

MARIUSZ SACHARCZUK<sup>1</sup>, KAZIMIERZ JASZCZAK<sup>1</sup> i ARTUR H. ŚWIERGIEL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Zakład Cytogenetyki Molekularnej  
Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN  
Jastrzębiec, 05-552 Wólka Kosowska*

*E-mail: M.Sacharczuk@ighz.pl*

<sup>2</sup>*Department of Pharmacology and Therapeutics, LSUHSC  
Shreveport, LA 71130, USA*

## FUNKCJONALNE ZNACZENIE REDAGOWANIA TRANSKRYPTÓW PRZEZ DEAMINAZĘ ADENOZYNY DWUNICIOWEGO RNA

Sekwencja DNA nie jest jedyną i decydującą determinantą składu aminokwasowego białka. Przed procesem translacji część transkrybowanego RNA podlega procesowi edycji zmieniającej jego sekwencję, czego wynikiem jest synteza innych białek, niż kodowane przez geny. Redagowanie dotyczy konwersji adeniny do inozyny, który to proces występuje w różnych tkankach i dotyczy wielu mRNA.

Konwersję adenozyiny do inozyny (A→I) zaobserwowano po raz pierwszy w tRNA drożdży (HOLLEY 1965). Wkrótce potem okazało się, że jest to mechanizm konserwatywny gatunkowo, a analogiczny proces występuje u wirusów i innych organizmów. U wyższych Eukaryota tego typu aktywność enzymatyczna została po raz pierwszy odkryta w zarodkach żaby i opisano ją jako proces przekształcania adenozyiny do inozyny w dwuniciowym RNA (BASS i WEINTRAUB 1987, REBAGLIATI i MELTON 1987).

Inozyna jest interpretowana przez aparat translacyjny jako guanozyna. Wynika to z bardzo podobnych do guaniny właściwości oddziaływania inozyny z innymi zasadami. „Zachowując się” w kodonie podczas translacji podobnie jak guanina zmienia jego sens i w konsekwencji edycję zmienionego białka, o innych właściwościach fizjologicznych (SMITH i współaut. 1997).

Na przykład redagowanie miejsca Q/R jako zamianę aminokwasu glutaminy CAG (Q) na argininę CGG (R) w eksonie 11 genu ko-

dującego podjednostkę GluR-B receptora kwasu glutaminowego typu AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazolo-4-propionowego) obniża przepływ wapnia przez kanał jonowy (SOMMER i współaut. 1991, KÖHLER i współaut. 1993). Konsekwencją edycji A→I są również dramatyczne zmiany w efektywności wiązania białka G receptora serotoninowego (WANG i współaut. 2000), jak również częstość zamykania kanałów  $K_v2K^+$  (PATTON i współaut. 1997). W wyniku edycji RNA tworzone są również jego alternatywne formy, wynikające z różnic w jego składaniu (RUETER i współaut. 1999).

Katalizatorem konwersji A→I jest enzym deaminaza adenozyiny dwuniciowego RNA (dsRNA), tzw. ADAR (ang. double-stranded RNA adenosine deaminase), inaczej określane jako dsRAD lub DRADA. Enzym ADAR przekształca adenozyinę do inozyny przez hydrolytyczną deaminację dsRNA (POLSON i współaut. 1991). Chociaż lokalizacja edycji A→I w jądrze komórkowym przez enzymy ADAR nie została dotychczas precyzyjnie ustalona, to wiadomym jest, że odbywa się ona przed procesem składania (ang. splicing) (POLSON i BASS 1994). Przemawiać za tym może fakt, że miejsce modyfikacji mRNA wyznaczone jest przez sekwencje intronowe. Wówczas modyfikacja taka musi nastąpić jeszcze przed właściwym wycianiem intronów z mRNA (BURNS i współaut. 1997).

Dwuniciowy RNA, jako nieodzowny element inicjujący aktywność edycyjną enzymu ADAR, powstaje przez parowanie sekwencji intronowych i eksonów, tj. przed etapem wycinania intronów w procesie składania RNA (HERBERT i współaut. 1997, MORSE i współaut. 2002). Substratem enzymów ADAR mogą być również duplekisy powstałe przez łączenie mRNA z RNA antysensownym. W tym przypadku powstanie dupleksów mRNA-antysensowny RNA i ich edycja jest prawdopodobnie mechanizmem kontrolnym aktywności produktu translacji. Przy zbyt wysokim poziomie mRNA aktywność jego produktu po edycji może być kompensacyjnie zmniejszona (CARMICHAEL 2003, YELIN i współaut. 2003). W pewnych więc warunkach edycja A→I przez ADAR spełnia funkcję epigenetycznej kontroli ekspresji genów (WANG i współaut. 2004).

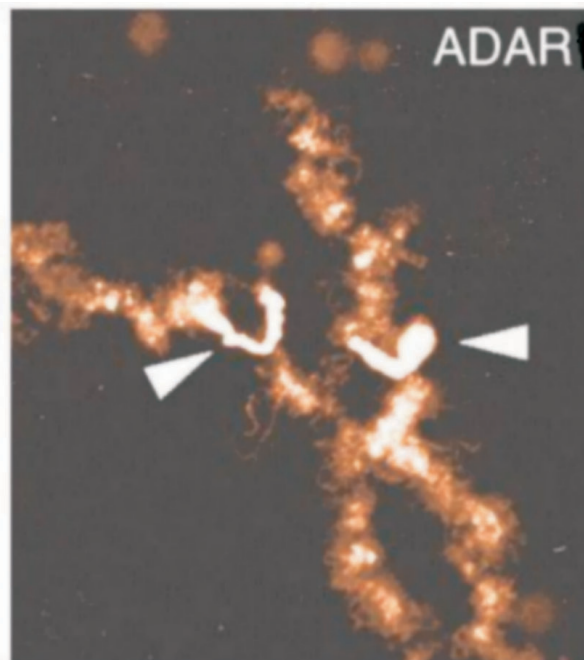
Konwersja A→I występuje również w niekodujących regionach mRNA, co sugeruje, że takie modyfikacje mogą wpływać również na procesy związane ze stabilnością i strukturą RNA, czy wydajnością jego translacji, oczywiście przy założeniu funkcjonalnego charakteru II-rzędowej struktury RNA. Deaminacja adenyzy w parze A-U powoduje powstanie labilnej pary I-U, podczas gdy deaminacja adenyzy w błędnej parze A-C powoduje jej stabilizację (MORSE i współaut. 2002).

Enzymy ADAR często modyfikują sąsiadujące ze sobą pary zasad regionów intronowych i eksonowych. W wyniku modyfikacji obniża się prawdopodobnie częstość składania RNA. Modyfikując sekwencje niekodujące w mRNA, które często są regulatorami procesu translacji, stabilności i lokalizacji mRNA, enzymy ADAR często zmieniają wydajność tych procesów poprzez wprowadzanie nowych lub likwidowanie istniejących miejsc przyłączania białek regulatorowych (MORSE i współaut. 2002). Inne typy RNA, takie jak różne postacie RNA o właściwościach katalitycznych, tRNA, niskocząsteczkowy RNA (ang. small nuclear RNA, snRNA), jąderkowy RNA (ang. small nucleolar RNA, snoRNA) które tworzą wewnątrz- lub międzycząsteczkowe duplekisy są również potencjalnymi substratami enzymów ADAR (MORSE i współaut. 2002).

ADAR jest białkiem występującym w trzech formach: ADAR1, ADAR2 i ADAR 3 (MELCHER i współaut. 1996, BASS i współaut. 1997). ADAR1 został sklonowany po oczyszczeniu i zsekwencjonowaniu bydłczego białka ADAR1 (KIM i współaut. 1994, O'CONNELL i współaut.

1995). Późniejsze poszukiwania enzymów podobnych do ADAR1 doprowadziły do sklonowania enzymu ADAR2 (O'CONNELL i współaut. 1995, GERBER i współaut. 1997) i ADAR3 (MELCHER i współaut. 1996, CHEN i współaut. 2000). Wykrycie analogicznych enzymów ADAR1-ADAR3 u ryb dowiodło ich wysokiego konserwatywności ewolucyjnego u kręgowców (MELCHER i współaut. 1996, SLAVOV i współaut. 2000). U bezkręgowców jeden typ enzymu, dADAR, wykryty został u muszki owocowej, natomiast u nicienia *C. elegans* wykryto dwa mniej konserwatywne enzymy c.e.ADAR1 i c.e.ADAR2 (HOUGH i współaut. 1999).

ECKMANN i JANTSCH (1999) zidentyfikowali w bibliotece cDNA analogiczny enzym obecny w oocytach płazów. Dwa klony cDNA, były analogami sklonowanych przez BASS i wsp. (1997) enzymów ADAR1 i ADAR2 (BASS i współaut. 1997, HOUGH i BASS 1997). Obecność enzymów ADAR jest szczególnie widoczna w rozwijających się oocytach, tj. stadium, w którym chromosomy przybierają charakterystyczną strukturę szczoteczkową. Enzym ADAR 1 charakterystyczny jest dla pętli o słabo lub wcale nie zaznaczonej transkrypcji. Dokładna analiza tych pętli sugeruje, że mogą one stanowić miejsca magazynowania tego enzymu lub mogą to być miejsca, w których zachodzi dojrzewanie



Ryc. 1 Barwienie immunofluorescencyjne ukazujące kolokalizację enzymu ADAR z transkryptami pętlowymi (zdjęcie grzecznościowe: Michael Jantsch, Dept. of Cytology and Genetics Institute of Botany).

RNA. Jednakże ich szerokie rozpowszechnienie wzdłuż chromosomów (Ryc. 1) sugeruje, że enzymy te łączą się z macierzą rybonukleoproteinową nie wykazując specyfiki substratowej (ECKMANN i JANTSCH 1999). Trudno również sobie wyobrazić, żeby wszystkie pętle, z którymi związany jest ADAR, transkrybowały substraty do edycji przez ten enzym. Edycje RNA przez ADAR mogą natomiast regulować inne czynniki, jak np. zmiana konformacji czy dostępność RNA oraz interakcje z innymi białkami (HURST i współaut. 1995, DABIRI i współaut. 1996).

Enzymy ADAR1-ADAR3 wykazują zróżnicowanie w stosunku do rodzaju substratu i miejsc edycji. Enzymy ADAR1 i ADAR2 ulegają ekspresji w wielu tkankach (GERBER i współaut. 1997, LAI i współaut. 1997), natomiast ADAR3 charakterystyczny jest tylko dla mózgu (MELCHER i współaut. 1996, CHEN i współaut. 2000). Specyficznymi substratami enzymów ADAR1 i ADAR2 są transkrypty podjednostek receptora glutaminowego (GluR-B) i podtypu receptora serotoninowego 2C (5-HT<sub>2C</sub>R). ADAR3 nie edytuje tych transkryptów, przynajmniej w warunkach *in vitro*. Dotychczas nie poznano również innych specyficznych substratów tego enzymu. Ponadto ADAR3 różni się od ADAR1 i ADAR2 możliwością wiązania się z pojedynczą nicią RNA (ang. single strand RNA, ssRNA). Prawdopodobnie właściwość wiązania się z ssRNA umożliwia specyficzny region bogaty w lizynę i argininę (domena R), który położony jest przy końcu aminowym enzymu. Ekspresja ADAR3 ograniczona jest do wybranych regionów mózgu, takich jak jądro migdałowe i wzgórza, i dotyczy tylko neuronów postmitotycznych. Ważną właściwością ADAR3 jest inhibicja aktywności enzymów ADAR1 i ADAR2 w warunkach *in vitro*. Przypuszcza się, że ADAR3 pełni funkcję regulacyjną edycji RNA. Nie można również wykluczyć, że w warunkach *in vivo* ADAR3, w wyniku zmian potranslacyjnych lub przyłączenia się czynników modulacyjnych, staje się aktywną katalitycznie edytazą (CHEN i współaut. 2000).

Rodzina enzymów ADAR charakteryzuje się wysoką homologią, szczególnie przy końcu karboksylowym, na którym znajduje się domena katalityczna niezbędna do deaminacji adenozy (KIM i współaut. 1994, HOUGH i BASS 1997). Miejsce wiązania enzymu z kwasem nukleinowym determinowane jest z kolei przez dwie (ADAR1 i ADAR2) lub trzy (ADAR3) domeny wiążące dwuniciowy RNA

(ang. double-stranded RNA-binding domains, dsRBDs), które zlokalizowane są w centralnej części enzymu (SACCOMANNO i BASS 1999, DOYLE i JANTSCH 2003). Obecność funkcjonalnych domen potrzebnych zarówno do wiązania się z substratem, jak i katalizy reakcji A→I w każdej rodzinie enzymów ADAR jest charakterystyczna dla tej grupy edytaz RNA. Edytaza APOBEC-1, przeprowadzająca katalizę reakcji deaminacyjnej C→U w mRNA apolipoproteiny-B, zawiera tylko domenę katalityczną. APOBEC-1 wymaga więc obecności innej podjednostki, łączącej się z substratem oraz prawdopodobnie innych czynników umożliwiających edycję C→U w apolipoproteinie-B (SMITH i współaut. 1997). W warunkach *in vitro* enzymy ADAR1 i ADAR2 już w czystej postaci zdolne są do przeprowadzania reakcji edycji najpopularniejszego dla nich substratu, jakim jest mRNA GluR-B. Nie wykluczonym jest natomiast, że w warunkach *in vivo* proces ten modulowany jest przez przyłączanie się koaktorów czy inhibitorów tej reakcji (GERBER i współaut. 1997, LAI i współaut. 1997). Potencjalne miejsce adaptorów sygnałów jądrowych (ang. nuclear localization signals, NLS) lokalizuje się bliżej końca aminowego. Domena ta nie występuje w enzymie ADAR3 (ST JOHNSTON i współaut. 1992).

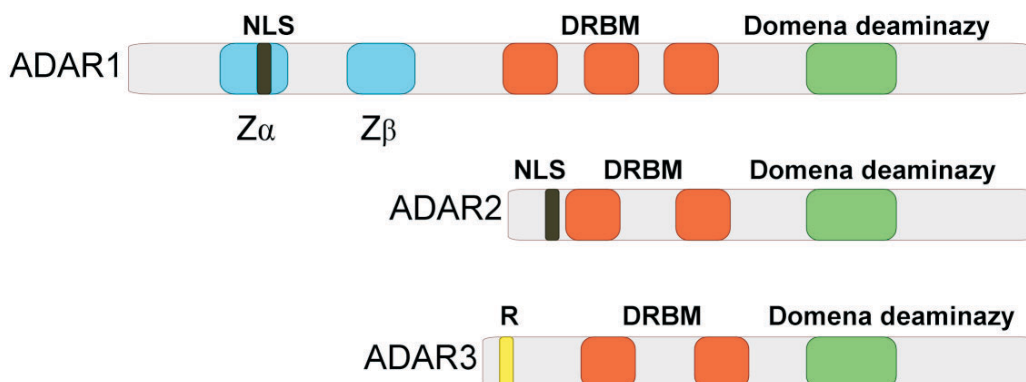
Elementami różnicującymi poszczególne rodzaje enzymów ADAR to charakterystyczna tylko dla ADAR3, bogata w argininę i lizynę, domena R łącząca enzym z jednoniciowym RNA, oraz występujący tylko u ADAR1 specyficzny, 70-aminokwasowy region położony tuż za powtórzeniami 11-nukleotydowymi końca aminowego, który umożliwia identyfikację aktywnych transkrypcyjnie regionów DNA (HERBERT i współaut. 1997) (Ryc. 2).

Region ten, tzw. domena Z $\alpha$ , wykazuje specyficzną wiązania do DNA w konformacji Z, która jest charakterystyczna dla sekwencji transkrybowanych. Za rozpoznanie sekwencji DNA, do której przyłącza się enzym ADAR odpowiada domena Zab, której składową jest domena Z $\alpha$ . Oprócz domeny Z $\alpha$ , w skład domeny Zab wchodzi jeszcze homologiczny region Z $\beta$  (SCHWARTZ i współaut. 2001).

Wiązanie ADAR-Z-DNA może być nie tylko „zakotwiczeniem” dla tego enzymu do miejsc aktywnych transkrypcyjnie, lecz może również zmieniać jego konformację i w konsekwencji jego oddziaływanie z transkryptami (HERBERT i współaut. 1997, ECKMANN i JANTSCH 1999).

Aktywna forma enzymów ADAR występuje w postaci homodimeru (CHO i współaut. 2000). Krytyczny obszar odpowiedzialny za dimeryzację znajduje się przy końcu aminowym oraz w domenie 1 wiążącej ADAR do dwuniciowego RNA (dsRBD1). Pojedyncze mutacje w obszarze kodującym region dsRBD1 pozbawiają enzym ADAR jego właściwości wiązania się z RNA i tworzenia aktywnej formy dimeru. W przypadku różnych mutacji końca aminowe-

U ssaków aktywność ADAR2 podlega auto-regulacji poprzez autoedycję A→I i tworzenie alternatywnych form splajnsingu własnego pre-mRNA (RUETER i współaut. 1999). Podobnie jak inne substraty enzymu ADAR, również autoedycja ADAR2 wymaga powstania dwuniciowego RNA. Tworzy się on w wyniku interakcji pomiędzy regionami intronowymi i eksonowymi (SLAVOV i GARDINER 2002). Alternatywny splajnsing mRNA enzymu ADAR2 tworzy



Ryc. 2 Organizacja domen enzymów ADAR1-ADAR3.

Kolor czarny – miejsce odbioru sygnalizacji jądrowej NLS (nuclear localization signals) obecne w enzymach ADAR1 i ADAR2; niebieski – dwie domeny wiążące się z Z-DNA ( $Z\alpha$  i  $Z\beta$ ) obecne tylko w ADAR1; czerwony – dwie (ADAR2 i ADAR3) lub trzy (ADAR1) domeny wiążące się z dsRNA (DRBM – dsRNA binding domain); zielony – wspólna dla wszystkich rodzajów enzymów ADAR domena katalityczna A→I; żółty – domena R specyficzna dla enzymu ADAR3, odpowiedzialna za wiązanie z jednoniciowym RNA (ssRNA).

go, utrudniających dimeryzację, przy prawidłowej formie regionu dsRBD1 enzym ADAR łączy się wprawdzie z RNA, jednak jako nieaktywny monomer (GALLO i współaut. 2003).

Aktywność ADAR podlega regulacji poprzez zmianę lokalizacji w jądrze oraz przez system autoedycji. Oprócz lokalizacji chromosomowej enzym ADAR2 koncentruje się również w jąderkach. Odseparowany jest więc od miejsc transkrypcji mRNA. Selekttywne zahamowanie syntezy rybosomalnego RNA (rRNA) lub wprowadzenie mutacji w domenach ADAR wiążących się z dwuniciowym RNA powoduje translokację ADAR2 do nukleoplazmy, co sugeruje, że obecność ADAR w jąderkach zależna jest od zdolności enzymu do wiązania się z rRNA. Zwiększona translokacja ADAR2 z jąderka do nukleoplazmy powoduje zwiększenie edycji endogennych substratów ADAR2. Prawdopodobnie relokacja ADAR2 pomiędzy jąderkiem i nukleoplazmą jest mechanizmem regulującym tempo edycji mRNA przez ADAR (SANSAM i współaut. 2003).

jego cztery izoformy (rADAR2a, 2b, 2e i 2f) o różnej aktywności, jednakże bez zmiany specyficzności w stosunku do substratów (O'CONNELL i współaut. 1997).

ADAR1 i ADAR2 modyfikują transkrypty receptorów glutaminowych w mózgu, lecz także RNA wirusa HDV w wątrobie. Edycja mRNA kodującego podjednostki receptora GluR może prowadzić do powstania heteromerycznych bramek kanałów glutaminowych o zmienionej przepuszczalności i zmienionej kinetyce desensytyzacji (KÖHLER i współaut. 1993). Z kolei edycja transkryptów kodujących podtyp 2C receptora serotonergicznego (5HT<sub>2C</sub>R) może tworzyć izoformy receptora, które łączą się z białkami G z różną efektywnością (BURNS i współaut. 1997).

Receptory glutaminowe powodują szybkie pobudzenie neuronów i ich przekaźnictwo (SEEBURG i współaut. 1998, DINGLEDINE i współaut. 1999). Zamiana glutaminy CAG (Q) na argininę CGG (R) w eksonie 11 genu kodującego podjednostkę GluR-B receptora kwasu glutaminowego przez ADAR powoduje dra-

matyczne obniżenie przepuszczalności kanałów receptorów dla jonów  $Ca^{+2}$  (SOMMER i współaut. 1991, SEEBURG i współaut. 1998). Efektywność redagowania Q/R przez enzym ADAR2 wynosi blisko 100%. Enzym ADAR1 wykazuje 10-krotnie mniejszą wydajność edycji w stosunku do tego substratu (MAAS i współaut. 1996). Zredukowana edycja pozycji Q/R podjednostki GluR-B zmienia właściwości receptora AMPA w neuronach i powoduje ich letalną dysfunkcję (HIGUCHI i współaut. 2000).

Modyfikacja przekazywania glutaminergicznego w mózgu przez system ADAR jest na tyle istotna, że nokaut genów kodujących te enzymy powoduje dramatyczne zaburzenia behawioralne nicienia z gatunku *Caenorhabditis elegans*, u którego enzym ADAR ulega ekspresji praktycznie we wszystkich komórkach układu nerwowego (TONKIN i współaut. 2000). U wyższych zwierząt, jak np. szczura stwierdzono wysokie zróżnicowanie w ekspresji tego enzymu w mózgu, co prawdopodobnie świadczy o różnym zaangażowaniu przekazywania glutaminergicznego w poszczególnych jego strukturach (KOHR i współaut. 1998).

Modyfikacja GluR-B pod wpływem ADAR może zachodzić bez jakichkolwiek dodatkowych kofaktorów reakcji (MELCHER i współaut. 1996). Alternatywnie, specyficzność ADAR do innych substratów może być warunkowana przez tworzenie kompleksów zawierających ADAR i inne białka reagujące z RNA (ECKMANN i JANTSCH 1999). GERBER i współaut. (1998) uważają z kolei, że specyficzność substratowa może być determinowana w samym miejscu katalitycznym enzymu. Pogląd swój opierają na odkryciu deaminazy wykazującej specyficzność do tRNA (Tad1p), która pozbawiona jest domen wiążących RNA (GERBER i współaut. 1998).

Jakkolwiek przy dramatycznych deficytach behawioralnych możliwym jest obserwacja wyłączenia aktywności genu c.e.ADAR1 u nicienia, to u wyższych organizmów, np. myszy, nokaut genu ADAR1 już w postaci chimerowej jest letalny w wieku zarodkowym. Płody chimerowe zamierają w tym samym wieku, co homozygoty -/- (w połowie ciąży). Heterozygoty w odróżnieniu od homozygotycznych zarodków i zarodków chimerowych nie wykazują zmian patologicznych. Obumarcie zarodka -/- następuje w wieku E11-E12,5 w wyniku zaburzeń układu erytropoetycznego, *de facto* spowodowanego brakiem enukleacji erytrocytów i w konsekwencji niedotlenieniem zarodka

(WANG i współaut. 2000). Obserwuje się u nich masową apoptozę w wielu tkankach i degenerację wątroby. Degeneracja wątroby wynika prawdopodobnie z zaburzeń w dojrzewaniu erytrocytów w tym narządzie. WANG i współaut. (2004) tłumaczą masową apoptozę brakiem edycji A>I nie poznanego dotychczas RNA, która niezbędna jest dla przeżycia komórek i rozwoju płodu w warunkach stresowych. Letalny fenotyp zarodków występuje tylko w przypadku nokautu genu ADAR1, co świadczy, że w rodzinie enzymów ADAR jest on krytycznym czynnikiem prawidłowego rozwoju płodu (WANG i współaut. 2004).

Heterozygotyczność w genie ADAR1 u człowieka odpowiedzialna jest za genodermatozę pigmentacyjną (ang. dyschromatosis symmetrica hereditaria DSH). Jest to choroba o charakterze dziedzicznym i autosomalnie dominującym. Charakteryzuje się ona występowaniem plam hiper- i hipopigmentacyjnych na grzbietowych częściach dłoni i stóp (KOMAYA 1924, MIYAMURA i współaut. 2003).

Nokaut genu enzymu ADAR2 nie jest tak dramatyczny, pozwala bowiem na rozwój płodu aż do urodzenia. Okres przeżycia jest jednak krótki i w przypadku myszy takie osobniki +/- umierają pomiędzy 0–20 dniem życia w wyniku postępującego paraliżu (FELDMEYER i współaut. 1999). Heterozygoty wydają się być fenotypowo normalne a ich okres przeżycia nie odbiega od myszy typu dzikiego +/+. Krytycznym substratem, którego brak edycji przez ADAR2 powoduje wczesną śmierć jest miejsce Q/R w pre-mRNA kanału jonowego podjednostki Glu-B receptora AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate).

Edycja mRNA przez enzymy ADAR jest prawdopodobnie odpowiedzialna za patologiczne wyciszenie ekspresji genu PAR-SN pochodzącego od matki lub ojca (ang. imprinting) odpowiednio w zespole Pradera-Williego (ang. Prader-Willi syndrome PWS) i zespole Angelmana (ang. Angelman syndrome, AS). Jest to oczywiście tylko jedna z przyczyn tych chorób neurologicznych, których główny czynnik etiologiczny (ok. 70% przypadków) wynika z delecji fragmentu chromosomu 15 (15q11-q13) o długości około 2-3 Mb (MANN i BARTOLOMEI 1999, NICHOLS i KNEPPER 2001).

Nie wykluczone, że zaburzenia w edycji RNA mogą być przyczyną innych chorób o niepoznanej dotychczas etiologii. Zaangażowanie enzymów ADAR w przewodnictwo serotonergiczne może np. wskazywać na potencjalny

ich udział w patogenezie depresji. Przyszłościowe wydają się również badania nad wykorzystaniem zmodyfikowanych edytaz w celu

naprawy mRNA powstałego na wadliwej matrycy DNA.

## FUNCTIONAL SIGNIFICANCE OF TRANSCRIPTS EDITING BY DOUBLE-STRANDED RNA ADENOSINE DEAMINASES

### S u m m a r y

Adenosine deaminases that act on RNA (ADARs) convert adenosine to inosine in double-stranded regions of RNA via hydrolytic deamination. As inosines are recognized as guanosines during translation this editing event can lead to a codon exchange in the edited mRNA. The amino acid changes introduced by this A-to-I RNA editing result in significant alterations in the physiological properties of gene products. For instance, editing of the "Q/R" site of AMPA GluR-B subunit dramatically decreases the Ca<sup>2+</sup> permeability of the channel. Dramatic changes in the G-protein coupling efficiency of 5-HT<sub>2</sub>CR as well as in the rates of KV2K1 channel closure have been reported to be con-

sequences of A-to-I RNA editing also. In addition, creation of an alternative splice acceptor site via editing of its own mRNA by ADAR2 has been reported. The A-to-I RNA editing mechanism requires: (1) a double-stranded RNA (dsRNA) structure, usually formed between the exonic editing site and a downstream intron sequence and (2) dsRNA-specific adenosine deaminases. The members of this ADAR gene family appear to share structural similarity, containing two to three repeats of dsRNA-binding domains and a separate deaminase or catalytic domain. Defects in ADAR are a cause of some diseases, for example dyschromatosis symmetrica hereditaria.

### LITERATURA

- BASS B. L., NISHIKURA K., KELLER W., SEEBURG P. H., EMESON R. B., O'CONNELL M. A., SAMUEL C. E., HERBERT A., 1997. *A standardized nomenclature for adenosine deaminases that act on RNA*. RNA 3, 947-949.
- BASS B. L., WEINTRAUB H., 1987. *A developmentally regulated activity that unwinds RNA duplexes*. Cell 48, 607-613.
- BURNS C. M., CHU H., RUETER S. M., HUTCHINSON L. K., CANTON H., SANDERS-BUSH E., EMESON R. B., 1997. *Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing*. Nature 387, 303-308.
- CARMICHAEL G. G., 2003. *Antisense starts making more sense*. Nat. Biotech. 21, 371-372.
- CHEN C.-X., CHO D.-S. C., WANG Q., LAI F., CARTER K. C., NISHIKURA K., 2000. *A third member of the RNA-specific adenosine deaminase gene family, ADAR3, contains both single- and double-stranded RNA binding domains*. RNA 6, 755-767.
- CHO D.-S., YANG W., LEE J. T., SHIEKHATTAR R., MURRAY J. M., NISHIKURA K., 2003. *Requirement of dimerization for RNA editing activity of adenosine deaminases acting on RNA*. J. Biol. Chem. 278, 17093-17102.
- DABIRI G. A., LAI F., DRAKAS R. A., NISHIKURA K., 1996. *Editing of the GluR-B ion channel RNA in vitro by recombinant double-stranded RNA adenosine deaminase*. EMBO J. 15, 34-45.
- DINGLELINE R., BORGES K., BOWIE D., TRAYNELIS S. F., 1999. *The glutamate receptor ion channels*. Pharmacol. Rev. 51, 7-61.
- DOYLE M., JANTSCH M. F., 2003. *Distinct in vivo roles for double-stranded RNA-binding domains of the Xenopus RNA-editing enzyme ADAR1 in chromosomal targeting*. J. Cell Biol. 161, 309-319.
- ECKMANN C. R., JANTSCH M. F., 1999. *The RNA-editing enzyme ADAR1 is localized to the nascent ribonucleoprotein matrix on Xenopus lampbrush chromosomes but specifically associates with an atypical loop*. J. Cell Biol. 144, 603-615.
- FELDMEYER D. i współpracownicy, 1999. *Neurological dysfunctions in mice expressing different levels of the Q/R site-unedited AMPAR subunit GluR-B*. Nature Neurosci. 2, 57-64.
- GALLO A., KEEGAN L. P., RING G. M., O'CONNELL M. A., 2003. *An ADAR that edits transcripts encoding ion channel subunits functions as a dimer*. EMBO J. 22, 3421-3430.
- GERBER A., GROSJEAN H., MELCHER T., KELLER W., 1998. *Tad1p, a yeast tRNA-specific adenosine deaminase, is related to the mammalian pre-mRNA editing enzymes ADAR1 and ADAR2*. EMBO J. 17, 4780-4789.
- GERBER A., O'CONNELL M. A., KELLER W., 1997. *Two forms of human double-stranded RNA-specific editase 1 (hRED1) generated by the insertion of an Alu cassette*. RNA 3, 453-463.
- HERBERT A., ALKFEN J., KIM Y. G., MIAN I. S., NISHIKURA K., RICH A., 1997. *A Z-DNA binding domain present in the human editing enzyme, double-stranded RNA adenosine deaminase*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94, 8421-8426.
- HIGUCHI M., MAAS S., SINGLE F.N., HARTNER J., ROZOV A., BURNASHEVS N., FELDMEYERS D., SPRENGEL R., SEEBURG P.H., 2000. *Point mutation in an AMPA receptor gene rescues lethality in mice deficient in the RNA-editing enzyme ADAR2*. Nature 406, 78-81.

- HOLLEY R. W., 1965. *Structure of an alanine transfer ribonucleic acid*. J. Am. Med. Assoc. 194, 868–871.
- HOUGH R. F., BASS B. L., 1997. *Analysis of Xenopus dsRNA adenosine deaminase cDNAs reveals similarities to DNA methyltransferases*. RNA 3, 356–370.
- HOUGH R. F., LINGMA A. T., BASS B. L., 1999. *Caenorhabditis elegans mRNAs that encode a protein similar to ADARs derive from an operon containing six genes*. Nucleic Acids Res. 27, 3424–3432.
- HURST S. R., HOUGH R. F., ARUSCAVAGE P. J., BASS B. L., 1995. *Deamination of mammalian glutamate receptor RNA by Xenopus dsRNA adenosine deaminase: similarities to in vivo RNA editing*. RNA 1, 1051–1060.
- KIM U., WANG Y., SANFORD T., NISHIKURA K., 1994. *Molecular cloning of cDNA for double-stranded RNA adenosine deaminase, a candidate enzyme for nuclear RNA editing*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91, 11457–11461.
- KÖHLER M., BURNASHEV N., SAKMANN B., SEEBURG P. H., 1993. *Determinants of Ca<sup>2+</sup> permeability in both TM1 and TM2 of high affinity kainate receptor channels: diversity by RNA editing*. Neuron 10, 491–500.
- KOHR G., MELCHER T., SEEBURG P. H., 1998. *Candidate editases for GluR channels in single neurons of rat*. Neuropharmacology 37, 1411–1417.
- KOMAYA G., 1924. *Symmetrische Pigmentanomalie der Extremitäten*. Arch. Derm. Syph. 147, 389–393.
- LAI F., CHEN C.-X., CARTER K. C., NISHIKURA K., 1997. *Editing of glutamate receptor B subunit ion channel RNAs by four alternatively spliced DRADA2 double-stranded RNA adenosine deaminases*. Mol. Cell. Biol. 17, 2413–2424.
- MAAS S. i współaut., 1996. *Different structural and enzymatic requirements for RNA editing in glutamate receptor pre-mRNAs*. J. Biol. Chem. 271, 12221–12226.
- MANN M. R., BARTOLOMEI M. S., 1999. *Towards a molecular understanding of Prader-Willi and Angelman syndromes*. Hum. Mol. Genet. 8, 1867–1873.
- MELCHER T., MAAS S., HERB A., SPRENGEL R., SEEBURG P. H., HIGUCHI M., 1996. *A mammalian RNA editing enzyme*. Nature 379, 460–464.
- MIYAMURA Y., SUZUKI T., KONO M., INAGAKI K., ITO S., SUZUKI N., TOMITA Y., 2003. *Mutations of the RNA-specific adenosine deaminase gene (DSRAD) are involved in dyschromatosis symmetrica hereditaria*. Am. J. Hum. Genet. 73, 693–699.
- MORSE D. P., ARUSCAVAGE J., BASS B. L., 2002. *RNA hairpins in noncoding regions of human brain and Caenorhabditis elegans mRNA are edited by adenosine deaminases that act on RNA*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 7906–7911.
- NICHOLS R. D., KNEPPER J. L. 2001. *Genome organization, function, and imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes*. Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2, 153–175.
- O'CONNELL M. A., GERBER A., KELLER W. 1997. *Purification of human double-stranded RNA-specific editase 1 (hRED1) involved in editing of brain glutamate receptor B pre-mRNA*. J. Biol. Chem. 272, 473–478.
- O'CONNELL M. A., KRAUSE S., HIGUCHI M., HSUAN J. J., TOTTY N., JENNY A., KELLER W., 1995. *Cloning of cDNAs encoding mammalian double-stranded RNA-specific adenosine deaminase*. Mol. Cell. Biol. 15, 1389–1397.
- PATTON D. E., SILVA T., BEZANILLA F., 1997. *RNA editing generates a diverse array of transcripts encoding squid Kv2 K<sup>+</sup> channels with altered functional properties*. Neuron 19, 711–722.
- POLSON A. G., BASS B. L., 1994. *Preferential selection of adenosines for modification by double-stranded RNA adenosine deaminase*. EMBO J. 13, 5701–5711.
- POLSON A. G., CRAIN P. F., POMERANTZ S. C., MC CLOSKEY J. A., BASS B. L., 1991. *The mechanism of adenosine to inosine conversion by the double-stranded RNA unwinding/modifying activity: a high performance liquid chromatography-mass spectrometry analysis*. Biochemistry 30, 11507–11514.
- REBAGLIATI M. R., MELTON D. A., 1987. *Antisense RNA injections into fertilized frog eggs reveal an RNA duplex unwinding activity*. Cell 48, 599–605.
- RUETER S. M., DAWSON T. R., EMESON R. B., 1999. *Regulation of alternative splicing by RNA editing*. Nature 399, 75–80.
- SACCOMANNO L., BASS B.L., 1999. *A minor fraction of basic fibroblast growth factor mRNA is deaminated in Xenopus stage VI and maturated oocytes*. RNA 5, 39–48.
- SANSAM C. L., WELLS K. S., EMESON R. B., 2003. *Modulation of RNA editing by functional nucleolar sequestration of ADAR2*. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 100, 14018–1423.
- SCHWARTZ T., BEHLKE J., LOWENHAUP K., HEINEMANN U., RICH A., 2001. *Structure of the DLM-1-Z-DNA complex reveals a conserved family of Z-DNA-binding proteins*. Nature 8, 761–765.
- SEEBURG P. H., HIGUCHI M., SPRENGEL R., 1998. *RNA editing of brain glutamate receptor channels: mechanism and physiology*. Brain Res. Rev. 26, 217–229.
- SLAVOV D., CLARK M., GARDINER K., 2000. *Comparative analysis of the RED1 and RED2 A-to-I RNA editing genes from mammals, pufferfish and zebrafish*. Gene 250, 41–51.
- SLAVOV D., GARDINER K., 2002. *Phylogenetic comparison of the pre-mRNA adenosine deaminase ADAR2 genes and transcripts: conservation and diversity in editing site sequence and alternative splicing patterns*. Gene 299, 83–94.
- SMITH H. C., GOTT J. M., HANSON M. R., 1997. *A guide to RNA editing*. RNA 3, 1105–1123.
- SOMMER B., KÖHLER M., SPRENGEL R., SEEBURG P. H., 1991. *RNA editing in brain controls a determinant of ion flow in glutamate-gated channels*. Cell 67, 11–19.
- ST JOHNSTON D., BROWN N. H., GALL J. G., JANTSCH M., 1992. *A conserved double-stranded RNA-binding*

- domain*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89, 10979–10983.
- TONKIN L., A., SACCOMANNO L., MORSE D. P., BRODIGAN T., KRAUSE M., BASS B. L., 2002. *RNA editing by ADARs is important for normal behavior in Caenorhabditis elegans*. EMBO J. 21, 6025–6035.
- TSVETKOV A., JANTSCH M., WU Z., MURPHY C., GALL J. G., 1992. *Transcription on lampbrush chromosome loops in the absence of U2 snRNA*. Mol. Biol. Cell 3, 249–261.
- WANG Q., KHILLAN J., GADUE P., NISHIKURA K., 2000. *Requirement of the RNA Editing Deaminase ADAR1 Gene for Embryonic Erythropoiesis*. Science 290, 1765–1768.
- WANG Q., MIYAKODA M., YANG W., KHILLAN J., STACHURA D. L., WEISS M. J., NISHIKURA K., 2004. *Stress-induced apoptosis associated with null mutation of ADAR1 RNA editing deaminase gene*. J. Biol. Chemist. 279, 4952–4961.
- YELIN R., DAHARY D., SOREK R., LEVANON E. Y., GOLDSTEIN O., SHOSHAN A., DIBER A., BITON S., TAMIR Y., KHOSRAVI R., NEMZER S., PINNER E., WALACH S., BERNSTEIN J., SAVITSKY K., ROTMAN G., 2003. *Wide-spread occurrence of antisense transcription in the human genome*. Nat. Biotechnol. 21, 379–386.