

Zkopíruj a ulož

Retroelementy – specializovaní genetičtí paraziti, nebo pozůstatky dávného světa RNA?

EDUARD KEJNOVSKÝ

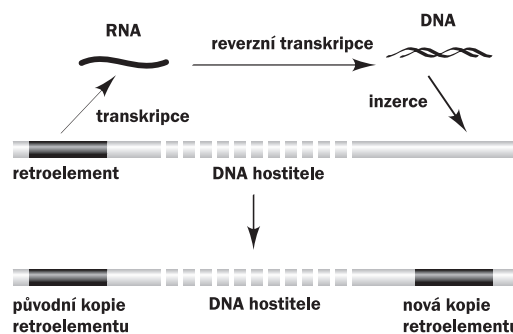
Genetická informace autonomních forem života je uložena v kyselině deoxyribonukleové a pouze výjimečně, u některých virů či viroidů, v kyselině ribonukleové. Reprodukce virů a viroidů však dnes není bez autonomních organizmů možná. Miliardy let evoluce způsobily, že k uložení genetické informace slouží DNA. Předpokládá se ale, že rané formy života obsahovaly samoreplikující se genomy tvořené molekulami RNA. Při formování prvních genomů DNA asi hrála roli reverzní transkriptázy. Tento evolučně starobylý proces se však na tvarování eukaryotických genomů podílí dodnes. Dokládá to existence genetických elementů – retroelementů – které k své reprodukci používají enzym reverzní transkriptázy.

Zkopíruj a vlož...

Retroelementy jsou úseky DNA schopné vkládat své vlastní kopie do nových poloh v genomu (obr. 1). Jde tedy o mechanismus „zkopíruj a vlož“, který známe z práce s počítačem. Původní element přitom není odstraněn, a tak se retroelementy výrazně podílejí na zvyšování velikosti a komplexity genomů. Vedle retroelementů existuje ještě jiný typ mobilních elementů, *transpozony*, u nichž jsou meziproduktem transpozice molekuly DNA. Transpozony používají jak mechanismus „zkopíruj a vlož“, tak „vyjmi a vlož“.

Řada studií dokládá, že retroelementy lze najít u většiny druhů eukaryot a rovněž u některých prokaryot. Byla také zjištěna zajímavá souvztažnost mezi velikostí genomu a hojností retroelementů. Zatímco malé genomy primitivních eukaryot, jež jsou poměrně hustě zaplněny geny, obsahují málo retroelementů, u větších genomů je podíl retroelementů významně vyšší.

Evoluční úspěšnost retroelementů můžeme demonstrovat na příkladu lidského genomu. Jeho velikost je tři miliardy párů bází, z čehož pouhá 3 % představují úseky DNA překládané do pořadí aminokyselin proteinů, zatímco zbytek tvoří nekódující sekvence DNA, regulační oblasti, a především repetitivní sekvence. Ty jsou buď v dlouhých řadách dosahujících často pozoruhodných délek, anebo jsou rozptýleny po celém genomu. A právě většinu rozptýlených repetitivních sekvencí tvoří různé retroelementy (celkově asi 30 % lidského genomu). Gen kódující reverzní transkriptázu retroelementů tak se svými několika tisíci kopiemi představuje v lidském genomu vůbec nejhojnější sekvenci, která kóduje protein. Jsou však



1. Vkládání kopií retroelementů do nových poloh v genomu. Retroelement je nejprve přepsán do RNA, která je následně přepsána reverzní transkriptázou do komplementární DNA. Tato DNA, představující identickou kopii původního retroelementu, je poté vložena do nového místa v genomu.

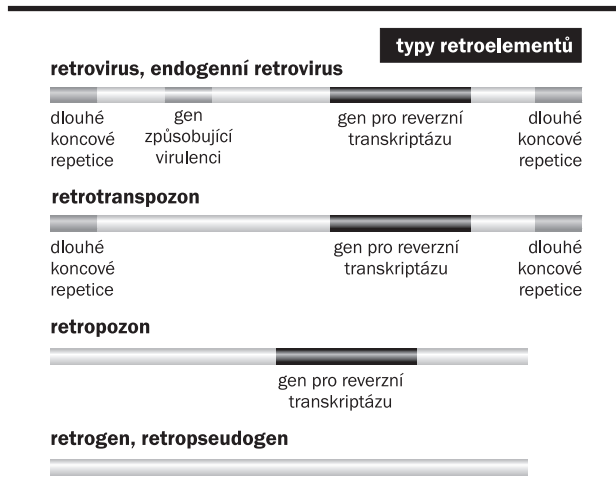
známy i druhy, u nichž kolonizace retroelementy a transpozony dosáhla ještě vyššího stupně – např. u kukuřice je to přibližně 50 % genomu.

Rodiny retroelementů

Existuje několik základních typů retroelementů, lišících se svou délkou, komplexitou a organizací. Nejčastěji se dělí na autonomní, jež kódují reverzní transkriptázu potřebnou pro retropozici, a neautonomní, které gen pro reverzní transkriptázu nemají a musí si ji „půjčovat“. Z určitého hlediska lze za evolučně nejúspěšnější skupinu retroelementů považovat retroviry. Podařilo se jim totiž opustit buňku, kde bylo šíření omezeno jen na vertikální přenos (z rodičů na potomky), a využívají i horizontální genetický přenos (pohyb z genomu do genomu). Tento tok informace mezi vzdálenými druhy představuje „kanály“ spojující jednotlivé proudy Dawkinsovy „řeky z ráje“. Příkladem je nedávný přenos viru HIV z divokých primátů na člověka (viz Nature 391, 531 a 594, 1998). Kromě genu pro reverzní transkriptázu obsahují retroviry další dva geny pro tvorbu virové částice a specifické regulační sekvence (dlouhé koncové repetice), které se uplatňují při integraci retroviru do hostitelského genomu. Z evolučního hlediska jsou pozoruhodné i endogenní retroviry a retrovirům podobné elementy. Retrovirům se tyto elementy podobají nejen přítomností dlouhých koncových repetitivních (LTR), ale i dalšími sekvencními prvky a celkovou genomovou organizací. V genomu hostitele se však často nacházejí silně poškozené, neúplné kopie těchto retroelementů. Extrémním případem je přítomnost soliterních sekvencí LTR. Některé studie dokonce naznačují, že lidské endogenní retroviry a jejich fragmenty představují jakési otisky pradávných retrovirálních infekcí starobylých primátů. Další skupinou retroelementů jsou retrotranspozony, jejichž šíření je omezeno pouze na buňku, v níž se nacházejí, a nejsou tudíž infekční. Jejich struktura je často velmi podobná retrovirům. Jednodušší strukturou se vyznačují retropozony, které nemají dlouhá koncová opakování (obr. 2).

Nejjednodušší strukturu mají neautonomní retroelementy. Nekódují ani vlastní reverzní transkriptázu, musí využívat reverzní transkriptázu autonom-

RNDr. Eduard Kejnovský, CSc., (*1966) vystudoval molekulární biologii na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity. V Biofyzikálním ústavu AV ČR v Brně se zabývá studiem evoluce pohlavních chromozomů u dvoudomých rostlin.



2. Schematická prezentace základních typů retroelementů

ních elementů. Často jde o úseky DNA vzniklé reverzní transkripcí mRNA, tzv. retrogeny a retropseudogeny. Dominantní rodinou retroelementů této skupiny jsou u člověka a ostatních primátů Alu-elementy, jež se svým přibližně jedním milionem kopií o délce 280 bází představují nejhojnější sekvenci našeho genomu (tvoří 10 % celkové DNA).

Pasažeri provázející hostitelský genom

Jakou roli hrají retroelementy v našem genomu a v genomech jiných organismů? Většina vědců považuje retroelementy za vysoce specializované genetické parazity, „replikátory“, jejichž ekologickou nikou se stal genom hostitele, který se jim podařilo v průběhu času více či méně úspěšně osídlit. Většinou však představují neškodné, ale pro genom nepoužitelné pasažery, kteří hostitelský genom dočasně anebo trvale provázejí na cestě prostorem a časem. Pouze v některých případech je jejich přítomnost v genomech pro organismus škodlivá. Svědčí o tom řada lidských chorob, jejichž příčinou je inserce takového retroelementu do některého důležitého funkčního genu či do jeho blízkosti. Příkladem je hemofilie A,¹⁾ neurofibromatóza,²⁾ či některé případy rakoviny prsu a tlustého střeva. Některé organismy si dokonce vyvinuly obranné systémy chránící jejich genomy před retroelementy. Používají k tomu různé mechanismy, mimo jiné i možnost selektivně vystříhnout a degradovat nežádoucí mobilní element. Rozhodujícím obranným mechanismem je zřejmě metylace cytozinů nacházejících se v retrotranspozicích, což znemožní jejich pohyb po genomu.

Ztráta kontroly nad transpozony

Nedávné studie naznačují, že metylace DNA, která je důležitým mechanismem regulace genové exprese u eukaryot, se původně vyvinula právě jako nástroj obrany organismu proti šíření parazitických sekvencí elementů. Ukázalo se totiž, že drtivá většina metylovaných cytozinů v genomové DNA se nachází právě v mobilních elementech. Pozoruhodné je i zjištění, že příčinou genomové nestability, charakteristické pro nádorové buňky, je často ztráta kontroly nad transpozony způsobená jejich demethylací. Organismy, které nemají metylační aparát,

1) Dědičné onemocnění charakterizované poruchou srážlivosti krve.

2) Četný výskyt neurofibromů – nezhoubných nádorů – v různých oblastech periferních nervů; projevuje se typickými světle hnědými skvrnami na kůži.

jako například octomilka, jsou proto k poškození svého genomu transpozony mimořádně citlivé.

Retroelementy prospěšné hostiteli

Retroelementy by však stěží byly evolučně úspěšné, kdyby svému hostiteli neposkytovaly výhody. Je totiž pozoruhodné, že si organismy tyto sekvence zachovaly, přestože jsou tak vysoce mutagenní. Někteří autoři dokonce tvrdí, že se organismy staly v průběhu evoluce na mobilních elementech přímo závislými. Přibývá důkazů svědčících o roli retroelementů ve fungování a evoluci eukaryotických genomů.

Retroelementy například, podobně jako i jiné repetice, podporují duplikaci genů v genomech, což je důležitý proces při vývoji celých genových rodin, v nichž mohou jednotliví členové v důsledku rozrůznění nabývat nových funkcí. Samotný proces retrotranspozice vede k přibývání repetit v genomu, neboť původní element není z DNA odstraněn. Bylo prokázáno, že některé retroelementy hrají pozitivní úlohu také při organizaci chromozomální struktury. Dlouhé koncové repetice (LTR), jež jsou součástí mnoha retroelementů, představují regulační oblasti, které mohou ovlivňovat regulaci přilehlých genů i ve prospěch hostitele.

Pozoruhodný příklad prospěšnosti retroelementu pro hostitelský genom byl popsán u octomilky (*Drosophila melanogaster*), kdy retrotranspozony nahradily činnost telomerázy. Telomeráza je enzym připojující ke koncům chromozomů (telomerám) specifické nukleotidové sekvence a zabraňuje tím zkracování chromozomů, k němuž dochází při každé jejich replikaci (viz Vesmír 75, 155, 1996/3). V případě octomilky retrotranspozony převzaly tuto životně důležitou funkci telomerázy tak, že místo ní přidávají své kopie na konce chromozomů. O evoluční blízkosti telomerázy a některých reverzních transkriptáz kódovaných retroelementy svědčí i podobnost jejich aminokyselinových sekvencí. Zatím není jasné, zda se vyvinuly telomerázy z reverzních transkriptáz, či naopak. Jde však o další případ toho, jak oportunisticky pracující evoluce použila k vytvoření nové buněčné funkce genetický materiál, který již v buňce byl k dispozici. Možná dokonce bez ohledu na to, že tímto genetickým materiálem byli buněční paraziti – transpozony.

Někteří badatelé dokonce poukazují na možnost, že některé mobilní elementy stály u zrodu imunitního systému obratlovců. Nedílnou součástí jak tvorby imunoglobulinových (Ig) molekul, tak diferenciace T-buněk, zajišťujících imunitu organismu, jsou totiž přestavby DNA. Jejich mechanismus je podobný retrotranspozici retrovirů a zřejmě se vyvinul ze starobylých mobilních elementů.

Lze to nějak využít?

Uvedené příklady měly za cíl poukázat na to, jak velký vliv retrotranspozony měly a mají na tvarování struktury, na funkci a evoluci eukaryotických genomů. Některé práce naznačují, že člověk bude možná schopen využít výhodných vlastností mobilních elementů i k svému užítku, např. jako nástroj k cílenému vnášení požadovaných genů do genomů zemědělských plodin, hospodářských zvířat anebo i do lidského genomu při léčbě některých chorob. Prozatím si od těchto kolonizátorů našeho genomu půjčujeme alespoň enzym reverzní transkriptázu, používanou v mnoha molekulárněbiologických laboratořích. □