

Po padesáti letech
stále v kurzu

Hádátko

Caenorhabditis elegans

*Před necelým půlstoletím našel jistý Jihoafričan zalíbení v miniaturním červovi a postaral se tak o náplň práce dalším generacím vědců řady oborů. Tím Jihoafričanem byl budoucí nositel Nobelovy ceny Sydney Brenner a červem hádátka *Caenorhabditis elegans* (obr. 1). Jeho zásluhou se tak hádátka zařadilo po bok mušky octomilky, myši a rostliny huseníčku. Stal se z něj modelový organismus.*

Čím si hádátka¹ tuto pozici zasloužilo? *Caenorhabditis elegans* patří mezi hlístice (Nematoda) a běžně žije v půdě, v kompostu nebo na rozkládajícím se ovoci. Na rozdíl od řady jiných hádátek, například hádátka řepného nebo bramborového, není parazitické, ale živí se bakteriemi či jinými mikroorganismy. To velmi usnadňuje jeho kultivaci v laboratorních podmínkách, kde bez problémů přežívá na agarových miskách s napěstovanými bakteriemi. Životní cyklus od oplození do dospělosti, během kterého hádátka projde čtyřmi larválními stadii, trvá za optimálních podmínek pouhé tři dny. Je to rychlost, které většina dalších mnohobuněčných modelových organismů nemůže konkurovat. V méně příznivých podmínkách, například při nedostatku potravy, může hádátka nasměrovat svůj vývoj přes alternativní larvální stadium (*dauer larvu*), které vydrží bez potravy až tři měsíce. Charakteristickým rysem vývoje hádátka je přítomnost stejného počtu tělních buněk v každém dospělém jedinci (959 u dospělých hermafroditů). Přestože je počet buněk poměrně malý, diferencují do všech základních tělních soustav známých u vyšších organismů – trávicí, vylučovací, svalové, nervové a rozmnožovací. Stabilního počtu buněk je dosaženo pevně danou sérií buněčných dělení, která se s každým oplozeným vajíčkem beze změny opakuje. Hádátka je tak extrémním příkladem organismu s *determinačním vývojem*, při němž je osud každé buňky určen již při jejím vzniku. Tato vlastnost vedla k vytvoření dnes již klasického „rodokmenu“ všech buněk hádátka. Ačkoli – zvláště v této extrémní podobě – nejde o typickou ukázkou vývoje většiny mnohobuněčných organismů (dokonce ani hlístic), pro experimentální biologii představuje vel-

kou výhodu, neboť snižuje úroveň variability zkoumaného systému (mít alespoň nějakou jistotu při práci s živým organismem není vůbec na škodu, byť výsledky platí jen pro hádátka). Kteroukoliv buňku lze jednoznačně identifikovat v každém jedinci a její chování je tak možné snadno porovnávat mezi jedinci vystavenými různým pokusným podmínkám nebo s odlišným genetickým pozadím.

Dalším kladem hádátka jako modelového organismu je možnost genetické analýzy. Přirozeně se vyskytuje ve dvou pohlavích: 99,9 % populace tvoří hermafrodité schopní oplodnit sami sebe, zbylou 0,1 % představují samci schopní oplodnit hermafrodity. Hermafroditismus vědcům usnadňuje udržovat a množit geneticky definované kmeny v laboratorních podmínkách, přítomnost samců zase umožňuje jednotlivé kmeny nesoucí různé mutace křížit a studovat vliv mutací či jejich kombinací na fenotyp.² V posledních deseti letech se studium hádátka rozšířilo o metody *reverzní genetiky*. Zatímco klasická genetika vychází z fenotypu a pracně zjišťuje, které geny daný fenotyp způsobují, reverzní genetika začíná od vybraného genu a ptá se, jakou funkci v organismu má. Jednou z významných a u hádátka hojně využívaných metod reverzní genetiky je interference RNA, díky níž lze selektivně umlčovat jednotlivé geny, aniž by došlo k trvalému zásahu do genetické informace jedince. Ostatně na samotném objevu procesu interference RNA mělo hádátka lví podíl (viz Vesmír 86, 110, 2007/2). Genetiku si v dnešní době nelze představit bez DNA sekvencí. Hádátka se může pochlubit významným příspěvkem k rozvoji sekvenování. Právě jeho 100 Mbp (= 100 milionů párů bází) DNA představuje první známý úplný genom mnohobuněčného organismu a posloužil jako odrazový můstek pro mnohem gigantičtější projekt poznání genomu lidského.

Do historie biologického bádání se hádátka zapsalo nesmazatelně. Má však šanci i nadále? Alespoň podle počtu publikací zmiňujících *C. elegans*, kterých je v databázi PubMed přes patnáct a půl tisíce, z toho již téměř 300 s datem r. 2010, se zdá, že zájem rozhodně neutichá. Tři Nobelovy ceny během posledních osmi let, které byly uděleny badatelům využívajícím hádátka jako model, dávají tušit, že sláva ještě chvíli vydrží. Je fascinující sledovat vzrůstající rozmanitost biologické

MARIE
ŠILHÁNKOVÁ

LENKA
LIBUSOVÁ

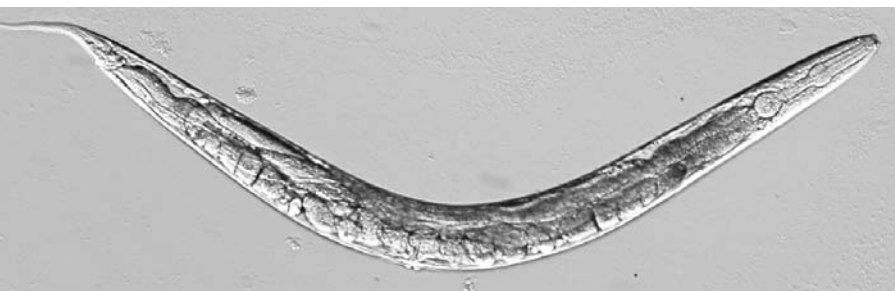
Mgr. Marie Šilhánková, Ph.D., (*1978) vystudovala molekulární biologii na Přírodovědecké fakultě UK. Během doktorského studia na Biologické fakultě Jihočeské univerzity a postdoktorského pobytu na Hubrecht Institute v holandském Utrechtu se zabývala molekulární a vývojovou biologii *Caenorhabditis elegans*.

RNDr. Lenka Libusová, Ph.D., (*1975) vystudovala vývojovou biologii na Přírodovědecké fakultě UK v Praze. Přednáší a badá na katedře biologie buňky PřF UK.

Autorky se v laboratoři molekulární genetiky vývoje na PřF UK nyní zabývají úlohou buněčného transportu v přenosu signálů.

¹ Česká terminologie používá pro rod *Caenorhabditis* také název hádč, byť hádátka je žažtější.

² Fenotyp je konkrétní projev genu (genů), jinými slovy jak organismus skutečně vypadá.



Dospělý hermafrodit hádátka *Caenorhabditis elegans*. Snímek © Marie Šilhánková.

Abstract: The nematode *Caenorhabditis elegans*. Still „in“ after fifty years by Marie Šilhánková and Lenka Libusová. Research on the model nematode *C. elegans* has enormously enriched the pool of biological knowledge and the flow of data does not seem to decline even after fifty years. The greatest input has always been from the traditional fields of genetics, developmental biology or neurobiology. Now researchers from areas spanning evolutionary biology to biophysics start to appreciate the advantages of this model system – multicellularity, fast reproduction cycle, easy cultivation, constant development or sequenced genome. We present two examples of recent contributions to our understanding of biology coming from *C. elegans* – how easy it is to lose the males and how stochastic gene expression can influence the development of an organism.

I. Dospělý hermafrodit *Caenorhabditis elegans* v číslech.

kých otázek, k jejichž zodpovězení hádátka přispívá. Zatímco tradiční doménou „hádkářů“ byla vždy genetika, vývojová biologie či neurobiologie, dnes už tento modelový červík pronikl i do ekologie, výzkumu lidských neduhů (rakoviny, obezity či závislosti na alkoholu), do evoluční biologie i biofyziky.

Následující dva příklady představují jen malou ochutnávku ze vzrušujících otázek, jak funguje svět kolem nás, na něž miniaturní hádátka pomáhá odpovídat.

Sen feministek?

Zvláštností hádátka je přítomnost dvou pohlaví, a to převládajících hermafroditů a minoritních samců. Evoluční výhoda tohoto uspořádání je dobře představitelná – hermafroditi snadno kolonizují nové prostředí (stačí jediné hádátka, které samo sebe oplodní). Na druhou stranu občasná výměna genetické informace při pohlavním styku se samci chrání populaci před ztrátou vitality (inbrední depresi). Zajímavé ovšem je, že v rodě *Caenorhabditis* nejde o pravidlo a některé druhy (například *C. remanei* nebo *C. japonica*) mají samice a samce. Fylogenetické analýzy ukázaly, že gonochorismus (přítomnost odděleného samčího a samičího pohlaví) se vyskytoval i u společného předka všech druhů rodu *Caenorhabditis*. Otázka zní, jakým způsobem mohlo dojít u *C. elegans* ke změně.

Pohlaví je u hádátka určeno geneticky – hermafroditi nesou dva pohlavní X chromozomy (XX), zatímco samci pouze jeden X chromozom (X0). Stejně jako hermafroditi *C. elegans* jsou však na tom i samice gonochoristických druhů – mají rovněž dva X chromozomy. Vzhledem k tomu, že životaschopní samci se u *C. elegans* stále vyskytují, ke změně pohlaví muselo dojít u samic. Možný scénář změny nastínil nedávno tým vědců pod vedením Ronalda Ellise z univerzity v New Jersey. Buňky pohlavních orgánů

si dokážou „spočítat“, kolik nesou X chromozomů. Podle výsledku aktivují signální dráhu vedoucí ke spuštění samčího nebo samičího programu. Klíčovou roli v této dráze hraje protein TRA-2. U samců je bílkovina TRA-2 neaktivní, což umožňuje samčím genům, aby se plně projevy. Naopak u hermafroditů je bílkovina TRA-2 aktivní a zajišťuje umlčení genů potřebných pro samčí vývoj. K deaktivaci TRA-2 dochází u hermafroditů pouze během krátkého období rané dospělosti, kdy si připravují zásobu spermií pro samooplození na celý zbytek života. Gen kódující bílkovinu TRA-2 je uchován u hermafroditických i gonochoristických druhů hádáték. Když badatelé pomocí metody interference RNA snížili (ale ne zcela odstranili) hladinu TRA-2 u gonochoristického druhu *C. remanei*, v populaci se objevili jedinci nesoucí jak vajíčka, tak spermie. Spermie však nebyly schopné vajíčka oplodnit. Zjistilo se, že neprošly procesem aktivace, kdy se mění z nepohyblivých spermatid na pohyblivé spermie. Předčasné aktivaci spermií *C. elegans* brání také protein SWM-1. Když vědci u druhu *C. remanei* snížili zároveň hladinu TRA-2 i SWM-1, vyskytli se v populaci najednou i hermafroditi, u nichž došlo k oplození vajíček jejich vlastními spermiemi a kteří dali vznik životaschopnému potomstvu. Přechod od uspořádání samice-samec k uspořádání hermafrodit(-samec) je až překvapivě jednoduchý – postačují pouhé dva zásahy do regulačních drah. Jeden zásah pozmění určení pohlaví, druhý aktivaci spermií. Pozoruhodný je rovněž fakt, že nejde ani o ztrátu či vznik nové funkce proteinů TRA-2 a SWM-1, ale pouze o změnu jejich hladiny v organismu.

Vliv náhody

Obecná představa o vývoji organismu zahrnuje obvykle sled přesně daných a vysoce regulovaných kroků, jež vedou ke konečné podobě organismu typické pro daný druh. Tato podoba je v prvé řadě dána genetickou informací, která poskytuje návod, podle něhož vývoj spěje k víceméně neměnnému cíli – pokaždé vznikne hádátka a ne třeba motýl. Vývoj může být ovlivněn i vnějším prostředím, například teplotou, dostupností potravy nebo hustotou populace – náš motýl babočka sítkovaná (*Araschnia levana*) se vyskytuje ve dvou barevných formách po-

délka těla dospělého jedince	1 mm
hmotnost dospělého jedince	5 µg
počet potomků samooplozeného hermafrodita	200–300
počet potomků hermafrodita oplozeného samcem	1000
délka životního cyklu	3–4 dny
celková průměrná délka života	15–20 dnů
počet chromozomů	5 párů autozomů + pohlavní chromozomy XX nebo X0
velikost genomu	1x10 ⁸ pb (30× méně než člověk)
počet genů kódujících protein	± 19 500 (srovnatelné s člověkem)
průměrná rychlost pohybu	6–8 mm/min.
počet laboratoří zabývajících se tímto hádátkem	více než 700

dle toho, zda se motýl vylíhne na jaře, nebo v létě (viz Vesmír 83, 441, 2004/8; Vesmír 75, 217, 1996/4). Ani geneticky naprosto identičtí jedinci, jako jsou jednovaječná dvojčata, nejsou zcela totožní. Za hlavní zdroj odlišností těchto jedinců bývají považovány hlavně vlivy prostředí. Může však být vývoj ovlivněn i náhodou? Za normálních podmínek se organismy snaží vliv náhody potlačit. Obsahují mechanismy, které mohou drobné výkyvy v systému „pufrovat“.³

Noční můrou genetiků bývají mutace s *neúplnou penetrancí* – v geneticky homogenní populaci se určitý fenotyp projevuje jen u části jedinců, přestože jsou chováni v naprosto identických podmínkách. Tým Alexandera van Oudenaardena z Massachusetts Institute of Technology nedávno ukázal, že právě neúplnou penetranci lze vysvětlit zvýšením vlivu náhodných dějů v buňkách. Pro své pokusy si badatelé vybrali hádátku s mutací v genu *skn-1*. Příslušný protein spouští signální dráhu vedoucí v několika krocích k diferenciaci střeva. Přestože všechna embrya s mutací *skn-1* jsou geneticky totožná, u některých se střevo nevyvine vůbec, zatímco u jiných k tvorbě střevních buněk dojde. Jak tedy vysvětlit fakt, že geneticky totožná embrya jednou diferenciací nezahájí a podruhé ano? Vědci se rozhodli v mutantních embryích prozkoumat aktivitu celé signální dráhy, jejíž součástí je *skn-1*. Použili unikátní metodu, která umožňuje označit a spočítat v každé buňce všechny molekuly mediátorové RNA daného genu, jejímž překladem vzniká odpovídající protein. Předpokládali přitom, že množství mRNA je úměrné množství vytvořeného proteinu. Zjistili, že u nemutovaných kontrolních embryí se počet molekul mRNA jednotlivých genů pohybuje vždy jen v poměrně úzkém rozmezí, u *skn-1* mutant-

ních embryí tomu tak však nebylo. Expres některých genů u mutantů téměř vymizela, zatímco u jiných genů se počet molekul mRNA pohyboval ve velmi širokém rozpětí (až dvou řádů). Pro výsledný fenotyp embryí přitom byl rozhodující počet molekul mRNA jediného genu na konci signální dráhy označovaném *end-1*. Pouze pokud počet mRNA tohoto genu dosáhl určité kritické hladiny, zahájila se diferenciací střeva. U kontrolních embryí se díky součinnosti celé signální dráhy dosáhlo pokaždé kritické hladiny *end-1*, a tudíž střevní buňky vznikly. Mutanti *skn-1* měli signální dráhu narušenou, exprese *end-1* byla vysoce proměnlivá a kritická hladina byla dosažena pouze u některých jedinců – a to víceméně náhodně. Celý pokus tedy prokázal a poprvé na úrovni celého mnohobuněčného organismu změřil, že některé mutace, například v genech signálních drah, nevyřadí signální dráhu úplně z provozu, pouze výrazně zvýší vliv náhody na konečný výsledek. Proto se jejich mutantní fenotyp projeví jen někdy.

Sydney Brenner může mít ze svého „dítka“ radost, hádátku se ve vědě (a doufejme i mimo ni) daří velmi dobře a stále se podílí na řešení aktuálních biologických otázek. Dnešní úspěšná věda tlačící na produkci výsledků jako na běžícím páse by se však mohla inspirovat hlavně v počátcích jeho spanilé jízdy. Od chvíle, kdy Sydney Brenner poslal britské Medical Research Council žádost o financování studia vývoje hádátka, do publikace prvního odborného článku na toto téma uplynulo deset let a autorem článku byl pouze Brenner. Nezbývá než popřát všem dnešním Brennerům se smělými plány hodně trpělivosti a osvětlené mecenáše. Bez nich se k Nobelovým cenám prokousává jen velmi těžko.

3) Známa je například důležitá ochranná funkce proteinu teplotního šoku Hsp90 z rodiny chaperonů.

K DALŠÍMU ČTENÍ

www.wormbook.org
Raj A., Rifkin A. S., Andersen E., van Oudenaarden A.: Variability in gene expression underlies incomplete penetrance, *Nature* 463, 913–918, 2010
Baldi S., Cho S., Ellis R. E.: Mutations in two independent pathways are sufficient to create hermaphroditic nematodes, *Science* 326, 1002–1005, 2009

V červnu 2010 vyšlo 60. číslo revue

ANALOGON

SURREALISMUS - PSYCHOANALÝZA - ANTROPOLOGIE - PŘÍČNÉ VĚDY

věnované tématu

Periferie

Z obsahu:

J. Sádlo: Anatomie periferie; J. Brynda: Podzim na matraci; L. Suková: Z egyptské periferie; J. Štreit: „Já nic, já muzikant“; I. Wallerstein: Jádru, periferie a semiperiferie v kapitalistickém světovém systému; K. Piňosová: Periferní les; J. Réda: Svoboda ulic; I. Horáček: V periferii život Čechů; J. L. Borges: Předměstí je odrazem naší únavy; J. Kohout: Periferda; L. Antonín: Na samém prahu podsvětí je místo...; B. Solařík: Misionář na ostrově Lesbů; L. Toušek: Sociální vyloučení a prostorová segregace; J. Janda: Čína; P. Martinec: Byl prašivý večer a psi si žrali kůži; D. Anzieu: Film snu; R. Erben: Žužo somnakaj; P. Král: Střed a periferie; F. Dryje: Jádru okraje; V. Cílek: Periferie; I. Wernisch: Smaltovaná serenáda; S. Komárek: Mít je v ohrádce; J. Švankmajer: Papuánský deník; L. Gumiljov: Kniže Alexandr a chán Batu; A. Breton: Umění bláznů, klíč ke svobodě; H. Prinzhorn: Tvorba duševně nemocných; Aloise: Poesie; A. Wölfl: Krátká autobiografie; J. Richter: Pankrácký zahradník; V. Huidobro: Poesie bláznů; B. Solařík: Okraj jako zrcadlo středu („Pokleslé“ umění a meziválečný československý surrealismus); Anketa o klobouku (P. Král, V. Effenberger, R. Erben, L. Novák, M. Stejskal, K. Šebek, P. Voskovec aj.)

Vydává: Sdružení Analogonu, Mezivřší 31, 147 00 Praha 4

Vydavatel + redakce: tel. 725 508 577; dryje@surrealismus.cz

Distribuce: KOSMAS, s. r. o., Lublaňská 34, 120 00 Praha 2 (tel: 222 510 749; www.kosmas.cz);

předplatné: Radka Prošková, analogon@analogon.cz, tel: 608 274 417;

www.analogon.cz