

Medical Tribune, 19.7.2010, Dlouhé zrození retrovirologie

František Houdek

V roce 1908 dva dánští veterináři, Vilhelm Ellermann a Oluf Bang, oznámili, že se jim podařilo „infikovat“ zdravá kuřata erytromyeloblastózou, poměrně vzácným druhem slepičí leukémie, jak tím, že jim injikovali živé nádorové krevní buňky (to se dalo čekat, šlo de facto o transplantaci), tak injekcí pouhé krevní plazmy nemocné slepice. Avšak teprve před 40 lety a s českým přispěním byl oznámen objev reversní transkriptázy.

Ellermann a Bang „čistou“ plazmu získali pomocí porcelánového filtru, který zadržel nejen každou nádorovou buňku, ale i mnohem menší bakterie. Původcem choroby tedy musí být virus, usoudili badatelé. (První viry, konkrétně tabákové mozaiky, objevil v roce 1892 ruský botanik Dmitrij Iosifovič Ivanovskij.) Dánský objev však nevzbudil zájem – leukémie se tehdy neřadily k nádorům a kuře má k člověku přece jen dost daleko.

V téže době za Velkou louží se mladý patolog Charles Peyton Rous v Rockefellerově ústavu v New Yorku setkal se slepičími nádory a začal s nimi experimentovat. Vybral si sarkom, který vychází ze svalových tkání a o němž naprosto nic nenasvědčovalo, že by měl být jakkoli infekční. Také Rous začal transplantací. Někdy se nádor u slepic ujal, někdy ne. Lepší to bylo u malých kuřat, proto Rous pokračoval s nimi. Potom se pokusil přenést nádor bezbuněčným filtrátem (o stoprocentní účinnosti filtrace se přesvědčil pokusem). Část kuřat přesto dostala do dvou měsíců sarkom. Původcem sarkomu tedy musí být virus! Tento výsledek Rous publikoval v roce 1911. Vzbudil sice pozornost, ale jako pouhá bezvýznamná kuriozita. Dominující názor tehdy ilustroval Rousův zkušenější kolega: „Koukněte, mladíku, jestliže jste našel (infekční) příčinu (nemoci), tak to nemůže být rakovina.“

Z Čech... O půl století později už se toho o virech vědělo víc, rovněž o existenci i významu onkovirů málokdo pochyboval. Úporně však přetrvávala otázka: Jak se onkogenní viry rozmnožují? Evidentně to musí být jinak než u virů „obyčejných“, jež napadenou buňku zpravidla zahubí... Rovněž vládlo přesvědčení, že onkogeny jsou značně vyběravé a že mohou infikovat a nádory vyvolávat jen u svého přirozeného hostitele, maximálně u druhu velmi blízkého (slepičí viry u krocánů, myši u krys apod.). S velkou nedůvěrou se proto setkala zpráva sovětského virologa Lva Zilbera z konce padesátých let, že Rousův sarkom injekčně přenesl na krysí mláďata! Nejspíš prý šlo o experimentální chybu, šel jeden hlas – ostatně všichni měli v živé paměti údajně prokázané „zázraky“ lysenkismu.

Problém přenosu zaujal mladého biologa Jana Svobodu na „Haškově“ Ústavu experimentální biologie a genetiky **ČSAV** v Praze. Ten Zilberovi sluchu popřál a začal s tímto slepičím virem experimentovat na krysách. Za několik měsíců se u dvou objevily nádory... Po dvou letech systematické práce Svoboda prokázal, jak to vlastně je: Kuřecí virus se v krysím nádoru „schovává“ v genomu jeho buněk, odkud se za vhodných podmínek opět uvolní a působí dál. Tento objev Svoboda zveřejnil v roce 1960 v Nature. Krátce nato tento fenomén nazval virogenie.

Po dalších dvou letech pokusů podal i vysvětlení: Genom viru se zabuduje do genomu buňky, kde je „maskován“ v podobě tzv. proviru a odkud ho lze experimentálně opět uvolnit. A co na tom svět tak šokovalo? Rousův virus má totiž genom tvořený z ribonukleové kyseliny (RNA), zatímco infikované buňky ho mají z deoxyribonukleové kyseliny (DNA). Podle tehdy přijímaného centrálního dogmatu molekulární biologie (Francis Crick, 1958) se totiž genetická informace přenáší vždy ve směru DNA > RNA > bílkovina. Objev virogenie navíc nastolil další otázku: Jaký je mechanismus „protidogmatického“ přepisu RNA do DNA?

... do Ameriky Svobodovy pokusy přesvědčily většinu vědců, že onkogenní virus navazuje s buňkou podobný vztah, jaký mají lysogenní bakterie s mírným fágem. (Lysogenní bakterie, je-li infikována, nezahyne, ale v rámci svého množení tvoří virus, který může hubit bakterie v

jiné kultuře.) Jenže: Bylo možné si představit, že viry, jež mají svoji genetickou informaci ve formě DNA, ji nějak vestavějí do genomu (tedy DNA) napadené buňky; Rousův virus má ale genetickou informaci zapsánu pomocí RNA...

V roce 1964 se našel člověk, jenž to řekl naplno, Howard Temin, tehdy třicetiletý profesor Wisconsinské univerzity v Madisonu: Rousův virus (i další RNA viry) si po infekci buňky nejprve přepíše informaci ze své RNA do nové molekuly DNA, a teprve ta se včlení do buněčné DNA. Vzniknuvší provirus se pak bude replikovat v rámci buněčného genomu při množení buňky. Proces, jímž se RNA přepisovala do DNA, nazval Temin „reversní transkripcí“ a enzym, který ji zajišťuje, „reversní transkriptázou“. K důkazu tohoto „kacířského“ tvrzení bylo třeba buď v nádorových buňkách najít DNA patřící Rousovu viru, nebo prokázat existenci reversní transkriptázy. Nejlépe ovšem obé.

Šlo to ztuha. Staříčkový Rous sice dostal v roce 1966 za svůj 55 (!) let starý objev Nobelovu cenu, ale Temin ve stejné době neměl víc než pár nepřímých důkazů.

Popis vykonaných experimentů překračuje rozsah tohoto textu (nobelovské přednášky jsou k dispozici na webu), nicméně nakonec hned dva badatelé, Temin (na viru Rousova sarkomu) a o necelé čtyři roky mladší profesor David Baltimore z Massachusettského technologického institutu (na viru myší leukémie) pomocí radioaktivně značených ingrediencí dokázali jak přítomnost proviru v genomu nádorových buněk, tak existenci reversní transkriptázy. Výsledky zveřejnili ve zprávách, které 27. června 1970 otiskla hezky vedle sebe Nature.

... a zase zpátky „Crickovo“ centrální dogma se tedy dočkalo upřesnění: Genetická informace směřuje vždy od nukleových kyselin k bílkovinám (koneckonců opačný postup by umožňoval dědění získaných vlastností, což genetická teorie i praxe vylučují).

Čtyři měsíce poté český virolog Josef Říman rovněž v Nature oznámil – kromě potvrzení existence revertázy – i objev další její enzymové aktivity (vedle obráceného přepisu): totiž funkce DNA-polymerázy, která podle jednovláknité DNA předlohy, vzniknuvší obráceným přepisem z RNA viru (v Římanově případě viru slepičí myeloblastózy), vyrábí nové molekuly DNA, které se pak mohou včlenit do genomu buňky.

Hon na revertázu tedy svým způsobem začal i skončil v Praze. Jeho symbolickým vyvrcholením pak bylo 10. prosince 1975 slavnostní předání Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu Howardu Teminovi a Davidu Baltimorovi (spolu s Renatem Dulbeccem). Jan Svoboda a Josef Říman byli na tuto cenu cen „pouze“ nominováni.