

Minimální genom

VÝPRAVA K HRANICÍM ŽIVOTA

Zkoumáme-li podstatu života, nutně se dostaneme k problému, kde leží hranice mezi živým a neživým. Jaká je nejjednodušší entita, o které můžeme spolehlivě říci, že je živá? Kolik genů jí stačí k přežití? Na tyto a podobné otázky dokážou nejlépe odpovědět bioinformatické a molekulárněgenetické metody, ve kterých se hlavním objektem výzkumu stává genetická informace zapsaná v molekulách DNA.

text **KATEŘINA VEČERKOVÁ, JAN PAČES**

ŽIVOT NA ZEMI je úžasně různorodý. Jeho komplexnost ale z velké části stojí na složitosti genetické informace. Začneme několika přehledovými čísly. Lidská DNA obsahuje v haploidním stavu přibližně 3,3 miliardy párů bází (base pairs, bp), tedy pomyslných „písmenek“ genetického zápisu, a je v ní asi 23 tisíc genů, které kódují bílkoviny. V tom nijak nevybočujeme z typické velikosti savčího genomu. Ostatní obratlovci mají srovnatelný nebo o trochu menší počet genů. Hmyz je o něco úspornější. Většinou se vejde pod 20 tisíc genů. Také velikost jeho genomu bývá menší, mezi 100 až 500 miliony bp. Co do počtu „písmenek“ genetického zápisu se prvenstvím mezi živočichy může (zatím) chlubit bahník australský (*Neoceratodus forsteri*), australská plicnatá ryba, která má s 43 miliardami bp asi čtrnáctkrát větší genom než člověk.

Jednobuněční prvoci mají DNA tvořenou zpravidla jen desítkami až stovkami milionů párů bází, ale jsou mezi nimi i organismy s genomy obrovskými nebo naopak titěnými. Velký rozdíl ve velikosti genomů nalezneme také v rostlinné říši, od stovek milionů až po 15 miliard bp. Mnohem menší genomy mají bakterie a archea, typicky mezi 3 až 7 miliony bp a s počtem genů v jednotkách tisíců. Vůbec nejhojnější volně žijící organismus na planetě, bakterie *Pelagibacter ubique*, patří k těm malým – její genom o velikosti pouhého 1,3 milionu bp kóduje 1389 genů.

Minimální velikost genomu a nejnižší možný počet genů nutný pro život tedy leží

někde pod touto hranicí. Důvodů, proč se je snažíme odhalit, existuje několik. Umožní nám to porozumět základním principům života a tomu, co je nezbytné pro existenci buněk. Rovněž nám to snad dovolí nahlédnout, jak mohly vypadat buňky v raných fázích evoluce života na Zemi, případně rozpoznat život jinde ve vesmíru. Z čistě praktického hlediska budeme moci na základě současných bakterií a archeí vytvořit jednodušší modelové organismy sloužící k testování základních buněčných procesů. V neposlední řadě nám související výzkum umetá cestu k navrhování dalších genomů syntetických buněk, které mohou sloužit třeba pro výrobu biopaliv nebo léčiv.

KOLIK GENŮ DĚLÁ BUŇKU?

Při hledání nejmenšího funkčního genomu narážíme na jeden zásadní problém. Konkrétní organismy vždy žijí v určitém prostředí, se kterým interagují a ze kterého získávají zdroje. Aby koncept minimálního genomu dával smysl, musíme ho tedy doplnit o podmínky prostředí (třeba zdroje živin, teplotu a další faktory okolí) a také o druh organismu, ze kterého vycházíme. Existující organismy mají množství funkčních „nadbytečností“, záloh a alternativních drah k provedení toho či onoho, aby se dokázaly vyrovnat s dynamickými změnami prostředí. Pokud ale buňku necháme růst na médiu s „plným servisem“, tj. na živné půdě se všemi dostupnými aminokyselinami,

základními stavebními kameny proteinů, můžeme z minimálního genomu vypustit geny pro jejich biosyntézu. Minimální genom tudíž budeme definovat za ideálních podmínek, tedy s neomezenými zdroji a při absenci nepříznivých faktorů včetně konkurence ostatních organismů. Kompletní genom je oproti tomu sada genů, která umožňuje samostatný život bez speciální podpory.

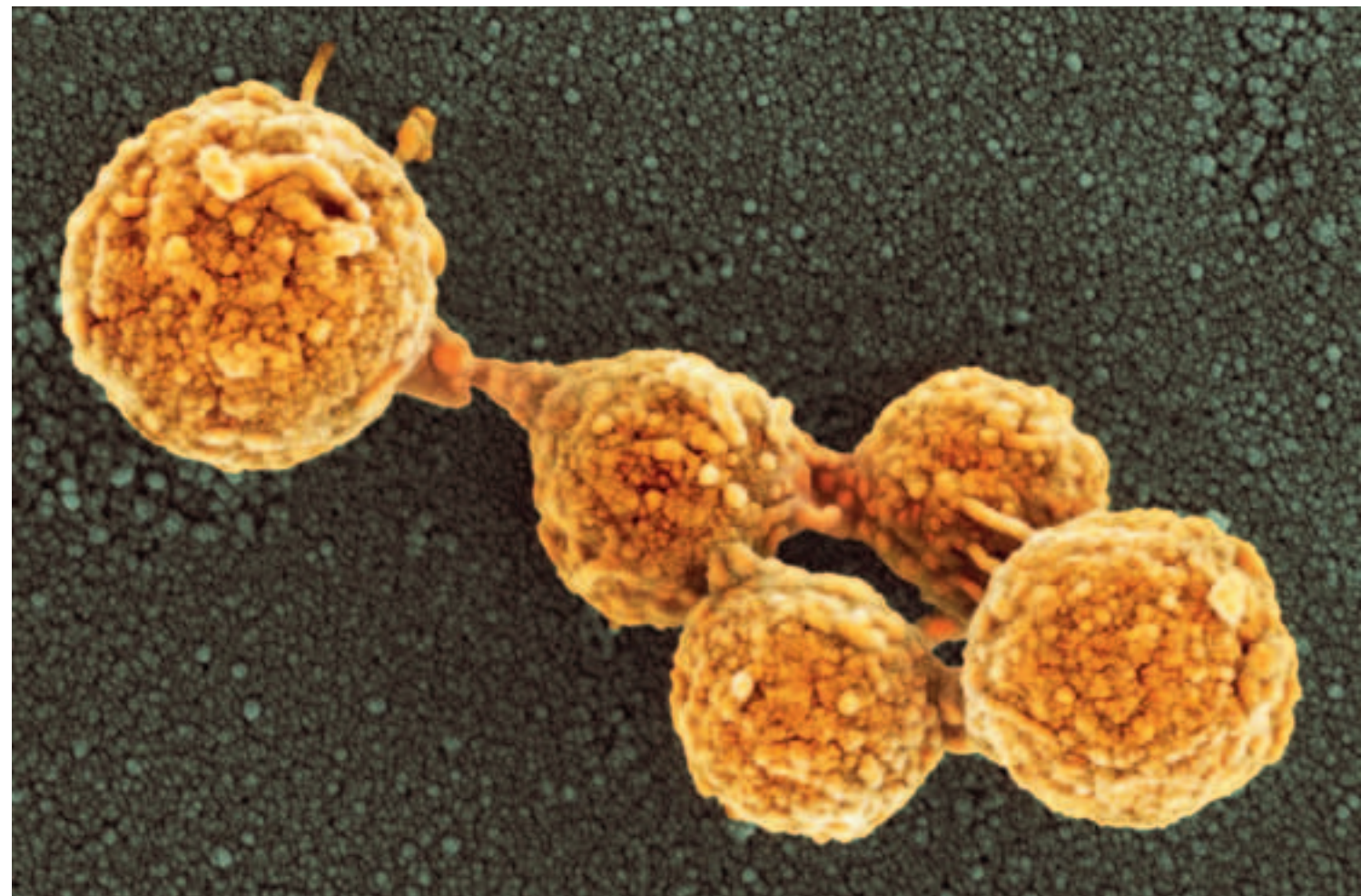
K výzkumu minimálního genomu existují dva přístupy. První možností je začít v přírodě: najít druhy, které mají velmi jednoduché a malé genomy (jako například *Mycoplasma genitalium*, viz dále), a pak postupně odstraňovat geny, které buňka nepotřebuje. To označujeme jako experimentální přístup shora dolů. Alternativně můžeme postupovat zdola nahoru, začít od nuly a tvořit model postupným přidáváním genů pro základní metabolické dráhy. Oba přístupy se nakonec sbíhají k minimálnímu genomu, který obsahuje geny spojené se základními buněčnými procesy. Mezi ně řadíme údržbu DNA a tvorbu proteinů, metabolismus a vstup látek přes membrány, růst buňky a její dělení. Tyto geny umožňují buňce fungovat za ideálních podmínek. [5]

Z čistě teoretického pohledu by na tyto procesy mělo vystačit okolo 300 proteinů. To potvrzují i pozorování. Podíváme-li se na geny se stejnou funkcí (tzv. ortologní geny)

Ing. KATEŘINA VEČERKOVÁ (*1997) vystudovala bioinformatiku a chemickou informatiku na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze. Nyní se v Ústavu molekulární genetiky AV ČR v doktorském studiu věnuje hledání skrytých genů v genomech obratlovců. Působí také v servisní laboratoři funkční genomiky a bioinformatiky, kde poskytuje bioinformatickou analýzu.



Mgr. JAN PAČES, Ph.D., (*1967) vystudoval PFF UK a v Ústavu molekulární genetiky AV ČR studuje strukturu genomů. Zaměřuje se zejména na lidské endogenní retroviróvé elementy, jejichž dosud neúplněnější databázi sestavil. Přednáší ve studijním programu bioinformatiky a je koordinátorem velké vědecké infrastruktury ELIXIR.



Snímek Profimedia

1. SYNTHIA JCVI-syn1.0, první bakterie se syntetickým genomem (kopíí genomu *Mycoplasma mycoides*), představená v roce 2010 týmem kolem Craiga Ventera.

sdílené bakteriemi s velmi malými genomy, získáme soubor genů tvořící základ minimálního genomu. Odhady tohoto souboru na základě počítačových simulací skutečně konvergují k počtu 200 až 500 genů. Tyto geny můžeme označit za esenciální.

Pokud chceme ověřit, zda jsou nějaké geny esenciální, vyjdeme z malého genomu a postupně odstraňujeme jednotlivé geny nebo jejich skupiny. Geny, jejichž ztráta bakterie přežije, jsou pravděpodobně zbytečné. Ale pozor. V tomto kroku záleží na druhu, ze kterého vycházíme. Esenciální gen jednoho druhu může být nedůležitý pro druh jiný a naopak. Někdy záleží i na pořadí odstraňovaných genů, které určí, jak nakonec bude vypadat dále neredukovatelná

sada. Minimálních genomů tak můžeme navrhnout celou řadu. Zajímavé je, že asi u čtvrtiny genů z minimální sady neznáme přesnou funkci – a to i přesto, že kódují ty vůbec nejdůležitější buněčné funkce.

REKORDMANI V OBORU NEJMENŠÍCH GENOMŮ

Po seřazení všech dosud osekvenovaných organismů podle velikosti jejich genomů zjistíme, že nejmenší genomy mají symbionti včetně parazitů a patogenů (viz **tabulku**). To není překvapivé. Tyto organismy totiž mnoho potřebných stavebních látek čerpají od svých hostitelů. Obzvláště malé genomy nalezneme u symbiontů různých druhů hmyzu. Tito symbionti si nad rámec

minimálního genomu nechávají pouze geny pro syntézu některých základních živin, které chybějí v dietě hostitele (esenciálních aminokyselin, vitaminů či karotenoidů), případně obranných látek (flavonoidů a terpenoidů).

Opustíme-li hmyzí symbionty, nejmenší lidský patogen se jmenuje IOLA.¹ Jedná se o (dosud nekultivovanou) bakterii spojenou s dýchacím traktem. [3] Genom IOLA měří zhruba 300 tisíc bp a zahrnuje 310 genů. Tento lidský rekordman patří do skupiny rickettsií a z genů, které obsahuje, usuzujeme, že se jedná o vnitrobuněčného parazita. Za zmínku stojí také z genetického hlediska nejmenší eukaryotický organismus, mikrosporidie *Encephalitozoon intestinalis*. [2] Ta je rovněž vnitrobuněčným parazitem a její genom tvoří okolo 2,3 milionu párů bází s 1833 geny. Mikrosporidie jsou zajímavé také výjimečně vysokou hustotou genů. Jejich geny jsou v genomu natěsnané vedle sebe, a některé se dokonce překrývají, což je běžná věc u bakterií, ale ne u eukaryot. Právě to je důvodem, proč se často využívají jako modely pro studium zmenšování a zkompaktňování genomu.

Malé symbiotické genomy postupně ztrácejí mnoho funkcí a ponechávají si jen geny nutné pro kopírování DNA, její přepis

Genetické vodoznaky

PŘI SESTAVOVÁNÍ DNA z uměle vytvořených částí potřebujeme kontrolu, abychom tuto novou DNA spolehlivě odlišili od DNA přirozené. Dělá se to vložím speciálního kousku DNA, jakéhosi vodoznaku. V případě prvního umělého genomu Synthia (*M. mycoides* JCVI-syn1.0) vědci vložili do DNA celkem čtyři zašifrované vodoznaky. První byl kód HTML s instrukcemi, jak kontaktovat autory jako důkaz, že jste vodoznak nalezli a rozšifrovali. Ve druhém vodoznaku byl seznam autorů a citát od Jamese Joyce: „Žít, chybovat, padat a vítězit, vytvářet život ze života.“ Třetí byl citát Roberta Oppenheimera: „Nedívejte se na věci tak, jak jsou, ale jak by mohly být.“ A nakonec slavný citát Richarda Feynmana: „Co nedokážu vytvořit, tomu nemohu rozumět.“

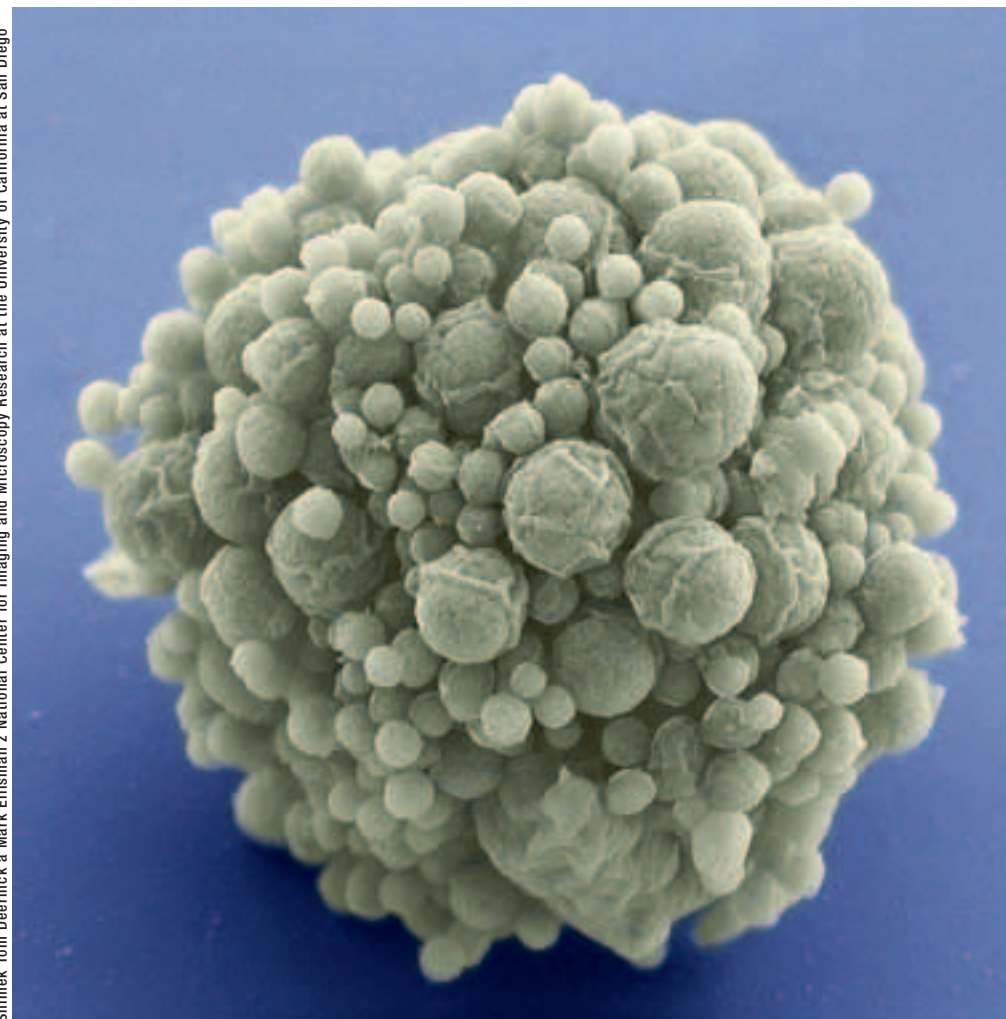
1) IOLA: Infectious Organism Lurking in human Airways; infekční organismus skrývající se v lidských dýchacích cestách.

a překlad do proteinů. Starat se o vlastní genetickou informaci a udržovat si tak určitou minimální nezávislost se zdá být pro organismy velmi důležité. Přesto se občas setkáme s případy, kdy bakterie ztratí zdánlivě esenciální gen a není jasné, jak může sama pokračovat v růstu a rozmnožování. U organismů takto závislých na svém hostiteli si můžeme klást otázku, jestli ještě jde o živé organismy. V tabulce se jedná například o *Candidatus Tremblaya princeps*, který je se svými 110 geny někde na hranici symbionta a nové organely. Některé buněčné organely, jako například mitochondrie, také kdysi byly samostatnými bakteriemi. Potom se ale usídlily uvnitř buněk svého hostitele a postupně ztratily většinu genů nebo je přesunuly do partnerova genomu (Vesmír 95, 354, 2016/6). Označujeme je proto za semiautonómni, ale už ne živé. Kdesi mezi vnitrobuněčným symbiontem a semi-autonómni organelou tak vede neostrá hranice mezi živým a neživým.

SYNTECKÁ BIOLOGIE

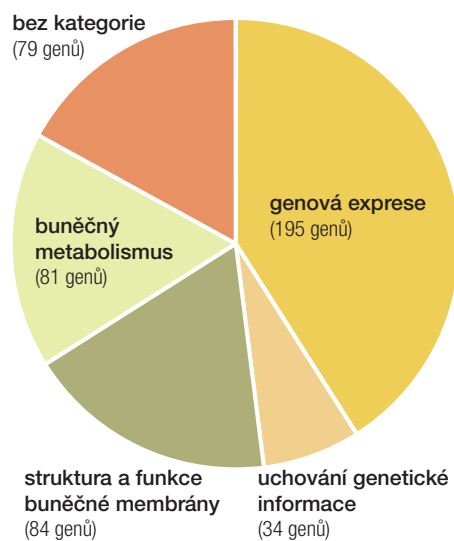
Zajímavý pohled na minimální genom nám poskytuje syntetická biologie. Již v roce 2010 představil tým vědců kolem Craiga Ventera uměle vytvořený organismus na bázi bakterie *Mycoplasma mycoides* a nazval ho Synthia (obr. 1). [4] DNA pro Synthii JCVI-syn1.0 byla sice syntetizována v laboratoři, ale obsahově šlo vlastně jen o kopii genomu mykoplazmy. Po tomto úspěšném testu tým navrhl, pořádně ještě na bázi mykoplazmy, skoro o polovinu redukovaný syntetický genom. Ve verzi JCVI-syn3.0 z roku 2016 je tento genom dlouhý 531 560 bp a obsahuje 473 genů [6] (obr. 2). Zajímavé je, že 149 genů (tedy zhruba 31 %) této umělé bakterie zatím nemá známou biologickou funkci, ačkoliv jsou nezbytné pro její fungování a přežívání. [1, 6] Některé lze alespoň zařadit do obecných funkčních kategorií. Je mezi nimi např. gen pro hydrolyzu, jejíž substrát ale neznáme. U desítek genů nevíme ani to (obr. 3, 4).

Minimální genom má velký význam i z hlediska biotechnologií. Některé bakterie, jako například *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* nebo *Streptomyces avermitilis*, jsou běžně upravovány tak, aby produkovaly bioprodukta, aminokyseliny, organické kyseliny, terapeutické látky či antibiotika. V roce 2010 molekulární biologové odstranili z genomu *S. avermitilis* velkou část chromozomu, která nekódovala žádné podstatné geny, a naopak do něj vnesli geny pro tvorbu antibiotik streptomycinu a cefamycinu C. Tyto redukované bakterie produkovaly mnohem více antibiotik než ty s původním genomem. *E. coli* se často využívá k syntéze proteinů, léků, inzulinu, vakcín a protilátek. Genom jednoho kmene této bakterie byl úspěšně zmenšen o 35,9 %, přičemž takto zredukovaná bakterie se na běžné živné půdě množí



2. GENOM synteticky připravené bakterie JCVI-syn3.0 odvozené od *Mycoplasma mycoides* obsahuje méně než 500 genů. Na snímku z elektronového mikroskopu je shluk buněk zvětšený 15 000x.

lépe než původní kmen. Obecně se tak dá říct, že bakterie s vhodně redukovaným genomem vykazují srovnatelný růst a vyšší produkci žádoucích látek než jejich



3. ROZDĚLENÍ 473 GENŮ Syn3.0 do čtyř hlavních skupin. Zbýlých 79 genů nemá přiřazenu kategorii.

Upraveno podle Hutchison C. A. III et al., Science, 2016, DOI: 10.1126/science.aad6253

neredukované původní verze. Snad proto, že se nemohou věnovat z našeho pohledu zbytným činnostem.

EVOLUCE MINIMÁLNÍHO GENOMU

Zajímavou otázkou je, zda organismům s minimálním, a zejména syntetickým genomem zůstává jedna z nejdůležitějších vlastností života - schopnost evoluce. Umělá bakterie JCVI-syn3.0 úspěšně přežívá na živném médiu. Jak dlouho se ale udrží a jaký bude osud jejich potomků v dalších generacích? Vzhledem k tomu, že je genom bakterie výrazně zmenšený, má evoluce málo prostoru pro zásah. Buňka nyní obsahuje pouze esenciální geny nezbytné k přežití, a mutace v libovolném genu by tak mohla vést ke smrti. Jak moc takový stav omezuje schopnost bakterie přizpůsobovat se prostředí?

V zajímavé studii z loňského roku autoři zjistili, že Synthia JCVI-syn3.0 má zdatnost zhruba o polovinu horší než původní mykoplazma. [7] Stačilo ji ale nechat přirozeně vyvíjet pouhých 2000 generací, aby se její zdatnost vrátila na hodnotu srovnatelnou. A nejen to. Když autoři měřili rychlost

genom	popis	velikost (kb = tisíc bází)	počet genů kódujících proteiny
<i>Mycoplasma genitalium</i>	lidský patogen	580 kb	470
<i>Riesia pediculicola</i>	obligátní symbiont vši	575 kb	468
<i>Candidatus Baumannia cicadellincola</i>	obligátní symbiont ostrostřelců	686 kb	433
<i>Blattabacterium</i>	obligátní symbionti švábů	590–641 kb	473–588
<i>Blochmannia</i>	obligátní symbionti tesařských mravenců	583–610 kb	447–612
<i>Buchnera aphidicola</i>	obligátní symbiont mšice hrachové	642 kb	469
<i>Candidatus Carsonella ruddii</i>	obligátní symbiont mer	160 kb	182
<i>Candidatus Hodgkinia cicadicola</i>	symbiont cikád	143 kb	189
<i>Candidatus Ishikawaella capsulatus</i>	symbiont ploščic	754 kb	675
<i>Moranella endobia</i>	žije uvnitř bakterií <i>Tremblaya princeps</i> , symbiontů vlnatek	538 kb	401
<i>Nasuia deltocephalinicola</i>	obligátní endosymbiont listonožů	112 kb	137
<i>Candidatus Portiera aleyrodidarum</i>	obligátní symbiont molice	281 kb	261
<i>Candidatus Proffetta armatura</i>	symbiont mer asijských citrusů (<i>Diaphorina citri</i>)	465 kb	350
<i>Candidatus Sulcia muelleri</i>	obligátní symbiont kříš	190–248 kb	189
<i>Candidatus Tremblaya princeps</i>	obligátní symbiont vlnatek	137 kb	110
<i>Candidatus Uzinura diaspidicola</i>	obligátní symbiont červců	263 kb	226
<i>Wigglesworthia</i>	obligátní symbiont much tse-tse	698–720 kb	637
<i>Candidatus Zinderia insecticola</i>	obligátní symbiont pěnodějkovitých	208 kb	202

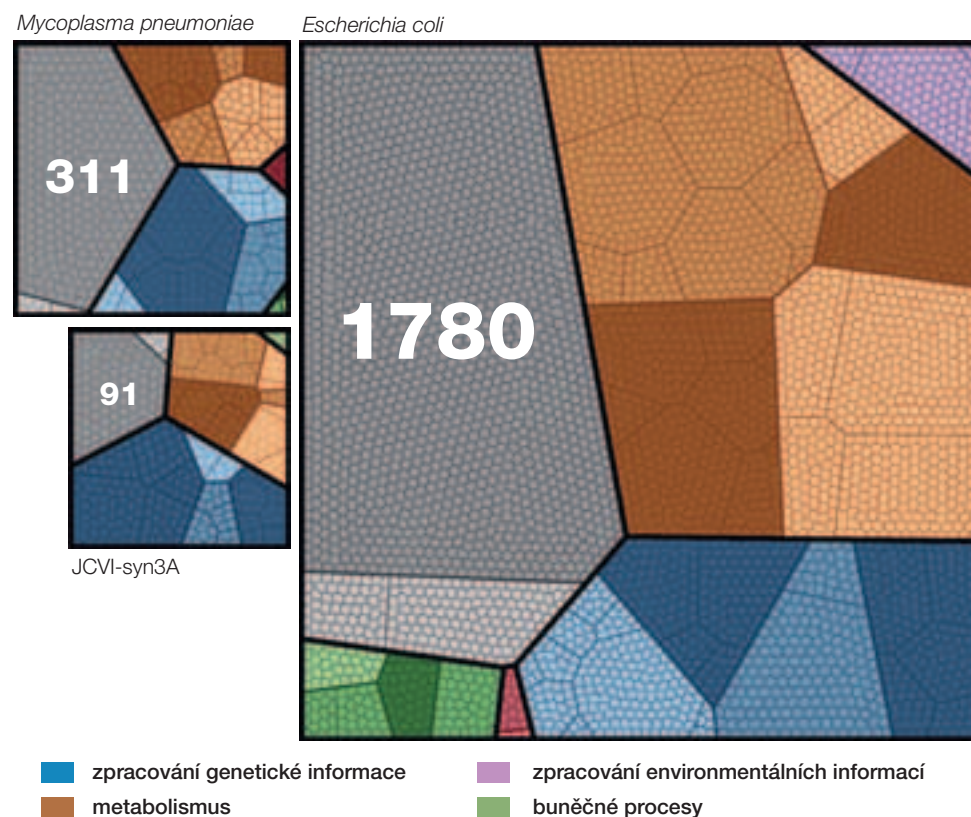
PŘÍKLADY MALÝCH GENOMŮ. Symbiózou zde myslíme úzké soužití dvou a více organismů, ať už pro oba partnery výhodné, nebo pro jednoho z partnerů nevýhodné. Obligátní symbionti dokážou žít pouze ve vztahu s jiným organismem a plně na něm závisí při růstu a rozmnožování. Fakultativní symbionti dokážou přežít v symbiotickém vztahu i bez něj.

změn, s překvapením zjistili, že Synthia se vyvíjí rychleji než její příbuzní s původním genomem. Seznam nejrychleji se měnících genů je také zajímavý. Očekávali bychom hlavně změny v transportních

mechanismech, protože právě na transportu živin je minimální buňka zcela závislá. Nejvíce a nejrychleji se ale měnily geny pro syntézu mastných kyselin nutných k tvorbě buněčných membrán. A také geny potřebné

pro dělení buněk. Minimální genom si tedy očividně zachovává schopnost podléhat přirozenému výběru.

Tyto výsledky spolu s dalšími teoretickými úvahami i praktickými pokusy týkajícími se minimálního genomu ukazují, že základní atributy života nemusí být extrémně složité. Asi půl milionu písmenek genetického zápisu a několik stovek genů zřejmě stačí k docela dobře fungujícímu živému organismu. Za vhodných kontrolovaných podmínek i méně. To dává dohromady důležitý příspěvek k porozumění životu v biologickém slova smyslu, stejně jako k úvahám o vzniku života či o jeho existenci na jiných planetách. Zkoumání minimálních genomů nám otevírá úplně nové způsoby, jak na tyto otázky nahlížet, a v budoucnu snad přinese i dlouho hledané odpovědi. ●



■ zpracování genetické informace ■ zpracování environmentálních informací
■ metabolismus ■ buněčné procesy

4. POROVNÁNÍ GENŮ kódujících protein u JCVI-syn3A (upravené verze původního JCVI-syn3.0), *M. pneumoniae* a *E. coli*, které mají celkem 452, 688, respektive 4637 genů. Barvy reprezentují pět hlavních funkčních kategorií, jednotlivé odstíny odpovídají různým podkategoriím. Šedé oblasti a čísla v nich reprezentují geny s neznámou funkční kategorií.

[K dalšímu čtení...](#)

- Antczak M. et al.: Environmental conditions shape the nature of a minimal bacterial genome. Nat. Commun. 10, 3100, 2019, DOI: 10.1038/s41467-019-10837-2.
- Corradi N. et al.: The complete sequence of the smallest known nuclear genome from the microsporidian *Encephalitozoon intestinalis*. Nat. Commun. 1, 77, 2010, DOI: 10.1038/ncomms1082.
- Fukuda K. et al.: A human respiratory tract-associated bacterium with an extremely small genome. Commun. Biol. 4, 628, 2021, DOI: 10.1038/s42003-021-02162-6.
- Gibson D. G. et al.: Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome. Science 329, 52, 2020/5987, DOI: 10.1126/science.1190719.
- Gil R. et al.: Determination of the core of a minimal bacterial genome set. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 68, 518, 2004/3, DOI: 10.1128/MMBR.68.3.518-537.2004.
- Hutchison C. A. III et al.: Design and synthesis of a minimal bacterial genome. Science 351, 25, 2016/ 6280, DOI: 10.1126/science.aad6253.
- Moger-Reischer R. Z. et al.: Evolution of a minimal cell. Nature 620, 122, 2023/7972, DOI: 10.1038/s41586-023-06288-x.