

# Horizontální přenos genetické informace

## Vznik evolučních novinek

Petr Šíma, Ilya Trebichavský

Autoři věnují honorář Nadaci Živa

„Jak všechno, vše se v celek tká  
jak jedno v druhém žije, brá.“  
J. W. Goethe (Faust)

Horizontální přenos genetické informace měl stěžejní význam pro evoluci živé hmoty do výše organizovaných forem. V jeho důsledku mohla vzniknout komplexní eukaryotická buňka, která si i nadále zachovala schopnost začlenit cizorodou genetickou informaci do svého genomu. Horizontální přenos byl významným faktorem evolučních inovací po miliardy let. Díky němu organismy získávaly nové struktury a orgány a také nové vlastnosti, které jim zabezpečily dokonalejší adaptaci. Pokusíme se ukázat, že rozrušení obratlovců do nescíslných forem bylo z velké části způsobeno právě horizontálním přenosem genetické informace.

### Nesmělé začátky eukaryot

Prozatím nejstarší geologické záznamy, které dokládají první eukaryotický organismus, vláknitou řasu *Grypania spiralis*, jsou odhadovány na dvě miliardy let (Živa 2006, 2: 50–52). Je nepravděpodobné, že by se eukaryotická buňka mohla vyvinout jinak než následkem endosymbiotického soužití asexuálních archebakterií a eubakterií, přičemž se genetické instrukce potřebné pro její další specializaci vyměňovaly pouze horizontální cestou. V tomto časově závratně rozsáhlém období postupovala evoluce živých forem stále pomalým tempem, takže fosilní důkazy o rozvoji a rozšiřování jednobuněčných eukaryotických organismů jsou geologicky doloženy až ve vrstvách odpovídajících stáří 1 450 až 900 milionů let. Mikrofosilie, které lze interpretovat jako eukaryotní, jsou uloženy spolu s bohatými nálezy prokaryotních organismů v křemičitanech uchovaných z té doby v Bitters Springs v Austrálii.

V těchto dobách muselo už s nejvyšší pravděpodobností existovat předávání ge-

netické informace vertikální cestou (sexuální), které urychlilo vznik nových genomů i mechanismů efektivního získávání živin (fagocytóza). Teprve po splnění těchto předpokladů mohlo dojít k nebyvalému rozrůžňování eukaryotických buněk do morfologicky i funkčně odlišných typů. Tato specializace byla předpokladem vzniku mnohobuněčných organismů.

### Evoluci mnohobuněčných podmínila schopnost obrany individuality

Paleontologové a zoologové diskutují okolnosti ovlivňující stav tehdejších podmínek na Zemi, uvažují i o vzájemných vztazích mezi organismy a pokoušejí se odhadnout i zákonitosti, jimiž se tehdy řídily jejich životní projevy, které směřovaly vznik komplexních mnohobuněčných organismů z jednotlivých nebo primitivní kolonie tvořících eukaryotních buněk. Téměř však opomíjejí, že právě v tomto nastupujícím eukaryotním živém světě se musela objevit dosud nevídaná novinka: něco, co zabezpečilo obranu integrity a tím neopakovatelnou

jedinečnost každé eukaryotní buňky, každého mnohobuněčného eukaryotního jedince. Organismy, které svoji integritu nedovedly ubránit, byly přirozeným výběrem odsouzeny k zániku: buď splynuly s jinými jako endosymbionti, nebo byly dezintegrovány a zanikly. Nemohlo by ani dojít k diverzifikaci forem, kterou máme doloženu ve fosilních záznamech. Tato schopnost obrany integrity se označuje obecně jako imunita (u rostlin a mikroobů často jako rezistence). Výstižně to napsal už před více než 30 lety americký lékař a biolog L. Thomas: „Příslušníci jednotlivých druhů mořských láčkovců (*Gorgonaceae*) jeví k sobě navzájem takovou individualistickou povznesenost, že se zdá, že mechanismy pro zachování individuality musely existovat dlouho před vývojem imunity.“

Jaké však byly prvotní imunitní mechanismy, kterými byla vybavena první eukaryotní buňka? Musely být dostatečně plastické, aby dovolily vstup a integraci endosymbiontů do buňky, spojování jednotlivých buněk nejprve do kolonií a posléze do integrálního mnohobuněčného organismu projevujícího se jako specifické individuum. A naopak, musely být dostatečně rigidní, aby zabránily napadení patogeny virem a bakteriemi a tím dezintegraci vlastního organismu. Tato nevyřešená problematika imunity je aktuální dodnes, kdy se imunologové na jedné straně snaží najít cesty, jak zabránit infekčním, autoimunitním, alergickým a nádorovým chorobám, a na straně druhé, jak překonat imunitní bariéry při náhradě nebo transplantaci orgánů.

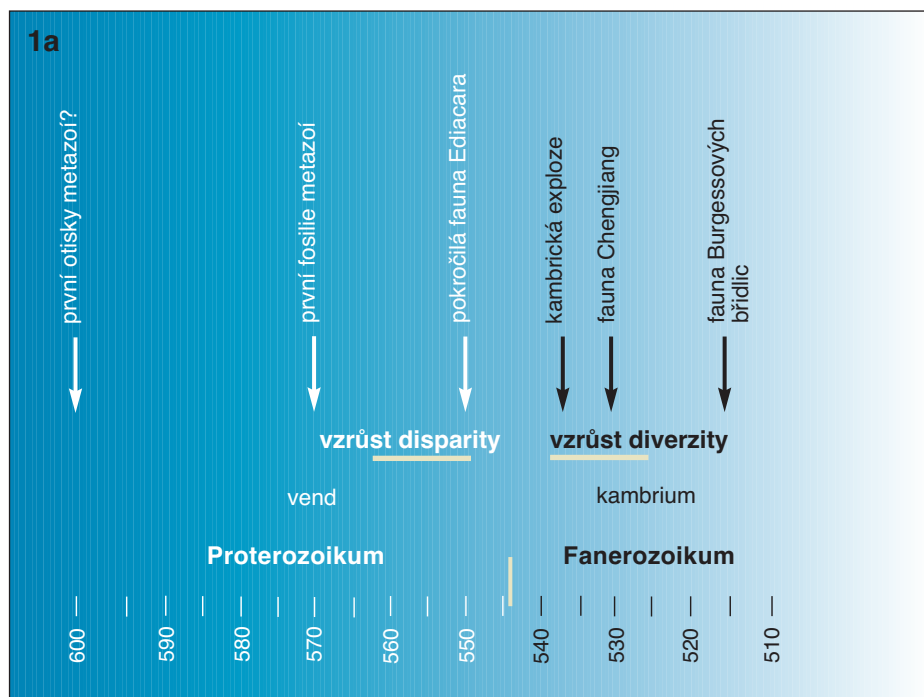
### Nástup mnohobuněčných organismů

Procesy sdružování buněk musely trvat stovky milionů let, kdy náhodně vznikala a zase zanikala různá tělní uspořádání do prostorových forem geometricky orientovaných podle jedné či více os symetrie. Tyto formy, podle nichž jsou stavěny příslušníci jednotlivých kmenů, dnes nazýváme základní tělní plány. S. J. Gould, známý i českým čtenářům, ve své knize *Wonderful Life* (Podivuhodný život, 1989) popisující tento dávný svět poznamenává, že vznikala spíše disparita, rozrůžněnost základních stavebních plánů těl, než diverzita, tj. rozrůžněnost druhů (obr. 1a).

Nezodpovězenou zůstávala otázka, jak dlouho trvalo, než se první mnohobuněční živočichové objevili na scéně. Ještě v r. 1944 se G. G. Simpson, autor monografie *Tempo and Mode of Evolution* (Tempo a způsob evoluce), která významně přispěla k rozvoji moderní evoluční biologie, píše: „Podstatné je, jak rychle se v přírodě objevili živočichové. To je zásadní problém, na nějž se každý genetik zeptá paleontologa.“

Současná paleontologie tuto otázku již z velké části zodpověděla: ke konci pro-

*Obr. 1a Podle nálezy podložených předpokladů paleontologů došlo ke konci vendu (nejmladší období prekambria) k nebyvalému nárůstu počtu různorodých forem eukaryotických organismů (vzrůst disparity), který trval jen několik desítek milionů let. Je pravděpodobné, že tyto formy relativně rychle obsadily rozdílná prostředí tehdejších praocéánů, v jejichž specifických podmínkách byly přirozeným výběrem formovány nové druhy, které se pak náhle objevily v průběhu kambrické exploze (vzrůst diverzity). Časová stupnice je v milíonech let*



Obr. 1b Poslední datování kambrické exploze, kdy se objevují příslušníci téměř všech dnes klasifikovaných kmenů živočichů, zkracují toto období na neuvěřitelných 5–10 milionů let. Současně se objevuje řada evolučních novinek, které se odrazily ve variacích základních tělních plánů i ve funkční specializaci buněk, tkání a orgánů. Kambrickou explozi nedovedeme doposud vysvětlit, protože neznáme podmínky, které formovaly tehdejší biosféru naší planety, ani vztahy mezi jejími ekosystémy

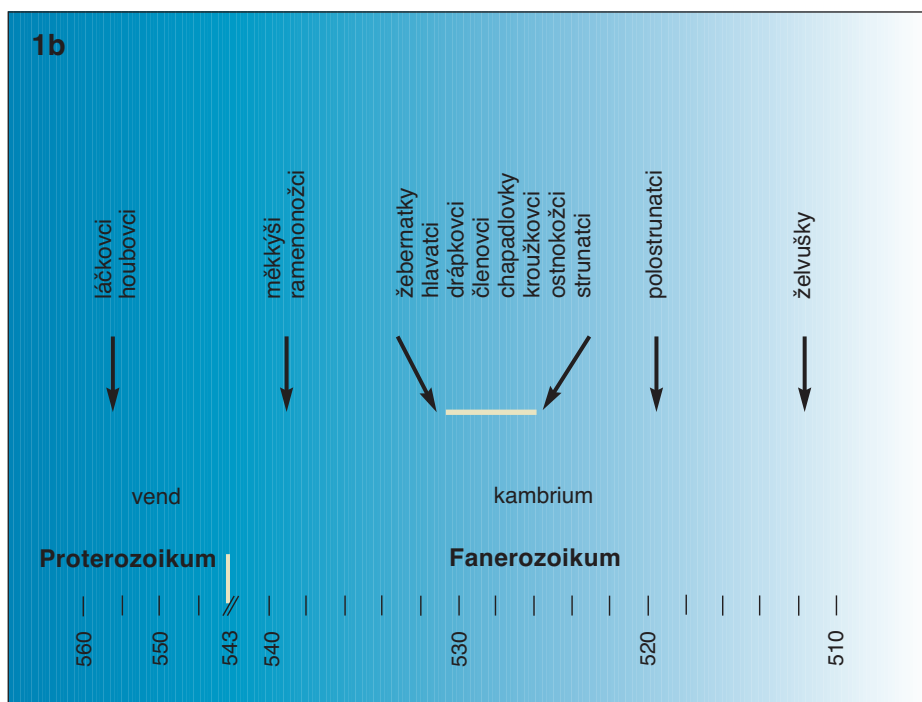
terozoika, asi před 650–570 miliony let, ve vendu (nejmladší období prekambria; podle Venedů, slovanského kmene obývajícího oblasti jižního Pobaltí), se ve fosilních záznamech náhle objevuje nová biota (nazývaná vendská nebo také ediakarská podle australského pohoří Ediacara asi 100 km severně od Adelaide, kde byly r. 1946 její fosilie nalezeny), která se rozšířila po celém světě. Její fosilní záznamy jsou známy rovněž ze Sibíře, Ruské tabule, jižní Číny, jižní Afriky, Anglie a USA. Dosahuje vrcholu rozvoje kolem 545 milionů let. Tyto měkkotělé organismy se rozrůznily do udivujícího počtu forem a druhů konstruovaných podle odlišných základních tělních plánů za tak krátký čas, který jim byl na Zemi vyhrazen.

Za několik desítek milionů let tato biota z biosféry zmizela a dnes těžko rekonstruujeme příčiny, které to způsobily. Bylo vysloveno mnoho teorií, které lze shrnout slovy uznávaného paleontologa A. Seilachera z Institutu a Muzea pro geologii a paleontologii v Tübingenu: „Tyto nápadné otisky těl však svědčí o nezávislém evolučním experimentu, jehož náhlý konec v závěru proterozoika byl způsoben spíše příchodem mnohobuněčných predátorů než fyzickými událostmi.“ Nikdo však nevzal v úvahu, zda k tomu nepřispěly také jiné faktory, jako nedostatek horizontálně přenášených genetických inovací, které genomy těchto živočichů nebyly schopny vestavět nebo využít pro zvýšení své adaptability, anebo naopak, nedokonalost jejich imunitních strategií, které selhaly v boji proti patogenům a parazitům.

### Nástup našich předchůdců

V průběhu kambria (současná paleontologie omezuje jeho trvání jen na 45 milionů let) stoupla hladina kyslíku v ovzduší na více než 10 %, což byly téměř ideální podmínky pro rozvoj heterotrofních živočichů. Povstává naprostá většina základních tělních plánů, podle nichž jsou dodnes uspořádání příslušníci recentních kmenů. Rozhodující je ale časový úsek, během něhož udivujícím způsobem vzrostla disparita i diverzita, objevilo se 32 z dnes klasifikovaných 33 živočišných kmenů, které přežívají do současnosti. Toto období bylo výstižně nazváno jako kambrická exploze nebo „velký třesk“ (Obr. 1a). J. S. Levinton pro Newyorské univerzity napsal v r. 1992 pro Scientific American: „Kambrickou explozi lze charakterizovat jako náhlé a téměř současně objevení se mnoha rozličných forem živočichů. Žádné další období v historii živočichů se nemůže tomuto pozoruhodnému výbuchu evoluční kreativity vyrovnat“ (obr. 1b).

Krátké trvání kambrické exploze je však podle současně uznávaných teorií o přírodním výběru velmi obtížně vysvětlitelné. Podle nejnovějších biostratigrafických a geo-



chronologických datování provedených výzkumníky z Massachusettského technologického institutu v USA v letech 1993–95 trvalo její časové rozmezí jen asi 5–10 milionů let. V. Petr z Ústavu geologie a paleontologie Přírodovědecké fakulty UK (Kritický úvod do teorie přírodního výběru, 1995) to vtípně komentuje: „Vědět o tom Darwin před 140 lety, patrně nikdy by svou teorii nepublikoval.“ Tím není myšleno, že je Darwinova teorie přírodního výběru chybná, jen musíme hledat jiná vysvětlení tohoto fenoménu, než je pomalá selekce nových mutací.

Je třeba si uvědomit, že v těchto vzdálených dobách, které jen stěží a nepesně rekonstruujeme, působily i jiné faktory. Rovněž je třeba mít na paměti, že to nejsou jen náhle vzniklé základní stavební tělní plány, ale zároveň se objevuje řada evolučních inovací, z nichž jako nejvýznamnější lze jmenovat nervovou a oběhovou soustavu, metamerii (člankovanost), skelet nebo specializované orgány hormonální regulace, trávicí soustavy, rozmnožování a pohybu. K tomu je třeba připočít i vznik nových imunitních strategií (Živa 1997, 1–4), pro něž se rovněž musely vytvořit komplexní strukturální základy. Nenabízí se zde k objasnění této podivuhodné kambrické události dosud neuvažovaná hypotéza kombinující endosymbiózu s mechanismy horizontálního přenosu genetické informace? Je také docela možné, že tato genová výměna přispěla k formování tzv. homeotických genů sdílených současnými příslušníky všech živočišných kmenů, které řídí jak embryonální vývoj, tak i orgánové funkce

Vybytnulá *Pikaia gracilens* byla asi 5 cm dlouhý živočich, který žil na dně kambrického moře. Její fosilie objevil v kanadských břidlicích (tzv. fauna Burgessových břidlic) r. 1911 Ch. Walcott a pojmenoval ji podle místa nálezu na Mount Pika. Roku 1979 označil S. Morris tohoto tvora jako prvního strunatce a nejstaršího známého předka obratlovců. Z archivu P. Šímy, upraveno

a které mohly kambrickou explozi rovněž urychlit.

### Rozhodující datum v historii života

Pokud se s naprostou jistotou ověří, že konec proterozoika a začátek fanerozoika (rozhraní vendu a kambria) lze časovat na 543 milionů let (určeno podle radiometrických údajů vulkanických usazenin), pak by se mělo toto datum učit ve školách, protože ho můžeme naprosto oprávněně považovat za přelom nejen v dějinách živých organismů, ale i v historii Země. Od tohoto geologického okamžiku začínou nesmírné počty jedinců příslušejících milionům různých druhů mnohobuněčných živočichů, ale i rostlin a hub, pozměňovat svou činnost veškerou planetární biosféru. Budou ji ovlivňovat i jejich mrtvá těla, která zfosilují, aby byla jedním z posledních výtvorů evoluce, člověkem, využívána jako základní surovina pro jeho potřeby.

### Na scénu přicházejí obratlovci

Kambrická exploze je významná ještě z jednoho hlediska: mezi tehdy náhle se

## 2 Vývoj morfofunkčních základů podmiňujících vznik adaptivní imunity u čelistnatců

taxon	buňky	orgány	molekuly
ostnokožci	lymfoidní	axiální orgán	imunoglobulin
polostrunatci	lymfoidní	?	imunoglobulin
strunatci	lymfoidní	stolon	?
bezčelistnatci	lymfoidní	tyflosolis	imunoglobulin

přenos RAG do genomu lymfocytů

čelistnatci      lymfocyty      thymus  
GALT  
kostní dřeň      imunoglobulin

objevivšími kmeny byli už první zástupci druhoústých (*Deuterostomia*) — ostnokožců (*Echinodermata*), polostrunatců (*Hemichordata*) a strunatců (*Chordata*), kteří jsou předchůdci obratlovců (*Vertebrata*). První známý strunatec, *Pikaia gracilens* (viz obr.), byl nalezen v tzv. fauně Burgessových břidelic nacházejících se v místech, kde pacifická kanadská železnice překonává hřeben Skalnatých hor.

Avšak brzy nato, měřeno geologickým časem za několik milionů let se na konci kambria od strunatců podobných kopinatců odštěpují první bezčelistní obratlovci (*Agnatha*). Jejich tělní stavební plán se od ostatních strunatců zcela odlišuje, i když základní prvky zůstávají stejné. Bezčelistnatci především získávají hydrodynamický tvar těla přísně orientovaný podle předozadní osy, chrupavčitou vnitřní kostru a osovou výztuž (notochord), která přetrvává po celý život. Poprvé v evoluci živočišstva se u nich objevují lymfocytům podobné buňky (lymfoidní), které jsou přímými prekurzory lymfocytů, jež u čelistnatých obratlovců představují hlavní výkonné

buňky adaptivní imunitní strategie. Chybějí však hlavní imunokompetentní struktury: thymus, kostní dřeň a organizovaná lymfoidní tkáň.

Mohlo by se zdát, že se vznikem sexuality a přeměnou nutriční fagocytózy na účinné obranné funkce horizontální přenos genetické informace jako by ztratil na evolučním významu. Avšak v 90. letech 20. stol. byl získán nezvratný důkaz, že významná evoluční inovace, tzv. adaptivní imunita, vznikla u čelistnatců na základě horizontálního přenosu genů.

### Záporný hrdina Theatrum Immunologiae

Odobí 60. let 20. stol. bývá označováno jako zlatý věk imunologie, která byla předtím jen pouhou součástí mikrobiologie a sérologie. Za toto jediné desetiletí se imunologie zcela osamostatnila jako svéprávný a dodnes se překotně rozvíjející biomedicínský vědní obor.

A hned zpočátku se začali vědci ptát: kde se vzala u ptáků a savců specifická

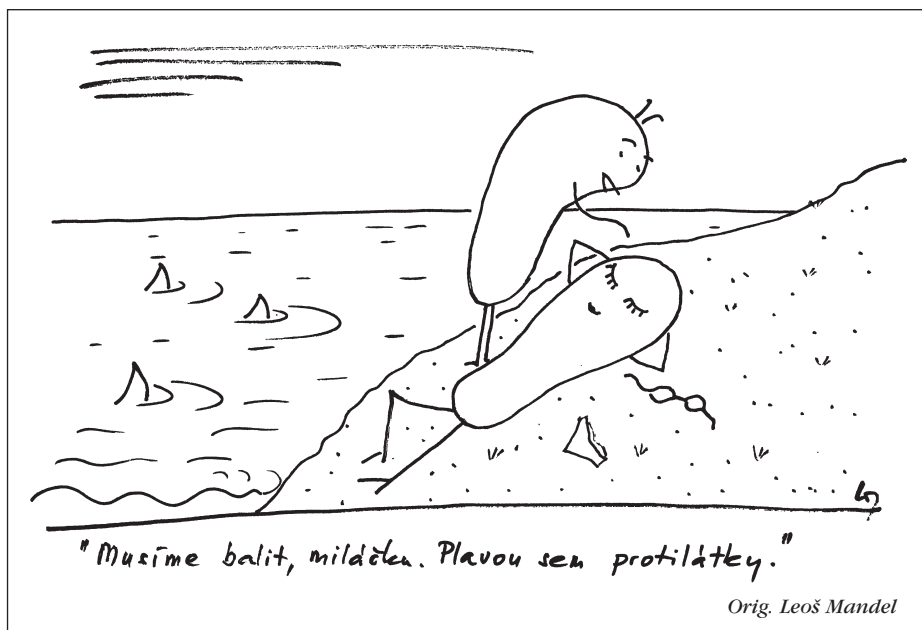
Obr. 2 Adaptivní imunita založená na molekulách imunoglobulinové nadrodiny se objevuje jako plně funkční s prvními čelistnatými obratlovci. Předpokládá se, že do genomu jejich předchůdců byly vneseny horizontálně (snad infekčním procesem jako transpozony bakterií) mobilní genové sekvence RAG-1 a RAG-2, které se u příslušníků ostatních taxonů druhoústých živočichů nevyskytují. I když u některých jejich zástupců byla prokázána přítomnost imunoglobulinových molekul a axiální orgán ostnokožců je pokládán za homologický slezině nebo tyflosolis (střevní řasa) za předchůdce se střevem spojené lymfoidní tkáně (GALT) obratlovců, a oba orgány obsahují lymfocytům podobné buňky, nemají adaptivní imunitu. Teprve geny RAG umožnily aktivaci rekombinace vazebných míst pro antigen v imunoglobulinových molekulách, takže např. protilátky jsou schopny vysoce specificky vázat všechny antigenní struktury, dokonce i ty, které se v přirodním prostředí nevyskytují a byly vytvořeny až činností člověka

imunita rozpoznávající s vysokou rozlišovací schopností nejen cizí organismy a jejich složky, ale i cizorodé substance? Mají tuto imunitu, která je provázena tvorbou imunoglobulinových protilátek a imunologickou pamětí, i studenokrevní obratlovci — ryby, obojživelníci a plazi? Aby se dalo na tyto otázky odpovědět, bylo zapotřebí obrátit se na jiné experimentální modely, než byli osvědčení králíci, morčata, potkani a myši. Výzkumný zájem se soustředil na dosud žijící zástupce nejstarších obratlovců. Byly vybrány bezčelistné mihule (*Cephalaspidomorphi*) a sliznatky (*Myxini*). Měly sehrát úlohu záporných hrdinů, jimž chybí specifická adaptivní imunita.

Pro naše čtenáře nebude jistě bez zajímavosti, že diskuse o původu adaptivní imunity, které se protáhly na dalších 25 let, začaly na imunologickém sympoziu konaném v Praze a na Slapech v r. 1969. Zde referoval G. H. Thoenes z UCLA, School of Medicine z Los Angeles, že původní pokusy R. A. Gooda a J. Finstadové z minnesotské univerzity (a i jiných badatelů), ve kterých nezjistili tvorbu protilátek u pacifické pasliznatky Stoutovy (*Epiplatetus stoutii*), nebyly provedeny, jak náleží. Prokazoval, že když se pečlivě dodrží podmínky, ve kterých tito živočichové žijí, reagují na imunizaci tvorbou protilátek a také odvrhují cizí transplantovanou tkáň. Záporný hrdina si napravil reputaci, ale jak se ukázalo, jen na čas.

Později byly izolovány klony DNA kódující protilátky mihulí a sliznatek, které odpovídaly sekvencím některých složek komplementové kaskády (která je podstatou přirozené — neprotilátkové — imunity), ale nebyly nalezeny sekvence typické pro protilátky imunoglobulinového typu čelistnatých obratlovců. „Učebnicové tvrzení, že adaptivní imunitní systém se vyvinul u všech obratlovců, je nyní zpochybněno.“ Tak komentovali tyto nálezy T. Matsunaga a E. Anderssonová z Univerzity v Umě a ve Švédsku v r. 1994.

Příběh našich záporných hrdinů však ještě nekončí; dokonce dokazuje, že se nemají dělat ukvapené závěry. Za 10 let na to se prokázalo, že sliznatky i mihule mají adaptivní imunitu, avšak založenou nikoli na molekulách z imunoglobulinové nadrodiny, ale na receptorech VLR (z anglického Variable Lymphocyte Receptor) jejich lymfocytů. Vazebná místa těchto receptorů



Obr. 3 Transkripční faktory GATA klanu Ikaros a PU.1 náležejí do multigenové rodiny, jejíž původ lze vysledovat ještě před rozštěpením prvoústých a drubouústých; v dospělosti je většina z nich angažována v krvevorbě, v embryogenezi působí jinde. PU.1 je pozoruhodnou výjimkou, nebyl mimo krvinevorbě nalezen jinde, s výjimkou embryogeneze u myši a kurčat. Pax-5 je homeotický gen rovněž řídící vývoj centrální nervové soustavy. Pax-5 kooperace s c-Myb aktivuje RAG-2. Scl reguluje hemopoézu. Multigenová rodina Tcf reguluje tvorbu T buněk, E2A reguluje přeskupování imunoglobulinu ve vyvíjejících se B buňkách. Sox-4 reguluje buněčnou diferenciaci, exprimuje se rovněž v centrálním nervovém systému, ale také při rakovině prsu. Orig. P. Šímy

pro cizorodé (antigenní) struktury tvoří rozpoznávací proteiny, které obsahují velký počet molekul aminokyseliny leucinu, takže se pro ně vžil zkratka LRR (z angl. Leucine-Rich-Repeats). Zárodečné VLR mají tuto rozpoznávací oblast ještě nekompletní, ale další vsouvání variabilních genových kazet LRR způsobí, že různé klony lymfocytů mají různé přeskupované produkty VLR a tím i rozdílná vazebná místa. Podobně jako je tomu u adaptivní imunity čelistnaticů, dochází po vazbě antigenu ke klonální expanzi lymfocytů, jejichž jednotlivé subpopulace nesou dostatečnou variabilitu pro vazbu nesčíslného množství cizorodých struktur.

Rozpoznávání pomocí struktur LRR bylo využito už v odlišné imunitě rostlin a bezobratlých živočichů a první obdobné systémy vznikly pro potřeby komunikace bakterií.

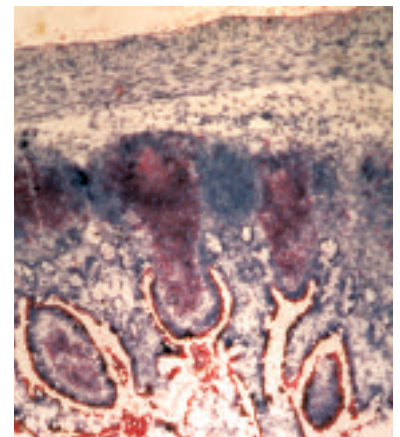
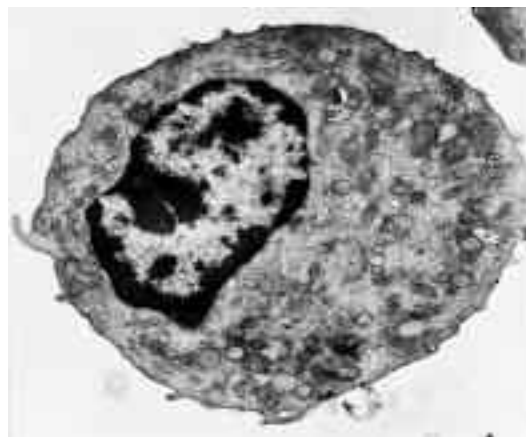
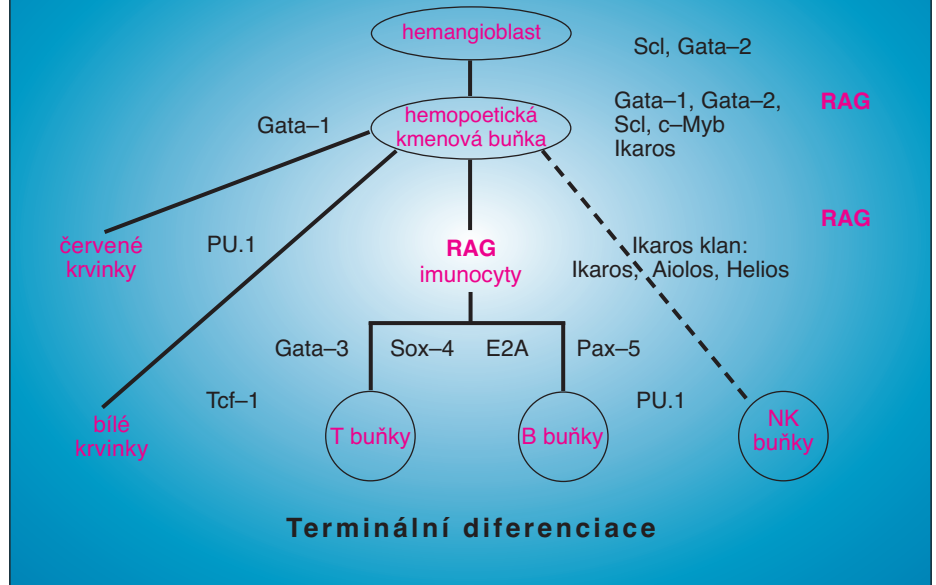
Bezčelistnatici, tito původně negativní hrdinové evoluční imunologie, si přece jen ke konci dramatu vylepšili svou pověst: vyvinuli vysoce účinnou adaptivní imunitu, i když pro ni nevyužili molekulu imunoglobulinu. Tato strategie jim umožnila přežít půl miliardy let a všechna velká vymírání. Dnes známe 57 druhů sliznatek a 44 druhů mihulí. O vzniku tohoto mechanismu však zatím nevíme nic. Možná, že se už v blízké budoucnosti prokáže, že se tyto rozpoznávací struktury dostaly do genomu bezčelistnaticů rovněž díky horizontálnímu přenosu.

### Vznik adaptivní imunity čelistnaticů

Druhý systém adaptivní imunity, který se téměř ve stejné době vyvinul u čelistnaticů (*Gnathostomi*), byl evolučně úspěšnější: jsou jím vybaveni všichni příslušníci dnes žijících taxonů, od paryb počínaje a teplekrevnými ptáky a savci konče.

První obratlovci vybavení čelistmi byli pancířnatí (*Placodermi*), kteří představují vymřelý sesterský taxon dodnes žijících paryb (*Chondrichthyes*), jejichž přímé předchůdce známe z konce ordoviku před 450 miliony let. Vznik čelistí paleontologové pokládají za patrně nejradikálnější evoluční stupeň v historii lebečnatých obratlovců (*Craniata*). Umožnil nejen drcení potravy a tím její účinnější nutriční a energetické využití, ale nastartoval podstatné změny základního tělního plánu, které usnadnily průnik těchto živočichů do všech nízkých planetárních biosfér. Výstižně to komentuje známý paleontolog E. H. Colbert (Evolution of the Vertebrates, 1980): „Jednou z velkých revolučních událostí v historii obratlovců byl vznik čelistí.“

## 3 Hierarchie transkripčních faktorů v krvinevorbě čelistnaticů – účast RAG



Jejich evoluční význam lze stěží docenit, protože otevřely nové cesty pro adaptaci a nové možnosti pro evoluční pokrok obratlovců...

Stejný význam lze přisoudit vzniku adaptivního imunitního systému, který, jak bylo řečeno, je unikátní v celé živočišné říši a mají jej jen čelistnatici. Tato adaptivní imunitní strategie je založena na proteinech imunoglobulinové nadrodiny: patří sem protilátky, membránové receptory T a B lymfocytů i další efektorové molekuly imunity. Avšak základním předpokladem bylo zařadit do základního tělního plánu vznik lymfoidní tkáně, která je strukturální *conditio sine qua non* veškerých imunitních procesů (obr. 2).

### RAGtime přichází

Původ adaptivní imunity čelistnaticů je spojen s geny RAG-1 a RAG-2 (z anglického Recombination Activation Genes) pro enzymy rekombinázy, které umožnily přeskupování genových segmentů kódujících vazebné místo pro antigen na molekule imunoglobulinu a tím generování nezměrné diverzity. Odhaduje se, že počet vazebných míst může dosahovat až  $10^{18}$ , což zajišťuje specifickou odpověď i na struktury, které se v přírodě nevyskytují.

RAG byly vneseny do genomu dávných čelistnaticů patrně jako transpozony bakte-

Vlevo elektronová mikroskopie lymfocytu. Tato ústřední buňka adaptivní imunity nese informaci o specifické a organismu cizí chemické struktuře. Se „svým“ antigenem se setká pouze jediný z 10 000 lymfocytů. Toto setkání mu zaručí přežití a namnožení do tisíců totožných dceřinných buněk — do klonu odpovědného za imunitní reakci proti antigenu. Zvětšení je 10 000x. Na modře obarveném řezu tenkým střechem (vpravo) jsou červenou reakcí ve střečních klcích a lymfatických folikulech prokázány buňky obsahující protilátky. Mukus pokrývající vnitřní povrch střeva a přítomný ve střešní dutině obsahuje také protilátky. To, že se protilátky dostanou do střešní dutiny má obrovský význam pro naše přežití. Obalí škodlivé mikroby a znemožní jim nasednout na střešní výstelku a proniknout do nitra organismu. Zvětšení 100x. Snímky I. Trebichauského

Tab. 1 Podobnost RAG a některých transpozonů

Integráza HIV
Rostlinné transpozony Ac Ds, Tam3
Transpozon drozofily „hobo“
Houbový transpozon ( <i>Ascobolus immer-sus</i> ) Ascot-1
Integrační faktory <i>Escherichia coli</i>
Hin invertáza salmonel

ří. Na horizontální přenos RAG-1 a RAG-2 ukazuje řada podobností s jinými transpozony: přepis DNA probíhá jako u jiných mobilních elementů, integrují se podobně jako viry HIV (původci onemocnění AIDS) a jejich integrázy štěpí DNA podobně jako integrázy HIV (tab. 1).

O horizontálním přenosu RAG je dnes přesvědčena většina vědců. Jako nejpravděpodobnější cesta přenosu se nabízí infekční proces. Je dokonce možné, že k tomuto přenosu byl již připraven terén, protože v r. 2005 byl objeven u kopinatců (*Cephalobordata*) homolog aktivátoru RAG-1. Samotný RAG-1 však v databázi genů kopinatce identifikován nebyl. Ani v genomu bezčelistných se RAG nenacházejí, a proto nemají imunoglobulinové receptory a netvoří ani protilátky.

Lze předpokládat, že lymfocyty prvních čelistnatých obratlovců byly dostatečně vhodným terénem pro přijetí genových kazet RAG. Podle současných znalostí mohly být zdrojem RAG ty druhy bakterií, které se dostaly do zárodečné lymfocytární linie, adaptovaly se na nitrobuněčný život a přenesly část svého chromozomu do chromozomu hostitelských buněk. Tyto bakterie mohly žít po dostatečně dlouhou dobu

v buňkách jako komenzálové. Podobné případy jsou známy u členovců a kroužkovců, u nichž bakterie rodu *Wolbachia* určují chování nebo plodnost svých hostitelů. Někteří autoři dokonce prokazují, že RAG jsou velmi podobné invertázám a integračním faktorům prokaryot, které už byly identifikovány u bakterie *Escherichia coli* a salmonel.

### RAG jsou pouze v lymfocytech

Tento fakt je dosud zahalen tajemstvím. Nevíme, proč RAG nejsou i v jiných buňkách, je ale jisté, že rekombinace genových segmentů u receptorů pro antigen je tak hlubokým zásahem do genomu, že musel být přísně omezen pouze na linii lymfocytů a musel být regulován zcela novými mechanismy oprav DNA. Jeho daní je obrovské množství chyb — lymfocytárních nádorových onemocnění. Sama inkorporace RAG je záhadná, protože tvorba lymfocytů je regulována kaskádou tzv. transkripčních faktorů z multigenových rodin, z nichž řada byla získána rovněž přenosem mobilních genových sekvencí. Problematika krvetvorby je však natolik složitá, že se omezíme na schema, které přináší jen nejzákladnější

představu o účasti RAG a dalších transkripčních faktorů (obr. 3).

### Otázky na závěr

Je nezvratně prokázáno, že horizontální přenos genetické informace může za určitých okolností hrát v evoluci závažnou úlohu, jejíž důsledky mohou být dalekosáhlé. Ukázali jsme si to na příkladu adaptivní imunity čelistnatců. V této souvislosti se přímo vnučují neodbytné otázky: Mohou se dnešní nitrobuněční bakteriální parazité jako *Salmonella*, *Shigella*, *Francisella* nebo dokonce viry (viz podobnost RAG a HIV!) stát přenašeči nové genetické informace? Nebo to budou mobilní části DNA z jiných organismů, o jejichž působení vůbec nic nevíme? Jak dlouho bude trvat, než se evoluční inovace projeví? Bude to sto let, tisíciletí nebo déle? Mohou vůbec vzniknout nové vlastnosti, orgány a funkce u současných rostlin, živočichů nebo dokonce u lidí, podobně jak se to stalo s adaptivní imunitou v průběhu kambria?

Věnováno našemu učiteli Prof. Ctiradu Johnovi.

## Genomika a bioinformatika

### Jak se hledají geny

#### Jan Pačes

Genomika je v současnosti ve vědách o životě velmi frekventované slovo. Ne každý si však dokáže pod takovým slovem představit něco konkrétního. Ani krátké vysvětlení: „genomika je obor zabývající se analýzou genomů“ nám mnoho konkrétního neřekne. Termín bioinformatika pak může být pro laika úplně mystický. Opět krátce: bioinformatika se snaží udělat v počítači to, co dělá každá buňka našeho těla, každá bakterie, každý živý organismus dnes a denně: přečte si genetickou informaci uloženou v DNA, deoxyribonukleové kyselině, a tuto informaci analyzuje a používá. Ale jak se DNA analyzuje?

V tomto krátkém článku bych rád popsal, co vlastně vědec zabývající se genomikou a bioinformatikou ve skutečnosti dělá, když analyzuje genom.

### Čtení DNA

Genomika začíná prací v laboratoři, kde se informace z molekuly DNA převádí do počítače. DNA je totiž právě ta jedinečná molekula, která je pro genomiku nejdůležitější, která nese informaci o tom, kým jsme a co se z nás stane.

Celá genetická abeceda má čtyři písmena: A, C, G a T, což jsou zkratky základních chemických komponent adeninu, cytosinu, guaninu a thyminu, které jsou v molekule DNA jako součást tzv. nukleotidů.

*Obr. 1 Čtení DNA: jednotlivé různobarevné vlny jsou záznamem strojového čtení DNA. Zjednodušeně si proces čtení můžeme představit takto: každé písmenko genetické abecedy (nukleotid) je označeno jednou barvou (např. T červeně). Části DNA jsou protlačovány skrz kapiláru, na jejímž konci snímá digitální kamera barvu podle toho, které písmenko právě prochází kolem čidla. V horní části obrázku je vidět sled písmen, jak ho počítačový program odvodil ze spodního čtyřbarevného grafu (blíže v textu)*

