

## II DĚDIČNOST

Organismy jsou z kybernetického hlediska systémy s pamětí. Jejich chování v daném okamžiku totiž neovlivňuje pouze momentální kombinace podnětů přicházejících na jejich vstupy z okolí, ale i kombinace podnětů, s nimiž se setkaly v minulosti. Organismy mají v principu dva typy paměti: **paměť individuální**, tedy paměť uchovávající informaci o podnětech, s nimiž se daný organismus setkal za svého života, a **paměť evoluční**, uchovávající informaci o tom, s jakými podněty se setkali jeho blízcí i vzdálení předci. Nosičem individuální paměti jsou jednotlivé složky tělesné struktury jedince. Velikost tukových zásob může odrážet množství zkonsumované potravy, informaci o setkání s přirozeným nepřítelem, dravcem nebo herbivorem zase například utržená noha nebo okousané listy. U živočichů se mimořádnou kapacitou individuální paměti vyznačují specializované orgány – nervová a imunitní soustava. Nosičem evoluční paměti je u dnešních organismů z největší části nukleová kyselina, ve většině případů DNA. Informace uchovávaná v individuální paměti může být z hlediska přežití jedinci užitečná, může však být rovněž škodlivá (viz zmíněná utržená noha, případně zkušenost získaná konzumací návykové drogy). Naproti tomu paměť evoluční nese vždy informaci, která je pro organismus užitečná z hlediska pravděpodobnosti jeho přežití a rozmnožení, případně není z tohoto hlediska alespoň významně škodlivá. Informace v DNA se sice hromadí a mění prostřednictvím náhodných mutací, a může být tedy bezprostředně po svém vzniku pro svého nositele jak užitečná, tak škodlivá, avšak pouze taková informace, která objektivně a dlouhodobě zvyšuje nebo alespoň nesnižuje pravděpodobnost přežití a rozmnožení svého nositele, tj. organismu, v jehož genomu se nachází, má rozumnou šanci stát se trvale součástí genofondu příslušného druhu. V této kapitole se budeme zabývat vlastnostmi evoluční paměti a dále konkrétními mechanismy vytváření a realizace genetické informace a jejího předávání z generace na generaci u dnešních organismů. Způsoby případného fungování evoluční paměti před vznikem současných živých systémů fungujících na principu koexistence protei-

nů a nukleových kyselin nebudou probírány na tomto místě, ale v kap. X, která je věnovaná vzniku života. Mnohé aspekty vlivu mnohobuněčnosti a diferenciacie germinální a somatické linie buněk na způsob předávání genetické informace budou dále probírány v kap. XII (Evoluce ontogeneze a životního cyklu).

### II.1 Nosičem genetické informace je u dnešních organismů nukleová kyselina.

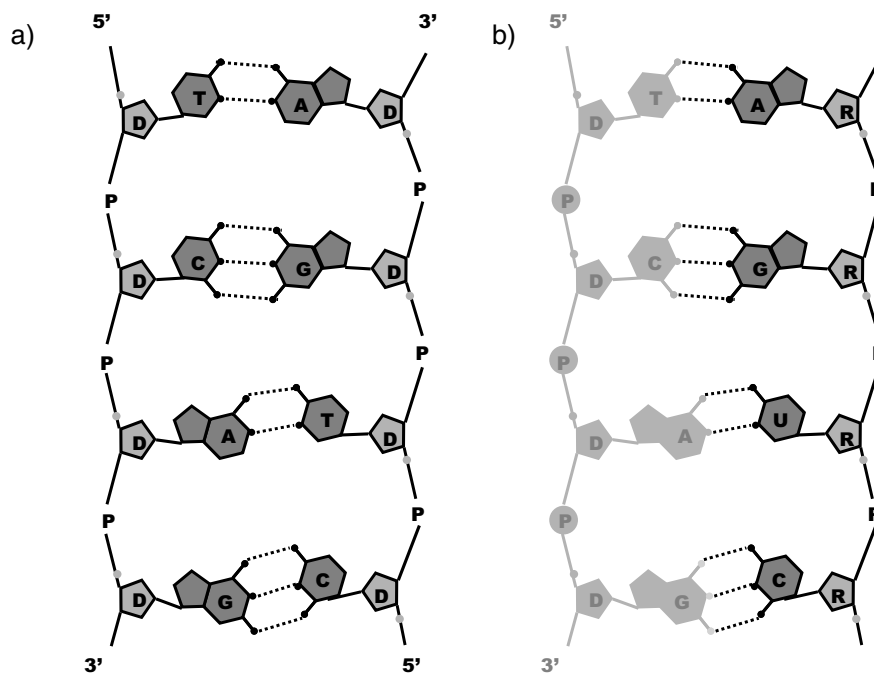
Klíčovým pojmem této kapitoly je **genetická informace**. Tímto termínem budeme rozumět soubor instrukcí, jejichž hlavní funkcí je řízení výstavby těla jednobuněčného nebo mnohobuněčného organismu. Na řízení výstavby těl se významně podílí i *informace epigenetická*; jí se budeme zabývat až v odd. II.8. Genetická informace (a v ještě větší míře i informace epigenetická) se uplatňuje i při řízení údržby již hotových těl a v mnoha případech i při řízení biochemických a fyziologických procesů. Genetická informace ovlivňuje i průběh dalších procesů probíhajících v živých systémech, včetně vlastního chování jednotlivých organismů. Tyto procesy však genetická informace ovlivňuje již značně nepřímou, většinou právě prostřednictvím vlivu na biochemické a fyziologické procesy probíhající v určité situaci v tělech organismů. Zejména u mnohobuněčných organismů si proto můžeme zjednodušeně představit, že genetická informace slouží k vytvoření těla organismu, jakéhosi automatického robota, jehož chování je dále určováno autonomními systémy, například nervovou soustavou, a do jehož řízení již genetická informace víceméně nezasahuje.

Materiálním nosičem genetické informace je u dnešních organismů nukleová kyselina, v naprosté většině případů DNA. Skupiny virů, u nichž je genetická informace uchovávaná v podobě RNA, vznikly v evoluci s největší pravděpodobností až druhotně. Genetická informace je v DNA zapsána do aperiodické sekvence čtyř druhů nukleotidů, tj. deoxyadenosin-5'-fosfátu (A), deoxythymidin-5'-fosfátu (T), deoxyguanosen-5'-fosfátu (G) a deoxycytidin-5'-fosfátu (C), v dlouhém nevě-

tveném řetězci dvouřetězcové nukleové kyseliny. Oba řetězce jsou si navzájem komplementární, tj. nukleotidu obsahujícímu bázi adenin v jednom řetězci odpovídá ve druhém řetězci nukleotid obsahující bázi thymin a nukleotidu obsahujícímu cytosin v jednom řetězci odpovídá nukleotid obsahující guanin v řetězci druhém (obr. II.1). Díky tomuto jednoznačnému přiřazení vzájemně si komplementárních bází obsahují oba řetězce dvouřetězcové DNA stejnou genetickou informaci. V průběhu buněčného cyklu se DNA zmnožuje mechanickým kopírováním v procesu **replikace**. Při replikaci se dvouřetězcová molekula DNA dočasně lokálně rozdělí na dvě molekuly jednořetězcové, přičemž každý z těchto řetězců slouží jako templát (předloha) pro syntézu druhého, komplementárního řetězce. Tímto způsobem vzniknou z jedné dvouřetězcové molekuly DNA dvě dvouřetězcové molekuly o stejné struktuře, nesoucí stejnou genetickou informaci (obr. II.2).

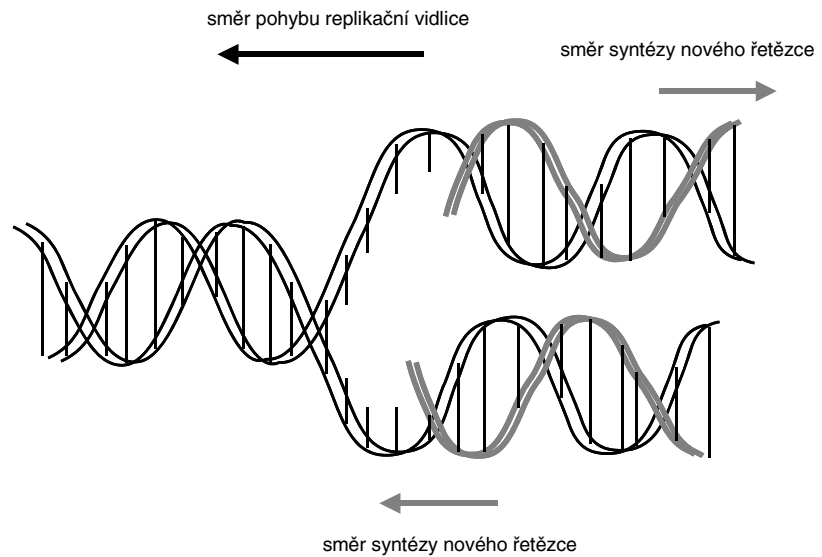
Veškerá DNA nacházející se v buňce tvoří její **genom**. U eukaryotické buňky se genom skládá z něko-

lika nesterjně významných částí. Největší část genomu je uložena v jádře buňky a tvoří tam **jaderný genom**. Další části jsou uloženy v mitochondriích (**mitochondriální genom**), případně v plastidech (**plastidový genom**). I v rámci jedné části genomu, např. v rámci jaderné DNA, je genetická informace uložena na několika (často mnoha) nezávislých nosičích, na jednotlivých **chromosomech**. Každý chromosom obsahuje jednu dlouhou (dvouřetězcovou) molekulu DNA a dále množství dalších molekul, zejména proteinů, se strukturálními či regulačními funkcemi. U některých organismů je molekula DNA uzavřena do kruhu, u jiných je lineární. Velká část eukaryotických organismů je diploidních, tj. jejich tělní (somatické) buňky primárně obsahují od každého chromosomu v jádře dva exempláře, tj. dvojici **homologních chromosomů**. V průběhu života se počty chromosomových sádek mohou v jednotlivých typech buněk zvyšovat, případně mohou být jednotlivé chromosomy i jednotlivé chromosomové sádky naopak eliminovány. Zralé pohlav-

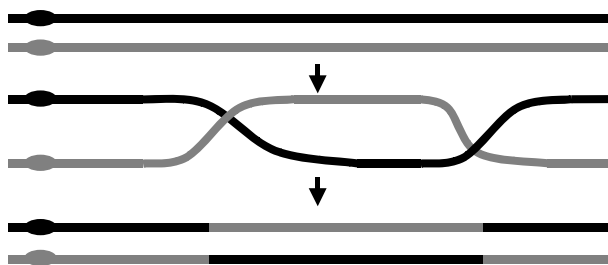
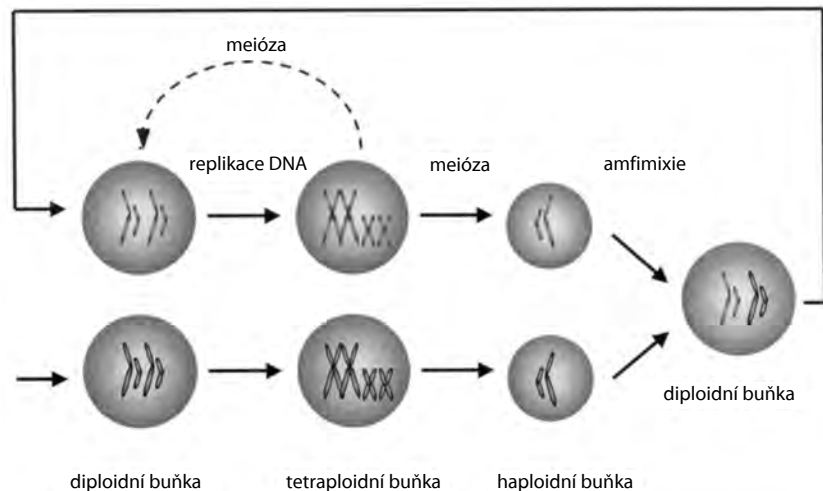


Obr. II.1 Struktura DNA a RNA. Základní jednotkou DNA (a) je nukleosid: deoxyribosa (D), na jejímž prvním atomu uhlíku je *N*-glykosidickou vazbou navázána některá ze čtyř druhů dusíkatých bází, tj. dvou pyrimidinových bází – thyminu (T) a cytosinu (C) – a dvou purinových bází – adeninu (A) a guaninu (G). Dva sousední nukleosidy jsou propojeny mezi 5'- a 3'-atomem uhlíku obou deoxyribos fosfodiesterovou vazbou (P). Nukleosid vytváří dohromady s fosfátovou skupinou nukleotid. Molekulu DNA tak tvoří dva lineární řetězce, ve kterých se nepravidelně střídají čtyři druhy nukleotidů, tj. deoxyadenosin-5'-fosfát (A), deoxythymidin-5'-fosfát (T), deoxyguanosin-5'-fosfát (G) a deoxycytidin-5'-fosfát (C). Oba řetězce jsou propojeny vodíkovými můstky mezi dvojicemi komplementárních bází, AT (dva můstky) a GC (tři můstky). Řetězce jsou vzájemně antiparalelní, tj. 5'-konec jednoho se páruje s 3'-konce druhého, a v prostoru vytvářejí známou dvojšroubovicovou strukturu. Struktura RNA (b) je dosti podobná struktuře DNA. Nukleosidy jsou však tvořeny místo deoxyribosy cukrem ribosou (R) a pyrimidinová báze thymin (T) je v příslušném nukleotidu nahrazena bází uracilem (U). Na obrázku b) je znázorněna molekula RNA v okamžiku syntézy, kdy se její báze párují s komplementárními bázemi příslušného úseku DNA. Ještě v průběhu syntézy však molekula RNA disociuje od svého DNA-templátu, a v buňce se tedy vyskytuje ve své jednořetězcové podobě.

Obr. II.2 Replikace DNA. Při replikaci DNA dojde nejprve působením specializovaných enzymů k lokálnímu rozpletení a oddělení obou řetězců dvoušroubovice DNA a následně každý z řetězců slouží jako templát (matrice) pro syntézu nového řetězce DNA. Protože oba řetězce jsou antiparalelní a syntéza nového řetězce DNA může probíhat výhradně ve směru od 5' ke 3'-konci, musí být jeden z řetězců syntetizován po krátkých úsecích a tyto krátké úseky, tzv. Okazakiho fragmenty, jsou teprve následně spojovány do jednoho kontinuálního řetězce. Replikace krátkých genomů virů a bakterií začíná často v jediném místě, naproti tomu replikace dlouhých molekul DNA, s jakými se setkáváme například u všech eukaryot, začíná na mnoha místech současně.

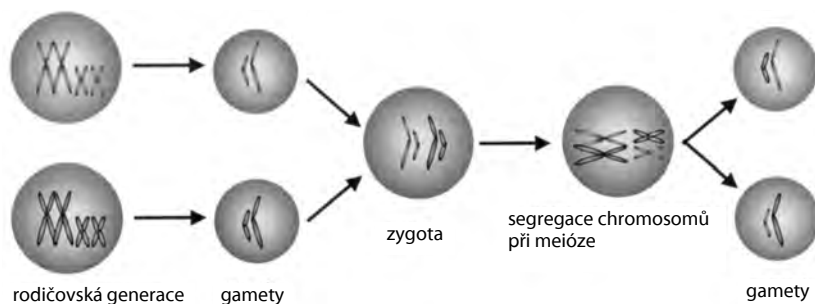


Obr. II.3 Změny ploidie v průběhu životního cyklu typického eukaryotického organismu. U diploidního organismu dojde nejprve k replikaci DNA, takže buňka se v podstatě stane z hlediska svého genetického obsahu tetraploidní. Chromosomy s replikovanou DNA jsou tvořeny dvěma chromatidami vzájemně propojenými v oblasti centromery, kde dochází k replikaci DNA úplně nakonec. Tetraploidní buňka se může v průběhu mitózy rozdělit na dvě buňky diploidní nebo v průběhu meiózy na čtyři pohlavní buňky haploidní. Splynutím dvou haploidních pohlavních buněk, pocházejících zpravidla od dvou různých jedinců, tj. amfimixií, vznikne opět diploidní buňka.



Obr. II.4 Rekombinace. V průběhu rekombinace dochází k výměně úseku DNA mezi dvěma chromosomy nebo mezi dvěma chromatidami stejného chromosomu. Vlastní mechanismus rekombinace je ve skutečnosti podstatně složitější, než jak naznačuje obrázek, a zahrnuje mimo jiné i syntézu nového řetězce DNA a odbourávání částí řetězců starých. K rekombinacím dochází především při meióze, méně často i při mitóze.

ní buňky jsou haploidní, neboť v průběhu speciálního jaderného dělení, redukčního dělení *meiózy*, u nich dochází k redukci počtu chromosomových sádek ze dvou na jednu. K diploidizaci jaderné chromosomové sádky dojde v typickém případě **amfimixií**, tj. splynutím dvou pohlavních buněk, které většinou pocházejí od dvou různých jedinců v populaci (obr. II.3). V průběhu meiózy zároveň dochází ke dvěma z evolučního hlediska mimořádně důležitým procesům, k rekombinaci a k segregaci. **Rekombinace** je proces, při němž dochází tzv. **crossing-overem** k výměně jednotlivých vzájemně si odpovídajících úseků DNA mezi homologními chromosomy – úseky na chromosomu pocházejícího od jednoho rodiče si vymění místo s odpovídajícími úseky chromosomu pocházejícího od druhého rodiče (obr. II.4). **Segregací** nazýváme náhodné rozdě-



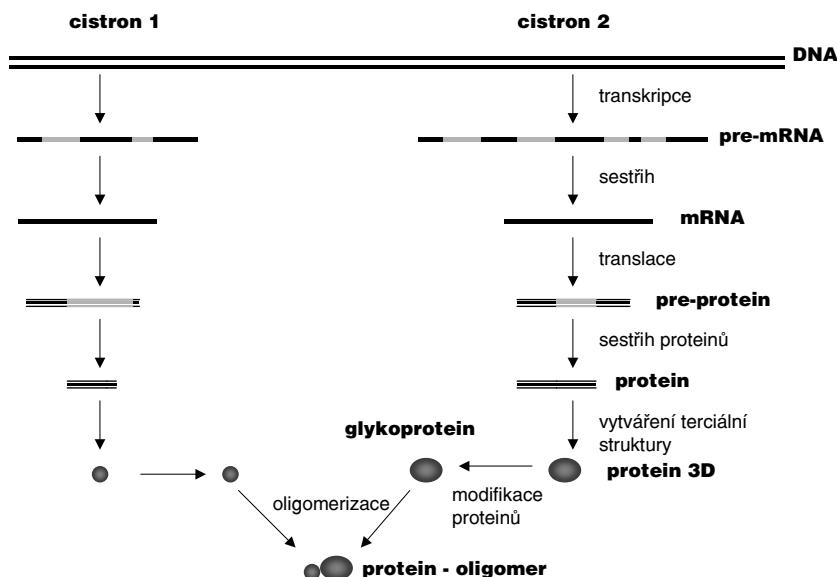
Obr. II.5 Segregace chromosomů v průběhu meiózy. Zygota, tj. buňka vzniklá fúzí dvou rodičovských gamet, nese dvě chromosomové sádky pocházející od obou rodičů. V průběhu jaderných dělení, mitózy i meiózy, dochází k náhodnému rozdělení chromosomů do dceřiných buněk, takže každá z těchto buněk nakonec nese unikátní genotyp vzniklý namícháním chromosomů pocházejících od obou rodičů. Mechanismus jaderného dělení přitom zajišťuje, že každá z buněk získá úplnou chromosomovou sádku, tj. po jednom chromosomu od každého typu chromosomu.

lení po jednom z dvojice homologních chromosomů do jader vznikajících pohlavních buněk (obr. II.5).

## II.2 O interpretaci genetické informace obsažené v DNA se stará molekulární aparát buňky.

Interpretaci genetické informace zapsané v DNA, tj. převedení informace obsažené v pořadí jednotlivých nukleotidů v lineárních řetězcích DNA na vlastnosti trojrozměrných organismů, provádí molekulární aparát jednotlivých buněk (obr. II.6). Dlouhé úseky DNA obsahují informaci, která slouží k řízení syntézy jednotlivých molekul proteinů. V průběhu **transkripce** se informace obsažená v příslušném úseku DNA nejprve mechanicky přepíše do lineárního řetězce RNA, molekuly, která je svou strukturou velmi podobná jednořetězcové DNA a jejíž čtyři nukleotidy se opět párují s příslušnými nukleotidy DNA. Jako templát pro syntézu

RNA slouží ten z řetězců dvouřetězcové DNA, který v daném místě nese příslušnou regulační oblast, tzv. promotor, tj. krátkou sekvenci nukleotidů, ke které přisedá molekula enzymu syntetizujícího RNA. U mnohých skupin organismů je tato RNA dále upravována v průběhu **sestřihu** (splicing) a **editace** (editing) (obr. I.4). Při sestřihu jsou části řetězce RNA, introny, vystřihovány a zbylé části, exony, znovu kovalentně spojovány do jednoho řetězce. Při editaci jsou enzymaticky zaměňovány či vkládány a vyjímány jednotlivé nukleotidy uvnitř molekuly RNA. Část RNA slouží jako **mediátorová RNA** (mRNA, messenger RNA). V průběhu **translace** je informace zakódovaná v lineárním řetězci mRNA, který obsahuje čtyři různé nukleotidy, pomocí jednoduchých překladových pravidel **genetického kódu** (obr. II.7) přeložena do lineárního řetězce proteinu obsahujícího zhruba 20 různých aminokyselin, tj. dvacet základních aminokyselin a případně i několik málo aminokyselin doplňko-



Obr. II.6 Interpretace genetické informace. Genetická informace, zapsaná jako lineární sekvence deoxyribonukleotidů v molekule DNA, se nejprve přepíše do sekvence ribonukleotidů molekuly RNA, tato RNA se v průběhu sestřihu RNA a případně i editace RNA upraví a následně se při translaci sekvence jejích ribonukleotidů přeloží podle pravidel genetického kódu do sekvence aminokyselin v lineárním řetězci proteinu. Řetězec proteinu může být upravován vystřihováním a kovalentním spojováním určitých úseků a kovalentní modifikací, například glykosylací (navázáním cukrů) jednotlivých aminokyselin, a následně může být spojen kovalentně nebo nekovalentně s jinými podobně upravenými proteiny do složitých molekulárních komplexů, schopných vykonávat některou biologickou funkci.

Obr. II.7 Univerzální genetický kód. Tabulka ukazuje pravidla překlada sekvence nukleotidů RNA do sekvence aminokyselin proteinu. Univerzální genetický kód je tripletový, tj. tvořený trojicemi nukleotidů (triplety, kodony). Jednotlivé triplety se v řetězci RNA nepřekrývají a v molekule mRNA na sebe navazují bezprostředně jeden za druhým bez jakýchkoli oddělovačů. Genetický kód je navíc degenerovaný, neboť většina aminokyselin je kódována větším počtem tripletů. Protože překlad molekuly mRNA začíná vždy od jednoho konkrétního místa, je daná RNA pokaždé přeložena do stejné sekvence aminokyselin. Syntéza proteinu končí, jakmile se v řetězci mRNA vyskytne některý ze tří terminačních kodonů.

první pozice	třetí pozice	druhá pozice			
		U	C	A	G
U	U	fenylalanin	serin	tyrosin	cystein
	C	fenylalanin	serin	tyrosin	cystein
	A	leucin	serin	terminační	terminační
	G	leucin	serin	terminační	tryptofan
C	U	leucin	prolin	histidin	arginin
	C	leucin	prolin	histidin	arginin
	A	leucin	prolin	glutamin	arginin
	G	leucin	prolin	glutamin	arginin
A	U	isoleucin	threonin	asparagin	serin
	C	isoleucin	threonin	asparagin	serin
	A	isoleucin	threonin	lysin	arginin
	G	metionin	threonin	lysin	arginin
G	U	valin	alanin	aspartát	glycin
	C	valin	alanin	aspartát	glycin
	A	valin	alanin	glutamát	glycin
	G	valin	alanin	glutamát	glycin

vých, vyskytujících se pouze v některých proteinech u některých organismů. Typickým příkladem doplňkové aminokyseliny je selenocystein, který se u člověka vyskytuje asi ve 25 proteinech (Kryukov *et al.* 2003). Některé z proteinů mají strukturální funkci a jejich trojrozměrný tvar, určovaný právě pořadím jednotlivých aminokyselin v jejich řetězcích, i další biofyzikální vlastnosti určují vnitřní i vnější strukturu příslušných buněk a jejich částí. Mnohé proteiny vykazují enzymatickou aktivitu, tj. katalyzují určitou chemickou reakci, nebo zprostředkovávají transport látek a přenos signálů. Jejich výskyt, lokalizace, množství a vlastnosti pak určují průběh biochemických a fyziologických procesů probíhajících v buňce. Biofyzikální vlastnosti enzymů i jejich produktů opět určují strukturu jednotlivých buněk a u mnohobuněčných organismů zprostředkovávají, tj. ovlivněním vlastností jednotlivých buněk, i anatomii a funkci orgánů i celých těl organismů. Anatomie a mikroanatomie jednotlivých specializovaných orgánů, u živočichů zejména mikroanatomie nervové soustavy, pak určuje i chování organismů, tj. reakci organismů na různé kombinace vnějších i vnitřních podnětů.

Velká část informace obsažené v DNA se interpretuje i bez převedení do sekvence RNA a dále do sekvence proteinů. Lineární motivy střídajících se nukleotidů slouží jako specifická vazebná místa různých molekul se strukturální či regulační funkcí. Nukleotidové sekvence v těchto úsecích tedy určují nejen způsob uložení dlouhých úseků DNA v jádrech buněk, ale přímo (specifitou vazby) i nepřímo (expozicí či naopak ukrytím vazebného místa) načasování a intenzitu přepisu jiných úseků DNA na RNA, případně načasování a intenzitu překladu daných úseků RNA na proteiny. Zejména u mnohobuněčných organismů se patrně většina významných

evolučních změn, včetně změn vedoucích k radikálním modifikacím tělesné stavby, odehrává právě modifikační programů exprese jednotlivých genů, nikoli modifikací pořadí nukleotidů v těchto genech. Struktura, a tedy i vlastnosti jednotlivých proteinů zde mají patrně menší význam než časové pořadí a intenzita jejich syntézy v jednotlivých tkáních organismu. U drosofil bylo například pozorováno, že z 10 mutací v genu pro receptor pro epidermální růstový faktor způsobujících poruchu ve vývoji oka jen jedna odpovídá záměnové mutaci. Většina se na struktuře proteinů nemůže projevit a zřejmě ovlivňují pouze intenzitu syntetizování daného proteinu (Wagner 2003).

DNA obsahuje dále úseky, které se přepisují pouze do řetězců RNA, přičemž tyto řetězce RNA se již dále nepřekládají do proteinů. U člověka se uvádí, že pouze 2% transkribovaných molekul RNA slouží jako template pro syntézu proteinů (Mattick 2001).

Jednořetězcová RNA může na rozdíl od relativně rigidní dvouřetězcové DNA vytvářet díky vzájemným interakcím mezi různými úseky téhož řetězce velmi složitou prostorovou strukturu. Krátké i delší molekuly RNA tedy mohou mít a velmi často i mají nejrozličnější funkce ve fyziologii buněk, zejména buněk eukaryotických. Molekuly RNA mají mnohdy i enzymatickou aktivitu, takže mohou ovlivňovat nejen regulaci buněčných funkcí, ale i přímo fyziologické procesy probíhající v buňce. Mnohé molekuly RNA patrně plní strukturální funkci v multimolekulárních komplexech (ribosom, spliceosom). Velká část molekul RNA nepřekládaných do proteinů patrně plní funkce v **regulaci genové exprese**, a to jak v regulaci zapínání, vypínání, zesilování či zeslabování transkripce, tak v obdobné regulaci translace (Eddy 2001). U organismů využívají-

cích *sestřih* a *editování RNA*, tj. dodatečné úpravy transkriptů, má regulační RNA důležitý význam i v regulaci těchto procesů. Studium funkce RNA ve fyziologii buňky probíhá podstatně pomaleji než obdobné výzkumy týkající se proteinů. Je to dáno mimo jiné i tím, že u prokaryot, která slouží jako velmi výhodný model pro studium buněčných procesů, patrně převzaly v průběhu evoluce velkou část funkcí molekul RNA druhotně proteiny (Poole, Jeffares, & Penny 1998; Jeffares, Poole, & Penny 1998).

### II.3 Základní jednotkou genetické informace je gen.

**Fenotyp** jedince je možno chápat jako soubor všech vlastností, které daný jedinec vykazuje. Některé z těchto vlastností jsou podmíněny geneticky, tj. jejich výskyt je podmíněn přítomností konkrétní genetické informace v genomu daného jedince. Jiné vlastnosti, například chování v prostředí o teplotě 3000 °C, nejsou podmíněny geneticky a vyplývají z vlastností látek, ze kterých se skládají těla organismů. Velká část vlastností je podmíněna současně geneticky a prostředím. Výskyt určité vlastnosti je v takovém případě závislý například na charakteru vnějšího prostředí, v němž se daný jedinec vyskytuje, nebo na vnitřním prostředí daného organismu, kterýžto parametr je zase často určen celkovou genetickou výbavou daného jedince.

Přirozenou jednotkou genetické informace je gen. **Gen je tradičně chápán jako genetická informace, která ovlivňuje nějakou rozpoznatelnou vlastnost jedince, tj. výskyt určitého znaku nebo jeho konkrétní formu.** Jiné pojetí genu bude představeno v odd. II.3.1. Znakem může být například přítomnost či absence určité morfologické struktury, zrovna tak jako přítomnost či absence určitého vzorce chování. Jestliže se dva organismy v daném genu liší, tj. jestliže mají od daného genu jinou variantu, tj. jinou **alelu**, mohou se navzájem lišit i ve sledovaném znaku. V některých případech se nositelé rozdílných alel liší za všech okolností, v některých případech se rozdíly projeví pouze ve zcela určitém prostředí, ať již se jedná o prostředí vnější nebo vnitřní – za podmínky přítomnosti zcela určitých variant ostatních genů v genomu jedince. Je třeba si uvědomit, že vztah mezi genem a jím podmíněným znakem je ve skutečnosti opačný, než jak by vyplývalo z výše uvedené definice. Zcela primární je právě existence geneticky podmíněného fenotypového rozdílu mezi jedinci daného druhu. Teprve na základě rozpoznání tohoto rozdílu

je možno definovat konkrétní znak a postulovat existenci příslušného genu. Příslušnými metodami, ať se již jedná o **metody genetické** (hledání genu pro známý fenotypový projev pomocí křížení) nebo **metody tzv. reverzní genetiky** (hledání fenotypového projevu známého genu pomocí cíleného vnášení úseků DNA do genomu jedince nebo cíleného odstraňování nebo poškozování těchto úseků), je pak možno lokalizovat daný gen v celkovém genomu studovaného organismu, tj. určit **lokus**, v němž se tento gen nachází.

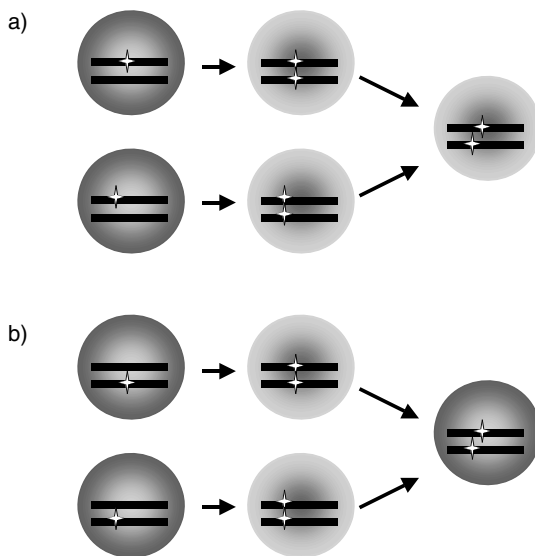
Ačkoli gen vymezujeme prostřednictvím jeho funkčního projevu, neznamená to, že se v evoluci vyvinul právě v důsledku selekčního tlaku na danou funkci. Velmi často je zřejmě gen definován a nazván podle fenotypového projevu mutace, která daný gen inaktivuje. Tento fenotypový projev přitom vůbec nemusí souviset s vlastní funkcí tohoto genu a může být zcela náhodným vedlejším projevem jeho poškození. Známy vtip o tom, jak utržení všech nožiček vede u blechy k ohluchnutí (neboť přestane reagovat na povel „Blecho, skoč!“), bychom tak mohli volně převyprávět do úryvku ze závěrečné grantové zprávy: „Splnili jsme hlavní cíl projektu, tj. objevili jsme gen řídící funkci sluchu u blech. Pomocí techniky gene targeting jsme jednoznačně prokázali, že za schopnost přijímat akustické signály je u blech odpovědný gen *Hear1*. Blechy s inaktivovanými oběma kopiemi tohoto genu přestaly reagovat na akustické podněty. Poznámka petitem dole pod čarou: Vedlejším výsledkem projektu bylo dále zjištění, že se u těchto blech nevytvářejí končetiny. Výzkum ontogeneze končetin však nebyl součástí původního grantového návrhu, a proto jsme se tomuto potenciálně zajímavému fenoménu dále nevěnovali.“

Kombinace konkrétních alel ve všech lokusech nacházejících se v genomu daného jedince se nazývá **genotyp**. Jestliže se zajímáme o alely nacházející se u daného jedince v některém konkrétním lokusu nebo v několika konkrétních lokusech, můžeme v této souvislosti používat pro danou kombinaci alel rovněž termín genotyp. Jestliže nás zajímá kombinace alel nacházejících se u daného jedince v jednom souvislém úseku jedné molekuly DNA, například v určitém úseku jednoho z dvojice homologních chromosomů, hovoříme o **haplotypu**. Termín haplotyp lze rovněž používat ve významu kombinace všech alel nacházejících se v genomu haploidní buňky, například v genomu buňky pohlavní. Genotyp diploidního jedince tedy obsahuje dva haplotypy od každého úseku DNA, v průběhu meiózy se z těchto dvou haplotypů prostřednictvím rekombinací mohou namixovat haplotypy nové. Souhrn všech alel

ve všech lokusech u všech jedinců určité populace se nazývá **genofond populace**, totéž u všech jedinců určitého druhu se nazývá **genofond druhu**.

### II.3.1 Současné pojetí genu jakožto cistronu je praktické z hlediska potřeb molekulární biologie, nevystačíme však s ním při studiu evolučních procesů.

Molekulární biologové dnes téměř univerzálně používají termín gen pro označení **cistronu**. Cistron byl původně definován pomocí tzv. **cis-trans-testu** (obr. II.8). V tomto testu jsou nejprve připraveni nebo z přírody izolováni dva mutanti s mutacemi projevujícími se ve fenotypu svého nositele stejným způsobem. Jestliže nás zajímá, zda se obě mutace nacházejí ve stejném cistronu, přeneseme dostatečně dlouhý souvislý úsek DNA nesoucí mutaci uměle, tedy například transfekcí, či přirozeně, tedy křížením, z jednoho mutantu do buněk obsahujících DNA jedince s druhou mutací. Získaný jedinec tak nese daný úsek ve dvou kopiích, z nichž každá nese jednu mutaci. Jestliže se u něho obnoví funkčnost daného genu, tj. objeví se původní



Obr. II.8 Cis-trans-test. Dvě recesivní mutace, které mají stejný fenotypový projev, se mohou nacházet buď ve stejném cistronu, nebo ve dvou různých cistronech. V prvním případě vnesení úseku mutované alely pocházející z jednoho mutantu do genomu druhého mutantu nevede k odstranění fenotypového projevu mutací (a), naopak v druhém případě často vede (b). V experimentech je třeba používat mutanty s nefunkčním aparátem genetické rekombinace, neboť rekombinací v úseku mezi oběma mutacemi by mohla vzniknout jedna molekula obsahující obě mutace a jedna molekula bez mutací. V takovém případě by nejspíš došlo k obnově nemutovaného fenotypu.

forma znaku odpovídající nemutované formě daného genu, bude velmi pravděpodobné, že se příslušné mutace nacházejí na dvou různých cistronech. V opačném případě se bude jednat o mutace ve stejném cistronu. Tento test je možno v takto jednoduché podobě použít pouze tehdy, když je divoká forma znaku dominantní, tj. když k jejímu výskytu stačí přítomnost pouze jediné kopie daného genu v genomu. Zároveň je třeba vyloučit (technicky předem nebo alespoň dodatečně při vyhodnocování dat) možnost, že k obnově funkčnosti daného genu došlo v důsledku genetické rekombinace, která proběhla přímo ve studovaném úseku DNA. Při ztotožnění genu s cistronem tedy gen v podstatě představuje souvislý úsek DNA kódující například určitý řetězec RNA, např. ribosomální RNA, nebo mRNA kódující určitý protein. Daný úsek DNA smí být dodatečně upravován například na úrovni mRNA *cis-sestříhem*, tj. vystříháním a znovuspojováním jednotlivých jeho úseků, nikoli však například *trans-sestříhem*, tj. připojováním úseků RNA pocházejících z jiných molekul RNA, které jsou přepisovány z jiných úseků DNA.

Pojetí genu jakožto cistronu je velmi praktické z hlediska molekulární biologie. Dovoluje totiž víceméně přesně a hlavně jednoznačně vymezit geny kódující jednotlivé molekuly, které se účastní životních procesů buňky i mnohobuněčného organismu. Vzhledem k tomu, že v současné době je studium těchto molekul hlavní náplní práce největšího počtu vědeckých pracovníků zabývajících se biologií, je toto pojetí genu zcela převažující. Velkou částí biologů je chápáno jako zcela samozřejmé, správné a dokonce jako jediné možné. Pro účely evoluční biologie však s tímto pojetím genu rozhodně nevystačíme. Je zřejmé, že dvě nezávislé mutace ve dvou místech stejného cistronu mohou mít různé, vzájemně nezávislé fenotypové projevy. U pohlavně se rozmnožujících organismů, tedy u většiny do současnosti popsaných druhů, přitom v úseku mezi těmito mutacemi může kdykoli dojít ke genetické rekombinaci, která od sebe fyzicky oddělí nejen obě mutace, ale i evoluční osudy těchto mutací. V podstatě každý nukleotid v DNA, přesněji řečeno v regulačních a kódujících oblastech DNA, se tedy může chovat jako samostatný gen, může mít nějaký fenotypový projev a může se přenášet z generace na generaci. O tom, zda se dvě mutace ve stejném řetězci DNA budou v evoluci chovat jako dva nezávislé geny, nebo jako jediný gen, rozhoduje jejich vzájemná vzdálenost, respektive pravděpodobnost jejich separace v důsledku crossing-overu, pravdě-

podobnost jejich předání do další generace, určená nejčastěji intenzitou selekce proti jejich nositelům či v jejich prospěch, a dále efektivní i nominální velikost populace, ve které evoluce probíhá.

## II.4 Stejný znak může být podmíněn různými geny a stejný gen může ovlivňovat výskyt a formu mnoha znaků.

Jednotlivé geny a ostatně i jednotlivé faktory vnějšího prostředí spolu při vytváření konečné formy znaku různým způsobem spolupracují, interferují nebo se co do svých účinků vzájemně zastupují. Současné molekulárněbiologické studie například ukazují, že velká část genetické informace je redundantní. Jestliže uměle inaktivujeme obě kopie určitého genu (rozuměj cistronu), velmi často se stane, že fenotypový projev daných mutací je velmi malý nebo dokonce nezatelný.

Pokusy provedené s pekařskou kvasinkou například ukázaly, že ztrátové mutace pouze v 1100 genech (opět rozuměj cistronech) z celkem 6200 testovaných mají letální charakter. Inaktivace dalších 291 genů má letální účinky pouze tehdy, když je zároveň inaktivován některý jiný gen (Tong *et al.* 2001).

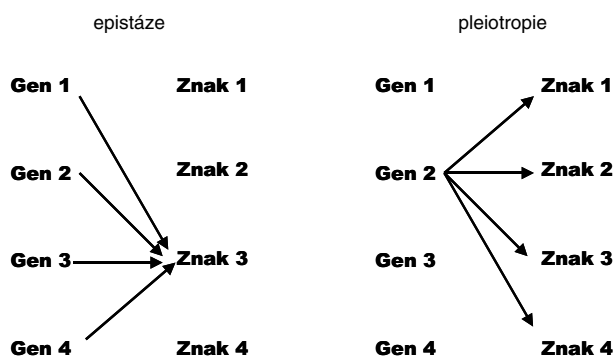
Geny, přesněji řečeno jejich konkrétní alely, tedy mohou vzájemně interagovat, tj. většinou se ve svých účincích potencovat či naopak rušit. V rámci stejného lokusu v takových případech hovoříme o projevech **dominance alel**. Jestliže k obdobným interakcím dochází mezi různými lokusy, hovoříme o **epistatických interakcích**. Vlastní interakce se pochopitelně fyzicky odehrávají zpravidla, ovšem nutně ne vždy, až na úrovni produktů příslušných genů, nikoli na úrovni DNA.

Dalším jevem, který nesmírně komplikuje zdánlivě jednoduchý vztah mezi genem a znakem, je **genová pleiotropie**. Velké množství genů má pleiotropní účin-

ky, jejich přítomnost, přesněji řečeno přítomnost té které alely daného genu, se projevuje nikoli na formě jediného znaku, ale na formě celé řady znaků (obr. II.9).

### II.4.1 Vztahy dominance a recesivity jsou nejznámější formou interakcí mezi alelami.

Diploidní organismus má od každého genu dvě alely. V případě, že má obě alely v daném lokusu stejné, hovoříme (z hlediska daného genu) o homozygotním jedinci, o **homozygotovi**. Jestliže se obě alely liší, hovoříme o jedinci heterozygotním, o **heterozygotovi**. Projev každé z alel může záviset na tom, jaká je u daného jedince druhá alela v daném lokusu. Velmi často je určitá **alela recesivní**, tj. projevuje se fenotypově pouze tehdy, jestliže je přítomna u daného jedince ve dvou kopiích, tj. u **recesivního homozygota**. Opakem alely recesivní je alela dominantní. Její přítomnost se projevuje stejným způsobem jak u nositele dvou kopií dané alely, tj. u **dominantního homozygota**, tak i u heterozygota, tedy u jedince, u kterého je přítomna pouze v jediné kopii. Míra, v jaké se projevují ve fenotypu jedince alely **semi-dominantní**, tj. alely s **částečnou dominancí**, závisí na tom, zda se v genotypu daného jedince vyskytují v jedné či v obou kopiích. Při **kodominanci** se obě přítomné alely projevují ve stejné míře, v jaké by se projevovaly u příslušných homozygotů. Zatímco při částečné dominanci bývá míra projevu obou alel u heterozygota menší než u jednoho či druhého homozygota, při **superdominanci** je exprese daného znaku u heterozygota naopak větší než u kteréhokoliv z obou homozygotů. Takto schematicky je možné rozdělit interakce mezi alelami stejného lokusu pouze v případě, že se tyto alely projevují v míře fenotypové exprese jednoduchého kvantitativního znaku. U znaků kvalitativního charakteru lze většinou rozlišovat pouze dominantní a recesivní alely, vzájemné rozlišení alel s částečnou dominancí, superdominancí a kodominancí bývá většinou dosti obtížné, či dokonce nemožné. Obraz dále komplikuje i skutečnost, že od stejného genu zpravidla existují více než dvě alely, a rovněž skutečnost, že dominance je záležitost relační, tj. záležitost vztahu dvou konkrétních alel daného genu, nikoli nějaká absolutní vlastnost určité alely. Alela  $a_1$  se tak může chovat jako dominantní vůči alele  $a_2$ , alela  $a_2$  jako dominantní vůči alele  $a_3$  a současně alela  $a_3$  se může chovat jako dominantní vůči alele  $a_1$ . Aby byla problematika dominance



Obr. II.9 Epistáze a pleiotropie. Při epistázi je jeden znak ovlivněn větším počtem genů, při pleiotropii jeden gen ovlivňuje několik různých znaků.



a recesivity ještě komplikovanější, je nutno upozornit na skutečnost, že daný vztah mezi dvěma konkrétními alelami může být navíc podmíněný kontextově, tj. mohou se v něm uplatňovat navíc vlivy genů nacházejících se v jiných lokusech. V přítomnosti určité alely v lokusu **B** může být alela  $a_1$  lokusu **A** dominantní vůči alele  $a_2$ , v kontextu jiné alely v lokusu **B** se může alela  $a_1$  naopak chovat vůči alele  $a_2$  jako recesivní (obr. II.10).



Obr. II.10 Kontextově podmíněná dominance alel. Vztah dominance a recesivity dvou alel může být zásadně ovlivněn přítomností alel v jiném lokusu. Na obrázku se u homozygota  $b_1b_1$  chová alela  $a_1$  vůči alele  $a_2$  jako dominantní, u homozygota  $b_2b_2$  jako alela recesivní a u heterozygota  $b_1b_2$  jako alela semidominantní.

#### II.4.1.1 Dominance jednotlivých alel může podléhat evoluci.

Jako recesivní se často uplatňuje alela, která kóduje inaktivní produkt daného genu nebo která není vůbec exprimována. Jestliže druhá alela na homologním chromosomu kóduje funkční produkt, například funkční enzym, potom se tento protein vyskytuje jak u homozygota, tak u heterozygota a výsledkem je přítomnost příslušného znaku. Míra exprese jednotlivých genů totiž bývá do značné míry regulována aktuálními potřebami daného produktu v buňce, takže skutečnost, že u heterozygota je přítomna jen jediná funkční kopie určitého genu, se na koncentraci produktu daného genu vůbec nemusí projevit. I v případě, že regulace exprese daného genu není možná a množství daného produktu závisí na genové dozi, tj. na počtu funkčních kopií v jádře, nemusí se snížená koncentrace produktu u heterozygota na jeho fenotypu nijak projevit, zejména jestliže daným produktem je enzym účastnící se některého složitějšího metabolického děje. Jednotlivých metabolických drah se účastní v určité navazu-

jící časové posloupnosti větší množství enzymů. Ze zákonitostí enzymatické kinetiky přitom vyplývá, že celková rychlost sekvence na sebe navazujících reakcí je poměrně málo citlivá na kolísání koncentrace jednotlivých enzymů (Kacser & Porteous 1987).

V případě, že produktem daného genu není enzym, ale nějaká stavební nebo regulační molekula, může mít mutovaná alela velmi snadno dominantní charakter a projev. Například regulační bílkovina, která získá nově afinitu k regulačnímu místu některého genu, může expresi tohoto genu zapnout i v buňce heterozygota. Taková alela se tak může chovat jako dominantní. Právě tak se může chovat jako dominantní alela kódující pozměněnou formu alostericky regulovatelného enzymu, tj. enzymu, jehož aktivita je například vypínána tehdy, když se na něj navážou produkty jím katalyzované reakce. Jestliže mutovaná alela bude kódovat enzym, který kvůli mutaci ztratil schopnost být alostericky inaktivován v přítomnosti produktu dané reakce, potom se přítomnost takovéto alely pochopitelně projeví i v přítomnosti normální alely kódující původní, regulovatelný enzym.

Řada přímých i nepřímých dokladů ukazuje, že dominance alely je ve skutečnosti složitější fenomén, který je sám o sobě předmětem biologické evoluce (Bourguet 2001). Bylo například opakovaně zjištěno, že v přirozených populacích jsou nejrozšířenější alely většiny genů dominantní a naopak minoritní alely jsou častěji recesivní. Jestliže naopak izolujeme v laboratoři jedince, kteří nesou nově vzniklé mutované alely, nebo jestliže získáme jedince nesoucí minoritní alely ze vzájemně izolovaných přírodních populací, potom mezi jejich alelami najdeme nejčastěji vztah částečné dominance. Tuto skutečnost je možné interpretovat dvojím, zásadně odlišným způsobem. První vysvětlení je založeno na vcelku logickém předpokladu, že právě výhodné dominantní alely se v populaci snáze rozšíří, a tedy stanou alelami majoritními než stejně výhodné alely recesivní. Zatímco užitečnost dominantní alely se projeví i u heterozygota, užitek obdobné alely recesivní se projeví pouze u recesivních homozygotů, v outbreední populaci, tj. v populaci, ve které dochází k náhodnému křížení mezi jejími příslušníky, tedy teprve tehdy, když se její frekvence výrazně zvýší (obr. II.11). Tento princip se někdy nazývá **Haldaneovo síto** (Noor 1999).

Druhé vysvětlení vychází z předpokladu, že míra dominance může být stejně tak jako kterákoli jiná biologicky významná vlastnost předmětem přirozeného výběru, a tedy i objektem biologické evoluce.