

Horizontální přenos genetické informace

Přenos z bakterií do eukaryot

Petr Šíma, Ilja Trebichavský

Autoři věnují honorář Nadaci Živa

„Živé dění je bra, v níž mimo její pravidla není nic trvalého“
Manfred Eigen (Nobelova cena 1967)

Bakterie si vyměňují geny nejen mezi sebou, ale za určitých okolností vnášejí své geny také do buněk eukaryotických organismů — hub, rostlin i živočichů. Jak jsme již zmínili, vznik eukaryotické buňky byl důsledkem horizontální výměny genetické informace, výsledkem symbiotického soužití eubakterií i archebakterií. Jakmile vznikly eukaryotické buňky, otevřela se v biosféře nová nika, kam mohly bakterie dále přinášet novelizující informaci. Genomy eukaryotických buněk se staly vhodným prostředím i pro viry, které přenos genetické informace a tím i vznik evolučních novinek ještě více urychlily.

Život ve skrytu

Bez nadsázky lze říci, že bakterie jsou všudypřítomné. Obsazují ta nejnehostinnější prostředí na naší planetě. Jsou schopny přežít bez světelné energie, pronikat pod povrch skal a do zvodněných hornin, kde byly nalezeny v hloubkách až 5 km, i vydržet hydrostatický tlak na dně nejhlubších oceánských příkopů. Byly zjištěny v okolí sopečných výronů, kde snášejí extrémní teploty i nad 100 °C a vysoké koncentrace toxických látek. Radiorezistentní bakterie jsou i v chladicích zařízeních jaderných reaktorů.

Na vlhkých površích žijí nespočetná množství mikroorganismů ve zvláštních společenstvech. Vytvářejí tenké povlaky, které však nejsou jednotné. Jsou to stále se měnící strukturované ostrovy propojené kanálky, kterými protéká voda s rozpuště-

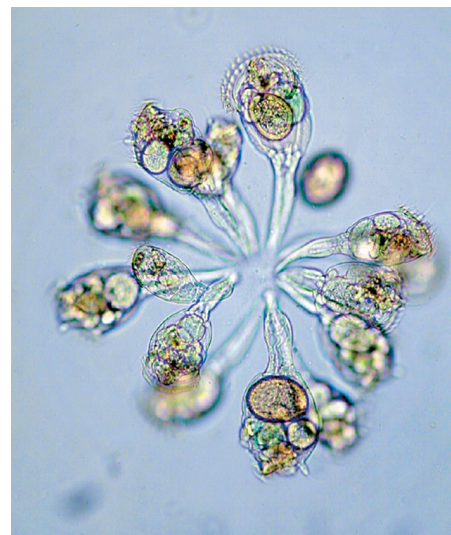
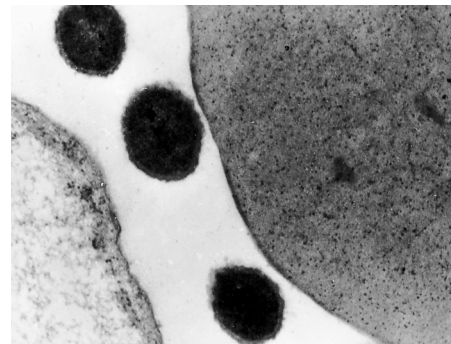
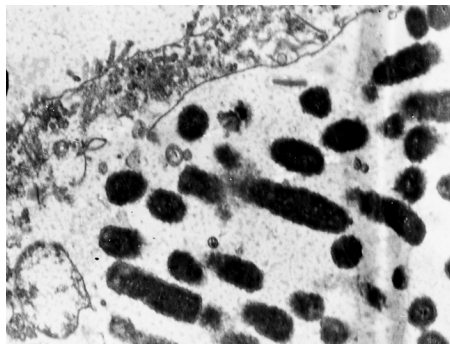
nými živinami. Tyto povlaky se nazývají biofilmy a utvářejí se nejen na neživých předmětech, na kamenech, ve vodovodních i odpadních potrubích, ale také na povrchu i uvnitř tělních dutin živočichů, rostlin a hub. Také v našem těle jsou podobné biofilmy a dostanou-li se do nich patogenní mikroby, mohou vyvolávat různá onemocnění. Např. bakterie dentálních plaků povlékajících zuby jsou příčinou kazů a později zánětů končících ztrátou postižených zubů. Bakteriální biofilmy ucpávají jemná větvení dýchacích cest při cystické fibróze, velmi těžkém onemocnění plic, anebo se uchytí na vnitřní stěně cév a srdce, což má za následek sepsi (otravu krve) nebo dokonce perforaci cévní stěny a smrt. Biofilmy také vznikají v pečlivě sterilizovaných kanylách a katetrech používa-

ných v nemocnicích. Zde jsou obzvláště nebezpečné, protože často obsahují bakterie, které se vyznačují mnohonásobně vyšší odolností k antibiotikům.

Přírodní biofilmy obsahují kromě bakterií různé druhy řas, prvoků, mikroskopických mnohobuněčných hlístů (*Nematoda*), vířníků (*Rotatoria*) a jiných druhů organismů (viz obr.). Díky této druhové pestrosti jsou biofilmy vhodným místem, kde se přes druhové bariéry nepřetržitě vyměňují genetická informace. Někteří prvoci hostí bakterie ve svých tělech bez zřetelné újmy jako komenzály. Např. améby mohou přechovávat původce cholery, břišního tyfu, legionářské choroby, tularémie nebo děložních zánětů. Bakteriím tento úkryt zřejmě prospívá, nerušené se zde množí, zvyšují si odolnost na antibiotika, a tak se stávají stále nebezpečnějšími. Uvnitř svých protozoálních hostitelů vytvářejících za nepříznivých podmínek cysty jsou také lépe chráněny. Améby s patogenními mikroby se snadno přenesou z kontaminované půdy či vody na šaty, ručníky a zejména na nechráněný povrch těla. Amébiální úkryt je jako Trojský kůň, z něhož se pak bakterie pohodlně dostávají do vnitřního prostředí živočichů nebo člověka.

Nahoře vpravo: Bakterie, které proniknou do krevního oběhu, mohou ohrozit život nemocného. Elektronová mikroskopie vlásečnice při sepsi (tmavá plocha je detail červené krvinky) ukazuje tři mikroby Escherichia coli. Tyto bakterie jsou úspěšným parazitem díky horizontálnímu přenosu genu virulence. Zvětšení 20 000x. Foto I. Trebichavský ♦ Vířníci rodu Conochilus jsou běžní ve sladkovodním planktonu, dole. Obvykle tvoří poměrně velké kulovité kolonie, což je chrání před některými predátory. Foto A. Petrusek

*Nahoře vlevo: Elektronová mikroskopie buňky tenkého střeva při těžké salmonelové infekci. Bakterie zcela vyplnily cytoplazmu a zničily mikroklky čnící do střevní dutiny. Průnik střevní bariérou umožnily salmonelám geny ostrůvků patogenity získané před mnoha desítkami milionů let horizontálním přenosem. Zvětšení 10 000x. Foto I. Trebichavský ♦ Vlevo dole příklad biofilmu. Běžnýmobyvatelem biofilmů izolovaných z písků jsou máloštětinatci naidky (*Pristina aequiseta*, *Oligochaeta*). Foto M. Rulík*





Ze škůdce genetickým inženýrem

Při endosymbiotickém soužití bakterií a prvků dochází k významné horizontální výměně genů. Tento mechanismus pohybu genetické informace se uplatňuje nejen mezi prokaryoty, jak jsme popsali minule (Živa 2006, 3: 98–100), ale i mezi prokaryoty a eukaryoty, a dokonce i mezi odlišnými druhy eukaryot.

Nejnámější bakterií, která přenáší své geny do rostlin, je *Agrobacterium tumefaciens*. Patří k významným bakteriím, které ve spolupráci s buňkami rostlinných pletiv vytvářejí hlízky (rhizobia), symbiotická společenství mikrobů na kořenech rostlin (Živa 2006, 1: 9–12). *A. tumefaciens* však vyvolává rostlinné nádory, protože je přenašečem plazmidu, jehož geny mění syntézu růstových hormonů v buňkách rostlinných pletiv.

Mechanismus plazmidového přenosu u agrobakterií objevila v 70. letech 20. stol. Mary-Dell Chiltonová na univerzitě v Seatlu (nyní pracuje ve společnosti Syngenta Biotechnology, Inc. v Severní Karolíně). Stala se zakladatelkou zcela nového vědního oboru — biotechnologie rostlin. Jejím dalším významným úspěchem bylo, že se jí podařilo z agrobakterií odstranit nádorotvorné geny, ale schopnost přenášet genetickou informaci zůstala zachována. To otevřelo cestu k praktickému využití agrobakterií jako přenašečů — vektorů genetické informace. Jejich prostřednictvím lze konstruovat nové, tzv. geneticky manipulované odrůdy rostlin nesoucí požadované užitné vlastnosti. V r. 2002 dostala M. D. Chiltonová za své objevy cenu Benjamina Franklina, což je prestižní americká obdoba Nobelovy ceny. Stejně významný podíl na vyřešení problematiky využití agrobakterií pro genetické manipulace přinesly evropské výzkumné týmy nedávno zesnulého J. Schella z Institutu Maxe Plancka v Kolíně nad Rýnem a R. A. Schilperoorta z Fytotechnologického centra univerzity v Leidenu.

Symbionti rostlin pracují pro nás

V rhizobiální symbióze žije řada dalších aerobních i anaerobních bakterií (*Azotobacter*; některé klebsiely a klostridia, sírné bakterie i sinice), některé z nich fixují dusík z ovzduší a syntetizují dusíkaté látky důležité pro výživu rostlin. V obhospodařovaných půdách probíhá fixace vzdušného

dusíku neintenzivně. Odhaduje se, že se v nich ročně váže na 90 milionů tun atmosférického dusíku, což je srovnatelné s množstvím dusíku pohlceného oceány, lesními porosty a ostatními biotopy Země dohromady. Tato fixační schopnost zemědělských půd závisí na vysoce specializovaných symbiotických bakteriích rodů *Rhizobium*, *Frankia* a *Azospirillum*. Jsou vybaveny důmyslným aparátem (tzv. transportním systémem III. typu), který si lze zjednodušeně představit jako mikroskopickou injekční jehlu. Jím injikují do rostlinných buněk plazmid, který obsahuje genové sekvence řídící fixaci dusíku. Podobný transportní systém používají i další, často zcela odlišné druhy bakterií (symbionti africké mouchy tse-tse, salmonely a někteří další původci střevních onemocnění). Geny, které tento složitý injekční aparát kódují, vznikly jako důsledek horizontálního přenosu, a také se jím šířily jako kompaktní genová kazeta.

Málokdy nám přijde na mysl, že na tomto mechanismu fixace vzdušného dusíku a jeho přeměny na čpavek a aminokyseliny je lidstvo závislé nejméně od doby neolitu, kdy se začalo zabývat pěstováním rostlin a zemědělské plodiny se staly významným zdrojem potravin. Dodnes na něj musí spoléhat většina lidí v rozvojových zemích, kteří si nemohou dovolit kupovat drahá umělá dusíkatá hnojiva.

Obnova životního prostředí

Před 10 lety byla objevena fytořemediace, což je odstraňování toxických látek (xenobiotik) jako olovo, rtuť, kadmium, arzen nebo organická rozpouštědla, benzen, toluen a xylen z kontaminovaných půd určitými druhy rostlin, které mají schopnost tyto látky akumulovat ve svých pletivech. Později se ukázalo, že účinnost fytořemediace lze zvýšit, použijí-li se transgenní rostliny nebo rostliny obsahující tzv. endofytické bakterie, jež kolonizují rostlinná pletiva, ale nevyvolávají onemocnění.

K endofytům patří např. *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus* a *Azospirillum*. Tyto bakterie, do jejichž genomů se metodami genetických manipulací vestavějí geny pro degradaci xenobiotik, mohou pak jako endosymbionti rychle rostoucích rostlin (např. topolů) urychlit sanaci kontaminovaných půd. Nadějně výsledky již přineslo využití endofytické bakterie *Burkholderia*

cepacia vličho bobu (*Lupinus*) obsahující plazmid odpovědný za rozklad toluenu v kontaminovaných půdách.

Ostrůvky patogenity

Rozdíl mezi neškodnou a patogenní bakterií je dán velmi často jenom přítomností plazmidu nebo fágové genové sekvence. Někdy se přenášejí celé sady genů o velikosti 10–200 kb, souborně označované jako ostrůvky patogenity (PAL, Pathogenicity Island, tab. 1). (Pozn.: Patogenitou se označuje schopnost mikroorganismu, bakterie či viru vyvolat onemocnění; virulence označuje míru patogenity.). Ostrůvky patogenity jsou názorným příkladem genetických kazet, které byly původně získány horizontálním přenosem a poté byly zafixovány v genomu bakterie (tab. 2). Kromě nich existují i další mobilní sady genů kódující jiné funkce, např. symbiózu (rhizobia), rezistenci nebo některé metabolické dráhy a sekreci metabolitů.

Typickými představiteli patogenních bakterií, které mají v genomu velké množství mobilní DNA, jsou bakterie *Salmonella enterica*. Vyvolávají salmonelózy, střevní záněty provázené vysokými horečkami, které mohou u dětí, seniorů nebo oslabených jedinců přecházet ve velmi nebezpečné systémové onemocnění ohrožující život. Salmonely vlastní pět ostrůvků patogenity. První z nich, který získaly přibližně před 80 miliony let, obsahuje soubor desítek genů umožňujících bakterii přestup ze střevní dutiny do vstřebávacích buněk střeva a tím do vnitřního prostředí organismu. Za normálních okolností epiteliální střevní buňky nejsou schopny fagocytovat. Salmonely však obdobou výše zmíněného mikroinjekčního systému do nich vpraví produkty kódované tímto ostrůvkem patogenity, které přinutí buňky vyrobit cytoskelet potřebný k vytvoření fagocytárního aparátu a k pohlcení salmonel a ten poté ihned zanikne. Salmonely tak zabrání i tomu, aby je následovaly jiné mikroby, jejich potenciální konkurenti.

Asi před 30 miliony let získaly salmonely druhý a třetí ostrůvek patogenity, které jim umožnily získat genovou výbavu pro přežití uvnitř specializovaných fagocytujících buněk — makrofágů. Díky těmto genům si salmonely vytvářejí vakuoly, které je nejen chrání, ale v nichž se mohou dokonce množit. Salmonely nakonec fagocytující buňky zahubí, šíří se dále, opět jsou pohlceny

Tab. 1 Příklady ostrůvků patogenity (PAI, kb = kilobáze) řídících některé funkce

Bakterie	PAI (kb)	Funkce
<i>Escherichia coli</i>	PAI-I (70) PAI-II (102)	hemolytická aktivita, hemaglutinace virulence bakterie u myší
EPEC (Enteropatogenní <i>E. Coli</i>)	LEE* (35)	zánik apikálních struktur (kartáčového lemu) střevních buněk**
<i>Yersinia pestis</i>	PAI (102)	pigmentace, cytotoxicita, adherence buněk
<i>Salmonella</i> Typhimurium	PAI (40)	invazivita mikroba***

* Locus of Enterocyte Effacement
 ** následek úporné průjmů
 *** průnik do nefagocytujících střevních buněk výstelky

Tab. 2 Příklady forem mobilní DNA odpovědných za virulenci (blíže v textu)

Vektor horizontálního přenosu	Patogenní mikroorganismus	Vektor virulence
PAI	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>	transportní systém III. typu
plazmid	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Clostridium botulinum</i>	antraxový toxin botulotoxin
fág	<i>Corynebacterium diphtheriae</i> <i>Vibrio cholerae</i>	difterický toxin cholery toxin
transpozon	<i>Neisseria meningitidis</i>	kapsula

a tento koloběh se neustále opakuje. Salmonely se staly nebezpečnými nitrobuněčnými parazity právě v důsledku horizontálního přenosu ostrůvků patogenity.

O 10 milionů let později se od salmonel, které parazitovaly na studenokrevných

obratlovcích, oddělily jejich mladší sestry, jež se specializovaly na teplotně odolnější hostitele. A před milionem let došlo k odštěpení další skupiny salmonel, které získaly do výbavy nové faktory virulence. Ve stejné době začalo šíření člověka vzpřímeného

(*Homo erectus*), jednoho z našich předchůdců, z Afriky na euroasijský kontinent. Tyto evolučně nejmladší salmonely se na nového primáta specializovaly. Vyvolávají tyfus a paratyfus, což jsou choroby, jimiž mohou onemocnět pouze lidé. Světová zdravotnická organizace zaznamenává každoročně na celém světě přes 30 milionů nových onemocnění břišního tyfu, jež zanechává 13 milionů bacilonosičů a bohužel také na 600 tisíc mrtvých.

Ostrůvky patogenity se vyskytují i u dalších patogenních bakterií, např. u *Yersinia pestis* — původce moru, nebo u *Shigella dysenteriae* — původce úplavice, která nejenže získala nové geny pro patogenitu, ale naopak ztratila geny, které ji omezovaly. Ostrůvky patogenity mají další příbuzné druhy střevních bakterií.

Závěr

Země je především planetou bakterií. Ony udržují chod celé biosféry. Díky horizontálnímu přenosu genetické informace a schopnosti rychle se množit se dokáží pružně přizpůsobovat změnám životního prostředí i zaujímat v přírodě nové niky. Je stále třeba mít na paměti, že bakterie daly vznik eukaryotické buňce, po miliardách let zcela nové entitě, na jejíž proměnlivosti spočívá rozmanitost forem života ve fanozoiku.

Poznali jsme, že bakterie se průběžně přizpůsobují globálním změnám a zachovaly si schopnost pronikat do nitra eukaryotických buněk. Vyvolávají sice různá onemocnění, ale stále nesou potenciál pro rozvoj biodiverzity.

Věnováno našemu učiteli Prof. Ctiradu Jobnovi.

9.-15. 10. 2006
 České Budějovice / Český Krumlov
 Česká republika / Czech Republic

ekofilm

XXXI. Mezinárodní filmový festival o životním prostředí, přírodním a kulturním dědictví
 XXXI. International Film Festival on the Environment and Natural and Cultural Heritage

www.ekofilm.cz