

# Příběh lidského genomu

„Vývoj biologie v budoucnu do určité míry zničí naše tradiční základy pro etická přesvědčení a není snadné vidět, co bychom měli dát na jejich místo.“

Francis Crick

**Mezi biology se říká, že molekulární genetika jde dnes dopředu ještě rychleji než texty autorů science fiction. Za posledních 10 let se cena sekvenování genomu kohokoli z nás snížila milionkrát. Rychlý postup přináší důležitý vzkaz: v molekulární genetice nejde vůbec o to, že bychom jen zpřesňovali objevy minulých let. Naopak, všude, kam vkročíme, nalézáme netušené možnosti a nové souvislosti a skutečnost je vždy zajímavější než naše představy o ní. Začínáme pomalu rozumět lidskému epigenomu a mikrobiomu, víc a víc si uvědomujeme důležitost obou. Co přinese zítřek, je mimo naši představivost.**

Pokud by čtenář těchto řádků chtěl navštívit Kuvajt, ať již jako turista, nebo z pracovních důvodů, bude nejspíše překvapen. Na letišti bude odveden do speciální místnosti, kde mu vyškolený pracovník tampónem vytře ústní dutinu za účelem odebrání tkáně pro analýzu DNA. Kuvajt jako první stát na světě ustanovil 2. července 2015 zákon, podle něhož všichni lidé pohybující se na území státu jsou povinni poskytnout buď vzorek slin, nebo krve umístěný na speciální kartu za účelem vytvoření genetického profilu. Takto získané informace poslouží k případné identifikaci obětí teroristických útoků a rovněž případných útočníků. Zákon realizovali v druhé polovině r. 2016. Je v něm řeč i o tom, že databáze poslouží k řešení paternitních sporů. DNA se bude odebírat od všech 1,3 milionu občanů – vzorky budou sbírat mobilní centra, která se budou přemísťovat podle zvláštního plánu, nebo se budou odebírat přímo na pracovištích; od rezidentů z jiných zemí (2,9 milionu lidí) v okamžiku udělení víza nebo při prodloužení víza; od návštěvníků po příletu na letištích; všichni turisté budou předem uvědoměni o svých právech a povinnostech.

Postihy nejsou zanedbatelné. Neuposlechnutí zákona bude trestáno rokem ve vězení nebo pokutou 33 tisíc amerických dolarů. DNA bude sekvenována a uložena

do databází v centru zřízeném k tomuto účelu. Pokus o padělání vzorků DNA bude trestán až 7 lety ve vězení anebo pokutou 5 000 kuvajtských dinárů, což je kolem 16 600 amerických dolarů.

Návrh zákona byl předložen po 26. červnu 2015, kdy teroristé odpálili v mešitě v hlavní městě bombu, která zabila nejméně 25 lidí. K akci se přihlásila organizace Islámský stát. Kuvajt v reakci na tento atentát vyhlásil, že se nachází ve válečném stavu, kdy je možno zavést opatření, která by v mírových dobách těžko prošla. Pro srovnání – Evropský soud pro lidská práva konstatoval, že „odebírání vzorků DNA neusvědčeným občanům (...) by nemělo být vnímáno jako nezbytné v demokratických společnostech.“ I když mnohé státy mají již dlouho databáze s genetickými profily různých skupin svých občanů (v USA např. všech vojáků účastnících se zahraničních misí; často se uchovávají i vzorky DNA recidivistů), dosud nikdy žádný stát nenařídil odebrat vzorky DNA plošně všem občanům.

## Cesta k DNA

Příběh ale začal mnohem dřív a musíme se v něm vrátit až do pozoruhodného desetiletí 1859–69, které přineslo tři velmi významné objevy. V r. 1859 vychází O původu druhů Ch. Darwina, 1865 G. J. Mendel

přednáší o pokusech s rostlinnými hybridy a 1869 Švýcar J. F. Miescher objevuje v jádrech bílých krvinek chemickou látku, která je slabě kyselá, pojmenoval ji proto nukleová kyselina (NK). Litevsko-americký badatel P. A. Levene ve 20. letech 20. stol. učinil dva objevy. Správně uhodl, že NK může být rozložena na jednotlivé nukleotidy, obsahující pětiuhlíkatý cukr, fosfátovou skupinu a jednu ze čtyř bází: adenin (A), guanin (G), cytozin (C), thymin (T). Nesprávně se ale domníval, že základním stavebním kamenem DNA je tetranukleotid – blok ACGT. Pak by však NK nemohla nést žádný druh informace.

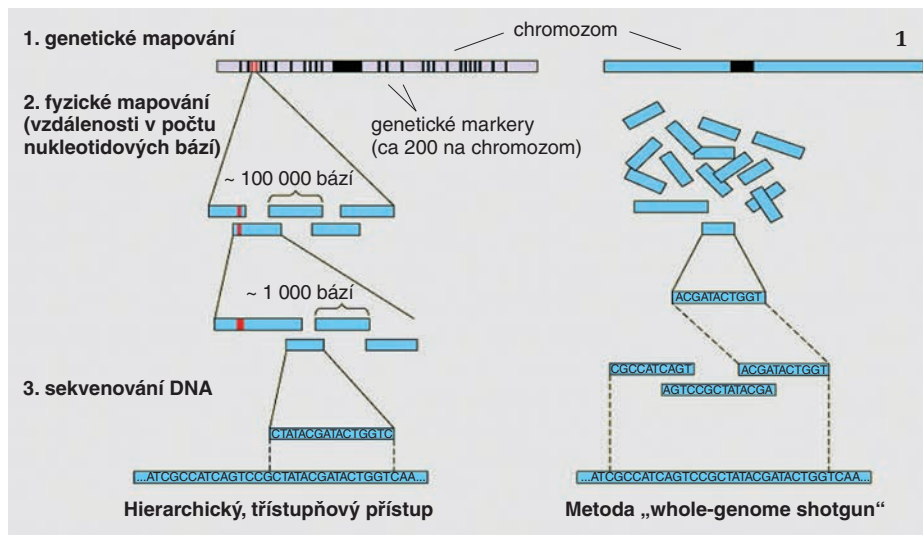
V r. 1928 F. Griffith hledal lék proti bakterii *Streptococcus pneumoniae* způsobující zápal plic, a v jedné variantě pokusu objevil „transforming factor“ – látku, která je z horkem usmrčené patogenní formy bakterie schopna přejít do neškodné formy a proměnit ji v patogenní. Díky Leveneho autoritě a jeho tetranukleotidové teorii se předpokládalo, že molekulou odpovědnou za dědičnost budou spíše proteiny než DNA. Roli také hrálo, že tehdy známých aminokyselin (AMK) tvořících proteiny bylo 20 – číslo blízké 26 písmenům anglické abecedy. Navíc všichni věděli, že chromozomy se skládají právě ze směsi NK a proteinů.

Konečně v r. 1944 přichází článek, který J. Watson později nazve „Averyho bomba“. O Avery, M. McCarthy a C. MacLeod po pečlivých analýzách zjišťují, že Griffithův transforming factor je spíše DNA než proteiny. E. Chargaff v r. 1947 analyzoval DNA různých organismů a objevil, že obsah jednotlivých dusíkatých bází se liší mezi druhy, ale v buňkách jednoho druhu je stálý. Také se ukázalo, že množství A je v dané molekule vždy stejné jako T a množství G stejné jako C. Tímto objevem padla tetranukleotidová teorie.

Jistotu přinesl až r. 1952, kdy A. Hershey a jeho asistentka M. Chase provedli experiment geniální svou jednoduchostí. Vytvořili dvě skupiny virů – první obsahovala radioaktivní síru <sup>35</sup>S, druhá radioaktivní fosfor <sup>32</sup>P. Těmito viry infikovali dvě skupiny bakterií. Bylo využito faktu, že fosfor se nachází v DNA, ale ne v bílkovinách, a síra je naopak v bílkovinách, ne v DNA. Po omytí bakteriálních buněk svítily ty napadené viry s <sup>32</sup>P. Dovnitř bakterie se tedy dostává NK viru a nikoli proteiny, a chemikálií odpovědnou za dědičnost je nukleová kyselina. 25. dubna 1953 pak publikují J. Watson a F. Crick slavný text v *Nature*, který má jednu stránku a jeden řádek, později považovaný za nejvýznamnější objev biologie 20. stol. – odhad prostorové struktury DNA.

Následují 60. léta, snaha prolomit genetický kód a pochopit, jak se jazyk DNA překládá do jazyka proteinů. Uměle vytvořená mediátorová RNA (mRNA) ze samých uracilů (U) se přeloží do proteinu složeného ze samých fenylalaninů, UUU tedy znamená fenylalanin, mRNA z cytozinů poskytne řetěz prolinů, CCC je tak slovo pro prolin. M. W. Nirenberg jako první poukázal

1 Pomalá, pracná, ale spolehlivější metoda sekvenování lidského genomu veřejného konsorcia (vlevo), riskantnější, ale mnohem rychlejší metoda firmy Celera Genomics (vpravo). Blíže v textu. Z archivu autora



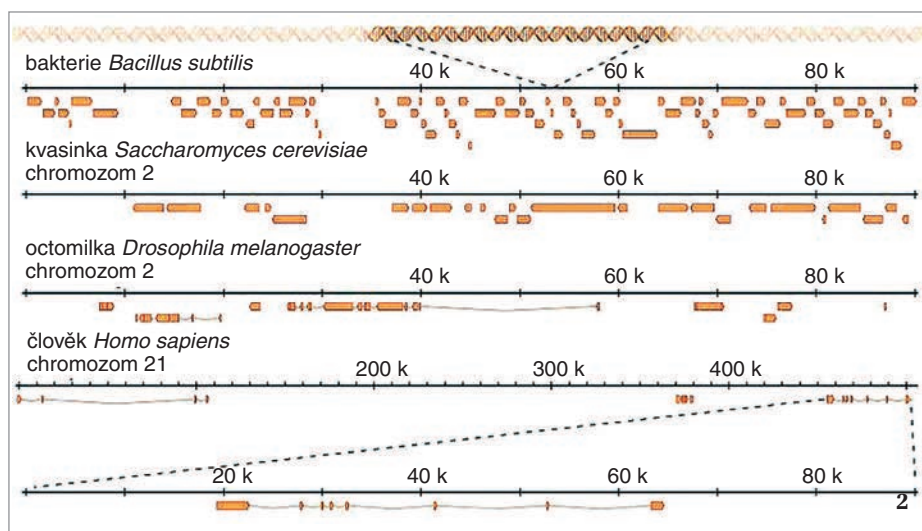
na souvislost mezi tripletovými kodony a AMK. H. G. Khorana jeho práci rozšířil a našel kódy pro AMK, které Nirenbergova metoda najít nemohla. Za svůj výzkum oba obdrželi Nobelovu cenu (1968).

V r. 1977 přichází průlomový objev. Týmu F. Sanger se podařilo přečíst DNA viru  $\phi$ X 174. Čísla jsou důležitá. DNA obsahovala 5 386 párů bází (pb), Sangerova laboratoř na výzkumu pracovala 7 měsíců a za objev F. Sanger dostal v r. 1980 Nobelovu cenu. Již druhou, první získal za objev struktury inzulinu. V r. 1981 další průlom, přečtení sekvence DNA lidské mitochondrie. Zde byl genom přibližně třikrát větší, 16 569 písmen.

V r. 1986 bylo poprvé nahlas a zdokumentovaně vysloveno, že by se měl sekvencovat genom člověka. V polovině 80. let se však tato představa zdála jako čirá utopie. Haploidní genom lidské buňky má totiž velikost 3,2 miliardy písmen a bylo zřejmé, že věc je mimo možnosti lidstva. Ještě myšlenka zde již byla a všem bylo zřejmé, jak mnoho by znalost genomu člověka posunula lékařství i molekulární genetiku. Přední americký genetik F. Collins mnohem později přirovnal celou situaci k pozici člověka, který na dlouhé a tmavé ulici, kde svítí jediná pouliční lucerna, ztratil klíče. Nezbyvá nic jiného, než hledat pod lampou, ale pravděpodobnost, že klíče ztratil právě zde, je minimální. Přečtení celého genomu člověka by se rovnalo rozsvícení celé ulice. Collins věděl, o čem mluví, neboť to byl on, kdo objevil v r. 1989 gen *CFTR* pro transmembránový regulátor – kolem 2 000 různých mutací tohoto genu způsobuje cystickou fibrózu.

Projekt lidského genomu (HGP, Human Genome Project) byl oficiálně zahájen v r. 1990, s předpokládanou dobou trvání 15 let, očekávanou cenou tři miliardy dolarů. Mělo jít o spojené celoplanetární úsilí nejlepších laboratoří. I tak se očekávala jednotvárná a ubíjející práce, která na mnoho let přikurtuje k laboratorním stolům generace doktorandských studentů. Dokonce se objevil názor, míněn jako vtip, že by se k této práci mohli využít vězni, třeba by někdo mohl být odsouzen k 20 milionům písmen. Skoro celá 90. léta tak byla věnována především automatizaci procesu, hledání nových postupů. Několik zajímavostí: základem, i když různě zdokonalovaná a sofistikovaná, ale v principu přesto pořád stejná, se stala Sangerova „dideoxy“ metoda. (Pro ni se užívají fragmenty DNA o délce 200–300 pb, ale ne delší. K vláknům DNA neznámé sekvence přidáme radioaktivně značený primer – krátký komplementární řetězec – a pak směs všech čtyř nukleotidů. Na závěr obdržíme DNA různých délek, tolika druhů, kolik je písmen v oné DNA neznámé sekvence. Elektroforézou pak ve čtyřech pruzích fragmenty rozdělíme, přiložíme citlivý film a odečteme sekvenci.) Tři procenta rozpočtu projektu HGP byla věnována na tzv. ELSI, kde měly být zkoumány etické, legální a sociální dopady (issues nebo implications) projektu; vznikl tak, co se týče financí, největší etický projekt v historii. Účastnilo se ho 20 laboratoří v 6 státech.

A podobně jako v 60. letech, i zde doprovázel práci spěch, a snad bychom mohli říct i zvláštní patos. Málokdy se totiž stane, že vědci mají jistotu, že jejich práce



bude publikována a citována za deset, sto nebo za tisíc let a v análech molekulární genetiky se bude odlišovat doba „před“ přečtením genomu člověka a doba „po“.

### Nečekaná překvapení

Dvě další věci stojí za pozornost. O slavných malířích se říká, že namalují víc, než sami vidí; i zde vědci uskutečnili dvě myšlenky, u kterých, zdá se mi, ve své době nemohli tušit, jak jsou důležité. Předně, spolu s genomem člověka byly sekvencovány genomy pěti modelových organismů – bakterie *Escherichia coli*, kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, háďátka *Caenorhabditis elegans*, octomilky *Drosophila melanogaster* a myši domácí (*Mus musculus*). Jak moc to bylo prozíravé, chápeme dnes, v r. 2016. Sekvencování genomů těchto organismů se ukázalo jako nedocenitelné a je třeba mu věnovat odstavce.

Darwinistická interpretace evolučního procesu je založena na představě mutace a selekce, tedy na myšlence náhodných změn v DNA, které se nejspíše ukáží jako neutrální nebo škodlivé, ale občas mohou být užitečné a prosadí se tak, že jejich nositel je předá svým potomkům. Z této představy plynou dva intuitivní a logické závěry. Různé organismy budou mít různé geny, a složitější organismy budou mít víc genů než ty jednodušší. Lidský mozek je chápán jako nejsložitější struktura ve vesmíru. Ještě na přelomu milénia se odhadovalo, že člověk může mít až 140 tisíc genů, jiné odhady se pohybovaly kolem 100 tisíc genů.

Obě tyto představy se ukázaly mylné. Z perspektivy r. 2016 vidíme, jak jsme podcenili význam regulačních sekvencí a odhadujeme, že regulačních sekvencí je pětikrát více než genů kódujících proteiny. Dnes si myslíme, že organismy se od sebe neodlišují ani tak různými geny, jako spíše tím, které geny, v kterých tkáních a jak intenzivně se přepisují v různých stádiích vývoje organismu, jak probíhá sestřih pre-mRNA, v epigenetických detailech (které právě rozhodují, zda se daný gen přepíše) a dalších záležitostech – např. vlivem vnějšího prostředí ovlivňujících expresi. Člověk a šimpanz spolu sdílejí 98,6 % genomu, 80 % genomu sdílíme s myší, 50 % s octomilkou, 40 % s háďátkem a 30 % s kvasinkou *S. cerevisiae*. Praktické důsledky jsou nedozírné: pokud známe třeba u octomilky sekvenci nějakého genu a víme, co

2 Srovnání distribuce genů v náhodně zvolené oblasti o velikosti 90 tisíc párů bází (pb) u různých organismů. Pro srovnání je uvedeno i 500 tisíc pb lidského chromozomu 21. Introny jsou naznačeny tentě, šipky ukazují směr transkripce, písmeno k značí tisíc. Podle: T. D. Pollard a W. C. Earnshaw (2008), upraveno

tento gen v mnohem menším, a tedy přehlednějším genomu mušky dělá, a najdeme-li podobnou sekvenci i v mnohem rozsáhlejšímu genomu člověka, máme velkou pravděpodobnost, že jsme právě objevili gen a můžeme zkusit odhadnout, jakou asi má v lidském organismu funkci. Jistěže to nefunguje vždy a všude, ale podobnost je mnohem větší, než jsme mysleli. Přečtení genomů modelových organismů tak znamenalo významnou pomoc k pochopení, jak funguje genom člověka. Zdá se, že evoluce není ani tak výsledkem genetické variace ve smyslu mutací, ale spíše kdy a kde se jednotlivé geny zapínají a vypínají v individuálním vývoji organismu.

A složitější organismy sice mívají více genů, ale neplatí to tak, jak jsme uvažovali. Kdybychom sestavovali atlas proteinů lidského těla, obsahoval by kolem 78 tisíc položek. Vzhledem k tomu, že se očekávalo, že jeden gen kóduje jeden protein a že alternativní sestřih představuje spíše kuriozitu, čekal se počet genů člověka mezi 80–100 tisíci, a jak bylo řečeno, nechyběly odhady vyšší. Jak šel čas, odhad se stále snižoval – ještě v r. 2001 předpovídala firma Celera (o které bude řeč dále) počet genů člověka na 39 tisíc a HGP 32 tisíc. O několik let později odhad spadl na neuvěřitelných 25 tisíc, pak 22 tisíc. Dnes předpokládáme ca 21 500 genů člověka. Milimetrové háďátka *C. elegans*, jehož dospělý sestává z pouhých 959 buněk, má 19 735 genů – číslo blízké se počtu genů člověka, což pro vědomí naší hrdosti a výlučnosti není příliš povzbudivé. Kvasinka obsahuje kolem 6 tisíc genů, octomilka asi 13 700, ale třeba vinná réva 29 971 a rýže snad až 50 tisíc.

Druhé rozhodnutí, prozíravější než se mohlo tehdy zdát, byla tzv. Bermudská dohoda z r. 1996. Místo nebylo vybráno náhodou. Hledala se neutrální půda, mimo USA a další významné státy. V Bermudské dohodě se laboratoře zavázaly, že veškeré přečtené sekvence umístí na internetovou síť do 24 hodin. Představa byla taková, že sek-

vence lidské DNA se stanou univerzálním majetkem lidstva, který nebude podléhat patentům, bude zajištěn svobodný přístup univerzitám, farmaceutickým firmám, vědeckým ústavům, každému, kdo má připojení k internetu. Na bermudské konferenci byl přítomen i vědec, jehož jméno se stane jedním z nejskloňovanějších, a to ne vždy ve zcela přátelském kontextu – Craig Venter.

### Písmena genu: patent, nebo vynález?

Kapitola týkající se patentování sekvencí DNA je neméně dramatická. Patentovací právo v USA bylo stanoveno již v r. 1793 a říká, že patenty mohou být získány pro „každé nové a užitečné umění“ – „umění“ bylo v r. 1952 nahrazeno slovem „proces“ – což je i stroj, průmyslový výrobek, složení hmoty, nebo jakékoli nové a užitečné vylepšení této hmoty. Patentován tedy může být vynález a nikoli objev. Patentován nemůže být chemický prvek, objevný ostrov, organismy žijící na zemi, abstraktní idea ani teorie relativity. Aby něco mohlo být patentováno, je třeba dodržet čtyři kritéria. Musí to být nové, nesamozřejmé, užitečné a popsané dostatečně detailně.

Tato pravidla ale byla porušena hned ve dvou případech. V r. 1911 byl patentován adrenalin. Patent je jistě sporný: vždyť jde o látku, která se vyskytuje v těle každého z nás. Stejně jako nelze patentovat kyslík, nejde patentovat adrenalin, argumentovali odpůrci. Komise ale patent udělila, neboť vzala v potaz, že chemici adrenalin z těla člověka izolovali, vyčistili a produkovali v koncentrované podobě. A tím, že byl adrenalin udělán užitečným, „se stal pro každé praktické využití novou věcí jak komerčně, tak i terapeuticky“, vznikla nová vlastnost hmoty. V r. 1980 byla patentována první geneticky modifikovaná (GM) bakterie – z rodu *Pseudomonas*, která zvládla metabolizovat ropné skvrny. I zde bylo konstatováno, že získala nové vlastnosti.

Velkou filozofickou otázkou bylo, zda lze patentovat gen člověka. Argumenty proti jsou zřejmé: jde o objev, sekvence genu není vymyšlena člověkem. A i když pro izolaci a přečtení genu je potřeba lidského důvtipu a inteligence, gen nemůže být patentován. Tak jako např. chirurg nemůže žádat o patent na ledvinu, přestože ji vyoperoval z těla člověka, či dokonce jako nelze žádat o patent na žlutek, přestože jsme ho s pomocí inteligence oddělili od bílku (tyto argumenty reálně zazněly). Opačné hovořily o tom, že podobně jako u adrenalinu a modifikované *Pseudomonas* jsou izolace a přečtení genu nové a postup i sekvence proto mohou být patentovány. Je třeba říci, že na straně odpůrců byly takřka všechny velké postavy molekulární genetiky – J. Sulston, E. Lander, J. Watson, F. Collins ad.

Po vleklých sporech, kde šlo nejen o ideje, ale především o peníze, přišel (v USA) průlomový rozsudek až 13. června 2013, kdy Nejvyšší soud konstatoval v poměru hlasů 9 : 0, že „Přirozené se vyskytující DNA je produktem přírody a nemůže být patentovatelnou entitou jen proto, že byla izolována.“ Good guys won – dobří hoši vyhráli, komentoval situaci E. Lander, vedoucí největší sekvenovací laboratoře v USA.

Craig Venter pravděpodobně nikdy Nobelovu cenu nedostane, přestože jeho přínos lze jen stěží docenit. Lékař, vietnamský vete-

rán, vizionář, možná ne geniální biolog, ale jistě geniální manažer, který dokáže načrtnout smělou vizi a uskutečnit ji, silně vstoupil do Projektu lidského genomu.

Zde ale musíme učinit odbočku. HGP zvolil technologii, která byla pracná, pečlivá, pomalá, ale vedla k cíli. Měla se nejprve vytvořit genetická mapa každého chromozomu, pak fyzická mapa a poté sestavit úplná sekvence. Genetická mapa je založena na pravděpodobnosti tzv. crossing-overů. Čím jsou dva geny na chromozomu u sebe blíže, tím je pravděpodobnost crossing-overu mezi nimi menší. Genetická mapa tedy ukáže lineární pořádek genů A, B a C na chromozomu a relativní vzdálenost mezi nimi. Ale mezi počtem bází na DNA a pravděpodobností rekombinace není lineární vztah. Fyzická mapa již zahrnuje absolutní vzdálenosti genových lokusů v párech bází. Protože Sangerova metoda se dá použít jen pro relativně krátké úseky DNA, musí se každý chromozom enzymaticky nastříhat restriktivními endonukleázami, každý z kousků opět nastříhat atd., než se dostaneme k fragmentům zhruba o stovkách párů bází, které se sekvenovaly a pak poskládaly zpět do celého chromozomu. Každý z kusů DNA byl skladován v bakteriálních (BAC, bacterial artificial chromosome) nebo kvasinkových (YAC, yeast artificial chromosome) umělých chromozomech. Do BACs se mohla vložit DNA o délce do několika stovek tisíc párů bází, do YACs až do milionu pb, ovšem s rizikem, že tak velká DNA už v kvasince prodělává různé přestavby – jako např. translokace (přesuny úseků). Metoda dostala přezdívku „clone by clone by clone...“

Venter přišel s mnohem riskantnějším nápadem. Chromozom rozstříhal rovnou na mnoho malých částí, sekvenoval a pomocí komplikovaného softwaru ho skládal dohromady. Metoda byla ve své době rychlejší, méně pracná, ale ne tak přesná. Venter založil firmu Celera Genomics (celerus – latinsky rychlý, svižný) a s heslem Speed matters, discovery can't wait (Na rychlosti záleží, objev nepočká!) ohlásil překvapivým členům Projektu lidského genomu, že se svou soukromou firmou chce rovněž sekvenovat genom člověka, že tak učiní sám a dříve než svět. Celera bohatě financovaly farmaceutické firmy a v pozadí závodů, samozřejmě, byla vize patentování genů.

Venterova metoda byla nejprve posmívána. Touto „whole-genome shotgun“ metodou se ale jeho týmu již v r. 1995 podařilo přečíst bakterii *Haemophilus influenzae*, původce řady onemocnění především u malých dětí – např. běžných respiračních nákaz nebo hnisavé meningitidy, a ve stejném roce i *Mycoplasma genitalium* způsobující infekce pohlavního ústrojí. To ještě výzkumníci byli ochotni snést, vždyť u prokaryot jeden gen následuje druhý, nejsou zde mezigenové oblasti ani repetitivní sekvence, DNA je stále unikátní a text plyne bez opakování. Mělo se za to, že metoda snad lze použít u bakterií, ale určité ne u eukaryot. Jenže Venter v r. 2000 sekvenoval genom octomilky, 180 milionů pb (dnes se udává číslo o něco nižší), rodinné stříbro genetiků. (Pozn.: V r. 2000 se Venter a jeho TIGR – The Institute for Genomic Research – podílel také na sekvenování genomu huseníčku rolního – *Arabidopsis*

*thaliana*, modelového druhu rostlinné genetiky; viz např. Živa 2007, 1: 5–7.) Závodny mezi HGP a Celera skončily remízou. Pravda, Venter měl jako všichni přístup k datům HGP, avšak sám svá data nepublikoval. Pro finanční zisk z patentování genů pracovala Celera rychle, ale ne dostatečně rychle, a remíza znamenala pro ni *de facto* prohru. Dnes se však přístup „whole-genome shotgun“ všeobecně používá.

Kvůli dramatickému zautomatizování a zrychlení technologií a díky závodům mezi Celera a HGP byl projekt lidského genomu dokončen již v památném r. 2003, 50 let od publikování dvoušroubovice.

Přesněji řečeno, v dějinách sekvenování genomu člověka lze oslavovat hned čtyři data; každé z nich má určité právo být považováno za zakončení HGP. V červnu 2000 bylo ohlášeno ukončení projektu v Bílém domě, za HGP zde byl F. Collins a za Celera C. Venter. V únoru 2001 byl zveřejněn koncept sekvence o velikosti ca 10 tisíc pb, u kterých byla známa jejich přibližná poloha na chromozomech, vytvořený v červnu 2000. HGP ho publikoval v *Nature*, Celera v *Science*. Konečná sekvence DNA byla ohlášena v květnu 2003 a v říjnu 2004 publikována – šlo o kompletní sekvenci lidského genomu, bez mezer, s omezením nesprávného zařazení částí DNA zejména v oblastech repetitivních a s frekvencí chyb menší než jedna na 10 tisíc pb. Pak následovaly jednotlivé chromozomy, poslední (chromozom 1) byl publikován v r. 2006.

### První úspěšná terapie

Nic Volker (\*2005) z Wisconsinu je první známý pacient, jehož úspěšnou léčbu umožnilo sekvenování jeho genomu. Před svými druhými narozeninami začal mít gastrointestinální problémy a podstoupil celkem 160 chirurgických zákroků, nemoc ale postupovala. Gastroenterolog A. Mayer si pozval genetiky H. Jacoba a E. Worthleyho, kteří Nicův genom sekvenovali. Během čtyř měsíců Jacob identifikoval odpovídající gen – šlo o vzácnou chorobu, léčitelnou transplantací kostní dřeně. V červnu 2010 byly použity kmenové buňky kostní dřeně z pupečnickové krve zdravého kompatibilního dárce a Nic se uzdravil.

### Pohled z roku 2016 zpět

Během minulých 10 let se cena za sekvenování jednoho lidského genomu milionkrát zlevnila. Takto prudké snížení nemá precedens v dějinách ekonomie. V r. 1980 byla schopna jedna laboratoř sekvenovat 1 000 pb za den, o 20 let později 1 000 pb za vteřinu. V r. 2005 byl přečten genom šimpanze, zhruba stejně velký jako ten lidský, již za „pakatel“ 50 milionů dolarů. V květnu 2007 byl publikován první genom konkrétního člověka, C. Ventera, za 100 milionů dolarů. Genom J. Watsona byl o několik měsíců později sekvenován za čtyři měsíce, za jeden milion dolarů, novou technologií 454 (známou i jako pyrosekvenování), umožňující provádět množství reakcí zároveň. Watsonův genom byl publikován v r. 2008. V r. 2011 sekvenování trvá jeden den, stojí 1 000 dolarů a je sekvenováno 1 000 lidí. V r. 2016 je cena pod 1 000 dolarů a sekvenování genomu kohokoli z nás trvá několik hodin. V příštích letech se nepochybně dočkáme, že kompletní sekvence

genomu, vhodně zašifovaná, se stane standardní součástí lékařských dokumentů. Problémem dneška je zpracování dat, které teprve umožní vhodný software, jenž by lékařovi pomohl orientovat se v záplavě písmen. Při 3,2 miliardy písmen v haploidním stavu – kdyby jedno písmeno DNA bylo velké jako písmeno tohoto textu, vzniklo by tisíc knih formátu A4, zhruba 3 cm silných.

V r. 2010 byl sekvenován genom neandertálce a v r. 2016 stojíme před jednoznačným úkolem: sekvenovat genomy všech občanů planety a všech známých recentních organismů, a pokud se zdaří, pak i vymřelých. Dnes se zdá, že projekt nebude mít ani tak technické problémy, jako spíše etické. Již se ukázalo, jak extrémně obtížné, ne-li nemožné, je vysvětlit např. amazonským indiánům, proč od nich potřebujeme vzorek. Mnohokrát již byla kritizována tzv. helikoptérova genetika, kdy badatelé přiletěli, místní kmen zahrnuli dary, odebrali krev a letěli zase jinam. Jiné skupiny obyvatel i po obšírném vysvětlení odběr odmítly, z obavy před zneužitím. Asi se nepodaří sekvenovat DNA např. dinosaurů, ale již je publikována sekvence řady druhů vymřelých v nedávné minulosti (z nejznámějších mamuta, vakovlka, ptáka moa, holuba stěhovavého), kde jsme schopni získat DNA v použitelném stavu (Živa 2014, 2: 53–56).

Výsledky tohoto úsilí jsou obrovským skokem vpřed pro medicínu, ale nejen to. Díky znalosti genomů lidí z různých etnik máme nyní např. poměrně přesnou před-

stavu o různých migračních vlnách a osídlení planety.

### Druhý a třetí genom

Rok 2003 neznamenal ani zdaleka konec výzkumu lidského genomu. V první dekádě tisíciletí dochází k bouřlivému rozvoji studia epigenetiky a epigenetické dědičnosti, kdy se prokazuje, že rozhodující je, kdy, kde a jak moc se daný gen bude přepisovat. Kromě jazyka DNA mluvíme o jazyce histonových oktamerů a zdá se, že existuje celý vesmír modifikací chromatinu, nejen známé metylace cytozinů na CpG ostrůvcích, které rozhodují o přepisu genů. Jindy jde ještě o sofistikovanější mechanismy. DNA jedné buňky měří až 2 m a musí být v malém prostoru jádra pečlivě uspořádána, na základní úrovni kolem proteinů zvaných histony. Ty obsahují množství lyzinů a argininů, zásaditých aminokyselin – proto se DNA coby kyselina kolem nich dobře vine. Když jsou však histonové oktamery acetylovány (acetyl je zbytek kyseliny octové), DNA se uvolňuje a lze ji snáze přepsat. Dnes se odhaduje, že během života buňky se každý nukleotid někdy přepíše do nějaké RNA, máme popsáno na tisíce (!) dlouhých nekódujících RNA, o nichž přesně nevíme, co v jádře dělají, mohou např. fungovat jako lešení a prostorové uspořádání DNA.

Sotva se vědecká veřejnost začala vzpamatovávat z překvapení, které přinesla epigenetika, byla objevena neobyčejná důležitost tzv. třetího genomu, mikrobiomu.

Projekt lidského mikrobiomu byl zahájen v r. 2008 a v jeho čele stojí opět F. Collins. Zkoumá populace mikroorganismů na pěti vytipovaných místech těla – na kůži, v ústní dutině, nosní dutině, gastrointestinálním a urogenitálním traktu. Počet různých genů mikrobiomu se odhaduje mezi 2–20 miliony, jde o geny všech eubakterií, archeí, mikroskopických eukaryot, kterých je 1 000× více než našich genů. Z genetického pohledu jsem člověkem jen z 1–0,1 %, ostatní geny na a v mém těle patří do mikrobiomu. Mikrobiota a její geny mají zřejmě klíčový vliv na rozvoj imunitního systému u dětí, vyrábějí vitamíny, které sami vyrobit neumíme, drží v šachu „škodlivé“ bakterie, pomáhají s trávením, ovlivňují expresi našich genů a zdá se, že tělo jim řadu úkolů přenechá. Slovo „jedinec“ postrádá smysl, všichni jsme holobionti tvořící celek větší než suma jeho částí. Mikrobiota je nyní chápána jako nový orgán lidského těla (také Živa 2015, 3: 106–107). V budoucnosti se tak úsilí výzkumníků nepochybně zaměří na získání znalostí proteomu (atlasu všech proteinů, které v životě lidské tělo vyprodukuje), metabolomu (všech metabolitů), viromu (genů všech virů žijících na a uvnitř našeho těla) a mikrobiomu jako celku.

Předvídat budoucnost je ošidné. Pokud jsme se ale za 20 let něco naučili, pak že kam v rámci výzkumu vstoupíme, tam se proboříme do neznámého vesmíru.

Doporučená literatura je na webu Živa.

Vladimír Blažek

## Používání nástrojů u lidoopů a počátky jejich výroby člověkem

Jedním ze základních atributů, kterým bývá člověk vymezen od zvířat, je kultura. Bez ohledu na odlišná pojetí kultury u různých autorů považujeme za jednu z jejich nejdůležitějších stránek materiální kulturu a schopnost používat, ale i upravovat, vyrábět nástroje. V minulosti byly výroba a používání nástrojů chápány jako specifický projev člověka, odlišující jej mimo jiné od zvířat. Pokud byly nějaké projevy nástrojového chování objeveny, byly vnímány jako výjimečné a především jako instinktivní chování. Nejznámější příklad představuje jeden z druhů tzv. Darwinových pěnkav – pěnkavka bledá (*Camarhynchus pallidus*, syn. *Cactospiza pallida*) na Galapágách, která získává potravu v podobě larev hmyzu zpod kůry a ze štěrbin pomocí větviček nebo trnů kaktusů, čímž behaviorálně nahrazuje morfologické adaptace jiných druhů, sloužící témuž účelu (zobák a jazyk datla, jeden z prstů s drápem u madagaskarské poloopice ksukola).

### Co je to nástroj

Než si uvedeme, jaké další druhy živočichů používají nástroje, a zvláště, jak je tomu u našich nejbližších příbuzných, musíme se zamyslet, co budeme pod označením nástroj chápat. Zvířata využívají pří-

rodniny, na kterých nemusejí být na rozdíl od sekery nebo letadla zřejmé atributy nástroje. Nejčastěji se u nástroje zdůrazňuje, že představuje prostředek k dosažení cíle, ale to nestačuje k jednoznačné definici. V odborné etologické literatuře se od-

60. let 20. stol. spíše hovoří o užívání nástrojů (tool use) jako o působení jedním předmětem na druhý a chápe se jako adaptační chování (viz Hallovy studie vyder mořských, blíže dále v textu). Jane van Latic-Goodallová se snažila vymezit užívání nástrojů ve smyslu používání předmětů jako vnějšího prodloužení úst či zobáku, ruky nebo drápu. Další autoři doplňují pojetí nástroje o skutečnost přiblížení, dosažení a o změnu věcí a zvířat. Takto chápání užívání nástrojů se vztahuje k přírodním životním podmínkám a vymezuje se vůči laboratorním experimentům. V návaznosti na pojetí užívání nástrojů se rozumí jejich výroba u zvířat (tool manufacture) jako úprava předmětů z okolí, charakterizovaná spíše výčtem, o jaký typ úpravy jde – oddělení, přidání, kombinování, nahrazení části, změna tvaru. Nepřesnost definování nástroje vyplývá mimo jiné ze skutečnosti, že lze manipulovat s okolím, aniž by se přímo užívalo předmětů. Příkladem může být vytváření bublin a bublinových „síť“ pro lov ryb (ale zároveň jen pro zábavu) u kytovců a ploutvonožců.

### Užívání nástrojů u zvířat

Pro užívání a výrobu nástrojů jsou zdůrazňovány kognitivní funkce (a také velikost mozku), individuální zkušenosti při hře v mládčím období a předávání poznatků především napodobováním od matky. Zajímavou souvislost nabízí užívání kamenů k rozbíjení schránek ušňi a ježovek u vyder mořských (*Enhydra lutris*) z Kalifornie. Ty mají při plavání na zádech položený kámen na břicho a buší do něj uvolněnou potravou. Podobně však rozbíjejí schránky