

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie (B-BI)



Anna Porkertová

Zárodečné chromozomy u živočichů
Germline-restricted chromosomes in animals

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Radka Reifová Ph.D.

Poděkování:

Ráda bych poděkovala především své školitelce RNDr. Radce Reifové Ph.D. za cenné rady a připomínky a také čas věnovaný mé práci. Velmi si vážím její ochoty a vstřícnosti.

Praha, 2025

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne:

Podpis:

Abstrakt

Zárodečné chromozomy (GRC) jsou unikátním typem chromozomů, které se nacházejí pouze v zárodečné linii. Během rané embryogeneze dochází procesem programované DNA eliminace k jejich odstranění ze somatické linie. Zárodečné chromozomy nezávisle na sobě vznikly u několika živočišných skupin, a to u třech čeledí dvoukřídlého hmyzu (Diptera), sliznatek a mihulí patřících do kruhoústých (Cyclostomata) a dále také u pěvců (Passeriformes). Zárodečné chromozomy se mohou značně lišit v počtu, genetickém obsahu, způsobu eliminace ze somatické linie, původu i dědičnosti nejen mezi danými skupinami živočichů, ale někdy také i mezi příbuznými druhy nebo dokonce i mezi konkrétními jedinci daného druhu. Ačkoliv byly první zárodečné chromozomy popsány již na začátku 20. století, mnohé o nich stále ještě zůstává záhadou a výzkum v této oblasti je stále velmi aktuální a nutnou záležitostí. Tato práce představuje unikátní souhrn dosavadních znalostí o zárodečných chromozomech u všech dosud objevených skupin živočichů.

Klíčová slova: zárodečné chromozomy, programovaná DNA eliminace, somatická linie, zárodečná linie, evoluce genomu, dědičnost

Abstract

Germline-restricted chromosomes (GRCs) are a unique type of chromosomes, which are found only in the germline. They are removed by a process of programmed DNA elimination from the somatic lineage during the early embryogenesis. Germline-restricted chromosomes evolved independently in several animal groups, namely three insect families of flies (Diptera), in hagfishes and lampreys belonging to Cyclostomes (Cyclostomata) superclass, and in passerine birds (Passeriformes). Germline-restricted chromosomes can vary significantly in copy number, genetic content, mechanism of elimination from the somatic lineage, origin and inheritance as well, not only between given groups of animals, but sometimes also between related species or even between specific individuals of a given species. Although first germline-restricted chromosomes were described at the beginning of the 20th century, much about them still remains unknown, and research in this area is still very topical and necessary matter. This thesis represents a unique summary of the current knowledge of germline-restricted chromosomes in all animal groups discovered up to this date.

Key words: germline-restricted chromosomes, programmed DNA elimination, chromosome elimination, somatic lineage, germline, genome evolution, inheritance

Obsah

1	Úvod.....	6
2	Zárodečné chromozomy a programovaná DNA eliminace.....	7
3	Charakteristika zárodečných chromozomů	8
3.1	Dvoukřídlí (Diptera)	8
3.2	Kruhoústí (Cyclostomata).....	10
3.3	Pěvci (Passeriformes).....	12
4	Genetický obsah zárodečných chromozomů	14
4.1	Dvoukřídlí (Diptera)	14
4.2	Kruhoústí (Cyclostomata).....	14
4.3	Pěvci (Passeriformes).....	18
5	Způsob eliminace zárodečných chromozomů ze somatické linie	21
5.1	Dvoukřídlí (Diptera)	21
5.2	Kruhoústí (Cyclostomata).....	21
5.3	Pěvci (Passeriformes).....	22
6	Dědičnost zárodečných chromozomů.....	23
6.1	Dvoukřídlí (Diptera)	23
6.2	Kruhoústí (Cyclostomata).....	26
6.3	Pěvci (Passeriformes).....	26
7	Původ a evoluce zárodečných chromozomů	28
7.1	Dvoukřídlí (Diptera)	28
7.2	Kruhoústí (Cyclostomata).....	29
7.3	Pěvci (Passeriformes).....	30
8	Závěr.....	31
9	Seznam použité literatury	33

1 Úvod

Jedním z hlavních znaků eukaryotických organismů je pravé jádro. Právě v tomto jádře se nachází většina genetické informace ve formě chromozomů. U většiny živočichů se stejná sada chromozomů nachází jak v tělní (somatické) linii, tak i v zárodečné (germinální) linii buněk. Zajímavé ale je, že některé organismy mají určité chromozomy navíc, které jsou omezené pouze na zárodečnou linii. Tyto zárodečné chromozomy (germ-line restricted chromosomes, GRC) jsou eliminovány ze somatické linie procesem nazývaným programovaná DNA eliminace (Wang & Davis, 2014), naopak přetrvávají v zárodečné linii buněk. Zárodečné chromozomy byly zatím objeveny pouze u několika málo skupin živočichů, které si jsou v některých případech pouze velmi vzdáleně příbuzné (Hodson & Ross, 2021; Smith et al., 2021).

K objevu zárodečných chromozomů došlo zatím pouze u třech čeledí dvoukřídlého hmyzu (Kahle, 1908; Metz, 1925; Bauer & Beermann, 1952), také u sliznatek (Kohno et al., 1986), mihulí (Saraceno et al., 2024; Timoshevskiy et al., 2016) a pěvců (Pigozzi & Solari, 1998). A přestože se zárodečné chromozomy vyskytují pouze u několika málo skupin živočichů, jejich opakovaný a častokrát nezávislý vznik v průběhu evoluce naznačuje, že by mohly existovat selekční tlaky podporující jejich vznik a udržení (Bryant et al., 2016; Itoh et al., 2007, 2009; Torgasheva et al., 2019; Vontzou et al., 2023). Při sekvenování genomů a také při cytogenetických studiích se většinou zkoumají pouze tělní buňky. Objev zárodečných chromozomů a zárodečné DNA byl tedy spíše náhodou. To naznačuje, že výskyt GRC nemusí být omezen pouze na tyto skupiny živočichů, ale že mohou existovat živočichové, u kterých zatím nebyly tyto chromozomy objeveny.

O původu, dědičnosti, genetickém obsahu a způsobu eliminace ze somatické linie toho u zárodečných chromozomů zůstává stále mnohé záhadou. Můžeme ale říci, že zárodečné chromozomy se mohou značně lišit v počtu, genetickém obsahu, způsobu eliminace ze somatické linie, původu i dědičnosti nejen mezi různými skupinami živočichů, ale někdy také mezi příbuznými druhy, a i konkrétními jedinci a buňkami (Hodson & Ross, 2021; Smith et al., 2009; Sotelo-Muñoz et al., 2022). Hypotéz popisujících možný evoluční význam zárodečných chromozomů je také několik. Podle některých by byla exprese určitých genů v somatické linii škodlivá a nebezpečná a proces programované DNA eliminace by tento problém mohl vyřešit. Naopak jiné geny by zase mohly být prospěšné pro zárodečnou linii (Smith et al., 2012). Další hypotézy zase naznačují, že zárodečné chromozomy se vyvinuly z parazitických B chromozomů, které si až později získali zásadní funkci, a proto i nadále přetrvávají v populacích (P. Borodin et al., 2022; Johnson Pokorná & Reifová, 2021; Camacho et al., 2000).

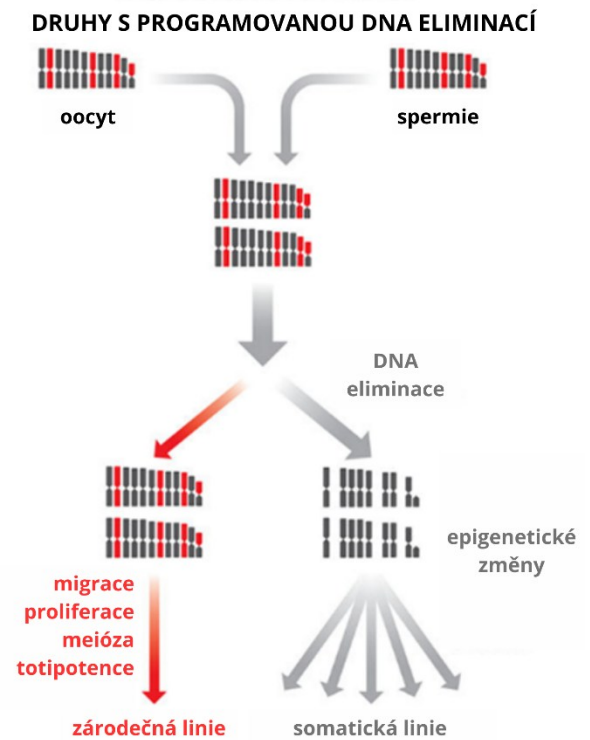
Ve své bakalářské práci bych ráda shrnula dosavadní poznatky a novinky o zárodečných chromozomech u dvoukřídlého hmyzu, sliznatek, mihulí a pěvců. Zaměřím se především na jejich genetický obsah způsob eliminace ze somatické linie, dědičnost a také na jejich původ a evoluci. Podkapitoly věnované pěvcům budou často rozsáhlejší než kapitoly ostatní, protože se této skupině hodlám věnovat ve své navazující diplomové práci. A protože toto téma není ještě plně prozkoumané, ráda bych také svou bakalářskou prací objevila mezery a nedostatky ve znalostech a navrhla budoucí směr výzkumu.

2 Zárodečné chromozomy a programovaná DNA eliminace

Zárodečné chromozomy (germline – restricted chromosomes, GRC) jsou typ chromozomů, které se nacházejí výhradně v zárodečné (germinální) linii buněk, tedy v buňkách podílejících se na přenosu genetické informace do další generace. Jedná se nejen o buňky gametické (spermie a oocyty), ale i o primordiální zárodečné buňky. U některých skupin živočichů dochází již v raných stádiích vývoje k eliminaci určitých chromozomů nebo jejich částí ze somatických buněk (Obrázek 1). Tento jev zahrnuje buď celé zárodečné chromozomy nebo jejich fragmenty a souhrnně se označuje jako eliminace zárodečné DNA (Wang & Davis, 2014).

Zárodečné chromozomy byly zatím objeveny pouze u několika skupin živočichů. Celé zárodečné chromozomy se s velkou pravděpodobností nachází u pěvců (Passeriformes) (Kinsella et al., 2019; Torgasheva et al., 2019). Kromě pěvců se celé zárodečné chromozomy dále vyskytují u třech čeledí z řádu Diptera (Kahle, 1908; Metz, 1925; Bauer & Beermann, 1952) a celé chromozomy nebo chromozomové fragmenty se také nacházejí u mihulí (Smith et al., 2009; Timoshevskiy et al., 2016, 2019a) a sliznatek, (Kohn et al., 1986) patřících do nadřádu kruhoústých (Cyclostomata).

Zárodečné chromozomy jsou ze somatické linie odstraňovány již během buněčného dělení v rané embryogenezi, a to procesem chromozomové eliminace, což je typ programované DNA eliminace (Obrázek 1) (Wang & Davis, 2014). Při tomto procesu jsou GRC odstraňovány v celku. Tyto zárodečné chromozomy během mitózy zůstávají v ekvatoriální rovině a nedojde k jejich rozestupu k pólům buněk. Tím dojde k jejich eliminaci z jadra a vytvoření mikrojádra, který je následně degradován. V eliminaci mohou hrát roli epigenetické modifikace, které mohou zabránit rozestupu sesterských chromatid, ale také modifikace centromerických oblastí zárodečných chromozomů (Escribá & Goday, 2013; Timoshevskiy et al., 2019; Rídl et al., 2025).

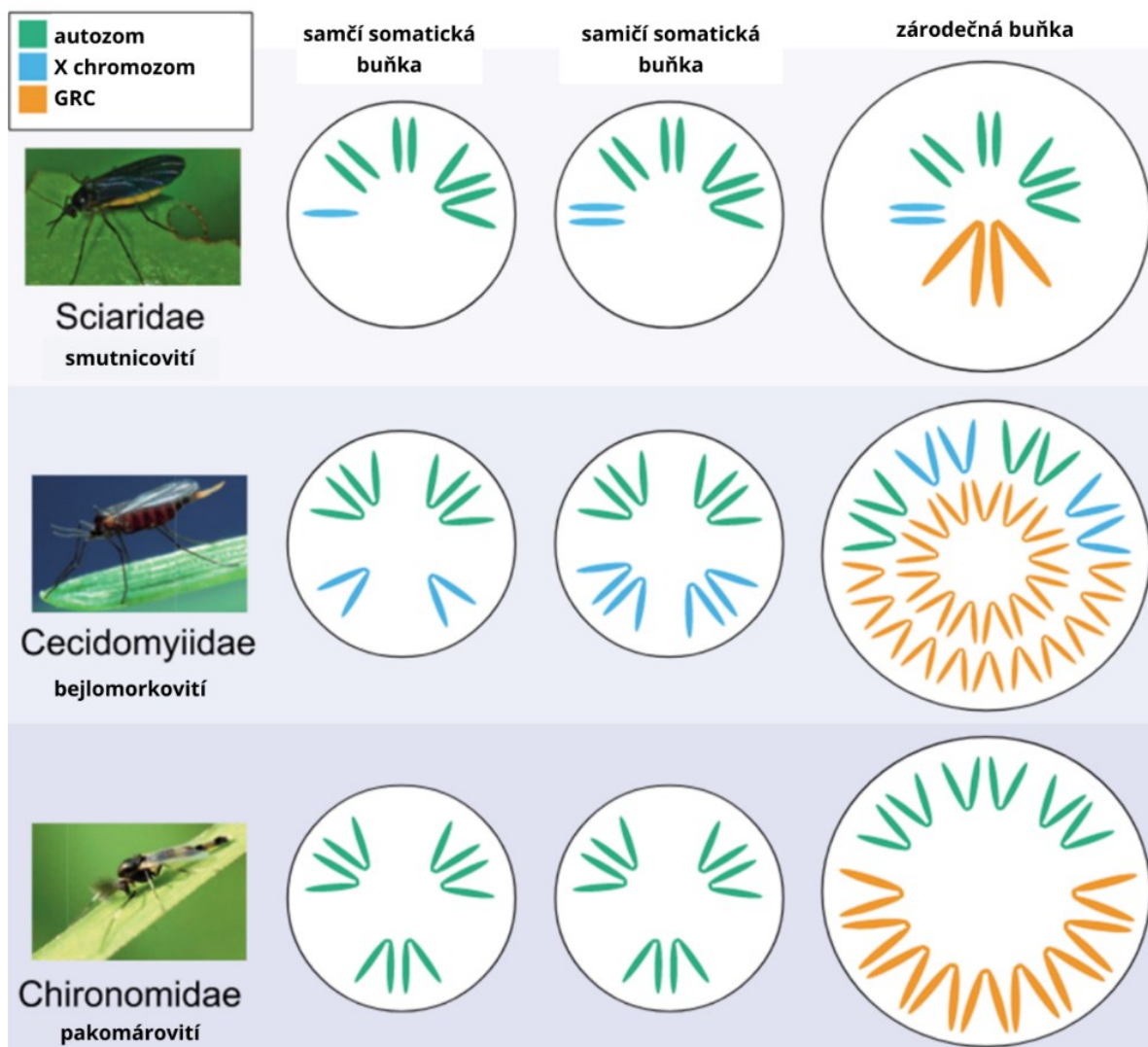


Obrázek 1: Proces programované DNA eliminace při vývoji organismu. Eliminované chromozomy a fragmenty jsou značeny červeně, (Převzato a upraveno ze Smith et al., 2021).

3 Charakteristika zárodečných chromozomů

3.1 Dvoukřídlí (Diptera)

V rámci dvoukřídlelých byla přítomnost zárodečných chromozomů objevena u čeledi smutnicovitých (Metz, 1925), bejlomorkovitých (Kahle, 1908) a podčeledi Orthocladinae z čeledi pakomárovitých (Bauer & Beermann, 1952). Velikost, počty, a dokonce i způsob dědičnosti se u těchto chromozomů liší v rámci jednotlivých čeledí, druhů, a dokonce i jedinců (Obrázek 2). Čeledi smutnicovití a bejlomorkovití patří do stejného infrařádu Bibionomorpha (muchnicovci), zato čeleď pakomárovitých patří do infrařádu Culicomorpha (Obrázek 3A). Tyto tři čeledi nejsou čeleděmi sesterskými, což naznačuje, že nejspíše i GRC vznikly nezávisle na sobě (Ševčík et al., 2016; Hodson & Ross, 2021).

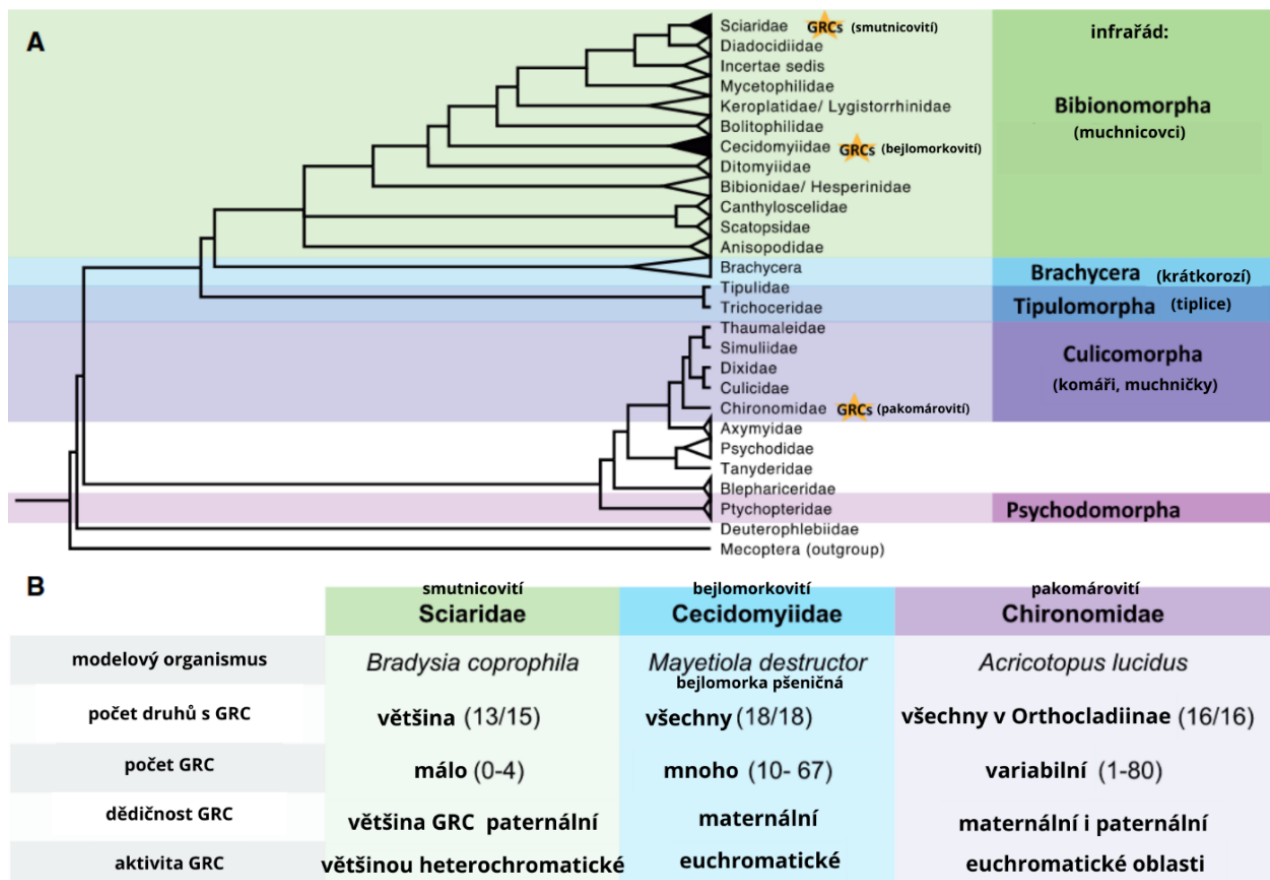


Obrázek 2: Chromozomové rozdíly mezi somatickou a zárodečnou linií u třech čeledí dvoukřídlelého hmyzu. Smutnicovití (*Sciaridae*) a zástupce *Bradysia coprophila*, bejlomorkovití (*Cecidomyiidae*) a zástupce *Mayetiola destructor* a pakomárovití (*Chironomidae*) a zástupce *Acricotopus lucidus*. Zelená barva značí A chromozomy, modrá pohlavní chromozomy a oranžová zárodečné chromozomy, (Převzato a upraveno z Hodson & Ross, 2021).

Počet druhů v čeledi pakomárovitých je odhadnut na přibližně 15000 druhů (Armitage et al., 1994). U pakomárovitých byly zárodečné chromozomy objeveny zatím pouze u podčeledi Orthocladiinae a to již v roce 1952 (Bauer & Beermann, 1952). Těmto GRC se přezdívá K chromozomy (od německého “Keimbahn“ – zárodečná linie). Autoři zkoumali přítomnost K chromozomů u mnoha druhů z této podčeledi a zjistili, že počty těchto chromozomů se mohou značně lišit (Obrázek 3B). Například u druhu *Metriocnemus hygroetricus* se počet K chromozomů pohybuje mezi 1 a 4 (Bauer & Beermann, 1952). Zato u druhů *Cardiocladius* sp. může počet K chromozomu dosáhnout až 80 (Beermann, 1956). Nejvíce studovaným druhem podčeledi Orthocladiinae je *Acricotopus lucidus* (Obrázek 2), u kterého je počet haploidních K chromozomů 6-16 (Staiber, 2004). U tohoto druhu existuje celkem 9 typů zárodečných chromozomů. U různých jedinců, a dokonce v různých buňkách se nachází jejich různé kombinace a někteří jedinci nesou pouze některé z chromozomů, jiní zase mnoho kopií určitého typu chromozomu. Homologní K chromozomy se během meiózy mezi sebou párují, tvoří bivalenty nebo i multivalenty a dochází u nich také k rekombinaci (Staiber, 1988, 1989; Staiber & Schiffkowski, 2000).

Bejlmorkoví jsou velká čeleď obsahující přibližně 6200 druhů (Gagné & Jaschhof, 2014). K objevu zárodečných chromozomů u této čeledi došlo již v roce 1905 (Kahle, 1908). U bejlmorkovitých se zárodečné chromozomy nazývají E chromozomy, podle toho, že jsou “eliminovány“ ze somatické linie. U všech druhů zkoumaných na E chromozomy byly tyto chromozomy prokázány (Obrázek 3B). Druhy se ale mezi sebou mohou výrazně lišit v počtu těchto chromozomů (Geyer-Duszyńska, 1959). U bejlmorkovitých najdeme 10 až 67 E chromozomů a zatím u všech dosud zkoumaných druhů byly tyto chromozomy detekovány (Hodson & Ross, 2021). Například u druhu *Aphidoletes aphidimyza* (Gruzova & Batalova, 1993) bylo detekováno pouze 10-23 E chromozomů, naopak u druhu *Heteropeza pygmaea* bylo pozorováno od 48 do 67 E chromozomů (Panelius, 1968). Vysoká variabilita v počtu E chromozomů naznačuje, že alespoň některé z těchto chromozomů mohou být postradatelné (Hodson & Ross, 2021). Na druhou stranu mohou být E chromozomy transkripčně aktivní v průběhu celé oogeneze (Gruzova & Batalova, 1993). Druhem, na kterém se zárodečné chromozomy u bejlmorkovitých studují nejčastěji, je bejlmorka pšeničná (*Mayetiola destructor*) (Obrázek 2).

V čeledi smutnicovití se bylo popsáno více než 2000 druhů (Mohrig et al., 2013). U této čeledi byly zárodečné chromozomy objeveny již v roce 1925 (Metz, 1925) a byly pojmenovány L chromozomy (limitované na zárodečnou linii). L chromozomy jsou většinou makrochromozomy, které jsou v buňkách přítomny pouze v nízkých počtech (1-4) (Obrázek 3B). U některých druhů dokonce zanikly a nevyskytují se tedy u všech smutnicovitých (Metz & Schmuck, 1931). Druhem, který je nejčastěji zkoumán je *Bradysia coprophila* (Obrázek 2). Při embryonálním vývoji tohoto druhu dochází k eliminaci L chromozomů tak, aby v zygotě zůstaly pouze dva (Rieffel & Crouse, 1966). U smutnicovitých byly detekovány dva typy L chromozomů, a to GRC1 a GRC2. Tyto chromozomy se liší především svým genovým obsahem a také původem těchto genů. Také se zdá, že se tyto chromozomy sice párují, ale nedochází mezi nimi k rekombinaci (Hodson et al., 2021, 2022).



Obrázek 3: A) fylogenetický strom dvoukřídlých (Diptera). Čeledi se zárodečnými chromozomy (GRC) nejsou blízce příbuznými čeleděmi. Smutnicovití a bejlomorkovití patří do infrařádu Bibionomorpha, zato pakomárovití do infrařádu Culicomorpha. B) stručně shrnutí vlastností GRC u smutnicovitých, bejlomorkovitých a pakomárovitých, (Převzato a upraveno z Hodson & Ross, 2021).

3.2 Kruhoústí (Cyclostomata)

V rámci kruhoústých byly zárodečné chromozomy objeveny u sliznatek a mihulí. U sliznatek (Myxini) dochází ke vzniku zárodečných chromozomů a zárodečné DNA procesy chromatinové diminuce i chromozomové eliminace (Nakai et al., 1991). U většiny druhů je ale častější eliminace celých chromozomů, avšak může u nich docházet i k selektivnímu odstraňování euchromatinových sekvencí (chromatinové diminuci) (Goto et al., 1998). To ukazuje, že DNA eliminace u sliznatek může být variabilním procesem s druhově specifickými rozdíly. První objev chromozomové eliminace byl popsán u sliznatky druhu *Eptatretus burgeri* (Kohno et al., 1986). Ve studii byl zkoumán počet



Obrázek 4: Sliznatka *Eptatretus atami* (foto: M. Suzuki), (Převzato a upraveno z Marlétaz et al., 2024).

chromozomů v buňkách varlat, které reprezentovaly zárodečnou linii, a v buňkách jater, žaber a ledvin jako zástupců somatické linie. Výsledky ukázaly, že dochází k eliminaci 16 celých chromozomů. V buňkách varlat bylo většinou pozorováno 52 chromozomů, zato v somatických buňkách pouze 36 (Kohno et al., 1986). U různých druhů sliznatek se ale celkový počet haploidních chromozomů v somatické linii může lišit a může se tedy lišit i počet eliminovaných zárodečných chromozomů. V následujících letech se proces DNA eliminace prokázal i u dalších druhů sliznatek, *Myxine garmani* (Nakai & Kohno, 1987), *Eptatretus okinoseanus*, *Eptatretus atami* (Obrázek 4) (Nakai et al., 1991), *Myxine glutinosa*, *Eptatretus cirrhatus* a *Eptatretus stoutii* (Nakai et al., 1995). Tyto studie dokazují, že chromozomová eliminace a chromatinová diminuce a výskyt zárodečných chromozomů jsou fenomény vyskytující se obecně u třídy sliznatek (Myxini).

Jako hlavní modelový organismus programované DNA eliminace u mihulí je využívána mihule mořská (*Petromyzon marinus*) (Obrázek 5). Výzkum byl ale prováděn i na jiných druzích mihulí a bylo zjištěno, že i u nich dochází ke vzniku zárodečných chromozomů (Timoshevskiy et al., 2017; Strange & Moore, 2019). Programovaná DNA eliminace byla zatím ověřena u všech dosud zkoumaných druhů mihulí. Mohlo by se tedy nejspíše jednat o fenomén, který se u mihulí, stejně jako u sliznatek, vyskytuje u celého řádu Petromyzoniformes. V somatických buňkách se u mihule mořské (*Petromyzon marinus*) vyskytuje celkem 84 haploidních chromozomů. V zárodečných buňkách je počet haploidních chromozomů o něco vyšší, obsahují totiž celkem 96 haploidních chromozomů. Z toho tedy vyplývá, že 12 chromozomů je ze somatické linie eliminováno a mihule tedy mají celkem 12 zárodečných chromozomů (Timoshevskiy et al., 2019). U mihulí dochází především k eliminaci celých chromozomů (proces chromozomové eliminace), nalezneme u nich ale také eliminaci chromozomových částí (chromozomovou diminuci) (Smith et al., 2009). Proces programované DNA eliminace u mihulí nejspíše zabraňuje expresi zárodečných genů v somatické linii. Odstraněná DNA je zabalena do struktur zvaných mikrojádra a následně metylována a eliminována z buněk (Timoshevskiy et al., 2016, 2017, 2019). Můžeme předpokládat, že programovaná DNA eliminace vytváří důležité změny v genomu mihulí. (Smith et al., 2009). K programované DNA eliminaci u mihule mořské dochází již v průběhu rané embryogeneze. Tento mechanismus je důležitý pro odstranění genů, které jsou postradatelné pro somatickou linii (Smith et al., 2009; Timoshevskiy et al., 2016).



Obrázek 5: Mihule mořská (*Petromyzon marinus*), (převzato z Jacobs & O'Donnell, 2009).

3.3 Pěvci (Passeriformes)

U pěvců dochází pouze k chromozomové eliminaci, tedy k eliminaci celých chromozomů. Zárodečný chromozom byl poprvé pozorován a popsán u zebříčky pestré (*Taeniopygia guttata*) (Pigozzi & Solari, 1998) (Obrázek 6), kdy byla k jeho detekci použita světelná a elektronová mikroskopie. Tento objev udal směr dalšího výzkumu. Jako druhý byl zárodečný chromozom detekován u chůvičky japonské (*Lonchura domestica*) (Del Priore & Pigozzi, 2014). Jak u zebříčky pestré, tak u chůvičky japonské vykazují GRC jisté podobnosti. U obou těchto druhů se jedná se o

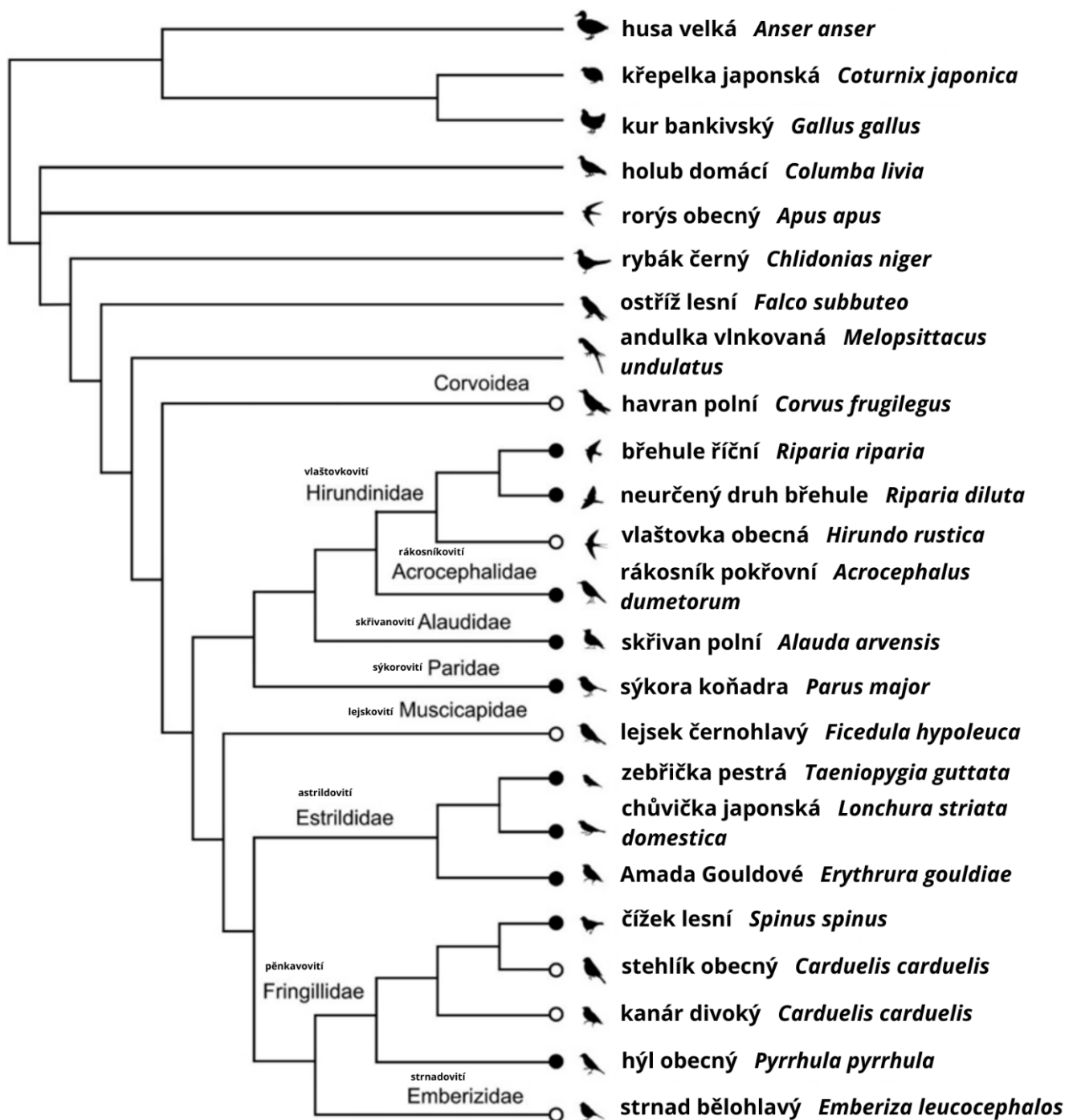


Obrázek 6: Zebříčka pestrá (*Taeniopygia guttata*), (Převzato z Payne, 2020).

makrochromozomy a akrocentrické chromozomy přítomny ve dvou kopiích u samic a v jedné kopii u samců (Pigozzi & Solari, 1998.; Del Priore & Pigozzi, 2014). Další studie ale ukázaly, že i GRC může tvořit polymorfismy a mozaicismy v počtu a velikosti mezi jedinci nebo i různými buňkami (Malinovskaya et al., 2020; Torgasheva et al., 2021; Slobodchikova et al., 2022; Sotelo-Muñoz et al., 2022).

V následujících letech byla přítomnost GRC dokázána i u mnoha dalších druhů pěvců (Obrázek 7) (Biederman et al., 2018; Kinsella et al., 2019; Torgasheva et al., 2019), což naznačuje, že by se zárodečný chromozom mohl vyskytovat u všech druhů zpěvných ptáků (Oscines) (Kinsella et al., 2019; Torgasheva et al., 2019), tedy přibližně u 5100 druhů (Schmitt & Edwards, 2022). Studie Schlebusch et al. (2023) ale naznačuje, že by se GRC dokonce mohl vyskytovat u všech pěvců (Passeriformes), kromě jedné malé čeledi pokřovníkovití (Acanthisittidae), tedy přibližně u 6450 druhů pěvců (Schmitt & Edwards, 2022). Jedná se ale zatím pouze o hypotézu, protože přítomnost zárodečných chromozomů u všech druhů pěvců nebyla zatím dokázána.

Zárodečný chromozom je považován za vůbec nejrychleji se vyvíjející chromozom u pěvců (Mueller et al., 2023; Schlebusch et al., 2023). Pokud se GRC vyskytuje u všech druhů pěvců, můžeme diskutovat, že programovaná DNA eliminace již nemůže být považována za vzácný jev. Pěvci totiž tvoří cca 10 % všech obratlovců (Smith et al., 2021).



Obrázek 7: Kladogram ptáků testovaných na GRC. U všech testovaných druhů pěvců byl zárodečný chromozom detekován. U ostatních testovaných ptáků nebyl zárodečný chromozom potvrzen. Černé kolečko znamená přítomnost makro-GRC a prázdné kolečko znamená přítomnost mikro-GRC, u druhů bez kolečka nebyla detekována přítomnost zárodečných chromozomů, (převzato z Torgasheva et al., 2019).

4 Genetický obsah zárodečných chromozomů

4.1 Dvoukřídli (Diptera)

O genetickém obsahu zárodečných chromozomů dvoukřídleho hmyzu toho zatím není mnoho známo. GRC ale obsahují mnoho paralogních sekvencí k A chromozomům (Staiber & Schiffkowsky, 2000; Hodson et al., 2022). GRC nejspíše také mohou obsahovat některé funkční geny. Toto můžeme soudit podle toho, že jsou většinou alespoň z části tvořeny euchromatinem, tedy rozvolněným a transkripčně aktivním chromatinem. Také u nich dochází k histonovým modifikacím, které často značí transkripční aktivitu. Například u druhu *Acricotopus lucidus* z čeledi pakomárovitých byly detekovány časté histonové modifikace (acetylace a trimetylace), které značí transkripční aktivitu (Staiber, 2012). Také u druhu *Taxomyia taxi* z čeledi bejlomorkovitých byl euchromatin pozorován (White, 1973). Naopak u druhu *Bradysia coprophila* z čeledi smutnicovitých nebyl euchromatin během většiny vývojových stádií detekován a můžeme tedy soudit, že u nich zárodečné chromozomy nejsou často transkripčně aktivní (Rieffel & Crouse, 1966; Singh & Belyakin, 2018). Na druhou stranu ale byly na L chromozomech u smutnicovitých objeveny paralogní geny s A chromozomy, což by mohlo naznačovat jistou funkci těchto chromozomů (Hodson et al., 2021, 2022). Existují domněnky, že 96 hodin po nakladení vajíčka, dochází transkripční aktivitě L chromozomů, protože jsou tvořeny euchromatinem. Stejně tak byl euchromatin pozorován v samčí meiotické interfázi (Rieffel & Crouse, 1966).

GRC u pakomárovitých, bejlomorkovitých a smutnicovitých vykazuje různé formy dědičnosti. To by mohlo znamenat, že na sobě akumuluje různé geny specifické pro různé pohlaví. O obsahu zárodečných chromozomů u dvoukřídleho hmyzu se toho ale zatím mnoho neví. U bejlomorkovitých a smutnicovitých byly provedeny studie, kde došlo k odstranění zárodečných chromozomů ze zárodečných buněk jedinců. Ukázalo se, že potomci bez zárodečných chromozomů byli životaschopní, ale nebyli schopni produkovat funkční gamety (Geyer-Duszyńska, 1959; Crouse et al., 1971). Můžeme tedy nejspíše předpokládat, že GRC u těchto dvou čeledí má jistou funkci v rozmnožování, i když i samotná laboratorní manipulace mohla způsobit jisté změny ve funkčnosti gonád. U pakomárovitých zatím žádná taková studie nebyla provedena.

4.2 Kruhoústí (Cyclostomata)

Obsah eliminovaných částí zárodečné DNA u sliznatek není dosud plně objasněn. Je jisté, že zárodečná DNA sliznatek je převážně tvořena repetitivními sekvencemi (Kubota et al., 1993; Goto et al., 1998). Objeveny již byly také ale i protein-kódující geny (Marlétaz et al., 2024; Nagao et al., 2022). GRC druhu *Eptatretus burgeri*, ale nejspíše i u ostatních druhů sliznatek jsou tvořeny paralogními sekvencemi k A chromozomům (Nagao et al., 2023). Výzkum různých eliminovaných sekvencí u různých druhů sliznatek (*Eptatretus okinoseanus*, *Eptatretus cirrhatius* a *Eptatretus atami*) ukazuje, že eliminované chromozomy ze somatické linie jsou téměř vždy C-band pozitivní, neboli že jsou složeny z heterochromatinu (Nakai et al., 1991; Kubota et al., 1993, 1997). Můžeme tedy předpokládat, že repetitivní sekvence tvoří

z velké části heterochromatin, který je eliminován. Existují ale také důkazy, že eliminovaná DNA může být tvořena C-band negativními chromozomy neboli euchromatinem (Nakai & Kohno, 1987; Goto et al., 1998). S jistotou tedy můžeme říci, že eliminace není omezena pouze na heterochromatin.

Zatím existuje pouze málo studií, zkoumajících obsah genů na zárodečných chromozomech sliznatek. U sliznatky *Eptatretus burgeri* byly v eliminovaných chromozomech potvrzeny i protein-kódující geny, ačkoliv z velké většiny se tyto chromozomy skládají pouze z nekódujícího heterochromatinu. Tyto geny by mohly hrát roli v embryogenezi a také vývoji pohlavních buněk (Nagao et al., 2022). U druhu *Eptatretus atami* (Obrázek 4) bylo objeveno celkem 1654 potenciálně funkčních zárodečně specifických genů, z nichž 226 genů má lidské homology. Mezi tyto geny patří například geny související s buněčným cyklem, buněčnou pohyblivostí a opravou chromatinu nebo DNA, a také geny související s vývojem pohlavních buněk. Můžeme tedy předpokládat, že se souhrnně jedná o geny prospěšné pro vývoj a udržování zárodečné linie (Marlétaz et al., 2024).

U sliznatky *Eptatretus atami* bylo pozorováno několik zárodečně specifických genů, které prošly mnohonásobnými kóly duplikace. Geny s nejvyšším počtem kopií specifických pro zárodečnou linii jsou homology FBXL4 s 25 kopiemi a TRRAP s 18 kopiemi. Oba tyto geny ovlivňují strukturu chromatinu a genovou transkripci pomocí epigenetických značek (Marlétaz et al., 2024).

Zárodečně specifické geny s podobnými či stejnými funkcemi, jako jsou u sliznatek, byly objeveny také u mihulí. Tato podobnost naznačuje, že programovaná DNA eliminace byla přítomna již u společného předka mihulí a sliznatek (Cyclostomata) (Smith et al., 2021). I když mají eliminované geny podobnou funkci u sliznatek i mihulí, jsou jen velmi zřídka ortologní (alespoň z 80 % shodné) (Marlétaz et al., 2024).

V germinální linii sliznatek se nacházejí vysoce repetitivní segmenty pojmenované jako EEE (eliminated element of *Eptatretus*), které jsou většinou ze somatické linie eliminovány a jsou tedy obvykle specifické pro zárodečnou linii (Kubota et al., 1993; Nagao et al., 2023). Existuje mnoho rodin EEE segmentů. Například na GRC u sliznatky *Eptatretus burgeri* bylo identifikováno deset rodin EEE segmentů (EEEb1-10), které tvoří sekvence GRC přibližně z 90 % (Nagao et al., 2023). U sliznatky *Eptatretus cirrhatus* byly v germinální linii odhaleny 3 segmenty DNA specifické pro tento druh, EEEc1, EEEc2, EEEc3. Jedná se o vysoce repetitivní segmenty eliminované ze somatické linie. Mimo jiné se u tohoto druhu nachází také segment EEEo2 objevený a pojmenovaný podle jiného druhu sliznatky *Eptatretus okinoseanus*. EEEo2 se celkem nachází u 3 druhů sliznatek (*E. cirrhatus*, *E. okinoseanus* a *E. atami*) vyskytujících se na různých areálech. Vyšší homogenitu ale samozřejmě vykazuje vnitrodruhově než mezidruhově. Z toho můžeme soudit, že tento segment pravděpodobně vznikl ještě před speciací a až následně došlo k jeho různě násobné amplifikaci u každého z druhů. Ukázalo se, že fragment EEEo2 se nachází na C-band negativních chromozomech neboli na euchromatinu. Jedná se o první pozorované C-band negativní zárodečné chromozomy sliznatek (Goto et al., 1998).

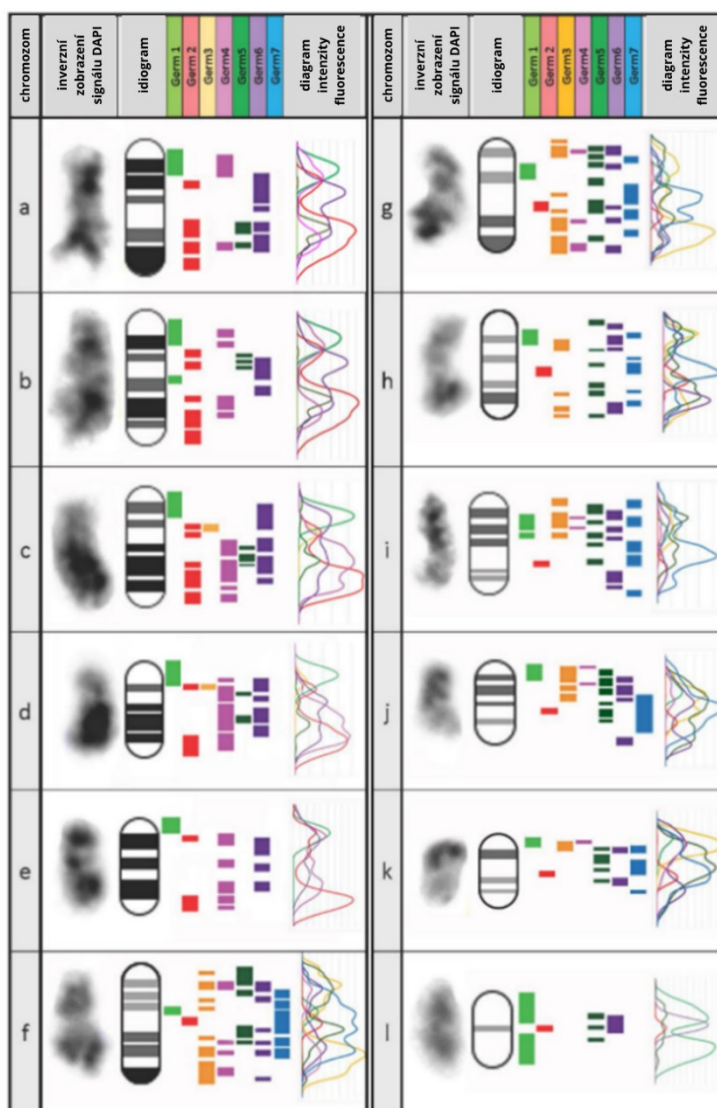
U tohoto druhu sliznatky (*Eptatretus cirrhatus*) existují dva typy (A a B), které se liší počtem chromozomů v zárodečné linii. U sliznatky typu A se v zárodečné linii nachází 72 chromozomů (17-18 C-band pozitivních), zatímco u sliznatky typu B je 80 chromozomů (26-28 C-band pozitivních), v somatické linii obou typů je 34 zcela C-band negativních chromozomů. Typ A a B by mohly být odlišnými druhy, přesto, že na molekulární úrovni u nich nebyl nalezen žádný rozdíl. Fragменты EEEc1 a EEEc2 byly u sliznatky typu A přítomny na celkem 22 zárodečných chromozomech (včetně C-band negativních) a na 26 zárodečných chromozomech (včetně C-band negativních) u typu B. Fragment EEEc2 byl pozorován na terminálních oblastech některých chromozomů, které byly C-band negativní, a EEEo2 byl pozorován na 12 chromozomech, které byly C-band pozitivní. DNA omezená na zárodečnou linii na C-band-negativních chromozomech tedy zahrnuje EEEc2 a některé EEEc1 a EEEc3 (Goto et al., 1998). I u dalších druhů sliznatek byly objeveny specifické repetitivní sekvence. Například u druhu *Eptatretus burgeri* byly detekovány segmenty EEEb1-6, také EEEo1 a EEEo2 a další. EEEb1 se u tohoto druhu vyskytuje nejčastěji, a dokonce ji můžeme nalézt na všech eliminovaných chromozomech (Nagao et al., 2022). Všechny tyto repetitivní sekvence nejspíše nekódují žádné proteiny a nemají tedy žádnou biologickou funkci (Goto et al., 1998). Mohou ale sloužit například jako sekvenční opora chromatinu (Vogt, 1990).

U mihulí, podobně jako u sliznatek dochází k eliminaci velkého množství repetitivních sekvencí a také protein-kódujících genů (Smith et al., 2009). Konkrétně u mihule mořské (*Petromyzon marinus*) dochází k eliminaci přibližně 20 % genomu (Smith et al., 2012, 2013). U tohoto druhu mihule byla při výzkumu programované DNA eliminace odhalena sekvence Germ1. Sekvence Germ1 je R2 retroelement, což je typ retrotranspozonu, který se specificky vkládá do genu pro 28S ribozomální DNA (rDNA). Když se Germ1 vloží do tohoto genu, stane se tento gen neaktivní. Eliminace Germ1 ze somatické linie je ale nejspíš jen vedlejší efekt. V somatických buňkách totiž dochází k redukci rDNA klastrů, což sekundárně vede i k redukci Germ1. Germ1 je tedy nejspíše odstraňován spolu s nadbytečnými nebo poškozenými kopiemi rDNA (Strange & Moore, 2019). Sekvence Germ1 se hojně vyskytují právě v zárodečné linii. V somatické linii jsou také přítomny, ale jen velmi zřídka (Smith et al., 2009; Coveló-Soto et al., 2014). To tedy naznačuje, že většinou dochází k jejich eliminaci ze somatické linie. Dále bylo také zjištěno, že ke ztrátě Germ1 a dokončení programované DNA eliminace dochází již při embryonálním vývoji, při změně blastuly na gastrulu (přibližně třetí den vývoje) (Smith et al., 2009). A protože byla sekvence Germ1 potvrzena i u mnoha dalších druhů mihulí (Timoshevskiy et al., 2017), je často používána jako jeden z markerů pro výzkum programované DNA eliminace u mihulí.

U mihulí dochází také kromě eliminace Germ1 k eliminaci mnoha dalších sekvencí (Obrázek 8) (Smith et al., 2009). Podle Timoshevskiy et al. (2019) se sekvence Germ1 nenachází po celé délce eliminovaných chromozomů a eliminovaných fragmentů, ale nachází se pouze v diskrétních oblastech eliminovaných akrocentrických chromozomů poblíž centromer, přičemž ostatní části eliminovaných chromozomů jsou téměř bez Germ1. V těchto ostatních částech mimo Germ1 sekvence se tedy nachází jiné zárodečně specifické repetitivní sekvence,

kteří můžeme rozřadit do 20 vysokokopiových rodin. Pouze 6 skupin, větších než 500 Kb, byly pojmenovány jako Germ2-7. Každá z těchto sekvencí obsahuje krátkou 13-57 bp velkou konzervovanou sekvenci, které byly při výzkumu použity k vytvoření specifických markerů. Zjistilo se, že tyto elementy Germ1-7 jsou omezeny pouze na zárodečnou linii, ale liší se svým rozložením na zárodečných chromozomech. Na všech 12 zárodečných chromozomech se vyskytují pouze tři repetitivní sekvence, a to Germ1, Germ2 a Germ6. Jak bylo již zmíněno, Germ1 se hustě vyskytuje v pericentrických oblastech těchto chromozomů, Germ2 zase v okolí telomerických oblastí a Germ6 je rozptýlen na raménkách těchto chromozomů. Ostatní sekvence Germ se vyskytují náhodněji a pouze na některých z 12 chromozomů. Germ1 má jednu specifickou vlastnost a to takovou, že se kříží s bivalentem somatických chromozomů, konkrétně se sekvencemi, které kódují somatickou ribozomální DNA (Smith et al., 2009; Timoshevskiy et al., 2019).

Kromě repetitivních sekvencí dochází také k odstraňování některých genů (Smith et al., 2013). Velké množství těchto genů jsou paralogními sekvencemi k A chromozomům (Timoshevskaya et al., 2023). Podle studie Bryant et al. (2016), existuje 44 genů, které mohou být klasifikované jako zárodečně specifické, neboli že dochází k jejich eliminaci nebo silné redukci ze somatické linie. Tyto geny mají převážně funkce spojené s vývojem zárodečné linie, proliferace a onkogeneze (Smith et al., 2012). Celkem 20 z těchto genů bylo detekováno jako homologní k lidským genům. Většina detekovaných genů byly identifikovány jako onkogeny (např. Wnt a Catherin signální dráhy). Další eliminované geny byly například gen pro p53 signální dráhu (tumor-supresorový gen), regulátory apoptózy (BIRC1, BIRC3) a geny související s vývojem nervového systému (FAT3, neurofascin). Některé eliminované geny jsou homologní s rakovinovými antigeny (např. synaptonemální komplex protein 1). Proč ale dochází k eliminaci právě těchto genů? Díky jejich eliminaci ze somatické linie nemůže docházet k jejich chybné aktivaci v somatických buňkách, například eliminací onkogenů se nejspíše může zabránit vzniku nádorů v somatických buňkách. Onkogeny jsou ale v zárodečné linii důležité, protože mohou plnit například funkci proliferace. Některé geny nemají v somatických buňkách funkci a jejich eliminací tedy dochází k optimalizaci genomu (Bryant et al., 2016).



Obrázek 8: Schéma 12 zárodečně specifických chromozomů u mihule mořské (*Petromyzon marinus*) v mitotické metafázi I. Zobrazení rozložení repetitivních elementů Germ1-7. (Převzato z Timoshevskiy et al., 2019).

4.3 Pěvci (Passeriformes)

Na GRC pěvců se vyskytují jak geny, tak repetitivní sekvence (Torgasheva et al., 2019). Výzkum u sýkory modřinky (*Cyanistes caeruleus*) dokonce ukázal, že hustota genů (kódujících i nekódujících) je vyšší na zárodečných chromozomech než na A chromozomech (Mueller et al., 2023). GRC u pěvců je složen z amplifikovaných a modifikovaných sekvencí a genů pocházejících z A chromozomů. Mezidruhová homologie GRC je poměrně nízká, GRC se i mezi blízkými příbuznými druhy mohou i značně lišit svou velikostí i obsahem (Torgasheva et al., 2019; Sotelo-Muñoz et al., 2022; P. M. Borodin, 2023; Mueller et al., 2023; Schlebusch et al., 2023).

Zdá se, že na zárodečných chromozomech pěvců se neobjevuje velké množství repetitivních elementů jako jsou transpozony nebo satelitní DNA, které by odpovídali A chromozomům. GRC se spíše skládají z mnohonásobných kopií genů, které mají své paralogy na celkem 18 A chromozomech a pohlavním chromozomu Z (Kinsella et al., 2019; Mueller et al., 2023). Toto zjištění bylo překvapující a neodpovídalo předpokladům, že zárodečné chromozomy by mohly být s hojností repetitivních sekvencí podobné W chromozomu u pěvců (Kinsella et al., 2019). Paralogní sekvence se Z chromozomem mohou souviset s dorováním genové dávky u samic, protože samice jsou heterogametickým pohlavím a mají tedy méně genů na pohlavních chromozomech než samci (Itoh et al., 2007). Zárodečné chromozomy tedy nejspíše obsahují důležité geny pro správnou funkci samičí gametogeneze (Itoh et al., 2007, 2009).

Při meióze u samic se zárodečné chromozomy v oocytech jeví jako euchromatické, neboli transkripčně aktivnější. Zato u samců je zárodečný chromozom při meióze ve spermatocytech heterochromatický, tedy méně transkripčně aktivní (Pigozzi & Solari, 1998). K těmto poznatkům bylo později doplněno, že v oocytech se nacházejí zárodečné chromozomy dva a tvoří tak bivalent podléhající rekombinaci v první meiotické profázi. Zato ve spermatocytech samců se zárodečný chromozom objevuje pouze jeden, nepodléhá tedy rekombinaci a následně je z germinálních buněk v pozdní spermatogenezi eliminován (Itoh et al., 2009; Pigozzi & Solari, 2005).

Biederman et al. (2018) objevil první gen na GRC u zebřičky pestré. Jedná se o paralog genu z rodiny α -SNAP. Tento zárodečný gen pojmenovaný NAPAG vznikl pravděpodobně na zárodečném chromozomu duplikací somatického genu NAPA, a v průběhu evoluce došlo k jeho diverzifikaci. Ukázalo se, že NAPAG je výrazně exprimován ve vaječnicích, zatímco ve varlatech je exprimován pouze slabě. Na rozdíl od toho se somatický paralog NAPA exprimuje v somatické i zárodečné linii obou pohlaví, silnější exprese je však ve varlatech.

Další studií, která se zabývala detekcí genů na zárodečných chromozomech byla studie Kinsella et al. (2019). V této studii detekovali celkem 115 genů, které jsou s vysokou pravděpodobností spojeny se zárodečným chromozomem a zároveň mají své paralogy na A chromozomech, tedy na 18 somatických chromozomech a Z chromozomu. Z těchto 115 genů zjistili nejen transkripci 32 genů ve vaječnicích, ale také transkripci 6 genů ve varlatech. Díky tomuto objevu tedy můžeme předpokládat, že zárodečný chromozom u pěvců má důležité funkce ve vývoji zárodečné linie obou pohlaví. Mezi geny detekované na zárodečných chromozomech pěvců

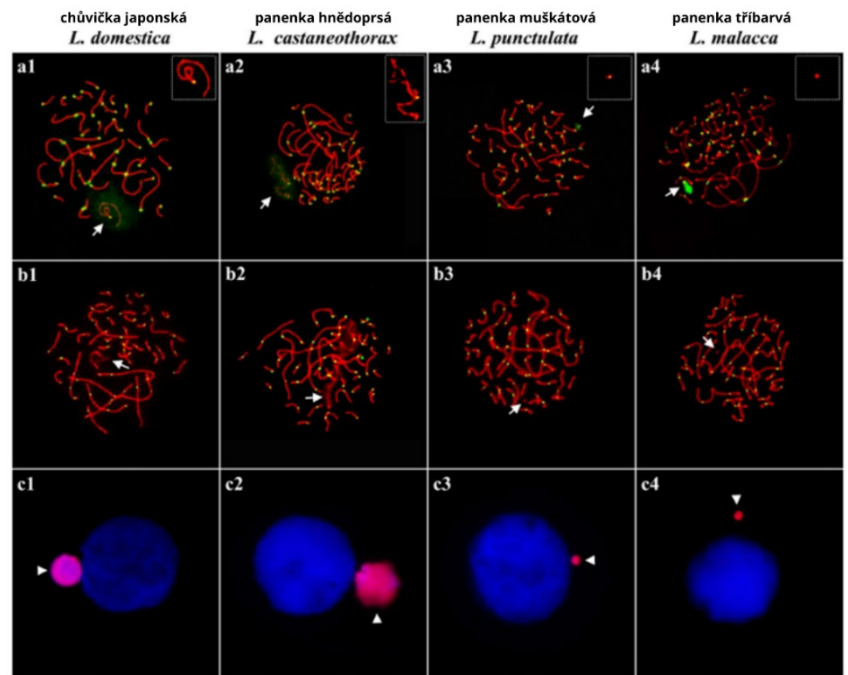
patří například geny ovlivňující kontrolu buněčného dělení, vývoje samičích gonád a diferenciace neuronů (Kinsella et al., 2019) a také geny spojené s funkcí synaptonemálního komplexu (Mueller et al., 2023; Schlebusch et al., 2023). GRC obsahuje geny různého stáří, některé mají starý původ a můžeme je datovat až 30 milionů let nazpět, ale většina byla přidána až nedávno (Kinsella et al., 2019).

V novější studii Schlebusch et al. (2023) zkoumali zárodečný chromozom u samců dvou blízkých příbuzných druhů slavíků, u slavíka obecného (*Luscinia megarhynchos*) a slavíka tmavého (*Luscinia luscinia*). Zjistili, že obsah GRC se liší nejen mezi blízkými druhy, ale dokonce i mezi jedinci stejného druhu. Třetina zárodečného chromozomu u slavíka obecného a polovina u slavíka tmavého je specifická pro daný druh. To naznačuje vysokou rychlost vývoje tohoto chromozomu. Objevují se zde fragmentace genů, časté adice a delece v krátkém čase a také nekonzervovanost tohoto chromozomu dokonce v rámci populace. Tato studie dokonce zpochybnila funkčnost většiny dříve objevených genů na zárodečných chromozomech a to tím, že v sekvencích těchto genů identifikovali mnohé stop-kodóny a také kvůli nízké expresi těchto genů. Nižší exprese genů na zárodečných chromozomech než na A chromozomech byla také detekována u sýkory modřinky (Mueller et al., 2023). Spousta genů, které byly detekovány na zárodečném chromozomu u zebřičky pestré (Kinsella et al., 2019), se na zárodečných chromozomech slavíků vůbec nenacházejí. Zárodečný chromozom ale i přes to v germinální linii přetrvává, což naznačuje to, že některé geny přeci jen musí být nezbytné. Jedním z těchto genů může být paralog genu *cpebl*, který byl detekován jak u těchto dvou druhů slavíků (Schlebusch et al., 2023), tak u zebřičky pestré (Kinsella et al., 2019). Dle odhadů se tento gen se na zárodečném chromozomu objevil již před rozdělením pěvců na křikavé (Suboscines) a zpěvné (Oscines), což může naznačovat přítomnost zárodečného chromozomu i u podřádu křikavých (Schlebusch et al., 2023). Gen *cpebl* hraje důležitou roli při regulaci translace u vývoje oocytů, při embryogenezi a také při správné funkci neuronů (Mendez & Richter, 2001; Sudhakaran & Ramaswami, 2017). Funkce zárodečných chromozomů u pěvců může být tedy spojena jen s několika málo geny, mezi které patří právě třeba paralog tohoto genu (Schlebusch et al., 2023). Se stále se rozšiřujícím se seznamem genů detekovaných na zárodečných chromozomech u pěvců můžeme předpokládat, že zárodečné chromozomy u pěvců nejsou pouze parazitické B chromozomy, ale že jsou naprosto nezbytné pro vývoj zárodečné linie (Torgasheva et al., 2019; Johnson Pokorná & Reifová, 2021; Schlebusch et al., 2023).

Kromě genetického obsahu se GRC může často lišit také velikostí, a to dokonce i u blízkých příbuzných druhů (Sotelo-Muñoz et al., 2022; Torgasheva et al., 2019). Například u zebřičky pestré se jedná o makro-chromozom (Pigozzi & Solari, 1998) a naopak u sýkory modřinky se jedná o mikro-chromozom (Mueller et al., 2023). Rozdíly ve velikosti můžeme ale také najít i u blížeji příbuzných druhů (Obrázek 9). A také v rámci jednoho druhu nebo dokonce i u konkrétního jedince se může objevit variabilita ve velikosti zárodečných chromozomů (Sotelo-Muñoz et al., 2022). Z toho vyplývá, že se obsah zárodečných chromozomů nepřetrvává často stejný a jedná o jeden z nejrychleji se vyvíjejících chromozomů (Schlebusch et al., 2023; Sotelo-Muñoz et al., 2022).

Zárodečné chromozomy se vyskytují převážně v jedné kopii u samců a ve dvou kopiích u samic (Pigozzi & Solari, 2005). Nezanedbatelné množství jedinců ale vykazuje také mozaicizmy nebo polymorfismy mezi jedinci v počtu zárodečných chromozomů. Například břehule říční (*Riparia riparia*) byly pozorovány samice pouze s jednou kopií GRC, které nevykazovaly žádné problémy (Malinovskaya et al., 2020). V této studii nenašli žádné samice, které by měly mozaicismus v počtu zárodečných chromozomů. Samice zde měly ve většině případů v oocytech kopie dvě a v pár případech pouze jednu kopii. Naopak u sýkory koňadry (*Parus major*) (Torgasheva et al., 2021) byly detekovány samice s mozaicismy v počtu zárodečných chromozomů

v oocytech. Také u čtyř druhů samců (břehule říční, sýkora koňadra, lejsek černohlavý - *Ficedula hypoleuca* a panenka černohlavá - *Lonchura atricapilla*) byly pozorovány mozaicizmy v počtu kopií zárodečných chromozomů (Torgasheva et al., 2019, 2021; Malinovskaya et al., 2020; Slobodchikova et al., 2022; Sotelo-Muñoz et al., 2022; Borodin et al., 2022). U většiny samčích jedinců nesly spermatocyty jednu kopii, u některých dvě a u některých dokonce tři. Je velmi pravděpodobné, že rozdíly v počtu kopií GRC u samců nejsou velkým problémem, protože zárodečný chromozom je stejně ze zralých spermií eliminován (Sotelo-Muñoz et al., 2022). Kromě mozaicismů a polymorfismů v počtech zárodečných chromozomů byly objeveny také mozaicizmy a polymorfismy ve velikostech zárodečných chromozomů, a to zatím pouze u panenky černohlavé (Sotelo-Muñoz et al., 2022). Rozdíly ve velikosti a počtech zárodečných chromozomů by mohly vznikat v důsledku občasně dědičnosti zárodečného chromozomu po otci a také fragmentaci zárodečného chromozomu při jeho eliminaci (Sotelo-Muñoz et al., 2022). Mozaicizmy a polymorfismy v počtu zárodečných chromozomů se zdají být běžnější, než se předpokládalo. V této oblasti se toho ale zatím moc neví, proto je zde potřeba provést další výzkumy.

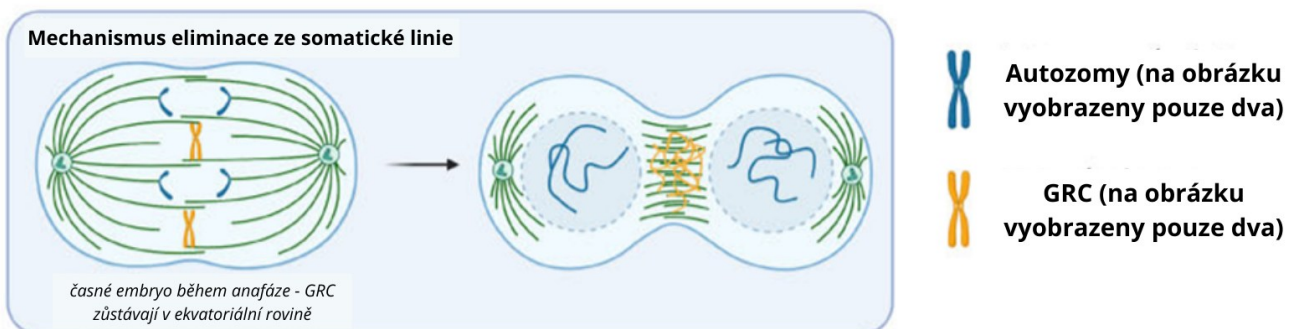


Obrázek 9: Zárodečné chromozomy u čtyřech druhů pěvců z rodu *Lonchura*. U druhů *L. domestica* a *L. castaneothorax* se jedná o makro-chromozomy, naopak u druhů *L. punctulata* a *L. malacca* se jedná o mikro-chromozomy. Šípky u c1-4 označují mikrojádra obsahující eliminované zárodečné chromozomy (převzato a upraveno ze Sotelo-Muñoz et al., 2022).

5 Způsob eliminace zárodečných chromozomů ze somatické linie

5.1 Dvoukřídlí (Diptera)

U dvoukřídlého hmyzu je způsob eliminace ze somatické linie dobře prozkoumaný a zdá se být u všech třech čeledí stejný nebo velmi podobný (Obrázek 10). Při rané embryogenezi dochází při mitóze k opožďování chromatinu, který bude následně eliminován. Tyto budoucí zárodečné chromozomy zůstanou v ekvatoriální rovině buňky a nedostanou se do ani jednoho nově vznikajícího buněčného jádra. A chromozomy se naopak rovnoměrně rozestoupí k pólům buňky a dojde k vytvoření dvou nových buněk. K této eliminaci dochází většinou při pátém nebo šestém buněčném dělení a ve všech somatických buňkách proběhne eliminace v tu stejnou chvíli (Du Bois, 1933; Geyer-Duszyńska, 1959; Staiber, 2004, 2008; White, 1973). V eliminaci mohou hrát značnou roli epigenetické modifikace. Mohou totiž zabránit k rozchodu sesterských chromatid. Ku příkladu u smutnice druhu *Bradysia coprophila* dochází k fosforylaci histonu H3S10 a chromatidy se tedy nemohou rozestoupit, zůstanou v ekvatoriální rovině a dojde k jejich eliminaci (Escribá & Goday, 2013). I u pakomárovitých také dochází k histonovým modifikacím a nerozestoupení chromatid (Staiber, 2012).

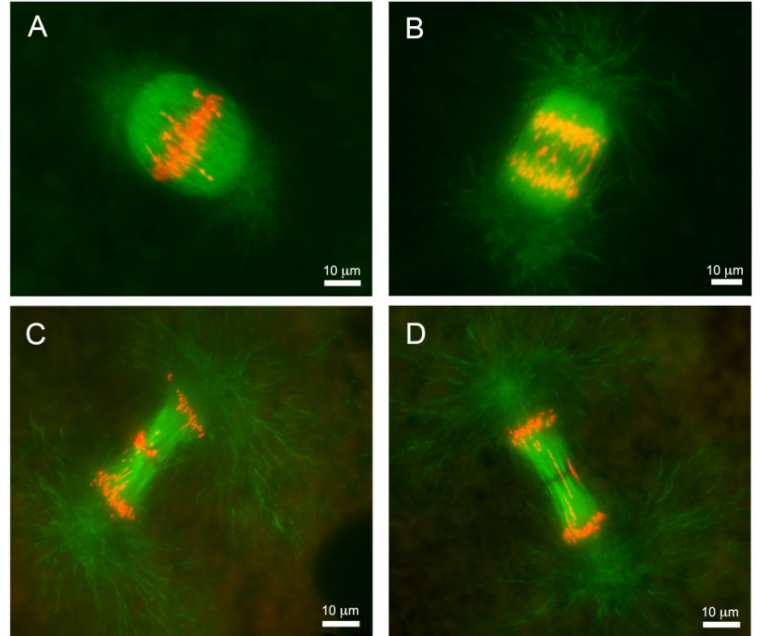


Obrázek 10: Mechanismus eliminace zárodečných chromozomů (GRC) v průběhu rané embryogeneze u Chironomidae, Cecidomyiidae a Sciaridae, (Převzato a upraveno z Hodson & Ross, 2021).

5.2 Kruhoústí (Cyclostomata)

Při výzkumu programované DNA eliminace mají mihule jednu velkou výhodu. Jejich embrya jsou snadno dostupná a jde s nimi dobře manipulovat. V laboratorních podmínkách lze snadno a rychle připravit velké množství oplodněných embryí. Nedostupnost embryí, jak je to často u jiných živočichů podstupujících programovanou DNA eliminaci, není naštěstí u mihulí limitujícím faktorem (Smith et al., 2021). Mihule by tedy mohly patřit mezi modelové organismy sloužící pro výzkum programované DNA eliminace.

V prvních šesti buněčných děleních během rané embryogeneze jsou zárodečné chromozomy replikovány podobně, jako klasické A chromozomy. Eliminace GRC u mihule mořské začíná přibližně během 7. buněčného dělení, tedy u embryí s více než 64 buňkami. (Timoshevskiy et al., 2016). Pokud se na eliminaci chromozomů podíváme z pohledu buněčného cyklu, zjistíme, že eliminace začíná ihned po přechodu z mitotické metafáze do anafáze. GRC, které budou eliminovány jsou rovnoměrně rozloženy v ekvatoriální rovině. V anafázi se začínají viditelně opožďovat v pohybu k pólům za klasickými A chromozomy (Obrázek 11). Během telofáze začnou A chromozomy dekonenzovat, ale GRC nedekonzují. Místo toho zůstanou v kondenzovaném stavu a jsou spojeny s tubulinem. Poté jsou zárodečné chromozomy postupně zabaleny do kompaktních struktur zvaných mikrojádra (MNI). Tyto struktury odolávají spojení s jádrem nově vznikající buňky nejspíše absencí laminu B1, který je přítomný v jaderném obalu nově vznikající buňky (Timoshevskiy et al., 2016). Také je zajímavé, že ačkoliv je sekvence *Germ1* přítomna na všech 12 zárodečných chromozomech, ve všech mikrojádrech se nenachází (Timoshevskiy et al., 2016, 2019).



Obrázek 11: Opoždující se chromatin u embrya mihule mořské (*Petromyzon marinus*). A) metafáze, B) anafáze A, C) anafáze B s opožďujícím se chromatinem v ekvatoriální rovině, D) anafáze B s podélně nataženým opožďujícím se chromatinem. Imunoznačeno anti-beta tubulinem, (Převzato a upraveno z Timoshevskiy et al., 2016).

Přesný mechanismus eliminace zárodečných chromozomů ze somatické linie u sliznatek není zcela jasný. Můžeme ale předpokládat jistou podobnost s mihulemi. K eliminaci zárodečných chromozomů ze somatické linie ale s velkou pravděpodobností dochází již během rané embryogeneze, ale v zárodečné linii tyto chromozomy přetrvávají (Goto et al., 1998; Nakai & Kohno, 1987; Nakai et al., 1991; Kojima et al., 2010).

5.3 Pěvci (Passeriformes)

Způsob eliminace zárodečných chromozomů ze somatické linie pěvců není ještě plně popsán. Výsledky studie Rídl et al. (2025), ale ukazují, že zárodečný chromozom pěvců má odlišnou centromerickou sekvenci od A chromozomů. To by mohlo vysvětlovat jeho neobvyklé chování během mitotického a meiotického dělení a jeho následnou eliminaci. Tato centromerická modifikace by mohla způsobovat to, že se GRC špatně připojí na dělicí vřetenko, a proto v anafázi dochází k jeho opožďování a následné eliminaci (Rídl et al., 2025). Pigozzi & Solari (2005) uvažují, že u pěvců může docházet k eliminaci ze somatické linie u samců a samic různými mechanismy. U samic by nemuselo dojít k rozchodu chromatid a následně by se GRC mohlo dostat pouze do progenitorových buněk zárodečné linie. U samců by v mitotické anafázi mohlo docházet k opožďování chromatidy GRC v progenitorových buňkách somatické linie,

což by vedlo k tomu, že by byl ze somatické linie GRC odstraněn (Pigozzi & Solari, 2005). Jiné mechanismy u samců a samic by ale vedly k odlišným genovým expresím již v embryogenezi, a proto by mechanismus eliminace mohl být jiný. U samců a samic by tedy mohl být podobný, jako při spermatogenezi, a to tedy tak, že by GRC mohl být epigeneticky označen pro eliminaci (Del Priore & Pigozzi, 2014). Při spermatogenezi je GRC eliminován tak, že již v primárních spermatocytech je heterochromatický a epigeneticky značený. Již od leptotene je GRC umlčený a k eliminaci dochází pravděpodobně při prvním meiotickém dělení. V sekundárních spermatocytech se totiž zárodečný chromozom nachází již v cytoplazmě ve formě mikrojádra. Ve spermatidách se GRC již vůbec nenachází (Schoenmakers et al., 2010).

6 Dědičnost zárodečných chromozomů

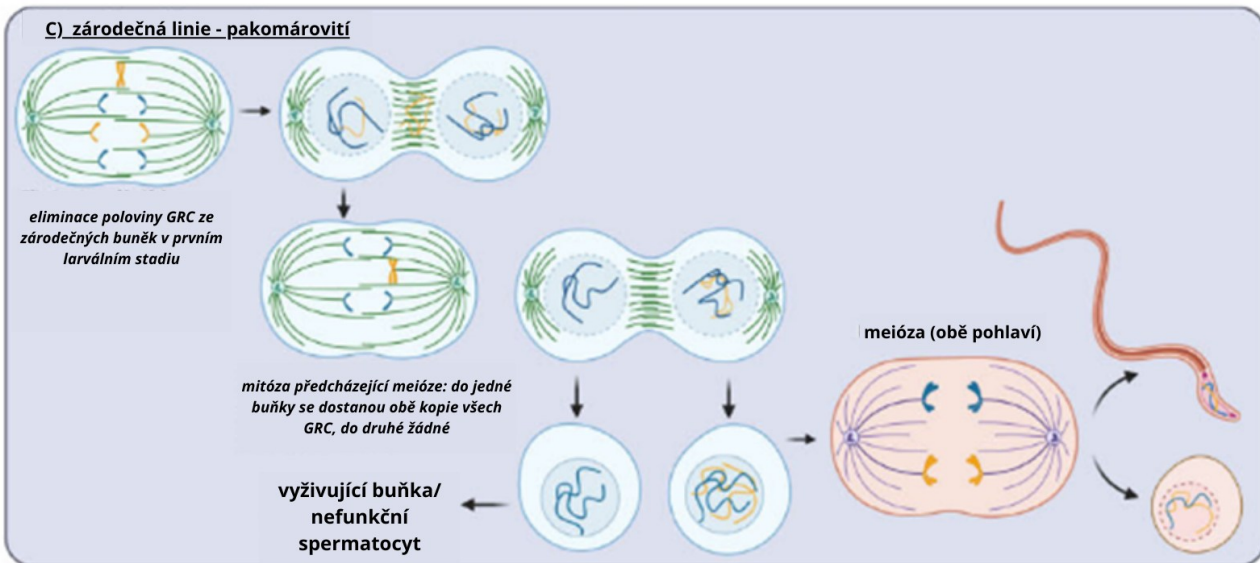
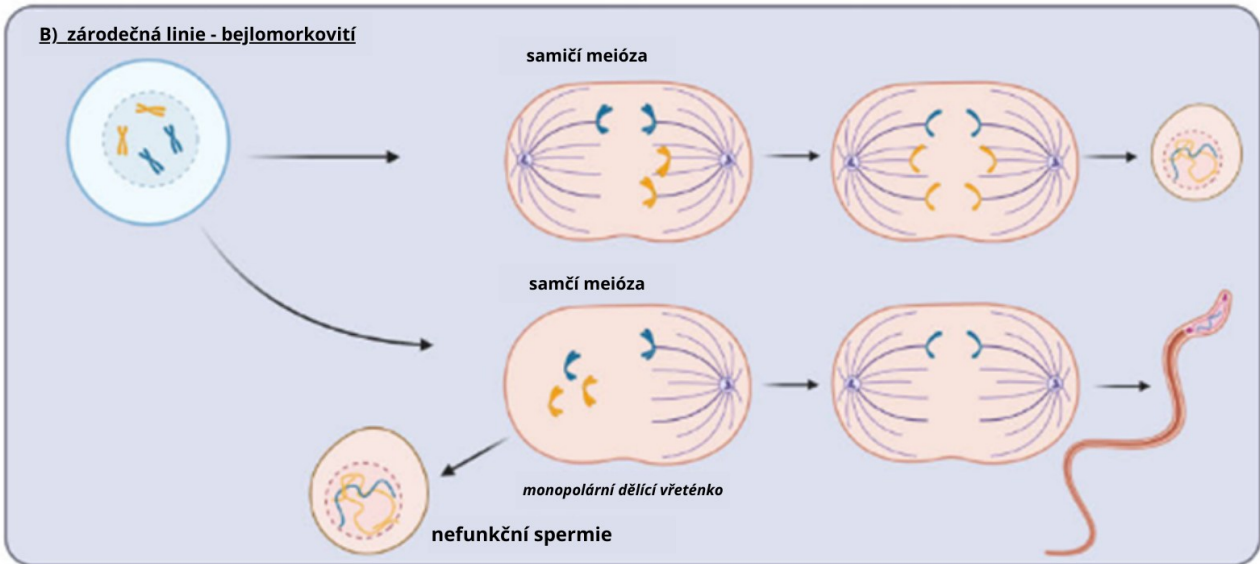
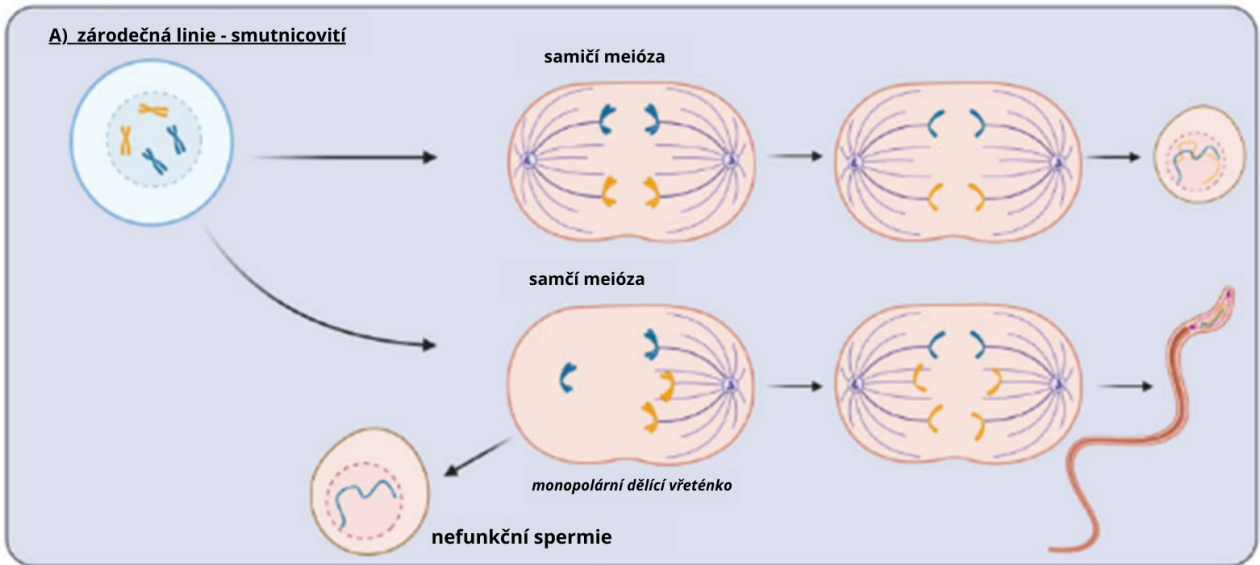
6.1 Dvoukřídlí (Diptera)

Způsob, jakým jsou GRC u dvoukřídlého hmyzu předávány do dalších generací vykazuje značnou rozmanitost mezi smutnicovitými, bejlmorkovitými a pakomárovitými. Dědičnost K chromozomů u podčeledi Orthoclaadiinae z čeledi pakomárovití není omezena na pouze na jedno pohlaví, ale dochází k dědění jak přes samce, tak přes samice (Staiber, 2004, 2007, 2008). U této podčeledi byl výzkum prováděn na druhu *Acricotopus lucidus*, u kterého je počet haploidních K chromozomů 6-16 (Staiber, 2004). U tohoto druhu se vyskytuje celkem 9 typů K chromozomů, které se u jedinců vyskytují v různých počtech a kombinacích (Staiber, 1991). Při vývoji zárodečné linie (Obrázek 12C), přesněji při první mitóze primordiálních zárodečných buněk, dojde k eliminaci přibližně poloviny K chromozomů. Následně, při poslední mitóze gonocytů (prekurzorů gamet) před meiózou dojde k rozestoupení všech K chromozomů pouze k jednomu pólu buňky, čímž se nejspíše dorovná jejich předchozí počet. A chromozomy jsou naopak seřazeny ve třech párech v ekvatoriální rovině a následně dojde k jejich symetrickému rozestupu. Buňka, která obsahuje jak A chromozomy, tak K chromozomy se u samců stane primárním spermatocytem. Druhá vzniklá buňka bez K chromozomů má s velkou pravděpodobností pouze pomocnou a vyživující funkci a při meióze (tvorbě spermií) nejspíše slouží pouze jako zdroj mitochondrií pro klasické spermatocyty. U samic se buňka, která obsahuje jak A, tak K chromozomy stane oocytem a druhá buňka se stane vyživující buňkou (nurse cell) (Staiber, 2004, 2007, 2008).

Ačkoliv jsou E chromozomy u bejlmorkovitých přítomny jak v zárodečné linii samců, tak v zárodečné linii samic, dědičnost těchto chromozomů je vázaná pouze na samice. Výzkumy bejlmorky obilné (*Mayetiola destructor*) (Stuart & Hatchett, 1988) a bejlmorky bukové (*Mikiola fagi*) (Matuszewski, 1961) prokázaly, že při meiotickém dělení v zárodečné linii u samic dojde k rozdělení chromozomů tak, že oocyt obsahuje všechny E chromozomy, ale zároveň zde nedochází k rekombinaci. U samců naopak většinou dojde k eliminaci E chromozomů ze spermií (Obrázek 12B). Pouze u jednoho druhu (*Monarthropalpus buxi*) této čeledi byl pozorován ojedinělý přenos E chromozomů i přes samce (White, 1973). Zajímavé je, že se dědičnost E chromozomů u samců bejlmorkovitých velmi podobá dědičnosti GRC u samců pěvců (Kapitola 6.3).

U smutnicovitých dochází kromě eliminace L chromozomů ze somatické linie také k eliminaci některých L chromozomů ze zárodečné linie (Rieffel & Crouse, 1966). Například u druhu *Bradysia coprophila* je haploidní vajíčko většinou s jednou kopií L chromozomu oplozeno haploidní spermií, která většinou obsahuje dvě kopie L chromozomů. Aby nedocházelo k hromadění kopií L chromozomů, dojde k jejich eliminaci. Nejčastěji dojde k eliminaci tak, aby v zygotě byly přítomny pouze dvě kopie L chromozomů. Při spermatogenezi, při prvním meiotickém dělení dochází k tomu, že všechny L chromozomy se dostanou k jednomu pólu buňky a jsou ponechány ve spermatocyту. Druhé meiotické dělení ve spermatogenezi je již rovnoměrné. V primárním oocyту jsou většinou přítomny dvě kopie L chromozomů a při prvním meiotickém dělení dojde k jejich rovnoměrnému rozdělení. Pokud je L chromozom přítomen pouze v jedné kopii, dojde k jeho náhodné segregaci. Dělení je následně pozastaveno, dokud nedojde k oplodnění oocyту spermií (Gerbi, 1986; Metz & Schmuck, 1929). U smutnicovitých jsou L chromozomy děděny přes oba rodiče, častěji ale dochází k dědičnosti přes otce (Obrázek 12A). U samic totiž neobsahují všechny oocyты L chromozomy, zato u samců většina spermií ano a téměř všechny zygoty získají alespoň jednu kopii L chromozomu od samce (Rieffel & Crouse, 1966).

U pakomárovitých, bejломorkovitých a smutnicovitých jsou GRC tedy přenášeny nemendelovsky (Hodson & Ross, 2021). U bejломorkovitých a smutnicovitých by mohla hrát přítomnost GRC roli v určení pohlaví. U většiny druhů s GRC se totiž vyskytuje monogenie (tvorba potomků pouze jednoho pohlaví). U druhu *Sciara impatiens*, který je monogenní a má L chromozomy došlo v laboratoři k vytvoření digenní populace, která následně ztratila L chromozomy a poté vymřela (Crouse et al., 1971). Bejломorkovité a smutnicovité jsou také jediné čeledi, u kterých dochází k procesu paternální eliminace genomu (PGE), kdy samci předávají do dalších generací pouze chromozomy zděděné od matky (Metz, 1938; Gallun & Hatchett, 1969). Podle Hodson & Ross (2021) by mohla existovat souvislost mezi přítomností GRC a paternální eliminací genomu, a to proto, že jediné dvě čeledě dvoukřídleho hmyzu s procesem paternální eliminace genomu mají právě také zárodečné chromozomy (Hodson & Ross, 2021). Jedná se zatím ale pouze o hypotézu, kterou nemůžeme potvrdit, protože v této oblasti neexistuje dostatek dat. Další výzkum tohoto jevu by tedy mohl být velmi přínosný.



Obrázek 12: Chování zárodečných chromozomů v průběhu vývoje zárodečné linie u A) smutnicovitých, B) bejlmorkovitých, C) pakomárových, (Převzato a upraveno z Hodson & Ross, 2021).

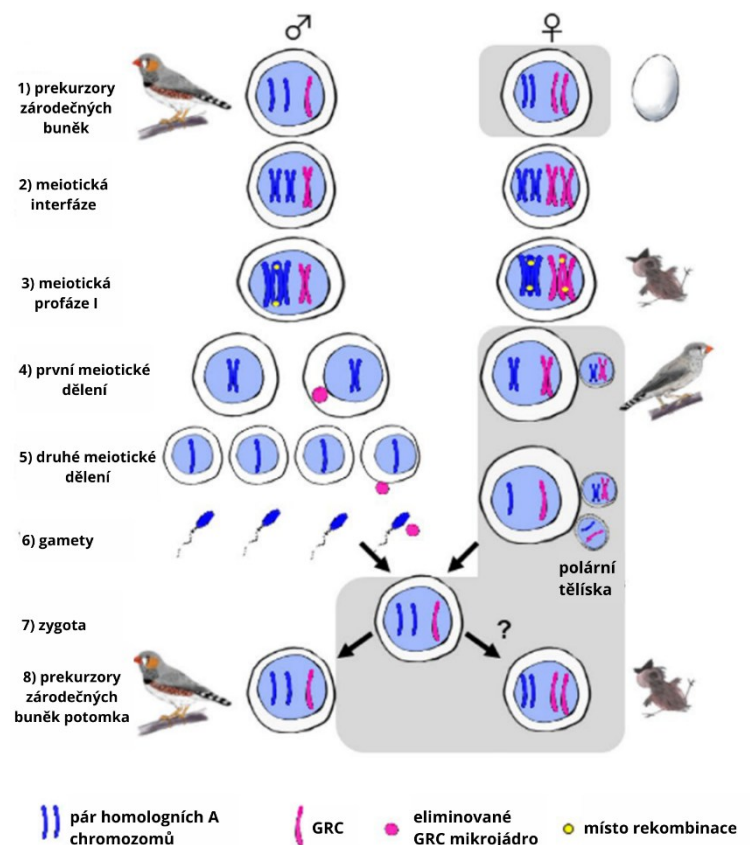
6.2 Kruhoústí (Cyclostomata)

Mechanismus dědičnosti zárodečných chromozomů u sliznatek ještě není zcela objasněn. Zárodečné chromozomy jsou eliminovány ze somatické linie, ale přetrvávají v zárodečné linii a musí být předány do dalších generací. Dokonce existuje i velmi málo známých poznatků o rozmnožování a určení pohlaví u sliznatek. Sliznatky se rozmnožují nejspíše vícekrát za život. Některé druhy se rozmnožují sezóně, jiné zase po celý rok. Sliznatky mají v dospělosti pouze jednu pohlavní gonádu a po vylíhnutí jsou gonády všech jedinců samičí. Až při vývoji dojde k diferenciaci gonád (Norris & Carr, 2021). Není tedy ani objasněno, zda je dědičnost závislá na určitém pohlaví. Pro lepší pochopení dědičnosti zárodečné DNA u sliznatek je tedy nutné provést další výzkum v této oblasti.

U mihulí, stejně jako u sliznatek, také stále není mechanismus dědičnosti GRC zcela objasněn. Zárodečné chromozomy jsou eliminovány ze somatické linie, ale přetrvávají v zárodečné linii obou pohlaví, a musí být předány do dalších generací. To implikuje, že u mihulí dochází k dědičnosti přes obě pohlaví (Timoshevskiy et al., 2016). Eliminace GRC ze somatické linie naznačuje, že mají důležitou roli právě ve vývoji zárodečné linie (Bryant et al., 2016).

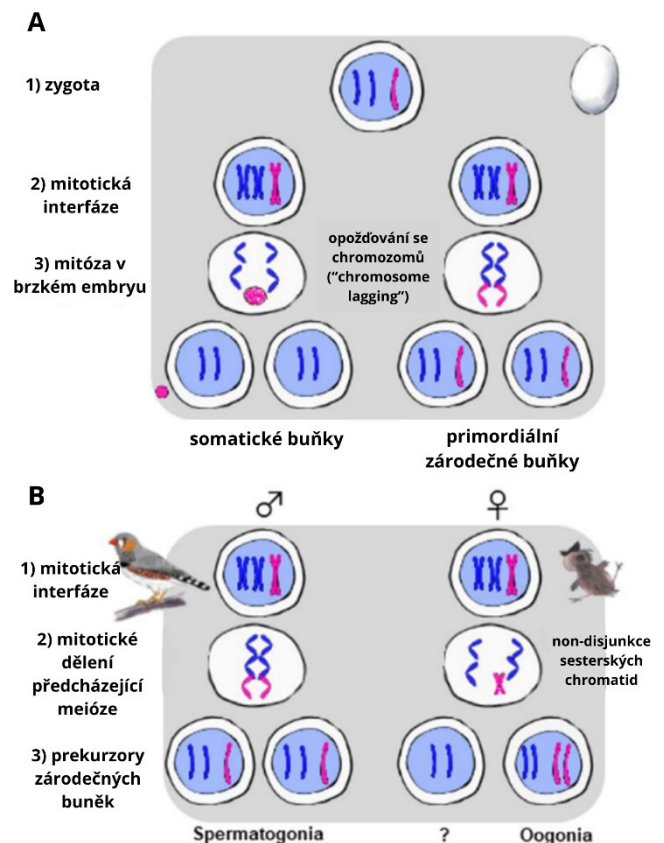
6.3 Pěvci (Passeriformes)

Výzkum dědičnosti zárodečných chromozomů se zaměřuje převážně na meiózu. U pěvců nedochází k mendelistické dědičnosti zárodečného chromozomu, ale GRC je většinou děděn maternálně (Pigozzi & Solari, 1998, 2005; Pei et al., 2022). U samic se GRC vyskytuje většinou v jedné kopii, tedy jako nepárující univalentní chromozom. Při prvním meiotickém dělení (při spermatogenezi) dojde ke vzniku mikrojádra a následnému odstranění z buňky (Obrázek 13). U samic je zárodečný chromozom přítomen většinou ve dvou kopiích a tvoří tak párující bivalent, u kterého dochází k rekombinaci během první meiotické profáze a do oocyty se následně dostane jedna kopie tohoto GRC (Obrázek 13) (Pigozzi & Solari, 1998, 2005; Pei et al., 2022).



Obrázek 13: Chování zárodečných chromozomů během meiózy. Šedá pole označují potenciální chování bez cytogenetických podkladů. Modré chromozomy značí A chromozomy, růžové značí GRC, žlutě je označen proces rekombinace, (převzato a upraveno z Borodin et al., 2022).

Není ale zatím jasné, kde a kdy dochází ke vzniku druhé kopie zárodečného chromozomu u samic. Existují dvě hypotézy. První pochází ze studie Pigozzi & Solari (2005), kde předpokládají, že druhá kopie zárodečného chromozomu u samice vzniká již během rané embryogeneze, při rozdělení somatické a zárodečné linie. Předpokládají, že během mitotického dělení dochází k opoždění a následné non-disjunkci celého GRC a tím se do zárodečné linie (do primordiální zárodečné buňky) dostanou dvě kopie, a naopak do somatické linie se nedostane ani jedna z kopií. U samců v mitotické anafázi dochází k opoždění chromatid a tím se v zárodečné linii (v primordiálních zárodečných buňkách) objeví pouze jedna kopie zárodečného chromozomu (Obrázek 14A). K těmto rozdílným chováním může docházet kvůli kohezinovým genům specifickým pro dané pohlaví (Pigozzi & Solari, 2005). Podle druhé hypotézy nemusí rozdíl v počtu zárodečných chromozomů mezi samci a samicemi vznikat již v rané embryogenezi, ale může k němu docházet až později, a to během mitotického dělení primordiálních zárodečných buněk (Obrázek 14B). U samců by tak došlo k normálnímu rozestupu chromatid. U mladých samic by naopak došlo k non-disjunkci a tím by vznikla jedna buňka bez zárodečného chromozomu a jeden primární oocyt se dvěma kopiemi tohoto zárodečného chromozomu. Buňka bez zárodečného chromozomu by následně mohla podstoupit apoptózu (P. Borodin et al., 2022).



Obrázek 14: Dvě hypotézy vzniku druhé kopie GRC u samic a pouze jedné kopie u samců. Šedá pole označují potenciální chování bez cytogenetických podkladů. Modré chromozomy značí A chromozomy, růžové značí GRC, žlutě je označen proces rekombinace, (převzato a upraveno z Borodin et al., 2022).

Jak již bylo zmíněno, zárodečný chromozom u pěvců je převážně děděn maternálně, tedy stejně, jako například mitochondriální DNA. Podle Pei et al. (2022), ale občas může docházet i k přenosu paternálnímu. Při sekvenaci genomů samců zebřičky australské (*Taeniopygia castanotis*) se totiž ukázalo, že neexistuje korelace mezi haplotypy mitochondriální DNA (mtDNA) a haplotypy GRC. To znamená, že jedinci se stejnou mtDNA (např. bratři) nemusí mít stejný GRC haplotyp, a naopak jedinci s velmi odlišnou mtDNA mohou mít téměř stejné haplotypy GRC (Pei et al., 2022). Také v některých spermích zebřičky australské (*Taeniopygia castanotis*) byla pozorována přítomnost zárodečného chromozomu. Podle cytogenetické analýzy Pei et al. (2022) obsahovalo průměrně 9 % spermíí zárodečný chromozom, ale mezi jednotlivými samci byl pozorován výrazný rozdíl (1–19 %). Samci se tedy značně liší v obsahu spermíí se zárodečným chromozomem. Zajímavé ale je, že je tato variabilita konzistentní v rámci jedinců. Studie Pei et al. (2022) také dále předpokládá, že některé haplotypy zárodečných chromozomů se mohou v rámci populace přenášet úspěšněji než jiné, i když se například nacházejí u samce.

7 Původ a evoluce zárodečných chromozomů

7.1 Dvoukřídli (Diptera)

Původ zárodečných chromozomů u dvoukřídlelých zůstává stále nejasný. Protože jsou ale v mnoha aspektech podobné nadbytečným parazitickým B chromozomům, je možné, že se z nich také vyvinuly (Hodson et al., 2021). Podle Ševčík et al. (2016) se čeledě smutnicovití, bejlomorkovití a pakomárovití nejspíše vyvinuly nezávisle na sobě. To naznačuje, že také zárodečné chromozomy u těchto tří čeledí mohly vzniknout nezávisle (Hodson & Ross, 2021). U pakomárovitých a bejlomorkovitých (tzn. u čeledí s velkým množstvím GRC) se předpokládá, že mohlo dojít ke vzniku GRC skrze endopolyploidizaci A chromozomů, přeskupení a následné nahromadění genů a repetitivních sekvencí specifických pro zárodečnou linii v oblasti centromery (Staiber & Schiffkowsky, 2000). Hypotéza vzniku GRC u smutnicovitých (tzn. u čeledí s nízkým počtem GRC) hovoří o tom, že GRC vznikl z pohlavního X chromozomu a že mezi těmito dvěma chromozomy přetrvává vzdálená homologie (Haig, 1993). Novější studie Hodson et al. (2022) ale tuto teorii odmítá a místo toho naznačuje, že GRC u smutnicovitých mohl vzniknout spíše allopolyploidizací (hybridizací s jiným druhem), a že geny obsažené na těchto chromozomech tedy nepocházejí pouze od smutnicovitých, ale i od blízké příbuzné čeledi bejlomorkovitých. Mezi těmito dvěma čeleděmi mohlo dojít již před 114 až 50 miliony let k jednorázové hybridizaci mezi samcem bejlomorkovitých a samicí smutnicovitých. Následovala rozsáhlá genomová přestavba, která vysvětluje nižší počet zárodečných chromozomů u smutnicovitých (Hodson et al., 2021, 2022). U smutnicovitých existují dva typy L chromozomů, GRC1 a GRC2. Liší se obsahem genů a to tak, že GRC1 obsahuje více genů původních pro bejlomorkovité a GRC2 obsahuje více genů typických pro smutnicovité. GRC1 i 2 nejspíše vznikly současně, ale u GRC2 došlo k následnému přesunu genů ze somatické linie (Hodson et al., 2021, 2022). Studie Hodson et al. (2022) také dále naznačuje, že GRC u smutnicovitých, přesněji u druhu *Bradysia coprophila* nejspíše nevznikly jako adaptace na konflikt mezi germinální a somatickou linií, ale spíše jako adaptace na introgresi genetického materiálu od čeledi bejlomorkovitých. Pro potvrzení je ale nejdříve potřeba provést další výzkum, a to především v oblasti sekvenace GRC u bejlomorkovitých.

Výskyt GRC u dvoukřídlelých hmyzu také nemusí být úplně náhodný. Podle hypotézy ze studie (Hodson & Ross, 2021) je pravděpodobné, že přítomnost GRC u smutnicovitých a bejlomorkovitých, neboli jediných dvou čeledí dvoukřídlelých hmyzu s paternální eliminací genomu, spolu mohou souviset. I když není stále jasné, jestli GRC a paternální eliminace genomu vznikly současně nebo nezávisle, jejich společný výskyt poukazuje na možnou souvislost (Hodson & Ross, 2021).

7.2 Kruhoústí (Cyclostomata)

Podle Hansson (2019) by GRC u kruhoústých mohly pocházet z nadbytečných parazitických B chromozomů. Sdílí s nimi totiž několik podobností, jako například složení z paralogních sekvencí z A chromozomů (Nagao et al., 2023) a také specifčnost pro určitou (zárodečnou) tkáň. Programovaná DNA eliminace má jak u sliznatek, tak u mihulí velmi prastarý původ. Mohla být sdíleným znakem všech kruhoústých, a to kvůli rozsáhlým funkčním podobnostem u eliminovaných genů. Přestože eliminované geny u sliznatek a mihulí mají podobné funkce, pouze malý počet stejných genů je eliminován v obou těchto liniích (Marlétaz et al., 2024; Smith et al., 2021). To naznačuje buď existenci společného zárodečného chromozomu u společného předka sliznatek a mihulí, nebo nezávislou akumulaci těchto genů jako součást zárodečné DNA v raných fázích evoluce kruhoústých. Rozdíly mezi mihulemi a sliznatkami v obsahu zárodečných chromozomů pravděpodobně souvisí s jejich dlouhou nezávislou evolucí a také odlišností v jejich současné ekologii. Poslední společný předek sliznatek a mihulí se totiž oddělil přibližně již před 460 miliony let a od té doby došlo ke vzniku mnoha rozdílů (Marlétaz et al., 2024).

Zárodečné chromozomy u *Eptatretus burgeri* a pravděpodobně i dalších druhů sliznatek nejspíše pocházejí z vlastního jediného páru A chromozomů. GRC u sliznatek pravděpodobně nahromadily specifické repetitivní sekvence EEE (eliminated element of *Eptatretus*), z nichž některé se rovnoměrně nacházejí na téměř všech GRC chromozomech (Nagao et al., 2023). Podobné výsledky jsou také u druhu *Eptatretus okinoseanus* (Kubota et al., 1993). U jiných druhů sliznatek (*Eptatretus cirrhatus* a *Paramixine sheni*) na druhou stranu nebyly všechny rodiny EEE segmentů detekovány na všech GRC (Goto et al., 1998; Kojima et al., 2010). To může naznačovat, že u těchto druhů se zárodečné chromozomy mohly vyvíjet nezávisle na sobě (Nagao et al., 2023). Ve studii Marlétaz et al. (2024), u sliznatky *Eptatretus atami*, pozorovali velké množství repetitivních sekvencí EEE a také genů, které se mnohonásobně duplikovaly až po translokaci nebo duplikaci na zárodečné chromozomy. To naznačuje jejich rychlý vývoj a také zvětšování velikosti. Zárodečné chromozomy mají tedy s velkou pravděpodobností důležitou roli ve vzniku nových genových funkcí v zárodečné linii (Marlétaz et al., 2024).

Ve výzkumu Timoshevskiy et al. (2017) byly porovnávány dva druhy mihulí (*Entosphenus tridentatus* a *Petromyzon marinus*). Programovaná DNA eliminace se nachází u obou těchto druhů a eliminovaná DNA dokonce u těchto dvou druhů mihulí obsahuje podobné sekvence. U mihule mořské (*Petromyzon marinus*) je ale eliminovaná DNA obsáhlejší, a to z důvodu akumulace většího množství repetitivních sekvencí. U mihulí i nadále dochází k neustálým duplikacím genů z A chromozomů na zárodečné chromozomy. Tímto procesem dochází ke vzniku stále nových zárodečně specifických genů například procesem substituce. Vývoj genů na zárodečných chromozomech u mihulí je tedy častokrát i rychlejší než na A chromozomech (Timoshevskaya et al., 2023).

7.3 Pěvci (Passeriformes)

Původ zárodečných chromozomů u pěvců není stále zcela jasný. Ve větší míře obsahují homologní sekvence k A chromozomům (Itoh et al., 2009). Studie Kinsella et al. (2019) naznačuje, že zárodečné chromozomy vznikly již před desítkami milionů let u předka křikavých (Suboscines) a zpěvných (Oscines), ale i nadále dochází k jejich vývoji duplikací genů z A chromozomů. Práce (Torgasheva et al., 2019) uvažuje o tom, že zárodečný chromozom u pěvců mohl vzniknout již před 35 miliony let jako nadbytečný parazitický B chromozom, který prošel mnohými evolučními změnami ve velikosti i obsahu. Výsledky novější studie (Schlebusch et al., 2023), ale stáří GRC posunuly ještě více dozadu. Předpokládají, že se GRC mohlo vyvinout ještě u společného předka zpěvných (Oscines) a křikavých (Suboscines), ale již po oddělení linie pokřovníkovitých (Acanthisittidae). GRC se tedy může vyskytovat u všech pěvců, kromě malé čeledi pokřovníkovití (Acanthisittidae) (Schlebusch et al., 2023). V průběhu evoluce mohlo u zárodečného chromozomu dojít k akumulaci nepostradatelných genů, díky kterým se z nadbytečného parazitického B chromozomu mohl stát nepostradatelný zárodečný chromozom (Johnson Pokorná & Reifová, 2021; Schlebusch et al., 2023). Také variabilita v počtu kopií GRC pozorovaná u některých druhů pěvců by mohla naznačovat, že GRC zůstává evolučně dynamickou strukturou, což také podporuje hypotézu jeho původu z parazitického B chromozomu (Malinovskaya et al., 2020).

8 Závěr

Zárodečné chromozomy (GRC) jsou fascinujícím a stále ne plně probádaným typem chromozomů. Přetrvávají pouze v zárodečné linii a ze somatické linie jsou již v průběhu rané embryogeneze eliminovány. Zárodečné chromozomy byly poprvé popsány u dvoukřídlého hmyzu, a to již v roce 1905. Zatím byly objeveny pouze u třech čeledí dvoukřídlého hmyzu (Diptera), u kruhoústých (Cyclostomata) sliznatek a mihulí, a také u ptáků z řádu pěvců (Passeriformes). Je ale možné, že se nacházejí i u jiných skupin živočichů, ale zatím pouze nebyly objeveny.

Zárodečné chromozomy byly u dvoukřídlého hmyzu detekovány u čeledí, smutnicovitých (Sciaridae), bejlomorkovitých (Cecidomyiidae) a podčeledi Orthoclaadiinae z čeledi pakomárovitých (Chironomidae). U pakomárovitých se počet chromozomů pohybuje mezi 1 a 80, u bejlomorkovitých zase mezi 10 a 67 a u smutnicovitých se nachází maximálně pouze 4 GRC a u některých smutnicovitých GRC úplně vymizelo. GRC se také samozřejmě mohou značně lišit i velikostí. Jejich původ zůstává stále nejasný. Je ale možné, že pocházejí z B chromozomů. Také se předpokládá, že u těchto skupin vznikly nezávisle na sobě, čemuž naznačuje i vzdálenější fylogenetické postavení těchto skupin. Mechanismus eliminace GRC ze somatické linie se naopak zdá být velmi podobný mezi jednotlivými čeleděmi. Při rané embryogenezi při mitotickém dělení dochází k opožďování následně eliminovaného chromatinu. Tento chromatin zůstává v ekvatoriální rovině a nedostane se tedy ani do jedné z nově vznikajících buněk. O genovém obsahu GRC u dvoukřídlého hmyzu se toho zatím mnoho neví. Tyto chromozomy ale obsahují paralogní sekvence k A chromozomům a také mohou obsahovat důležité protein-kódující geny, které by mohly být důležité například pro tvorbu gamet. Jsou totiž často v průběhu vývoje tvořeny transkripčně aktivním chromatinem (euchromatinem). Dědičnost GRC u hmyzu je velmi složitá a rozmanitá. U pakomárovitých dochází k dědičnosti jak přes samce, tak přes samice. Nejdříve ale dojde k eliminaci přibližně poloviny GRC při první mitóze primordiálních zárodečných buněk. Následně, při poslední mitóze gonocytů před meiózou, dojde k tomu, že se všechny zbylé zárodečné chromozomy dostanou pouze do jedné buňky, a tím se tedy počet GRC pravděpodobně znovu dorovná. U bejlomorkovitých jsou sice zárodečné chromozomy v zárodečné linii jak u samic a samců, přenos je ale vázán pouze na samice. A nakonec u smutnicovitých jsou GRC děděny přes oba rodiče, častěji ale dochází k dědičnosti přes otce.

U kruhoústých (Cyclostomata) sliznatek a mihulí jsou zárodečné chromozomy přítomny nejspíše u všech druhů. U obou těchto tříd se počet eliminovaných chromozomů liší mezi druhy, u sliznatky *Eptatretus burgeri* například dochází k eliminaci 16 celých GRC, u mihule mořské (*Petromyzon marinus*) dochází k eliminaci 12 celých GRC. Původ zárodečných chromozomů kruhoústých je velmi prastarý. Je pravděpodobné, že se vyvinuly z B chromozomů a že jsou tvořeny paralogními sekvencemi k A chromozomům. Některé geny jsou u sliznatek a mihulí podobné, nebo dokonce i stejné, což by mohlo naznačovat společného předka, který již GRC měl. U kruhoústých ale obsahují GRC převážně repetitivní sekvence a nejspíše jen menší množství protein-kódujících genů sloužících například k funkci zárodečné linie. Repetitivní sekvence mohou například sloužit jako opora chromatinu. Způsob eliminace ze somatické linie

není u sliznatek zcela objasněný, můžeme ale předpokládat podobnost s mihulemi u nichž již přibližně v 7. buněčném dělení embryonálního vývoje dochází v anafázi k opožďování chromatinu, který bude následně eliminován. V telofázi je tento chromatin zabalen do mikrojadra a následně eliminován z buňky. Proces dědičnosti GRC není u kruhoústých známý, u mihulí se ale dědí nejspíše přes obě pohlaví.

Zárodečný chromozom by se nejspíše také mohl vyskytovat u všech pěvců (Passeriformes), kromě jedné malé čeledi Acanthisittidae. U samic se nejčastěji GRC vyskytuje ve dvou kopiích, zato u samců pouze v jedné a v průběhu spermatogeneze většinou dochází k jeho eliminaci. Mezi různými, i blízce příbuznými druhy, se zárodečný chromozom může značně lišit velikostí i obsahem. Nezanedbatelné množství jedinců ale také vykazuje polymorfismy jak v počtu, tak ve velikosti GRC, a také v genetickém obsahu. Odlišný genový obsah u blízce příbuzných druhů naznačuje obrovskou rychlost vývoje GRC u pěvců. GRC mohly vzniknout již před 35 miliony let jako parazitické B chromozomy, v průběhu evoluce ale nejspíše získaly nepostradatelnou funkci. Na zárodečných chromozomech pěvců se nejčastěji vyskytují mnohonásobné kopie genů, jako jsou například paralogy k A chromozomům a také pohlavnímu Z chromozomu, což může souviset s dorovnáním genové dávky u samic, jakožto heterogametického pohlaví. Spousta genů ale vůbec nemusí být funkční, protože obsahují mnohé stop-kodóny a také jsou méně exprimovány, než geny na A chromozomech. I přesto ale stále přetrvávají v zárodečné linii, což značí jejich nepostradatelnou funkci. O způsobu eliminace existují zatím jen určité domněnky. Známé je ale to, že centromerická sekvence u zárodečného chromozomu pěvců se liší od centromerické sekvence A chromozomů, což může hrát roli v eliminaci tohoto chromozomu. GRC u pěvců je většinou děděn maternálně. Při meióze spolu dvě kopie samičího GRC párují a rekombinují se. Do oocyty se následně dostane jedna kopie. U samců většinou dochází již při prvním meiotickém dělení k eliminaci GRC, existují ale také důkazy o tom, že v některých spermích tato kopie přetrvává a může tedy docházet i k občasně dědičnosti přes samce.

I přes to, že výzkum na zárodečných chromozomech probíhá již déle než 100 let, v našich znalostech jsou stále ještě velké mezery. Je tedy nepochybně nezbytné provést další výzkumy v mnoha oblastech popsaných v této práci. Výzkum by se měl tedy zaměřit především na genetický obsah GRC u hmyzu a kruhoústých, na detekci protein-kódujících genů u všech zmíněných skupin živočichů, také na způsob eliminace ze somatické linie u sliznatek a pěvců, dále na proces dědičnosti u kruhoústých a také na původ zárodečných chromozomů u všech těchto skupin živočichů. Samozřejmě je také nutné ověřit, zdali se zárodečné chromozomy nevyskytují i u dalších jiných skupin živočichů.

9 Seznam použité literatury

- Armitage, P. D., Pinder, L. C. V., & Cranston, P. S. (1994). *Chironomidae: Biology and ecology of non-biting midges*. Springer Dordrecht.
- Bauer, H., & Beermann, W. (1952). Der Chromosomencyclus der Orthoclaadiinen (Nematocera, Diptera). *Zeitschrift für Naturforschung B*, 7, 557–563. <https://doi.org/10.1515/znb-1952-9-1013>
- Beermann, W. (1956). Nuclear differentiation and functional morphology of chromosomes. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 21, 217–232.
- Biederman, M. K., Nelson, M. M., Asalone, K. C., Pedersen, A. L., Saldanha, C. J., & Bracht, J. R. (2018). Discovery of the First Germline-Restricted Gene by Subtractive Transcriptomic Analysis in the Zebra Finch, *Taeniopygia guttata*. *Current Biology*, 28(10), 1620–1627. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.03.067>
- Borodin, P., Chen, A., Forstmeier, W., Fouché, S., Malinovskaya, L., Pei, Y., Reifová, R., Ruiz-Ruano, F. J., Schlebusch, S. A., Sotelo-Muñoz, M., Torgasheva, A., Vontzou, N., & Suh, A. (2022). Mendelian nightmares: The germline-restricted chromosome of songbirds. *Chromosome Research*, 30, 255–272. <https://doi.org/10.1007/s10577-022-09688-3>
- Borodin, P. M. (2023). Germline-restricted chromosomes of the songbirds. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 27(6), 641–650. <https://doi.org/10.18699/VJGB-23-75>
- Bryant, S. A., Herdy, J. R., Amemiya, C. T., & Smith, J. J. (2016). Characterization of Somatic-ly-Eliminated Genes During Development of the Sea Lamprey (*Petromyzon marinus*). *Molecular Biology and Evolution*, 33(9), 2337–2344. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw104>
- Camacho, J. P. M., Sharbel, T. F., & Beukeboom, L. W. (2000). B-chromosome evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 355, 163–178. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0556>
- Covelo-Soto, L., Morán, P., Pasantes, J. J., & Pérez-García, C. (2014). Cytogenetic evidences of genome rearrangement and differential epigenetic chromatin modification in the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). *Genetica*, 142(6), 545–554. <https://doi.org/10.1007/s10709-014-9802-5>
- Crouse, H. V., Brown, A., & Mumford, B. C. (1971). L-chromosome inheritance and the problem of chromosome „imprinting" in *Sciara* (Sciaridae, Diptera). *Chromosoma*, 34(3). <https://doi.org/10.1007/BF00286156>

- Del Priore, L., & Pigozzi, M. I. (2014). Histone modifications related to chromosome silencing and elimination during male meiosis in Bengalese finch. *Chromosoma*, *123*(3), 293–302. <https://doi.org/10.1007/s00412-014-0451-3>
- Du Bois, A. M. (1933). Chromosome behavior during cleavage in the eggs of *Sciara coprophila* (Diptera) in the relation to the problem of sex determination. *Zeitschrift Für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, *19*(3), 595–614. <https://doi.org/10.1007/BF00393361>
- Escribá, M. C., & Goday, C. (2013). Histone H3 phosphorylation and elimination of paternal X chromosomes at early cleavages in sciarid flies. *Journal of Cell Science*, *126*, 3214–3222. <https://doi.org/10.1242/jcs.128900>
- Gagné, R. J., & Jaschhof, M. (2014). *A catalog of the Cecidomyiidae (Diptera) of the world*. USDA. <https://citeserx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=0191f7955e3099ac7f528c3b03ca04f4bdf43a6e>
- Gallun, R. L., & Hatchett, J. H. (1969). Genetic Evidence of Elimination of Chromosomes in the Hessian Fly. *Annals of the Entomological Society of America*, *62*(5), 1095–1101. <https://doi.org/10.1093/aesa/62.5.1095>
- Gerbi, S. A. (1986). Unusual Chromosome Movements in Sciarid Flies. In W. Hennig (Ed.), *Germ Line—Soma Differentiation* (Roč. 13, s. 71–104). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-39838-7_2
- Geyer-Duszyńska, I. (1959). Experimental research on chromosome elimination in Cecidomyiidae (Diptera). *Journal of Experimental Zoology*, *141*(3), 391–447. <https://doi.org/10.1002/jez.1401410302>
- Goto, Y., Kubota, S., & Kohno, S. (1998). Highly repetitive DNA sequences that are restricted to the germ line in the hagfish *Eptatretus cirrhatus*: A mosaic of eliminated elements. *Chromosoma*, *107*(1), 17–32. <https://doi.org/10.1007/s004120050278>
- Gruzova, M., & Batalova, F. (1993). Oogenesis and meiotic divisions of predatory gall midge, *Aphidoletes aphidimyza* Rond. (Diptera: Cecidomyiidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, *22*(2–4), 315–334. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(93\)90017-U](https://doi.org/10.1016/0020-7322(93)90017-U)
- Haig, D. (1993). The evolution of unusual chromosomal systems in sciarid flies: Intragenomic conflict and the sex ratio. *Journal of Evolutionary Biology*, *6*(2), 249–261. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1993.6020249.x>
- Hansson, B. (2019). On the origin and evolution of germline chromosomes in songbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(24), 11570–11572. <https://doi.org/10.1073/pnas.1906803116>

- Hodson, C. N., Jaron, K. S., Gerbi, S., & Ross, L. (2021). *Evolution of gene-rich germline restricted chromosomes in black-winged fungus gnats through introgression (Diptera: Sciaridae)*. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2021.02.08.430288>
- Hodson, C. N., Jaron, K. S., Gerbi, S., & Ross, L. (2022). Gene-rich germline-restricted chromosomes in black-winged fungus gnats evolved through hybridization. *PLOS Biology*, *20*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001559>
- Hodson, C. N., & Ross, L. (2021). Evolutionary Perspectives on Germline-Restricted Chromosomes in Flies (Diptera). *Genome Biology and Evolution*, *13*(6). <https://doi.org/10.1093/gbe/evab072>
- Itoh, Y., Kampf, K., Pigozzi, M. I., & Arnold, A. P. (2009). Molecular cloning and characterization of the germline-restricted chromosome sequence in the zebra finch. *Chromosoma*, *118*(4), 527–536. <https://doi.org/10.1007/s00412-009-0216-6>
- Itoh, Y., Melamed, E., Yang, X., Kampf, K., Wang, S., Yehya, N., Van Nas, A., Replogle, K., Band, M. R., Clayton, D. F., Schadt, E. E., Lusi, A. J., & Arnold, A. P. (2007). Dosage compensation is less effective in birds than in mammals. *Journal of Biology*, *6*(2). <https://doi.org/10.1186/jbiol53>
- Johnson Pokorná, M., & Reifová, R. (2021). Evolution of B Chromosomes: From Dispensable Parasitic Chromosomes to Essential Genomic Players. *Frontiers in Genetics*, *12*, 727570. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.727570>
- Kahle, W. (1908). Die Paedogenesis der Cecidomyiiden. *Acta Zoologica*, *21*, 1–80.
- Kinsella, C. M., Ruiz-Ruano, F. J., Dion-Côté, A.-M., Charles, A. J., Gossmann, T. I., Cabrero, J., Kappei, D., Hemmings, N., Simons, M. J. P., Camacho, J. P. M., Forstmeier, W., & Suh, A. (2019). Programmed DNA elimination of germline development genes in songbirds. *Nature Communications*, *10*(1), 5468. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13427-4>
- Kohno, S., Nakai, Y., Sato, S., Yoshida, M., & Kobayashi, H. (1986). Chromosome elimination in Japanese hagfish, *Eptatretus burgeri* (Agnatha, Cyclostomata). *Cytogenetics and cell genetics*, *41*, 209–214.
- Kojima, N. F., Kojima, K. K., Kobayakawa, S., Higashide, N., Hamanaka, C., Nitta, A., Koeda, I., Yamaguchi, T., Shichiri, M., Kohno, S., & Kubota, S. (2010). Whole chromosome elimination and chromosome terminus elimination both contribute to somatic differentiation in Taiwanese hagfish *Paramyxine sheni*. *Chromosome Research*, *18*(3), 383–400. <https://doi.org/10.1007/s10577-010-9122-2>
- Kubota, S., Ishibashi, T., & Kohno, S. (1997). A germline restricted, highly repetitive DNA sequence in *Paramyxine atami*: An interspecifically conserved, but somatically

- eliminated, element. *Molecular Genetics and Genomics*, 256(1), 252–256. <https://doi.org/10.1007/s004380050567>
- Kubota, S., Kuro-o, M., Mizuno, S., & Kohno, S. (1993). Germ line-restricted, highly repeated DNA sequences and their chromosomal localization in a Japanese hagfish (*Eptatretus okinoseanus*). *Chromosoma*, 102(3), 163–173. <https://doi.org/10.1007/BF00387731>
- Malinovskaya, L. P., Zadesenets, K. S., Karamysheva, T. V., Akberdina, E. A., Kizilova, E. A., Romanenko, M. V., Shnaider, E. P., Scherbakova, M. M., Korobitsyn, I. G., Rubtsov, N. B., Borodin, P. M., & Torgasheva, A. A. (2020). Germline-restricted chromosome (GRC) in the sand martin and the pale martin (Hirundinidae, Aves): Synapsis, recombination and copy number variation. *Scientific Reports*, 10, 1058. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58032-4>
- Marlétaz, F., Timoshevskaya, N., Timoshevskiy, V. A., Parey, E., Simakov, O., Gavriouchkina, D., Suzuki, M., Kubokawa, K., Brenner, S., Smith, J. J., & Rokhsar, D. S. (2024). The hagfish genome and the evolution of vertebrates. *Nature*, 627(8005), 811–820. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07070-3>
- Matuszewski, B. (1961). Oogenesis in *Mikiola fagi* Hart. (Cecidomyiidae; Diptera). *Chromosoma*, 12(1), 741–811. <https://doi.org/10.1007/BF00328949>
- Mendez, R., & Richter, J. D. (2001). Translational control by CPEB: A means to the end. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2(7), 521–529. <https://doi.org/10.1038/35080081>
- Metz, C. W. (1925). Chromosome behavior in *Sciara* (Diptera). *The Anatomical Record*, 31, 346–334.
- Metz, C. W. (1938). Chromosome behavior, inheritance and sex determination in *Sciara*. *The American Naturalist*, 72(743), 485–520.
- Metz, C. W., & Schmuck, M. L. (1929). Unisexual progenies and the sex chromosome mechanism in *sciara*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 15(12), 863–866. <https://doi.org/10.1073/pnas.15.12.863>
- Metz, C. W., & Schmuck, M. L. (1931). Studies on sex determination and the sex chromosome mechanism in *Sciara*. *Genetics*, 16(3), 225–253. <https://doi.org/10.1093/genetics/16.3.225>
- Mohrig, W., Heller, K., Hippa, H., Vilkkamaa, P., & Menzel, F. (2013). Revision of the Black Fungus Gnats (Diptera: Sciaridae) of North America. *Studia Dipterologica*, 19(1–2), 141–286.
- Mueller, J. C., Schlebusch, S. A., Pei, Y., Poinet, M., Vontzou, N., Ruiz-Ruano, F. J., Albrecht, T., Reifová, R., Forstmeier, W., Suh, A., & Kempenaers, B. (2023). Micro Germline-

- Restricted Chromosome in Blue Tits: Evidence for Meiotic Functions. *Molecular Biology and Evolution*, 40(5), msad096. <https://doi.org/10.1093/molbev/msad096>
- Nagao, K., Otsuzumi, T., Chinone, H., Sasaki, T., Yoshimoto, J., Matsuda, M., Kubota, S., & Goto, Y. (2022). Novel selectively amplified DNA sequences in the germline genome of the Japanese hagfish, *Eptatretus burgeri*. *Scientific Reports*, 12(1), 21373. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26007-2>
- Nagao, K., Tanaka, Y., Kajitani, R., Toyoda, A., Itoh, T., Kubota, S., & Goto, Y. (2023). Bioinformatic and fine-scale chromosomal mapping reveal the nature and evolution of eliminated chromosomes in the Japanese hagfish, *Eptatretus burgeri*, through analysis of repetitive DNA families. *PLOS One*, 18(8), e0286941. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286941>
- Nakai, Y., & Kohno, S. (1987). Elimination of the largest chromosome pair during differentiation into somatic cells in the Japanese hagfish, *Myxine garmani* (Cyclostomata, Agnatha). *Cytogenetic and Genome Research*, 45(2), 80–83. <https://doi.org/10.1159/000132434>
- Nakai, Y., Kubota, S., Goto, Y., Ishibashi, T., Davison, W., & Kohno, S. (1995). Chromosome elimination in three Baltic, south Pacific and north-east Pacific hagfish species. *Chromosome Research*, 3(5), 321–330. <https://doi.org/10.1007/BF00713071>
- Nakai, Y., Kubota, S., & Kohno, S. (1991). Chromatin diminution and chromosome elimination in four Japanese hagfish species. *Cytogenetics and cell genetics*, 56, 196–198.
- Norris, D. O., & Carr, J. A. (2021). *Vertebrate endocrinology* (6th edition). Academic Press.
- Panelius, S. (1968). Germ line and oogenesis during paedogenetic reproduction in *Heteropeza pygmaea* Winnertz (Diptera: Cecidomyiidae). *Chromosoma*, 23(3), 333–345.
- Pei, Y., Forstmeier, W., Ruiz-Ruano, F. J., Mueller, J. C., Cabrero, J., Camacho, J. P. M., Alché, J. D., Franke, A., Hoepfner, M., Börno, S., Gessara, I., Hertel, M., Teltscher, K., Knief, U., Suh, A., & Kempnaers, B. (2022). Occasional paternal inheritance of the germline-restricted chromosome in songbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(4), e2103960119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2103960119>
- Pigozzi, M. I., & Solari, A. J. (1998). Germ cell restriction and regular transmission of an accessory chromosome that mimics a sex body in the zebra finch, *Taeniopygia guttata*. *Chromosome Research*, 6, 105–113.
- Pigozzi, M. I., & Solari, A. J. (2005). The germ-line-restricted chromosome in the zebra finch: Recombination in females and elimination in males. *Chromosoma*, 114(6), 403–409. <https://doi.org/10.1007/s00412-005-0025-5>

- Rídl, J., Dedukh, D., Halenková, Z., Schlebusch, S. A., Beneš, V., Lopez, M. O., Osiejuk, T. S., Ruiz-Ruano, F. J., Suh, A., Albrecht, T., Reif, J., & Reifová, R. (2025). *Germline-restricted chromosome of songbirds has different centromere compared to regular chromosomes*. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2025.01.23.634594>
- Rieffel, S. M., & Crouse, H. V. (1966). The elimination and differentiation of chromosomes in the germ line of sciara. *Chromosoma*, *19*(3), 231–276. <https://doi.org/10.1007/BF00326917>
- Saraceno, C., Timoshevskiy, V. A., & Smith, J. J. (2024). Functional analyses of the polycomb-group genes in sea lamprey embryos undergoing programmed DNA loss. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, *342*(3), 260–270. <https://doi.org/10.1002/jez.b.23225>
- Schlebusch, S. A., Rídl, J., Poignet, M., Ruiz-Ruano, F. J., Reif, J., Pajer, P., Pačes, J., Albrecht, T., Suh, A., & Reifová, R. (2023). Rapid gene content turnover on the germline-restricted chromosome in songbirds. *Nature Communications*, *14*(1), 4579. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40308-8>
- Schmitt, C. J., & Edwards, S. V. (2022). Passerine birds. *Current Biology*, *32*(20), 1149–1154. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.08.061>
- Schoenmakers, S., Wassenaar, E., Laven, J. S. E., Grootegoed, J. A., & Baarends, W. M. (2010). Meiotic silencing and fragmentation of the male germline restricted chromosome in zebra finch. *Chromosoma*, *119*(3), 311–324. <https://doi.org/10.1007/s00412-010-0258-9>
- Singh, P. B., & Belyakin, S. N. (2018). L Chromosome Behaviour and Chromosomal Imprinting in Sciara Coprophila. *Genes*, *9*(440), 1–9. <https://doi.org/10.3390/genes9090440>
- Slobodchikova, A. Y., Malinovskaya, L. P., Grishko, E. O., Pristyazhnyuk, I. E., Torgasheva, A. A., & Borodin, P. M. (2022). *Pachytene karyotypes of 17 species of birds*. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2022.01.01.473627>
- Smith, J. J., Antonacci, F., Eichler, E. E., & Amemiya, C. T. (2009). Programmed loss of millions of base pairs from a vertebrate genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(27), 11212–11217. <https://doi.org/10.1073/pnas.0902358106>
- Smith, J. J., Baker, C., Eichler, E. E., & Amemiya, C. T. (2012). Genetic Consequences of Programmed Genome Rearrangement. *Current Biology*, *22*(16), 1524–1529. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.06.028>
- Smith, J. J., Kuraku, S., Holt, C., Sauka-Spengler, T., Jiang, N., Campbell, M. S., Yandell, M. D., Manousaki, T., Meyer, A., Bloom, O. E., Morgan, J. R., Buxbaum, J. D., Sachidanandam, R., Sims, C., Garruss, A. S., Cook, M., Krumlauf, R., Wiedemann, L.

- M., Sower, S. A., ... Li, W. (2013). Sequencing of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) genome provides insights into vertebrate evolution. *Nature Genetics*, 45(4), 415–421. <https://doi.org/10.1038/ng.2568>
- Smith, J. J., Timoshevskiy, V. A., & Saraceno, C. (2021). Programmed DNA Elimination in Vertebrates. *Annual Review of Animal Biosciences*, 9(1), 173–201. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-061220-023220>
- Sotelo-Muñoz, M., Poignet, M., Albrecht, T., Kauzál, O., Dedukh, D., Schlebusch, S. A., Janko, K., & Reifová, R. (2022). Germline-restricted chromosome shows remarkable variation in size among closely related passerine species. *Chromosoma*, 131(1–2), 77–86. <https://doi.org/10.1007/s00412-022-00771-6>
- Staiber, W. (1988). G-banding of germ line limited chromosomes in *Acricotopus lucidus* (Diptera, Chironomidae). *Chromosoma*, 97(3), 231–234. <https://doi.org/10.1007/BF00292966>
- Staiber, W. (1989). Multivalent formation and pairing behavior of germ line limited chromosomes in male meiosis of *Acricotopus lucidus* (Diptera, Chironomidae). *Genome*, 32(6), 941–945. <https://doi.org/10.1139/g89-535>
- Staiber, W. (1991). Structural Homologies between Germ Line Limited and Soma Chromosomes in *Acricotopus lucidus* (Diptera, Chironomidae). *Journal of Heredity*, 82(3), 247–249. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111075>
- Staiber, W. (2004). Molecular evolution of homologous gene sequences in germline-limited and somatic chromosomes of *Acricotopus*. *Genome*, 47(4), 732–741. <https://doi.org/10.1139/g04-026>
- Staiber, W. (2007). Asymmetric distribution of mitochondria and of spindle microtubules in opposite directions in differential mitosis of germ line cells in *Acricotopus*. *Cell and Tissue Research*, 329(1), 197–203. <https://doi.org/10.1007/s00441-007-0400-z>
- Staiber, W. (2008). Centrosome hyperamplification with the formation of multiple asters and programmed chromosome inactivation in aberrant spermatocytes during male meiosis in *Acricotopus*. *Cell and Tissue Research*, 334(1), 81–91. <https://doi.org/10.1007/s00441-008-0671-z>
- Staiber, W. (2012). Germ line-limited and somatic chromosomes of *Acricotopus lucidus* differ in distribution and timing of alterations of histone modifications in male gonial mitosis and meiosis. *Chromosome Research*, 20(6), 717–734. <https://doi.org/10.1007/s10577-012-9308-x>
- Staiber, W., & Schiffkowski, C. (2000). Structural evolution of the germ line-limited chromosomes in *Acricotopus*. *Chromosoma*, 109(5), 343–349. <https://doi.org/10.1007/s004120000084>

- Strange, R. M., & Moore, L. L. (2019). Characterization and Evolution of Germ1, an Element that Undergoes Diminution in Lampreys (Cyclostomata: Petromyzontidae). *Journal of Molecular Evolution*, 87(9–10), 298–308. <https://doi.org/10.1007/s00239-019-09909-0>
- Stuart, J. J., & Hatchett, J. H. (1988). Cytogenetics of the Hessian fly: II. Inheritance and behavior of somatic and germ-line-limited chromosomes. *Journal of Heredity*, 73(3), 190–199.
- Sudhakaran, I. P., & Ramaswami, M. (2017). Long-term memory consolidation: The role of RNA-binding proteins with prion-like domains. *RNA Biology*, 14(5), 568–586. <https://doi.org/10.1080/15476286.2016.1244588>
- Ševčík, J., Kaspřák, D., Mantič, M., Fitzgerald, S., Ševčíková, T., Tóthová, A., & Jaschhof, M. (2016). Molecular phylogeny of the megadiverse insect infraorder Bibionomorpha *sensu lato* (Diptera). *PeerJ*, 4, e2563. <https://doi.org/10.7717/peerj.2563>
- Timoshevskaya, N., Eşkut, K. İ., Timoshevskiy, V. A., Robb, S. M. C., Holt, C., Hess, J. E., Parker, H. J., Baker, C. F., Miller, A. K., Saraceno, C., Yandell, M., Krumlauf, R., Narum, S. R., Lampman, R. T., Gemmell, N. J., Mountcastle, J., Haase, B., Balacco, J. R., Formenti, G., ... Smith, J. J. (2023). An improved germline genome assembly for the sea lamprey *Petromyzon marinus* illuminates the evolution of germline-specific chromosomes. *Cell Reports*, 42(3), 112263. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112263>
- Timoshevskiy, V. A., Herdy, J. R., Keinath, M. C., & Smith, J. J. (2016). Cellular and Molecular Features of Developmentally Programmed Genome Rearrangement in a Vertebrate (Sea Lamprey: *Petromyzon marinus*). *PLOS Genetics*, 12(6), e1006103. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006103>
- Timoshevskiy, V. A., Lampman, R. T., Hess, J. E., Porter, L. L., & Smith, J. J. (2017). Deep ancestry of programmed genome rearrangement in lampreys. *Developmental Biology*, 429(1), 31–34. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.06.032>
- Timoshevskiy, V. A., Timoshevskaya, N. Y., & Smith, J. J. (2019). Germline-Specific Repetitive Elements in Programmatically Eliminated Chromosomes of the Sea Lamprey (*Petromyzon marinus*). *Genes*, 10, 832. <https://doi.org/10.3390/genes10100832>
- Torgasheva, A. A., Malinovskaya, L. P., Zadesenets, K. S., Karamysheva, T. V., Kizilova, E. A., Akberdina, E. A., Pristyazhnyuk, I. E., Shnaider, E. P., Volodkina, V. A., Saifitdinova, A. F., Galkina, S. A., Larkin, D. M., Rubtsov, N. B., & Borodin, P. M. (2019). Germline-restricted chromosome (GRC) is widespread among songbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(24), 11845–11850. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817373116>
- Torgasheva, A., Malinovskaya, L., Zadesenets, K., Shnaider, E., Rubtsov, N., & Borodin, P. (2021). Germline-Restricted Chromosome (GRC) in Female and Male Meiosis of the

- Great Tit (*Parus major*, Linnaeus, 1758). *Frontiers in Genetics*, 12, 768056. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.768056>
- Vogt, P. (1990). Potential genetic functions of tandem repeated DNA sequence blocks in the human genome are based on a highly conserved “chromatin folding code”. *Human Genetics*, 84, 301–336. <https://doi.org/10.1007/BF00196228>
- Vontzou, N., Pei, Y., Mueller, J. C., Reifová, R., Ruiz-Ruano, F. J., Schlebusch, S. A., & Suh, A. (2023). Songbird germline-restricted chromosome as a potential arena of genetic conflicts. *Current Opinion in Genetics & Development*, 83, 102113. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2023.102113>
- Wang, J., & Davis, R. E. (2014). Programmed DNA elimination in multicellular organisms. *Current Opinion in Genetics & Development*, 27, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2014.03.012>
- White, M. D. J. (1973). *Animal cytology and evolution* (3rd edition). Cambridge University Press.