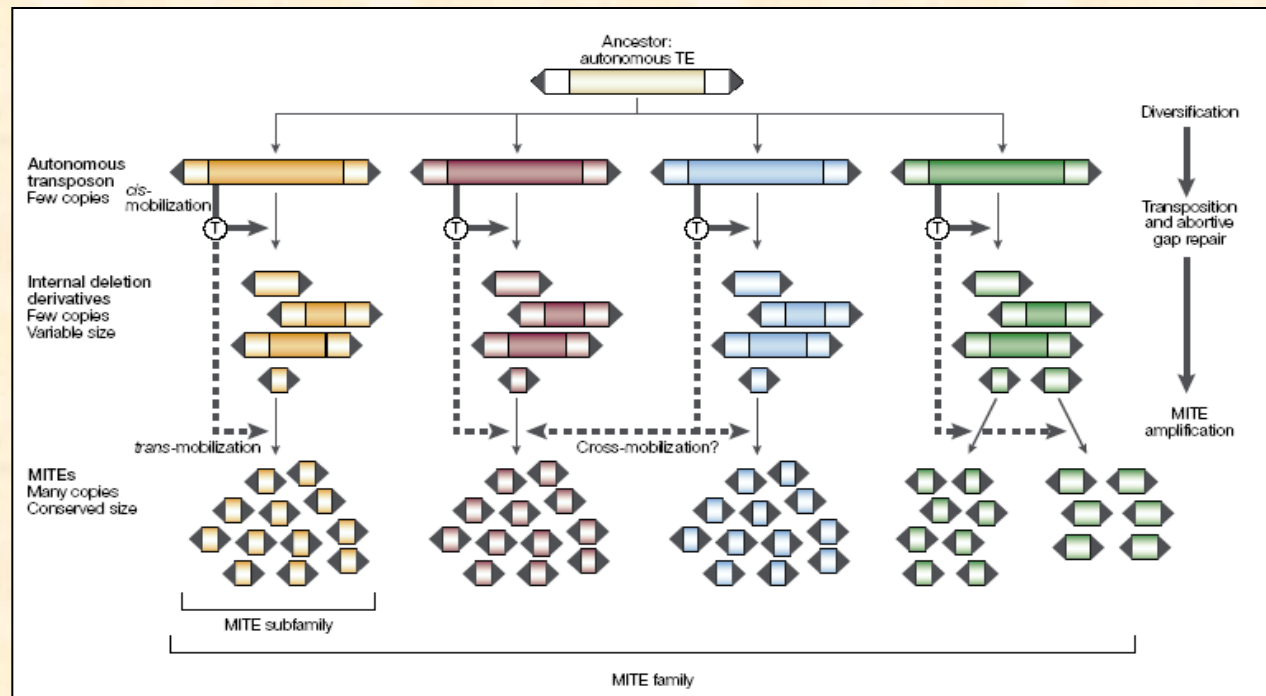


MITE elementy

- 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)

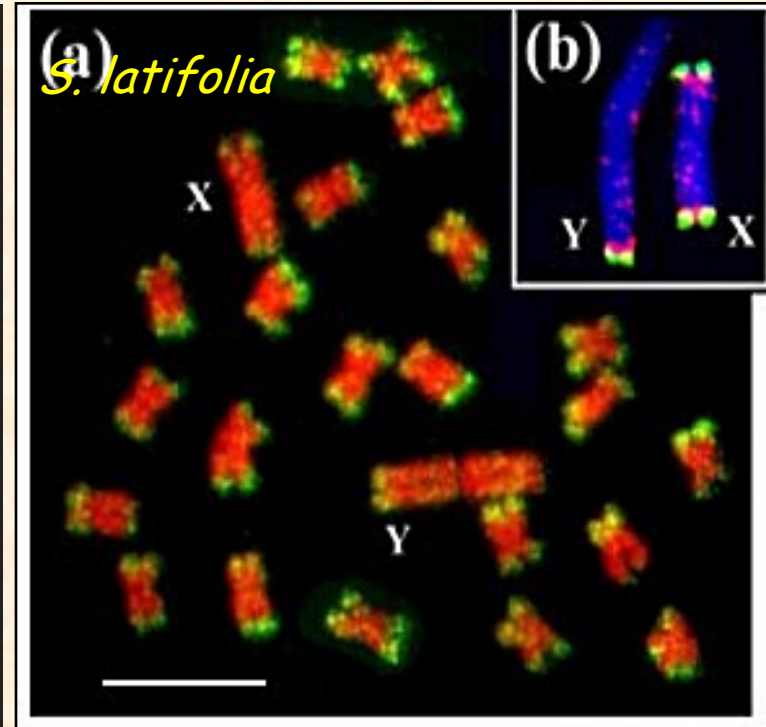
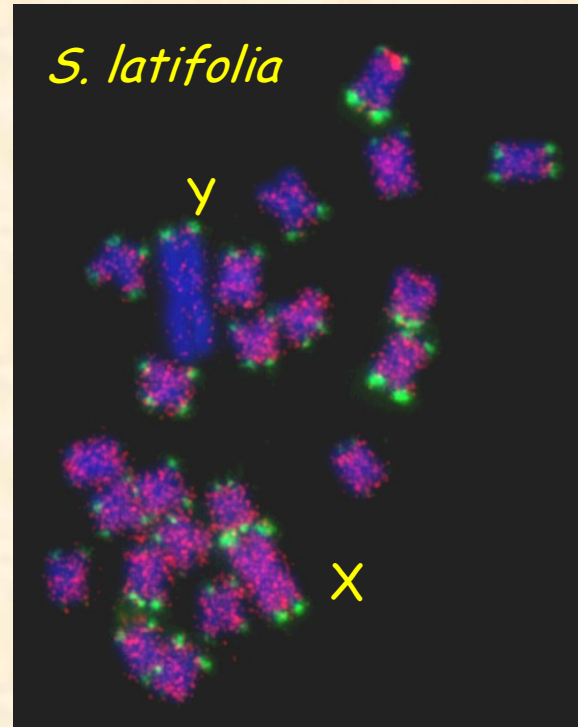
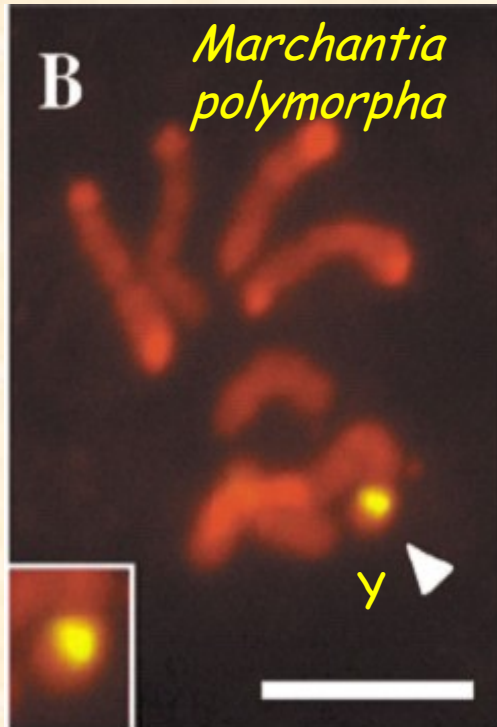


CHROMOSOMÁLNÍ DISTRIBUCE TRANSPOSONŮ

Chromozomální distribuce retroelementů

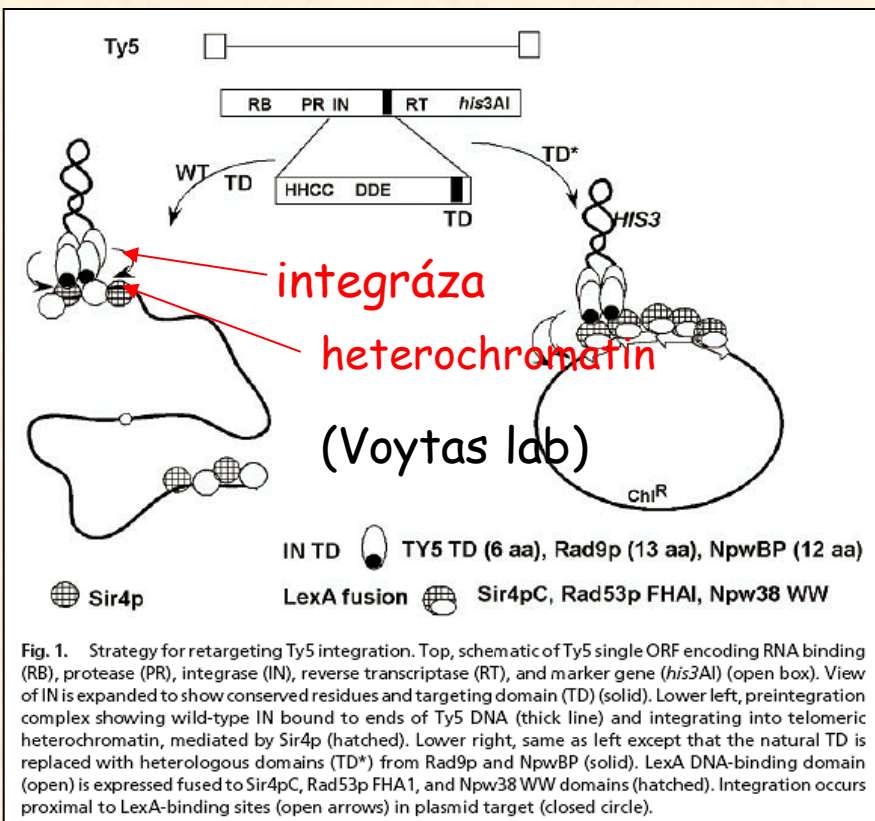
Selekce nebo cílené včleňování?

- 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*

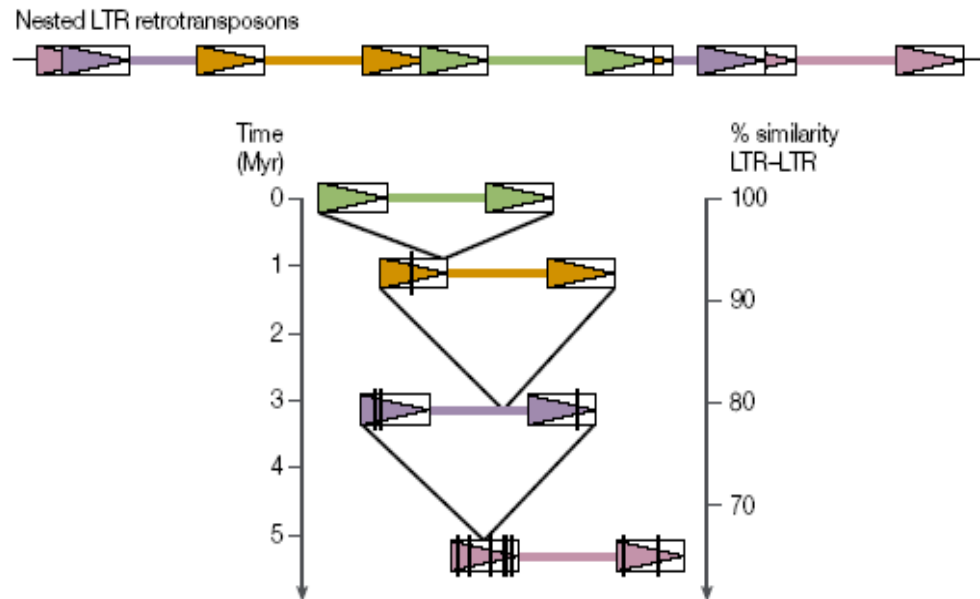


Inzerční specifita a inzerce retroelementů do heterochromatinu

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



Inzerce retroelementů do již existujících retroelementů



Metoda „transposon display“ - detekce nových inzercí transposonů

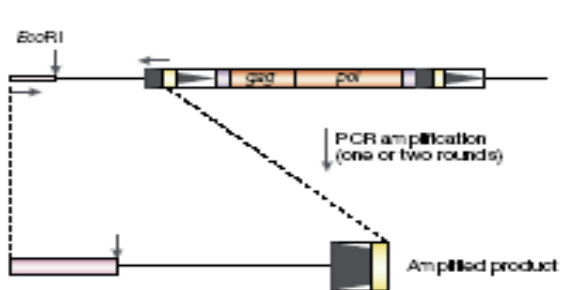
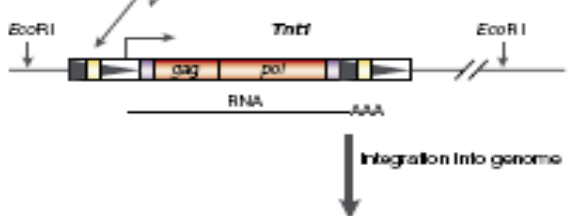
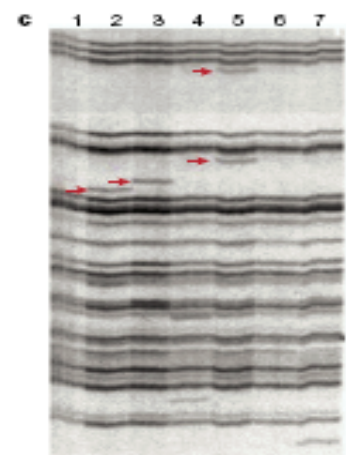


Figure 4 | Detection of new genomic insertions by transposon display. The transposon-display technique for detecting new transposable element (TE) insertions is illustrated through the use of an example of stress-induced mobilization of the *Tnt1* retrotransposon in tobacco. a | The isolation of protoplasts 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 LTR². 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 *EcoRI*). 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 replicators.

Nature Vol. 284 17 April 1980

THE object of this short review is to show that selfish DNA, a particular class of DNA, has two distinct properties:

- (1) It arises when a sequence of DNA is copied into a new copy of the genome.
- (2) It makes no sense to the organism. This idea is not new. It was first proposed by R. C. Lewontin in 1974. It is sketched in *The Selfish Gene* (pp. 39–45) after P. M. Heron, based on a Symposium on the evolution of selfish DNA, which shows that it was first proposed by R. C. Lewontin and one of his colleagues.

REVIEW ARTICLES

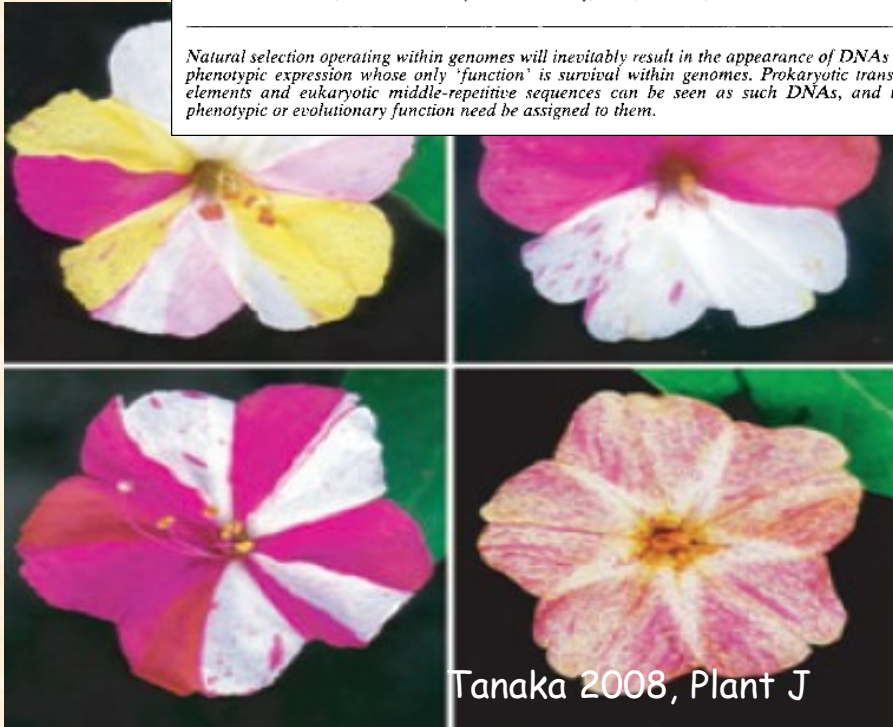
Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution

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

Nature 2006

NEWS & VIEWS FEATURE



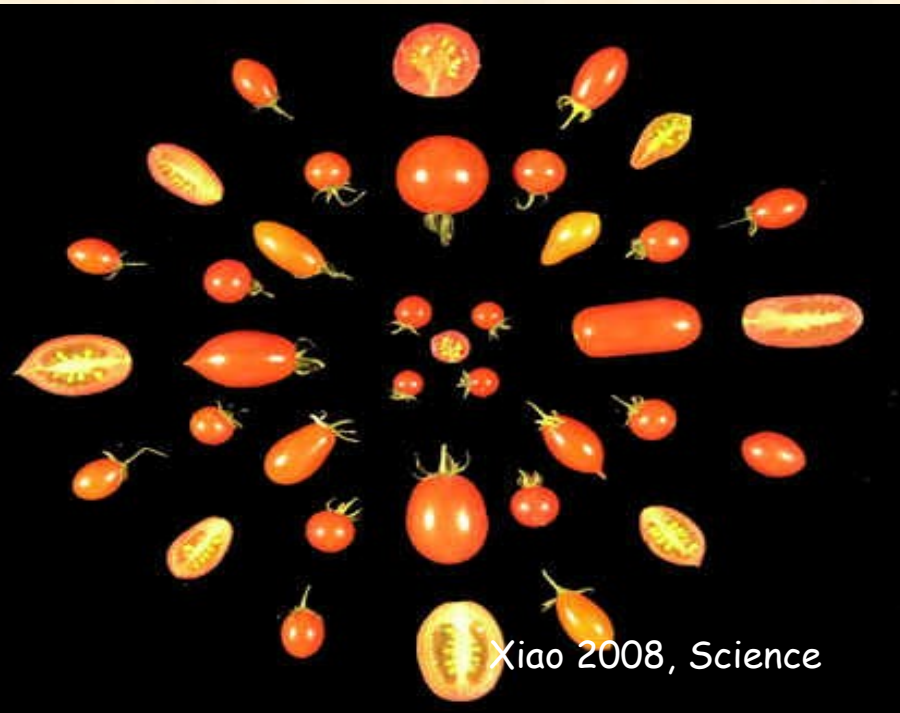
Transposable elements affect maize colour.

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.



Xiao 2008, Science

Transposony: Parazité nebo pomocníci?

hypotézy: parazité x významný činitel v evoluci

Negativní vliv transposonů na hostitele:

- vyplývá z povahy RE (sobecká a parazitická DNA)
- choroby
- mutabilita - stochastické ale regulované „mutageny“

V průběhu evoluce dochází ke **koadaptaci** transposonů a hostitele

Obranné mechanismy

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)

Mechanismy **transposonu**

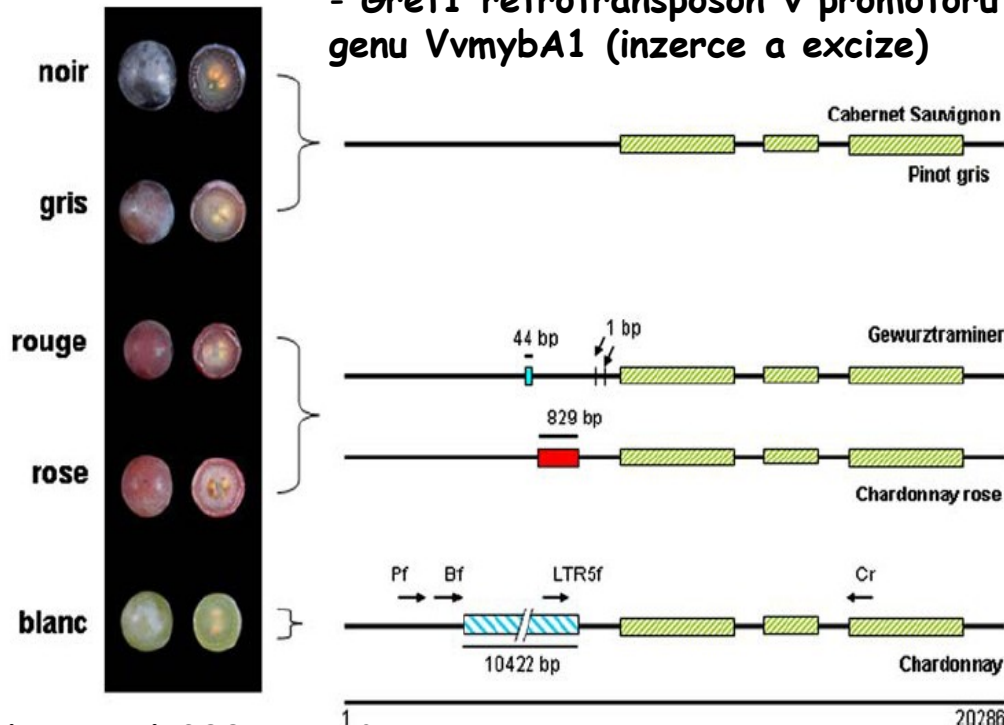
minimalizující jejich vliv na hostitele:

- včleňování do **heterochromatinu**
- **odstraňování** elementů rekombinací

Barva hroznů vína je způsobena transposony



- *Gret1* retrotransposon v promotoru genu *VvmybA1* (inzerce a excize)



This et al 2007, TAG

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

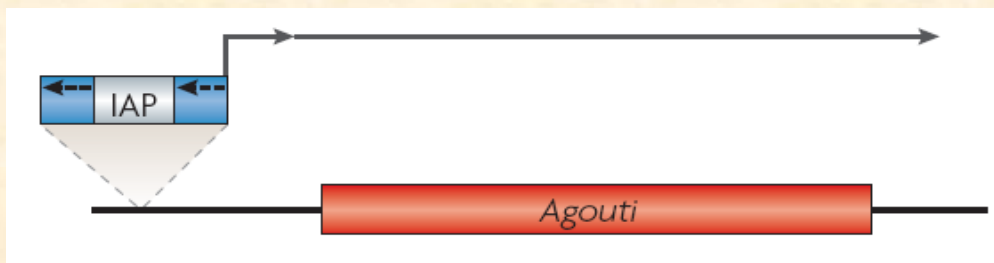
ORIGINAL PAPER

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 myši a epigenetický stav transposonů



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

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*

Retrotransposons as epigenetic mediators of phenotypic variation in mammals

Emma Whitelaw¹ & David I.K. Martin²

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.

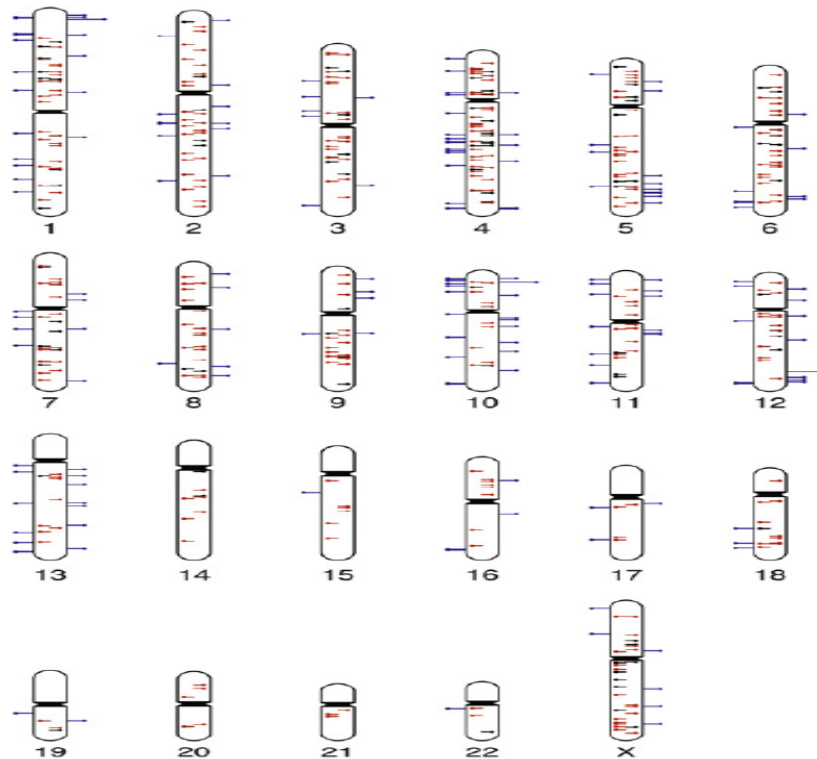
Published in final edited form as:

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^{1,2}, Lisa Huang^{1,2}, Anna M. Schneider³, Yunqi Lu^{1,2}, Tejasvi Niranjan^{1,2}, Peilin Shen³, Matoya A. Robinson¹, Jared P. Steranka^{1,2}, David Valle¹, Curt I. Civin^{4,6}, Tao Wang¹, Sarah J. Wheelan^{4,5}, Hongkai Ji⁵, Jef D. Boeke^{2,4,7}, 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

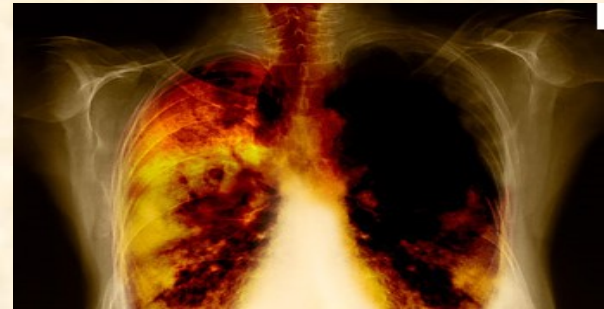


inzerce do tumorsupresorových genů
+ rekombinační přestavby genomu



stárnutí a rakovina

- využití v diagnostice a terapii
- vazebné místo p53 je odvozené z TE



Kejnovský
Vesmír 2013/4

Skákající geny v mozku a v rakovinných buňkách

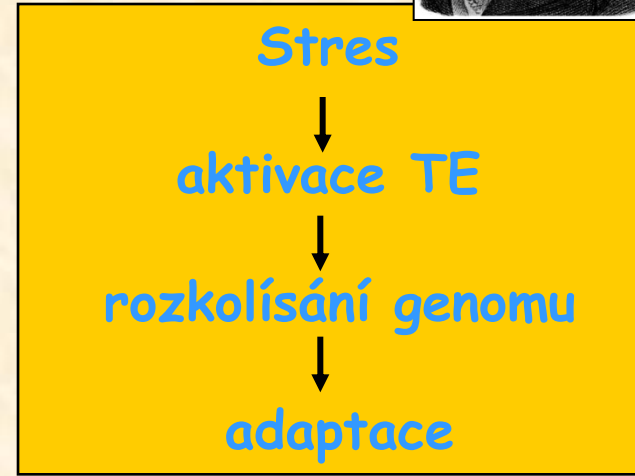
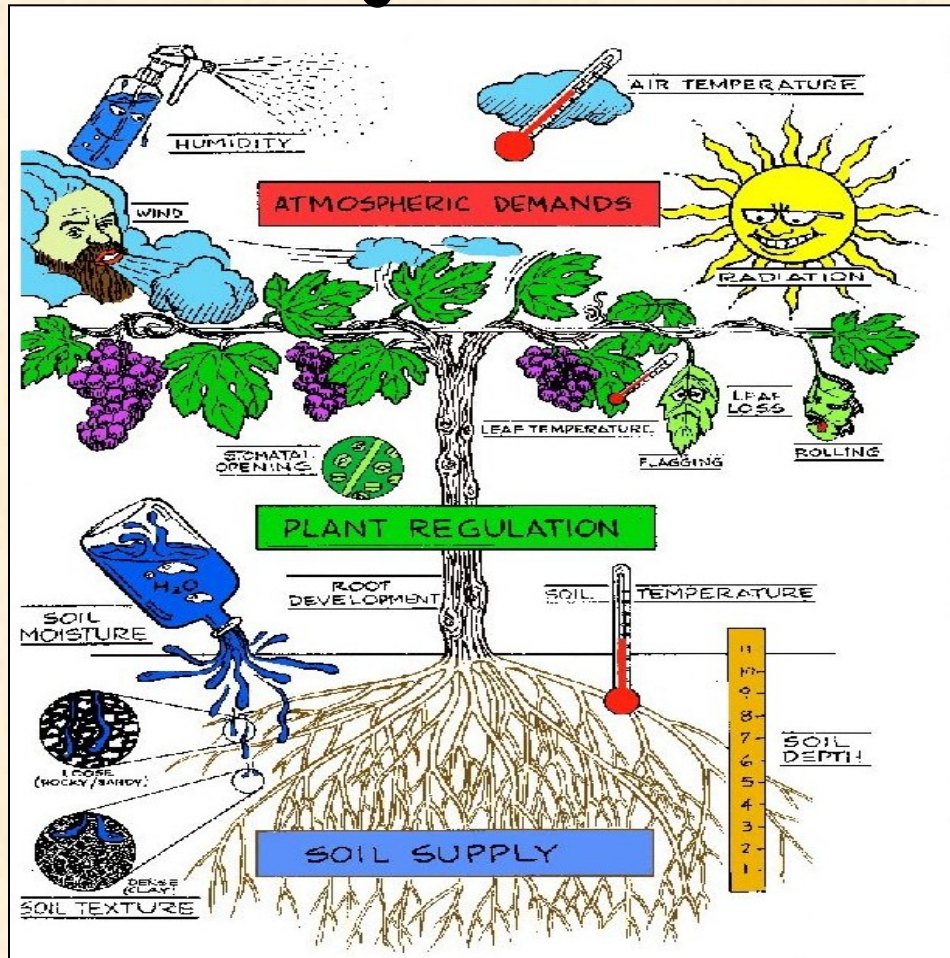
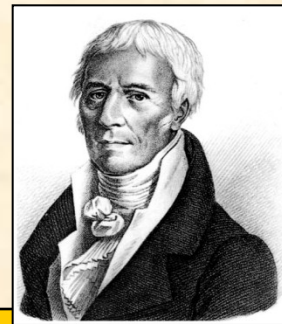
Geny tvoří jen malou část naší genetické informace (genomu). Naopak transposony – úseky DNA přemisťující se po genomu z místa na místo, populárně označované jako „skákající geny“ – představují více než polovinu genomu člověka (viz Vesmír 2000/5, 2009/9). Již desítky let vedou vědci debaty o původu a 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.

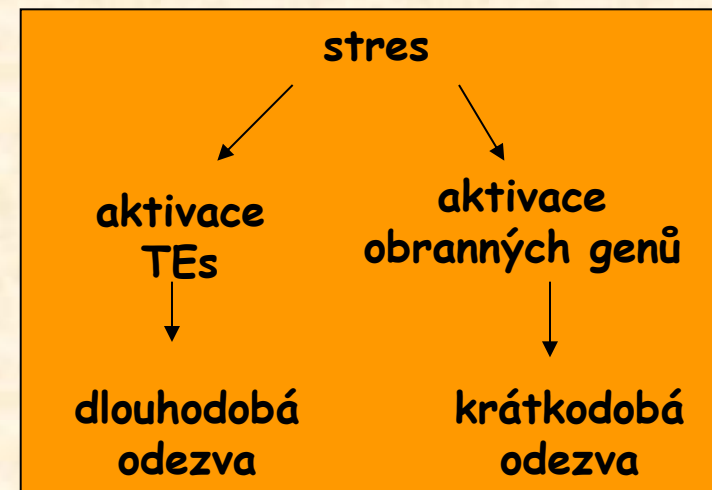
V našem genomu jsou nejpočetnější skupinou transposonů takzvané retrotransposony L1 a Alu, které skáčou do nových míst v genomu prostřednictvím molekul RNA, za-

EDUARD
KEJNOVSKÝ

Aktivace transposonů stresem je běžná u rostlin

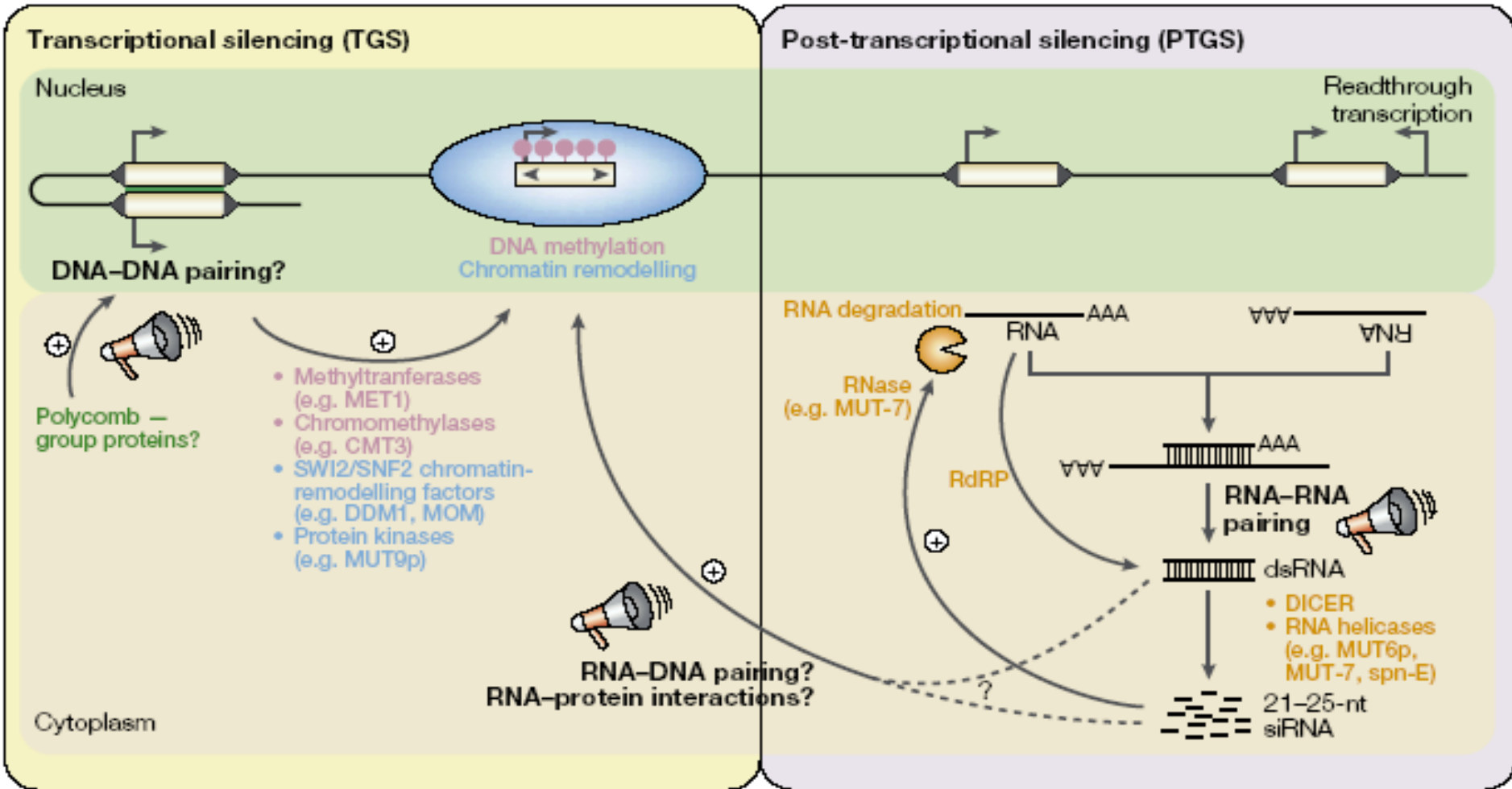


TE + epigenetický kód



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

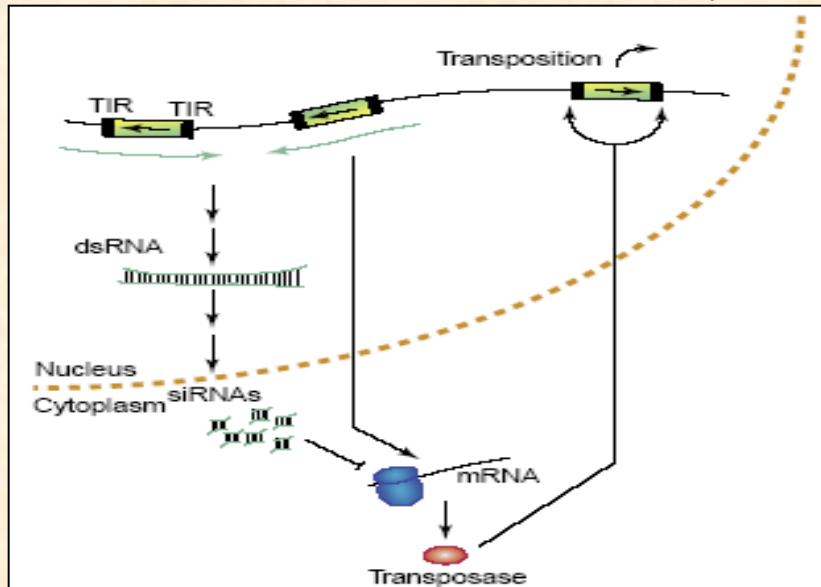
Umlčování transposonů: transkripční i posttranskripční (metylace a RNAi)



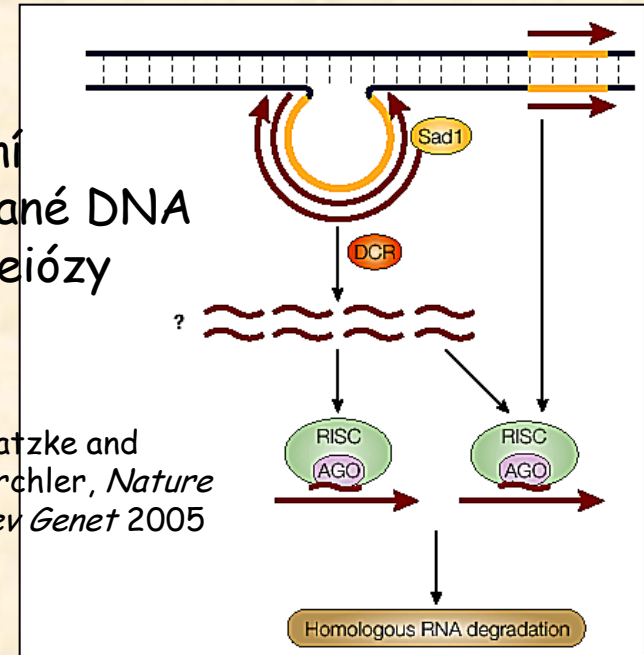
Transkripční umlčování - metylace promotorů TE

Posttranskripční umlčování - sekvenčně specifická degradace RNA v cytoplazmě

Umlčování transposonů mechanismem RNAi

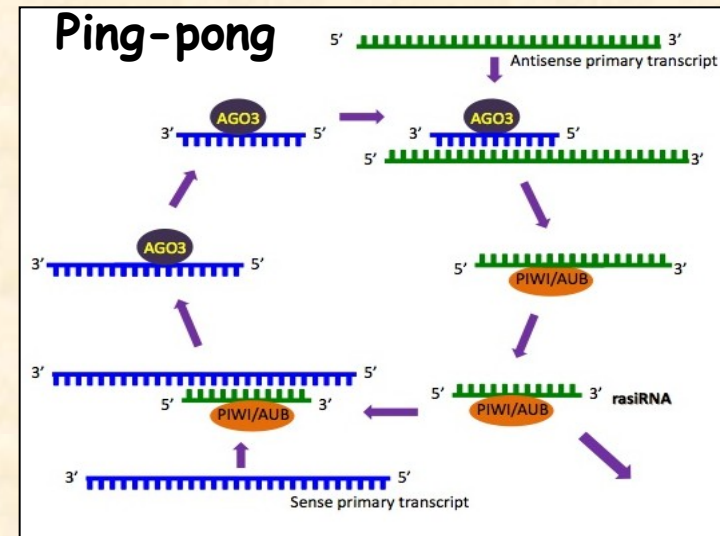
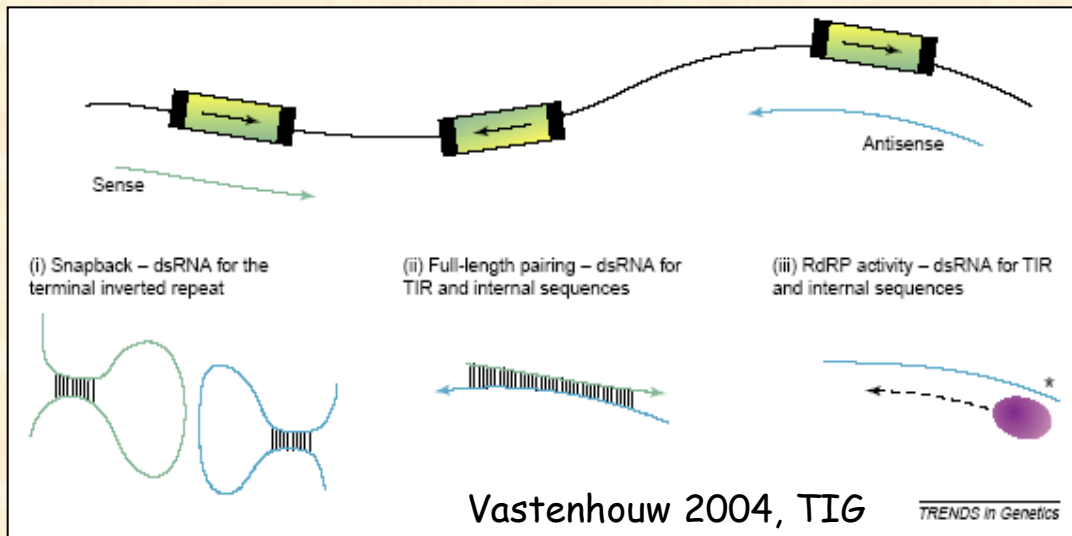


Umlčování nespárované DNA během meiózy



Matzke and Birchler, *Nature Rev Genet* 2005

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

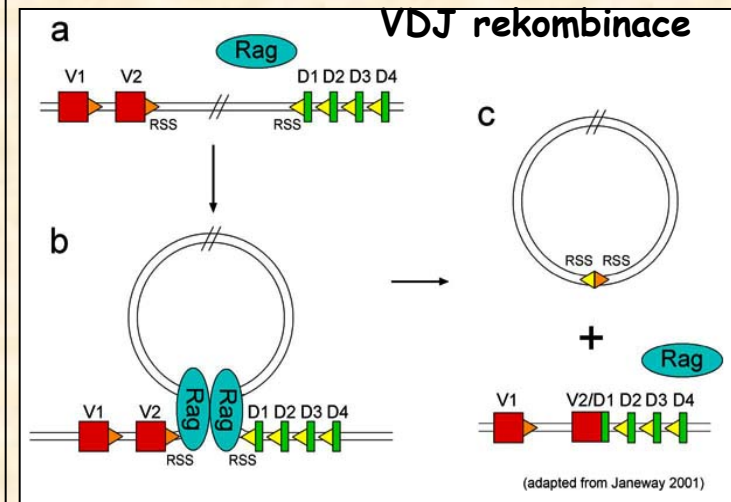
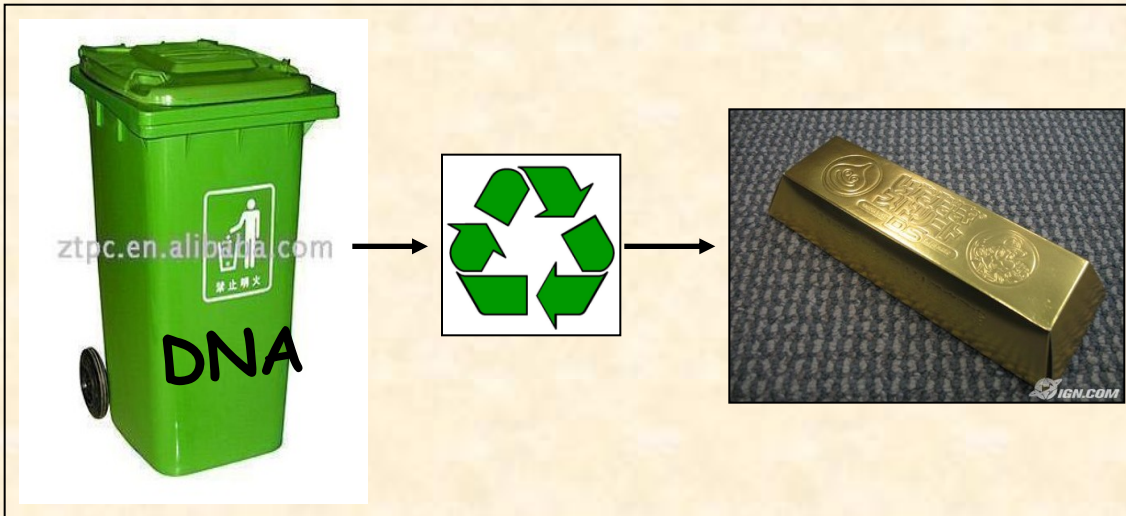


**TRANSPOSONY
UŽITEČNÉ PRO
HOSTITELE**

**DOMESTIKACE
TRANSPOSONŮ**

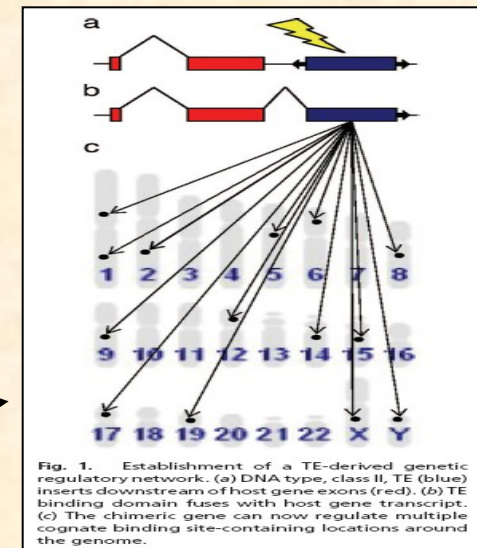
Recyklace transposonů „Turning junk into gold“

Existuje mnoho příkladů domestikace transposonů



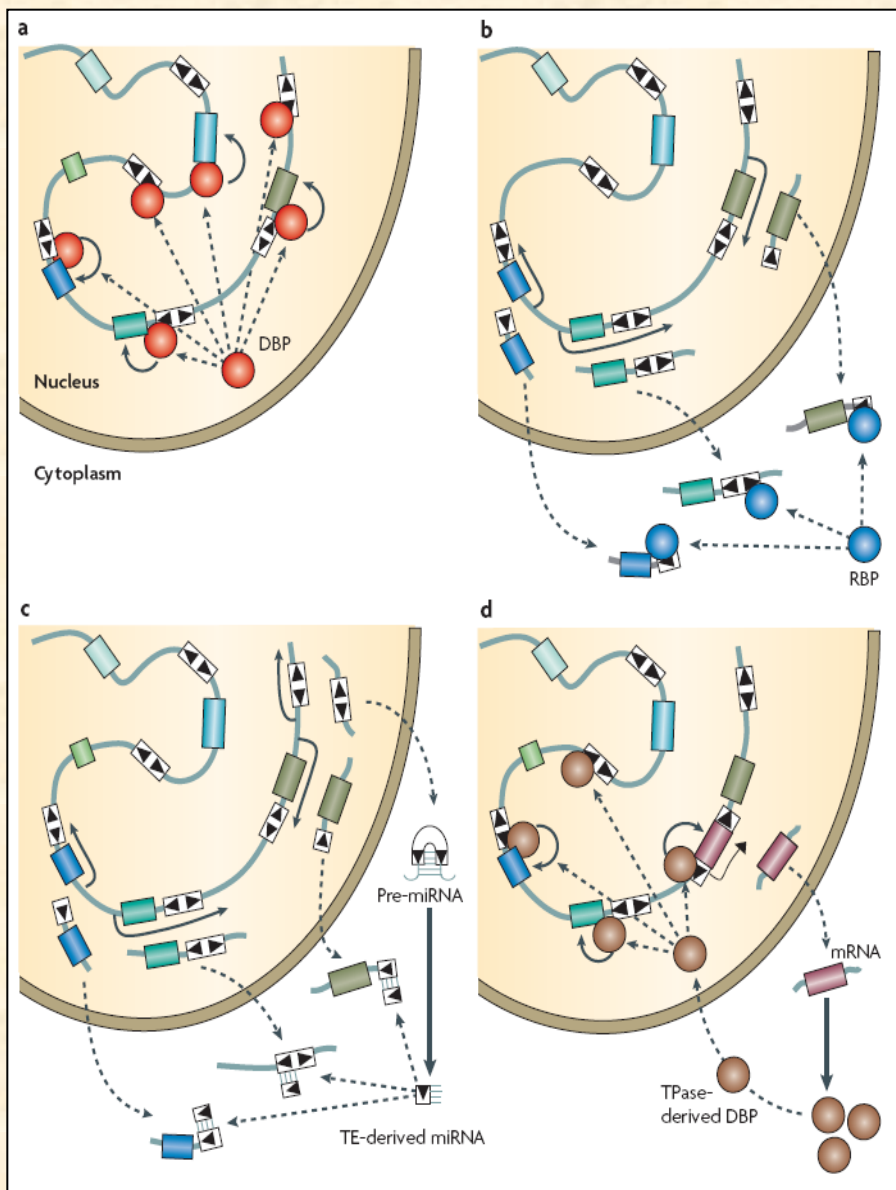
Domestikace TE a jejich pozitivní vliv na hostitele:

- 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



Role transposonů v regulačních sítích

DNA-binding protein=TF odvozený z TE
Regulace transkripce

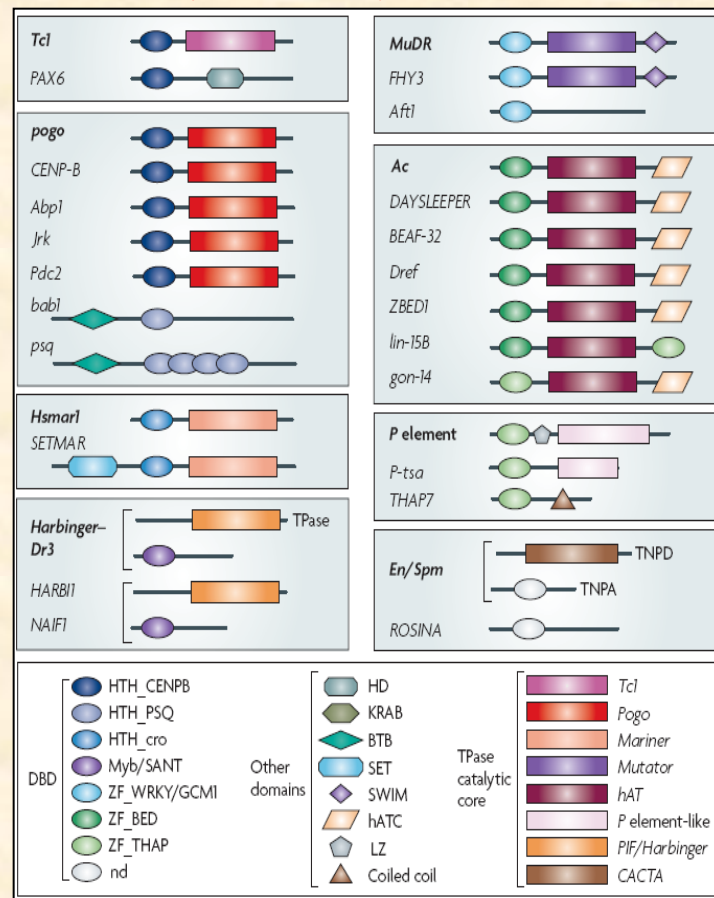


Regulace pomocí miRNA odvozených z TE

RNA-binding protein reguluje posttranskripčně

CNE/UCE/enhancers z TE (10 000)

Transkripční faktory odvozené z TE:



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

Helitrony putují po genomu a sbírají geny

NEWS AND COMMENTARY

www.nature.com/hdy

Plant genomes

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

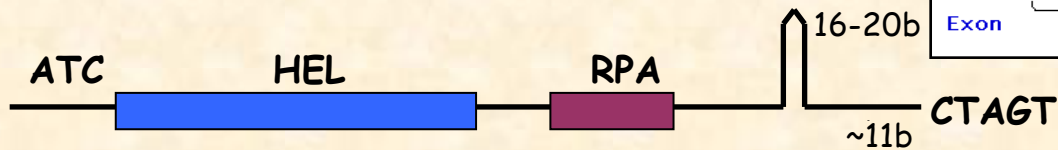
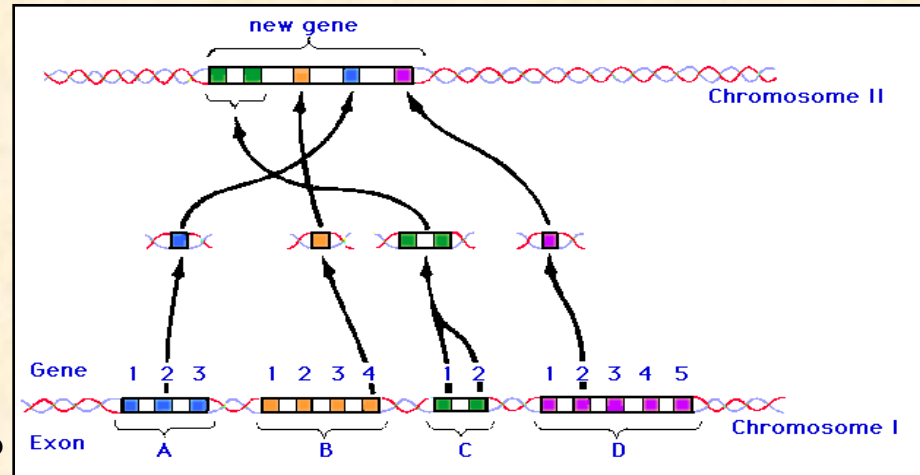
SK Lal and LC Hannah

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

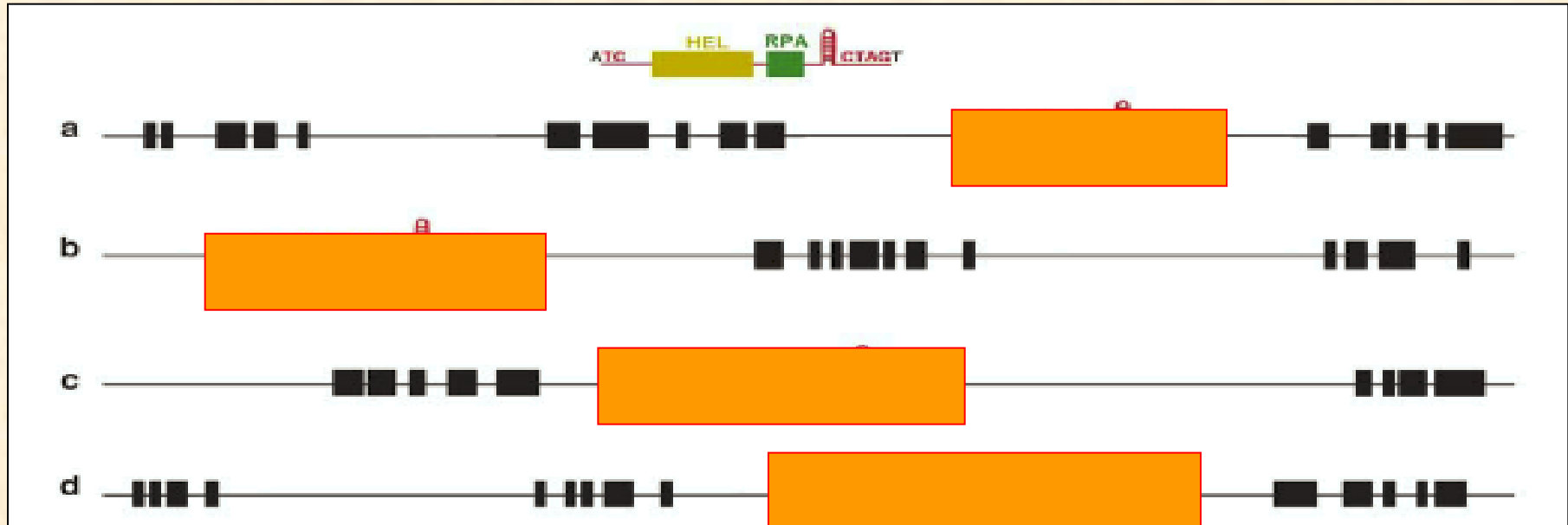
Treasures in the attic: Rolling circle transposons discovered in eukaryotic genomes

Cédric Feschotte and Susan R. Wessler*

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

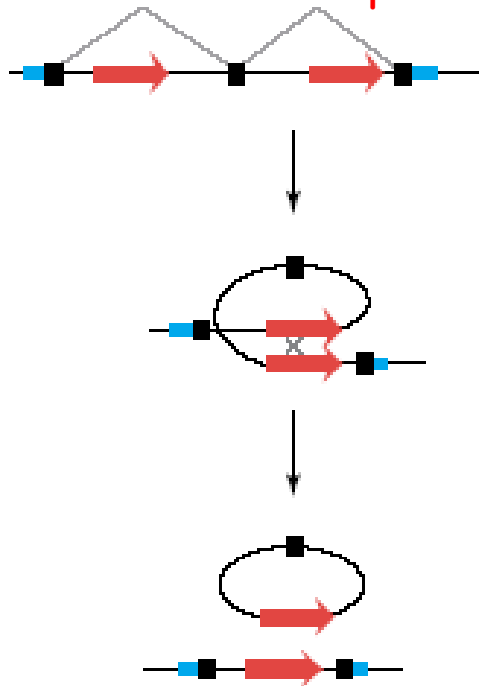


Journey of Helitrons (non-autonomous) through maize genome and capturing genes:

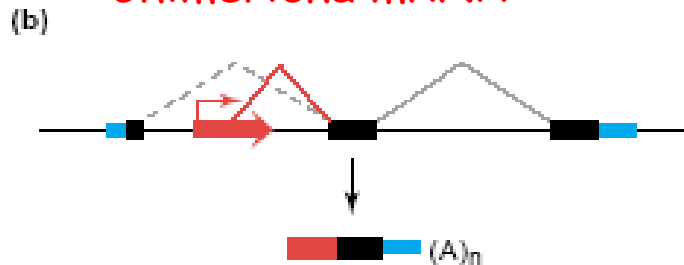


Vliv transposonů na genom

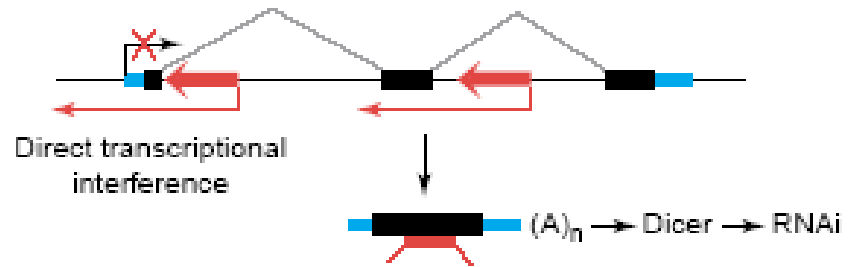
(a) Rekombinační přestavby



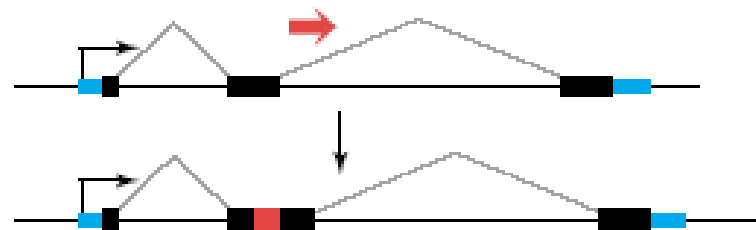
Chimerická mRNA



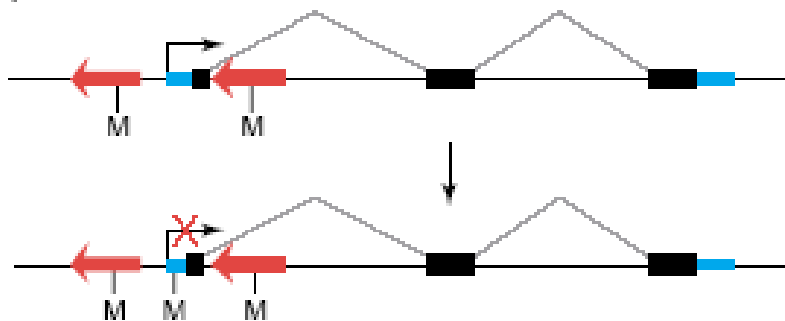
(c) Antisense RNA



(d) Inzerční mutageneze



(e) Umlčení způsobené metylací



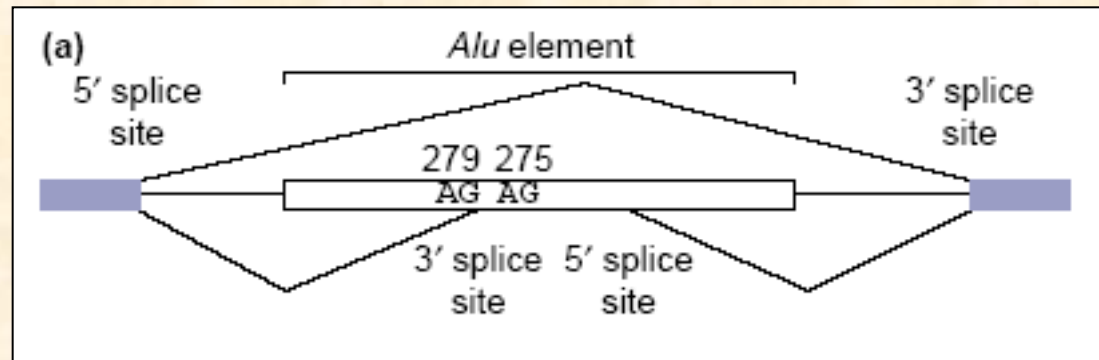
LINE elementy - významný hráč v genomu člověka

- 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:

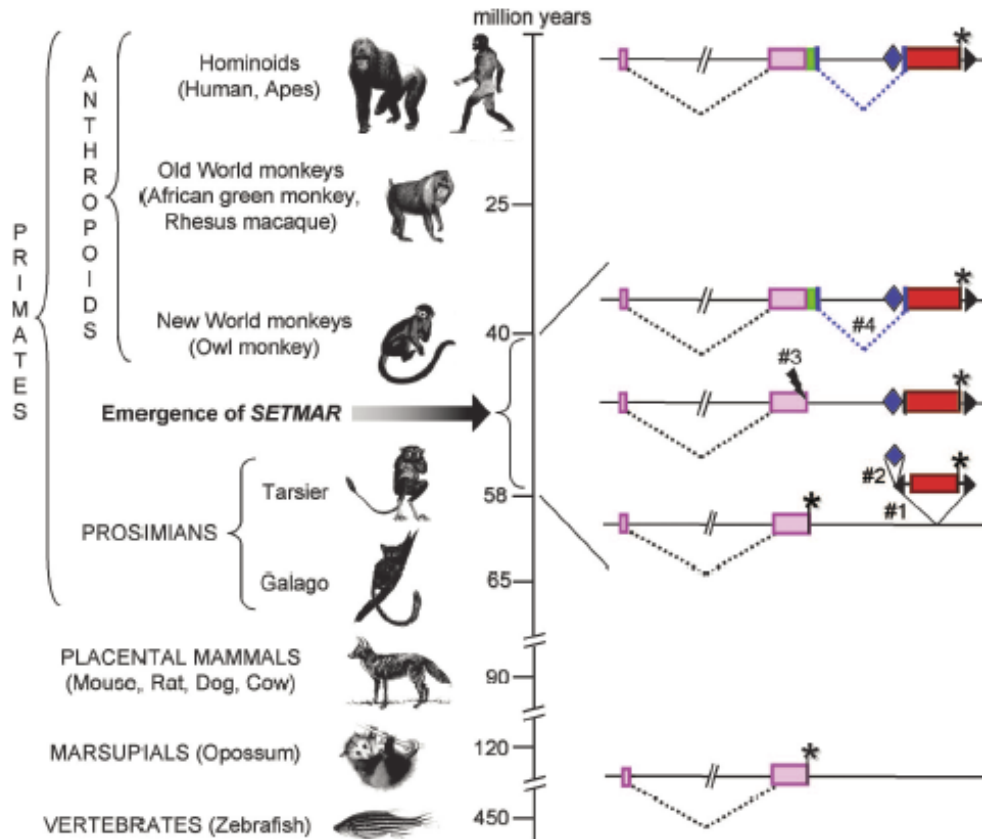
- duplikace exonů, mutace existující intronové sekvence,
- z **Alu elementů** (5% lidských alternativních exonů)

Původ genu SETMAR - „recyklace“ transposonu

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

Histon
metyltransferáza +
transpozáza

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



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

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

Retrogenen způsobil krátkonohost u psů

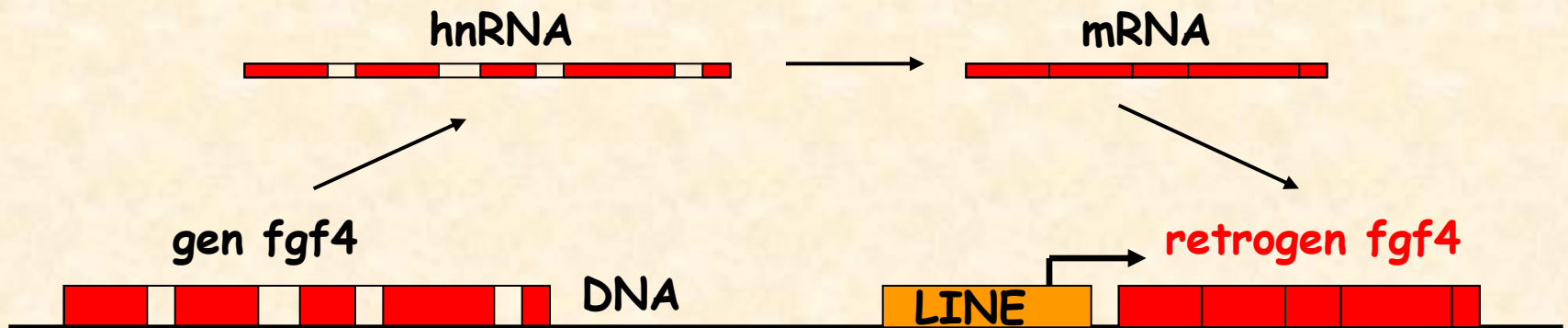
Science 325, 995 (2009)

- chondrodysplasie (krátkonohost)

jediná evoluční událost



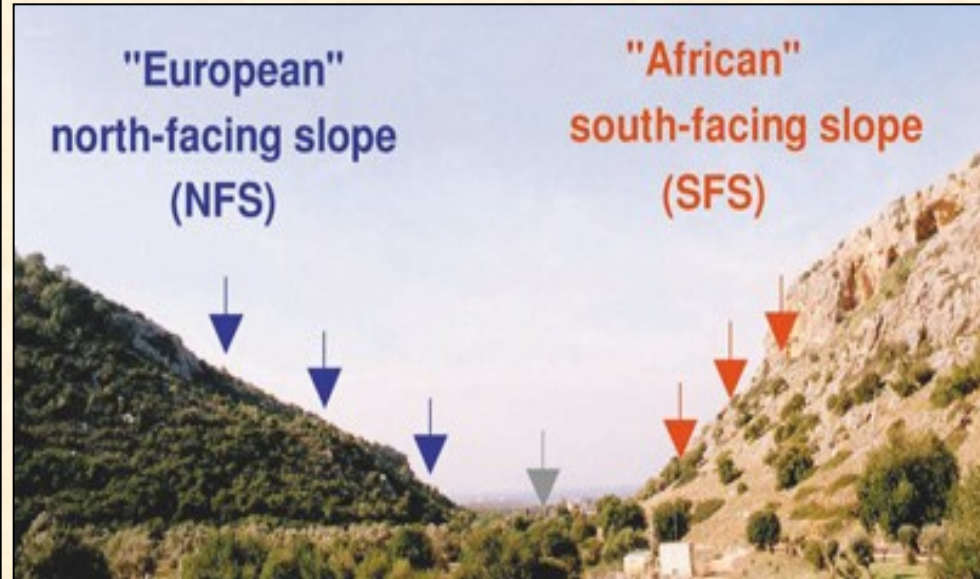
změna fenotypu



**EXPLOSIVNÍ
AMPLIFIKACE
TRANSPOSONŮ V
EVOLUCI SAVCŮ**

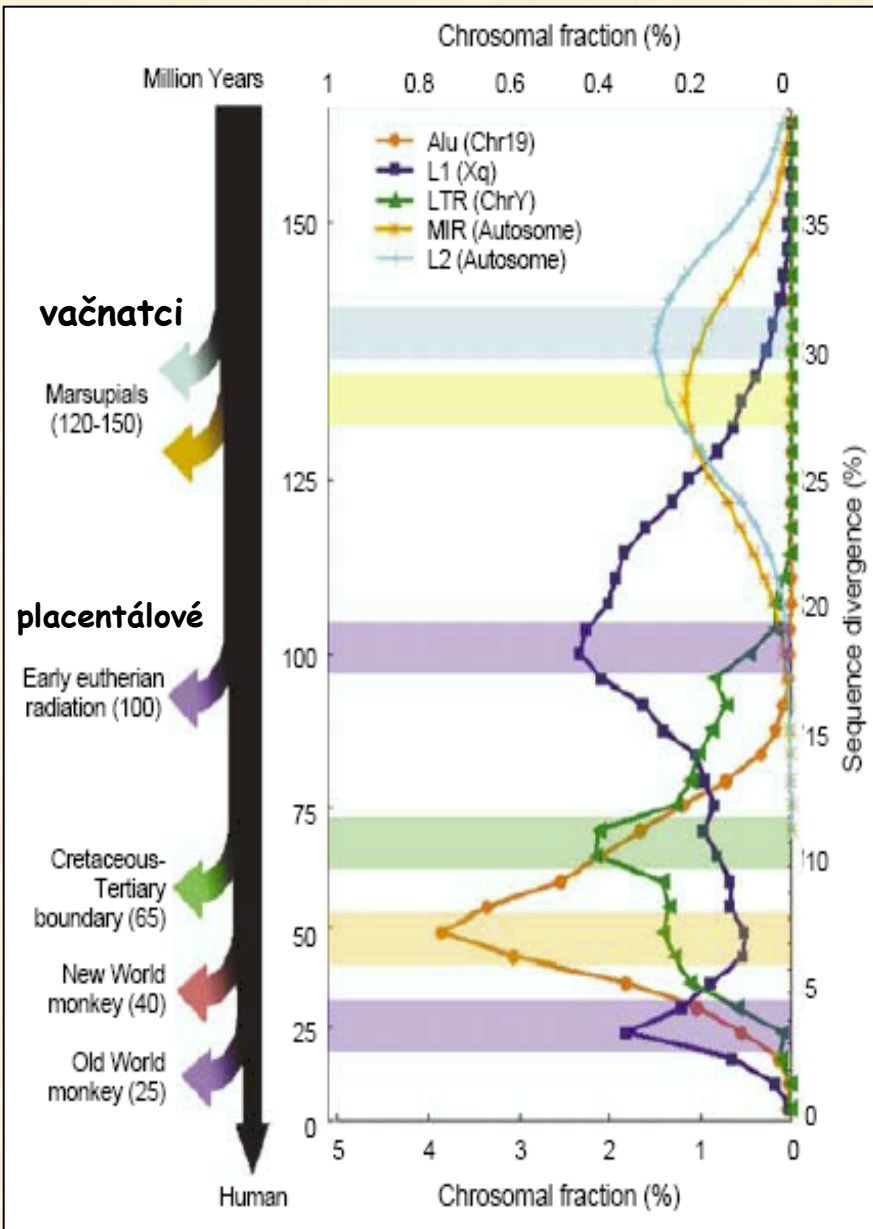
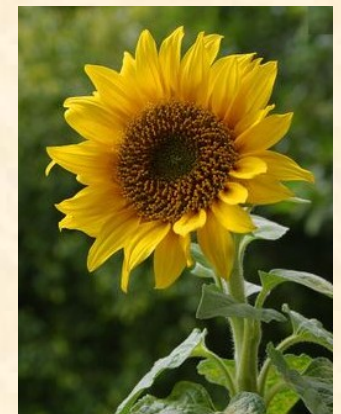
Explosivní amplifikace transposonů a **speciace**

Evoluční kaňon (Israel):



3x více BARE TE na jižním svahu (ječmen)

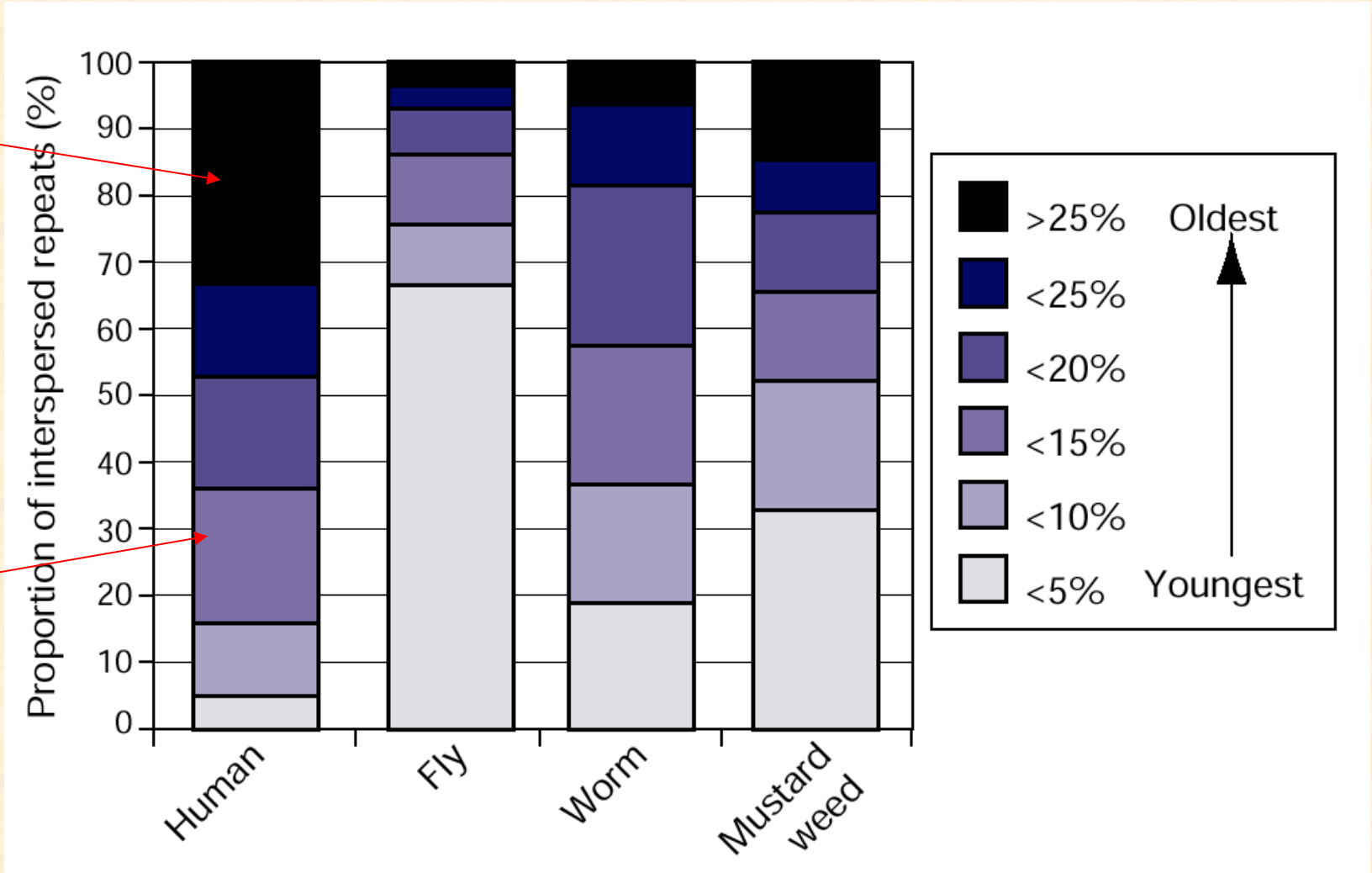
Mezidruhová hybridizace aktivuje TEs - „destrukce“ silencingu



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

staré

mladé



Srovnání stáří transposonů 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 ukázkou logiky evoluce, která funguje cestou záplavotování, 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 transposonů jsme přece my. 

Paraziti, nebo pomocníci?

Skákající geny a evoluce



**Kejnovský
Vesmír 2009/9**

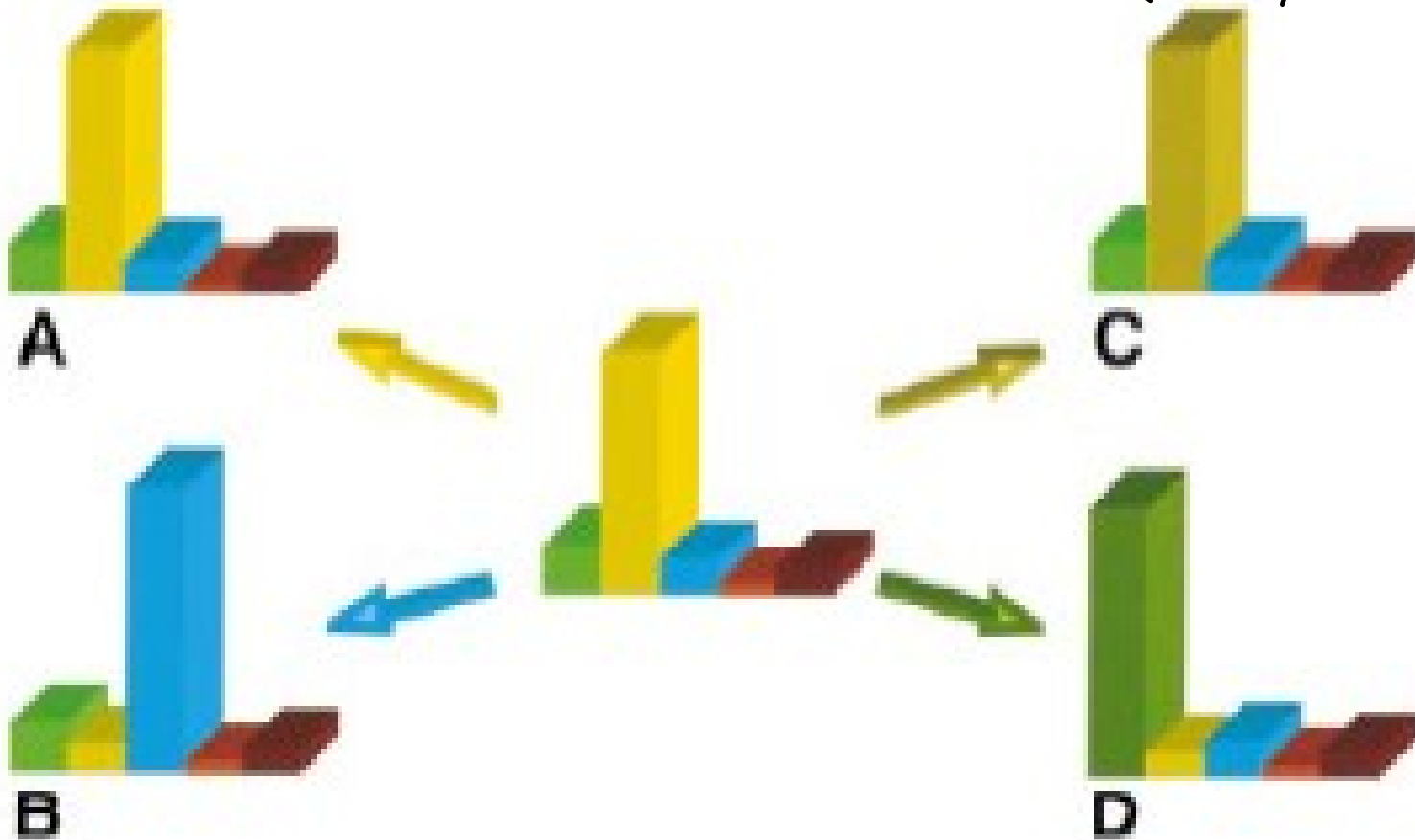
TANDEMŮVÉ REPETICE

Tandemové repetice, „knihovna“ satelitní DNA

Đ. Ugarković and M. Plohl

Hlavní parametry:

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



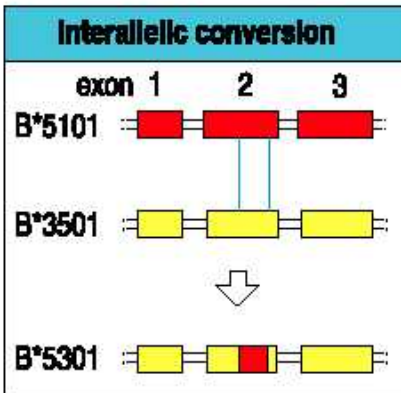
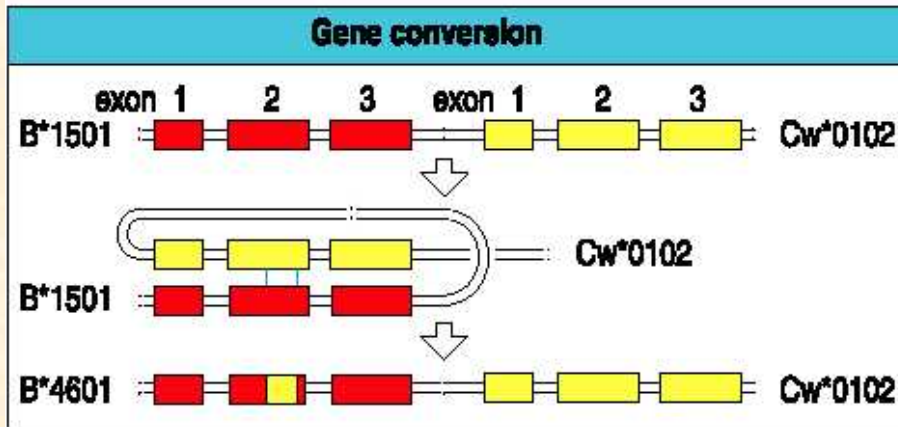
Evolve tandemových repeticií

Evolve v koncertu (concerted evolution)

Genová konverze

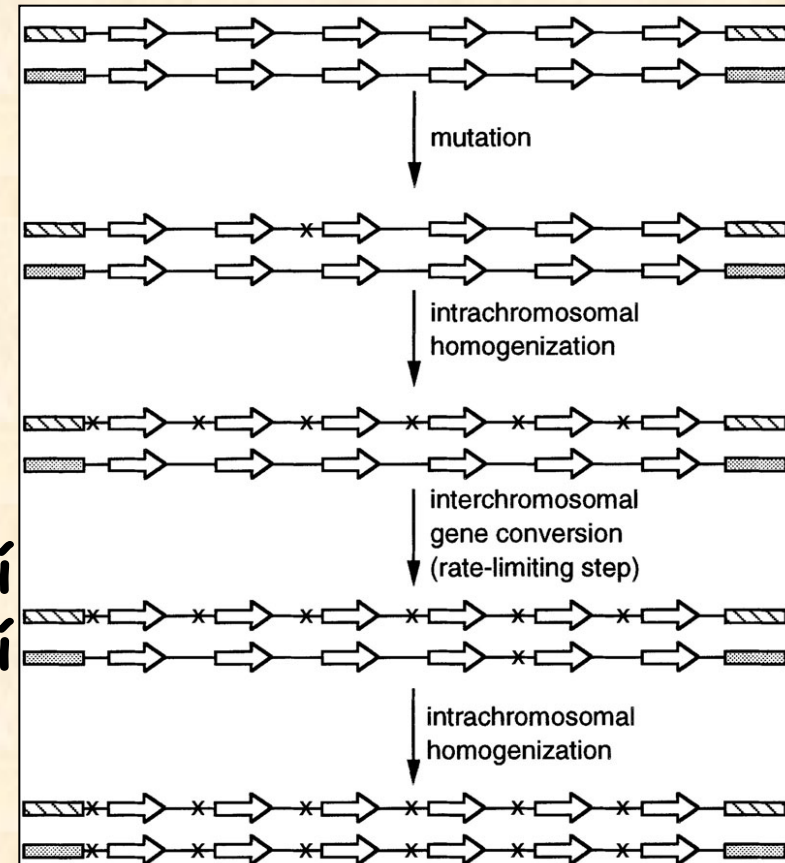
Nerovnoměrný crossing-over

Evolve 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

 ELSEVIER

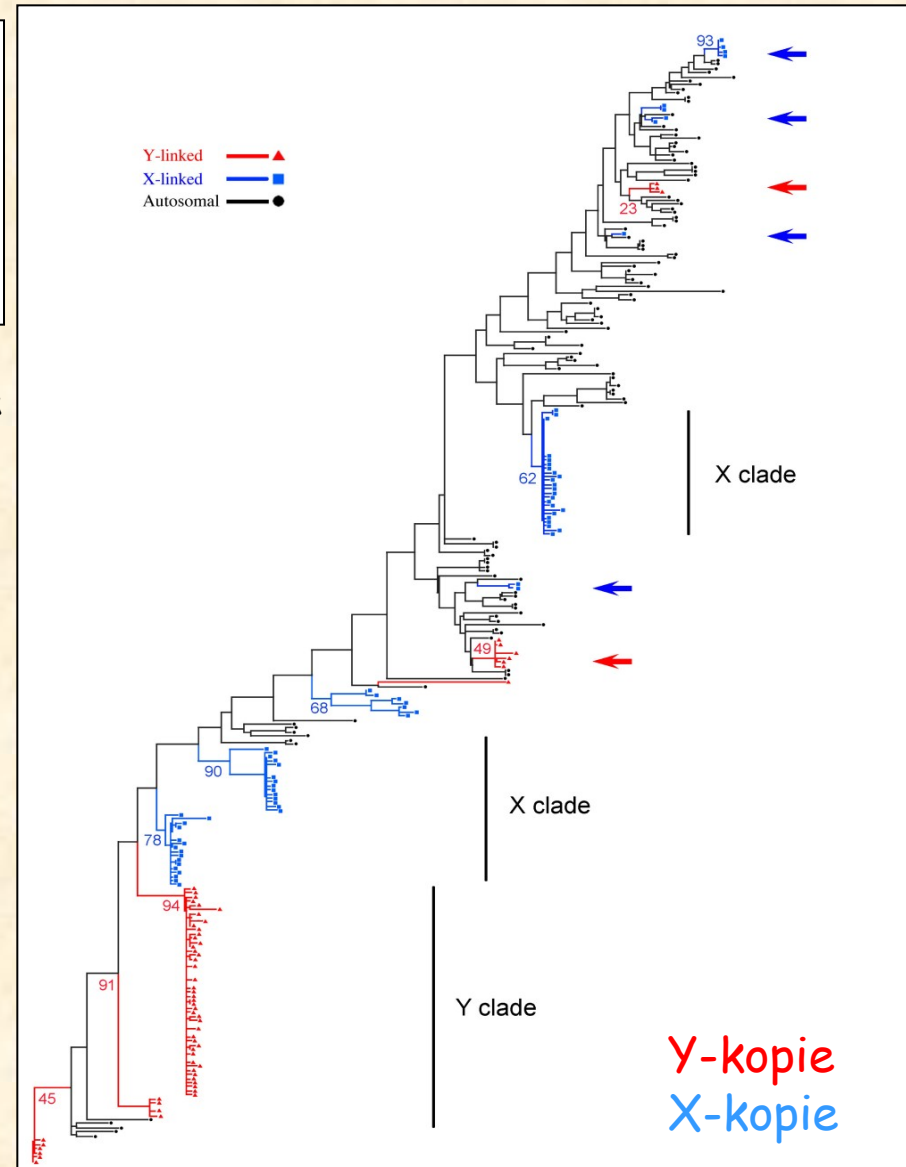
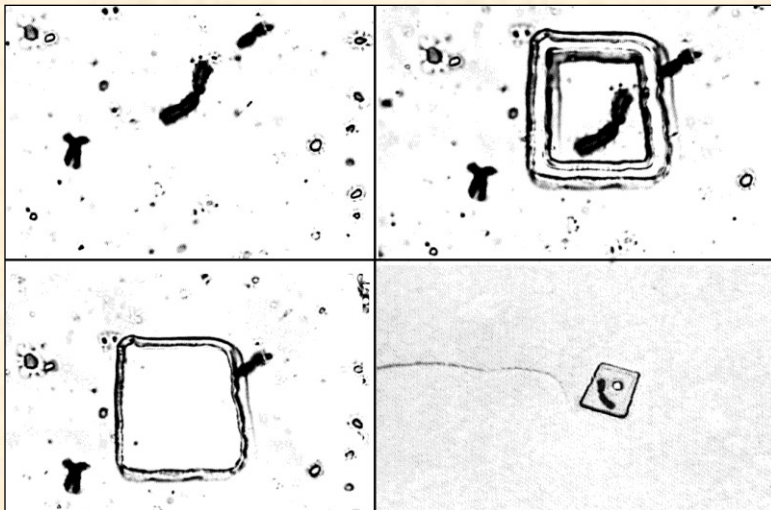
GENE
SECTION
EVOLUTIONARY GENOMICS
www.elsevier.com/locate/gene

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

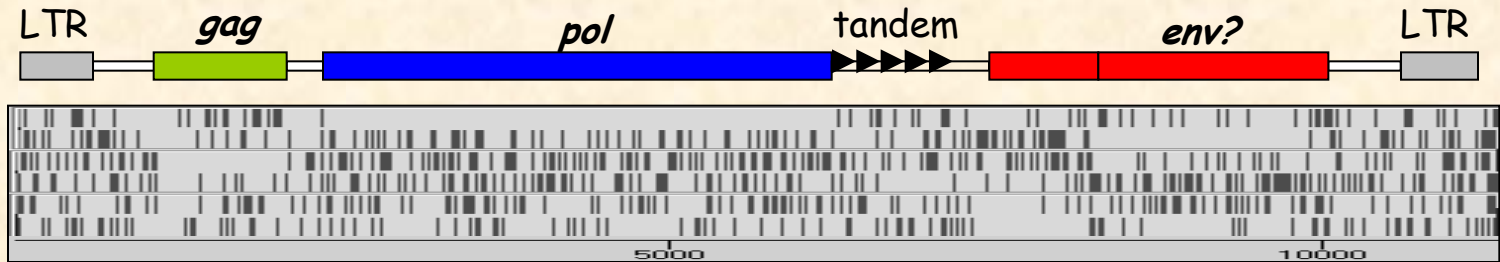
PCR amplifikace TE na
mikrodisektovaných
chromosomech

mikrodisekce
chromosomů Y a X



Satelitey mohou vznikat i z retroelementů

Retand element
(*Silene latifolia*)



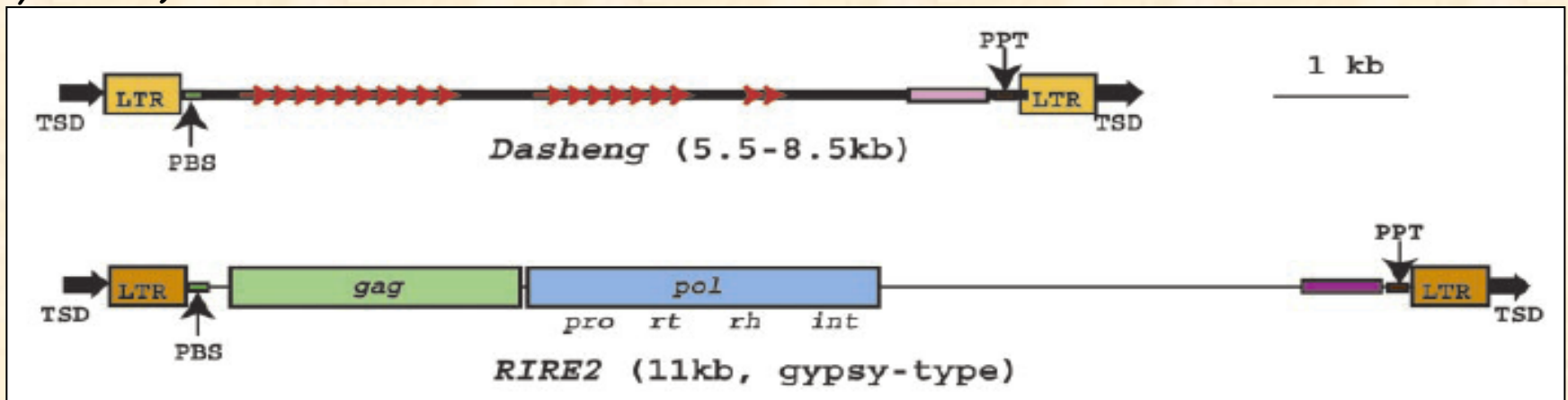
- NON-AUTONOMOUS
ELEMENT (3.7 kb)



monomer1	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AACC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer2	AAAGATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer3	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer4	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer5	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer6	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer7	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer8	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer9	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer10	AAAGATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer11	AAAGATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AGCC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	67
monomer12	GTAAATGCAATCGAGCCAAAACCTCGATCACCTCGGCCAA----AACC	GGGAGTGACGGGGGAACGAGCCG	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 genome

**“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

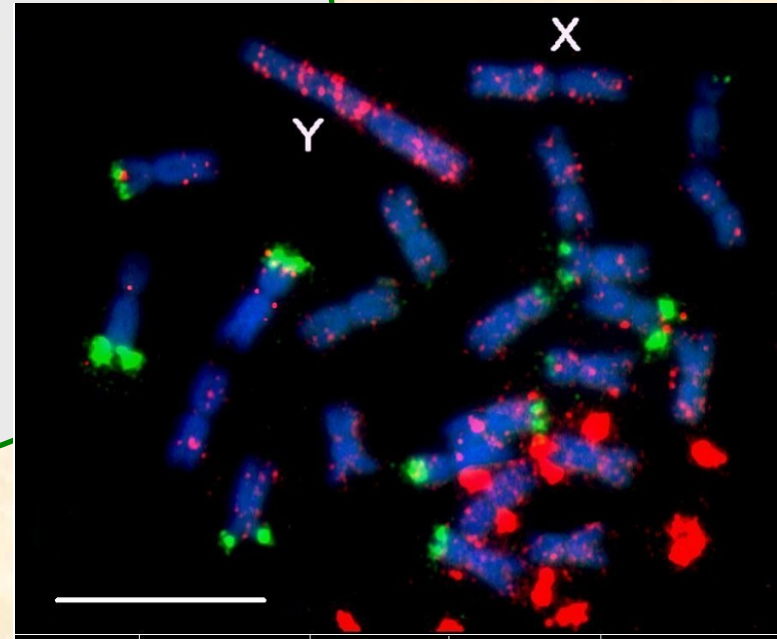
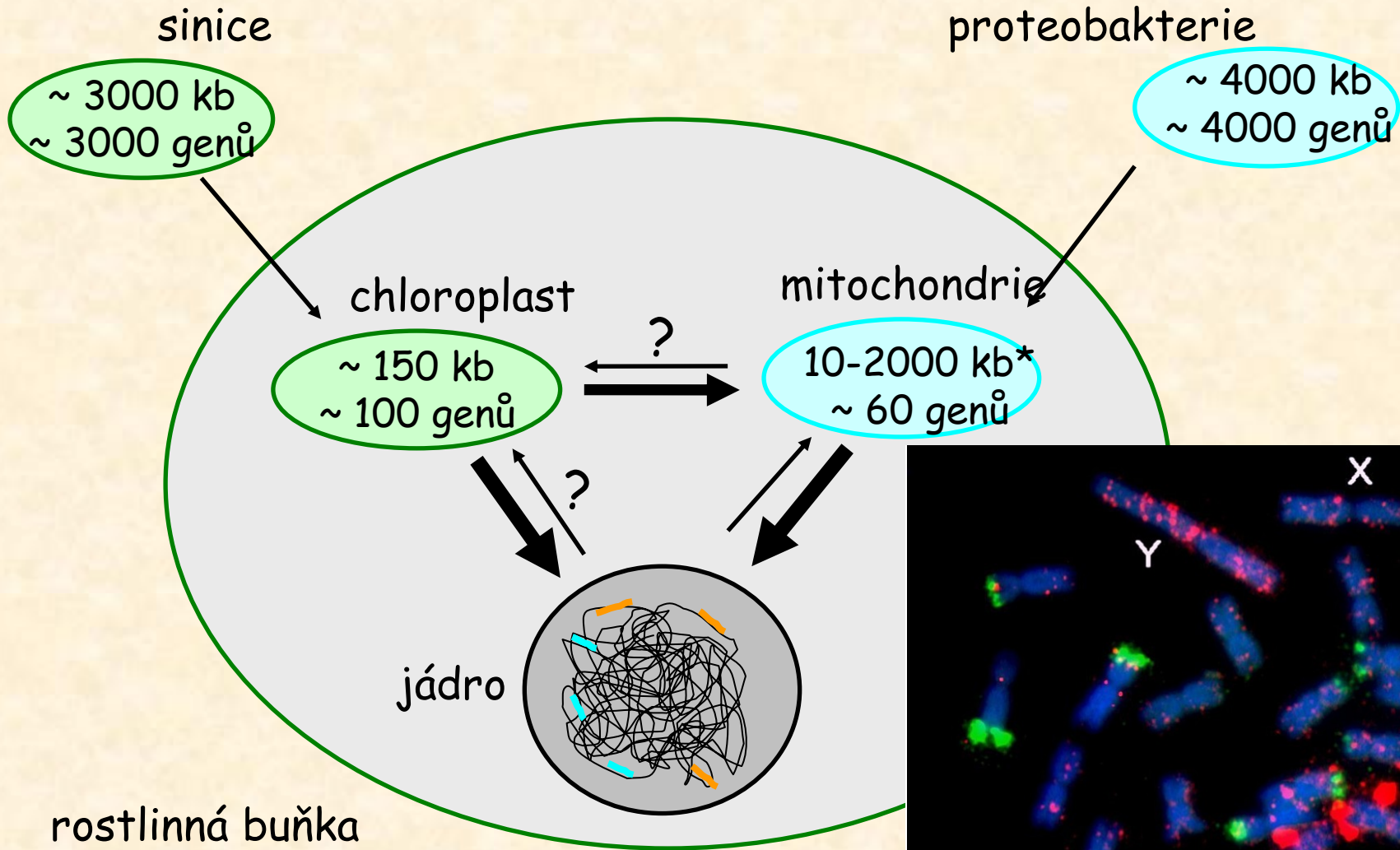
progenitor - **alpha-proteobacteria** (*Mesorhizobium loti*)

7 Mb

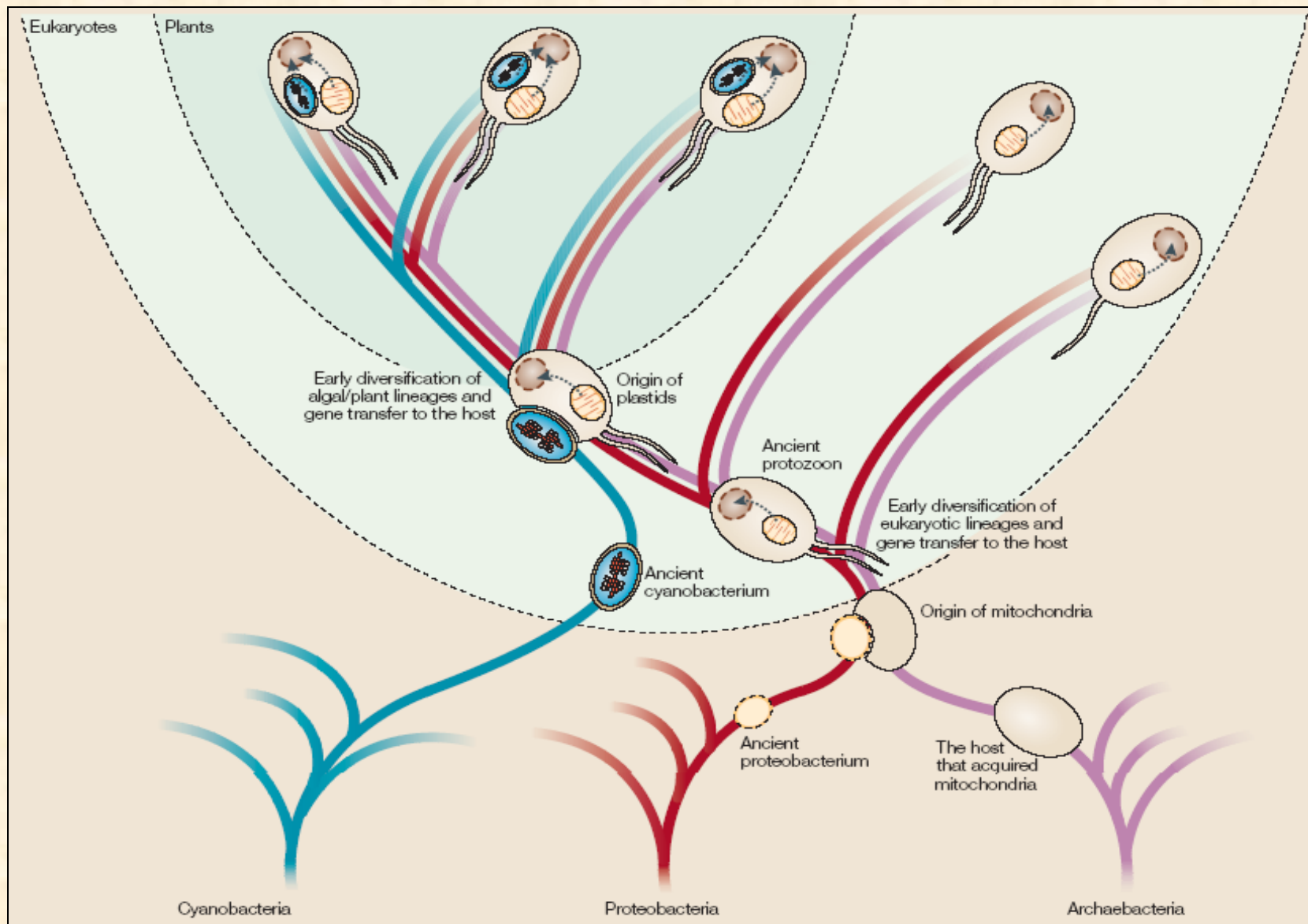
6 700 proteinů

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

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

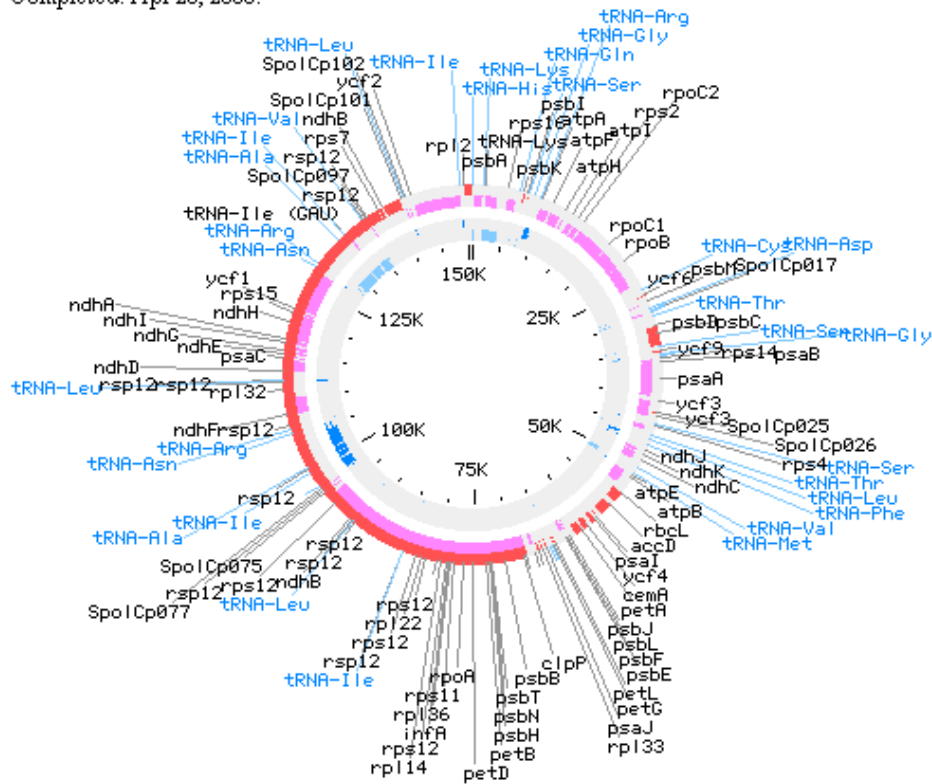
Typický chloroplastový genom

Spinacia oleracea plastid, complete genome

Accession: [NC_002202](#)

Total Bases Sequenced: 150725 bp

Completed: Apr 20, 2000.



Legend:

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

velikost: ~ 150 kb

LSC (large single copy) - 80 kb

SSC (small single copy) - 20 kb

IR (inverted repeats) - 25 kb

118 genů:

85 proteiny

photosystem I and II

cytochrome

ATP synthase

Rubisco

NADH dehydrogenase

ribosomal proteins

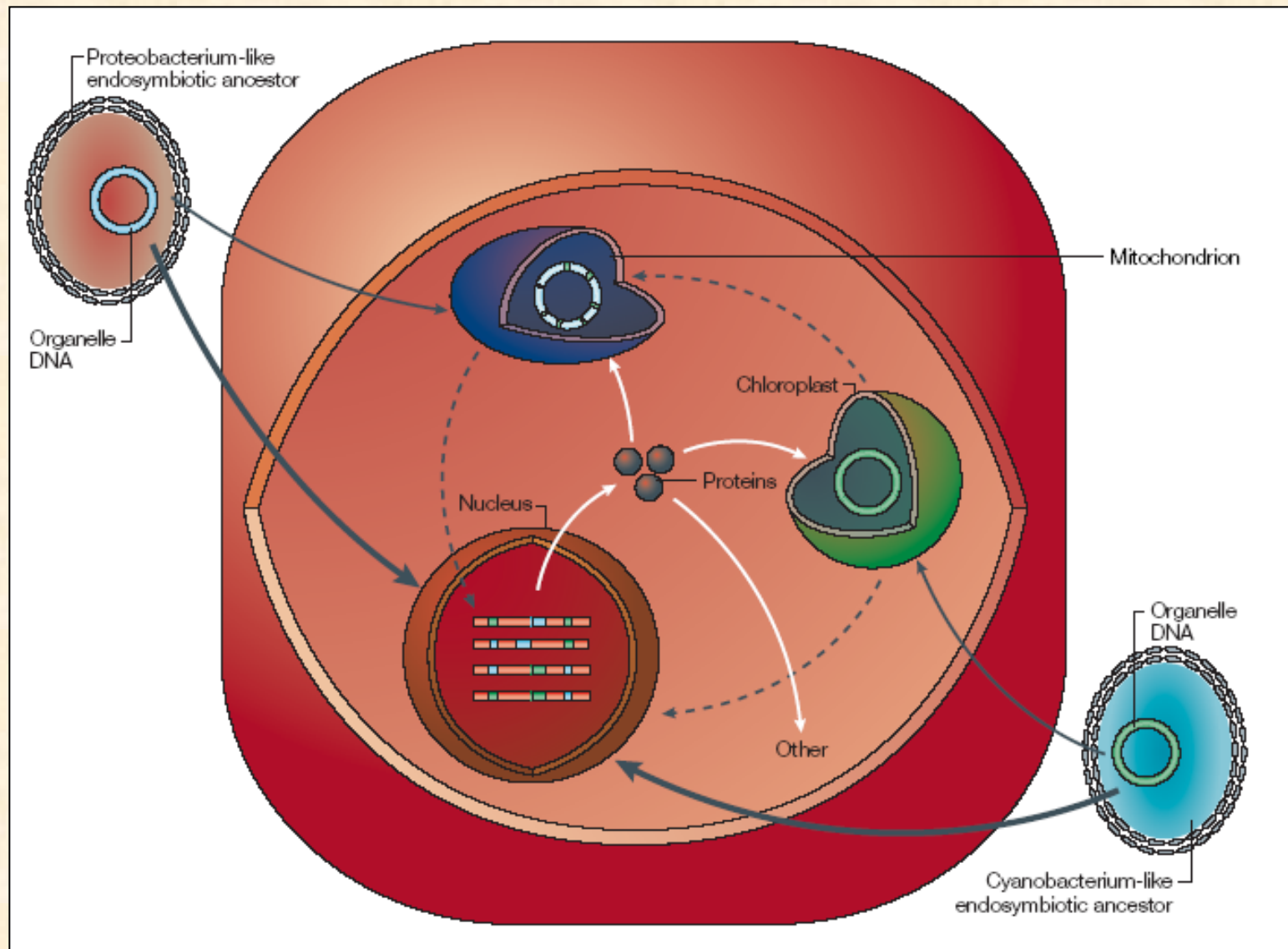
RNA polymerase

29 tRNA

4 rRNA

Endosymbiotický genový přenos:

- transport genů, reimport proteinů



Mechanismy genového přenosu

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

Proč některé geny zůstávají v organelách?

1. Hydrophobicita

- hydrofóbní proteiny jsou těžko importovány do organel

2. Řízení redoxního stavu

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

Zmenšení genomů u organel a parazitů:

Parazité: - specializace na intracelulární prostředí
- ztráta genů

Organely: - export genů do jádra hostitele
- import produktů

Některé geny se přenášejí do jádra dříve jiné později

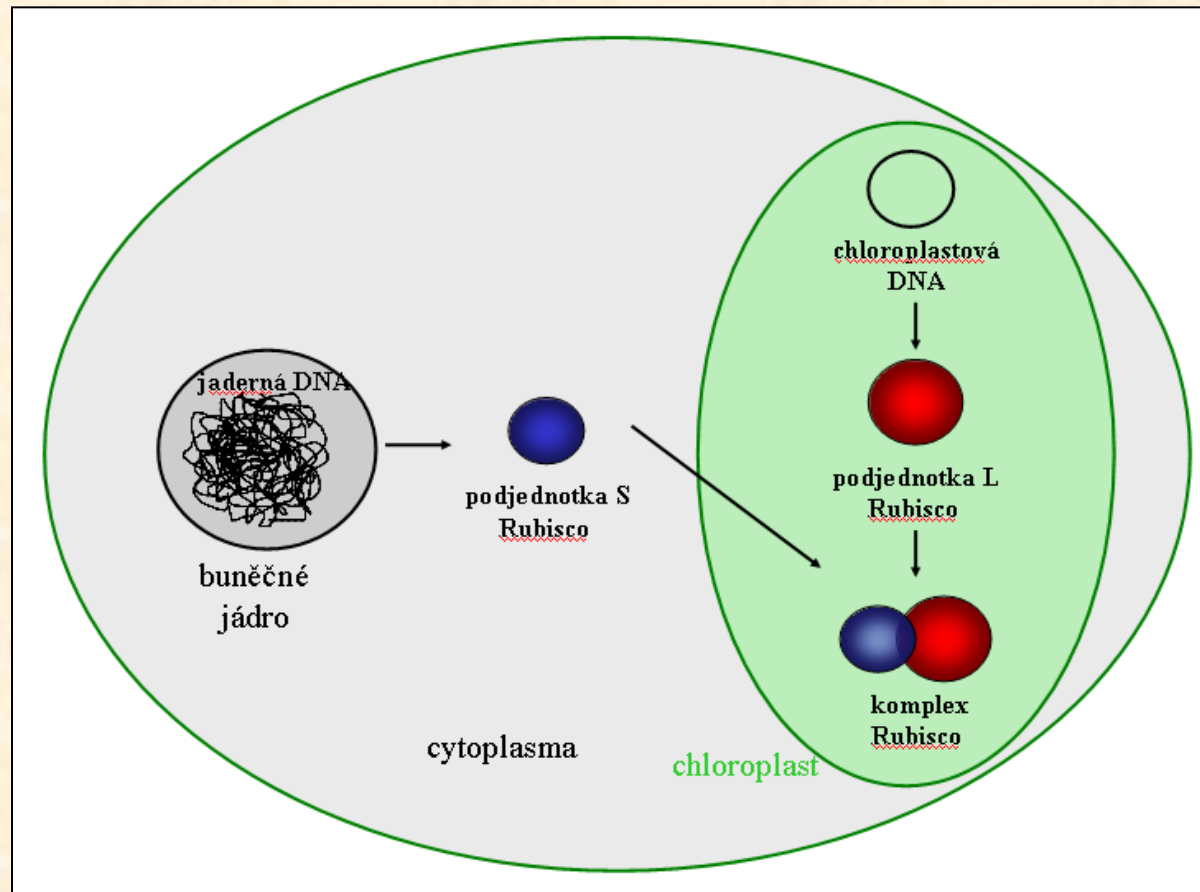
Nejdříve - regulační funkce

(sigma factor of RNAPolymerase, gamma subunit
of ATPase)

Poslední - translace
- respirace

Rubisco:

katalýza - v plastidu (rbcL)
regulace - v jádře (rbcS)



Kam se přenesená DNA integruje?

- žádné důkazy preferovaných sekvencí či částí chromosomů

Sekvenční **proměnlivost** promiskuitní DNA

>95% identity svědčí o velké obměně organelových sekvencí

Faktory vedoucí k **degeneraci** sekvencí:

- asexualita
- poškozující zplodiny metabolismu
- selekce na malé genomy

Kompenzující faktory (u rostlin)

- polyploidie
- reparace DNA

Genový přenos z organel do jádra v reálném čase

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

