

Klasické experimenty v genetike

Na ceste k odhaleniu tajomstiev dedičnosti

Lubomír Tomáška

Filip Brázdovič

Filip Červenák

Juraj Krajčovič

Andrea Ševčovičová

Andrea Cillingová

Roman Dušínský

Vladimíra Džugasová

Eliška Gálová

Katarína Juríková

Eva Miadoková

Jozef Nosek

Katarína Procházková

Regina Sepšiová

Miroslava Slaninová

Miroslav Švec

Július Šubík

Daniel Vlček

Klasické experimenty v genetike: Na ceste k odhaleniu tajomstiev dedičnosti
(vydanie prvé)

Autori:

Lubomír Tomáška
Filip Brázdovič
Filip Červenák
Juraj Krajčovič
Andrea Ševčovičová
Andrea Cillingová#
Roman Dušínský
Vladimíra Džugasová
Eliška Gálová
Katarína Juríková
Eva Miadoková
Jozef Nosek#
Katarína Procházková
Regina Sepšiová
Miroslava Slaninová
Miroslav Švec
Július Šubík
Daniel Vlček

Katedry genetiky a #biochémie

Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

Dizajn obálky: Henrieta Dudeková

Dizajn web stránky (https://fns.uniba.sk/klasicke_experimenty/): Roman Dušínský

Recenzenti:

Prof. RNDr. Jiřina Relichová, CSc., Masarykova univerzita, Brno

Prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc., Masarykova univerzita, Brno

Vydavateľ:

Mill Valley Publishing House (MVPH)

CreateSpace Independent Publishing Platform, 2015

Vyšlo s podporou *Genetickej spoločnosti Gregora Mendela* a občianskeho združenia *Natura* pri príležitosti 150. výročia vystúpenia Gregora Mendela v Brnianskom prírodovednom spolku.

Rozsah: 242 strán [14,2 AH]

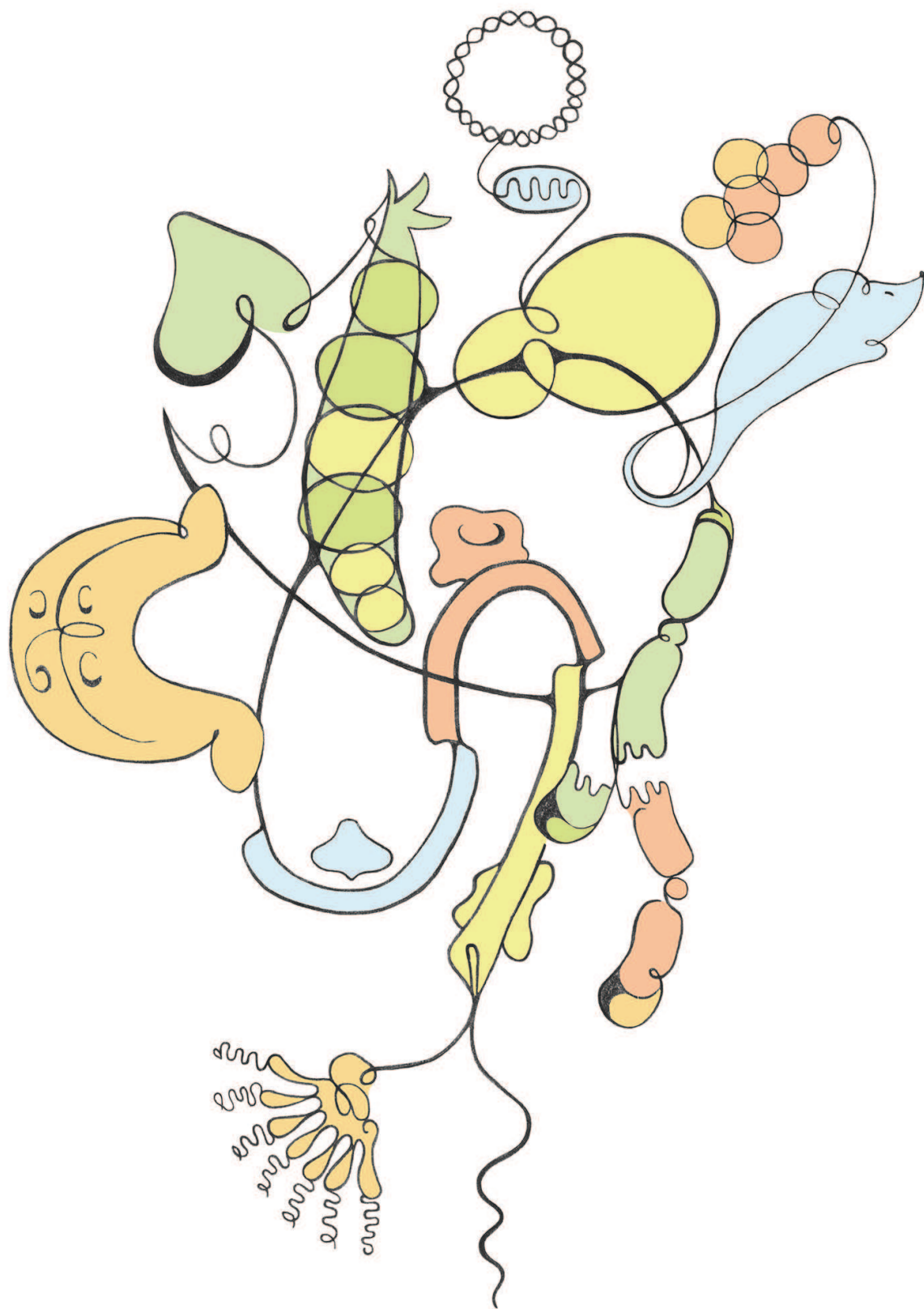
ISBN: 978-1511481717

Copyright © 2015, Autori



„Vidíme viac a ďalej ako naši predchodcovia; nie preto, že máme lepší zrak, alebo že sme vyšší, ale preto, že stojíme na pleciach ich vysokých postáv.“

Bernard of Chartres (12. storočie)



Pod'akovanie

Ďakujeme Henriete Dudekovej za dizajn obálky a recenzentom prof. Jiřine Relichovej a prof. Jiřimu Doškařovi za cenné rady a pripomienky. Kniha vznikla s finančnou podporou *Genetickej spoločnosti Gregora Mendela* a občianskeho združenia *Natura*.

Obsah

Predslov	9
1. Úvod: Názory na mechanizmy dedičnosti pred rokom 1865	13
2. <i>Základy mendelovskej genetiky</i>	17
2.1. Základné mechanizmy dedičnosti možno vysvetliť jednoduchými pravidlami	18
Mendel, G. (1866). Versuche über Pflanzen-Hybriden. <i>Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn</i> 4: 3 – 47.	
2.2. Intermezzo: Traja botanici (znovu)objavujú pravidlá dedičnosti	28
de Vries, H. (1900). Sur la loi de disjonction des hybrides. <i>Comptes Rendus de l'Academie des Sciences</i> 130: 845 – 847.	
Correns, C. (1900). G. Mendel's Regel über das Verhalten der Nachkommenschaft der Rassenbastarde. <i>Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft</i> 18: 158 – 168.	
Tschermak von Seysenegg, E. (1900). Über künstliche Kreuzung bei <i>Pisum sativum</i> . <i>Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft</i> 18: 232 – 239.	
2.3. Gény sú lokalizované na chromozónoch	36
Morgan, T.H. (1910). Sex limited inheritance in <i>Drosophila</i> . <i>Science</i> 32: 120 – 122.	
3. <i>Mechanizmy tvorby genetickej variability</i>	49
3.1. Mutácie je možné indukovať žiarením	50
Muller, H.J. (1928). Artificial transmutation of the gene. <i>Science</i> 66: 84 – 87.	
3.2. Mutácie vznikajú náhodne I: Fluktuálny test	58
Luria, S.E., Delbrück, M. (1954). Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. <i>Genetics</i> 28: 491 – 511.	
3.3. Mutácie vznikajú náhodne II: Pečiatkovacia technika	66
Lederberg, J., Lederberg, E.M. (1954). Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. <i>J. Bacteriol.</i> 63: 399 – 406.	
3.4. Chromozómy bez telomér vstupujú do cyklu fúzií a zlomov	72
McClintock, B. (1941). The stability of broken ends of chromosomes in <i>Zea mays</i> . <i>Genetics</i> 26: 234 – 282.	
3.5. Niektoré genetické elementy sa dokážu premiestňovať	80
McClintock, B. (1951). Mutable loci in maize. <i>Carnegie Institution of Washington Yearbook</i> 50: 174 – 181.	
4. <i>Mikroorganizmy ako model pre štúdium molekulárnych základov dedičnosti</i>	87
4.1. Gény kontrolujú biochemické reakcie	88
Beadle, G.W., Tatum, E.L. (1941). Genetic control of biochemical reactions in <i>Neurospora</i> . <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 27: 499 – 506.	

4.2.	Špecifický spôsob pohlavného rozmnožovania a rekombinácia génov sú aj u baktérií	96
	Lederberg, J., Tatum, E. L. (1946). Novel genotypes in mixed cultures of biochemical mutants of bacteria. <i>Cold Spring Harbor Symp. Quat. Biol.</i> 11: 113 – 122.	
4.3.	DNA dokáže zmeniť genetické vlastnosti baktérií	106
	Avery, O.T., MacLeod, C.M., McCarty, M. (1944). Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of <i>Pneumococcal</i> Types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from <i>Pneumococcus</i> Type III. <i>J. Exp. Med.</i> 79: 137 – 158.	
4.4.	Molekula DNA je nositeľkou genetickej informácie	118
	Hershey, A.D., Chase, M. (1952). Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. <i>J. Gen. Physiol.</i> 36: 39 – 56.	
5.	<i>Mechanizmy uchovávaní a prenosu genetickej informácie</i>	127
5.1.	Zastúpenie jednotlivých báz v DNA je možné vyjadriť jednoduchými pravidlami	128
	Chargaff, E., Vischer, E., Doniger, R., Green, C., and Misani, F. (1949). The composition of the desoxypentose nucleic acids of thymus and spleen. <i>J. Biol. Chem.</i> 177: 405 – 416.	
5.2.	Replikácia DNA prebieha semikonzervatívnym spôsobom	134
	Meselson, M., Stahl, F.W. (1958). The replication of DNA in <i>Escherichia coli</i> . <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 44: 671 – 682.	
5.3.	DNA poškodenú UV žiarením je možné opraviť pomocou špecifických enzýmov	140
	Rupert, C.S., Goodgal, S.H., Herriott, R.M. (1957). Photoreactivation <i>in vitro</i> of ultraviolet inactivated <i>Hemophilus influenzae</i> transforming factor. <i>J. Gen. Physiol.</i> 41: 451 – 471.	
5.4.	RNA je sprostredkovateľom toku genetickej informácie z DNA k ribozómom	150
	Brenner, S., Jacob, F., Meselson, M. (1961). An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. <i>Nature</i> 190: 576 – 581.	
5.5.	Genetický kód je tvorený trojicami nukleotidov determinujúcimi špecifické aminokyseliny	160
	Nirenberg, M.W., Matthaei, H.J. (1961). The dependence of cell – free protein synthesis in <i>E. coli</i> upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 47: 1588 – 1602.	
5.6.	Syntéza bakteriálnych enzýmov je regulovaná	166
	Pardee, A.B., Jacob, F., Monod, J. (1959). The genetic control and cytoplasmic expression of „inducibility“ in the synthesis of β -galactosidase by <i>E. coli</i> . <i>J. Mol. Biol.</i> 1: 165 – 178.	
5.7.	Crossing-over a génová konverzia sú prepojené a prebiehajú iba na dvoch chromatidách	174

Holliday, R. (1964). A mechanism for gene conversion in fungi.
Genet. Res. 5: 282 – 304.

6.	<i>Základy mimojadrovej dedičnosti</i>	183
6.1.	Plastidy sú nositeľmi dedičných faktorov, ktoré môžu mutovať	184
	Baur, E. (1909). Das Wesen und die Erblchkeitsverhältnisse der „Varietates albomarginatae hort“ von <i>Pelargonium zonale</i> . <i>Zeitschrift für induktive Abstammungs-und Vererbungslehre</i> 1: 330 – 351.	
6.2.	Dedičné faktory sú lokalizované aj mimo jadra a ich prenos na potomstvo neprebíha podľa Mendelových pravidiel	192
	Correns, C. (1909). Vererbungsversuche mit blass(gelb)grünen und buntblättrigen Sippen bei <i>Mirabilis jalapa</i> , <i>Urtica pilulifera</i> und <i>Lunaria annua</i> . <i>Zeitschrift für induktive Abstammungs-und Vererbungslehre</i> 1: 291 – 329.	
6.3.	V cytoplazme sa nachádzajú dedičné faktory determinujúce schopnosť bunkovej respirácie	200
	Ephrussi, B., Margerie-Hottinguer, H., Roman, H. (1955). Suppressiveness: A new factor in the genetic determinism of the synthesis of respiratory enzymes in yeast. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 41: 1065 – 1071.	
6.4.	V mitochondriách kvasiniek sa nachádza DNA	208
	Schatz, G., Haslbrunner, E., Tuppy, H. (1964). Deoxyribonucleic acid associated with yeast mitochondria. <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 15: 127 – 132.	
7.	<i>Genetika a evolúcia</i>	217
7.1.	Evolúcia je zmena frekvencie alel v genofonde populácie	218
	Dobzhansky, T. (1948). Genetics of natural populations. XVI. Altitudinal and seasonal changes produced by natural selection in certain populations of <i>Drosophila pseudoobscura</i> and <i>Drosophila persimilis</i> . <i>Genetics</i> 33: 158 – 176.	
7.2.	Frekvencie genotypov v populácii je možné popísať jednoduchými pravidlami	228
	Hardy, G.H. (1908). Mendelian proportions in a mixed population. <i>Science</i> 28: 49 – 50.	
Príloha	Chronológia objavov v genetike do roku 1965	237

KEĎ GREGOR MENDEL V ROKU 1865 na dvoch stretnutiach Brnianskeho prírodovedného spolku (8. februára a 8. marca) predniesol výsledky svojej niekoľkoročnej práce s krížením rôznych odrôd hrachu, u publika sa stretol s relatívne vlažnou odozvou. Podobne skromný ohlas mala aj jeho publikácia *Versuche über Pflanzen-Hybriden* v nemecky vydávanom časopise *Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn*. Na fakt, že základné pravidlá dedičnosti je možné formulovať jednoduchou štatistickou analýzou krížencov hrachu, vtedajšia komunita prírodovedcov ešte nebola pripravená. V tom istom roku, ako ho brnianski kolegovia zvolili za podpredsedu svojho spolku, Mendel prezentoval výsledky kríženia jastrabníka (*Hieracium*). Jeho zámerom bolo, podľa odporúčania vtedajšej autority Carla Nägeliho, použiť namiesto hrachu tento rastlinný druh na dôkaz univerzálnosti svojich pravidiel. Netušiac, že jastrabník sa rozmnožuje apomikticky, sám spochybnil svoje výsledky z roku 1865. Podobne neinterpretovateľné boli aj jeho výsledky z kríženia včiel, nielen kvôli technickej náročnosti, ale hlavne pre veľmi neštandardný spôsob determinácie pohlavia. To však Mendel nemohol vedieť, a tak sa po zvyšok svojej kariéry, pokiaľ mu to dovoľovala jeho funkcia opáta, venoval predovšetkým meteorologickým pozorovaniam.

Podobná situácia, keď objav predbehol svoju dobu, nastala v histórii genetiky ešte niekoľkokrát. Hoci sa intervaly medzi zásadnými objavmi a ich akceptovaním postupne skracovali, nekonformní bádatelia to v histórii genetiky nemali jednoduché. Mendelove pravidlá na svoje znovuobjavenie de Vriesom, Corrensom a Tschermakom von Seyseneggom čakali viac ako 30 rokov. Úloha chromozómov ako „nosičov génov“ bola akceptovaná s veľkým časovým odstupom po formulovaní tejto hypotézy Edmondom B. Wilsonom (paradoxne, Thomas H. Morgan, ktorý chromozómovú teóriu dedičnosti dokázal, bol spočiatku jej veľkým oponentom). Podobne od objavu DNA ako „transformačného princípu“ Averym, MacLeodom a McCarthym (1944) uplynulo takmer 10 rokov, kým Francis Crick a James Watson s výrazným príspevom Rosalindy Franklinovej a Mauricea Wilkinsa popísali jej štruktúru a odštartovali zlatú éru molekulárnej genetiky.

Práve zásadným objavom, ktoré dnes predstavujú klasické experimenty v genetike, je venovaná táto kniha. Našou ambíciou je prezentované experimenty popísať v kontexte poznatkov, ktoré boli k dispozícii v dobe ich realizácie, a tak vyzdvihnúť ich význam pre posun celej vednej oblasti. Snažíme sa tiež predstaviť hlavných aktérov a naznačiť, čo práve ich viedlo k objavom takého dôležitého významu. Majú niečo spoločné? Talent? Vzdelanie? Podobnú rodinnú históriu? Príslušnosť k istému typu inštitúcií? Šťastie? Experimenty popisujeme vo forme jednoduchých schém. Hoci nie sú triviálne, práve fakt, že je možné ich popísať na pár riadkoch, ilustruje, že ich spoločným menovateľom nie je špičková a iným nedostupná technika, ale originálna myšlienka, technická invencia a odvaha k neštandardným interpretáciám. Náročnejší čitatelia si iste radi prečítajú aj pôvodné články, ktoré sú dostupné na [www stránke](#), ktorá knihu prezentuje.¹ V poznámkach pod čiarou je tiež možné nájsť odkazy na ďalšie zdroje informácií.²

Uvedomujeme si, že zoznam experimentov uvedených v našej knižke zďaleka nie je úplný. Počas 150 rokov od uverejnenia Mendelovho článku bolo publikovaných veľa ďalších prelomových prác, ktoré viedli k našim súčasným predstavám o mechanizmoch dedičnosti. Tým, ktorí sa chcú dozvedieť o histórii genetiky detailnejšie informácie, odporúčame prečítať si niektorú zo skvelých zahraničných monografií.³ Naš výber experimentov je vyjadrením subjektívnej preferencie jednotlivých autorov. Vychádzali sme z predpokladu, že afinita autora k príslušnému experimentu sa prejaví aj na kvalite jeho textu. Pravdaže štýl, ktorým sú jednotlivé kapitoly napísané, je do istej miery heterogénny a odráža spôsob vyjadrovania sa jednotlivých autorov. Veríme však, že to nie je negatívum; veď aj jednotlivé experimenty sú značne rôznorodé, tak ako sú rôzne osudy vedcov, ktorí ich realizovali.

Pragmatik môže mať otázku, načo je dobré poznať históriu experimentov, ktoré označujeme ako klasické. Nestačí si v učebniciach prečítať fakty, ktoré z výsledkov týchto experimentov vyplynuli? Načo strácať čas so zastaralými experimentálnymi postupmi a metódami, ktoré dnes už nikto nepoužíva? Takýto čitateľ má do istej miery pravdu. V dnešnej dobe exponenciálneho rastu poznatkov je veľkou didaktickou dilemou, čo z nich pre študentov vybrať a pripraviť ich tak čo najlepšie pre profesionálnu kariéru. Popisovanie histórie objavov oberá učiteľov i študentov o čas, ktorý by mohli venovať aktuálnym problémom, teda tým, na riešenie ktorých ich má štúdium nasmerovať.

¹ https://fns.uniba.sk/klasicke_experimenty/. Prístupové heslo je uvedené na poslednej strane knihy.

² Pomerne veľa ďalších originálnych prác z genetiky je tiež prístupných na <http://www.esp.org>.

³ Judson, H.F. (1996). *The eighth day of creation: Makers of the revolution in biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sturtevant, A.H. (2001). *A history of genetics*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Carlson, E.A. (2004). *Mendel's legacy. The origin of classical genetics*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Schwartz, J. (2008). *In pursuit of the gene. From Darwin to DNA*. Harvard University Press, Cambridge, MA. História biológie pred rokom 1900 je veľmi dobre spracovaná v Rádl, E. (1909). *Die Geschichte der biologischen Theorien*. Český preklad, Dějiny biologických teorií novověku. I. a II. díl, Academia, 2006.

Pochopiť význam aktuálnych problémov však nie je možné bez aspoň minimálnej vedomosti o ich pôvode. Preto je štúdium histórie tak dôležité pre porozumenie súčasnosti: osobnej (mnohé sa o sebe dozvedáme z našich rodokmeňov), spoločnosti (v dôsledku odlišnej histórie vedie podobný politický systém v rôznych krajinách k rôznym výsledkom), ale i vednej disciplíny, akou je genetika. Preto je mottom tejto knihy výrok Bernarda de Chartresa. Stojíme na pleciach našich predchodcov a aby sme získali väčšiu istotu a videli čo najďalej, treba týchto predchodcov poznať.

História je plná nesmierne zaujímavých príbehov ľudí, ktorí boli jej osudovými hýbateľmi. Mala by to ilustrovať aj táto knižka, ktorú sme písali s nádejou, že niektorí z jej mladých čitateľov sa k takýmto hýbateľom dejín genetiky v skorej budúcnosti zaradia. Držíme im palce.