

Buněčná biologie řas

Řasa = fotosyntetický eukaryot, který není rostlina



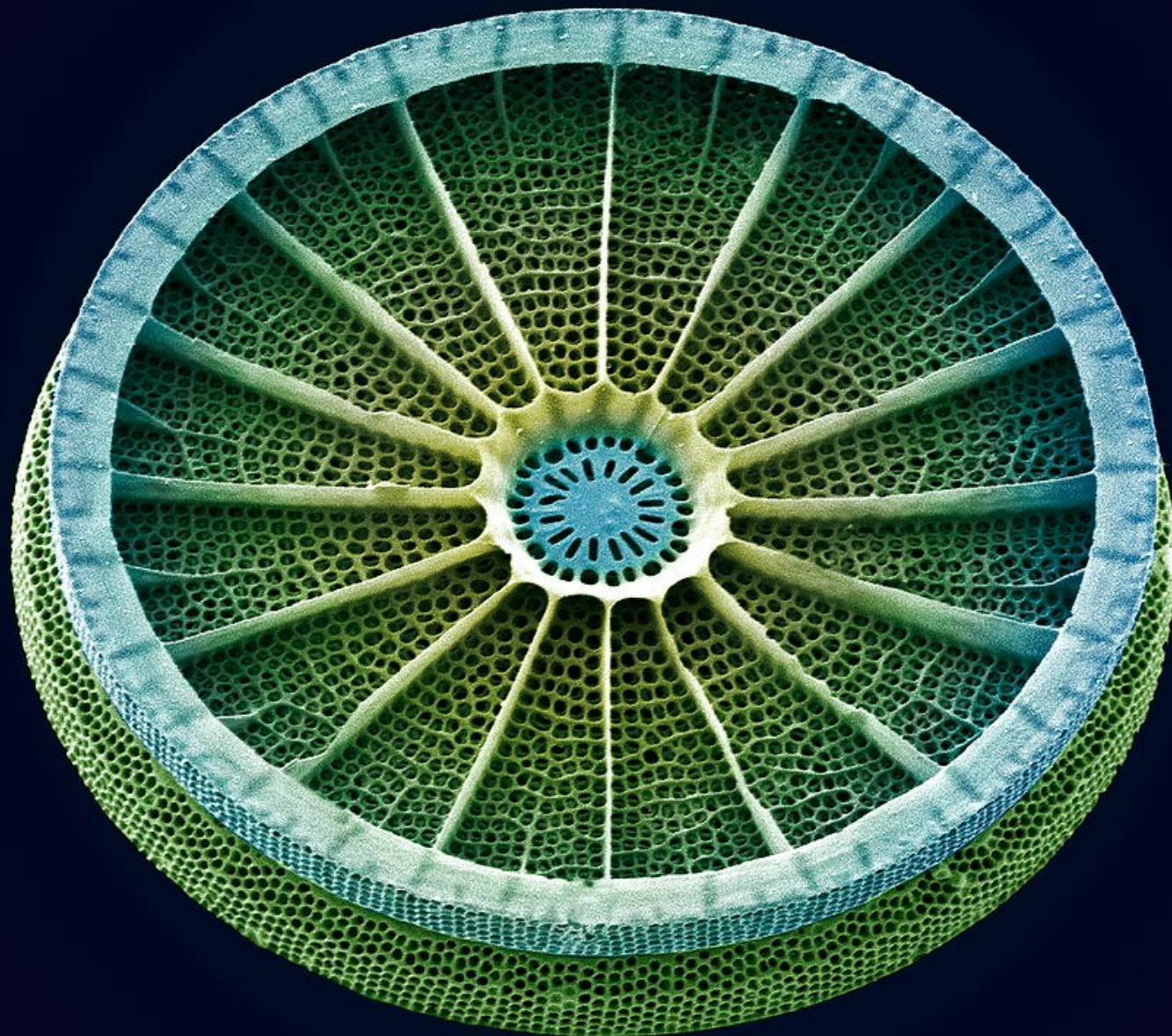
Řasa = fotosyntetický eukaryot, který není rostlina



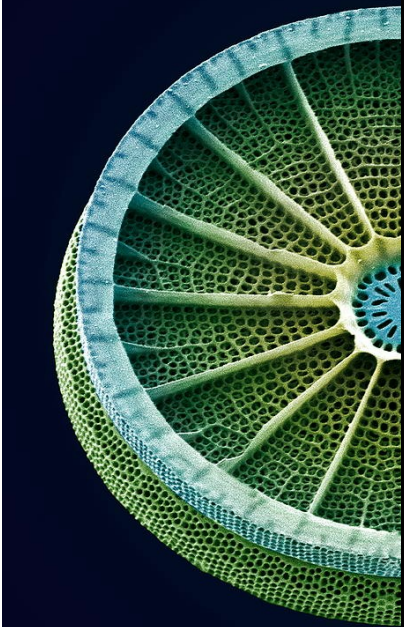
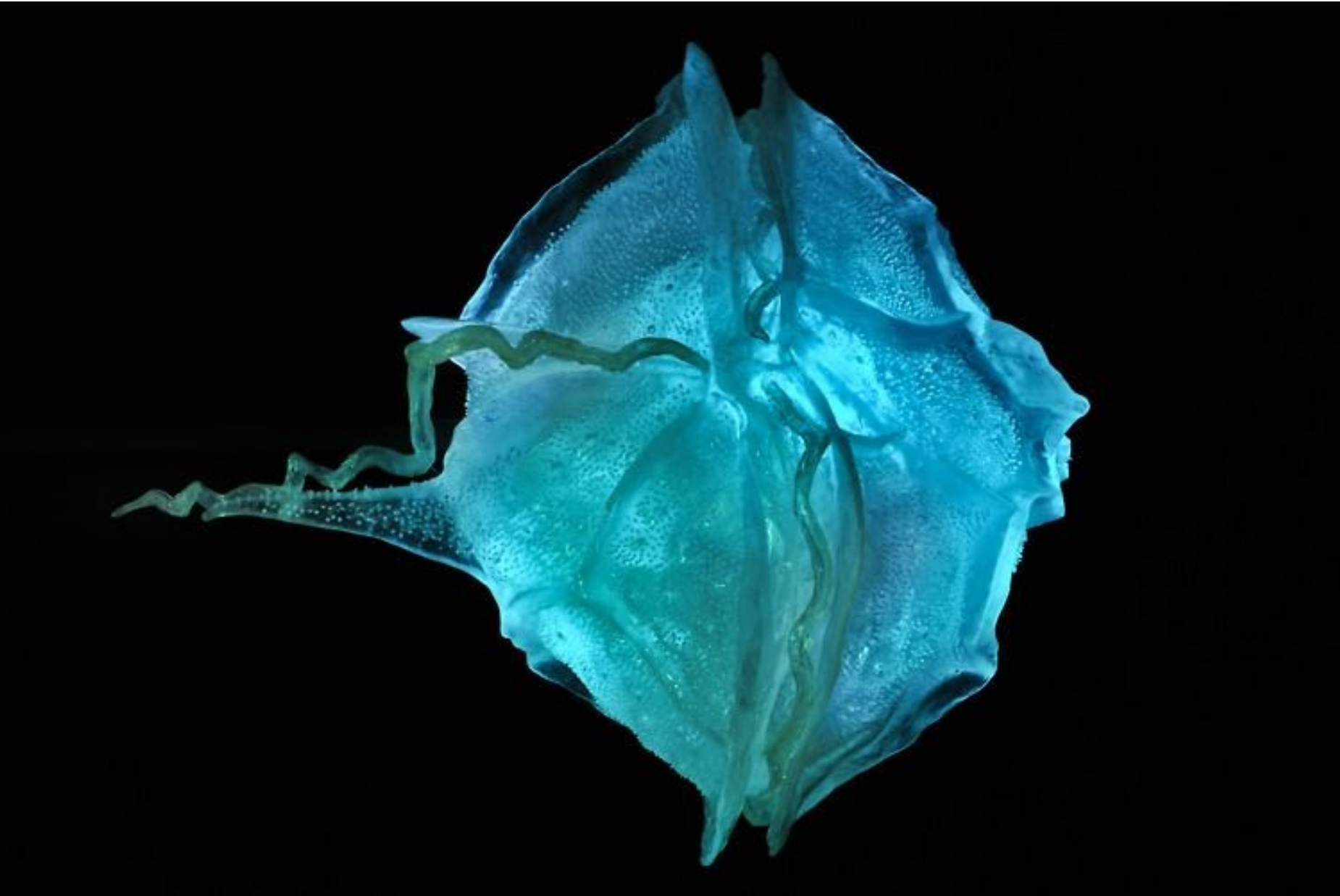
Řasa = fotosyntetický eukaryot, který není rostlina



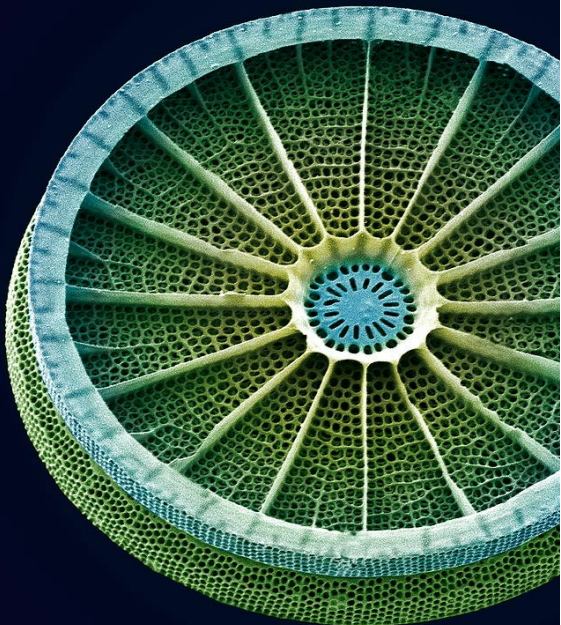
Řasa = fotosyntetický eukaryot, který není rostlina



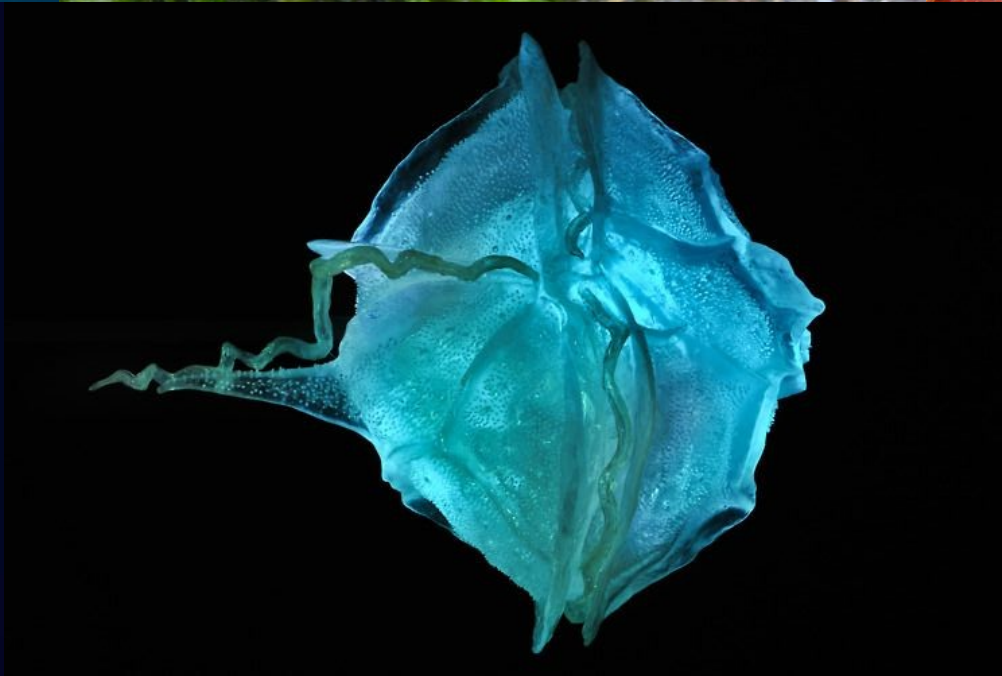
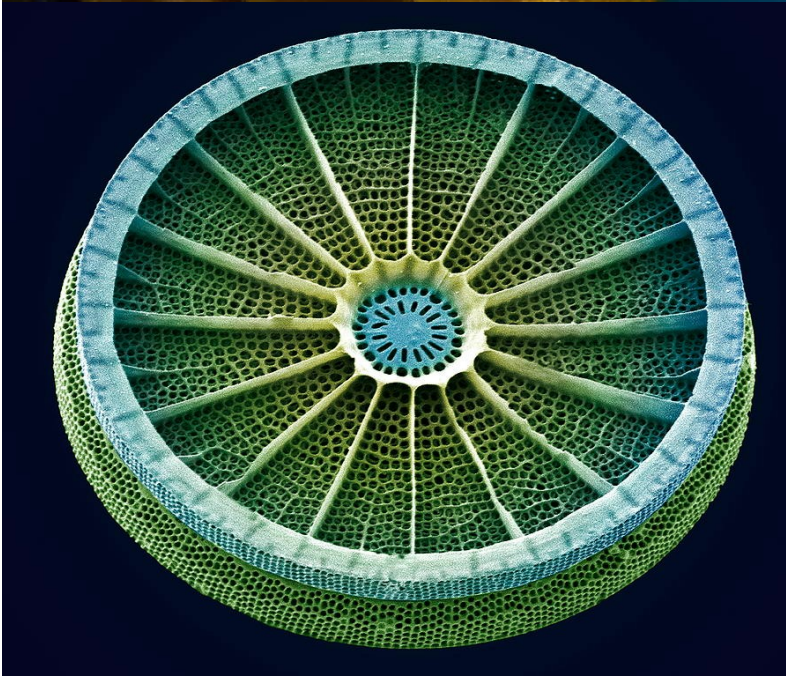
Řasa = fotosyntetický eukaryot, který není rostlina



Řasa = fotosyntetický eukaryot, který není rostlina



Řasa = fotosyntetický eukaryot, který není rostlina



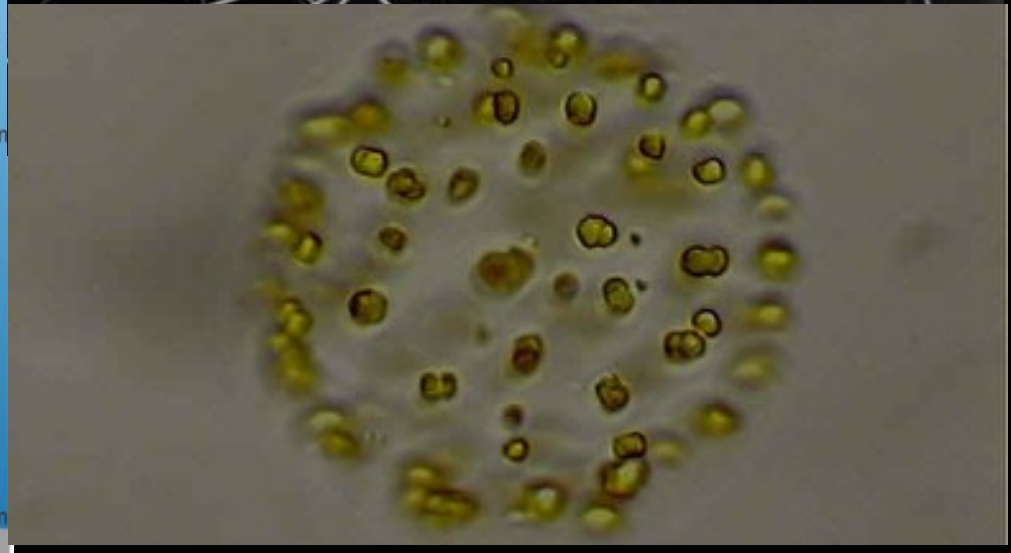
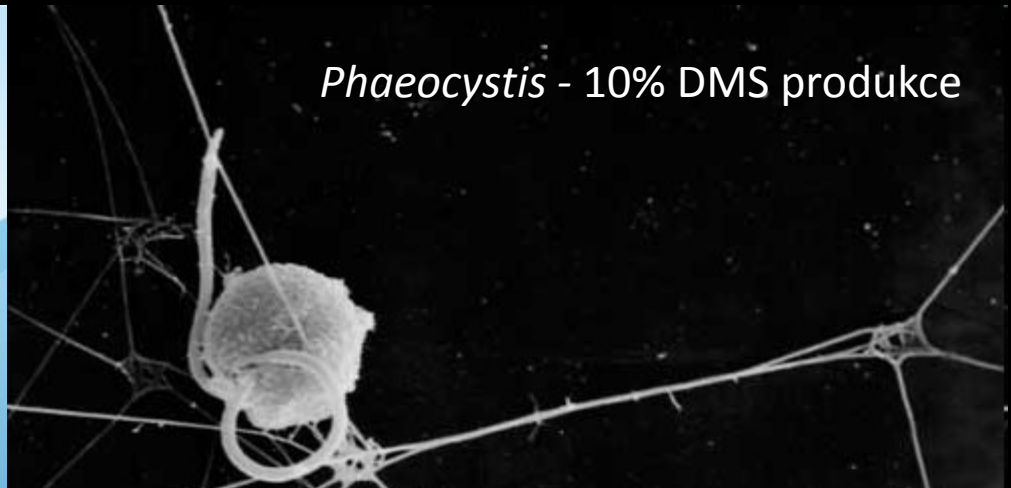
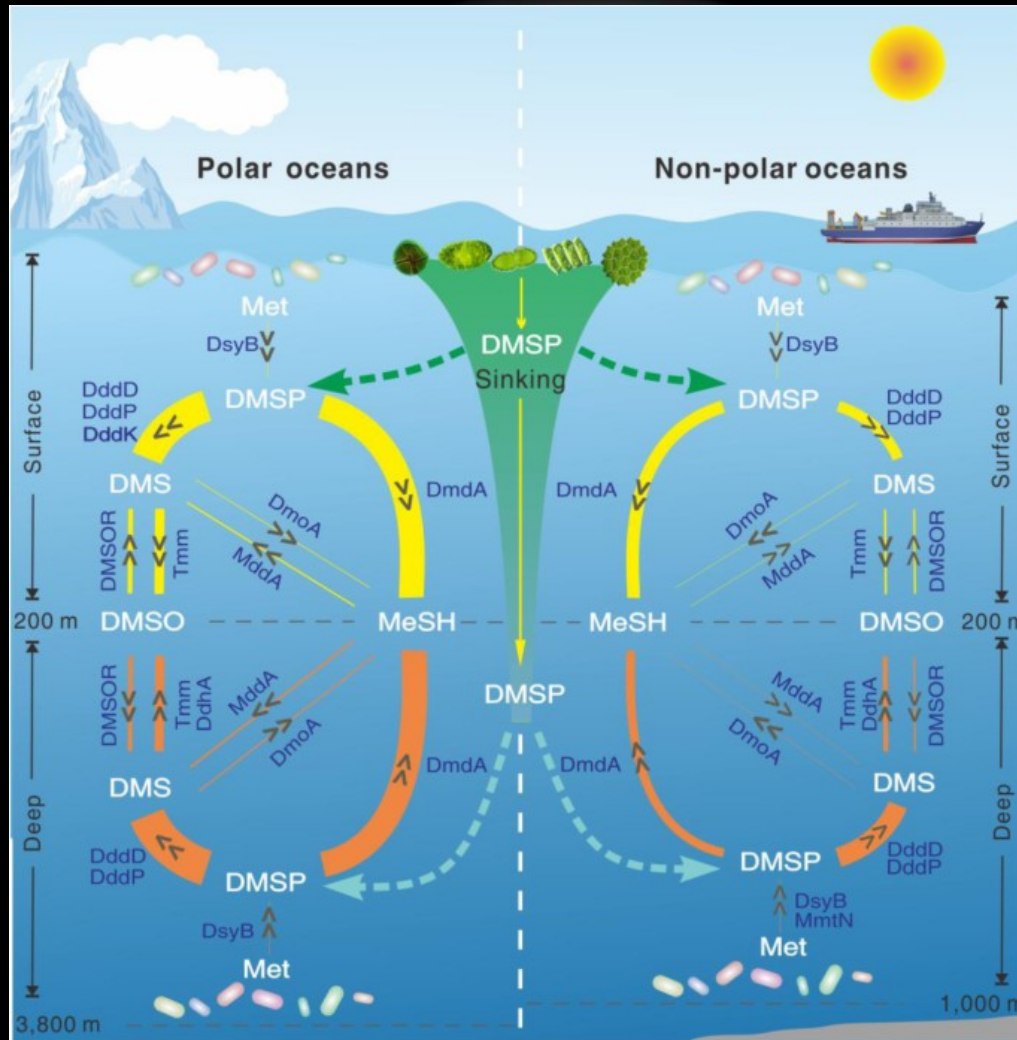
vs. Sinice – cyanobacteria – blue-green algae



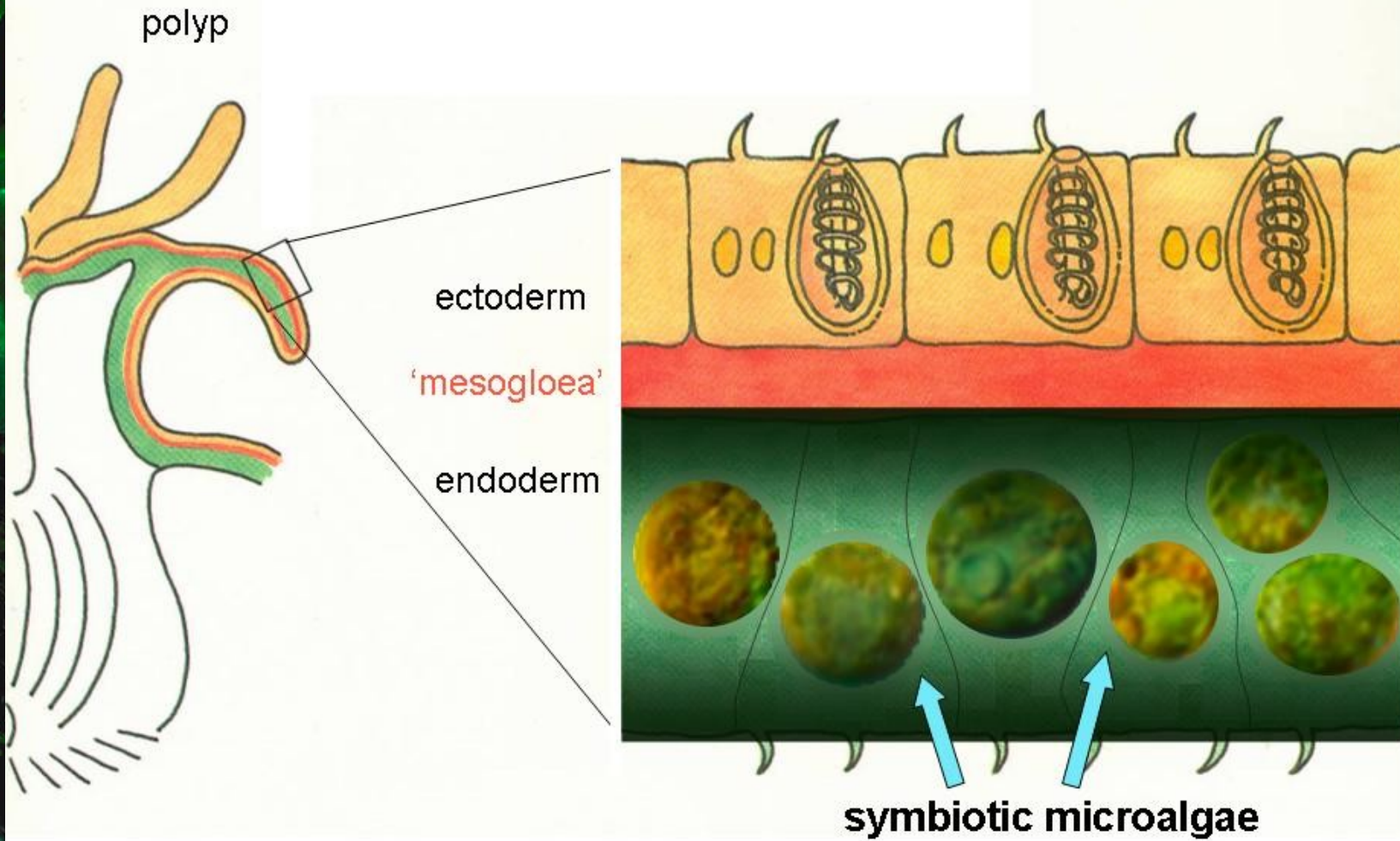


řasy jsou zajímavé

~35% globální produkce Země, fixace uhlíku, podnebí, počasí...

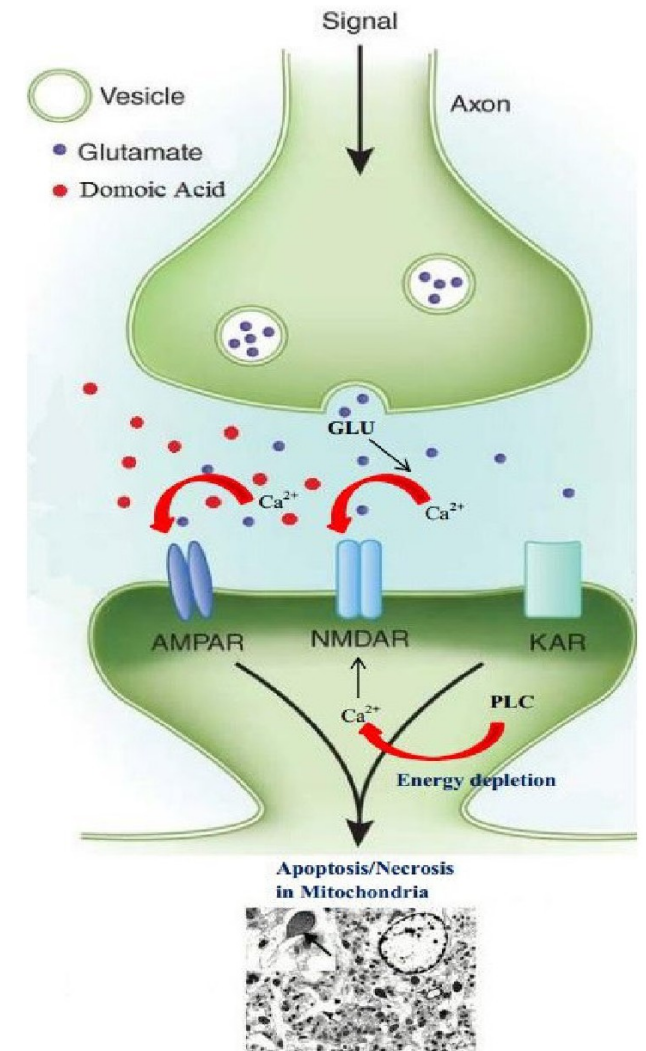


Corals and their symbionts



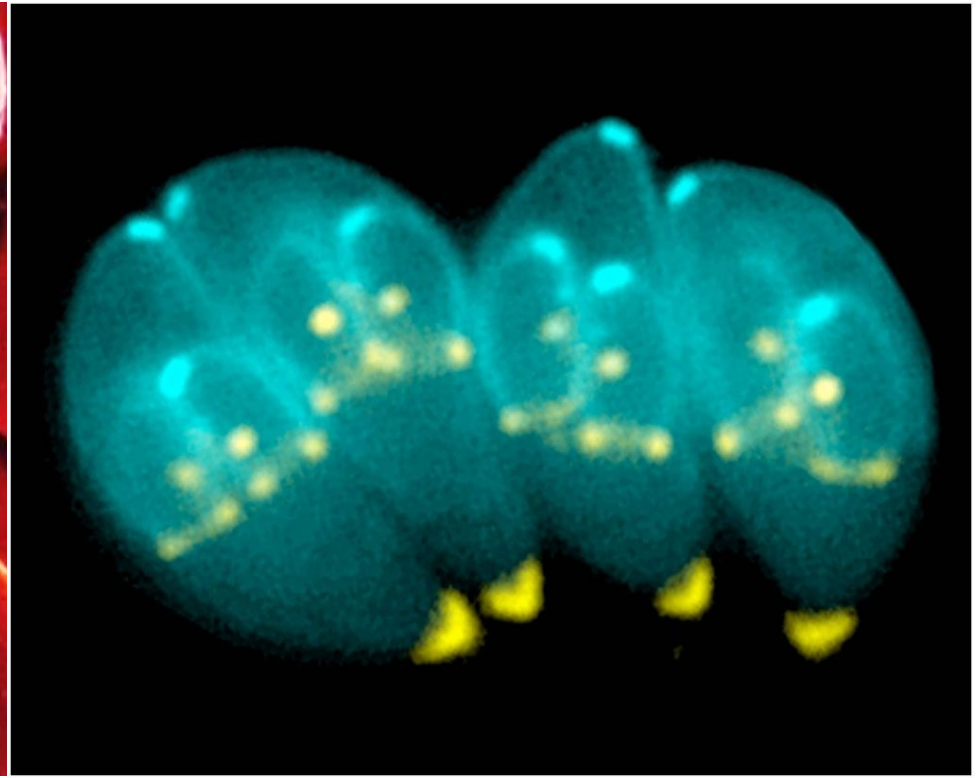
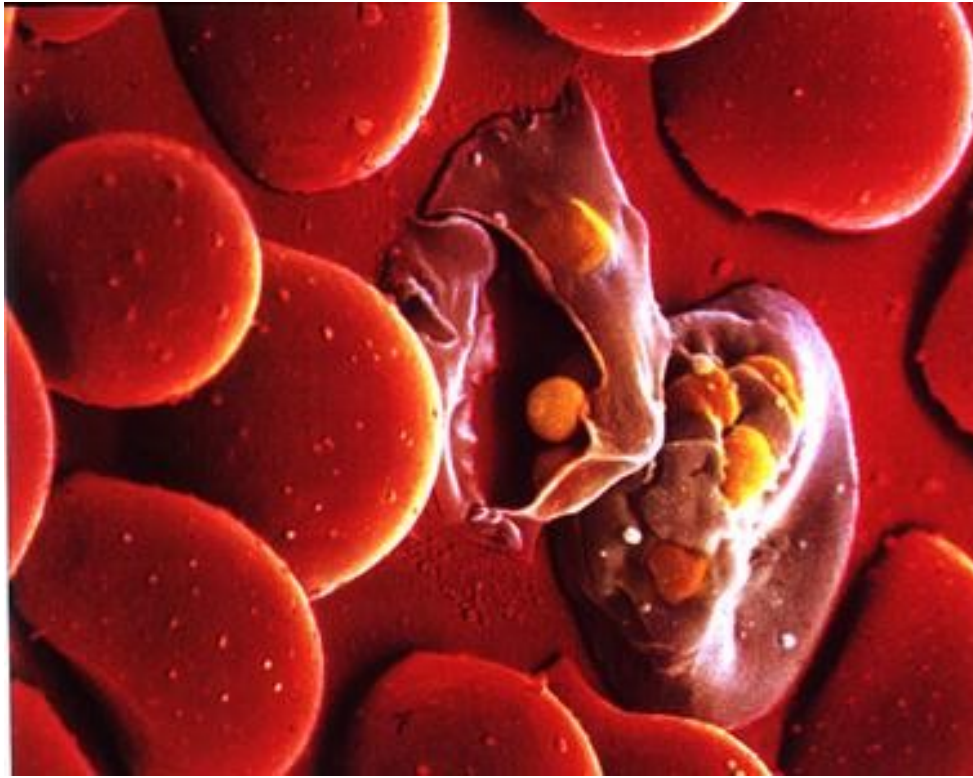
Řasy jako zabijáci?

- Produkce neurotoxinů – obrněnky (brevetoxin) a rozsivky (kys. domoová)
- medicína a neurobiologie

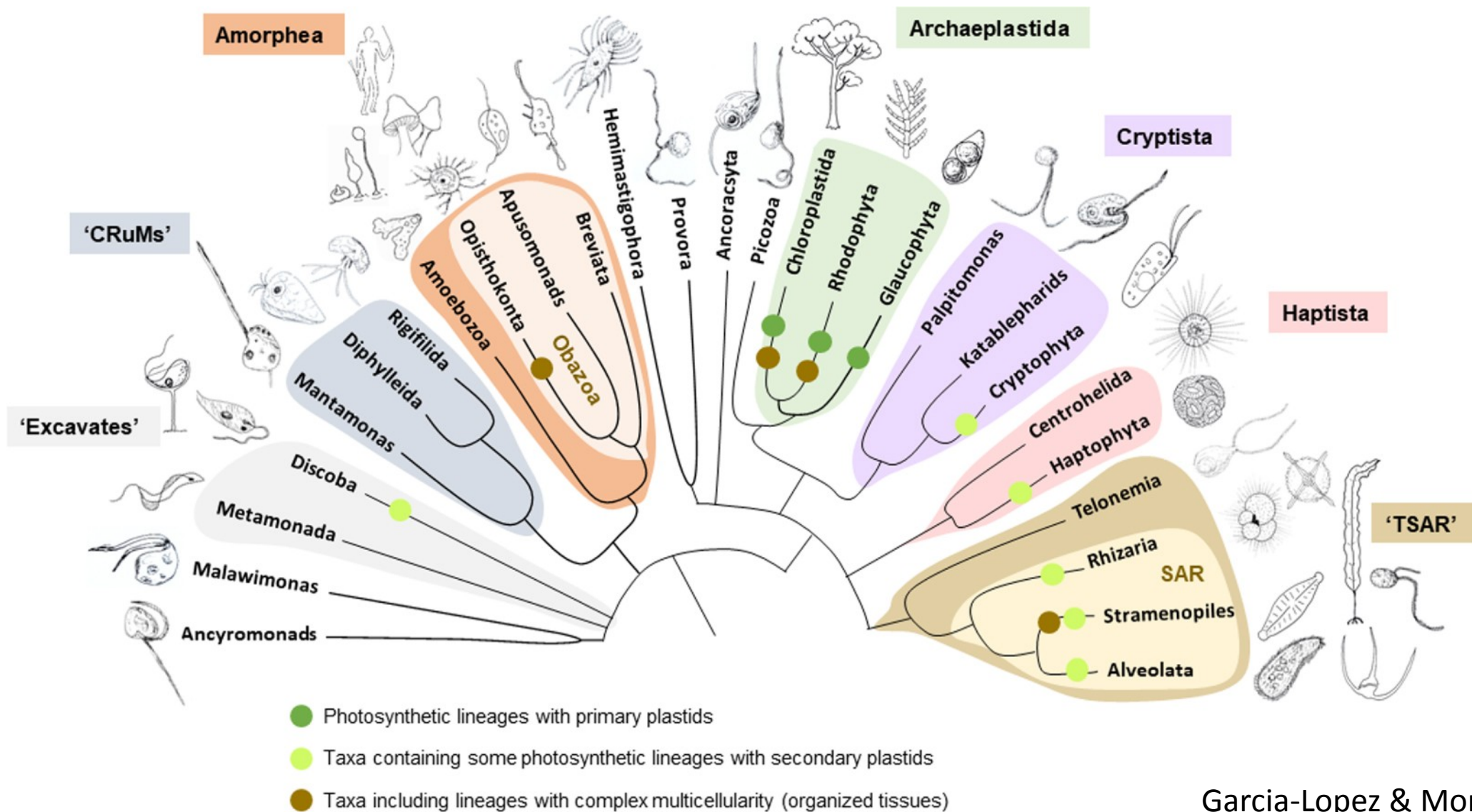


pathological pathway of tissue degeneration shows over excitation of t

Řasy jako zabijáci?!



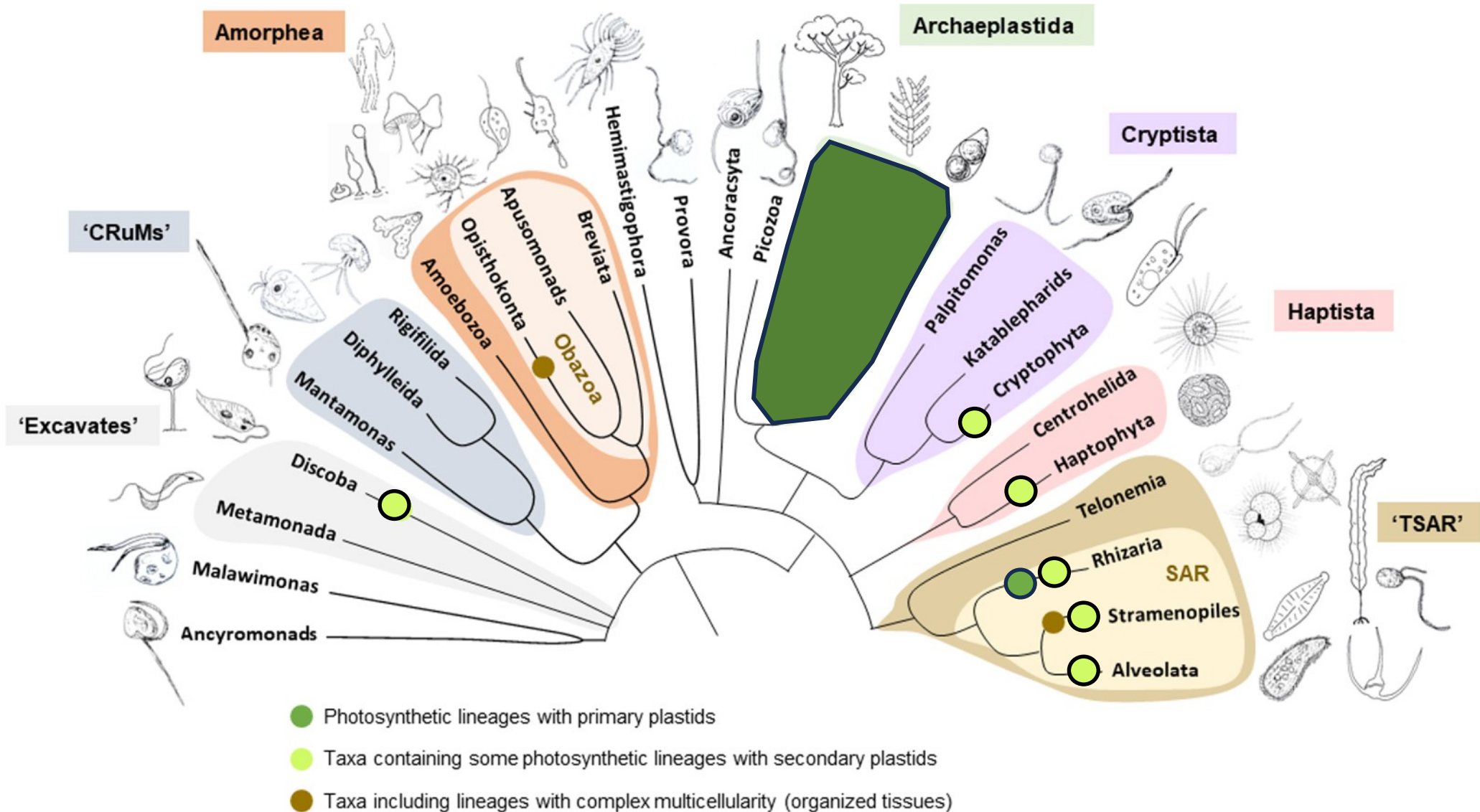
“funkční” skupina s velkou diverzitou

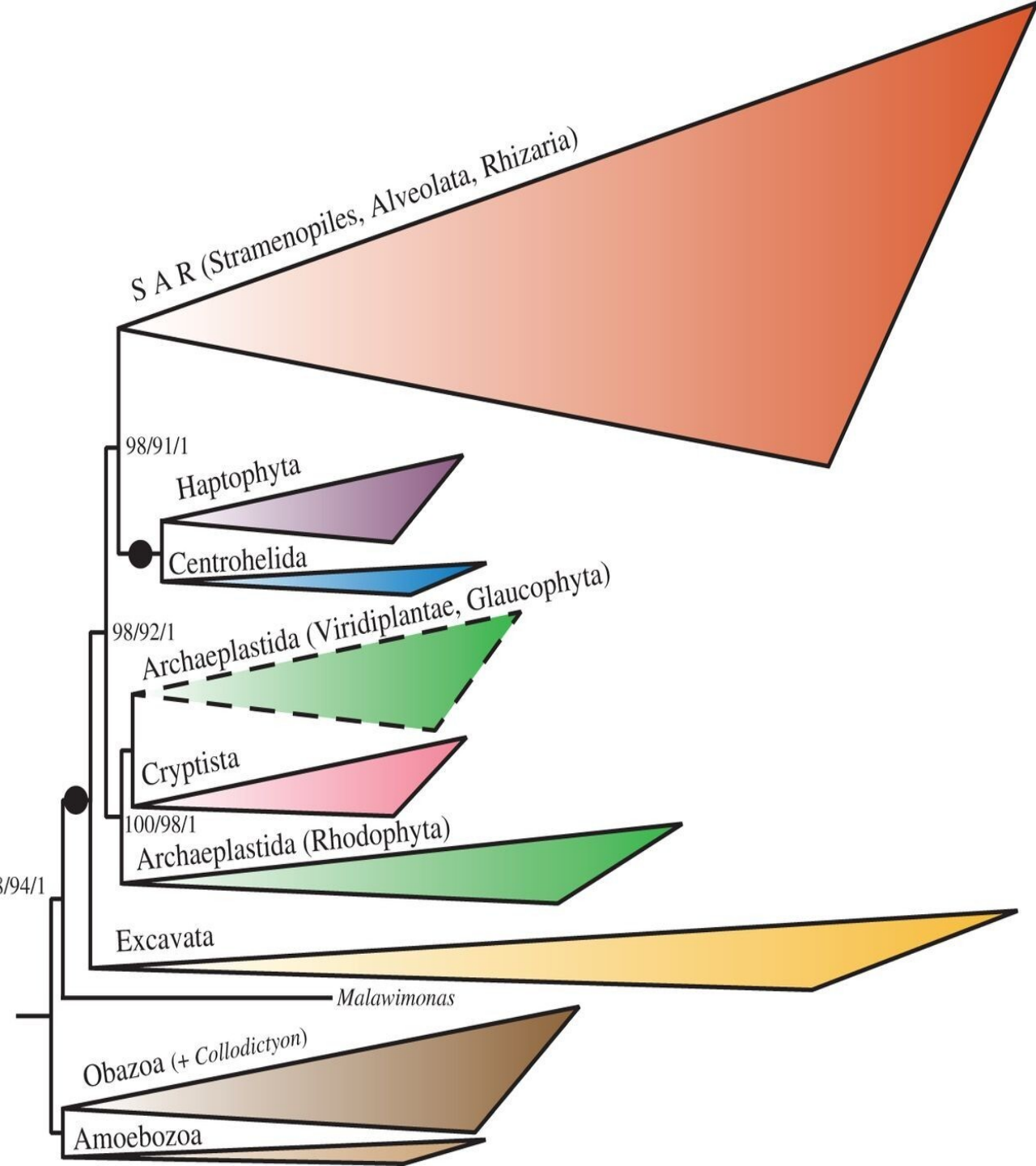


“primární”

vs.

“sekundární”





Jak vznikla diverzita komplexních plastidů

Cavalier-Smith (1999/2002) - zelené i červené sekundární endosymbiózy pouze jednou

CABOZOA nepřežila první větší fylogeneze

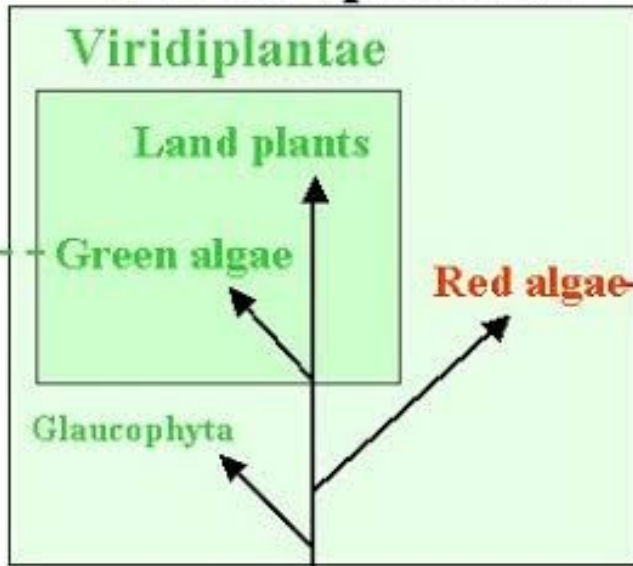
CHROMALVEOLATA nejprve přijímána

Plastidy jsou monofyletické, hostilelé ne

Burki et al. 2016.

Janouskovec et al. 2010 PNAS

Archaeplastida



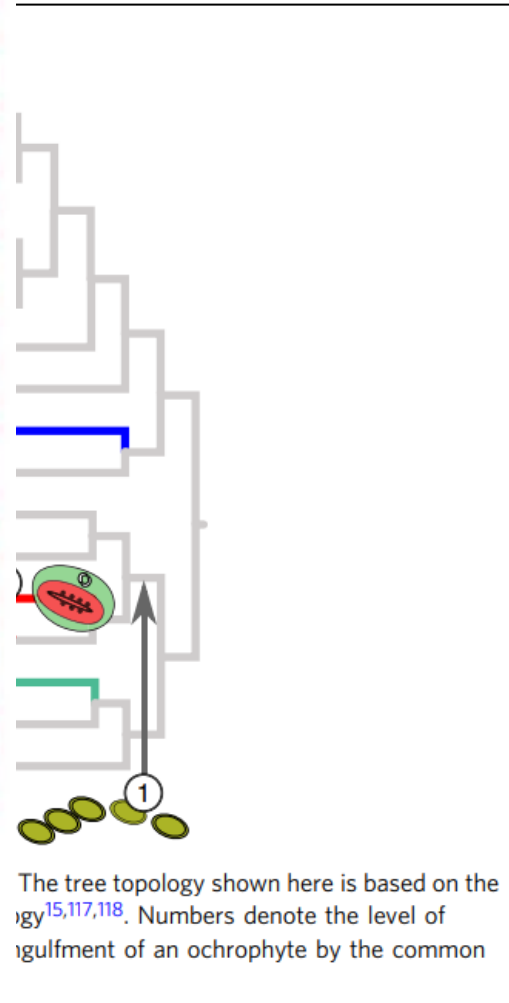
Jak vznikla diverzita komplexních plastidů?

Seriální endosymbióza "červených plastidů"

Ve skutečnosti je to všechno mnohem složitější

Cyanobacteria

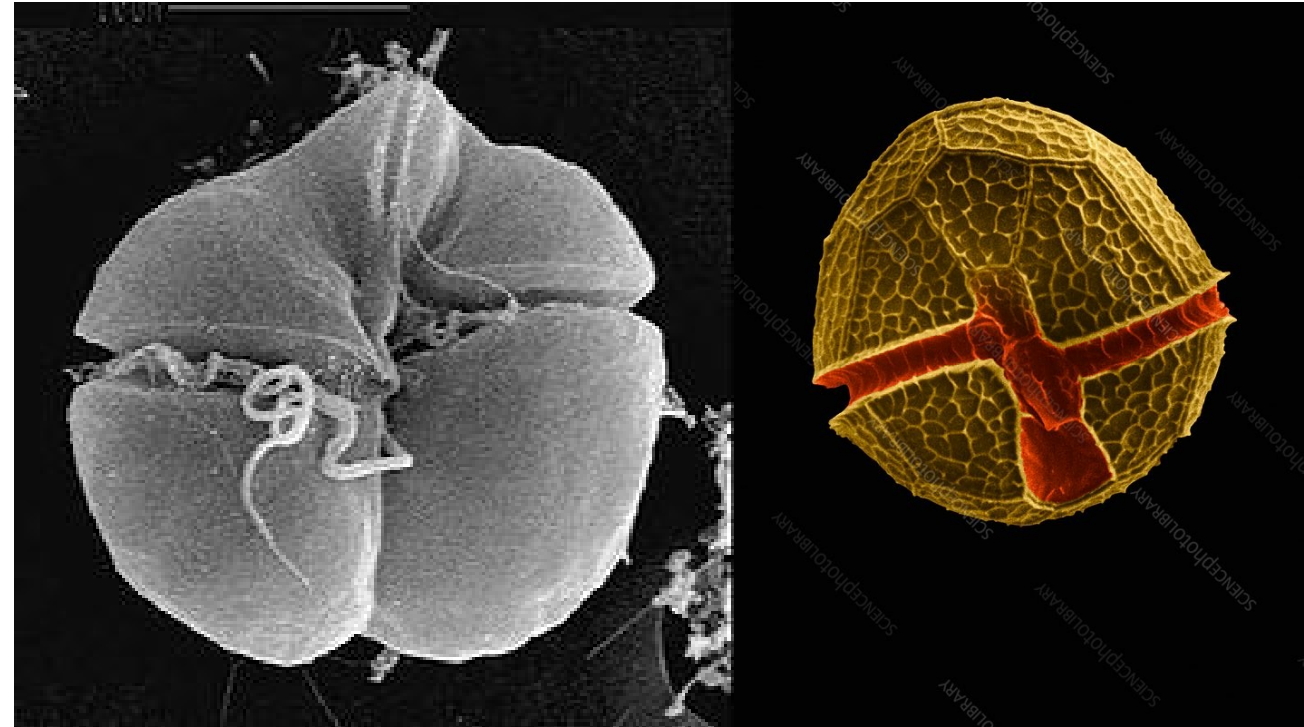
Chromalveolata



The tree topology shown here is based on the phylogeny^{15,117,118}. Numbers denote the level of engulfment of an ochrophyte by the common

Strassert et al., 2021 Nat. Comm.

Obrněnky (dinoflagellata) – “zloději plastidů”
opakované ztráty a znovuzískání plastidů od jiných linií



Kleptoplastie – symbioza+predace,
dočasné uchování funkčních plastidů

Endosymbióza a buněčná organizace

Dochází ke značné redukci genomu organely – redundance

- energetická náročnost replikace
- kontrola hostitele
- efektivita regulace buněčných procesů

- **Cyanobakteria:**

Synechocystis: 3573 kbp/ 3168 proteinů

Prochlorococcus marinus: 1660 kbp/ 1884

Nostoc punctiforme: 9000 kbp/ 7400

- **Algal plastids:**

Porphyra purpurea: 191 kbp/ 200 proteinů

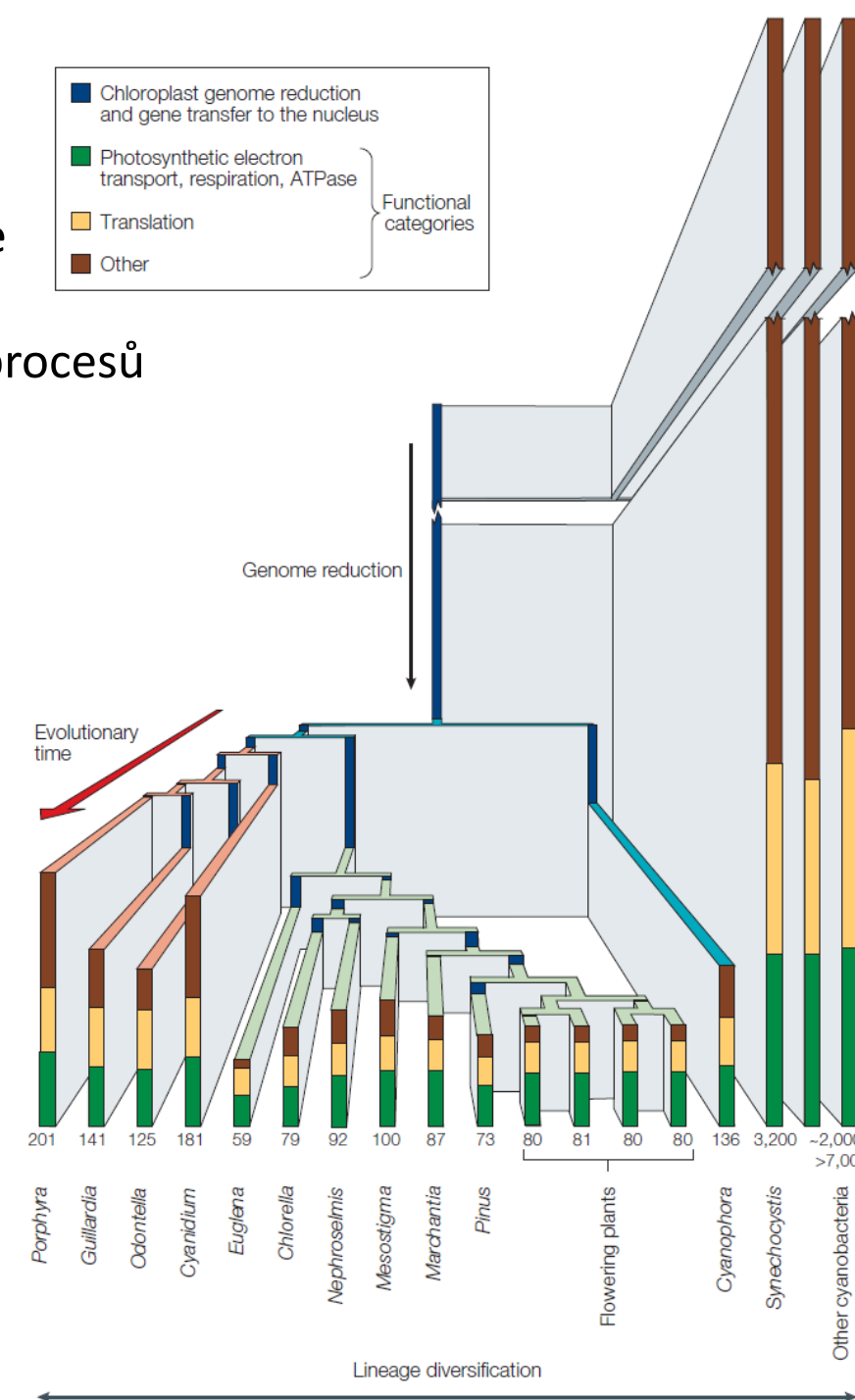
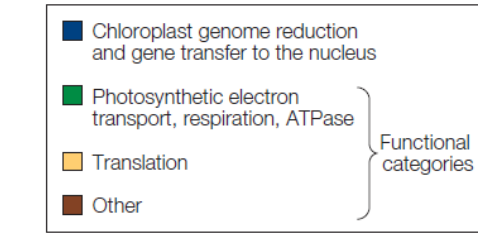
Cyanidium caldarium: 165 kbp/ 197

Guillardia theta: 122 kbp/ 148

Cyanophora paradoxa: 136 kbp/ 136

Odontella sinensis: 120 kbp/ 124

Euglena gracilis: 143 kbp/ 58

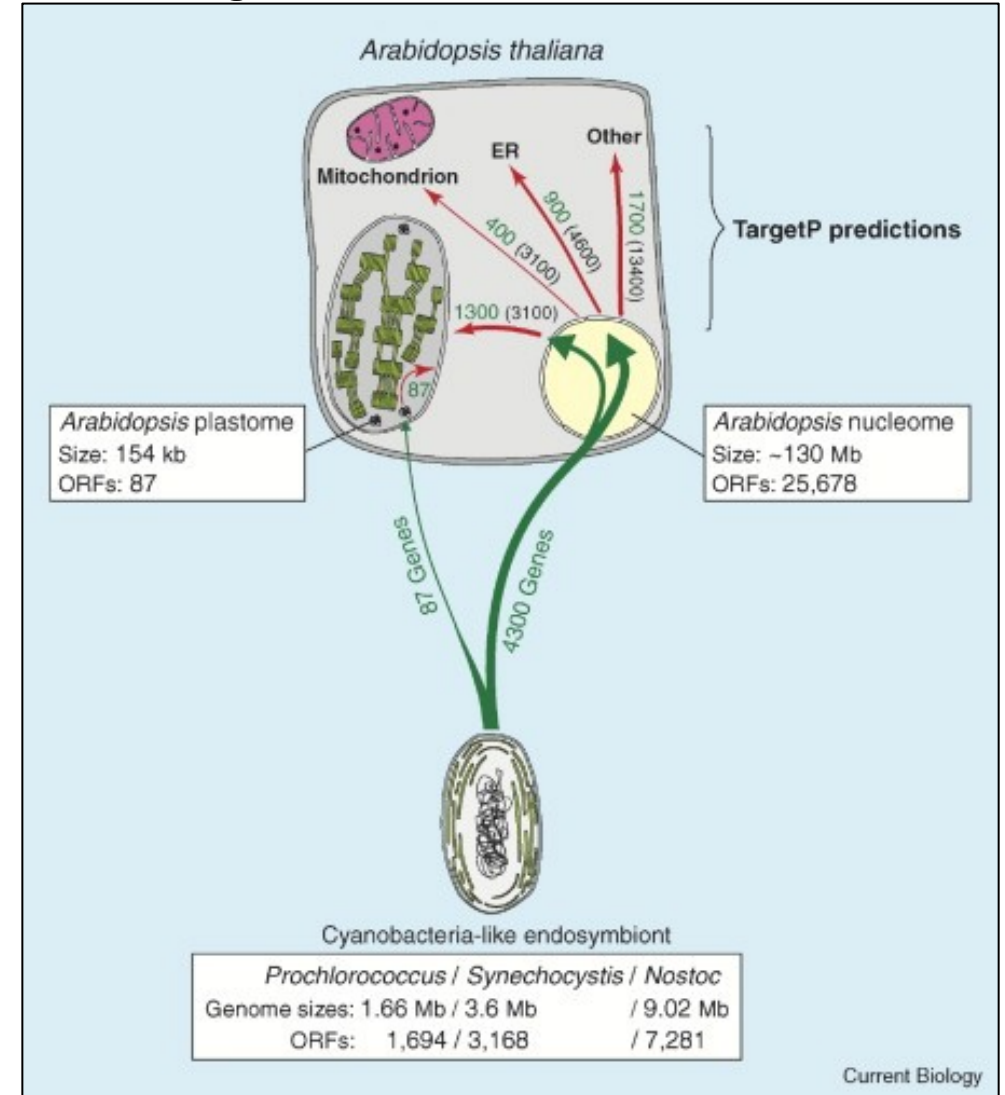
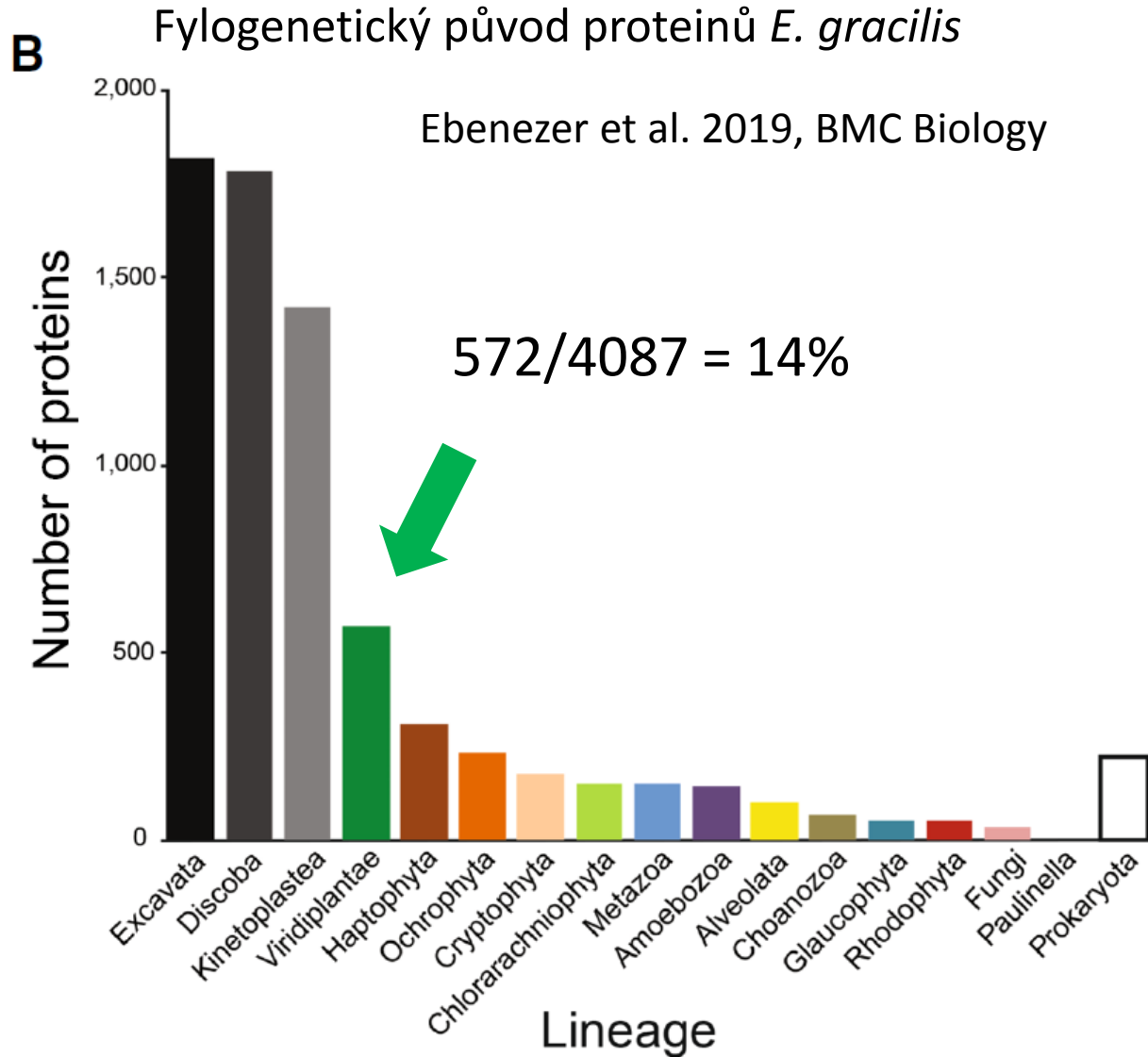


Timmis et al., 2004 Nat Rev Genet

Endosymbióza a buněčná organizace

EGT – endosymbiotický genový přenos

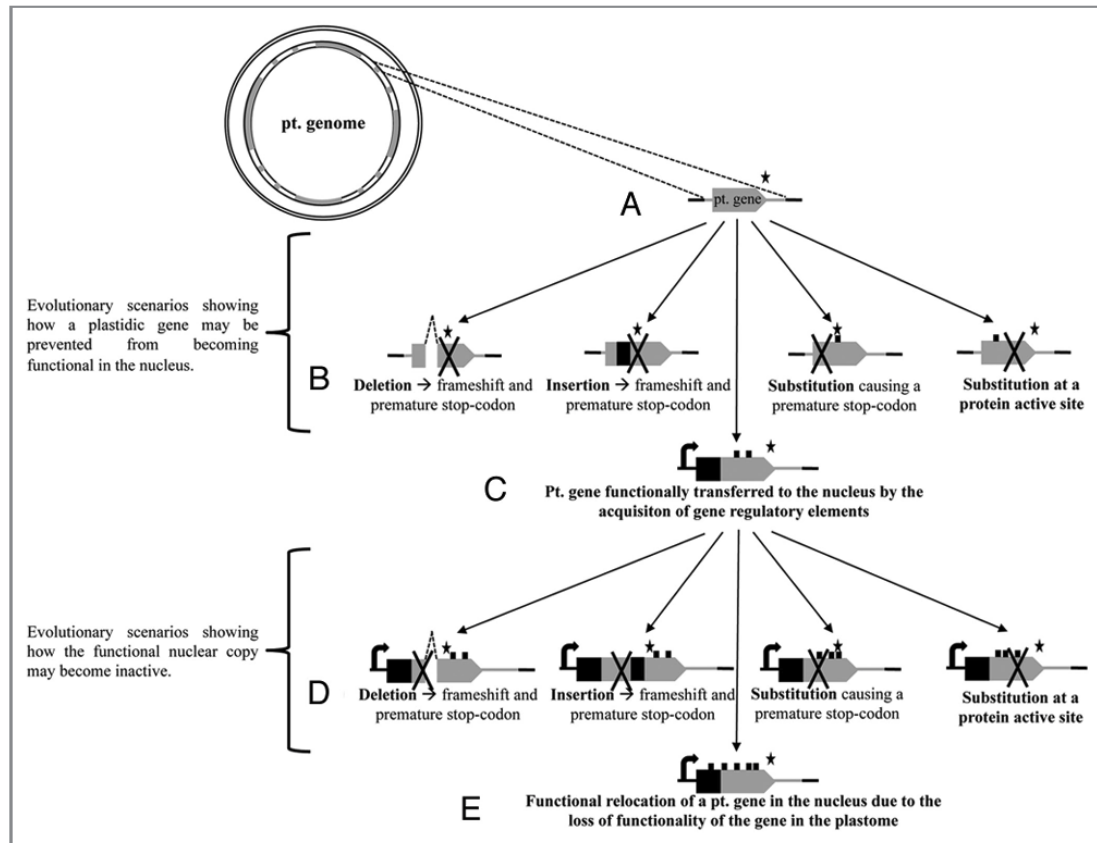
– jaderné genomy hostitelů nesou zřetelný fylogenetický signál donorů organel



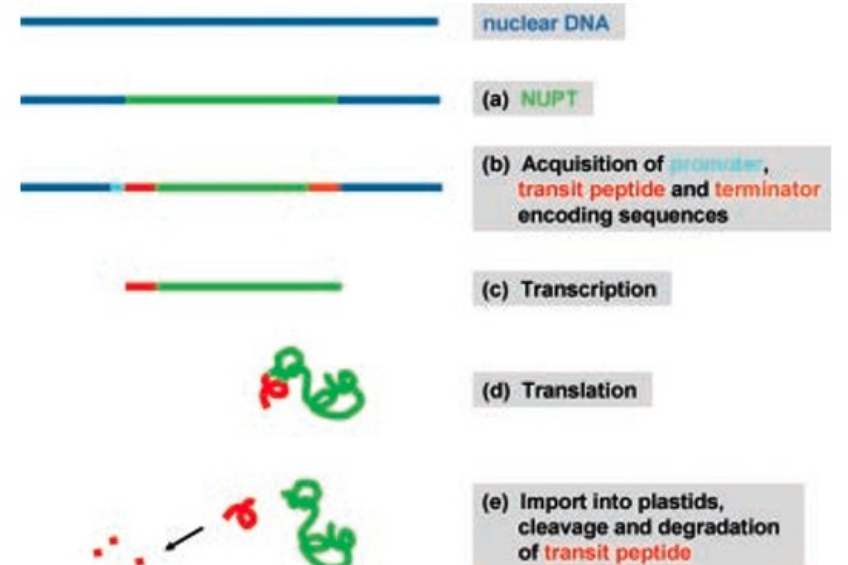
mechanismus z větší části neznámý

aktivace přeneseného genu začleněním do funkčního genu?

Rousseau-Gueutin et al., 2012 Plant Signal Behav

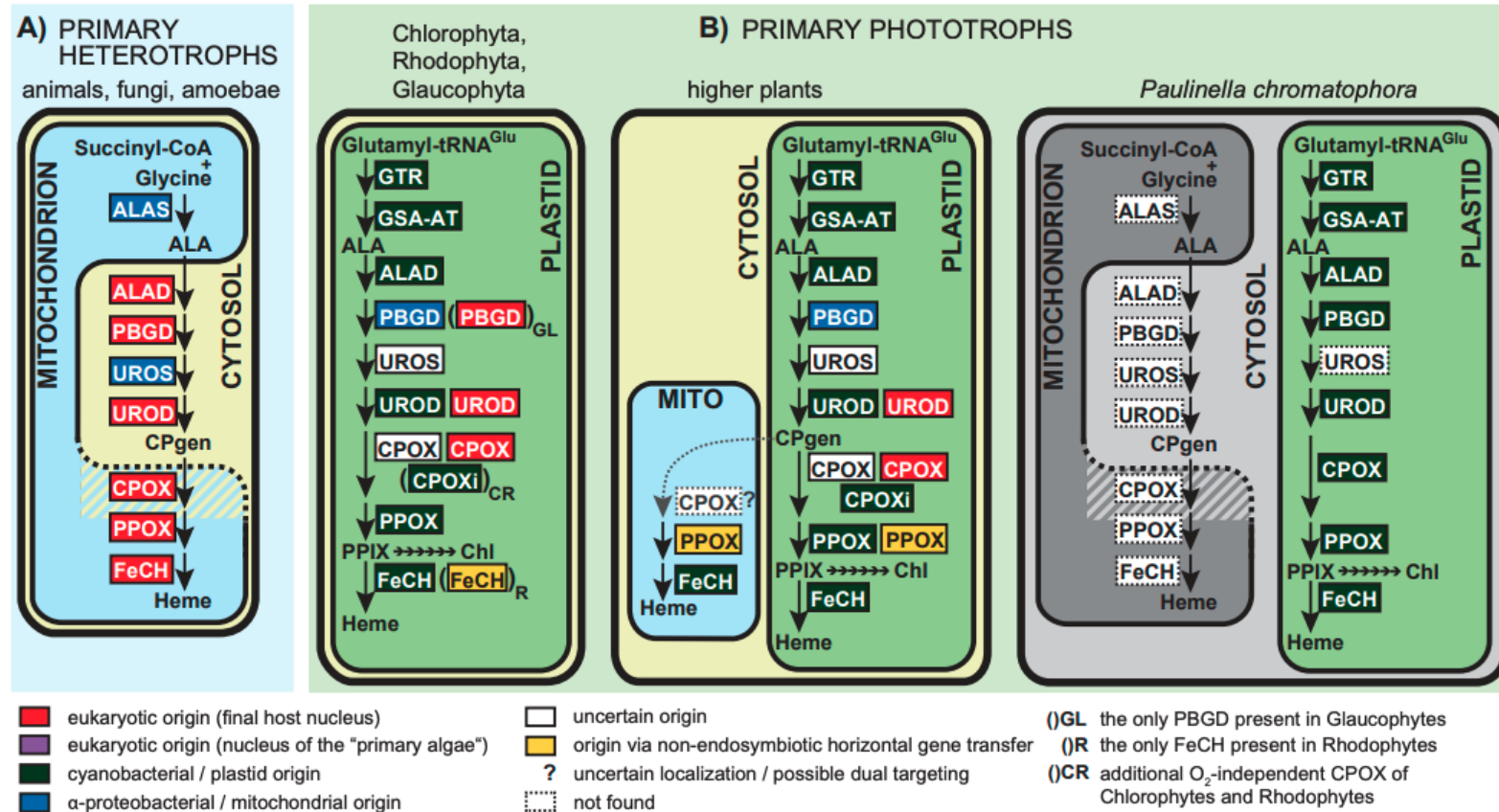


Bock and Timmis 2008 Bioessays

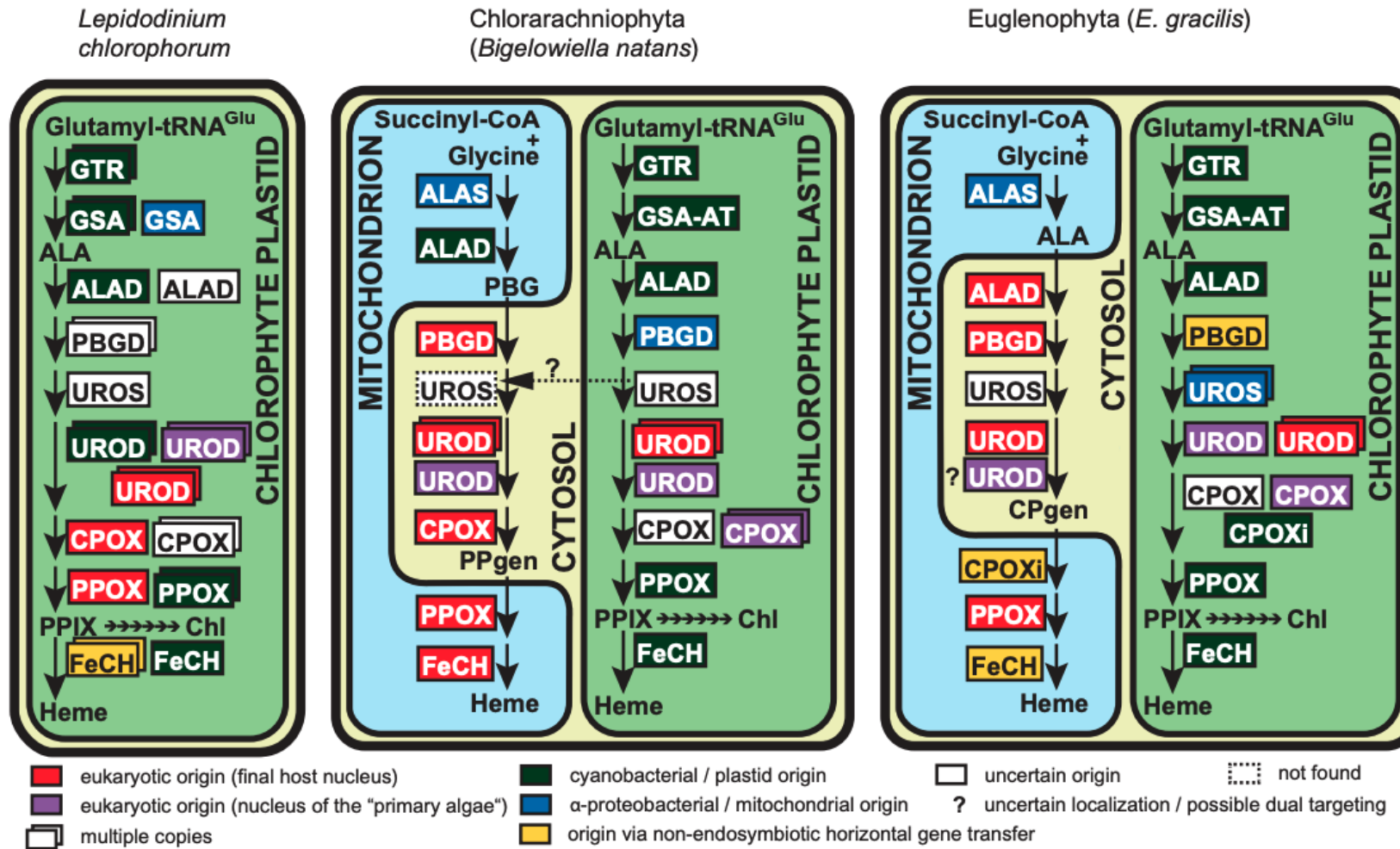


Evoluční historie se otiskla do “buněčného života”

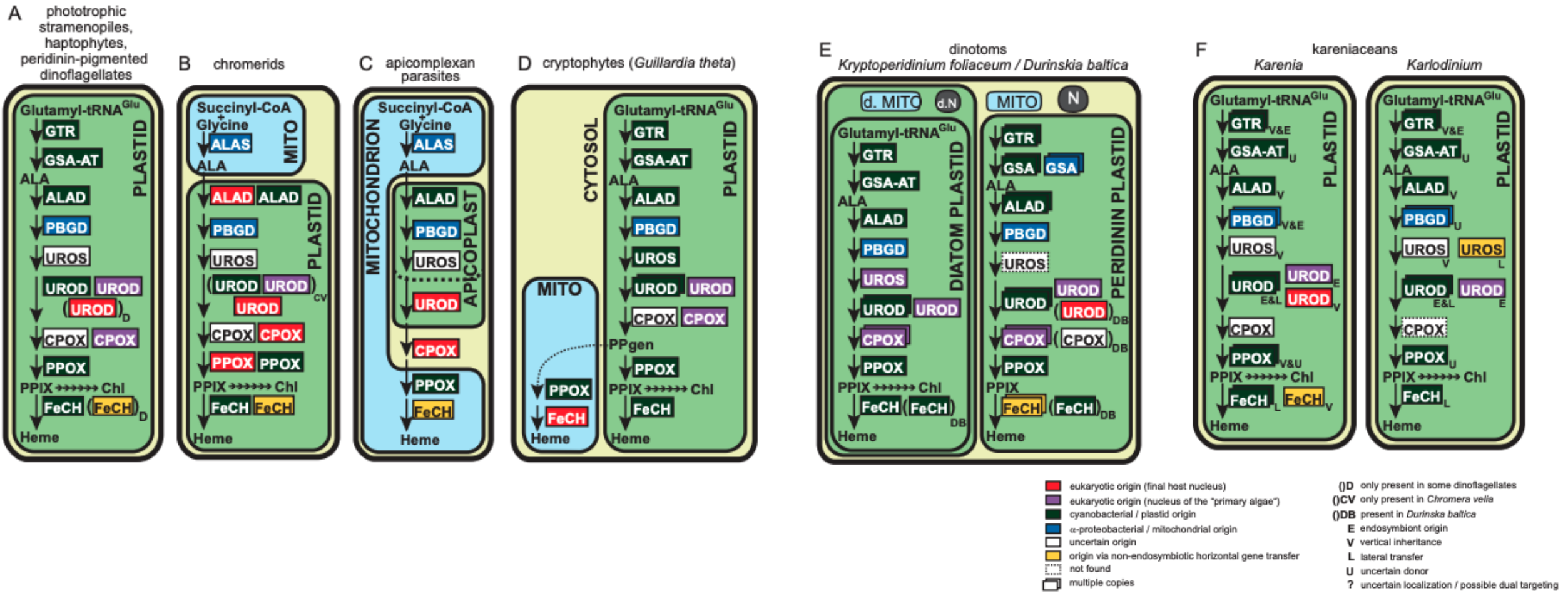
Case study: syntéza tetrapyrolů



Řasy s komplexním plastidem “zeleného” původu



Řasy s komplexním plastidem “červeného” původu



Nukleomorf – hypotetické jádro endosymbionta nalezeno u skrytěnek a chlorarachneí

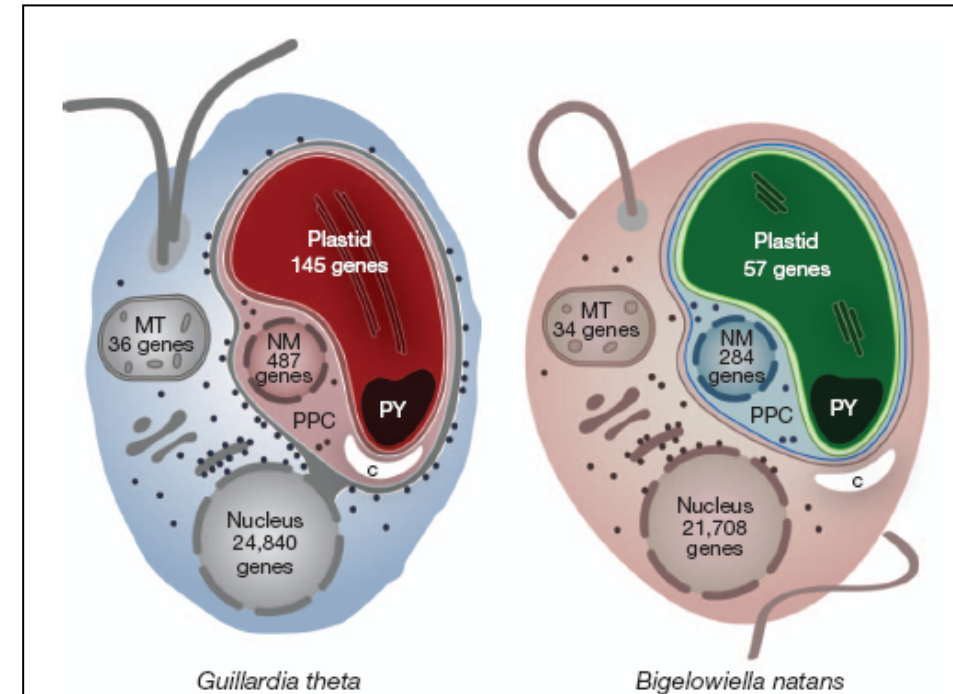
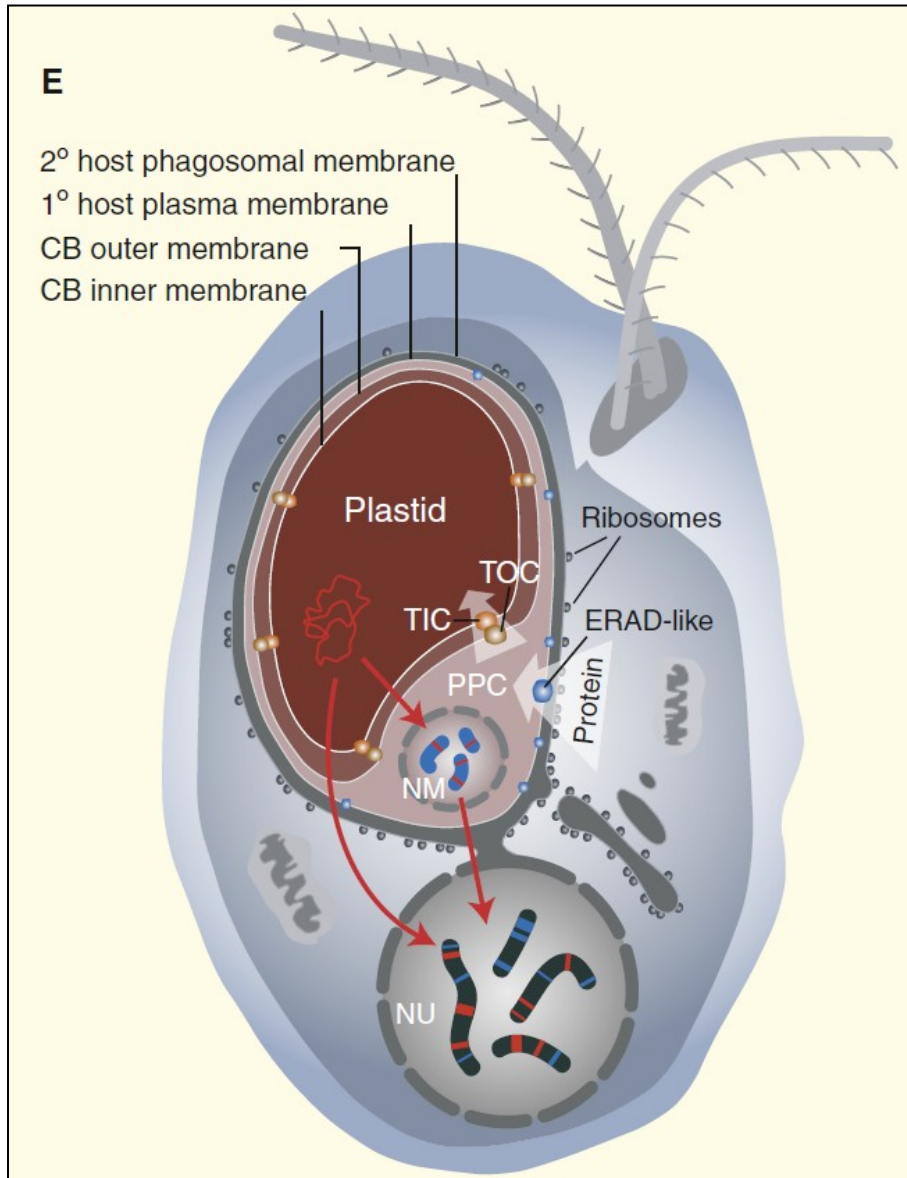
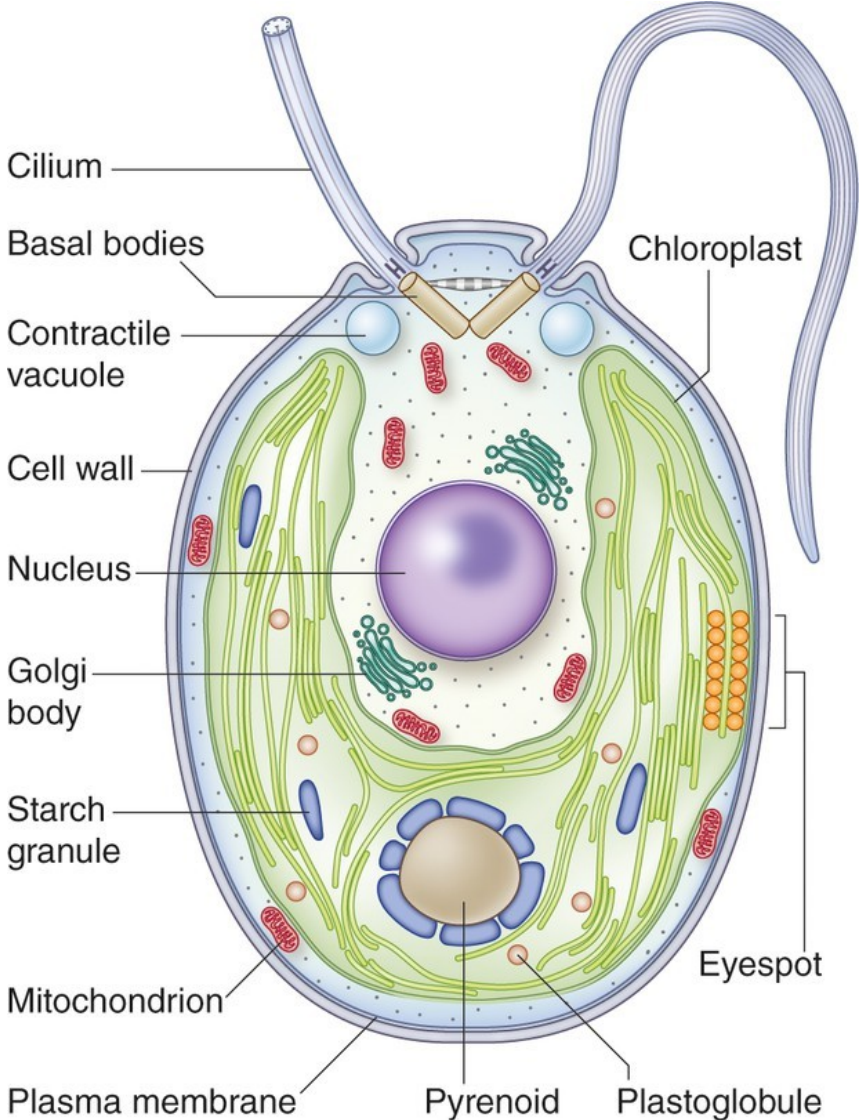
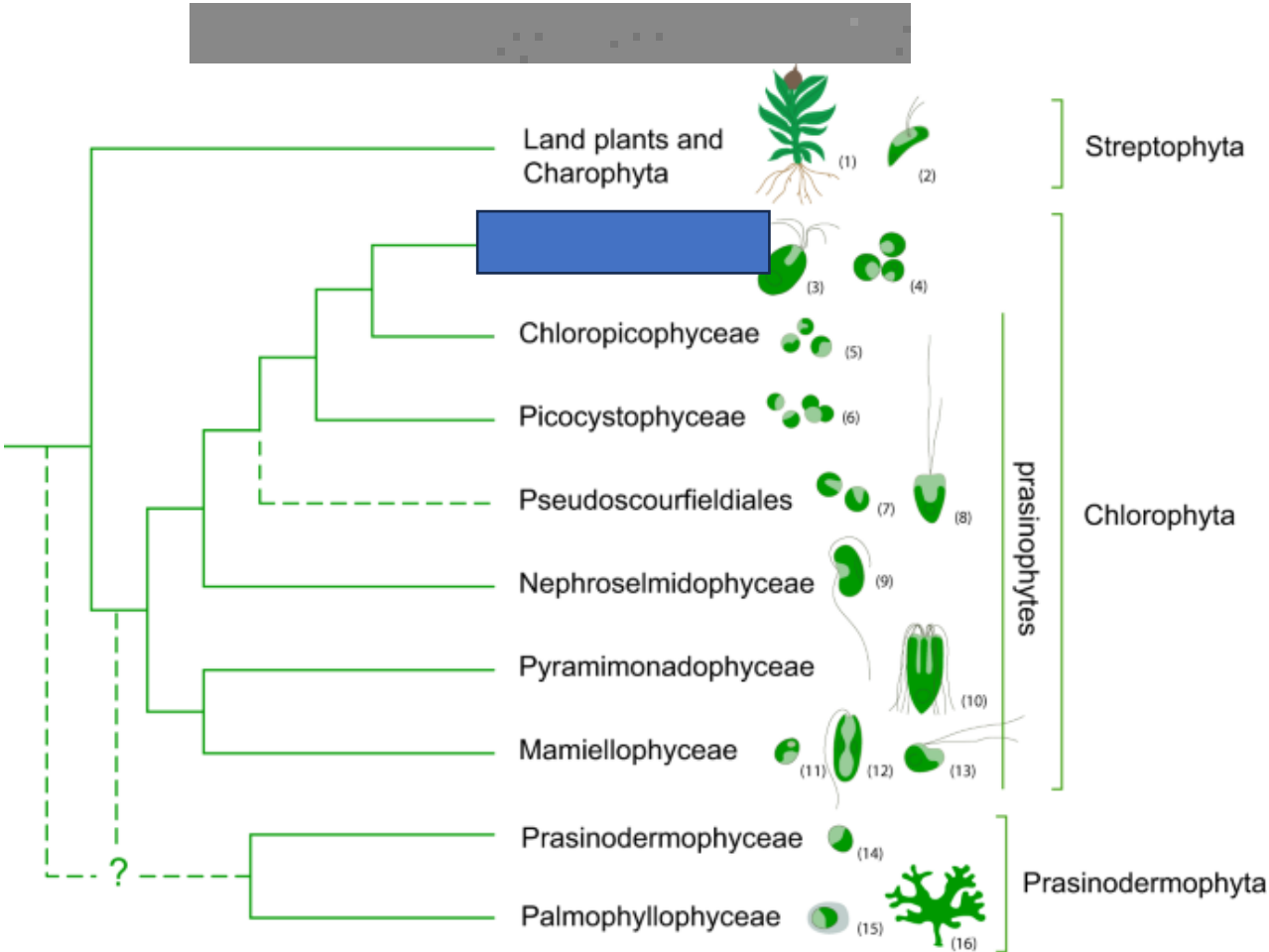


Figure 1 | Cryptophyte and chlorarachniophyte cell biology. The cryptophyte alga *G. theta* and the chlorarachniophyte alga *B. natans* have plastids bound by four membranes. In cryptophytes, the outermost plastid membrane is continuous with the nuclear envelope and its surface is studded with ribosomes, which co-translationally insert nucleus-encoded, organelle-targeted proteins. Between the inner and outer membrane pairs is the periplastidial compartment (PPC), which contains the nucleomorph (NM), the relict nucleus of the eukaryotic endosymbiont. The predicted numbers of protein-coding genes in the plastid, mitochondrial (MT), nucleomorph and nuclear genomes of *G. theta* and *B. natans* are shown. Additional abbreviations: C, carbohydrate; PY, pyrenoid.

Modelové řasy – primární

Chlamydomonas reinhardtii



Sasso et al., 2018 eLife

Modelové řasy – primární

Chlamydomonas reinhardtii

malý a nekomplexní genom (111 Mbp, 17 chr)

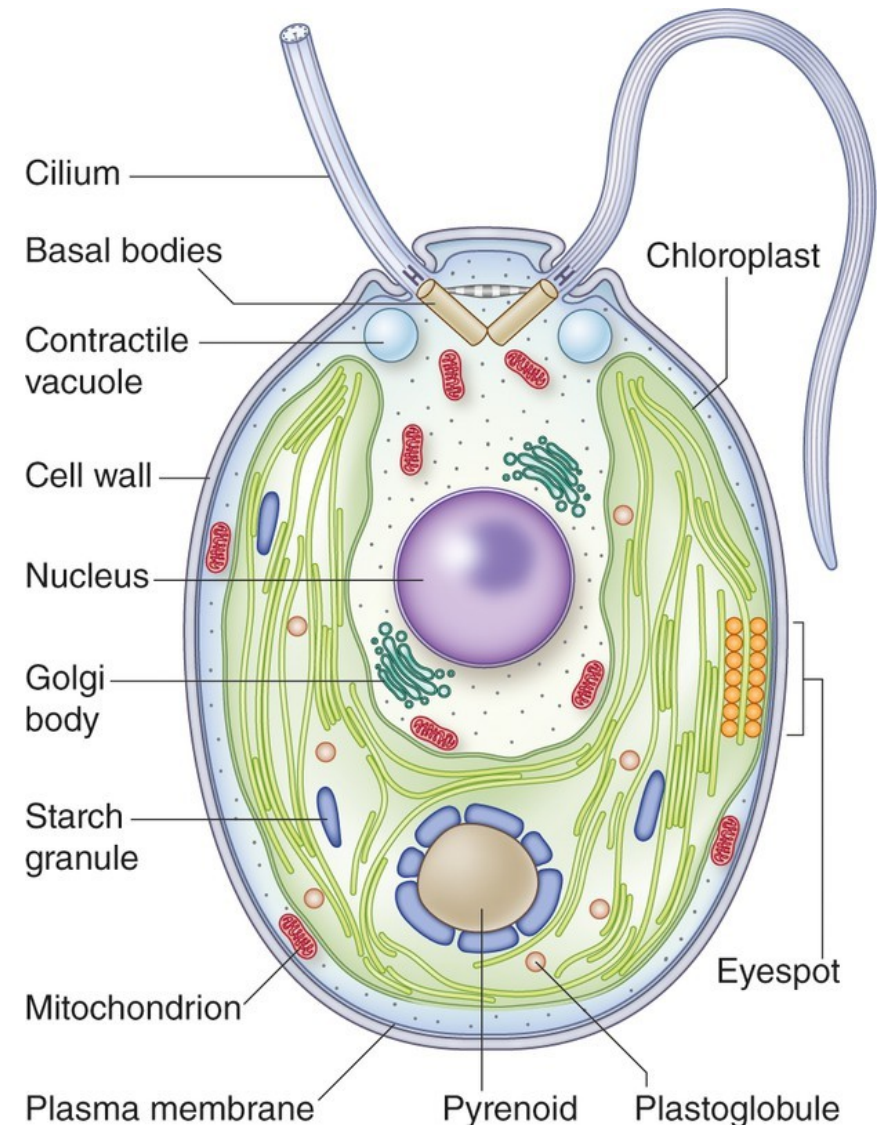
haplo/diplo

rychlý růst a snadná kultivace (8 hodin)

mixotrofie (studium fotosyntézy)

snadná a efektivní transformace – CRISPR-Cas9, AgbT, glassbeads, elektroporace, gene gun ($10^3 - 10^5$ μg DNA)

transformovatelný i chloroplast

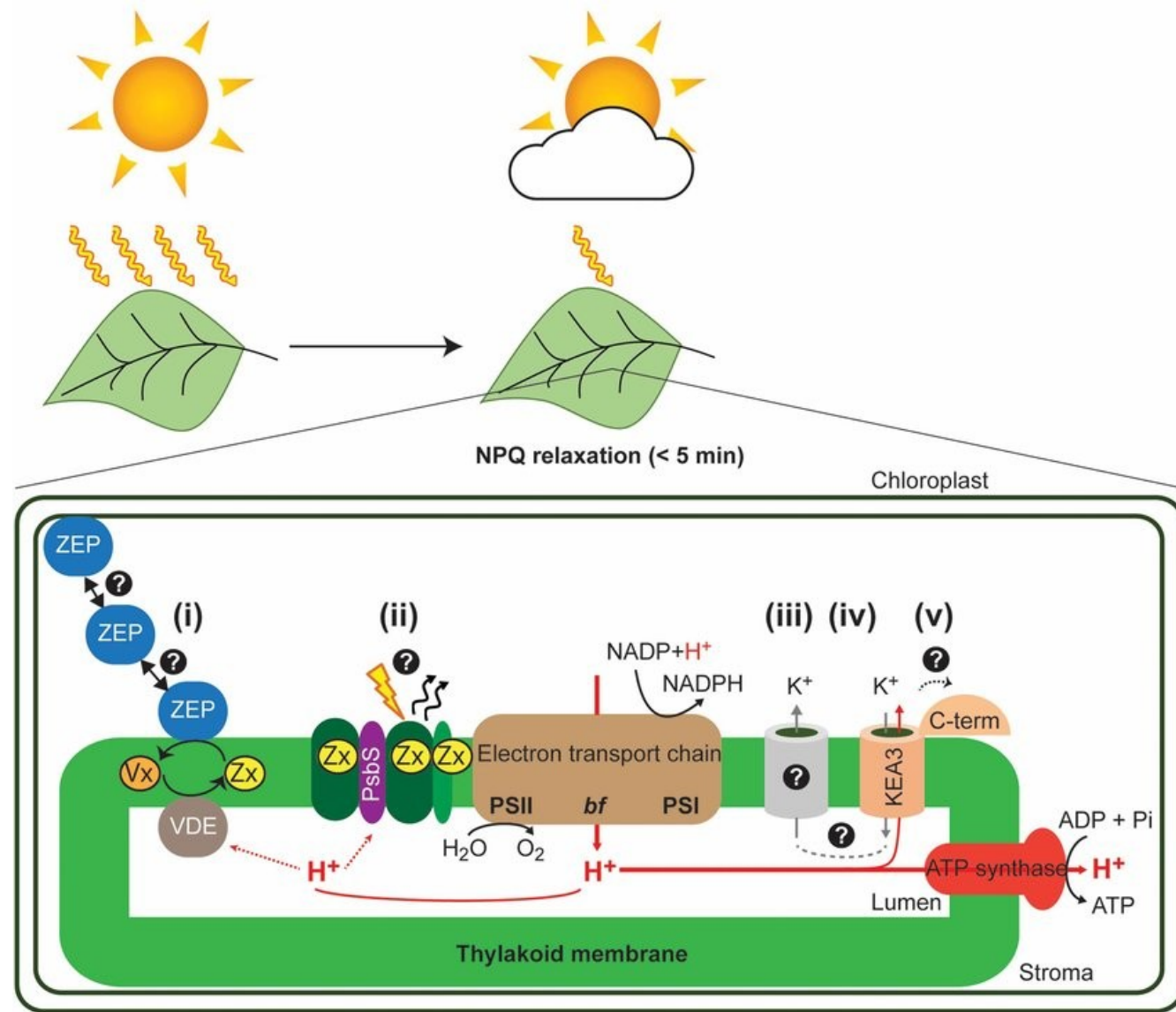


Chlamydomonas reinhardtii - přínos

objev podsložek (DI/II) fotosystému II

xantofylový cyklus NPQ

biotechnologie – produkce UFA (omega3), pigmenty, léky



Chlamydomonas reinhardtii - přínos

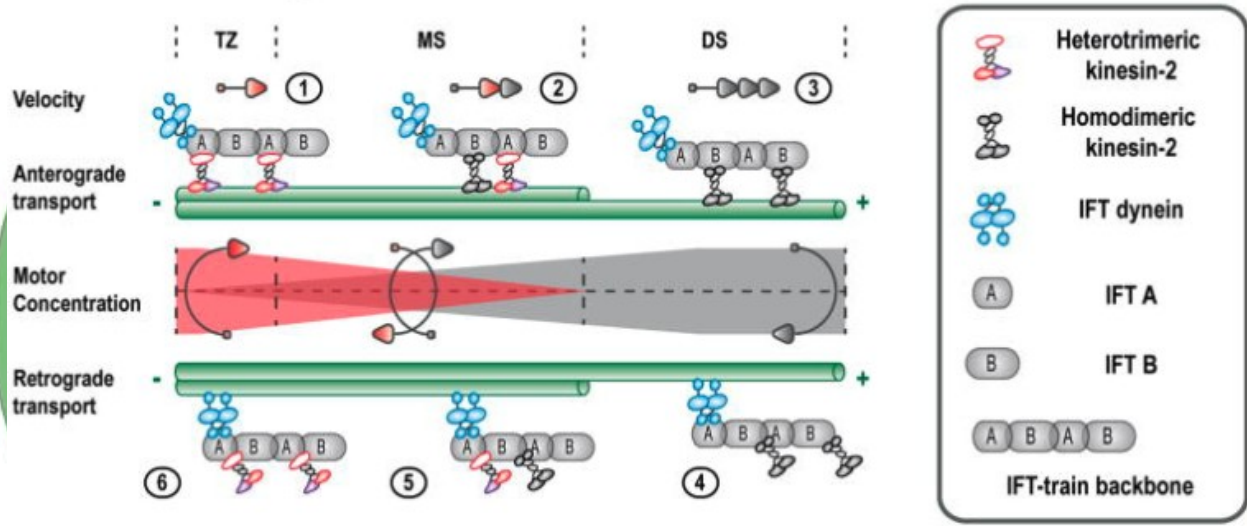
Charakterizace funkce a struktury bičíku

Popis mechanismu intraflagelárního transport (IFT),
formace a udržování integrity bičíku

> 600 proteinů, většina s axonemou, homologie s H. s.

pokrok ve studium příčin PKD - IFT88 homolog důležitý pro
formaci cilií v ledvinových kanálcích

Dyneiny a kinesiny jako motory

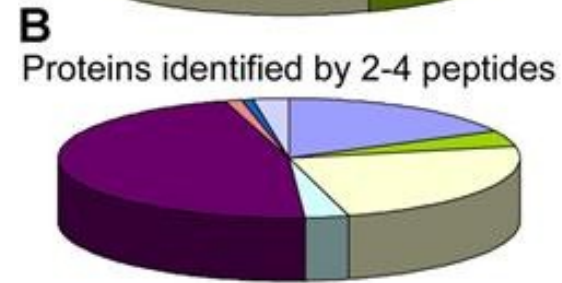
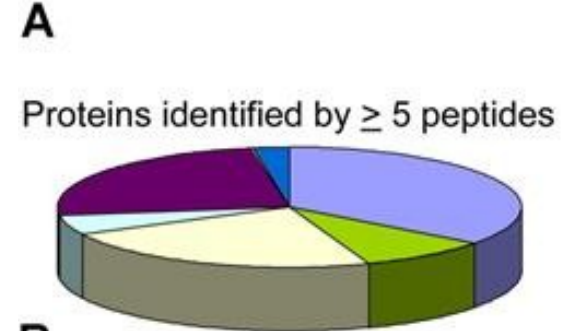


Kozminski et al., 1993, PNAS; Prevo et al., 2017 FEBS J

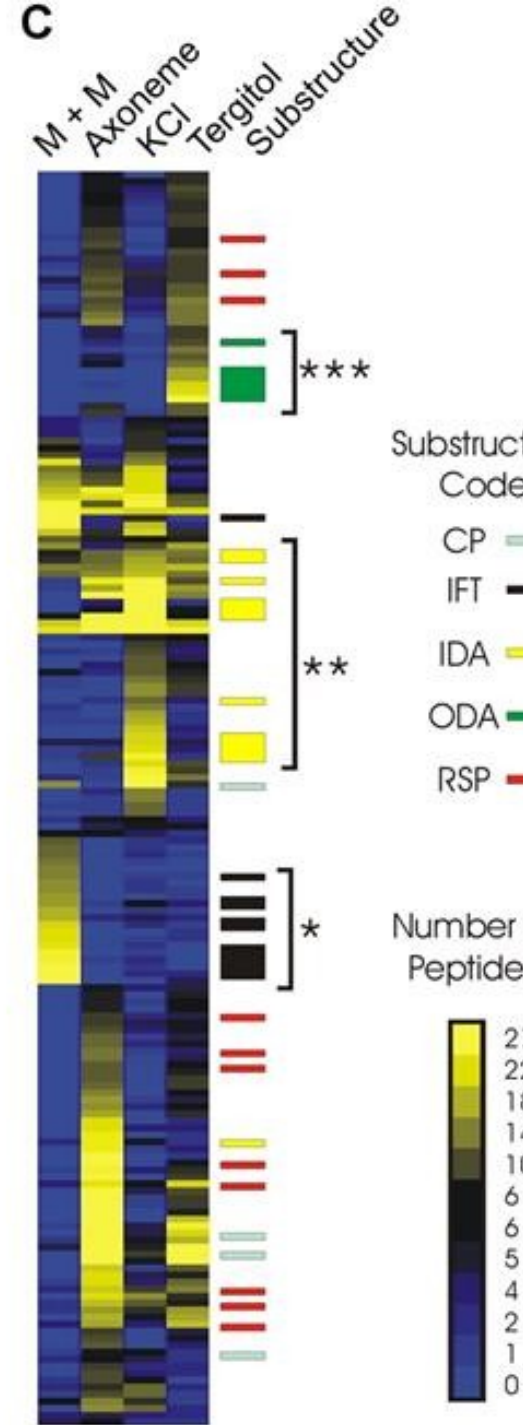
292 C.r. only

24 C.r. and A.r.

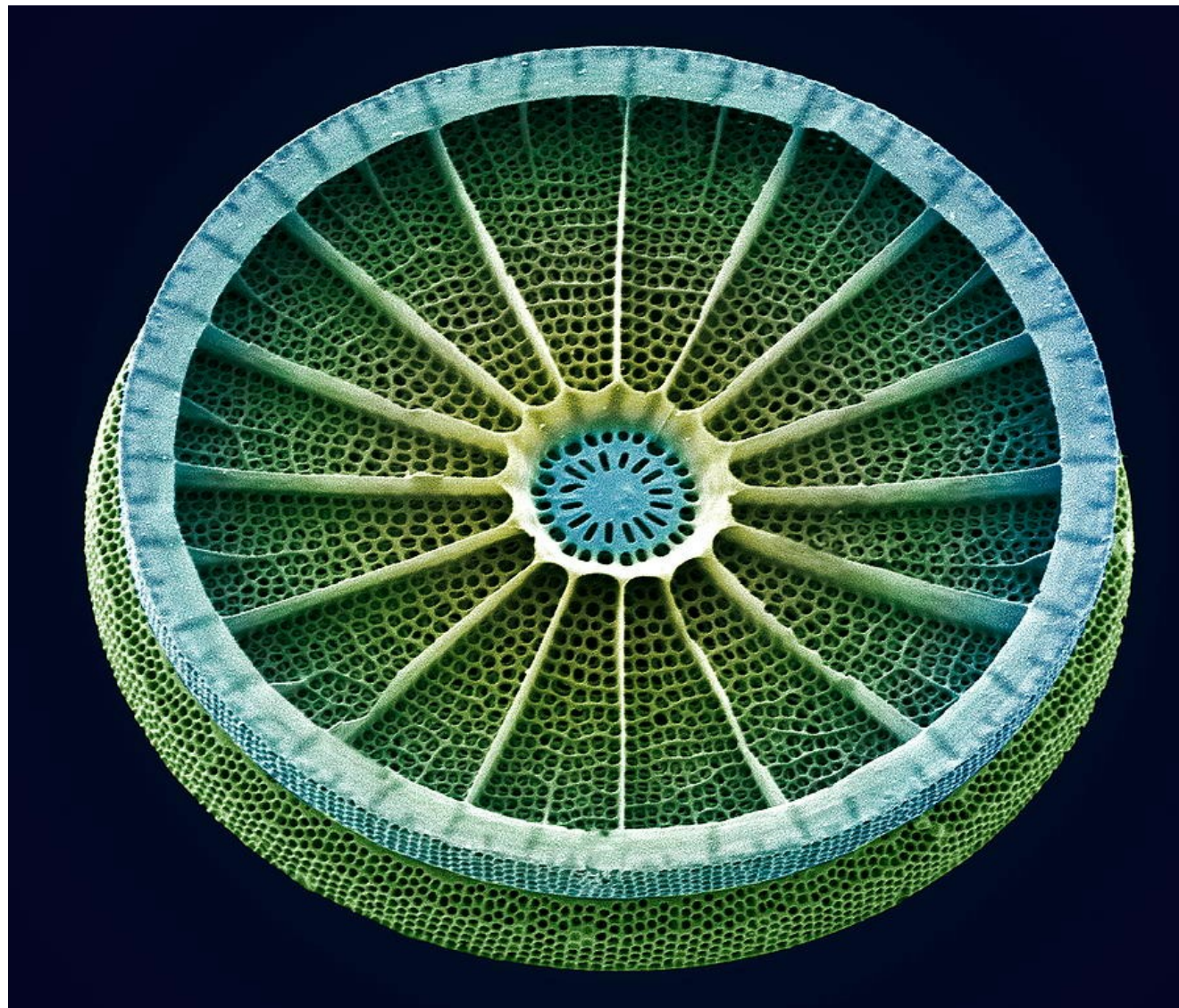
Pazour et al., 2005 J Cell Biol



- Ex Ax
- KCl Ex + Ex Ax
- KCl Ex
- M+M + KCl Ex
- M+M
- M+M + Ex Ax
- M+M + KCl Ex + Ex Ax
- Tergitol only



Modelové řasy – sekundární



Modelové řasy – sekundární

Rozsivky (Bacillariophyta, diatoms)

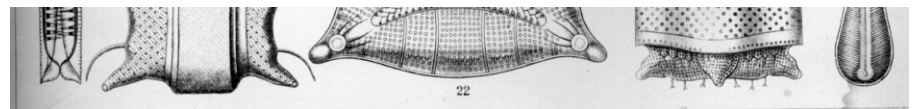
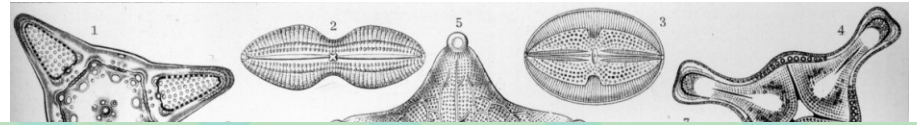
až 20% celkové primární produkce

potravní řetězec oceánů

biogeochemické cykly

velká a dobře popsaná divezita

metabolické adaptace - mixotrofie, OUC...



Modelové řasy – sekundární

Phaeodactylum tricornutum

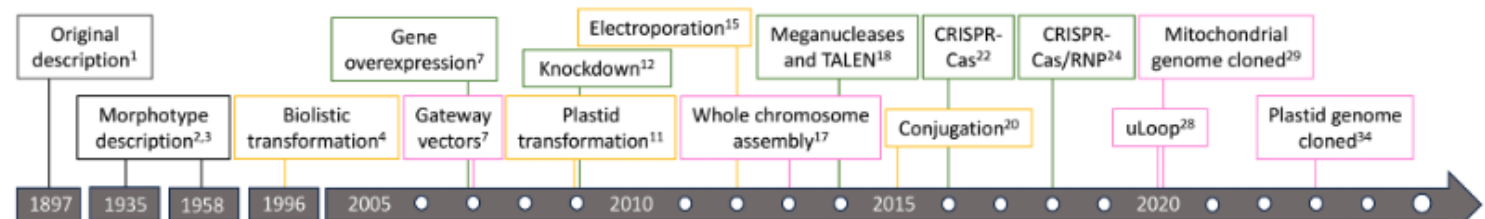
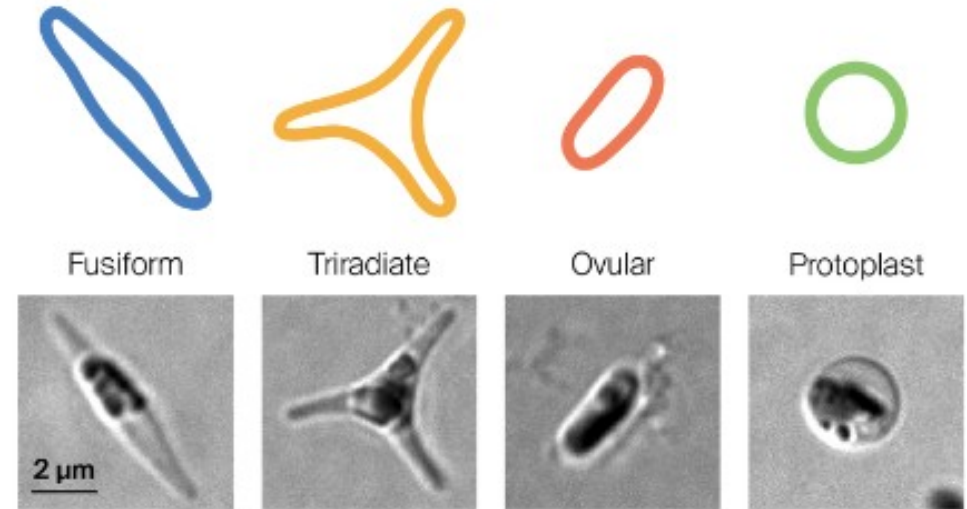
malý genom (± 28 Mbp, 25 chr.), diploidní

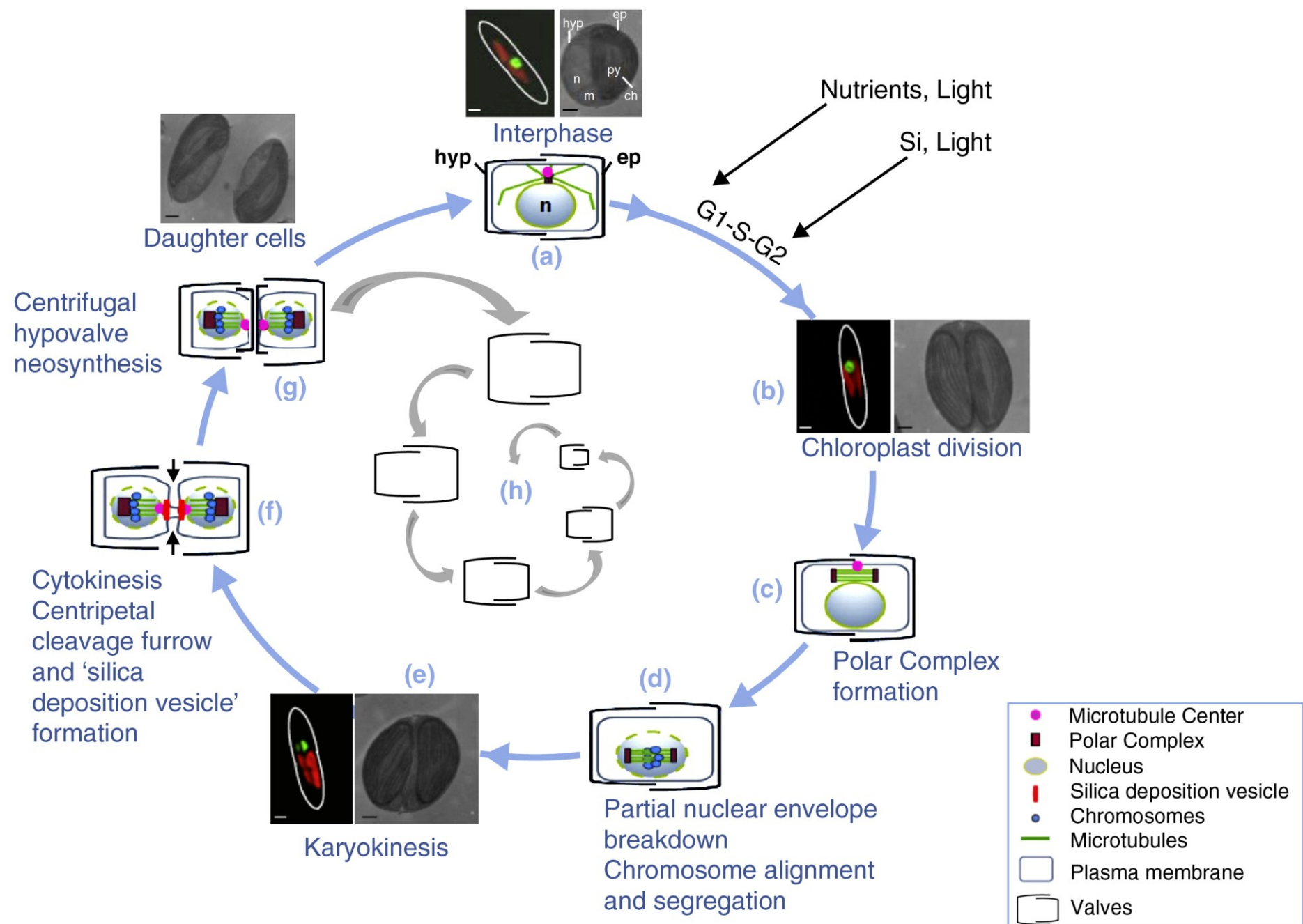
rychlý růst (cca 24 hodin) a snadná kultivace

mixotrofie (studium fotosyntézy)

snadná a efektivní transformace – CRISPR-Cas9, TALEN, elektroporace, RNAi

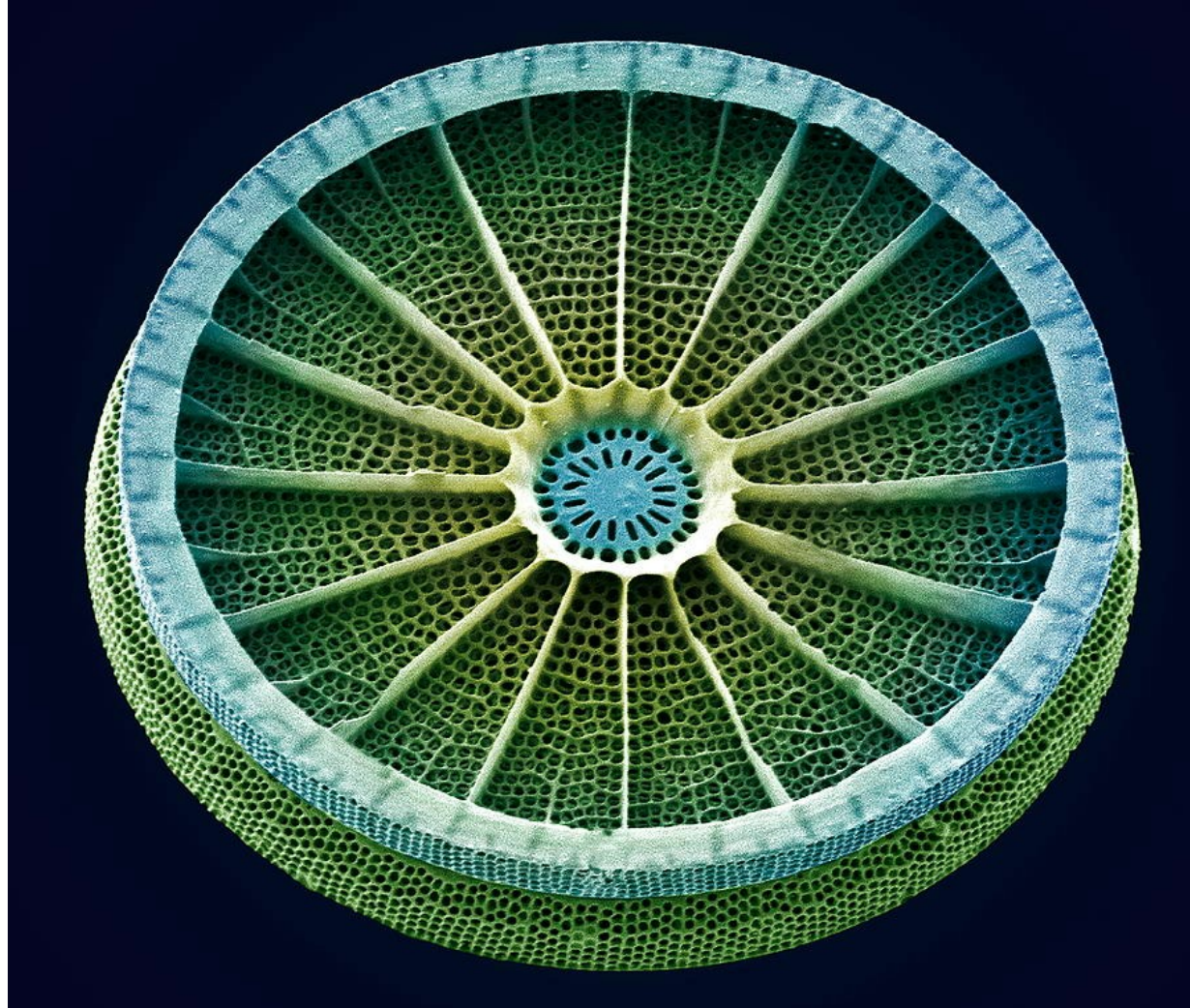
model pro syntetickou biologii (klon plastidu i mitochondrie)





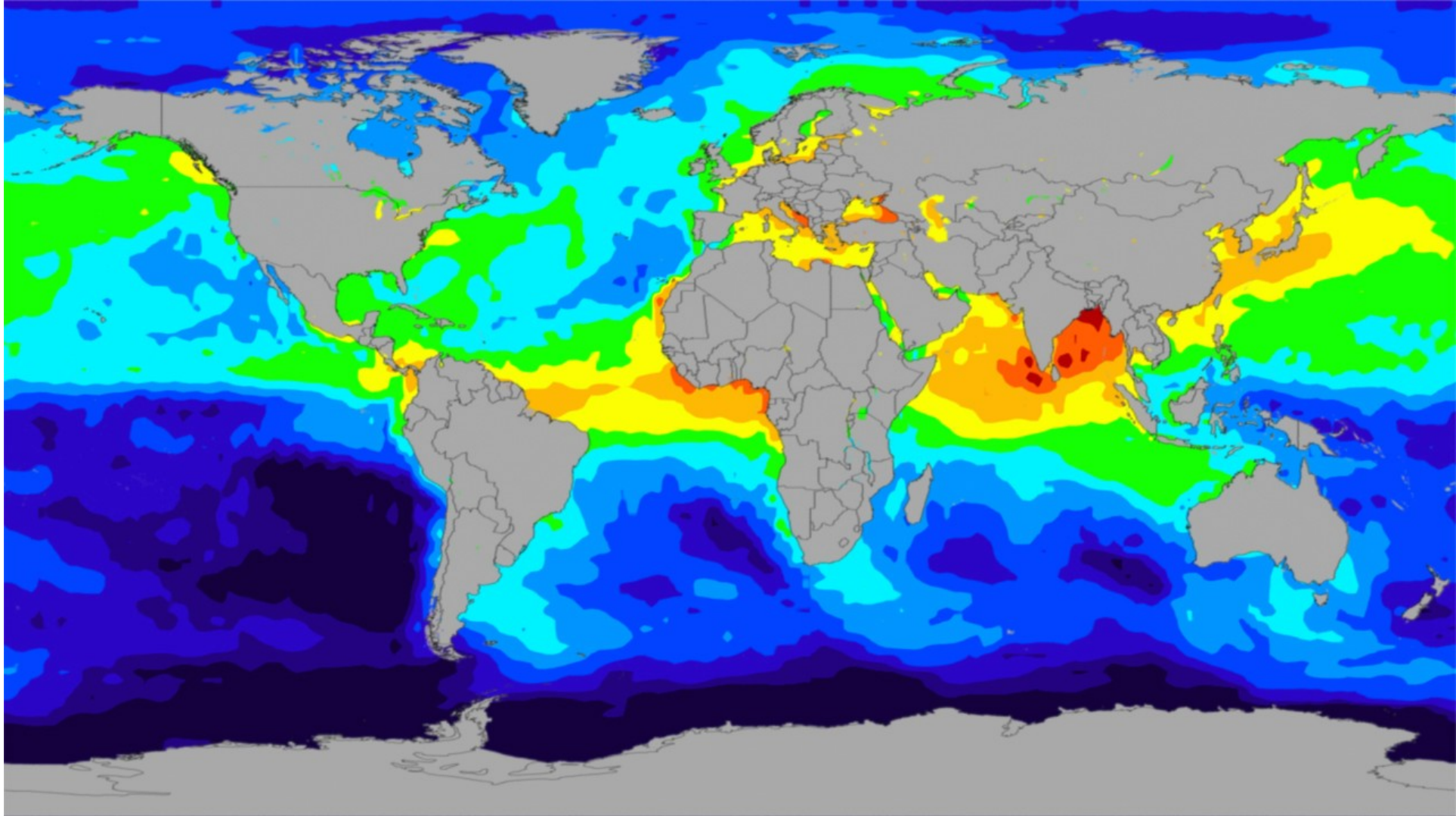
Bowler et al., 2010 Cur Opin Plant Biol

Proč jsou rozsvivky tak úspěšné?



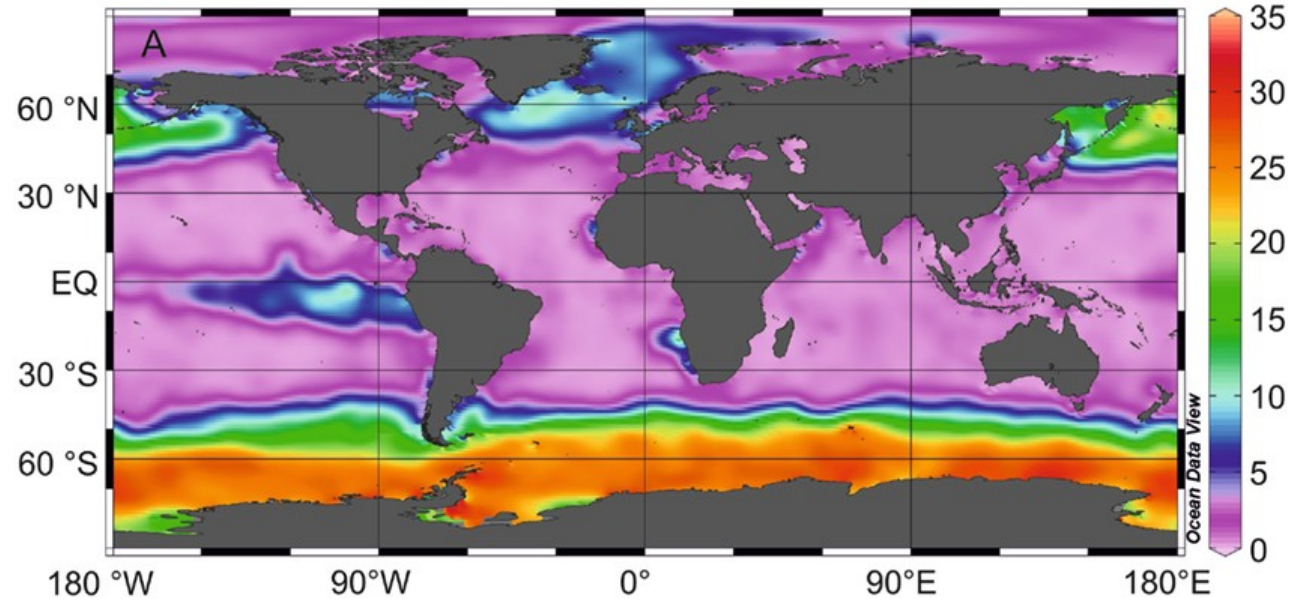


Železo je ve většině oceánů velmi vzácný prvek

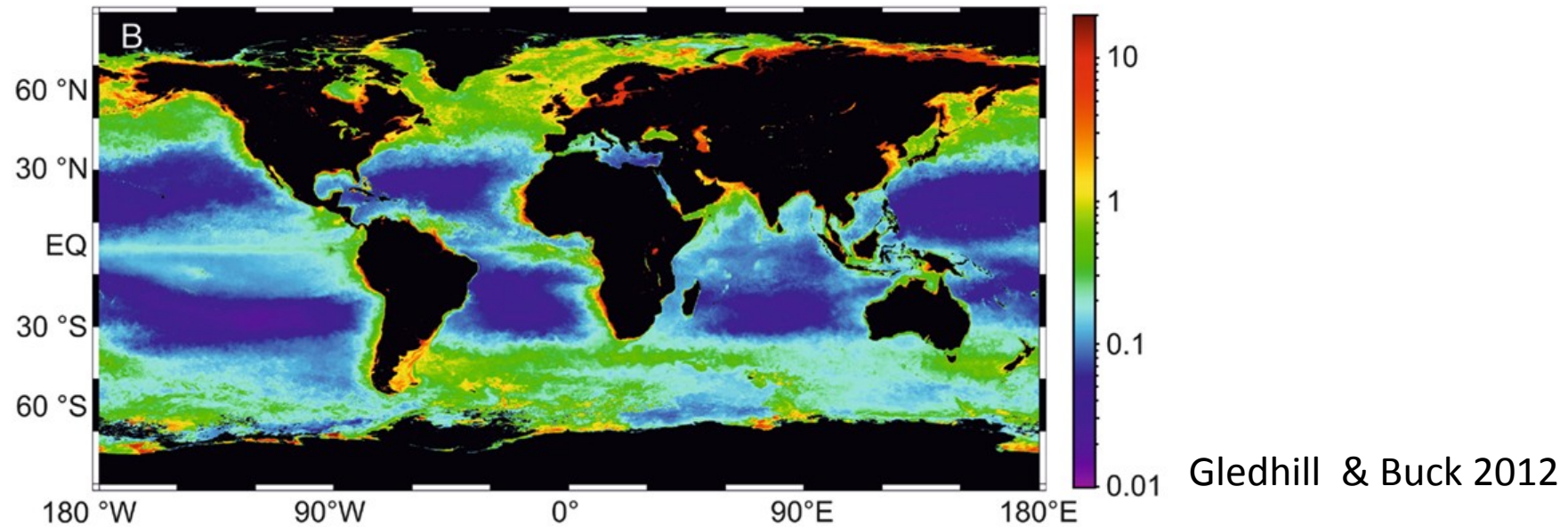


Nejproduktivnější části oceánu - nejmenší obsah železa

Surface water nitrate concentration (μM)



Surface water chlorophyll concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)



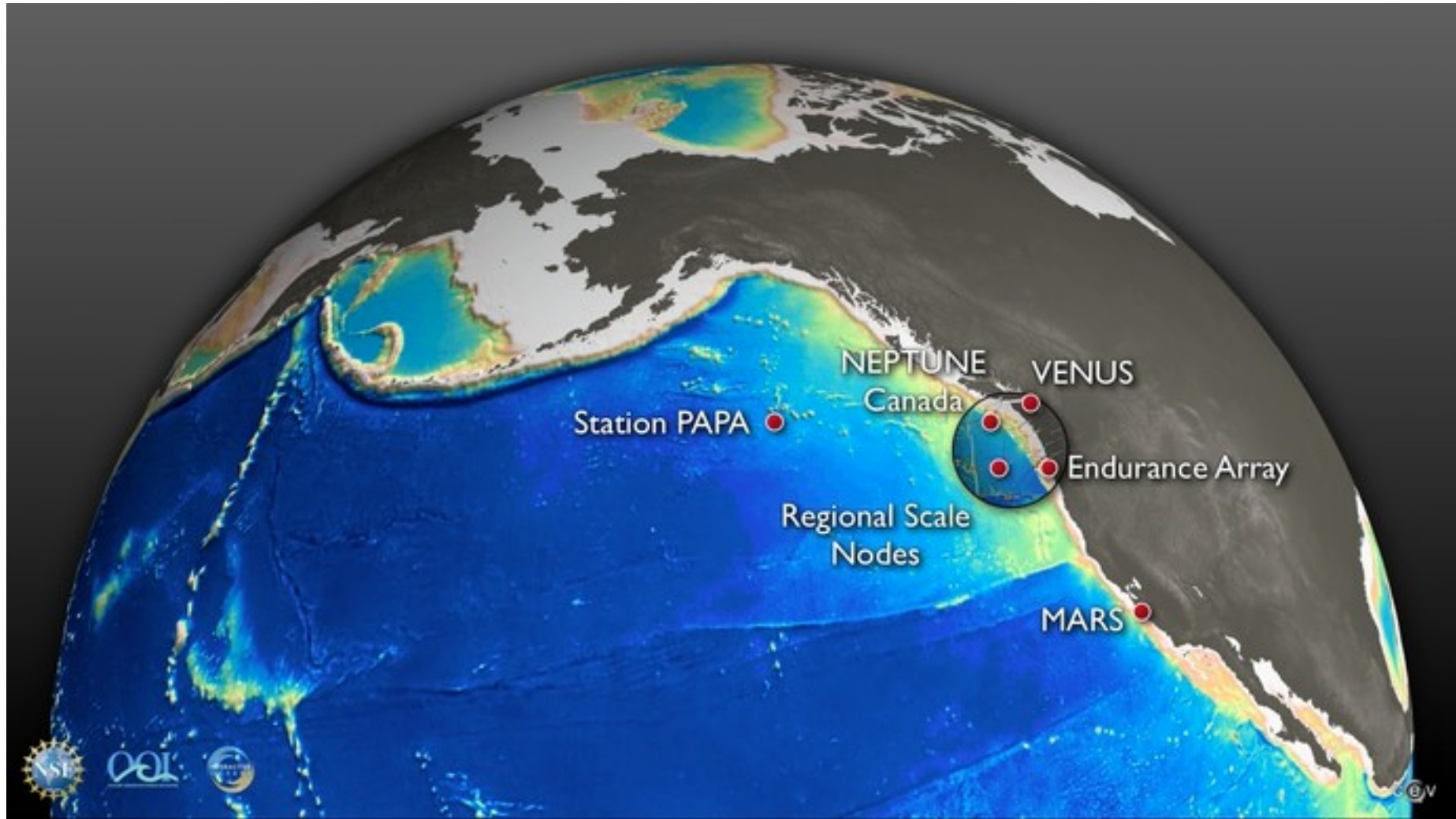
Comparative metatranscriptomics identifies molecular bases for the physiological responses of phytoplankton to varying iron availability

Adrian Marchetti^{a,1,2,3}, David M. Schruth^{a,1}, Colleen A. Durkin^a, Micaela S. Parker^a, Robin B. Kodner^a, Chris T. Berthiaume^a, Rhonda Morales^a, Andrew E. Allen^b, and E. Virginia Armbrust^{a,2}

^aSchool of Oceanography, University of Washington, Seattle, WA 98105; and ^bJ. Craig Venter Institute, San Diego, CA 92121

Edited by David M. Karl, University of Hawaii, Honolulu, HI, and approved December 20, 2011 (received for review November 9, 2011)





Rozsivky dominují ve vodách obohacených železem

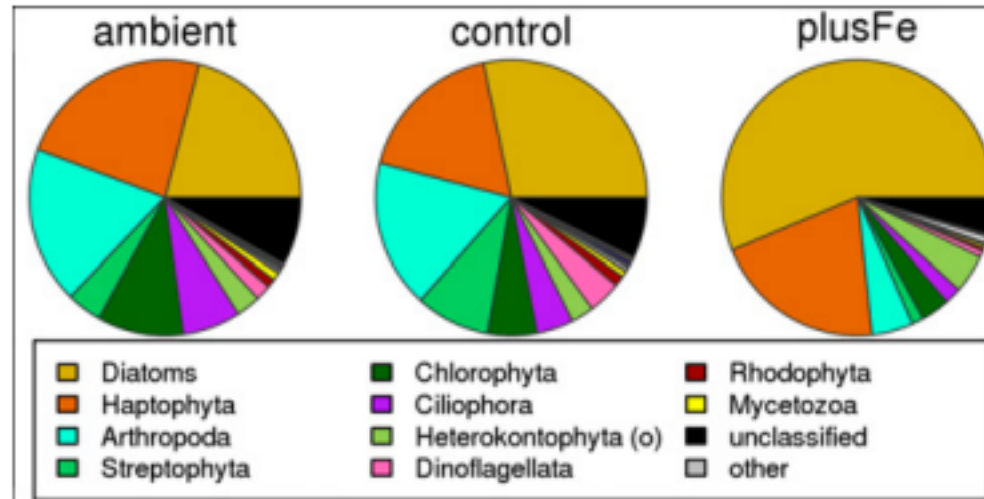


Fig. 1. Phylum-based taxonomic proportions of transcripts in the ambient, control, and plusFe SOLiD sequence libraries. Heterokontophyta have been separated into diatoms and other (o) heterokontophytes. Transcripts of chloroplast-encoded genes are omitted. Unclassified transcripts are SOLiD reads that align to 454 sequences with no taxonomic hit (tBLASTx, e-value $\leq 10^{-3}$). For additional phyla comprising "other", see [SI Appendix, Fig. S5](#).

Jak to dělají?!

Na přidání železa reagují jinak, než ostatní řasy

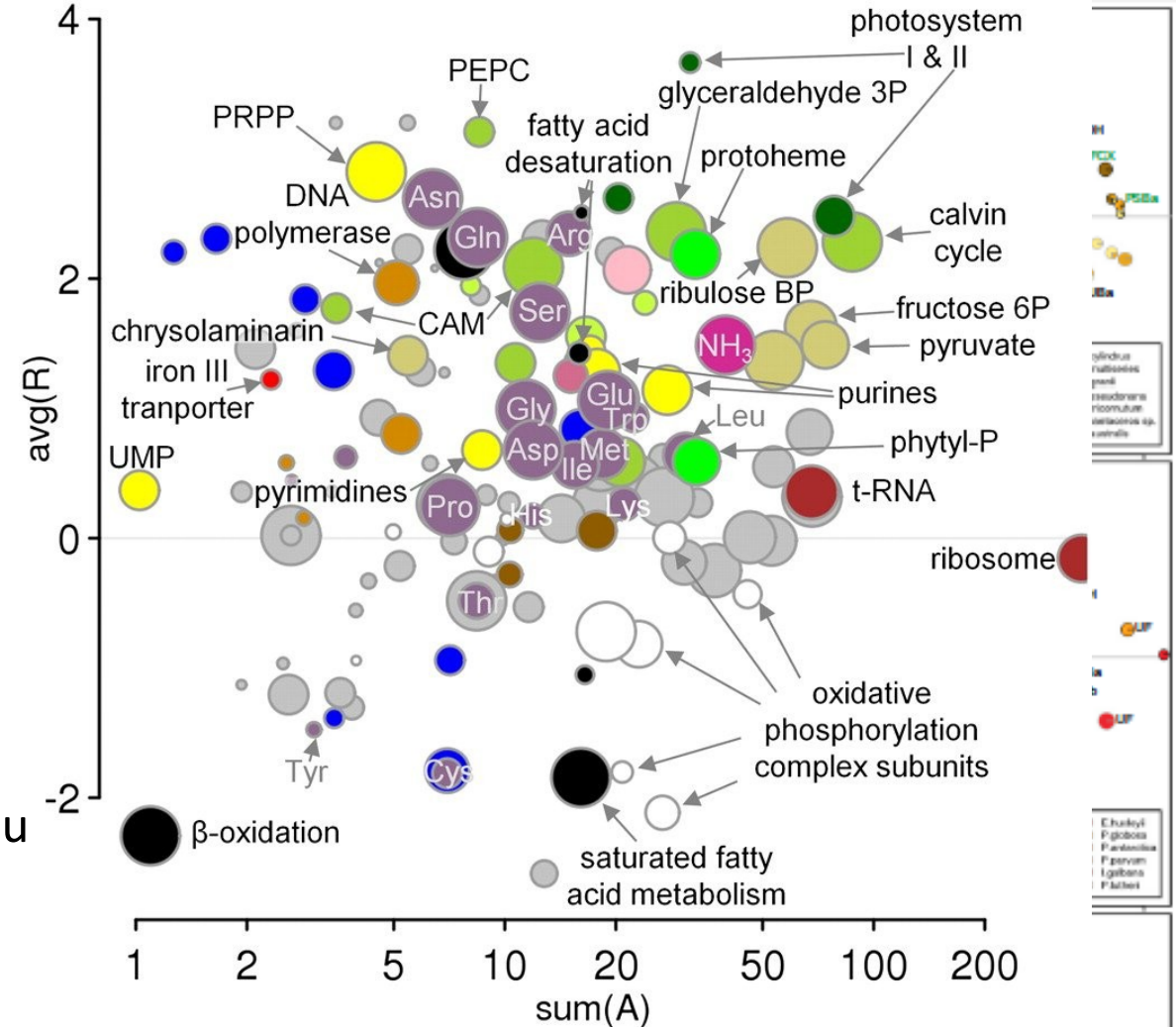
rezignují na výměnu méně efektivních enzymů (flavodoxiny) pro elektronový transport za výkonnější, obsahující železo

místo toho železo investují do nitrit/nitrát reduktáz, glutamin a glutamát syntetáz apod...

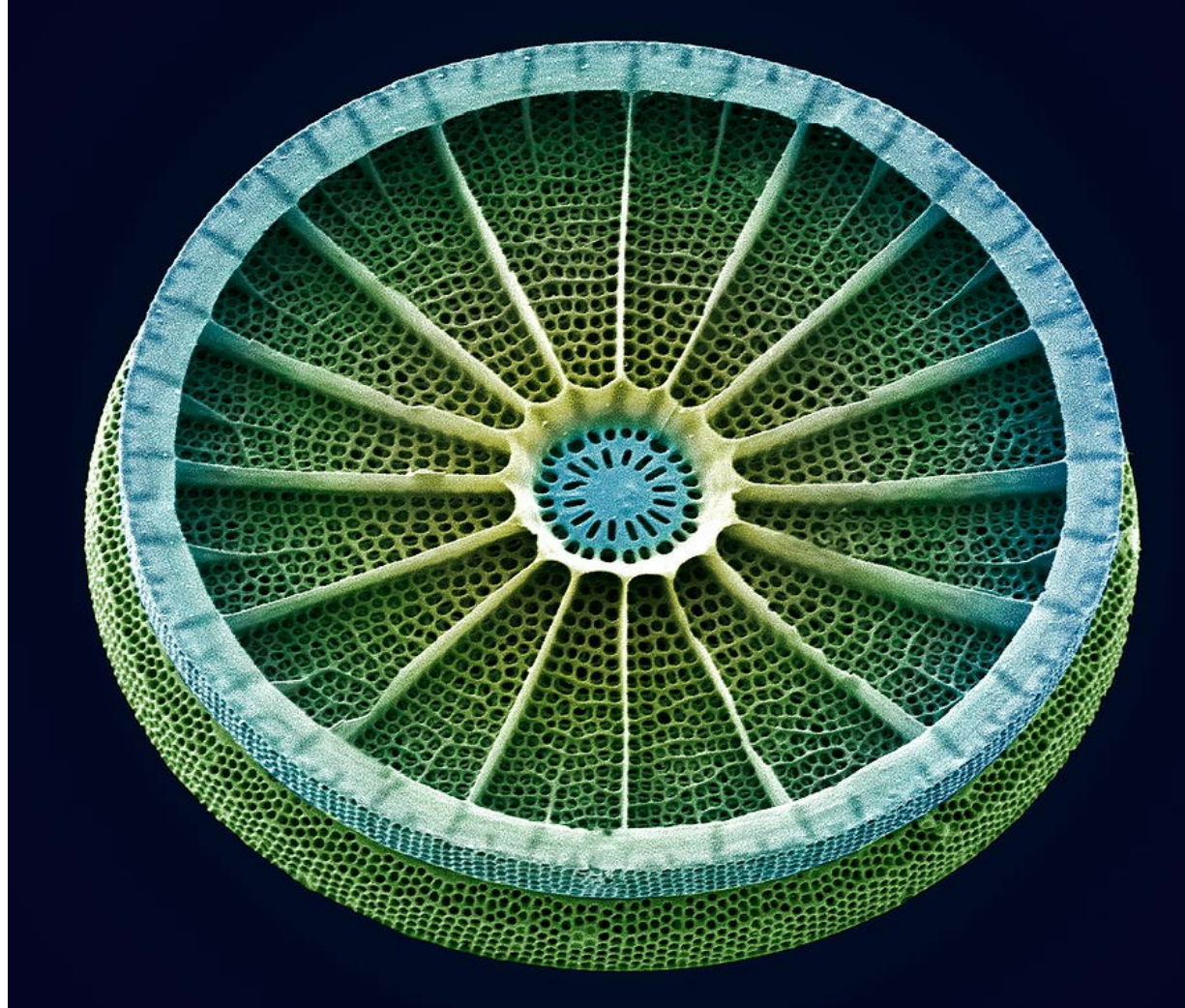
→ Redukce oxidovaných sloučenin dusíku na močovinu a amoniak, hromadí zásoby využitelného dusíku

dále investují do systémových procesů (syntéza chlorofylu, NK, polyaminů pro asimilaci křemíku)...

→ Příprava na rychlé dělení



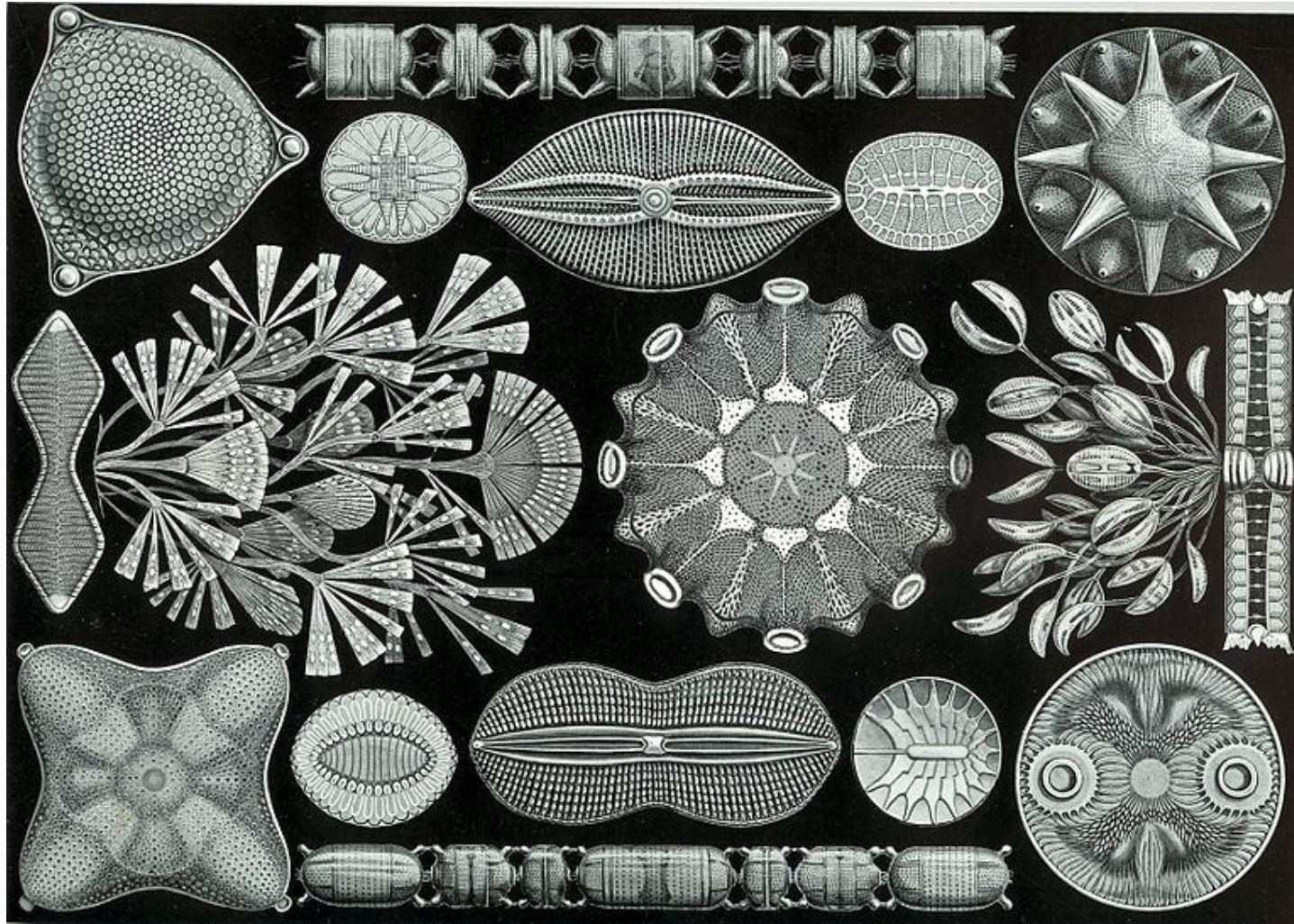
Proč jsou rozsvivky tak úspěšné #2?





Evolution and metabolic significance of the urea cycle in photosynthetic diatoms

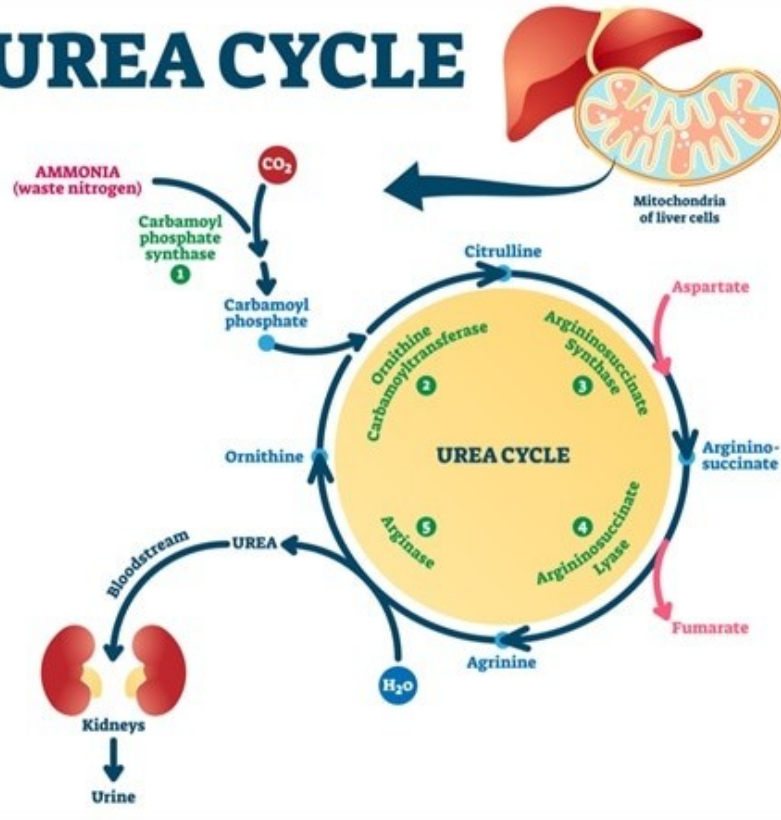
Andrew E. Allen^{1,2}, Christopher L. Dupont¹, Miroslav Oborník³, Aleš Horák³, Adriano Nunes-Nesi⁴†, John P. McCrow¹, Hong Zheng¹, Daniel A. Johnson¹, Hanhua Hu²†, Alisdair R. Fernie⁴ & Chris Bowler²



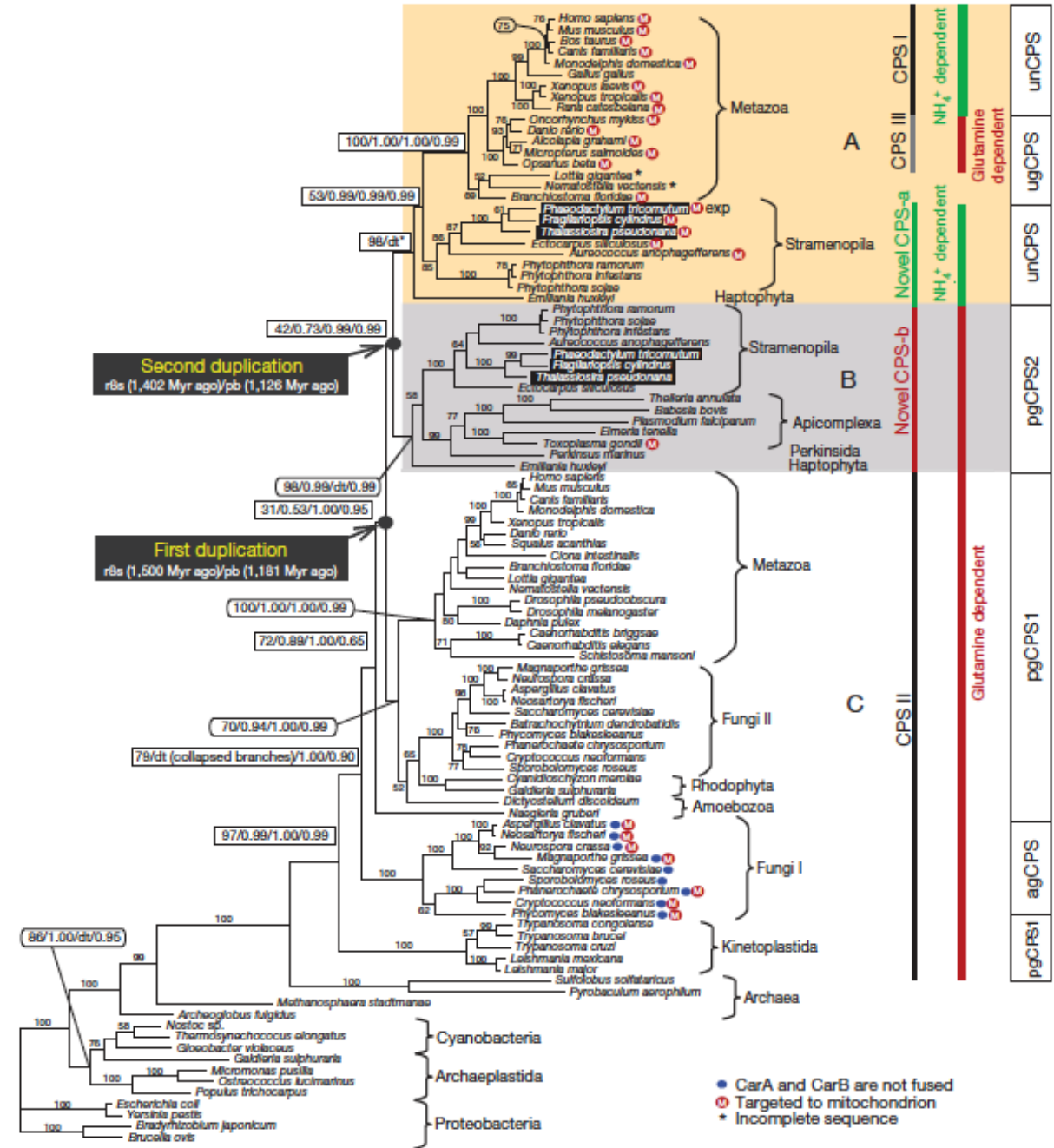
Genomy rozsivek obsahují dvě kopie CPS

Klíčový enzym syntézy pyrimidinů, ale i OUC

UREA CYCLE



Navíc jedna z kopií obsahuje mTP a je NH₄⁺- závislá



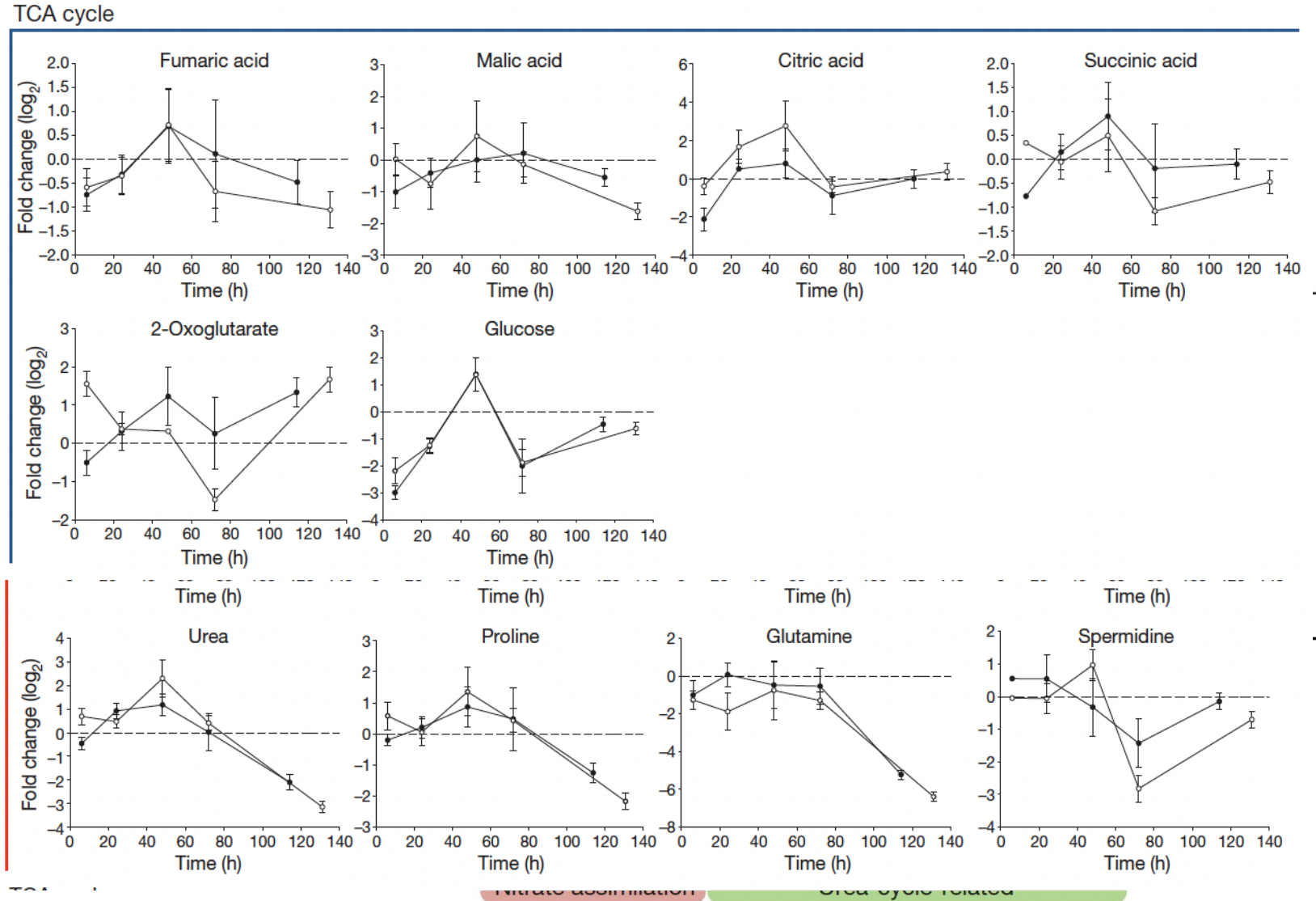
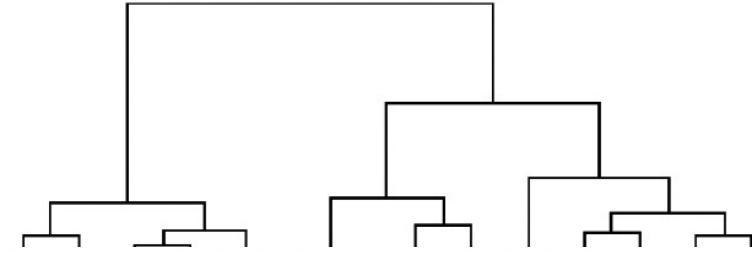
Proč by rozsivky měly OUC?!

b

++ Nx → dlouhodobé zvýšení exprese OUC genů

RNAi OUC genů vede k poklesu syntéz důležitých aa...

... i produktů TCA



Těsná vazba mezi TCA a OUC přes (mezi)produkty (prolin + močovina)

Anabolická funkce OUC u rozsivek – centrální hub metabolisme N a C

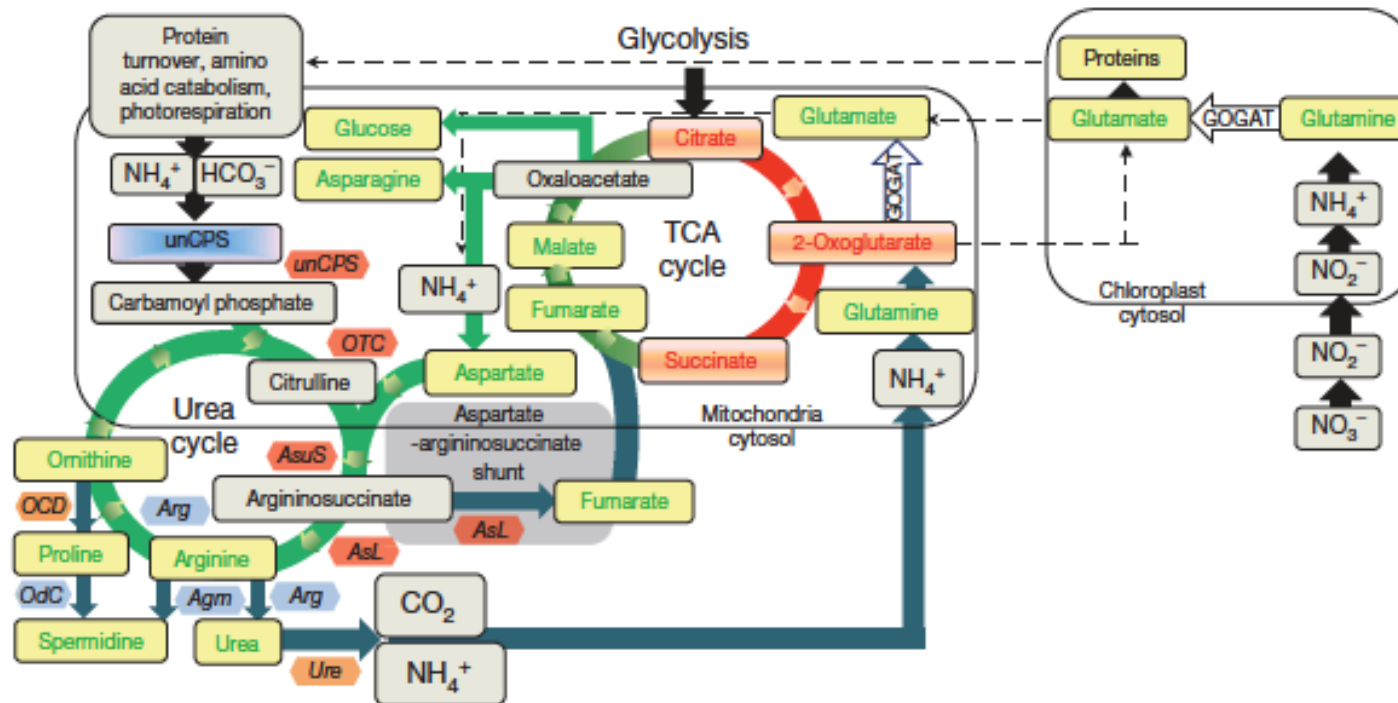
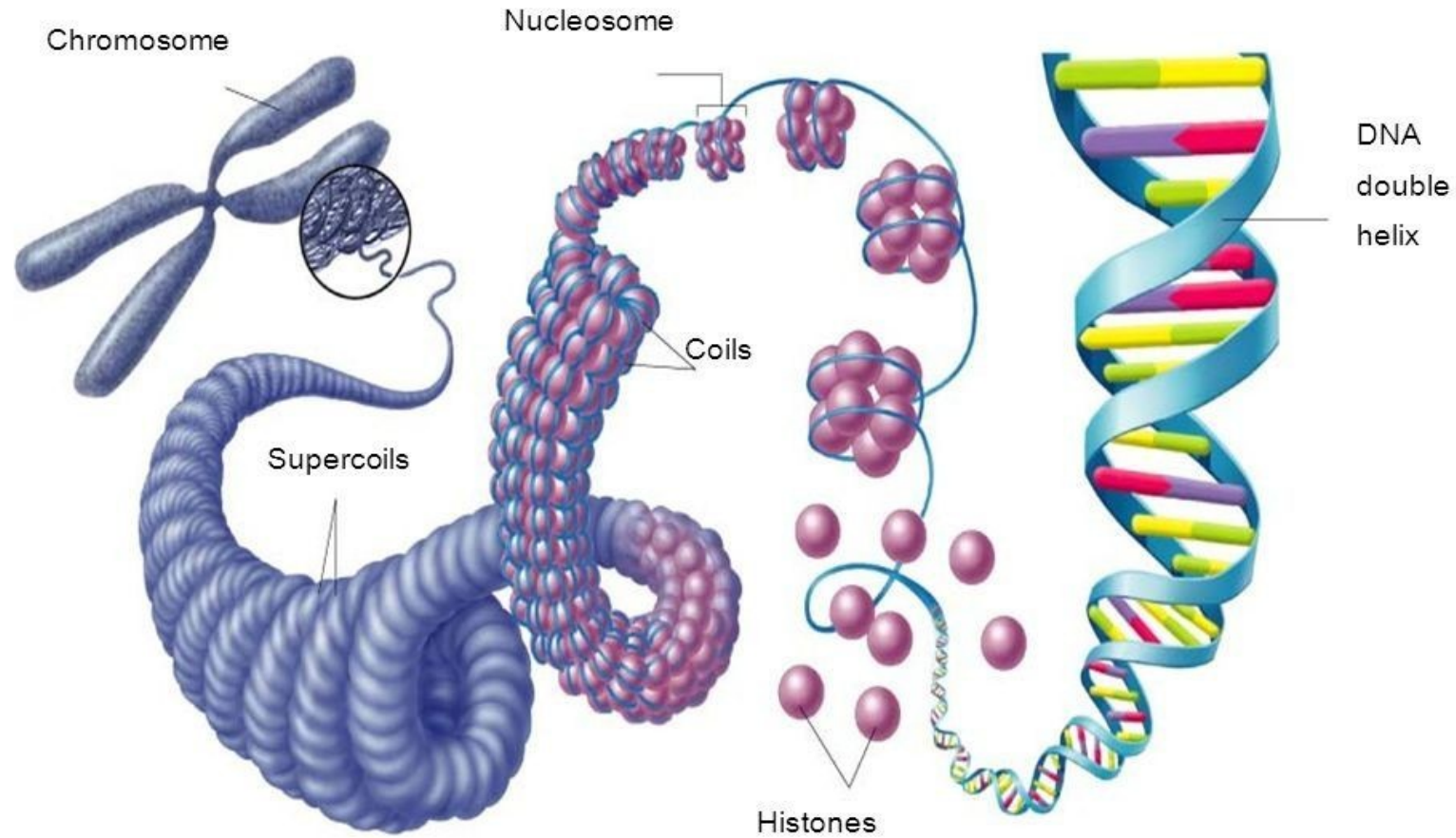


Figure 4 | Conceptual overview of the roles of unCPS and the diatom urea cycle on the basis of metabolite data from wild-type and RNAi lines. Metabolites depicted in green were significantly depleted (*t*-test, $P < 0.05$) whereas those shown in red were less affected in *unCPS* RNAi lines. Green and blue arrows indicate fluxes hypothesized to be particularly strongly affected by diatom *unCPS* impairment. Blue arrows further indicate potentially critical

control points that link the urea cycle to other major metabolic pathways. Core urea cycle genes that displayed coordinated expression, *AsL*, *AsuS*, *OTC* and *unCPS*, are indicated in red hexagons. *OCD* and *Ure*, depicted in orange hexagons, as well as *Arg*, *OdC* and to some extent *Agm*, depicted in blue hexagons, also showed independent coordination in overall expression. GOGAT, glutamate synthase.

DNA bez histonů?!

Chromosomes



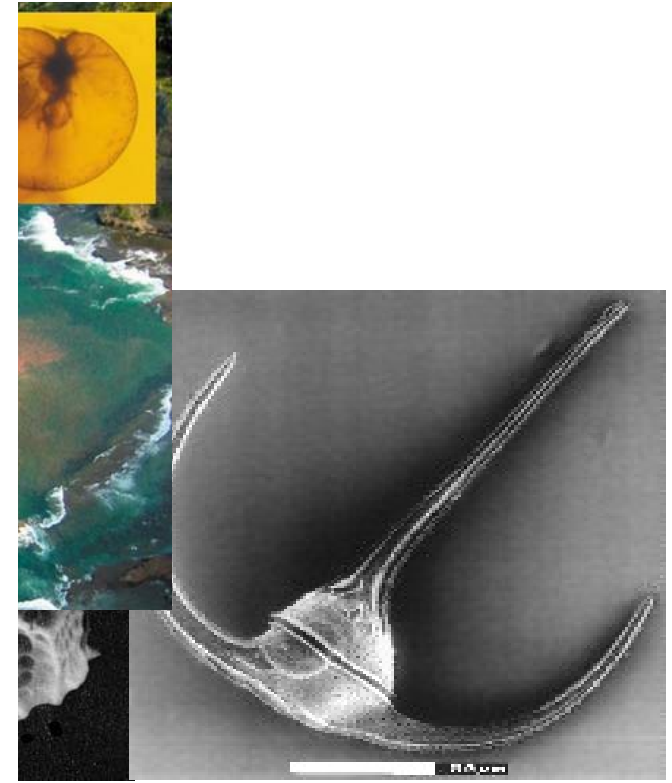
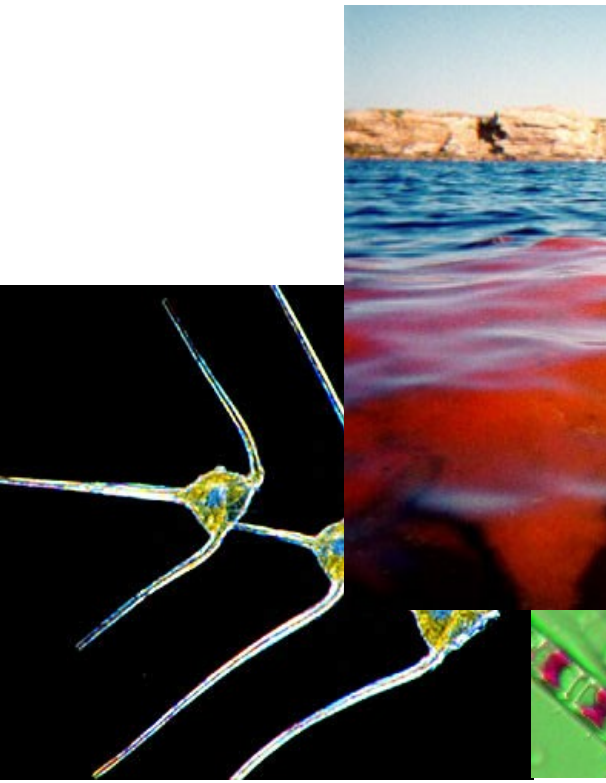
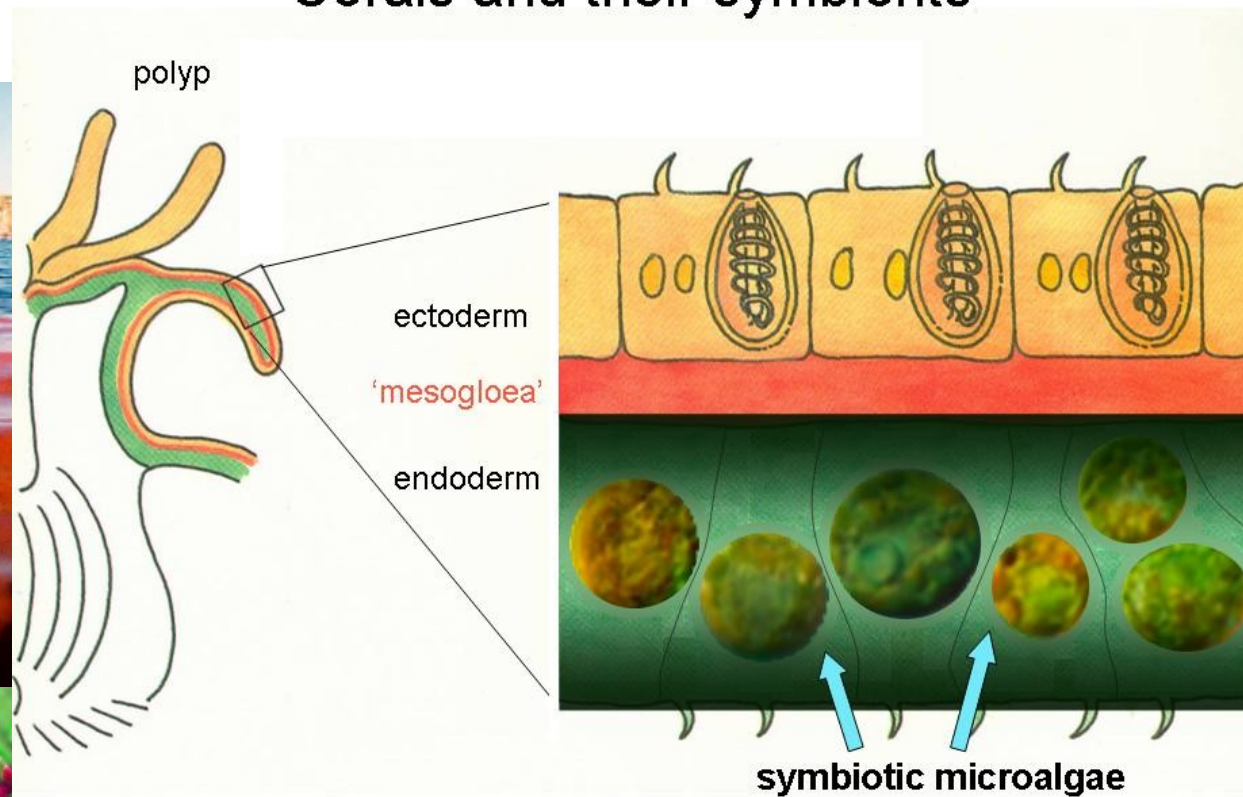
Alveolata: Dinozoa - obrněnky

Extrémně druhově bohatá a početná složka planktonu

50% heterotrofní (parazité a predátoři, zbytek auto- a mixotrofní), symbionti korálů - bleaching

Hospodářský význam – red tides a shelfish poisoning

Corals and their symbionts



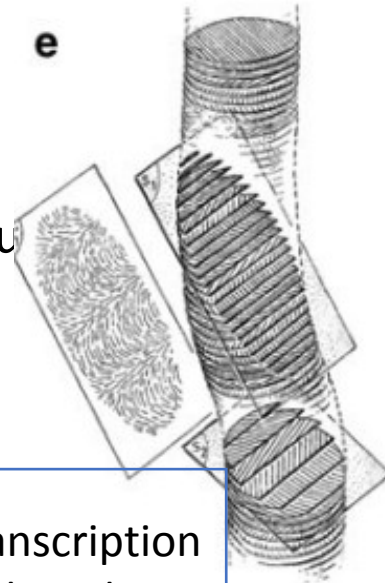
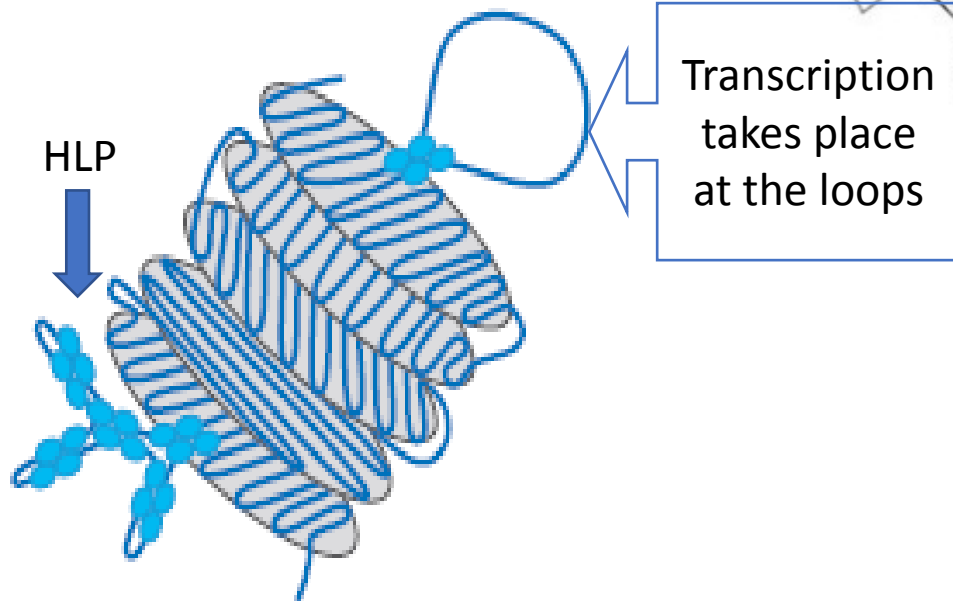
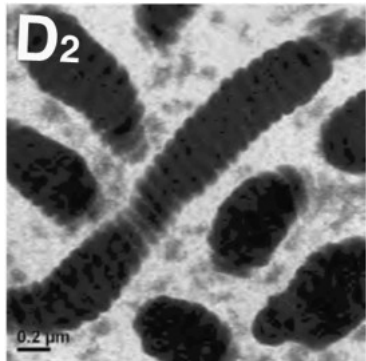
Dinokaryon!

DNA obrněnek není organizovaná na histonech

ty jsou jinde v jádře, podílí se (asi) na replikaci a regulaci transkripce

tekuté DNA krystaly vystužené Ca a Mg ionty
a HLP – histone like proteins bakteriálního původu

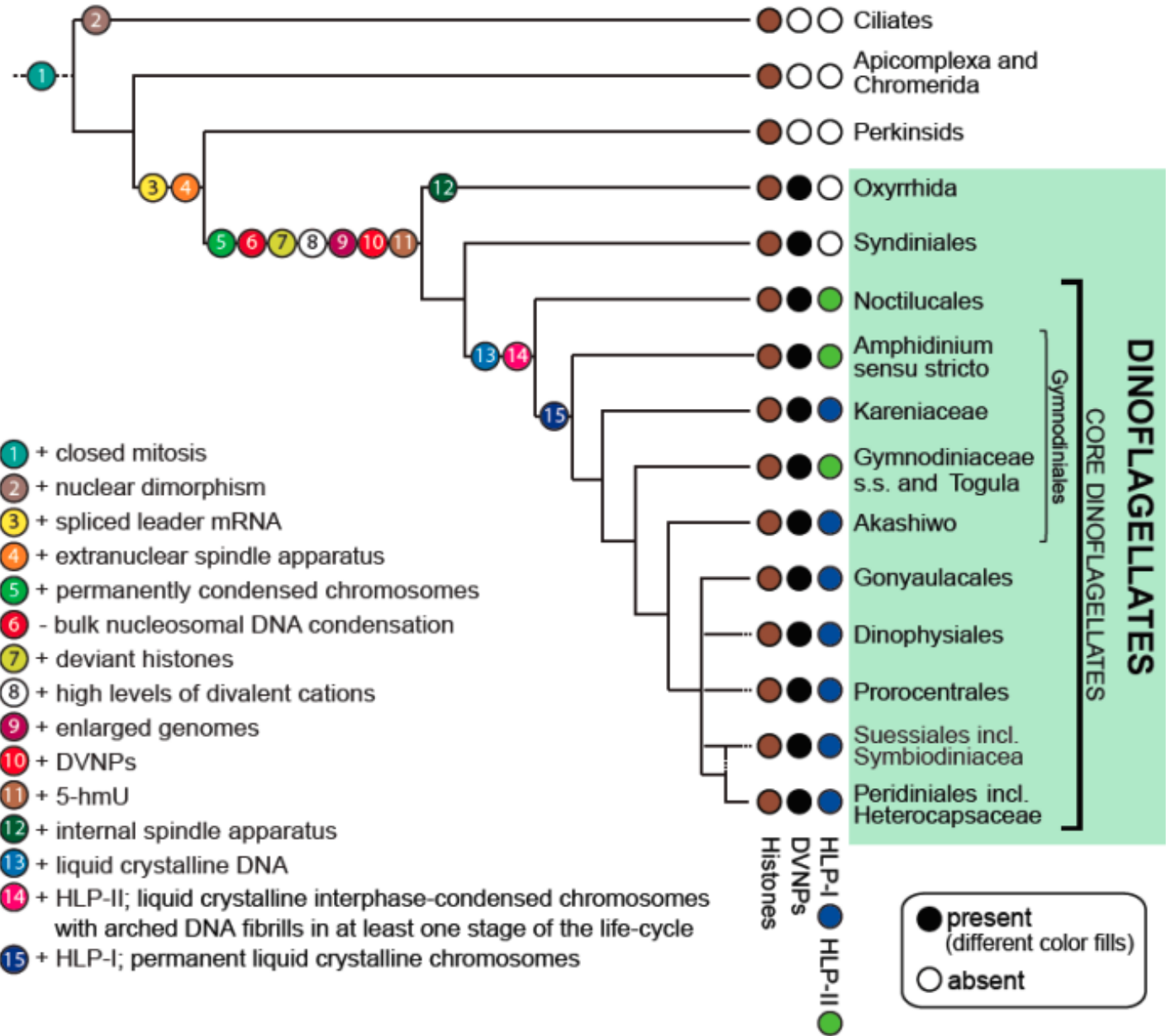
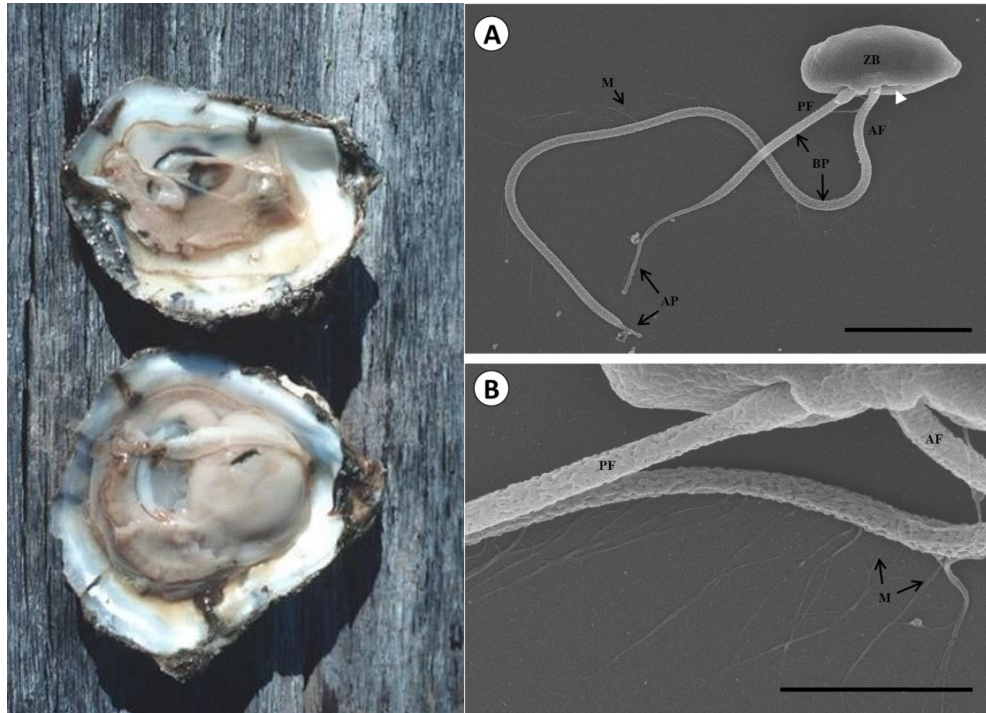
lineární, permanentně kondenzované
chromozomy transkripce probíhá na
smyčkách



Prorocentrum sp.



Dinokaryon u všech, kromě perkinsidů



Proč a jak došlo ke nahrazení histonů?

DVNPs (dinoflagellate-viral-nucleoproteins) – původně virové proteiny

Phycodnaviridae – ds DNA viry řas (*Chlorella*)

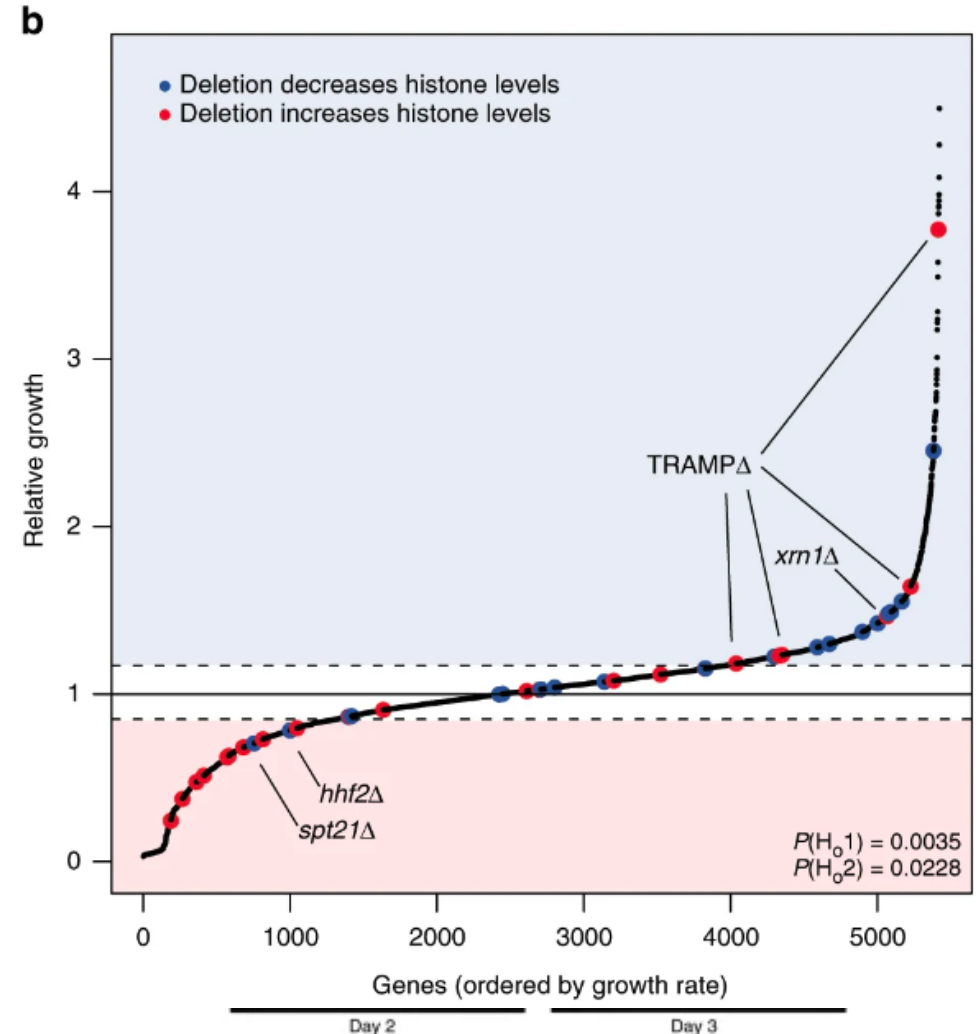
u bazálních obrněnek tvoří DVNP většinu nukleoproteinů

xenotransfekce do *S. cerevisiae* – vazba na jádro, růstový fenotyp

↑ DVNPs ↓ funkční nukleozomy a transkripce

mutace ↓ úroveň histonů zlepšily růst

Prvotní infekce phycodnaviry donutily obrněnky zbavit nukleozomy histonů?



Organizace genomu obrněnek a transkripce

Symbiodinium microadriaticum – geny organizovány ve funkčních blocích

– polycistronický přepis, SL a trans-splicing

– časté mutace SL – reverzní transkripce a rekombinace zpátky do genomu

– → repetice a obrovské rozpětí velikostí genomu (0.1 – 600 Gbp)

