

### [Akceptuje](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)  
[Kontakt](#)



**[Laboratoria](#)**  
**[.net](#)**  
**[Innowacje](#)**  
**[Nauka](#)**  
**[Technologie](#)**

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

zapisz się



- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Artykuły](#)

## Elementy ruchome w genomie

### Streszczenie

Elementy ruchome w genomie zostały po raz pierwszy odkryte w latach 40 - tych zeszłego stulecia przez amerykańską genetyk Barbarę McClintock. Obecnie wiadomo, że występują one nie tylko u kukurydzy, ale u wszystkich organizmów żywych począwszy od bakterii a na człowieku kończąc. Dzielą się one na dwie grupy ze względu na sposób przemieszczania. Transpozony DNA przemieszczają się bezpośrednio na zasadzie transpozycji replikacyjnej, skutkującej powieleniem sekwencji transpozonu bądź konserwatywnej, powodującej zmianę położenia sekwencji w genomie. Drugą grupą są transpozony RNA, rozprzestrzeniające się za pośrednictwem RNA. U człowieka sekwencje ruchome stanowią niemalże 50 % genomu, z czego 90 % to retrosekwencje. Mimo, że wielu naukowców uważa, że jest to tylko pozostałość po przodkach, okazuje się, że mają one duże

znaczenie zarówno dla kreowania zmienności genetycznej, jak i dla funkcjonowania organizmu.

## **Wstęp**

Genom zawiera komplet, zapisanej w kwasach nukleinowych informacji genetycznej niezbędnej do funkcjonowania każdego żywego organizmu. Genomy różnych organizmów wykazują znaczny stopień stałości, co umożliwia utworzenie map genetycznych obrazujących pozycje genów na chromosomach. Z analiz takich map wynika, że nawet bardzo odrębne od siebie gatunki mają zbliżone układy liniowe genów, utrzymujące się w czasie ich niezależnej ewolucji od wspólnego przodka. Istotne zmiany ewolucyjne w genomach zachodzą w bardzo długim okresie czasu, a w zrozumieniu tego procesu ogromne znaczenie mają elementy ruchome i powodowane przez nie zmiany w strukturze genomu [9].

Elementy ruchome obecne są w genomach wszystkich organizmów żywych, począwszy od bakterii a na człowieku kończąc. Transpozony, zwane również „skaczącymi genami” są odcinkami DNA zdolnymi do spontanicznego przemieszczania się z jednego miejsca w genomie w inne, czyli do transpozycji. W organizmach prokariotycznych mogą przemieszczać się z plazmidu na chromosom i odwrotnie, natomiast w eukariotycznych transpozycja może zajść pomiędzy chromosomami lub w obrębie jednego chromosomu [10]. Transpozony dzielą się na dwie grupy ze względu na sposób przemieszczania się w genomie. Jedną z nich stanowią transpozony przemieszczające się za pośrednictwem RNA, drugą zaś elementy ruchome ulegające przeniesieniu bezpośredniemu z DNA na DNA. O ile transpozony DNA występują powszechnie, o tyle retroelementy są domeną jedynie organizmów eukariotycznych [2]. Dzięki możliwości insercji swoich kopii w różne loci transpozony stały się główną grupą rozproszonych sekwencji powtarzalnych [1]. Przemieszczenie się transpozonu może mieć różnorodne skutki, m. in. inwersje, delecje, czy duplikacje dużych fragmentów DNA [9].

Elementy ruchome zostały odkryte w latach 40 - tych XX wieku przez Barbarę McClintock. Prowadząc badania nad kukurydzą, stwierdziła ona występowanie niestabilnych mutacji barwy aleuronu ziarniaków oraz pęknięcia i mutacje strukturalne w chromosomach. Wg jej hipotezy były to efekty występowania w genomie kukurydzy ruchomych elementów kontrolnych, zdolnych do modyfikacji aktywności genu poprzez insercje w jego sekwencję lub w jego okolicę [10]. Przez wiele lat jej odkrycie nie zyskało uznania, było ono bowiem sprzeczne z wcześniejszymi założeniami. Dopiero wiele lat później naukowcy przyznali jej rację, a w latach 70 - tych XX wieku stało się jasne, że „skaczące geny” są obecne nie tylko w kukurydzy, lecz we wszystkich organizmach żywych i stanowią naturalną drogę kreowania zmienności genetycznej. W roku 1983 Barbarze McClintock przyznano za to odkrycie Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny [7].

## **Transpozycja za pośrednictwem RNA**

Elementy ruchome przenoszone za pośrednictwem RNA nazywane są retroelementami, retrosekwencjami lub po prostu transpozonomi RNA. Stanowią one cechę charakterystyczną organizmów eukariotycznych i jak do tej pory nie zostały odkryte u prokariotów [2]. Retrosekwencje są rozmieszczone na chromosomach równomiernie, z wyjątkiem centromerów, telomerów i organizatorów jąder. W centromerach mogą znajdować się tylko nieliczne rodziny transpozonomów RNA, lecz w znacznie mniejszej ilości niż w pozostałych regionach chromosomów. Transpozony te mogą stanowić od 10 - 60 % genomu, zaobserwowano także zależność, że im większy genom tym większa ich zawartość [1]. Retroelementy są transkrybowane przez polimerazy komórkowe wraz z DNA komórki, następnie dzięki aktywności odwrotnej transkryptazy (RT - reverse transcriptase) zostają ponownie włączone do chromosomów. RT ma zdolność przeprowadzania odwrotnej transkrypcji, czyli przepisywania RNA na cDNA. Retroelementy autonomiczne kodują własną RT, dzięki czemu mają zdolność do samodzielnej amplifikacji i transpozycji. Od ich aktywności zależy również powielanie retroelementów nieautonomicznych, niekodujących RT. Prócz tego podziału

retrosekwencje dzielą się także na elementy LTR i non - LTR, ze względu na obecność długich powtórzeń końcowych (LTR - long terminal repeats). Długie powtórzenia końcowe składają się z ok. 500 - 600 nukleotydów i odgrywają ważną rolę w procesie transpozycji i ekspresji transpozonu. Każdy LTR składa się z trzech regionów: dwóch sekwencji unikatowych U3 i U5 (unique) oraz fragmentu R (redundant). LTR rozpoczynają się kończą sekwencjami att, będącymi miejscami integracji z genomem. Region LTR 5' zawiera miejsce PBS (primer binding site), do którego wiąże się tRNA, będące starterem dla odwrotnej transkrypcji. W tym regionie znajdują się również sekwencje promotorowe i enhancery oraz sekwencje regulatorowe, odpowiadające na działanie hormonów i warunkujące ekspresję tkankowospecyficzną. W skład sekwencji LTR 3' wchodzi sygnały poliadenylacji oraz region PPT (polipurine tract), odgrywający ważną rolę w procesie odwrotnej transkrypcji [11]. LTR mogą aktywować nie tylko ekspresję własnych genów, lecz także tych znajdujących się w pewnej od nich odległości [2,12].

## Elementy LTR

Do elementów LTR należą: retrowirusy egzo - i endogenne, retrotranspozony oraz tzw. samotne LTR (solo - LTR).

Retrowirusy egzogenne są wirusami, których genom stanowi RNA. W swoim genomie, prócz LTR, ma on gen pol kodujący proteazę, odwrotną transkryptazę, RNAzę H oraz integrazę oraz sekwencje będące matrycami dla białek strukturalnych (gen gag) i białek otoczki (gen env). Do produktów genu env należą również białka odpowiedzialne za wiązanie wirusa do receptorów na powierzchni infekowanej komórki. W części genomu retrowirusów flankowanej sekwencjami LTR znajduje się także miejsce wiązania tRNA starterowego. W komórce gospodarza RNA wirusa przepisywane jest na DNA i ulega integracji z genomem. Nowe wirusy powstają przez transkrypcję DNA wbudowanego w genom na RNA, które zostaje zapakowane do otoczki. Wśród retrowirusów wiele ma formę łagodną, lecz istnieją również typy zjadliwe m. im. Ludzki wirus niedoboru odporności (HIV - human immunodeficiency virus) [1,2,12].

**Retrowirusy endogenne (ERV - endogenous retrovirus)** są to genomy retrowirusowe włączone do chromosomów kręgowców, najprawdopodobniej są one pozostałościami po wirusach egzogennych, które uległy insercji do DNA komórek rozrodczych i są przekazywane następnym pokoleniom. Zachowały taką samą strukturę jak wirusy egzogenne, lecz ich aktywność zależy od stopnia nagromadzenia mutacji. Niektóre z nich są nadal aktywne i mogą sterować replikacją wirusów egzogennych, jednak większość z nich utraciła zdolności do tworzenia cząstek wirusowych. Transpozycja ERV może zachodzić na dwa sposoby. Jeśli sekwencja retrowirusa nie jest uszkodzona i sam produkuje wszystkie niezbędne enzymy mamy do czynienia z retrotranspozycją cis, lecz w przypadku nagromadzenia się mutacji transpozycja może zajść jedynie dzięki enzymom kodowanym przez egzogenne retrowirusy (retrotranspozycja trans). Do tej grupy zalicza się również skrócone wersje genomów wirusowych, zwane elementami retrowirusowymi lub RTVL (retroviral - like) [2,12].

**Retrotranspozony** są grupą wysokokopijnych elementów LTR, która występuje u roślin, grzybów, bezkręgowców i pierwotniaków, lecz nie odkryto jej u kręgowców. Wyróżniono dwie grupy retrotranspozonów: Ty3/gypsy oraz Ty1 - copia. Ta pierwsza charakteryzuje się tym, że ma taki sam zestaw genów, jak ERV, a nazwę swą zawdzięcza dwóm przedstawicielom - Ty3 pochodzącemu z *Saccharomyces cerevisiae* i gypsy z *Drosophila melanogaster*. Mimo obecności genu env, dopiero stosunkowo niedawno zauważono, że część z nich może tworzyć wirusy, zatem należałoby je sklasyfikować, jako retrowirusy bezkręgowców. Do rodziny Ty1 - copia należą retrotranspozony pozbawione genu env, zatem niezdolne do odtworzenia infekcyjnych cząstek wirusa [2]. Samotne LTR powstają w wyniku rekombinacji homologicznej prowadzącej do usunięcia sekwencji flankowanej przez LTR. Zdarza się, że jest ich w genomie nawet 1000 razy więcej, niż sekwencji,

z których powstały [12].

Proces przenoszenia retroelementów to **retrotranspozycja**. Retrotranspozycja elementów LTR składa się z pięciu głównych etapów:

- 1. transkrypcja** - synteza RNA na matrycy transpozonu odbywa się za sprawą polimerazy II RNA, jest możliwa dzięki obecności na końcu 5' w sekwencji LTR kasety TATA, będącej promotorem dla transkrypcji oraz sygnału poliadenylacji na końcu 3';
- 2. odwrotna transkrypcja**, czyli przepisanie RNA na cDNA za sprawą odwrotnej transkryptazy;
- 3. degradacja RNA przez RNAzę H;**
- 4. synteza komplementarnej nici DNA**, która zachodzi również za sprawą odwrotnej transkryptazy, gdyż wykazuje ona aktywność polimerazy DNA zależnej od RNA;
- 5. integracja retroelementu z genomem** - odpowiedzialna za ten proces integraza, przyczyna niesymetrycznie zarówno retroelement, jak i DNA genomowe w miejscu integracji, skutkiem jej działania jest pojawienie się po obu stronach wstawionego retroelementu czteronukleotydowej prostej sekwencji powtórzonej [2].

### **Elementy non - LTR**

Elementy non - LTR, jak sama nazwa wskazuje, nie są oflankowane przez długie powtórzenia końcowe, jednak do ich transpozycji także niezbędna jest odwrotna transkryptaza. Do tej grupy należą niektóre pseudogeny, retrogeny i retropozony [12].

**Pseudogeny** są to niefunkcjonalne kopie genów, które powstają na skutek odwrotnej transkrypcji przypadkowych fragmentów komórkowego mRNA i ich integracji z genomem. Takie zjawisko ma miejsce bardzo rzadko, a pseudogeny występują w bardzo małej ilości kopii [12].

**Retrogeny** są pseudogenami posiadającymi własny promotor. Dzięki temu mogą samodzielnie ulegać transkrypcji. Nie kodują jednak odwrotnej transkryptazy, zatem by przemieścić się w obrębie genomu korzystają z enzymu syntetyzowanego przez inne retroelementy non - LTR. Do retrogenów zalicza się niskokopijne sekwencje, jak gen ludzkiej kinazy fosfoglicerynianowej (10 kopii na genom) oraz wysokokopijne sekwencje SINE (krótkie rozproszone elementy jądrowe; short interspersed nuclear elements) [12]. SINE, przez niektórych zaliczane również do retropozonów, należą do sekwencji niekodujących, pochodzących z różnych genów tRNA, 7SL RNA (np. Alu u naczelnych) i 5S rRNA (np. SINE3 u *Danio rerio*). Ich długość waha się w granicach 10 - 300 pz, a występują w genomie w liczbie ok. 102 - 106 kopii. Transkrybowane są przez polimerazę RNA III, jednakże nie posiadają genu kodującego ten enzym a jedynie jego promotor. Elementy SINE nie kodują w swojej sekwencji enzymów niezbędnych do retrotranspozycji. Proces ten możliwy jest jedynie dzięki enzymom syntetyzowanym przez inne elementy LINE [4]. Najczęściej integrują się w rejony bogate w pary GC, gdyż są to regiony szczególnie aktywne transkrypcyjnie. SINE dzielą się na trzy grupy: Alu, MIR i MIR3 [12]. Najbardziej rozpowszechnione w ludzkim genomie są elementy Alu [2].

**Retropozony** są elementami autonomicznymi, kodującymi własną odwrotną transkryptazę. Do tej grupy zaliczają się wysokokopijne sekwencje LINE (długie rozproszone elementy jądrowe; long interspersed nuclear elements) o długości ponad 5 kbp. Podobnie do sekwencji SINE często ulegają mutacji, jednak przeciwnie do nich częściej wbudowują się w regiony bogate w pary AT [12]. Przykładem sekwencji LINE jest element LINE - 1 (L1) odkryty w genomie człowieka. Ma on długość ok. 6,1 kbp i występuje w genomie w liczbie 3500 kopii pełnej długości i kilku tysięcy kopii fragmentarycznych [2].

**Elementy non - LTR** przemieszczają się za pomocą nieco innego mechanizmu retrotranspozycji. Pierwszym etapem, podobnie jak w przypadku elementów LTR, jest transkrypcja RNA na matrycy retroelementu. Jednakże w przypadku SINE i prawdopodobnie również LINE zachodzi ona za sprawą polimerazy RNA III. Po rozpoznaniu przez odwrotną transkryptazę sekwencji 3' transkryptu integraza nacina genomowy DNA w miejscu insercji. RNA przyłącza się do wolnego końca 3' DNA,

który stanowi starter dla RT. Wyżej opisany mechanizm nosi nazwę TPRT (target - primed reverse transcription). Następnie hybryda DNA - RNA ulega integracji z DNA genomowym, po czym nić RNA podlega degradacji, a na jej miejsce zsyntetyzowana zostaje komplementarna do matrycy nić DNA [3,4,12].

### **Prokariotyczne transpozony DNA**

Transpozony DNA stanowią ważną część struktury genomu bakteryjnego. U prokariotów występują cztery typy transpozonów. Sekwencje insercyjne (IS) są to krótkie sekwencje 800 - 2000 pz. Na ich końcach występują krótkie odwrócone powtórzenia o długości 8 - 41 pz. IS zawierają również w swojej sekwencji jeden lub dwa geny kodujące transpozazę, enzym odpowiedzialny za przebieg transpozycji. Mogą one ulegać transpozycji replikacyjnej lub konserwatywnej. Insercja elementów IS zazwyczaj zachodzi w losowe miejsce, tylko niektóre z nich wymagają specyficznych sekwencji docelowych. Drugą klasą są transpozony złożone. Posiadają one jeden lub dwa geny, najczęściej oporności na antybiotyki oflankowane sekwencjami IS, kodującymi transpozazę. Transpozony tej grupy podlegają konserwatywnemu mechanizmowi transpozycji. Kolejnym typem elementów ruchomych u prokariotów są transpozony niezłożone, które podlegają transpozycji replikacyjnej. Posiadają one swój własny gen transpozazy, więc sekwencje IS są im zbędne. Ostatnią klasę transpozonów prokariotycznych stanowią fagi zdolne do replikacji. Są to łagodne wirusy bakteryjne, podlegające transpozycji replikacyjnej, która stanowi część ich normalnego cyklu infekcyjnego. Zalicza się do nich fagi Mu i D108. Fag Mu, inaczej Mutator, ma długość 38 kbp i jest jednym z największych transpozonów [2,10].

Transpozony DNA nie potrzebują RNA do przemieszczenia się w inne miejsce w genomie. Przemieszczają się one w sposób bardziej bezpośredni z DNA na DNA, na dwa odrębne sposoby. Pierwszy obejmuje bezpośrednie oddziaływanie transpozonu z miejscem docelowym, prowadzące do powstania kopii sekwencji i nosi nazwę transpozycji replikacyjnej. Drugi polega na wycięciu sekwencji i wstawieniu jej w inne miejsce w genomie. Jest to transpozycja konserwatywna [2].

Transpozycja replikacyjna inicjowana jest przez endonukleazę, która przeprowadza jednoniciowe nacięcia na końcach transpozonu oraz w miejscu docelowym. Wolne końce 5' DNA docelowego łączą się z końcami 3' transpozonu, prowadząc do powstania cząsteczki hybrydowej połączonej elementem ruchomym. W wyniku syntezy DNA następuje powielenie transpozonu i utworzenie struktury zwanej kointegratem, łączącej obie cząsteczki DNA. Na skutek rekombinacji homologicznej cząsteczki zostają rozdzielone [2].

Transpozycja konserwatywna rozpoczyna się w ten sam sposób, jednak w powstałej strukturze hybrydowej nie zachodzi synteza DNA, lecz następuje rozdział cząsteczek dzięki dodatkowym jednoniciowym nacięciom po obu stronach transpozonu. Skutkiem tego dochodzi do wycięcia elementu ruchomego z cząsteczki wyjściowej i wstawienia go w nowe miejsce. W cząsteczce wyjściowej zostaje luka spowodowana wycięciem transpozonu. Jeżeli cząsteczką wyjściową jest plazmid to najczęściej luka ta nie zostaje wypełniona a w konsekwencji cząsteczka ulega degradacji, jednakże możliwe jest, że luka zostanie wypełniona dzięki aktywności polimerazy I DNA i ligazy [2,10].

### **Eukariotyczne transpozony DNA**

Eukariotyczne transpozony DNA są elementami genetycznymi różnej długości. Każdy z nich zawiera gen transpozazy i jest oflankowany na końcach sekwencjami TIR (odwrócone powtórzenia końcowe; terminal inverted repeat). Zarówno transpozaza, jak i sekwencje TIR są niezbędne do transpozycji [10].

Transpozony DNA są domeną prokariotów, u eukariotów występują w znacznie mniejszej ilości niż transpozony RNA. Mimo to odgrywają ważną rolę ze względu na to, iż elementy Ac/Ds (Activator/Dissociator) u kukurydzy były pierwszymi odkrytymi elementami ruchomymi w genomie. Stanowią też grupę najlepiej poznanych transpozonów eukariotycznych. Ac jest prostym elementem ruchomym, zawiera sekwencje kodujące transpozazę oflankowane przez TIR. Natomiast Ds jest wadliwą formą Ac, nieposiadającą genu transpozazy a jedynie sekwencje TIR, i to właśnie badania nad tym elementem dowiodły fundamentalnego znaczenia powtórzeń końcowych w procesie transpozycji [10].

Badania eukariotycznych transpozonów DNA dostarczają coraz więcej dowodów na poziomy transfer genów, czyli przemieszczanie się sekwencji DNA z genomu jednego gatunku do drugiego. Najprawdopodobniej zaszło to już kilkakrotnie w przypadku transpozonu zwanego mariner (żeglarz). Element ten odkryto po raz pierwszy u gatunków *Drosophila*, lecz obecnie wiadomo, iż jest obecny u wielu zwierząt, również u człowieka [2].

Transpozony eukariotyczne przemieszczają się za pomocą transpozycji konserwatywnej, zatem wycinane są z jednego miejsca w genomie po to, by znaleźć się w innym. Główną rolę w tym procesie odgrywa transpozaza, która rozpoznaje sekwencje TIR i w tych miejscach nacina nić DNA. Ona również dokonuje jednoniciowych nacięć w odległości kilku nukleotydów w miejscu insercji i tworząc kompleks z elementem ruchomym, transportuje go w miejsce docelowe. Luka pozostała po wycięciu transpozonu naprawiana jest przez system napraw dwuniciowych. Jednakże większość elementów ruchomych pozostawia po sobie ślad w postaci tandemowych powtórzeń, zwany „odciskiem stopy”. „Odcisk stopy” jest charakterystyczny dla danego typu transpozonów. Ubytki po niesymetrycznym cięciu w miejscu docelowym również są uzupełniane po insercji transpozonu [2,10].

Znaczenie elementów ruchomych

Zależnie od miejsca insercji elementów ruchomych w genom mogą one wywoływać różne skutki, mające większy lub mniejszy wpływ na funkcjonowanie organizmu.

**Transpozycja sekwencji** może powodować szereg negatywnych skutków:

- insercja transpozonu w odcinek kodujący genu najczęściej powoduje jego inaktywację;
- insercja w obszar kontrolny 5' zakłóca lub wręcz uniemożliwia transkrypcję genu;
- insercja w sekwencje odpowiedzialne za hamowanie ekspresji, powoduje nadekspresję danego genu;
- nadekspresję niepożądanego genu może spowodować również insercja transpozonu, który wcześniej „złapał” sekwencje regulatorowe bardziej aktywnych genów;
- sekwencje promotorowe i regulatorowe wchodzące w skład transpozonu mogą także spowodować zaburzenie ekspresji genów w miejscu docelowym;
- jeśli luka po wycięciu sekwencji ruchomej nie zostaje wypełniona może dojść do pęknięć DNA powodujących różnego rodzaju aberracje chromosomowe;
- pozostawiony przez transpozon „odcisk stopy” może spowodować zaburzenia aktywności genu lub zmianę otwartej ramki odczytu;
- u ssaków niektóre retrowirusy mogą inicjować rozwój nowotworu, gdyż ich insercja do genomu kieruje komórkę na drogę mitozy [2,10].

Zaobserwowano również pozytywne skutki przemieszczania się elementów ruchomych w genomie, należą do nich:

- inicjacja powstawania bioróżnorodności i nadawanie tempa ewolucji;
- regulacja funkcjonowania niektórych genów;
- udział w reparacji DNA;
- udział w stabilizacji genomów allopoliploidalnych;
- inaktywacja transpozonów RNA, poprzez insercję w ich obszar.

Ponadto u *Drosophila* dwa elementy non - LTR (Het - A i TART) stanowią ważny składnik telomerów i pełnią funkcję telomerazy. U zbóż pewne rodziny elementów ruchomych prawdopodobnie pełnią

jakąś rolę w centromerach, lecz nie została ona jeszcze poznana [10].

Transpozony odgrywają również istotną rolę w ewolucji genomów, zwłaszcza ich zdolność do inicjowania rekombinacji, która jest najważniejszym mechanizmem prowadzącym do rearanżacji genomu. Ta zdolność nie jest wynikiem samego przemieszczania się transpozonów, lecz obecności w różnych miejscach w genomie wielu podobnych sekwencji. Mogą one zapoczątkować proces rekombinacji między dwoma miejscami w tym samym chromosomie bądź między chromosomami. Zjawisko to może powodować wiele szkodliwych dla organizmu efektów, jednakże istnieją przypadki, kiedy było ono korzystne. Za przykład może posłużyć mająca miejsce ok. 35 mln lat temu rekombinacja między elementami L1, która spowodowała duplikację genu  $\beta$  - globiny, umożliwiła powstanie dwóch członków tej rodziny białek  $G\gamma$  i  $A\gamma$ . Mimo, że z perspektywy ewolucji elementy ruchome mają działanie pozytywne, to ich krótkoterminowe skutki ich transpozycji często są dla organizmu niekorzystne. Dlatego też w większości komórek aktywność ich jest blokowane poprzez metylację, która powoduje zahamowanie ekspresji genów transpozonów, a w konsekwencji zapobiega ich przemieszczaniu się [2].

Elementy ruchome prócz naturalnych funkcji pełnionych w organizmie, znalazły również swoje wykorzystanie w badaniach molekularnych.

Jednym z zastosowań m. in. rodziny transpozonów Ac/Ds jest **etykietowanie genów**. Podstawą do stworzenia tego nurtu badań był fakt, że insercja transpozony w promotor, ekson, bądź intron danego genu może zakłócić jego funkcjonowanie, a to staje się widoczne w fenotypie mutantu. Dane locus można zidentyfikować poprzez rewersję i wyizolować gen stosując sekwencję transpozonu jako sondę. Tym sposobem zidentyfikowano niektóre geny odpowiedzialne za morfogenezę, powstawanie barwników, czy odporność na choroby u różnych gatunków roślin [10]. Wykorzystanie transpozonów stanowi również jedną z metod modyfikowania genetycznego roślin. Właściwości genetyczne i strukturalne oraz specyfika rozmieszczenia elementów ruchomych, np. typu T1 - copia, pozwoliły na wykorzystanie ich w badaniach bioróżnorodności, jak również umożliwiły stworzenie systemu markerów wykorzystywanych w hodowli roślin [10]. Systemy markerów opartych na transpozonach, głównie retroelementach, pozwalają na badanie procesu transpozycji oraz jego wpływu na genom gospodarza.

#### **Techniki wykorzystujące transpozony RNA, jako markery genetyczne to:**

- **S -SAP** (Sequence - Specific Amplified Polymorphism), technika oparta o AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) pozwalająca obserwować polimorfizm zmian długości fragmentów zawartych pomiędzy retroelementem a miejscem restrykcyjnym;
- **IRAP** (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism), technika polegająca na powielaniu sekwencji pomiędzy dwoma retroelementami tej samej rodziny leżącymi w odległości od kilkudziesięciu do kilku tysięcy par zasad;
- **REMAP** (Retrotransposon - Mikrosatellite Amplified Polymorphism), technika polegająca na amplifikacji fragmentów znajdujących się pomiędzy LTR a sekwencjami mikrosatelitarnymi;
- **RBIP** (Retrotransposon - Based Insertion Polymorphism), technika pozwalająca na wykrywanie insercji transpozonu RNA w konkretnym locus [1].

#### **Elementy ruchome w genomie ludzkim i ich wpływ na funkcjonowanie organizmu.**

Ponad dwie trzecie genomu człowieka stanowi niekodujące DNA pozagenowe, z tego 42,2 - 46,4 % to rozproszone sekwencje ruchome, czyli transpozony DNA i RNA. Około 90 % wszystkich elementów ruchomych w genomie człowieka to retroelementy, zaledwie 10 % należy do transpozonów DNA [12]. Sekwencje LINE stanowią 13 % genomu człowieka, SINE - 20 % a 8 % to elementy LTR [8].

Elementy ruchome są istotne dla organizmów niższych, jak rośliny, czy drożdże, u ssaków natomiast uważane są raczej za pozostałości z przeszłości i są uważana za tzw. „śmieciowe DNA”. Jednakże gdyby tak rzeczywiście było, nie stanowiłyby prawie 50 % ludzkiego genomu, a byłyby raczej stopniowo z niego usuwane [6].

Wcześniej uważano, że głównymi komórkami w organizmie człowieka, które mają zdolność przestawiania swoich genów są komórki układu immunologicznego, gdyż ten proces jest im niezbędny w celu tworzenia różnych przeciwciał dla szerokiego zakresu antygenów. Naukowcy odkryli jednak, potwierdzając wcześniejsze badania na myszach, że już wcześniej wspomniane sekwencje LINE, a dokładnie występujące u ssaków elementy L1, przemieszczają się losowo w neuronach ludzkich. Wykazano, że aktywność L1 jest znacznie większa w komórkach mózgowych niż w komórkach innych organów, jak serce, czy wątroba. Przypuszczalnie jest to mechanizm odpowiedzialny za różnorodność układu nerwowego, a dalsze badania mogą określić ich związek z chorobami neurologicznymi [6].

Sekwencje L1 występują u człowieka w liczbie 104 - 105 kopii, z czego jedynie ok. 3500 to elementy pełnej długości, resztę stanowią kopie niepełnej długości [2]. L1, o długości 6,1 kpz, ma dwie otwarte ramki odczytu - jedna kodująca białko wiążące L1 RNA a druga odwrotną transkryptazę i endonukleazę. Element ten pełni zarówno korzystne funkcję dla organizmu, jak inaktywacja jednego z chromosomów X w trakcie embriogenezy, jak i przyczynia się do rozwoju różnych chorób. Udokumentowano przypadek, gdzie wbudowanie się elementu LINE w gen czynnika VIII krzepnięcia krwi, znajdującego się na chromosomie X, spowodowało rozwój hemofilii. Natomiast insercja tego elementu w ekson 48 genu dystrofiny wiąże się z inicjacją dystrofii mięśniowej. Prawdopodobnie jest także odpowiedzialny za niektóre przypadki raka piersi oraz okrężnicy [9,12].

Sekwencje SINE stanowią blisko 20 % genomu człowieka i reprezentowane, również u innych naczelnych, przez Alu [4,8]. Elementy te powstały z genu 7SL RNA, zaangażowanego w transport białek. Ulegają one w komórkach aktywnej transkrypcji i chociaż kodowany przez nie RNA prawdopodobnie nie pełni żadnej funkcji, jest to proces bardzo istotny ze względu na możliwości namnożenia elementów Alu [12]. Alu występują w genomie w postaci dimerów, składających się z dwóch nieidentycznych ramion powstałych z genów pochodzących z 7SL RNA połączonych łącznikiem bogatym w adeniny. Promotor dla polimerazy RNA III znajduje się w połowie długości lewego ramienia. U człowieka stwierdzono obecność monomerycznych form prawego i lewego ramienia Alu, stąd przypuszczenie, że są one prekursorami form dimerycznych [4]. Insercje elementów Alu i rekombinacje Alu - Alu są powodem prawie 20 chorób o podłożu genetycznym, m. in. niektórych przypadków raka piersi, choroby Huntingtona, agammaglobulinemii, hemofilii i niedoboru deaminazy adenozy. Insercja elementy Alu do intronu w genie NF - 1 jest przyczyną rozwoju neurofibromatozy typu I (nerwiakowłókniakowatość typu I, NF - 1). Niektórzy przypuszczają, że właśnie te elementy, poprzez inaktywację genu GLO kodującego ostatni enzym na szlaku biosyntezy witaminy C (oksydazę gulonolaktonu), przyczyniły się do zatracenia zdolności wytwarzania tej witaminy przez organizm ludzki [12].

Ważną grupą elementów ruchomych w genomie człowieka są ERV, które tutaj zwane są ludzkimi endogennymi retrowirusami (HERV - human endogenous retrovirus). Stanowią one 1 - 8 % genomu ludzkiego i występują w liczbie około 450 tysięcy kopii. Prawdopodobnie starsze z nich wbudowały się do DNA komórek rozrodczych przodków człowieka ok. 35 - 45 mln lat temu, a młodsze ok. 200 - 400 tys. lat temu. Od tego czasu uległy one amplifikacji w genomie i większość z nich należy do retroelementów wysokokopijnych. Ich integracja z genomem ma charakter nieodwracalny. Obecnie nie obserwuje się pojawiania się nowych form HERV. W przeciwieństwie do elementów Alu i L1, których retrotranspozycje do genomu człowieka zachodzą również współcześnie, przyjmuje się, że nowe elementy tego typu pojawiają się z częstotliwością jednej insercji na 100 - 200 urodzeń [12]. HERV zostały sklasyfikowane do trzech klas, ze względu na homologię genu pol wirusów ludzkich do



genu pol egzogennych wirusów. Do klasy I należą HERV wykazujące podobieństwo genu pol do gammaretrowirusów, natomiast do klasy II te, które wykazują homologię z betaretrowirusami. Do tej właśnie klasy zaliczają się najbardziej aktywne biologicznie ludzkie endogenne retrowirusy, czyli HERV - K. W skład ostatniej klasy wchodzi HERV spokrewnione ze spumaretrowirusami [12].

**Endogenne retrowirusy** mają wpływ na wiele procesów zachodzących w komórkach, m. in. na organizację DNA genomowego, czy ekspresję niektórych genów. Retrosekwencje mogą być promotorami (np. promotor amylazy ślinowej) lub enhancerami genów komórkowych, mogą zaburzać funkcjonowanie komórek poprzez dostarczanie dodatkowych miejsc inicjacji translacji, wstawienie kodonu STOP, czy dodatkowych miejsc składania mRNA [12]. HERV przypisuje się również rolę w nabieraniu odporności na egzogenne retrowirusy [5].

HERV w swojej sekwencji kumulują mnóstwo mutacji i prawdopodobnie nie kodują, żadnego funkcjonalnego białka. Jednakże niektóre z nich zachowały swoje zdolności do produkcji białek retrowirusowych. Zarówno ich obecność, jak i aktywność została odkryta w ludzkich tkankach [8]. A wzmożoną ekspresję RNA retrowirusowego zaobserwowano w przypadku niektórych chorób autoimmunologicznych i nowotworowych [5]. Zatem przypuszcza się, że HERV mają wpływ na rozwój tych chorób, jednak ich rola nie została do końca wyjaśniona. Dotychczasowe badania wskazują na ich związek, jak już wcześniej wspomniano, z chorobami o charakterze autoimmunologicznym, niektórymi typami nowotworów a także zaburzeniami psychicznymi, np. schizofrenią. Nie istnieją jednak jednoznaczne dowody na ich zaangażowanie w rozwój tych schorzeń, możliwe, że ich ekspresja jest jedynie zjawiskiem towarzyszącym tym chorobom [12].

## Podsumowanie

Kiedy odkryto genom, wydawało się, że jest on strukturą stabilną. Dalsze badania wykazały, że podlega on szeregowi zmian i rearanżacji, zarówno na przestrzeni lat, warunkując ewolucję, jak i u każdego oddzielnego osobnika. Można powiedzieć, że elementy ruchome są narzędziem ewolucji. Znajdują się one w genomach wszystkich organizmów żywych od bakterii po człowieka. O ile u organizmów niższych ich obecność jest bardzo ważna i znacząca to u ssaków wydają się być jedynie pozostałością po przodkach. Mimo niechlubnej nazwy, jaką zostały obdarzone - „śmieciowe DNA”, prawdopodobnie i w organizmie człowieka pełnią one pewne funkcje.

Powszechność i specyfika elementów ruchomych stały się powodem ich wykorzystania w biologii molekularnej. Stanowią one narzędzie do badania polimorfizmu zarówno wewnątrz gatunku, jak i międzygatunkowego oraz ekspertyz filogenetycznych.

*Opracowała: Magdalena Maniecka*

## Literatura:

1. Bieniek W. 2006. Markery DNA oparte na retrotranspozonach. *Wiadomości Lekarskie* 50:15-24
2. Brown TA. *Genomy*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001. s. 138-141, 368-371,392
3. Deininger PL and Batzer MA. 2002. Mammalian retroelements. *Genome Research* 12:1455-1465
4. Gdzalski M and Sakowicz T. 2008. SINE - rozproszone elementy genomów Eucaryota. *Postępy Biologii Komórki* 2:153-167
5. Griffiths DJ. 2001. Endogenous retroviruses in the human genome sequence. *Genome Biology* 2:1017.1-1017.5
6. <http://www.abczdrowia.pl/naukowcy-identyfikuj-koniugujce-transpozony-w-mozgu-czowieka/health/>
7. [http://www.shpusa.com/books/chapters/Barbara\\_McClintock.pdf](http://www.shpusa.com/books/chapters/Barbara_McClintock.pdf)
8. Khodosevich K, Lebedev Y and Sverdlov E. 2002. Endogenous retroviruses and human evolution. *Comparative and Functional Genomics* 3:494-498

9. Kwintkiewicz J. 2001. Ruchome elementy genetyczne. Nowiny Lekarskie 8:940-947
10. Rogalska SM, Kalinka A, Achrem M, Słomińska - Walkowiak R, Skuza L and Filip E. 2004. Genetyczne elementy ruchome u roślin i innych organizmów. Kosmos 3-4:325-342
11. Szyda A, Rossowska J, Pajtasz - Piasecka E and Duś D. 2006. Czy komórki dendrytyczne modyfikowane wektorami retrowirusowymi z genami cytokin staną się narzędziem terapeutycznym? Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 60: 552-562
12. Zwolińska K. 2006. Sekwencje pochodzenia retrowirusowego w genomie człowieka. Ludzkie endogenne retrowirusy (HERV). Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 60:637-652

<http://laboratoria.net/arttykul/12318.html>

**Informacje dnia:** [Twój błat w dygestorium nie spełnia Twoich oczekiwań? Potrzebne regulacje dot. norm i zasad hałasu turbin wiatrowych Naukowcy zbadali, jakie obrazy zapadają częściej w pamięć Człowiek poprzez emisję gazów spowodował ocieplenie Sztuczna inteligencja diagnozuje spektrum autyzmu Autonomiczne hulajnogi elektryczne Twój błat w dygestorium nie spełnia Twoich oczekiwań? Potrzebne regulacje dot. norm i zasad hałasu turbin wiatrowych Naukowcy zbadali, jakie obrazy zapadają częściej w pamięć Człowiek poprzez emisję gazów spowodował ocieplenie Sztuczna inteligencja diagnozuje spektrum autyzmu Autonomiczne hulajnogi elektryczne](#)

## **Partnerzy**