

Za co všechno vděčíme genomovým parazitům

Magda Matoušková

Lidský genom je tvořen téměř z jedné desetiny virovou DNA. Další pětinu zabírají jiné typy samostatně se množící DNA, zvané LINE, a jednu desetinu tvoří sekvence SINE, které parazitují na LINE (Živa 2000, 4: 149–152). Všechny tyto „cizorodé“ složky našeho genomu mají nedozírný význam v evoluci.

Každý živý organismus představuje ekologickou niku pro celá společenstva jiných organismů. Čím větší a komplikovanější je organismus, tím různorodější prostředí poskytuje a tím více různých organismů hostí.

Samotné buňky, které tvoří tělo člověka, vznikly kdysi dávno spojením několika mikroorganismů. Tyto tzv. eukaryotické buňky (tedy všechny buňky kromě archeí, bakterií a sinic) obsahují organely zvané mitochondrie, které jsou zdrojem téměř veškeré energie. Mitochondrie vznikly kdysi dávno z bakterií a dodnes mají vlastní DNA. Potomci je většinou získávají od matky. Podobný původ mají i rostlinné chloroplasty, které umožňují fotosyntézu. Dodnes lze nalézt podobnost DNA obou těchto organel s DNA současných bakterií. I buněčné jádro a některé cytoplazmatické struktury jsou prokaryontního původu.

Ani DNA v jádře buňky není bez cizorodých složek. Významný podíl genomu tvoří virové DNA nebo spíše zbytky virů z rodiny retrovirů, které kdysi infikovaly zárodečné buňky člověka nebo jeho předků. Tyto retroviry, které se dědí z generace na generaci, se nazývají endogenní retroviry. U člo-

věka až donedávna (viz dále) nebylo prokázáno, že by si některé endogenní retroviry zachovaly schopnost množit se, avšak u mnoha jiných organismů jsou některé stále aktivní. V lidském genomu se však stále množí část jiných parazitických sekvencí, které zabírají třetinu lidského genomu. Tyto sekvence mají jiné regulační sekvence než retroviry a kódují méně proteinů, případně nekódují žádné. Retrovirům se však podobají způsobem množení. Tyto parazitické DNA se spolu s endogenními retroviry nazývají retroelementy. Celkem tvoří retroelementy asi 40 % lidské DNA. Oproti tomu veškeré sekvence kódující proteiny tvoří přibližně jen 1,1 % genomu.

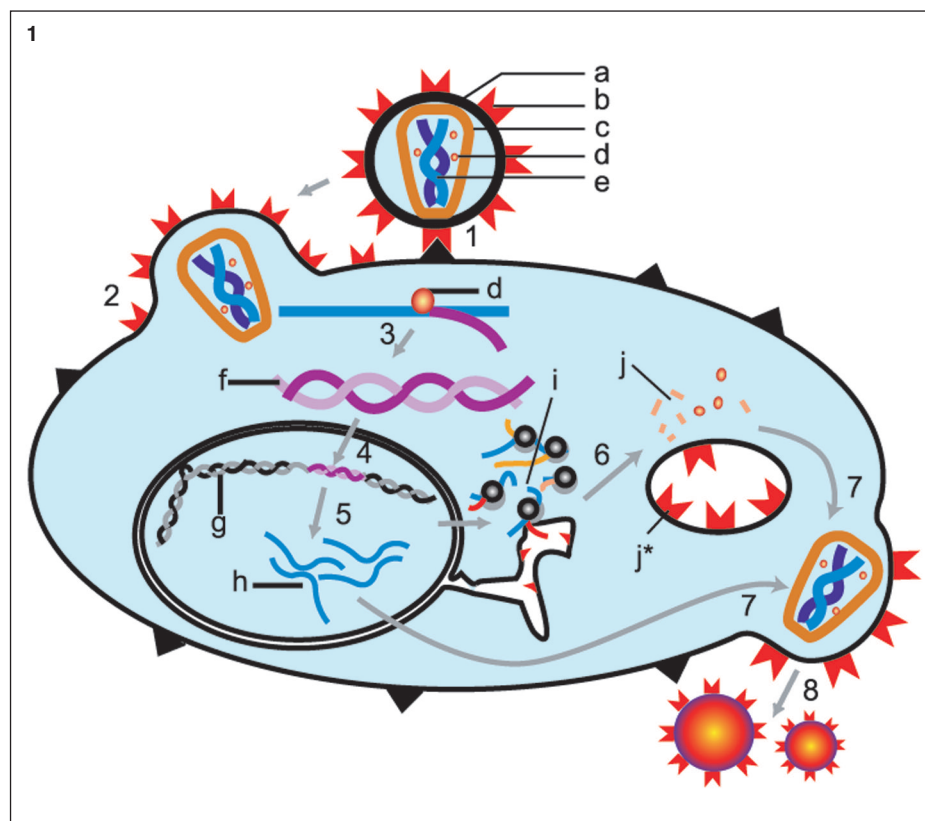
Množení retroelementů

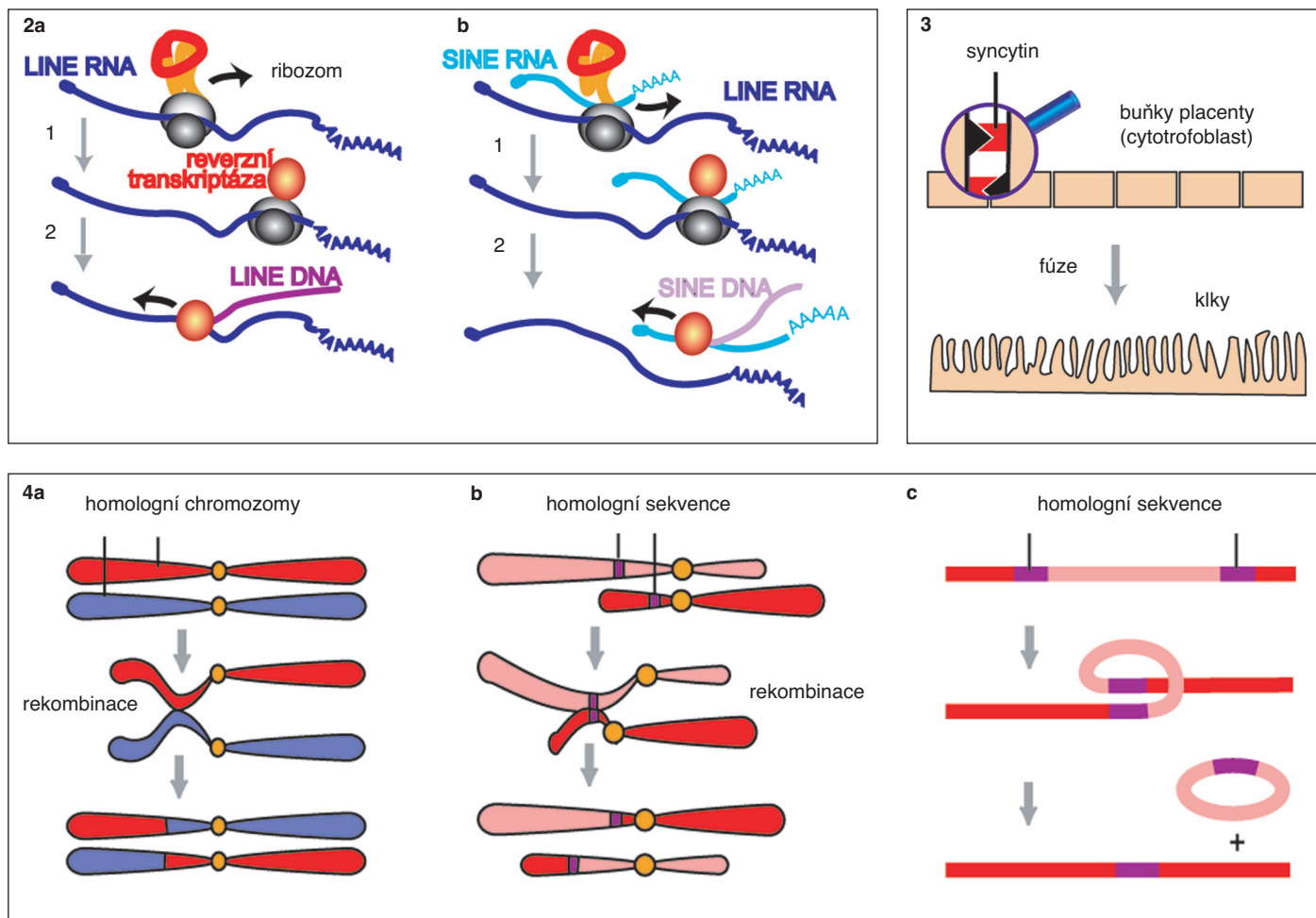
Pro pochopení vlivu retroelementů na evoluci je třeba nejprve vysvětlit, jak se množí. Infekční retroviry, kam řadíme např. i HIV, jsou viry, které svou genetickou informaci během infekce vloží do DNA hostitele (obr. 1). Enzymy hostitelské buňky se pak k této virové DNA chovají stejně jako k vlastní a podle virových genů syntetizují virové proteiny. DNA viru vlože-

ná do hostitelského genomu se nazývá provirus. Na rozdíl od hostitele mají retroviry svou genetickou informaci zapsanou ve formě RNA. Aby se mohly stát součástí hostitelského genomu, musí nejprve přepsat svou RNA na DNA. Tento proces se nazývá reverzní transkripce a enzym, který jej zajišťuje, je reverzní transkriptáza. V buňce normálně probíhá pouze přepis z DNA na RNA (transkripce). Proto retrovirus musí reverzní transkriptázu sám kódovat. Dále kóduje stavební proteiny kapsidy a vnějšího obalu viru. Kapsida je proteinová krystalicky pravidelně uspořádaná schránka viru. Vnější obal je tvořen membránou hostitelské buňky a virovými proteiny. Virové proteiny jsou zde důležité pro rozpoznání hostitelské buňky a umožňují průnik viru do buňky. Další virové proteiny mohou sloužit jako různé transkripční faktory, které regulují transkripci virových či buněčných genů, nebo mohou pomáhat v obraně před imunitním systémem. Na začátku a na konci proviru jsou téměř shodné sekvence zvané dlouhé terminální repetice (LTR), které nekódují žádný protein, ale řídí syntézu virových proteinů. Navozují účinnou syntézu proteinů z přilehlých virových genů, takže brzy buňka syntetizuje hlavně virové proteiny.

Jestliže k retroviróvé infekci dojde v tělní buňce, proviry zaniknou spolu s nakaženými buňkami. Pokud retrovirus infikuje zárodečné nebo časně embryonální buňky, stane se trvalou součástí genomu hostitele a jeho potomků jako endogenní retrovirus. Taková událost není zcela výjimečná, ale evoluční význam může mít pouze tehdy, pokud dojde k její fixaci v populaci. Obecně řečeno, endogenní retrovirus může vkládat své kopie na jiná místa v genomu v těže buňce či v dalších buňkách. Tak vznikají celé rodiny příbuzných endogenních retrovirů. Zároveň se dědí z generace na generaci. Vzhledem k tomu, že reverzní transkriptáza při přepisu RNA na DNA velmi často chybí, většina endogenních retrovirů obsahuje rozsáhlé delece a jiné typy mutací a často ztrácí schopnost infikovat okolní buňky. Během evoluce genomu přibývají další mutace. Již ne kvůli nepřesnostem reverzní transkripce, ale proto, že proviry většinou neposkytují hostiteli evoluční výhodu a nejsou podrobeny pozitivním selekčním tlakům. Velmi pravděpodobné je, že ve výhodě bude naopak jedinec bez retroelementu a ke zkracování retroelementů dochází pod tlakem negativní selekce. Čím delší dobu jsou retroviry součástí genomu, tím rozsáhlejší mutace obsahují. Pokud mají poškozenou i reverzní transkriptázu, přestanou se množit úplně. Donedávna se myslelo, že lidské endogenní retroviry jsou již neaktivní. V r. 2001 však byly nalezeny dva kompletní retroviry, které jsou zastou-

Obr. 1 Množení retrovirů: 1 — rozpoznání receptoru, 2 — fúze viru s buňkou, 3 — přepis z virové RNA do DNA reverzní transkriptázou, 4 — integrace do genomu, 5 — přepis z DNA do RNA buněčnými enzymy, 6 — syntéza proteinů na ribosomech, 7 — vznik virových částic, 8 — vypuštění nových virů; a) membrána, b) obalový protein, c) kapsida, d) reverzní transkriptáza, e) virová RNA, f) volná virová DNA, g) hostitelská DNA, h) virové RNA, i) buněčné ribozomy syntetizující virové proteiny, j) virové proteiny, j*) membránové virové proteiny





Obr. 2 Množení retroelementů: a) replikace sekvence LINE pomocí vlastní reverzní transkriptázy, b) replikace sekvence SINE pomocí reverzní transkriptázy elementu LINE: 1 — syntéza reverzní transkriptázy, 2 — vazba reverzní transkriptázy na nejbližší RNA a syntéza DNA podle této RNA ♦ Obr. 3 Retrovirový protein syncytin umožňuje fúzi placentačních buněk a vznik syncytií, která se podílí na zvětšení povrchu placenty mikrokly (blíže v textu)

peny jen v části lidské populace (Curr. Biol. 2001, 11: 1531-1535). To znamená, že k jejich integraci došlo poměrně nedávno a je možné, že jsou stále schopné se rozmnožovat.

Další skupina retroelementů neobsahuje sekvenci LTR. Řada z nich je zachována v našem genomu bez poškození a stále vznikají jejich nové kopie. Jsou to např. sekvence zvané LINE (Long Interspersed Elements), které kódují pouze reverzní transkriptázu, jež jim umožňuje se množit (viz obr. 2a), a jeden malý protein vážící RNA, jehož funkce není jasná. Zabírají celou pětinu našeho genomu. Náš genom zpestřují ještě sekvence SINE (Short Interspersed Elements), které nekódují žádný enzym a parazitují na LINE. Reverzní transkriptáza, kterou vyrábí sekvence LINE, přepisuje přednostně RNA LINE, podle níž vzniká, zřejmě díky tomu, že tato RNA je s nově vzniklou reverzní transkriptázou v přímém kontaktu. RNA SINE se však podařilo dostat se ještě blíž, protože se umí vázat přímo na ribozom, hned vedle místa, kde vzniká nový protein (viz obr. 2b). Jsou to sekvence odvozené od lidské 7SL RNA. 7SL RNA váže ribozomy a určitou sekvenci mRNA a navádí je k endoplazmatickému retikulu. V podobě SINE je schopnost vázat

ribozom využita pro množení této sekvence. O tom, že je to docela úspěšná strategie, svědčí jeden a půl milionu kopií jedné sekvence z této skupiny v lidském genomu — více se žádná jiná sekvence nerozmnožila. Celkem SINE zabírají přes desetinu lidské DNA.

Další část genomu zabírají tzv. pseudogeny, které mají sekvenci odpovídající mRNA připravené pro překlad do proteinů. To znamená, že jsou zkrácené o nekódující sekvence a ukončené řadou adeninů. Vznikly reverzní transkripcí lidských mRNA pomocí reverzní transkriptázy retroelementu LINE (případně endogenního retroviru), která může s určitou pravděpodobností přepisovat kromě své vlastní RNA i RNA jiných genů či retroelementů. Zdá se, že tento způsob umožňuje množení také nekompletním endogenním retrovirům bez vlastních funkčních enzymů. Reverzní transkriptáza novou molekulu velmi často nedokončí a vzniklé kopie mohou být mnohem kratší než originál. Zatím se přisuzuje pseudogenům asi 0,5 % lidské DNA. Vzhledem k tomu, že převážná většina pseudogenů je velmi krátká, předpokládá se, že reverzní transkriptáza často odpadne z původní RNA dřív, než začne kopírovat sekvenci kódující protein. Pseudogeny se

Obr. 4 Homologní rekombinace umožňuje výměnu DNA: a) stejných chromozomů při pohlavním dělení buněk, kde jeden chromozom pochází od matky a druhý od otce; b) různých chromozomů, které se shodují v krátké sekvenci. Retroelementy mohou sloužit jako krátká homologní sekvence a zapříčinit tak přestavbu a výměnu částí chromozomů. Při dalším dělení mají vzniklé buňky část genomu znásobenou nebo jim chybí; c) stejné sekvence na jednom chromozomu. Tímto způsobem dochází k delecí téměř celých endogenních retrovirů, jejichž koncové sekvence LTR rekombinují a v genomu zůstane jen jedna LTR. Všechny kresby M. Matouškové

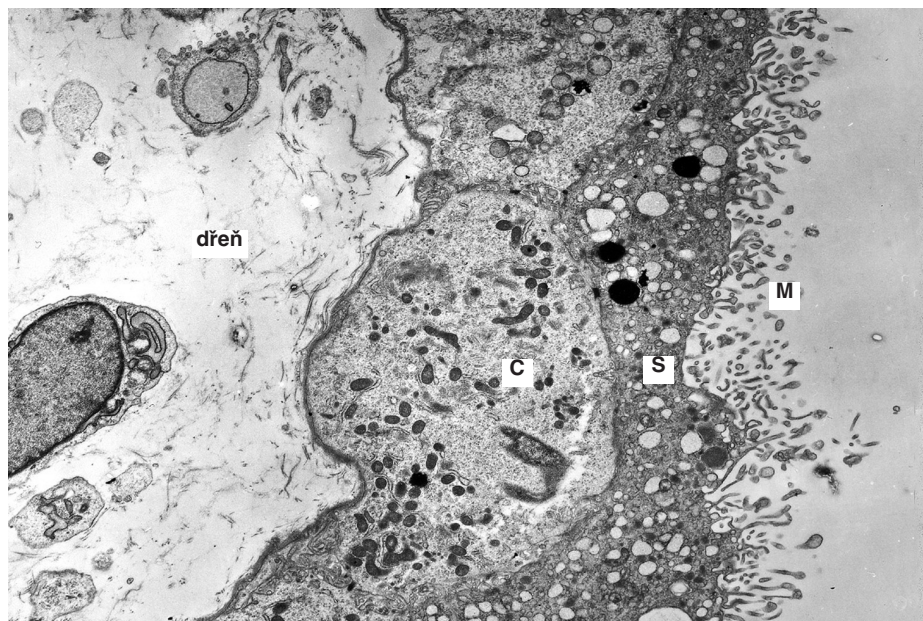
v genomu vyhledávají podle shody se sekvencemi proteinů, takže příliš krátké pseudogeny nelze takto zjistit a zastoupení pseudogenů v lidském genomu je tak podhodnoceno.

Vliv retroelementů na geny hostitele

Retroelementy mohou ovlivňovat evoluci genomu různými způsoby. Kopie retroelementu se může např. vložit do genu a poškodit jej. Pokud je takto poškozen gen, který ovlivňuje kontrolu buněčného cyklu, může přispět ke vzniku nádorové

Tab.: Typy retroelementů a jejich zastoupení v lidském genomu

Typ retroelementu	Zastoupení v genomu	Kódované proteiny
endogenní retroviry	8 %	reverzní transkriptáza, stavební proteiny
LINE	21 %	reverzní transkriptáza
SINE	13 %	žádný
celkem	42 %	



Obr. 5 Dvouvrstevný trofoblast placenty (v 9. týdnu těhotenství) na snímku z elektronového mikroskopu. Syncytium (S) vzniklé splýváním buněk části placenty — cytotrofoblastu (C). Povrch syncytia zvětšují mikrokly (M). Mikrokly jsou obklopeny krví matky a jejich membrána odděluje krevní oběh matky a plodu. Foto M. Jirkovská

buňky. Pokud se začne retroelement množit v zárodečných buňkách, může vzniknout dědičné poškození zasaženého genu. Podle rozborů lidského genomu se odhaduje, že k nové inzerci sekvencí SINE nebo LINE dochází přibližně u jednoho novorozence ze sta. Lidská populace je tedy ohledně těchto retroelementů velmi polymorfni. Vzhledem k tomu, že kódující sekvence tvoří u člověka přibližně jen 1 % DNA, dochází v naprosté většině případů k inzerci retroelementů mimo kódující sekvenci. Poškození genu může být navíc neslučitelné se životem, čímž se ještě více snižuje pravděpodobnost narození dítěte s inzercí v genu.

Častěji než do kódující sekvence se může kopie retroelementu vložit do regulačních oblastí genů. Zdravá buňka velmi přísně kontroluje, kolik je kterých proteinů syntetizováno. Cizorodá regulační sekvence obsažená v retroelementech může narušit křehkou rovnováhu v buňce. Pokud se zkopíruje do blízkosti jaderného genu retroelement s nepoškozenou sekvencí LTR, která normálně umožňuje retrovirům rychlou syntézu svých proteinů a RNA, může na novém místě navodit intenzivní syntézu buněčného proteinu, který není právě potřeba. V jiném případě mohou retroelementy naopak poškodit regulační sekvenci genu a tím zamezit výrobě proteinu. Stačí, když jen posunou regulační úsek určitého genu do větší vzdálenosti od tohoto genu a poruší tak rovnováhu v buňce. Existují však i případy lidských genů, které využívají retroviróvé LTR pro svou regulaci.

Ve službách hostitele

Endogenní retroviry se neomezily jen na změnu regulace v hostiteli. Poskytují mu i své stavební proteiny. Nejlepší příklad retroviróvého proteinu, který jsme přijali za svůj, je obalový protein syncytin. Viru umožňuje syncytin fúzi s hostitelskou buňkou (obr. 1). Lidské buňce umožňuje syncytin fúzi se sousedními buňkami a vznik syncytií (soubuní). V placentě mají syncytia hned několik úkolů. Především se podílejí na vzniku klků a mikroklyků na povrchu placenty. Buněčné membrány, které původně oddělovaly buňky od sebe, jsou využity pro stavbu povrchové membrány oddělující mateřský organismus

a plod. Protože objem buněk zůstane stejný, syncytium i membrány syncytia se zkroutí a zřasí a vzniknou klky a mikroklyky (obr. 3, 5). Tyto útvary zvětšují povrch placenty a tím urychlují průchod živin a jiných látek k plodu. Syncytium zároveň lépe odděluje plod od matky než jednotlivé buňky. Pokud se v placentě netvoří dostatek syncytinu, dojde ke spontánnímu potratu. Zajímavé je, že endogenní retrovirus kódující syncytin mají pouze primáti. U ostatních savců tedy musí zajistit tvorbu syncytií jiný protein. Zatím se neví, jestli se u nich uplatňuje obalový protein z jiného retroviru nebo fúzi vyvolává úplně jiný gen.

Syncytin není jediný retroviróvý protein, který je produkován v placentě. Placenta je tkáň, kde je syntetizováno nejvíce retroviróvé RNA a proteinů, ačkoli právě v zárodečných buňkách způsobí jejich nová kopie trvalou změnu genomu hostitele. Ve většině tkání je naprostá většina retroelementů umlčena metylací jejich DNA. Metylace DNA spočívá v navázání metylové skupiny na cytozinové zbytky v DNA. Metylovaná sekvence pozmění svou strukturu, čímž přestane být přístupná pro navázání enzymů. Takto je dlouhodobě umlčena řada genů. V placentě je metylace genomu výrazně snižena a zřejmě díky tomu jsou zde retroelementy tak aktivní.

Kromě vzniku syncytií se mohou retroviry podílet i na dalších funkcích placenty, ale to zatím není prokázáno. Uvažuje se, že by se mohly účastnit potlačení imunitní reakce matky vůči plodu, stejně jako infekční retroviry mohou potlačit některé složky imunitního systému svého hostitele. Opět by se zde uplatňoval především obalový protein. Endogenní retroviry také mohou bránit plod před infekcí příbuznými exogenními retroviry. Partikule endogenních retrovirů obsadí určité buněčné receptory a tím zabrání průniku virů, které tyto receptory využívají.

Retroelementy — motory evoluce

Všechny zásahy retroelementů do genomu, které jsme zatím probrali, ovlivnily aktivitu jen jednoho genu, maximálně skupinky genů. Retroelementy však přispívají i k přestavbám chromozomů. Díky jejich přítomnosti se výrazně zvyšuje pravděpodobnost inverzí či translokací (přesunů)

dlouhých úseků DNA, delecí (ztrát) či duplikací sekvencí. Pokud se stane, že hostitel takové změny přežije a předá změněný genom potomkům, může v extrémních případech vzniknout i nový druh, protože se bude těžko schopen křížit se svým rodičovským druhem — potomci by získali některé geny dvakrát, jiné vůbec. V naprosté většině případů však přestavby chromozomů znamenají katastrofu pro křehkou rovnováhu v buňce. I když poškození nebude letální, může dojít k nekontrolovatelnému množení a vzniku nádoru.

Jak je možné, že se retroelementy mohou podílet na přestavbách genomu? Umožňuje to především proces zvaný homologní rekombinace, kdy dochází k párování shodných (homologních) úseků dvouřetězců DNA a následně se vymění části DNA navazující na tyto úseky. Běžně tento proces probíhá při pohlavním dělení buněk, kdy se k sobě přikládají homologní chromozomy pocházející od otce a od matky a tvoří pár. Tyto chromozomy nesou různé varianty stejných genů. Vzájemnou výměnou úseků DNA se zvyšuje různorodost pohlavních buněk a potomstva (obr. 4a). Podobně se homologní rekombinace může účastnit přestavby genomu, při které se vyměňují části různých chromozomů obsahujících krátkou homologní sekvenci (obr. 4b). Protože retroelementy vytvářejí své kopie v rámci celého genomu a mohou se integrovat stejnosměrně i protisměrně, mohou takto snadno zapříčinit různé přestavby. Pokud spolu rekombinují dvě stejnosměrné sekvence na stejném chromozomu, úsek DNA, který se nachází mezi nimi, se vyštípne (vzniká delece). Tímto způsobem také dochází ke vzniku samostatných sekvencí LTR, což jsou vůbec nejčastější památky po retrovirech v našem genomu (obr. 4c). Rekombinace v protisměrných sekvencích vede k inverzím. Retroelementy mohou přispívat k přestavbám genomu i pomocí tzv. genetické konverze (Živa 2000, 4: 149–152).

V evoluci genomu má také zásadní význam znásobování genetické informace. Retroelementy nemohou jenom samy sebe, ale mohou zkopírovat i přilehlé sekvence nebo pomocí reverzní transkriptázy přepsat a vložit do genomu kopie buněčných RNA. Většinu našich genů lze uspořádat do rodin podle vzájemné podobnosti. Tyto rodiny vznikaly zmnožením jedné původní sekvence, jejíž kopie se časem dále měnily. Některé zůstaly nefunkční a z dalších vznikaly nové geny. Ze vzájemné příbuznosti našich genů lze soudit, jak důležitou roli v evoluci hrálo zmnožování genů a genetické informace.

Nejen tělo organismu, ale i jeho genom tedy tvoří prostředí pro různorodé společenstvo. Stejně jako v jiných společenstvech se zde přítomné druhy množí a vyvíjejí se, mohou tu škodit nebo naopak spolupracovat. Můžeme tu nalézt parazitické sekvence i parazity těchto parazitů. Všechny tyto vztahy a procesy se velkou měrou podílejí na plasticitě a evoluci genomu.