

Česká hlava

za výzkum vzniku nových biologických druhů

Proč se nekříží kočka se psem? Proč se sice může zkřížit kuň s oslem, ale jejich potomci – mulové či mezci – jsou neplodní? Z jakého důvodu jsou někdy sterilní i kříženci dvou blízce příbuzných poddruhů, třeba myši, a souvisí to nějak se vznikem nových živočišných druhů? **Jeden z nejdůležitějších článků této záhady odhalil Jiří Forejt z Ústavu molekulární genetiky Akademie věd ČR, který identifikoval první gen u savců zodpovědný za samčí neplodnost mezidruhových kříženců, přečetl ho a ukázal, jak je regulován.**

■ Ke svým výzkumům používáte myši, studujete jejich genom. Proč právě myš tak často slouží jako modelový organismus? Nakolik je myší genom podobný lidskému?

Je velice podobný – v kódující části genomu se shoduje s lidským asi z 98 % a celá řada fyziologických a biochemických pochodů je prakticky identická. To ale samozřejmě neznamená, že myš je člověk. Když chceme studovat třeba otázky přeměny normální buňky na nádorovou nebo vznik diabetu, je myš velmi dobrou volbou. Jakmile však budete chtít studovat například deprese nebo nějaké velmi komplexní fenotypy, tedy soubory vlastností a znaků, rozdíly mohou být samozřejmě velké. Obecně myš používáme z několika zřejmých důvodů: genetik potřebuje především pokusná zvířata křížit a sledovat, jak nějaký znak přechází z jedné generace na druhou. U myši můžeme získat tři až čtyři generace během jediného roku, protože myš má velmi krátký generační čas. Ovšem, kdybychom chtěli tytéž výzkumy provádět na králících nebo na psech, sice by to šlo, ale čekali bychom příliš dlouho. Dalším praktickým důvodem je, že myš je malá, takže v jedné klimatizované místnosti lze chovat třeba 300 myši a ony se tam cítí dobře. Nemůžeme tam mít 300 ovcí nebo 300 králíků. Z uvedených praktických příčin se myš stala nejprostudovanějším savcím modelem člověka.

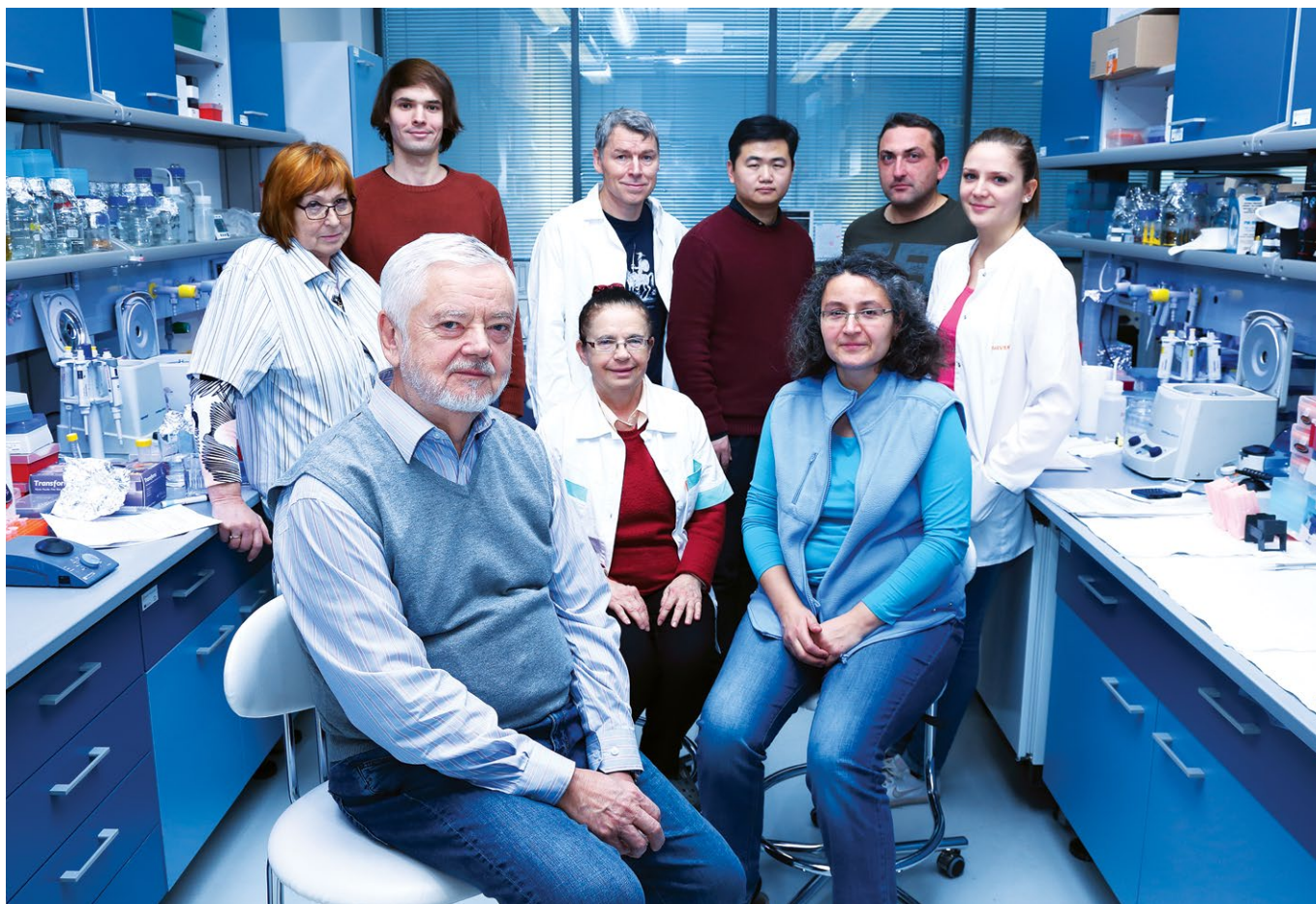
■ Zaměřili jste se na studium reprodukce, neplodnosti a tzv. hybridní sterility savců. Jste autorem objevu vůbec prvního genu hybridní sterility u savců. Proč se právě tato problematika stala hlavním tématem vašeho výzkumu?

Na začátku byl v podstatě řetězec náhod, protože imunogenetická laboratoř, kde jsem začínal, studovala v šedesátých letech transplantační antigeny a geny, které za ně odpovídají. Můj školitel Pavol Iványi chtěl ke zkoumání více forem genů, než kolik jich mají laboratorní myši, a tak dostal nápad, že nacytáme myši někde v přírodě a budeme hledat nějaké nové formy transplantačních antigenů, než jsou běžné u laboratorních myši. To se sice podařilo, ale přitom jsme zjistili, že někteří kříženci – hybridy – nacytaných divokých a našich laboratorních myši byli neplodní, takže náš pokus nemohl pokračovat dál. A tak jsem dostal úkol podívat se na důvody, proč jsou ty myši neplodné. Asi dva roky jsem tápal a hledal a zásadní roli pak sehrálo, že se mi dostala do ruky kniha jednoho skvělého evolučního genetika. Když jsem ji přečetl, uvědomil jsem si, že to, co vidíme, je vlastně mezidruhová neplodnost: myši, které chytáme, jsou z myšího poddruhu zvaného *Mus musculus musculus*, kdežto většina laboratorních myši je z jiného poddruhu, *Mus musculus domesticus*. Na první pohled jsou skoro nerozlišitelné >>



Jak jsem se stal genetikem

Asi jako v řadě jiných věcí v životě šlo o sérii náhod. Při studiích na lékařské fakultě jsem pracoval jako pomocná vědecká síla na katedře biologie. Tam jsme však o genetiku takřka nezaváděli, věnovali jsme se cytologii. Jsem z generace, která se sice už neučila stalinskou mičurinsko-lepešinskou pseudogenetiku, ale tehdy se ještě nevyučovala skutečná genetika. Takže jsem si za studií říkal – proboha jenom ne genetiku! Protože jsem ale už jako student vypracoval nějaké malé publikace, dostal jsem nabídku, abych šel pracovat do tehdejšího Ústavu experimentální biologie a genetiky a dosáhl tam vědecké hodnosti. Dostal jsem se do skupiny Pavla Iványiho, která byla zaměřená na imunogenetiku. Trochu jsem se vyděsil, nicméně jsem si řekl, že se s tím musím nějak vypořádat, proto jsem se přihlásil na Přírodovědeckou fakultu UK a absolvoval dva semestry genetiky. A protože jsem to bral velice vážně, rázem jsem se v naší skupině stal „expertem na genetiku“.



Oddělení myší molekulární genetiky Jiřího Forejta v Biotechnologickém a biomedicinském centru Akademie věd ČR a Univerzity Karlovy ve Vestci (BIOCEV), kde v rámci výzkumného programu Funkční genomika pracuje na projektu Geneticky definované myší modely jako nástroj pro studium lidských chorob.

a v podstatě spolu i komunikují, páří se a mají potomky, ovšem v některých případech se stane, že tito potomci, speciálně samci, jsou neplodní. Když jsem tato fakta srovnal s výsledky, které byly už dříve publikovány na drozofile, ovocné mušce, což byl modelový organismus pro studium právě izolace mezi druhy, uvědomil jsem si, že u myší se vlastně úplně přesně opakuje situace pozorovaná u drozofil.

■ Jaké závěry jste z toho pro vaši práci vyvodil? Jakým směrem jste se vydal dál?

V tomto okamžiku se z projektu imunogenetického stal projekt hledající odpověď na otázku, jakým způsobem dojde k tomu, že se ony dva myší poddruhy od sebe reprodukčně izolují. Pochopitelně, když jsou dva živočišné druhy od sebe už více vzdálené, neplodné potomky spolu nemají, protože žádní hybridi jednoduše nevznikají: kočka se psem se křížít nebudou. Funguje to ale na samém začátku vzniku nového druhu. Když si představíte, že máte dvě populace, které se oddělily kupříkladu z nějakých geografických důvodů – jedna zůstala třeba na ostrově a druhá na pevnině – a vyvíjejí se

izolovaně řekněme 300 tisíc let, hodně se změní, protože žijí v jiných podmínkách a působí na ně jiné mutační tlaky. Když se posléze k sobě nějakým způsobem dostanou, existují dvě možnosti: buď se začnou křížit, není mezi nimi žádná reprodukční bariéra a velice rychle se rozdíl promíchávají. Výhodně zůstane, něco zmizí, ale stále se jedná o jediný druh. Nebo nastane druhá možnost: jakmile obě populace přestanou být schopné si volně předávat geny – jejich kříženci přitom nemusí být úplně neplodní, stačí, když jich neplodná bude jen polovina, třeba všichni samci –, už to představuje veliký zásah do struktury obou populací a začíná jejich nevratná speciace. Jinými slovy, jakmile si daní jedinci nejsou schopni předávat geny, protože jsou buď neplodní a potomci se vůbec nenarodí, nebo už se mezi sebou dokonce ani nekříží, nastal první nezvratný okamžik vzniku nového druhu. My jsme skutečně úplně náhodou měli obrovské štěstí, protože námi zkoumané dva myší poddruhy ještě nejsou od sebe zcela oddělené – proto se jim také říká poddruhy, protože se mezi sebou i v přírodě kříží a míchají se tím jejich geny, ovšem pouze do určité míry. Zřejmě je ale to míchání už nevýhodné.

■ Co přesně se stane z genetického hlediska, že se dva poddruhy buď už přestanou křížit, nebo se sice ještě kříží, ale vznikají neplodní potomci? Zjistili jste, k jakým změnám a procesům v genomu dochází?

O tom se spekuluje nesmírně dlouho, už Aristoteles se zamýšlel, proč jsou mulové – tedy kříženci mezi koněm a oslem – neplodní. I pro Darwina to byl velký oříšek, protože podle něho každý nový fenotyp vznikne selekcí, výběrem toho, co je pro daný organismus výhodné. Být neplodný ale určitě výhodné není. Čili Darwin sám konstatoval, že svou teorií nemůže vysvětlit neplodnost mezidruhových hybridů. První, čistě teoretické vysvětlení přinesl Theodosius Dobzhansky ve třicátých letech minulého století. Předpověděl, že jde o nekompatibilitu, která vzniká úplně náhodně nezávislým vývojem daných dvou populací. Představme si řekněme zámek a klíč – ovšem jako něco živého – kdy se zámek i klíč v jedné i v druhé populaci postupně mění. Uvnitř každé z obou populací jsou změny stále v pořádku, klíč se zámkem funguje. Když se ale třeba po půl milionu let obě populace potkají, tak příslušné dvě molekuly, jež jsem označil jako zámek a klíč a které spolu mají komunikovat a plnit nějakou konkrétní funkci, najednou už spolu komunikovat nedokážou, protože se vyvíjely nezávisle příliš dlouho. Tato představa neslučitelnosti mezi genovými produkty vznikajícími čistě náhodně v důsledku nezávislé evoluce příslušných dvou populací platí v podstatě dodnes. A my jsme ji dokázali potvrdit na našem myším modelu.

■ Konkrétně jste identifikovali, vyklonovali a popsali první gen, který u obratlovců zajišťuje uvedenou reprodukční bariéru mezi příbuznými druhy, jinými slovy brání předávání dědičných informací mezi příbuznými druhy. Vy jste

tento gen poprvé objevil u myši už před třiceti lety, ovšem tehdejšími metodami nebylo možné definovat, jak funguje. To se vám před několika lety podařilo. Vaše výzkumy však šly ještě dál a ukázaly, že zmíněný gen hybridní sterility není jediným genem nebo jediným mechanismem, který rozhoduje o genetické nekompatibilitě druhů. Jaký je ten další?

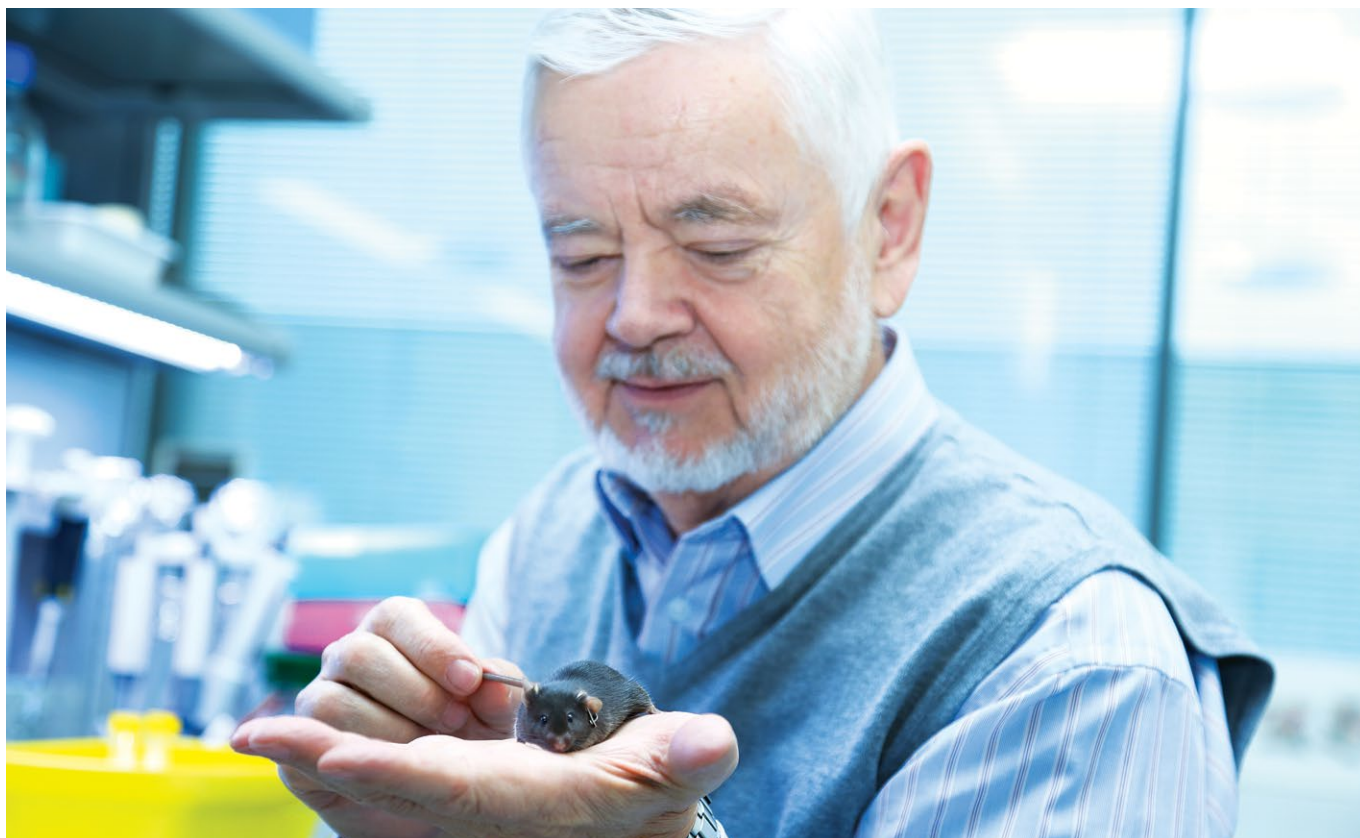
Od začátku jsme věděli, že dědičnost je komplexní. Na první pohled se zdálo, že ve hře je množina různých nekompatibilních genů a že to nepůjde vůbec analyzovat. Nicméně v našem studovaném modelu existují dva hlavní geny pro hybridní sterilitu. Jeden se označuje jako Prdm9 – ten jsme vyklonovali a už o něm hodně víme. Pak je zde ještě gen na chromozomu X, který se nám povedlo zaměřit do pěti megabází, což je v genomu poměrně malý úsek obsahující asi šest známých genů. Ještě ale nevíme, který z nich je ten hledaný. Oba dva geny musí mít určité alely, aby podmiňovaly hybridní sterilitu. Ani to však stále nestačí, ještě je nutné přidat heterozygotnost genomu.

■ Jakou ta přesně hraje roli?

Jedná se o nový aspekt, jež nyní analyzujeme, ale který ještě vědecká komunita úplně neakceptovala. My se totiž domníváme, že s tím, jak se poddruhy rozrůžňují, diverzifikují nejen geny kódující bílkoviny, které ovšem tvoří jen asi dvě procenta genomu, ale vyvíjí se a také diverzifikuje i těch zbývajících 98 % genomu, který buď kóduje ncRNA, nebo nekóduje vůbec nic. Při vzniku gamet (pohlavních buněk) přitom existuje určitý kritický moment – na samém začátku se musí otcovské a mateřské chromozomy vzájemně najít a jednotlivé chromozomy otce a matky se spolu musí spárovat – a my jsme zjistili, že právě toto párování je u neplodných hybridů výrazně poškozeno. Vysvětlujeme si to tím, že příslušné chromozomy >>

Myš nejužívanějšího inbredního kmene C57BL/6J má rodokmen sahající do roku 1921 do laboratoře Clarence Cooka Littla z Harvardovy univerzity v USA. V laboratoři Jiřího Forejta slouží jako geneticky definovaný model myšního poddruhu *Mus musculus domesticus*.





Myši pomáhají Jiřímu Forejtovi odhalit mnohé záhady neplodnosti – a získané poznatky možná jednou pomohou i lidem trpícím reprodukčními poruchami.

se už nerozpoznávají. Celková sekvence daného chromozomu, kde jen malinkou část představují geny, ale většina je nekódující, se již natolik rozrůžnila, že příslušné chromozomy mají problém se poznat. Potíže mají proto, že mechanismy umožňující hledání jsou velice přísné. Jinak by se mohlo stát, že by se určitý úsek například chromozomu 1 mohl párovat třeba s podobným úsekem na chromozomu 3. Výsledkem by ovšem byl absolutní chaos a daná buňka by zahynula. Z toho důvodu je mechanismus hlídající párování nesmírně vybíravý, a jakmile najde nějaké chyby, kdy si sekvence navzájem neodpovídají, celý proces zastaví. Tudíž chromozomy jednoho a druhého poddruhu se jakž takž najdou, ale zmíněný hlídací mechanismus spustí poplach, že je něco v nepořádku, protože najde spoustu rozdílů, které by zde neměly být. My jsme přesvědčeni, že námi objevené výše zmíněné dva geny plus uvedený proces, který hlídá párování chromozomů, dávají dohromady celý mechanismus hybridní sterility, a tedy vůbec princip vzniku či oddělení živočišných druhů. Tuto poslední část ale ještě musíme dopracovat, dokázat a přesvědčit ostatní, že opravdu odpovídá skutečnosti. Tím se teď zabýváme a právě na toto téma píšeme jednu docela zásadní práci.

■ Genetika se v posledních několika málo desetiletích rozvíjela bouřlivým tempem a vy jste byl nejen svědkem, ale i aktivním účastníkem tohoto obrovsky rychlého pokroku.

Kde vidíte hlavní, stěžejní mezníky v tom nevídaném vývoji, co k němu nejvíc přispělo?

Já si myslím, že moje generace zažila skutečnou revoluci v genetice s příchodem molekulárních metod a tzv. molekulárního klonování. Jakmile bylo možné klonovat DNA, a dokonce i přečíst její sekvenci, znamenalo to obrovský skok kupředu. Takže já jsem vlastně začínal ještě jako klasický genetik, používali jsme klasické Mendelovy zákony a dokázali jsme na myších mapovat geny; jednalo se ale vlastně o takříkajíc virtuální jednotky dědičnosti. Existovaly vazebné skupiny, kde byly geny u sebe – ale byl to opět čistě myšlenkový konstrukt, nešlo o nic hmatatelného, co bych našel v buňce. Už za mých studií se to však začalo měnit a zažil jsem dobu, kdy bylo poprvé možné virtuální geny přenášet z virtuálních vazebných skupin na skutečné chromozomy. Pak přišla éra zmíněného molekulárního klonování a další obrovský krok představovalo sekvenování genomu – nejprve lidského a hned potom myšího, čímž se práce úplně od základu změnila. To považuji za hlavní, skutečně revoluční skoky v genetice, které jsem osobně zažil.

■ Získal jste nejvyšší možné vědecké ocenění v ČR – Národní cenu vlády Česká hlava. Je ještě něco, čeho byste ve svém výzkumu chtěl dosáhnout?

Uvedená cena je za celoživotní dílo, ale já ještě nechci končit, dokud moje laboratoř dobře funguje, dokud máme dobré výstupy

a lidé tam chtějí pracovat. Díky objevu genu Prdm9 a dalším publikacím, které máme ve velice kvalitních časopisech, teď dostáváme pozitivní zpětnou vazbu ze zahraničí. Spolu pracujeme s jednou laboratoří ve Wellcome Trust Centre for Human Genetics ve Velké Británii a s jednou laboratoří v Ústavu Maxe Plancka v Německu, kde provádějí výzkumy s využitím našeho modelu, což je pro nás fantastické. Jistě by tedy byla škoda v tomto okamžiku odejít. A co bych opravdu chtěl ještě stihnout? Chtěli bychom model, o němž jsem mluvil, dotáhnout do konce a říct: ano, teď známe s určitostí všechny komponenty a důvody procesu, jakým se od sebe oddělují dva zkoumané myší poddruhy. Pokud se nám to povede a vědecká komunita to uzná, šlo by vlastně o vůbec první takový příklad v živé přírodě. Uvědomme si totiž, že hybridní sterilita je nesmírně široký fenomén pevně spojený s vývojem nejrozličnějších forem života na Zemi. Najdeme ji nejen u živočichů, ale i u rostlin, a dokonce u kvasinek. Po desetiletí byla hlavním modelem vědeckých výzkumů muška drozofila, ale nikdy se nepodařilo celý systém definovat. Takže kdyby se nám to podařilo na myši, pak by to byl můj splněný sen, ve který jsem ani nedoufal.

SLOVNÍČEK

Gen: základní jednotka dědičnosti, úsek DNA nesoucí genetickou informaci

Alela: konkrétní varianta či forma genu

Genom: kompletní sekvence DNA daného organismu nesoucí soubor všech jeho genů

Fenotyp: soubor všech znaků a charakteristik konkrétního jedince

Heterozygot: jedinec, který má dvě odlišné formy (alely) pro určitý gen, přičemž jednu zdědil od otce a druhou od matky

Hybrid: kříženec, organismus vzniklý křížením zástupců geneticky rozdílných, ale blízkých druhů, poddruhů či rodů rostlin nebo živočichů

Hybridní sterilita: jeden z principů reprodukční izolace mezi dvěma populacemi v průběhu vzniku nového biologického druhu

Gen hybridní sterility: gen způsobující neplodnost meziproduktů kříženců, součást mechanismu umožňujícího vznik nových biologických druhů

prof. MUDr. Jiří Forejt, DrSc.

Světově uznávaný odborník v genetice a genomice myši, dlouhodobě se věnuje studiu genetické a molekulární podstaty neplodnosti meziproduktů kříženců myši.

- Narodil se v roce 1944.
- Vystudoval Lékařskou fakultu Univerzity Karlovy v Hradci Králové a genetiku na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze.
- Od roku 1968 působí v Ústavu molekulární genetiky Akademie věd ČR (původně Ústav experimentální biologie a genetiky ČSAV), od roku 1980 vede oddělení myší molekulární genetiky.
- V roce 2006 získal na Přírodovědecké fakultě UK profesuru v oboru molekulární biologie a genetiky.
- V letech 1992–1993 a 1995–1996 působil jako hostující profesor na oddělení molekulární biologie Princetonské univerzity v USA.
- Jako vědecký pracovník krátkodobě působil v Pasteurově ústavu v Paříži či v laboratořích pro výzkum rakoviny Imperial Cancer Research Fund Laboratories v Londýně.
- Získal řadu významných ocenění, včetně Ceny Československé akademie věd (1984), Ceny Akademie věd ČR (1999, 2009), Čestné oborové medaile Gregora Johanna Mendela za zásluhy v biologických vědách (2004), Praemium Academiae neboli Akademické prémie AV ČR na léta 2007–2013, Ceny Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (2009) a Národní ceny vlády Česká hlava (2016).
- Byl či je členem rady domácích i mezinárodních odborných organizací a vědeckých panelů: např. od r. 1999 je volným členem Evropské molekulárně biologické organizace (European Molecular Biology Organization), v r. 2008 byl členem Vědecké poradní rady Konsorcia pro integrovaný výzkum genomu Ústavu Maxe Plancka pro molekulární genetiku v Berlíně.
- Od roku 1999 je členem Učené společnosti ČR.
- Pracoval či pracuje v edičních radách řady prestižních vědeckých časopisů, včetně *Cytogenetics and Cell Genetics*, *Mouse Genome*, *Mammalian Genome* či *Folia Biologica*.
- Je autorem nebo spoluautorem více než 110 odborných publikací citovaných více než 3000x.