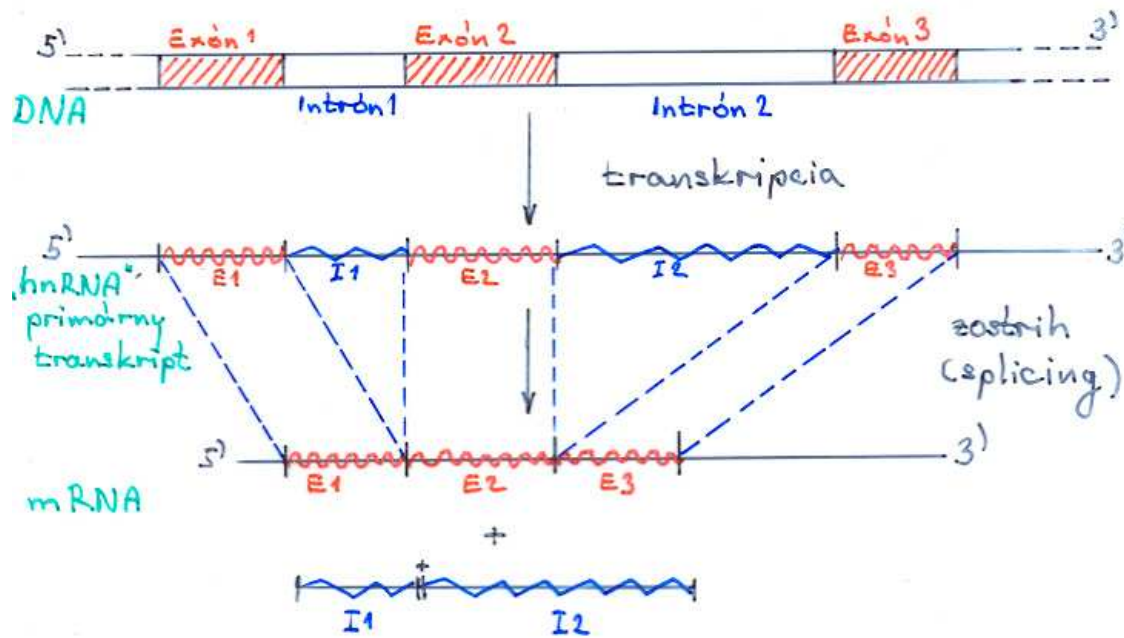


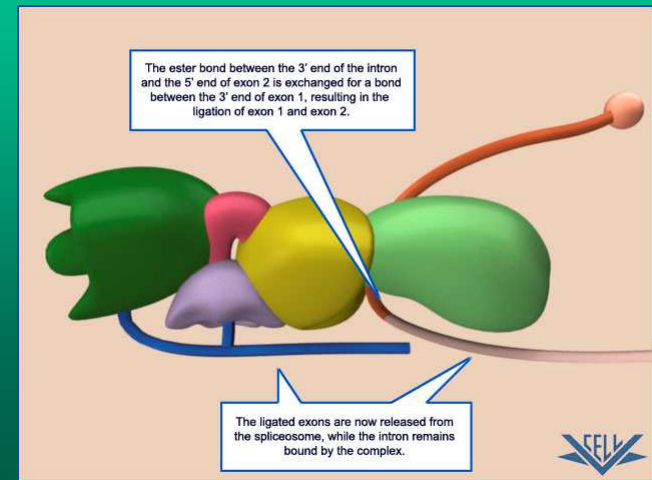
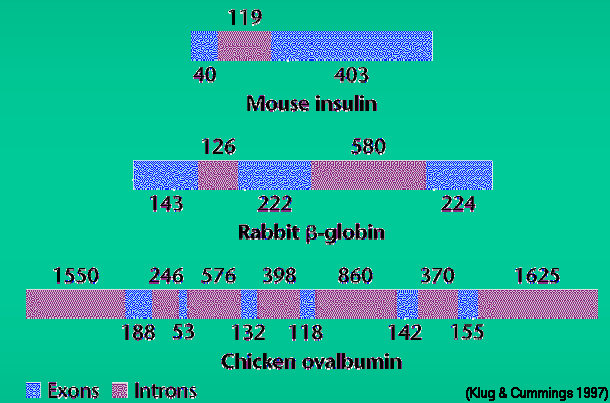
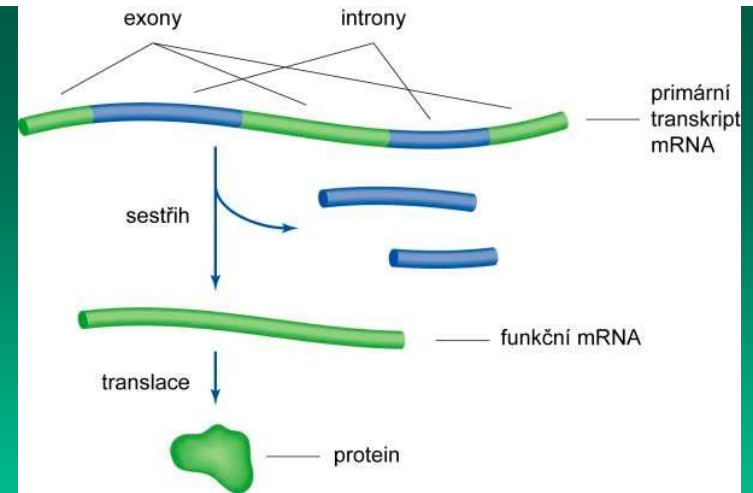
Evolúcia zápisu genetickej informácie

r 1977 - objav intrónov v génoch jadra eukaryotických buniek

zápis genetickej informácie nie je súvislý, ale preržitý, mozaikovitý



Obr. Štruktúra eukaryotického génu a jeho prepis do RNA



Otázka pôvodu a evolúcie intrónov mimoriadne pritažlivá

spätosť s odpoveďou na otázku:

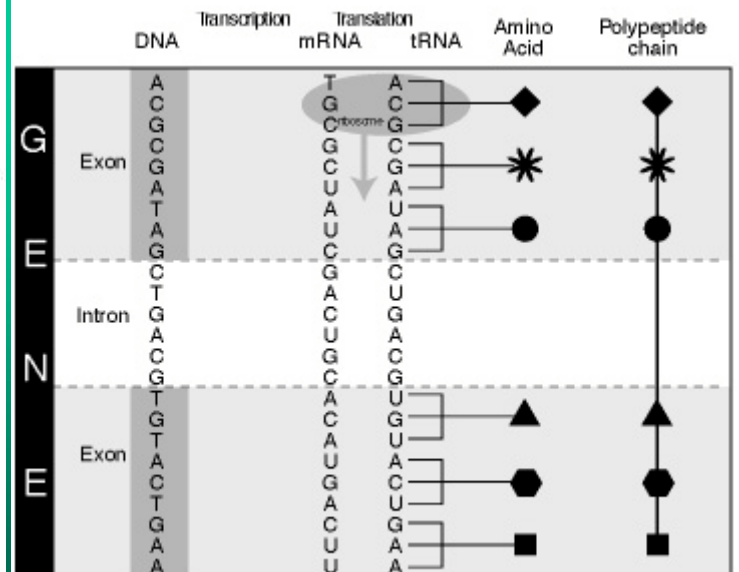
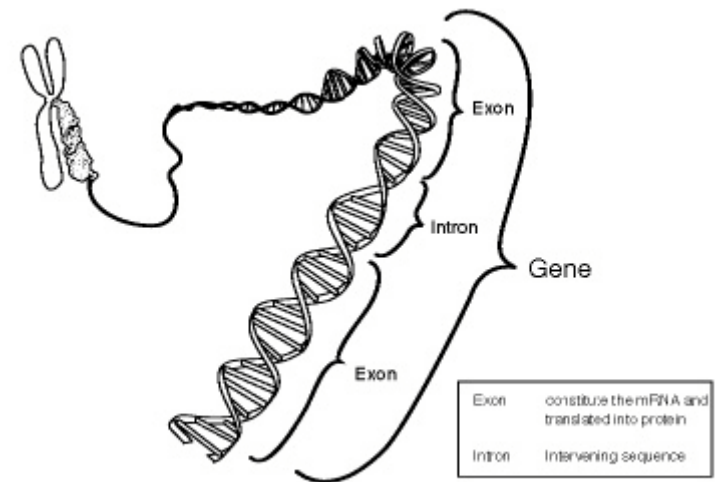
ktorá z foriem organizácie genetického materiálu - eukaryotická (exóny + intróny) alebo - prokaryotická (bez intrónov) je starobylejšia, resp. pôvodná, a ktorá je mladšia, odvodená?

Intróny ① "molekulové fosílie" alebo ② "sebecká DNA" ?

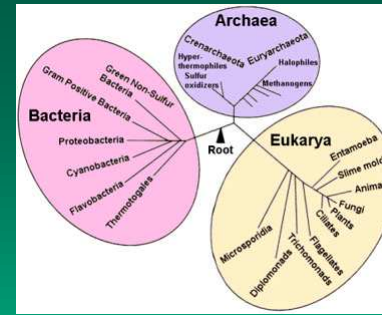
① intróny starobylé, už v prvotných génoch; v súčasnosti predstavujú molekulové relikty

② intróny relatívne mladé, nová črta organizácie genetického materiálu, v prvotných génoch sa nenachádzali; predstavujú mobilné sekvencie nukleotidov

? je možná syntéza oboch prístupov



Primárne vyvojové línie života (Archaea, Bacteria, Eucarya) divergovali pravdepodobne ešte v období pred definitívnym vyriešením otázky efektívnej organizácie a expzie genetického materiálu



Intróny hojné u eukaryotov
 nezmieška u archeobaktérií
 výnimočne u eubaktérií (hojné mtDNA a ctDNA)

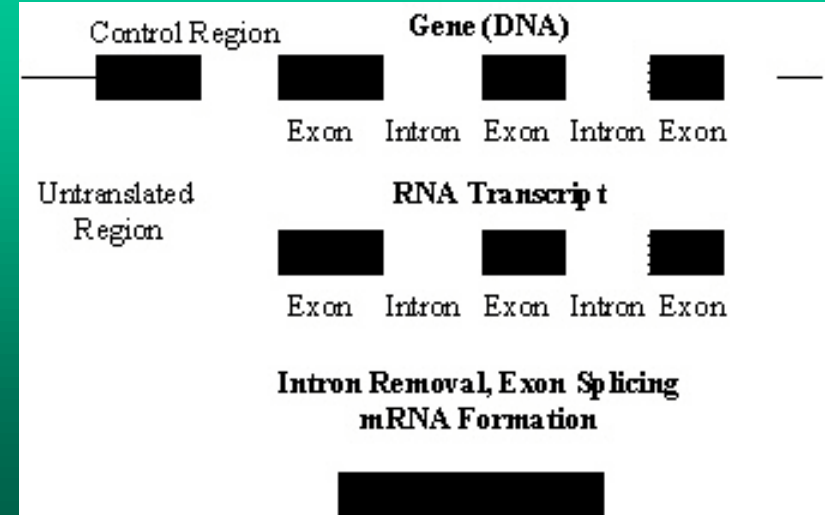
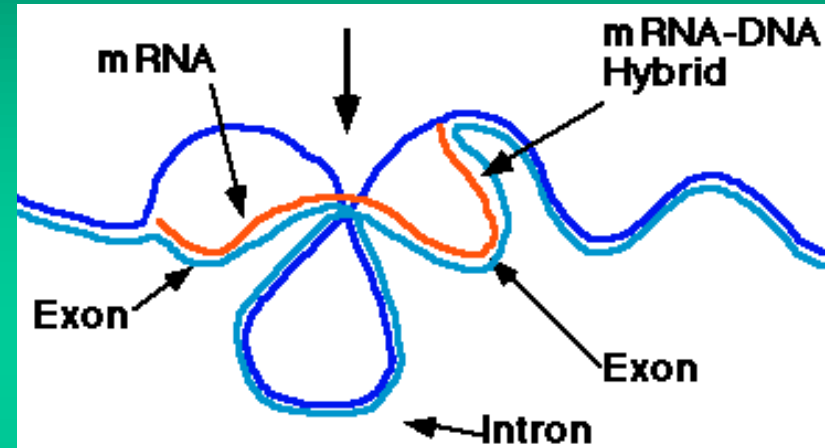
? eubaktérie nastúpili cestu maximálnej ekonomizácie usporiadania genómu (za účelom zvyšovania rýchlosti replikácie) a vypustili pôvodne nadbytočné úseky DNA = intróny starobylé, pôvodné

opäť intróny spravidla neprítomné u eubaktérií no veľmi hojné v genóme chloroplastov a mitochondrií (súvisnosťou mtDNA živočíchov)

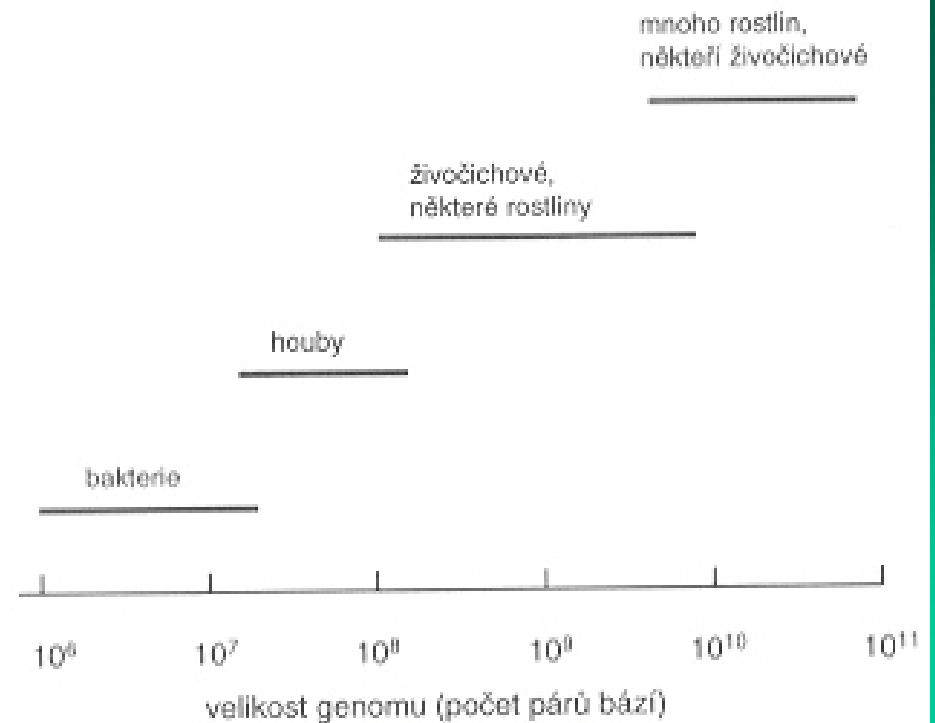
- intróny historicky mladé, nadobudnuté

v prvotných genoch sa nenachádzali

(Cavalier-Smith 1985)

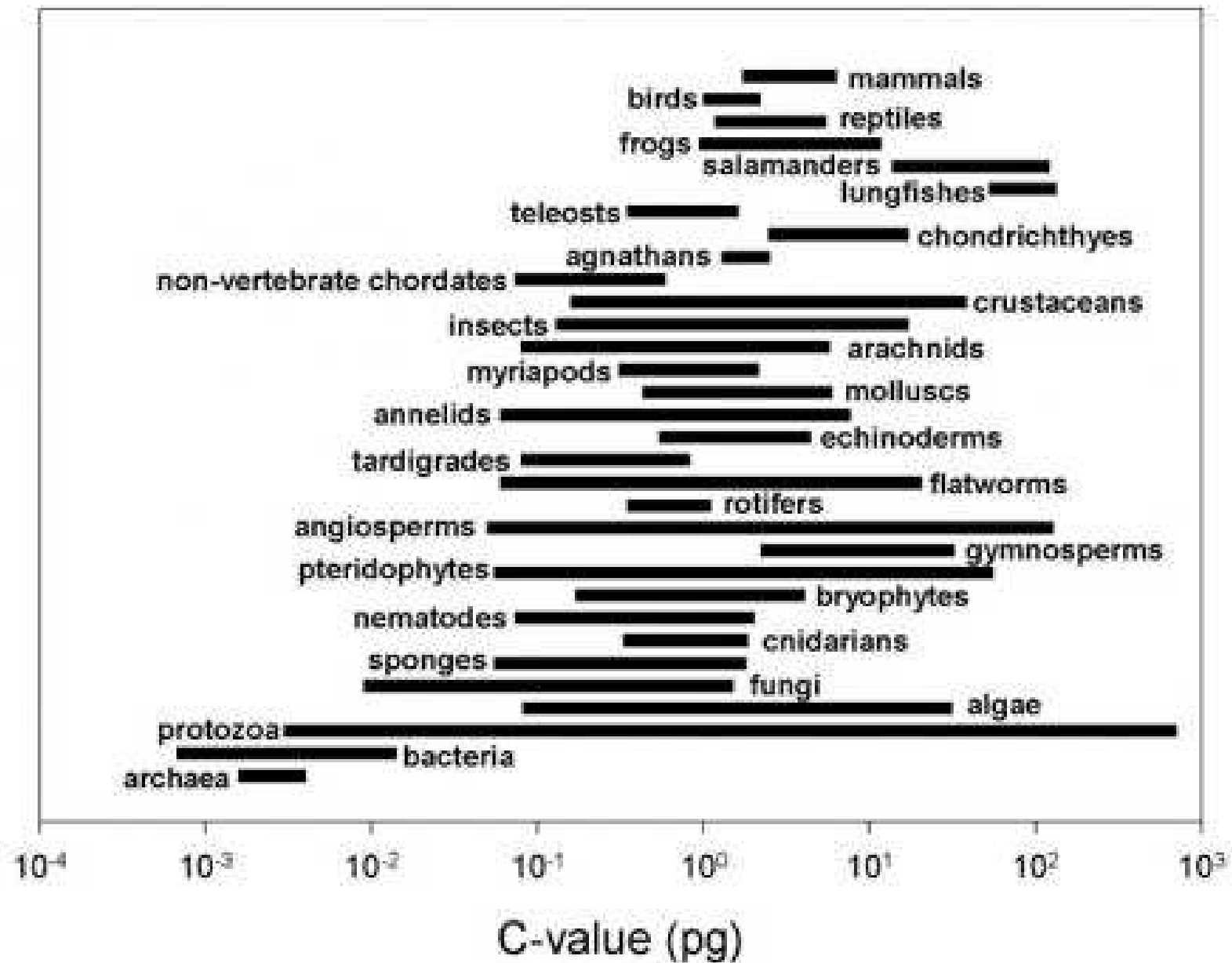


Obr. VI.3 Obsah DNA v jednotlivých skupinách organismů. Jednotlivé taxony organismů se mezi sebou výrazně liší průměrným obsahem DNA v jádře. I v rámci jednoho taxonu ovšem existují mezi relativně příbuznými druhy velké rozdíly. Není například jasné, proč většina rostlin má podstatně více DNA než většina živočichů ani proč některé druhy ryb a ocasatých obojživelníků mají řádově více DNA než druhy jiné. Na horizontální ose grafu je použito logaritmické měřítko.



GENOME SIZE VARIATION AND THE C-VALUE PARADOX

The genome size of an organism is defined as the amount of DNA in the haploid genomic set, such as that in the sperm nucleus. It is also commonly called the C value, where C stands for “constant” or “characteristic,” to denote the fact that the size of the haploid genome is fairly constant within any one species. In contrast, C values vary widely among species in both prokaryotes and eukaryotes. Large genomes such as the nuclear genomes of eukaryotes are usually measured in picograms (pg) of DNA ($1 \text{ pg} = 10^{-12}\text{g}$), whereas small genomes such as the genomes of bacteria and viruses are more commonly measured in base pairs (bp) or kilobase pairs (Kb) or in daltons. For convenience, we shall use mainly the unit of one million base pairs (Mb) because most genome sizes are larger than 1 Mb and because this unit is now commonly used in the human genome project. The conversion factors are $1 \text{ pg} \approx 0.98 \times 10^9 \text{ bp} = 980 \text{ Mb}$ and $1 \text{ dalton} \approx 1.62 \times 10^{-3} \text{ bp}$.



Charakteristika předpovězených kódujících sekvencí (ORF) v sekvencovaných genomech

Organismus	VELIKOST GENOMU (Mbp)	CELKOVÝ POČET ORF	NEZNÁMÁ FUNKCE (%)	JEDINEČNÉ ORF (%)
<i>Archaoglobus fulgidus</i>	2.18	2437	1315 (54)	641 (26)
<i>Methanobacterium thermotautotrophicum</i>	1.75	1855	1010 (54)	496 (27)
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1.66	1749	1076 (62)	525 (30)
<i>Pyrococcus horikoshii</i>	1.74	2061	859 (42)	453 (22)
<i>Aquifex aeolicus</i>	1.50	1521	663 (44)	407 (27)
<i>Bacillus subtilis</i>	4.20	4100	1722 (42)	1053 (26)
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1.44	1751	1132 (65)	682 (39)
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1.23	1073	437 (40)	186 (17)
<i>C. trachomatis</i>	1.04	894	290 (32)	255 (28)
<i>Deinococcus radiodurans</i>	3.28	3193	1515 (47)	1001 (31)
<i>Escherichia coli</i>	4.60	4288	1632 (38)	1114 (26)
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.83	1692	592 (35)	237 (14)
<i>Helicobacter pylori</i>	1.66	1657	744 (45)	539 (33)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4.41	3924	1521 (39)	606 (15)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0.58	470	173 (37)	7 (2)
<i>Mycobacterium pneumoniae</i>	0.81	677	248 (37)	67 (10)
<i>Rickettsia prowazekii</i>	1.11	834	311 (38)	207 (25)
<i>Synechocystis sp.</i>	3.57	3168	2384 (75)	1426 (45)
<i>Thermotoga maritima</i>	1.86	1877	863 (46)	373 (20)
<i>Treponema pallidum</i>	1.14	1040	461 (44)	28 (27)
CELKEM	41.6	40,261	18,948 (47)	10,303 (26)

U prokaryotických organismů jeden gén (ORF) pozostává z cca 1000 bp ~50% ~25%
Paradox hodnoty C u prokaryontů neplatí

TABLE 13.3 C values from eukaryotic organisms ranked by size

<i>Species</i>	<i>C value (kb)</i>
<i>Navicola pelliculosa</i> (diatom)	35,000
<i>Drosophila melanogaster</i> (fruitfly)	180,000
<i>Paramecium aurelia</i> (ciliate)	190,000
<i>Gallus domesticus</i> (chicken)	1,200,000
<i>Erysiphe cichoracearum</i> (fungus)	1,500,000
<i>Cyprinus carpio</i> (carp)	1,700,000
<i>Lamprera planeri</i> (lamprey)	1,900,000
<i>Boa constrictor</i> (snake)	2,100,000
<i>Parascaris equorum</i> (roundworm)	2,500,000
<i>Carcarias obscurus</i> (shark)	2,700,000
<i>Rattus norvegicus</i> (rat)	2,900,000
<i>Xenopus laevis</i> (toad)	3,100,000
<i>Homo sapiens</i> (human)	3,400,000
<i>Nicotiana tabaccum</i> (tobacco)	3,800,000
<i>Paramecium caudatum</i> (ciliate)	8,600,000
<i>Schistocerca gregaria</i> (locust)	9,300,000
<i>Allium cepa</i> (onion)	18,000,000
<i>Coscinodiscus asteromphalus</i> (diatom)	25,000,000
<i>Lilium formosanum</i> (lily)	36,000,000
<i>Amphiuma means</i> (newt)	84,000,000
<i>Pinus resinosa</i> (pine)	68,000,000
<i>Protopterus aethiopicus</i> (lungfish)	140,000,000
<i>Ophioglossum petiolatum</i> (fern)	160,000,000
<i>Amoeba proteus</i> (amoeba)	290,000,000
<i>Amoeba dubia</i> (amoeba)	670,000,000

Compiled by Li and Graur (1991) from Cavalier-Smith (1985), Sparrow et al. (1972), and other references. The C value for humans is highlighted for reference.

3.3.1 Species differ in genome size and gene number

One of the first indications that genomes are highly flexible entities was the finding that their sizes can vary greatly between species. This can be quantified as the amount of DNA per haploid genome, called the **C-value** (Fig. 3.18). Variation here can be dramatic: for instance, there is approximately 200 times more DNA in the protist *Amoeba dubia* (670 000 000 kb) than in humans (3 300 000 kb). C-values also vary within taxonomic groups: while there is only a twofold variation in genome size among mammalian species (the largest known genome is found in the aardvark, the smallest in a Muntjak deer), there is a tenfold variation within anuran amphibians (frogs and toads), at least a hundredfold variation between insects, and an enormous 350-fold variation among bony fish. The puzzle for evolutionary biologists is that the

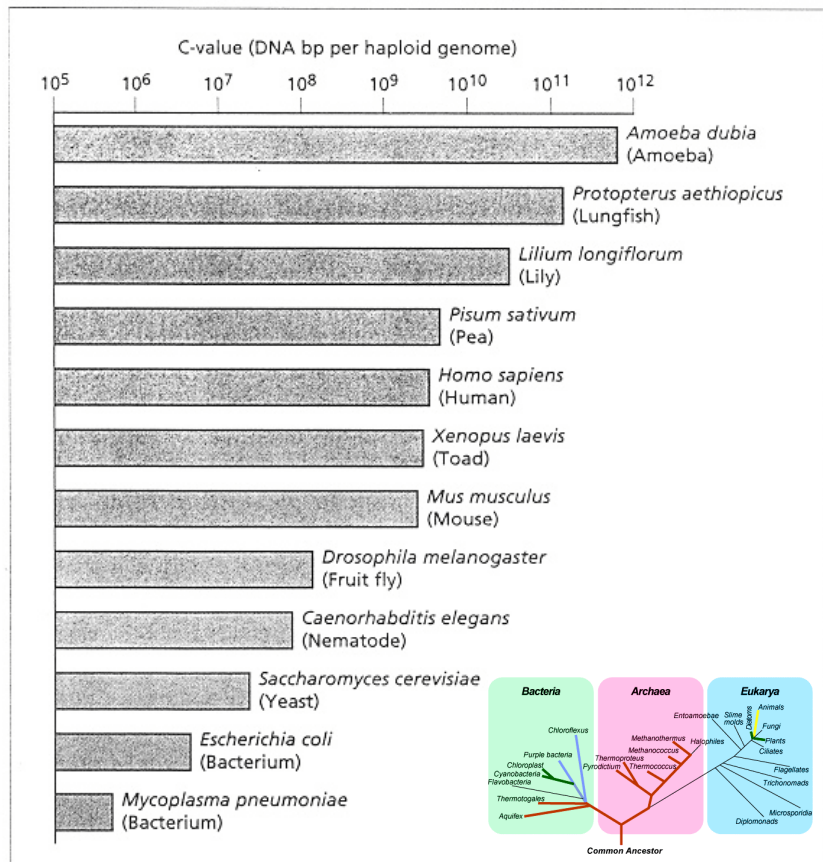


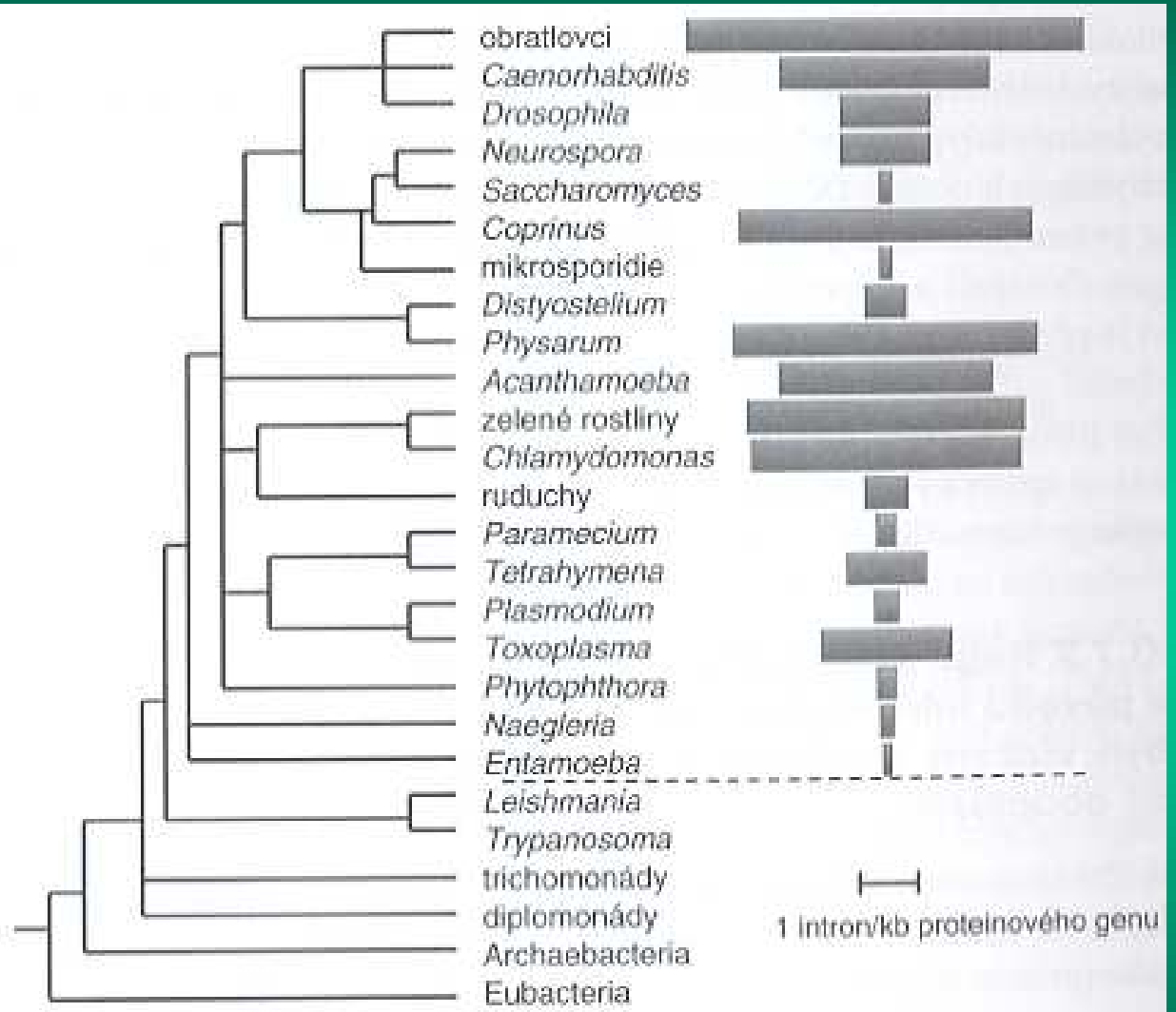
Fig. 3.18 DNA contents (C-values) for various organisms. Note the log scale! Data from Kendrew (1994) and updated with Li (1997).

TABLE 13.2 Range of C values in various eukaryotic groups of organisms

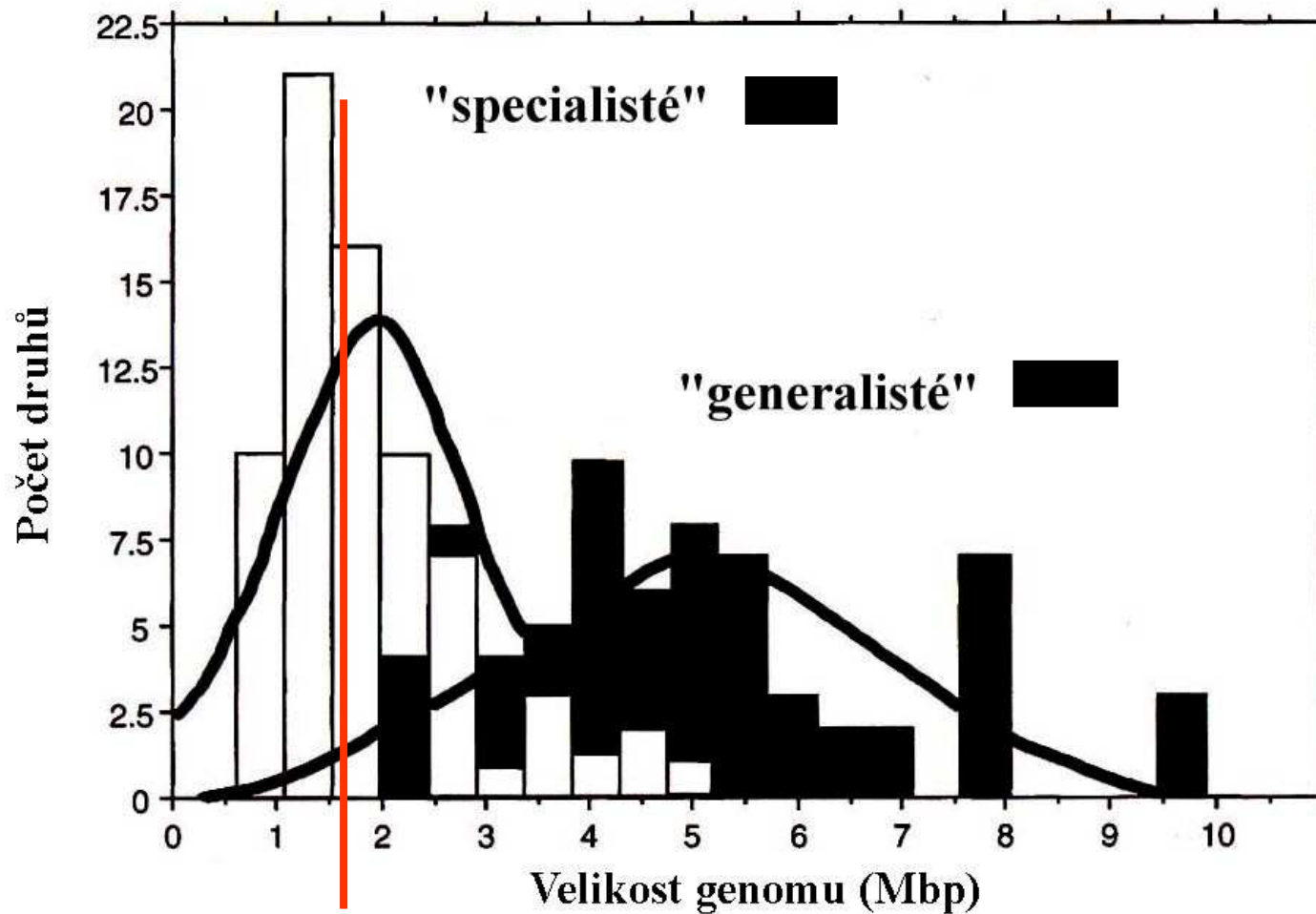
	Genome size range (kb)	Ratio (highest/lowest)
Protists	23,500–686,000,000	29,191
Euglenozoa	98,000–2,350,000	24
Ciliophora	23,500–8,620,000	367
Sarcodina	35,300–686,000,000	19,433
Fungi	8,800–1,470,000	167
Animals	49,000–139,000,000	2,837
Sponges	49,000–53,900	1
Annelids	882,000–5,190,000	6
Molluscs	421,000–5,290,000	13
Crustaceans	686,000–22,100,000	32
Insects	98,000–7,350,000	75
Echinoderms	529,000–3,230,000	6
Agnathes	637,000–2,790,000	4
Sharks and rays	1,470,000–15,800,000	11
Bony fishes	382,000–139,000,000	364
Amphibians	931,000–84,300,000	91
Reptiles	1,230,000–5,340,000	4
Birds	1,670,000–2,250,000	1
Mammals	1,420,000–5,680,000	4
Plants	50,000–307,000,000	6,140
Algae	80,000–30,000,000	375
Pteridophytes	98,000–307,000,000	3,133
Gymnosperms	4,120,000–76,900,000	17
Angiosperms	50,000–125,000,000	2,500

Compiled by Li and Graur (1991) from Cavalier-Smith (1985) and other sources.

Obr. XI.6 Obsah intronů v genech různých taxonů. Šířka bloků v pravé části obrázku vyjadřuje počet spliceosomálních intronů na 1 kb kódující sekvence. U diplomonád, kinetoplastid (*Leishmania* a *Trypanosoma*) a trichomonád byly spliceosomální introny nalezeny pouze v několika málo genech, a to teprve nedávno. Fylogenetický strom založený především na sekvencích rRNA ještě může doznat výrazné změny. Upraveno podle Logsdona (1998).



Velikost genomu prokaryot



Paradox hodnoty C u prokaryontov neplatí

TOPOLOGIE PROKARYOTICKÉHO GENOMU

Replikony

CHROMOZOM

- kružnicový
- lineární

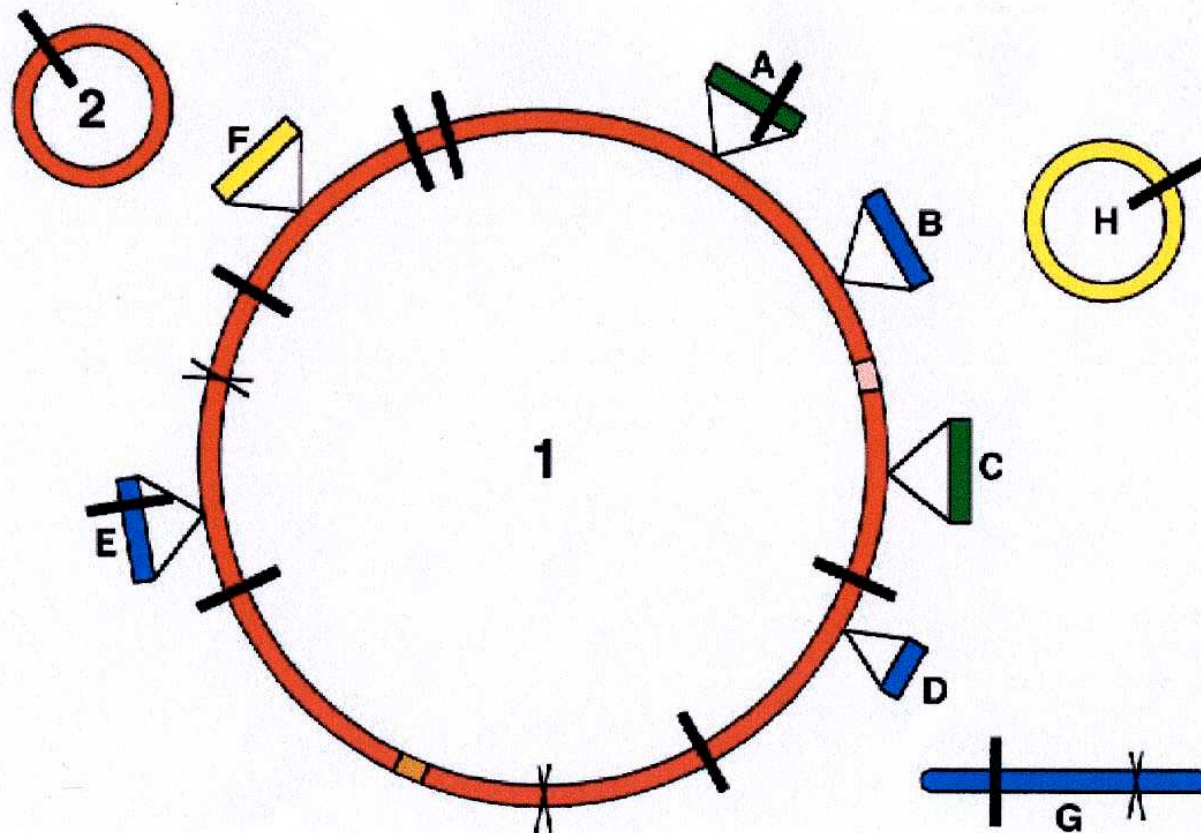
PLAZMIDY

- kružnicové
- lineární

DRUH	CHROMOZOMY		PLAZMIDY	
	KRUŽNICOVÉ	LINEÁRNÍ	KRUŽNICOVÉ	LINEÁRNÍ
<i>Escherichia coli</i>	1 (4,6 Mb)		několik	
<i>Bacillus cereus</i>	1 (5 Mb) 1 (2,4 Mb)		0 několik (2,6 Mb)	
<i>Vibrio cholerae</i>	2 (2,9+1,1 Mb)			
<i>Borrelia burgdorferi</i>		1 (0,9Mb)	9 (kb)	12 (kb)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	1 (2,8 Mb)	1 (2,1 Mb)	2 (0,75 Mb)	
<i>Streptomyces lividans</i>		1 (8 Mb)		1 (50 kb)

STRUKTURA PROKARYOTICKÝCH GENOMŮ

Mozaikový charakter

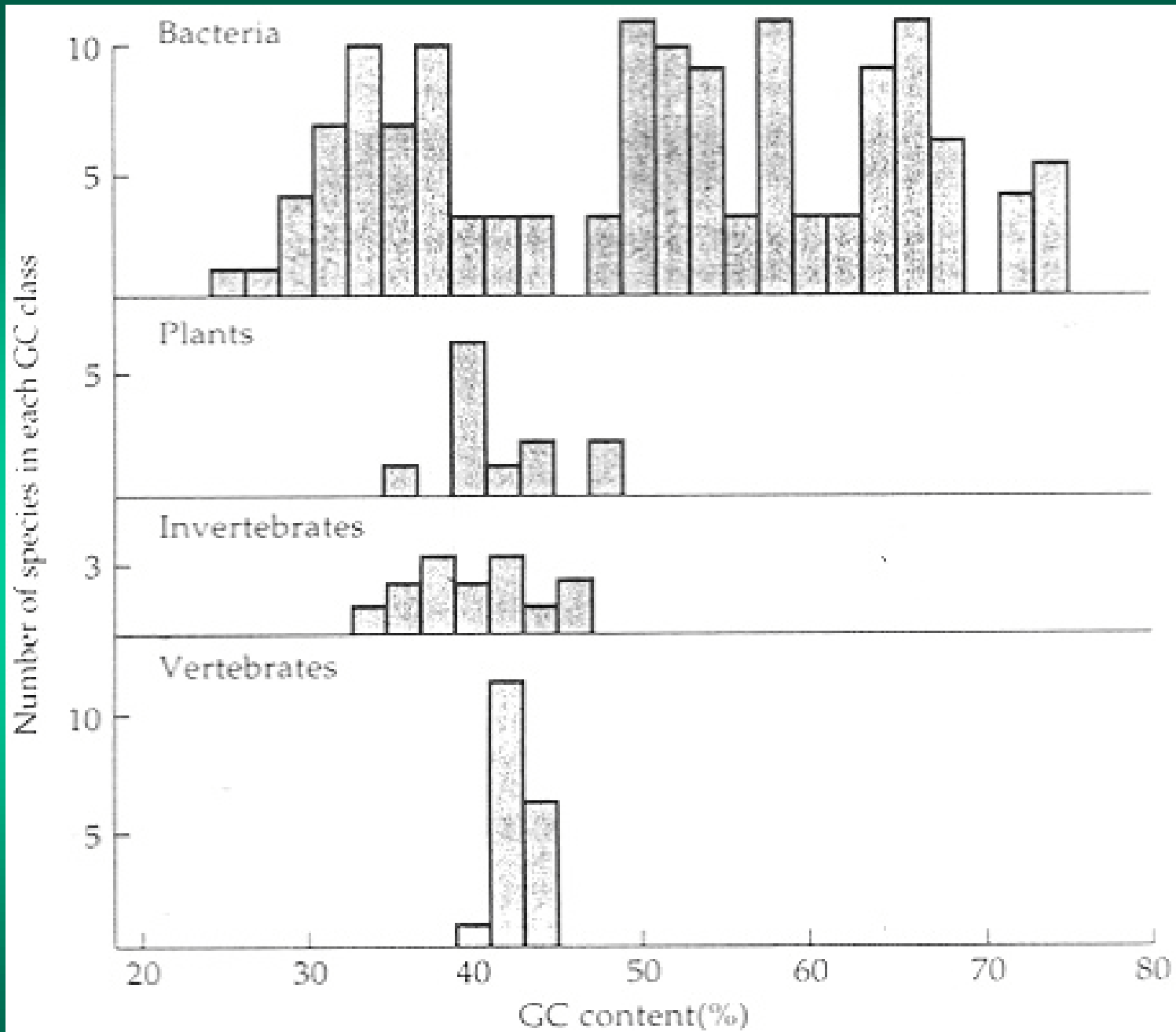


Endochromozomy (1,2)

Přidatné genetické elementy (A-H)

- Plazmidy (H, F)
- Profágy a defektní profágy (B, D, E, G)
- Genomické ostrovy (A, C)
- IS-elementy, transpozony, integrony (I)





GC composition in different groups of organisms. From Sueoka (1964).

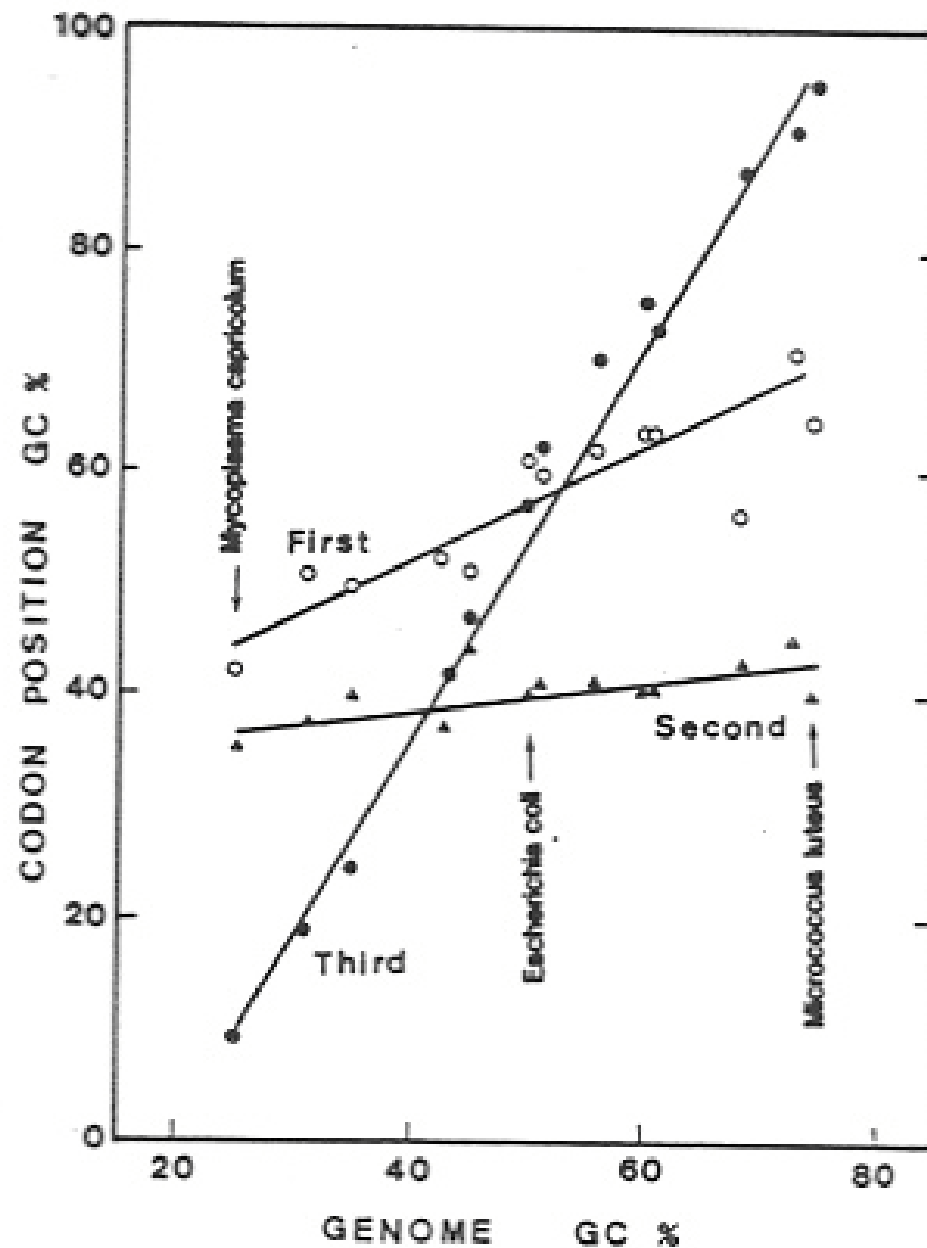
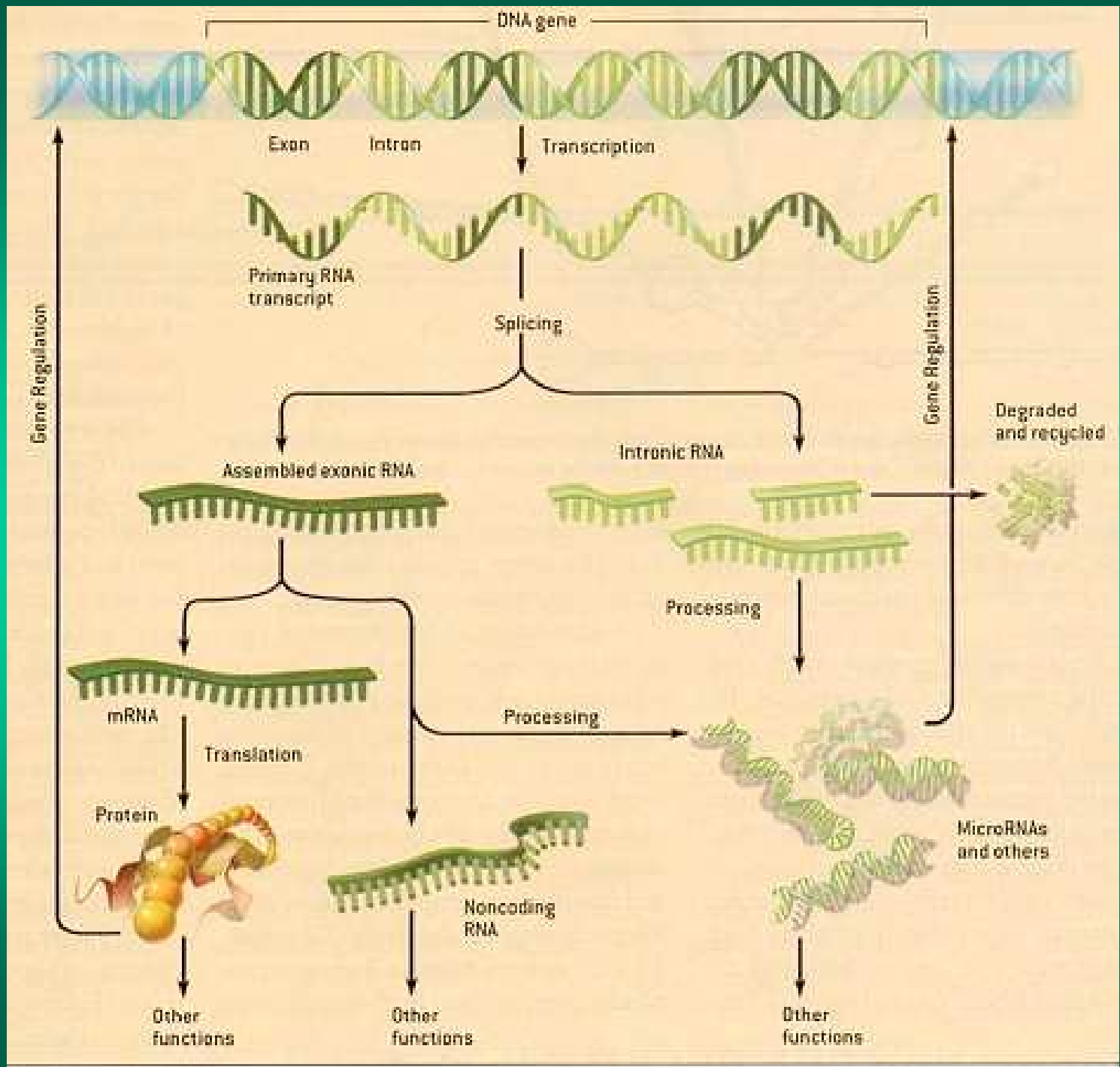


FIG. 2. Correlation of the G+C content between total genomic DNA and the first, second, and third codon positions. Modified from reference 160 with permission.



objav tzv. **samozastrihu RNA (self-splicing)**

- ďalšie umocnenie zlozujmu o intróny
- spontánne vystrihnutie intrónu v jadre kódujúcej rRNA u *Tetrahymena thermophila* (1982)

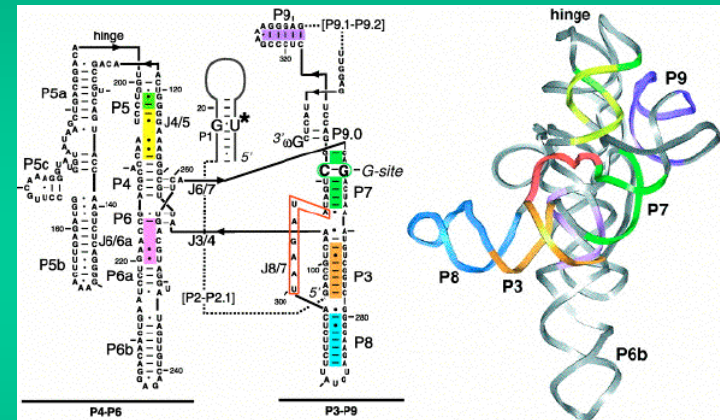
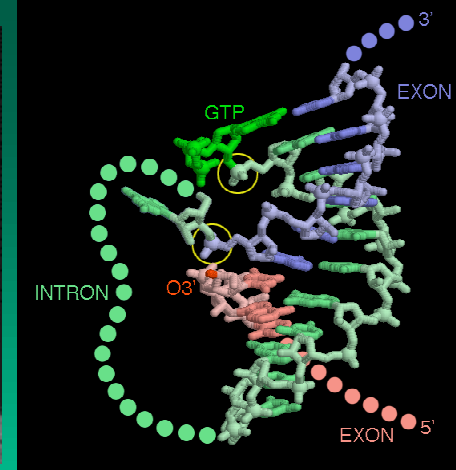
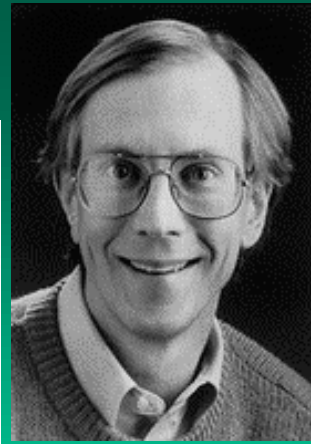
- primárny transkript je schopný autokatalytickej excízie vlastného intrónu (sprevádzanej ligáciou) bez potreby nejakeho proteínu.

Cech } 1983-86 → 1989 Nobelová cena (ch)

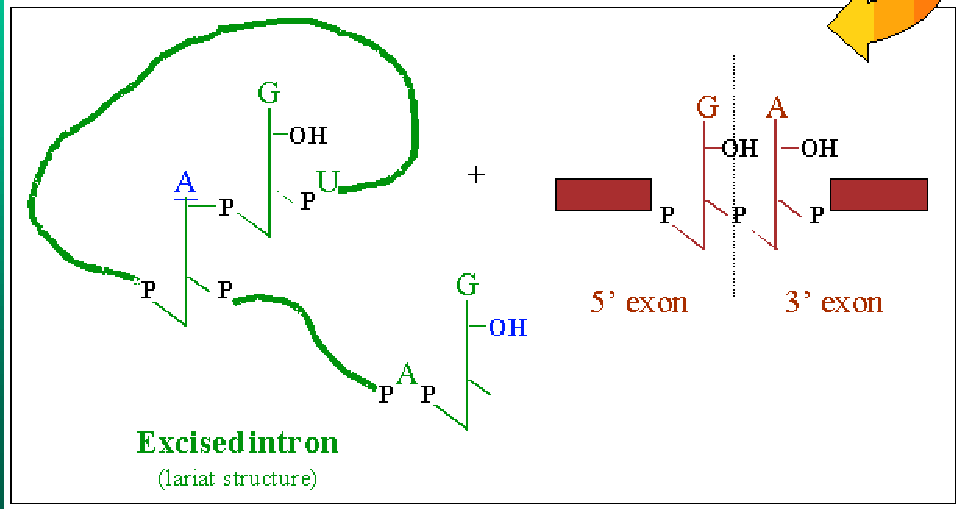
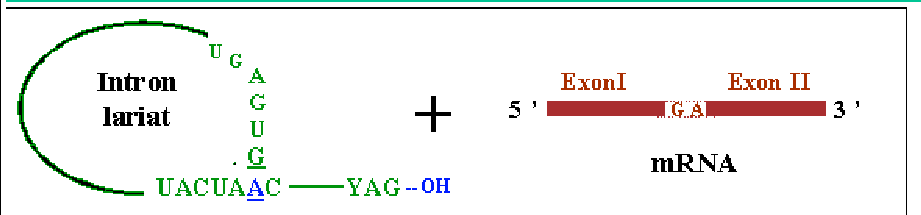
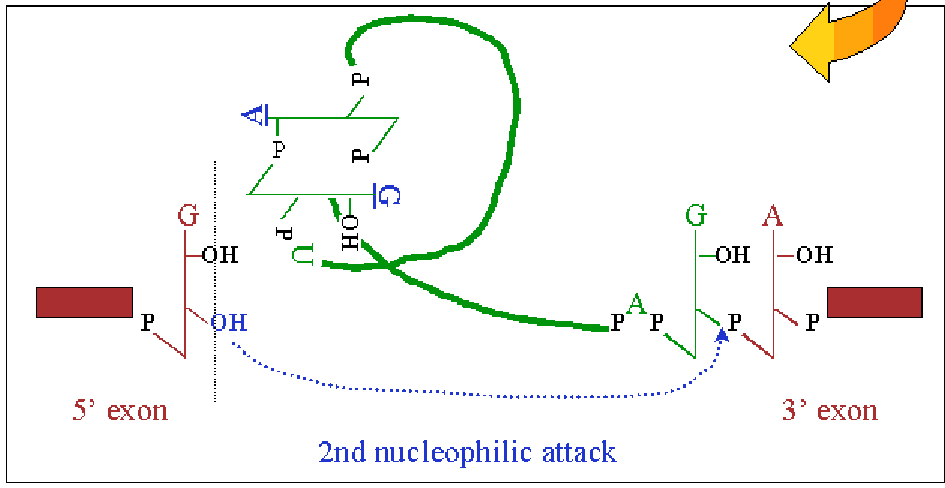
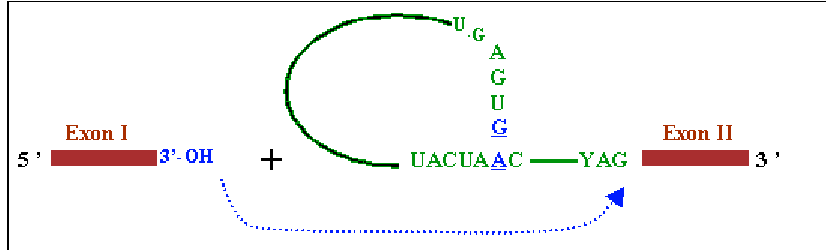
Sharp } 1977 → 1994 -//-

- objav autokatalytického potenciálu RNA
- RNA by mohla predstavovať prvopočiatočnú nukleovú kyselinu - primárneho nositeľa genetickej informácie v akomsi predunkovom

"**Svete RNA**" - **The RNA World** (Gilbert) 1986



2



INTRONY a expresia génuv

I RNA intróny "RNA splicing" - pre-translácia
+ rRNA a tRNA intróny

Ⓐ intróny vyštepované z RNA špecifickými endonukleázami - nezávisle na štruktúre intrónu, ale s ohľadom na štruktúru exónov (malé intróny ≤ 50 bp z tRNA génuv jadra ? tRNA a rRNA génuv archaebaktérií)

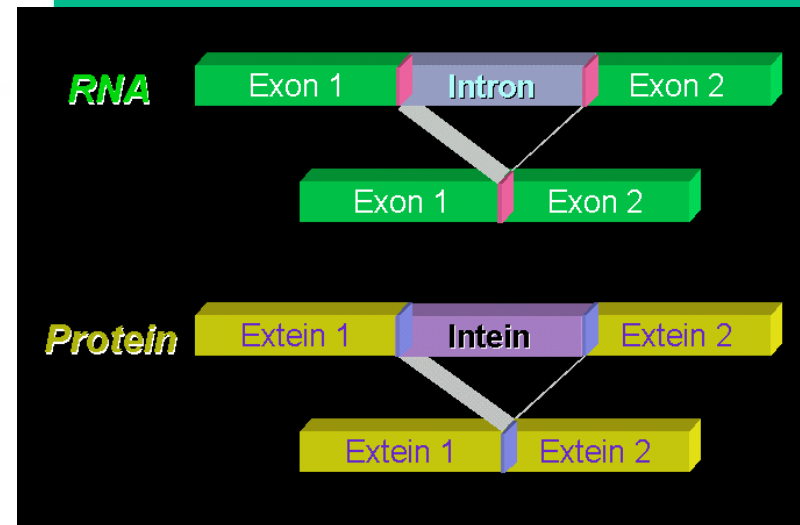
Ⓑ intróny vyštepované v závislosti od štruktúry, resp. konštantne umiestnených nukleotidov v samotnom intróne

a) intróny jadrových pre-mRNA

štruktúrované intróny { b) intróny skupiny I
c) intróny skupiny II (+III)

II Inteiny - proteínové intróny "Protein splicing" - post-translácia
intróny sú vyštepované na úrovni proteínu

III Translačné intróny "bypassing" - translácia
intróny nie sú vyštepované, nedochádza k zotrhu mRNA
translačná mašineria obchádza proteínové sekvencie nukleotidov v mRNA



Stručný náčrt klasifikácie intrónov:

kritérium najmä primárna a sekundárna štruktúra a mechanizmus vyštiepovania

(A) - izolovaná skupina - malé intróny (kratsie ako 50bp) z tRNA génov jadra (azda aj tRNA a rRNA gény archeobaktérii)

- vyštiepovanie intrónu špecifickými endonukleázami nezávisle na štruktúre intrónu, ale s ohľadom na štruktúru exónov

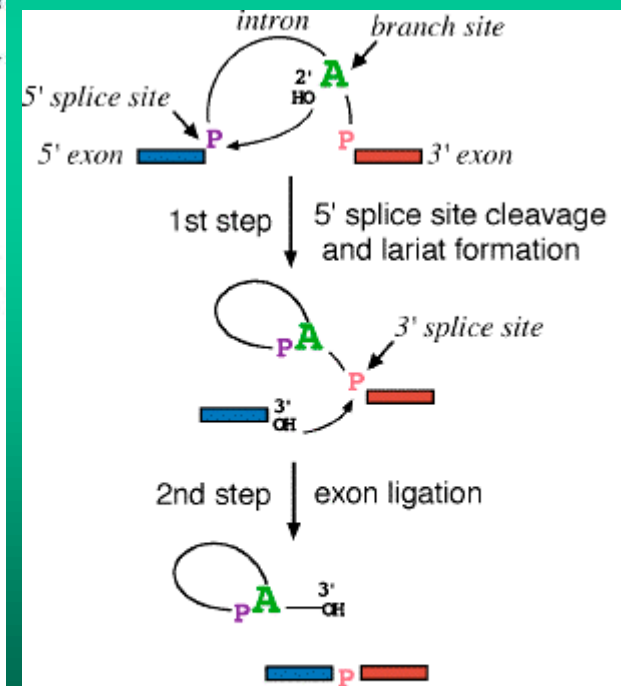
(B) - "štrukturované intróny" (b, c) - navzájom evolučne príbuzné

- vyštiepovanie intrónu závisí práve od štruktúry samotného intrónu (± ďalšie kofaktory)

- mechanizmus - séria transesterifikačných reakcií

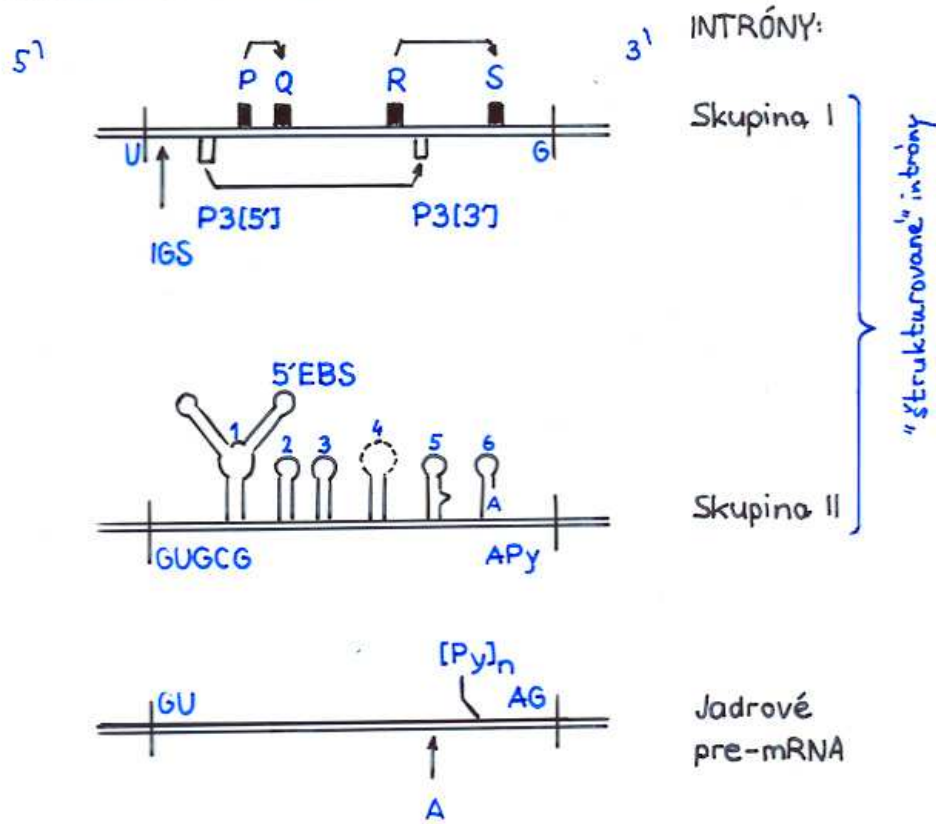
a) intróny jadrových pre-mRNA
konštantné dinukleotidy na koncoch
5'-GU...AG-3'

zopár ďalších invariantných nukleotidov (Py)_n, A, no štandardne špecifické štruktúry



Chemical mechanism of intron excision by the spliceosome and group II introns.

Štruktúra intrónov

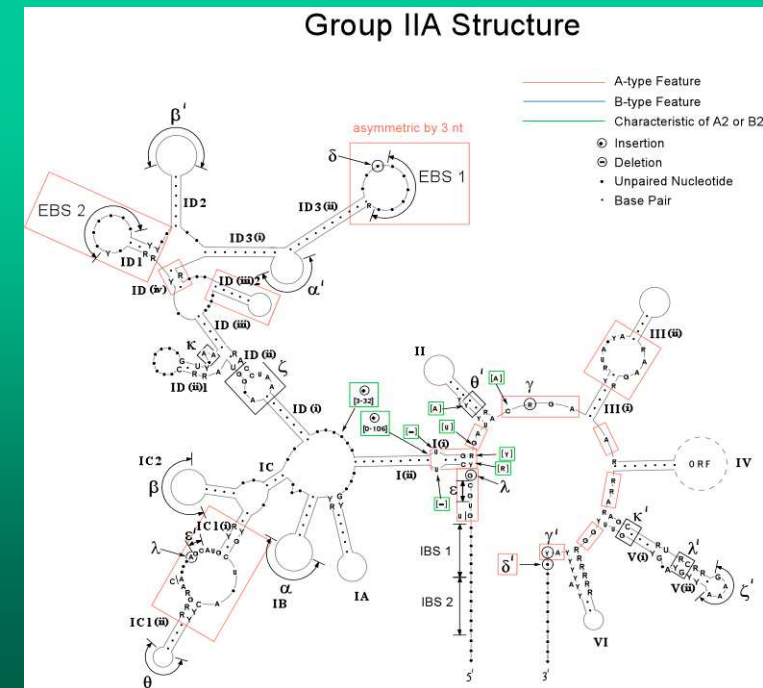
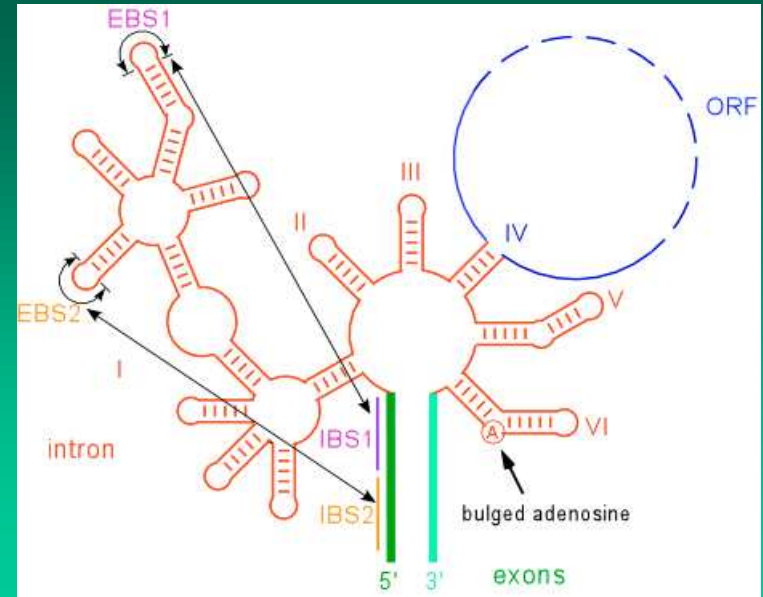


znárodná je poloha konštantných nukleotidov, resp. celých sekvencií nukleotidov, ktoré sú vysoko konzervatívne ako svojou polohou (všetky označené miesta či útvary), tak niektoré z nich aj svojou primárnou štruktúrou. (P, Q, R, S)

šípky naznačujú párovanie báz medzi príslušnými úsekmi intrónov

IGS - vnútorná riadiaca sekvencia - párovanie s predchádzajúcim exónom

5'EBS - miesto pre naviazanie exónu nasledujúceho za príslušným intrónom

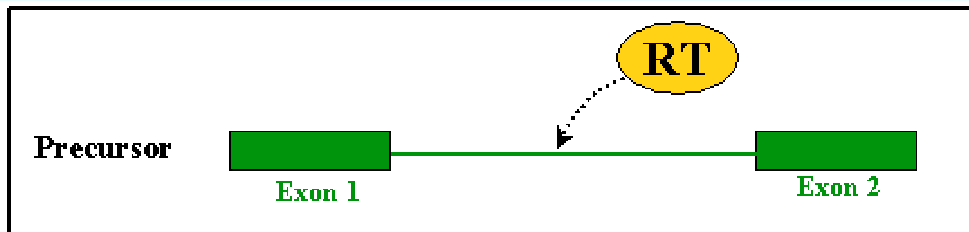


Intróny skupiny I a II (III) - štrukturované intróny
⑥ ③

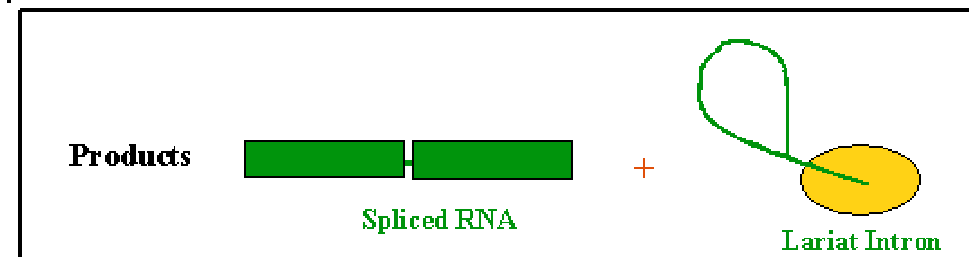
okrem typickej sekundárnej štruktúry
aj hojnosť otvorených čítacích rámcov (ORF)
kódujúcich bielkoviny = funkcia

- i) maturázy ("splicázy) - stabilizácia vhodnej sekundárnej štruktúry RNA pri jej zostrihu (nepredstavujú enzýmy v pravom zmysle slova)
- ii) transpozázy s endonukleázovou aktivitou - transpozícia intrónov
- iii) reverzné transkriptázy - odstránenie intrónu priamo z DNA
- iv) DNA rekombinázy - homologická rekombinácia v exónoch iných génov

1



2



Intróny zo skupiny III - zjednodušená verzia intrónov zo skupiny II

zachované len reziduá nukleotidov U a G v pozícii 2 a 5 na 5' konci intrónu a doména č. 6 na 3' konci

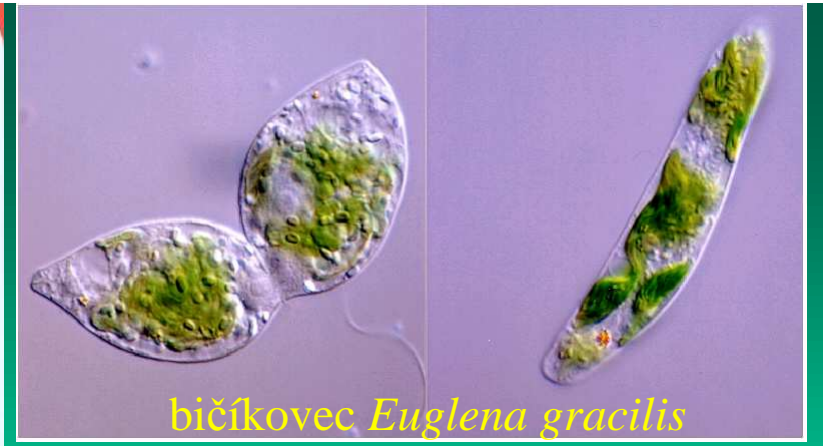
predstavujú azda evolučný medzistádok medzi intrónmi zo skupiny II a intrónmi jadrových pre-mRNA

duojintróny (twintrons) - intróny v intrónoch homogénne či zmiešané z intrónov skupiny II a III

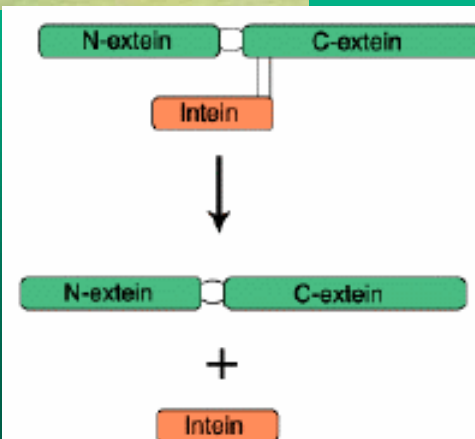
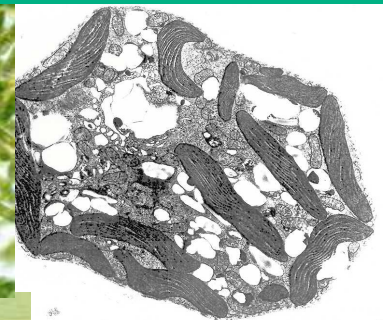
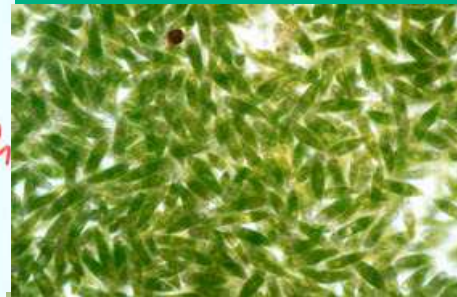
⇒ veľmi dlhé intróny pravdepodobne pozostávajú z viacerých intrónov a ich excízia je postupná - v prvom kroku je vyštiepovaný vnútorný intrón

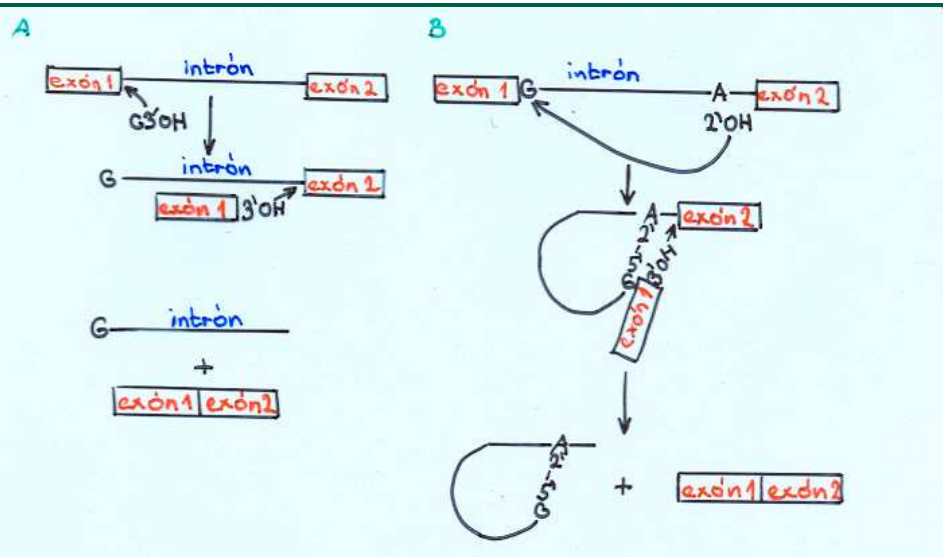
duojintróny hojnú v chloroplastovom genóme bičkovca *Euglena gracilis*

inteíny - intróny vyštiepované na úrovni proteínu
viaceré z nich nájdené v prokaryotických genómoch



bičkovec *Euglena gracilis*



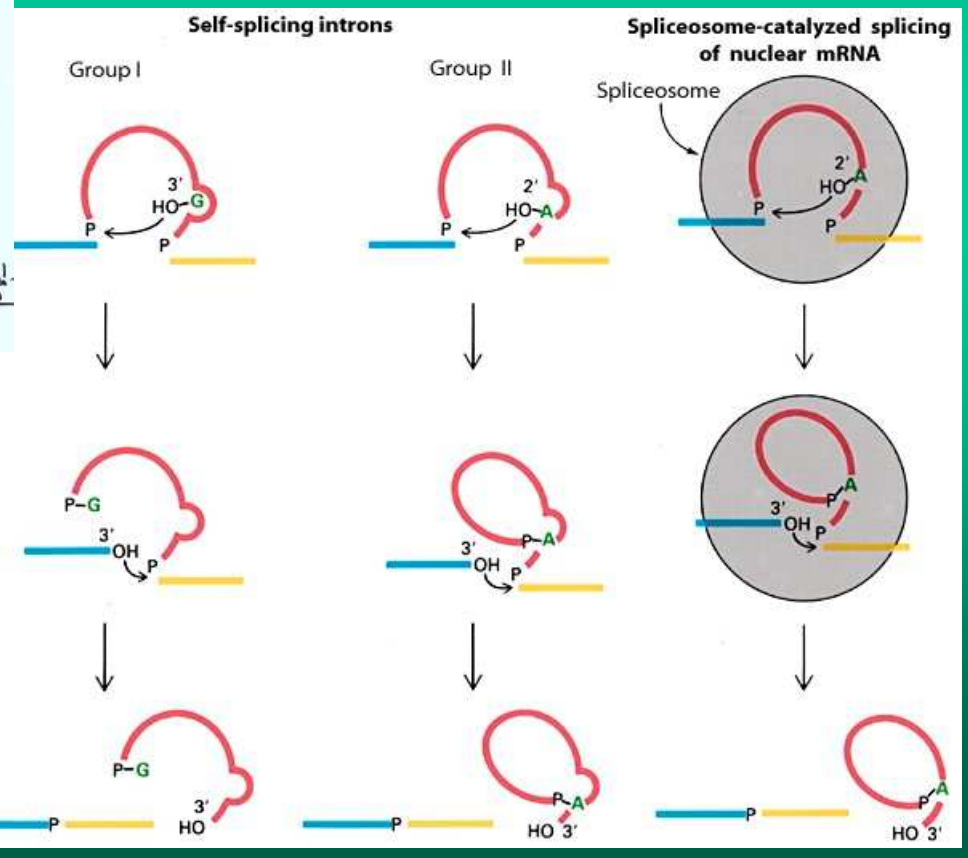


A Introny skupiny I

B Introny skupiny II
 a) jadrových pre-mRNA

Schematicke znázornenie rozdielov vo vyštepovaní rôznych typov intrónov

šípky znázorňujú nukleofilné atakovanie ako počiatočnú prenosu fosfátovej skupiny - transesterifikáciu

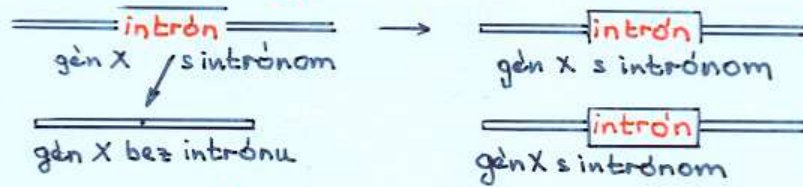


Základné mechanizmy mobilnosti intrónov

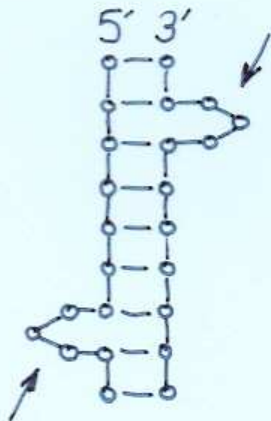
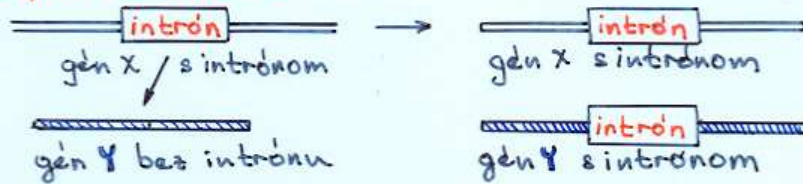
I. Strata intrónu



II. Udomácnenie (homing) intrónu

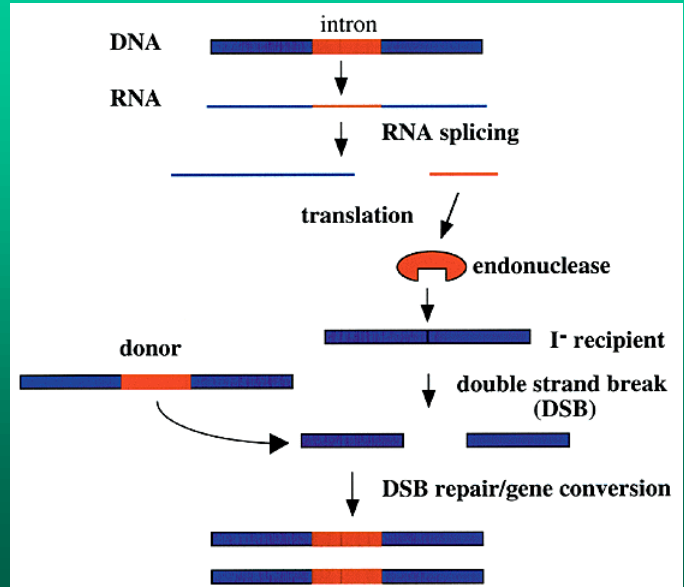
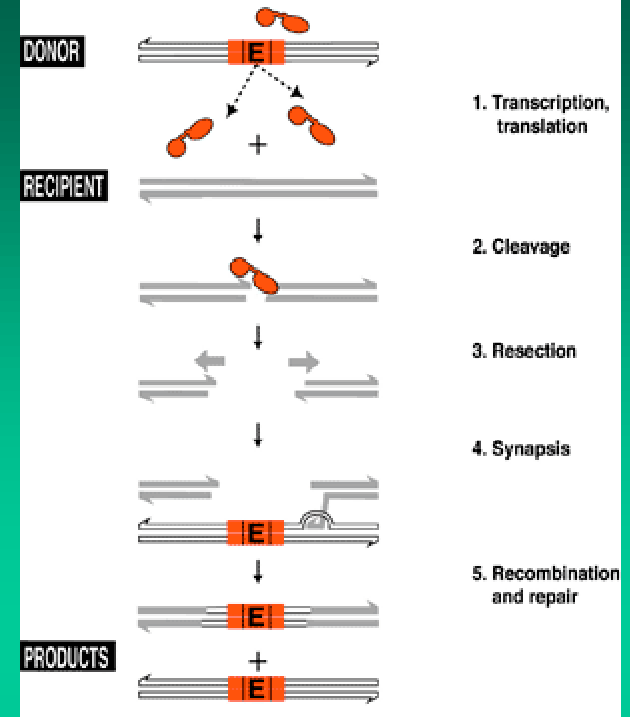


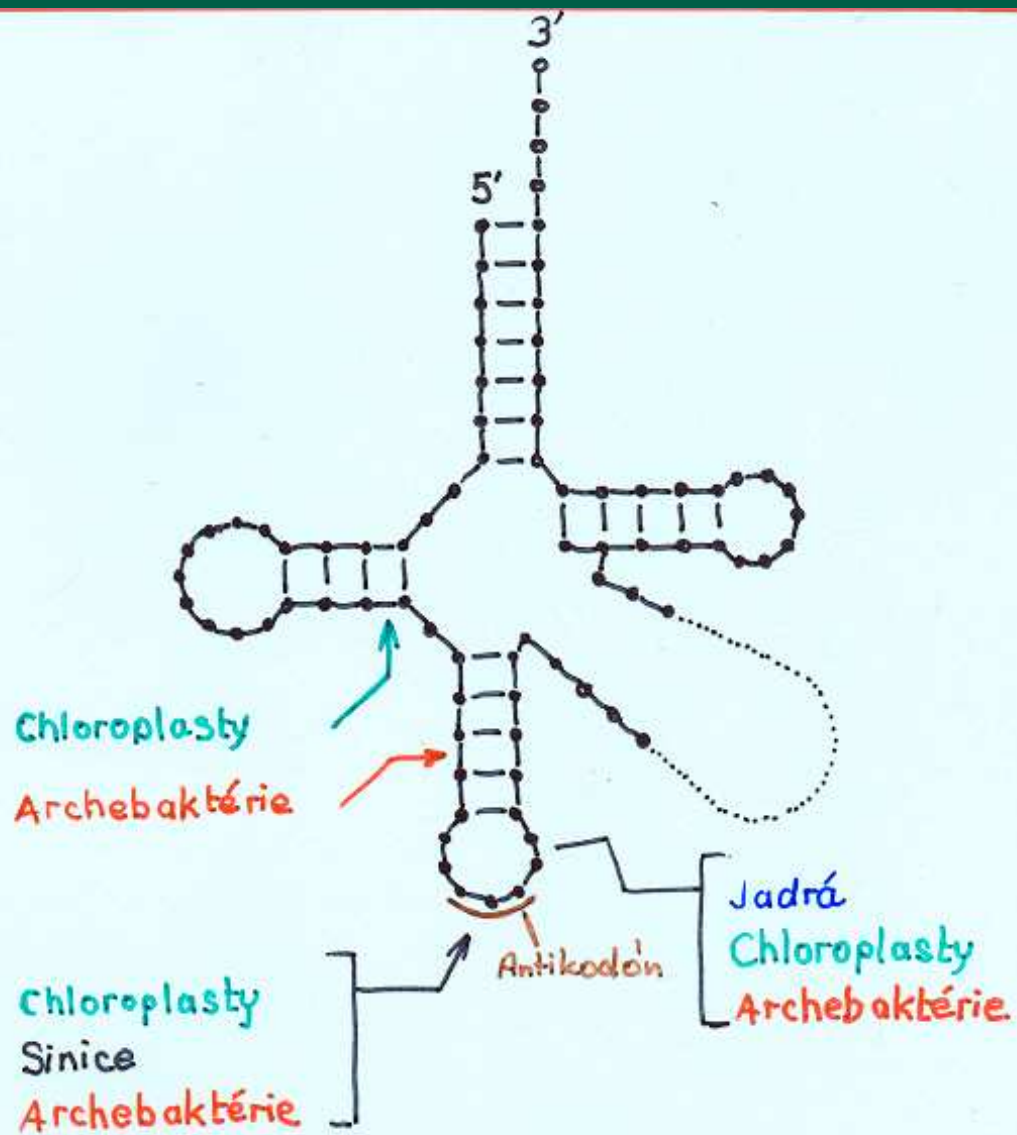
III. Transpozícia intrónu



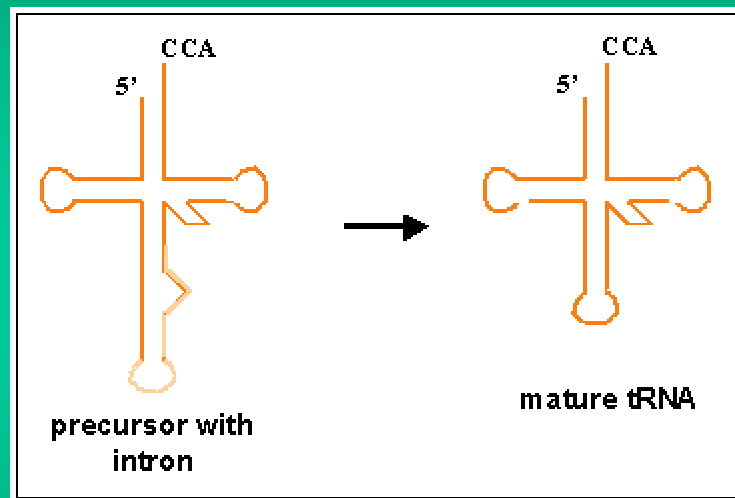
pre zostrih prekurzorov tRNA a rRNA archeobaktérii je typická sekundárna štruktúra "vypuklina-helix-vypuklina" - súhlasná konzervatívna sekvencia nukleotidov na rozhraní intrónu a exónu

GROUP I INTRON HOMING





Lokalizácia intrónov v génoch pre tRNA
v rôznych genómoch



Intróny v bunkách prokaryotov

- v génoch archeobaktérií sa nachádzajú intróny (1985) tRNA a rRNA gény
 - formovanie typickej sekundárnej štruktúry pri zostrihu - "vypuklina-helix-vypuklina"
- bakteriófoagy eubaktérií obsahujú intróny bakteriófoagy skupiny T (T2, T4, T6 a RB3) Escherichia coli (G-)
 - intróny zo skupiny I - samovyštiepovanie intróny

bakteriófag SPO1

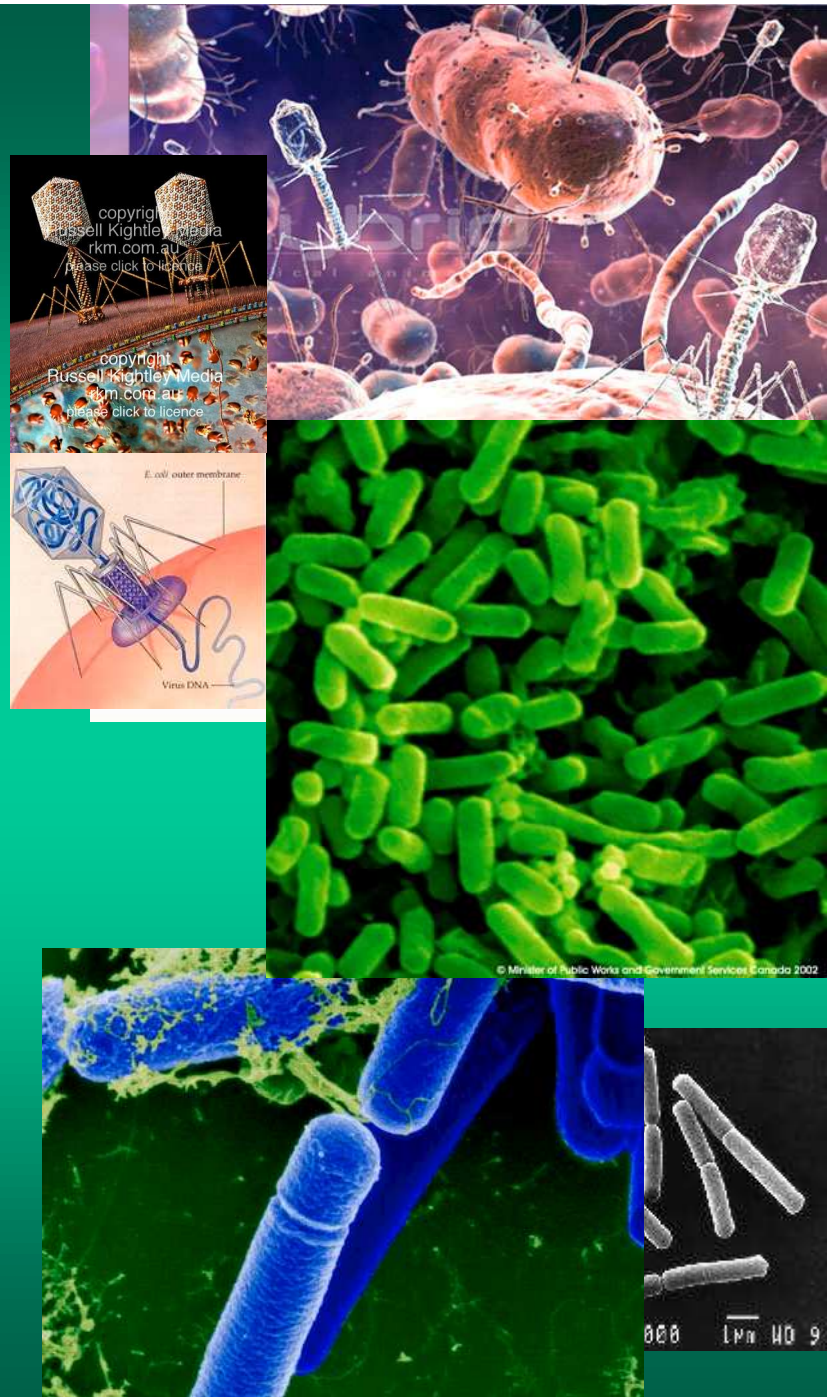
Bacillus subtilis (G+)

intrón zo skupiny I - autoexcízia

Zistené z vírusov izolovaných z G+ baktérií nie je schopný reprodukcie v G- hostiteľovi a vice versa → intróny starobyle!

2 pôvod bakterióforov, resp. vírusov zohľadníť mobilné intróny - transpozícia

- intróny v génoch chloroplastov → sintéza tRNA gény oba typy intrónov - schopné samovyštiepovania (kódujú endonukleázy)
 - zväčša neschopné autoexcízie



Intróny v génoch organel - črta pôvodná či nadobudnutá?

Pomerne značný počet génov chloroplastov a mitochondrií (s výnimkou mtDNA živočíchov) má mozaikovitú štruktúru: exóny - intróny.

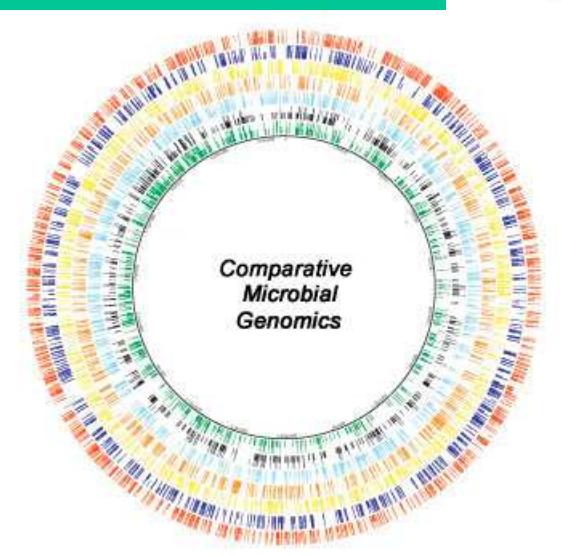
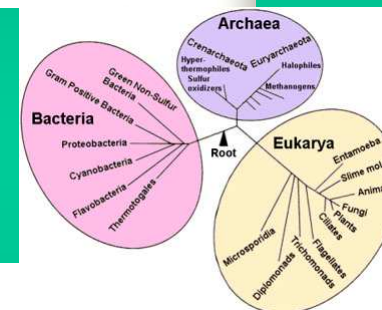
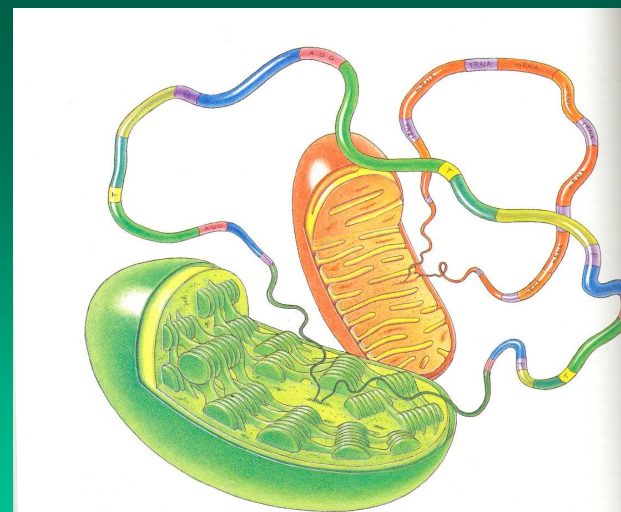
Je týmto spôsobom uskutočnený zápis genetickej informácie v genóme chloroplastov, resp. mitochondrií zlučiteľný s celkovo eubaktériovým charakterom oboch spomenutých semiautonómnych organel eukaryotických buniek?

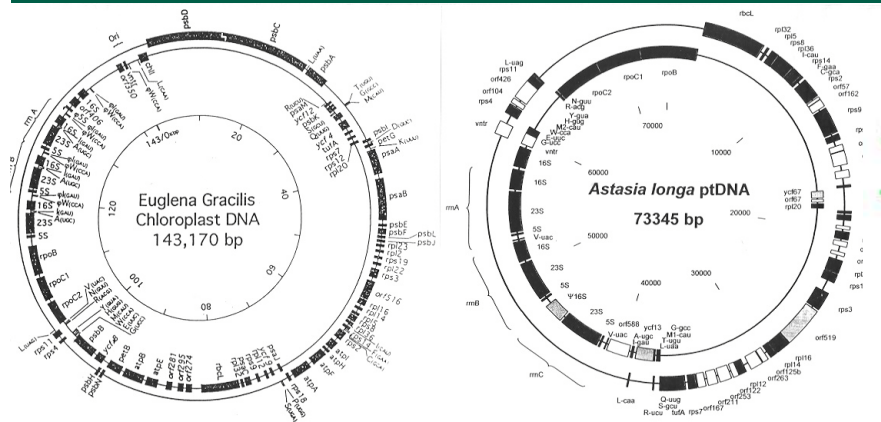
Všeobecne sa predpokladá, že jeden z principiálnych rozdielov medzi predstaviteľmi eubaktérii a eukaryotických organizmov spočíva práve vo forme zápisu genetickej informácie - pretržitosť versus nepretržitosť.

Kým pre gény lokalizované v jadre eukaryotov je typická mozaikovitá štruktúra exón - intrón; v génoch eubaktérií sa intróny spravidla nenachádzajú.

Intróny v genóme chloroplastov a siníc

- hojnosť intrónov v genóme chloroplastov, resp. niektorých mitochondrií spolu s detegovaním intrónov u archebaktérií a v bakteriofágoch eubaktérii stimulovali projekt hľadania intrónov v génoch eubaktérií.

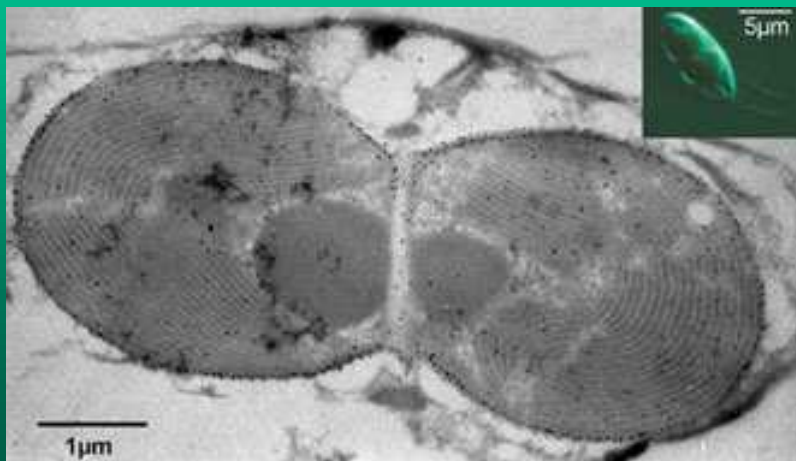
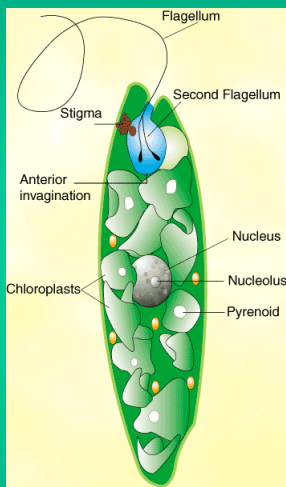




Ukazuje sa, že v priebehu evolúcie chloroplastového genómu vyšších rastlín zostáva stabilne zachovaný súbor približne 20 temer identických intrónov (Ohyama et al. 1988; Hiratsuka et al. 1989).

To však zväčša neplatí pre chloroplastové genómy rias (ani len toho nevelkého počtu zástupcov, o ktorých existujú isté informácie).

Názorným príkladom môže byť ctDNA Euglena gracilis. V chloroplastoch tohto bičkovca sa nevyskytujú intróny v génoch pre tRNA, kde sú práve hojne lokalizované v ctDNA vyšších rastlín. A naopak, intróny v génoch kódujúcich bielkoviny sú v chloroplastoch euglény prítomné vo veľkom množstve (predstavujú 38,3% tejto ctDNA - Hallick et al. 1993; niektoré vytvárajú tzv. dvojintróny). V chloroplastovom genóme vyšších rastlín sa intróny v týchto génoch vyskytujú podstatne vzácnejšie.



Pozornosť upútal najmä intrón zo skupiny I nachádzajúci sa v géne kódujúcom ct tRNA prenášajúcu leucín s antikodónom UAA.

Zodpovedajúci gén pre funkčne homologickú tRNA, ktorý taktiež obsahuje intrón, bol totiž detegovaný aj v cyanelách Cyanophora paradoxa (Evrard et al. 1988). Cyanely tohto osobitého bičkovca sú jednými z horúcich kandidátov na potenciálneho predka chloroplastov.

V načrtnutej premise spočívalo aj teoretické východisko pre programované hľadanie obdobného intrónu v génoch pre tRNA (UAA) prenášajúcich leucín ako v genómoch chloroplastov rôzneho pôvodu tak zároveň v siniciach.

Chloroplasty a sinice sú v moderných stromoch života skonštruovaných na základe molekulárno-biologických komparácií (hlavne rRNA) zväčša prezentované v podobe jedinej pomerne homogénnej vetvy (Woese 1987).

Výsledky dvoch metodicky odlišných štúdií jednoznačne ukázali, že pomerne rozsiahle intróny (204-345 párov báz) sú prítomné v génoch pre tRNA^{Leu}UAA všetkých skúmaných predstaviteľov siníc (5 + 3 druhy) z rodov *Anabaena*, *Synechocystis* (Xu et al. 1990), *Anacystis*, *Phormidium* a *Scytonema* (Kushel et al. 1990).

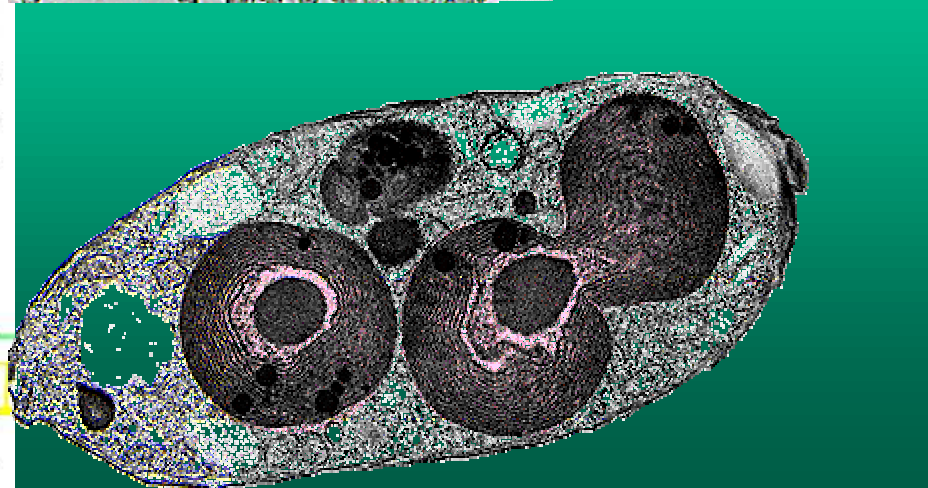
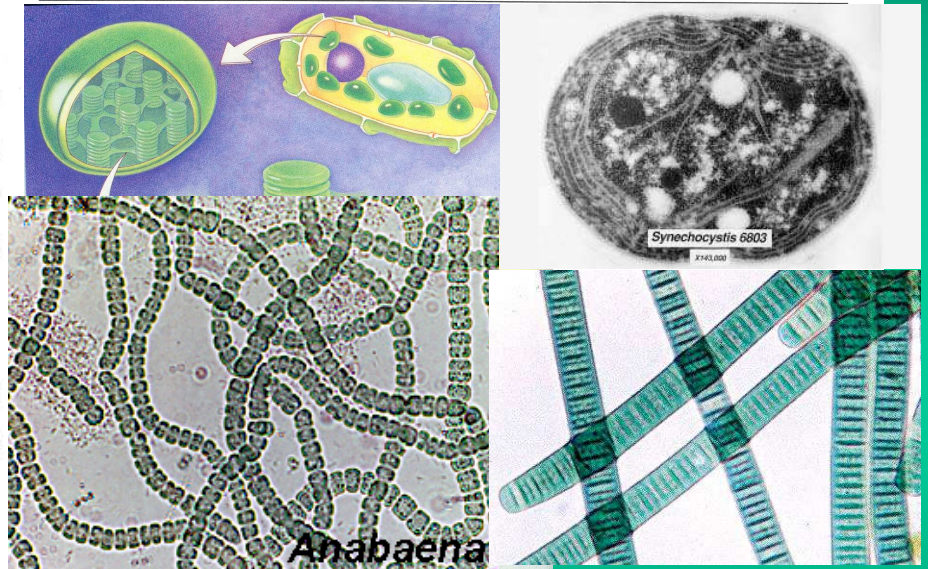
Nachádzajú sa v polohe medzi prvým a druhým nukleotidom antikodónu. Rovnaká je situácia aj v chloroplastových genómoch temer všetkých dosiaľ študovaných rastlín (Kushel et al. 1990).

Jedinými známymi výnimkami sú zatiaľ len plastidy zelenej riasy *Chara hispida* a červenej riasy *Porphyrea purpurea*. To však naznačuje, že v priebehu evolúcie chloroplastov mohlo dochádzať aj k viacnásobnej strate (alebo naopak i k nadobudnutiu) týchto intrónov (Reith et Munholland 1993).

Prítomnosť intrónov zo skupiny I v génoch pre tRNA^{Leu}UAA v chloroplastoch všetkých hlavných vývojových línií rastlín, v cyanelách *Cyanophora paradoxa*, a najmä v siniciach zástupcov piatich vývojovo pomerne vzdialených radov, umožňuje formulo-

Table 1. Size, gene content, and intron content of sequenced plastid genomes¹.

Group	Organism	Genome size (bp)	Number of genes ²					Number of introns
			Total	Genetic	Photo-synthetic	Miscellaneous	ORF	
Glaucocestophyte	<i>Cyanophora paradoxa</i>	135599	191	87	48	20	36	1
Rhodophyte	<i>Porphyra purpurea</i>	191028	251	103	53	30	65	0
Heterokont	<i>Odontella sinensis</i>	119704	165	77	41	10	37	0
Euglenophyte	<i>Euglena gracilis</i>	143170	97	56	27	1	13	>149
Land plant	<i>Marchantia polymorpha</i>	121024	120	62	42	7	9	19
Land plant	<i>Pinus thunbergii</i>	119707	108	62	30	5	11	16
Land plant	<i>Oryza sativa</i>	134525	110	61	41	1	7	18
Land plant	<i>Zea mays</i>	140386	110	61	41	1	7	18
Land plant	<i>Nicotiana tabacum</i>	155884	113	61	41	2	9	21
Land plant	<i>Epifagus virginiana</i> ³	70028	42	38	0	2	2	6
Apicomplexan	<i>Plasmodium falciparum</i> ³	34682	57	48	0	2	7	1

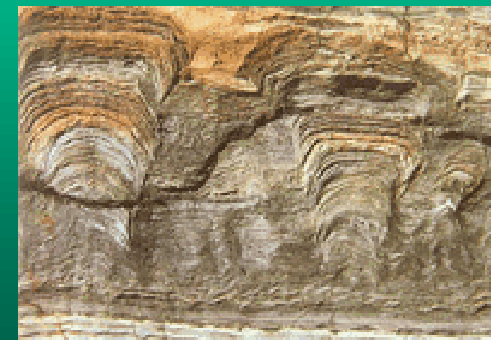
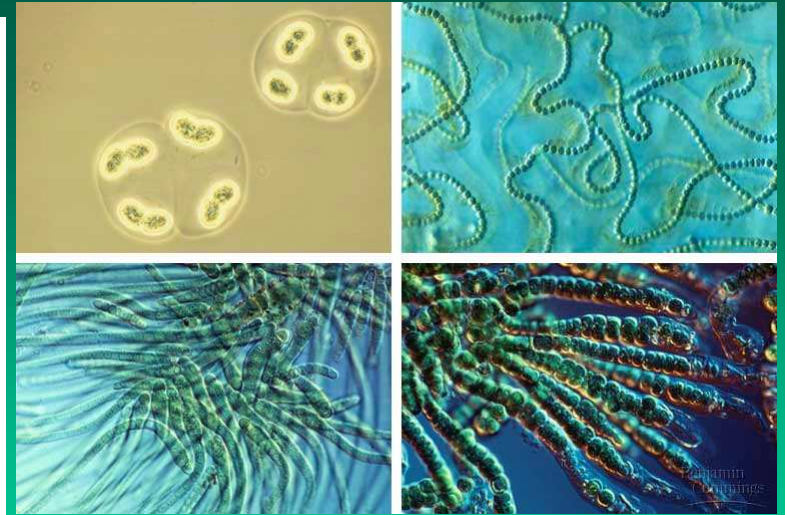


vať viacero evolučne významných postulátov dotýkajúcich sa veku intrónov.

Ak akceptujeme predpoklad, že organely sú potomkami pôvodne voľne žijúcich eubaktérií, v konkrétnom prípade, že sinice sú predkami chloroplastov, a teda existuje medzi nimi fylogenetická kontinuita, potom minimálny vek intrónov je 1 miliarda rokov, čo zodpovedá odhadovanému veku chloroplastov (Gray 1989).

Ak však zohľadníme, že intróny boli detegované u zástupcov rozmanitých, vývojovo relatívne nepríbuzných rodov siníc, potom intróny môžu byť podstatne staršie. Veď práve sinice sa pokladajú za jedny z najstarobylejších foriem živej hmoty. Odhaduje sa, že ich fossilizované zbytky sú staré približne 3,5 miliardy rokov (Schopf a Packer 1987). To naznačuje, že intróny by mohli predstavovať starobylý prvok organizácie genetického materiálu.

Objav intrónov v siniciach - predstaviteľoch eubaktérií - zároveň signalizuje, že i v tejto vývojovej línii majú intróny svoje miesto, čo svojím spôsobom potvrdzuje jednotný princíp organizácie živej hmoty.



Stromatolites fossiles

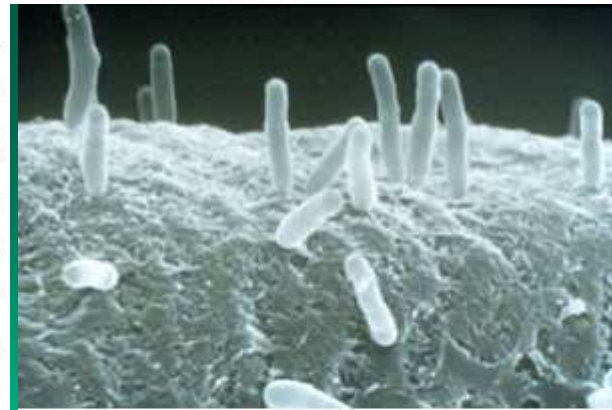
Ďalšie objavy intrónov v genómoch eubaktérií však nechali na seba dlho čakať. Dva pomerne malé intróny (237 a 205 nukleotidov), taktiež zo skupiny I, boli identifikované u dvoch zástupcov proteobaktérií - *Agrobacterium tumefaciens* z podskupiny α a *Azoarcus* sp. z podskupiny β (Reinhold-Hurek et Shub 1992). (Predpokladá sa, že medzi proteobaktériami, niekedy označovanými tiež ako purpurové baktérie, konkrétne v podskupine α , treba hľadať predkov mitochondrií.)

Intróny sa nachádzajú v génoch pre $tRNA_{ATG}$ a $tRNA_{TTC}$, vsunuté za tretí nukleotid antikodónu. Tieto zistenia, ktoré dokladajú prítomnosť intrónov v rôznych génoch fylogeneticky odlišných eubaktérií, nasvedčujú tomu, že intróny zo skupiny I by mohli byť i u eubaktérií pomerne hojne rozšírené.

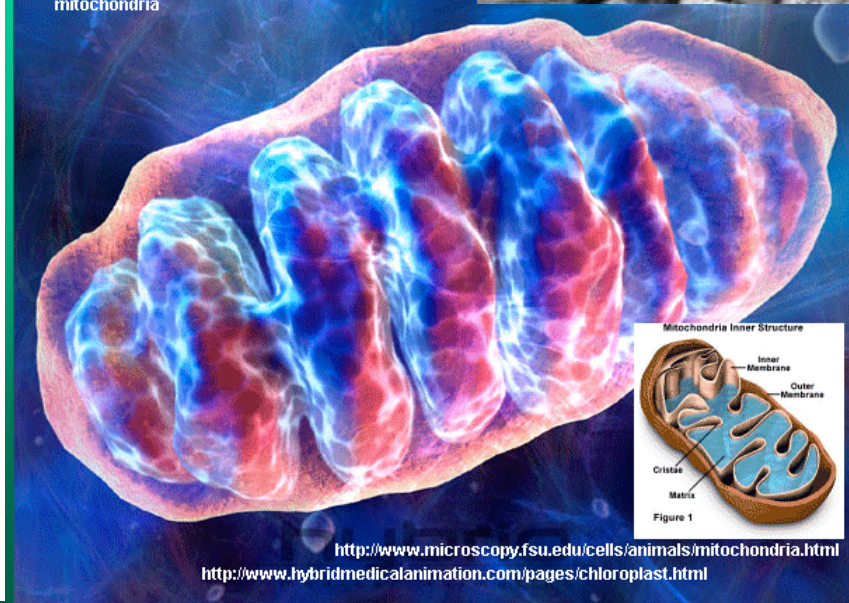
Ukazuje sa, že takéto konštatovanie by mohlo mať ešte širšiu platnosť. Zistilo sa totiž, že aj intróny zo skupiny II, ktoré boli donedávna známe len z genómov mitochondrií a chloroplastov, sa nachádzajú i v génoch niektorých zástupcov eubaktérií.

Podarilo sa ich identifikovať opäť u niektorých siníc (predkov chloroplastov), konkrétne u dvoch zástupcov rodu *Calothrix* (PCC7601 a PCC7101).

Druhý nález dokumentuje prítomnosť intrónu zo skupiny II zase u predstaviteľa proteobaktérií, tentoraz však z podskupiny gamma - *Azotobacter vinelandii* (Ferat et Michel 1993).

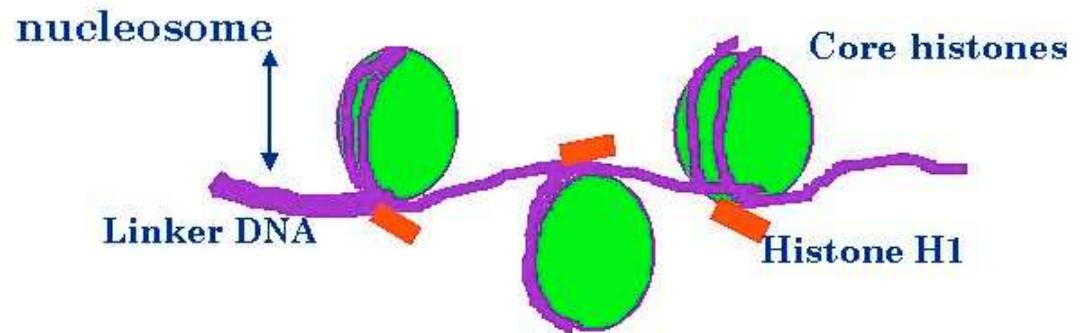
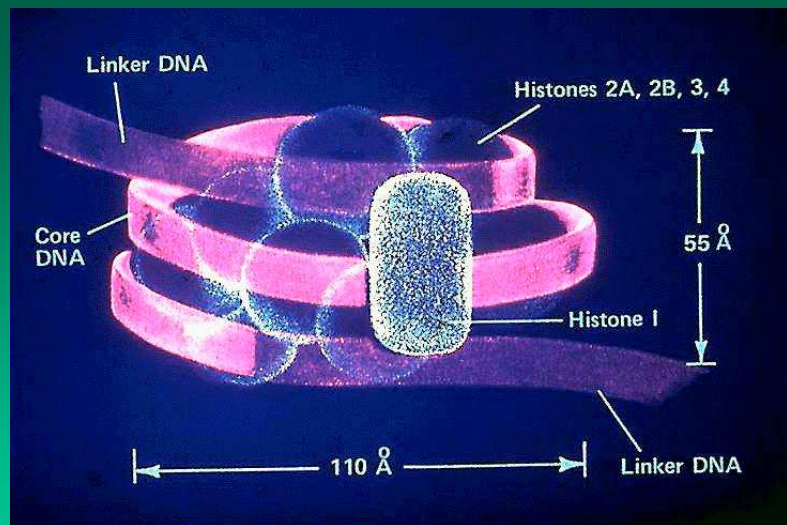


mitochondria



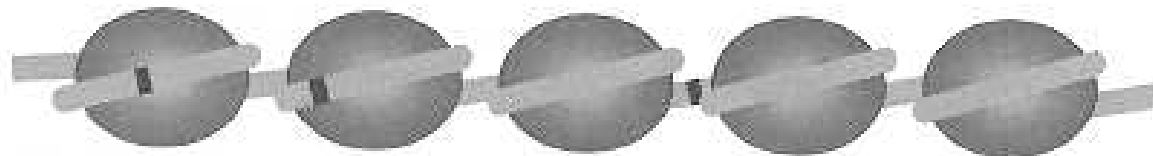
<http://www.microscopy.fsu.edu/cells/animals/mitochondria.html>

<http://www.hybridmedicalanimation.com/pages/chloroplast.html>

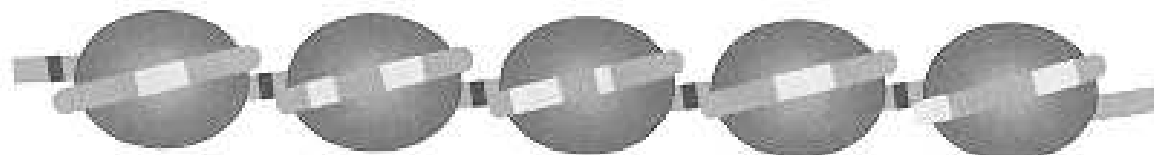


**DNA is wrapped around histones
"Beads of string"**

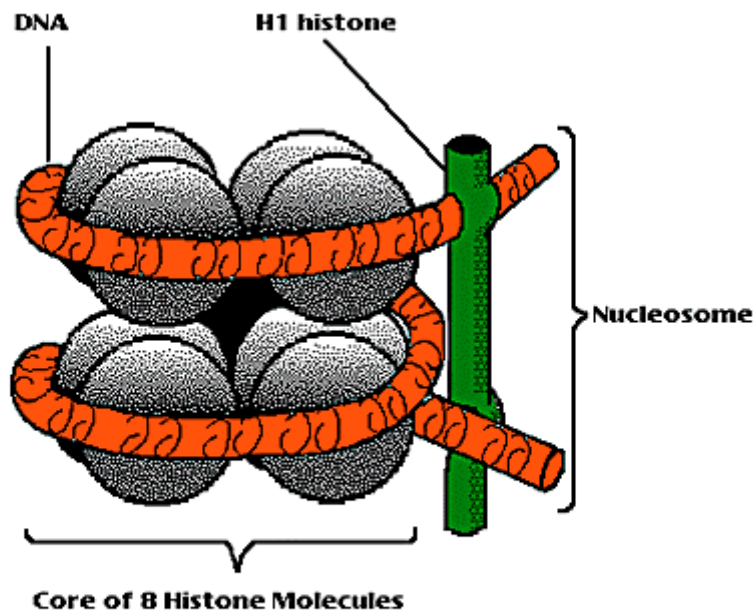
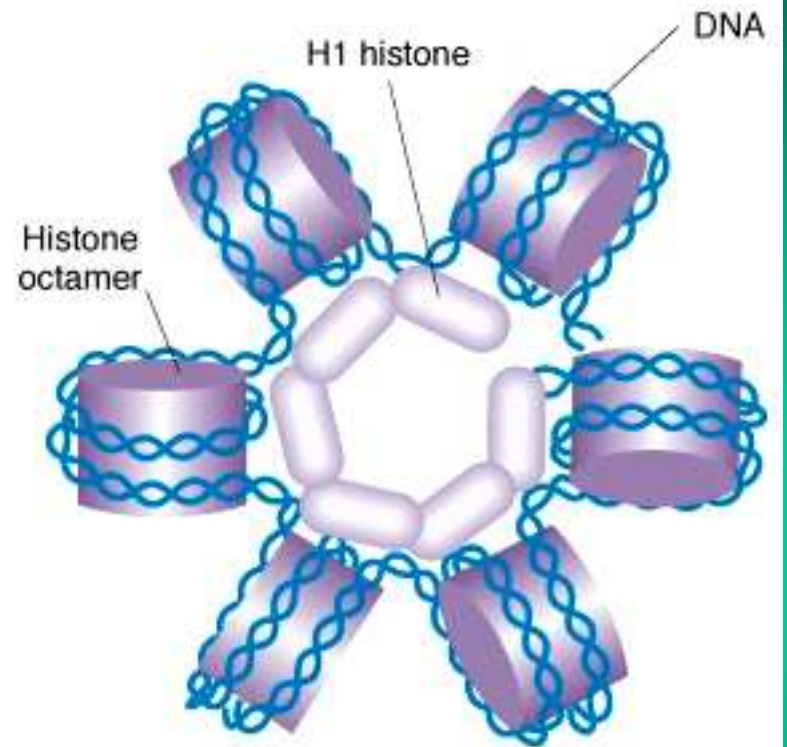
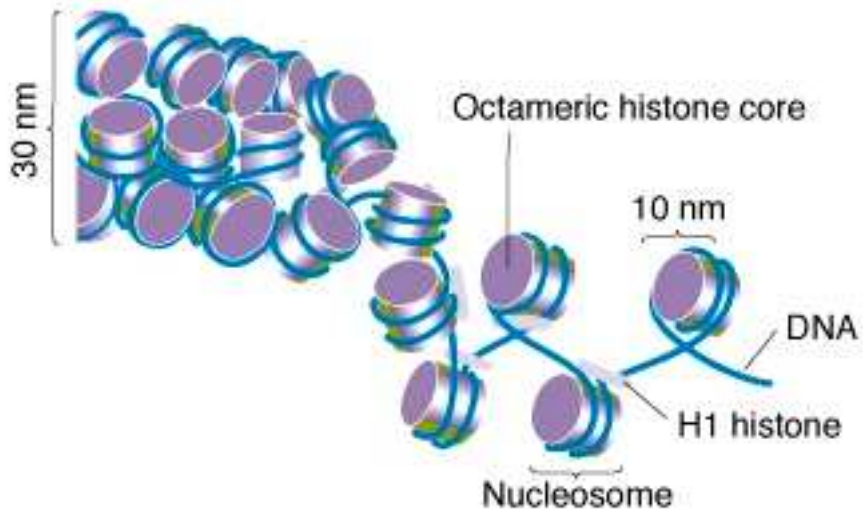
a)



b)

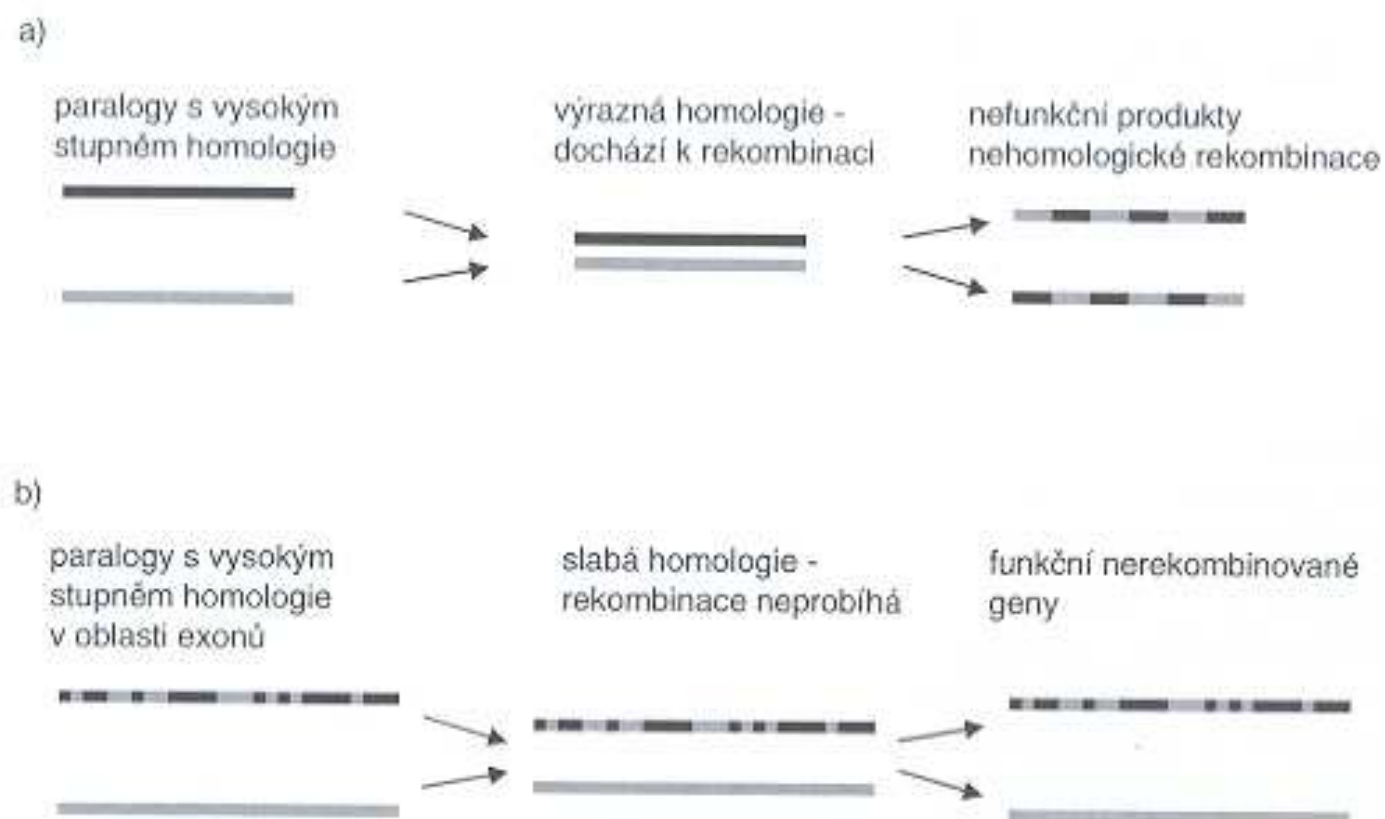


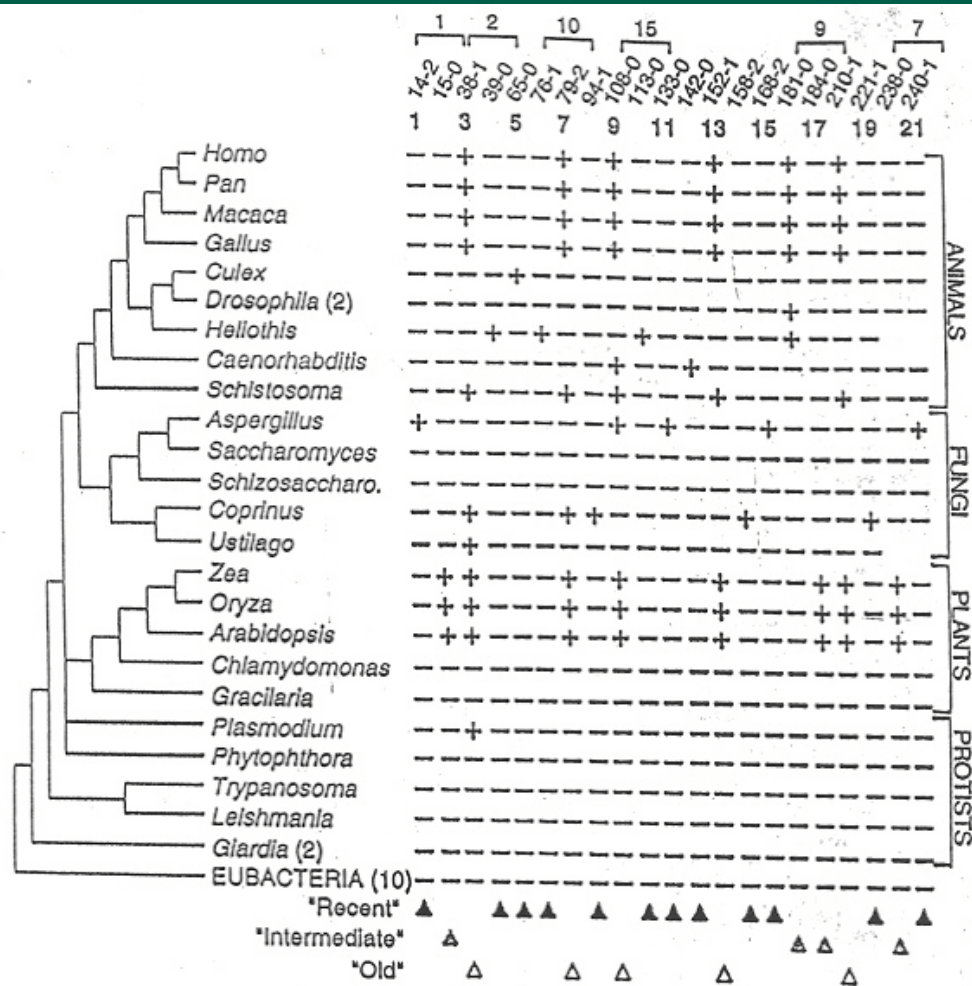
Obr. XI.8 Polohování regulačních oblastí genů vsunutím intronů. V eukaryotické buňce je DNA navinuta na histony a spolu s nimi vytváří další složitou strukturu vyššího řádu (a). Je možné, že vložení intronů (světlé úseky) vhodné délky do vhodných míst genů posunuje polohu regulačních oblastí genů (černé úseky) do míst, kde k nim mohou snáze přistupovat regulační molekuly, tedy například do úseků mezi jednotlivými histony (b).



Nucleosome

Obr. XI.9 Vkládání intronů do genů jakožto obrana před nehomologickou rekombinací. Pro buňku (i organismus) by bylo nevýhodné, kdyby mezi jejími sekvenčně podobnými geny, které kódují proteiny s odlišnými funkcemi, docházelo k rekombinacím (a). Vzniklé produkty rekombinací by totiž mohly být zcela nefunkční. Sekvenční podobnost mezi geny, a tedy i riziko nehomologické rekombinace je možno snížit, když se do různých míst sekvenčně podobných genů vloží různé introny, které se vystříhnou až na úrovni RNA (b).





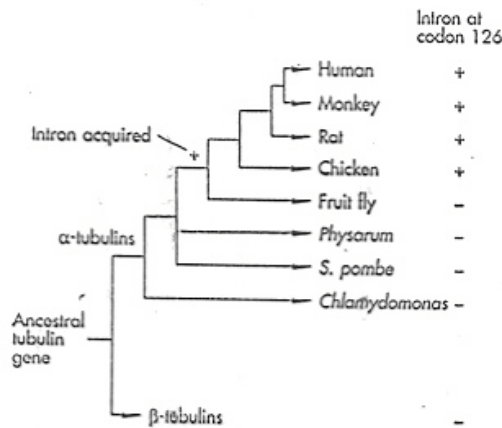
Fylogenetická distribúcia 21 známych intrónov v géne pre glykolytický enzým triózo-fosfát izomerázu. Kladogram je založený na porovnávaní rRNA doplnený o údaje z porovnávaní niektorých bielkovín jadra a mitochondrií a v prípade živočíchov i o morfológické porovnávanie.

(a) Distribution of introns at various codons in members of the α - and β -tubulin families

	2	4	5	9	13	16	17	19	20	21	33	35	41	56	58	59	62	76	90*	90*	95	126	134	177	208	218	257	319	327	351	353	407	412	437	448		
α-tubulins																																					
<i>Homo sapiens</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Rattus norvegicus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Drosophila melanogaster</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Physarum polycephalum</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
β-tubulins																																					
<i>Homo sapiens</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Neurospora crassa</i>	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Toxoplasma gondii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*An intron occurs at two different positions within codon 90.

(b) Ancestral gene lacks codon 126 intron



(c) Ancestral gene contains codon 126 intron

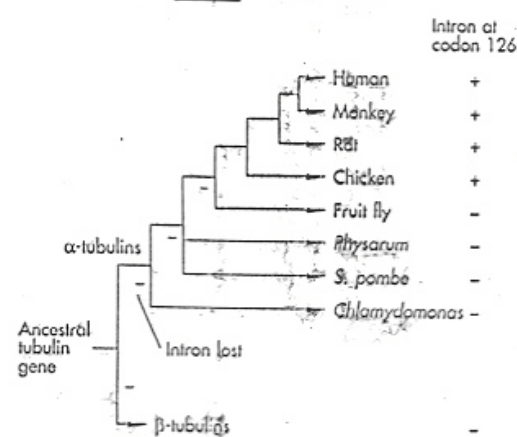


FIGURE 22-7

The tubulin family of genes provides evidence for insertion of introns. (a) Analysis of a large number of tubulin genes from a wide variety of organisms shows that introns are present in at least 35 different locations in these genes. Most tubulins have three introns, some have none, and a tubulin gene from *Aspergillus nidulans* has eight (not shown). The present-day distribution of these introns can be best explained on the hypothesis that the tubulins have acquired introns during evolution. (b) The distribution of the intron found at codon 126 in α -tubulin can be explained if the gene acquired the intron after the divergence of the vertebrates and invertebrates, as shown. (c) If it is assumed that this intron was present in the ancestral gene tubulin, then repeated losses (-) of the intron would have had to occur to generate the present distribution of this intron.

Protein splicing is a newly discovered process that is the protein equivalent of RNA splicing. Protein splicing proceeds through a branched protein intermediate, and *in vitro* studies indicate that the reaction is autocatalytic. The excised 'intein' proteins are site-specific DNA endonucleases that catalyse genetic mobility of their DNA coding sequence by an 'intein homing' mechanism.

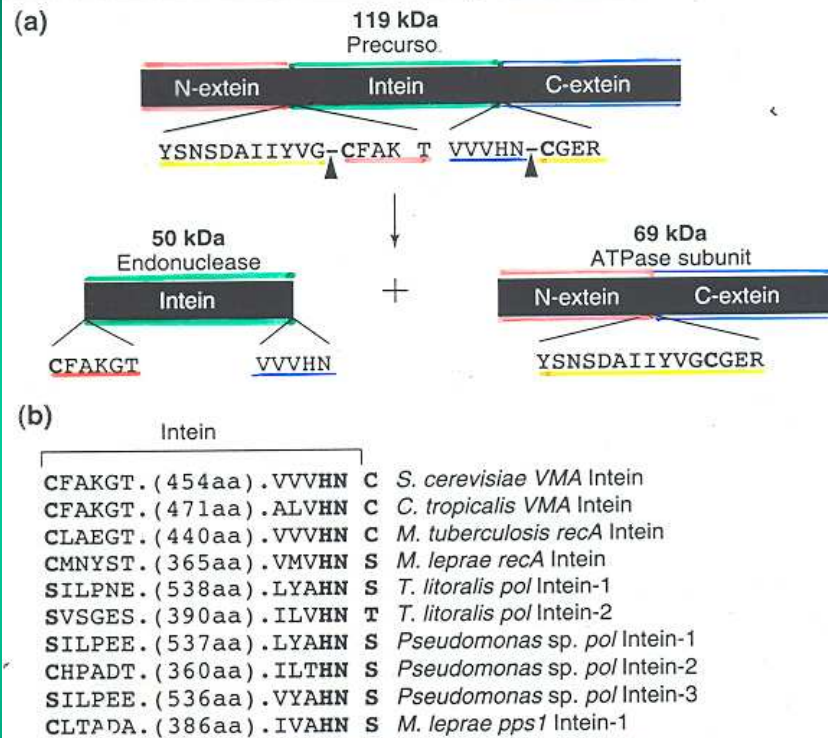
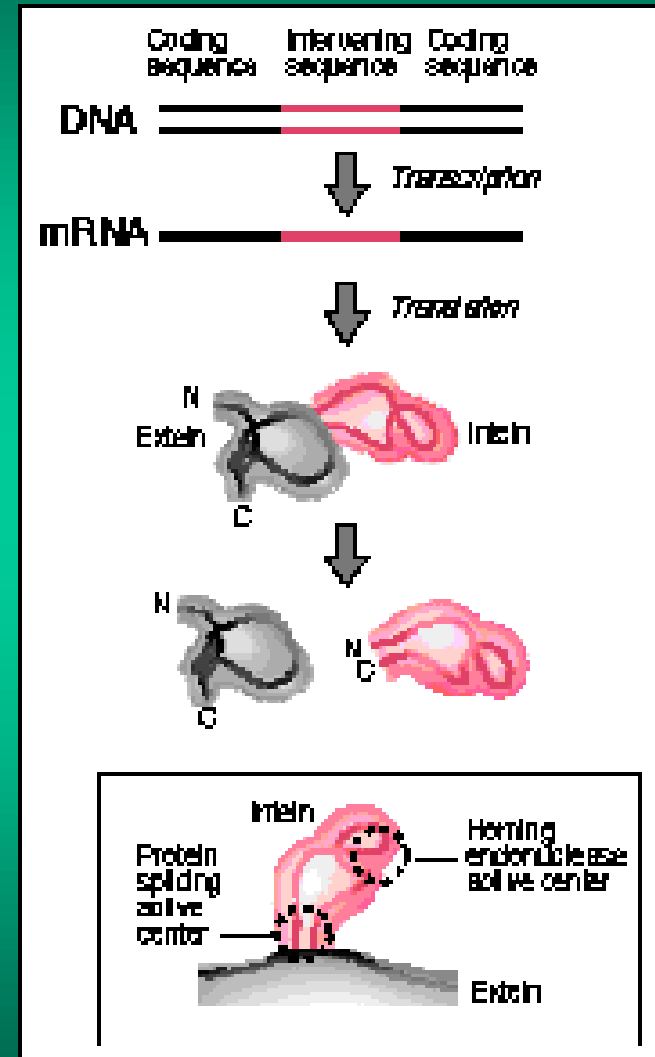


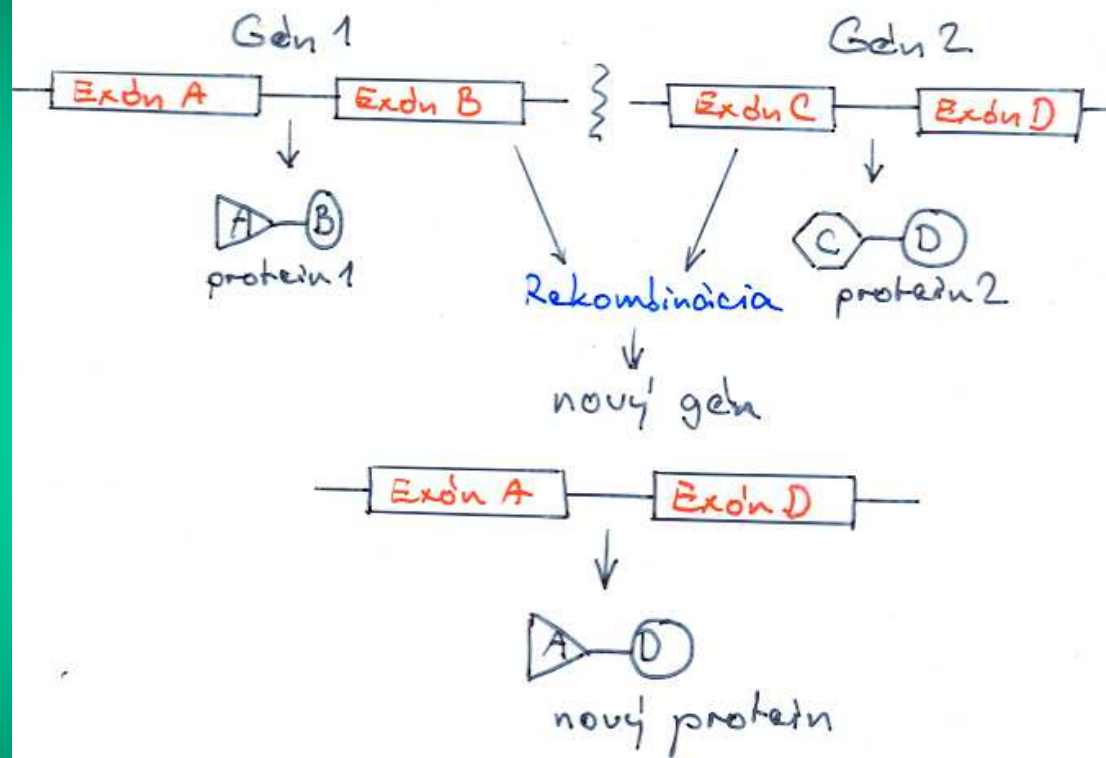
Figure 1

(a) Protein splicing of the 119kDa TFP1 precursor into the 69kDa V-ATPase subunit (N-extein-C-extein) and 50kDa endonuclease (intein). The following amino acid sequences are shown: the predicted precursor splice junction residues; the sequenced tryptic peptide from the mature 69kDa V-ATPase subunit (purple); the amino-terminal sequence of the purified intein (red); and the sequence of the carboxy-terminal peptide released from the purified splice junctions. (b) Alignment of known or predicted inteins with the highly conserved residues shown in bold. The predicted amino acid lengths of the inteins are indicated in brackets. The first residue of the associated C-extein is shown in the right column.

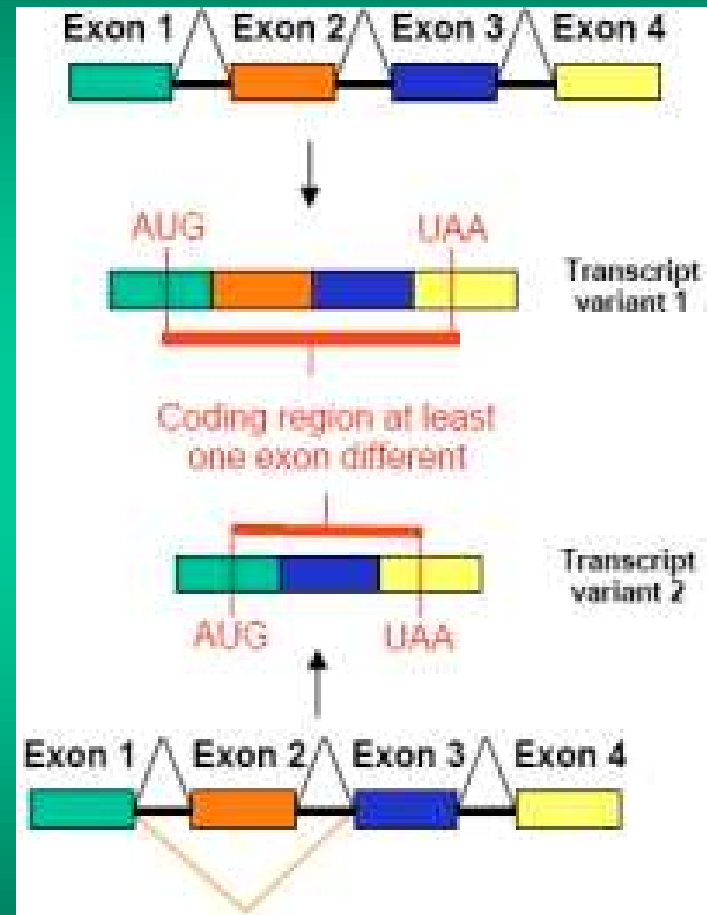
M - Mycobacterium
 T - Thermococcus
 C - Candida
 S - Saccharomyces



Schema "exon-shuffling" hypotezy (Gilbert-Blake)



exóny kódujú štruktúrne prvky - domény
alebo menšie supersekundárne štruktúry



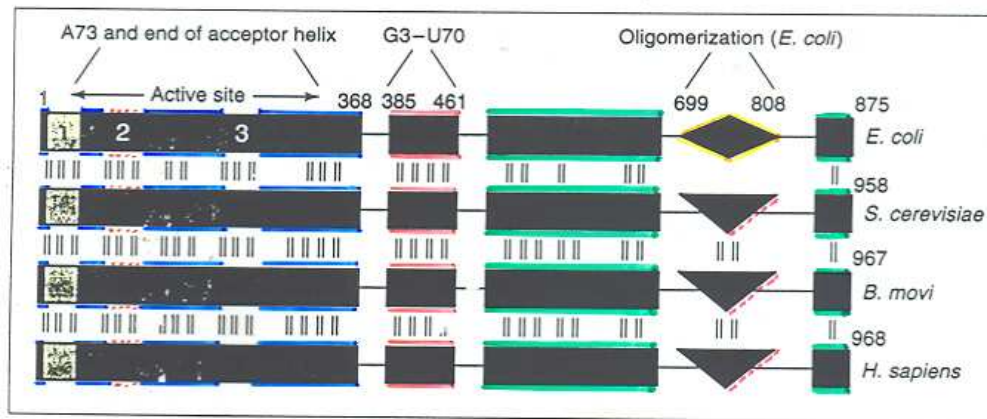


Figure 1

Schematic illustration of the modular design of alanyl-tRNA synthetases from *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bombyx mori* and *Homo sapiens*. The class-defining catalytic domain (blue) is in the amino-terminal part of the proteins. The approximate locations of the three characteristic sequence motifs (1-3) is also shown. The module needed for recognition of G3-U70 is shown in red. The carboxy-terminal domain (green) is split by a cassette-like insertion that contains the domain for tetramerization of the *E. coli* protein. This domain is replaced in the eukaryotic enzymes, which are monomers. Sequence relationships among the proteins are indicated approximately by vertical lines and are greatest in the amino-terminal halves of the proteins.

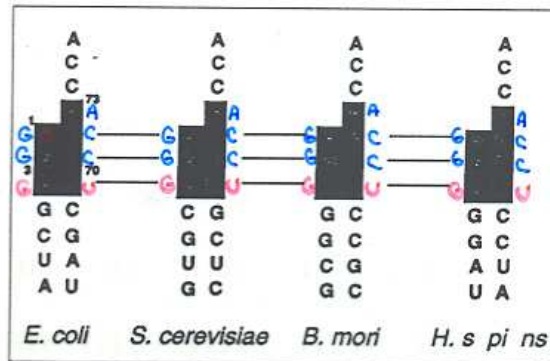


Figure 2

Examples of sequences of acceptor stems of *Escherichia coli*, and cytoplasmic *Saccharomyces cerevisiae*, *Bombyx mori* and human tRNA^{Ala}. The critical G3-U70 base pair is boxed in red. Other nucleotides important for aminoacylation are boxed in blue. Note that the boxed nucleotides are identical in all four cases. These include the A73 'discriminator base' and the three base pairs joined by dotted lines. Beyond the third base pair, the sequences are different.

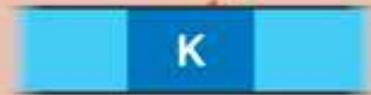
Exon shuffling



Epidermal growth factor gene with multiple EGF exons (green)



Fibronectin gene with multiple "finger" exons (orange)



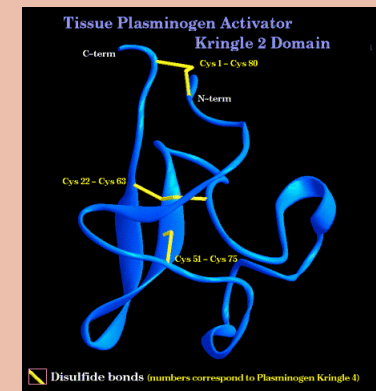
Plasminogen gene with a "kringle" exon (blue)

Portions of ancestral genes



Exon shuffling

TPA gene as it exists today



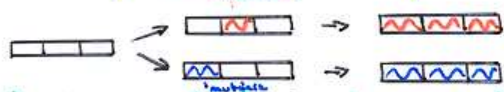
Concerted evolution

"zosúladená evolúcia" Gabriel Dover

v niektorých mnohogenových rodinách (napr. rRNA gény jadra a susediace sekvencie nukleotidov) sa individuálne opakovania vyvíjajú koordinovane v rámci druhu, no nezávisle medzi druhmi
 => homogénnosť sekvencií v rámci druhu, no diverzita medzi druhmi

? evolučný mechanizmus - **molekulárny ťah (molecular drive)**

fixujúci nové mutácie vo všetkých opakovaniach génu príslušnej mnohogenovej rodiny v rámci druhu



-> eliminuje sa rozdiel medzi ortologickými a paralogickými kópiami - výhoda pre molekulárnu systematiku (jedna z príčin prečo rRNA operóny sú najhojnejšie využívané vo fylogenetických štúdiách)

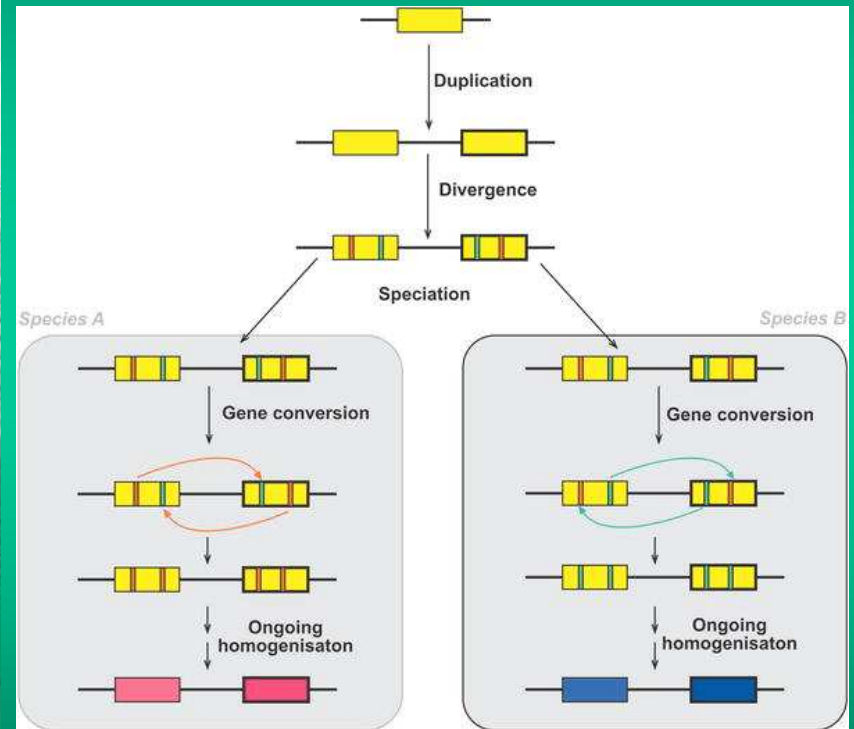
- komplikácie

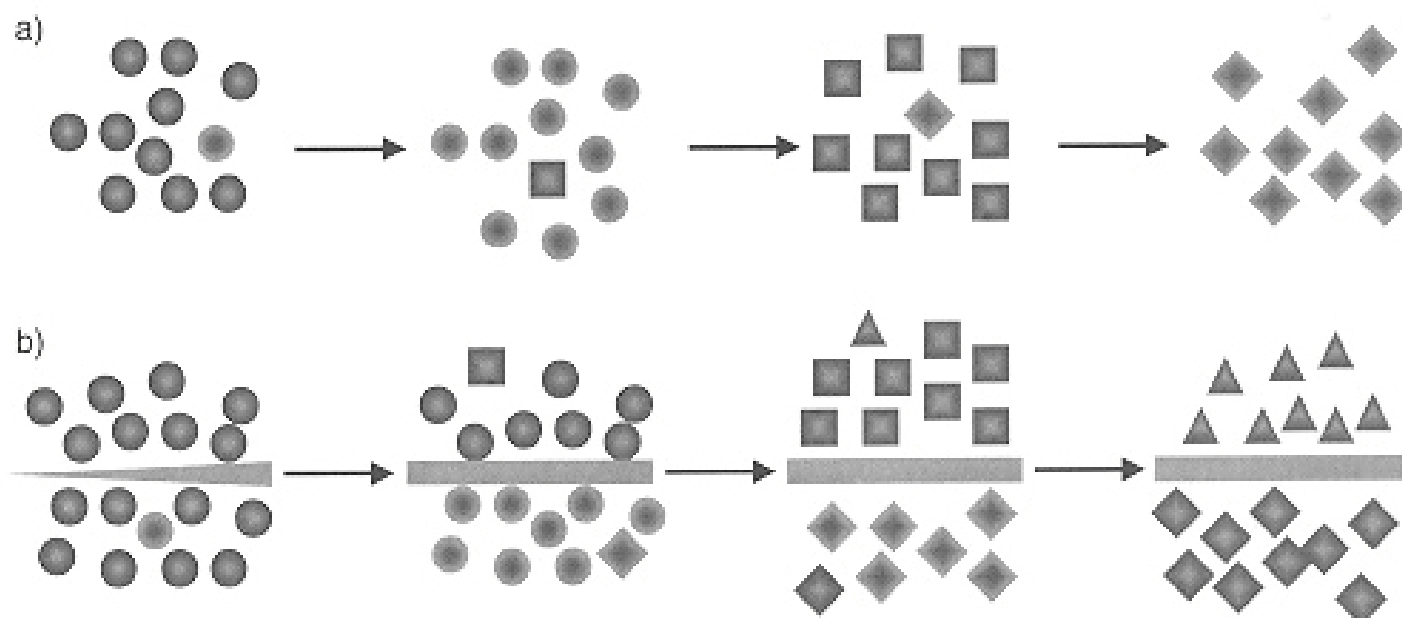
ak je proces "koncertovanej" evolúcie neúplný mechanizmus -

rekombinácia - väčší intrachromozómový ako medzi homologickými chromozómami **nerovnaký crossing-over alebo konverzia génov**

? tretí smer v evolučnej teórii

- ① selekcionizmus
- ② neutralizmus
- ③ zosúladená evolúcia

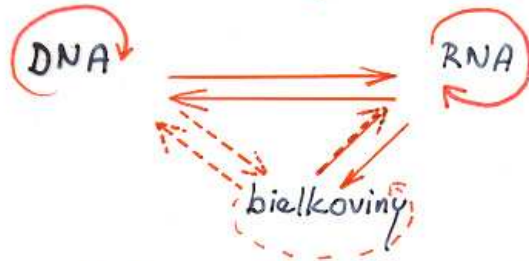




Obr. VI.9 Evoluce repetitivních sekvencí u sesterských druhů. Evoluce repetitivních sekvencí působením molekulárního tahu probíhá výrazně rychleji než speciace. Během existence druhu proto opakovaně dochází k fixacím nových variant repetitivních sekvencí. Dokud tvoří genofond druhu jeden celek (a), dochází k rychlé fixaci u všech jedinců daného druhu, takže molekulárnětaxonomické studie existenci polymorfismu v repetitivních sekvencích většinou vůbec nezachytí. Jakmile však dojde u druhu ke speciaci (b), rozdělí se původně jeden genofond na dvě části a od této chvíle se budou v obou částech fixovat molekulárním tahem nové varianty repetitivních sekvencí nezávisle na sobě. U obou druhů proto dochází k velmi rychlé diferenciaci jejich repetitivních sekvencí.

Editovanie RNA (RNA editing)

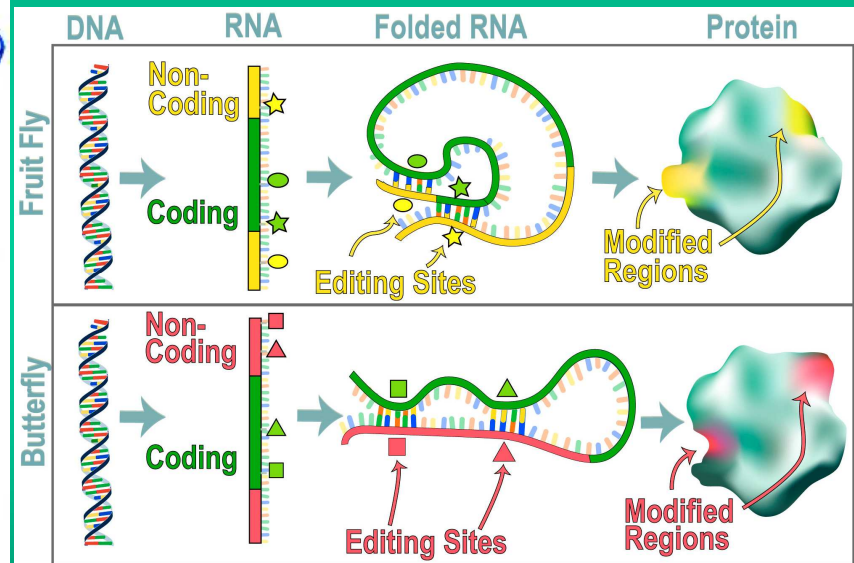
výzva centrálnej dogmy molekulovej biológie

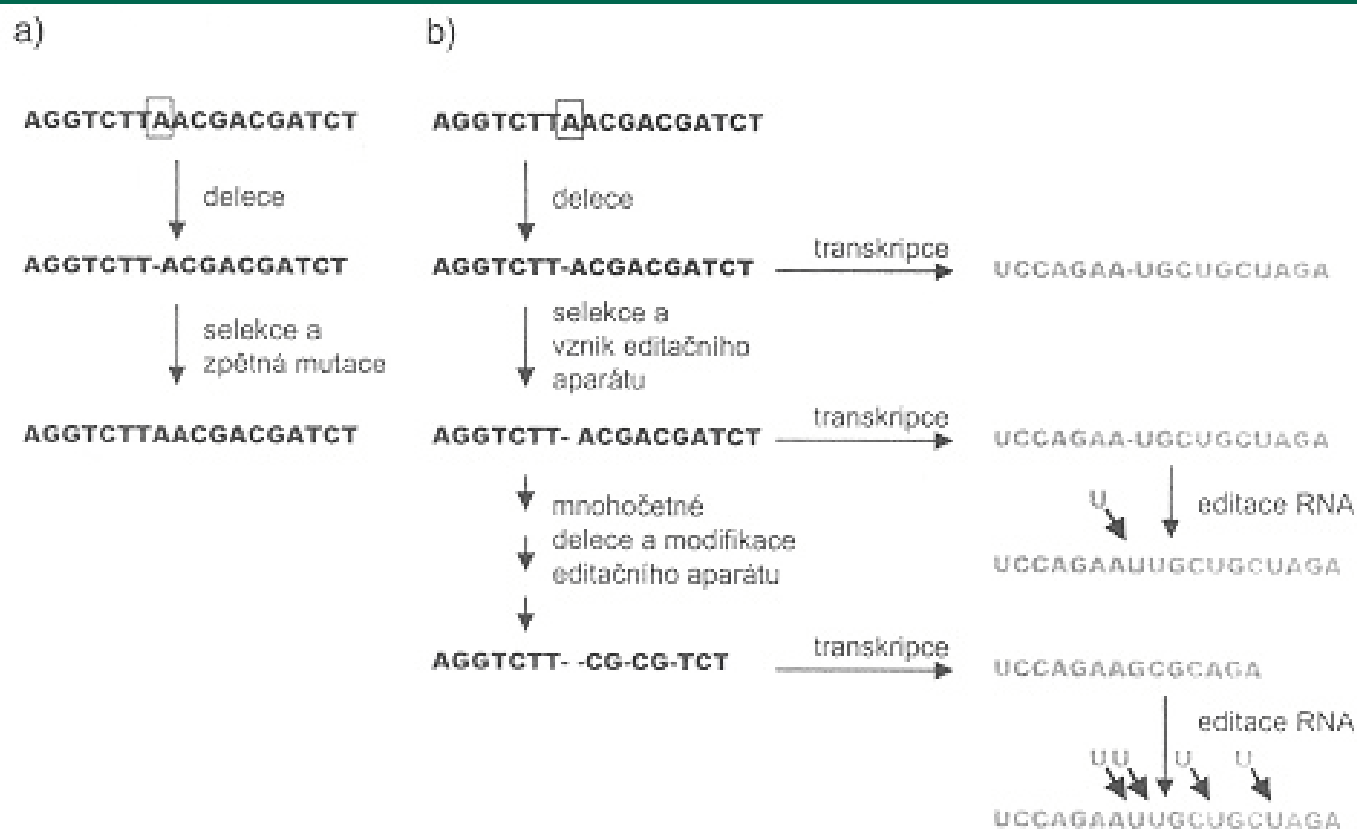


editovanie RNA - proces modifikácie RNA, ktorej výsledkom je molekula RNA lišiac sa svojím sekvencným zložením nukleotidov od matrice DNA, z ktorej bola pôvodne prepísaná.

- zmena zmyslu genetickej informácie
- editovanie RNA nezahŕňa zostrih RNA (splicing) rozdiel
- pri zostrihu RNA sú z danej molekuly RNA (primárny transkript) odstraňované nekódujúce úseky (intróny)
- pri editovaní RNA prichádza k zmenám v kódujúcich úsekoch (exónoch)

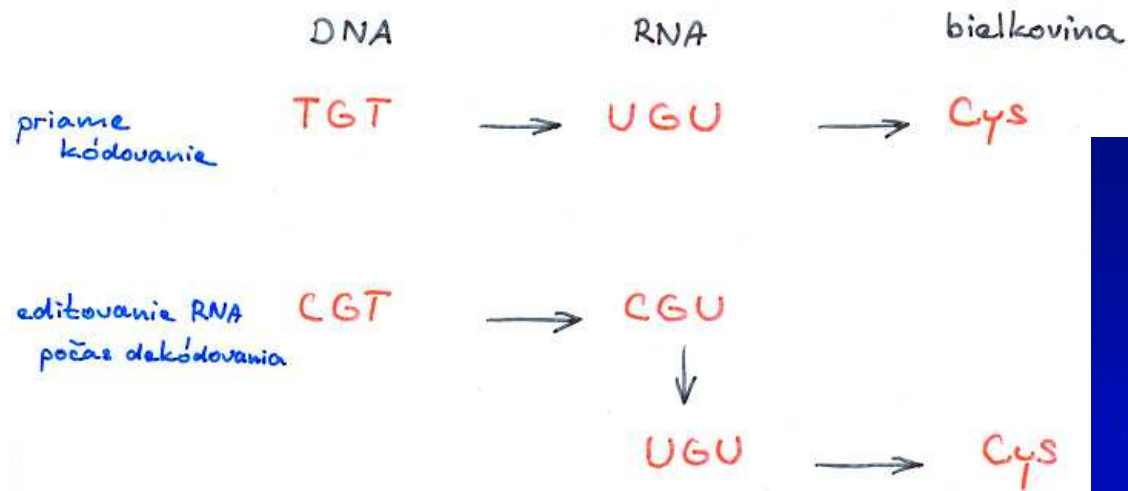
editovanie RNA - korigovanie správy prepísanej z úrovne DNA do RNA.
prichádza k:
- posunu čítacieho rámca
- vytvoreniu iniciačných, terminačných kódov
- odstraňovaniu nezoovnalosti v genetickom kóde (→ univerzálnosť)





Obr. I.4 Model vzniku RNA-editace pasivním výběrem. Jestliže dojde v DNA k mutaci, například k deleci jednoho nukleotidu, která sníží biologickou zdatnost svého nositele, začne na mutanta a jeho potomstvo působit selekční tlak. V jeho důsledku časem v potomstvu mutantů převládnu buď revertanti k původní formě (a), nebo mutanti, kteří dokážou nějakým způsobem negativní projevy mutace kompenzovat. Jednou z možností je i vytvoření editačního aparátu, který dokáže příslušnou změnu na úrovni mRNA opravit (b). Jakmile se jednou takový aparát vytvoří, může být dále modifikován a používán ke kompenzaci stále širšího okruhu mutací a postupně vzroste jeho univerzalita a komplexita. Po určité době se editační proces stane pro svého nositele zcela nezbytným. Způsob dodatečných úprav mRNA je obzvláště efektivní, a tedy obzvláště pravděpodobný v případě genů, které se nacházejí v buňce v mnoha identických kopiích, tedy zejména u genů organelové DNA.

Dva spôsoby kódovania rezídua cysteínu



z hľadiska enzymologického v pozadí konverzie báz C na U (prípadne i A na I) stoja deamináčne enzýmy.
z analógiu modifikácie báz v tRNA

Význam Editovania RNA ?

- produktom jediného génu môže byť viacero odlišných bielkovín ak mRNA je rozdielne editovaná
- molekulová evolúcia snáď napreduje rýchlejšie na úrovni RNA ako DNA a zároveň je pre organizmus i menej riziková (náhoda správnou verziou)
- regulácia expzie génu modifikáciou sekvencie nukleotidov mRNA - flexibilita -
- výhoda pre parazity, endosymbiontov ...

TAC AGC CCG TTT GTT AAT
ATG TCG GGC AAA CAA TTA

transcription

M S G K Q L
ATG UCG GGC AAA CAA UUA

RNA editing

M L G K *
ATG UUG GGC AAA UAA UUA

Editovanie RNA v mitochondriách rastlín

- všetky primárne transkripty mRNA sú editované
- rozsah edičných úprav 2 - 23 per transkript

napr. gen *ndh3* z mitochondrií pšenice
13.5% rozdiel v predpokladanom
aminokyselínovom zložení ak správa preložená
z editovanej versus needitovanej mRNA

tendencia - zmena v kodóne v dôsledku
80% editovania mRNA má za následok
i zmenu aminokyselínovej špecificity

konverzia C → U (deaminácia)

Editovanie RNA v chloroplastoch

C → U

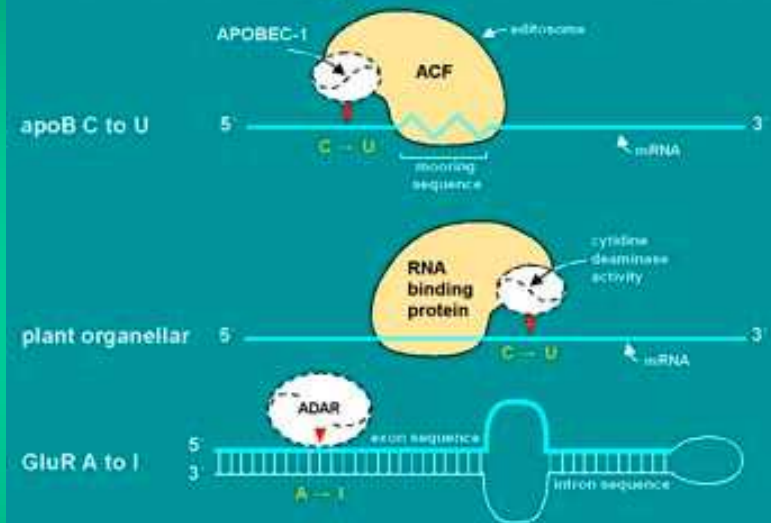
ACG

↓
AUG

tvorba klasického iniciačného kodónu

ACG - iniciačný kodón v genóme RNA vírusu
typu Sendai

Models of RNA Editing Systems with Known Mechanisms



Úloha editovania organelových RNA v evolúcii rastlín

* zmena zmyslu genetickej informácie
zapísanej v DNA **mitochondrií a**
plastidov editovaním transkriptov

* najčastejšie zmena **C** na **U**

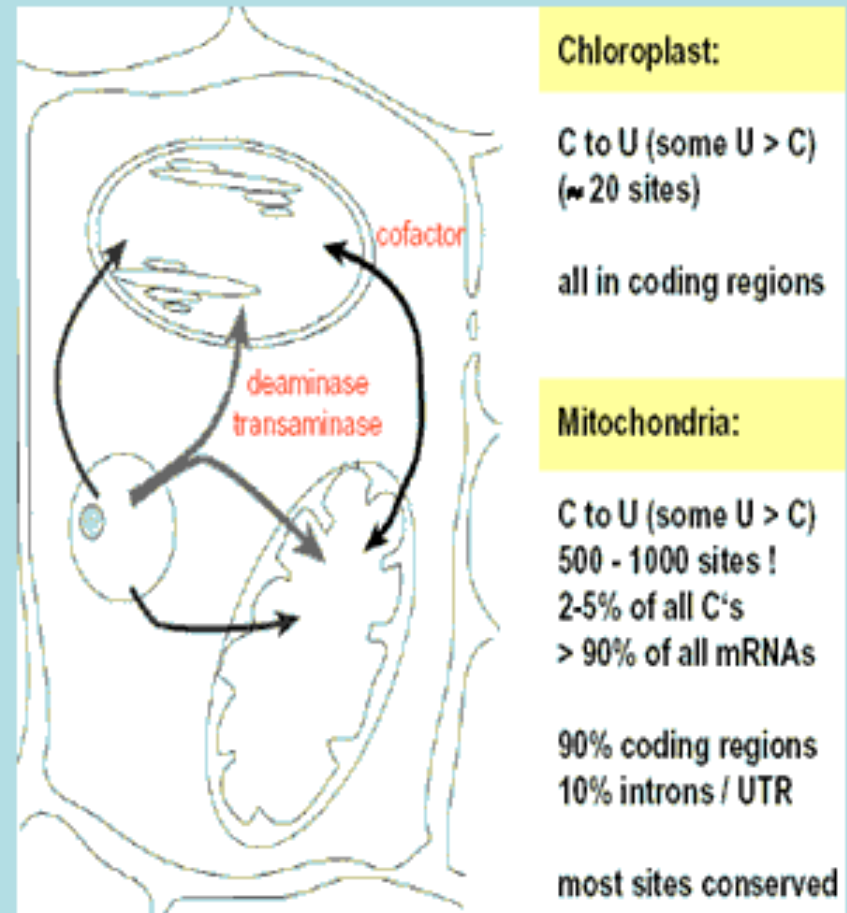
(niekedy **U** na **C**)

* editovanie RNA v organelách rastlín
vedie k **obnove univerzálneho**
kódovania AK príslušnými tripletmi

* konzervatívne aminokyseliny dôležité
pre zachovanie štruktúry či funkcie
proteínov

* **editovanie organelových**
transkriptov mladý fenomén v evolúcii
rastlín (od machorastov, riasy nie)

RNA-Editing



C → **U**

Úloha editovania organelových RNA v evolúcii rastlín

- * evolučne veľmi dynamický proces – odlišné vzory/miesta editovania i u blízko príbuzných rastlín
 - * editovacia mašinéria nie je kódovaná organelami
 - * **import druhovo a miestne špecifických faktorov z nukleocytosolu**
- * nielen **vzory** (miesta) editovania plastidových transkriptov sú **druhovo špecifické**, ale aj **jadrom kódované editujúce faktory** – speciácia
- * rýchlo sa vyvíjajúci speciačný prvok (bariéra) s dopadom na fitness rastlín cez funkcie proteínov
 - * laboratórne pripravené **kombinácie jadier a plastidov** z rôznych druhov rastlín (cybridy) potvrdzujú **dopad editovania RNA na evolúciu rastlín**

Porovnanie editovania RNA -
- typ inzercia/delecia

A. *Trypanosoma brucei*
cytochróm c oxidáza III:

Kinetoplast (mt)*

UUAUGUGAUUAUGG UUUUG UUUUUUAUU GG_ΔUAUUUUUUAAA

B. *Physarum polycephalum* (mt)
ATP syntetáza, podjednotka α:

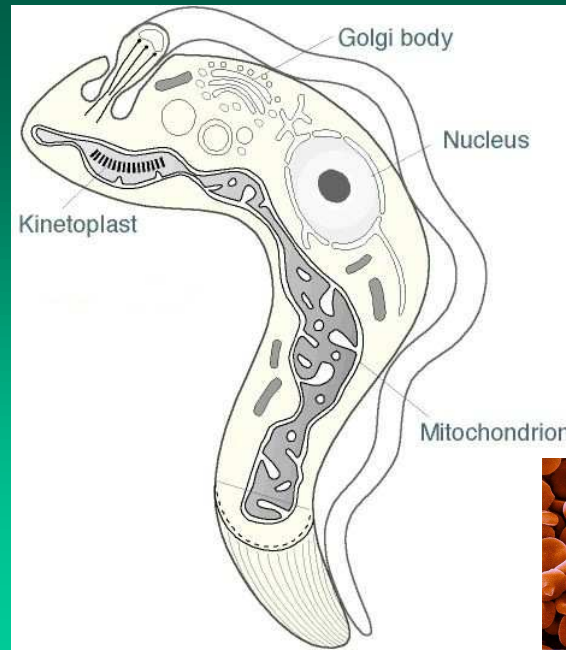
GUCAAU CGGUCAAAUUAUUUCUGUCAAAGAUGGUGUUGC UUUUGUUAACA 66A CUA

velké písmená (U, C) inzercia príslušných rezidui
Δ - delecia uridinu

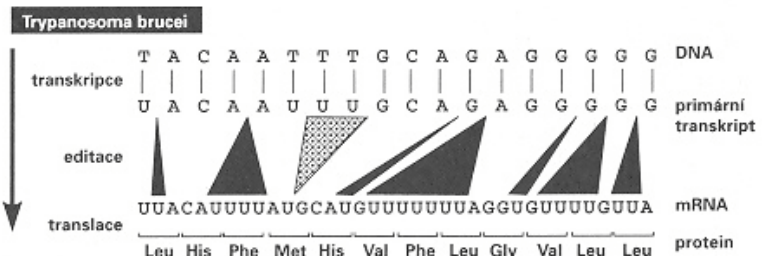
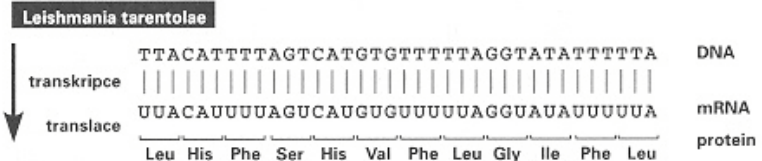
uvádzané sú len časti publikovaných sekvencií nukleotidov príslušných mRNA

* kinetoplast - osobitný typ mitochondrií
genóm pozostáva z maxi- a minikruhov

za aktívny genetický materiál sú pokladané maxikruhy
minikruhy - pripomínajú plazmidy - aktívne
v procese editovania RNA



34. Editování transkriptů u trypanozom.
Srovnání malého úseku mitochondriálních genů pro cytochromoxidázu III, jejich transkriptů a proteinů u dvou příslušníků řádu Kinetoplastida: *Leishmania tarentolae* a *Trypanosoma brucei*. Oba úseky se na úrovni polypeptidového řetězce liší jen ve 3 aminokyselinách a jejich homologie je evidentní. U *L. tarentolae* není genetický zápis editován, takže kodónům mRNA odpovídá i příslušná sekvence v genu. U *T. brucei* odpovídá sekvenci 12 aminokyselin (36 nukleotidů mRNA) pouze 18 nukleotidů v genu, resp. primárním transkriptu. Primární transkript je editován na mRNA odebráním dvou a přidáním 20 uridinů na definovaných místech. Podle [5]



Editovanie RNA v kinetoplastoch trypanozómov

rôzny rozsah - od zopár inzercií U až po extenzívne prepracovanie celej správy (zloženie dĺžky transkriptu) - COX III viac ako 55% z ~200 kódujúcich nukleotidov je začlenených do mRNA potranskripčne

gRNA - "guide RNA" - sprievodcovská RNA

gRNA - krátke primárne transkripty (55-70 nukleotidov)
- sú plne komplementárne k výslednej editovanej mRNA, no len čiastočne k primárnemu transkriptu

gRNA:

- typické polyuridinové chvosty (poly U) nekódované matricou DNA
- na 5' konci krátke kotviace isekun (10 nukleotidov) - komplementárne k mRNA pred editovaním
- predpoklad: medzi gRNA a needitovaným primárnym transkriptom nastáva akési párovanie sekvencného zloženia na základe párovania báz

editovanie RNA sa uskutočňuje v mnohobuňkových ribonukleoproteínových komplexoch
komplex I - maturácia gRNA, ich výber
komplex II - editozóm

gRNA - kódované minikruhmi kinetoplastovej DNA

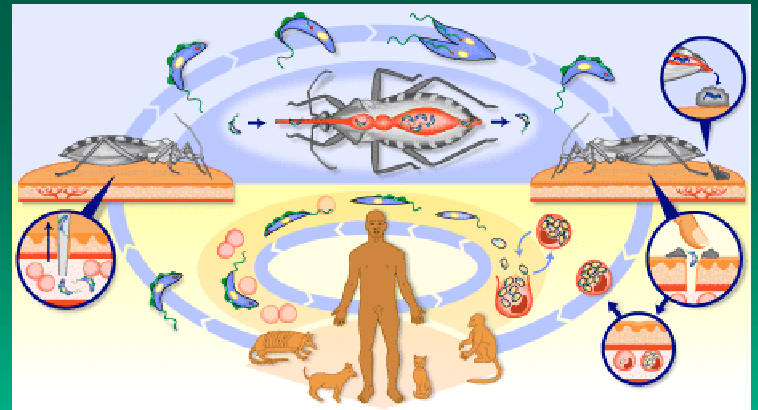
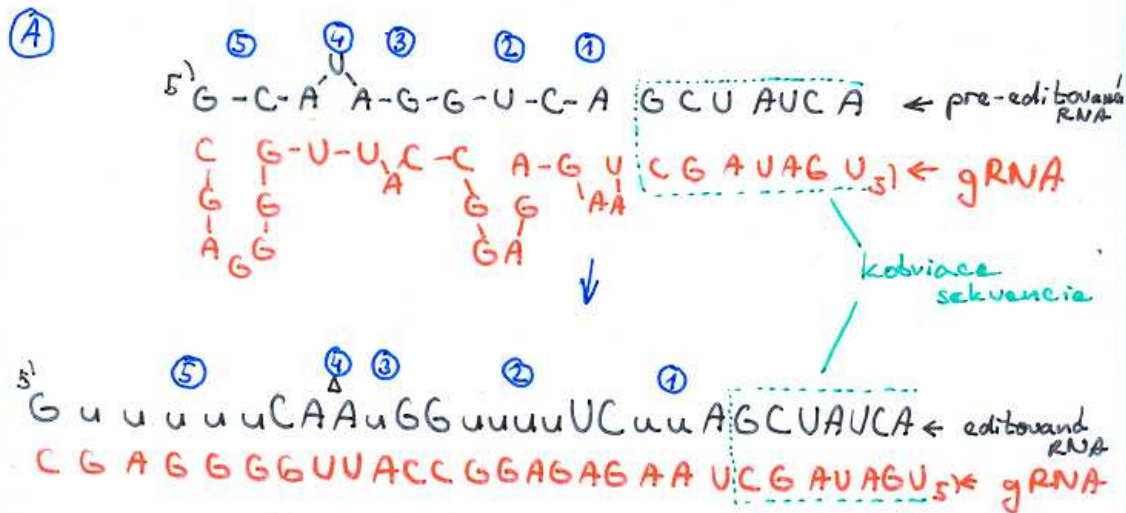
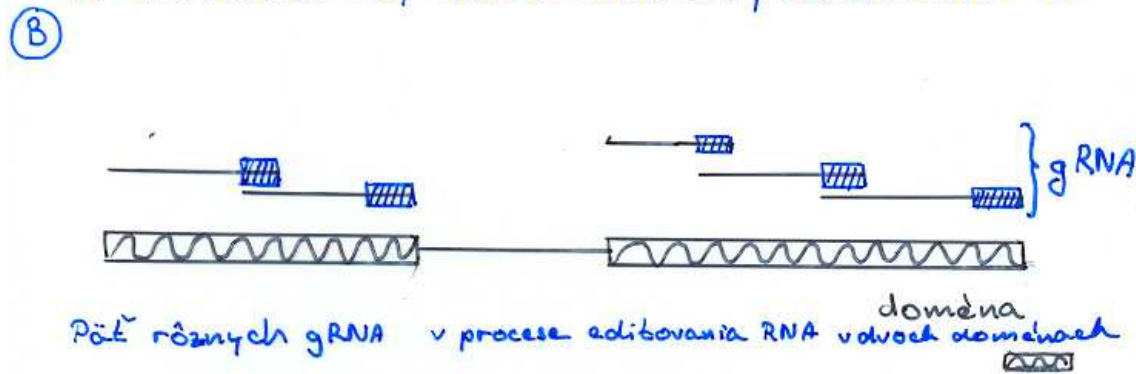


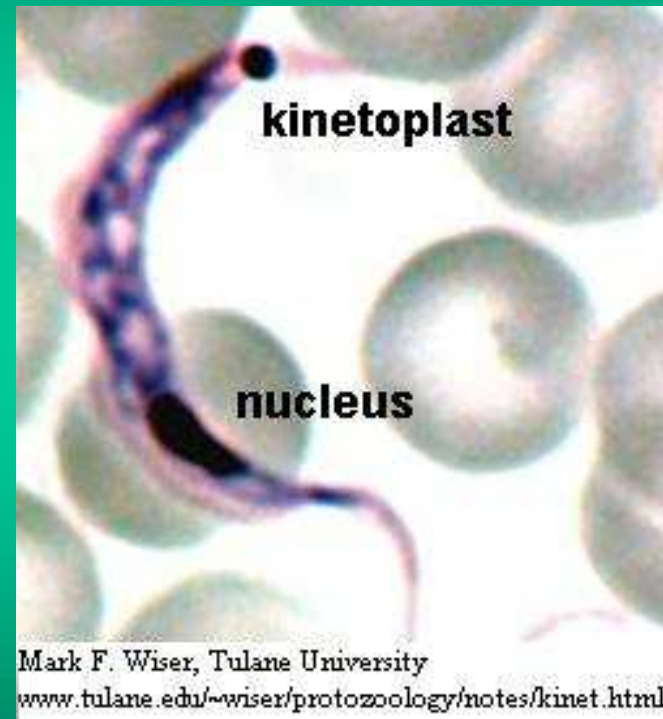
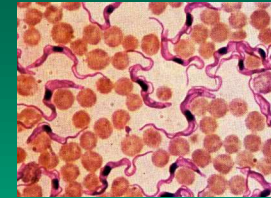
Schéma gRNA riadeného editovania RNA v kinetoplastoch



interakcia hypotebickkej gRNA s mRNA
 editčné miesta 1-5; inzercia uridínu - u; delecia uridínu - u



okrem normálneho Watson-Crick-ovského párovania
 tiež interakcia gRNA-mRNA hojne
 využíva párovanie G-U a v niektorých prípadoch
 (zriedka) i párovanie A-C



Amino acid sequence encoded
in gene

Lys Val Glu Asn Leu Val

5' ...A A A G T A G A G A A C C T G G T A G G... 3' DNA



Transcription

5' ...A A A G U A G A G A A C C U G G U A G G... 3' pre-edited RNA

3' ...U U A U A U C U A A U A U A U G G A U A A U A U... 5' Guide RNA

5' ...A A A G U A G A G A G A A C C U G G U A G G... (pre-edited RNA spread out to show alignment)



Editing

5' ...A A A G U A G A U U G U A U A C C U G G U A G G... 3' Edited RNA



Translation of edited RNA



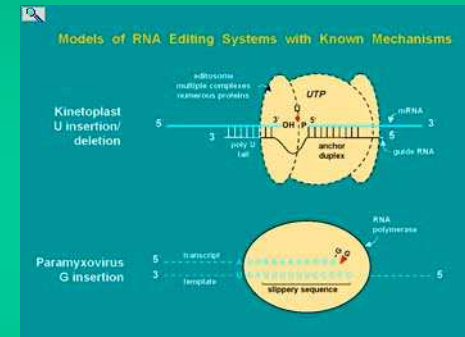
Amino acid sequence
in the protein

Editovanie RNA - porovnávajúce informácie určenej na preklad s nejakým jej dokonalým originálom (? kryptogénny?) a uskutočnenie nevyhnutných korekcií

z hľadiska mechanizmu i rozsahu heterogénne procesy
- operujú v súlade s centrálnou dogmou MB

Rôzne typy editovania RNA

Organizmus	Genóm	Transkript	Modifikácia	Dôsledok
Trypanosoma	mitochondrion (kinetoplast)	mRNA	U insercia/delecia	modifikácia ORF a ich tvorba
slizovka Physarum polycephalum	mitochondrion	mRNA rRNA tRNA	C insercia i U, G, A	korekcia čítacieho rámca
semenné rastliny	mitochondrion	mRNA rRNA	C → U konverzia U → C	korekcia kódu (STOP, START)
semenné rastliny	chloroplast	mRNA	C → U konverzia	korekcia kódu (START + kódu)
človek	jadro	mRNA tRNA	C → U konverzia i iné A → I A → G	korekcia kódu ...
paramyxovírus	vírus	proteín mRNA	G insercia	posun rámca



organizmus/tkáň	buněčný kompartment	typ editování	substrátová mRNA
semenné rostliny	mitochondrie, chloroplasty	konverze C → U někdy i U → C	různé
savci/střevo	cytoplazma	konverze C → U	apolipoprotein B
paramyxovirus	cytoplazma	vložení G	nový transkript
Physarum	mitochondrie	vložení C	různé
myš/mozek	cytoplazma	konverze A → I	receptor glutamátu
savci/játra	cytoplazma	konverze pyrimidinů	tRNA pro asparát a selenocystein
Acanthamoeba	mitochondrie	různé konverze	různé tRNA
Trypanosomatidae	mitochondrie	adice a delece U	různé mRNA

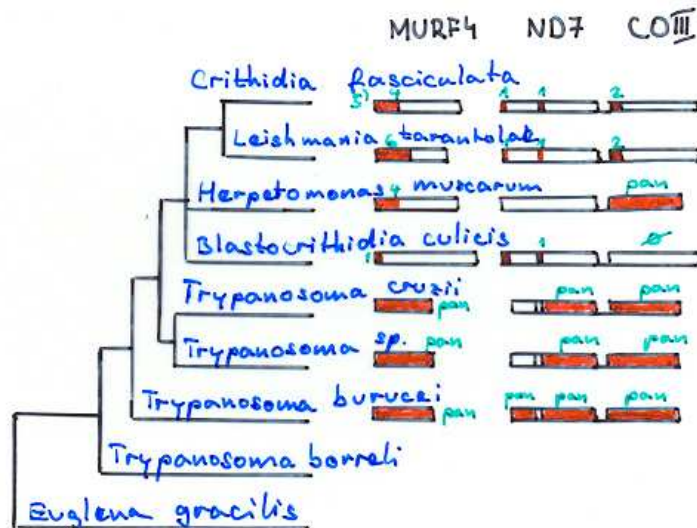
Edítovanie RNA z hľadiska evolučného

? reminiscencia do prvotného sveta RNA?

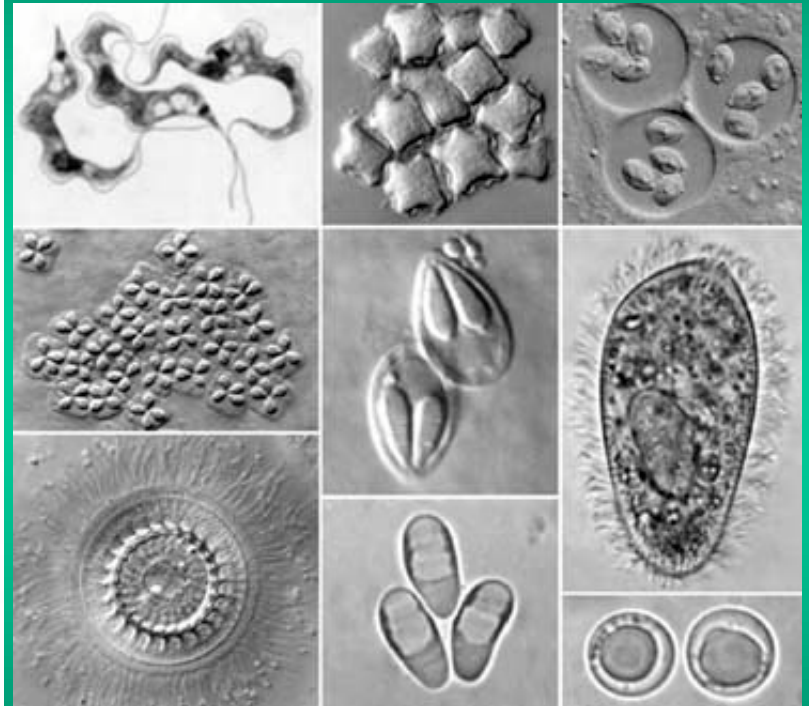
- editovanie RNA v genetických systémoch, ktoré majú za sebou častokrát úplne odlišnú históriu
- niektoré typy editovania RNA (hlavne odlišné mechanizmom) pravdepodobne evolučne spolu nesúvisia

Evolúcia Editovania RNA v skupine "kinetoplastových" prvokov - trypanozóum

Fylogenetický strom života zostrojaný na základe porovnávania 18S r-RNA nukleocytoplasty

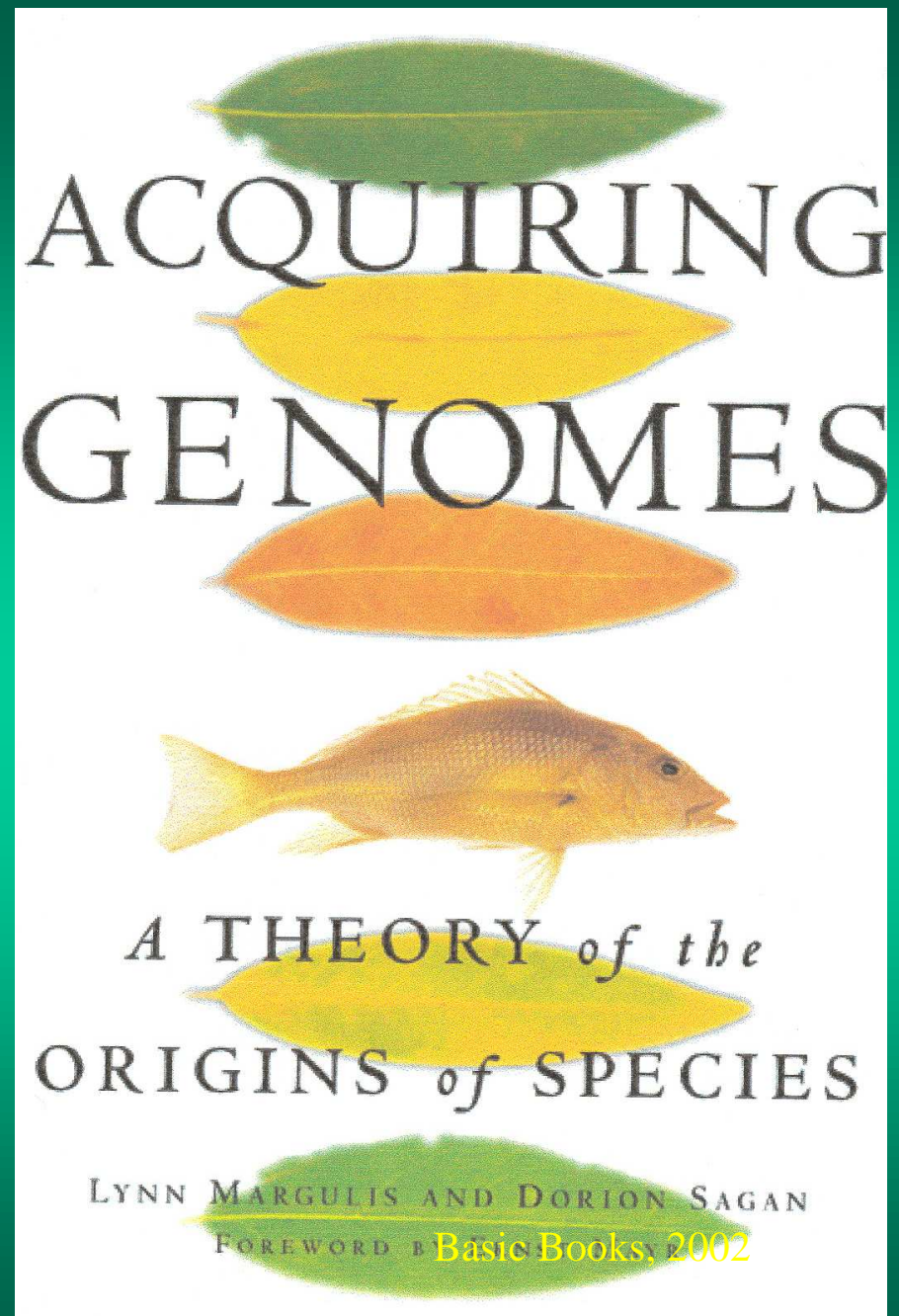


pan = "pan-editing" - editovaný je celý gén
 5' = "5'-editing" - editovanie 5'-konca



The last eukaryotic common ancestor (LECA): Acquisition of cytoskeletal motility from aerotolerant spirochetes in the Proterozoic Eon

Margulis L., Source: PNAS USA 103 (35): 13080-13085 AUG 29 2006



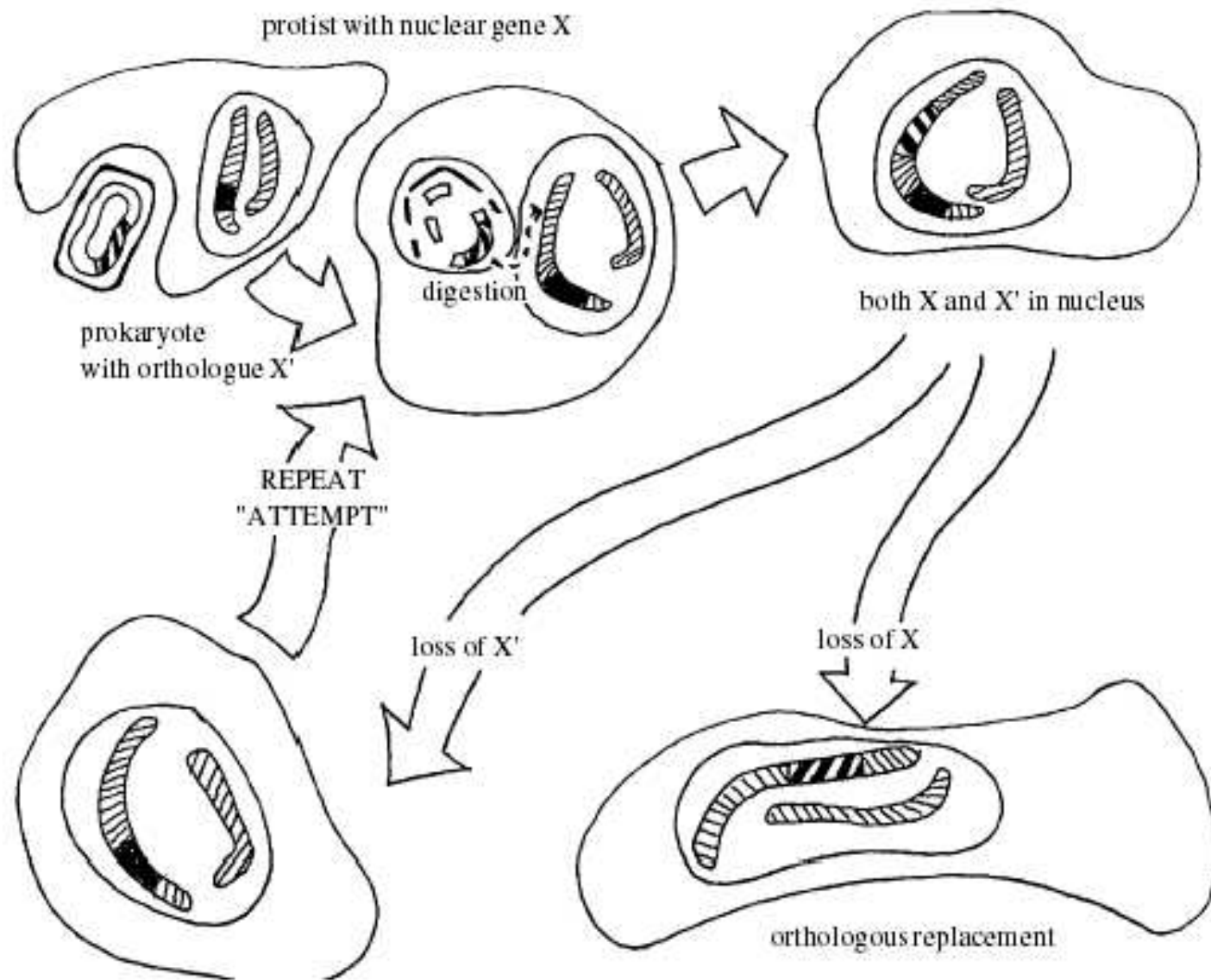


Figure 3. The 'you are what you eat' genetic ratchet for orthologous replacement (after Doolittle 1998).

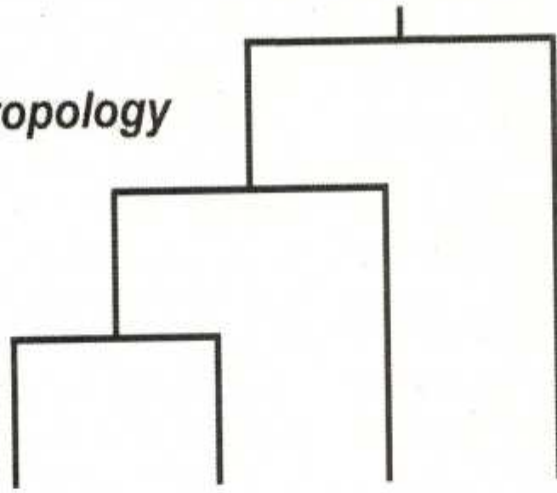
Horizontálny prenos génov

- Často prenášané:
- operatívne gény
 - (metabolizmus a regulácie, bunková štruktúra)
- Zriedka prenášané:
- informačné gény (transkripcia, translácia)

Horizontálny prenos génov je spätý s variabilnými genetickými elementami:

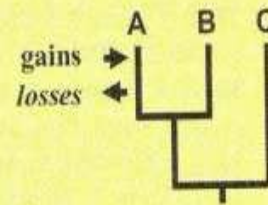
**profágy,
plazmidy,
IS-elementy,
transpozóny,
integróny**

rRNA topology

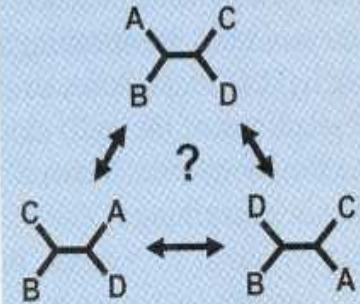


Genome A Genome B Genome C Genome D

Genome content approach



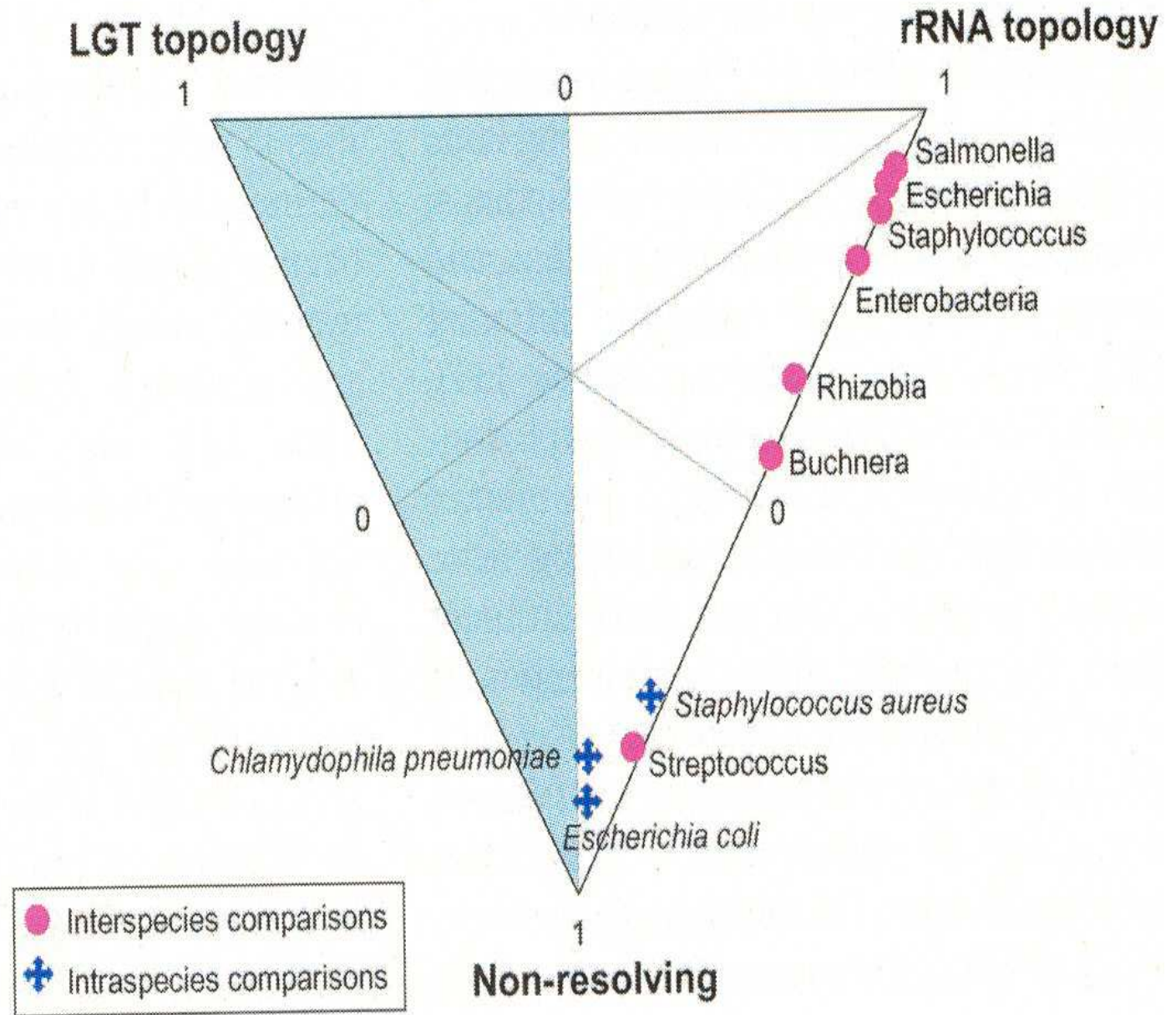
Phylogenetic approach



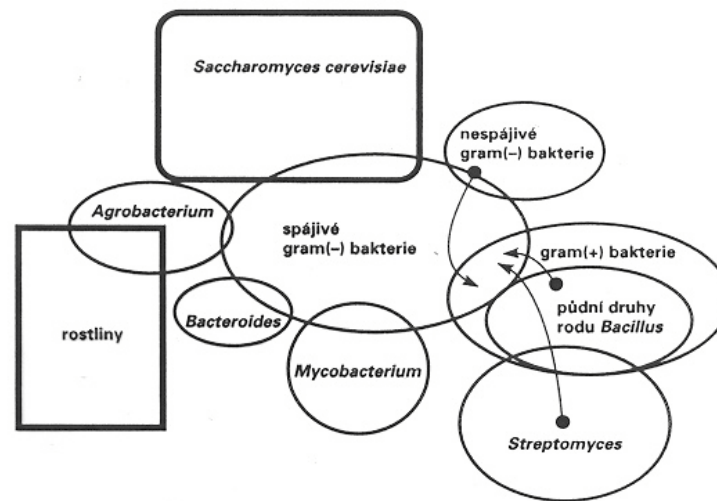
	rRNA topology				Complete genome content		Ortholog phylogenies				
	Genome A	Genome B	Genome C	Genome D	Genome A gains (losses)	Genome B gains (losses)	rRNA topology	LGT topology	Non-resolving	Total orthologs	
Interspecies	Escherichia	<i>E. coli</i> 933	<i>E. coli</i> K12	<i>S. typhimurium</i>	<i>Y. pestis</i> KIM	522 (22)	144 (114)	1589	9	116	1715
	Salmonella	<i>S. enterica</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i> K12	<i>Y. pestis</i> KIM	259 (38)	203 (13)	1603	3	97	1703
	Enterobacteria	<i>E. coli</i> K12	<i>S. typhimurium</i>	<i>Y. pestis</i> KIM	<i>V. cholerae</i>	549 (54)	601 (29)	923	0	222	1145
	Buchnera	<i>B. aphidicola</i> Ap	<i>B. aphidicola</i> Sg	<i>B. aphidicola</i> Bp	<i>E. coli</i> K12	9 (10)	1 (11)	237	0	169	406
	Streptococcus	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>L. lactis</i>	232 (56)	337 (19)	93	28	564	686
	Rhizobia	<i>S. meliloti</i>	<i>A. tumefaciens</i>	<i>M. loti</i>	<i>B. melitensis</i>	214 (117)	519 (113)	616	34	360	1010
	Staphylococcus	<i>S. aureus</i> MW2	<i>S. aureus</i> Mu50	<i>S. epidermidis</i>	<i>B. subtilis</i>	71 (4)	128 (2)	737	0	72	809
Intraspecies	<i>C. pneumoniae</i>	<i>C. pneumoniae</i> CWL029	<i>C. pneumoniae</i> AR39	<i>C. pneumoniae</i> J138	<i>C. trachomatis</i>	nd	nd	60	52	520	632
	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> 933	<i>E. coli</i> K12	<i>E. coli</i> CFT	<i>S. typhimurium</i>	nd	nd	177	149	1888	2215
	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> N315	<i>S. aureus</i> Mu50	<i>S. aureus</i> MW2	<i>S. epidermidis</i>	nd	nd	340	6	1225	1571

... that ... can be explained, respec-

Fig. 2. Relative frequencies of the three categories of alignments, i.e., those supporting the reference phylogeny (SSU rRNA), those supporting an alternate phylogeny (LGT), and those with no statistical support for any phylogeny. Points represent quartets of genomes for which orthologous genes have been inferred, aligned, and evaluated at the nucleic acid sequences level based on the SH test implemented in Puzzle 5.1 (19). The left part of the plot (in blue) represents the area where LGT predominates.



51. Horizontální přenos genetického materiálu. Prokázané případy přirozeného toku plazmidů mezi různými skupinami organismů. Podle [9]



Horizontální přenos genetické informace

O horizontálním přesunu jsme mluvili výše pouze v souvislosti se světem bakterií, a tak jsme snad mohli navodit dojem, že eukaryonti jsou k inkorporaci cizí DNA imunní. Není tomu tak. Všechny živé organizmy jsou propojeny sítí přenosů, jakkoli je četnost takových přenosů nízká (obr. 51). Přenos části genetické informace mezi hostiteli z různých evolučních linií pomocí virů a plazmidů byl mnohokrát popsán [9, 216, 217, 472]. Plazmidy lze do hostitele vložit např.:

- Pomocí aerosolu (infekce plicních buněk myši takto vdechovaným plazmidem [491]).
- Pomocí parazitických roztočů (přenos mezi různými druhy octomilek rodu *Drosophila* [246]).
- Bakteriální infekcí (přenos Ti plazmidu z agrobakterií do kořenových buněk rostlin [547]).

Zřejmě bude nalezena celá paleta dalších exotických cest přenosu. Snadnost, s jakou lze cizorodý genetický element přenést z prostředí do buněk v tkáňové kultuře i pouhým dočasným mechanickým poškozením buněk (přenést v tom smyslu, že se inkorporuje do jádra a dojde k expresi přenesené informace!), svědčí o tom, že nakazit buňky genetickým materiálem jiného původu je poměrně snadné. Jistěže se tyto vne-