

Genomika rostlin



Jaroslav Doležel

**Laboratoř molekulární cytogenetiky a cytometrie,
Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Sokolovská 6, Olomouc**



Ústav experimentální botaniky v Olomouci

- Pracoviště Sokolovská (J. Doležel)
- Společná laboratoř UP a ÚEB (M. Strnad)
- Pracoviště na Sokolovské ulici bylo založeno roku 1964
Doc. Ing. Oldřichem Konvičkou, CSc.
- Předmět činnosti: základní výzkum
 - Rostlinné biotechnologie
 - Buněčná biologie
 - Genetika a genomika



Co je to genom?

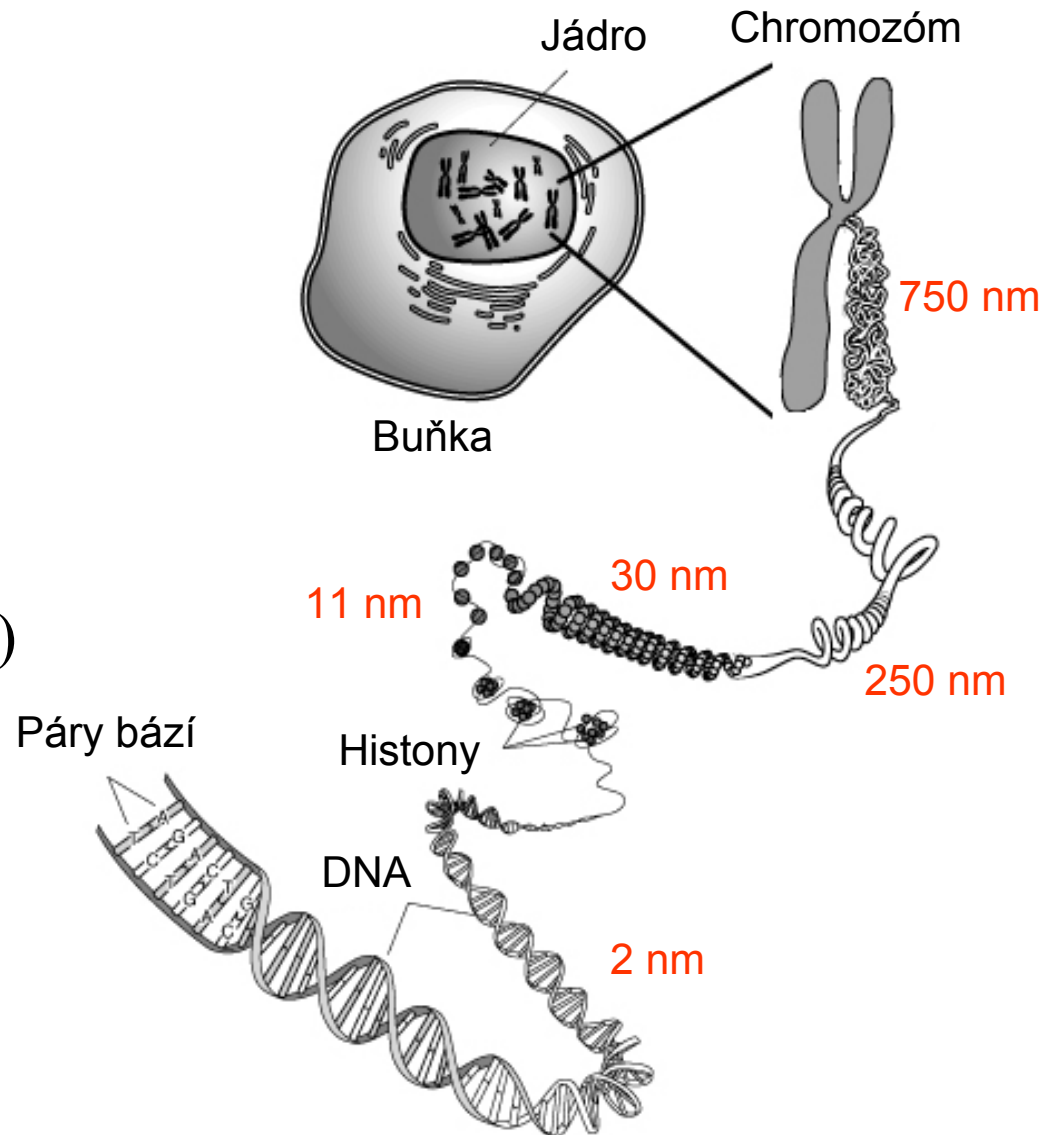
- Hans Winkler (1920): **Gen + ome**
(„ome“ = velký/úplný soubor jednotek)

„Navrhuji termín **genom** pro haploidní sadu chromozómů, která spolu s protoplazmou představuje materiální základ druhu.“

- **Genom** = veškerá DNA, která představuje jednu úplnou kopii dědičné informace organismu

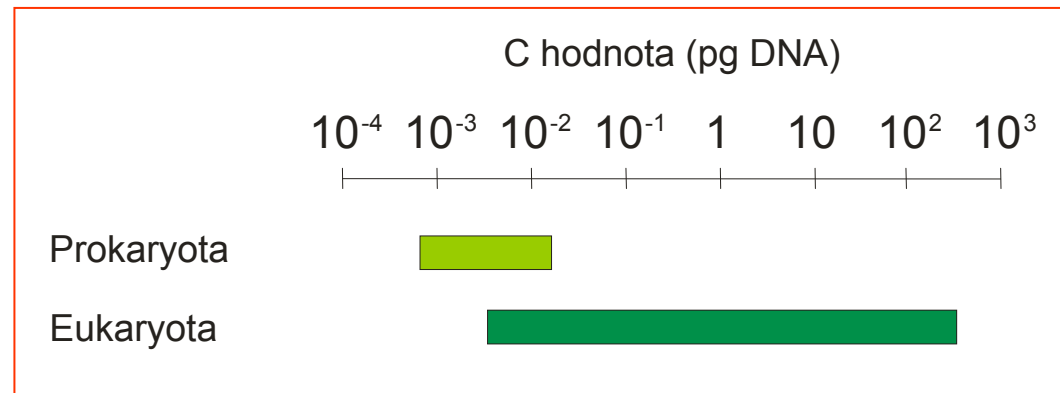
Většina DNA se nachází v buněčném jádře

- **Jaderný genom**
- **Chromozómy**
(v somatické buňce 2 homologní sady)
- **Chromatin**
(DNA, RNA, proteiny)



Kolik DNA je v buněčném jádře?

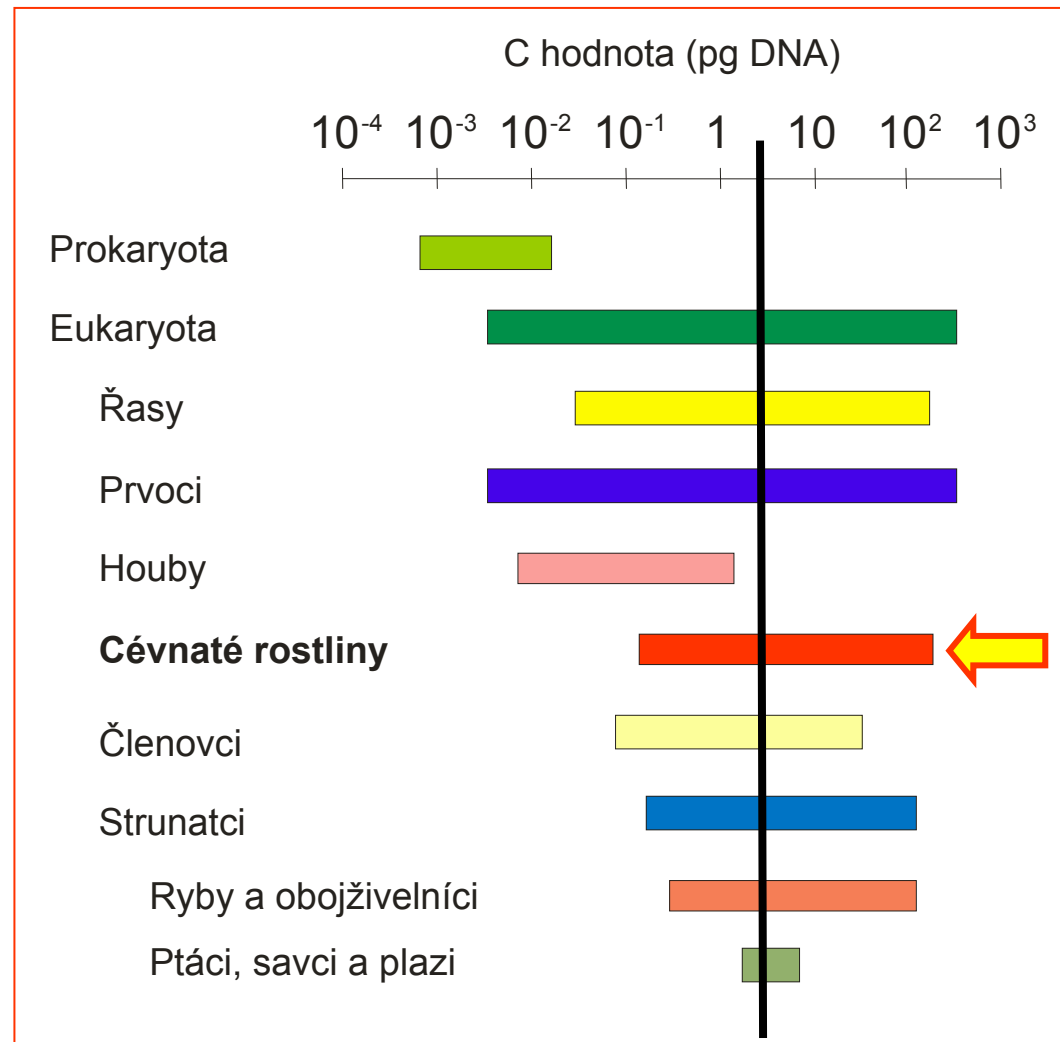
- **C hodnota** = množství jaderné DNA představující jednu kopii jaderného genomu



- hmotnost v pg DNA
- počet párů bází (bp)
(1pg DNA = 978 Mbp)

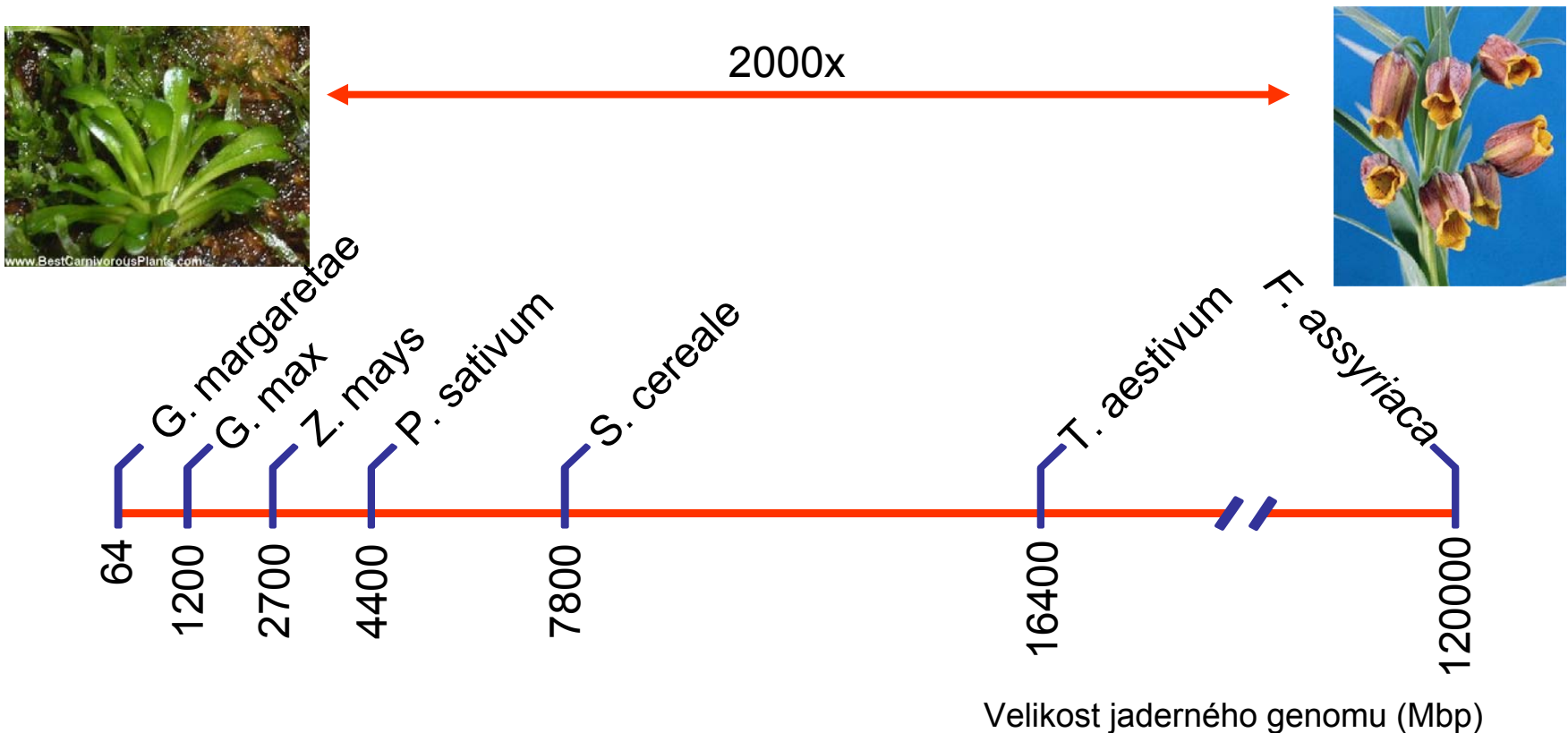
Kolik DNA je v buněčném jádře?

- **C hodnota** = množství jaderné DNA představující jednu kopii jaderného genomu
 - hmotnost v pg DNA
 - počet párů bází (bp)
(1pg DNA = 978 Mbp)



Není to divné?

- **C hodnota** vykazuje slabou korelaci se složitostí organismu
- Morfologicky podobné organismy se liší velikostí jaderného genomu



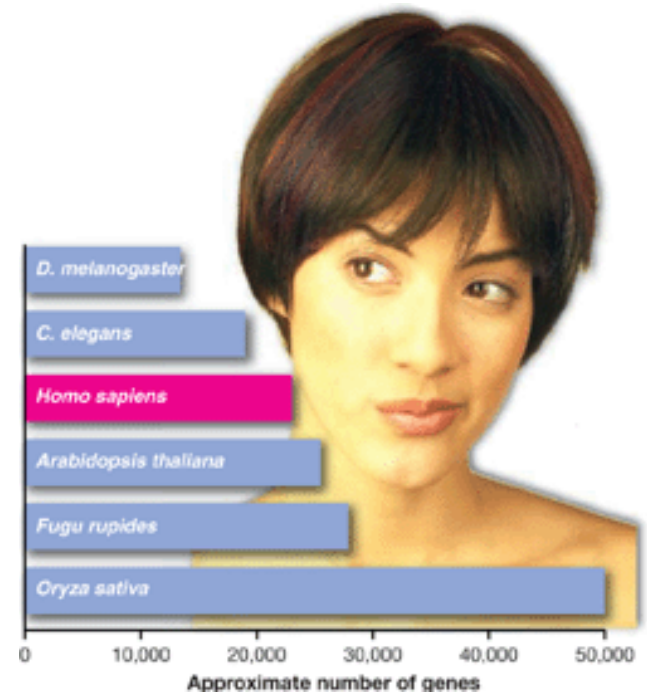
Z čeho se tedy jaderný genom skládá?

1) Geny a genům podobné sekvence

- Strukturní geny (kódující polypeptidy; obvykle 1 – 10 kopií)
- Geny pro funkční RNA (např. rRNA, tRNA; více kopií)

Kolik je genů v genomu?

- Nepříliš přesné odhady: 25 000 – 50 000 genů
- Počet genů je u všech druhů velmi podobný a tvoří 30 – 1% genomu
- „Gene space“



A z čeho ještě?

2) Negenové sekvence

- Tvoří většinu genomu
- Způsobují rozdíly ve velikosti genomu
- V genomu se obvykle mnohokrát opakují
→ repetitivní sekvence DNA
 - Uspořádané za sebou (tandemově)

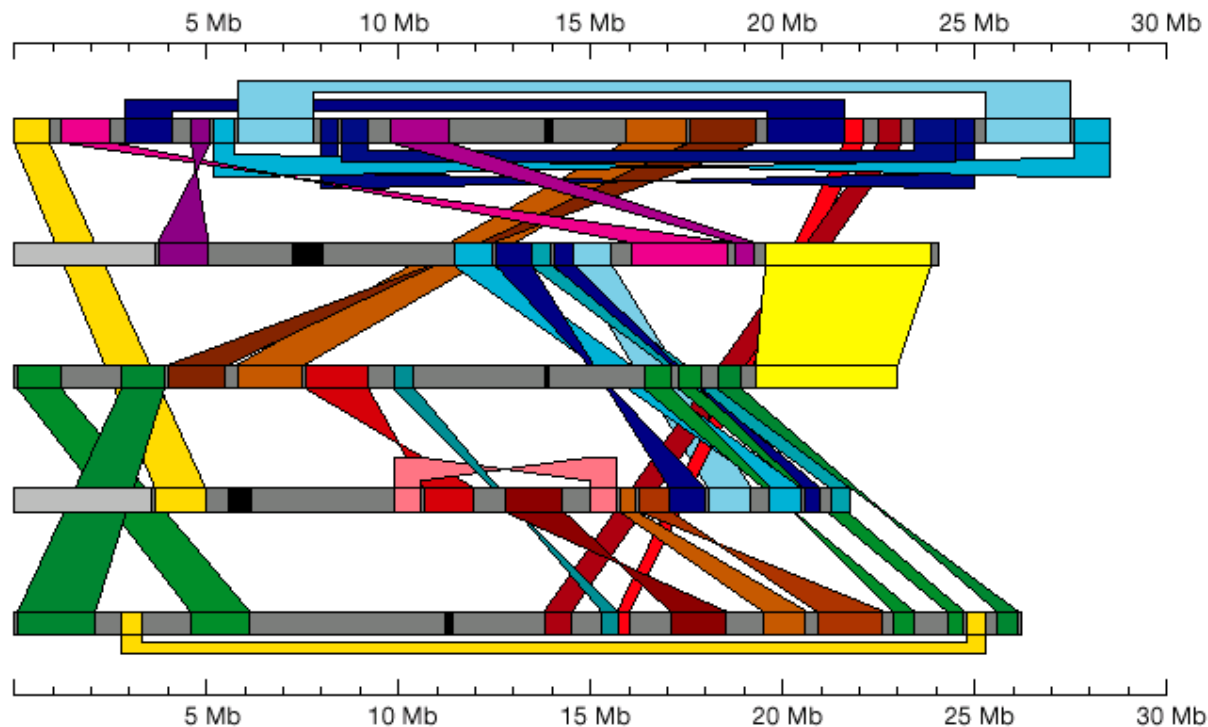
```
1 aatttttgta ttttttttag agacgggggtt tcaccatggt ggtcaggctg actatggagt
61 tattttaagg ttaatatata taaagggtat gatagaacac ttgtcatagt ttagaacgaa
121 ctaacgatag atagatagat agatagatag atagatagat agatagatag atagacagat
181 tgatagtttt tttttatctc actaaatagt ctatagtaaa catttaatta ccaatatttg
241 gtgcaattct gtcaatgagg ataaatgtgg aatcgttata attcttaaga atatatattc
301 cctctgagtt tttgatacct cagatttttaa ggcc
```

- Rozptýlené - obvykle mají charakter mobilních genetických elementů - *transpozónů*

Co se dělo v průběhu evoluce?

A) Skokové zvětšování genomu

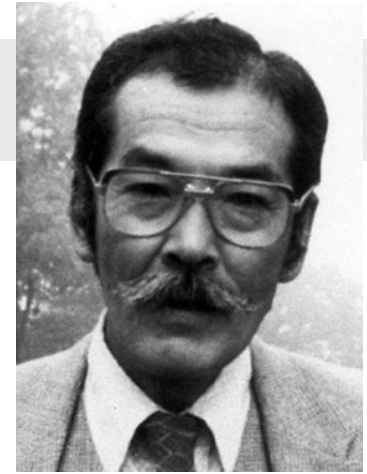
- Zdvojování jaderného genomu (→ polyploidie)
následované diploidizací (→ kryptopolyploidie)



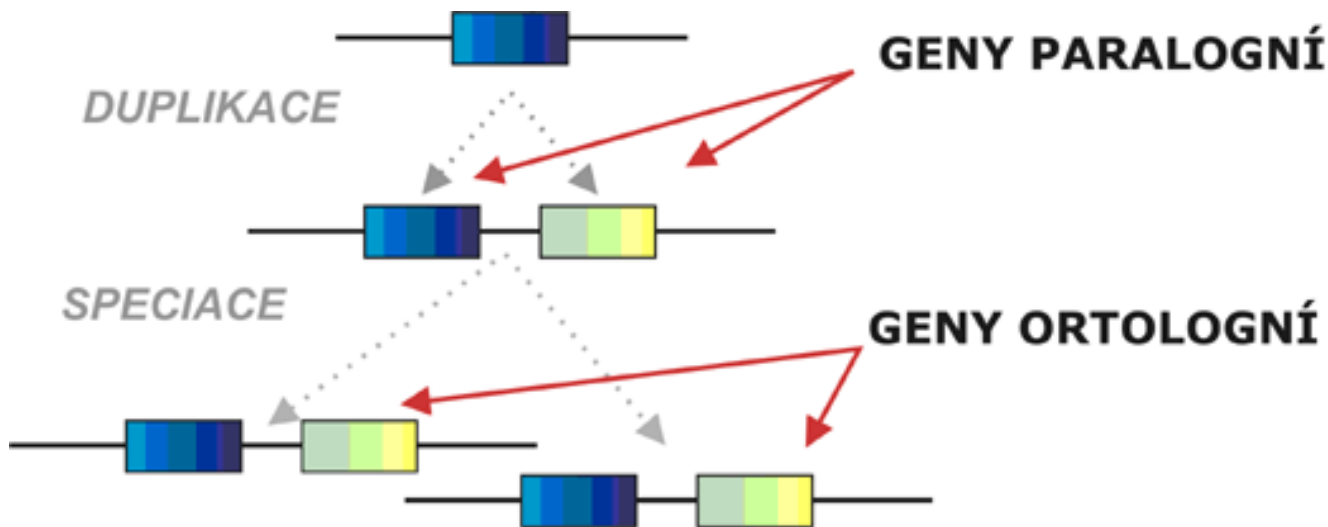
Duplikace genomu *Arabidopsis thaliana* ($2n = 2x = 10$)

Evoluce genovou duplikací

„Je snazší tvořit nové geny ze starých než je vytvářet de novo“



(S. Ohno, 1970)

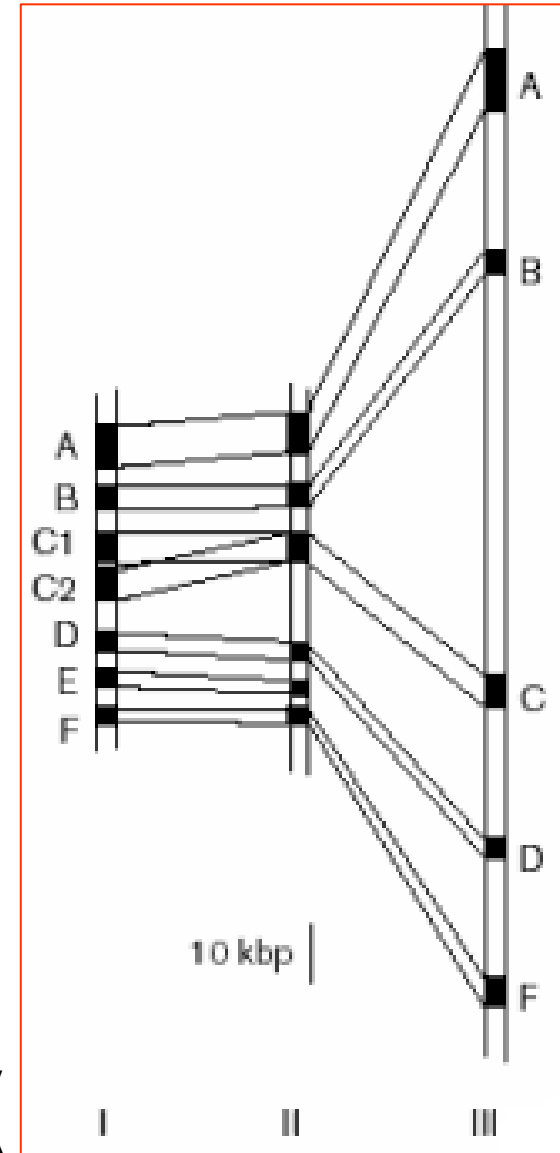


Paralogní geny vznikly duplikací ancestrálního genu (mohou se navzájem lišit funkcí)

Co se ještě dělo v průběhu evoluce?

B) Postupné zvětšování genomu

- Transpozóny
 - aktivace transpozónů v určité epoše
 - striktní regulace počtu kopií transpozónů v ostatním období
- Chyby replikace DNA, chromozómové aberace, nerovnoměrný crossing-over, amplifikace DNA, ...



Geny a jejich pořadí jsou +/- zachovány (kolinearita), mění se množství nekódující DNA

Co udělaly 3 transpozóny s genomem rýže ...

Oryza sativa (390 Mbp)

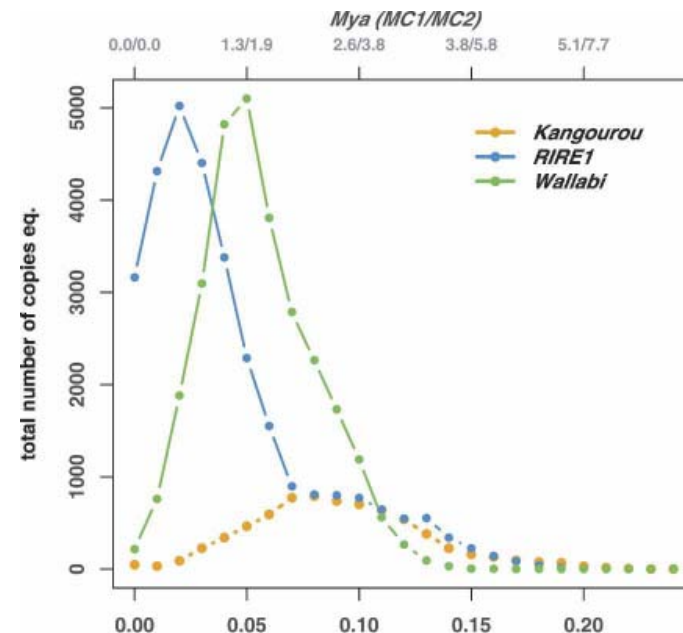


Oryza australiensis (965 Mbp)



Oryza australiensis

Transpozón	Kopií	DNA
<i>RIRE1</i>	40000	265 Mbp
<i>Kangourou</i>	10000	90 Mbp
<i>Wallabi</i>	39000	250 Mbp
Společně		605 Mbp



Proč genomy rostlin sekvenujeme?

- Struktura genomu (strukturní genomika)
- Porovnání různých genomů (komparativní genomika)
- Variabilita genomu v rámci populací (populační genomika)
- Funkce genomu (funkční genomika)

Praktické aplikace

- DNA markery (genetická diverzita, šlechtění pomocí markerů)
- Klonování genů

Pokrok v sekvenování DNA

Kapilární elektroforéza

- Délka fragmentů (1000 bází)
- Kapacita (5 Mb / týden)



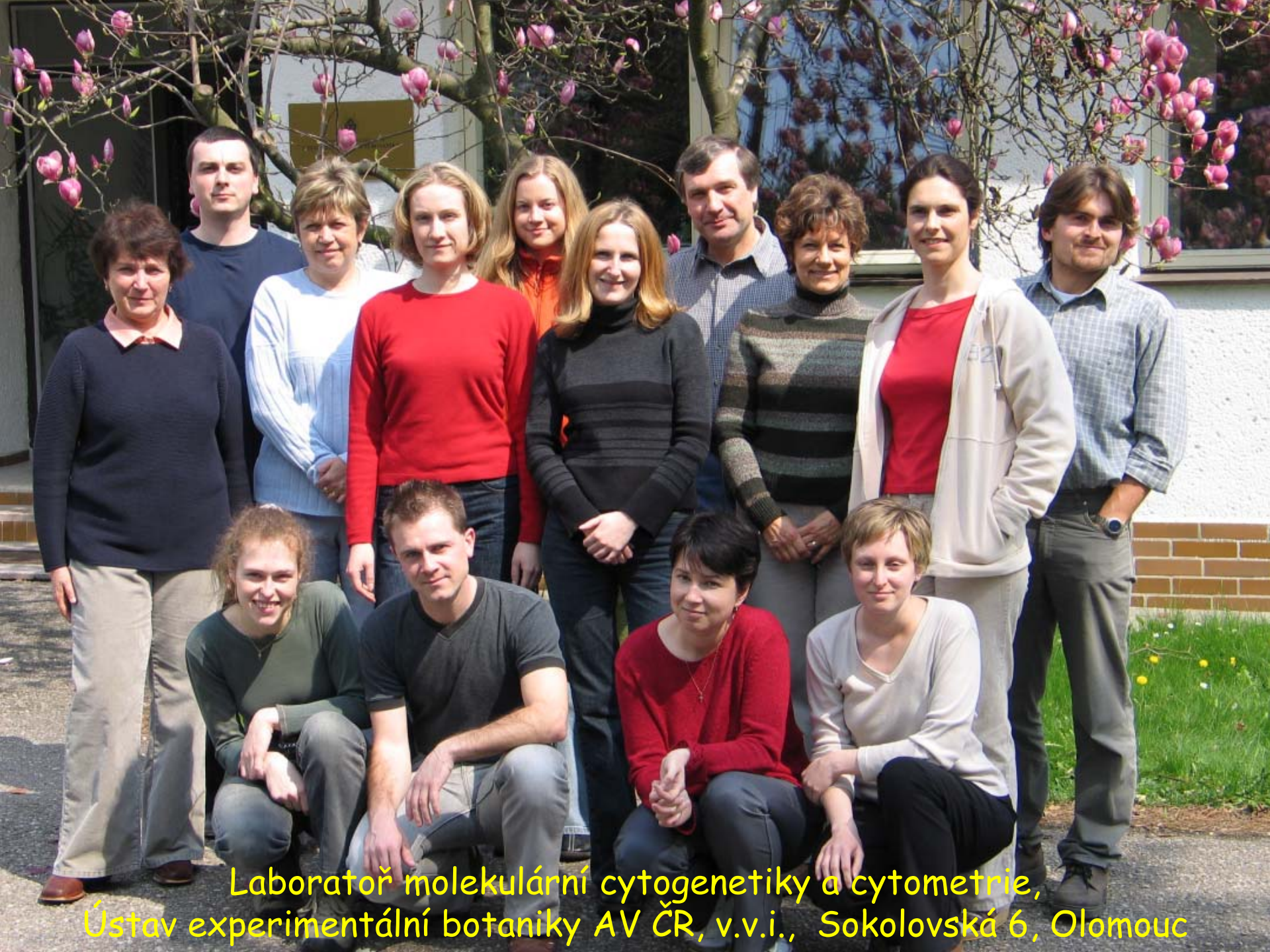
Nové metody

- Relativně krátké fragmenty (15 – 200 bází)
- Obrovská kapacita (500 - 10000 Mb / týden)
- Lidský genom (re-sekvenování) za 1000 dolarů?



Současný stav sekvenování genomů rostlin

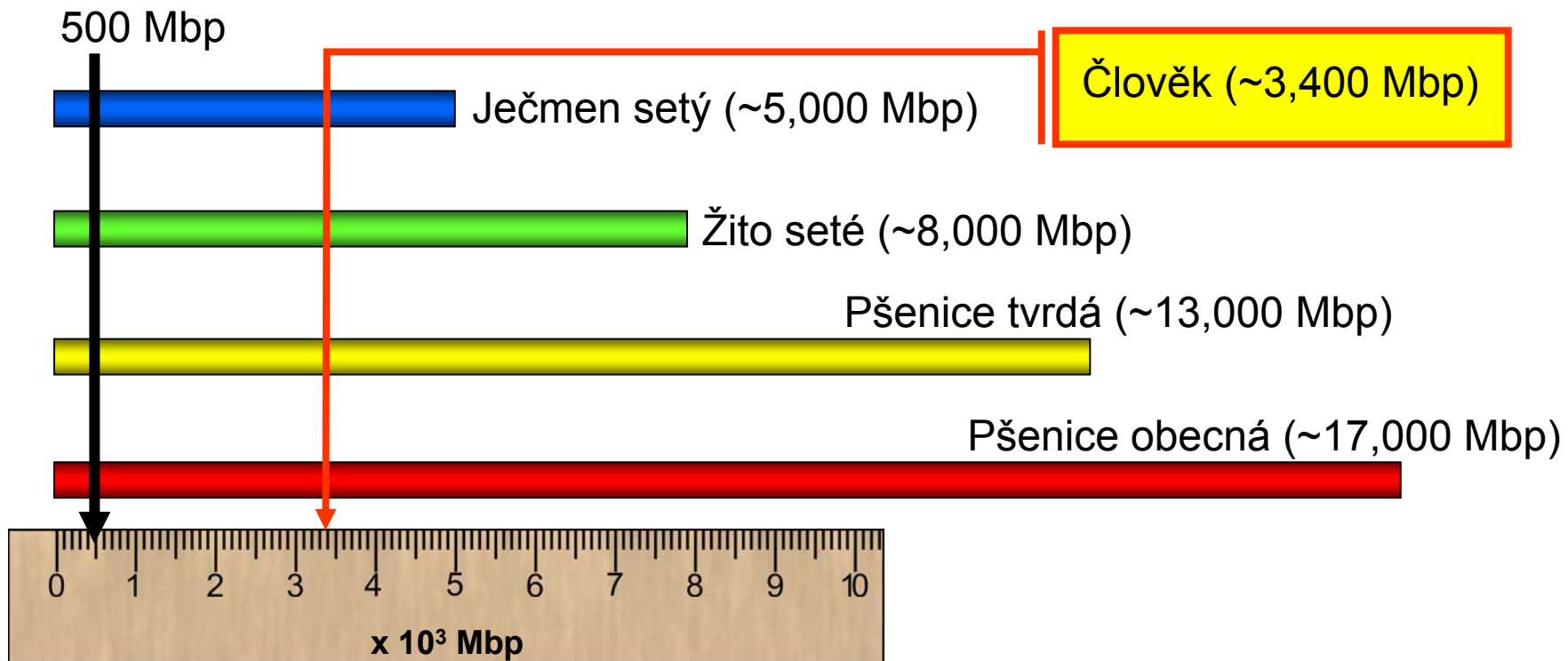
- *Arabidopsis thaliana* (120Mbp)
- *Oryza sativa* (390 Mbp)
- *Carica papaya* (370 Mbp)
- *Lotus japonicus* (470 Mbp)
- *Physcomitrella patens* (510 Mbp)
- *Populus trichocarpa* (480 Mbp)
- *Ricinus communis* (400 Mbp)
- *Vitis vinifera* (500 Mbp)



Laboratoř molekulární cytogenetiky a cytometrie,
Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Sokolovská 6, Olomouc

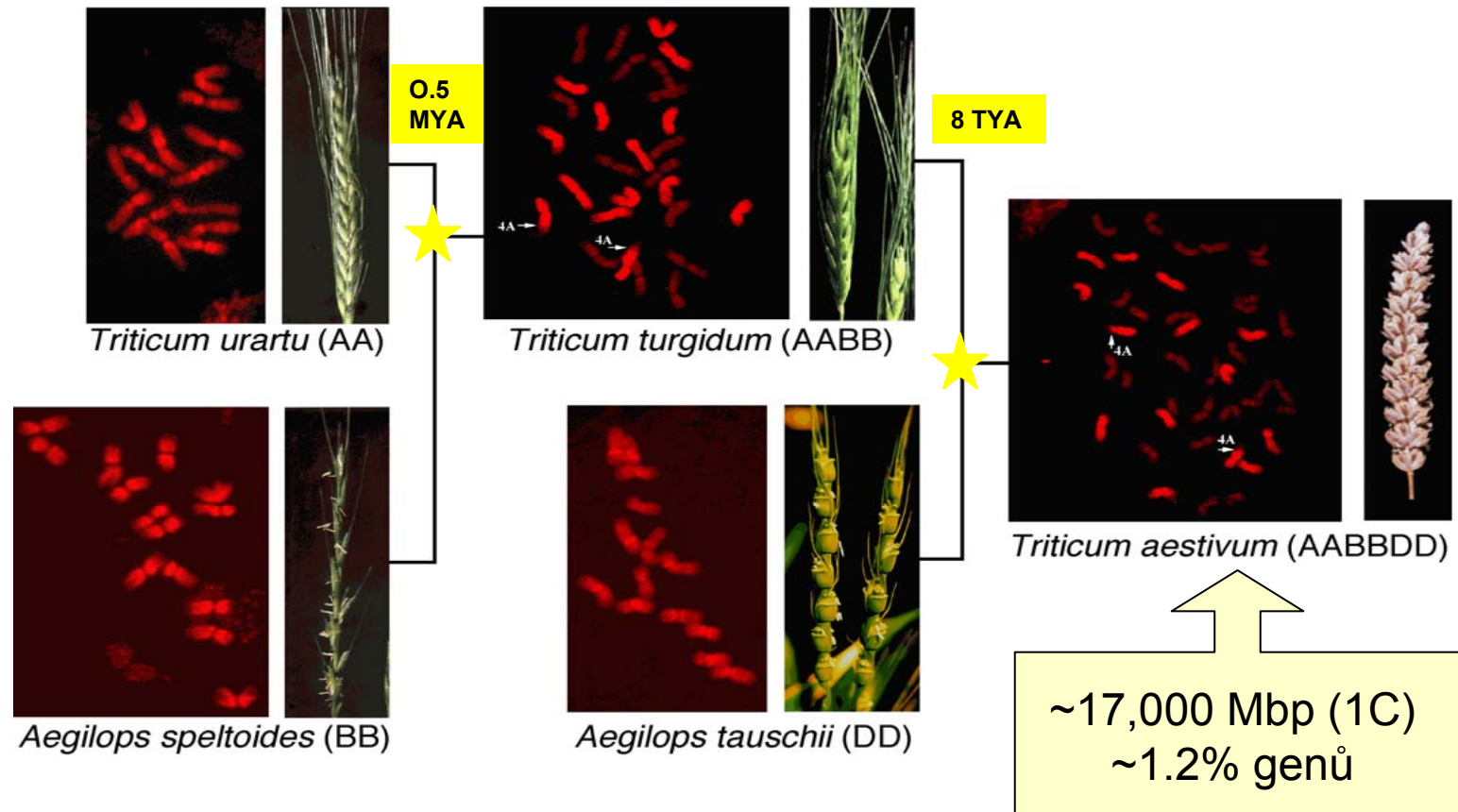
Sekvenování genomů obilovin

- Většina genomů, které byly a budou sekvenovány, má méně než 500 Mbp
- Genomy obilovin jsou mnohem větší (a polyploidní)!

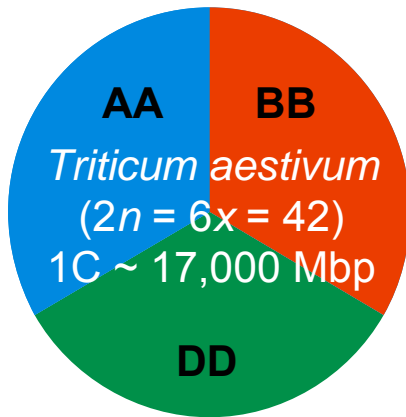


Složité genom pšenice

- Alohexaploidní druh ($2n = 6x = 42$, AABBDD)
- Výsledek dvou mezidruhových křížení



Chromozómová genomika: rozděl a sekvenuj

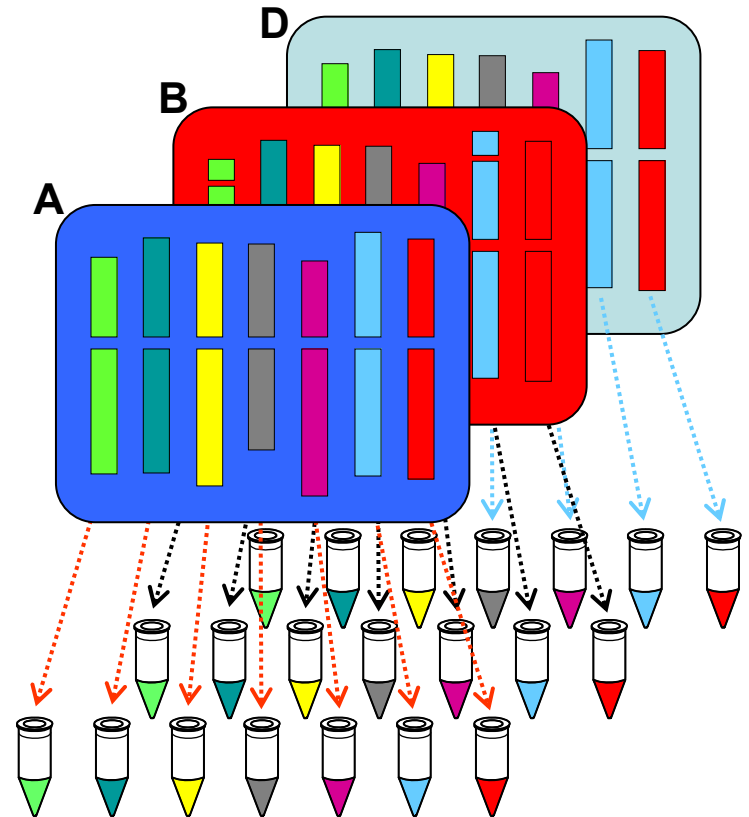


Velikost genomu



Oryza sativa
($2n = 2x = 24$)
1C ~ 430 Mbp

Tři genomy hexaploidní pšenice

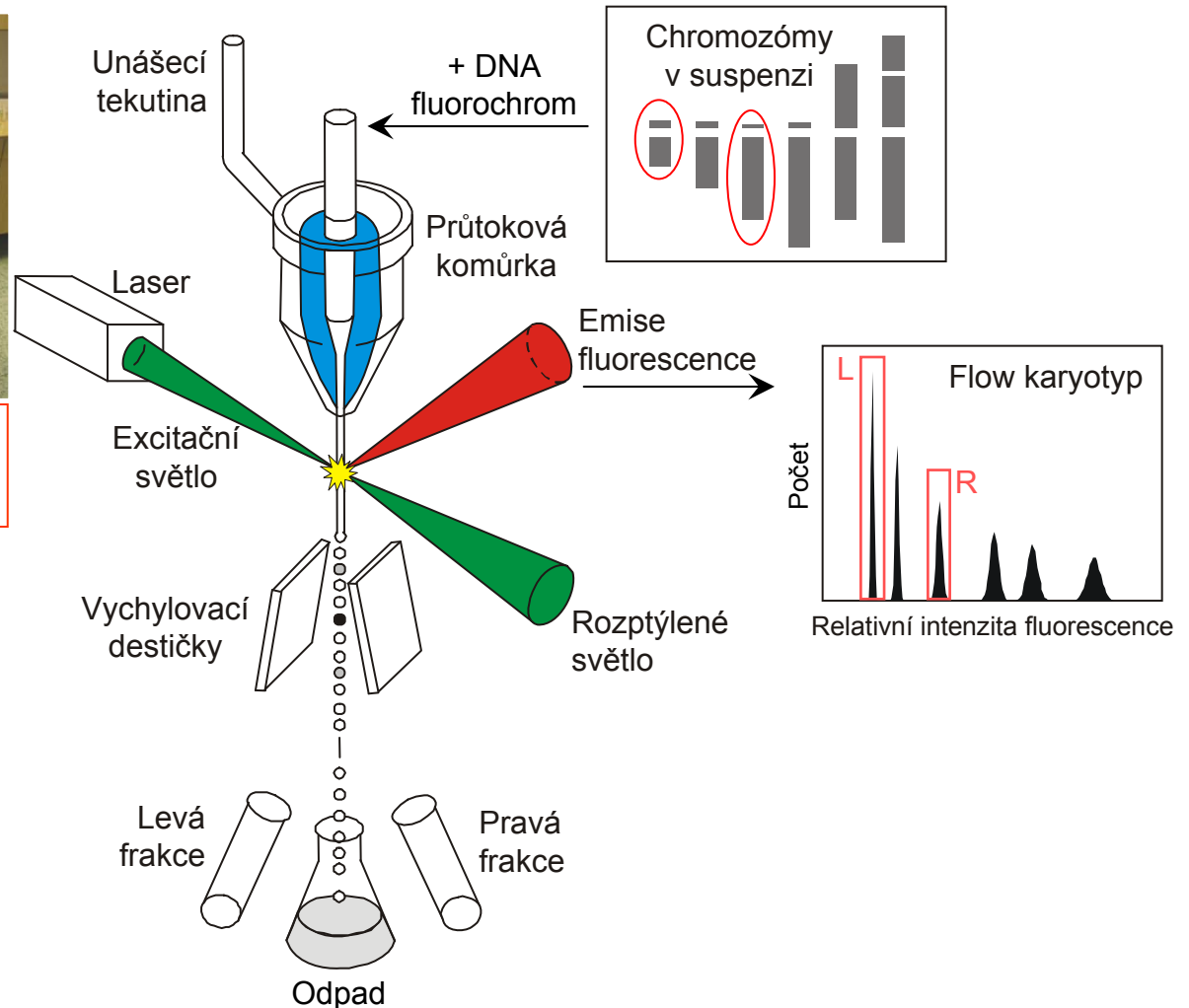


- Chromozómy: 605 - 995 Mbp (3.6 – 5.9% genomu)
- Ramena chromozómů: 225 - 585 Mbp (1.3 – 3.4% genomu)

Třídění chromozómů pomocí průtokové cytometrie



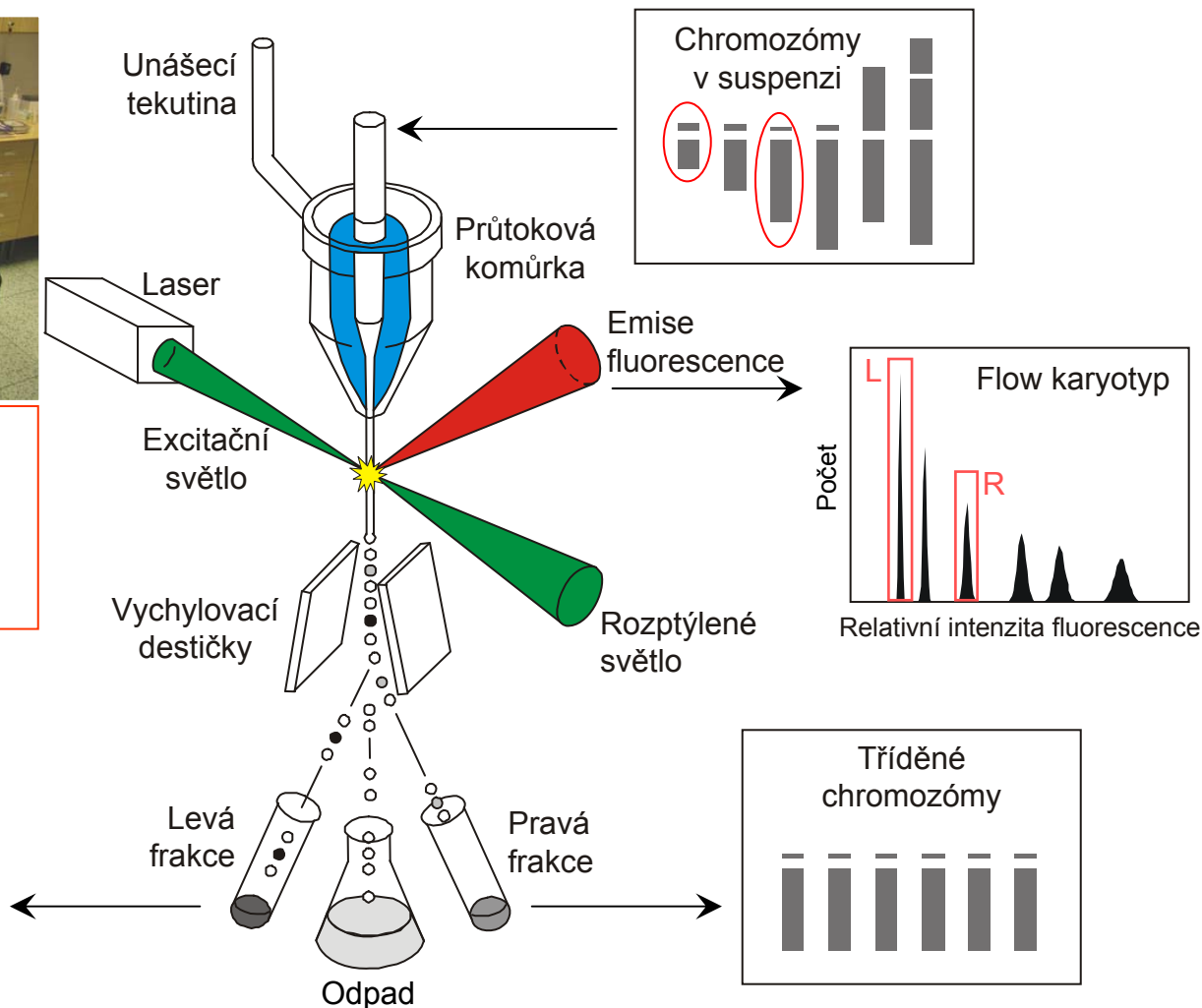
• Rychlost měření / sec:
~1000 chromozómů



Třídění chromozómů pomocí průtokové cytometrie



- Rychlost měření / sec:
~1000 chromozómů
- Výtěžek / den:
2 - 5x10⁵ chromozómů



Edited by Jaroslav Doležal,
Johann Greilhuber and Jan Suda

WILEY-VCH

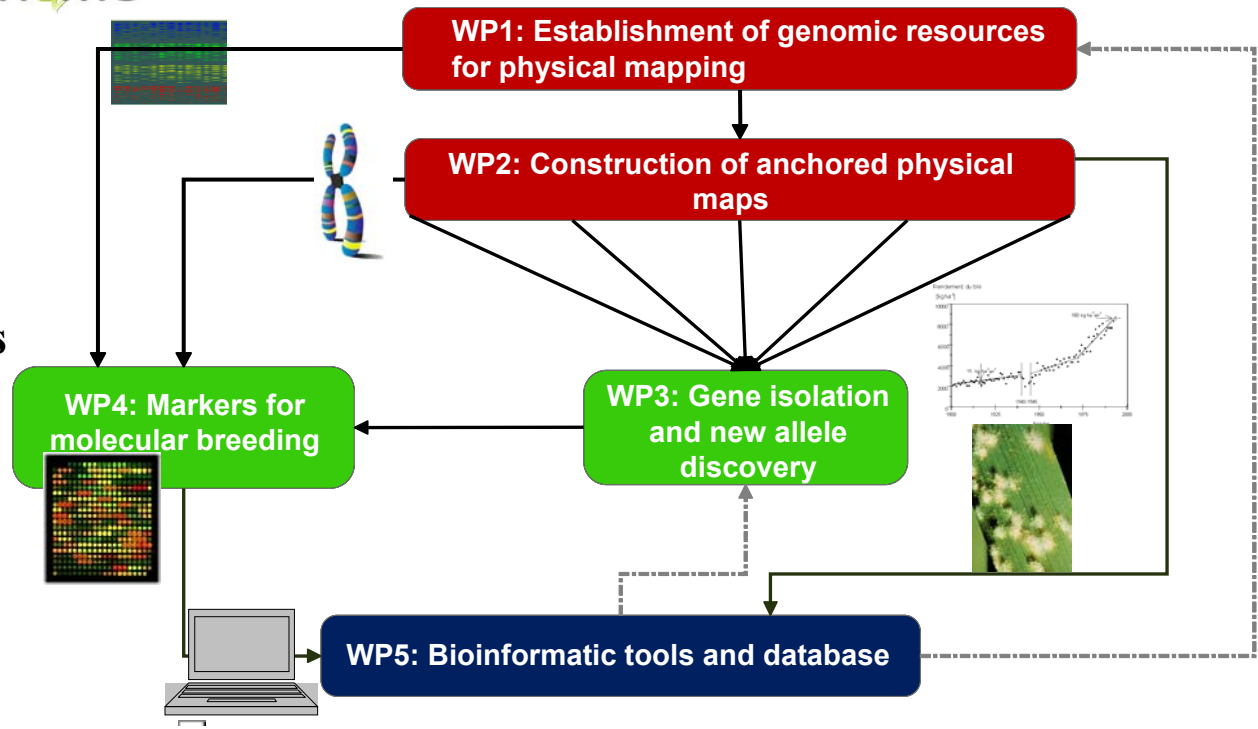
Flow Cytometry with Plant Cells

Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes

**První kniha
o průtokové
cytometrii
rostlin**



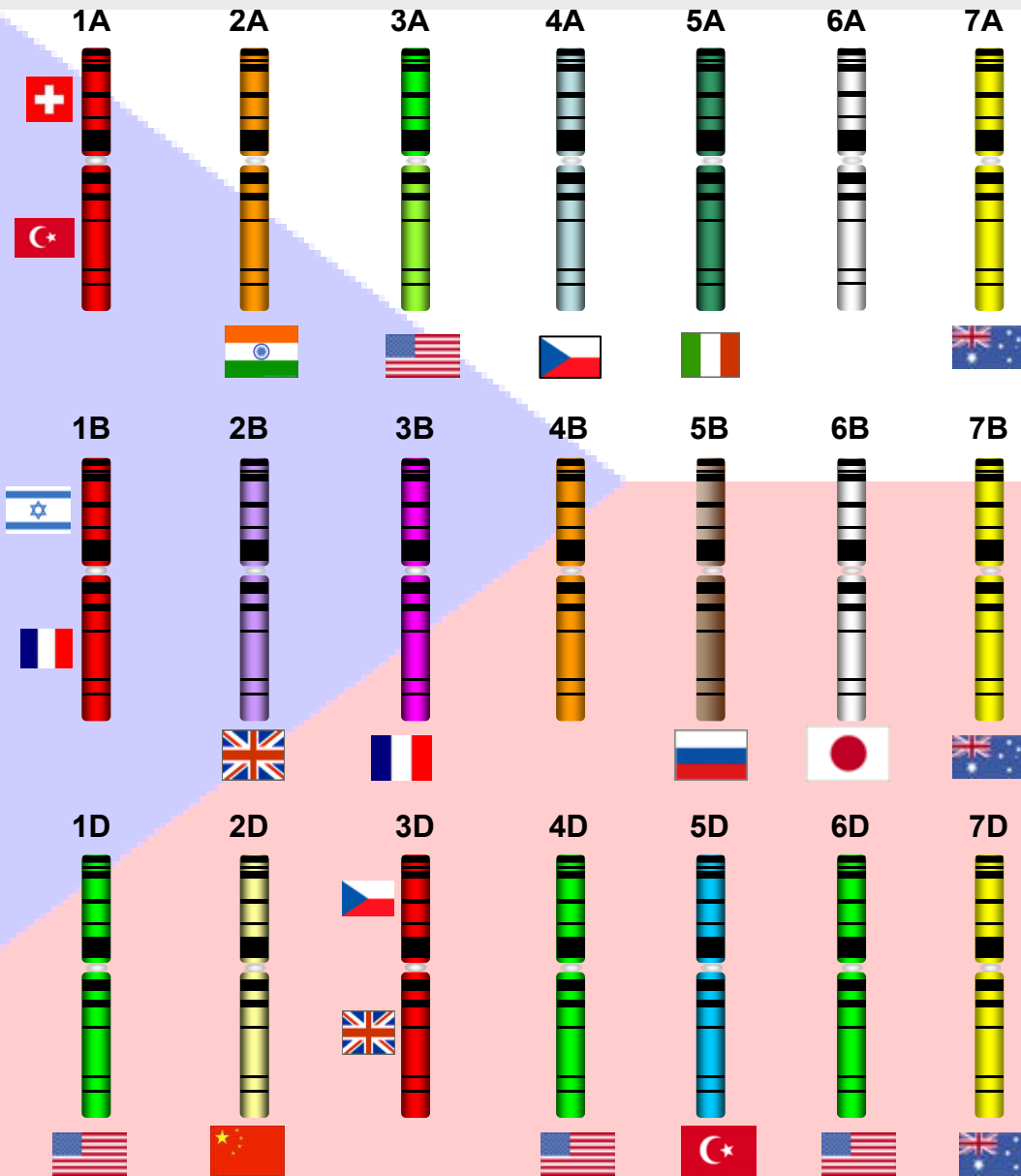
- 2008 - 2012
- 5.3 M€
- 17 EU partners
- Wheat and barley chromosome groups 1 and 3



WP6: Outreach

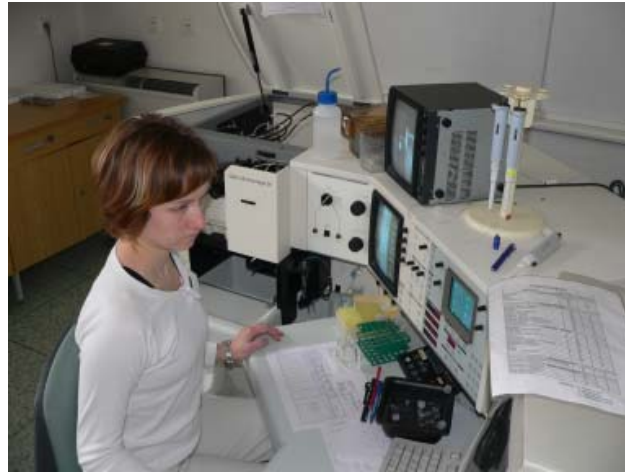


Mezinárodní spolupráce



21 chromozómů
hexaploidní
pšenice

Laboratoř pro chromozómovou genomiku



Slavnostně otevřena 23. 4. 2007; plocha: 300 m²; stavba: 12 mil. Kč; vybavení: 22 mil. Kč

První fyzická mapa chromozómu pšenice

Science

A physical map of the 1Gb bread wheat chromosome 3B

Etienne Paux, Pierre Sourdille, Jérôme Salse, Cyrille Saintenac, Frédéric Choulet, Philippe Leroy, Abraham Korol, Monika Michalak, Shahryar Kianian, Wolfgang Spielmeier, Evans Lagudah, Daryl Somers, Andrzej Kilian, Michael Alaux, Sonia Vautrin, Hélène Bergès, Kellye Eversole, Rudi Appels, Jan Šafář, Hana Šimková, Jaroslav Doležel, Michel Bernard and Catherine Feuillet

„...Until now, the selection of genomes for sequencing has been determined on the basis of genome simplicity and not agronomic relevance with serious consequences for crop improvement and food security. Our work may pave the way for a paradigm shift in selecting the next genomes for *de novo* sequencing thereby accelerating improvement for economically important crop species.“

Děkuji vám za pozornost