

## VZNIK USPORIADANIA V BUNKE III. ČO SA UČÍME OD KVASINIEK V „DÔCHODKOVOM“ VEKU?

Jedným z procesov nevyhnutných pre život, ktoré vyžadujú schopnosť „správne usporiadať“ zložky bunky, je aj asymetrické delenie, úzko prepojené so starnutím. Kmeňové bunky dávajú vznik špecializovaným bunkám, samé však nepodliehajú diferenciacii, ostávajú „večne mladé“ a schopné delenia. Mikroorganizmy, naopak, tvoria zakaždým mladé potomstvo, poškodenia si uchováva materská bunka.

Hoci prejavy starnutia ľudského tela sú očividné, odhaľovanie množstva komplikovaných dejov, ktoré sa za nimi skrývajú na bunkovej úrovni, už desaťročia zamestnáva laboratória po celom svete. Medzi modelové organizmy, ktoré pomáhajú pochopiť princípy starnutia a genetickej podmienosti dĺžky života, patrí opäť i pekárská kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*.

### Čo je podstatou starnutia?

Jedna z bežných definícií starnutia ho opisuje ako pokles zdatnosti a plodnosti začínajúci po dosiahnutí dospelosti, pod ktorou sa rozumie schopnosť rozmnožovania. Spoločným bodom všetkých teórií starnutia je porušenie štruktúry molekúl a z neho vyplývajúca zmena, neraz strata, ich funkcie. Odlišnosti sú vo vysvetlení, ako a prečo k tomu dochádza.

Podľa jedného zo základných princípov biológie predurčuje genetická informácia všetky biologické procesy od začiatku života až po dospelosť. Často sa však zabúda alebo ignoruje, že ďalšie zmeny organizmu už nie sú riadené geneticky. Predstavme si napr. auto: Hoci bolo vyrobené podľa plánu, neexistuje plán, podľa ktorého sa kazí. Podobne ako kazenie strojov, starnutie organizmov je charakteristické zvyšovaním neusporiadanosť spôsobujúcim hromadenie poškodení a stratu funkcií rôznych jeho častí.

Výhodou živých systémov je, že sa dokážu určitý čas voči nepriaznivým dôsledkom nárastu neusporiadanosť brániť, a to opravovaním a nahrádzaním poškodených zložiek bunky. Opravné mechanizmy však jednak samotné podliehajú poškodeniu, čím klesá ich účinnosť, jednak dokážu naplno vyvažovať hromadenie chýb iba určitý čas. Keďže sú predurčené geneticky, práve prostredníctvom nich gény vplývajú na dĺžku života.

Podľa takzvanej *teórie sebeckého génu* je hlavným poslaním génov doviest' organizmus do stavu, v ktorom má čo najväčšie šance rozmnožiť sa. Z takéhoto hľadiska je dlhovekosť iba vedľajším produktom tohto snaženia.

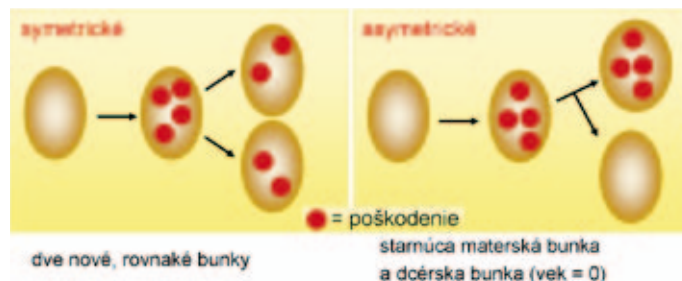
Určenie (maximálnej) dĺžky života teda zahŕňa procesy riadené génmi. Pri jej výskume zisťujeme, prečo organizmus žije tak dlho, ako žije. Naproti tomu starnutie je proces podriadený predovšetkým náhode (a prostrediu) a núti nás pýtať sa, prečo sa všetko časom zhoršuje. Rôzne genetické výbavy umožňujú rozličnú účinnosť a dĺžku pôsobenia proti tomto nevyhnutnému fyzikálnemu deju. Napr. korytnačka sa dožíva neraz i viac než storočie, zatiaľ čo mucha zväčša len pár dní. Aj preto možno chápať starnutie, s jeho špecifickým časom nástupu (čiže dobou potrebnou na dosiahnutie dospelosti)

a dĺžkou i charakterom priebehu, ako súčasť evolučnej stratégie biologického druhu.

### Asymetria ako podmienka starnutia

Starnutie je charakteristické pre všetky organizmy, ktoré majú odlišné telové a pohlavné bunky, ako aj pre mikroorganizmy deliace sa asymetricky. (Donedávna sa predpokladalo, že takéto delenie je výsadou eukaryotických buniek. V skutočnosti sa v evolúcii objavilo už oveľa skôr – jeho nenápadné znaky si vedci nedávno všimli už aj v prípade baktérií.)

Asymetrické delenie sa považuje za nutný predpoklad starnutia buniek. Pri tejto stratégii vyrovnávania sa s poškodeniami, ktoré unikli opravným mechanizmom, sú poškodenia zadržované v materskej bunke a dcérske bunky vznikajú bežne s biologickými hodinami nastavenými na nulu. (Všimnime si podobnosť s mnohobunkovými organizmami, ktorých potomok tiež nededí vek a „opotrebovanosť“ svojho rodiča.) Opačná stratégia spočíva iba v zried'ovaní poškodení pri každom, symetrickom, delení. V tomto prípade, pravdepodobne sa týkajúcom prvých organizmov na Zemi, nemôžeme hovoriť o starnutí: Pri delení totiž z pôvodnej bunky vzniknú dve nové, rovnaké, bunky, teda pôvodná vlastne „zanikne“, nemôže preto zostarnúť. Naopak, pri asymetrickom delení je možné rozoznať pôvodnú materskú bunku a sledovať jej históriu a premeny, ktorým časom podlieha.



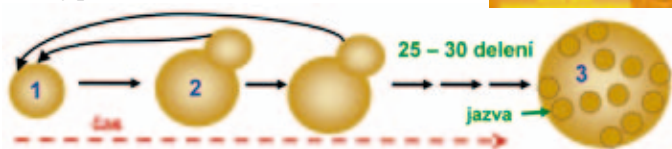
Typy delenia bunky líšiac sa stratégiou, akou čelia poškodeniam

Prečo však evolúcia viedla práve k stratégiám prežitia zahŕňajúcim starnutie? Vysvetlenia viacerých komplikovaných a občas si protirečiacich vedeckých prác možno stručne zhrnúť napríklad takto: Príroda nadraduje zabezpečenie prežitia a maximálnej zdatnosti populácie nad prežitie a stav jedinca. Obmedzené zdroje energie a snaha o maximálnu zdatnosť a plodnosť populácie viedli k vyšším investíciám do schopností a šanci rozmnožovať sa na úkor udržiavania organizmu. Uprednostňuje sa teda vysoká šanca vytvorenia zdravého potomka pred nákladnejšou snahou dokonale ochrániť nestarnúce jedince po celý ich dlhý život.

### Záhľadné faktory starnutia

Čo nám o starnutí prezradili kvasinky? Jedna bunka *S. cerevisiae* je schopná rozdeliť sa iba približne 25- až 30-krát, pričom postupne starne a nakoniec zomiera. Jej dcérske bunky však bežne vznikajú mladé.

Staré bunky kvasiniek spoznáme pod mikroskopom podľa toho, že sú oveľa väčšie než mladé a majú drsný povrch kvôli prítomnosti mnohých jaziev. Mladá bunka sa rozdelí približne za 1,5 hodiny, avšak stará na to potrebuje už 2 – 3 hodiny. Detailnejším štúdiom by sme však odhalili ďalšie rozdiely spôsobené starnutím. Keby sme skúmali reprodukčný potenciál jednotlivých buniek, zistili by sme, že je väčšinou približne rovnaký. Avšak dcéry veľmi starých matiek už nemajú svoje biologické hodiny nastavené presne na nulu, žijú o niečo kratšie a vyprodukujú menej potomstva.



Materská kvasinková bunka sa opakovane delí a starne. Obrázok zachytáva rôzne staré bunky rozpoznateľné podľa veľkosti.

Práve tieto poznatky viedli k predstave, že v materskej bunke sa hromadí akýsi faktor starnutia. Keď je ho už príliš veľa, časť sa dostane i do puku, čo jeho život mierne skrátí. Hoci intuitívne zaň možno pokladať samotné poškodenia, bolo by chybou uspokojiť sa s touto predstavou a nepátrať po iných. Prekvapujúci dôkaz o tom podal práve výskum kvasiniek: Ukázalo sa, že v týchto jednobunkových hubách sú ďalším z faktorov starnutia i malé kružnicové molekuly DNA vznikajúce ako neželaný vedľajší produkt pri určitých procesoch v bunkovom jadre. Dôkazom ich kľúčovej úlohy je najmä fakt, že mutácie postihujúce tieto procesy vedú k značnému predĺženiu života kvasinky práve vďaka tomu, že ju „oslobodzujú“ od hromadenia tohto odpadového produktu.

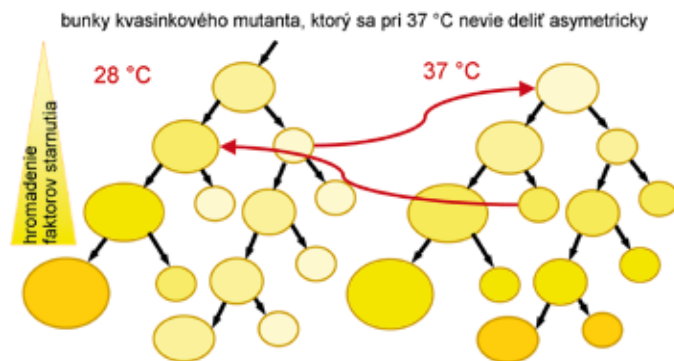
Tak, ako sú tieto malé kružnicové molekuly DNA pri pučaní zadržiavané v materskej bunke, puk neobsahuje ani poškodené (zväčša oxidované) proteíny, porušené organely či mutáciami zasiahnutú mitochondriálnu DNA (ktorej má bunka mnoho kópií, preto je šanca, že niektoré z nich ostanú bezchybné). Zaujímavé je, že dokonca aj samotné reaktívne formy kyslíka (známe aj ako „kyslíkové radikály“), ktoré oxidačné poškodenia spôsobujú, ostávajú v materskej bunke. Ich úlohu v starnutí potvrdzujú pozorovania kvasinkových mutantov, ktorým chýba niektorý z enzýmov chrániacich pred týmto typom poškodení: Starnú rýchlejšie než zdravé bunky.

### Ako odhaliť gény zodpovedné za asymetriu?

Pri hľadaní génov zabezpečujúcich asymetrické rozdelenie faktorov starnutia pri pučaní kvasinky vedci zisťovali, vyradenie ktorých génov túto asymetriu naruší. Keď si však predstavíme dôsledky ich poškodenia, uvedomíme si, že takéto mutanty by sa skúmali veľmi ťažko, pretože by po prípraví rýchlo uhynuli. Génov, ktorých mutácie sú smrteľné, je obrovské množstvo, existuje však trik, vďaka ktorému ich možno skúmať: Použijú sa tzv. kondicionálne (podmienečné) mutanty, čiže také, ktoré majú problém iba za určitých podmienok. Najčastejšie to býva zvýšená teplota.

Podobne postupovali vedci aj v tomto prípade. Pripravili mutanty, ktoré po prenosení na 37 °C pomerne rýchlo starli a zomierali, zatiaľ čo pri bežnej teplote kultivácie (28 °C) žili štandardne dlho.

Hľadané mutanty potrebovali rýchlo odlíšiť od takých, čo pri 37 °C zomierajú z iných príčin, napr. kvôli neschopnosti tvoriť si niektorú z molekúl nevyhnutných pre život. Čím sa takéto bunky výrazne líšia? Mutant neschopný syntézy nejakej molekuly pri 37 °C by po prenose späť na 28 °C znovu túto schopnosť nadobudol a žil by štandardne dlho. Ak by sme však vzali „čerstvo vzniknutú“ bunku mutanta, ktorý pri 37 °C v dôsledku porušenia asymetrie pri delení rýchlo starne, mala by už v sebe veľa faktorov starnutia zdedených od matky, teda po prenose na 28 °C by žila kratšie.



Ak kvasinka stratí schopnosť zadržiavať faktory starnutia v materskej bunke, v populácii postupne miznú neporušené, „mladé“ bunky

Vedci dúfali, že tento pomerne zložitý experiment im pomôže poodhaliť princíp vzniku asymetrie pri delení, možno aj ľudských buniek (hoci tie sa delením i spôsobom života výrazne líšia od kvasiniek). Skutočne to tak niekedy býva, o vedeckom bádani nám však tento príklad napovie viac než opisy výnimočných objavov v dennej tlači. Hľadanie odpovedí vedie zväčša k novým, netušeným otázkam, bez ktorých by však nebolo možné pohnúť sa ďalej.

Uvedeným spôsobom sa zatiaľ podarilo získať len jedného symetricky sa deliaceho mutanta. Pri zisťovaní, aký gén má porušený, transformovali jeho bunky génovou knižnicou. Z tých, ktorým sa obnovila štandardná dĺžka života pri 37 °C, izolovali zodpovedný gén a stanovili jeho sekvenciu. Na ich veľké prekvapenie kódoval jednu z mnohých podjednotiek ATP-syntázy, teda mitochondriálneho enzýmu, ktorý tvorí adenzíntrifosfát (ATP) pri bunkovom dýchaní. Jej súvis s procesom asymetrického delenia ostáva zatiaľ neznámy.

### Dcérska bunka posiela poškodenia späť

Zložitejší experimentálny prístup viedol začiatkom predminulého roka k odhaleniu, že dcérske bunky používajú cytoskelet a molekulový motor na zbavenie sa určitých poškodení: Zhluky porušených proteínov pripnú k myozínu a ten s nimi „odkráča“ po vláknoch aktínu späť do materskej bunky. Známych je už aj veľa iných proteínov zúčastňujúcich sa rôznorodých dejov, ktorých strata vplyva na dĺžku života kvasiniek aj iných modelových organizmov (výnimkou nie je ani jej vyše dvojnásobné zvýšenie).

Dôkladné pochopenie starnutia bude dôležitá nielen z hľadiska snáh o oddaľovanie jeho nepríjemných prejavov. Vyradenie istej vrodenej stratégie vedúcej k bunkovému starnutiu totiž umožňuje „nesmrteľnosť“, ktorá je jednou zo zákerných zbraní rakovinových buniek...

Lenka Abelovská