

# **Determinace pohlaví a evoluce pohlavních chromosomů**

Radka Reifová

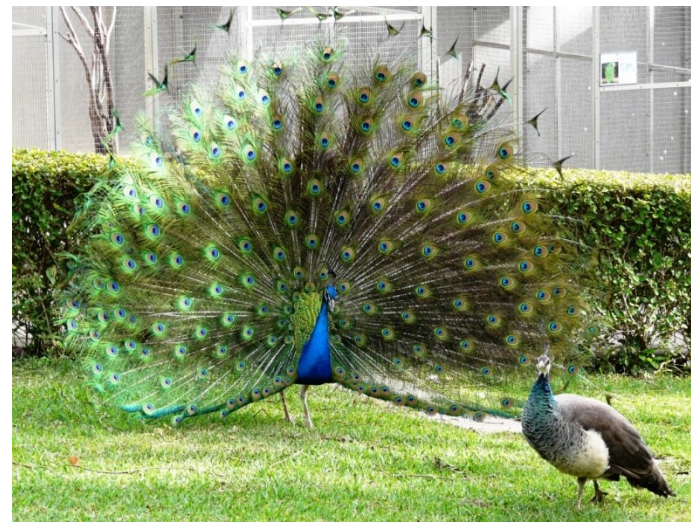
Katedra zoologie

Prezentaci naleznete na:

<http://web.natur.cuni.cz/~radkas/>

v záložce 'Courses'

# Jak vznikají dvě pohlaví



# Způsoby určení pohlaví

## Environmentálně určené pohlaví

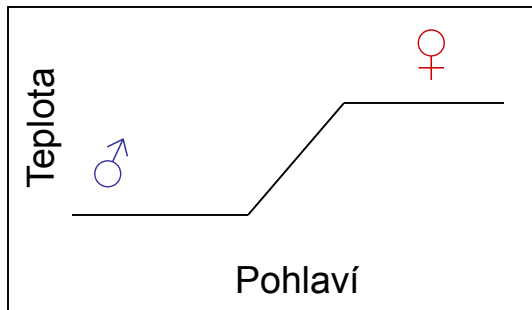
- pohlaví určeno vnějšími faktory, postzygoticky
- teplota , pH, fotoperioda, sociální interakce

## Geneticky určené pohlaví

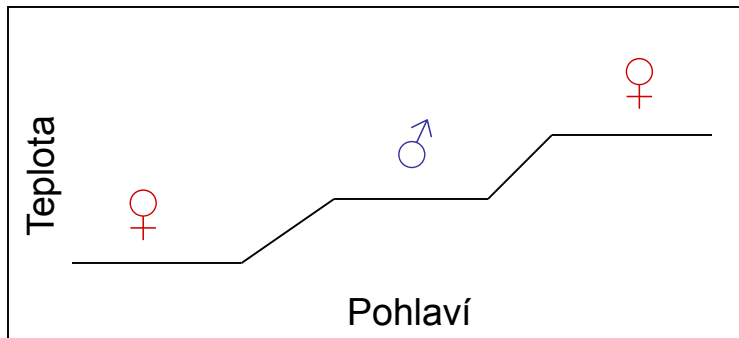
- pohlaví dané genotypem jedince
- geny určující pohlaví, pohlavní chromosomy
- haplodiploidní určení pohlaví

# TEPLOTNĚ URČENÉ POHLAVÍ

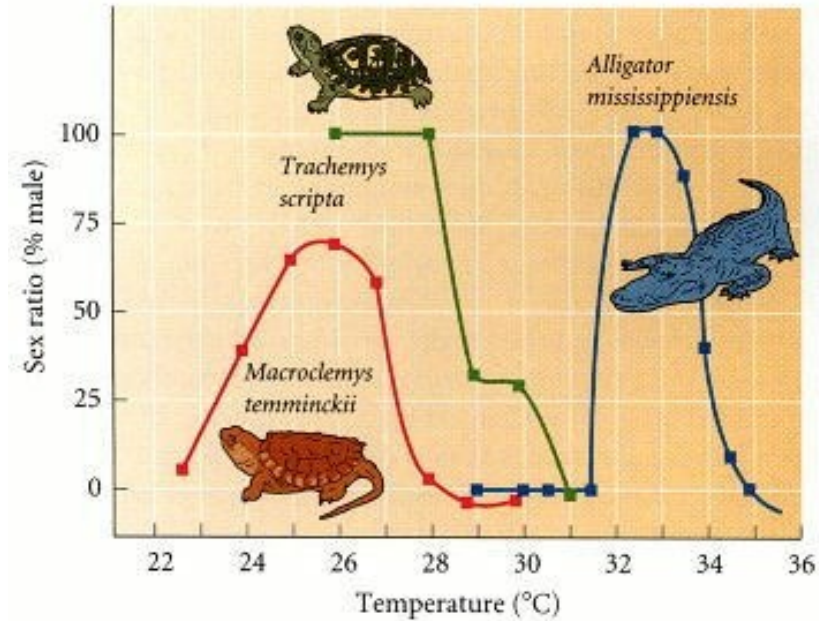
- u některých plazů (krokodýli, většina želv) a některých ryb



kareta obrovská

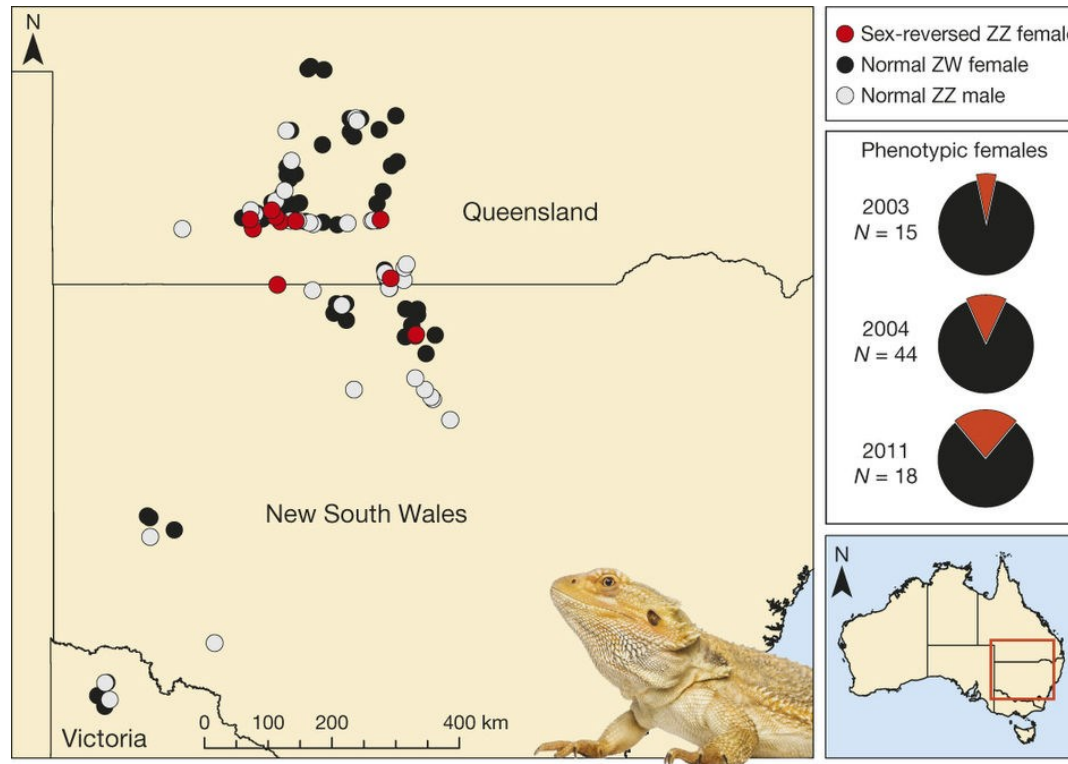


klapavka



# Agama vousatá

- Geneticky určené pohlaví (ZZ/ZW)
- Změna pohlaví vyvolaná vysokou teplotou -> ZZ samice
- Možné vymyzení chromosomu W z populace -> přechod od geneticky k environmentálně určenému pohlaví

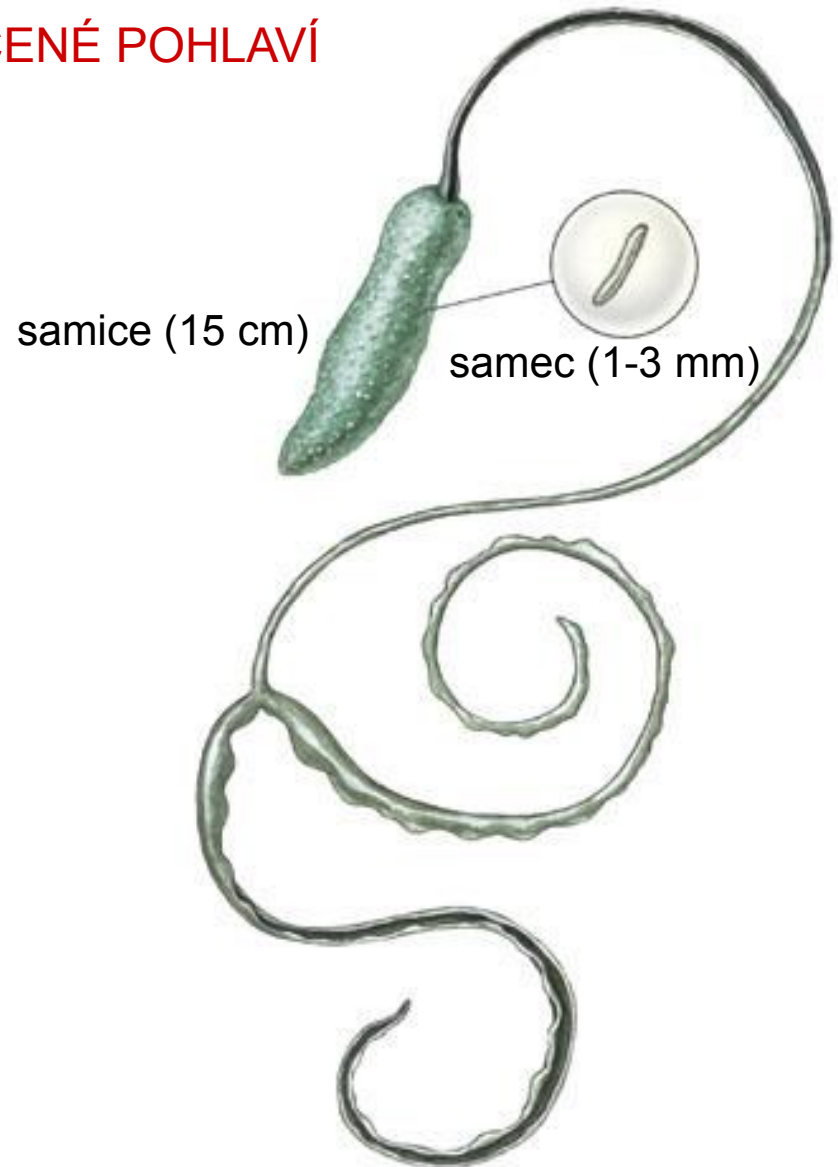


## SOCIÁLNĚ URČENÉ POHLAVÍ

### Určení pohlaví u *Bonellia viridis*

Samice žije přichycena na mořském dně. Samec miniaturní, žije přichycen na těle samice či uvnitř těla samice.

Larvy planktonní. Pokud larva nalezne příhodné místo na přichycení se na mořském dně, stane se z ní samice. Pokud narazí na samici, je ovlivněna látkami, které samice produkuje (bonellin) a stane se z ní samec.



*Bonellia viridis* (čeleď rypohlavci)

# SOCIÁLNĚ URČENÉ POHLAVÍ

## Sekvenční hermafroditi

Např. u některých koryšů, měkkýšů, ryb

**Protandrie:** samec → samice

**Protogynie:** samice → samec



Blue headed wrasse



*Lysmata wurdemanni*



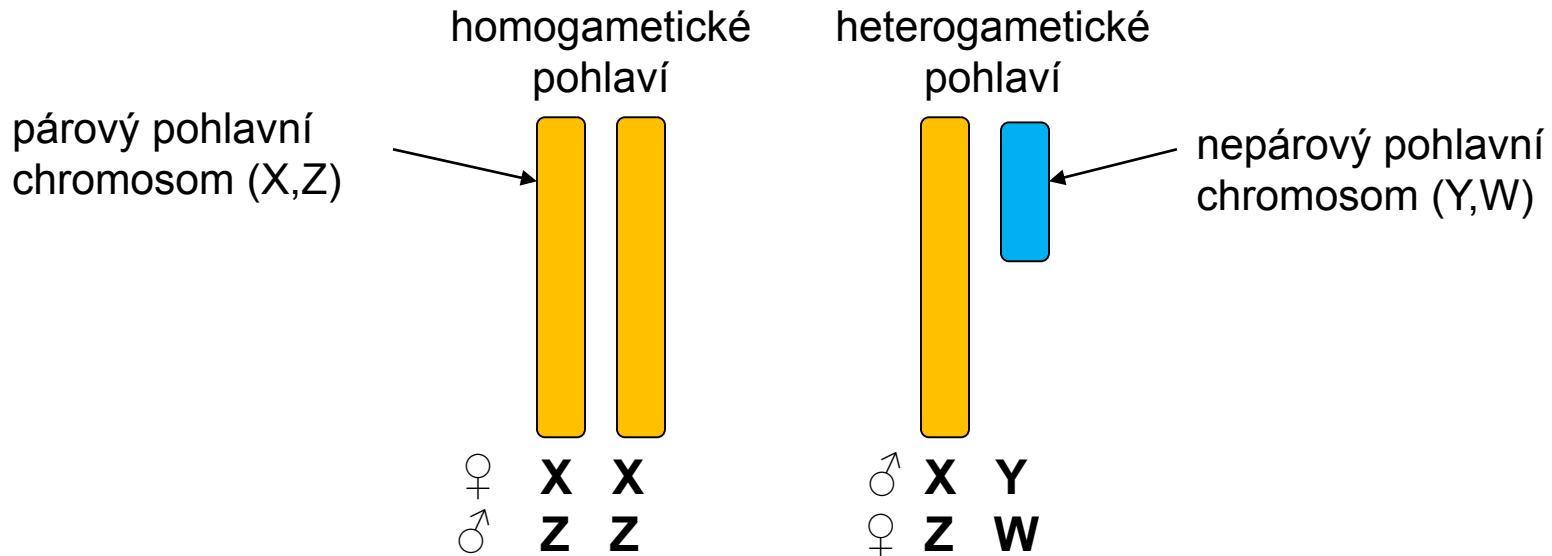
Clown fish

Pravidlo: Jedinci mění pohlaví, když dosáhnou 72% maximální velikosti těla.



# Geneticky určené pohlaví

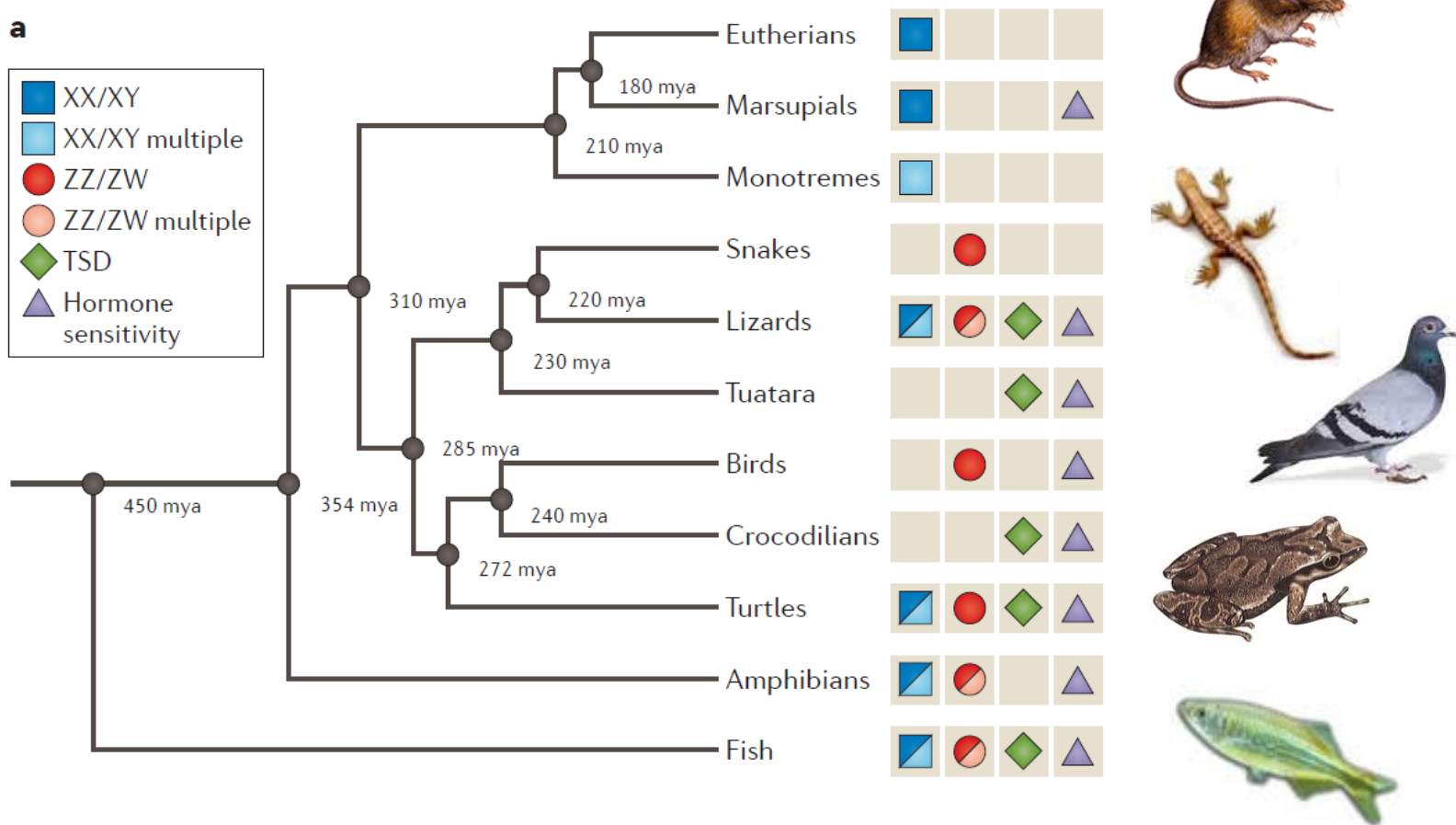
Obvykle přítomnost **pohlavních chromosomů** (chromosomové určení pohlaví)



- Pohlavní chromosomy nesou gen/geny určující pohlaví.
- Párové a nepárové pohlavní chromosomy mohou být morfologicky rozlišené (**heteromorfní**) či nerozlišené (**homomorfní**)

# CHROMOSOMOVÉ URČENÍ POHLAVÍ

a



hmyz



XY



ZW

korýši



XY, ZW

rostliny

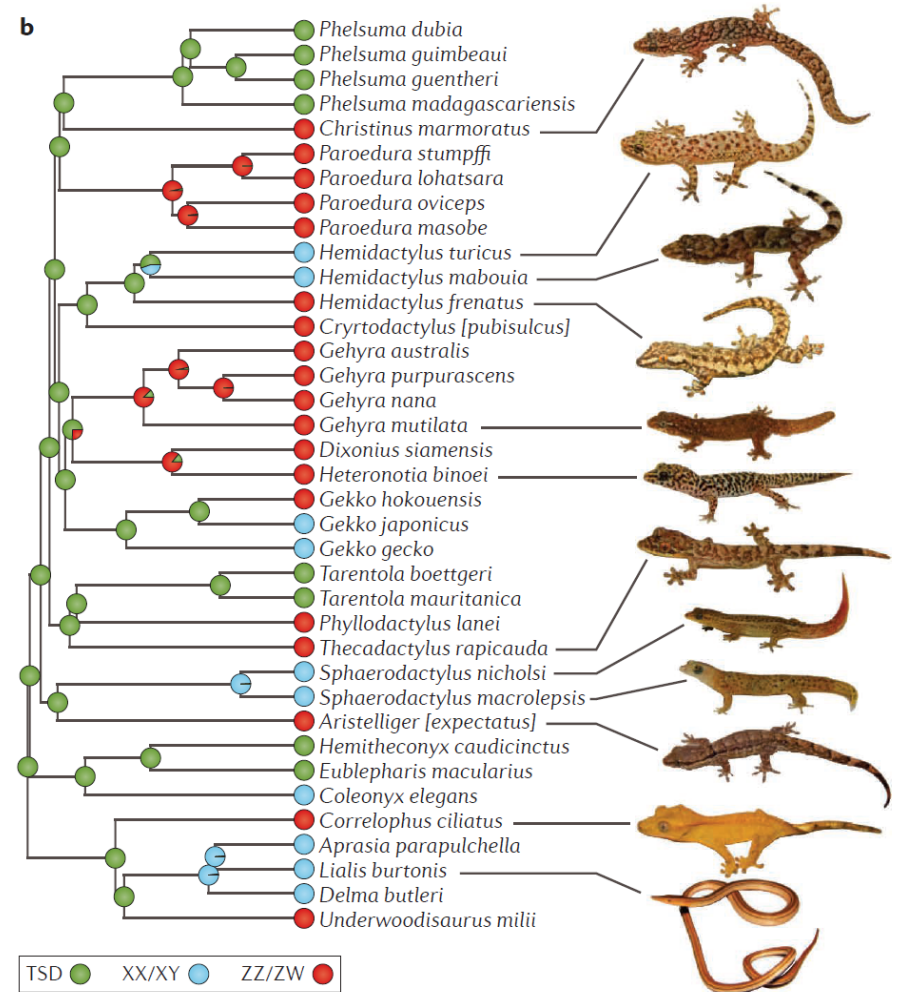


XY, ZW

# Systém určení pohlaví je u některých organismů konzervovaný (savci, ptáci), u jiných je velmi rozmanitý (např. plazi, ryby)

## Určení pohlaví u ryb

Order (representative common name)	XY	ZW	ESD	Sim. Herm.
Atheriniformes (silversides)*			+	
Cyprinodontiformes (killifish, guppies)	+	+	+	
Belontiiformes (rice fish)	+	+		
Perciformes (blennies)	+			
Synbranchiiformes (spiny eels)	+	+		
Pleuronectiformes (flounder, sole)	+	+	+	
Perciformes (threadfins)			+	
Tetraodontiformes (puffers)	+			
Perciformes (breems)			+	
Gasterosteiformes (sticklebacks)	+	+		
Scorpaeniformes (scorpionfish)	+			
Perciformes (cichlids, perch, etc)	+	+	+	
Perciformes (gobies)	+	+	+	+
Stephanobercyiformes (pricklefish)	+			
Zeiformes (dories)	+			
Myctophiformes (lanternfish)	+			
Aulopiformes (grinners)		+	+	
Stomiiformes (dragonfish)	+	+		
Salmoniformes (salmon)	+	+		
Characiformes (characins)	+	+		
Siluriformes (channel catfish)	+	+	+	
Gymnotiformes (knifefish)	+	+		
Cypriniformes (carp and goldfish)	+	+	+	
Clupeiformes (herring)	+	+		
Anguilliformes (eels)	+	+	+	+
Osteoglossiformes (bony tongues)	+			
Acipenseriformes (sturgeon)			+	

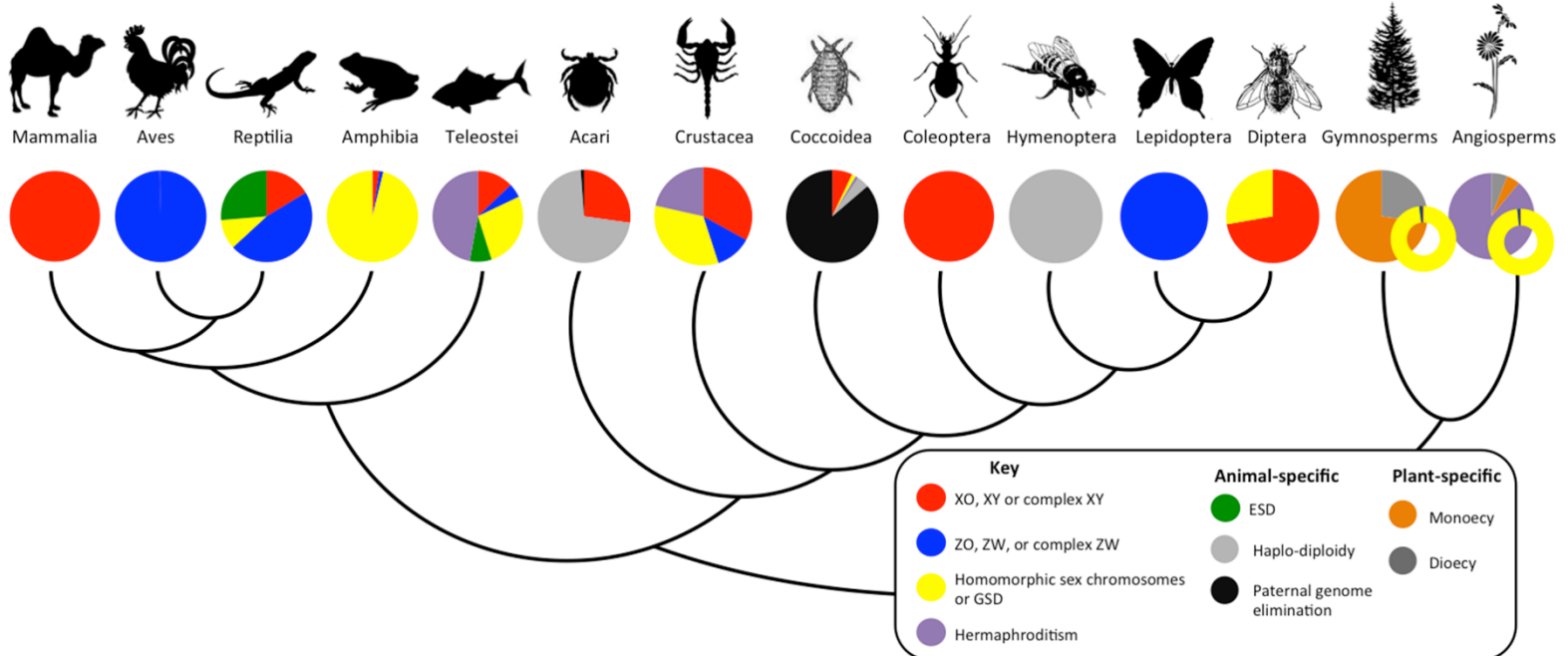


# Tree of Sex: A database of sexual systems

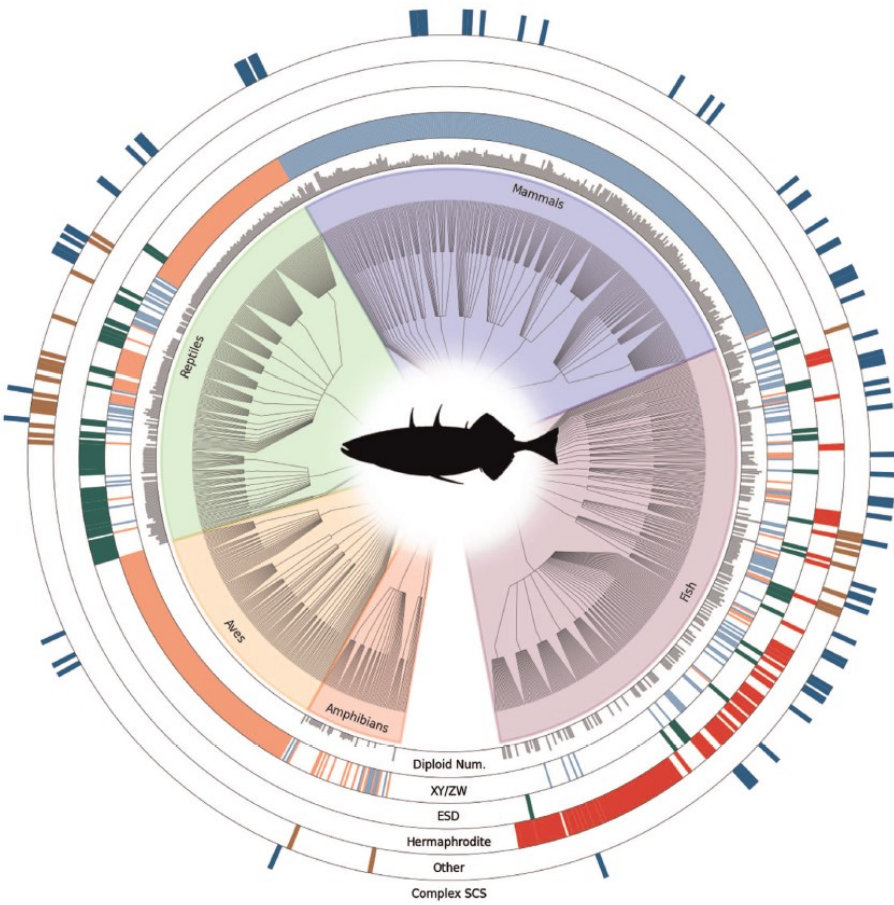
The Tree of Sex Consortium<sup>1</sup>

<http://treeofsex.org/>

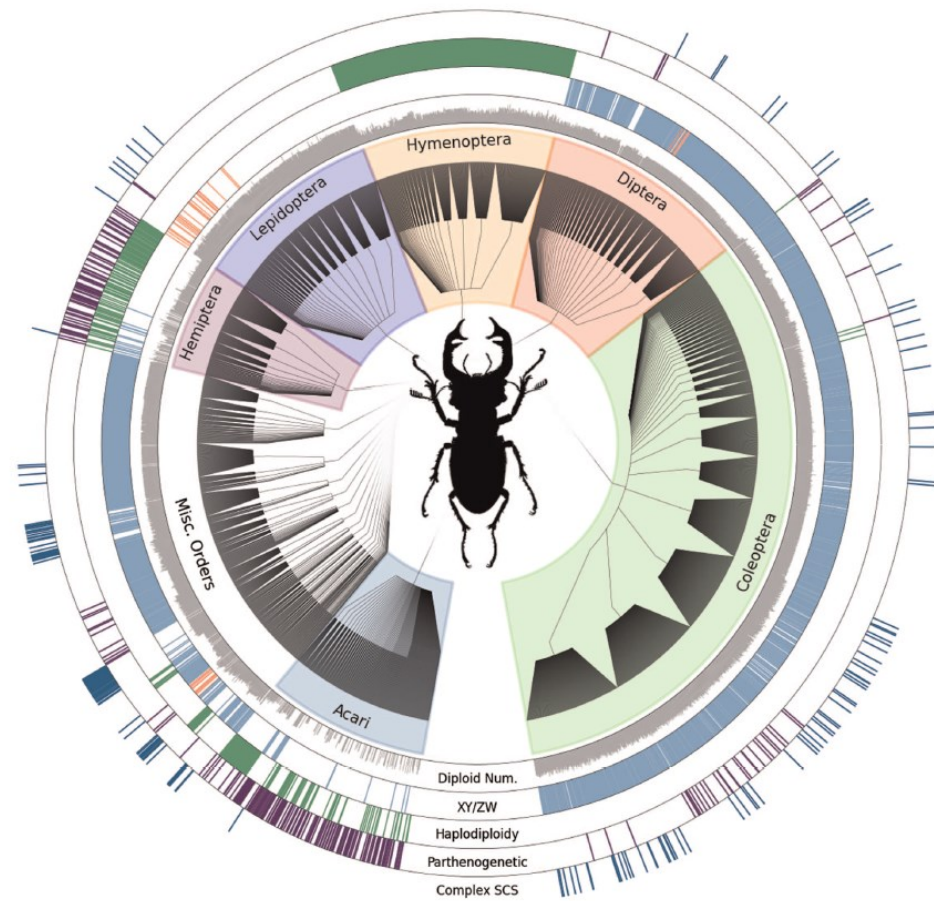
Scientific Data. 2014.



# obratlovci



# bezobratlí



# MÉNĚ OBVYKLÉ SYSTÉMY CHROMOSOMOVÉHO URČENÍ POHLAVÍ

## System XX/X0

- ♀ XX, ♂ X0
- chybí chromosom Y
- U savců vzácné. Známo jen u několika málo druhů hrabošů např. *Ellobius lutescens*.
- U hmyzu častější. Např. u mnoha cvrčků, kobylek a švábů, u některých druhů *Drosophil*.



*Ellobius lutescens*

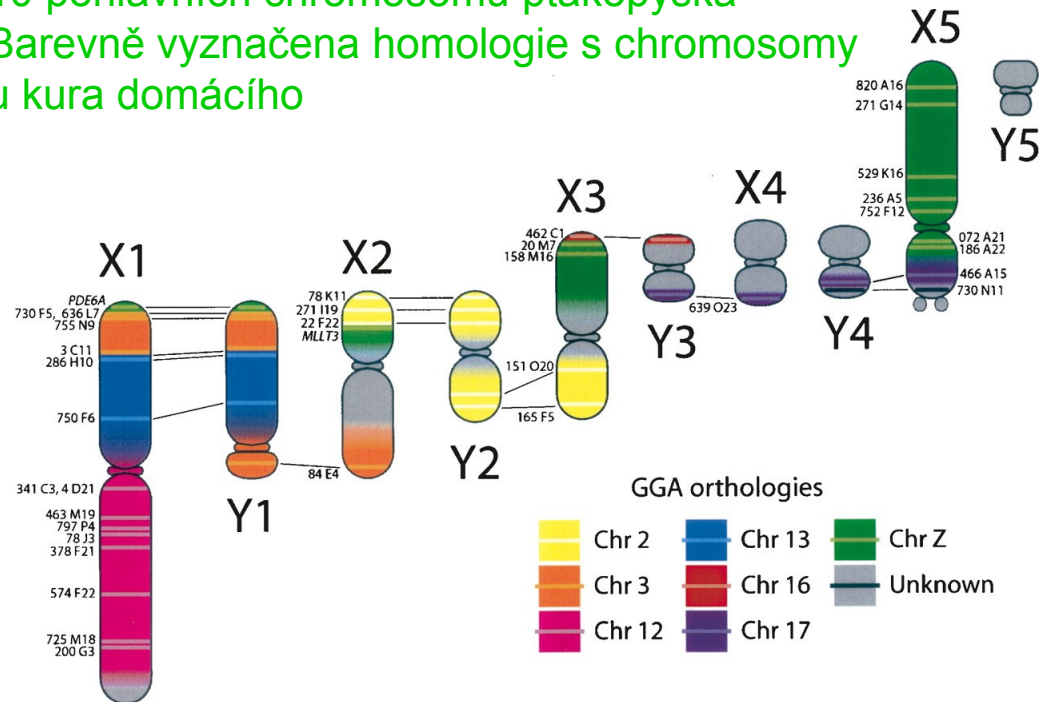
# MÉNĚ OBVYKLÉ SYSTÉMY CHROMOSOMOVÉHO URČENÍ POHLAVÍ

## Ptakopysk

- 10 pohlavních chromosomů (**X1-X5 + Y1-Y5**)
- Jeden z chromosomů homologní s ptačím chromosomem Z
- Pohlavní chromosomy během meiozy vytvářejí řetěz, jehož vznik umožňují krátké homologními úseky mezi jednotlivými chromosomy.



10 pohlavních chromosomů ptakopyska  
Barevně vyznačena homologie s chromosomy  
u kura domácího



Veyrunes F et al. Genome Res. 2008;18:965-973

# MÉNĚ OBVYKLÉ SYSTÉMY CHROMOSOMOVÉHO URČENÍ POHLAVÍ

## Drápatka tropická (*Xenopus tropicalis*)

- Pohlavní chromosomy Z,W,Y
- Samci WY, ZZ, ZY
- Samice ZW, WW



Roco et al. 2015

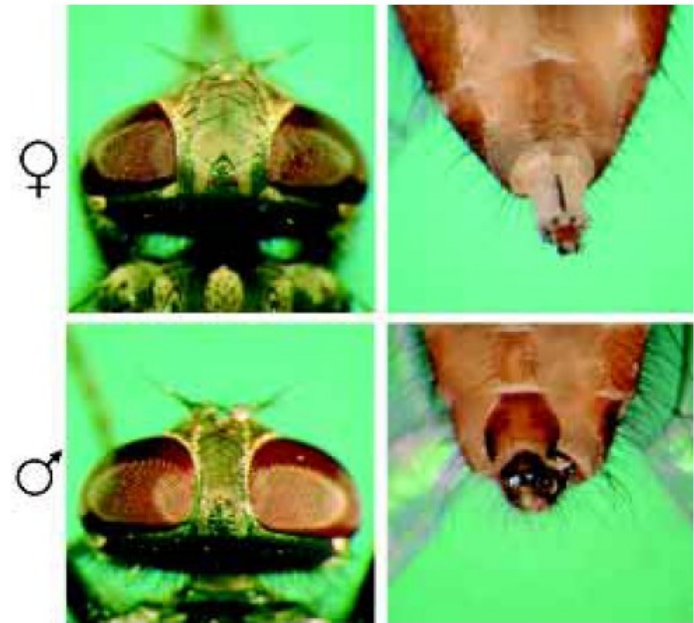


# MÉNĚ OBVYKLÉ SYSTÉMY CHROMOSOMOVÉHO URČENÍ POHLAVÍ

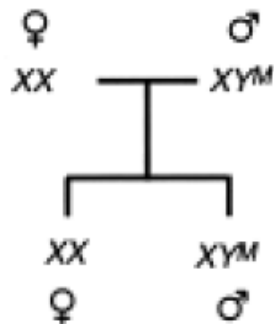
## Moucha domácí

V rámci druhu koexistuje několik systémů určení pohlaví.

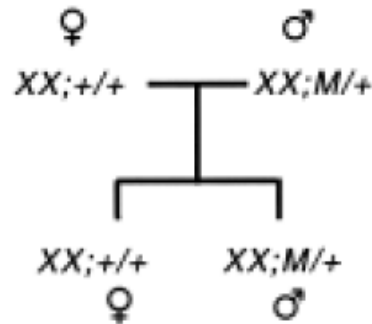
- A. Dominantní gen určující samčí pohlaví na chromosomu Y.
- B. Dominantní gen určující samčí pohlaví na autosomu.
- C. Dominantní gen určující samiččí pohlaví na autosomu.



**A** Standard: male-determining Y



**B** Dominant autosomal male-determiner



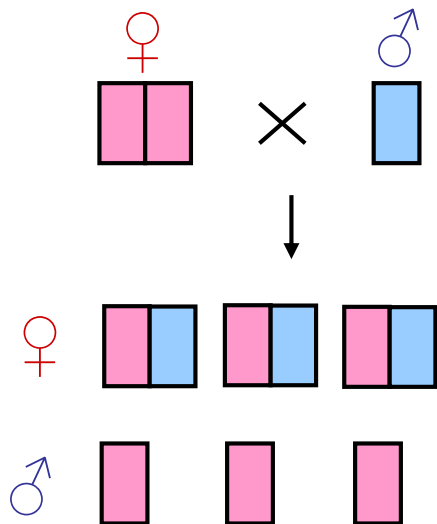
**C** Dominant autosomal female-determiner



# HAPLODIPLOIDNÍ URČENÍ POHLAVÍ

u blanokřídlého hmyzu (mravenci, vosy, včely)

- Samice diploidní. Líhnou se z oplozených vajíček.  
Samci haploidní. Líhnou se z neoplozených vajíček.

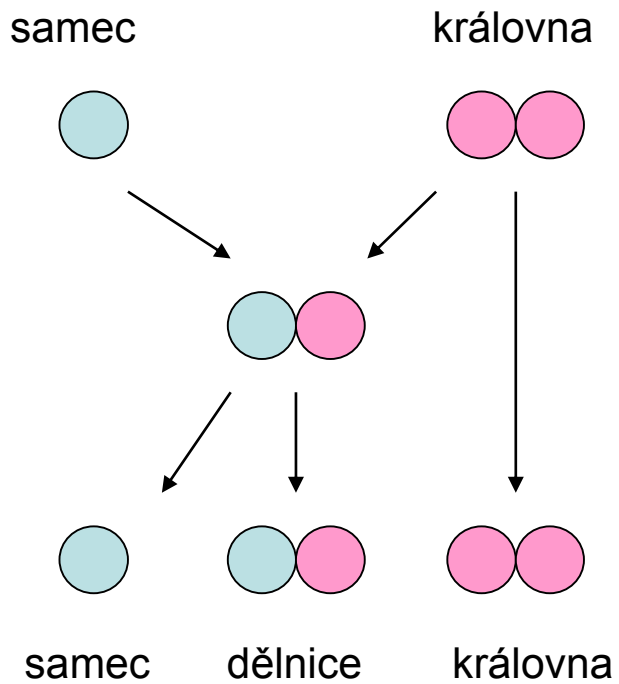


# HAPLODIPLOIDNÍ URČENÍ POHLAVÍ

Reprodukční systém mravence  
*Wasmannia auropunctata*



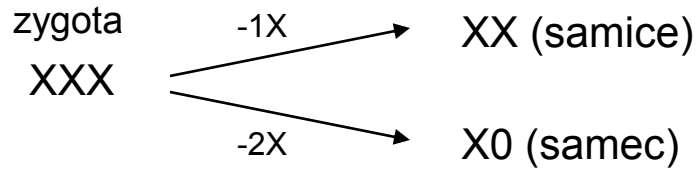
*Wasmannia auropunctata*



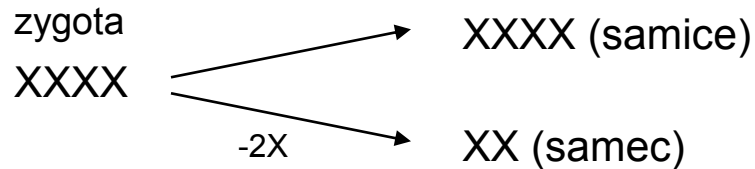
Samci a samice si vůbec nevyměňují geny!

# Určení pohlaví založené na imprintingu a eliminaci chromosomů během embryogeneze

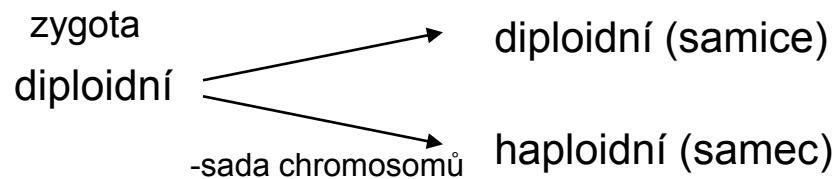
## Smutnicovití (Sciaridae)



## Bejlmorkovití (Cecydomyiidae) a chvostoskoci (collembola)



## Červci (coccoidea)



## Cytoplasmatické určení pohlaví pomocí intracelulárních parazitů (*Wolbachia*)

- *Wolbachia*, intracelulární parazit členovců, především hmyzu.
- Přenáší se pohlavně pouze přes vajíčko. Často způsobuje samčí sterilitu či feminizaci samců.
- U svinky obecné, horizontální genový přenos z *Wolbachie*. Přenesená část genomu *Wolbachie* determinuje samiččí pohlaví u svinek.
- Cytoplasmatická samčí sterilita způsobená mitochondriemi u rostlin

*Wolbachia*



*Brassica napus*



*Eurema mandarina*

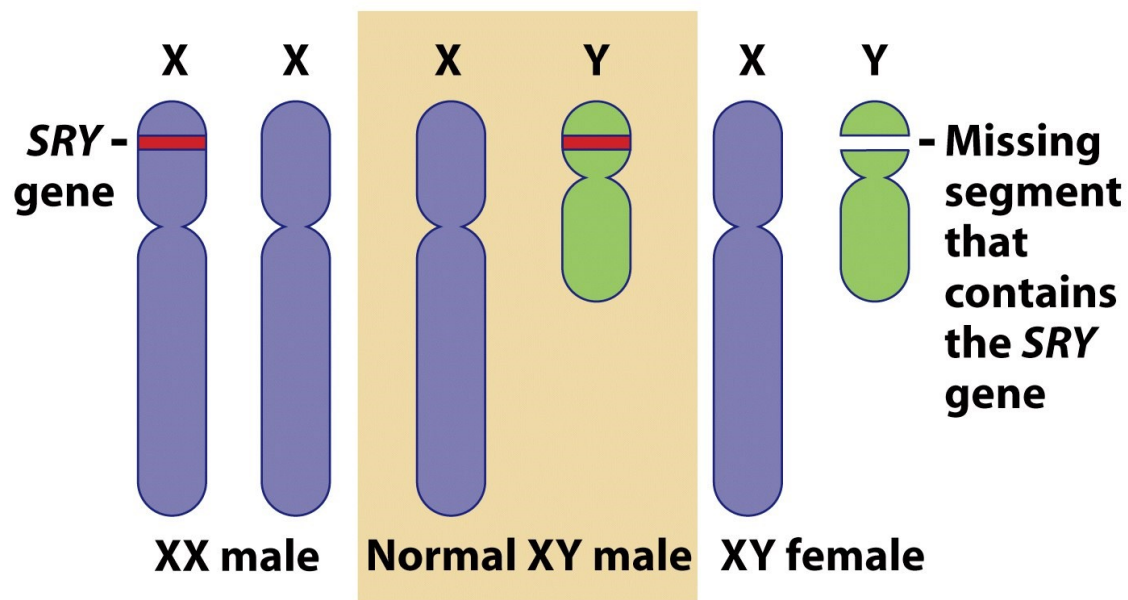
Svinka obecná

# **Molekulární mechanismy určení pohlaví**

# Molekulární mechanismy určení pohlaví

## Savci

- O pohlaví rozhoduje gen **Sry** na chromosomu Y  
Jeho aktivita vede k diferenciaci varlat z embryonálních gonád. Varlata produkují testosteron, který vede ke vzniku sekundárních pohlavních znaků.



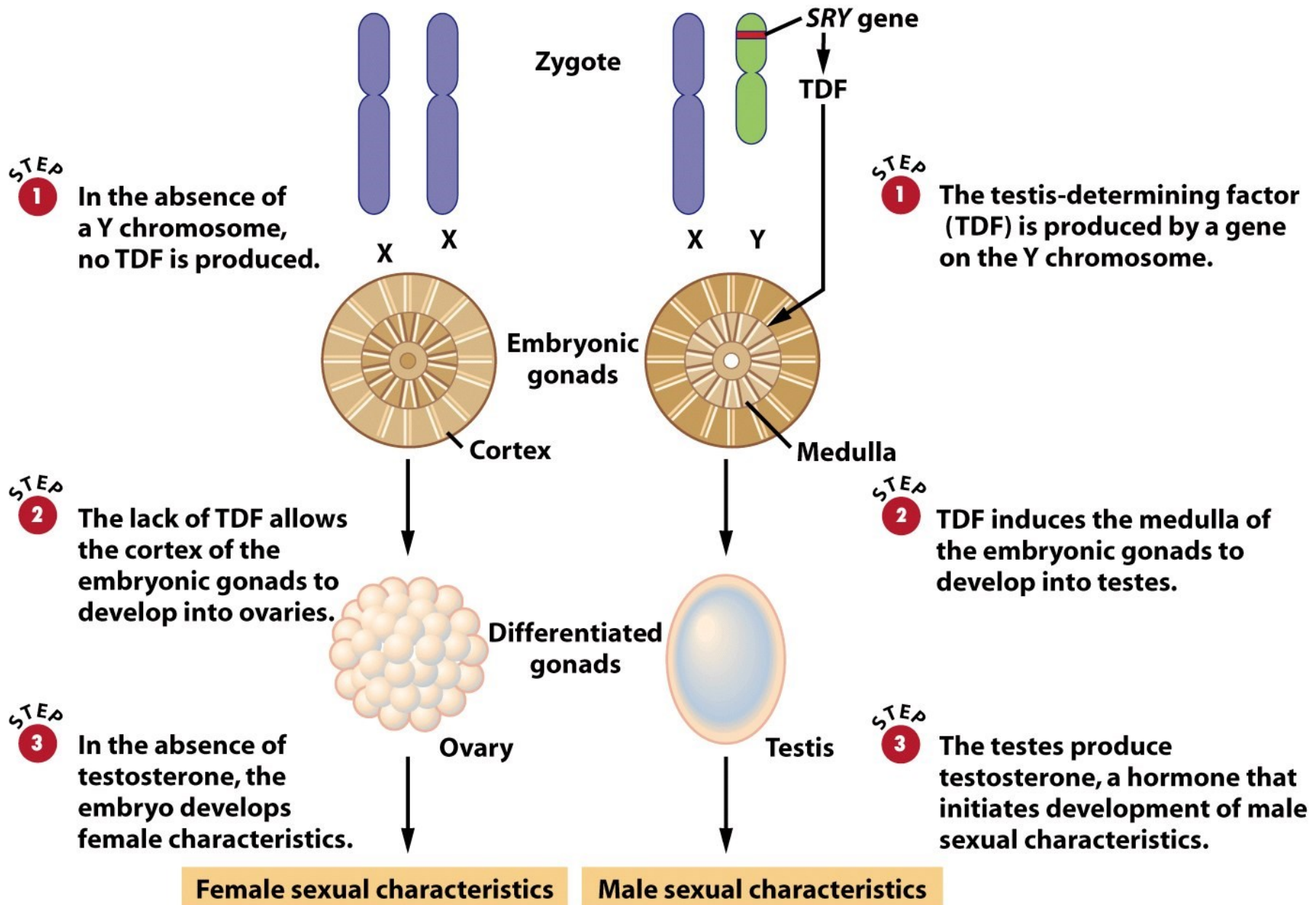


Figure 5-12 Principles of Genetics, 4/e  
 © 2006 John Wiley & Sons

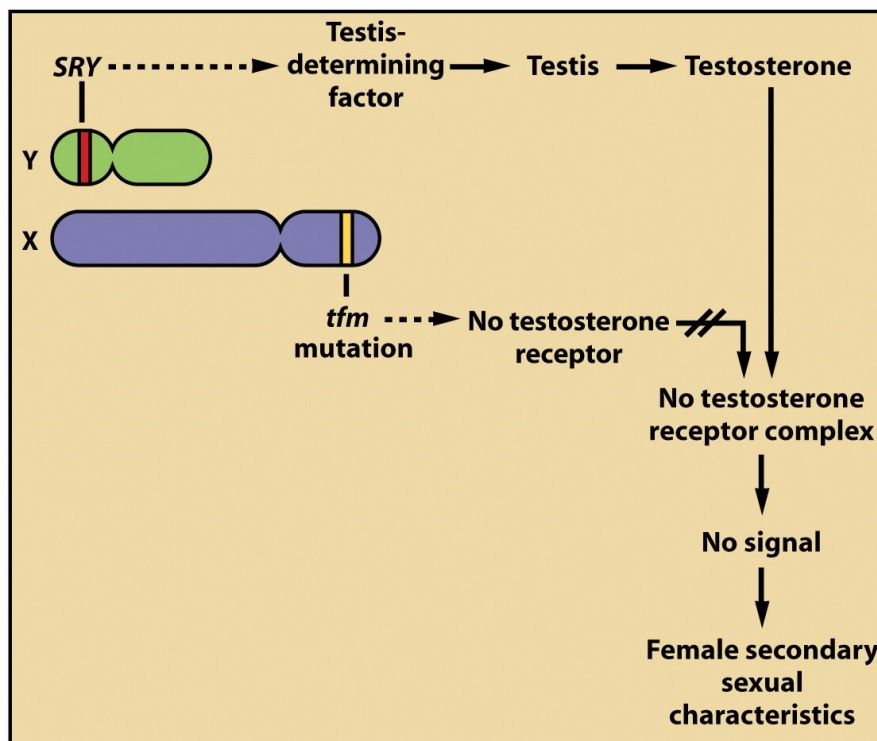


# Poruchy určení pohlaví u savců

## Syndrom testikulární feminizace

Absence receptoru pro testosteron (mutace *tfm*) způsobuje vznik samičího fenotypu, i když má jedinec varlata a produkuje testosteron.

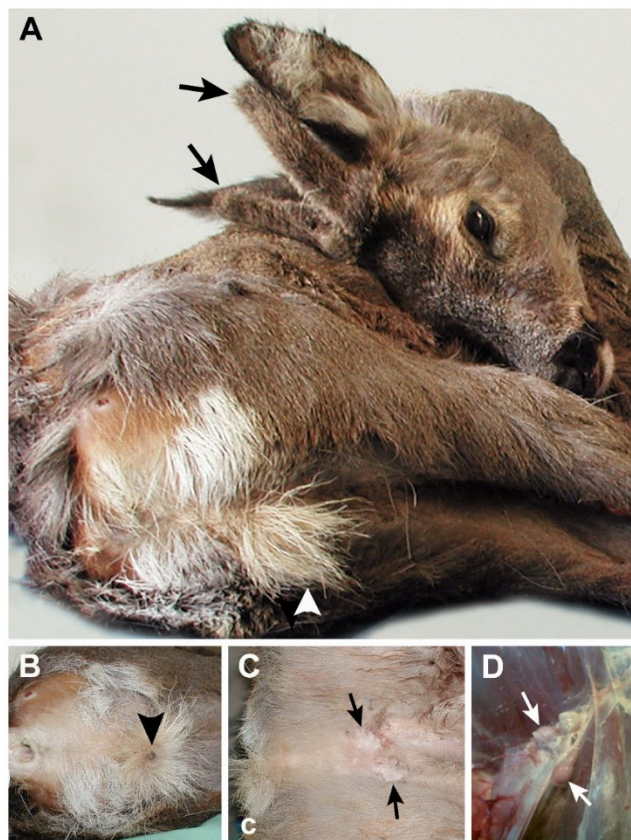
### Male with the *tfm* mutation and testicular feminization.



## Poruchy určení pohlaví u savců

### Hermafroditismus = Intersex

Způsoben různými poruchami v signálních dráhách určujících pohlaví.



## Aneuploidie pohlavních chromosomů u lidí

Turnerův syndrom (45, X0)

Ženy, nefunkční vaječníky, neplodné

Klinefelterův syndrom (47, XXY)

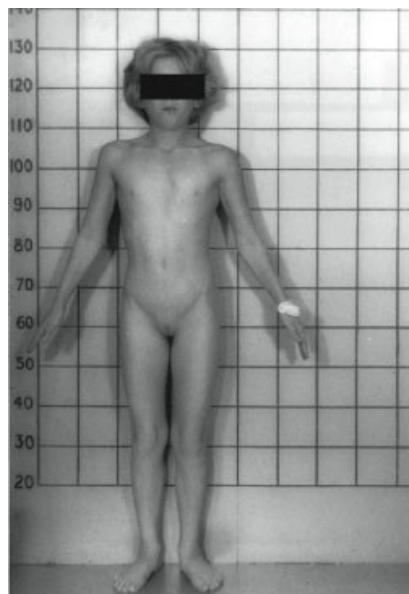
Muži, zženštělý vzhled, narušený vývoj varlat, poruchy plodnosti.

„Supermuž“ (47, XYY)

Muži, fenotypicky normální, plodní

„Superžena“ (47, XXX)

Ženy, fenotypicky normální, plodné



Turnerův syndrom

Klinefelterův syndrom



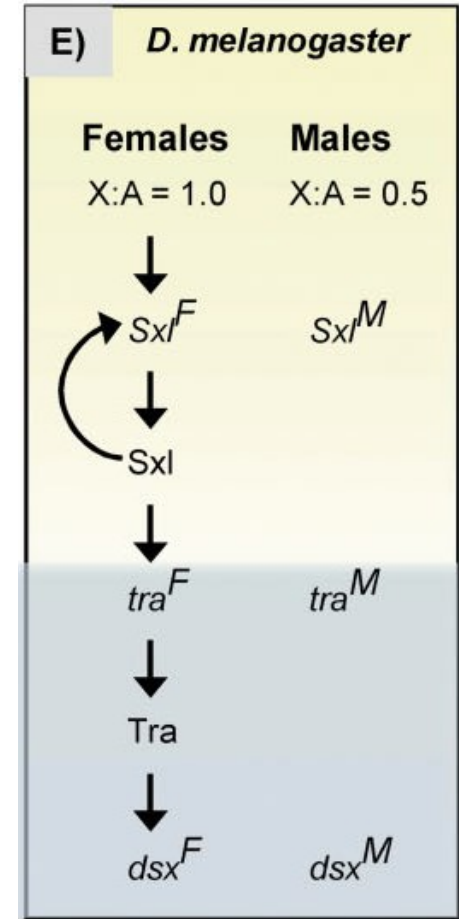
# Molekulární mechanismy určení pohlaví

## Drosophila

- Důležitý poměr počtu X chromosomů k autosomům

Genotyp	poměr X:A	fenotyp
1X 2A	0,5	samec
2X 2A	1,0	samice
3X 4A	0,75	intersex
2X 3A	0,67	intersex

- Chromosom X kóduje několik transkripčních faktorů, jejichž dvojitá dávka vede k aktivaci **Sxl** genu, který je odpovědný za vznik samičího fenotypu.



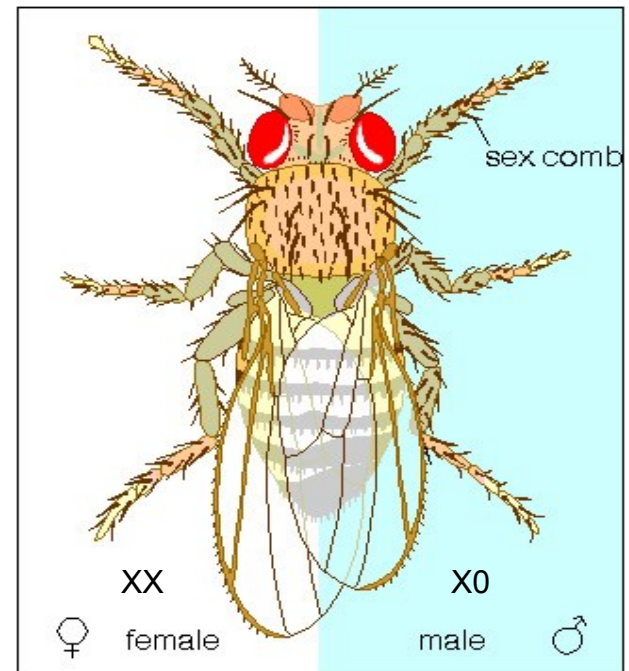
# Determinace pohlaví u bezobratlých se odehrává na úrovni jednotlivých buněk.

**gyn**andromorph

**samec**



**samice**



# Molekulární mechanismy určení pohlaví

## Ptáci

- Genem určujícím pohlaví je gen ***Dmrt1*** na chromosomu Z.
- Hraje důležitou roli při vývoji varlat.
- U samců (ZZ) je exprese *Dmrt1* vyšší než u samic (ZW). Při určení pohlaví hraje důležitou roli genová dávka.
- Snížení exprese *Dmrt1* v samcích, vede k částečnému převrácení pohlaví a vývoji samičího fenotypu.



**Gynandromorph** = jedinec tvořený mozaikou buněk se samčím a samičím genotypem/fenotypem.

Jejich existence u ptáků dokládá, že pohlaví je určeno z velké míry na úrovni jednotlivých buněk.



*Zhao et al. 2010, Nature*

# Molekulární mechanismy určení pohlaví

## Medaka japonská (*Oryzias latipes*)

- Genem určujícím pohlaví je gen **DMY** ležící na chromosomu Y.
- Je paralogem genu *Dmrt1* u ptáků.
- Podobně jako *Sry* spouští u medaky vývoj varlat.
- Mutace v tomto genu vedou ke vzniku XY samic.
- Naopak, exprese *DMY* u XX embryí vede ke vzniku samců.

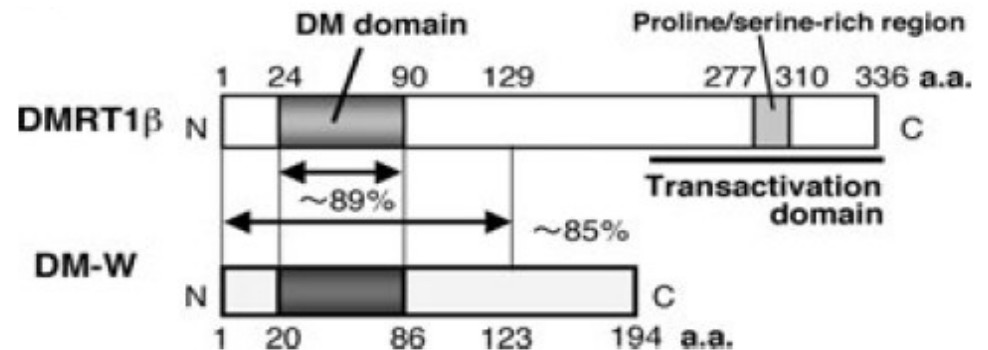




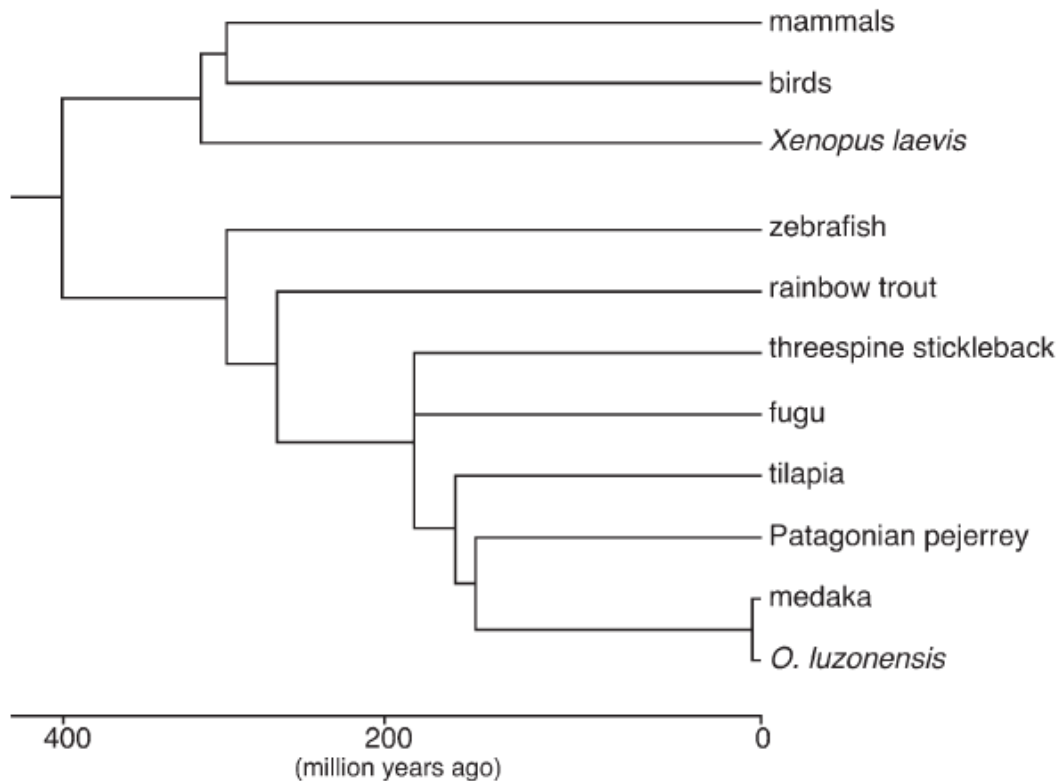
# Molekulární mechanismy určení pohlaví u obratlovců

## Drápatka vodní (*Xenopus laevis*)

- Genem určujícím pohlaví je **DM-W** ležící na chromosomu W. Opět paralogem genu *Dmrt1*.
- Jeho exprese vede k vývoji vaječníků.
- Má DNA vazebnou DM doménu jako *Dmrt1*, chybí mu však transaktivační doména. Funguje jako kompetitor *Dmrt1*. Váže se na stejné regulační oblasti genů, ale geny neaktivuje.



# Další nedávno objevené geny určující pohlaví u obratlovců



Kikuchi and Hamaguchi (2013)

Amhr2, amhy, Gsdf jsou homology známých genů v signálních drahách určujících pohlaví.



*Sry*

*DMRT1*

*DM-W*

*sdY*

*Amhr2*

*amhy*

*Dmy*

*Gsdf*

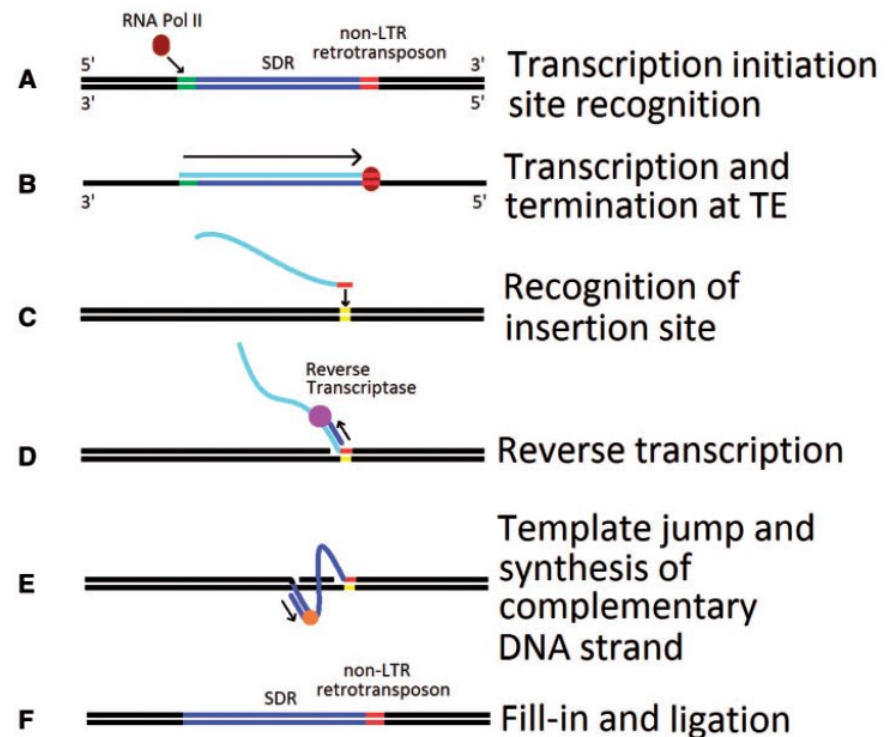


# Rychlý turn-over pohlavních chromosomů u pstruhů způsoben transpozony

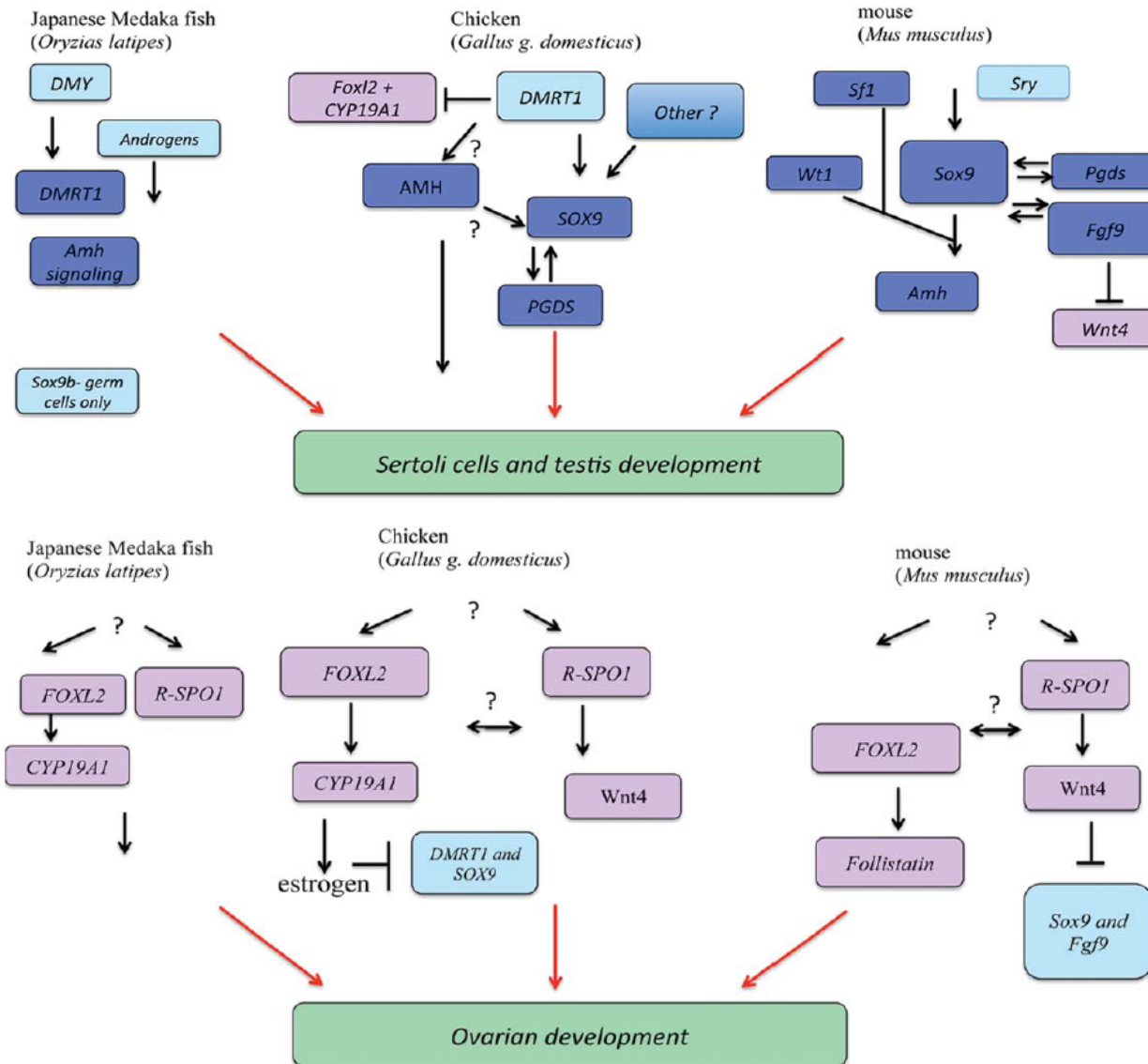


- U ryb rodu, *Oncorhynchus*, vzniklo minimálně šest nezávislých pohlavních chromosomů, mnohé z nich unikátní pro daný druh.
- Gen určující pohlaví, **sdY**, stejný u všech druhů.
- V jeho blízkosti transpozon, jehož přeskoky způsobily změnu polohy sdY v genomu a vznik nových pohlavních chromosomů.

Faber-Hammond et al. 2015



# Geny určující pohlaví jsou u různých živočichů různé, ale signální dráhy vedoucí k diferenciaci pohlaví jsou často konzervované.

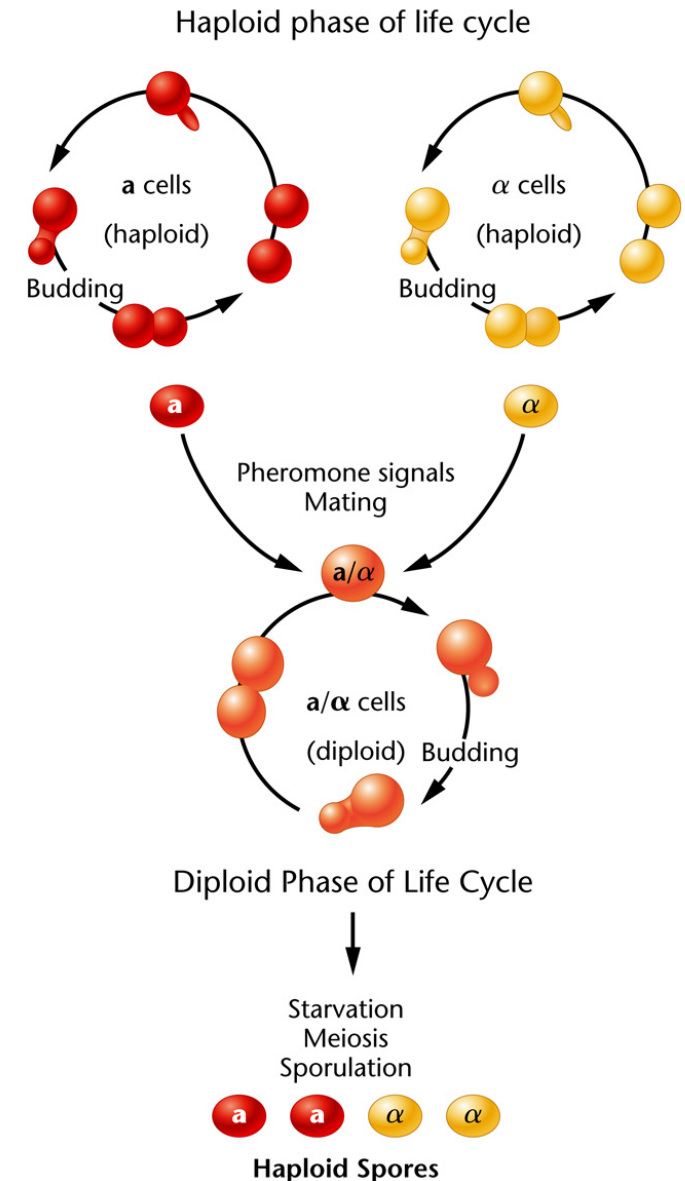


# Určení pohlaví u jednobuněčných organismů

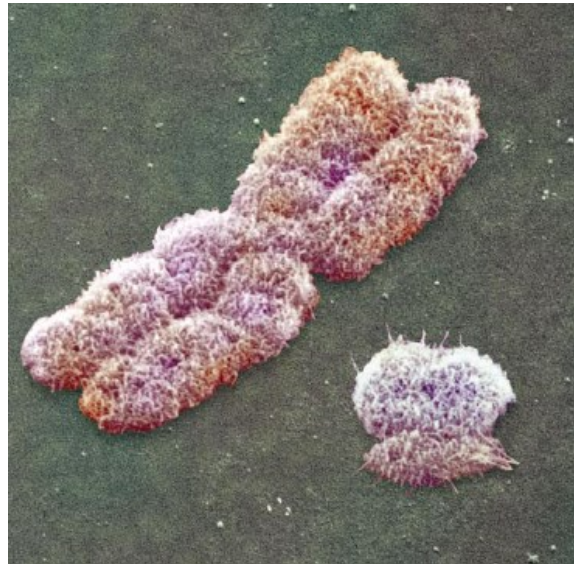
- Gamety různých pohlaví většinou velikostně nerozlišené – **izogamie**.
- I u izogamie obvykle gamety různých párovacích typů (např. a,  $\alpha$  u kvasinek).

## Změna párovacích typů u kvasinek

- Párovací typ určen přítomností alely „a“ či „ $\alpha$ “ v lokusu MAT.
- Kromě MAT lokusu jsou v genomu kvasinky ještě zásobní lokusy HMR s alelou „a“ HML s alelou „ $\alpha$ “. Tyto lokusy se nepodílejí na určení pohlaví.
- Vnitrogenomovou rekombinací může dojít ke změně (switch) párovacího typu, tím že se alela z lokusu HMR či HML přesune do lokusu MAT.



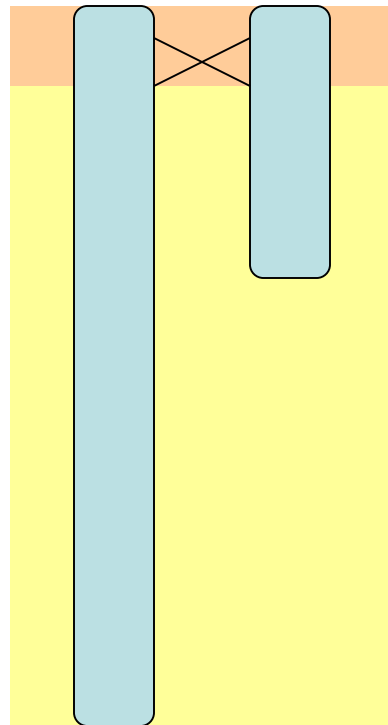
# Evolve pohlavních chromosomů



**„Nothing in biology make sense except in the light of evolution“  
(Theodosius Dobzhansky)**

## Pohlavní chromozomy XY i ZW vznikly v evoluci mnohokrát


přesto mají spoustu společných znaků:




X  
Z

Y  
W

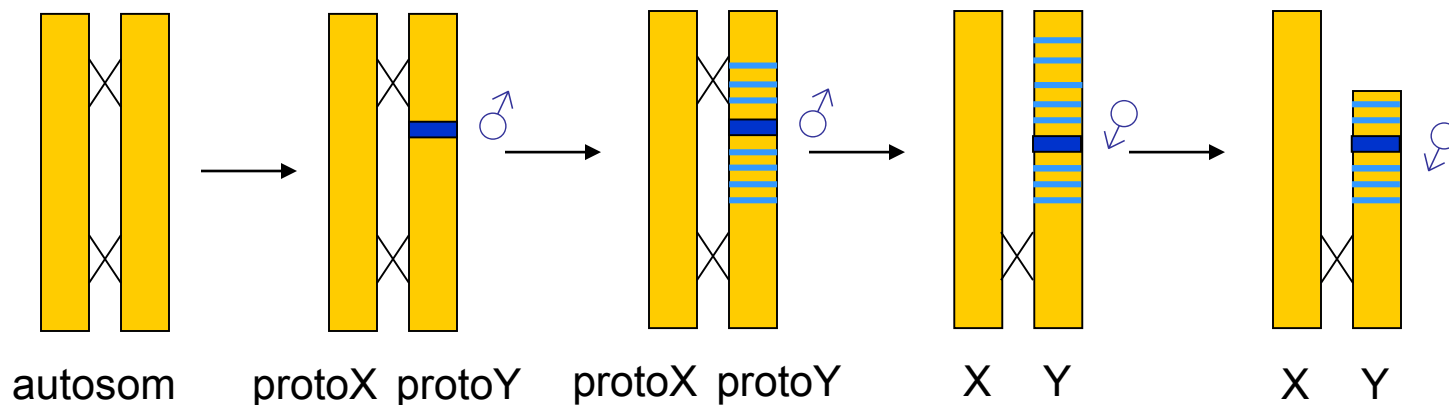
- Nepárový chromozom (Y,W) zpravidla menší či chybí
- Y,W obsahují malé množství funkčních genů
- Y,W nesou spoustu nefunkčních pseudogenů, transpozonů, repetitivních sekvencí, z velké části tvořeny heterochromatinem

 Homologní část (pseudoautosomová oblast)

 Nehomologní část

# Vznik a diferenciace pohlavních chromozomů

1. Vznik genu určujícího pohlaví na autosomálním páru.
2. Nahromadění sexuálně antagonistických genů kolem genu určujícího pohlaví
3. Potlačení rekombinace v okolí genu určujícího pohlaví.  
Např. prostřednictvím inverze.
4. Postupná divergence a degenerace nerekombinující části nepárového pohlavního chromozomu.





# Degenerace nerekombinující části nepárového chromosomu

## Mullerova rohatka

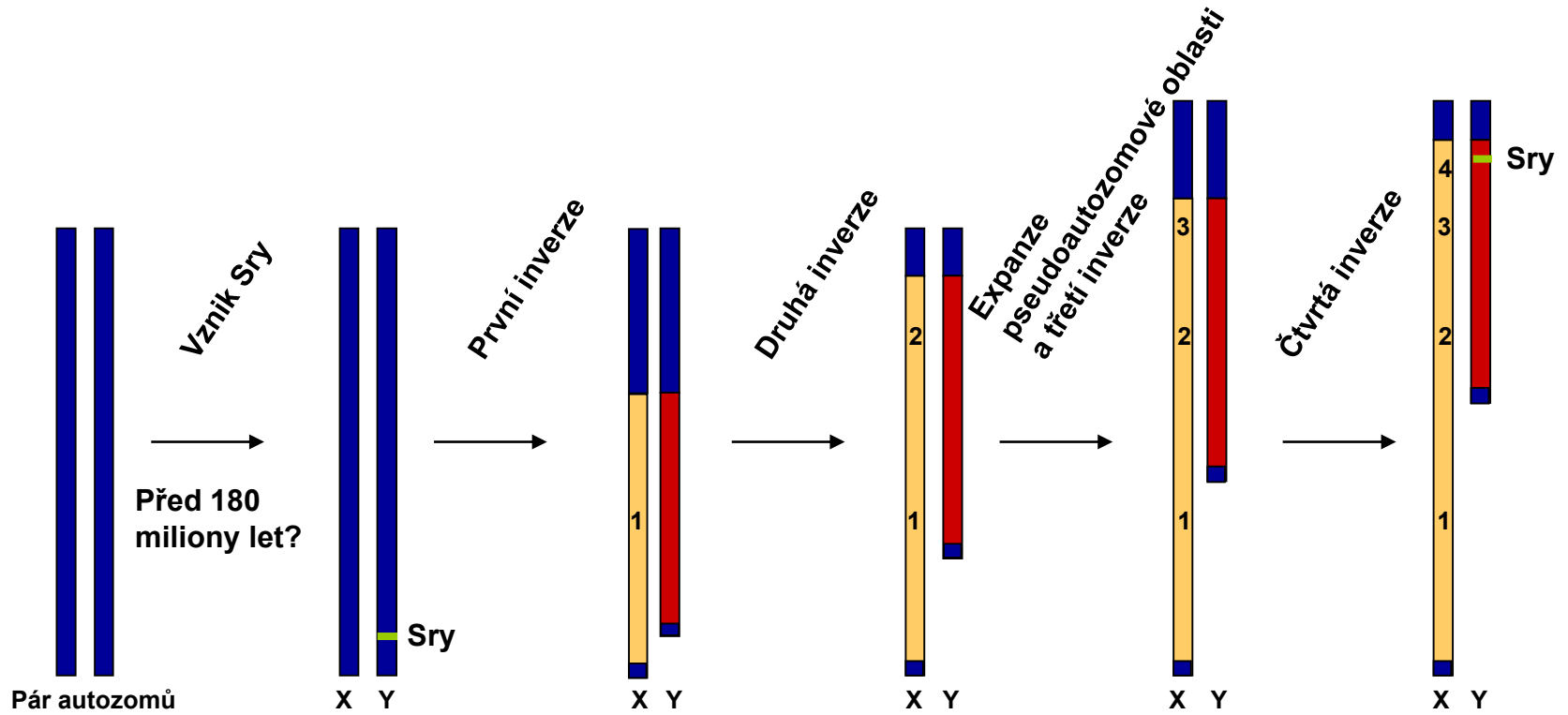
- Nevratný proces hromadění škodlivých mutací bez přítomnosti rekombinace
- Probíhá v nerekombinujících částech genomu (u asexuálních organismů v celém genomu).



J. H. Muller



# Čtyři evoluční vrstvy na lidském chromosomu X



## Genová konverze na Y jako obrana před Mullerovou rohatkou?

- Většina genů na lidském chromosomu Y se vyskytuje v několika kopiích a velkou část chromosomu Y tvoří rozsáhlé palindromy nesoucí mnoho genů.

Palindromy: **kajak**

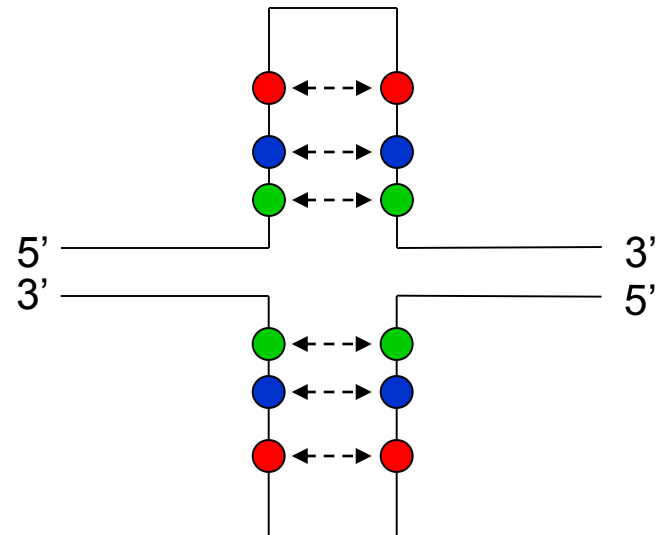
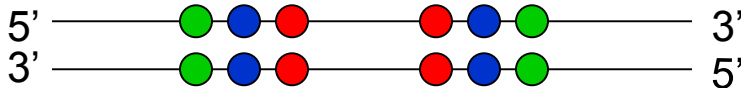
**nepochopen**

**báře jede jeřáb**

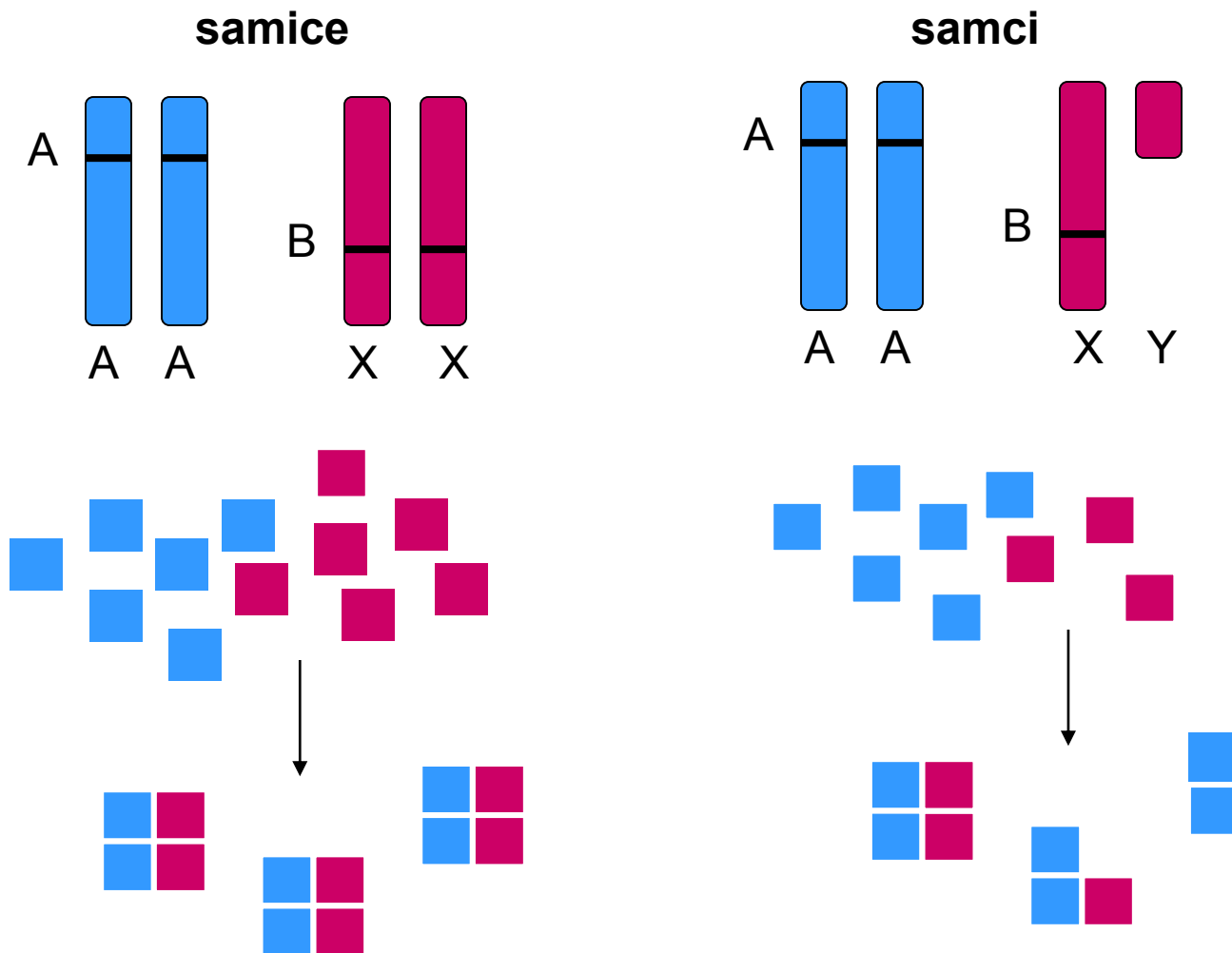
**ACTGCTAGCAGT**

**TGACTATCGTCA**

- V palindromatických sekvencích dochází ke genové konverzi, tj. přepisu jedné sekvence podle druhé. Obdoba rekombinace. Může způsobit zpomalení hromadění škodlivých mutací.



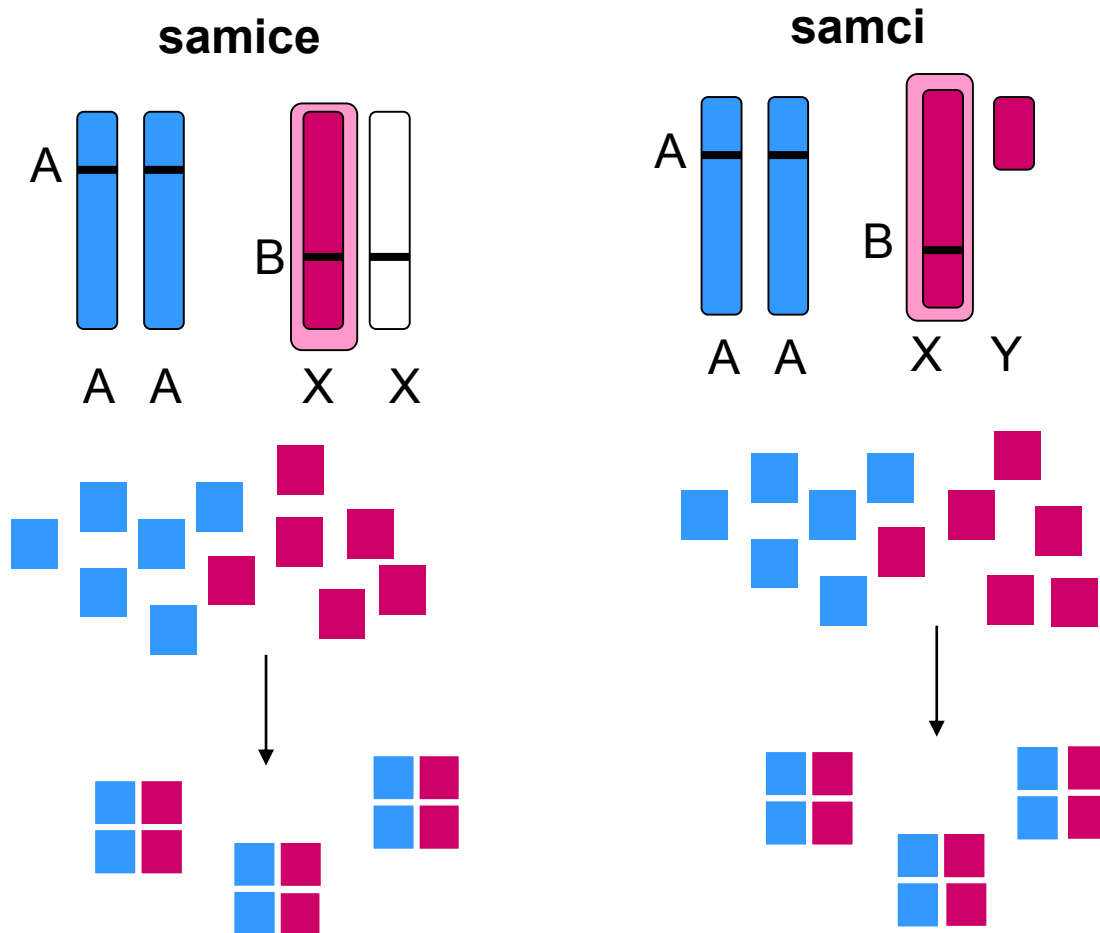
# Kompenzace dávky genů



Nerovnováha v množství genových produktů  
mezi pohlavími a mezi X a autosomy.

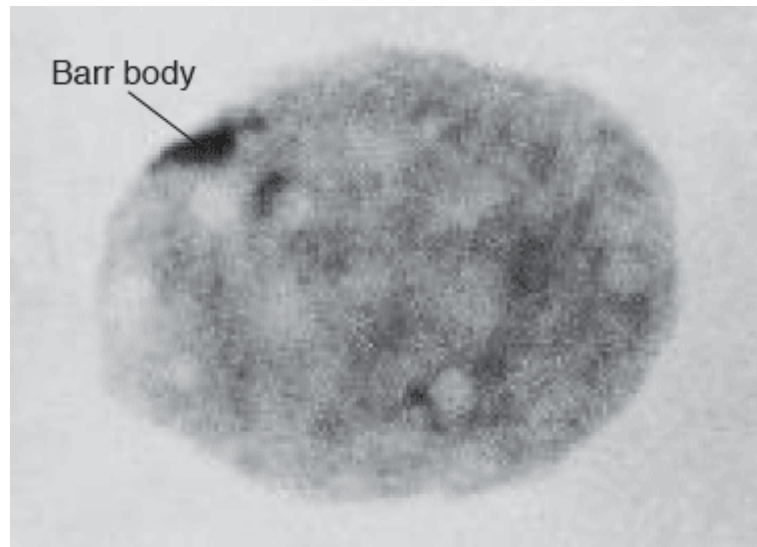
# Kompenzace dávky genů u savců

1. Inaktivace jednoho chromosomu X u samic.
2. Zvýšení transkripce na aktivním chromosomu X u obou pohlaví.

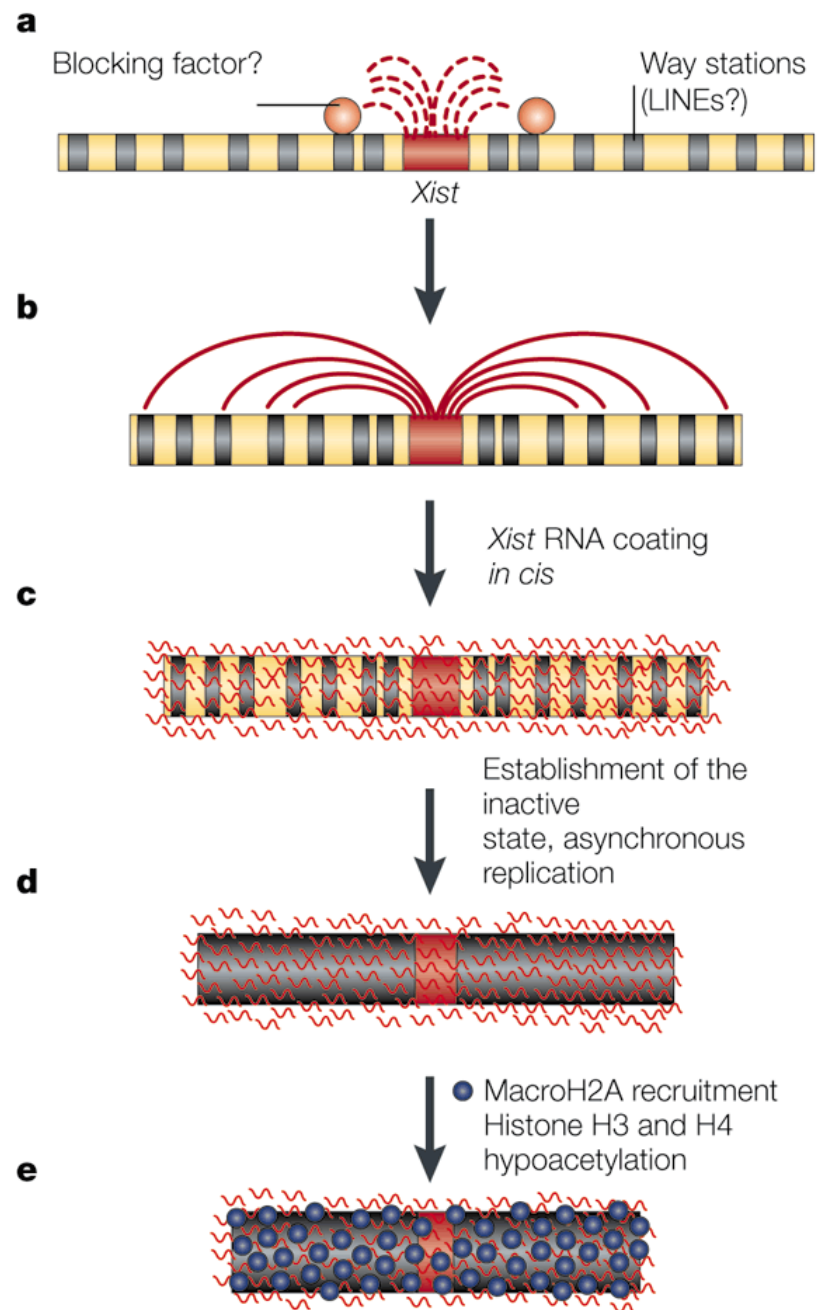


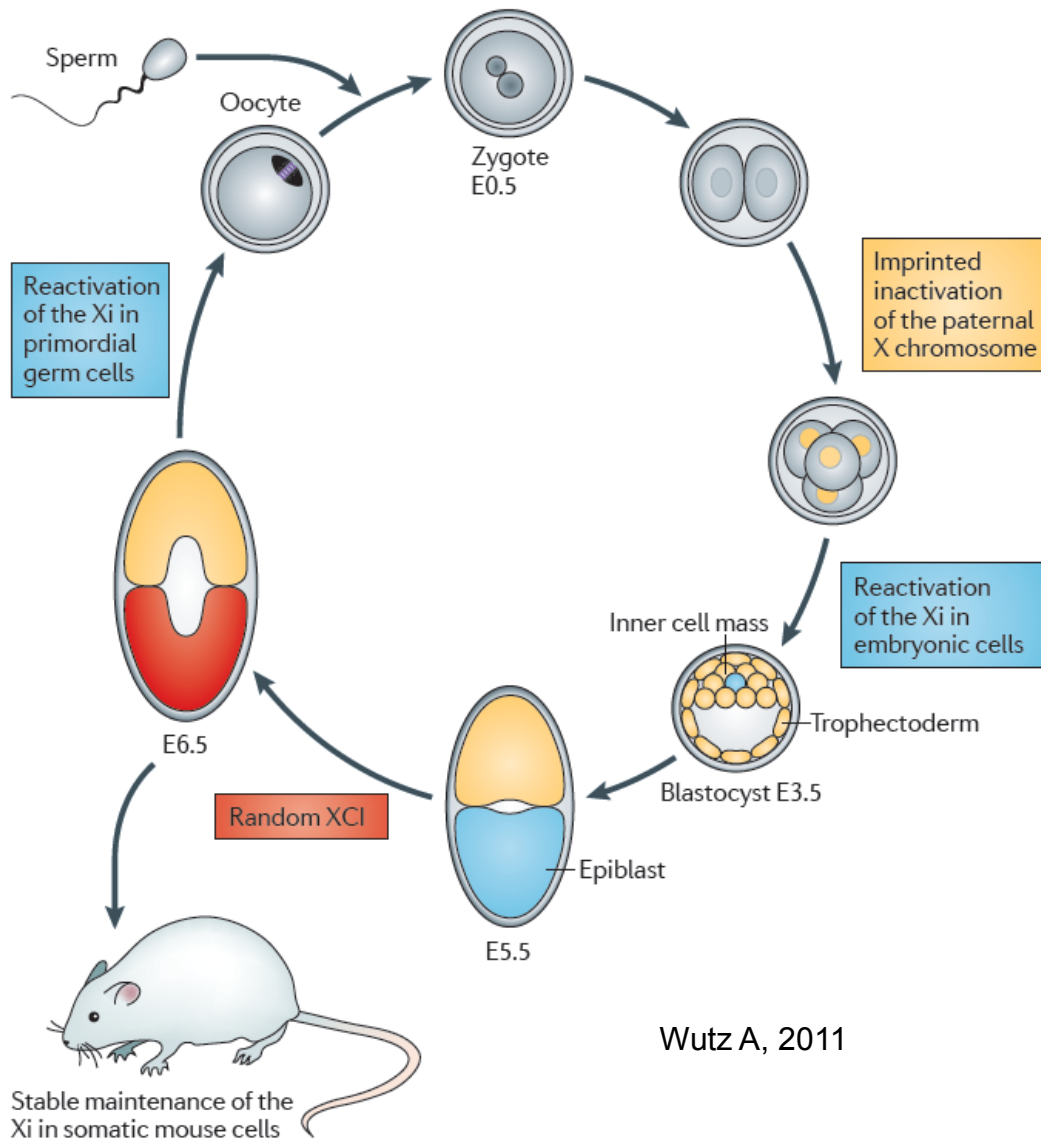
# Inaktivace chromosomu X u samic savců

- Objevena v roce 1961 Mary Lyon. X inaktivace = lyonizace
- Inaktivovaný chromosom X tvoří heterochromatin nazývaný **Barrovo tělísko**.
- Pokud se v buňce nacházejí více než dva chromosomy X (např. “superžena”), dojde k inaktivaci všech, kromě jednoho chromosomu X.



- Inaktivaci chromosomu X spouští gen ***Xist*** (*X-inactive specific transcript*), který produkuje nekódující molekulu RNA.
- *Xist* je exprimován jen z jednoho chromosomu X. Ten obalí a způsobí jeho transkripční inaktivaci a heterochromatinizaci.
- Možná role LINE transpozonů?





Wutz A, 2011

Náhodná inaktivace chromosomu X způsobuje černě a hnědě zbarvené oblasti srsti u tříbarevné kočky.

**Průběh somatické inaktivace chromosomu X během ontogeneze.**

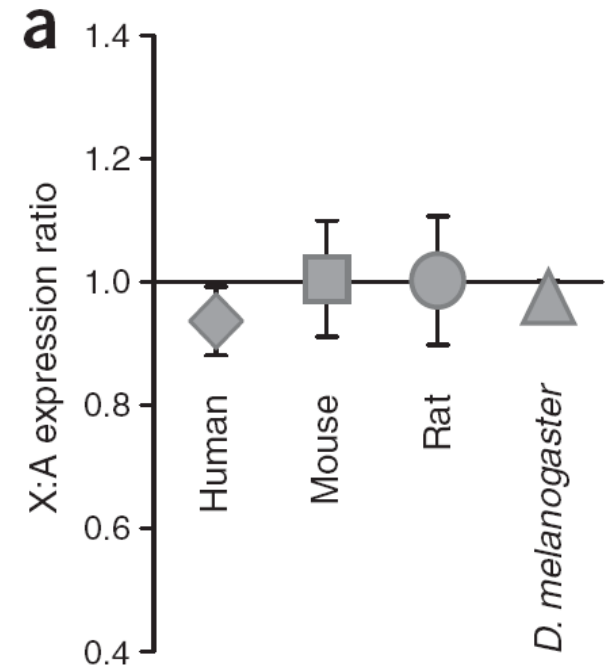
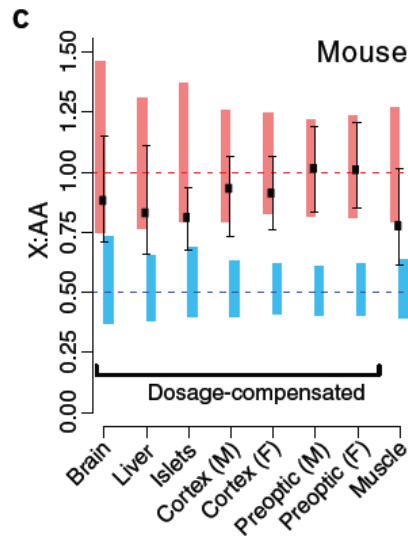
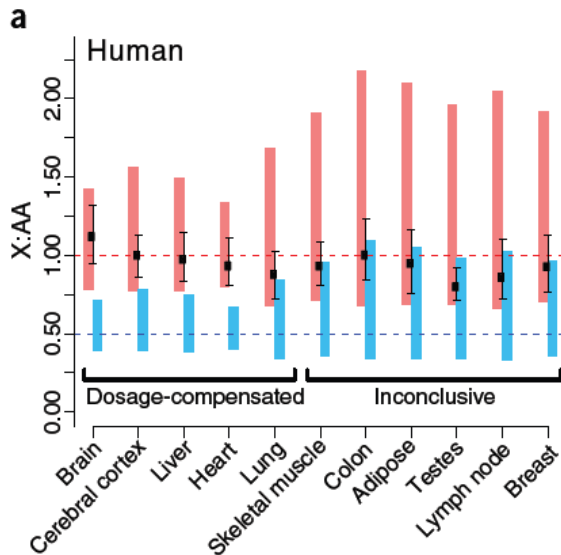




# Zvýšení transkripce na chromosomu X u savců „Ohnova hypotéza“

Důkazy objeveny až nedávno na základě analýz expresních dat z DNA čipů (microarrays) i RNA sekvenování.

Průměrná hladina exprese genů na chromosomu X a autosomech je stejná.

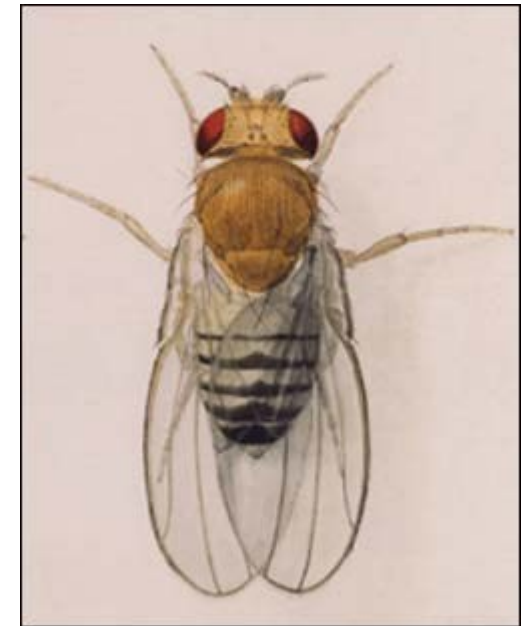
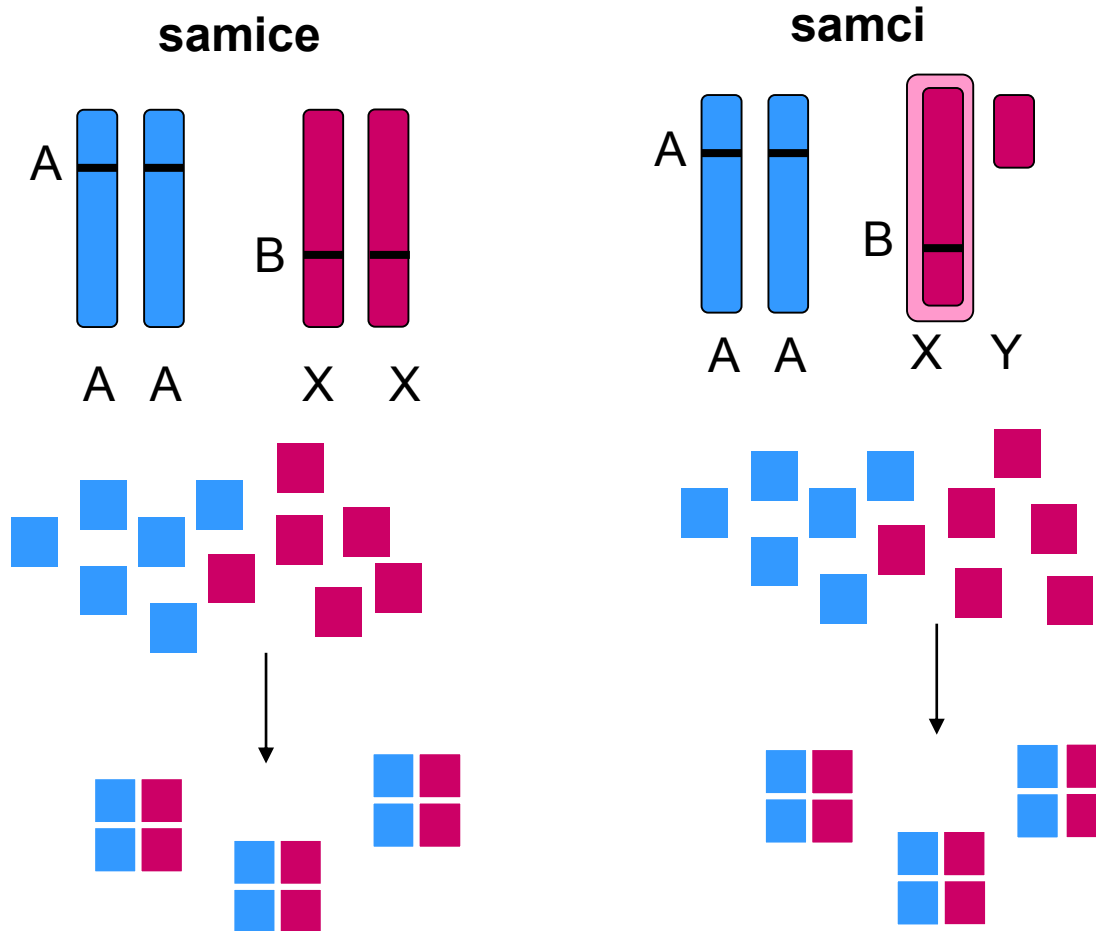


Nguyen and Disteche 2007.  
*Nature Genetics*

Kharchenko et al. 2011.  
*Nature Genetics*

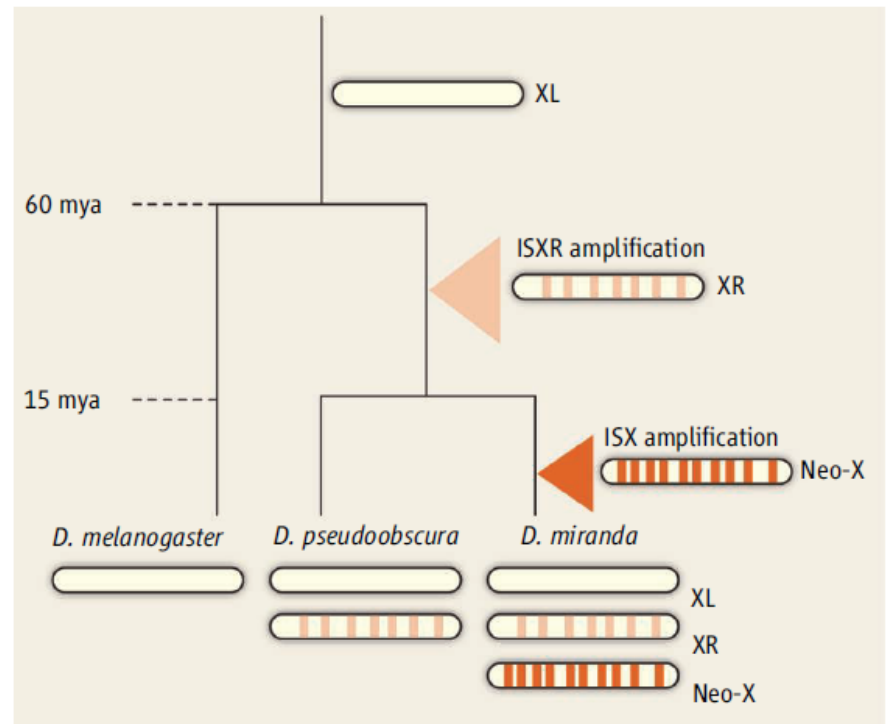
# Kompenzace dávky genů u octomilky

1. Zvýšení transkripce na chromosomu X u samců.



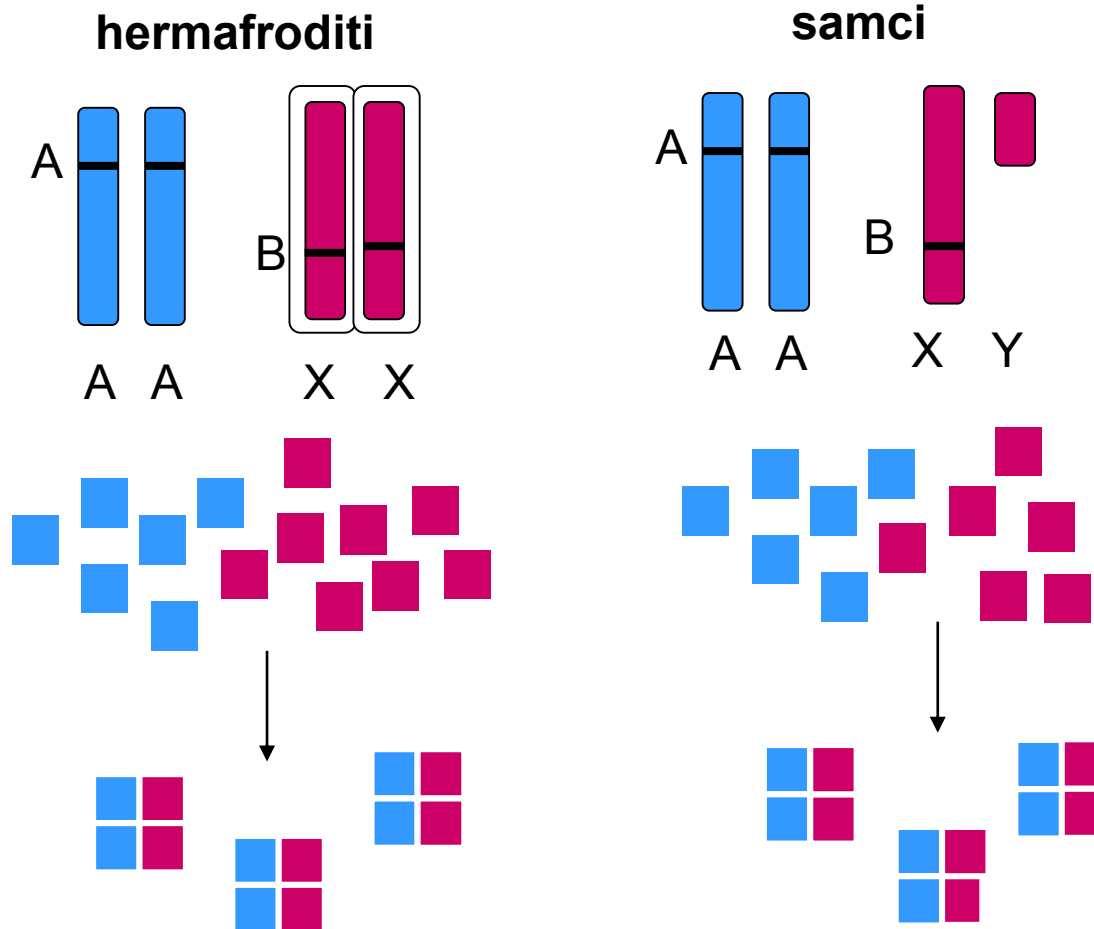
# Kompenzace dávky genů u octomilky

- Zvýšená transkripce způsobená vazbou MSL (male-specific lethal) komplexu na chromosom X. Součástí komplexu dvě nekódující RNA: roX1 a roX2.
- MSL rozeznává repetitivní sekvence – transpozony (ISX a ISXR), jejichž amplifikace proběhla v době vzniku pohlavního chromosomu.
- Vazba MSL komplexu na chromosom X způsobí rozvolnění chromatinu, což způsobí zvýšenou míru transkripce.



# Kompenzace dávky genů u *C. elegans*

1. Zvýšení transkripce na všech chromosomech X u obou pohlaví. (?)
2. Snížení transkripce na obou chromosomech X u hermafroditů.



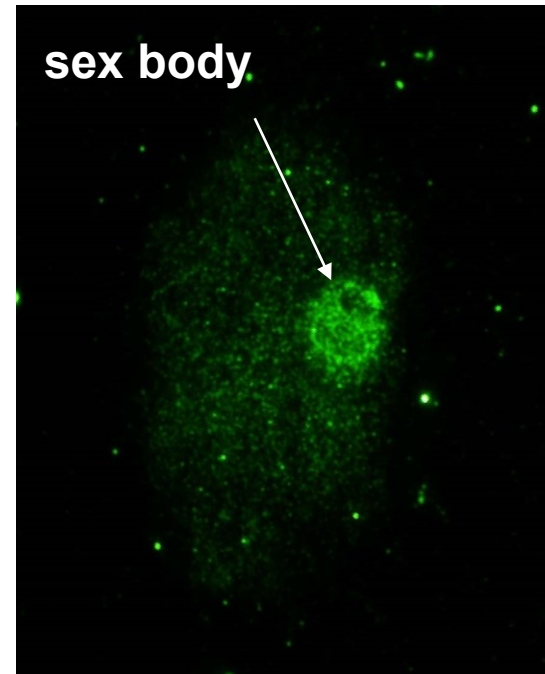
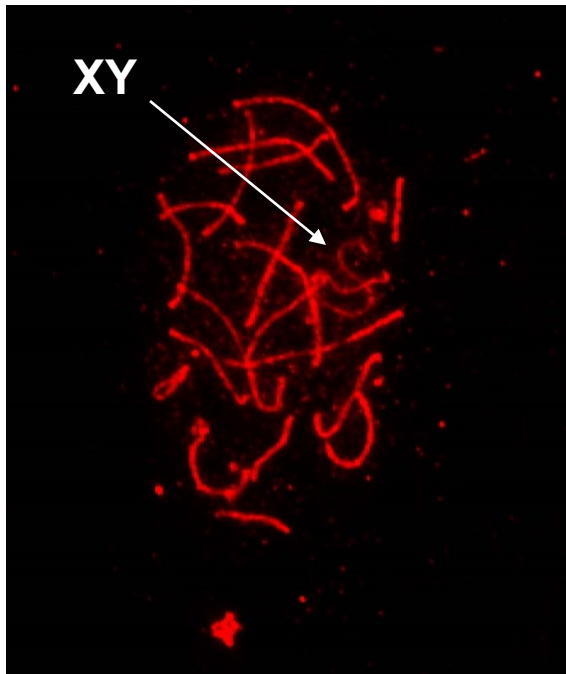
## U ZW organismů není kompenzace dávky genů!

- Produkty Z-vázaných genů mají u samců (ZZ) v průměru 1,8x vyšší hladinu než u samic (ZW).
- Ke kompenzaci dochází spíš výjimečně u některých genů. Neexistuje žádný globální mechanismus kompenzace pro celý chromosom Z.
- Proč organismům ZW nevadí nerovnováha genové dávky, zatímco organismům XY ano? Není jasné.



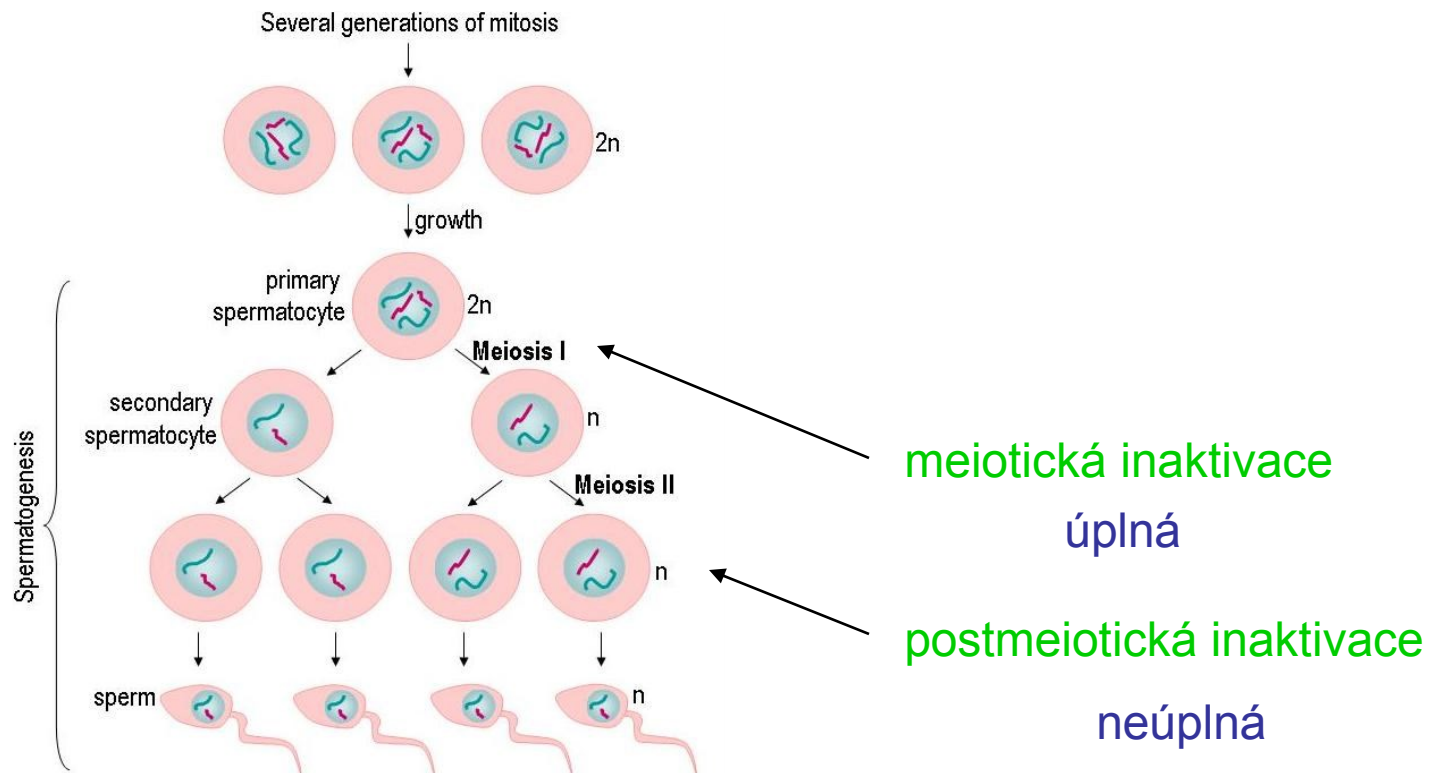
# Meiotická inaktivace pohlavních chromosomů

- Popsána u heterogametického pohlaví (XY).
- U savců inaktivované pohlavní chromosomy tvoří heterochromatinové tělísko = **sex body**.



# Inaktivace XY během spermatogeneze u savců

- K inaktivaci dochází během profáze 1. meiotického dělení ve fázi pachytene (tj. kdy párují a rekombinují homologní chromosomy).
- Po skončení 1. meiotického dělení dochází k částečné, ne však úplné, reaktivaci.
- Molekulární mechanismus meiotické inaktivace jiný než mechanismus X inaktivace v somatických buňkách. Nehraje roli Xist.



# Význam meiotické inaktivace pohlavních chromosomů

1. Inaktivace nespárované DNA. Obrana před ektopickou rekombinací či cizorodou DNA.
2. Potlačení meiotického tahu na pohlavních chromosomech.



# Inaktivace ZW během oogeneze

- Začíná v pachytene a vytrvává pouze do začátku diplotene 1. meiotického dělení (tato fáze trvá u slepice 5-6 dní a probíhá těsně po vylíhnutí).

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS GENETICS

2010

## Female Meiotic Sex Chromosome Inactivation in Chicken

Sam Schoenmakers<sup>1,2</sup>, Evelyne Wassenaar<sup>1</sup>, Jos W. Hoogerbrugge, Joop S. E. Laven<sup>2</sup>, J. Anton Grootegoed<sup>1</sup>, Willy M. Baarends<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Reproduction and Development, Erasmus MC, University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands, <sup>2</sup> Department of Obstetrics and Gynaecology, Erasmus MC, University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

**ALE!**

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS GENETICS

2012

## Error-Prone ZW Pairing and No Evidence for Meiotic Sex Chromosome Inactivation in the Chicken Germ Line

Silvana Guioli\*, Robin Lovell-Badge, James M. A. Turner

Division of Stem Cell Biology and Developmental Genetics, Medical Research Council, National Institute for Medical Research, London, United Kingdom

## **Něco ke čtení**

**Bachtrog et al. (2014) Sex determination: Why so many ways doing it? PLOS Biology 7:e1001899.**

**Capel (2017) Vertebrate sex determination: Evolutionary plasticity of a fundamental switch. Nature Reviews Genetics 18: 675-689.**

**Wright et al. (2016) How to make a sex chromosome. Nature Communications 7:12087.**