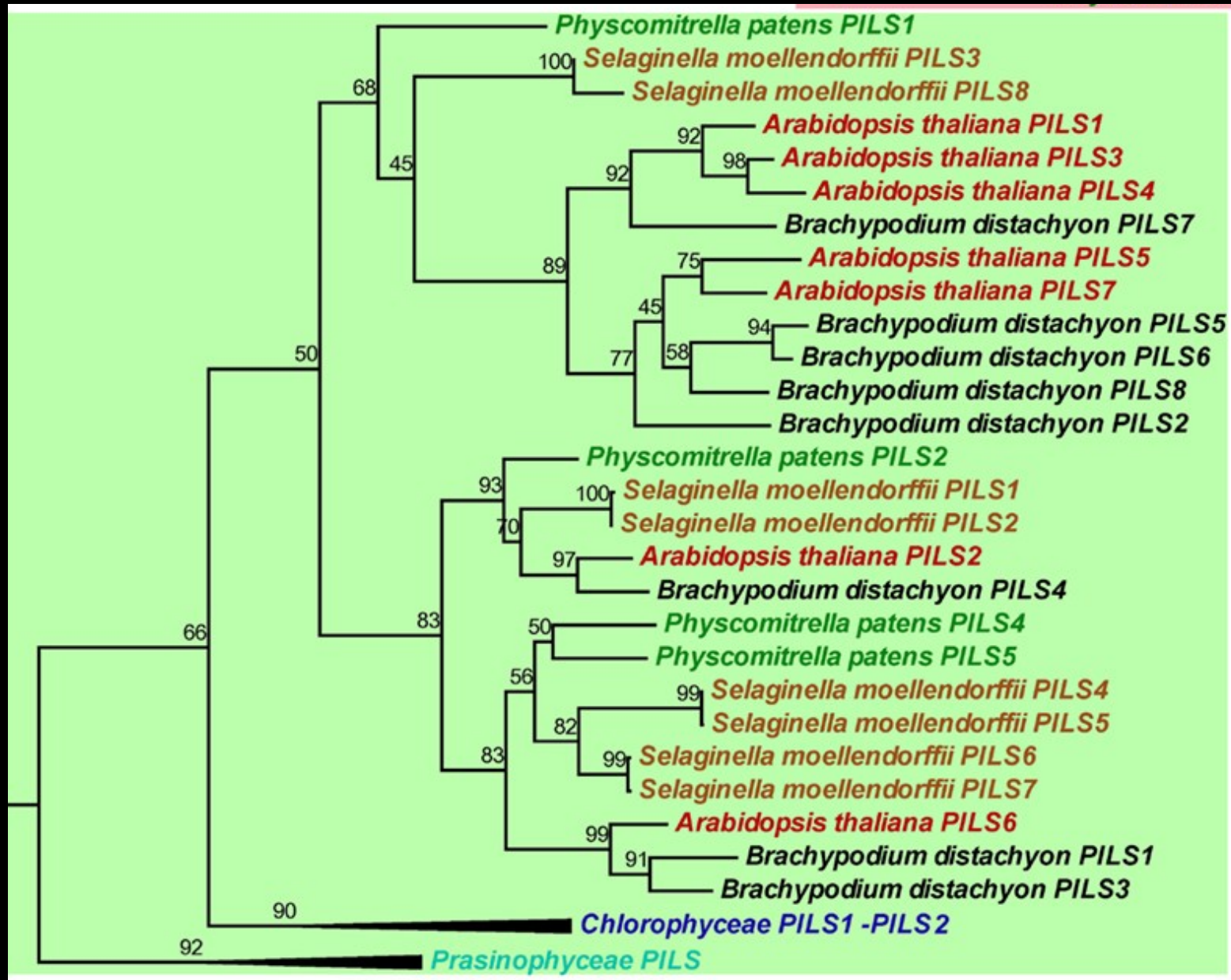


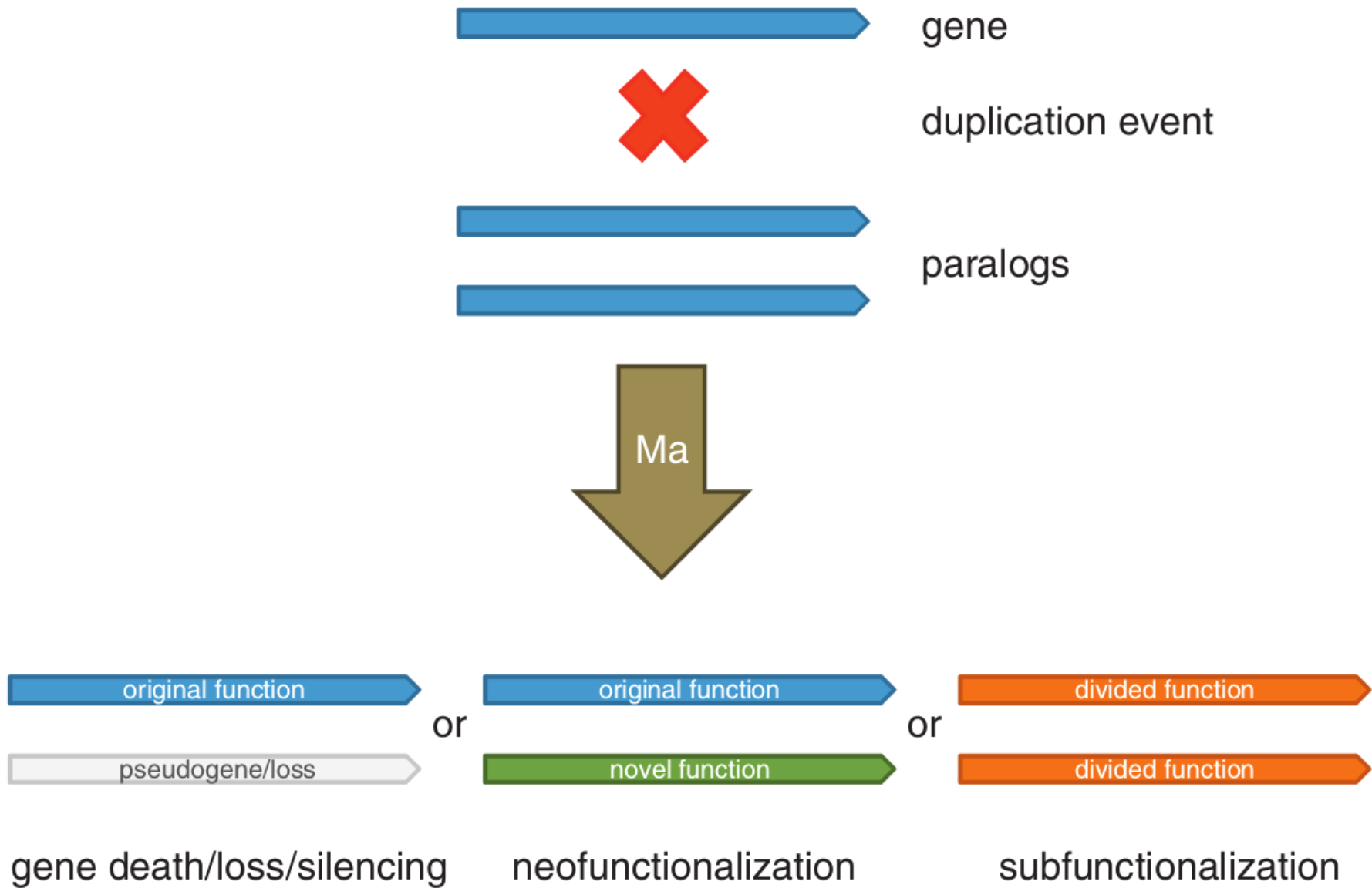
Příběh třetí: Jak vznikají nové geny?



Celá evoluce rostlin je provázána zvyšováním počtu paralogů



Genová duplikace je základem evoluce



Mechanismy genové duplikace

- ♦ **Segmentální duplikace**

Duplikace chromosomů či jejich částí, celogenomové duplikace (WGD – whole genome duplication)

- ♦ **Tandemové duplikace**

Výsledek nesprávného crossing-overu

- ♦ **Retrotransposice**

Duplikace prostřednictvím mobilních elementů

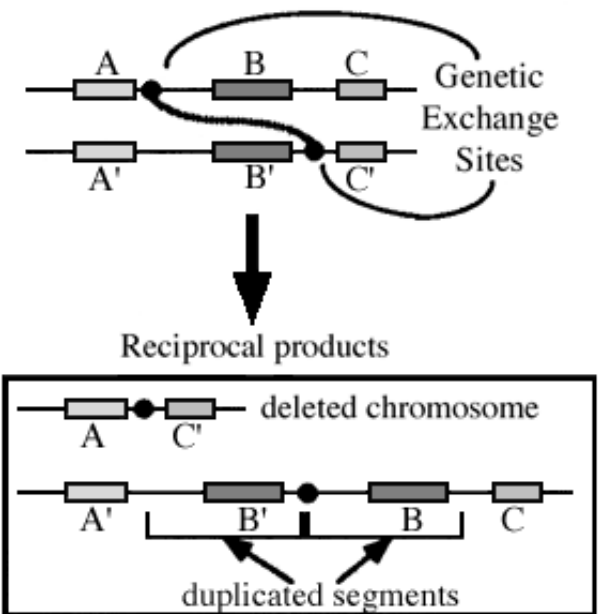
Tandemová duplikace

- ♦ Sister chromatid exchange
Během mitosy, slouží k opravě mutací...
- ♦ Unequal crossing-over
Výsledek nesprávného crossing-overu

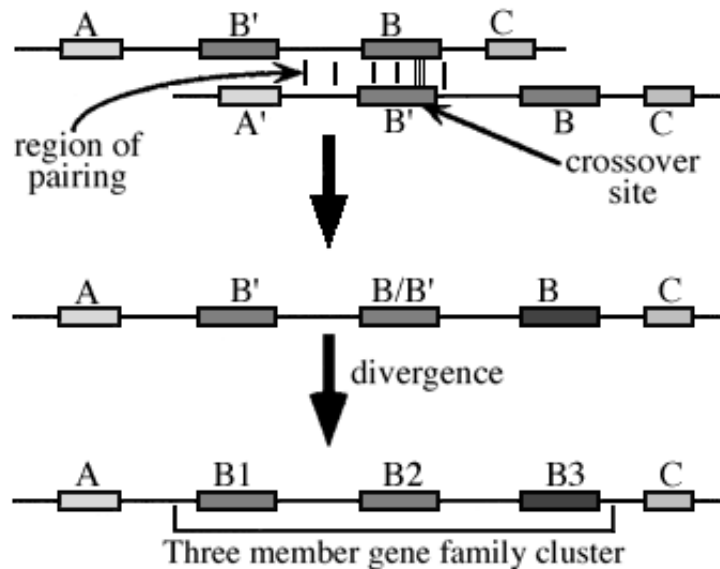
Vznikají tandemy, např. *Hox* geny u živočichů



Initial duplication of a single copy region



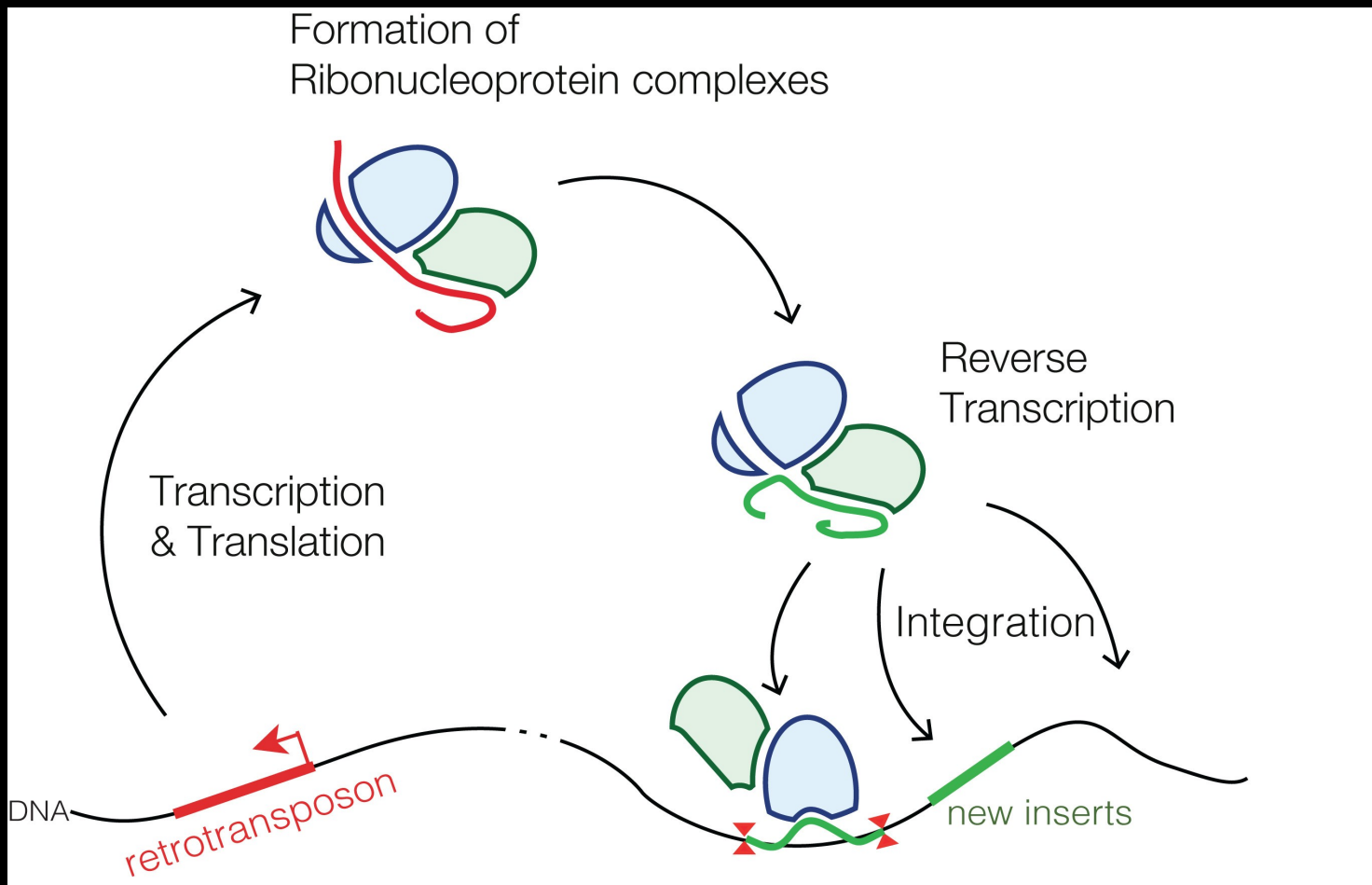
Further expansion from a two repeat cluster



Během S-fáze je přidán bromouridin, který se inkorporuje do nového vlákna DNA, to lze barvit Giemsou

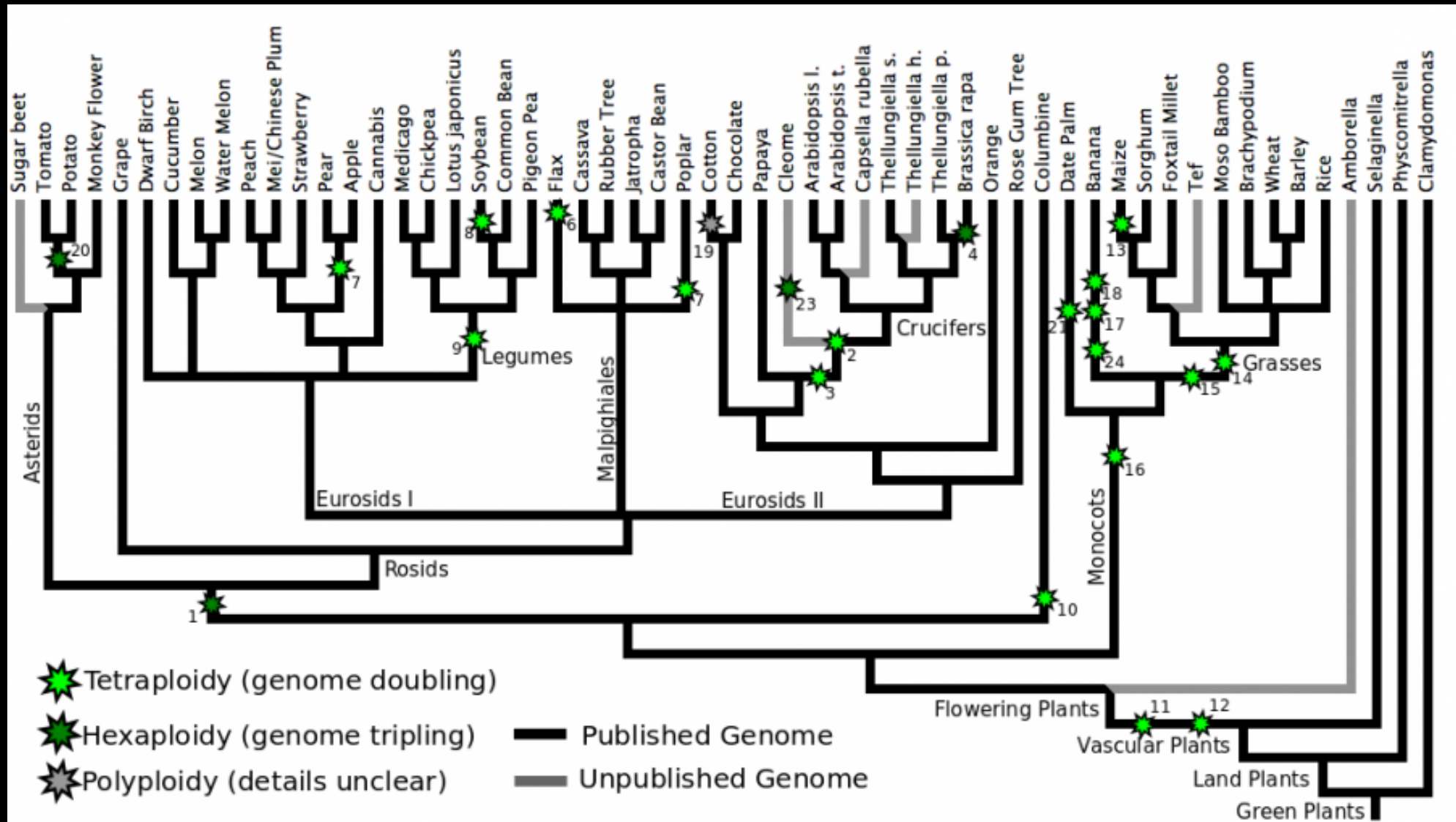
“Retro-duplikace”

- Vlivem přítomnosti retrotransposomu poblíž genu
 - Například u kukuřice je ~60 % genomu tvořeno retrotransposomy
 - Přepisují se do RNA, kodují reverzní transkriptázu a integrázu pro začlenění DNA kopie na nové místo v genomu
 - Mohou způsobit mutaci v místě integrace či fúzi genů...

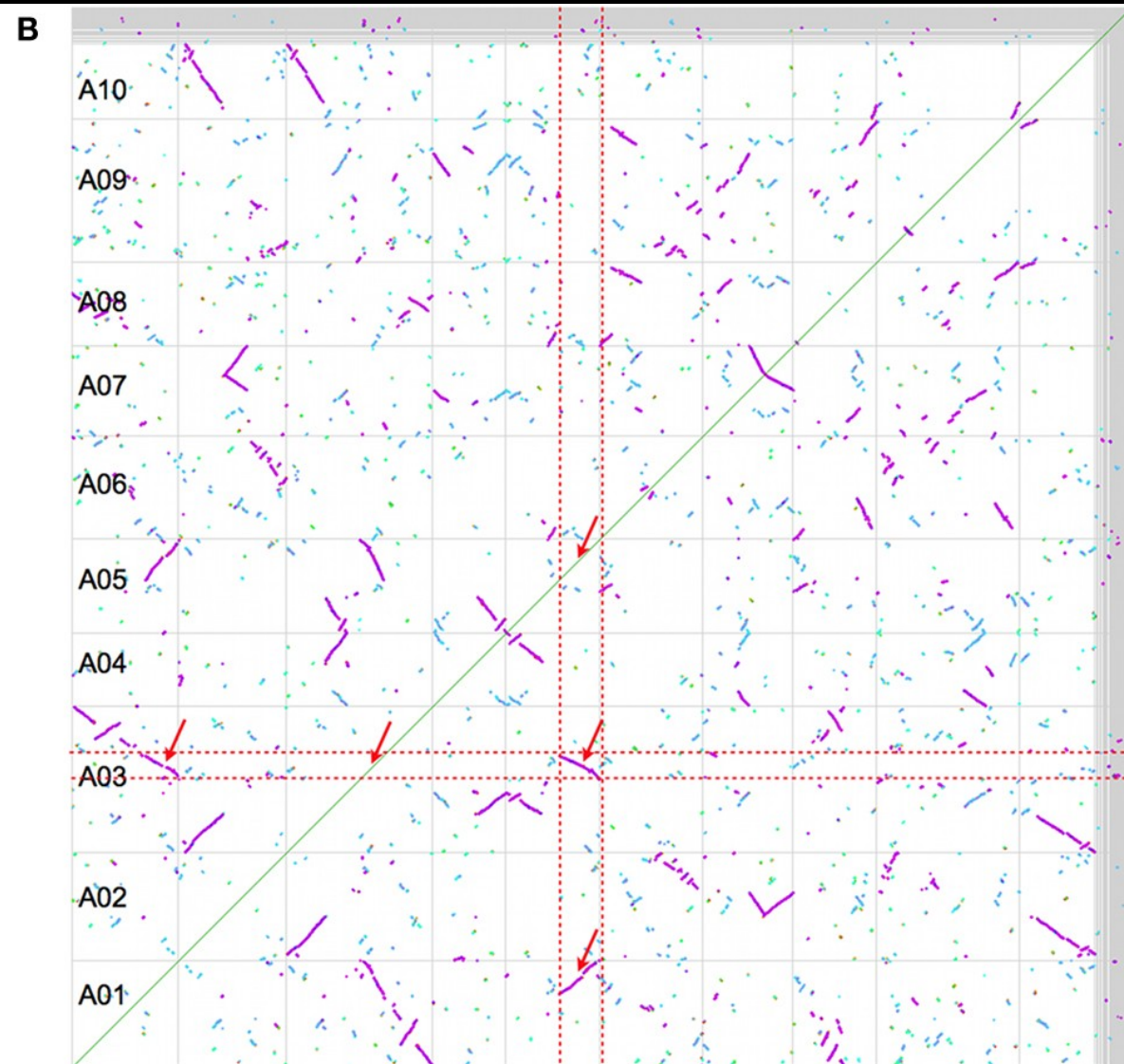
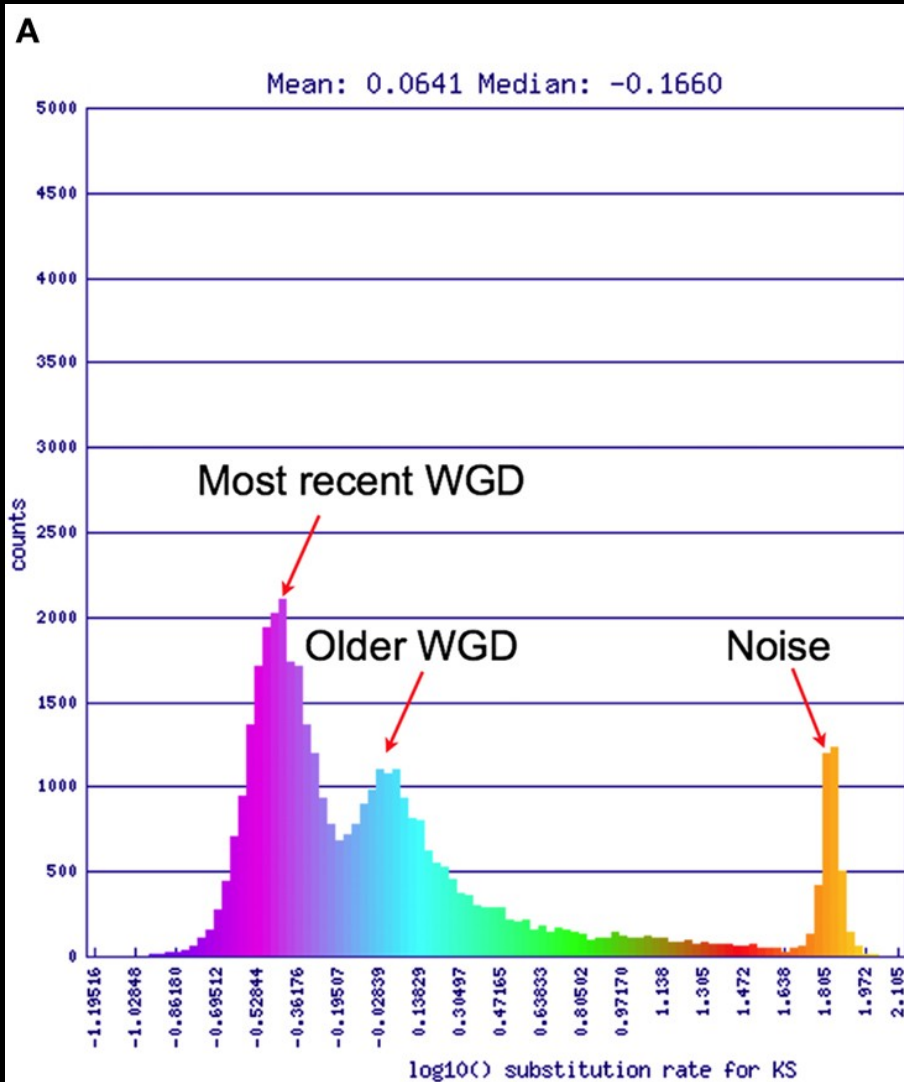


Celogenomové duplikace

WGD (whole genome duplication)
V historii rostlin mnohokrát opakovaně...

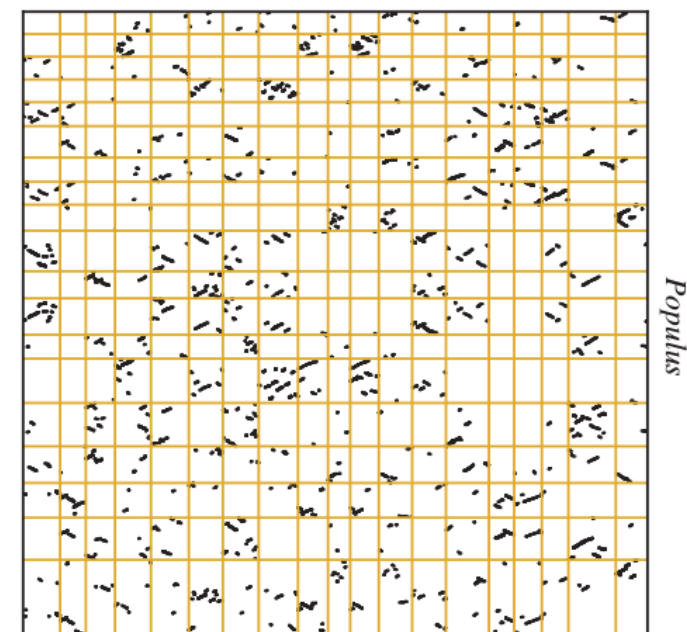
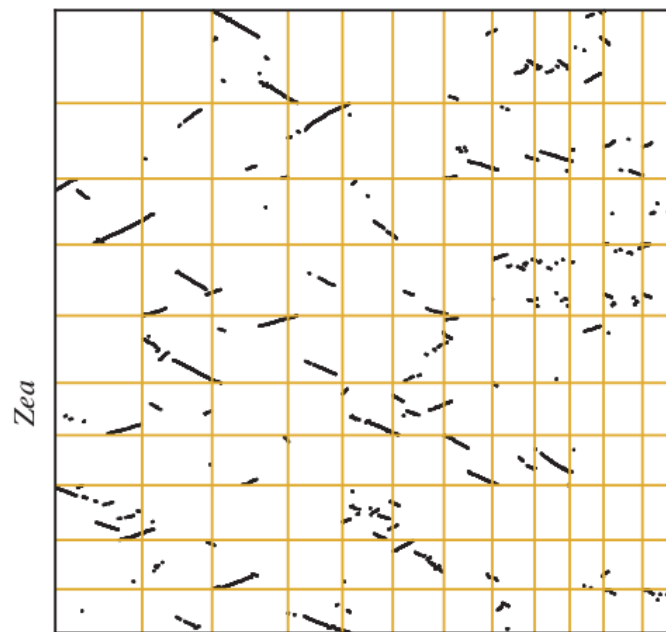
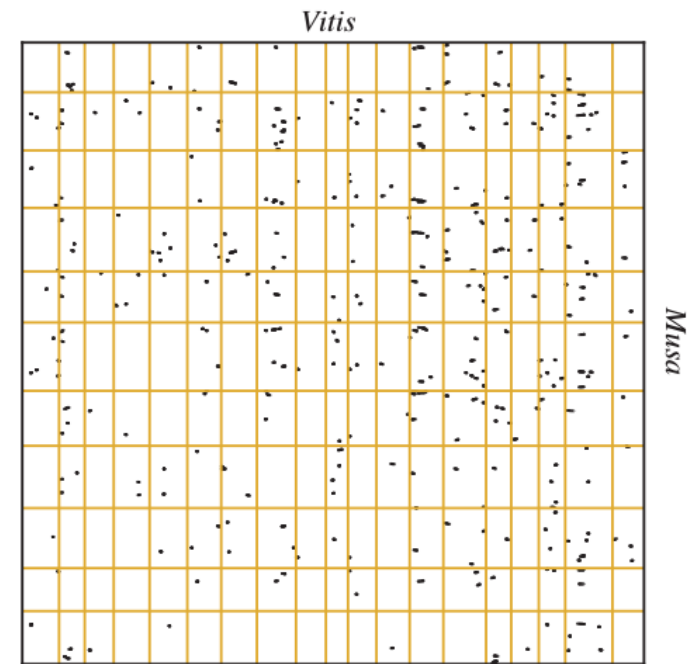
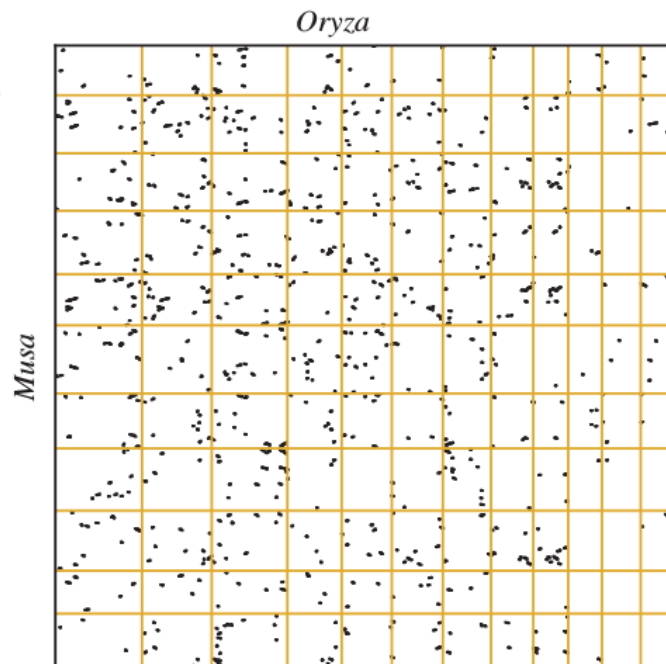


Jak se identifikuje WGD



Syntenický dotplot, “self-self” porovnání homologie genů na chromosomech u brukve

Syntenie je patrná i mezi vzdálenými druhy



Klasifikace polyploidisačních událostí

Paleo-polyploidisace

- ♦ stáří řádově desítky milionů let
- ♦ nepozná se dle počtu chromosomů, pouze syntenií paralogů

Meso-polyploidisace

- ♦ stáří několik milionů let
- ♦ probíhá redukce genů a chromosomů
- ♦ již mají diploidní počet chromosomů, ale lze odlišit parentální a maternální komponenty genomu

Neo-polyploidisace

- ♦ současná událost (~ čtvrtohory, případně holocén)
- ♦ zpravidla ryze tetraploidní počet chromosomů

Všechny krytosemenné rostliny jsou polyploidní

Amborella trichopoda

- bazální krytosemenná
- MRCA (most recent common ancestor)
- endemit N. Kaledonie
- sekvenace 2013
- potvrdila u ní dávnoú duplikaci genomu



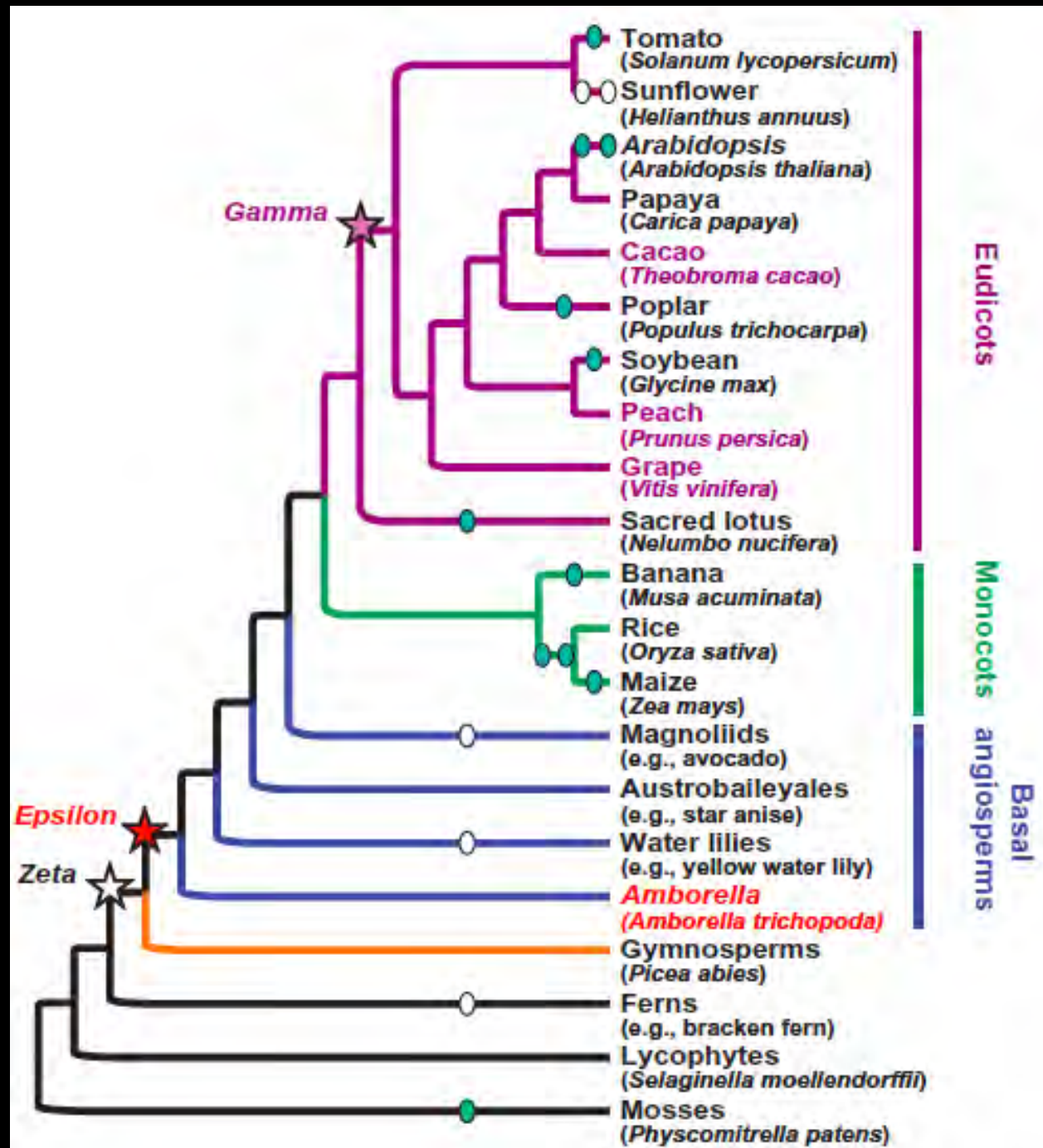
Historie paleo-polyploidisačních událostí

Původní klasifikace (u *Arabidopsis*)

- α – báze *Brassicaceae*
- β – v rámci *Brassicales*
- γ – “core eudicots”
(třetihory)

Po analýze genomu *Amborella*

- ϵ – báze krytosemenných
(druhá hory)
- ζ – semenné rostliny
(prvohory)



Průběh neo-polyploidisace

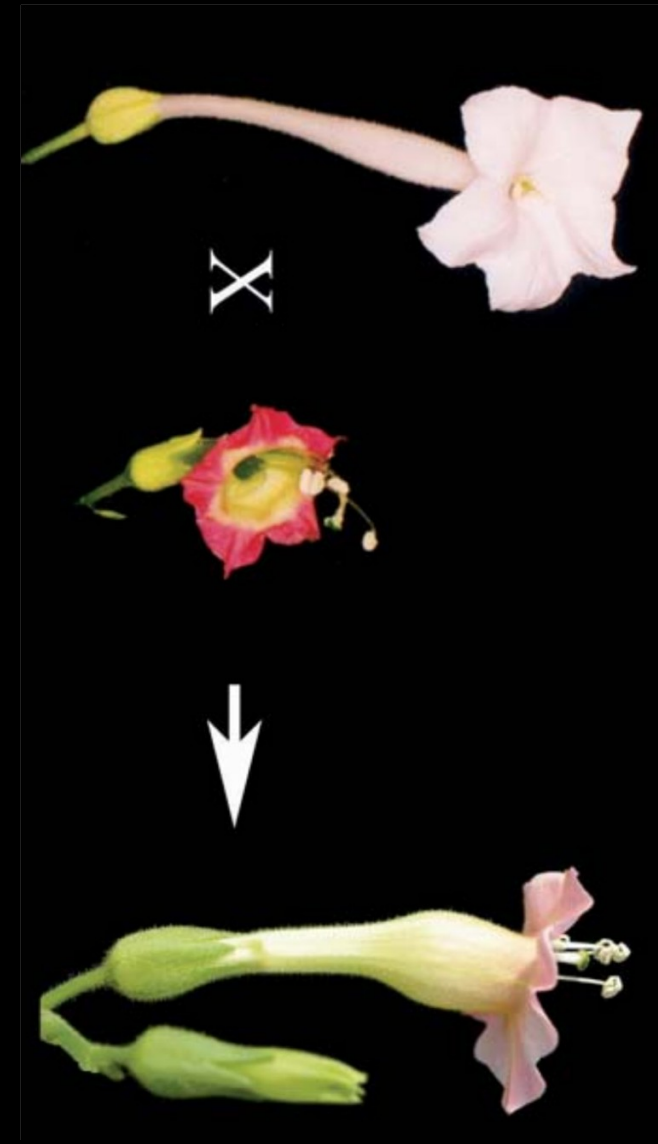
Dva základní mechanismy

Autotetraploidie

- Fúze neredukovaných gamet stejného druhu
- Vznikají vzácně ve stresových podmínkách
- Častěji kombinace $n + 2n$ za vzniku triploida
- Fúzí $3n + n$ vzniká tetraploid

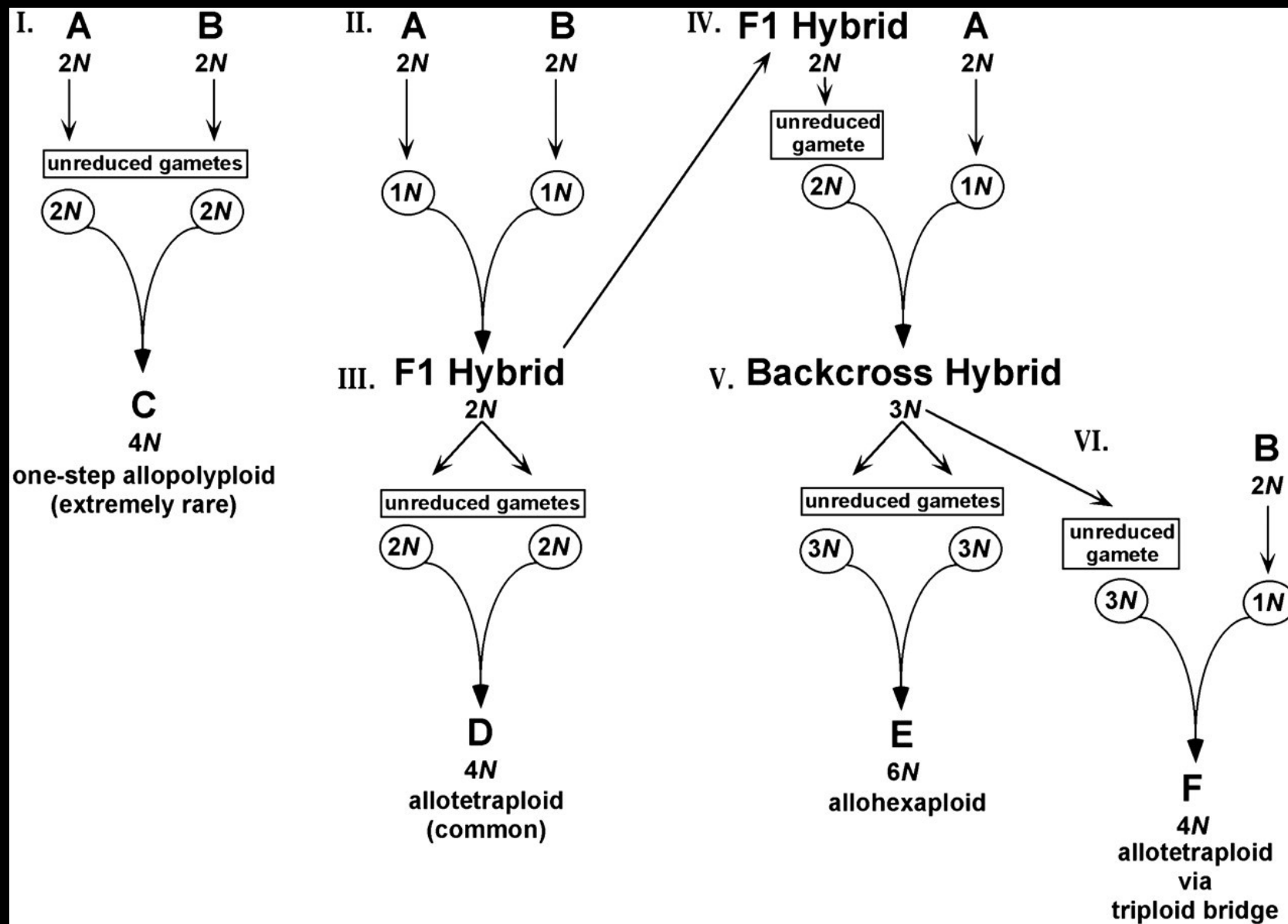
Allotetraploidie

- Fúze gamet příbuzných druhů
- Tetraploidisace je podmínka pro úspěšnou meiosu



Průběh neo-polyploidisace

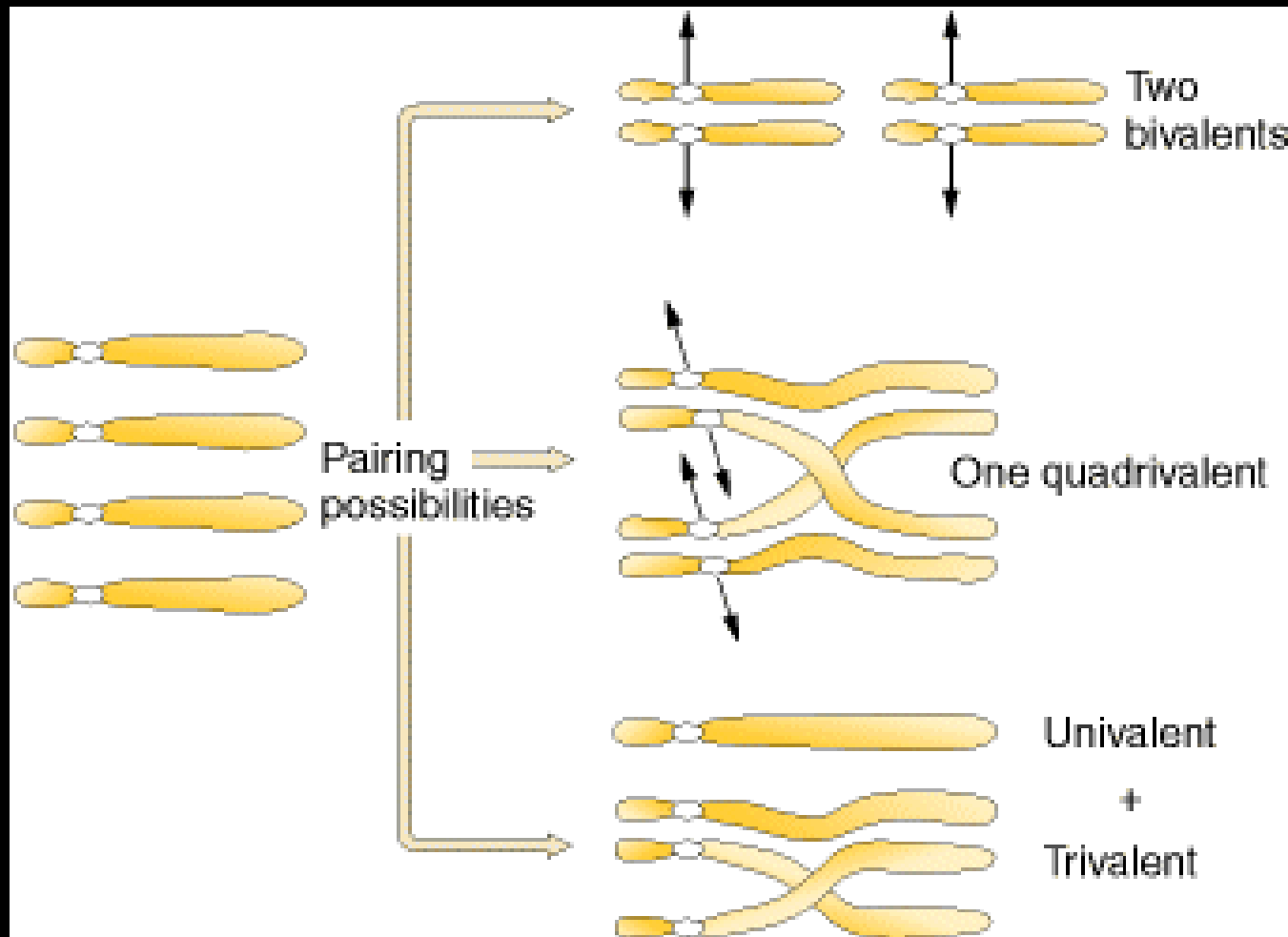
Mechanismy vzniku tetraploidů



Průběh neo-polyploidisace

Problém autotetraploidů = quadrivalenty při meiose

- Řešení: omezení crossing-overu
- Aktivace transposabilních elementů k diverzifikaci genomu



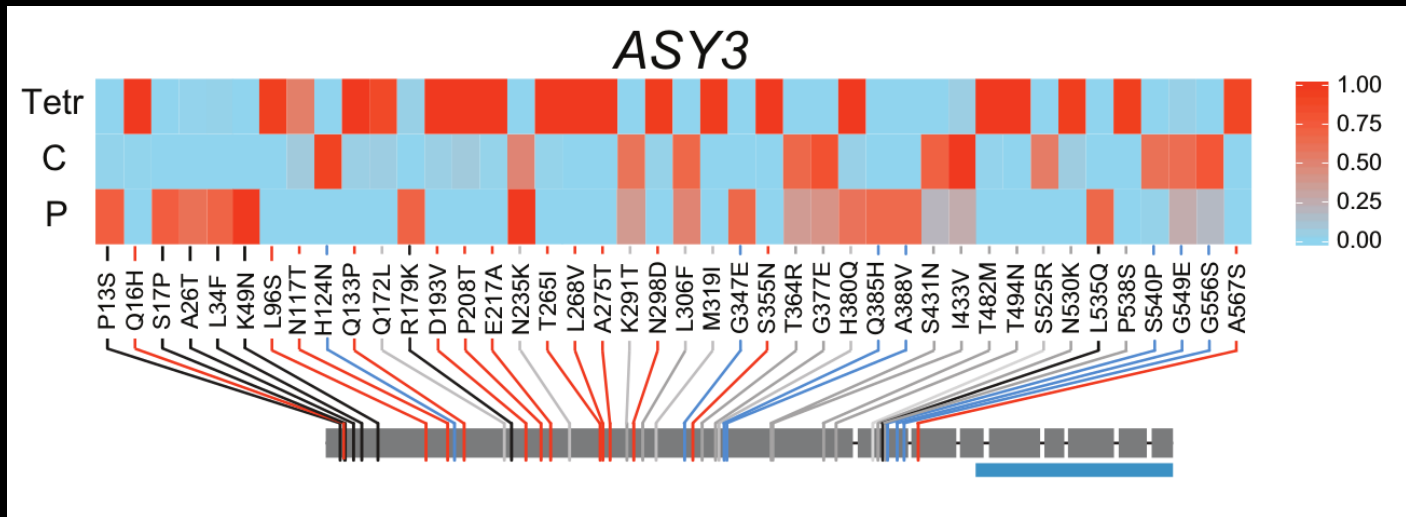
Průběh neo-polyploidisace

Model *Arabidopsis arenosa*

- ♦ $4n$ – hory, $2n$ – zejména v nížině
- ♦ Aktivace transposabilních elementů
- ♦ Kompletní sekvenace – Illumina



- ♦ Identifikace SNP (single-nucleotide polymorfism) ve všech genech pro meiosu
- ♦ Tetraploidi mají jednoznačně vyšší zastoupení mutovaných alel



30 – 70 % rostlin je polyploidních



Dactylorhiza fuchsii (2n)



Dactylorhiza maculata (4n)



Dactylorhiza sudetica (4n)



Dactylorhiza incarnata (2n)



Dactylorhiza majalis (4n)
= *D. f.* x *D. i.*



Dactylorhiza traunsteinerii (4n)
= *D. f.* x *D. i.*

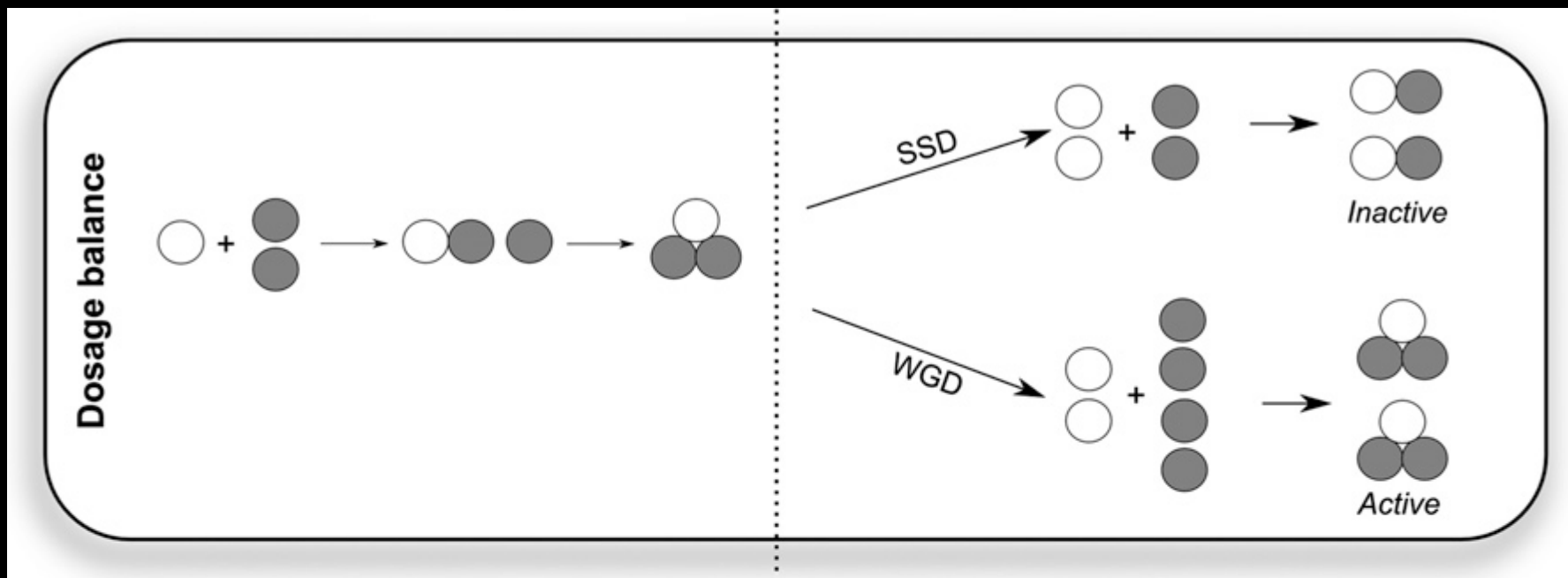
Prstnatce z polyploidních komplexů se liší metylacemi genů

Vznik neopolyploidů řídí evoluci člověka



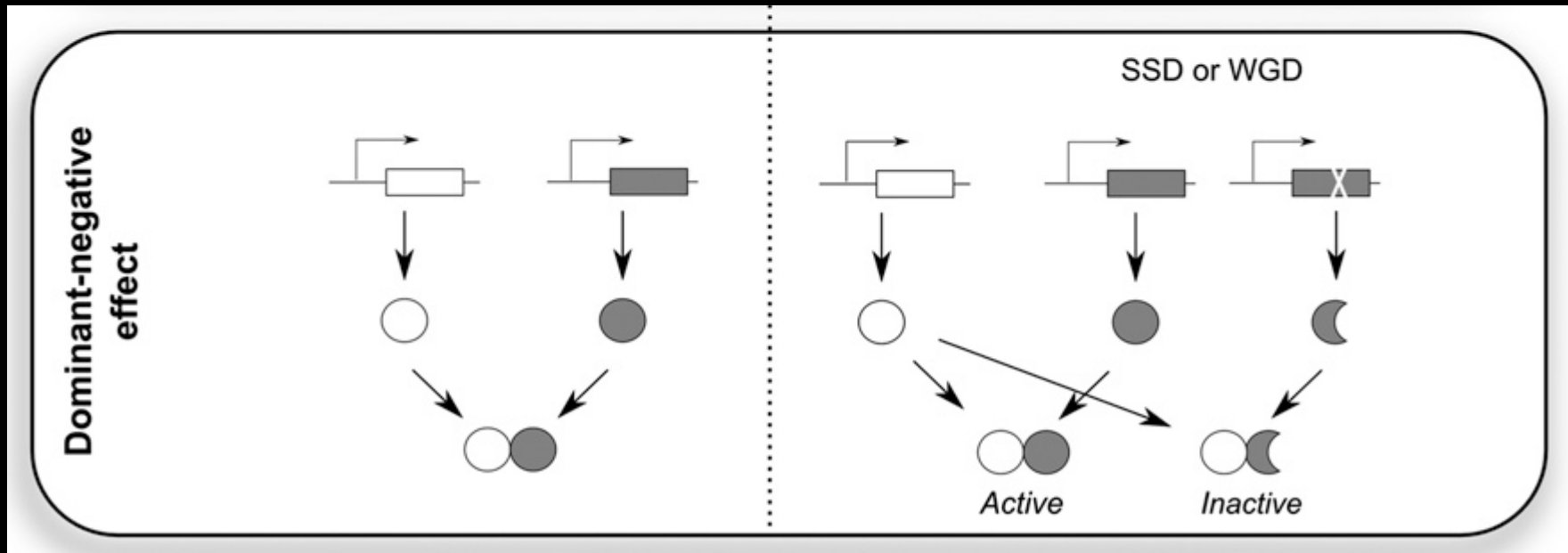
Co se děje u meso-polyploidů: Diploidisace

- Postupná redukce tetraploidního počtu chromosomů
- Snižování počtu genů
- Dvojitá dávka genů je často bez projevu, u neo-allotetraploidů se zpravidla exprimují oba genomy
- Dosage balance – například disbalance jaderného a organelového genomu → roste počet chloroplastů



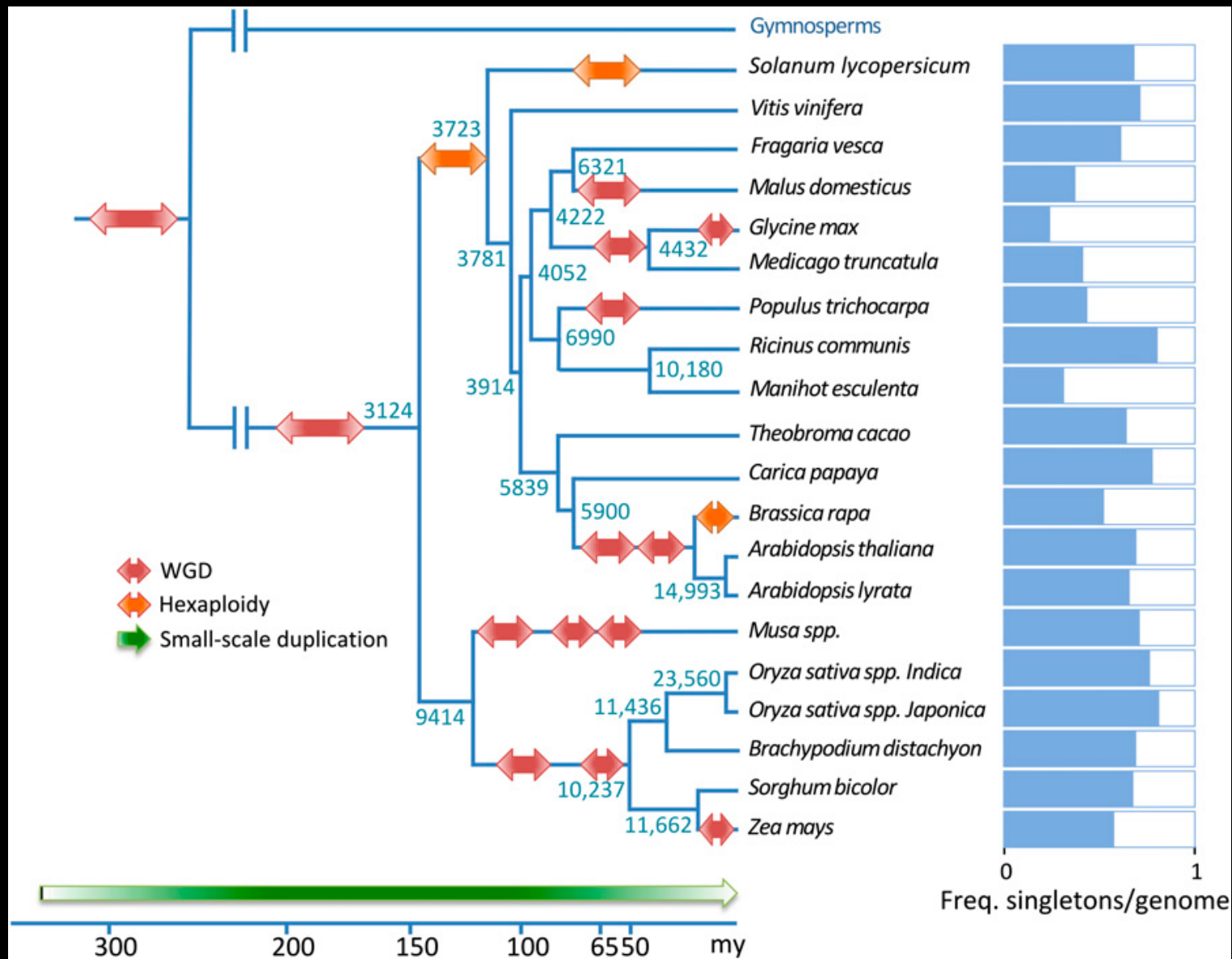
Mnoho klíčových regulačních genů je single-copy

- Funkce single-copy: opravy DNA, rekombinace, regulace organel, fotosyntéza, meiosa
- Naopak mnoho multiplikací: transkripční faktory, signalisace, fosforylace
- Méně genů = méně cílů pro mutace
- Klesá nebezpečí dominantně negativních mutací



Diploidisace

Zastoupení single-copy genů v genomech je menší u mladých tetraploidů a u stromů s pomalejší evolucí



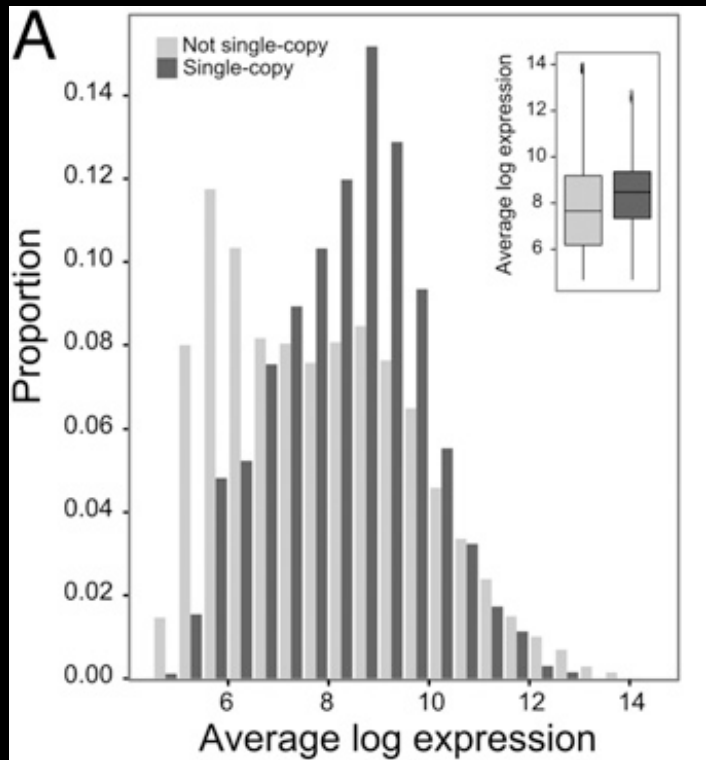
Charakteristiky single-copy genů

Expese single-copy genů je vyšší než expese multiplikovaných genů

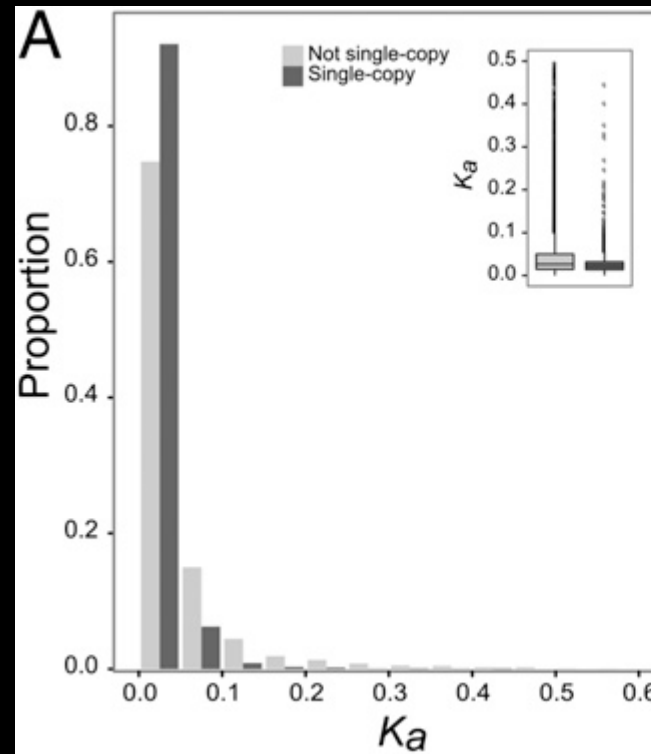
Single-copy geny jsou konzervovanější na proteinové úrovni

Mají i méně synonymních mutací, protože mají-li mít vysokou expresi, musí mít optimální kodony

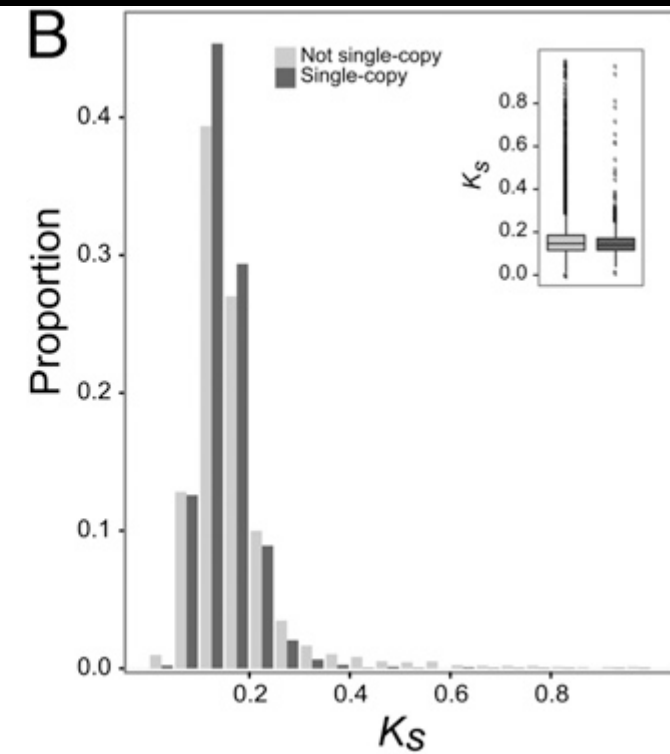
DeSmet (2013) PNAS



Míra exprese



Nesynonymní mutace na nesynonymních místech



Synonymní mutace na synonymních místech

Příklad rychlé diploidisace: *Tragopogon*

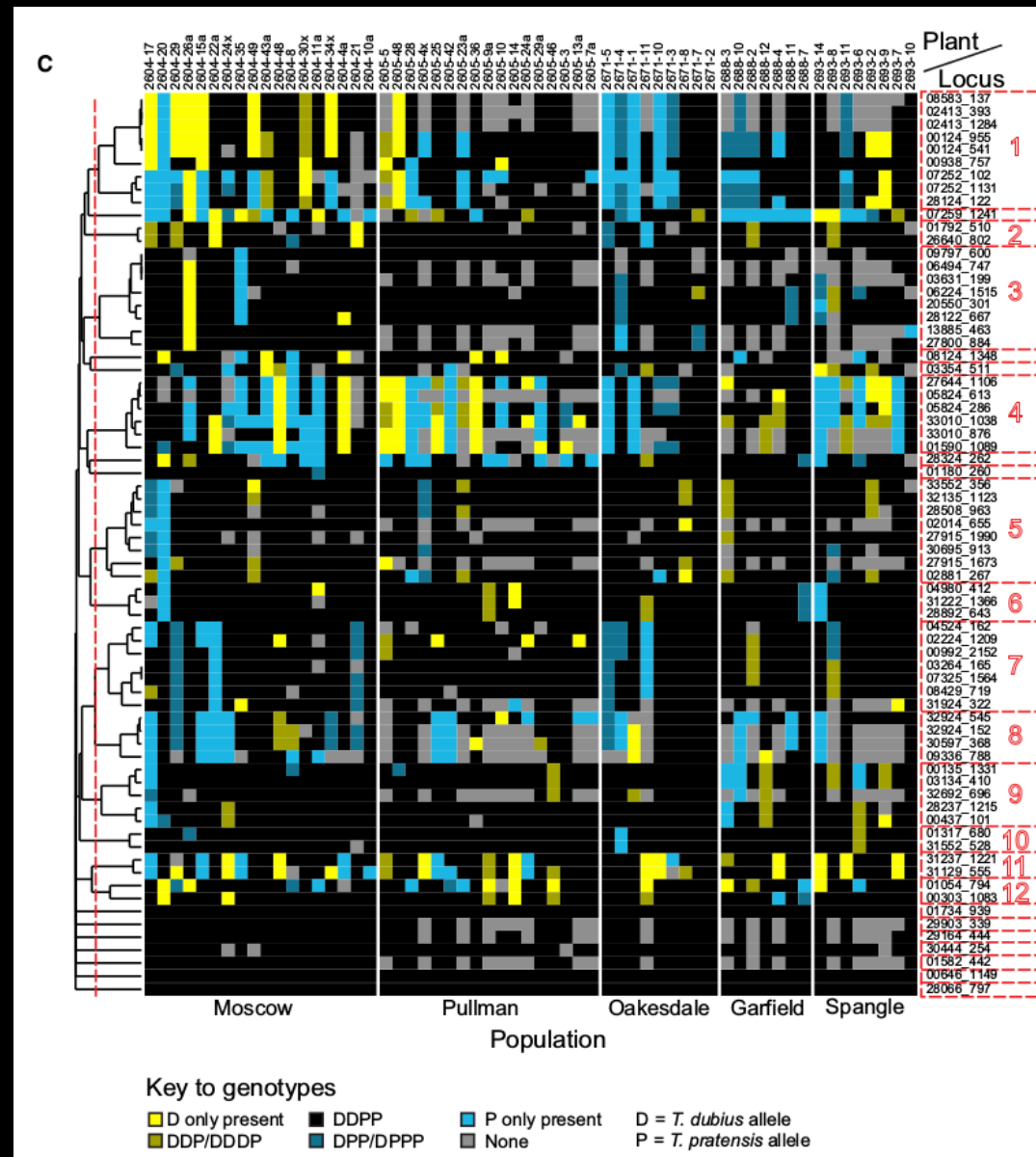
- *Tragopogon miscellanus* vznikl před 100 lety křížením *T. pratensis* a *T. dubius* zavlečených do Ameriky z Evropy
- Vědci identifikovali ztrátu až 7% genů, identita genů je korelována u nezávislých hybridních linií



T. pratensis

T. miscellanus

T. dubius



Pomalá diploidisace: *Capsella bursa-pastoris*

- ♦ Vznikla před > 50 tisíci lety křížením *C. grandiflora* a *C. orientalis*
- ♦ Stále jsou exprimovány ve většině případů oba genomy
- ♦ Je ale vyšší mutační rychlost a nižší purifikující selekce



Mechanismy modifikace genů

Genové duplikace vytvářejí materiál pro evoluci

Většina genů je tvořena skládáním ze stávajících domén

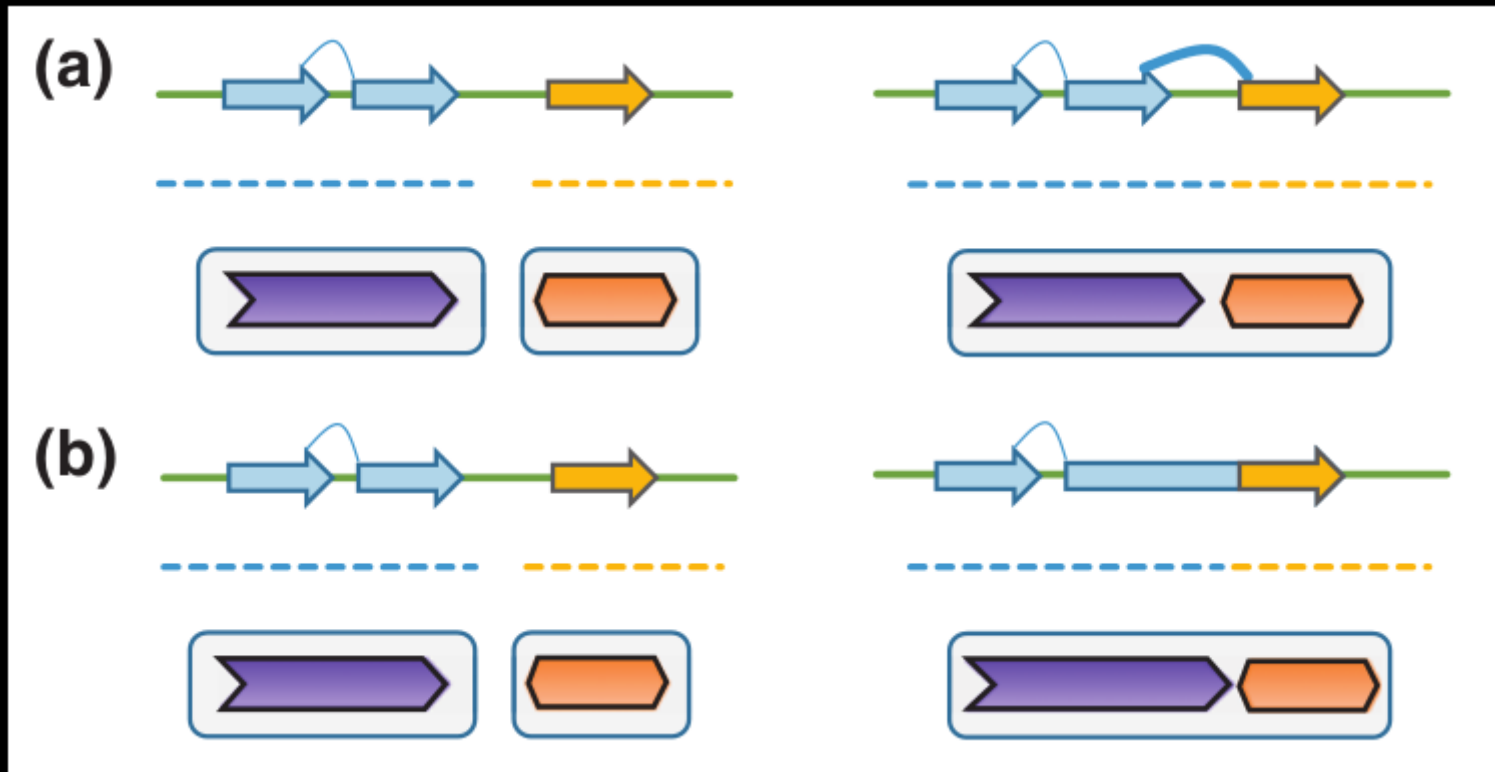
- ♦ Existuje asi 1000 základních domén, které jsou sdíleny napříč eukaryotickými organismy
- ♦ Naproti tomu u každého sekvenovaného druhu se našlo okolo 3000 unikátních domén



Mechanismy modifikace genů

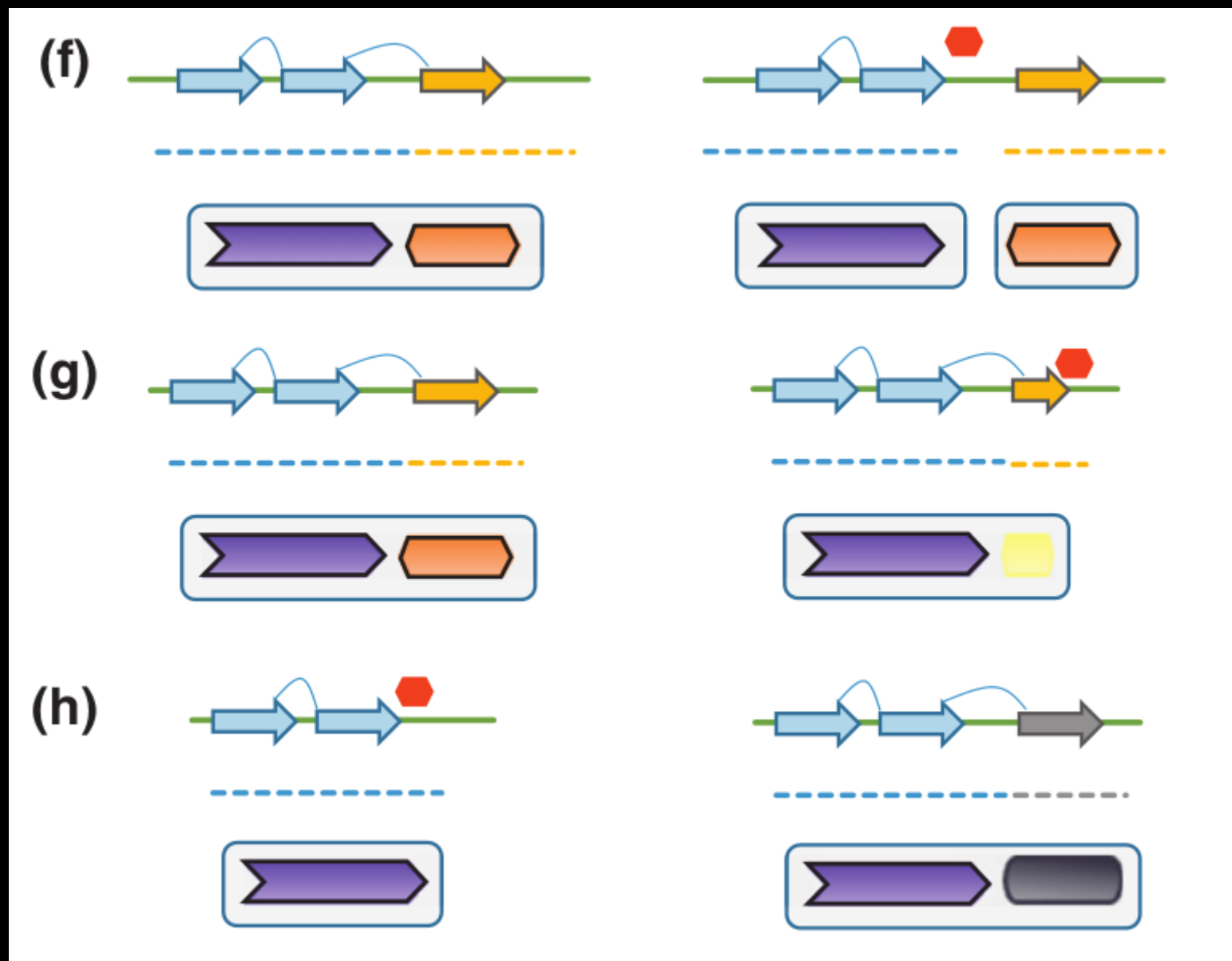
Exonisace

- Ke stávajícímu genu se připojí kus sousedního



Mechanismy modifikace genů

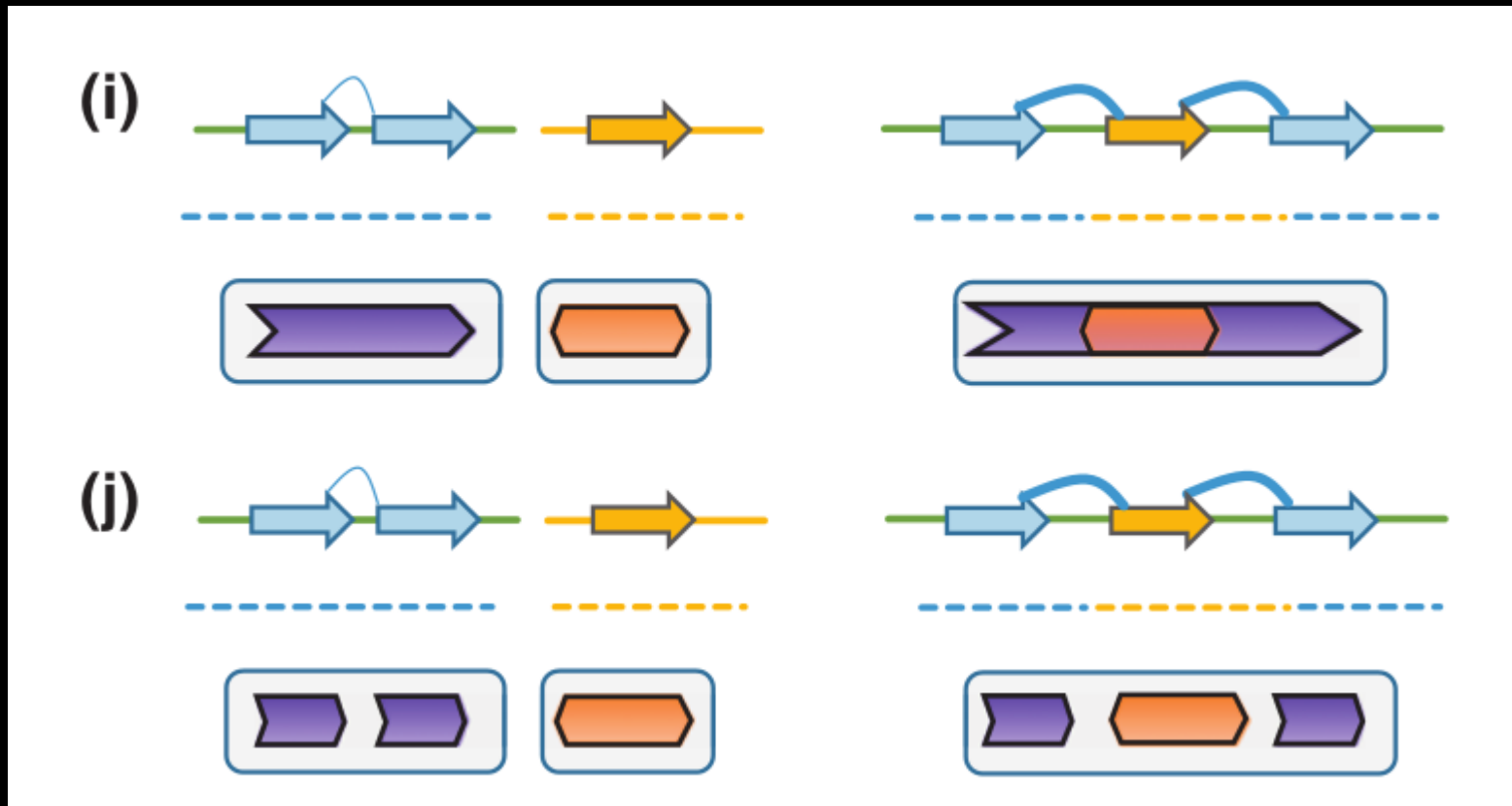
Vložení či zrušení stop-kodonu



Mechanismy modifikace genů

Rekombinace

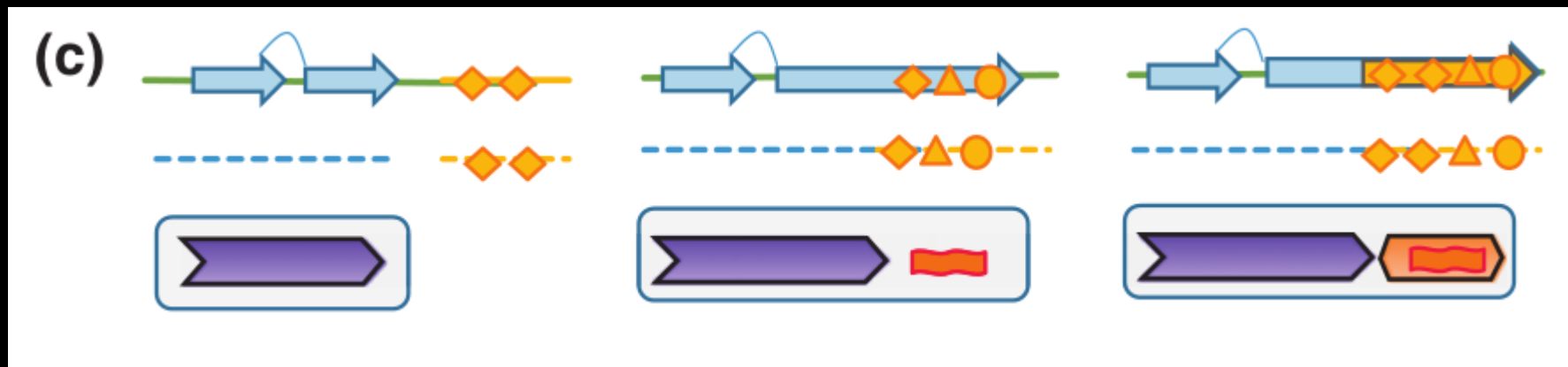
- Dojde k vložení vzdáleného úseku DNA do stávajícího genu



Mechanismy modifikace genů

Vložení repetitivních úseků DNA do sekvence

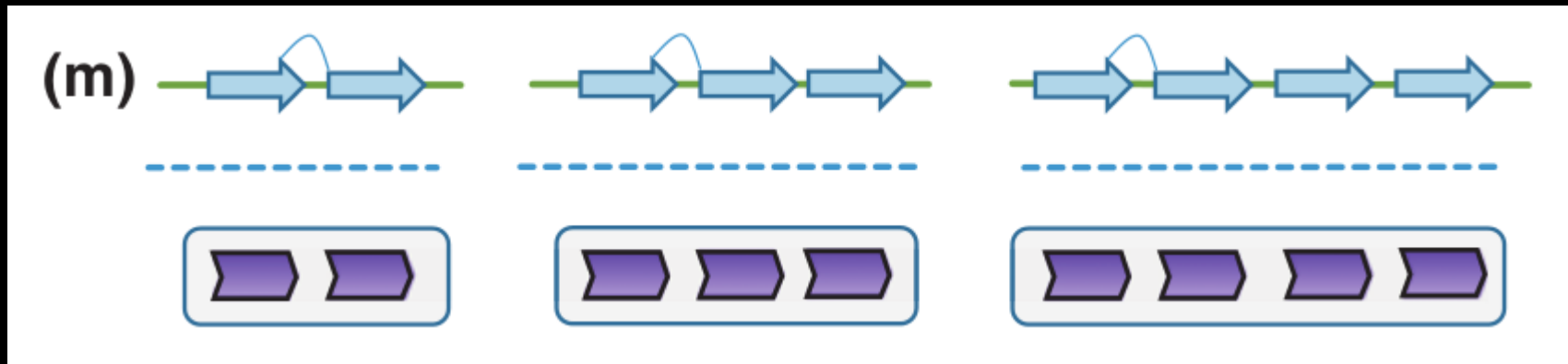
- Tripletové repetice
- Vzniká periodický úsek peptidu, jehož sekvence může být nadále měněna evolucí
- Často “intrinsically disordered domain” → ty poté mohou sloužit jako interakční domény (membrány, ostatní proteiny)



Mechanismy modifikace genů

Duplikace stávajících domén

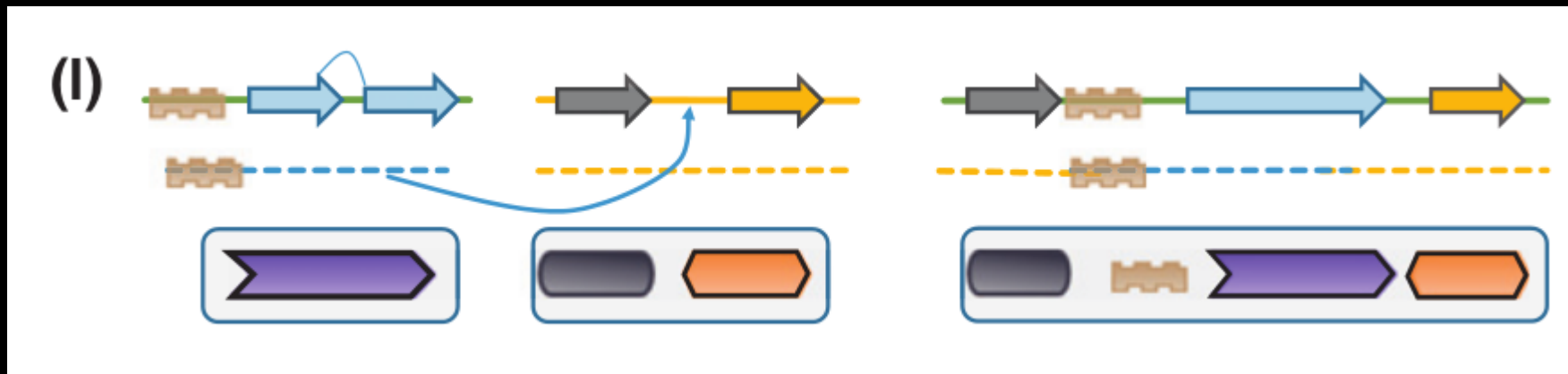
- Velmi často je pozorována variabilita, zejména v repetitivních částech proteinu



Mechanismy modifikace genů

Retrotransposice

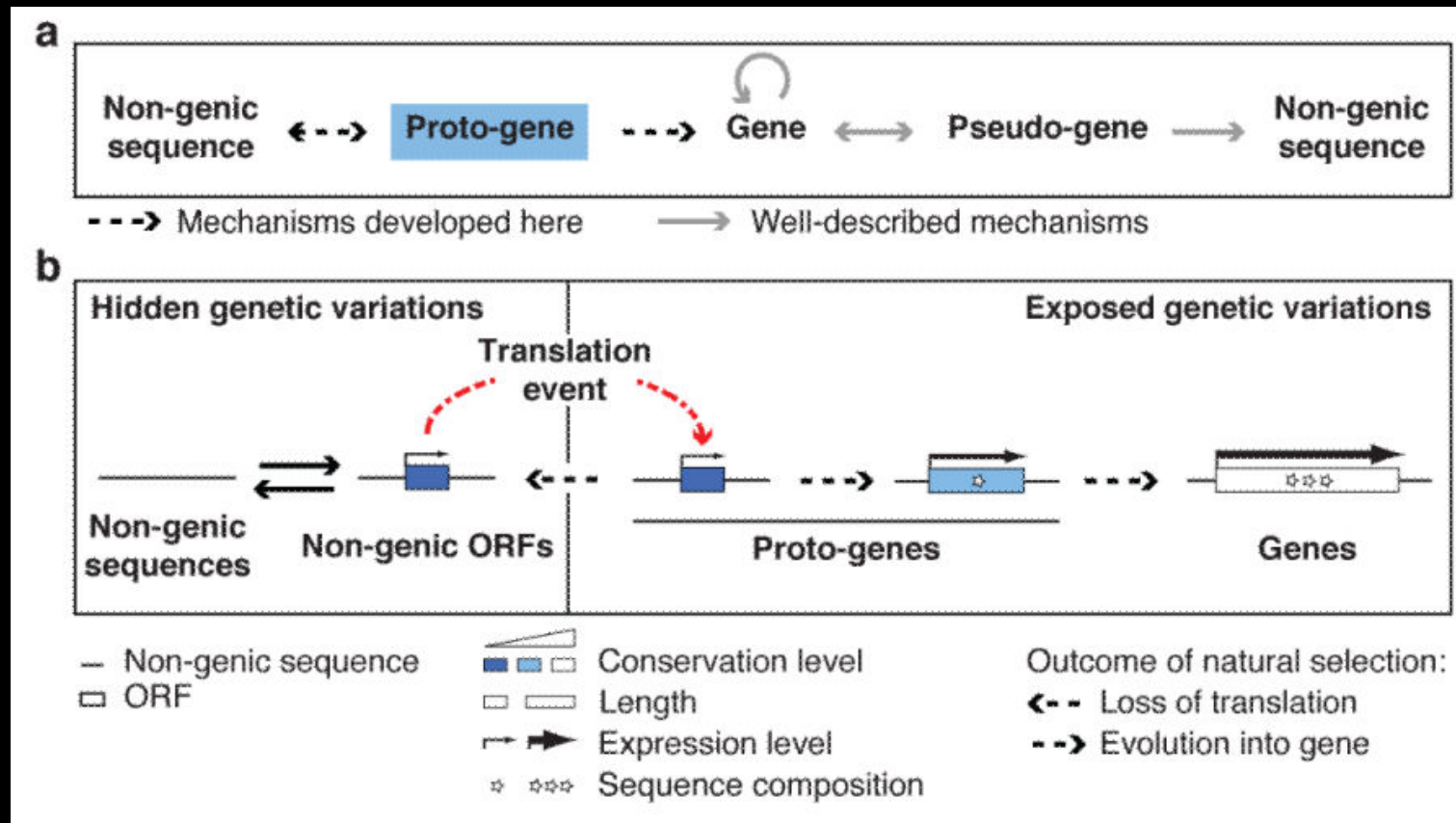
- ♦ mRNA stávajícího genu je reverzní transkripcí vložena do jiného genu
- ♦ V blízkosti původního genu musí ležet retrotransposom, který “ukradne” i sousední sekvenci



Orphan genes

- Unikátní geny na nízké taxonomické úrovni
- U sekvenovaných druhů 20-50 % orphan genes (i v případě blízkých druhů stále na úrovni několika procent)
- Může to být občas artefakt programu BLAST při hledání homologie

U kvasinky bylo popsáno asi 2000 krátkých ORF, které jsou slabě exprimovány



Gene knock-out paradox

- ♦ V laboratorních podmínkách je až 80% genů postradatelných
→ proč jsou geny přítomny? Proč jsou sekvenčně konzervovány?
- ♦ Organismy vykazují zřejmě velkou redundanci signálních drah
→ robustnost vůči mutacím, větší potenciál pro evoluci
- ♦ Potřebnost genů se projevuje až pod selekčním tlakem
- ♦ I ztráta genů je evoluční mechanismus, který byl podhodnocovaný





Mechanismus vzniku nových genů a zkoumání jejich evoluce na úrovni jednotlivých druhů je nejaktuálnější téma genomiky



Za okamžik PRODUKCE DŘEVA