

Skákající geny

Genomové spamy, nebo užiteční hráči evoluce?

PETR SMÝKAL

Každé buněčné jádro nesoucí genetickou informaci je neustále bombardováno „nesmyslnou genetickou poštou“, která se nahromadila během milionů let evoluce. Podstatnou část genomu všech vyšších organismů představují kopie „skákajících genů“ – transpozonů a retrotranspozonů (viz též Vesmír 79, 273, 2000/5). Ty se v genomu pohybují, kopírují se, vkládají se do genetických „poštovních e-mailových schránek“, a tím se „odesílají“ příštím generacím. Máme je považovat za nevyžádanou poštu typu internetového spamu, nebo mají nějakou funkci?

Historie skákajících genů začala před 60 lety a je spojena se jménem Barbary McClintockové, Američanky malého vzrůstu, avšak o to větších myšlenek (viz Vesmír 80, 392, 2001/7). Její objev začal – podobně jako objevy Mendelovy – pečlivým pozorováním rostlin na poli. Namísto Mendelova hrachu si ale pro své studium vybrala kukuřici, což byla velmi šťastná volba. Popsala změny ve štěpných poměrech vlastností, jako je barva kukuřičného zrna, které se odchylovaly od běžného pohledu na neměnný genom. Tak objevila *kontrolní elementy* způsobující přeskupování genetické informace. Její objev byl natolik nový, že trvalo několik desetiletí, než byl přijat, a v roce 1983 dokonce oceněn Nobelovou cenou.

Přesto byly donedávna skákající geny pokládány za nepotřebné opakující se části genomu, vlastně odpad. Z pohledu laika a dosud i mnoha odborníků jsou za nejpodstatnější oblasti genomu považovány geny kódující funkci. Počet předpovězených a identifikovaných genů v sekvenčně prostudovaných organizmech se pohybuje od 10 do 40 tisíc. Uvážíme-li, že skákající geny představují většinu genetické informace téměř všech žijících organismů, bylo jen otázkou času, kdy bude opona jejich funkce podhalena. Ten čas nastal – a je třeba se na tyto části DNA podívat z pohledu aktivních hráčů evoluce. Vždyť možná právě aktivita skákajících genů je odpovědná za vývoj neuronů v našem mozku a individualitu každé lidské osobnosti (Nature 435, 903–910, 2005). Vyplnila by se tak předpověď B. McClintockové, že právě tyto pohyblivé elementy působí vývojové rozdíly mezi jedinci daného druhu.

„Bezobsažná“ DNA

Skákající geny byly nejprve považovány za „sobeckou DNA“, schopnou množit se v genomu, avšak ničím se neprojevující (neovlivňující fenotyp). Zdálo se, že skákající geny jsou

aktivní jen proto, aby si zajistily vlastní existenci a byly – díky hostitelskému organizmu – předány do dalších generací. Vycházelo se z předpokladu, že v evoluci nejsou objektem selekce jedinci, tím méně populace či druhy, ale pouze alely jednotlivých genů, jak to v roce 1976 napsal R. Dawkins v Sobeckém genu (viz např. Vesmír 77, 67, 1998/2, Vesmír 78, 218, 1999/4 ad.). V tomto pojetí byly skákající geny – transpozony – považovány buď za nitrobuňčného neinfekčního parazita, nebo za „bezobsažnou DNA“.

Prastaří souputníci genomů...

Skákající geny provázejí živé organizmy již stamiliony let. V mnoha směrech je lze považovat za pozůstatky prvotního „světa RNA“. Je až s podivem, jak dlouho byla jejich existence přehlížena, uvážíme-li, že u rostlin mohou tvořit až 90 % genomu (běžně kolem 50 %). Reverzní transkriptáza, která zprostředkuje prepis RNA zpět do molekuly DNA a je potřebná pro replikaci retrotranspozonů (viz rámeček na s. 454), je jedním z nejstarobylších enzymů. Vyskytuje se již u nejprimitivnějších organismů. Přítomnost aktivní reverzní transkriptázy může vést k prepisu a zpětnému vložení RNA aktivního genu za vzniku retropseudogenu. Není tedy překvapující, že v našem genomu existuje několik desítek retropseudogenů β -tubulinu, aktinu, cytochromu, lamininu apod. Dá se říci, že čím hojnější prepis (transkript), tím větší je pravděpodobnost zpětného prepisu do DNA. Ani tyto „vedlejší produkty“ ale nejsou evolučně bezcenné.¹ V lidském genomu bylo nalezeno 4000 retrokopií genů, z nichž 700 může být funkčních. Podrobně prozkoumáno jich zatím bylo sedm, konkrétně ty, které jsou aktivní a potřebné pro vývoj spermií, neboť nahrazují nefunkční geny samičího chromozomu X. Díky reverzní transkriptáze, kterou v daném případě poskytl skákající gen, se můžeme rozmnožovat.

Zaměřím se na ekologii genomu,² tj. na vztahy pohyblivých elementů DNA s hostitelem a jejich ovlivňování genotypu, a tedy i fenotypu hostitelských organismů.

...nebo paraziti, kteří genomu ubližují?

Evoluce genomu je uskutečňována mnoha procesy, jež zahrnují zlomy chromozomů a následné spojování s jinými chromozomy, duplikace genů a celých segmentů, přesun funkčních domén exonů atd. Z pohledu evolučních biologů, hledajících objasnění da-

Ing. Petr Smýkal, PhD., (*1969) vystudoval Vysokou školu zemědělskou a Přírodovědeckou fakultu UK, obojí v Praze. Ve firmě Agritec Plant Research, s. r. o., v Šumperku se zabývá biotechnologickými metodami a jejich využitím v geneticko-šlechtitelském výzkumu lnu a hrachu.

ných znaků organismu na základě adaptace, jde o selekci zdatnějších jedinců. Lze se tak ale dívat na existenci pohyblivých elementů DNA v daném genomu? Nesnižují naopak životaschopnost, uvážíme-li, jak vysoká je pravděpodobnost vkládání nových pohyblivých elementů DNA? Na první pohled se zdá, že opravdu snižují. Vysoký počet kopií pohyblivých elementů organismus metabolicky zatěžuje a tak snižuje jeho životaschopnost. A asi proto je silně redukována (nebo úplně chybí) pohyblivá DNA v kompaktních genomech jednobuněčných prokaryont (bakterií) a některých nižších eukaryont (třeba kvasinek).

Je prokázáno, že vzájemné působení mezi pohyblivými elementy a zbytkem genomu může být podobné vztahu mezi parazitem a jeho hostitelem. Navíc ovšem jsou tyto elementy ve vzájemném vztahu mezi sebou.³

Evoluce ve formě mutací působí i na pohyblivé elementy a díky tomu jsme schopni odhadnout časový sled přesunů. Jak dlouho to trvá, než mutace zabrání přeskoku elementů, popřípadě omezí produkci elementů dečních? Mutací vyřazení retrotranspozonů se odhaduje zhruba na 5–10 milionů let.⁴ Přestože zkoumané organismy existují již mnoho desítek až stovek milionů let, nejstarší zjištěné retroelementy nejsou starší než 30 milionů let. Paradox se vysvětluje tím, že jsou retroelementy z genomu aktivně odstraňovány a že se rozdíl mezi nimi a okolní DNA stírají právě hromaděním mutací.

Rostliny se v míře zastoupení pohyblivých elementů DNA od živočichů velmi liší. Genomy vyšších rostlin, především pak evolučně neúspěšnějších trav, jsou zřejmě v důsledku dávných polyploidizačních událostí (znásobení celého genomu) veliké, tudíž „unesou více inzerce“, aniž je „vymazána“ genetická informace. Druhým (pravděpodobně závažnějším) důvodem je rozdíl v tvorbě kmenových zárodečných buněk – u rostlin vznikají pořad, ne jenom v období embryogeneze. U živočichů navíc v tomto období působí v kmenových zárodečných buňkách ochranné mechanismy, jež možnost mutací omezují. Naproti tomu u rostlin se zárodečné buňky formují v dělivém pletivu (meristému) až po určité době růstu – a některé dlouhověké stromy rostou i tisíce let. V důsledku toho se mutace hromadí bez omezení, avšak mutované dělivé pletivo (meristem) může být nahrazováno.

Předpokládá se, že z pohledu evoluce je výhodnější, když je skákající gen aktivní v zárodečných buňkách (spermiích, vajíčkách), popřípadě v kmenových buňkách, tedy spíše v počátcích vývoje než v pozdějších diferencujících se somatických buňkách. Tento předpoklad ale neplatí všeobecně, například savčí pohyblivý element LINE 1 je aktivní během vývoje neuronů. Vzuřující je představa, že kopie nejsou vkládány náhodně, a tím by mohl být ovlivněn vývoj neuronů, a snad dokonce i lidské osobní vlastnosti.

Proč se pohyblivé elementy nehromadí donekonečna?

Je pravděpodobné, že si pohyblivé elementy během dlouhé doby své existence vyvinuly

SLOVNÍČEK

alela – konkrétní forma genu

delece – ztráta úseku chromozomu

DNA-polymeráza – enzym odpovědný za tvorbu DNA

exon – úsek genu, který se přepisuje do RNA a kóduje pořadí aminokyselin v proteinu

exprese genu – vyjádření; celý proces od přečtení genetické informace uložené v DNA až po „výrobu“ bílkoviny

fenotyp – fyzický projev dědičnosti, soubor znaků, kterými se genotyp organismu projevuje

genom – veškerá dědičná informace organismu

genotyp – konkrétní genetická konstituce organismu

homologie – shoda v sekvenci nukleotidů nebo aminokyselin, která je důsledkem společného původu

intron – úsek genu, který nekóduje protein, ale je přepisován do molekuly RNA a později odstraněn sestřihem

inzerce – vložení, včlenění

LINE – dlouhé vmezežené elementy (sekvence)

LTR – dlouhé koncové repeticce

nukleotidy – stavební kameny nukleových kyselin, („písmenka v sekvenci DNA“)

rekombinace – proces, ve kterém jsou chromozomy či molekuly DNA rozštěpeny a jejich fragmenty jsou znovu spojeny novým způsobem

replikace – zdvojení DNA; z jedné dvoušroubovice DNA vznikají dvě, každá z nich obsahuje jedno původní vlákno DNA a jedno nově syntetizované komplementární vlákno

reverzní transkriptáza – enzym umožňující zpětný přepis informace z RNA do DNA

SINE – krátké vmezežené elementy (sekvence)

telomery – části chromozomu tvořící koncovou oblast se specifickou sekvencí DNA, ve které dochází k atypickému párování; tyto struktury se připojují pomocí enzymů telomeráz

transkripce – přepis informace z DNA do RNA; součást genové exprese, která spočívá v kopírování jednoho vlákna DNA do komplementární sekvence RNA za pomoci enzymu RNA-polymerázy, předchází translaci

translace – součást genové exprese, při níž se pořadí nukleotidů v RNA převádí do pořadí aminokyselin v bílkovině, odehrává se v ribozomech

transpozon – pohyblivý (přemístitelný) element, viz rámeček na s. 454

samoregulační mechanismy, podobně jako si třeba parazit „šetří“ svého hostitele (viz Vesmír 83, 108, 2004/2). Genetická informace obsažená v genomu je přece poškozována již samotným přemístěním elementů, metabolickou zátěží spojenou se zdvojením (replikací), přepisem (transkripcí) a přestavbami nukleotidových sekvencí (rekombinací).

Velmi provokující je hypotéza, jež spojuje škodlivost pohyblivých elementů s vyměněním nepohlavních forem. Evoluční výhodou sexuality mohla být schopnost kontrolovat hromaděním škodlivých pohyblivých elementů DNA pomocí splynutí dvou odlišných rodičovských genomů a kontroly životaschopnosti jednotlivých gamet během redukčního dělení. V opačném případě by byl genotyp mající pohyblivé elementy „překonán“ zdatnějším organismem bez těchto elementů. Tomu dobře odpovídá fakt, že všechny eukaryotické organismy mající množství pohyblivých elementů DNA jsou sexuální, a naopak jednobuněčné organismy, kde průběh replikace DNA často určuje jejich schopnost soupeření, většinou pohyblivé elementy nemají nebo jich mají málo. Na druhou stranu kompaktní genom jednobuněčných organismů neposkytuje dost volnosti k „neškodným“ inzercím. Je však třeba zmínit, že již bakterie vykazují radikální formu „pansexuality“ a využívají viry i plazmidy (pohyblivé genetické elementy) pro přenos celých genů, v extrémním případě i mezi druhy.

Existuje nějaká rovnováha mezi hostitelským genomem a počtem pohyblivých ele-

1) A. C. Marques et al. PLoS Biology 3, e357, 2005/11 (DOI: 10.1371/journal.pbio.0030357).

2) Termín „ekologie genomu“ použili poprvé M. G. Kidwell a D. Lisch v roce 1997 právě pro popis interakce mezi pohyblivými DNA elementy a jejich hostitelským organismem. Viz Vesmír 84, 582, 2005/10.

3) Například v savčím genomu je autonomní non-LTR element (LINE-L1 element) a neautonomní retrotranspozon (SINE-*Alu* element), což je v podstatě parazit parazita.

4) Proměnlivost jednotlivých podskupin elementů je dána vysokým podílem chyb při reverzní transkripci, který je 100 až 1000 násobný oproti chybám vzniklým DNA-polymerázou hostitele.



BARBARA McCLINTOCKOVÁ (*16. 6. 1902 – †2. 9. 1992)

začala studovat na Cornellově univerzitě r. 1919. Roku 1921 si zapsala přednášku z genetiky prof. C. B. Hutchinsona a u genetiky už zůstala celý život. S nepochopením až otevřeným nepřátelstvím svého okolí se utkala nejednou (např. její školitel Lowel Randolph těžce nesl, že se stala vůdčí postavou jeho týmu).

R. 1944 byla zvolena za člena prestižní Americké akademie věd (National Academy of Science). Vytvořila první genetickou mapu kukuřice (propojila oblasti chromozomu s vlastnostmi plodiny). Za objev transpozice genů jí byla r. 1983 udělena Nobelova cena.

mentů? V určení „ceny“ dalších kopií elementu je opět důležitá selekce velikosti „volného místa“ v genomu hostitele. Někdy se pohyblivé elementy přednostně přemísťují do elementů již existujících. Tak vznikají útvary, které poněkud připomínají ruské matřošky. Paradoxně vede tento proces k účinné inaktivaci elementu, a tím se předejde škodlivé inzerci. Zdá se, že menší velikost elementu, snižující možnost odstranění prostřednictvím rekombinace, zvyšuje pravděpodobnost jeho dlouhodobější existence v hostitelském genomu.

Síla selekce vzroste, jestliže počet a vznik nových kopií začne být na úkor hostitelovy životaschopnosti. Selekce vyplývá z přítomnosti elementů samotných – z roztroušených shodných (homologních) sekvencí náchylných k rekombinacím. Naprostá většina elementů DNA se dnes nachází v nekódujících mezigenových oblastech. Pro názor, že neexistuje jen „jednosměrná cesta“ k „přecpání“ genomu, svědčí též převaha neúplných retrotranspozonů, a především samotných dlouhých koncových repetitiv (LTR). Hostitelova obrana využívá mechanismy interference RNAi, která umlčuje vyjádření genu po přepisu, a metylace DNA.

Víme, že 99,9% všech dosud existujících druhů během vývoje vymřelo, ale nevíme, jaký vliv měla selekce na genom přežívajících druhů. O možném vlivu pohyblivých elementů DNA během evoluce můžeme zatím jen spekulovat. Životní cyklus pohyblivých elementů DNA nejspíš prochází fázemi *promoznění* (bývá přisuzováno genomovému stresu), *inaktivace* a *degradace*. Po milionech let vývoje se nachází většinou ve stavu rovnováhy, která je narušována jen v případě nových druhů vzniklých křížením, popřípadě v podmínkách stresu. Jejich počáteční aktivita je ovšem

záhy omezena a vložené elementy zase postupně odstraněny.

Prospívají pohyblivé elementy DNA svému hostiteli?

Dosud jsme hovořili spíše o „parazitickém“ chování pohyblivých elementů. Dnes však existuje mnoho příkladů pozitivního působení, a další nejspíš teprve čekají na své objevení. Leckteré elementy organizmus převzal a přizpůsobil se jim. Například geny *RAG* se podílejí na spojování imunoglobulinových genů a umožňují pružnost imunitní odpovědi. U octomilky, která nemá telomerázu, nahrazují pohyblivé elementy DNA funkci telomer.

Jestliže adaptivní využití pohyblivých elementů vytváří genetickou rozmanitost, nepřekvapí nás, že mnohé z nich jsou aktivovány stresem. Při stresu navozeném faktory vnějšího prostředí zřejmě hostitel pohyblivé elementy využívá. S myšlenkou evoluční výhodnosti pohyblivých elementů DNA při náhlém genomovém stresu, vyvolaném rychlou změnou vnějších podmínek, ostatně přišla již jejich objevitelka B. McClintocková.

Evoluce rozrůznění genomu při stresu prostředí se studovala na mnoha rostlinách a živočiších, především v podmínkách evolučních *hotspots* neboli horkých míst (viz Vesmír 77, 677, 1998/12, Vesmír 84, 30, 2005/1 ad.). Genetická rozrůzněnost a druhová pestrost je většinou výrazně větší na lokalitách, které jsou samy o sobě různorodé a vystavené většímu stresovému působení. V podmínkách větší zátěže prostředí byla větší aktivita retrotranspozonů, a tedy i velikost genomu. Téměř „mičurinsko-lysenkovským“ příkladem působení prostředí na změnu genetické informace jsou *genotrofy*, popsané u lnu setého. Jde o dědičnou změnu fenotypu, která je vyvolána změnami v genomu. Spojitost s pohyblivými elementy DNA byla prokázána teprve nedávno. Vložení pohyblivých elementů do kódujících oblastí genů pravděpodobně přeruší funkci daného genu. Ne všechny inzercce však musí být škodlivé, existují i pozitivní příklady. Uvažuje se o možnosti, že se prostřednictvím elementů DNA přesouvají *exony*, a tím vzniká nový genový produkt. Tak byly možná přemístěny celé kódující oblasti. Vložení do regulačních oblastí genů se zdá být poměrně časté a jsou popsány případy, kdy inzercce změní tkáňovou specifitu či časový průběh vyjádření daného genu. Zdá se, že retrotranspozony hrají důležitou úlohu při formování promotorů a oblastí zesilovačů. Jedna z hypotéz předpokládá původ intronů (nekódujících úseků uvnitř genů) z pohyblivých elementů DNA, jež byly vloženy do samotných genů až dodatečně, neboť v současnosti *introny* často oddělují od sebe funkční domény, což vyústuje ve stavebnicový charakter proteinů. Přeskupení těchto domén například aktivitou pohyblivých elementů DNA nejspíš umožnilo adaptivní radiaci eukaryot zvýšením evolučního potenciálu. Sám mechanismus sestřihu intronů se zdá být tohoto původu. Vložení pohyblivého elementu do nekódujících, intronových částí má mnohem větší šanci uniknout selekci než inzercce do kódující

RNAi – „interferující RNA“, systém, který pravděpodobně brání rozmnožování virové RNA a podílí se i na přirozené regulaci některých genů. Jeho klíčovou součástí je enzym nazývaný dicer („kráječ“), který stříhá dvouvláknovou RNA (buď virovou, nebo vzniklou spojením dvou molekul RNA přepsaných v opačných směrech z téhož úseku DNA) na krátké kousky (18–20 nukleotidů). Ty se pak spojí s několika specifickými proteiny za vzniku komplexu zvaného RISC (RNA-induced silencing complex), a „navedou“ tento komplex na mRNA o sekvenci shodné s dvouvláknovým úsekem. Ta je posléze buď rozštěpena, nebo zablokována, aby se nemohla překládat.

POHYBLIVÉ ELEMENTY DNA

● **Transpozony.** Hojně zastoupeny jsou již v bakteriích. Jejich aktivita – vystržení z jednoho místa v genomu a vložení na jiné – je zajišťována vlastním genem kódujícím enzymem transpozázou. Transpozony se v organizmu vyskytují řádově v desítkách až tisících kopií.

● **Retrotranspozony.** Kopírují se reverzní transkripcí své RNA a vložení kopií do genomu. Jde o duplikování či multiplikování původního elementu. V organizmu se vyskytují v desítekách až milíoněch kopií. Dělí se také na základě své délky, complexity, a především organizace. Dále se dělí na autonomní a neautonomní, které si musí reverzní transkriptázu „půjčovat“ od jiných elementů. Pravděpodobný původ retrotranspozonů je z virů, především pak velmi příbuzných retrovirů umožňujících kromě přenosu vertikálního (z rodičů na potomky) i přenos horizontální (z genomu do genomu). To naznačuje i schopnost mnohých retrotranspozonů kódovat a produkovat obalový protein tvořící virové partikule, schopné se pohybovat mezi buňkami.

cích oblastí, existují avšak doklady o změně vyjádření takto postižených genů. V neposlední řadě samotná přítomnost homologických sekvencí pohyblivých DNA elementů roztroušených v genomu zvyšuje úroveň rekombinací a následně opět proměnlivost.

Umožnily „skákající geny“ oddělení člověka od ostatních primátů?

Zmínil jsem již dva navzájem spojené elementy, a to LINE 1 a *Alu*. Právě autonomního elementu LINE 1 (který je společný všem savcům) obsahuje lidský genom kolem 100 aktivních vkladů, z nichž některé jsou nakonec patogenní. Nejméně jeden z 50 lidí vlastní novou odlišnou inzerci LINE 1, jež vznikla již v rodičovských zárodečných buňkách. Na druhou stranu neautonomní element *Alu* (krátký element, SINE) se vyskytuje nejméně v 1 milionu kopií (což představuje 10% lidského genomu) a vložené elementy způsobují nejméně 20 známých genetických nemocí. Tento dramatický nárůst proběhl asi před 40 miliony lety. Studium podskupin elementu *Alu* přispělo jak k objasnění společného předchůdce člověka, šimpanze a gorily před zhruba 10 miliony lety, tak ke studiu lidské diverzity na úrovni kontinentů i malých populací (např. indických kast).

Vzhledem ke své početnosti, nevratnému včlenění do genomu, nízké náchylnosti k rekombinacím aj. představují pohyblivé elementy ideální nástroj pro molekulární systematiku. Včlenění krátkých elementů do přesně stejného lokusu ve dvou nepříbuzných liniích nebo vystřížení z genomu bez zjištěné stopy jsou tak nepravděpodobné, že pro praktické použití mohou být ignorovány. Jestliže se dva druhy shodují ve vložení stejného pohyblivého elementu, je téměř jisté, že tento znak zdědily od společného předka. Při shodě jiných typů molekulárních znaků, například nukleotidových substitucí, delecí a inzercí, toto neplatí, neboť ke stejným nukleotidovým mutacím může u dvou druhů dojít nezávisle na sobě. Lze očekávat plný rozkvět a využití těchto možnos-



ti. Existují elementy specifické pro druh, rod, čeleď či řád. Ovšem to pravé překvapení a objevování nás teprve čeká, až poznáme celý genom některých z organismů z těchto vyšších taxonů. Ta doba ani nemusí být tak vzdálená.

Pohyblivé elementy DNA hrály a hrají důležitou úlohu při formování genomů, při kterém se pohybují mezi parazitickými a symbiotickými partnery. Dávají tedy genetické informaci dynamickou strukturu. Dosud nevíme, jestli je jejich přítomnost nezbytná či alespoň prospěšná pro fungování genomu a celého organismu. Je docela dobře možné, že „skákajícím genům“ vdčíme za oddělení od primátů, následný vývoj a intelekt, který nám umožňuje studovat svět kolem nás.

Palice kukuřice, na kterých je zřetelný projev „skákajících genů“ (transpozonů), tak jak jej objevila B. McClintocková. V tomto případě byla vložení transpozonu přerušena funkce genu pro pigment, což se projevilo fialovými zrny. Snímek © Petr Smýkal.

INZERCE 628



✓ Pohled „Za zrcadlo“

Informatika - věda - spolupráce mezi lidmi
- budoucnost. Vztah mezi těmito věcmi nahlížený každý týden z trochu jiné perspektivy.

Studio 2010 :: Pondělí 21.05 - 22.00 hod.

✓ Za dobrodružstvím poznání

Tradiční populárně-vědecký magazín pro ty, kteří mají přemýšlivý vztah k přírodě, k vesmíru a k poslání člověka. Pořad pro mladé každého věku.

Meteor :: Sobota 8.10 - 9.00 hod.

PRAHA
ČESKÝ ROZHLAS 2

Váš dobrý přítel

www.rozhlas.cz/praha