

Odtwarzanie wymarłych gatunków na podstawie kopalnego DNA

Tur od nowa



RYSZARD SŁOMSKI

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Instytut Genetyki Człowieka, Poznań
Polska Akademia Nauk
Komitet Genetyki Człowieka i Patologii Molekularnej PAN
słomski@up.poznan.pl

Prof. dr hab. Ryszard Słomski jest w Polsce pionierem badań DNA na potrzeby diagnostyczne, zajmuje się diagnostyką molekularną chorób genetycznych, charakterystyką nowych genów człowieka, biotechnologią i medycyną sądową

Współczesna technologia umożliwia analizowanie próbek liczących sobie nawet do miliona lat. Czy dzięki polskim badaniom z wykorzystaniem kopalnego DNA tur powróci do naszych lasów?

Tur - wymarły gatunek spokrewniony z innymi dużymi przeżuwaczami, takimi jak bawół afrykański, bawół wodny, piźmowół, jak, bizon czy żubr - uważany jest za przodka większości europejskich i afrykańskich odmian bydła domowego, jak również bydła pochodzącego z Azji kontynentalnej, m.in.: zebu, gaura i na wpół mitycznego kupreja. Szacuje się, że tury pojawiły się około 1,5-2 mln lat temu. Najprawdopodobniej zwierzęta te wywodzą się z Indii, skąd później rozproszyły się w kierunku Azji Mniejszej, a następnie dalej w głąb Azji i Europy. Przyjmuje się, że tury dotarły do Europy około 250 tys. lat temu.

Wśród czynników, które przyczyniły się do wyginięcia tura, wymienia się polowania prowadzone przez ludzi i rosnącą presję środowiska spowodowaną ekspansją rolnictwa. Gatunek przetrwał najdłużej w samym sercu kontynentu - w Polsce. Okresem załamania populacji tura było Średniowiecze, do XIII wieku zwierzę to przetrwało jedynie w kilku skupiskach na terenie Litwy, Polski, Prus, Mołdawii i Transylwanii. W XIV wieku tur pojawiał się jeszcze na ziemiach litewskich i pruskich, po czym znikł całkowicie. Ostatnie stado przetrwało na polskim Mazowszu, w Puszczy Jaktorowskiej. Choć król

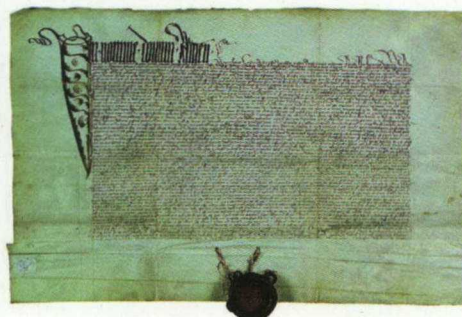
Zygmunt Stary objął specjalną opieką ostatnie zachowane tury, zapewniając im całoroczną ochronę i wyżywienie, zwierzęta przeszły do historii wraz ze śmiercią w 1627 roku niedaleko Jaktorowa ostatniej samicy (przeżyła ostatniego samca o 7 lat).

Relacja historyczna

Opis gatunku można zaczerpnąć z kilku źródeł. Pierwszym z nich są rysunki, reliefy i starożytne malowidła naścienne w jaskiniach datowane na ponad 17 tys. lat temu. Znane są z jaskiń w prawie całej Europie, Afryce Północnej, Azji Mniejszej (Anatolii) oraz Azji Centralnej. Drugim źródłem jest seria dość rzadkich opisów potwierdzonych przez historię, między innymi źródeł sumeryjskich, egipskich, greckich, rzymskich (z czasów podbojów Galii i Germanii) czy germańskich (występujących w sagach i pieśniach napisanych przy użyciu alfabetu runicznego) oraz współczesne niemieckie i szwajcarskie opisy tura z terenów polskich, nadbałtyckich oraz Mołdawii. Najbardziej wiarygodne opisy pochodzą jednak z XV, XVI i XVII-wiecznych polskich źródeł. Trzecim najbardziej obiektywnym, ale ograniczonym źródłem są szczątki zwierząt odnalezione w Europie, Afryce i Azji.

Jedna ze znanych monografii Juliusza Cezara (100-44 r. p.n.e) *O wojnie galijskiej* zawiera opis polowania ludności germańskiej na tura. Szwajcarski naturalista Conrad Gessner w swym wielkim dziele, omawiającym wszystkie czworonogi, ptaki, ryby, węże i skorpiony znane w tamtych czasach, wydał

Reprodukcja z archiwum autora



Opis gatunku tura można zaczerpnąć z kilku źródeł. Najbardziej wiarygodne są polskie źródła z XV, XVI i XVII wieku



Czaszka tura
znaleziona na terenie
Polski pochodząca
z kolekcji Muzeum
Przyrodniczo-
Łowieckiego
w Uzarzenie

listy Antona Schneebergera i Johna Bonara zawierające istotne informacje dotyczące tura. Jest sprawą dyskusyjną, czy informacje te pochodzą z bezpośrednich obserwacji i doświadczeń. Stwierdzenia „jest to bardzo zwinne zwierzę, choć nie żywotne; mówią, że nie więcej niż kilka z nich żyło dłużej niż 15 lat” i „mocno pobudzone gromadzą się we wrześnie by toczyć z sobą boje, w których czasami giną obydwie ze stron” nie brzmią jak z pierwszej ręki.

Szczątki tura, będące niegdyś w posiadaniu wielu polskich muzeów, często uważane były za nieatrakcyjne, zbyt „nowe” by się nimi interesować, dlatego oddawano je na przechowanie lub przekazywano szkołom. Złożenie pełnego szkieletu tura jest więc dziś bardzo trudne.

Po turach pozostały jeszcze inne ślady. W Polsce, i nie tylko, występuje wiele wsi, miasteczek i miejsc, których nazwy są związane z turem. Na przykład wiele dyskusji wywołała nazwa polskiego miasta Turek. Leon Lubomir Kruszyński w swej książce *Turek, monografia miasta* z 1892 roku napisał, że nazwa Turek pochodzi od słowa tur, które według niego jest synonimem słowa żubr. Dziś ta hipoteza wydaje się być potwierdzona. Niektórzy historycy łączą nazwę miasta ze wzmianką o *Turcoviste* znalezionej w papieskiej bulli Innocentego II, wydanej w 1136 roku w Pizie.

Mniejsze od stonia

Tur był zdecydowanie większy od dzisiejszego bydła. Prawdopodobnie liczył w kłębie około 180-190 cm (samiec) i 160-175 cm (samica). Juliusz Cezar pisał o turach „wymiarami trochę tylko mniejsze od stonia”. Umaszczenie samców wahało się od bardzo ciemnej kasztanowej maści do czarnej z jaśniejszą pręgą wzdłuż grzbietu, zaś u samic od czerwonej do kasztanowej maści. Cielęta miały jaśniejsze ubarwienie, niezależnie od płci. W wypadku samic/krów kolor sierści zmieniał się nieznacznie, podczas gdy umaszczenie samców/byków zaczynało w widoczny sposób ciemnieć po upływie szóstego miesiąca życia.

Pewne cechy morfologiczne współczesnych ras bydła domowego są podobne do poszczególnych cech tura. Odnosi się to zwłaszcza do pierwotnych ras, takich jak węgierskie i podolskie bydło stepowe, szkocka rasa wyżynna, czy rasy hiszpańskie używane do walk byków.

Historia badań naukowych dotyczących tura sięga końca XVIII i początku XIX wieku. W 1827 Bojanus opisał szkielet tura, dochodząc do wniosku, że jest to odrębny gatunek, któremu w systemie klasyfikacji Linneusza nadał nazwę *Bos primigenius*.

Prowadzone obecnie badania, w które jesteśmy zaangażowani, mają na celu odtworzenie wymarłych zwierząt na podstawie ich zachowanej w szczątkach informacji genetycznej (DNA).

Odtwarzanie wymarłych gatunków na podstawie kopalnego DNA

Odczytywanie kopalnego DNA

Pierwsze badania nad kopalnym DNA (aDNA) wymarłych zwierząt przeprowadził w 1984 roku Russell Higuchi, udowadniając, że materiał genetyczny może zostać pobrany a następnie sekwencjonowany ze 150-letniego preparatu kwaggi (wymarłego zwierzęcia podobnego do zebry). Powodzenie tego pionierskiego badania zależało od uzyskania odpowiednio dużej ilości jakościowo dobrego DNA. Zastosowanie reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w pracy laboratoryjnej umożliwiło powielenie łańcuchów DNA metodą *in vitro*, a w konsekwencji przyczyniło się do spopularyzowania badania aDNA, ułatwiając badaczom pracę z częściowo uszkodzonym przez czynniki środowiskowe materiałem genetycznym. Termin aDNA został rozszerzony na wszystkie rodzaje DNA pozyskane z martwych organizmów lub ich części, z eksponatów muzealnych i tkanek zachowanych na potrzeby naukowe. Kopalny DNA jest często uszkodzony. Procesy degradacji prowadzą do fragmentacji, a nawet całkowitego zniszczenia.

Zazwyczaj badacze aDNA interesują trzy aspekty. Pierwszy, prawdopodobnie najważniejszy, to poznanie informacji zawartych bezpośrednio w materiale genetycznym i w jego otoczeniu. Drugi, powiązany z pierwszym, dotyczy porównania informacji DNA osobników pochodzących z tej samej populacji. To ważne dla ustalenia zmienności osobniczej i relacji, które odgrywają kluczową rolę w procesie ewolucyjnym. Po trzecie, historia wymarłych gatunków zapisana jest w ich genach, dlatego też badania aDNA doskonale uzupełniają badania anatomiczne i przyczyniają się do lepszego zrozumienia przyczyn wyginięcia gatunków.

Współczesna technologia umożliwia analizowanie próbek liczących do miliona lat, ale najbardziej wiarygodne wyniki uzyskiwane są z próbek nie starszych niż 100 tys. lat. Innym bardzo istotnym czynnikiem są warunki, w jakich przechowywany jest materiał genetyczny. Nasze własne doświadczenia pokazują, że nawet kilkuletnia próbka może okazać się bezużyteczna do badań DNA, jeśli znajdowała się w wilgotnym otoczeniu.

Od wyizolowania aDNA zależy powodzenie dalszych prac. Najpierw materiał przygotowuje się do badań poprzez usunięcie zewnętrznych zanieczyszczeń. Ważne jest, by usunąć materiał genetyczny osób mających kontakt ze szczątkami. Następnie wykonuje się głębokie otwory (to

często zadanie dla stomatologów), by dotrzeć do najlepszych warstw materiału genetycznego. W wypadku szczątków tura mogą to być wyrostki rogowe, które pokryte są zrogowaciałą twardą powłoką. By zabezpieczyć uzyskane w ten sposób aDNA i zachować je dla przyszłych pokoleń, badacze muszą je powielić w laboratorium za pomocą metody znanej jako powielanie całego genomu (WGA). To procedura polegająca na umieszczeniu różnych fragmentów DNA w plazmidach. Plazmidowy DNA jest powielany w bakteriach, izolowany i wykorzystywany do badania struktury DNA. Kolejnym bardzo istotnym etapem pracy jest sekwencjonowanie aDNA, czyli odczytywanie kodu genetycznego. Na tym etapie badań używany jest obecnie wysoce specjalistyczny sprzęt.

Najlepszy w mitochondriach

W naszej pracy badawczej nad aDNA tura do celów porównawczych zebraliśmy również próbki bydła domowego i dzikiego. Wyizolowaliśmy mitochondrialne DNA (mtDNA) z preparatów: tura (*Bos primigenius*), bydła domowego, węgierskiego i ukraińskiego bydła stepowego, bydła Hecka, bantenga (*Bos javanicus*), zebu (*Bos indicus*), jaka (*Bos grunniens*), bizona (*Bison bison*) oraz żubra (*Bison bonasus*). Zwykle DNA znajdujący się w pozostałościach archeologicznych nie nadaje się do izolowania za pomocą powszechnie dostępnych metod, które stosowane są w pracy ze współczesnym materiałem genetycznym. Kopalny DNA najczęściej ulega

Autorzy (Ryszard Słomski i Daniel Lipiński) przygotowujący próbki z prastarej kości do wyizolowania DNA

Archiwum autora



Reprodukcja z archiwum autora



W wielu historycznych opisach tur jest mylony z żubrem. Rysunki tura i żubra autorstwa Leonarda Chodźki

degradacji. W im większej liczbie kopii w komórce występują cząsteczki DNA, tym łatwiej jest je pozyskać do badań. Każda komórka organizmów diploidalnych (do których należą tury i inne zwierzęta) zawiera zaledwie dwie kopie DNA jądra komórkowego (nDNA), ale za to setki lub tysiące kopii mtDNA, które nawet ze szczątków mogą w stosunkowo prosty sposób zostać wyizolowane i poddane sekwencjonowaniu.

Genom mitochondrialny ma wiele cech przydatnych do analiz molekularnych, np. nieduży rozmiar (u ludzi jest to 16 569 par zasad), jest dziedziczony tylko w linii matki i stosunkowo szybko zmienia się w toku ewolucji. Częstotliwość mutacji mtDNA jest 5-10-krotnie większa niż cząsteczki DNA, może więc dostarczyć informację dotyczącą ewolucji gatunków, których drogi rozeszły się w nie tak odległym czasie. mtDNA nie ma jednak tego samego profilu co DNA jądrowe i nie odzwierciedla historii całego genomu. Trzeba o tym pamiętać przy analizach genetyki populacji lub gatunków blisko spokrewnionych.

Jednym z pierwszych naszych osiągnięć było scharakteryzowanie DNA mitochondrialnego (mtDNA) pobranego z zęba człowieka żyjącego 3 tys. lat temu, znajdującego się w kolekcji Muzeum Warmii i Mazur w Olsztynie. Po tym sukcesie zainteresowali się kopalnym DNA tura.

Powrót do życia?

Nawet w tak krótkim czasie - w ciągu zaledwie dwóch lat - nasza praca nad restytucją tura przyniosła wiele pozytywnych rezultatów. Istotnym osiągnięciem jest zainicjowanie dyskusji społecznej na temat tura. Chociażby w takim sensie zwierzę to powróciło do życia. W większym stopniu zaczęto też zwracać uwagę na konieczność ochrony wolno żyjących zwierząt. Badania DNA umożliwiają nam zidentyfikowanie krewnych tura. Przed nami jeszcze daleka droga, ale dzięki badaniom udało się odkryć niektóre różnice i podobieństwa w sekwencji mtDNA tura i innych gatunków.

Polskim naukowcom zależy na badaniu historii tura, symbolu polskiej puszczy. Przy pomocy najnowocześniejszych technik już udało się przywrócić gatunki niemal wymarłej populacji żubra (*Bison bonasus*) i konika polskiego, które dawniej żyły na terenie Polski. Być może pewnego dnia tur również zostanie przywrócony do życia. ■

Chcesz wiedzieć więcej?

Autorami projektu badawczego opisanego w artykule są: Ryszard Słomski, Alexander M. Dziędużycki, Daniel Lipiński, Marlena Szalata, Joanna Zeyland, Łukasz Wolko, Karolina Wielgus, Mirosław S. Ryba.

Van Vuure, C.T. (2005). *Retracing the Aurochs: History, Morphology and Ecology of an Extinct Wild Ox* [Odtwarzanie tura: historia, morfologia, i ekologia wymarłego bawoła]. Sofia-Moscow: Pensoft Publishers.