



Dědičná informace **pod lupou**

Genetické zákony dědičnosti a plodnosti patří k tématům, kterým se odborníci věnují již dlouhá léta. Nyní však vědec z Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně objevil nový protein ovlivňující párování a stabilizaci chromozomů, což může na tuto oblast vrhnout zcela nové světlo **ptal se Václav Tesář**

Nicola Silva se ve svém výzkumu dlouhodobě zabývá děděním chromozomů z jedné generace na druhou, se zaměřením na fázi meiózy, při které se tvoří pohlavní buňky. Na Biologickém ústavu Lékařské fakulty Masarykovy univerzity objevil protein regulující tvorbu tzv. synaptonemálního komplexu – proteinového „zipu“ sehrávajícího klíčovou roli při párování a stabilizaci chromozomů. BRA-2 je vů-

bec prvním proteinem, u kterého bylo popsáno, že zajišťuje, aby se synapse utvořily pouze tehdy, když chromozomy najdou svého homologního partnera. Jeho objev, publikovaný v magazínu *Nature Communications*, je pozoruhodným vodítkem pro vědce zabývající se výzkumem neplodnosti.

? Meióza a mitóza jsou pojmy, které si leckdo pamatuje ze

středoškolské biologie. Přesto, můžete je přiblížit?

Jde o způsoby, jakými se buňky dělí. Zatímco mitóza se odehrává v běžných tělních neboli somatických buňkách – kožních, svalových a tak dále – během meiózy jsou formovány buňky pohlavní, tedy vajíčka a spermie. Oba procesy pracují s DNA čili s genetickou informací, ale probíhají odlišně. Při mitóze si buňka před dělením zkopíruje DNA a obě nově

vzniklé buňky pak mají naprosto stejnou genetickou výbavu. Meióza je složitější. I při ní se sice DNA nejdřív zkopíruje, ale dělení se během ní odehrají dvě. Výsledkem tak nejsou dvě, ale čtyři buňky, z nichž každá má jen polovinu původní genetické informace. Například člověk má 46 chromozomů, tedy 23 párů – polovinu od matky z vajíčka, polovinu od otce ze spermie. Když dojde k oplodnění, spermie a vajíčko se spojí a DNA se opět doplní do kompletní sady. Aby toto všechno proběhlo úspěšně, DNA se musí rozdělit rovnoměrně, nemůžou vzejít buňky s odlišným počtem chromo-

si navzájem vyměnit informace, což je v případě meiózy zásadní i proto, aby mohla dát vzniknout genetické variabilitě. K tomu dochází skrze tzv. homologní rekombinaci, v podstatě fyzickou výměnu částí DNA mezi dvěma chromozomy. Díky ní vznikají nové kombinace a variace a ve výsledku jsme pak jako lidé velice podobní, ale zároveň každý zcela jiný. Tuhle výměnu informací umožňuje právě synaptonemální komplex.

? Co vás zajímá především?

Dlouhodobě mě zajímá stabilita buněčného genomu a opravy poško-

zené DNA. Když dojde k narušení struktury DNA, buňka aktivuje sérii nouzových reakcí. Poškodit se přitom může jeden řetězec DNA, v horším případě oba. Při mitóze může k poškození dojít chybou zapříčiněnou běžnými metabolickými procesy v buňce, vlivem genotoxických látek, jedů, ale třeba i alkoholu, radiace nebo chemoterapie – podstatou chemoterapie je vyvolat genetickou nestabilitu rakovinných buněk, které postrádají některé z opravných systémů a pak umírají. Zdravé buňky jsou při takové terapii sice také poškozeny, ale dokážou se opravit, případně „spáchají sebevraždu“.

” Díky homologní rekombinaci vznikají nové variace – **proto jsme si jako lidé tak podobní, ale zároveň každý zcela jiný**

zomů. Tuto rovnoměrnost zajišťuje série mechanismů, přičemž my se zaměřujeme mimo jiné na to, jak se mezi chromozomy utvářejí synapse.

? V čem je párování tak zásadní?

Každá vaše buňka obsahuje jeden chromozom od vašeho otce, jeden od matky – říká se jim parentální chromozomy – a jsou si velice podobné, ale ne úplně stejné. A tyto dva chromozomy se musejí najít v poměrně rozlehlém prostředí buněčného jádra, aby se spojily. Jak k tomuto spojení dochází, je přitom jedna z nejzásadnějších nezodpovězených otázek v našem oboru. Dnes už máme nástroje, které nám pohyb chromozomů v buněčném jádru umožňují sledovat. V momentě, kdy se dva chromozomy najdou, dojde na jejich spárování a stabilizaci. To umožňuje tzv. synaptonemální komplex, což je proteinová struktura vyskytující se pouze u meiózy. Tedy, vyskytuje se i u mitotických buněk, ale jen v případě nádorů – řada typů rakovin tak vykazuje expresi meiotických proteinů, ale to bych odbíhal...

? Jak si mám tento synaptonemální komplex představit?

Jako zip – on tak pod mikroskopem skutečně vypadá. Díky tomu, že chromozomy „zapne“ dohromady, mohou

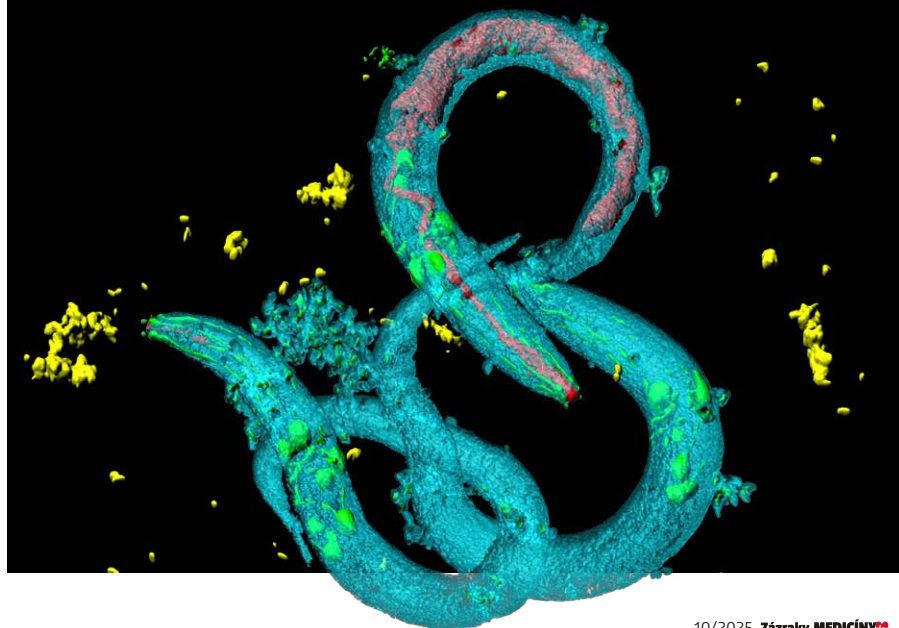
? Jakou to má souvislost s meiózou?

U meiózy k takovým zlomům v DNA dochází za účelem toho, aby si chromozomy mohly vyměnit informace. Následně se ten zlom opraví. To je podstata homologní rekombinace.

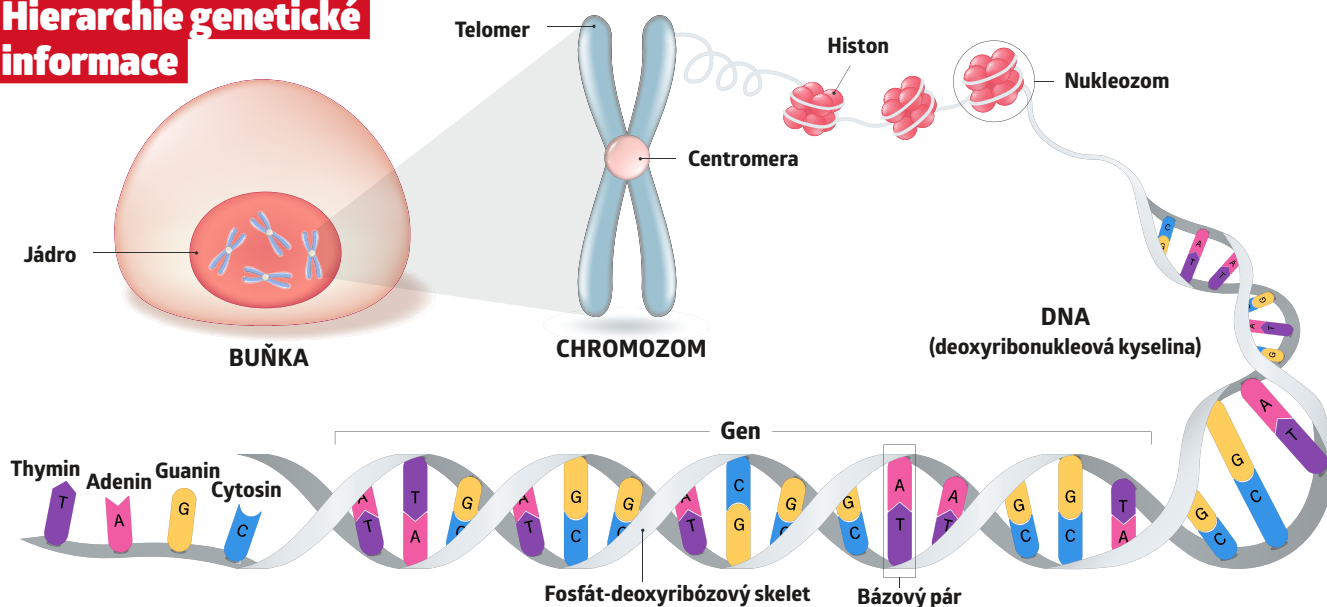
Červík s nobelovkami

Caenorhabditis elegans neboli háďátko obecné je mikroskopický, v půdě žijící hlíst, který se během uplynulého půlstoletí stal jedním z nejvýznamnějších modelových organismů v biologii. Ačkoliv je dlouhý sotva jeden milimetr, přinesl vědě nečekaně mnoho – zejména v oblastech jako je genetika, vývojová biologie nebo neurovědy. Má velmi krátký životní cyklus, je snadno geneticky manipulovatelný a jeho výhodou je krom jiného průhlednost, což umož-

ňuje v reálném čase pod mikroskopem sledovat vnitřní děje živého organismu. V roce 1998 se C. elegans stal prvním mnohobuněčným organismem, u kterého byl kompletně přečten genom. Vědci tak získali důležité poznatky o tom, jak se buňky dělí, komunikují a umírají. Je základem tisíců studií, a dokonce přispěl k získání několika Nobelových cen – mimo jiné pro Sydneyho Brennera, jihoafrického vědce, který háďátko pro vědu „objevil“. ❤



Hierarchie genetické informace



U meiotických buněk se spojení těchto zlomů nazývá crossover a místa spoju se označují jako chiasmata, z latiny kříže, protože se v těchto bodech chromozomy doslova fyzicky překříží. Pokud by chromozomy nebyly spojené těmito chiasmata, nemohly by se dále správně rozdělit na dvě poloviny. Takové nerovnoměrné rozdělení chromozomů by vedlo ke vzniku pohlavních buněk, které často nejsou životaschopné nebo mohou vést k vrozeným vadám.

? V aktuální studii jste se zaměřili hlavně na synaptonemální komplex?

Ano, ale víceméně náhodou. Mě vždy zajímala hlavně homologní rekombinace a to, jak v DNA při meióze vznikají zlomy a jak jsou následně opravovány, protože těch způsobů je celá řada. Stejně tak je spousta příčin, proč chromozomy nevytvářejí správné crossovery. Prostředí buněčného jádra je poměrně chaotické a v průběhu meiózy v něm dochází k re-

organizaci a k sblížování chromozomů, až dokud se proti sobě nepostaví dva chromozomy, mezi nimiž se vytvoří synaptonemální komplex. V tu chvíli přichází na řadu jejich sepnutí tímto zipem, opravdu jakoby z jednoho konce na druhý.

? Vy jste teď zjistili, jak toto zazipování funguje a jakou roli v něm hrají proteiny BRA-2 a HIM-17, z nichž první jste objevili zcela nově, že?

” Pracujeme s jednoduchým modelovým systémem, jenž **zahrnuje všechny klíčové signální a regulační dráhy, které hrají roli i u lidí**



Ano, o významu HIM-17 pro vznik dvouřetězcových zlomů DNA se ví už nějakou dobu, ale dosud nebylo zjištěno, že by se podílel na podpoře párování a synapsí. BRA-2 jsme však objevili až my. Když jsem zakládal výzkumnou skupinu, vytvořil jsem s využitím CRISPR metody, tedy jakýchsi genetických nůžek, funkční linie modelových organismů s několika verzemi pomocných faktorů nezbytných pro vznik dvouřetězcových zlomů DNA, které využíváme k identifikaci nových proteinů, které na tyto zlomy mají vliv.

☑ C. elegans se živí bakteriemi a jinými mikroorganismy a snadno tak může přežívat v laboratoři na agarových miskách, uchovaných při teplotách kolem 20°C

? Jak taková identifikace probíhá?

Obohacujeme vybrané proteiny o tzv. návnady, na které se pak vážou další proteiny. Vybraný protein přitom máme označený, takže ho pak můžeme oddělit od těch navázaných, které s ním interagují, a ty se pak pokoušíme identifikovat pomocí hmotnostní spektrometrie. Takto jsme obohatili HIM-17 a spolu s ním jsme stáhli BRA-2. Vzájemně spolu interagují, i když mechanismus interakce zatím neznáme.

? V čem je váš přístup tak pokrokový, že se vám to podařilo jako prvním?

Nezbytným předpokladem pro nové objevy je mít kvalitní „úlovky“ neboli pull-downy, pro které je zase klíčová vysoká čistota proteinových extraktů z meiotických buněk. Pokud nejsou kvalitní, těžko v nich něco objevíte. My pracujeme s modelovým systémem *Caenorhabditis elegans*, což je malý červík, velice roztomilý, na kterém se

však blíže nepopsaný. Jsou mezi nimi drobné odlišnosti, ale jejich základní proteinová doména ovlivňující funkci je u lidí i u *C. elegans* stejná. Předpokládal bych, že vědci věnující se meióze u savců se proto teď na základě našeho objevu na BRA-2 víc zaměří.

? Vy už jste ale zároveň popsali, jak se HIM-17 a BRA-2 doplňují, že?

O HIM-17 se dosud vědělo jen to, že je důležitý pro tvorbu zlomů, nikdo však dosud neidentifikoval jeho roli v procesu párování chromozomů a tvorbě synapsí. Naše studie je první, která toto přibližuje. Většina vědců, která se zabývá synaptonemálním komplexem, ho studuje na strukturní úrovni, oproti tomu my jsme se zaměřili na regulační mechanismy a to, jak vzniká. Jak se jeho části, vědci už popsané, skládají dohromady. BRA-2 není strukturní součástí synaptonemálního komplexu, reguluje však jeho prodlužování. Synaptonemální

” To, co by nám s myšími modely trvalo roky, zvládneme s *C. elegans* během týdnů

meióza studuje naprosto skvěle. To, co by nám s myšími modely trvalo roky, zvládneme s *C. elegans* během týdnů. Jde o velice jednoduchý modelový systém, ale zahrnuje všechny klíčové signální a regulační dráhy, které hrají roli i u lidí, a díky výzkumu na těchto červech už několik vědců dokonce získalo Nobelovu cenu. Máme práci s nimi docela osvojenou a neustále se mi kvůli spolupráci ozývají kolegové z různých zemí.

? Vyskytují se HIM-17 a BRA-2 i u člověka?

HIM-17 se u člověka nevyskytuje, respektive lidé nemají jeho ortolog. Ortology jsou geny, které pocházejí ze společného evolučního předka a ve dvou různých druzích (například u červa a člověka) často plní stejnou nebo podobnou funkci – i když se jejich sekvence může lišit. Nicméně BRA-2 tento lidský ortolog – označovaný jako ZMYND11 – má, zatím

komplex je totiž v podstatě takové lepidlo, které by bez regulace dokázalo spojit i nehomologní chromozomy, což by byl průšvih. Chromozomy se musejí najít a vždy se musí spojit ten samý chromozom od otce s tím od matky, tedy homologní pár. Musí proto existovat mechanismus zajišťující, že se synaptonemální komplex polymerizuje jen mezi homologními protějšky. BRA-2 je první protein, u něhož jsme doložili, že je pro tento proces nezbytný jako faktor stimulující polymerizaci. V podstatě jakoby dává chromozomům „povolení“ vytvořit synaptonemální komplex – ověřuje, že jsou opravdu homologní.

? Co se děje, když tyto dva proteiny nefungují správně, a co způsobí, že nefungují správně?

Pokud BRA-2 chybí, vytvoří se jen velice malý úsek komplexu, často žádný. Zároveň jsme zjistili, že pro tvorbu komplexu není až tak zásadní HIM-17,

kdo je?**Nicola Silva, PhD.**

Nicola Silva se narodil v jihoitalské obci Maratea a v roce 2009 získal doktorát z molekulární genetiky na přední italské univerzitě Fridricha II. v Neapoli. Působil také na Královské univerzitě v Londýně a na Oddělení chromosomické biologie v Laboratořích Maxe Perutze, ve výzkumném centru molekulární biologie provozovaném společně Vídeňskou univerzitou a Lékařskou univerzitou ve Vídni. Od roku 2019 je profesně doma v Biologickém ústavu Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, kde vede vlastní výzkumnou skupinu. Zabývá se biomedicínskými vědami, molekulární biologii a genetikou, s fokusem na meiózu, tedy buněčné dělení, při němž jsou utvářeny pohlavní buňky. Ve svém výzkumu pracuje s modelovým organismem *Caenorhabditis elegans* neboli háďátkem obecným.



protože když chybí, BRA-2 dokáže převzít jeho úlohu. Dá se říct, že fungují paralelně. Pokud ale chybějí oba, komplex nevznikne vůbec a chromozomy se vůbec nedokážou spárovat.

? Když k některé z těchto chyb dojde, vede to k neplodnosti...

Ano, protože se nevytvoří pohlavní buňky anebo se vytvoří takové, které jsou vadné, protože mají špatný počet chromozomů. U červů pak vidíme, že sice matka naklade vajíčka, ale ta nejsou životaschopná.

? U lidí to může mít jaký vliv?

U lidí věda objevuje neustále nějaké nové mutace negativně ovlivňující plodnost a spousta jich je navázána právě na synaptonemální komplex. Jako vědec zabývající se meiózou můžu říct, že jako lidský druh nejsme v meióze příliš dobří. Občas vůbec nechápu, jak jsme se mohli vyvinout



Kvalita místo kvantity

Z evolučního hlediska patříme my lidé mezi druhy s poměrně nízkou reprodukční účinností. Ačkoliv je člověk biologicky velmi úspěšný (z pohledu počtu jedinců a rozšíření druhu), samotný proces početí a vývoje nového jedince je překvapivě zranitelný. Odhaduje se, že 40-60 % všech lidských embryí zaniká ještě dřív, než se stačí uhnízdit v děložní sliznici. Nejčastější příčinou bývá genetická chyba, konkrétně chyby vzniklé při meióze – tedy při tvorbě pohlavních buněk. Na rozdíl od mnoha jiných živočichů, kteří produkují tisíce nebo miliony potomků s nízkou

šancí na přežití, lidé se vyznačují strategií „kvalita nad kvantitou“. Naše reprodukční strategie klade důraz na vznik několika málo životaschopných jedinců, do jejichž výchovy a přežití investují rodiče obrovské množství času, energie i péče. Tato reprodukční „neefektivita“ a „výběr“ už na úrovni zárodku přitom nejsou výsledkem selhání, ale spíš přirozeného selekčního mechanismu, který má zabránit vývoji embryí s vážnými genetickými vadami. I proto je výzkum buněčného dělení, jako je meióza, klíčový pro pochopení lidské plodnosti a zdraví. ♥

až na takovou úroveň, protože způsob, jakým jsou produkované naše pohlavní buňky, vykazuje značnou míru nepřesností. Nehledě na to, po jak dlouhou dobu jsme této produkce schopni. Muži sice produkují pohlavní buňky celý svůj život, u žen je však toto období omezené, přibývajícím věkem navíc ovlivňuje stabilitu chromozomů, v důsledku čehož dochází k potratům nebo ke vzniku nejrůznějších trizomií. V posledních letech se přitom ukazuje, že přibývajícím věkem hraje roli nejen u žen, ale i u mužů.

? Jak se vůbec liší meióza u mužů a žen?

Meióza u žen je nesmírně komplikovaná, protože začíná už během embryonálního vývoje, kdy dojde k prvnímu meiotickému dělení, přičemž tyto buňky pak několik let „spí“,

” Jako vědec zabývající se tvorbou pohlavních buněk můžu říct, že jako lidský druh v ní nejsme příliš dobří

až do puberty. I proto je věk u žen pro plodnost tak stěžejní – vajíčko se vytvoří tak jako tak, ale s přibývajícím věkem jeho kvalita klesá. Oproti tomu u mužů probíhá meióza v průběhu celého života, a pokud dojde k poruše na úrovni synaptonemálního komplexu, spermie se sice vytvoří, ale nejsou životaschopné.

? Jak tedy můžou ostatní vědci na vaše zjištění navázat a směřovat ho od výzkumu na červech víc k savcům?

U lidí byl ortolog BRA-2, tedy ZMYND11, popisován v souvislosti s některými formami autismu, mentální retardací nebo poruchami učení. Ale třeba u myši je dáván do souvislosti i se sníženou plodností. My jsme teď doplnili další dílek skládačky a je samozřejmě potřeba ověřit BRA-2 i na jiných modelech – protože zatímco některé organismy mohou mutaci tolerovat a růst i s ní, byť neplodně, jiné může zahubit už v děloze. S využitím CRISPR technologie lze cíleně vytvořit mutaci daného genu a sledovat, zda má podobný efekt na tvorbu pohlavních buněk i u nich. Byť to u myši bude mnohem zdoluhavější a finančně náročnější než u červů.

? Lze si představit nějaké praktické využití vašeho objevu už dnes?

Dnes se uvádí, že zhruba každý pátý pár má problémy s početím. Když lidé přijdou na kliniku asistované reprodukce, provedou jim celogenomové sekvenování a analyzují DNA, ale zaměřují se jen na známé mutace. Ve více než v polovině těchto případů je však genom zdánlivě v pořádku, pak se mluví o tzv. idiopatické neplodnosti, kdy je její příčina neznámá. Pokud se ale podaří najít nový protein, který může být příčinou neplodnosti, lze se v diagnostických testech zaměřit i na něj. V jiných případech, jako je ten náš, se lze zaměřit na specifický mechanismus. U červů

ho ovlivňuje BRA-2, u lidí to může být jeho ortolog ZMYND11 nebo nějaký jiný příbuzný protein.

? Což prověřit potrvá ještě mnoho let...

Věda je o stopách, které vedou jedna k druhé a které se dají rozvíjet. Ale je taky o ohromném množství dat, která nedávají žádný smysl. Člověk může strávit spoustu času snahou o jejich pochopení, ale spojí si je, až někdo přijde s nějakou novou studií. Třeba jako je ta naše. ♥