

Evoluce ve zkumavce

Co by teroristé neměli číst

**EDUARD
KEJNOVSKÝ**

Může člověk napodobit evoluci? Můžeme ji urychlit nebo určovat její směr? Experimenty s evolucí ve zkumavce ukazují, že je to možné. Evoluce *in vitro* může být užitečným nástrojem studia evolučních mechanismů, které nemůžeme sledovat přímo a retrospektivní pohled je často obtížný.

Replikace DNA

Pokusy v laboratoři napodobující evoluci jsou založeny na dvou základních procesech – replikaci DNA a selekci. Základní vlastností živého systému je jeho schopnost replikovat se. Zákon života je neúprosný – co se nedokáže účinně replikovat, nepřežije. Replikovat DNA můžeme poměrně snadno i ve zkumavce. Biologové často při své práci používají metodu polymerázové řetězové reakce (PCR), kdy do zkumavky dají DNA, kterou chtějí namnožit, přidají enzym DNA polymerázu, nukleotidy potřebné pro tvorbu rostoucího řetězce DNA a trochu solí, aby zajistili vhodné prostředí. Výsledkem může být namnožený gen nebo dokonce veškerá DNA ve zkumavce, to pokud si půjčíme polymerázu od bakteriofága phi29.

Vraťme se ale k evoluci ve zkumavce. Pokud ve výše uvedené reakci použijeme DNA polymerázu, která dělá při replikaci často chyby při včleňování konkrétních nukleotidů, získáme populaci molekul DNA, které se vzájemně liší. A právě toho lze využít. Vědci se rozhodli najít úsek DNA, který se nejsilněji váže na nějakou jinou molekulu, například nějaký peptid či aminokyselinu. Smícha-

li proto populaci rozličných molekul DNA s touto aminokyselinou a vychytali molekuly DNA, které se na aminokyselinu vázaly nejsilněji. Získanou subpopulaci DNA podrobili znovu chybující amplifikaci a následně vazbě na aminokyselinu a tento cyklus mnohokrát zopakovali. Výsledkem byl úsek DNA, který se velmi silně vázal na danou aminokyselinu. Popsaný postup je znám pod zkratkou SELEX (viz slovníček) a byl velmi populární v devadesátých letech (obr. 1). Molekuly DNA nebo RNA získané Selexem se označují jako aptamery a využívají se pro vědecké, průmyslové i terapeutické účely. Byly získány aptamery vážící například trombin, interferon, PSA (prostate specific antigen) nebo dopamin.

Bakteriofág Q β

Krásným příkladem selekčních procesů ve zkumavce jsou dávné experimenty So-la Spiegelmana s bakteriofágem Q β , které měly vědcům napovědět více o počátcích života a prvních replikátorech na bázi RNA (viz „Relikty světa RNA“, Vesmír 92, ???, 2014/??). Zejména ho zajímalo, zda se bude genom fága v průběhu experimentu nějak vyvíjet. V šedesátých letech, kdy Spiegelman experimenty prováděl, nebyla známa polymerázová řetězová reakce (PCR) umožňující amplifikaci v jedné zkumavce. Bylo nutné po každé replikaci odebrat část vzorku a přenést ho do další zkumavky, kde byla čerstvá RNA replikáza a nukleotidy. Co bylo výsledkem pokusu? Během přenosů se genom fága neustále zmenšoval, selekce preferovala rychleji se replikující, tedy kratší genomy. Po 74 generacích (přenosích) se původní RNA genom fága Q β o velikosti 4500 nukleotidů zmenšil na pouhých několik desítek nukleotidů. Co bylo největším překvapením? Vyselektovaný úsek odpovídal vazebnému místu pro RNA replikázu. Ano, tím nejdůležitějším místem genomu byla tajemná vlásenka, která se normálně nachází na konci fágové RNA a určuje začátek replikace. Tato struktura byla vědci označena jako „Spiegelmanovo monstrum“. Následující experimenty „nutily“ fága Q β k replikaci v přítomnosti různých selekčních činidel, například jedů. Spiegelmanovi pokračovatelé dokonce provedli amplifikaci v nepřítomnosti RNA genomu fága Q β a zjistili, že i tehdy ve zkumavce vznikne spontánně se replikující úsek RNA odpoví-

Doc. RNDr. Eduard
Kejnovský, CSc., viz Vesmír
93, ???, 2014/??.

SLOVNÍČEK

SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment) – metoda označovaná také jako „evoluce *in vitro*“ nebo „selekce *in vitro*“, kdy se „chybující“ replikací ve zkumavce vytvoří heterogenní populace molekul DNA nebo RNA a následnou selekcí získávají molekuly DNA nebo RNA, které se silně váží na určité ligandy, např. aminokyseliny.

Polymerázová řetězová reakce (PCR) – metoda, kterou se ve zkumavce pomocí termostabilní polymerázy namnoží vybraný úsek DNA. Při opakovaném zahřívání a ochlazení, během nichž se oddělují (denaturují) a reasociují vlákna DNA („nasedání“ primerů), se syntetizují nové řetězce, v důsledku čehož počet vláken exponenciálně roste.

Aptamer – nukleová kyselina nebo peptid schopný silně se vázat k jiným molekulám (aminokyselinám, peptidům ap.). Získávají se selekcí ve zkumavce metodou SELEX.

Bakteriofág (zkráceně „fág“) – virus napadající bakterie (Vesmír 92, 204, 2013/4). Jeho genom tvoří DNA nebo RNA. Má minimální genetické vybavení potřebné pro vstup do bakterie, replikaci genomu a syntézu bílkovin virového kapsidu i nezbytných enzymů uvnitř bakterie a k opuštění bakteriální buňky.

dající vazebnému místu pro replikázu – tedy „Spiegelmanovo monstrum“.

Z trochu jiného soudku jsou experimenty snažící se „řízenou evolucí“ připravit bakterie se zvýšenou rezistencí k antibiotiku. Třebaže tyto experimenty patří spíše do genového inženýrství a biotechnologie, mohou objasnit řadu molekulárních mechanismů uplatňujících se v evoluci DNA. Vědci vzali několik genů (cefalosporinázové geny) zodpovědných za rezistenci k moxolactamu ze čtyř druhů bakterií. Nastříhali tyto geny na kousky, promíchali je a znovu spojili. Vznikla směs různých chimérických genů, představujících kombinace genových fragmentů, kterou vložili do bakterie a sledovali míru rezistence. Podařilo se jim vyselektovat mutantní bakterie, které měly více než 500krát vyšší rezistenci oproti původním kmenům. Právě touto cestou tvorby pomocí „modulů“ často kráčí evoluce, když podobně jako při hře s dětskou stavebnicí Lego dochází k přeskupování celých úseků DNA.

Genová terapie

Selekce ve zkumavce se používá i při genové terapii. Častým nástrojem k vnášení genů do lidského genomu jsou adenoviry. Metodou SELEX lze upravit povrchové bílkoviny adenovirů tak, že jsou odolné vůči lidským protilátkám, imunitní systém pak viry nezničí a je naděje, že požadovaný gen bude vložen do lidského genomu. Pouhým několikatýdenním experimentem, proveditelným v běžné laboratoři, lze připravit viry, proti nimž člověk nemá obranu a navíc lze těmto virům podstrčit i další geny. Nesnažme se domyslet, co by se stalo, kdyby se tento nástroj dostal do rukou bioteroristů.

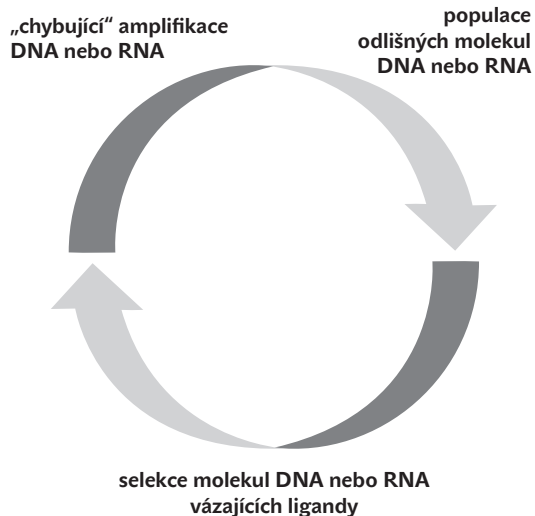


Schéma experimentu SELEX, kdy se opakují fáze amplifikace a selekce nukleových kyselin nejsilněji se vážících na určité ligandy.

Výše uvedené příklady dokládají, že vědci jsou schopni napodobovat evoluci. Ve zkumavce imitují věčný koloběh, jehož součástí je tvorba variability, následná selekce a namnožení nejúspěšnějších prvků. Díky popsaným experimentům nejen lépe pochopíme zákonitosti evoluce, ale můžeme ji také ovlivňovat. Jak dlouhá je cesta od zkumavky k přírodnímu prostředí? Má člověk právo urychlovat či směřovat evoluci? Domnívám se, že ano. Vždyť odpradáвна přetváříme okolní přírodu ke svému užitku v podobě šlechtitelských zásahů. Člověk je přece součástí složité sítě života, která je evolucí utkána. Člověk je *uvnitř* tajemné hry života. Zvědavost a tvořivost je inherentní lidskou vlastností. Proto budou vědci stále provádět podobné pokusy, třebaže ti obezřetnější z nich budou upozorňovat i na možná nebezpečí... *λ*