

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologický program
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Anežka Dědková, DiS

Specializované ribozomy a jejich role v regulaci translace
Specialized ribosomes and their role in translation regulation

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jiří Libus, Ph.D.

Praha, 2020

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli RNDr. Jiřímu Libusovi, Ph.D. za odborné vedení při vypracování bakalářské práce, za pomoc a předání cenných rad.

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů, literatury a dalších odborných zdrojů.

Beru na vědomí, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorského zákona v platném znění, zejména skutečnost, že Univerzita Karlova má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

V Praze dne

Podpis

Abstrakt

Výroba proteinů představuje nepostradatelný článek v procesu genové exprese. Je známo mnoho kontrolních mechanismů, které tento proces regulují a přizpůsobují fyziologickým potřebám buňky. Ribozomy byly dlouho považovány za standardizované stroje, které translatují mRNA vždy stejně. Regulace translace byla podceňována a stála ve stínu specifické transkripce. Použitím nových přístupů se podařilo prokázat, že ribozomy představují heterogenní populaci. Tím se odkryl mnohem širší rozsah mechanismů pro kontrolu translace. Heterogenita propůjčuje ribozomům schopnost přednostní výroby určitých proteinů. Specializované ribozomy jsou tak dalším nástrojem, který umožňuje buňce přizpůsobit se podmínkám prostředí a vývojovému programu

Cílem této bakalářské práce je shrnout dosavadní poznatky a diskutovat význam specializace ribozomů pro buněčné odpovědi.

Klíčová slova: regulace translace, heterogenita ribozomů, ribozomální proteiny, ribozomální RNA, modifikace, specializované ribozomy

Abstract

Protein production constitutes an indispensable part of gene expression. Many control mechanisms are known that regulate this process and adapt it to physiological needs of the cell. Ribosomes have long been considered as standardized machines that always translate mRNA in the same way. Translation regulation was underestimated and remained in the shadow of specific transcription. Using new approaches, it has been shown that ribosomes represent a heterogeneous population. This revealed a much wider range of translational control mechanisms. Heterogeneity gives ribosomes the ability to preferentially produce certain proteins. Specialized ribosomes are thus another instrument that allows the cell to adapt to environmental conditions as well as developmental program.

The aim of this bachelor thesis is to summarize the existing knowledge and discuss the importance of ribosome specialization for cellular responses.

Keywords: translation regulation, ribosome heterogeneity, ribosomal proteins, ribosomal RNA, modifications, specialized ribosomes

Seznam zkratek

5'cap	5' methylguanosyltrifosfátová čepička
aa-tRNA	aminoacyl-tRNA
ADP	adenosindifosfát
ATP	adenosintrifosfát
DBA	Diamondova-Blackfanova anemie
ER	endoplazmatické retikulum
FMRP	protein mentální retardace způsobené křehkým X
GDP	guanosintrifosfát
IRES	vnitřní místo vstupu ribozomu
Met-tRNA	Methionin-tRNA
mRNA	mediátorová RNA
ORF	otevřený čtecí rámec
PABP	poly-A vazebný protein
pre-mRNA	primární mRNA transkript
pre-rRNA	prekurzorová ribozomální RNA
rDNA	ribozomální DNA
ROS	reaktivní formy kyslíku
RP	ribozomální protein
RPG	geny pro ribozomální proteiny
RPL	ribozomální protein velké podjednotky
RPS	ribozomální protein malé podjednotky
rRNA	ribozomální RNA
snoRNA	malá jadéřková RNA
snoRNP	malé jadéřkové nukleoproteiny
tRNA	transferová RNA
uORF	krátké otevřené čtecí rámce
UTR	nepřekládaná oblast na 3' konci mRNA
Ψ	pseudouridin

Obsah

Úvod.....	1
1. Obecná struktura ribozomů.....	3
1.1 RNA.....	4
1.1.1 Post-transkripční modifikace rRNA.....	5
1.2 Ribozomální proteiny	7
1.2.1 Post-translační modifikace RP	9
1.2.2 Paralogické izoformy RP	10
2. Buněčná úloha ribozomů	11
2.1 Biogeneze ribozomu	11
2.2 Translace.....	12
2.2.1 Regulace translace.....	13
2.3 Extra-ribozomální funkce RP	14
2.4 Ribozomopatie.....	18
3. Specializované ribozomy	20
3.1 Specializované ribozomy regulují translaci mRNA	22
3.2 Úrovně ribozomální heterogenity	22
3.2.1 Heterogenita ribozomů na úrovni RNA	23
3.2.1.1 Modifikace rRNA specificky ovlivňují translaci mRNA	24
3.2.2 Heterogenita ribozomů na úrovni RP	25
3.2.2.1 Modifikace RP zvyšují heterogenitu ribozomů	26
3.2.2.2 Paralogické izoformy RP	27
3.2.3 Proteiny asociované s ribozomy.....	28
Závěr.....	30
Použitá literatura	31

Úvod

Ribozomy hrají klíčovou roli v překladu genetické informace do efektorových molekul neboli proteinů. Jejich funkce je univerzální napříč všemi doménami života na Zemi (Simsek et al., 2017). Tento důmyslný stroj syntetizující proteiny podle genetické informace obsažené v molekule mRNA pracuje s velkou přesností a odpovídá za zařazení správné aminokyseliny do proteinu (jedna chyba na 10 000 aminokyselin). Ribozom představuje velký komplex (několik MDa) tvořený ze dvou třetin RNA (ribosomální RNA, rRNA) a jedné třetiny proteinů (ribosomálních proteinů, RP) (Alberts et al., 2008).

Sestavování ribozomů je vysoce komplexní a dynamický proces, kterého se účastní více než 170 faktorů. Tento proces je jedním z hlavních metabolických drah ve všech buňkách (Fromont-Racine et al., 2003). Ribozomy jsou produkovány v ohromném množství. Typická eukaryotická buňka obsahuje miliony ribozomů. Například kvasinky produkují až 2000 ribozomů za minutu (T. M. Schmeing, 2013). Výroba ribosomální RNA (rRNA) zaujímá podstatnou část z celkové transkripce v buňce. Odhaduje se, že celý proces biogeneze ribozomů pokrývá až 60% spotřeby energie buňkou. Nemalá část genomu je věnována genům rRNA, které jsou uspořádány asi ve 150 identických tandemových repetitcích. Kromě rRNA genů patří mezi vysoce exprimované i geny ribosomálních proteinů (RPG). Zajímavé je, že i u organismů s malým počtem intronů (kvasinky) většina RPG obsahuje intron a podléhají tak sestřihu pre-mRNA, což je také energeticky náročný proces. Biogeneze ribozomů tedy hraje významnou roli v buněčném metabolismu (Warner, 1999).

Studium ribozomů je také důležité z hlediska zdravotnictví, jelikož antibiotika jsou často cílena na samotné ribozomy, kde dochází k narušení translace a tím omezení růstu patogenních bakterií (Ramakrishnan, 2002; Tenson & Mankin, 2006). Mutace v genech pro RP nebo rRNA vedou k vážným onemocněním, kterým se obecně říká ribozomopatie. Například vrozená mutace v genu pro RPS19 způsobuje syndrom zvaný Diamondova-Blackfanova anemie, při kterém selhává kostní dřeň a pacient má snížené množství erytrocytů (Narla & Ebert, 2010).

Ribozomy byly dosud považovány za stabilní a strukturně neměnné molekulární stroje na nichž probíhá syntéza veškerých buněčných proteinů. Na ribozomy se nahlíželo jako na homogenní struktury, které nerozlišují translaci jednotlivých mRNA (Xue & Barna, 2012). Avšak nedávné publikace přinesly zajímavé poznatky o ribozomech a jejich

odlišných preferencích v translaci mRNA na základě jejich struktury. Ukázalo se, že ribozom má mnohem variabilnější složení, což může naznačovat novou dimenzi v regulaci translace v závislosti na fyziologických nebo vývojových stavech (Filipovska & Rackham, 2013a; Kearse et al., 2011; Lilleorg et al., 2019; Shi et al., 2017; Simsek et al., 2017; Xue & Barna, 2012).

Dříve byla míra genové exprese přikládána hlavně transkripci, zatímco dnes víme, že velké množství buněčných proteinů je významným dílem řízeno na translační úrovni (Barna, 2013). Mezi transkriptomem (souborem všech mRNA v buňce) a proteomem (souborem proteinů v buňce) jsou významné rozdíly, které jsou v některých případech dány ribozomy a jejich schopností kontrolovat na translační úrovni množství proteinů v buňce. Regulace na úrovni translace umožňuje v reakci na podnět rychlou odpověď genů se stabilní mRNA, ale nestabilním proteinovým produktem. Je známo, že pokud u některých genů není vyžadována rychlá odpověď na podnět, mají stabilní mRNA a především proteiny (Schwanhüusser et al., 2011). Zajímavé je, že u myších embryonálních buněk změny v hladinách jaderných proteinů z velké části nejsou doprovázeny změnami v expresi příslušných mRNA molekul (Lu et al., 2009).

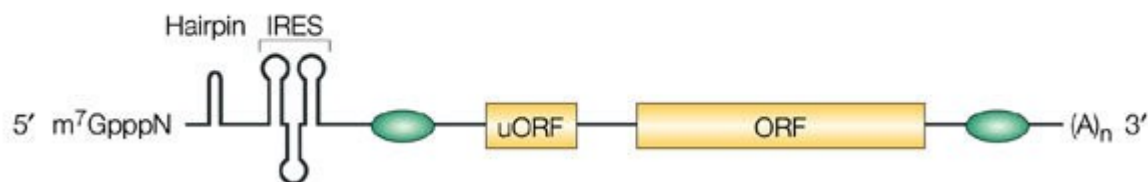
1. Obecná struktura ribozomů

Ribozom je velká ribonukleoproteinová částice syntetizující proteiny ve všech buňkách. Molekulu mRNA používá jako templát, aminoacyl-tRNA jako substrát a výsledným produktem je polypeptidový řetězec (Green and & Noller, 1997; Ramakrishnan, 2002). Každý ribozom se skládá z velké a malé podjednotky, avšak složení jednotlivých podjednotek je u prokaryot a eukaryot rozdílné. Obecná molekulární struktura ribozomu byla popsána již začátkem 70. let, avšak na rozluštění struktury na atomární úrovni jsme si museli počkat dalších třicet let. Příchodem 21. století se poprvé objevily studie o struktuře ribozomů s vysokým rozlišením díky velkému pokroku v kryo-elektronové mikroskopii (Ban et al., 2000; Frank, 1997; Van Heel, 2000). Kompletní struktura velké ribozomální podjednotky při vysokém rozlišení na atomární úrovni v řádku několika angstromů (Å) byla poprvé publikována na *Haloarcula marismortui* (Ban et al., 2000) a malá ribozomální podjednotka z *Thermus thermophilus* (Wimberly et al., 2000). Obě tyto publikace se staly základem pro další výzkum ribozomálních struktur. Prokaryotický typ ribozomu, jako má například bakterie *Escherichia coli*, obsahuje ve své velké (50S) podjednotce 23S rRNA, 5S rRNA a kolem 30 proteinů. Malá (30S) ribozomální podjednotka se skládá z 16S rRNA a kolem 20 proteinů. Celý komplex (70S) je velký 2.5 MDa (Schmeing & Ramakrishnan, 2009). Složení eukaryotického ribozomu je poněkud odlišné, například velká podjednotka (60S) lidského ribozomu se skládá z 28S, 5S, 5.8S rRNA a 47 proteinů a malá (40S) podjednotka z 18S rRNA a 33 proteinů. Eukaryotický typ ribozomu (80S) má molekulovou hmotnost 4.3 MDa (Khatter et al., 2015). Proti bakteriálnímu ribozomu jsou tedy eukaryotické ribozomy mnohem větší a složitější (Anger et al., 2013).

Zastoupení RP se u různých organismů může lišit. Například u kvasinek velká podjednotka ribozomu na rozdíl od lidské neobsahuje ribozomální protein eL28 (Khatter et al., 2015). Avšak ribozomy bakterií, eukaryot a archeí sdílejí řadu konzervovaných sekvencí a struktur, což vypovídá o jejich společném evolučním původu. Ribozomální RNA je natolik konzervovanou složkou, že sekvence 18S (popř. 16S) rRNA je používána pro sestavování fylogenetických stromů (Field et al., 1988). Všechny organismy sdílejí „společné jádro ribozomů“, které je zodpovědné za dešifrování RNA, přenos peptidu a translokaci tRNA a mRNA (Rodnina & Wintermeyer, 2009).

1.1 RNA

Samotná mediátorová RNA má schopnost ovlivňovat svou translaci pomocí regulačních prvků obsažených v nepřekládaných regionech (UTR) mRNA, nazývaných *cis* elementy. Mohou to být například sekvenční a strukturní motivy nebo modifikace mRNA (**Obrázek 1**). Asi nejznámější je 5'cap (5'methylguanosyltrifosfátová čepička) - struktura nezbytná pro translaci většiny eukaryotických a virových mRNA. Taková mRNA na 5'konci obsahuje 7-methyl guanosin navázaný přes tři fosfátové skupiny na první nukleotid mRNA řetězce. 5'cap struktura asociuje s translačními iniciačními faktory. Dochází k vazbě 40S podjednotky ribozomu a po nalezení iniciačního kodonu asociuje s 60S ribozomální podjednotkou za vzniku aktivního 80S ribozomu (Fraser & Doudna, 2007). Kromě toho 5'cap struktura zvyšuje stabilitu mRNA a usnadňuje její transport (Varani, 1997).



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Obrázek 1: Prvky mRNA ovlivňující translaci. 5'cap a 3'poly-A podporují iniciaci translace. Sekundární struktury blokuji translaci. IRES (vnitřní vstupní sekvence pro ribozom) zprostředkovávají translaci nezávislou na 5'cap struktuře. uORF jsou negativními regulátory snižující translaci z hlavního ORF. Zelené ovály symbolizují vazebná místa pro proteinové nebo RNA regulační jednotky, které převážně translaci inhibují, ale v některých případech mohou působit pozitivně. (převzato z Gebauer & Hentze, 2004)

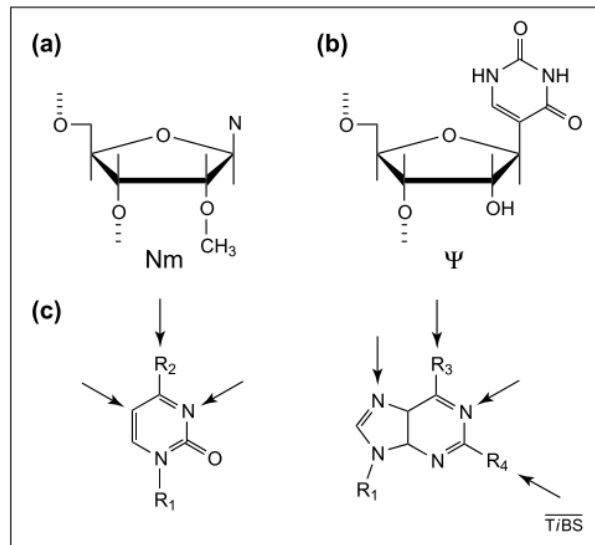
Studium virů je přínosné z hlediska zajímavých poznatků o mechanismech upravujících translaci mRNA (Walsh & Mohr, 2011). Velmi dobře charakterizovaným prvkem díky znalostem translačního systému u RNA virů je interní vstupní místo pro ribozom (IRES element) umístěný na 5'UTR mRNA. Jedná se o alternativní cestu iniciace translace, která nevyžaduje 5'cap strukturu a je rozpoznávána specializovaným translačním mechanismem. S pomocí IRES mohou viry obcházet potřebu některých iniciačních faktorů translace (Fraser & Doudna, 2007). Kromě virů bychom IRES elementy našli i v buněčné mRNA. U lidí údajně existují tisíce takových transkriptů, které obsahují regulační prvky jak

na 5'konci tak i 3'konci. Navíc mnoho transkriptů přímo interaguje s 18S rRNA (Weingarten-Gabbay et al., 2016). Zajímavé je, že translace mnoha mRNA obsahujících IRES elementy je aktivována stresem (Godet et al., 2019).

Ribozomální RNA (rRNA) jsou integrální stavební složkou ribozomů. Dá se říci, že rRNA zde fungují jako tzv. ribozymy, které katalyzují klíčové kroky polymerace aminokyselin během elongační fáze translace (Voorhees & Ramakrishnan, 2013). Většina rRNA vzniká z 45S rRNA prekurzoru, transkribovaného RNA polymerázou I (Henras et al., 2015). Jediná 5S rRNA je transkribována RNA polymerázou III (Ciganda & Williams, 2011). Jednotky rDNA jsou uspořádány v tandemových repetících, což je vzhledem k vysoké spotřebě rRNA efektivním řešením, jak zajistit jejich hojnost (Sakai et al., 1995). Přestože rRNA jsou vysoce konzervované struktury, jsou také zdrojem ribozomální variability a to zejména v tzv. expanzních segmentech. Expanzní segmenty mohou mít funkční roli v kontrole translace (Fujii et al., 2018).

1.1.1 Post-transkripční modifikace rRNA

Post-transkripční úpravě RNA podléhají všechny domény života na Zemi. rRNA patří k nejvíce modifikovaným druhům RNA. Jejich modifikace mohou hrát významnou roli v heterogenitě ribozomů, ale i v rezistenci na antibiotika. Důležitost těchto úprav pro funkci ribozomu byla prokázána u řady organismů (Chow et al., 2007). Přibližně 95% modifikovaných nukleotidů v ribozomech u *E.coli* (u kvasinek je to 60%) se vyskytuje ve funkčně důležitých oblastech, jako jsou místa A, P a E, oblasti obklopující reakční centrum, výstupní kanál polypeptidu a můstky mezi dvěma podjednotkami ribozomu. Třemi hlavními modifikacemi nukleotidů jsou konverze uridinu na pseudouridin (Ψ), methylace 2'OH skupiny ribózy a modifikace bází, nejčastěji přidání methylové skupiny v různých polohách báze (**Obrázek 2**) (Decatur & Fournier, 2002). Kromě těchto základních modifikací je známo více než 100 různých analogů čtyř standardních nukleosidů RNA (Chow et al., 2007).



Obrázek 2: Tři základní modifikace v rRNA. (a) methylace ribózy na 2'OH skupině, (b) izomerizace uridinu na pseudouridin (Ψ), (c) modifikace báze v různých polohách (šipky), nejčastěji methylace. (převzato z Decatur & Fournier, 2002)

1.2 Ribozomální proteiny

Ribozomální proteiny patří k nejvíce konzervovaným proteinům mezi všemi formami života. Geny kódující ribozomální proteiny (RPG) se rozdělují do dvou hlavních skupin na základě lokalizace jejich proteinových produktů na velké nebo malé ribozomální podjednotce. Pokud jsou RP součástí velké ribozomální podjednotky, jejich název začíná písmeny RPL (ribosomal protein of large ribosomal subunit). Pokud jsou součástí malé ribozomální podjednotky, jejich název začíná písmeny RPS (ribosomal protein of small ribosomal subunit). Následně jsou definovány pomocí číselné řady (1-43). Někteří autoři označení „RP“ vynechávají, takže zbývá pouze „L“ + číslo nebo „S“ + číslo (Ban et al., 2014).

Studie na bakteriálních, eukaryotických a archeálních ribozomálních podjednotkách identifikovaly 40 různých proteinů v malé ribozomální podjednotce (RPS). Z toho 15 RPS má svého homologa v prokaryotických a eukaryotických organismech. Další 7 proteinů se nachází pouze u bakterií. Archea a eukaryota mají společných 27 homologních RPS. Eukaryota obsahují 6 RPS, které nemají žádného homologa v bakteriích ani Archaea (**Tabulka 2**). Ve velké ribozomální podjednotce bychom mohli najít kolem šedesáti různých proteinů (RPL). Z toho je 18 RPL společných pro bakterie, eukaryota a archea a 15 proteinů specifických pro bakterie, zatímco pouze v archeích a eukaryotech se nachází 21 homologních RPL. Další 7 RPL je jedinečných pro Eukaryota (**Tabulka 1**). Archea nemají žádné jedinečné RP v malé ani velké ribozomální podjednotce. Pro rozlišení RP z různých domén života se používá malé písmeno „b“ – bakteriální, „e“ – eukaryotický + archeální nebo „u“ – univerzální (Ban et al., 2014).

Tabulka 2: Přehled RP malé ribozomální podjednotky v bakteriích (B), archea (A) a eukaryotech (E). (převzato z Ban et al., 2014)

New nomenclature for proteins from the small ribosomal subunit.				
New name [#]	Taxonomic range [*]	Bacteria name	Yeast name	Human name
bS1	B	S1	–	–
eS1	A E	–	S1	S3A
uS2	B A E	S2	S0	SA
uS3	B A E	S3	S3	S3
uS4	B A E	S4	S9	S9
eS4	A E	–	S4	S4
uS5	B A E	S5	S2	S2
bS6	B	S6	–	–
eS6	A E	–	S6	S6
uS7	B A E	S7	S5	S5
eS7	E	–	S7	S7
uS8	B A E	S8	S22	S15A
eS8	A E	–	S8	S8
uS9	B A E	S9	S16	S16
uS10	B A E	S10	S20	S20
eS10	E	–	S10	S10
uS11	B A E	S11	S14	S14
uS12	B A E	S12	S23	S23
eS12	E	–	S12	S12
uS13	B A E	S13	S18	S18
uS14	B A E	S14	S29	S29
uS15	B A E	S15	S13	S13
bS16	B	S16	–	–
uS17	B A E	S17	S11	S11
eS17	A E	–	S17	S17
bS18	B	S18	–	–
uS19	B A E	S19	S15	S15
eS19	A E	–	S19	S19
bS20	B	S20	–	–
bS21	B	S21	–	–
bTHX	B	THX	–	–
eS21	E	–	S21	S21
eS24	A E	–	S24	S24
eS25	A E	–	S25	S25
eS26	E	–	S26	S26
eS27	A E	–	S27	S27
eS28	A E	–	S28	S28
eS30	A E	–	S30	S30
eS31	A E	–	S31	S27A
RACK1	E	–	Asc1	RACK1

[#] b: bacterial, e: eukaryotic, u: universal.
^{*} B: bacteria, A: archaea, E: eukaryotes.

Tabulka 1: Přehled RP malé ribozomální podjednotky v bakteriích (B), archea (A) a eukaryotech (E). (převzato z Ban et al., 2014)

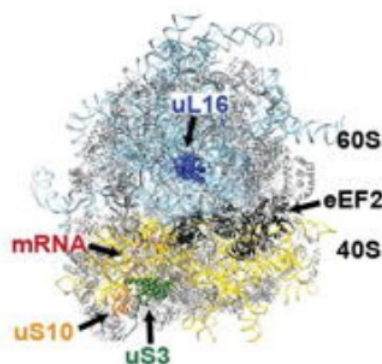
Nomenclature for proteins from the large ribosomal subunit.				
New name [#]	Taxonomic range [*]	Bacteria name	Yeast name	Human name
uL1	B A E	L1	L1	L10A
uL2	B A E	L2	L2	L8
uL3	B A E	L3	L3	L3
uL4	B A E	L4	L4	L4
uL5	B A E	L5	L11	L11
uL6	B A E	L6	L9	L9
eL6	E	–	L6	L6
eL8	A E	–	L8	L7A
bL9	B	L9	–	–
uL10	B A E	L10	P0	P0
uL11	B A E	L11	L12	L12
bL12	B	L7/L12	–	–
uL13	B A E	L13	L16	L13A
eL13	A E	–	L13	L13
uL14	B A E	L14	L23	L23
eL14	A E	–	L14	L14
uL15	B A E	L15	L28	L27A
eL15	A E	–	L15	L15
uL16	B A E	L16	L10	L10
bL17	B	L17	–	–
uL18	B A E	L18	L5	L5
eL18	A E	–	L18	L18
bL19	B	L19	–	–
eL19	A E	–	L19	L19
bL20	B	L20	–	–
eL20	E	–	L20	L18A
bL21	B	L21	–	–
eL21	A E	–	L21	L21
uL22	B A E	L22	L17	L17
eL22	E	–	L22	L22
uL23	B A E	L23	L25	L23A
uL24	B A E	L24	L26	L26
eL24	A E	–	L24	L24
bL25	B	L25	–	–
bL27	B	L27	–	–
eL27	E	–	L27	L27
bL28	B	L28	–	–
eL28	E	–	–	L28
uL29	B A E	L29	L35	L35
eL29	E	–	L29	L29
uL30	B A E	L30	L7	L7
eL30	A E	–	L30	L30
bL31	B	L31	–	–
eL31	A E	–	L31	L31
bL32	B	L32	–	–
eL32	A E	–	L32	L32
bL33	B	L33	–	–
eL33	A E	–	L33	L35A
bL34	B	L34	–	–
eL34	A E	–	L34	L34
bL35	B	L35	–	–
bL36	B	L36	–	–
eL36	E	–	L36	L36
eL37	A E	–	L37	L37
eL38	A E	–	L38	L38
eL39	A E	–	L39	L39
eL40	A E	–	L40	L40
eL41	A E	–	L41	L41
eL42	A E	–	L42	L36A
eL43	A E	–	L43	L37A
P1/P2	A E	–	P1/P2 (AB)	P1/P2 ($\alpha\beta$)

[#] b: bacterial, e: eukaryotic, u: universal.
^{*} B: bacteria, A: archaea, E: eukaryotes.

1.2.1 Post-translační modifikace RP

Mnoho RP podléhá post-translačním úpravám. Nejčastějšími modifikacemi RP jsou methylace, fosforylace, acetylace (Ramagopal, 1991), ubikvitinace, modifikace aminokyselinových zbytků, hydroxylace a nedávno objevená ufmylace (Guo, 2018). Například *E.coli* má šest methylovaných RP, tři acetylované, jeden methylthiolovaný a jeden s přidanými aminokyselinovými zbytky (Nesterchuk et al., 2011).

Post-translační modifikací objevenou pouze u skupiny Metazoa je ufmylace, která je podobná ubikvitinaci. Jedná se o reakci katalyzovanou několika enzymy, při které je UFM1 (ubiquitin fold modifier 1) konjugován k cílovému proteinu (Wei & Xu, 2016). Modifikace UFM1 hraje důležitou roli ve funkci endoplazmatického retikula (Yinghua Zhang et al., 2012) a v hematopoetickém vývoji (Cai et al., 2015; M. Zhang et al., 2015). Na ribozomech bylo identifikováno několik ufmylovaných proteinů, konkrétně jde o dva RP v malé ribozomální podjednotce (uS3 a uS10), jeden RP ve velké ribozomální podjednotce (uL16) a iniciační faktor translace eIF6 (**Obrázek 3**). Umfylace těchto proteinů pravděpodobně slouží ke koordinaci spojení ribozomálních podjednotek a k interakci s mRNA (Simsek et al., 2017).



Obrázek 3: Lidský 80S ribozom s označenými pozicemi ufmylovaných proteinů. uS3 (zelená), uS10 (oranžová), uL16 (modrá); pro lepší orientaci je barevně vyznačena mRNA (červená) a eEF2 (černá). rRNA je znázorněna světle modrou (60S) nebo žlutou (40S) barvou. (převzato z Simsek et al., 2017)

Ubikvitinace se podílí na velkém počtu biologických procesů. Jedná se o proces kdy je molekula ubikvitinu připojena prostřednictvím karboxylové skupiny kaskádou enzymatických reakcí k cílovému proteinu (Nath & Shadan, 2009). U kvasinek podléhá

ubikvitinaci protein Rpl28. Úroveň jeho ubikvitinace závisí na buněčném cyklu, nejvyšší je během S fáze. Je zajímavé, že silně ubikvitinované ribozomy jsou aktivnější v translaci *in vitro* (Spence et al., 2000).

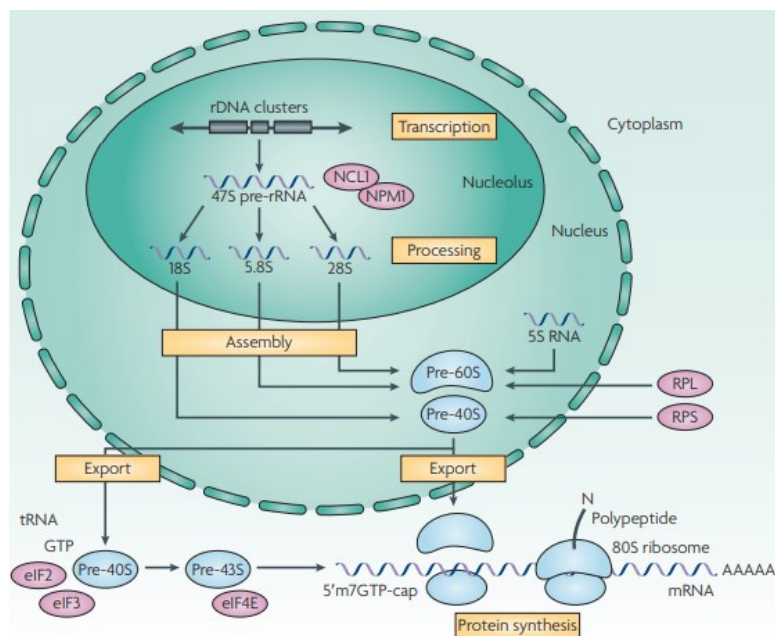
Post-translační modifikace RP methylací může regulovat translaci mRNA. Pozoruhodný případ methylace regulující translaci můžeme pozorovat u hlenky *Dictyostelium discoideum*. Vegetativně rostoucí buňky za nepříznivých podmínek přecházejí do vývojové fáze, která vede ke vzniku spor. Během tohoto vývoje *D. discoideum* dochází k drastickému poklesu v expresi RP. Ukázalo se, že translace RP mRNA byla specificky snížena zablokováním iniciace během první poloviny vývojového cyklu (Steel & Jacobson, 1987). Tento jev způsobují malé ribozomální podjednotky obsahující methylovaný protein S24. Ty se vážou na sekvenční element v 5'UTR mRNA RP a blokují vytvoření iniciačního komplexu. RP mRNA si hlenka schová pro případ, že by se vrátily podmínky vhodné pro vegetativní růst. V pozdější fázi vývoje je methylován protein S31, což vede k rychlé degradaci RP mRNA. Načasování tohoto jevu koreluje s okamžikem, kdy se vývojový cyklus stává nezvratným – buňky nelze navrátit do fáze vegetativního růstu (Mangiarotti & Giorda, 2002).

1.2.2 Paralogické izoformy RP

Ribozomální proteiny jsou výjimečné tím, že geny, které je kódují, se často vyskytují ve dvou kopiích, které vznikly duplikací ancestrálního genu během evoluce. Tyto kopie jsou tedy navzájem paralogní. Sestavování ribozomů z různých paralogních proteinů zvyšuje jejich variabilitu a možnost se funkčně odlišit. Tento paralog-specifický model zvaný „ribozomální kód“ naznačuje, že paralogy RP mohou regulovat specifické fyziologické procesy (Komili et al., 2007). Například kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* má v důsledku duplikace celého genomu před 100 miliony lety pro 59 ze 78 RP duplikované geny, které ve většině případů kódují identické nebo velmi podobné proteinové produkty (Kellis et al., 2004). Delece některých těchto genů vede k snížení translace, zpomalení růstu a rezistenci proti stresu ER (Steffen et al., 2012).

2. Buněčná úloha ribozomů

Genetická informace většiny organismů je uložena v DNA, která je přepisována do mediátorové RNA (mRNA) procesem transkripce. Během translace je mRNA využita jako šablona pro překlad genetické informace do sekvence aminokyselin. Tento proces zprostředkovává ribozom. Syntéza proteinů se přizpůsobuje fyziologickým potřebám buňky a signálům přijímaným z jejího okolí. Proto musí mít buňka možnost citlivě a přesně regulovat expresi svých genů. Koordinace mezi jednotlivými kroky genové exprese je zásadní pro vytvoření efektivní metabolické sítě (Sauert et al., 2015).



Obrázek 4: Schéma biogeneze ribozomu. Biogeneze ribozomu zahrnuje syntézu a import RP do jádra, syntézu a maturaci rRNA v jadérku, sestavení ribozomálních podjednotek a jejich export do cytoplazmy. Translační aparát se skládá z ribozomálních podjednotek, mRNA, tRNA, iniciačních a elongačních faktorů. Nejdříve malá ribozomální podjednotka 40S asociuje s eIF2, eIF3, GTP a tRNA za vzniku pre-iniciačního komplexu 43S. Následně se připojuje eIF4E a vytvoří se 48S komplex s mRNA. Nakonec se 48S komplex spojí s velkou ribozomální podjednotkou 60S za vzniku finálního 80S komplexu. NCL1, nukleolin; rDNA, ribozomální DNA; NPM1, nukleofosmin; RPL, proteiny velké ribozomální podjednotky; RPS, proteiny malé ribozomální podjednotky. (převzato z Van Riggelen et al., 2010)

2.1 Biogeneze ribozomu

Biogeneze ribozomu zahrnuje několik koordinovaných kroků jako je syntéza a maturace rRNA, syntéza RP a jejich zpětný import do jádra. Maturace eukaryotické rRNA probíhá v jadérku, specializovaném kompartmentu uvnitř jádra. V jádře jsou všechny komponenty sestaveny do velkých a malých ribozomálních podjednotek a ty se následně transportují do cytoplazmy (Rodnina & Wintermeyer, 2009). Obě podjednotky se dále váží na mRNA za vzniku 80S ribozomu a spustí se translace (**Obrázek 4**) (Arabi et al., 2005; Doudna & Rath, 2002; Grandori et al., 2005).

2.2 Translace

Při procesu zvaném translaci se na ribozomech překládá sekvence nukleotidů v mRNA do polypeptidového řetězce. Tento proces vyžaduje vysokou přesnost a rychlost, kterou kromě samotného ribozomu zprostředkovávají také další proteinové faktory, často ribozomem aktivované GTPázy. Translace u eukaryot je složitější a proti prokaryotům více podléhá regulaci (Ramakrishnan, 2002). Dále se podrobněji zaměřím na proces translace typický pro eukaryota.

Eukaryotický translační aparát je tvořen samotným ribozomem, mRNA, transferovými RNA (tRNA), nejméně z deseti iniciačních faktorů (eIF) a elongačních faktorů translace. Kromě toho je nutná přítomnost GTP, ATP a samozřejmě aminokyselin. Ribozomy obsahují tři vazebná místa pro tRNA, A-místo pro vazbu aminoacyl-tRNA, P-místo pro vazbu peptidyl-tRNA a E-místo (exit), kudy vystupují prázdné tRNA (Murray et al., 2009). Iniciační faktory eIF2, eIF3, tRNA (Met-tRNA) a GTP se nejprve spojí s malou ribozomální podjednotkou. Klíčovým krokem k iniciaci translace je vazba fosforylovaného eIF4E, díky kterému se mRNA váže prostřednictvím 5' methylguanosyltrifosfátové čepičky (5' cap) na pre-iniciační komplex 43S a za pomoci hydrolýzy ATP vzniká iniciační komplex 48S (Scheper et al., 2002). Poté se celý komplex pohybuje a skenuje mRNA, dokud nenarazí na iniciační kodon (AUG), který je definován pomocí blízké sekvence Kozakové (Murray et al., 2009). Nakonec se 48S komplex spojí s 60S ribozomální podjednotkou, tento krok vyžaduje hydrolýzu jedné molekuly GTP. Výsledkem je funkční 80S ribozom s Met-tRNA v P-místě a vše je připraveno k zahájení elongace (Van Riggelen et al., 2010) (**Obrázek 4**). Iniciační translace nezávislá na 5' cap struktuře mRNA je zprostředkována přes IRES (vnitřní

místo pro vstup ribozomu) v 5'UTR oblasti mRNA. IRES sekvence obsahují především transkripty, které jsou preferenčně translatovány během mitózy (Qin & Sarnow, 2004).

Elongace je cyklický proces, který zahrnuje zařazení aminoacyl-tRNA (aa-tRNA) ke kodonu na mRNA, tvorbu peptidové vazby a translokaci komplexu tRNA-mRNA, která posouvá peptidyl-tRNA z místa A do místa P na další kodon ve směru 5' → 3'. Tyto kroky jsou katalyzovány elongačními faktory (EF) (Rodnina & Wintermeyer, 2009). Elongační faktor eEF1A vytvoří ternární komplex s GTP a vstupující aa-tRNA. Za současné hydrolýzy GTP na GDP a uvolnění eEF1A se příslušná aa-tRNA váže do místa A. Aminoacyl-tRNA v místě A vytvoří peptidovou vazbu s peptidyl-tRNA v místě P (Murray et al., 2009). V místě P zbude deacylovaná tRNA a v místě A peptidyl-tRNA, která je prodloužena o jednu aminokyselinu. Centrum peptidyltransferázové reakce na velké ribozomální podjednotce je tvořeno vysoce konzervovanými prvky rRNA se společnými rysy u eukaryot a prokaryot (Beringer & Rodnina, 2007). 28S rRNA (23S rRNA u prokaryot) funguje jako peptidyltransferáza, což potvrzuje významnou funkci rRNA v procesu syntézy proteinů. V dalším kroku se váže EF2 a dochází k translokaci mRNA a tRNA. Prázdňá tRNA se přesouvá do místa E, odkud ribozom opouští a peptidyl-tRNA vstupuje do místa P. Hydrolýzou další molekuly GTP na GDP dochází k posunu mRNA na ribozomu o jeden kodon. Do místa A se opět může vázat ternární komplex eEF1A - GTP - aa-tRNA a celý cyklus se opakuje, dokud nepřijde signál k terminaci. Eukaryotický ribozom je schopen během jedné sekundy zařadit až šest aminokyselin do vznikajícího polypeptidu, prokaryota dokonce 18 aminokyselin (Murray et al., 2009).

Když do místa A vstoupí terminační (stop) kodon na mRNA, je rozpoznán komplexem uvolňujících faktorů RF a elongační cyklus je zastaven. GTPáza RF3 svou společně s peptidyltransferázou hydrolyzuje vazbu mezi peptidem a tRNA (Koutmou et al., 2014). Do rostoucího polypeptidu je místo nové aminokyseliny navázána molekula vody, dojde k uvolnění polypeptidu a translační aparát disociuje. Jednotlivé komponenty jsou použity pro syntézu dalšího proteinu. Proteosyntéza je rychlý proces vyžadující poměrně velké množství energie (Murray et al., 2009).

2.2.1 Regulace translace

Protože iniciace translace je krokem, který nejvíce určuje rychlost syntézy proteinů, je také klíčovým bodem regulace translace (Jackson et al., 2010). Dříve byl kladen důraz na

regulaci genové exprese především na úrovni transkripce a vliv translace byl podhodnocen. Tento pohled se dramaticky změnil a dnes víme, že hladiny mRNA nemusejí nutně odpovídat množstvím jejich proteinových produktů. Tato post-transkripční regulace je připisována vlastnostem samotné mRNA a různým proteinovým a RNA faktorům, jako jsou malé RNA a RNA vazebné proteiny (Glisovic et al., 2008; Kuersten et al., 2013).

Regulaci translace lze rozdělit na globální kontrolu (ve které je regulována translace většiny mRNA v buňce) a na kontrolu specifickou pro určité mRNA. V rámci globální regulace dochází především k úpravě iniciačních faktorů, zatímco u specifické regulace hrají roli proteinové komplexy rozpoznávající konkrétní prvky na mRNA. Translaci mRNA lze regulovat například pomocí miRNA, které často hybridizují s 3'UTR mRNA sekvencí (Gebauer & Hentze, 2004).

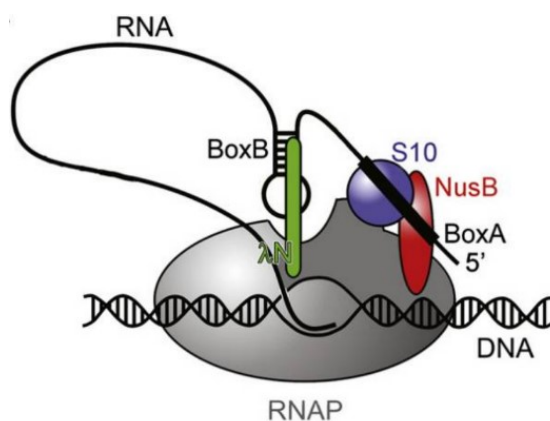
Molekula mRNA obsahuje typicky několik klíčových strukturních a regulačních sekvencí. U eukaryot to jsou 5'cap struktura (5'methylguanosyltrifosfátová čepička), 3'poly-A konec, IRES a krátké otevřené čtecí rámce (uORF sekvence) (**Obrázek 1**). Iniclace translace je zprostředkována přes 5'cap strukturu, na kterou se vážou iniciační faktory translace (eIF). Jeden z iniciačních faktorů interaguje s 3'poly-A koncem přes PABP protein (poly-A vazací protein). Celá transkripční jednotka tak může cirkulovat, oba konce mRNA jsou v těsné blízkosti, čímž se do regulace translace může zapojit i sekvence na 3'konci mRNA (Gebauer & Hentze, 2004). Alternativní způsob iniciace translace, nezávislý na 5'cap struktuře, je zprostředkován přes IRES, které navádějí ribozomální komplexy k iniciačním kodonům vzdáleným od 5' konce (Pestova et al., 2001).

2.3 Extra-ribozomální funkce RP

Řada RP plní v buňce i jiné než ribozomální funkce. Podílejí se například na transkripci genů a translaci mRNA mimo samotný ribozom (Wool, 1996). Samotné RP jsou jakýmsi prostředkem pro sebehodnocení buněčného stavu a spolupracují s dráhou p53. Hrají roli v apoptóze, opravách DNA a její transkripci (Warner & McIntosh, 2009). Ribozomální proteiny často obsahují funkční motivy, jako například zinkové prsty umožňující vázat se na DNA/RNA, což umožňuje jejich sekundární využití (Lindström, 2009).

K objevu jedné z prvních neribozomálních funkcí RP došlo u bakteriofága λ , který využívá protein N při transkripci svých genů. Tento systém se skládá z komplexu

hostitelských Nus faktorů, fágového proteinu N (λ N) a *nut* oblastí v genomu fága (BoxA sekvence) (Li et al., 1984). Součástí tohoto komplexu je ribozomální protein S10, který představuje jeden z Nus faktorů (konkrétně NusE). Přítomnost proteinu S10 je důležitá pro aktivaci proteinu λ N, který podporuje anti-terminaci fágových transkriptů (Friedman et al., 1981) (**Obrázek 5**). Anti-terminační systém N v *E. coli* normálně zodpovídá za prodloužení transkripce genů rRNA v operonech, kdy protein S10 tvoří stabilní komplex s dalšími Nus faktory (NusB) a má zvýšenou afinitu k RNA (rRNA obsahující anti-terminační motiv BoxA) (Luo et al., 2008; Weisberg, 2008). Podobnou roli při anti-terminaci ribozomální a neribozomální RNA hraje RP S4 (Torres et al., 2001).



Obrázek 5: Zjednodušený model anti-terminačního komplexu bakteriofága λ . Vazba antiterminančních faktorů λ N, NusB-S10 na BoxA a BoxB RNA (černý obdelník a vlásenka). Při anti-terminaci zprostředkovanou proteinem λ N se do vazebného místa BoxB váže protein λ N a do BoxA komplex NusB-S10. Šedý ovlál představuje RNA polymerázu (RNAP). (převzato z Weisberg, 2008)

Pro správnou funkci proteosyntetického aparátu je důležité vyvážit množství jeho jednotlivých složek. *E. coli* tento problém řeší mechanismem zpětné vazby. Nadbytečný RP se váže na vlastní mRNA a blokuje její translaci, čímž se vyrovnává poměr RP ku rRNA (Nomura, M., 1984).

Některé RP mají schopnost ovlivňovat expresi vlastního genu. Například paralogní geny RPL22A a RPL22B z kvasinky vzájemně inhibují expresi svých genů tím, že brání sestřihu intronu (Abrahámová et al., 2018).

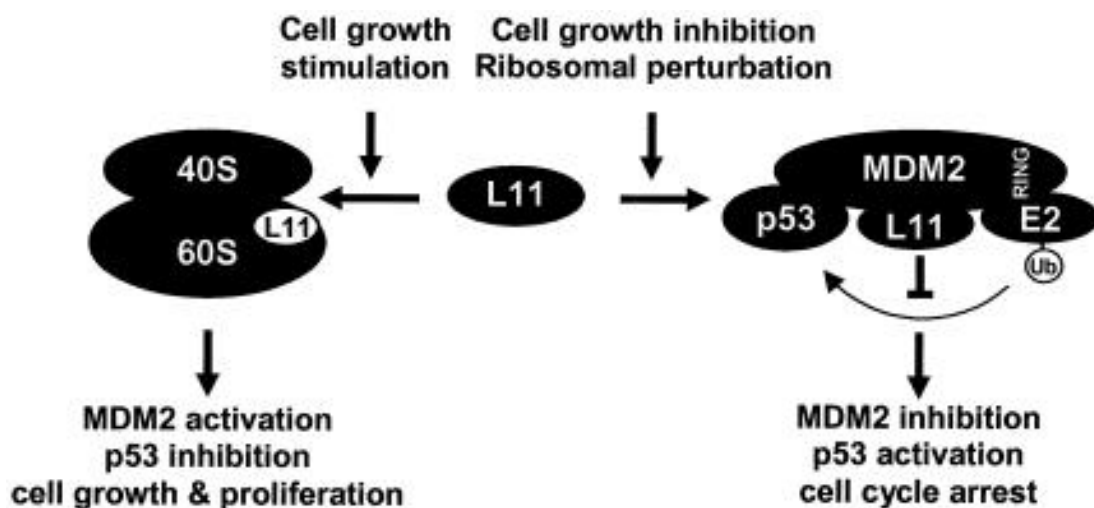
Studium genů pocházejících z octomilky *Drosophila melanogaster* ukázalo, že nadměrná exprese proteinu L22 způsobila pokles transkripce stejných genů, které byly potlačeny i při nadprodukci histonu H1. Naopak při nedostatku RPL22 došlo ke zvýšení transkripce těchto genů. Protein L22 společně s histonem H1 interagují s chromatinem

a napomáhají jeho kondenzaci. To naznačuje, že proteiny L22 a H1 hrají roli v regulaci transkripce (Ni et al., 2006).

Defekty syntézy ribozomálních složek mohou vést k zastavení buněčného cyklu a apoptóze prostřednictvím extra-ribozomálních funkcí RP. Protein MDM2 je E3 ubikvitin ligáza, která katalyzuje ubikvitinaci p53 vedoucí k jeho rychlé degradaci (Vazquez et al., 2008). Ukázalo se, že 16 různých RPL (Liu et al., 2016) se potenciálně může vázat na MDM2 a omezovat jeho funkci, což by vedlo k akumulaci p53 a zastavení buněčného cyklu nebo k apoptóze (Dai et al., 2004; Lohrum et al., 2003; Marechal et al., 1994; Zhang et al., 2003). Tato interakce RP-MDM2 může nastat v případě stresu na úrovni biogeneze ribozomů. RP tedy může buňka využívat jako signální proteiny, které upozorňují na ribozomální stres (Bursac et al., 2014).

Obrovský význam RP v jejich extra-ribozomálních funkcích se připisuje vývoji rakovinných onemocnění. Všeobecně všechna rakovinná onemocnění se vyznačují nekontrolovatelnou proliferací, což je proces náročný ribozomální aktivitou (Hanahan & Weinberg, 2011). Proti tomu buňka bojuje pomocí mechanismů, které zabraňují nekontrolovatelné proliferaci a transformaci v nádorovou buňku. V důsledku zvýšené proliferace se tvoří nadbytek RP, které pak mohou interagovat se zmíněným MDM2 proteinem, což vede k aktivaci dráhy tumor supresorového proteinu p53, která zastavuje buněčný cyklus a dává buňce čas na reparaci (**Obrázek 6**). To naznačuje, že biogeneze ribozomů hraje ústřední roli ve stresové buněčné reakci včetně onkogenních signálních procesů a může rozhodovat o osudu buňky (Liu et al., 2016).

Kromě výše uvedených příkladů zastávají RP celou škálu nejrozličnějších dalších buněčných funkcí. Některé z nich shrnuje **Tabulka 3**.



Obrázek 6: Schematický model funkce dráhy L11-MDM2-p53. Protein L11 se přednostně váže do velké ribozomální podjednotky 60S. Volný protein MDM2 je aktivní a inhibuje protein p53, což vede k buněčnému růstu a proliferaci. Při ribozomálním stresu se protein L11 uvolňuje do nukleoplazmy, váže se na MDM2 a blokuje jeho aktivitu. Protein p53 je aktivní a buněčný cyklus se zastavuje. (převzato z Zhang et al., 2003)

Tabulka 3: Ribozomální proteiny s extra-ribozomální funkcí. (Lindström, 2009; H. Lu et al., 2015; Warner & McIntosh, 2009b; Wool, 1996)

Ribozomální protein	Extra-ribozomální funkce
L4	Inhibice transkripce z S10 operonu
L30, S14, L12, S13	Inhibice sestřihu vlastní mRNA
L5, L22, L23, S7, L11	Akumulace p53 pomocí inhibice MDM2
L26	Podpora translace p53
RACK1	Buněčná signalizace
S20, L6	Ovlivňuje transkripci RNA polymerázou III
L22	Interaguje s RNA EBER-1 (viru EB) Váže histon H1
S3	DNA endonukleáza
L7	SnoRNP
S10, S4, L3, S20, L13	Anti-terminace transkripce

2.4 Ribozomopatie

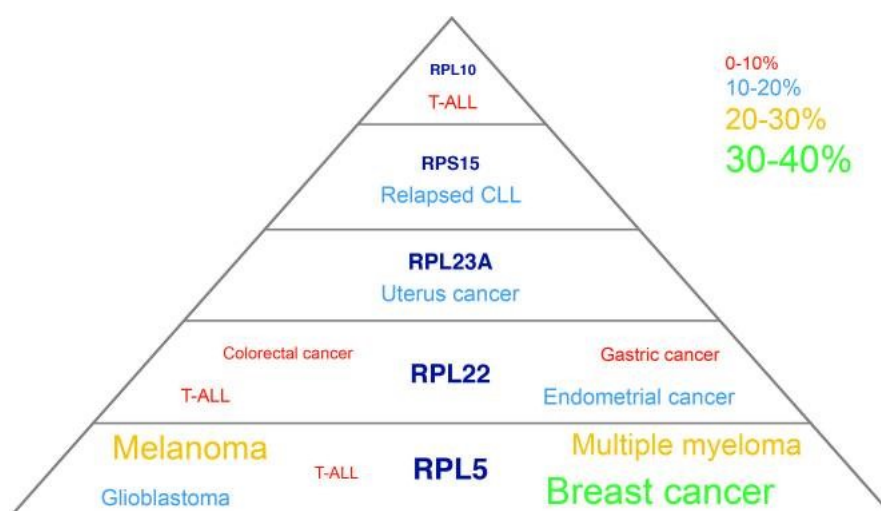
Mutace RP a defekty v biogenezi ribozomů vedou k vážným klinickým syndromům zvaným obecně ribozomopatie. Některá postižení jsou tkáňově specifická. Je to způsobeno rozdíly ve složení ribozomů mezi tkáněmi a míře translace jednotlivých mRNA (Farley-Barnes et al., 2019). Ribozomopatie mají různé klinické projevy, nejčastějšími z nich je však selhání kostní dřeně, kraniofaciální defekty a jiné kostní poruchy (Narla & Ebert, 2010). Mezi ribozomopatie patří například Schwachmanův-Diamondův syndrom, *dyskeratosis congenita*, syndrom hypoplastických chrupavek a vlasů, Treacher-Collins syndrom (Liu & Ellis, 2006) nebo Myelodysplastický syndrom (MDS) (Ebert et al., 2008). Nejvíce studovanou poruchou RP je Diamondova-Blackfanova anemie (DBA). Jedná se o autozomálně recesivní syndrom poruchy kostní dřeně, projevující se nedostatečnou tvorbou erytrocytů doprovázený dalšími malformacemi těla. Prvním identifikovaným genem spojeným s DBA byl RPS19, který má klíčovou regulační roli v erythropoéze (Draptchinskaja et al., 1999). V následujících letech byly v souvislosti s DBA odhaleny mutace i v dalších RPG (RPS19, RPL5, RPS26, RPL11, RPL35A, RPS24, atd.) (shrnuto v Da Costa et al., 2018).

Již výše bylo uvedeno, že dráha p53 poskytuje kontrolní mechanismus pro translaci proteinů a je aktivována defekty v biogenezi ribozomu. Tato dráha souvisí s mnoha klinickými projevy ribozomopatií. Předpokládá se, že haploinsuficience některých RP narušuje biogenezi ribozomů. Dochází k akumulaci volných RP, díky selektivnímu zvýšení translace RP mRNA obsahující 5' TOP (5' oligo pyrimidinový motiv) (Fumagalli et al., 2009; Meyuhas, 2000). Zajímavý osud mají proteiny Rpl5 a Rpl11. Na rozdíl od jiných akumulovaných RP tyto dva proteiny selektivně unikají degradaci proteazomem. Volné proteiny Rpl5 a Rpl11 se pak mohou vázat na MDM2 (represeor p53) a zastavovat buněčný cyklus (viz kapitola 2.3 a **Obrázek 6**). Konkrétní mechanismus, jak proteiny selektivně unikají degradaci proteazomem dosud není znám (Bursac et al., 2012).

Kromě dráhy RP-MDM2-p53 může mít haploinsuficience RP vliv i na další mechanismy. Jako příklad uvedu rovnováhu mezi hemem a globinem. Erytroidní linie buněk se vyznačují zvýšenou rychlostí proliferace a k tomu potřebují vysoce efektivně vyrábět ribozomy (Lajtha, 1961). Zhoršená biogeneze ribozomů zapříčiňuje snížení syntézy globinů, což vede k přebytku volného hemu, který v buňce vyvolává oxidativní stres a následnou hemolýzu (Narla & Ebert, 2010).

Ribozomální defekty také zvyšují riziko rakoviny (u některých až 200x vyšší) (Sulima et al., 2019) (**Obrázek 7**). T-prekursorová akutní lymfoblastická leukémie (T-ALL) je spojena s mutací R98S v proteinu RPL10. Dochází při ní k akumulaci ROS v důsledku zvýšené exprese peroxisomálních enzymů, což způsobuje buňkám oxidativní stres a zhoršení proliferace lymfoidních buněk. Buňky s mutací RPL10 R98S jsou však odolnější k oxidativnímu stresu. Mají totiž vyšší expresi anti-apoptického proteinu Bcl-2 díky selektivní translaci závislé na IRES v jeho mRNA. Tímto způsobem buňka uniká programované buněčné smrti a stává se z ní potenciální nádorová buňka (Kampen et al., 2019).

Studium patologie RP a biogeneze ribozomů je důležité pro pochopení jejich významu v organismech včetně člověka. Tato snaha v budoucnu může vést k novým a efektivnějším možnostem léčby ribozomopatií a následně některých typů rakoviny.



Obrázek 7: Ilustrativní schéma RPG, jejichž somatické recidivující mutace nebo delece zvyšují riziko rakoviny. Velikost písma je úměrná výskytu mutací a delecí RP, které byly popsány u různých typů rakovin. Procenta vyjadřují podíl výskytu defektů RP u příslušného typu rakoviny (označeno barevnou legendou). CLL, chronická lymfocytární leukémie; T-ALL, T-prekursorová akutní lymfoblastická leukémie. (převzato z Kampen et al., 2020)

3. Specializované ribozomy

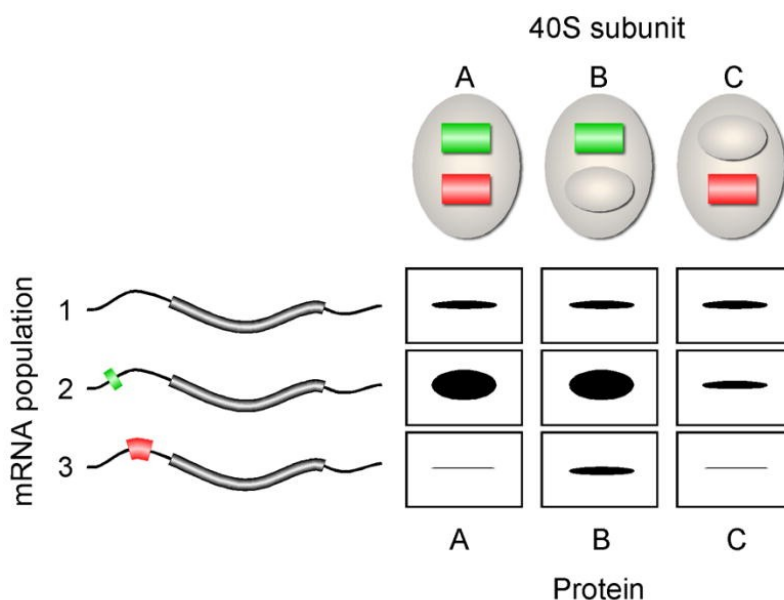
V padesátých letech minulého století ribozom poprvé spatřil a popsal nositel Nobelovy ceny George Emil Palade (Palade, 1955). Již o pár let později Palade na základě pozorování malých změn ve tvaru ribozomů přišel s myšlenkou, že by ribozomy mohly být heterogenní struktury. Od původní hypotézy „jeden gen – jeden ribozom – jeden protein“ se rychle upustilo s příchodem řady experimentů ukazujících, že jeden ribozom dokáže syntetizovat různé proteiny (Brenner et al., 1961). Dalších několik desetiletí dominoval pohled na ribozomy, jako na homogenní stroje bez regulační funkce, které pasivně syntetizují proteiny (Genuth & Barna, 2018b).

Postupně přicházely výsledky, které směřovaly k myšlence o existenci specializovaných ribozomů. Jedním z prvních důkazů bylo studium ribozomů u hlenky *Dictyostelium discoideum*, kde byly zjištěny změny ve složení RP během přechodu z jednobuněčného do mnohobuněčného stádia (Ramagopal, 1990; Ramagopal & Ennis, 1981). Také byla odhalena diferenciální exprese RP paralogů podle typu rostlinného pletiva u huseničky *Arabidopsis thaliana* a brukve *Brassica napus* (Whittle & Krochko, 2009; Williams & Sussex, 1995). Všeobecně mnoho výzkumů poukazuje na paralogní RP, které by mohly hrát zásadní roli ve specializovaných ribozomech (Komili et al., 2007; Kong et al., 2019; Mageeney & Ware, 2019; Yong Zhang et al., 2013). V posledních několika letech byly vyvinuty moderní technologické přístupy, které nám umožňují detailně zkoumat fyzikální heterogenitu jednotlivých ribozomů (shrnutí v Genuth & Barna, 2018).

Byla navržena hypotéza, že ribozom pracuje jako „ribozomový filtr“, který si vybírá svůj mRNA substrát k translaci. Zdá se, že iniciace translace je klíčovým okamžikem, pro stanovení rychlosti translace a její regulace. Pro zahájení translace je třeba, aby došlo k interakci mezi mRNA a malou ribozomální podjednotkou (Mauro & Edelman, 2002). Již dlouho je znám mechanismus, který tuto interakci umožňuje. Většina transkriptů RNA polymerázy II je na 5' konci modifikována 7-methyl guanosintrifosfátovou čepičkou (5' cap) (Shatkin & Manley, 2000). Kromě zahájení syntézy proteinu interakcí s iniciačními faktory translace (podrobně popsáno viz kapitola 2.2) také chrání mRNA před degradací buněčnými enzymy, jako jsou nukleázy nebo fosfatázy (Shatkin, 1976). Řada pozorování naznačila, že pro zahájení translace může mRNA interagovat se samotnými ribozomálními podjednotkami. To by znamenalo, že ribozomální podjednotky mohou ovlivnit translaci pomocí odlišné interakce se specifickými mRNA. Tato pozorování podporují hypotézu

ribozomového filtru, neboli ribozomem zprostředkovanou selektivitu translace mRNA (**Obrázek 8**).

Jedním z potenciálních mechanismů vysvětlující interakci mRNA s ribozomálními podjednotkami by mohla být přímá interakce mRNA s rRNA. Velké množství mRNA obsahuje sekvence, které jsou komplementární k 18S nebo 28S rRNA (Mauro & Edelman, 1997). Zdá se, že mezi komplementaritou a translací existuje určitá korelace. Některé komplementární úseky translaci tlumí, jiné ji zesilují (Hu et al., 1999; Tranque et al., 1998). Kromě interakcí mRNA-rRNA hypotézu ribozomového filtru silně podporuje heterogenita ve složení RP v ribozomech v různých buněčných typech nebo vývojových stádiích (Filipovska & Rackham, 2013b; Genuth & Barna, 2018a; Kondrashov et al., 2011; Lilleorg et al., 2019).



Obrázek 8. Schematické zobrazení „ribozomálního filtru“. Malá ribozomální podjednotka 40S je znázorněna šedými ovály. Podjednotka A obsahuje dvě vazebná místa pro mRNA (zelené a červené). Podjednotka B má pouze jedno vazebné místo pro mRNA (zelené) a druhé je schované. Obdobně podjednotka C má jedno vazebné místo pro mRNA (červené) a druhé je schované. Tři typy mRNA mají tři různé sekvence: (1) neobsahuje žádné prvky, které by se vážaly na ribozomální vazebná místa, (2) obsahuje sekvenci (zelený box), která zvyšuje iniciaci translace vazbou do zeleného ribozomálního vazebného místa, (3) obsahuje sekvenci (červený box), která blokuje iniciaci translace vazbou do červeného ribozomálního vazebného místa. Množství exprimovaného proteinu různými kombinacemi mRNA a ribozomální podjednotky jsou reprezentována velikostí černých pruhů. Translace mRNA (1) je závislá na 5' cap struktuře a je translatována se stejnou účinností na ribozomálních podjednotkách A, B a C. Translace mRNA (2) je zvýšena na ribozomálních podjednotkách A a B, jelikož obsahují příslušné vazebné místo pro mRNA. Translace mRNA (3) je inhibována na ribozomálních podjednotkách A a C, jelikož obsahují příslušné vazebné místo pro mRNA. (převzato z Mauro & Edelman, 2007)

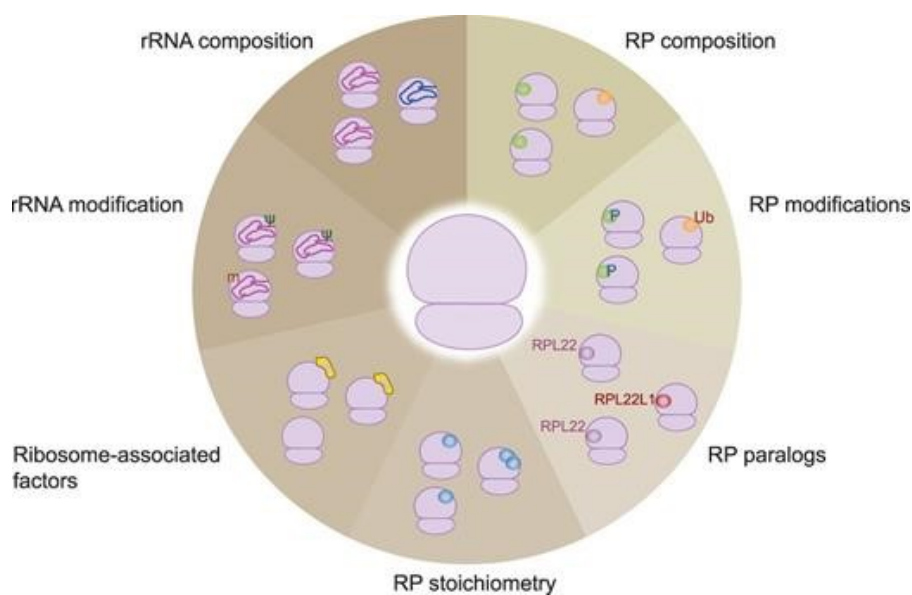
3.1 Specializované ribozomy regulují translaci mRNA

Expese stovek mRNA, které jsou základem tkáňově specifických vývojových procesů, je regulována na úrovni translace (Fujii et al., 2017). Translační aparát je schopen se specializovat na určité skupiny substrátů. Například ribozomy obsahující RPL10 nebo RPS25 přednostně překládají několik stovek transkriptů včetně mRNA kódujících klíčové komponenty řídící metabolismus, buněčný cyklus a vývoj v rámci jednoho typu buněk. Oba tyto RP se nacházejí poblíž výstupního kanálu mRNA na ribozomu. Ukázalo se, že RPL10 fyzicky interaguje s IRES elementy v 5'UTR na překládané mRNA a zprostředkovává tak funkci těchto *cis*-regulačních prvků. Jelikož ne všechny transkripty, které byly preferenčně překládány ribozomem obsahující RPL10, obsahovaly známé IRES, vyvstává otázka, jaké další neznámé *cis*-regulační prvky mohou poskytovat preferenční translaci na ribozomech (Shi et al., 2017). Obdobně RPS25 iniciuje translaci pomocí IRES, tedy způsobem nezávislým na 5'cap struktuře. Nepřítomnost RPS25 vede k ignorování takových IRES, ale nemá vliv na translaci závislou na 5'cap struktuře mRNA (Hertz et al., 2013). Existuje množství důkazů, že IRES elementy jsou důležité k udržení exprese specifických proteinů během patofyziologických stavů, při nichž je narušena translace závislá na 5'cap (Spriggs et al., 2008).

Dalším zajímavým příkladem specifické translace je místně specifická translace mRNA v polarizovaných buňkách. Při oogenezi u octomilky je translace deponovaných mateřských mRNA omezena na definovaná místa v buňce, čímž se vytváří proteinový gradient řídící raná embryonální stádia vývoje (Johnstone & Lasko, 2001). Dalším podobným příkladem může být lokální translace na synapsích neuronů (Richter, 2001).

3.2 Úrovně ribozomální heterogenity

Ribozomy se od sebe mohou lišit na úrovni rRNA nebo RP (Lilleorg et al., 2019). Tuto heterogenitu můžeme uspořádat do sedmi kategorií. Z hlediska rRNA to jsou modifikace rRNA a složení jednotlivých rRNA v ribozomu. Proteinová složka ribozomů je rozmanitější: lze ji studovat z hlediska zastoupení jednotlivých RP, přítomnosti jejich paralogických izoform, stechiometrie a modifikací RP. Další kategorií jsou proteiny asociované s ribozomy (**Obrázek 9**) (Guo, 2018).



Obrázek 9: Přehled sedmi kategorií heterogenity ribozomu. (převzato z Guo, 2018)

3.2.1 Heterogenita ribozomů na úrovni RNA

Heterogenita rRNA může také přispívat ke specializovaným funkcím ribozomů. Během evoluce se rRNA vyvíjela a u některých organismů dnes existuje více variant. Nejvýraznější změny se nacházejí v expanzních segmentech rRNA, které jsou umístěny na povrchu ribozomu. Tyto expanzní segmenty mohou interagovat s dalšími komponenty a společně ovlivňovat translaci (Fujii et al., 2018; Yusupov, 2011).

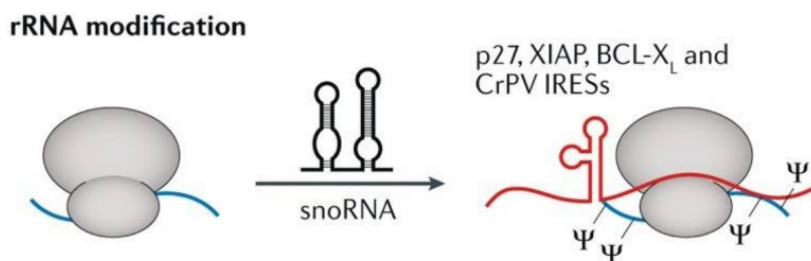
U prvoka zimničky (*Plasmodium*) byla popsána vývojově regulovaná transkripce dvou různých typů ribozomálních genů (A a S). Oba typy rDNA kódují podobné rRNA, jejich sekvence se však liší a existují mezi nimi funkční rozdíly (Velichutina et al., 1998). Je pozoruhodné, že během fáze svého životního cyklu, která probíhá v komárech, *Plasmodium* využívá transkripty z jednoho typu rDNA, zatímco v savčím hostiteli dominují transkripty z druhého typu rDNA (Mccutchan, 2016). Diferenciální exprese různých typů rRNA byla také studována na drápatce *Xenopus laevis*. Drápatky produkují varianty 5S rRNA, u kterých byly jednoznačně prokázány rozdíly v sekvenci (Wegnez et al., 1972). Během oogeneze a časné embryogeneze drápatky se v oocytech exprimuje pouze jedna specifická varianta 5S rRNA. Naproti tomu somatické buňky vytvářejí pouze druhou variantu 5S rRNA (Peterson et al., 1980; Wegnez et al., 1972). Oocyt-specifický typ 5S rRNA je v genomu drápatky obsažen v daleko více kopiích (až 100x více) než somatický typ. Tento „duální“ systém 5S rRNA genů se pravděpodobně vyvinul, aby zajistil syntézu velkého množství 5S rRNA

spojené s vyšší produkcí ribozomů v rostoucích oocytech (Brown, 2004). Podobný případ bychom našli u dánia pruhovaného (*Danio rerio*). U dánia kromě 5S rRNA specificky produkované ve vajíčkách existuje další analogický systém pro ribozomy, které obsahují odlišné verze rRNA. V rámci transkripční jednotky 45S pre-rRNA (prekurzoru pro 5,8S, 18S a 28S rRNA), existují verze mateřského nebo somatického typu. Během oogeneze jsou exprimovány rRNA verze mateřského typu a během embryogeneze jsou nahrazeny somatickým typem (Locati et al., 2017).

U bakterií *E.coli* je známo sedm operonů pro expresi rRNA, které reagují na změny v růstových podmínkách, jako jsou živiny a teplota. Inaktivace jednoho z těchto operonů, konkrétně operonu *rrn*, vede k poškození koordinace mezi koncentrací iniciačního faktoru IF3 a ribozomů (Condon et al., 1995).

3.2.1.1 Modifikace rRNA specificky ovlivňují translaci mRNA

Chemické modifikace rRNA jsou klíčové pro ribozomální funkce a mohou být významným zdrojem heterogenity ribozomů (**Obrázek 9**). Přes 200 nukleotidových zbytků lidské rRNA může podléhat různým modifikacím. Pseudouridinové modifikace vznikají za asistence malých jadérekových RNA (snoRNA). Důležitost této modifikace dokazuje mutace v genu *DKC1* kódující dyskerin - enzym z rodiny snoRNP katalyzující pseudouridylyaci. Absence pseudouridinu (Ψ) v rRNA snižuje translaci závislou na IRES, kterou využívají některé tumor-supresorové a anti-apoptotické faktory (**Obrázek 10**). Mutace genu *DKC1* byla identifikována u lidí s onemocněním *dyskeratosis congenita*, která se projevuje selháním kostní dřeně, kožními abnormalitami a zvýšenou náchylností k rakovině (Yoon et al., 2006).



Obrázek 10: Modifikace rRNA ovlivňují translaci. Malé jadérekové RNA (snoRNA) asistují pseudouridylyaci rRNA (Ψ) a umožňují iniciaci translace několika virových a buněčných mRNA obsahující IRES elementy (červené vlákno mRNA, modré vlákno rRNA). (převzato z Genuth & Barna, 2018a)

Jednou z nejčastějších modifikací RNA je 2'-O-methylace ribózy. Methylace rRNA je důležitá pro účinnost a přesnost translace (Decatur & Fournier, 2002). Studie na buněčné linii karcinomu prsu odhalila souvislost mezi tumorigenezí a post-translační methylací ribozomů. V těchto nádorových buňkách dochází ke zrychlení biogeneze ribozomů doprovázené změnami post-transkripčních úprav rRNA. Ukázalo se, že na několika pozicích v rRNA vzrostl poměr methylovaných bází. Takové změny mohou modulovat mechanismus translační kontroly. Přesná funkce methylovaných skupin rRNA dosud nebyla zcela objasněna (Beghin et al., 2009).

Malé jadéřkové RNA (snoRNA) řídí post-transkripční modifikace rRNA, jak již bylo uvedeno výše. Expresí snoRNA je tkáňově specifická. U nádorových buněk jsou výrazné změny v expresi snoRNA v porovnání s normálními zdravými buňkami. Otázkou je, zda tyto změny mají vliv na modifikace rRNA a mohou tak regulovat tkáňově specifickou syntézu proteinů na ribozomech (Jorjani et al., 2016).

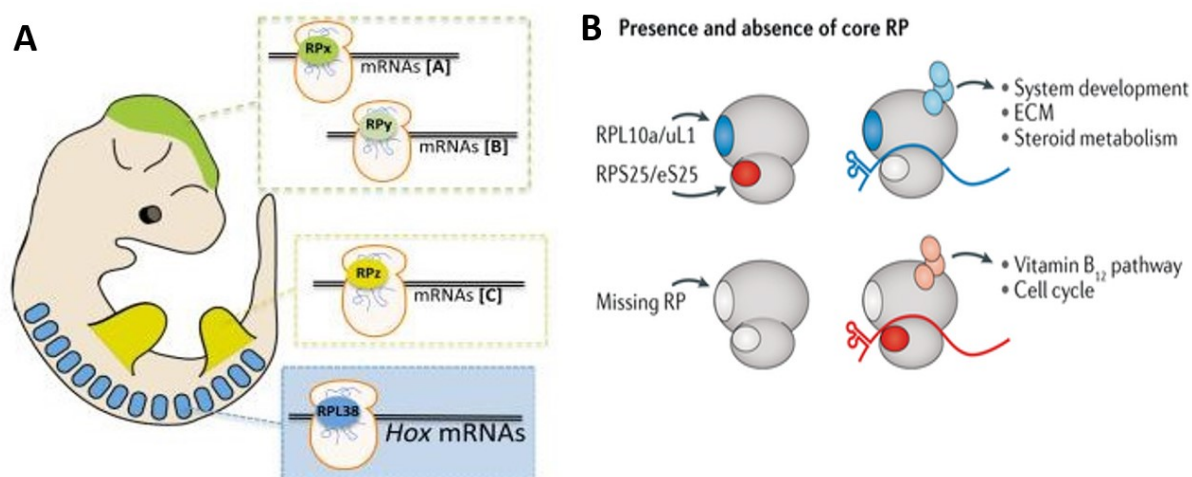
3.2.2 Heterogenita ribozomů na úrovni RP

Heterogenity proteinového složení ribozomů může buňka dosáhnout regulovanou syntézou RP, jejich selektivním začleněním do ribozomů nebo vyloučením RP z translačního aparátu. Dalším zdrojem heterogenity jsou chemické modifikace RP nebo rRNA.

Řada RP se liší svou expresí v závislosti na typu buněk a tkání nebo na vývojovém stádiu (Kondrashov et al., 2011; Lilleorg et al., 2019; Mageeney & Ware, 2019). Dokonce i nepatrné relativní změny v množství RP by mohly mít velký vliv na translaci vzhledem k tomu, že v jediné savčí buňce bychom našli miliony ribozomů (Genuth & Barna, 2018b). Rozdíly v hladinách exprese mohou také odrážet jejich extra-ribozomální funkce (Warner & McIntosh, 2009).

Existují rozdíly v proteinovém složení ribozomů z různých orgánů savců (Comparisons et al., 1972). Expresí RP je dynamicky regulována během embryonálního vývoje myši. Tato heterogenita v expresi RP naznačuje jejich specializované funkce v jednotlivých tkáních. Ukázalo se, že exprese *Hox* genů, určujících předozadní osu těla savců, je regulována aktivitou RPL38, proteinu velké ribozomální podjednotky (**Obrázek 11 A**). RPL38 usnadňuje vznik 80S ribozomálního komplexu na těchto transkriptech, a tím zvyšuje míru translace *Hox* genů (Kondrashov et al., 2011). Na myších modelech byla

studována exprese několika dalších RP. RPL10a a RPS25 patří mezi základní RP. Ribozomy, které postrádají RPS25, se specializují na translaci mRNA specifických buněčných drah jako je vývoj, metabolismus steroidů a syntéza proteinů mezibuněčné hmoty. Ribozomy postrádající RPL10a jsou naopak specializované na dráhy buněčného cyklu a metabolismu vitamínu B12 (**Obrázek 11 B**) (Genuth & Barna, 2018).



Obrázek 11: Rozdíly v proteinovém složení ribozomů mají vliv na expresi specifických mRNA. **(A)** Model specifickosti RP v kontrole genové exprese během embryogeneze u myši. Zvýšená exprese určitých RP v některých tkáních může způsobit specifickou translaci skupiny mRNA (a, b, c). Translace mRNA Hox genů závisí na ribozomech obsahujících RPL38. Hlava (zelená), končetiny (žlutá), somity (modrá) (převato z Kondrashov et al., 2011). **(B)** Ribozomy obsahující nebo postrádající RPL10 nebo RPS25 se specializují na translaci mRNA genů, které jsou součástí určité buněčné dráhy (převato z Genuth & Barna, 2018a).

3.2.2.1 Modifikace RP zvyšují heterogenitu ribozomů

Post-translační modifikace RP jsou dalším zdrojem heterogenity ribozomů, který má vliv na překlad proteinů (**Obrázek 9**). Například v neuronech uvolňujících dopamin je známo, že nadměrná fosforylace RPS15 přispívá ke globálnímu zvýšení rychlosti translace, která vede k rozvoji neurodegenerativní Parkinsonovy choroby. Nejběžnější příčinou této nemoci je mutace v LRRK2 (Leucine-rich repeat kinase 2), která fosforyluje právě RPS15. Ukázalo se, že pokud je tato cesta zablokována, nedochází k dysregulaci translace a neurotoxicitě LRRK2 v dopaminergních neuronech u lidských embryonálních kmenových buněk a u *Drosophila melanogaster* (Martin et al., 2014). Naopak protein L13 po fosforylaci

disociuje z ribozomu a váže se na mRNA, čímž umlčuje jejich translaci (Mazumder et al., 2003).

Další modifikací popsanou u RP je ubikvitinace. Ubikvitin ligáza ZNF598 je nezbytná pro zastavení ribozomů na poly(A) konci mRNA, které spustí dráhu pro kontrolu kvality proteinů, recyklaci ribozomu a stresovou signalizaci. Substrátem ZNF598 jsou proteiny RPS10, RPS20 a RPS3A. (Brandman & Hegde, 2016; Juszkievicz & Hegde, 2017).

3.2.2.2 Paralogické izoformy RP

Paralogické izoformy RP jsou si na úrovni sekvence aminokyselin většinou velmi podobné. Přesto se mohou lišit ve svých funkcích v ribozomu a/nebo mimo něj. Ribozomy nesoucí různé izoformy téhož RP proto přispívají k rozmanitosti ve funkčních rolích. U bakterií se vyskytuje několik paralogních genů pro RP. U bakterie *E. coli* jsou dva paralogní RP bL31A a bL31B a druhý protein bL36A a bL36B. Ukázalo se, že bakterie umí významně měnit proteinové složení ribozomů v průběhu přechodu z exponenciální do stacionární fáze růstu. S přechodem do stacionární fáze jsou proteiny bL31A a bL36A nahrazeny svými paralogy bL31B a bL36B. Ačkoliv mají tyto paralogy velmi podobné strukturní vlastnosti, jejich záměna vede k funkčním rozdílům. Hlavním strukturním rozdílem mezi paralogy je přítomnost zinkových prstů u bL31A a bL36A. Dochází k výrazné změně ve složení proteinů asociovaných s ribozomy. V exponenciální fázi jsou především ribozomy vázány s podjednotkou RNA polymerázy a naopak ve stacionární fázi převažují ribozom inaktivující faktory, jako je například protein SRA (Lilleorg et al., 2019; Starosta et al., 2014).

Dalším příkladem funkční heterogenity ribozomů je specifická translace mRNA v *Drosophila melanogaster*. *RpL22* je jeden z devíti RPG, které se nacházejí v octomilce ve dvou paralogních formách (Kong et al., 2019). Proteiny eRpl22 a eRpl22-like, mají význam v zárodečné tkáni a nelze je zcela zaměnit. Oba paralogy mají funkčně odlišné role ve vývoji a spermatogenezi (Mageeney et al., 2018). Analýza aktivně translatovaných transkriptů (Ribosome profiling) ve varlatech ukázala, že ribozomy obsahující buď eRpl22 nebo eRpl22-like selektivně translatují odlišné subpopulace mRNA a to nezávisle na zárodečných specifických faktorech (Mageeney & Ware, 2019). Podobný případ nalezneme u RP S5, který je kódován dvěma geny, *RpS5a* a *RpS5b*. Protein Rps5b, exprimovaný hlavně v zárodečných liniích, je nezbytný pro oogenezi v octomilce. Ribozomy obsahující RpS5a

a RpS5b se sdružují s odlišnými populacemi RNA, přičemž nejvýznamnějšími jsou mRNA kódující mitochondriální proteiny zapojené do oxidativní fosforylace, které jsou spojené právě s RpS5b ribozomy (Kong et al., 2019).

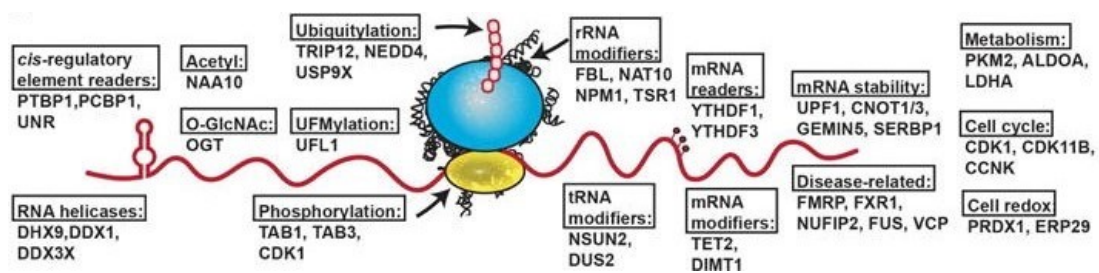
3.2.3 Proteiny asociované s ribozomy

Ribozom je dynamickým centrem pro interakci mnoha proteinů, které ho propojují s různými buněčnými funkcemi a umožňují další stupeň regulace translace (Simsek et al., 2017). Několik studií naznačuje důležitou roli proteinů, které interagují s ribozomy. Například RNA vazebný protein FMRP (protein mentální retardace způsobené křehkým X) svou vazbou na ribozom reguluje translaci specifických mRNA (Chen et al., 2014; Darnell et al., 2011). Proteiny, které se buď přímo nebo nepřímo vážou na ribozomy jsou součástí ribo-interaktomu. Ribo-interaktom zahrnuje přibližně 430 proteinů včetně RP, iniciačních faktorů translace, elongačních faktorů a enzymů modifikujících proteiny. Mezi enzymy post-translačně modifikující proteiny, které přímo interagují s ribozomy patří například ubikvitin ligázy a deubikvitylační enzymy, kinázy a fosfatázy (Simsek et al., 2017). Patří sem také enzymy, které modulují post-transkripční modifikace mRNA (Dominissini et al., 2016; Wang et al., 2015). Ribo-interaktom zahrnuje proteiny patřící do různých funkčních kategorií, jako je buněčný cyklus, redoxní homeostáza a metabolismus. Všechny vyjmenované složky ribo-interaktomu mohou významně přispívat k heterogenitě ribozomů (**Obrázek 12**) (Simsek et al., 2017).

Mezi post-translačně modifikující proteiny v rámci ribo-interaktomu patří UFL1 (UFM1 specifická ligáza 1), enzym, který k proteinům připojuje UFM1 – protein podobný ubikvitinu (Ubiquitin-fold modifier 1) (Wei & Xu, 2016). Takzvaná ufmylace je tříkroková enzymatická reakce, nezbytná pro vývoj tkání u mnohobuněčných živočichů (Metazoa) (Walczak et al., 2019). Ufmylace některých RP pravděpodobně napomáhá sestavení 80S ribozomu a jeho interakci s mRNA (Simsek et al., 2017).

Dalším příkladem proteinu asociovaného s ribozomem je glykolytický enzym pyruvát kináza (PKM), který katalyzuje přeměnu fosfoenolpyruvátu a ADP na pyruvát a ATP během glykolýzy a je důležitým regulačním prvkem anabolických procesů (Israelsen & Vander Heiden, 2015). Pyruvát kináza má dvě izoformy M1 a M2, které vznikají alternativním sestřihem. Každý tento izoenzym je specifický pro jinou tkáň. PKM1 je exprimována především v diferencovaných tkáních jako je srdce, mozek a svalová tkáň, kde

je vysoký požadavek na ATP. PKM2 je exprimován během vývoje a v dalších tkáních, jako je slezina a plíce (Clower et al., 2010). Ukázalo se, že obě tyto formy jsou schopné vázat ribozomy, přičemž u PKM2 se prokázala přímá vazba do místa a na ribozomu. PKM2 funguje jako aktivátor translace specifických mRNA, které nesou informaci především pro komponenty endoplazmatického retikula a buněčné membrány. PKM2-ribozomy přednostně vytvářejí membránové proteiny ER a proteiny umožňující kotvení ribozomů na membráně ER (Sec61) (Simsek et al., 2017). Obě formy PKM jsou intenzivně studovány v souvislosti s rakovinnou a buněčnou diferenciací (Israelsen & Vander Heiden, 2015; Morita et al., 2018; Sato et al., 2018)



Obrázek 12: Ribo-interaktom obsahuje proteiny z různých funkčních kategorií jako je buněčný cyklus, redoxní homeostáza a metabolismus. Zde jsou uvedeny různé příklady přímých interakcí s ribozomy z každé funkční skupiny. (převzato z Simsek et al., 2017)

Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout nejnovější poznatky a diskutovat význam specializace ribozomů pro regulaci translace. Specializované ribozomy přednostně překládají určitou podmnožinu dostupných mRNA, což umožňuje buňkám cíleně odpovídat na podněty prostředí i potřeby vývojového programu. V současné době jsou specializované ribozomy středem pozornosti výzkumů a předmětem intenzivní vědecké debaty.

Různým způsobem specializované ribozomy se liší svým složením. Tato heterogenita se projevuje na úrovni rRNA (kterou z variant rRNA daný ribozom obsahuje a jaké posttranskripční modifikace nese) i proteinového složení. Vlastnosti ribozomu se odvíjejí mimo jiné od toho, které typy ribozomálních proteinů obsahuje, v jakém poměru, kterou izoformu od každého z nich a jakým způsobem modifikovanou. Tato práce pokrývá všechny zmíněné úrovně a interpretuje jejich význam pro specializované funkce ribozomů. Pojem specializované ribozomy je širokým tématem. Proto s lítostí připouštím, že v práci byly opomenuty spousty zajímavých a hodnotných prací, které z kapacitních důvodů nejsou součástí této bakalářské práce.

Ribozomy vykonávají jednu z nejdůležitějších událostí v buňce, syntézu proteinů. Proto regulace biogeneze ribozomů hraje zásadní roli v translační kontrole. K významu specializovaných ribozomů velkou mírou přispívají i extra-ribozomální funkce RP. Poruchy biogeneze ribozomů může být příčinou rakovinných onemocnění, neboť prostřednictvím proteinu MDM2 spolupracují s tumor-supresorovou dráhu p53. Rovněž mutace v RP vedou k vážným onemocněním zvaným ribozomopatie. Studium patologie RP a biogeneze ribozomů je důležité pro pochopení mechanismů zasahující nejen do syntézy proteinů, ale i buněčných signálních drah. Závěrem bych chtěla podtrhnout, že další pátrání po významech specializovaných ribozomů nám nabízí obrovský potenciál v porozumění, jak organismy regulují své základní pochody pro buněčné odpovědi. Tyto snahy by v budoucnu mohly vést například k novým možnostem léčby nemocí spojené s ribozomy včetně rakovinných onemocnění.

Použitá literatura

- Abrhánová, K., Nemčko, F., Libus, J., Převorovský, M., Hálová, M., Půta, F., & Folk, P. (2018). Introns provide a platform for intergenic regulatory feedback of RPL22 paralogs in yeast. In *PLoS ONE* (Vol. 13, Issue 1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190685>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2008). *Molecular Biology of The Cell* (S. G. Marjorie Anderson (ed.); fifth).
- Anger, A. M., Armache, J. P., Berninghausen, O., Habeck, M., Subklewe, M., Wilson, D. N., & Beckmann, R. (2013). Structures of the human and Drosophila 80S ribosome. *Nature*, *497*(7447), 80–85. <https://doi.org/10.1038/nature12104>
- Arabi, A., Wu, S., Ridderstråle, K., Bierhoff, H., Shiue, C., Fatyol, K., Fahlén, S., Hydbring, P., Söderberg, O., Grummt, I., Larsson, L. G., & Wright, A. P. H. (2005). c-Myc associates with ribosomal DNA and activates RNA polymerase I transcription. *Nature Cell Biology*, *7*(3), 303–310. <https://doi.org/10.1038/ncb1225>
- Ban, N., Beckmann, R., Cate, J. H. D., Dinman, J. D., Dragon, F., Ellis, S. R., Lafontaine, D. L. J., Lindahl, L., Liljas, A., Lipton, J. M., McAlear, M. A., Moore, P. B., Noller, H. F., Ortega, J., Panse, V. G., Ramakrishnan, V., Spahn, C. M. T., Steitz, T. A., Tchorzewski, M., ... Yusupov, M. (2014). a new system for naming ribosomal proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, *24*(1), 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2014.01.002>
- Ban, Nissen, P., Hansen, J., Moore, P., & Steitz, T. (2000). The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution. *Science*, *289*(5481), 905–920. <https://doi.org/10.1126/science.289.5481.905>
- Barna, M. (2013). Ribosomes take control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(1), 9–10. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218764110>
- Beghin, A., Solano-gonza, E., Textoris, J., Prats, A., Mertani, H. C., Dumontet, C., & Diaz, J. (2009). *Dysregulation of Ribosome Biogenesis and Translational Capacity Is Associated with Tumor Progression of Human Breast Cancer Cells*. *4*(9), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007147>
- Beringer, M., & Rodnina, M. V. (2007). The Ribosomal Peptidyl Transferase. *Molecular Cell*, *26*(3), 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.03.015>
- Brandman, O., & Hegde, R. S. (2016). Ribosome-associated protein quality control. *Nature Structural and Molecular Biology*, *23*(1), 7–15. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3147>
- Brenner, S., Jacob, F., & Meselson, M. (1961). An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature Publishing Group*.
- Brown, D. D. (2004). a tribute to the *Xenopus laevis* oocyte and egg. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(44), 45291–45299. <https://doi.org/10.1074/jbc.X400008200>
- Bursac, S., Brdovcak, M. C., Donati, G., & Volarevic, S. (2014). Activation of the tumor suppressor p53 upon impairment of ribosome biogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, *1842*(6), 817–830. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.08.014>
- Bursać, S., Brdovčak, M. C., Pfannkuchen, M., Orsolčić, I., Golomb, L., Zhu, Y., Katz, C., Daftuar, L., Grabusić, K., Vukelić, I., Filić, V., Oren, M., Prives, C., & Volarević, S. (2012). Mutual protection of ribosomal proteins L5 and L11 from degradation is essential for p53 activation upon ribosomal biogenesis stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(50), 20467–20472. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218535109>
- Cai, Y., Pi, W., Sivaprakasam, S., Zhu, X., Zhang, M., Chen, J., Makala, L., Lu, C., Wu, J., Teng, Y., Pace, B., Tuan, D., Singh, N., & Li, H. (2015). UFBP1, a Key Component of the Ufm1 Conjugation System, Is Essential for Ufmylation-Mediated Regulation of Erythroid

- Development. *PLoS Genetics*, *11*(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005643>
- Chen, E., Sharma, M. R., Shi, X., Agrawal, R. K., & Joseph, S. (2014). Fragile X mental retardation protein regulates translation by binding directly to the ribosome. *Molecular Cell*, *54*(3), 407–417. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.03.023>
- Chow, C. S., Lamichhane, T. N., & Mahto, S. K. (2007). Expanding the nucleotide repertoire of the ribosome with post-transcriptional modifications. *ACS Chemical Biology*, *2*(9), 610–619. <https://doi.org/10.1021/cb7001494>
- Ciganda, M., & Williams, N. (2011). Eukaryotic 5S rRNA biogenesis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, *2*(4), 523–533. <https://doi.org/10.1002/wrna.74>
- Clower, C. V., Chatterjee, D., Wang, Z., Cantley, L. C., Heidena, M. G. V., & Krainer, A. R. (2010). The alternative splicing repressors hnRNP A1/A2 and PTB influence pyruvate kinase isoform expression and cell metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(5), 1894–1899. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914845107>
- Comparisons, I., Delaunay, J., Mathieu, C., & Schapira, G. (1972). *Eukaryotic Ribosomal Proteins by Two-Dimensional Polyacrylamide-Gel Electrophoresis*. *564*, 561–564.
- Condon, C., Liveris, D., Squires, C., Schwartz, I., & Squires, C. L. (1995). rRNA operon multiplicity in *Escherichia coli* and the physiological implications of *rrn* inactivation. *Journal of Bacteriology*, *177*(14), 4152–4156. <https://doi.org/10.1128/jb.177.14.4152-4156.1995>
- Da Costa, L., O'Donohue, M. F., van Dooijeweert, B., Albrecht, K., Unal, S., Ramenghi, U., Leblanc, T., Dianzani, I., Tamary, H., Bartels, M., Gleizes, P. E., Wlodarski, M., & MacInnes, A. W. (2018). Molecular approaches to diagnose Diamond-Blackfan anemia: The EuroDBA experience. *European Journal of Medical Genetics*, *61*(11), 664–673. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.10.017>
- Dai, M.-S., Zeng, S. X., Jin, Y., Sun, X.-X., David, L., & Lu, H. (2004). Ribosomal Protein L23 Activates p53 by Inhibiting MDM2 Function in Response to Ribosomal Perturbation but Not to Translation Inhibition. *Molecular and Cellular Biology*, *24*(17), 7654–7668. <https://doi.org/10.1128/mcb.24.17.7654-7668.2004>
- Darnell, J. C., Van Driesche, S. J., Zhang, C., Hung, K. Y. S., Mele, A., Fraser, C. E., Stone, E. F., Chen, C., Fak, J. J., Chi, S. W., Licatalosi, D. D., Richter, J. D., & Darnell, R. B. (2011). FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism. *Cell*, *146*(2), 247–261. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.013>
- Decatur, W. A., & Fournier, M. J. (2002). rRNA modifications and ribosome function. *Trends in Biochemical Sciences*, *27*(7), 344–351. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(02\)02109-6](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(02)02109-6)
- Dominissini, D., Nachtergaele, S., Moshitch-Moshkovitz, S., Peer, E., Kol, N., Ben-Haim, M. S., Dai, Q., Di Segni, A., Salmon-Divon, M., Clark, W. C., Zheng, G., Pan, T., Solomon, O., Eyal, E., Hershkovitz, V., Han, D., Doré, L. C., Amariglio, N., Rechavi, G., & He, C. (2016). The dynamic N1 -methyladenosine methylome in eukaryotic messenger RNA. *Nature*, *530*(7591), 441–446. <https://doi.org/10.1038/nature16998>
- Doudna, J. A., & Rath, V. L. (2002). Structure and function of the eukaryotic ribosome: The next frontier. *Cell*, *109*(2), 153–156. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00725-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00725-0)
- Draptchinskaia, N., Gustavsson, P., Andersson, B., Pettersson, M., Willig, T. N., Dianzani, I., Ball, S., Tchernia, G., Klar, J., Matsson, H., Tentler, D., Mohandas, N., Carlsson, B., & Dahl, N. (1999). The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia. *Nature Genetics*, *21*(2), 169–175. <https://doi.org/10.1038/5951>
- Ebert, B. L., Pretz, J., Bosco, J., Chang, C. Y., Tamayo, P., Galili, N., Raza, A., Root, D. E., Attar, E., Ellis, S. R., & Golub, T. R. (2008). Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature*, *451*(7176), 335–339. <https://doi.org/10.1038/nature06494>
- Farley-Barnes, K. I., Ogawa, L. M., & Baserga, S. J. (2019). Ribosomopathies: Old Concepts, New

- Controversies. *Trends in Genetics*, 35(10), 754–767. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2019.07.004>
- Field, K. G., Olsen, G. J., Lane, D. J., Giovannoni, S. J., Ghiselin, M. T., Raff, E. C., Pace, N. R., & Raff, R. A. (1988). Molecular phylogeny of the animal kingdom. *Science*, 239(4841), 748–753. <https://doi.org/10.1126/science.3277277>
- Filipovska, A., & Rackham, O. (2013a). Specialization from synthesis: How ribosome diversity can customize protein function. *FEBS Letters*, 587(8), 1189–1197. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.02.032>
- Filipovska, A., & Rackham, O. (2013b). Specialization from synthesis: How ribosome diversity can customize protein function. In *FEBS Letters* (Vol. 587, Issue 8, pp. 1189–1197). <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.02.032>
- Frank, J. (1997). The ribosome at higher resolution - The donut takes shape. *Current Opinion in Structural Biology*, 7(2), 266–272. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(97\)80035-8](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(97)80035-8)
- Fraser, C. S., & Doudna, J. A. (2007). Structural and mechanistic insights into hepatitis C viral translation initiation. *Nature Reviews Microbiology*, 5(1), 29–38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1558>
- Friedman, D. I., Schauer, A. T., Baumann, M. R., Baron, L. S., & Adhya, S. L. (1981). Evidence that ribosomal protein S10 participates in control of transcription termination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78(2 II), 1115–1118. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.2.1115>
- Fromont-Racine, M., Senger, B., Saveanu, C., & Fasiolo, F. (2003). Ribosome assembly in eukaryotes. *Gene*, 313(1–2), 17–42. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(03\)00629-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(03)00629-2)
- Fujii, K., Shi, Z., Zhulyn, O., Denans, N., & Barna, M. (2017). Pervasive translational regulation of the cell signalling circuitry underlies mammalian development. *Nature Communications*, 8, 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms14443>
- Fujii, K., Susanto, T. T., Saurabh, S., & Barna, M. (2018). Decoding the Function of Expansion Segments in Ribosomes. *Molecular Cell*, 72(6), 1013–1020.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.11.023>
- Fumagalli, S., Di Cara, A., Neb-Gulati, A., Natt, F., Schwemberger, S., Hall, J., Babcock, G. F., Bernardi, R., Pandolfi, P. P., & Thomas, G. (2009). Absence of nucleolar disruption after impairment of 40S ribosome biogenesis reveals an rpL11-translationdependent mechanism of p53 induction. *Nature Cell Biology*, 11(4), 501–508. <https://doi.org/10.1038/ncb1858>
- Gebauer, F., & Hentze, M. W. (2004). Molecular mechanisms of translational control. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5(10), 827–835. <https://doi.org/10.1038/nrm1488>
- Genuth, N. R., & Barna, M. (2018a). Heterogeneity and specialized functions of translation machinery: From genes to organisms. *Nature Reviews Genetics*, 19(7), 431–452. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0008-z>
- Genuth, N. R., & Barna, M. (2018b). The Discovery of Ribosome Heterogeneity and Its Implications for Gene Regulation and Organismal Life. *Molecular Cell*, 71(3), 364–374. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.07.018>
- Glisovic, T., Bachorik, J. L., Yong, J., & Dreyfuss, G. (2008). RNA-binding proteins and post-transcriptional gene regulation. *FEBS Letters*, 582(14), 1977–1986. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.03.004>
- Godet, A. C., David, F., Hantelys, F., Tatin, F., Lacazette, E., Garmy-Susini, B., & Prats, A. C. (2019). IRES trans-acting factors, key actors of the stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4). <https://doi.org/10.3390/ijms20040924>
- Grandori, C., Gomez-Roman, N., Felton-Edkins, Z. A., Ngouenet, C., Galloway, D. A., Eisenman, R. N., & White, R. J. (2005). c-Myc binds to human ribosomal DNA and stimulates

- transcription of rRNA genes by RNA polymerase I. *Nature Cell Biology*, 7(3), 311–318. <https://doi.org/10.1038/ncb1224>
- Green and, R., & Noller, H. F. (1997). Ribosomes and Translation. *Annual Review of Biochemistry*, 66(1), 679–716. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.66.1.679>
- Guo, H. (2018). Specialized ribosomes and the control of translation. *Biochemical Society Transactions*, 46(4), 855–869. <https://doi.org/10.1042/BST20160426>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Henras, A. K., Plisson-Chastang, C., O’Donohue, M. F., Chakraborty, A., & Gleizes, P. E. (2015). An overview of pre-ribosomal RNA processing in eukaryotes. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 6(2), 225–242. <https://doi.org/10.1002/wrna.1269>
- Hertz, M. I., Landry, D. M., Willis, A. E., Luo, G., & Thompson, S. R. (2013). Ribosomal Protein S25 Dependency Reveals a Common Mechanism for Diverse Internal Ribosome Entry Sites and Ribosome Shunting. *Molecular and Cellular Biology*, 33(5), 1016–1026. <https://doi.org/10.1128/mcb.00879-12>
- Hu, C. Y. M., Tranque, P., Edelman, G. M., & Mauro, V. P. (1999). rRNA-complementarity in the 5' untranslated region of mRNA specifying the Gtx homeodomain protein: Evidence that base-pairing to 18S rRNA affects translational efficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(4), 1339–1344. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.4.1339>
- Israelsen, W. J., & Vander Heiden, M. G. (2015). Pyruvate kinase: Function, regulation and role in cancer. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 43, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.004>
- Jackson, R. J., Hellen, C. U. T., & Pestova, T. V. (2010). The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(2), 113–127. <https://doi.org/10.1038/nrm2838>
- Johnstone, O., & Lasko, P. (2001). *Translational regulation and rna localization in drosophila oocytes and embryos*. 8(April), 285–292.
- Jorjani, H., Kehr, S., Jedlinski, D. J., Gumienny, R., Hertel, J., Stadler, P. F., Zavolan, M., & Gruber, A. R. (2016). *An updated human snoRNAome*. 1–15. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw386>
- Juszkiewicz, S., & Hegde, R. S. (2017). Initiation of Quality Control during Poly(A) Translation Requires Site-Specific Ribosome Ubiquitination. *Molecular Cell*, 65(4), 743-750.e4. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.11.039>
- Kampen, K. R., Sulima, S. O., Verbelen, B., Girardi, T., Vereecke, S., Rinaldi, G., Verbeeck, J., Op de Beeck, J., Uyttebroeck, A., Meijerink, J. P. P., Moorman, A. V., Harrison, C. J., Spincemille, P., Cools, J., Cassiman, D., Fendt, S. M., Vermeersch, P., & De Keersmaecker, K. (2019). The ribosomal RPL10 R98S mutation drives IRES-dependent BCL-2 translation in T-ALL. *Leukemia*, 33(2), 319–332. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0176-z>
- Kampen, K. R., Sulima, S. O., Vereecke, S., & De Keersmaecker, K. (2020). Hallmarks of ribosomopathies. *Nucleic Acids Research*, 48(3), 1013–1028. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz637>
- Kearse, M. G., Chen, A. S., & Ware, V. C. (2011). Expression of ribosomal protein L22e family members in *Drosophila melanogaster*: RpL22-like is differentially expressed and alternatively spliced. *Nucleic Acids Research*, 39(7), 2701–2716. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1218>
- Kellis, M., Birren, B. W., & Lander, E. S. (2004). Proof and evolutionary analysis of ancient genome duplication in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*, 428(6983), 617–624. <https://doi.org/10.1038/nature02424>

- Khatter, H., Myasnikov, A. G., Natchiar, S. K., & Klaholz, B. P. (2015). Structure of the human 80S ribosome. *Nature*, *520*(7549), 640–645. <https://doi.org/10.1038/nature14427>
- Komili, S., Farny, N. G., Roth, F. P., & Silver, P. A. (2007). Functional Specificity among Ribosomal Proteins Regulates Gene Expression. *Cell*, *131*(3), 557–571. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.08.037>
- Kondrashov, N., Pusic, A., Stumpf, C. R., Shimizu, K., Hsieh, A. C., Xue, S., Ishijima, J., Shiroishi, T., & Barna, M. (2011). Ribosome-mediated specificity in Hox mRNA translation and vertebrate tissue patterning. *Cell*, *145*(3), 383–397. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.03.028>
- Kong, J., Han, H., Bergalet, J., Bouvrette, L. P. B., Hernández, G., Moon, N. S., Vali, H., Lécuyer, É., & Lasko, P. (2019). a ribosomal protein S5 isoform is essential for oogenesis and interacts with distinct RNAs in *Drosophila melanogaster*. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50357-z>
- Koutmou, K. S., McDonald, M. E., Brunelle, J. L., & Green, R. (2014). RF3:GTP promotes rapid dissociation of the class 1 termination factor. *Rna*, *20*(5), 609–620. <https://doi.org/10.1261/rna.042523.113>
- Kuersten, S., Radek, A., Vogel, C., & Penalva, L. O. F. (2013). Translation regulation gets its “omics” moment. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, *4*(6), 617–630. <https://doi.org/10.1002/wrna.1173>
- Lajtha LG, O. R. (1961). a *Kinetic Model of the Erythron*. *54*(May), 369–374.
- Li, S. C., Squires, C. L., & Squires, C. (1984). Antitermination of *E. coli* rRNA transcription is caused by a control region segment containing lambda nut-like sequences. *Cell*, *38*(3), 851–860. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(84\)90280-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(84)90280-0)
- Lilleorg, S., Reier, K., Pulk, A., Liiv, A., Tammsalu, T., Peil, L., Cate, J. H. D., & Remme, J. (2019). Bacterial ribosome heterogeneity: Changes in ribosomal protein composition during transition into stationary growth phase. *Biochimie*, *156*, 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.10.013>
- Lindström, M. S. (2009). Emerging functions of ribosomal proteins in gene-specific transcription and translation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *379*(2), 167–170. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.12.083>
- Liu, J. M., & Ellis, S. R. (2006). Ribosomes and marrow failure: Coincidental association or molecular paradigm? *Blood*, *107*(12), 4583–4588. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-12-4831>
- Liu, Y., Deisenroth, C., & Zhang, Y. (2016). RP-MDM2-p53 Pathway: Linking Ribosomal Biogenesis and Tumor Surveillance. *Trends in Cancer*, *2*(4), 191–204. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2016.03.002>
- Locati, M. D., Pagano, J. F. B., Girard, G., Ensink, W. A., Van Olst, M., Van Leeuwen, S., Nehrlich, U., Spaink, H. P., Rauwerda, H., Jonker, M. J., Dekker, R. J., & Breit, T. M. (2017). Expression of distinct maternal and somatic 5.8S, 18S, and 28S rRNA types during zebrafish development. *Rna*, *23*(8), 1188–1199. <https://doi.org/10.1261/rna.061515.117>
- Lohrum, M. A. E., Ludwig, R. L., Kubbutat, M. H. G., Hanlon, M., & Vousden, K. H. (2003). Regulation of HDM2 activity by the ribosomal protein L11. *Cancer Cell*, *3*(6), 577–587. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00134-X](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00134-X)
- Lu, H., Zhu, Y. F., Xiong, J., Wang, R., & Jia, Z. (2015). Potential extra-ribosomal functions of ribosomal proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological Research*, *177*, 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.05.004>
- Lu, R., Markowitz, F., Unwin, R. D., Leek, J. T., Airoidi, E. M., MacArthur, B. D., Lachmann, A., Rozov, R., Maayan, A., Boyer, L. A., Troyanskaya, O. G., Whetton, A. D., & Lemischka, I. R. (2009). Systems-level dynamic analyses of fate change in murine embryonic stem cells. *Nature*, *462*(7271), 358–362. <https://doi.org/10.1038/nature08575>

- Luo, X., Hsiao, H. H., Bubunenko, M., Weber, G., Court, D. L., Gottesman, M. E., Urlaub, H., & Wahl, M. C. (2008). Structural and Functional Analysis of the E. coli NusB-S10 Transcription Antitermination Complex. *Molecular Cell*, 32(6), 791–802. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.10.028>
- Mageeey, C. M., Kears, M. G., Gershman, B. W., Pritchard, C. E., Colquhoun, J. M., & Ware, V. C. (2018). Functional interplay between ribosomal protein paralogues in the eRpL22 family in *Drosophila melanogaster*. *Fly*, 12(3–4), 143–163. <https://doi.org/10.1080/19336934.2018.1549419>
- Mageeey, C. M., & Ware, V. C. (2019). Specialized eRpL22 paralogue-specific ribosomes regulate specific mRNA translation in spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Biology of the Cell*, 30(17), 2240–2253. <https://doi.org/10.1091/mbc.E19-02-0086>
- Mangiarotti, G., & Giorda, R. (2002). Synthesis of ribosomal proteins in developing Dictyostelium discoideum cells is controlled by the methylation of proteins S24 and S31. *Biochemistry and Cell Biology*, 80(2), 261–270. <https://doi.org/10.1139/o02-005>
- Marechal, V., Elenbaas, B., Piette, J., Nicolas, J. C., & Levine, A. J. (1994). The ribosomal L5 protein is associated with mdm-2 and mdm-2-p53 complexes. *Molecular and Cellular Biology*, 14(11), 7414–7420. <https://doi.org/10.1128/mcb.14.11.7414>
- Martin, I., Kim, J. W., Lee, B. D., Kang, H. C., Xu, J. C., Jia, H., Stankowski, J., Kim, M. S., Zhong, J., Kumar, M., Andrabi, S. A., Xiong, Y., Dickson, D. W., Wszolek, Z. K., Pandey, A., Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2014). Ribosomal protein s15 phosphorylation mediates LRRK2 neurodegeneration in parkinson's disease. *Cell*, 157(2), 472–485. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.01.064>
- Mauro, V. P., & Edelman, G. M. (1997). rRNA-like sequences occur in diverse primary transcripts: Implications for the control of gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(2), 422–427. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.2.422>
- Mauro, V. P., & Edelman, G. M. (2002). The ribosome filter redux. *Cell Cycle*, 6(18), 2246–2251. <https://doi.org/10.4161/cc.6.18.4739>
- Mauro, V. P., & Edelman, G. M. (2007). The ribosome filter redux. *Cell Cycle*, 6(18), 2246–2251. <https://doi.org/10.4161/cc.6.18.4739>
- Mazumder, B., Sampath, P., Seshadri, V., Maitra, R. K., DiCorleto, P. E., & Fox, P. L. (2003). Regulated release of L13a from the 60S ribosomal subunit as a mechanism of transcript-specific translational control. *Cell*, 115(2), 187–198. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00773-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00773-6)
- Mccutchan, T. F. (2016). *Structurally Distinct , Stage- Specific Ribosomes Occur in Plasmodium*. 238(4829), 933–937.
- Meyuhas, O. (2000). Synthesis of the translational apparatus is regulated at the translational level. *European Journal of Biochemistry*, 267(21), 6321–6330. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01719.x>
- Morita, M., Sato, T., Nomura, M., Sakamoto, Y., Inoue, Y., Tanaka, R., Ito, S., Kurosawa, K., Yamaguchi, K., Sugiura, Y., Takizaki, H., Yamashita, Y., Katakura, R., Sato, I., Kawai, M., Okada, Y., Watanabe, H., Kondoh, G., Matsumoto, S., ... Tanuma, N. (2018). PKM1 Confers Metabolic Advantages and Promotes Cell-Autonomous Tumor Cell Growth. *Cancer Cell*, 33(3), 355-367.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.02.004>
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., & Weil, A. P. (2009). Harperova Ilustrovaná Biochemie. In L. Houdek (Ed.), *Harperova ilustrovaná biochemie* (5.). Galén.
- Narla, A., & Ebert, B. L. (2010). Ribosomopathies: Human disorders of ribosome dysfunction.

- Blood*, 115(16), 3196–3205. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-10-178129>
- Nath, D., & Shadan, S. (2009). The ubiquitin system. *Nature*, 458(7237), 421. <https://doi.org/10.1038/458421a>
- Nesterchuk, M. V., Sergiev, P. V., & Dontsova, O. A. (2011). Posttranslational Modifications of Ribosomal Proteins in Escherichia coli. *Acta Naturae*, 3(2), 22–33. <https://doi.org/10.32607/20758251-2011-3-2-22-33>
- Ni, J., Liu, L., Hess, D., Rietdorf, J., & Sun, F. (2006). *Drosophila* ribosomal proteins are associated with linker histone H1 and suppress gene transcription. 1959–1973. <https://doi.org/10.1101/gad.390106.discrete>
- Nomura, M., Gourse, R., and Baugham, G. (1984). Regulation of the synthesis of ribosomes from ribosomal components. *The Annual Review of Biochemistry*, 53, 75–118. [https://doi.org/10.1016/s1474-6670\(17\)46856-x](https://doi.org/10.1016/s1474-6670(17)46856-x)
- Palade, G. E. (1955). a Small Particulate Component Of The Cytoplasm. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 1,1(1), 59–68. <https://doi.org/10.1083/jcb.1.1.59>
- Pestova, T. V., Kolupaeva, V. G., Lomakin, I. B., Pilipenko, E. V., Shatsky, I. N., Agol, V. I., & Hellen, C. U. T. (2001). Molecular mechanisms of translation initiation in eukaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(13), 7029–7036. <https://doi.org/10.1073/pnas.111145798>
- Peterson, R. C., Doering, J. L., & Brown, D. D. (1980). Characterization of two xenopus somatic 5S DNAs and one minor oocyte-specific 5S DNA. *Cell*, 20(1), 131–141. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(80\)90241-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(80)90241-X)
- Qin, X., & Sarnow, P. (2004). Preferential Translation of Internal Ribosome Entry Site-containing mRNAs during the Mitotic Cycle in Mammalian Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 279(14), 13721–13728. <https://doi.org/10.1074/jbc.M312854200>
- Ramagopal, S. (1990). Induction of cell-specific ribosomal proteins in aggregation-competent nonmorphogenetic Dictyostelium discoideum. *Biochemistry and Cell Biology*, 68(11), 1281–1287. <https://doi.org/10.1139/o90-190>
- Ramagopal, S. (1991). Covalent modifications of ribosomal proteins in growing and aggregation-competent dictyostelium discoideum: phosphorylation and methylation. *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie et Biologie Cellulaire*, 69(4), 263–268. <https://doi.org/10.1139/o91-040>
- Ramagopal, S., & Ennis, H. L. (1981). Regulation of synthesis of cell-specific ribosomal proteins during differentiation of Dictyostelium discoideum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78(5 I), 3083–3087. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.5.3083>
- Ramakrishnan, V. (2002). Ribosome structure and the mechanism of translation. *Cell*, 108(4), 557–572. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00619-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00619-0)
- Richter, J. D. (2001). Think globally, translate locally: What mitotic spindles and neuronal synapses have in common. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(13), 7069–7071. <https://doi.org/10.1073/pnas.111146498>
- Rodnina, M. V., & Wintermeyer, W. (2009). Recent mechanistic insights into eukaryotic ribosomes. *Current Opinion in Cell Biology*, 21(3), 435–443. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.01.023>
- Sakai, K., Ohta, T., Minoshima, S., Kudoh, J., Wang, Y., de Jong, P. J., & Shimizu, N. (1995). Human ribosomal RNA gene cluster: identification of the proximal end containing a novel tandem repeat sequence. *Genomics*, 26(3), 521–526. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(95\)80170-Q](https://doi.org/10.1016/0888-7543(95)80170-Q)
- Sato, T., Morita, M., Nomura, M., & Tanuma, N. (2018). Revisiting glucose metabolism in cancer: lessons from a PKM knock-in model. *Molecular and Cellular Oncology*, 5(4), 1–2.

<https://doi.org/10.1080/23723556.2018.1472054>

- Sauert, M., Temmel, H., & Moll, I. (2015). Heterogeneity of the translational machinery: Variations on a common theme. *Biochimie*, *114*, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2014.12.011>
- Scheper, G. C., Van Kollenburg, B., Hu, J., Luo, Y., Goss, D. J., & Proud, C. G. (2002). Phosphorylation of eukaryotic initiation factor 4E markedly reduces its affinity for capped mRNA. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(5), 3303–3309. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103607200>
- Schmeing, T. M. (2013). Ribosome Structure. *Encyclopedia of Biological Chemistry: Second Edition*, 128–135. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378630-2.00400-X>
- Schmeing, T. Martin, & Ramakrishnan, V. (2009). What recent ribosome structures have revealed about the mechanism of translation. *Nature*, *461*(7268), 1234–1242. <https://doi.org/10.1038/nature08403>
- Schwanhüsser, B., Busse, D., Li, N., Dittmar, G., Schuchhardt, J., Wolf, J., Chen, W., & Selbach, M. (2011). Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature*, *473*(7347), 337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10098>
- Shatkin, A. J. (1976). Capping of eucaryotic mRNAs. *Cell*, *9*(4 PART 2), 645–653. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(76\)90128-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(76)90128-8)
- Shatkin, Aaron J., & Manley, J. L. (2000). The ends of the affair: Capping and polyadenylation. *Nature Structural Biology*, *7*(10), 838–842. <https://doi.org/10.1038/79583>
- Shi, Z., Fujii, K., Kovary, K. M., Genuth, N. R., Röst, H. L., Teruel, M. N., & Barna, M. (2017). Heterogeneous Ribosomes Preferentially Translate Distinct Subpools of mRNAs Genome-wide. *Molecular Cell*, *67*(1), 71–83.e7. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.021>
- Simsek, D., Tiu, G. C., Flynn, R. A., Byeon, G. W., Leppek, K., Xu, A. F., Chang, H. Y., & Barna, M. (2017). The Mammalian Ribo-interactome Reveals Ribosome Functional Diversity and Heterogeneity. *Cell*, *169*(6), 1051–1065.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.022>
- Spence, J., Gali, R. R., Dittmar, G., Sherman, F., Karin, M., & Finley, D. (2000). Cell cycle-regulated modification of the ribosome by a variant multiubiquitin chain. *Cell*, *102*(1), 67–76. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00011-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00011-8)
- Spriggs, K. A., Stoneley, M., Bushell, M., & Willis, A. E. (2008). Re-programming of translation following cell stress allows IRES-mediated translation to predominate. *Biology of the Cell*, *100*(1), 27–38. <https://doi.org/10.1042/bc20070098>
- Starosta, A. L., Lassak, J., Jung, K., & Wilson, D. N. (2014). The bacterial translation stress response. *FEMS Microbiology Reviews*, *38*(6), 1172–1201. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12083>
- Steel, L. F., & Jacobson, A. (1987). Translational control of ribosomal protein synthesis during early Dictyostelium discoideum development. *Molecular and Cellular Biology*, *7*(3), 965–972. <https://doi.org/10.1128/mcb.7.3.965>
- Steffen, K. K., McCormick, M. A., Pham, K. M., Mackay, V. L., Delaney, J. R., Murakami, C. J., Kaeberlein, M., & Kennedy, B. K. (2012). Ribosome deficiency protects against ER stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, *191*(1), 107–118. <https://doi.org/10.1534/genetics.111.136549>
- Sulima, S., Kampen, K., & De Keersmaecker, K. (2019). Cancer Biogenesis in Ribosomopathies. *Cells*, *8*(3), 229. <https://doi.org/10.3390/cells8030229>
- Tenson, T., & Mankin, A. (2006). Antibiotics and the ribosome. *Molecular Microbiology*, *59*(6), 1664–1677. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05063.x>
- Torres, M., Condon, C., Balada, J. M., Squires, C., & Squires, C. L. (2001). Ribosomal protein S4 is a transcription factor with properties remarkably similar to NusA, a protein involved in both non-ribosomal and ribosomal RNA antitermination. *EMBO Journal*, *20*(14), 3811–3820.

<https://doi.org/10.1093/emboj/20.14.3811>

- Tranque, P., Hu, M. C. Y., Edelman, G. M., & Mauro, V. P. (1998). rRNA complementarity within mRNAs: a possible basis for mRNA-ribosome interactions and translational control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(21), 12238–12243. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.21.12238>
- Van Heel, M. (2000). Unveiling ribosomal structures: The final phases. *Current Opinion in Structural Biology*, *10*(2), 259–264. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(00\)00077-4](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(00)00077-4)
- Van Riggelen, J., Yetil, A., & Felsher, D. W. (2010). MYC as a regulator of ribosome biogenesis and protein synthesis. *Nature Reviews Cancer*, *10*(4), 301–309. <https://doi.org/10.1038/nrc2819>
- Varani, G. (1997). a cap for all occasions. *Structure*, *5*(7), 855–858. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(97\)00239-6](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(97)00239-6)
- Vazquez, A., Bond, E. E., Levine, A. J., & Bond, G. L. (2008). The genetics of the p53 pathway, apoptosis and cancer therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, *7*(12), 979–987. <https://doi.org/10.1038/nrd2656>
- Velichutina, I. V., Rogers, M. J., McCutchan, T. F., & Liebman, S. W. (1998). Chimeric rRNAs containing the GTPase centers of the developmentally regulated ribosomal rRNAs of *Plasmodium falciparum* are functionally distinct. *Rna*, *4*(5), 594–602. <https://doi.org/10.1017/S1355838298980049>
- Voorhees, R. M., & Ramakrishnan, V. (2013). Structural Basis of the Translational Elongation Cycle. *Annual Review of Biochemistry*, *82*(1), 203–236. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-113009-092313>
- Walczak, C. P., Leto, D. E., Zhang, L., Riepe, C., Muller, R. Y., DaRosa, P. A., Ingolia, N. T., Elias, J. E., & Kopito, R. R. (2019). Ribosomal protein RPL26 is the principal target of UFMylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(4), 1299–1308. <https://doi.org/10.1073/pnas.1816202116>
- Walsh, D., & Mohr, I. (2011). Viral subversion of the host protein synthesis machinery. *Nature Reviews Microbiology*, *9*(12), 860–875. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2655>
- Wang, X., Zhao, B. S., Roundtree, I. A., Lu, Z., Han, D., Ma, H., Weng, X., Chen, K., Shi, H., & He, C. (2015). N6-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency. *Cell*, *161*(6), 1388–1399. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.014>
- Warner, J. R. (1999). *Warner 1999. 0004*(November), 437–440.
- Warner, J. R., & McIntosh, K. B. (2009a). How Common Are Extraribosomal Functions of Ribosomal Proteins? *Molecular Cell*, *34*(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.03.006>
- Warner, J. R., & McIntosh, K. B. (2009b). How Common Are Extraribosomal Functions of Ribosomal Proteins? *Molecular Cell*, *34*(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.03.006>
- Wegnez, M., Monier, R., & Denis, H. (1972). Sequence heterogeneity of 5 s RNA in *Xenopus laevis*. *FEBS Letters*, *25*(1), 13–20. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(72\)80443-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(72)80443-5)
- Wei, Y., & Xu, X. (2016). UFMylation: a Unique & Fashionable Modification for Life. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, *14*(3), 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.04.001>
- Weingarten-Gabbay, S., Elias-Kirma, S., Nir, R., Gritsenko, A. A., Stern-Ginossar, N., Yakhini, Z., Weinberger, A., & Segal, E. (2016). Comparative genetics: Systematic discovery of cap-independent translation sequences in human and viral genomes. *Science*, *351*(6270). <https://doi.org/10.1126/science.aad4939>
- Weisberg, R. A. (2008). Transcription by Moonlight: Structural Basis of an Extraribosomal Activity

- of Ribosomal Protein S10. *Molecular Cell*, 32(6), 747–748. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.12.010>
- Whittle, C. A., & Krochko, J. E. (2009). Transcript profiling provides evidence of functional divergence and expression networks among ribosomal protein gene paralogs in *brassica napus*. *Plant Cell*, 21(8), 2203–2219. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.068411>
- Williams, M. E., & Sussex, I. M. (1995). Developmental regulation of ribosomal protein L16 genes in *Arabidopsis thaliana*. In *The Plant Journal* (Vol. 8, Issue 1, pp. 65–76). <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1995.08010065.x>
- Wimberly, B. T., Brodersen, D. E., Jr, W. M. C., Morgan-warren, R. J., Carter, A. P., Vonnrhein, C., Hartsch, T., & Ramakrishnan, V. (2000). *Structure of the 30S ribosomal subunit*. 1–13.
- Wool, I. G. (1996). Extraribosomal functions of ribosomal proteins. *Trends in Biochemical Sciences*, 21(5), 164–165. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(96\)20011-8](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(96)20011-8)
- Xue, S., & Barna, M. (2012). Specialized ribosomes: a new frontier in gene regulation and organismal biology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(6), 355–369. <https://doi.org/10.1038/nrm3359>
- Yoon, A., Peng, G., Brandenburg, Y., Zollo, O., Xu, W., Rego, E., & Ruggero, D. (2006). Impaired control of IRES-mediated translation in X-linked dyskeratosis congenita. *Science*, 312(5775), 902–906. <https://doi.org/10.1126/science.1123835>
- Yusupov, M. (2011). The Structure of the Eukaryotic Ribosome at 3.0 Å Resolution. *Science*, December, 1524–1529. <https://doi.org/10.1126/science.1212642>
- Zhang, M., Zhu, X., Zhang, Y., Cai, Y., Chen, J., Sivaprakasam, S., Gurav, A., Pi, W., Makala, L., Wu, J., Pace, B., Tuan-Lo, D., Ganapathy, V., Singh, N., & Li, H. (2015). RCAD/Ufl1, a Ufm1 E3 ligase, is essential for hematopoietic stem cell function and murine hematopoiesis. *Cell Death and Differentiation*, 22(12), 1922–1934. <https://doi.org/10.1038/cdd.2015.51>
- Zhang, Yanping, Wolf, G. W., Bhat, K., Jin, A., Allio, T., Burkhart, W. A., & Xiong, Y. (2003). Ribosomal Protein L11 Negatively Regulates Oncoprotein MDM2 and Mediates a p53-Dependent Ribosomal-Stress Checkpoint Pathway. *Molecular and Cellular Biology*, 23(23), 8902–8912. <https://doi.org/10.1128/mcb.23.23.8902-8912.2003>
- Zhang, Yinghua, Zhang, M., Wu, J., Lei, G., & Li, H. (2012). Transcriptional Regulation of the Ufm1 Conjugation System in Response to Disturbance of the Endoplasmic Reticulum Homeostasis and Inhibition of Vesicle Trafficking. *PLoS ONE*, 7(11), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048587>
- Zhang, Yong, Duc, A. C. E., Rao, S., Sun, X. L., Bilbee, A. N., Rhodes, M., Li, Q., Kappes, D. J., Rhodes, J., & Wiest, D. L. (2013). Control of hematopoietic stem cell emergence by antagonistic functions of ribosomal protein paralogs. *Developmental Cell*, 24(4), 411–425. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.01.018>