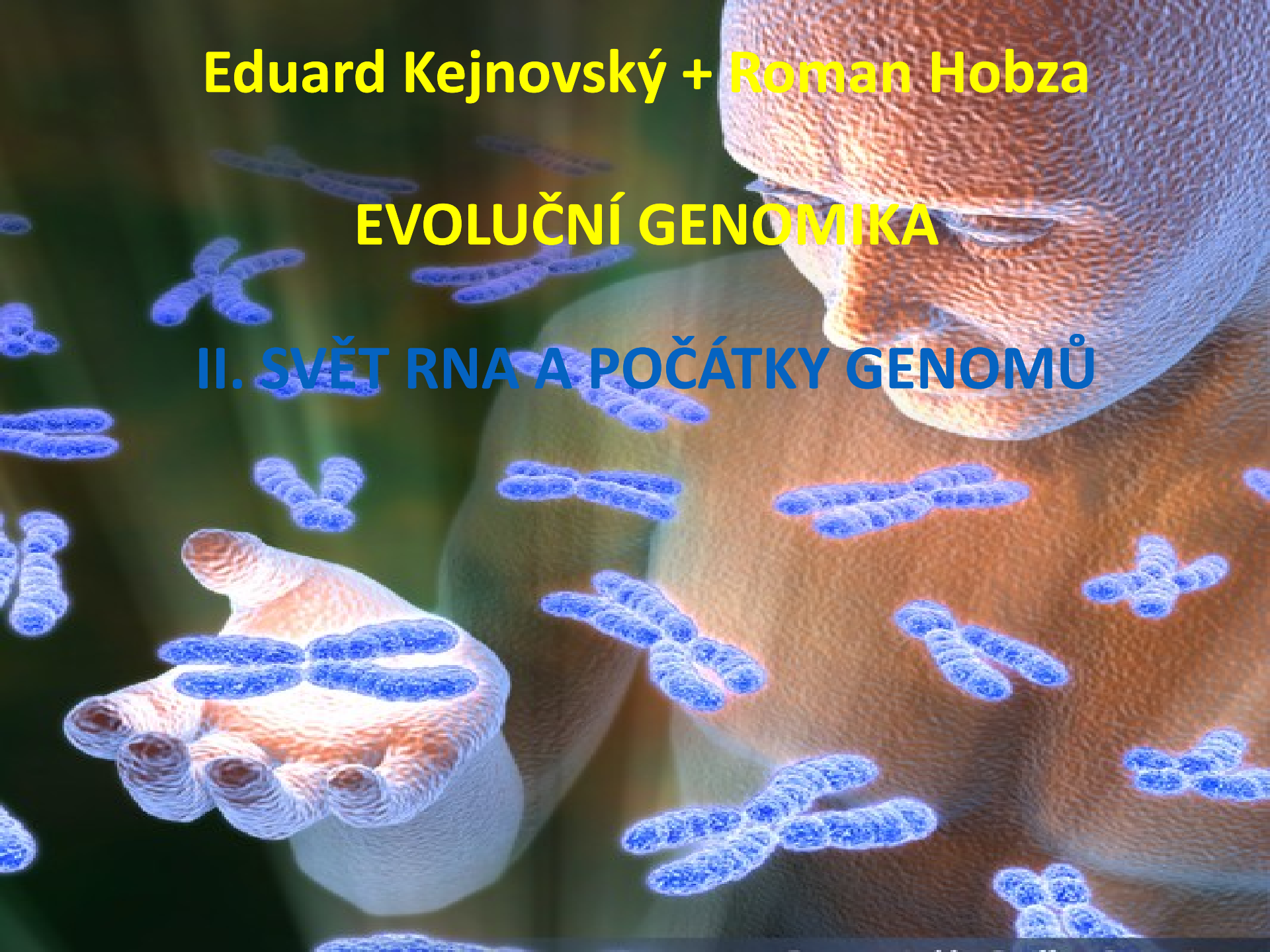


Eduard Kejnovský + Roman Hobza

EVOLUČNÍ GENOMIKA

II. SVĚT RNA A POČÁTKY GENOMŮ



OSNOVA

- 1. Svět molekul RNA, počátky**
- 2. Ribozymy**
- 3. Relikty světa RNA**
- 4. První genomy**



Svět RNA

Funkční specializace dnes:

- uchování genetické informace – **nukleové kyseliny**
- strukturní a katalytická funkce - **bílkoviny**

- Období, kdy oba typy funkcí zastával jeden typ sloučenin

RNA - informační i katalytická molekula

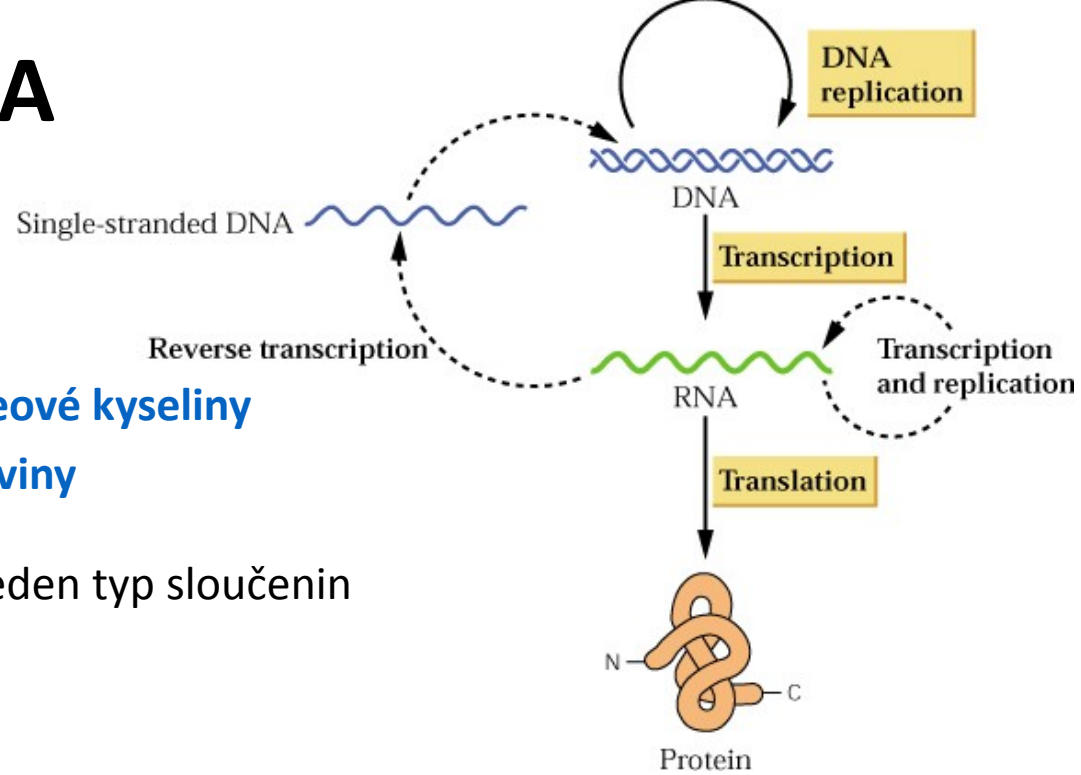
(Orgel, Wayne, Crick, 60. léta 20. stol.)

- **1982-83: objev ribozymů**

Tom Cech: Introny I. Typu

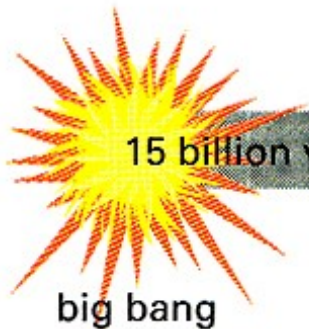
Sid Altman: RNaseP

1986: „The RNA World“ (Gilbert)



3.5-4mld

RNA WORLD



15 billion years ago

10

5

present

solar system formed

first cells with DNA

first mammals

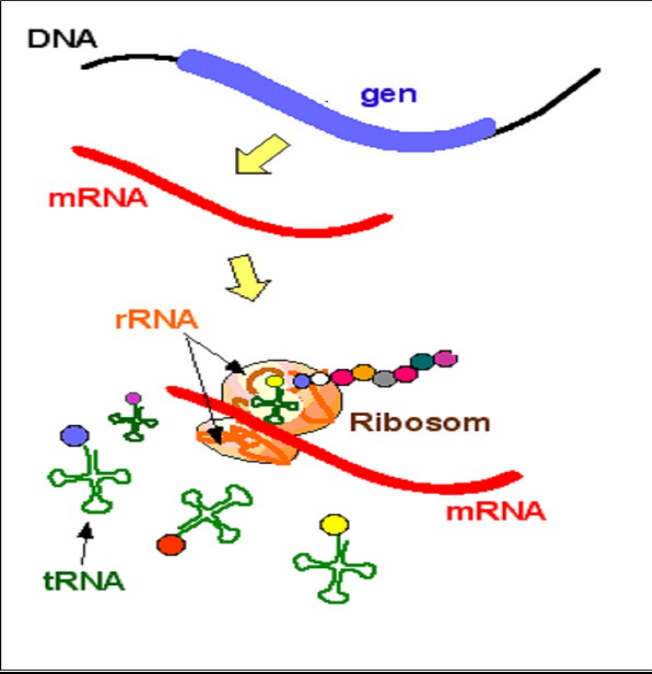
Důkazy RNA světa

1. Důležitá **role RNA** v realizaci genetické informace dnes
2. RNA viry, **retroelementy**, telomery
a konzervativní mechanismus jejich replikace
3. **Ribozymy** – enzymaticky aktivní RNA

Kritéria testující zda RNA je **reliktem** světa RNA:

1. Katalytické vlastnosti
2. Všudypřítomnost
3. Centrální postavení v metabolismu

Centrální role RNA v dnešních biologických systémech



DNA

REDUPLICATION:
primer RNAs, telomerase RNA

TRANSCRIPTION

← **6S RNA** — Regulation
7S K RNA, SRA RNA,
Xist RNA, Air RNA

PROCESSING: sno RNAs, gRNAs, snRNAs,
RNase P, self-splicing introns

mRNA

← **siRNA, miRNA** — Degradation
Replication?

TRANSLATION

← **asRNAs** (*micF, CopA, OUT*)
OxyS, DsrA sRNA — Regulation
miRNAs

← **tmRNA** — Degradation

Protein

↓ **T/M translocation:** SRP 4.5S RNA, 7S RNA

RIBOSOME:

16S RNA

23S RNA

tRNA

Decoding

Trans-peptidation

Pozůstatky RNA světa se dosud
zachovaly a jsou skryty ve spleti
buněčných procesů

Počátky světa RNA – tvorba purinů a pyrimidinů

Syntéza **adeninu**: z kyanovodíku

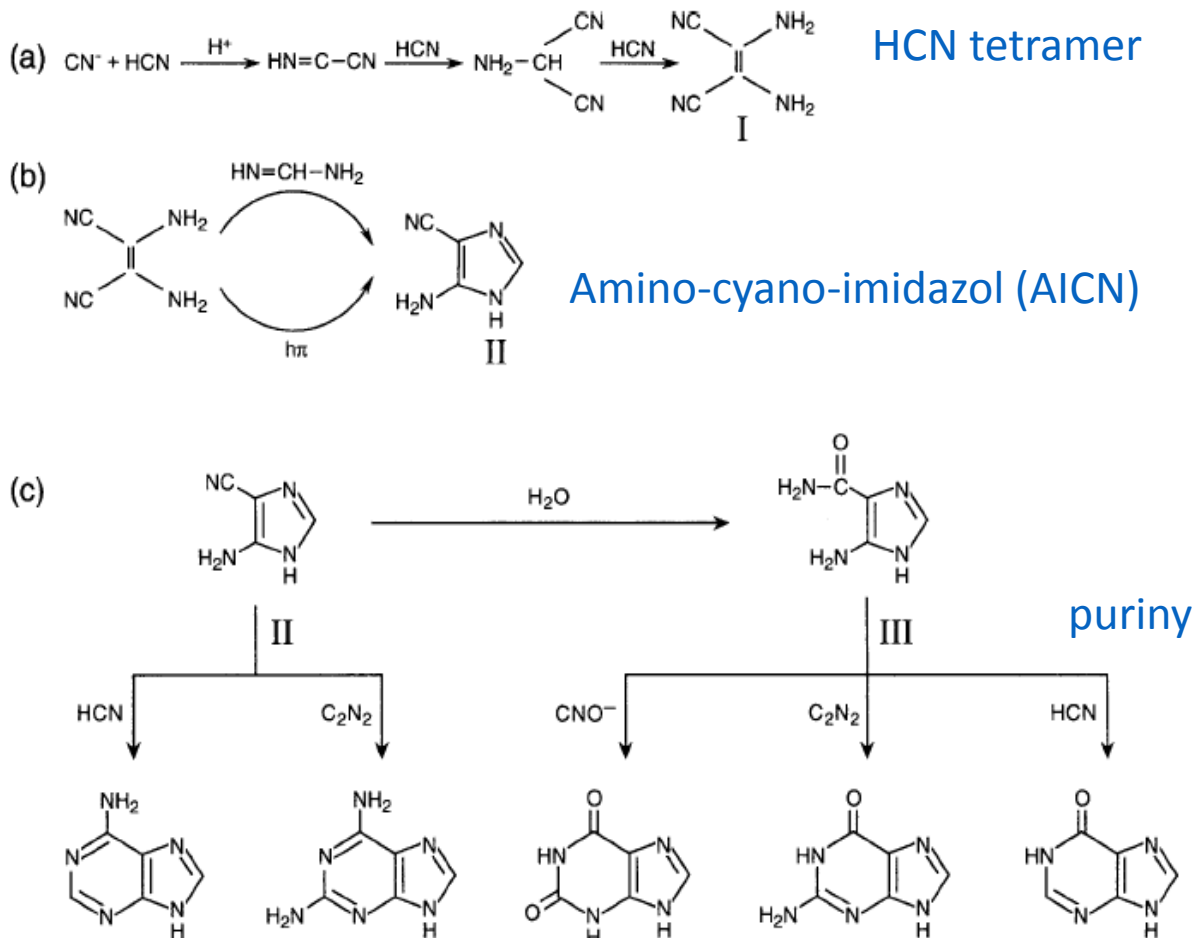


FIG. 2. Steps in possible prebiotic syntheses of adenine from HCN. (a) The formation of the HCN tetramer. (b) The conversion of HCN tetramer to AICN. (c) The formation of purines from AICN or from its hydrolysis product 4-amino-imidazole-5-carboxamide (III).

Syntéza **cytosinu**:
- z kvanoacetaldehydu
nebo kvanoacetylenu

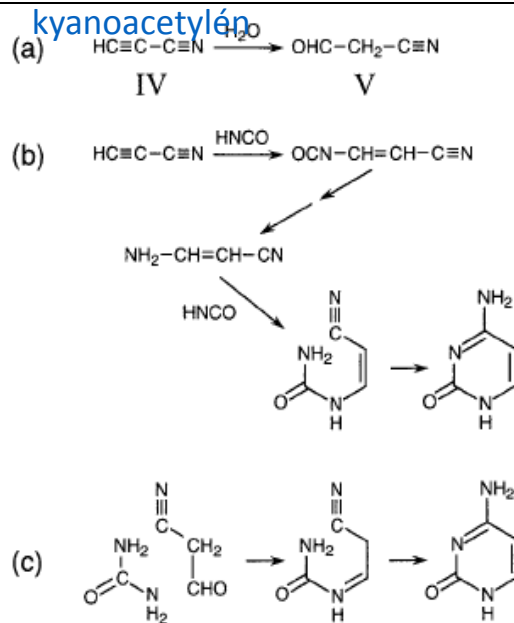
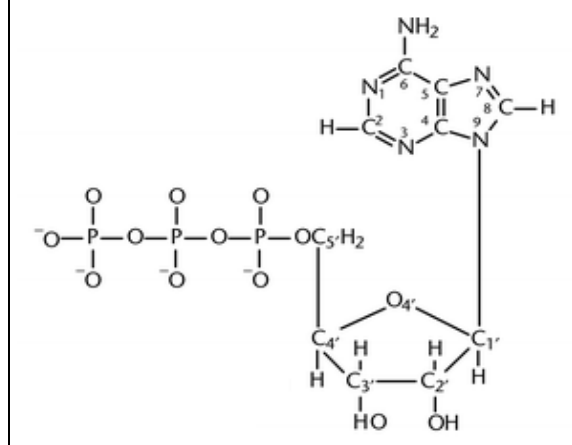


FIG. 3. Steps in proposed prebiotic syntheses of cytosine. (a) The hydrolysis of cyanoacetylene to cyanoacetaldehyde. (b) The reaction between cyanoacetylene and two molecules of cyanic acid. (c) The condensation of cyanoacetaldehyde with urea.

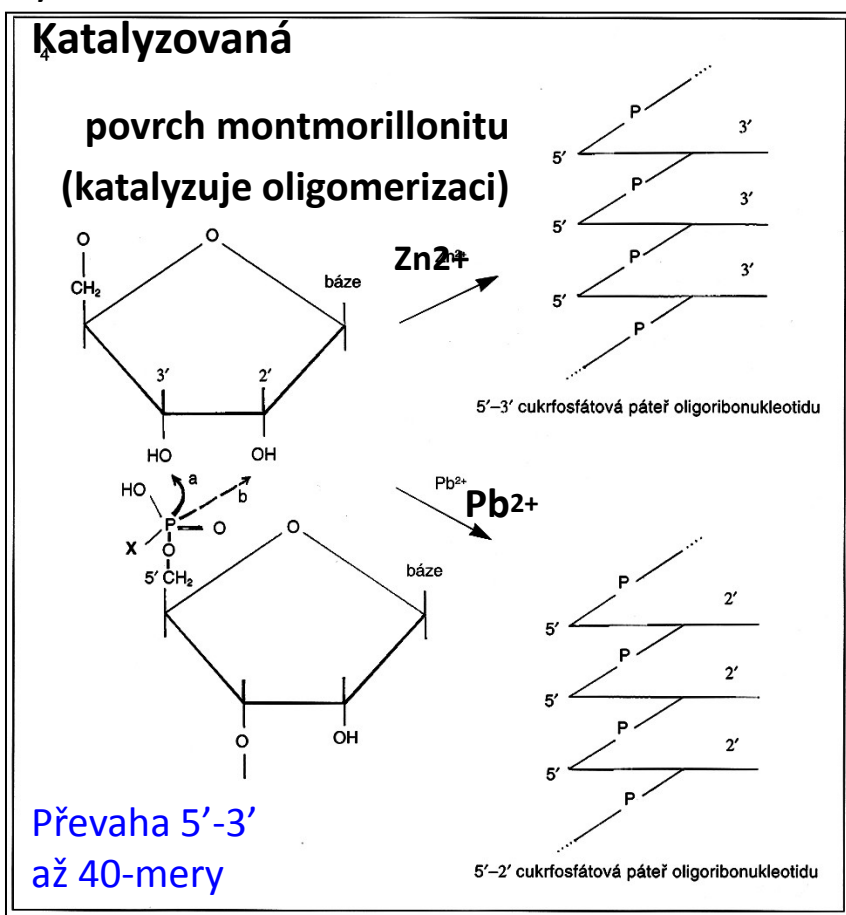
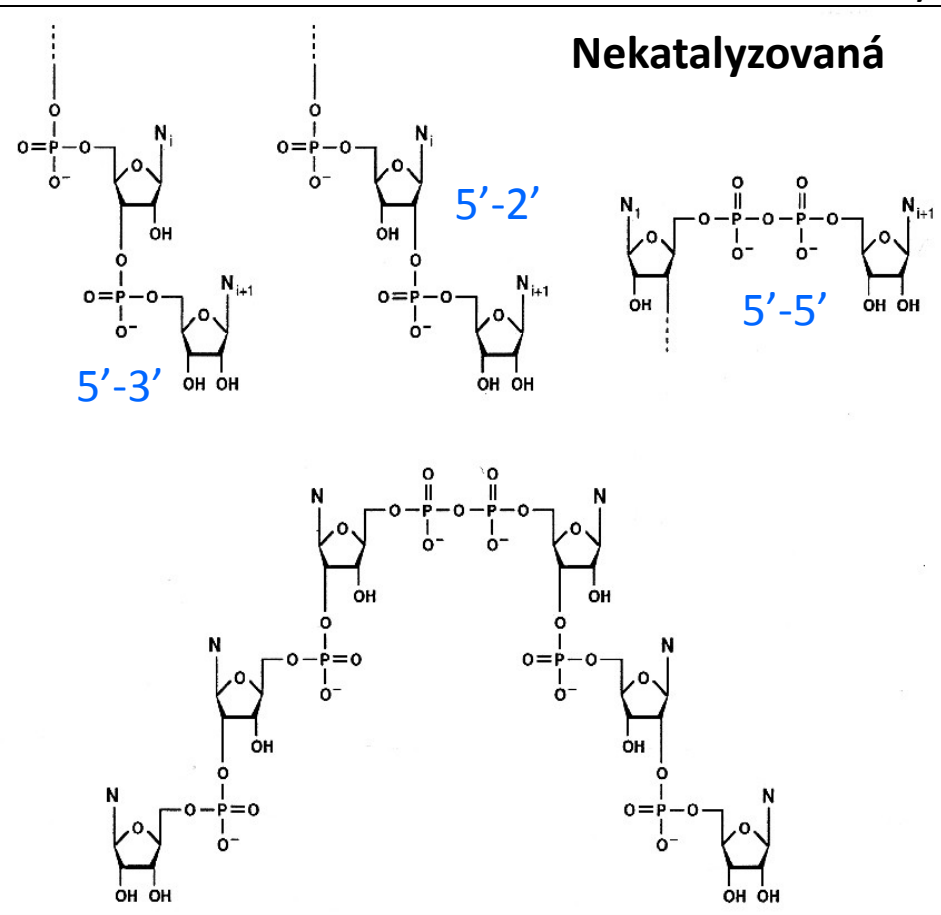
Nízká efektivita a specifita syntézy nukleotidů vedla k návržení alternativních genetických systémů

Abiotická syntéza nukleotidů a polynukleotidů

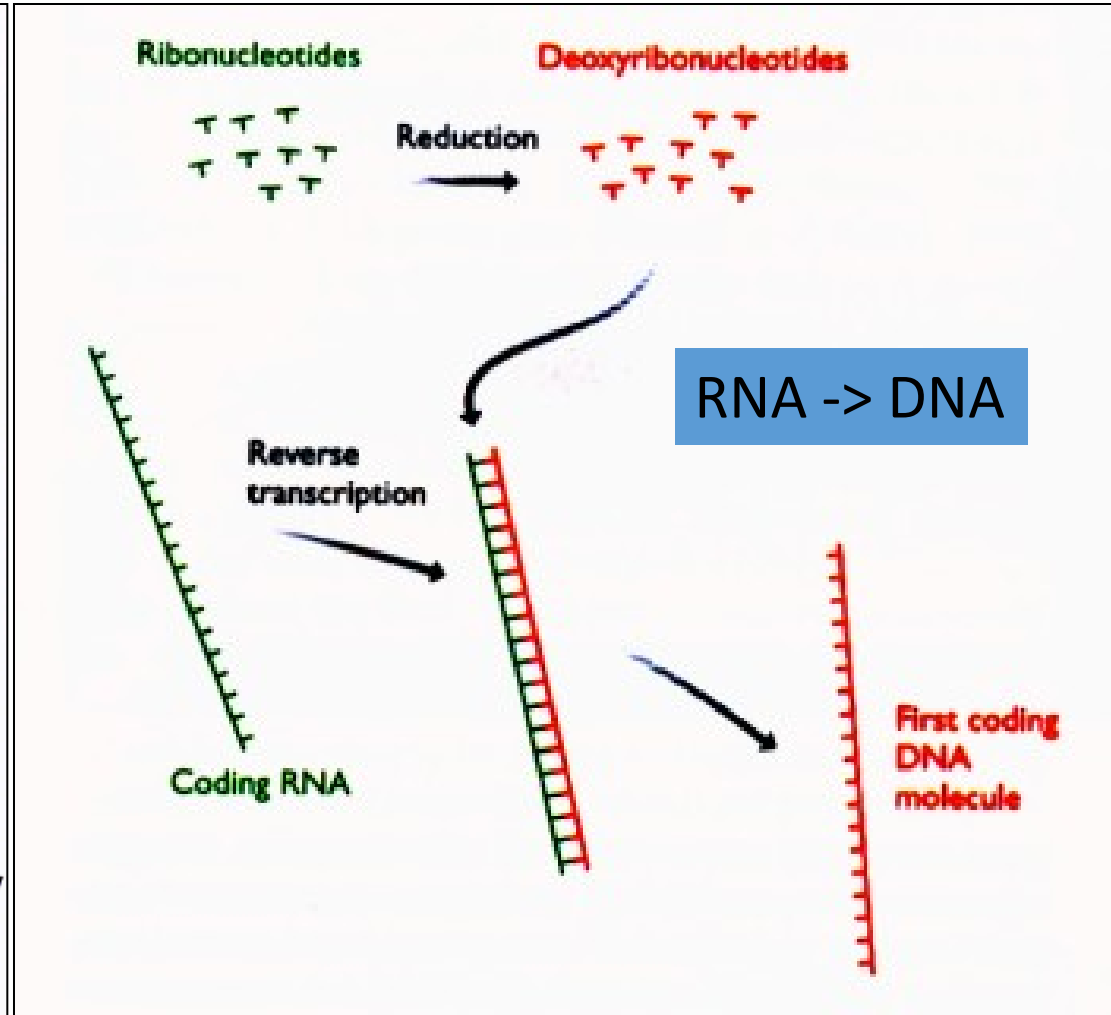
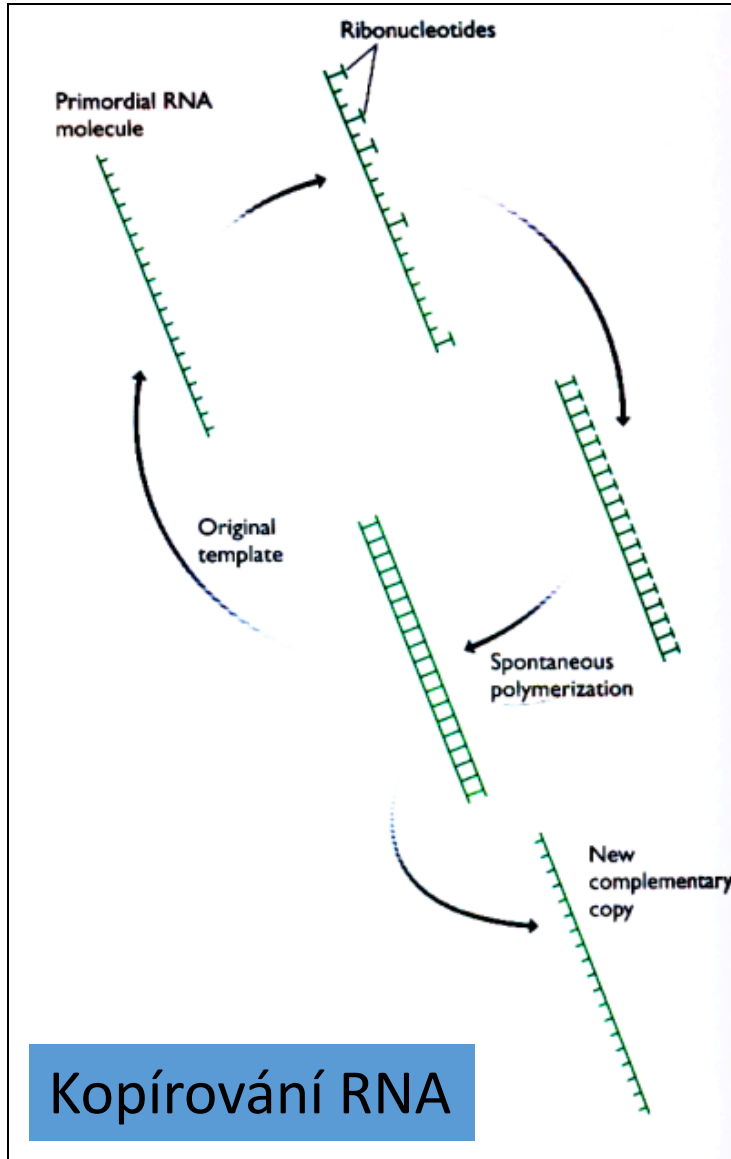
1. Syntéza **nukleozidů**: vazba bází na ribózu
2. Tvorba **nukleotidů**: fosforylace nukleozidů (racemát)
3. Tvorba **polynukleotidů** – tvorba fosfodiesterové vazby



Chemická kondenzace aktivovaných 5'-polyfosfát nukleotidů



Spontánní syntéza prvních RNA a přechod k DNA



Deoxyribonukleotidy vznikají redukcí ribonukleotidů, tymin z uracilu

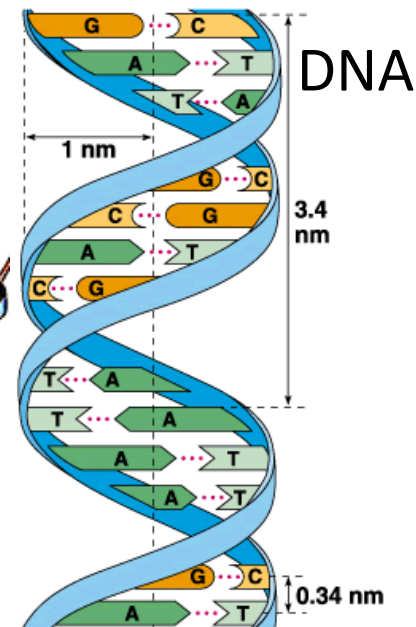
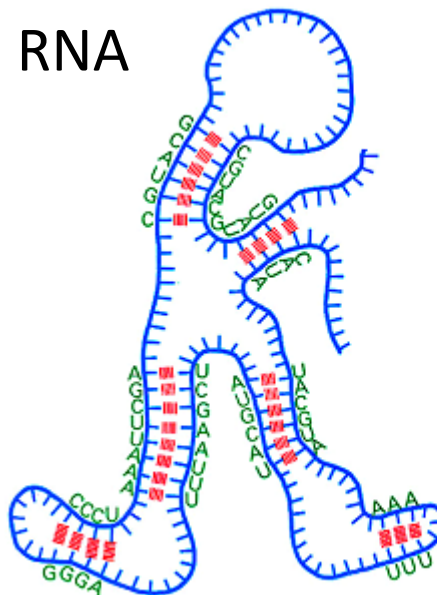
Proč je genetická informace uložena v DNA

Rozdíly mezi RNA a DNA:

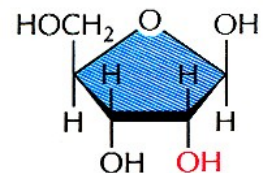
Ribosa (2'-OH skupina)

Uracil místo thyminu

RNA

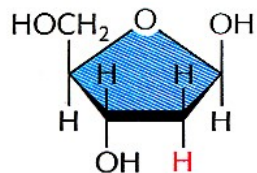


DNA



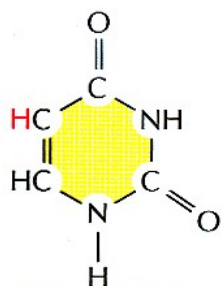
ribose

used in ribonucleic acid (RNA)



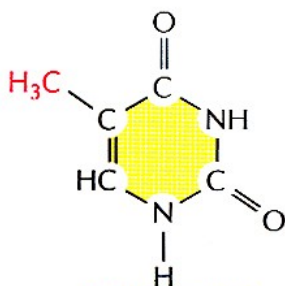
deoxyribose

used in deoxyribonucleic acid (DNA)



uracil

used in RNA



thymine

used in DNA

Důsledky:

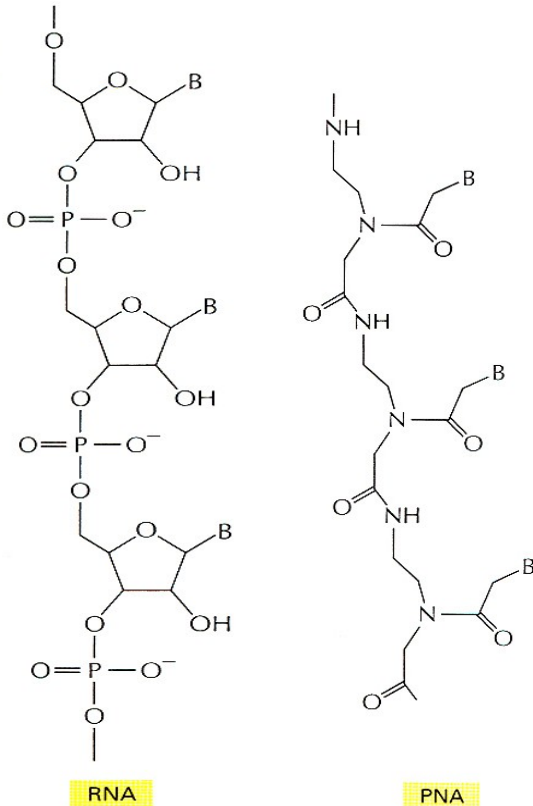
- vyšší chemická i fyzikální stabilita DNA (UV záření)
- delší molekuly (uchování komplexní informace)
- dvouřetězcová (replikace)
- méně reaktivní deoxyribóza
- konformační flexibilita – funkční relevance

Genetické systémy předcházející světu RNA

Molekuly RNA:

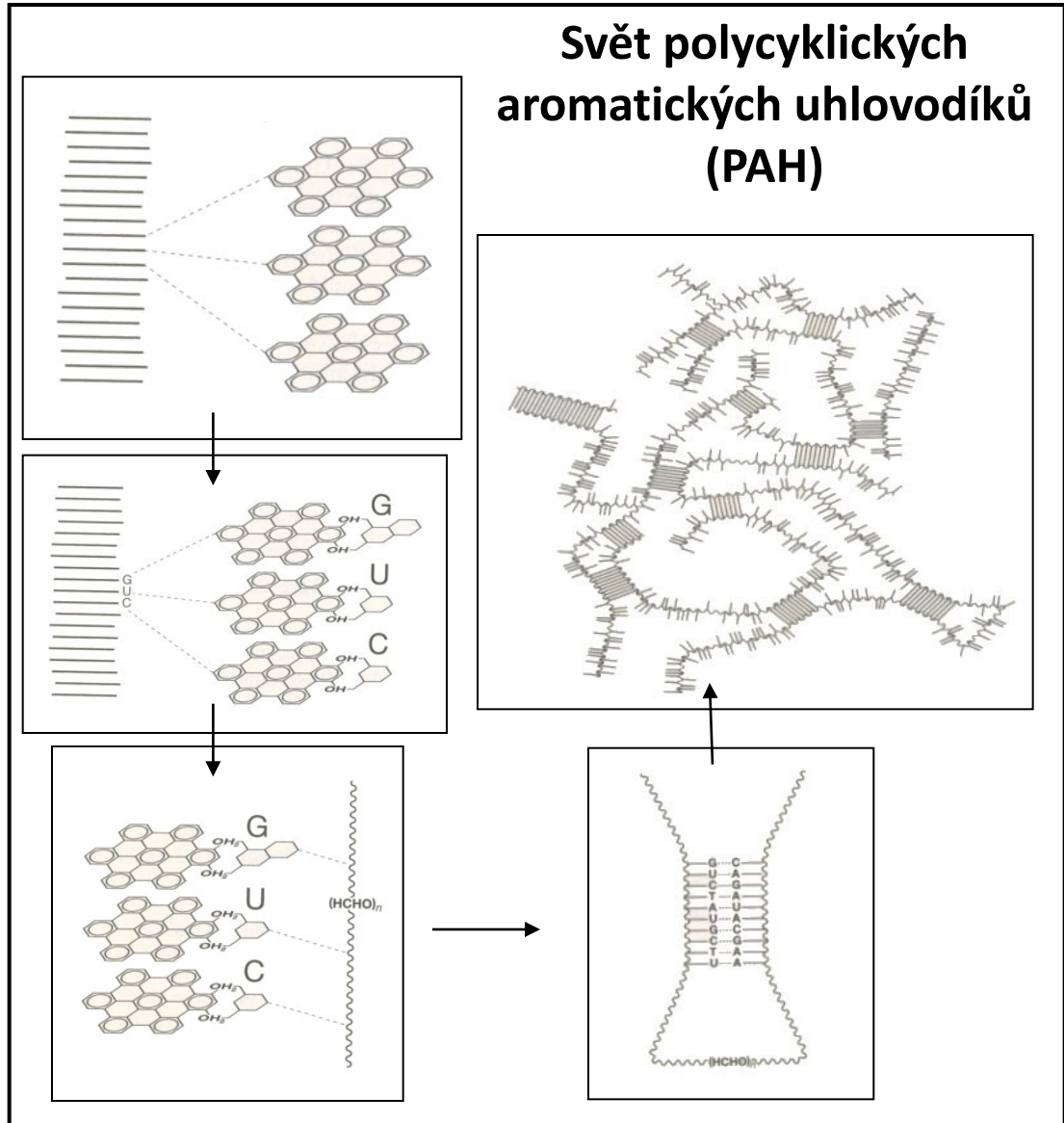
- chemicky **nestabilní**
- strukturně **složitá**

Peptidová nukleová kyselina (PNA)



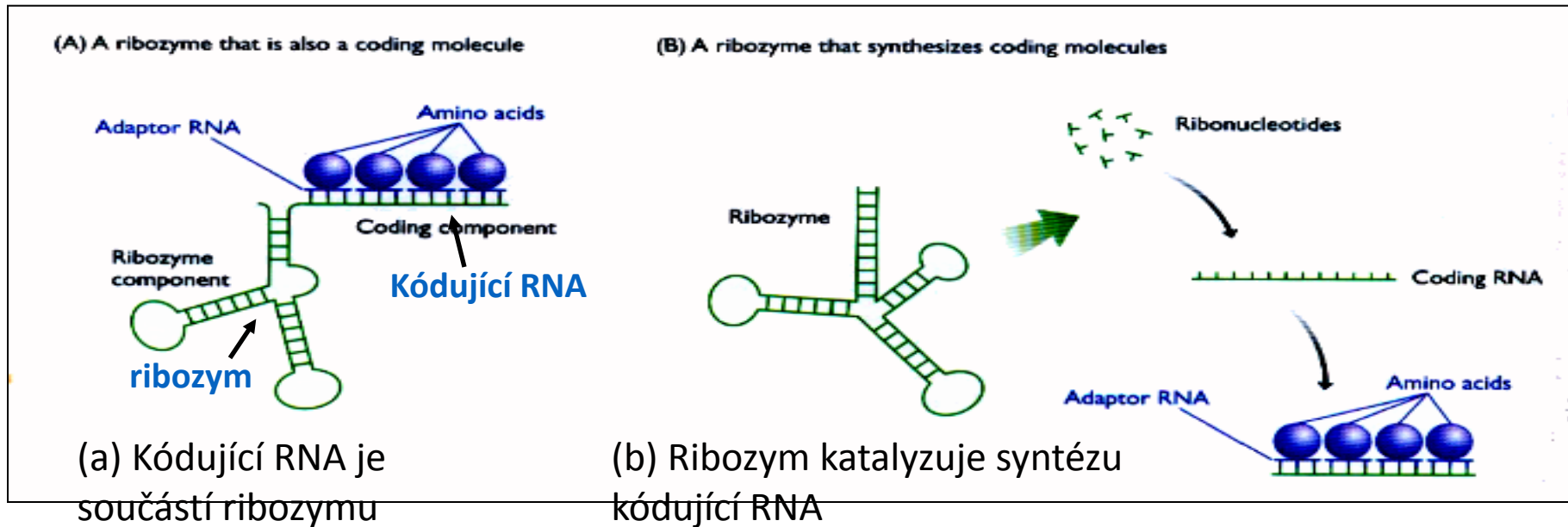
Páteř – lysin, glycin

Svět polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH)



RIBOZYMY

Co dokáží RNA katalyzátory (ribozomy)



Katalyzované reakce – substrátem **většinou RNA**:

1. nejčastěji **hydrolýza fosfodiesterových** vazeb (endonukleáza)
2. obrácený směr – **syntéza fosfodiesterových** vazeb (ligáza, polym.)
3. **transesterifikace** – editace, sestřih

Substrátem **není RNA** !

1. **syntéza peptidové** vazby

RNA se dokáže sama modifikovat, vystřihovat, spojovat.

Osud RNA katalyzátorů po převzetí jejich funkce proteiny

Přechod RNA → proteiny stále probíhá

1. Vymizely:

2. Převzaly nové funkce:

Ribozom: **replikace** → translace

Spliceosom: **rekombinace** → sestřih

3. Zachovaly si vysoce konzervativní funkce:

- snoRNA – úpravy **rRNA**

- RNAza P - úpravy **tRNA**

- snRNA - sestřih intronů v **mRNA**

- tyto funkce vysoce konzervativní - zachovaly se u eukaryot

- **ztráta** některých RNA reliktvů **u prokaryot** - proteiny jsou účinnější

RELIKTY SVĚTA RNA

Představitelé reliktního světa RNA

1. tRNA - od replikace k proteosyntéze
2. Ribozóm
3. Sestřih a snRNA
4. Maturace rRNA a snoRNA
5. Maturace tRNA a RNázaP
6. Signální rozpoznávací částice a srpRNA
7. Editace RNA a řídicí RNA (gRNA)
8. Telomeráza a telomerická RNA

1. Role tRNA a ribozómů: od replikace k proteosyntéze

Dnešní translace – složitá koordinovaná síť interakcí RNA a proteinů – vyvinula se z mnohem jednodušších systémů existujících ještě ve světě RNA (RNA-RNA interakce), důležitá schopnost replikace

Prvotní funkce ribozómů – polymerizace nukleotidů – RNA replikace

Původní role ribozómů v replikaci:

- Ribozomální protein S1 a translační elongační faktor Tu a Ts – jsou podstatnou složkou **replikázového komplexu** fága Q β
- Elongační faktory jsou složkami replikázových komplexů některých rostlinných RNA virů

Hypotéza genomových značek:

Molekuly primitivních tRNA fungovaly jako značky molekul RNA určených k replikaci RNA ribozymy, TLS (tRNA-like structures) – na 3-konci Qbeta
Aminoacylace tRNA – další značka

Pozůstatky replikační role tRNA v dnešních genomech

1. Telomeráza:

krátký fragment RNA funguje jako **templát** pro RT

2. Retroelementy:

tRNA funguje jako **primer** syntézy cDNA při reverzní transkripci

3. RNA viry:

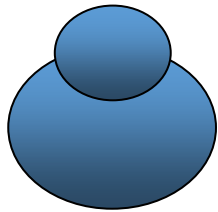
struktury podobné tRNA na 3-koncích genomové RNA

TLS (tRNA like structure) jsou aminoacylovány histidinem, valinem nebo tyrosinem a fungují jako **primery** replikace RNA,

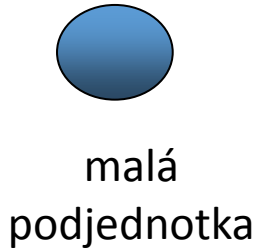
jen 3-koncové CCA nebo CCCA jsou potřebné pro replikaci

2. Ribozómy: ribozymy stabilizované proteiny

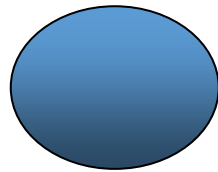
Ribozómy lze považovat za relikty světa RNA



prokaryotický ribozóm



malá podjednotka



velká podjednotka

16S rRNA
(1542 b)

21 proteinů
(S1-S21)

S1 - role v replikázovém komplexu fágů

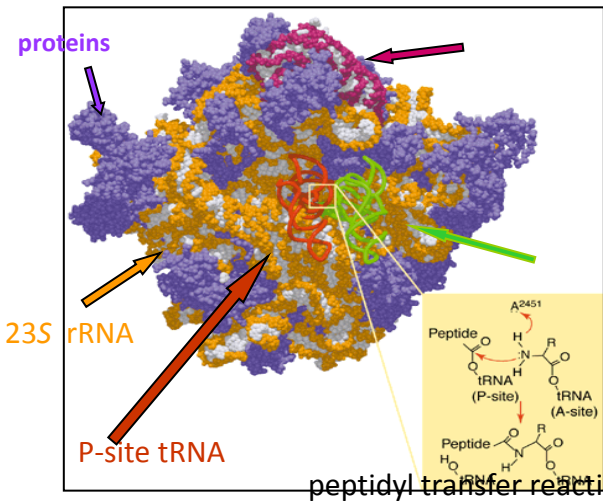
peptidyltransferázová aktivita

5S rRNA
(120 b)

23S rRNA
(2904 b)

32 proteinů
(L1-L34)

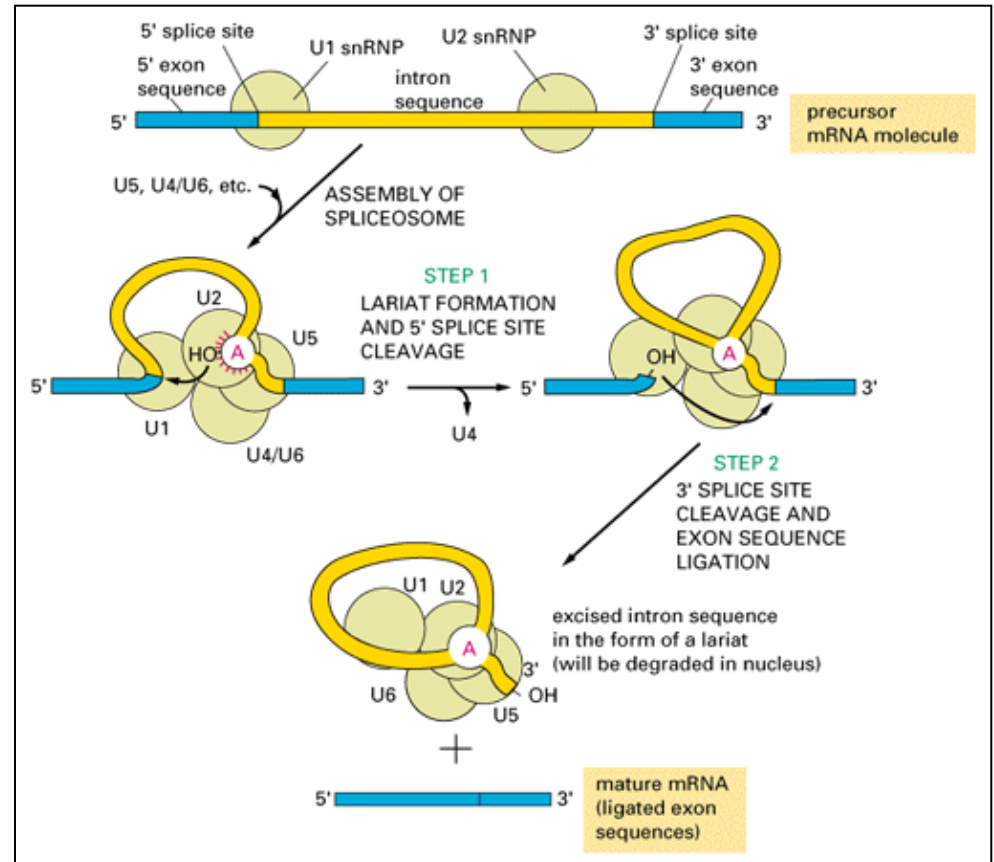
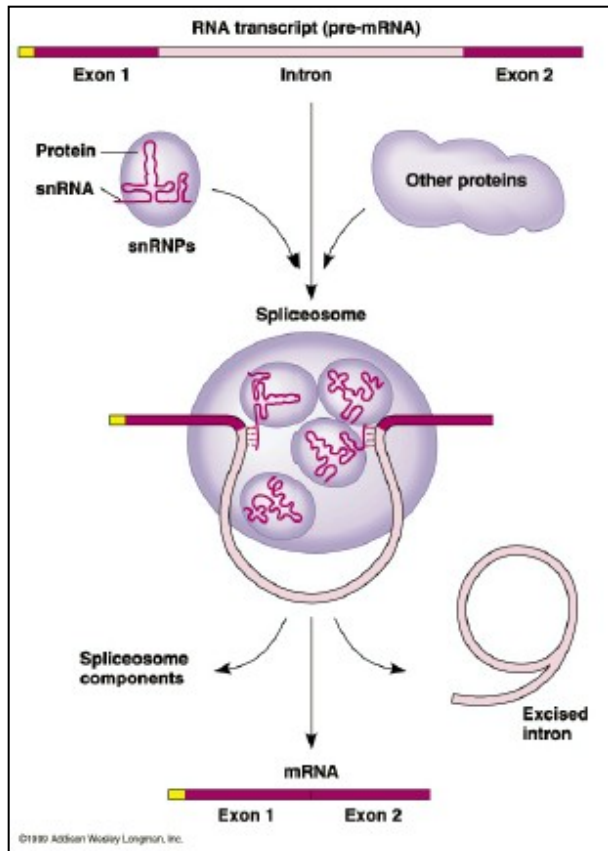
L2 – někde převzal PT roli



3. Sestřih, spliceozóm a snRNA

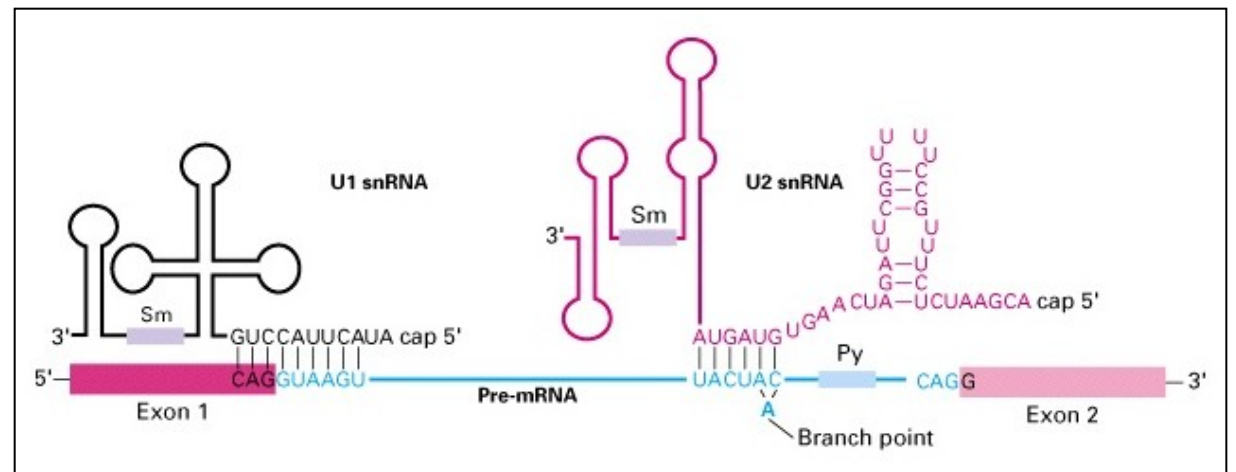
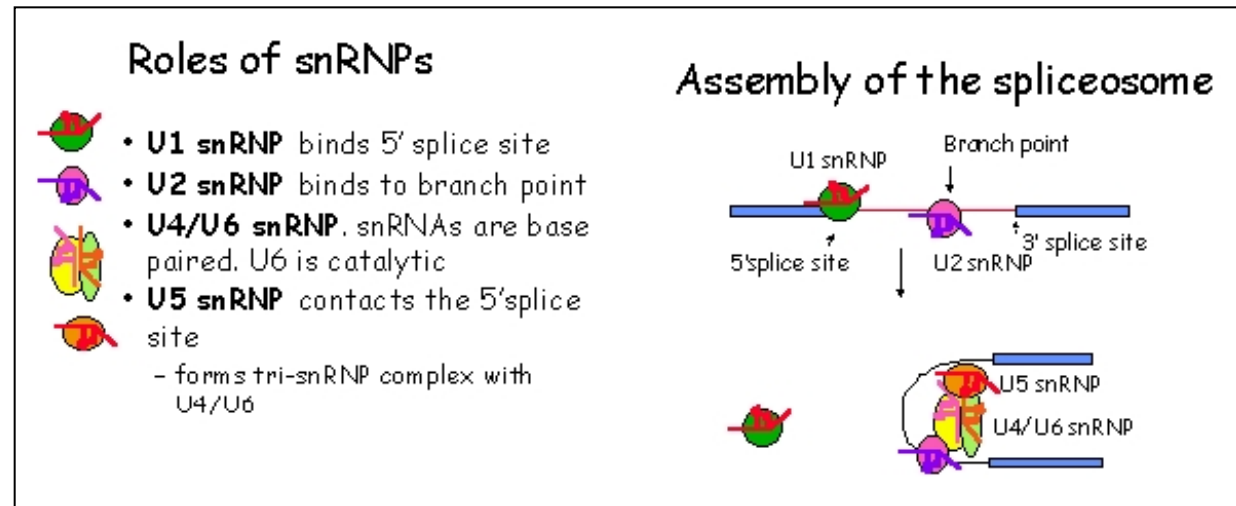
Spliceozóm:

- posttranskripční úprava pre-mRNA (hnRNA), vystřížení intronů
- účast snRNA a proteinů - snRNP
- RNA-RNA interakce
- starší než translace – původ v rekombinaci molekul RNA
- bimolekulární trans-splicing molekul ssRNA

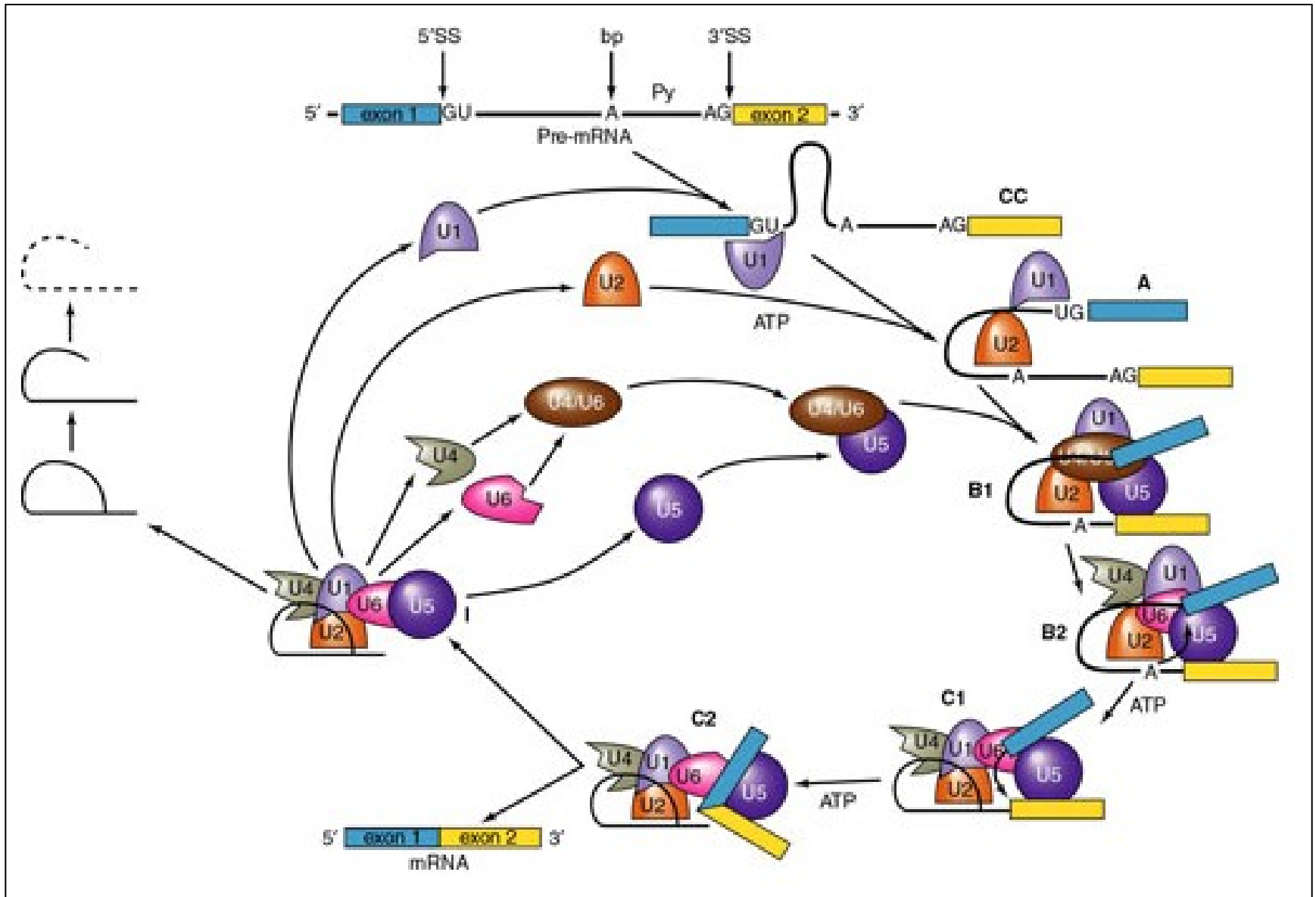


Malé jaderné RNA (snRNA)

- nacházejí se v jádře eukaryot
- účastní se sestřihu pre-mRNA a udržování telomer
- tvoří nukleoproteinové částice (snRNP = snurps), každá s více proteiny
- jsou kódovány introny
- U1, U2, U4, U5, U6
- U4+U6 se párují spolu a U6 je katalytická



Malé jaderné RNA (snRNA)



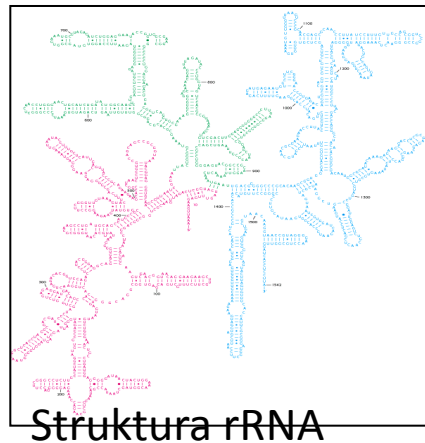
4. Maturace rRNA a snoRNA

snoRNA (malé jadéřkové RNA):

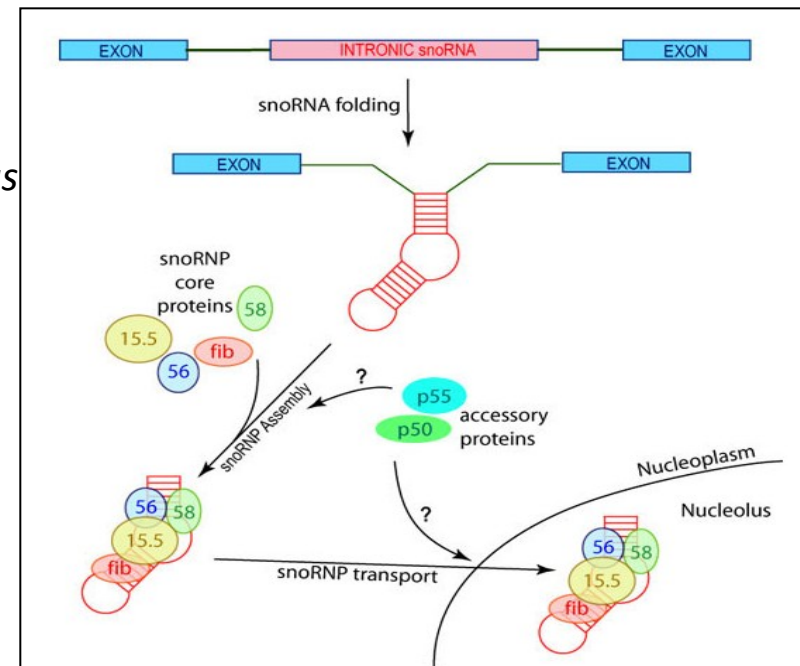
- účast při maturaci rRNA a ribozómů
- velký funkční komplex - snorpozóm
- **kódovány introny** některých genů – ribozomálních a heat shock genů
- 8 různých snoRNA kódováno 8 introny jednoho genu
- u savců 30 různých snoRNA, u kvasinky 26 snoRNA ~ 5426 b (ancestrální snorpozóm)
- homologie snoRNA s rRNA (18S a 28S), intra- i intermolekulární kontakty (kroslinkování)
- některé snoRNA potřebují spliceosom ke své maturaci

Prokaryota:

- **absence snoRNA** u prokaryot je záhadou
- maturace rRNA **jen** za účasti **proteinů**
- objev U3snoRNA u archebakterie *Sulfolobus acidocaldarius*

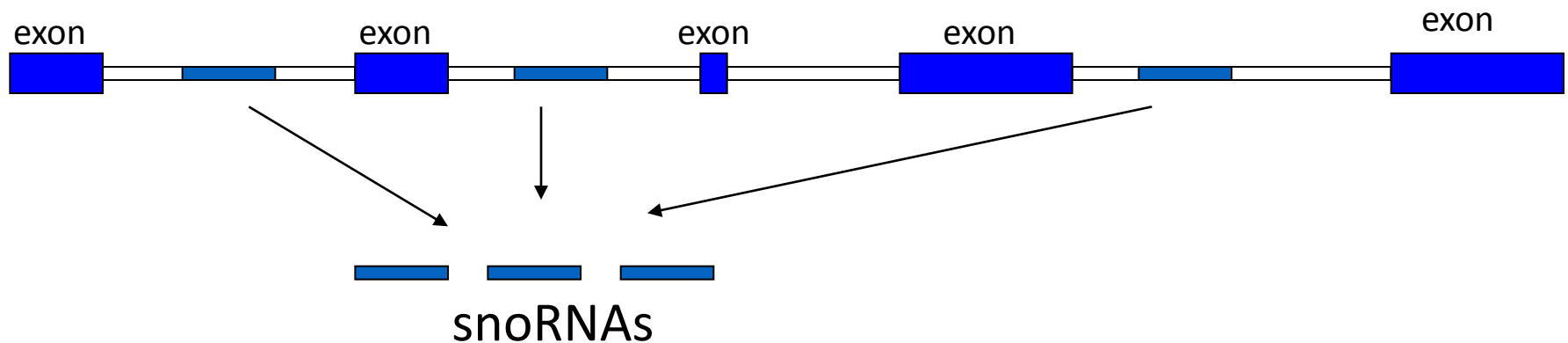


Tvorba snoRNA



Introny jsou někdy důležitější než exony (snoRNA v intronech)

- gen UHG (U22 host gene) obsahující v 8 intronech 8 různých snoRNA
- sestřihem vzniká mRNA, která je však degradována
- mRNA je málo konzervativní mezi člověkem a myší
- hlavním funkčním produktem UHG genu jsou tedy molekuly snoRNA



Tycowski et al (1996): A mammalian gene with introns instead of exons generating stable RNA products. Nature 379: 464-466.

5. Maturace tRNA a RNázaP

tRNA:

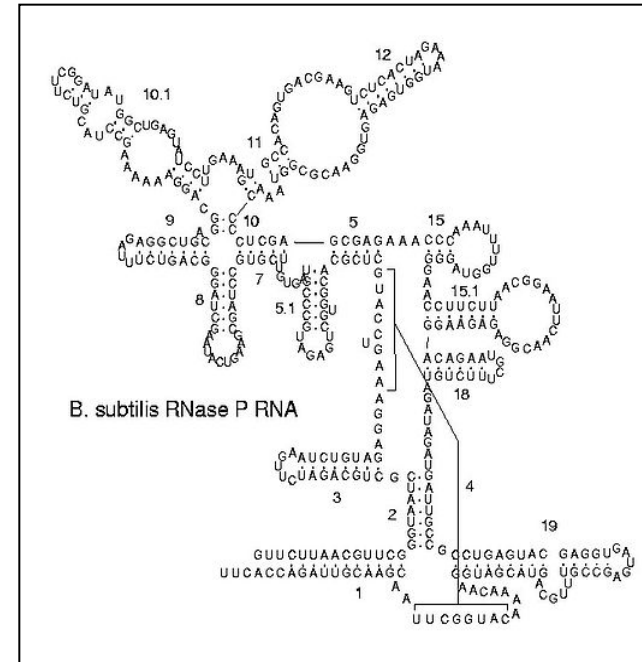
- relikť světa RNA – konzervativní, všudypřítomná, centrální úloha v metabolismu
- interakce s rRNA (CCA konec tRNA interaguje s 23SrRNA)
- původní funkce v replikaci, později v proteosyntéze
- některé geny pro tRNA mají introny

RNázaP:

- úloha v maturaci tRNA
- je skutečným **enzymem**, štěpí opakovaně
- RNA katalytická podjednotka (=M1 RNA) + proteinová podjednotka (=C5)
- jediný ribozym modifikující RNA u **prokaryot**
- molekulární fosílie

RNáza MRP:

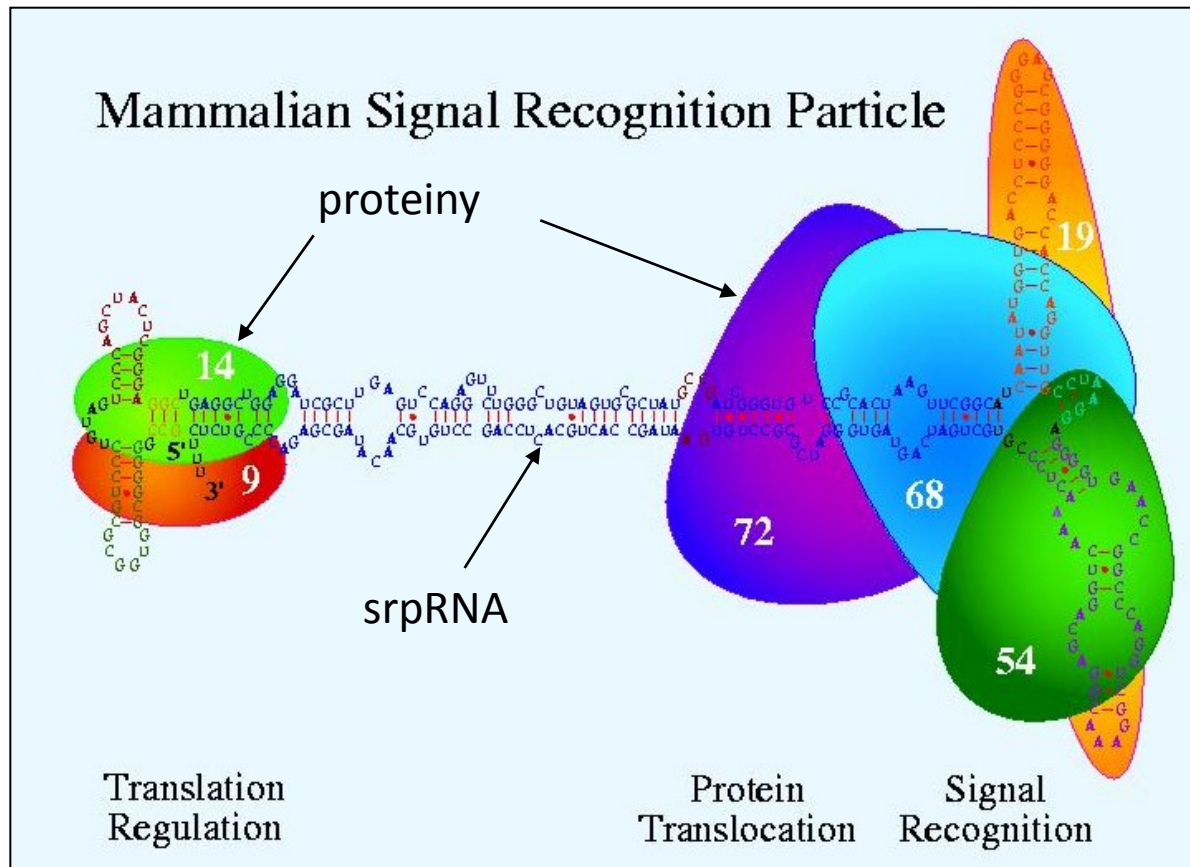
- druhá podobná molekula vzniklá duplikací a divergencí u eukaryot nebo endosymbiózou
- výskyt u *Giardia* a *Microsporidia* – nemají mitochondrie



RNA složka RNAázyP
(370 bází)

6. Signální rozpoznávací částice a srpRNA

- RNA-proteinový komplex zajišťující vazbu ribozómu na ER a sekreci proteinů
- RNA složka 7S RNA u eukaryot a archeí, asi 300 b
- podobná struktura a funkce, homologie s Alu sekvencemi
- stimuluje hydrolýzu GTP
- původně ribozym štěpící GTP



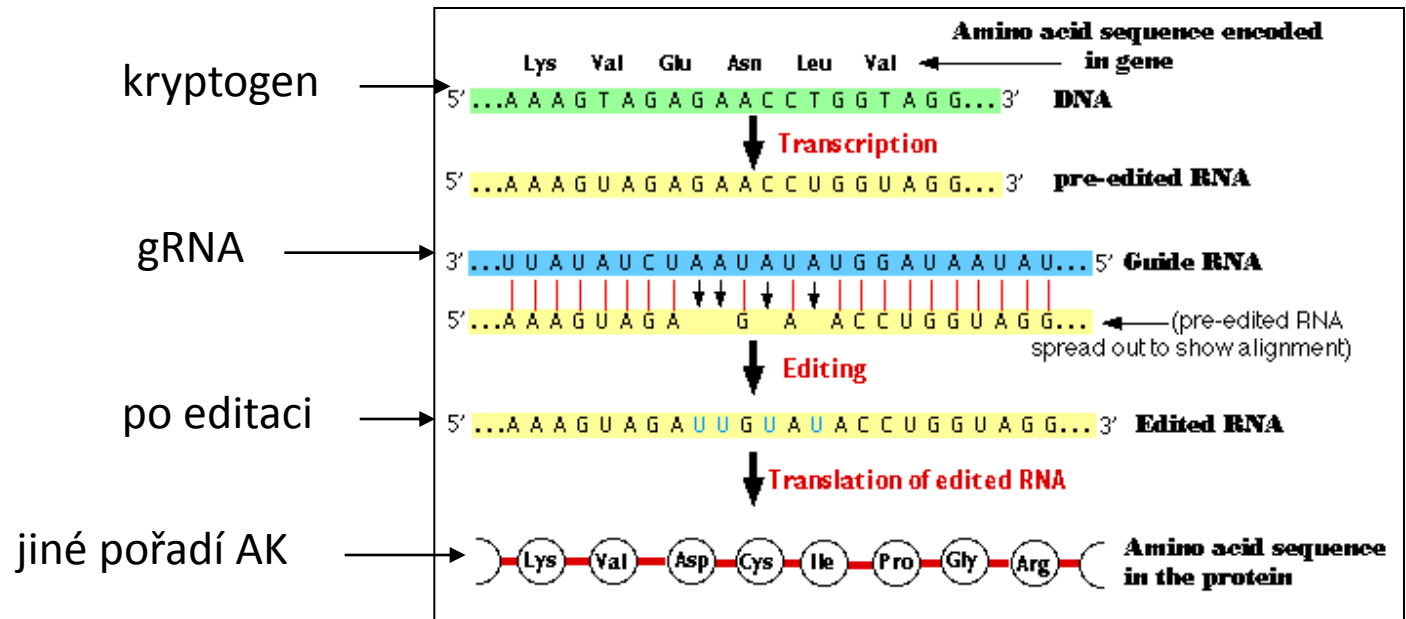
Schematic representation of the mammalian SRP depicting SRP9, SRP14, SRP19, SRP54, SRP68, SRP72 and SRP RNA. The part of SRP comprising SRP9/14 complexed with RNA forms a distinct structural domain known as the **Alu domain due to homology of the Alu family of RNA sequences** with the Alu family of repetitive DNA sequences and the small cytoplasmic Alu RNAs (scAlus). The Alu domain of SRP mediates the specific pauses(s) in the synthesis of nascent ER targeted proteins whose signal sequence has been bound by SRP54.

7. RNA editace, g-RNA, editozóm

- posttranskripční úpravy - modifikace tRNA, rRNA a pre-mRNA,
- substituce, inserce, delece, **kryptogeny**, templátem je guide RNA (g-RNA)
- eukaryota, mitochondrie trypanosom – inserce či delece polyU
- editace je podmínkou tvorby sekundárních struktur bez nichž nemůže dojít k maturaci tRNA RNázou P

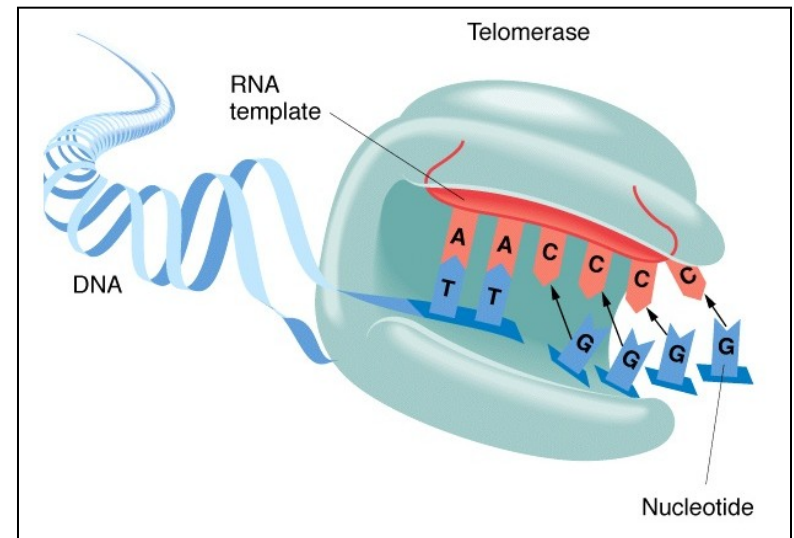
Původ editace:

- u mitochondrií – reakce na asexualitu (Mullerova rohatka), korekce
- ve světě RNA – editace jako kontrolní mechanismus exprese tRNA
- nádorová nebo neurologická onemocnění (epilepsie)



8. Telomeráza

- problém replikace konců lineární DNA u eukaryot – RNP komplexy
- RNA složka jako templát pro syntézu telomerických repeticí
- RNA složka tvoří terciální strukturu, účast v katalýze nejasná
- nepřítomna u prokaryot, cirkulární genomy
- mutace telomerické RNA vede k prodlužování telomer
- homologie s reverzní transkriptázou
- starobylé RNA genomy byly lineární --> podpora hypotézy genomových značek



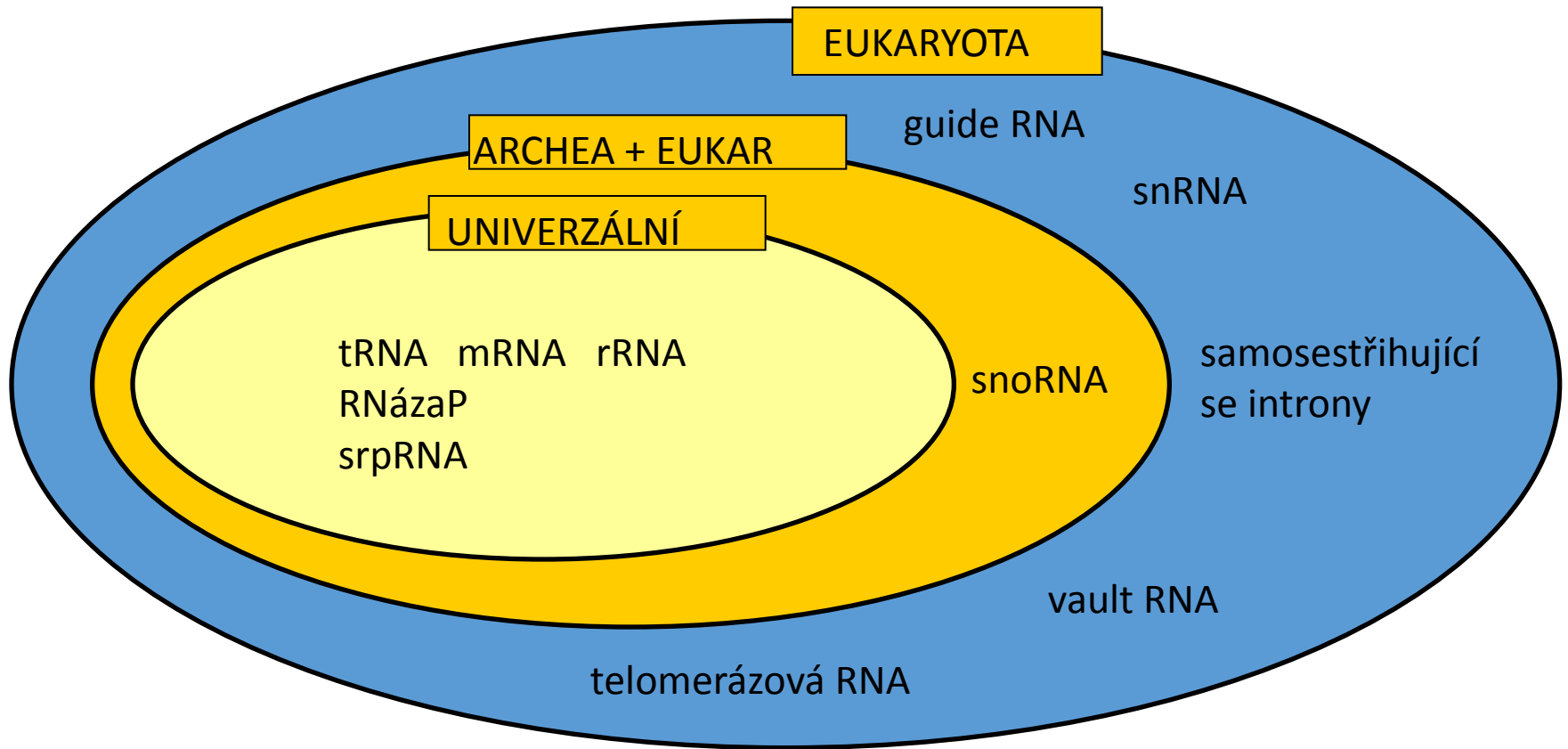
Provázanost ribozymů



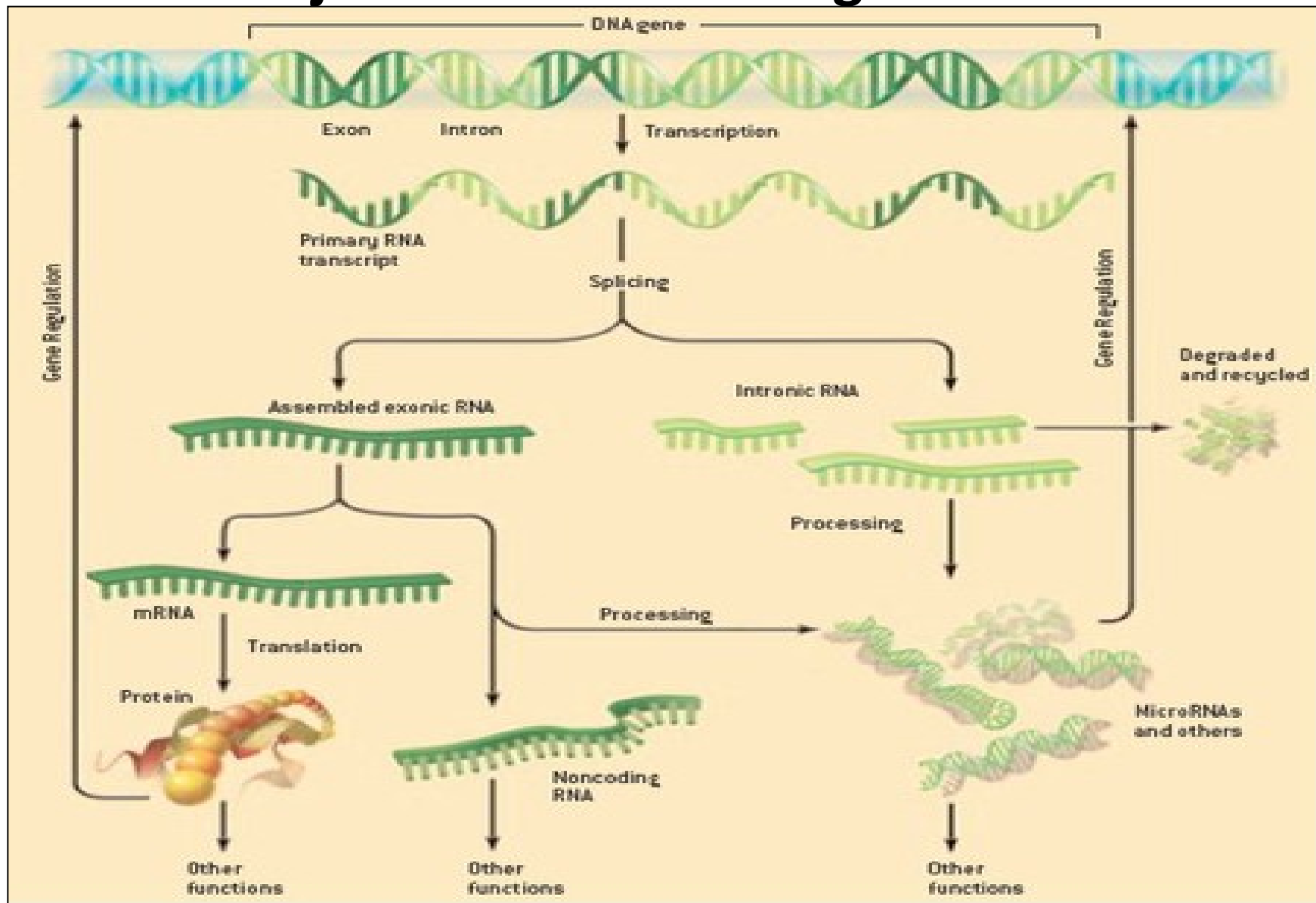
snRNA jsou potřeba pro sestřih snoRNA, které se nacházejí v intronech jiných genů

snoRNA jsou potřeba pro sestřih rRNA

Fylogenetický výskyt fosilních RNA



Nekódující RNA: důležité regulační funkce



Regulační systém na bázi RNA

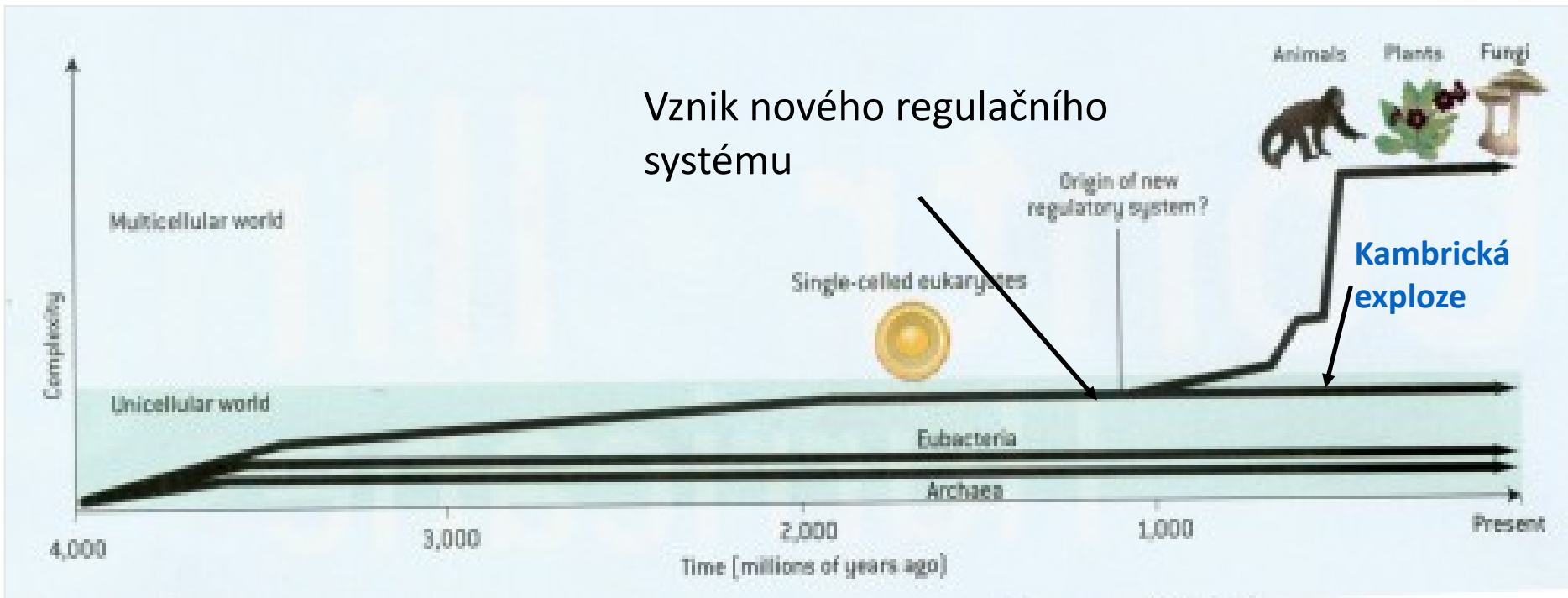


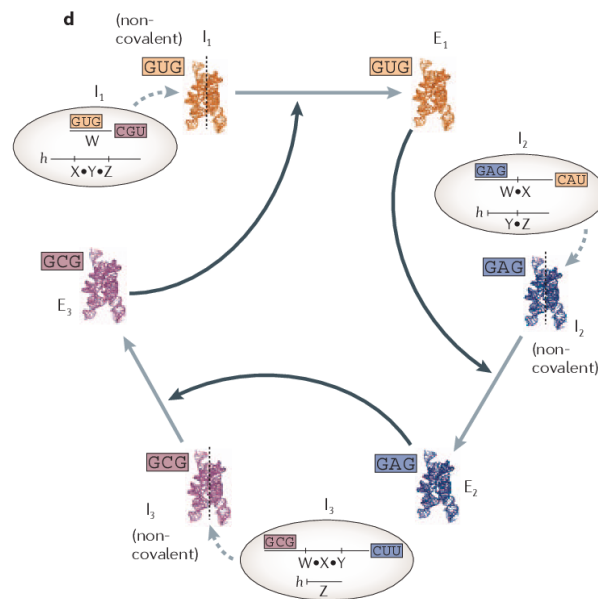
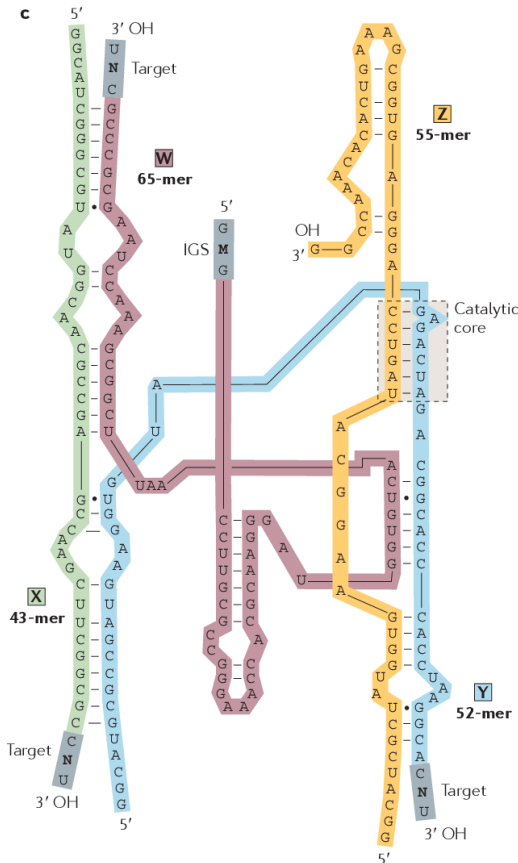
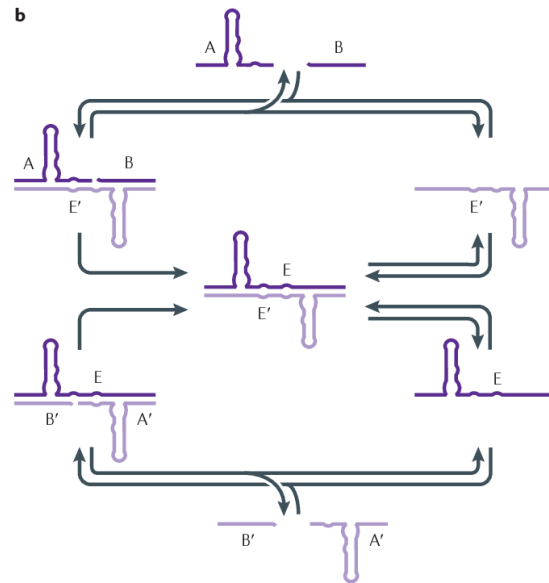
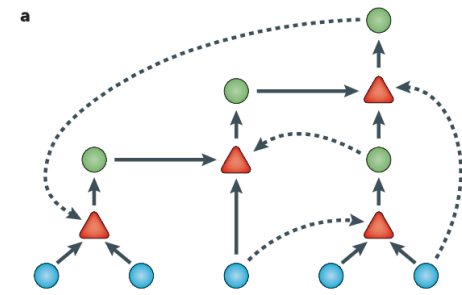
Figure 3 | **A simplified biological history of the Earth.** This graph is intended to present an overview. Some dates are still being debated and the abscissa ("complexity") has an arbitrary scale. Life appeared on Earth approximately 4,200 million years ago (mya), either arising as, or quickly streaming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

Jak to začalo?

(prapočátky světa RNA)

Kooperace molekul RNA

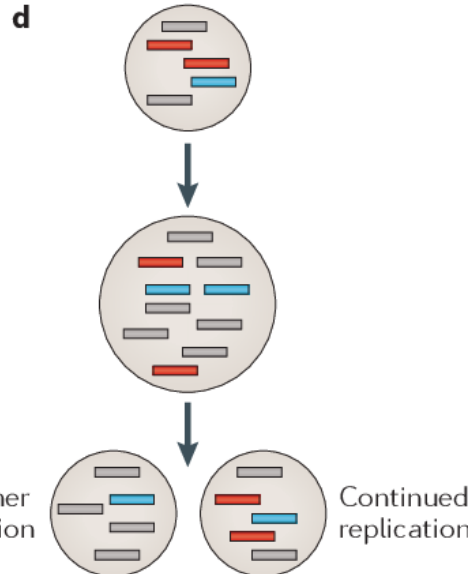
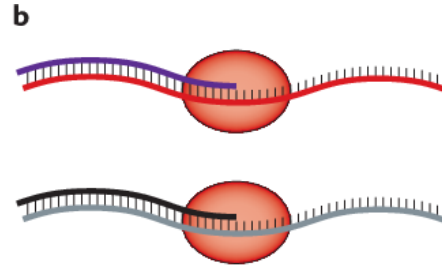
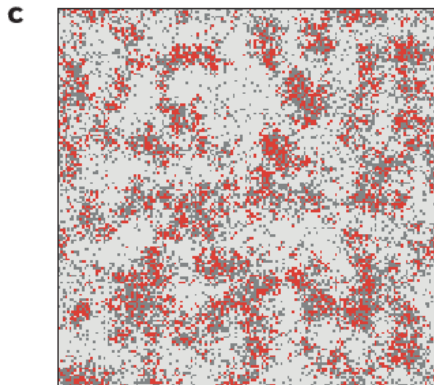
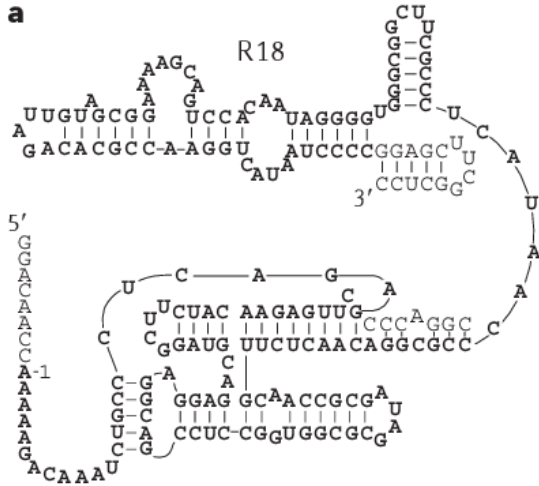
(klasická představa počátků světa RNA)



- Vznik dlouhých ribozymů téměř vyloučen
- Molekuly RNA kooperují, aby zajistily replikaci a metabolické procesy
- a) kooperace vzájemně závislých řetězců (modrá = prekurzor, zelená = funkční katalyzující molekula (produkt), červená = reakce katalyzovaná produktem naznačeným tečkovanou šipkou)
- b) autokatalytický set dvou ribozymů, které se vzájemně ligují
- c) kooperace několika kratších řetězců dává vzniknout funkčnímu ribozymu
- d) autokatalytický set tří ribozymů (E1 katalyzuje kovalentní složení E2, E2 katalyzuje E3 atd.)

Higgs a Lehman (NRG, 2014)

RNA polymerázy – altruističtí kooperativci



- Sebe replikující RNA polymerázy (replikázy) dosud nebyly objeveny
- Altruistické replikázy jsou vystaveny parazitům, kteří postupně „ředí“ autokatalytický cyklus, čímž ho mohou vyřadit
- a) „trans-acting“ R18 polymeráza
- b) polymeráza replikuje sama sebe (neznámá) nebo jiné řetězce
- c) v přítomnosti parazitů je přežití altruistické replikázy možné na 2D površích
- d) nebo za předpokladu kompartmentalizace – uvnitř protobuňky

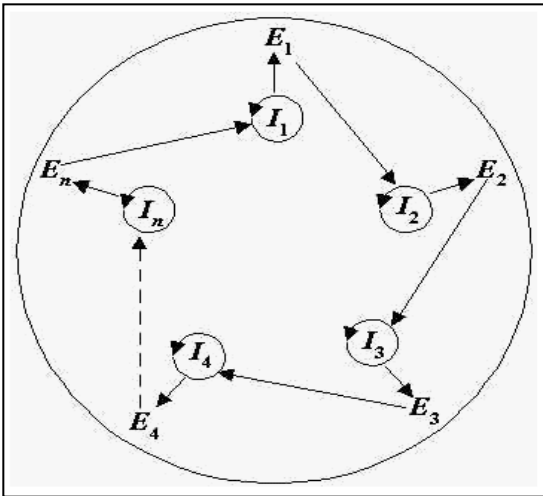
Higgs a Lehman (NRG, 2014)

Hypercykly aneb cesta k buňce



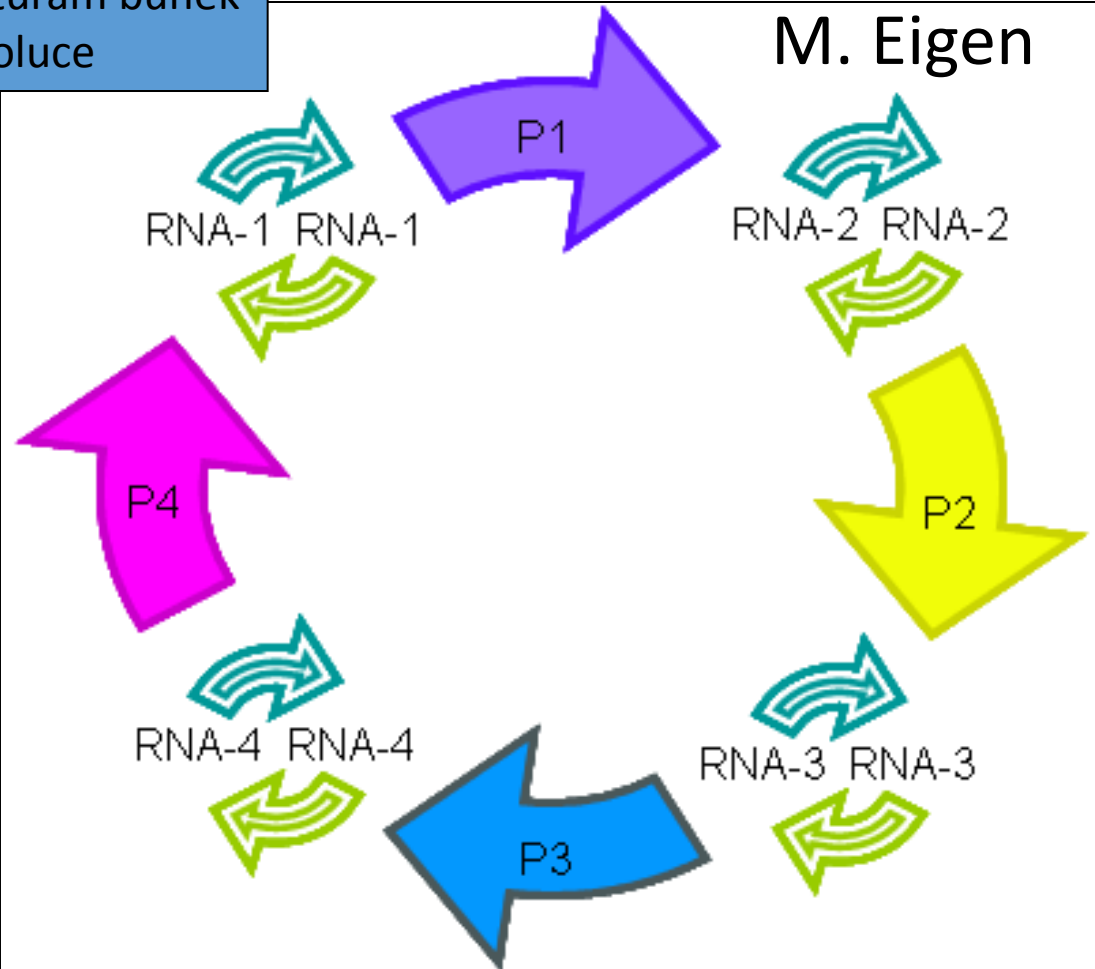
Původně jeden člen - duplikace a mutace – dva členy ...

Cesta od nukleových kyselin ke strukturám buněk
= jedna z největších záhad evoluce



V určité fázi vývoje se objevily první **parazité** – zlodějské cykly. Přežily jen hypercykly schopné se bránit parazitům.
Za vznikem buněk tedy možná stáli parazité (hybná síla evoluce)

M. Eigen



Problémy světa RNA

Neschopnost autoreplikace

dosud objevené RNAreplikázy replikují jen jiné molekuly RNA, ale ne sebe samu

Nízká procesivita a vysoký „error rate“ replikáz, nízká rychlost ribozymů

Procesivita replikáz max cca 200 bp, tolerovaná chybovost klesá úměrně k délce teplátu, rychlost proteinových enzymů 1000-1000000 x vyšší

Měnící se podmínky na Zemi

RNA svět přizpůsobený vyšším teplotám na mladé Zemi by patrně postupně ztrácel svoje katalytické schopnosti (omezená katalytická schopnost RNAzymů), narušování synchronizace reakcí (změny rychlostí reakcí v mnoha řádech i při malé změně teploty)

Dodatečné začlenění peptidů

Existující a fungující svět RNA by jen s nízkou pravděpodobností začlenil peptidy (genetický kód)

Svět RNA-peptidových komplexů

Carter a Wills (2017, 2018)

Interdependence, Reflexivity, Fidelity, Impedance Matching, and the Evolution of Genetic Coding

Charles W. Carter Jr.*¹ and Peter R. Wills²

¹Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC

²Department of Physics, University of Auckland, Auckland, New Zealand

*Corresponding author: E-mail: carter@med.unc.edu.

Associate editor: Jeffrey Thorne

Abstract

Genetic coding is generally thought to have required ribozymes whose functions were taken over by polypeptide aminoacyl-tRNA synthetases (aaRS). Two discoveries about aaRS and their interactions with tRNA substrates now furnish a unifying rationale for the opposite conclusion: that the key processes of the Central Dogma of molecular biology emerged simultaneously and naturally from simple origins in a peptide-RNA partnership, eliminating the epistemological utility of a prior RNA world. First, the two aaRS classes likely arose from opposite strands of the same ancestral gene, implying a simple genetic alphabet. The resulting inversion symmetries in aaRS structural biology would have stabilized the initial and subsequent differentiation of coding specificities, rapidly promoting diversity in the proteome. Second, amino acid physical chemistry maps onto tRNA identity elements, establishing reflexive, nanoenvironmental sensing in protein aaRS. Bootstrapping of increasingly detailed coding is thus intrinsic to polypeptide aaRS, but impossible in an RNA world. These notions underline the following concepts that contradict gradual replacement of ribozymal aaRS by polypeptide aaRS: 1) aaRS enzymes must be interdependent; 2) reflexivity intrinsic to polypeptide aaRS production dynamics promotes bootstrapping; 3) takeover of RNA-catalyzed aminoacylation by enzymes will necessarily degrade specificity; and 4) the Central Dogma's emergence is most probable when replication and translation error rates remain comparable. These characteristics are necessary and sufficient for the essentially de novo emergence of a coupled gene-replicase-translation system of genetic coding that would have continuously preserved the functional meaning of genetically encoded protein genes whose phylogenetic relationships match those observed today.

Key words: aminoacyl-tRNA synthetases, bootstrapping, evolution of translation, molecular phylogeny.

The RNA-Peptide World

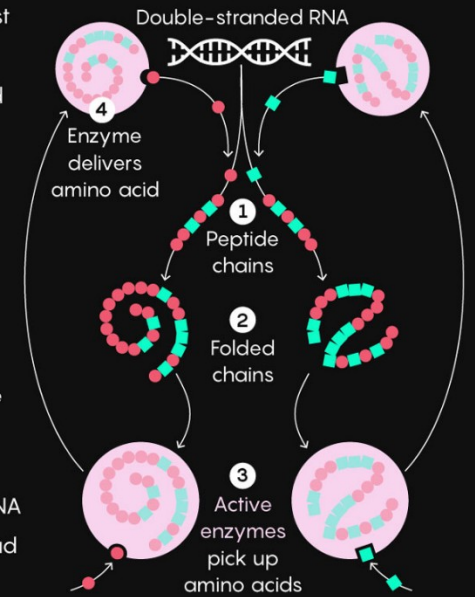
Life might have originated from interactions between RNA and peptides that acted as the first genetic code. A self-sustaining loop of reactions would have built enzymes by choosing between only two types of amino acids instead of the 20 in today's proteins.

1 "Loading enzymes" match against the sequence of bases in RNA and help create peptide chains of linked Class I and Class II amino acids.

2 The peptide chains fold into functional shapes.

3 Depending on their shape, the chains pick up either Class I or Class II amino acids and become active loading enzymes.

4 The enzymes interact with the RNA and deliver their amino acid payload to the forming chains.

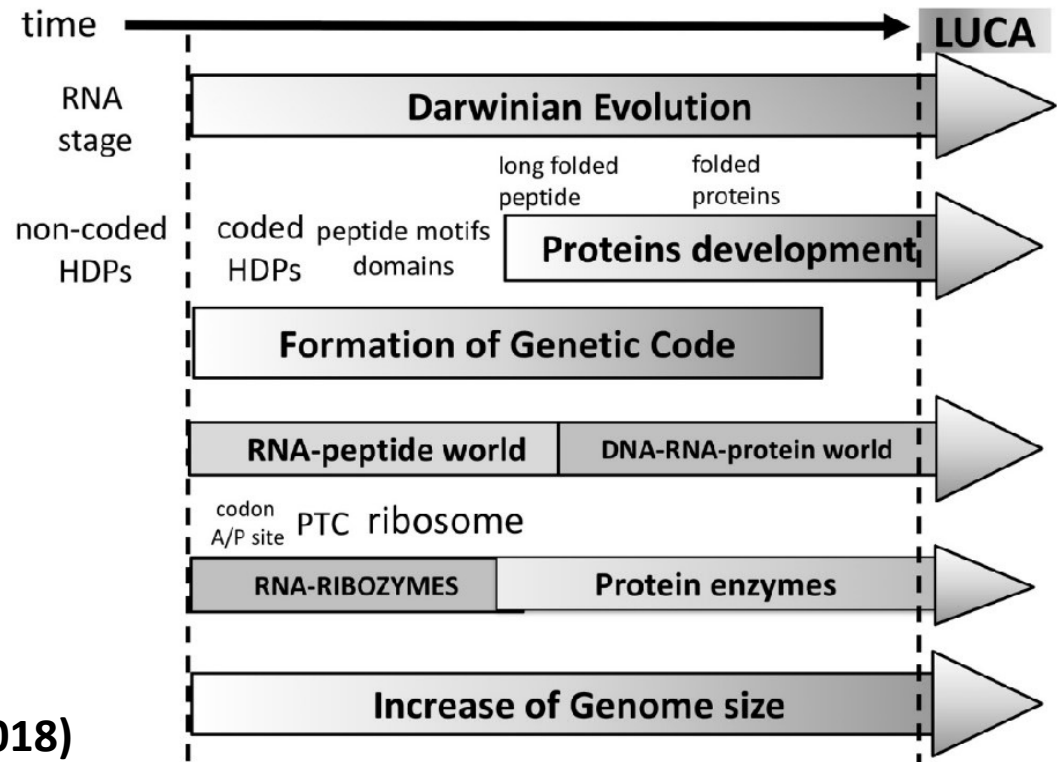


- 1) 2 druhy Aminoacyl tRNA syntetázy (aaRS) kódovány komplementárními řetězci téže RNA
- 2) Binární systém kódování
- 3) Mutace změní oba druhy aaRS najednou – zachování binárního kódování

Svět RNA-peptidových komplexů

Koevoluce RNA, peptidů a ribozymů

- Na prapočátku stála interakce RNA a peptidů, která dokáže zajistit sebereplikující cykly
- Ribozymy katalyzovaly některé z prvních transkripčních a translačních reakcí a zůstaly konzervovány v základech života
- Genetický kód se začal formovat velmi brzy
- Proteiny se vyvinuly z jednodušších peptidů
- DNA jako poslední článek



PRVNÍ GENOMY

První protein: RNA-dependentní RNA polymeráza (RNA replikáza)

RNA → RNP → protein

Proteiny zvýšily účinnost ribozymů

- první geneticky kódovaný protein vznikl náhodou
- krátký peptid strukturně jednoduchý
- interagoval s RNA replikonem, zvyšoval jeho stabilitu či zlepšoval konformaci
- syntéza potomstva musí být **rychlejší** než degradace rodičů
- dostatečná **přesnost**, ale ne absolutní (možnost evoluce)

RNA polymeráza → Reverzní transkriptáza

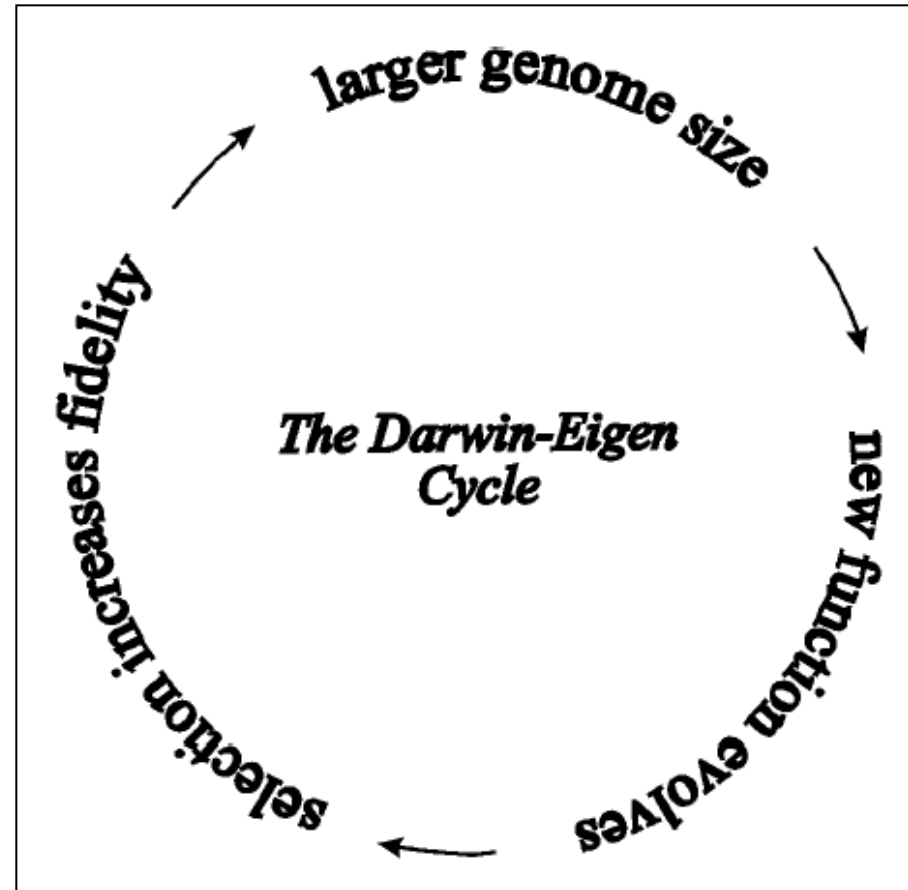
Eigenův limit: replikační přesnost je limitujícím faktorem

- **Definice:**

Čím je vyšší frekvence chyb při replikaci, tím menší genom může projít do další generace

- **Omezení katastrofických dopadů chyb replikace:**

- více kopií (ploidie)
- fragmentace genomu do chromosomů
- rekombinace



Dnešní viry: Funkční relikty časných replikonů?

Pohled na viry:

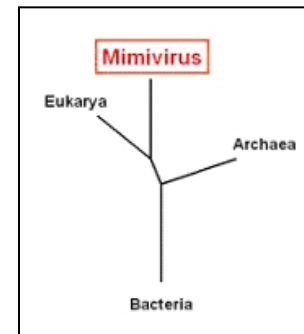
- (a) molekulární paraziti, **odvození** v důsledku způsobu života
- (b) **primitivní**, na hranici života podobně jako časné replikátory
- funkční relikty x funkční modely RNA-proteinových replikonů

RNA viry:

- minimální kódující kapacita (coronaviry 30kb)
- některé viry střídají fáze RNA a DNA – reminiscence RNA → DNA přechodu - primerem replikace je tRNA

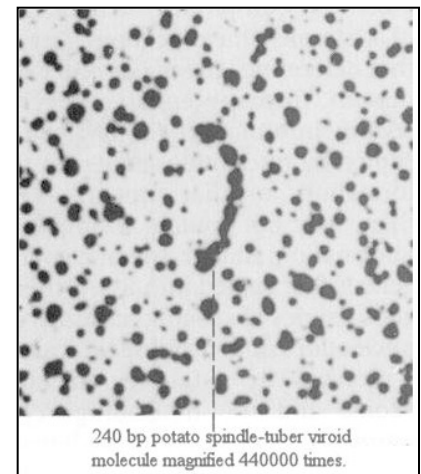
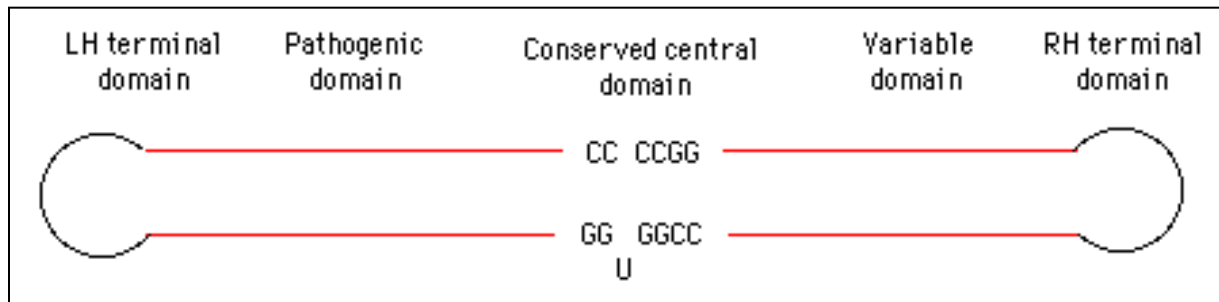
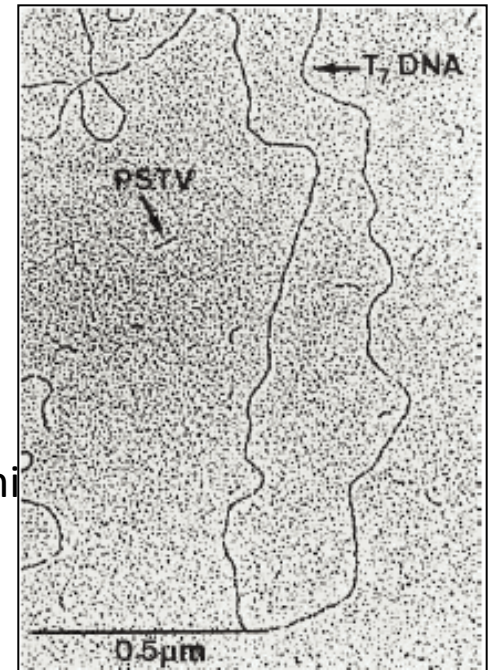
Mimiviry – hranice života:

- velikost genomu srovnatelná s prokaryoty (1.2Mb)
- metabolické geny (911 genů pro proteiny)
- 10% repetitivní DNA
- jen částečná závislost na hostiteli (proteosyntéza)



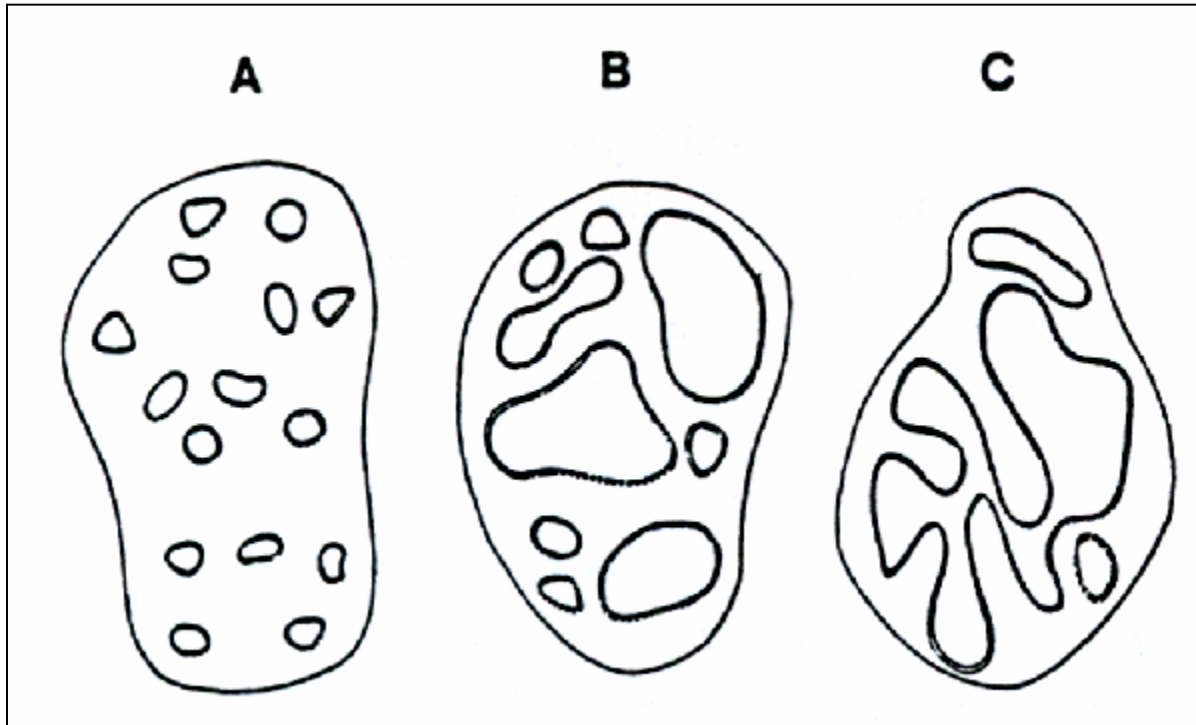
Viroidy: nejpodobnější časným replikonům

- patogeny rostlin
- 200 až 10 000 kopií na buňku
- malé RNA genomy (240-400 b), ssRNA, cirkulární,
- nekódují proteiny – jako replikony éry před proteiny
- replikovány hostitelskými RNA polymerázami
- rolling-circle mechanismus
- multimery štěpené autokatalytickými **ribozymovými** sekvencemi
- intenzivní **vnitřní párování bází** jejich genomické sekvence
- tvorba sekundárních struktur stabilizujících genomy



První DNA genomy: vznik fúzováním malých kružnic DNA

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



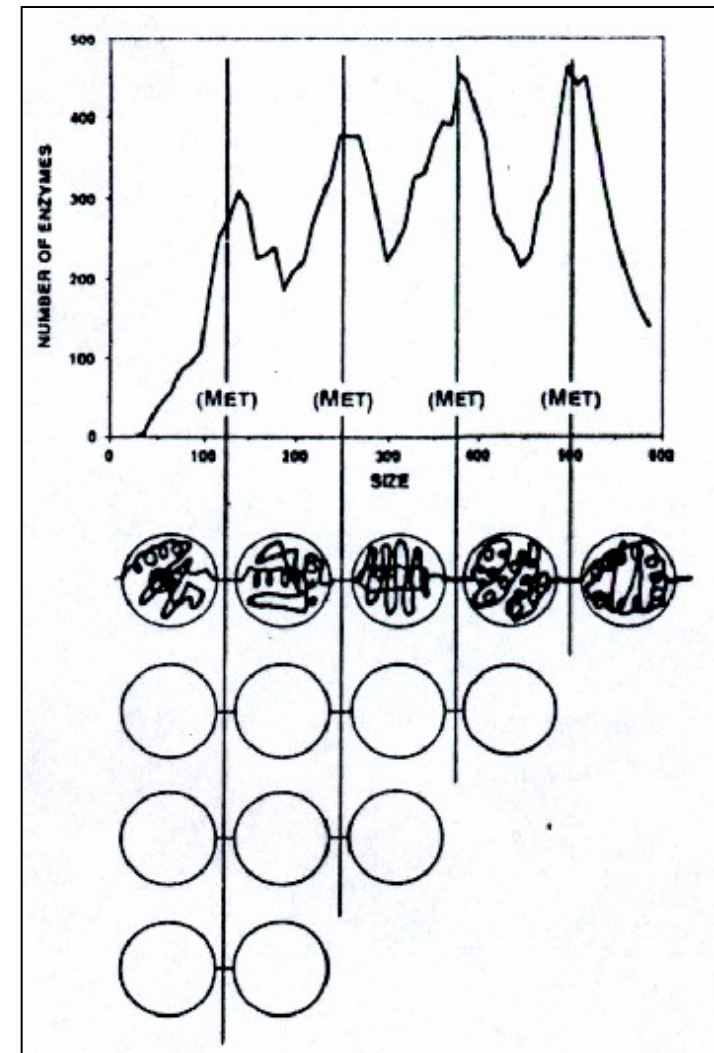
Fáze:

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

První DNA genomy: vznik fúzováním malých kružnic DNA

Důkazy:

- **periodicita** délek proteinů
- nejsnazší **cirkularizace**
- periodicita výskytu **Met**
- pozůstatkem **extrachromosómalní** DNA
- **mobilní** elementy, fágy, genomy organel
- replikace satelitů prostřednictvím eccDNA



Konec