**Melanismus u krysy obecné – genetická analýza**

Pigmentace u savců je výsledek syntézy a distribuce barviva melaninu, který se vyskytuje ve dvou základních typech, a to eumelanin (hnědá až černá) a phaeomelanin (červenohnědá až žlutá). Melanismus je stav charakterizovaný abnormálním uložením melaninu v kůži a peří, kdy abnormálním uložením rozumíme jak změnu v jeho distribuci, tak navýšení jeho množství (van Grouw, 2017). Intenzivní výzkum genetického původu zbarvení u savců byl soustředěn především na modelový druh organismu, myš domácí, u které byly mapováním zjištěny mutace v genech ovlivňujících zbarvení (Protas a Patel, 2008). U savců bylo nalezeno více než 100 genů, které se podílí na výsledném zbarvení organismu (Benett a Lamoreux, 2003; Barsh, 1996). Nejvíce prozkoumanou skupinou genů podílející se na pigmentaci savců jsou geny tzv. melanokortinového systému řídící přepínání mezi syntézou eumelaninu a phaeomelaninu, které se dále projevují ve fyziologických a behaviorálních vlastnostech organismu (Protas a Patel, 2008). Do této skupiny patří především geny *Pomc* (Proopiomelanocortin), *Msh* (Melanocyt-stimulating hormone), *Mcr* (Melanocortin receptor), *Asip* (Agouti signaling protein) a *Agrp* (Agouti related protein) (Ducrest a kol., 2008). Melanismus, jako adaptivní změna fenotypu na prostředí výskytu jedince, kterou se podařilo propojit i se změnou genotypu, byl popsán u populací hlodavců, např. u pytlouše skalního *Chaetodipus intermedius*. Genetické analýzy jasně prokázaly, že v případě jedné ze zkoumaných populací měli všichni melaničtí jedinci mutace v genu *Mc1r*. Naopak u dalších zkoumaných melanických populací žijících na lávovém povrchu, které byly prostorově izolovány prostředím se světlým povrchem s výskytem světlých forem zbarvení jedinců, se mutace v genu *Mc1r* neprokázaly (Nachman a kol., 2003). Tento příklad ukazuje na různý genetický původ stejného fenotypového projevu melanismu.

V krysích populacích se vyskytují současně hnědé i černé formy jedinců. Černé zbarvené vzniklo u krys paralelně mutacemi nejméně dvou různých genů *Mc1r* a *Asip*. Barevný polymorfismus se v krysích populacích udržuje navzdory specifické kolonizační historii, během které lze očekávat časté a výrazné demografické změny, při kterých bychom očekávali převládnutí jen jedné z forem, a to díky náhodným procesům (drift, surfing). Je tedy možné, že za současný výskyt obou forem je zodpovědná selekce udržující polymorfismus (balancing selection). Tomu by také napovídaly pilotní experimenty s krysami v zajetí, které nasvědčují odlišnému chování barevných forem. Rozšíření krysy zasahuje i na území České republiky, kde se vyskytují obě formy a odkud jsou dostupné vzorky pro izolaci DNA z různých lokalit. Cílem diplomové práce bude: 1) Pomocí sekvenování *Mc1r* (případně dalších kandidátních genů, především *Asip*)zjistit, jaká mutace a kterého genu je zodpovědná za černé zbarvení krys z České republiky 2) Pokud se jedná o známou mutaci *M*c*1r*, prověřit pomocí fylogeneze alel, zda nedošlo k opakované mutaci na stejném místě 3) Pomocí sekvenování kontrolní oblasti mitochondriální DNA a srovnáním se známými haplotypy prozkoumat, k jaké migrační vlně se vztahuje kolonizace území České republiky a nakolik jsou naše populace heterogenní 4) Pokud se podaří získat vzorky z jiných míst, zopakovat postup 1-3, tedy ověřit mutace zodpovědné za melanismus a zjistit původ pomocí haplotypů kontrolní oblasti mitochondriální DNA 4) Pokusit se detekovat balancující selekci na základě nahromaděných molekulárních dat. Protože signál selekce může být podobný signálu způsobenému demografickými změnami, bude vhodné srovnat signál na *M*c*1r* se signálem na mitochondriální DNA. Při nedostatečném signálu je možné prosekvenovat delší oblasti u vybraných vzorků. Pro design primerů lze využít dostupný genom potkana

Literatura

Barsh G. S. (1996). The genetics of pigmentation: from fancy genes to complex traits. Trends in Genetics, 12(8), 299-305. <https://doi.org/10.1016/0168-9525(96)10031-7>

Bennett, D.C., & Lamoreux, M.L. (2003). The color loci of mice--a genetic century. Pigment Cell Res. 16(4), 333-44. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2003.00067.x>

Ducrest, A-L., Keller, L., & Roulin, A. (2008) Pleiotropy in the melanocortin system, coloration and behavioural syndromes. Trends in Ecology and Evolution, 23(9), 502-510. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.06.001>

Nachman, M. W., Hoekstra, H. E., & D'Agostino, S.L. (2003). The genetic basis of adaptive melanism in pocket mice. PNAS, 100(9), 5268-5273. <https://doi.org/10.1073/pnas.0431157100>

Protas M.E., & Patel, N. H. (2008). Evolution of coloration patterns. Annual Review of Cell and Development Biology 24, 425-46. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.24.110707.175302>

van Grouw, H. (2017). The dark side of birds: melanism—facts and fiction. Bulletin of the British Ornithologists’ Club, 137(1), 12-36. <https://doi.org/10.25226/bboc.v137i1.2017.a9>