Priony a epigenetická dědičnost

Termín “epigenetika” zavedl v roce 1942 Conrad Waddington. Narážel tím na dva historické pohledy na vývoj organismů – rozbalení zmenšeniny (preformace), nebo vznik nových tkáních postupnými interakcemi složek embrya (epigeneze). Waddington myslel, že by mohlo do jisté míry platit obojí, že je přítomna jak statická složka – genetická, tak dynamická – nějaké vývojové procesy. Epigenetika měla právě studovat tyto procesy, tedy jak z genotypu vzniká fenotyp.

Dnes se jako epigenetika označuje studium mechanizmů, jak pozměněný fenotyp může být zachován i přes buněčné dělení beze změn v sekvenci DNA. Taková dědičnost je méně stabilní než dědičnost zprostředkovaná sekvencí DNA a často reverzibilní.

Co jsou priony

Priony (název prion je složenina “protein infection”) byly objeveny nejprve u savců jako původce Transmisivní spongiformní encefalopatie (infekční encefalopatie, poškozená tkáň obsahuje proteinové shluky, na mikroskopu díry, jako mycí houba). Později byly priony objeveny i v kvasinkách a houbách.

Prion je forma proteinu, při které protein zaujímá nestandardní konformaci. Proteiny v takové konformaci se shlukují do vláken tvořící hmotu – amyloid (chybný název, autor myslel, že jde o škrob, amyloid ale tvoří proteiny). Ve struktuře převažuje beta-skládaný list.

Protein může za nějakých podmínek zaujímat nativní konformaci, za jiných amyloidní, případně prionovou. Mohou i existovat vedle sebe (rovnováha mezi rozpustným proteinem a prionem ve vláknech). Prion-tvořící proteiny jsou podmnožinou amyloid-tvořících proteinů. Navíc ale mají 2 důležité vlastnosti 1) katalyzují přeměnu nativních forem na prionovou formu, na sebe a 2) se při dělení se dostanou do obou (všech?) dceřinných buněk.

Obecněji jsou priony chápány jako původci proteinové dědičnosti, tedy že platí 2) a že nemusí zároveň agregovat, tvořit amyloidní struktury.

Jak priony souvisí s epigenetikou, jak dědičně mění genovou expresi?

Mechanizmus akce je jednoduchý – protože agregují, většinou ztratí svoji funkci (např. již neinhibují); fenotyp je tedy často stejný jako u loss-of-function mutace. Změna fenotypu může také souviset se změnou konformace (např. pokud neagregují).

Dále již víme, že se při dělení dostanou do dceřinných buněk. Zbývá ověřit, jestli to opravdu platí i pro transgenerační (meiotickou) dědičnost, sexuální rozmnožování. Ano, mendelovské pokusy ukazují štěpný poměr 4:0 (S. cerevisiae, ale není to úplně 100% – zdroj adaptivity).

Přenos do dalších buněk se neděje automaticky, priony zpravidla potřebují množství stresových proteinů, např. Hsp104, který rozdělí velké agregáty na menší, aby mohly být transportovány do dceřinných buněk.

Kdy a jak vznikají?

Prionová forma vzniká náhodně. To, jak často vzniká, je závislé na daném proteinu (sekvence, jeho koncentrace), přítomnosti jiných prionů a heat-shock proteinů a na okolních podmínkách (teplotní, osmotický a oxidativní stres, unfolded protein response). Např. prion [PIN+] je nezbytný pro de novo formaci skoro všech dalších prionů v kvasinkách (ale ne pro jejich následné udržení).

Frekvence vzniku (de novo - v buňce nebyla dosud prionová forma) a zániku se prion od prionu liší i o několik řádů, i v závislosti na výše zmíněných podmínkách.

Za schopnost prionů z rozpustné formy agregovat a katalyzovat agregaci dalších odpovídá prion-formující doména, která je bohatá na Q/N aminokyseliny (ale nenašla se nějaká typická

konzervovaná sekvence) a kterou obsahují skoro všechny dosud objevené priony. Stabilitu prionů mohou dále ovlivňovat sekvence i jinde v celém proteinu.

Bioinformatická analýza ukazuje, že mnohé další proteiny obsahují sekvence, které se podobají prion-formujícím doménám již objevených prionů.

Jedna prion-formující doména prionu může dávat vzniknout různým formám – různým "kmenům" – prionu. Ty se mohou lišit např. poměrem množství rozpuštěného a agregovaného proteinu, schopností segregovat se do dceřinných buněk i fenotypem (což může souviset i s tím poměrem).

Příklady prionů

Studie na 700 populací (volně žijících) kvasinek objevila priony v jedné třetině populací. V mnoha případech "vyléčení" buněk od prionu v znamenalo ztrátu výhodného působení prionu – např. umožnění života v kyselém prostředí (kvasinky z bílého vína) nebo rezistence proti antimykotiku fluconazolu. Ukazuje se, že volně žijící populace kvasinek obsahují řadu prionů, a to hlavně od proteinů, které jsou regulátory metabolismu (transkripční faktory a signální proteiny).

[PSI+] je prion proteinu Sup35. Sup35 se účastní terminace translace u stop kodonu. Agregující prionová forma u terminace chybí a tedy normálně neukončuje translaci a způsobuje "read-through" (působí jako nonsense-suppressor). Lze si představit, že to způsobuje velkou změnu fenotypu, samozřejmě závislou na genetické výbavě (projeví se nějaké kryptické variace). Třetina takových fenotypů, způsobených nonsense supresí, se ukázala jako prospěšná (za určitých podmínek). To by mohlo být výhodné ve fluktuujících podmínkách, kdy by mohly v populaci u některých jedinců spontánně vznikat prionové formy, výhodné pro aktuální stav prostředí. Následně by se takových pár jedinců namnožilo, rozšířilo, ale přitom by se nesnížila genetická variabilita (např. jako běžně při fixaci mutace způsobující výhodný fenotyp). Prionová forma by totiž při další změně prostředí (prion by byl opět nevýhodný) mohla zase zmizet.

Při delším působení selekce by ale rovněž mohl být prionový fenotyp geneticky fixován (jak?).

Stojí též za zmínku, že frekvence přepínání mezi normální a prionovou formou je při stresu vyšší (například hůř se sbalující proteiny za vysokých teplot mohou vést k častějšímu vzniku prionu nebo oxidace methioninu zvyšuje náchylnost zaujímat prionovou konformaci u [PSI+]).

[MOD5+] propůjčuje kvasinkám rezistenci vůči antimykotiku fluconazolu. Buňky kultivované s fluconazolem si prion udržely, bez antimykotika prionovou formu postupně ztratily.

Prion [MOT3+] je prionová forma proteinu účastnícího se výběru "životního stylu" kvasinek. Protein normálně reprimuje invazivní vláknitý růst. U některých populací kvasinek prion způsobil invazivní růst, u jiných pozměnil morfologii kolonie.

Prionovou formu indukuje ethanol a naopak se ztrácí při hypoxických podmínkách. To prý sedí na přirozený životní cyklus kvasinek, kdy ve fázi aerobního spotřebovávání ethanolu je výhodné, aby kvasinky byly multicelulární.

Existence [GAR+] prionu závisí na dvou jiných proteinech, z nichž jeden má prion-formující doménu. Po deleci obou genů pro tyto proteiny prion zmizí. Narozdíl od ostatních prionů nepotřebuje Hsp104 k přenosu do dceřinných buněk a netvoří amyloidovou hmotu. Jako prion je tedy zřejmě chápán, především protože jde o proteinovou formu, která se dědí transgeneračně (a nemendelovsky). Pro [GAR+] buňky neplatí glucose-associated represe a mohou tak v přítomnosti glukosy využívat i jiné zdroje uhlíku. Vznik [GAR+] může být zapříčiněn signalizací bakterie Staphylococcus hominis. Z této dereprese pak oba profitují.

Množství prionů objevených v kvasinkách, existence prion-formujících domén v různých druzích po stovky milionů let, přepínání mezi různými – v některých podmínkách výhodnými – fenotypy vznikem a zánikem prionů, kterážto frekvence se zvyšuje během stresu, a netriviální

mechanismy pro segregaci prionů do dceřinných buněk nasvědčují tomu, že by priony mohly být postupně konzervovány během evoluce.