

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze
Katedra filosofie a dějin přírodních věd

Diplomová práce

Organické kódy a paměti



Jana Švorcová

Vedoucí: Doc. RNDr. Anton Markoš, CSc.

2007

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a pouze za použití uvedené literatury a zdrojů.

.....

Jana Švorcová

Poděkování:

Úvodem bych ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce Doc. RNDr. Antonu Markošovi, CSc., za jeho inspirativní a odbornou pomoc, ale i za vynikající zázemí k psaní této práce. Můj dík patří také všem členům katedry, profesorům i studentům. V neposlední řadě děkuji především mým rodičům, prarodičům a Pavlovi za to, že mne při studiu vždy podporovali.

Obsah

Abstract.....	5
Úvod	6
1. Stroj či vyhodnocovatel významu?	9
1.1. Programová metafora.....	9
1.2. Jazyková metafora	11
1.3. Život mezi automatismy a uchopováním významu	12
1.3.1. Interferenční RNA	15
1.3.2. Modulátory genové exprese.....	16
2. Sémantická a sémiotická biologie.....	19
2.1. Barbieriho sémantická biologie	19
2.2. Sémiotická biologie	24
2.3. Sémantická versus sémiotická biologie	28
2.3.1. Kód jako metafora.....	31
3. Hypotéza histonového kódu	34
3.1. Struktura chromatinu	34
3.2. Typy histonových modifikací	36
3.3. Tvoří modifikace histonový kód?	40
4. Eric H. Davidson – The Regulatory Genome	44
4.1. Prostorová exprese genů	46
5. Organické paměti.....	48
5.1. Paměť genetická.....	48
5.2. Epigenetická paměť	49
5.3. Buněčná paměť	50
5.4. Supracelulární paměť	53
5.4.1. Konzervativnost fylogenetického stádia	55
5.4.2. Fylogenetický jako platforma trojrozměrné paměti	57
5.5. Architektura regulační sítě nebo paměť druhu?.....	58
5.5.1. Sémiotický <i>tool kit</i>	59
6. Cultura contra natura?	61
Závěr	64
Slovník pojmů a definic	65
Příloha	69
Použitá literatura	71

Abstract

The backgrounds of Marcello Barbieri's semantic biology and the semiotic biology are confronted in the issue of autonomy of living systems. In the place of an interpreter in Pierce's triad, in Barbieri's case there stands a code. Although both concepts attribute important status to the meaning in biology (which is left out outside the scope of semiotic tradition), both concepts are by definition different in the way of apprehension the nature of living systems and of basic biological ideas. Codes are considered to have fundamental status in Barbieri's concept. From this point of view the analysis of histone code hypothesis seems to be appropriate. Can we say (according to our today's scientific knowledge) that histone code truly fulfills demands of Barbieri's concept of codes? Another Barbieri's idea of epigenesis functioning on the basis of biological memory can be unfolded not only thanks to analysis of the phylotypic stage's role, but also by similar analysis of the homeotic genes' role in morphogenesis of vertebrates, because even these genes can be regarded as biological memory of species. These analyses will lead us step by step to the negation of the thesis "cultura contra natura".

Úvod

„DNA (Deoxyribonukleová kyselina) je nositelkou genetické informace všech organismů s výjimkou těch nebuněčných organismů, u nichž hraje tuto úlohu RNA (RNA-viry, virusoidy a viroidy). DNA je pro život nezbytnou látkou, která ve své struktuře kóduje a buňkám zadává jejich program, a tím předurčuje vývoj a vlastnosti celého organismu“ (Wikipedia).

Tato definice deoxyribonukleové kyseliny je odrazem dnešního převažujícího chápání role DNA jakožto nositelky veškeré informace nutné pro pochopení vývoje živé bytosti. Toto chápání má svůj původ v genocentrickém pohledu na živé organismy již od dob neodarwinistické syntézy. Dle něho geny zcela kauzálně ovlivňují fenotyp a ontogenezi organismů, vše je napevno „zadrátováno“ a řízeno programem. Tato představa DNA jakožto pasivní littery, programu, který je dekodován pomocí molekulárních automatů, které dále staví tělo, popírá autonomnost živých systémů a redukuje vše živé na descartesovy „štěkající stroje“. Zápis DNA je pak informační instrukcí, ne informací, které by měla buňka porozumět.

Právě ono programové předurčení je nešťastnou formulací v této definici. Mnozí biologové navzdory obecně sdílené víře upozorňují na to, že vztah genů a tělesné podoby organismu není jednoduše odvoditelný (Markoš 2000, Vyskot 2007). Kromě uznaného faktu, že genetický kód není výsledkem pouhých fyzikálněchemických procesů v buňce (a následnému útěku k vysvětlení genetického kódu jakožto zmrzlé náhody), objevuje se čím dál více poznatků epigenetiky a zcela neobjasněnou stále zůstává např. i role produktů regulačních genů v evoluci a ontogenezi organismů. Nicméně výše uvedené formulace utvářejí už dlouhá desetiletí názorovou atmosféru nejen na poli vědy a později je velmi obtížné se z této atmosféry vymanit.

Oproti tomuto redukcujícímu pojetí stojí tradice sémiotické biologie, která přisuzuje molekulárně informační struktuře DNA sémantický obsah. Ten se pak významově nerealizuje díky přečtení programem, ale díky interpretačnímu úkonu. Analogií tohoto příkladu může být vztah textu, čtenáře a významu, který pro čtenáře daný text nese. Významem je dané jedinečné uchopení textu čtenářem, jeho představy, myšlenkové obrazy, jedinečné asociace. Čtenářův výklad závisí samozřejmě na momentálním způsobu bytí čtenáře, na jeho životní zkušenosti.

Text je tu pro čtenáře, čtenář je předpokládán, ba dokonce musel být ve vztahu přítomen dříve než samotný text. Teprve díky čtenářovi povstává význam, který text nese.

V pojetí biosémiotiky je pak významem sekvence či sekvencí informační molekuly DNA tělesný tvar v podobě proteinů nebo již samotného těla. Tento tělesný význam je interpretován proteinovým a ribonukleovým aparátem (fenotypem buňky), který je za expresi genu zodpovědný. I ten musí být v buňce (v zygotě) přítomen ještě dříve, než je interpretováno první slovo molekulárního textu zapsaného abecedou nukleotidů. Sama DNA neobsahuje klíč k vlastní interpretaci, k ní vždy potřebuje oplodněné vajíčko. Tímto způsobem je pak přenášena molekulární historie, DNA je vždy interpretována podle stejných molekulárních zvyklostí, které organismus získal během evoluce.

Biosémiotika (*bios*-život, *semion*-znak) chápe tedy život nejen z perspektivy fyzikálních a chemických zákonitostí, ale živé bytosti jsou v tomto ohledu především vyhodnocovatelé významu. Význam se tak stává vedle energie a informace dalším zásadním pojmem, se kterým je třeba v dnešní biologii počítat (Barbieri 2006). Jako významy pak nejsou chápány pouze podněty vnějšího prostředí, tzn. biosémiotiku nezajímá pouze etologická, behaviorální či ekologická stránka způsobu bytí organismů (Thomas Sebeok mluví o tzv. exosémiotice); jako znak nesoucí význam pro jeho vyhodnocovatele je v posledních letech dějin biosémiotiky chápána i sama DNA či signální molekula (endosémiotika).

Za zakladatele biosémiotiky bývá považován Jakob von Uexküll (Kliková, Kleisner 2006), který přišel s metaforou *umweltu* jakožto vlastního žitého světa každého jednotlivého organismu, z něhož rozumí svému okolí. Uexküllovy myšlenky jsou dnes spojovány především s ekologickými a etologickými bádáními. Zásadní obohacení znamenaly pro biosémiotickou tradici dnešní doby myšlenky a pojmosloví sémiotické teorie Charlese S. Peirce. Uexküllovy i Peircovy myšlenky později rozvíjel Thomas A. Sebeok (pojem zoosémiotika). na rozvoji biosémiotické tradice se taktéž nasmazatelně podepsala tzv. Tartuská škola v Estonsku (Jurij Lotman). O dějinách biosémiotiky dále např. Kull (1999) či Favareau (2007).

Další tradicí, která přisuzuje pojmu jakým je význam podstatnou úlohu v biologii, je tzv. sémantická biologie, kterou rozvíjí italský biolog Marcello Barbieri. Ten ve své knize *Organické kódy. Úvod do sémantické biologie* (2006)

přichází s řadou zajímavých hypotéz, které se stanou myšlenkovou základnou této práce. Biosémiotickou tradici však nemohu opomenout proto, protože z jejího stanoviska budou některé Barbieriho myšlenky kriticky reflektovány.

Cíle této práce budou následující. V první kapitole se pokusím nastínit hlediska, z kterých můžeme DNA posuzovat nejen jako prostý zápis, ale i jako tělesnou strukturu; už i na této molekulární úrovni se snoubí analogová a digitální podoba živého. Také se pokusím vyložit některé molekulární procesy, u nichž je možné mluvit o zpracovávání či uchopování významu, a to jako protipól obecně přijímané programové metafoře. Dále bude v druhé kapitole navázáno parafrází Barbieriho sémantické biologie a její reflexí z pozice biologie sémiotické. Barbieri přikládá velký význam organickým kódům jakožto „motorům“ epigeneze; bez nich by podle něho konvergentní nárůst složitosti, jakým epigeneze je, nebyl možný. Proto se ve třetí kapitole zaměřím na hypotézu histonového kódu, která je v posledních letech hojně diskutována. Mohou histonové modifikace splňovat Barbieriho pojetí kódu? Pokud by histonový kód byl uznán vědeckou veřejností za kód stejně jako kód genetický, znamenalo by toto uznání značnou podporu Barbieriho hypotéz. Čtvrtá kapitola se zaměří na parafrázi první části knihy Erica Davidsona *The Regulatory Genome* (2006). Poslední oddíl této práce bude věnován koncepci biologických pamětí a jejich klasifikaci, v tomto oddílu bude analyzována i první kapitola Davidsonovy knihy.

Práci uzavřu diskuzí nad analogiemi kulturního a přírodního světa a nad otázkou, zda můžeme na organismu či druhu pozorovat rysy kultury. Sémiotická i sémantická biologie k těmto závěrům nutně směřují.

1. Stroj či vyhodnocovatel významu?

1.1. Programová metafora

V zygote vzniklé splynutím dvou gamet je rodičovská DNA (mluvíme-li o pohlavním rozmnožování), která je obecně považována za program řídící vývoj. Pokud je tomu tak, můžeme se ptát: kdo tento program vytvořil? Jak tento program funguje? Komu dává smysl? Lze opravdu všechny procesy v živém organismu vysvětlit pomocí programové metafory?

Počítačové analogie ovládají již od druhé poloviny minulého století mnohé vědecké obory, od neurobiologie po lingvistiku. Biologie si vypůjčuje pojmosloví z počítačového programátorství, ale je tomu evidentně i naopak - jako v případě pojmu *virus* ve smyslu škodícího softwaru. Po odhalení struktury DNA byla programová metafora přijata velmi rychle, ačkoli stále nevíme, jak přesně tento program funguje a jaké jsou jeho algoritmy. To však řada vědců vnímá jako detail, k jehož rozuzlení se postupně dobereme, stejně tak jako k počítači, který bude schopen reprodukce (Danchin 2005).

Jako zástupce strojovo-programové metafory můžeme zvolit Jacquese Monoda, jenž ve svém díle *Náhoda a nutnost. Pojednání o přírodní filosofii moderní biologie* (1970) přesvědčeně tvrdí, že živé bytosti jsou chemické, kybernetické stroje, a to co se týče jejich struktury, činností i fungování. Jejich fungování i struktury zajišťují proteiny, kódované konzervativním programem v podobě nukleové kyseliny, tzn. základní genetické invarianty DNA, která je čtena fenotypem. Molekulu DNA také přirovnává k aperiodickému krystalu (původně představa Schrödingera r. 1944). Ontogeneze pak je dle jeho názoru analyzovatelná terminologií mikroskopických interakcí.

Monod a Jakob odhalili v 60. letech 20. století proces řízení produkce beta-galactosidasy u *E. coli*, řízení takového genetického programu u bakterií. Jejich model (tzv. gal operon) je zpětnovazebním okruhem spínaným represorem a induktorem (galaktosidy). Monod jednoduše extrapoluje tyto poznatky i na eukaryotické mnohobuněčné organismy. Nicméně při studiu jejich ontogeneze se ukazuje, že tato extrapolace není možná, například kvůli existenci orthologů v podobě homeotických genů. Výsledné tělesné struktury, za něž jsou tyto orthology zodpovědné, jsou v rámci živočišné říše až neuvěřitelně odlišné.

Např. gen *Pax6* se účastní formace oka u mnohých organismů od hmyzu až po obratlovce. Gen *Distal-less (Dll)* se podílí na formaci nejrůznějších přívěšků živočišného těla (Caroll 2005), např. rybích ploutví, našich končetin či výběžků na těle červů či členovců (obr. 1.1). Dalším zatím nerozřešeným faktem zůstávají redundantní či zdánlivě redundantní úseky DNA (intronové sekvence, satelitní DNA či repetitivní sekvence), se kterými se u bakteriálních organismů nesetkáme, a rovněž značný nepoměr ve velikostech genomů a kódujících genů vůbec¹ (tento nepoměr známý už od roku 1960, Davidson 2006). Mezi množstvím kódující DNA na jedné straně a morfologicko-anatomickou složitostí organismu na straně druhé zřejmě neexistuje žádná zřetelná korelace. Porovnání velikosti genomů a kódujících genů ježovky, myši, mouchy až k člověku (viz. příloha str. 69, obr.1).



Obrázek 1.1 Srovnání fenotypových struktur, za jejichž tvorbu zodpovídá gen *Distal-less*. Vlevo mořský mnohoštetinatec s výběžky zvanými *parapodia*, vpravo *Betta splendens* (*Bojovnice pestrá*).

Dalším problémem strojové metafory by mohla být právě chemická volnost genetického kódu, tj. jeho nevysvětlitelnost z dosavadních poznatků chemie. Ta odkazuje i na další předpoklad v metafoře programu obsažené, totiž na existenci tvůrce tohoto kódu. Metafora programu ho mlčky předpokládá. Nechceme-li být kreacionisty, je nutno vypracovat přijatelnou verzi evoluce takového programu.

Nicméně je zřejmé, že tato metafora je pro vědecké bádání velmi příhodná: živé bytosti jsou pak chápány jako stroje, skutečnosti, jež lze popsat objektivně jako pouhé výskyty (Neubauer 2002).

Ve čtvrté kapitole této práce se znovu k metafoře programu vrátíme. V ní se pokusím o analýzu první kapitoly knihy Erica H. Davidsona *The Regulatory Genome* (2006), který popisuje organismy (podobně jako Monod) jako kybernetické chemické stroje, jež se vyvíjí pomocí programů a subprogramů kódovaných v DNA, zodpovědných za onu nepřebornou dynamiku a variace, které ve vývoji a morfologiích organismů sledujeme.

¹ Tento jev se nazývá paradoxem hodnoty C.

1.2. Jazyková metafora

Budeme-li chtít vyložit povahu DNA dvoušroubovice jiným, než zmiňovaným běžným způsobem, můžeme zvolit jazykovou metaforu. Ostatně pojmy jazykové a pojmy komunikace, pojmy jako „genetická kniha“, odpověď na signál, *signal recognition* či *messenger RNA* pronikají do biochemie či molekulární biologie už dlouho. Sekvence DNA je pomocí jazykové metafory chápána jako sdělení zapsané abecedou nukleotidů. Čtyřpísmenná chemická abeceda nukleotidů tvoří v různých kombinacích slova, sekvence nukleotidů či geny, jejichž význam, tj. tělesný tvar, znak či vlastnost jedince (ale i absence určité formy znaku), povstává pak díky příslušné molekulárně proteinové výbavě buňky. V obou případech (v případě genu i slova) koresponduje informace s lineárním pořadím základních jednotek (Barbieri 2006).

Význam může být pak ovlivněn jedním či větší skupinou genů (pak mluvíme o tzv. epistatické interakci) nebo naopak jediný gen může poskytnout vícero významů (pleiotropie). Tyto kontextuální projevy genů mají pak různý vliv na dědivost a selekci daných znaků/významů v evoluci. Geny tak mění své významy v závislosti na okolních genech (tzv. genová vazba), tzn. význam genu jako takového není dán pouze sledem jeho nukleotidů, ale i relacemi s okolními geny. Nejinak je tomu i v jazyce se slovy.

Samotná představa, že život dokázal zapsat návod na tvoření sebe sama do podoby DNA je pozoruhodná. Jesper Hoffmeyer a Claus Emmeche v článku *Code-Duality and the Semiotics of Nature (2005)* tento výkon označují pojmem *self-reference (soběvztažnost)*. Vlastnost *soběvztažnosti* musí systém mít, abychom ho mohli označit za živý, soběvztažnost spočívá ve schopnosti sebe prezentace v digitálním a zároveň i v analogovém světě. Tato dualita kódu, dualita zápisu a těla, spočívá v tom, že paměť systému zapsaná v DNA (metaúroveň) je zároveň přepisem systému samotného. Kniha zvaná genom je čitelná pouze analogovou informací již zabudovanou v zygote. Nic digitálního nemůže ve světě fungovat samo o sobě, stejně jako nic analogového samo o sobě nemůže procházet evolucí (Emmeche, Hoffmeyer 2005).

Metafora jazyka jako lineárního sledu genetického zápisu je pro účely této práce lákavá, avšak způsobem, jakým byla popsána výše, je stále redukovatelná na binární kód nul a jedniček. Redukovatelnost spočívá právě ve způsobu tvorby

významů, ve způsobu, jak je význam at' už k nulám a jedničkám, nebo k slovům samotným, přiřazován. Hovořím tu o dvou způsobech tvoření významu: (1) přiřazování významů znakům na způsob tvorby programu pomocí programovacího jazyka, tj. tvorby algoritmu (kdy je význam k znaku přiřazen jednoznačně a z vnějšku) nebo na způsob (2) tvorby významu, kterému buňka porozumí ze svého kontextu a zkušenosti, tj. takové přiřazování významu, kdy je v samotném procesu přiřazování význam tvořen a sjednáván, a je tak tvořen konvenčně (od lat. *convenire* – přijít společně). Tedy takovým způsobem, jakým k tvorbě jazyka skutečně dochází. Konfrontace způsobů jakým jsou významy znakům přidělovány, je zároveň konfrontací mezi dvěma teoretickými naukami v biologii, které se významem vůbec zabývají. Jde o konfrontaci mezi biologií sémantickou a sémiotickou.

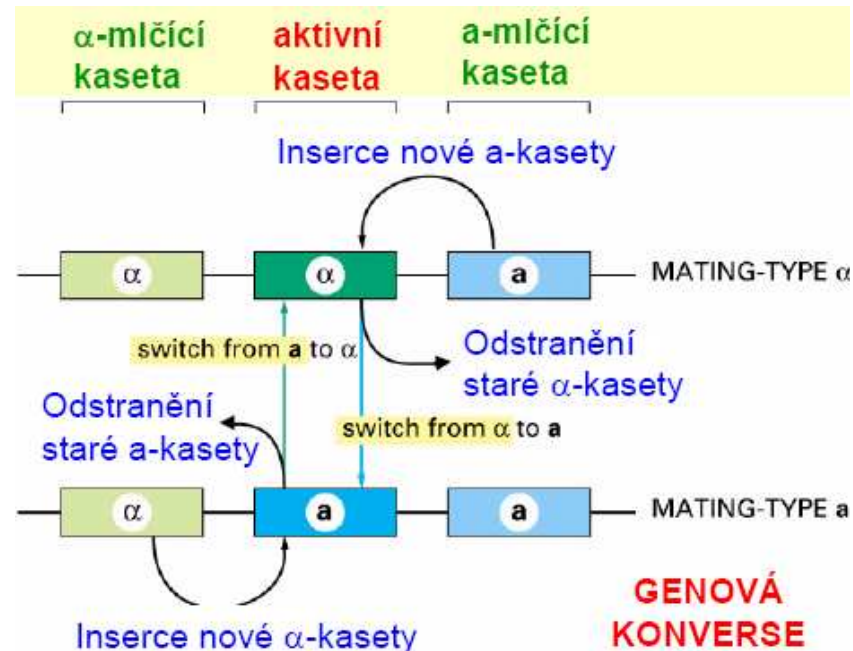
1.3. Život mezi automatismy a uchopováním významu

V případě eukaryotních organismů je DNA uchovávána v neaktivním stavu jako vysoce kondensovaný heterochromatin (u bakterie je kondensace zajištěna jiným způsobem). Za pomoci rozvolnění velkého úseku heterochromatinu je pak umožněna vysoce procesivní transkripce takto „obnažených“ genů. Ve zmiňovaném neaktivním stavu je však zápis DNA „aktivně udržován“, buňka o svůj zápis pečuje, opatřuje ho stabilizujícími proteiny tzv. nukleosomy, stabilizujícími proteiny s chromodomény či methylovými značkami, tj. transkripčně inhibičními značkami, které brání přepisu.

Na povahu genetické exprese má tedy vliv nejen struktura regulačních obvodů (*cis* regulátory), ale i momentální stav chromatinu samotného, lokace daného genu buď v euchromatinu či heterochromatinu. Tedy i tělesná DNA jako taková, tj. tvar, v kterém se znaky momentálně nacházejí („stránky knihy jsou spleené a nelze je číst“).

O tom, že DNA není pouze rigidním zápisem, svědčí i neustálý pohyb na molekulární i submolekulární úrovni či rotace kolem jednotlivých vazeb, tělesný stav se odráží i v tom, že DNA samotná může zaujmout mnoho konformací (Cvrčková, Markoš 2005). Znakem či informací k interpretaci pak pro molekulární aparát buňky, který s DNA pracuje, nemusí být už pouze konkrétní řetězec nukleotidů, ale i konformace DNA samotné. To se projevuje zejména

při jemném nastavování *cis*-regulačních účinků *trans*-vazebnými proteiny. Při uchopování povahy DNA v její tělesné podobě tak musí být programová metafora brána s opatrností.



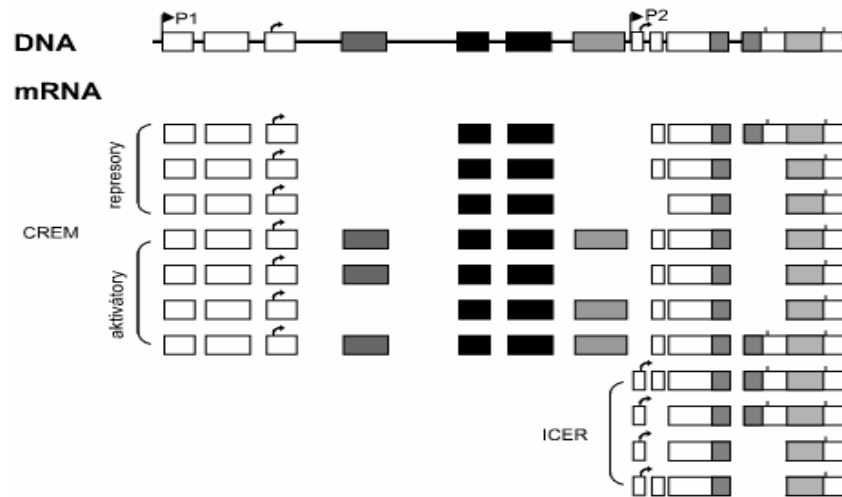
Obrázek 1.2 Příklad regulace transkripce strukturou chromatinu: existují dva párovací typy kvasinek a a α , při sexuálním rozmnožování kvasinek se tyto typy vzájemně vyhledávají. Přítomnost specifické kasety v MAT lokusu určuje párovací typ kvasinky: má-li buňka v MAT lokusu kasetu α , stává se párovacím typem α a pokud kasetu a, stává se párovacím typem a. Zajímavé je, že buňky obou párovacích typů mají kasety pro oba typy, ty neaktivní jsou však umístěny v heterochromatinu a na určení párovacího typu tak nemohou mít žádný vliv. V případě potřeby může být stará kasety *genovou konverzí* odstraněna a nahrazena druhým typem: přítomnost nové kasety v MAT lokusu reguluje změny exprese velkého počtu genů a párovací typ tak může být změněn. (Podle Lodish et al., 2003.)

Pokud však mluvíme o replikaci DNA, programová metafora postačuje. Replikace je vysoce procesivní, DNA polymeráza nasedne na primer templátu (význam je latentně přítomen na 3'-5' vlákně) během jedné sekundy a za stejnou dobu je pak schopna replikovat až tisíc nukleotidů (u prokaryot; u eukaryot je rychlost všeobecně mnohem menší je však vynahrazena větším počtem replikačních počátků). Polymeráza interaguje pomocí jedné ze tří, tzv. *thumb* domény s polyfosfáty templátu DNA, interakce jsou tedy elektrostatické, a tudíž nezávislé na sekvenci. Procesivitu navíc zvyšují svorkové (*clamp*) proteiny, zabraňující navíc i difúzi polymerázy od DNA. Rychlost replikace díky automatizaci tohoto procesu je samozřejmě nutná pro dostatečně rychlé dělení buněk. Vše probíhá na základě katalytických interakcí mezi replisomem,

templátem a nově přichozími nukleotidy, v tomto případě tedy nemá smysl mluvit o významu, interpretaci či kódování. Podobně je tomu i u translace.

Jiná situace však nastává např. při procesu sestřihu (*splicing*) pre-mRNA. Eukaryotické geny jsou na rozdíl od prokaryotických přerušeny nekódujícími sekvencemi. Nativní transkript hnRNA se pak skládá z tzv. exonů (*expressed sequences*) a intronů (*intervening sequences*). Intronové sekvence jsou však posléze z prekursorové mRNA vystřiženy a nejsou dále překládány. Tyto nekódující sekvence se mohou jevit nadbytečnými, nicméně pro organismy znamenají možnou variabilitu: nejen, že rozličné uspořádání exon-intron může po rekombinaci vést ke vzniku různých proteinů (kombinováním částí stávajících proteinů), ale tzv. alternativní sestřih dokonce umožňuje vyrobit paletu mRNA z jedné hnRNA: co je intronem v jádře dané buňky, nemusí být intronem v buňce jiné. V žádném případě tedy neplatí jednoznačný vztah jeden gen = jeden protein (což vyplývá i z podstaty pleiotropních a epistatických interakcí zmíněných v oddílu 1.2). U některých organismů (např. *Trypanosoma brucei*, *Caenorhabditis elegans*) se dokonce můžeme setkat s tzv. *trans-splicingem*, kdy jsou exony dvou různých transkriptů sestřiženy dohromady do jedné mRNA.

V případě těchto sestřihových úkonů přichází ke slovu spíše sémiotická biologie. Sestřihový aparát *spliceosom* jakoby dokázal významově uchopit jednotlivé sekvence a spojit je ve smysluplný vyšší celek. Navíc podle kontextu z jediné hnRNA dokáže těchto smysluplných celků vytvořit hned několik. Jak přesně buňka rozpozná, jaký transkript zvolit pro translaci vybraného proteinu? Jak poznamenává Barbieri (2006), v podobných případech už nejde o pouhé katalytické sestavování (jako je tomu u replikace, či transkripce), ale o sestavování kodifikované. Barbieri se domnívá, že za výslednou podobu mRNA daného proteiny jsou zodpovědné kódy (sémiotická biologie).



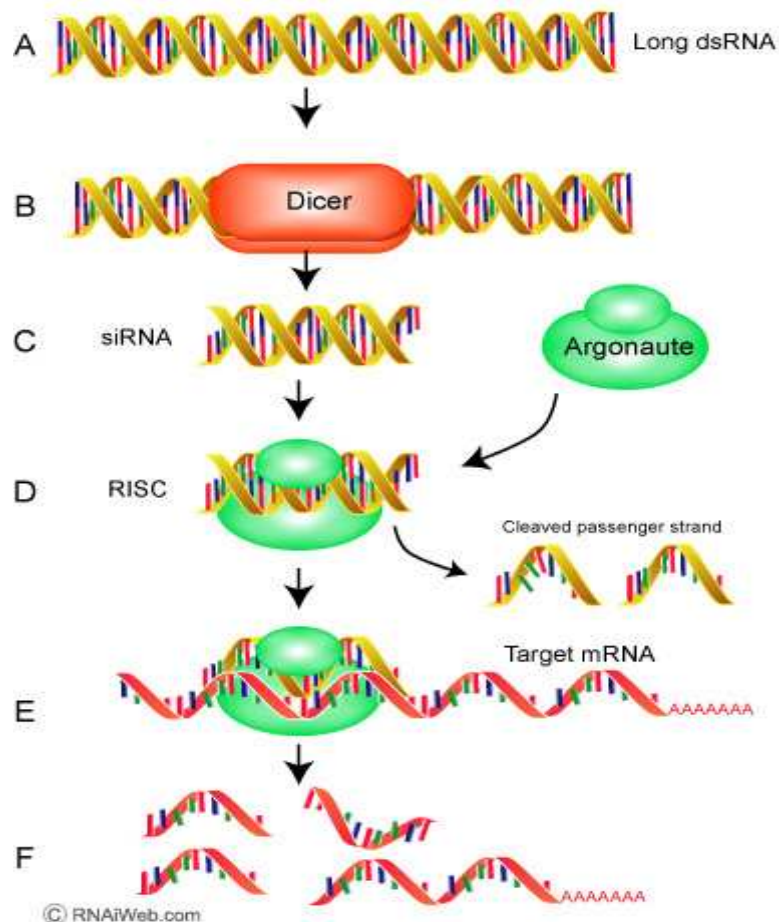
Obrázek 1.3. Transkripce určitého genu může vzniknout větší množství transkriptů: geny mohou mít více promotorů (P1,P2), tzn. míst, ze kterých může být genetický zápis přepisován. Výběr určitého promotoru má pak zásadní vliv na podobu výsledného transkriptu. U ukončení transkripce může proběhnout na více místech. Pre-mRNA transkripty mohou pak být dále variabilně sestřihány za vzniku více možných typů mRNA (jednotlivé varianty CREM a ICER znázorněny). (Podle Markoš, 2000).

1.3.1. Interferenční RNA

Zajímavým faktem poslední doby je mechanismus RNAi zodpovědný za posttranskripční umlčování genů. Interferenční RNA (RNAi) byla původně připravena uměle k účelu umlčování (*silencing*) genů. Tato interferovaná RNA byla jednovláknová (*antisense*); mělo se za to, že proběhne navázání komplementárního vlákna na přirozeně kódující vlákno sense RNA v cytoplasmě, a tak bude produkt genu umlčen. Později se zjistilo, že dsRNA (doublestrand RNA) injektovaná do buňky je v procesu umlčování konkrétního genu mnohem účinnější (Lukeš, Asahina-Jindrová, Jindra 2001). Taktéž se zjistilo, že proces umlčování genů pomocí RNA molekul je evolučně zakonzervovaným procesem, který existuje v buňkách jako přirozená obrana proti virům, transpozónům a retrotranspozónům (Fire, Mello 1998). Tisíce genů v našem genomu kódují malé RNA molekuly, tzv. *microRNA*, ty obsahují kousky kódů jiných genů. Tato *microRNA* může tvořit doublestrand molekuly a přirozeně tak podněcovat interferenci RNA a blokovat syntézu proteinů.

U rostlin i savců je RNAi zahrnuta i v *de novo* methylaci DNA (Kawasaki, Taira 2004), což je další způsob umlčování genů. Překvapivě však malé molekuly dsRNA mohou geny i aktivovat pravděpodobně navázáním na promotor (Li, Okino, Zhao 2006). DsRNA molekuly mají dále schopnost formovat heterochromatin (Volpe, Kidner, Hall 2002) či editovat molekuly RNA. Všechny

typy těchto regulačních molekul jsou zřejmě kódovány redundantními regiony genomu (Li, Okino 2006).



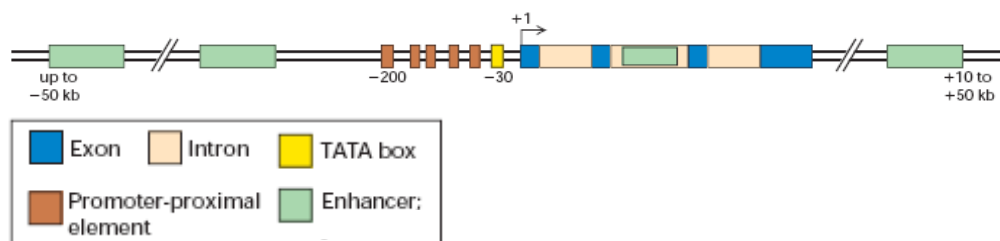
Obrázek 1.4 Interference RNA : když je dsRNA uměle vpravena do buňky, je rozpoznána a štěpena dsRNA-specificickou endonukleázou Dicer (RNAsa III). Dicer štěpením dsRNA vytvoří kratší úseky siRNA (small interfering RNAs) s typickým dvounukleotidovým přesahem na 3' konci. SiRNA dlouhé 20-25 nukleotidů tvoří pak společně (po opuštění Dicerem) s několika proteiny ribonukleoproteinový komplex RISC (RNAi silencing komplex). Komplex zahrnuje Slicer a protein Argonaute s doménou Piwi, která váže jedno z vláken siRNA. Dvouvláknová siRNA je poté rozvolněna. Na RISC nenavázané vlákno RNA je odstraněno za spotřeby ATP a RISC pomocí druhého vlákna sekvencně specifické siRNA naváže cílové vlákno kódující mRNA a štěpí ho pomocí Sliceru. Rozštěpené vlákno je rozpoznáno a degradováno. (Pokud komplementarita siRNA a kódující mRNA není úplná, syntéza proteinu je pozastavena pouze dokud se komplex RISC s siRNA znovu neodpojí. Pokud je komplementarita úplná, dojde k degradaci). U rostlin toto rozštěpené vlákno nemusí být degradováno, ale může sloužit jako templát pro syntetizování nové dsRNA, jež je znovu štěpena proteinem Dicer a znovu tak slouží k vytvoření siRNA. (Zdroj: www.rnaiweb.com).

1.3.2. Modulátory genové exprese

Jak jsou správně rozpoznány geny, které mají být aktivovány v dané buňce? Zde se ke slovu dostávají modulátory genové exprese, tzv. *enhancery* (*cis*-regulační sekvence, viz. obr. 1.5), které slouží jako vazebná místa pro *trans*-regulátory a jsou vyžadovány pro aktivaci transkripce většiny genů.

Dokáží působit i kilobáze daleko od genového promotoru. Na *enhancery* se váží různé transkripční faktory: v aktivačních sítích dvou různých genů se může vyskytovat tentýž transkripční faktor, a naopak kombinace s dalšími, avšak rozdílnými transkripčními faktory zapříčiní transkripci dvou různých genů. Vazba faktorů na *enhancery* je tedy kombinatorická, i na její povaze závisí to, zda bude daný gen přepisován: např. protein Pax6 se váže na *enhancer* genu pro syntézu endokrinních hormonů, jako je např. insulin, ale i na *enhancer* genu *crystallin* (protein čočky oka). Teprve ve správné kombinaci s ostatními transkripčními faktory na správném *enhanceru* může být zapnuta exprese daného genu.

Jednotlivý gen může mít dokonce i různé *enhancery*, každý je využíván v jiném typu buněk, např. již zmiňovaný protein Pax6: jeho gen má síť více *enhancerů*, které jsou aktivními podle typu buňky, v jaké se protein Pax6 bude vyskytovat (zda ve slinivce břišní, čočce či nervové trubici). Dalším zajímavým rysem *enhancerů* je to, že dokáží geny i utišovat (*silencery*) (Gilbert 2003).



Obrázek 1.5 Síť *cis*-regulačních sekvencí kontrolovaných transkripčními faktory v savčím genomu. Promotor (*promoter-proximal element*) obsahující TATA box, na němž začíná transkripce nasednutím RNA polymerázy. Promotor slouží jako cíl pro mnohé transkripční faktory, stejně jako *enhancery*, které svými aktivačními doménami mohou urychlit tvorbu pre-iniciačního komplexu na TATA boxu pomocí smyčkových interakcí DNA templátu. V některých případech mohou *enhancery* ležet i uvnitř intronu. (Podle Lodish et al., 2003).

Dynamika vazebných sítí kombinací členů, které se zapínání genu zúčastňují a kombinací míst, na která se váží, určuje momentální stav v prostoru a v čase, stav, který má buňka neustále pod kontrolou. Samotný výsledný produkt přepisu genu je tedy regulován na mnoha úrovních:

- 1) Na úrovni výběru daného genu, za který zodpovídají jak modifikace chromatinu (je třeba DNA rozvolnit a zpřístupnit), tak signály pro to, jaký gen má být aktivován (nebo naopak umlčen, a to za pomoci siRNA, vazby vazebných proteinů-represorů na *enhancery* genů či za pomoci kondensace DNA) a jaké komponenty se této aktivace budou účastnit.

- 2) Na úrovni sestřihu hnRNA, kdy je z pre-transkriptu sestřihem intronových sekvencí vybrán finální produkt v podobě mRNA.
- 3) Nasyntetizovaný protein je nativní strukturou, která bývá dále upravována do konečného tvaru pomocí proteinů, tzv. chaperonů či za pomoci dalších modifikací (sestřih samotného proteinu, chemické modifikace jako acetylace, metylace atp. nebo disulfidické můstky).

Na základě prezentovaných buněčných procesů byla demonstrována řada případů, které ne vždy můžeme objasnit procesem katalýzy, ale mohli bychom je zařadit do kategorie procesů uchopování významu. Buňka si během nich z genomu vybírá ty významy, které za dané situace dávají smysl. Finální výpovědi mají pak v různých kontextech různé obsahy: např. díky různé volbě promotoru, z kterého bude určitý gen přepisován či díky variabilní možnosti sestřihu nativního transkriptu RNA. Tytéž znaky mohou mít v různých kontextech zcela protichůdné významy: např. siRNA může fungovat jako jakási negativní výpověď a umlčet gen, ale zároveň je schopna transkripci genů i aktivovat.

Na DNA se pak můžeme dívat jako na slovník jazyka, kdy proteiny budou slovy, která se stávají součástí buněčných výpovědí v podobě vyšších organizačních celků. Některé z těchto výpovědí zůstávají neměnné a daly by se přirovnat k různým klišé, jiné jsou víceméně ustálenými promluvami, další jsou dynamickým a stále proměnlivým tokem řeči (Markoš 2000).

2. Sémantická a sémiotická biologie

2.1. Barbieriho sémantická biologie

Marcello Barbieri ve své knize *Organické kódy* (2006) přichází s několika inspirativními myšlenkami. Tato práce staví především na jeho koncepci kódu a paměti v epigenezi. Embryonální vývoj je dnes běžně vykládán jako geny naprogramovaný proces. Barbieri se táže: známe však stroj nebo program, který by mohl zvyšovat svou složitost stejně jako je tomu u individuálního vývoje živého organismu? Záporná odpověď ho vede k výkladu, jak k tomuto může docházet právě u živého tvora. Embryonální vývoj jako konvergentní nárůst složitosti se podle Barbieriho rekonstruuje postupně z neúplných informací pomocí organických kódů a paměti. Barbieri ve své knize vytvořil i matematickou formulaci této rekonstrukce, ta však nebude předmětem této práce. Nás v této kapitole bude zajímat pro začátek jeho pojetí kódu.

Barbieri nezmiňuje v souvislosti se svým pojetím kódu totiž pouze kód genetický, ale o kódech mluví i v rámci dějů signalizačních, v rámci sestřihu hnRNA, kompartmentalizace nebo cytoskeletu apod. Je to právě genetický kód, který přinesl zvrát v biologickém myšlení. Jeho univerzálnost a neměnnost, jak tvrdí Barbieri, naznačuje, že právě genetický kód stál na počátku prvních živých organismů. Jelikož bylo laboratorně dokázáno, že afinita aminokyselin a jejich specifických tRNA při translaci není výsledkem fyzikálněchemických zákonitostí a vazba aminokyseliny na tRNA může být laboratorně pozměněna, a lze tak vytvořit zcela jiné kódující pravidlo, objevila se otázka, co je příčinou stávajícího jednoznačného přiřazování tripletů k aminokyselinám. Uznání existence genetického kódu, přičemž kódy mimo biologii byly vnímány vždy jako pravidla daná historickou konvencí a tedy jako jevy kulturní, vedlo k těžce řešitelnému dilematu jeho vzniku. Někteří biologové se pak při snaze o vysvětlení jeho povahy uchylují k hypotéze o zmrzlé náhodě nebo hypotéze o inteligentním designérovi.

S existencí genetického kódu, jak někteří společně s Barbierim tvrdí, dostává se do biologie kromě informace a energie i význam. Dva nezávislé světy, na jedné straně svět informačního depozitáře, tj. genotyp, a na druhé svět tělesný, tzn. fenotyp, jsou propojeny kódem, dle kterého daná tRNA připojuje ke vznikajícímu polypeptidovému řetězci další aminokyseliny. Tento

ribonukleoproteinový systém skládající se z tRNA, mRNA, ribosomů a aminoacyl tRNA syntetáz, měl by vytvořit společně s genotypem a fenotypem triádu a nahradit tak buněčnou dualitu genotyp-fenotyp. Fenotyp, vyvíjející se cestou epigeneze, je podle Barbieriho vždy složitější než genotyp a to právě díky kódům a organickým pamětím (o těch bude řeč později).

Barbieri ve své knize neuvádí kritérium, podle kterého tuto složitost posuzuje. Posudky tohoto typu jsou vždy problematické, zasahují totiž do dvou různých úrovní popisu. Poznámku však můžeme chápat ve vztahu k informační úrovni popisu: při srovnání genu pro určitý protein a samotného proteinu je množství informace, které je dané pořadím v řetězci v řádech mnohem menší než množství informace, kterou bychom museli vynaložit pro popis trojrozměrné struktury tohoto proteinu (Monod 1970). Jinými slovy, první příklad je matematicky vyjádřitelný, zatímco v druhém jde o nekonečný počet možných úrovní přesnosti popisu (analogicky s pixely na fotografii).

Kód je chápán zcela jednoduše jako *soubor kolektivních pravidel, která propůjčují významy informačním strukturám* (1). Na jejich individuálních znacích nemusí nijak samotný kód záviset (*nezávislost informace a jejího významu*); jejich vzájemný vztah je zcela arbitrární (2). Jedná s tedy o *propojení dvou zcela nezávislých světů* (3) (Barbieri 2006, str. 82-83), ať už se jedná o svět teček a čárek a svět abecedy propojený morzeovým kódem nebo o svět DNA (RNA) a svět proteinů propojených kódem genetickým. Samotná afinita tRNA a aminokyselin je zcela arbitrární a není odvoditelná ze znalostí dnešní biochemie.

Organický kód tedy poskytuje specifitu mezi dvěma světy (Barbieri 2006), abychom podle Barbieriho mohli mluvit o organickém kódu, musí být v dané biochemické reakci přítomné tři základní aktéři: *znak, adaptor a objekt*. Demonstrujeme-li společně s Barbierim tyto tři aktéry na příkladu genetického kódu, bude se jednat (1) o kodon (znak), kombinaci tří ribonukleotidů na řetězci mRNA; (2) o adaptory, v tomto případě o tRNA, která je spojníkem mezi světem nukleových kyselin a aminokyselin; a (3) o samotné aminokyseliny (objekty). Právě adaptory propůjčují význam mRNA kodonům. V demonstraci tohoto příkladu však Barbieri příliš zdůrazňuje roli adaptorových tRNA, aniž by se zásadně zaměřil na roli aminoacyl-tRNA-syntetáz. Právě tyto enzymy jsou zodpovědné za přesnost překladu a za „stabilitu“ genetického kódu. Rozeznávají totiž právě jednu svou příslušnou aminokyselinu a celou řadu k ní příslušných

tRNA a umožňují syntézu aminoacyl-tRNA. Přesnost syntézy je zajištěna specifikou vazebných míst a opravnou postsyntetickou aktivitou enzymu aminoacyl-tRNA-syntetázy. Na tento nedostatek Barbieriho výkladu translace bylo již upozorněno jinde (Markoš, Cvrčková, Gajdoš, Hajnal 2004).

Genetický kód je jistě dobře zmapovaným a kompletním příkladem organického kódu. Barbieri však mluví také o kódech sestřihu, signální transdukce, kompartmentalizace i o kódech cytoskeletu.

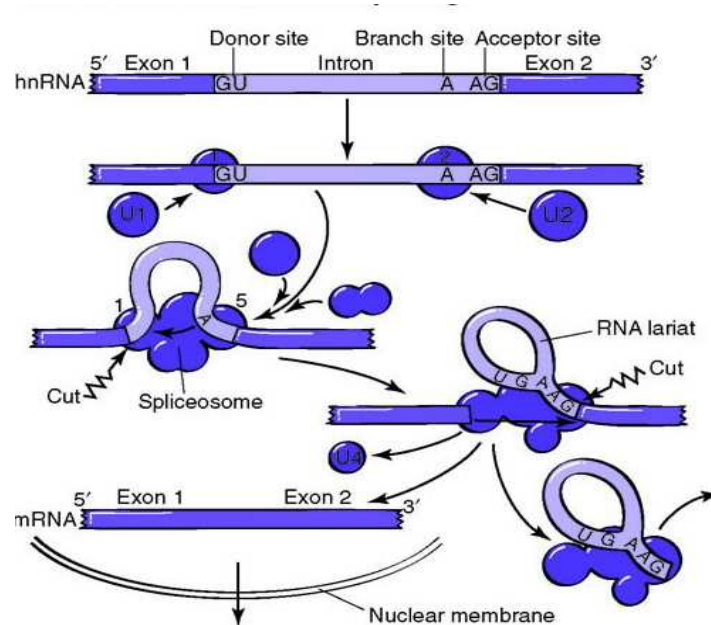
	Genetický kód	Kód sestřihu	Kód signální transdukce	Kód kompartmentalizace	Kód cytoskeletu
znak	kodon (triplet nukleotidů)	začátek intronu	první posel	signální sekvence aminokyseliny	mikrotubuly
adaptor	tRNA (aminoacyl – tRNA-syntetáza)	snRNA	receptor, mediátor a zesilovač	Golgiho aparát	kotvící proteiny
objekt	aminokyselina	konec intronu	druhý posel	jeden ze tří typů směřování	buněčné struktury

Obrázek 2.1 Tabulka pěti druhů kódů, jejichž povahu Barbieri vykládá ve své knize *Organické kódy* (2006).

U těchto zmiňovaných kódů však není jednoznačné určení znaku a objektu. Všechny mají společné to, že jisté adaptory (opět RNA, proteiny nebo buněčné organely) vykonávají dva nezávislé rozpoznávací procesy. Nicméně tyto nezávislé rozpoznávací procesy vykonává jakýkoli protein s dvěma vazebnými místy. Role adaptorů se tak neukazuje být nijak výjimečnou.

U kódu splicingu Barbieri dle mého soudu určuje znak a objekt zcela nahodile: začátek intronové sekvence je pak pro Barbieriho znakem, konec intronu je objektem. Konec i začátek intronu jsou podle Barbieriho nezávislé, a to proto, že jsou od sebe nejen fyzicky vzdálené, ale jejich nezávislost plyne i z možnosti alternativního sestřihu. Je pravdou, že celý aparát tzv. *snurps* adaptorů poskytuje význam intronovým sekvencím jakožto takovým a de facto následně i budoucí mRNA a proteinu samotnému; za objekt jako takový (který je významem) bychom však měly považovat výslednou mRNA složenou z exonů, ne konec intronové sekvence. SnRNA totiž invariantně rozpoznávají nukleotidy GU na začátku a AG na konci intronu (minoritně u vyšších eukaryot jsou rozpoznávány dvojice nukleotidů AU, AC). Jde o nutnou nikoli postačující podmínku, délka exonu může být variabilní, a dvojice GU-AG může být vybrána na různých místech hnRNA.

Začátek i konec intronu bychom nicméně mohli považovat spíše za znaky, které referují k objektu, tj. k výslednému sestřihu. Původcem tohoto referenčního vztahu by pak v souladu s Barbierim byl kód splicingu. Pokud bychom chtěli být zcela důslední: jaké dva rozdílné světy spojené adaptory nalezneme u tohoto příkladu? Zřejmě se bude jednat jednoduše o světy intronových a exonových sekvencí, tj. svět hnRNA a mRNA.



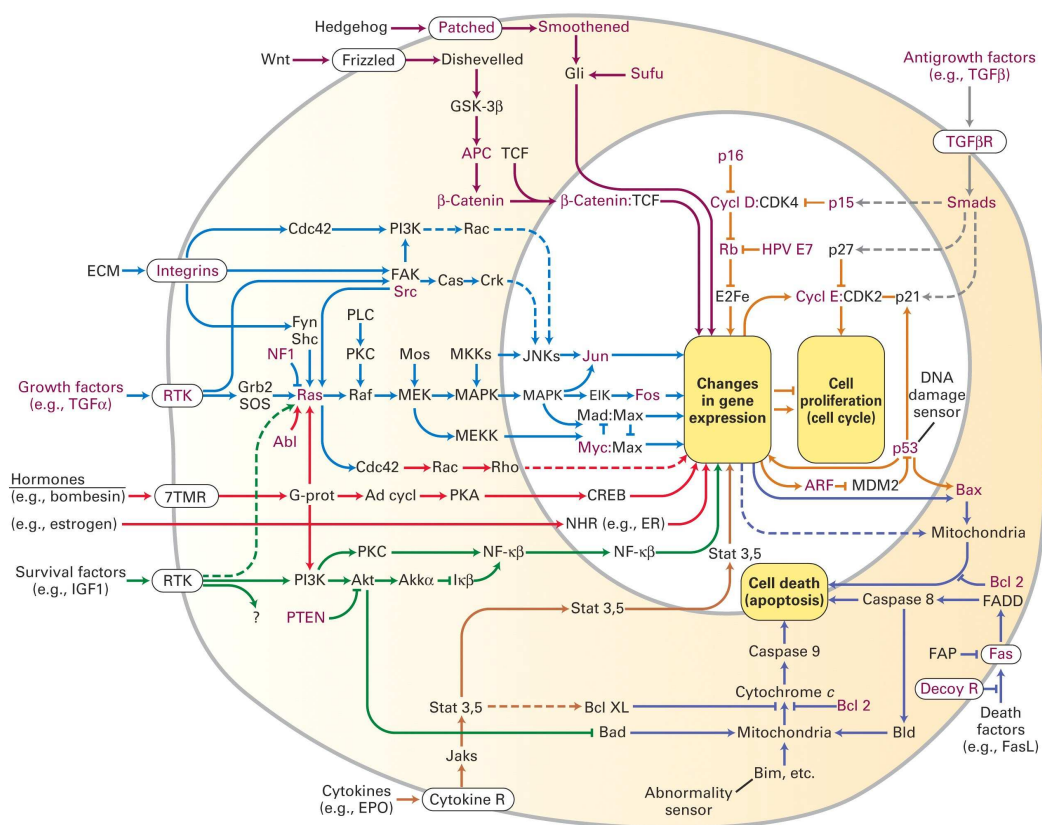
Obrázek 2.2 Demonstrace sestřihového aparátu. RNA lariat je struktura, která vzniká vystřihováním intronu. (Zdroj www.blackwellpublishing.com).

U kódu signální transdukce (procesu, kdy je extracelulární signál přeměněn na buněčnou odpověď) pak Barbierimu opět stačí potvrzení tří základních vlastností kódu, aby byl přesvědčen, že buněčná signalizace se skutečně děje na základě kódu. Svět prvních posílů, kterých je známo nespočet a svět druhých posílů, které jsou podle Barbieriho zatím stále známy pouze čtyři, jsou rozdílné světy, spojené trojicí adaptorů (receptorem, mediátorem a zesilovačem) (Barbieri 2006). Tyto adaptory poskytují signalizačním procesům onu biologickou specifitu, kdy tentýž první posel může aktivovat různé druhé posly a naopak různí první poslové aktivují tytéž druhé posly.

Dnes je známo, že druhých posílů existuje více než pouze čtyři. Je však pravdou, jak tvrdí i Barbieri, že tentýž komplex signál a receptor může v různých kontextech vyvolat různé odpovědi, a naopak různé komplexy ligandu a receptoru mohou vyvolat tutéž signální dráhu. Např. aktivace MAP kinázové dráhy se děje často přes tzv. rodinu receptor tyrosin kináz, kvasinky MAP kinázy aktivují zcela jinou cestou přes G-proteiny (u savčích buněk pomocí MAP kinázové dráhy

dochází k fosforylaci řady enzymů, včetně těch regulujících transkripci; kvasinky pomocí MAP kinázové dráhy regulují párování, filamentaci či remodelaci buněčné stěny, Lodish et al 2003).

Aktivace téže komponenty signální transdukce ve stejné buňce skrze různé receptory může často vyvolat jiné buněčné odpovědi. Barbieri nezmiňuje, že i různé kinázové kaskády mohou sdílet stejné komponenty, ačkoli cílová regulace je zcela odlišná. V signální dráze nemůžeme jednoznačně mluvit o jediném regulátoru (Bruni 2007), účastní se jí totiž mnohé kotvící (*anchoring*) či konstrukční (*scaffold*) proteiny, které směřují další mediátorové proteiny na příslušné místo v buňce nebo napomáhají fosforylaci (a většinou aktivaci/deaktivaci) cílového proteinu.



Obrázek 2.3 Schéma signálních drah v eukaryotní buňce. (Zdroj: www.biochemweb.org/).

Mezi jednotlivými dráhami dochází i tzv. *cross-talk* interakci, to znamená, že se jednotlivé dráhy mohou zkřížit (viz. obrázek 2.3). Komplexnost a dynamika celého signalomu je zvláště i díky možnosti vzájemné provázanosti (*cross-talk*) tak velká, že vytvořit pro ni tabulku kódu bude zřejmě nemožné. Buňka pracuje jako spletitá mozaika, kdy tytéž komponenty jsou využívány v různých

kontextech, mnohdy mohou zastupovat zcela protichůdné role, vzájemně se zastupovat v signalizačních drahách či ovlivňovat vlastní syntézu.

Trojice receptor mediátor a zesilovač se svou rolí velmi podobají roli adaptorů, jak je Barbieri definuje, a proto se také domnívá, že ačkoli vytvoření podobné tabulky v případě signální transdukce je mnohem složitější než u kódu genetického, je pouze otázkou času, kdy bude obdobná tabulka vytvořena.

2.2. Sémiotická biologie

Biosémiotika² je dnes chápána jako věda o znacích v živých systémech (Kull 1999). Snaha biosémiotické tradice je uchopit živý organismus ne jako mechanickou *res extensa*, ale jako aktivního vyhodnocovatele významů znaků. Její současný koncept velmi ovlivnily myšlenky Charlese S. Peirce (1839-1914), který se soustředil na procesy poznání. Myšlenka jakožto reprezentace pro něj byla typickým příkladem znaku. Proces sémiose tak pro něj představoval základní způsob uchopování naší reality. Svůj koncept znaku definoval jako neredukovatelnou triadickou kompozici representamenu (znak či nositel znaku), jeho objektu (nemusí být nutně fyzické povahy) a jeho interpretantu (zodpovědný za vztah objektu a znaku). Neredukovatelnou v tom smyslu, že žádnou z komponent nelze uvažovat odděleně a autonomně bez vztahu ke zbývajícím komponentám triády. Sémiose je procesem, ve kterém mysl produkuje interpretant (mentální model objektu) na základě representamenu produkovaného bezprostředním objektem. Bezprostřední objekt je pak jednotlivé uchopení objektu dynamického, který je součástí světa, avšak není přímo poznatelný (Markoš 2000).

Aplikováno na biologii můžeme za nositele znaku (representamen) považovat genetickou informaci jedince, která je dále interpretována jeho potomky. Representamen je pak nejenom znakem, ale v dalším kroku sémiose se representamenem stává celá původní triáda. Nekonečný sémiotický cyklus probíhá pak na způsob spirály, kdy se původní triáda stává vždy representamenem pro triádu další (Emmeche, Hoffmeyer 2005).

Se sémiotikou triádou je spojen další fenomén, a to je zvyk (*habit*). Nastane-li toto stádium máme sklon považovat naši interpretaci dynamického

² Sémiotickou teorii výrazně ovlivnil i Ferdinand de Saussure (používal termín sémiologie), jeho pojetí nicméně nebude předmětem této práce. Podrobnější dějiny biosémiotické tradice viz. Favareau, D. (2007) nebo Kull K. (1999).

objektu za dokonale definovanou a konečnou, a to do té doby, dokud se zvyk nezmění a celý význam objektu se nezhroutí a není znovu reinterpretován. Právě díky existenci zvyku, ukotvené interpretaci nepoznatelného dynamického objektu, je pak možné intersubjektivní porozumění (a fungování objektivní vědy, viz. níže). Zjevná korelace fenoménu zvyku a kódu bude pojednána později.

Výstižné je vysvětlení Umberta Eca (1997): „*Prvost (representamen) nám umožňuje poznat, že je možné, že je zde cosi. Aby se však toto dalo vyslovit, abych mohl říct, že cosi mi vzdoruje, musela už předtím vstoupit do hry Druhost. V oblasti Druhosti (interpretans) opravdu můžeme do čehosi vrazit. Když nakonec přejdeme k Třetosti, které implikuje zobecnění, dopracujeme se k bezprostřednímu objektu. Ten mi otevřel přístup k obecnému, ale právě proto mi už není zárukou, že zde skutečně přebývá nějaké cosi, že nejde jen o mou konstrukci*“ (podle Markoš 2003).

Paralela Peircova dynamického objektu a Kantovy koncepce *Ding an sich* je zřejmá, svět sám o sobě není poznatelný, naše interpretace však díky *habitu* není solipsistická ani zcela svévolná. Podobné koncepce však vrhají pochyby na objektivitu a konečnost vědeckého poznání, jednoznačnost vědeckých poznatků a celá oblast kognice interpretanta (jako i vědce) je pak vržena na nejistou půdu intersubjektivního sjednávání významů, na půdu, na níž se pohybují spíše jevy kulturní, nevědecké. Vědecká pravda však na této nejisté půdě nedokáže fungovat, vědecká pravda musí být systematizována v řádu logiky a pro intersubjektivitu v ní není místo.

Další postavou zmiňovanou v úvodu této práce, která zásadně ovlivnila vývoj biosémiotické tradice, byl Jacob von Uexküll (1864-1944). Ten sice nevytvořil striktní vymezení pojmů znak a význam, ale vymezil tyto pojmy spíše aplikací na procesy komunikace organismu v rámci svého žitého světa. Zásadní v jeho nauce bylo také pojetí organismu jakožto subjektu; tohoto privilegia se dosud dostávalo pouze lidem. Subjekt–organismus se ke svému okolí vztahuje pomocí *funkcionálních okruhů (Funktionskreis)*, které jsou tvořeny jak *znaky vnímání (Merkmale)*, tak *znaky působení (Wirkmale)*. *Znaky vnímání* představují způsob jedinečného kvalitativního uchopení objektu ze světa daným organismem (pomocí jeho smyslové výbavy). Pomocí *znaků působení* se objekt subjektu zase specificky zjevuje skrze své jevové stránky, jimiž může na organismus působit.

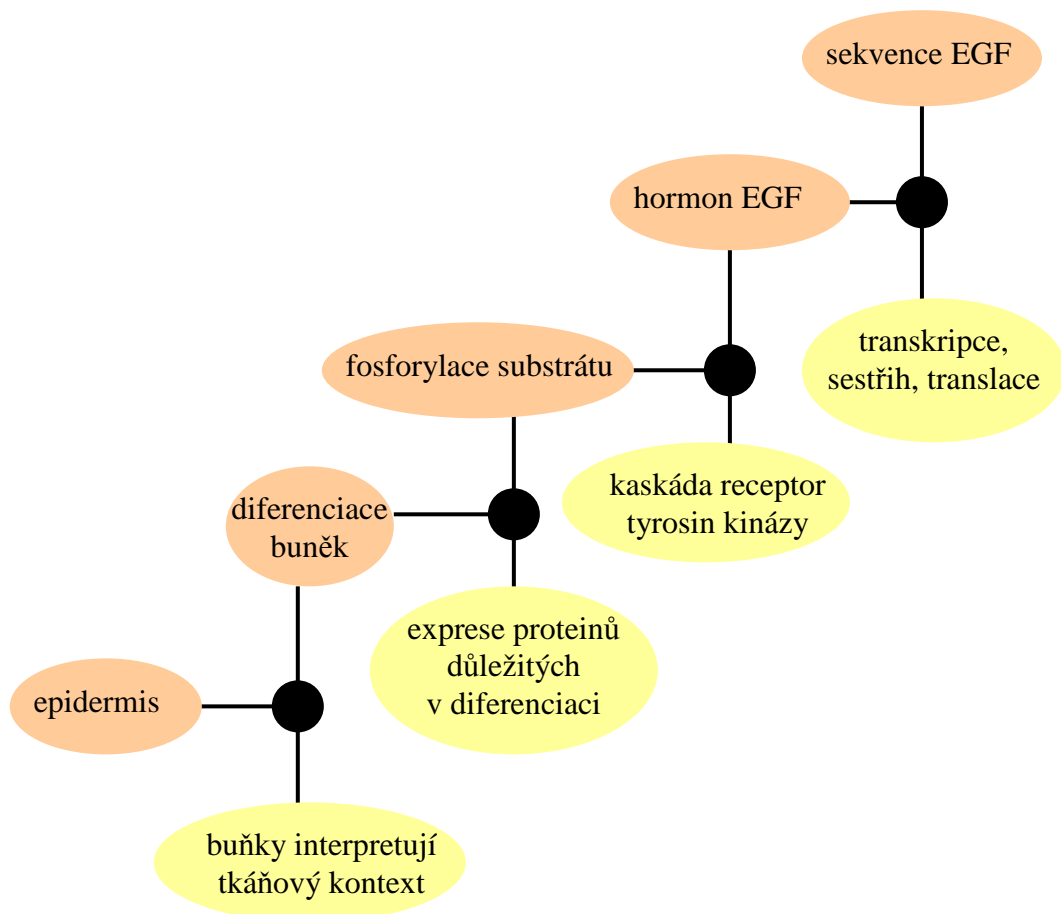
Těchto funkcionálních okruhů může být různý počet a společně pak tvoří *umwelt* subjektu-živočicha.

Uexküll *umwelt* tedy rozděloval na svět vnímání (*Merkwelt*) a svět působení (*Wirkwelt*). Tyto dvě oblasti se spojují v jeden celek skrze vnitřní svět těla organismu (tzn. skrze nervovou soustavu spojující smysly a efekторы) (Souček 2007, Kliková, Kleisner 2006).

Považovat von Uexkülla za biosémiotika však odmítá Markoš (2006) a vnímá Uexkülla jako kreacionistu, jehož pojetí *umweltu* je pro živou bytost v posledku stejně reduktivní jako je tomu u mechanisticky-programové metafory. Tato živá bytost (či ekosystém) totiž sama nic nerozhoduje, jedná pouze podle plánu Přírody.

Na biosémiotiku je dnes také často nahlíženo jako na nauku, v které se snoubí poznatky přírodních a duchovních věd. Ve smyslu syntézy těchto věd, která by mohla rozpory mezi nimi překonat, je proto do ní vkládána i velká naděje (Chebanov 1998).

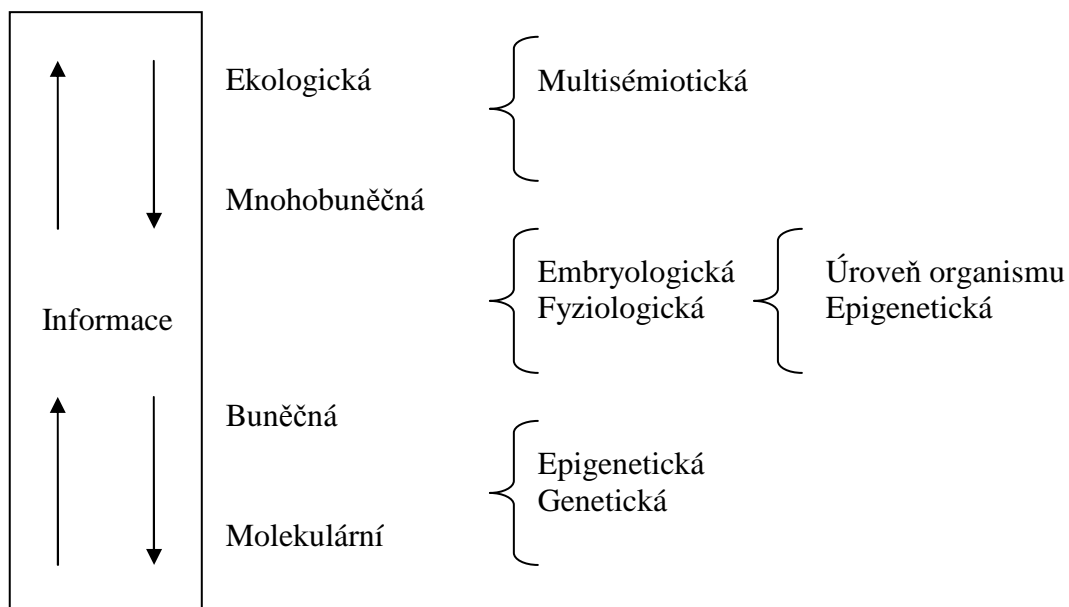
Peircova triáda znak-interpretant-objekt (význam) je dnešními biosémiotiky aplikována na vysvětlení vztahu mnoha přírodních jevů, vztahu frekvence genů, reprodukce a prostředí; vztahu genetické informace, předků a potomků; vztahu fenotypu a genotypu. Např. Emmeche a Hoffmeyer (2005) za znak označují DNA, objektem je pak organismus a interpretantem zygota. Dále považujeme-li stále DNA za znak, může být celý rod chápán jako interpretant a objektem se tak stává ekologická nika. Dle biosémiotiky je tedy pro život charakteristická jakási *triadická logika* (Bruni 2007). Aplikovatelnost triády je však mnohdy v případech biosémiotických prací téměř nadužívána (obr. 2.4).



Obrázek 2.4: V pojmech sémiotické biologie můžeme o procesech v živých organismech přemýšlet na mnoha úrovních. Na první, základní molekulární úrovni je znakem např. sekvence kódující určitý hormon. Zde jde o jeden z růstových faktorů (*epidermal growth factor*), který je významem sekvence, jež ho kóduje (interpretantem je pak samozřejmě transkripční, sestřihový a translační aparát). Výsledný hormon se v dalším momentě triády sám může ocitnout v roli znaku, kdy při navázání na receptor buněčné membrány (dostáváme se tedy podle Brunioho schématu již na buněčnou úroveň sémiose) spouští skrze interpretátory dané signální dráhy (dráha receptor tyrosin kináz) transkripci dalších genů, jejichž významem je cílová diferenciace buněk (epigenetická úroveň). Diferencované buňky interpretují svůj tkáňový kontext, v tomto momentě se proces sémiose dostává již na úroveň mezibuněčnou, a tedy na embryologickou a fyziologickou, protože společně tvoří pokožku embrya. Jistě bychom mohli pokračovat dále na úroveň ekologickou (multisémiotickou). V dolní řadě vidíme vždy interpretanty triády, horní řada je tvořena znakem (sekvence EGF) a významy triády, které se však samy v dalším kroku stávají znaky triády nové. Podobných triadických schémat je tvořeno v sémiotické biologii mnoho, jejich aplikovatelnost může být téměř nekonečná a stejně tak každá z těchto triád může být detailněji rozebrána. Zmiňované základní úrovně popisu jsou znázorněny na obrázku 2.5.

Samozřejmě je toto výkladové schéma (obr. 2.5) značně zjednodušující, přechody mezi jednotlivými úrovněmi mohou být nejednoznačné a může být problematické extrapolovat z jedné úrovně na druhou. Jsou však základním orientačním schématem úrovní, na kterých můžeme o procesu sémiose mluvit. Jak je zřetelné i z Brunioho schématu, informace proudí neustále všemi směry. Poslední kapitola, týkající se klasifikace organických pamětí, bude víceméně z tohoto schématu rovněž vycházet. Na epigenetickou úroveň se zaměřím už v třetí

kapitole. V následujícím oddílu druhé kapitoly bych ráda konfrontovala Barbieriho sémantickou biologii s biologií sémiotickou.



Obrázek 2.5 Úrovně organismu, na nichž může probíhat sémiose. (Podle Bruni, 2007).

2.3. Sémantická versus sémiotická biologie

Podle Barbieriho dosud biosémiotika nedokázala, že buňka je sémiotickým systémem (Barbieri 2007). On sám soudí, že motorem vývoje jednotlivého organismu i druhu není proces sémiose, ale kódování; příkladem je mu především existence genetického kódu. Tento soubor konvencí, stejný pro všechny organismy téměř po celou jejich historii, nezávisí na interpretaci, je totiž zcela konzervativní. Barbieri proto sémiotickou triádu zaměňuje za triádu *znak - kód - význam*. Kód je ustaven *tvůrcem kódu (code maker)*, tam kde by biosémiotik mluvil o triádě *genotyp - interpretant - fenotyp*, mluví Barbieri o triádě *genotyp - tvůrce kódu - fenotyp* (neboli *genotyp - ribotyp - fenotyp*). Pro Barbieriho ve vztahu genotypu a fenotypu není místa pro interpretaci, resp. interpretace je zúžena na soubor kódujících pravidel. „*Interpretační proces je nutný k tomu, aby došlo k volbě mezi pluralitou pravidel, neznamená to, že se v tomto procesu pravidla tvoří.*“ Sémiose je pak kontextově závislá a vyžaduje podle Barbieriho kontextově závislý kód (Barbieri 2007).

Proces interpretace přichází tedy na řadu teprve tehdy, je-li kód kontextuálně závislý, a tak musí dojít k interpretaci *z předem daných* možností volby, které však sám agens nevytváří. Kód tedy předchází interpretaci, ta se děje již na základě kódu. Teprve v tomto bodě by Barbieri mohl o své sémantické biologii mluvit i jako o biologii sémiotické, což sice činí často (Barbieri 2007), nicméně z podstaty biosémiotiky tak činí neprávem. Jeho sémantická biologie znamená přiřazování jednoznačných významů znakům na základě pevně stanoveného kódu, pro interpretaci, která hraje tak podstatnou roli v biosémiotice, tu není místo. Jsou-li kódující pravidla, možnosti volby, již předem dány, stává se pak kód kódem počítačným a strojová metafora se nám oknem vrací zpět. Ve světě předem daného pak nemůže vzniknout žádná nová interpretace, žádná novinka. Barbieri by pravděpodobně novinku vysvětlil jako novou, dosud neuskutečněnou volbu v rámci kódujících pravidel.

Ač on sám mluví o své nauce jako o sémantické biologii a současně ji označuje jako vědu o významu, do sémiotické biologie³ být podle mého názoru zařazena nemůže. Vzpomeňme ještě pojetí Thomase Sebeoka: interpretace je nutná a dostačující podmínka pro to, abychom mohli mluvit o procesu sémiose (1963). Sebeok uvažoval o sémiosi pouze ve vztahu organismů k jejich *umweltům*.

Jak ale ke vzniku kódu dochází? Co pro Barbieriho přesně znamená spojení „kontextově závislý kód“? Rozumí buňka svému kontextu opravdu pouze na základě kódu? Kontextuální závislost vychází dle Barbieriho z genetického předurčení organismů, počet kódujících pravidel uložených v genomu však nemůže být nekonečný. Některá pravidla jsou podle Barbieriho získávána učením, toto učení pak samozřejmě vyžaduje paměť, z čehož plyne, že interpretace pak není pouze kontextově, ale i paměťově závislá. Jak se ale buňka může naučit interpretovat novinku, je-li od začátku omezena konečným kódovacím systémem pravidel uložených v genomu? Zřejmě pouze náhodnou mutací ve stávajícím systému kódů.

³ Barbieri v předmluvě k *Introduction to Biosemiotics* (2007) mluví o třech modelech biologické sémiotiky. První je založena na modelu Ferdinanda de Saussure, který definoval sémiotický systém jako dualitu „označujícího a označovaného“ nebo jako „znak a význam“; druhý model se zakládá na Peircovské triádě znak – interpretant- objekt a byl převzat jak Kopenhagen-Tartu školou, kterou reprezentují Jesper Hoffmeyer, Clause Emmeche a Kalevi Kull, tak i pražskou hermeneutickou školou reprezentovanou Antonem Markošem. Třetí model sémiotické biologie je Barbieriho model sémantické biologie.

Barbieri se domnívá, že na základě kódu je možno budovat komplexnější typy sémiotických procesů. Evoluce sémiose se pak děje na základě: (1) přidávání nových kódů a (2) vytvořením sémiotického systému schopného interpretace. Historie sémiose začala podle Barbieriho procesem, který pracoval na základě kontextově-volných kódů a postupně produkoval kódy více a více kontextově závislé (Barbieri 2007). Co však Barbieri přesně míní spojením výrazů kontextově-volný kód, dále nevysvětluje. Míjí tím snad kód nezávislý na jakémkoli kontextu, něco jako pevně daný (*hard-wired*) kód? Zřejmě ano. Jak potom ale může docházet k uchopování kontextu, pokud na počátku stály pouze jednoznačně určené vztahy, jednoduše popsitelné aparátem formální logiky? Můžeme v tomto případě vůbec o vzniku něčeho jako je kontext mluvit? Barbieriho pojetí kontextově volného kódu pak vlastně neguje Batesonův výrok „bez kontextu není komunikace“ (Bateson 1972).

Původní bezkontextuálnost Barbieriho sémiotiky, na jejímž počátku stály původně jasná pravidla, vrhají pochyby i na jeho pojem *code-maker*. *Tvůrcem kódu* jsou dle jeho teorie adaptorové molekuly: tRNA (a aminoacyl-tRNA syntetázy) u kódu genetického, spliceosom u kódu sestřihu či trojice receptor-mediátor-zesilovač u kódu signální transdukce. Mluví-li však o *tvůrci kódu*, měl by tento aktivně vytvářet kódující pravidla (de facto po způsobu představy sémiotické biologie), v Barbieriho pojetí je však pouze spojovacím článkem, doslova adaptorem, v předem daných pravidlech původně kontextově nezávislého kódu. Význam je podle Barbieriho na tvůrci kódu závislý, ale zdá se, že pouze ve smyslu onoho spojovacího článku, což znamená, že nejde o aktivního *tvůrce*. Nelze říci, že by adaptory byly zcela pasivními články, nicméně o tvorbě pravidel tu nemůže být řeč.

Barbieri se taktéž dopouští zřetelného protimlůvu, považuje-li existenci tabulky jakéhokoli ze zmiňovaných kódů za objektivní, ale zároveň ve své knize mluví o evoluci konvencí. O konvenci mluví čistě proto, protože kód byl vždy považován za něco, co náleží kulturní sféře lidského bytí. V jeho pojetí však o konvenci mluvit nelze, protože kódy představují jasná, předem daná schémata buněčných a ontogenetických procesů. Ne něco, co vyniklo dohodou, smlouváním, a neustálým ověřováním v praxi. Tak je přece běžně výraz konvence chápán ve sféře naší, lidské kultury.

Barbieri stále volá po tom, aby byly kódy uznány za *reálné*. Bylo již řečeno, že jejich existenci považuje za objektivní, což umožňuje učinit ze sémantické biologie vědu objektivní a měřitelnou (Markoš, Kleisner 2007). Jejich vznik vysvětluje neuspokojivě, a tak se dostáváme k problému vzniku kódu nejenom genetického, ale i všech zbývajících, které Barbieri popisuje. Souhlasím s Barbierim, že díky chování organismů na buněčné úrovni, které se nápadně podobá kódu, ustáleným pravidlům, je vytvořena platforma, na jejímž základě je umožněn další vývoj k složitějším biologickým systémům. Dohodnuté kódy jsou platformou, na které musí stavět další sémiose, aby mohlo docházet ke konvergentnímu nárůstu složitosti. Existence podobných platforem je zapotřebí stejně jako již zmiňovaných organických pamětí.

2.3.1. Kód jako metafora

Vraťme se zpět k jednomu z vysvětlení povahy kódu: v případě kódu se tedy jedná o *propojení dvou zcela nezávislých světů* (Barbieri 2006), ať už se jedná o svět teček a čárek a svět abecedy propojený morzeovým kódem nebo o svět DNA (RNA) a svět proteinů propojených kódem genetickým. Barbieri tak činí analogii mezi kódem propojujícím dva znakové systémy (morzeovou a naši abecedu) a kódem propojujícím svět molekuly DNA a světem proteinů, který už je světem tělesným. Stejně tak mluví o významu jako o mentální entitě, pokud jde o kód mezi mentálními objekty a o významu jako o organické entitě, jde-li o kód mezi organickými molekulami (Barbieri 2007).

Analogie dokládá, že Barbieriho metafora kódu je vytvořena na základě naší kulturní zkušenosti s morzeovým kódem, aby tak popsala metaforicky zkušenost zcela novou, tj. zkušenost s fenoménem, jakým je svět DNA, RNA a genetického kódu jako takového (a u Barbieriho i s fenomény dalších molekulárních a buněčných procesů). Jediný druh podobnosti, který mezi těmito dvěma kódy figuruje, je podobnost zkušenostní (strukturního typu, tj. založené na určité podobnosti těchto dvou zkušeností), podobnost, kterou lze empiricky prožívat jedině ve vztahu k našemu pojmovému aparátu, nikoli však jako zkušenost objektivní. Primární funkcí takovéto metafory je poskytovat částečné porozumění jednomu druhu zkušenosti na základě jiného druhu zkušenosti (Lakoff, Johnson 2002). Podle Lakoffa a Johnsona jsou takovéto metafory

primárně záležitostí myšlení a činnosti (interakce se světem) a pouze odvozeně záležitostí jazyka.

Tato kritika se nevztahuje k tvorbě podobných metafor jako takových, jinak než metaforicky vlastní zkušenost a okolní svět ani uchopovat nedokážeme, jde však o to, že nemůžeme tvrdit, že cosi jako kódování u živých bytostí existuje *reálně*. Kód je pouze metafora, život nemůžeme vtěsnat do tabulek a považovat tyto tabulky za reálný způsob bytí živých organismů, a to na jakékoli úrovni popisu.

Samozřejmě i sémiotická biologie operuje s velkým množstvím podobných metafor, věda bude vždy podobným způsobem antropomorfně „pošpiněná“, ale musíme mít neustále na paměti, že jde o způsob, jakým se my sami ke způsobu bytí našeho okolí vztahujeme.

Znatelná paralela vede mezi Peircovým pojmem *zvyk (habit)* a Barbieriho pojetím *kódu*: *zvyk* jakožto ukotvená intersubjektivní interpretace určitého representamenu, na které staví kolektivní porozumění a možnosti dalších interpretačních úkonů (stejným způsobem fungují i Lakoffovy metafory). Stejně tak kód, vykonávaný mnoha organismy napříč druhy i generacemi, je jistou konvencí, na které podle Barbieriho staví (a jedině na jeho základu je možná) *sémiose*. Na kódech staví i epigeneze živého tvaru jako taková.

Fenomény zvyku či to, co můžeme nazvat kódem, pozorujeme v živých organismech jako automatismy, s kterými se setkáváme jak v metabolismu, překladu genetické informace či v samotném chování organismů. Automatismy, kódy a habity jsou užitečné, bez nich by nebyl umožněn jakýkoli další vývoj, neustále bychom museli přehodnocovat základní procesy a činnosti, a to jak na úrovni molekulární, tak na úrovni jazyka či při každodenní existenci ve světě. *Automatické reakce se vyskytují na všech hierarchických úrovních života (rýhování vajíčka, chůze, podmíněné reflexy, instinkty, řízení auta). V některých případech už ani nelze stereotyp opustit (jako v případě pověstné kutilky vleknoucí omráčenou kořist), v jiném je nad ním nadřazené vědomé zasahování (řízení auta) (Markoš 2000).*

Domnívám se, že i cesta ke kódům byla cestou *sémiose*, kdy se kódy staly dohodnutou konvencí, která však musí být neustále sjednávána a utvářena v praxi. Zakotvení v těchto konvencích umožňuje další evoluci. A zde mohu souhlasit s Barbierim, že od těchto konvencí probíhá další vývoj opět cestou *sémiose*.

Shrňme si tedy závěrem této kapitoly stručně body, v kterých byl Barbieri kritizován:

(1) Pokud bude Barbieri trvat na prvenství kódu (původně kontextuálně nezávislého) před interpretací, měl by přehodnotit užívání pojmů jako je *tvůrce kódu* či *evoluce konvencí*.

(2) Automatismy translace, sestřihu hnRNA či některých signálních drah můžeme nazývat kódy, nemůžeme však tvrdit, že tyto kódy jsou reálně a objektivně existující a navíc neměnné. Jde pouze o metaforu, o způsob, jak jistým procesům v živých organismech můžeme rozumět. Navíc i samotné vztahy mezi znaky a významy v Barbieriho výkladech nemusejí být jednoznačné, jak bylo ukázáno u kódu sestřihu.

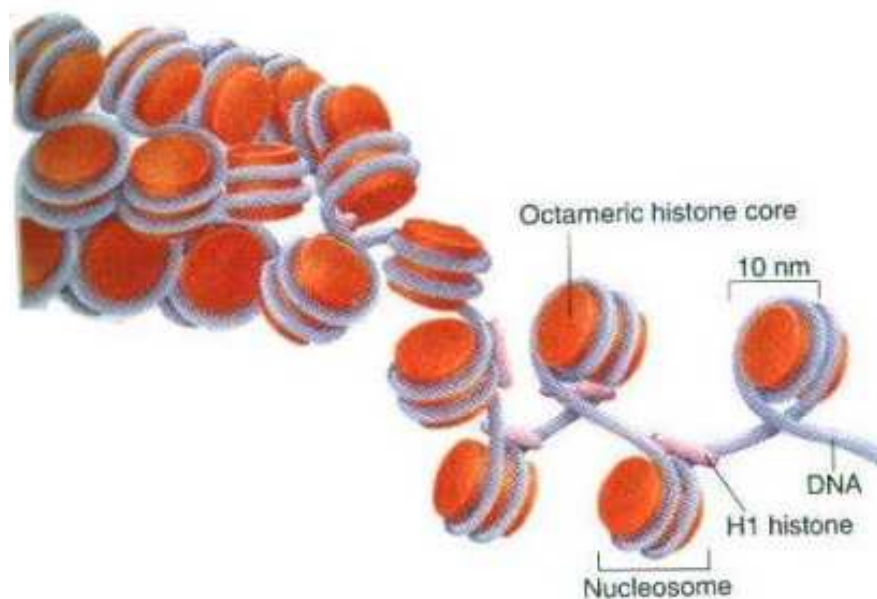
(3) Oproti Barbierimu se domnívám, že kódy a automatismy v živých organismech nehrají prvotní úlohu, ale dochází k nim právě prvotně cestou biologické sémiose, cestou interpretace jedinečných buněčných kontextů. Prvenství automatismů před možností posuzovat vlastní situaci ve světě činí z živých organismů opravdu pouhé automaty bez jakékoli autonomnosti, kteří jsou smýkáni pouze frekvencí mutací v genomu a prostředím, v kterém existují.

3. Hypotéza histonového kódu

3.1. Struktura chromatinu

Kondensovaná DNA se vyskytuje v eukaryotické buňce v asociaci s tzv. nukleosomy, oktamerickým komplexem proteinů (dvě kopie H2A, H2B, H3, H4), tzv. histonů. Devátý spojovací histon H1 uzavírá pomocí N-koncových částí zbývajících osmi histonových proteinů celý komplex nukleosomu. Nukleosom má periodu přibližně 200 bazických párů, z čehož asi 146 tvoří DNA, která je na nukleosomu namotána, zbytek tvoří tzv. *linker*, tj. řada párů bazí mezi dvěma jednotlivými nukleosomy (Turner 2007). Každý nukleosom je s DNA spojen 142 vodíkovými vazbami a také elektrostatickými interakcemi. Basické aminokyseliny histonů (Lys, Arg) neutralizují negativní náboj fosfátů DNA na vnitřní straně závitů nukleosomu, ulehčují tak ohnutí DNA a umožňují těsné sousedství dvou závitů na histonovém oktameru. Kontakt histonů s DNA není závislý na její sekvenci. Úloha histonů je kondensace DNA molekuly do tzv. 30 nm vlákna (např. lidská DNA je dva metry dlouhá, ale musí se vtěsnat do jádra o průměru 10-15 μm , vyšší úrovni kondensace napomáhají další specifické proteiny). Současně také molekulu DNA stabilizuje.

Jsou rozlišovány dva stupně kondenzace chromatinu: *euchromatin*, kdy se DNA skládá z 30 nm vlákna a smyčkových domén a je transkripčně aktivní a *heterochromatin*, kdy je DNA asociována s nukleosomy a pomocí dalších proteinů (např. condensin, cohesin) dále kondensována. Geny jsou tak umlčeny a k DNA nemohou přistoupit aktivátory transkripce, rekombinace či proteiny důležité pro opravu DNA (oblasti heterochromatinu se nacházejí na specifických částech chromosomů jako např. v blízkosti telomer či centromer). Histonové proteiny tak slouží i jako matrix pro modifikace, které zodpovídají za přístup k jednotlivým genům.



Obrázek 3.1 Struktura chromatinu: jádro nukleosomu se skládá z oktameru čtyř dvojic histonů (H2A, H2B, H3, H4). Histon H1 zbylé histonové jednotky sestavuje do struktury vyššího řádu. (Zdroj: <http://vsrp.uhnres.utoronto.ca/images/Slide3.JPG>).

Existují dva základní mechanismy, jak zpřístupnit genetickou informaci sbalenou v kondensovaném chromatinu: 1) pomocí kovalentních (avšak reverzibilních) modifikací N-konců histonů (acetylace, metylace, fosforylace nebo ubiquitinace) či 2) změnou struktury nukleosomů za pomoci celé palety enzymů (tzv. chromatin remodeling complex, Cruz, Lois, Molina 2005). Pak nastupují komplexy remodelující chromatin umožňující rozvolnění DNA a přístup pro replikaci, transkripci atp. Umožňují posun nukleosomů po DNA, jejich rozpletení a případné znovusložení.

V prvním zmiňovaném případě jsou koncové kyseliny histonů (Lys, Arg, Ser) modifikovány pomocí specifických proteinů, mezi které patří např. HAT (histonacetyltransferáza), HMT (histonmetylaza) či HK (histonkinaza). Tyto enzymové soustavy jsou doprovázeny dalšími soustavami s opačným účinkem.

Každý typ zmiňovaných modifikačních proteinů tvoří vícero rodin, jejichž vzájemná sekvenční podobnost je evolučně značně konzervována. Kombinace kovalentních modifikací⁴ acetylovými (kyselina lysin), metylovými (kyseliny lysin a arginin) či fosfátovými skupinami (kyseliny threonin a serin) tvoří specifickou vazbu s proteiny regulujícími strukturu chromatinu. Tyto proteiny nejsou schopné se na substrát navázat bez směřování pomocí takto

⁴ O procesu katalýzy, jakým konkrétní modifikace probíhají a modulátorech aktivity jednotlivých enzymů více viz. Giannis A. et al. (2005).

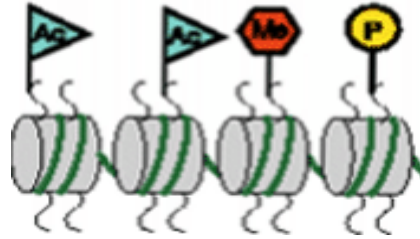
modifikovaných histonů. Specifitu vazebných proteinů dále určují i druhy a počty jejich domén. Na acetylované histony se např. váží přednostně proteiny s bromodomény, na metylované zase chromodomény, SANT domény se váží na nemodifikované histony atp. Tyto domény se vyskytují v komplexech remodelujících chromatin, ale i enzymech jako je HAT nebo HMT (tzn. v modifikujících enzymech). Ačkoli v některých případech enzyme remodelující chromatin obsahují více domén určitého typu, nebyl dosud nalezen případ, kdy by tentýž protein nesl kombinaci různých domén. Specifitu vazebných domén enzymů remodelujících chromatin zřejmě ovlivňuje: (1) sekvenční variabilita na vazebném místě domény, (2) počet kopií dané domény a (3) alosterické změny indukované interakcí protein-protein po navázání na chromatin (Cruz, Lois, Molina 2005).

3.2. Typy histonových modifikací

Acetylace histonů je zatím nejprostudovanější modifikací histonů. Může probíhat na N-koncích všech histonů (např. H2A a H4 jsou acetylovány ihned po syntéze). Rovnováhu acetylací na chromatinu udržují enzyme HAT (histonacetyltransferáza) a HDAC (histodeacetyláza). Pokud dojde k hyperacetylaci N-koncových lysinů histonů, pozitivní náboj aminoskupiny lysinového zbytku je neutralizován a elektrostatické interakce s fosfáty DNA jsou zeslabeny (negativní náboj DNA už nemůže být dále neutralizován). DNA se tak z nukleosomů uvolňuje a je zpřístupněna transkripčnímu aparátu (naopak hypoacetylované histony zřejmě zodpovídají za pevnou vazbu DNA a nukleosomů a za tvorbu vyšších organizačních struktur chromatinu).

Na acetylované lysiny (často histonů H3 či H4) se dále váží enzyme (se zmiňovanými bromodomény), které rozvolňují chromatin a umožňují tak nasednout transkripčnímu aparátu na DNA.

Nicméně ne u všech organismů byl potvrzen jednoznačný vliv acetylace a deacetylace, jak je zmiňován výše: u pakomára *Chironomus* (Turner 1990) či sarančete pustinného *Schistocerca gregaria* (Wolf & Turner 1996) je míra acetylace heterochromatinu podobná míře acetylace euchromatinu.



Obrázek 3.2 Příklady modifikací.
(Zdroj: biology.kenyon.edu).

Metylace probíhá pomocí enzymu HMT (histonmetyláza), demethylace pomocí enzymu HDMT (histodemetyláza). Metylované lysiny většinou mají za následek navázání represorových proteinů s chromodomény, které geny umlčují. Příkladem je deaktivace jednoho z chromosomů X v somatických buňkách žen, která je způsobena metylací H3K9⁵ a H3K27; celý proces však stále není zcela objasněn. H3meK9 je vůbec typická modifikace charakterizující strukturu heterochromatinu, na ni se dále váže protein HP1 (heterochromatin protein 1), napomáhající právě vyšší kondensaci vlákna. Zajímavé je, že pro aktivaci transkripce je na druhou stranu typická (di/tri)methylace H3meK4, často navíc doplněna acetylací H3K9.

Fosforylace histonů probíhá za pomoci proteinkináz a proteinfosfatáz (defosforylace) a je zahrnuta v buněčném cyklu během mitózy a meiózy, stejně jako v aktivaci genů během interfáze. Všechny fosforylované serinové zbytky jsou umístěny ve vysoce konzervované sekvenci aminokyselin (A-R-K-S). K fosforylaci dochází na N-koncích histonů H1, H2A, H3 a H4. Např. fosforylace H3S10⁶ je zahrnuta do procesu kondenzace chromosomů (díky změně nábojů na histonech) a buněčného dělení během mitózy a meiózy (např. u savčích buněk či u *Tetrahymena thermophila*). Fosforylace histonů (především H3) má však za následek i aktivaci transkripce genů časné odpovědi (Giannis et al. 2005).

Ubiquitinace slouží v cytoplazmě jako značka pro proteolytickou, ATP-dependentní degradaci proteinů proteasomem. Modifikace histonů ubiquitinací nemá stejnou funkci jako je tomu v cytoplazmě, nicméně je pravděpodobné, že brání kondensaci 30 nm vlákna a vyskytuje se tak v transkripčně aktivních regionech. K této modifikaci dochází na C-koncích lysinů histonů H2A a H2B (Giannis et al. 2005).

⁵ Modifikace N-koncového lysinu (K) č. 9 na třetím histonu (H3).

⁶ Fosforylace serinu č. 10 na třetím histonu.

Další známou modifikací je tzv. **ADP ribosylace**⁷. K ADP-ribosylaci dochází na histonech H2B a H1 (může jít o mono- i polyADPribosylaci). Předpokládá se, že polyADP-ribosylace souvisí s procesy jako je replikace DNA, reparace DNA či rekombinace (Giannis et al. 2005). Mezi další modifikace patří např. biotinylace (návázání biotinu na lysiny) a navázání proteinu SUMO, do těchto detailů však tato kapitola nepůjde.

Je třeba zmínit, že modifikace histonů, o kterých je zde řeč, patří mezi tzv. epigenetické modifikace. To znamená, že mohou být v buněčné linii dědičné a funkční nastavení jádra tak zůstane zachováno, aniž by byly tyto modifikace zapsány v genomu. Informační obsah jednotlivého genu může být klíčový, předpokladem pro jeho projev je však vždy aktivace tohoto genu. Nejen z tohoto důvodu jsou epigenetické procesy tak podstatné.

	Typ modifikace	Význam
	nemodifikovaný histon	umlčení genu
H3K14	acetylace	exprese genu
H3K9	acetylace	posun histonů
H4K5;H4K12	acetylace	posun histonů
H4K8;H4K16	acetylace	exprese genu
H3K9	metylace	umlčení genu/ heterochromatin
H3S10;H3S28	fosforylace	mitóza/meioza
H3S10;H3K14	fosforylace/ acetylace	exprese genu

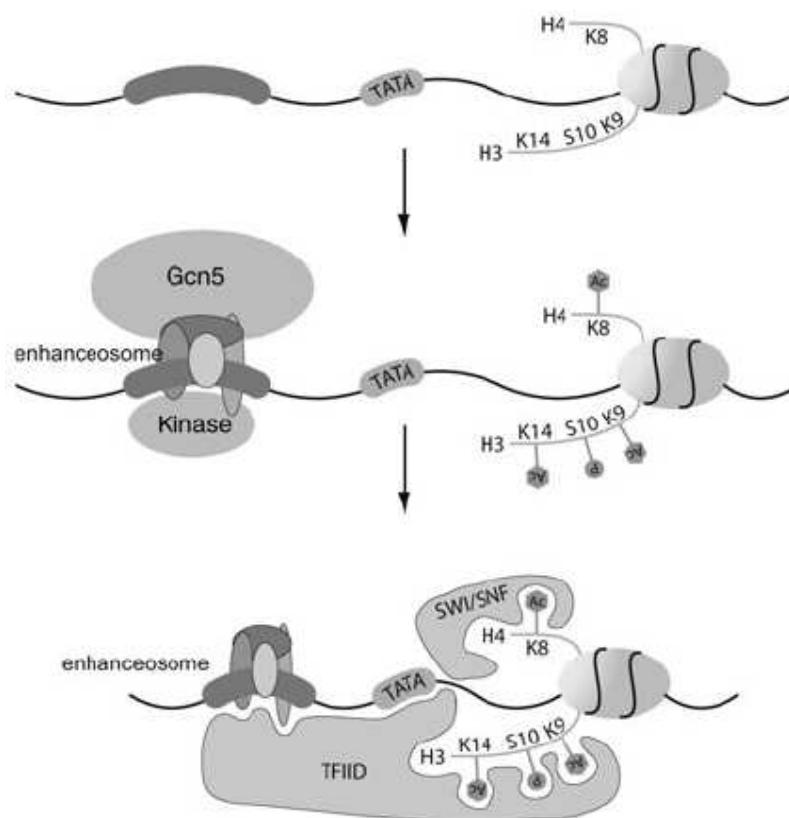
Obrázek 3.3 Pokud bychom měli vlivy některých modifikací shrnout do jasného schématu, vypadlo by přibližně takto. Z předchozího výkladu však víme, že modifikace často takto jednoznačně nepůsobí (např. v případě metylovaných lysinů a argininů). Některé modifikace zmiňované v tabulce nejsou v textu zmíněny, jde však o často uváděné příklady (Turner 2000, Biel, Wascholowski, Giannis 2005). Přehled všech dosud známých modifikací viz. příloha obr. 2, str. 70.

Specifita modifikací je určena především jejich vzájemnými kombinacemi, jsou zřejmě vzájemně závislé (Cruz, Lois, Molina 2005). Vzájemná závislost jednotlivých modifikací byla prokázána např. u kvasinek, kde fosforylace H3S10 usnadňuje acetylaci H3K14 (mnohé histonacetyltransferázy mají in vitro zvýšenou aktivitu při H3S10); naopak fosforylace H3K9 zase zabraňuje metylaci H3K9

⁷ Při ní dojde k připojení adenosindifosforibózy pocházející z NAD⁺(nikotinadenindinukleotidu) ke karboxylové skupině zbytku některé aminokyseliny, např. kyseliny glutamové.

(Biel, Wascholowski, Giannis 2005). Z pozorování dalších podobných případů vzájemně závislých modifikací pochází právě hypotéza histonového kódu (Turner 2000). Hypotéza předpokládá, že z rozložení a pořadí histonových modifikací bychom byli schopni předpovědět odpověď buňky stejně jako z pořadí tripletů dokážeme usuzovat na sekvenci aminokyselin v proteinu. Stále však není zcela jasné, jak některé modifikace mohou determinovat jiné.

Některé výzkumy také ukazují, že specifita vazby by mohla být určována i samotným typem aminokyselin koncových částí histonů (Cruz, Lois, Molina 2005).



Obrázek 3.4 Transkripce genu *interferonu-β* je příkladem kontroly za pomoci acetylace histonů. Při virové infekci, proti které interferony pomáhají bojovat, je v oblasti enhanceru vytvořen multiproteinový komplex (enhanceosome) transkripčních faktorů, který naváže histon acetyltransferázu Gcn5, která acetyluje H4K8 a H3K9 a po fosforylaci H3S10 neznámou kinázou, Gcn5 acetyluje i H3K14. Dané modifikace naváží bromodomény dalších transkripčních faktorů (TFIID) a remodelujících komplexů (SWI/SNF), bez nichž transkripce nemůže být aktivována. TFIID je komplex proteinů, který umožňuje nasednutí RNA polymerázy a dalších transkripčních faktorů na promotor. (Podle Biel, Wascholowski, Giannis, 2005).

3.3. Tvoří modifikace histonový kód?

Hypotéza histonového kódu předpokládá, že zmiňované kovalentní modifikace mohou tvořit kód specifických vazebných sítí pro efektorové proteiny, které následně modifikují chromatin (Strahl a Allis 2000). Tyto modifikace pak determinují transkripční stav genů, konstituují kód, který definuje aktuální či potencionální stav transkripce. Modifikace mají dlouhodobý či krátkodobý účinek: o krátkodobém mluvíme v případě aktivace transkripce, replikace či oprav molekuly DNA; o dlouhodobém pak pokud jde o samotnou strukturu chromatinu (např. formaci heterochromatinu) či o modifikace heterochromatinu, které jsou dědičné, tedy jinak řečeno o zachování odpovídající struktury heterochromatinu v buněčném cyklu či zachování struktury heterochromatinu z jedné generace do druhé. V tomto případě lze mluvit i o epigenetické buněčné paměti. V případě krátkodobých účinků, jsou histonové modifikace konečnými body signálních drah, pomocí kterých může genom rychle reagovat na momentální stimuly z prostředí. Modifikace, která má dlouhodobý efekt, byla zatím zmíněna pouze jediná: jde o H3meK9, na níž se svou chromodoménou váže protein HP1 a dojde k formaci heterochromatinu (v metafázi a interfázi). Jsou však známy případy, kdy je tatáž modifikace přítomna jak v transkripčně aktivním, tak i v neaktivním chromatinu (H3meK9) a jediná metylace histonu navíc má zcela jiný účinek: např. methylovaný H3K9 v kontextu s metylovanými H3K4 a H4K20, pomáhá udržet chromatin transkripčně aktivní navázáním proteinu BRAHMA, což je chromatin remodelující komplex. Metylace nemusí nutně znamenat deaktivaci transkripce.

Finální účinek modifikací na expresi genů záleží na jejich kombinaci a na struktuře chromatinu vůbec. Jakým způsobem jsou však enzymy, které chromatin modifikují, směrovány k cílovým místům na DNA? V těchto modifikujících enzymech se vyskytují stejné domény (bromo-, chromo- či SANT domény) jako u enzymů, které se na již modifikované histony váží; to napovídá, že směrování těchto modifikujících enzymů se děje za pomoci chromatin remodelujících enzymů (Cruz, Lois, Molina 2005). Tato skutečnost naznačuje hypotézu kódu: jak modifikující enzymy (které píší kód), tak i remodelující (které ho rozeznávají), musí tomuto kódu rozumět, takže je možné, že mezi nimi existuje vztah, v němž jedny enzymy rekrutují druhé.

Tvoří tedy specifické kombinace modifikací koncových kyselin histonů kód (Barbieri 2006, 2007, Turner 2000, 2006) nebo mají pouze kumulativní charakter (Henikoff)? Z jakého hlediska můžeme o histonovém kódu mluvit jako o sémiotickém systému? Představa kódu v případě histonových modifikací se objevila nejen u výše zmiňovaných autorů (viz. též Jeppesen 1997, Strahl, Allis 2000, Cruz, Lois, Molina 2005).

Z pozice Barbieriho pojetí kódu může být existence histonového kódu uznána; modifikace chromatinu (znaky) jsou zodpovědné za specifické výstupy v podobě transkripce, umlčování genů či kondensace heterochromatinu (významy). Tyto výstupy jsou uskutečněny pomocí proteinů (adaptorů), které se váží na specifické kombinace modifikací. Dle Turnera (2007) však v případě acetylace (tj. znaku), která je následně zahrnuta i v transkripci (významu) o kódu nemůže být řeč. Hyperacetylace histonů neutralizuje pozitivní náboj lysinových zbytků na histonech, což vede přímo k rozvolnění chromatinu a nepřímo k transkripci. Turner se domnívá, že v tomto případě není koncept kódu nezbytný (Turner 2007). Jeho kritéria definice kódu jsou stejná jako u Barbieriho (ač mluví pouze o dvou z nich): *kód je arbitrární a znak je na významu nezávislý*. Znak nemůže být zahrnut do konečného výstupu, proto ani modifikace acetylací podle Turnera podmínku sémiotického systému nesplňují. Turner ve svých analýzách histonových modifikací jakožto kódu používá Barbieriho sémantický model (ač ho nazývá stejně jako Barbieri sémiotickým). Stejný argument používá i Steven Henikoff (2006): v případě hyperacetylace jde pouze o kumulativní čistě fyzikální účinek acetylových modifikací.

Jak je tomu ale v případě těch modifikací, které fungují jako substráty pro proteiny remodelující chromatin? Situace ohledně modifikace acetylací není zcela jednoznačná (obr. 3.4): jak již bylo řečeno, acetylace umožňuje nejen rozvolňování DNA díky neutralizaci pozitivního náboje lysinových zbytků (což je dle Turnera vliv na transkripci pouze nepřímý), ale acetylové značky společně s doprovodnou fosforylací specifických zbytků aminokyselin umožňují navázání transkripčních faktorů, bez nichž by transkripce nemohla být spuštěna. V prvním případě koncepce kódu nutná není, modifikace acetylací má v tomto případě vliv, který lze jednoduše vysvětlit kumulativním efektem, avšak v druhém případě už je povaha modifikací odlišná. U prvního typu modifikace totiž nezáleží ani tak

na lokalizaci acetylové modifikace, ale spíše na množství acetylovaných zbytků, zatímco u druhé modifikace tomu tak není.

Povaha těchto modifikací naznačuje, že by mohly zodpovídat za diferenciaci buněk a vývoj jednotlivého organismu. Buňka prochází mnoha stádii, v nichž se postupně specializuje a každý krok ve specializaci znamená změnu v expresi genů, a tak i ve struktuře a modifikacích chromatinu. Naproti tomu totipotentní buňky ICM (inner cell mass) nejsou např. vůbec metylované.

Turner je toho názoru, že v tomto případě hypotéza kódu padá na úrodnou půdu, kód zahrnuje specifické modifikace, které dovolují, aby transkripční stavy genů byly rychle měněny (vypínány/zapínány) a tak definovaly momentální stavy ve vývoji individuálního organismu. Klíčový je pro Turnera i ten fakt, že zmiňované modifikace jsou na histonové zbytky aminokyselin umístěny před tím, než začne samotná transkripce (Turner 2007). Znaky (modifikace) tak ve významu (transkripci) nejsou zahrnuty. Z hlediska tohoto příkladu by však Turner musel souhlasit, že i sama acetylace, která zodpovídá za navázání transkripčního faktoru, může být součástí kódu.

Henikoff (2006), který s Turnerem o hypotéze histonového kódu debatoval v časopise *The Scientist*, nicméně nesouhlasí s žádným z těchto hledisek. Jak hyperacetylace chromatinu, pro svůj pouze kumulativní efekt, tak i jiné kombinatorické modifikace, jako výše uváděná di- a tri-methylace H3K4 a acetylace H3K4 pomáhající navázání proteinu BRAHMA, nekonstituují kód (Henikoff 2006). Ačkoli u druhého typu modifikací je tvořena specifická vazebná síť pro enzymy remodelující chromatin, které generují zcela jiné významy než pouze kumulativního charakteru, většina modifikací svázaných s transkripční aktivitou je natolik vzájemně svázaných a korespondují spolu jak v genomu kvasinek, hmyzu či člověka, že jim charakter kódu, díky němuž buňky diferencují, být podle Henikoffa být přisouzen nemůže. Henikoff zdůrazňuje spíše kumulativní efekt těchto modifikací, kdy pak fungují jako binární přepínače aktivního a neaktivního chromatinu.

Nicméně roli těchto modifikací nemůžeme redukovat na pouze kumulativní. Diferenciace buněk zřejmě pomocí epigenetických histonových modifikací probíhat může: díky určitým modifikacím chromatinu je z celého potenciálu genů vybrán jeden specifický diferencovaný stav genomu (nesmíme však zapomínat, že modifikace chromatinu se neustále mění a DNA je tak neustále

v pohybu a změně). Buněčná diference je předpokladem tvoření jakéhokoli mnohobuněčného organismu. Ještě zajímavějším by bylo zjištění, že histonové modifikace jsou nezbytné pro expresi homeotických genů (těm se budeme věnovat v další kapitole), které fungují jako klíčové regulátory ve vývoji mnohobuněčného organismu (Turner 2007).

Metafora kódu, s níž přichází Barbieri a následně i Turner, představuje užitečný konceptuální rámec pro naše pochopení dynamiky neustále změny na poli epigenetických modifikací chromatinu a toho, jak je pomocí těchto modifikací usměrňována exprese genů. Nicméně počet kombinací (znaků) je natolik velký, že se zřejmě stále pohybujeme na úrovni základních poznatků o tom, jak by zmiňovaný kód mohl fungovat. U samotných výstupů, tj. významů, ač je jich taktéž velké množství, by jejich klasifikace mohla probíhat snadněji. Zvláště pak u jednoduššího organismu s limitovaným počtem diferencovaných buněk a vývojových drah, jako je např. *Caenorhabditis elegans* (Turner 2007).

4. Eric H. Davidson – The Regulatory Genome

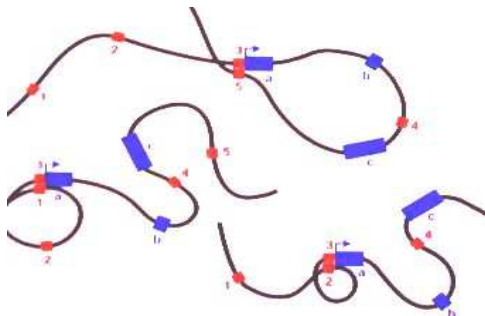
Než dojde ke klasifikaci organických pamětí zaměřím se na první kapitolu knihy Erica Davidsona *The Regulatory Genome* (2006). Jeho práce se věnuje dvěma podstatným fenoménům v biologii: vývoji a evoluci organismů (odtud vznik *evo-devo* disciplíny). Jde o brilantní syntézu dosud nashromážděných poznatků o regulačních sítích vývoje organismů a vysvětlení jejich fungování i z evolučního hlediska. Je také ukázkou, jak lze při vysvětlování těchto fenoménů důsledně uplatnit programovou metaforu. Davidson nám buňky předkládá jako počítačovou síť, v níž dochází ke komunikaci (doslova zpracovávání informace: *information processing*) mezi jednotlivými vrstvami síťové architektury genomu.

Výše bylo zmíněno, že mezi genomy mnoha živočichů jsou velké podobnosti (připomeňme často zmiňovaných 99% podobnosti sekvencí DNA u člověka a šimpanze) a tytéž geny mohou hrát roli v tvorbě zcela různých struktur. Jak je možné za pomoci téhož programu vytvořit natolik různé fenotypové struktury?

Za tento fakt dle Davidsona zodpovídá specifická architektura regulační sítě genomu, která je pro morfologické struktury různých živočichů různá, nikdy nejde o produkt jediného genu nebo jediného regulačního systému. Takováto regulační síť se skládá z genů kódujících *transkripční faktory* (jejich regulace je nesmírně důležitá, protože určují konečné stavy ve vývoji), které stanovují vstup na každém uzlu sítě (svou specifickou kombinací) a dále z *cis-regulačních modulů*, které mají pod kontrolou jednotlivé fáze exprese těchto genů. Termín architektura sítě odkazuje k topologii funkčního spojení mezi geny kódujícími *transkripční faktory* a jejich *cis-regulačními moduly* uprostřed sítě (na ně se *transfaktory* váží). Daná síť má i svou periférii, jež je definována takovou řadou genů, jejichž produkty nejsou už transkripčními ani signalizačními faktory. Jedinečná forma dané architektury sítě je přímo specifikována identitou genových sítí uvnitř zúčastněných *cis-regulačních elementů*, tudíž architektura regulační sítě je přímým evolučním dědictvím organismu.

Jak funguje řídicí soukolí usměrňující expresi regulačních genů samotných? Nejdříve mezibuněčný signál ovlivní transkripci regulačních genů. Postupně se utváří regulační síť: *transkripční faktory* působí na mnoho cílových genů skrze jejich *cis-elementy* a kontrolní elementy každého regulačního genu

odpovídají na další druhy regulačních faktorů, tzn. každý regulační gen má mnohé vstupy (může být ovlivňován jinými regulačními geny) a mnohé výstupy (může ovlivňovat). Regulační geny mají ve vývoji mnoho rolí: jejich repertoár je omezený, každý organismus užívá více či méně tytéž vazebné domény, které definují třídy transkripčních faktorů. Nicméně tytéž transkripční faktory jsou často vyžadovány v různých kontextech vývoje a jsou tedy schopné odpovídat na různé vstupy. Mnoho genů regulačního aparátu je užíváno v různých momentech vývoje, toto mnohovýznamové užití genů musí být schopno odpovídat správně na dané regulační stavy.



Obrázek 4.1 Regulace exprese pomocí alternativních smyček DNA. Exony jsou vyznačeny modře, enhancery (*cis*-regulátory) regulující transkripci pomocí navázaných *trans*-faktorů červeně (Davidson 2006).

Regulační genom je sekvenčně dependentní, protože transkripční faktory rozeznávají specifické motivy na DNA.

Funkční regulační prvky jsou tedy dva: transkripční faktory pak zastupují tzv. *trans* regulační modul; *cis* regulační moduly určující genovou expresi v čase a prostoru (*cis* modul je umístěn zpravidla na téže molekule DNA jako gen, který řídí). Mezi *cis*-regulační moduly patří již dříve zmíněné enhancery (str. 16-17). Transkripční faktory, které se váží uvnitř *cis*-regulačního modulu mohou být vnímány jako individuální vstup tohoto modulu a regulační výstup *cis* modulu je pak instrukce daná přímo transkripčním aparátům, tj. zda bude daný gen přepisován nebo umlčen. Výstup je tedy kauzálně závislý na stupni obsazenosti sítě uvnitř modulu.

Tento regulační genom je pevně stanovený (hard-wired -„zadrátován“), protože sekvence DNA regulačních elementů je stejná v každé buňce každého organismu. Při srovnání v rámci dvojvrstevných souměrných živočichů oddělení *bilateria*, nenalezneme žádnou kvalitativní variaci v genech kódujících transkripční faktory (tj. komponenty signálních drah potřebných pro regulaci vývoje v čase a prostoru).

Neuvěřitelná varieta regulačních výstupů může být naprogramována pouze užitím sítí stavěných z jednotlivých kontrolních jednotek, které fungují jako individuální uzly zpracovávající informace.

Vzrůstající komplexita, které organismus dosahuje při individuálním vývoji, je měřena postupujícím vznikem nových regulačních stavů, každý z nich je definovaný výstupem genetického podprogramu: každý z nich povstává v jednotlivé prostorové doméně embrya. Tyto programy samy řídí své výstupy. Architektonický náčrt každého jednotlivého organismu je pevně stanoven v genomu, takže každý organismus generuje pouze vlastní, zcela předpověditelný tělesný plán. Na druhou stranu Davidson tvrdí, že nemůžeme o vývoji mluvit jako o načrtnutém dopředu (jako si architekt vytváří črty svých budoucích staveb), protože organismy jsou mnohobuněčné a různé buňky činní různé věci s totožným programem, což je podstata regulačního genomu.

Regulační stavy jsou přechodné, nevratné, a to jak dlouho jednotlivé cykly trvají, závisí na systému. Např. čas na změnu populace mRNA kódující geny párového pravidla u octomilky je měřen v minutách, u ježovky jsou tytéž změny regulačních stavů měřeny v hodinách. Přechodnost těchto stavů plyne z potřeby sériového propojení kauzálně svázaných stavů v čase, každý je spojen s expresí mnoha genů v dané prostorové doméně a směřován daným regulačním stavem.

4.1. Prostorová exprese genů

Prostorové rozložení tvarů (*pattern formation*) se objevuje na každé úrovni vývoje/ organizace. Časné rozložení tvarů určuje první části tělního plánu, tzn. segmentaci na A/P ose (např. gen *evenskipped* (*eve*) u drozofily, který je exprimován v sedmi pruzích podél osy blastuly). Tento specifický obrazec vývoje určují právě *cis*-regulační moduly. *Cis*-regulační moduly mají tedy tak říkajíc prostorovou- řídicí funkci.

I buněčná diferenciací je podle Davidsona vysvětlitelná pokud vystopujeme *cis*-regulační interakce v architektuře sítě regulující proteiny od počáteční specifikace prostorově-regulační domény až k rozmístění a koordinaci exprese řady efektorových genů. Rozmístění diferenciací genů je finálním výstupem sítě, proto aparát pro toto rozmístění leží na periférii sítě.

Vhodným konceptem je zde dle Davidsona tzv. *baterie diferenciací genů*, tzn. řada funkčně svázaných efektorových genů exprimovaných v dané buňce. *Gene battery* (poprvé použil tento pojem Morgan r. 1934) jsou ty geny, jejichž *cis*-regulační elementy sdílejí stejnou kvalitativní cílovou síť pro tentýž

transkripční vstup. Žádné dva *cis*-regulační moduly genů jakékoli baterie nejsou tytéž. Každá z nich užívá různou podmnožinu transkripčních faktorů, které se váží na jiná cílová místa, takže se nikdy neobjeví ve stejném pořadí, počtu ani prostoru. Strukturní vlastnost, která definuje každou baterii je to, že její stále *cis*-regulační elementy vždy užívají tytéž kombinace vstupů.

Pozdější vývoj je modulován po primárních regulačních interakcích dalšími mechanismy, ty určují poslední transkripčně regulační stavy jako je např. microRNA. Transkripce genů, které kódují microRNA je taktéž kontrolována pomocí *cis*-regulačních sekvencí (jsou součástí výstupu). O aktivaci genů pomocí microRNA se Davidson v této kapitole konkrétně nezmiňuje, nicméně existenci této regulace předpovídal už před více jak třiceti lety (Li, Okino 2006)!

Vývoj morfologických komponent živočichů může být objasněn dle Davidsonova mínění jediné v termínech architektury regulační sítě, jakákoli evoluční změna v organismu nemůže být vysvětlena mimo tyto termíny. Je třeba tyto sítě řádně prozkoumat a analyzovat, abychom pochopili diverzitu organismů. Změna v morfologii živočicha je pak samozřejmě změnou v jeho genomovém regulačním programu. Všechny regulační změny uvnitř sítě mající za následek změnu genové exprese jsou *cis*-regulační (což vysvětluje i konzervativní charakter sekvencí kódujících *trans*-regulátory), takže *cis*-regulační modul není pouze jednotkou vstupu zpracovávání informací ve vývoji, ale i jednotkou evolučního vývoje samotného.

K analýze Davidsonova výkladu fungování architektury regulační sítě genomu se vrátíme v příští kapitole, kdy po demonstraci role homeotických genů a fylotypního stádia v ontogenezi dojde k jeho srovnání s výkladem, který je zastáván v této práci.

5. Organické paměti

Pojem paměť je dnes hojně užíván v mnoha oborech, mluvíme o paměti počítače, o paměti historické, o paměti genetické, druhové či paměti mozku (v rámci ní pak např. o paměti vizuální, krátkodobé či dlouhodobé). V této kapitole bych se ráda zaměřila na klasifikaci možných koncepcí pamětí biologických. Překvapivě se zde však nebudu věnovat paměti v jejím běžném chápání jakožto schopnosti mozku uchovávat informace, vzpomínky či životní zkušenosti.

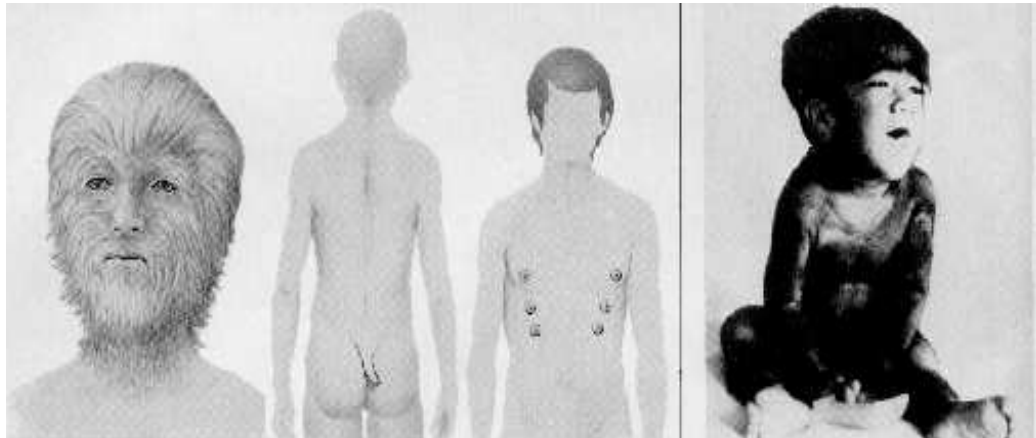
Jak obecně definovat paměť? Můžeme si vypůjčit jednu z definic pocházející z teorie systémů: chování systémů bez paměti, tj. změna kombinace signálů na jejich výstupech, děje se pouze na základě toho, jaká je v daném okamžiku kombinace signálů na jejich vstupech. Chování systémů s pamětí závisí nejen na momentální kombinaci vstupních signálů, ale také na kombinacích signálů, s nimiž se daný systém setkal již v minulosti. Systémy s pamětí tedy mohou procházet evolucí, zatímco systémy bez paměti se mohou měnit pouze pokud se změní kombinace signálů přicházejících na jejich vstupy (Flegr 2005). Flegr dále uvádí, že živé systémy mají v principu dva typy paměti: paměť individuální (ta uchovává informace o podnětech, se kterými se organismus setkal za svého života), jejíž nositelkou jsou nervová a imunitní soustava a paměť evoluční (uchovávající informace o tom, s jakými podněty se setkali jeho blízcí i vzdálení předci), jejíž nositelkou je deoxyribonukleová kyselina (DNA).

Barbieri uvádí jednoduchou definici paměti jakožto permanentního informačního depositáře. Tato definice je podle něho dostatečně obecná, aby ji mohl aplikovat na svou klasifikaci organických pamětí (2006). Paměť rozděluje na genetickou, buněčnou a nadbuněčnou (supracelulární). O epigenetické paměti nemluví.

5.1. Paměť genetická

Představa DNA jako informačního depositáře či paměti v dnešní oblasti vědy značně zdomácněla, DNA jako univerzální nositelka dědičnosti je díky své přenositelnosti z generace na generaci vnímána jako médium, které nese historii nejen individuálního organismu (mutace v genomu během jeho existence), ale i historii mnoha jeho předků z hluboké minulosti. To, že v našich buňkách neseme

paměť předků časově opravdu velmi vzdálených, dokládají např. atavismy. Ukazuje se tak, že náš genetický zápis obsahuje mnohé anachronismy, nefunkční geny, které se však čas od času mohou znovu projevit.



Obrázek 5.1 Příklady možných atavismů u člověka. (Zdroj: www.cerebromente.org.br).

Z části nám zůstává utajena i funkce oné zdánlivě nadbytečné části našeho genetického depozitáře, která již byla zmíněna výše. Zaměříme-li se však např. na intronové či repetitivní sekvence, nalezneme u nich jednu velmi podstatnou regulační funkci: poskytují genomu prostor, který dovoluje štěpit určité úseky v určitou dobu, dále napomáhá kondenzaci chromatinu, tudíž zodpovídá za jeho trojrozměrnou strukturu (tzv. *linker* mezi nukleosomy je tvořen intronovými sekvencemi) a především jde o prostor, který má význam pro Davidsonem popisovaný regulační aparát genomu: sekvencně specifické elementy tak mohou interagovat (pomocí smyčkových struktur) nejen společně, ale i s transkripčními faktory. Genetický prostor má v tomto případě velký funkční význam. Zajímavým faktem je i to, že ačkoli v genech kódujících zmiňovaný regulační genom napříč živočišnou říší nejsou příliš velké rozdíly, naopak v intronových sekvencích je obsažena velká mezidruhová variabilita (Davidson 2006).

5.2. Epigenetická paměť

Je zřejmou, avšak lehce opomínanou pravdou, že buňky vládnu způsobem, jak si zapamatovat, kým jsou. Identita buňky např. může být určena právě aktuálním stavem chromatinu, v jakém se nachází. Tento stav zodpovídá za charakter genové exprese a umlčování genů, činí buňku tím, čím má v daném tělesném kontextu být. Stav chromatinu, musí být udržován buňkou především

při replikaci DNA, při mitóze či meióze. Jsou to právě nukleosomy nesoucí specifické modifikace, které umožňují přenos epigenetické informace z generace na generaci a fungují tedy jako epigenetická buněčná paměť (tzv. chromatinová dědičnost).

Při udržování neaktivního stavu chromatinu a morfologie chromosomů vůbec hraje důležitou roli rodina *Polycomb* genů, jejichž produkty jsou nezbytné ke stabilní represi regulátorů ve vývoji jako jsou homeotické geny (samozřejmě nesou chromodomény). Naopak aktivní konformace chromatinu je udržována produkty rodiny genů *Trithorax* (Gilbert 2003).

Ač jsou všechny dnes známé epigenetické jevy reverzibilní a nejsou zapsány v genomu, mohou být dědičné. Tato dědičnost se definuje jako nestabilní, neřídí se totiž mendelovskými pravidly. Expresivita genů může být variabilní, nemusí tedy znamenat, že se gen projeví/neprojeví, ale mohou vznikat tzv. mozaikové fenotypy z důvodu kolísání exprese genu v různých tkáních. Klasickým příkladem tohoto mozaikového fenotypu je poziční efekt u drozofily, kdy exprese genu odpovídající za barvu očního pigmentu může být umlčena vlivem sousedního heterochromatinu (Vyskot 2005). Dlouhá léta se myslelo, že v případě těchto modifikací jde pouze o metylaci cytosinu, která je epigeneticky děděna díky systému, jenž rozpoznává hemimetylovaná vlákna na templátu DNA a může dometylovat i vlákno dceřiné, ale známy jsou i jiné procesy epigenetické dědičnosti. Jde např. o meiotický přenos epigenetického stavu pomocí environmentální indukce, genomový imprinting či známý příklad dědičnosti adaptačního přizpůsobení u organismu rodu *Daphnia* (Vyskot 2007). Mnohé z epigenetických modifikací probíhají posttranskripčně. Buňka během diferenciace prochází mnoha kritickými momenty, které lze přirovnat k výběru cesty epigenetickou krajinou (Waddington 1961), v nich se může podrobovat různým změnám (lze navodit např. heat šokem) a některá z těchto změn může zůstat zachována a vede následně k alternativnímu fenotypu (Vyskot 2007).

5.3. Buněčná paměť

Pod buněčnou paměť si Barbieri představuje paměť reprezentující determinační stav embryonálního vývoje, která v buňce i v jejích potomcích

přetrvává po celý život a účinkuje jako informační depozitář k veškerým buněčným aktivitám (Barbieri 2006).

V této části, týkající se paměti, která již pracuje na základě genetické a epigenetické informace organismu a určuje stav ontogeneze, se budu věnovat homeotickým genům, a tím zároveň navážu na oddíl o paměti supracelulární (v jejich případě je totiž hranice buněčné paměti zároveň i překročena).

Hox geny kódují transkripční faktory, které se specificky vážou na enhancery genů aktivních v embryogenezi. Byly nalezeny u všech studovaných eukaryotních organismů a hrají zásadní roli v ontogenetickém rozrůžňování jednotlivých částí těla. K tomu, co dosud víme o homeotických genech přispěl velkým dílem drobný organismus, se kterým se často setkáváme, a to *Drosophila melanogaster* (octomilka obecná). Funkce homeotického genu je experimentálně rozpoznatelná pomocí homeózy,⁸ což je mutace, při níž morfologické struktury vznikají na nesprávné části těla. Díky mutaci nazvané *Bithorax*, kterou u drozofily roku 1915 objevil Calvin Bridges, se zájem o tuto drobnou mušku jakožto o modelový organismus rozšířil a trvá dodnes. Tato mutace se projevuje proměnou třetího hrudního článku v druhý a muška pak nese na tomto článku další pár křídel místo kyvadélek. Mezi další notoricky známou mutaci patří tzv. mutace *Antennapedia*, kdy jsou tykadla mušky vystřídána končetinami (Caroll 2005).

Ačkoli mají homeotické geny specifické efekty na morfologické struktury organismů jednotlivých druhů, všechny sdílejí jistou funkční vlastnost, a tou je motiv na DNA nazývaný homeobox. Jde o 183 párů bazí, které kódují 61 aminokyselin tzv. homeodomény. Transkripční faktor (tj. Hox protein) se pak pomocí homeodomény váže na *cis*-regulační sekvence na DNA. Tato homeodoména je mezi druhy neuvěřitelně konzervativní (Caroll 2005).

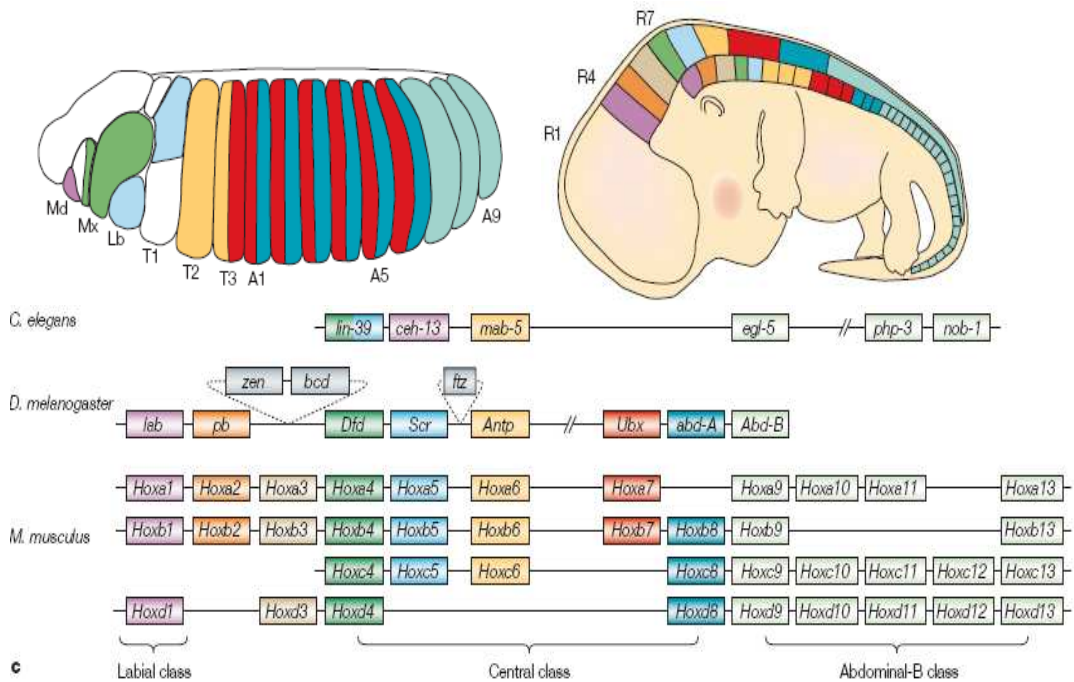
Později bylo zjištěno, že ne všechny proteinové produkty homeotických genů mají homeodoménu (zejména pak u rostlin) a naopak, že homeobox obsahují i geny, jejichž mutace se neprojevují homeoticky (Vyskot 1999).

Produkty homeotických genů pomocí homeodomény fungují jako genetické spínače a ovlivňují tak expresi dalších genů. Při jejich studiu se ukázalo, že jde o značně konzervativní regulační síť: gen *eyeless* je klíčovým genem

⁸ Tento termín byl zaveden Williamem Batesonem v roce 1894. Bateson pozoroval mutace v přírodě (takové, které jsou dnes prováděny v laboratoři) a rozdělil je na dvě skupiny: (1) ty, v nichž byl změněn počet opakujících se částí a (2) ty, v nichž jedna struktura byla nahrazena jinou (Caroll 2005).

při tvorbě oka u drozofily, pokud byl aktivován v jiné části těla, vytvořila se v této části vždy tkáň oka, ať už šlo o křídlo, nohu nebo zadní část těla. Po zjištění, že gen *eyeless* má vliv na formaci oka jak u octomilky tak i u člověka, byla myší varianta tohoto genu vpravena do drozofily. Tato indukce měla za následek vytvoření struktury oka, ne však struktury oka myšího, ale oka mušky. Podobný výsledek by v důsledku neuvěřitelné homologie těchto genů jistě nastal i u genů *Pax-6* a *Dll* zmíněných v první kapitole. Tato plesiomorfie samozřejmě odkazuje ke společnému předkovi.

Objevy, že stejné řady genů kontrolují shodné funkční formace a charakter (*pattern*) tělesných oblastí a částí (ale s velmi rozdílným designem) u hmyzu, obratlovců a dalších živočichů znamenaly kompletní znovupromyšlení živočišné historie, původu struktur a přírodní rozmanitosti (Caroll 2005).



Obrázek 5.2 Vlevo nahoře schéma embrya *D. melanogaster*, vpravo dvanáctidenní embryo *Mus musculus* s barevným schématem segmentů, ve kterých jsou exprimovány homeotické geny. Barevné rozlišení skupiny homeotických genů *D. melanogaster*, *C. elegans* a *M. musculus* na spodním obrázku odpovídá barevnému rozlišení segmentů. Orthology genů jsou vyznačeny stejnými barvami. Někdy není vztah orthologů jasný, např. *lin-39* u *C. elegans*. Geny jsou zobrazeny v pořadí, v jakém se nacházejí na chromosomu, ale v některých případech byly nehomeotické geny, které jsou na chromosomu uvedených organismů umístěny mezi geny homeotickými, pro jednoduchost schématu vynechány (Pearson, Lemons, McGinnis 2005).

Homeotické geny mají vliv především na tvorbu předozadní osy živočichů (viz. obrázek 5.2). Expresce začíná až za místem budoucího mozku (formace hlavy probíhá jiným způsobem). Geny Hox proteinů jsou na DNA řazeny ve stejném

sledu, jako následné segmenty, které Hox proteiny ovlivňují (ač bylo prokázáno, že změna pořadí nemá na expresi vliv). Váží se na DNA a ovlivňují transkripci širokou paletou vazebných sítí. Jde o regulační geny, které regulují i vlastní expresi, pomocí transkripčních faktorů a morfogenů (signalizačních molekul), které kódují. Místa jejich exprese se často překrývají, a tak se samozřejmě ovlivňují i navzájem (inhibice či aktivace vazbou na *cis*-regulační sekvenci). Např. Hox protein kódovaný genem *UBX* (*Ultrabithorax*) a hox protein ABD-A (Abdominal-A) fungují jako represory pro zmiňovaný gen *Dll* (*Distal-less*) v abdominální části epidermis Drosophily, ale jako aktivátory genu *decapentaplegic* (*dpp*) ve viscerálním mesodermu.

Ukazuje se, že homeotické geny hrají roli i v procesech jako je buněčné dělení, buněčná adheze nebo pohyb buňky (Pearson, Lemons, McGinnis 2005).

Enhancery, na které se produkty Hox genů váží, jsou tkáňově specifické. Např. enhancer genu *dpp* závislý na zmiňovaném proteinu UBX je aktivní pouze ve viscerálním mezodermu, v CNS a somatickém mezodermu (a neaktivní v epidermálním). V posledních 10 letech bylo zjištěno, že za evoluci morfologií zodpovídají zřejmě především mutace v *cis*-regulačních sekvencích. K morfologické diversifikaci však přispělo také zmnožení sad homeotických genů (např. člověk nese 8 orthologů), i mutace a výsledné změny v Hox proteinech samotných (Pearson, Lemons, McGinnis 2005).

Dalším členem regulační sítě vývoje pomocí homeotických genů jsou již zmiňované geny pro microRNA. I tyto molekuly hrají významnou roli v umlčování tvorby produktů homeotických genů (Pearson, Lemons, McGinnis 2005).

5.4. Supracelulární paměť

Supracelulární paměť (paměť nadbuněčnou) rozděluje Barbieri na paměť imunitního a nervového systému a paměť těla. V této kapitole se zaměřím stejně jako Barbieri pouze na paměť tělního plánu, tj. informačního deponitáře pro trojrozměrné rozložení orgánů. Paměť těla je reprezentována znaky, které definují daný živočišný kmen (Barbieri 2006).

Autorem představy tělního plánu a kmene je Georges Cuvier (první desetiletí 19. století). Tělní plán je souborem anatomických znaků, které

charakterizují prostorovou orientaci tělních orgánů a kmen je skupina živočichů, kteří sdílejí stejný tělní plán. Např. členovci (*Arthropoda*) mají zevní skelet, břišní nervovou soustavu a srdce na dorzální straně, zatímco strunatci (*Chordata*) mají vlastní vnitřní kostru, dorzální nervovou soustavu a ventrální srdce.

K tomuto rozlišení dospěl už dříve Carl Ernst von Baer při srovnávání fází embryonálního vývoje u obratlovců. Na základě těchto pozorování došel k poznání, že živočichy lze rozdělit do jednotlivých kmenů podle stádia vývoje, v němž jsou si všichni příslušníci daného kmene podobní. Toto stádium je dnes známé jako stádium fylotypu (poprvé pojem užil Sander 1983). Von Baerovo a Cuvierovo rozlišení kmenů na základě fylotypních stádií (od lat. *phylum*-kmen) a tělních plánů spolu korelují. Von Baer správně odhalil, že vývojové cesty od fylotypního stádia se rozrůžňují; ovšem i cesty vedoucí k tomuto stádiu jsou odlišné. Tento fakt poprvé odhalil opět Sander už v roce 1960 (Galis, Metz 2001). Před fylotypovým stádiem se morfologické rozdílly mezi kmenovými embryi snižují, zatímco po tomto stádiu se zvyšují (Barbieri 2006).

Na základě svých pozorování vyslovil von Baer také svůj ontogenetický zákon (1828): (1) Obecné znaky velké skupiny živočichů se v embryu vyskytují dříve než znaky specializované. (2) Méně obecné znaky se vyvíjejí ze znaků obecnějších, teprve na konci embryogeneze se tvoří znaky velmi speciální. (3) Embrya odlišných druhů se od sebe v průběhu vývoje stále více a více odlišují. (4) Časné embryo vyššího živočišného druhu není podobné dospělci nižšího živočicha, nýbrž jeho časnému embryu (Vyskot 1999).

Ernst Haeckel r. 1866 rovněž vyslovil teorii, že individuální vývoj organismu od vajíčka k dospělci je zkrácenou verzí evoluce vzniku jednotlivých vývojových linií, resp. ontogeneze je zkrácenou rekapitulací fylogeneze (biogenetický zákon). V roce 1874 publikoval Haeckel ve svém *Anthropogenie oder Entwicklungsgeschichte des Menschen* sérii komparativních kreseb, které jsou stále zveřejňovány jako doklad existence stádia fylotypu (obrázek 5.3). Nicméně Haeckelovi je vyčítána nepřesnost a zkreslování dat v těchto kresbách (Richardson 1995).

5.4.1. Konzervativnost fylotypního stádia

Bylo již řečeno, že i přes rozdíly časného vývoje směřují všechna embrya k tzv. *fylotypnímu stádiu*, tj. struktuře typické pro kmen (*phylum*). Zde se soustředíme pouze na fylotyp kmene *chordata*. Toto stádium se objevuje na konci gastrulace a po něm organismy znovu morfologicky divergují. Fylotypnímu stádiu všech obratlovců jsou společné tyto struktury: 1) notochord (časná mezodermální struktura na ventrální straně nervové trubice), 2) somity (bloky mezodermu tvořící svaly trupu a končetin) a 3) neurální trubice (tvořená ektodermem na povrchu notochordu). Fylotypní stádium začíná přibližně neurulací a končí, když je utvořena většina somitů. Počet somitů se mezi druhy liší. Fylotyp může být vysvětlen jako určitá evoluční konzervace, je evidentně velmi odolný proti jakýmkoli mutačním změnám (Galis, Metz 2001).

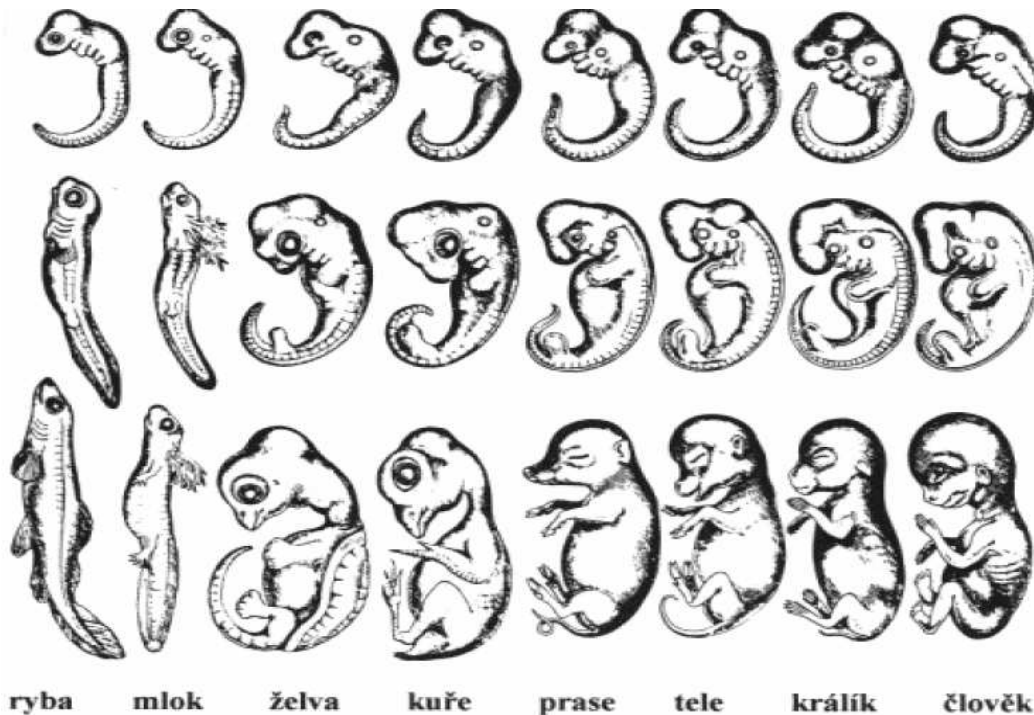
Raff vysvětluje konzervativnost fylotypního stádia tak, že síť intensivních interakcí mezi primordiálními orgány embrya (tj. mezi somity, neurální trubicí a chordou) způsobuje, že jakákoli drobná mutační změna vede k pleiotropním efektům v celém embryu (Raff 1994, 1996). Před fylotypním stádiem je podobných interaktivních procesů mnohem méně (nejsou dosud vyvinuty primordiální orgány), pozdější stádia již fungují na způsob semi-independentních modulů.

Sander (1983), který prvně použil termín fylotypní stádium jako alternativu k termínu *Körpergrundgestalt* (Seidel 1960) či *fyletické stádium* (Cohen 1977), navrhl ještě abstraktnější verzi Raffovy teorie: evoluční konzervace fylotypního stádia je zapříčiněna pleiotropními efekty, které vyplývají z interakcí mezi jednotlivými vývojovými moduly. Absence potřebné modularity, tzn. neexistence semi-independentních modulů v tomto stádiu tedy vede ke konzervativnímu fenotypu fylotypního stádia (Galis, Metz 2001). Existence těchto semi-independentních modulů je pak nutně podmínkou pro evoluční změnu.

Absence modularity je natolik zřejmá, že při laboratorně indukovaných změnách vývoje je právě v tomto stádiu dosaženo největší úmrtnosti studovaných embryí. Jakékoli změny ve vývoji vedou k mnohým abnormalitám, usuzuje se proto na pleiotropní efekt těchto mutačních změn (Galis, Metz 2001).

Slack (1993) upozornil na důležitou skutečnost: fylotypní stádium je dobou, kdy začínají být sekvenčně aktivní výše zmiňované homeotické geny.

Aktivují se v časo-prostorové kolinearitě, totiž tak, jak jsou umístěny na chromosomech (Galis, Metz 2001). Výše bylo ukázáno, že i samotná exprese homeotických genů je v zásadě velmi konzervativní a má plesiomorfnní charakter.



Obrázek 5.3 Haeckel 1874. Stádium fylotypu v horní řadě. Počet somitů v tomto stádiu je různý: člověk (35), králík (42), tele (31), prase (31) atp. V druhé řadě organismy přibližně v polovině svého vývoje, dole poslední stádium. (Podle Gilbert.1997).

Duboule (1994) je toho názoru, že právě ona kolinearita v expresi homeotických genů, resp. způsob jejich precizní regulace, je příčinou konzervace fylotypního stádia. Interpretace jsou zde možné dvě: (a) díky zmiňované kolinearitě nemůže být produkována žádná variace nebo (b) jakákoli variace je selektována jako výsledek špatně fungujícího fenotypu. Konzervativnost fylotypního stádia je pak důsledkem konzervativnosti homeotických genů v rámci interpretace (a) nebo (b) (Galis, Metz 2001).

Galis a Metz (2001) jsou toho názoru, že první interpretace není zcela správná, k variacím dochází, ale zřetelně nejsou slučitelné se životem jedince. Prostorově-časová aktivace exprese homeotických genů koinciduje skutečně více či méně s pořadím těchto genů na chromosomech (výjimky tvoří hematopoiese a vývoj končetin a kůže, zde je exprese nepravidelná). Nicméně jsou toho názoru, že původ kolinearity exprese homeotických genů, a tak i konzervace fylotypního stádia musí být přisuzován spíše již zmíněné vysoké interaktivnosti v rámci organismu během tohoto stádia. Tato vysoká provázanost a nikoli samotná

organizace homeotických genů způsobuje znásobený a zhoubný efekt jakékoli mutace během fylogenetického stádia. Výše již bylo zmíněno, že změna kolinearit homeotických genů nemá na genotyp zásadní vliv.

5.4.2. Fylogenetický jako platforma trojrozměrné paměti

Otázka, jak ji položil Barbieri, zní: Jak může být vysvětlena konzervace tělních plánů v evoluci a fylogenetického stádia v embryogenezi?

V předposlední kapitole *Organických kódů* vyjadřuje obecný názor, že strategie, která je zcela determinována geny, se objevuje evolučně dříve než strategie, která je řízena genetickými i epigenetickými faktory (tj. pomocí genů, kódů a pamětí). Časově přechod mezi těmito strategiemi v evoluci umísťuje do období kambrijské exploze (před 540-550 milióny lety), od které je datován vznik kmenů moderních *Metazoa*. Exploze je nazývána proto, protože z tohoto období pocházejí první známí zástupci všech kmenů organismů a ve fosilním záznamu se objevují náraz.

Před kambrijskou explozí patrně existovali jen poměrně malí a jednodušší živočichové s tělními plány, které byly řízeny pouze jejich genetickou výbavou. Během exploze si živočichové začali v rámci svých vývojových stádií osvojovat užívání nadbuněčných informací tělního plánu, tím vznikali nová stádia, složitější živočichové s většími těly. Po osvojení supracelulární paměti získal embryonální vývoj větší počet stádií, ovšem tělní plány přestaly být modifikovatelné a konzervovaly se v rámci generací (soubor znaků charakterizující druh podle Barbieriho může paměť představovat pouze pokud se již dále nemění). Fungování nadbuněčné paměti v organismu tedy předpokládá konzervativní tělní plán (Barbieri 2006).

Kambrijská exploze představovala přechod od původního vývojového typu, který byl zcela řízen geny, k diskontinuálnímu embryonálnímu vývojovému typu, který mohl od jistého bodu dále využívat nadbuněčných informací tělního plánu (Barbieri 2006).

Barbieri pak v analogii s evolucí před a po kambrijské explozi popisuje nový model embryonálního vývoje: první vývoj vede k fylogenetickému tělu a využívá pouze genetických a buněčných informací; druhý vede k individuálnímu tělu a zakládá se také na nadbuněčných informacích tělního plánu. Fylogenetické stádium

tak hraje roli jisté platformy, na které dále funguje supracelulární paměť. Barbieri konkrétněji fungování této paměti neosvětluje, nicméně celý výše zmiňovaný koncept významně osvětluje jak roli, tak i průběh kambrijské exploze, ale i roli fylotypního stádia samotného.

5.5. Architektura regulační sítě nebo paměť druhu?

Výše zmíněný Davidsonův výklad je precisní redukcí buňky na počítačový stroj (či spíše síť strojů) na všech úrovních. Popis dynamické a složité struktury buněčných interakcí zvládá za pomoci pojmů z oblasti počítačových sítí jako je architektura regulačního genomu, uzly sítě či periferie sítě a dynamika těchto interakcí je sériově propojená a ovlivňována genetickými bateriemi. Genom buňky je popsán jako soubor programů a podprogramů, který dokáže regulovat vlastní vstupy i výstupy a samostatně se realizovat v čase a prostoru.

Řízení buňky je složitý proces, která je rozdělen do vrstev. Jednotlivé vrstvy regulačního genomu (programy a podprogramy) pak odpovídají hierarchickým činnostem, které se při takto řízené komunikaci využívají. Geny pak mohou být přirovnány k protokolům, které řídí komunikaci a v rámci nichž regulační síť vykonávají své funkce. Uzly regulační sítě pak představují kontrolní jednotky zpracovávající informaci, pomocí těchto jednotek je dosaženo různorodosti v regulaci ontogeneze.

Ve výčtu této síťové metafory by se dalo v Davidsonově duchu ještě pokračovat, jde o úžasnou ukázkou toho, jak lze dynamiku regulací v buňce popsat pojmoslovím z oboru, který nemá s životem pranic společného.

Jednoho protimluvu se však Davidson dopustí, když tvrdí, že architektonický náčrt každého jednotlivého organismu je v genomu pevně zadrátován (hard-wired), takže každý organismus generuje pouze vlastní, zcela předpověditelný tělesný plán. Na druhou stranu Davidson dále tvrdí, že nemůžeme o vývoji mluvit jako o načrtnutém dopředu (jako si architekt vytváří črty svých budoucích staveb), protože organismy jsou mnohobuněčné a různé buňky činí různé věci s totožným programem, což je podstata regulačního genomu (Davidson 2006). V jeho interpretaci buněčného stroje totiž o vývoji jinak než o načrtnutém dopředu mluvit nelze. Pokud za jakoukoli změnu ve vývoji zodpovídá mutace

v *cis*-regulačním modulu, pak je budoucí fenotypová struktura zcela determinována a načrtnuta jako náčrt budovy architektem. To, že buňky používají stejné programy na různé věci, musí být z důvodu zachování konzistence celého Davidsonova výkladu zapsáno v genech stejně jako jakákoli další nižší úroveň hierarchické struktury sítě.

Navíc to, že systém sítí dokáže sám regulovat své vstupy a výstupy je v rámci metafory počítačových sítí taktéž zavádějící. Informace zodpovědné za směřování dalších informací a činnost celého řídicího systému musí být nakonfigurována zvenčí. To, že živý systém dokáže jistým způsobem konfigurovat svůj vlastní způsob zpracovávání informací, je vlastnost živých systémů, která být programům, strojům či počítačům být přisouzena nemůže. Dále je zajímavé, že i sám Davidson občas použije termíny jako „geny ví“ či „geny se musí rozhodnout“. Tyto termíny do jeho výkladu architektury genomu příliš nezapadají.

Z předcházejících kapitol je zřejmé, že právě síť homeotických genů, zodpovídající za povědomí embrya o jeho časoprostorových souřadnicích jsou příkladem regulačního genomu *par excellence*. Za toto povědomí jsou dle Davidsona zodpovědné *cis*-regulační moduly. To, co Barbieri vysvětluje za pomoci nadbuněčné paměti tělního plánu kmene objasňuje Davidson pomocí „zadrátovaného“ systému hierarchických sítí.

Obdobně používá Carroll (2005) pro homeotické geny metafory sady nářadí (*tool kit*), kterou je stavěno tělo. Ta se skládá z homeotických proteinů, jejich produktů, regulátorů buněčné diferenciaci, signálních proteinů a receptorů, hormonů a jiných DNA vazebných proteinů (těch, které nejsou kódovány homeotickými geny). Právě na tuto metaforu sady nářadí se pokusím aplikovat výklad po vzoru sémiotické biologie jako opozici výkladu Erica H. Davidsona.

5.5.1. Sémiotický *tool kit*

Změnu formy architektury regulační sítě *cis*-modulů, které vede k evoluční změně, a tak i k vzájemnému rozrůžňování druhů, bychom jazykem biosémiotiky přirovnali spíše k nově nabyté, smluvené interpretaci tohoto *cis*-regulačního modulu. Nová interpretace přináší nové užití regulátorů buněčné diferenciaci, signálních proteinů či především transkripčních faktorů kódovaných homeotickými geny. Jedině způsoby nové interpretace téhož mohou vést

k rozrůžňování, které je patrné ve vztahu orthologů homeotických genů na straně jedné a rozmanitých tělesných struktur živočichů na straně druhé. Náradí v podobě homeotických genů zůstalo stejné, zatímco způsob užití byl změněn. Tento nový způsob užití se pak může stát ustálenou domluvou, *habitem*, *kódem* či *metaforou* (ve smyslu zmiňovaném v oddílu 2.3.1) platnou v rámci daného druhu. Hledání nových interpretací orthologů homeotických genů je pak cestou evoluce. Můžeme pak ve shodě s Barbierim, Slackem a dalšími zmiňovanými autory říci, že ontogeneze se začíná odehrávat na základě sémiose teprve po stádiu fylotypu, kdy se homeotické geny začínají aktivovat a jejich jedinečné a ustálené interpretace pak fungují jako nadbuněčná paměť druhu pro stavbu svého tělesného plánu. Paměť tělního plánu je na rozdíl od architektury genomu pojem mnohem vhodnější, protože v sobě zahrnuje kompletní a jedinečnou historii, kterou daný druh nese (ačkoli Davidson by ji jistě nahradil pamětí počítačovou). Procesy odehrávající se až do stádia fylotypu by pak mohly být rovněž označeny za ustálené automatismy, které však původně nevznikaly bez kontextu a jednoznačně, jak se domnívá Barbieri, ale taktéž cestou buněčné sémiose.

Barbieri se svou sémantickou biologii stojí někde uprostřed mezi dvěma výše vyloženými metaforami. Mluví o evoluci konvencí, nadbuněčné paměti tělesného plánu, ale na druhé straně tuto paměť popisuje pomocí matematického modelu a kódy jsou pro něho předem ustálenými pravidly zapsanými v neměnné tabulce. Oscilace mezi analogiemi kulturního světa a světa živých organismů na jedné straně, a mezi vytvářením modelů a objektivních tabulek skutečné vědy na straně druhé, ho jednoznačně nemůže přiřadit ani k jednomu ze zmiňovaných pojetí živých systémů.

6. Cultura contra natura?

Může mít příroda rysy kultury? Můžeme pomocí analogií a metafor ze světa kultury popisovat živé? Barbieri pomocí své koncepce kódu a evoluce konvencí původně ukazuje, že ano, nicméně ve snaze učinit ze své sémantické biologie vědu měřitelnou, objektivní a zkoumající jevy bezkontextově stejně jako je zkoumá celá biologie (Markoš 2000), v posledku u jeho kódů o žádné konvenci nemůže být řeč. Nicméně jeho koncepce především supracelulární paměti, pokud její fungování nebude popisovat jazykem Erica H. Davidsona, jistou volnost k tvorbě nových interpretací procesů ontogeneze stále nabízí.

Oproti tomu sémiotická biologie zřetelně s paralelou přírody a kultury pracuje: organismus na různých úrovních své existence dokáže interpretovat významy, které pro něj mají smysl, jak bylo výše ukázáno, k uchopování smyslu může docházet i na molekulární úrovni buňky.

Sémiotická interpretace ontogeneze, která byla zmíněna výše, de facto rámcově odpovídá *eidetické biologii* Zdeňka Neubauera a silně koreluje s *hermeneutikou živého* Antona Markoše. U Markoše byla také metafora druhu jako kultury použita poprvé (2000). Všechny tyto směry mají společné hledání nových metafor na poli buněčné a vývojové biologie, v nichž nějakým způsobem bude zachycen fakt sebevztahu či intencionality živých systémů k sobě samotným i ke svému individuálnímu a historickému vývoji.

Organismus je v sémiotické biologii definován soběvztažností vůči zápisu v podobě DNA, na jehož základě tvoří sám sebe a zachovává svoji identitu. Buňky organismu jsou tak v neustálém kontaktu s vesmírem, manipulují s ním (Kauffman 2004) a hledají uskutečnitelné možnosti na poli signalizačních, regulačních a vývojových drah, morfologických struktur, tvarů a barev.

Jednotlivým typem kultury je pak v tomto smyslu živočišný druh, který se liší od jiných druhů způsobem svého sebevyjádření, nové interpretace, kterou se rozhodl vydat. Tyto cesty jsou pak hledány sémiosí tělního plánu pomocí nadbuněčné paměti, která pravděpodobně probíhá po stádiu fylotypu. Nadbuněčná paměť tělního plánu může pak být chápána jako historie, kterou s sebou druh nese od času svého vzniku.

Interpretovány jsou pak např. znaky orthologní homeotické výbavy, a každý tento znak má v rámci své vlastní kultury někdy podobný, jindy zcela

rozdílný význam (ploutev, ruka s prsty, noha s kopytem). Někdy může dojít i k reinterpetaci původního významu, evoluční biologie takovými reinterpetacím říká atavismy.

Práce rozhodně nechce zpochybňovat vlivy genů na morfologické struktury, geny by však neměly být chápány jako jednoznačné příkazy, ale spíše jako znaky, kterým je třeba dát význam za pomoci smysluplného výkonu interpretace. Za tuto interpretaci zodpovídají jak geny, tak enviromentální faktory a epigenetické faktory, ale i povědomí buňky o její historii a kontextu, které uchovává díky zmiňovaným biologickým pamětem druhu i jednotlivého organismu.

Stejně dobře, jako dnešní vědě slouží programovo-strojové metafory, by jistě posloužila i metafora biosémiotická. Jejím hlavním přínosem je pak zcela nový, neredukující pohled na živé bytosti, ale i reinterpetace některých procesů v buňkách, které popisuje buněčná a vývojová biologie. Proces sémiose pak není nějakou náhlou emergencí vystupující z kontextově volných kódů, jak o ní mluví Barbieri, ale základní charakteristikou živých bytostí vůbec. A to na jakékoli úrovni popisu, to znamená jak po stránce behaviorální a etologické, tak po stránce molekulární biologie živých organismů.

Práce je z důvodu témat, která probírá (sestřih RNA, histonový kód, fylogenetické stádium či homeotické geny) zaměřena jednoznačně na eukaryotické mnohobuněčné organismy a z hlediska sémiotického zkoumání jde pouze o endosémiotiku. Nicméně velký potenciál pro hledání paralel světa kultury a přírody se skrývá i na poli exosémiotiky, jako např. v teorii symbiogeneze (Margulis 1998), kdy si organismy navzájem dokáží vytvářet podmínky pro svou existenci, koevoluce či v jevech nazývaných mimikry.

Protikladnost dvou zde zmiňovaných metafor odráží i rozpor mezi vědou o živých organismech a vědou o výskytech, kterou chce dnešní biologie být. V naší tradici již staletí zakořeněné objektivistické paradigma brání přijetí podobných nových interpretací ve větší míře. Naivita objektivismu, to znamená představa, že naše vědecké vztahování k jevovým stránkách skutečnosti se děje na základě naší správné konceptualizace a kategorizace těchto jevů a správného objektivního pochopení vztahů mezi nimi, nás vede k redukci fenoménů jakými

jsou život, mysl či jazyk na pouhé mechanismy. Jedině mechanismy lze totiž popsat formálním a jednoznačným jazykem objektivismu.

Novinky na poli evoluce, nevysvětlitelné jevy a fenomény nezapadající zcela do našich mechanistických schémat pak svádíme na inteligentní designéry, singularity či na jedinečné případy emergence. Práce není snahou upozornit na nepotřebnost podobných konceptualizací a kategorizací, spíše snahou připomenout i jiné možnosti jejich výkladu. Práce ani nechce tvrdit, že v přírodě se s mechanismy nesetkáváme. Samozřejmě se s nimi setkáváme na každém kroku, nesmíme jim však přisuzovat primární charakter žitého bytí ve světě, na jehož základě teprve emerguje „cosi navíc“, cosi jako je genetický kód, nová fenotypová struktura či dokonce naše lidská mysl (o žádné jiné toho mnoho nevíme).

Metafory zároveň zachycují i rozpor mezi chápáním významu znaků a objektů jako jisté objektivní entity, nebo jako něčeho, co vzniká prvotně subjektivně a druhotně je sjednáno intersubjektivním zakotvením v určité interpretaci. Je samozřejmé, že Barbieriho význam patří do prvně popisované skupiny, zatímco význam v pojetí sémiotické biologie do druhé. Tyto spory se táhnou jako červená nit nejen v teoreticko-biologických naukách, ale samozřejmě i samotnými dějinami filosofie, od starověku po současnost.

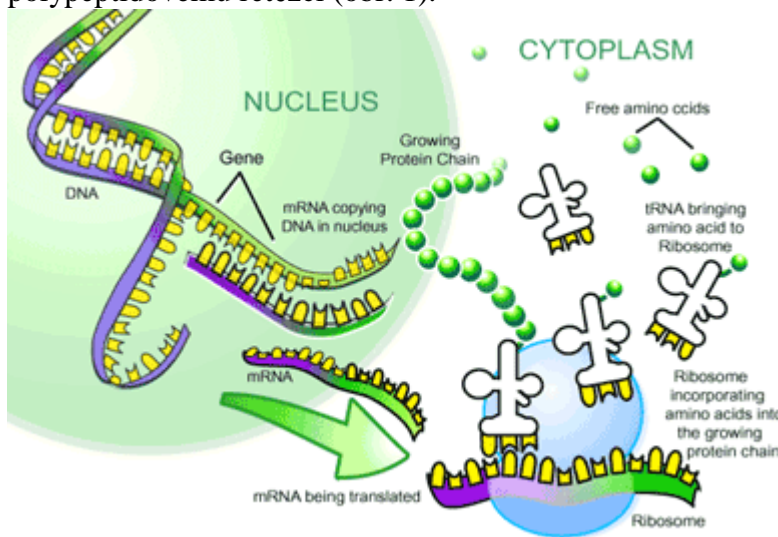
Závěr

V této práci byla na základě studia buněčných a ontogenetických procesů, Barbieriho sémantické biologie a biosémiotiky projevena snaha potříit definici živého organismu jakožto stroje. Na základě příkladů na molekulární úrovni jsem upozornila na jevy, kdy je naopak metafora jazyková či biosémiotická velmi příhodná a kdy lze ukázat, že organismus není stroj mechanický ani kybernetický.

První kapitola se stala uvedením do problematiky, v níž bylo ukázáno, že popis živého organismu jakožto komutačního stroje vyhodnocujícího program DNA není v některých případech použitelný. Druhá kapitola byla věnována Marcellu Barbierimu a jeho sémantické biologii, převážně pak jeho teorii o kódech v živých systémech. Ukázala jsem, že Barbieri v jistých případech ve své teorii není konzistentní a (i v rámci kapitoly o organických pamětech) osciluje mezi pojetím organismu jako stroje i jako vyhodnocovatele významu. Nicméně jsem se jeho koncept organických kódů dále pokusila analyzovat na příkladu histonového kódu. Toto téma zároveň spadá i do kategorie epigenetických modifikací, které nutně musí vést k popření priority zkoumání buněčných a ontogenetických procesů pouze z hlediska genetiky. Parafráze první kapitoly knihy Erica Davidsona ve čtvrté části této práce měla především poukázat na to, jak jsou podobné strojové metafory silně zakořeněny v dnešním vědeckém světě. V páté kapitole došlo ke klasifikaci a výkladu pojetí biologických pamětí, s jejichž pomocí jsem se snažila o srovnání Davidsonova redukujícího pohledu a pohledu, stojícího na základech biosémiotiky a Barbieriho koncepci organických pamětí. Poslední kapitola této práce byla shrnutím rysů, na jejichž základě můžeme mluvit o druhu jako o kultuře. K práci je přiložen i slovník základních pojmů a definic, o nichž se zmiňuji. Ten má sloužit především nebiologicky vzdělaným čtenářům této práce.

Slovník pojmů a definic

Adaptorová tRNA - ribonukleová molekula uplatňující se při syntéze bílkovin. Podle daného kodonu (trojice ribonukleotidů na mRNA) přivede na ribosom správnou aminokyselinu, a ta je reakcí na ribosomu připojena ke vznikajícímu polypeptidovému řetězci (obr. 1).



Obrázek 1.
Syntéza polypeptidového řetězce: vpravo adaptorová tRNA s navázanou aminokyselinou směřuje k ribosomu.
Zdroj:
<http://www.scq.ubc.ca/>

Aminoacyl-tRNA syntetáza - enzym, zodpovědný za přesnost překlada a stabilitu genetického kódu: syntetizuje aminoacyl-tRNA (tj. vytváří spojení tRNA a dané aminokyseliny). Každá ze syntetáz rozeznává jedinou aminokyselinu a celou řadu k ní příslušných (tzv. isoakceptorových) tRNA.

Dědičnost adaptačního přizpůsobení u organismu rodu *Daphnia* - *Daphnia* si po útoku predátora dokáží vytvořit helmu na svou obranu. Ta může být dědičná až po dvě generace.

Atavismus - v případě atavismu můžeme mluvit o fenotypickém návratu do minulosti, kdy se na jedinci projeví znak, který jeho druh nenese již po generace. Geny ovlivňující tento znak jsou však v genomu stále přítomné a mohou se náhle projevit. Pro organismus atavismus nemá žádný funkční význam, může však sloužit jako doklad pro vnik druhů cestou evoluce, protože atavistické struktury existovaly (a stále existují) u předků tohoto organismu (viz. obr. 5.1).

Autopoieze (z řeckého *αυτό*-sebe- a *ποίησις*-tvorba) - autorem tohoto pojmu jsou Humberto Maturana a Francisco Varela (1973). Původně byl koncipován jako pojem, popisující přirozenost živých systémů: základní vlastností těchto systémů je sebetvorba. Typickým příkladem autopoietického systému je buňka, která jakožto vysoce organizovaná struktura sama vnitřně generuje jednotlivé části potřebné pro zachování této struktury a tak udržuje vlastní identitu. Zároveň její vlastní komponenty tvoří jednotu, která je buňkou pomocí interakcí mezi těmito komponentami neustále zachovávána. Autopoietické systémy jsou podle Varely autonomní, avšak ne každý autonomní systém je autopoietický.

Biologický kód - Barbieri shrnuje kód do tří základních charakteristik: soubor kolektivních pravidel, která propůjčují významy informačním strukturám (1). Na jejich individuálních znacích nemusí nijak samotný kód záviset (nezávislost informace a jejího významu); jejich vzájemný vztah je zcela arbitrární (2). Jedná se tedy o propojení dvou zcela nezávislých světů (3).

Triffonov definuje biologický kód jako jakýkoli typ sekvence, který může mít biologickou funkci.

Buněčný cyklus - cyklus, kterým buňka prochází mezi svými děleními. Skládá ze z více fází, v každé z nich je aktivní specifická skupina genů a proteinů, které jsou zodpovědné za replikaci DNA, rozpad jádra, rozchod chromosomů do dceřiných buněk apod.

Epigenetika - studium dědičných změn, které se však dějí beze změny genomu (na rozdíl od genetiky, která studuje pouze dědičné změny v genomu).

Epigeneze - sled postupného utváření, postupné generování nových struktur (Aristotelés). Nárůst složitosti ve vývoji jedince, tzn. embryonální vývoj sestávající se ze tří základních pochodů: z růstu, diferenciaci a morfogeneze (Barbieri, 2006).

Genomový imprinting - specifická metylace při gametogenezi, přičemž methylace je u samce a u samice odlišná. Daný gen se pak v zygotě exprimuje podle toho, jak je označen. Během buněčné diferenciaci pohlavních buněk je toto označení vymazáno a na všech chromosomech nahrazeno pohlavně specifickým označením odpovídajícím pohlaví jedince, v jehož těle k diferenciaci buněk dochází (Flegr 2005, Vyskot 1999).

Kompartmentalizace - specificky řízené směřování produktů proteosyntézy do organel buňky.

Meióza - buněčné dělení, při kterém dochází k tvorbě haploidních pohlavních buněk (gamet), jež jsou nezbytné k pohlavnímu rozmnožování.

Mitóza - dělení buněk, při němž dochází předání genetické informace dceřiným buňkám. Skládá se z několika fází, které mají svůj specifický průběh. U nepohlavně se rozmnožujících jedinců mitóza slouží k množení geneticky identických jedinců.

Morfogen - signalizační molekula, která stupněm své koncentrace ve vyvíjející se tělesné struktuře zodpovídá za její výslednou podobu (ovlivňováním cílových buněčných drah).

Orthologní gen - geny kódující proteiny s podobnou funkcí, ale existující v genomu různých druhů.

Program (počítačový) - postup počítačových operací, který speciálním způsobem popisuje praktickou realizaci zadané úlohy (tedy algoritmus výpočtu), resp. způsob zpracování vstupů na výstupy. Obvykle je program zapsán v nějakém programovacím jazyku nebo strojovém kódu počítače a je tvořen posloupností

příkazů. Stejně tak ale může být realizován přímo elektronickými obvody (např. v automatické pračce), mechanickým strojem (např. orchestrion – hrací skříň) nebo i vhodným slovním popisem či grafickým znázorněním (např. kuchařská kniha). (Zdroj: wikipedia.org).

Meiotický přenos epigenetického stavu pomocí environmentální indukce - znak, který byl indukován prostředím (např. hnojení rostliny a následné bohatší květenství), je děděn až po pět generací, ačkoli už není indukován z vnějšku.

Soběvztažnost (*self-reference*) - ve filosofii tento pojem označuje schopnost subjektu odkazovat k sobě samému, tedy jinak řečeno subjektivitu jako takovou (hetero-reference je pak označením pro objektivitu). V biologii je soběvztažností



míněna vlastnost autopoieze. Tohoto pojmu se užívá i v literatuře (autor odkazuje na svoji práci v kontextu této práce), lingvistiky, programování, matematice apod. Vlastnost soběvztažnosti je možná na základně dvou úrovní: jedné úrovně a její metaúrovně. Toto vztahování se pak děje na základě vět jazyka či určitých formulací nebo prostřednictvím určitého druhu kódování. Symbolem tohoto pojmu je Ouroboros.

Transkripce - přepis informace z DNA do nativního transkriptu RNA za pomoci specifických enzymů.

Translace - proces, při kterém dochází k přepisu informace DNA do molekuly RNA.

Význam - Definice významu je stále otevřená, řešena v rámci různých nauk: Pro Barbieriho je význam *objekt, který se vztahuje k druhému objektu pomocí kódu*. Vždy je podle něho na tvořiči kódu závislý. Pokud jde o kód mezi mentálními objekty, je význam mentální entita, pokud jde o kód mezi organickými molekulami, mluví o významu jakožto o organické entitě (Barbieri 2007).

Peregrin v *Úvodu do teoretické sémantiky* píše, že na význam můžeme pohlížet buď (1) substanciálně, tj. co význam tvoří nebo (2) strukturálně, tj. jakým způsobem je modelováno to, co intuitivně významem nazýváme.

(1) a) význam může být tím, k čemu výraz odkazuje ve světě, co označuje, b) významem výrazu jsou mentální obrazy a pochody, c) významy nejsou ani v naší hlavě ani ve vnějším světě, ale nacházejí se v nějaké abstraktní nadčasové říši významů nad námi nebo d) význam vůbec není žádným předmětem, ani mentálním, ani fyzickým, ani ideálním.

(2) Druhý postoj nedává vůbec odpověď na otázku, co je význam, ale vidí jazyk jako nástroj našeho zacházení se světem. Význam nějakého výrazu pak vlastně funkcí výrazu. Odtud pak také funkcionalismus.

Každý myslitel taktéž význam chápe zcela jinak: Gottlob Frege odmítá představu významu jako něčeho subjektivního, významy totiž spoluurčují pravdivost výroků a pravdivost je objektivní záležitostí. Význam výrazu je tak ztotožněn s jeho pravdivostní hodnotou. Ve svém slavném článku *O smyslu a významu* rozlišuje dvě úrovně znaku: můžeme mluvit o významu jména (to označované) a dále

o *smyslu* jména (v kterém je obsažen způsob danosti tohoto označovaného). Oproti tomu u Uexkülla je význam objektu zásadně subjektivní, mění se díky povahám *umweltů*, které daný objekt interpretují. Peirce bezbřehou subjektivitu omezuje pojmem *habit*, tj. intersubjektivní shodou na významu daného objektu.

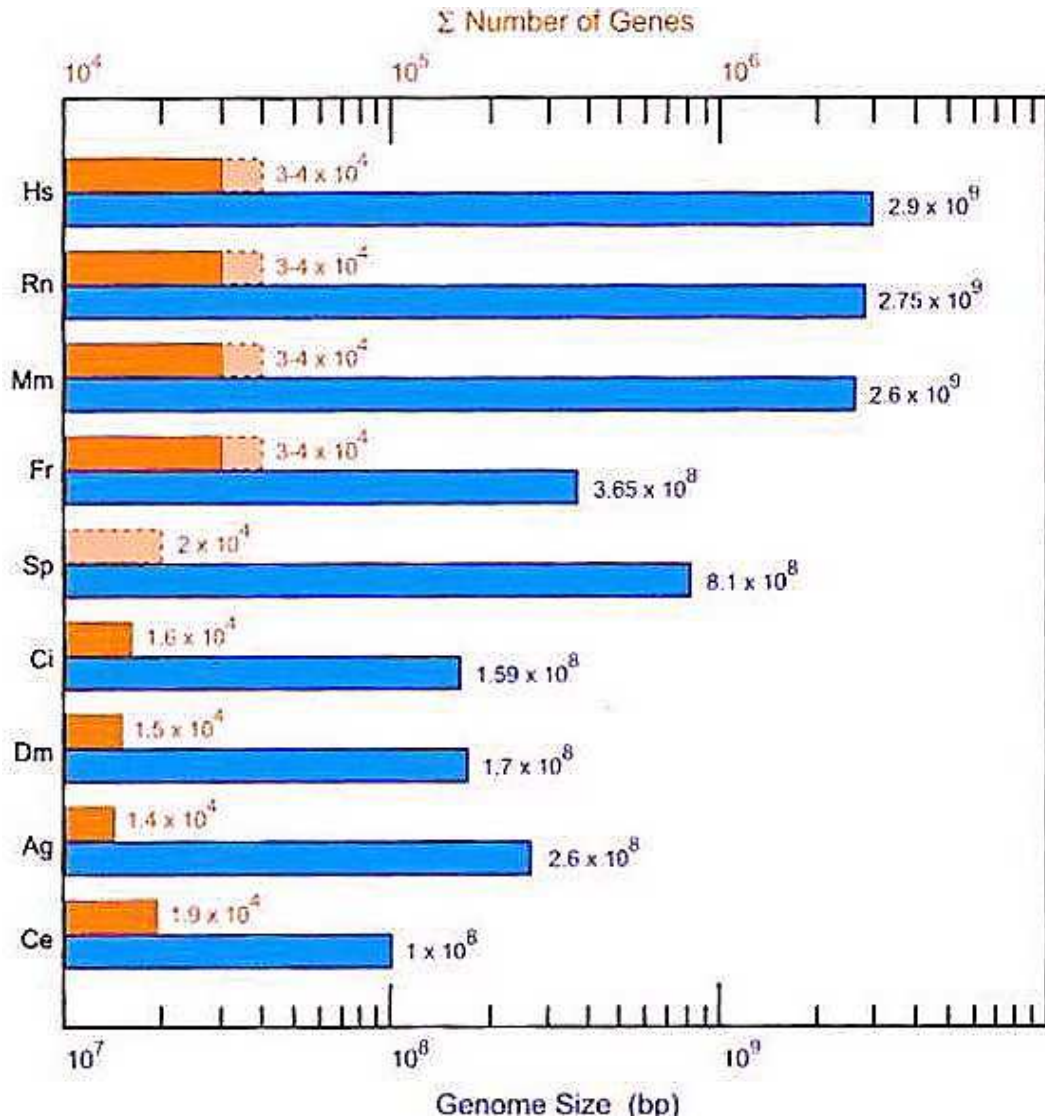
Živý systém - systémy s pamětí, díky které mohou procházet biologickou evolucí. Za vlastnosti typické pro živé organismy jsou považovány komplexita, uspořádanost, biodiverzita a účelná (ne účelová) přizpůsobenost životním podmínkám.

Příloha

Obr. 1: Srovnání velikosti genomu.

Hs-*Homo sapiens*, Rn- *Rattus norvegicus* (potkan východní), Mm-*Mus musculus* (myš domácí), Fr-*Fugu rubripres* (ježík), Sp-*Strongylocentrotus purpuratus* (ježovka), Ci-*Ciona intestinalis* (sumka trubičkovitá), Dm-*Drosophila melanogaster* (octomilka obecná), Ag-*Anopheles gambiae* (komár), Ce- *Caenorhabditis elegans* (hlístice) (Podle Davidson 2006).

Obr. 2: Dosud známé histonové modifikace. (Zdroj: www.histone.com).



Histone H2A

N-SGRGKQGGK A RA**KAK**TRSS R AG (. . . **K** . . . **KK** TR . **K** . **K**) ELNK L L GKV T IA QGGV LPNI Q A VLLPK**K****T** ESHHK AKG K - C
10 20 30 36 75 95 99 120

Histone H2B

N-PEPA**K**SAPA P **K****GS****K**AVT **K** A**Q****KK**DG**K**RR **K** RSR**K**E**S** (. . . **K** . . . **R** . . .) PGE LA **K** HA VSEG T**K**AVT**K** YTSSK - C
10 20 30 43 85 99 108 120

Histone H3

N-AR**T****K**QTAR**K**S TGG**K**AP**R****K**Q L A**T****K**AAR**K**SAP ATGGV**KK**PHR (**K** . . . **K** T . . . **T** . . .) ERA - C
10 20 30 40 56 79 115 118 122 128

Histone H4

N-SGR**K**GG**K**GL G**K**GA**K**RR**K** VLRDNI (. . . **S** . . . **K** . . . **K** . . .) RTLY GFGG - C
10 20 47 59 77 79 92

Histone H2A.X C-term

. . . SATVGP**K**AP SGG**K****T**QA**S**Q EY - C
130 140

Použitá literatura

- Bateson G. (2006) *Mysl a příroda: Nezbytná jednota*. Malvern.
- Barbieri M., ed. (2007) *Introduction to Biosemiotics. The New Biological Synthesis*. Springer.
- Barbieri M. (2007) *The Challenge of Biosemiotics*. In: Barbieri, 2007. Předmluva.
- Barbieri M. (2007) *Has Biosemiotics Come of Age?* In: Barbieri, 2007. 101-114.
- Barbieri M. (2007) *Is the Cell a semiotic system*. In: Barbieri, 2007. 179-208.
- Barbieri M. (2006) *Organické kódy. Úvod do sémantické biologie*. Academia.
- Bruni L. E. (2007) *Cellular sémiotice and signal transduction*. In: Barbieri, 2007. 365-409.
- Caroll S. B. (2005) *Endless Forms Most Beautiful*. Bortin.
- Cruz X., Lois S., Molina S. S. (2005) Do protein motifs read the histone code? *BioEssays*. 27: 164-175.
- Cvrčková F., Markoš A. (2005) Beyond Bioinformatics: Can similarity be measured in the Digital World? *J. of Biosemiotics*. 1: 65-80.
- Čapek J., ed. (2003) *Filosofie Henri Bergsona. Základní aspekty a problémy*. Praha: OIKOYMENH.
- Danchin A. (2005) Překvapivý software života. *Project Syndicate*. (www.project-syndicate.org).
- Davidson E. H. (2006) *The Regulatory Genome. Gene Regulatory Network in Development and Evolution*. Academic Press. Chapter 1: 1-29.
- Dawkins R. (2003) *Sobecký gen*. Mladá fronta.
- Emmeche C., Hoffmeyer J. (2005) Code-Duality and the Semiotics of Nature. *J. Biosemiotic*. 1: 35-85
- Favareau D. (2007) *The Evolutionary History of Biosemiotics*. In: Barbieri, 2007. 1-67.
- Fire A. Z., XU S., Montgomery M. K., Kostas S. A., Driver S. E., Mello C. C. (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 391: 806-811.
- Flegr J. (2005) *Evoluční biologie*. Academia.

- Galis F., Metz J. A. J. (2001) Testing the Vulnerability of the Phylotypic Stage: On Modularity and Evolutionary Conservation. *J. of Experimental Biology*. 291:195-204.
- Giannis A. et al. (2005) Epigenetics- An Epicenter of Gene Regulation: Histones and Histone-Modifying Enzymes. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.* 3186-3212.
- Kawasaki H., Tatra K. (2004) Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature* 431: 211-217.
- Kliková A., Kleisner K. edd. (2006) Umwelt, koncepce žitého světa Jacoba von Uexküll. *Amfibios*. Červený Kostelec: Pavel Mervart.
- Kull K. (2005) A Brief history of Biosemiotics. *J. of Biosemiotics*.1:1-25.
- Kull K. (1999) Biosemiotics in the twentieth century: a view from biology. *Semiotica*. 127: 385-414.
- Lacoff G., Johnson, M. (2002) *Metafory, kterými žijeme*. Host.
- Li L. CH. et al (2006) Small dsRNAs induce transcriptional activation in human cells. *PNAS*.103: 17337-17342.
- Lukeš J., Asahino-Jindrová M., Jindra M. (2001) Funkční analýza genomu. *Vesmír*. 80: 313-315.
- Markoš A., Grygar F., Kleisner K., Neubauer Z. (2007) *Towards a Darwinian biosemiotics. Life as mutual understanding*. In: Barbieri, 2007. 235-255.
- Markoš A. (2006) *Mezi zvonkohrou a improvizací*. In: Kliková, Kleisner 2006. 99-106.
- Markoš A., Cvrčková F., Gajdoš E., Hajnal L. (2004) Epigenetický stroj. *Vesmír*. 83: 111-113.
- Markoš A. (2000a) *Tajemství hladiny. Hermeneutika živého*. Praha: Vesmír. 2. vyd. 2003. Praha: Dokořán.
- Markoš A. (2003) *Přírodní zákony a evoluce*. In: Čapek, 2003. 151-181.
- Margulis L. (1998) *Symbiotická planeta. Nový pohled na evoluci*. Academia.
- Monod J., (1970) *Náhoda a nutnost. Pojednání o přírodní filosofii moderní biologie*. Pracovní překlad Zdeňka Žáčka.
- Neubauer Z. (2002) *Biomoc*. Malvern.
- Peregrin J. (2005) *Kapitoly z analytické filosofie*. Filosofia.
- Peregrin J. (1998) *Úvod do teoretické sémantiky*. 3.vyd. 2002. Praha: Karolinum.

Pearson J. C., Lemons D., McGinnis W. (2005) Modulation Hox gene functions during animal body patterning. *Nature reviews*. 6: 893-904.

Richardson M. K. et al. (2003) Inverting the hourglass: quantitative evidence against the phylotypic stage in vertebrate development. *The Royal Society*. 270: 341-346.

Souček M. (2007) *Filosofie přírody Jacoba von Uexkülla*. Diplomová práce Katedry filosofie a dějin přírodních věd PřFUK.

Turner B. M. (2007) Defining an epigenetic code. *Nature cell biology*. 9: 2-6.

Turner B. M., Henikoff S. (2006) Is it a code: The debate. *The Scientist*. 20: 38.

Turner B. M. (2000) Histone acetylation and an epigenetic code. *Bioessays*. 22: 836-845.

Turner B. M., Birley A. J., Lavender J. (1992) Histone H4 isoforms acetylated at specific lysine residues define individual chromosomes and chromatin domains in *Drosophila* polytene nuclei. *Cell*. 69: 375-384.

Turner B. M., Franchi L., Wallace H. (1990) Islands of acetylated histone H4 in polytene chromosomes and their relationship to chromatin packaging and transcriptional activity. *J. Cell Sci*. 96: 335-346.

Witzany G. (2006) *Živá příroda jako globální komunikační společenství*. In: Kliková, Kleisner 2006.161-188.

Vyskot B. (2005) Epigenetická dědičnost. Zdroj: <http://www.otevrena-veda.cz/> 185-191.

Wolf K. W., Turner B. M. (1996) The pattern of histone H4 acetylation on the X chromosome during spermatogenesis of the desert locust *Schistocerca gregaria*. *Genome* 39: 854-865.

Učebnice:

Gilbert S. F. (2003) *Developmental biology*. 7th edition. Sinauer Associates Inc.

Lodish H. et al. (2003) *Molecular cell biology*. 5th edition. Freeman.

Vyskot B. (1999) *Přehled vývojové biologie a genetiky*. Biofyzikální ústav AVČR.

Internet:

<http://cs.wikipedia.org/wiki/DNA> staženo dne 20.4.2007

<http://www.rnaiweb.com/>

www.histone.com/

www.blackwellpublishing.com

Přednášky:

Markoš A. (2007) Regulace genové exprese v ontogenezi.

Vyskot B. (2007) Epigenetika. Rehabilitace kacířství?