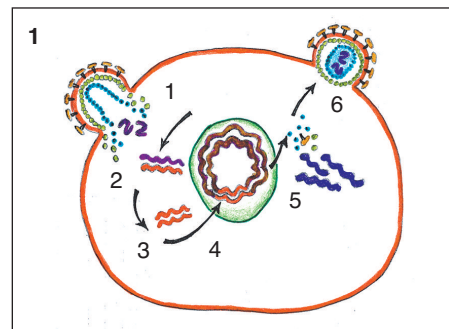


Retroviry a gen syncytin-1



Monika Trojanová, Kateřina Trejbalová

Práce vznikla v rámci projektu Otevřená věda



Obr. 1 Replikační cyklus retroviru začíná rozpoznáním specifických receptorů na povrchu buňky a vstupem do buňky. 1 — virová RNA a reverzní transkriptáza vstoupí do buňky; 2 — reverzní transkriptáza kopíruje genetický materiál z RNA do DNA; 3 — replikuje se druhý řetězec DNA; 4 — integráza včlení DNA viru do DNA hostitelské buňky; 5 — hostitelská buňka přepisuje DNA do RNA, kterou dále překládá a vytváří virové bílkoviny; 6 — virové proteiny se seskupují spolu s virovou RNA a vznikají nové částice. Nakreslil a upravil S. Holeček podle předlohy na <http://www.jyi.org>

Retroviry patří do skupiny RNA-virů — jejich charakteristickou vlastností je schopnost přepisu RNA do DNA, tj. reverzní transkripce a schopnost začlenění (integrace) této DNA do genomu hostitelské buňky. Integrovaná forma retroviru se nazývá provirus. Po retrovirové infekci zárodečných buněk může dojít k fixaci retroviru v populaci (endogenní retrovirus), který se pak přenáší z generace na generaci. Endogenní retroviry zpravidla akumulují mutace a postupně ztrácejí virové funkce. Fungují i jako významní přenašeči genetické informace mechanismem genetické transformace buněk (viz seriál Horizontální přenos genetické informace, Živa 2006, 1–6). V důsledku transformačního potenciálu se retroviry mohou podílet na evoluci hostitelských genomů, jak tomu bylo např. při oddělení linie člověka od ostatních primátů. Středem našeho zájmu byl gen lidského endogenního retroviru *syncytin-1*, který umožňuje fúzi buněk lidské placenty a vznik syncytiotrofoblastu.

Infekce retroviru může probíhat bez příznaků, ale může být i příčinou nejrůznějších chorob, např. imunodeficiencí nebo nádorového bujení. Retroviry při nich např. ničí důležité buňky imunitního systému (HIV a jiné imunodeficiencie), integrují se do hostitelských genů regulujících buněčné dělení nebo vnášejí do buněk tzv. onkogeny (onkogenní transformace). Nejznámějším zástupcem skupiny retrovirů je HIV (Human Immunodeficiency Virus) vyvolávající syndrom získané imunodeficiencie u lidí — AIDS. Kromě HIV existují i např. retroviry ptačí, kočičí, myší.

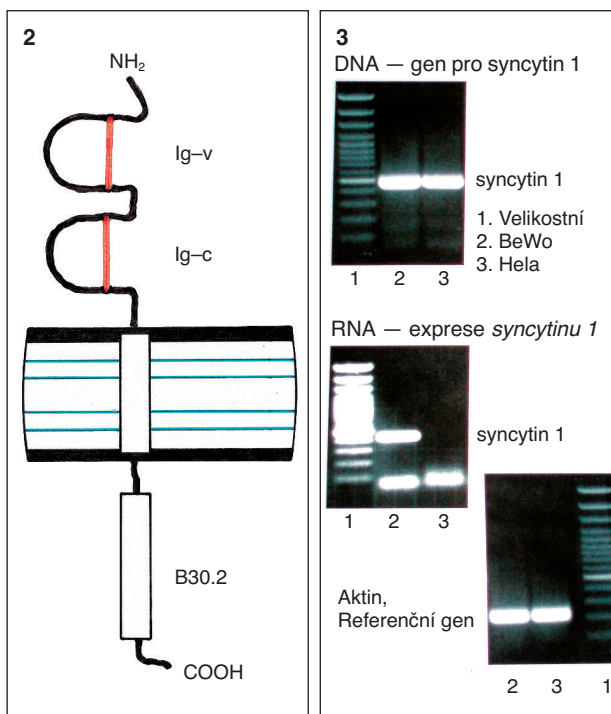
Genom živočišných retrovirů je diploidní, tj. virion obsahuje dvě kopie jednovláčkové RNA (tzv. +RNA) o délce 8–9 tisíc nukleotidů. Každé z obou vláken se skládá ze tří základních genů: *gag*, *pol*, *env* a v případě komplexních retrovirů z dalších genů, které umožňují retrovirový replikační cyklus. Kromě genomu obsahuje virion i několik desítek již hotových molekul enzymů, např. reverzní transkriptázu nutnou pro zahájení vnitrobuněčného replikačního cyklu. Gen *gag* kóduje proteiny vnějšího virového obalu, vnitřní virové kapsidy a nukleoproteiny přisedlé na RNA. Gen *pol* kóduje enzymy reverzní transkriptázu, RNázu H a integrázu. Gen *env* kóduje povrchový glykoprotein a transmembránový polypeptid.

Kromě vlastních genů může retrovirový genom obsahovat geny převzaté v předcházejících replikačních cyklech z hostitelských genomů. Tuto informaci je retrovirus schopen šířit dále a transformovat tak cílové buňky — např. retrovirové onkogeny, jejichž zdrojem jsou buněčné geny (protoonkogeny), mohou vyvolat nekontrolovatelné buněčné dělení. Integrovaný retrovirový genom může navíc šířit své kopie v genomu hostitelské buňky, tj. chovat se jako mobilní genetický element a ovlivňovat např. expresi buněčných genů.

Na obr. 1 je znázorněn životní (replikační) cyklus retroviru začínající rozpoznáním specifických recep-

torů na povrchu buňky a vstupem do buňky jejich prostřednictvím. Každý retrovirus používá svůj specifický receptor. Již zmíněný HIV používá molekulu CD4 přítomnou na T buňkách imunitního systému. Např. ptačí retroviry jsou podle používání různých receptorů řazeny do podskupin A, B, C atd. Receptor pro podskupinu C byl

Obr. 2 Schematické znázornění struktury receptoru pro podskupinu C ptačích retrovirů (označovaného *Tvc*) na povrchu hostitelské buňky. Tento receptorový protein se skládá z několika domén: extracelulární *Ig-v* značí variabilní oblast imunoglobulinu, extracelulární *Ig-c* je konstantní oblast imunoglobulinu. Intracelulární B30.2 doména zajišťuje interakce mezi proteiny. Upravil S. Holeček podle J. Geryka ♦ Obr. 3 Fragmenty genů na agarózovém gelu po zpracování metodou polymerázové řetězové reakce (PCR). Orig. M. Trojanová a K. Trejbalová



objeven v r. 2005 v Laboratoři buněčné a virové genetiky v Ústavu molekulární genetiky AV ČR, v v. i. (viz obr. 2).

Po vazbě na specifický receptor se obsah viru uvolní do buňky. Retrovirové geny jsou exprimovány až po reverzní transkripci RNA genomu. Nejprve pomocí retrovirové reverzní transkriptázy vzniká hybridní molekula RNA/DNA, z ní reverzní transkriptáza dále vytvoří dvouvláčkovou DNA, která je integrační formou viru a předlohou pro transkripci virové RNA. Virový enzym integráza nastříhne hostitelskou chromozomální DNA a vloží do ní nově vzniklou virovou DNA. DNA kopie obsahuje na svém 5' i 3' konci regulační sekvence zvané LTR (Long Terminal Repeats, dlouhé terminální repetice), které obsahují signály zajišťující počátek i ukončení transkripce. Po expresi virových genů se genomová RNA spolu s retrovirovými proteiny seskupují a vznikají nové virové částice, které pučí ven z buňky.

Lidské endogenní retroviry, označované jako HERV (Human Endogenous Retroviruses), tvoří až 10 % lidské genomové DNA. Podle odlišnosti svých sekvencí se dělí až na 200 rodin. Jednou z nich je rodina HERV-W, do které patří i element ERVWE 1. Ten má sice nefunkční geny *gag* a *pol*, ale zachoval si funkční gen *env* pojmenovaný jako *syncytin-1*. Gen *syncytin-1* kóduje transmembránový protein a je nezbytný pro funkci placenty. Zajišťuje splývání (fúzi) buněk placenty, čímž vzniká syncytiotrofoblast, který umožňuje výměnu látek mezi matkou a plodem. Splýváním buněk vznikají tzv. syncytia (odtud název genu). Mimo placentu je exprese *syncytinu-1* potlačena (viz článek v Živě 2005, 1: 6 a 2006, 6: 242–244).

První z autorek studovala přítomnost genu *syncytin-1* a jeho expresi ve dvou lidských buněčných nádorových liniích — HeLa pocházející z neplacentální tkáně a BeWo pocházející z placenty. Pro studium přítomnosti konkrétní sekvence nukleové kyseliny se použí-

vá metoda polymerázové řetězové reakce (PCR).

Celá reakce je rozdělena do tří etap (viz Živa 2007, 4: 184–185). Nejprve se pomocí vysoké teploty oddělí oba řetězce DNA. Ve druhém kroku nasednou krátké specifické oligonukleotidy dodané do reakce na jejím počátku na základě komplementarity bází na okraje hledané molekuly. A ve třetím kroku Taq polymeráza syntetizuje komplementární řetězec. Sled těchto tří kroků se opakuje během 30–40 cyklů a výsledkem je namnožení hledané sekvence. Výsledek můžeme vidět pod UV zářením na agarozó-

vém gelu jako proužek DNA o určité velikosti.

Obě použité linie lidských nádorových buněk by měly mít přítomný gen *syncytin-1*. A opravdu v našem pokusu došlo pomocí PCR k namnožení fragmentu tohoto genu v obou liniích. Dále nás zajímala exprese genu *syncytin-1*, tedy tvorba mRNA z předlohy DNA. Jak je vidět na obr. 3, v neplacentální linii HeLa se *syncytin-1* netvoří. Naopak v buněčné linii BeWo pocházející z placenty k expresi *syncytinu-1* dochází. Jako pozitivní kontrola reakce nám sloužil gen pro aktin, který se exprimuje

v obou liniích. V laboratoři se dále zabýváme otázkou, jakým mechanismem je exprese *syncytinu-1* mimo placentu potlačena. Zjistili jsme, že v buňkách, pro které je splývání buněk do syncytií nežádoucí, jsou sekvence DNA zajišťující zahájení transkripce metylovány, což vede k inhibici transkripce genu *syncytinu-1*.

M. Trojanová byla při účasti v projektu Otevřená věda studentkou gymnázia Plasy; v Ústavu molekulární genetiky AV ČR, v. v. i., pracovala pod vedením K. Trejbalové v Laboratoři virové a buněčné genetiky J. Hejnarů.

Anatomická ilustrace 11. Současné pojetí lékařské ilustrace

Magdalena Chumchalová

„Hlavním cílem ilustrace je objasnění podstaty. Ať by byla kresba sebebezcí, má malou hodnotu, pokud neslouží k objasnění nějakého lékařského problému.“
(Frank H. Netter)

O přednostech obrazové prezentace anatomických znalostí nemůže být pochyb. Odborná ilustrace zobrazuje všechny údaje souhrnně a najednou, čímž ve čtenáři vzbuzuje celostnější a určitější představu než dlouhý slovní popis, takže předchází nesprávnému pochopení. Anatomická ilustrace se posuzuje jak po stránce faktické, tak estetické, proto musí precizní zobrazovací technika a výtvarná kompozice respektovat logiku zobrazené skutečnosti. Jen tak se vědecký dokument může stát samostatným uměleckým dílem, jehož kritéria jsou společná pro uměleckou i vědeckou koncepci: pravdivost a věcnost, postižení obecných zákonitostí v jednotlivostech a porozumění popisovanému faktu v procesu názorného oživování. Přestože využití vědecké metody ilustrátorovi v podstatě znemožňuje měnit a osobitě upravovat tvar či barvu anatomických objektů pro své kompoziční a umělecké záměry, zabývají se tímto oborem nejlepší světové výtvarníci. Překotné technické zdokonalování tisku stejně jako nové elektronické nosiče znamenají strmý vzestup počtu bohatě ilustrovaných naučných materiálů, které mají vzrušující přitažlivost právě díky svým vyobrazením.

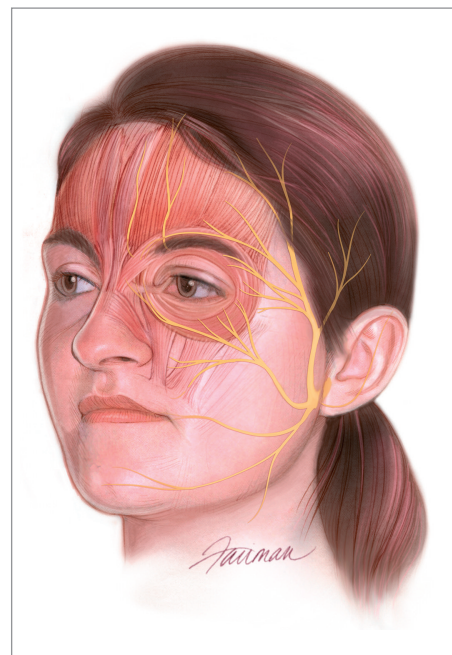
Koncepce a techniky soudobé anatomické ilustrace

Revoluční přelom ve vizuálním vzdělávání způsobila fotografie, která kresbu převyšuje schopností objektivního zajištění důkazů o aktuálním vzhledu zkoumaných skutečností a pouhým okem neviditelných objektů. Anatomická fotografie má však své hranice a omezení, jež jsou obsaženy přímo ve vzoru, tedy v nedokonalosti fotografované předlohy. Mechanický přepis optickým systémem totiž nedokáže nahradit vědeckého ilustrátora tam, kde je třeba idealizovat, tedy v medicíně při zobrazování lidských orgánů, které na fotografii vypadají jako neestetické kusy masa. Zatímco na snímku je patrná pouze změť tkání, kreslíř demonstruje vztahy mezi jednotlivými orgány a vyznačuje na fotografii mnohdy zcela zanikající, avšak významné detaily. S jistým zjednodušením lze říct, že prokreslením důležitého a vynecháním nepodstatného (a také výtvarnou korekcí kompozice) lze docílit toho, aby byl potřebný detail náležitě patrný. Na snímku je však pro neškoleného pozorovatele vše stejně důležité, což jasně vynikne při srovnání digitálně neretušované fotografie pitvaného orgánu s kresbou. V praxi je proto nejučinnější kombinace fotografie s vysvětlujícími

kresbami, jež medikům umožní uvědomit si rozpor mezi obecnými schémata a nepřehlednou tkání na pitevním stole.

Škála zobrazovacích možností anatomické ilustrace sahá od velmi zjednodušujících konstrukcí až po nejkomplikovanější realistické obrazy imitující fotografii. Ideál přitom vždy balancuje mezi realitou a schématem, neboť umělcovým úkolem není realitu kopírovat, nýbrž ji spolu s vědeckými fakty výtvarně přetlumočit a převést do esteticky působivé podoby. Z didaktického hlediska je kresba ve své grafické linearitě názornější než prostorově realistické zobrazení, neboť může být méně drobnopisná, a tedy i jasnější ve zvýraznění určujících znaků. Přes všechna omezení kresby je proto školený kreslíř nenahraditelný při přesném znázornění vnitřních anatomických vztahů.

Schematické kresby tělesných orgánů nejsou pouze transkripce, nýbrž též dílem pozorovatelů, kteří sestavili obraz z toho, co na základě zkušenosti a školení znají. Úkolem anatomického ilustrátora je proto více než pouhé odstranění rušivých momentů či doplnění chybějících detailů, jeho posláním je vdechnout do díla dojem života a přesvědčivosti, neboť již brzy po smrti dochází v těle ke změnám, jež vedou ke ztrátě živoucího vzhledu orgánů.



Barevné zobrazení svalů a cév pod částečně odstraněnou kůží na tváři, která neztratila nic ze své živosti. Orig. Jennifer Fairman, CMI. © Fairman Studios. LLC

Mezi nejuživanějšími tradičními technikami při zhotovování anatomických kreseb vede i v současnosti klasická (mnohdy kolorovaná) tečkovací a lineární perokresba, kterou následuje kresba tužkou či uhlem. Z malířských způsobů práce jsou stále nejoblíbenější akvarel, kvaš, akryl a olejomalba. U lazurního akvarelu tvoří světlá místa pouze podklad (nejčastěji bílý papír) a tmavé plochy hustá barevná vrstva součtu transparentních barev. Kvaš se od akvarelu liší tím, že jde o malbu krycími vodovými barvami, které se ve výsledném působení jeví matně, ale na rozdíl od akvarelu jimi lze odstupňovat širokou škálu barevných tónů. Oblíbená je také malba akrylovými barvami, které jsou svou sytostí podobné olejovým, ale ředí se vodou, což výtvarníkovi urychluje práci.

Na vědeckou ilustraci měl v 70. letech 20. stol. vliv příchod hyperrealismu, zvaného také fotorealismus nebo iluzionistický realismus. Tento výtvarný směr programově využívá fotografie a její specifické možnosti k dosažení maximální iluze reality, a to tak, že na první pohled nejde rozeznat malbu od fotografie. Anatomickou kresbu však hyperrealismus nepojímá pouze přísně realisticky; přestože nakreslené anatomické objekty musejí být dokonale podané, nesmí jim chybět živost. Technická virtuosita a efektní práce s barvou a svět-