
O evolučním původů zubů stále nic nevíme, říká Robert Černý

O evolučním původů zubů stále nic nevíme, říká Robert Černý

Cenu za tvůrčí počín v dubnu letošního roku převzal z rukou rektora tým katedry zoologie Přírodovědecké fakulty UK ve složení Mgr. Robert Černý, Ph.D., Mgr. Vladimír Soukup a prof. RNDr. Ivan Horáček, CSc. Jejich výzkum, v němž prokázali, že sklovina zubů obratlovců vzniká embryonálně jak z ektodermu, tak z endodermu, prezentoval i prestižní časopis Nature. Na konkrétní realizaci výzkumu jsme se zeptali iniciátora projektu Roberta Černého.



Mgr. Robert Černý, Ph.D. se se svými studenty zabývá evolučními modifikacemi tkání hlavy obratlovců a evolučně-vývojovou biologií

Jaká byla východiska vaší práce a jaké doposud existovaly teorie?

Původně existovaly dvě teorie, jak zuby vznikly. Jedna z nich tvrdí, že zuby vznikly evolučně tak, že plakoidní šupinky na povrchu těla se posunuly do úst a tam se spojily s čelistmi. Tedy posun outside-in. Pak se ale objevila nová, opoziční teorie, která říká, že zuby vznikly v oblasti zadní části hlavy a posunuly se směrem dopředu do úst. Jsou tedy endodermální. A já jsem měl pocit, že máme jedinečnou možnost prokázat, jak to vlastně je. Samozřejmě byla již dříve

snaha toto zjistit pomocí přítomných genů v ektodermu, ale jednoznačný závěr to nepřineslo, neboť vy nakonec zjistíte, že gen není aktivní vždy v celém ektodermu.

Jakou metodu jste pro své výzkumy zvolili?

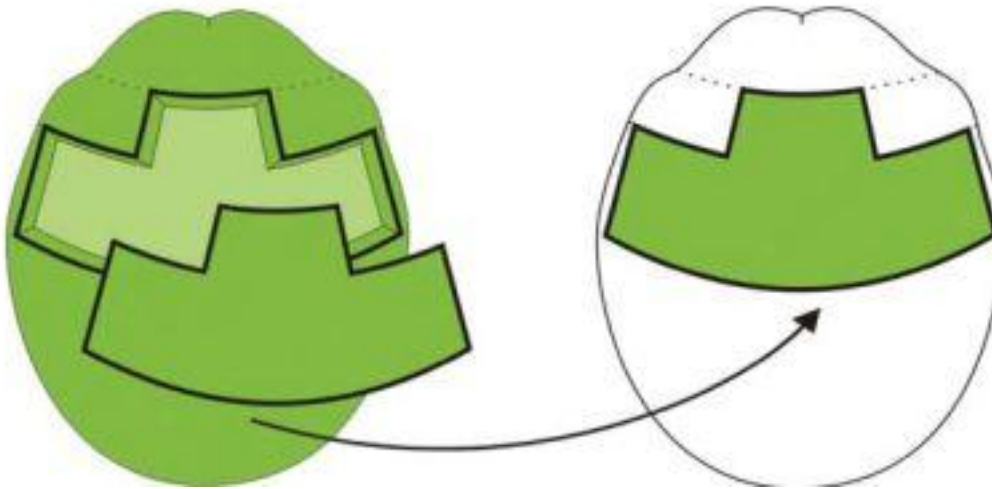
Výzkumy jsme prováděli na mexickém axolotlovi, což je extrémně vzácný mlok, který je ve volné přírodě takřka vyhubený. Původně žil v oblasti Mexico City, která se celá zastavěla. V akváriích a laboratorních podmínkách se mu ale daří dobře. Pro nás byl tento obojživelník vhodný hned z několika důvodů: lehce se množí, jeho vajíčka se vyvíjejí mimo tělo matky, a tudíž k nim máme přístup již od nejranějších vývojových stadií, a tato vajíčka jsou poměrně značně velká (až 4 mm), tudíž se nám na nich dobře pracuje. Mám-li to celé zjednodušit – zvolili jsme metodu mapování, tedy už u embryí jsme označili barvou to, co jsme jistě věděli, že je ektoderm a endoderm, a potom jsme za několik týdnů hledali, kde to najdeme. Experimenty na axolotlovi jsme se rozhodli provádět v Německu, protože tam jsou na to příslušně vybavení a přišlo nás to levněji. Já jsem v rámci doktorského studia pobýval asi tři a půl roku v Anatomickém institutu Technické univerzity v Drážďanech, měl jsem tam tedy dobré zázemí.

Lišila se tato metoda nějak od metod kolegů, kteří podobné průzkumy také prováděli?

Většina výzkumů se provádí na myších, což pro tyto experimenty není ideální zvířátko, neboť má velmi omezený počet zoubků. Používá se ale proto, že výzkumy lze pak jednodušeji aplikovat na člověka.

Jak konkrétně pokusy, které prováděl váš student Vladimír Soukup v rámci své diplomové práce, vypadaly?

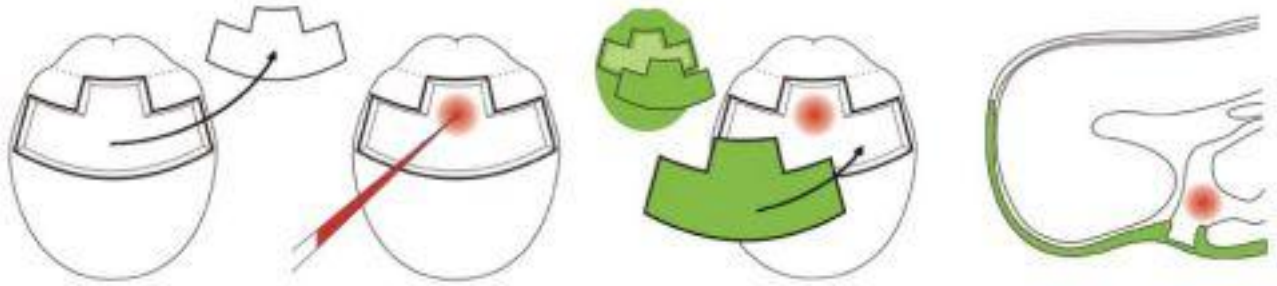
Používali jsme zvláštního transgenního axolotla, což znamená, že měl v sobě cizí gen, a to gen pro výrobu bílkoviny GFP. To je strašně zajímavá látka, která je vyizolována z medúzky a která pod světlem UV lampy svítí zeleně. Kolegové dokázali vypěstovat takového axolotla, který je celý zelený, tedy v každé buňce měl vložený tento speciální protein. Vladimír měl pod vodou v jedné misce týdenní zelené a ve druhé misce stejně staré normální embryo axolotla. Protože z předchozích výzkumů víme, ze které části ektodermu se pak vyvíjí ústní dutina, tak tuto část u zeleného embrya vyřízl a transplantoval ji na normální embryo. Embryo pak dokáže velmi rychle zregenerovat, za 20 minut už nepoznáte, že k nějaké operaci došlo. Tak jsme si kompletně vymapovali vnější zárodečný list a pak jsme mohli sledovat, kde se zelené zbarvení objevilo. Mohli jsme si tedy říct – tyto zelené buňky jsou ektodermální, sice jsou uvnitř v ústech, ale stále jsou ektodermální. Takže jsme věděli, že zelené zuby jsou ektoderm. To jsme zjistili při prvním experimentu.



První experiment: Z transgenního axolotla byl vyříznut ektoderm ve tvaru T a transplantován na normální embryo

A co ty zbývající zuby?

Těm jsme se věnovali ve druhém experimentu, který byl složitější. Z normálního embrya jsme opět vyřízli tvar písmene T v oblasti budoucích úst. V odkryté části se objevil endoderm, kde jsme několik buněk označili látkou, která svítí červeně. A zase jsme to přikryli ektodermem ze zeleného jedince. Pak jsme opět čekali, kde se nám červená a zelená barva objeví. Tímto přístupem jsme jasně prokázali, že některé zuby jsou ektodermální, tedy zelené, ale mají v sobě i červené buňky, tedy endoderm, jiné zuby jsou pak převážně endodermální. To se nám podařilo prokázat na stu zvířátek, což je obrovský počet, proto byl náš výzkum také tak oceněn.



Druhý experiment: "V odkryté části se objevil endoderm, kde jsme několik buněk označili látkou, která svítí červeně. A zase jsme to přikryli ektodermem ze zeleného jedince. Pak jsme opět čekali, kde se nám červená a zelená barva objeví."

Dá se říct, že na určitém místě v ústech jsou zuby endodermálního a jinde ektodermálního původu?

Není to tak jednoduché. Vpředu jsou spíše zuby ektodermální, ale rozhodně to nemůžeme generalizovat. Navíc jsme zjistili, že některé zuby jsou původu ektodermálního i endodermálního. Našli jsme třeba zub, v němž byly dvě endodermální buňky a zbytek byl ektodermální. Došli jsme tedy k závěru, že v dutině ústní mohou být zuby endodermální, což se předpokládalo, tak ektodermální, což se netušilo. Ukazuje se, že zubům je úplně jedno, jestli vznikly z vnější nebo vnitřní zárodečné vrstvy. Tím pádem stále nevíme nic o evolučním původu zubů.

Vám se těmito experimenty vlastně podařilo prokázat, že na vývoji zubu se podílí ještě další zárodečná tkáň...

Doposud jsme se bavili o té svrchní, nejtvrďší části zubu, tedy sklovině. Vnitřek zubu vzniká z úplně jiné zárodečné vrstvy, kterou je mesenchym z buněk neurální lišty, které se také někdy říká čtvrtá zárodečná vrstva. Tento vnitřek zubu je vždy stejný. My bychom se tedy na problém mohli podívat tak, že zub nevznikl migrací ektodermu dovnitř nebo endodermu do úst, ale tehdy, když potence tvořit zuby vznikla v mesenchymu. Jednoduše řečeno, buňky neurální lišty řeknou epitelu, aby udělal zub. A když se nad tkáň nachází ektoderm, tak donutí zub, aby se vytvořil z ektodermu. To se alespoň předpokládalo doposud. Nyní vědci přišli s další teorií, že mesenchym nejen dělá většinu zubu, ale začíná i signalizaci epitelu.



Zleva: prof. RNDr. Ivan Horáček, CSc., Mgr. Vladimír Soukup a Mgr. Robert Černý, Ph.D.
(Lucie Kettnerová)