

# Editování RNA: od obskurnosti k všudypřítomnosti

**Cílem tohoto článku je seznámit čtenáře s postupným objevováním biologického fenoménu, který označujeme jako editování RNA. Je to příběh, který ukazuje, jak v obskurních zákoutích vznikají objevy, které výrazně ovlivňují celou biologii. Nejprve si ale pojďme stručně připomenout nezbytné základní informace. Pozn. redakce: Tímto článkem se po delší době vracíme k problematice ribonukleových kyselin, jak byla popisována v předchozích ročnících Živy (Živa 2007, 3: 98–100; 5: 195–198; 6: 244–247; 2008, 2: 53–56; 6: 243–246).**

## Genom organel: DNA v buňkách není uložena pouze v jádře

Je tomu již více než 50 let, kdy byla popsána struktura dvoušroubovice DNA, která znamenala průlom v dalším bádání. Brzy bylo zřejmé, že jde o genetický materiál buňky a že v typické eukaryotické buňce je uložena v jádře. Navíc se již vědělo, že tyto buňky jsou rozděleny membránami do různých oddělení neboli kompartmentů. Mitochondrie představuje všudypřítomné oddělení eukaryotické buňky, v němž probíhá energetický metabolismus.

Brzy poté, co James Watson, Francis Crick a Maurice Wilkins dostali Nobelovu cenu za objev dvoušroubovice DNA (1962), objevily se však dvě velmi zajímavé práce, které zpochybnilly představu, že všechna DNA je uložena v buněčném jádře. Margit a Sylvan Nass ze Stockholmské univerzity našli vlákna DNA v mitochondrii a téměř okamžitě tento objev biochemicky potvrdili Gottfried Schatz a jeho kolegové v Rakousku. Fakt, že mitochondrie, a jak se později ukázalo i chloroplast, obsahují vlastní DNA, byl nečekáný a měl zásadní vliv na naše chápání evoluce života (Živa

2009, 2: 50–52). To je ale již mimo rámec tohoto sdělení, zůstaneme pouze u mitochondriální DNA, která má vztah k editování RNA.

## Tok genetické informace: ústřední dogma molekulární biologie

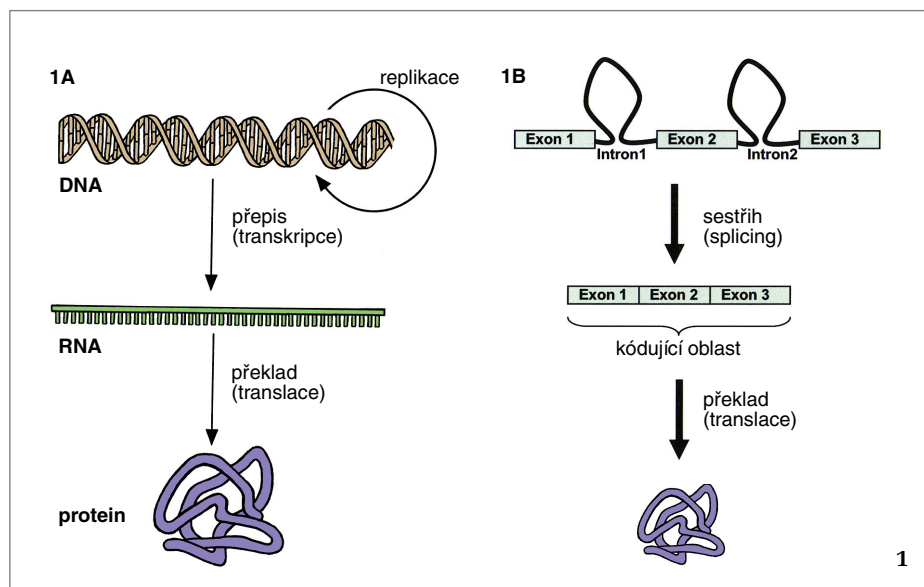
V průlomovém článku z r. 1958 formuloval F. Crick teorii, kterou nazval ústřední dogma molekulární biologie. Říká v ní, že informace uložená v DNA ve formě genů „teče“ prostřednictvím molekul RNA do bílkovin – proteinů (obr. 1A). Jinými slovy, pořadí čtyř písmen (A, C, G a T – adenin, cytozin, guanin a thymin) dvouřetězce DNA je přesně kopírováno do jednořetězce RNA (v ní jsou všechny thyminy nahrazeny uracily), který je posláne na ribozomech opět s velkou přesností přeložen do jazyka aminokyselin – stavebních kamenů bílkovin.

Trvalo pak několik let, než se věci výrazně zkomplikovaly. Phillip Sharp a Richard Roberts (Cold Spring Harbor Laboratory) nezávisle prokázali, že ne všechna informace obsažená v genech se nakonec přenesou do bílkovin. Úseky DNA, které se nacházejí ve většině eukaryotických genů,

jsou podle Crickova dogmatu přepsány do molekul RNA, ale pak dojde k jejich vystřížení, vzniklé konce jsou spojeny a teprve takto upravená RNA směřuje do ribozomů, kde se vytvoří příslušná bílkovina (obr. 1B). Za objev tzv. intronů dostali oba vědci Nobelovu cenu (1993). Právě kvůli tomuto sestřihu, označovanému jako RNA splicing, vědci nyní definují kódující oblast jako část genu, která projde sestřihem a na jejím základě se syntetizuje bílkovina.

## Objev editování RNA: překvapivý nález v mitochondrii trypanozom

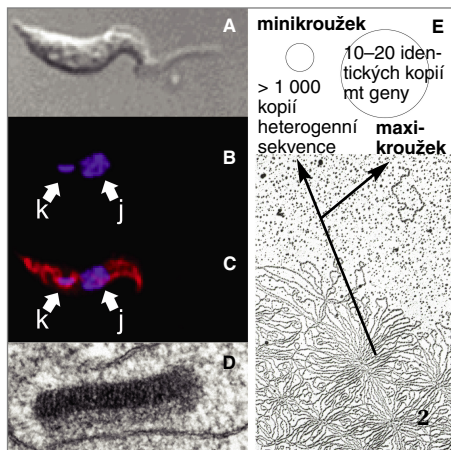
Poměrně krátce poté, co byl vědeckou komunitou jednoznačně přijat proces sestřihu RNA, se v Holandsku (na univerzitě v Amsterdamu) skupina vedená Robem Bennem pustila do sekvenování mitochondriálního genomu jednobuněčného bičíkovce trypanozomy spavičné (*Trypanosoma brucei*). Mitochondriální DNA tohoto původce africké spavé nemoci se označuje jako kinetoplastová DNA (kDNA, viz také Živa 2010, 5: 202–203) a byla pozorována již koncem 19. stol., což ji kvalifikuje jako vůbec první popsanou DNA organel. Proč je tomu tak? Odpověď je poměrně jednoduchá – kinetoplastová DNA je v mitochondrii trypanozom a příbuzných prvků obrovské množství, navíc je všechna uložena v přední části buňky – přesně v místě, kde se mitochondrie dotýká kořene bičíku trypanozom (viz obr. 2A–C). Pomocí elektronové mikroskopie se zjistilo, že kDNA je sbalena do diskovitých struktury (obr. 2D) a další studium disku metodami molekulární biologie ukázalo, že je složena z několika tisíců navzájem propojených malých kružnicových molekul (minikroužků, viz obr. 2E). Jejich funkce zůstávala dlouho záhadou, ale vědcům se ji nakonec podařilo objasnit a později se k ní ještě vrátíme. Kromě minikroužků je kinetoplast tvořen ještě asi dvěma tučty mnohem delších kružnic (10 až 20× větších než minikroužky), označovaných jako maxikroužky. Jak vzápětí uvidíme, ze sekvence maxikroužků se dala snadno a rychle určit jejich funkce. Představují typickou mitochondriální DNA, která v naprosté většině eukaryot nese geny kódující podjednotky respiračního řetězce (právě prostřednictvím něj jsou



### 1 Tok genetické informace.

A – Ústřední dogma molekulární biologie. DNA obsahuje geny, trvalé úschovny genetické informace, která se přenáší do další generace. Tok genetické informace v jedné generaci zahrnuje přepis (transkripce) genů do molekul RNA, které mají stejnou sekvenci jako geny a překlad (translace), kdy je informace v RNA použita pro syntézu bílkoviny.

B – Sestřih RNA. Ne všechna informace přepsaná do RNA se použije k syntéze bílkoviny. Ve všech eukaryotických organismech jsou některé úseky, introny, vystříženy z RNA molekuly procesem označovaným jako sestřih RNA (splicing). Oblasti mezi introny se nazývají exony. Tyto kódující části (exony) jsou posléze pospojovány a představují finální instrukci k syntéze proteinu.

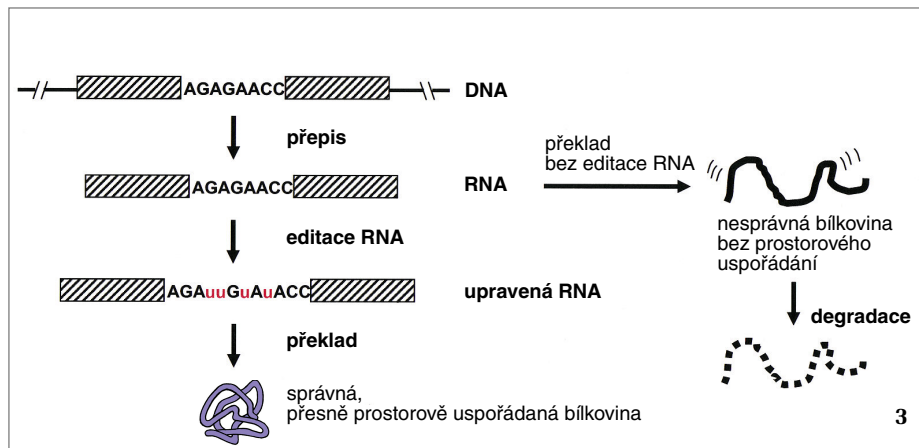


tyto orgány schopny vyrábět velké množství energie nezbytné pro existenci buňky) a od mitochondriální DNA buněk člověka se vlastně na první pohled nijak zvlášť neliší.

Laboratoř R. Benneho se rozhodla právě pro sekvenování maxikroužků, protože jsou všechny navzájem identické, zatímco minikroužky se jeden od druhého různí (dnes již známe i sekvence většiny minikroužků trypanozom). Pustit se do tehdy velmi pracného a drahého sekvenování obskurního genomu v obskurním organismu a přitom působit v amsterdamské nemocnici, jejíž vedení se domnívalo, že existují důležitější problémy z hlediska nemocných, bylo riskantní rozhodnutí. Navíc první výsledky nebyly příliš zajímavé, protože nalezené geny se podobaly genům z jiných mitochondriálních DNA. Ale pozornost záhy upoutalo zjištění, že některé geny mají ve své sekvenci překvapivě mnoho chyb. Šlo o chybějící nukleotidy, podobně jako kdyby ze jména zakladatele genetiky vypadlo několik písmen (Řhrř Medl a Řehoř Mendel). Všichni víme, že i při velké přesnosti občas nastanou chyby a nejnak se tomu děje u nukleových kyselin. Dochází k nim ale výjimečně a jsou co nejdříve opravovány. Jenže maxikroužkové geny byly chyb plné – „vypadla“ z nich spousta písmen a bylo tudíž zřejmé, že z nich nemohou tradičním způsobem vznikat funkční bílkoviny.

Naštěstí se holandská vědci rozhodli rovněž sekvenovat i mRNA pro tyto „poškozené“ geny metodou reverzní transkripce, při níž se RNA napřed přepíše do DNA. A právě sekvence jedné takové zpětně přepsané mRNA z gelů připravených studentem Justem Brakenhoffem znamenala skutečnou „bombu“. Ukázalo se, že písmena očividně vypadla z DNA se do sekvence nějakou záhadnou cestou vrátila na úrovni RNA, takže DNA vytvořená zpětným přepisem mRNA už neobsahuje chyby a ribozom tudíž podle ní může bez problémů vyrobit funkční bílkovinu. Dalším velkým překvapením byl fakt, že všechna zpětně vsazená písmena byly pouze uridiny a že se v některých případech uridiny na úrovni RNA dokonce ztrácely. Ať už ale byly uridiny do RNA vkládány (inzerce) nebo vyjímány (delece), vždy díky tomu došlo k opravě chyby v sekvenci DNA.

Tento objev byl ve své době zcela bezprecedentní. Představme si, že režisér natočí část filmu, ale bez klíčových scén



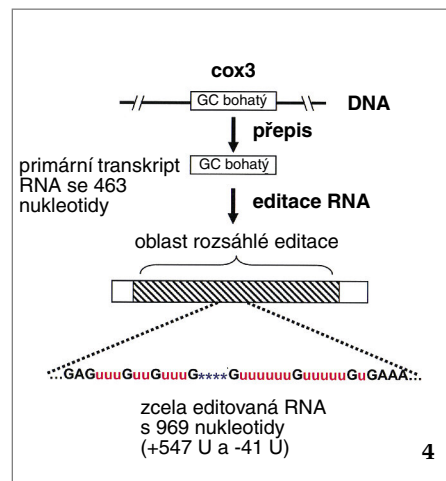
s hlavním hrdinou, čímž celý film postrádá smysl. Ale mávnutím proutku někdo tyto scény dodatečně vsune a diváci mohou být spokojeni. Nemají ani tušení, jaké drama se dělo v zákulisí.

Tento záhadný buněčný proces objevilé popsali jako editování RNA (Benne a kol. 1986), jelikož díky němu docházelo k opravě – editování organelové DNA na úrovni RNA. Ihned po publikování v prestižním časopisu Cell způsobil mezi molekulárními biologii velké pozdvižení, protože naprosto odporoval všeobecně přijatému Crickovu ústřednímu dogmatu molekulární biologie. Kde se bere informace pro vkládání a vyjímání stovek uridinů do a ze sekvence mRNA? Navíc na rozdíl od výše popsaného sestřihu RNA, při němž jsou odstraňovány z mRNA úseky nepotřebné pro syntézu proteinů, se v případě editování RNA opravy dějí v klíčových exonových úsecích. Proč si trypanozoma „vymyslela“ takové komplikace, když v mitochondrii mnohem složitějších organismů se stejné bílkoviny vyrábějí jednoduchou cestou (DNA – RNA – protein)?

#### Rozsáhle editované RNA: ohrožení ústředního dogmatu?

Sekvenování dalších úseků kinetoplastové DNA trypanozom přineslo opět překvapení. Trypanozomy ve své organelě postrádaly několik genů nalezených v ostatních mitochondriálních DNA (např. u kvasinek). Jejich „zmizení“ se podařilo vyřešit laboratoři Kenna Stuarda v Seattlu, která ukázala, že jsou sice přítomny, ale v DNA jsou k nerozpoznání. Až když se sekvenuje RNA z „nesmyslných“ úseků maxikroužků, způsobí vložení a vyjmutí stovek uridinů tak dramatické změny, že se sekvence těchto zdánlivě chybějících genů vlastně díky masivnímu editování vytvoří až na úrovni RNA (obr. 4). Prostřednictvím editování je do některých mRNA vložena více než polovina nukleotidů a není proto překvapivé, že na úrovni DNA se tyto geny trypanozom svým homologům (příbuzným genům u ostatních organismů) vůbec nepodobají.

Objev mRNA, do nichž je vkládáno tolik genové nekódovaných uridinů, byl pro řadu molekulárních biologů už příliš. Odkud se bere informace pro přesné vložení (a méně časté vyjmutí) těchto a právě jen těchto bází? Bylo to, jako by se při promítání filmu objevila celá horda hrdinů, které při natáčení nikdo ani nezahledl a nepočítal tedy s nimi.



2 Mitochondriální genom trypanozomy spavíčné (*Trypanosoma brucei*) – kinetoplastová DNA (kDNA).

A – Protáhlý parazit trypanozoma *T. brucei* ve světelném mikroskopu (s Nomarského diferenčním kontrastem); B – Jaderná a kinetoplastová DNA. Stejný parazit obarvený modrou fluorescenční barvou, která se váže na DNA. Velké tečky (j) představují jádro, které obsahuje většinu buněčné DNA. Kinetoplastová DNA je viditelná jako malá tečka; C – Mitochondrie. *T. brucei* obarvená červenou fluorescenční barvou, která barví pouze mitochondrii. Tento obrázek je ukázan v překryvu s obrázkem B, kinetoplast a jádro jsou vyznačeny; D – Kinetoplast. Na snímku z elektronového mikroskopu vidíme diskovitou strukturu kinetoplastu v mitochondrii obklopené membránou. Veškerý mitochondriální genom (tedy kinetoplast) je zabalen v této kompaktní struktuře. Foto E. Bontempi;

E – Minikroužky a maxikroužky DNA tvořící kinetoplast. Snímek vyčištěné kDNA z elektronového mikroskopu představuje vzájemně propojené kružnicové molekuly DNA. Tato přesně uspořádaná síť je tvořena několika tisíci minikroužky a desítkami maxikroužky, které nesou mitochondriální geny (horní schéma).

3 Omezené editování RNA kódující gen *cox2*. Ukázan je pouze krátký úsek sekvence genu *cox2* pozměněné editováním. Gen, který nekóduje polohu čtyř uridinů, je přepsán do RNA. Pokud by tato molekula RNA byla použita jako předloha k syntéze bílkoviny, byla by ta zcela nefunkční a došlo by k jejímu

rychlému odstranění. Proto musí molekula RNA projít editováním, během něhož jsou čtyři uridiny (malé červené písmeno u) vloženy přesně do určitých míst, čímž se vytvoří správná mRNA, která je na mitochondriálním ribozomu přeložena do funkční a pro život nezbytné bílkoviny *cox2*.

**4** Rozsáhlé editování RNA kódující gen *cox3*. Gen *cox3* v maxikroužku je představován nesmyslným pořadím bází, nekóduje syntézu bílkoviny. Tento úsek DNA je přepsán do RNA, která prochází velmi rozsáhlým editováním – do jejího pořadí je vloženo 547 uridinů a zároveň 41 jiných uridinů vyřazeno. Toto tzv. pan-editování je ukázáno na malém úseku editované molekuly RNA, kde vsunuté uridiny jsou označeny jako malá červená u, zatímco odstraněné uridiny představuje modrá hvězdička.

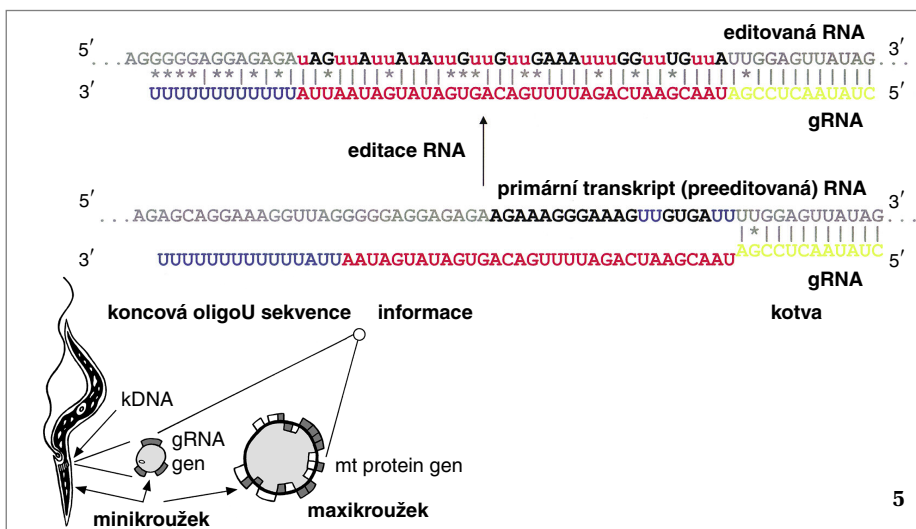
**5** Malé průvodcovské – guide (g) RNA jsou uloženy na minikroužcích a nesou informaci pro editování mRNA. gRNA přepsaná z minikroužku se váže na malý úsek mRNA přepsané z maxikroužku a tato vazba probíhá podle principu párování bází ve dvoušroubovici DNA. gRNA je tvořena třemi oblastmi: kotvící sekvencí (žlutě), která obsahuje sekvenci vázající gRNA molekulu k preeditované mRNA, informační oblastí (červeně), nesoucí instrukci pro editování navázané mRNA a koncovou oligoU sekvenci, neboli koncem gRNA tvořeným sérií uridinů (modře). Obecně platné, tedy kanonické párování bází (A–U, G–C) je znázorněno čárkami, neobvyklé či nekanonické párování (G–U) znázorňují hvězdičky.

### Objev průvodcovské RNA a odolnost ústředního dogmatu

Řada laboratoří se poté soustředila na sekvencování mitochondriálních genů trypanozomy na úrovni DNA a příslušných částech či zcela editovaných mRNA. To umožnilo brzy vytvořit velmi solidní katalog všech editačních míst, ale palčivou otázkou, odkud se bere informace pro tento proces, který musí být navíc extrémně přesný, se stále nedařilo zodpovědět.

Jak už to ale ve světě vědy chodí, někdo nakonec přijde s průlomovou myšlenkou nebo přímo řešením. V tomto případě se začátkem 90. let 20. stol. proslavila laboratoř Larryho Simpsona z Kalifornské univerzity v Los Angeles. Její členové ukázali, že onu záhadnou informaci nese zcela nová kategorie molekul RNA, označených jako guide (g) RNA (česky průvodcovská RNA, obr. 5). Pro každé editované místo existuje příslušná gRNA (většinou obsahuje molekula RNA dlouhá přibližně 70 bází informaci pro několik editovaných míst) a systém tedy musí pracovat se stovkami gRNA.

Následující výzkum ukázal, že příslušná gRNA se pomocí párování bází, které objevili Watson a Crick, váže s primárním transkriptem mRNA (kotevní sekvencí). Po tomto navázání gRNA k needitované mRNA vstupuje do hry jiný úsek gRNA, označovaný jako informativní, který nese návod pro editování – můžeme použít slovo dekódování. Podle předlohy (templátu) informativního úseku gRNA jsou do



příslušné části mRNA postupně vkládány uridiny a jiné z něj zároveň vyjímány, až se obě sekvence stanou komplementární a vznikne mezi nimi dokonalá vazba. V této vazbě mezi molekulami gRNA a mRNA se uplatňuje i „vzácná“ vazba uridinu a guaninu, která nikdy nenastává v DNA (mezi thyminem a guaninem), a proto bývá také označována jako ne-Watson-Crickova vazba. Zatímco pro editování některých mRNA stačí jediná gRNA (příkladem může být *cox2* mRNA, do níž jsou vsunuty pouze čtyři uridiny), pro dekódování jediné rozsáhlé editované mRNA (např. *cox3*) je jich třeba až 30.

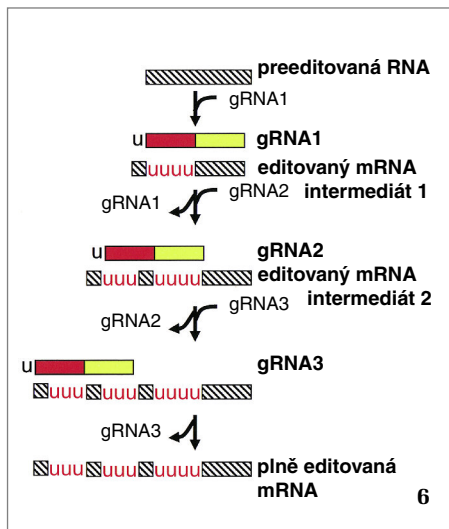
Zajímavé je, že celé dekódování probíhá jako kaskáda kroků v přesně stanoveném pořadí. Navázání gRNA1 umožní editování malého úseku mRNA, na nějž se po uvolnění gRNA1 přichytí gRNA2, odvede svoji práci, umožní přichycení gRNA3, a tento složitý proces pokračuje od jednoho konce mRNA až na druhý. Výsledkem je jediná editovaná mRNA, která vstoupí do ribozomu. Právě v Simpsonově laboratoři se podařilo zachytit i mezistupně této rychlé kaskády dějů a tím odhalit mechanismus editování (viz obr. 6).

Vraťme se nyní k minikroužkům zmíněným na začátku povídání o podivnostech mitochondriální (kinetoplastové) DNA u trypanozom. Ačkoli byly minikroužky (obr. 2E a 5) objeveny již v 60. letech, teprve objev editování RNA o 30 let později jim dal smysl. Stovky různých gRNA jsou totiž kódovány právě na těchto sekvencích různorodých malých kroužčích DNA, které jsou navzájem propojeny do jediné obrovské sítě kinetoplastové DNA. Desetiletí trvající usilovné studium kDNA ukázalo, že právě jejich provázání zabraňuje ztrátě jednotlivých minikroužků při buněčném dělení a že toto vpravdě inženýrské řešení umožňuje, aby mateřská buňka předala oběma dceřiným úplně stejnou sadu několika tisíc různorodých minikroužků, jakou nese sama. Ještě důležitější bylo ujištění vzrušené vědecké komunity, že i přes složitý mechanismus lze všechnu informaci pro editování RNA trypanozom vystopovat v DNA (že se část informace nachází v maxikroužku a jiné části v minikroužcích, je sice zajímavé, ale podružné) a ústřední dogma molekulární biologie tedy stále platí.

### Mechanismus vkládání a vyjímání uridinů

Vzápětí, co se vědcům podařilo objasnit zdroj informace pro editování RNA prostřednictvím uridinů, pustili se do objasnění procesu, jakým se to děje. Snaha řady laboratoří, k níž se snaží přispívat i naše laboratoř molekulární parazitologie v Parazitologickém ústavu Biologického centra AV ČR, v. v. i., ukázala, že k tomuto ději je nezbytná řada enzymových aktivit (obr. 7). Nebudeme zde zmiňovat všechny dosud objevené, ale uvedeme alespoň klíčové, které jsme navíc intuitivně čekali. Molekula RNA musí být nejprve v místě editování rozštěpena enzymem endonukleázou. Další krok závisí na tom, zda dojde k vložení nebo vyjmutí (jednoho či více) uridinů. Pokud v daném místě platí první alternativa, vstupuje do hry enzym s označením TUTáza (3'-terminální uridylátransferáza), který k jednomu z obou vzniklých konců připojí požadovaný počet uridinů. Pokud je ale v daném místě nezbytná delece uridinů (a opět to může být jeden nebo třeba řada pěti), přichází na řadu enzym exoUáza (exouridylátnukleáza), jehož úkolem je odštipnout požadovaný počet nukleotidů. Ať TUTáza uridiny vloží, nebo je exoUáza vystříhne, vytvoří se v daném místě mRNA komplementarita navázané gRNA a další enzym – RNA ligáza spojí obě části mRNA. Editování v daném místě je hotové.

Všechny tyto aktivity (a řada dalších) jsou obsaženy v bílkovinném komplexu, označovaném jako editozom (obr. 6). Podobně jako ribozom je editozom složitý molekulární stroj, tvořený 20 různými bílkoviny, který nesmírně výkonně a přesně provádí sérii enzymových kroků nezbytných pro průběh editování. Za zmínku stojí nedávný objev látky, která účinně blokuje klíčovou součást editozomu – RNA ligázu. Jelikož v buňkách člověka žádný proces srovnatelný s inzercí nebo delecí uridinů není znám, lék cílený proti editozomu by mohl mít charakter „magické kulky“, která trefuje pouze parazita. Z tohoto hlediska představuje proces editování mimořádně vhodný cíl. Hlavním problémem tak zůstává nezájem celého odvětví farmaceutického průmyslu o tropické choroby, protože země, jejichž obyvatelé jsou jimi především postiženi, nemají na potřebné léky prostě peníze.

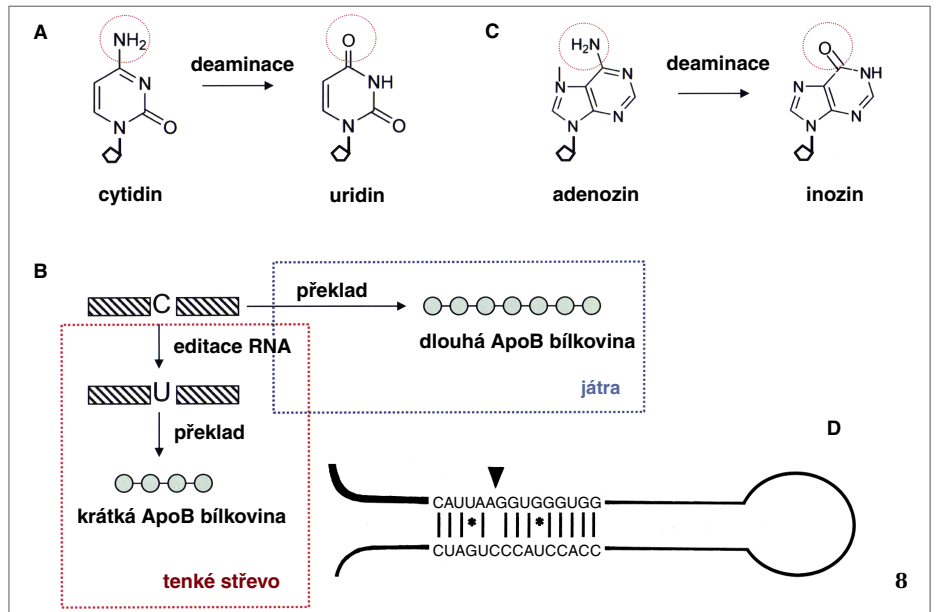
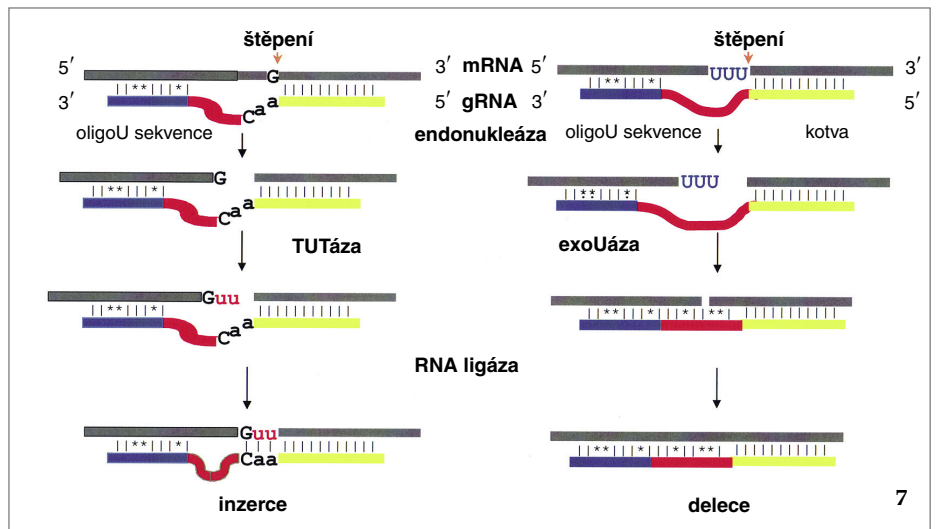


**6** Pro editování rozsáhlé mRNA je potřeba několika gRNA. První gRNA se váže svou kotvící částí k preeditované mRNA a její informační oblast poskytuje předlohu pro editování krátkého úseku této molekuly RNA (znázorněno malými červenými u). Tím se vytvoří vazebné místo pro kotvící oblast (žlutě) následující gRNA. Tato druhá gRNA nahradí první a umožní editování dalšího úseku mRNA hned vedle úseku dekodovaného první gRNA. Třetí gRNA nahradí druhou gRNA a proces pokračuje až na konec editované oblasti mRNA.

**7** Série enzymových aktivit nezbytných pro editování RNA u trypanozom. V levé části je ukázáno vkládání uridinů, v pravé části schéma jejich vyjímání. Editovanou mRNA vždy představuje horní vlákno a gRNA spodní vlákno. Barevně jsou znázorněny části gRNA: kotvící úsek žlutě, informační úsek červeně a oligoU sekvenční modře. Procesy vkládání (inzerce) a vyjímání (delece) začínají a končí stejně, ale liší se ve střední části. V počátečním kroku je mRNA nejprve rozštěpena endonukleázou v místě plánovaného vložení nebo vynětí uridinu. V prvním případě je příslušný počet uridinů vkládán enzymem s názvem TUTáza (3'-terminální uridylátransferáza). V druhém případě jsou přebytečné uridiny vyjmuty enzymem exoUázou. Poté jsou oba procesy opět shodné – obě části mRNA se spojí všudypřítomnou RNA ligázou. Takto editovaná mRNA se nyní plně váže díky Watson-Crickovým (A-U; G-C) i nekanonickým (G-U) vazbám s kotvící a informační oblastí příslušné gRNA. Ta se po provedené „práci“ odpojí.

**8** Další vybrané typy editování RNA u jiných organismů.

**A** – Konverze cytidinu na uridin. Díky chemické reakci označované jako deaminace dojde k odstranění aminové skupiny cytidinové báze (červený kroužek), čímž vzniká uridinová báze. Tato reakce probíhá ve specifických oblastech mRNA v mitochondriích a chloroplastech rostlin; **B** – Editování mRNA kódující bílkovinu apoB u živočichů. V jediném určitém místě mRNA pro apoB dochází k editování cytidinu na uridin, čímž se vytváří



instrukce pro vznik krátkého apoB proteinu. Děje se tak pouze ve stěvě savců (deaminace enzymem APOBEC1), zatímco v játrech k tomuto procesu nedochází a z příslušné apoB mRNA je na ribozomech syntetizována dlouhá apoB bílkovina; **C** – Konverze adenosinu v inozin. Aminokupina adenosinové báze (červený kroužek) je odstraněna a deaminací vzniká inozinová báze; **D** – Editování v jediném místě mRNA kódující glutamátový receptor u obratlovců. Díky vlásence, která vznikne v jedině molekule mRNA prostřednictvím vzájemného párování dvou úseků, se vytváří místo rozeznávané enzymem ADAR (Adenosine Deaminase that Acts on RNA), který přemění příslušný adenosin na inozin (označeno šipkou). Blíže v textu. Foto a orig. H. Hashimi a J. Lukeš. Kresby M. Chumchalové (obr. 1, 3, 5 a 8)

### Editování RNA: od obskurnosti k všudypřítomnosti

Od sekvenování mitochondriálního genomu takového parazita nikdo nečekal, že povede k jednomu z klíčových objevů týkajících se RNA. Během čtvrtstoletí, které uběhlo od prvního objevu, se vědcům podařilo rozluštit molekulární mechanismy editování RNA. Navíc je právě tento biologický proces v buňce parazita ideálním cílem pro novou generaci léčiv, která jsou vyvíjena proti původcům spavé nemoci a dalších tropických chorob.

Popis editování RNA má však ještě jiný aspekt. Většina výzkumu v oblasti molekulární biologie se z pochopitelných důvodů zaměřuje na metazoa, což jsou mnohobuněčné živočichové včetně člověka. Neměli bychom ale zapomínat, že většinu eukaryotické diversity představují podle posledních fylogenetických analýz právě prvoci. Dovolujeme si předpovědět, že díky prudkému zlevňování sekvenování přinese jejich studium v brzké době řadu průlomových objevů typu editování RNA.

Závěrem si stručně uvedeme příklady editování RNA u jiných organismů, které byly objeveny po popisu extrémní formy tohoto procesu v mitochondrii trypanozom. A nebudeme přehánět, když řekneme, že RNA je editována všude kolem nás. Rostlinné buňky obsahují kromě mito-

chondrií i chloroplasty, v nichž probíhá fotosyntéza, bez níž si život na této planetě nedovedeme představit. Podobně jako mitochondrie obsahuje také chloroplast svůj vlastní genom a RNA v obou organelách rostlinných buněk je editována formou tzv. konverze. To znamená, že nedochází k vkládání a vyjímání nukleotidů jako při editování u trypanozom, ale mění se přímo báze jednotlivých nukleotidů již přítomných v molekule RNA. Běžným příkladem je přeměna specifických cytozinů na uracily, proces označovaný jako deaminace, při níž dojde k odštěpení aminové skupiny ( $-NH_2$ ) z nukleotidové báze (obr. 8A). V typické rostlinné buňce probíhá mezi 20–40 konverzemí cytidinů na uridiny v chloroplastové RNA, zatímco v mitochondriální RNA stejné buňky se může měnit až 1 000 nukleotidů.

A proč se nepodívat i do buněk našeho vlastního těla? Známým případem je mRNA apolipoproteinu B (bílkovina odpovědná za transport cholesterolu), kde dochází k přeměně jediného cytidinu na uridin v dobře zapamatovatelné pozici 6666 (Greeve a kol. 1993). Přesto, že jde o jedinou změnu, její dosah je dalekosáhlý. Tento proces probíhá pouze v tenkém střevě a právě díky němu se prostřednictvím editování vytvoří ve 2153. tripletu stop kodón – konec bílkoviny kódované mRNA (obr. 8B). Jelikož ale v buňkách jater není stejná mRNA vůbec editována (schází tam odpovídající cytidindeamináza APOBEC1), nedojde k vytvoření předčasného stop kodónu v pozici 6666 a v játrech se tedy z genu pro apolipoprotein B syntetizuje mnohem delší bílkovina než v tenkém střevě. Jiným typem editování RNA, široce rozšířeným jak u mnohobuněčných organismů, tak u virů, je přemě-



Orig. Vladimír Renčín

na adenosinu na inozin (obr. 8C). Inozin je velmi zajímavý nukleotid, který se translačním systémem čte jako guanozin. Ke konverzi adenosinu na inozin dochází také prostřednictvím deaminace, prováděné velmi intenzivně studovaným enzymem označovaným zkratkou ADAR (Adenosine Deaminase that Acts on RNA). Substrátem pro ADAR a příbuzné enzymy jsou dvouvláknové úseky – vlásenky, které se vytvoří v rámci párování bází uvnitř jediné molekuly RNA. Příklad přeměny konkrétního adenosinu na inozin v glutaminovém receptoru u savců ukazuje obr. 8D. Tento receptor je klíčový pro správné fungování nervového systému a pokud je jeho editování narušeno, dochází u pokusných myší k nervovým poruchám.

Na závěr se ještě jednou vraťme ke vkládání uridinů, jehož mechanismus u trypanozom jsme si podrobně popsali. V r. 2009

vyšla práce Jacka Wisniewského a spolupracovníků (Zougman a kol. 2008), v níž autoři tvrdí, že k tomuto procesu dochází i u mRNA kódujících některé bílkoviny v jádře lidských buněk. Do těchto mRNA je na konkrétním a vždy stejném místě vložen jediný uridin, což umožňuje vznik delší verze bílkoviny (situace podobná případu apolipoproteinu B). Zatím o tomto vkládání uridinů do některých lidských mRNA nevíme nic bližšího, ale už teď je jisté, že se stane předmětem studia řady laboratoří. Možná vyjde za několik let v Živě článek o tom, jakým zásadním způsobem vkládání uridinů do lidských mRNA ovlivňuje naše životy.

Vyšlo v Nakladatelství Academia

## Vladimír Vondrejs: Otazníky kolem genového inženýrství

Molekulární biologie a genové inženýrství, které se z ní později vyvinulo, budí velkou pozornost v odborných kruzích, o čemž svědčí obdivuhodně velký počet Nobelových cen, které se na tyto vědecké oblasti vážou. Genové inženýrství bylo po počátečním váhání přijato pro svůj úžasný metodický přínos všemi obory biologie, ale i lidskou a veterinární medicínou a stále více proniká do průmyslu, zemědělství a mnoha dalších oborů.

Vladimír Vondrejs se zabývá jako pedagog a jako vědec prakticky celý svůj život molekulární biologii a genovým inženýrstvím u mikroorganismů a významně se podílel na zavedení těchto disciplín do výuky nejen na Přírodovědecké fakultě UK v Praze. V právě vyšlé publikaci se zaměřil na problémy, které kolem genového

inženýrství nepřestávají jítřít spory. Podobně, jako je tomu v řadě oblastí lidské činnosti, část veřejnosti se stále obává nových možností, které genové inženýrství nabízí, neočekávaných následků a možného zneužití. Autor strážlivě zvažuje přednosti a skutečná rizika aplikací genové inženýrských postupů a ukazuje, jak se vztah veřejnosti k dosaženým výsledkům postupně mění, podobně jako se vyvíjejí odpovídající formy bezpečnostních opatření.

Kniha patří do edice Průhledy, kterou Nakladatelství Academia splácí dluh veřejnosti a snaží se populární formou seznamovat s nejnovějšími tématy, jimiž se věda zabývá, a se směřováním nových vědeckých oborů. Otazníky kolem genového inženýrství zahrnují pohled do budoucnosti a upozorňují na otázky, které se v plné míře



objeví teprve za několik let. Současně naznačují některá možná řešení, na nichž se již v předstihu vědecky pracuje.

Pozn. redakce: Na zadní straně obálky knihy došlo nedopatřením k uvedení nepřesného titulu autora, správně je doc. RNDr. Vladimír Vondrejs, CSc. Autorovi i čtenářům se omlouváme.