

# Psi a genetika

Díl 49.

## Za porozuměním variability plemen psů a jejich života

ing. Jaromír Dostál, DrSc.

### MIMOJADERNÁ DĚDIČNOST

Základním stavebním kamenem všech živých organismů je buňka. Je ohraničena plazmatickou membránou. Uvnitř buňky je protoplazma. Od samotných počátků studia a vývoje genetiky byla soustředována fakta o dědičnosti a proměnlivosti některých mimojaderných struktur. Proto byl genetický materiál rozlišován na genom zahrnující *genetickou informaci jádra a plazmon*, který souborně označoval všechny mimojaderné, geneticky aktivní, buněčné struktury.

Při studiu mimojaderné dědičnosti je úkolem vědců nejen stanovit příslušné, zodpovědné buněčné struktury, ale i provést vlastní genetickou analýzu a popsat způsob dědičnosti. Genetický přístup k těmto studiím vyžaduje přesné diference mezi výchozími rodičovskými populacemi. Těchto příkladů je ovšem v přírodě málo. Vzniklé mutace v genetických strukturách mimojaderné dědičnosti postihují důležité životní procesy buněk a jsou letální (způsobují buněčnou smrt). Proto jsou mechanismy mimojaderné dědičnosti prostudovány relativně méně. Jejich působnost je však orientována na regulaci buněčného metabolismu (mitochondrie u živočichů a plastidy u rostlin) a na sféru kontroly skladby fibrálních struktur buňky (cytoskelet - architekturu buňky).

Buňka obsahuje celou řadu organel. Všechny organely jsou obklopeny membránou.

*Z nich jsou pro živočišnou buňku důležité:*

■ **Buněčné jádro** je největší buněčnou organelou. V přenosu genetické informace hraje nejdůležitější úlohu DNK buněčného jádra. Nazývá se *jaderná DNK* nebo chromozomální DNK. Struktura této DNK kóduje všechny znaky a vlastnosti organismů. O nich jsme si až doposud ve všech případech pojednávali. Celý sled biochemických reakcí od genu, kterým je určitý úsek DNK, až po znak či vlastnost, je velmi složitý a nebudeme si jej podrobněji vysvětlovat. Pro naši potřebu postačí jen, že v DNK je zakódována struktura všech znaků a vlastností, tato struktura je transkribována do RNK a v ribozomech je dále přepisována do proteinů. Proteiny - enzymy vstupují do dalších reakcí, jejichž výsledkem jsou znaky a vlastnosti všech organismů.

■ **Mitochondrie** jsou organely o velikosti

0,3 x 0,5  $\mu\text{m}$ . Jsou to „elektrárny“ buňky, kde je produkován ATP (adenosintrifosfát), chemická látka, která je zdrojem energie pro buňku jako benzin je zdrojem energie pro auto. Počet mitochondrií je v buňkách různý podle toho, jakou mají funkci. Kolísá od několika po deset tisíc mitochondrií. Mitochondrie mají svůj vlastní genom, svoji vlastní DNK (mtDNK). Lidská mitochondriální DNK má 16 569 bází, je kruhová a tvoří dvoušroubovici jako DNK jaderná (nDNK). Mitochondriální DNK obsahuje 37 genů. Z nich jsou 2 geny kódující složení ribozomální RNK (rRNK), 22 genů kódujících strukturu transferové RNK (tRNK) a 13 genů kódujících polypeptidy elektron transportního řetězce. Další 80 genů kódujících další polypeptidy tohoto řetězce obsahuje jaderná DNK. Tyto polypeptidy jsou transportovány do mitochondriální membrány, kde tvoří složku komplexu enzymů nutných k zajištění všech důležitých reakcí mitochondrií. *Funkční mitochondrie proto také nutně vyžadují velmi dokonalou koordinaci biologických procesů s jadernou DNK.*

Genetika mitochondriální DNK je poněkud odlišná od genetiky nukleární DNK. Mitochondriální DNK je přenášena převážně *maternálně (z matky na potomstvo)*, odlišně segreguje během přímého a nepřímého dělení buněk a má vysoký stupeň substituce nukleotidů (náhrada jedné báze za jinou) a mutací.

I když se toto vysvětlení zdá velmi složité a některé genetické výrazy jsme si nevysvětlili, pro chov můžeme udělat jednoduchý závěr: Mitochondriální geny nás nemusí příliš zajímat. Složitě vysvětlení funkce mitochondriální DNK bylo popsáno proto, že někteří chovatelé této mimojaderné dědičnosti přikládají význam i při dědičnosti znaků a vlastností. *Již z výčtu mitochondriálních genů a jejich funkce je jasné, že znaky a vlastnosti nekontrolují.*

Protože je mitochondriální DNK přenášena převážně maternálně, předpokládalo se, že je příčinou jevu, který je nazýván *matroklinita*. Všichni tento jev známe. Je příčinou toho, že potomek velké matky a malého otce je větší než potomek malé matky a velkého otce. U psů je to nejčastěji pozorováno u kříženců, protože v čistokrevné plemenitbě

tento jev není tak výrazný. Každému je však jasné, že fena německého ovčáka krytá jezevčíkem bude mít větší štěňata než kdyby fena jezevčika byla kryta nebo inseminována semenem německého ovčáka. Za matroklinitu není DNK mitochondrií odpovědná. Tento mateřský efekt je spíše v důsledku biologické velikosti matky, jejího organismu, a je výsledkem působení celé řady činitelů.

Další výzkumy oplození ukázaly mimo jiné, že spermie má rovněž mitochondrie ve své spojovací části a tato spojovací část postupuje spolu s hlavičkou spermie do samičího oocyty. Jak se mitochondrie spermie účastní dalšího vývoje embrya, však není dostatečně prozkoumáno.

Mnoho studií na lidských a zvířecích buňkách dokázalo, že proces stárnutí je spojen se změnami bioenergetických funkcí organismu, sníženou odolností ke stresu a zvýšenou vnímavostí k chorobám. Většina těchto charakteristik a jevů postupně vzniká se stárnutím orgánů a buněk, která je spojena se zvýšením počtu mutací v mitochondriální DNK, poruch v oxidačních reakcích, poruchách ve struktuře proteinů a defektních mitochondriích v buňkách somatických tkání. Všechna taková studia ukazují, že vnější i vnitřní faktory, které jsou příčinami oxidačních stresů, mitochondriálních defektů, poškození antioxidantů a systémů zabezpečujících opravy různě poškozené DNA, stejně jako poruchy degradačních aktivit proteinů pravděpodobně přispívají k jevům, které souborně nazýváme stárnutí.

■ **Endoplazmatické retikulum** je místem vzniku většiny složek buněčné membrány i materiálů určených pro export z buňky.

■ **Golgiho aparát** přijímá a mění molekuly, které byly nasyntetizovány v endoplazmatickém retikulu, a nasměruje je pro vyloučení z buňky do okolí nebo je pošle do jiných buněčných částí.

■ **Lyzozomy** jsou malé nepravidelné útvary, ve kterých probíhají procesy buněčného trávení. Zde jsou uvolňovány živiny z různých částic potravy a nevyužitelné odbourané látky se buď dále štěpí pro recyklaci, nebo jsou připravovány pro vyloučení z buňky jako nepotřebné.

■ **Peroxisomy** jsou rovněž malé organely ohraničené membránou, kde probíhají reak-

ce na odbourávání vzniklého peroxidu vodíku.

■ Součástí buňky je dále **cytosol**. Cytosol není organela. Je to koncentrovaný vodný gel malých a velkých molekul. Ten tvoří největší podíl buňky. Je místem pro celou řadu chemických reakcí v buňce a je základem jejího života. V cytosolu jsou malé částice, které fungují jako továrny na výrobu proteinů podle struktury RNK, a jsou to ty již výše uvedené ribozomy.

Z uvedeného je dále zcela zřejmé, že o žádnou další mimojadernou dědičnost se nejedná. Žádná z dalších součástí buňky neobsahuje DNK.

## OVĚŘOVÁNÍ PŮVODU U PSŮ

Nové metody určování biochemických polymorfních znaků a krevních skupin byly úspěšně rozpracovány v šedesátých letech dvacátého století. Jejich praktické využití bylo pro FCI signálem pro detailní identifikaci jedinců pro všechny chovatelské účely. Víme, že genotyp žádného jedince se nemění během celého jeho života. Proto mohou tyto genetické znaky velmi dobře sloužit jako unikátní a nezaměnitelné márkry. Mimoto je možnost jejich využití pro ověření původu kdykoliv, kdy je to třeba. Snahou všech poctivých chovatelů psů na celém světě je zakládat a vést chov jen na pravých jedincích, u kterých je záruka původu. Jen takoví jedinci mohou sloužit ke šlechtitelské práci a jen takové populace plemen se hodí ke všem dalším populačním kalkulacím, jako je odhad genofondu, stanovení plemenné hodnoty, rozvoje chovu a další, o kterých jsme již dříve popsali mnoho stránek časopisu.

Poslední léta došlo k obrovskému rozvoji metod analýzy DNK. Dnes jsou již známé biochemické struktury celé řady funkčních genů a jejich mutací, které jsou přímo zodpovědné za syntézu defektního enzymu a vývoje genetické choroby nejen u psů. Například gen označený RPE65 obsahuje 1724 nukleotidů (bází) Tento gen kóduje strukturu proteinu RPE65, který má 533 aminokyselin ve svém řetězci a je velmi důležitou složkou sítnice oka u všech savců. Jeho neporušená struktura je důležitá pro vazbu enzymů štěpících látku cGMP, ze které je získávána energie na přenos signálu z oka do mozku a tedy normální schopnost vidění. U člověka i u jednoho z plemen psů – briardů – mutace tohoto genu, charakteristická delecí (ztrátou) 4 nukleotidů z uvedených 1724, je příčinou slepoty. Víme již, že jsou to báze AAGA v pozici 478 až 490 struktury genu RPE65. Tuto mutaci lze již poměrně jednoduchými metodami nejen zjistit, ale bylo již na světě uděláno několik

pokusů, kdy byl slepému psu injekčně vpraven „zdravý“ gen pomocí neškodného viru označovaného AAV do oka a uvádí se, že bylo psovi restaurováno vidění na dlouhou dobu. Tyto pokusy na slepých psech jsou velmi nadějně do budoucnosti, protože vedou ke genetické terapii takové dědičné slepoty i u člověka.

Tyto strukturální studie DNK psů pomohli popsat další množství polymorfních oblastí vhodných pro dokonalou identifikaci jedince a ověření jeho původu. Dnes je popsáno více než 150 000 tzv. mikrosatelitových úseků DNK, márků dvou, tří a čtyřalelových, které dávají již nevypočítatelné množství kombinací. To znamená, že je již možné najít skutečné rodiče psa mezi desítkami tisíc jedinců. Samozřejmě je to jen otázkou výběru metod a nákladů na takovou analýzu. Ale i jednoduché použití poměrně levných polymorfních znaků při ověřování původu přináší požadované výsledky.

## Několik příkladů z praxe:

### ◆ DVA OTCOVÉ A JEDNA MATKA

Nezkušený chovatel českých fousků byl s fenou u krytí psa rovněž málo zkušeného majitele. Pes fenu kryl, ale nesvázali se spolu. Majitel psa poradil chovateli, aby to zkusil u jiného psa, protože se domníval, že z takového krytí nemohou být žádná štěňata. Chovatel nechal tedy ještě ten samý den krytí fenu jiným psem. Opět nedošlo ke svázání. Majitel druhého psa chovateli řekl, že jeho fena je „asi nějaká vadná“, ať se štěňata vzdá, a poslal je domů. Jaké bylo překvapení, když se feně narodila 4 typická štěňata českých fousků! Potvrzení o krytí feny neměl od žádného z majitelů psů, kteří fenu kryli, a doma měl jen tuto jedinou fenu. Po ověření původu bylo zjištěno, že ve vrhu je jedno štěně s prokazatelným původem po jednom ze psů a ostatní tři štěňata mají genotyp odpovídající původu po obou psech použitých ke krytí. Vrh byl zapsán, ovšem štěňata s neověřeným původem byla ponechána mimo chov. Neověřený původ tří štěňat byl proto, že genotypy obou krycích psů byly v polymorfních znacích použitých pro ověření původu velmi podobné.

### ◆ DVA VRHY Z JEDNOHO VRHU

Chovatelka českých fousků nakryla dvě feny různými psy v krátké době za sebou. Jedna fena měla nadpočetný vrh štěňat a druhá fena neměla štěňata žádná. Procházela však falešnou březostí a nechala některá štěňata u sebe kojit. Chovatelka se proto rozhodla,

že nadpočetná štěňata nahlásí jako vrh druhé feny. Feny byly příbuzné, podobného genotypu, jednalo se o matku a dceru. Při kontrole vrhů vzniklo podezření z pomísení štěňat, protože všechna byla stejného zbarvení a všechna běhala na jednom dvorku společně. Výsledky ověření původu prokázaly, že se jedná o štěňata po dceři a že všechna tedy pocházejí z jednoho vrhu. I když to tehdejší chovatelský řád nedovoľoval, všechna štěňata byla zapsána v jednom vrhu tak, jak to ověření původu potvrdilo.

### ◆ OTEC NESOUHLASÍ

Fena krátkosrstého ohaře, bělka, byla nakryta běloušem. V jejím vrhu se vyskytla dvě štěňata hnědá. Chovatel žádal o ověření původu, protože jej někteří kolegové obviňovali z nepravosti původu. A oprávněně! Dva bělouši nemohou dát hnědáka. Ověřování původu bylo zbytečné. Chovatel přiznal, že snad jeho mladý pes, hnědák, mohl v nestřežené chvíli fenu překrýt a hnědá štěňata mohla být po něm. Po hnědákovi však mohlo být i některé další štěně mezi bělouši. Protože však nebylo provedeno ověření původu, můžeme o tom jen diskutovat.

K ověření původu stačí i zbytek semene v pejetce, která byla použita ke konzervaci psího semene, z níž bylo semeno použito k inseminaci feny. V některých případech je možné použít i několik chlupů ze srsti psa, případně zbytky jakékoliv tkáně.

Ověření původu není třeba v případech, kdy se ve vrhu štěňat objeví štěně takového zbarvení, které není geneticky možné, jak je vidět z posledního uvedeného praktického případu. To však musí funkcionáři klubů dokonale znát genetiku zbarvení u plemene, jehož chov řídí. Když se však funkcionář klubu či výbor klubu rozhodne, že je ověření původu nutné, je třeba vždy uvážit, jaké to bude mít další důsledky v mezilidských vztazích. Ovšem odmítne-li ověření původu sám chovatel, žádné usnesení ani jakékoliv argumenty nesmažou na něm podezření z chovatelského podvodu. ■

V příštím čísle se se seriálem o genetice psů rozloučíme. V žádném případě to však neznamená, že bychom se dědičností u psů nadále již nevěnovali. Požádali jsme autora seriálu o spolupráci na naší čtenářské poradně. Bude-li mít nějaké dotazy z této oblasti, napište nám je do redakce. Odpověď si pak vy a další čtenáři přečtete na stránkách časopisu.