

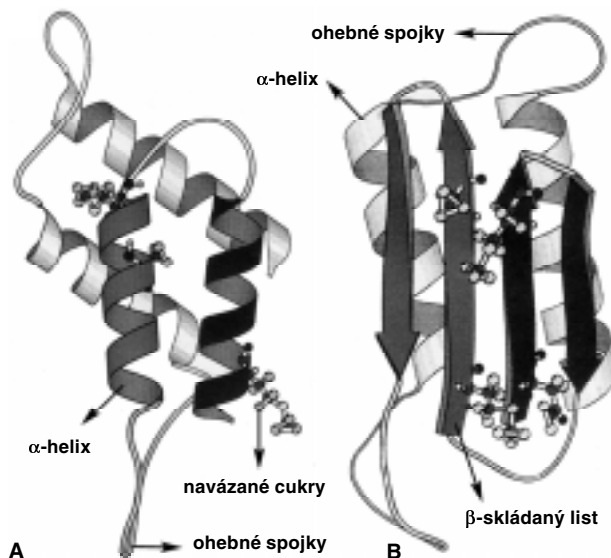
Priony

Nobelova cena, a co dál?

ZUZANA STORCHOVÁ

Rozruch a klevety kolem nemoci šílených krav, Creutzfeldovy-Jakobovy nemoci a nebezpečného hovězího masa již utichly, novináři a televizní komentátoři ztratili o tuto notně vychladlou novinku dávno zájem. Pro podstatně pomalejší rytmus, v němž žije vědecká veřejnost, však události teprve na podzim minulého roku pokročily do další fáze předáním Nobelovy ceny Stanleyemu Prusinerovi za objevení a charakterizaci infekčního proteinového agens, všeobecně známého pod názvem *prion* (proteinaceous infectious particle).

Prusinerovy zásluhy počínají rokem 1972, kdy se rozhodl přijmout a otestovat hypotézu, že těžká neurodegenerativní choroba, na niž zemřel jeden z jeho pacientů, může být způsobena pouze bílkoviny. O deset let později, v roce 1982, Prusiner spolu se svými pracovníky připravil čistý preparát s infekčním agens způsobujícím neurodegenerativní one-



1. Protein PrP A. Normální buněčná forma PrP^C s velkým podílem α -šroubovice. B. Prionová forma PrP^{Sc} se zvýšenou mírou konformace β -skládaného listu. Podle S. B. Prusiner, 1996

mocnění křečků a podle všech dokladů preparát obsahoval pouze bílkovinu (viz rámeček na této straně). O dalších patnáct let později již znali v Evropě označení prion snad všichni čtenáři novin a rok po aféře s britským hovězím přibýlo Prusinerovo jméno na seznam laureátů Nobelovy ceny.

Historie prionů však začala v Anglii 30. let studiem ovčích nemocí scrapie a pokračovala v 50. letech na ostrově Papua Nová Guinea, kde pozoroval D. C. Gaj-

Mgr. Zuzana Storchová (*1970) vystudovala Přírodovědeckou fakultu UK v Praze. Na katedře genetiky a mikrobiologie této fakulty se zabývá zejména molekulární biologii kvasinek. (e-mail: zuzana@prfdec.natur.cuni.cz)

O PŘIROZENOSTI PRIONOVÉHO INFEKČNÍHO AGENS

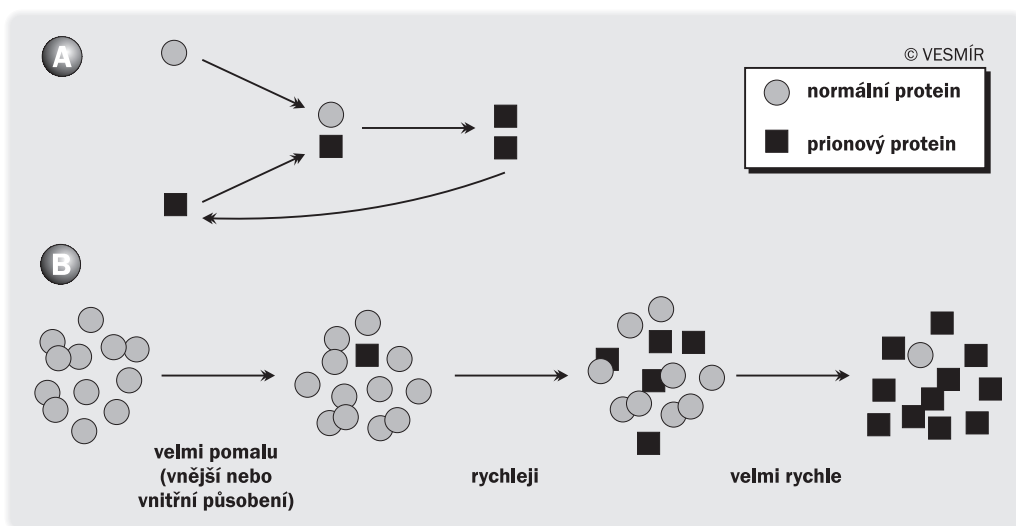
Ne všichni „prionologové“ jsou jednoznačně přesvědčeni, že S. B. Prusinerem obhajovaná „proteinová“ teorie, předpokládající infekčnost čistého proteinu bez přispění nukleových kyselin, může vysvětlit všechny rysy prionových onemocnění. Nikomu se totiž zatím nepodařilo provést definitivní důkaz tohoto tvrzení – tedy uměle připravenou abnormální formou prionového proteinu (PrP^{Sc}), která nikdy nepřišla do styku s infekčním materiálem, úspěšně nakazit laboratorní zvíře. Zdařilo se zatím jen přeměnit buněčnou „zdravou“ formu prionového proteinu (PrP^C) na formu odolnou proti proteázám (enzymům štěpícím bílkoviny), což je charakteristická vlastnost infekční formy prionového proteinu (PrP^{Sc}). Jenomže také nikdo dosud neprokázal, že mezi odolností vůči proteázám a infekčností je přímá souvislost, přestože experiment provedený *in vitro* byl v souladu s některými jevy pozorovanými *in vivo* (např. s mezidruhovou bariérou či existencí rozdílných prionových kmenů – viz text článku).

Infekční materiál izolovaný z mozků zvířat s příznaky prionového onemocnění má několik zvláštních vlastností. Předně jde o nerozpuštěný agregát, který denaturován a poté znovu renaturován ztrácí schopnost vyvolat u experimentálního zvířete prionové onemocnění. Co se týká nukleových kyselin, popis infekčního prionového agens se omezuje na konstatování, že pokud je v něm obsažena nukleová kyselina, musí být velmi vzácná a kratší než 100 nukleotidů – její přítomnost však není vyloučena! Další komplikací „proteinové“ teorie je i fakt, že infekční jed-

notka (nejnižší počet molekul prionového proteinu nutného k úspěšnému přenosu na organismus) odpovídá nejméně 100 000. Je snad infekční činitel přenosný pouze v agregované formě, která v sobě skrývá strukturální informaci pro přeměnu „zdravé“ buněčné formy prionového proteinu PrP^C na formu infekční PrP^{Sc}? Nebo je infekčním činitelem velice vzácná forma prionového proteinu, která se vyskytuje jediná mezi 100 000 obvyčejnými? PrP^C totiž patří mezi glykosylované membránové proteiny, u nichž jsou na proteinovou kostru připojeny různé pospojované cukerné zbytky, kterých může být v případě PrP^C více než 400 různých kombinací. Možná právě varianta v glykosylaci je to, co rozhoduje o infekčnosti. Navíc je prionový protein opatřen poměrně unikátní posttranslační modifikací – tzv. GPI kotvou, která může mít nejméně šest různých uspořádání...

I přes výrazně převládající víru v „proteinovou“ teorii, v jejímž duchu je prováděna většina experimentů a jejíž hegemonii potvrdilo i letošní udělení Nobelovy ceny, jsou vzácně publikovány a ještě vzácněji citovány i „heretické“ výsledky. V květnu roku 1995 byl například v prestižním Proc. Natl. Acad. Sci. (což je renomovaný časopis americké Národní akademie věd) publikován článek nazvaný provokativně „Virové částice jsou nezbytné pro infekční přenos neurodegenerativní Creutzfeldovy-Jakobovy choroby“. V něm se poměrně přesvědčivě dokazuje, že infekčním činitelem jsou částice s podobnými fyzikálně chemickými vlastnostmi, jako mají viry. Autoři prokázali, že prionový infekční materiál obsahuje nukleové kyseliny spolu se specifickými proteiny a že naopak velice čistý prionový protein vykazuje jen minimální infekčnost! Jan Černý

2. Model řetězové reakce. A. Pravděpodobný mechanismus šíření změněného tvaru prionového proteinu. B. Dynamika rozvoje prionového onemocnění.



dusek nemoc kuru, přenášenou rituálním požíváním mozku zemřelých členů kmene. Již tehdy si vědci uvědomovali, že původce nemoci musí patřit do nějaké hodně zvláštní skupiny patogenů. Neobvykle dlouhá inkubační doba, dramatický průběh s podivnými příznaky a netypická epidemiologie, to vše nasvědčovalo možnosti objevení nových infekčních činitelů.

Dnes jsme samozřejmě v znalostech podstatně pokročili, a to mimo jiné díky systematické práci S. B. Prusina. Bylo by však předčasné domnívat se, že jediná nezodpovězená otázka, která nám u studia prionů ještě zůstala, se týká léků proti prionovým onemocněním.

Prionová onemocnění

Jako prionové onemocnění dnes označujeme všechny ty nemoci, které jsou způsobeny abnormálním metabolismem a konformací, tedy trojrozměrnou stavbou prionového proteinu PrP s jeho následným hromaděním v buňce (viz tabulku na straně 19). Normální prionový protein zdravé buňky (PrP^C – celulární) je u nemocných jedinců změněn na typ se zcela odlišnou trojrozměrnou strukturou (obr. 1). Tyto změny způsobují, že PrP^{Sc} (Sc znamená scrapie, prionové onemocnění ovcí) je na rozdíl od PrP^C nerozpustný a odolný proti enzymům štěpícím proteiny (proteázám). V této téměř nezničitelné podobě se PrP^{Sc} hromadí v buňce, ovlivňuje její fungování a v konečném důsledku způsobuje zřejmě degeneraci nervové tkáně.

Zmíněné vlastnosti nejsou nijak neobvyklé – proteiny mohou mít různé prostorové uspořádání, které může podstatně ovlivňovat jejich funkci (viz dále). Nejdůležitější a nepřekvapivější vlastností PrP^{Sc} je jeho **infekčnost**, tedy schopnost jakéhosi „rozmožování“ a šíření. Tato schopnost je zajištěna velmi neobvyklým způsobem: abnormální protein interaguje s normálním buněčným proteinem PrP^C a změní jeho strukturu. Z počáteční dvojice jednoho funkčního a jednoho změněného proteinu vzniknou tedy dva změněné, které se mohou zase oddělit a spojit s dalšími normálními buněčnými proteiny (obr. 2). Vinou této „řetězové reakce“ teoreticky stačí vnést do buňky jediný abnormální protein, který bude převádět správné bílkoviny na nesprávné a tak způsobí rozvoj onemocnění. A jen vinou této schopnosti může být nemoc přenosná čistým bílkovinným preparátem (viz rámeček na str. 15), ale také hormonálními léčebnými přípravky izolovanými z mozkové tkáně nebo nedostatečně sterilizovanými mozgovými elektrodami.

Infekčnost bílkovinného preparátu je tedy zajištěna vnesením jakéhosi „semene“ (viz obr. 2 a citaci Kurta Vonneguta na str. 18), které změní své okolí k obrazu svému. Toto „semeno“ se může objevit ve zdravé buňce třemi různými způsoby. Mezi obyvatelstvem vyvolal paniku první možný způsob: přenos infekčního proteinu prostřednictvím masa, respektive jakéhokoliv biologického materiálu z mrtvol. V mrtvých tělech možná dochází k přeměně PrP^C na PrP^{Sc} spontánně, a tyto nefunkční proteiny se mohou dostat do mozku živého organismu po konzumaci kontaminovaného jídla nebo např. léčebným užitím mozkových preparátů. O tom, zda k nákaze dojde, rozhoduje zřejmě podobnost prionového proteinu různých druhů organismů. Lidský a hovězí PrP jsou si poměrně podobné, takže se navzájem rozeznávají a může dojít k řetězové reakci přeměny PrP^C na PrP^{Sc}.

Prionová neurodegenerativní onemocnění však mohou být i dědičná. K jejich rozvoji dochází u těch jedinců, kteří zdědili poškozený gen *PrP*, jehož bílkovinný produkt je nestabilní a sám přechází do abnormálního tvaru. Třetí možnost rozvoje prionového onemocnění jsou tzv. náhodná či sporadická onemocnění, kdy v buňkách vznikají priony spontánně nebo vlivem mutace. Tyto případy, jak už jejich název naznačuje, nejsou příliš obvyklé, nicméně jed-



3. Stanley B. Prusiner (*1942) absolvoval medicínu na Pensylvánské univerzitě. Od roku 1984 je profesorem na Kalifornské univerzitě v San Francisku. Svou práci v oblasti prionových onemocnění započal r. 1972 poté, co zemřel jeden z jeho pacientů na Creutzfeldovu-Jakobovu chorobu (CJD). Již tehdy existovalo mnoho teorií popisujících nemoci, jako jsou CJD, kuru a další, včetně té pro tehdejší odborný svět nefantastičtější, při které infekční částice postrádají nukleovou kyselinu. Prusiner začal s identifikací patogenu a po deseti letech získal spolu se svými kolegy čistý preparát infekčních částic. Všechny experimenty potvrzovaly, že jde o jediný protein, který Prusiner nazval *prion*. Ostatní vědci se k objevu stavěli spíše skepticky, Prusiner však dále pokračoval ve studiu detailů biologie prionů.

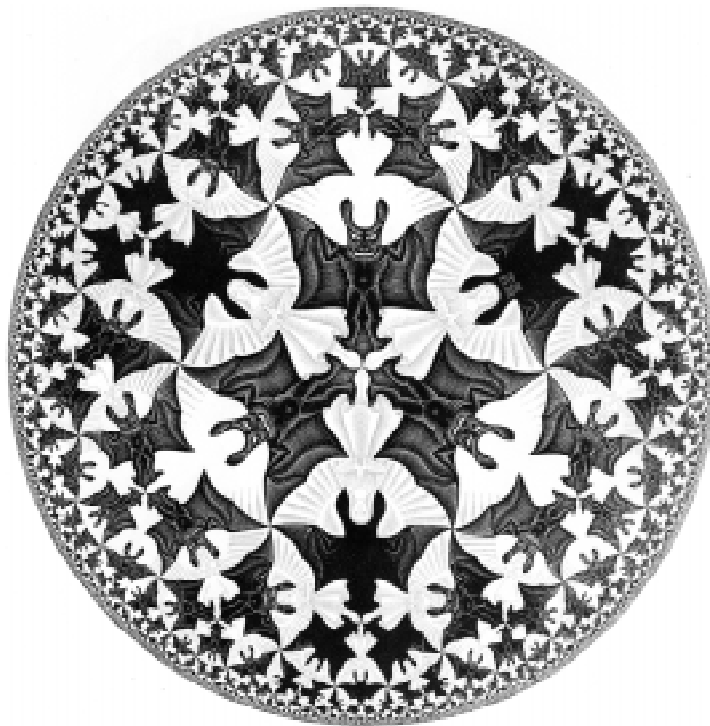
noznameně dokazují možnost spontánního přechodu PrP^c na abnormální formu.

Přenos prionového onemocnění

Priony byly až donedávna jen jakousi zajímavostí, kuriozitou pro zvědavé vědce. Změna, provázená mediálním pobouřením a politickými projevy, nastala po zjištění, že onemocnění např. Creutzfeldovou-Jakobovou nemocí nemusí být jen tvrdou ranou osudu, ale například trestem za zálibu v krvavých biftecích. Důsledkem tohoto zjištění bylo intenzivní studium přenosu prionového onemocnění mezi různými druhy organismů. A jak historie už mnohokrát potvrdila, důkladné štourání do problému přineslo jen řadu dalších otázek.

Mezidruhový přenos prionového onemocnění je vždy spojen s prodloužením inkubační doby. Jaká je příčina této tzv. „mezidruhové bariéry přenosu prionového onemocnění“? Pochopitelně hlavní je již zmiňovaná podobnost PrP u zdroje prionů a u jejich příjemce. Mimoto ale bylo zjištěno, že priony tvoří tzv. kmeny. Co se rozumí pod pojmem „prionový kmen“? Jednotlivé prionové bílkoviny, kterými se vědci snaží nakazit myši nebo křečky, se od sebe pravděpodobně odlišují v trojrozměrném uspořádání (dosud neprokázáno), ale rozhodně si uchovávají značný rozdíl v délce inkubační doby, v průběhu onemocnění i ve výběru zasažených míst v mozku. Je možné, že by biologická informace byla dlouhodobě přenášena něčím jiným než nukleovou kyselinou? Jak se uchovává trvalá rozdílnost v inkubačních dobách nemocí jednotlivých prionových kmenů i další „kmenově specifické vlastnosti“? Nehraje zde roli dosud neznámý faktor, například glykosylace (navěšování cukerných zbytků na bílkovinu), nebo dokonce přítomnost nějaké nukleové kyseliny (viz rámeček na s. 15)?

To ale není konec všem otázkám, které se při studiu přenosu prionového onemocnění objevily. Někte-



4. Změna andělů v dáblů: metafora prionů?
M. C. Escher: Cirkellimiet IV, z knihy Grafika a kresby

rá nová pozorování lze totiž vysvětlit pouze pokud přijmeme existenci ještě dalšího neznámého faktoru X. Tento faktor je pravděpodobně bílkovina a patří zřejmě do skupiny proteinů usnadňujících, či přímo určujících poskládání bílkovin do správného tvaru. Bez jeho pomoci zřejmě nemůže dojít ke změně konformace prionového proteinu a vůbec se nedá vyloučit

BIOLOGICKÁ FUNKCE PRIONOVÉHO PROTEINU

Víc otázek než odpovědí

V roce 1984 vědci odhalili hlavní složku prionového infekčního činitele (izolovaného z křeččího mozku a schopného přenést prionové onemocnění na další jedince) – a byla to k všeobecnému překvapení bílkovina kódovaná křeččím genomem. Postupně bylo prokázáno, že i v případě dalších prionových onemocnění jiných druhů zvířat a člověka je tato bílkovina, označovaná jako PrP (prionový protein), majoritní složkou infekčního materiálu. Vyskytuje se ve dvou formách: abnormální PrP^{Sc}, považovaný za infekční, je nerozpustný, vytváří agregáty a je rezistentní k některým proteázám. Organizmu vlastní, tzv. buněčná forma prionového proteinu PrP^C má zcela odlišné vlastnosti: je zakotvena v membráně pomocí tzv. GPI-kotvy, je citlivá k proteolytickému štěpení a vyskytuje se na povrchu řady buněk, v hojném počtu např. v nervové tkáni nebo na některých typech lymfocytů.

Tzv. „proteinová“ teorie předpokládá klíčovou roli prionového proteinu v patogenezi prionových onemocnění. Co je však skutečnou příčinou poruch funkce nervového systému při prionových onemocněních? Je za ně odpovědný PrP^{Sc}, který se během onemocnění stále vytváří na úkor PrP^C a je schopný při přílišném nahromadění zahubit buňku, popřípadě spustit programovanou buněčnou smrt dalších buněk, aktivovat mozkové astrocyty či některé typy lymfocytů, jak vyplývá z výsledků některých experimentů? Nebo je snad příčinou neurodegenerativních změn snížené množství PrP^C v membránách nervových buněk po přeměně v PrP^{Sc}?

Přes množství provedených experimentů na tyto otázky dosud nemáme jasnou odpověď. Navíc ani neznáme přesnou fyziologickou funkci PrP^C. Lokalizace do vnější-

ho listu cytoplazmatické membrány by poukazovala na možnou receptorovou, signalizační nebo transportní funkci. *In vivo* však nebyla nalezena žádná možná látka využívající PrP jako receptor.

V několika laboratořích byly též připraveny myši neschopné syntetizovat PrP^C. Výsledky těchto pokusů jsou však rozporné. Nejstarší práce překvapivě nalezly žádné patologické změny u jedinců bez PrP^C, další odhalily poměrně nevýrazné změny v některých mozkových charakteristikách u starých myši – v synaptické inhibici či tzv. dlouhodobé potenciaci spojené s krátkodobou pamětí a učením. Nejnovější experimenty provedené s jinými kmeny myši odhalily výrazné změny v chování a neuropatologické změny u jedinců bez PrP^C. V jednom z těchto experimentů byla u myši starých 70 týdnů pozorována ztráta Purkyňových buněk, porušení a částečné poruchy koordinace pohybů, v jiném měly myši narušeny cirkadiální cykly a spánkový režim... Co však bylo všem jedincům bez PrP^C společné? Nebylo je možné infikovat prionovým infekčním činitelem, což podporuje představu o nezbytnosti PrP^C pro patogenezi prionových onemocnění. Bohužel se však nepotvrdila ideální možnost preventivní genové terapie prionových onemocnění umlčením genu pro PrP^C. Takto připravení mutanti totiž v některých experimentech vykazují patologické projevy připomínající samotná prionová onemocnění. Navíc je možné, že skutečně, ještě výraznější změny spojené s nepřítomností prionového proteinu jsou během ontogeneze „maskovány“ proteiny schopnými PrP^C nahradit. Jednoznačným testem funkce PrP^C a vlivu jeho nedostatku na organismus by bylo cílené vypnutí syntézy tohoto proteinu v dospělém jedinci, což je díky pokroku molekulární genetiky dnes možné a jistě se na tom usilovně pracuje.

Jan Černý

PRIONY U KVASINEK

Sup35p, produkt už dlouho známého genu *SUP35*, je součástí translačního terminačního faktoru, který ukončuje překládání mRNA na protein. Tento terminační faktor rozeznává na mRNA (která je vždy o něco delší, než by délka proteinu vyžadovala) STOP-kodon, jenž upozorňuje, že předpis pro syntézu nějaké bílkoviny už skončil a dál překládat už nemá smysl. Kvasinky s porušeným terminačním faktorem „pročítají“ i za kodony STOP, takže vznikají bílkoviny prodloužené o nepotřebné aminokyseliny, což není moc praktické. Na druhou stranu, takováto kvasinka má schopnost pročítat i kodony STOP vzniklé náhodnou chybou, takže může potlačit (SUPrimovat) účinky některých typů mutací, což naopak docela praktické je. Kvasinky s fenotypem PSI⁺ rostou trochu pomaleji než kvasinky normální, a jsou poměrně odolné vůči různým mutagenům. Poněkud méně zřetelné indicie svědčí i pro prionový charakter URE3 determinanty. URE3 fenotyp, který se projevuje schopností kvasinky metabolizovat nejrůznější typy zdrojů dusíku, je zřejmě způsoben neobvyklou konformací regulátoru metabolismu dusíku kódovaného genem *URE2*. I v tomto případě kvasinka s fenotypem URE3 roste poněkud pomaleji, ale zase téměř s jakýmkoliv zdrojem dusíku. A i v tomto případě je prionová povaha Ure2p nejjednodušším vysvětlením zjištěných skutečností. Z. S.

jeho další role ve vzniku a regulaci hromadění prionů. Jaký má vliv na přenos onemocnění a zda jej vůbec má, to samozřejmě není dosud jasné.

Zatím jsme mluvili převážně o pozmeněné struktuře prionového proteinu, která způsobuje degeneraci nervové tkáně. Funkce buněčného PrP^C je ale v celém tomto případě dalším velkým otazníkem (rámeček na s. 17). PrP^C je membránový protein přítomný v relativně vysokém množství v nervových buňkách, a bez nějaké zjevné důležité funkce. Myši postrádající tento protein se těší víceméně klidnému životu, stejně jako buňky podobně „opravených“ ovcí.

Priony u kvasinek

Zkusme si pojem prion rozšířit i na jiné proteiny, na všechny ty, které jsou schopny aktivně měnit svou strukturu a v závislosti na ní i svou funkci. Takovéto priony (také označované jako „prionům podobné“, prion-like) byly nedávno k velkému překvapení objeveny u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Ziskaná data sice nejsou zcela jednoznačná, ani se nedá říci, že by v existenci kvasinkových prionů všichni odborníci uvěřili, nicméně pro pozorované fenomény je to zatím nejjednodušší vysvětlení.

Už dost dávno bylo u kvasinek zjištěno, že některé populace buněk mají zvláštní schopnost potlačovat účinek některých typů mutací. Tato vlastnost, označovaná jako PSI⁺, není dědičná podle mendelovských pravidel, ale získají ji vždy všichni potom-

[...] Nicméně teoretickým viníkem bylo to, čemu dr. Hoemaker říkal „semeno“. Měl tím na mysli nepatrnou buňku nežádoucí krystalové struktury. Semeno, které se vzalo bůhvídkud, naučilo atomy zbrusu novému způsobu, jak se seskupovat a vázat, jak krystalizovat, zamrzat.

„A teď si znovu představte dělové koule na trávníku před radnici nebo pomeranče v bedně,“ vyběhl mě [dr. Breed, pozn. red.]. A pomohl mi pochopit, že uspořádání nejspodnější vrstvy dělových koulí či pomerančů určuje, jak bude seskupena a vázána každá vrstva následující. „Spodní vrstva je právě to semeno, které stanoví, jak se zachová každá další dělová koule nebo každý další pomeranč, a tak dál, třeba až do nekonečného množství dělových koulí a pomerančů.“

„A nyní předpokládejme,“ a dr. Breed se zajíkl smíchem, rozradostněn sám sebou, „že by voda mohla krystalizovat, zamrzat několika různými způsoby. Dejme tomu, že druh ledu, na kterém bruslíme a který si dáváme do whisky – můžeme mu říkat *led typu 1* – je pouze jedním z několika druhů ledu. Dejme tomu, že voda na Zemi zamrzá vždy pouze jako *led typu 1*, neboť se nikdy nevyskytl semeno, které by ji naučilo, jak tvořit *led typu 2*, *led typu 3*, *led typu 4*...? A dejme tomu,“ zabušil znovu svou stařeckou rukou do stolu, „že by existoval druh, kterému budeme říkat *led typu 9* – krystal tvrdý jako tenhle stůl – s bodem tání řekněme čtyřicet stupňů Celsia, nebo ještě lépe s bodem tání pětadesát stupňů.“

„Prosím, zatím tomu pořad rozumím,“ řekl jsem.

Kurt Vonnegut: Kolíbka. Mladá fronta, Praha 1976

ci. Z toho jednoznačně vyplývá, že fenotyp PSI⁺ musí způsobovat nějaký faktor přítomný v cytoplazmě. Dlouho se nedařilo zjistit původce fenomenu PSI. Teprve počátkem let devadesátých se ukázalo, že vlastnost PSI⁺ je způsobena neobvykle složeným proteinem Sup35p (viz rámeček na této straně).

Jedno z možných vysvětlení pozorovaných jevů předpokládá prionový charakter Sup35p. Podle něj je tento protein schopen zaujmout dvě různá prostoro-ová uspořádání, z nichž každé má poněkud jinou funkci. Prionový protein s porušenou funkcí může interagovat s normálním proteinem a vnutit mu svůj tvar, a tedy i funkci. Důkazů je proto hned několik, i když žádný není přímý. Například buňky PSI⁺ mohou přejít na fenotyp psi⁻ a zpět zcela spontánně, i když to dělají jen zřídka. Faktory, které způsobují mutace v DNA, nemají na přechod PSI⁺ – psi⁻ žádný vliv – naopak faktory ničící bílkoviny tento vliv mají. Podobně jako u lidských prionových onemocnění byly i v tomto případě nalezeny takové mutace, které zvyšují pravděpodobnost přechodu ze stavu normálního do stavu změněného. Navíc, abnormální forma proteinu Sup35p vytváří v buňce rozsáhlé agregáty (podobně jako priony v buňkách mozků šílených krav) a nemůže vykonávat svou obvyklou funkci.

Nicméně dědičnost „prionového“ fenotypu u kvasinek je poněkud ovlivňována i činidly působícími na nukleové kyseliny. Podobné skutečnosti byly zjištěny i u savčích prionů (faktor X, viz výše) a způsobily počátkem 90. let mírnou paniku, že se ta krásná a Nobelovy ceny vskutku hodná teorie bude muset zahodit. Do hry ale místo toho vstoupily další proteiny s neobvyklým jménem chaperony (*chaperon* – francouzsky gardedáma, obr. 6), které zabezpečují správný tvar proteinů vytvářených v buňce.

Chaperony: od tvaru k funkci

Pro správnou funkci bílkovin je důležité nejenom pořadí aminokyselin, které protein tvoří, ale i prostorová struktura, již bílkovina zaujme. Tato struktura je samozřejmě na pořadí aminokyselin závislá, ale nikoliv absolutně. U mnohých bílkovin lze vyměnit řadu aminokyselin, aniž bychom narušili jejich tvar, a tak i jejich funkce zůstává neporušena (pokud samozřejmě nebylo pozmeněno nějaké klíčové místo). Jenže průměrná bílkovina se může v prostředí buňky svinout hned několika různými způsoby a jen jeden z nich je správný.

Představme si, jak vlastně ke vzniku proteinu v buňce dochází. Ribozomy (supramolekulární útvary tvořené RNA a bílkovinami) překládají podle instrukcí mRNA dědičný text DNA do jazyka proteinů – posouvají se po molekule mRNA a zároveň z nich „vylézají“ nově vznikající bílkovina. Bílkoviny by podle fyzikálních zákonů měly v buňce zaujímat tvar o nejnižší volné energii – tedy energeticky nejstabilnější. Bílkovina ovšem vzniká postupně – a nejstabilnější tvar první poloviny bílkoviny může být zcela odlišný od nejstabilnějšího tvaru bílkoviny celé! Jakmile však první část bílkoviny zaujme nějakou energeticky výhodnou podobu, nemůže se po dosyntetizování jednoduše přesunout do podoby nové – musela by totiž „přelézt energetickou horu“ mimořádně nevýhodného a nestabilního prostorového uspořádání, jakým je rozvinutá bílkovina.

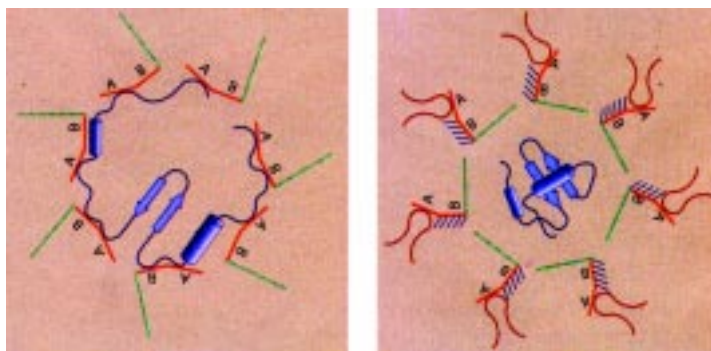
Mnohdy to nevedí – naopak, tvar zaujatý bílkovinou díky tomu, že byla vytvářena postupně, je ten správný. Jindy však na nově vznikající bílkovinu hned kousek od ribozomu číhají chaperony, které ji složí do toho jediného správného tvaru (obr. 5). Chaperony ale dovedou i další věci – například mohou

znovu správně poskládat, a tedy i obnovit funkci bílkoviny ničené například teplem nebo jiným denaturčním činidlem. Není tedy divu, že mnoho chaperonů patří do rodiny tzv. heat-shock proteinů (hsp), jejichž tvorba je vyvolána vystavením buněk tepelnému či jinému stresu.

Právě chaperony této veliké proteinové rodiny se podílejí na projevu fenotypu PSI⁺ u kvasinek. Také lidský prionový protein interaguje s chaperony savčích buněk a v kultuře savčích prionových buněk pravděpodobně dochází ke změnám v jejich tvorbě i funkci. Do kategorie chaperonů zřejmě patří i výše zmiňovaný protein X. Účast těchto proteinů jednoznačně potvrzuje důležitost prostorové struktury PrP v rozvoji prionového onemocnění, i když jejich přesná role zůstává zatím nejasná.

Kolik fenotypů z jednoho genotypu?

Vraťme se zpátky k prionům, k těm unikátním proteinům, které mohou zaujímat dva různé tvary (kdy je-



5. Schematický model struktury a funkce chaperonů. Vlevo: Chaperony drží nově vyrobenou bílkovinu. Vpravo: Změnou vlastní struktury a interakcí s dalšími pomocnými molekulami chaperon zabezpečí správné svinutí bílkoviny. Podle Nature 388, 721, 1997

nosti prosazování dědičných změn do DNA by se tato možnost zdála být veskrze praktická. Z tohoto hlediska jeví se prionová onemocnění spíše jako porucha regulací v buňce než nákaza novým nebezpečným patogenem.

Vědomostí o prionových proteinech máme už hodně, ale mnohem více nám zůstává nezodpovězených otázek. A ty, jak známo, dosud žádná Nobelova cena nevyřešila. □

6. Krystalická struktura chaperonu (komplex GroEI-GroES). Kresba © Lenka Káčhová



prionová onemocnění člověka	
kuru	rituální kanibalismus
vnesená Creutzfeldova-Jakobova nemoc (CJD)	nákaza např. mozkovými elektroдами a léčebnými preparáty získanými z mozku (hormony atp.)
infekční CJD	přenos nakaženým hovězím masem?
dědičná CJD	dědičná mutace v genu PrP
náhodná CJD	somatická mutace v PrP nebo spontánní konverze PrP ^C na PrP ^{Sc}
Gerstmannův-Strausslerův-Scheinkerův syndrom	dědičná mutace v genu PrP
dědičná fatální nespavost	dědičná mutace v genu PrP
prionová onemocnění zvířat	
scrapie (ovce)	spontánní konverze PrP ^C na PrP ^{Sc} v ovčích určitého genetického typu
bovinní spongiformní encefalopatie (BSE)	infekce hovězího dobytka masokostní moučkou kontaminovanou priony
přenosná encefalopatie norků	nákaza priony z ovčí a hovězího dobytka
chronická neurodegenerativní onemocnění losů	nejasné
kočičí spongiformní encefalopatie	infekce masokostní moučkou kontaminovanou priony

den může získat převahu nad druhým) a tím i dvě funkce. K čemu by se vlastně tato schopnost proteinů mohla v buňce hodit? Je existence prionů dokladem dalšího patogenního činitele, nebo nám spíše ukazuje nový složitý regulační systém eukaryotických buněk?

U kvasinek umožňuje PSI⁺ potlačit negativní účinek náhodných mutací. Tato vlastnost by se ale stala skutečnou výhodou jen tehdy, kdyby se dala podle okolností vypínat či zapínat. A k tomu zřejmě u kvasinky dochází. Abnormální protein se totiž množí pouze při určitém množství různých chaperonů. Jejich produkce je zase ovlivněna působením tepelného stresu nebo například hladověním. A k hladovění zase může dojít proto, že je nějaký gen nevhodně mutován. Sup35p by v tomto případě mohl být unikátní faktor, který způsobí změny vlastností bez jakékoliv změny genotypů.

V jednoduché kvasince snad vidíme ve zřetelnějších rysech to, co nám ve složitém soukolí lidského organismu může unikat. Možná je aktivní a progresivní zaujímání různých tvarů bílkovinami dosud neznámým regulačním mechanismem jejich funkce, který citlivě reaguje na momentální stav buňky, aniž by předtím vyžadoval změnu záznamu dědičné informace. Vzhledem k téměř byrokratické těžkopád-