



# **Pokroky v klonování genů rostlin v postgenomické éře**

**Hana Šimková**

***Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Olomouc***

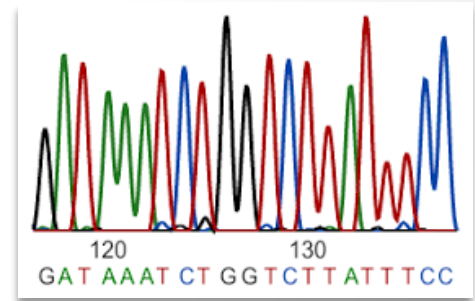
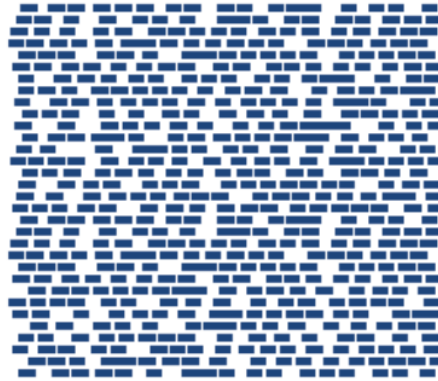


# Sekvenování genomů

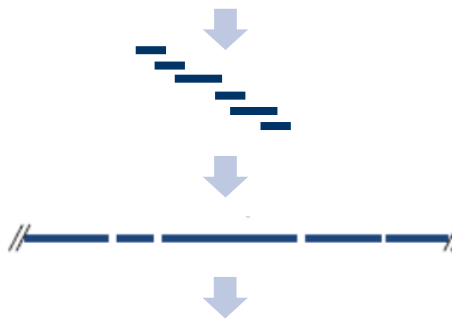
**Genom**



**Sekvenování**



**Sestavení  
genomové  
sekvence**



# Čtení genomů = anotace sekvencí



**Kódující sekvence  
(geny)**

**Regulační  
sekvence**

**RNA**

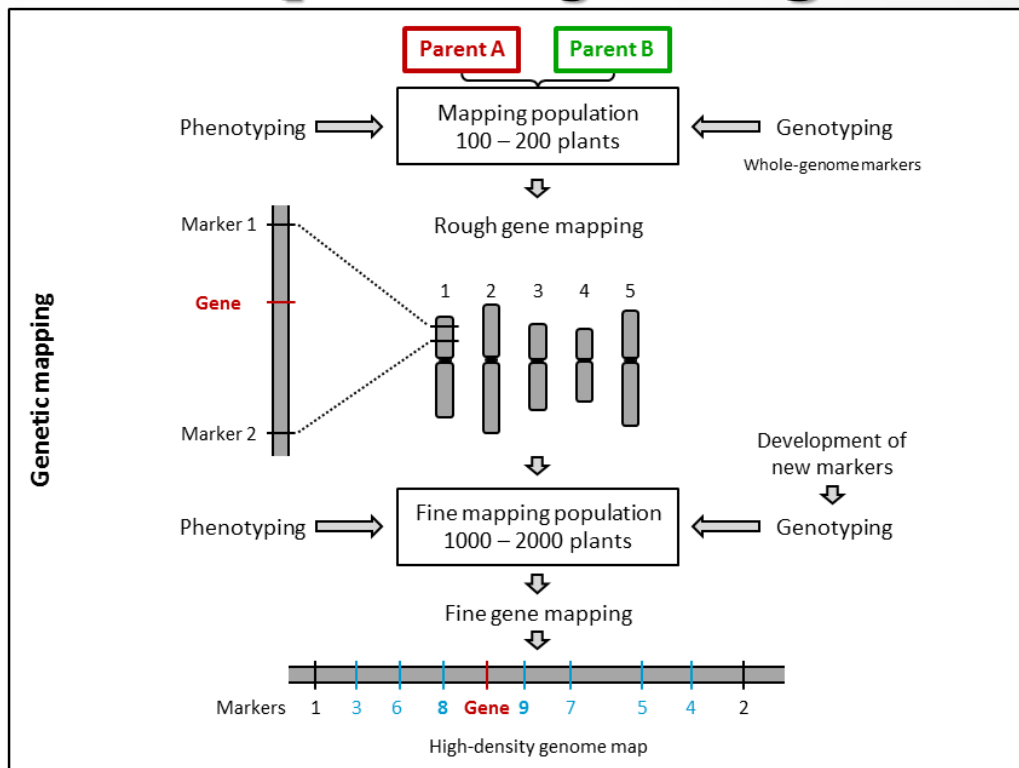
**Protein**

**Fenotyp**

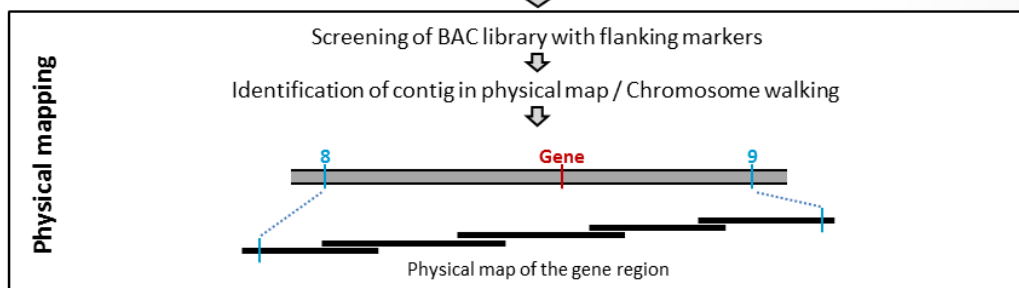
**Sekvence DNA ovlivňující fenotyp = ideální selekční **marker****

# Jak najít sekvenci pro zájmový fenotyp

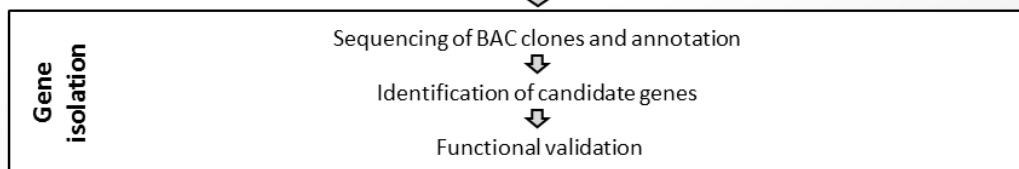
**Tradiční přístup:**  
**poziční klonování**  
= hledání genu za  
použití genetických  
a fyzických map



2-5 let



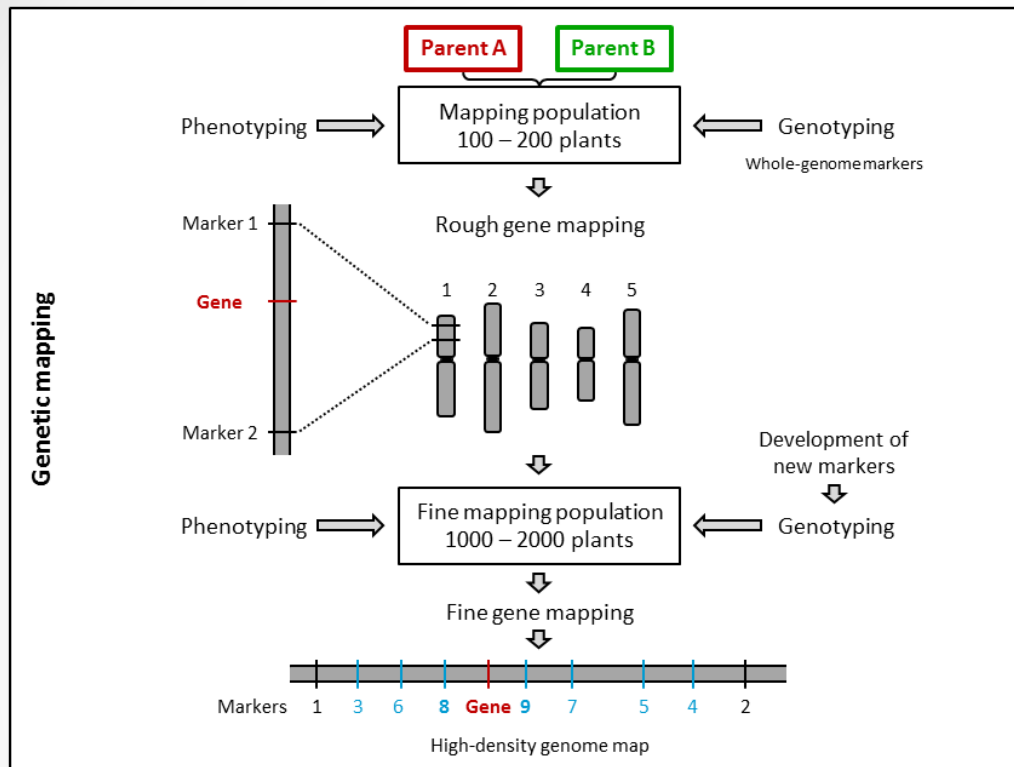
1-5 let



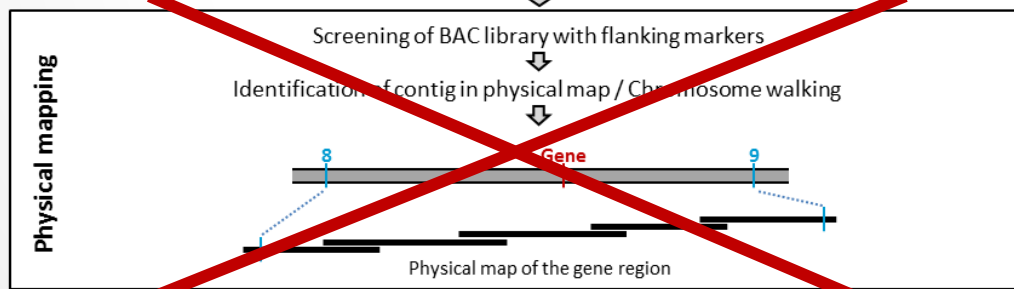
1-2 roky

>2 roky

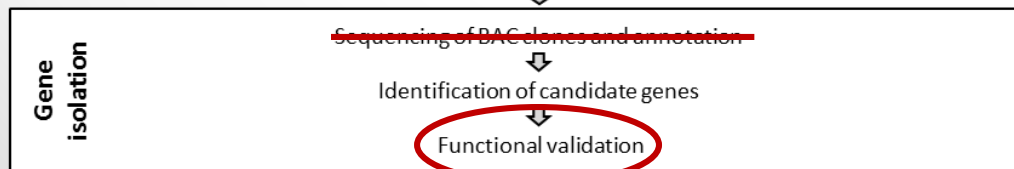
# Poziční klonování v postgenomické éře



**Snadnější vývoj  
genetických markerů  
díky znalosti sekvence**



**Snadnější identifikace  
kandidátních genů díky  
anotované sekvenci**

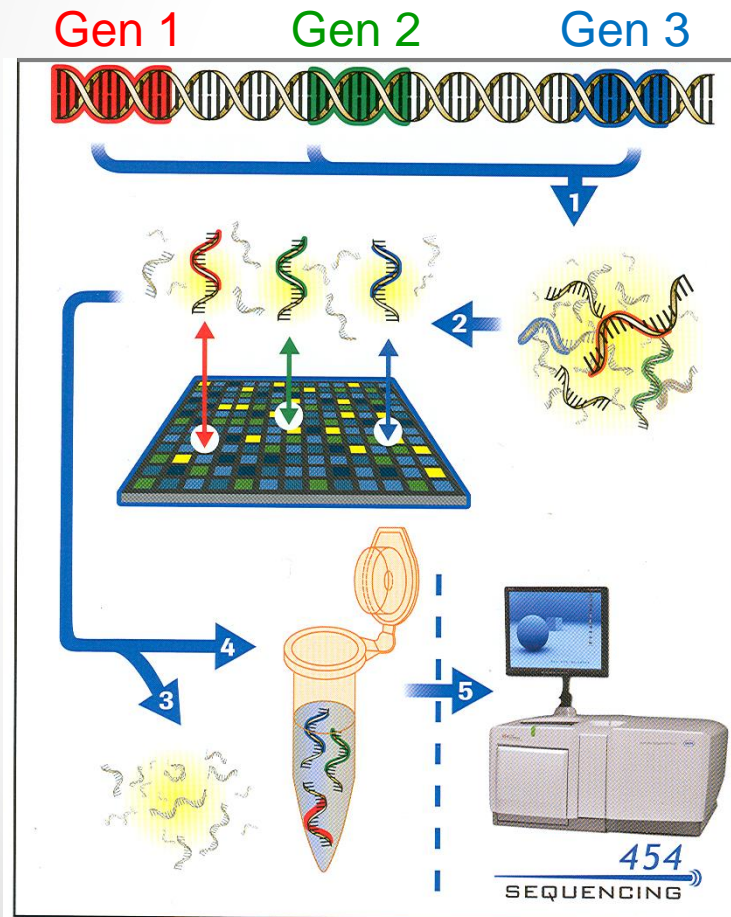


**>2 roky**

# Jak najít sekvenci pro zájmový fenotyp

## - nové přístupy

Pro významné plodiny s velkými genomy vytvořeny **mikročipy**  
- pro izolaci všech kódujících sekvencí daného druhu (exom)  
regulačních sekvencí daného druhu (regulom)



Čip vychytá z genomu pouze  
geny/regulační sekvence

↓  
**Cenově dostupné  
sekvenování**

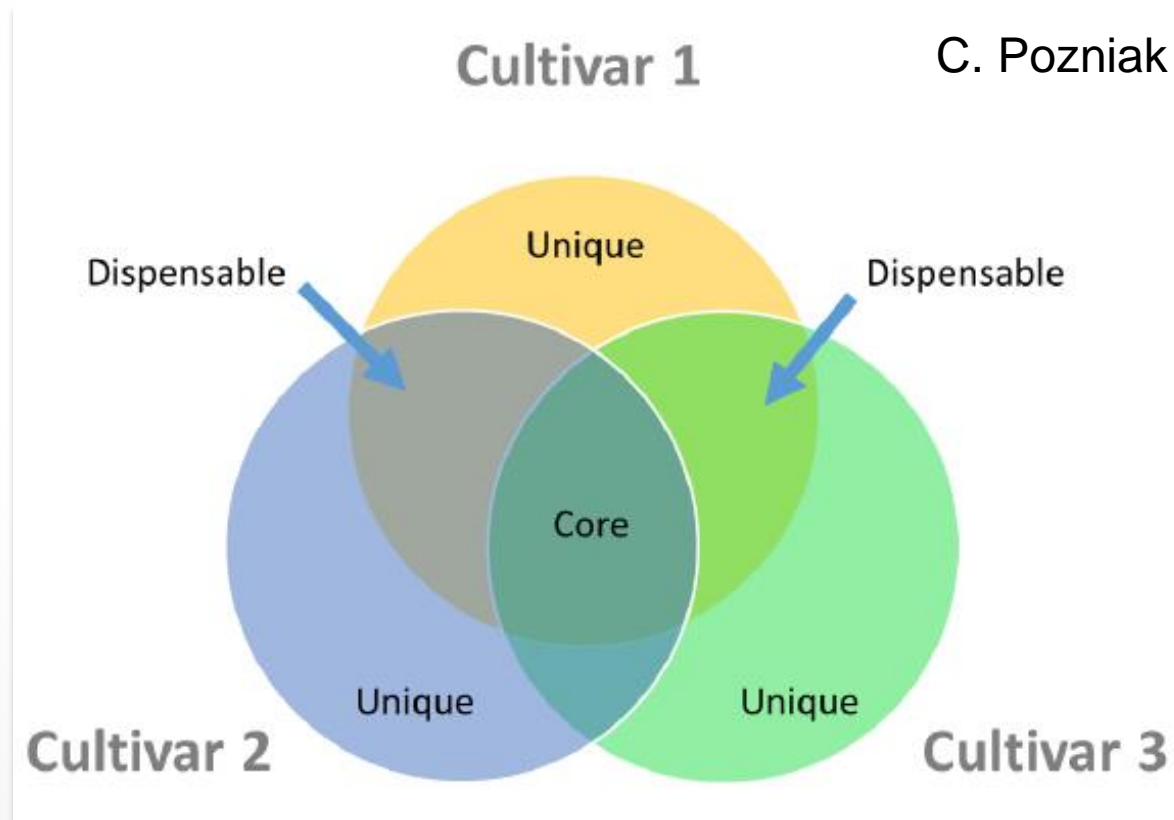
- mnoha položek daného druhu s odlišnými fenotypy
- populací mutantů

↓  
**Propojení variant v kódující  
nebo regulační sekvenci  
s fenotypem**

# Jak najít sekvenci pro zájmový fenotyp - nové přístupy

## Pangenom

= sekvenování mnoha genomů jednoho druhu



→ poskytně kompletní soubor genů daného druhu

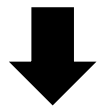
# **Jak najít sekvenci pro zájmový fenotyp - nové přístupy**

**Pangenom**

**Resekvenování mnoha genomů jednoho druhu**



**Charakterizace každé osekvenované položky  
v mnoha fenotypových znacích**

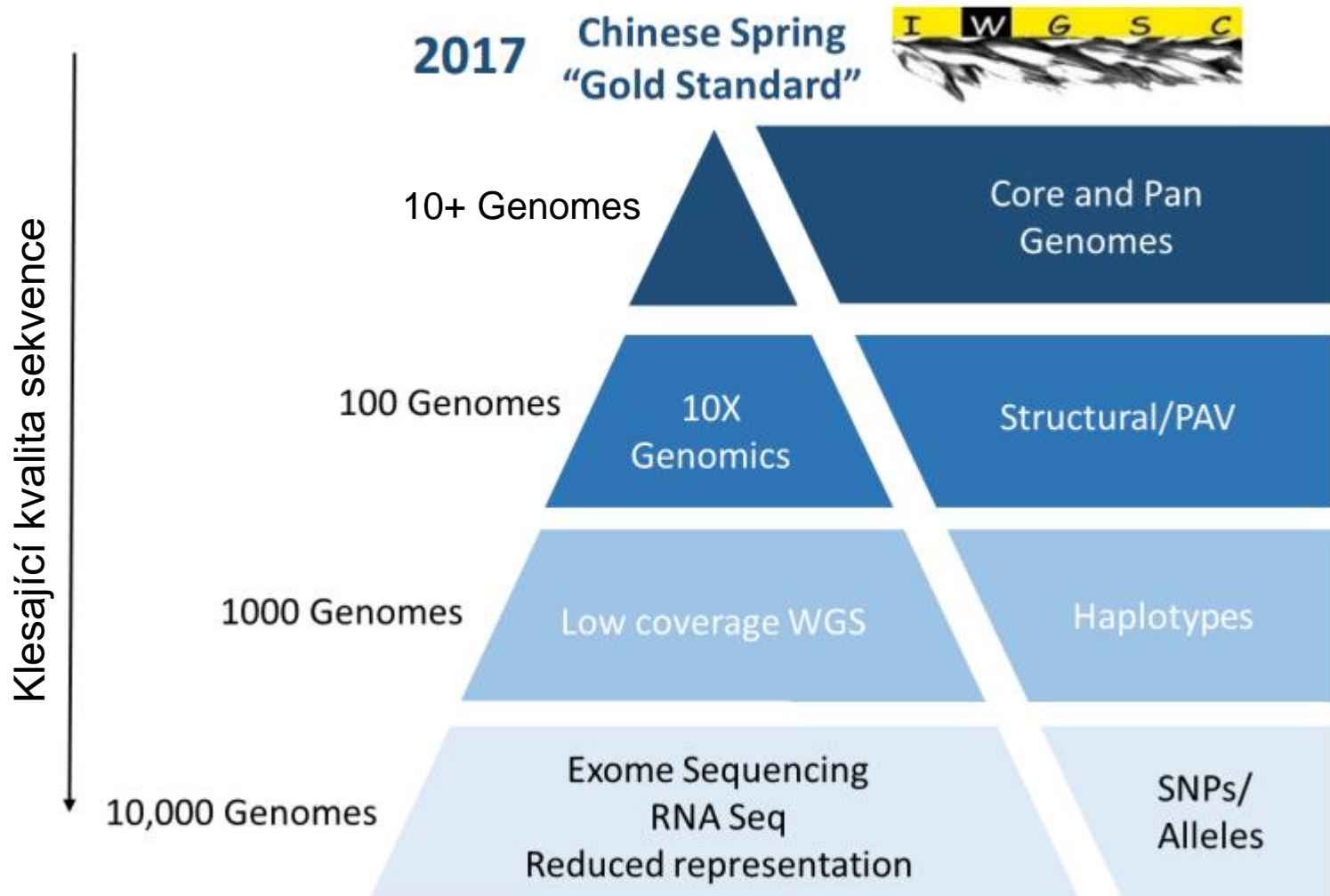


**Nalezení variant v sekvencích DNA  
asociovaných s agronomicky významnými fenotypy  
(asociační mapování)**



# Pangenom pšenice

## A Post-Genome Sequence Era

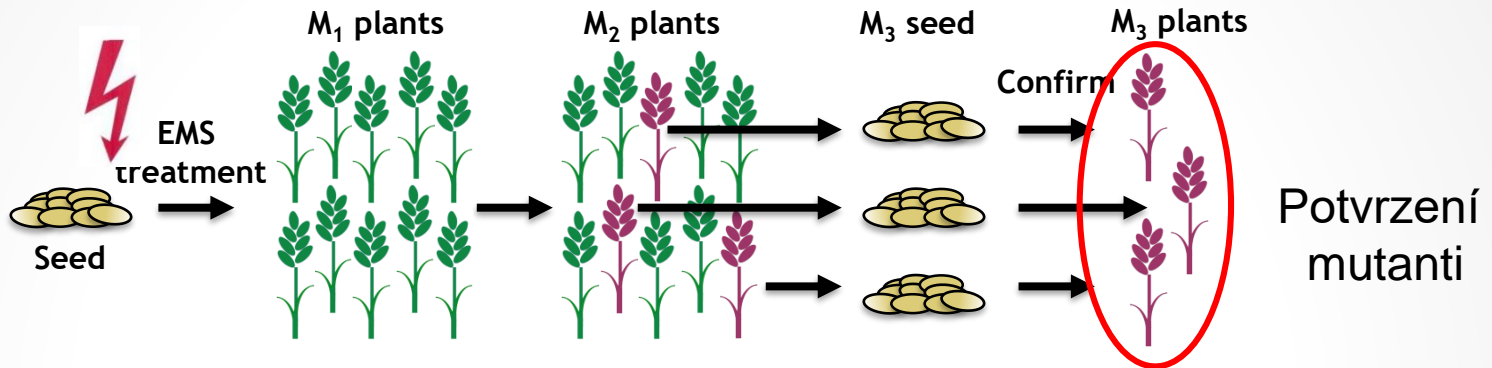


# Využití mutagenese ke klonování genů u pšenice

(MutChromSeq)

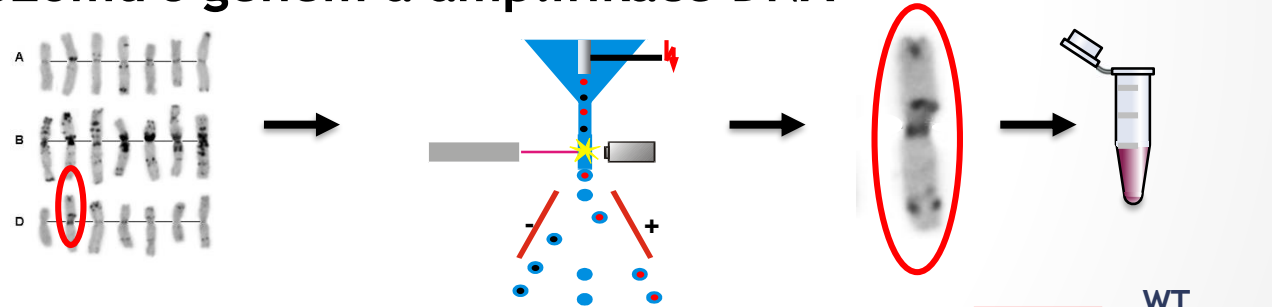
Sánchez-Martín et al., Genome Biol. 17:221, 2016

- Mutagenese a skrining potomstva (ztráta fenotypu)

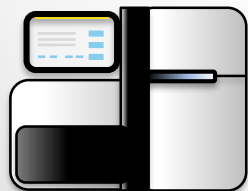


- Třídění chromozomu s genem a amplifikace DNA

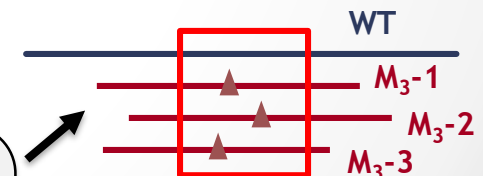
- z wild typu
- z mutantů



- Sekvenování a analýza dat



1. Sestavit sekvenci wild typu
2. Na ni namapovat ready z mutantů
3. Hledat **mutace** (hlavně bodové)
4. Nalézt **scaffoldy s mutací** u všech mutantů (= překrývající se mutace)



**Kandidátní gen**

### Search

- [Search & Browse GrainGenes](#)

### Community Services

- [Calendar](#)
- [Current Hot Topics](#)
- [Data Download](#)
- [Database Information](#)
- [GrainGenes Mailing List](#)
- [Job Listings](#)
- [Oatmail Mailing List](#)
- [Submit Data](#)
- [Tutorials](#)

### Species Portals on GrainGenes

- [Annual Wheat Newsletter](#)
- [Barley Boulevard](#)
- [Barley Genetics Newsletter](#)
- [Oat Newsletter](#)
- [Wheat Gene Catalogue](#)

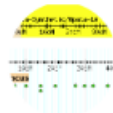
### Upcoming Events

- [16th International Cereal and Bread Congress \(ICBC\) in Christchurch, New Zealand](#)  
Apr 15 2020 to Apr 17 2020
- [McFadden Symposium and Hard Winter Wheat Workers Workshop in Manhattan, Kansas](#)  
May 18 2020 to May 20 2020
- [2020 Genomic Selection In Plant Breeding: A Hands On Practical Course Using R Lanzarote, Canary Island, Spain](#)  
Jun 2 2020 to Jun 5 2020
- [International Symposium on Rye Breeding & Genetics in Wernigerode, Germany](#)  
Jun 21 2020 to Jun 24 2020
- [International Barley Genetics Symposium 13 in Riga, Latvia](#)  
Jul 5 2020 to Jul 9 2020

### Quick Links



[Search & Browse GrainGenes](#)



[Genome Browsers](#)



[CMap](#)

### Hot Topics

#### Wheat 10+ Genomes Project Release

Wheat 10+ Genomes Project Releases Reference Sequences of a Global Panel of Wheat Varieties

#### IWGSC RefSeq v2.0 now available

The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC) is pleased to announce that version 2 of the reference sequence of bread wheat, IWGSC RefSeq v2.0, is now available at the IWGSC data repository hosted by URGI-INRA.

#### GrainGenes-T3 Shared Genome Browsers

In a show of close collaboration between two USDA-ARS databases, GrainGenes and the Triticeae Toolbox (T3) decided to maintain shared genome browsers for bread wheat and barley reference genomes (released in July 2019). The Chinese Spring wheat and Morex barley genome browsers will be housed at GrainGenes and will be populated by both teams.

#### Durum Wheat (cv. Svevo) RefSeq Release 1.0 at GrainGenes

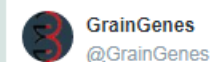
In collaboration with the International Durum Wheat Genome Sequencing Consortium, GrainGenes is releasing the Durum Wheat (cv. Svevo) RefSeq Rel. 1.0 and its annotations.

### GrainGenes Updates

- February 2020: Links to expVIP and KnetMiner from the IWGSC Chinese Spring genome browser
  - February 2020: Barley Genetics Newsletter v48 (2018) is released
  - January 2020: KASP markers for yield QTL on GrainGenes
  - January 2020: IBSC barley Morex RefSeq v1.0 Functional Annotations on GrainGenes
  - January 2020: IWGSC RefSeq v1.0 Functional Annotations on GrainGenes
  - December 2019: Google Search was added to search GrainGenes pages
  - November 2019: A new SNP track generated from 3,000-year-old Egyptian wild emmer wheat
  - November 2019: New Wheat Chromosome and Genome Maps for WGC Genes
  - November 2019: Mississippi Valley Barley Nursery Reports were added
  - October 2019: New Web Page for the Catalog of Gene Symbols for Wheat
  - Wheat Gene Catalog Curation (ongoing)
  - September 2019: Wheat Annual Newsletter v.65 (2019) is available
- [more updates....](#)

### @GrainGenes Tweets

#### Tweets by @GrainGenes



**GrainGenes**  
@GrainGenes

Replying to @GrainGenes @KnetMiner  
[@CristobalUauy](#)



Feb 14, 2020

# Pro pokročilé ...

## **Genome Browsers – interaktivní prohlížeče genomových sekvencí (zejména geny v genomovém kontextu)**

- **Ensembl Plants** (Triticum aestivum, T. durum, Hordeum vulgare, Zea mays, Beta vulgaris, Brassica napus, B. oleracea, B. rapa, Capsicum annuum, Cucumis sativus, Daucus carota, Glycine max, Helianthus annuus, Lupinus angustifolius, Medicago truncatula, Phaseolus vulgaris, Prunus avium, P. persica, Solanum lycopersicum, S. tuberosum, Trifolium pratense, Vigna angularis, V. radiata, Vitis vinifera) – **možnost hledání podobných genů mezi druhy**

## **Atlasy genové exprese – informace o expresi jednotlivých genů v různých pletivech a za různých biologických podmínek (sucho, horko, patogeny, škůdci, ...)**

- **Expression Atlas EMBL-EBI** (H. vulgare, Z. mays, V. vinifera, T. aestivum, S. lycopersicum, S. tuberosum, G. max, M. truncatula, B. napus, B. rapa, P. persica, B. vulgaris, T. pratense)
- **expVIP** (T. aestivum)

# Shrnutí

- **Dostupnost celogenomové sekvence a prudký rozvoj sekvenačních technologií urychlují a zlevňují vývoj genetických markerů**
- **Anotované genomové sekvence a dostupné atlasy genové exprese usnadňují výběr kandidátních genů**
- **Údaje z pangénomových projektů, sekvenování exomů a regulomů pro velký počet položek s charakterizovaným fenotypem umožní vytipovat kandidátní geny/lokusy na základě asociačního mapování**
- **Těžiště klonovacích projektů se přesunuje do oblasti funkční validace kandidátních genů (mutační genetika)**



# Děkuji za pozornost

