



*Determinace a vývoj pohlavnosti*

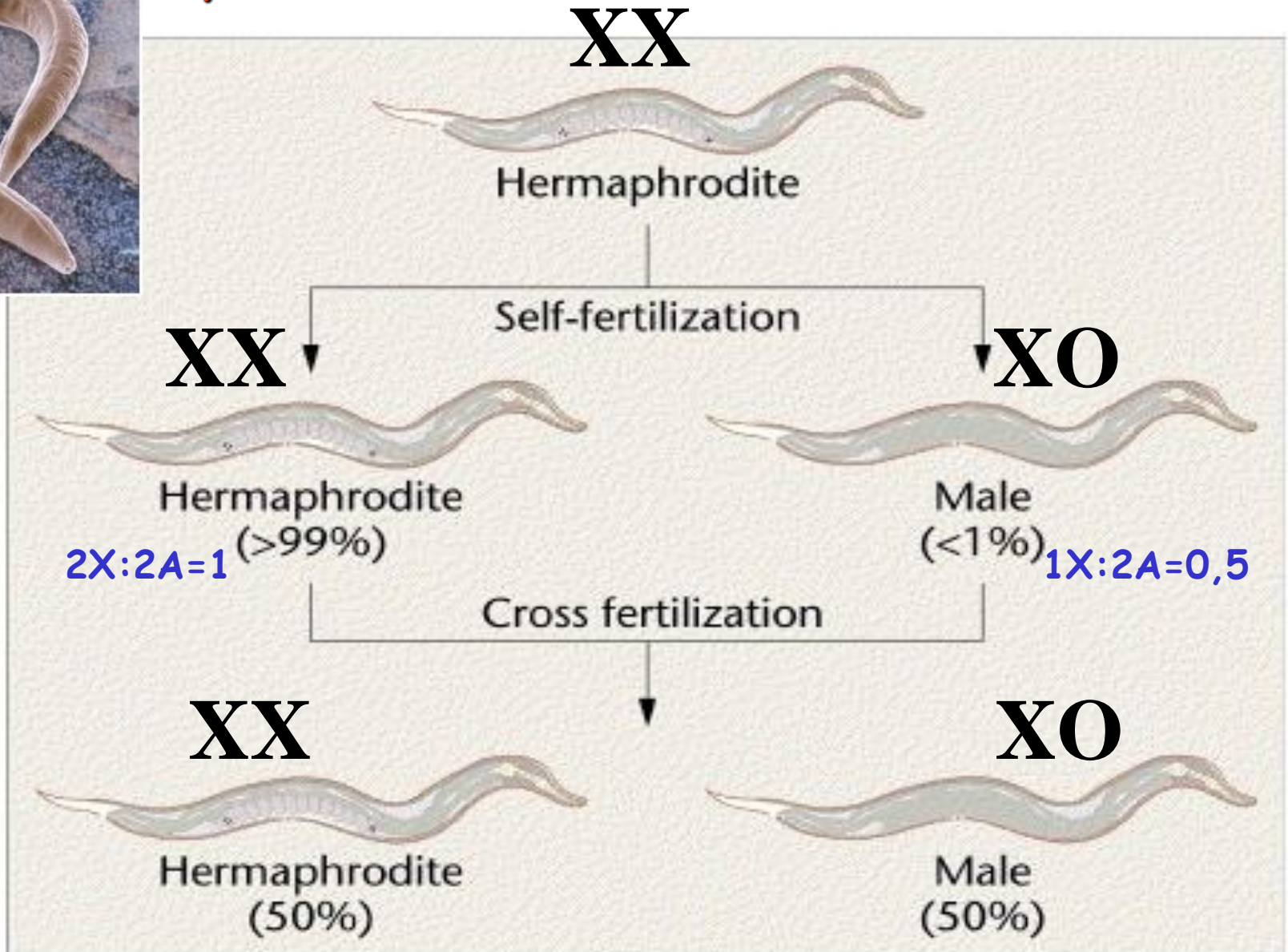


# Úlohy pohlavnosti v životě eukaryot :



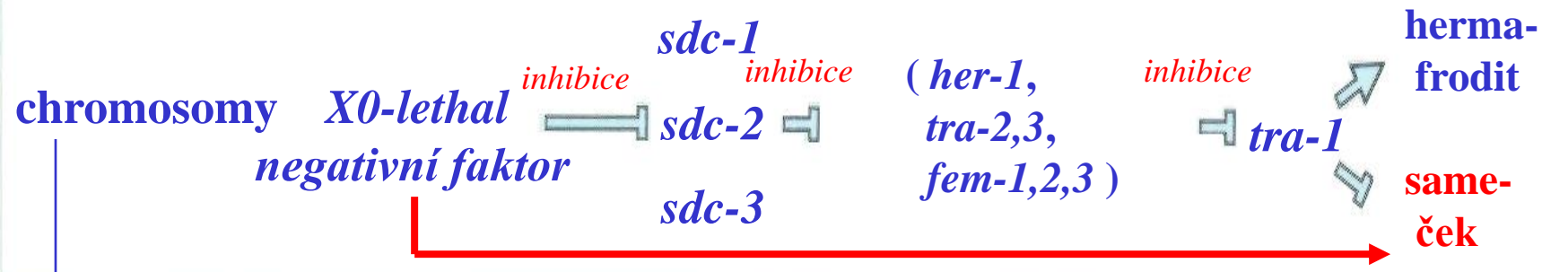
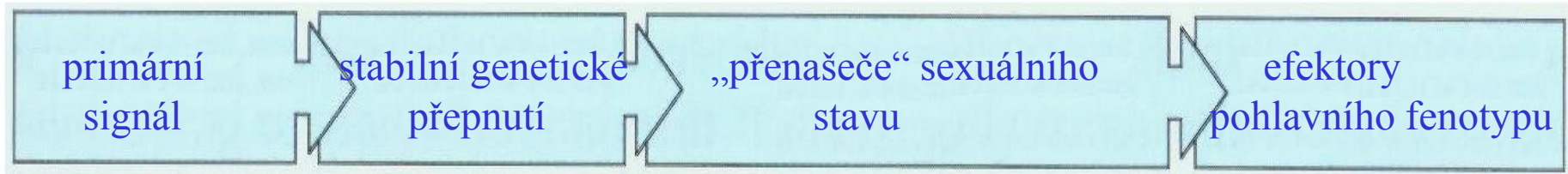
- ⊗ meiosa a kombinace gamet zajišťují evolučně výhodnou heterozygotnost a variabilitu
- ⊗ diferenciace zárodečné dráhy a příslušných gamet (včetně tvorby pohlavních orgánů)
- ⊗ pohlavně specifický vývin somatických buněk (pohlavní dimorfismus)
- ⊗ řízení transkripčních hladin chromosomů X (umlčování či zesilování exprese vázaných genů)
- ⊗ metylační nastavení gametického imprintingu - záznamu o expresi genů v příští filiální generaci

# *Caenorhabditis elegans* : vznik a dědičnost pohlaví systém X : A





# Determinační dráhy somatické pohlavnosti u *C-elegans*

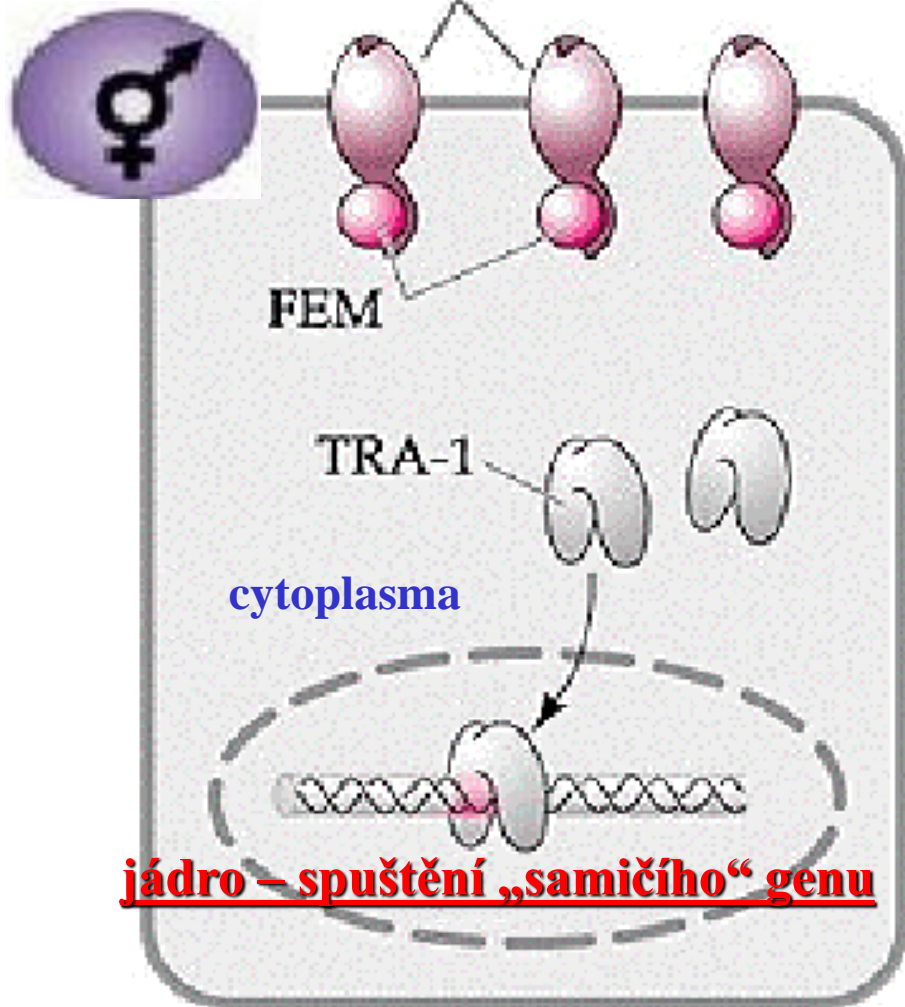


<b>XX</b>	<i>koncentrace:</i> nízká	vysoká	.....	vysoká	
<b>XO</b>	<i>koncentrace:</i> vysoká	nízká	.....	nízká	

Transdukční dráha sex-determinačních signálů u *C-elegans* (*XOlethal-HER1-TRA1,2*) ... vysoká hladina negativního regulačního proteinu *XOlethal* způsobí modifikaci transmembránového proteinu *TRA2*

XX

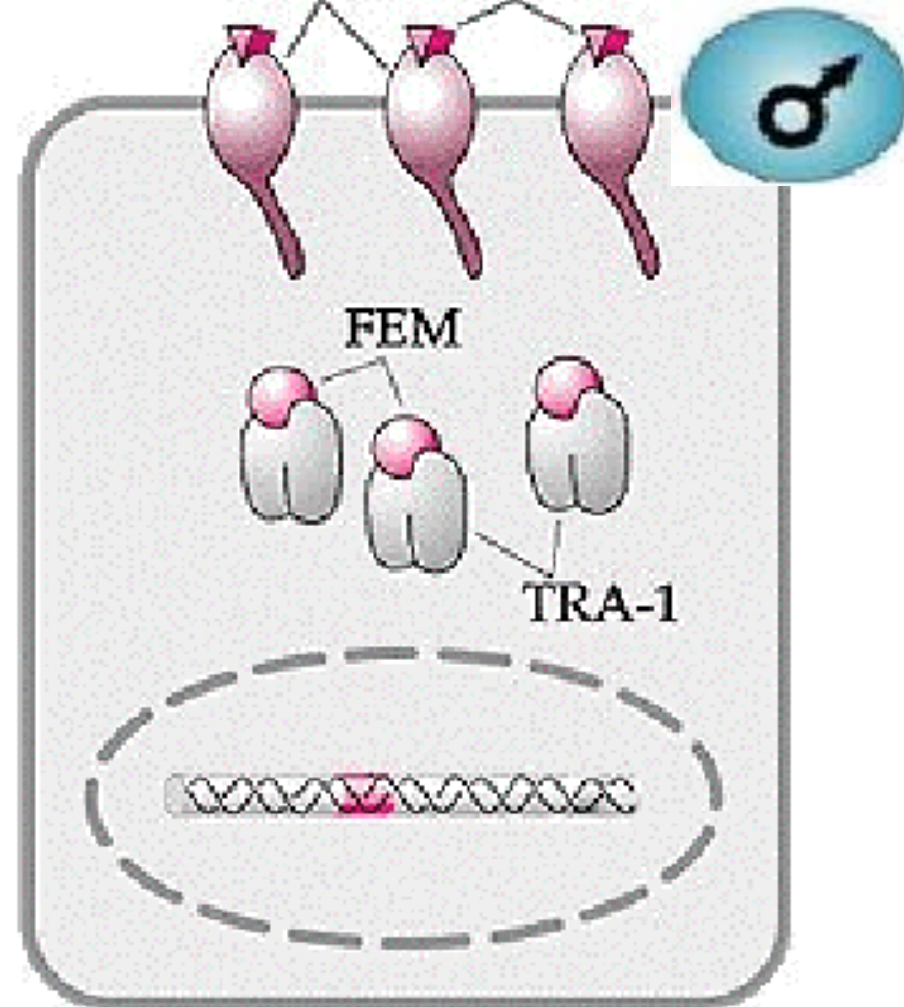
TRA-2



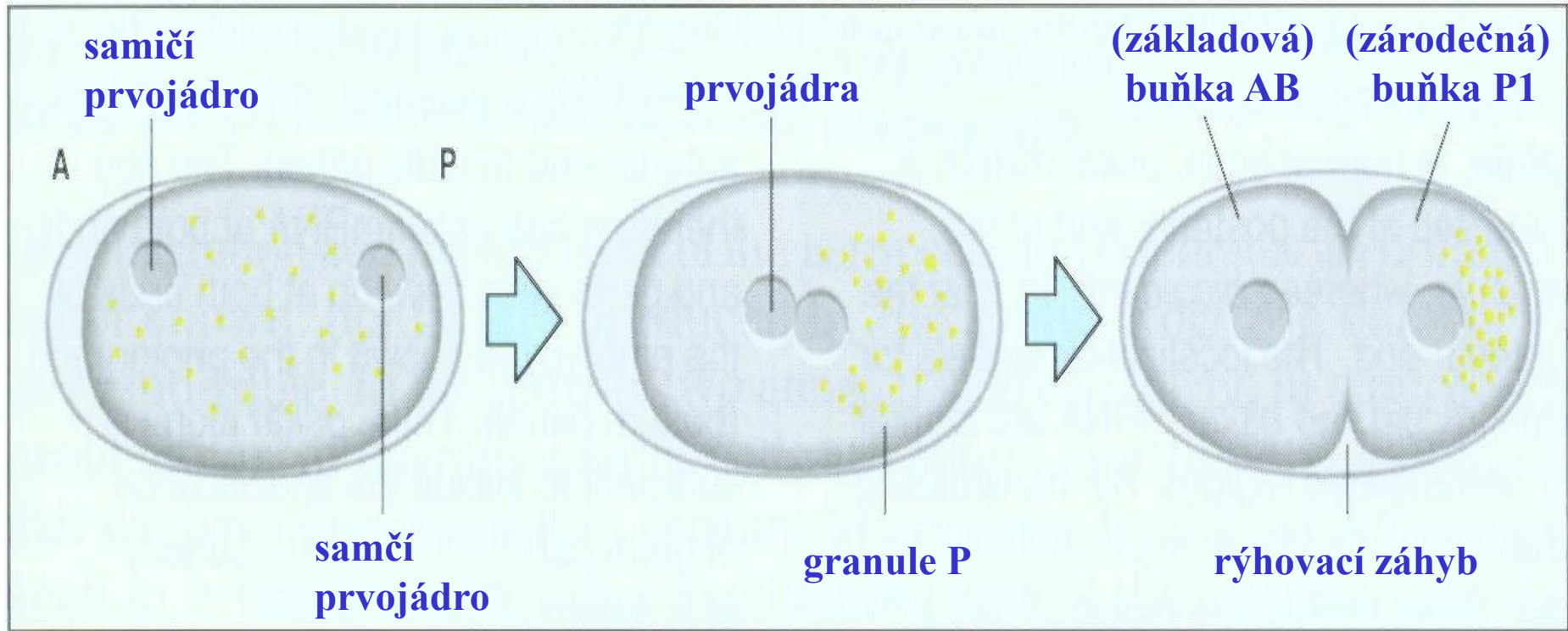
jádru – spuštění „samičího“ genu

TRA-2 HER-1

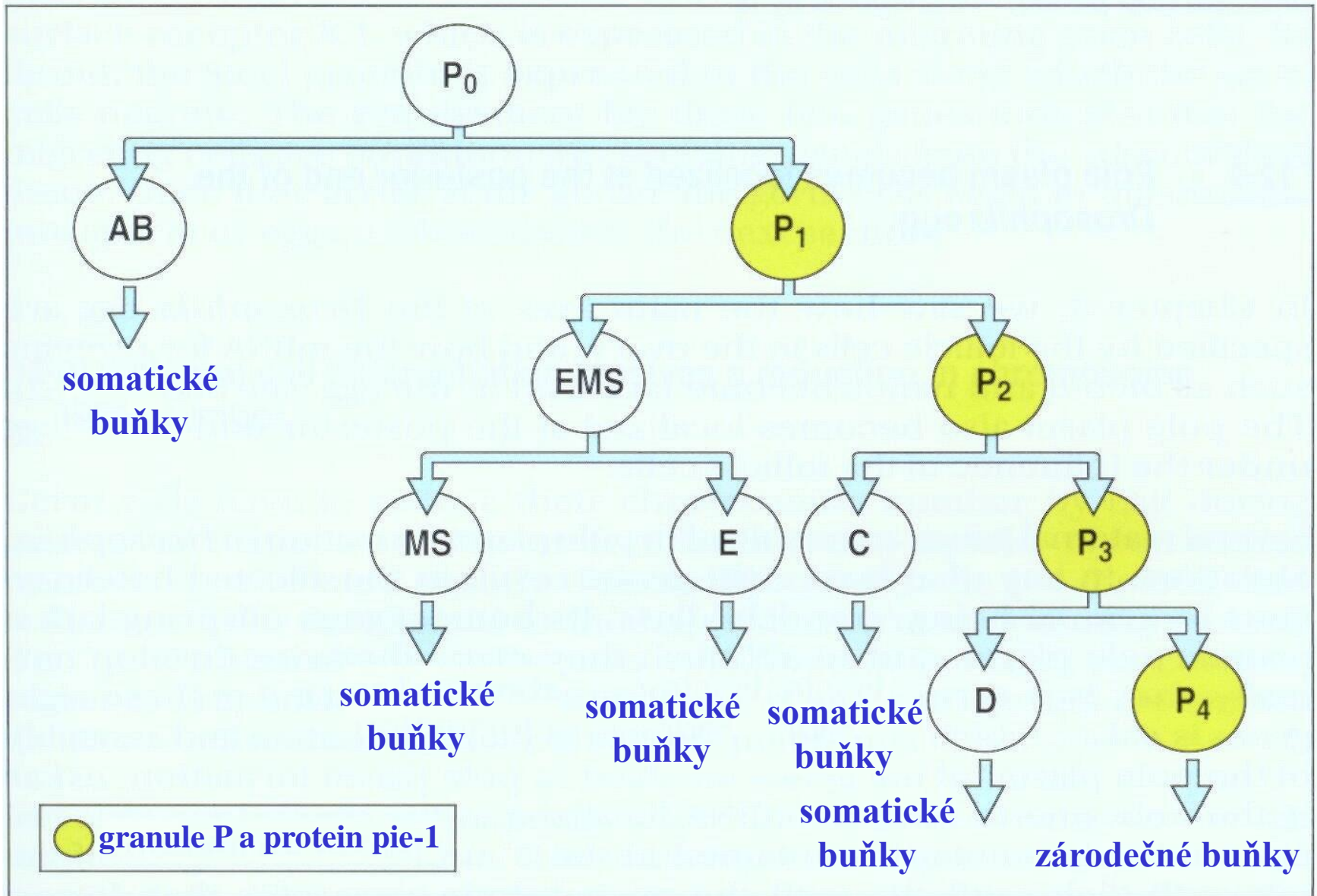
XO



Po fertilizaci oocytu *C-elegans* se granule P akumulují přednostně u posteriorního pólu, v dceřinných blastomerách výhradně v linii buněk P zárodečné dráhy



Po fertilizaci oocyty *C-elegans* se granule P akumulují v posterioru, v dceřinných blastomerách výhradně v linii buněk P zárodečné dráhy





# Determinace pohlavnosti u drosofily posttranskripční úpravou (sex-specifický sestřih)

**XX** → Double sex female

promotor genu

„založení“ *Sex-lethal*



promotor genu

„udržení“ *Sex-lethal*



časný protein  
Slx

pozdní  
protein  
Slx

funkční  
sestřih

RNA

samička ♀

**XY** → Double sex male



časný protein  
Slx nevzniká

nefunkční  
sestřih

RNA

pozdní protein Slx  
nevzniká

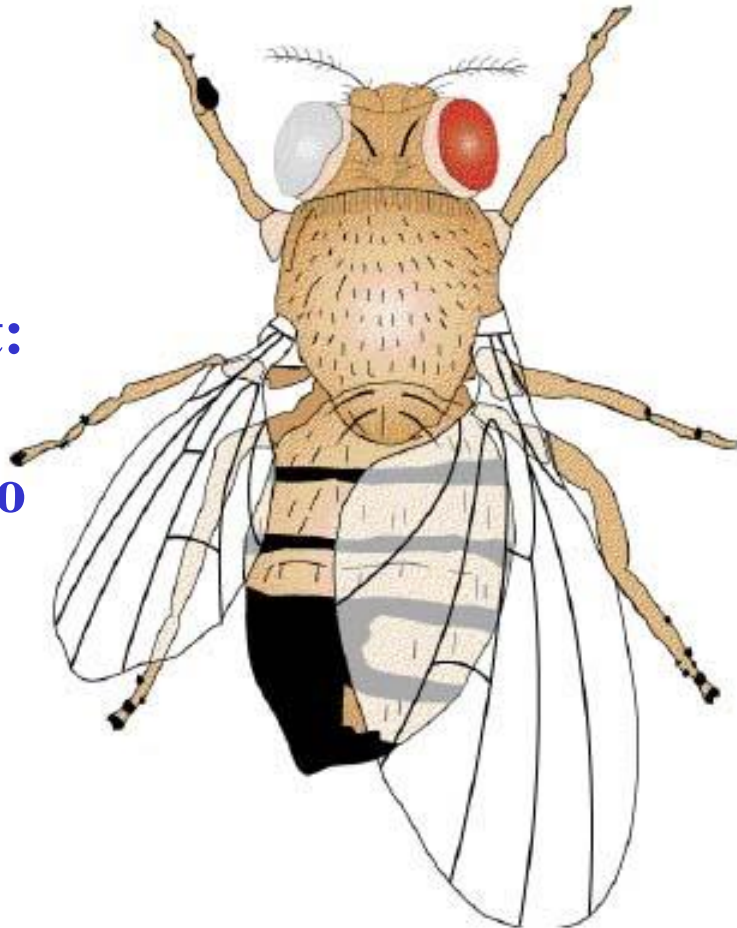
sameček ♂



# Drosophila nemá pohlavní hormony: bilaterální gyandromorfie

(ztráta jednoho chromosomu X-wt při prvním mitotickém dělení)

samčí **XO** část:  
bílé oko,  
miniaturní křídlo



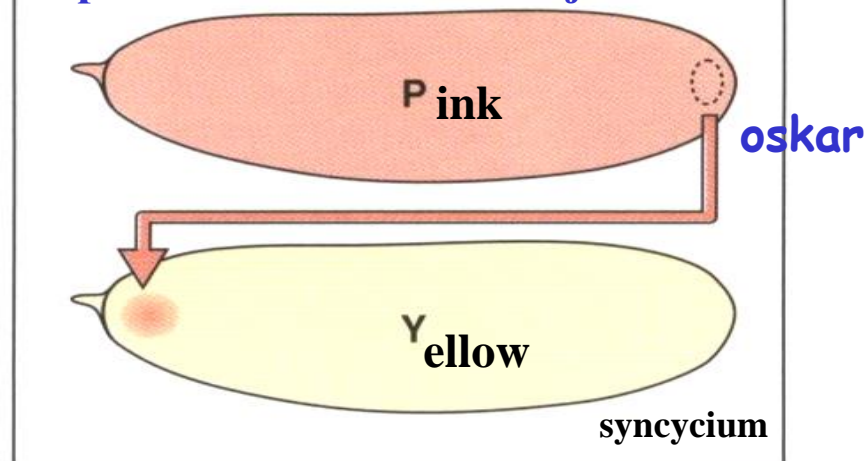
samičí **XX** část:  
heterozygotní  
pro oba markery

Transplantace pólové cytoplasmy může indukovat tvorbu zárodečné linie

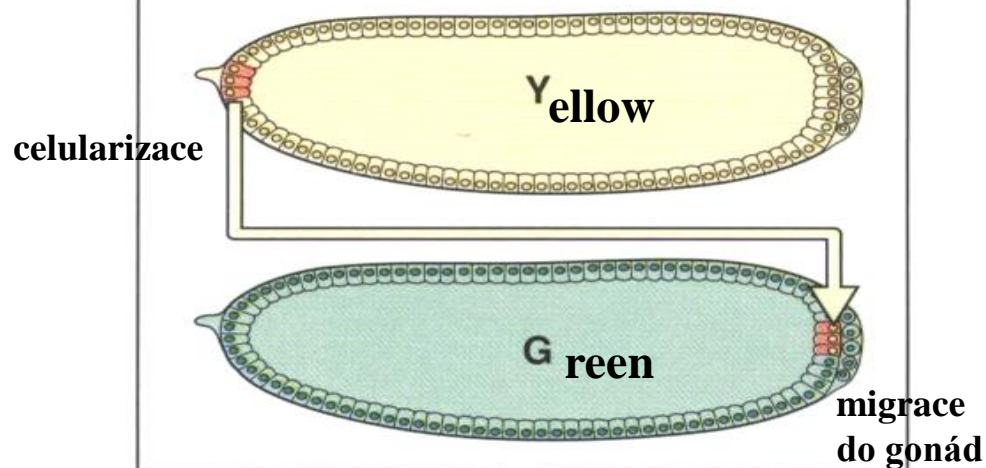
...  
primordiální zárodečné buňky jsou prvními odlišnými, na posteriorním konci

...  
u drosofily,  
hlístice (granule P)  
a žab

cytoplasma posterioru oplozeného vajíčka  
přenesena do anterioru jiného



anteriorní buňky (s pólovou plasmou)  
přeneseny do jiného posterioru



moucha G vytváří zárodečné buňky  
s genotypem G a Y

# Pohlavní funkce

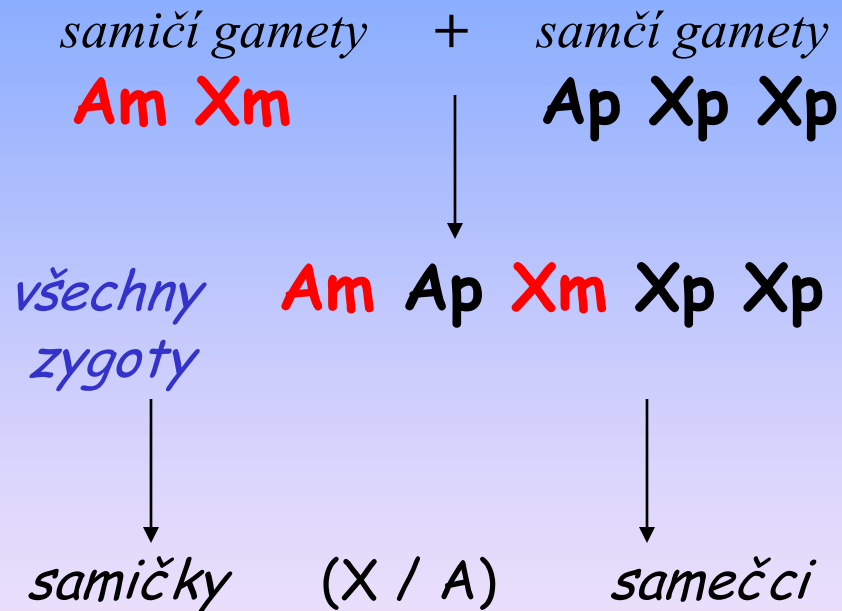
- Hermafrodité
  - běžné hlavně u rostlin
- Separátní individua (gonochoristé)
  - běžné u obratlovců
  - "dioecie" četná hlavně u tropických stromů
  - separátní květy (všechny možné kombinace)
  - když náklady nejsou velké a kompetice je silná, je favorizována separace



# EPIGENETICKÁ DETERMINACE POHLAVÍ

*Sciara coprophilia*, moucha smutnice XX/XO

(specifická eliminace paternálního X, Metz 1938)



*somatické buňky*

**Am Ap Xm Xp**

**Am Ap Xm**

*zárodečné buňky*

**Am Ap Xm Xp**

**Am Ap Xm Xp**

(zde nastane nondisjunkce  
X chromozomů!)

# PSEUDOARRHENOTOKIE

selektivní umlčování či eliminace paternálních chromosomů



červec citroníkový *Planococcus citri*, Homoptera  
fakultativní heterochromatinizace paternálních chromosomů ( Uzi Nur 1990, Rochester )

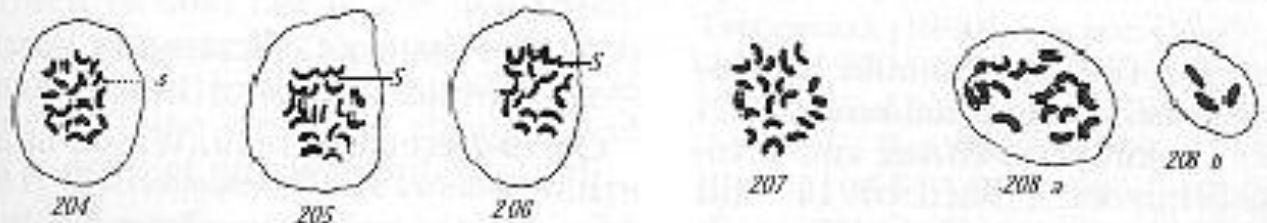


Nettie Maria Stevens  
(1861-1912)

*Tenebrio molitor*  
( F = AAXX, M = AAXY )  
potemník moučný, *Coleoptera*

*Studies in spermatogenesis, with  
especial reference to the accessory  
chromosome...*

OBJEV POHLAVNÍCH  
CHROMOSOMŮ ( 1905 )



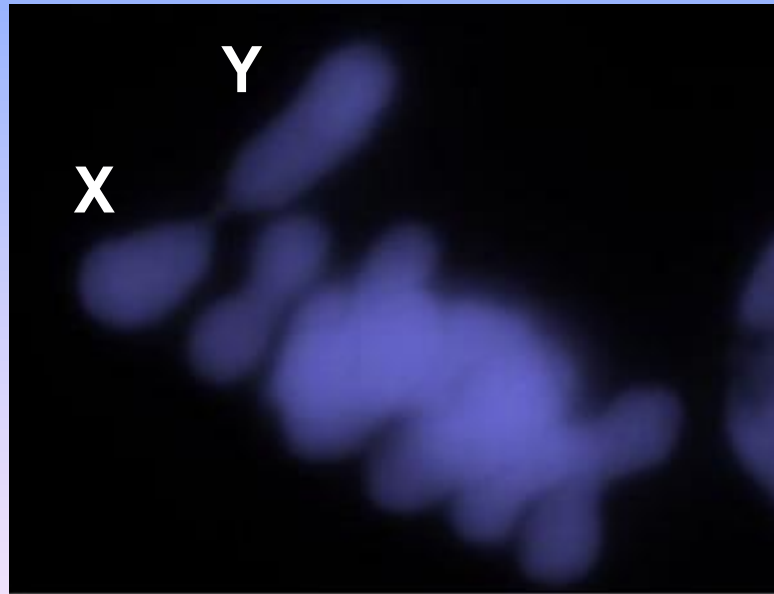


# Co to jsou pohlavní chromosomy ?

- ... nesou vždy sex determinující geny, i když dráhy vedoucí k dioecii jsou odlišné
- ... morfologicky odlišné chromosomy mezi pohlavími
- ... dva základní systémy – XX/XY (homogametní samičky) a ZZ/ZW (homogametní samečci)
- ... rekombinace částečně potlačena v meióze u heterogametního pohlaví
- ... zjištěny u většiny živočišných a některých rostlinných druhů s genetickou determinací pohlaví

# Evoluční původ sex chromosomů

Vyvinuly se z normálního páru autosomů ...



**... evoluce provázena progresivní redukcí rekombinace mezi X a Y chromosomem.**

# Stádia evoluce chromosomu Y

výskyt mutace genu samčí fertility/promotion



akumulace male-prospěšných a female-nevýhodných genů v těsné vazbě na Y



částečná ztráta rekombinace mezi X a Y



postupná degenerace Y-chromosomových sekvencí



alespoň jeden X je nezbytný k somatickému vývoji



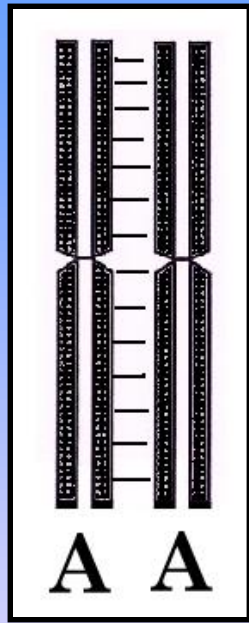
evoluce kompenzace dávky genů vázaných na chromosom X



ztráta chromosomu Y, může jej nahradit jiný chromosom

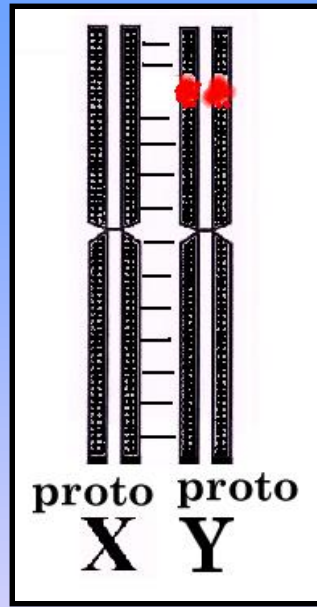


# Evolve pohlavních chromosomů



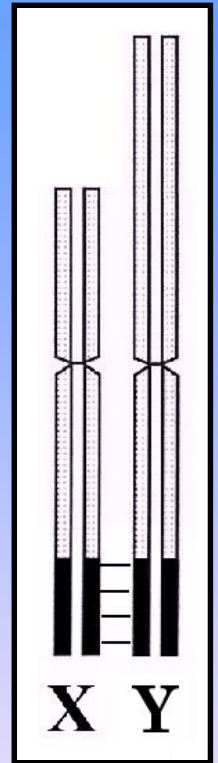
sex  
determinující  
alela

→



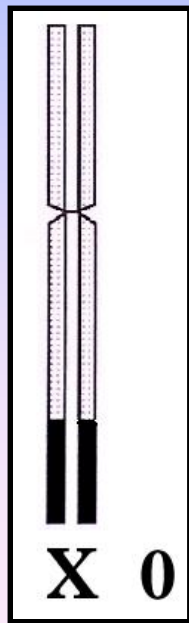
potlačení  
rekombinace

→



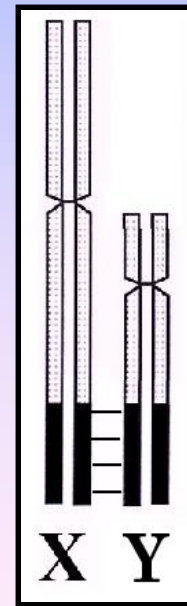
*Silene  
latifolia*

←  
degenerace  
y

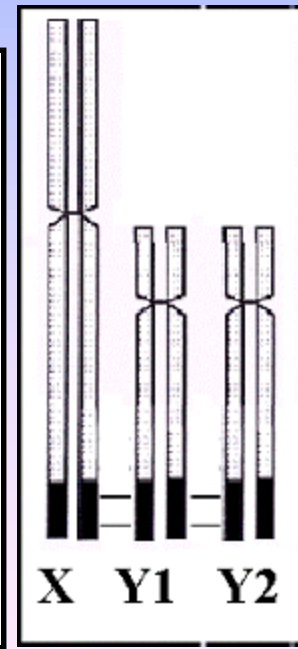


*hmyz*

←  
ztráta Y



*savci Rumex*



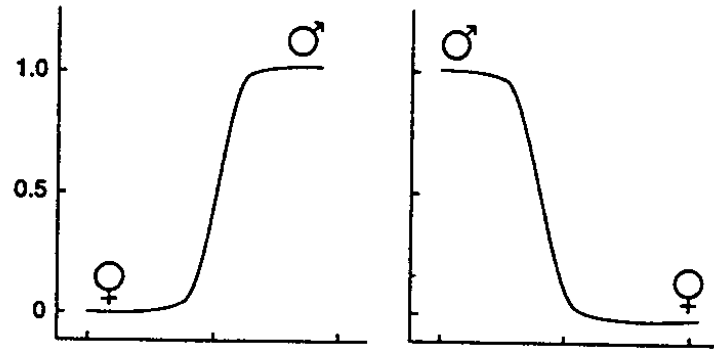
# U většiny druhů (vejcorodých) plazů je pohlaví určováno teplotou: **Temperature Sex Determination**



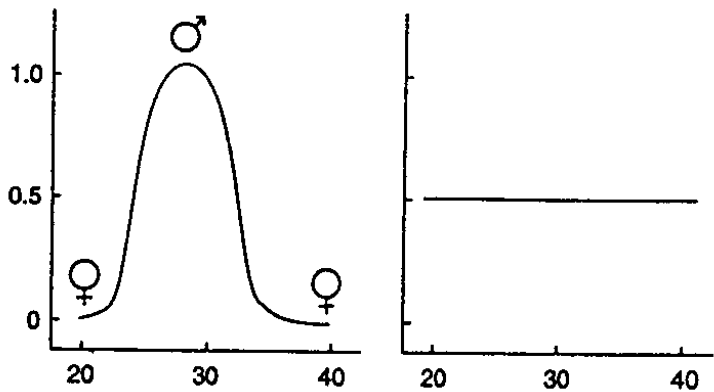
aligátoři a ještěrky



krokodýli



želvy



hadi (GSD)



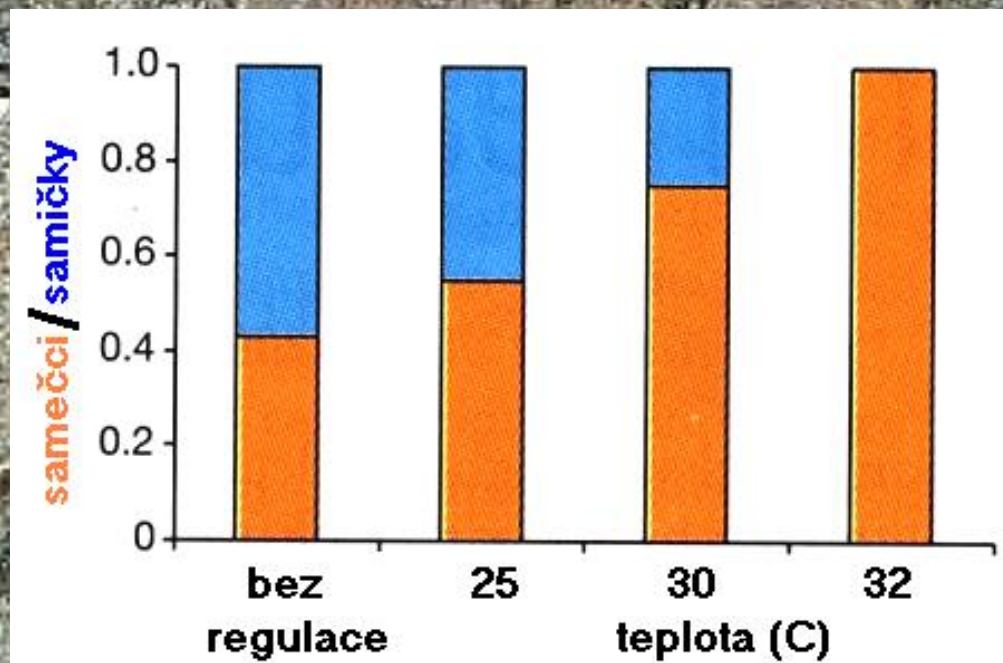
teplota ( °C )



# Viviparní samičky scinka *Eulamprus tympanum* regulují pohlavnost svých embryí: TSD



(K. A. Robert & M. B. Thompson 2001)





*Bonellia viridis*

environmentální determinace pohlaví





# Pohlavní determinace u ptáků

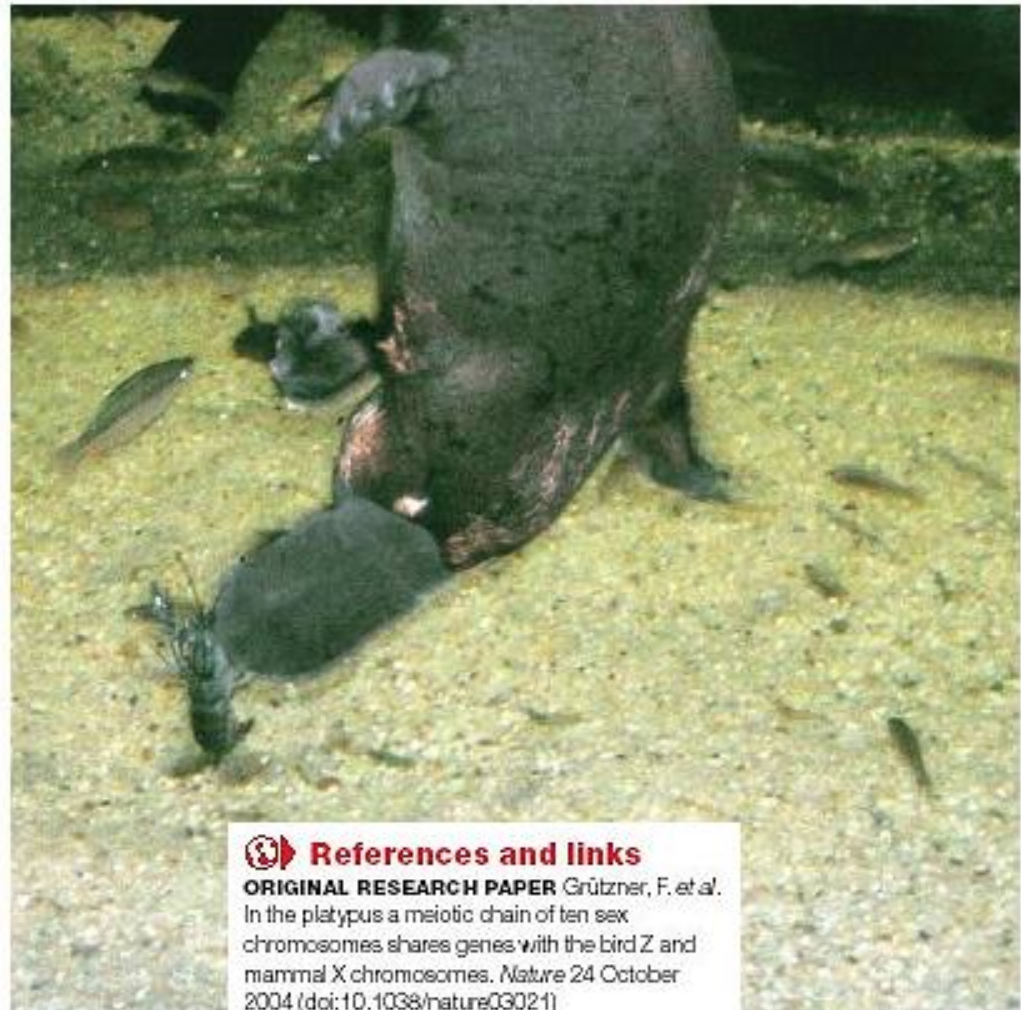
- ♣ homogametní pohlaví - samčí ZZ, heterogametní - samičí ZW
- ♣ samičí chromozóm W obvykle rozsáhle degenerován
- ♣ někteří ptáci pohlavní chromosomy vůbec nemají (ratites) ?
- ♣ je pohlaví determinováno dominantním W (→ savci) nebo poměrem Z/A (→ drosofila) ?
- ♣ existuje kompenzace dávky Z-vázaných genů ?
- ♣ některé Z-geny kompenzovány nejsou, exprese jiných Z-genů je pohlavně ekvalizována
- ♣ na chromosomu Z lokalizována oblast tandemových repeticí (>200 kopií 2,2-kb sekvence) s vysokým stupněm metylace CpG na obou chromozómech v embryích samečků (MHM=*male hypermethylated region*)
- ♣ hypotetický W-faktor brání metylaci MHM-oblasti u samiček za vzniku abundantní netranslatované RNA
- ♣ jde o mechanismus kompenzace dávky genů (→ Xist u savců) nebo determinace pohlavnosti ?

# Platypus: the stranger sexxxxx

Ptakopysk má diploidní počet chromozomů 52,  
z toho 11 párů autozomů

Samička:  $2n = 42 + 10X$

Sameček:  $2n = 42 + 5X + 5Y$



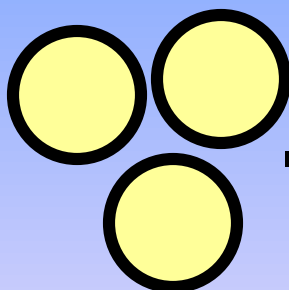
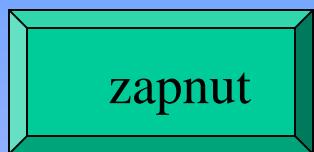
## References and links

**ORIGINAL RESEARCH PAPER** Grützner, F. *et al.*  
In the platypus a meiotic chain of ten sex  
chromosomes shares genes with the bird Z  
and mammal X chromosomes. *Nature* 24 October  
2004 (doi:10.1038/nature03021)

# Pohlaví u savců na úrovni embrya

- samečci a samičky jsou po dobu prvních 6 týdnů identičtí
- embryonálními gonádami jsou ovotestes
- chromosom Y indukuje vývin ovotestes v testes a tvorbu samčích hormonů
- absence chromozomu Y ovlivní vývin ovotestes ve vaječníky a tvorbu samičích hormonů

SRY gen



výstelkové buňky testes

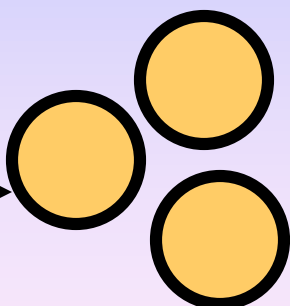
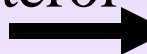


anti-Mullerův hormon



inhibuje Mullerův vývod (zabránění tvorby samičích orgánů)

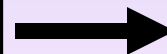
cholesterol



intersticiální buňky testes



testosteron



stimuluje Wolffův vývod ke tvorbě samčích orgánů



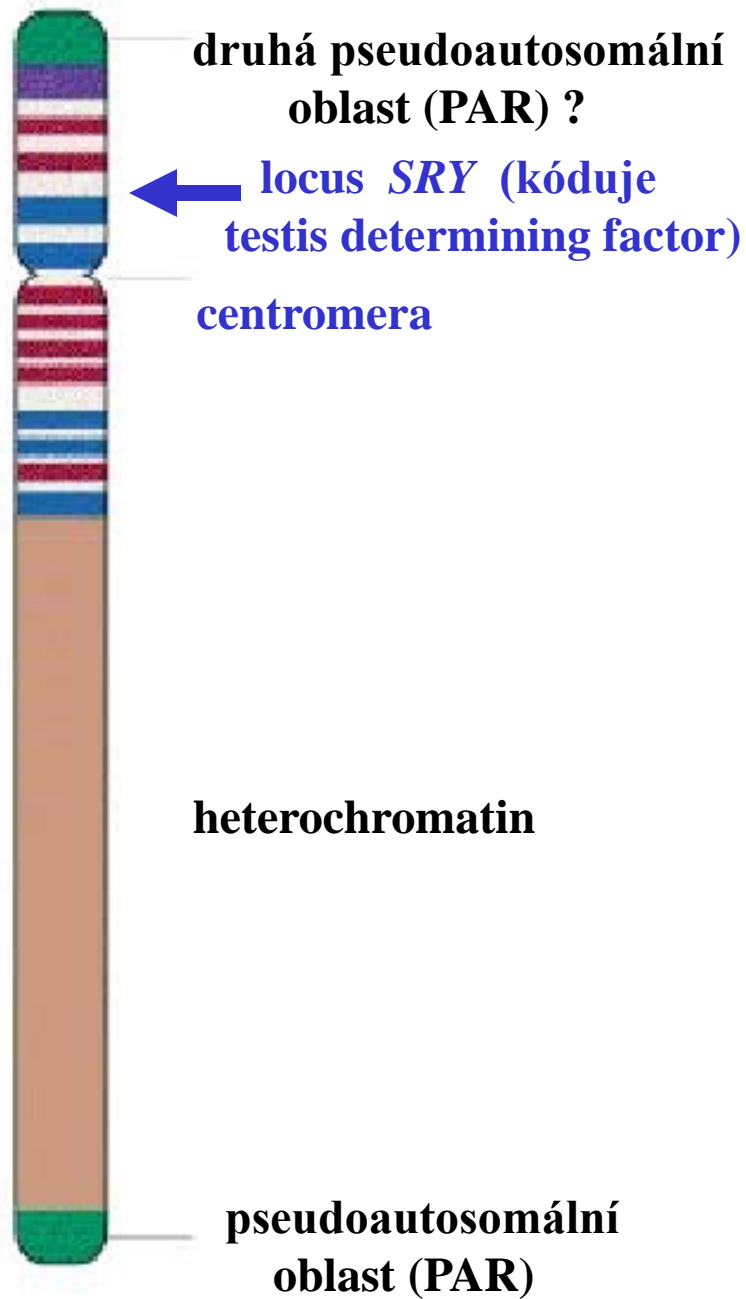
# Chromosom Y člověka

-  **X-homologní geny**
-  **testis-specifické geny**

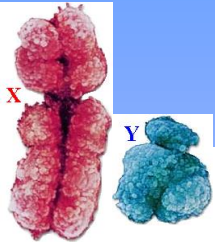
nerekombinující  
oblast Y

**p**

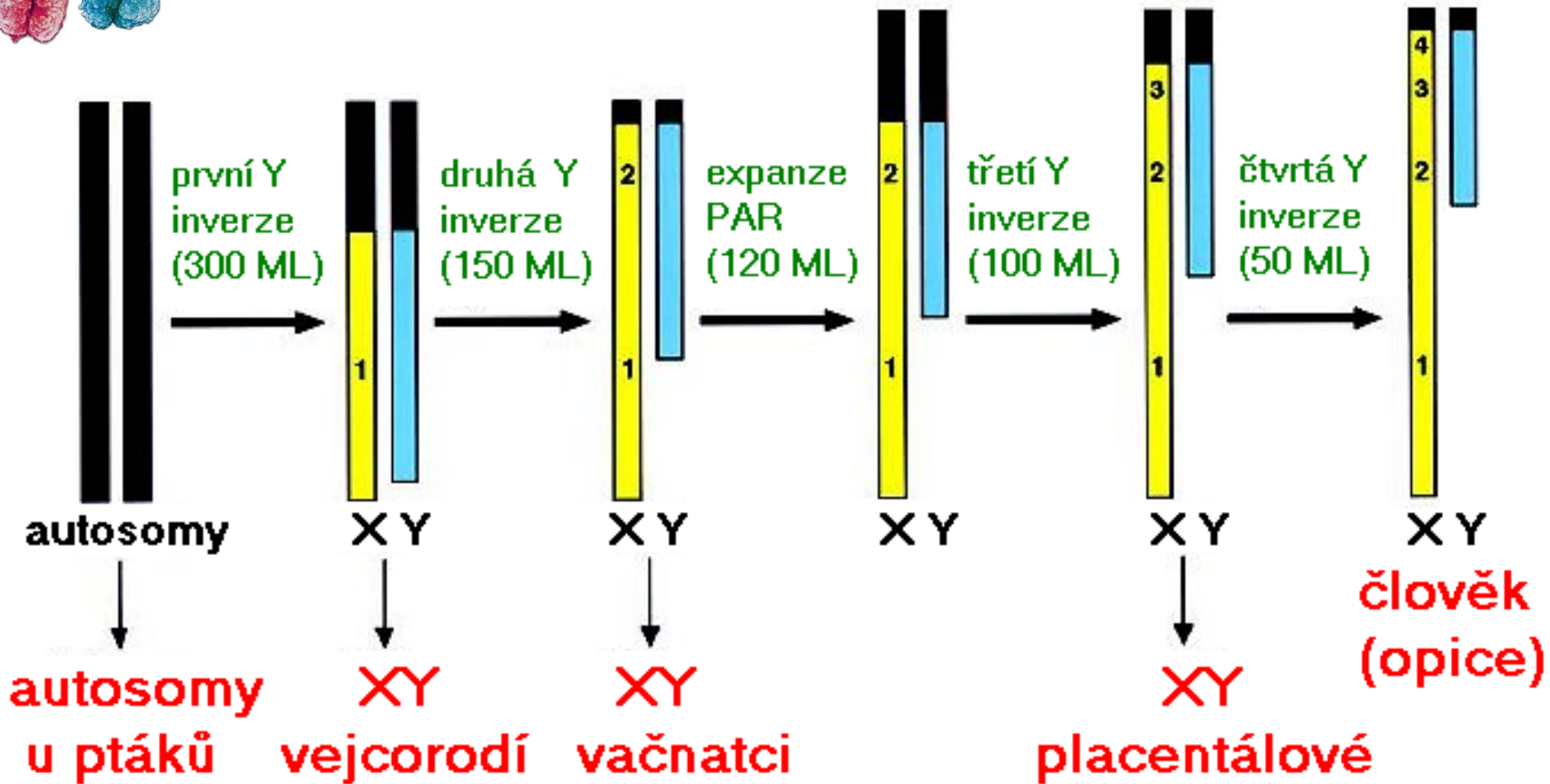
**q**



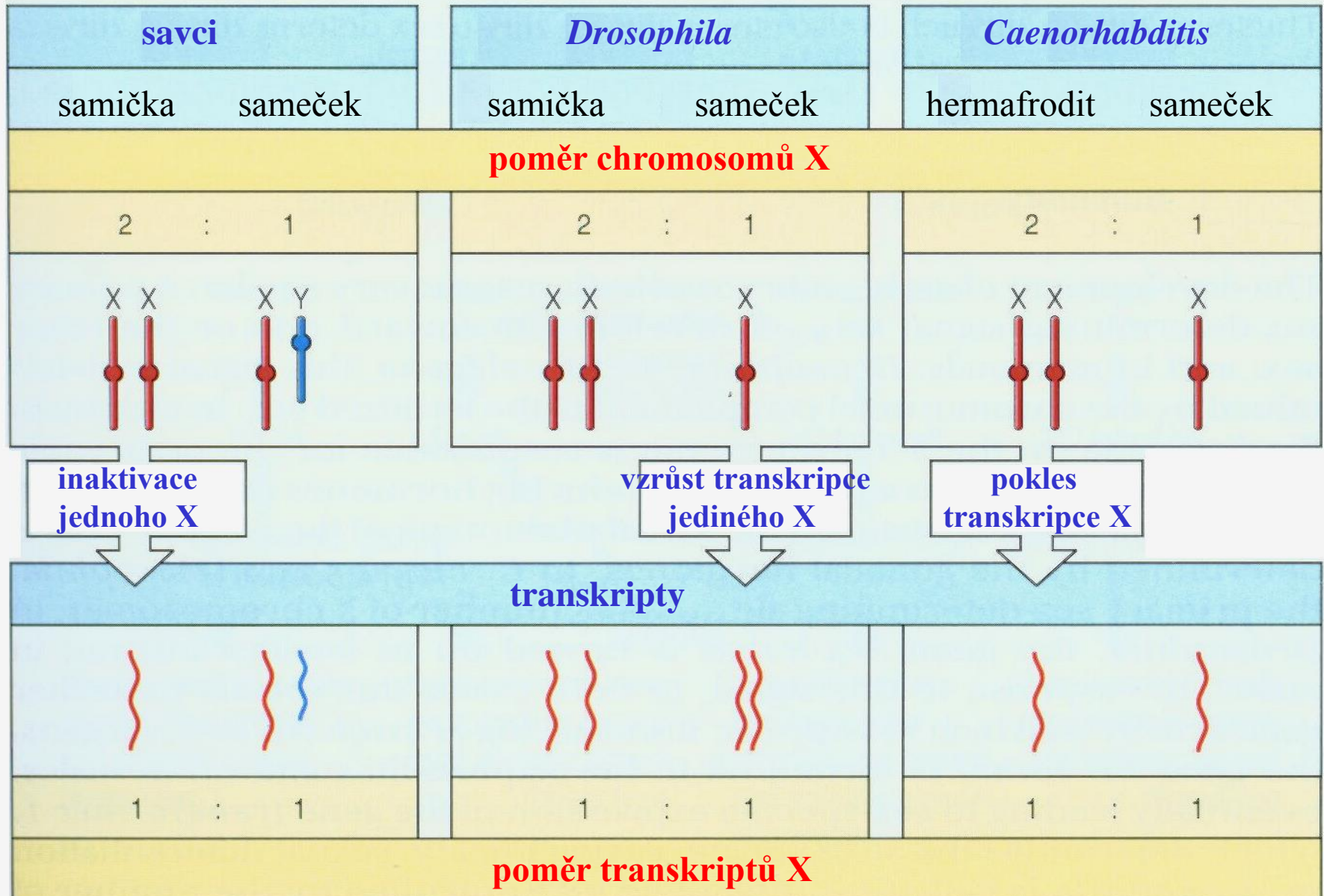
# EVOLUCE POHLAVNÍCH CHROMOSOMŮ



David Page (MIT),  
Bruce Lahn (Chicago) 1997



# Odlišné mechanismy kompenzace dávky genů nesených chromosomem X



# KOMPENZACE DÁVKY GENŮ



*Drosophila*

XX

X<sub>Y</sub>

savci

XX nebo XX

XY

*C-elegans*

XX (hermafrodit)

XO

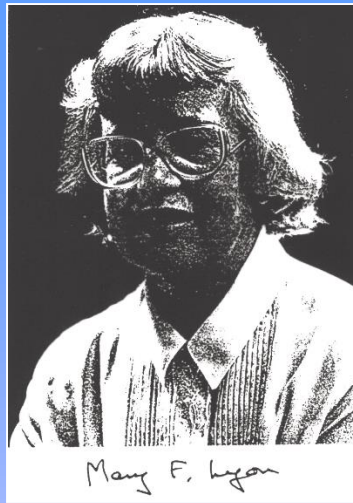




Murray Barr  
( 1949 )



Susumo Ohno  
( 1960 )



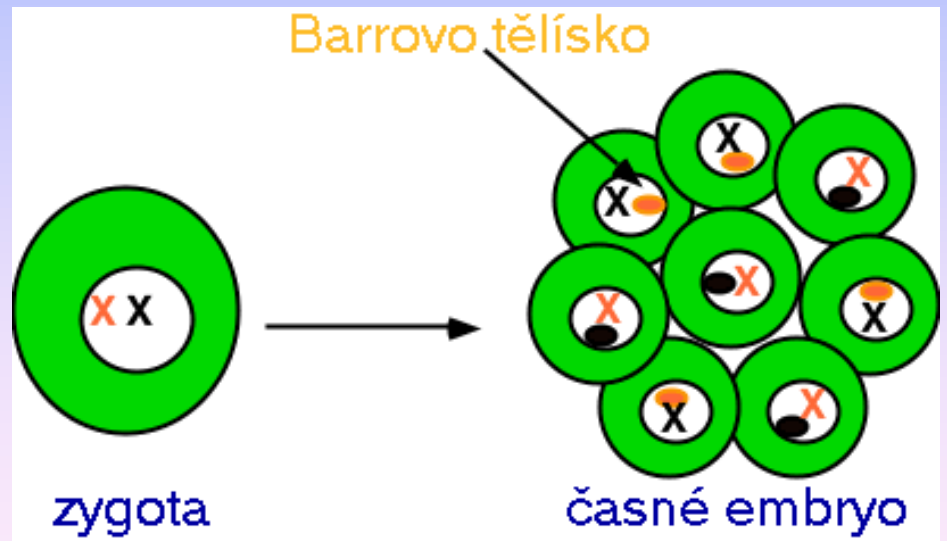
Mary Lyon  
( 1961 )



X-vázaný gen barvy srsti



Barrovo tělísko



zygota

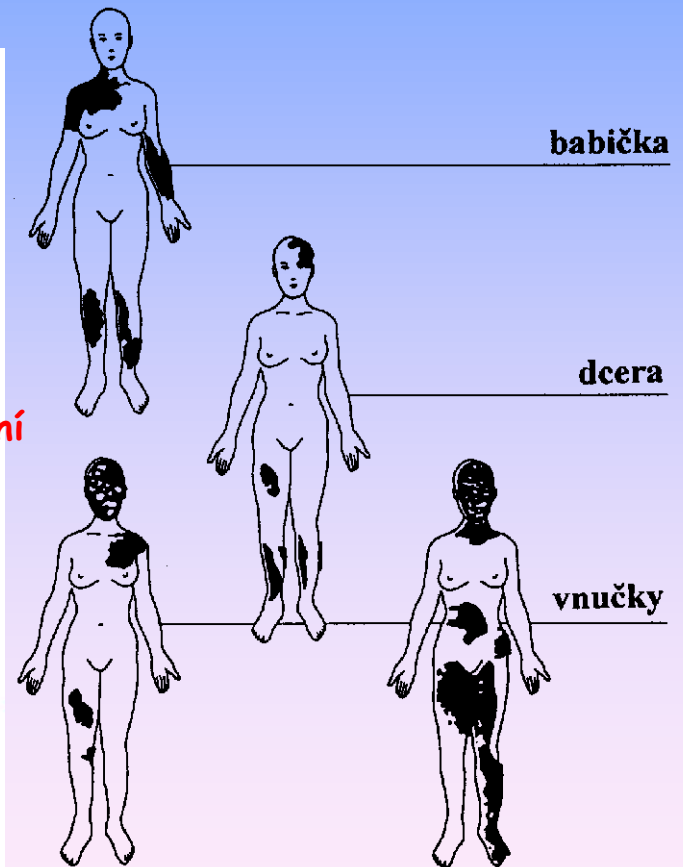
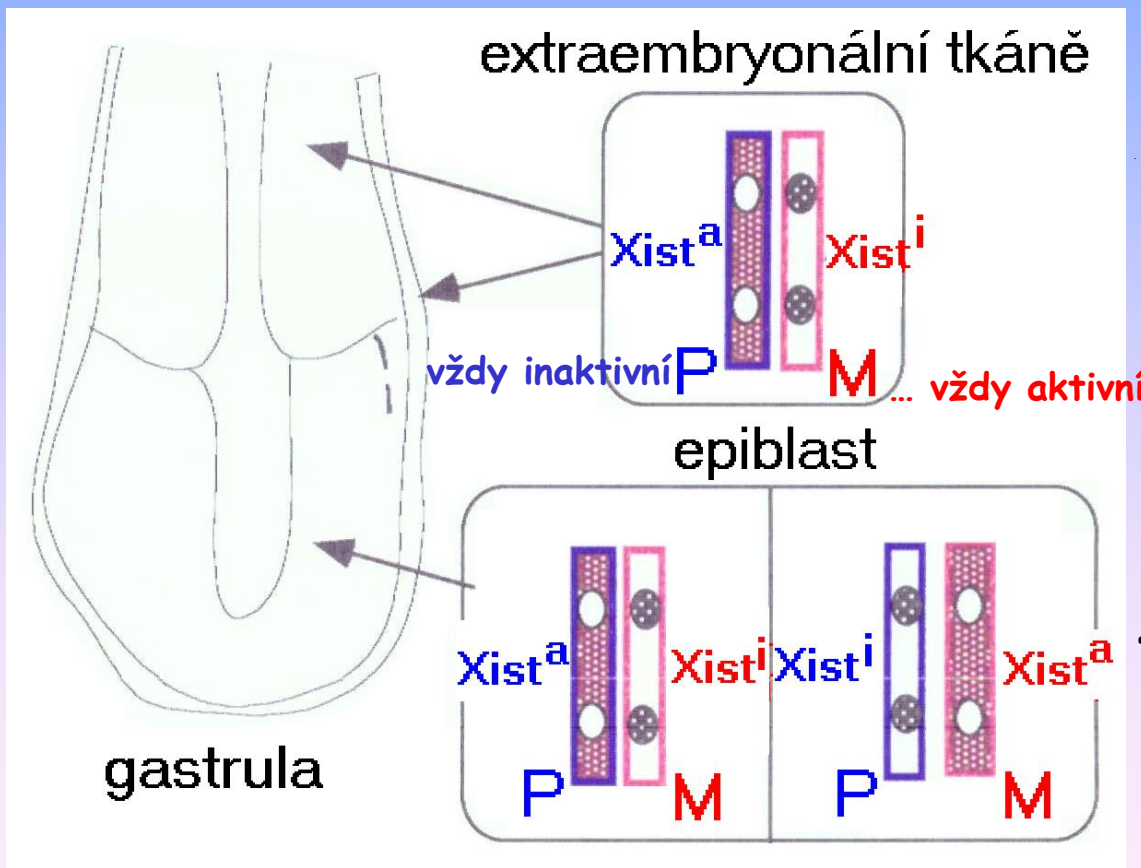
časné embryo

**(Ne) náhodná fakultativní heterochromatinizace jednoho X**

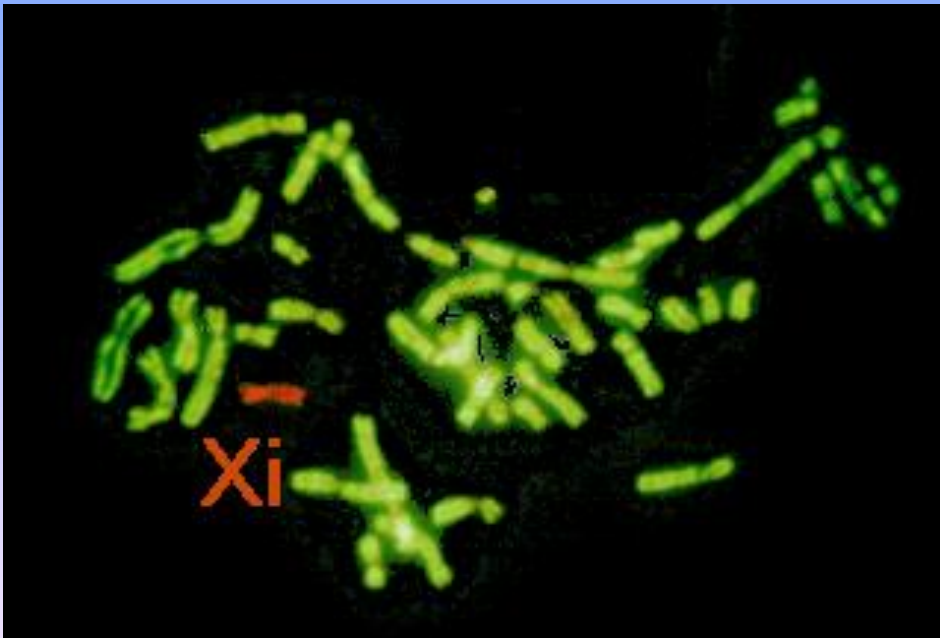
# Kompenzace dávky X-vázaných genů :

*imprinting a epigenetické umlčování*

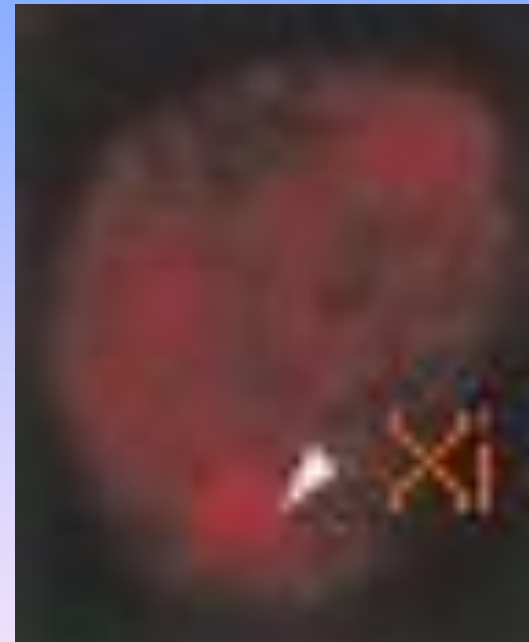
( úloha Xist-RNA, metylace DNA, acetylace a metylace histonů, chromo-proteiny Polycomb )



Inaktivovaný chromosom X je histon H3 a H4  
**hypoacetylován** a **hypermetylován**

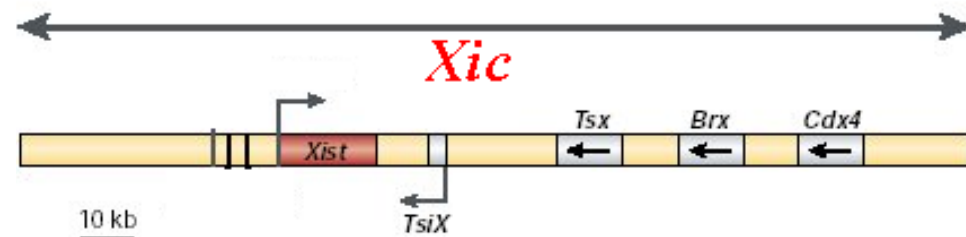
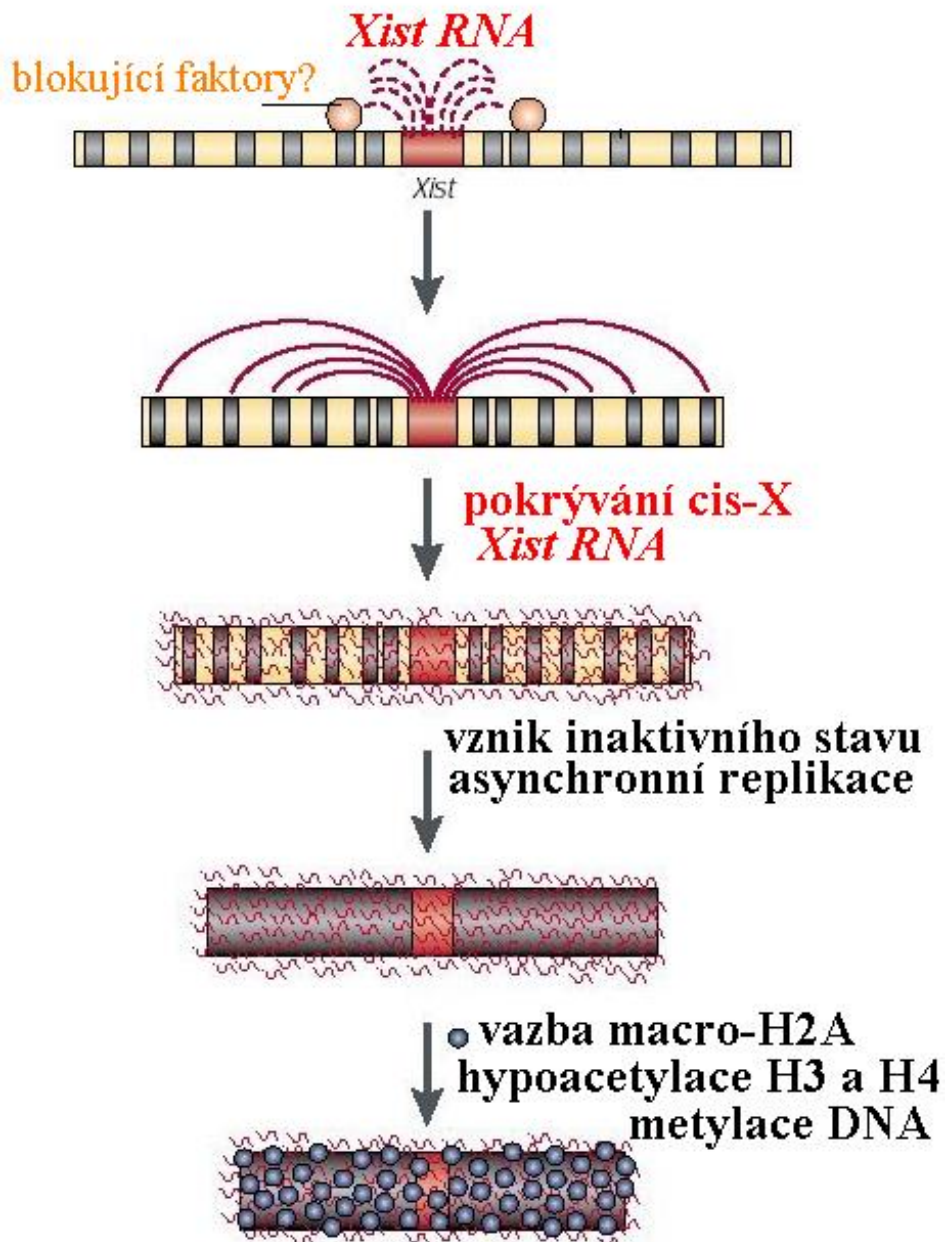


Bryan Turner  
( Birmingham 1993 )



David Allis  
( Rochester 2001 )

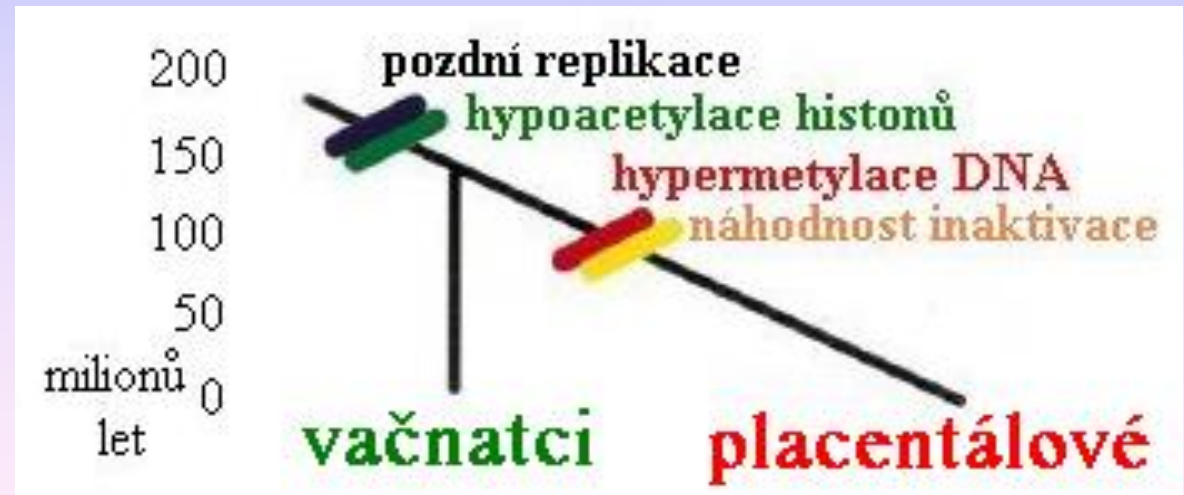
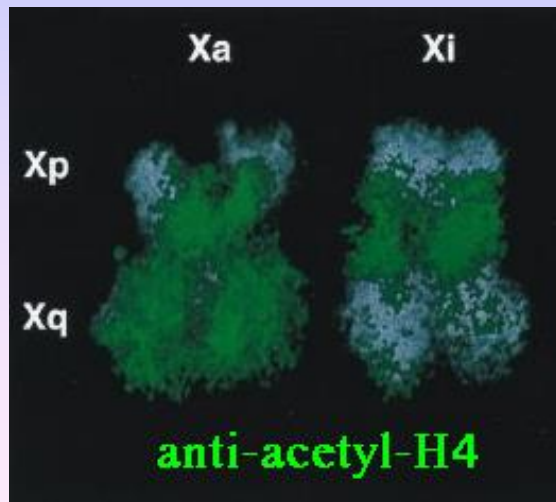
# MECHANISMUS INAKTIVACE SAVČÍHO CHROMOSOMU X





# EVOLUCE MECHANISMŮ KOMPENZACE DÁVKY X - VÁZANÝCH GENŮ

(Matthew Wakefield, Melbourne 1997)



# CHROMOSOM X

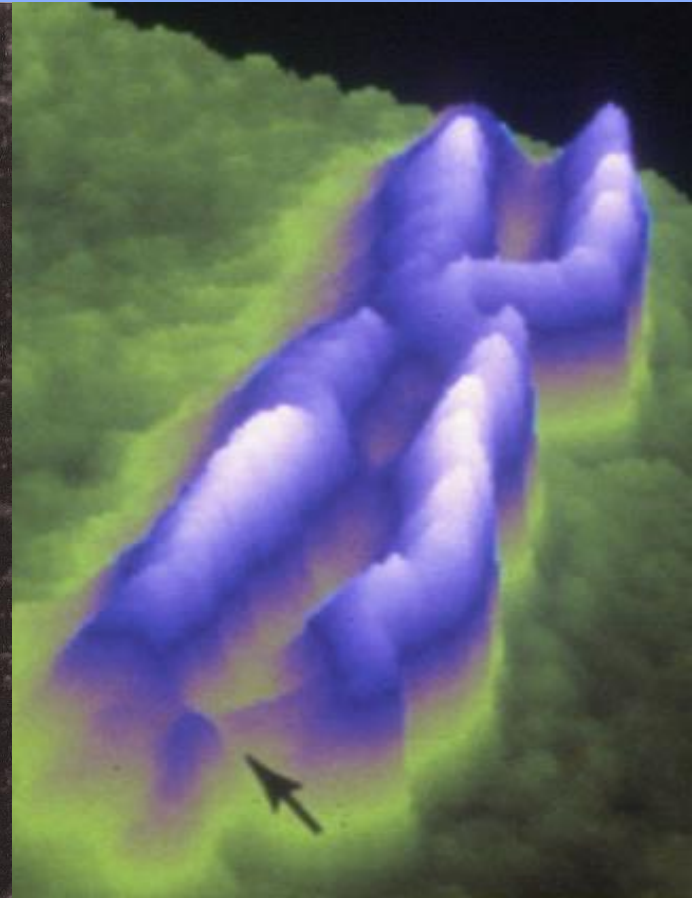
může být inaktivní, fragilní, chytrý i sexy  
a především je „epigenetický“



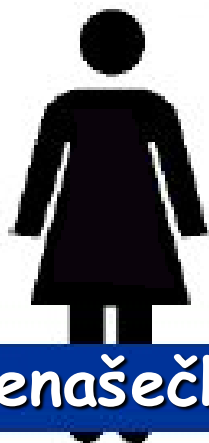
p

q

q27.3

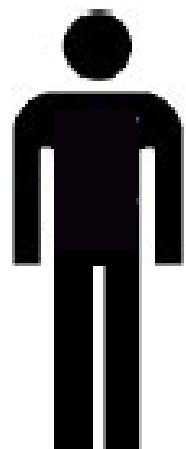


# Dědičnost mutací vázaná na chromosom X



přenašečka

X X



X

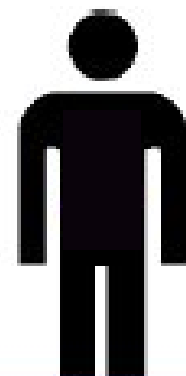
Y

XX	XX
XY	XY

polovina synů je postižených,  
polovina dcer jsou přenašečky



X



X

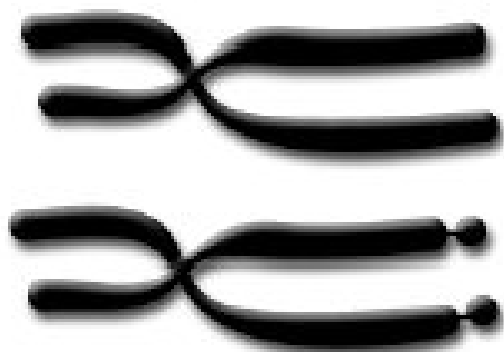
Y

XX
XY

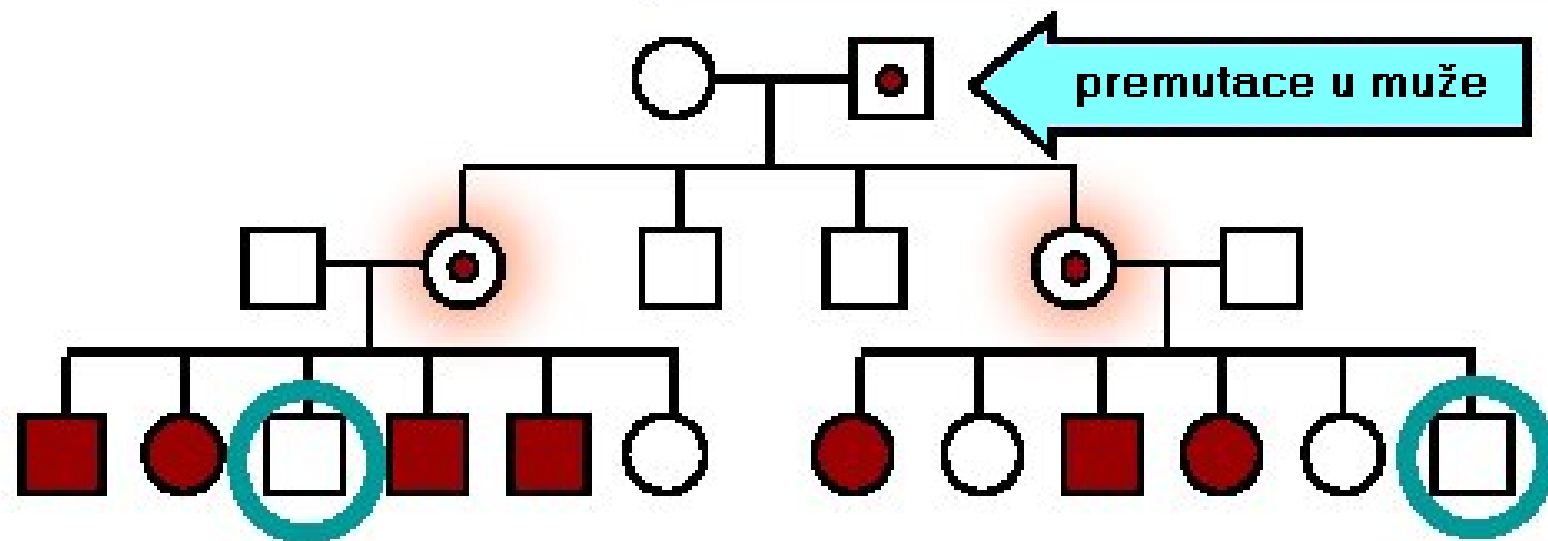
postižený

všichni synové jsou normální,  
všechny dcery jsou přenašečky

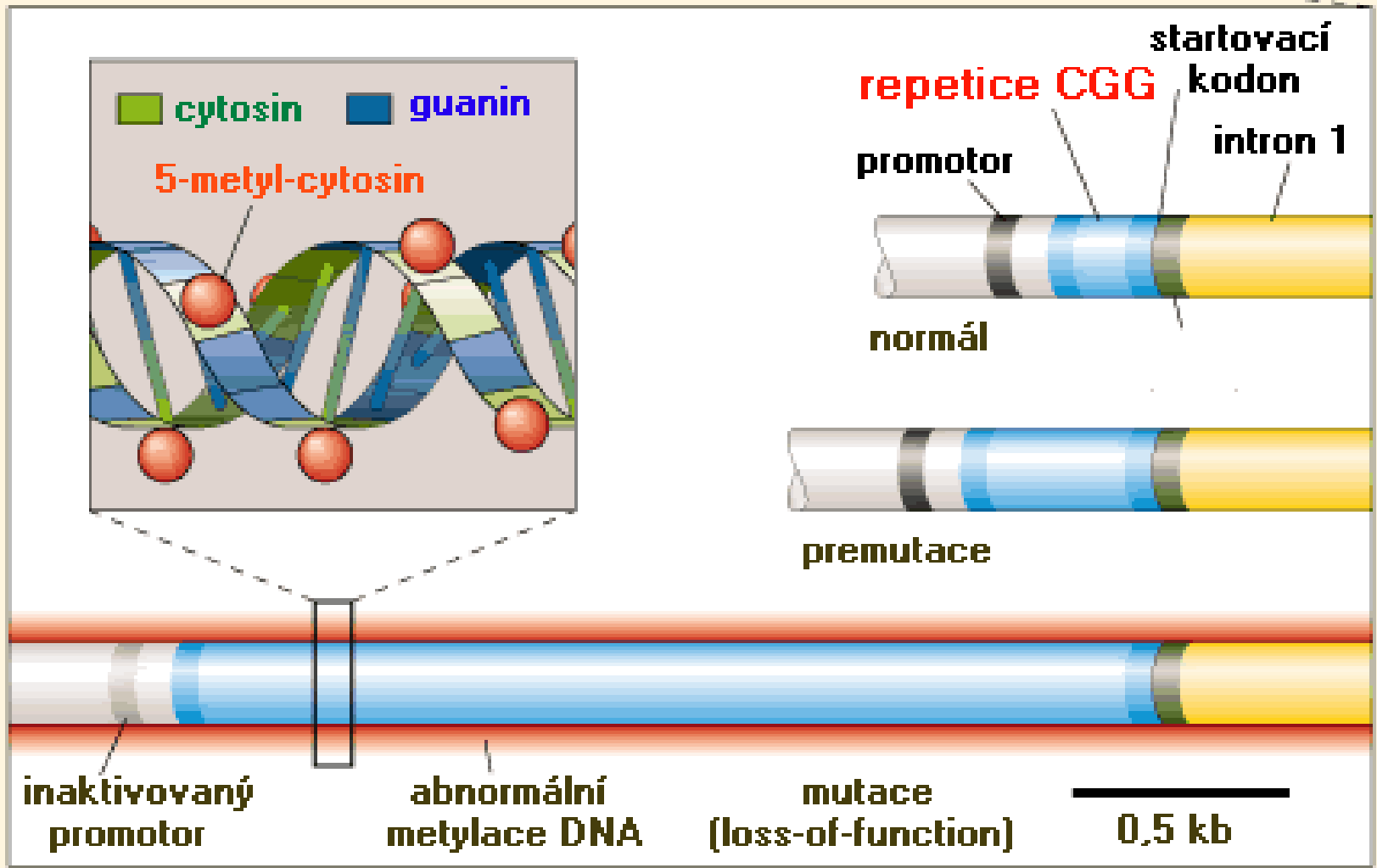
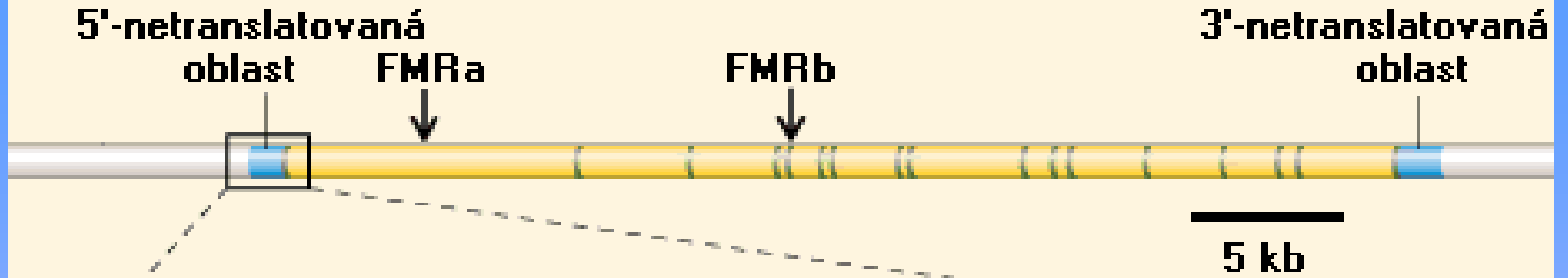
# SYNDROM FRAGILNÍHO X



dominantní, X-vázaný  
vážná mentální retardace  
neúplná penetrance  
variabilní expresivita  
vážnější a častější u mužů





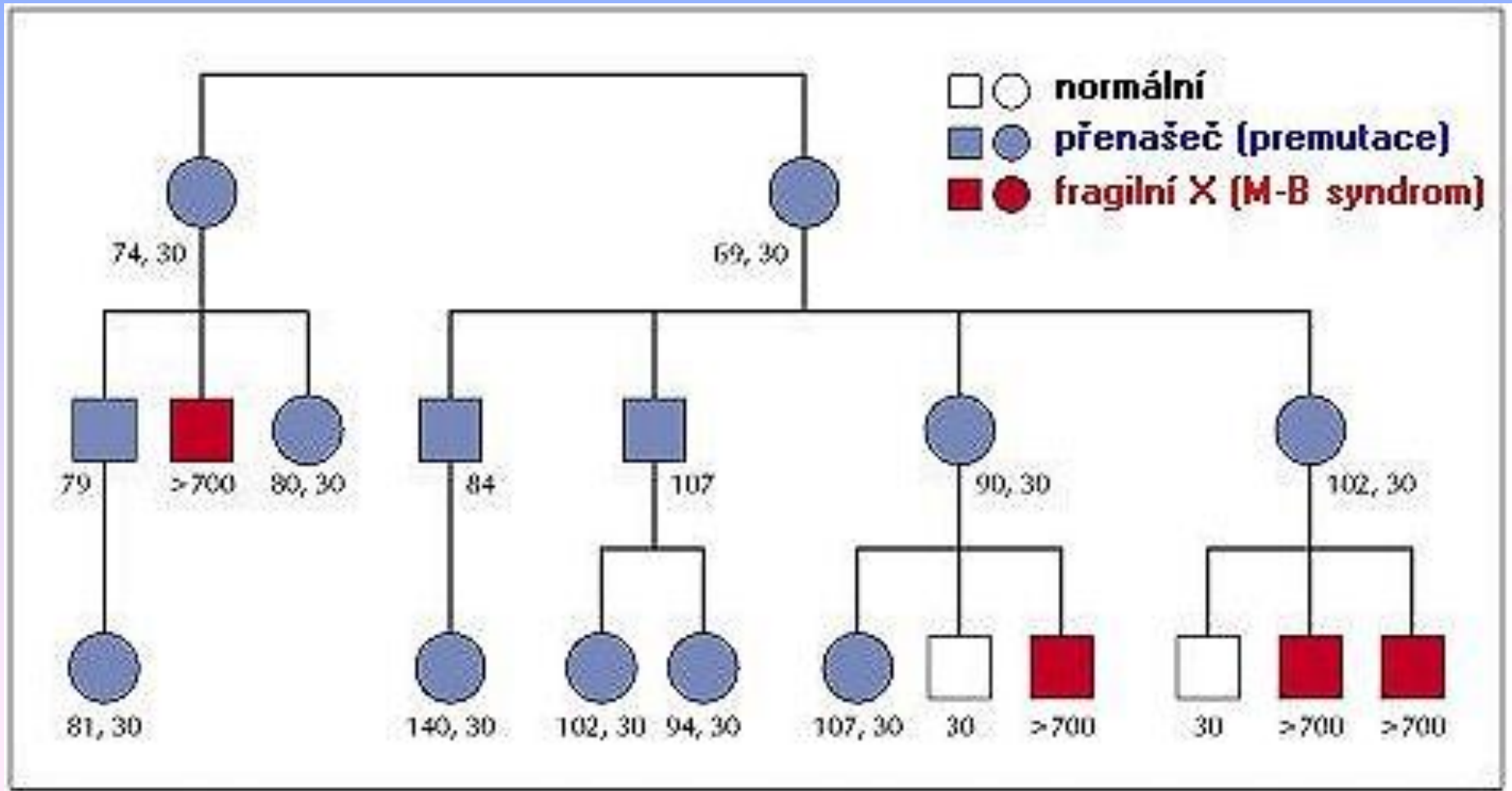


⇒ normální X má 6-60 tripletů CGG v 5'UTR genu FMR1 :

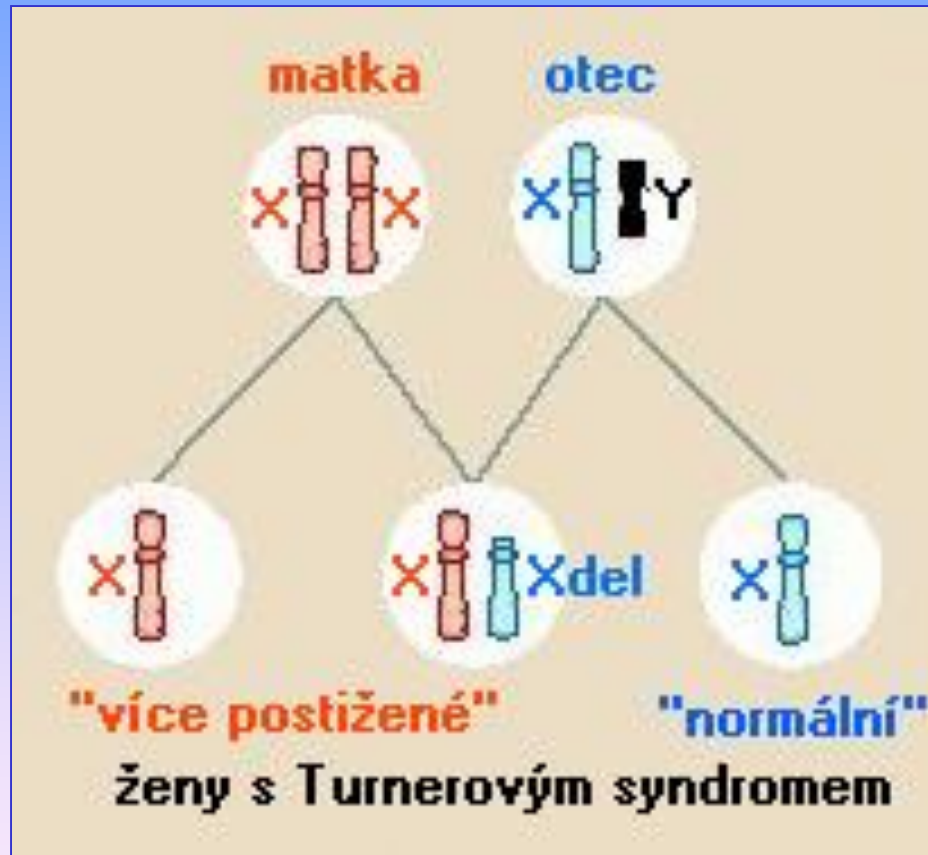
$(CGG)_{10}AGG(CGG)_9AGG(CGG)_9$

⇒ muži-přenašeči nesou premutaci mezi 60 and 200 kopiemi

⇒ M-B pacienti mají přes 200 kopií repetice



# X-GEN ODPOVĚDNÝ ZA SOCIÁLNÍ CHOVÁNÍ JE MATERNÁLNĚ UMLČOVÁN



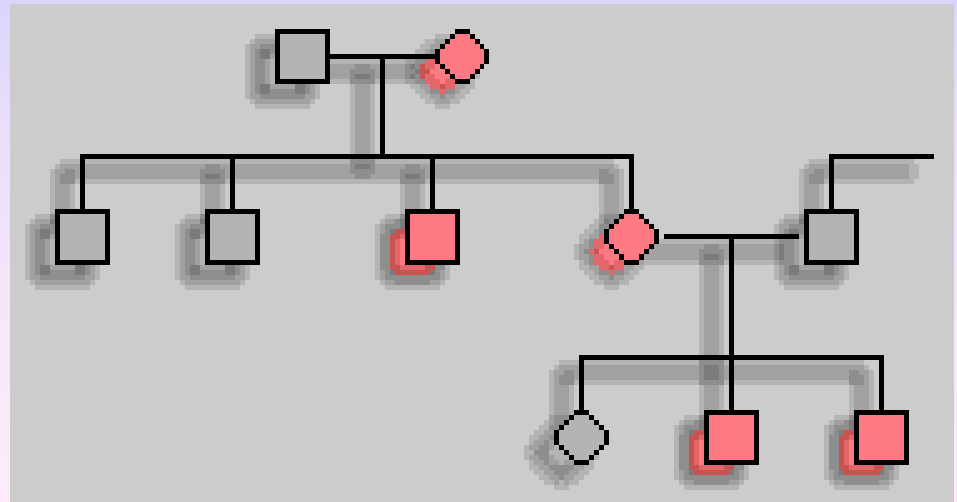
David Skuse  
( London 1997 )



Turnerův syndrom  
(  $X_m0$ ,  $X_p0$ ,  $XX_{del}$  )

# ZVLÁŠTNÍ ROLE X VE VÝVOJI SAVCŮ

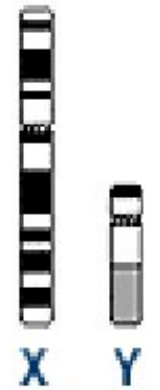
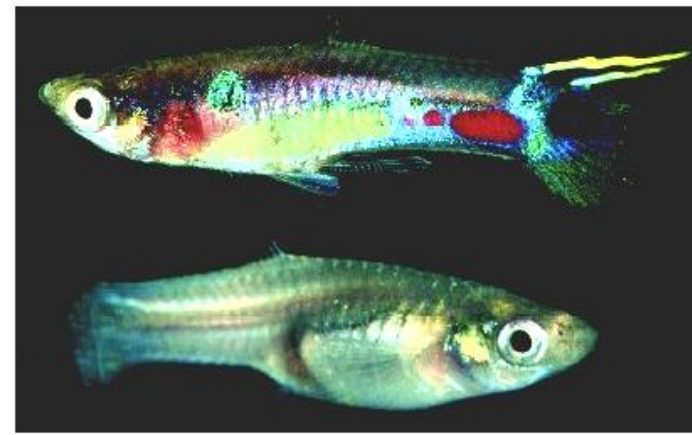
- ⇒ přítomen v jedné či dvou kopiích (XY, XX),  
parciální mozaiková inaktivace u samic
- ⇒ musí být imprintován, neboť je extraembryonálně inaktivován  
výhradně paternálně
- ⇒ dědí se křížem : dcery získávají X od obou rodičů,  
zatímco synové výhradně od matky
- ⇒ homologie X/Y malá, Y nese jen několik funkčních „X“ genů
- ⇒ evoluce X : nese výrazně více genů ovlivňujících inteligenci,  
sociální chování a reprodukční schopnosti
- ⇒ u mužů vyšší výskyt  
poruch psychiky  
a sociálního chování :  
příčinou je  
„hemizygotní X“ či  
„maternálně imprintovaný X“



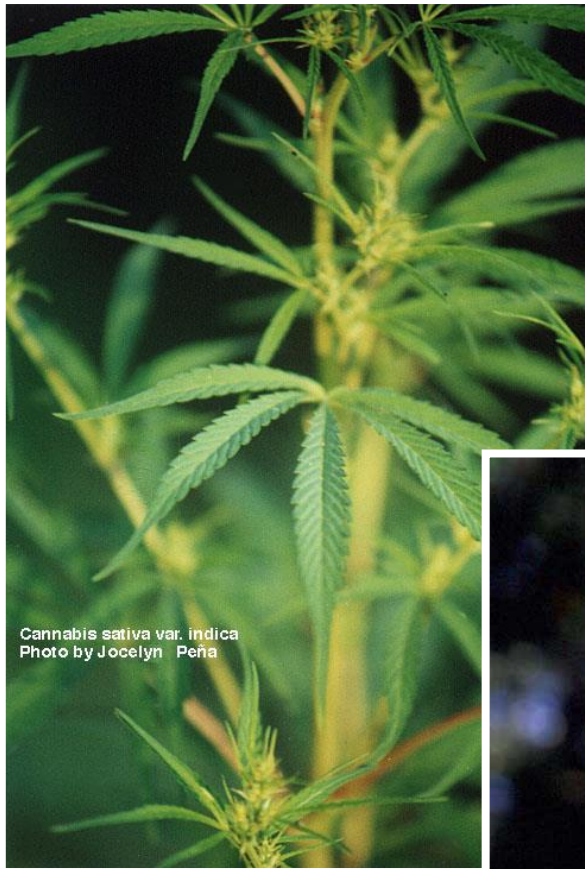


# ZKÁZA CHROMOSOMU Y

- ⇒ holandrická dědičnost: otec → syn
- ⇒ haploidní (geny dominantní)
- ⇒ 33 znaků vázaných na Y, dosud 7 genů zmapovaných
- ⇒ SRY translokace/mutace vedou k sex-reverzi či intersexům
- ⇒ SRY není klíčovým genem: je „mladší“ než Y, u některých hlodavců zmizel
- ⇒ další Y-testis-determining faktory (funkční koherence)
- ⇒ jen několik house-keeping genů, vesměs analogy X-chromosom vázaných genů
- ⇒ Y je po ztrátě rekombinace s X evolučně-geneticky ruinován asi 300 milionů let (teorie čtyř inverzí)
- ⇒ finálním krokem evoluce bude zřejmě jeho zánik (5-10 MY) a translokace SRY na autosom (či zkáza *Homo sapiens*)



# Rostliny nejsou vždy bisexuální

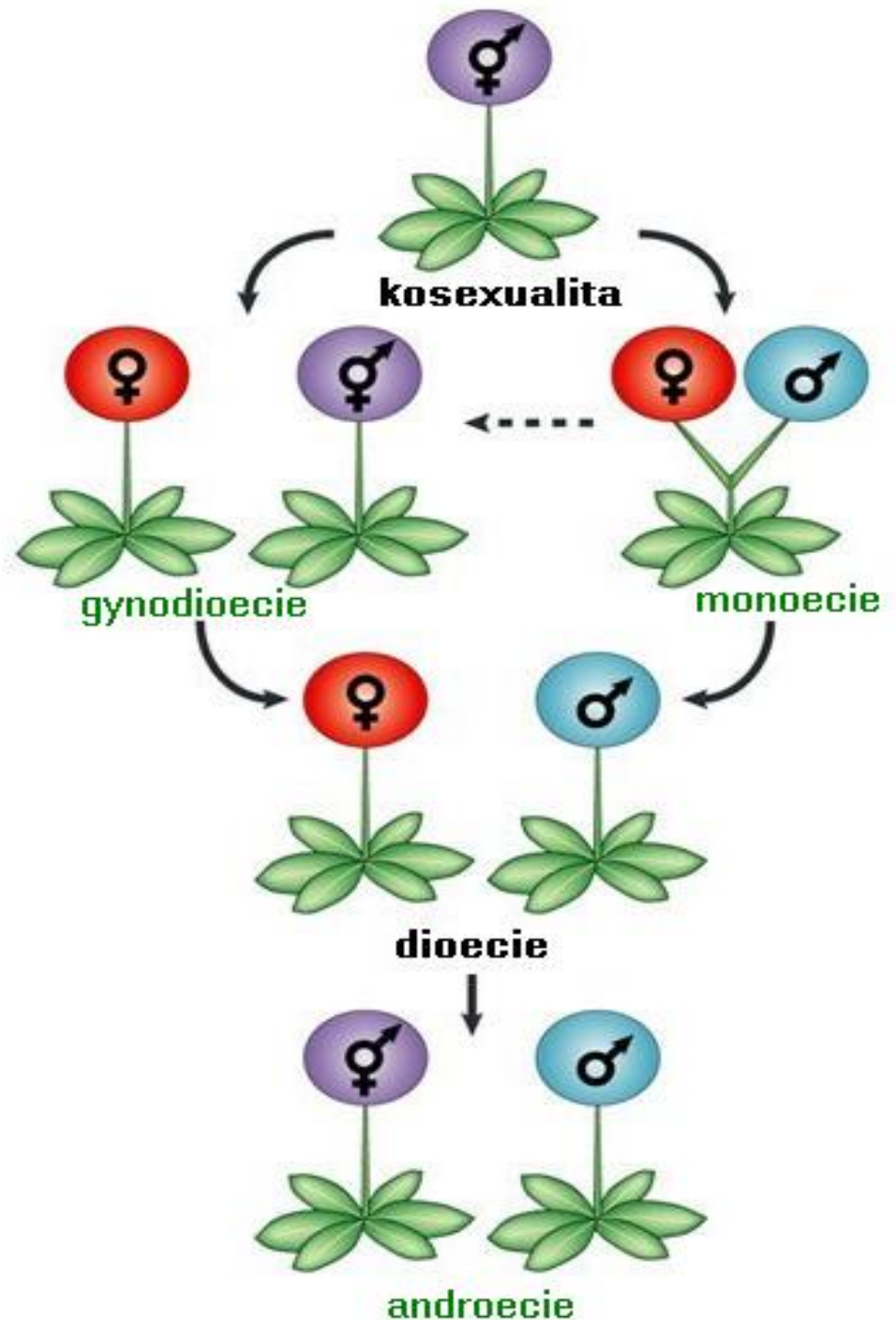
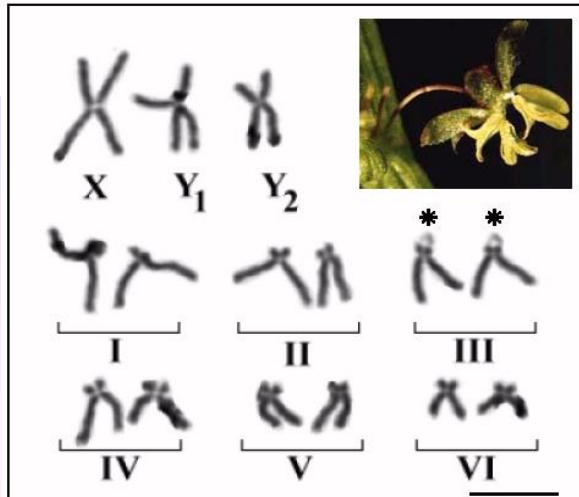
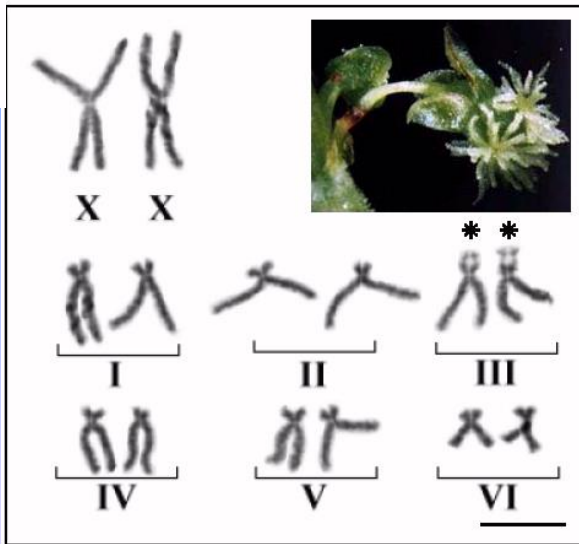


# Proč studovat rostlinné pohlavní chromosomy ?

- Jsou evolučně mladé
  - ...mohou nám objasnit časná stádia evoluce a degenerace sex chromosomů
- Vyvinuly se mnohokrát nezávisle u krytosemenných rostlin
  - ... můžeme zjistit, které rysy jsou v evoluci pohlavních chromosomů obecné



# EVOLUCE DVOUDOMOSTI U ROSTLIN





# Otcové rostlinné sexuality

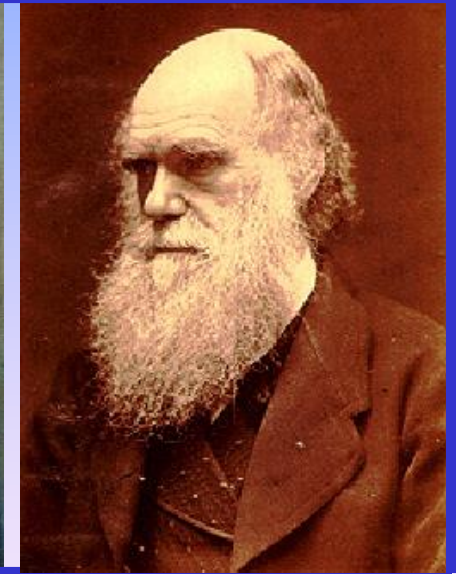
**Rudolph Jacob Camerarius**

*De Sexu Plantarum (1694)*



**Johann Wolfgang von Goethe**

*The Metamorphosis of Plants (1790)*



**Jean-Jacques Rousseau**

*Letters on the Elements of Botany (1773)*

**Charles Darwin**

*The Different Forms of Flowers  
of the Same Species (1877)*

# Pohlavní chromosomy rostlin



tykvíce



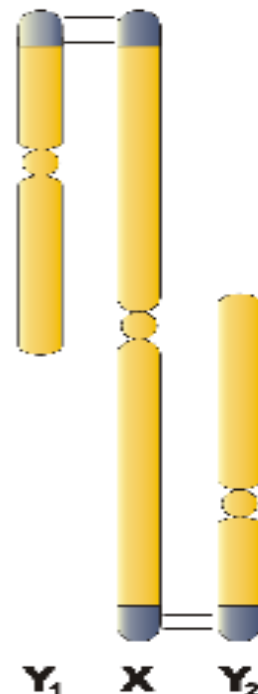
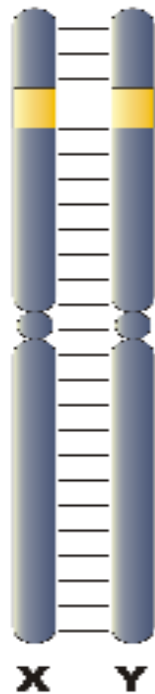
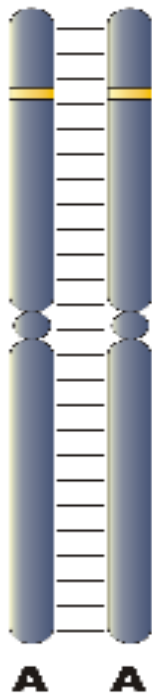
papája



silenka



šťovík



***model  
rostlinného  
sexu :  
silenky***



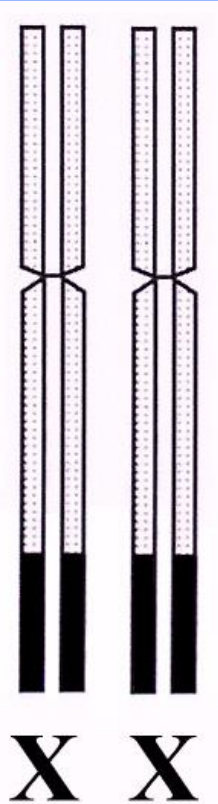
A. TARALD, *SILENE LATIFOLIA* (MILL.) R. ET B.  
B. BACKGLIM, *SILENE NUTANS* L.



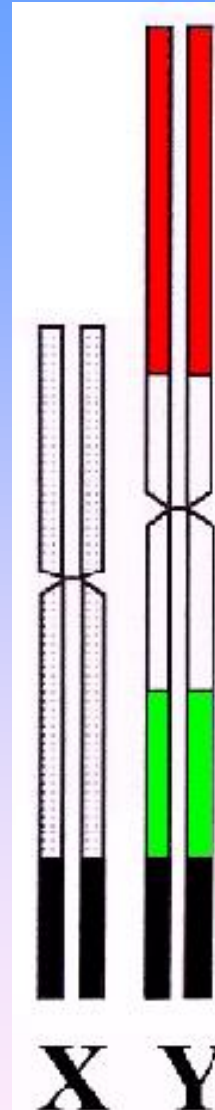
# *Silene latifolia* (*Melandrium album*)



samička

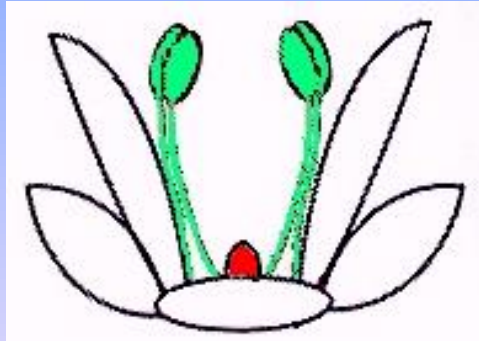


X X



X Y

samičí  
supresor



samčí  
fertilita

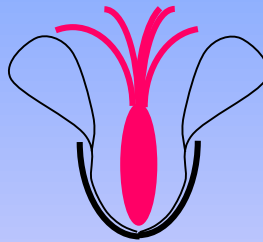
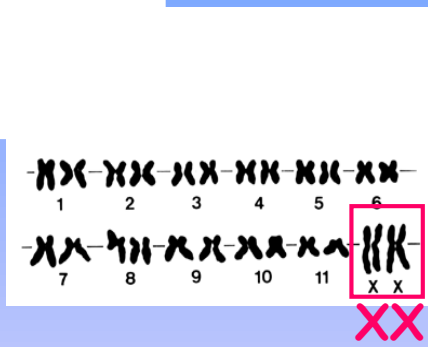
sameček

pseudoautozomální  
oblast

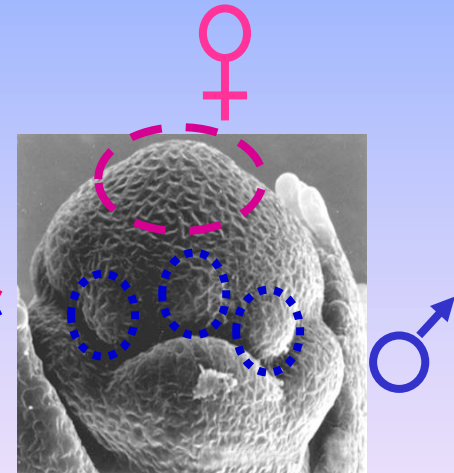


# Sex determinace u silenky

female

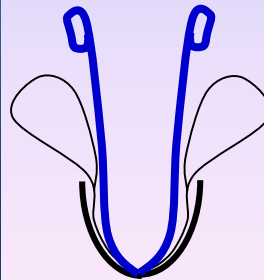
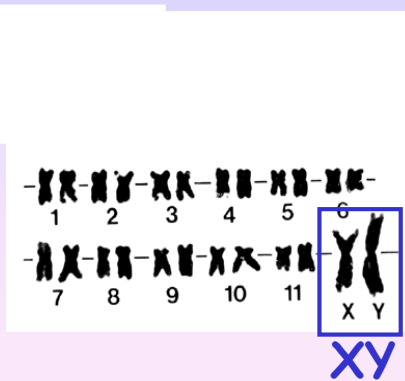


-Y



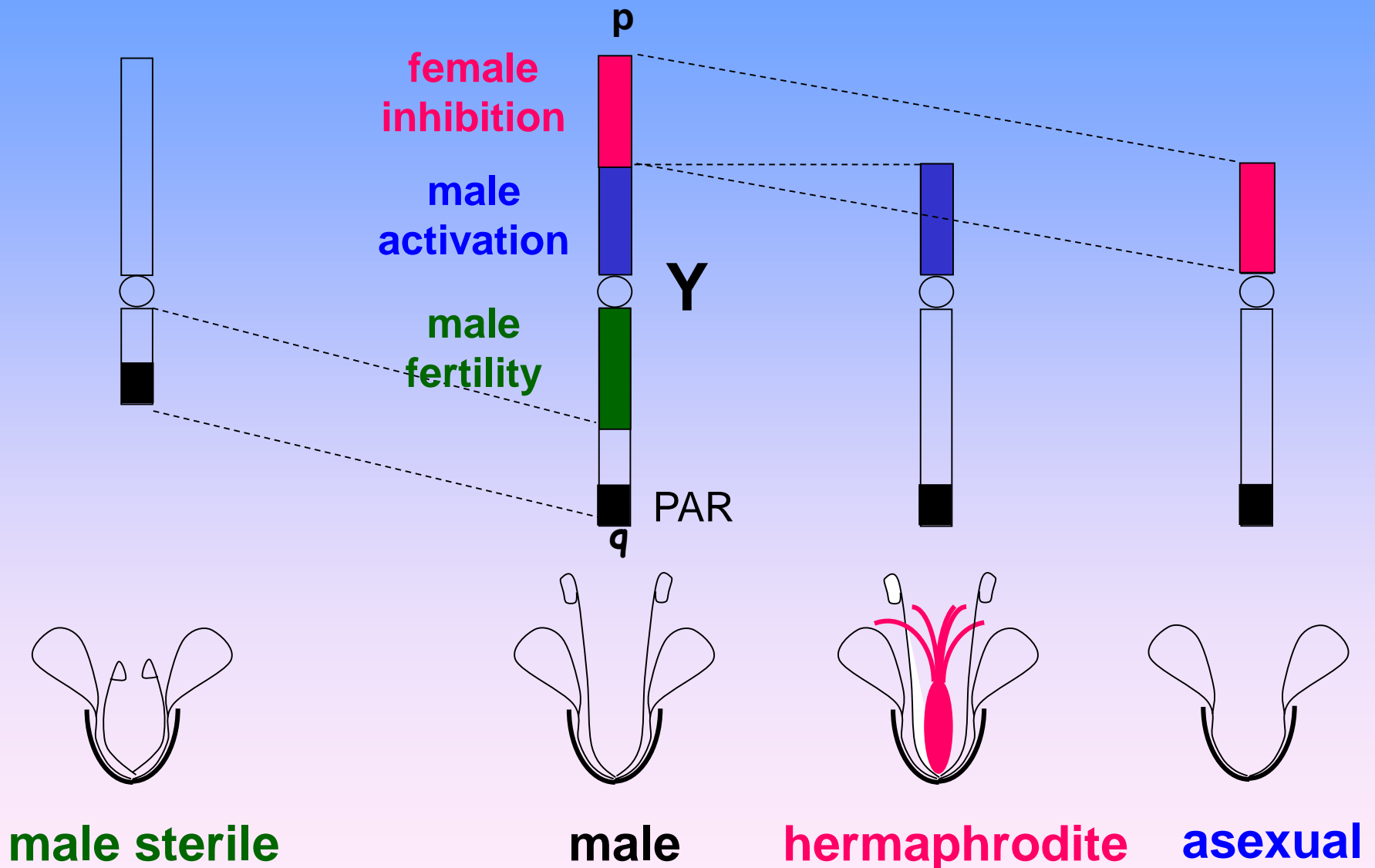
+Y

květní meristém



male

# Aberace odhalují základní funkční mapu chromosomu Y



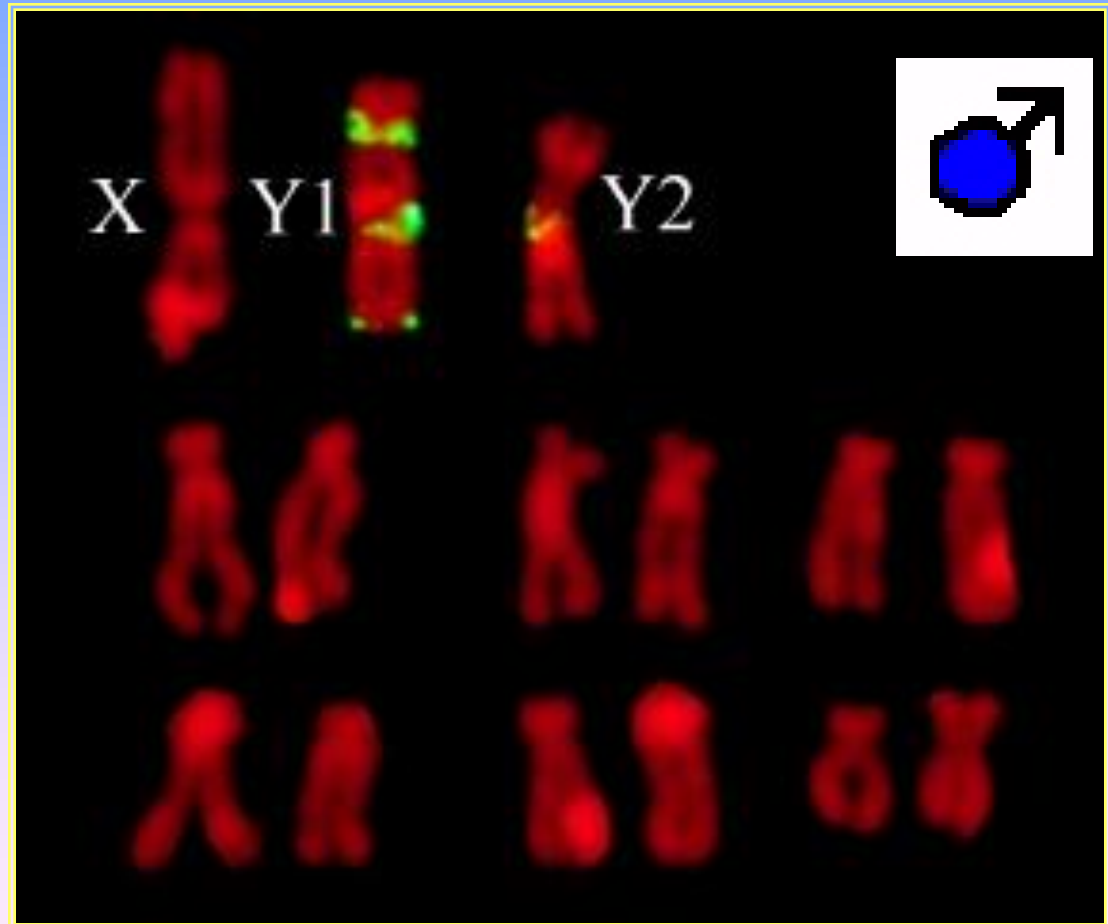
## Proč nestudovat silenky ...

- Large genome (2,800 Mb~2.8pg DNA/C)
- Difficult to transform or even to culture *in vitro*
- Relatively long life span (~one year)
- No exact (both physical and genetic) maps available
- No agronomic impact, simple weed

## Proč studovat silenky ...

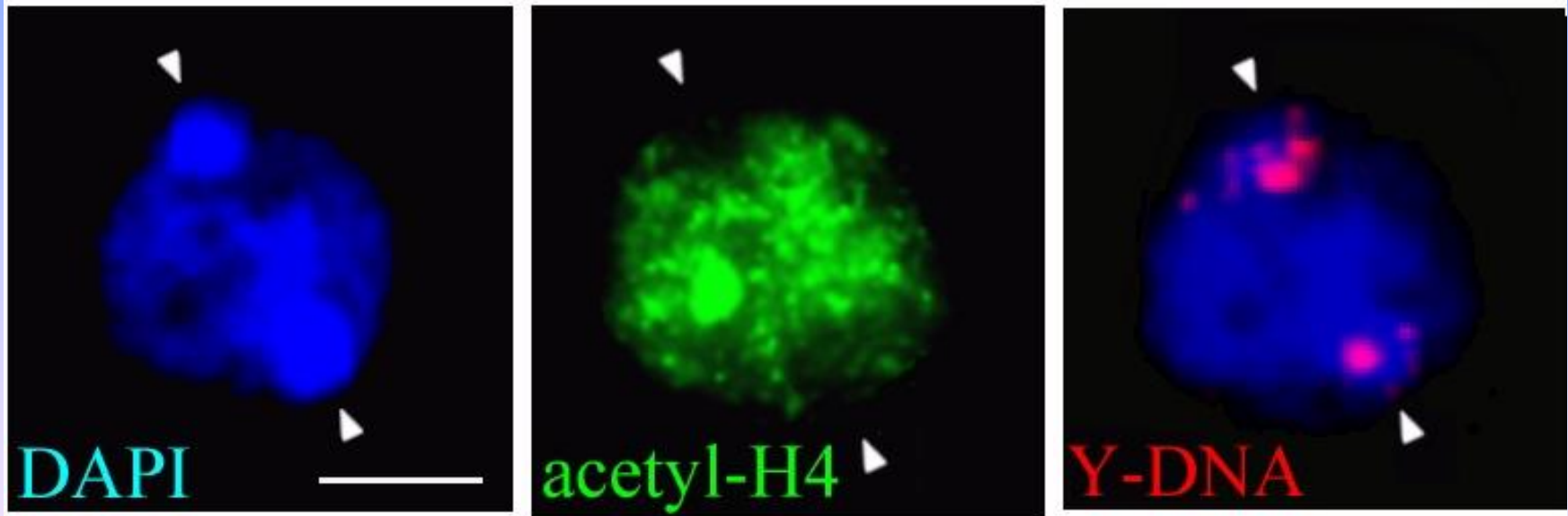
- Polymorphic reproductive systems in one genus
- Small size of plants, large seed production
- Large heteromorphic sex chromosomes
- 12 pairs of chromosomes in (all diploid) species
- Interspecific crosses helpful
- Model to analyze intermediate steps in sex evolution

# *RUMEX*: SAMČÍ CHROMOSOMY Y JSOU KONSTITUTIVNĚ HETEROCHROMATICKÉ





# CHROMOSOMY Y TVOŘÍ PERIFERNÍ HISTON - HYPOACETYLOVANÁ TĚLÍSKA



*Rumex acetosa*