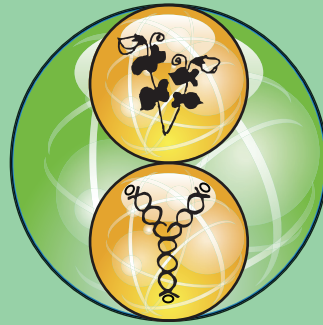


Genetická společnost Gregora Mendela z.s.

Září 2023



INFORMAČNÍ LISTY



Číslo 59

Obsah

Zápis ze schůze výboru GSGM, z.s. konané dne 1.3. 2023	2
Zápis ze schůze výboru GSGM, z.s. konané dne 30.5. 2023	7
Zápis ze schůze Valného shromáždění GSGM, z.s.	9
Nekrolog: prof. RNDr. Jana Šmardová, CSc.	11
EduWorkshop 30.5. 2023	13
J. Pergner: Když STOP (kodon) dává smysl – příklad prvoků z rodu <i>Blastocrithidia</i>	17
A. Sember: Kapesní průvodce moderními představami o evoluci pohlavních chromozómů	23
Příspěvek vítěze Ceny dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej za rok 2022 (Miroslav Baláž)	45
Příspěvky držitelek Speciální ceny pro mladé vědecké pracovníky (v rámci Ceny dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej) (Andrea Cillingová, Verona Buociková)	49
Citáty z esejí studentů na tému Výzvy současnej genetiky	58
Eseje: Dvoušroubovice (D. Antoš); Eugenika (T. Kelnarová)	60
Perličky ze školních lavic (D. Holá).....	64

INFORMAČNÍ LISTY

číslo 59, září 2023

Vydává Genetická společnost Gregora Mendela, z.s.

Redakční rada – Výbor GSGM

Výkonný redaktor – Mgr. Alexandr Sember, Ph.D.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AVČR, v.v.i.

Grafická úprava – prof. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.

UMFGZ, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně

ISSN 1210-6267

Zápis ze schůze výboru GSGM, z.s., konané dne 1.3.2023

Přítomni: Holá, Knoll, Lízal, Sember, Šeda, Ševčovičová, Tomáška, Urban

Omluveni: Čellárová, Slaninová, Ševčíková

Program zasedání:

- 1) úvodní informace (převzetí úřední agendy spojené s předsednictvím spolku)
- 2) agenda Informačních listů, příprava jejich nejbližšího čísla
- 3) finanční záležitosti
- 4) aktualizace webu spolku a agenda s tím spojená
- 5) edukační seminář 2023
- 6) různé

ad 1)

Schůzi zahájil předseda spolku dr. Pavel Lízal. Informoval přítomné členy výboru o zajištění a převzetí veškeré agendy spojené se změnou předsedy spolku, které proběhlo v době od minulého zasedání výboru; od druhého lednového týdne 2023 je dr. Lízal úředně registrován jako předseda spolku. Při té příležitosti uvědomil členy výboru, že při každých nových volbách je nutné úředně nahlásit předsedu spolku znovu, i když se jedná o tu samou osobu. Dále dr. Lízal informoval členy výboru o zřízení a zprovoznění datové schránky spolku v souladu s úředními předpisy. Došlo rovněž ke změně příslušné evidence předsedy spolku u účtu české části GSGM vedenému v Komerční bance.

Dr. Lízal uvědomil členy výboru o tom, že dne 15.2.2023 doc. Ševčíková rezignovala na své členství ve výboru z důvodu časové zaneprázdněnosti. Vzhledem k tomu, že podle stanov výbor musí mít lichý počet členů, muselo by dojít buď k další rezignaci některého ze stávajících členů výboru nebo ke kooptaci nového člena; přítomní se jednoznačně rozhodli pro druhou možnost a doporučili na návrh doc. Holé kooptovat do výboru dr. Jiřího Pergnera z Ostravské univerzity, který v minulých volbách získal pouze o jeden hlas méně, než bylo potřeba. Dr. Pergner s kooptací souhlasí. Doc. Holá připomněla, že tuto navrženou kooptaci musí podle stanov schválit Valné shromáždění spolku. Dr. Lízal navrhl, aby se toto Valné shromáždění konalo zároveň s chystaným Edukačním seminářem 30.5.2023. Doc. Holá a dr. Slaninová všem členům spolku včas informaci o konání Valného shromáždění a jeho programu zašlou e-mailem. Všichni přítomní s tímto návrhem souhlasili. Dr. Lízal zjistí, zda bude třeba i tuto změnu ve výboru úředně nahlásit.

ad 2)

Vzhledem k tomu, že doc. Ševčíková byla na posledním zasedání výboru zvolena hlavní redaktorkou Informačních listů GSGM (dále jen IL), vyvstala s její rezignací i potřeba volby nového hlavního redaktora, ideálně mezi členy výboru, kteří již nějakou dobu ve výboru pracují a dosud nemají žádnou další funkci. Dr. Lízal a doc. Holá navrhli jako vhodného kandidáta dr. Sembera, který s nominací souhlasil; v následném

hlasování se všichni přítomní členové výboru vyslovili k tomuto návrhu kladně a dr. Sember se tedy stal novým hlavním redaktorem IL.

Členové výboru se jednomyslně shodli na tom, že je více než žádoucí, aby IL definitivně přešly pouze do online (pdf) verze, jak vzhledem k neustále rostoucím nákladům na tisk a poštovné, tak vzhledem k tomu, že v hlasování mezi členy GSGM, které o této otázce proběhlo současně s posledními volbami do výboru, se naprostá většina členů jednoznačně vyjádřila pro preferenci této formy. Nejbližší číslo IL tedy již bude připraveno pouze v pdf podobě. Členům spolku bude zaslán e-mailem odkaz na webové stránky GSGM, kde bude nové číslo IL vždy včas vyvěšeno (vyvěšení na webu zajistí prof. Urban; e-mailové adresy členů za tímto účelem dodá dr. Semberovi doc. Holá za českou část spolku a dr. Slaninová ve spolupráci s dr. Procházkovou za slovenskou část spolku).

Před svou rezignací doc. Ševčíková ještě připravila čtyři nové grafické návrhy varianty obálky IL, které dr. Lízal přítomným členům výboru na zasedání promítl; po krátké diskusi se všichni shodli na přijetí verze 4 s jednou další drobnou grafickou úpravou týkající se nadpisu. Tato verze bude využita již pro nejbližší číslo IL (nutná spolupráce ohledně zdrojového souboru mezi doc. Ševčíkovou, prof. Urbanem a dr. Semberem, aby bylo dosaženo potřebné kvality rozlišení pro A4).

Doc. Ševčíková rovněž připravila většinu obsahové náplně nejbližšího čísla IL, kterou všem členům výboru předběžně zaslala ke kontrole a kterou bude mít nový redaktor k dispozici. Doc. Holá připomněla, že v tomto obsahu ještě chybí příspěvek výherce Ceny GSGM, dr. Jiřího Pospíšila; předložila jako námět k diskusi, zda tento příspěvek publikovat již v chystaném nejbližším čísle nebo s ním ještě počkat až do čísla následujícího. Dr. Sember slíbil, že zjistí, zda příspěvek dr. Pospíšila je již připraven, a členové výboru se shodli na tom, že pokud ano, bylo by vhodné jej zařadit již do nejbližšího čísla IL. Rovněž bude do tohoto čísla přidána informace o chystaném květnovém Edukačním semináři (zajistí a dr. Semberovi zašle prof. Tomáška hned, jak bude na webu vyvěšen předběžný program a registrační formulář na tento seminář; viz dále).

V souvislosti s různými změnami v minulém i tomto roce, týkajícími se redakce IL, i s ohledem na to že během covidového období vycházely IL spíše nepravidelně a byla tím porušena jejich dříve pravidelná distribuce mezi členy GSGM, navrhl dr. Lízal, aby nyní po obnovení pravidelné činnosti výboru došlo ke změně termínu vydávání IL; místo v červnu a v prosinci by nyní mohly vycházet v březnu a září. Po krátké diskusi, při níž byly vzaty v úvahu různé další okolnosti, které do přípravy IL mohou zasáhnout (např. s ohledem na období podávání grantových zpráv/žádostí, konce semestrů na VŠ, období konání Edukačních seminářů atp.) se členové výboru shodli na tom, že navržená změna je vhodná. Nejbližší číslo IL tedy vyjde na přelomu března a dubna; dr. Sember přislíbil, že do té doby bude vše potřebné hotovo.

Dr. Lízal dále informoval o tom, že při přebírání agendy předsedy spolku od prof. Doškaře rovněž převzal archív starších výtisků IL, kde jsou i čísla navíc. V archívu samozřejmě starší čísla v počtu cca 5 ks zůstanou, ale přebytečná čísla by mohla být rozeslána zájemcům mezi členy výboru nebo členy GSGM. Dr. Sember navrhl jejich možnou distribuci mezi zájemci na Edukačním workshopu, s čímž všichni přítomní souhlasili.

Na minulém zasedání výboru padl návrh na vytvoření případné (příležitostné) popularizační/zábavné přílohy IL, i na eventuelní angažovanost formou sociálních sítí

pro mladé zájemce o genetiku, což dr. Lízal dnes připomněl. Zároveň však doporučil, aby si výbor ještě nechal čas na další promyšlení této záležitosti, případně aby se to nejprve probralo interně i s dalšími členy GSGM (např. na Edukačním semináři), v ideálním případě s doktorandy, kteří mají blíž k dnešní mladé generaci a kteří by případně byli ochotni se něčeho takového ujmout. Členové výboru souhlasili.

ad 3)

Hospodář spolku prof. Knoll informoval o zavedení mobilního bankovníctví k účtu GSGM vedenému v Komerční bance; doporučil rovněž v souvislosti s tímto zjednodušením finanční agendy, se změnou příslušné bankovní zástupkyně a vzhledem k tomu, že rozdíly v poplatcích za vedení účtu mezi různými finančními institucemi nejsou až tak výrazné, aby účet byl i nadále veden v Komerční bance.

Bude potřeba připravit rozpočet na rok 2023, aby ho výbor mohl v souladu se stanovami schválit (úkol pro hospodáře spolku prof. Knolla).

ad 4)

Dr. Lízal upozornil na potřebu aktualizace údajů na stávajícím webu GSGM (složení výboru, informace o Ceně GSGM, poslední číslo IL atp.), což zajistí prof. Urban spolu s prof. Knollem.

Dr. Urban představil přítomným členům výboru návrh nového, modernějšího designu webu, který se všem přítomným líbil. Členové výboru se dohodli, že do dvou měsíců od dnešního zasedání vypracuje dr. Urban finální podobu, poté bude cca měsíc na e-mailovou diskusi mezi členy výboru o definitivní obsahové stránce webu a přibližně v době konání Edukačního semináře bude nový web připraven k překlopení z původní podoby a bude to oznámeno členům spolku. Dr. Urban potvrdil, že i novou verzi webu bude možné provozovat v rámci původního serveru.

Členové výboru diskutovali o zveřejňování seznamu členů spolku (v souvislosti s GDPR předpisy) na webových stránkách GSGM. Dohodli se, že seznam členů (s uvedením pouze jména a příjmení, ne titulů a pracoviště) spolu s jejich evidenčními čísly (která zároveň slouží jako variabilní symbol pro placení příspěvků) a e-mailovými adresami bude na webových stránkách k dispozici formou zaheslovaného pdf souboru, ke kterému budou mít přístup pouze členové spolku (kterým přístupové heslo bude zasláno). Všichni členové spolku o tom budou včas informováni a zároveň požádáni o nahlášení případných změn e-mailových adres (např. z pracovní na soukromou) tajemníkům spolku doc. Holé a dr. Slaninové.

Dále vyvstala otázka možného zveřejňování fotografií z akcí pořádaných spolkem (konference, semináře atp.); bylo doporučeno, aby při online registraci na takové akce (plus i při přímé registraci v době konání) byl vždy předem vyžadován obecný souhlas (např. formulací typu „Během akce bude pořizovaná fotodokumentace, která bude zveřejněna na webových stránkách. Pokud někdo z účastníků nesouhlasí se zveřejněním fotografií své osoby, je nutné to oznámit během registrace přímo na místě konání“). Organizátoři by si takovou osobu buď museli zaznamenat tak, aby ji bylo možné na fotografiích před zveřejněním identifikovat, nebo by účastníkům musely být fotografie zaslány interně před zveřejněním, aby se z toho příslušné fotografie daly vyřadit. Toto bude ještě dořešeno podle okamžitých okolností. Fotografie tohoto typu v každém případě ale pravděpodobně nebudou zveřejňovány

přímo na webu GSGM, ale na stránkách příslušné akce (na webu GSGM na to bude vždy pouze odkaz).

ad 5)

Dr. Lízal informoval členy výboru, že vstoupil v jednání s ředitelkou Mendelova muzea v Brně Mgr. Blankou Křížovou, informoval ji o memorandu ještě z předchozích let, kterou GSGM s muzeem má ohledně bezplatného pořádání různých akcí GSGM v prostorách muzea, s čímž Mgr. Křížová souhlasila, a zároveň s ní dohodl jako definitivní termín pro letošní Edukační seminář úterý 30.5.2023.

Prof. Tomáška seznámil přítomné s předběžným programem plánovaného Edukačního semináře; letošní téma bude Hodnocení výuky genetiky na vysokých školách v ČR a SR. Seminář bude rozdělen do sekce věnované českým vysokým školám a sekce věnované slovenským vysokým školám, poté bude sekce věnovaná pohledu doktorandů na hodnocení a závěrečné dva interaktivní workshopy připravené slovenskými didaktičkami z Centra pedagogickej podpory Filozofické fakulty Univerzity Komenského, Bratislava. Po doplnění některých podrobností bude program spolu s registračním formulářem co nejdříve zveřejněn na webových stránkách a tajemnice GSGM informaci o konání semináře rozešlou e-mailem členům spolku (spolu s oznámením o současném konání Valného shromáždění).

Dr. Lízal zjistí (ve spolupráci s prof. Doškařem) věci týkající se obědu, resp. cateringu (zajištění konkrétní firmou, různé varianty jídla, prostorové uspořádání v rámci muzea, finanční zajištění/sponzoring atp.).

Doc. Holá za členy GSGM z Prahy a okolí požádala o posunutí plánovaného začátku semináře až na 10 hod vzhledem k dopravnímu spojení; přítomní souhlasili.

ad 6)

Prof. Tomáška se dotázal na existenci hlavičkového papíru GSGM; dr. Lízal slíbil, že jej připraví.

Doc. Holá v návaznosti na minulé jednání výboru (kdy byli členové výboru vyzváni, aby se pokusili najít platformy, na kterých by bylo možné udržovat evidenci o členských příspěvcích, pořádat anonymní hlasování, provozovat webové stránky atp.) konstatovala, že podle jejího předběžného zjišťování by finanční nároky na takovou platformu dosahovaly kolem 1500 až 2000 Kč měsíčně, což jí připadá vzhledem k poskytovaným službám pro účely GSGM příliš. Přítomní souhlasili. Doc. Holá požádala prof. Knolla o přidání údajů o platbě členských příspěvků do sdíleného dropboxového adresáře, aby případně mohla neplatící členy urgovat o zaplacení příspěvků.

Dr. Lízal se dotázal členů výboru, zda se místa zasedání výboru budou střídat (v souladu s návrhem z předchozího zasedání výboru) a příští zasedání se tedy uskuteční v Praze nebo Bratislavě. Po krátké diskusi bylo nakonec konstatováno, že Brno je vzhledem ke své ústřední poloze pro tento účel optimální, střídání se bude samozřejmě týkat konferencí GSGM.

Po vyčerpání diskuzních příspěvků dr. Lízal schůzi výboru ukončil a poděkoval všem přítomným za účast.

zapsala doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D.
tajemnice GSGM za ČR

schválil RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.,
předseda GSGM

Zápis ze schůze výboru GSGM, z.s., konané dne 30.5.2023

Přítomni: Čellárová, Holá, Lízal, Pergner, Sember, Slaninová, Šeda, Ševčovičová, Tomáška, Urban, dále Procházková (revizorka účtů za SR)

Omluveni: Knoll, dále Mašek (revizor účtů za ČR)

Program zasedání:

- 1) projednání přihlášky nového uchazeče o členství v GSGM
- 2) schválení zápisu z minulého zasedání výboru GSGM
- 3) kontrola úkolů, které měly být splněny od minulého zasedání výboru
- 4) finanční záležitosti

Schůzi zahájil předseda spolku dr. Pavel Lízal, který předal slovo tajemnici GSGM za ČR, doc. Holé. Ta informovala členy výboru o jedné nově obdržené přihlášce ke členství v GSGM. Přítomní členové výboru se jednomyslně vyslovili pro přijetí příslušného uchazeče. Doc. Holá jej o jeho přijetí a všech dalších náležitostech s tím spojených následně bude informovat e-mailem.

Doc. Holá dále uvedla, že od členů výboru neobdržela žádné připomínky k zápisu z minulého zasedání výboru a dotázala se přítomných členů, zda zápis schvalují. Všichni souhlasili a zápis ze zasedání 1.3.2023 byl tedy schválen.

Doc. Holá dále stručně zrekapitulovala některé úkoly, na kterých se na minulém zasedání členové výboru dohodli, že by měly být v nejbližší době splněny, a dotázala se příslušných členů, v jakém stádiu se tyto úkoly nacházejí:

- a) zjištění, zda je třeba změnu ve výboru (kooptace nového člena místo rezignující členky) nahlásit i úředně na soudu (dr. Lízal) – bude zjištěno a v případě potřeby bude zajištěno úřední nahlášení
- b) příprava rozpočtu na rok 2023 (prof. Knoll) – vzhledem k tomu, že hlavní hospodář spolku nebyl na dnešním zasedání výboru přítomen, zůstává tento úkol do budoucího zasedání výboru
- c) příprava finální podoby nových webových stránek GSGM, jejich předložení členům výboru k diskusi (prof. Urban) – stránky jsou připraveny, prof. Urban zaslal členům výboru jejich navrhovanou podobu k připomínkám, po schválení definitivní podoby by neměl být problém zajistit jejich konečnou migraci na příslušný server a zpřístupnění pro všechny uživatele webu
- d) příprava hlavičkového papíru GSGM (dr. Lízal) – je připraven, dr. Lízal jej zašle k dispozici těm členům výboru, u nichž se předpokládá komunikace s různými úředními místy

Dr. Lízal spolu s doc. Holou poté konstatovali, že bude potřeba dořešit některé věci spojené s evidencí finančních záležitostí a předběžně informovali členy výboru, že bude nutné se kvůli tomu sejít dříve než v obvyklém zimním termínu zasedání výboru (pravděpodobně v září, buď prezenčně v Brně nebo alespoň online).

Poté dr. Lízal schůzi výboru ukončil a poděkoval všem přítomným za účast.

zapsala doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D.
tajemnice GSGM za ČR

schválil RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.,
předseda GSGM

Zápis ze schůze Valného shromáždění GSGM, z.s.

Valné shromáždění GSGM se uskutečnilo 30.5.2023 v Brně u příležitosti konání Edukačního semináře GSGM. Pozvánky na Valné shromáždění s navrženým programem jednání obdrželi všichni členové spolku v termínu, který ukládají stanovy spolku.

Program Valného shromáždění:

1. zpráva o činnosti výboru a aktivitách GSGM, z.s., za období od začátku roku 2023
2. informace o změně hlavního redaktora Informačních listů (IL) a jeho krátké představení se
3. kooptace nového člena výboru GSGM místo rezignujícího člena výboru
4. celkový výkaz hospodaření spolku ke konci r. 2022

Na Valném shromáždění nebyla v určenou dobu přítomná nadpoloviční většina členů spolku, proto bylo zahájeno o 15 minut později, kdy je, v souladu se stanovami spolku, způsobilé usnášet se při jakémkoliv počtu členů. Valné shromáždění bylo tedy uskutečněno v souladu se stanovami a účastnilo se jej celkem 26 členů spolku z ČR i SR. Prezenční listina je uložena v sídle výboru spolku.

Předseda spolku dr. Lízal poděkoval všem přítomným za jejich účast a stručně je seznámil s hlavními body programu.

Ad 1)

Dr. Lízal uvedl, že od zahájení své činnosti k 1.1.2023 se nový výbor věnoval především přípravám Edukačního semináře a věcem souvisejícím s novou podobou IL.

Ad 2)

Vzhledem k rezignaci dosavadní hlavní redaktorky IL se této role ujal člen výboru RNDr. Alexander Sember, Ph.D. Ten se přítomným členům spolku krátce představil a informoval je o tom, že IL od r. 2023 budou vycházet již jen v elektronické podobě a všichni členové spolku je budou dostávat na e-mailové adresy uvedené v databázi spolku. Rovněž dojde ke změně v termínech vycházení IL (místo zimy a léta budou nyní vycházet na jaře a na podzim). O těchto změnách byli členové spolku informováni i e-mailem.

Ad 3)

Na členství ve výboru rezignovala koncem roku 2022 doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D. Výbor se rozhodl v souladu se stanovami kooptovat nového člena, a to Mgr. Jiřího Pergnera, Ph.D., který kandidoval již v minulých volbách a získal pouze o jeden hlas méně než poslední ze zvolených kandidátů. Dr. Pergner s členstvím ve výboru souhlasil a na Valném shromáždění se přítomným členům spolku stručně představil. Poté proběhlo tajné hlasování. Bylo odevzdáno 26 platných hlasovacích lístků, z toho

25 bylo kladných a 1 záporný hlas. Valné shromáždění přijalo usnesení kooptovat Mgr. Jiřího Pergnera, Ph.D., do výboru spolku a přivítalo jej v jeho nové roli.

Ad 4)

Dr. Lízal stručně představil přítomným členům Valného shromáždění celkový výkaz hospodaření spolku ke konci r. 2022

Vzhledem k tomu, že nikdo z členů GSGM nepředložil žádný další námět k projednání, schůze Valného shromáždění GSGM byla poté ukončena.

zapsala doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D.
tajemnice GSGM za ČR

schválil RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.

Zemřela prof. RNDr. Jana Šmardová, CSc. († 31. 8. 2023)

Jana Šmardová (roz. Sýkorová) se narodila 17. srpna 1961 v Lanškrouně. Vystudovala obor Molekulární biologie na PŘF MU, studium ukončila s vyznamenáním v roce 1984 a získala titul RNDr. V letech 1984–1988 absolvovala postgraduální studium v oboru mikrobiologie jako interní vědecká aspirantka na Mikrobiologickém ústavu AV ČR v Praze a získala titul kandidátky biologických věd. Následně byla v letech 1988–1993 zaměstnána jako vědecká pracovnice na Entomologickém ústavu AV ČR v Českých Budějovicích. Od dubna 1991 do února 1993 byla na postdoktorském pobytu ve Spojených státech amerických, kde pracovala na State University of New York at Stony Brook. V letech 1996 až 2003 pracovala na Masarykově onkologickém ústavu v Brně jako vědecká pracovnice na Oddělení experimentální onkologie, a následně od září 2003 do ledna 2019 jako vedoucí laboratoře molekulární patologie na Ústavu patologie FN Brno v Bohunicích. Od roku 2002 působila rovněž na PŘF MU na Oddělení genetiky a molekulární biologie, nejprve jako odborná asistentka, po úspěšné habilitaci v oboru Molekulární biologie a genetika v roce 2005 postoupila na pozici docentky a v roce 2010 byla jmenována profesorkou.

Na Masarykově onkologickém ústavu se začala zabývat nádorovým supresorem p53, a jak sama říkala, díky tomuto genu uviděla proces vývoje nádorů v plné šíři. Jeho studiem se pak dlouhá léta zabývala ve svém výzkumu jak na Lékařské, tak později i na Přírodovědecké fakultě MU. Byla hlavní řešitelkou šesti grantových projektů a je autorkou nebo spoluautorkou více než 50 vědeckých článků v zahraničních časopisech a dalších více než 30 článků v tuzemských recenzovaných odborných časopisech. Zkušenosti s funkční analýzou nádorového supresoru uplatnila vedle výzkumu i v praxi, kde se podílela na zavedení rutinní analýzy tohoto genu u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií.

Problematika biologie nádorů se stala i hlavní náplní její pedagogické práce. Již od roku 1999 pravidelně přispívala přednáškami do kurzu Molekulární biologie eukaryot, od roku 2002 zajišťovala kurz Molekulární a buněčná biologie nádorů, navazující Speciální seminář z biologie nádorů (od roku 2011). Jednotlivými přednáškami přispívala do dalších kurzů zajišťovaných Ústavem experimentální biologie (Molekulární genetika člověka, Úvod do studia biologie). Vedle toho přispívala svým pohledem na molekulární podstatu vývoje nádorů do kurzů Patologie a Onkologie vyučovaných na Lékařské fakultě MU a pravidelně se účastnila vzdělávacích kurzů pro odborné středoškolské pracovníky ve zdravotnictví.

V r. 2013 zavedla zcela novou přednášku Biologie nádorů pro nebiology aneb buněčná filozofie, který později přejmenovala na Biologii nádorů pro každého aneb buněčná filozofie. Tento kurz byl otevřen studentům různých oborů napříč fakultami MU a věnoval se vztahům mezi aspekty chování nádorových buněk a aspekty západní civilizace. Studentské ankety výmluvně dokazují, jak neobyčejnou oblibu si její kurz získal u stovek studentů, které jím za uplynulé roky prošly. Ústřední myšlenkou tohoto kurzu jsou analogie mezi vznikem a vývojem nádorů a chováním lidí a lidské společnosti. Tato problematika ji natolik zaujala, že se více než deset let intenzívně věnovala tomuto tématu studiem rozsáhlých literárních zdrojů z různých oborů, což nakonec vyústilo v sepsání a vydání knihy *Co nás učí nádory: Paralely v chování*

buněk a lidí. Na základě obecné teorie systémů zde hledá paralely a extrapolace pravidel spolupráce a forem jejich porušování i v jiných komplexních systémech. Vedle detailnějšího vhledu do podstaty vzniku a vývoje nádorů kniha nabízí zamyšlení nad otázkou, zda i lidé, podobně jako nádorové buňky, neporušují nebezpečně a sebedestruktivně klíčová pravidla podmiňující dobré fungování systému, jehož jsou součástí. Jak uvedli recenzenti této knihy, je až fascinující, jak autorka našla v různých literárních zdrojích z oblasti sociobiologie, ekonomie, psychologie, filozofie, evoluční biologie a jiných paralely typických znaků nádorů s hříchy v lidské společnosti. A uvádějí, že neznají odborníky, kteří by se takového pohledu kvalifikovaně a motivovaně ujali. Zcela po právu za tuto knihu v roce 2022 převzala z rukou děkana PřF medaili za mimořádný tvůrčí počin.

Jana se též věnovala popularizaci vědy přednáškami pro středoškolské studenty a seniory v rámci Univerzity třetího věku, pravidelně přispívala do Kurzu genetiky a molekulární biologie pro učitele středních škol. Participovala na překladu obsáhlé učebnici *Genetika* (2009) a jejího dalšího vydání (2017) a je rovněž autorkou nebo spoluautorkou kapitol v devíti vysokoškolských učebnicích a skriptech.

U svých kolegů byla velmi oblíbená a respektovaná, vždy ochotná diskutovat o své práci a plánech do budoucna. Uměla inspirovat, povzbudit a ke své práci přistupovala vždy s velkou pokorou, a charakterizovala ji dobrotou, laskavostí a dobrým srdcem. Měla velmi vřelý vztah ke studentům, s nimiž ráda vedla debaty nad jejich eseji, které zpracovávali po absolvování jejích přednášek.

Je obdivuhodné, jak Jana dokázala své náročné povolání skloubit s úlohou milující manželky, obětavé matky a babičky. I přes plné pracovní vytížení byl pro ni rodinný život vždy na prvním místě.

Jano, budeš nám chybět a vždy na Tebe budeme s úctou, vděčností a respektem vzpomínat.

Jiří Doškař



EduWorkshop: Hodnotenie vysokoškolských kurzov

Regina Sepšiová

„Čo rozumieme pod pojmom hodnotenie kurzu? Je to synonymum známkovania a kontroly vedomostí študentov? Je to motivácia pre študentov, aby sa prednášané témy naučili? Alebo by mohlo byť hodnotenie považované za istú formu vzdelávania?“

Po trojročnej „covidovej“ prestávke sa v historických priestoroch Mendelovho múzea v Brne konal 30. mája 2023 edukačný workshop organizovaný Genetickou spoločnosťou Gregora Mendela (GSGM). Po úvodnom privítaní pani riaditeľkou Mendelovho múzea Mgr. Blankou Křížovou otvoril odborný program o hodnotení kurzov na českých vysokých školách RNDr. Pavel Lízal, PhD. z Masarykovej univerzity v Brne. Z pohľadu dlhoročných pedagogických skúseností porozprával o postrehoch z rôznych foriem skúšania ústnou a písomnou formou, pričom poukázal na fakt, že obdobie pandémie sa prejavilo v zhoršení úspešnosti študentov pri skúške z kurzu Obecní genetika, ktoré prebiehalo online formou. Študenti v Čechách i na Slovensku prešli počas pandémie rôzne dlhým obdobím online výučby z domu už na stredných školách, čo sa s veľkou pravdepodobnosťou podpísalo na kvalite ich vedomostí. Dr. Lízal však podotkol, že zhoršenie úspešnosti študentov na skúške môže byť spojené aj so zmenou testových otázok, preto už nemohli siahnuť po minuloročných zdrojoch informácií. Počas diskusie zazneli postrehy, že testové otázky ku kurzu by mali mať dostatočný počet a pokrývať celé spektrum prebratých tém.



Autor: doc. A. Ševčovičová, PRIF UK Bratislava

Následne doc. RNDr. Dana Holá, PhD. z Prírodovedeckej fakulty UK v Prahe zhodnotila skúšanie a rôzne varianty kontroly vedomostí študentov v oblasti genetiky a molekulárnej biológie. Z jej štatistických vyhodnotení vyplývalo, že k výraznejšiemu zhoršeniu úspešnosti študentov pri skúške nastalo už v rokoch 2014–2015, čiže ešte pred obdobím pandémie, avšak dôvod tohto poklesu úspešnosti zatiaľ nie je známy. Prof. MUDr. Ondřej Šeda, PhD. z Lekárskej fakulty UK v Prahe predstavil dobré

skúsenosti so systémom ROGO (<https://getrogo.com>) modifikovaným na konkrétne potreby testovania vedomostí študentov v rámci kurzov Biológie a Genetiky.

V ďalšej sekcii zazneli príspevky o hodnotení kurzov na slovenských vysokých školách, kde vystúpila prof. RNDr. Eva Čellárová, DrSc. z Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach. Okrem klasického hodnotenia kurzov formou písomného a ústneho skúšania predstavila skúsenosti s formou tzv. samohodnotenia študentov ako súčasť priebežného hodnotenia kurzu. Jej kolegyne RNDr. Linda Petijová, PhD. a doc. RNDr. Katarína Bruňáková, PhD. sa zamerali na zhodnotenie praktických kurzov klasickým spôsobom protokolov a priebežných testov, ale aj využitím počítačovej techniky a *m-learningu*.



Autor: doc. E. Gálová, PRIF UK Bratislava

Na záver tejto časti predstavili Mgr. Filip Červenák, PhD. a Mgr. Stanislav Kyzek, PhD. z Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave hodnotenie kurzu Odborný seminár, ktorého základom je práca v tíme. Individuálne hodnotenie študentov počas tímovej práce prináša so sebou viaceré komplikácie v podobe zisťovania prínosu jednotlivca do výsledku tímovej práce a častokrát aj nevyváženého prínosu jednotlivcov. V tímovej práci zohrávajú veľkú úlohu povahové vlastnosti jednotlivých členov tímu, ktoré je vhodné zohľadňovať pri rozdeľovaní príslušných úloh. Súčasťou predstaveného kurzu je diskusia, kedy je dôležité, aby moderátor diskusie zabezpečil možnosť zapojenia do diskusie všetkých záujemcov, a tým zaručil v čo najväčšej možnej miere objektivitu hodnotenia.

Poobedňajšia časť edukačného semináru bola venovaná príspevkom doktorandov a didaktikov a novým výzvam v hodnotení kurzov. Pohľad študenta, resp. doktoranda na hodnotenie predstavili Mgr. Martin Kubů z Prírodovedeckej fakulty UK v Prahe a Mgr. Kamila Říhová z Masarykovej univerzity v Brne. Mgr. Martin Kubů podotkol, že častokrát sú odlišné podmienky hodnotenia, ak je daný kurz hodnotený viacerými pedagógmi. Vzhľadom na hodnotenie formou testov navrhol, aby si skúšajúci vopred otestovali časovú, ale aj odbornú náročnosť testu napr. na vzorke doktorandských študentov. Vyvolávanie študentov pri odpovediach na konkrétne otázky považuje za veľmi stresujúce. Mgr. Kamila Říhová vyzdvihla význam ústneho skúšania, kde interakcia medzi pedagógom a študentom môže byť základom ich

budúcich interakcií. Pohľad didaktikov na hodnotenie kurzov predstavili RNDr. Soňa Nagyová, PhD. a doc. PaedR. Zuzana Haláková, PhD. z Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave. Prezentovali rôzne typy testových otázok a tvorbu testov so zameraním hlavne na vytváranie tzv. viacúrovňových testových otázok a ich hodnotenie.

Posledná časť edukačného seminára bola interaktívna a vedená ako multiplikačné podujatie projektu Erasmus + Strategické partnerstvá HOSUED 2020-1-SK01-KA203-078299 (*Designing Holistic and Sustainable Educational Development to Improve Student Learning*): <https://hosued.euba.sk/>. Mgr. Gabriela Pleschová, MSc. PhD. a Mgr. Lucia Hlavatá, PhD. z Centra pedagogickej podpory Filozofickej fakulty UK v Bratislave nás, ako poslucháčov, vtiahli do diskusie o otázkach, ktoré som uviedla v úvode môjho príspevku. Následne sme sa stali tímovými hodnotiteľmi pripravených posterových prezentácií študentov, kde si účastníci EduWorkshopu vyskúšali, že tímové hodnotenie predstavuje väčšiu objektivitu hodnotenia, možnosť diskusie o silných a slabých stránkach prezentácie a širší odborný záber hodnotiteľov. Tímová práca patrí v našom vzdelávacom systéme stále medzi menej využívané formy vzdelávania. V ďalšej časti sme preto diskutovali ve skupinách o pozitívach a negatívach tímovej práce a o možnostiach ich hodnotenia.



Autor: doc. A. Ševčovičová, PRIF UK Bratislava

Záver edukačného workshopu patril už tradične panelovej diskusii so všetkými prezentujúcimi, ktorú moderoval dr. Pavel Lízal. Hlavnou diskutovanou témou sa stalo hodnotenie obhajob záverečných prác a štátnych záverečných skúšok. Záverečné práce študentov sú veľmi rôznorodé jednak svojim odborným záberom, ale aj úrovňou získaných výsledkov, ktoré často nemusia závisieť od schopností študenta. Preto na jednej strane zazneli názory, že by bolo vhodnejšie hodnotiť záverečné práce len dvojstupňovým hodnotením uspel/neuspel, resp. absolvoval/neabsolvoval, na druhej strane však takéto dvojstupňové hodnotenie neposkytuje možnosť odlíšiť naozaj výnimočné práce, alebo výnimočné vedomosti študenta od priemerných, pričom zvýraznenie výnimočného prínosu práce môže pôsobiť pre daného študenta veľmi motivačne. Riešením by bolo zachovanie viacstupňového hodnotenia, prípadne možnosť ohodnotenia absolvovania s vyznamenaním, alebo inou formou vyzdvihnutia.

Hodnotenie jednotlivých kurzov vo veľkej miere závisí od typu daného kurzu (teoretický, resp. praktický kurz) a od počtu hodnotených študentov. Hodnotenie by však malo byť čo najobjektívnejšie a hodnotiť celé spektrum vedomostí študenta z danej oblasti. Je dôležité, aby bolo pre študenta motivujúce, čo zabezpečuje v najväčšej miere slovné, či písomné hodnotenie s možnosťou upozornenia na nedostatky, ale aj vyzdvihnutia silných stránok študenta. Samozrejme takáto forma hodnotenia je pre pedagóga oveľa časovo náročnejšia. Vnášanie tzv. rovesníckeho hodnotenia je výborným prvkom priebežného hodnotenia počas kurzu, pričom umožňuje študentom nielen byť hodnotený, ale aj naučiť sa hodnotiť a všímať si prácu ostatných študentov, čo môžeme považovať za istú formu vzdelávania. Aj hodnotenie práce pedagóga študentmi vo forme rôznych dotazníkov a ankiet má veľký význam v zisťovaní pohľadu študenta na daný kurz, pomáhajú zlepšovať výučbu a častokrát sú svojimi nápadmi študenti sami tvorcovia príslušného kurzu.

Program EduWorkshopu je možné nájsť na linke: <https://fns.uniba.sk/pracoviska/biologicka-sekcia/kge/podujatia/edu-workshop-gsgm-2023/>

Když STOP (kodon) dává smysl – příklad prvoků z rodu *Blastocrithidia*

Jiří Pergner

Katedra biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta, Ostravská univerzita,
Chittussiho 10, 710 00 Ostrava

Genetický kód je „třípísmený, jednosměrný, nepřerušovaný, nepřekryvný, degenerovaný, univerzální“. Takto je genetický kód často představován v přednáškách genetiky nebo molekulární a buněčné biologie. Tato definice je víceméně platná od rozklíčování genetického kódu Nirenbergem a Lederem v roce 1966 až do dnešní doby. Slovo „víceméně“ je použito záměrně, protože nejslabším článkem této definice genetického kódu je nejspíše slovo „univerzální“. Už od roku 2016 byla publikována celá řada výjimek z univerzality genetického kódu, kdy stejné tripletety kódují u různých organismů různé aminokyseliny. Jedná se zejména o odlišnosti genetického kódu u bakterií, eukaryotických organel, ale i u jednobuněčných organismů.

Standardní genetický kód přiřazuje k 61 kodonům aminokyselinu a tři zbývající kodony slouží jako terminační (pro připomenutí viz **Obr. 1**). Mezi dosud popsány výjimkami z univerzálního genetického kódu se dají najít všechny možnosti záměn: sense-to-sense (záměna aminokyseliny kódované tripletem za jinou aminokyselinu), sense-to-STOP (záměna vedoucí k rozpoznání tripletu kódujícího aminokyselinu na STOP kodon) a STOP-to-sense (záměna tripletu sloužícího běžně jako terminační neboli STOP kodon na triplet kódující aminokyselinu). Je důležité zmínit, že se vždy jedná o změnu v rozpoznání tripletu příslušnou tRNA a ne o změnu v sekvenci tripletu. Zajímavostí je, že doposud nebyla nalezena změna v iniciačním neboli START kodonu. Právě poslední zmíněné záměny STOP-to-sense jsou pro svůj důsledek ze všech těchto záměn těmi nejzajímavějšími.

Jedním z prvních organismů, u kterého byla popsána změna STOP-to-sense, byli prvoci z rodu *Blastocrithidia* (viz **Obr. 2**), konkrétně *B. miridaum*, *B. triatomae* a *Blastocrithidia* sp. ex *Lygus hesperus* (Záhonová et al. 2016). Jedná se o parazitického prvoka příbuzného trypanosomám, který infikuje brouky. Konkrétně v případě *Blastocrithidia* sp. ex *Lygus hesperus* je hostitelem, jak název napovídá, ploštice druhu *Lygus hesperus*.

		Second letter				
		U	C	A	G	
First letter	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG Trp	U C A G
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G

Obr. 1: Standardní genetický kód

(převzato z <https://www.khanacademy.org/science/ap-biology/gene-expression-and-regulation/translation/a/the-genetic-code-discovery-and-properties>)



Obr. 2: *Blastocrithidia nonstop*

Mikroskopické fotografie *Blastocrithidia nonstop*. *Blastocrithidia* spp. vykazují typické genetické a morfologické znaky trypanosomatidů, např. přítomnost kinetoplastu – pozměněná mitochondrie, nebo bičíku.

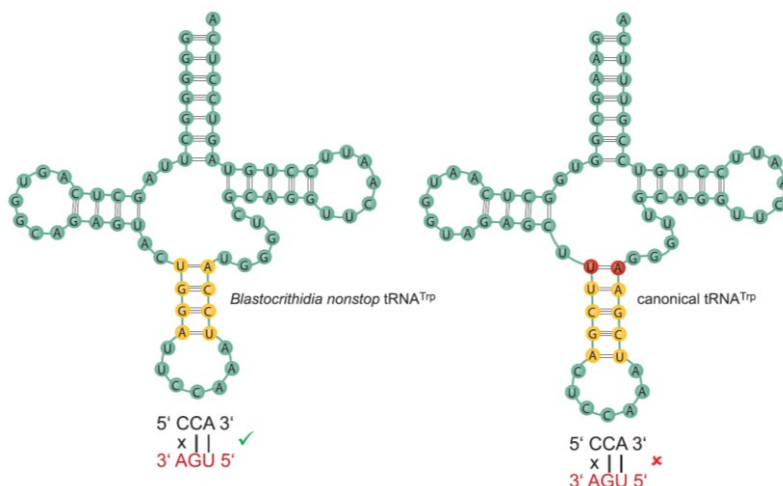
(převzato z <https://www.natur.cuni.cz/fakulta/aktuality/cesti-vedci-rozlustili-unikatni-chybnou-dna-dosud-neznameho-parazita>)

Tým výzkumníků z Katedry biologie a ekologie Ostravské univerzity objevil v roce 2016 v genomu brouka *Lygus hesperus* „kontaminující“ genomovou sekvenci prvoka rodu *Blastocrithidia* ze skupiny trypanosomatidů (Záhonová et al. 2016). Tým se zaměřil na bližší prozkoumání genomové sekvence jaderné DNA daného prvoka a odhalil v něm větší množství STOP kodonů lokalizovaných ve čtecím rámci. Totéž bylo následně objeveno u dalších dvou druhů tohoto rodu (zmiňovaných výše), což naznačuje, že by se mohlo jednat o společný znak *Blastocrithidia* spp. (celkově rod *Blastocrithidia* zahrnuje prozatím 13 popsáných druhů, přičemž změny v genetickém kódu byly popsány u čtyřech z nich) (Záhonová et al. 2016). Tyto tripletety kódující STOP kodony byly nalezeny nejen v sekvenci jaderného genomu, ale i v sekvenci transkriptomu. Nejednalo se tedy o pseudogeny, které by nebyly exprimovány. Je známo, že u některých trypanosomatidů probíhají masivní post-transkripční úpravy mRNA, při kterých jsou některé báze v kódující sekvenci změněny na jiné. Tyto úpravy probíhají u genů kódovaných konkrétně v jejich mitochondriálním genomu. Takto mohou být napraveny zdánlivě nesmyslné sekvence mRNA – např. takové, které obsahují větší množství STOP kodonů lokalizovaných ve čtecím rámci. Výsledkem jsou molekuly mRNA, které mohou být translatovány. Pokud by toto byl případ i transkriptů vzniklých z jaderného genomu *Blastocrithidia* spp., nalezení STOP kodonu v kódujících částech genů by nebylo až tak překvapivé. Překvapivá by ale bezesporu byla přítomnost této mašinerie pro úpravy jaderně kódovaných genů. Nicméně se ukázalo, že se molekulární mašinerie pro tento způsob post-transkripčních úprav u *Blastocrithidia* spp. nenachází. Záhonová et al. (2016) navíc v transkriptomu objevili přítomnost STOP kodonů i u mRNA molekul, které prošly úpravami – sestřihem intronů, přidáním 5' čepičky nebo trans-sestřihem. Při poslední zmíněné úpravě je na 5' konce mRNA připojovaná jedna a tatáž sekvence, která je kódována na jiném místě v genomu a nazývaná splice leader. Jedná se o mechanismus popsáný u mnoha trypanosomatidů. Toto zjištění potvrdilo, že se STOP kodony u *Blastocrithidia* spp. nacházejí v exprimovaných genech kódujících proteiny. Další zkoumání pomocí bioinformatických analýz ukázalo, že *Blastocrithidia* spp. využívá všechny tři známé STOP kodony UGA, UAG, UAA pro kódování aminokyselin. Triplet UGA je rozpoznáván pro zařazení aminokyseliny tryptofan a triplety UAG a UAA jsou rozpoznávány jako tripletety kódující glutamát. Otázkou samozřejmě bylo, který triplet, nebo tripletety, slouží u *Blastocrithidia* spp. jako STOP kodon. Následná bioinformatická analýza ukázala, že pro ukončení translace jsou u *Blastocrithidia* spp. použity tripletety UAG a UAA. V případě, že se tyto tripletety nacházejí uprostřed kódující sekvence, jsou rozpoznány jako glutamát, ale při výskytu na konci mRNA jsou rozpoznávány jako STOP kodony. V průběhu evoluce se u prvoků *Blastocrithidia* spp. vyvinuly speciální tRNA, které mají antikodonové sekvence umožňující rozpoznání tripletů UGA, UAG a UAA. Co se týče terminace translace, je důležité připomenout, že STOP kodony jsou rozpoznávány speciálními uvolňujícími terminačními faktory, tzv. release factors (RFs). U trypanosomatidů tuto roli hraje eRF1, který rozpoznává všechny tři STOP kodony. U *Blastocrithidia* spp. nemohli Záhonová et al. (2016) nalézt mutaci, která by objasňovala schopnost specificky rozpoznávat jako STOP kodony pouze UAG a UAA, a to pouze při jejich výskytu na konci mRNA. Práce Záhonové et al. (2016) tak na jednu stranu přinesla pozoruhodné zjištění ohledně schopnosti číst STOP kodony, ale na

druhou stranu (jak už to tak bývá) se vyrojily otázky nové, na které bylo potřeba najít odpovědi v navazujícím výzkumu.

Na počátku roku 2023 vyšla v časopise Nature publikace, ve které se autorům (jednalo se o vědecké týmy z Akademie věd, Jihočeské univerzity, Univerzity Karlovy a Ostravské univerzity) podařilo detailněji osvětlit mechanismus rozpoznání STOP kodonu u jednoho zástupce rodu *Blastocrithidia*, konkrétně druhu *B. nonstop* (Kachale et al. 2023). Autoři nejdříve provedli bioinformatickou analýzu potvrzující, že i tento druh vykazuje schopnost číst STOP kodony tak, aby byly do vznikajícího proteinu zařazeny aminokyseliny. Při přezkumu dat se navíc ukázalo, že jako STOP kodon slouží u *Blastocrithidia* spp. pouze UAA a nikoliv UAG, čímž tento tým vědců korigoval závěry ze studie Záhonové et al. (2016). Dalším zjištěním byla přítomnost 70 genů pro tRNA zahrnujících i dvě takové, které přiřazují glutamát a svými antikodony CUA a UUA rozpoznávají běžné STOP kodony UAG a UAA. V genomu nicméně chyběla tRNA přiřazující tryptofan, která by nesla antikodon UCA rozpoznávající STOP kodon UGA.

Detailní predikce struktury tRNA^{Trp}_{CCA}, která běžně rozpoznává kodon UGG kódující tryptofan, ukázala, že je antikodonová smyčka této tRNA u *B. nonstop* kratší o jednu bázi. Běžně se totiž v antikodonové smyčce nachází deset bází, které spolu párují, zatímco u tRNA^{Trp}_{CCA} z *B. nonstop* se nachází párujících bází pouze osm. Toto zkrácení umožňuje rozpoznání a přiřazení tryptofanu jak ke kodonu UGG, tak i UGA. Tento způsob, kdy změna délky antikodonové smyčky v tRNA, ale ne změna v antikodonové sekvenci umožňuje změnu v rozpoznání kodonu, je zcela unikátní a bezprecedentní. Odhaluje tak další nutnost směřování výzkumu pro pochopení různých systémů translace, kdy struktura tRNA je stejně důležitá (a někdy možná i důležitější) jako její sekvence.

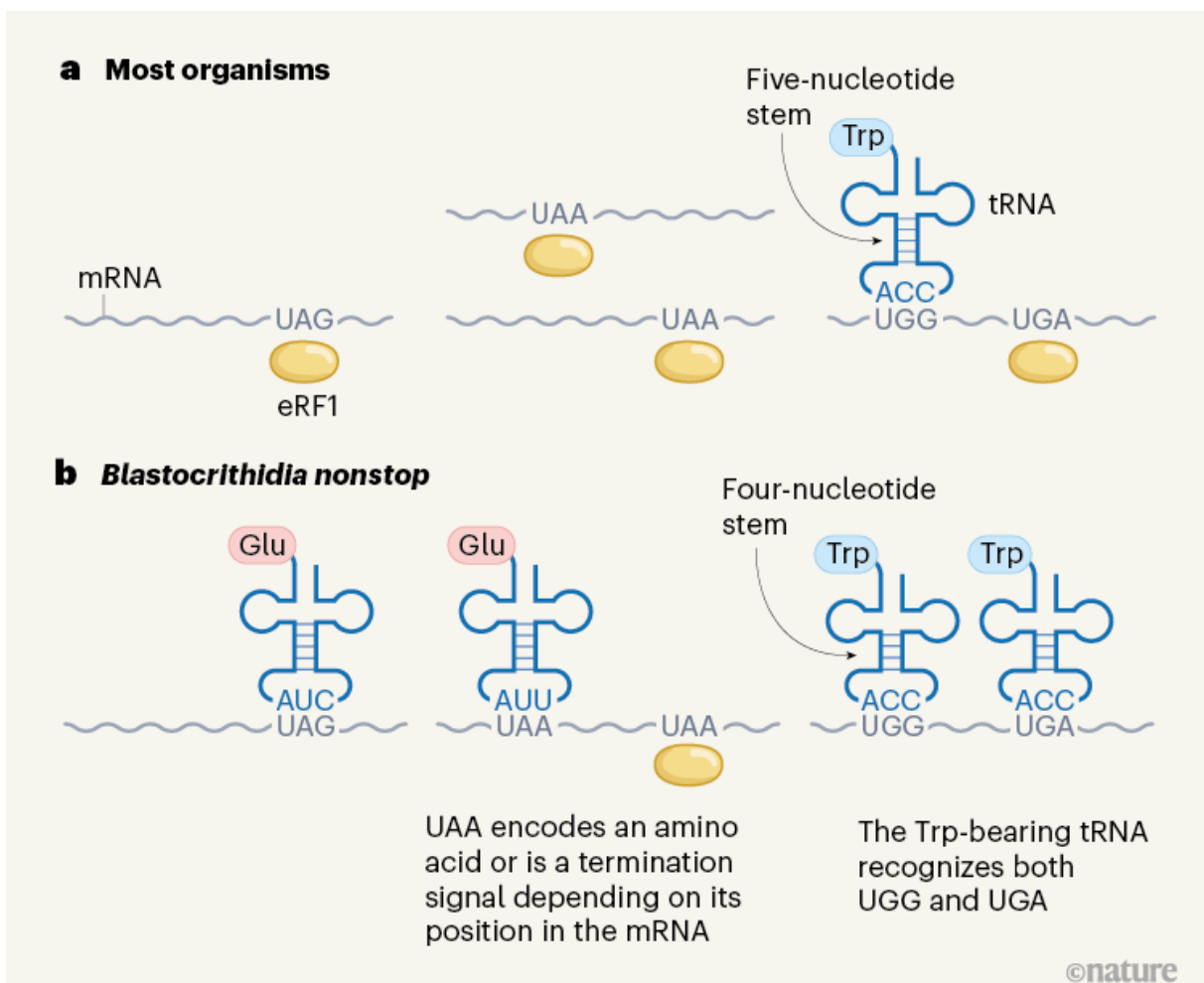


Obr. 3: Porovnání tRNA kódujících tryptofan u *B. nonstop* a kanonických tRNA
tRNA nalezená u *B. nonstop* má v antikodonové smyčce přítomných osm bází místo deseti, a tyto spolu párují. Změna ve struktuře tRNA vede k její schopnosti rozpoznat kodony UGG i UGA (převzato z Valasek et al. 2023).

Spolu s touto změnou v tRNA, se podařilo identifikovat i mutaci v uvolňovacím terminačním faktoru eRF1, která dále přispěla k potlačení čtení UGA jako STOP kodonu. Unikátní na této studii byl fakt, že byly změny ve fungování molekul tRNA a

eRF1 ověřeny experimentálně. Autoři se museli vypořádat s faktem, že *Blastocrithidia* spp. zatím není možné spolehlivě geneticky modifikovat. Proto pro studium specifických tRNA a eRF1 využili jako modelový organismus *Trypanosoma brucei*. I v heterologním systému se ukázalo, že nově nalezené tRNA z *B. nonstop* umožňují rozpoznání STOP kodonů jako sense kodonů a mutantní eRF1 umožňoval translační pročtení kodonů UGA a UAG.

Jako jediný STOP kodon tak u *B. nonstop* (a pravděpodobně i dalších *Blastocrithidia* spp.) slouží UAA, který je navíc rozpoznáván pouze ve specifickém kontextu, tj. na konci molekuly mRNA slouží jako STOP kodon, zatímco uvnitř kódující sekvence jako kodon pro glutamát (shrnutí na **Obr. 4**). Autoři tedy objevili zcela unikátní systém, jak docílit změny ve čtení genetického kódu změnou ve struktuře tRNA a také mutací v uvolňovacím terminačním faktoru eRF1. Autoři studie se v diskuzi pustili do spekulací, proč se u *Blastocrithidia* spp. vyvinula schopnost rozpoznávat STOP kodony uvedeným způsobem. Jako jedno z možných vysvětlení by se dalo uvažovat o speciálním systému protivirové obrany. Genová exprese virů, které napadnou *Blastocrithidia* spp., bude v důsledku pročtení STOP kodonů narušena a budou vznikat nefunkční prodloužené bílkoviny (Kachale et al. 2023).

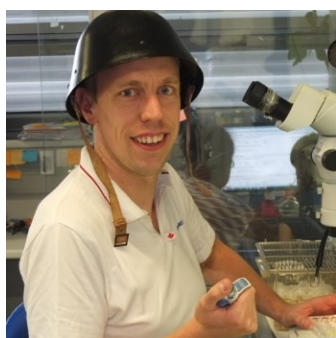


Obr.4 Shrnutí rozpoznání STOP kodonu u většiny organismů a *B. nonstop* (převzato z Baranov & Atkins, 2023).

U laické veřejnosti doprovází každý velký vědecký objev často otázka: „K čemu to je dobré?“ myšleno „Jakou má tento objev relevanci k lidským onemocněním?“. Tuto otázku si položily i týmy podílející se na studiu genetického kódu *Blastocrithidia* spp. Vedoucí laboratoří zmiňují, že tento objev unikátní molekuly tRNA, která umožňuje pročtení přes STOP kodon, by mohl být užitečný při nápravě vrozených mutací zahrnujících předčasné STOP kodony (Valasek et al. 2023). U takových mutací vznikají krátké nefunkční proteiny, které jsou odstraněny a jejich odpovídající molekuly mRNA jsou degradovány přes dráhu non-sense mediated decay. Případně mohou vznikat zkrácené proteiny fungující jako dominantně negativní mutanti, tzn. potlačující funkci správného proteinu. Vnesením molekul(y) tRNA nebo gen(ů) pro tRNA umožňující pročtení STOP kodonu a přiřazení aminokyseliny by mohlo vést k nápravě takových mutací. Vnesení tRNA se navíc zdá být pro buňky méně toxické než vnesení DNA nebo proteinu (např. Cas9 nutný pro genetické manipulace). Jedná se samozřejmě o spekulaci, u které teprve čas (a obrovské úsilí dalších vědeckých týmů) ukáže, jestli může sloužit lidstvu.

Literatura

- Baranov PV, Atkins JF (2023) No stopping with a short-stem transfer RNA. *Nature* 613(7945):631–632.
- Kachale A, et al. (2023) Short tRNA anticodon stem and mutant eRF1 allow stop codon reassignment. *Nature* 613(7945):751–758.
- Valášek LS, Lukeš J, Paris Z (2023) Stops making sense – For the people? *Clin Transl Med.* 13(5):e1270.
- Záhonová K, Kostygov AY, Ševčíková T, Yurchenko V, Eliáš M (2016) An unprecedented non-canonical nuclear genetic code with all three termination codons reassigned as sense codons. *Curr Biol.* 26(17):2364–2369.



Mgr. Jiří Pergner, Ph.D. (jiri.pergner@osu.cz) absolvoval doktorský studijní program Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie na Katedře genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Karlovy. Dizertační práci vypracoval na téma Evoluce vnímání světla u strunatců na Oddělení transkripční regulace Ústavu molekulární genetiky AV ČR. Poté krátce pracoval jako vědecký pracovník ve společnosti PrimeCell Bioscience v Ostravě. V současnosti pracuje jako postdoktorální pracovník a odborný asistent na Katedře biologie a ekologie Přírodovědecké fakulty Ostravské univerzity. Ve svém výzkumu se zabývá evolucí posttranskripčních úprav plastidových transkriptů u jednobuněčných řas.

Kapesní průvodce moderními představami o evoluci pohlavních chromozómů

Alexandr Sember

Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR, v.v.i., Rumburská 89, Liběchov, 277 21

Od prvního odhalení přítomnosti pohlavních chromozómů u hmyzu (Stevens 1905; Wilson 1906) uběhlo více než století, a i přes velmi intenzivní výzkum, pestrý metodologicky i výčtem studovaných organismů, neznáme uspokojivé odpovědi na celou řadu klíčových otázek spjatých s evolucí těchto specializovaných oblastí genomu. Například stále tápeme v tom, i) co je primárním mechanismem suprese rekombinace mezi pohlavními chromozómy a zda k ní dochází vždy, ii) proč pohlavní chromozómy některých skupin zůstávají málo diferencované i po výrazně dlouhé době své evoluce nebo iii) jaké faktory hrají roli v přechodu mezi systémy pohlavních chromozómů.

Klíčovým podnětem k sepsání tohoto příspěvku byly mé recentní zkušenosti jako člen komisí různých států, kde jsem si uvědomil, že studenti často nedokážou téma pohlavních chromozómů ve své odpovědi adekvátně uchopit. Jednou z příčin je nepochybně fakt, že téma je to vskutku komplexní a vyžaduje čas a trpělivost, aby si člověk poskládal celou řadu dílků do mozaiky a získal ucelený pohled na věc. Rozhodl jsem se tedy tomu trochu pomoci tímto průvodcem a ve snaze být co nejstručnější, jsem jej pojal formou dialogu, tj. formátu osvětlování podstaty věci známého již od Sokrata. Zároveň se však ani kolegové dobře orientovaní v této problematice jistě nudit nebudou, neb jsem zařadil i četné recentní novinky v oboru.

Co jsou to pohlavní chromozómy a jakou hrají úlohu v evoluci?

Jedná se o specializované chromozómy, které hrají zásadní roli v určení pohlaví většiny živočichů a řady rostlin. Vyvinuly se v evoluci mnohokrát nezávisle na sobě, z různých autozómových párů a v různých evolučních liniích eukaryot (Bachtrog et al. 2014). Jedná se o nejrozšířenější mechanismus genotypového určení pohlaví (GSD, z angl. „genotypic sex determination“), kdy se samec od samice konzistentně liší svým genotypem. Často se používá také spojení „genetické určení pohlaví“, ale jelikož environmentální mechanismy určení pohlaví (ESD, z angl. „environmental sex determination“) mají také genetickou složku, tak je použití přívlastku „genotypové“ přesnější, neboť u organismů s ESD se samec od samice genotypově neliší.

Pohlavní chromozómy ve většině případů představují pár chromozómů, ve kterém se homology z nějakého důvodu od sebe geneticky rozrůznily (viz dále). Jeden homolog je specifický pouze pro jedno pohlaví, označuje se jako nepárový pohlavní chromozóm a často nese gen/alelu genu, jehož/jejíž produkt je zodpovědný za determinaci daného pohlaví. Pro snazší pochopení si situaci popíšeme na systému ♀XX/♂XY, kde se chromozóm Y vyskytuje pouze u samců, zatímco samice nesou v jádrech svých buněk dvě kopie chromozómu X. V tomto případě je tedy samčí pohlaví heterogametické, neboť vytváří dva typy gamet (haploidní spermie s chromozómem X nebo Y). Při křížení homogametického a heterogametického pohlaví

(za předpokladu rovnoměrné tvorby gamet u heterogametického pohlaví, neovlivněné např. meiotickým tahem – viz např. Pokorná et al. 2014) se bude v dané populaci udržovat rovnoměrný poměr samců a samic, což zajišťuje největší genetickou variabilitu potomstva, a navíc se výrazně snižuje pravděpodobnost příbuzenského křížení. Navíc je rovnoměrný poměr pohlaví v generacích stabilní a nemají na něj vliv výkyvy podmínek okolního prostředí (Fischer 1930; Nur 1974).

Analogicky k systému XY existuje systém ♂ZZ/♀ZW, kde je heterogametickým pohlavím samice. Druhově nejpočetnější skupinou s tímto systémem jsou motýli (Nguyen and Carabajal Paladino 2016), ale většina lidí si asi přednostně vybaví přítomnost tohoto systému u ptáků (Graves 2014). A aby toho nebylo málo, u mechorostů a některých řas a hub, které většinu života stráví v haploidní fázi, se vyvinuly pohlavní chromozómy typu UV, kdy je přítomna pouze jedna kopie chromozómu V (u samčího gametofytu) nebo jedna kopie chromozómu U (u samičího gametofytu), a tyto chromozómy nesou geny zodpovědné za vývoj daného gametofytu (Bachtrog et al. 2011; Charlesworth 2022).

Pro všechny tři výše zmíněné standardní systémy pohlavních chromozómů existují napříč organizmy odvozené varianty (Pennell et al. 2015; Sember et al. 2021; Sousa et al. 2021). Pro systém XY tak existují např. tyto možnosti: X_1X_2Y (zdaleka nejčastější), XY_1Y_2 nebo $X0$. Existují i výrazně komplikovanější systémy, jako např. u ptakopyska (samec: pět chromozómů X a pět chromozómů Y; samice po dvou homolozích chromozómů X) a ježury (totéž ale jeden Y chybí) (Rens et al. 2007), některých pavouků (např. samec *Caponia hastifera*: 10 chromozómů X a dva Y; Král et al. 2019) nebo u jedné amazonské žáby (*Leptodactylus pentadactylus*; samec má šest chromozómů X a šest Y) (Gazoni et al. 2018), ale to bychom se již pouštěli do přílišných podrobností, nad rámec tohoto příspěvku. U některých dalších organizmů dokonce determinují pohlaví nadpočetné (B) chromozómy, a to buď přímo díky přítomnosti determinanty pohlaví (Imarazene et al. 2021) nebo na základě poněkud složitějšího mechanismu zahrnujícího cílenou eliminaci jednoho rodičovského genomu (Benetta et al. 2020).

Jak probíhá evoluce pohlavních chromozómů (na příkladu systému XY)?

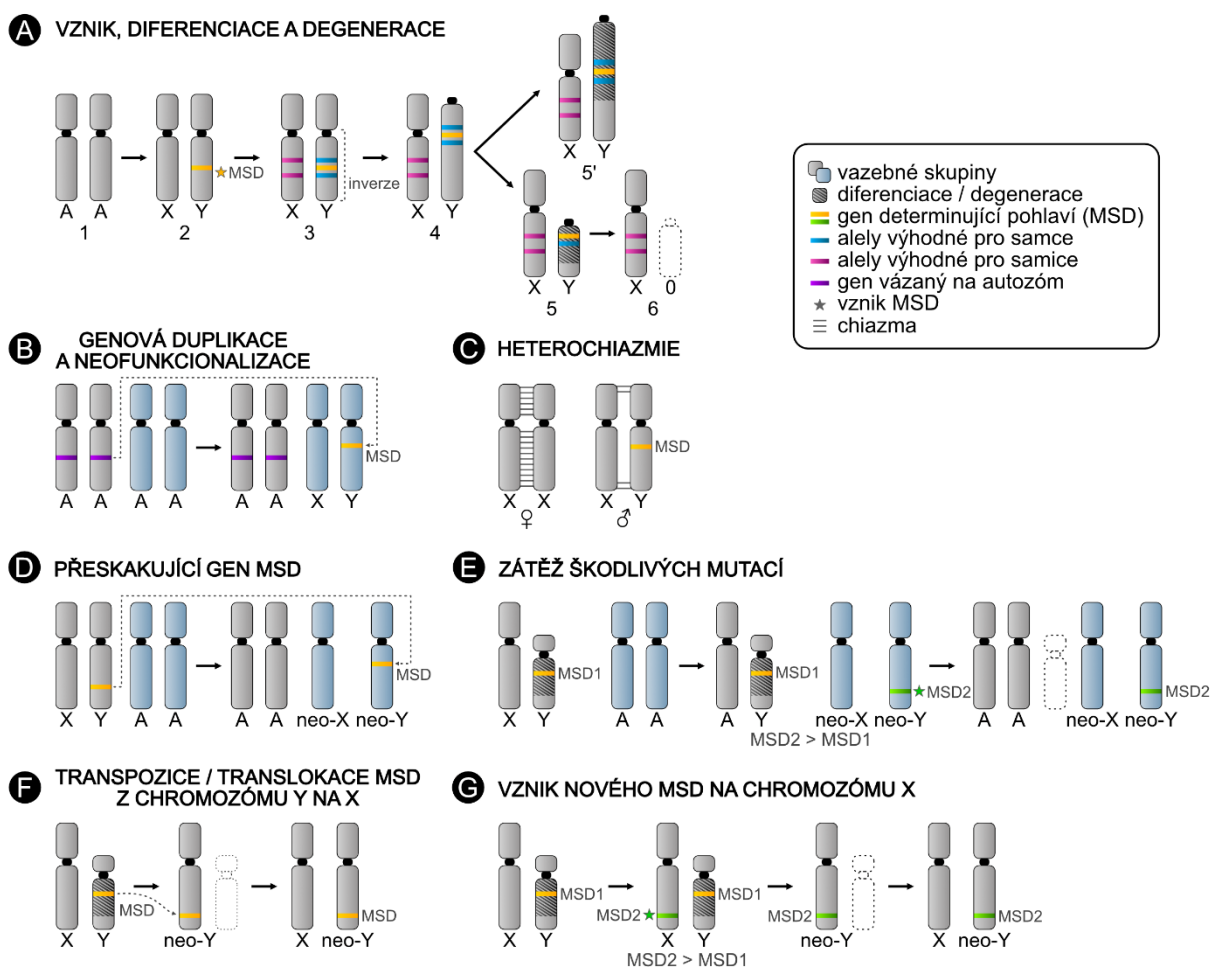
Nejdříve v rámci jednoho páru autozómů dojde na jednom z homologů ke vzniku alely genu, jejíž produkt získá ústřední roli v determinaci pohlaví (budeme ji následně pro zjednodušení označovat jako gen MSD, z angl. „master sex-determining gene“) (**Obr. 1A**). To konkrétně znamená, že produkt této varianty genu je primárním spouštěčem signální kaskády, která určuje, zda se ze zárodečné gonády vyvinou pohlavní orgány samčí nebo samičí. V případě systému XY je obvykle gen MSD přítomen na chromozómu Y. V oblasti zahrnující determinantu pohlaví na tomto chromozómu dojde následně k potlačení rekombinace, tj. v této oblasti nadále nedochází (nebo jen velmi zřídka) k rekombinaci mezi chromozómy X a Y. Jak a proč k supresi rekombinace dochází, to je přetrvávající oříšek v evoluční biologii a budeme se mu věnovat vzápětí. Nyní ale pojďme dál: v důsledku absence rekombinace začne daná oblast na chromozómu Y akumulovat škodlivé mutace, neboť je nemůže opravit podle předlohy na chromozómu X. Tímto dochází k postupné degeneraci genetického obsahu na chromozómu Y, tj. dochází ke ztrátě funkčních genů (ale ne těch, které jsou pod silnou selekcí, jako jsou např. geny pro fertilitu a geny, které vykazují

haploinsuficienci, tj. pro správnou funkci produktu genu nestačí exprese pouze z jedné kopie chromozómu X; Bellott et al. 2017). Chromozóm Y se tak začíná postupně geneticky odlišovat neboli diferencovat od chromozómu X (Bachtrog 2013). Součástí tohoto procesu je dále také akumulace repetitivní DNA, neboť ta se „ráda“ akumuluje v nerekombinujících oblastech. Repetitivní DNA následně bývá transkripčně umlčena heterochromatinizací, což může mít zásadní vliv na expresi přilehlých genů (recentní přehledy viz např. Charlesworth 2021; Kratochvíl et al. 2021). Spirála degenerace genetického materiálu a diferenciaci mezi X a Y se roztáčí a zejména v malých populacích se rychleji vytrácí chromozóm Y s nejmenším počtem mutací a postupně převládají mezi samci čím dál degenerovanější varianty Y (procesu se říká Mullerova rohatka a spolu s ní na degeneraci pohlavních chromozómů působí ještě další evoluční síly, jejichž popis je nad rámec tohoto příspěvku; Charlesworth 1996; Bachtrog 2008). V určitý moment dosáhne degenerace na nepárovém pohlavním chromozómu bodu, kdy začne být nutné, aby organizmus vyvinul mechanismus pro vyrovnání exprese XY-vázaných genů mezi samcem a samicí a také jejich hladiny exprese vůči autozómům, aby byly dodrženy správné stechiometrické poměry interagujících proteinů v buňce. Různé organizmy tak vyvinuly mechanismy kompenzace dávky genů na pohlavních chromozómech (přehledy viz Charlesworth 1996; Graves 2016; Gu and Walters 2017).

V rámci chromozómu Y může docházet také k ektopické (tj. nealelické) rekombinaci mezi kopiemi té samé repetitivní sekvence, což může vést např. k chromozómové inverzi nebo k deleci (**Obr. 1A**, kroky 3-4). Těmito přestavbami se nadále rozšiřuje oběma směry oblast, kde nedochází na chromozómu Y k rekombinaci a také se začne měnit velikost a/nebo tvar chromozómu Y vůči X. Chromozóm Y se může buď postupně zmenšovat až na zlomek velikosti chromozómu X (**Obr. 1A**, krok 5) tak, jak to známe u savců (Graves 2006), nebo může naopak převládnout proces akumulace/amplifikace repetitivní DNA, takže ve výsledku může být chromozóm Y naopak výrazně větší než X (**Obr. 1A**, krok 5') a může se stát i největším chromozómem v karyotypu (např. u rostlin *Silene latifolia* a *Coccinia grandis*; Kejnovsky a Vyskot 2010; Sousa et al. 2016).

V případě, že se dají i na cytologické úrovni rozpoznat rozdíly mezi chromozómy X a Y, označujeme tyto pohlavní chromozómy jako tzv. heteromorfní (opakem jsou pohlavní chromozómy homomorfní) (přehledy viz např. Schartl et al. 2016; Charlesworth 2021, Kratochvíl et al. 2021). Není však vyloučeno, že na úrovni sekvence DNA mohou i homomorfní pohlavní chromozómy být již výrazně diferencované (např. Pokorná et al. 2011; Scacchetti et al. 2015). Někdy se může stát, že dokonce chromozóm Y z genomu zcela zmizí (vlivem nondisjunkce v meióze, neboť se mu již nedaří stabilně párovat s chromozómem X) a vznikne systém X0 (**Obr. 1A**, krok 6) (Blackmon a Demuth 2015). V takovém případě geny/alely genů, které jsou pod silnou selekcí a jejichž haploinsuficience není tolerována, musely předtím opustit chromozóm Y (obrazně řečeno, jako když krysy opouštějí potápějící se loď) a přesunout se (konkrétně transpozicí nebo ektopickou rekombinací) na některý autozóm nebo na chromozóm X. Jinak by totiž ztráta chromozómu Y měla zásadní vliv na životaschopnost a reprodukční zdatnost (fitness) samců. Alternativně se může zánik chromozómu Y časově prolínat se vznikem nového systému pohlavních chromozómů, který původní XY nahradí (Graves 2006; Bachtrog 2013; Terao et al.

2022). V takovém případě se proces evoluce pohlavních chromozómů restartuje (popsáno níže v jedné z dalších otázek). V případě, že se v genomu nenachází žádný nový dominantní gen MSD, nastává determinace na úrovni polygenních systémů – viz např. laboratorní kmeny rybiho modelového druhu, zebřičky *Danio rerio* (Wilson et al. 2014), případ rovněž probíraný později v tomto článku. Někdy se může systém XY „zachránit“ od zániku fúzí s autozómy a získat tak nový genetický materiál, který i) oddaluje terminální fázi degenerace a umožňuje lepší párování pohlavních chromozómů v meióze (Blackmon a Demuth 2015) a ii) přivádí pod pohlavně-specifickou dědičností nový genetický materiál, který může hrát důležitou úlohu v reprodukční izolaci (tj. populace s novým uspořádáním pohlavních chromozómů se již z nějakého důvodu nekříží s populací toho samého druhu, která má původní systém pohlavních chromozómů) (např. Kitano et al. 2009).



Obr. 1: Mechanizmy evoluce pohlavních chromozómů, jejich diferenciace a přechodu na jiné systémy.

A) Proces vzniku a evoluce pohlavních chromozómů podle majoritního modelu (tj. skrze pohlavně-antagonistickou selekci). Po vzniku determinanty pohlaví (MSD) selekce preferuje její těsnou genovou vazbu s alelou genu, která je výhodná pro fitness daného pohlaví. Na vznikajícím chromozómu Y dojde k potlačení rekombinace v dané oblasti (ta může být podpořena např. chromozómovou přestavbou, typicky se uvádí inverze). Následuje eroze genetického materiálu v nerekombinující oblasti chromozómu Y (z důvodu akumulace

neopravitelných bodových mutací) a akumulují se zde také repetitivní sekvence (jejich následným umlčováním vzniká heterochromatin). Oblast diferenciací se postupně rozšiřuje podél chromozómu. Chromozóm Y může časem změnit velikost a/nebo tvar (může být menší nebo větší než X) a eventualně může z genomu zcela vymizet. Oblast suprese rekombinace na novém chromozómu Y ale může vzniknout i bez přispění pohlavně antagonistické selekce, např. když **B)** dojde k duplikaci nějakého segmentu na autozómu, duplikát se přemístí na homolog jiné vazebné skupiny a druhý homolog tak neobsahuje odpovídající oblast pro rekombinaci. **C)** Nový gen MSD může vzniknout i v oblasti rekombinační pouště, např. v intersticiální oblasti chromozómů samců druhů, kde se vyskytuje tzv. heterochiazmie (u samic většinou probíhá rekombinace po celé délce bivalentu, zatímco u samců jen v jeho koncových částech). **D)** U některých organismů (např. lososovitě ryby nebo moucha domácí) gen MSD přeskakuje mezi vazebnými skupinami a tím se restartuje proces diferenciací. Přejít na nový systém pohlavních chromozómů je ale možný jen pokud původní pohlavní chromozómy již nejsou v pokročilé fázi diferenciací/degenerace. To platí i pro další mechanismy, tj. pokud: **E)** vznikne nový gen MSD (označen jako MSD2) v rámci jiné vazebné skupiny a je epistaticky dominantní nad původní determinantou (MSD1). Nějakou dobu oba systémy segregují v rámci populace jako polymorfizmy (typ polygenního určení pohlaví), ale vazebná skupina reprezentující původní pohlavní chromozómy se nakonec vrátí na úroveň autozómové dědičnosti; **F)** gen MSD se přemístí z degenerovaného chromozómu Y na chromozóm X a tím z této kopie X vznikne nový Y, zatímco původní Y se postupně vyřadí v následujících generacích z populace; **G)** na chromozómu X vznikne nová determinanta (MSD2), která přebíjí efekt původní determinanty (MSD1), tj. z této kopie X vznikne nový Y a původní Y se postupně vyřadí z genofondu populace. Grafické zpracování schémat připravila Dr. Marie Altmanová.

Jaké modely tedy vysvětlují potlačení rekombinace na pohlavních chromozómech?

Majoritní model se opírá o pohlavně-antagonistickou selekci (všechny verze modelu jsou shrnuty v Ponnikas et al. 2018). Pohlavně-antagonistickým znakem je např. tělesné zbarvení (pestré vs. nevýrazné). Alela genu způsobující pestré zbarvení zvyšuje fitness samců, neboť ti pak mají větší úspěch při námluvách a rozmnoží se. Na druhou stranu, pestré zbarvení rovněž přitahuje pozornost predátorů. Tato nevýhoda je u samců kompenzována, zatímco u samic nikoliv, proto je pestré zbarvení u samic znakem selekčně nevýhodným. Tento genetický konflikt může být vyřešen, pakliže se pohlavně-antagonistická alela zvyšující samce dostane do těsné genetické vazby s genem MSD na chromozómu Y. V takovém případě bude působit selekční tlak na zamezení rekombinace mezi těmito lokusy. Pohlavně-antagonistických genů je v rámci různých genomů celá řada (řádově stovky) a vyskytují se na různých chromozómech. Pokud se tedy v blízkosti některého/některých z nich vytvoří nová potenciální determinanta pohlaví, bývá preferenčně v dané populaci fixována výše uvedeným mechanismem. Za přispění stejného mechanismu (tj. akumulace alel výhodných pro samce) se bude suprese rekombinace šířit dál oběma směry podél nepárového pohlavního chromozómu (Rice 1987, Charlesworth et al. 2005).

Hledání důkazů pro podporu tohoto modelu suprese rekombinace se ovšem ukázalo jako velmi problematické. Obtížná je nejen identifikace genů s prokazatelně pohlavně-antagonistickou funkcí, ale také dokazování, že pohlavně-antagonistická alela byla přítomna na pohlavním chromozómu již před zamezením rekombinace (což

je podmínka, aby model platil) (diskutováno v Ironside 2010; Ponnikas et al. 2018; Smith et al. 2023). Navíc exprese pohlavně antagonistických genů může být regulována hormonálně, bez ohledu na jejich lokaci na autozómech nebo pohlavních chromozómech (diskutováno např. v Ironside 2010) a dokonce také u hub se vyvinula suprese rekombinace v oblasti lokusů pro určení párovacího typu, přestože párovací typy vypadají identicky (tj. neprojevuje se u nich pohlavní antagonismus) (diskutováno v Jay et al. 2022). S přibývajícím časem, kdy se jaksi stále nedostává dostatečných empirických důkazů, roste i skepse k modelu založeném na pohlavně antagonistické selekci a v poslední době se vynořily různé alternativní modely suprese rekombinace na pohlavních chromozómech.

Gen/alela MSD se například může vyvinout v oblasti, kde již předtím k rekombinaci nedocházelo, či případně k ní docházelo jen velmi sporadicky. Kromě oblasti tzv. rekombinačních pouští, např. v genomu šťovíku (Rifkin et al. 2021) se meiotická rekombinace neodehrává typicky v oblastech sousedících s centromerami (přehled viz Charlesworth 2019). Další situací s analogickým výsledkem je duplikace segmentu chromozómu spojená s přesunem duplikátu na jiný chromozóm (tzv. ektopická duplikace) (**Obr. 1B**). V takovém případě oblast vmezeřeného duplikátu nemá homologický protějšek na druhé kopii tohoto chromozómu v rámci páru, a tak zde přirozeně neprobíhá rekombinace. Genetický obsah duplikované oblasti navíc není obvykle pod silnou selekcí, takže se může „beztrestně“ vyvíjet, což může vést k neofunkcionalizaci (tj. nabytí nové funkce) některé z přítomných duplikovaných (tj. paralogních) kopií genů. Přesně takový případ byl popsán u medaky japonské *Oryzias latipes*, kde dva týmy nezávisle na sobě odhalili, že paralog genu *dmrt1* (*doublesex/mab-3 related transcription factor*), nazvaný jednou skupinou *DMY* a druhou *dmrt1bY*, determinuje samčí pohlaví u této ryby (Matsuda et al. 2002, Nanda et al. 2002). Jednalo se celkově o druhý objevený živočišný gen MSD v pořadí poté, co byl v roce 1990 popsán *SRY* (*sex-determining region on the Y*) na lidském chromozómu Y (Sinclair et al. 1990). Případ genu *dmrt1bY/DMY* je dále zajímavý tím, že inserce transponovatelných elementů do jeho promotoru (vedoucí k vytvoření nových vazebných míst pro transkripční faktory) nastavila nový expresní profil *dmrt1bY/DMY*, tj. začal se exprimovat v kritickém období vývoje gonád (Herpin et al. 2010, Scharl et al. 2018). Případ vzniku determinanty pohlaví skrze ektopickou duplikaci a neofunkcionalizaci byl dále popsán např. u koljušky *Culaea inconstans* (Jeffries et al. 2022) nebo u sleďe obecného *Clupea harengus* (Rafati et al. 2020). Podobným případem jsou dále tzv. „skákáající geny MSD“, které si popíšeme v souvislosti s jinou problematikou v následující kapitole.

Další možný mechanismus potlačení rekombinace na pohlavních chromozómech souvisí s tzv. heterochiazmií (**Obr. 1C**). To je odlišná distribuce a četnost meiotické rekombinace mezi samcem a samicí (vyčerpávající přehledová práce viz Sardell a Kirkpatrick 2020). Často bývá popisována situace, především u ryb a žab, kdy, zatímco u samic probíhá rekombinace relativně rovnoměrně po celé délce bivalentů, tak u samců se rekombinační události soustřeďují výhradně do jejich koncových oblastí. To pak ale znamená, že intersticiální oblasti chromozómů mají u samců velmi nízkou rekombinační četnost a pakliže se v nich vyvine nový gen MSD a tím i nový chromozóm Y, tak ten (jelikož je děděn pouze po otcovské linii) zůstává permanentně v prostředí, kdy jeho intersticiální oblast nerekombinuje se svým

protějškem, tj. nově vzniklým chromozómem X, což opět nahrává vzniku oblasti genetické diferenciace, a to bez nutnosti účasti pohlavně antagonistické selekce. Tento mechanismus je často popisován v kontextu teorie „fontány mládí“, která byla prvně popsána u skokanů a rosniček (Perrin 2009; přehled viz Perrin 2021). U zmíněných žabích skupin totiž pohlavní chromozómy zůstávají výrazně homomorfní i přes relativně dlouhé období jejich evoluce. Důležitou roli v tomto případě hraje tolerance žab k pohlavnímu zvratu. To znamená, že i když nějaký genetický faktor spustí determinaci samčího pohlaví, tak vnější faktory (např. hormony) dokážou zvrátit tuto dráhu a vyvine se nakonec jedinec s pohlavím opačným, přičemž gonády zůstávají funkční. V takovém případě vznikne žabí samička s pohlavními chromozómy XY. Jelikož ale vzor četnosti a distribuce rekombinace je určen fenotypovým pohlavím, tak se chromozóm Y ocitá jaksí „na návštěvě“ v prostředí samičího rekombinačního profilu, kde je podstatně vyšší rekombinační četnost, která navíc není omezená jen na koncové oblasti chromozómů, proto může chromozóm Y výjimečně vyměnit některé segmenty s chromozómem X a tím zvrátit částečně proces genetické degenerace, tj. může se čas od času „omlazovat“. I pokud se tato událost odehraje velmi zřídka (tj. jedna událost na populaci za tři až čtyři generace; Perrin 2021), tak to má značný vliv na udržení homomorfního stavu pohlavních chromozómů příslušných druhů žab. Je pozoruhodné, že nedávno byly rysy „fontány mládí“ pozorovány také u pohlavních chromozómů XY mořských koníků rodu *Hippocampus* (Long et al. 2022). Pro úplnost se sluší dodat, že existují různé další případy velmi málo degenerovaných pohlavních chromozómů, kde se v pozadí této situace tuší jiné mechanismy, než je „fontána mládí“ – např. systémy ZW u jeseterů (přibližně 180 milionů let starý; Kuhl et al. 2021) nebo ptáků z linie běžců (okolo 100-108 MY; Zhou et al. 2014; Yazdi et al. 2023). Mezi rekordně málo diferencované systémy patří také XY u některých čtverzubců rodu *Takifugu*, kde pouhý jediný „snip“ (SNP, single nucleotide polymorphism), v tomto případě nesynonymní (missense) mutace v kódující oblasti genu *amhrll* (receptor typu II pro anti-Müllerův hormon) odlišuje chromozóm Y od X, a i přes evoluční stáří přes 5 milionů let (MY) to vypadá, že mimo oblast genu MSD zatím nedošlo ke genetické diferenciaci, což by naznačovalo, že zde zatím nedošlo k zamezení rekombinace (Kamiya et al. 2012).

Suprese rekombinace podporující evoluci pohlavních chromozómů dále vzniká např. v oblasti fúze dvou chromozómů (např. Long et al. 2022; Lisachov et al. 2023). Rekombinace je potlačena také v oblasti inverze přítomné v heterozygotním stavu, což v některých případech mohlo být primární příčinou suprese rekombinace na pohlavních chromozómech, např. u papáji (Wang et al. 2012). V posledních dvou letech byly publikovány ještě další tři modely suprese rekombinace na pohlavních chromozómech. Jeden z nich uvažuje neutrální (tj. při absenci selekce) akumulaci genetické divergence v okolí MSD genu (Jeffries et al. 2021) a další dva modely (Lenormand a Roze 2022; Jay et al. 2022) uvažují efekt tzv. „šťastné inverze“, která náhodou zahrne oblast s malou „náloží“ škodlivých recesivních mutací (tj. mutací je tam méně, než je jejich průměrná četnost v genomu), a tím získává daná inverze selekční výhodu pro svého nositele. Pokud tato inverze zahrnuje i determinantu pohlaví, tak je trvale fixována v heterozygotním stavu, což zabraňuje projevu recesivních alel genů v této oblasti (tj. v populaci se nevyskytují recesivní homozygoti pro dané geny). U obou modelů je tedy důležitá dynamika a projevy škodlivých

recesivních mutací a není zde primárně důležitá účast pohlavně antagonistické selekce. Oba modely také zahrnují postupné rozšiřování oblasti suprese rekombinace pomocí série překrývajících se inverzí. V případě „shelter theory“, tj. modelu Jay a kol. (2022), autoři připravili video detailně vysvětlující jejich navržený mechanismus (<https://www.youtube.com/watch?v=svFZB-n6VWA>). Nicméně autoři druhého modelu již stihli vyjádřit své pochybnosti k použitelnosti „shelter theory“ pro evoluci pohlavních chromozómů (Lenormand a Roze 2023) a sami ve svém modelu (tzv. „regulatory theory“; Lenormand a Roze 2022) navrhují, že „šťastná inverze“ v oblasti determinanty pohlaví bývá v evoluci fixována díky rychlému následnému vývoji kompenzace dávky genů na pohlavních chromozómech (tj. v tomto případě se mění chronologie dějů v rámci evoluce pohlavních chromozómů a kompenzace dávky genů se přesouvá z pozdějších fází do fáze časné). K tomu konkrétně dojde následovně: jakmile dojde k supresi rekombinace v oblasti inverze, začnou se v nerekombinující oblasti odlišně vyvíjet regulační sekvence na X a Y. Na chromozómu Y mohou „cis“ regulační sekvence degenerovat a následnou hladinu exprese genů vyrovnává homologní regulační sekvence na chromozómu X (čili regulace „in trans“). Tyto změny vedou k pohlavně antagonistickým regulačním efektům, což má za následek, že suprese rekombinace je v dané oblasti trvale fixovaná (Lenormand a Roze 2022).

Jakým způsobem tedy probíhá restart degenerace pohlavních chromozómů a co je to „sex chromosome turnover“?

Jednu možnost jsme si již popsali pod termínem „fontána mládí“. Druhou možností úniku z procesu degenerace je vznik neo-pohlavních chromozómů přestavbami mezi původními pohlavními chromozómy a autozómy (popsáno výše v rámci první otázky). Třetí možností je vyloženě přechod na jiný systém pohlavních chromozómů (z angl. „sex chromosome turnover“), což může zahrnovat i) změnu identity genu MSD (tj. alela jiného genu se vyhoupne na vrchol kaskády a převezme řídicí roli), ii) změnu vazebné skupiny představující pohlavní chromozómy a/nebo iii) změnu heterogametického pohlaví (tj. přechod ze systému XY na ZW nebo naopak, a to v některých případech dokonce v rámci stejné vazebné skupiny) (přehledy viz např. Vicoso 2019; Meisel 2020).

Pojďme si nejdříve vysvětlit situaci, kdy segment chromozómu obsahující gen MSD přeskočí (transpozicí nebo ektopickou rekombinací) na jiný chromozóm. V takovém případě jsou pohlavní chromozómy sice u příbuzných druhů tvořené jinými vazebnými skupinami, ale nesou ve skutečnosti totožnou determinantu pohlaví (**Obr. 1D**). Tato situace byla popsána např. u lososovitých ryb (Phillips 2013) a dokonce i na úrovni různých populací lososa obecného *Salmo salar* (např. Kijas et al. 2018). Gen MSD lososovitých ryb je sám o sobě velmi specifický a je mu věnována zvláštní pozornost níže. Další klasické případy „jumping genes“ byly popsány u mouchy domácí (Sharma et al. 2017) a jahodníku (Tenessen et al. 2018). Jak jsem již zmínil výše, přemístěný segment obsahující determinantu pohlaví (zahrnující např. u lososovitých ryb 4 kb; přehled viz Bertho et al. 2021) vytvoří na novém místě automaticky „ostrůvek“, který nemá ekvivalent pro rekombinaci na homologním chromozómu, a tedy zde může započít „od píky“ nová diferenciací pohlavních chromozómů.

Další možností je, že někde jinde v genomu vznikne (třeba bodovou mutací) alela genu, jejíž produkt se může potenciálně stát novým MSD. V takovém případě záleží na tom, jestli nový gen MSD skutečně může „přebít“ efekt původního MSD (tj. je epistaticky dominantní vůči původnímu genu MSD). Také záleží na tom, jak moc jsou již diferencované původní pohlavní chromozómy (což je relevantní i pro výše popsaný případ „skákačích genů“). Původní pohlavní chromozómy nesmí být již příliš degenerované, protože když „převezme otěže“ nový pár pohlavních chromozómů, původní pohlavní chromozómy začnou opět segregovat jako autozomy a v tom případě je důležité, aby genotypy YY byly životaschopné nebo obecně aby neměly příliš sníženou fitness (přehled viz Vicoso 2019). V případě pokročilé degenerace tedy přechod na nový systém pohlavních chromozómů obvykle (až na výjimky tzv. dediferenciace shrnuté v Kratochvíl et al. 2021) možný není a tato situace se popisuje jako tzv. „evoluční past“ (Pokorná a Kratochvíl 2009). Pokud stupeň degenerace původních pohlavních chromozómů nelimituje přechod na jiný systém, ale zároveň se na původním chromozómu Y již vyskytuje významné množství škodlivých mutací v oblasti suprese rekombinace, může být nově vznikající systém pohlavních chromozómů (s dosud minimální „náloží“ škodlivých mutací) selekčně zvýhodněn, a tedy může postupně zcela nahradit původní systém pohlavních chromozómů v dané populaci daného druhu (**Obr. 1E**). Tento mechanismus popisuje model akumulace škodlivých mutací (z angl. „deleterious mutation load“) (Blaser et al. 2013). Mechanismů fixace nových pohlavních chromozómů je známo více, např. pomocí genetického driftu v malých populacích (Saunders et al. 2018). Zajímavým příkladem je moucha domácí, kde je ústředním regulátorem samčího pohlaví gen *Mdmd* (*Musca domestica male determiner*), který reguluje sestřih autozomového genu *tra* (*transformer*) a tím i celou kaskádu alternativního sestřihu vedoucí k determinaci pohlaví. *Mdmd* určuje samčí pohlaví (tj. leží na chromozómu Y), ale v některých populacích se v rámci jiného páru chromozómů vyvinul gen *Md-tra^D*, který určuje naopak samičí pohlaví a tento mechanismus je rezistentní vůči „akci“ genu *Mdmd*. Jedná se tedy o nový systém ZW, který je epistaticky dominantní nad původním XY (Hamm et al. 2015).

Pozoruhodné je, že byly popsány i případy, kdy se buď původní gen MSD přesunul z chromozómu Y na X (**Obr. 1F**), nebo MSD vznikl na chromozómu X (**Obr. 1G**). V obou případech následně obě varianty Y segregují v populaci jako polymorfizmy (oba Y párují s původní kopií chromozómu X), dokud se jedna varianta nefixuje, resp. druhá nevytratí z genofondu. Určitou výhodou tohoto mechanismu je, že žádné původní pohlavní chromozómy nepřecházejí zpět na autozomovou dědičnost (tzn. evoluční past zde není limitující faktor) (přehledy viz Vicoso 2019; Meisel 2020). Situaci, kdy dojde k přechodu na nový systém pohlavních chromozómů, ale vazebná skupina zůstane stejná, se říká homologní tranzice (analogicky: heterologní tranzice znamená změnu vazebné skupiny). Zajímavé případy homologní tranzice byly popsány např. u čtverzubce *Takifugu niphobles*, kde původní systém XY nese jinou oblast pro determinaci pohlaví (Ieda et al. 2018), než je původní známý lokus u příbuzných druhů, konkrétně výše zmíněný *amhrll* s jediným snipem (Kamiya et al. 2012). Také u mouchy domácí mohl vzniknout nový Y z chromozómu X (Meisel et al. 2017). Ještě pozoruhodnější je, když v rámci jednoho pohlavního chromozómu vznikne nový gen MSD, který ale znamená změnu heterogametického pohlaví.

Příkladem budiž ryba plata skvrnitá *Xiphophorus maculatus* (přehled viz Volff a Scharl 2001) a žáby drápatka *Xenopus tropicalis* (Roco et al. 2015; Furman et al. 2020) a skokan *Glandirana rugosa* (Miura et al. 2022; Mawaribuchi et al. 2023). Ve všech případech se tak mohou vyskytovat různé kombinace pohlavních chromozómů s různou hierarchií dominance a recesivity a důsledkem může být různým způsobem vychýlený poměr pohlaví v daných populacích. *Xenopus tropicalis* má i) degenerované W, ii) Y, který vznikl z původního Z a iii) chromozóm Z (Y je dominantní nad W, tj. YW jsou samice). *Xiphophorus maculatus* má i) Y, který vznikl z původního W, ii) W a iii) X (W je dominantní nad Y). *Glandirana rugosa* má populace s XY a ZW na dvou japonských ostrovech a s hybridní zónou existující na třetím ostrově (W je zde opět dominantní nad Y). Východojaponská populace byla recentně popsána jako nový druh *G. reliquia* (podrobně diskutováno v Mawaribuchi et al. 2023).

Z hlediska četnosti přechodů mezi systémy pohlavních chromozómů jsou na úrovni rodu zajímavým příkladem medaky (rod *Oryzias*), kde se různé druhy od sebe liší nejen vazebnou skupinou, která reprezentuje pohlavní chromozómy, ale i geny MSD (*dmt1*, *sox3* a *gsdf*; viz další kapitola) a zatímco většina druhů má systém XY, některé druhy mají naopak ZW (Takehana et al. 2007; Myosho et al. 2015). Na vyšších taxonomických úrovních lze u živočichů najít následující rekordmany s nejvyšší četností přechodů mezi pohlavními chromozómy: cichlidy afrických jezer (nejvíce v jezeře Tanganika; El Taher et al. 2021), skokani (Jeffries et al. 2018) a gekoni (Gamble et al. 2015). U bezobratlých je vysoká frekvence přechodů známa u dvoukřídlého hmyzu (Vicoso a Bachtrog 2015).

Co jsou vlastně zač ty geny MSD, jak vznikají a co dělají?

Determinanta pohlaví musí splňovat tři jasná kritéria: 1) musí segregovat s pohlavím, které determinuje (ale to je trochu problematický bod – viz situace např. u octomilky a u ptáků – popsáno níže), 2) musí být exprimována v rámci kritického časového úseku vývoje gonád a 3) při vyřazení této alely genu z provozu (např. metodou CRISPR/Cas9) musí dojít k pohlavnímu zvratu (dle definice v práci Yano et al. 2012). Ten poslední bod je opět problematický, protože k pohlavnímu zvratu může dojít i pokud se vyřadí z funkce jiné geny ze signální kaskády (např. Lavery et al. 2011). Možná jednoznačnější výsledky by v tomto případě mohla přinést strategie „knock-in“ místo „knock-out“ (např. Imaimatsu et al. 2018).

Geny MSD vznikají i) alelickou diverzifikací (např. *SRY* z genu *sox3*), ii) duplikací a následnou neofunkcionalizací paralogu (např. *dmt1*, resp. *dmt1bYIDMY* u medak), nebo ztrátou jedné kopie genu (systém založený na dávce genu – např. ptáci, drápatka *Xenopus laevis* nebo platýs jazykovec *Cynoglossus semilaevis* – viz kapitoly níže). Evolučně důležité změny vedoucí ke vzniku genu MSD se mohou odehrát jak v rámci kódující sekvence, tak i v jejich regulačních sekvencích (přehled viz Herpin a Scharl 2015; recentně popsáný případ změny regulační sekvence viz Terao et al. 2022).

Geny MSD jsou velmi často z pohledu živočichů (u rostlin si netroufám jít do hloubky; přehled např. Renner a Müller 2021) buď transkripční faktory (např. zmíněné *SRY*, *dmt1*, dále *sox3*) nebo hormony/ligandy a jejich receptory (často signální dráha TGF- β ; transforming growth factor beta), případně enzymy steroidogenní dráhy (např.

hsd17b1 = *estradiol 17-beta-dehydrogenase 1 gene*) (Herpin a Schartl 2015; Pan et al. 2021).

Nejvíce různých genů, ze kterých vznikly determinanty pohlaví, bylo zatím popsáno u ryb, zatímco u řady jiných studenokrevných obratlovců se toho naopak ví málo (Stöck et al. 2021; Pinto et al. 2023). V rámci obojživelníků byl dlouho znám pouze jediný gen MSD, konkrétně *DM-W* u drápatek (viz dále), až recentní robustní genomická data u ropuchy *Bufo(tes) viridis* naznačují, že dalším genem MSD u této skupiny obratlovců může být *bod11* (*biorientation of chromosomes in cell division 1-like*) (Kuhl et al. 2023). Když se zaměříme na obratlovce celkově, je u nich známo kolem 20 genů, ze kterých opakovaně, nezávisle na sobě v různých evolučních liniích a různými molekulárními mechanismy vznikly determinanty pohlaví a tři čtvrtiny těchto genů byly popsány výhradně u ryb (přehledy viz Pan et al. 2021; Stöck et al. 2021; Curzon et al. 2023; recentní případy nových genů např. Adolphi et al. 2021; Wen et al. 2023). K tomu navíc *dmrt1*, *amh* a *sox3* představují potvrzené nebo predikované MSD jak u ryb, tak i u jiných obratlovců (Pan et al. 2021; Stöck et al. 2021; Curzon et al. 2023). U ryb představuje většina objevených genů MSD komponenty signální dráhy TGF- β (*amh* = anti-Müllerův hormon; *amhr2* = receptor pro *amh*; *gdf6* – gonadal growth factor 6; *gsdf* = gonadal soma derived factor; *bmpr1b* = bone morphogenetic protein receptor) (Pan et al. 2021). Je pozoruhodné, že tu najdeme i geny *amh* a *amhrll*, jejichž produkty jsou u obratlovců zodpovědné za redukci Müllerova vývodu, který ale kostnaté ryby v průběhu evoluce ztratily (tj. tyto geny mají u ryb jinou úlohu; přehled viz Adolphi et al. 2019) a naopak pouze u ryb se vyskytuje gen *gsdf* (Pan et al. 2021).

Jelikož drtivá většina známých genů MSD vznikla z genů, které jsou součástí konzervativní kaskády pro determinaci pohlaví, byla formulována tzv. "limited option hypothesis", na základě které existuje omezená skupina genů (tzv. "usual suspects"), které jsou z nějakého důvodu předurčeny, aby z nich opakovaně vznikaly determinanty pohlaví. Jejich poloha na konkrétních syntenních blocích může pak aspoň částečně vysvětlovat tzv. ko-opci konkrétních chromozómů/syntenních bloků konvergentně v evoluci pro roli pohlavních chromozómů (Graves a Peichel 2010; Herpin a Schartl 2015). Nejvíce „vytěžovanými“ se zatím zdají být geny *amh* a *amhrll*; prvně jmenovaný např. vznikl opakovaně u koljušek (Jeffries et al. 2022). Verze genu *amh* s velkou pravděpodobností determinuje také pohlaví ptakořitných savců (ptakopysk a ježura) (Cortez et al. 2014), jejichž unikátní mnohočetné pohlavní chromozómy nesdílejí homologii se systémem XY živorodých savců (Veyrunes et al. 2008). Mimochodem se ještě sluší zmínit, že ne všichni živorodí savci mají determinaci pohlaví založenou na působení genu *SRY*; u některých druhů hlodavců (např. zástupci rodů *Akodon*, *Ellobius* a *Tokudaia*) *SRY* buď druhotně vymizel (ztráta včetně chromozómu Y) nebo se na variantě chromozómu X (značená X*) vytvořila determinanta pro samičí pohlaví s dominantně epistatickým efektem vůči *SRY* (Saunders et al. 2022; Terao et al. 2022).

Zajímavým příkladem různých cest ke vzniku MSD je *gdf6Y*, který vznikl alelickou diverzifikací v rámci původního lokusu u předka dvou druhů halančičků *Nothobranchius furzeri* a *N. kadleci* (Štundlová et al. 2022 a práce zde uvedené). Oproti tomu, *gdf6b* u slepé mexické tetry *Astyanax mexicanus* podstoupil duplikaci a paralog se přemístil na B chromozóm, kde mutoval a nabyl vlastností, které z něj učinily MSD (Imarazene et al. 2021).

Co se ví o genech MSD, které vznikly z jiných genů než těch, které vždy jsou zapojené do signální kaskády determinace pohlaví?

Zajímavý případ je gen *sdY* (*sexually dimorphic on the Y*) u lososovitých ryb. Tento gen vznikl duplikací (genovou; nikoliv v rámci polyploidizace lososovitých) a následnou částečnou delecí genu *irf9* (*IFN regulatory factor 9*), který je zahrnut v regulaci imunitní (interferonové) odpovědi obratlovců (Yano et al. 2012; přehled viz Bertho et al. 2021). Protein *sdY* ve srovnání s *Irf9* ztratil N-koncovou DNA-vazebnou doménu a jaderný lokalizační signál a jeho zbývající doména pro interakci s jinými proteiny doznala sekvenčních změn, které způsobily, že *sdY* získal schopnost vázat se na protein, jenž je součástí standardní kaskády pro determinaci pohlaví samic. Konkrétně se *sdY* váže na DNA-vazebnou „forkhead box“ doménu transkripčního faktoru *Foxl2*, který obvykle aktivuje aromatázu, tedy enzym klíčový pro syntézu estrogenů. Stručně řečeno, *sdY* svojí vazbou funguje jako represor *Foxl2* a blokováním dráhy determinace samičího pohlaví se z něj stal faktor určující samčí pohlaví (Bertho et al. 2018, 2021). Dalším zajímavým případem, tentokrát v rámci bezobratlých, je *Mdmd* u mouchy domácí, který vznikl duplikací a neofunkcionalizací genu pro obecný sestřihový faktor CWC22, což naznačuje, že *tra/dsx* dráha může mít na svědomí hmyzí predispozici k vývoji mechanismů determinace pohlaví založených na alternativním sestřihu (Sharma et al. 2017). Pozoruhodnou shodou okolností oba zmíněné geny MSD, *sdY* i *Mdmd*, sdílejí jednu charakteristiku: jedná se o „jumping genes“ (Sharma et al. 2017; Bertho et al. 2021). Posledním příkladem je *bod11*, pravděpodobný MSD u *Bufo(tes) viridis*, který vznikl alelickou diverzifikací na regulační úrovni a jehož mechanismus fungování v rámci kaskády determinace pohlaví je zatím nejasný (Kuhl et al. 2023).

Takže geny MSD mohou být nejen aktivátory ale i represory?

Přesně tak. Vedle *sdY* je dalším zajímavým případem represoru gen *DM-W*, který vznikl částečnou duplikací genu *dmrt1*, s následným přesunem na chromozóm W u evolučního předka drápatek rodu *Xenopus*. *DM-W* je jeden ze tří genů W-specifické oblasti (všechny se sem dostaly v rámci nezávislých inzercí) a funkci determinanty pohlaví má u *X. laevis* a patrně i u *X. gilli*, zatímco u dalších druhů se *DM-W* buď z genomu druhotně vytratil, nebo nemá funkci MSD (Yoshimoto et al. 2010; Cauret et al. 2023). Produkt genu *DM-W* sdílí DNA-vazebnou doménu s transkripčním faktorem *Dmrt1*, ale chybí mu transaktivační (dimerizační) doména, tudíž se kompetitivně váže na promotory cílových genů a brání spuštění samčí vývojové dráhy proteinem *Dmrt1*. Jedná se o klasický případ kompetitivní inhibice (Yoshimoto et al. 2010). Další dva případy MSD jako represorů jsou předmětem následující otázky.

Je produktem genů MSD vždy protein?

Většinou sice ano, ale už byly popsány případy, kdy je produktem regulační RNA. U bource morušového *Bombyx mori* samičí specifická *Fem* (*Feminizer*) PIWI-interacting RNA (piRNA) lokalizovaná na W chromozómu blokuje expresi genu *Masc* (*Masculinizer*) na chromozómu Z (Kiuchi et al. 2014). U rostliny tomel obecný *Diospyros lotus* je pro změnu systém XY a na chromozómu Y leží gen *OGL*, který kóduje malou regulační RNA mající za cíl umlčet autozómový gen *MeGI*, transkripční faktor regulující plodnost prašníků (Akagi et al. 2014).

Je v rámci oblasti diferenciace vždy jen jeden gen MSD?

Úplně vždy ne. Konkrétně u některých rostlin v rámci jedné oblasti na nepárovém pohlavním chromozómu existují dva geny MSD, které spolu určují pohlaví – např. u kiwi a asparágu (přehled viz Renner a Müller 2021).

Co je vlastně známo o determinaci pohlaví u ptáků?

U ptáků je systém ZZ/ZW, samice jsou heterogametické, nicméně na chromozómu W nesedí žádný gen MSD. Bylo navrženo a zatím alespoň u kura domácího do značné míry experimentálně potvrzeno (Smith et al. 2009, Ioannidis et al. 2021), že mechanismus pohlavní determinace ptáků je založen na dávce genu *dmrt1*, který leží na chromozómu Z a není přítomen na W. Vzhledem k vysoké konzervativnosti ptačích pohlavních chromozómů, které vznikly před více než 100 MY (Zhou et al. 2014) a jsou přítomny u všech dosud studovaných ptáků (Mazzoleni et al. 2021), i když u některých linií ve formě neo-pohlavních systémů (po přestavbách s autozomy; např. Huang et al. 2022), dá se *a priori* předpokládat, že tento mechanismus je mezi ptáky sdílený. Ptáci vyvinuli pouze částečnou kompenzaci dávky genů na pohlavních chromozómech, která nezahrnuje většinu délky ZW (přehledy viz Graves 2014, 2016) a logicky se tedy netýká oblasti, kde na chromozómu Z leží *dmrt1* (to by ten mechanismus determinace pohlaví z podstaty věci nemohl fungovat). Na molekulární úrovni je nutné, aby transkripty mRNA genu *dmrt1* dosáhly v klíčovém období vývoje gonád jakési potřebné hladiny, aby dráha determinace pohlaví z primárně samičí „přehodila výhybku“ na dráhu samčí. Této hladiny exprese lze dosáhnout jen pokud jsou přítomny obě kopie genu *dmrt1*, tedy za přítomnosti obou homologů chromozómu Z. Je pozoruhodné, že stejný mechanismus se stejným genem MSD se vyvinul i u ryby platýse jazykovce *Cynoglossus semilaevis* (Chen et al. 2014) a recentně byl popsán unikátní mechanismus u další ryby, bojovnice *Betta splendens* s pohlavními chromozómy XY, kde kopie DNA transpozónu *drbx1* vložená do intronu X-vázané alely *dmrt1* spouští epigenetické umlčení *dmrt1* na X (tím pádem samic se gen *dmrt1* neexprimuje vůbec) (Wang et al. 2022).

V čem se od většiny ostatních systémů pohlavních chromozómů XY liší systém determinace pohlaví u octomilky?

Analogicky k situaci u ptáků, systém XY u octomilky rovněž nenese na nepárovém chromozómu Y žádný gen MSD. Celý systém totiž závisí na poměru počtu kopií chromozómu X k počtu sad autozómů. Klíčovým genem je *Sxl* (*sex lethal*), který leží právě na chromozómu X. V případě, že poměr X:A je 0,5, nebude se produkovat funkční protein *Sxl* a tím pádem ani funkční protein *Tra*, jehož alternativní sestřih je proteinem *Sxl* regulován (v takovém případě v mRNA obou genů zůstane zachován exon s předčasným terminačním kodonem). V konečném důsledku se spustí výchozí samčí dráha vývoje gonád. Nicméně je potřeba dodat, že i přes absenci MSD leží na chromozómu Y důležité geny nezbytné pro pohlavně specifické funkce samců octomilek (přehledy viz Salz a Erickson 2010; Grmai et al. 2022).

Jaké jsou další možnosti mechanismů genotypového určení pohlaví?

U různých hub a kvasinek pohlaví determinují párovací typy, u některých skupin hmyzu (typicky blanokřídlí) a některých dalších bezobratlých se zase typicky vyskytuje haplodiploidie (tj. samci se vyvíjejí z neoplozených haploidních vajíček, zatímco samice vznikají z vajíček oplozených, diploidních) (Bachtrog et al. 2014, Blackmon et al. 2017). Pozoruhodná kapitola je dále tzv. polygenní určení pohlaví. To ve svojí primární definici předpokládá kumulativní účinek více genů malého účinku (tj. na bázi kvantitativní dědičnosti), kde, stručně řečeno, záleží na tom, jestli převáží efekt alel determinujících samčí nebo samičí pohlaví (přehled viz Scharl et al. 2023). Tyto geny primárně leží na autozómech. Tento případ se týká např. různých druhů cichlid (Moore et al. 2022) a dále laboratorních kmenů dánie pruhovaného *Danio rerio*, které zřejmě výsledkem opakovaného křížení (i s jinými druhy dánie) ztratily původní systém ZW, který se jinak vyskytuje v přírodních populacích *D. rerio*. Minimálně tři vazebné skupiny u laboratorních kmenů této modelové ryby spolu „soupeří o nadvládu“ z hlediska úlohy v determinaci pohlaví (např. Wilson et al. 2014). Další situací nazývanou polygenní určení pohlaví, je, když se v genomu současně nacházejí dva různé systémy pohlavních chromozómů. Jeden z nich sice může mít epistaticky dominantní efekt nad tím druhým systémem, ale zatím oba systémy segregují v populaci jako polymorfizmy (tj. případ popsáný v kapitolách výše). Tato situace se zdá být (spolu s aberantními systémy mezidruhových hybridů) nejčastější a umožňuje jako přechodné stádium unikátní vhléd do procesu tranzice mezi systémy pohlavních chromozómů (Scharl et al. 2023). Poslední možností je situace, kdy se na determinaci pohlaví podílí společně pohlavní chromozómy a autozómový modifikátor, jak bylo navrženo pro živorodku duhovou *Poecilia reticulata* (Volf a Scharl 2001; Schultheis et al. 2009). Polygenní systémy obvykle vedou k odchylkám od standardního poměru pohlaví 1:1 (Scharl et al. 2023).

Trochu mimo škatulky je ještě tzv. cytoplazmatická pohlavní determinace, způsobená přítomností vnitrobuněčného bakteriálního parazita. Učebnicovým příkladem je bakterie *Wolbachia*, která u svinky obecné *Armadillidium vulgare* (Crustacea, Isopoda) dokáže vychýlit poměr pohlaví ve prospěch samic a nedávný výzkum dokonce ukázal, že se z této situace dokonce vyvinul nový systém pohlavních chromozómů ZW (začleněním genomu parazita do genomu svinky) (Leclercq et al. 2016).

Ví se již něco o molekulární podstatě mechanismů ESD?

Zdaleka nejrozšířenějším environmentálním faktorem spouštějícím determinaci pohlaví je okolní teplota v kritickém vývoji embryí. Zatím je na molekulární úrovni popsán pouze případ želvy nádherné (*Trachemys scripta elegans*). Důležitou roli zde hraje epigenetika, kdy histon demetyláza KDM6B (odstraňuje modifikaci H3K27) svojí aktivitou v oblasti promotoru genu *dmrt1* umožňuje aktivaci transkripce tohoto genu. Vysoká exprese genu pro KDM6B probíhá kolem teploty 26 °C (*dmrt1* se exprimuje, vznikají samci), zatímco vyšší teploty aktivitu KDM6B inhibují (zvyšuje se podíl samic) (Ge et al. 2018). Klíčovou roli v tom hraje transkripční faktor STAT3, jenž je regulován fosforylací. Fosforylovaný (aktivní) STAT3 se nachází jen u samic a oním prostředníkem, který reaguje na okolní teplotu a převádí tento vjem na fosforylační stav STAT3, je zřejmě hladina vápenatých kationtů a volných radikálů (Weber et al. 2020).

K čemu je dobré rozumět mechanismům determinace pohlaví a evoluce pohlavních chromozómů? Má to nějaký aplikační potenciál?

Znát základní typ mechanismu determinace pohlaví (ESD nebo GSD) je důležité např. u studenokrevných obratlovců, kde v důsledku probíhajících změn klimatu může u druhů s ESD docházet k výrazným výkyvům v poměrech pohlaví, a to může mít následně zásadní dopad na přežívání jejich populací (Jensen et al. 2018, Valenzuela et al. 2019, Honeycutt et al. 2019, Lockley a Eizaguirre 2021). Je proto dobré mít v rámci snahy o zachování druhů přehled o druzích, kterých se tato kritická situace může týkat.

Dále má znalost determinace pohlaví široké uplatnění např. v rámci zefektivnění akvakultur. Vhodným příkladem jsou jeseteři, kteří se vlivem dlouhého životního cyklu (dospívají většinou kolem 7. až 10. roku života) a především pak dlouhotrvajícím období kořistnického typu rybolovu v minulosti (za účelem zisku kaviáru a masa) dostali na seznam ohrožených druhů podle CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) – konkrétně z 27 známých druhů jeseterů a veslonosů je 17 kriticky ohrožených a jeden vyhynul. Akvakultury jeseterů původně měly hlavně význam pro posilování přírodních populací, ale v posledních letech se využívají více pro produkci kaviáru (Bronzi et al. 2011). Z tohoto úhlu pohledu nicméně není příliš ekonomické udržovat při životě v nádržích všechny ryby a vyčkávat 7-10 let, ze kterých z nich se vyvinou samice produkující kaviár. Poměrně dlouhou dobu se snažily různé výzkumné týmy přijít na mechanismus determinace pohlaví u jeseterů, až před dvěma lety Kuhl et al. (2021) publikovali práci, ve které popsali, že minimálně některé druhy jeseterů mají systém pohlavních chromozómů typu ZW, které jsou výrazně homomorfní a na základě identifikace 16 kb dlouhého segmentu specifického pro chromozóm W byl navržen marker vhodný pro genotypování metodou PCR, čímž je možno zjistit pohlaví ryb okamžitě.

Jako poslední příklad bych uvedl využití znalosti systému pohlavních chromozómů u kuřat (viz <https://www.bbc.com/news/science-environment-63937438>). Izraelskému týmu vědců se podařilo vytvořit geneticky modifikované slepice, které kladou vajíčka, ze kterých se líhnou výhradně jejich dcery. Důvodem je, že samice nesou modifikovaný chromozóm Z, který po páření předávají do samčích zygot. Samčí embrya obsahují tedy jednu kopii modifikovaného chromozómu Z, zatímco samičí embrya neobsahují žádnou. Genetická "autodestrukce" samčích zárodků zakódovaná v modifikovaném chromozómu Z se aktivuje poté, co se na oplodněná vajíčka posvítí zářením v modré oblasti viditelného světla. Tato inovace má zabránit každoroční porážce miliard kuřat samčího pohlaví, jež jsou utracena z důvodu, že nesnášejí vejce.

Existuje nějaká databáze systémů determinace pohlaví?

Pro rostliny byla recentně aktualizovaná databáze pohlavních chromozómů (Garcia et al. 2023). Širší záběr (všechny eukaryotické linie a mechanismy determinace pohlaví) má databáze The Tree of Sex (<http://treeofsex.org/>; The Tree of Sex Consortium 2014), která je již ale dlouhodobě neaktualizovaná. Nicméně v tomto roce se uskutečnilo setkání vědců z celého světa za účelem ustanovení nového konsorcia (<https://treeofsex.sanger.ac.uk/>), které databázi doplní a revitalizuje. Autor tohoto článku se setkání taktéž zúčastnil a při té příležitosti navštívil v nedaleké

Cambridge hospodu The Eagle, kam pravidelně chodili J. Watson s F. Crickem a před 70 lety (přesněji 28.2.1953) zde oznámili, že odhalili strukturu DNA (údajně pronesli: “We have discovered the secret of life“).

Existují nějaké internetové zdroje nebo popularizační články v češtině pojednávající o problematice pohlavních chromozómů?

V srpnu, září a říjnu tohoto roku vyšly v časopisu Vesmír tři na sebe navazující články o determinaci pohlaví, z nichž dva (Kratochvíl et al. 2023a, b) jsou věnovány evoluci pohlavních chromozómů a ESD. Dále bych doporučil video na youtube od doc. Eduarda Kejnovského (<https://www.youtube.com/watch?v=n2Vxp5lQ7Ms&t=499s>), stejně jako další videa tohoto autora z oblasti genetiky.

Literatura

(hvězdička označuje práce, na kterých se podílel autor příspěvku)

- Adolfi MC, Nakajima RT, Nóbrega RH, Schartl M (2019) Intersex, hermaphroditism, and gonadal plasticity in vertebrates: evolution of the Müllerian duct and Amh/Amhr2 signaling. *Annu Rev Anim Biosci.* 7:149–172.
- Adolfi MC, et al. (2021) A duplicated copy of *id2b* is an unusual sex-determining candidate gene on the Y chromosome of arapaima (*Arapaima gigas*). *Sci Rep.* 11:21544.
- Akagi T, Henry IM, Tao R, Comai L (2014) A Y-chromosome-encoded small RNA acts as a sex determinant in persimmons. *Science* 346(6209):646–650.
- Bachtrog D (2008) The temporal dynamics of processes underlying Y chromosome degeneration. *Genetics* 179(3):1513–1525.
- Bachtrog D (2013) Y chromosome evolution: emerging insights into processes of Y chromosome degeneration. *Nat Rev Genet.* 14(2):113–124.
- Bachtrog D, et al. (2011) Are all sex chromosomes created equal? *Trends Genet.* 27(9):350–357.
- Bachtrog D, et al. (2014) Sex determination: why so many ways of doing it? *PLoS Biol.* 12(7):e1001899.
- Bellott DW, et al. (2017) Avian W and mammalian Y chromosomes convergently retained dosage-sensitive regulators. *Nat Genet.* 49(3):387–394.
- Benetta ED, et al. (2020) Genome elimination mediated by gene expression from a selfish chromosome. *Sci Adv.* 6(14):eaaz9808.
- Bertho S, et al. (2018) The unusual rainbow trout sex determination gene hijacked the canonical vertebrate gonadal differentiation pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115(50):12781–12786.
- Bertho S, Herpin A, Schartl M, Guiguen Y (2021) Lessons from an unusual vertebrate sex-determining gene. *Phil Trans R Soc B* 376(1832):20200092.
- Blackmon H, Ross L, Bachtrog D (2017) Sex determination, sex chromosomes, and karyotype evolution in insects. *J Hered.* 108(1):78–93.
- Blaser O, Grossen C, Neuenschwander S, Perrin N (2013) Sex-chromosome turnovers induced by deleterious mutation load. *Evolution* 67(3):635–645.
- Bronzi P, Rosenthal H, Gessner J (2011) Global sturgeon aquaculture production: an overview. *J Appl Ichthyol.* 27(2):169–75.
- Cauret CMS, et al. (2023) Functional dissection and assembly of a small, newly evolved, W chromosome-specific genomic region of the African clawed frog *Xenopus laevis*. *PLoS Genet.* 19(10):e1010990. Charlesworth B (1996) The evolution of chromosomal sex determination and dosage compensation. *Curr Biol.* 6(2):149–162.

- Charlesworth D, Charlesworth B, Marais G (2005) Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes. *Heredity* 95(2):118–128.
- Charlesworth D (2019) Young sex chromosomes in plants and animals. *New Phytol.* 224(3):1095–1107.
- Charlesworth D (2021) When and how do sex-linked regions become sex chromosomes? *Evolution* 75(3):569–581.
- Charlesworth D (2022) The mysterious sex chromosomes of haploid plants. *Heredity* 129(1):17–21.
- Chen S, et al. (2014) Whole-genome sequence of a flatfish provides insights into ZW sex chromosome evolution and adaptation to a benthic lifestyle. *Nat Genet.* 46(3):253–260.
- Cortez D, et al. (2014) Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. *Nature* 508(7497):488–93.
- Curzon AY, Shirak A, Ron M, Seroussi E (2023) Master-key regulators of sex determination in fish and other vertebrates – a review. *Int J Mol Sci.* 24(3):2468.
- El Taher A, et al. (2021) Dynamics of sex chromosome evolution in a rapid radiation of cichlid fishes. *Sci Adv.* 7(36):eabe8215.
- Fisher RA (1930) *The genetical theory of natural selection.* Oxford, UK: Clarendon Press.
- Furman BLS, et al. (2020) A frog with three sex chromosomes that co-mingle together in nature: *Xenopus tropicalis* has a degenerate W and a Y that evolved from a Z chromosome. *PLoS Genet.* 16(11):e1009121.
- Gamble T, et al. (2015) Restriction site-associated DNA sequencing (RAD-seq) reveals an extraordinary number of transitions among gecko sex-determining systems. *Mol Biol Evol.* 32(5):1296–1309.
- Garcia S, Janousek B, Pascual-Díaz JP, Renner SS (2023) Sex-chrom v. 2.0: a database of green plant species with sex chromosomes. *Chromosoma* 132(1):55–58.
- Gazoni T, et al. (2018) More sex chromosomes than autosomes in the Amazonian frog *Leptodactylus pentadactylus*. *Chromosoma* 127:269–278.
- Ge C, et al. (2018) The histone demethylase KDM6B regulates temperature-dependent sex determination in a turtle species. *Science* 360(6389):645–648.
- Graves JAM (2006) Sex chromosome specialization and degeneration in mammals. *Cell* 124(5):901–914.
- Graves JAM, Peichel CL (2010) Are homologies in vertebrate sex determination due to shared ancestry or to limited options? *Genome Biol.* 11:205.
- Graves JAM (2014) Avian sex, sex chromosomes, and dosage compensation in the age of genomics. *Chromosome Res.* 22:45–57.
- Graves JAM (2016) Evolution of vertebrate sex chromosomes and dosage compensation. *Nat Rev Genet* 17(1):33–46.
- Grcmai L, Pozmanter C, Van Doren M (2022) The regulation of germline sex determination in *Drosophila* by *Sex lethal*. *Sex Dev.* 16(5–6):323–328.
- Gu L, Walters JR (2017) Evolution of sex chromosome dosage compensation in animals: a beautiful theory, undermined by facts and bedeviled by details. *Genome Biol Evol.* 9(9):2461–2476.
- Hamm RL, Meisel RP, Scott JG (2015) The evolving puzzle of autosomal versus Y-linked male determination in *Musca domestica*. *G3 (Bethesda)* 5(3):371–384.
- Herpin A, et al. (2010) Transcriptional rewiring of the sex determining *dmrt1* gene duplicate by transposable elements. *PLoS Genet.* 6(2):e1000844.
- Herpin A, Scharf M (2015) Plasticity of gene-regulatory networks controlling sex determination: of masters, slaves, usual suspects, newcomers, and usurpators. *EMBO Rep.* 16(10):1260–1274.

- Honeycutt JL, et al. (2019) Warmer waters masculinize wild populations of a fish with temperature-dependent sex determination. *Sci Rep.* 9:6527.
- Huang Z, et al. (2022) Recurrent chromosome reshuffling and the evolution of neo-sex chromosomes in parrots. *Nat Commun.* 13(1):944.
- Ieda R, et al. (2018) Identification of the sex-determining locus in grass puffer (*Takifugu niphobles*) provides evidence for sex-chromosome turnover in a subset of *Takifugu* species. *PLoS One*, 13(1):e0190635.
- Imaimatsu K, et al. (2018) CRISPR/Cas9-mediated knock-in of the murine Y chromosomal *Sry* gene. *J Reprod Dev.* 64(3):283–287.
- *Imarazene B, et al. (2021) A supernumerary “B-sex” chromosome drives male sex determination in the Pachón cavefish, *Astyanax mexicanus*. *Curr Biol.* 31(21):4800–4809.
- Ioannidis J, et al. (2021) Primary sex determination in birds depends on DMRT1 dosage, but gonadal sex does not determine adult secondary sex characteristics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118(10):e2020909118.
- Ironside JE (2010) No amicable divorce? Challenging the notion that sexual antagonism drives sex chromosome evolution. *BioEssays* 32(8):718–726.
- Janousek B, et al. (2022) The evolution of huge Y chromosomes in *Coccinia grandis* and its sister, *Coccinia schimperi*. *Phil Trans R Soc B: 377(1850):20210294.*
- Jay P, Tezenas E, Véber A, Giraud T (2022) Sheltering of deleterious mutations explains the stepwise extension of recombination suppression on sex chromosomes and other supergenes. *PLoS Biol.* 20(7):e3001698.
- Jeffries DL, et al. (2018) A rapid rate of sex-chromosome turnover and non-random transitions in true frogs. *Nat Commun.* 9(1):4088.
- Jeffries DL, et al. (2021) A neutral model for the loss of recombination on sex chromosomes. *Phil Trans R Soc B* 376(1832):20200096.
- Jeffries DL, Mee JA, Peichel CL (2022) Identification of a candidate sex determination gene in *Culaea inconstans* suggests convergent recruitment of an *Amh* duplicate in two lineages of stickleback. *J Evol Biol.* 35(12):1683–1695.
- Jensen MP, et al. (2018). Environmental warming and feminization of one of the largest sea turtle populations in the world. *Curr Biol.* 28(1):154–159.
- Kamiya T, et al. (2012) A trans-species missense SNP in *Amhr2* is associated with sex determination in the tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* (fugu). *PLoS Genet.* 8(7):e1002798.
- Kejnovsky E, Vyskot B (2010) *Silene latifolia*: the classical model to study heteromorphic sex chromosomes. *Cytogenet Genome Res.* 129:250–262.
- Kijas J, et al. (2018) Evolution of sex determination loci in Atlantic salmon. *Sci Rep* 8(1):5664.
- Kiuchi T, et al. (2014). A single female-specific piRNA is the primary determiner of sex in the silkworm. *Nature* 509(7502):633–636.
- Kitano J, et al. (2009) A role for a neo-sex chromosome in stickleback speciation. *Nature* 461(7267):1079–1083.
- Král J, et al. (2019) Insights into the karyotype and genome evolution of haplogyne spiders indicate a polyploid origin of lineage with holokinetic chromosomes. *Sci Rep* 9(1):3001.
- Kratochvíl L, et al. (2021) Expanding the classical paradigm: what we have learnt from vertebrates about sex chromosome evolution. *Phil Trans R Soc B* 376(1833):20200097.
- Kratochvíl L, Altmanová M, Straková B (2023a) Evoluční cesty určení pohlaví u amniotických obratlovců 1: Co jsou zač pohlavní chromozomy. *Vesmír* 7-8:421–425

- Kratochvíl L, Altmanová M, Straková B (2023b) Evoluční cesty určení pohlaví u amniotických obratlovců 2: Panoptikum způsobů určení pohlaví a přechodů mezi nimi. *Vesmír* 9:526–530.
- Kuhl H, et al. (2021) A 180 Myr-old female-specific genome region in sturgeon reveals the oldest known vertebrate sex determining system with undifferentiated sex chromosomes. *Phil Trans R Soc B* 376(1832):20200089.
- Kuhl H, et al. (2023) A novel amphibian sex determination candidate gene, evolved by structural variation in the regulatory region between X and Y. *bioRxiv* (preprint). <https://doi.org/10.1101/2023.10.20.563234>
- Lavery R, et al. (2011) XY *Sox9* embryonic loss-of-function mouse mutants show complete sex reversal and produce partially fertile XY oocytes. *Dev Biol.* 354(1):111-122.
- Leclercq S, et al. (2016) Birth of a W sex chromosome by horizontal transfer of *Wolbachia* bacterial symbiont genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113(52):15036–15041.
- Lenormand T, Roze D (2022) Y recombination arrest and degeneration in the absence of sexual dimorphism. *Science* 375(6581):663–666.
- Lenormand T, Roze D (2023) Revisiting the shelter theory: can deleterious mutations alone explain the evolution of sex chromosomes? *bioRxiv* (preprint). <https://doi.org/10.1101/2023.02.17.528909>
- Lisachov A, et al. (2023). Robertsonian fusion triggers recombination suppression on sex chromosomes in *Coleonyx* geckos. *Sci Rep.* 13(1):15502.
- Lockley EC, Eizaguirre C (2021) Effects of global warming on species with temperature-dependent sex determination: bridging the gap between empirical research and management. *Evol Appl.* 14(10):2361–2377.
- Long X, et al. (2022) Independent evolution of sex chromosomes and male pregnancy – related genes in two seahorse species. *Mol Biol Evol* 40(1):msac279.
- Matsuda M, et al. (2002) *DMY* is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature* 417(6888):559–563.
- Mawaribuchi S, et al. (2023) Parallel evolution of sex-linked genes across XX/XY and ZZ/ZW sex chromosome systems in the frog *Glandirana rugosa*. *Genes* 14:257.
- Mazzoleni S, et al. (2021) Long-term stability of sex chromosome gene content allows accurate qPCR-based molecular sexing across birds. *Mol Ecol Resour.* 21(6):2013–2021.
- Meisel RP, Gonzales CA, Luu H (2017). The house fly Y Chromosome is young and minimally differentiated from its ancient X Chromosome partner. *Genome Res.* 27(8):1417–1426.
- Meisel RP (2020) Evolution of sex determination and sex chromosomes: a novel alternative paradigm. *BioEssays* 42(9):1900212.
- Miura I, et al. (2022) Identification of ancestral sex chromosomes in the frog *Glandirana rugosa* bearing XX-XY and ZZ-ZW sex-determining systems. *Mol Ecol.* 31(14):3859–3870.
- Moore EC, et al. (2022) Polygenic sex determination produces modular sex polymorphism in an African cichlid fish. *Proc Natl Acad Sci U S A* 119(14):e2118574119.
- Myosho T, Takehana Y, Hamaguchi S, Sakaizumi M (2015) Turnover of sex chromosomes in *celebensis* group medaka fishes. *G3(Bethesda)* 5(12):2685–2691.
- Nanda I, et al. (2002) A duplicated copy of *DMRT1* in the sex-determining region of the Y chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(18):11778–83.
- Nguyen P, Carabajal Paladino L (2016) On the neo-sex chromosomes of Lepidoptera. In: Pontarotti, P. (eds) *Evolutionary Biology*. Springer, Cham. pp 171–185.

- Nur U (1974) The expected changes in the frequency alleles affecting the sex ratio. *Theor Popul Biol.* 5(2):143–147.
- Pan Q, et al. (2021) Evolution of master sex determiners: TGF- β signalling pathways at regulatory crossroads. *Phil Trans R Soc B* 376(1832):20200091.
- Pennell MW, et al. (2015) Y fuse? Sex chromosome fusions in fishes and reptiles. *PLoS Genet.* 11(5):e1005237.
- Perrin N (2009) Sex reversal: a fountain of youth for sex chromosomes? *Evolution* 63(12):3043–3049.
- Perrin N (2021) Sex-chromosome evolution in frogs: what role for sex-antagonistic genes? *Phil Trans R Soc B* 376(1832):20200094.
- Phillips RB (2013) Evolution of the sex chromosomes in salmonid fishes. *Cytogenet Genome Res.* 141(2–3):177–185.
- Pinto BJ, et al. (2023) It's a trap?! Escape from an ancient, ancestral sex chromosome system and implication of *Foxl2* as the putative primary sex determining gene in a lizard (Anguimorpha; Shinisauridae), *Evolution* <https://doi.org/10.1093/evolut/qpad205>
- Pokorná M, Kratochvíl L (2009) Phylogeny of sex-determining mechanisms in squamate reptiles are sex chromosomes an evolutionary trap. *Zool J Linn Soc.* 156(1):168–183.
- Pokorná M, Kratochvíl L, Kejnovský E (2011) Microsatellite distribution on sex chromosomes at different stages of heteromorphism and heterochromatinization in two lizard species (Squamata: Eublepharidae: *Coleonyx elegans* and Lacertidae: *Eremias velox*). *BMC Genet.* 12:90.
- Pokorná M, Altmanová M, Kratochvíl L (2014) Multiple sex chromosomes in the light of female meiotic drive in amniote vertebrates. *Chromosome Res.* 22:35–44.
- Ponnikas S, Sigeman H, Abbott JK, Hansson B (2018) Why do sex chromosomes stop recombining? *Trends Genet.* 34(7):492–503.
- Rafati N, et al. (2020) Reconstruction of the birth of a male sex chromosome present in Atlantic herring. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117(39):24359–24368.
- Renner SS, Müller NA (2021) Plant sex chromosomes defy evolutionary models of expanding recombination suppression and genetic degeneration. *Nat Plants* 7(4):392–402.
- Rens W, et al. (2007) The multiple sex chromosomes of platypus and echidna are not completely identical and several share homology with the avian Z. *Genome Biol.* 8:R243.
- Rice WR (1987) The accumulation of sexually antagonistic genes as a selective agent promoting the evolution of reduced recombination between primitive sex chromosomes. *Evolution* 41(4):911–914.
- Rifkin JL, et al. (2020) Widespread recombination suppression facilitates plant sex chromosome evolution. *Mol Biol Evol.* 38(3):1018–1030.
- Roco ÁS, et al. (2015) Coexistence of Y, W, and Z sex chromosomes in *Xenopus tropicalis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:E4752–E4761.
- Salz HK, Erickson JW (2010) Sex determination in *Drosophila*: the view from the top. *Fly* 4(1):60–70.
- Sardell JM, Kirkpatrick M (2020) Sex differences in the recombination landscape. *Am Nat.* 195(2):361–379.
- Saunders PA, Neuenschwander S, Perrin N (2018) Sex chromosome turnovers and genetic drift: a simulation study. *J Evol Biol.* 31(9):1413–1419.
- Saunders PA, Perez J, Ronce O, Veyrunes F (2022) Multiple sex chromosome drivers in a mammal with three sex chromosomes. *Curr Biol.* 32(9):2001–2010.e3.

- Scacchetti PC, et al. (2015) Chromosomal mapping of repetitive DNAs in *Characidium* (Teleostei, Characiformes): genomic organization and diversification of ZW sex chromosomes. *Cytogenet Genome Res.* 146(2):136–143.
- Schartl M, Schmid M, Nanda I (2016) Dynamics of vertebrate sex chromosome evolution: from equal size to giants and dwarfs. *Chromosoma* 125:553–571.
- Schartl M, et al. (2018) Sox5 is involved in germ-cell regulation and sex determination in medaka following co-option of nested transposable elements. *BMC Biol.* 16:16.
- Schartl M, Georges A, Graves JAM (2022) Polygenic sex determination in vertebrates – is there any such thing? *Trends Genet.* 39(4):242–250.
- Schultheis C, et al. (2009) Sex determination diversity and sex chromosome evolution in poeciliid fish. *Sex Dev.* 3(2–3):68–77.
- Sinclair AH, et al. (1990) A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 346(6281):240–244.
- Smith CA, et al. (2009) The avian Z-linked gene *DMRT1* is required for male sex determination in the chicken. *Nature* 461(7261):267–271.
- Smith SH, Hsiung K, Böhne A (2023) Evaluating the role of sexual antagonism in the evolution of sex chromosomes: new data from fish. *Curr Opin Genet Dev.* 81:102078.
- *Sember A, et al. (2021) Multiple sex chromosomes in teleost fishes from a cytogenetic perspective: state of the art and future challenges. *Phil Trans R Soc B* 376(1833):20200098.
- Sharma A, et al. (2017) Male sex in houseflies is determined by *Mdmd*, a paralog of the generic splice factor gene *CWC22*. *Science* 356(6338):642–645.
- Sousa A, et al. (2016) Analysis of transposable elements and organellar DNA in male and female genomes of a species with a huge Y chromosome reveals distinct Y centromeres. *Plant J* 88:387–396.
- Sousa A, Schubert V, Renner SS (2021) Centromere organization and UU/V sex chromosome behavior in a liverwort. *Plant J.* 106(1):133–141. <https://doi.org/10.1111/tpj.15150>
- Stevens NM (1905) Studies in spermatogenesis with special reference to the accessory chromosome. Washington, DC: Carnegie Institution of Washington.
- Stöck M, et al. (2021) A brief review of vertebrate sex evolution with a pledge for integrative research: towards ‘sexomics’. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 376(1832):20200426.
- *Štundlová J, et al. (2022) Sex chromosome differentiation via changes in the Y chromosome repeat landscape in African annual killifishes *Nothobranchius furzeri* and *N. kadleci*. *Chromosome Res.* 30(4):309–333.
- Takehana Y, Naruse K, Hamaguchi S, Sakaizumi M (2007) Evolution of ZZ/ZW and XX/XY sex-determination systems in the closely related medaka species, *Oryzias hubbsi* and *O. dancena*. *Chromosoma* 116:463–470.
- Tenessen JA, et al. (2018) Repeated translocation of a gene cassette drives sex-chromosome turnover in strawberries. *PLoS Biol.* 16(8):e2006062.
- Terao M, et al. (2022). Turnover of mammal sex chromosomes in the *Sry*-deficient Amami spiny rat is due to male-specific upregulation of *Sox9*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 119(49):e2211574119.
- The Tree of Sex Consortium (2014) Tree of sex: a database of sexual systems. *Sci. Data* 1:140015.
- Vicoso B, Bachtrog D (2015) Numerous transitions of sex chromosomes in Diptera. *PLoS Biol.* 13(4):e1002078.
- Vicoso B (2019) Molecular and evolutionary dynamics of animal sex-chromosome turnover. *Nat Ecol Evol.* 3(12):1632–1641.

- Volff J, Schartl M (2001) Variability of genetic sex determination in poeciliid fishes. *Genetica* 111:101–110.
- Yano A, et al. (2012) An immune-related gene evolved into the master sex-determining gene in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Curr Biol.* 22(15):1423–1428.
- Yazdi HP, et al. (2023) The evolutionary maintenance of ancient recombining sex chromosomes in the ostrich. *PLOS Genet.* 19(6):e1010801.
- Yoshimoto S, et al. (2010) Opposite roles of *DMRT1* and its W-linked paralogue, *DM-W*, in sexual dimorphism of *Xenopus laevis*: implications of a ZZ/ZW-type sex-determining system. *Development* 137(15):2519–2526.
- Veyrunes F, et al. (2008) Bird-like sex chromosomes of platypus imply recent origin of mammal sex chromosomes. *Genome Res.* 18(6):965–973.
- Wang J, et al. (2012) Sequencing papaya X and Y^h chromosomes reveals molecular basis of incipient sex chromosome evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(34):13710–13715.
- Weber C, et al. (2020) Temperature-dependent sex determination is mediated by pSTAT3 repression of Kdm6b. *Science* 368(6488):303-306.
- Wen M, et al. (2023) Characterization of the sex determining region of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and development of a sex-genotyping test. *Gene* 850:146933.
- Wilson EB (1906) Studies on chromosomes III. The sexual differences of the chromosome-groups in Hemiptera, with some considerations on the determination and inheritance of sex. *J Exp Zool.* 3:1–40.
- Wilson CA, et al. (2014) Wild sex in zebrafish: loss of the natural sex determinant in domesticated strains. *Genetics* 198(3):1291–1308.
- Zhou Q, et al. (2014) Complex evolutionary trajectories of sex chromosomes across bird taxa. *Science* 346(6215):1246338.



Mgr. Alexandr Sember, Ph.D. (e-mail: seember@iapg.cas.cz) je absolventem oboru Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie na Katedře genetiky a mikrobiologie Univerzity Karlovy. Po absolvování doktorátu v r. 2016 strávil postdoktorskou stáž ve Federal University of São Carlos (UFSCar), Brazílie, v laboratoři prof. L. A. C. Bertolla, pod vedením prof. M.B. Cioffiho. Po svém návratu se začal intenzivněji věnovat evoluci pohlavních chromozómů různých skupin kostnatých ryb a vedle přetrvávající spolupráce s M.B. Cioffim navázal spolupráci s celou řadou dalších tuzemských i zahraničních laboratoří. Od r. 2023 zastává ve své domovské instituci funkci vedoucího Laboratoře genetiky ryb a je mj. rovněž hlavním redaktorem IL.

Štúdiu molekúlárnych mechanizmov aktivácie tukového tkaniva

Miroslav Baláž

Laboratórium bunkového a molekúlárneho metabolizmu, Biomedicínske centrum SAV v.v.i., Slovenská akadémia vied

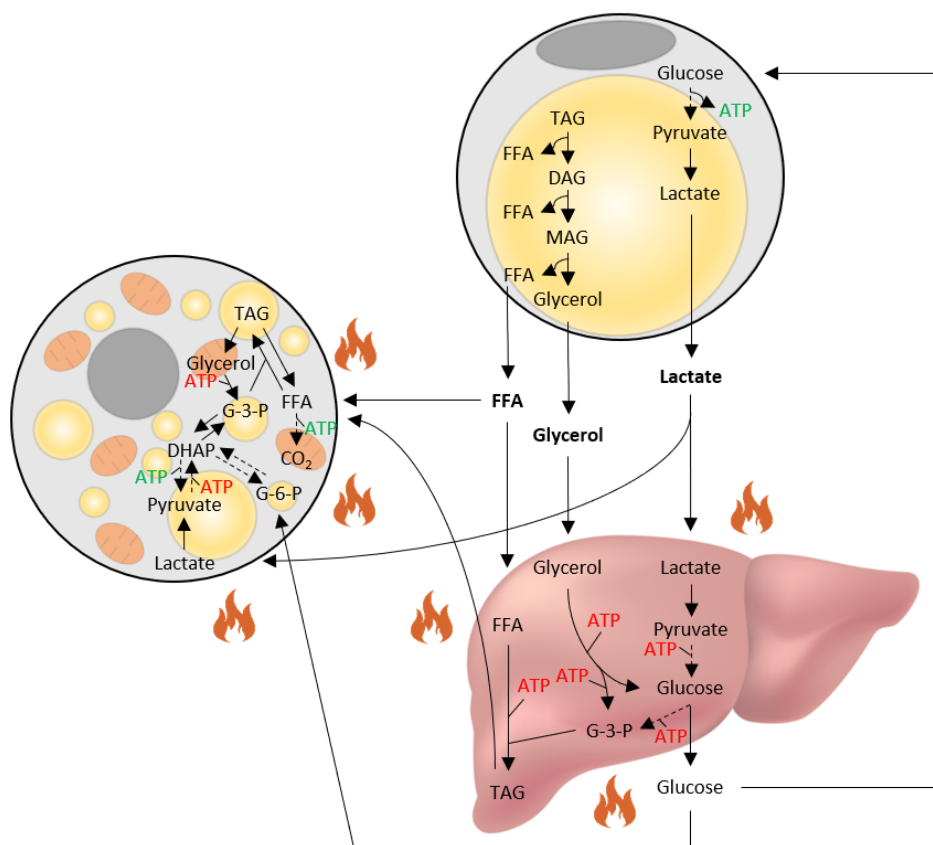
Obezita, je jedným z najzávažnejších zdravotných problémov 21. storočia. Nadmerné hromadenie tuku v tele totiž nepredstavuje len kozmetický problém, ale vedie k rozvoju celého spektra metabolických porúch ako cukrovka, stukovatenie pečene, srdcovocievne ochorenia, či niektoré formy nádorov (Kitahara et al. 2014). V súčasnosti obezita postihuje až tretinu dospelaj populácie vyspelých krajín a jej prevalencia sa neustále celosvetovo zvyšuje a to najmä u detí. Je to dané predovšetkým kombináciou nadmerného príjmu potravy bohatej na kalórie a sedavého životného štýlu, čo vedie k pozitívnej energetickej bilancii a ukladaniu prebytočnej energie v tele vo forme tuku. Hoci úprava životosprávy v zmysle zvýšenia fyzickej aktivity a zlepšenia stravovacích návykov je najefektívnejšou možnosťou prevencie a liečby obezity a pridružených metabolických ochorení, boj s pandémiou obezity prehrávame najmä kvôli pohodlnosti človeka žijúceho v modernej spoločnosti. Je preto nevyhnutné hľadať nové farmakologické možnosti liečby obezity.

Veľká pozornosť vedcov sa v posledných 2 desaťročiach sústredila na hľadanie nových terapeutických možností s potenciálom znížiť príjem a/alebo zvýšiť výdaj energie s cieľom obnoviť energetickú rovnováhu. Keďže termogenéza je energeticky náročný proces pri ktorom sa energia uložená v tuku premieňa a uvoľňuje do okolia v podobe tepla, jej aktivácia dokáže hlodavce ochrániť pred rozvojom obezity a metabolických ochorení (Bartelt et al. 2011). Hlavným producentom tepla v tele novorodencov a hibernujúcich hlodavcov je hnedé tukové tkanivo, ktoré vlastní viacero komplementárnych termogénnych mechanizmov. Až donedávna sme si mysleli že u človeka hnedé tukové tkanivo zaniká krátko po narodení. Dnes však vieme že je prítomné vo fyziologicky relevantnom množstve aj u dospelého človeka a rovnako ako u hlodavcov a novorodencov, odpovedá na chlad výrazným zvýšením svojej metabolickej aktivity (Nedergaard et al. 2007). Jeho aktivácia je preto považovaná za veľmi sľubnú stratégiu prevencie a liečby obezity a pridružených metabolických ochorení.

V našom výskume sme sa zamerali na podrobnú charakterizáciu hnedého a bieleho tukového tkaniva človeka. Hnedé tukové tkanivo je totiž v porovnaní s bielym metabolicky aktívnejšie a pochopenie molekúlárnych mechanizmov radiacích katabolické procesy, mitochondriálnu biogenézu, či odhalenie mechanizmov tvorby tepla môže priniesť nové terapeutické ciele s potenciálom zvýšiť metabolickú aktivitu tukového tkaniva. Vďaka spolupráci s klinickými partnermi z Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave (doc. Patrik Štefanička, PhD. a doc. Lukáš Varga, PhD.) sa nám podarilo vytvoriť najväčšiu zbierku vzoriek ľudského hnedého a bieleho tukového tkaniva na svete. Získané vzorky sme podrobili komplexnej transkriptomickéj

(Perdikari et al. 2018) a proteomickej analýze (Müller et al. 2016), čo nám umožnilo identifikovať odlišne exprimované gény a proteíny, a kľúčové molekulárne dráhy ktoré determinujú morfológické a funkčné rozdiely medzi bielym a hnedým tukovým tkanivom (Balaz et al. 2019; Balazova et al. 2021; Lasar et al. 2018). Vykonalí sme aj vôbec prvú podrobnú transkriptomickú analýzu ľudského hnedého tuku na úrovni jednotlivých buniek pomocou RNA sekvenovania jadier, vďaka ktorej sme odhalili nielen bunkové zloženie hnedého tukového tkaniva, ale identifikovali sme aj novú subpopuláciu hnedých tukových buniek (Sun et al. 2020). Dokázali sme, že sa v hnedom tukovom tkanive objavuje najmä pri termoneutrálnych podmienkach, kedy produkcia tepla tukovými bunkami neprebíha. Pomocou genetických nástrojov sme zistili že táto subpopulácia buniek dokáže regulovať termogénnu aktivitu susedných hnedých adipocytov prostredníctvom lokálnej produkcie acetátu. Ten pôsobením na receptor GPR43 znižuje koncentráciu cAMP v bunke, čím inhibuje kľúčovú signálnu dráhu aktivácie hnedých adipocytov. Zaujímavé je tiež zistenie, že táto novo identifikovaná subpopulácia buniek je bohato zastúpená v hnedom tuku človeka a domnievame sa že môže byť zodpovedná za jeho nízku metabolickú aktivitu (Sun et al. 2020). Súbežne s analýzou hnedého tuku sme vykonalí aj podrobnú analýzu transkriptomu bieleho tukového tkaniva človeka na úrovni jednotlivých buniek a identifikovali sme tukové regulačné bunky (Areg bunky), ktoré zohrávajú dôležitú úlohu v kontrole formovania nových adipocytov (Schwalie et al. 2018). Sú prítomné najmä v škodlivom viscerálnom tuku vo vnútri brušnej dutiny kde obklopujú cievy. Ich množstvo sa zvyšuje pri obezite a potláčajú diferenciáciu preadipocytov na zrelé adipocyty prostredníctvom sekrécie neznámeho faktora. Analýzou ich sekretómu sme zistili, že sú zdrojom RSPO2 proteínu, ktorý pôsobí inhibične na formovanie nových adipocytov a jeho účinok na sprostredkovaný LGR4 receptorom cez aktiváciu Wnt signálnej dráhy (Dong et al. 2022).

Vďaka podrobnej charakterizácii ľudského hnedého a bieleho tukového tkaniva sme identifikovali nielen nové bunkové subpopulácie, ale aj viaceré mechanizmy ktoré kontrolujú metabolickú aktivitu tukového tkaniva. Náš súčasný výskum je zameraný na validáciu ďalších molekulárnych dráh a identifikáciu alternatívnych mechanizmov tvorby tepla. Naše predbežné výsledky poukazujú na existenciu medziorgánového substrátového cyklu, ktorý má potenciál zvýšiť energetický výdaj (**Obr. 1**). Pochopenie fungovania molekulárnej mašinerie a regulácie tohto alternatívneho mechanizmu tvorby tepla má potenciál priniesť nové možnosti liečby obezity a pridružených metabolických ochorení.



Obr. 1: Model navrhovaného medziorgánového substrátového cyklu sprostredkovaného laktátom. Predpokladáme, že mediátorom navrhovaného medziorgánového substrátového cyklu je laktát produkovaný bielymi adipocytmi ako vedľajší produkt glykolýzy. Ten následne slúži ako substrát pre produkciu glukózy v pečeni. Každý cyklus tohto mechanizmu vytvára stratu 4 molekúl ATP, ktoré sú uvoľnené do okolia v podobe tepla.

Literatúra

- Balaz M, et al. (2019) Inhibition of mevalonate pathway prevents adipocyte browning in mice and men by affecting protein prenylation. *Cell Metab.* 29(4):901–916.e8.
- Balazova L, et al. (2021) GPR180 is a component of TGF β signalling that promotes thermogenic adipocyte function and mediates the metabolic effects of the adipocyte-secreted factor CTHRC1. *Nat Commun.* 12(1):7144.
- Bartelt A, et al. (2011) Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med.* 17(2):200–205.
- Dong H, et al. (2022) Identification of a regulatory pathway inhibiting adipogenesis via RSPO2. *Nat Metab.* 4(1)90–105.
- Kitahara CM, et al. (2014) Association between class III obesity (BMI of 40–59 kg/m²) and mortality: a pooled analysis of 20 prospective studies. *PLOS Med.* 11(7):e1001673.

- Lasar D, et al. (2018) Peroxisome proliferator activated receptor gamma controls mature brown adipocyte inducibility through glycerol kinase. *Cell Rep.* 22(3):760–773.
- Müller S, et al. (2016) Proteomic analysis of human brown adipose tissue reveals utilization of coupled and uncoupled energy expenditure pathways. *Sci Rep.* 6(1):30030.
- Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B (2007) Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 293(2):E444–E452.
- Perdikari A, et al. (2018) BATLAS: deconvoluting brown adipose tissue. *Cell Rep.* 25(3):784–797.e4.
- Schwalie PC, et al. (2018) A stromal cell population that inhibits adipogenesis in mammalian fat depots. *Nature* 559(7712):103–108.
- Sun, W., et al. (2020) snRNA-seq reveals a subpopulation of adipocytes that regulates thermogenesis. *Nature* 587(7832):98–102.



Mgr. Miroslav Baláž, PhD. (1986) je absolventom Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave v programe Fyziológia živočíchov a etológia. V súčasnosti pôsobí ako vedúci Laboratória bunkového a molekulárneho metabolizmu v Biomedicínskom centre Slovenskej akadémie vied. Je držiteľom Ceny LSR za rok 2022. E-mail: miroslav.balaz@savba.sk

Adaptácia kvasinky *Candida parapsilosis* na využívanie hydroxyaromátov ako zdrojov uhlíka

Andrea Cillingová

Katedra biochémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská Dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

V publikácii ocenej Špeciálnou cenou dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej sa venujeme objasneniu mechanizmu metabolickej adaptácie kvasinky *Candida parapsilosis* na využívanie hydroxyaromatických zlúčenín ako jediných zdrojov uhlíka.

Kvasinku *C. parapsilosis* radíme medzi oportúnne ľudské patogény. Bežne sa vyskytuje ako komenzál na ľudskej pokožke, no za určitých okolností, predovšetkým u ľudí s oslabeným imunitným systémom alebo u predčasne narodených detí, dokáže vyvolať patologické stavy. Jej výskyt však nie je viazaný len na človeka. Identifikovaná bola v rôznych typoch prostredia, napr. v pôde, v intestinálnom trakte hmyzu alebo v mangrovových močiaroch (Trofa et al. 2008; Suh et al. 2008; Sarkar a Rao 2023).

Prvé zmienky o jej schopnosti využívať aromatické zlúčeniny, napr. 4-hydroxybenzoát alebo protokatechuát, ako jediné zdroje uhlíka pochádzajú už z roku 1979 (Cooper a Land 1979). Následne, v deväťdesiatych rokoch dvadsiateho storočia, boli popísané dve metabolické dráhy, tzv. 3-oxoadipátová (3OAP) a gentisátová (GP) dráha, pomocou ktorých je *C. parapsilosis* schopná vysporiadať sa s náročnou úlohou degradácie aromatického jadra týchto zlúčenín (Middelhoven et al. 1992; Middelhoven 1993; van Berkel et al. 1994). Gény kódujúce jednotlivé enzýmy týchto dráh sa podarilo úspešne identifikovať až o takmer 20 rokov neskôr v našom laboratóriu, pričom sa zároveň ukázalo, že sú usporiadané do dvoch metabolických génových klastrov (3-oxoadipátový a gentisátový génový klaster) (Holešová et al. 2011).

V 3-oxoadipátovej dráhe dochádza k degradácii 4-hydroxybenzoátu, 2,4-dihydroxybenzoátu a 3,4-dihydroxybenzoátu, ale tiež hydrochinónu a rezorcinolu. V gentisátovej dráhe je zasa degradovaný 3-hydroxybenzoát a gentisát (**Obr. 1**). Koncové produkty oboch týchto dráh (sukcinát a acetyl-CoA pri 3-oxoadipátovej a fumarát a pyruvát pri gentisátovej dráhe) môžu ďalej vstupovať do citrátového cyklu a zapojiť sa tak do centrálného metabolizmu buniek.

Už v roku 2011 sa pomocou štúdia promótorových sekvencií vybraných génov oboch dráh ukázalo, že expresia niektorých génov 3OAP a GP klastra je v prípade pestovania buniek v médiu so substrátmi týchto dráh niekoľko 100 až niekoľko 1000-násobne vyššia v porovnaní s ich expresiou v médiu s glukózou (Holešová et al. 2011). Podobné výsledky priniesla aj neskoršia qPCR analýza expresie génov *MX1* a *MX2* v bunkách využívajúcich rôzne zdroje uhlíka (Cillingová et al. 2017). Bolo preto zrejmé, že regulácia transkripcie bude zohrávať dôležitú úlohu v procese prispôbenia metabolizmu buniek na využívanie aromatických látok ako zdrojov uhlíka. Aby sme získali komplexnejší pohľad na takúto metabolickú adaptáciu, rozhodli sme sa pre transkriptomickú analýzu buniek rastúcich v médiu s rôznymi zdrojmi uhlíka: 4-hydroxybenzoátom a hydrochinónom (oba metabolizované 3OAP) a 3-

hydroxybenzoátom (metabolizovaný GP) a výsledky sme porovnávali s údajmi získanými z buniek pestovaných v médiu s galaktózou. V súlade s predchádzajúcimi výsledkami nám RNA-seq analýza potvrdila zvýšenú expresiu génov 3OAP klastra v prípade, že bunky využívali ako zdroj uhlíka substráty tejto dráhy a analogicky, expresia génov GP klastra bola zvýšená v prípade, že bunky využívali ako zdroj uhlíka substrát GP dráhy. Gény v oboch týchto klastroch sú teda špecificky koregulované v závislosti od typu substrátu prítomného v rastovom médiu. Okrem toho nám RNA-seq analýza odhalila rozsiahle zmeny, ku ktorým dochádza naprieč celým transkriptomom. V bunkách v médiu s 3-hydroxybenzoátom je ≥ 4 násobne nadexprimovaných 270 génov, v prípade 4-hydroxybenzoátu je to až 435 génov, a v prípade hydrochinónu je to 365 génov. Detailná analýza týchto skupín génov nám ukázala, že aktivácia 3OAP alebo GP vedie k zvýšenej expresii génov kódujúcich enzýmy zapojené do procesov β -oxidácie mastných kyselín, glyoxylátového cyklu, metabolizmu aminokyselín a biogenézy peroxizómov.

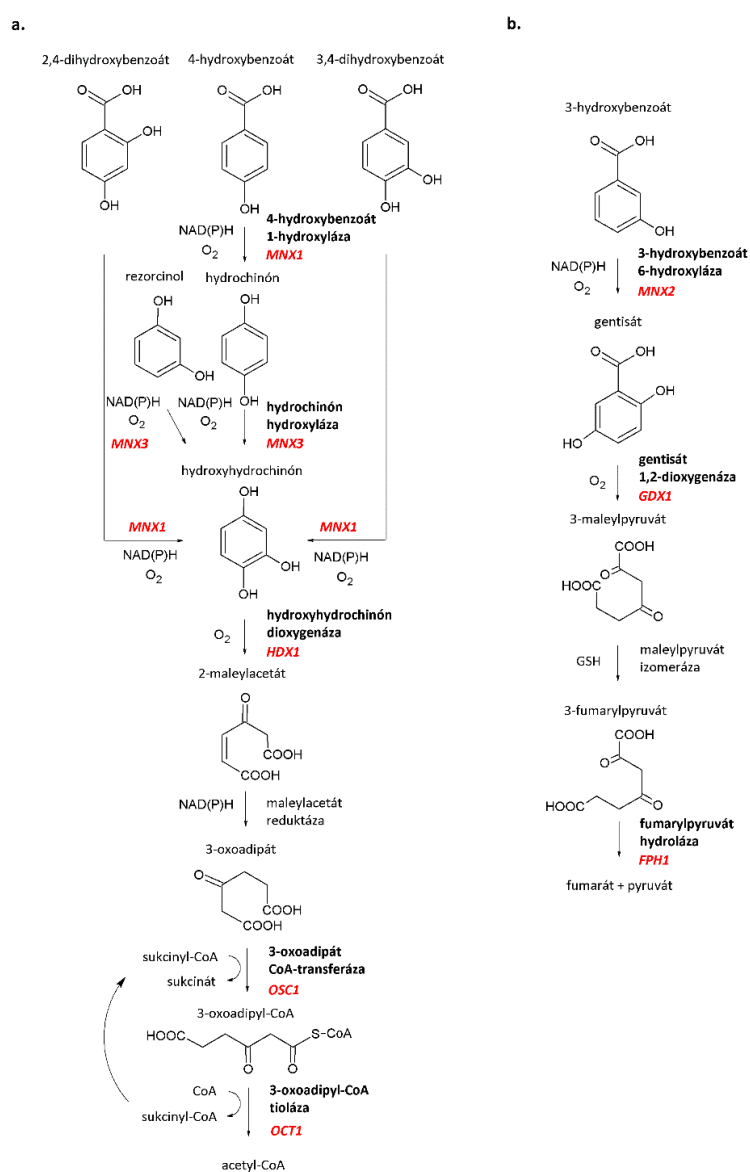
Pomerne prekvapivým zistením bol výrazný rozdiel v skupinách nadexprimovaných a podexprimovaných génov pri analýze výsledkov získaných z buniek rastúcich v médiu so 4-hydroxybenzoátom a z buniek rastúcich v médiu s hydrochinónom. Oba tieto substráty sú jednak metabolizované v rovnakej dráhe (3OAP) a navyše 4-hydroxybenzoát je v prvom kroku prostredníctvom monooxygenázy Mnx1P dekarboxylovaný na hydrochinón (**Obr. 1**). Napriek tomu je viac ako 600 génov podexprimovaných špecificky len v prípade rastu buniek v médiu s hydrochinónom, ale nie v médiu so 4-hydroxybenzoátom. Možným vysvetlením tohto pozorovania je vplyv molekuly CO₂ (následne premenenej na HCO₃⁻), ktorá vzniká pri dekarboxylácii 4-hydroxybenzoátu, na pH rastového média, čo môže významne ovplyvňovať množstvo procesov v bunke.

RNA-seq dáta ktoré sme získali, jasne ukázali, že práve transkripcia je významným regulačným bodom v expresii génov 3OAP a GP klastra. V každom z týchto klastrov sa nachádza aj gén, ktorý podľa bioinformatických predikcií kóduje potenciálny transkripčný faktor – gén *OTF1* v 3OAP klastri a gén *GTF1* v GP klastri. Keďže gény pre transkripčné faktory nachádzajúce sa v génových klastroch majú často na starosti reguláciu transkripcie génov daného klastra, rozhodli sme sa charakterizovať oba tieto gény. Pomocou fluorescenčnej mikroskopie sme ukázali, že oba proteíny, Otf1p aj Gtf1p, sú lokalizované v jadre buniek. Pre potvrdenie ich súvisu s reguláciou génov v 3OAP a GP klastri sme pripravili delečné kmene $\Delta otf1/\Delta otf1$ a $\Delta gtf1/\Delta gtf1$ a sledovali sme ich schopnosť rásť v médiách s rôznymi hydroxyarómami. Pozorovaný fenotyp delečného kmeňa $\Delta gtf1/\Delta gtf1$ – neschopnosť rásť na substrátoch gentisátovej dráhy – potvrdil jeho funkciu ako aktivátora transkripcie génov GP klastra. V prípade kmeňa $\Delta otf1/\Delta otf1$ sa ukázalo, že tento kmeň nedokáže asimilovať žiadny z hydroxybenzoátov ktoré vstupujú do 3-oxoadipátovej dráhy, no dokáže rásť na médiách obsahujúcich hydroxybenzény hydrochinón a rezorcinol. Predpokladáme preto, že okrem Otf1p je do regulácie transkripcie génov 3OAP klastra môže byť zapojený jeden alebo viaceré ďalšie doposiaľ neznáme transkripčné faktory.

Oba charakterizované proteíny - Otf1p aj Gtf1p - patria medzi tzv. „Gal4-like“ transkripčné faktory. Tie rozpoznávajú sekvencie DNA obsahujúce dva CGG triplety buď v rovnakej, alebo v navzájom invertovanej pozícii, ktoré sú od seba rôzne

vzdialené. Vďaka bioinformatickej analýze promótorových sekvencií génov v 3OAP a GP klastri sme identifikovali potenciálne väzobné miesta týchto proteínov a následnou EMSA analýzou sme potvrdili špecifickú väzbu proteínu Otf1p na DNA obsahujúcu motív GGRN₁₀WCC a špecifickú väzbu proteínu Gtf1p na DNA obsahujúcu motív GGAN₇TCC.

Nielen tieto, ale ešte mnohé ďalšie výsledky popísané v ocenej publikácii sú výsledkom mnohoročnej mravčej práce viacerých vedcov a vedkýň. Pre mňa osobne je zavŕšením práce, ktorá začala ešte na magisterskom štúdiu, kedy som začala pracovať v laboratóriu na charakterizácii neznámeho transkripčného faktora CPAG03406 – neskôr označeného ako *GTF1*. O to viac si preto cením a vážim, že práve táto publikácia bola nadáciou Natura ocenená.



Obr. 1: HHQ variant 3-oxoadipátovej dráhy (a.) a gentisátovej dráhy (b.) u *C. parapsilosis* (upravené podľa: Holešová et al. 2011; Zeman et al. 2016).

PodĎakovanie

Ďakujem nadácii Natura za udelenie Špeciálnej ceny Dr. Ludmily Sedlářovej-Rabanovej v roku 2022. Moje podĎakovanie tiež patrí všetkým spoluautorom ocenej publikácie, mojim kolegom z KOVLAB-u, spojeného laboratória katedier biochémie a genetiky PriF UK, a v neposlednom rade Ďakujem Dr. Regine Sepšiovej za nomináciu na túto cenu.

Literatúra

- Cillingová A, et al. (2017) Eukaryotic transporters for hydroxyderivatives of benzoic acid. *Sci Rep.* 7(1):8998.
- Cillingová A, et al. (2022) Transcriptome and proteome profiling reveals complex adaptations of *Candida parapsilosis* cells assimilating hydroxyaromatic carbon sources. *PLoS Genet.* 18(3):e1009815.
- Cooper BH, Land GA (1979) Assimilation of protocatechuic acid and p-hydroxybenzoic acid as an aid to laboratory identification of *Candida parapsilosis* and other medically important yeasts. *J Clin Microbiol.* 10(3):343–345.
- Holešová Z, et al. (2011) Gentisate and 3-oxoadipate pathways in the yeast *Candida parapsilosis*: identification and functional analysis of the genes coding for 3-hydroxybenzoate 6-hydroxylase and 4-hydroxybenzoate 1-hydroxylase. *Microbiology* 157(Pt 7):2152–2163.
- Middelhoven WJ, et al. (1992) Degradation of some phenols and hydroxybenzoates by the imperfect ascomycetous yeasts *Candida parapsilosis* and *Arxula adenivorans*: evidence for an operative gentisate pathway. *Antonie van Leeuwenhoek* 62(3):181–187.
- Middelhoven, WJ (1993) Catabolism of benzene compounds by ascomycetous and basidiomycetous yeasts and yeastlike fungi. A literature review and an experimental approach. *Antonie van Leeuwenhoek* 63(2):125–144.
- Sarkar A, Bhaskara Rao KV (2023) Unraveling anticancer potential of a novel serine protease inhibitor from marine yeast *Candida parapsilosis* ABS1 against colorectal and breast cancer cells. *World J Microbiol Biotechnol.* 39(8):225.
- Suh SO, Nguyen NH, Blackwell M (2008) Yeasts isolated from plant-associated beetles and other insects: seven novel *Candida* species near *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res.* 8(1):88–102.
- Trofa D, Gácsér A, Nosanchuk JD (2008) *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 21(4):606–625.
- van Berkel WJ, et al. (1994) Catabolism of 4-hydroxybenzoate in *Candida parapsilosis* proceeds through initial oxidative decarboxylation by a FAD-dependent 4-hydroxybenzoate 1-hydroxylase. *FEMS Microbiol Lett.* 121(2):207–215.
- Zeman I, et al. (2016) Mitochondrial carriers link the catabolism of hydroxyaromatic compounds to the central metabolism in *Candida parapsilosis*. *G3 (Bethesda)* 6(12):4047–4058.



Mgr. Andrea Cillingová PhD. (1988) je absolventkou Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave v odbore Genetika. V súčasnosti pôsobí na Katedre biochémie PriF UK ako výskumný pracovník. E-mail: cillingova1@uniba.sk

Modulácia epigenómu v liečbe karcinómu prsníka

Verona Buociková

Ústav experimentálnej onkológie, Biomedicínske centrum SAV, v.v.i.
Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

Nádorové ochorenia sú celosvetovo jednou z hlavných príčin úmrtí, pričom v roku 2020 ich bolo evidovaných takmer 10 miliónov (Sung et al. 2021). U žien je najčastejšie diagnostikovaný karcinóm prsníka, ktorý je zároveň primárnou príčinou úmrtí súvisiacich s rakovinou. Vysoká incidencia nádorových ochorení prsníka a najmä rozvoj metastatického ochorenia sú globálnym medicínsko-spoločenským problémom, ktorý podčiarkuje dôležitosť hlbšieho pochopenia ich tumorigenézy a v neposlednom rade potrebu nových terapeutických prístupov.

Liečba karcinómu prsníka v súčasnosti zahŕňa multidisciplinárny prístup. Vo všeobecnosti sú pacienti liečení kombináciou chirurgického zákroku, rádioterapie, chemoterapie, imunoterapie, endokrínnej alebo cielenej liečby (Moo et al. 2018). Účinnosť rôznych terapeutických režimov v posledných rokoch stúpila, výsledkom čoho je znižovanie mortality. Stále však existuje časť pacientov, ktorí majú závažné vedľajšie účinky liečby, ťažko liečiteľné podtypy nádorov a aktuálne nevyliciteľné metastatické ochorenie. Je známe, že rôzne genetické zmeny prispievajú k iniciácii a progresii karcinómu prsníka, avšak menej preštudované sú epigenetické zmeny, ktoré vedú k aberantnej génovej expresii a taktiež patria medzi kľúčové mechanizmy v tumorigenéze (Dworkin et al. 2009; Dawson a Kouzarides 2012). Epigenetické modifikácie sú definované ako dedičné zmeny, ktoré nemenia sekvenciu DNA, ale môžu ovplyvniť génovú expresiu. Ich regulácia je zapojená aj v mnohých normálnych bunkových procesoch, vrátane vývoja, diferenciácie a proliferácie buniek (Sharma et al. 2010). Medzi hlavné epigenetické modifikácie patrí metylácia DNA, posttranslačné modifikácie histónov a expresia nekódujúcej RNA (Lu et al. 2020).

Vzhľadom na významnú úlohu epigenetiky pri regulácii tumorigenézy a rozvoji vrodenej/ získanej rezistencie na liečbu sa v súčasnosti vedecké úsilie intenzívne zameriava na zvrátenie takéhoto aberantného epigenómu v solídnych nádoroch (Guo et al. 2019). Hoci bola účinnosť epigenetických liečiv preukázaná pri hematologických malignitách, čo viedlo k ich schváleniu regulačnými agentúrami ako možná terapia pre tento typ nádorových ochorení, neexistuje žiadna epigenetická liečba schválená pre solídne nádory, s výnimkou tazemetostatu –Tazverik®, ktorý bol v roku 2020 schválený pre metastatický alebo lokálne pokročilý epiteloidný sarkóm. Solídne nádory sa totiž považujú za epigeneticky komplexnejšie, vykazujú abnormálnu vaskularizáciu, špecifické nádorové mikroprostredie a diferencovanejšie bunky so zníženou schopnosťou epigenetického preprogramovania (Morel et al. 2020). Epigenetické liečivá prvej a druhej generácie spôsobujú takmer výlučne rozsiahle zmeny génovej expresie. Ich očakávaná účinnosť bola silne ovplyvnená nevhodným vysokodávkovým podávaním vo forme monoterapie, čo spôsobovalo závažnú bunkovú toxicitu aj napriek požadovanému preprogramovaniu buniek (Nervi et al. 2015; Filippova et al.

2018). Do tejto skupiny epigenetických činidiel patria inhibítory DNA metyltransferáz (DNMT) a históndeacetyláz (HDAC). Demetylačné činidlá (inhibítory DNMT) sú vo všeobecnosti považované za sľubné protinádorové agensy, keďže hypermetylácia tumorsupresorových génov a nadmerná expresia DNMT sú dôležitými faktormi v procese tumorigenézy (Gnyszka et al. 2013). Decitabín (5-Aza-2'-deoxycytidine, DAC) je cytidínový analóg, ktorého terapeutický účinok spočíva v pasívnej demetylácii promótorov a reaktivácii tumorsupresorových génov (Bohl et al. 2018). DAC je považovaný za predliečivo, ktoré je intracelulárne konvertované na aktívnu formu pomocou deoxycytidínkinázy (DCK) alebo metabolizované na neaktívnu formu cytidíndeaminázou (CDA). Okrem toho je DAC inkorporovaný do DNA proliferujúcich buniek, kde vytvára kovalentnú väzbu s cysteínovým zvyškom v aktívnom mieste DNMT a tým blokuje metyláciu vznikajúcej DNA, čo vedie k pasívnej strate metylácie DNA (Yang et al. 2010; Chowdhury et al. 2015). Hypometylačný účinok DAC je výraznejší pri nízkych koncentráciách, kde je tvorba aduktov DAC-DNMT obmedzená, zatiaľ čo pri vyšších koncentráciách vedie častá tvorba aduktov k cytotoxickému účinku (Qin et al. 2009). Množstvo predklinických štúdií a takisto aj aktuálne prebiehajúce klinické štúdie rôznych solídnych nádorov poukazujú na potenciál synergického účinku epigenetických liečiv v kombinovanom režime, kedy sú schopné senzitivizovať rezistentné nádorové bunky na iný druh liečby, ako napr. chemoterapia, imunoterapia, či rádioterapia (Damaskos et al. 2017; Morel et al. 2020).

V práci Buocikova et al. (2022) sme analyzovali schopnosť nízkych dávok DAC senzitivizovať nádorové bunky karcinómu prsníka voči konvenčnej cytostatickej liečbe doxorubicínom (DOX). Pre vyhodnotenie potenciálneho prínosu kombinácie DAC a DOX sme vykonali súbor in vitro experimentov, kde bola účinnosť sekvenčnej kombinovanej liečby porovnaná s účinkom samotného DAC alebo DOX v bunkách JIMT-1, MDA-MB-231 a T-47D, ktoré reprezentujú tri rôzne klinické podtypy karcinómu prsníka. V modeli 3D sféroidov, ktorý lepšie mimikuje komplexné nádorové mikroprostredie in vivo, sme pozorovali synergický účinok DAC+DOX vo všetkých analyzovaných bunkových líniiach, pričom najvýraznejší bol v HER2+, trastuzumab-rezistentných bunkách JIMT-1, kde všetky testované kombinácie koncentrácií liečiv vykazovali synergiu. Na základe výsledkov in vitro sme bunkovú líniu JIMT-1 použili na indukciu ortotopických xenoimplantátov, kedy sme imunodeficientným samiciam SCID/beige myší bilaterálne injikovali bunky do tukového vankúša mliečnej žľazy. DAC (0,125 mg/kg) a DOX (1 mg/kg) boli opakovane počas štyroch týždňov podávané intraperitoneálne ako monoterapia alebo v kombinovanom režime. V tejto in vivo štúdií sme ako chemoterapeutikum použili aj lipozomálnu formuláciu DOX, Caelyx® (CX), ktorá sa v klinickej praxi využíva výhradne na liečbu metastatického karcinómu prsníka, pričom ako nanoliečivo vykazuje u pacientov nižšiu toxicitu (Franco et al. 2018). Na konci experimentu sme pozorovali signifikantné zníženie objemu nádorov v skupine liečenej kombináciou DAC+DOX v porovnaní s kontrolnou skupinou ($p = 0,002$) a monoterapiou DOX ($p = 0,008$). Zároveň sme zistili, že hmotnosť tumorov po terapii bola v skupinách DAC+DOX ($p = 0,027$), CX ($p = 0,008$) a DAC+CX ($p = 0,027$) významne nižšia ako v skupine liečenej monoterapiou DAC. Účinok sekvenčnej kombinovanej liečby bol porovnateľný s účinkom samotného lipozomálneho DOX, čo mohlo byť spôsobené rozdielnou farmakokinetikou DOX a CX, keďže nanoformulácie

liečiv vykazujú vyššiu stabilitu (Dadpour et al. 2022). Pri molekulárnej analýze tkanív xenoimplantátov sme zistili zníženú expresiu DNMT 1 v skupine liečenej kombináciou DAC+DOX na úrovni mRNA aj proteínu a súčasne zníženú globálnu metyláciu DNA, čo potvrdilo účinnosť DAC cez epigenetickú reguláciu metylácie DNA. Napriek vysokej účinnosti kombinácie DAC+DOX *in vitro* sme synergii v *in vivo* modeli nedosiahli. Výsledky však môžu naznačovať schopnosť tohto epigenetického inhibítora preprogramovať rezistentné bunky karcinómu prsníka voči štandardnej terapii. Takisto je potrebné lepšie pochopiť spôsob účinku nízko-dávkového DAC, posúdiť jeho synergii s inými protinádorovými agensami a identifikovať vhodné biomarkery na výber pacientov, ktorí môžu mať prospech z tohto typu terapie (Yu et al. 2018).

Na základe uvedených výsledkov z kombinovanej liečby DAC+DOX sme ďalej predpokladali, že intracelulárne zvýšenie expresie DCK, ako kľúčového enzýmu v metabolizme DAC, môže zosilniť jeho vplyv na zmeny metylácie DNA a zvýšiť tak jeho terapeutickú účinnosť. Okrem overenia tejto hypotézy sme chceli v druhej práci Buocikova, Tyciakova et al. (2022) pomocou integrovaného prístupu stanoviť účinok nízkych dávok DAC na metylóm a transkriptóm nádorových bunkových línií JIMT-1 a T-47D.

Pomocou transfekcie s expresným plazmidom pCIneoDCK sme dosiahli zvýšenie intracelulárnej expresie DCK v oboch bunkových líniách, mierne účinnejšie v JIMT-1/pCIneoDCK bunkách (JIMT-1/pCIneoDCK vs. JIMT-1, FC = 11,2/p < 0,001; T-47D/pCIneoDCK vs. T-47D, FC = 2,3/p = 0,003). Tento efekt bol ešte výraznejší po ovplyvnení DAC (JIMT-1/pCIneoDCK+DAC vs. JIMT-1, FC = 21,6/p < 0,001; T-47D/pCIneoDCK+DAC vs. T-47D, FC = 7,2/p < 0,001). Podobný trend sme následne detegovali aj na úrovni proteínov pomocou Western blot analýzy. V bunkovej línii JIMT-1 a JIMT-1/pCIneoDCK sa nepreukázali žiadne zmeny v mRNA expresii CDA ani po ovplyvnení DAC, kým v bunkách T-47D a T-47D/pCIneoDCK došlo k DAC-indukovanej zvýšenej mRNA expresii tohto génu (T-47D+DAC vs. T-47D, FC = 126,3/p = 0,013; T-47D/pCIneoDCK+DAC vs. T-47D, FC = 145,2/p = 0,001). Treba ale podotknúť, že parentálne bunky JIMT-1 mali 3000-násobne zvýšenú expresiu CDA v porovnaní s T-47D (Buocikova et al. 2022). V súlade s našimi zisteniami bolo v inej štúdii pozorované, že DAC mal slabý alebo žiadny účinok na hladinu CDA transkriptov v bunkových líniách s konštantne vysokou expresiou CDA, pričom v CDA-deficientných nádorových bunkách DAC podstatne zvýšil hladinu mRNA expresie CDA (Mameri et al. 2017). Na proteínovej úrovni sme však tento výsledok nepozorovali. Bunky T-47D a T-47D/pCIneoDCK nevykazovali žiadnu expresiu proteínu CDA, kým JIMT-1 a JIMT-1/pCIneoDCK mali podobnú expresiu proteínu CDA aj po expozícii DAC. V bunkách JIMT-1/pCIneoDCK a T-47D/pCIneoDCK sme nepozorovali signifikantne zníženú viabilitu ani LINE-1 globálnu metyláciu DNA po ovplyvnení DAC. Dočasne zvýšenou hladinou expresie DCK sme teda nedosiahli lepšiu účinnosť DAC v nádorových bunkách karcinómu prsníka.

Rozsah účinku nízkych dávok DAC na epigenomické a transkriptomické preprogramovanie buniek karcinómu prsníka *in vitro* sme určovali celogenómovým prístupom pomocou Infinium Methylation EPIC array a RNA-Seq analýzy. Expozícia DAC paradoxne indukovala okrem rozsiahlej hypometylácie a zvýšenej génovej expresie (497 génov v JIMT-1, 473 génov v T-47D, 62 spoločných génov pre obe

bunkové línie) aj hypermetyláciu a zníženie expresie mnohých génov (141 génov v JIMT-1, 157 v T-47D, 31 spoločných génov pre obe bunkové línie). Zo všetkých hypometylovaných génov so zvýšenou expresiou bolo v JIMT-1 35 (napr. CDO1, CXCL12, ACHE, ITGA7) a v T-47D 51 tumorsupresorových génov (napr. NGFR, RASSF2, ACVR1C, NR4A3). Vzhľadom na nešpecifické pôsobenie a široký rozsah účinku DNMT inhibítorov existuje šanca, že napriek ich pozitívnym účinkom môžu v nádorových bunkách deaktivovať tumorsupresorové gény a reaktivovať onkogény. Pri analýze sme zistili zvýšenie expresie 25 protoonkogénov a kandidátnych onkogénov v JIMT-1 (napr. *RET*, *NTRK1*, *ALK*, *AQP1*) a 28 v T-47D bunkách (napr. *HOXA9*, *FES*, *TNFRS1B*, *MET*). Tiež sme našli niekoľko hypermetyleovaných tumorsupresorov so zníženou mRNA expresiou v oboch bunkových líniiach, 10 v JIMT-1 a 21 v T-47D.

Hlavné obmedzenie epigenetických liečiv prvej a druhej generácie, vrátane DAC, pri ich využití v liečbe solídnych nádorov je ich slabá biologická dostupnosť, nízka stabilita, krátky polčas rozpadu a nešpecifické epigenomické preprogramovanie. Na zvýšenie účinnosti a bezpečnosti týchto liečiv v režime monoterapie alebo kombinovanej terapie sú preto potrebné nové stratégie, vrátane cieľeného podávania, či lepšieho pochopenia molekulárnej podstaty ich pôsobenia a zložitých interakcií.

Podakovanie

Ďakujem o.z. Natura za udelenie Špeciálnej ceny Dr. Ludmily Sedlářové-Rabanovej v roku 2022. Tiež by som sa chcela poďakovať všetkým spoluautorom ocenených publikácií, dr. Smolkovej za nomináciu na túto cenu a taktiež všetkým svojim kolegom z Oddelenia molekulárnej onkológie Biomedicínskeho centra SAV. Prezentované práce vznikli s podporou 7RP platformy ERA-NET, program EuroNanoMed II, projekt INNOCENT; ERACoSysMed/2019/939/RESCUER; Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-16-0178; APVV-16-0010) a Vedeckej grantovej agentúry MŠVVaŠ SR a SAV (VEGA 2/0138/20 a VEGA 2/0160/21).

Literatúra

- Bohl SR, Bullinger L, Rücker FG (2018) Epigenetic therapy: azacytidine and decitabine in acute myeloid leukemia. *Expert Rev Hematol.* 11(5):361–371.
- Buocikova V, et al. (2022a) Decitabine potentiates efficacy of doxorubicin in a preclinical trastuzumab-resistant HER2-positive breast cancer models. *Biomed Pharmacother.* 147:112662.
- Buocikova V, et al. (2022b) Decitabine-induced DNA methylation-mediated transcriptomic reprogramming in human breast cancer cell lines; the impact of DCK overexpression. *Front Pharmacol.* 13:991751.
- Dadpour S, et al. (2022) The role of size in PEGylated liposomal doxorubicin biodistribution and anti-tumour activity. *IET Nanobiotechnol.* 16(7–8):259–272.
- Damaskos C, et al. (2017) Histone deacetylase inhibitors: an attractive therapeutic strategy against breast cancer. *Anticancer Res.* 37(1):35–46.
- Dawson MA, Kouzarides T (2012) Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell* 150(1):12–27.

- Dworkin AM, Huang THM, Toland AE (2009) Epigenetic alterations in the breast: Implications for breast cancer detection, prognosis and treatment. *Seminars Cancer Biol.* 19(3):165–171.
- Filippova EV, et al. (2018) Structural basis for DNA recognition by the two-component response regulator RcsB. *mBio* 9(1):e01993-17.
- Franco YL, Vaidya TR, Ait-Oudhia S (2018) Anticancer and cardio-protective effects of liposomal doxorubicin in the treatment of breast cancer. *Breast cancer (Dove Medical Press)* 10:131–141.
- Gnyszka A, Jastrzebski Z, Flis S (2013) DNA methyltransferase inhibitors and their emerging role in epigenetic therapy of cancer. *Anticancer Res.* 33(8):2989–2996.
- Guo M, Peng Y, Gao A, Du C, Herman JG (2019) Epigenetic heterogeneity in cancer. *Biomark Res.* 7:23.
- Chowdhury B, et al. (2015) The hypomethylating agent Decitabine causes a paradoxical increase in 5-hydroxymethylcytosine in human leukemia cells. *Sci Rep.* 5(1):9281.
- Lu Y, et al. (2020) Epigenetic regulation in human cancer: the potential role of epi-drug in cancer therapy. *Mol Cancer* 19(1):79.
- Mameri H, et al. (2017) Cytidine deaminase deficiency reveals new therapeutic opportunities against cancer. *Clin Cancer Res.* 23(8):2116–2126.
- Moo TA, Sanford R, Dang C, Morrow M (2018) Overview of breast cancer therapy. *PET Clin.* 13(3):339–354.
- Morel D, et al. (2020) Combining epigenetic drugs with other therapies for solid tumours - past lessons and future promise. *Nat Rev Clin Oncol.* 17(2):91–107.
- Nervi C, De Marinis E, Codacci-Pisanelli G (2015) Epigenetic treatment of solid tumours: a review of clinical trials. *Clin Epigenetics* 7(1):127.
- Qin T, et al. (2009) Mechanisms of resistance to 5-aza-2'-deoxycytidine in human cancer cell lines. *Blood* 113(3):659–667.
- Sharma S, Kelly TK, Jones PA (2010) Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 31(1): 27–36.
- Sung H, et al. (2021) Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 71(3):209–249.
- Yang X, Lay F, Han H, Jones PA (2010) Targeting DNA methylation for epigenetic therapy. *Trends Pharmacol Sci.* 31(11):536–546.
- Yu J, et al. (2018) DNA methyltransferase expression in triple-negative breast cancer predicts sensitivity to decitabine. *J Clin Invest.* 128(6):2376–2388.



Mgr. Verona Buociková, PhD. (1984) je absolventkou Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave v odbore Molekulárna biológia. Doktorandské štúdium dokončila v roku 2022 v študijnom programe Onkológia na Lekárskej fakulte Univerzity Komenského v Bratislave. V súčasnosti pôsobí na Ústave experimentálnej onkológie BMC SAV, v.v.i. ako vedecký pracovník. Je držiteľkou Špeciálnej ceny LSR za rok 2022. E-mail: verona.buocikova@savba.sk

Citáty z esejí študentov na tému Výzvy súčasnej genetiky

No aj napriek všetkým týmto problémom majú dievčatá s touto diagnostikou [Turnerov syndróm] aj výhody v bežnom živote. Nemajú ataky zúrivostí, nie sú náladové, sú otvorené, v kolektíve obľúbené.

Niektoré typy GMO zemiakov boli vytvorené tak, aby odolali zhnednutiu a odretiu pri preprave. Podľa môjho názoru zemiak nezmení svoju kvalitu po zhnednutí, aj keď mnoho ľudí si myslí, že keď jedlo zhnedne je hneď pokazené – čo neplatí pre všetky potraviny – napríklad banán.

Napriek tomu, že výskum dokázal, že sú GMO potraviny bezpečné a nezávadné, nemôžem uveriť tomu, že to tak v skutočnosti je.

Život je krásny i brutálny, rozbúrený, ale zato plný harmónie, obsahuje množstvo záhad i tajomstiev.

Do svojej genetickej výbavy nový jedinec zdedí 63 úplne nových mutácií z toho 13 od matky a 50 od otca.

Človek v bežnej populácii má vo svojej genetickej výbave približne 1 % génov ktoré majú predispozíciu pre vznik mentálnej poruchy.

Výskum ukázal, že izolovaná nesyndromatická forma, čo predstavuje 70 %, sa dedí multifaktorovým spôsobom a to autozómovo dominantne.

Shinya Yamanaka získal Nobelovu cenu so svojou tzv. „štvorkou“, čo bola štvorica génov, ktoré vznikli postupným vyškrávaním z vyše 1300 rôznych génov.

Jedno z najlepšie klonovaných zvierat v dnešnej dobe je Tur domáci.

Niektoré ľudské proteíny produkujú modifikované mikroorganizmy v zlej kvalite a napr. taká koza to dokáže omnoho lepšie.

U sledovaných rodín postihnutých syndrómom je pozorovateľná väzba na lokusy génov 9p, 12q, 14q a naposledy 20p13, s autozómálne dominantnou dedičnosťou.

Na tomto príklade môžeme pozorovať väzbu na ženské pohlavie.

Na tomto ochorení podieľa rodinná anamnéza, kedy sa asi 60 % postihnutých vyskytuje v rodinných kruhoch.

Konce chromozómov cicavcov a iných stavovcov tvorí hexanukleotid s tisíckami opakovaní rovnakej sekvencie DNA – TTAGGG, na ktorý sa viaže tzv. priemer.

Možno o pár rokov ... bude klonovanie zvierat a ľudí prirodzeným spoločníkom ľudstva.

Je tiež pravdepodobné, že niektorí ľudia môžu nájsť v klonovaní iný hnusný spôsob zisku.

Evolúcia je fantastická, ale na to, aby držala krok s vynaliezavým a ničiteľským ľudstvom, možno rýchlosťou nestačí.

Ak som sa na dejepise niečo naučila, tak to, že všetko sa dá použiť aj ako zbraň.

Ľudský organizmus je veľmi zaujímavý komplex buniek, orgánov a procesov, ktorý poznáme a zároveň nepoznáme.

Preto som sa začala zamýšľať nad otázkou, prečo by sme nemohli docieľiť, aby pacientovi dorástli rovno celé poškodené pľúca? A čo tak rovno chýbajúca noha, oko, oblička alebo aj obočie?

Citáty zozbieral prof. Ľ. Tomáška

Dvoušroubovice

David Antoš

Dny se prodlužovaly, ale zatím jen pomalým, nejistým krokem. Zima se zanedlouho vytratí a svět znovu rozkveté. Tisíce květů a tolik barev. Ve tváři zdobené vráskami pohrával úsměv.

Jenže dnes tomu nebude. Výdech se proměnil v páru, která se v prouzcích vytrácela do ztichlé noci. Zima ještě neskončila.

Slyšel tichou zvonkohra svých vlastních kroků. Ostatní šli už dávno spát, ale on žádnou únavu necítil. Naopak, nemohl by usnout, ani kdyby se sebevíc snažil. Rozlévalo se v něm teplo a vnímal ho silně. Vnímal ten oheň.

Pomalou melodii jeho chůze narušila kakofonie rychlých kroků, jak těžké nohy dupaly po nádvoří.

„Otče,“ zavolal hluboký hlas, ale brzy si uvědomil tu nepatřičnost a přešel do šepotu: „otče, omlouvám se, že vás ruším takto pozdě, ale zapomněl jsem vám předat dopis, který dnes přišel. Z Vídně.“ Poslední slova vyřkl téměř omluvně. Každý v opatství věděl, jak se otec ze všech sil pokouší ulevit svému řádu. Ale ta bohapustá Vídeň snad nezná soucit.

Otec si povzdechl a pokusil se o úsměv. Stálo ho to nemalé úsilí. „Děkuji, bratře Tomáši.“ Bratr pokývl na odpověď a rozloučil se: „Dobrou noc, otče.“

„Dobrou noc i tobě, bratře.“ Tmavá postava v klerice se vzdalovala, až se ztratila v protějších dveřích.

Ne, ani ta Vídeň a její nekřesťanské navyšování příspěvků nepokazí krásu nočního ticha. Na administrativu bude dost času v brzkém ránu.

Zastavil se v kroku a vzhlédl k obloze. Teď už žádný zvuk nenarušoval noc, která ponořila nádvoří i blízké náměstí do ticha.

Z oblohy vykoukly první hvězdy. Jen drobné tečky. Nepatrné drobečky božího světla. Jedna, druhá, třetí. Vynořily se ze tmy, ale zadarmo to nebylo.

Otec stál na místě a vyčkával. A hned se objevily další. Otevíraly se očím jako tisíce a tisíce květů. Bílých nebo fialových? Kvetly na zahradách nebe.

A tak čekal. S úsměvem na tváři.

--

Jen sledoval svět a čekal. A svět se odvděčil, odkrýval celá souhvězdí. To vše za onu vzácnou kombinaci: za trpělivost a oheň v srdci. Oheň za oheň.

Netušil, že za dveřmi číhá století, které nelze nazvat jinak než bouřlivé. Století, které se tak významně podepíše na dítěti, které se má teprve narodit.

Tak převratný a mladičkový obor, jakým se genetika stane, přiláká onu známou dvoušroubovici lidských vlastností; minci, která se nepřestává točit.

Jedna strana bude nebezpečná, plná špíny, křiku a prázdnoty. Rozšíří strach, který utlumí rozum, a tak vznikne živná půda pro lži.

Francis Galton jistě neměl špatné úmysly, ale instantní řešení bez pokory nebude tou správnou volbou asi nikdy. Zbrklý úmysl, který stvoří eugeniku a podpoří vše, co bude následovat. S podivem zůstává, že zrovna takové postoje najdou

pochopení v nejvyspělejších státech světa. A jak je možné, že se ideologie té nejpokročilejší demokracie tak jednoduše přetaví ve zvrácenosti té nejhorší z totalit?

Točit mincí můžeme i dále. Na jedné straně nacistické Německo, které mendelismus zneužije k jednomu z nejodpornějších dílků lidských dějin. A na opačné straně lysenkismus, který bude ignorovat podložená fakta ve prospěch totality druhé. Dvě ideologie postavené na cíleném zacpávání si uší. A mezi tím chaosem bude pořád ta stejná genetika, ty stejné hrachy, ty stejné popsané stránky. Ale svět nedokáže v poklidu číst. Stránky roztrhá a slepí je vlastním nekvalitním lepidlem. To nebude vina genetiky. Stane se jen příliš lákovou hračkou. Lákavou a nebezpečnou, jako klíčky od auta v rukou dítěte.

A tak v místech, kde Mendel prožil celý svůj život, v těch místech nasáklých smýšlením východu, bude nepřípustné jeho jméno, byť jen vyslovit.

Bude tady ale ještě druhá strana mince. Strana, kde zvítězí láska k vědění, touha po znalostech a po poznání pravdy. Budou ji ztělesňovat praví Mendelovi nástupci; poctiví a trpěliví vědci, kteří poslechnou hlas srdce a rozumu. Oheň se nepřestane šířit.

Frederick Griffith se svojí pečlivostí objeví transformaci.

Herbert Boyer nedá na tlak okolí, svoji metodu bude dále testovat, dokud nedospěje k vysněnému cíli. A to i za cenu žaludečních vředů svého kolegy.

Trpělivost a nadšení sklídí ovoce. Produkce inzulínu, monoklonálních protilátek nebo vakcín zachrání životy milionům lidí.

Občas se strany přiblíží. Myšlenka eugeniky, umělé selekce příhodných vlastností, nenajde v moderním světě místo, přesto genetika dospěje do takové úrovně, že budeme moci rozhodovat o lidských životech. Má plod s nevýhodným genotypem právo na existenci? Negativní eugenika vystrkuje růžky. A čím je spermabanka geniů Roberta Grahama, než ukázkovým příkladem galtonovského smýšlení?

Dvě šroubovice se stále točí. A někdy se dotýkají. Splývají v sebe, až nevíme, která je která.

Tu noc Gregor Johann Mendel nemohl nic z toho vědět. Stál na místě a plný pokory pozoroval nebe.

Netušil, že za necelých dvacet let se jeho výzkum dočká zaslouženého ohlasu. Že vzbudí nadšení i obavy. Že změní svět.

Stejně tak netušil, že za několik měsíců onemocní. Že ho choroba odkáže na lůžko, ze kterého už nevstane.

Hodiny odbíjely půlnoc. Tiché město odráželo klid v otcově duši. Mendel v to věřil. Věřil, že jednoho dne jeho dílo ocení celý svět.

Hvězdy vyplouvaly na povrch noci. Jedna hvězda se ukázala a druhá jí následovala. Předávaly si oheň, který nezhasne. Bude se dál šířit světem, dokud neporazí temnotu.

Eugenika

Terezie Kelnarová

Pokud bych měla vybrat pravděpodobně nejkontroverznější téma genetiky, byla by to jednoznačně eugenika. Když se řekne eugenika, první, co mě napadne, je snaha „vyšlechtit superlidi“. Tato snaha zušlechtit lidský genom a znemožnit rozmnožování geneticky „nevhodným“ (a to nejen ve smyslu genetických onemocnění) je ale nesmyslná, např. už jen díky vzniku mutacím *de novo* mohou mít dva zdraví rodiče nemocné dítě, a to je jen jeden příklad, proč eugenika v praxi nemůže fungovat.

Kdybychom uvažovali obdobně o šlechtění u rostlin a zvířat, nenarážíme tolik na problematiku etiky, jako když o „šlechtění“ začneme uvažovat v souvislosti s lidmi. Nemůžeme však srovnávat lidi a zvířata (mimo to již i v této rovině, z hlediska šlechtění, u zvířat vystává řada nejen etických problémů). Již od počátku vzniku eugeniky se zde objevuje snaha jakéhosi odstupu od této problematiky, což sice eugenikové mohli omlouvat striktně vědeckým přístupem oproštěným od jakýchkoliv emocí, avšak zde je to krajně nevhodné. Každý, kdo kdy nahlížel na druhého z hlediska eugeniky, jako by ani nehodnotil člověka, pouze věc, bez duše. Toto bych vnímala asi jako hlavní problém eugeniky (hned za tím následuje její nesmyslnost). Eugenika přistupuje k lidem, které defakto degraduje na subjekty, příliš odtažitě. Každý, kdo eugeniku, ať už pozitivní nebo negativní, kdy propagoval, se prakticky pasoval do role „soudce“ povyšujícího se nad ostatní lidi, jako by on sám člověkem nebyl. Kde tito „soudcové lidstva“ berou právo určovat, a podle čeho, kdo je lepší a kdo horší, kdo si zaslouží žít a kdo ne? Ospravedlňují se tím, že konají v zájmu lepší budoucnosti celé společnosti, ale opomíjejí fakt, že prospěch z toho může těžit pouze její část, pokud vůbec, a když, tak rozhodně ne ta, která zahrnuje ty, podle nich, „nevhodné“ bez ohledu na to, jak velká část společnosti to může být. A jestli tomu tedy skutečně tak je, pak si musím klást otázky: Kam se poděla lidskost? Co je to za společnost, ve které žijeme? I rozsudky smrti nad nejtěžšími zločinci vzbuzují diskusi, jestli je to správné, humánní, ne tak rozsudky nad znevýhodněnými či jinak dle eugeniky „nevhodnými“ jedinci, kteří se ničím neprovinili, nikdy nikomu neublížili. Různě znevýhodnění lidé nemohou za své postižení, za to, co se jim stalo nebo že se tak narodili. Za kvalitu jejich života do značné míry zodpovídá jejich okolí, které se jí však nezřídka zdráhá ujmout.

Dívám se na toto téma nejen z pohledu studenta, ale i člověka, kterého se toto téma osobně dotýká a ví, jak mohou být okolnosti ohledně znevýhodněného složité, jaká stigmatizace jeho samotného i jeho rodinu provází. Mám totiž takto postiženého patnáctiletého bratrance a děsí mě pomyslení, že v minulosti by spadal přesně do té kategorie, které se týkala nucená sterilizace a eutanázie. Útěchou je, že se společnost z tohoto zruďného zacházení poučila (snad, alespoň se tomu tak zdá být). Díky tomuto osobnímu pohledu mohu dosvědčit, že i přes nesnáze způsobené jeho postižením, je to „čistá duše“, která také vnímá, cítí a prožívá radost i bolest, snad i více než zdraví lidé, a jeho pohled na svět je často velmi osvěžující. Není o nic méně člověkem než kdokoliv z nás, považovaných oproti němu za zdravé. Postižení, nebo chcete-li,

znevýhodnění, nejsou méněcenní a takto by se k nim také mělo přistupovat včetně sociální oblasti. Mimo to v eugenice se tím ani nemusí myslet jen zdravotně postižení, ale i zdraví lidé, kteří byli dle jistých politických směrů označeni za nepohodlné z jakýchkoliv důvodů.

Věda může být velmi dobrým a užitečným rádcem v politice, ale dá se také zneužít, a to i k obhajobě radikálních kroků, jež mohou přímo zasáhnout do soukromí a osobního života jednotlivce včetně lidských práv, jako se tomu stalo v případě eugeniky. I když se eugenika zdá být již překonanou historií, občas umí „prosáknout“ i do dnešní doby, např. i in-vitro oplození v této souvislosti budí diskusi. Paradoxem je, že v USA, kde docházelo k velké diskriminaci zdravotně postižených či jinak eugenicky „nevhodných“ vč. etnického původu, nyní dochází k přísným restrikcím v provádění potratů, avšak o budoucnost těchto dětí, o jejich péči, už se nikdo nestará. A to ani nemusíme překračovat oceán: sousední Polsko je na tom podobně. Politika tak znovu zasahuje do lidských práv, tentokrát matek, přestože interrupce je sama o sobě velmi složitým tématem, které nelze generalizovat. Společným problémem eugeniky, hlavně té negativní, a zákazem potratů, je řešení péče o tímto postižené děti, ať už trpí jakýmkoliv genetickým onemocněním či jiným znevýhodněním. Zatímco negativní eugenika by znevýhodněné děti nejraději vyhladila a úplně tak společnost zbavila odpovědnosti za jejich péči, zákazy potratů neřeší péči o takto narozené děti (nemluvě o jejich matkách) vůbec. Lidé se znevýhodněním jsou často přehlíženi, společnost od nich „odvrací zrak“, ačkoli abych nebyla nespravedlivá: v posledních letech se situace, zdá se, obrací k lepšímu.

Měli bychom se poučit z historie, protože přesto, že se to zdá jako klišé, ten, kdo ignoruje historii, je odsouzen k tomu ji zopakovat. Při dnešních technologických možnostech molekulární biologie a potažmo medicíny je představa zneužití vědy v politický prospěch, a to nejen v souvislosti s eugenikou, přímo mrazivá a osobně doufám, že se to nikdy nestane. Antropoložka Margaret Meadová je přisuzováno tvrzení, kdy na otázku ohledně prvních znaků civilizace odpověděla tak, že zvedla nad hlavu 15 000 let starou stehenní kost se zhojenou zlomeninou se slovy: Aby člověk s tímto zraněním přežil a uzdravil se, bylo nezbytné, aby se o něj někdo postaral. Ať už to Meadová skutečně řekla nebo ne, jednomu toto tvrzení nasvědčuje: bez soudržnosti civilizovaná společnost jen těžko může fungovat. Místo řešení nesmyslných malicherností, jako je snaha o „vylepšení“ genofondu, bychom se raději měli zaměřit na poskytnutí péče potřebným a nesoudit lidi podle vnějších znaků a postižení, protože to, jací skutečně jsme, se ukrývá uvnitř.

Autoři esejí jsou studenty kurzu „Příběh vědy: gen“, který na Přírodovědecké fakultě MU v Brně vede prof. J. Šmarda.

**Zdroj: písemné zkoušky z genetiky, PŘF UK, Praha, 2019–2021
doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D., Katedra genetiky a mikrobiologie, PŘF UK, Praha**

Otevřený čtecí rámec: DNA je poskládaná bázemi dovnitř, ovšem i zvenku se dá přečíst, jaké báze se uvnitř vyskytují.

Histony smršťují sekvence, aby se vešly do dvojšroubovice.

Penetrance znamená vniknutí do buňky přes membránu.

Systém pohlavních chromozómů XX/XO najdeme u skupiny blanokřídy.

Determinace pohlaví může být na základě modrého záření, což znamená, že v každém pohlaví je jen jeden ze systémů (pozn.: studentka patrně měla na mysli UV systém pohlavních chromozómů, ale spletla si to s ultrafialovým zářením).

Součástí přímé genetické analýzy je tzv. hon na migranty (pozn.: studentka asi mínila tzv. lov na mutanty, mutant hunt, ale aspoň bylo zřejmé, že se zajímá i o politiku ☺).

PCR se provádí tak, že se dá směs do termocykleru a za opakovaně vysokých teplot se indukuje replikace úseku, který se po svaření centrifugou dá využít.

Modelový organizmus nesmí být moc velký, měl by příliš vysoké nároky na jídlo.

Členové výboru**RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.***předseda*

Ústav experimentální biologie, PřF MU

Kotlářská 2, 611 37 Brno

lizal@sci.muni.cz**prof. RNDr. Eva Čellárová, DrSc.**

Katedra genetiky, PrF UPJŠ

Mánesova 23

041 54 Košice – Staré Mesto

eva.cellarova@upjs.sk**doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D.***tajemnice za ČR*

Katedra genetiky a mikrobiologie, PřF UK, Praha

Viničná 5, 128 43 Praha 2

danahola@natur.cuni.cz**prof. RNDr. Aleš Knoll, Ph.D.***hospodář za ČR**správce webových stránek GSGM*

Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat,

AF MENDELU v Brně

Zemědělská 1, 613 00 Brno

knoll@mendelu.cz**Mgr. Jiří Pergner, Ph.D.**

Katedra biologie a ekologie, PřF,

Ostravská univerzita

Chittussiho 10, 710 00 Ostrava

jiri.pergner@osu.cz**Mgr. Alexandr Sember, Ph.D.***hlavní redaktor IL*

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i.

Rumburská 89, 277 21 Liběchov

seember@iapq.cas.cz**doc. Mgr. Miroslava Slaninová, Ph.D.***hospodářka a tajemnice za SK*

Katedra genetiky, PriF UK

Mlynská dolina B I, 842 15 Bratislava

slaninova@fns.uniba.sk**prof. MUDr. Ondřej Šeda, Ph.D.***místopředseda*

Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK

Albertov 4, 128 01 Praha 2

ondrej.seda@lf1.cuni.cz**doc. RNDr. Andrea Ševčovičová, PhD.**

Katedra genetiky PriF UK

Mlynská dolina B I, 842 15 Bratislava

andrea.sevcovicova@uniba.sk**prof. RNDr. Ľubomír Tomáška, DrSc.,***místopředseda*

Katedra genetiky, PriF UK

Mlynská dolina B I, 842 15 Bratislava

tomaska@fns.uniba.sk**prof. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.***správce webových stránek GSGM*

Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat,

AF MENDELU v Brně

Zemědělská 1, 613 00 Brno

urban@mendelu.cz**Revizoři účtů****RNDr. Tomáš Mašek, PhD.**

Katedra genetiky a mikrobiologie, PřF UK

Viničná 5, 128 44 Praha 2

masek@natur.cuni.cz**Mgr. Katarína Procházková, PhD.**

Katedra genetiky PriF UK

Mlynská dolina B I, 842 15 Bratislava

katarina.prochazkova@uniba.sk

Aktuální seznam členů výboru je uveden na webu GSGM.



Genetická společnost Gregora Mendela z.s.

je sdružení profesionálních genetiků a zájemců o tento obor. Cílem GSGM je rozvíjet spolupráci v rámci oboru i mimo něj, přilákat nové zájemce a informovat širokou veřejnost o nejnovějších poznatcích o genetice.

