

**Genetická Společnost Gregora Mendela**

# Informační listy

**Číslo 31**

**Červen 2007**

### **Informace členům GSGM o platbě členských příspěvků**

Bohužel trvá nepříznivá situace v placení příspěvků společnosti, i když řada členů po podzimní upomínce již dlužnou částku zaplatila. Příspěvek, který slouží především k platbě za tisk informačních listů společnosti a hrazení nákladů na jejich rozesílání, zůstává stejný jako loni a činí tedy i v roce 2007 základní částku 150 Kč na člena, pro studenty a důchodce 50 Kč. Prosíme o úhradu příspěvku za rok 2007 nejpozději **do 30. 7. 2007** přiloženou složenkou nebo převodem na náš účet č. 19-9096530217/0100 u Komerční banky s doplněním variabilního symbolu, tj. členského čísla.

**Členům, kteří příspěvek v letošním roce neuhradí, nebudou již v příštím roce zaslány Informační listy a budou vyřazeni z členské základny.**

*Výbor GSGM*

## VYÚČTOVÁNÍ HOSPODAŘENÍ GSGM ZA ROK 2006 - ČR

**Zůstatek ke 31.12.2005** **3310,51 Kč**

z toho	na účtu KB	2652,01 Kč
	v pokladně	658,50 Kč

---

**Příjmy v roce 2006** **15533,98 Kč**

1. úroky z účtu u KB	1,48 Kč	
2. členské příspěvky (4050 Kč):		
z toho	placené na účet KB	3150,- Kč
	placené hotově	900,- Kč
3. zůstatek z konference v roce 2005	11482,50 Kč	

---

**Výdaje v roce 2006** **9856,40 Kč**

1. faktura za tisk IL	6683,90 Kč
2. poštovné za IL 2006	1125,- Kč
3. občerstvení	466,- Kč
4. kancelářské potřeby	30,50 Kč
5. poplatky bance za vedení účtu a položky	1551,- Kč

---

**Zůstatek ke 31.12.2006** **8988,09 Kč**

z toho	na účtu KB	9051,09 Kč
	v pokladně	-63,0 Kč

Vyúčtoval: **A. Knoll**

## Vyúčtovanie hospodárenia GSGM k 31.12. 2006 - SR

<u>Zostatok k 1.1.2006</u>	A- konto	11 558,55 SK
	B- hotovosť	8195,90 SK
<b>A</b>		
Bankové operácie (dok.1)		- 1020,74 SK
Príjmy z členských poplatkov k 31.12. 2006 (dok.1)		+ 500,00 SK
Zostatok na účte k 31.12.2006 ( <b>dok.1</b> )		+ 11 037,81 SK
<b>B</b>		
Členské príspevky (dok.2)		+ 1 500,00 SK
Príspevok na ceny na CK BiO (dok.3)		- 1430,00 SK
<hr/>		
<b>Zostatok hotovosti k 31.12. 2006</b>		<b>+ 8265,90 SK</b>
<b>Celkový finančný stav k 31. 12. 2006</b>		<b>19303,71 SK</b>

**Vyúčtovala:** *M. Slaninová*

## **První oznámení**

### **Genetická konference GSGM v roce 2008 pořádaná při příležitosti 40. výročí vzniku Katedry genetiky na PrF Univerzity Komenského v Bratislavě**

Téma konference: **Současnost a perspektivy genetiky**

Předpokládané datum konání konference: 13. 9. – 14. 9. 2008

Místo konání: Přírodovědecká fakulta UK, Bratislava

Během konference budou kromě pozvaných přednášek prezentována posterová sdělení ze všech oblastí genetiky

Přihlášky zasílejte na adresu:

Prof. RNDr. Daniel Vlček, DrSc.  
Katedra genetiky  
Přírodovědecká fakulta UK  
Mlynská dolina B-1  
842 15 Bratislava

## Personálie

### POSLEDNÁ ROZLÚČKA S DOC. RNDR. MÁRIOU TREBATICOU, CSc.



Ešte pred krátkym časom sme doc. RNDr. Máriu Trebatíkovú, CSc. často stretávali buď na Katedre genetiky Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave alebo v priestoroch Prírodovedeckej fakulty UK ako zanietene diskutuje v kruhu spolupracovníkov alebo študentov. O to bolestnejšia bola správa, že nás dňa 8.10.2006 navždy opustila. Všetkým nám bude veľmi chýbať, pretože bola príkladom v pedagogickej práci i z hľadiska ľudskej dimenzie, s ktorou pristupovala nielen k plneniu každodenných prozaických úloh, ale k životu vôbec.

Pani docentka sa narodila 24.12.1944 v Kopčanoch. Biologické vzdelanie so špecializáciou genetiky získala na Prírodovedeckej fakulte UK v Bratislave v rokoch 1962 – 1967. Ako mladá absolventka fakulty, ktorá sa vždy živo zaujímala o problémy dedičnosti, sa 1.

septembra 1967 stala asistentkou na oddelení genetiky a neskôr patrila k zakladajúcim členom samostatnej Katedry genetiky na Prírodovedeckej fakulte UK v Bratislave, na ktorej nepretržite pracovala až do posledných dní svojho života. Pôsobila vo všetkých formách pedagogického procesu, prednášala, viedla diplomové práce, bola školiteľkou diplomových a doktorandských prác z odboru živočíšna genetika, predsedkyňa štátnicovej komisie pre pedagogické kombinácie, členka štátnicovej komisie z odboru genetiky a pod. Bola spoluautorkou celoštátnej učebnice genetiky pre gymnázia, kde začala šíriť moderné trendy v biológii, predovšetkým v genetike. V oblasti vedecko-výskumnej práce sa venovala problémom environmentálnej mutagenézy, ktoré skúmala na živočíšných modelových systémoch. S týmto zameraním vychovala viacerých diplomantov a spolupodieľala sa na odhalení genotoxického účinku viacerých polutantov.

Opustila nás nečakane na prahu začínajúceho akademického roka ako fundovaná vysokoškolská učiteľka, ktorej pedagogická práca na našej fakulte bola vždy vysoko hodnotená. Uvedomovala si, že jej poslanie vysokoškolskej učiteľky sa môže najlepšie naplniť tak, že všetko čo vie, nezištne odovzdá študentom, že ich naučí nielen ako život vzniká, ale aj ako ho treba produktívne prežiť. Vychovala viacerých úspešných genetikov a tiež aj mnohých budúcich stredoškolských učiteľov, vstúpujúc im úctu k hodnotám, ktoré sama vyznávala.

Vážená pani docentka ďakujeme Ti za všetko, čo si urobila pre katedru genetiky, Prírodovedeckú fakultu UK v Bratislave a výchovu genetikov a budúcich stredoškolských učiteľov na Slovensku. Lúčime sa s Tebou, avšak v našich myšliach a srdciach budeš stále žiť. Bude nám veľmi chýbať Tvoj optimistický pohľad na prekonávanie prekážok a pozitívny vzťah k životu. Česť Tvojej pamiatke.

Za kolegov z Katedry genetiky Prírodovedeckej fakulty UK

*Prof. RNDr. Eva Miadoková, DrSc.*

*Prof. RNDr. Daniel Vlček, DrSc.*

*Prof. Ing. Ján Grolmus, CSc.*

## **K osmdesátinám prof. RNDr. Stanislava Rosypala, DrSc. 50 let molekulární biologie na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity**

Před deseti lety jsme na stránkách Informačních listů blahopřáli profesoru Stanislavu Rosypalovi k jeho sedmdesátinám a této příležitosti jsme využili k tomu, abychom připomněli i další jubileum, kterým bylo 40 let od zavedení výuky molekulární biologie na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity. Mezi oběma výročími existuje úzká vazba, neboť právě prof. Rosypal byl tím, který v r. 1957 jako první na brněnské přírodovědecké fakultě zařadil do svých přednášek z mikrobiologie kapitoly z molekulární biologie bakterií a virů, a později, v šedesátých letech, pak zavedl samostatnou přednášku Molekulární genetika mikroorganismů. Rychlý rozvoj molekulární biologie v celosvětovém měřítku a nárůst poznatků v této tehdy nové oblasti biologie byl pak motivací k založení samostatného studijního oboru molekulární biologie, který prof. Rosypal na PřF v Brně nejen inicioval, ale svým vytrvalým úsilím nakonec v r. 1978 prosadil a po řadu let pak úspěšně a všestranně rozvíjel.

Co se za těch deset let změnilo? Odchodem do důchodu se na vztahu prof. Rosypala k molekulární biologii nic podstatného nezměnilo. Aktivně působil a působí jako emeritní profesor na přírodovědecké fakultě MU, kde až do r. 2005 zajišťoval základní přednášku z Molekulární biologie, podílel se na výuce jako předseda oborové rady pro doktorské studium a člen komise pro státní závěrečné zkoušky. Během uplynulých deseti let pokračovala též jeho publikační činnost. Významně se podílel na zveřejňování výsledků vědeckovýzkumné práce kolektivu svých spolupracovníků zaměřené na molekulární diagnostiku patogenních stafylokoků a studium jejich bakteriofágů. Inicioval sepsání přepracovaného vydání Nového přehledu biologie (Scientia 2003), kde se jako hlavní autor zasadil o zařazení nových poznatků z molekulární biologie a o zdůraznění molekulárně biologických aspektů v kapitolách pojednávajících o vzniku života, počátcích biologické evoluce a v neposlední řadě též v taxonomii organismů. Spolu s kolektivem pracovníků z PřF a LF MU vydal též Terminologii molekulární biologie (2001), která se stala velmi žádanou pomůckou jak pro studenty, tak i pracovníky jiných oborů zabývajících se molekulární biologii. Již tradičně pokračuje v doplňování a inovaci obsahu čtyřdílného Úvodu do molekulární biologie, který je pokračováním jeho prvních „celostátních učebnic“ přinášejících od r. 1983 ucelené poznatky z molekulární genetiky a biologie. V r. 2004 vyšel první díl čtvrtého přepracovaného vydání a nyní dokončuje další díly.



Profesor Rosypal, na svůj věk stáleduševně i tělesně svěží, tak svůj celoživotní zájem o přírodní vědy a speciálně o molekulární biologii a genetiku stále aktivně udržuje.

Obor molekulární biologie, který zásluhou prof. Rosypala pevně zakotvil na fakultě ve výuce i výzkumu, se po spojení s genetikou nadále úspěšně rozvíjí. Pro zajištění kvalitní výuky v tak rychle se rozvíjejícím oboru bylo nezbytné náplň učebního programu průběžně inovovat a doplňovat o další specializované přednášky a cvičení, jako jsou například bioinformatika, genomika, proteomika, molekulární evoluce, molekulární genetika člověka a další. Zájem ze strany studentů o tento obor je stále velký, neboť sami vědí, že se v praxi velmi dobře uplatní. V posledních letech se počty studentů oboru Molekulární biologie a genetika postupně zvyšovaly až dosáhly současného stavu asi 50 studentů v ročníku. Je pravidlem, že po ukončení bakalářského stupně pak většina z nich pokračuje v magisterském a velmi často i v doktorském studiu. V tomto třetím stupni studia má obor akreditovány dvě zaměření – Molekulární a buněčná biologie a Obecná a molekulární genetika, kde v současné době máme celkem 160 aktivních studentů. Velké počty studentů, kterým kromě klasické výuky musí vysokoškolské studium tohoto typu umožnit připravit se na vědeckou práci formou vyzpracování bakalářských a diplomových prací, bychom nezvládli bez úzké spolupráce s vědeckými institucemi v Brně a okolí. Dvojnásobně to pak platí pro doktorské studium, kde studenti samostatně zpracovávají vědecké úkoly, jejichž výsledky musí být pro zdárné zakončení studia publikovány v mezinárodních „impaktovaných“ časopisech. Všichni studenti mají možnost získat v rámci svého doktorského studia zahraniční zkušenosti.

V posledních letech obor molekulární biologie a genetika přispěl k renomé přírodovědecké fakulty profilující se jako výzkumná fakulta vybudováním nových vědeckých týmů na základě Výzkumného záměru Genomy a jejich funkce (1999 až 2005) a navazujícího výzkumného záměru Molekulární podstata buněčných a tkáňových regulací. Získání těchto projektů představovalo významný příliv finančních prostředků, který umožnil zúčastněná pracoviště vybavit instrumentální technikou nezbytnou pro moderní výzkum a výuku a přinesl také nové pracovní příležitosti pro bývalé absolventy. Mnohem více studentů tak může zpracovávat své bakalářské, diplomové a disertační práce v moderních výzkumných laboratořích.

Z uvedené rekapitulace je zřejmé, že molekulární biologie na PřF MU dobře prosperuje a jejímu dalšímu rozvoji by nemělo stát nic v cestě. Problémy však existují. Zvýšený zájem uchazečů o molekulární biologii vede k nárůstu počtu studentů na všech stupních studia, který rychle začíná převyšovat kapacitní možnosti fakulty. Pracoviště garantující výuku molekulární

biologie se dnes potýkají s omezenou kapacitou výukových laboratoří a s finančním zajištěním materiálu pro praktická cvičení. Věříme, že po otevření nového Univerzitního kampusu v Bohunicích selepší prostorová situace a že finanční prostředky, které přicházejí na studenty od ministerstva školství se skutečně dostanou na výuku, na praktická cvičení náročných molekulárně – genetických technik, které jsou dnes praxí žádány.

Profesor Rosypal, který pravidelně navštěvuje kolektiv svých spolupracovníků na fakultě, si může říct, že to obrovské množství času a energie, které věnoval diskusím a přesvědčování při prosazování výuky molekulární biologie, nebylo vynaloženo nadarmo. Usnadnil tak cestu všem svým žákům a nynějším jeho následovníkům na dnešním Oddělení genetiky a molekulární biologie Ústavu experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity.

Přejeme panu profesoru Rosypalovi, ať zůstane ještě dlouho svěží a zdrav a ať mu i ty jeho primášovské housle přinášejí stále hodně radostí.

*Jiří Doškař*

# Co nového v genetice

## Ribonukleové kyseliny

*Stanislav Zadražil*

V posledním čtvrtletí minulého roku byly tradičně uděleny Nobelovy ceny. Na tom by nebylo nic zvláštního, kdyby výhradním předmětem zájmu oceněných v oborech chemie a fyziologie a medicíny nebyl jen “výzkum syntézy, struktury, funkce a významu RNA“. Roger Kornberg, kalifornský „biolog“ a syn nositele Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu z roku 1959 Artura Kornberga (DNA polymerasa z *E. coli* – Kornbergův enzym), získal jako jediný cenu za chemii, když na „atomové úrovni“ (krystalograficky) popsal prostředek pro biosyntézu RNA, přepis (transkripci) genetické informace z DNA do mRNA, enzym RNA-polymerasu. Právě oceněná podrobná struktura tohoto enzymu a jeho interakcí s matricí DNA a *de novo* produkovanou RNA okamžitě „obnovila“ obecně známou diskusi o oborových hranicích chemie a biologie a o problémech, které při udělování těchto cen přináší nemožnost samostatného hodnocení biologie.

Takové problémy nemohly doprovázet vyhlášení vítězů v oborech fyziologie a medicíny, kde Andrew Fire (ze stejné Stanfordovy univerzity jako Kornberg) a Craig Mello (z Univerzity ve Worcesteru) získali jednoznačně cenu za objev RNA interference, procesu, který na základě přítomnosti malé dvouvláknové siRNA vyvolává štěpení specifické mRNA a inhibuje syntézu odpovídajícího proteinového produktu v translaci – genovou expresi. Přesto i zde vyvolalo udělení ceny vážné připomínky k tomu, proč jedno „volné místo“ mezi oceněnými (cena může být udělena maximálně skupině 3 badatelů) nebylo použito pro zástupce rostlinných fyziologů, kteří při studiu tzv. „umlčování genů“ u rostlin jako první (1996) poukázali na možný mechanismus štěpení mRNA v posttranskripčním období.

Podobné diskuse bychom však, ve více než 100 leté historii existence Nobelových cen, mohli sledovat dosti často a jsou běžné při jakémkoliv oceňování vědecké práce. Zde je zmiňujeme jen pro zajímavost, protože to hlavní co nás zaujalo byl výzkum RNA, která se v post-genomovém období biologie dostává stále více do popředí zájmu molekulárních a buněčných biologů, zatímco dříve zůstávala spíše ve stínu DNA, univerzálního nositele genetické informace.

Rádi bychom proto přiblížili čtenářům tuto „druhou“ nukleovou kyselinu a poukázali na určitá období, kdy právě prioritní výzkum RNA, ve vztahu k DNA a proteinům, výrazně rozšířil naše znalosti a posunul tak molekulární biologii a genetiku na úroveň současné genomiky a proteomiky, když samostatná transkriptomika se dostatečně nevžila. Věnujme se proto historizujícímu stručnému připomenutí hlavních poznatků o struktuře a vlastnostech RNA.

## **Struktura nukleových kyselin a zvláštnosti RNA ve vývoji molekulární biologie**

### Primární struktura

Od Miescherova objevu nukleinu v roce 1870, který byl nutně směsí obou typů NK, bylo několik desítek následujících let práce mnoha fyziků, chemiků a biologů (do 50. let minulého století) věnováno paralelní analýze složek a molekulární struktury obou polymerů, izolovaných v různé čistotě. Přitom prošly DNA a RNA obdobím, kdy byly považovány za thymovou (živočišnou) resp. kvasničnou (rostlinou) NK, než bylo definitivně zjištěno, že obě jsou součástí všech buněk, orgánů a tkání živých objektů.

Na tomto místě stojí jistě za zmínku, že tehdejší „virologové“ potvrdili jako první již ve 30. letech, že viry, na rozdíl od buněk, mohou obsahovat jen jednu NK, buď DNA (např. bakteriofágy T2 a T4) nebo RNA (VTM). Když pak byla jednoznačně potvrzena genetická funkce DNA (Averyho transformační experimenty s pneumokoky a Hersheyho a Chaseové mechanismus infekce bakterií fágem T2), muselo již tehdy být zřejmé, že stejnou funkci může plnit i RNA. Přesto byla DNA jako experimentální předmět preferována.

Na první pohled nepatrné chemické rozdíly mezi DNA a RNA, omezující se, při zachování stejného způsobu stavby polymeru (4 základní heterocyklické base napojené N-C glykosidickou vazbou na cukr-fosfátovou páteř molekuly s 5'-3'fosfodiesterovou vazbou), v souhrnu na 2'-OH skupinu navíc v ribose a na ztrátu 5-CH<sub>3</sub> skupiny v uracilu RNA v porovnání s thyminem v DNA, znamenaly však důležité změny ve vlastnostech, projevující se především zvýšenou reaktivitou RNA, její labilitou v alkalickém prostředí či citlivostí k mnoha nukleolytickým enzymům. Připomeňme si, v souvislosti s možným vlivem další volné OH skupiny v cukru, např. klíčovou úlohu volné 3'-OH v syntéze polynukleotidového řetězce při replikaci a transkripci, bez níž se prodlužovací fáze biosyntézy zastaví (srovnej s principem Sangerovy „stop“ sekvenční metody pro DNA, využívající 2',3'-dideoxynukleosidtrifosfáty jako inhibiční prekursorů).

syntézy). Nebo 3'-OH tzv. G-faktoru sestřihu (guanosin či jeho 5' modifikované analogy) při iniciaci transesterifikačního mechanismu vystřížení GI intronů a konečně obdobná úloha 2'-OH skupiny ribosy při sestřihu GII intronů, kdy v RNA dokonce vzniká zcela neobvyklá větvená polynukleotidová struktura (lasovitá struktura s výjimečnou 5'-2' internukleotidovou vazbou), která je podmínkou přeměny primárního transkriptu pre-mRNA na mRNA i ve spliceosomu (sestřihové částice).

Shora zmíněné dlouholeté úsilí vedoucí k průkazu základních charakteristik a vlastností struktury RNA tak může být „paradoxně zpochybněno“ nejen nálezem 5'-2' vazby v lariátu intronu, ale i dalšími později objevenými skutečnostmi. Při posttranskripční modifikaci eukaryotické mRNA dochází k syntéze tzv. 5' čepičky, která je typická jak 7-methylguanosinovým zbytkem připojeným k původnímu 5' konci polynukleotidu 5'-5' trifosfátovou „internukleotidovou vazbou“, tak methylací 2'-OH skupiny ribosy okolních nukleotidů. Tato modifikace nejen chrání mRNA před případnou degradací, ale především umožňuje sestavení nukleoproteinového komplexu pro přesné určení iniciačního kodonu AUG při její translaci.

Zde již uvedené kovalentní modifikace nukleotidů v RNA jsou jen malým příkladem rozsáhlých posttranskripčních modifikací a úprav, kterým RNA syntetizovaná jako primární transkript na DNA podléhá. Všechny typy RNA (rRNA, mRNA a tRNA) provázejí takovéto specifické enzymové úpravy, i když rekordmanem je mezi nimi nesporně tRNA (1-2% celkového obsahu nukleotidů). Je známo několik desítek tzv. minoritních basí a nukleosidů, z nichž jsou nejznámější různě methylované puriny, méně častěji pyrimidiny (mezi nimiž nechybí ani 5-methylcytosin známý spíše z DNA, kde je velmi často rozhodujícím faktorem při regulaci genové exprese a při ochraně genomu před restrikcí enzymy), ale i např. ribothymidin, thiouracil a pseudouridin, u něhož se uplatňuje C-C glykosidická vazba místo běžné vazby N-C v uridinu a v ostatních nukleosidech. Patří sem samozřejmě i, již zmíněná, methylace 2'-OH ribosy, při čemž se v mechanismu obou posledně jmenovaných modifikací uplatňuje sekvenční komplementarita tzv. malých jadérekových snoRNA (ze 4. typu RNA – malých nekódujících RNA).

### Sekundární a vyšší typy struktury

Přes zmíněné rozdíly v chemickém složení a struktuře NK je, podobně jako u stavby polynukleotidu, i schopnost tvorby sekundární, dvoušroubovicové struktury téměř totožná. Na

základě specifické komplementarity basí A-T(U) a G-C dochází k tvorbě nukleotidových párů (pomocí vodíkových vazeb a stabilizačního vlivu vertikálních interakcí planárních heterocyklů), což většinou není výrazně ovlivněno uvedenými modifikacemi složek. Obě NK tak mají schopnost vytvářet Watsonovu a Crickovu dvoušroubovici s antiparalelním

uspořádáním komplementárních řetězců (dsDNA a dsRNA). Zatímco tato sekundární struktura je u DNA téměř jedinou strukturou, nacházející uplatnění v úplném dvoušroubovicovém uspořádání DNA genomů s různými konformačními oblastmi, závislými na sekvenci nukleotidů (nejznámější konformace B,A,Z, ale i H,G,P apod.), je uspořádání RNA většinou jen částečně dvoušroubovicové (kromě některých virů s úplným dsRNA genomem), tedy jednořetězcové s určitým množstvím vlásenkových struktur s různě dlouhou dvouvláknovou částí a jednovláknovou smyčkou (výskyt antiparalelních komplementárních sekvencí v řetězci). Konformace RNA dvoušroubovice je vždy A.

K již dříve zmíněné vyšší reaktivitě RNA v porovnání s DNA, se tak přiřazuje, v závislosti na střídání a vzájemné interakci neuspořádaných úseků a úseků se sekundární strukturou, i značná flexibilita molekul RNA, označovaná často jako ornamentální schopnost přirovnávaná k japonským papírovým skládačkám origami. Tyto sekundární a od nich odvozené terciární struktury jsou velmi časté u rRNA a tRNA a staly se i modelovými strukturami, např. struktura jetelového listu a obráceného písmene L u tRNA.

Později se ukázalo, že kromě Watsonových a Crickových nukleotidových párů může sekundární struktura RNA obsahovat až 27 různých neobvyklých párů se dvěma vodíkovými vazbami (např. G-U, A-C, A-A, G-G, A-G, U-U, U-C) a s různým využitím *syn-* a *anti-konformace* basí v okolí glykosidické vazby v antiparalelním a paralelním uspořádání odpovídajících řetězců. Takové struktury jsou známy např. u tRNA v terciárním uspořádání mezi nukleotidy v poloze 15 a 48 (tzv. Levittův pár), podílející se na přesnosti nabití tRNA odpovídající aminokyselinou, při vytváření vlásenek (SECIS a PYLIS inserčních prvků) v mRNA, signalizujících neuniverzální využití jejich stop kodonů (UGA resp.UAG) pro kódování selenocysteinu resp.pyrrolysin v syntetizovaném peptidickém řetězci při translaci a konečně i při kolísavém párování modifikovaného nukleotidu v 1. poloze antikodonu tRNA s nukleotidem ve 3. poloze kodónu v mRNA (podle Crickovy „houpačkové“ hypotézy). Přejedně se takové neobvyklé párování uplatňuje i v mechanismech „spliceosomového“ sestřihu při dočasném propojení 5' a 3' konců intronů (G-G i A-C).

Je tedy zřejmé, že molekuly RNA mohou vytvářet jak relativně stabilní struktury připomínající DNA a plnit odpovídající genetickou funkci, tak, v rámci vysoké flexibility, i složité konformace molekul připomínající struktury proteinů možná i s některými jejich vlastnostmi. Strukturní a konformační polymorfismus molekul RNA se již osvědčil na různých úrovních genové exprese a lze očekávat, že bude i základem pro jejich další, dosud neznámé funkce.

### **RNA a ústřední dogma molekulární biologie**

Vytvoření a zveřejnění modelu dvoušroubovice DNA (1953), řešícího strukturu základního genetického materiálu se schopností vertikálního přenosu (replikace) i horizontálního využití (transkripce, odpovídající hypotéze vlivu genu na všechny procesy v buňce) genetické informace, završilo období poznání NK jako lineárních polymerů se 4 nukleotidovými stavebními kameny. V té době bylo jednoznačně přijato, že proteiny jsou rovněž lineární makromolekuly složené z aminokyselin (asi 20 různých z mnoha přítomných v buňce, což předpokládali i Crick a Watson). Bylo to potvrzeno dokonce první stanovenou primární strukturou – sekvence aminokyselin v B řetězci insulínu, kterou zjistil F.Sanger (1951). Dále, na základě Paulingových studií strukturního významu vodíkových vazeb pro prostorové uspořádání proteinů i jiných makromolekul, bylo rovněž zřejmé, že funkční konformace proteinů bude takovými slabými chemickými vazbami stabilizována a že její vytvoření bude vlastností samotné molekuly proteinu, bez přímého uplatnění či vlivu nějaké další vnější informace (tedy ani genetické informace z DNA).

Není proto žádným překvapením, že hlavním problémem té doby se stal vztah DNA (jako nositele neznámého genetického kódu, tj. pravidel převodu 4-písmenné nukleotidové abecedy na abecedu 20 aminokyselin) a proteinů (jako produktu uplatnění kódu v translačním stupni genové exprese). Tento vztah musel být nepřímý (bez vzájemného kontaktu řídicího polynukleotidu a nascentního peptidického řetězce) a mohla v něm hrát nějakou úlohu RNA. Nastalo tak období hledání a řešení genetického kódu (1953-1962), které se stalo vzorovým příkladem kolektivního (asi 12 pracovišť především z USA, VB a Francie), ale vysoce kompetitivního úsilí. A bylo tu opět místo pro „geniálního“ teoretika-myslitele Francise Cricka, který nepatřil mezi laboratorní experimentátory, ale byl spíše přesným a přísným učitelem, „vysvětlovatelem“ a arbitrem, který dovedl neskutečně jasným intelektem a nenapodobitelným způsobem třídit a uspořádat vědecké

myšlenky, názory a výsledky jiných a rychle nalézat a rozpoznat základní principy, zobecnit je a jasně formulovat.

Měl k tomu příležitost i tentokrát, když teoretický fyzik G.Gamow založil, na návrh Watsona a Orgela v roce 1954 „RNA klub“ který měl sdružovat omezený počet vybraných „přátel RNA“, zajímajících se o úlohu RNA v mechanismu genetického kódu. Sám zakladatel klubu v té době paradoxně uvažoval o nepřijatelném modelu přímého řazení aminokyselin (syntézy proteinů) na povrchu dsDNA (1 nukleotid-1 aminokyselina na základě podobné vzdálenosti sousedních aminokyselin v peptidickém řetězci a nukleotidů v B konformaci DNA), který později rovněž neúspěšně upravoval podle početně navrženého tripletového kódu (64 nukleotidových tripletů pro 20 aminokyselin) jako překrývající se kód se 2 nukleotidy vždy společnými pro sousední aminokyselinu. Přesto Gamowův význam spočíval v jasném nastolení a prosazování problému genetického kódu a rychlá výměna informací z rozhodujících pracovišť, zprostředkovaná RNA klubem, vedla k nejdůležitějšímu počínání klubu (1955), Crickovu příspěvku „On Degenerate Template and the Adaptor Hypothesis“, kde formuloval mechanismus tripletového kódu, realizovatelného na úrovni nových, hypotetických intermediárních molekul nejspíše RNA (matrice a adaptorů). To vše bylo v krátké době experimentálně potvrzeno (do roku 1965) objevením mRNA, tRNA a úplným objasněním nepřekrývajícího se tripletového, degenerativního a universálního, genetického kódu za přispění Cricka, Watsona, Brennera, Jacoba, Monoda, Grose, Halla, Spiegelmana, Zamecnika, Holleyho, Nirenberga, Khorany (často pozdějších nositelů Nobelových cen) a mnoha dalších.

V průběhu tohoto plodného období pro rozvoj molekulární biologie formuloval a na přelomu 1957-58 vyslovil Crick tzv. „ústřední dogma molekulární biologie“ charakterizující vzájemný vztah a podíl všech informačních biopolymerů na zajišťování a řízení toku genetické informace. Podle dogmatu může být sekvenční informace přenášena pouze mezi NK a z nich na proteiny, ale nikdy mezi proteiny navzájem a zpětně z proteinů na NK. Následující schéma



tak znázorňuje vyjádření obsahu dogmatu v procesech replikace (DNA syntéza závislá na DNA a RNA syntéza závislá na RNA), transkripce (RNA syntéza závislá na DNA), reverzní transkripce (DNA syntéza závislá na RNA) a translace (syntéza proteinů závislá na mRNA). Jinými slovy, jakmile se „informace“ dostane až do proteinové sekvence aminokyselin, nemůže být zpětně využita. Do tohoto obsahu se samozřejmě „hodí“ i reverzní transkripce, i když se dlouho



diskutovalo o možnosti reformulace dogmatu či o jeho „potřebnosti“. Je v něm však dobře zachycena právě intermediární úloha RNA v přenosu informace, ale i ve funkční příbuznosti jak k DNA, tak k proteinům. Obecný význam dogmatu je však spíše „filosofický“, když představuje fyziologický důvod pro zabránění dědičnosti získaných vloh. V tomto smyslu, při uvažování o možné účasti RNA např. v objasňování mechanismu paramutací a podobných „geneticky záhadných“ procesů, se budeme se zpochybňováním další platnosti, účelnosti a potřebnosti ústředního dogmatu setkávat stále častěji.

### **Některé „nové“ vlastnosti a funkce RNA odhalované v různých etapách vývoje moderní molekulární biologie a genetiky**

Tuto závěrečnou část věnujeme jen určitému výčtu procesů případně jejich mechanismů, kterých se RNA účastní a které rozšiřují a upřesňují její hlavní funkci intermediárního nosiče (přenašeče) genetické informace a realizátora genetického kódu. Často jsou takové funkce spojovány s objevem molekul RNA, které patří do nové 4. skupiny typů RNA (vzhledem k jejich členění na rRNA, mRNA a tRNA), tzv. malých RNA vyskytujících se ve všech částech eukaryotické buňky. Mnohdy tyto RNA připomínají svou funkcí obecné funkce zajišťované výhradně proteinovými molekulami, funkce strukturní (stavební), katalytické (enzymové-ribozymové) a regulační (aktivační či represorové), které se staly základem pro hypotézu možné existence evolučního období „RNA světa“.

Na úrovni rRNA, která byla po dlouhou dobu považována výhradně za molekulu se strukturní funkcí, umožňující „samouspořádání“ ribosomu ze směsi odpovídajících rRNA a proteinových podjednotek, byly odhaleny katalytické funkce aktivního centra peptidyltransferasy (na 23S rRNA), ale i „samovyštepující“ transesterifikační reakce intronů skupiny GI (u 26S pre-rRNA), kteréžto aktivity náležejí nesporně ribozymům (RNA s enzymovou aktivitou objevené začátkem 80. let Cechem a Altmanem). Posttranskripční úpravy pre-rRNA se kromě ribonukleoproteinové RNasy P (katalytická je jen RNA složka) uvolňující přesně 5'konec zahrnutých kopií pre-tRNA (u prokaryot), účastní i U3 snoRNA (malá jadéřková RNA) interakčně napomáhající správnému prostorovému uspořádání 18S rRNA (u eukaryot). U mnoha organismů existuje i Rnasa MRP, ribonukleoprotein s RNA složkou typu snoRNA, která upravuje pre-rRNA v místě před 5,8S rRNA a to v jádře i v mitochondriích, (úprava primerové RNA), kam musí být transportována z místa jaderné syntézy. Rovněž přesná lokalizace

modifikací nukleosidů u rRNA (methylace 2'-OH ribosy a pseudouridylace) je zajišťována komplementární hybridizací odpovídajících oblastí polynukleotidu se specifickými snoRNA, obsahujícími řídicí sekvence „box C+D“ resp. „box H+ACA“. Konečně mechanismus translace na ribosomu je postupně zabezpečován specifickými interakcemi mezi jednotlivými rRNA a tRNA.

Jedné z nejdůležitějších posttranskripčních úprav pre-mRNA, sestřihu na ribonukleoproteinové částici spliceosomů, se účastní snRNA (malé jaderné RNA U1, U2 a U4-U6), které specificky hybridizují se sekvencemi intronu. Vytvořené komplexní struktury RNA pak katalyzují transesterifikační mechanismus sestřihu za vzniku translatovatelné mRNA.

Obdobně probíhá i autokatalytický „samosestřih“ ribozymy skupin intronů GI a GII, kde k realizaci stačí jen složité prostorové uspořádání intronové sekvence bez spliceosomů a tedy i bez snRNA. Všechny zmiňované malé RNA pracují vesměs ve formě ribonukleoproteinů, asociované se specifickými proteiny.

Posttranskripční úpravou pre-mRNA (v tomto případě preeditovaná mRNA), při níž vzniká translačně smysluplná mRNA, jejíž sekvence neodpovídá úseku DNA na němž byla transkribována, je i tzv. RNA editace objevená v roce 1986. Ta zahrnuje biochemicky rozdílné procesy místně specifické 1. delecce nukleotidů, 2. adice nukleotidů genomově nekodované a 3. enzymové modifikace nukleotidů. Některé z možných mechanismů zahrnují jak *cis* specifické sekvence substrátové pre-mRNA, tak *trans* řídicí molekuly gRNA (*guide*-průvodcovské), jejichž vzájemné postupné „párování“ určuje přesnou polohu adicí.

Samozřejmě i RNA interference shora zmíněná patří do popisu specifických funkcí malých RNA (siRNA, shRNA, mikroRNA apod.) v regulaci genové exprese štěpením konkrétních mRNA. Představuje určitou novou formu represe, založenou na sekvenční homologii reagujících RNA molekul.

Zcela mimořádný objev přirozeného výskytu ribozymové sekvenční struktury (podobné strukturám „samoštěpících“ malých ribozymů - „hammerhead“ viroidů a virusoidů, vlásenkových u neurospory atd.) v mRNA (konkrétně kódující enzym pro produkci glukosamin-6-fosfátu u *B. subtilis.*), citlivé k aptamérové vazbě tohoto nízkomolekulárního produktu, poukázal na existenci „čisté“ RNA represorové funkce, odpovídající např. klasické proteinové represi v syntéze tryptofanu (i „poslední“ obecná regulační funkce proteinů může tedy být zabezpečena RNA). Inaktivní ribozym v translatované mRNA se aktivuje koncentračně závislou aptamérovou vazbou konečného produktu (glcN-6P), čímž dojde k indukci „samoštěpící“ destrukce mRNA a tím

k zastavení translace a další syntézy produktu. Toto je princip „ribospinačů“, jejichž vazebná nebo mutační modulace (i u syntetických sekvencí) může sloužit k exogenní regulaci genové exprese. Jakmile bude více poznána funkční závislost IRES sekvenčních oblastí mRNA (vnitřní vazebné místo pro ribosom) na jejich vlastní komplexní struktuře, zajišťující vnitřní bezčepičkovou iniciaci translace polycistronní mRNA, bude snad možné obdobnou regulaci genové exprese zajišťovat i touto cestou.

U přirozeně polyfunkční tRNA v translaci (aktivace aminokyselin, adaptorové dekodování mRNA, řízení posunu čtecího rámce u polycistronní i jiných mRNA, „záchranná“ transtraslace transferovou mRNA (tmRNA) uvolňující ribosom z vazby na aberantní mRNA, specifická syntéza selenocysteinu jako 21. proteinogenní aminokyseliny atd.) lze snad ještě zmínit její „primerovou“ funkci u reversně transkripční syntézy provirové DNA u retrovirů a jistě i její nezastupitelnou modelovou úlohu při vypracování rutinních sekvenčních metod pro RNA i pro stanovení sekundárních struktur.

Zcela nedávno byly publikovány zprávy o překvapivém vysvětlení dlouhé latentní periody herpetických virů v infikovaném organismu účastí specifické virové mikroRNA inhibující apoptosu infikovaných hostitelských buněk. Rovněž výskyt paramutace („paměťový proces“ zajišťující v následující generaci projev alely, aniž by tato byla také přítomna) je vysvětlován pravděpodobnou účastí specifické malé, nekodující RNA přenesené vertikálně při fertilizaci.

Zatím nejbizarnější, ale jistě velmi perspektivní, úloha nekodujících RNA genů byla v loňském roce zveřejněna v časopisu *Nature*. Gen *HARIF*, pocházející z kompenzované nekódující genomové oblasti a exprimovaný (ve formě RNA) v době intenzivního embryonálního vývoje mozku, zůstával u 11 amniotických organismů téměř nezměněn až do doby evolučního oddělení šimpanze a člověka. Pak došlo ke zrychlené evoluci (18 sekvenčních změn, proti 1 náhodně možné substituci) jen u člověka. Takové RNA geny a oblasti v lidském genomu (zatím sledováno asi 50) by mohly hrát významnou úlohu v „jedinečné“ evoluci člověka.

Zde má místo zajímavá zmínka diskuse o nové definici genu, která se dostala do téměř mrtvého bodu, charakterizovaného výrokem, že „genom je překvapivě plný překrývajících se transkriptů“, což znamená, že „informace je ovládána RNA“. Značně volný a nepřesný návrh obecné definice genu by tak mohl být „gen je lokalizovaná oblast genomu odpovídající jednotce dědičnosti, která je spojována s regulačními oblastmi, transtribovanými oblastmi a/nebo s oblastmi jiné funkční sekvence“. Jakákoliv přesnější definice by se musela týkat již konkrétně specifikovaného genu např. kodujícího proteinu.

Tento závěr plně odpovídá i dnešní snaze postupně osvětlovat rozmanitou funkci a úlohu RNA, což se snad pokusíme přiblížit v dalších příspěvcích na stránkách Informačních listů.

*Text byl autorem připraven pouze jako „upozorňující téze“ a měl by se stát informací provokující (v pozitivním i negativním smyslu) aktivitu dalších autorů, která by se mohla uplnit na stránkách IL. V poněkud upravené formě vychází současně jako článek v časopisu Živa (2007, 3, 98-100), o němž autor informoval i v rozhlasovém programu Leonardo, na žádost Českého rozhlasu.*

# VIRY ARCHEÍ

*Doc. RNDr. Růžičková Vladislava, CSc.*

*Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, Brno*

*Viry archeí (archeaviry) vytvářejí rozmanité a často komplexní morfologické typy. Jejich genom je tvořený dvouřetězcovou DNA (dsDNA), která je buď lineární, nebo kružnicová. Dosud nebyl izolován archeavirus, který by měl genom tvořený RNA. Mnohé viry byly izolované z geotermálně vyhřívaných horkých pramenů, což je pro život organismů neobvyklé prostředí. Výsledky studia archeavirů někdy až popírají všeobecně rozšířené pohledy na limitovanou biodiverzitu v extrémních prostředích.*

## **Hostitelé archeavirů**

Živé organismy se na základě studie struktury buněk původně řadily do domény prokaryot a domény eukaryot. Analýzy DNA sekvencí, které v letech okolo roku 1970 zavedl Carl Woese, prokázaly existenci tří tříd ribosomálních RNA a ribosomů v buněčných organismech. Původní dichotomie prokaryot/eukaryot byla nahrazena trojicí nejvýše postavených taxonomických skupin, tj. domén bakterie (Bacteria), archea (Archaea) a eukaryota (Eucaryotes). Přestože se archea v buněčné struktuře a v organizaci genomu podobají bakteriím, jejich replikace, transkripce a translace mají více společných znaků s eukaryoty. Vyznačují se též výraznými biochemickými odchylkami nejen od ostatních mikroorganismů, ale i vyšších organismů, což jim umožňuje žít v extrémních životních podmínkách, jako je například mimořádně vysoký osmotický tlak, vysoká teplota a anaerobní prostředí. Navíc se u nich vyskytují znaky, které se zakonzervovaly jako jedinečné pouze v archeální doméně, např. jsou to membrány spojené éterickou vazbou (-C-O-C-) či metanogeneze. Z hlediska morfologie jsou archea velmi rozmanitá. Tvarově jsou to koky, tyčinky, spirálovité, laločnaté nebo ploché útvary, ale i mnohobuněčná vlákna a agregáty.

Fylogeneticky se archea dělí do čtyř kmenů Crenarchaeota, Euryarchaeota, Korarchaeota a Nanoarchaeota. Euryarchaeota zahrnují metanogeny, extrémní halofily a termofilní *Thermococcales*. Crenarchaeota jsou extrémně termofilní, další členové tohoto kmene jsou mesofilní až psychofilní. Zástupci obou kmenů se liší obsahem proteinů zahrnutých do replikace DNA a struktury chromozomu. Crenarchaeota neobsahují DNA polymerázy rodiny D a proteiny

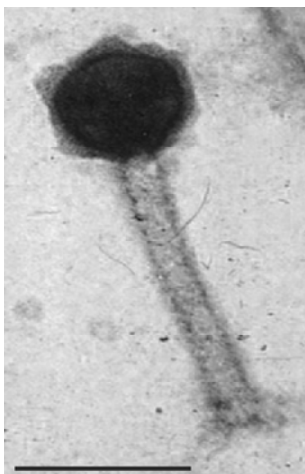
podobné eukaryotickým histonům, které jsou přítomné u Euryarchaeota, a využívají proto jinou molekulární strategii pro reprodukční buněčné procesy.

Korarchaeota jsou prozatím zastoupena pouze nekultivovatelnými organismy. Nanoarchaeota mají pouze jednoho zástupce *Nanoarchaeum equitans*, který žije v symbióze s krenarcheálním rodem *Ignicoccus* a má ze všech buněčných organismů nejmenší genom (480 kb).

Stejně jako ostatní buněčné organismy jsou archaea hostiteli virů. První dva viry, tj.,  $\phi$ H a  $\phi$ Ch1, které byly izolované z archeí, se svojí neobalenou izometrickou hlavou, kontraktilním helikálním bičkem a lineárním dsDNA genomem podobají bakteriofágu T4 a ostatním členům čeledi *Myoviridae*. Byl též popsán výskyt několika bičkatých archeálních virů, které neměly kontraktilní bičík a podobaly se lambdoidním fágům čeledi *Siphoviridae*.

### **Bičkaté viry archeí**

Všechny bičkaté archeafágy (archeální kaudoviry) obvykle infikují zástupce říše Euryarchaeota. Výjimečně infikují extrémní halofily nebo metanogeny, které jsou buď mesofilní nebo mírně termofilní. Z nich jsou nejlépe charakterizovány blízce příbuzné myoviry,  $\phi$ H,  $\phi$ Ch1, HF1 a HF2, které infikují haloarchea, dále je to sifovirus  $\Psi$ M1 a jeho deleční mutanta, fág  $\Psi$ M2, který infikuje *Methanothermobacter marburgensis*. Tyto viry se podobají dsDNA bakteriofágům nejenom strukturou (Obr. 1), ale i složením genomu, který je mozaikovitě uspořádán, což naznačuje, že musel pravděpodobně projít rozsáhlými genetickými změnami.



Obr. 1. Archeavirus  $\phi$ H z čeledi *Myoviridae* (úsečka, 0,1  $\mu$ m)

Na základě počátečních studií vznikla domněnka, že viry archeí jsou tvořeny převážně bičíkatými fágy. Avšak tato domněnka byla později jednoznačně vyvrácena, neboť elektronoptická vyšetření vzorků získaných z přírodních prostředí, obsahujících převážně archea a viry z nich odvozené odhalila, že hlavo-bičíkatý morfotyp je mezi archeálními viry spíše vzácný.

Lyzogenní halofág  $\phi H$  má genom tvořený dvouřetězcovou DNA s terminálními redundancemi a sbaluje se mechanismem plnění hlavy. V hostitelské buňce netvoří provirus, avšak zůstává v ní ve formě kovalentně uzavřené kružnice jako plazmid. Perzistence tohoto viru je navozena transkripčním represorem a translace je zastavena molekulou RNA opačného smyslu, která hybridizuje s místem připojení k ribosomu.

Virus  $\phi Ch1$  se spotánně uvolnil z genomu hostitelského organismu *Natrialba magadii*, izolovaného z vody solného jezera Lake Magadii v Keni. Genom tohoto viru je silně metylován, obsahuje dva neidentické geny pro integrázu, dále gen pro metylázu a má gen kódující kapsidový protein, který je z 97 % identický s proteinem halofága  $\phi H$ , přestože hostitelské organismy obou virů žijí v naprosto odlišných lokalitách. Reprodukční cyklus viru  $\phi Ch1$  probíhá za exprese genů časné rané fáze, pozdější rané fáze a pozdní fáze exprese podobně jako u bakteriofága lambda.

Taxonomicky nezařazené lytické halofágy HF1 a HF2 nemají terminální redundance, avšak jejich lineární genom na koncích obsahuje 306-bp přímé repeticce, což znamená, že se tyto viry replikují jiným mechanismem než  $\phi H$  a  $\phi Ch1$ .

Do čeledi *Siphoviridae* se řadí archeafág  $\Psi M1$  a jeho deleční mutanta  $\Psi M2$ , které infikují metanogenní Euryarchaeota žijící v bahenních kalech při 55 až 60 °C. Lytický sifofág  $\Psi M2$  má cyklicky permutované geny a přibližně 3kb terminální redundance na obou koncích lineárního dsDNA genomu a jako jediný virus archeí transdukuje řadu genetických markerů. Z celkově identifikovaných 31 otevřených čtecích rámců bylo funkčně určeno pouze 6, kódujících terminázu, portálový a bičíkový protein, rekombinázu, integrázu a lytický enzym.

Ve vodných místech s vysokou teplotou a ve slaných vodách, kde převládají haloarchea, se zpravidla nacházejí různé morfologické typy virionů, z nichž většina nebyla rozpoznána u žádných jiných dsDNA virů. Viriony mají tvar vřetene, ampule a kapky, nebo jsou vláknité a kulovité. Existují archeaviry, které mají komplexní tvary složené z různých forem současně. Analýzy sekvencí genomů ukázaly, že většina archeálních virů je nepřibuzná s jinými známými viry a zdá se, že pravděpodobně mají více odlišných předků.

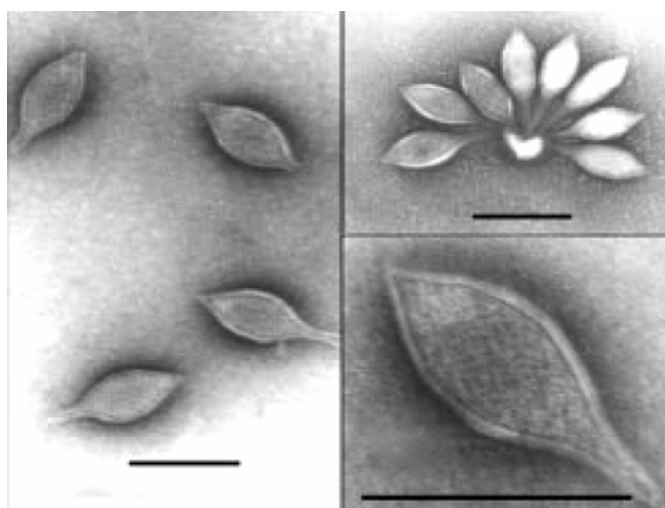
## Vřetenovité (fusiformní) viry archeí

Viriony, které mají tvar vřetene se dvěma bičičky, jsou typické a výjimečné právě u virů archeí. Tyto viry mají široké spektrum hostitelů reprezentujících tři hlavní typy kultivovatelných druhů archeí, tj. hypertermofily, extrémně halofilní a za anaerobních podmínek metanprodukcující druhy kmenů Euryarchaeota a Crenarchaeota.

Fusiformní viry, které se navzájem liší ve struktuře a v genomu, jsou klasifikovány do čeledi *Fuselloviridae* a do nyní nově navržené čeledi '*Bicaudaviridae*', avšak některé zůstávají nezařazené. Většinou mají kružnicový genom a obsahují gen pro integrázu, která umožňuje začlenění virového genomu do chromozomu hostitele. Výjimkami jsou haloarcheální viry *Haloarcula hispanica* virus 1 (His1) a *Haloarcula hispanica* virus 2 (His2), které mají lineární genomy a neobsahují geny pro integrázu.

### Čeď *Fuselloviridae*

Zástupci čeledi *Fuselloviridae* infikují hypertermofilní krenarcheon *Sulfolobus*, a jejich replikace a uvolňování hostitelskou buňku neporušují. Viriony o velikosti  $60 \times 90$  nm, mají krátké bičičky s terminálními tenkými vlákny (Obr. 2).



Obr. 2. *Sulfolobus tengchongensis* spindle-shaped virus 1 (STSV1) z čeledi *Fuselloviridae* (úsečky, 200 nm)

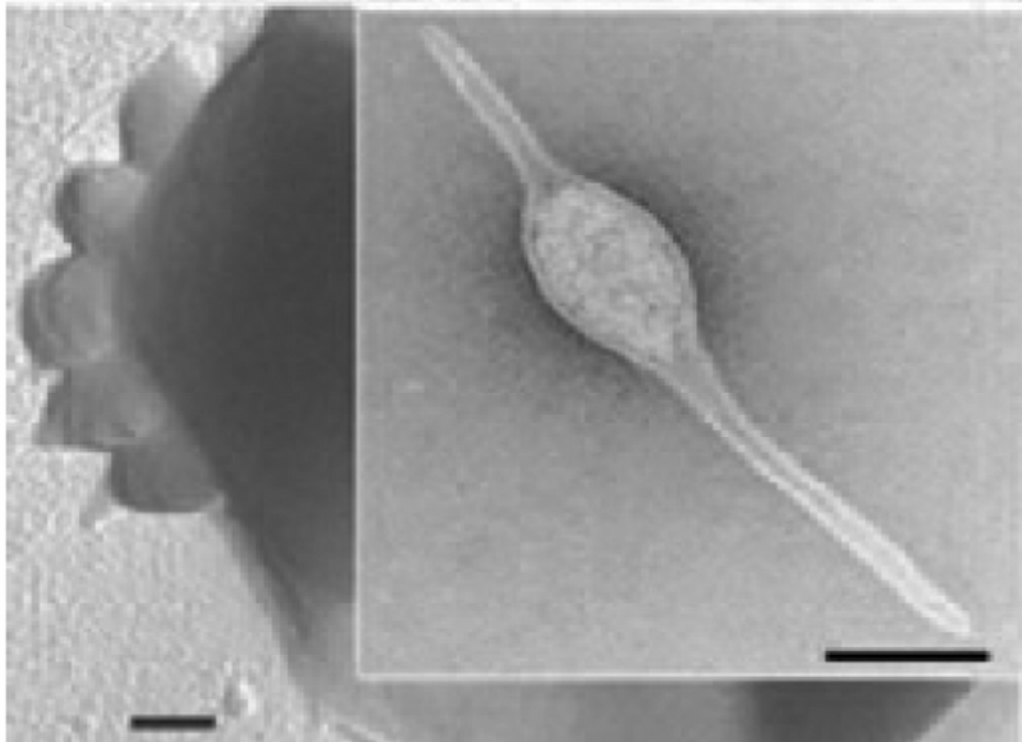


Nejlépe prostudovaným virem z této čeledi je *Sulfolobus spindle-shaped virus 1* (SSV1). Tento fuselovirus má kružnicový genom, který je tvořen pozitivní nadšroubovicí DNA, a v hostitelské buňce se nachází buď ve formě episomálního plazmidu, nebo se během infekce integruje do genu tRNA pro arginin, nacházejícího se na chromozomu hostitele. UV záření nebo působení mitomycinu indukují replikaci viru a dočasně inhibují růst lyzogenů aniž by došlo k lyzi. Model transkripce je u genomu SSV1 poměrně jednoduchý, většina transkriptů se exprimuje konstitutivně. Kromě genu pro integrázu, patřící do velké rodiny tyrosin-rekombináz, žádný z dalších otevřených čtecích rámců nemá odpovídající protějšky u jiných virů. Sekvenční analýzy ukázaly, že fuseloviry, stejně jako archea, mají promotory podobající se eukaryotickým promotorům. Virus SSV2 je podobný viru SSV1, avšak jejich genomy vykazují pouze 55% shodu nukleotidů.

Dva vzdáleně příbuzné viry His1 a His2, které byly izolovány z kmene *Haloarcula hispanica*, žijícího v solných jezerech v Austrálii, vytvářejí vřetenovité viriony o velikosti 44 × 77 nm. Oba viry jsou zařazené do rodu *Salterprovirus*, jsou lytické, kódují si vlastní DNA polymerázu, mají lineární genomy, které jsou však sekvenčně nepříbuzné s kružnicovými genomy ostatních fusiformních virů.

### **Čeď Bicaudaviridae**

Zástupcem této čeledi je dvoubičkatý *Acidianus two tailed virus* (ATV), který je jako jediný archeavirus schopný lyzovat acidofilní hypertermofilní buňky archeí. Vyznačuje se jedinečným znakem v morfogeneze. Viriony se z buňky uvolňují ve formě bezbičkatých fusiformních částic, a až poté co opustí buňku, vytvářejí (při teplotách okolo 75 °C) dlouhé bičky na opačných koncích virionu (Obr. 3). Bičky se skládají z trubic, které jsou ukončeny útvary podobajícími se kotvě, tvořené pravidelnými vláknitými strukturami. Jednou z funkcí prodlužujících se flexibilních biček může být zvýšení pravděpodobnosti adsorpce viru na povrch hostitelské buňky. Předpokládá se, že nově objevený proces extracelulární tvorby bičky u viru ATV se může odehrávat též u jiných fusiformních virů archeí. V kulturách dosud necharakterizovaných druhů rodu *Acidianus*, byly často u fusiformních částic pozorovány jeden nebo dva bičky, lišící se navzájem v délce, což může vyjadřovat různá stadia extracelulární morfogeneze. Molekulární mechanismus fáze morfogeneze probíhající nezávisle na hostiteli a na vnějším zdroji energie, však zůstává nejasný.



Obr. 3. Acidianus two tailed virus (ATV) z čeledi *Bicaudaviridae* (úsečka, 100 nm)

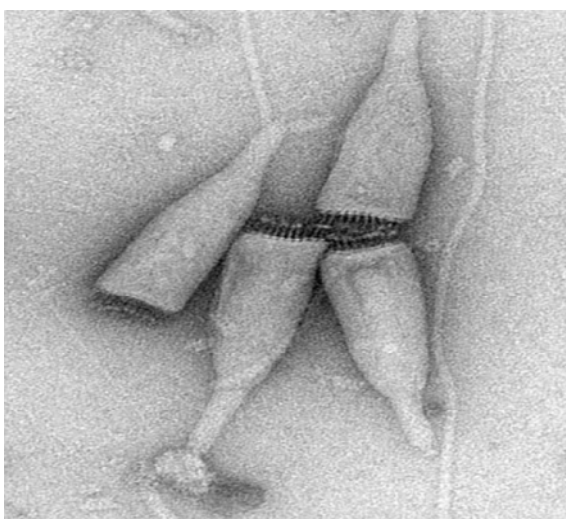
### Nezařazené vřetenovité viry

Virus *Sulfolobus tengchongensis spindle-shaped virus 1* (STSV1), jehož hostitelem je hypertermofilní krenarcheon *Sulfolobus* je největším známým fusiformním virem. Jeho viriony mají velikost  $107 \times 230$  nm a různá délka bičíku, pohybující se v rozmezí 0 až 133 nm, může být výsledkem extracelulárního procesu tvorby bičíku, popsaneho u viru ATV. Genom viru STSV1 obsahuje otevřené čtecí rámce kódující proteiny, které se uplatňují v modifikaci DNA metylací. Místo počátku replikace obsahuje mnohonásobné repetice bohaté na AT báze.

Virus *Pyrococcus abyssi virus 1* (PAV1) infikuje hypertermofilní euryarcheon *Pyrococcus abyssi*. Další fusiformní virus, infikující metanogenní druh *Methanococcus voltae*, tvoří pleomorfní částice a obsahuje kružnicovou dsDNA, která se rovněž nachází v integrované formě v chromozomu hostitele.

## Viry tvaru ampule a kapky

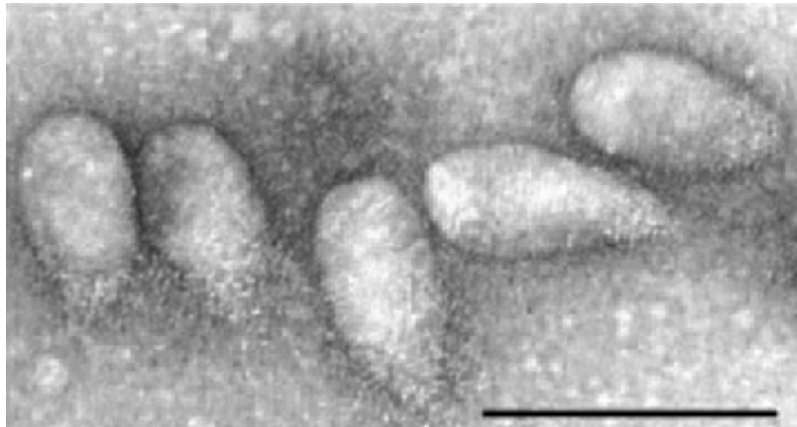
Archeaviry *Acidianus bottle-shaped virus* (ABV) a *Sulfolobus neozealandicus* droplet-shaped virus (SNDV) se vyznačují tak jedinečnými morfologickými znaky, že každý z nich byl zařazen do nové čeledi. Virus ABV má komplexní tvar podobný ampuli, je 230 nm dlouhý a 4 až 75 nm široký. Infikuje hypertermofilní zástupce rodu *Acidianus* a byl klasifikován do nové čeledi *Ampullaviridae*. Jeho virion nemá žádné znaky ikozaedrální nebo helikální symetrie a svojí základní strukturou se odlišuje od všech známých virů (Obr. 4).



Obr. 4. *Acidianus* bottle-shaped virus (ABV) z čeledi *Ampullaviridae*

Obal uzavírá kuželovitou dřev tvořenou prstencovitou nadšroubovicí nukleoproteinového vlákna. Na širším konci virionu se nachází ploténka, a k ní je připojeno dvacet krátkých tlustých vláken. Jejich funkce není známa, jelikož se viriony přichycují na povrch hostitelské buňky užším koncem. Lineární genom viru ABV se replikuje virovou DNA polymerázou, která využívá primer tvořený proteinem připojeným ke konci genomu.

Virus SNDV, který infikuje hypertermofilní krenarcheon rodu *Sulfolobus* a tvoří komplex virionů kapkovitého tvaru o velikosti 90 × 180 nm, je jediným zástupcem čeledi *Guttaviridae*. Viriony, jejichž povrch je helikálně žebrovaný, mají mnohočetná dlouhá tenká vlákna, která jsou připojena na hrotovitý výběžek (Obr. 5). Kružnicový dsDNA genom tohoto viru je značně metylovaný, a dosud není známa jeho kompletní sekvence.



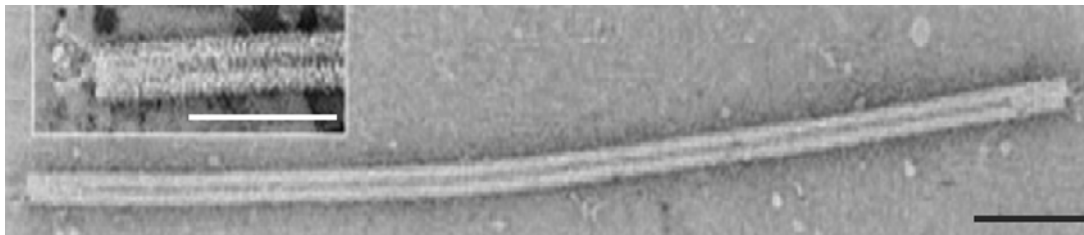
**Obr. 5.** *Sulfolobus neozealandicus* droplet-shaped virus (SNDV) z čeledi *Guttaviridae* (úsečka, 100 nm)

### Vláknité viry archeí

Všechny vláknité archeaviry izolované z terestrického horkého prostředí s teplotou okolo 80 °C, infikují krenarchea rodu *Sulfolobus*, *Acidianus* a *Thermoproteus*. Tyto viry jsou klasifikovány do čeledí *Rudiviridae* a *Lipothrixviridae*. Původní zařazení do čeledí bylo založeno hlavně na odlišnostech ve struktuře virionu, to však bylo později nahrazeno srovnávací genomikou. Některé provozní geny a geny kódující glykosyl-transferázy a regulátory transkripce, jsou společné všem rudivirům a lipotrixvirům. Z toho vyplývá, že vláknité archeaviry mají pravděpodobně relativně nedávného společného předka. Proto, byl předložen návrh zařadit čeledi *Rudiviridae* a *Lipothrixviridae* do nového virového řádu nazvaného *Ligamenvirales*. Členové řádu *Ligamenvirales* mají lineární dsDNA genomy, které nemají gen pro integrázu, a proto se nezačleňují do chromozomu hostitele. Ligamenviry se stabilně udržují v hostitelské buňce a jejich replikace není indukovaná UV zářením nebo působením mitomycinu.

### Čeď *Rudiviridae*

Rudiviry jsou neobalené viry, jejich průměrná velikost je 23 × 610 až 900 nm. Délka virionu je úměrná velikosti jejich lineárních dsDNA genomů, které jsou charakteristické pro jednotlivé zástupce této čeledi. Viriony obsahují trubicovitou spirálu tvořenou lineární dsDNA a jednoduchými, glykozylovanými, proteiny vázanými na DNA. Vidličky o délce 50 nm jsou umístěny na každém konci trubičkovité struktury, která má tři krátká bičková vlákna (Obr. 6).



Obr. 6. *Sulfolobus islandicus* rod-shaped virus 1 (SIRV1) z čeledi *Rudiviridae* (úsečka, 100 nm)

Do rodu *Rudivirus* jsou zařazeny tři druhy virů: *Sulfolobus islandicus* rod-shaped virus 1 (SIRV1), *Sulfolobus islandicus* rod-shaped virus 2 (SIRV2) a *Acidianus* rod-shaped virus 1 (ARV1). Přes mnohé společné vlastnosti virů SIRV1 a SIRV2, rudivirus SIRV2 vytváří zvláštní varianty sekvencí, které vznikají akumulací bodových mutací, jejichž molekulární podstatou jsou nukleotidové substituce, které probíhají s frekvencí  $10^{-3}$  na jeden replikační cyklus. Taková frekvence mutací nebyla zjištěna u jiných DNA virů. Lineární genom těchto virů má na koncích asi 2 kb dlouhé obrácené repetice a je kovalentně uzavřen, čímž se podobá genomu poxvirů a má též podobný mechanismus replikace. Rudiviry tvoří replikační meziprodukty, tj. konkatemery, které jsou štěpeny rezolvázu Hollidayova spoje.

Genom rudiviru ARV1 je tvořen lineární dsDNA o velikosti 24,7 kb a obsahuje terminální 1,3-kb obrácené repetice. Přepisují se oba řetězce a asi 40 % genů je sekvenčně shodných s geny ostatních krenarcheálních rudivirů. Tyto geny kódují kapsidový protein, dvě glykosyl-transferázy a rezolvázu Hollidayova spoje, dále thymidylát-syntetázu a tři proteiny vázající se na DNA. Sekvence genomu viru ARV1, který je velmi stabilní, se silně odlišuje od sekvencí genomů rudivirů SIRV1 a SIRV2.

Ačkoliv se terminální obrácené repetice u tří uvedených rudivirů liší, všechny obsahují sekvenční motiv AATTTAGGAATTTAGGAATTT nacházející se blízko genomových konců, které obsahují signál pro rezolvázu Hollidayova spoje a replikaci DNA.

U rudivirů probíhá jednoduchá transkripce genomů, za působení několika regulačních genů. Bylo prokázáno, že se na transkripci virového genomu též podílí transaktivátor hostitelské buňky.

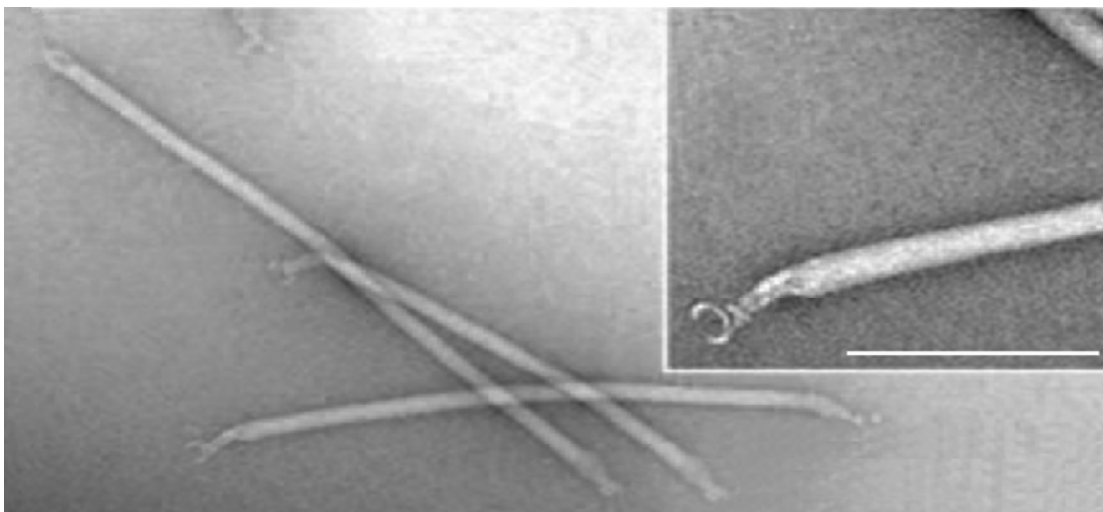
## Čeď *Lipothrixviridae*

Viriony zástupců této čeledi jsou obalené, obal je tvořený lipidovou vrstvou, získanou z buňky hostitele. Lipotrixviry se vyznačují značnou rozmanitostí v koncových strukturách, které spolu s různými vlastnostmi genomů a mechanismy replikace, poskytly základ pro jejich klasifikaci do čtyř rodů. Jsou to rody: *α-lipothrixvirus*, *β-lipothrixvirus*, *γ-lipothrixvirus* a *δ-lipothrixvirus*.

Lytický alfa-lipotrixvirus nazvaný *Thermoproteus tenax virus 1* (TTV1) o velikosti  $400 \times 38$  nm tvoří viriony, obalené lipidovou dvojvrstvou, která obklopuje helikální dřev složenou z DNA pokryté multimery dvou proteinů vázajících se na DNA.

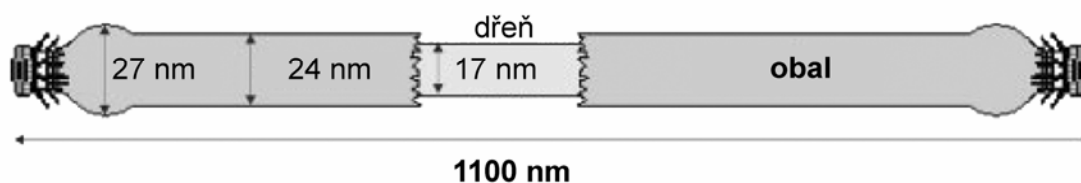
Beta-lipotrixvirus nazvaný *Sulfolobus islandicus filamentous virus* (SIFV) o velikosti  $1950 \times 24$  nm se od ostatních virů odlišuje svým zahrocujícím se koncem virionu, který obsahuje strukturu podobající se mopu, k níž je připojeno šest bičíkových vláken. Tato struktura slouží k připojení virionu k receptorům buněčné membrány.

Konec virionu gama-lipotrixviru *Acidianus filamentous virus 1* (AFV1) obsahuje struktury podobající se drápkům (Obr. 7), kterými se virus přichytí na receptory nacházející se na buněčných pilusech.



Obr. 7. Gama-lipotrixvirus *Acidianus filamentous virus 1* (AFV1) z čeledi *Lipothrixviridae* (úsečka, 100 nm)

Delta-lipotrixvirus nazvaný *Acidianus filamentous virus 2* (AFV2) má velikost  $1100 \times 24$  nm, a na konci virionu je složitý límeček se dvěma sadami připojených krátkých vláken, podobajících se kulatému kartáči (Obr. 8).

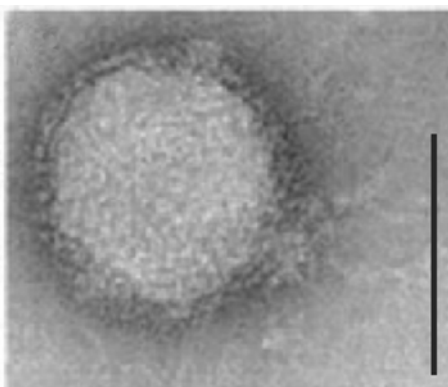


Obr. 8. Delta-lipotrixvirus *Acidianus filamentous virus 2* (AFV2) z čeledi *Lipothrixviridae*

Lineární genom lipotrixvirů má na koncích krátké 0,5 až 1 kb obrácené repetice, avšak není kovalentně uzavřený smyčkou jako je genom rudivirů. Mnohonásobné repetice na konci genomu lipotrixviru AFV1 se podobají telomerickým koncům lineárních chromozomů eukaryot .

### Kulovité viry archeí

Sférické archeální viry vytvářejí dva hlavní typy virionů. *Pyrobaculum spherical virus* (PSV) z čeledi *Globuloviridae*, tvoří viriony o velikosti 100 nm v průměru, které jsou obalené a obsahují multimery 33-kDa kapsidového proteinu. Obal obsahující lipidy obklopuje nukleoproteinovou dřeň, která má tvar nadšroubovice (Obr. 9).

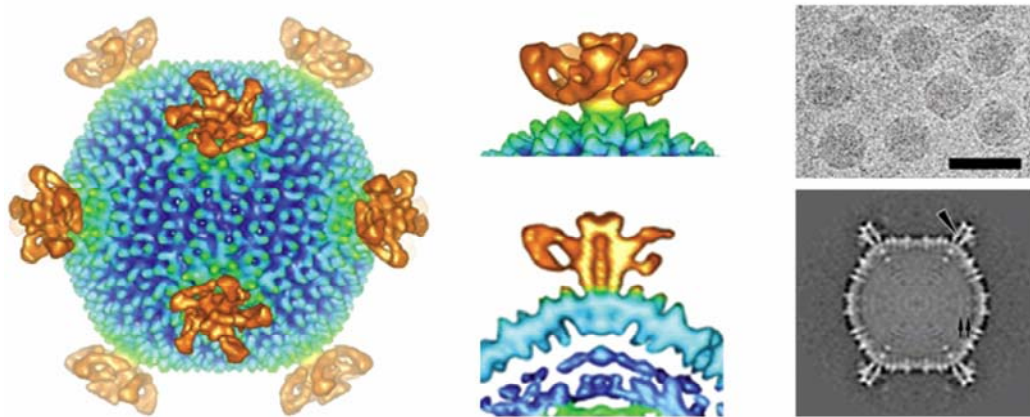


Obr. 9. *Pyrobaculum spherical virus* (PSV) z čeledi *Globuloviridae* (úsečka, 100 nm).

Virus PSV infikuje anaerobní a hypertermofilní druhy archeálních rodů *Pyrobaculum* a *Thermoproteus*. Lineární genom obsahuje 190-bp terminální obrácené repetice.

Globulovirus *Thermoproteus tenax* spherical virus 1 (TTSV1), má podobné vlastnosti genomu a morfologii jako virus PSV .

Další dva dosud taxonomicky nezařazené viry, tj., *Sulfolobus turreted icosahedral virus* (STIV) a *Haloarcula hispanica virus* (SH1) izolované z haloarcheálních rodů *Haloarcula* a *Halorubrum*, mají některé společné morfologické vlastnosti. Viriony obou virů jsou nebičíkaté ikozaedry s vnitřní lipidovou vrstvou (Obr. 10).



Obr. 10. Neklasifikovaný archeavirus *Sulfolobus turreted icosahedral virus* (STIV) (úsečka, 100 nm)

Oba sdílí některé strukturní uspořádání s bakteriálními viry čeledi *Tectiviridae*. Bylo zjištěno, že krystalická struktura 37-kDa hlavního kapsidového proteinu viru STIV se velmi podobá hlavnímu kapsidovému proteinu bakteriálního tektiviru PRD1 a eukaryotického fykodnaviru *Paramecium bursaria Chlorella virus 1* (PBCV1), což vede k předpokladu, že tyto viry mohou mít společného předka, přestože sekvence aminokyselin v kapsidovém proteinu není identická. Virus STIV se vyznačuje jedinečnou architekturou, na vrcholech ikozaedru jsou výběžky věžičkovitého vzhledu. Na rozdíl od viru SH1, který je lytický, virus STIV buňku nelyzuje a stabilně se v ní udržuje. Vedle odlišností v morfologii a interakci s hostitelskou buňkou, se oba viry liší též v genomech. Zatímco genom viru STIV je kružnicový, genom viru SH1 je lineární a na koncích obsahuje 309-bp obrácené repetice.



## Ekologie archevirů a jejich koexistence s hostiteli

Zastoupení druhů archevirů odráží skutečnost, že jejich hostitelé jsou si navzájem podobní, i když se vyskytují v různých geografických lokalitách, které však mají srovnatelné přírodní podmínky. Podobné či stejné morfologické typy hypertermofilních archevirů byly pozorovány v geotermálních prostředích na Islandu, na Kamčatce, v regionu okolo Neapole v Itálii, v národním parku Yellowstone v USA, anebo v hydrotermálních průduších, nacházejících se hluboko v oceánech. Viry, které byly izolovány v různých geografických místech a infikují blízce příbuzná archea, často ukazují výraznou sekvenční podobnost nukleotidů. Přibližně polovina genů globulovirů PSV a TTSV1, které byly izolovány z archeí původem v USA a Indonézii, je stejná. Srovnatelná míra podobnosti se vyskytuje u fuselovirů izolovaných na třech různých kontinentech. Genomy těchto virů obsahují určité konzervativní oblasti, nebo konzervované soubory genů a více variabilních oblastí.

Některé genetické odlišnosti archevirů vznikly rekombinacemi mezi genomy příbuzných druhů. Vysoká podobnost ve složení genů u virových druhů téže čeledi, které pocházejí z archeí izolovaných v geograficky vzdálených místech je v kontrastu s minimální podobností pozorovanou u virů různých čeledí, které existují společně ve stejné lokální mikroflóře. Příkladem jsou čtyři viry, které byly izolovány v kyselých (pH 2) horkých pramenech (85 °C) v Pozzuoli, nedaleko Neapole v Itálii. Rudivirus ARV1, delta-lipotrixvirus AFV2, ampulavirus ABV a bikaudavirus ATV, reprezentující čtyři různé čeledi virů, existují ve stejném nalezišti a mohou se dokonce reprodukovat ve stejném hostiteli. Na rozdíl od koexistence se tyto viry nevyznačují znaky vzájemné mezigenomové výměny.

Acidotermofilní vodná prostředí, ze kterých byly izolované nejneobvyklejší morfotypy archevirů, obsahují podstatně nižší množství virových částic než je koncentrace virů nalezených v jiných ekosystémech. To může být způsobeno několika faktory, např. omezenou odolností virionů vůči vysokým teplotám a nízkému pH, nebo je to dáno schopností virů stabilně se udržovat, v malém počtu kopií, v hostitelských buňkách. Bikaudavirus ATV, který je jediným známým lytickým virem v horkých kyselých pramenech, ukončuje svůj reprodukční cyklus mimo buňku v podmínkách vnějšího prostředí, které vyhovuje hostiteli, což může též přispět k „přežití“ viru.

Buněčná obrana a regulační mechanismy nejsou u archeí dosud dobře prostudovány. Genom archeí obsahuje velké shluky krátkých repetitivních sekvencí SRSR (*short regularly spaced repeats*)

pravidelně oddělených mezerníky, nebo palindromových repeticí CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindrome repeats*), které jsou podobné sekvencím virů nebo konjugativních plazmidů. Předpokládá se, že tyto shluky sekvencí tvoří transkripty, které mohou vázat a inaktivovat virové mRNA a mohou tedy tvořit základ obranného mechanismu buněk proti invazi příbuznými viry nebo plazmidy. Dosud nevyřešenou otázkou však zůstává skutečnost, proč jsou shluky repeticí u archeí tak časté a proč bylo zjištěno tak mnoho mezerníkových protějšků u bikaudaviru ATV?

Archeální viry mají obvykle silně metylované genomy a obrannému mechanismu buňky odolávají pravděpodobně i tím, že prošly mnoha genomovými změnami, např. transpozicemi, duplikacemi, delecemi a insercemi, které často měly za následek změnu ve struktuře genomu. Zdá se, že genetické změny, které podpořily adaptaci viru na nového hostitele, mohou být reakcí na molekuly RNA, vzniklé přepisem mezerníků nacházejících se v SRSR a CRISPR. Předpokládá se, že mohou existovat i jiné mechanismy obrany archeavirů, avšak dosud nejsou plně rozpoznány.

### **Původ a evoluce archeavirů**

Přes rozsáhlé rozšíření archeí na naší planetě, bylo studium jejich virů provedeno pouze u izolátů z několika extrémních hydrotermálních a hyperslaných prostředí. Přestože, bylo dosud identifikováno a charakterizováno jen málo DNA archeavirů, jejich morfologická rozmanitost silně překonává početné a známé druhy dsDNA virů jak u bakterií, tak u eukaryot. Podle zprávy komise ICTV, 96% z 452 známých druhů dsDNA bakteriálních virů jsou neobalené bičíkaté bakteriofágy, které jsou klasifikovány do tří čeledí (*Myoviridae*, *Siphoviridae* a *Podoviridae*) zařazených do řádu *Caudovirales*, a jen 4% z nich jsou neobalené a nebičíkaté ikozaedry nebo obalené pleomorfní částice. Rozmanitost archeálních virů v horkých nalezištích je velká ve srovnání s relativní uniformitou bakteriálních virů, vyskytujících se ve vodných prostředích při mírných a nízkých teplotách. Je možné, že tato diverzita byla obvyklá ve všech pradávných prostředích, avšak později se redukovala úspěšnou expanzí bakterií a jejich fágů v biotopech s mírnou a nízkou teplotou, zatímco horká prostředí ještě zůstávají nalezištěm pro neobvyklé formy virů.

Výskyt archeálních kaudovirů byl dříve považován za důkaz, že tyto viry předcházely divergenci Archaea a Bacteria. Rovněž se předpokládalo, že viry nebyly schopny překonat

bariery mezi doménami, díky odlišnostem v molekulární biologii a způsobu života obou domén. Je známo, že kaudoviry infikují určité mesofilní nebo mírně termofilní haloarchea nebo metanoarchea, obsahující vysoké procento genů bakteriálního původu. Zdá se, že tyto bakteriální geny se úspěšně adaptovaly na prostředí archeální buňky. Kromě toho byly objeveny extrémně halofilní bakterie, které by mohly usnadnit adaptaci a replikaci bakteriofágů v haloarcheích. Proto je pravděpodobné, že zástupci *Caudovirales* se dostali do archeí šířením mezi doménami. Takový původ je v souladu s archeálními kaudoviry, které obsahují mnoho genů, vykazujících homologie jak s bakteriálními chromozomy tak i s plazmidy. Pokud mají archeální kaudoviry původ v bakteriích, lze předpokládat, že všechny tři domény života byly původně navzájem propojeny stejnými dsDNA viry. Poslední strukturní studie ukázaly, že některé viry, které se vyskytují v různých doménách, se vyvinuly z organismů, které předcházely divergenci domén. Hypotéza tří různých virosfér, z nichž každá je spojená se specifickou doménou vychází z předpokladu, že tyto virosféry se oddělily až teprve poté, co se objevily domény. Je možné, že první organismy z každé domény mohly být již infikovány různými skupinami virů z ancestrální virosféry, která předcházela poslednímu univerzálnímu předkovi LUCA (*last universal common ancestor*).

Mechanismus a doba vzniku druhů náležejících třem doménám zůstávají neznámé, ačkoliv poslední hypotézy navrhuje, že DNA viry mohly hrát přímou roli v jejich tvorbě začleněním DNA genomů do pradávných RNA buněk. Toto je pravděpodobné jen za předpokladu, že existovaly tři ancestrální RNA buňky, které byly infikovány třemi různými skupinami DNA virů v době přechodu světa RNA do světa DNA. Hlavním otazníkem zůstává evoluční příbuznost mezi DNA viry a RNA viry. Pocházejí DNA viry z RNA virů nebo z primitivních DNA buněk, nebo obou? V jedné hypotéze je DNA sama o sobě považována za tvůrkyni viru, to znamená, že DNA se nejprve objevila ve virech a později se teprve přenesla do buněk. V současnosti používané strategie k izolaci a detekci archeálních virů umožnily identifikovat pouze DNA viry z hydrotermálních prostředí. Nové molekulární přístupy však mohou přispět k budoucímu nálezu také RNA archeavirů. Je však možné i to, že se absence RNA archeavirů datuje již od doby vzniku virosféry spojené se společným archeálním předkem.

Problematika původu virů zůstávala na mrtvém bodě až do doby, kdy se rozvinul molekulární popis virových proteinů a jejich funkcí při tvorbě virů. Ukázalo se, že je chybné uvažovat o jejich původu jen v rámci vyhraněné dichotomie prokaryot/eukaryot. Některé viry, které jsou spojeny s různými doménami, mohou být v něčem navzájem podobné, a v něčem

zjevně identické, což silně nasvědčuje tomu, že viry jsou prastaré a předcházejí poslednímu univerzálnímu předkovi LUCA.

Pro vysvětlení původu archeavirů se nabízejí tři hypotézy: (a) viry pocházejí z prebuněčného světa (b) viry vznikly redukcí parazitujících buněk (c) viry vznikly z fragmentů buněčného genetického materiálu, který se vymknul z buněčné kontroly. V současné době se hlavní diskuze odehrává mezi těmi, kteří navrhuji dlouhou dobu nebuněčné evoluce trvající až do objevení archeí a bakterií, a těmi, kteří dávají přednost prvotnímu vzniku buněk. Zastánci první hypotézy nedávno navrhli, že viry vznikly nashromážděním samoreplikujících se elementů v hydrotermálních průduších, využívajících anorganické částice stejně jako jejich hostitelé. Podle druhých, kteří preferují primární buněčnou hypotézu, viry pravděpodobně pocházejí z buněk založených na systému RNA-protein a vznikly redukcí z parazitujících RNA buněk nebo z genetického materiálu, který unikl z genomů těchto buněk.

K přesnému popisu evoluční biologie archeavirů bude třeba ještě provést více studií, neboť dosud byl izolován jen omezený počet virů z malého okruhu hostitelských archeí. Rovněž samotná doména Archaea není dosud zcela známa všem skupinám biologů a taxonomie archeavirů je v současnosti nepřesná. Archeální viry, ač zcela nepříbuzné s viry bakterií, jsou ještě klasifikovány jako “bakteriofágy“ a v nejnovější edici *Virus Taxonomy* jsou uváděny pod hlavičkou “Čeledi a rody infikující bakterie”. Z toho je zřejmé, že zkoumání systému virus a jeho hostitel též u jiných fylogenetických taxonů archeální domény a rozvoj genomiky archeavirů je významnou vědeckou prioritou, která může poskytnout nové poznatky a nové proniknutí do důležitých otázek týkajících se podstaty a původu novodobé virosféry.

*Literatura použitá v tomto článku je u autorky.*

## Změna pohledu na význam tichých mutací

*Jan Šmarda III*

Jako tiché se označují takové mutace, které mění nukleotidovou sekvenci DNA, ale nemění kódující smysl příslušného kodonu, tj. nemění aminokyselinu, která se vyjádřením pozměněné genetické informace zařazuje do struktury proteinu. Změna sekvence kodónu se nemusí projevit změnou struktury proteinu proto, že genetický kód umožňuje několika různým kodónům kódovat stejnou aminokyselinu. Pokud mutacemi dochází k variacím v rámci kodonů, které mají stejný kódující smysl, protein si svou aminokyselinovou strukturu uchovává. Z tohoto důvodu byly tiché mutace považovány za nevýznamné z hlediska vlivu na funkci postiženého proteinu. Nedávno publikované práce však ukázaly, že i tiché mutace mohou mít pro organismus vážné důsledky. Pracovníci laboratoře Michaela Gottesmana (National Cancer Institute, Bethesda, USA) prokázali, že pro funkci proteinu není zanedbatelný výběr kodónů, ze kterých je syntetizován (Kimchi-Sarfaty, C., Oh, J.M., Kim, I.W., Sauna, Z.E., Calcagno, A.M., Ambudkar, S.V., Gottesman M.M., *Science* 315 (5811): 466-467, 2007). Ukázalo se totiž, že tichá mutace genu MDR-1 mění vlastnosti P-glykoproteinu s vážnými důsledky pro lidský organismus. P-glykoprotein se podílí na rezistenci nádorových buněk k působení chemoterapeutik tím, že napomáhá jejich vylučování z buněk. Tichá mutace genu MDR-1 (C3435T) v kombinaci s dalšími mutacemi potencuje funkci P-glykoproteinu a tak zvyšuje odolnost nádoru k chemoterapii. Podstata tohoto účinku podle autorů spočívá v tom, že v průběhu proteosyntézy se přítomnost mutovaného tripletu sice neprojeví změnou kvality aminokyseliny, ale rychlostí s jakou je tato aminokyselina k proteinovému řetězci připojena. To se projeví změnou v sestavování funkční konformace výsledného proteinu. Tento výsledek narušuje další z tradičních „dogmat“ molekulární biologie.

## Ke kořenům života: ohlédnutí za přednáškovými kurzy Edwarda N. Trifonova

*Jiří Fajkus*

V květnu 2007 měli studenti Masarykovy univerzity v rámci cyklu přednášek zahraničních odborníků INNOLEC možnost absolvovat dva přednáškové kurzy Prof. Edwarda N. Trifonova “Early molecular evolution” a “Genetic Codes”. Vzhledem k vysokému zájmu o tyto přednášky a příznivému ohlasu na ně považuji za vhodné krátce představit osobnost Profesora Trifonova i prostřednictvím *Informačních listů GSGM*.

V současné době pracuje Edward Trifonov, který nedávno oslavil své 70. narozeniny, jako vedoucí Centra genomové diverzity na univerzitě v Haifě v Izraeli. Je světově uznávaným expertem v oboru sekvenční biologie, disciplíně věnující se odhalování biologicky významných sekvenčních kódů. Edward Trifonov a jeho spolupracovníci byli první, kteří detekovali hlavní periodicitu bází o délce 10-11 bp v sekvencích DNA (1980-1981). Správně předpověděli, že tato periodičita je základem kódování zakřivení DNA (*DNA curvature*) a polohy nukleozomů (*nucleosome positioning*). Na základě znalosti mnoha různých sekvenčních kódů, z nichž některé byly jeho vlastními objevy, prosazoval Edward Trifonov názor o překryvu a interakcích mezi jednotlivými kódy (1989), jedinečné vlastnosti genetických sekvencí. Jeho teorie rychlé adaptace (1989, 2004), která připisuje důležitou „doladovací“ funkci jednoduchým tandemovým repetitivním a změnám počtu jejich kopií, získává stále širší uznání. Edward Trifonov je dále spoluobjevitelem modulární struktury proteinů ze smyčkových modulů (společně s I. N. Berezovským a A. Grosbergem, 2000). Tyto moduly v podobě uzavřených smyček o velikosti 25-30 aminokyselinových zbytků vytváří základ proteomického kódu, který umožňuje popisovat a porovnávat proteiny v novém jazyce těchto modulů. Nejnovější vášní Edwarda Trifonova je rekonstrukce nejranějších událostí v evoluci tripletového kódu a odvození sekvence a struktury prvotních malých proteinů. Další informace o tomto zajímavém a v pravém slova smyslu základním výzkumu je možné najít na jeho internetových stránkách <http://research.haifa.ac.il/~genom>.

Osud většiny hypotéz, teorií a objevů Edwarda Trifonova a jeho spolupracovníků bohužel provází osud trošku podobný osudům Mendelovy teorie dědičnosti: teprve nyní, čtvrtstoletí po jejich publikaci, jsou některé z nich s velkou slávou a tedy i v mnohem prestižnějších médiích znovuobjevovány, velmi často bez uvedení citací na původní práce. Ale na závěr jedna dobrá

zpráva pro zájemce o témata, kterými se Edward Trifonov zabývá: během jeho návštěvy bylo ujednáno, že od podzimu 2007 bude působit na částečný úvazek na PřF MU v rámci Oddělení funkční genomiky a proteomiky Ústavu experimentální biologie, a kromě přednášek nabízí možnost školení diplomantů a PhD studentů se zájmem o tento „trifonovovský“ typ bioinformatiky, která hledá řád v silném šumu a zdánlivém chaosu překrývajících se genetických kódů, a v zamlžených počátcích vývoje života.

Literatura:

Trifonov, E. N., Sussman, J. L., The pitch of chromatin DNA is reflected in its nucleotide sequence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 3816-3820 (1980)

Trifonov, E. N., Sequence-dependent deformational anisotropy of chromatin DNA. Nucl. Acids Res. 8, 4041-4053 (1980)

Trifonov, E. N., Deformational anisotropy of DNA molecule.

In: "Structural Aspects of Recognition and Assembly in Biological Macromolecules", (Eds. M. Balaban, J. Sussman, W. Traub and A. Yonath), Balaban ISS, Rehovot-Philadelphia, , pp. 525-536 (1981)

Trifonov, E. N., Structure of DNA in chromatin.

In: "International Cell Biology 1980-1981" (Ed. H. Schweiger), Springer-Verlag, Berlin, pp. 128-138 (1981)

Trifonov, E. N., The multiple codes of nucleotide sequences. Bull. Math. Biol. 51, 417-432 (1989)

Trifonov, E. N., The tuning function of the tandemly repeating sequences: molecular device for fast adaptation.

In: Evolutionary Theory and Processes: Modern Horizons, Wasser, S. P. (Ed.), Kluwer Academic Publishers, pp 115-138 (2004)

Berezovsky IN, Grosberg AY, Trifonov EN Closed loops of nearly standard size: common basic element of protein structure. FEBS Letters 466:283-286 (2000)

## Mendelovo muzeum - Muzeum genetiky

Dějiny nejmladšího muzea v Brně se začaly psát v roce 2000, kdy vyšel od mezinárodní skupiny vědců impuls prezentovat nově geniální objev Gregora Mendela v původním prostředí a kontextu současného vývoje vědy.

V čele této iniciativy pro Brno stála rakouská společnost Vereinigung zur Förderung der Genomforschung (VFG) ve spolupráci s Augustiniánským opatstvím na Starém Brně. Úpravy prostor navrhla architektka Eva Jiříčná a realizace výstavy se ujala Wallace Kemp Artakt z Londýna, za spolupráce s Masarykovou univerzitou a Mendelovou zemědělskou a lesnickou univerzitou. V polovině roku 2002 byla jako výsledek této iniciativy otevřena v opravených prostorách augustiniánského opatství výstava: ***Génius genetiky, oslava Gregora Mendela vědou a uměním***. Návštěvníkům představila Mendelovy originální dokumenty i osobní památky; vystavená dobová odborná literatura a předměty uváděla jeho výzkumy do vědeckého a společenského kontextu doby. Princip Mendelových zákonů dědičnosti zde byl představen názorně počítačovou animací. Ozvláštněním bylo doplnění výstavy uměleckými díly evropských výtvarníků, kteří našli inspiraci v přírodě.

Na základě mezinárodního ohlasu byla část výstavy představena v roce 2003 v Janově na Festivalu vědy a zápůjčky z výstavy byly nahrazeny dalšími originály a doplněny jedinečnou replikou původního modelu dvojité šroubovnice DNA sestavenou v Science Museum v Londýně v roce 1953.

Narůstající zájem veřejnosti, především zahraniční, o návštěvu této unikátní výstavy a potřeby další činnosti si vyžádaly vytvoření pracovního týmu; v dubnu 2004 tak vzniklo občanské sdružení Mendel Museum. Jeho členy se staly: Opatství Staré Brno Řádu sv. Augustina, Vereinigung zur Förderung der Genomforschung se sídlem ve Vídni, Masarykova univerzita a Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Čestné členství přijali významní světoví vědci, mezi nimiž jsou i tři nositelé Nobelovy ceny, sir Paul Nurse, James Watson a Eric Wieschaus.

Důvodem zatím poslední reinstalace muzejní expozice v červnu 2006, byla zápůjčka velké části exponátů na výstavu: ***Gregor Mendel: Planting the Seeds of Genetics*** ve Field Museum v Chicagu. Field museum je i garantem dalšího turné, které tuto výstavu představí ve významných



přírodovědných muzeích a na univerzitách v několika státech USA. Do Brna se zápůjčky vrátí na podzim 2008.

Současná expozice nabízí kromě řady dosud nevystavovaných dokumentů a předmětů z Mendelovy pozůstalosti (například vycházková hůl, dioptrické brýle s náhradními sklíčky, mikroskopy, se kterými pracoval apod.), inovovaný soubor knih, které svědčí o Mendelově šíři zájmů nejen o přírodovědecká bádání, ale i o další oblasti, zejména včelařství a meteorologii. Při jejím otevření zaujala návštěvníky rovněž instalace nových uměleckých děl, zajímavých nejen inspirací přírodou, ale také technikami. Svá díla laskavě zapůjčili významní čeští výtvarníci Zdeněk Sláma, Pavel Hayek a Jiří Šigut.

Souběžně s rozvojem expoziční a muzejní činnosti se muzeum prezentovalo od roku 2003 vědeckými přednáškami, které se od roku 2005 soustředily do cyklů pod názvem: *Mendel Lectures*, kde za velkého zájmu české vědecké veřejnosti přednášeli přední světoví vědci z oblasti genetiky a molekulární biologie. Na jejich pořádání se za podpory Jihomoravského kraje významně podílí Anna Nasmyth z Cambridge a od nás Jan Motlík za AV ČR a Jiřina Relichová za MU. V příštím akademickém roce se uskuteční přednášky Titia de Lange, Rudolph Jaenisch, Svante Pääbo, Richard Durbin, Elliot Meyerowitz a sir Paul Nurse.

Pro laickou veřejnost se konají od roku 2002 *Přednášky v Mendelově refektáři*. V loňském roce byl v rámci těchto přednášek připraven vzdělávací cyklus, který pod názvem *Gen-etika* vysvětloval populární formou podstatu genetiky, dědičná onemocnění a v současné době aktuální etické otázky s ní spojené ( přednášející R. Gaillyová a R. Veselská). Setkal se s velkým ohlasem, což nás staví před úkol připravit jeho stejně zajímavé pokračování.

Do vzdělávacích plánů muzea pro veřejnost patří od minulého roku rovněž pořádání krátkodobých výstav, tematicky doplňujících stálou expozici. V klášterní chodbě vystřídala výstavu k „50. výročí objevu DNA“ prezentace dalšího významného výročí v genetice – 50. výročí určení správného počtu chromozomů u člověka s názvem *Počítání chromozomů* (autoři J. Relichová, P. Kuglík a A. Oltová). Tato výstava je určena především studentům středních a vysokých škol, neboť atraktivní a přístupnou formou přináší v jednotlivých tematických celcích ucelenou informaci: Historie objevu, Co jsou chromozomy?, Metody studia

chromozomů a Chromozomy a genetické choroby. V tradici těchto krátkodobějších výstav věnovaných mezníkům v genetice bychom chtěli pokračovat i v příštích letech.

Pro rozšíření služeb návštěvníkům byl v letošním roce přizpůsoben vstupní prostor muzea výstavním účelům; kovové závěsné zařízení korespondující s celkovým vybavením interiéru, umožňuje komornější výstavy převážně dvojrozměrných prací. První vernisáží bylo v březnu otevření výstavy: ***Orbis herbarum***, kde Magdalena Chumchalová představuje vědeckou kresbu rostlin. Mezi 33 vystavenými zobrazeními jsou i rostliny, se kterými konal pokusy Gregor Mendel. Na podzimní měsíce je připravována výstava plastik a kreseb s převážně sakrální tematikou akademické sochařky Otilie Demelové – Šuterové.

Mendelovo muzeum má v plánu další projekty, které by sloužily především české veřejnosti dozvědět se více o historii a současném rozvoji genetiky. Částečně se již podařilo naplnit projekt vybudování didaktické místnosti, která by sloužila zejména pro studenty středních a vysokých škol. V rámci tohoto projektu je v muzeu představena virtuální ***Fly Room*** (autoři J. Relichová a M. Stehlík) jako paralela výzkumné laboratoře Kolumbijské univerzity, ve které T. H. Morgan se svými spolupracovníky na základě výzkumů s mouchou *Drosophila melanogaster* formulovali zásadní objevy v genetice. Zatím mají studenti a návštěvníci možnost shlédnout a aktivně pracovat s počítačovými animacemi křížení drozofil a dozvědět se o historii objevů.

Znalosti o Gregoru Mendelovi si mohou návštěvníci doplnit i prohlídkou zahrady, kde najdou panely informující o jednotlivých zajímavostech, ať již u základů Mendelova skleníku nebo u jednotlivých záhonů, kde jsou každoročně vysazovány geneticky zajímavé rostliny nebo ty, se kterými Gregor Mendel experimentoval. Průvodci muzea zájemce zavedou i k původnímu Mendelovu včelínu, který též prochází rekonstrukcí. V poslední době byly restaurovány tři původní úly z Mendelovy doby.

Mendelovo muzeum navštíví ročně téměř 7 000 návštěvníků. Je členem Asociace muzeí a galerií ČR a zapojuje se zajímavými akcemi do její činnosti. Součástí je například Muzejní noc, jejíž program byl letos věnován Pavlu Křížkovskému, jehož jméno a dílo je spjato s Augustiniánským opatstvím.

V roce 2007 převzala Mendelovo muzeum Masarykova univerzita. Záměrem převzetí bylo přihlásit se k odkazu této světové osobnosti, rozšířit stávající expozici o možnost prezentovat zde aktuální výsledky výzkumů univerzitních pracovišť a také dokončit projekt obnovy Mendelovy genetické zahrady. Představitelé Masarykovy univerzity si váží úsilí těch, kteří se zasloužili o rozvoj Mendelova muzea. Důkazem toho je udělení Zlaté medaile rektora MU profesoru Gustavu Ammererovi, představiteli vídeňské společnosti VFG, která stála na samých počátcích budování muzea v dnešní podobě.

[www.mendel-museum.org](http://www.mendel-museum.org).

*PhDr. Ilona Lázničková, manažerka muzea*

## Recenze

### ZÁKLADY LÉKAŘSKÉ GENETIKY

O významný a záslužný knižní počin se přičinila skupina pracovníků Ústavu biologie a lékařské genetiky 2.LF UK v Praze - Motole pod vedením prof. MUDr. Petra Goetze, CSc. Z anglického originálu přeložila knihu Doriana J. Pritcharda a Bruce R. Korfa: *Medical Genetics at a Glance* (Blackwell Publishing Company Ltd., Oxford 2003 et 2005), a potěšila tak široký okruh zájemců o tuto oblast genetiky jak z řad studentů českých lékařských a přírodovědeckých fakult (to především), tak i odborníků z blízce příbuzných oborů.

Překladu, který v češtině nazvali *Základy lékařské genetiky*, se ujali prof. MUDr. Petr Goetz, CSc., doc. RNDr. Jaroslav Mareš, CSc., RNDr. Eduard Kočárek, Ph.D., a MUDr. Šárka Vilímová. Kniha je rozčleněna na tři části (Vývojová biologie, Lékařská genetika, Klinické aplikace genetiky) a má obsahově velmi široký záběr, od základů buněčné a vývojové biologie, přes cytogenetiku a obecnou a molekulární genetiku až k využití genetických poznatků v klinické praxi. Na celkem 182 stranách textu se tak čtenář může seznámit (koncizně a bez nepodstatných detailů) s organizací a se základními funkcemi eukaryotické buňky, se strukturou chromosomů, se základními principy struktury a exprese genetické informace, s problematikou buněčného cyklu, lidské gametogeneze, lidské embryologie a se základními principy pohlavní diferenciaci u člověka, a dále pak s podstatou nejčastějších početních i strukturních chromosomových abnormit u člověka, s principy autosomálně dominantní a autosomálně recesivní dědičnosti, s podstatou a charakteristickými projevy pohlavně vázané dědičnosti, s problematikou vrozených vad, multifaktoriálních znaků, ale i se základními principy metodologie studia dědičnosti u člověka (rodokmenová metoda, studie dvojčat, populační studie), s využitím vazebné analýzy při určování genetické prognózy postižení potomků dědičně podmíněnou chorobou, s principy a možnostmi mapování genů u člověka, s problematikou mutagenese a reparace poškozené genetické informace, s molekulárně biologickou podstatou nádorového bujení i se základními principy lidské imunogenetiky. Konečně, ve třetí části knihy se čtenář seznámí s klinickými aplikacemi genetických poznatků, konkrétně např. s pravidly sestavování genetických rodokmenů a stanovení genetického rizika, se způsoby cytogenetické chromosomové analýzy, s podstatou a možnostmi biochemické analýzy pro predikci postižení potomků dědičně podmíněnou chorobou, s problematikou genetického poradenství, s principy prenatální genetické diagnostiky, ale i s podstatou v klinické genetice stále častěji využívaných molekulárně genetických metod a postupů (sekvenování DNA, Southernův přenos, polymerázová řetězová reakce). Závěr knihy je věnován preventivní genetice a problematice péče o pacienty postižené různými typy dědičně podmíněných chorob.

Knihu, která je opatřena i výkladovým slovníčkem základních odborných termínů, přehledem různých informačních zdrojů (včetně internetových), a rejstříkem (a velkým množstvím velmi zdařilých doplňujících a vysvětlujících schémat a obrázků), vydalo nakladatelství Galén v Praze v roce 2007. V prodejně Zdravotnická literatura – Miroslav Wimmer v Praze 2 v Lípové ulici 16 je k dostání za 450,-Kč.

*Petr Pikálek*