

Horizontální přenos genetické informace

Evoluční význam

Petr Šíma, Ilja Trebichavský

Autoři věnují honorář Nadaci Živa

Stará paradigmatata přetrvávají jako články víry
R. E. Langman, M. Cohn (1996)

Od objevu genů jsme byli skálopevně přesvědčeni, že každý organismus má pouze jediný, sobě vlastní genom; a také, že veškerá evoluce a vznik nových druhů probíhaly jen na základě genových rekombinací a nových genetických mutací předávaných vertikálně, z rodičů na potomstvo.

Před více než 100 lety, kdy bylo na základě pečlivých mikroskopických pozorování objeveno, že některé organismy obsahují v sobě jiné organismy, poprvé vykrystalizovala myšlenka endosymbiózy, soužití taxonomicky nepříbuzných organismů. Znamenalo to také, že v průběhu evoluce byly organismy schopné přijímat do svého vnitřního prostředí a dokonce do nitra svých buněk organismy s jinými genomy, které se tam musely nějakým způsobem dostat horizontálním přenosem přímo, přes druhové bariéry. Řada pozdějších výzkumů přinesla reálné důkazy o zcela běžné výměně genů mezi mikroby, a také bylo nezvratně prokázáno, že cizí genetický materiál byl kdysi vnesen i do jaderného genomu současných mnohobuněčných živočichů, hub a rostlin.

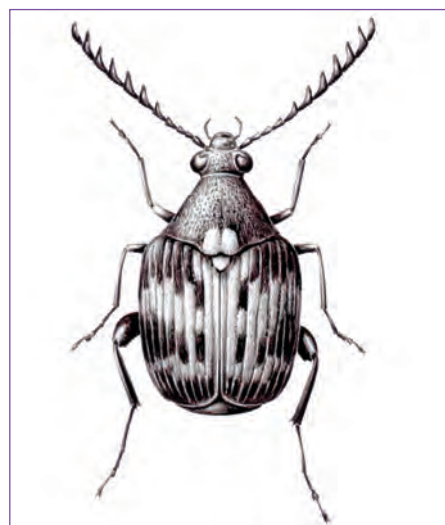
Nyní se stále více biologů přiklání k názoru, že horizontální přenos genetické informace hrál nikoli nepodstatnou roli při vzniku nových vlastností organismů a tím i v evoluci nových druhů.

Poznávání komplexnosti organismů: první průkopníci

O tom, že mnohobuněčné organismy jsou v podstatě mnohonásobné bytosti, byli někteří vědci přesvědčeni přibližně od poloviny 19. stol., ale jak se v dějinách lidského poznání velmi často stává, byly jejich neortodoxní názory ignorovány, nebo odmítány, dokonce i vysmívány. Švýcarský botanik S. Schwendener upozornil už v r. 1867 na podvojnou povahu lišejníků a uvažoval, jaký evoluční význam má koexistence dvou rozličných organismů v jednom. Tuto myšlenku rozpracoval slavný němec-

ký biolog A. de Bary r. 1879. Pro různé odstupňované vztahy mezi organismy (od relativně volného soužití, primitivní proto-kooperace nebo komenzalismu, při nichž mají obě strany určitý prospěch, až po kompetici a parazitismus, kdy si vzájemně škodí) zavedl pojem symbióza. Roku 1893 vyslovil myšlenku o symbiotickém původu buněčného jádra americký embryolog a cytolog S. Watase a o 11 let později také německý cytolog T. Boveri.

Na začátku 20. stol. vyvstala už představa o symbióze organismů zcela zřetelně. Ruský biolog K. S. Merežkovskij na základě svých detailních studií chloroplastů v rost-

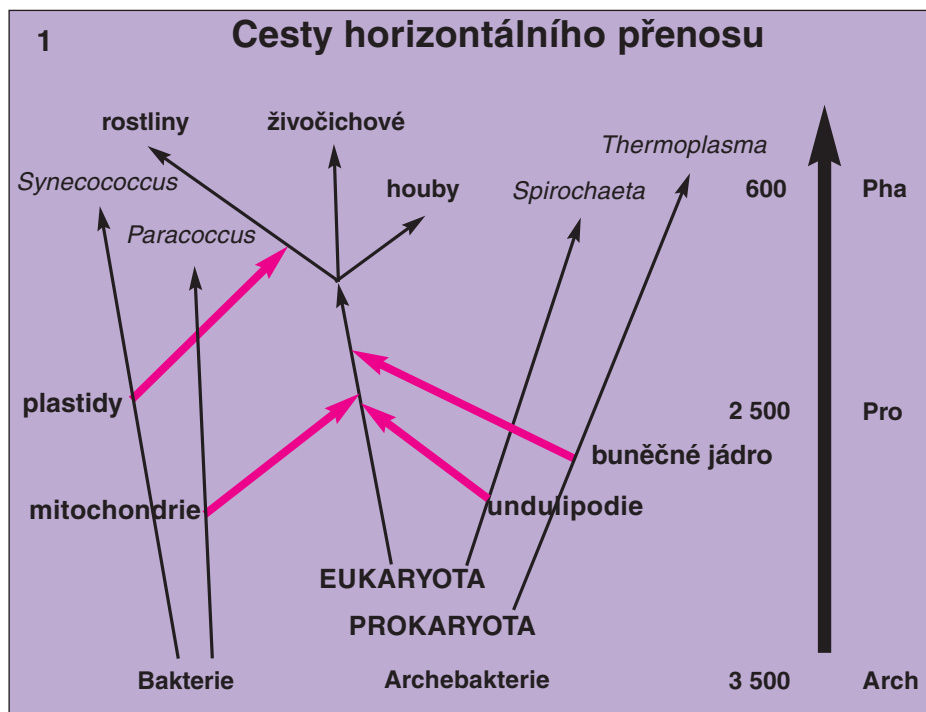


Bruch Callosobruchus chinensis z čel. *Bruchidae* obsahující ve svém genomu geny bakterií. Orig. Z. Doležal

linných buňkách zavedl termín symbiogeneze (1905, 1909), který později (1920) podrobně rozvinul: „Navrhuji novou teorii o původu organismů, která vysvětluje, že fenomén symbiózy hraje vedoucí roli v evoluci, a navrhuji ji pojmenovat Teorie symbiogeneze.“ V téže době pracovali na podobné hypotéze ještě ruský anatom A. S. Famintsyn a americký biolog I. E. Wallin. Famintsyn rovněž věřil, že chloroplasty mají symbiotický původ a prokázal, že si zachovávají svoje fotosyntetické funkce i jsou-li kultivovány mimo rostlinnou buňku. Oba vědci porovnávali fyziologii bakterií a chloroplastů a podařilo se jim nalézt řadu udivujících shodností. Představovali si, že chloroplasty — mikroby — byly kdysi pohlceny (fagocytovány) jako potrava, ale nebyly z nějakého důvodu stráveny, naopak, přizpůsobily se uvnitř svých pohltitelů a dále vykonávaly fotosyntézu. Uvnitř buněk zůstaly po stamiliony let chráněny se zachovanou schopností nezávisle se rozmnožovat.

Opět téměř současně (1918) francouzský biolog P. Portier rovněž tvrdil, že další buněčné organely — mitochondrie — byly kdysi také symbiotické bakterie, ale jeho teoretické vývoody vyvolaly ve Francii po první světové válce veliký nesouhlas. Stejnou myšlenkou, že mitochondrie byly původně endosymbiotické bakterie, se zabýval I. E. Wallin. Ve své monografii *Symbioticism and the origin of life* (1927) rozvedl tento nekonvenční pohled ještě dále v tom smyslu, že v evoluci hrály klíčovou úlohu všechny druhy symbiózy.

Už o rok později F. Griffith provedl své známé transformační pokusy s různými mutanty pneumokoka (*Streptococcus pneu-*



Obr. 1 Cesty horizontálního přenosu. Eony (trvají v miliónech let): Arch — Archean (3 500–2 500), Pro — Proterozoikum (2 500–600), Pha — Fanerozoikum (600–0). Šipky označující původ jednotlivých organel začínají přibližně v časových rozpětích (srovnej s časovou osou), kdy se předpokládá jejich přenos a vestavba do eukaryotických buněk. Plastidy — buněčné organely rostlin (chloroplasty, amyloplasty obsahující zásobní škrob, chromoplasty obsahující nezelená barviva); mitochondrie — buněčné organely zabezpečující dýchání eukaryotických buněk; undulipodie — buněčné organely zabezpečující pohyb (řasinky, bičíky), původem pravděpodobně z bakterií podobných spirochetám

moniae) lišícími se navzájem některými vlastnostmi. Byl to první případ cílené změny dědičných vlastností mikroba neživými bakteriálními buňkami, a to na vlastnosti dárcovské bakterie.

Vědci se pokoušeli najít povahu látky, která transformaci způsobovala. Po mnoha letech experimentování prokázali r. 1944 O. T. Avery, C. M. MacLeod a M. McCarty z Rockefellerova ústavu v New Yorku, že mikroorganismy jsou schopné převzít cizí genetický materiál do svých genomů a že onou transformující látkou je DNA. Objev Averyho a jeho kolegů měl však mít dalekosáhlý význam pro celou biologii. Poprvé bylo potvrzeno, že nositelkou dědičných vlastností je DNA, a nikoli bílkoviny, jak byla tehdy většina vědců přesvědčena. A navíc tu byl přímo hmatatelný důkaz, že geny lze přenést horizontálně. Rok 1944 lze bez nadsázky považovat za datum zrodu molekulární genetiky.

Za konečné vyvrcholení teorií o symbióze jsou považovány práce L. Margulisové ze 60. a 70. let 20. stol. Její teorie o symbiotickém původu jaderné buňky vzbudila přímý zájem o studium obecného fenoménu, horizontálního mezidruhového přenosu genetické informace. Návazně na její práce vyslovil N. G. Anderson (1970) dvě závažné myšlenky, které předpokládají horizontální přenos genů přes druhové bariéry: „Důsledkem mé hypotézy je, že rostliny a živočichové prostí virů, by se vyvíjeli velmi pomalu, pokud by se vyvíjeli vůbec“ a „Evoluce jednoho organismu závisí na nových idejích a přínosech od ostatních organismů“. V r. 1977 přinesli C. R. Woese a G. E. Fox důkaz: nukleové kyseliny mitochondrií a chloroplastů vykazují bližší příbuznost k bakteriální nukleové kyselině než k jaderné eukaryotické.

Je tedy vidět, že názory o symbióze dvou či více nepříbuzných živých organismů (s následnou výměnou jejich genů horizontální cestou) předcházely o více než století pojetí vzájemnosti živých organismů, které dnes označujeme pojmem mutualismus (z lat. *mutuus* = vzájemný). Mnohobuněčné organismy se totiž nevyvíjely v nějaké izolovanosti. Nebyla to evoluce, ale koevoluce, která vytvářela veškeré druhy živých organismů od úsvitu života na Zemi. A právě horizontální přenos genetické informace koevoluci z velké míry formoval a hrál také významnou úlohu při hierarchizaci rozdílných vrstev, struktur a složek biosféry do důmyslného, vysoce komplexního živého systému na naší planetě, často označované podle řecké bohyně Země jako Gaia.

Eukaryota mají více genomů

Naprostá většina organismů, které mají v buňkách jádro (*Eukaryota*), tedy jednobuněční prvoci, řasy, houby, rostliny i živo-

Obr. 2 Modifikace genomů během evoluce. Z tohoto hlediska je třeba genomy eukaryotických i prokaryotických organismů pokládat za jakýsi konglomerát, který obsahuje geny odlišného původu: jednak geny ancestrální, zděděné po hypotetickém posledním univerzálním společném předchůdci a přenášené vertikálně na další generace potomků (homologní genomy), jednak geny nepříbuzných organismů získané horizontálním přenosem (xenologní genomy). Takové genomy, které vznikly skládáním homologních a xenologních genomů se označují jako synologní

Tab. Stručný přehled historie symbiotické myšlenky a horizontálního přenosu genetické informace

S. Schwendener	lišejníky mají podvojnou podstatu: jsou tvořeny houbou a řasou	1867
J. Reinke	lišejníky jsou příkladem otrokářství, kde houba si zotročila řasu	1873
A. De Bary	symbióza jako biologická koncepce	1879
H. Spencer	dělba práce u lišejníků má „komunistický“ charakter	1889
S. Wataše	jádro a cytoplazma představují symbiózu odlišných organismů	1893
T. Boveri	jaderná buňka vznikla symbioticky	1904
K. S. Merežkovskij	„Evoluční transformace se uskutečňují integrací symbiontů, dvou nebo více jednoduchých organismů lišících se fylogenetickou klasifikací.“ (V knize The Nature and origin of Chromatophores in the Plant Kingdom) termín symbiogeneze	1905 1909
P. Portier	mitochondrie byly původně bakteriální symbionti	1918
K. S. Merežkovskij	teorie symbiogeneze (V knize The Plant as a Symbiotic Complex)	1920
I. E. Wallin	původ mitochondrií z bakteriálních endosymbiontů (V knize Symbioticism and the Origin of Species)	1927
F. Griffith	transformace bakterií	1927
A. Avery a kol.	bakteriální transformaci zprostředkovává DNA	1944
L. Margulisová *	stěžejní práce a monografie o významu symbiózy v evoluci	1967–1981
N. Kondová	průkaz 11 genů bakteriálního původu v eukaryotním genomu	2002

*) Vyčerpávající informaci o publikacích L. Margulisové lze získat na adrese www.sciencewriters.org

čichové, mají přinejmenším dva vzájemně těsně spolupracující genomy: jeden představuje DNA buněčného jádra (tento genom je u mnoha druhů v současné době podrobován detailnímu mapování) a druhým je DNA obsažená v mitochondriích.

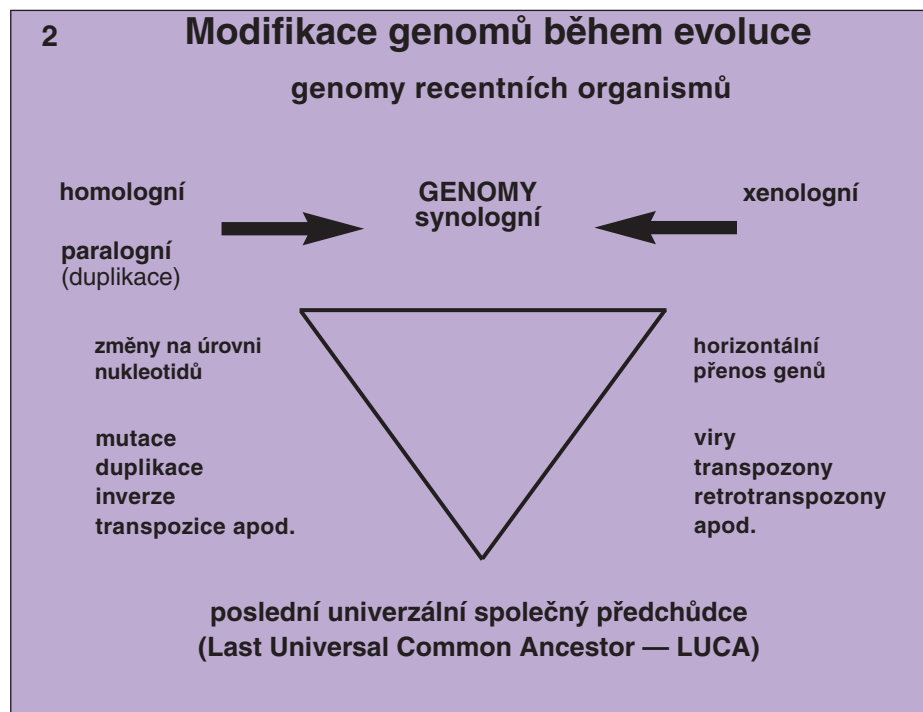
Mitochondrie jsou v buňce zdrojem chemické energie — jsou centrem oxidativních fosforylací za vzniku ATP se spoluúčastí protonů a kyslíku (jako příjemce elektronů). V případě zvýšené potřeby kyslíku se namnoží tak rychle, že svalové buňky např. aktivního sportovce jsou jimi přímo nabitě. Zatímco jaderný genom se dědí jak po otci, tak po matce, mitochondriální geny jsou předávány potomstvu pouze po mateřské linii. Mitochondrie jsou

tak nevratně integrovány do buněk, že se je ještě nikomu nepodařilo pěstovat ve zku-mavce, a přesto se rozmnožují samostatně, nezávisle na jaderné DNA.

Rostliny a řasy vlastní ještě třetí genom. Lze si představit, že jejich předchůdci si v dobách svého vzniku přibrali do nitra svých už mitochondriemi vybavených jaderných buněk fotosyntetické bakterie, z nichž se vyvinuly chloroplasty.

Rekordmani v přijímání cizích genomů jsou koráli, budovatelé atolů a korálových útesů, a pak mikroskopické jednobuněčné eukaryotní organismy řazené mezi *Protista*, např. prvoci a hlenky, obsahující pět i více genomů.

Jako učebnicový příklad může v tomto



3 Mechanismy horizontálního přenosu genů

přenos přes mezidruhové bariéry

Asimilace celých organismů (včetně genomů) do vnitřního prostředí (endosymbióza) — viry, bakteriofágy, bakterie, prvoci, řasy, paraziti apod.

Fúze celých genomů — volná DNA

Vložení menších genových úseků, jednotlivých genů — transpozony, plazmidy, retrotranspozony, plastidy

Vložení částí genů (nukleotidů) — volné nukleotidy

ohledu sloužit *Mixotricha paradoxa* žijící ve střevě termitů. Vypadá jako obrvený prvok, ale už elektronový mikroskop odhalí, že obsahuje více odlišných typů symbiontů. V cytoplazmě je množství kulovitých bakterií a na povrchu jsou přisedlé treponemy (bakterie r. *Treponema*) připomínající původce syfilidy, tyčinkovité bakterie a ještě velké spirálovité bakterie — spirochety, které byly nazvány *Canaleparolina darwiniensis*.

Cesty horizontálního přenosu genetické informace

Během evoluce genomů eukaryot docházelo k přenosu genů z buněčných organel do jádra, u živočichů z mitochondrií, u rostlin navíc i z chloroplastů. Některé mitochondriální geny přesunuté do jaderné DNA se zařadily do regulací řízených jadernou DNA. Jako příklad původního mitochondriálního enzymu, který má prokaryotní charakter a jehož syntéza řízená jádrem probíhá na cytoplazmatických ribozomech, je enzym malátdehydrogenáza.

Horizontální přenos genetické informace přes druhové bariéry je zprostředkován buď splýváním celých genomů dvou či více organismů, nebo vkládáním rozsáhlých genomových oblastí, jako jsou např. ostrovy patogenity u bakterií. Anebo jde jen o jednotlivé geny či jejich části (nukleotidové sekvence). V tomto případě jsou vektorem viry (fágy), konjugativní plazmidy a jiné mobilní genetické elementy (transpozony a retrotranspozony).

Prokaryota

Bakterie jsou genetickými inženýry už stovky milionů let. Rekombinují geny, genové kazety (seskupení genů) i celé genomy. Pro tyto vysoce promiskuitní organismy znamená sex a infekce totéž: tok genetické informace. Jsou-li ohroženy, slučují se bez jakéhokoli imunitního rozpoznávání a i vzájemně nepříbuzné druhy bakterií si vyměňují geny. Horizontální přenos genů je jejich univerzálním prostředkem, jak reorganizovat genom a rychle získat nové vlastnosti, nové metabolické reakce, patogenitu a virulenci (účinnost infekce) nebo odolnost k lékům.

Stále se rozšiřující rezistence na antibiotika je příkladem této genetické výměny. Rezistentní bakterie obývající střeva člověka, který byl léčen antibiotiky, se dostávají do vnějšího prostředí, kde předávají geny rezistence stejným, nebo i jiným bakteriálním druhům. Rychlost takového přenosu si lze představit i ze zdánlivě nepřímých materiálů: statistiky vedené v USA dokládají, že koncem 90. let mělo 80 % lidí ve svém

trávicím traktu bakterie rezistentní na antibiotikum tetracyklin, zatímco před r. 1970 to bylo jen 30 %. Byly dokonce izolovány bakterie rezistentní na 31 druhů antibiotik včetně penicilinu, kanamycinu, neomycinu, streptomycinu, trimethoprimu, již zmíněného tetracyklinu ad. Tak rychle by tuto rozsáhlou, geneticky danou rezistenci nemohly bakterie získat jen mutacemi, nezávisle na přispění genů přijatých od jiných bakterií.

Eukaryota

Eukaryotní buňka dokáže účinně včleňovat cizí geny do své DNA. Téměř všechny mnohobuněčné organismy, živočichové i rostliny mají ve svých chromozomech prvky. Jsou to virové genomy (úplná DNA) nebo jejich zbytky, které tam byly zaneseny pravděpodobně infekčním procesem. Ve většině případů jsou cizí genové úseky inaktivovány mutacemi nebo neutralizovány metylací. Vektorem přenosu cizích genů do eukaryotních organismů jsou často retroviry, které se dnes používají pro umělé vnášení genů v genovém inženýrství (také viz článek F. Šenigla v tomto čísle Živý).

Entomologové se vždy podívovali, jak nebývalé druhově početní jsou brouci. Hmyz vůbec a brouci obzvláště integrovali bakteriální genomy v mimořádném rozsahu. Široká škála bakteriálních druhů sídlí prakticky ve všech jejich tkáních a jsou dokonce předávány dalším generacím vertikálně — vajíčky. V r. 2002 publikovala N. Kondová ještě jako studentka Tokijské univerzity práci o identifikaci 11 genů v genomu brouka *Callosobruchus chinensis* (viz obr.), pocházejících z bakterie r. *Wolbachia*, která je běžným endosymbiontem u mnoha dalších druhů hmyzu. Už dříve však byla identifikována řada genových sekvencí v eukaryotním genomu, které jsou bakteriálního původu, ale toto byl přímý průkaz horizontálního přenosu genů z prokaryotního symbionta do jaderné DNA eukaryotického hostitele. Je docela dobře myslitelné, že k ohromné druhové variabilitě hmyzu přispěl velkou měrou také horizontální přenos genů.

Zdroje horizontálně přenášené genetické informace

Bakteriální i eukaryotické buňky nejenže geny přijímají a vestavují, ale i naopak, vlastní nukleové kyseliny vylučují nebo se do prostředí dostávají z mrtvých buněk. Celé volné molekuly nukleových kyselin, jejich části i jednotlivé nukleotidy se v relativně velkém množství vyskytují zejména ve vodním prostředí, kde jsou jejich zdrojem hlavně nespočetné organismy vytvářející plank-

Obr. 3 Mechanismy horizontálního přenosu genetické informace mezi odlišnými druhy živých organismů. Všechny orig. P. Šímy ♦ Na stránce vpravo prvoci brvitky (*Hypermastigida*) ze zadní části střeva termita. Dobarveno a pozorováno pomocí Nomarského diferenčního interferenčního kontrastu v kombinaci s fluorescencí v oblasti WB. Zpracováno s použitím mikroskopu Olympus AX70 Provis na Referenčním pracovišti optické mikroskopie firmy Olympus C&S s.r.o. se sídlem v Biologickém ústavu LF UK v Plzni. Zvětšení 496x. Foto J. Reischig

ton. Tato DNA může na vhodných částicích vydržet neporušená hodiny, někdy i několik dnů. Může být do jiných živých organismů přenesena vektory horizontálního přenosu.

Často se zapomíná, že nukleové kyseliny, jak jaderné, nebo mitochondriální (popř. z jiných buněčných organel) jsou nikoli nepodstatnou součástí potravy všech živočichů. Bylo mnohokrát prokázáno, že např. buňky střevní výstelky (enterocyty) nesyntetizují pro svoji obnovu nukleotidy *de novo*, nebo jen ve velmi malém množství, ale využívají je z potravy. Uvědomíme-li si, že na jedno buněčné dělení (mitózu) je nutné dodat řádově 10^9 nukleotidů, můžeme si představit, kolik je jich zapotřebí, ať už z cizích (potravy) nebo z vlastních zdrojů (syntézy v buňkách), jen pro každodenní obnovu buněk výstelky střeva a plic, kůže nebo pro krvetvorbu.

V trávicím ústrojí živočichů se nacházejí enzymy, které nutriční DNA rozkládají, ale přesto může její určité množství přestoupit přes střevní bariéru do vnitřního prostředí organismu, kde je pohlceno buňkami. V pokusu, kde byly myši „krmeny“ pouze DNA, se zjistilo, že enzymů rozkládajících nukleoproteiny zřejmě není tolik, aby dokázaly rozložit všechny. Úseky nutriční DNA byly zjištěny nejen v buňkách zažívacího ústrojí, ale dokonce i v krevních buňkách a buňkách sleziny a jater.

Závěr

Dnes už je endosymbiotická teorie o původu organel přijata do široké koncepce horizontálního přenosu genetické informace, podobně jako se mendelovská genetika stala součástí molekulární biologie.

Endosymbióza, soužití dvou a více taxonomicky rozdílných organismů, a v jejím důsledku integrace částí nebo i celých genomů, je jen částí široké mezidruhové výměny genetické informace. Z tohoto pohledu se vestavba celých genů nebo rozsáhlých genomových sekvencí do genomu jakéhokoli organismu nejeví jako evolučně negativní. Biologové si dávno uvědomují, že nově nabyté vlastnosti musejí být stabilizovány přírodním výběrem, jinak se nemohou projevit. A tak je to i s vlastnostmi získanými díky horizontálnímu přenosu genů. Druhy vybavené extrémními vlastnostmi nebo vysoce specializované po čase zanikají, případně přecházejí do dalších forem.

Průměrná doba života druhu je podle S. J. Goulda a N. Eldredge 2,5–3 miliony let. Délka přírodovědeckého zkoumání, počítáme-li od Aristotela (384–322 př. n. l.), je 1 000× kratší. Změny provázející vznik, evoluci a zánik druhů jsou pro člověka nepostřehnutelné.

Věnováno Prof. Ctiradu Jobnovi, našemu učiteli.

